

# 预热处理对甘薯蛋白酶解特性的影响

张 苗, 木泰华\*

(中国农业科学院农产品加工研究所果蔬加工研究室, 北京 100193)

**摘 要:** 以碱性蛋白酶 (Alcalase) 为水解酶, 研究了不同预热处理温度和时间对甘薯蛋白酶解特性的影响。采用单因素试验及响应面分析法, 对 Alcalase 水解预热处理条件进行了研究, 建立了水解度 (DH) 及三氯乙酸氮溶解指数 (TCA-NSI) 与预热处理的回归模型, 分析了模型的有效性及其因子间的交互作用。结果表明, 预热处理对 Alcalase 酶解甘薯蛋白的 DH 和 TCA-NSI 的影响显著 ( $P < 0.05$ ); 甘薯蛋白预热处理的最优工艺参数为: 温度 92℃, 时间 13 min。在此条件下, DH 与 TCA-NSI 分别为 26.32% 和 84.33%。与直接酶解天然甘薯蛋白相比, 在预热处理的最佳工艺条件下所得到的 DH 和 TCA-NSI 分别提高了 15.89% 和 53.37%。

**关键词:** 酶, 水解, 蛋白, 甘薯, 预热处理, 水解度, 三氯乙酸氮溶解指数

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.z1.060

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2012)-Supp.1-0356-07

张 苗, 木泰华. 预热处理对甘薯蛋白酶解特性的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(增刊 1): 356-362.

Zhang Miao, Mu Taihua. Effects of pre-heating treatment on enzymolysis characteristics of sweet potato protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(Supp.1): 356-362. (in Chinese with English abstract)

## 0 引 言

甘薯 (*Ipomoea batatas* L.) 是中国第四大产量的粮食作物, 占世界甘薯总产量的 80% 左右<sup>[1]</sup>。甘薯干基中约含 1.73%~9.14% 粗蛋白<sup>[2]</sup>, 是丰富的植物蛋白来源。甘薯蛋白的氨基酸评分为 82, 必需氨基酸含量高于大多数植物蛋白<sup>[3]</sup>。研究表明, 甘薯蛋白具有脱氢抗坏血酸还原酶 (DHA) 活性和谷胱甘肽过氧化物酶类似物 (GSH-Px) 活性<sup>[4-5]</sup>。因此, 开发和利用这一巨大的潜在植物蛋白资源, 生产具有高附加值的生物活性肽具有重要的意义。

近年来, 酶水解制备生物活性肽得到广泛的关注<sup>[6-7]</sup>。已有从牛奶、鸡蛋、肉类、鱼类, 以及大豆、小麦和玉米等多种动植物中分离生物活性肽的研究<sup>[8-14]</sup>。但尚未见有从甘薯蛋白中制备活性肽的报道。

植物蛋白分子通过氢键、疏水键作用等次级键形成致密的球状结构<sup>[15]</sup>, 使得酶催化位点被包埋, 从而阻碍了蛋白酶的水解。适当的热处理可破坏其次级键, 使蛋白质分子伸展开, 转变为松散的结构, 暴露原来包埋于内部的作用位点, 从而加快水解速率<sup>[16]</sup>。Yin 等<sup>[17]</sup>发现对大麻分离蛋白预热处理 (80℃, 10 min) 后进行酶解, 所

得水解度高于未加热处理的蛋白。Peña-Ramos 等<sup>[18]</sup>研究发现 90℃ 预热处理乳清分离蛋白 (WPI) 5 min 后, 再分别采用 3 种商业蛋白酶进行水解, 所得水解度与未处理 WPI 相比均有所提高。周志红等<sup>[19]</sup>发现对天然大豆分离蛋白 (SPI) 进行一定的湿热处理后 (80℃, 60 min), 可显著提高胃蛋白酶及胰蛋白酶对 SPI 的消化效果。陶红等<sup>[20]</sup>发现酶解前对大豆蛋白进行预热处理 (90℃, 15 min) 可显著提高大豆蛋白的水解程度, 得到 2~4 个氨基酸组成的肽链。天然甘薯蛋白分子具有紧密的三维立体结构<sup>[21]</sup>, 较难酶解。为了获得甘薯蛋白多肽, 有必要对甘薯蛋白进行预热处理, 探索其对甘薯蛋白酶解特性的影响。

为此, 本文以碱性蛋白酶 (Alcalase) 为水解酶, 以反映水解程度的 DH 和 TCA-NSI 为指标, 研究影响甘薯蛋白酶解的预热处理条件, 建立 DH 及 TCA-NSI 与预热处理的回归模型, 以便为进一步探索不同酶解条件下制备甘薯蛋白活性肽提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要原料与试剂

