

网络出版时间:2019-07-10 10:35 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2020.01.004
网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190710.1033.008.html>

不同处理方法对豆粕中抗原蛋白和酸溶蛋白的影响

李 旺,何万领,丁 轲,李元晓,曹平华,赵龙妹

(河南科技大学 动物科技学院,河南 洛阳 471023)

【摘 要】【目的】研究发酵、酶解和物理处理方式对豆粕大豆抗原蛋白分解和酸溶蛋白含量的影响,为筛选合适的豆粕加工处理方式提供依据。【方法】采用 4 因素 3 水平正交试验设计,研究菌种组合、发酵水分、发酵温度和发酵时间对豆粕抗原蛋白和酸溶蛋白含量的影响,确定最佳发酵方案。采用 4 因素 3 水平正交试验计,研究蛋白酶用量、酶解水分、酶解温度和酶解时间对豆粕抗原蛋白和酸溶蛋白含量的影响,确定最佳酶解方案。采用单因素试验研究烘焙(温度设置为 160,200,240 °C)、微波(火力设置为小火、中火、高火)和蒸汽蒸制(时间设置为 15,20,25 min)对豆粕抗原蛋白和酸溶蛋白含量的影响。【结果】豆粕发酵最优方案:以枯草芽孢杆菌和产朊假丝酵母作为发酵菌种、发酵水分 40%、35 °C 发酵 72 h,该方案所得的发酵豆粕酸溶蛋白含量为 17.36%,且抗原蛋白分解较好。豆粕酶解最优方案:蛋白酶添加量为 0.3%、水分含量为 60%、40 °C 酶解 48 h,该方案所得酶解豆粕酸溶蛋白含量为 8.76%,且抗原蛋白分解效果较好。与未经处理的对照相比,烘焙、微波和蒸汽处理的豆粕酸溶蛋白含量均显著升高($P < 0.05$),且不同处理方式间差异显著($P < 0.05$),但同一处理方式不同处理水平之间差异不显著($P > 0.05$)。微波对豆粕抗原蛋白分解最好,烘焙和蒸汽对抗原蛋白也有一定的降解作用。【结论】发酵、酶解和物理处理均能提高豆粕酸溶蛋白含量,降低豆粕中的抗原蛋白。

【关键词】 豆粕;抗原蛋白;酸溶蛋白;酶解;发酵

【中图分类号】 S816.9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)01-0025-08

Effect of different treatment methods on antigen protein and acid soluble protein in soybean meal

LI Wang, HE Wanling, DING Ke, LI Yuanxiao, CAO Pinghua, ZHAO Longmei

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

Abstract: 【Objective】 This research studied the effect of fermentation, enzymolysis and physical processing treatments on decomposition of antigen protein and content of acid soluble protein to provide basis for selecting suitable processing methods of soybean meal. 【Method】 The orthogonal experiment design had 3 levels for 4 factors of combination of strains, moisture, temperature and fermentation time to determine the optimal fermentation scheme. The effects of baking (temperatures 160, 200 and 240 °C), microwave (low, middle and high powers) and steaming (15, 20 and 25 min) on antigen protein and acid soluble protein of soybean meal were also studied by single factor experiment. 【Result】 The best fermentation scheme of fermented soybean meal was *Bacillus subtilis* and *Candida utilis* as fermented strains, 40% fermentation water, and 35 °C for 72 h. The content of acid soluble protein in fermented soybean meal was 17.36%, and the decomposition of antigen protein was the best. The best parameters of enzymatic hydrolysis soybean meal were 0.3% proteinase, 60% water and 35 °C for 48 h. The content of acid soluble protein

【收稿日期】 2018-12-07

【基金项目】 河南省重大科技专项“功能性生物蛋白关键技术研发与产业化”(131100110300)

【作者简介】 李 旺(1976—),男,河北丰宁人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事饲料资源开发和饲料生物技术研究。

E-mail: liwang@haust.edu.cn

in the soybean meal after enzymatic hydrolysis was 8.76%, and the decomposition of antigen protein was the best. The content of acid-soluble protein of soybean meal after baking, microwave and steaming treatment was higher than that in control group ($P < 0.05$), and there was significant difference among groups ($P < 0.05$). There was no significant difference among different levels in same treatments ($P > 0.05$). By electrophoresis observation, microwave decomposed soybean meal antigen protein the best, and baking and steaming also degraded antigen protein to a certain extent. 【Conclusion】 Fermentation, enzymolysis and physical treatment can increase the content of acid-soluble protein and reduce the content of antigen protein in soybean meal.

