

文章编号:1673-1689(2005)04-0104-07

## 酶制剂在蛋白质加工行业的应用

段 钢, 赵振锋, 钱 莹

(无锡杰能科生物工程有限公司, 江苏 无锡 214000)

**摘 要:** 蛋白质的加工是食品行业中发展最快的领域之一, 蛋白质加工的主要用酶是蛋白质水解酶。以蛋白质加工和研究的几个热点领域, 如大豆分离蛋白、米蛋白、谷朊蛋白等为例, 对酶制剂在蛋白质加工中的应用进展情况进行了回顾并对未来发展进行了展望。

**关键词:** 酶制剂; 蛋白质; 分离蛋白; 米蛋白; 谷朊蛋白

**中图分类号:** Q 55

**文献标识码:** A

## Enzyme Application in the Protein Processing Industries

DUAN Gang, ZHAO Zheng-feng, QIAN Ying

(Genencor International Asia Pacific Pte Ltd, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Protein processing is one of the fastest growing sectors in food industry. The majorities of the enzymes applied to this field are proteases, which can be used for protein extracting or modification. With soy isolating protein, rice protein and gluten processing as the examples, the enzyme applications, especially the application of proteases in protein processing industry was reviewed in this article.

**Key words:** enzymes protein; protein isolate; rice protein; gluten

蛋白质作为一种传统营养源和食品原料, 一直在食品加工行业中占有重要地位。特别是近年来, 随着经济和技术的发展, 蛋白质加工领域中的新工艺、新产品、新技术不断涌现, 蛋白质加工是当今食品行业中发展最快的领域之一。

酶是一种生物催化剂。随着生物技术, 特别是基因工程的出现和发展, 酶技术也发生着革命性的变化, 新特性、新种类的酶不断出现, 新的应用领域不断拓展, 成为推动食品工业快速发展的“催化剂”。

当前, 蛋白质行业中实际应用的酶主要是蛋白质水解酶。蛋白酶种类很多, 有很多种分类方式, 如

按照催化反应的种类, 可以将其分为: 内切酶和外切酶。而对于工业上的商业用酶, 根据其反应 pH 值的差异, 将其分为酸性蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶等<sup>[1]</sup>, 表 1 是当前常用的一些商业用酶<sup>[1,2]</sup>。

### 1 酶技术在蛋白质行业中的应用

酶在几乎所有的蛋白质加工行业都有应用。下面结合蛋白质加工和研究的几个热点领域, 对酶技术在蛋白质行业中的应用情况作个介绍。

表 1 工业上常用的蛋白酶种类和应用特性

Tab. 1 The common proteases and their applications in industries

收稿日期: 2005-03-11; 修回日期: 2005-06-13.

作者简介: 段钢(1964-), 男, 辽宁沈阳人, 工学博士, 杰能科国际亚太高级技术经理。

| 名称                      | 来源                                           | 应用<br>pH 值 | 应用<br>温度/℃ |
|-------------------------|----------------------------------------------|------------|------------|
| 细菌碱性蛋白酶                 | 地衣芽孢杆菌( <i>Bacillus Licheniformis</i> )      | 7~10       | 25~70      |
| 537 酸性蛋白酶等              | 宇佐美曲霉( <i>Aspergillus usamii</i> )           | 2~4        | 30~50      |
| 中性蛋白酶                   | 解淀粉芽孢杆菌( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ) | 6~8        | 10~65      |
| 真菌蛋白酶(又称内/外切混合肽酶,风味酶等)  | 米曲霉( <i>Aspergillus oryzae</i> )             | 3~6        | 25~60      |
| Fromase(一种真菌蛋白酶,具有凝乳功能) | <i>Rhizomucor miehei</i>                     | 3~6        | 10~50      |
| 胃凝乳蛋白酶                  | 牛胃( <i>calf abomasum</i> )                   | 3~6        | 10~50      |
| 胰蛋白酶                    | 牛或猪的胰腺( <i>Ox or pig pancreas</i> )          | 7~9        | 10~55      |
| 木瓜蛋白酶                   | 木瓜( <i>Carica papaya</i> )                   | 5~7        | 60~75      |
| 无花果蛋白酶                  | 无花果( <i>fig latex</i> )                      | 6~8        | 20~50      |
| 菠萝蛋白酶                   | 菠萝( <i>pineapple</i> )                       | 5~8        | 30~45      |

1.1 大豆分离蛋白加工领域

分离蛋白是大豆的深加工产品之一. 近年来刚刚出现,但其市场扩展很快,市场年增长率超过15%以上. 由于分离蛋白主要设备和技术已经实现国产化,所以也是近年来国内的投资热点之一. 目前,国内有数十家分离蛋白厂家上马或投产,并且大多都在年产量万吨以上.

