

鲁晨辉, 何永熙, 魏皓东, 等. 关于苯丙酮尿症特殊医学用途配方食品研发与应用进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 413-420. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070262

LU Chenhui, HE Yongxi, WEI Haodong, et al. Development and Application Progress of Food for Special Medical Purpose for Phenylketonuria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 413-420. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070262

· 专题综述 ·

关于苯丙酮尿症特殊医学用途配方食品 研发与应用进展

鲁晨辉¹, 何永熙¹, 魏皓东¹, 冯永巍^{2,3,*}, 高 辉⁴, 史学丽⁴, 张 毅^{1,*}

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 食品学院分析食品安全研究所, 江苏无锡 214122;

2. 无锡市食品安全检验检测中心, 江苏无锡 214100;

3. 国家市场监督管理总局技术创新中心(特殊食品), 江苏无锡 214131;

4. 石家庄市妇幼保健院, 河北石家庄 050051)

摘 要: 苯丙酮尿症患者因基因缺陷导致无法正常代谢苯丙氨酸而必须终生严格限制苯丙氨酸或其结构类似物的摄入, 因此, 研究和开发适用于苯丙酮尿症的特殊医学用途配方食品对于保障患者身体健康和提升生活品质有重要意义。本文就苯丙酮尿症患者的饮食方案进行了综述, 重点分析了特殊低蛋白食品、低苯丙胺类食品及基于糖巨肽的特殊医学用途配方食品, 详述了上述食品的来源或制备技术、功能特性, 同时针对目前该领域中存在的形态单一、适口性差等问题, 展望了未来的研究方向和研究重点, 以期苯丙酮尿症特殊医学用途配方食品的研发提供参考。

关键词: 苯丙酮尿症, 低蛋白, 糖巨肽, 低苯丙胺, 特殊医学用途配方食品

中图分类号: R725.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)16-0413-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070262

本文网刊:



Development and Application Progress of Food for Special Medical Purpose for Phenylketonuria

LU Chenhui¹, HE Yongxi¹, WEI Haodong¹, FENG Yongwei^{2,3,*}, GAO Hui⁴, SHI Xueli⁴, ZHANG Yi^{1,*}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Institute of Analytical Food Safety, School of Food Science, Wuxi 214122, China;

2. Wuxi Food Safety Inspection and Testing Center, Wuxi 214100, China;

3. National Market Supervision Technology Innovation Center (Special Food), Wuxi 214131, China;

4. Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: Patients with phenylketonuria (PKU) have to restrict the intake of phenylalanine (Phe) or its structural analogues for life because of the genetic defect that prevents them from metabolizing Phe normally. Therefore, the research and development of food for special medical purpose for PKU is important to protect the health of patients and improve their quality of life. This paper reviews the dietary regimen for patients with PKU, focusing on special low-protein foods, low-Phe foods, and food for special medical purpose based on glycomacropeptides, and details the sources or preparation techniques and functional properties of these foods, and look into future research directions and research priorities to address the current problems of single product form and poor palatability in this field, with a view to providing a better

收稿日期: 2021-07-23

基金项目: 江苏省市场监督管理局技术能力提升项目(KJ204131); 国家自然科学基金(21876066); 河北医学科学研究课题计划(20211856, 20212039)项目资助; 中央高校基本科研业务费专项资金(JUSRP21921)。

作者简介: 鲁晨辉(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 特医食品与食品安全, E-mail: 6210112176@stu.jiangnan.edu.cn。

* 通信作者: 冯永巍(1980-), 男, 博士, 研究方向: 特医食品与食品安全, Email: 402200023@qq.com。

张毅(1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 特医食品与食品安全, E-mail: zhangyijnu@jiangnan.edu.cn。

understanding of the development of food for special medical purpose for PKU. The research direction and focus of future research are also presented to provide reference for the research and development of food for special medical purpose for PKU.

Key words: phenylketonuria; low protein; glycomacropeptide; low phenylalanine peptide; food for special medical purpose

苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU)也称为苯丙氨酸羟化酶缺乏症,是一种常染色体隐性遗传的苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)代谢缺陷疾病。由于体内缺乏苯丙氨酸羟化酶,患者的 Phe 分解代谢途径遭到破坏,如果对富含苯丙氨酸的食品不加限制地摄入,将导致体内苯丙酮累积从而引起神经认知和神经运动障碍、自闭症行为、湿疹和癫痫等并发症。我国新生儿 PKU 发病率约为万分之一,且存在显著地域差异,海南省约为 1.22:100000(2017~2019 年),湖北省黄冈市约为 1:16812(2016~2019 年),云南省约为 1:24125(2014 年),洛阳市 1:7983(2015~2016 年),宁夏 1:3175(2010~2014 年)^[1-5]。

目前,PKU 尚无完全治愈的方法,现行治疗方法主要有饮食疗法、基因疗法、酶疗法及辅助因子疗法等^[6-9]。最新的基因疗法尽管解决了之前研究存在的副作用问题,但考虑到脱靶基因变化的可能性,该方法目前仍远未达到临床试验的阶段^[7]。酶疗法目前在美国可以使用,且已经获得欧洲上市许可,但是会产生显著的副作用^[8]。辅助因子疗法目前对病情较轻的患者更有效,对经典型苯丙酮尿症患者的疗效较差^[6]。因此,饮食疗法被认为是目前最安全、最有效的方法^[10-11]。

针对 PKU 患者的饮食疗法其思路是通过严格限制食物来源,控制苯丙氨酸的摄入量在正常生长所需的最低限度,同时补充专门为 PKU 患者设计的特殊医疗食品。本文从 PKU 特殊医学配方食品的非蛋白成分和低苯丙氨酸蛋白成分两方面进行了综述,重点分析了研究前沿的特殊低蛋白食品、低苯丙氨酸蛋白特殊医学用途配方食品和糖巨肽的研究进展,指出了目前 PKU 特殊医学用途配方食品研发领域存在的问题,并对未来研究方向进行了展望。