Key words: soybean meal; antigenic protein; acid soluble protein; enzymolysis; fermentation

豆粕是大豆脱油后的副产品,蛋白含量丰富,氨基酸组成良好,是家禽、生猪和反刍动物饲料中主要的植物蛋白质来源,在动物养殖中发挥着巨大的作用^[1-2]。但豆粕中的大豆蛋白是大分子蛋白,具有抗原性和致敏性^[3],能引起动物机体免疫反应和过敏反应^[4-5],致使肠粘膜损坏,肠绒毛萎缩,消化吸收不良,甚至可能导致幼龄动物死亡。因此,豆粕在使用过程中,常需通过一些方法降低其中的部分致敏因子和抗营养因子,如膨化、蒸煮可使其热敏因子失活,大豆蛋白变性^[6];微波处理可使蛋白活性降低^[7-8];烘焙处理可使大豆凝血素和脂肪氧化酶彻底被破坏,大豆蛋白部分分解,胰蛋白酶抑制因子活性降低^[9-10]。

随着研究的深入,小肽的营养和免疫功能得到验证,功能性小肽越来越受到人们的关注^[11]。酶解可将豆粕中的大分子蛋白分解为小肽和氨基酸^[12],从而提高豆粕营养价值和蛋白质吸收率^[13-14]。微生物发酵可以使豆粕中的蛋白质分解成氨基酸和小肽,消除过敏源等抗营养因子^[15],提高蛋白及多种营养物质的吸收利用率^[16],从而部分替代鱼粉等动物性蛋白^[17-18]。酸溶蛋白含量反映了大分子蛋白被分解的情况,生产中多用该指标评价小肽的含量,酸溶蛋白含量高说明小肽、氨基酸含量高,蛋白的消化率高^[19]。此方面已有的报道多集中在某一种处理方式对豆粕处理效果的研究,缺乏对这些处理方式的比较。本研究采用酶解、发酵和物理方法(烘焙、微波、蒸汽)对相同的豆粕进行处理,探讨不同处理方式对豆粕抗原蛋白和酸溶蛋白含量的影响,旨在为筛选适宜的豆粕加工方式提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

豆粕,山东益海油脂厂生产,粗蛋白含量 46%。蛋白酶,河南仰韶生化工程有限公司生产,为中性蛋

白酶(50 000 U/g)和酸性蛋白酶(70 000 U/g)等比例混合物。

产阮假丝酵母(*Candida utilis*, CICC 32211)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, LN)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, BNCC192567),均由河南科技大学宏翔生物饲料实验室保存,使用前活化。

1.2 发酵对豆粕中抗原蛋白和酸溶蛋白的影响

1.2.1 培养基的制备 YPD 液体培养基(100 mL):蛋白胨 2.00 g,葡萄糖 2.00 g,酵母膏 1.00 g,灭菌备用。LB 液体培养基(100 mL):NaCl 1.00 g,蛋白胨 1.00 g,酵母膏 0.50 g,灭菌备用。MRS 液体培养基(100 mL):葡萄糖 2.00 g,乙酸钠 0.75 g,蛋白胨 1.50 g,硫酸镁 0.03 g,牛肉膏 1.50 g,柠檬酸铵 0.20 g,酵母膏 0.75 g,磷酸氢二钾 0.20 g,灭菌备用。YPD 固体培养基、LB 固体培养基、MRS 固体培养基,均在液体培养基的基础上添加琼脂粉 2.00 g。

1.2.2 发酵菌种的制备 取产阮假丝酵母、枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌甘油保存菌种各 50 μ L,分别涂布于 YPD、LB 和 MRS 固体培养基上培养(产阮假丝酵母 30 $^{\circ}$ C 好氧培养 12 h,枯草芽孢杆菌 37 $^{\circ}$ C 好氧培养 12 h,植物乳杆菌 37 $^{\circ}$ C 烛缸内培养 14 h),挑取各培养皿中的单菌落接种于装有 5 mL 相应液体培养基的试管中,产阮假丝酵母和枯草芽孢杆菌分别在 30 和 37 $^{\circ}$ C 下 210 r/min 振荡培养 12 h 左右,植物乳杆菌在烛缸内 37 $^{\circ}$ C 静止培养 12 h。将培养好的 3 种菌液分别按照 2% 的接种量接种到含有相应液体培养基的三角瓶装中,进行扩大培养,振荡或静止培养至产阮假丝酵母活菌数达 1×10^9 CFU/mL,枯草芽孢杆菌活菌数达 5×10^9 CFU/mL,植物乳杆菌活菌数达 8×10^9 CFU/mL,制得发酵菌种。

1.2.3 豆粕的发酵试验 称取 9 份豆粕,每份 100 g,以菌种组合(L 代表植物乳杆菌,B 代表枯草芽孢

杆菌,C 代表产朊假丝酵母)、发酵水分、发酵温度、发酵时间 4 个影响发酵的主要指标为因素,每因素设置 3 个水平(表 1),设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。其中菌液接种量为质量分数 10%,组合中各菌液等比例(体积比)。通过 SPSS 18.0 统计软件生成正交试验方案,根据正交试验方案,将豆粕装入自封袋密封,

