

鸡全蛋蛋白质酶水解工艺的研究

(哈尔滨商业大学食品工程系, 哈尔滨 150076)

张根生 周云

(哈高科大豆食品有限责任公司, 哈尔滨 150078)

费英敏 谢丽娟

摘要 就 Alcalase 碱性内切蛋白酶水解鸡全蛋蛋白质最佳工艺条件进行了研究, 得出了最佳的水解工艺条件, 即: pH=7.0、水解温度 60℃、底物浓度 7%、酶用量(E/S) 8%条件下水解 5h, 其水解率达 42.79%。

关键词 碱性内切蛋白酶 水解率 工艺条件

Abstract The optimal technological condition of hydrolyzing egg protein with Alcalase was studied in the paper. The condition is pH 7, temperature 60℃, substrate concentration 6%, the ratio of enzyme to substrate (E/S) 8%, and hydrolysis time 5 hours, the degree of hydrolysis reached 42.79%.

Key words Alcalase; degree of hydrolysis; technological condition

中图分类号: TS201.2*5 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)01-0055-03

过去研究认为, 蛋白质在人体内是经体内蛋白酶水解成氨基酸形式被吸收的。但最近研究表明, 蛋白质在人体内消化后并不是完全以氨基酸形式吸收, 而是常以寡肽形式吸收的。我们选用了 Alcalase 碱性内切蛋白酶水解鸡蛋蛋白质, 碱性蛋白内切酶是一种水解酶, 可以从鸡蛋蛋白质肽键内部和外部水解肽键, 从而将鸡蛋蛋白质分解成多肽、氨基酸的混合物及游离氨基酸, 其中二肽和三肽易被人体消化吸收。通过控制蛋白质的水解程度可以得到构成单位数目不同的中间产物, 随着蛋白质水解程度的增加, 它们形成了低分子量的混合物, 制成鸡蛋蛋白多肽。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鸡蛋 哈尔滨市售, 蛋白质含量为 13.95%; Alcalase 碱性蛋白酶(液态) Novo 公司, 酶活力为 48495 单位; 盐酸、氢氧化钠、硫酸、硼酸、甲基红、无

水乙醇、甲醛、硫酸铜、硫酸钾 均为分析纯。

电热恒温水浴锅 HHS11-2, 上海跃进医疗器械厂; 分析天平 TG3288 型, 北京光马仪器厂; 磁力加热搅拌器 DF-102, 北京制药工业研究所; 酸度计 PHS-25, 上海伟业仪器厂。

1.2 检验方法

总氮测定 凯氏定氮法, 参照 GB 5009.5-85; 酶活力测定 福林酚法, 参照 QB/T1803-93; 氨基酸测定 甲醛固定法, 参照 GB/T5009.39-96; 水解度计算 水解率(%)=氨基态氮/总氮×100%。

1.3 鸡全蛋蛋白质酶水解的工艺流程

原料的选择→清洗、打蛋→加水调底物浓度→高温变性→加入 Alcalase 碱性蛋白酶→混合均匀→调 pH、保温→酶解→测定氨基态氮的含量

1.4 操作要点

选择新鲜的鸡蛋, 打蛋, 充分搅拌, 加入适量水, 配成所需浓度, 加热变性称量后, 经胶体磨处理。用 1mol/L NaOH 溶液调节酸碱度至所需 pH, 根据 Alcalase 酶活力, 准确量取 Alcalase 蛋白酶后加入水解反应器中, 并缓慢搅拌, 在水解过程中及时加入标准氢氧化钠溶液以维持水解所需 pH, 达到预定的水解时间后, 停止搅拌, 迅速加热至 85℃, 保持 5~8min, 使酶钝化, 即可得到黄色蛋白水解液, 采用甲醛固定法测定水解液中氨基氮含量。

2 结果与讨论

2.1 水解酶用量的选择

在水解温度 60℃, pH 为 7, 底物浓度为 8%, 水解时间 5h 的条件下, 以酶用量 (E/S) 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10% 作单因素试验, 试验结果见表 1。