然而伴随的是,国内生产厂家大多技术力量薄弱,除少数几家外,产品种类单一,主要以凝胶型分离蛋白为主,目标市场只能局限于肉制品行业的乳化型肉制品,其竞争力受到很大局限.

酶制剂的发展,为产品功能的改进开辟了新的发展空间,其需要的设备简单,大多数大豆分离蛋白厂家设备不需要大的调整就可以生产多种高增值产品,是分离蛋白厂家扩展竞争力、提高生存能力的一条方便之路.

根据市场需求,通过不同蛋白酶的选择、工艺条件和水解程度的调整,就可以开发生产多种具有不同功能特性的产品. 表 2 是当前市场上较为常见的一些分离蛋白产品的种类.

1.1.1 注射型分离蛋白 产品用于整块肉制品的注射用盐渍液中,可以减少肉制品的蒸煮损耗,提高肉制品的弹性和切面质量. 由于产品通常添加量比较小,在质量分数 3% 以下,所以对苦味可以不作严格控制.

万方数据

表 2 当前市场上主要分离蛋白种类特点、价格和差别  
Tab.2 The characteristics prices, and differences of the isolating proteins in the current market

| 产品<br>种类 | 产品<br>特性                | 市场价格/<br>元/t            | 水解<br>程度           |
|----------|-------------------------|-------------------------|--------------------|
| 凝胶型分离蛋白  | 高粘度,高持水、持油能力            | 17 000                  | 水解程度增加,相对分子质量持续减少↓ |
| 注射型分离蛋白  | 粘度低,保持一定凝胶性能,起泡性低,盐溶性能. | 20 000                  |                    |
| 乳制品用分离蛋白 | 更低粘度,低苦味、低 NaCl 含量      | 55 000,(以杜邦的索宝 670 为标准) |                    |
| 多肽       | 分子量处于一定范围,口味好           | 1 000 ~ 3 000           |                    |

该类产品要求具有较低的粘度,同时,要求控制起泡性的升高和凝胶性的减弱在一定范围内.

粘度大小通常主要由蛋白质相对分子质量决定,相对分子质量越大,粘度就越大. 80% 大豆蛋白相对分子质量在 10 万以上,具有较高的粘度<sup>[3]</sup>. 如果直接应用于肉制品的注射腌渍液,就会堵塞针头,造成应用上的困难. 对分离蛋白进行有限酶解处理,降低其相对分子质量分布,可以使其粘度得到降低.

起泡性和凝胶性能也是大豆蛋白质的两个重要性能. 起泡性主要由分子表面亲水基团和疏水基团的比例决定. 对于未变性的大豆蛋白,蛋白质分子具有完整的结构,在水溶液中,分子表面为亲水基团,疏水基团被包括在分子中心,所以起泡性能较低. 用蛋白酶对大豆蛋白进行水解,随着蛋白质的水解,疏水基团就会暴露出来,起泡性会随之增加. 在一定的水解度下达到最高值,然后因为相对分子质量持续降低,形不成稳定的泡沫,起泡性会持续降低. 在肉制品中使用,泡沫过多会造成生产的不便.

大豆蛋白具有热凝胶性能,在一定 pH 值、浓度条件下,对大豆蛋白进行加热处理,大豆蛋白中的蛋白质分子进行解聚,形成线状大分子结构,疏水基暴露出来;冷却后,疏水基团相互作用,形成网状结构. 分离蛋白的热凝胶性能随着水解度的提高而持续降低. 分离蛋白保持一定的凝胶性,可以提高最终肉制品产品的弹性和切片质量、降低其蒸煮损耗.

生产中,还可以在其表面喷涂卵磷脂,提高其复水性能.

1.1.2 乳制品用分离蛋白 普通的乳制品中蛋白

含量比较低,在其中添加分离蛋白具有良好的市场前景;同时,从营养学上讲,大豆蛋白含有人体所需的各类必需氨基酸,是一种完全蛋白质。1999年美国FDA已经正式认可大豆蛋白的保健功能,对其降胆固醇功效进行了认定<sup>[4]</sup>,是一种良好的保健原料。

国外的许多配方乳产品和保健品都含有分离蛋白原料,如安利纽崔莱的蛋白质粉和一些配方乳粉等等。近年来,国内也有很多厂家生产类似产品,但由于国内乳制品用分离蛋白产量少、质量不高,产品品质还不能达到进口产品水平,质量还需要得到进一步提高。

