

燕麦肽提取工艺的初步研究

王昌涛,韩 扬,冯 冰,董银卯

(北京工商大学植物资源研究开发北京市重点实验室,北京 100037)

摘 要:以燕麦麸皮为原料,研究了燕麦肽的分离方法和条件;通过 Alcalase 和 Flavourzyme 的共同作用表明,燕麦肽利用离心方法分离比较好,条件为 4000r/min,10min;在水解过程中加入 Flavourzyme 可以使燕麦肽含量提高一倍,水解度也从 10.48% 提高到 16.50%,同时燕麦肽的苦味也能得到很大的改善。通过对其分子量的测定可知,Flavourzyme 能使燕麦肽水解成游离的氨基酸。

关键词:燕麦肽,Alcalase,风味酶

Study on extraction technology of oat peptide

WANG Chang-tao, HAN Yang, FENG Bing, DONG Yin-mao

(Beijing Technology and Business University, Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, Beijing 100037, China)

Abstract: Oat bran, as raw material, the separation method and conditions for oat peptide was investigated. The protein in the bran was hydrolyzed to peptide by the cooperation of alcalase enzyme and flavourzyme. The result showed that centrifugation was better for oat peptide separation in the condition of 4000r/min, 10min and appending flavourzyme in hydrolyzing could double the content of peptide and increase DH from 10.48% to 16.50%. And flavourzyme can make the hydrolyzation more downrightly. And the bitterness of oat peptide was improved significantly. From the determination to molecular weight of oat peptide, flavourzyme could hydrolyze it to dissociative amino acid.

Key words: oat peptide; alcalase; flavourzyme

中图分类号:TS201.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2008)06-0232-03

燕麦因具有降血糖、降血脂、降胆固醇、降血压及抗氧化性等一系列的生物活性,在功能性食品如活性肽方面的研究正逐步引起广泛的关注^[1,2]。燕麦多肽因易为人体消化吸收利用、较好的稳定性和良好的物理加工特性以及诸多的功能特性而成为当前食品科学研究中的热点^[3-5]。但是在研究中发现,由于蛋白水解不完全及蛋白质的来源、酶的种类、水解条件等因素的影响,最终蛋白质水解液都会出现不同程度的苦味,影响了口感^[6]。本文以燕麦麸皮为原料,研究了燕麦肽的分离方法和条件;通过 Alcalase 和 Flavourzyme 的共同作用,使燕麦麸皮中蛋白质水解成燕麦肽,并测定其在水解时间下的水解度和样品品质,同时研究了 Flavourzyme 对燕麦肽风味的影响,进而对其水解产物的分子量进行了测定,最后优化了燕麦肽的生产工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

燕麦麸皮 20~60 目,蛋白质含量 32.38%。

DSHZ-300 多用途水浴恒温振荡器, T6 新世纪

紫外可见分光光度计, RJ-TDL-5A 低速台式大容量离心机。

1.2 实验方法

1.2.1 成分分析 多糖含量测定:苯酚-硫酸法;燕麦肽含量的测定:茚三酮法;固体蛋白含量测定:凯氏定氮;水解度的测定:甲醛滴定法。

1.2.2 燕麦麸皮水解液的制备 在料水比为 1:10 时,将燕麦麸皮液的 pH 调至 11。在 60℃ 下摇床进行预处理 1h。之后按麸皮质量的 5% 添加 Alcalase, 60℃ 中反应。再加入固体质量 1% 的 Flavourzyme, 60℃ 水浴中反应,随后在 80℃ 水浴中灭酶处理 10min。后进行离心分离,得上清液(尽量除去离心液表面上的油脂),并进行抽滤,得到燕麦麸皮的水解液。

1.2.3 燕麦肽苦味评定方法 感官评定小组由五人组成,评定员用蒸馏水漱口之后,取待评定液 2~3mL 置于口中,10s 后吐出,漱口后取与之味道相近之标准液品尝,如确认两味道相近,即可将待评定液的苦味值定为该标准液的苦味值,否则需取其它标准液再尝,直至确定苦味值。取五人评定的平均值。

标准液按 L.Mogensen 和 J.Adler-Nissen^[7]的方法配制,以奎宁为基准物质,经评定 $a(a = 3 \times 10^{-6} \text{ mol/L})$ 为下限,刚好没有苦味;32a 为上限,再增加

