

- Nutrition, by Inglett, G. E. et al. Eds. Cereals for Food and Beverages, Academic press. 1980.
- 10 Juliano, B. O., Rice: Chemistry and Technology, The American Assoc. of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 1985.
- 11 Zhang, Xiaoguang et al. Comparative Study on Amylose content, Alkali spreading and Gel Consistency of Rice, Denpun kagaku, 1991, vol. 38 (3), 257-262.
- 12 朱展才编. 稻麦质量分析. 中国食品出版社, 1987.
- 13 天津轻工学院, 无锡轻工学院合编. 食品分析. 轻工业出版社, 1989.
- 14 朱红等编. 食品感官分析入门. 轻工业出版社, 1990.

大豆分离蛋白的酶法改性 ——大豆多肽的制备及其在老年人奶粉中的应用

肖凯军 曾庆孝 高孔荣 华南理工大学食品系 510641

摘 要 用木瓜蛋白酶对大豆分离蛋白进行酶法改性, 制备出大豆多肽并应用于高蛋白、高可消化性、低脂肪的速溶性老年人奶粉生产。改性大豆分离蛋白的性质与改性程度(水解度 DH) 有关, 随着水解度增加, 溶解性提高, 粘度下降, 当水解度为 10.1% 时, 改性大豆分离蛋白的溶解度几乎不随 pH 值变化, 当水解度达到 33.3% 时, 其溶解度为 93%, 粘度为 2.4CP。改性大豆分离蛋白的可消化性指数随 DH 增加而升高, 当 DH=15% 时, 其可消化性和酪蛋白相当。酶解上清液中蛋氨酸和半胱氨酸为第一限制氨基酸, 缬氨酸为第二限制氨基酸。大豆多肽的分子量为 6000 左右。

关键词 大豆分离蛋白 木瓜蛋白酶 大豆多肽 老年人奶粉

Abstract The enzymatic modification of soy protein isolate (SPI) by papain and preparation of soy peptides which can be applied to producing of high-protein, high-digested and low-fat instant milk powder for old ages were studied. The properties of modified SPI were related to its degrees of hydrolysis (DH). When DH value reached 10.1%, the solubility of modified SPI was invaried with pH and while DH value increased to 33.3%, the solubility was 93% and viscosity was 2.4cp.

The digestive ability of modified SPI was equivalent to milk casein at DH=15%. Cys+Met became the first limited amino acid and Val took the second limited amino acid in the supernatant of modified SPI.

The prepared soy peptides which were used in milk powder for old ages had a molecular weight distribution of about 6000.

key words soy protein isolate papain soy peptide milk powder for old ages

大豆蛋白质来源丰富, 氨基酸分布较合理, 具有降低胆固醇的作用, 是老年人奶粉中蛋白质的重要来源之一。由于大豆蛋白的分子结构复杂, 80% 蛋白质分子量在 10 万以上, 存在着溶解性低, 消化率和生物效价也远不及牛奶、蛋等动物性蛋白等问题^[1]。近年来, 随着人们对大豆、干酪素等蛋白制品营养研究取得的进展, 作

为新材料出现的大豆蛋白酶解物所具有的功能, 比蛋白质和氨基酸在营养学上具有许多优点: 比氨基酸和蛋白质更易于消化吸收; 促进乳酸菌、双歧杆菌等人体有益菌类生理活性和生长发育; 改良食品物性(例如溶解性, 粘度特性等)等^[2]。日本等国家研究大豆多肽的功能比较深入, 制备出不同功能的产品并已经应

用于婴儿和老年人食品生产中,国内对于大豆多肽研究尚属开始阶段,应用于老年人奶粉的研究几乎未见报导^[3,4]。

本文进行了木瓜蛋白酶法改性大豆分离蛋白的研究,提高了大豆分离蛋白的溶解性,降低了其粘度,改善了其消化性并制备出大豆多肽,生产了高蛋白、高可消化性、低脂肪速溶性老年人奶粉。

1 材料和方法

1.1 实验材料

大豆分离蛋白蛋白质含量($N \times 6.25$)为 90.37%,木瓜蛋白酶(紫外分光光度法测得活力为 60 万单位/g),胃蛋白酶(B. R)酪蛋白(A. R),其余皆为分析纯产品。

