

豆胶用大豆蛋白水解液的制备

朱 劲^{1,2}, 单人为³, 李 琴¹, 徐瑞英¹, 王洪艳¹

(1. 浙江省林业科学研究院 浙江省竹类研究重点实验室, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江农林大学 工程学院, 浙江 临安 311300; 3. 江西广播电视大学, 江西 南昌 330046)

摘要:对 20% 豆粕溶液在胃蛋白酶作用下的水解特性进行了研究, 考察了豆粕中蛋白质的水解度随酶解温度、酶解时间、pH、酶添加量的变化规律, 以及酶解前热处理对酶解效果的影响。结果表明: 酶解前热处理能改善酶解的效果, 有利于水解反应的进行, 提高水解度。豆粕溶液在 90℃ 下预热处理 10 min 后, 在 37℃、pH 1.8、酶添加量 14 000 U·g⁻¹, 水解 3 h 时, 水解度达到 23.4%, 可以用作制备豆胶的大豆蛋白水解液。

关键词:豆粕; 酶解; 水解度

中图分类号: TQ432.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2014)01-0107-03

Preparation of Soybean Protein Hydrolysate for Soybean Protein Adhesive

ZHU Jin^{1,2}, SHAN Ren-wei³, LI Qin¹, XU Rui-ying¹, WANG Hong-yan¹

(1. Key Laboratory of Bamboo Research of Zhejiang, Zhejiang Forestry Academy, Hangzhou 310023, China; 2. School of Engineering, Zhejiang A&F University, Lin'an 311300, China; 3. Jiangxi Radio & TV University, Nanchang 330046, China)

Abstract: The 20% soybean meal solution was selected to study the hydrolysis properties under the action of pepsin. The hydrolysis properties of the soybean meal solution were considered with the enzymatic hydrolysis temperature, hydrolysis time, pH and the adding amount of enzymes. The effect of heat treatment before enzymatic hydrolysis was also studied. Heat treatment improved hydrolysis properties. After preheated at 90℃ for 10 minutes, and then hydrolyzed at pH 1.8, 37℃ for 3 h with the enzyme adding amount of 14 000 U·g⁻¹, the hydrolysis degree of soybean solution reached 23.4%, which could be used as the soybean protein hydrolysate for preparing the soybean protein adhesives.

Key words: Soybean meal; Enzymolysis; Hydrolysis degree

早在 20 世纪 20 ~ 30 年代, 西方国家便开始了关于大豆蛋白质作为胶合板胶黏剂的研究^[1]。然而, 随着石油工业的快速发展, 有机合成胶黏剂成为研发热点, 大豆蛋白胶黏剂的研究陷入停滞的状态。近几十年来, 由于胶黏剂市场的扩展, 全球石油资源的有限性和环境污染问题日益受到关注, 胶黏剂工业重新考虑新型天然胶黏剂, 使大豆蛋白胶黏剂再次成为研究热点^[1]。

成功制备出豆胶的关键在于对大豆蛋白质进行改性处理, 目前碱改性仍是最常用的方法。碱处理有助于大豆球蛋白的解聚, 提高蛋白质的溶解度, 暴露出一些极性和非极性基团, 能在一定程度上增强胶接强度并提高耐水性, 但是, 碱改性很难定量地控制大豆蛋白的水解过程。过度水解会使蛋白质被降解成很小的肽段或氨基酸而丧失蛋白质的凝胶等功能特性^[2]。然而酶改性不但作用条件温和, 而且能对大豆蛋白的水解度进行定量控制。相关研究^[3,4]表明, 水解度为 23% 的大豆蛋白

水解液多肽混合物的分子量大多在 1 000 D 左右, 此时的疏水性基团暴露得较多, 有利于与一些化学药剂发生交联反应, 提高豆胶的耐水性。本研究就是利用豆粕制备水解度为 23% 的豆粕水解液, 从而为制备大豆蛋白胶黏剂做准备。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豆粕(80 目, 蛋白质含量 54.12%), 胃蛋白酶(酶活力 10 万 U·g⁻¹), 硫酸(浓度为 98%), 氢氧化钠(分析纯), 甲醛(浓度为 37%), 蒸馏水。