收稿日期:2007-11-29

作者简介:王昌涛(1975-),男,讲师,研究方向:植物蛋白的应用。

浓度,苦味基本上不增加;中间溶液浓度成倍增加,苦味值也相应增加。因此,设定评分标准如表1所示。

表1 苦味值的评分标准

奎宁溶液浓度	32a	16a	8a	4a	2a	a
苦味描述	很苦	苦	较苦	中度苦	微苦	不苦
苦味分值	5	4	3	2	1	0

注:a = 3 × 10⁻⁶ mol/L。

以上“有点苦”、“较苦”等关于苦味的描述是统一所有评定员的意见后得到的,可能与个别评定员对相对应浓度溶液的感觉有出入,但以多数人的感觉为基础来硬性规定,就尽量避免了个人的主观因素对评定的影响。

1.2.4 凝胶层析柱分析分子量分布状况

1.2.4.1 柱条件 色谱柱:φ1.5 × 60cm;凝胶:Sephadex G-15Fine;上样量:5mL;上样流速:0.8mL/min;定时收集:5min/管。

1.2.4.2 操作方法 分别将燕麦水解原液进行凝胶层析,通过测定洗脱液在280nm下的吸光度值,并制作蛋白吸光度值(y)-洗脱体积(x)曲线,进而分析燕麦肽分子量分布状况。

2 结果与讨论

2.1 燕麦麸皮水解产物分离条件优化

分别对离心的转数及处理时间进行讨论,以得到最佳的生产工艺,实验结果见表2和表3。从表2及表3中可知,4000r/min,处理10min为最佳生产工艺。

表2 不同转速的分离效果

项目	转速(r/min)			
	1000	2000	3000	4000
固形物	6.2	6.3	6.3	6.3
β-葡聚糖(吸光度)	0.91	0.898	0.794	0.958
β-葡聚糖含量(mg/mL)	1.179	1.164	1.027	1.243
燕麦肽(吸光度)	0.232	0.252	0.311	0.487
燕麦肽含量(mg/mL)	0.29	0.318	0.401	0.647

表3 4000r/min不同时间的分离效果

项目	时间(min)				
	2	4	6	8	10
固形物	6.07	6.2	6.6	6.3	6.3
β-葡聚糖(吸光度)	0.969	0.915	0.907	0.816	0.958
β-葡聚糖含量(mg/mL)	1.257	1.186	1.176	1.056	1.243
燕麦肽(吸光度)	0.213	0.257	0.321	0.419	0.487
燕麦肽含量(mg/mL)	0.264	0.325	0.415	0.552	0.647

2.2 加入 Flavourzyme 后燕麦肽水解度的测定

为了更直观的体现 Flavourzyme 可以使燕麦麸皮水解得更彻底,下面从燕麦肽的水解度(DH)考察 Flavourzyme 对燕麦麸皮水解的效果,用甲醛滴定法对 Alcalase 和 Flavourzyme 的水解产物进行水解度的测定,Alcalase 的水解时间分别为1、3、5h,并分别加入 Flavourzyme 反应1h,结果如图1所示。

由图1可知,用 Alcalase 水解燕麦麸皮1、3、5h,水解度分别为10.02%、10.48%、10.65%,然而加入风味酶 Flavourzyme 后水解度为10.02%、16.50%和13.57%。因此,风味酶的加入对水解度的影响比较

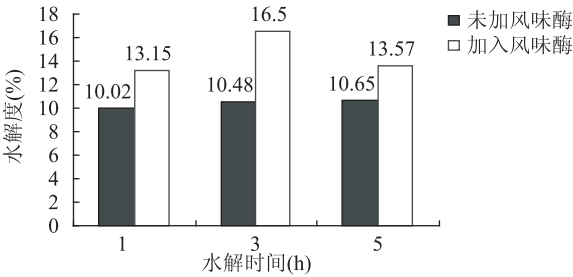


图1 加入风味酶前后水解度的变化

大,这是由二者的作用方式不同造成的。而水解时间对 Alcalase 水解燕麦麸皮的影响却并不明显,由理论还可以知道,当蛋白质水解度增大到一定程度以后,就达到其水解最大值,以后再水解,其水解度也不再升高。通过以上实验,初步确定制备燕麦肽水解液时 Alcalase 的处理时间为3h,并且确定 Flavourzyme 的处理时间为1h。