原料: “密选一号”甘薯, 购于北京密云县。试剂: 碱性蛋白酶 (Alcalase): 酶活力  $1.4 \times 10^4$  U/g, 购于 Novo (中国) 投资有限公司; 邻苯二甲醛 (OPA): 购于 Sigma 公司。试验中所用其它试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器

2300 全自动凯氏定氮仪 (瑞典 FOSS); Soxhlet Avanti 2050 粗脂肪测定仪 (瑞典 FOSS); DGG-9240B 电热恒温鼓风干燥箱 (上海森信实验仪器有限公司); FD5-3 型冷冻干燥机 (美国 SIM); TB-114

收稿日期: 2011-05-02 修订日期: 2012-03-19

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (CARS-11-B-19); 国际科技合作计划项目 (2010DFA32690); 中国农业科学院作物科学研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助项目

作者简介: 张 苗 (1984-), 女, 博士研究生, 主要从事甘薯蛋白酶解及生物活性肽方面研究, 北京 中国农业科学院农产品加工研究所, 100193。Email: yeahbetty123@yahoo.com.cn。

\*通信作者: 木泰华 (1964-), 男 (纳西族), 研究员, 博士生导师。主要从事食品化学与营养领域的研究, 北京 中国农业科学院农产品加工研究所, 100193。Email: mutaihua@126.com。

电子天平(美国 DENVER INSTRUMENT); HYQ-2121A 涡旋混匀器(美国 CRASTAL); DK-S42 恒温水浴锅(上海精宏设备有限公司); SY-2230 恒温水浴摇床(美国 CRASTAL); STARTER 3C 型 pH 计(美国 OHAUS); TGL-1601 高速离心机(上海安亭科学仪器); UV1101 紫外可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司); Ro(NaF-40)-UF-4010 型实验用膜分离超滤装置: 上海亚东核级树脂有限公司。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 甘薯蛋白基本成分的测定

甘薯蛋白中的蛋白质、脂肪、粗纤维、灰分和水分含量均采用 AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 的方法进行测定<sup>[22]</sup>; 总糖采用苯酚-硫酸法测定<sup>[23]</sup>。

#### 1.3.2 蛋白酶活力的测定

采用 Folin-酚法 (QB/T 1803-1993)。

#### 1.3.3 水解度的测定

DH 定义为肽链被切断的百分比。DH 的测定基于邻苯二甲醛 (OPA) 的反应<sup>[24]</sup>。DH 的计算公式如下:

$$DH = h / h_{tot} \times 100\% \quad (1)$$

式中, DH 为水解度, %;  $h_{tot}$  取决于原料的类型, 表示蛋白质当量的肽键总数;  $h$  表示水解肽键的数量。

#### 1.3.4 三氯乙酸氮溶解指数的测定

采用三氯乙酸 (TCA) 可溶性氮法<sup>[25-26]</sup>。量取甘薯蛋白水解液 10 mL, 加入等体积质量分数 24% TCA 后混匀, 在室温下放置 30 min, 于 4 000×g 下离心 15 min, 用 Peterson<sup>[27]</sup>及 Markwell 等<sup>[28]</sup>的方法测定上清液中可溶性氮含量。每个样品测定 3 次, 取平均值。

TCA 氮溶解指数 (TCA-NSI) = 水解液中 12% TCA 中溶性氮质量/原料中总氮质量×100% (2)

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 甘薯蛋白的制备

新鲜甘薯清洗后, 切成小块 (体积约为 1 cm<sup>3</sup>), 置于含 0.05% NaHSO<sub>3</sub> 溶液中, 料液质量比为 1:2。用搅拌机捣碎后, 先用 4 层纱布过滤再用 100 目筛过滤。得到滤液 3 000×g 离心 20 min 除去淀粉。用 1 mol/L HCl 调节上清液的 pH 值到 4 左右, 并搅拌 1 h, 得到的浆液 5 000×g 室温下离心 15 min。弃去上清液, 将沉淀 pH 值调节到 7~8 回溶, 然后加 3 倍的水 (体积比) 超滤, 重复 3 次。得到的滤液冻干后即即为甘薯蛋白。

#### 1.4.2 预热处理单因素试验及酶解方法

预热处理温度影响试验: 配制质量分数 2% 的甘薯蛋白溶液, 分别在 80、85、90、95、100℃ 下加热, 时间为 20 min。然后进行酶解。

预热处理时间影响试验: 配制质量分数 2% 的甘薯蛋白溶液, 在 90℃ 下处理不同的时间 0 (未处理)、5、10、15、20 min, 然后进行酶解。

酶解方法: 配制 2% (质量体积比) 的甘薯蛋白溶液, 预热处理后冷却, 水浴至蛋白酶适宜温度 (50℃), 用 6 mol/L NaOH 调节 pH 值至 8.0, 加酶量为 6 000 U/g, 低

