

大豆肽的硅藻土脱色工艺优化

王松^{1,2}, 李成辉¹, 王洪彩¹, 李明月¹, 刘彤², 刘军¹

(1. 山东禹王生态食业有限公司, 山东德州 251200; 2. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要:采用硅藻土为脱色剂, 探究 pH、硅藻土添加量、温度和时间对大豆肽脱色效果的影响, 通过正交试验优化脱色工艺条件。结果表明: 大豆肽的硅藻土脱色最佳工艺条件为 pH 5.0、硅藻土添加量 15 g/L、温度 50 °C、时间 50 min, 在此条件下脱色率可达 60.5%, 蛋白质损耗率仅为 4.2%, 脱色后的大豆肽中蛋白质含量达到 87.8%, 颜色由灰黄色变为乳白色。

关键词:大豆肽; 脱色; 硅藻土; 蛋白质含量

中图分类号: TS229; TS209

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2020)06-0041-04

Optimization of bleaching of soybean peptide by diatomite

WANG Song^{1,2}, LI Chenghui¹, WANG Hongcai¹, LI Mingyue¹, LIU Tong², LIU Jun¹

(1. Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co., Ltd., Dezhou 251200, Shandong, China;

2. Food Science College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Using diatomite as bleaching agent, the effects of pH, dosage of diatomite, temperature and time on the bleaching of soybean peptide were determined and the bleaching conditions were optimized by orthogonal experiment. The results showed that the optimal bleaching conditions were obtained as follows: pH 5.0, dosage of diatomite 15 g/L, temperature 50 °C and time 50 min. Under these conditions, the bleaching rate could reach 60.5%, the loss rate of protein was only 4.2%, the protein content of the bleached soybean peptide still reached 87.8%, and the color changed from gray-yellow to milk white.

Key words: soybean peptide; bleaching; diatomite; protein content

大豆肽是豆粕或大豆分离蛋白(SPI)经水解或微生物发酵获得的不完全水解蛋白产物,是低相对分子质量肽的混合物。近年来研究^[1]表明,大豆肽能改善大豆蛋白的物理功能性质(如溶解性提高,黏性降低,抗凝胶性增强等),且具有良好的抗氧化、调节血脂水平、降血压、提高免疫、抗癌、增强运动员肌肉和恢复疲劳等特性。因此,大豆肽产品能应用于乳制品、肉类、饮料以及婴儿食品中,在食品蛋白质辅料加工方面有着特殊意义^[2]。但因为原料中含有微量的呈色物质(如皂苷、色素和异黄酮等),以及豆粕中糖类在高温下的焦糖化反应,大豆肽呈现灰黄色,这会严重影响食品色泽,降低消费者购买欲,从而限制了其在食品工业中的应用。

工业常用的大豆肽脱色方法是吸附脱色法,包

括阴离子交换树脂脱色、活性炭脱色、白土脱色等。其中,最常用的脱色剂是活性炭,脱色率为 50% 以上^[3]。但活性炭对大分子物质的吸附力不够,对疏水性物质吸附效果差;且价格较高及不易再生,提高了生产成本。与活性炭相比,硅藻土除了具有良好的吸附功能,还具有资源丰富、价格低廉等优势。硅藻土在饮料、啤酒、白糖等食品的生产工艺中被作为脱色剂广泛应用^[4-6],但还没有应用在大豆肽脱色工艺中的报道。

然而,硅藻土在吸附呈色物质的同时也会吸附氨基酸,使大豆肽中的氨基酸含量下降,影响产品品质。因此,在脱色的同时,保证大豆肽中氨基酸的低损耗是硅藻土脱色工艺的关键。不同氨基酸分子中含有的氨基(—NH)和羧基(—COOH)数目不同,所以其等电点各不相同。硅藻土的表面电荷也会根据溶液的酸碱度变化而不同,在酸性条件下,硅藻土的羟基会被质子化,表面带正电荷,此时的硅藻土与表面带正电荷的氨基酸相互排斥,与带负电荷的氨基酸相互吸引;反之,当溶液 pH 大于 7 时,硅藻土排

