

# 小麦蛋白酶解液不同干燥 工艺理化指标分析

程帆<sup>1,2</sup>, 韩飞<sup>2</sup>, 李爱科<sup>2</sup>, 薛秀恒<sup>1</sup>, 王菊花<sup>1</sup>

(1. 安徽农业大学茶与食品科技学院, 安徽合肥 230036;

2. 国家粮食局科学研究院, 北京 100037)

**摘要:** 研究两种不同干燥方式下小麦酶解蛋白理化性质的差异, 为小麦酶解蛋白的工业化生产提供相关依据。以发酵罐为反应器, 采用碱性蛋白酶 Alcalase 对小麦蛋白进行酶解, 获得富含谷氨酰胺的酶解液。分别利用直接喷雾干燥和流化床载体干燥工艺制备小麦酶解蛋白, 并分析检测其各项理化指标。结果表明, 喷雾干燥制备的小麦酶解蛋白的水分含量为 6.2%、粗蛋白含量为 78.23%、肽含量为 59.13%、有效谷氨酰胺含量为 16.66%、三氯乙酸氮溶指数为 81.06%, 干燥成品呈乳白色粉状; 流化床干燥成品水分含量为 11.14%、粗蛋白含量为 22.49%、肽含量为 5.04%、有效谷氨酰胺含量为 2.03%、三氯乙酸氮溶指数为 28.99%, 干燥成品呈黄色细小颗粒状。喷雾干燥成本高、操作时间长、成品得率小, 但是成品有效谷氨酰胺含量高; 流化床干燥成本低、工艺简单、成品得率大, 但是成品有效谷氨酰胺含量较低, 两种工艺可用于制备不同使用目的的小麦酶解蛋白。

**关键词:** 谷朊粉; 喷雾干燥; 流化床干燥; 小麦酶解蛋白; 谷氨酰胺

中图分类号: TS 205.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2015)02-0053-04

## Study on physicochemical indexes of wheat protein hydrolysate by different drying methods

CHENG Fan<sup>1,2</sup>, HAN Fei<sup>2</sup>, LI Ai-ke<sup>2</sup>, XUE Xiu-heng<sup>1</sup>, WANG Ju-hua<sup>1</sup>

(1. College of Tea and Food Science & Technology, Anhui Agricultural University, Hefei Anhui 230036;

2. Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037)

**Abstract:** The difference of physicochemical properties of wheat protein hydrolysate in 2 different drying conditions was studied in order to provide basic data for the industrial production of wheat protein hydrolysate. Gluten was hydrolyzed by Alcalase, using the fermentation tank as a reactor to obtain the hydrolysate which was rich in glutamine. Wheat protein hydrolysate was prepared by spray drying or fluidized bed drying. The physicochemical indexes were investigated. The results showed that by spray drying, the content of moisture, protein, peptide, effective glutamine and TCA-NSI were 6.2%, 78.23%, 59.13%, 16.66%, and 81.06% respectively, and the dried product was white powder; by fluidized bed drying, the data were 11.14%, 22.49%, 5.04%, 2.03% and 28.99% respectively, and the dried product was yellow fine granular. Spray drying was more complicated to operate, time-consuming and expensive than fluidized bed drying, but it had higher effective glutamine. The two drying methods could be used in different area for preparing wheat protein hydrolysate.

**Key words:** wheat gluten; spray drying; fluidized bed drying; wheat protein hydrolysate; glutamine

小麦酶解蛋白是以小麦中提取的蛋白质为原料, 采用酶制剂, 通过定向酶切获得小分子多肽营养

物质, 然后经过干燥而成, 具有水溶性好、分散稳定、易吸收、生物活性强等特点<sup>[1]</sup>。由于小麦是已知植物中谷氨酰胺含量比较高的物种之一, 小麦酶解蛋白以小麦面筋蛋白(俗称谷朊粉)为原料, 也具备了高谷氨酰胺这一特性, 且多以寡肽形式存在, 在肠道

收稿日期: 2014-08-11

基金项目: 十二五科技支撑计划课题(2011BAD26B01-3)

