

3.1 大米经过超微粉碎后,由于粒径的减小和比表面积的增长,其理化性质在很多方面有所改善。早籼米米粉颗粒的粒径分布范围变窄;米粉粒径越小,蛋白质含量越低,但酶解速度越高,休止角和滑角增大,表明米粉的流动性随颗粒粒径的减小而有显著的改善。

3.2 经过超微粉碎的米粉糊化温度、透光率、冻融稳定性降低,热稳定性、冲调性能、溶解度提高,沉降性能和对蛋白发泡体系的持泡能力增强,耐酸性基本稳定。

总之,超微粉碎在一定程度改善了早稻的加工性能,这对早稻的深加工有着重要的意义。

参考文献:

- [1] 刘启觉,王继焕.大米微粉碎工艺特点及参数[J].粮食与饲料工业,1998,(8):17-18.
- [2] 韩仲琦,李冷.粉体技术辞典[M].武汉工业大学出版社,1999.92-93.
- [3] 陈全斌,汤桂梅.罗汉果根淀粉的提取及其性质研究[J].食品科学,2002,23(4):37-41.
- [4] 张力田.变性淀粉[M].华南理工大学出版社,1999.124-126.
- [5] 李光磊.羟丙基—磷酸单酯复合淀粉的制备及特性研究[J].食品科学,2002,23(4):34-37.
- [6] 籍保平,梁建芬.玉米胚芽渣的微细化[J].中国农业大学学报,1999,4(4):86-88.
- [7] 樊黎生.甘薯淀粉基本特性的研究[J].粮食与饲料工业,2001,(2):49-51.
- [8] 阎立梅,刘晓辉,王致禄.聚醋酸乙烯酯乳液冻融稳定改性的机理[J].应用化学,2001,18(2):120-124.
- [9] 刘建学,吴守一.大米直链淀粉含量的近红外光谱分析[J].农业工程学报,2000,16(3):94-96.
- [10] W E Marshall.Effect of degree of milling of brown rice and particles sizes of milled rice on starch gelatinization[J].Cereal Chem,1992,69(6):632-636.
- [11] 陈季渊,卢训,吕政义.磨粉方法对糯米谷粉理化特性之影响[J].中国农业化学会志(台),1998,36(3):272-282.
- [12] 卢训,吕政义.不同碾磨方法对米粉理化性质之影响及米雪片的试制[J].食品科学(台),1989,16(1):22-35.
- [13] 成明划,李里特.大米品种和制粉工艺对大米粉性质的影响[J].粮食与饲料工业,2000,(8):16-19.

木瓜蛋白酶作用于林蛙油蛋白质 水解功能特性的研究

王 冰, 叶怀义

(哈尔滨商业大学, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘 要: 本研究以林蛙油为底物,加酶水解,实验确定林蛙油水解最适宜的酶制剂为木瓜蛋白酶。与林蛙油相比,水解产物具有很好的溶解性,游离雌二醇含量随水解程度的增加而增加,粘度随水解程度的增加而降低。

关键词: 林蛙油; 木瓜蛋白酶; 功能特性

Study on Hydrolyzed Functional Properties of Oviductus Ranae Protein with Papain

WANG Bing, YE Huai-yi

(Harbin Commercial University, Harbin 150076, China)

Abstract: The Oviductus Ranae was used as substrate and hydrolyzed by papain in the study. The optimum enzyme to hydrolyze the Oviductus Ranae was papain. Compared with the Oviductus Ranae, hydrolysate showed excellent solubility. The content of dissociated oestradiol increased and viscosity decreased with the increasing of the hydrolysis degree.

Key words: Oviductus Ranae; papain; functional properties

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)05-0062-04

收稿日期: 2003-10-13

作者简介: 王冰(1963-), 女, 工程师, 大学, 研究方向为食品基础原料开发。

林蛙油主要活性成分为雌二醇及甾酮,在深加工方面主要方向为三大类产品,即营养保健品、药品和化妆品。若将林蛙油经生物工程手段处理,提高其吸收利用率,再辅之以其它物质研制成保健食品,将大大提高经济价值。

