



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102361560 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 22

(21) 申请号 200980157667. X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 12. 30

A23J 3/34 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A23L 1/305 (2006. 01)

61/141931 2008. 12. 31 US

A23L 1/29 (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 08. 29

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/069867 2009. 12. 30

(87) PCT申请的公布数据

W02010/078461 EN 2010. 07. 08

(71) 申请人 索莱有限责任公司

地址 美国密苏里州

申请人 诺沃兹美斯公司

(72) 发明人 E·克鲁尔 T·M·王

J·F·隆巴迪 C·S·沙斯蒂恩

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 李波 李炳爱

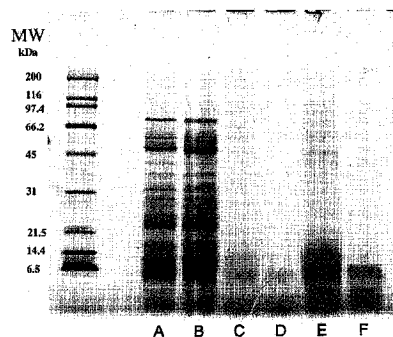
权利要求书 2 页 说明书 28 页 附图 11 页

(54) 发明名称

具有提高的 CCK 释放能力的蛋白质水解产物
组合物

(57) 摘要

本发明提供具有提高的胆囊收缩素 (CCK) 释
放活性的蛋白质水解产物组合物, 其可用于促进
饱感。



1. 蛋白质水解产物组合物的可溶性级份,所述组合物包含多肽片段的混合物,所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小,其中至少约 0.5mg/mL 浓度的所述蛋白质水解产物组合物刺激胆囊收缩素释放活性的效能基本上类似于用 100nM 佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的胆囊收缩素的 50% 以上。

2. 权利要求 1 的蛋白质水解产物组合物,其中所述蛋白质水解产物组合物具有约 0.05% 至约 35% 的水解度。

3. 权利要求 1 的蛋白质水解产物组合物,其中所述蛋白质水解产物组合物来源于选自下列的蛋白材料:大豆、大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、蛋类、动物、以及它们的组合。

4. 权利要求 1 的蛋白质水解产物组合物,其中所述蛋白质水解产物组合物来源于大豆蛋白材料与选自下列的蛋白材料的组合:大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、蛋类、乳品、动物、以及它们的组合。

5. 权利要求 1 的蛋白质水解产物组合物,其中所述蛋白质水解产物组合物来源于大豆蛋白材料,并且所述蛋白质水解产物组合物具有约 0.05% 至约 35% 的水解度。

6. 用于提高细胞的胆囊收缩素释放活性的方法,所述方法包括使所述细胞接触蛋白质水解产物组合物的可溶性级份,所述组合物包含多肽片段的混合物,所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小,其中至少约 0.5mg/mL 浓度的所述蛋白质水解产物组合物刺激胆囊收缩素释放活性的效能基本上类似于用 100nM 佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的胆囊收缩素的 50% 以上。

7. 权利要求 6 的方法,其中所述蛋白质水解产物组合物具有约 0.05% 至约 35% 的水解度。

8. 权利要求 6 的方法,其中所述蛋白质水解产物组合物来源于大豆蛋白材料与选自下列的蛋白材料的组合:大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、蛋类、乳品、动物、以及它们的组合。

9. 权利要求 6 的方法,其中所述蛋白质水解产物组合物来源于大豆蛋白材料。

10. 权利要求 9 的方法,其中所述大豆蛋白材料选自大豆提取物、豆浆、豆浆粉、豆腐、脱脂大豆粉、部分脱脂大豆粉、全脂大豆粉、大豆分离蛋白、大豆浓缩蛋白、以及它们的组合。

11. 权利要求 6 的方法,其中所述大豆蛋白水解产物组合物通过使蛋白原料经过酶消化而产生。

12. 权利要求 11 的方法,其中所述酶是肽链内切酶,所述肽链内切酶选自来自葱绿拟诺卡氏菌的丝氨酸蛋白酶 (SP1)、来自地衣芽孢杆菌的丝氨酸蛋白酶、来自地衣芽孢杆菌的枯草杆菌蛋白酶、来自尖孢镰孢的胰蛋白酶样蛋白酶、来自水解无色杆菌的赖氨酰肽链内切酶、枯草杆菌蛋白酶 2、金属蛋白酶 1、天冬氨酸蛋白酶 1、菠萝蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、以及它们的组合。

13. 权利要求 12 的方法,其中所述酶进一步包括外肽酶。

14. 促进受试者饱感的方法,所述方法包括给所述受试者施用一定量的蛋白质水解产物组合物的可溶性级份,所述组合物包含多肽片段的混合物,所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小和约 0.05% 至约 35% 的水解度,其中至少约 0.5mg/mL 浓度的所

述蛋白质水解产物组合物刺激胆囊收缩素释放活性的效能基本上类似于用 100nM 12- 肉豆蔻酸酯-13- 乙酸酯刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的胆囊收缩素的 50% 以上, 其中所述施用量导致所述受试者产生饱感。

15. 食品, 所述食品包含:

(a) 可食用材料; 和

(b) 蛋白质水解产物组合物的可溶性级份, 所述组合物包含多肽片段的混合物, 所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小, 其中至少约 0.5mg/mL 浓度的所述蛋白质水解产物组合物刺激胆囊收缩素释放活性的效能基本上类似于用 100nM 12- 肉豆蔻酸酯-13- 乙酸酯刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的胆囊收缩素的 50% 以上。

具有提高的 CCK 释放能力的蛋白质水解产物组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本专利申请要求 2008 年 12 月 31 日提交的美国临时申请号 61/141,931 的优先权, 所述文献全文以引用方式并入。

发明领域

[0003] 本发明一般涉及蛋白质水解产物。具体地讲, 本发明的蛋白质水解产物一般具有提高的胆囊收缩素 (CCK) 释放活性。蛋白质水解产物可用于提供营养物质并促进饱感。

[0004] 发明背景

[0005] 在美国和世界范围内, 肥胖症及肥胖症相关疾病的发病率处于上升状态。虽然肥胖症并非由单独某个潜在因素诱发, 一种起因可能是许多人的快节奏的、匆忙的生活方式以及同时增加的快速食品消费。大多数快速食品往往为高脂肪和 / 或高糖。

[0006] 用于抗击肥胖症流行的一个可行目标可为胆囊收缩素 (CCK)。CCK 是一种肽激素, 由肠细胞响应于富含蛋白质或脂质的膳食分泌到血液循环中。这种肽激素介导蛋白质和脂质消化中涉及的若干个生理过程。十二指肠和肠粘膜的 CCK 分泌受富含脂肪或蛋白质的食糜进入十二指肠的刺激。然后 CCK 通过直接的和 / 或间接的生理和神经作用诱导饱感并减少食物摄入。一些直接作用包括抑制胃排空、抑制胃酸分泌、以及刺激胆囊收缩。与 CCK 刺激神经途径的能力相结合, CCK 释放产生“饱感”, 因此通常导致消耗较少的卡路里。

[0007] 因此, 需要一种能够在忙碌时消耗的有营养的方便的食物。该食物应该不但美味而且营养合理; 即, 该食物应该低脂肪、高蛋白、高维生素和高抗氧化剂。此外, 如果食品促进 CCK 释放也将是非常有益的。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明的多个方面中的其中一个方面是包含具有胆囊收缩素 (CCK) 释放活性的蛋白质水解产物组合物。蛋白质水解产物组合物包含多肽片段的混合物, 所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小, 其中至少约 0.5mg/mL 的浓度的蛋白质水解产物组合物的可溶性级份刺激 CCK 释放活性的效能基本上类似于用 100nM 佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯 (phorbol 12-myristate-13-acetate, PMA) 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的 50% 以上。

[0010] 本发明的另一方面提供了提高细胞 CCK 释放活性的方法。所述方法包括使细胞接触蛋白质水解产物组合物的可溶性级份。蛋白质水解产物组合物包含多肽片段的混合物, 所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小, 其中至少约 0.5mg/mL 的浓度的蛋白质水解产物组合物刺激 CCK 释放活性的效能基本上类似于用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的 50% 以上。

[0011] 本发明的另一方面包括提高受试者饱感的方法。所述方法包括给受试者施用一定量的蛋白质水解产物组合物, 其中施用量导致受试者有饱感。蛋白质水解产物组合物包含多肽片段的混合物, 所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小, 其中至少约 0.5mg/mL 浓度的蛋白质水解产物组合物刺激 CCK 释放活性的效能基本上类似于用 100nM

PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的 50% 以上。

[0012] 本发明的另一方面提供包含可食用材料和蛋白质水解产物组合物可溶性级份的食品。蛋白质水解产物组合物包含多肽片段的混合物,所述多肽片段具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小,其中至少约 0.5mg/mL 浓度的蛋白质水解产物组合物刺激 CCK 释放活性的效能基本上类似于用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的 50% 以上。

[0013] 彩色图的参考

[0014] 该专利申请包含至少一张彩色像片。具有彩色像片的该专利申请公布的复印件应请求并在支付必要费用后可由政府机关提供。

[0015] 附图描述

[0016] 图 1 示出大豆和酪蛋白酸盐蛋白质水解产物刺激的 CCK 释放,所述水解产物通过分别用胃蛋白酶消化或胃蛋白酶和胰酶一起消化以模拟胃和小肠上端内的消化来制备。将蛋白质水解产物加入到 STC-1 细胞培养基中,蛋白质浓度为大约 2mg/mL,并且以等同稀释的对照反应混合物(它包括不含蛋白质底物的酶)加入酶对照物。图示的是与用对照物 100nM PMA(设其为 100%)刺激相比,用不同蛋白质水解产物刺激而释放到 STC-1 细胞培养基中的 % CCK,所述水解产物分别通过胃蛋白酶或胃蛋白酶和胰酶生成。单独使用细胞培养基和 2mg/mL 牛血清白蛋白(BSA)作为阴性背景对照。PMA 对照物由包含 2mg/mL BSA 的细胞培养基中的 100nM PMA 组成。释放到细胞培养基中的 % CCK 如下进行计算:

[0017]

$$\% \text{CCK 释放量} = \frac{(\text{ng CCK}_{\text{样品孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})}{(\text{ng CCK}_{\text{PMA 孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})} \times 100$$

[0018] 用胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶消化完整大豆蛋白产生的肽具有比等同消化完整酪蛋白产生的肽显著更强的 CCK 释放活性。

[0019] 图 2 提供考马斯蓝染色的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶的图像,所述凝胶包含来自强 CCK 释放水解产物(SUPRO[®]950/FXP950)的切向流过滤的片段。该水解产物通过用来自 Novozymes((Bagsvaerd, Denmark)的 ALCALASE[®]消化到大约 9.6%的 % 水解度生成。泳道 A、B、C、和 D 分别代表未分段的样品、大于 100kDa 的片段、10-100kDa 的片段、和小于 10kDa 的片段的 1% (w/v) 混悬液的 10 μL 样品。泳道 E 和 F 分别代表 10-100kDa 的片段和小于 10kDa 的片段的 5% (w/v) 混悬液的 10 μL 样品。分子量标准品的大小在图左侧标明。

[0020] 图 3 示出胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶消化的 SUPRO[®]950/FXP950 的 10-100kDa 片段制剂刺激的 CCK 释放,所述制剂是如实施例 2 所述的水解蛋白质制剂。

[0021] 图 4A-H 示出了不同大豆蛋白水解产物制剂刺激的 CCK 释放。图示的是与用 100nM PMA(设其为 100%)释放的 % CCK 相比,用不同大豆蛋白水解产物刺激而释放到 STC-1 培养基中的 % CCK,所述不同大豆蛋白水解产物用如图 4A-4H 所示的不同酶制成并且具有通过不同孵育条件获得的不同 % 水解度(% DH)。释放到细胞培养基中的 % CCK 如图 1 所述进行计算。PMA 通过直接的蛋白质激酶 C(PKC) 刺激诱导 CCK。加入到 STC-1 细胞中的每种大豆蛋白水解产物的蛋白终浓度为大约 2mg/mL。图 4A 示出用 Alcalase(蛋白水解酶)处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4B 示出用菠萝蛋白酶处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4C 示出用来自葱绿拟诺卡氏菌(Nocardiosis prasina)的丝氨酸

蛋白酶处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4D 示出用 ALCALASE®2 处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4E 示出用 S2 处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4F 示出用 MP1 处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4G 示出用 TL1 处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。图 4H 示出用 ASP-1 处理的大豆蛋白水解产物刺激的 CCK 释放。

