

速溶性大豆分离蛋白生产工艺优化

闫 晗¹, 聂简琪², 葛佩富¹, 桓旭影¹

(1. 辽宁工程技术大学 理学院, 辽宁 阜新 123000; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:以中性蛋白酶和木瓜蛋白酶复配为工具酶,以水解度为指标,通过单因素试验与响应面分析对大豆分离蛋白的酶解工艺进行优化,并添加磷脂、蔗糖,以溶解性为指标优化调配工艺,提高其速溶性。结果得到最佳酶解工艺参数为 pH7.08,温度 51.6℃,酶(木瓜蛋白酶与中性蛋白酶按质量比 1:1 复配)添加量 22.45 mg·g⁻¹,酶解时间 3 h;在此酶解条件下,大豆分离蛋白的水解度达 20.3%,溶解度达 72%。最佳调配工艺为磷脂添加量 0.8%,蔗糖添加量 3.0%,最终产品溶解度达 92.9%。样品溶于水后下沉快,易溶解,无团块。

关键词:大豆分离蛋白;酶解;溶解性;速溶性

中图分类号:TS201.2

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)06-0996-06

Optimization on Production Parameters of Rapid Dissolving Soybean Protein Isolate

YAN Han¹, NIE Jian-qi², GE Pei-fu¹, HUAN Xu-ying¹

(1. College of Science, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, Liaoning; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: In this study, in order to increase instant solubility of soybean protein isolate (SPI), neutral protease and papain were used as tool enzyme, enzymatic hydrolysis technology was optimized by single factor experiment and response surface optimization design, with hydrolysis degree as the index. Then blended with phospholipids and cane sugar to further improve the solubility. The optimum conditions of enzymatic hydrolysis were at pH7.08 and 51.6℃ for 3 h with the enzyme concentration of 22.45 mg·g⁻¹ substrate. Under this enzymatic hydrolysis conditions, the hydrolysis degree and solubility of SPI reached 20.3% and 72%, respectively. After blended with 0.8% phospholipids and 3.0% cane sugar, the final solubility of SPI reached 92.9%, and the SPI sample could quickly dissolved into water without aggregation.

Key words: Soybean protein isolate; Enzymatic hydrolysis; Solubility; Instant solubility

大豆分离蛋白(soybean protein isolation, SPI)是在低温下将豆粕除去大豆油脂和水溶性非蛋白成分后,得到的一种蛋白质含量不少于 90% 的混合物^[1]。大豆分离蛋白是植物蛋白中营养价值最高的蛋白质,由于它具有良好的溶解性、乳化性、起泡性、持水性和凝胶性等特性,又兼有蛋白质含量高的营养性,所以被作为功能性食品添加剂广泛应用于肉制品、冷饮制品、烘焙制品等食品中^[2]。溶解度性质是蛋白质可应用性的一个重要指标,它影响着蛋白质的凝胶作用、乳化作用和起泡作用的能力^[3],速溶性大豆分离蛋白的突出特点是,它能在温水或室温的水溶液中,用汤勺温和搅拌,可以完全分散、迅速溶解,没有蛋白质漂浮^[4]。

目前有研究人员通过向大豆分离蛋白中添加中性蛋白酶^[5]和木瓜蛋白酶^[6]等单一酶类提高其溶解性。张华山^[7]利用木瓜蛋白酶对大豆分离蛋白简单酶解后制得酶解大豆分离蛋白。迟晓星^[8]以大豆分离蛋白为原料,利用 A. S1398 中性蛋白酶

通过单因素和正交试验研究了酶解条件。刘进杰^[9]通过单因素和正交试验,确定超声和 Alcalase 酶复合处理对大豆分离蛋白水解的最佳条件。这些研究大都采用单一酶类水解蛋白,较少使用复合酶,而与单一酶类水解效果相比,合理使用复合酶水解,可以节约生产时间与成本。大豆分离蛋白酶解条件的优化大都采用正交试验,而响应面分析法优化效果优于正交试验。虽然酶解后的大豆分离蛋白溶解度得到一定提高,但速溶性大豆分离蛋白的生产工艺尚未成熟与完善,还无法满足食品行业的需求。本文旨在通过以木瓜蛋白酶与中性蛋白酶复合酶进行酶解并以蔗糖、磷脂进行调配,研究出一套可行的速溶性大豆分离蛋白生产工艺,以改善大豆蛋白制品品质。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

