

表 7 蛋糕实验

| 试验组     | 颜色 | 质地       | 备注                                     |
|---------|----|----------|----------------------------------------|
| 1(配方 a) | 浅黄 | 松软、气孔较均匀 | 三个样品放一天后，第 2 组的蛋糕有一定湿润感，而第 1、3 组的蛋糕则较干 |
| 2(配方 b) | 黄色 | 松软、气孔均匀  |                                        |
| 3(配方 c) | 浅黄 | 软硬、气孔小   |                                        |

2.6 凝胶性

凝胶性是指蛋白质产品形成凝胶的能力，蛋白形成凝胶后，不但是水的载体，而且还是风味剂、糖及其它配合物的载体，凝胶性对火腿、香肠等碎肉食品的应用是非常有利的。许多因素都会影响凝胶的形成，如蛋白质的浓度、加工方法、加热温度和时间、冷却条件、食盐和硫醇的存在等。本次实验发现，胶原蛋白多肽在浓度较低的情况下不能形成凝胶，只有在浓度很高时才具有形成凝胶的能力，因而只具有弱的凝胶性。利用这一特性可将其应用于西式火腿类食品中，可以达到改善产品的质地、口感和提高产品的保水性和目的。

3 结论

由于胶原蛋白多肽是胶原蛋白的酶解产物，与胶原蛋白相比，分子量要低得多（平均分子量在 20000 左右），因而其功能特性在某些方面不同于胶原蛋白分子。对胶原蛋白多肽功能特性的测定结果表明，胶原蛋白多肽具有良好的功能特性，如溶解性、吸油性、起泡性和吸水性等。面包与蛋糕应用实验显示胶原蛋白多肽对面包和蛋糕的品质都有较大的改善作用。因此，胶原蛋白多肽既可直接作为基料用于生产各种饮料和美容食品，又可作为保湿剂、乳化稳定剂和发泡剂用于面包、糕点、饮料以及冰淇淋等食品的生产中。但有关 pH 值、离子强度和湿度等环境因素对胶原

蛋白多肽一些功能特性如乳化性及乳化稳定性、发泡性及泡沫稳定性等的影响仍有待于进一步探讨。

参考文献

1 胡慰望等. 食品化学. 北京: 科学出版社, 1992, 164 ~ 165.

2 大连轻工业学院, 华南理工大学, 郑州轻工业学院等合编. 食品分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1998, 216 ~ 221.

3 杨东等. 水解鱼蛋白及其功能特性的研究. 食品科学, 1999, 1: 23.

4 陶民强. 小麦蛋白质分解物的性能及应用. 食品工业, 1997, 3: 10 ~ 11.

5 宁正祥主编. 食品成分分析手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1998, 105.

6 Lilian U. Thompson and Young Sook Cho. . Chemical Composition and Functional Properties of Acylated Low Phytate Rapeseed Protein Isolate. J. Food Sci., 1984, 49: 1584.

7 刘大川等. 富硒大豆蛋白质产品功能特性. 中国油脂, 1994, 3: 3 ~ 7.

8 Lee C. H. and Rha C. Rheological Properties of Proteins in Solution. In Food Texture and Rheology. Sherman P. Academic Press. London. New York. San Francisco, 1979, 245 ~ 246.

9 Arai and Watanabe. Emulsifying and Foaming Properties of Enzymatically Modified Protein. In Advances in Food Emulsion and Foams. Dickinson. E & Stainby G. Elsevier Applied Science. London, UK, 1998, 189 ~ 220.

10 John E. Kinsella, Functional Properties of Soy Protein. J. A. O. S., 1979, 56: 242.

酵母发酵法分离纯化低聚异麦芽糖的研究

岳振峰 张学兵 彭志英 徐建祥 赵谋明 华南理工大学生物科学与工程研究中心 广州 510640

**摘 要** 酿酒酵母 As 2.109 经驯化后, 可用于发酵法分离纯化低聚异麦芽糖。优化后酵母发酵的最佳条件为 pH4.0, 温度 30 ~ 32℃, 低聚异麦芽糖浓度 250g/L, 酵母膏浓度 0.6g/L, CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 0.6g/L, Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 0.08g/L, MgSO<sub>4</sub> 1.2g/L。在此条件下, 低聚异麦芽糖经 38h 发酵后, 低聚异麦芽糖纯度由 53.8% 提高到 90.3%, 而葡萄糖被完全除去。