放置于不同温度的培养箱中进行兼性厌氧发酵试验,发酵结束后,65 ℃烘干发酵样品至水分含量为 10%左右,测定水分和酸溶蛋白含量,并以绝干样品中的含量进行校正。采用正交试验极差分析筛选出最佳发酵条件。

表 1 豆粕发酵正交试验的因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test for fermented soybean meal

水平 Level	菌种组合 Strain combination	发酵水分/% Fermented water	发酵温度/℃ Fermented temperature	发酵时间/h Fermentation time
1	B+C	40	25	24
2	B+C+L	50	30	48
3	B+L	60	35	72

注:L. 植物乳杆菌,B. 枯草芽孢杆菌,C. 产朊假丝酵母。
Note:L. *Lactobacillus plantarum*;B. *Bacillus subtilis*;C. *Candida utilis*.

1.3 酶解对豆粕中抗原蛋白和酸溶蛋白的影响

称取 9 份豆粕,每份 100 g,以蛋白酶加酶量、水分、温度、时间 4 个影响酶解效果的主要指标为因素,每因素设置 3 个水平(表 2),设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。通过 SPSS 18.0 统计软件生成正交试验方案,根据正交试验方案,将豆粕装入自封袋密封,放置于

不同温度的培养箱中进行酶解试验,酶解结束后,65 ℃烘干酶解豆粕样品至水分含量为 10%左右,测定水分和酸溶蛋白含量,并以绝干物质中的含量进行校正。采用正交试验极差分析,筛选出最佳酶解条件。

表 2 豆粕酶解正交试验的因素与水平

Table 2 Factors and levels in orthogonal experiment of soybean meal enzymatic hydrolysis

水平 Level	加酶量/% Enzyme quantity	水分/% Water	温度/℃ Temperature	时间/h Time
1	0.1	40	35	24
2	0.2	50	40	36
3	0.3	60	45	48

1.4 物理处理对豆粕中抗原蛋白和酸溶蛋白的影响

烘焙处理:称取豆粕 3 份,每份 50 g,分别放于炒锅中在电磁炉上 160 ℃烘炒 5 min、200 ℃烘炒 4 min、240 ℃烘炒 3 min,边炒边手工搅拌,使豆粕受热均匀,至豆粕发黄并发出焦香味时结束,粉碎,备用。微波处理:称取豆粕 3 份,每份 30 g,分别装入不同烧杯中,放入微波炉内,分别用低火、中火、高火加热 2 min,粉碎、备用。蒸汽处理:称豆粕 3 份,每份 30 g,装入不同锥形瓶中,用报纸包住瓶口放入高温灭菌锅内,在 121 ℃条件下,分别用高温蒸汽处理 15,20 和 25 min,结束后,在 65 ℃烘箱中烘干,粉碎,备用。以上样品每处理重复 3 次,分别进行指标测定。测定结果采用 Excel 2007 进行数据整理,并用 SPSS 18.0 进行单因素 ANOVA 分析。

1.5 测定指标与方法

参照蔡冬梅等^[19]的方法,用 Tris-HCl 提取未处理和处理豆粕样品中的粗蛋白,采用聚丙烯酰胺

凝胶电泳检测豆粕中的抗原蛋白含量,采用三氯乙酸法^[20]测定酸溶蛋白含量。

2 结果与分析

2.1 发酵对豆粕酸溶蛋白和抗原蛋白的影响

经测定,未处理豆粕酸溶蛋白含量为 1.75%。从表 3 可以看出,豆粕经过发酵处理后,其酸溶蛋白含量明显高于未处理豆粕;各因素对发酵豆粕酸溶蛋白含量影响的大小顺序为发酵菌种>发酵时间>发酵温度>发酵水分($R_A>R_D>R_C>R_B$)。以酸溶蛋白为唯一评价指标时,豆粕的最优发酵方案为:A1B1C3D3,即以枯草芽孢杆菌和产朊假丝酵母为发酵菌种,发酵水分 40%,35 ℃发酵时间 72 h。在最优方案下进行发酵,豆粕的酸溶蛋白含量为 17.36%。对影响发酵的因素做主效应显著性分析,结果(表 4)显示,发酵菌种对发酵豆粕酸溶蛋白含量的影响显著($P<0.05$),其他因素影响不显著($P>0.05$)。

表 3 发酵豆粕正交试验结果

Table 3 Orthogonal test results of fermented soybean meal

试验序号 Test No.	菌种组合 Strain combination	发酵水分 Fermented water	发酵温度 Fermented temperature	发酵时间 Fermentation time	酸溶蛋白/% Acid soluble protein
	A	B	C	D	
1	2	2	3	1	9.75
2	2	3	1	2	8.20
3	3	1	3	2	6.15
4	3	3	2	1	5.45
5	3	2	1	3	8.23
6	1	3	3	3	17.25
7	1	1	1	1	16.05
8	2	1	2	3	11.10
9	1	2	2	2	10.62
k1	14.64	11.10	10.83	10.42	
k2	6.61	9.53	9.06	8.32	
k3	9.68	10.3	11.05	12.19	
R	8.03	1.57	1.99	3.87	
最优水平 Optimal level	A1	B1	C3	D3	