2.3 燕麦肽脱苦

水解多肽常常会出现苦味,而产生苦味的原因很多,比如水解不彻底等。如果用外切蛋白酶作用于多肽,则其或者将链端的疏水性氨基酸切割掉,或者将肽链中间的疏水性氨基酸从链中转移到链端。根据 H.Okai 等的理论,疏水性氨基酸在肽链中间比在肽链两端的多肽更苦,这样外切酶作用也有一定的脱苦效果。本实验利用 Flavourzyme 作用于燕麦肽进行脱苦处理,脱苦效果见表4。

表4 加入 Flavourzyme 前后苦味的评价

Alcalase 水解1h	a	0.5a	0.5a	1.5a	a
加 Flavourzyme1h	0.5a	0	0.5a	0.5a	0
加 Flavourzyme3h	0	0	0	0.5a	0.5a
Alcalase 水解3h	a	0.5a	a	0.5a	a
加 Flavourzyme1h	0	0	0.5a	0	0
加 Flavourzyme3h	0	0	0	0	0
Alcalase 水解5h	a	0.5a	1.5a	1.5a	a
加 Flavourzyme1h	0.5a	0	0	a	0
加 Flavourzyme3h	0	0	0.5a	0.5a	0

由表4可以看出:加入风味酶后燕麦肽的苦味有明显改善,加入其反应3h后苦味几乎为零,这说明风味酶的脱苦效果是比较明显的;用 Alcalase 水解3h后加入 Flavourzyme 继续反应1h和3h,脱苦效果相差无几。从生产时间和效率上考虑,进一步确定在生产上最好选用 Alcalase 水解3h后,加入 Flavourzyme 反应1h。

2.4 燕麦水解物分子量的测定

将碱性蛋白酶(Alcalase)作用3h后,再加入 Flavourzyme 反应1、3h,水解产物经 Sephadex G-25 型凝胶柱层析所得到的蛋白吸光度值-洗脱体积曲线见图2。

从图2可以看出,多肽分子是连续分布的,即水解物存在着各种分子量大小不等的肽分子。从总体上看,分子量分布较为集中。三个不同反应的产物均有两个较为明显的吸收高峰,而加入 Flavourzyme 反应1h和3h的图中出现了第三个吸收小高峰,这说明 Flavourzyme 是典型的外切酶,加入 Flavourzyme 水解就出现了分子量更小的氨基酸。

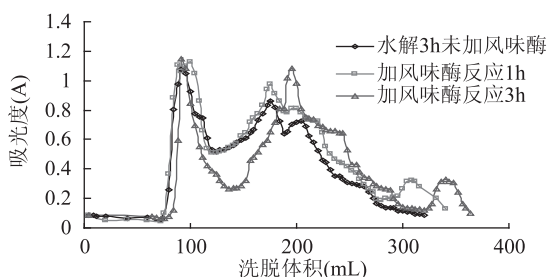


图2 蛋白吸光度值-洗脱体积曲线

3 结论

3.1 以沉淀分离作为对照,优化燕麦肽离心分离的条件,先以转速为变量,考察燕麦水解产物的品质,选择最优转速作为离心最佳转速;再以时间为变量,考察燕麦水解产物的分离效果。最后结果表明,选用转速 4000r/min,时间 10min 的离心分离条件最好,而沉淀分离不可取,原因是时间长且分离效果不理想。

3.2 风味酶的加入对水解度的影响比较大,未加入 Flavourzyme 之前只用 Alcalase 处理,水解度最高只达到 10.65%,而加入 Flavourzyme 1h 后就达到了 16.5%。

3.3 水解多肽常常会出现苦味,而产生苦味的原因很多,比如水解不彻底等,而用外切蛋白酶作用于多肽会有一些的脱苦效果。实验表明,Flavourzyme 的脱苦效果是非常明显的,作用 1h 多肽的风味就有很大改善,作用 3h 后苦味基本消除。

