

分类号

密级

硕 士 学 位 论 文

题 目: 酶法从全脂大豆中同时制备大豆
油和大豆水解蛋白工艺的研究

英文并列题目: Studies on the Enzymatic Process of
Simultaneously Preparing Soy Oil and Soy Protein
Hydrolysates from Full-Fat Soy Bean

研究生: 林 岚 专业: 食品工程

研究方向: 食品资源开发

导 师: 王璋副教授、

学位授予日期: 1992.12.30

92 年 12 月 12 日

无 锡 轻 工 业 学 院

地址: 无锡市青山湾

无锡轻工业学院研究生论文纸

摘 要

酶法同时分离全脂大豆中油和蛋白质是开发植物蛋白资源,综合利用油料的一门新工艺。与传统工艺相比,其缩短了工艺路线,保证了油和蛋白质的质量,投资少,操作简单、安全,无溶剂污染。

本文详细研究了固液比、pH、温度、时间等因素对水提过程的影响,并用响应面分析(RSA)确定了由水法从全脂大豆中提取油和蛋白质的最佳工艺条件。在此基础上,选择合适的酶种,合适的水解方式和水解度降解大豆蛋白分子,以尽可能降低大豆蛋白的含油量,制备无苦味、具有多种功能性质的等电可溶水解蛋白,并获得稳定性佳的乳化油,以凝胶电泳法、光散射法、差热扫描分析法、电镜观察等探讨了影响乳状液稳定性的机理。实验中以转相法破乳获得了成功,用正交试验确定了破乳过程的油含量、pH、温度、剪切速率等工艺条件。在本研究确定的条件下,水解蛋白得率达74%,油得率66%。扩大试验很好地再现了小试的结果。

经酶法制备的等电可溶大豆水解蛋白具有多种功能性质,本文对其溶解度、分散性、粘度、乳化性、起泡性、氨基酸组成加以测定,并将其添加到酸性果蔬饮料中制备稳定性好的高蛋白营养饮料。

关键词: 全脂大豆 . 酶水解 .

等电可溶大豆水解蛋白 . 大豆油

无锡轻工业学院研究生论文纸

ABSTRACT

Enzymatic process of simultaneously preparing soy oil and soy protein hydrolysates from full-fat soy bean is a kind of new technology for exploiting plant protein and comprehensively utilizing oil seeds. Compared with conventional methods, it has such advantages as: shorter process, less investment, safe and simple operation without solvent contamination, and production of oil and protein with good quality.

In this paper, a detailed study on the factors influencing the aqueous extraction of protein and oil from soy meal, such as solid to water ratio, pH, temperature and time, was made. The optimal conditions were determined by RSA. Furthermore, the variety of enzyme, the manner of hydrolysis and the degree of hydrolysis during the enzymatical treatment of soy protein were chosen, so as to reduce the oil content of soy protein, to produce isoelectric soluble soy protein hydrolysates (ISSPH) and also to obtain emulsion with low stability. The mechanism of emulsion stability was discussed by Gel Filtration Chromatograph (GLC), Light Scattering (LS), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Transmission Electron Microscopy (TEM). The phase inversion technique for breaking emulsion was also studied successfully. The optimal conditions such as oil content, pH, temperature and shear rate were determined according to orthogonal test. Under certain conditions, the yield of soy protein was 74% and that of oil was 66%. The enlarged test well repeated the results of small-scale test.

The functional properties of isoelectric soluble soy protein hydrolysates (ISSPH), such as solubility, dispersity, viscosity, emulsifying ability, foaming ability and amino acid composition were analysed. A kind of stable protein-enriched nutrient beverage was produced by adding 10% ISSPH into acidic fruit and vegetable juice.