林蛙油蛋白质所含氨基酸比值与人体肌肉成分极为接近,因而开发林蛙油蛋白水解物和分离物引起了人们的广泛兴趣。林蛙油蛋白质经酶降解吸收率大为提高,因而功能和品质得到提高。首先,水解使雌二醇游离度增大,具有易吸收的特点。其次,蛋白水解物还含有特殊功能的多肽,如谷胱甘肽(GSH)中的活性巯基—SH在肌体中具有重要的生物活性。当肌体代谢和外界刺激产生过多的自由基时,它会损伤生物膜,破坏生命大分子,促使机体衰老,诱发肿瘤或动脉硬化的产生。GSH能清除自由基,起到保护细胞分子的作用。GSH可与体内有害物质形成共轭化合物将毒物排除^[1]。

本文就林蛙油蛋白质水解酶的选择、原料预处理的条件、产物的分子量及功能特性如溶解性、粘性等进行了研究,为林蛙油保健食品开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

1.1.1 实验材料

林蛙油 林业局提供;硼酸、甲基红、溴甲酚绿、盐酸等分析纯试剂均为市售;木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶均为市售。

1.1.2 仪器及设备

721分光光度计 上海第三分析仪器厂;Ps-25酸度计 上海雷磁仪器厂;磁力搅拌器 上海雷磁仪器厂;数显粘度计 NDJ-8S型 上海天平仪器厂;CS501型超级水浴器 重庆实验设备厂;超滤装置 14-A型 上海瑞丽分离仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋白质含量的测定

参照 GB5009.4-85 进行。

1.2.2 蛋白水解率(NR)的测定

准确称量 5g 林蛙油,放在 20 倍水中浸泡,对原料进行水解,计量水解液离心后上清液的总体积。取 5ml 蛋白水解液凯氏定氮法消化定氮,测定上清液中的蛋白质含量。

$$\text{蛋白水解率(NR)} = \frac{\text{上清液中蛋白质含量}}{\text{底物蛋白质含量}} \times 100\%$$

1.2.3 超滤法测定水解液多肽分子量分布

选用 SPE10、SPE20、SPE40、SPK100 四种超滤

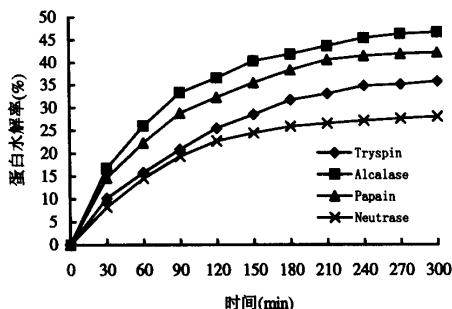
膜,利用压差过滤酶解液,使不同分子量多肽从溶液中分离出来。取不同水解程度的林蛙油水解溶液六组各 50.0ml,在 $p=0.12\text{MPa}$ 下超滤,然后对超滤后不同分子量范围的酶解物中蛋白质含量进行测定(凯氏定氮法)。

2 结果与讨论

2.1 林蛙油水解条件的优化

2.1.1 酶的选择

利用单一酶 Trypsin、Alcalase、Papain、Neutrase 分别在最适的理论条件下水解林蛙油,以比较对林蛙油的水解作用,用蛋白水解率判断水解程度,其进程曲线如图 1。



注:其水解条件为 $t=300(\text{min})$, $S=4\%$, $[E]/[S]=2\%$;
Alcalase: $\text{pH}=8.0$, $T=50$; Papain: $\text{pH}=7.0$, $T=60$;
Neutrase: $\text{pH}=7.0$, $T=55$; Trypsin: $\text{pH}=8.5$, $T=40$ 。

图1 四种蛋白酶水解进程曲线

从图1曲线可见,酶促反应前期(0~60min),反应速度随时间增加而直线增加。随时间延长,曲线渐趋平坦,斜率变小,反应速率下降。从整个水解过程上看,符合一般酶解曲线。反应前期(0~60min)水解变化最大,是由于初期酶活力高,底物浓度大。随时间延长,反应速度下降,在酶解4h以后水解曲线趋于平缓,从水解程度上看,Alcalase酶解最大,蛋白水解率达46%;其次是Papain,蛋白水解率为42%,而Trypsin、Neutrase蛋白水解率不足40%。

碱性蛋白酶价格较高,且依靠进口。木瓜蛋白酶在我国南方资源丰富,其提取和生产工艺已经比较成熟,国内在固定化方面研究也较多,目前在工业上主要用于防止啤酒冷藏时的混浊,肉类的嫩化。木瓜蛋白酶属半胱氨酸蛋白酶类,其相对分子量为21000,PI为8.75,对许多蛋白质及肽类都有水解作用,水解产物安全无毒,成本低,且水解能力也较为理想,综合以上原因,本实验采用Papain作为单一酶解优化对象,酶解时间定为4h。