由实验结果可见, 随着酶用量的加大, 鸡蛋蛋白的水解率有上升的趋势。当酶用量刚开始加大时, 水解率增大较为明显; 当酶用量为 5% 以上时, 上升趋势趋缓。因此, 考虑到经济、风味等方面, 选择酶用量为 8% 较好。

收稿日期: 2002-08-27

作者简介: 张根生(1964-), 男, 副教授, 研究方向: 食品资源开发与利用。

基金项目: 黑龙江省科委青年基金项目(Q98-13)。

表1 酶用量和水解率的关系

酶用量(E/S)(%)	4	5	6	7	8	9	10
水解率(%)	18.84	24.26	30.36	36.65	38.28	39.17	39.96

表2 pH和水解率的关系

pH	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.00	10.00
水解率(%)	23.48	29.18	33.80	38.08	37.58	36.08	35.13

表3 温度和水解率的关系

温度(°C)	40	45	50	55	60	65	70
水解率(%)	17.86	25.34	31.42	34.90	38.18	36.42	23.46

表4 底物浓度和水解率的关系

底物浓度(%)	4	5	6	7	8	9	10
水解率(%)	41.83	41.51	40.28	39.60	38.04	32.48	18.45

表5 水解时间和水解率的关系

水解时间(h)	2	3	4	5	6	7
水解率(%)	28.25	32.74	35.00	37.52	39.30	39.98

表6 水解全蛋液最佳工艺条件的正交试验表

试验号	因素				水解率(%)
	A pH	B 酶用量(E/S)(%)	C 底物浓度(%)	D 温度(°C)	
1	1(5)	1(6)	1(7)	1(55)	28.44
2	1	2(7)	2(8)	2(60)	33.29
3	1	3(8)	3(9)	3(65)	32.52
4	2(6)	1	2	3	30.07
5	2	2	3	1	33.58
6	2	3	1	2	39.00
7	3(7)	1	3	2	32.27
8	3	2	1	3	38.20
9	3	3	2	1	40.15
K ₁	94.25	90.58	105.64	102.17	
K ₂	102.65	105.07	103.51	104.56	
K ₃	110.62	111.67	98.37	100.79	
k ₁	31.42	30.19	35.21	34.06	
k ₂	34.22	35.02	34.50	34.85	
k ₃	36.87	37.22	32.79	33.60	
R	5.45	7.03	2.42	1.25	
优水平	A ₃	B ₃	C ₁	D ₂	

2.2 水解 pH 的选择

用碱性蛋白内切酶,在水解温度 60°C,底物浓度 8%,酶用量(E/S)8%,水解 5h 条件下,以 pH 分别为 4.00、5.00、6.00、7.00、8.00、9.00、10.00 水解全蛋液,试验结果见表 2。

由试验结果可见,pH 对蛋白酶水解速度的影响较为重要。一般来说,一种酶只在狭窄的 pH 范围内才具有最高的活力。用碱性蛋白内切酶水解鸡蛋蛋白时 pH 为 7.00 效果较好。

2.3 温度的选择

在底物浓度 8%,酶用量(E/S)为 8%,pH 为 7,水解 5h 条件下,以温度 40、45、50、55、60、65、70°C 作

单因素试验,结果见表 3。

由试验结果可见,随着温度开始上升,鸡蛋蛋白质水解度加大;当温度达到 60°C 时,水解度最大;温度再升高,蛋白质水解度反而下降,因此,选择水解温度为 60°C 时水解率较高。

2.4 底物浓度的选择

在水解温度为 60°C,酶用量(E/S)为 8%,pH 为 7,水解时间 5h 条件下,以底物浓度 4%、5%、6%、7%、8%、9%、10% 作单因素试验,试验结果见表 4。

由表 4 可知,随着底物浓度的增高,蛋白质水解度降低。因此,选择底物浓度越低越好,但从产品的得率及生产效率考虑,底物浓度选 7% 为较好。

2.5 水解时间的选择

根据试验 选择 8%的底物浓度 水解温度 60℃ pH 为 7 酶用量(E/S)为 8%对水解时间作单因素试验 结果如表 5。

由表 5 可知 随着水解时间的增加 水解度增高,但同时随着水解时间的延长 单位时间内的水解速率相应降低。因此 综合考虑选择水解时间为 5h 较好。

2.6 正交试验

根据资料和单因素试验结果,确定了酶水解时间、温度、pH、底物浓度、酶用量,考虑到以上各因素对水解的综合影响 选择四因素三水平即 $L_3(4^3)$ 正交表 测定鸡全蛋蛋白质水解 5h 时的水解度 确定出各因素对实验结果影响强弱次序及水解的最佳工艺参数。

