

控制酶解小麦面筋蛋白的研究

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510640) 齐军茹 杨晓泉 彭志英 姚玉静
(郑州工程学院粮油食品学院, 郑州 450052) 王 兰

摘 要: 系统地研究了酶水解小麦面筋蛋白的最佳工艺条件, 采用 SDS-PAGE 分析了酶解前后小麦面筋蛋白的变化, 并对流变学特性进行了分析测定。结果表明, 酶解最佳条件为: 底物浓度 10%, 酶浓度 0.05%, 水解时间 1h, pH 7.0, 温度 35℃。

关键词: 面筋蛋白, 水解, 流变学性质

Abstract: The optimum conditions of enzymatic hydrolysis of gluten were studied systematically, and the property changes resulted from enzymatic hydrolysis were evaluated by SDS-PAGE, the rheological study. The results show that the optimal conditions of enzymatic hydrolysis of gluten are: [S] 10%; [E] 0.05%; 1h, pH 7.0; 35℃.

Key words: gluten; hydrolysis; rheological properties

中图分类号: TS201.2+1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)09-0043-04

非传统的蛋白资源可以通过蛋白水解得到改性来提高它们的功能特性以适于在食品行业中的应用。面筋蛋白占小麦蛋白的 80% 左右^[1], 是小麦蛋白的主体。化学分析证明, 面筋主要是麦醇溶蛋白和麦谷蛋白组成的高度水化产物。另外, 还含有少量的淀粉、纤维、糖、脂肪、类脂和矿物质等。

在我国, 各地区小麦品质差别很大, 往往被应用于小麦深加工生产, 如生产小麦淀粉等, 对于生产淀粉的副产品——面筋蛋白, 含有较多的疏水性氨基酸, 分子内疏水作用区域较大, 往往不能满足食品加工的需要^[2]。所以, 小麦面筋蛋白的改性研究是一个不容忽视的问题。面筋蛋白在一定的酶水解作用下, 可产生具有一定的功能性质的肽段, 它们可以具有新的营养、功能及生物特性。本文就小麦面筋蛋白的酶法改性条件及改性前后的流变学性质进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 实验材料

市售谷朊粉 河南安阳恒泰小麦淀粉有限公

司; 枯草杆菌中性蛋白酶 AS1.389 (测酶活力 $9.8 \times 10^4 \text{U/g}$) 无锡酶制剂厂。

1.2 实验方法

1.2.1 谷朊粉蛋白质含量测定 GB 5511-85。

1.2.2 水解度的测定和控制 pH-Stat 法^[3]。

1.2.3 小麦水解蛋白的制备

1.2.3.1 中性蛋白酶的酶解特性 经研究测定, 以小麦面筋蛋白为底物时, 该中性蛋白酶的最适温度为 35℃, 最适 pH 7.0。

1.2.3.2 制备小麦水解蛋白的工艺流程

蛋白酶

↓

谷朊粉 → 调温 → 调 pH → 搅拌 → 加碱维持 pH 并恒温 → 灭酶 → 干燥 → 冷却 → 粗粉 → 研磨 → 细粉 → 过筛 → 成品

1.2.4 最佳反应条件的确定 以底物浓度、酶浓度、水解时间为反应因素, 各取四水平制定出正交因素水平表, 选择正交表 $L_{16}(4^4)$ 进行试验, 确定最佳制备条件。

1.2.5 小麦水解蛋白功能特性的测定

1.2.5.1 溶解度的测定^[4] 配制 1% 水解液, 3000r/min 离心 30min, 取 1mL 上清液于试管中, 加入双缩脲试剂, 放置 0.5h, 于 540nm 处进行比色测定。

1.2.5.2 乳化度的测定^[5] 配制 1% 水解液, 取 100mL 该溶液和 100mL 大豆色拉油, 在均质机中以 10000r/min 的速度搅打 30s, 离心, 乳化度为乳化层体积与总体积之比。

1.2.5.3 起泡性测定^[6] 称取 2g 小麦水解蛋白, 加入 100mL 水于装料杯中, 在高速组织捣碎机中搅打 1min, 后记录泡沫体积。

1.2.6 小麦水解面筋蛋白流变学特性的测定^[7] 面粉中分别加入 2% 的谷朊粉和小麦水解面筋蛋白样品, 比较其粉质曲线, 分析其吸水率、面团形成时间和弱化度的变化。