无锡轻工业学院研究生论文纸

Keywords :

full-fat soy bean, enzymatic hydrolysis
isoelectric soluble soy protein hydrolysates(ISSPH)
soy oil

无锡轻工业学院研究生论文纸

目 录

前 言	1
第一章 酶法分离大豆中油和蛋白质工艺的研究	6
绪论	
一. 实验原料	6
二. 常规分析方法	6
三. 主要实验仪器和设备	7
四. 工艺路线	8
第一节 水提法从全脂大豆提取蛋白质和油	
1.1.1 实验材料和装置	10
1.1.2 实验方法	10
1.1.3 实验结果和讨论	13
第二节 酶法分离大豆分离蛋白中油和蛋白质	
1.2.1 一次蛋白酶解制备等电可溶大豆水解蛋白	24
1.2.1.1 实验材料和装置	24
1.2.1.2 实验方法	25
1.2.1.3 实验结果和讨论	26
1.2.1.4 小结	34
1.2.2 二次水解制备乳油和高凝水解大豆蛋白	35

无锡轻工业学院研究生论文纸

1.2.2.1 实验材料	35
1.2.2.2 实验方法	35
1.2.2.3 实验结果和讨论	37
1.2.2.4 小结	44
第三节 破乳的研究	
1.3.1 实验材料和设备	46
1.3.2 实验方法	46
1.3.3 实验结果和讨论	49
1.3.4 小结	57
第四节 扩大试验	58
第二章 大豆水解蛋白功能性质的测定及其在食品中的应用	
第一节 大豆蛋白及其水解物功能性质的测定	62
2.1.1 实验材料	62
2.1.2 实验方法	62
2.1.3 实验结果和讨论	63
第二节 强化蛋白质饮料的制备	68
结论	72
致谢	75
参考文献	76

无锡轻工业学院研究生论文纸

前言

目前我国人民的膳食不平衡主要表现为蛋白质摄入不足,据调查每人每日蛋白质摄入量较标准低10-15%^[1]。因此,积极开发蛋白质资源,提高人民群众蛋白质摄取数量和质量,是当前一项十分紧迫的任务。

食物蛋白质主要来源于动物蛋白和植物蛋白。动物蛋白以其高营养、高吸收、味美等优点而优于植物蛋白。但动物蛋白的发展受耕地、饲料转化率、水质等因素的限制,且食入过多会引起肥胖、高血压、心血管病。因此充分利用现有的植物蛋白资源,进行深加工成为发展中国家食品工作者开发蛋白质资源的主要研究方向。

大豆是我国的四大油料作物之一,其含有16~22%的油脂和40%左右的蛋白质^[2]。大豆油是我国华北、东北地区的主要食用油,其含约85%的不饱和脂肪酸,且以亚油酸为最多^[3]。大豆蛋白质主要是大豆球蛋白,约占蛋白质总量的80~90%^[1],还含少量乳清蛋白。大豆蛋白的营养价值极高,其氨基酸组成相当完全,人体所需八种必须氨基酸全部含有,特别是赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸含量较高。蛋氨酸和半胱氨酸为其限制性氨基酸。按其氨基酸构成评分,大豆蛋白为74^[2],高于

无锡轻工业学院研究生论文纸

其他粮油作物。由此可见,大豆不仅是重要的油料资源,而且是一种重要的植物蛋白资源,在目前动物蛋白供给不足且易引起心血管疾病的情况下,大豆蛋白是极理想的取代品。国际粮农组织一再提出,要合理利用大豆,以解决世界蛋白质资源不足的问题。^[4]

我国是大豆的故乡,大豆在我国有千多年的栽培历史。目前,我国大豆产量占世界第三位,年产量为1161万吨^[5]。大豆在我国分布极广,其主要产地在东北和黄淮地区,在华中、华东、华南、西北、西南区也有一定分布,且大豆种类繁多,四季皆有。因而大豆在我国有丰富的原料来源,对大豆进行深加工具有广阔的前景。

将蛋白质和油分别从大豆中提取出来,不仅可丰富食用油和蛋白质的品种数量,改善其质量,而且可消除豆中原有的营养抑制因子、产气因子和不良风味,实为综合利用大豆资源的一条合理途径。从大豆中提取蛋白的研究始于1883年,我国从1957年起研究大豆蛋白的工业应用问题^[6]。传统的分离大豆中油和蛋白质的方法是先用加热、压榨、浸出等方法从大豆中提取油,再从所得饼粕中提取蛋白质的两步工艺路线。这些方法尽管油的得率可高达95%^[7],但提油过程都不同程度地引起蛋白质的变性从而影响蛋白质的产量和质量,且溶剂浸出需脱溶剂过程,设备多、投资大,污染严重,于是一种新的油料