[0022] 发明详述

[0023] 已知蛋白质一般来讲刺激动物（包括人）肠道内的肠内分泌细胞释放 CCK (Liddle, R. A. 等人 (1986), Proteins But Not Amino Acids, Carbohydrates, or Fats Stimulate Cholecystokinin Secretion in the Rat. *Am. J. Physiol.* 251 (Gastrointest. Liver Physiol. 14) :G243-G248)。因为进入肠的蛋白质经历酶如胃蛋白酶和来自胰腺（胰酶）的消化酶混合物的消化，我们在图 1 中示出这些酶消化的完整大豆蛋白生成肽，所述肽对肠内分泌细胞具有 CCK 释放活性。图 1 也示出了用这些相同酶处理的酪蛋白酸钠产生的肽，所述肽与完整大豆蛋白消化后生成的那些肽相比 CCK 释放活性较弱。消化大豆蛋白和酪蛋白酸盐的方法用于生成图 1 数据，其模拟体内胃部和肠上部的消化，所述方法是以前公布的 Schasteen (Schasteen, C. S. 等人, (2007) Correlation of an Immobilized Digestive Enzyme Assay With Poultry True Amino Acid Digestibility for Soybean Meal. *Poultry Science* 86 (2), 343-348) 和 Higaki ([Higaki, N., 等人, (2006) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70 (12), 2844-2852) 的方法的修改形式。蛋白质样品溶解在 20 体积的 0.01M HCl 中，并且用胃蛋白酶 (Sigma-Aldrich#P7012) 以 1 : 200 (w/w) 的酶 - 底物比率在 pH 2.3 和 37°C 下消化 4 小时。在胃蛋白酶消化后，将 2.5M NaOH 加入到混合物中将以 pH 调节至 8.0，并且以 1 : 200 (w/w) 的比率加入胰酶 (Sigma-Aldrich#P3292) 并继续再消化 4 至 18 小时。水解度通过伯胺基与邻苯二甲醛 (OPA) 的反应对酸水解 (110°C 水解 24 小时) 后存在于样品中的伯胺总量（已知是“OPA 方法”）进行测定。将蛋白质水解产物加入到 STC-1 细胞培养基中，蛋白质浓度为 2mg/mL，并且以等同稀释的对照反应混合物（它包括不含蛋白质底物的酶）加入酶对照物。图示的是与用阳性对照物 100nM PMA 刺激释放的 CCK 量（设其为 100%）相比，用胃蛋白酶和胃蛋白酶 - 胰酶处理的蛋白质样品刺激而释放到 STC-1 细胞培养基中的 % CCK。释放到细胞培养基中的 % CCK 如下计算：

[0024]

$$\% \text{CCK 释放量} = \frac{(\text{ng CCK}_{\text{样品孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})}{(\text{ng CCK}_{\text{PMA 孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})} \times 100$$

[0025] 如实施例所示，已经发现用于商业成分处理的酶将蛋白质消化成平均大小小于约 100,000 道尔顿的多肽片段产生具有增强 CCK 释放活性的组合物。因为 CCK 通过中枢神经系统促进饱感，并且还减缓胃排空，可将蛋白质水解产物组合物包括在多种食品中以促进饱感并提供营养物质。

[0026] (I) 用于制备蛋白质水解产物的方法

[0027] 本发明的一个方面提供制备包含多肽片段混合物的蛋白质水解产物的方法，所述多肽片段具有小于 100,000 道尔顿的平均大小。所述方法包括使蛋白材料接触一种或多种

酶,所述酶将蛋白材料裂解成期望大小的多肽片段。反应物和反应参数在下文中详述。

[0028] (a) 蛋白材料

[0029] 合适的蛋白材料的非限制性实例包括植物蛋白如大豆或非大豆蛋白(例如大麦、卡诺拉(canola)、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦等)以及动物蛋白如卵蛋白、胶质等。

[0030] 在一些实施方案中,蛋白材料可来源于大豆。可在本发明方法中使用多种大豆蛋白以生成大豆蛋白水解产物。一般来讲,大豆蛋白材料可根据本领域已知的方法源自于全大豆。全大豆可以是标准大豆(即,非转基因大豆)、转基因大豆(如具有经修饰的脂肪的大豆、具有经修饰的碳水化合物的大豆、具有经修饰的蛋白的大豆,等等)或它们的组合。大豆蛋白材料的合适实例包括大豆提取物、豆浆、豆浆粉、豆腐、大豆粉、大豆分离蛋白、大豆浓缩蛋白、大豆乳清蛋白、以及它们的混合物。

[0031] 在一个实施方案中,该方法中使用的大豆蛋白材料可以是大豆分离蛋白(也称为分离大豆蛋白或ISP)。一般来讲,大豆分离蛋白基于无水基具有至少约90%大豆蛋白的蛋白含量。大豆分离蛋白可包含完整的大豆蛋白或部分水解的大豆蛋白。大豆分离蛋白可具有高含量的不同亚基如7S、11S、2S等。本发明可使用的大豆分离蛋白的非限制性实例可商购获得,例如从Solae, LLC(St. Louis, MO)商购获得,并且包括SUPRO®500E、SUPRO®620、SUPRO®760、SUPRO®670、SUPRO®710、SUPRO®EX 33、SUPRO®313。

[0032] 在另一个实施方案中,大豆蛋白材料可为大豆浓缩蛋白,其具有按无水基计约65%至小于约90%的蛋白质含量。用于本发明中的合适的大豆浓缩蛋白的实例包括ALPHA®DSP-C、Procon™、ALPHA®12和ALPHA®5800,它们可从Solae, LLC商购获得。作为另外一种选择,大豆浓缩蛋白可与大豆分离蛋白共混以作为大豆蛋白材料的来源替代部分大豆分离蛋白。

[0033] 在另一个实施方案中,所述大豆蛋白质材料可以是大豆粉,其具有按无水基计约49%至约65%的蛋白质含量。大豆粉可为脱脂大豆粉、部分脱脂大豆粉、或全脂大豆粉。大豆粉可以与大豆分离蛋白或大豆浓缩蛋白共混。

[0034] 当使用大豆粉时,原料通常为脱脂大豆粉或大豆片。全脂大豆包含按重量计约40%的蛋白质和按重量计约20%的油。当脱脂大豆粉或大豆片构成起始蛋白质材料时,所有这些全脂大豆可经由常规方法脱脂。例如,可将大豆弄干净、脱壳、破碎、通过一系列压片辊,然后使用己烷或其他适宜溶剂使其经受溶剂萃取,以提取油并且制得“脱脂薄片”。所述脱脂薄片可被碾磨以制得大豆粉。虽然所述方法目前还没有用于全脂大豆粉,但是据信全脂大豆粉也可用作蛋白质源。然而,在处理全脂大豆粉时,很可能需要采用分离步骤,诸如三级离心以移除油。

[0035] 在另一个实施方案中,大豆蛋白材料可以是基于离心机中的沉淀已被分成主要片段(15S、11S、7S和2S)的大豆贮藏蛋白。一般来讲,11S片段高度富集了大豆球蛋白,而7S片段高度富集了 β -大豆伴球蛋白。

[0036] 在另一个实施方案中,蛋白材料可来自非大豆的植物。作为非限制性实例,合适的植物包括苋属植物、竹芋、大麦、荞麦、卡诺拉、木薯、桃豆(鹰嘴豆)、豆类、兵豆、羽扇豆、玉米、小米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、裸麦、高粱、向日葵、木薯、黑小麦、小麦、以及它们的混合物。尤其优选植物蛋白包括大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、

以及它们的组合。在一个实施方案中,植物蛋白材料可以是卡诺拉粗粉、卡诺拉分离蛋白、卡诺拉浓缩蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是玉米或谷物蛋白粉、玉米或谷物浓缩蛋白、玉米或谷物分离蛋白、玉米或谷物胚芽、玉米或谷物谷蛋白、玉米或谷物谷蛋白粗粉、玉米或谷物面粉、玉米蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是大麦粉、大麦浓缩蛋白、大麦分离蛋白、大麦粗粉、大麦面粉、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是羽扇豆粉、羽扇豆分离蛋白、羽扇豆浓缩蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是燕麦片、燕麦粉、燕麦蛋白粉、燕麦分离蛋白、燕麦浓缩蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是豌豆粉、豌豆分离蛋白、豌豆浓缩蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是马铃薯蛋白粉、马铃薯分离蛋白、马铃薯浓缩蛋白、马铃薯粉、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是米粉、大米粗粉、大米蛋白粉、大米分离蛋白、大米浓缩蛋白、或它们的组合。在另一个实施方案中,植物蛋白材料可以是小麦蛋白粉、小麦谷朊粉、麦芽精、面粉、小麦分离蛋白、小麦浓缩蛋白、可溶性小麦蛋白、或它们的组合。

[0037] 在另一个实施方案中,蛋白材料可来源于动物来源。在一个实施方案中,动物蛋白材料可来源于蛋类。合适的蛋类蛋白的非限制性实例包括蛋粉、干燥蛋固体、干燥蛋清蛋白、液体蛋清蛋白、蛋清蛋白粉、分离卵清蛋白、以及它们的组合。蛋类蛋白可来源于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鹌鹑蛋、或其他鸟类的蛋。在另一个实施方案中,蛋白材料可来源于乳品。合适的乳蛋白包括脱脂奶粉、分离乳蛋白、浓缩乳蛋白、酸酪蛋白、酪蛋白酸盐(例如酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钙等)、乳清分离蛋白、乳清浓缩蛋白、以及它们的组合。乳蛋白材料可以来源于牛、山羊、绵羊、驴、骆驼、羊驼、牦牛、水牛等。在另一个实施方案中,蛋白可来源于陆栖动物或水栖动物的肌肉、器官、结缔组织、或骨骼。例如动物蛋白可为明胶,它通过部分水解胶原制备,胶原提取自牛或其他动物的骨、结缔组织、器官等等。

[0038] 在本发明的方法中也设想使用大豆蛋白材料和至少一种其他蛋白材料的组合。即,可由大豆蛋白材料和至少一种其他蛋白材料的组合来制备蛋白质水解产物组合物。在一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物可以由大豆蛋白材料和一种其他蛋白材料的组合制备,其他蛋白材料选自大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物材料、乳品和蛋类。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物可以由大豆蛋白材料和两种其他蛋白材料的组合制备,其他蛋白材料选自大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物材料、乳品和蛋类。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物可以由大豆蛋白材料和三种或更多种其他蛋白材料的组合制备,其他蛋白材料选自大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物材料、乳品和蛋类。

[0039] 所用的大豆蛋白材料和其他蛋白材料的浓度可能并且将会不同。组合中使用的大豆蛋白材料的量可以在约1%至约99%总蛋白的范围内。在一个实施方案中,组合中使用的大豆蛋白材料的量可以在约1%至约20%总蛋白的范围内。在另一个实施方案中,组合中使用的大豆蛋白材料的量可以在约20%至约40%总蛋白的范围内。在另一个实施方案中,组合中使用的大豆蛋白材料的量可以在约40%至约80%总蛋白的范围内。在另一个实施方案中,组合中使用的大豆蛋白材料的量可以在约80%至约99%总蛋白的范围内。同样,组合中使用的其他蛋白材料(至少一种)的量可以在约1%至约99%总蛋白的范围内。在一个实施方案中,组合中使用的其他蛋白材料的量可以在约1%至约20%总蛋白的范围

内。在另一个实施方案中,组合中使用的其他蛋白材料的量可以在约 20%至约 40%总蛋白的范围内。在另一个实施方案中,组合中使用的其他蛋白材料的量可以在约 40%至约 80%总蛋白的范围内。在另一个实施方案中,组合中使用的其他蛋白材料的量可以在约 80%至约 99%总蛋白的范围内。

[0040] (b) 蛋白浆液

[0041] 在本发明的方法中,通常将蛋白材料混合或分散在水中以形成按重量计包括约 1%至约 40%蛋白(基于“按原样”)的浆液。在一个实施方案中,所述浆液可包括按重量计约 1%至约 5%的蛋白(按原样)。在另一个实施方案中,所述浆液可包括按重量计约 6%至约 10%的蛋白(按原样)。在另一个实施方案中,所述浆液可包括按重量计约 11%至约 15%的蛋白(按原样)。在另一个实施方案中,所述浆液可包括按重量计约 16%至约 20%的蛋白(按原样)。在另一个实施方案中,所述浆液可包括按重量计约 21%至约 40%的蛋白(按原样)。所述水可包括食品级分散剂如乙醇、甘油等。

[0042] 在将蛋白材料分散到水中后,可将蛋白材料的浆液加热到约 70°C至约 90°C约 2 分钟至约 20 分钟以失活推定的内源蛋白酶抑制剂。通常,对蛋白浆液的 pH 和温度进行调节以优化水解反应,特别是确保水解反应中使用的消化酶的功能接近其最佳活性水平。蛋白浆液的 pH 可根据本领域一般已知的方法进行调节及监控。可将蛋白浆液的 pH 调节至并保持在约 3.0 至约 11.0。在其他实施方案中,可将蛋白浆液的 pH 调节至并保持在约 3.0 至约 4.0,约 5.0 至约 6.0,以及约 7.0 至约 8.0。在另一个实施方案中,可将蛋白浆液的 pH 调节至并保持在约 8.0 至约 9.0。在另一个实施方案中,可将蛋白浆液的 pH 调节至并保持在约 9.0 至约 10.0,以及约 10.0 至约 11.0。在水解反应期间,根据本领域已知的方法将蛋白浆液的温度调节至并保持在约 25°C至约 80°C。

[0043] (c) 酶消化

[0044] 一般通过将酶或组合酶加入到蛋白材料浆液中启动水解反应。酶通常可为食品级酶,在约 3.0 至约 11.0 的 pH 和约 25°C至约 80°C具有最佳活性。酶可为植物、动物、或微生物来源的酶。

[0045] 酶通常将为肽链内切酶。肽链内切酶优选作用于远离 N 和 C 末端的肽链内部区域。几种肽链内切酶在本发明的方法中适用。在一个实施方案中,肽链内切酶可为丝氨酸蛋白酶,它来自葱绿拟诺卡氏菌(*Nocardopsis prasina*) (SEQ ID NO:2, 国际申请号 WO 2005035747, 其以引用方式全文并入本文)。在另一个实施方案中,肽链内切酶可为枯草杆菌蛋白酶,它来自地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*), 该菌株以商品名 ALCALASE® 购自 Novozymes (Bagsvaerd, Denmark)。在另一个实施方案中,肽链内切酶可为丝氨酸蛋白酶,也称为谷氨酰基肽链内切酶(称为“GE”),它来自地衣芽孢杆菌 (UNIPROT:P80057 公布并表征于美国专利 4,266,031、5,874,278、和 5,459,064 以及国际申请 WO 01/16285、WO 92/13964、WO 91/13553、和 WO 91/13554 中,所述文献均全文以引用方式并入本文)。在另一个实施方案中,肽链内切酶可为胰蛋白酶样蛋白酶(称为“TL1”),它来自尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*) (SWISSPROT No. P35049) (美国专利 5,288,627 和 5,693,520, 所述文献均全文以引用方式并入本文)。在另一个实施方案中,肽链内切酶可为赖氨酰肽链内切酶(称为“LE”),它来自水解无色杆菌(*Achromobacter lyticus*) (UNIPROT:P15636)。在另一个实施方案中,肽链内切酶可为较纯化形式的枯草杆菌蛋白酶,它来自地衣芽孢杆菌