1 低蛋白成分普通食品

1.1 天然的低蛋白食品

由于体内缺乏苯丙氨酸代谢所需苯丙氨酸羟化酶,PKU 患者必须严格控制苯丙氨酸含量正常的肉、鱼、蛋、奶等天然蛋白产品摄入量,还需严格控制分子中含有苯丙氨酸结构单元的食品添加剂例如阿斯巴甜(天门冬酰苯丙氨酸甲酯)的摄入^[12]。对于这类患者,建议每 100 g 干食品中摄入苯丙氨酸含量在 50 mg 以下(相当于每 100 g 干食品中蛋白质含量不多于 1 g)^[12]。

为此,PKU 患者在日常食物来源宜选择天然的低蛋白食品。大多数水果和蔬菜的蛋白质含量较低,表 1 是常见的水果蔬菜中蛋白质的含量。水果蔬菜含蛋白质量极低,并且其提供的维生素和膳食纤维,

可抑制 PKU 患者体内蛋白质的完全吸收^[13]。2020 年,英国国家营养师对 PKU 患者食物蛋白的摄入做了一致阐明,声明表示 PKU 患者应尽量避免摄食高蛋白质和苯丙氨酸的食物,但是可以不受限制地食用含苯丙氨酸 ≤ 75 mg/100 g 的水果和蔬菜(除了土豆和蔬菜薯片),以及大多数蛋白质含量 ≤ 0.5 g/100 g 的食品^[14]。其中,土豆的苯丙氨酸含量低于 75 mg/100 g,但是由于英国饮食中每天巨大的消耗量而不被允许不受限制的摄入。目前,我国还没有官方的对于 PKU 患者摄食食物蛋白的明确建议,因此,更适合我国 PKU 患者的营养建议有待研究人员的开发。

许多植物中苯丙氨酸氨裂合酶含量较高,为开发适用于 PKU 患者的天然植物膳食补充剂提供可能。Aydas 等^[15]发现,矢车菊中的苯丙氨酸氨裂合酶的活性很高,可将苯丙氨酸转化为无害代谢物。Cliff 等^[16]发现,富含花青素的玉米品种其幼苗根中苯丙氨酸氨裂合酶含量较高,开发了含有此种玉米根部的谷物棒、饮料和果酱状酱料。Eissa 等^[17]研究了香蕉果实中苯丙氨酸氨裂合酶的活性,并利用提取的苯丙氨酸氨裂合酶制备了该酶的蛋白和蘑菇粉。

表 1 每 100 g 果蔬中主要营养成分的含量^[18]

Table 1 Content of main nutrients per 100 g of fruits and vegetables^[18]

名称	水分 (g/100 g)	蛋白质 (g/100 g)	脂肪 (g/100 g)	碳水化合物 (g/100 g)	粗纤维 (g/100 g)
南瓜	97.8	0.3	0	1.3	0.3
土豆	79.9	2.3	0.1	16.6	0.3
番茄	95.9	0.8	0.3	2.2	0.4
茼蒿	96.4	0.6	0.1	19	0.4
大白菜	95.6	1.1	0.2	2.1	0.4
苹果	84.6	0.4	0.5	13	1.2
香蕉	77.1	1.2	0.6	19.5	0.9
菠萝	86.3	0.6	0.2	12.2	0.4
草莓	90.7	1	0.6	5.7	1.4
西瓜	94.1	1.2	0	4.2	0.3

1.2 特殊低蛋白食品

特殊低蛋白食品(special low-protein food, SLPF)是 PKU 患者另一食物来源选择。根据欧洲 PKU 患者膳食指南,特殊低蛋白食品是一类由食品淀粉(如小麦淀粉、马铃薯淀粉和玉米淀粉)加工制成的低蛋白质食品,每 100 g 低蛋白食品的苯丙氨酸含量小于等于 50 mg(相当于每 100 g 低蛋白食品中蛋白质含量小于等于 1 g)^[19]。

特殊低蛋白食品包括低蛋白谷物、低蛋白面包、低蛋白米饭、低蛋白蛋糕、低蛋白饼干、低蛋白面

粉、低蛋白巧克力、低蛋白能量棒、低蛋白果冻、低蛋白冰淇淋、低蛋白代乳品、低蛋白面食等多种类型^[19]。这类食品成本和售价较低,不会为 PKU 患者和家庭增加沉重的经济负担。PKU 患者所需的特殊低蛋白食品量与疾病的严重程度相关,PKU 严重患者其特殊低蛋白食品摄入量须占总能量摄入的 50%,而具有更高天然蛋白耐受性的患者则可以减少对特殊低蛋白食品的依赖^[20]。

