



■蔗果三糖 + 蔗果四糖 * 糖果五糖

图 6 低聚果糖随反应时间变化

表 2 GOD 与 CAT 去除葡萄糖后产品中各成分含量

葡萄糖 G	蔗糖 GF	蔗果三 糖 GF ₂	蔗果四 糖 GF ₃	蔗果五 糖 GF ₄	总低聚果 糖 GF ₂₋₅
未检测出	13.08	42.43	37.52	6.97	86.92

总低聚果糖含量是指蔗果三糖、蔗果四糖及蔗果五糖之和

研究结果说明用 GOD 与 CAT 协同作用，能完全消除低聚果糖产品中的葡萄糖，得到 86.92% 的低聚果糖。与有些报道不同的是^[18]，用单一 GOD 只能去除少量的葡萄糖，由于过氧化氢对 GOD 的阻碍作用，使得 GOD 无法进一步作用于葡萄糖。

参考文献

- 1 吴东儒主编. 糖类的生物化学. 北京: 高等教育出版社, 1987, 239.
- 2 日高秀昌, 荣田利章. Bio Industry. 1984, 1 (6): 5~13.

- 3 日高秀昌. 治疗学 (Biomedicine & Therapeutics). 1985, 14 (5): 635~638.
- 4 光冈知足. 医研 (日). 1987, 13 (1): 1~7.
- 5 Jung, K. H., et al. Biotechnol. Lett. 1987, 9 (10): 703~708.
- 6 Chen, W. C. Biotechnol. Lett. 1995, 17 (12): 1291~1294.
- 7 江波, 王璋. 无锡轻工大学学报. 1995, 14 (2): 183~186.
- 8 江波, 王璋. 无锡轻工大学学报. 1995, 14 (4): 290~295.
- 9 江波, 王璋. 无锡轻工大学学报. 1996, 15 (1): 12~18.
- 10 魏远安等. 食品与发酵工业. 1995, (4): 12~16.
- 11 林伟锋, 赵谋明. 食品与发酵工业. 1996, (4): 76~80.
- 12 江波, 王璋, 丁霄霖. 食品与发酵工业. 1996, (1): 1~7.
- 13 Bucher, T., et al. Ronayrenc: Methods of Enzymatic Analysis, Second Edition, Edited by Verlag Chemie, Weinheim & Academic Press (New York), 1974, (1): 254~261.
- 14 Nakamura, S. et al. Biochem. Biophys. Acta. 1976, 445: 294~308.
- 15 Wilson, R. and A. D. F. Turner. Biosensors and Bioelectronics. 1992, 7: 165~185.
- 16 Kleppe, K. Biochemistry. 1966, 5: 139~143.
- 17 Bourdillon, C. et al. Enzy. Microbiol. Technol. 1982, 4: 175~180.
- 18 Tse, P. H. S. and D. A. Gough. Biotechnol. Bioeng. 1987, 29: 705~713.

酶法水解蚂蚁蛋白的研究

鲁晓翔 王绍树 张明春

天津商学院食工系 300400

摘 要 以蚂蚁为原料, 利用胰酶、胰蛋白酶及木瓜蛋白酶对蚂蚁蛋白水解。确定胰蛋白酶为较适宜酶, 最佳水解条件为: 温度 45℃, pH8.0, 底物浓度 7.5%, 酶与底物比 6000u/g, 时间 6h, 氨基氮生成率达 43%, 水解液含 18 种氨基酸, 其中必需氨基酸占 54.4%, 氮溶解指数达 92%, 是一种营养价值较

高的蛋白质补剂。

关键词 蚂蚁蛋白 胰蛋白酶 蛋白水解物

Abstract This paper is about the comparative research of hydrolysis condition of different protease to ant protein. The results shown that trypsin had better hydrolysis activity with optimum hydrolysis condition as temperature 45℃, pH8.0, Substrate concentration 7.5%, Enzyme/substrate ratio 6000u/g and hydrolysis time 6h. The efficiency of amin-N product is 43%. There are 18 links of amino acids in the hydrolysate. The essential amino acids account for 54.4% of total amount of amino acid. The TCA-NSI is 92%. These results shown that hydrolysate from the ant protein was a high nutritive protein liquid.