1.2 主要仪器

恒温水浴锅($\pm 1^\circ\text{C}$),离心机(LD5-2型),pH计,凯氏定氮仪,835 HITACHI Amino Acid Analyzer, G-50 凝胶色谱柱。

1.3 典型的酶解反应

采用恒温搅拌器,大豆分离蛋白溶解于水中形成 3% (W/V) 的溶液后,恒温搅拌 30 min,调 pH 值至适当值,加入一定比例蛋白酶后开始反应,以 0.01 mol/L NaOH 滴定保持 pH 值不变(pH 值变动范围 ± 0.1),反应一定时间后,取 10 ml 溶液,酶解液在 100°C 维持 10 min,放入冰箱,以备分析。

1.4 水解度的测定: TCA 法^[5,6]

10 ml 酶解物加入 10 ml 20% TCA 溶液,混合振荡,在 4000 r/min 离心 15 min,取上清液,蛋白质总氮和上清液可溶性氮由微量凯氏定氮法测得。

$$DH = \frac{N_2 - N_1}{N_0 - N_1} \times 100\%$$

N_0 : 大豆蛋白中总氮 (mg)

N_1 : 反应前大豆蛋白液中 10% TCA 可溶性氮 (mg)

N_2 : 大豆蛋白酶解液中 10% TCA 可溶性氮 (mg)

1.5 溶解度的测定

采用皮尼克法^[7]。

1.6 粘度的测定

用 NDJ-1 型旋转式粘度计测表观粘度。

1.7 体外消化指数的测定^[8]

配制浓度 10 mg/ml 溶解于柠檬酸缓冲液(浓度 0.1 mol/L, pH 2.0)的水解蛋白溶液 10 ml,在 37°C 恒温 20 min 后,接着加入 0.5 g 的胃蛋白酶,反应 30 min,取出样品 5 ml,加入 5 ml 10% TCA 溶液,振荡过滤,测定滤液中及反应液中蛋白质的量。

$$\text{可消化性指数} = \frac{\text{滤液中蛋白质质量}}{\text{蛋白质总量}} \times 100\%$$

1.8 分子量分布的测定

Sephadex-G50 凝胶柱(1.0×50 cm)以 0.03 mol/L pH 7.6 磷酸缓冲液-0.05 mol/L NaCl 洗脱,洗脱速度为 0.3 ml/min。

2 结果与讨论

2.1 溶解度的变化

大豆分离蛋白经过木瓜蛋白酶作用,肽链断裂,形成多肽和小分子短链物质,端基($-\text{NH}_2$ 和 $-\text{COOH}$)的数目增加,电荷密度增大,使亲水性增强,促使溶解性提高,即使在等电点附近仍可保持可溶状态(见图 1)。当 DH 达到

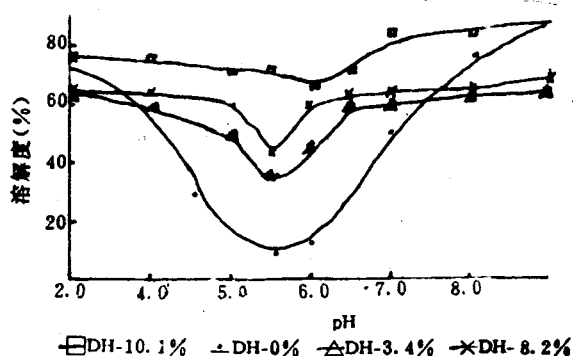


图 1 改性大豆分离蛋白溶解性

10.1%左右时,溶解性随 pH 值变化已经很小,随着 DH 值不断上升,溶解度也不断增加,见图 2。当 pH=4.5 时,溶解的大豆蛋白随 DH 值变化。当 DH 值增加时,酸溶性大豆蛋白也随着增加,当 DH 值为 33.1%,溶解度可以达到 93%。