1.2.7 不连续 SDS-PAGE 电泳^[8,9] 精确称取小麦水解面筋蛋白样品和谷朊粉试样, 溶于 1mL 样品溶解

收稿日期: 2002-12-28

作者简介: 齐军茹(1977-), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 食品生物技术。

液中,磁力搅拌 2h,离心,取上清液沸水浴 3min, -20℃存放。

1.2.8 薄层扫描 参考文献[10]。

2 结果与讨论

2.1 谷朊粉理化指标的测定

结果见表 1。

表 1 谷朊粉理化指标

指标	蛋白质含量(%)	溶解度(%)	乳化度(%)	起泡性(mL)
谷朊粉	81.28	4.2	3.0	50

2.2 最佳反应条件确定

2.2.1 正交实验结果 见表 2。

2.2.2 实验结果的验证 由于优化的反应组合 $A_3B_2C_2$ 在正交方案中没有出现过,因而必须通过实验检验,验证结果列于表 3。验证结果表明, $A_3B_2C_2$ 确为使小麦水解面筋蛋白各种功能性质均能达到较好的优化反应条件。

2.3 小麦水解面筋蛋白流变学性质测定结果

从表 4 和图 1~图 3 中可以看出,添加 2%的小麦水解面筋蛋白于普通面粉中后,吸水率、面团形成时间、面团稳定时间^[11-13]均有部分提高,说明即使在添

表 2 正交实验结果

实验号	A 底物浓度(%)	B 酶浓度(%)	C 水解时间(h)	D	溶解度(%)	乳化度(%)	起泡性(mL)	水解率(%)
1	1(2.5)	1(0.01)	1(0.5)	1	39.2	65.2	235	1.04
2	1	2(0.05)	2(1)	2	85.26	24	260	5.19
3	1	3(0.075)	3(2)	3	91.9	8.04	190	8.16
4	1	4(0.10)	4(3)	4	97	4.22	150	12.43
5	2(5)	1	2	3	33.46	64.8	225	0.93
6	2	2	1	4	60.9	52.32	261	2.07
7	2	3	4	1	89.6	15	246	6.51
8	2	4	3	2	88.48	16.8	250	6.18
9	3(10)	1	3	4	31.64	64.52	230	0.86
10	3	2	4	3	75.03	44.04	270	2.83
11	3	3	1	2	57.54	57.6	255	1.69
12	3	4	2	1	77	41.4	265	3.00
13	4(20)	1	4	2	32.2	63.38	215	0.88
14	4	2	3	1	44.8	62.4	250	1.3
15	4	3	2	4	48.44	61.18	225	1.33
16	4	4	1	3	40.46	65.64	215	1.13
溶解度	K_1	313.3	136.5	198.1	250.6			
	K_2	272.44	265.99	244.16	263.48			
	K_3	241.21	287.48	256.82	240.85			
	K_4	165.9	302.94	293.83	237.98			
	R	147.46	166.44	95.73	25.5			
乳化性	K_1	101.46	257.9	240.76	184			
	K_2	148.92	182.76	191.38	161.78			
	K_3	207.56	141.82	151.76	182.52			
	K_4	252.6	128.06	126.64	182.24			
	R	151.14	129.84	114.12	22.22			
起泡性	K_1	835	905	966	966			
	K_2	982	1041	975	980			
	K_3	1020	916	920	900			
	K_4	905	880	881	866			
	R	185	136	94	130			

表 3 验证实验结果与原料的对照

	水解度(%)	溶解度(%)	乳化度(%)	起泡性(mL)
按 $A_3B_2C_2$ 所得水解物	1.74	59.4	56.6	260
谷朊粉	—	6.15	3.6	50

表 4 粉质特性的比较

样品	吸水率(%)	面团形成时间(min)	面团稳定时间(min)	弱化度(BU)
1 [#]	70.33	4.9	2.9	160
2 [#]	71.00	5.5	3.5	100
3 [#]	72.03	6.0	8.4	80