由表 6 结果可知,各因素对鸡蛋蛋白质的影响顺序为 B(酶用量)>A(pH)>C(底物浓度)>D(温度),最佳水解工艺条件为 $A_3B_3C_1D_2$, 即水解温度 60℃ pH

7.00 酶用量为 8% 底物浓度 7%。

3 结论

通过试验,确定了用碱性内切蛋白酶水解鸡全蛋蛋白质的最佳工艺条件为温度 60℃、pH 7、底物浓度 7%、酶用量 8%、水解时间 5h。

参考文献

- 1 赵新淮.蛋白质水解物水解度的测定.食品科学,1994(1):65~67
- 2 熊振平.酶工程.化学工业出版社,1994,7
- 3 G.G 伯奇.酶与食品加工.轻工业出版社,1991,3
- 4 李俊安.酶法水解猪血红蛋白的研究.食品工业科技,1992(4):7~11
- 5 Alfonso Clemente. Prtein quality of chickpea protein hydrolysates. Food Chemistry ,1999(7)
- 6 J.A.Nidden. Enzymic Hydrolysis of Food protein. Elsevier Applied Science Pub,1986,6
- 7 T.Godfreyetal.Industrial Enzymology,1996,7

(上接第 54 页)

表 1 $KMnO_4$ 加入量对漂白效果的影响

$KMnO_4$ 溶液加入量(ml/g)	0.080	0.085	0.090	0.095	0.100	0.120	0.140
成品淀粉白度	91	91	93	94	94	94	94

表 2 pH 对漂白效果的影响

淀粉乳 pH	2~3	4~5	6~7	8~9
淀粉白度	94	91	85	85

白度为 94 即可达到漂白要求,因此可知,只有 pH=2~3 时方能达到要求。

2.3 反应温度、时间对淀粉漂白效果的影响

因为在 pH=2~3 时加入一定量的 $KMnO_4$, 每一个温度下,要达到漂白要求,都有一个相应的最短时间,因而,可取两个常用的温度水平,常温(25℃)和 45℃,对时间进行优选。

表 3 25℃下氧化时间对漂白效果的影响

氧化时间(min)	20	28	35	43	50	55	59	63	65
成品淀粉白度	85	87	87	90	91	94	94	94	94

表 4 45℃下氧化时间对漂白效果的影响

氧化时间(min)	20	25	30	32	35	38	40	45	50
成品淀粉白度	87	88	91	91	94	94	94	94	94

由表 3、表 4 可知,要达到白度值 94,必须常温下氧化 55min 以上 45℃下氧化 35min 以上。

3 结论

3.1 淀粉成品白度达到了 94 以上,无刺激气味,无异味,粉粒均匀无异物,性质达到国家标准二级要求。

3.2 pH=2~3 时,要达到漂白要求,所需加入的 0.2mol/L 的 $KMnO_4$ 至少为 0.095ml/g 样品;在中性条件下,所需 $KMnO_4$ 的量比在 pH=2~3 时要大得多;在碱性条件下, $KMnO_4$ 和色素生成绿色 K_2MnO_4 , 电位差更小,所需 $KMnO_4$ 的量更多。

3.3 要达到漂白要求,常温下应氧化 55min,而 45℃下只需氧化 35min 即可。

3.4 漂白前后的淀粉经测定,其糊化液粘度及其凝胶强度无变化,可见,漂白对淀粉性质无影响。

参考文献

- 1 R.L Wisller J.N Bemiller E.F Paschall.Starch Chemistry and Technology.New York :Academic press,1984
- 2 罗祖富. 淀粉漂白的工艺与技术条件. 淀粉与淀粉糖,1992(2):32
- 3 Bechtel W,G.J Colloid sci.,1950(5):260~270
- 4 肖凯军,等.甘薯淀粉的脱色研究.粮食与饲料工业,1998(4):38~39