用蛋白酶对分离蛋白进行水解,一方面,可以使其溶解性、粘度等性能符合乳制品、固体饮料类的产品要求。如在乳制品添加用分离蛋白要求粘度低,无异味,溶解度高,不溶性固体低于一定指标;另一方面,酶解分离蛋白具有更高营养价值。除消化率升高外,还具有抗氧化、清除体内自由基功能<sup>[5]</sup>。

用酶法生产乳制品分离蛋白,一方面提高溶解度,控制粘度的降低;一方面要控制苦味的产生。一般控制酶解水解度(DH)在10%~20%左右<sup>[6]</sup>。另外对于固体饮料用分离蛋白产品,产品还要求具有良好的冲调性能,需要对蛋白进行速溶化处理,如表面喷涂磷脂、附聚造粒等。

**1.1.3 其他功能型分离蛋白产品** 分离蛋白在食品中的广泛应用,主要在于其良好的功能性能。在酶解过程中,分离蛋白的功能特性,如溶解性、粘度、起泡性、乳化型、凝胶性、持水性、持油性都会产生变化。上面介绍的两种分离蛋白是目前市场上应用的相对比较广泛的酶解蛋白种类。根据市场需求,对分离蛋白进行有限酶解,选择不同的酶的种类,采用不同的酶解条件,也可以开发其他不同功能性的产品,如酸溶性分离蛋白、高起泡型分离蛋白、高乳化型分离蛋白等等。

目前,对起泡性和乳化性方面的性能改善研究较多。目前已经确证<sup>[7]</sup>,如果制备具有高乳化能力或高起泡能力的分离蛋白,DH最高只能控制在5%左右。当DH超过5%时,乳化能力和起泡能力都会大幅降低。同时,研究<sup>[7,8]</sup>也证明,地衣芽孢杆菌发酵生产的碱性蛋白酶在改善功能性方面具有更好效果,其原因可能在于用碱性蛋白酶进行水解,能产生更高含量的非终端疏水性氨基酸,这能够提高泡沫稳定性和乳化稳定性。

酸溶性分离蛋白(ISSPH)是一种新的功能型  
万方数据

分离蛋白产品,是指在分离蛋白等电点仍然能够溶解的蛋白水解产物。这种蛋白可以用在酸性饮料中,未来发展具有广大的市场空间。生产ISSPH,相对其他功能型产品,分离蛋白需要更高的水解度<sup>[6,7]</sup>。另一方面,在饮料行业中应用,对苦味的控制要求较高。

**1.1.4 大豆多肽** 大豆多肽是一种新型的保健品原料,近年来也是市场上的消费热点之一。多肽是指由3~6个氨基酸构成,相对分子质量低于1000的低肽混合物,具有生物活性的多肽相对分子质量通常在300~700之间<sup>[9]</sup>。

多肽对比大豆蛋白,具有低过敏特点<sup>[2]</sup>,由于相对分子质量小,人体吸收率高,可以被人体直接吸收;另外,还具有降胆固醇、降血压、能使人迅速恢复体力并提高耐力等保健功能<sup>[10]</sup>。同时,大豆多肽还具有高溶解度、酸溶性、低渗透压,高稳定性等应用特性<sup>[9]</sup>。良好的性能,保证了产品具有广大的市场应用前景。

多肽的生产关键在于酶解的控制和后期处理。酶解的控制一方面是酶的种类的选择,保证酶解彻底均匀,同时尽量减少苦味物质的产生。另一方面,控制大豆多肽的相对分子质量位于一定范围,相对分子质量的分布情况,决定了产品的品质和价格高低。后期处理目前通常用膜技术或溶剂方法进行处理,使多肽的相对分子质量分布更加均匀,一些高质量的多肽产品还需要进行脱苦、脱盐等工艺对多肽进行加工。

对大豆多肽进行研究的比较多。张国胜等<sup>[11]</sup>对比了不同种蛋白酶(AS1398中性蛋白酶、米曲霉发酵生产的肽酶、碱性蛋白酶和复合蛋白酶)制备多肽的抗高血压活性。研究表明,水解度和ACE(血管紧张素转换酶)的抑制无显著关系,同时研究也表明,AS1389中性蛋白酶水解产物的活性达到最高。吴建中等<sup>[12]</sup>用复合蛋白酶对分离蛋白进行酶解处理,研究表明,复合蛋白酶对分离蛋白的水解过程是个不均匀的过程,尽管经过了长时间的水解过程,水解度DH(Degree of Hydrolysis)达到11.6%,水解液中仍然含有大量的蛋白质大分子。刘光辉<sup>[13]</sup>用碱性蛋白酶制备多肽产品,水解度达到14.5%,产品中相对分子质量小于1000的多肽含量达到约72.1%;不同研究者<sup>[14,15]</sup>通过不同种酶的组合,都证明对蛋白酶复合使用,可以提高水解度、降低苦味。刘通讯<sup>[16]</sup>等人先用碱性蛋白酶和中性蛋白酶复合对分离蛋白进行水解,然后米曲霉发酵生产的肽酶进一步水解,证明分步水解效果好于单步水

