

# 玉米蛋白粉的剪切乳化处理及酸性蛋白酶的水解研究

郭维静, 权文吉, 陈黎行, 郭洪臣\*, 王祥生

(大连理工大学化工学院催化化学与工程系及精细化工国家重点实验室, 辽宁大连 116012)

**摘要** 探讨了高速剪切乳化预处理对提高玉米蛋白粉酸性蛋白酶解效果的作用。结果表明, 利用高速剪切乳化方法在 7000 r/min 下预处理玉米蛋白粉达 1h, 可使玉米蛋白粉的颗粒度从 420 μm 降到 10 μm 左右。在此情况下, 采用酶活力为 50000u/g 的酸性蛋白酶在 50℃, 酶与底物比 10%, 底物浓度 80g/L 和水解时间 24h 的水解条件下(不加碱维持水解液的 pH), 可将玉米蛋白粉的降解率和蛋白水解度分别提高到 70.19% 和 58.64%。

**关键词** 剪切乳化, 玉米蛋白粉, 酸性蛋白酶, 水解反应

**Abstract:** In this paper, the effect of high-speed emulsification pretreatment on the acidic protease catalyzed hydrolysis of corn gluten meal (CGM) is investigated. Results show that under the action of emulsification equipment at 7000 r/min for one hour, the average particle size of CGM can be decreased from 420 μm to approximately 10 μm. When the pretreated CGM is subjected to acidic protease catalyzed hydrolysis under conditions of 50℃, acidic protease/substrate ratio 10% (g/g), CGM substrate content 80g/L and hydrolysis time 24 h, the degradation percentage can reach 70.19% while the hydrolysis degree can reach 58.64%.

**Key words:** emulsification pretreatment; corn gluten meal; acidic protease; hydrolysis

中图分类号: TS210.9 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306 (2006) 10-0103-03

玉米蛋白粉含有 40%~60% 的蛋白质, 主要为醇溶蛋白 (zein, 68%)、谷蛋白 (glutelin, 22%)、球蛋白 (globulins, 1.2%) 和白蛋白 (albumin)。长期以来, 玉米蛋白粉或自然排放或作为饲料廉价出售。我国每年随废液排走的玉米蛋白质高达 8 万 t, 不仅污染了环境, 而且造成了蛋白资源的巨大浪费。用酶解方法将玉米蛋白转化为氨基酸或寡肽是回收利用玉米蛋

白的重要途径。但由于氢键、疏水键和二硫键等作用, 天然玉米蛋白肽链卷曲成紧密球状, 很难被酶水解。碱性蛋白酶的水解能力强, 但一般需要加碱液稳定 pH 才能保证其最佳反应条件, 这不但影响水解物品质, 也增加产物的分离难度。为此, 在前期研究中, 曾对不加碱液稳定 pH 情况下酸性蛋白酶水解玉米蛋白粉做过尝试, 并通过水热预处理使玉米蛋白粉酶解 24h 的降解率达到了 40.2%<sup>[1]</sup>。但在加碱液稳定 pH 情况下用 Alcalase 碱性蛋白酶可使同样的玉米蛋白原料降解率达到 80% 以上。为了进一步提高酸性蛋白酶的水解效果, 本文研究了高速剪切乳化预处理的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

玉米蛋白粉 长春大成玉米有限公司; 酸性蛋白酶 食品级(酶活力 50000u/g), 北京东华强盛生物技术有限公司产。

752N 型紫外可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; BME-100L 型高速剪切混合乳化机 上海威宇机电制造有限公司; pHS-2 型精密酸度计 上海雷磁仪器厂; 80-1 型台式离心机 江苏省金坛市医疗仪器厂; S01 型超级恒温水浴 上海市实验仪器厂; 250mL 水夹套式三口玻璃发酵罐 自加工; 78-1 型磁力搅拌器 国华电器有限公司 SA-CP3 离心粒度仪 日本。