作者简介: 程帆, 1990年出生, 男, 湖北武汉人, 在读硕士。

通讯作者: 韩飞, 女, 博士, 副研究员。

内易于吸收,作为饲料添加剂、功能性食品添加剂有较好的效果,具有良好的开发前景<sup>[2]</sup>。

目前,国内外干燥蛋白酶解液的方法主要有喷雾干燥、流化床载体干燥和真空冷冻干燥等。喷雾干燥是将原料液用雾化器分散成雾滴,并用热空气与雾滴直接接触的方式获得粉粒状产品的一种干燥过程。喷雾干燥一般包括4个阶段<sup>[3-4]</sup>:料液雾化,雾群与热干燥介质接触混合,雾滴的蒸发干燥,干燥产品与干燥介质的分离。目前市场上常见的速溶咖啡、奶粉、方便食品汤料等就是由喷雾干燥得到的产品<sup>[5]</sup>;流化床干燥是通过湿物料与热空气在布风板上接触,物料颗粒悬浮于气流之中,形成流化状态的物料颗粒与热空气均匀、充分地混合,进行十分强烈的传热和传质,脱除水分,达到干燥。真空冷冻干燥技术是将湿物料或溶液在较低的温度(-10~-50℃)下冻结成固态,然后在真空(1.3~13 Pa)下使其中的水分不经液态直接升华成气态,最终使物料脱水的干燥技术。对比于喷雾干燥和流化床载体干燥工艺,真空冷冻干燥设备投资大,能源消耗及生产成本较高,在实际生产应用中普及较少。因此,本研究通过对小麦蛋白酶解液喷雾干燥和流化床载体干燥的效果进行研究,以期小麦酶解蛋白的工业化生产提供相关的基础性数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

谷朊粉,河南康迪粉业有限公司;碱性蛋白酶 Alcalase 2.4 L,诺维信。1,1-三氟乙酸基碘苯(BTI)、浓盐酸、氢氧化钠、三氯乙酸,无水醋酸钠、柠檬酸钠、乙醇等均为分析纯,国药集团。

100 L发酵罐,赛多利斯;喷雾干燥仪 B-290,瑞士 BUCHI;L-200 流化床干燥器,常州创宏干燥设备有限公司;氨基酸自动分析仪 L-8800,日立公司;干燥箱 PH070A,上海一恒科学仪器有限公司;氮吹仪,杭州奥盛仪器有限公司;MinPlus 漩涡振荡器,潍坊三水检验设备有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 小麦蛋白酶解液的制备

将8.0 kg 谷朊粉用80 L水混匀→加入到100 L发酵罐中→发酵罐升温至55℃、调节pH为8.0、转速调为250 r/min→加入碱性蛋白酶400 mL→酶解120 min→升温至85℃、灭酶10 min→放出小麦蛋白酶解液。

#### 1.2.2 喷雾干燥进风温度对挂壁物料的影响

小麦蛋白酶解液的加料速率为10 mL/min,喷雾干燥过程中每隔90 min取一次料,探讨进风温度

(分别为140~150℃、150~160℃、160~170℃、170~180℃、180~190℃)对壁上挂粉情况的影响<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.3 流化床干燥载体最佳添加量的确定

玉米粉作为一种动物饲料原料,增加小麦酶解蛋白饲料添加剂的适口性,因而适合于小麦酶解蛋白饲料添加剂的工业化生产,本研究以过筛情况和含水量为指标,依次选取了玉米粉添加量为140%、150%、160%、170%、180%几个梯度,确定干燥载体—玉米粉的最佳添加量;干燥过程中,进风温度为65~70℃,出风温度为48~52℃,干燥完毕后收集成品。

#### 1.2.4 干燥成品理化指标测定方法

蛋白质含量测定参照 GB/T 24318—2009<sup>[7]</sup>,采用杜马斯燃烧法。

水分含量测定参照 GB/T 5009.3—2003<sup>[8]</sup>,采用直接干燥法。

酸溶性蛋白含量测定:称取3 g样品,加15 mL 20%的三氯乙酸(TCA),25℃下震荡2 h,在4 800 r/min下离心10 min,离心结束后取上清液,使用凯氏定氮仪测定上清液中蛋白含量<sup>[9]</sup>。

