

# 酶法有限水解对花生蛋白功能特性的影响

刘志强<sup>1</sup>, 刘 璧<sup>2</sup>, 曾云龙<sup>1</sup>

(1.湖南科技大学化工系, 湖南 湘潭 411201; 2.岳阳湘君油脂有限公司, 湖南 岳阳 414000)

**摘 要:** 采用以包含 AS1.398 中性蛋白酶的复合酶对花生进行水酶法制油, 对传统水剂法制油及水酶法制油所得花生蛋白的功能特性进行了对比研究。研究表明: 在实验条件下, 工艺过程对花生蛋白产生了有限水解, 因而对花生蛋白功能特性也有一定的影响, 表现为低度改性, 所得花生蛋白溶解度显著提高, 尤其是在花生蛋白等电区域, 同时具有更好的起泡性和乳化性, 所得花生蛋白无苦味, 泡沫稳定性和粘度比传统水剂法花生蛋白低。

**关键词:** 功能特性; 花生蛋白; 有限水解

## Effect of Enzymatic Limited Hydrololysis on Functional Properties of Peanut Protein

LIU Zhi-qiang<sup>1</sup>, LIU Bo<sup>2</sup>, ZHEN Yun-long<sup>1</sup>

(1.Department of Chemical Engineering, Hunan University of science and Technology, Xiangtan 411201, China; 2.Xiangjun Oil and Fat Industry, Yueyang 414000, China)

**Abstract:** The Aqueous Enzymatic extraction of peanut oil and protein was carried out by using complex enzyme containing Neutral protease As1.398. Comparing and studying on the functional properties of peanut protein traditional Aqueous extraction and Aqueous Enzymatic extraction oil and protein, the study shows that the technological process has certain effect on the functional properties of peanut protein to be modified, under the condition of experiment. The solubility of gained peanut protein is completely improved, especially in the range of isoelectric point of peanut protein. What's more, the foam ability and emulsifying properties are also highly improved. The finished peanut protein is free from bitterness, the viscosity is lower than traditional Aqueous extraction protein.

**Key words:** functional properties; peanut protein; limited hydrololysis

中图分类号: TS224

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)01-0069-04

花生是我国一种重要的油料作物, 产量居世界第二, 花生含蛋白 23.76%~33.74%, 花生蛋白是一类组分较均一, 功能较强的蛋白质, 可消化性达 99%, 含有人体必需的八种氨基酸。与大豆蛋白相比, 具有含胃肠胀气因子和抗营养因子较少的优点。因此, 在花生制油过程中寻找一种制取花生油与优质花生蛋白二者兼顾的新工艺至关重要<sup>[1,2]</sup>。

研究表明: 对花生采用水酶法制油<sup>[3,4]</sup>, 即在传统水剂法制油过程中采用包含纤维素酶、果胶酶、蛋白酶的复合酶处理, 能有效提高油脂及蛋白质的得率与质量, 其中蛋白酶的作用是降解大分子蛋白质的肽键, 使包裹在蛋白质内部的油脂释出, 因而在提高花生油和花生蛋白得率的同时可以得到优质低变性花生蛋白。

花生蛋白的利用途径很多, 除为人类提供优质蛋白质资源外, 还可做为广泛的食物原料, 但能否良好地利用,

很大程度上取决于它的功能特性, 然而在水酶法制油过程中, 伴随着蛋白质的有限水解(蛋白质水解度小于 6), 必然对花生蛋白的功能特性, 如溶解性、吸水性、吸油性、起泡性、乳化性等产生影响, 这直接影响到对花生蛋白的综合利用。为此对水酶法制油获取的花生蛋白的功能特性进行了研究, 并与常规水剂法制油工艺获取的花生蛋白进行了对照。为水酶法制油得到的花生蛋白的广泛应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

花生: 市售, 精选、干燥、剥壳、脱皮后测定得粗脂肪含量为 48.76%、粗蛋白为 26.42%、水分 7.53%。

蛋白酶: AS1.398 中性蛋白酶: 酶活力  $19 \times 10^4 \text{U/g}$ , 无锡酶制剂厂生产。

收稿日期: 2003-06-05

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(02JJY5001)