解,产品多肽含量相对单步水解约高12%。

当前,国内已有多家大豆多肽生产厂家,如武汉天天好生物制品有限公司、山东中食都庆生物技术股份有限公司、哈尔滨乐能生物股份有限公司、哈高科大豆食品有限责任公司等,产品价格从25 000元/t到80 000元/t都有,产品的主要差别在于产品中多肽组分含量的多少和其他杂质的含量,多肽组分最低的只有35%,多的达到80%以上。

## 1.2 米蛋白

大米是一种优质的蛋白源,具有高赖氨酸、高生物价、高消化效率等特点。大米蛋白有广义和狭义之分,广义的定义,米糠蛋白、稻壳蛋白也算作大米蛋白,狭义的定义,大米蛋白主要是指大米本身所含有的蛋白质成分。目前研究比较多的主要为大米蛋白和米糠蛋白。

大米蛋白具有低过敏性特点,美国曾进行过临床研究,在700个遗传性过敏症的案例中,只有不到1%的高度过敏性病人对大米蛋白过敏<sup>[17]</sup>。而米糠蛋白除具有抵抗原特点外,同时还具有一定的抗癌功效<sup>[18]</sup>。两者都是优质的婴儿食品及保健食品原料。

大米本身蛋白质质量分数只有9%左右,单独进行米蛋白的提取,缺乏商业价值。而大米作为工业发酵和淀粉糖的传统生产原料,每年产生很多米渣,这些米渣中蛋白质质量分数达到40%~65%;另外,每年稻谷加工,产生大量米糠(占稻米质量7%),这些米糠(脱脂后)中蛋白质质量分数为18%左右。这些都是蛋白质提取的良好原料,当前,国内的米渣蛋白和米糠蛋白都主要用在动物饲料中,价值没有得到充分利用,资源也造成了浪费。

大米蛋白主要由水不溶性蛋白质构成(含有质量分数70%的谷蛋白,质量分数10%的醇溶蛋白);而米糠蛋白中虽然含有质量分数35%左右的水溶蛋白质,但在脱脂稳定过程中,热处理使其溶解度降低很多。这些都造成了蛋白质提取和应用的困难。利用酶技术进行处理,就可以成功地解决这些问题。

**1.2.1 大米蛋白的提取** 对大米蛋白进行提取,可以生产大米浓缩蛋白(蛋白质质量分数40%~65%)、大米分离蛋白(蛋白质质量分数90%以上)。传统的提取方法为碱溶酸沉方法,这种方法,一方面颜色深,收率低,对氨基酸破坏大;另一方面,还会产生一些有毒物质。而酶作用温和,加工过程中不产生有害物质,可以避免传统方法的缺点,是行业未来发展的方向。

万方数据

用酶技术进行大米蛋白的提取,主要通过两种途径。一种是蛋白酶水解方法,对米渣或其他原料中水溶性成分通过水洗方式进行去除,然后添加蛋白酶,对蛋白质进行水解,大米蛋白在蛋白酶作用下,相对分子质量降低,溶解度提高。这种工艺可以把蛋白质的提取和改性结合起来,目前研究的比较多。其中所用的蛋白酶种类很多,包括酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶等都有人进行研究。王文高等<sup>[19]</sup>对比了米曲霉发酵生产的肽酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶的提取效果,研究表明,肽酶提取效果较差,碱性蛋白酶和中性蛋白酶水解大米蛋白,水解度达到6%时所需要的时间分别为50 min和150 min,碱性蛋白酶的提取率高于中性蛋白酶的提取率。顿新鹏等<sup>[20]</sup>分别用2709碱性蛋白酶、枯草杆菌碱性蛋白酶、枯草杆菌ASI1398中性蛋白酶、胰酶、胃蛋白酶等对米渣蛋白进行了提取,实验证明当底物质量分数为8%,酶与底物比值为5,水解5 h后,胃酶、中性酶、碱性酶A和碱性酶B对米渣蛋白的提取率均为50%左右,水解度也都小于10%,而胰酶对米渣蛋白的提取率为77.24%,水解度达到了21.80%,在5种酶中作用效果最好。对胰酶的提取工艺进行优化,最终提取率达到83.02%。黄绍华等<sup>[21,22]</sup>用胃蛋白酶和537酸性蛋白酶来提取米渣蛋白,提取率分别达到72.39%和71%。