注:k1 表示各因素第 1 水平 3 个试验结果的平均数,k2 表示各因素第 2 水平 3 个试验结果的平均数,k3 表示各因素第 3 水平 3 个试验结果的平均数;R=k_{最大}−k_{最小}。表 5 同。

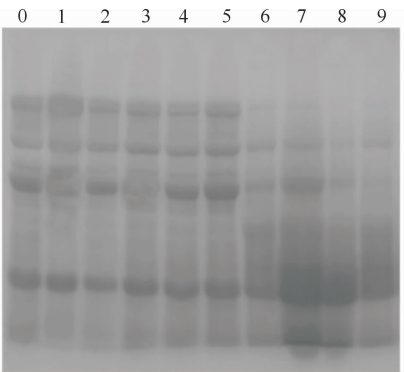
Note;k1 means the average of 3 tests at level 1 of each factor,k2 means the average of 3 tests at level 2 of each factor;k3 means the average of 3 tests at level 3 of each factor;R means the difference between the maximum and the minimum. The same for Table 5.

表 4 豆粕发酵影响因素的主效应检验

Table 4 Main effect test of influencing factors of soybean meal fermentation

因素 Factor	Ⅲ型平方和 Square sum	自由度 df	均方 Mean square	F	P
菌种组合 Strain combination	98.495	2	49.247	26.749	0.036
发酵温度 Fermented temperature	7.156	2	3.578	1.943	0.340
发酵水分 Fermented water	3.682	2	1.841	0.515	0.660
发酵时间 Fermented time	22.515	2	11.258	6.115	0.141
校正合计 Total	131.849	8			

发酵豆粕样品聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果如图 1 所示。



0. 未发酵豆粕(对照);1~9. 对应表 3 中 1~9 号试验发酵豆粕样品

0. Untreated soybean meal (control);1~9. The corresponding fermented soybean meal samples in Table 3

图 1 发酵豆粕样品的电泳检测

Fig.1 Electrophoretic results of fermented soybean meal

由图 1 可以看出,6~9 号试验的发酵豆粕样品

抗原蛋白分解效果较好;1~5 号试验样品的抗原蛋白分解效果一般。结合表 3 结果可知,以产朊假丝酵母和枯草芽孢杆菌作为发酵菌种制得的发酵豆粕样品,其抗原蛋白分解效果较好,酸溶蛋白含量也较高。

2.2 酶解对豆粕酸溶蛋白和抗原蛋白的影响

由表 5 可以看出,豆粕经过蛋白酶水解后,其酸溶蛋白含量(4.26%~8.73%)明显高于未处理豆粕(酸溶蛋白含量为 1.75%)。各因素对酶解豆粕酸溶蛋白含量影响的大小顺序为蛋白酶添加量>酶解时间>酶解水分>酶解温度(R_A>R_D>R_B>R_C)。以酸溶蛋白为唯一评价指标时,蛋白酶酶解豆粕的最佳方案为:A2B3C2D3,即蛋白酶添加量 0.3%(180 U/g),酶解水分 60%,酶解温度 40℃,酶解时间 48 h。在最佳方案下对豆粕进行酶解,其酸溶蛋白含量为 8.76%。对豆粕酶解影响因素进行主效应显著性分析,结果(表 6)显示,蛋白酶添加量对酸溶蛋白含量的影响显著(P<0.05),其他因素影响不显著(P>0.05)。

表 5 酶解豆粕正交试验结果

Table 5 Orthogonal test results of enzymatic hydrolysis of soybean meal

试验序号 Test No.	加酶量 Enzyme quantity A	酶解水分 Water B	酶解温度 Temperature C	酶解时间 Time D	酸溶蛋白/% Acid soluble protein
1	3	2	3	1	7.28
2	3	3	1	2	8.36
3	2	1	3	2	7.75
4	2	3	2	2	7.56
5	2	2	1	3	8.73
6	1	3	3	3	5.54
7	1	1	1	1	3.26
8	3	1	2	3	8.66
9	1	2	2	2	4.26
k1	4.35	6.56	6.78	6.03	
k2	8.01	6.76	6.83	6.79	
k3	8.10	7.15	6.81	7.64	
R	3.75	0.59	0.03	1.61	
最优水平 Optimal level	A3	B3	C2	D3	

表 6 豆粕酶解影响因素的主效应检验

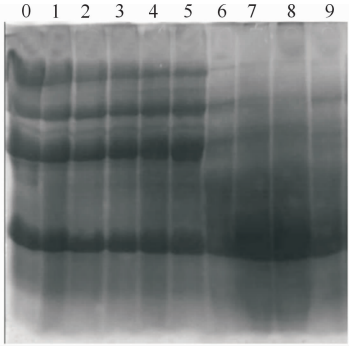
Table 6 Main effect test of factors affecting soybean meal enzymatic hydrolysis