作者简介: 刘志强(1964-), 男, 副教授, 主要从事生物化工研究。

## 1.2 实验仪器

实验室小型浸取装置: DS-1 型高速组织捣碎机; LXJ-11 型离心沉淀机; pH-2 型酸度计; NDJ-4 旋转粘度计。所用试剂均为分析纯。

## 1.3 检测方法

1.3.1 蛋白质含量的测定 凯氏定氮法, 参照 GB5497-85。

1.3.2 氨基氮的测定 甲醛滴定法。

1.3.3 水解度的测定<sup>[1]</sup>

水解度(DH)=(水解后生成的-NH<sub>2</sub>基的量/样品总含N量)×100%

水解后生成的-NH<sub>2</sub>基的量由 1.3.2 法测得, 样品总含氮量由 1.3.1 测定。

1.3.4 蛋白酶活力测定 Folin 酚法, 参照 GB547-80。

1.3.5 水分测定 常压烘干法, 参照 GB5495-85。

## 2 实验方法

### 2.1 花生蛋白的制备

#### 2.1.1 传统水剂法花生蛋白的制备<sup>[3]</sup>

花生仁烘干、脱皮后碾磨置于浸取器中, 按 1:6 固液比加水浸泡, 调 pH7.5~8, 保持料温 55℃ 左右, 搅拌浸取 3h, 分离出油脂、残渣, 喷雾干燥得花生蛋白粉(下称水剂法花生蛋白)。

#### 2.1.2 水酶法花生蛋白的制备<sup>[4]</sup>

花生仁烘干、脱皮后碾磨置于浸取器中, 按 1:6 固液比加水浸泡, 调 pH7.5~8, 保持料温 55℃ 左右, 搅拌浸取 2h, 然后调 pH7.3、保持料温 50℃、加入复合酶后, 搅拌反应 1h, 分离出油脂、残渣, 喷雾干燥得花生蛋白粉(下称水酶法花生蛋白)。

### 2.2 蛋白产品的功能特性研究

本试验主要测定蛋白质产品中水溶性蛋白的含量及 NSI 值和产品的吸油性, 吸水性, 起泡性与泡沫稳定性、乳化性及乳化稳定性。具体做法如下:

2.2.1 水溶性蛋白的含量及 NSI 值测定 GB5511-85。

2.2.2 吸水性的测定 AACC 方法 88-04。

2.2.3 乳化性及乳化稳定性<sup>[5]</sup>

用不同 pH 的 0.01mol NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaHPO<sub>4</sub> 缓冲液配制 0.5% 的花生蛋白样品, 取 10ml 大豆色拉油与 20ml 待测样品于均质机中均质 1min, 用微量注射器取 10μl, 用含 0.1% SDS 的相同缓冲液稀释成 10ml, 立即用紫外分光光度计在 500nm 波长下测定吸光值 A。

$$\text{乳化活力指数 EAI} = \frac{2 \times (2.303A) \times 10^{-4}}{\Phi Lc} \times \text{稀释倍数}$$

按上述方法配制 pH7.0 乳化液, 取 100ml 在 200r/min 速度下搅拌 210min, 每间隔 30min 取 10μl, 用含 0.1% SDS 的相同缓冲液稀释成 10ml, 在 500nm 波长下测定吸光值 A, 以初始吸光值 A<sub>0</sub> 与 t 时吸光值 A<sub>t</sub> 的比值 A<sub>0</sub>/A<sub>t</sub> 对时间 t 作曲线, 以 d(A<sub>0</sub>/A<sub>t</sub>)/dt, 即乳化液的聚结指数 CI 表示乳化稳定性。

$$CI = d(A_0/A_t)$$

### 2.2.4 起泡性与泡沫稳定性

3g 蛋白质产品溶解于 100ml 蒸馏水, 调节 pH≈7.0, 在 DS-1 型高速组织捣碎机中均质 2min, 记录均质停止时的泡沫体积 V<sub>1</sub> 及放置 30min 后泡沫体积 V<sub>2</sub>。