(称为“Alcalase® 2”)。在其他实施方案中,肽链内切酶可为胰蛋白酶样蛋白酶,它来自镰孢素对镰孢菌 (*Fusarium solani*) (GENESEQP:ADZ80577)。合适的酶还包括枯草杆菌蛋白酶 2(S2)、金属蛋白酶 1(MP1)、和天冬氨酸蛋白酶 1(ASP-1)。其他合适的酶包括菠萝蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、和弹性蛋白酶。在一些实施方案中,可使用肽链内切酶的组合。

[0046] 在另一个实施方案中,可将肽链内切酶与至少一种外肽酶组合。一般来讲,外肽酶仅仅作用于接近肽链 N 或 C 末端的端部。在游离 N 末端的这些作用释放单氨基酸残基(即氨基肽酶)、二肽(即二肽肽酶)或三肽(即三肽肽酶)。外肽酶作用于游离 C 末端,释放单氨基酸(即羧肽酶)或二肽(即肽基二肽酶)。一些外肽酶是二肽特异性的(即二肽酶)或除去异肽键取代的、环化的或连接的末端残基。异肽键为排除那些羧基基团与 α -氨基连接的肽键,并且酶的这种基团特征在于 Ω 肽酶。

[0047] 适用于本发明方法的外肽酶的非限制性实例包括来自米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) (UNIPROT:Q2TZ11) 的羧肽酶 D、来自米曲霉 (UNIPROT:Q2TYA1) 的羧肽酶 Y、来自米曲霉(国际申请 WO 96/28542,其全文以引用方式并入本文)的氨基肽酶、和来自地衣芽孢杆菌 (UNIPROT:Q65DH7) 的氨基肽酶。

[0048] 取决于所需的水解度和水解反应的持续时间,加入到蛋白材料中的酶量可能并且将会不同。酶量可以在每千克蛋白材料约 1mg 至约 5000mg 酶蛋白的范围内。在另一个实施方案中,它的量可以在每千克蛋白材料 10mg 至约 2000mg 酶蛋白的范围内。在另一个实施方案中,它的量可以在每千克蛋白材料约 50mg 至约 1000mg 酶蛋白的范围内。

[0049] 技术人员将会认识到,取决于酶、蛋白材料、和期望的水解度,水解反应的持续时间可能并且将会不同。一般来讲,水解反应的持续时间可以在几分钟至多个小时的范围内,例如约 30 分钟至约 48 小时。为了终止水解反应,可将组合物加热至足以失活酶的温度。例如,把组合物加热至大约 90°C 将基本上热失活大多数酶。取决于所用的酶,其他失活方法包括冷却至低于 10°C 和 / 或将 pH 降低至低于约 3.0。

[0050] 表 A 中给出了蛋白材料和酶的组合。

[0051] 表 A. 优选的组合

[0052]

蛋白材料	肽链内切酶
大豆	丝氨酸蛋白酶
大豆	ALCALASE [®]
大豆	GE
大豆	TL1
大豆	LE
大豆	菠萝蛋白酶
大豆	Alcalase [®] 2
大豆	S2
大豆	MP1
大豆	ASP-1
大麦	丝氨酸蛋白酶
大麦	ALCALASE [®]
大麦	GE
大麦	TL1
大麦	LE
大麦	菠萝蛋白酶
大麦	Alcalase [®] 2
大麦	S2
大麦	MP1
大麦	ASP-1
卡诺拉	丝氨酸蛋白酶
卡诺拉	ALCALASE [®]
卡诺拉	GE
卡诺拉	TL1

[0053] 表 A. 优选的组合

[0054]

卡诺拉	LE
卡诺拉	菠萝蛋白酶
卡诺拉	Alcalase [®] 2
卡诺拉	S2
卡诺拉	MP1
卡诺拉	ASP-1
羽扇豆	丝氨酸蛋白酶
羽扇豆	ALCALASE [®]
羽扇豆	GE
羽扇豆	TL1
羽扇豆	LE
羽扇豆	菠萝蛋白酶
羽扇豆	Alcalase [®] 2
羽扇豆	S2
羽扇豆	MP1
羽扇豆	ASP-1
玉米	丝氨酸蛋白酶
玉米	ALCALASE [®]
玉米	GE
玉米	TL1
玉米	LE
玉米	菠萝蛋白酶
玉米	Alcalase [®] 2
玉米	S2
玉米	MP1
玉米	ASP-1
燕麦	丝氨酸蛋白酶
燕麦	ALCALASE [®]
燕麦	GE
燕麦	TL1

[0055] 表 A. 优选的组合

[0056]

燕麦	LE
燕麦	菠萝蛋白酶
燕麦	Alcalase [®] 2
燕麦	S2
燕麦	MP1
燕麦	ASP-1
豌豆	丝氨酸蛋白酶
豌豆	ALCALASE [®]
豌豆	GE
豌豆	TL1
豌豆	LE
豌豆	菠萝蛋白酶
豌豆	Alcalase [®] 2
豌豆	S2
豌豆	MP1
豌豆	ASP-1
马铃薯	丝氨酸蛋白酶
马铃薯	ALCALASE [®]
马铃薯	GE
马铃薯	TL1
马铃薯	LE
马铃薯	菠萝蛋白酶
马铃薯	Alcalase [®] 2
马铃薯	S2
马铃薯	MP1
马铃薯	ASP-1
大米	丝氨酸蛋白酶
大米	ALCALASE [®]
大米	GE
大米	TL1

[0057] 表 A. 优选的组合

[0058]

大米	LE
大米	菠萝蛋白酶
大米	Alcalase [®] 2
大米	S2
大米	MP1
大米	ASP-1
小麦	丝氨酸蛋白酶
小麦	ALCALASE [®]
小麦	GE
小麦	TL1
小麦	LE
小麦	菠萝蛋白酶
小麦	Alcalase [®] 2
小麦	S2
小麦	MP1
小麦	ASP-1
蛋	丝氨酸蛋白酶
蛋	ALCALASE [®]
蛋	GE
蛋	TL1
蛋	LE
蛋	菠萝蛋白酶
蛋	Alcalase [®] 2
蛋	S2
蛋	MP1
蛋	ASP-1
乳品	丝氨酸蛋白酶
乳品	ALCALASE [®]
乳品	GE
乳品	TL1

[0059] 表 A. 优选的组合

[0060]

乳品	LE
乳品	菠萝蛋白酶
乳品	Alcalase [®] 2
乳品	S2
乳品	MP1
乳品	ASP-1
动物材料	丝氨酸蛋白酶
动物材料	ALCALASE [®]
动物材料	GE
动物材料	TL1
动物材料	LE
动物材料	菠萝蛋白酶
动物材料	Alcalase [®] 2
动物材料	S2
动物材料	MP1
动物材料	ASP-1
大豆和大麦	丝氨酸蛋白酶
大豆和大麦	ALCALASE [®]
大豆和大麦	GE
大豆和大麦	TL1
大豆和大麦	LE
大豆和大麦	菠萝蛋白酶
大豆和大麦	Alcalase [®] 2
大豆和大麦	S2
大豆和大麦	MP1
大豆和大麦	ASP-1
大豆和卡诺拉	丝氨酸蛋白酶
大豆和卡诺拉	ALCALASE [®]
大豆和卡诺拉	GE
大豆和卡诺拉	TL1

[0061] 表 A. 优选的组合

[0062]

大豆和卡诺拉	LE
大豆和卡诺拉	菠萝蛋白酶
大豆和卡诺拉	Alcalase [®] 2
大豆和卡诺拉	S2
大豆和卡诺拉	MP1
大豆和卡诺拉	ASP-1
大豆和羽扇豆	丝氨酸蛋白酶
大豆和羽扇豆	ALCALASE [®]
大豆和羽扇豆	GE
大豆和羽扇豆	TL1
大豆和羽扇豆	LE
大豆和羽扇豆	菠萝蛋白酶
大豆和羽扇豆	Alcalase [®] 2
大豆和羽扇豆	S2
大豆和羽扇豆	MP1
大豆和羽扇豆	ASP-1
大豆和玉米	丝氨酸蛋白酶
大豆和玉米	ALCALASE [®]
大豆和玉米	GE
大豆和玉米	TL1
大豆和玉米	LE
大豆和玉米	菠萝蛋白酶
大豆和玉米	Alcalase [®] 2
大豆和玉米	S2
大豆和玉米	MP1
大豆和玉米	ASP-1
大豆和燕麦	丝氨酸蛋白酶
大豆和燕麦	ALCALASE [®]
大豆和燕麦	GE
大豆和燕麦	TL1

[0063] 表 A. 优选的组合

[0064]

大豆和燕麦	LE
大豆和燕麦	菠萝蛋白酶
大豆和燕麦	Alcalase [®] 2
大豆和燕麦	S2
大豆和燕麦	MP1
大豆和燕麦	ASP-1
大豆和豌豆	丝氨酸蛋白酶
大豆和豌豆	ALCALASE [®]
大豆和豌豆	GE
大豆和豌豆	TL1
大豆和豌豆	LE
大豆和豌豆	菠萝蛋白酶
大豆和豌豆	Alcalase [®] 2
大豆和豌豆	S2
大豆和豌豆	MP1
大豆和豌豆	ASP-1
大豆和马铃薯	丝氨酸蛋白酶
大豆和马铃薯	ALCALASE [®]
大豆和马铃薯	GE
大豆和马铃薯	TL1
大豆和马铃薯	LE
大豆和马铃薯	菠萝蛋白酶
大豆和马铃薯	Alcalase [®] 2
大豆和马铃薯	S2
大豆和马铃薯	MP1
大豆和马铃薯	ASP-1
大豆和大米	丝氨酸蛋白酶
大豆和大米	ALCALASE [®]
大豆和大米	GE
大豆和大米	TL1

[0065] 表 A. 优选的组合

[0066]

大豆和大米	LE
大豆和大米	菠萝蛋白酶
大豆和大米	Alcalase [®] 2
大豆和大米	S2
大豆和大米	MP1
大豆和大米	ASP-1
大豆和小麦	丝氨酸蛋白酶
大豆和小麦	ALCALASE [®]
大豆和小麦	GE
大豆和小麦	TL1
大豆和小麦	LE
大豆和小麦	菠萝蛋白酶
大豆和小麦	Alcalase [®] 2
大豆和小麦	S2
大豆和小麦	MP1
大豆和小麦	ASP-1
大豆和蛋	丝氨酸蛋白酶
大豆和蛋	ALCALASE [®]
大豆和蛋	GE
大豆和蛋	TL1
大豆和蛋	LE
大豆和蛋	菠萝蛋白酶
大豆和蛋	Alcalase [®] 2
大豆和蛋	S2
大豆和蛋	MP1
大豆和蛋	ASP-1
大豆和乳品	丝氨酸蛋白酶
大豆和乳品	ALCALASE [®]
大豆和乳品	GE
大豆和乳品	TL1

[0067] 表 A. 优选的组合

[0068]

大豆和乳品	LE
大豆和乳品	菠萝蛋白酶
大豆和乳品	Alcalase [®] 2
大豆和乳品	S2
大豆和乳品	MP1
大豆和乳品	ASP-1
大豆和动物	丝氨酸蛋白酶
大豆和动物	ALCALASE [®]
大豆和动物	GE
大豆和动物	TL1
大豆和动物	LE
大豆和动物	菠萝蛋白酶
大豆和动物	Alcalase [®] 2
大豆和动物	S2
大豆和动物	MP1
大豆和动物	ASP-1

[0069] (II) 蛋白质水解产物

[0070] 蛋白质水解产物组合物一般促进 CCK 释放并从而增强食用后的饱感。如实施例所示,至少约 0.5mg/mL 浓度的大豆蛋白水解产物组合物刺激 CCK 释放活性。加入的 0.5 至 8mg/mL 蛋白质的最佳水解产物 CCK 刺激效应类似于用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的 50% 以上。

[0071] 在一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物的可溶性级份可刺激 CCK 释放活性为用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的约 50% 至约 100%。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物的可溶性级份可刺激 CCK 释放活性为用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的约 100% 至约 200%。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物的可溶性级份可刺激 CCK 释放活性为用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的约 200% 至约 300%。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物的可溶性级份可刺激 CCK 释放活性为用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的约 300% 至约 500%。在另一个实施方案中,蛋白质水解产物组合物的可溶性级份可刺激 CCK 释放活性为用 100nM PMA 刺激 4 小时的 STC-1 细胞释放的 CCK 的约 500% 至约 1000%。

[0072] 取决于蛋白材料的来源、使用的蛋白酶和水解反应的条件,蛋白质水解产物组合物的水解度可能并且将会不同。水解度 (DH) 是指裂解的肽键对肽键起始数目的百分比。例如,如果将包含五百个肽键的起始蛋白质水解至五十个肽键被裂解,则所得水解产物的 DH 为 10%。水解度可使用本领域技术人员已知的三硝基苯磺酸 (TNBS) 色度方法或邻苯二醛 (OPA) 方法进行测定。水解度越高,蛋白水解程度越大。通常,因为蛋白被进一步水解 (即

DH 升高), 肽段的分子量降低, 相应的肽分布谱发生改变。DH 可在完整水解产物(即全部片段)中进行测量或在水解产物的可溶性级份中(即水解产物在约 500 至约 1000×g 离心约 5 至约 10 分钟后的上清液片段)进行测量。