2.1.2 林蛙油热处理条件的确定

2.1.2.1 林蛙油热处理温度的确定

动物蛋白质有抵抗蛋白酶水解作用,当受热后,蛋白质发生变性,部分弱键断裂,内部非极性基团暴露于分子表面,增大酶接触位点,使水解速度加快,利于酶解,但变性要适度,变性大其酶解反而变差。处理结果如图2。

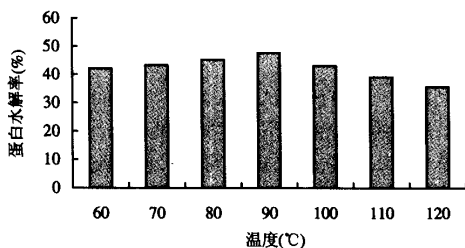


图2 温度对蛋白水解率的影响

由图2可见,当加热温度低于70℃时,水解程度增加很小,70℃以后,水解程度开始明显增加,在90℃达到最高,此后逐渐下降。由图2看出,热处理最适温度为90℃,热处理必须适度。

2.1.2.2 热处理时间对林蛙油酶解的影响

选择处理温度为90℃,分别水浴加热5、10、15、20、25、30min。其它酶解条件不变,测定热处理时间与水解程度关系。

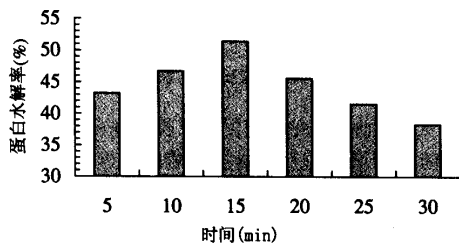


图3 热处理时间与水解程度关系

蛋白质热变性程度需综合考虑加热温度与加热时间,由图3看出,15min水浴处理酶解效果较佳。但还要考虑蛋白质变性不足或蛋白质过度变性因素。根据以上实验,确定采用90℃、15min为林蛙油热处理条件。

2.2 蛋白水解率与游离雌二醇的关系

林蛙油随着木瓜蛋白酶的作用,酶解液中的游离雌二醇含量逐渐增加,结果如下:

蛋白水解率(%)	0	17.32	31.50	47.02	61.52
雌二醇(pmol/L)	0	872	1875	2731	3546

从图4中可以看出,随水解程度的加深,游离雌二醇含量逐渐增加。说明雌二醇包裹在蛋白质的结构中,随着肽键被水解而逐渐释放出来,而且蛋白水解

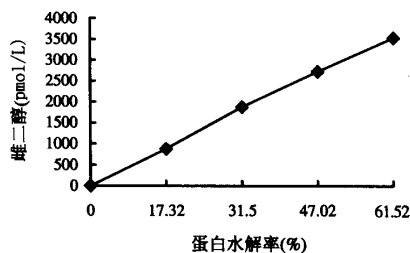


图4 蛋白水解率与雌二醇的关系

率与游离雌二醇的含量基本呈直线关系。

2.3 水解液分子量分布的研究

表1 林蛙油酶解物超滤分析

NR(%)	不同分子量范围内肽的含量(%)				
	1000以下	1000~2000	2000~4000	4000~10000	大于10000
11.37	9.6	6.2	12.1	30.3	41.8
19.04	17.4	8.1	10.6	26.8	37.1
32.90	27.6	11.6	11.9	20.5	28.4
41.84	38.0	14.0	12.3	13.7	22.0
53.11	44.3	13.4	13.7	11.3	17.3
59.92	45.8	17.8	14.9	8.0	13.5

由表1可以看出,林蛙油肽的分子量主要集中在10000以下,随水解程度加深,小分子量的肽含量明显增多,大肽分子数量减少,使肽平均分子量降低,尤其当NR(%)>53后,M<1000的肽分子数量高达44%以上,据文献报道,许多功能性小肽多集中在此范围内。