无锡轻工业学院研究生论文纸

加工工艺应运而生。

1956年, Nathan Sugarman^[8]首先使用水提法(Aqueous Extraction)即以水作溶剂沿用浓缩蛋白的生产工艺从花生中同时分离油和蛋白质。1972年, K.C. Rhee^[9]等又沿用分离蛋白的生产工艺分离花生中油和蛋白质取得成功,并提高了蛋白质产品中蛋白质含量。近十年来,美、英、日等国先后将此法运用于芝麻、棉籽、向日葵、菜籽等油料中,都取得了较为满意的结果。在这方面工作做得最多的堪称美国德克萨斯农业和机械大学。但当此法运用于含油量较低的油料(如大豆)时,油得率极低($<30\%$),部份油为蛋白质所结合使产品极易氧化变质,需辅以超滤或反渗透。1978年, Alder Nissen^[10]提出了大豆蛋白酶法改性制备等电可溶大豆水解蛋白(ISSPH)的工艺,为酶法分离大豆油和蛋白质奠定了基础。1979年, Olsen^[11]将微生物蛋白酶 Alcalase 运用到大豆油和大豆蛋白质的水法分离中,用酶降解蛋白质分子以释放其所吸附的油,使油的得率接近60%,蛋白质得率接近40%。

酶法与传统工艺相比,具有以下优点:

1. 从全脂大豆中同时分离油和蛋白质,缩短了工艺路线,保证了油和蛋白质的质量。
2. 设备简单、操作安全,无溶剂污染,投资少。
3. 同时去除了豆中的豆腥成份,营养抑制因子和产气因子。
4. 由酶法分离得到的等电可溶大豆水解蛋白(ISSPH)是一种蛋

无锡轻工业学院研究生论文纸

白质含量极高(约90%)的大豆深加工产品。随着食品工业的发展,传统的蛋白质已不能满足需要,其在加工过程中会丧失部份性质⁽²⁹⁾。而将大豆蛋白进行适度水解,抑制苦味的形成,不仅能保持大豆蛋白原有的营养价值,且由于肽链的缩短显示出许多新的功能性质,其溶解度高,口感好,易消化吸收,具有良好的分散性、乳化性、起泡性,能广泛应用于多种食品体系,可作为腌肉制品注射用盐水的成份,可强化中性或酸性饮料中的蛋白质,可作为风味结合剂等⁽³⁵⁾,为一般蛋白质所不能取代,在食品工业中正逐步显示其重要性。

5. 由酶法分离得到的油为一乳状液体系。采用转相法破乳,所得油的过氧化价、游离脂肪酸和精炼损失都较低,无需后处理即可获得高质量的油。

由此,酶法分离大豆中油和蛋白质实为改进传统油脂加工工艺,提高油料作物加工深度的良策。国外此项研究目前仍处在实验室阶段,人们尚在寻求这一领域的新的进展。而国内对该项目的研究还刚刚起步,与国外水平相比尚有差异。本文全面系统地研究了以全脂大豆粉为原料用酶法分离其中油和蛋白质的新工艺,为促进酶法工艺的工业应用提供技术参数和理论依据。

研究内容包括:

1. 确定酶法工艺水提、酶解、破乳等各阶段的最佳工艺条件,以获得较高的油和蛋白质的得率。
2. 采用先进的仪器分析手段,测定水解蛋白对乳化体系的影响。

无锡轻工业学院研究生论文纸

响,了解乳化体系破坏和油脂析出的机制。

3. 测定水解蛋白的功能性质并将其应用于食品体系中。

无锡轻工业学院研究生论文纸

第一章 酶法分离大豆中油和蛋白质 工艺的研究

绪 论

000057

一. 实验原料

本课题以全脂大豆粉为主要原料,其由市售大豆经洗涤、干燥、磨粉、过筛制得,其组成如表1所示。

表1 全脂豆粉的组成(%)

