

富硒调味料的研究

江 澜 单振秀 王宜林 渝州大学包装及食品工程系 400033

易 钢 重庆医科大学分析化学教研室 400016

贺稚非 西南农业大学食品学院 400716

摘 要 对影响富硒酵母自溶物中硒含量的四个因素:培养基种类、加硒时间、加入硒浓度以及用浓度梯度法加入硒进行了比较研究,结果表明:用浓度梯度法加入硒,即在总硒为 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度下,按10、12、14、15、16h的时间分别加入1、2、3、4、5 $\mu\text{g/ml}$ 的亚硒酸钠,得到的富硒酵母自溶物硒含量最高;对影响富硒酵母自溶的条件:NaCl的浓度、pH值、温度、时间进行了研究,结果表明:3%NaCl、pH5.5、55℃、20h的条件下其氨基酸含量最高,为最佳自溶条件。

关键词 富硒酵母自溶物 加硒条件 硒含量 自溶条件 氨基酸含量

Abstract Comparison study was made on the four factors affecting the amount of autolysate of Se-rich yeast, namely: kinds of the culture medium, Se enriching time, different Se concentrations and Se added according to the degree of concentration. On the basis of the total Se-concentration limited to $15\text{ }\mu\text{g/ml}$, the optimal Se-autolysates were obtained with adding time as 10, 12, 14, 15, and 16h, corresponding to adding concentration of Na_2SeO_3 as 1, 2, 3, 4 and 5 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The optimal Conditions for the autolysis of Se-rich Brewer's yeast were: 3%NaCl, pH5.5, 55℃ and 20h.

Keywords Rich-selenium Brewer's yeast leakage components Add selenium conditions The amount of Se Autolysis conditions The amount of funtree α -amino nitrogen

硒是人体的一种必需微量元素^[1],是谷胱甘肽过氧化物(GS-P_x)的重要成分^[2],有着多方面的生化功能,其中最主要的作用是清除体内产生的过多活性氧自由基,因而具有提高机体免疫力、抗衰老、抗癌的作用^[3]。美国在1980年第9版推荐膳食标准中将硒列为重要的必需微量元素,作为功能性食品发展商计划在食品中增补的生理活性物质。

人体内的硒主要从食物中获取,但硒在地壳中含量相当低,我国有近四分之三面积属缺硒地区,再加上食品加工过程中营养物质的流失,使天然食物中硒的含量普遍较低。近年来,硒在人类营养学中的作用日益引起人们的重视。世界上许多国家和地区相继制定了人体摄取硒量的标准。我国营养学会推荐的标准为成人每日摄入量不少于 $40\text{ }\mu\text{g}$;美国规定为 $50\text{--}200\text{ }\mu\text{g}$ ^[3]。

补充于食品中的硒,首先要考虑其毒性和吸收率的问题,也就是要确定所添加硒的化学形态是有机的或无机的、以及添加量的多少问题。有机形式的元素化合物接近人体成分,通常其吸收利用程度较无机形式的元素化合物高。业已证明,硒半胱氨酸、硒蛋氨酸等有机化合物吸收率为80%,而硒酸盐、亚硒酸盐等无机形式盐类只有50%或更少^[4]。且前者能在组织内储存,后者却不能。通过生物将无机硒转化为有机硒,不但可以提高硒的生理活性与吸收率,而且还可以降低其毒性,因为经过转化之后的硒,是以类似天然食物中的有机硒形式存在的(如硒代蛋氨酸、硒代半胱氨酸、硒代胱氨酸等)。

我们利用啤酒酵母作微量元素载体将无机硒转化为有机硒,经自溶浓缩后得到富硒酵母自溶物。因酵母自溶物中含有丰富的氨基酸、核苷酸、多肽、蛋白质和一定数量的微量元素与维生素,以及丰富的有机硒化合物,由于其氨基酸含量高的缘故,可将自溶物作为食品调味料或风味增强剂使用^[5]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 啤酒酵母:来源于重庆啤酒厂。