收稿日期:2019-11-14;修回日期:2019-12-08

作者简介:王松(1984),女,讲师,博士,研究方向为食品科学(E-mail)ws_1984@163.com。

通信作者:刘军,工程师(E-mail)liujun@yuwangcn.com。

斥带负电荷的氨基酸^[6]。因此,通过调控溶液的 pH 可以在一定程度上控制氨基酸的损耗率。

本研究选用硅藻土为脱色剂,针对大豆肽颜色深的问题,研究 pH、温度、时间及硅藻土添加量对大豆肽脱色的影响,在不改变原始大豆肽生产工艺的同时,创建新的大豆肽脱色工艺。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆分离蛋白粉(蛋白质含量 92%),中性蛋白酶(酶活 ≥ 20 万 U/g),碱性蛋白酶(酶活 ≥ 40 万 U/g),硅藻土(食品级),无水 CuSO_4 、 HCl 、 $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 NaOH 均为分析纯,标准蛋白溶液(5.0 mg/mL)。

712E 型可见分光光度计,恒温水浴锅,超低温冷冻储存箱,电子天平,FE28 酸度计。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆肽的制备

大豆分离蛋白粉用去离子水稀释至 10%,调节 pH 到 6.7,加入 0.02% 中性蛋白酶作用 15 min 后,85 °C 灭菌。将灭菌的溶液置于 55 °C 水浴加热,待溶液达到 55 °C,将 0.3% 碱性蛋白酶和 0.18% 中性蛋白酶同时加入溶液中,酶解 50 min。然后将溶液于 90 °C 水浴中灭酶 15 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即为大豆肽溶液,待用。

1.2.2 大豆肽的脱色

取 100 mL 大豆肽溶液,加入一定量硅藻土,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液和 1 mol/L 盐酸溶液调节 pH,置于一定温度的恒温水浴中,磁力搅拌一定时间后,取出用纱布过滤,得到大豆肽脱色液。

1.2.3 脱色率的计算

以去离子水为参照,在 400 nm 波长下测定未经脱色的大豆肽溶液和 大豆肽脱色液的吸光度,按下式计算脱色率^[7]。

$$\text{脱色率} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 为未脱色的大豆肽溶液的吸光度; A 为大豆肽脱色液的吸光度。

1.2.4 蛋白质损耗率的计算

1.2.4.1 蛋白质含量测定

采用双缩脲法测定蛋白质含量。1.5 g 无水硫酸铜和 6.0 g 酒石酸钾钠溶解于 500 mL 水中,边搅拌边加入 300 mL 10% NaOH 溶液,再加入去离子水定容至 1 L,配制成双缩脲试剂,避光保存于塑料瓶中^[8]。

取 12 支试管均分为两组,每组分别加入 0、

0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 质量浓度为 5.0 mg/mL 的标准蛋白溶液。用蒸馏水补充至 1 mL,再分别加入 4 mL 双缩脲试剂,振荡混匀后,在室温(20 ~ 25 °C)下放置 30 min。以不加标准蛋白溶液的试样为参照,在 540 nm 波长下测定吸光度。以蛋白质含量为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。根据标准曲线以及样品溶液的吸光度计算样品的蛋白质含量^[9]。

1.2.4.2 蛋白质损耗率的计算

按照下式计算蛋白质损耗率^[10]。

$$\text{蛋白质损耗率} = m/M \times 100\%$$

式中: m 为大豆肽脱色液中减少的蛋白质的质量,g; M 为未脱色的大豆肽溶液中蛋白质的质量,g。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 pH 对脱色效果的影响

5 份 100 mL 大豆肽溶液,分别加入 15 g/L 硅藻土,将 pH 分别调为 4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0,在 50 °C 恒温水浴 30 min,取出后过滤得脱色液,计算脱色率与蛋白质损耗率,结果见图 1。