因素 Factor	Ⅲ型平方和 Square sum	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
加酶量 Enzyme quantity	27.441	2	13.720	49.589	0.020
酶解水分 Water	0.553	2	0.277	0.142	0.876
酶解温度 Temperature	0.008	2	0.004	0.015	0.985
酶解时间 Time	3.893	2	1.946	7.035	0.124
校正总计 Total	31.895	8			

酶解豆粕样品聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果如图 2 所示。由图 2 可以看出, 1、2、3 和 8 号试验酶解豆粕样品的抗原蛋白分解效果较好, 其他试验样品的抗原蛋白分解效果一般。结合表 5 的结果可知, 加酶量为 0.3%, 酶解水分 60%、酶解温度 40℃、酶解时间 48 h 的豆粕样品, 抗原蛋白分解效果较好, 酸溶蛋白含量也较高。

2.3 物理处理对豆粕酸溶蛋白的影响

由表 7 可知, 与未经处理的豆粕(对照)相比, 物理处理豆粕酸溶蛋白含量均显著提高($P<0.05$), 且不同物理处理方式间差异显著($P<0.05$), 但同一处理方式不同水平之间差异不显著($P>0.05$)。



0. 未处理豆粕(对照);1~9. 对应表 5 中 1~9 号试验样品
0. Untreated soybean meal (control) 1;1-9. The corresponding enzymolysis soybean meal samples in Table 5

图 2 酶解豆粕样品的电泳检测

Fig. 2 Electrophoresis results of enzymolysis soybean meal

表 7 物理处理豆粕酸溶蛋白含量测定结果

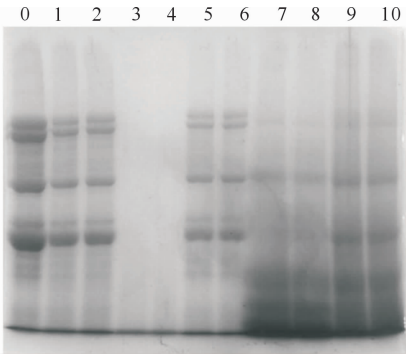
Table 7 Results of acid soluble protein in soybean samples of physical treatment

处理 Treatment		酸溶蛋白含量/% Acid soluble protein	处理 Treatment		酸溶蛋白含量/% Acid soluble protein
对照 Control		1.75±0.12 a	微波 Microwave	中火 Medium power	4.06±0.18 c
烘焙/℃ Baking	160	2.76±0.13 b		高火 High power	3.65±0.22 c
	200	2.73±0.25 b	蒸汽/min Steam	15	3.56±0.11 d
	240	2.65±0.16 b		20	3.77±0.24 d
微波 Microwave	低火 Low power	4.25±0.23 c		25	3.85±0.32 d

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note:Different lowercase letters in same column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.4 3 种处理方式对豆粕抗原蛋白的影响

将不同物理处理方式最高水平和最低水平获得的豆粕样品及在最佳方案下制得的发酵豆粕、酶解豆粕样品进行抗原蛋白电泳检测,结果如图 3 所示。由图 3 可知,与未处理豆粕(对照)相比,经烘焙、微波和蒸汽处理后,豆粕中的抗原蛋白不同程度地被降解,其中微波处理方式的降解效果最好;烘焙和蒸汽处理样品抗原蛋白的亚基条带都存在,但是含量有所降低。3 种物理处理方式的不同处理水平对抗原蛋白的降解效果差异不明显。最佳方案下制得的发酵豆粕和酶解豆粕的抗原蛋白降解效果均较好。



0. 对照豆粕;1,2. 分别为 160 和 240 ℃烘焙处理样品;
3,4. 分别为微波低火和高火处理样品;5,6. 分别为蒸汽处理 15 和 25 min 样品;7,8. 发酵豆粕;9,10. 酶解豆粕
0. Control sample;1,2. Samples baked at 160 and 240 ℃;
3,4. Samples treated by microwave in low-power and high-power;
5,6. Samples steam treated for 15 and 25 min;7,8. Fermented samples;9,10. Enzymolysis samples

图 3 不同处理方式对豆粕抗原蛋白的降解效果比较
Fig.3 Comparison different 3 treatments on soybean meal antigen degradation

3 讨 论

3.1 处理方式对豆粕酸溶蛋白含量的影响

小分子蛋白含量是评价饲料蛋白品质的重要指标之一,也是评价饼粕类蛋白质品质的主要指标之一,酸溶蛋白含量可以反映抗原蛋白被降解的程度,也可在一定程度上反映肽含量的高低^[5,19]。因此,酸溶蛋白含量可以评价处理后饼粕类饲料原料的蛋白品质。林洋等^[21]以豆粕为原料,利用复合酶酶解方法制备大豆小肽,经过对酶类组合和酶解条件的优化,可使分子质量 $\leq 0.5\text{ ku}$ 的小肽含量达 55.61%以上。赵延伟等^[22]采用响应面法对豆粕酶解条件进行优化后,使酶解豆粕的游离氨基酸总量增加为酶解前的 660%。本试验结果表明,酶的添加量(酶活力单位)是决定豆粕酶解效果的主要因