为了改善多数特殊低蛋白食品适口性较差的问题,研究人员从味道、可接受性、适口性、外观、成本等方面着手以提高特殊低蛋白食品的质量。Scortegagna 等^[21]使用玉米淀粉作为基底,分别添加木薯、马铃薯、红薯、雪莲果等作为配方,研究其感官特性,并认为添加了马铃薯的面包更受欢迎。Alireza 等^[22]评估了不同状态的玉米淀粉对低蛋白饼干质量的影响,并认为最佳感官质地的饼干应该具有 30% 的预胶化淀粉和 70% 的交联淀粉。Parlak 等^[23]通过在无麸质的低蛋白曲奇中添加葡萄干、干黑醋栗、干枣、干苹果和肉桂制备成不同口味的饼干以分析其感官特性,制备口味最佳的低蛋白曲奇。Shruti 等^[24]开发了基于明胶和一些低成本原料的多用途面粉,面粉成本低、营养价值高,且易于烘烤,由该面粉烘焙成的饼干功能和感官特性与市售饼干相当,表明其适用于商业化。Woore 等^[25]提出可以选择苯丙氨酸含量足够低的玉米品种作为 PKU 患者低蛋白饮食的原料。目前,对特殊低蛋白食品与常规食品营养状况的对比分析依旧不够明确。Wood 等^[26]研究了英国处方中所有的特殊低蛋白食品的营养成分,并与等效的含蛋白质食物进行比较。发现 SLPF 中除了蛋白质比普通食品少外,总脂肪含量也比普通食品少,棕榈油和氢化植物油是主要的脂肪来源。SLPF 中含有更多的碳水化合物,主要的淀粉来源是玉米,超半数食品含有添加糖。因此,有必要对 SLPF 类食品指定更严格的营养成分法规,确定符合 PKU 患者健康条件的相关常量营养素和苯丙氨酸以及脂肪和碳水化合物来源的最大上限。

2 特殊医学用途配方食品

传统的低苯丙氨酸蛋白特殊医学用途配方食品分为两大类:一类是以除苯丙氨酸外的必须氨基酸按照一定比例混合并加入其他营养物质,制成游离氨基酸配方粉;另一类是通过将天然蛋白水解,以吸附、超滤等技术去除水解液中的苯丙氨酸,再加工成低苯丙氨酸多肽(低苯丙肽)食品。这两类食品虽然对 PKU 患者营养支持效果显著,但由于其适口性较差、可能引起腹泻等缺点,影响了患者的饮食依从性^[27]。

2.1 游离氨基酸配方粉

我国 PKU 患者的蛋白供给主要依靠游离氨基酸混合食品即氨基酸配方粉,这些配方粉中通常混合了必需氨基酸、维生素、矿物质及微量元素^[12]。但由于有关氨基酸代谢症适用特殊医学用途配方食品的

现有标准不完备,尤其是相关氨基酸原料标准缺失,我国市场上 PKU 氨基酸配方粉依赖进口、货源单一、价格昂贵(400~500 元/400 g)^[28]。2020 年,我国批准注册的特殊医学用途配方食品中,适用于 PKU 患者的配方粉均为进口产品,分别为:纽贝瑞特殊医学用途婴儿苯丙酮尿症配方粉、纽贝福特殊医学用途氨基酸代谢障碍配方食品和纽贝臻特殊医学用途苯丙酮尿症配方粉,三类产品适用年龄涵盖 PKU 患者的全年龄段。

事实上,我国在 PKU 患者适用氨基酸配方粉领域已有较好的研究基础和足够的生产能力。杨国民等^[29]采用植物油脂肪粉、复合氨基酸、复合维生素、复合矿物质等制备了一款适用于苯丙酮尿症患者的配方粉,产品不添加苯丙氨酸,能够保证患者维持机体正常的氨基酸代谢。曾珍等^[30]研发的无苯丙氨酸配方粉添加了 0.01~1 重量份的复合不饱和脂肪酸,以满足患儿的大脑发育的需求。

2.2 低苯丙肽食品

低苯丙肽食品(low phenylalanine peptide food, LPP)是苯丙氨酸含量低于 0.5% 的多肽类食品。与氨基酸混合食品相比,低苯丙肽食品更易吸收,没有令人难以接受的味道,多肽分子量比氨基酸更大,因此可以避免由于体内渗透压过高而引起的腹泻。低苯丙肽的主要制备路径是先利用酶解法游离完整蛋白中的苯丙氨酸,再通过吸附或超滤脱除苯丙氨酸^[10]。由于超滤法难以截留分子量低于 10 kD 的小分子肽、氨基酸等活性物质,因此不适用于实际生产^[10]。

2.2.1 蛋白原料的筛选 动物蛋白和植物蛋白都可以作为制备低苯丙肽的主要原料。酪蛋白和乳清蛋白是用于制备低苯丙肽的两种主要动物蛋白。酪蛋白中苯丙氨酸含量约为 3.9%。魏晴霞等^[31]以酪蛋白为原料,酶解结合柱层析分离制备的低苯丙肽粉中苯丙氨酸含量降至 0.6%。周志伟等^[27]使用酪蛋白,通过酶解结合柱吸附的方法研制了一种低苯丙肽配方食品,经水解后水解物中苯丙氨酸含量降至 0.5%。乳清蛋白营养价值高、含有多种活性成分、易于消化吸收,是公认的优质蛋白补充剂,其蛋白含量高达 80%,苯丙氨酸含量约为 4%~6%,有“蛋白之王”的美誉。Cabrera 等^[32]利用酶膜反应器生产了一种低苯丙氨酸含量的干酪乳清蛋白水解物,可用于 PKU 患者的饮食。Villafuerte 等^[33]从甜奶粉和豆粕中提取了可用于制备 PKU 患者食品的低苯丙氨酸的蛋白质水解物。Ozer 等^[34]也通过从乳清中沉淀蛋白质、氨基酸处理以及向分离的乳清蛋白中添加游离氨基酸、维生素和矿物质的方法,生产出一种低苯丙氨酸的蛋白水解物,有望用于开发 PKU 患者可食用的食品。Bu 等^[35]使用两步酶解法从乳清蛋白中释放苯丙氨酸,使用吸附剂制备了低苯丙氨酸的水解物,可以用于 PKU 患者的食品。目前,已经有研究从蛋白原料的角度创新,以期为 PKU 患者提供更

多蛋白来源的低苯丙肽食品。Su 等^[36]以蛋清蛋白为原料,通过两步酶解法和活性炭吸附制备了一种低苯丙氨酸的蛋清蛋白水解物,有望用于制备适用于 PKU 患者的食品。