	粗蛋白	脂肪	水分	糖分	灰分
全脂豆粉	39.61	18.59	7.17	25.41	5.07

二. 常规分析方法

1. 水分的测定: 水分测定天平
2. 脂肪的测定: 索氏抽提法^[12]
3. 蛋白质的测定: a. 凯氏定氮法^[12]: $N \times 6.25$
b. Folin-酚法^[13]: 以牛血清白蛋白作标准,
在500nm下测其吸光度OD,标准曲线如图,
所示。
4. 总糖的测定: 费林试剂法^[12]
5. 灰分的测定: 灰化炉灰化^[12]

无锡轻工业学院研究生论文纸

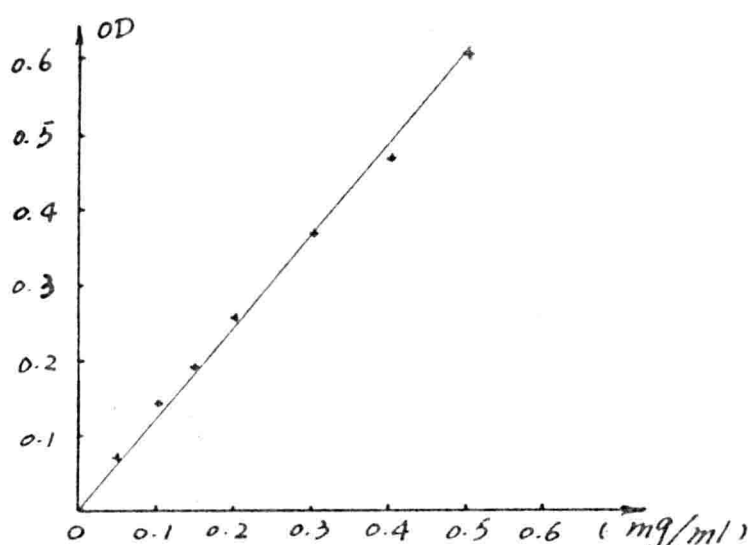


图1 Folin-酚法测蛋白质的标准曲线

三. 主要实验仪器和设备

1. 76-1型恒温玻璃水浴

上海医用仪表厂

2. PHS-2型酸度计

上海第二分析仪器厂

3. D90-2F 电动搅拌机

杭州仪表电机厂

4. LXJ-II型离心沉淀机

上海医用分析仪器厂

5. 501型超级恒温水浴

上海市上海县实验仪器厂

6. 酶反应器

自制

7. FS-II型可调高速匀质器

江苏金坛环保设备厂

8. GSP-79-03磁力搅拌器

江苏泰县姜坛电子仪器厂

9. FL-20型冷冻离心机

上海医用分析仪器厂

10. DS-200组织捣碎机

江阴科研机械厂

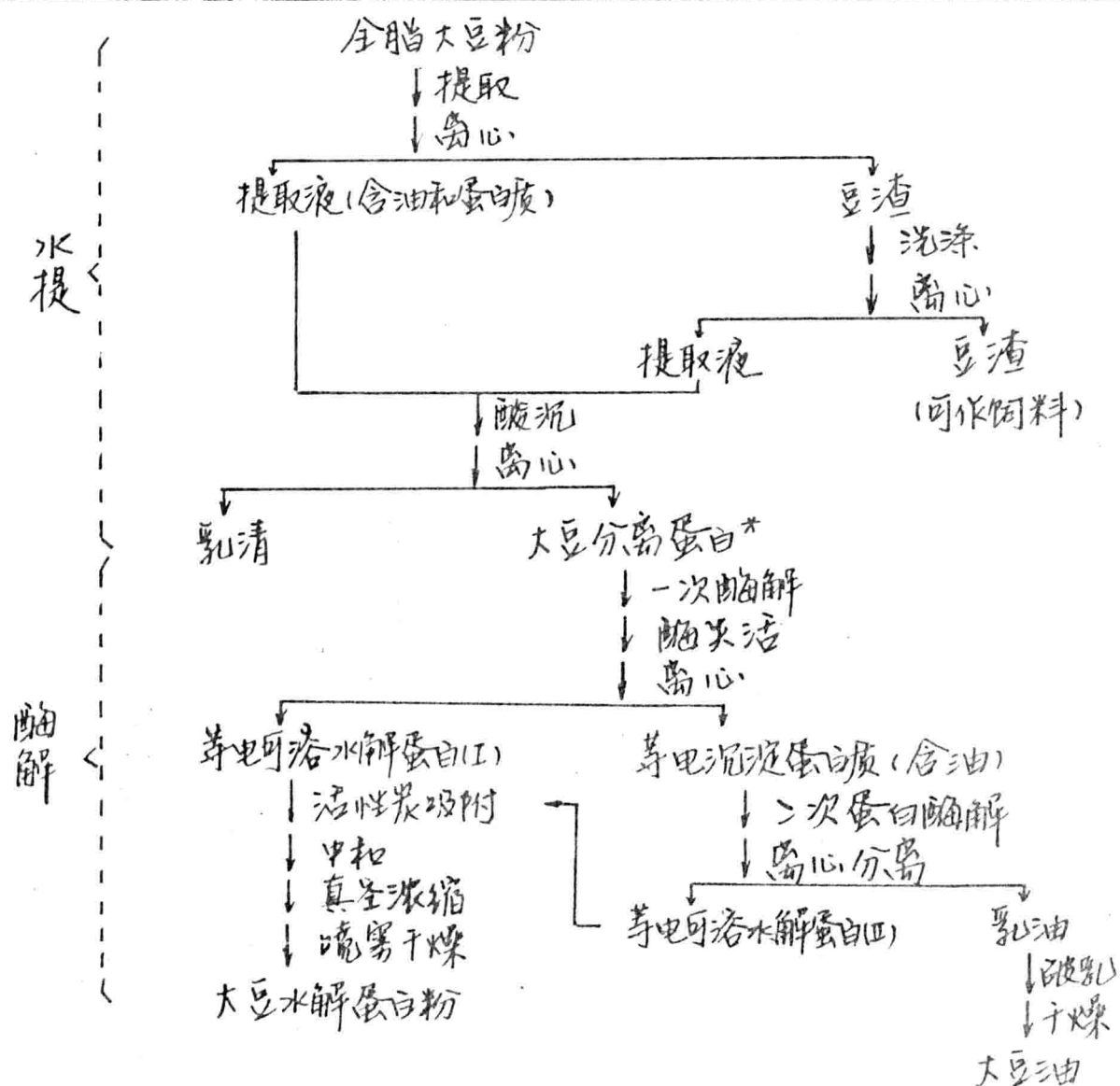
无锡轻工业学院研究生论文纸

12. BJQ-74-2 分部收集器 上海医用分析仪器厂