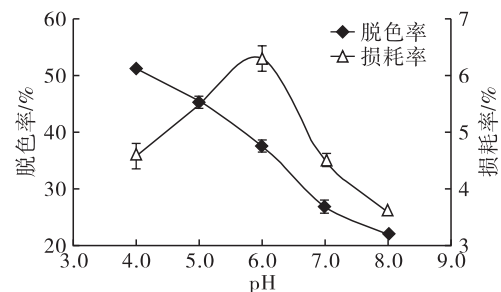


图 1 pH 对大豆肽脱色率及蛋白质损耗率的影响

从图 1 可以看出,随着 pH 的增加,脱色率逐渐减小,说明在此范围内 pH 越高脱色效果越差。硅藻土属于极性吸附,酸性条件下,硅藻土表面电荷由负电荷转变为正电荷,此时对带有负电荷的颜色物质和杂质有强吸附性,且随着 pH 的降低,表面电位增大,吸附量也随之变大。并且,本试验采用的硅藻土具有饱和度随 pH 减小而增大的特性,即饱和度越大,吸附量也越大^[11]。

当溶液 pH 为 4.0~6.0 时,蛋白质损耗率显著增加。这主要取决于大豆肽溶液中氨基酸的种类和含量。不同氨基酸等电点不同,根据 20 种氨基酸的等电点特征分析,发现大多数氨基酸的等电点在 pH 5~7 之间,只有天冬氨酸和谷氨酸等电点低于 4,赖氨酸、组氨酸和精氨酸等电点高于 7。当溶液的 pH 低于某些氨基酸的等电点时,这些氨基酸带正电荷,会更容易被带负电荷的硅藻土吸附;而当酸度达到

一定程度,硅藻土带正电荷且大多数氨基酸也带正电荷,它们会互相排斥,蛋白质的损耗率降低;当酸度过高时,蛋白质发生变性。因此,选择 pH 4.0 ~ 6.0 作为正交试验的因素水平。

2.1.2 硅藻土添加量对脱色效果的影响

5份 100 mL 大豆肽溶液,分别按 5、10、15、20、25 g/L 加入硅藻土,调节 pH 至 6.0,置于 50 °C 恒温水浴 30 min,取出后过滤得脱色液,计算脱色率与蛋白质损耗率,结果见图 2。

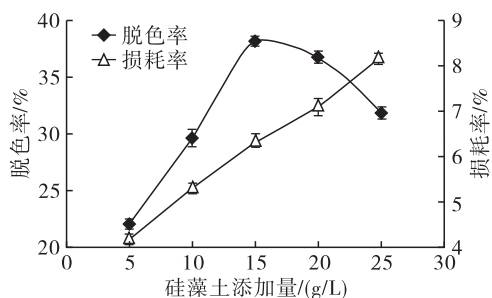


图2 硅藻土添加量对大豆肽脱色率及蛋白质损耗率的影响

从图 2 可以看出:当硅藻土添加量为 5 ~ 15 g/L 时,脱色率随硅藻土添加量的增加而提高;当硅藻土添加量高于 15 g/L,脱色率开始减小。这是因为在一定程度上提高溶液中硅藻土的浓度,硅藻土吸附色素的活性点增加,相对脱色能力增强^[12]。但是,当硅藻土的吸附量高于颜色物质总量时,硅藻土本身产生的微量颜色物质会提高吸光度,使脱色率下降。当硅藻土添加量超过 15 g/L,蛋白质损耗率显著提高。综合考虑,选择硅藻土添加量 10 ~ 20 g/L 作为正交试验的因素水平。

2.1.3 温度对脱色效果的影响

5份 100 mL 大豆肽溶液,各加入 15 g/L 硅藻土,调节 pH 至 6.0,分别在 30、40、50、60、70 °C 下恒温水浴 30 min,取出后过滤得脱色液,计算脱色率与蛋白质损耗率,结果见图 3。