大豆分离蛋白,阜新维远食品科技有限公司;

收稿日期:2012-08-02

第一作者简介:闫晗(1980-),女,博士,讲师,从事天然产物开发研究。E-mail:yanh112@163.com。

中性蛋白酶($60\ 000\ \text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)、木瓜蛋白酶($500\ 000\ \text{U}\cdot\text{g}^{-1}$),北京奥博星生物技术有限责任公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 试验仪器

FA2104N 型电子天平,上海精密科学仪器有限公司;JYL-350A 型九阳电磁炉,九阳股份有限公司;GZX-9140 MBE 型电热恒温鼓风干燥箱,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;752N 型紫外可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司。

1.3 试验工艺流程

大豆分离蛋白→双酶酶解→鼓风干燥→调配→产品

1.4 主要指标的测定方法

总氮的测定:凯氏定氮法。

游离氨基氮的测定:双指示剂甲醛滴定法。

水解度(DH)测定: $\text{DH} = \text{游离氨基氮}/\text{总氮}$ 。

1.5 数据分析

利用 SAS 9.1 对数据进行处理与分析。

2 结果与分析

2.1 酶解单因素试验

2.1.1 pH 值 从图 1 可知,随 pH 增加,SPI 水解度呈先上升后下降的趋势,在 pH 为 7 时,水解度达到最大值,此时,酶能与底物能够较好结合且表现出较好的催化活性,过酸、过碱情况下会破坏底物结构及酶的活性。

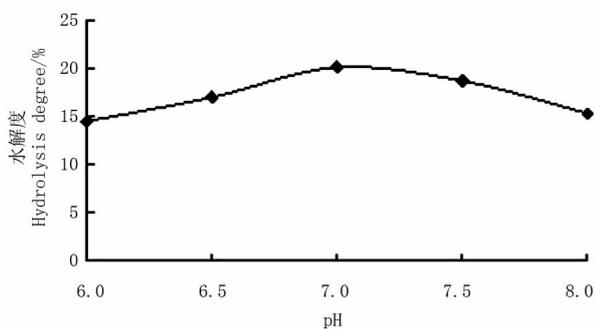


图 1 pH 对 SPI 水解度的影响
Fig. 1 Effects of pH on degree of hydrolysis of SPI

2.1.2 温度 从图 2 可知,随温度的升高,SPI 水解度呈先上升后下降的趋势,在 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,水解度达到最大值。说明酶解的最适温度为 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.3 酶用量 从图 3 可知,随着酶用量的增大,水解度不断上升,但酶用量大于 $20\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 底物时,

水解度的上升趋势变缓,因此酶解反应的最适酶用量的是 $20\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 底物。

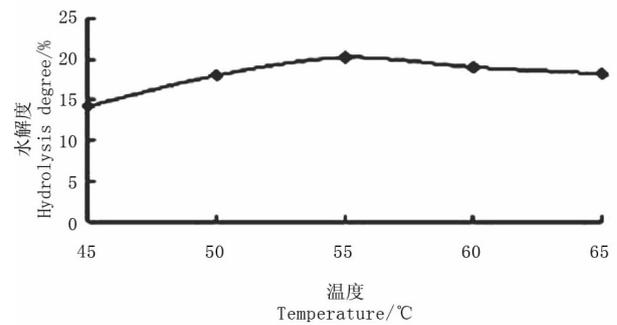


图 2 温度对 SPI 水解度的影响
Fig. 2 Effects of temperature on degree of hydrolysis of SPI

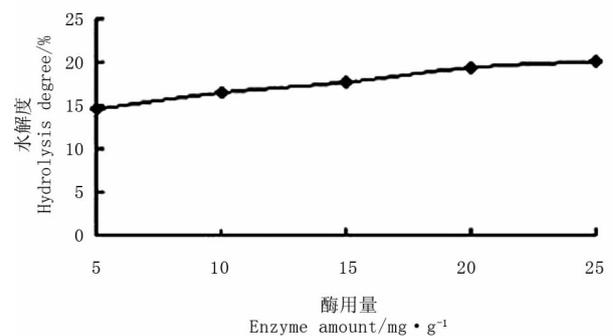


图 3 酶用量对 SPI 水解度的影响
Fig. 3 Effects of enzyme concentration on degree of hydrolysis of SPI