另外一种排除法提取大米蛋白,利用纤维素酶、脂肪酶、戊聚糖酶、淀粉酶、糖化酶的作用,将原料中的其他非蛋白组分进行水解,溶解到水中,从而不溶性大米蛋白得以分离。王亚林<sup>[23]</sup>等人利用纤维素酶处理米渣蛋白,结合酸洗工艺,最终产品蛋白质含量达到86.8%。刘骥等人<sup>[24]</sup>对比了碱-蛋白酶两步法、水溶液洗涤法、非淀粉酶法(纤维素酶、木聚糖酶等)、淀粉酶法4种方法对米渣蛋白的提取效果,试验表明,淀粉酶法在制备大米浓缩蛋白时纯度最高,非淀粉酶法次之,碱-蛋白酶提取方法效果最差。

这两种蛋白提取工艺各有特点,但两者也并不是孤立的,结合使用,往往能达到更好的提取效果。比如,可以在初期阶段利用排除法,尽可能去除非蛋白杂质,在后期用蛋白酶的方法进行处理,从而最终产品纯度达到更高。也可以在用蛋白酶处理后,再结合碱溶酸沉的蛋白特性,对蛋白质进一步提纯,用于生产大米分离蛋白等高端产品。

而对于米糠蛋白,由于米糠中含有大量的纤维成分,这些纤维组分对蛋白起着束缚作用,从而限

制了蛋白的提取<sup>[25]</sup>。王章存等<sup>[26]</sup>对酶法提取米糠蛋白进行了研究,研究表明,利用纤维素酶、木质素酶和植酸酶可显著提高米糠蛋白的提取效果,结合均质和粉碎处理工艺,蛋白质得率达75%,最终产品蛋白质质量分数达到92%。同时,蛋白酶对于米糠蛋白提取液也效果明显,当蛋白水解度为10%时,蛋白提取率可以达到约92%。Tang<sup>[27,28]</sup>等人研究了 $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶以及各种物理处理方式对米糠提取的影响,试验证明 $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶都能显著提高米糠蛋白的提取率,两种酶复合使用,提取率达到约66.6%,在另一份报告中,用果胶酶和蛋白酶复合使用,提取率达到了约80%。同时在试验中也证明,超声波处理和提取前的浸泡搅拌对米糠蛋白的提取率都具有提高作用。

**1.2.2 大米蛋白的改性** 蛋白产品在食品中的应用,主要是利用其功能性,来提高产品品质。其价值的高低和应用范围也取决于其功能性能。如冲剂产品中要求蛋白原料具有良好的溶解性能,乳化型肉制品中要求蛋白原料具有良好的乳化性、持水性、持油性、凝胶性能等。

大米蛋白在功能性上具有先天的缺陷,由于主要由水不溶性谷蛋白和醇溶蛋白组成,所以产品溶解度很低。米糠蛋白也存在同样问题,由于存在较多的二硫键和表面疏水性氨基酸残基,在中性条件下溶解度也很低<sup>[29]</sup>。所以,在食品中应用,必须先进行改性处理。

利用蛋白酶对大米蛋白进行有限水解,相对分子质量减少的同时,可释放出一定的羧基和氨基,增大分子本身极性,溶解度得以提高,同时其乳化性能、起泡性能等也随之得到改善。

以溶解度为指标,王章存<sup>[30]</sup>对比了碱性蛋白酶、中性蛋白酶和一种复合酶的水解效果,证明碱性蛋白酶水解效果最佳。同时,也证明了,米蛋白的溶解性、乳化性、发泡性达到最大值需要不同的水解度。通过调整不同水解度,就可以生产不同类型的功能型产品。李雁群等<sup>[31]</sup>用AS1398中性蛋白酶对米渣蛋白进行水解试验,研究了水解度和发泡性之间的关系,证明9%的水解度可以获得最佳的发泡性能。王文高等<sup>[32]</sup>用米曲霉发酵生产的肽酶对大米蛋白进行改性处理,研究表明,溶解度随着水解度的增加而增加,水解度越大,溶解度也越大;大米蛋白水解度在15%时,乳化性能达到最高值;乳化稳定性在水解度为11%时最高;而其起泡性的最高值出现在水解度为11%时。

米糠蛋白的应用主要侧重于产品的营养功能  
万方数据

方面,对其理化功能改性的研究相对较少。金世合<sup>[33]</sup>等用一种复合酶对米糠蛋白进行了水解研究,水解度增加,溶解性提高。在水解度达到9%时,在pH 2~6条件下的溶解度达到了40%以上,乳化活性在水解度为4%时达到最大。