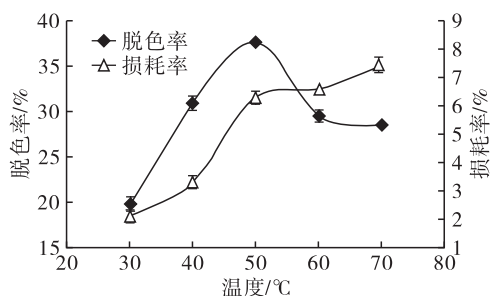


图3 温度对大豆肽脱色率及蛋白质损耗率的影响

从图 3 可以看出:温度在 30 ~ 50 °C 之间时,温度越高脱色率越大;当高于 50 °C 时,脱色效果随温

度升高逐渐降低。这主要是因为温度升高,分子的运动加快,硅藻土与颜色物质的分子活性随之提升,脱色剂的吸附能力增大;当温度过高时,颜色物质的分子活性大于硅藻土吸附力,使有色分子从硅藻土的吸附中脱离出来,溶液颜色变深^[13],并且过高的温度会使某些氨基酸发生脱氨反应,破坏大豆肽的营养价值。随温度的升高,蛋白质损耗率也在逐步增大。因此,选择温度 40 ~ 60 °C 作为正交试验的因素水平。

2.1.4 时间对脱色效果的影响

5份 100 mL 大豆肽溶液,各加入 15 g/L 硅藻土,调节 pH 至 6.0,在 50 °C 下分别恒温水浴 10、20、30、40、50 min,取出后过滤得脱色液,计算脱色率与蛋白质损耗率,结果见图 4。

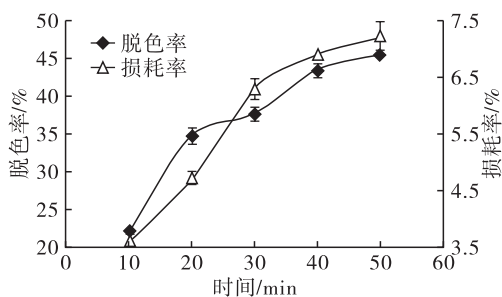


图4 时间对大豆肽脱色率及蛋白质损耗率的影响

从图 4 可以看出,随着时间的延长脱色率逐渐提升。主要是由于硅藻土需一定时间达到饱和吸附量,延长一段时间,可以让硅藻土充分吸附颜色物质;但当吸附量达到饱和后,如继续延长时间易造成色素解吸,色度回升^[12]。另外,时间延长也会造成蛋白质损耗率的增加。因此,选择时间 30 ~ 50 min 作为正交试验的因素水平。

2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,选择硅藻土添加量、温度、时间和 pH 为因素,以脱色率为指标,进行正交试验。正交试验因素水平见表 1,正交试验设计及结果见表 2。

由表 2 可知,影响硅藻土对大豆肽脱色效果的因素主次顺序为 pH > 时间 > 温度 > 硅藻土添加量,最佳因素水平组合为 A₂B₂C₂D₃,即 pH 5.0、硅藻土添加量 15 g/L、温度 50 °C、时间 50 min。

表 1 正交试验因素水平

水平	因素			
	A pH	B 硅藻土添加量/(g/L)	C 温度/°C	D 时间/min
1	4.0	10	40	30
2	5.0	15	50	40
3	6.0	20	60	50

表2 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	脱色率/%
1	1	1	1	1	34.0
2	1	2	2	2	50.5
3	1	3	3	3	50.9
4	2	1	2	3	58.4
5	2	2	3	1	46.3
6	2	3	1	2	48.4
7	3	1	3	2	36.5
8	3	2	1	3	41.5
9	3	3	2	1	36.3
k_1	45.1	43.0	41.3	38.9	
k_2	51.0	46.1	48.4	45.1	
k_3	38.1	45.2	44.6	50.3	
R	12.9	3.1	7.1	11.4	

2.3 验证试验

在最佳脱色条件下进行验证试验,大豆肽脱色率达到60.5%,蛋白质损耗率为4.2%。脱色大豆肽的蛋白质含量达到87.8%,颜色为乳白色。

3 结论

大豆肽的硅藻土脱色最佳工艺条件为:硅藻土添加量15 g/L,温度50℃,时间50 min,pH 5.0。在最佳工艺条件下,脱色率达到60.5%,蛋白质损耗率仅为4.2%。脱色后大豆肽的蛋白质含量达到87.8%,颜色由灰黄色变为乳白色。该工艺可以满足对大豆肽脱色效果的要求,保证脱色后大豆肽的营养价值。

参考文献:

[1] 豆康宁,石晓,王飞. 大豆蛋白水解度与大豆肽抗氧化

力关系研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(10):20-22.