### 1.2 实验方法

1.2.1 高速剪切乳化预处理 将适量玉米蛋白粉加入少量水, 在不同转速下高速剪切乳化 1h, 乳化液在 50℃ 烘箱内烘干备用。

1.2.2 酶解反应 按干基含量称取一定量上述乳化处理过的玉米蛋白粉, 在带水夹套的发酵罐(置于磁力搅拌器上)中进行酶解反应。在发酵罐上安装 pH

收稿日期: 2006-03-06 \* 通讯联系人

作者简介: 郭维静 (1980-), 女, 硕士生, 研究方向: 生物酶催化。

计电极观测 pH 变化。水解结束后,水解液经过高温灭活(90℃下加热 15min),在 4000r/min 的条件下离心 10min,取适量上清液供分析用,同时小心取出全部残渣经充分干燥后用于测定原料降解率 HR。

$$HR = (\text{底物投料量} - \text{剩余残渣量}) / \text{底物投料量}$$

### 1.3 蛋白质水解度(HD)测定<sup>[2,3]</sup>

将水解液在 4000r/min 下离心 10min,取 5mL 上层清液,用 0.1mol/L 的 NaOH 溶液滴定到 pH=8.2,加入 5mL 37% 的甲醛溶液(所用甲醛溶液先用 NaOH 滴定到 pH=8.2),再用 0.1mol/L 的 NaOH 滴定到 pH=8.2。记录加入甲醛溶液后,水解液滴定到 pH=8.2 所耗碱量,pH 测量使用精密 pH 计。然后按照下式计算蛋白质的水解度:

$$\text{水解度 (HD)} = \frac{\text{蛋白水解后所耗碱量} - \text{蛋白不经水解所耗碱量}}{\text{蛋白彻底水解所耗碱量} - \text{蛋白不经水解所耗碱量}}$$

其中,玉米蛋白彻底水解的方法是将玉米蛋白在 6mol/L HCl 中于 105~110℃下水解 24h。

## 2 结果与分析

### 2.1 无预处理时酸性蛋白酶的水解效果

本实验中采用的酸性蛋白酶活力为 50000u/g,比我们前期研究中<sup>[1]</sup>采用的酸性蛋白酶(3000u/g)活力高。在此酸性蛋白酶的存在下,考察了水解温度、水解时间、底物浓度及酶与底物比对水解的影响。从表 1~表 4 可见,所采用的酸性蛋白酶对原料的降解率 HR% 随水解温度、酶与底物比和水解时间的升高都是提高的,但底物浓度从 40g/L 增加到 80g/L 时 HR% 略有增加,底物浓度过大(如,达到 120 g/L)时则 HR% 明显减小。另一方面,蛋白质水解度 HD% 随着酶与底物比和水解时间以及底物浓度的增加而增加,但水解温度从 45℃增加到 55℃时 HD% 有所增加,而水解温度增加到 60℃时 HD% 又有所减小。在考察的四因素中,酶与底物比和水解时间的影响显著。对比发现,在相同水解条件下(底物浓度 80g/L,温度 55℃,酶与底物比为 8%,水解时间为 60min),采用高活力酸性蛋白酶时可使未经过任何处理的原

表 1 温度对酸性蛋白酶的影响  
(酶与底物比 5%, 底物浓度 80g/L, 60min)

温度(℃)	HD (%)	HR (%)
45	7.50	15.74
50	7.79	16.02
55	8.46	16.98
60	8.23	17.94

表 2 底物浓度对酸性蛋白酶水解的影响  
(酸性蛋白酶与底物比 5%, 温度 60℃, 60min)

底物浓度(g/L)	HD (%)	HR (%)
40	7.94	16.31
60	8.19	16.43
80	8.46	17.94
120	8.68	13.56

表 3 酶与底物比对酸性蛋白酶水解的影响

(底物浓度 80g/L, 温度 55℃, 60min)