速搅拌。水解过程中, 用 2 mol/L NaOH 维持 pH 值恒定。水解 4 h 后, 置于沸水浴 10 min 以钝化蛋白酶, 待冷却后于 5 000×g 下离心 20 min, 所得上清液调 pH 值至 7.0 后即即为甘薯蛋白酶解产物。酶解产物定容至 200 mL 用于分析。

#### 1.4.3 中心复合设计

以 DH 和 TCA-NSI 为响应, 用响应面法 (Response surface methodology, RSM) 优化热变性处理参数, 本试验选用中心复合设计。根据单因素试验的结果, 确定的 2 个自变量的范围及水平编码表见表 1。试验设计包括 8 个因子点和 5 个中心点重复 (表 3)。选取 DH 和 TCA-NSI 作为自变量组合的响应值 (表 3)。每一条件进行 3 次试验, 结果取平均值。变量根据公式 (3) 编码:

$$x_i = (X_i - X_0) / \Delta X \quad (3)$$

$x_i$  是编码值;  $X_i$  是对应的试验值;  $X_0$  是区域中心的试验值;  $\Delta X$  是  $X_i$  的增长量对应于 1 单位  $x$  的变异性。

根据试验设计, 当自变量  $n=2$  时, 数学模型公式如下

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 \quad (4)$$

式中,  $Y$  是响应值 (DH 和 TCA-NSI);  $b_0$  是模型常数项;  $b_1$  和  $b_2$  是线性系数;  $b_{12}$  是交互项系数;  $b_{11}$  和  $b_{22}$  是二次项系数。

表 1 试验因子水平及编码

编码水平	自变量	
	$X_1$ (温度/℃)	$X_2$ (时间/min)
-1.41421	80	2.93
-1	82.93	5
0	90	10
1	97.07	15
1.41421	100	17.07

### 1.5 统计分析

试验数据用平均数±标准差 (Mean±SD) 表示, 用 SAS 8.1 统计软件进行方差分析 (ANOVA), 用 Duncan 多重比较法进行显著性检验 ( $P < 0.05$ )。运用 Design Expert 7.0 软件, 通过自变量和每一个因变量的回归分析和三维响应面图来估计最优预热处理条件。

## 2 结果与讨论

### 2.1 甘薯蛋白的基本成分

制备得到的甘薯蛋白基本成分见表 2。由表 2 可知甘薯蛋白中含有 87.84% 蛋白质, 还含有少量的脂肪 (0.57%) 和总糖 (1.67%)。

表 2 甘薯蛋白基本成分的质量分数

Table 2 Proximate composition of sweet potato protein

						%
蛋白质	脂肪	粗纤维	灰分	水分	总糖	
87.84±0.62	0.57±0.08	0.19±0.02	1.65±0.11	7.88±0.13	1.67±0.02	

2.2 甘薯蛋白预处理的单因素试验

2.2.1 不同预热处理温度对 *DH* 和 *TCA-NSI* 的影响

由图 1 可知, 未经预热处理时, 天然甘薯蛋白的 *DH* 和 *TCA-NSI* 分别为 10.43% 和 30.96%。甘薯蛋白经不同预热温度 (80、85、90、95、100℃) 处理 20 min 后, *DH* 和 *TCA-NSI* 均有显著提高 ( $P < 0.05$ ), 且呈先升高后降低的趋势。当预热温度由 80℃ 升高到 95℃ 时, 酶解产物的 *DH* 和 *TCA-NSI* 显著提高 ( $P < 0.05$ ), 最高可分别达到 22.40% 和 82.88%。但当温度继续升高到 100℃ 时, *DH* 和 *TCA-NSI* 均有明显下降 ( $P < 0.05$ )。Stanciuc 等<sup>[29]</sup> 研究发现 60~75℃ 预热处理乳清蛋白浓缩物后, *DH* 随预热处理温度增加而增加; 而 80~85℃ 预热处理后, *DH* 显著下降。这可能是由于加热破坏了甘薯蛋白分子的高级结构, 蛋白分子链展开, 增加了酶切位点; 然而, 过高的温度可能导致蛋白分子聚集沉淀, 减少了酶与不稳定肽键的接触, 从而阻碍了酶的水解作用。

