

# 高纯度活性大米蛋白的制备

钱莹 段钢

(丹尼斯克杰能科国际生物工程有限公司, 无锡, 214035)

**摘要** 介绍了一种全新的基于杰能科生料水解酶的高纯度大米蛋白的制备, 并探讨了在该工艺中酶的选择、pH、温度等不同因素对大米蛋白纯度的影响。结果表明, 采用杰能科生料水解酶, 在 pH5.5, 温度 60℃, 底物浓度 20%~25% 的条件下, 可得到含量在 80% 以上的大米蛋白, 同时生产过程中的糖液质量也可以达到 Dx 值在 95% 以上。

**关键词** 大米蛋白, 生产工艺, 生料水解酶, 低温提取, 葡萄糖

大米蛋白是一种具有高营养价值的植物蛋白<sup>[1~7]</sup>, 用一种新型生料水解复合酶低温处理大米, 得到高纯度的大米蛋白, 蛋白质含量一般为 75% 以上。由于处理温度大大低于大米变性温度, 因此很好地保留了大米蛋白的功能性, 扩大了其在食品领域中的应用。同时制备过程中产生的糖化液, DX 值保持在 95% 以上, 可以做为发酵原料。文中针对提高该工艺生产的大米蛋白的含量, 从酶的选择、温度、pH 等方面做了初步优化研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大米, 市售普通大米。

生料水解复合酶 HGA, 杰能科生物工程有限公司; 葡萄糖、麦芽糖及麦芽三糖, 均为 Sigma 公司产色谱纯。

### 1.2 实验方法

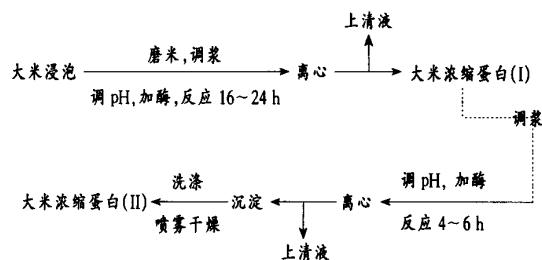
水分测定: 快速水分测定仪 (MA 30, Sartorius, 德国)。脂肪测定: GB/T5512—1985。灰分测定: GB—T5505—1985。蛋白质测定: 凯式定氮法<sup>[8]</sup> (半自动定氮仪: Vapodest 30, Gerhardt, 德国; TitraMate 20, Mettler, 瑞士)。

淀粉相对水解率 (RS): 由于大米中 80% 左右为淀粉, 通过对大米淀粉水解的监控, 从而间接得知产物中大米蛋白的含量。底物浓度为 30% 的大米浆在高温淀粉酶, pH 6.0 的条件下, 通过小型喷射液化器, 喷射温度 105℃, 维持 5 min; 95℃ 维持 2 h, 测定上清液的糖度 (Brix)。设定 100% 的大米淀粉完全水解 (Reference Brix)。

$$RS = \frac{\text{上清液的糖度}}{\text{大米淀粉完全水解糖度}} \times 100\%$$

糖谱分析采用 HPLC 法 (Agilent 1100), 色谱柱 Bio-rad HPX-87H, 示差检测器。流动相为 0.005 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 流速 0.7 mL/min, 柱温 60℃, 进样量 20 μL。葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、四糖以上的出峰时间分别为 7.6 min、6.3 min、6.65 min 和 5.1 min。

### 1.3 大米蛋白的制备工艺



## 2 结果与讨论

### 2.1 生料水解复合酶的选择

在干物浓度为 30%, pH 5.5, 60℃ 的条件下, 选用了 2 种生料水解复合酶, 添加相同的酶量进行试验, 测定了不同时间淀粉的相对水解率。

表 1 不同生料水解复合酶在 pH5.5 及 60℃ 时对大米淀粉的水解程度

复合酶	大米淀粉相对水解率/%					
	2 h	4 h	6 h	9 h	12 h	24 h
普通复合酶	25	27	33	41	44	46
实验复合酶 1	26	35	39	47	51	55
实验复合酶 2	53	68	75	86	90	93

从表 1 可以看出, 生料水解复合酶 2 对淀粉的水解速度明显高于生料水解复合酶 1 与普通复合酶, 并且在 24 h, 原料中的淀粉已经有 90% 以上水解, 而对于生料水解复合酶 1, 原料中只有 50% 的淀粉进行了水解, 普通复合酶则效果更差。