游离氨基酸含量测定。提取的酸溶性蛋白溶液,稀释100倍,过0.45 μm微孔滤膜,上机测定。游离氨基酸含量=游离氨基酸总含量/蛋白样品总重×100%。

有效谷氨酰胺含量测定<sup>[10-12]</sup>。谷氨酰胺的BTI保护反应:称取250 mg酶解蛋白粉,用纯净水溶解定容至100 mL,配制成2.5 mg/mL的水解蛋白溶液,取100 μL水解蛋白溶液,加入100 μL双三氟乙酸基碘苯(BTI)(10 mg/mL)一乙腈水溶液中,同时加入50 μL 50 mM吡啶水溶液,混合均匀后充氮,50℃反应4 h后,氮气吹干备用。加入200 μL 6 mol/L HCl于上述氮气吹干样品中,使用氮吹仪充氮气后,将微量反应瓶密封,110℃水解24 h,作为BTI制备样;取100 μL 2.5 mg/mL水解蛋白溶液加入微量反应瓶中,氮气吹干,加200 μL 6 mol/L HCl,同样置于110℃烘箱中水解24 h,作为对照组。BTI保护组与对照组反应24 h结束后,氮气吹干,加入200 μL纯净水,用漩涡振荡器溶解,氮气吹干,反复溶解吹干3次,最后两组样品加入1.3 mL柠檬酸钠缓冲液,用漩涡振荡器充分溶解,过0.45 μm有机系微孔滤膜于进样瓶中,用氨基酸分析仪测定谷氨酸的含量。肽中有效谷氨酰胺(Gln)含量按下式计算:有效Gln含量/%=(对照组Glu含量-BTI保护组Glu含量)/样品总重×100%,Glu为谷氨酸。

三氯乙酸氮溶指数(TCA - NSI)测定<sup>[13]</sup>。酸溶性蛋白提取:称取3 g样品,加15 mL 20%的三氯乙酸(TCA),25 °C下震荡2 h后,在4 800 r/min下离心10 min,离心结束后取上清液。使用凯氏定氮仪测定上清液中蛋白含量。TCA - NSI含量计算公式如下:TCA - NSI/% = (TCA沉淀上清液氮含量/样品总氮含量) × 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 喷雾干燥进风温度对挂壁物料的影响

从表1可以看出,进风温度越低,焦化现象越不明显。但进风温度低,设备效能会下降较快,在不影响小麦酶解蛋白质量的情况下,选取160~170 °C作为喷雾干燥的适宜进风温度。

表1 喷雾干燥进风温度对挂壁物料的影响

温度/°C	挂壁干粉焦化情况
140~150	粉末白色
150~160	粉末基本白色
160~170	粉末略带黄色
170~180	粉末黄色较为明显
180~190	出现深黄色、略带焦化味

### 2.2 流化床干燥载体最佳添加量的确定

从表2可以看出,干燥载体添加量越高,混合物的含水量就越低,越容易过筛,但是干燥载体—玉米粉的添加量越高,干燥成品中有效谷氨酰胺和肽含量就会越低,降低产品的价值。因此,在不影响酶解液流化床干燥的情况下,优先选取玉米粉的添加量为160%。

表2 干燥载体—玉米粉添加量的确定

玉米粉添加量/%	混合物含水量/%	过筛情况
140	50.10 ± 0.12	完全不过筛
150	46.84 ± 0.21	难过筛
160	43.28 ± 0.18	过筛
170	40.97 ± 0.28	容易过筛
180	38.22 ± 0.30	容易过筛

注:测定值均为“平均值 ± 标准误差”,下表同。

### 2.3 小麦酶解蛋白喷雾干燥和流化床干燥产品得率的比较

进风温度为160~170 °C、酶解液加料速率为10 mL/min时,收集成品,小麦酶解蛋白的得率为65%,说明喷雾干燥的过程中,干燥温度较高,小麦酶解蛋白由于挂壁造成了较大的损失;流化床干燥载体—玉米粉的添加量为160%时,干燥得到小麦酶解蛋白的得率为93%,虽然成品得率较高,但是由于干燥过程中加入了载体—玉米粉,因而成品的蛋白含量、肽含量、有效谷氨酰胺含量较低。

### 2.4 干燥成品理化指标

#### 2.4.1 水分、蛋白、酸溶性蛋白、游离氨基酸以及TCA - NSI含量

测定结果如表3所示。

表3 喷雾干燥样品和流化床干燥样品检测指标的比较 %

检测指标	喷雾干燥成品	流化床干燥成品
水分含量	6.20 ± 0.05	11.14 ± 0.04
蛋白含量	78.23 ± 0.31	22.49 ± 0.25
酸溶性蛋白含量	63.41 ± 0.13	6.01 ± 0.32
游离氨基酸含量	4.28 ± 0.13	1.17 ± 0.11
肽含量	59.13 ± 0.10	5.04 ± 0.24
TCA - NSI	81.06 ± 0.21	28.99 ± 0.12
成品干物质得率	65 ± 0.29	93 ± 0.18