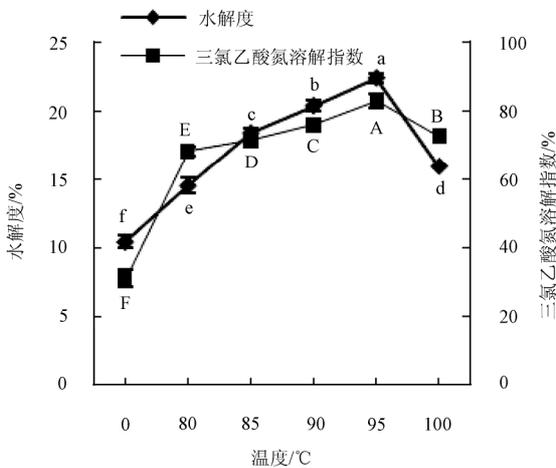


图 1 预热处理温度对水解度 (*DH*) 及三氯乙酸氮溶解指数 (*TCA-NSI*)

Fig.1 Effects of pre-heating temperature on the degree of hydrolysis (*DH*) and trichloroacetic acid-nitrogen solubility index (*TCA-NSI*)

2.2.2 不同预热处理时间对 *DH* 和 *TCA-NSI* 的影响

由图 2 可知, 与直接酶解未经热变性处理的天然甘薯蛋白相比, 将甘薯蛋白于 90℃ 下分别预热处理不同时间 (5、10、15、20 min) 后再进行酶解, *DH* 和 *TCA-NSI* 均有显著提高 ( $P < 0.05$ ), 并且呈现出先升高后降低的趋势。当预热处理时间由 5 min 增加到 15 min 时, 酶解产物的 *DH* 和 *TCA-NSI* 显著提高 ( $P < 0.05$ ), 最高可分别达到 19.99% 和 81.73%。但当时间增加至 20 min 时, *DH* 和 *TCA-NSI* 均明显下降 ( $P < 0.05$ )。陶红等<sup>[20]</sup> 将大豆蛋白于 90℃ 预热处理不同时间 (5、10、15、20、30 min) 后, 发现 *DH* 亦呈现出先升高后降低的趋势。上述结果与预热处理温度对 *DH* 和 *TCA-NSI* 的影响类似, 这也许是由于一定时间加热处理后, 蛋白分子链展开, 转变为疏松的结构, 易于蛋白酶的水解, 而随着加热时间的进一步延长, 疏水侧链的暴露, 以及新的二硫键的生成, 形

成了更加紧密的结构, 使蛋白酶解速率降低<sup>[29]</sup>。

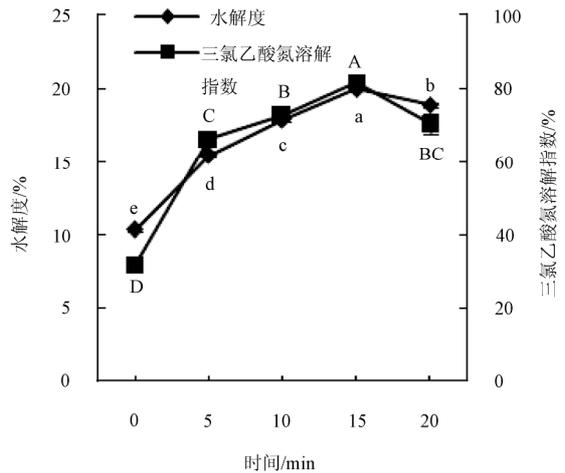


图 2 预热处理时间对水解度 (*DH*) 及三氯乙酸氮溶解指数 (*TCA-NSI*) 的影响

Fig.2 Effects of pre-heating time on the degree of hydrolysis (*DH*) and trichloroacetic acid-nitrogen solubility index (*TCA-NSI*)

2.3 甘薯蛋白预处理的中心复合试验结果与分析

2.3.1 回归模型建立及显著性检验

用中心复合试验处理的 13 次结果见表 3, 包括试验设计和响应值。

利用 Design Expert 7.0 软件对表 3 数据进行多元回归拟合, 获得对响应值——*DH* ( $Y_1$ ) 和 *TCA-NSI* ( $Y_2$ ) 的关键因子——预热处理温度 ( $X_1$ ) 和时间 ( $X_2$ ) 的二次多项式回归模型, 得到 *DH* ( $Y_1$ ) 和 *TCA-NSI* ( $Y_2$ ) 的标准回归方程为:

$$Y_1 = -423.2951 + 8.7627X_1 + 7.5959X_2 - 0.04187X_1X_2 - 0.04484X_1^2 - 0.1493X_2^2 \quad (5)$$

$$Y_2 = -1416.4918 + 29.2238X_1 + 24.0416X_2 - 0.1406X_1X_2 - 0.1489X_1^2 - 0.4144X_2^2 \quad (6)$$