13. M750 UVIS-A型紫外可见分光光度计 江苏泰州无线电仪器厂
14. Virtis Consol 冷冻干燥仪 美国
15. Malver Autocizer 光散射仪 美国
16. DSC-7 差示扫描量热计 美国 PE 公司
17. WZS-I 阿贝折光仪 上海
18. 日立 H-7000 透射电子显微镜 日本
19. 日立 835 氨基酸自动分析仪 日本
20. DDS-11A 型电导率仪 上海第二分析仪器厂
21. 721 型分光光度计 上海第三分析仪器厂
22. SS-300N 立式离心机 广东红卫五金厂
23. ZFQ-85A 旋转蒸发器 上海医用分析仪器厂
24. 375W 电动搅拌机 自制
25. 夹层锅
26. QZ-25 型喷雾干燥机 无锡县喷雾干燥机厂

四. 酶法分离大豆中油和蛋白质的工艺路线

酶法分离大豆中油和蛋白质的工艺大致可分为水提和酶解两个阶段。参考文献[14][15][16][17][18][19][20][21]报道, 经实验研究确定如下工艺路线:

无锡轻工业学院研究生论文纸



* 本文所提及的大豆分离蛋白系指由全脂豆粉按传统分离蛋白制取工艺制得的蛋白质中间产品，含蛋白质量为60%左右。

无锡轻工业学院研究生论文纸

第一节 水提法从全脂豆粉提取蛋白和油

水提法从大豆中提取蛋白质和油系沿用传统的由豆粕制备大豆分离蛋白的工艺将大豆中蛋白质和油与不溶性残渣分离,从而达到初步提取蛋白质和油的目的.本节详细研究了各工艺条件对提取率的影响,并用响应曲面分析优化了实验条件,以保证最大限度的将油和蛋白质提取出来.