素。

作为发酵豆粕的强制性检测指标,酸溶蛋白可反映发酵豆粕大分子蛋白的降解情况,决定发酵豆粕的品质。豆粕发酵的主要影响因素是发酵菌种,常用的菌种有枯草芽孢杆菌、乳酸菌和酵母^[23-26]。许多研究通过优化菌种组合和发酵工艺参数,提高了酸溶蛋白含量^[23,25]。本试验结果表明,发酵菌种是决定豆粕发酵效果的主要因素。试验的发酵菌种组合中均含有枯草芽孢杆菌,该类菌种具有丰富的酶系,能分泌大量的酶将大分子蛋白质分解为小分子肽^[2,27]。

物理处理方式对豆粕品质的提升作用主要表现在对豆粕抗营养因子的消除^[9]和对动物消化率的改善上,对酸溶蛋白的影响效果不显著^[8,28-29]。本试验通过几种物理方式对豆粕处理后,虽然不同处理间酸溶蛋白的含量差异显著,但在总蛋白中所占比例很小,不能满足实际生产的需要。与物理处理相比,发酵和酶解处理方式更有利于酸溶蛋白含量的提高。

3.2 处理方式对豆粕抗原蛋白降解的影响

豆粕中的抗原蛋白有很多种,已知的主要有大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白,其沉降系数分别为 11S 和 7S,抗原蛋白占豆粕总蛋白的 65%~80%。抗原蛋白是引起机体发生过敏反应的主要物质^[30-31]。目前对大豆抗原蛋白,尤其是大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的致敏机理还不清楚。使用豆粕时,往往通过各种手段和技术降解抗原蛋白,以降低其致敏性^[30,32-33]。酶解和发酵可以有效降解豆粕中的抗原蛋白,减少其对动物尤其是幼龄动物的危害^[12,16,34-35]。本试验结果表明,不同处理方式对豆粕抗原蛋白均有降解作用,但各处理方式的降解效果存在明显差异。发酵、酶解和微波处理对豆粕抗原蛋白均具有较好的降解效果。但有报道表明,物理处理方式对豆粕抗原蛋白降解的主要原因是蛋白受热变性,而并不是大分子蛋白的降解^[19,36]。

4 结 论

豆粕用枯草芽孢杆菌和产朊假丝酵母在发酵水分 40%、35 ℃条件下发酵 72 h 效果最好,酸溶蛋白可达 17.36%。豆粕用 0.3% 的蛋白酶在水分 60%、40 ℃条件下酶解 48 h 效果最好,酸溶蛋白可达 8.76%。烘焙、微波和蒸汽处理豆粕酸溶蛋白较对照组显著提高($P<0.05$),且不同物理处理方式间差异显著($P<0.05$),但同一处理方式不同处理

水平之间差异不显著($P>0.05$)。

[参考文献]

[1] Lagos L V, Stein H H. Chemical composition and amino acid digestibility of soybean meal produced in the United States, China, Argentina, Brazil, or India [J]. Journal of Animal Science, 2017, 95(4): 1626-1636.

[2] Lujan-Rhenals D, Morawicki R, Shi Z, et al. Quantification of nitrogen in the liquid fraction and *in vitro* assessment of lysine bioavailability in the solid fraction of soybean meal hydrolysates [J]. Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 2018, 53(1): 12-17.

[3] 杨玉娟, 姚怡莎, 秦玉昌, 等. 豆粕与发酵豆粕中主要抗营养因子调查分析 [J]. 中国农业科学, 2016, 49(3): 573-580.
Yang Y J, Yao Y S, Qin Y C, et al. Investigation and analysis of main AFN in soybean meal and fermented soybean meal [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(3): 573-580.

[4] Garcia-Rebollar P, Camara L, Lazaro R P, et al. Influence of the origin of the beans on the chemical composition and nutritive value of commercial soybean meals [J]. Animal Feed Science and Technology, 2016, 221: 245-261.

[5] Medeiros S, Xie J, Dyce P W, et al. Isolation of bacteria from fermented food and grass carp intestine and their efficiencies in improving nutrient value of soybean meal in solid state fermentation [J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2018, 9(3): 172-181.

[6] 张碧莹, 杨蕊莲, 张静, 等. 不同预处理方式对豆浆品质特性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(2): 134-140.
Zhang B Y, Yang R L, Zhang J, et al. Effect of different soybean pretreatment methods on the quality of soybean milk [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(2): 134-140.