- [2] XIANG H, SUN D X, CUI C, et al. Modification of soy protein isolate by glutaminase for nanocomplexation with curcumin[J]. Food Chem, 2018, 268(12):504-512.
- [3] 张毅,陈晨. 中心组合设计优化大豆肽脱色工艺的研究[J]. 饲料工业, 2010, 31(11):30-33.
- [4] 郑水林,孙志明,胡志波,等. 中国硅藻土资源及加工利用现状与发展趋势[J]. 地学前缘, 2014, 21(5):274-280.
- [5] 魏展,刘馨,栾吉梅,等. 改性硅藻土脱色性能的研究[J]. 武汉工程职业技术学院学报, 2016, 28(1):23-28.
- [6] 周婷婷,吴肇玮,孟令国,等. 我国硅藻土加工利用现状与研究进展[J]. 矿产保护与利用, 2017(4):87-93.
- [7] 李绮丽,吴卫国,张喻,等. 双酶法水解米渣蛋白工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2011(1):19-22.
- [8] 俞晓玉,王树成,高娃,等. 粮食中蛋白质含量的测定[J]. 广东化工, 2017, 44(4):114-115.
- [9] CHROMY V, SVACHOVA L, JARKOVSKY J, et al. Albumin-based or albumin-linked calibrators cause a positive bias in serum proteins assayed by the biuret method[J]. Clinical Chem Lab Med, 2009, 47(1):91-101.
- [10] 孙乾,李芳,张爱琴,等. 红花籽粕蛋白脱色工艺的初探[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(7):233-237.
- [11] 谢朝阳,李素霞,雷思思. 硅藻土对染料废水的吸附性能分析[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(8):1786-1787.
- [12] 季祥,张少敏,蔡禄. 地沟油脱色工艺条件优化[J]. 内蒙古科技大学学报, 2012, 31(2):185-188.
- [13] 阳仲秋. 米渣中蛋白质的有效提取及其改性的研究[D]. 长沙:中南林业科技大学, 2010.

(上接第29页)

- [14] SOSNOWSKA D, PODSEDEK A, KUCHARSKA A Z, et al. Comparison of in vitro anti-lipase and antioxidant activities, and composition of commercial chokeberry juices[J]. Eur Food Res Technol, 2016, 242(4):505-515.
- [15] YANG M, ZHENG C, ZHOU Q, et al. Minor components and oxidative stability of cold-pressed oil from rapeseed cultivars in China[J]. J Food Compos Anal, 2013, 29(1):1-9.
- [16] 王丹. 充氮储藏的油菜籽食用期品质变化[J]. 中国油脂, 2019, 44(9):95-97.
- [17] 刘迪,谭北平,迟淑艳,等. 不同储存时间和抗氧化剂添加量对鱼油质量影响的研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(1):80-84.
- [18] 袁建,何海艳,何荣,等. 大豆油食用期氧化稳定性的研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(8):36-42.
- [19] LI C, JIA H, SHEN M, et al. Antioxidants inhibit formation of 3-monochloropropane-1,2-diol esters in model

reactions[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(44):9850-9854.

- [20] 张蕾,陈庆森,阎亚丽,等. 植物甾醇对心血管疾病作用的研究现状[J]. 食品科学, 2013, 34(23):344-350.
- [21] XIA X, XIA X, HUANG F, et al. Dietary polyphenol canolol from rapeseed oil attenuates oxidative stress-induced cell damage through the modulation of the p38 signaling pathway[J]. RSC Adv, 2018, 8(43):24338-24345.
- [22] 董红健,万忠民,刘兵. 油菜籽储藏中挥发性成分的变化研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(19):254-259.
- [23] KOSKI A, PEKKARINEN S, HOPIA A, et al. Processing of rapeseed oil; effects on sinapic acid derivative content and oxidative stability[J]. Eur Food Res Technol, 2003, 217(2):110-114.
- [24] 朱庆贺,沈益荣,张来林,等. 不同储藏条件对油菜籽制油品质的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2013, 34(6):77-81.