1.1.2 培养基

No.1:葡萄糖20g、甘氨酸10g、酵母粉1g,用蒸馏水稀释至1000ml。

No.2:麦芽汁,由重庆啤酒厂提供。

No.3:黄豆芽100g煮汁,蔗糖50g,加水至1000ml。

1.1.3 试剂

Na_2SeO_3 溶液:0.5%和0.05%的溶液,高压灭菌备用。

NaCl、NaOH、2,3-二氨基奈(DAN)、硒粉等

1.1.4 仪器:SZZ-ZP超净工作台,培养箱,摇床,医用离心机,远红外恒温干燥箱,Shimadzu RF-540荧光光度计,Shimadzu LIBRor AEL-200电子天平等。

1.2 方法

1.2.1 富硒酵母的培养条件筛选

1.2.1.1 液体菌种:将啤酒酵母接种于No.1琼脂斜面培养基上,28℃,培养2d,经活化2-3次后,再接种于No.2液体培养基中,28℃摇床220r/min培养2d,得到液体菌种悬浮液。

1.2.2.2 培养基不同

将No.1、No.2、No.3三种不同培养基各100ml分别接种10ml啤酒酵母液体菌种,在 Na_2SeO_3 $5\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度下,28℃,摇床220r/min,培养48h。实验安排见表1。

1.2.1.3 相同培养基不同硒浓度

用No.2培养基100ml盛于300ml三角瓶中,接种10%的菌种,分别加入1、3、5、7、10、15、20、25、30 $\mu\text{g/ml}$ 的 Na_2SeO_3 溶液,28℃,摇床220r/min,培养48h。实验安排见表2。

1.2.1.4 不同时间加入相同浓度硒

固定 Na_2SeO_3 浓度为 $5\text{ }\mu\text{g/ml}$,用No.2培养基100ml,10ml菌种,按0、2、4、6、8、10、12、14、15h的不同时间加入

Na₂SeO₃溶液, 28℃, 摇床220r/min, 培养48h。实验安排见表3。

1.2.1.5 用浓度梯度法加硒

以No.2培养基100 ml, 接种10ml菌种后, 于28℃, 摇床220r/min下, 以15 μg/ml的总硒量在不同时间里分5次加入不同浓度的Na₂SeO₃溶液, 培养48h。实验安排见表4。

1.2.2 富硒酵母的处理

将不同条件下培养的富硒酵母, 在3000r/min下、离心15min、清水洗两次、离心后, 得到富硒酵母。

1.2.3 富硒酵母自溶条件

1.2.3.1 NaCl的浓度

将富硒酵母泥加两倍的水(w/w)制成菌悬液, 分为A、B、C、D四份, 分别加入菌悬液量的2%、3%、4%、5%的NaCl, 用NaOH调pH至6.0, 于50℃振摇下自溶24h, 离心后测上清液氨基氮的含量。

1.2.3.2 pH值

将富硒酵母泥加两倍的水(w/w)制成菌悬液, 加入食盐3%(w/w)后, 用NaOH调pH值为: 4.5、5、6.5、8.0, 于50℃振摇下自溶24h, 离心后测上清液氨基氮的含量。

1.2.3.3 自溶温度

将富硒酵母泥加两倍的水、食盐3%、调pH5.5后, 分别在自溶温度为45℃、50℃、55℃、60℃下振摇自溶24h, 离心后测上清液氨基氮的含量。

1.2.3.4 自溶时间

将富硒酵母泥加两倍的水、食盐3%、pH5.5, 于55℃振摇下自溶12h、16h、20h、24h, 离心后测上清液氨基氮的含量。

1.2.4 富硒酵母自溶物

把经过自溶后的悬液, 3000r/min离心15min, 将上清液60℃过夜, 浓缩烘干后得富硒酵母自溶物。

1.2.5 测定

1.2.5.1 富硒酵母自溶物硒含量测定 荧光分析法测定^[6]。

1.2.5.2 富硒酵母自溶物氨基氮测定 甲醛滴定法^[7]。

2 结果与讨论

2.1 富硒酵母最佳发酵条件筛选

2.1.1 不同培养基对硒酵母中自溶物硒含量的影响, 结果见表1。

表1 不同培养基对富硒酵母自溶物硒含量的影响

培养基	No.1		No.2		No.3	
编号	1	2	3	4	5	6
酵母自溶物 含量 (μg/g)	91.48	89.21	109.62	102.82	93.74	97.52
其平均值 (μg/g)	90.34		106.22		95.63	