**关键词** 酿酒酵母 As2.109 低聚异麦芽糖 分离纯化

**Abstract** After taming, *Saccharomyces cerevisiae* (As2. 109) could be used to purify isomalttooligosacchride by its selective fermentation. The optimum conditions for isomalttooligosacchride's purification were: pH 4. 0, temperature 30 ~ 32°C, 250g/L isomalttooligosacchride, 0. 6g/L yeast extracts, 0. 6g/L CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, 0. 08g/L Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, 1. 2g/L MgSO<sub>4</sub>. Under the optimum circumstance, after 38 hours' fermentation, the content of isomalttooligosacchride was purified up to 90. 3% from previous 53. 8%, while the glucose was completely eliminated.

**Keywords** *Saccharomyces cerevisiae* (As2. 109) Isomalttooligosacchride Purification

低聚异麦芽糖 (Isomalttooligosaccharide) 属寡聚糖的一种, 由于它具有促进人体肠道双歧杆菌增殖、抗龋齿、有利于矿物元素吸收、强化机体耐力等良好的生理功能, 已引起国内外的高度关注; 另外, 它还具有低甜度、耐热、耐酸、保湿性和防止淀粉老化等优良的物化性质, 从而在食品工业中的应用日益广泛<sup>[1, 2]</sup>。日前, 日本已经有低聚异麦芽糖含量 90% 左右的产品面市, 而我国低聚异麦芽糖产品的纯度还停留在 50 ~ 55% 的水平, 产品形式比较单一, 不能满足保健食品行业对其多功能、多品种的要求。由于酿酒酵母对糖的发酵具有选择性, 它可以发酵商品低聚异麦芽糖中的葡萄糖和麦芽糖, 而不能发酵其中的异麦芽糖、潘糖、异麦芽三糖等分枝低聚糖。因此可以利用酿酒酵母发酵除去商品低聚异麦芽糖中的葡萄糖和大部分麦芽糖, 从而达到提高低聚异麦芽糖纯度的目的。国外在这一方面的研究已取得一定进展<sup>[3~5]</sup>, 而国内尚未有研究报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种

酿酒酵母 As2. 109, 购于广东省微生物研究所。

#### 1.1.2 试剂

商品低聚异麦芽糖, 新疆纵横股份有限公司提供; 复合酶试剂 (葡萄糖氧化酶和过氧化物酶), 购于北京微生物研究所; 其它试剂均为本地购买。

#### 1.1.3 培养基

麦芽汁培养基: 10°Bx 麦芽汁、琼脂 20g

酵母增殖培养基: 葡萄糖 50g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2. 5g、尿素 1g、酵母膏 0. 5g、MgSO<sub>4</sub> 1g、Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 0. 1g、H<sub>2</sub>O 1000ml。

试验培养基: 参考酵母增殖培养基, 用低聚异麦芽糖代替葡萄糖。

## 1.2 方法

### 1.2.1 DE 值 (还原糖) 的测定 碘量法<sup>[6]</sup>。

### 1.2.2 葡萄糖含量的测定 葡萄糖氧化酶法。

### 1.2.3 低聚异麦芽糖成分分析 高压液相色谱法<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酿酒酵母 As2. 109 发酵工艺条件的优化研究

经过与其它酵母菌种比较, 我们选择较适应低聚异麦芽糖高糖度环境的酿酒酵母 As2. 109 为试验菌种, 经驯化后用于低聚异麦芽糖的发酵法分离纯化研究。

#### 2.1.1 pH 对酵母发酵的影响

发酵液的 pH 对酵母生命活动有显著影响, 且酒精发酵也会随 pH 改变而改变。由图 1 可见, 当 pH 为 3.0 ~ 7.0 时, 在 36h 左右, 葡萄糖都基本降解完。从图 2 还可看出, 当 pH 为 4.0 ~ 7.0 时, 糖液 DE 值的降低速度基本相同。考虑到低 pH 值有利于降低甘油的生成, 且不易污染其他微生物, 宜将发酵液 pH 定为 4.0。