植物蛋白包含多种类型,例如大米蛋白、大豆蛋白、花生蛋白、玉米蛋白、核桃蛋白、小米蛋白等。但并非所有蛋白都适合作为制备低苯丙肽的制备原料。例如大豆蛋白、花生蛋白和小米蛋白中含有过敏原,且大豆蛋白存在部分人难以接受的豆腥味;组成复杂的玉米蛋白口感粗糙,且水溶性较差;小米蛋白不含色氨酸,从营养价值方面处于劣势;荞麦蛋白和小麦蛋白消化性较差^[10]。大米蛋白的苯丙氨酸含量适中、过敏性较低且易于消化,适合用于开发低苯丙肽食品。盛晓静^[37]等利用大米蛋白湿法制备一种低苯丙肽食品,处理后的大米基料苯丙氨酸含量降至 0.13%。Tong 等^[38]以大豆蛋白为原料,使用两步酶水解辅助水提法生产了苦味降低、营养价值更高的大豆蛋白水解物,扩大大豆蛋白在 PKU 患者的饮食中的应用。李志刚等^[39-40]以山杏仁蛋白为原料,通过酶解和吸附作用制备了一种苯丙氨酸含量约为 0.32% 的低苯丙肽粉,并通过酶法深度水解花生蛋白,制备了一种苯丙氨酸约占总氨基酸含量的 0.09% 且不含过敏性蛋白的花生肽混合物,有望成为低苯丙肽食品基料的新选择。较高含量的蛋白和较低含量的多酚、糖和蛋白抑制剂有助于控制蛋白水解的过程,从而提高蛋白酶水解的效率和水解的产量,但与动物蛋白相比,植物蛋白水解物缺乏某些必须的氨基酸,利用植物蛋白制备的产品必须额外添加一些氨基酸以维持患者的营养需求。

2.2.2 蛋白原料的酶解 低苯丙肽食品中苯丙氨酸残基的切除主要依赖于蛋白原料的酶解。酶解是采用特异性酶制剂在最佳环境条件下通过特异酶切位点的肽键断裂使目标氨基酸从蛋白结构中解离的过程。蛋白水解酶根据水解机理分为内肽酶和外蛋白酶。用于特殊配方的蛋白质水解物由游离氨基酸、短肽(二肽和三肽)组成,通常不包含长于 12 个氨基酸残基的肽。最初使用内肽酶可促进外肽酶的水解作用,为了获得这种水解产物,优选内肽酶和外肽酶的顺序反应。

酶的种类和酶的作用条件对目标氨基酸的脱除效率产生影响。对于需要脱除苯丙氨酸的蛋白,目前选用的酶制剂有动物蛋白酶(如胃蛋白酶、胰蛋白酶、羧肽酶 A 等)、植物蛋白酶(风味蛋白酶、木瓜蛋白酶等)和从枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、米曲霉(*A. oryzae*)等微生物中提取出的生物蛋白酶^[10]。Galvao 等选用胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶分别和羧肽酶 A(CPA)连续水解干酪中的乳清蛋白,并认为,当只有胰凝乳蛋白酶水解乳清时,CPA 从水解产物中去除 Phe 的效果更好^[41]。Villafuerte 等^[33]使用胃蛋白酶和灰链霉菌蛋白酶水解面粉蛋白和乳清蛋白以

制备苯丙氨酸含量较低的肽。Tong 等^[38]发现在大豆蛋白的水解过程中,地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶 Protex 6L 水解后产生潜在的苦肽,蛋白酶 A25D 则倾向于从苦肽的 N 末端切割精氨酸和异亮氨酸残基,以降解毒肽。Silvestre 等^[42]使用了地衣芽孢杆菌蛋白酶作为内肽酶,分别使用胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、大豆蛋白酶、嗜热脂肪芽孢杆菌蛋白酶和枯草芽孢杆菌的两种酶作为外蛋白酶,筛选结果表明,在每种酶的最适条件下,木瓜蛋白酶的效果最佳,苯丙氨酸脱除率达 94.1%。相比于嗜热脂肪芽孢杆菌蛋白酶、枯草芽孢杆菌蛋白酶等新型的生物蛋白酶,目标特异性较强的木瓜蛋白酶酶解效率更高。但是,目前的蛋白酶仍然存在成本高、难以达到我国国标要求(我国国标要求针对 PKU 的配方食品中应限制苯丙氨酸含量 ≤ 1.5 mg/g 蛋白质等同物^[43])等问题,对于苯丙氨酸的脱除过程中酶的选用依旧有待进一步研究。

酶解过程受温度、时间、pH 等多种因素的影响,适宜的酶解条件对于蛋白酶作用发挥与生产成本控制之间的平衡至关重要。盛晓静等^[37]在研究大米蛋白中苯丙氨酸的脱除技术时分别研发了快速酶解和充分酶解两种工艺。快速酶解工艺:采用中性蛋白酶和链霉菌蛋白酶复合酶解,两种酶作用温度分别为 50 和 37 °C,酶解时间 4 h,且苯丙氨酸脱除率可达到 80%。充分酶解工艺:中性蛋白酶、糜蛋白酶和链霉菌蛋白酶复合酶解,酶解温度分别为 50、55、37 °C,酶解时间 11 h,苯丙氨酸脱除率达 92.25%。如果在苯丙氨酸游离的过程中采用过高的 pH 环境(9~12),则后续过程需要脱盐处理,使工艺更为复杂。因此,从简化工艺角度建议选取最适酶解 pH 为中性的蛋白酶。