表 3 中心复合设计及试验结果

Table 3 Experimental design and results of Central Composite

编号	因素		水解度 /%	三氯乙酸氮溶解指数 /%
	温度/℃ ( $X_1$ )	时间/min ( $X_2$ )		
1	1.41421(100)	0(10)	22.99	73.92
2	-1(82.93)	-1(5)	12.19	37.25
3	0(90)	0(10)	24.92	77.64
4	0(90)	0(10)	25.99	78.10
5	0(90)	0(10)	25.04	83.06
6	0(90)	1.41421(17.07)	22.92	80.35
7	1(97.07)	-1(5)	19.10	60.74
8	-1(82.93)	1(15)	24.14	76.74
9	0(90)	0(10)	25.33	81.03
10	-1.41421(80)	0(10)	17.69	52.58
11	0(90)	0(10)	26.06	79.45
12	0(90)	-1.41421(2.93)	11.80	34.48
13	1(97.07)	1(15)	25.13	80.35

注:  $X_1$  和  $X_2$  分别为温度和时间的试验值。编号 1-13 为试验次数。

对模型 (5) 和模型 (6) 进行方差分析及回归系数显著性检验, 结果见表 4 和表 5。一元方差分析可以看出二次模型对  $DH$  和  $TCA-NSI$  的影响是极显著的 ( $P < 0.01$ )。

表 4 回归模型系数的估计值及显著性检验

Table 4 Estimated value and significance test of regression coefficients

模型	模型项	模型系数估计值	自由度	标准误差	F 值	P 值
以水解度为响应值的模型	常数项	-423.2951	1	0.38	-	-
	$X_1$	8.7627	1	0.30	40.59	0.0004
	$X_2$	7.5959	1	0.30	194.57	<0.0001
	$X_1 \times X_2$	-0.04187	1	0.43	12.00	0.0105
	$X_1 \times X_1$	-0.04484	1	0.32	47.89	0.0002
	$X_2 \times X_2$	-0.1493	1	0.32	132.71	<0.0001
以三氯乙酸氮溶解指数为响应值的模型	常数项	-1416.4918	1	1.18	-	-
	$X_1$	29.2238	1	0.93	58.85	0.0001
	$X_2$	24.0416	1	0.93	275.66	<0.0001
	$X_1 \times X_2$	-0.1406	1	1.32	14.18	0.0070
	$X_1 \times X_1$	-0.1489	1	1.00	55.31	0.0001
	$X_2 \times X_2$	-0.4144	1	1.00	107.16	<0.0001

注:  $X_1$  和  $X_2$  分别为温度和时间的试验值,  $F$  值为组间的总体比较,  $P$  值为显著水平。

表 5 回归方程的方差分析

Table 5 Variance analysis of regression equation

模型	变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P>F
以水解度为响应值的模型	模型	299.06	5	59.81	81.95	<0.0001
	残余项	5.11	7	0.73		
	失拟项	3.98	3	1.33	4.72	0.0840
	纯误差	1.13	4	0.28		
	和	304.17	12			
	修正 $R^2=0.9712$				预测 $R^2=0.9011$	
以三氯乙酸氮溶解指数为响应值的模型	模型	3439.45	5	687.89	98.71	<0.0001
	残余项	48.78	7	6.97		
	失拟项	28.98	3	9.66	1.95	0.2633
	纯误差	19.80	4	4.95		
	和	3488.23	12			
	修正 $R^2=0.9760$				预测 $R^2=0.9321$	

注:  $F$  值为组间的总体比较,  $P$  值为显著水平。

中心复合试验设计方差分析中的  $P$  值和构建模型中变量的系数可以反映变量对响应影响的显著程度,  $P$  值越小, 系数越大, 相应变量对响应的影响越显著。模型中变量前的系数是正数, 表明响应会随着该变量的增加而增大, 系数是负数则表明响应会随着变量的增加而减小。从表 4 中可以看出, 对  $DH$  影响最大的是预处理时间 ( $X_2$ ) 的一次项, 然后依次是预处理温度 ( $X_1$ ) 的一次项、热变性处理时间 ( $X_2^2$ ) 的二次项、预处理温度 ( $X_1^2$ ) 的二次项及预处理温度和时间的交互项 ( $X_1X_2$ ) ( $P < 0.05$ )。  $R^2$  通常用于表示模型和试验的吻合程度, 一般介于 0~1。本试验中, 预测模型的决定系数 ( $R^2$ ) 是 0.9712, 失拟检验的  $P$  值是 0.0840 > 0.05, 由这些值可知公式 (5)

的数学模型拟合良好。根据回归模型得到  $DH$  最大预测值为 26.80%, 优化组合为  $X_1=91.83$ ,  $X_2=12.57$ , 即预处理温度为 91.83℃, 时间为 12.57 min。