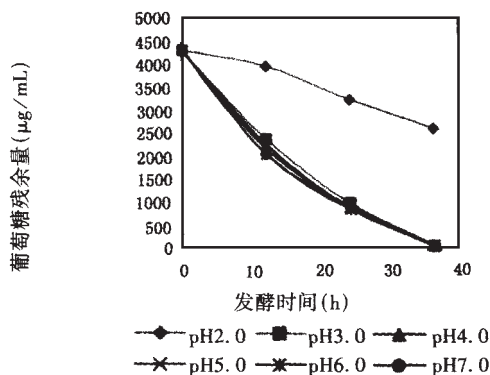


图 1 pH 对葡萄糖残余量的影响

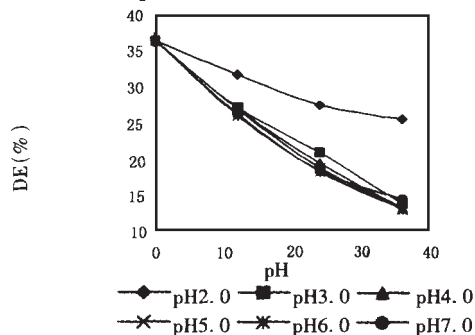


图 2 pH 对糖液 DE 值的影响

### 2.1.2 温度对发酵的影响

温度也是影响酵母生长发酵的一个重要因素,温度低则酵母发酵速度慢,温度过高酵母会死亡。从图3可见,该酵母最适发酵温度在30~32℃之间。

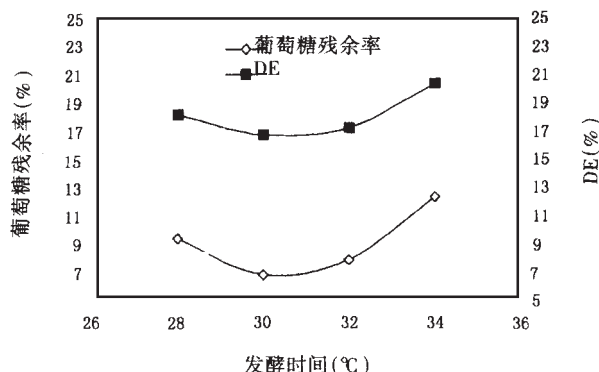


图3 发酵温度对酵母发酵低聚异麦芽糖的影响

### 2.1.3 糖浓度对发酵的影响

在厌氧状态下,接种10%(v/v)的酵母作用于低聚异麦芽糖液。结果表明,经驯化后的酿酒酵母As2.109耐糖性好,在低聚异麦芽糖浓度为150g/L,200g/L,250g/L时,酵母降解葡萄糖的速率无明显区别;但达到300g/L时,酵母降解葡萄糖的速率明显降低。从图5可见,糖液的DE值降低速率随着糖液浓度的升高而减小,说明低浓度的糖液更有利于发酵的进行。但考虑到与工业生产低聚异麦芽糖液的浓度保持一致,糖液浓度以250g/L为好。

### 2.1.4 酵母膏的影响

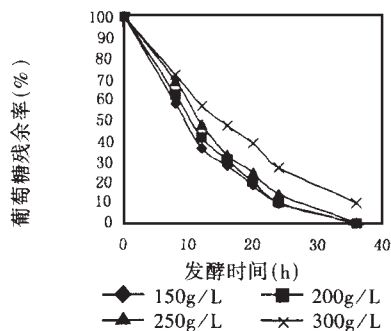


图4 糖浓度对葡萄糖残余率的影响

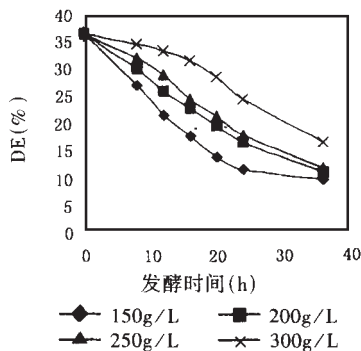


图5 糖浓度对DE值的影响

酵母膏可为酵母生长提供有机氮、无机离子以及必需的生长素等,生长素在酵母代谢过程中,作为辅酶的组成是酶的催化功能所必需的,其中生物素是酵母最普遍需要的生长素,而有机氮、无机离子也可促进酵母的生长。改变发酵液中酵母膏的浓度,结果发现,酵母膏的浓度对酵母生长繁殖和发酵能力以及葡萄糖残留率有较大的影响。在没有酵母膏的条件下,酵母细胞生长缓慢且发酵能力弱。当酵母膏浓度大于0.4g/L时,在32h左右,几乎都可除去发酵液中的葡萄糖,但从图6和图7曲线趋势来看,较高浓度的酵母膏更有利于发酵。因此可将酵母膏浓度定为0.6g/L。