注:1[#]表示普通面粉;2[#]表示添加 2%水解蛋白于普通面粉中的试样;3[#]表示添加 2%谷朊粉于普通面粉中的试样。

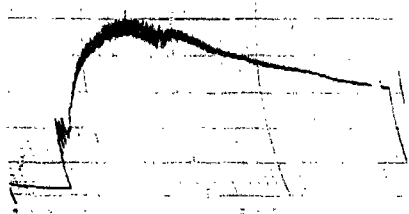


图1 1#小麦样品粉质曲线图

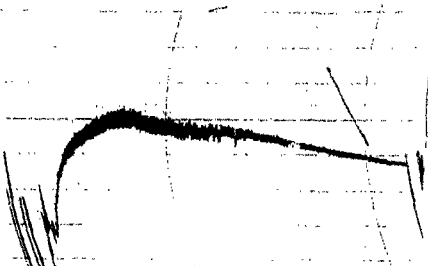


图2 2#小麦样品粉质曲线图

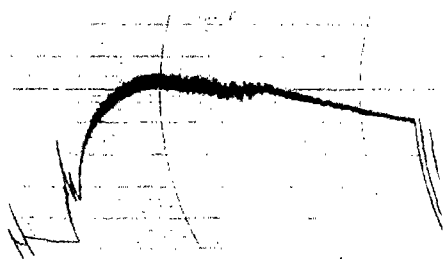


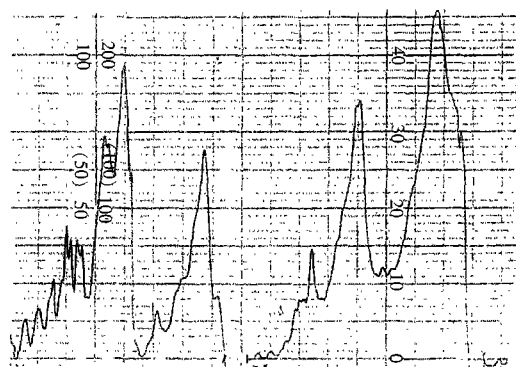
图3 3#小麦样品粉质曲线图

加量很小的情况下,面团内部面筋的韧性、强度和弹性仍有所增强。比较2#和3#面粉的粉质曲线可以看出,虽然2#各项指标较1#有所提高,但仍小于3#,且3#弱化度更小,这说明酶水解后的小麦面筋蛋白的筋力较谷朊粉有所降低。这是由于酶处理的小麦面筋蛋白中二硫键遭到部分破坏,使谷朊粉网络结构受到一些破坏,筋力有所下降;另一方面,小麦面筋蛋白经过中性蛋白酶作用,肽链断裂形成多肽和小分子短链物质,改善了其功能性质,但却破坏了一些面筋网络结构。

小麦粉形成时间是烘焙品质的主要参数,一般来说,随着形成时间的延长,面包体积增大和面包评分增加的趋势非常明显;但形成时间过长,在制作食品时耗能过多,需时间长。由表4可知,普通面粉加入水解蛋白后面团形成时间变长,可以使其达到制作面包的要求。

2.4 小麦水解面筋蛋白电泳图谱分析

小麦蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的分离度、重现性很高^[14-16],是谷物化学和遗传学研究所广泛应用的一种蛋白质分离研究手段。



谷朊粉 最佳条件水解蛋白
图4 小麦水解面筋蛋白电泳扫描图

由小麦面筋蛋白电泳谱带的扫描图可知,蛋白质亚基缺失或增添,一些高分子量的蛋白质被水解成低分子量蛋白质。从电泳扫描图中明显看出,小麦面筋蛋白扫描图中高分子区出现几条峰,而水解蛋白的扫描图中高分子区的峰数明显减少。

从以上的分析结果可以看出,水解度1.74%使小麦面筋蛋白中高、中分子区的一些蛋白质亚基水解为低分子量亚基,这是很有意义的,将小麦面筋蛋白的水解程度控制在一个较小的范围内,就可以使其功能性质得到明显的改善,又使其蛋白质分子结构变化较小,因为适度地将大的蛋白质分子水解为较小分子的肽段,使肽段数目增加可提高蛋白质的吸收和营养功能。

3 结论与展望

3.1 最佳酶解条件为:底物浓度10%,酶浓度0.05%,pH7.0,温度35℃,在此条件下水解1h,可得到水解度为1.74%的酶解液。

3.2 小麦面筋蛋白的控制性酶水解作用大大提高了其功能性质,为我国小麦的进一步深加工生产及应用提供了一个很广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] 刘东儿.小麦蛋白制品的开发与利用[J].食品科技,1999(1):25.
- [2] 何慧如,等.碱处理面筋蛋白功能性之探讨[J].食品科学(台),1992,19(2):241~252.
- [3] Jacobsen,CF,et al. The pH-stat and its use in biochemistry Methods of Bio-chemistry Analysis[M].Ed.Glcek,D.Interscience, New York,N.Y.(4):pp171.
- [4] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:轻工业出版社,1989.55~58.
- [5] Dipak K Dev,Kumar D Mukherjee.Functional properties of Ropeseed Protein products with Varging phytate Contents [J].Agric Food Chem,1986,34:775~761.
- [6] 邴伟章.改善蛋白质营养性和功能性的方法[J].食品科学,1991(12):13~16.
- [7] 王肇慈,周瑞芳,邱伟芬.粮油食品品质分析[M].中国轻工