2.2 响应面分析

2.2.1 因素水平的选取 选取 pH、温度、酶用量为研究因素,根据 Box-Beknhen 中心组合实验设计原理,设计三因素三水平的响应面试验(表 1)。

2.2.2 响应面分析方案及结果 对 pH (A)、温度 (B)、及酶用量 (C) 作如下变换: $X_1 = (A - 7.0)/0.5$, $X_2 = (B - 50)/5$, $X_3 = (C - 20)/5$ 。以 X_1 、 X_2 、 X_3 为自变量,以水解率为响应值 (Y),实验结果及分析见表 2、3。

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Analytical factors and levels for RSA

因素 Factors	水平 Levels		
	-1	0	1
A pH	6.5	7	7.5
B 温度 Temperature/ $^{\circ}\text{C}$	45	50	55
C 酶用量 Enzyme amount/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	15	20	25

表2 响应面分析实验结果

Table 2 Test results of RSA

试验号 No.	X_1	X_2	X_3	Y 水解率 DH/%
1	-1	-1	0	17.3
2	-1	1	0	18.6
3	1	-1	0	18.4
4	1	1	0	19.5
5	0	-1	-1	16.5
6	0	-1	1	18.4
7	0	1	-1	17.5
8	0	1	1	19.3
9	-1	0	-1	16.3
10	1	0	-1	17.1
11	-1	0	1	19.6
12	1	0	1	19.5
13	0	0	0	19.4
14	0	0	0	20.3
15	0	0	0	20.0

表3 回归分析结果

Table 3 Results of regression analysis

方差来源 Source	自由度 DF	平方和 SS	均方 MS	F 值 F	Pr > F	显著性 Significance
X_1	1	0.911250	0.911250	3.919355	0.104613	
X_2	1	2.311250	2.311250	9.940860	0.025296	*
X_3	1	11.045000	11.045000	47.505308	0.000984	**
X_1X_1	1	1.442308	1.442308	6.203474	0.055115	
X_1X_2	1	0.010000	0.010000	0.043011	0.843887	
X_1X_3	1	0.202500	0.202500	0.870968	0.393527	
X_2X_2	1	4.883077	4.883077	21.002480	0.005932	*
X_2X_3	1	0.002500	0.002500	0.007545	0.934151	
X_3X_3	1	4.883077	4.883077	21.002480	0.005932	**
模型 Model	9	22.254830	2.472759	10.635520	0.009018	**
误差 Error	5	1.162500	0.232500			
总和 Total	14	23.417330				

* 和 ** 分别表示达显著和极显著水平。

* and ** indicate significant at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

由表3可知,因变量和全体自变量之间的线性关系显著($r = 22.25483/23.41733 = 95.04\%$),模型 $F > F_{0.01}(9,5) = 10.63552$,具有高度显著性。且 $r = 95.04\%$,说明响应值(水解度)有95.04%来源于所选变量,因此该回归方程对试验拟合情况较好,可以较好地描述各因素与响应值之间的真实关系,可以利用该回归方程确定最佳酶解工艺条件。根据回归方程系数显著性检验可知,模型的一次项 X_2 影响显著($P < 0.05$), X_3 影响极显著($P < 0.01$)、

模型的二次项 X_2X_2 影响显著($P < 0.05$), X_3X_3 影响极显著($P < 0.01$),由此可以看出,响应值的变化复杂,各个因素对响应值的影响不是简单的线性关系。

响应面图形是响应值对各试验因子所构成的三维空间的曲面图,从响应面分析图上形象的看出最佳参数及各参数之间的相互作用。根据回归方程做出不同因子的响应面分析图,结果见图4,5,6。然后对回归方程求一阶偏导数,即得到最佳值。