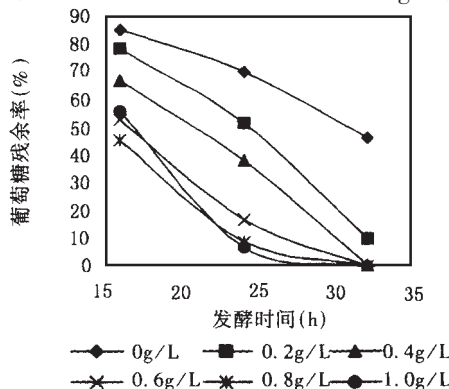


图6 酵母膏对葡萄糖残余率的影响

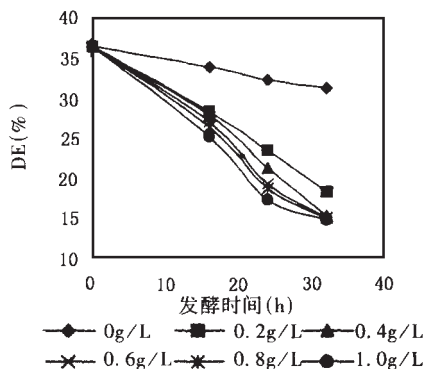


图7 酵母膏浓度对DE的影响

### 2.1.5 氮源的选择

适宜种类和浓度的氮源不仅能促进酵母发酵降解葡萄糖和麦芽糖,而且还可减少副产物的形成。以相同摩尔量的 $\text{NaNO}_3$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、L-谷氨酸、尿素、蛋白胨作为供试氮源,结果表明(如图9所示):尿素为酵母的最佳氮源,其次为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,酵母利用 $\text{NaNO}_3$ 和谷氨酸的能力较差,酵母单独利用蛋白胨(不添加酵母膏)作用于糖的能力最弱。从图9所示,尿素作为酵母的氮源时,氮源不足严重影响酵母对葡萄糖的降解,但当尿素浓度大于0.6g/L后,再增大尿素浓度对葡

葡萄糖残余率几乎无影响。从降低成本和减少糖液中杂质的角度考虑,尿素的最佳浓度为 0.6g/L。

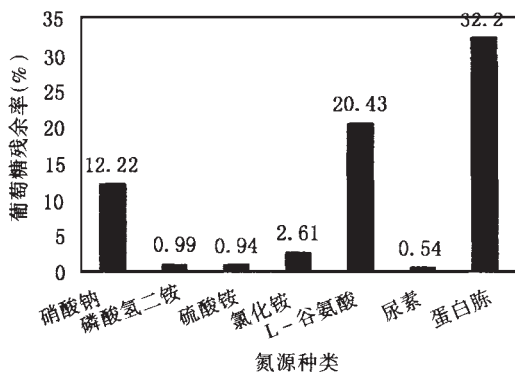


图8 不同氮源对葡萄糖残余率的影响

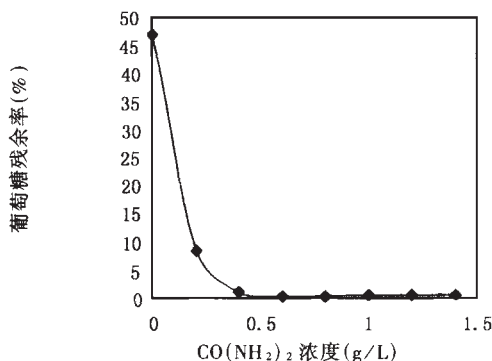


图9 CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 浓度对葡萄糖残余率的影响

### 2.1.6 磷源的选择与用量

磷是酵母生长和发酵所必需的物质,对于迅速生长的酵母细胞必需供给磷源,缺乏磷源将导致酵母细胞衰弱。在低聚异麦芽糖液中,磷含量不足,需添加磷源,以磷酸二氢钾为宜。实验表明,当 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度为 3g/L 时,酵母降解葡萄糖的速度最快。