起泡性与泡沫稳定性计算如下:

$$\text{起泡性} = \frac{V_1(\text{ml})}{100\%}$$

$$\text{泡沫稳定性} = (V_2/V_1) \times 100\%$$

### 2.2.5 蛋白质粘度的测定

将花生蛋白粉配成不同浓度的溶液, 25℃ 条件下用 NDJ-4 旋转粘度计测定表观粘度。

## 3 结果与分析

### 3.1 花生蛋白粉的溶解性

花生蛋白的溶解性直接影响到它在食品工业中的应用, 因为蛋白质的水溶性对其在食品工业中的稳定性、风味等有直接的影响。水溶性衡量指标是氮的可溶性指数(NSI), 两种工艺所得花生蛋白的溶解度随 pH 值变化的关系如图 1 所示。

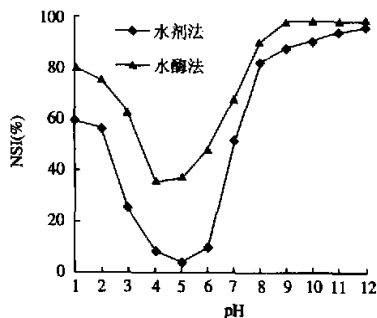


图 1 花生蛋白粉的 NSI-pH 曲线(25℃)

从图 1 中数据可见, 水剂法花生蛋白的溶解度随 pH 变化较大, 其溶解度在等电点区域(pH4.0~5.5)之间都很低, 偏离这个等电区域, 花生蛋白的溶解度随之增大。

水酶法花生蛋白, 溶解度随 pH 值的变化减小, 和水剂法相比较, 同一 pH 下溶解度显著提高, 尤其是在花生蛋白等电区域。说明水酶法提取油脂的方法能较好地改善花生蛋白的水溶性, 同时也可降低蛋白质 NSI 对溶

液 pH 值的依赖性。原因是酶解可使蛋白质极性基团( $-\text{NH}_3^+$ ,  $-\text{COO}^-$ )的数量增加,多肽链平均分子量降低<sup>[6]</sup>,引起蛋白质构象发生有利于增加亲水性的变化,从而使蛋白质与水的作用加强。但由于水酶法花生蛋白是有限水解,因此并未达到等电点可溶的程度。

### 3.2 花生蛋白粉的起泡性与泡沫稳定性

分别测定两种花生蛋白粉在温度 25℃、不同 pH 条件下的起泡性与泡沫稳定性。

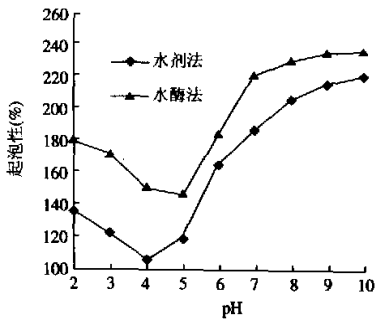


图2 花生蛋白粉起泡性-pH曲线(25℃)

由图2可知,水剂法花生蛋白在 pH4.0~5.5 等电点区域起泡性较低,偏离这个等电区域,在等电点左边的 pH 区域内,起泡性随着 pH 值的降低而升高;在其右边的 pH 区域内,起泡性随 pH 值的升高而升高,说明起泡性与蛋白质溶解性存在着一定关系。同时由实验可知,在等电区域泡沫稳定性好,这是因为在这一 pH 区域泡沫破裂非常缓慢,泡沫排液和 pH 有很大关系,在等电点区域,排液速度减慢,因此泡沫稳定。

和水剂法相比较,水酶法花生蛋白,具有更好的起泡性,这是因为起泡性受表面张力的影响,蛋白质水解后,水解物粘度降低,低表面张力对泡沫的形成比较有利。由于决定泡沫稳定性的关键因素在于液膜的强度,而液膜强度主要决定于表面吸附膜的坚固性,液膜粘度大可以增加膜强度,而水酶法花生蛋白粘度较低,液膜强度小,故泡沫稳定性比水剂法花生蛋白差。