[0073] 本发明的每种蛋白质水解产物组合物通常将具有约 0.05% 至约 35% 的水解度。在一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 0.05% 至约 1% 的范围内。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 1% 至约 10% 的范围内。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 10% 至约 20% 的范围内。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 2% 至约 35% 的范围内。在一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 0.2% 至约 15% 的范围内。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的水解度可在约 0.2% 至约 3% 的范围内。

[0074] 一般来讲, 蛋白质水解产物组合物与蛋白质原料相比将包含不同长度和分子量的多肽片段的混合物。肽片段的分子量可在 75 道尔顿(即游离甘氨酸)至大于 100,000 道尔顿的范围内, 这通过尺寸排阻色谱法进行测量。一般来讲, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段将具有小于约 100,000 道尔顿的平均大小。在一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段的平均大小可为约 50,000 至约 100,000 道尔顿。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段的平均大小可为小于约 50,000 道尔顿。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段的平均大小可为小于约 10,000 道尔顿。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段的平均大小可为小于约 4,000 道尔顿。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物的多肽片段的平均大小可为小于约 2,000 道尔顿。

[0075] (III) 包括蛋白质水解产物的食品

[0076] 本发明的另一方面是包括可食用材料和本文所述的蛋白质水解产物组合物的食品。

[0077] 取决于所需食品, 选择的与可食用材料组合的特定蛋白质水解产物组合物可能并且将会不同。在一些实施方案中, 蛋白质水解产物组合物可来源于大豆蛋白。在其他实施方案中, 蛋白质水解产物组合物可来源于大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物、蛋类、或它们的组合。在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物可包含不同蛋白质水解产物的组合。例如, 大豆蛋白水解产物组合物可与玉米蛋白质水解产物组合使用。作为另外一种选择, 大豆蛋白水解产物组合物可与卡诺拉蛋白水解产物组合物和小麦蛋白质水解产物组合物组合使用。

[0078] 在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物可来源于大豆和至少一种其他蛋白来源的组合, 其他蛋白来源选自大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物、乳品和蛋类。

[0079] 在另一个实施方案中, 蛋白质水解产物组合物还可包含至少一种未水解的蛋白, 它选自大麦、卡诺拉、羽扇豆、玉米、燕麦、豌豆、马铃薯、大米、小麦、动物、乳品、和蛋。适用的未水解蛋白的非限制性实例包括干奶粉、脱脂干奶粉、乳蛋白、酪蛋白、酪蛋白酸盐(例如酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钙等)、乳清浓缩蛋白、乳清分离蛋白、和大豆分离蛋白。

[0080] 在一些实施方案中, 食品中包括的蛋白质水解产物组合物可包含“前肽”, 它在受试者的胃和/或肠中经由蛋白分解消化转化成“活性”肽。在其它实施方案中, 蛋白质水解产物组合物包含“活性”肽, 它不需要在受试者的胃或肠中进行附加的蛋白分解消化。

[0081] 取决于所需食品,选择的合适可食用材料也将会不同。可食用材料可为植物来源的材料(例如蔬菜汁、谷类食品等)、动物来源的材料(例如乳品产品、蛋类产品等)、或者生物材料(即蛋白质、碳水化合物、脂质等)它们分离自植物来源的材料或动物来源的材料等。

[0082] 在一个实施方案中,食品可为液体饮料。液体饮料的非限制性实例包括果汁、水果饮料、果味饮料、蔬菜饮料、营养饮料、能量饮料、运动饮料、豆浆饮料、大豆风味饮料、米乳饮料、风味乳饮料、酸奶饮料、婴儿代乳品、茶饮料、咖啡饮料、膳食替代饮料、蛋白质混合饮料、营养补充饮料、体重控制饮料、以及它们的组合。

[0083] 包含饮料食品的可食用材料可能并且将会不同。适用的可食用材料的非限制性实例包括果汁、蔬菜汁、脱脂乳、减脂乳、2%乳、全脂乳、奶油、淡奶、酸奶、酪乳、巧克力、可可粉、咖啡、茶等。

[0084] 饮料食品还可包括甜味剂(如葡萄糖、蔗糖、果糖、麦芽糖糊精、三氯蔗糖、玉米糖浆、蜂蜜、枫糖浆等)、调味剂(例如巧克力、可可、巧克力调味剂、香草精、香草调味剂、水果香料等)、乳化剂或增稠剂(例如卵磷脂、角叉菜胶、纤维素胶、纤维素凝胶、淀粉、齿龈、树脂、阿拉伯胶、黄原胶等);稳定剂、脂质材料(例如卡诺拉油、向日葵油、高油酸向日葵油、脂肪粉末等)、防腐剂(例如山梨酸钾、山梨酸等)、抗氧化剂(例如抗坏血酸、抗坏血酸钠等)、着色剂、维生素、矿物质、以及它们的组合。

[0085] 在另一个实施方案中,食品可以是一种食物巴(压成块的加工食品),如格兰诺拉巴、谷类食物巴、营养巴、或能量巴。在另一个实施方案中,食品可以是基于谷类的食品。基于谷类的食品的非限制性实例包括早餐谷类食品、意大利面食、面包、焙烤产品(即,粉饼、馅饼、卷状食品、饼干、薄脆饼干)和小吃品(例如炸土豆片、脆饼干等)。基于谷类的食品的可食用材料可来源于小麦(例如漂白面粉、全麦面粉、麦芽精、麦麸等)、玉米(例如玉米面、玉米粗粉、玉米淀粉等)、燕麦(例如膨化燕麦、燕麦片、燕麦粉等)、大米(例如膨化大米、米粉、大米淀粉)等等。在另一个实施方案中,食品可以是“固体”乳品食品。合适的“固体”乳品食品的非限制性实例包括硬质干酪产品、软质干酪产品、冰淇淋产品、酸奶产品、冷冻酸奶产品、搅打乳品样产品、果汁牛奶冻等。在另一个实施方案中,食品可以是一种营养补充剂。营养补充剂可以是液体或固体。在另一个实施方案中,食品可以是肉类产品或肉类类似物产品。肉类食品的实例包括但不限于加工肉制品、碎肉制品和全肉制品。肉类材料可以是动物肉或海产品肉。肉类类似物可以是组织化植物蛋白或组织化乳品蛋白,它们的质地模仿动物或海产品的肉。在肉类食品中肉类类似物可以是部分或全部肉类材料。

[0086] 定义

[0087] 为了更好的理解本发明,下文定义了几个术语。

[0088] 术语“水解度”(DH)是指被水解的特定肽键的百分比(即,裂解肽键的数目占完整蛋白中存在的总肽键数目的百分比)。% DH使用三硝基苯磺酸(TNBS)或邻苯二甲醛(OPA)方法进行评估。这些方法是一种用于测定食物蛋白质水解产物水解度的精确的、可重复的和一般适用的方法。

[0089] 术语“肽链内切酶”是指在低聚肽或多肽链中水解内部肽键的酶。肽链内切酶类包括酶亚类 EC 3.4.21 至 25(国际生物化学与分子生物学联盟酶分类体系)。

[0090] 术语“外肽酶”指在氨基-或羧基末端或者靠近氨基-或羧基的部位水解蛋白质

和 / 或肽的酶。外肽酶类包括酶亚类 EC 3.4.11-18 (国际生物化学与分子生物学联盟酶分类体系)。

[0091] “食品级酶”是公认安全 (GRAS) 认可的并且当被生物体如人消耗时是安全的酶。通常,酶和可从其中得到酶的产品可根据适用的法律法规进行制备。

[0092] “水解产物”是当化合物通过水效应裂解时获得的反应产物。在热降解、化学降解或酶降解后产生蛋白质水解产物。在反应期间,将蛋白质分解成多肽和 / 或游离的氨基酸。这些产品可为可溶解的或不溶于水的或水基缓冲液。

[0093] 如本文所用,“OPA 方法”指以下程序:将 0.25g 大豆蛋白水解产物溶解在 50mL 萃取缓冲液 (0.025N 氢氧化钠中 1% SDS, 0.6mM DTT) 中,65°C 振荡 5 分钟,然后冷却至 25°C。然后在 5000×g 离心样品 5 分钟以除去任何未溶解的材料。接下来,将 0.2mL 样品等分试样、丝氨酸标准品 (3.6mM, 在去离子水中)、和萃取缓冲液 (用作空白对照) 转移到 (三等分) 测试管中,用 10mL OPA 显色剂 (0.012M OPA, 0.1M 四硼酸钠, 2% SDS) 稀释,涡旋混合。允许反应进行 30 分钟,在那时用分光光度计测量 340nm 的吸光度。使用每个三等分样品的均值测定 % DH, 如 Nielsen 所述 (Nielsen, P. M 等人, (2001) “Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis”, J. Food Sci. 66(5) :642-646)。

[0094] “肽”是氨基酸的短聚合物,一般为 20 个或更少的氨基酸。“多肽”是大于 20 个氨基酸的聚合物。这两种聚合物都仅仅包含初级结构。多肽最初在蛋白质合成期间形成,并且在“折叠”时形成它们的天然状态 (即形成二级、三级、和四级结构),变成蛋白质。在该专利申请中,提到多肽意指蛋白水解生成链聚合物。

[0095] “蛋白质”是氨基酸的聚合物,所述氨基酸形成天然 (即未变性的) 状态的活性分子。蛋白质的天然状态可具有初级、二级、三级、和或四级结构。蛋白质的初级结构是它的氨基酸序列。蛋白质通常具有二级结构,它由链内氨基酸的相互作用形成。这些结构经由氢键形成,并且是 α 螺旋或相互作用的氨基酸“片层”,已知是 β 片层。蛋白质通常也具有三级结构。三级结构通过氨基酸残基的链内相互作用形成,并且通过离子相互作用、疏水性作用、或其他化学相互作用形成。一些蛋白质包含一个或多个“亚基”,其分子相互作用以形成四级结构。蛋白质亚基由单个多肽链组成并包含二级和 (通常) 三级结构。

[0096] 如本文所用,术语“分离大豆蛋白”或“大豆分离蛋白”是指具有基于不含水分至少约 90% 的大豆蛋白的蛋白含量的大豆材料。大豆分离蛋白由大豆形成,其形成方式为:将大豆的皮和胚芽从子叶上去除,将子叶压成片或碾碎并将片状或碾碎的子叶去油,将子叶的大豆蛋白和碳水化合物与子叶纤维分离,然后将大豆蛋白与碳水化合物分离。

[0097] 如本文所用,术语“大豆浓缩蛋白”是指具有基于不含水分约 65% 至小于约 90% 的大豆蛋白的蛋白含量的大豆材料。大豆浓缩蛋白也可包含大豆子叶纤维,通常基于不含水分按重量计约 3.5% 至最多约 20% 的大豆子叶纤维。大豆浓缩蛋白由大豆形成,其形成方式为:去除大豆的皮和胚芽,将子叶压成片或碾碎并将片状或碾碎的子叶去油,然后将大豆蛋白和大豆子叶纤维与子叶的可溶碳水化合物分离。

[0098] 如本文所用,术语“大豆粉”是指全脂大豆粉、酶活性大豆粉、脱脂大豆粉、部分脱脂大豆粉、以及它们的混合物。脱脂大豆粉是指脱脂大豆材料的粉碎形式,优选包含小于约 1% 的油,由尺寸使得颗粒可通过 100 目 (美国标准) 筛网的颗粒形成。利用常规的大豆研磨方法将大豆饼、碎片、薄片、粗粉、或这些材料的混合物粉碎成大豆粉。大豆粉具有按无水

计约 49% 至约 65% 的大豆蛋白含量。优选将所述粉末研磨地非常细, 最优选使得有小于约 1% 的粉末保留在 300 目 (美国标准) 筛网上。全脂大豆粉是指被磨碎的包含所有原油 (通常为 18% 至 20%) 的全大豆。所述粉末可以是酶活性的, 或者它可被热处理或被烘烤以使酶活性最小化。酶活性大豆粉是指被最小程度热处理以不会使其天然酶无效的全脂大豆粉。

[0099] 如本文所用, 术语“豆浆”指下列的任意一种或多种含水混合物: 细磨大豆、大豆粉、大豆薄片、大豆浓缩液、大豆分离蛋白、大豆乳清蛋白、以及下列的任意一种或多种含水提取物: 大豆、大豆薄片和大豆粉, 其中已经除去了不溶解材料。豆浆可包含附加组分, 包括但不限于脂肪、碳水化合物、甜味剂、着色剂、稳定剂、增稠剂、调味剂、酸、和碱。

[0100] 如本文所用, 术语“豆浆粉”指脱水的豆浆。豆浆可通过多种方法脱水, 包括但不限于喷雾干燥、盘式干燥、洞道式干燥、和冷冻干燥。

[0101] 如本文所用, 术语“简化三硝基苯磺酸 (S-TNBS) 方法”指一种精确的、可再现的以及一般可实施的方法, 用于测定食物蛋白质水解产物的水解度。就该方法而言, 将 0.1g 大豆蛋白质水解产物溶解在 100mL 的 0.025N 氢氧化钠中。将水解产物溶液的等分试样 (2.0mL) 与 8mL 的 0.05M 硼酸钠缓冲液 (pH9.5) 混合。用 0.20mL 10% 三硝基苯磺酸处理 2mL 经缓冲的水解产物溶液, 然后室温暗处培养 15 分钟。加入 4mL 0.1M 亚硫酸钠 -0.1M 磷酸钠溶液 (1 : 99 比率) 终止反应, 在 420nm 处读取吸光度。使用 0.1mM 的甘氨酸溶液作为标准品。使用以下计算方法测定甘氨酸标准品溶液的回收率百分比: $[(\text{甘氨酸在 } 420\text{nm 的吸光度} - \text{空白对照在 } 420\text{nm 的吸光度}) \times (100/0.710)]$ 。94% 或更高的值被认为是可接受的。(Jens Adler-Nissen(1979) “Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic Acid,” J. Agric. Food Chem., 27(6) :1256-1262)。