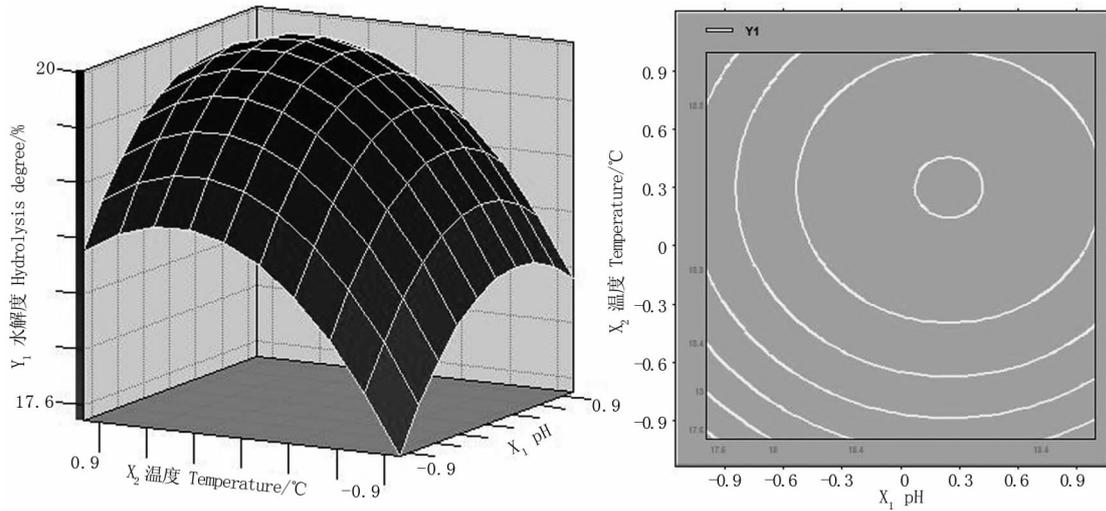


图 4 $Y = f(X_1, X_2)$ 的响应面图

Fig. 4 Responsive surfaces of $Y = f(X_1, X_2)$

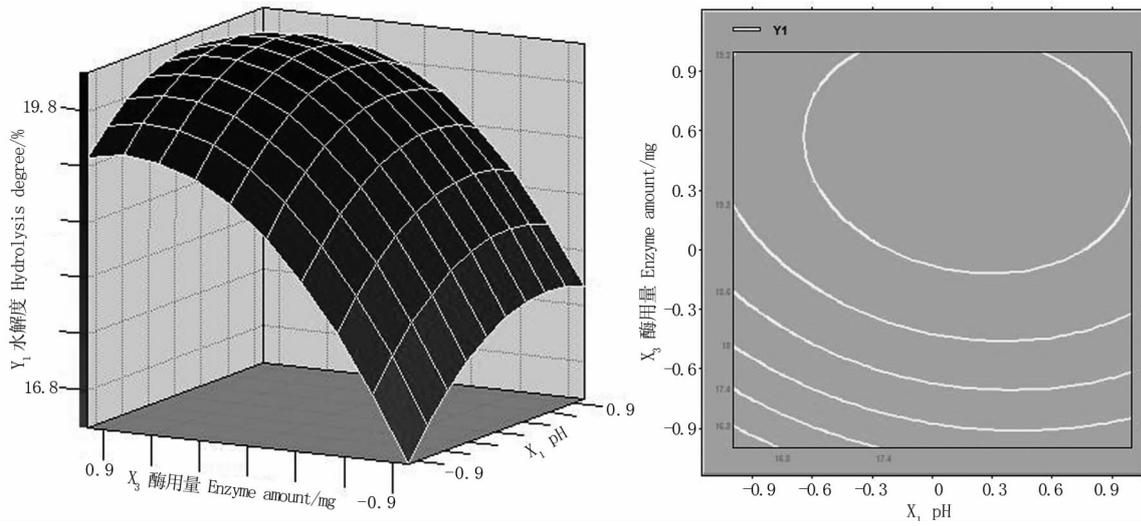


图 5 $Y = f(X_1, X_3)$ 的响应面图

Fig. 5 Responsive surfaces of $Y = f(X_1, X_3)$

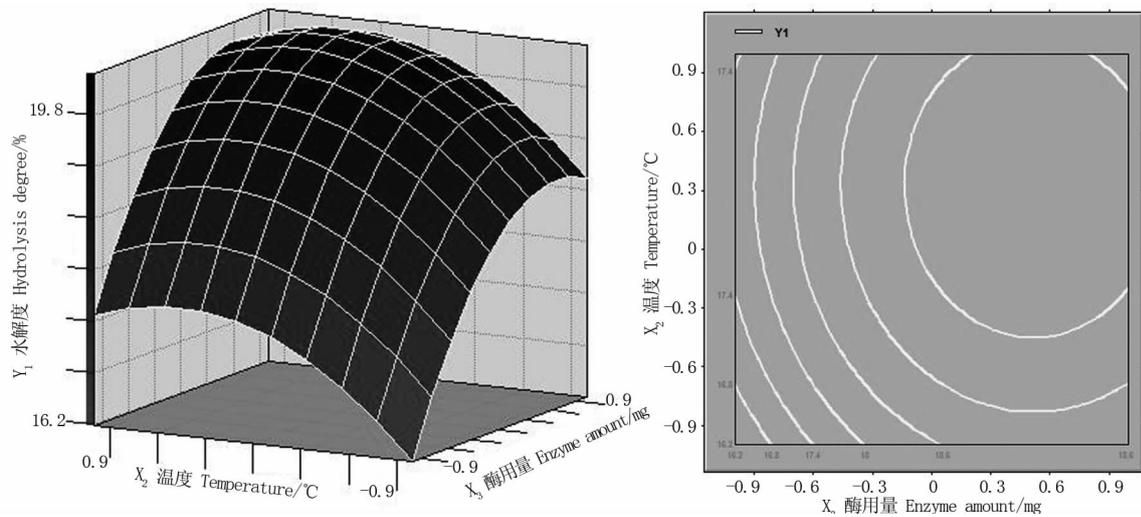


图 6 $Y = f(X_2, X_3)$ 的响应面图

Fig. 6 Responsive surfaces of $Y = f(X_2, X_3)$

得到的回归方程为: $Y_1 = 19.9 + 0.3375X_1 + 0.5375X_2 + 1.175X_3 - 0.625X_1X_1 - 0.05X_1X_2 - 0.225X_1X_3 - 0.825X_2X_2 - 0.025X_2X_3 - 1.15X_3X_3$

分别对上述回归方程中的 X_1 、 X_2 、 X_3 求一阶倒数,得到如下方程:

$$0.335 - 1.25X_1 - 0.05X_2 - 0.225X_3 = 0$$

$$0.5375 - 0.05X_1 - 1.65X_2 - 0.025X_3 = 0$$

$$1.175 - 0.225X_1 - 0.025X_2 - 2.30X_3 = 0$$

解得: $X_1 = 0.169106$, $X_2 = 0.313195$, $X_3 = 0.490922$ 。

代入变换公式即得 pH 为 7.08, 温度为 51.6℃, 酶用量为 22.45 mg·g⁻¹ 底物。即在 pH7.08, 温度 51.6℃, 酶添加量 22.45 mg·g⁻¹ 的条件下酶解大豆分离蛋白, 由回归方程预测在此条件下大豆分离蛋白的水解度值为 20.3%。

2.3 酶解时间的确定

从图 7 可知, 溶解度与水解度均随着酶解时间的增长而增大, 但是当酶解 3 h 以后, 溶解度与水解度的变化趋势已经缓慢。因此, 3 h 为酶解的最佳时间。

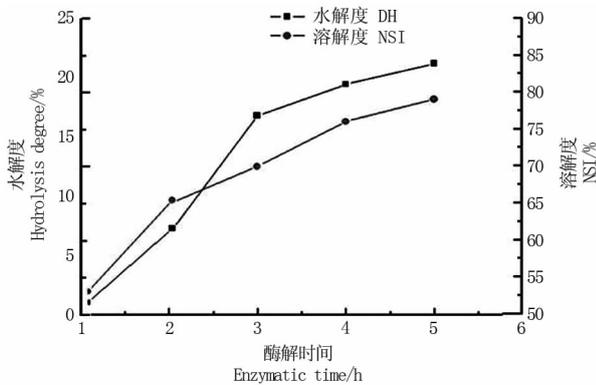


图 7 水解度对 SPI 酶解液溶解度的影响
Fig.7 Influence of hydrolysis degree on SPI enzyme solution liquid solubility