2.4 蛋白质水解产物功能特性的研究

2.4.1 粘性

表2 林蛙油水解液粘度的变化

时间(min)	0	30	60	90	120	150	180	210	240
粘度(Pa·s)	412	274	189	136	93	68	51	46	39

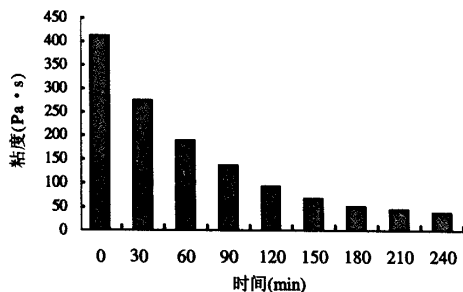


图5 林蛙油水解液粘度的变化

由图5可以看出,蛋白水解物的粘度随酶解时间延长粘度呈下降趋势,因为蛋白多聚体的解聚和离子基团的增加,使蛋白分子的有序性增加,使蛋白分子的表

观体积减少,导致粘度下降^[2,3]。蛋白质中肽键的断裂降低了肽产物的疏水性,增加了静电荷,使肽产物缺乏蛋白质凝胶时应有的疏水性及吸引力和排斥力应有的平衡。这种性质的改变,使蛋白水解物在加工过程中泵输送、搅拌、喷雾干燥等工艺更容易实施,适合作为食品原料。

2.4.2 溶解性

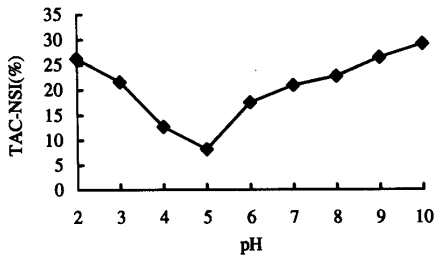


图6 pH对底物蛋白溶解性的影响

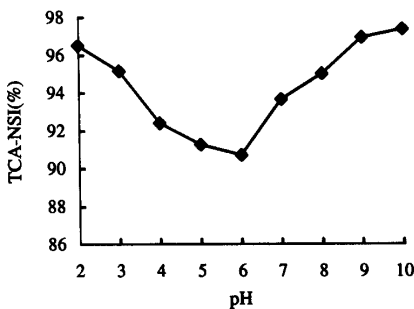


图7 pH对蛋白水解物溶解性的影响

蛋白质水解物比较重要的性质是它在不同 pH 情况下的溶解性。从图 6 和图 7 可以看出,酶水解产物提高了溶解性,尤其是在蛋白质等电点附近。底物蛋白溶解性较低,都低于 30%,而且在 pH=5 处有最低值,

TCA-NSI 为 8.14%。而水解产物的 TCA-NSI 在 pH=2.0~10.0 范围内都显示出高溶解度。

一般在生产中由于蛋白质的溶解度差,分散性不好,限制了添加量和使用范围。采用酶法对林蛙油蛋白进行处理,大大提高了它的溶解性,从而拓宽了它在食品中的应用范围。

3 结论

3.1 综合考虑水解能力及成本,确定水解林蛙油最适宜的酶是木瓜蛋白酶。

3.2 确定林蛙油水解前热处理条件为: $T=90^{\circ}\text{C}$, $t=15\text{min}$ 。

3.3 随水解程度的加深,游离雌二醇含量逐渐增加,而且在一定范围内蛋白水解率与游离雌二醇的含量基本呈直线关系。

3.4 通过测定不同水解度水解产物的肽分子量分布,得出:随着水解度的增加,水解产物中小肽分子的数量逐渐增加, $\text{NR}(\%)>53$ 后, $M<1000$ 的肽分子数量高达 44% 以上。

3.5 蛋白水解物的粘度随酶解时间延长粘度呈下降趋势,这种性质的改变,使蛋白水解物在加工过程中泵输送、搅拌、喷雾干燥等工艺更容易实施,适合作为食品原料。

3.6 采用酶法对林蛙油蛋白进行处理,大大提高了它的溶解性,从而拓宽了它在食品中的应用范围。

参考文献:

- [1] 王梅,沈辉.食品酶的应用—食品中蛋白质的酶促改性[J].食品科学,1996,(2).
- [2] Chou D H. Protein water interaction and functional properties [J]. *Jam Oil Chimists*, 1978,56(1):53-62.
- [3] Damodaran S. Structure function relationship of food proteins [M]. N S hettiarachchy and G R, 1994.

内切菊糖酶的分离纯化及性质研究

史贤俊, 林影*, 吴晓英

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广东 广州 510641)

摘要: 采用 DEAE-Sepharose CL-6B 离子交换层析从 Fructozyme (*Aspergillus niger*) 中分离得到三个菊糖酶组份 E I、E II 和 E III, 其中 E I 主要表现为内切菊糖酶, 其分子量为 65,000, 以菊糖为底物其最适 pH 为 4.6, 最适

收稿日期: 2003-08-15

*通讯联系人

作者简介: 史贤俊(1978-), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物技术和酶工程。