由表 4 得知, 对  $TCA-NSI$  影响最大的是预处理时间 ( $X_2$ ) 的一次项, 然后依次是预处理温度 ( $X_1$ ) 的一次项、预处理时间 ( $X_2^2$ ) 的二次项、预处理温度 ( $X_1^2$ ) 的二次项及预处理温度和时间的交互项 ( $X_1X_2$ ) ( $P < 0.05$ )。预测模型的决定系数 ( $R^2$ ) 是 0.9760, 失拟检验的  $P$  值是 0.2633 > 0.05, 公式 (6) 的数学模型拟合非常好, 响应值能够充分地用模型来预测。根据回归模型得到  $TCA-NSI$  最大预测值为 86.08%, 优化组合为  $X_1=91.78$ ,  $X_2=13.44$ , 即预处理温度为 91.78℃, 时间为 13.44 min。

### 2.3.2 模型验证

结合实际操作, 取预处理温度 92℃, 时间 13 min 进行试验, 对回归模型进行验证。试验重复 5 次, 所得  $DH$  和  $TCA-NSI$  分别为 26.32% 和 84.33%, 与理论预测值相比均没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 可见该模型能较好地模拟和预测预处理对酶解后产物的  $DH$  和  $TCA-NSI$ 。

本研究以模拟甘薯淀粉生产后的废液为原料提取甘薯蛋白, 并将甘薯蛋白预处理后再进行酶解。直接酶解未经热处理的天然甘薯蛋白时,  $DH$  和  $TCA-NSI$  分别为 10.43% 和 30.96%。与直接酶解天然甘薯蛋白相比, 在预处理的工艺条件下所得到的  $DH$  和  $TCA-NSI$  分别提高了 15.89% 和 53.37%。本研究操作工艺简单, 成本低廉, 不仅有利于下一步甘薯活性肽的高效制备, 同时便于实现产业化, 具有一定的市场前景。

### 2.3.3 响应面模型和等高线图解析

三维响应面图和等高线图可用于反映自变量的交互作用对响应值的影响。采用 Design Expert 7.0 软件进行响应面和等高线图的绘制。图 3a 和 b 是预处理温度和时间对  $DH$  影响的响应面图和等高线图。由图 3a 的三维响应面可以看出, 加热温度在低水平时, 须增加加热时间才能提高  $DH$ ; 加热温度在高水平时, 加热较短的时间就能获得较高的  $DH$ , 时间过长反而导致  $DH$  的下降。等高线图呈椭圆形, 说明预处理温度和时间 2 个影响因素之间有较强的交互作用。等高线变化趋势图中, 温度为 90~94℃ 及时间为 12~14 min 时,  $DH$  达到较高值, 当二者水平过高或过低, 都会使  $DH$  下降。温度和时间都有各自适宜的水平。

图 3c 和 d 是预处理温度和时间对  $TCA-NSI$  影响的响应面图和等高线图。由图 3c 的三维响应面可以看出, 预处理温度不变, 随着预热时间的增加,  $TCA-NSI$  呈现先增加后减小的趋势; 预处理时间不变, 随着温度的增加,  $TCA-NSI$  逐渐增加, 达到最大值后减小, 呈二次函数关系。从等高线变化趋势图可以看出, 预处理温度和时间 2 个影响因素之间有强烈的交互作用, 且当温度处于 90~93℃ 及时间处于 12.5~14 min 时,  $TCA-NSI$  达到较高值, 当二者水平过高或过低, 都会使  $TCA-NSI$  下降。因此, 预处理温度和时间都有各自适宜的水平范围。