对大米蛋白进行深度水解,控制其水解度和相对分子质量范围,就可以生产大米多肽。有资料<sup>[34]</sup>介绍,大米多肽具有抑制血管紧张素转换酶(ACE)的作用,具有降低高血压的功能。Takahashi等报道用胰酶水解大米可溶性蛋白后,获得一种由9个氨基酸组成的小分子活性肽(Oryzatensin),它具有引起豚鼠回肠收缩、抗吗啡和免疫调节活性。另Yoshiyuki等报道将黄酒加工的副产物大米酒糟水解后,从中分离获出9种具有ACE抑制活性的肽,其中Arg-Tyr与Ile-Tyr-Pro-Arg-Tyr以100 mg/kg的剂量灌喂SHR老鼠30 h后仍有降压效果<sup>[20]</sup>。

同大豆蛋白类似,对大米蛋白进行水解,也会产生苦味。并且水解度越大,暴露出疏水基团越多,苦味越大。而水解程度太低,也往往达不到相应的功能性能或营养要求。所以必须根据具体产品的要求选择设计相应的酶解工艺和条件。

### 1.3 小麦蛋白

小麦是我国的主要农作物之一,小麦蛋白也是传统的一种蛋白原料,每年的生产和消耗量都很大。当前,小麦蛋白的主要产品形式是谷朊粉,每年产量达到500 000t。

小麦蛋白虽然也具有一定的功能性,如吸水性、吸油性等,但是,小麦蛋白主要有麦谷蛋白和醇溶蛋白构成,含有较多的疏水性氨基酸,分子内疏水区域较大,在实际应用中,谷朊粉溶解度低,乳化性差,在水中很快形成一个一个小面筋球<sup>[35]</sup>,这些特性限制了小麦蛋白在食品中应用面的扩展。

通过蛋白酶酶解手段,可以改变小麦蛋白的功能特性,适应食品行业对蛋白原料的不同需求,扩展其应用范围。同时也可以开发大麦多肽产品,提高产品营养和商品价值。

对谷朊粉的酶解研究并不很多,Motoi等<sup>[36]</sup>人对谷朊粉的工艺条件进行了研究,研究表明对谷朊粉酶解前用酸对其进行脱酰胺处理,可以提高多肽得率和起泡性能。国内郑州工程学院对小麦蛋白的酶法改性作了一些研究工作。齐军茹<sup>[37]</sup>等用中性蛋白酶AS1398对谷朊粉进行水解,获得最佳水解条件为:底物质量分数10%,酶质量分数0.05%,pH值7.0,温度35℃,水解1 h,在此条件下,水解度达到1.74%。所得的谷朊粉水解液功能性能具有显著

改善,溶解度由6.15%提高到59.4%,乳化度由3.6%提高到56.6%,起泡性由50 mL提高到260 mL。

市场上目前已经有谷朊粉水解产品。武汉一家公司利用生物酶解技术,通过控制不同酶解程度和工艺条件,对小麦蛋白进行改性处理,产品具有水溶性高、乳化性强、热稳定性强等特点,产品已经形成系列化,可以在植脂末、酸奶及乳制品、肉制品、冰淇淋、油炸食品、饮料、酱料、化妆品等产品中应用,扩展了小麦蛋白的应用范围。

## 2 酶解蛋白的苦味问题

对于酪蛋白、马铃薯蛋白、大豆蛋白、大米蛋白、大米蛋白和小麦蛋白进行酶解,都会出现苦味。酶解蛋白的苦味问题,是其在食品中扩展应用的主要障碍。

酶解蛋白的苦味主要与蛋白中的疏水氨基酸有关<sup>[36]</sup>,在水解过程中,疏水氨基酸暴露出来,与舌上的味蕾接触,就会呈现苦味。蛋白中的疏水氨基酸含量越高,苦味越大。<sup>[38,39]</sup>

相对而言,氨基酸的苦味远小于多肽,研究<sup>[6]</sup>表明,苦味主要由相对分子质量6 000以下的多肽引起。Cho等<sup>[39]</sup>对市场上的多种酶解大豆分离蛋白产品进行分析,研究表明,苦味的大小主要决定于蛋白的水解度,苦味主要由1 000~4 000相对分子质量范围的多肽产生,相对分子质量低于1 000的多肽组分苦味相对小很多。

Matoba等人<sup>[7]</sup>研究表明,酶解蛋白中,疏水氨基酸是非末端氨基酸时,苦味最大。但在另一份研究中,Izawa等<sup>[40]</sup>人对酪蛋白和大豆蛋白的水解物用 *Aeromonas caviae* T-64 生产的氨肽酶进行水解,自由氨基酸比例增加,苦味大幅度降低,对这些水解产生的氨基酸进行分析,76%以上都是疏水氨基酸,从而证明苦味主要是由肽链末端的疏水氨基酸引起。尽管上述两个研究结果并不一致,但都充