第一作者: 学士, 应用技术主管。

收稿日期: 2005-12-15

## 2.2 pH 对生料水解酶的影响

在干物浓度为 30%, 60℃ 的条件下, 选用生料水解复合酶 2 进行试验, 测定不同 pH 对淀粉水解程度的影响。

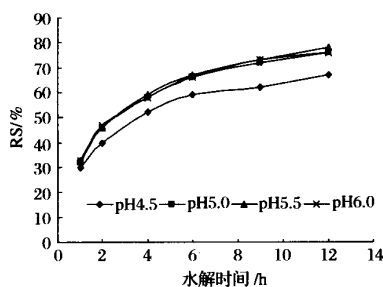


图 2 在温度 60℃ 条件下不同 pH 对大米淀粉的水解程度的影响

从图 2 可知, pH 在 5.0~6.0 之间, 淀粉水解的速度差别不大, 且在 12 h 时, 淀粉的相对水解率几乎相同。但是在 pH 4.5 的条件下, 随着时间的延长, 淀粉水解速度及相对水解率则要明显低于 pH 5.0。实验中选择水解 pH 为 5.5。

## 2.3 温度对生料水解酶的影响

在干物浓度为 30%, pH 5.5 的条件下, 选用了生料水解复合酶 2 进行试验, 测定了不同温度对淀粉的水解程度的影响。

从图 3 可以看出, 在相同的反应条件下, 不同的温度对酶的作用影响比较大, 而且并不是随着温度的升高, 酶的作用效果提高, 淀粉的水解速度加快, 最终的淀粉相对水解程度也是如此。60℃ 时, 淀粉的相对水解程度接近 100%, 这说明此生料水解复合酶在 60℃, pH 5.5 的条件下反应最为理想。

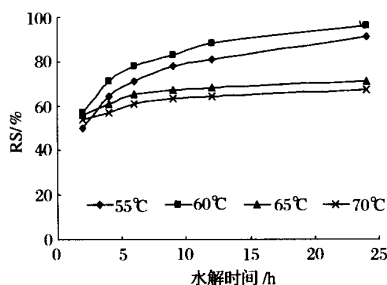


图 3 在 pH 5.5 条件下不同温度对大米淀粉的水解程度的影响

## 2.4 干物浓度对淀粉水解程度的影响

物料的浓度不同, 对最后的水解结果影响也很大。为了得到最佳的物料转化, 在 pH 5.5, 温度 60℃ 的条件下, 对不同的干物浓度进行了考察。

图 4 说明在此条件下, 该生料水解酶可以至少将 26% 干物浓度的大米乳中的 98% 淀粉水解。但如果干物浓度过高, 如图 4 所示, 35% 的干物浓度, 则大米淀粉的相对水解程度还不到 85%, 整个反应体系的水解效率下降。

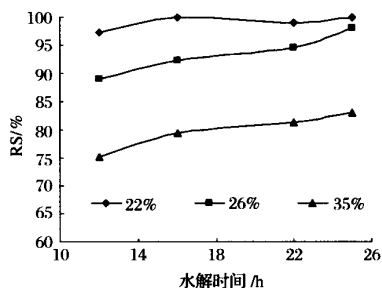


图 4 在 pH 5.5, 温度 60℃ 的条件下不同干物浓度对淀粉的相对水解率的影响

## 2.5 大米浓缩蛋白的各项物理指标

由该工艺所获得的大米分离蛋白, 表征其产品质量的各项物理指标为: 大米浓缩蛋白 II (Nx5.95): 84%, 灰分: 1.3%, 脂肪: 2.5%, 水分: 6.09%, 残淀粉: 2.08%。此外, 本生产工艺中所分离出的上清液成分大致包括: DP1% (96.41), DP2% (3.02), DP3% (0.1), DP4+ % (0.13)。

## 3 结 论

文中探讨了低温处理获得大米分离蛋白工艺中的各种影响因素。试验数据表明, 国际杰能科公司的新型生料水解复合酶对此工艺非常适合, 并且此酶在 pH 5.5, 温度 60℃, 干物浓度 20%~25% 的条件下, 作用效果最佳, 产物的质量较佳, 大米蛋白含量可以达到 80% 以上。

## 参 考 文 献

- 1 魏明英, 邬应龙. 大米蛋白的研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2003(3): 44~45
- 2 易翠平, 姚惠源. 大米蛋白的研究进展[J]. 粮油加工与食品机械 2003(8): 53~54
- 3 陈季旺, 姚惠源. 大米蛋白的开发利用[J]. 食品科技, 2002, 23(6): 87~89
- 4 Helm R M, Burks A W. Hypoallergenicity of Rice Bran[J]. Cereal Foods World, 1996, 41(11): 839~843
- 5 王章存, 申瑞玲, 姚惠源. 大米蛋白开发利用[J]. 粮食与油脂, 2004(1): 12~14
- 6 Degroot A P, Slumps P. Effect of severe alkali treatment of protein on amino acid composition and nutritive value[J]. Journal of Nutrition, 1969, 98: 45~48

