

# 双酶解法提取大豆蛋白的工艺研究

陈# 敏, 蔡会武, 邵纪生, 王永红

(西安科技大学 化学与化工学院,陕西 西安 =&%&0)

**摘# 要:**以豆粕粉为原料,加入高效蛋白酶和胰蛋白酶进行水解研究,对反应温度、底物浓度、反应时间、HP 值、酶的用量及酶加入间隔的时间等工艺参数进行优化,并分析了大豆多肽的含量及蛋白质的水解度与各影响因素之间的关系。经过优化得到的反应条件为温度 >9a ,HP =49,液固比 =h&,加酶量为高效蛋白酶和胰蛋白酶各 %! !,反应时间 0B,加酶间隔时间 \$ B。在此条件下,酶解后的蛋白质含量达 09d 、水解度为 &=4! d 。  
**关键词:**大豆肽;酶水解 ;水解度;蛋白质含量  
**中图分类号:**Y(! &>4! # # # **文献标识码:**- # # # **文章编号:**&%&% " 0-&(! %&% ) %\$: %9\$=: %\$

3Q&%'("4 "/ + "97\*%4 H&"'\*(4 79 F, %34J9# \* B9- &":9.( < \*'B" -

/ P, . M7, / - 0P6AZ6, (P- ) 5A0K7I, < - . R \* 27I :B27I

( / 234K2W B? A0E @L / B? F@, 7I7KK7I , m7 S7AK0E 2W(FA7FK @L YKFB723I E, m7 =&%&0, (B@7\A, / B7@

27.'&%':Y2 K 00CH207 W2? 0ETK@ H2ZLKUZAB BEL2EGG? KB2L TE @L7I KWF7CH200K @L 0E-07@K, 0KH@  
U@ K0UG0FB @0KUK@027 0? HU0UK, 6TG0K F27F7C027, UK@27 0? K, HP, K7E? KL2G@K @L 0K 0? K70U@  
2W@L7I K7E? KZKUK7VKA @L, @L 0K UK@27BAHTKZK7 0ETK@ H-HAK F2707C H207 BEL2EGGLK UK @L 0K  
7V0K7F7I V02UGZUK @0J KL4YBKUK00B2ZK 0K2H? AK F27LA27GZUK: 0? HU0UK2W9a , HP =49, Z@U@L:  
KL 2W %b =%? Q, K7E? K @ 267C2W%! I 0UT20 KWF7CH200K @L 0E-07@K, UK@27 0? K2V0B, K7E? K @L7I  
70U@2V\$ B4 S7LKUK0K F27LA27G 0KH207 F2707CA 0KK7E? KUK@27 UK@BL 09d , @L 0K LK UK2WBEL2E  
0GUK@BL &=4! d 4  
@\*9 8 "& . : (2ETK@ H-HAK , 7E? 0F BEL2EGG ^207 F2707C

# # 大豆原产于中国,是世界上产量最大的食用和  
饲用蛋白资源,大豆经高温提取豆油后所得豆粕中  
含有 >9d b 9% d 的蛋白质、&% d b 89d 的低聚糖、  
!% d b!9d 的多糖和纤维素。但是过去对榨油后的  
大豆中大量蛋白质没有得到充分利用<sup>[&]</sup>。多肽是大  
豆蛋白质经酸、碱、蛋白酶作用,再经特殊处理而得  
到的蛋白质水解产物。大豆多肽的必需氨基酸组成  
与大豆蛋白质完全一样,含量丰富而平衡,且多肽化  
合物易被人体消化吸收,并具有调节人体生理机能  
的作用,大豆多肽是极具潜力的一种功能性食品基  
料<sup>[1]</sup>。

目前在对酶解法生成大豆多肽的研究<sup>[1~]</sup>中,  
单酶水解法依旧是研究的主要方向。但随着研究的  
深入,发现双酶解法水解大豆蛋白质的水解度更高  
些,同时酶解的产物苦味明显弱于单酶水解法。该  
文研究了双酶复合法水解大豆蛋白,旨在为优化水  
解工艺以及提高产品质量提供理论依据。