Key words Ant protein Trypsin Hydrolysate

蚂蚁是自然界数量最多的昆虫,自古以来就是食疗佳品。近年的研究表明^[1~2],蚂蚁营养丰富,粗蛋白质含量在50%以上,且富含人体所需的必需氨基酸,其无机盐和维生素的含量也较高,特别是锌含量高达200mg/kg以上。 V_E 也在20mg/kg左右,并含有多种活性成分。药理研究表明^[3],蚂蚁具有抗炎、镇痛、调节机体免疫力和抗衰老等功效。目前国内外已公认蚂蚁是最具开发价值的功能食品资源之一。为对其开发利用,我们对蚂蚁蛋白进行酶法水解,并对水解条件进行了系统研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料 蚂蚁 购自山西新绛(蛋白质质量53.8%)

胰酶 苏州西山生物制品厂(活力5万U/g)

胰蛋白酶 上海化学试验分装厂(40万U/g)

木瓜蛋白酶 华美生物工程公司(40万U/g)

1.2 实验方法

1.2.1 酶水解工艺

1.2.1.1 酶的选择 干蚁粉配成5%的溶液,充分浸润后,按6000U/g底物加入相应的酶,并按表1条件进行水解,6h后测定各组的氨基氮生成率,比较各酶对蚁蛋白的水解能力,确定最佳用酶。

1.2.1.2 水解条件的确定 对于选定的酶,分别研究温度(T)、酶与底物浓度比(E/S)、底物浓度(S)和水解时间(t)对蚁蛋白的水解效

果。

表1 酶水解条件拟定

酶种	胰酶	胰蛋白酶	木瓜蛋白酶
温度(℃)	45	45	50
pH	8	8	7

a. 温度(T)的影响 选定S=5%, pH=8, E/S=6000U/g 分别在40, 45, 50, 55℃条件下水解6h, 测定水解液中氨基氮生成率。

b. 酶与底物浓度比(E/S)的影响 选定S=5%, pH=8, E/S分别为2000, 4000, 6000, 8000, 10000U/g, 在确定的温度条件下水解6h, 测定氨基氮生成率。

c. 底物浓度(S)的影响 pH=8, T和E/S均为上述实验所获最佳值, S分别为5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 水解6h后, 测定水解液中氨基氮生成率。

d. 水解时间(t)的影响 pH=8, 其它水解条件均为上述实验最佳值, 测定水解4, 5, 6, 7, 8h后的氨基氮生成率。

1.2.1.3 水解工艺的优选 分别考察了原料脱脂处理及双酶分段水解工艺对水解效果的影响。

a. 脱脂处理的影响 按文献[4]的方法对蚁粉脱脂, 用脱脂与未脱脂蚁粉按已确定的最佳条件进行水解, 分别测定氨基氮生成率。

b. 双酶分段水解工艺的影响 采用最佳水解条件, 按表2要求进行, 并测定氨基氮生成率。

1.2.2 分析方法

1.2.2.1 蛋白质含量测定 按GB5009.39—

85 中的方法进行。

表 2 双酶分段水解工艺

组号	酶种类及加酶量 (U/g)	水解时间 (h)
1	胰蛋白酶(3000)+胰酶(3000)	3+3
2	胰蛋白酶(3000)+木瓜蛋白酶(3000)	3+3
3	胰酶(4000)+胰蛋白酶(2000)	4+2

1.2.2.2 水解液氨基氮生成率测定 采用 pH 计测定法。因为蚁蛋白水解液呈黑褐色,若用常规的甲醛滴定法测其氨基氮,则酚酞的滴定终点很难掌握。pH 计法的操作:取水解液 10ml 加入 30ml 蒸馏水,混匀并调节 pH=6.5,再加入中性甲醛 10ml,静置 15min,用 0.1 mol/L 的 NaOH 滴至 pH=9.2,记录所耗 NaOH 毫升数,氨基氮生成率按下式计算:

氨基氮生成率(%) = 水解液氨基氮含量 / 水解液总氮含量 × 100%

其中:水解液总氮含量按 1) 法测定;

水解液氨基氮含量按下式计算:

$$\text{氨基氮}(\text{mg/ml}) = N_{\text{NaOH}} \cdot (V_{\text{样}} - V_{\text{空白}}) \cdot 14/10$$