分说明了,利用外切肽酶对酶解蛋白具有脱苦效果。

对酶解蛋白的脱苦,目前主要由4种途径<sup>[7]</sup>:

- 1) 类蛋白反应,指在一定条件下,采用蛋白酶催化蛋白质水解物或低聚肽混合物反应,生成一种不溶于水的弹性胶状蛋白类物质<sup>[41]</sup>;
- 2) 遮掩,不同研究者证实苹果酸、柠檬酸等一些有机酸、环状糊精、麦芽糊精、淀粉、果胶都有不同程度的脱苦效果<sup>[7,41]</sup>;
- 3) 选择性分离,苦味肽相对于其他多肽成分,含有较高的疏水基团,利用这种特性可以对苦味肽进行选择分离。所采用的手段包括:吸附剂吸附、有机溶剂萃取、等电点沉淀、色谱分离等<sup>[41]</sup>。目前工业上,主要用活性炭吸附方法,采用这种方法,虽然对苦味具有很大改善功效,但也会大幅度降低酶解蛋白得率,所以一般也只是在一些高增值产品中使用。
- 4) 通过酶的选择,特别是用一些外切肽酶对酶解蛋白进行处理。不同研究者也都证明,外切酶对于苦味减弱具有良好的效果<sup>[8,15,42]</sup>。另外也有一些研究表明,真菌蛋白酶相对其它酶,水解产物苦味要小一些,其原因可能在于真菌蛋白中含有的一些肽酶的作用。微生物蛋白酶中,酸性蛋白酶产生的水解物苦味相对最小。碱性蛋白酶苦味相对较大。目前采用外切酶的脱苦方法使用的最为常见,但这种方法使用不当也会造成产品中氨基酸比例过高,因此使用时也需要对水解度进行控制。

## 3 结论与展望

除上述领域外,其他领域如胶原蛋白的酶解、酶法生产动物水解蛋白(HAP)、酶法生产植物水解蛋白(HVP)等都是现今研究的热点或快速发展的领域。限于篇幅,不能一一介绍。随着酶技术的进一步发展,如耐高温蛋白酶,生料水解酶及其他新型酶种的出现,蛋白质加工领域从深度和广度方面都会产生新的提升,从而推动着食品业的新的的发展。

## 参考文献:

- [1] Wolfgang Aehle. *Enzymes in Industry: Production and Applications*[M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2004. 101-157.
- [2] Robert J Whitehurst, Barry A Law. *Enzymes in Food Technology*[M]. Sheffield: Sheffield Academic Press, 2002. 109-141.
- [3] 肖凯荣,曾庆孝,高孔荣. 大豆分离蛋白的酶法改性[J]. 食品科学,1995,16(9):30.
- [4] 刘志胜,李里特,辰巳英三. 大豆蛋白营养品质和生理功能研究进展[J]. 大豆科学,2000,19(3):263.
- [5] Junfeng Jun, Masayoshi Saito, Zhang Yanyan, *et al.* Gel-forming Ability and Radical-scavenging Activity of Soy Protein Hydrolysate Treated with Transglutaminase[J]. *Journal of Food Science*, 2005, 70(7): 87-92.
- [6] 刘志同,李晓炼,叶光,等. 功能性大豆分离蛋白的制备[J]. 中国粮油学报,1999,14(3):32-35.