从表3可以看出,喷雾干燥由于是直接将小麦酶解蛋白营养液进行干燥,因而干燥得到的成品中蛋白含量、肽含量比较高,但是喷雾干燥成品干物质得率较低,损失和能耗都较大;流化床干燥由于小麦酶解蛋白营养液中加入了干燥载体—玉米粉,成品的蛋白含量和肽含量较低,但是流化床干燥成品干物质得率较高,比喷雾干燥多出28个百分点,且流化床干燥的能耗较小,操作简单。

三氯乙酸是一种蛋白质沉淀剂,它可以沉淀大分子蛋白质和较长的肽段,保留小分子肽或游离氨基酸。TCA - NSI越高,表明短肽含量越高,因此,TCA - NSI可以准确地反应蛋白质的酶解情况。溶解指数越高,表明小肽的含量越高,是评价小肽产品的一个直观有效的指标<sup>[14-15]</sup>。

测得小麦酶解蛋白营养液喷雾干燥和流化床干燥成品的酸溶性蛋白含量分别为63.41%和6.01%,通过计算,得氮溶指数分别为81.06%和28.99%,表明喷雾干燥小麦酶解蛋白样品中短肽的含量比较高。

#### 2.4.2 干燥成品有效谷氨酰胺含量测定

小麦酶解蛋白谷氨酰胺测定图谱如图1~图2所示。通过测定,喷雾干燥小麦酶解蛋白中有效Gln含量为16.66%,流化床干燥小麦酶解蛋白中有效Gln含量为2.03%。

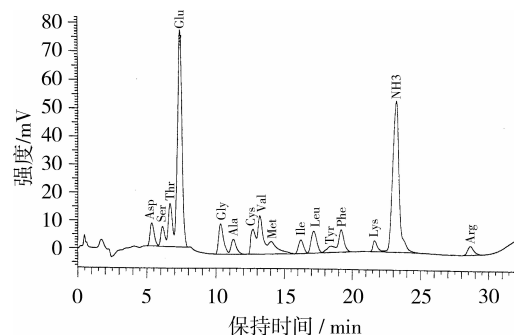


图1 喷雾干燥小麦酶解蛋白酸水解氨基酸分析图谱

注:Asp - 天冬氨酸, Ser - 丝氨酸, Thr - 苏氨酸, Glu - 谷氨酸, Gly - 甘氨酸, Ala - 丙氨酸, Cys - 半胱氨酸, Val - 缬氨酸, Met - 甲硫氨酸, Ile - 异亮氨酸, Leu - 亮氨酸, Tyr - 酪氨酸, Phe - 苯丙氨酸, Lys - 赖氨酸, Arg - 精氨酸, 下同。

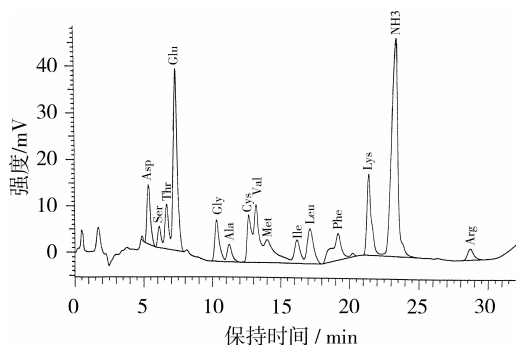


图2 流化床干燥小麦酶解蛋白氨基酸分析图谱

2.4.3 干燥成品氨基酸含量测定

小麦蛋白酶解液喷雾干燥和流化床干燥成品氨基酸组成如表4所示,喷雾干燥小麦酶解蛋白中Glu和Gln的总含量为23.42%,并且发现酶解蛋白中Pro含量比较高(含量为7.74%)。Pro是胶原蛋白的主要成分之一,作为一种营养补充剂应用于患有营养不良或胃肠疾病的患者,同时Pro还是一种风味增补剂,因此喷雾干燥得到的小麦酶解蛋白可应用于营养增补剂,食品添加剂等;流化床干燥小麦酶解蛋白中Glu的含量为2.69%,虽然成品中Pro含量较低,但是成品中加入了干燥载体—玉米粉,由于玉米粉是一种动物饲料原料,增加了饲料的适口性,所以流化床干燥的小麦酶解蛋白适用于动物饲料添加剂的工业化生产。