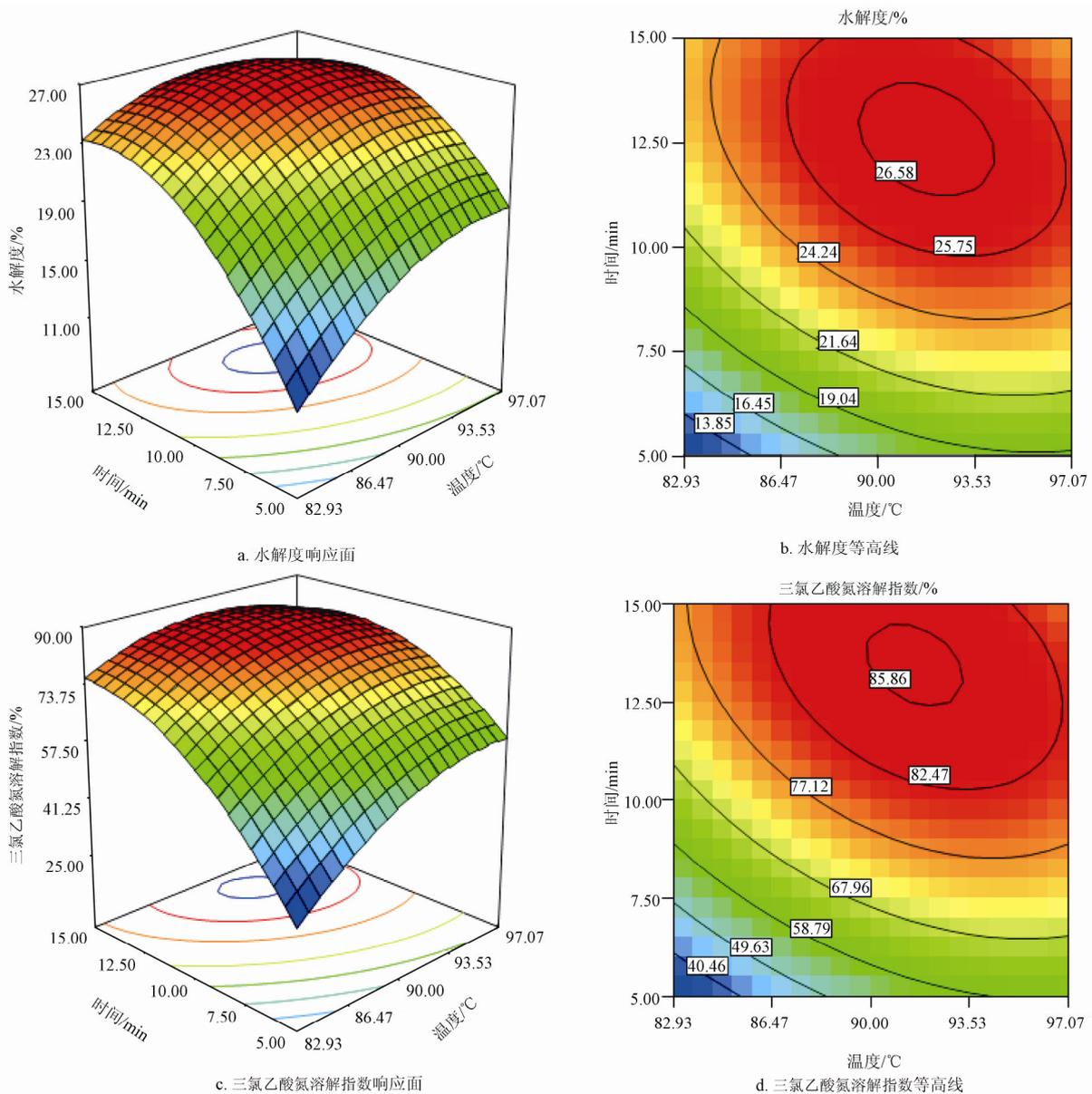


图3 预热处理温度及时间对水解度(DH)和三氯乙酸氮溶解指数(TCA-NSI)的影响

Fig.3 Effects of pre-heating temperature and time on degree of hydrolysis (DH) and trichloroacetic acid-nitrogen solubility index (TCA-NSI)

### 3 结论

结合实际生产, 确定了预热处理甘薯蛋白的最优组合为: 预热处理温度为 92℃, 处理时间为 13min。在此条件下, 测得 DH 和 TCA-NSI 分别为 26.32% 和 84.33%。未经预热处理时, 天然甘薯蛋白的 DH 和 TCA-NSI 分别为 10.43% 和 30.96%。与直接酶解天然甘薯蛋白相比, 在预热处理的最佳工艺条件下所得到的 DH 和 TCA-NSI 分别提高了 15.89% 和 53.37%。

#### [参考文献]

- [1] Mu T H, Tan S S, Xue Y L. The amino acid composition, solubility and emulsifying properties of sweet potato protein [J]. Food Chemistry, 2009, 112(4): 1002-1005.
- [2] Zhang M, Mu T H, Wang Y B, et al. Evaluation of free radical-scavenging activities of sweet potato protein and its hydrolysates as affected by single and combination of

enzyme systems[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(4): 696-702.

- [3] FAO. Roots, tubers, plantains and bananas in human nutrition [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1990.
- [4] Hou W C, Lin Y H. Dehydroascorbate reductase and monodehydroascorbate reductase activities of trypsin inhibitors, the major sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) root storage protein[J]. Plant Science, 1997, 128(2): 151-158.
- [5] Hou W C, Chen H J, Han C H, et al. 2004. Glutathione peroxidase-like activity of 33 kDa trypsin inhibitor from roots of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') [J]. Plant Science, 2004, 166(6): 1541-1546.
- [6] Vercurysse L, Van Camp J, Smagghe G. ACE inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysates of animal muscle protein: a review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(21): 8106-8115.