试验表明: 富硒酵母中自溶物硒含量的差别不大, 说明三种培养基对啤酒酵母中硒含量的影响不明显, 但考虑到原料成本因素, 酵母粉和黄豆的价格较昂贵, 因此选择No.2 麦芽汁培养基作为培养富硒酵母的培养基为宜。

2.1.2 酵母同化无机硒与培养基中Na₂SeO₃浓度的关系, 结果

见表2。

表2 不同硒浓度对富硒酵母自溶物硒含量的影响

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
硒浓度 (μg/ml)	1	3	5	7	10	15	20	25	30
酵母自溶 物含量 (μg/g)	48.0	92.2	115.6	145.1	273.6	265.3	260.0	255.5	247.2

结果表明: 硒酵母中自溶物硒含量随培养基中的Na₂SeO₃浓度的增加而增加, 达到某一峰值后开始逐渐下降, 以上事实说明Na₂SeO₃浓度越大, 对酵母生长的抑制作用也越大, 适宜的Na₂SeO₃浓度为10 μg/ml。

2.1.3 在硒浓度相同的条件以不同的时间加入, 所得到的硒酵母中自溶物硒含量, 其测定结果见表3。

表3 不同加硒时间对富硒酵母自溶物硒含量的影响

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
加硒时间 (h)	0	2	4	6	8	10	12	14	15	16
酵母自溶 物含量 (μg/g)	0	46.8	73.3	82.2	104.3	157.3	189.9	240.4	200.5	145.9

试验表明: 在Na₂SeO₃浓度不变的情况下, 加硒时间愈早对酵母生长的抑制作用愈强, 在10~14h加入Na₂SeO₃酵母自溶物中硒含量较高, 以14h加入达到峰值, 15h就又开始下降了。

2.1.4 用Na₂SeO₃的浓度梯度法加硒对硒酵母中自溶物硒含量的影响

为了增加酵母中硒含量, 同时又不影响酵母的生长, 所以采用开始培养时不加入Na₂SeO₃, 而随着培养时间的延长逐渐加入不同浓度的Na₂SeO₃的浓度梯度法。结果见表4。

表4 用浓度梯度法加硒对硒酵母自溶物中硒含量的影响

编号	加硒条件						酵母自溶物 硒含量 (μg/g)
1	h	4	7	10	13	15	393.11
	μg/ml	1	2	3	4	5	
2	h	6	8	10	12	14	479.30
	μg/ml	1	2	3	4	5	
3	h	8	10	12	14	15	427.45
	μg/ml	1	2	3	4	5	
4	h	10	12	14	15	16	490.22
	μg/ml	1	2	3	4	5	
5	h	4	7	10	13	15	339.98
	μg/ml	3	3	3	3	3	
6	h	6	8	10	12	14	286.43
	μg/ml	3	3	3	3	3	
7	h	8	10	12	14	15	395.79
	μg/ml	3	3	3	3	3	
8	h	10	12	14	15	16	352.18
	μg/ml	3	3	3	3	3	

从表4可知,以10h时加入1 $\mu\text{g/ml}$ 、12h时加入2 $\mu\text{g/ml}$ 、14h时加入3 $\mu\text{g/ml}$ 、15h时加入4 $\mu\text{g/ml}$ 、16h时加入5 $\mu\text{g/ml}$ 的 Na_2SeO_3 为最佳,富硒酵母中自溶物的硒含量为最高达490.22 ($\mu\text{g/g}$)。说明在酵母菌的延迟期加入 Na_2SeO_3 对酵母生长有抑制作用,而在对数生长期则无明显的抑制作用,能得到硒含量最高时的酵母成品和酵母自溶物。

2.2 富硒酵母自溶条件的选择----自溶的程度用氨基氮的含量来表示

2.2.1 NaCl的浓度对富硒酵母自溶的影响,结果见表5。

表5 NaCl的浓度对富硒酵母自溶物中氨基氮的影响

编 号	1	2	3	4
NaCl (%)	2	3	4	5
氨基氮 (g/100ml)	0.194	0.272	0.279	0.275

实验表明:在NaCl为3%时氨基氮的含量较高,在NaCl为2%时自溶物发生腐败现象,4%和5%的盐浓度味道过咸,不便使用,所以以3%的NaCl用量较为合适。NaCl作为质壁分离剂,改变了细胞的渗透压,有利于细胞壁破裂释放出内含物;同时NaCl又具有防腐和调味的作用。