### 3.3 花生蛋白粉的乳化性

按实验方法,分别测定了两种工艺所得的花生蛋白质的乳化活性与乳化稳定性(乳化活性以所测吸光值 A 表示,乳化稳定性以乳状液的聚结指数 CI 表示)如图3所示。

乳化活性表征乳化体系分散相的分散程度及相界面的界面比,由图3可知,在实验范围内,两种花生蛋白,在 pH4.0~5.5 等电点区域乳化活性较低,偏离等电区域乳化活性随之增大,同时两种花生蛋白,在等电点区域乳化活性没有明显改变;而在其它 pH 区域,水酶法较水剂法有较大增加。乳化稳定性表征乳化体系维持两相稳定存在的能力。由实验可知,水酶法花生蛋白乳化稳定性较水剂法有一定程度的提高。

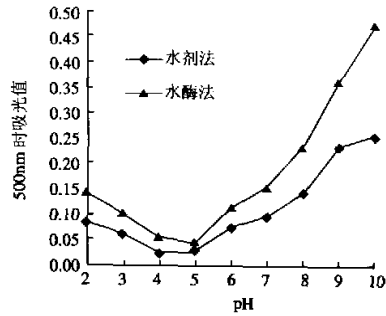


图3 花生蛋白乳化活性-pH曲线(25℃)

关于酶水解对乳化性的影响,有的文献介绍<sup>[7]</sup>,随水解度(DH)增加,产物的乳化性能表现为下降,也有文献报道两者之间呈正相关性<sup>[8]</sup>,还有的认为两者之间没有联系<sup>[9]</sup>,这些结论之间的矛盾可能是来自于不同蛋白质的水解及产物水解度的差别。

蛋白质的乳化性与其分子的疏水性质有关,同时还受疏水性基团在分子中分布的影响。水解作用导致蛋白质分子紧密构象的破坏,进而引起包埋于分子内部的疏水性氨基酸侧链基团暴露,在乳化体系形成过程中易于与脂类结合,有利于形成稳定的乳化体系。蛋白质在乳化体系中的稳定性取决于界面膜的稳定性,蛋白质的溶解性是界面膜形成的一个重要先决条件。

蛋白质有限水解形成中等分子量的多肽有助于界面膜流变学性质的改善,从而使乳化性能得到改善。

### 3.4 花生蛋白粉的粘度

分别测定两种工艺所得花生蛋白不同浓度下的表观粘度,结果如图4所示。

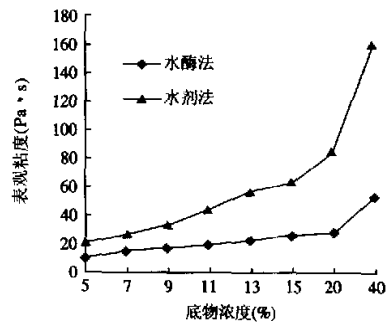


图4 花生蛋白粉粘度-浓度曲线(25℃)

从图4可以看出,水酶法花生蛋白粘度和水剂法花生蛋白粘度相比明显下降,水剂法花生蛋白浓度提高到15%以后粘度几乎呈直线上升,而40%水酶法花生蛋白的粘度则与13%水剂法花生蛋白的粘度相当,即使达到40%,其流动性也较好。这主要是因为随着蛋白酶作用于花生蛋白,小分子肽类增多,网状结构被破坏,蛋白质的疏水性降低,净电荷量增加,肽与肽之间的静电排

斥防止了蛋白水解物的胶凝。因此即使高浓度的蛋白质水解液,也具有低粘度特性。这种性质的改变,使蛋白质在加工过程中泵输送、搅拌、喷雾干燥、热杀菌等工艺更易实施,非常适合作食品原料及饮料。

### 3.5 花生蛋白粉的吸水性

蛋白质吸水性是指蛋白产品吸附水的能力,是蛋白质水化作用的直接表现,对两种花生蛋白在不同 pH 条件下的吸水性变化规律进行研究,结果表明:水剂法花生蛋白在 pH4.0~5.5 等电点区域吸水性最小。在等电点区域之前随 pH 升高而降低,等电点之后随 pH 升高而增大。因为在等电点蛋白质所带电荷为零,水化能力最小,所以花生蛋白粉的吸水性最小,而水酶法花生蛋白的吸水性与水剂法无显著区别。