[7] 刘琳琳, 孙宏霞, 王嘉琪, 等. 微波加热对大豆蛋白变性影响的研究 [J]. 农产品加工, 2017, 438(8): 10-12.
Liu L L, Sun H X, Wang J Q, et al. The effect of microwave heating on soybean protein modification [J]. Farm Products Processing, 2017, 438(8): 10-12.

[8] 左继红, 刘丽丽. 微波辐射循环降解大豆蛋白反应器的研究 [J]. 食品工业, 2017, 38(11): 236-238.
Zuo J H, Liu L L. Study on degradation of soybean protein by microwave radiation [J]. The Food Industry, 2017, 38(11): 236-238.

[9] 姚怡莎, 谷旭, 商方方, 等. 大豆和膨化大豆主要抗营养因子分析 [J]. 中国农业科学, 2016, 49(11): 2174-2182.
Yao Y S, Gu X, Shang F F, et al. Investigation and analysis of main antinutritional factors in soybean and extruded soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(11): 2174-2182.

[10] González-Vega J C, Kim B G, Htoo J K, 等. 热处理豆粕饲喂生长猪的氨基酸消化率 [J]. 中国饲料, 2015(24): 32-37.
González-Vega J C, Kim B G, Htoo J K, et al. Digestibility of amino acids in growing pigs fed heat treated soybean meal [J]. China Feed, 2015(24): 32-37.

[11] 周苗苗, 刘红云, 赵珂, 等. 泌乳反刍动物乳腺中小肽的摄取、利用及影响因素 [J]. 动物营养学报, 2011, 23(3): 376-380.
Zhou M M, Liu H Y, Zhao K, et al. Small peptides in the mammary gland of lactating ruminants: factors influencing the efficiency of uptake and utilization [J]. Acta Zoonutrientia Sinica, 2011, 23(3): 376-380.

[12] 魏金涛, 赵娜, 李绍章, 等. 复合酶酶解豆粕营养成分变化规律研究 [J]. 中国粮油学报, 2014, 29(1): 17-20, 25.
Wei J T, Zhao N, Li S Z, et al. Influence of complex enzyme enzymolysis on the nutrient contents of soybean meal [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29(1): 17-20, 25.

[13] Stefanello C, Vieira S L, Rios H V, et al. Energy and nutrient utilisation of broilers fed soybean meal from two different Brazilian production areas with an exogenous protease [J]. Animal Feed Science and Technology, 2016, 221(11): 267-273.

[14] Jacobsen H J, Kousoulaki K, Sandberg A-S, et al. Enzyme pretreatment of soybean meal: effects on non-starch carbohydrates, protein, phytic acid, and saponin biotransformation and digestibility in mink (*Neovison vison*) [J]. Animal Feed Science and Technology, 2018, 236(2): 1-13.

[15] Yang A, Zuo L, Cheng Y, et al. Degradation of major allergens and allergenicity reduction of soybean meal through solid-state fermentation with microorganisms [J]. Food & Function, 2018, 9(3): 1899-1909.

[16] Mukherjee R, Chakraborty R, Dutta A. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal: a review [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2016, 29(11): 1523-1529.

[17] Nguyen N V, Hoang L, Khanh T V, et al. Utilization of fermented soybean meal for fishmeal substitution in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(3): 1092-1100.

[18] Ren X, Wang Y, Chen J M, et al. Replacement of fishmeal with a blend of poultry by product meal and soybean meal in diets for Largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2018, 49(1): 155-164.

[19] 蔡冬梅, 郭吉元, 杨海鹏, 等. 发酵豆粕抗原蛋白的客观评价方法 [J]. 饲料工业, 2013, 34(15): 31-34.
Cai D M, Guo J Y, Yang H P, et al. Objective evaluation method of fermented soybean meal antigen protein [J]. Feed Industry, 2013, 34(15): 31-34.

[20] 肖志明, 李丽蓓, 邓涛, 等. 饲料原料中酸溶蛋白的测定方法研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(2): 72-75, 80.
Xiao Z M, Li L B, Deng T, et al. Study for the determination of acid-soluble protein in feed materials [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2016, 52(2): 72-75, 80.

[21] 林洋, 刘再胜, 汲全柱, 等. 酶解法制备大豆小肽的工艺研究 [J]. 大豆科学, 2016, 35(5): 824-829.
Lin Y, Liu Z S, Ji Q Z, et al. Preparation process of soybean