E/S (%)	HD (%)	HR (%)
0	1.91	4.53
2	5.59	13.56
5	11.25	19.87
8	13.09	22.48

表 4 时间对酸性蛋白酶水解的影响

(温度 60℃, 底物浓度 80g/L, 酶与底物比 10%)

时间(h)	HD (%)	HR (%)
1	16.99	22.72
2	20.59	27.72
4	25.08	32.31
8	31.25	39.81

料的 HR% 达到 22.48%, HD% 达到 13.09%, 该结果明显高于我们前期用低活力酸性蛋白酶所得到的结果(HR% 为 14.41%, HD% 为 4.89%)。

### 2.2 高速剪切乳化预处理对提高酸性蛋白酶水解效果的作用

采用上述高活力酸性蛋白酶,主要考察了不同转速下剪切乳化预处理效果。其中乳化时间为 60min,未经任何处理的玉米蛋白粉过 40 目分子筛,乳化后的玉米蛋白粉用离心粒度仪测定颗粒平均直径,水解条件为 55℃, E/S=5%, 底物浓度为 80g/L, 水解时间为 1h, 结果见表 5。由表 5 中的实验结果可见,高速剪切乳化预处理能够显著减小底物的颗粒度,同时明显改善酸性蛋白酶对玉米蛋白粉的水解效果。底物颗粒度随着乳化机转速的提高而降低, HR% 和 HD% 值随着乳化机转速的提高而增大。当乳化机转速达到 7000r/min 时,酸性蛋白酶在 1h 的水解时间内使玉米蛋白粉的 HR% 达到了 27.52%, 蛋白质 HD% 达到了 13.53%, 分别较未高速剪切乳化预处理情况下提高 10 个百分点和 5 个百分点以上。

表 5 不同转速乳化后酸性蛋白酶水解的影响

转速(r/min)	颗粒平均直径(μm)	HD (%)	HR (%)
0	420.00	8.46	17.94
3000	16.18	12.57	25.64
5000	12.98	12.97	26.31
7000	10.38	13.53	27.52

### 2.3 正交实验

在单因素实验结果基础上,针对高速剪切预处理原料(7000r/min, 1h)设计了底物浓度、酶与底物比和水解温度的三因素四水平正交实验,实验结果见表 6。从正交实验结果表中的 R 值可以看出,各因素对水解程度影响的大小顺序为:酶与底物比>温度>底物浓度。各因素对降解率影响的大小顺序为:底物浓度>酶与底物比>温度。因此,根据正交实验得出的在使用高速剪切乳化预处理蛋白粉原料(7000r/min, 1h)的情况下水解条件组合为:底物浓度 80g/L, 酶

表 6 正交实验结果

实验号	A 底物浓度(g/L)	B 酶与底物比(%)	C 温度(℃)	HD(%)	HR(%)	
1	1(60)	2(4)	3(55)	10.44	25.89	
2	3(120)	4(10)	1(45)	19.07	25.05	
3	2(80)	4	3	21.62	28.77	
4	4(160)	2	1	9.23	18.90	
5	1	3(8)	1	16.96	26.45	
6	3	1(2)	3	6.67	19.96	
7	2	1	1	6.10	17.86	
8	4	3	3	16.88	17.28	
9	1	1	4(60)	7.16	21.22	
10	3	3	2(50)	19.31	20.11	
11	2	3	4	17.94	27.88	
12	4	1	2	6.30	14.93	
13	1	4	2	20.59	23.05	
14	3	2	4	11.03	22.54	
15	2	2	2	10.55	24.78	
16	4	4	4	21.21	22.98	
K 值	A		B		C	
	HD	HR	HD	HR	HD	HR
K <sub>1</sub>	55.15	96.88	26.23	73.97	51.36	88.26
K <sub>2</sub>	56.21	99.29	41.25	83.07	56.75	83.14
K <sub>3</sub>	56.08	87.66	71.09	92.70	55.61	91.90
K <sub>4</sub>	53.62	74.09	82.49	92.89	57.34	94.62
R	2.59	25.20	56.26	18.92	5.98	11.48