### 3.6 蛋白质的风味

和水剂法相比较,水酶法花生蛋白具有一定的水解度。蛋白质水解过程中苦味的产生是最棘手的问题,它主要来自于水解物中的疏水多肽。花生蛋白本身无苦味,当它被水解时,因疏水区逐渐暴露而产生苦味,多肽分子量大小及键长与苦味形成有明显相关性,因此控制苦味产生的有效方法是控制酶解反应的水解度。根据感官评定,花生蛋白苦味与水解度的关系见表 1。

表 1 水解度对花生蛋白苦味的影响

水解度(%)	2.0	3.5	4.6	6.9	7.2	8.4	10.8	11.7
苦味	无	无	无	无	无	略有	有	较重

本实验采用了 AS1.398 中性蛋白酶,该酶主要断裂疏水氨基酸的 C 端,而疏水氨基酸在终端比在肽中间呈较小的苦味;同时水酶法制油过程中,蛋白质是有限水解,一般 DH < 6%。结果表明,与水剂法相比较,水酶法所得花生蛋白无明显苦味。

由于是以水为提取溶剂,在工艺过程中受到微生物的污染,因此两种工艺所得花生蛋白略有不良气味,应尽可能缩短提取时间,减少微生物的污染,避免不良气味。

## 4 结 论

通过对传统水剂法和水酶法工艺所得花生蛋白的功能特性进行了对比研究,发现两种花生蛋白粉的溶解性、发泡性受 pH 值的影响较大,在等电点区域(pH4.0~5.5)之间都很低,偏离这个等电区域,花生蛋白的溶解度、发泡性随之增大。

在水酶法工艺过程中,花生蛋白表现为低度水解, DH 小于 6%,工艺过程对花生蛋白的功能特性有一定的影响,表现为低度改性,所得花生蛋白溶解度显著提高,尤其是在花生蛋白等电区域,同时具有更好的起泡性和乳化性,所得花生蛋白无苦味,但泡沫稳定性和粘度比传统水剂法花生蛋白差,这此功能特性的变化使得花生蛋白更有利于用做食品原料。

### 参考文献:

- [1] Fullbrook P D. The use of enzymes in the processing of oilseeds [J]. Am Oil Chem Soc, 1983, 60(2): 428-430.
- [2] Eapen K E, Kalbag S S, Subrahmanyam V. Operations in the wet rendering of peanut for the separation of protein, oil and starch [J]. J Am Oil Chem Soc, 1966, 43: 585.
- [3] 刘志强, 何昭青. 水酶法花生蛋白质提取及制油研究 [J]. 中国粮油学报, 1999, 14(1): 36-39.
- [4] 刘志强, 易平贵, 吴苏喜. 酶法有限水解花生蛋白条件对其含油率影响 [J]. 中国粮油学报, 2003, 18(3): 36-39.
- [5] Kevin N Pearce, John E Kinsella. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique [J]. J Agri Food chem, 1987, 26(3): 234-239.
- [6] 鲁晓翔, 陈新华, 唐津忠. 酶法性玉米蛋白功能特性的研究 [J]. 食品科学, 2000, 21(12): 13-15.
- [7] Mahmoud H I. Enzymatic hydrolysis of casein: Effect of degree of hydrolysis on antigenicity and Physical properties [J]. J Food sci, 1992, 57(5): 1223-1229.
- [8] Volkert M A, Klein B P. Protein dispersibility and emulsion characteristics of flour soy products [J]. J Food Sci, 1979, 44: 93-96.
- [9] Aoki H, Taneyama O, Orfmo N, et al. Effect of lipophilization of soy protein on its emulsion stabilizing properties [J]. J Food sci, 1981, 46: 1192-1195.

# 枇杷果汁加工的酶处理技术研究

何志刚, 李维新, 林晓姿  
(福建省农科院果树研究所, 福建 福州 350013)

**摘 要:** 通过不同的果胶酶对枇杷果浆的处理及其酶促反应的影响因子试验, 结果表明: 果胶酶处理枇杷果浆,

收稿日期: 2003-06-30

基金项目: 福建省科技厅重点科技攻关资助项目 (2002N028)

作者简介: 何志刚 (1964-), 副研究员, 主要从事果蔬贮藏加工研究。