2.2.3 后水解过程(Post Hydrolysis Procedure) 蛋白质在经过酶解后大部分苯丙氨酸残基已成为游离氨基酸,只有将苯丙氨酸从水解物中彻底脱除,低苯丙肽才能制备完成,这样的过程称为后水解过程(Post Hydrolysis Procedure)。

多种后水解过程已经成功用于生产低苯丙肽。目前, Sephadex-25、Sephadex G-15 等葡萄糖凝胶、疏水性树脂、离子交换树脂等已被用于吸附水解产物中的芳香族氨基酸,且聚苯乙烯树脂针对蛋白质水解物中的苯丙氨酸去除率高达 99%^[44]。但是,由于上述吸附剂成本较高,目前已经被活性炭替代。Lopes 等^[45]在 2005 年就报道了使用活性炭成功去除了 96%~99% 的苯丙氨酸。Su 等^[36]使用了 9 种活性炭用来吸附蛋清蛋白水解物中的苯丙氨酸,结果表明,粒径较小的活性炭去除苯丙氨酸更高效,苯丙氨酸的去除率从 91.71% 到 97.78% 不等。Su 等^[46]展开对活性炭选择性吸附机制的研究,并认为活性炭会优先吸附芳香族氨基酸和分子量较高的组分,吸附的主要驱动力是疏水相互作用,其次是氢键和静电相互作用。

对活性炭吸附机制的研究将有利于以活性炭作为低苯丙肽食品制备的吸附剂的充分使用。但是使用活性炭作为吸附剂的文献中没有提到对于吸附后的废活性炭的后续处理工作,这可能会对环境带来污染,阻碍活性炭作为吸附剂在低苯丙肽食品制备中的应用。

超滤是另一种去除苯丙氨酸的后水解工艺。Cabrera-Padilla 等^[32]提出了酶膜反应器的概念,利用胰凝乳蛋白酶和羧肽酶 A 对乳清蛋白进行水解,分批反应后进行超滤,渗余物再循环到反应器中,这种方法提高了反应速率和苯丙氨酸的脱除率。但其成本较高,很难在工业生产中广泛使用。

2.2.4 低苯丙肽食品的开发 1999 年,周志伟等^[27]结合国外低苯丙肽食品配方和国内婴幼儿配方食品规定,初步建立了我国低苯丙肽食品的配方。随着低苯丙肽制备工艺的优化,低苯丙肽食品越发丰富。Goldar 等^[47]利用超滤乳汁和非乳制奶精制备了一种低苯丙氨酸的酸奶类似物,苯丙氨酸含量低至 274 mg/kg。表 2 为目前已知的部分低苯丙肽食品的简要介绍。

湿法制备和干法制备是目前食品生产中主要的两种制备方式。湿法制备是指将物料制备成液态进行混合后干燥而成成品的制备方式。干法制备是指在干燥状态下或干燥后在设备中进行梯度混匀并分散的过程。盛晓静等^[37]尝试分别用干法制备和湿法制备两种方式生产基于大米蛋白的低苯丙氨酸营养粉。干法制备操作简单方便,产品的营养物质能够有效保留,但得到的产品质地不均,且感官体验较差,不适于进行大规模生产。经过湿法制备出的产品质地均一,冲调性好,感官体验良好,易于人群接受,因此湿法制备更适宜作为低苯丙肽营养粉型食品制备的主要方法。

2.3 糖巨肽

糖巨肽(glycomacropeptide, GMP)是一种在干

酪制造过程中通过凝乳酶的作用从 κ 酪蛋白中释放出来的由 64 个氨基酸组成的磷酸化糖肽,现在已经被用作 PKU 治疗中的蛋白质替代物^[54]。纯的 GMP 氨基酸序列中不包含苯丙氨酸,但在 GMP 产品中可能因净化不完全而残留少量的苯丙氨酸。目前,GMP 已被用于生产各种可口的低苯丙氨酸高蛋白医疗食品^[55]。

一般情况下,混合游离氨基酸医疗食品(amino acid medical foods, AA-MF)中的合成氨基酸可以满足人体 80% 的蛋白需求,剩下的 20% 则从水果蔬菜中的完整蛋白质摄取^[19]。与其不同的是,糖巨肽以完整蛋白质满足蛋白需求的 70%,能显著增加 PKU 患者的饱腹感,改善骨骼脆性,提高肠道抗炎活性^[56-57],糖巨肽自身的益生元功效可以减少患者肠细菌,增强有益短链脂肪酸的合成并提高患者体内肉碱的生物利用率^[12]。有研究表明,含有糖巨肽的饮食减少了患者肾脏的酸负荷,并且减轻了患者新陈代谢的压力^[56,58]。

纯的糖巨肽不含苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸这类芳香族氨基酸,而大中性氨基酸如苏氨酸和异亮氨酸的含量则是其他氨基酸补充剂的 2~3 倍。Lim 等^[55]已经尝试利用糖巨肽制备草莓布丁、草莓果片、巧克力饮料、小饼干和橙味运动型饮料等多种新型糖巨肽。进一步提高糖巨肽内色氨酸、精氨酸、亮氨酸、组氨酸和酪氨酸的含量,并补充适量的维生素和矿物质,糖巨肽将有望代替氨基酸混合食品,成为适口性更强、接受度更高的新型蛋白质替代品造福 PKU 患者。

3 结语

综上所述,目前针对 PKU 患者饮食需求已经开发了多种类型的低苯丙氨酸蛋白成分与非蛋白成分的膳食,但仍需要改善其感官性能和丰富品种以增加 PKU 膳食多样性。氨基酸混合食品在我国仍然存在货源单一、适口性较差且价格昂贵的问题,这一

表 2 低苯丙肽食品制备的简要概述
Table 2 Brief overview of preparation of low-phenylpropeptide foods