1.2 主要仪器设备

pHS-3C 型数字酸度计, 杭州东星设备仪器厂; K9840 型全自动凯氏定氮仪, 济南海能仪器有限公司; 79-3 型恒温磁力搅拌器, 上海司乐仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 酶水解的单因素试验 将底物浓度为 20% 的豆粕溶液放入反应瓶中, 在一定的酶解温度、pH、

收稿日期: 2013-08-06

基金项目: 浙江省重大科技专项重点农业项目(2001C12050); 浙江省创新团队建设与人才培养项目(2012F22024); 浙江省“十二五”农业重大成果转化工程项目(2012T201-06)。

第一作者简介: 朱劲(1987-), 男, 硕士, 主要从事大豆蛋白胶黏剂研究。E-mail: zzwzdzj@163.com。

通讯作者: 李琴(1963-), 女, 研究员, 主要从事木材制品的加工研究。E-mail: qin860@hotmail.com。

酶解时间和酶添加量的条件下进行酶解反应,酶解过程中不断进行搅拌。反应结束后在 85℃ 下水浴加热 15 min 钝化酶,取其上清液存入冰箱中。水解度采用甲醛滴定法^[5]测定。

1.3.2 酶水解的正交试验 根据单因素试验所得到的适宜水解条件,对温度、pH 和酶添加量进行正交试验。

1.3.3 酶解前热处理试验 将配制好的 20% 豆粕溶液放入 90℃ 的水浴锅中预热处理 10 min,处理过程中对豆粕溶液不断地进行搅拌,预热完成后用冷水将豆粕溶液冷却至常温,然后在温度为 37℃、pH1.8,酶解时间为 3 h 的条件下,分别加入 6 000, 8 000, 10 000, 12 000, 14 000 U·g⁻¹ 的胃蛋白酶进行酶解反应,并分别测定水解度。

2 结果与分析

2.1 胃蛋白酶适宜水解条件的单因素试验

2.1.1 酶解温度 在 pH2.0,酶添加量 6 000 U·g⁻¹,酶解温度分别为 25,30,35,40,45,50℃ 的条件下酶解 2 h,研究了酶解温度对水解度的影响(图 1)。

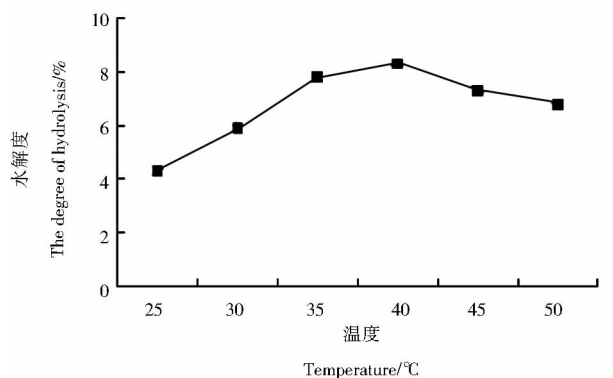


图 1 酶解温度对水解度的影响

Fig. 1 The effects of enzymolysis temperature on degree of hydrolysis

由图 1 可知,在 25 ~ 40℃ 的范围内,随着温度的升高,水解度也随之升高;当温度达到 40℃ 时,水解度达最大值;而当温度超过 40℃ 时,水解度随着温度的上升而缓慢下降。这可能是由于适当的加热使酶活性处于最佳状态,而且也可以使得大豆蛋白的结构变得疏松,从而暴露出更多与酶作用的节点;而当温度过高时,会使酶蛋白部分发生变性,降低酶的反应活性,影响反应的速率^[6]。因此,胃蛋白酶适宜的酶解温度在 40℃ 左右。

2.1.2 酶解时间 在温度 40℃、pH2.0,酶添加量 6 000 U·g⁻¹ 的条件下,分别酶解 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 h,研究了酶解时间对水解度的影响。由图 2 可