2.2 粘度特性变化

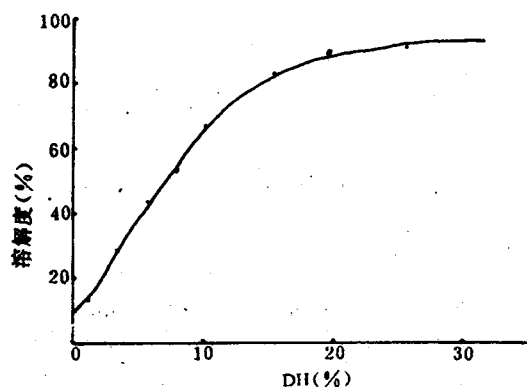


图2 pH=4.5时改性大豆分离蛋白溶解性

木瓜蛋白酶作用大豆分离蛋白,随着小分子肽类增多,网状结构被破坏,膨胀性减少,粘度下降,当DH=10.31%时,粘度随DH值变化最大,此后,粘度变化较缓慢,几乎不变,见图3。大豆分离蛋白粘度特性变化在最大值上所对应的DH值和溶解性密切相关,许多研究也表明溶解性和其它功能特性有一定联系^[9]。

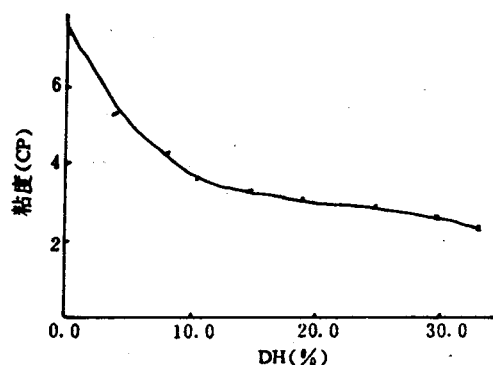


图3 改性大豆分离蛋白的粘度特性

2.3 体外酶法评价消化指数

蛋白质营养的传统测定方法是建立在动物实验基础上,方法准确度高,但分析时间长,费时费力,所以不适合工业快速分析。

本文采用胃蛋白酶进行消化性评价。由图4知,当DH为15%左右时,消化性指数和酪蛋白相似,水解度越大,消化性指数越高。

2.4 改性大豆分离蛋白的氨基酸分布

取水解度为33.1%的水解蛋白,分析其氨基酸的组成,结果可见表1和表2。

酶解上清液中含十八种氨基酸,八种必需氨基酸及组氨酸齐全,总氨基酸含量是23.82

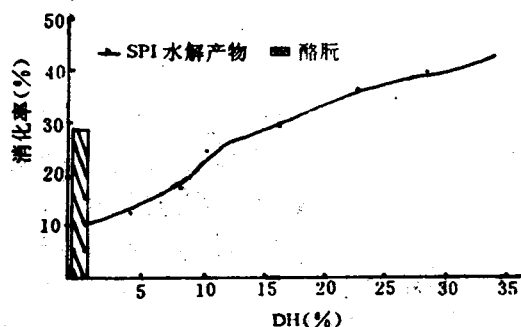


图4 改性大豆分离蛋白的消化性指数

mg/ml;必需氨基酸为8.59 mg/ml,占总氨基酸含量的36.06%,由表1知,蛋氨酸和半胱氨酸为第一限制氨基酸,缬氨酸为第二限制氨基酸。故在老年奶粉调配配方中,进行蛋氨酸或半胱氨酸强化,缬氨酸进行少量添加,使之符合FAO/WHO氨基酸营养模式。

表1 改性大豆分离蛋白氨基酸分布

名称	含量 (mg/ml)	占总氨基 酸量(%)	名称	含量 (mg/ml)	占总氨基 酸量(%)
Asp	2.81	11.80	Ile	0.97	4.07
Thr	0.92	3.86	Leu	1.65	6.93
Ser	1.23	5.16	Tyr	0.74	3.21
Glu	5.58	23.42	Phe	1.08	4.53
Gly	1.02	4.28	Lys	1.46	6.13
Ala	0.91	3.82	His	0.59	2.48
Cys	0.17	0.17	Arg	1.68	7.05
Val	0.94	3.95	Pro	1.41	5.92
Met	0.21	0.88	Try	0.447	1.90
总和	23.82				

表2 酶解液必需氨基酸组成 (mg/gN)

氨基酸	含量	FAO/WHO 模式
Ile	301	250
Leu	512	440
Lys	453	340
Met+Cys	118	220
Phe+Tyr	565	380
Thr	286	250
Try	140	60
Val	292	310