表4 小麦蛋白酶解物的氨基酸组成分析 %

氨基酸	喷雾干燥成品中含量	流化床干燥成品中含量
Asp	2.50 ± 0.07	0.38 ± 0.03
Thr	1.98 ± 0.09	0.28 ± 0.02
Ser	3.01 ± 0.10	0.35 ± 0.04
Glu + Gln	23.42 ± 0.34	2.69 ± 0.08
Gly	2.72 ± 0.09	0.21 ± 0.03
Ala	2.13 ± 0.04	0.12 ± 0.01
Cys	2.11 ± 0.28	1.27 ± 0.02
Val	2.13 ± 0.31	0.63 ± 0.07
Met	4.76 ± 0.26	1.21 ± 0.05
Ile	5.36 ± 0.10	0.19 ± 0.01
Leu	2.97 ± 0.07	0.45 ± 0.03
Tyr	4.28 ± 0.04	1.75 ± 0.04
Phe	5.69 ± 0.20	1.73 ± 0.04
Lys	2.25 ± 0.17	0.60 ± 0.05
His	0.48 ± 0.02	0.26 ± 0.03
Arg	2.33 ± 0.10	0.49 ± 0.04
Pro	7.74 ± 0.16	0.34 ± 0.03
氨基酸总和	75.86 ± 0.45	12.94 ± 0.22

注:His—组氨酸,Pro—脯氨酸。

3 结论

以小麦蛋白(谷朊粉)为原料获得的小麦蛋白酶解液,其喷雾干燥的适宜进风温度为160~170℃,干燥成品中水分含量为6.2%、粗蛋白含量为

78.23%、肽含量为59.13%、有效谷氨酰胺含量为16.66%、三氯乙酸氮溶指数为81.06%,干燥成品为乳白色粉状;流化床干燥载体—玉米粉的最适添加量为160%,干燥成品的水分含量为11.14%、粗蛋白含量为22.49%、肽含量为5.04%、有效谷氨酰胺含量为2.03%、三氯乙酸氮溶指数为28.99%,干燥成品为黄色细小颗粒状。小麦蛋白酶解液喷雾干燥过程中由于干燥温度高,挂壁产生的损失较大,因而成品得率较小,仅为65%,且干燥过程中能耗较大,但是喷雾干燥得到的小麦酶解蛋白的有效谷氨酰胺含量较高,适合作为营养增补剂、食品添加剂的工业化生产。流化床干燥成品的得率较高,为93%,成品有效谷氨酰胺的含量较低仅为2.03%,但是达到了饲料中有效谷氨酰胺的适宜添加量(1.0%~2.5%),且干燥载体—玉米粉本身作为一种动物饲料原料,可增加谷氨酰胺饲料添加剂的适口性,因而适合于谷氨酰胺饲料添加剂的工业化生产。

参考文献:

- [1]孔祥珍,周惠明.小麦面筋蛋白特性及其应用[J].粮食与油脂,2004(11):14-15.
- [2]彭海萍,王兰.小麦面筋蛋白在食品工业中的应用[J].西部粮油科技,2002,27(2):32-33.
- [3]郭宜估,王喜忠.喷雾干燥[M].北京:化学工业出版社,1983.
- [4]MASTER. SK. 喷雾干燥手册[M].北京:中国建筑工业出版社,1983.
- [5]刘广文.喷雾干燥实用技术大全[M].北京:中国轻工业出版社,2001.
- [6]胡玉红,马齐,张强.酶解蛋白液喷雾干燥工艺研究[J].安徽农业科学,2009,37(30):14885-14886.
- [7]GB/T 24318-2009,杜马斯燃烧法测定饲料原料中总氮含量及粗蛋白质的计算[S].
- [8]GB/T 5009.3-2003,水分的测定[S].
- [9]Radhakrishna A S, Parham M E, Riggs R M, et al. New method for direct conversion of amides to amines [J]. Org Chem, 1979, 44: 1746-1747.
- [10]Chelius D, Jing K, Luera A, et al. Formation of Pyroglutamic Acid from Ntermin-al Glutamic Acid in Immunoglobulin Gamma Antibodies[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(7):2370-2376.
- [11]Higaki-Sato N, Sato K, Esumi Y, et al. Isolation and Identification of Indigestible Pyroglutamyl Peptides in an Enzymatic Hydrolysate of Wheat Gluten Prepa-red on an Industrial Scale [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(1):8-1
- [12]刘海梅,熊善柏,赵山,等.脱脂油菜籽饼粕蛋白质分步酶水解研究:碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶分步水解[J].粮食与油脂,2008,25(3):2-4.
- [13]杨得胜.谷氨酰胺结合肽的高效制备[D].南京:南京农业大学,2004.
- [14]吕艳.酶解小麦蛋白制取谷氨酰胺活性肽的研究[D].杭州:浙江大学,2005.
- [15]李清丽.谷朊粉活性肽的酶解制取工艺研究[D].郑州:河南工业大学,2007. ☉