原材料	酶	后水解程序	苯丙氨酸脱除率	参考文献
脱脂奶粉和酪蛋白	米曲霉蛋白酶、木瓜蛋白酶	活性炭	92%	[48]
酪蛋白	胃蛋白酶、链霉蛋白酶、羧肽酶A	葡聚糖G-15柱层析	84.6%	[31]
马氏珠母贝肉	胰酶	超滤分级、活性炭吸附	86.5%	[49]
酪蛋白	放线菌蛋白酶	Sephadex, G-100凝胶色谱等	/	[27]
山杏仁粗蛋白	碱性蛋白酶、风味蛋白酶	活性炭	93.6%	[40]
乳清蛋白	嗜热菌素、胰酶、蛋白酶A2SD	D101大孔树脂柱、活性炭	95%	[35]
花生蛋白	碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶	活性炭	98.6%	[39]
乳清蛋白	米曲霉蛋白酶	活性炭	79%	[50]
小麦面筋	金针菇风味蛋白酶	超滤膜电渗析装置	/	[51]
奶酪乳清蛋白	胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、羧肽酶A	超滤	98.3%	[41]
奶酪乳清蛋白	嵌合蛋白酶、羧肽酶A	超滤	/	[32]
脱脂奶粉	米曲霉蛋白酶、木瓜蛋白酶	活性炭	96%~99%	[45]
小麦粉	地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶、胰酶、菠萝皮粗酶提取物	活性炭	66.28%	[52]
玉米	地衣芽孢杆菌蛋白酶、胰酶	活性炭	97.55%	[53]
蛋清蛋白	胰蛋白酶、风味蛋白酶	活性炭	97.78%	[36]

直是影响 PKU 患者饮食依从性的一大阻碍。低苯丙肽食品可以从蛋白原料、酶的选择、酶解条件和吸附条件等途径加以创新,以提高蛋白水解物中苯丙氨酸的脱除率。此外,与传统氨基酸混合食品相比,糖巨肽具有明显优势,是一种新型天然医疗食品,有大规模开发的潜力,有望为 PKU 患者提供更加丰富、美味且价格低廉的营养食品。

参考文献

- [1] 邓伟,丰琳,陈小凤. 235361 例新生儿疾病筛查情况分析[J]. *中国继续医学教育*, 2021, 13(12): 129-132. [DENG W, FENG L, CHEN X F. Analysis of 235361 cases of neonatal disease screening[J]. *China Continuing Medical Education*, 2021, 13(12): 129-132.]
- [2] 毛新梅,刘媛,何江,等. 宁夏苯丙酮尿症患儿苯丙氨酸羟化酶基因突变特点[J]. *中华围产医学杂志*, 2015, 18(3): 204-209. [MAO X M, LIU Y, HE J, et al. Mutation characteristics of phenylalanine hydroxylase gene in children with phenylketonuria in Ningxia[J]. *Chinese Journal of Perinatal Medicine*, 2015, 18(3): 204-209.]
- [3] 王亚男,刘永,赵柏丽. 洛阳地区 79829 例新生儿先天性甲状腺功能低下症和苯丙酮尿症筛查结果分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2017, 25(1): 96-97, 119. [WANG Y N, LIU Y, ZHAO B L. Analysis of screening results of 79829 neonates with congenital hypothyroidism and phenylketonuria in Luoyang area[J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*, 2017, 25(1): 96-97, 119.]
- [4] 赵振东,黄慈丹,许海珠,等. 海南省 380996 名新生儿苯丙酮尿症筛查及苯丙氨酸羟化酶基因分析[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(26): 2054-2058. [ZHAO Z D, HUANG C D, XU H Z, et al. Screening for phenylketonuria and phenylalanine hydroxylase gene analysis of 380996 newborns in Hainan Province[J]. *National Medical Journal of China*, 2020, 100(26): 2054-2058.]
- [5] 邹团标,李智,姚莉琴,等. 云南新生儿苯丙酮尿症和先天性甲状腺功能低下症的筛查研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2020, 28(2): 198-242. [ZOU T B, LI Z, YAO L Q, et al. Screening study of phenylketonuria and congenital hypothyroidism in Yunnan newborns[J]. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*, 2020, 28(2): 198-242.]
- [6] LICHTER-KONECKI U, VOCKLEY J. Phenylketonuria: Current treatments and future developments[J]. *Drugs*, 2019, 79(5): 495-500.
- [7] VAN SPRONSEN F J, BLAU N, HARDING C, et al. Phenylketonuria[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2021, 7(1): 1-19.
- [8] WIEDEMANN A, OUSSALAH A, JEANNESSON E, et al. Phenylketonuria, from diet to gene therapy[J]. *M S-Medecine Sciences*, 2020, 36(8-9): 725-734.
- [9] GRISCH-CHAN H M, SCHWANK G, HARDING C O, et al. State-of-the-art 2019 on gene therapy for phenylketonuria[J]. *Human Gene Therapy*, 2019, 30(10): 1274-1283.
- [10] 盛晓静,王强,石爱民,等. 制备低苯丙氨酸特膳食品的研究进展[J]. *食品科学*, 2016, 37(21): 285-290. [SHENG X J, WANG Q, SHI A M, et al. Research progress on the preparation of low-phenylalanine special dietary products[J]. *Food Science*, 2016, 37(21): 285-290.]
- [11] 陆颖,蒙萌. 在第七届全国中西医结合营养学术会议的讲话[C]//舟山:第七届全国中西医结合营养学术会议资料汇编,中国中西医结合学会,2016: 87-88. [LU Y, MENG M. Speech at the 7th National Conference on Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Nutrition[C]// Zhoushan: Collection of materials from the 7th National Conference on Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Nutrition, China Association of Integrative Medicine, 2016: 87-88.]
- [12] MANTA-VOGLI P D, DOTSIKAS Y, LOUKAS Y L, et al. The phenylketonuria patient: A recent dietetic therapeutic approach[J]. *Nutritional Neuroscience*, 2020, 23(8): 628-639.
- [13] GILANI G S, COCKELL K A, SEPEHR E. Effects of anti-nutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods[J]. *Journal of Aoac International*, 2005, 88(3): 967-987.
- [14] EVANS S, ADAM S, ADAMS S, et al. Uniformity of food protein interpretation amongst dietitians for patients with phenylketonuria (PKU): 2020 UK National Consensus Statements[J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 1-11.
- [15] AYDAS S B, SIRIN S, ASLIM B. Biochemical analysis of centaurea depressa phenylalanine ammonia lyase (PAL) for biotechnological applications in phenylketonuria (PKU)[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54(12): 2838-2844.
- [16] CLIFF M A, LAW J R, LUCKER J, et al. Descriptive and hedonic analyses of low-phe food formulations containing corn (zea mays) seedling roots: Toward development of a dietary supplement for individuals with phenylketonuria[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(1): 140-149.
- [17] EISSA H A, ABDALLAH Z Y, KHALIL W K B, et al. Effect of natural pal-enzyme on the quality of egg white and mushroom flour and study its impact on the expression of PKU related genes and phenylalanine reduction in mice fed on[J]. *Journal, Genetic Engineering & Biotechnology*, 2017, 15(2): 443-451.
- [18] 仇志荣. 果蔬营养与药用[M]. 北京: 中国旅游出版社, 1992: 243-253. [QIU Z R. Nutrition and medicinal use of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Tourism Press, 1992: 243-253.]
- [19] VAN WEGBERG A M J, MACDONALD A, AHRING K, et al. The complete european guidelines on phenylketonuria: Diagnosis and treatment[J]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2017, 12(162): 1-56.
- [20] PENA M J, ALMEIDA M F, VAN DAM E, et al. Special low protein foods for phenylketonuria: Availability in europe and an examination of their nutritional profile[J]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2015, 10(162): 1-6.
- [21] SCORTEGAGNA M L, DE OLIVEIRA V R, PASINI I, et al. Low phenylalanine breads as an alternative for patients with phenylketonuria[J]. *British Food Journal*, 2019, 122(1): 26-35.
- [22] ALIREZA A, HAJAR A. Effect of type and amount of modified corn starches on qualitative properties of low-protein biscuits for phenylketonuria[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(1): 281-290.
- [23] PARLAK O, DUNDAR A N. Production of low protein and