2.5 大豆多肽的制备及应用

2.5.1 大豆多肽的制备

酶解大豆分离蛋白中的大豆多肽和小分子组分, 具有其独特的功能特性和营养特性, 溶解性好, 粘度低, 而且少量添加溶菌酶、氨基酸, 使之符合 FAO/WHO 老人奶的主要基料成分。大豆多肽的制备工艺见图 5。

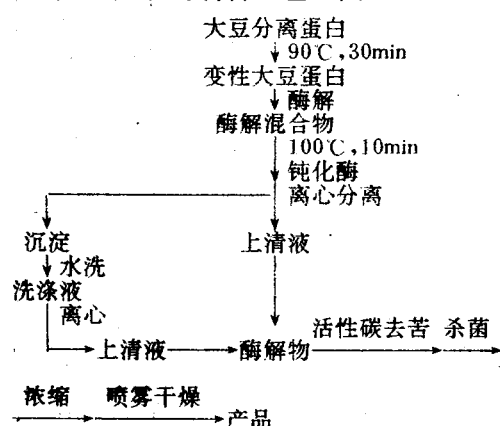


图 5 制备大豆多肽工艺流程图

经凝胶过滤色谱分析, 分子量在 2.3 万以下, 大部分为 6,000 左右 (见图 6)。

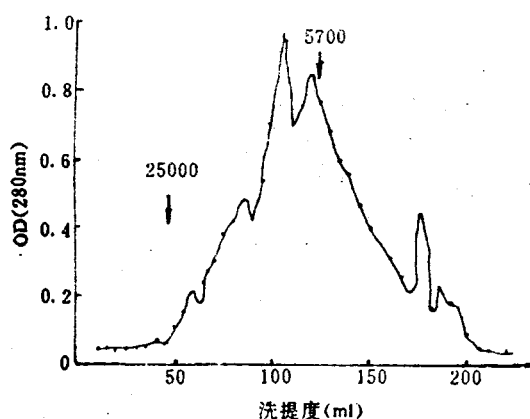


图 6 大豆多肽分子量的分布

2.5.2 老年人奶粉的生产

2.5.2.1 胡萝卜汁、苹果汁的制备

胡萝卜、苹果→洗净切片→加水煮沸→打浆→挤压→过滤→澄清→果蔬汁

2.5.2.2 老年人奶粉的调配和生产

本文针对老年人的生理特点和营养要求, 以酶解大豆分离蛋白为基料, 添加了部分全脂奶粉和蜂蜜, 强化了必需氨基酸蛋氨酸和半胱

氨酸和 Fe、Ca、Zn 等无机盐调入了天然果汁 (苹果汁, 胡萝卜汁), 研制出高蛋白、高果糖、低动物性脂肪、易消化性的速溶性老年奶粉, 其所含的蛋白质、单糖、无机盐、维生素及各种微量元素均为人体易于吸收且是不可缺少的成分, 不含防腐剂及人工合成色素等添加剂具有纯天然的特点, 大豆多肽具有独特的功能特性和营养特性。

老年人营养特点是降低能量和脂肪的摄入量, 适当增加钙、铁等无机盐和维生素摄入量, 提高优质蛋白和豆类蛋白的比重^[1]。

老年人奶粉生产中, 添加少量的全脂奶粉以增加油脂中奶的特有芳香味道, 改善风味, 而且蛋白质 (如酪蛋白) 能抑制脂质过氧化。胡萝卜汁具有丰富的维生素 A、β-胡萝卜素等成分能提高机体抗自由基的作用, 有利于延缓衰老, 维生素 A 还有防止肺癌和治疗白血病的作, β-胡萝卜素可抑制胃癌细胞的增殖, 有防止肺癌、结肠癌、胃癌等多种癌症发生的作用。苹果含有大量维生素 C、果糖、葡萄糖、果胶质和多种微量元素, 以及拥有独特的芳香气味, 特别是维生素 C 在对抗自由基的防御机制方面起主要作用, 有降低血胆固醇的能力。钙、磷的强化能够预防老年骨质疏松症, 添加含硫氨基酸能预防脑卒和降血压, 其代谢产物牛磺酸对大脑中枢神经细胞的增殖过程起重要作用。蜂蜜含多种营养元素, 具有调脾胃、润肺腹、滑肠、解毒、止痛等功效, 对胃肠燥结、大便不通、咳嗽、腹痛、赤血痢等有疗效^[11], 所以, 在老年奶粉中添加部分蜂蜜是适宜和必要的。老年奶粉产品的制备具体工艺见图 7