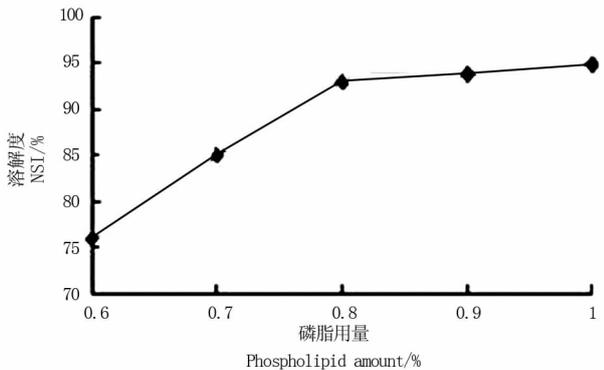


图 8 磷脂对溶解度的影响
Fig.8 Effects of phospholipid on solubility

2.4 大豆分离蛋白调配单因素实验

2.4.1 磷脂用量 从图 8 可知, 曲线呈先上升, 后

趋近于平缓的趋势。当磷脂的添加量大于 0.8% 时, 大豆分离蛋白的溶解度上升减缓, 因此, 磷脂的适宜添加量为 0.8%。

2.4.2 蔗糖用量 从图 9 可知, 曲线呈一直上升的趋势, 但当蔗糖的添加量大于 3.0% 时, 溶解度的变化减缓, 考虑到生产成本, 蔗糖的适宜添加量为 3.0%。

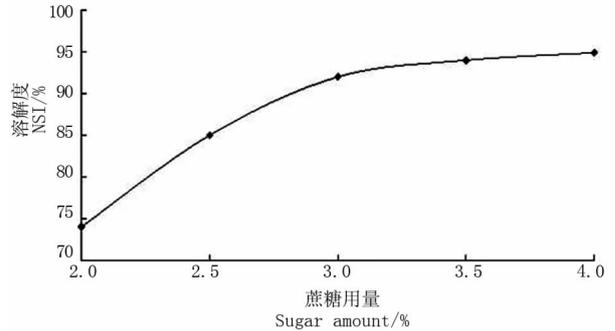


图 9 蔗糖对溶解度的影响

Fig.9 Effects of sugar on solubility

2.5 大豆分离蛋白调配结果

为进一步明确磷脂和蔗糖用量对大豆分离蛋白的影响, 设置二因素三水平完全组合试验(表 4)。

表 4 因素与水平

Table 4 Factors and levels

因素 Factors	水平 Levels		
	-1	0	1
X_1 磷脂 Phospholipid/%	0.6	0.8	1.0
X_2 蔗糖 Sugar/%	2.5	3.0	3.5

从表 5 可知, 9 号样品溶解度最大, 其中磷脂的添加量为 1.0%, 蔗糖的添加量为 3.5%。5 号样品溶解度达到 92.9%, 其中磷脂的添加量为 0.8%, 蔗糖的添加量为 3.0%。由于溶解度达到 92.9% 已符合国家标准 GBT 18738-2006, 而且考虑到要降低生产成本, 选取 5 号试验的添加剂组合。即向酶解后的大豆分离蛋白中加入 0.8% 的磷脂, 3.0% 的蔗糖即制得速溶性大豆分离蛋白。

表 5 完全实验结果

Table 5 Test results of completely experiment

试验号 No.	X_1	X_2	溶解度 NSI/%
1	-1	-1	82.2
2	-1	0	85.7
3	-1	1	89.4
4	0	-1	87.4
5	0	0	92.9
6	0	1	94.0
7	1	-1	90.5
8	1	0	94.1
9	1	1	95.2

3 结 论

本研究首先从脱脂豆粕中提取大豆蛋白,然后用中性蛋白酶和木瓜蛋白酶按质量比 1:1 复配添加到样品中进行酶解,利用响应面分析法优化酶解工艺,酶解后向干燥的样品添加 0.8% 磷脂,3.0% 蔗糖进行调配。

优化得到酶解工艺为:pH7.08,温度 51.6℃,酶添加量 22.45 mg·g⁻¹底物,酶解时间 3 h。酶解后大豆分离蛋白的水解度达 20.3%,溶解度达 72.0%。经调配后,溶解度可达到 92.9%。将 25 g 被测样品置于 500 mL 烧杯中,用 200 mL 70℃ 以上热水冲调,用玻璃棒搅拌 1 min 后,观察到样品下沉快,易溶解,无团块。

参考文献

[1] 田琨,管娟,邵正中,等.大豆分离蛋白结构与性能[J].化学进展,2008,20(4):570. (Tian K, Guan J, Shao Z Z, et al. Structural and functional study of soybean protein isolation[J]. Progress in Chemistry, 2008, 20(4):570.)

[2] 肇立春.大豆分离蛋白生产工艺探讨[J].粮油加工与食品机械,2006(1):50-51. (Zhao L C. Discussion on the production technology of soybean protein isolate[J]. Machinery For Cereals

Oil and Food Processing, 2006(1):50-51.)