[0102] 当介绍本发明或其优选实施方案的要素时, 冠词“一个”和“所述”旨在表示有一个或多个要素。术语“包含”、“包括”和“具有”旨在表示包容性并且表示除列出要素外还可以有其他要素。

[0103] 在不脱离本发明范围的条件下, 可对以上化合物、产品和方法进行各种更改, 这意味着可将上文描述和下文实施例中包含的所有内容理解为例证性的而非限定性的。

实施例

[0104] 下列实施例示出了本发明的多种实施方案。

[0105] 实施例 1. CCK 释放活性的初始筛选

[0106] 使用基于细胞的检测分析法测定是否大豆蛋白 / 大豆肽的复合混合物刺激 CCK 的释放。测定初始的 40 个不同样品以测定哪个样品具有最高的 CCK 刺激活性。在暴露于不同制剂后还评估细胞活力。

[0107] 将每个冷冻干燥样品的等分试样 (0.1g) 在 5mL 磷酸盐缓冲液 (PBS ;137mM NaCl, 2.7mM KCl, 4.3mM Na₂HPO₄, 1.4mM KH₂PO₄, pH 7.2) 中重组成浓度为 20mg/mL (w/v) 的原液。在轻柔混合约 15 分钟后, 使得样品在 4°C 水化过夜, 然后在 4°C 下在 16,000×g 离心 30 分钟以除去不溶解材料。将上清液部分在无血清培养基中 1 : 10 稀释, 并且在约 2mg/mL 的终浓度下三等分测定 CCK 释放。STC-1 细胞是一种小鼠肠内分泌细胞系, 它显示天然肠

CCK 生产细胞的许多特征 (Rindi 等人, 1990, *Am. J. Pathol.* 136 :1349-1364 ;Chang 等人, 1994, *Biochim. Biophys. Acta* 1221 :339-437), 使其在标准条件下暴露于大豆蛋白样品 4 小时。阴性对照是无血清培养基中 2mg/mL(w/v) 的牛血清白蛋白 (BSA), 阳性对照是无血清培养基中 2mg/mL BSA(w/v) 中的 100nM PMA。除去细胞条件培养基并使用竞争性酶测定法测量 CCK 水平。细胞活力使用 (3-[4,5- 二甲基 -2- 噻唑基]-2,5- 二苯基四氮唑溴盐 (MTT) 检测分析法 (Vellomen K-S, Honkakoski P 和 Urtti A, (2004) *Substrates and Inhibitors of Efflux Proteins Interfere with the MTT Assay in Cells and May Lead to Underestimation of Drug Toxicity*, *Eur. J. Pharm. Sci.* 23 :181-188) 进行评估。

[0108] 所有具有 CCK 刺激活性的初始样品是水解产物。在初始样品组中, 未水解蛋白质样品不刺激基础水平之上的 CCK 释放。这可见于图 1 中的完整大豆和酪蛋白酸盐蛋白。当暴露于任何初始样品时未检测到细胞活力或代谢活性有显著损失。

[0109] 使用新制备的样品, 用该基于细胞的检测分析法再筛选 40 个样品。虽然释放的 CCK 的绝对量不同, 将相同的 11 个样品评价为顶级刺激物 (%对照 PMA 为 30%或更高)。

[0110] 实施例 2. 强 CCK 释放样品的片段

[0111] 样品 9 (即 SUPRO®950/FXP950, 它是用 ALCALASE®水解的大豆分离蛋白) 具有其中一个最高的 CCK 释放活性。为了评估该样品中肽的分子量, 通过切向流动过滤分离所述肽。为此目的, 使用切向流动过滤装置分离样品的 5% 浆液, 所述装置配备有 100kDa MWC0 平板膜 (Lab 20, Alfa Laval, UK)。收集保留物 (即大于 100kDa 的片段) 并使用配备有 10kDa MWC0 平板膜的相同过滤装置分离保留物以形成 10-100kDa 的片段和小于 10kDa 的片段。将所述片段冻干、重悬在 PBS 中, 用无血清培养基稀释, 并且如上文详述测定每种片段的四个浓度 (w/v) 在 STC-1 细胞中的 CCK 释放活性。

[0112] 表 1 给出结果。10-100kDa 和小于 10kDa 的片段具有最高的 CCK 释放刺激活性。所述片段也通过 SDS-PAGE (参见图 2) 分离, 低分子量肽存在于每个片段中。该发现说明低分子量分子和高分子量分子可通过疏水性相互作用或其他相互作用彼此作用, 因此不能通过该方法完全分离。然而清楚的是低分子量肽诱导 CCK 释放, 并且它们导致较高分子量组分中观察到的活性。

[0113] 表 1. 分级样品的 CCK 释放活性

[0114]

#		CCK 释放 (ng/mL) 均值±均值的标准差	CCK 释放 (%PMA 释放)
41	起始样品 (SUPRO®950/FXP950*)		
	8mg/mL	0.166 ± 0.017	95.7%
	2mg/mL	0.117 ± 0.012	53.8%
	0.5mg/mL	0.069 ± 0.005	12.8%
	0.125mg/mL	0.056 ± 0.003	1.7%
42	>100kDa 片段		
	8mg/mL	0.161 ± 0.006	91.5%
	2mg/mL	0.105 ± 0.004	43.6%
	0.5mg/mL	0.073 ± 0.002	16.2%
	0.125mg/mL	0.059 ± 0.002	4.3%
43	10-100kDa 片段		
	8mg/mL	0.204 ± 0.003	128.2%
	2mg/mL	0.141 ± 0.003	74.4%
	0.5mg/mL	0.079 ± 0.023	21.4%
	0.125mg/mL	0.085 ± 0.021	26.5%
44	< 10kDa 片段		
	8mg/mL	0.183 ± 0.015	110.3%
	2mg/mL	0.122 ± 0.016	58.1%
	0.5mg/mL	0.100 ± 0.007	39.3%
	0.125mg/mL	0.079 ± 0.005	21.4%
	阴性对照 (BSA)	0.054 ± 0.002	
	阳性对照 (PMA)	0.171 ± 0.003	

[0115] * 用 ALCALASE®处理的 ISP

[0116] 实施例 3. 在用胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶消化以模拟肠中的体内消化后强 CCK 释放水解产物片段的 CCK 释放活性

[0117] 图 3 示出胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶消化的制剂刺激的 CCK 释放, 所述制剂是 10-100kDa 的 SUPRO®950/FXP950 片段, 它是如实施例 2 所述的水解蛋白质制剂, 显示该肽水解产物片段的 CCK 释放活性在用已知存在于人和其他动物消化道中的酶消化该片段后得到保持。使用胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶模拟体内胃部和肠上部中的消化的消化方法是以前公布的 Schasteen (Schasteen, C. S. 等人, (2007) Correlation of an Immobilized Digestive Enzyme Assay With Poultry True Amino Acid Digestibility for Soybean Meal. Poultry Science 86(2), 343-348) 和 Higaki (Higaki, N. 等人, (2006) Biosci. Biotechnol. Biochem. 70(12), 2844-2852) 方法的修正形式。蛋白质样品溶解在 20 体积的 0.01M HCl 中, 并且用胃蛋白酶 (Sigma-Aldrich#P7012) 以 1 : 200 (w/w) 的酶-底物比率在 pH 2.3 和 37°C 下消化 4 小时。在胃蛋白酶消化后, 将 2.5M NaOH 加入到混合物中将 pH 调节至 8.0, 并且以 1 : 200 (w/w) 的比率加入胰酶 (Sigma-Aldrich#P3292) 并继续再消化 4 至 18 小时。水解度通过伯胺基与邻苯二甲醛 (OPA) 的反应对酸水解 (110°C 水解 24 小

时)后存在于样品中的伯胺总量(已知是“OPA方法”)进行测定。将蛋白质水解产物加入到STC-1细胞培养基中,蛋白质浓度为0.5至8mg/mL,并且以等同稀释的对照反应混合物(它包括不含蛋白质底物的酶)加入酶对照物。图示的是用胃蛋白酶和胃蛋白酶-胰酶处理的蛋白质水解产物样品刺激而释放到STC-1细胞培养基中的CCK绝对浓度(ng/mL)。用阳性对照100nM PMA和阴性对照2mg/mL BSA刺激的CCK浓度在图3中分别通过箭头标记的‘PMA对照物’和‘基线CCK释放’表示。

[0118] 实施例4. 大豆蛋白水解产物的CCK释放活性

[0119] 也分析具有不同水解度的若干个不同大豆蛋白水解产物的CCK释放活性。为此目的,用ALCALASE®、菠萝蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、Alcalase®2、S2、MP1、TL1、和ASP-1水解大豆分离蛋白。调节加入的酶量和/或孵育时间以提供不同的水解度。STC-1细胞暴露于不同的水解产物下,所述水解产物被稀释至蛋白终浓度为约2mg/mL。如上所述测定CCK释放。图4示出了不同大豆蛋白水解产物制剂刺激的CCK释放。图示的是与用PMA(设其为100%)释放的% CCK相比,用不同大豆蛋白水解产物刺激而释放到STC-1培养基中的% CCK,所述不同大豆蛋白水解产物用如图4A-4H所示的不同酶制成并且具有通过不同孵育条件获得的不同%水解度(% DH)。释放到细胞培养基中的% CCK如下进行计算:

[0120]

$$\% \text{CCK 释放量} = \frac{(\text{ng CCK}_{\text{样品孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})}{(\text{ng CCK}_{\text{PMA 孔}} - \text{ng CCK}_{\text{BSA 对照物孔}})} \times 100$$

[0121] PMA通过直接的蛋白质激酶C(PKC)刺激诱导CCK。加入到STC-1细胞中的每种大豆蛋白水解产物的蛋白终浓度为大约2mg/mL。大豆水解产物诱导STC-1细胞释放CCK的相对能力取决于酶和水解度。

[0122] 实验实施例1. 包含大豆蛋白水解产物的块状加工食品

[0123] 在该实验实施例中,使用下表2中列出的成分生产包含蛋白材料和糖浆的块状加工食品样品。

[0124] 为了获取块状加工食品,在Hobart搅拌机(N50 5-Quart Mixer, Legacy® Countertop Mixer, Legacy® Floor Mixer, Hobart Corporation, Tory, OH)中制备第一混合物。在碗中混合糖型糖浆、结晶糖、甘油、液体油、液体内容物、胶、和天然的或人造的调味剂。在速度设置2下混合浆液混合物1分钟。用刮刀刮碗,使得碗边是干净的。

[0125] 在混合浆液1分钟后,在混合碗中加入大豆分离蛋白、大豆蛋白水解产物、和颗粒内容物。在速度设置1下混合混合物1分钟。用刮刀刮碗直到碗边是干净的。在速度设置1下再混合30秒。然后将所得生面团切成块,并且将块状物切成重约20克至约70克的小块。

[0126] 表2. 基本食品巴配方

[0127]

成分	范围 (克)
糖型糖浆	10-40%
结晶糖	2-10%
甘油	1-10%
液体油	1-10%
液体内容物	
胶	0.1-5%
天然的或人造的调味剂	0.01-3%
大豆分离蛋白	1-40%

[0128]

大豆蛋白水解产物	1-40%
颗粒内容物	1-10%
总计	

[0129] 实验实施例 2. 包含大豆蛋白水解产物的酸性饮料

[0130] 根据本发明制备酸性饮料。将 130.0 份大豆蛋白成分和 8539 份去离子水加入到器皿中。在高剪切下混合内容物直至分散均匀。然后将分散体加热至 74°C 到 79°C (165 °F 到 175 °F), 并且再混合 10 分钟。然后混合加入 1180 份高果糖玉米糖浆、131 份苹果汁浓缩物 (68Brix) 和 20.0 份无水柠檬酸。用 85% 的柠檬酸将 pH 调节至 3.8-4.0。第一阶段在 2500 磅每平方英寸, 第二阶段在 500 磅每平方英寸下匀化内容物, 随后在 107°C 巴氏灭菌 7 秒钟。瓶用饮料在高温下填充, 然后置于冰浴中以使饮料温度达到室温并置于冰箱中。

[0131] 实验实施例 3. 包含大豆蛋白水解产物的干混物

[0132] 以下实验实施例示出制备包含本发明蛋白和下表 3 列出组分的干混物。

[0133] 表 3

[0134]

组分	重量份	每份克数
大豆蛋白水解产物	56.85	16.89
果糖	20.23	6.01
蔗糖	20.22	6.01
干奶油提取物	1.01	0.30

冰淇淋香草调味剂	1.35	0.40
氯化钠	<u>0.34</u>	<u>0.10</u>
总计	100.00	29.71

[0135] 将成分加入到器皿中并混合形成干混物。

[0136] 实验实施例 4- 包含如实验实施例 3 所述制备的干混物的饮料

[0137] 将如实验实施例 3 所述制备的干混物加入到液体中制备即饮型饮料。加入顺序不重要。

[0138] 在即饮型饮料内,存在的液体按总组合物重量计为约 85%至约 95%,并且即饮型饮料的 pH 为约 6.8 至约 7.4。

[0139] 实验实施例 4 是具有创造性的即饮型饮料,通过将实验实施例 3 的 29.71 克产品加入到 240mL 脱脂乳中进行制备。混合内容物 30 秒。

[0140] 实验实施例 5- 包含如实验实施例 3 所述制备的干混物的饮料

[0141] 将如实验实施例 3 所述制备的干混物加入到液体中制备即饮型饮料。加入顺序不重要。

[0142] 在即饮型饮料内,存在的液体按总组合物重量计为约 85%至约 95%,并且即饮型饮料的 pH 为约 6.8 至约 7.4。

[0143] 实验实施例 5 是具有创造性的即饮型饮料,通过将实验实施例 3 的 29.71 克产品加入到 240mL 水中进行制备。混合内容物 30 秒。

[0144] 实验实施例 6 包含大豆蛋白水解产物的未调味低脂豆浆

[0145] 份重量 :8.5g 蛋白质 /250g。

[0146] 表 4 低脂肪豆浆的配方

[0147]