2.5.2.3 产品的检测

1. 主要成分检测

制备的老年人奶粉产品主要成分: 蛋白含量为 34.6%, 碳水化合物 55.2%, 脂肪 4.3%, 酶解大豆分离蛋白 30%~32%。

2. 速溶性检验

称量 1g 样品溶于 50ml 水中 (20℃), 从加水开始准确计时, 直到完全溶解, 边溶解边轻轻搅拌 (60 r/min), 结果见表 3。

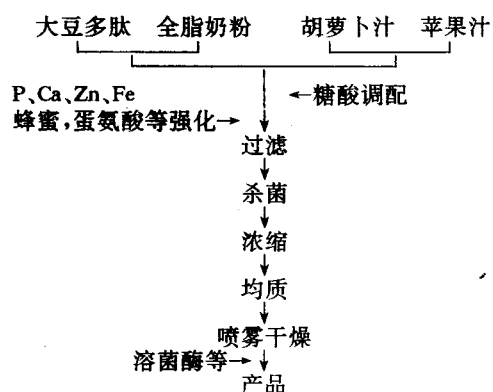


图7 老年人奶粉生产工艺流程图

由实验结果表明, 本产品速溶性远远好于全脂速溶奶粉和中老年奶粉, 可以和雀巢速溶奶粉相当。

表3 制备的老年奶粉速溶性检验

样品	溶解时间 (s)
速溶奶粉 (大庆产)	135
中老年奶粉 (哈尔滨产)	120
雀巢速溶奶粉 (进口)	15
本产品	20

3 结论

3.1 水解度 DH 值是控制大豆分离蛋白酶法改性过程中功能特性变化的重要参数, 通过控制 DH 值可以得到不同性质的改性大豆分离蛋白。当 $DH=33.1\%$ 时, 水溶性蛋白达到 93% , 粘度可以达到 2.4 cp 。

3.2 采用体外酶法评价法衡量大豆分离蛋白

酶解物的消化指数, 当 $DH=15\%$, 其消化指数和酪蛋白相当。水溶性酶解物的必需氨基酸分布中, 第一限制性氨基酸为蛋氨酸和半胱氨酸, 第二限制氨基酸为缬氨酸。

3.3 大豆多肽的分子量在 23000 以下, 大部分为 6000。根据老年人的生理、营养特点, 以大豆多肽为基料, 制备出速溶性, 高蛋白, 高果糖, 低动物性脂肪的老年人奶粉。

参 考 文 献

- 1 Boonvisut, S. and Whitaker, Agric. Food Chem. 1979, 24: 1130.
- 2 荒井综一. 食品と开发, 1988, 11: 23.
- 3 郭敏亮等. “用豆粕生产大豆蛋白肽饮料”. 食品科学, 1992, 10.
- 4 张德桐等. “胰酶水解脱脂大豆粕制造氨基酸保健饮料”. 粮油食品科技, 1991, 6: 32~33.
- 5 Edwards, J. H. et al. J. Food Sci. 1978, 43: 1215
- 6 Yama shita et al. Agric. Biol. Chem. 1970, 34: 1484
- 7 黄伟坤等. “食品检验与分析”. 轻工业出版社, 1989.
- 8 Li—Chan, E, et al. Food Sci. Technol. J., 1988, 21: 200
- 9 Dunan J. Shaw. Introduction to Colloid and Surface Chemistry. Bustoerworth, Co. Ltd. 1983.
- 10 H. W. Hsu et al. Food Technol. 1978, 32: 69.
- 11 马力等. 老年用羊奶粉的研制. 食品科学, 1993, 1: 26~30.

灵芝发酵饮料的研制

黎晓晖 郑德光 广东省微生物研究所 510070

摘 要 讨论和肯定用微生物发酵除去灵芝苦味并制作饮料的方法, 同时经试验确定了脱苦灵芝饮料的适宜发酵条件。

关键词 灵芝 发酵饮料 脱苦

Abstract This article discusses and affirms the method of bitter—removing and preparing fermented drink of