3.4 Alcalase 水解产物的凝胶洗脱图谱只有两个峰值,且值较大,说明其水解产物是一些小片段的多肽;而加入 Flavourzyme 后凝胶洗脱图谱出现三个峰值,最后的小峰表明 Flavourzyme 将小片段的肽水解成游离的氨基酸。

3.5 通过实验,我们确定了燕麦肽水解时间和分离

的条件,确定了增加水解度和脱苦的方法,最后也确定了燕麦肽的生产工艺流程,流程如下:

燕麦麸皮(料水比为 1:10)→调节 pH 为 11→60℃ 水浴预处理 1h→按麸皮质量的 5% 添加 Alcalase,60℃ 水浴反应 3h→按麸皮质量的 1% 添加 Flavourzyme,60℃ 水浴反应 1h→80℃ 水浴灭酶 10min→离心(4000r/min,10min)→取上清液抽滤→浓缩干燥→成品

3.6 本实验对燕麦肽的生产工艺进行了初步的研究,虽然取得了一些成果,但还需进一步的深入研究,主要体现在以下几个方面:首先,对生产出的燕麦肽氨基酸成分进行测定,进一步检验其生理功效;其次,尝试一些其它的蛋白酶,进一步提高燕麦肽的水解度,使燕麦肽水解物更容易被人体消化吸收。

参考文献:

- [1] 邱怀忠. 燕麦粉和燕麦糠的营养价值[J]. 牧草与饲料, 1992(2): 37~40.
- [2] 黄艾祥,肖蓉. 燕麦及其营养食品的研究开发[J]. 粮食与饲料工业,2000(9): 49~50.
- [3] 周瑞宝,周兵. 蛋白质的生物和化学改性[J]. 中国油脂,2000,25(6): 181~185.
- [4] Damodaran S Amino. Acids peptides and proteins in Fennema or editor[J]. Food Chemistry,1996,32(6): 321~429.
- [5] 李书国,陈辉,庄玉亭,李雪梅. 复合酶法制备活性大豆寡肽研究[J]. 粮食与油脂,2001(3): 5~7.
- [6] Teruyoshi Matoba, Tadao Hata. Relationship between of peptides and their chemical structures[J]. Agric Biol Chem, 1972,36(8): 1423~1431.
- [7] L Mogensen, J Adler-Nissen. Evaluating bitterness masking principle by taste panel studies. In "frontiers of flavor, proceeding of the 5th international flavor conference, 1987, Greece, 1~3.

(上接第 231 页)

最优组合是 $A_3B_3C_2D_3$,故最佳的稳定剂配方为:瓜尔豆胶 0.12%、CMC0.10%、海藻酸钠 0.05%、魔芋粉 0.03%。

表2 稳定剂因素水平表

水平	因素			
	A 海藻酸钠 (%)	B 瓜尔豆胶 (%)	C CMC (%)	D 魔芋粉 (%)
1	0.04	0.08	0.08	0.05
2	0.06	0.10	0.10	0.04
3	0.05	0.12	0.12	0.03

3 结论

在大量实验的基础上,通过正交实验得出最优的低成本冷饮制品的配方为:植物油(或人造起酥油)2%,白砂糖 5%,葡萄糖粉 2%,液体淀粉糖浆 15%,麦芽糊精 5%,玉米淀粉 2.5%,面粉 1.5%,甜味剂(100 倍)0.8%,单甘酯 0.2%,三聚甘油酯 0.05%,瓜尔豆胶 0.12%,CMC0.10%,海藻酸钠

0.05%,魔芋粉 0.03%,黄蜀葵胶 0.05%,明胶 0.5%,这种配方组合既能满足国家行业标准的要求,又能最大限度的降低成本,节约费用,更重要的是保证了产品的品质不受大的影响。

本产品经过多次小试和一些大厂的正式投产证明效果稳定,产品理想,但在选用稳定剂的时候要注意同一名称的稳定剂不同的厂家其纯度质量不一样,一定要谨慎小心,对于新的原料一定要经过实验后才能投入生产。

参考文献:

- [1] 黄来发. 食品增稠剂[M]. 北京:中国轻工业出版社.
- [2] 蔡云升. 新版冰淇淋配方[M]. 北京:中国轻工业出版社.
- [3] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 北京:化学工业出版社.
- [4] 刘婷婷,等. 麦芽糊精在冰淇淋中增稠稳定作用的研究[J]. 食品科学,2006,27(11).