与底物比 10% ,温度 60℃。但正交实验的水解时间只有 1h ,考虑到酸性蛋白酶在较高温度下长时间使用有可能发生变性失活问题 ,因此在正交实验的基础上 ,本文又在底物浓度 80g/L ,酶与底物比 10% 和水解温度分别为 50、55、60℃情况下考察了长时间水解的实际效果。由图 1、图 2 可以看出 ,原料经过乳化预处理的水解反应效果都好于原料未预处理的水解反应。但是在两种情况下都可以看到 ,虽然水解初期较高水解温度比较有利 ,但当水解反应进行几小时后 ,采用较高温度的水解反应原料降解率 HR% 都低于采用较低温度的水解反应。这说明所采用的酸性蛋白酶在高水解温度下的变性失活问题是非常明显的。为了获得原料的高降解率 ,延长水解时间是可行的办法。但延长水解时间只有在采用较低水解温度 ,从而保持酶活性的情况下才有明显意义。本文在水解温度为 50℃ ,底物浓度为 80g/L ,酶与底物比为 10% 条件下用高速剪切预处理的原料 ,经过 24h 水解反应得到的水解效果最好 :HR% 值达到 70.19% ,HD% 值达到 58.64%。

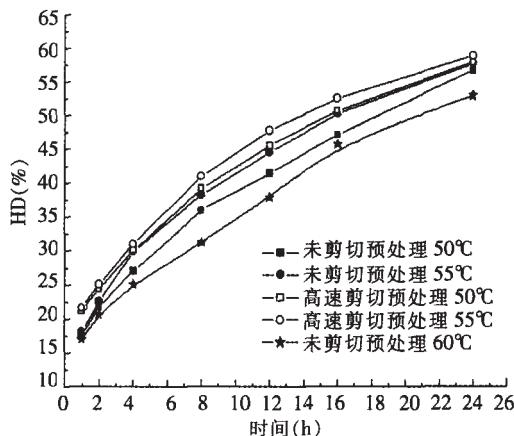


图 1 HD 随时间变化曲线

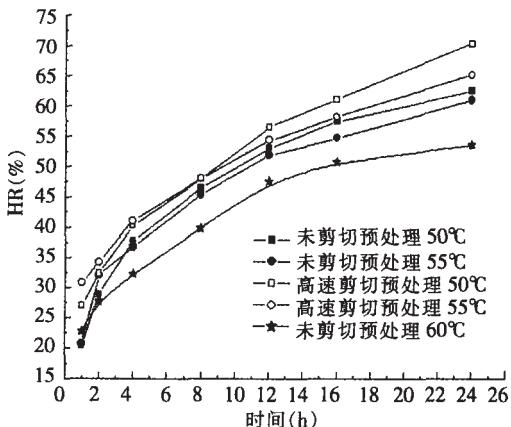


图 2 HR 随时间变化曲线

### 3 结论

利用高速剪切乳化方法在 7000r/min 下预处理玉米蛋白粉 1h ,可使玉米蛋白粉的颗粒度降到 10μm 左右。在此情况下 ,采用酶活力为 50000u/g 的酸性蛋白酶在 50℃ ,酶与底物比 10% ,底物浓度 80g/L 和水解时间 24h 的水解条件下 (不加碱维持水解液的 pH ) ,将玉米蛋白粉的降解率和蛋白质水解度分别提高到 70.19% 和 58.64%。

### 参考文献 :

- [1] 王红菊,郭维静,郭洪臣. 一种提高玉米蛋白水解度和降解率的方法[J]. 食品科技, 2005(6):92~95.
- [2] Alder-Nissen J. Enzyme Hydrolysis of Food Protein [M]. London: Elsevier , 1986.
- [3] 北京师范大学生物系生物化学教研室.基础生物化学实验 [M].北京:高等教育出版社,1982.121~123.

欢迎订阅《食品工业科技》  
邮发代号 2-399