成分	%配方
蒸馏水	89.4
柠檬酸钾	0.25
大豆蛋白水解产物*	3.8-4.2
麦芽糖糊精	4-4.4
糖	1.4
高油酸向日葵油	0.72
角叉菜胶	0.03

[0148] *根据蛋白质含量按原样调节配方中使用的大豆蛋白水解产物的百分比

[0149] 在 60°C (140°F) 水中分散柠檬酸盐。提高混合速度并将蛋白分散到水中。在蛋白

质完全分散后将浆液温度提高至 75°C (167 °F)，降低混合速度并继续混合 10 分钟。预混麦芽糖糊精、糖和角叉菜胶，加入到蛋白浆液中并在低速继续混合 5 分钟。将向日葵油加入到浆液中并在低速继续混合大约 3 分钟直至均匀。使用 45% 氢氧化钾将浆液 pH 调节至介于 7.0 和 7.2 之间。方法如下：均化、巴氏灭菌并冷却。将产品加热至 72°C (162 °F) 并在第二阶段 750psi；第一阶段 2250psi 下匀化。将浆液预热至 100°C (212 °F) 并在 141°C (286 °F) 下 UHT 6 秒。将产品冷却至 31°C (88 °F) 并包装在灭菌瓶中。贮存在冰箱中。

[0150] 实验实施例 7 包含 50% 大豆蛋白水解产物和 50% 脱脂乳的未调味饮料。

[0151] 份重量 :8g 蛋白质 /260g

[0152] 表 5 未调味饮料配方

[0153]

成分	% 配方
蒸馏水	43.9
大豆蛋白水解产物*	1.71-1.9
脱脂乳	50
麦芽糖糊精	1.95-2.12
糖	1.0
高油酸向日葵油	0.84
无水柠檬酸钠	0.05
磷酸氢镁	0.038
纤维素凝胶	0.25
角叉菜胶	0.02
维生素 / 矿物质预混物	0.006

[0154] * 根据蛋白质含量原样调节配方中使用的大豆蛋白水解产物的百分比

[0155] 使用中速混合在 15°C (59 °F) 下将柠檬酸盐全分散在去离子水中。在水中分散 SUPRO® Plus。在分散所有小块后，将浆液加热至 77°C (170 °F) 并在低速继续混合 10 分钟。干混麦芽糖糊精、糖、维生素预混物、磷酸镁、纤维素和角叉菜胶。将干混物加入到蛋白浆液中并继续混合 5 分钟。加入向日葵油并继续混合 3 分钟。测量浆液 pH，如需要的话用 50% 柠檬酸溶液或 1N NaOH 将 pH 调节至 pH 6.9 到 7.1。缓慢加热脱脂乳至 72°C (162 °F) 并加入蛋白浆液以加热脱脂乳。加入调味剂并混合直至完全掺入浆液。缓慢共混 3 分钟并记录最终浆液 pH。方法如下：将产品加热至 72°C (162 °F) 并在第二阶段 750psi、第一阶段 2250psi 下匀化。将浆液预热至 104°C (220 °F) 并在 141°C (286 °F) 下 UHT 6 秒。将产品冷却至 31°C (88 °F) 并包装。贮存在冰箱中。

[0156] 实验实施例 7 包含酪蛋白酸钙和脱脂干乳 (NFDM) 以及大豆蛋白水解产物作为蛋白质来源的香草味体重控制饮料

[0157] 份重量:10g 蛋白质 /11 盎司

[0158] 表 6 香草味体重控制饮料配方

[0159]

成分	%配方	
	所有乳蛋白	大豆包含 20%酪蛋白酸钙取代
蒸馏水	82.4	82.5
大豆蛋白水解产物	0.0000	0.68-0.71
NFDM	6.39	6.39
蔗糖	7.0	7.0
阿拉伯树胶	1.31	1.31
酪蛋白酸钙 (85.5%)	0.68	0
纤维素凝胶	0.35	0.35
卡诺拉油	0.77	0.74
柠檬酸钾	0.14	0.13
柠檬酸钠	0.05	0.04
卵磷脂	0.07	0.07
角叉菜胶	0.04	0.04
碳酸钙	0.06	0.03
碳酸镁	0	0.02
磷酸氢镁	0.25	0.21
维生素预混物	0.07	0.07
香草调味剂	0.40	0.40

[0160] 如下制备预混物:将角叉菜胶和纤维素与小部分代乳品蔗糖混合。将阿拉伯树胶和剩余的蔗糖混合。混合卡诺拉油。

[0161] 然后共混:使用高剪切混合将柠檬酸钾和柠檬酸钠加入到水中。然后分散预混的角叉菜胶和纤维素。混合 5 分钟。分散大豆蛋白、酪蛋白酸钙和 NFDM 并开始加热至 65°C (150 °F)。水化 15 分钟,在达到 65°C (150 °F) 后降低混合速度。将卡诺拉油 / 乳化剂共混物加热至约 70°C (158 °F) 以溶解乳化剂,这可能需要一些混合。然后将热油混合加入到分批罐中,共混 5 分钟,泡沫将分散。加入蔗糖 / 阿拉伯树胶共混物、碳酸钙、磷酸镁、碳酸镁和维生素预混物,混合 10 分钟。加入香草调味剂并用 45% KOH 将 pH 调节至 7.0-7.2。UHT 286F/6 秒,2500/500psi

[0162] 实验实施例 8 包含大豆蛋白水解产物的干混饮料功能饮料。

[0163] 表 7 干混功能饮料配方

[0164]

成分	%配方
大豆蛋白水解产物	16.2-16.9
乳清分离蛋白 (92.7%蛋白质,按原样)	15.81
糖	3.25
果糖	3.25
可可	3.00
脂肪粉末	1.40
黄原胶	0.40
维生素预混物,	0.06
三氯蔗糖	0.04
增甜剂,	0.30
巧克力调味剂	0.65
奶油	0.20
总计	44.8-45.3