- gluten-free cookies for phenylketonuria PKU and/or celiac patients [J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2021, 39(1): 29–34.
- [24] SHRUTI P, ALEENA S, KARADKA G, et al. Development of low phenylalanine flour for phenylketonuric patient[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, 44(11): e14894–e14894.
- [25] WOORE M S, FLINT-GARCIA S A, HOLLAND J B. The potential to breed a low-protein maize for protein-restricted diets[J]. *Crop Science*, 2021, 61(6): 4202–4217.
- [26] WOOD G, EVANS S, POINTON-BELL K, et al. Special low protein foods in the UK: An examination of their macronutrient composition in comparison to regular foods[J]. *Nutrients*, 2020, 12(6): 1893–1893.
- [27] 周志伟, 张嘉芷, 许永红, 等. 低苯丙肽配方食品的研制[J]. *食品工业科技*, 1999(S1): 104–108. [ZHOU Z W, ZHANG J Z, XU Y H, et al. Development of low-phenylpropeptide formula food[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 1999(S1): 104–108.]
- [28] 刘国信. 特殊配方奶粉: 标准规定不完善, 市场需求难满足[J]. *食品安全导刊*, 2015(28): 68–69. [LIU G X. Special formula milk powder: The standard regulations are not perfect, and the market demand is difficult to meet[J]. *Food Safety Guide*, 2015(28): 68–69.]
- [29] 杨国民. 一种用于苯丙酮尿症患者的配方粉及其制备方法: 中国, 201810750645.5[P]. 2020-01-17. [YANG G M. A formula powder for patients with phenylketonuria and its preparation method: China, 201810750645.5[P]. 2020-01-17.]
- [30] 曾珍, 赵一楠, 唐雅男, 等. 一种用于苯丙酮尿症患者的食用配方粉: 中国, 201710910616.6[P]. 2018-03-06. [ZENG Z, ZHAO Y N, TANG Y N, et al. An edible formula powder for patients with phenylketonuria: China, 201710910616.6[P]. 2018-03-06.]
- [31] 魏晴霞, 杨林西. 低苯丙氨酸酪蛋白粉的研制[J]. *兰州医学院学报*, 1991, 17(3): 127–129. [WEI Q X, YANG L X. Preparation of low phenylalanine casein powder[J]. *Journal of Lanzhou Medical College*, 1991, 17(3): 127–129.]
- [32] CABRERA-PADILLA R Y, PINTO G A, GIORDANO R L C, et al. A new conception of enzymatic membrane reactor for the production of whey hydrolysates with low contents of phenylalanine[J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(3): 269–276.
- [33] VILLAFUERTE F, PEREZ E, MAHFOUD A, et al. Obtaining protein products low in phenylalanine from milk whey and chachafruto (*Erythrina edulis triana*) [J]. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, 2019, 69(1): 25–33.
- [34] OZER I, OZER K. Production of low protein products used in treatment of congenital metabolic diseases: A pilot study in the stage of experimental animals[J]. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 2011, 17(2): 263–267.
- [35] BU T T, ZHOU M J, ZHENG J X, et al. Preparation and characterization of a low-phenylalanine whey hydrolysate using two-step enzymatic hydrolysis and macroporous resin adsorption[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2020: 132.
- [36] SU Y J, WANG Y Z, LU C, et al. Removal of phenylalanine from egg white powder: Two-step enzymatic method combined with activated carbon adsorption[J]. *Process Biochemistry*, 2021, 104(2021): 101–109.
- [37] 盛晓静. 大米蛋白中苯丙氨酸脱除技术研究与产品开发[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017. [SHENG X J. Research and product development of phenylalanine removal technology from rice protein[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.]
- [38] TONG X H, LIAN Z T, MIAO L M, et al. An innovative two-step enzyme-assisted aqueous extraction for the production of reduced bitterness soybean protein hydrolysates with high nutritional value[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2020, 134(2020): 110151.
- [39] 李志刚, 光翠娥, 干建平. 低苯丙氨酸花生肽混合物的制备[J]. *食品与机械*, 2017, 33(11): 184–189. [LI Z G, GUANG C E, GAN J P. Preparation of low phenylalanine peanut peptide mixture [J]. *Food and Machinery*, 2017, 33(11): 184–189.]
- [40] 李志刚, 张宇靖, 张晨, 等. 低苯丙氨酸山杏仁肽的制备[J]. *食品与生物技术学报*, 2019, 38(9): 92–96. [LI Z G, ZHANG Y J, ZHANG C, et al. Preparation of low-phenylalanine amygdalin[J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2019, 38(9): 92–96.]
- [41] GALVAO C M A, PINTO G A, JESUS C D F, et al. Producing a phenylalanine-free pool of peptides after tailored enzymatic hydrolyses of cheese whey [J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 91(1): 109–117.
- [42] SILVESTRE M P C, VIEIRA C R, SILVA M R, et al. Use of an enzymatic process for extracting and hydrolyzing rice proteins aiming at phenylalanine removal[J]. *International Journal of Food Engineering*, 2009, 5(1): 1–11.
- [43] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 29922-2013 文后参考文献著录规则 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 29922-2013 Rules for the description of references after the text[S]. Beijing: China Standard Press, 2013.]
- [44] SOLTANIZADEH N, MIRMOGHATAIE L. Strategies used in production of phenylalanine-free foods for pku management[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(3): 287–299.
- [45] LOPES D C F, DELVIVO F M, SILVESTRE M P C. Use of activated carbon for removing phenylalanine from reconstituted skim milk powder hydrolysates[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2005, 38(5): 447–453.
- [46] SU Y J, WANG Y Z, MCCLEMENTS D J, et al. Selective adsorption of egg white hydrolysates onto activated carbon: Establishment of physicochemical mechanisms for removing phenylalanine[J]. *Food Chemistry*, 2021, 364(2021): 130285.
- [47] GOLDAR P, GIVIANRAD M H, SHAMS A. Effect of ultra-filtered milk permeate and non-dairy creamer powder concentration on low phenylalanine yoghurt's physicochemical properties during storage[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2016, 53(7): 3053–3059.
- [48] LOPEZBAJONERO L J, LARACALDERON P, GALVEZ-MARISCAL A, et al. Enzymatic production of a low-phenylalanine