1.2.2.3 水解液在三氯乙酸(TCA)中的氮溶解指数(NSI)测定 参照文献[5]的方法进行。

1.2.2.4 水解液氨基酸组成分析 在日立 835-50 型氨基酸自动分析仪上采用茚三酮法测定水解液中各氨基酸的含量。

2 结果与讨论

2.1 不同蛋白酶对蚁蛋白的水解能力(表 3)

表 3 不同蛋白酶水解蚁蛋白的效果 (n=3)

酶种类	胰酶	胰蛋白酶	木瓜蛋白酶
氨基氮生成率(%)	31.7±0.05	39.6±0.02	34.3±0.02

由表 3 可见 3 种酶对蚂蚁蛋白的水解能力的大小顺序为胰蛋白酶>木瓜蛋白酶>胰酶,这说明胰蛋白酶对蚂蚁蛋白的专一性较大,故选择该酶作为实验用酶。

2.2 胰蛋白酶水解蚁蛋白水解条件确定

2.2.1 温度的确定(表 4)

表 4 温度对水解效果的影响(n=3)

温度(℃)	40	45	50	55
氨基氮生成率(%)	33.0±0.01	39.6±0.02	39.4±0.01	29.5±0.03

结果表明,温度由 40℃ 升至 45℃,氨基氮的溶出增加,但当温度进一步升高,增加不明显,并随温度增加有下降的趋势。这是因为适当加热,使蛋白质结构疏松,暴露出更多的酶作用位点,同时酶活性也达到最佳状态所致。所以确定酶解温度为 45℃。

2.2.2 酶与底物浓度比(E/S)的确定

酶与底物浓度的比可以较好地反映酶解反应速度特征。由表 5 可见,随着 E/S 值增大,氨基氮生成率逐渐上升,但 E/S 超过 6000U/g 时,增加不明显;考虑到生产成本,故选用 6000U/g。

表 5 E/S 对水解效果的影响(n=3)

E/S(U/g)	2000	4000	6000	8000	10000
氨基氮生成率(%)	22.0±0.03	27.0±0.05	39.6±0.02	42.6±0.04	41.1±0.07

2.2.3 底物浓度(S)的确定(表 6)

表 6 底物浓度对水解效果的影响(n=3)

S(%)	5	7.5	10	12.5
氨基酸生成率(%)	39.6±0.02	43.0±0.02	34.6±0.02	28.5±0.01

结果表明 S=7.5% 时水解的效果较好,底物浓度进一步增加,水解效果却下降。其原因可能是底物浓度增大后,原料不能充分浸润,影响

了酶对蛋白的作用。故实验确定 S=7.5%。

2.2.4 水解时间的确定(表 7)

表 7 水解时间对水解效果的影响(n=3)

时间(h)	4	5	6	7	8
氨基酸生成率(%)	31.5±0.02	35.5±0.03	43.0±0.02	46.2±0.05	48.4±0.04

由表 7 可见,水解时间的延长有利于氨基酸的生成;水解 6h 后,水解程度的增加趋于平缓。这可能是随着水解时间的延长,底物渐少,加之酶自身逐步衰弱所致。故水解时间选用 6h。

2.3 水解工艺的优选

2.3.1 脱脂处理 采用已确定的最佳水解条件,对脱脂蚁粉进行水解,效果见表 8。

表 8 脱脂对水解的影响(n=3)

处理	脱脂	未脱脂
氨基酸生成率(%)	47.5±0.03	43.0±0.02

可见脱脂后水解程度有一定提高,这可能是脱脂后的蚁蛋白减少了脂肪的束缚,因而易被酶作用所致。

2.3.2 双酶分段分解 采用不同酶分步进行

水解,可以使更多的肽键部位被酶作用。

表 9 双酶水解对水解效果的影响(n=3)

组号	1	2	3
氨基酸生成率(%)	46.5±0.01	40.6±0.05	49.5±0.08

由表 9、表 2、表 3 可知,本实验条件下,双酶水解比单酶的效果略好,但优势并不明显,分析原因可能是缩短了两种酶单独作用的时间所致。

2.4 TCA—NCI 测定

测定 TCA 中的 NSI,结果均在 92% 左右,说明水解液中蛋白质绝大多数为低肽分子,因此更有利于机体的消化吸收。

2.5 蚂蚁蛋白酶解液的氨基酸组成

表 10 蚂蚁酶解液氨基酸组成 (mg%)