- [7] Jens Adler-Nissen. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins [M]. London: Elsevier, 1986, 57—109.
- [8] 陈志雄. 利用酵素水解法生产黄豆多肽之研究[D]. 台北: 台湾东海大学, 2000, 135—140.
- [9] 孙显惠, 蒋文强. 大豆多肽功能特性及其开发应用[J]. 粮食与油脂, 2004(5): 7—8.
- [10] 唐传核, 彭志英. 大豆功能性成分的开发现状[J]. 中国油脂, 2000, 25(4): 44.
- [11] 张国胜, 孔繁东, 祖国仁, 等. 大豆蛋白抗高血压活性肽的研究[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(8): 12—14.
- [12] 吴建中, 欧仕益, 唐书泽. 大豆蛋白的酶水解产物研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(8): 50—53.
- [13] 刘文辉. 大豆分离蛋白酶法水解制备多肽及应用的研究[D]. 华北农业大学, 2003, 6: 22—37.
- [14] 李雄辉, 过新胜, 徐刚. 大豆多肽提取工艺的研究[J]. 食品科学, 1999, 9: 28—29.
- [15] 张玲华, 唐小俊, 张宝玲. 大豆多肽制备工艺的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 27(3): 37—39.
- [16] 刘通讯, 朱小乔, 杨晓泉. 多酶协同作用生产大豆多肽的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(11): 29—32.
- [17] 易翠平, 姚惠源. 大米蛋白的研究进展[J]. 粮油加工和粮食机械, 2003, 8: 53—54.
- [18] Kawamura Y, Muramoto M, Waldron K W, *et al.* Anti-tumorigenic and immunoactive protein and peptide factors in foodstuffs. 2. Anti-tumorigenic factors in rice bran [J]. *Food Cancer Prevention: Chem Biol Aspects*, 1993, 331—401.
- [19] 王文高, 陈正行, 姚惠源. 不同蛋白酶提取大米蛋白质的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2002, 2: 41—43.
- [20] 顿新鹏, 陈正望. 酶法水解米渣蛋白制备大米小分子肽[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 113—116.
- [21] 黄给华, 温辉良, 曾生林. 用胃蛋白酶从大米渣中提取蛋白质的研究[J]. 山西粮油科技, 1996, 21(3): 60—61.
- [22] 黄给华, 温辉良, 谌勇等. 酸性蛋白酶抽提大米渣中蛋白质的研究[J]. 南昌大学学报, 1994, 16(2): 88—90.
- [23] 王亚林, 陶兴无. 利用纤维素酶酶解和酸洗法从米渣中提取蛋白质的研究[J]. 中国酿造, 2003, 2: 24—25.
- [24] 刘骥, 姚惠源, 陈正行. 利用米渣为原料制备大米浓缩蛋白[J]. 食品工业, 2004, 3: 11—13.
- [25] Hamada J S. Use of protease to enhance solubilization of rice Bran Proteins[J]. *J Food Biochem*, 1999, 23: 307—321.
- [26] 王章存, 申瑞玲, 姚慧源. 大米蛋白开发利用[J]. 粮食与油脂, 2004, 1: 13.
- [27] Tang S, Hettiarachchy N S, Thomas, *et al.* Protein extraction from heat-stabilized defatted rice Bran. 1. physical processing and enzyme treatments[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 7444—7448.
- [28] Tang S, Hettiarachchy N S, Horax R, *et al.* Physicochemical Properties and Functionality of Rice Bran Protein Hydrolyzate Prepared from Heat-stabilized Defatted Rice Bran with the Aid of Enzymes[J]. *Journal of Food Science*, 2003, 68(1): 152—156.
- [29] Hamada J S. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization [J]. *Cereal Chemistry*, 1997, 74: 662—668.
- [30] 王章存, 姚慧源. 大米蛋白质的酶法水解及其性质研究[J]. 中国粮油学报, 2003, 18(5): 5—7.
- [31] 李雁群, 周新平. 大米蛋白酶解产物的发泡性能[J]. 江西食品, 1998, 2: 15—17.
- [32] 王文高, 陈正行, 姚慧源. 大米蛋白及其水解物功能性质与疏水性关系的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2002, 7: 49—50.
- [33] 金世合, 陈正行, 周素梅. 酶解米糠蛋白的功能性质研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(3): 56—58.
- [34] 王亚林, 刘志国. 米糠蛋白活性肽的制备工艺研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003, 6: 46—47.
- [35] 齐军茹, 彭志英, 玉兰. 酶水解小麦面筋蛋白及其结构分析[J]. 粮食与饲料工业, 2004, 1: 21—23.
- [36] Hirofumi Motoi, Shinichi Fukudome, Itaru Urabe. Continuous production of wheat gluten peptide with foaming properties using immobilized enzymes[J]. *Eur Food Res Technol*, 2004, 219: 522—528.
- [37] 齐军茹, 杨晓泉, 彭志英. 控制酶解小麦面筋蛋白的研究[J]. 食品工业科技, 2003(9): 43—45.
- [38] Matoba T, Hata T. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structures[J]. *Agric Biol Chem*, 1972, 37(8), 1423—1431.
- [39] Myong J Cho, Nan Unklebay, Fu-Hung Hsieh, *et al.* Hydrophobicity of Bitter Peptides from Soy Protein Hydrolysates [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 5895—5901.
- [40] Noboru Izawa, Ken Tokuyasu, Kiyoshi Hayashi. Debittering of Protein Hydrolysates Using *Aeromonas caviae* Aminopeptidase[J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45(3): 543—545.
- [41] 周雪松. 蛋白质酶解物苦味形成机理及控制研究[J]. 粮食与油脂, 2004, 8: 20—24.
- [32] 吴建中, 赵谋明, 宁正祥, 等. 双酶法生产低苦味大豆多肽的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 4: 24—26.

(责任编辑: 杨萌)