## &# 材料与方法

**&4&# 供试材料**  
**&4&4&# 脱脂大豆豆粕#** 蛋白含量为 >\$d 。  
**&4&4! # 蛋白酶#** 高效蛋白酶(无锡酶制厂,食品  
级);胰蛋白酶(无锡酶制厂,食品级)。  
**&4&4\$# 试剂#** 浓硫酸(西安市长安区化学试剂研  
究所,分析纯);硫酸钾,硫酸铜(天津市化学试剂六  
厂,分析纯)。  
**&4&4># 仪器#** 常量凯式定氮仪(上海维检仪器有  
限公司);台式大容量离心机 (YN9+ 长沙英泰仪器  
有限公司);真空干燥箱 (N; !+ / 天津市泰斯特仪  
器有限公司);磁力加热搅拌器(09: ! 上海浦东物理  
光学仪器厂);电热恒温水浴锅(PP( 北京化玻联医  
精密器械有限公司);HP 计(^P(:\$/ 上海雷兹创  
益仪器有限公司);电动搅拌器(55.& 江苏省金坛市  
正基仪器有限公司)。

84# 试验方法

将脱脂豆粕研磨成粉,过 90 目筛,取 80% 加 90%?Q 蒸馏水溶解,再加酸调至等电点  $pH = 4.9$ ,离心分离,除去可溶性糖,重复洗糖 5 次,下层固体 10%?Q 蒸馏水溶解,再加氢氧化钠溶液调  $pH$  到 4.9 左右,加入酶溶液酶解 1 h,离心分离,取出上清液,放入真空干燥箱干燥,取 1 g 样品,测定蛋白质含量,按照 R+90% 49] 常量凯氏定氮法标准进行,然后测定蛋白质水解度<sup>[10]</sup>,按照 R+g99% 4\$] " 甲醛法标准进行。

!# 结果与分析

!48# 酶最适用量的确定

称取 1 组 80% 豆粕粉,经过水洗脱糖处理后,分别加入 10%?Q 蒸馏水,用恒温水浴箱加热并搅拌,加入用 90%?Q 蒸馏水溶解的高效蛋白酶 5 B 后,再加用 90%?Q 蒸馏水溶解的胰蛋白酶,在  $pH = 4.9$ 、>9a 恒温条件下酶解 0.5 h,然后进行酶灭活,离心分离,干燥,由表 8 可知,酶最适用量为高效蛋白酶 1.1 mL,胰蛋白酶 1.1 mL。

表 8 酶的用量对蛋白质水解的影响

E9%:\* &# EB\* \*\*/\*; ' " / \*4J9# \* \$&'\*(4 (4 'B\* \$&';\*.. " / 'B\* B9- &' :9.(.

高效蛋白酶 WFA7C H200K g · il <sup>1</sup> &	胰蛋白酶 YUEGY@K g · il <sup>1</sup> &	加胰蛋白酶 时间 YR KgB	蛋白质含量 ^20K F27: 07Qd	水解度 , 7J E? @F BELU2EGG gd
%	!	—	=9499	& 4%
&	&	\$	0641 %	&&4>
&	!	\$	0>49'	8949!
!	%	—	=04>%	04! 9
!	&	\$	0>4\$%	&>4>0
!	!	\$	094\$	&=4=!
\$	\$	\$	0>40	& 4" 0

!4!# 酶水解豆粕最适浓度的选择

称取 9 组 80% 豆粕粉,经过水洗脱糖处理后,分别加入 >90%90%Q' 90%=90%0%?Q 蒸馏水,调节成不同浓度的物料溶液,加入高效蛋白酶 5 B 后,再加胰蛋白酶,在  $pH = 4.9$ 、>9a 恒温条件下酶解 0.5 h,然后进行酶灭活,离心分离,干燥,由图 8 可知,随着加水量从 >90%?Q 增加到 0%?Q,所取样品水解后蛋白质含量及水解度呈现先升高再降低的趋势,酶水解豆粕最适浓度为加水 10%?Q。

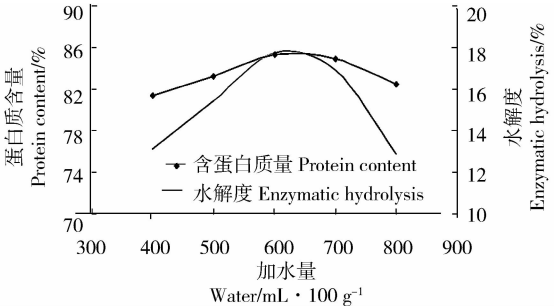


图 8# 底物浓度对蛋白质水解的影响  
A(5?8# 3//\*; ' " / ., 7.' &8\* ; "4; \*4' &8(" 4 "4 \$&'\*(4 B9- &' :9.(.