2.2.2 pH值对富硒酵母细胞自溶的影响

由于pH值影响着酶的活性,酶的活性影响着蛋白质的降解,从而影响着富含多种酶的酵母细胞的自溶过程。结果见表6。

表6 pH值对富硒酵母自溶物中氨基氮的影响

编 号	1	2	3	4
pH 值	8.0	6.5	5.5	4.5
氨基氮 (g/100ml)	0.160	0.288	0.345	0.157

结果表明:在pH值为5.5时,其氨基氮的含量最高为0.345g/100ml,其感官品质也很好。

2.2.3 温度对富硒酵母细胞自溶的影响

表7 温度对富硒酵母自溶物中氨基氮的影响

编 号	1	2	3	4
温 度 ($^{\circ}\text{C}$)	45	50	55	60
氨基氮 (g/100ml)	0.278	0.340	0.361	0.253

温度的高低影响着酶的活性,从而影响着富硒酵母细胞的自溶过程。结果见表7。

实验表明:在55 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下自溶,其氨基氮的含量最高达0.361g/100ml。

2.2.4 时间对富硒酵母细胞自溶的影响,结果见表8

表8 时间对富硒酵母自溶物中氨基氮的影响

编 号	1	2	3	4
时间 (h)	12	16	20	24
氨基氮 (g/100ml)	0.201	0.308	0.352	0.353

结果表明:在20h、24h时氨基氮含量差别表达不大,我们选择20h的自溶时间。

3、结论

综上所述,以麦芽汁为培养基,在10%的接种量,28 $^{\circ}\text{C}$,摇床220r/min条件下,使总硒浓度控制在15 $\mu\text{g/ml}$,采用浓度梯度法,以10h---1 $\mu\text{g/ml}$ 、12h---2 $\mu\text{g/ml}$ 、14h---3 $\mu\text{g/ml}$ 、15h---4 $\mu\text{g/ml}$ 、16h---5 $\mu\text{g/ml}$ 的方法加入 Na_2SeO_3 ,经48h培养,可得到富硒酵母。将富硒酵母在3%NaCl中调pH值为5.5、在55 $^{\circ}\text{C}$ 下自溶20h,离心、烘干后可得到富硒酵母自溶物。

参 考 文 献

- 1 Chandra.R.K.Trace elements in Nutrition of Children[M].New York:Raven Press,1985.17-39
- 2 Rotruck J.T.,Hensini P.F.,R..Chard.Selenium:biochemical role as a component of glutathione peroxidase.Science,1973,179:588.
- 3 王夔 徐辉碧 唐任寰.生命科学中的微量元素(上)[M].北京:中国计量出版社,1992.198-248.
- 4 饶新华.膳食中硒的生物利用率[J].广东微量元素科学.1997,(11):68-69.
- 5 江澜.生物富微功能食品的开发[J].渝州大学学报(自然科学版)2000,17(2):43-45.
- 6 夏玉宇.食品卫生质量检验与监检[M].北京:北京工业大学出版社,1995.333-336.
- 7 胡明方,王光慈,蔡锦萍.食品分析[M].重庆:西南师范大学出版社,1993,38~39

通过大豆蛋白的酶水解作用 来制成功能性低聚肽(缩氨酸)(摘要)

李书国 陈辉 庄玉婷 杜近民

河北科技大学生物工程及食品科学学院

摘 要 本文系统地研究了用蛋白酶和AS.1398中性蛋白酶对大豆蛋白进行水解而制成功能性低聚肽的加工工艺。详细地介绍了主要的工艺步骤,包括大豆蛋白溶液的预处理、大豆蛋白的酶水解、水解物的脱苦和脱盐等。重点讨论了通过大豆蛋白水解作用生产功能性低聚肽时,影响其生产的各种因素如基质的浓度、酶的剂量、反应温度及时间、pH值等。在最佳条件下,大豆蛋白的水解程度可达到35%。大豆低聚肽链会有2-4氨基酸。

关键词 制法 大豆功能性低聚肽 酶水解 脱苦 脱盐