知,水解度随时间的延长而升高,并且在前 3 h 内水解度的变化和时间的变化几乎是呈正比例关系,而在水解 3 h 以后,水解度随时间的延长而增加缓慢。这可能是由于蛋白酶具有专一性,随着水解时间的延长,蛋白酶可水解的肽键逐渐减少,同时蛋白酶的活力以半衰期的方式下降^[7]。因此,综合考虑到成本和效率等因素,酶解的时间以 3 h 较为适宜。

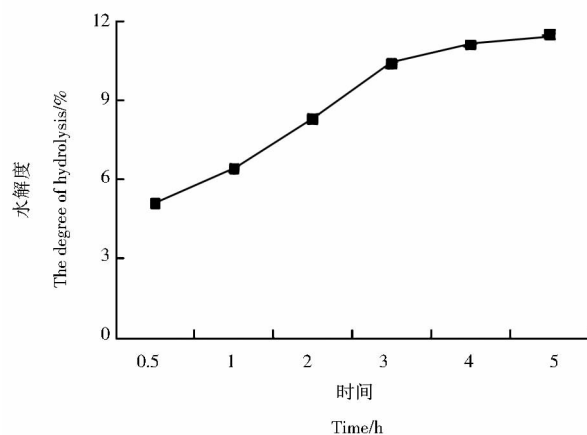


图 2 酶解时间对水解度的影响

Fig. 2 The effects of enzymolysis time on degree of hydrolysis

2.1.3 酶解 pH 在温度 40℃、酶添加量 6 000 U·g⁻¹,酶解 pH 分别为 1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 的条件下酶解 3 h,研究了酶解 pH 对水解度的影响(图 3)。

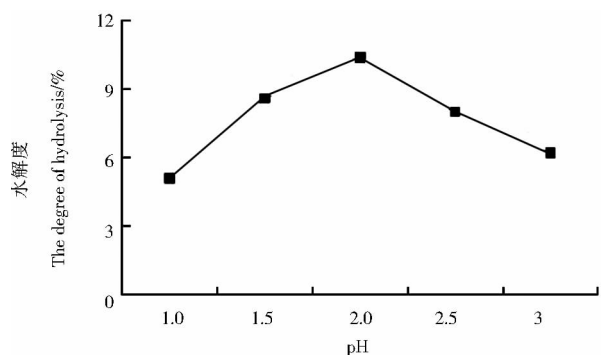


图 3 pH 对水解度的影响

Fig. 3 The effects of enzymolysis pH on degree of hydrolysis

由图 3 可知,随着 pH 的增加,水解度呈先升高后降低的变化趋势,并在 pH 2.0 时达最大值。因为 pH 是决定酶催化活性的重要参数之一,过酸或过碱都可以改变酶的空间构象,使酶活性降低或失活;另外,pH 可以改变豆粕的解离状态,影响其与酶的结合^[6]。因此,胃蛋白酶的适宜 pH 在 2.0 左右。

2.1.4 酶添加量 在温度 40℃、pH2.0,酶添加量分别为 6 000,8 000,10 000,12 000,14 000 U·g⁻¹ 的条件下酶解 3 h,研究了酶添加量对水解度的影响(图 4)。

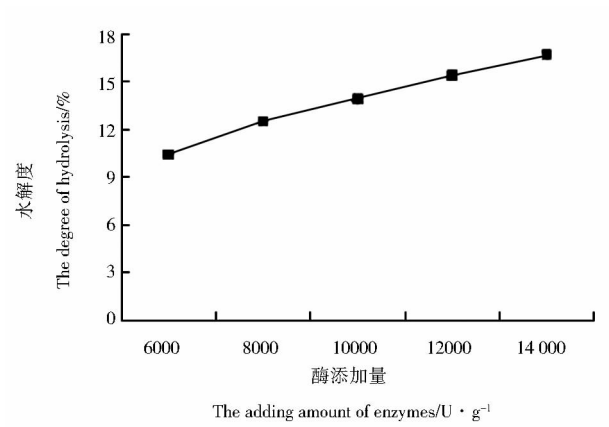


图 4 酶添加量对水解度的影响
Fig.4 The effects of adding amount of enzymes on degree of hydrolysis