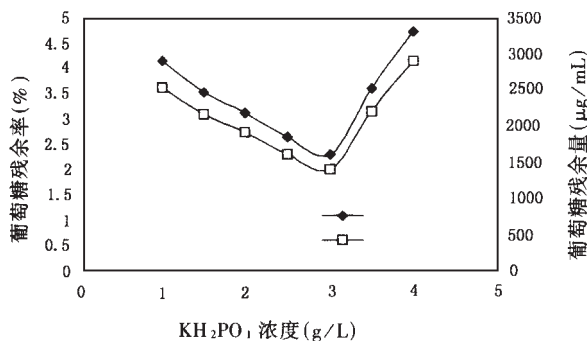


图10 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 浓度对葡萄糖降解的影响

### 2.1.7 无机离子的影响

无机离子对微生物的生长和代谢非常重要。其中 Fe<sup>3+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 是酵母生长和发酵必需的金属离子,但其浓度过高时,酵母细胞会受到损伤。因而可通过改变

Fe<sup>3+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 浓度来调节酵母酵解糖的能力。结果表明,当 Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 和 MgSO<sub>4</sub> 的浓度分别为 0.08g/L 和 1.2g/L 时,酵母利用葡萄糖和麦芽糖的速度最快,DE 值达到最低值。

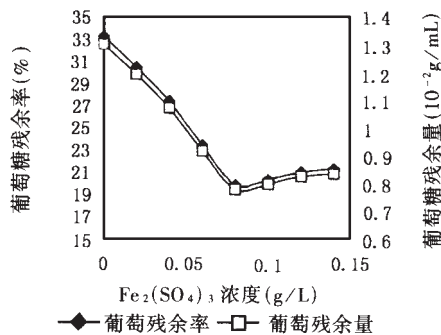


图11 Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 浓度对葡萄糖降解的影响

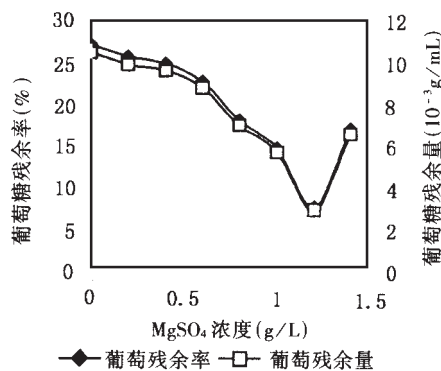


图12 MgSO<sub>4</sub> 浓度对葡萄糖降解的影响

### 2.1.8 发酵时间对低聚异麦芽糖纯度的影响

从图 13 可见,低聚异麦芽糖的含量随着发酵时间的延长而提高。低聚异麦芽糖的发酵可分为三个阶段:0~14h 为第一阶段,葡萄糖的含量以较快的速度下降,麦芽糖几乎不被降解,低聚异麦芽糖的纯度以较快的速度提高,这一阶段底物的高浓度(250g/L)对发酵存在一定程度的抑制作用;14~28h 为第二阶段,由于总糖度的降低,底物浓度抑制解除,发酵进入旺盛期,葡萄糖和麦芽糖均进入快速降解阶段,低聚异麦芽糖的纯度迅速提高;28~46h 为第三阶段,这时葡萄糖已经被完全降解,麦芽糖的浓度也已较低,发酵缓慢进行,麦芽糖以较缓慢的速度降解,低聚异麦芽糖的纯度仍缓慢上升。从试验结果可见,发酵时间为 38h 时,低聚异麦芽糖的纯度仍缓慢上升。从试验结果可见,发酵时间为 38h 时,低聚异麦芽糖的纯度即达到 90.3%,之后随着发酵时间的进行,低聚异麦芽糖的纯度提高极为缓慢。因此选择发酵时间为 38h 时较为合理。