1.1.1 实验材料和装置

1.1.1.1 实验材料

全脂豆粉: 自制

氢氧化钠: AR 宜兴市洋溪振兴化工厂

盐酸: AR 宜兴市第二化学试剂厂

1.1.1.2 实验装置

水提法从全脂豆粉中提取油和蛋白质的装置如图2所示.

1.1.2 实验方法

1.1.2.1 PH对提取率影响的测定

将豆粉和水以1:10的比例混合,用4N氢氧化钠溶液和4N盐酸调节至不同的PH值,在50℃下提取1小时,以Folin-酚法测定蛋白质的提取率.

1.1.2.2 温度对提取率的影响

无锡轻工业学院研究生论文纸

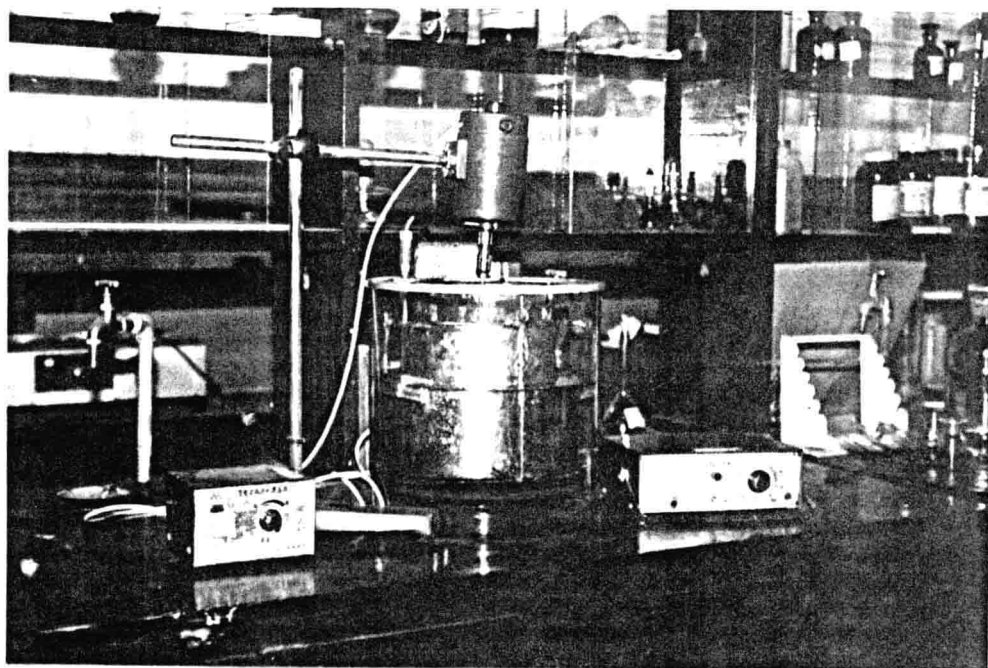


图2 水提法从全脂豆粉中提取蛋白质和油的装置

将豆粉和水以1:10的比例混合,控制滤液 $\text{pH}=8.0$,在不同温度下提取1小时,离心分离,以Folin-酚法测定蛋白质的提取率。

1.1.2.3 提取时间对提取率的影响

将豆粉和水以1:10的比例混合,调整滤液的 pH 为8.0,温度为 50°C ,控制不同的提取时间离心分离后测蛋白质的提取率。

1.1.2.4. 固液比对提取率的影响

将豆粉和水以不同的比例混合,调节滤液的 pH 为8.0,温度为 50°C ,提取1小时,离心后测定蛋白质的提取率。

1.1.2.5 提取条件的最优化

pH 值,提取温度和提取时间是影响提取率的主要因素。确定