product from skim milk powder and caseinate[J]. *Journal of Food Science*, 1991, 56(4): 938-942.

[49] 郑惠娜, 周春霞, 陈志成, 等. 胰酶酶解珍珠贝分离蛋白制备低苯丙氨酸寡肽制品[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(8): 215-224. [ZHENG H N, ZHOU C X, CHEN Z C, et al. Preparation of low phenylalanine oligopeptide products by trypsin hydrolysis of pearl oyster protein isolate[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2016, 37(8): 215-224.]

[50] SILVESTRE M P C, DA SILVA M C, DE SOUZA M W S, et al. Hydrolysis degree, peptide profile and phenylalanine removal from whey protein concentrate hydrolysates obtained by various proteases[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2013, 48(3): 588-595.

[51] GIESLER L, LINKE D, RABE S, et al. Hydrolysis of wheat gluten by combining peptidases of *flammulina velutipes* and electro-dialysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(36): 8641-8649.

[52] CARREIRA R L, SILVA M R, STARLING A L P, et al. Association of two enzymes for obtaining low phenylalanine protein hydrolysates from wheat flour[J]. *International Journal of Food Engineering*, 2008, 4(7): 13.

[53] CAPOBIANGO M, LOPES D C F, CARREIRA R L, et al. Optimization of enzyme assisted processes for extracting and hydrolysing corn proteins aiming phenylalanine removal[J]. *International*

Journal of Food Engineering, 2007, 3(6): 10.

[54] VAN CALCAR S C, NEY D M. Food products made with glycomacropeptide, a low-phenylalanine whey protein, provide a new alternative to amino acid-based medical foods for nutrition management of phenylketonuria[J]. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 2012, 112(8): 1201-1210.

[55] LIM K, VAN CALCAR S C, NELSON K L, et al. Acceptable low-phenylalanine foods and beverages can be made with glycomacropeptide from cheese whey for individuals with pku[J]. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2007, 92(1-2): 176-178.

[56] SOLVERSON P, MURALI S G, BRINKMAN A S, et al. Glycomacropeptide, a low-phenylalanine protein isolated from cheese whey, supports growth and attenuates metabolic stress in the murine model of phenylketonuria[J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2012, 302(7): E885-E895.

[57] SOLVERSON P, MURALI S G, LITSCHER S J, et al. Low bone strength is a manifestation of phenylketonuria in mice and is attenuated by a glycomacropeptide diet[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45165.

[58] STROUP B M, SAWIN E A, MURALI S G, et al. Amino acid medical foods provide a high dietary acid load and increase urinary excretion of renal net acid, calcium, and magnesium compared with glycomacropeptide medical foods in phenylketonuria[J]. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017, 2017(1909101): 1-12.