7 姜锡瑞,段 钢. 新编酶制剂实用技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002. 16~21

8 天津轻工业学院,大连轻工业学院,无锡轻工业学院等. 工业发酵分析[M]. 北京:轻工业出版社,1983

## Preparation of Un-denatured High Purity of Rice Protein with New Enzymes

Qian Ying Duan Gang

(Genencor International, A Danisu Company Wuxi 214035, China)

**ABSTRACT** A new production process of high purity rice protein with Genencor granular starch hydrolyzing enzyme was reported. Different factors of the effect on the purity of rice protein were investigated, among which were enzymes, pH, temperature and concentration of substance. The results showed that the new granular starch hydrolyzing enzyme worked the most efficiently under pH5.5, 60℃ and 20%~25% of dry substance, and final product -rice protein content was more than 80%. At the same time, the glucose syrup was also of very high quality, with DX of more than 95%.

**Key words** rice protein, production process, granular starch hydrolyzing enzyme, extraction under low temperature, glucose

### 信息窗

### 中国食用菌如何应对日本新的技术壁垒

日本颁布并将于2006年5月29日生效的食品与农产品“肯定列表制度”,就是一个全新的技术壁垒和贸易阻遏。

中国是日本农产品尤其是蔬菜和食品的主要进口国。2005年,对日农产品和食品贸易额达79.3亿美元,占我国农产品出口总额的29%,其中,香菇、木耳类食用菌出口额达1.98亿美元,居园艺产品之首。

日本将于2006年5月29日生效的“肯定列表制度”,必将对中国的农产品出口影响巨大。

所谓“肯定列表”,是由日本厚生劳动省根据《食品安全基本法》对进口的食品和农产品,排定一个农药、兽药和添加剂残留的检测标准。其基本内容是:

(1)规定15种农药不得使用,亦即不得检出。(2)对全球797种农药、兽药和添加剂设定了53862个新的残留限量标准,而原来只有255种,9321个标准。目前我国常用农药270多种,其中约有150种被有关部门作为低残推荐使用,这当中有116种与日本标准相符,涉及香菇、木耳和蔬菜的49种,有3种在此次日本“肯定列表”中未列入。(3)凡未列入该表的,一律按0.01mg/kg的标准,而过去凡未列入检测的,不计标准。(4)只有68种天然的和化学物质,作为豁免物,不设限。其中,食品有香菇菌丝体萃取物,添加剂中对石蜡不设限。

“肯定列表”是日本所采用的检测标准。其实在美、加、欧盟等亦各有检测标准,多数标准也是国际上通行的。但是,每个国家都会从自身市场出发,灵活掌握。日本海关是按中国出境检验书面证明放行,同时予以抽检。执行“肯定列表”责任在于出口方,权力在于进口方,风险在于企业,最终则可能损害生产者。

菇耳标准从38个增至285个。香菇在日本农产品中有特殊的地位,日本针对中国香菇曾设置过多重“障碍”。2001年,当中国入世后才半个月,就对鲜香菇、大葱和茼蒿采取“限量进口”和反倾销调查,接着,便是甲醛超标致痛以及2003年的《种苗法修正案》出台等。此次“肯定列表”虽不是专门针对香菇,但检测指标亦从38项增至285项,包括所有菇、耳均如此。检测指标增加,给出口商带来许多困难。如果某一货柜装有多种农产品,则费用更大,通关将更繁杂,生产基地将大大增加农残控制的成本支出。此次出台的“肯定列表制度”与3年前的《种苗法修正案》类似之处在于其针对性。中国农产品对日出口量的迅速增加,已经导致日本某些产业处于崩溃边缘,尤以香菇为甚。主要农产品大国如美国、欧盟等,劳动力昂贵,无法输日;而低成本之发展中国家,产品又无法满足日本市场对品质的要求。唯有中国产品,无论质与量均可满足其市场需求,特别是低价产品对其相关行业冲击势不可挡,出台类似政策或阻滞减少进口,或放宽以满足其市场需求,皆在掌控之中。

农残须从源头抓起。就当前我国香菇栽培面广、分散、量小的特点,除大力推进公司+农户+基地的模式,逐步向专业性栽培转化外,应当让广大菇农对农药残留的危害性,有一个十分清醒的认识。都必须大力推进我国菇、耳的污染预防工作。专家认为,要持续不断地向菇民广泛宣传农药残留的危害性;要坚持所用原料和水源都应无污染,像甲胺磷超标,可能是长期在水稻田或菜地里使用农药而污染的结果。在选择原料和栽培场地时,避免污染源,从木屑栽培开始,认真分析其各种可能出现的污染。坚持出菇后不喷药、不喷水,干品在低温处贮藏(1~5℃),但不用含毒药剂熏蒸。