!4\$# 酶水解豆粕最适时间的选择

称取 >1 组 80% 豆粕粉,经过水洗脱糖后加入 10%?Q 蒸馏水,分别设定 >1 a, >9a, >0a, 9&a 的恒温水浴中,调节在  $pH = 4.9$ ,加各用 90%?Q 蒸馏水溶解的高效蛋白酶 1 mL 和胰蛋白酶 1 mL,其中间隔加酶时间为 5 B,酶解 0.5 h。然后进行酶灭活,离心分离,干燥。由图 1 可知,随着水解温度从 >1 a 升高到 9&a,所取样品水解后蛋白质含量及水解度均呈先升高再降低的趋势,酶水解豆粕最适温度为 >9a。

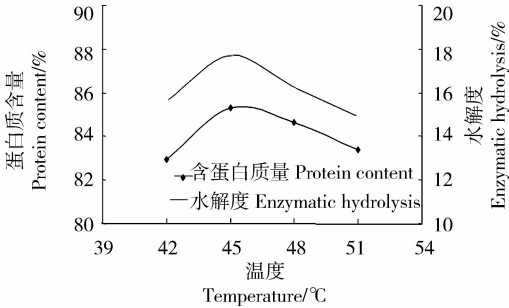


图 1# 温度对蛋白质水解的影响  
A(5? ! # 3//\*; ' " / \*\*\$\* &8, & " 4 \$&'\*(4 B9- &' :9.(.

!4># 酶水解豆粕最适 pH 的选择

称取 >1 组 80% 豆粕粉,经过水洗脱糖后加入 10%?Q 蒸馏水,>9a 的恒温水浴中,调节在  $pH = 4.9$ 、>4&、>49、>4"、>04\$,加各用 90%?Q 蒸馏水溶解的高效蛋白酶 1 mL 和胰蛋白酶 1 mL,其中间隔加酶时间为 5 B,酶解 0.5 h。然后进行酶灭活,离心分离,干燥。由图 9 可知,随着  $pH$  的增大,所取样品水解后蛋白质含量及水解度均呈现先升高再降低的趋势,酶水解豆粕最适  $pH$  为 4.9。

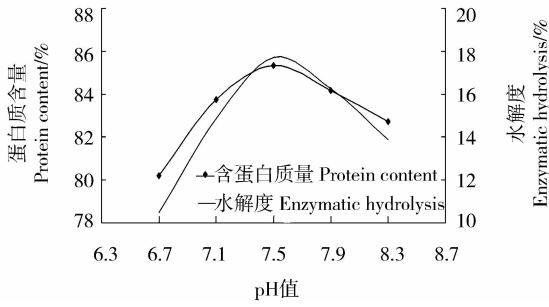


图 9# pH 对蛋白质水解的影响  
A(5? \$# EB\* \*\*/\*; ' " / \$0 " 4 'B\* \$&'\*(4 B9- &' :9.(.

1.4.9 酶水解豆粕最适时间的选择

称取 9 组 8% 豆粕粉,经过水洗脱糖后,加入 1% 蒸馏水,在 90℃ 的恒温水浴中,滴定至 pH=4.9,加各用 9% 蒸馏水溶解的高效蛋白酶 4% 和胰蛋白酶 4%,先加高效蛋白酶,5 h 后加胰蛋白酶,酶解 1、2、3、4 h。然后进行酶灭活,离心分离,干燥。由图 8 可知,随着酶解时间的增长,蛋白质含量及水解度呈现升高趋势,5 h 后趋于不变,故最佳时间为酶解 5 h。