[0165] 清洁消毒搅拌器。筛滤大豆蛋白和可可粉。中速混合所有成分 15 分钟。在清洁容器中贮存干粉。

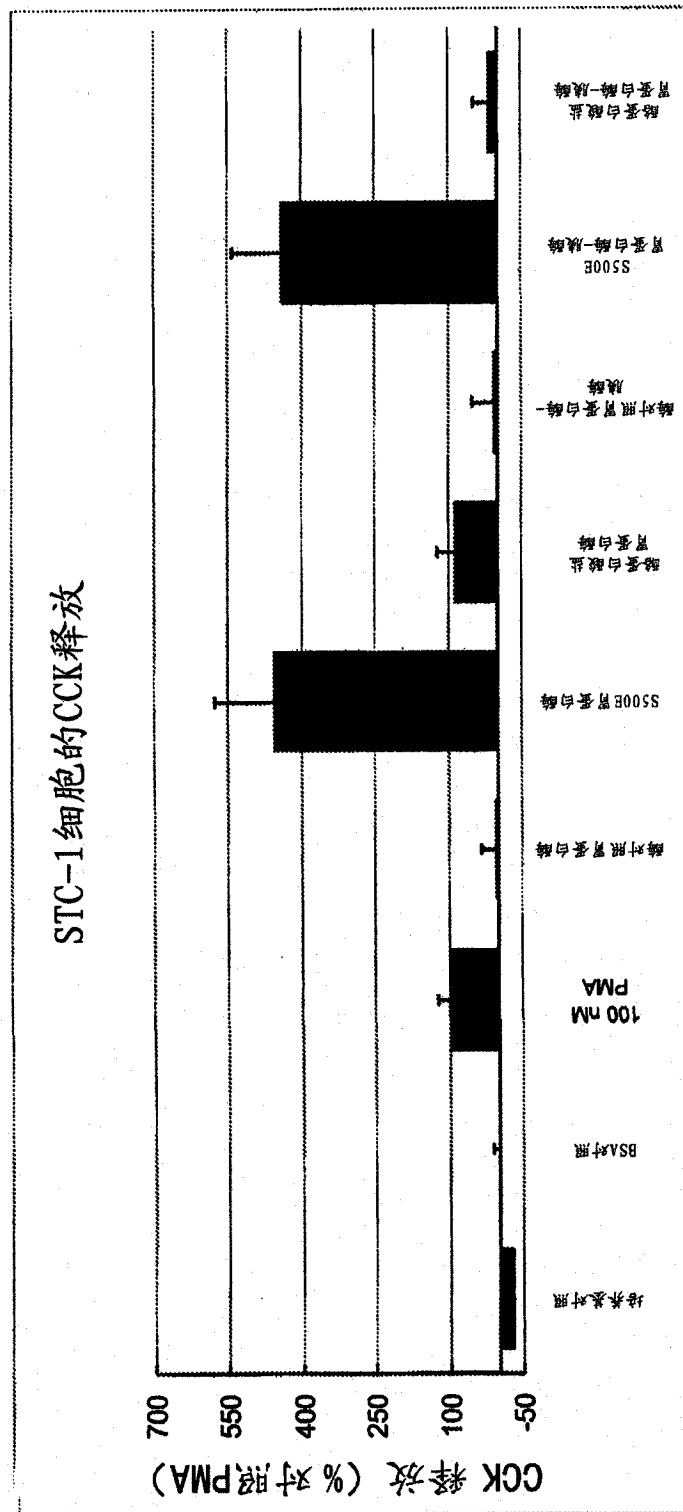


图 1

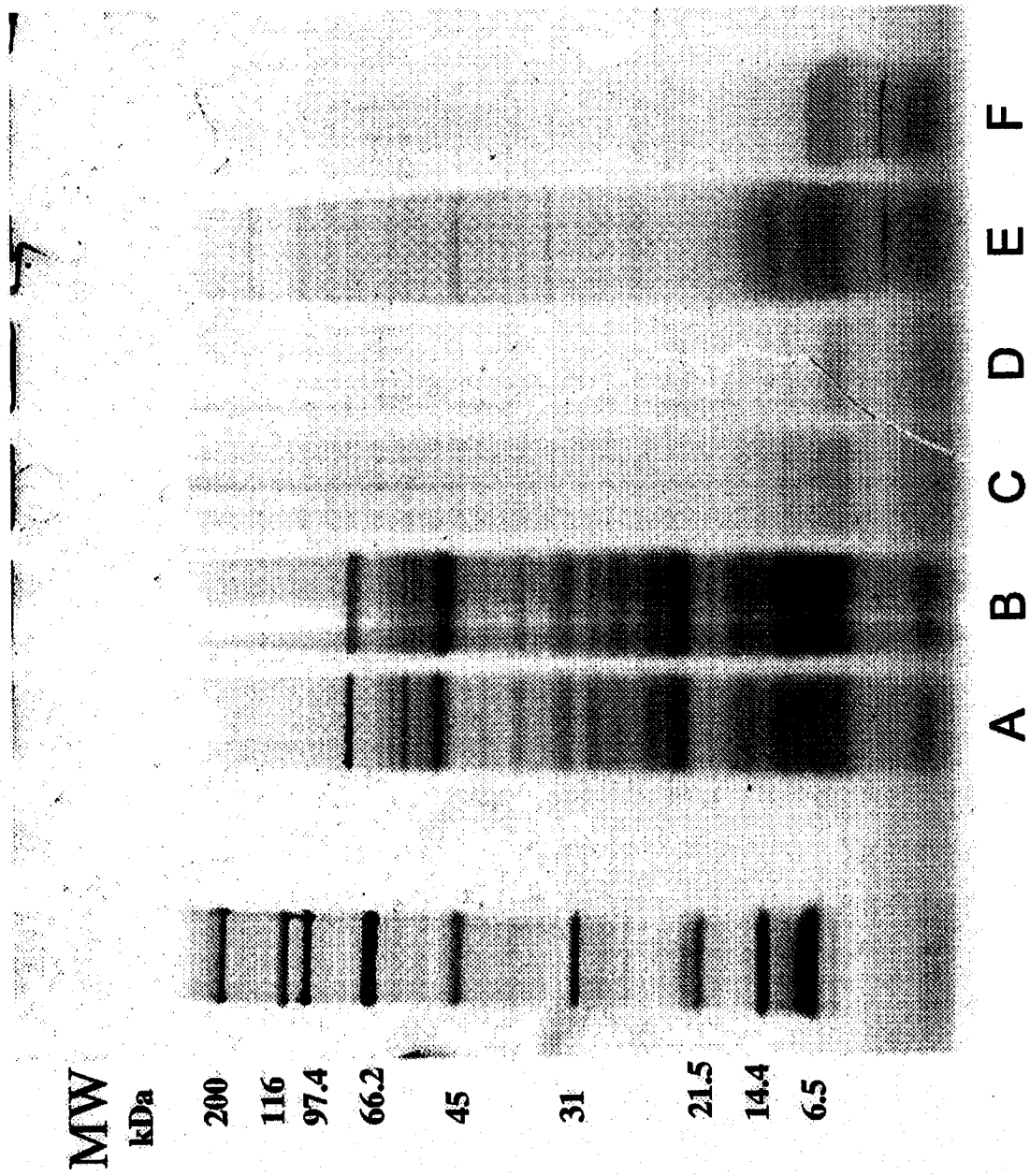


图 2

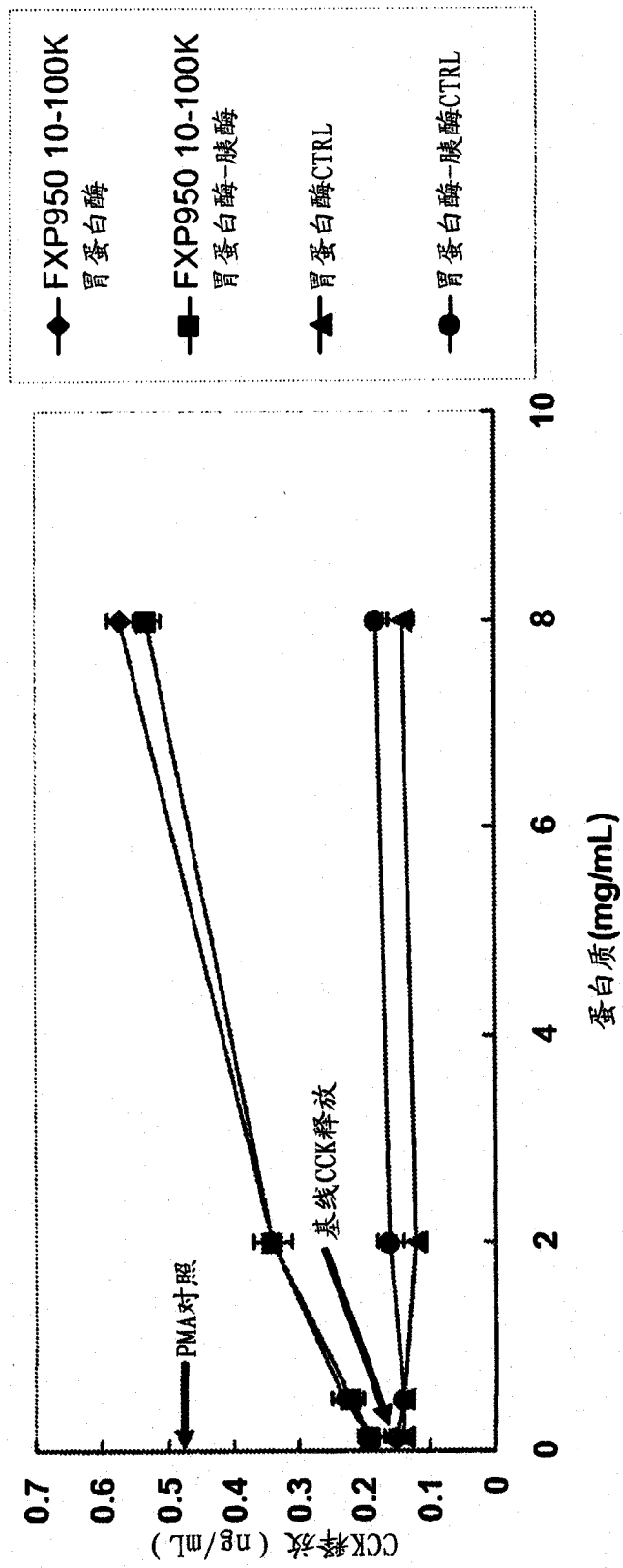


图 3

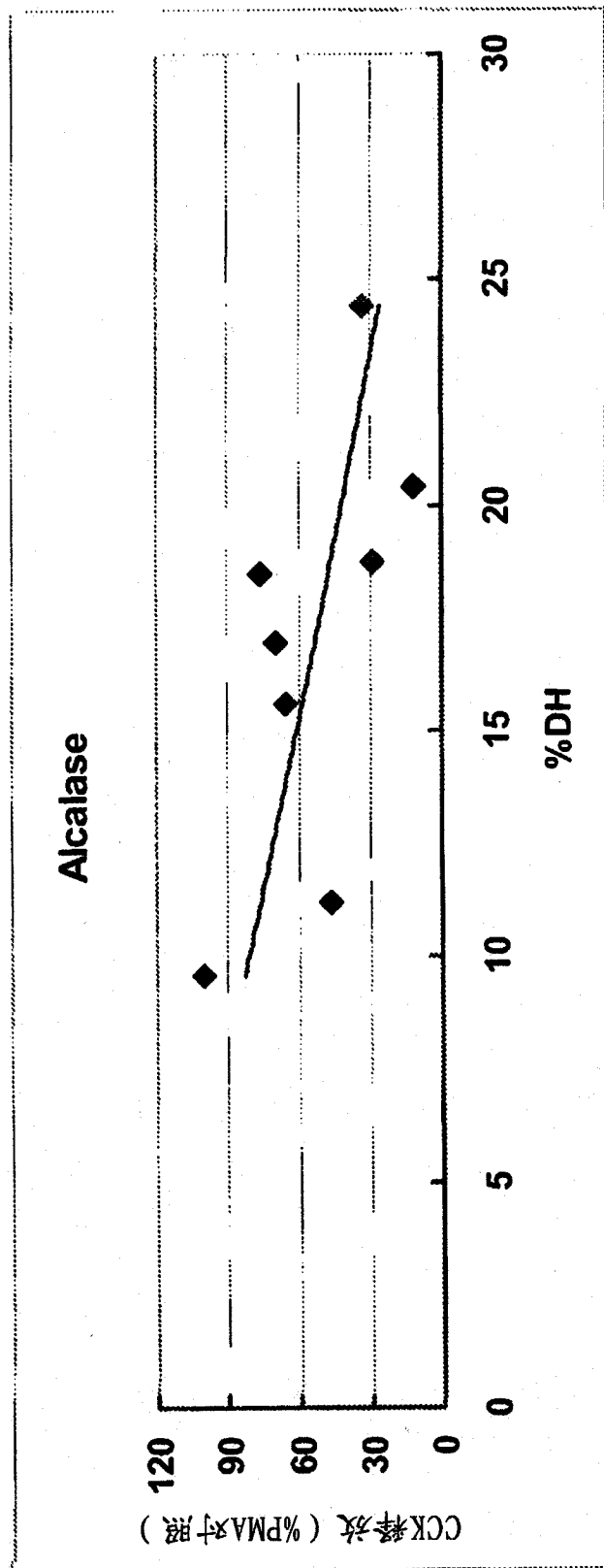


图 4A

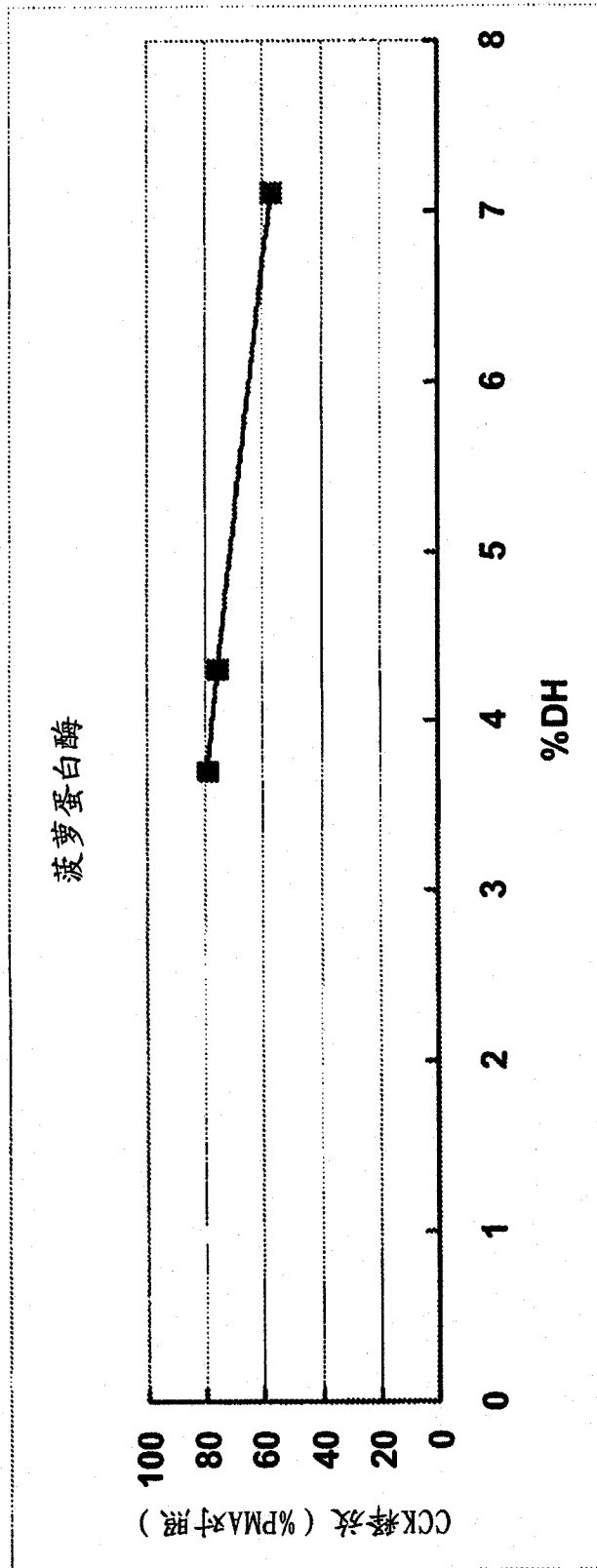


图 4B