[3] 华欲飞.大豆分离蛋白性能优化关键技术[J].中国油脂,2001,26(6):79-81. (Hua Y F. Critical technology in the optimization of soy protein isolate performance[J]. China Oils and Fats, 2001, 26(6):79-81.)

[4] 赵敏生.速溶性大豆分离蛋白的生产方法[J].食品科技,2002(8):17. (Zhao M S. Instantly soy protein isolate production methods[J]. Food Science and Technology, 2002(8):17.)

[5] Molina E, Papadopoulou A, Ledward D A. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins[J]. Food Docolloids, 2001, 15:263-269.)

[6] 田其英,华欲飞.大豆蛋白溶解性研究[J].粮食与油脂,2006(6):8. (Tian Q Y, Hua Y F. Study on the solubility of soybean protein[J]. Cereals and Oils, 2006(6):8.)

[7] 张华山.酶解大豆分离蛋白的制备及应用[J].适用技术市场,1999(7):20-21. (Zhang H S. Preparation and application of enzymatic soybean protein isolate[J]. Applicable Technology Market, 1999(7):20-21.)

[8] 迟晓星,张涛,张圆圆.酶法水解大豆分离蛋白的研究[J].中国食物与营养,2007(1):33-35. (Chi X X, Zhang T, Zhang Y Y. Study of enzymatic hydrolysis of soybean protein isolate[J]. Food and Nutrition in China, 2007(1):33-35.)

[9] 刘进杰,张玉香,冯志彬,等.超声和 Alcalase 酶复合处理水解大豆分离蛋白工艺研究[J].食品科学,2010,31(14):84-87. (Zhang J J, Zhang Y X, Feng Z B, et al. Ultrasonic-assisted alcalase hydrolysis of soybean protein isolate[J]. Food Science, 2010, 31(14):84-87.)

产业动态

郑州商丘两试验站联合举办大豆免耕技术观摩活动

张 琪

(国家大豆产业技术体系商丘综合试验站)

2012年9月27日上午,由郑州、商丘综合试验站联合举办的大豆新品种郑196免耕栽培技术观摩会在商丘举行。河南省农业厅、科技厅,河南省农业科学院、商丘市及夏邑县有关部门的领导,国家大豆产业技术体系黄淮海区域岗位科学家、综合试验站站长、团队成员和示范县骨干等共计50余人参加观摩活动。

与会领导和专家首先观摩了商丘市夏邑县胡桥乡蒋楼村的大豆产业体系重点任务“黄淮海麦茬夏大豆机械化免耕栽培技术与示范”、“郑196麦茬免耕栽培配套技术示范”、“大豆新品种高产栽培技术与示范”、“大豆根瘤菌应用与示范”、“蛴螬化学防治效果对比试验”和大豆产业体系研发的麦茬夏大豆免耕覆秸播种机。观摩活动结束后,在商丘召开了座谈会,郑州综合试验站站长卢为国研究员介绍了大豆新品种郑196的品种特性和配套栽培技术应用。河南省农业厅科教处副处长胡旭云和河南省科技厅农村处副处长程艳对郑州和商丘两试验站开展的示范工作给予肯定,表示会大力支持大豆产业的发展。大豆产业体系岗位科学家张磊研究员、余永昌教授、陈海涛团队成员纪文义教授从不同角度对试验站的工作进行了点评。

下午,与会领导和专家考察了商丘市农科院试验园区,听取了商丘综合试验站站长张琪的汇报,还查看了黄淮海大豆品种适应性观察试验、适于机械播种品种筛选试验、抗灾品种晚播期试验、ms1不育系轮回选择、黄淮海(南片)大豆品种区域试验(A、B组)、河南省大豆品种区域试验、品种比较等试验,大家一一评价了参试品种的长势、长相,对规范的试验地管理给予了肯定性的评价。接着,国家大豆产业技术体系首席科学家韩天富研究员和部分试验站站长驱车到永城市鄆城镇胡楼村考察商丘试验站承担的大豆新品种高产栽培技术与示范、大豆菌肥+微肥+杀菌剂+生长素拌种试验、百亩连片亩产260公斤高产示范等,并向当地技术人员详细调查了永城大豆种植面积常年保持稳定的原因、传统早熟品种紫花糙的种植情况、当地良种利用情况以及农民喜欢种植什么样的品种、种植模式的演变等情况。