- small-peptide by enzymatic hydrolysis [J]. *Soybean Science*, 2016, 35(5): 824-829.
- [22] 赵延伟, 王雨生, 陈海华, 等. 响应面法优化豆粕酶解工艺条件 [J]. *食品科学*, 2013, 34(8): 70-75.
- Zhao Y W, Wang Y S, Chen H H, et al. Optimization of hydrolysis conditions of soybean meal by response surface methodology [J]. *Food Science*, 2013, 34(8): 70-75.
- [23] 李舒宇, 杨瑞金, 金妙仁, 等. 枯草芽孢杆菌固态发酵高温豆粕的工艺优化 [J]. *食品与机械*, 2013, 29(4): 194-199.
- Li S Y, Yang R J, Jin M R, et al. Optimization of process parameters for high-temperature denatured protein in soybean meal under solid-state fermentation by *Bacillus subtilis* [J]. *Food and Machinery*, 2013, 29(4): 194-199.
- [24] Zhu J, Gao M, Zhang R, et al. Effects of soybean meal fermented by *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth, immune function and intestinal morphology in weaned piglets [J]. *Microbial Cell Factories*, 2017, 16(1): 191-199.
- [25] Shi C, Zhang Y, Lu Z, et al. Solid-state fermentation of corn-soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* for degrading antinutritional factors and enhancing nutritional value [J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(4): 50-59.
- [26] 王彦萍, 熊涛, 王浩, 等. 以豆粕为基质的植物乳杆菌固态发酵菌剂的制备 [J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(8): 127-133.
- Wang Y P, Xiong T, Wang H, et al. Optimization of solid-state culture conditions for *Lactobacillus plantarum* agent utilizing soybean meal as nitrogen source [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2017, 43(8): 127-133.
- [27] Wongputtisin P, Khanongnuch C, Khongbantad W, et al. Screening and selection of *Bacillus* spp. for fermented corticate soybean meal production [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 113(4): 798-806.
- [28] 左进华, 董海洲, 武建堂, 等. 挤压蒸煮对豆粕体外消化率的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34(5): 124-127.
- Zuo J H, Dong H Z, Wu J T, et al. Study on the influence of extrusion cooking on soybean *in vitro* digestibility [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2008, 34(5): 124-127.
- [29] 姜建阳, 李洁云, 谯仕彦. 热处理对大豆制品在生长猪回肠表观和真可消化氨基酸消化率的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2008, 44(7): 25-29.
- Jiang J Y, Li J Y, Qiao S Y. Apparent and true ileal digestibility of amino acids in raw soyflakes and four heated soybean meals for growing pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2008, 44(7): 25-29.
- [30] 朱翠, 蒋宗勇, 郑春田, 等. 大豆抗原蛋白的组成及其致敏作用机理 [J]. *动物营养学报*, 2011, 23(12): 2053-2063.
- Zhu C, Jiang Z Y, Zheng C T, et al. Soybean antigenic protein: composition and allergy mechanisms [J]. *Acta Zoonutrientia Sinica*, 2011, 23(12): 2053-2063.
- [31] Wu J J, Zhang Y, Dong J H, et al. Allergens and intestinal damage induced by soybean antigen proteins in weaned piglets [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2016, 15(3): 437-445.
- [32] 宋青龙, 袁翔, 张海燕, 等. 大豆球蛋白的抗营养作用及检测技术研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(12): 4260-4265.
- Song Q L, Yuan X, Zhang H Y, et al. Progress in anti-nutritional action of glycinin and its detection technology [J]. *Zoonutrientia Sinica*, 2017, 29(12): 4260-4265.
- [33] He L, Han M, Qiao S, et al. Soybean antigen proteins and their intestinal sensitization activities [J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2015, 16(7): 613-621.
- [34] 张连慧, 熊小辉, 惠菊, 等. 发酵豆粕及其在动物养殖行业中的应用研究进展 [J]. *中国油脂*, 2017, 42(3): 108-112.
- Zhang L H, Xiong X H, Hui J, et al. Progress in fermented soybean meal and application in animal breeding industry [J]. *China Oils and Fats*, 2017, 42(3): 108-112.
- [35] Wu J J, Cao C M, Ren D D, et al. Effects of soybean antigen proteins on intestinal permeability, 5-hydroxytryptamine levels and secretory IgA distribution in the intestine of weaned piglets [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2016, 15(1): 174-180.
- [36] 朱滔, 黄小燕, 王根虎. 发酵豆粕产品质量的综合评价 [J]. *饲料工业*, 2017, 38(15): 21-26.
- Zhu T, Huang X Y, Wang G H. Comprehensive evaluation of fermented soybean meal's quality [J]. *Feed Industry*, 2017, 38(15): 21-26.

(上接第 15 页)

- [33] Wang Y J, Chien Y H, Panc H. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hypessobrycon callistus* [J]. *Aquaculture*, 2006, 261: 641-648.
- [34] Panc H, Chien Y H, Hunter R B. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin [J]. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 2003, 297(1): 107-118.
- [35] 袁春营, 崔青曼. β -胡萝卜素对中华绒螯蟹卵巢发育及免疫学指标的影响 [J]. *海洋科学*, 2007, 31(6): 25-28.
- Yuan C Y, Cui Q M. The effect of β -carotene on ovary development and immunological parameters of *Eriocheir sinensis* [J]. *Marine Sciences*, 2007, 31(6): 25-28.