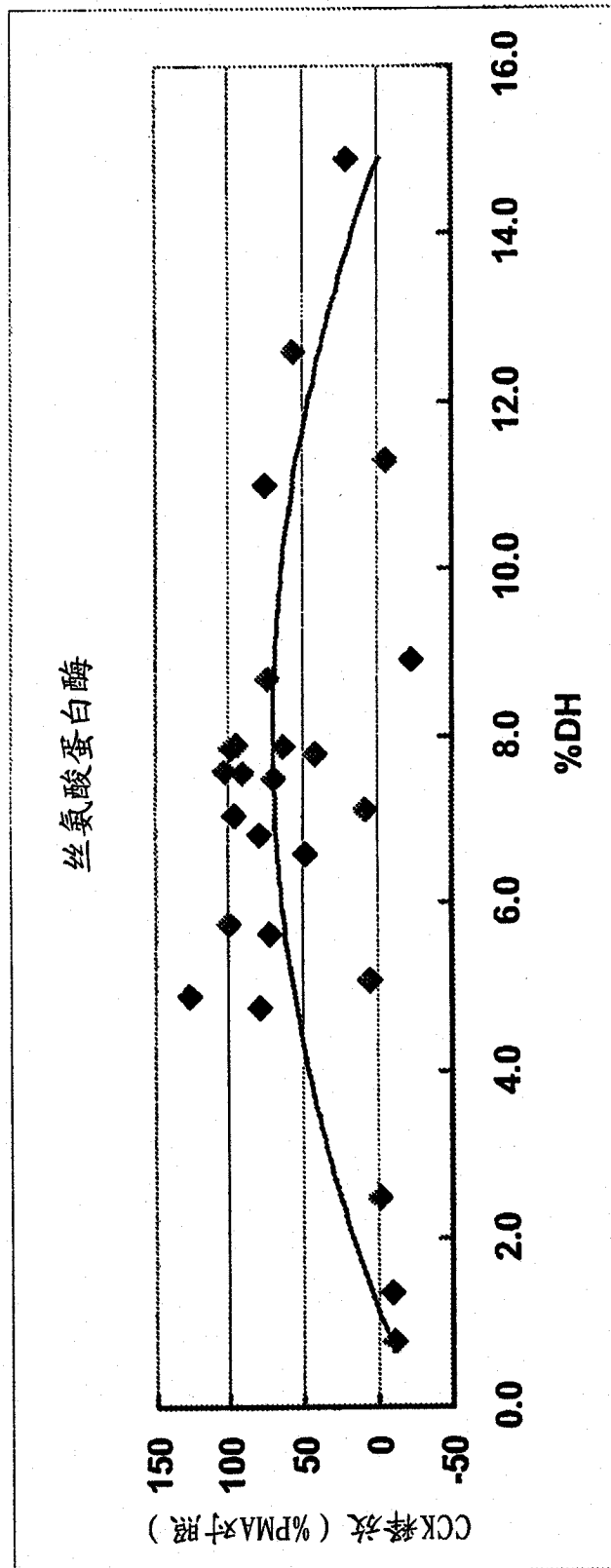


图 4C

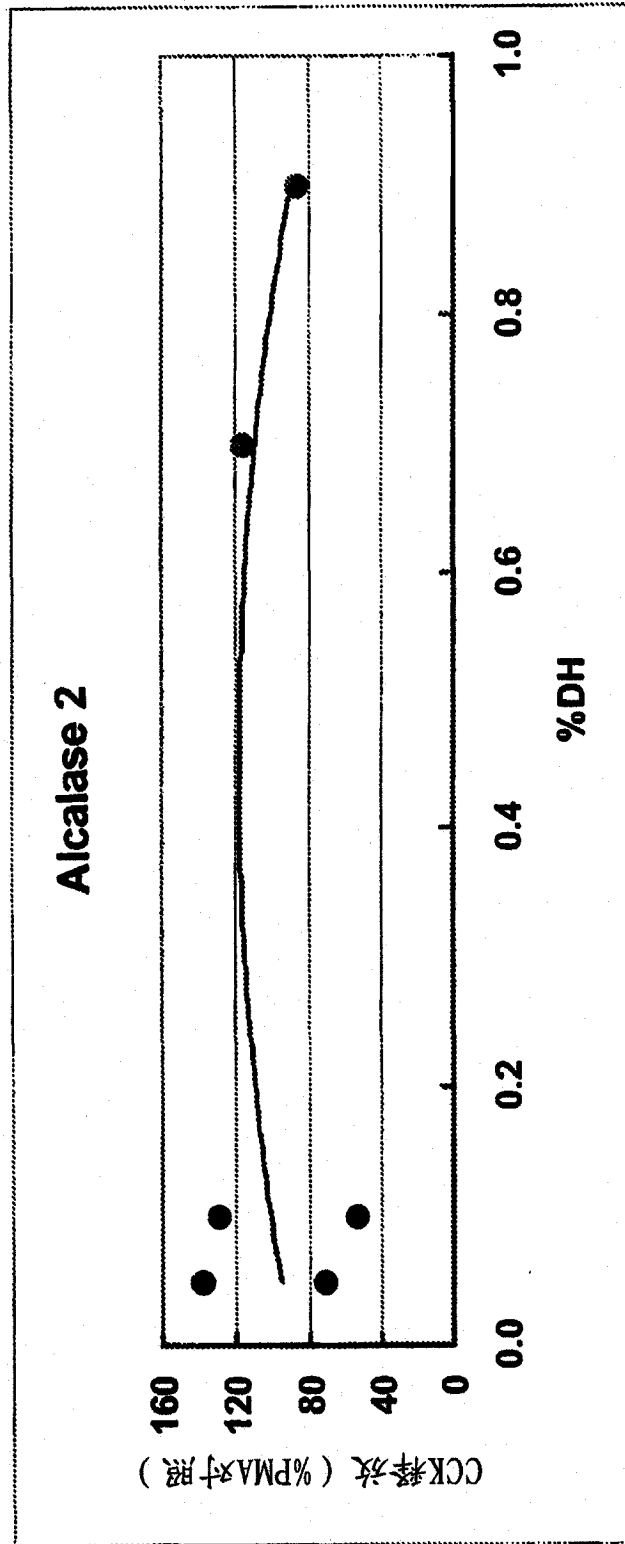


图 4D

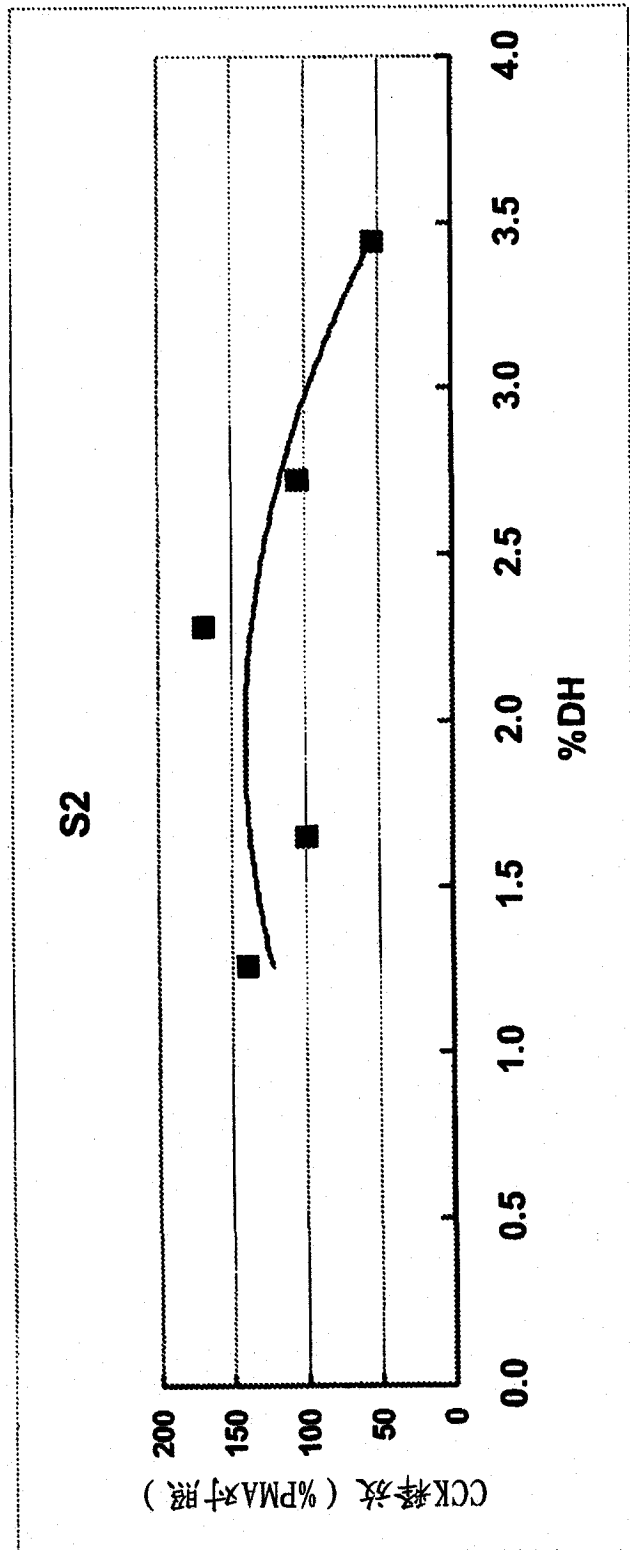


图 4E

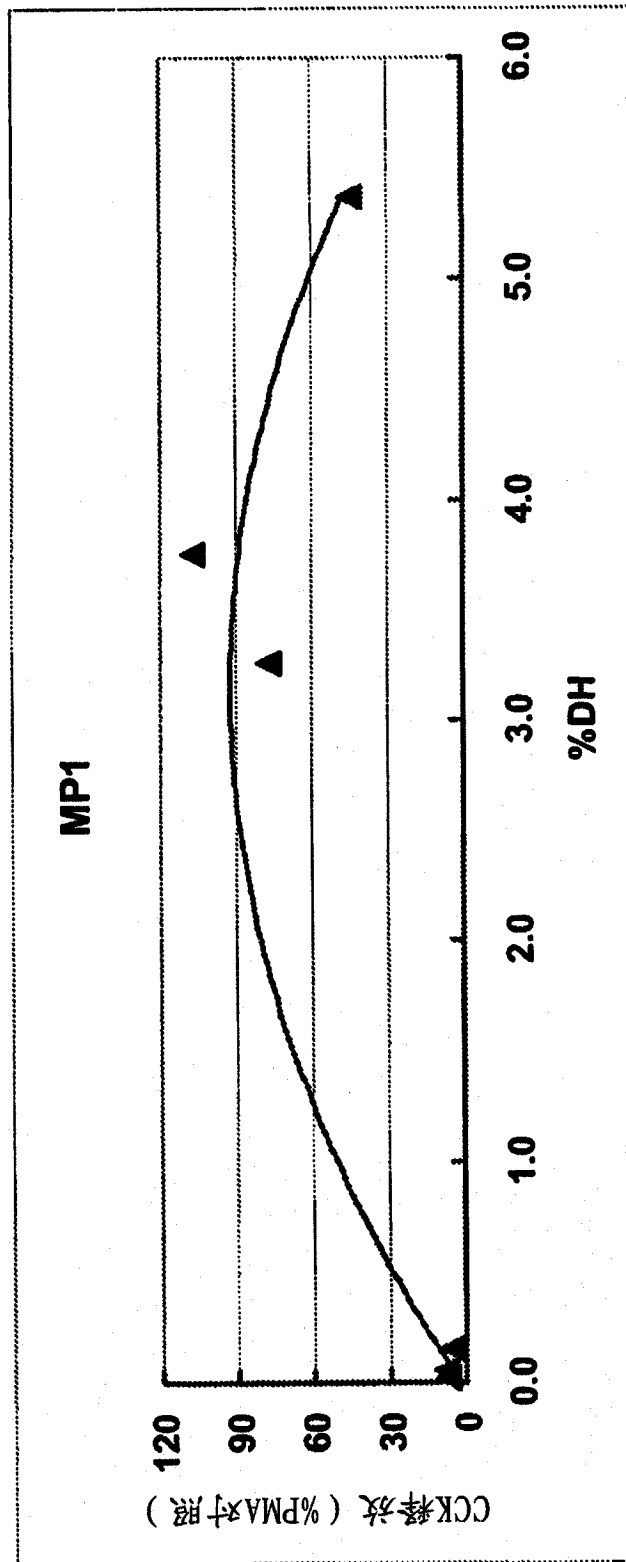


图 4F

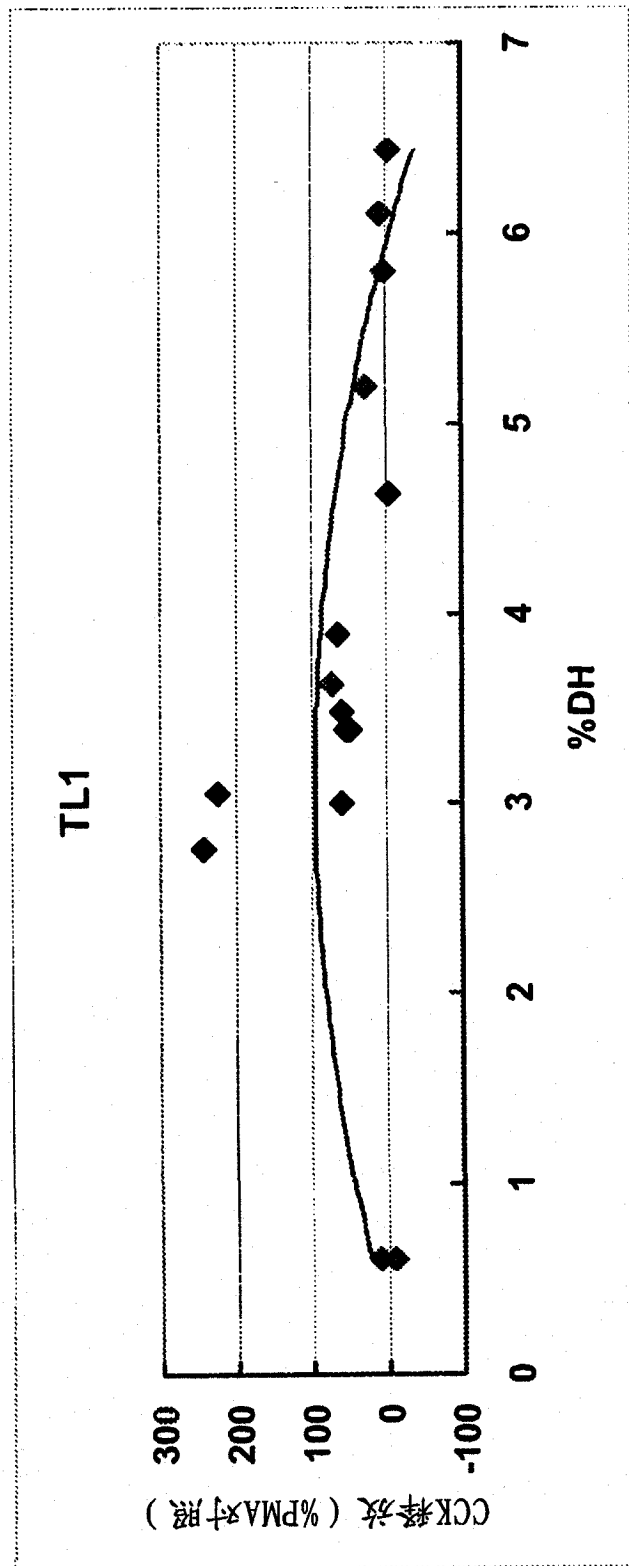


图 4G

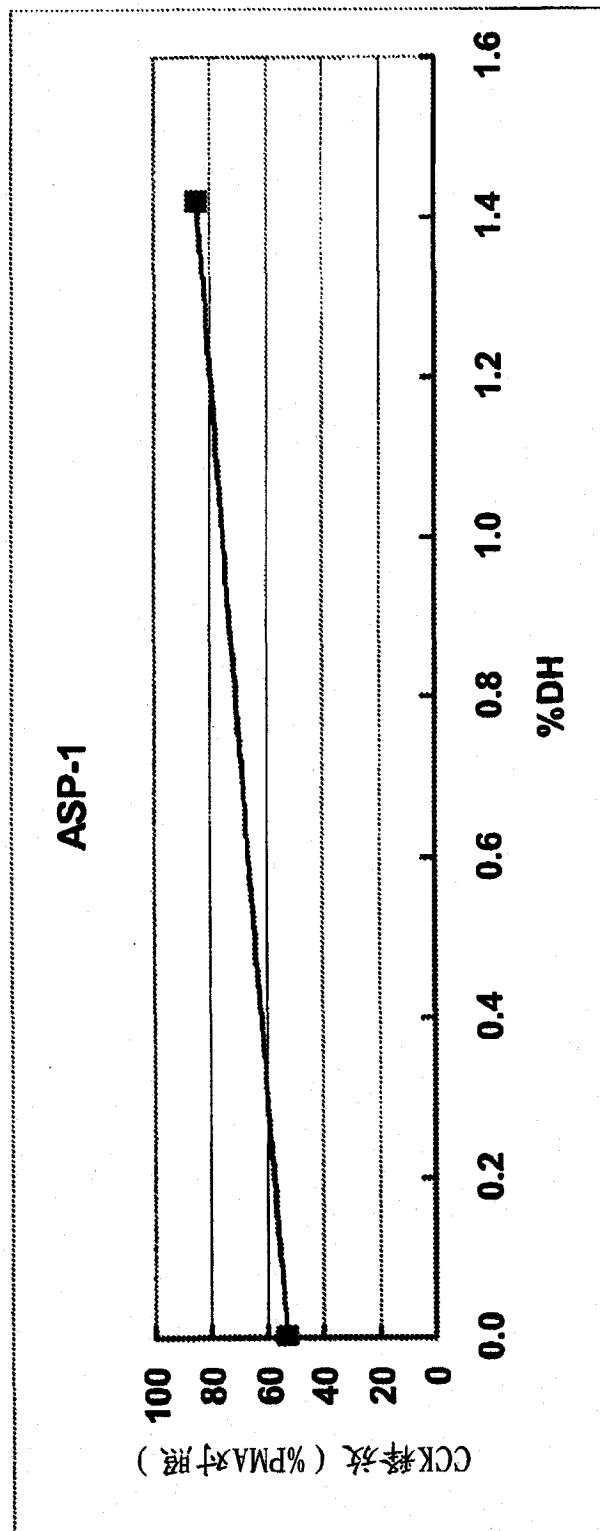


图 4H