由图 4 可知,水解度随着酶添加量的增加而升高;由于底物浓度过高,酶添加量在 6 000 ~ 14 000 U · g⁻¹ 的范围内,水解度的变化和酶添加量的变化成正比例关系。因此,要想获得 20% 以上的水解度,酶添加量是越多越好,但考虑到成本等因素,适宜的酶添加量为 12 000 U · g⁻¹。

2.2 胃蛋白酶酶解的正交试验

根据单因素试验结果,在水解时间均为 3 h 的条件下,设置 L₉ (3³) 正交试验,对酶解温度、pH 和酶添加量进一步优化。

由表 1 可知:极差 R_C > R_B > R_A,所以酶添加量是影响水解度的主要因素,然后为 pH 和温度。胃蛋白酶水解豆粕溶液的最优组合为 A₂B₂C₃,即酶添加量 14 000 U · g⁻¹,pH1.8,温度 37℃。

表 1 正交试验方案及结果
Table 1 The orthogonal experiment design and results

试验号 Test number	A 温度 Temperature/℃	B pH	C 酶添加量 AME/U · g ⁻¹	水解度 DH/%
1	1 (32)	1 (1.6)	1 (10000)	11.8
2	1	2 (1.8)	2 (12000)	15.7
3	1	3 (2.0)	3 (14000)	16.0
4	2 (37)	1	2	14.1
5	2	2	3	18.6
6	2	3	1	14.4
7	3 (42)	1	3	15.1
8	3	2	1	14.8
9	3	3	2	15.2
K ₁	43.5	41.0	41.0	
K ₂	47.1	49.1	45.0	
K ₃	45.1	45.6	49.7	
R	3.6	8.1	8.7	

AME: Adding amount of enzymes; DH: Degree of hydrolysis.

2.3 热处理对酶解效果的影响

通过单因素和正交试验可知,在最优工艺下胃蛋白酶酶解豆粕溶液的水解度还是达不到 23%,虽然可以通过增加酶的添加量来使水解度升高,但是这也大大增加了处理成本。相关研究^[8-9]表明,经湿热预处理过的大豆蛋白,能够暴露出更多的酶作用点,加速酶反应,提高水解度。

将 20% 的豆粕溶液首先在 90℃ 的水浴锅中搅拌加热 10 min,再在温度为 37℃,pH1.8 的条件下,分别加入 6 000,8 000,10 000,12 000,14 000 U · g⁻¹ 的胃蛋白酶,酶解 3 h,酶解效果见图 5。

由图 5 可知,经热处理过的豆粕溶液的酶解效果较佳,在温度为 37℃,pH1.8 的条件下,使用 14 000 U · g⁻¹ 的胃蛋白酶,酶解 3 h 的水解度达到了 23.4%。

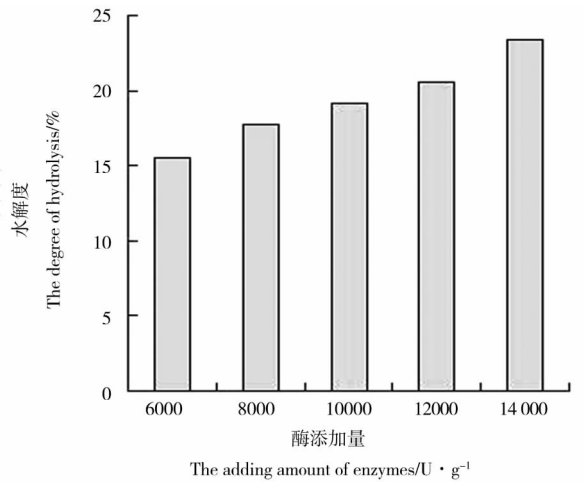


图 5 热处理对酶解效果的影响
Fig.5 The effects of heat treatment on the enzymatic hydrolysis

(下转第 118 页)