### 2.2 分离纯化后低聚异麦芽糖成分的检测

将发酵后的低聚异麦芽糖液经离心分离酵母、离子

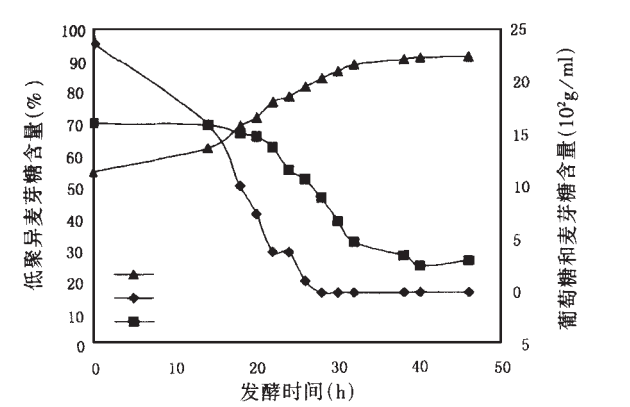


图 13 发酵时间对低聚异麦芽糖纯度的影响

表 1 纯化前后低聚异麦芽糖组成的变化

| 成分        | 商品低聚异麦芽糖 (%) | 纯化后低聚异麦芽糖 (%) |
|-----------|--------------|---------------|
| 葡萄糖       | 23.7028      | 0             |
| 麦芽糖       | 16.0838      | 3.4410        |
| 异麦芽糖      | 12.0830      | 16.4934       |
| 麦芽三糖      | 5.3801       | 6.2572        |
| 潘糖        | 18.1316      | 23.5837       |
| 异麦芽三糖     | 5.3013       | 8.1602        |
| 四糖以上组分    | 19.3174      | 42.0645       |
| 异麦芽糖 + 潘糖 | 35.5.159     | 48.2373       |
| 总低聚异麦芽糖   | 53.8333      | 90.3018       |

交换树脂脱盐、蒸馏、活性炭脱嗅后 ,用高压液相色谱检测其组成。纯化前后的低聚异麦芽糖组成的变化 (纯化后低聚异麦芽糖采用发酵 38h 所得产品) 如表

1。可见 ,低聚异麦芽糖经 38 小时发酵后 ,低聚异麦芽糖纯度由 53.8% 提高到 90.3% ,而葡萄糖被完全除去。

参考文献

- 岳振峰 ,赵谋明 ,彭志英 . 功能性低聚糖研究进展 . 食品科学 ,1999 ,20(9) :21 ~ 25.
- 加藤工成 ,林义正 . イソマルトオリゴ糖の特性と畜肉・鱼肉調理食品への利用 . ニーフードイニグストリー , 1999 ,41(6) :23 ~ 31.
- Bhatt, S. . Separation of fructose from carbohydrate mixtures part I – non – chromatographic methods. Indian Sugar 1993, 7: 463 ~ 468.
- Harder, A. ; Noordam, B. ; Brekelmans, A. M. . Kinetics of isomaltose formation by amyloglucosidase and purification of the disaccharide by fermentation of undesired by – products. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1983, 413 (Biochem. Eng. 3), 340 ~ 351.
- Koren, D. W. ; and Duvnjak, Z. . Pure fructose syrup and ethanol production from high fructose corn syrup supplemented with Jerusalem artichoke juice. J. Chem. Tech. Biotechnol. 1990 :47: 117 ~ 125.
- 黄伟坤等 . 食品检验与分析 . 北京 :轻工业出版社 , 1989 , 1 :35 ~ 36.
- 倪星忠编著 . 临床生化酶试剂方法 . 上海 :华东师范大学出版社 ,1993 ,3 :182 ~ 188.
- 罗发兴 ,周家华 . 高效液相色谱分析低聚糖类 . 食品工业科技 ,1995 ,5 :63 ~ 67.

动物蛋白酶解研究( II)

宋焕禄 北京工商大学 100037

廖国洪 广东一品鲜生物科技有限公司 523243

(转接上期)

2.5 酶解最佳条件的确定

根据文献资料可以知道 ,影响酶解的几个重要因素是温度、pH 值、酶解时间、加酶量及原料热处理程度。由于热处理程度没有一定的标准可依 ,根据已有的生产实际作法 ,采取在 80℃ 水浴中加热 10min 的方法 ,既有利于加快酶解速度又可防止在较长时间水解过程中的微生物污染。根据 Protamex、Flavorzyme 两种酶的特性 ,在此选用 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 正交表进行正交实验以确定 P&F 酶组合的最佳反应条件。相关的因素水平表如下所示。

表 12 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 正交实验安排

| 因素水平 | A<br>温度(℃) | B<br>pH 值 | C<br>时间(h) | D<br>酶量(P. + F. ) |
|------|------------|-----------|------------|-------------------|
| 1    | 49         | 5.5       | 5.0        | 0.057 + 0.139     |
| 2    | 52         | 6.0       | 7.0        | 0.113 + 0.416     |
| 3    | 55         | 6.5       | 9.0        | 0.170 + 0.694     |
| 4    | 58         | 7.0       | 11.0       | 0.226 + 0.971     |

2.5.1 实验步骤

称取 20g 鸡胸肉 ,加入 5ml 蒸馏水 ,于 80℃ 水浴中加热 10min ,冷却后在 pH 计监测下调节 pH 值至要