- [7] Di Bernardini R, Harnedy P, Bolton D, et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products[J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(4): 1296—1307.
- [8] Meisel H. Multifunctional peptides encrypted in milk proteins [J]. *Biofactors*, 2004, 21(1-4): 55—61.
- [9] Sakanaka S, Tachibana Y. Active oxygen scavenging activity of egg-yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates[J]. *Food Chemistry*, 2006, 95(2): 243—249.
- [10] Verduyck L, Van Camp J, Smaghe G. ACE inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysates of animal muscle protein: a review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(21): 8106—8115.
- [11] Dong Shiyuan, Zeng Mingyou, Wang Dongfeng. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(4): 1485—1493.
- [12] Takenaka A, Annaka H, Kimura Y, et al. Reduction of paraquat-induced oxidative stress in rats by dietary soy peptide[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2003, 67(2): 278—283.
- [13] Zhu Kexue, Zhou Huiming, Qian Haifeng. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(6): 1296—1302.
- [14] Kong Baohua, Xiong Youlin. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(16): 6059—6068.
- [15] Friedman M, Grosjean O K, Zahnley J C. Inactivation of soya bean trypsin inhibitors by thiols[J]. *Journal of Science and Food Agricultural*, 1982, 33(2): 165—172.
- [16] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(上册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 233—234.
- [17] Yin Shouwei, Tang Chuanhe, Cao Jinsong, et al. Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(3): 1004—1013.
- [18] Peña-Ramos E A, Xiong Y L. Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system[J]. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(12): 2577—2583.
- [19] 周志红, 唐传核, 杨晓泉. 大豆蛋白的体外模拟消化过程及热处理的影响[J]. *食品科学*, 2006, 27(1): 37—40.  
Zhou Zhihong, Tang Chuanghe, Yang Xiaoquan. Invitro study on digestibility of soy protein isolates and effects of thermal treatments[J]. *Food Science*, 2006, 27(1): 37—40. (in Chinese with English abstract)
- [20] 陶红, 梁歧, 张鸣镝. 热处理对大豆蛋白水解液分子量的影响[J]. *食品科学*, 2003, 24(11): 37—41.  
Tao Hong, Liang Qi, Zhang Mingdi. Effects of heat treatment on molecular weight of enzymatic hydrolysis of soybean protein isolated[J]. *Food Science*, 2003, 24(11): 37—41. (in Chinese with English abstract)
- [21] Yao P L, Hwang M L, Chen Y M, et al. Site-directed mutagenesis evidence for negatively charged trypsin inhibitory loop in sweet potato sporamin[J]. *FEBS Letters*, 2001, 496(2-3): 134—138.
- [22] AOAC. Methods of analysis (15th ed.)[M]. Washington: Association 243 of Official Agriculture Chemistry, 1990.
- [23] Buysse J, Merckx R. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(10): 1627—1629.
- [24] Nielsen P M, Petersen D, Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis[J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(5): 642—646.
- [25] Giménez B, Alemána A, Montero P, et al. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(3): 976—983.
- [26] Yvon M, Chabanet C, Pelissier J P. Solubility of peptides in trichloroacetic acid (TCA) solutions[J]. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 1989, 34(3): 166—176.
- [27] Peterson G L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable [J]. *Analytical Biochemistry*, 1977, 83(2): 346—356.
- [28] Markwell M A, Haas S M, Bieber L L, et al. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples[J]. *Analytical Biochemistry*, 1978, 87(1): 206—210.
- [29] Stanciu N, Hintoiu A, Stanciu S, et al. Thermal treatment can modify the susceptibility of whey protein concentrate to enzymatic hydrolysis[J]. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 2010, 7(9): 30—36.

## Effects of pre-heating treatment on enzymolysis characteristics of sweet potato protein

Zhang Miao, Mu Taihua<sup>\*</sup>

(Division of Fruit and Vegetable Processing, Institute of Agro-Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The effects of pre-heating temperature and time on enzymolysis characteristics of sweet potato protein by Alcalase was investigated. The single-factor experiments and response surface methodology (RSM) were applied to determine the pre-heating treatment parameters for the enzymatic hydrolysis by Alcalase. The regression models of the degree of hydrolysis (DH) and trichloroacetic acid-nitrogen solubility index (TCA-NSI) were established between impact factors and indexes. The validity of the models and interactions of impact factors were analyzed. The results showed that the effects of pre-heating treatment on DH and TCA-NSI of sweet potato protein was significant ( $P < 0.05$ ), and the optimum pre-heating treatment conditions were obtained as follows: temperature 92°C, time 13 min. Under the optimized conditions, DH and TCA-NSI were 26.32% and 84.33%, respectively. Compared with the direct hydrolysis of native sweet potato protein, DH and TCA-NSI under the optimum pre-heating treatment parameters showed increases of 15.89% and 53.37%, respectively.

**Key words:** enzymes, hydrolysis, proteins, sweet potato, pre-heating treatment, degree of hydrolysis(DH), trichloroacetic acid-nitrogen solubility index(TCA-NSI)