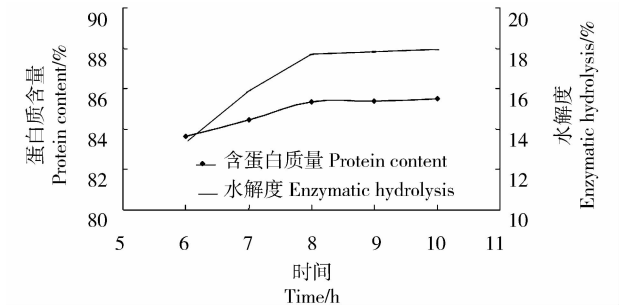


图 8 时间对蛋白质水解的影响

1.4.10 酶水解豆粕最适加酶间隔时间的选择

称取 9 组 8% 豆粕粉,经过水洗脱糖后,加入 1% 蒸馏水,在 90℃ 的恒温水浴中,滴定至 pH=4.9,加各用 9% 蒸馏水溶解的高效蛋白酶 4% 和胰蛋白酶 4%,先加高效蛋白酶,然后按 4、5、6、7、8、9、10 min 后加胰蛋白酶,酶解 5 h。然后进行酶灭活,离心分离,干燥,由图 9 可知,随着加酶间隔时间的增长,所取样品水解后蛋白含量及水解度均呈现先升高后降低的趋势,故最佳酶间隔时间为 5 min。

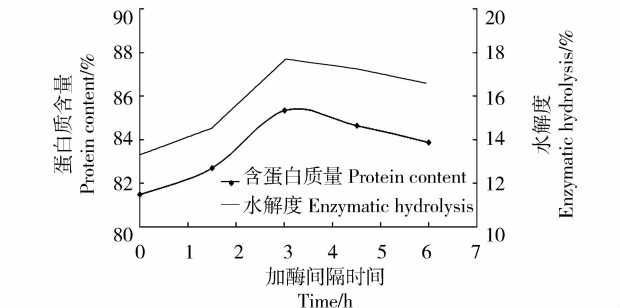


图 9 加酶间隔时间对蛋白质水解的影响

2 结论与讨论

2.1 结论

双酶水解大豆蛋白质的效果比单酶水解的效果好,蛋白量含量、水解度等都有提高,尤其是水解度的增加较为明显。试验所得双酶水解大豆豆粕的最佳工艺条件是:温度在 90℃、pH 值=4.9,液固比为

1:4,加酶量各为 4%,反应时间 5 h,高效蛋白酶与胰蛋白酶间隔时间为 5 min,酶解后蛋白含量达 88% (按国际标准 94% 计算),水解度达 18%,符合目前蛋白质浓缩和脱苦的条件要求<sup>[1,88]</sup>。在实际工业生产过程中可将参数控制在一定的范围内,根据试验所得结论可以采取以下工艺条件,温度设定在 90~95℃,pH 值控制在 4.5~5.0,时间控制在 4~6 h 之间,液固比为 1:4。

参考文献

[1] 陆恒. 大豆蛋白质的价值优势及其现代制品开发利用研究[J]. 食品与机械, 2014, 29(4): 1-4.

[2] 郭永, 张春红. 大豆蛋白质改性的研究现状及发展趋势[J]. 粮油加工与食品机械, 2014, 31(4): 1-4.

[3] 王银满. 4-酶法制备大豆活性肽的工艺研究[J]. 粮食加工, 2014, 39(9): 1-4.

[4] 刘大川, 钟方旭. 4-酶水解法制备大豆肽的研究[J]. 中国油脂, 2014, 39(4): 1-4.

[5] 雷鸣, 李志忠. 4-大豆多肽制备中蛋白酶的选择[J]. 甘肃农业大学学报, 2014, 49(4): 1-4.

[6] 郭兴凤. 4-蛋白质水解度的测定[J]. 中国油脂, 2014, 39(9): 1-4.

[7] 许永红. 4-蛋白质酶法水解物苦味的控制[J]. 食品工业科技, 2014, 35(9): 1-4.

[8] 张鹏, 张春红. 4-酶法制备低苦味大豆寡肽的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(9): 1-4.