ASP	26.84	CYS	8.04	PHE	70.75
THR	29.28	VAL	35.66	LYS	55.10
SER	20.17	MET	16.39	HIS	17.35
GLU	31.10	ILE	38.06	TRP	11.56
GLY	10.87	LEU	70.39	ARG	52.07
ALA	60.44	TYR	39.73	PRO	40.05

从表 10 数据可知,蚂蚁酶解液中含 18 种

氨基酸,8 种必需氨基酸种类齐全,且占总氨基

酸的 54.4%。特别是脯氨酸的含量远高于其它动物产品。已知脯氨酸是前胶原物质, 资料表明蚂蚁在治疗胶原系统疾病方面具独特作用, 这是否与其富含脯氨酸有关, 有待进一步研究。

3 小结

3.1 胰蛋白酶是水解蚂蚁蛋白较适宜的酶, 其最佳水解条件: $T=45^{\circ}\text{C}$, $E/S=6000\text{U/g}$, $S=7.5\%$, $t=6\text{h}$, $\text{pH}=8$ 。

3.2 原料脱脂处理或采用双酶分段水解, 效果均有一定提高。

3.3 蚂蚁蛋白酶解液的 TCA-NSI 在 92% 以上, 富含各种必需氨基酸, 是一种营养价值较

高的蛋白质补剂。

参考文献

- 1 李松林等. 血红林蚁与鼎突多刺蚁营养成分的比较分析. 中国药理学杂志. 1994, (9): 521~522.
- 2 吴志成, 吴斌. 鼎突多刺蚁治疗慢性病的展望. 生物学通报. 1995, (5): 3~6.
- 3 张秀芹等. 中国蚁王精口服液的药理作用. 中国中药杂志. 1990, (11): 49~51.
- 4 杨铁, 周丛照. 蚕蛹的综合利用. 食品科学. 1993, (12): 31~33.
- 5 赵新淮, 冯志彪等. 酶促水解大豆分离蛋白的研究. 食品与发酵工业. 1994, (5): 7~9.

用玉米渣生产玉米蛋白肽饮料

翟瑞文 李雁群 余世望

中德联合研究院 南昌 330047

摘 要 以 2709 地衣形芽孢杆菌碱性蛋白酶对玉米面筋粉(玉米渣)进行水解, 制取玉米肽饮料。对制取的工艺过程及各操作要点进行了研究。结果显示, 只要控制好水解条件和进行适当的处理, 可以得到水解度适中、风味良好的酸溶性蛋白肽饮料。

关键词 玉米面筋粉 蛋白质 饮料 2709 酶 肽

Abstract A kind of drink of corn peptide was produced from corn gluten meal (CGM), hydrolyzed with an alkaline protease from *B. Licheni formis* 2709. The technological process and main points were studied. The results showed that a kind of drink which looks and tastes good can be made if the hydrolytic conditions were controlled correctly.

Key words Corn gluten meal (CGM) Protein Drink Peptide

玉米面筋粉(Corn Gluten Meal, CGM)俗称玉米渣, 是玉米淀粉生产中提取淀粉后的主要副产物, 大约含有 60% 的蛋白质, 主要为玉米醇溶蛋白(68%)、谷蛋白(22%)和球蛋白(1.2%)^[1]。由于玉米蛋白质组成复杂、口感粗糙、水溶性特别差, 严重影响了其在食品工业中的应用, 当今在国内主要将 CGM 用于饲料工业或自然排放。我国每年随废液排走的玉米蛋白质高达 8 万多吨^[2], 既浪费了宝贵的粮食资源, 又造成对环境的污染。对 CGM 进行酶法

改性, 提高其溶解性, 将有利于其在食品工业中应用。

玉米中蛋白质含量一般为 8%~12%, 其蛋白效率比为 1.2。这些蛋白质 75% 分布在胚乳中, 其余分布于胚芽中, 玉米胚芽蛋白的营养价值与新鲜鸡蛋的蛋白质相似, 具有良好的食用价值^[3]; 玉米中含有不少的谷氨酸, 有健脑的功效; 日本文献称^[4~5], 玉米肽有预防和减轻乙醇毒性的作用, 并有消除疲劳的功效; 另外, 玉米肽还具有^[6]: 胚类物质含量丰富、高浓度低