固定化中性蛋白酶

水解啤酒废酵母的研究

(湘潭大学食品科学与工程系,湘潭 411105) 刘忠义 覃明 张妙玲 龙志远

摘要:以离子交换树脂为载体,以戊二醛为交联剂,固定化中性蛋白酶,再利用固定化的酶来水解啤酒废酵母。本文研究了不同水解时间和温度、不同的酶量对啤酒酵母水解的影响。通过研究发现,树脂 styene-DVB D392 对中性蛋白酶的固定化效果及固定化之后对酵母的水解效果比较好。

关键词:离子交换树脂,中性蛋白酶,啤酒酵母,固定化

Abstract:Neutral proteinase was immobilized on ion exchange resin and cross-linked with glutaraldehyde. The immobilized enzyme was then used to hydrolysis used brewer's yeast. The results showed that styene DVB D392 was the best carrier for the immobilization of the neutral proteinase.

Key words:ion exchange resin; neutral proteinase; waste beer yeast; immobilized

中图分类号: TS201.25 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)09-0046-03

我国啤酒产量不断扩大,废弃啤酒酵母排放量约是啤酒产量的2%。啤酒废酵母中含48%~60%的蛋白,23%~28%的碳水化合物,6%~8%的核糖,2%的B族维生素,1%的谷胱甘肽以及丰富的氨基酸和矿

物质。2000年全国啤酒产量6000多万t,可利用的酵母达120多万t,是非常有开发前景和价值的生物蛋白资源。开发利用啤酒酵母资源的另一重要意义在于减少环境污染及啤酒废水治理难度,变废为宝。

利用啤酒酵母生产酵母风味物和调味品的常用方法是自溶法,本文在此基础上引入酶水解技术,以期提高酵母蛋白的水解率,增加游离氨基酸和低分子肽含量,提高风味物或调味品产量。实验结果表明,上述目的基本能达到。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

大孔苯乙烯系列离子交换树脂 南开集团-南开大学化工厂;啤酒酵母粉 湖南衡阳燕京啤酒有限公司;中性蛋白酶 无锡杰能科生物工程公司生产。

1000mL磨口回流装置,冰箱,凯氏微量定氮仪,胶体磨,PHS-3精密酸度计,722型分光光度计,8孔恒温水浴锅。

1.2 分析方法

总氮(TN)测定 微量凯氏定氮法;氨基酸态氮(AN)的测定 甲醛滴定法,GB18186-2000;酶活力测定 福林-酚蛋白酶活力测定法。

收稿日期: 2002-12-18

作者简介: 刘忠义,主任,副教授。

基金项目: 湖南省教育厅资助项目。

业出版社,1999.557~570。

[8] 李健吾.生化实验原理和方法[M].北京大学出版社,1984,9.168~170。

[9] 哈密斯,B.D.蛋白质的凝胶电泳实践方法[M].科学出版社,1986。

[10] 刘玉秀.小麦储藏过程中蛋白质的变化与品质变化的关系[J].郑州粮食学院硕士学位论文,1998,12。

[11] Matsudomi N,et al.Conformation Change and Functional Properties of Acid-Modified Soy Protein [J].Agric Biol Chem, 1985,49(5):1251~1256。

[12] 徐玉冠.粮油饲料检验设备及应用[M].1989.118~119。

[13] 林作桦.食品加工与小麦品质改良[M].中国农业出版社,1994,43。

[14] Elton G H,Ewart JAD.Starch Gel Electrophoresis of Cereal Proteins[J].Sci Food Agric,1962,13:62~72。

[15] Wrigley CW,Aurtan J C,Bushuk W.Identification of Cereal Varieties by Gel Electrophoresis of the Grain Proteins [J].Advances in Cereal Science and Technology,1982(5):21~289。

[16] DuCoss D,Wrigley C W.Improved Electrophoretic Methods for identifying Cerdal Varieties [J].Sci Food Agric, 1979,30:785~788。