



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105558259 B

(45)授权公告日 2019.06.14

(21)申请号 201510930860.X

A23J 3/34(2006.01)

(22)申请日 2015.12.15

A23K 20/147(2016.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105558259 A

(56)对比文件

CN 102204620 A,2011.10.05,

CN 104522292 A,2015.04.22,

CN 103168912 A,2013.06.26,

(43)申请公布日 2016.05.11

平野淳也等.阿玛诺天野酶制剂商贸(上海)有限公司新产品新技术发布会.《中国食品添加剂》.2012,第227-228页.

(73)专利权人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市蠡湖大道1800号

审查员 赵立立

(72)发明人 周惠明 刘伯业 朱科学 郭晓娜 彭伟

(74)专利代理机构 南京利丰知识产权代理事务所(特殊普通合伙) 32256

代理人 王锋

(51)Int.Cl.

A23J 3/18(2006.01)

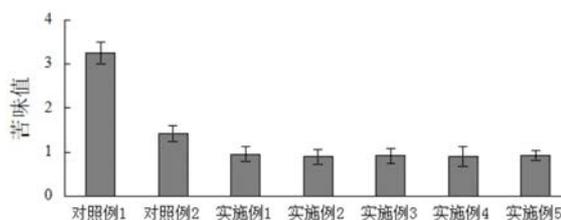
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法

(57)摘要

本发明公开了一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其包括:将小麦面筋蛋白加入水中形成悬浮液,之后依次进行酶解、高温灭酶、脱酰胺处理,再取所获物料以7000r/min以上的转速进行高速离心处理,并将收集的上清液进行喷雾干燥,获得所述低苦味肽粉;所述酶解处理过程中采用的酶包括ProteAX酶,所述脱酰胺处理中采用的酶包括Glutaminase SD-C100S酶。本发明工艺原料来源广泛,且无需采用其它吸附、过滤、添加掩蔽剂等脱苦措施,生产成本较低,必需氨基酸保留率高,营养性强,尤其适用于生产幼龄动物适用的优质饲料。



1. 一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其特征在于包括:将小麦面筋蛋白加入水中,升温至50~60℃,并将形成的悬浮液持续搅拌0.5~1h,之后依次进行酶解、高温灭酶、脱酰胺处理,再取所获物料以7000 r/min~7500 r/min的转速进行离心处理10~15min,并将收集的上清液进行喷雾干燥,获得低苦味肽粉;

所述酶解处理包括:向所述悬浮液内加水至料液比为1:10~20,待温度为45~55℃时,加入 ProteAX酶,ProteAX酶与小麦面筋蛋白的质量比为1.5~2.5%:1,在恒温条件下维持反应体系的pH值=6.5~7.0,酶解270~330min,之后于90~95℃灭酶10~15min;

所述脱酰胺处理包括:将经酶解处理后的酶解液冷却至65℃,并调节酶解液的pH值=6.0~7.0,随后加入GlutaminaseSD-C100S酶,GlutaminaseSD-C100S酶与小麦面筋蛋白的质量比为3~4%:1,保持温度在60~70℃,酶解120~180min;

所述低苦味肽粉中游离氨基酸含量以干基计<25%,分子量分布区间在180~500Da之间的小肽含量以干基计>50%,苦味值<1.0。

2. 根据权利要求1所述的酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其特征在于:所述 ProteAX酶和GlutaminaseSD-C100S酶选自市售食品级蛋白酶。

3. 根据权利要求1所述的酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其特征在于:所述低苦味肽粉较之所述小麦面筋蛋白的蛋白回收利用率>80%。

酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法

技术领域

[0001] 本发明具体涉及一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,属于生物工程技术领域。

背景技术

[0002] 小麦面筋蛋白(俗称谷朊粉)是小麦淀粉生产过程中的副产品,主要用于食品和饲料工业,是一种自然资源丰富、物美价廉、食用安全,同时也是自然界中结构相对复杂的一类纯天然植物蛋白。采用小麦面筋蛋白的改性技术,拓宽了小麦面筋蛋白的应用范围,例如食品领域及非食品领域,发挥了小麦面筋蛋白应有的作用。通过酶法水解小麦面筋蛋白制备肽粉生产功能性添加剂,符合现代食品生物工业的发展要求,具有广阔的应用前景。研究发现植物蛋白酶解物及其生物活性肽类物质,不仅能作为氨基酸供体,也是一类生理调节剂,在体内不仅具有优良的消化吸收性能,且在体内参与机体免疫调节、降血压、促进矿物质吸收、抗血栓等。不同种类的生物活性肽包含的氨基酸数量不同,大多数已知的生物活性肽是由低分子量小肽(2~6个氨基酸)构成(参阅Journal of proteomics,88:83-91,2013.),根据氨基酸种类和排列顺序的不同,其生物活性及在体内发挥生理作用不同。研究表明:与游离氨基酸相比较,小肽在转运、吸收、利用率及其他生理作用上都具有优越性(参阅Journal of Animal Science,86(9):2135-2155,2008.)。小肽的营养功效已被越来越多的人认可、接受和利用,随着小肽营养研究的进一步深入,小肽将会在促进饲料工业和养殖业的发展、制造绿色食品、维护人类健康等方面起到深远的影响。在现代化工业生产中,蛋白质水解产物比天然蛋白质具有更优越的加工性质和独特的营养特性,但是在蛋白质水解过程中,水解度较低会造成小肽含量不高,水解度较高会使肽类产品具有令人难以接受的苦味,这使其在食品中的应用受到了极大的限制。为得到口感和风味俱佳的多肽产品,人们在科学研究和生产实践中有针对性地提出了消除和降低蛋白酶解产物苦味的物理及化学技术,但是物理、化学脱苦方法虽然脱苦效果显著,但会使产品产生价格昂贵、蛋白氮源损失率高、效果不稳定、必需氨基酸含量低等问题。研究表面:酶法脱苦克服了上述难题,且反应条件温和,因此在小肽的开发应用方面有很大的发展空间。酶法脱苦一般是采用端解酶(氨肽酶和羧肽酶)降低多肽的链长、消除多肽C~末端的疏水性氨基酸或N~首段的碱性氨基酸,从而降低肽粉苦味(参阅Journal of industrial microbiology&biotechnology,35(1):41-47,2008.Industrial Microbiology and Biotechnology,32(10):487-489,2005.)。

[0003] 小麦面筋蛋白含有高比例的疏水性氨基酸,采用碱性蛋白酶达到较高的水解度,可以保证小肽的有效含量,但是使用碱性蛋白酶会造成多肽C~末端含有较高比例的疏水性氨基酸,使苦味值高;采用端解酶脱苦,可以降低肽粉苦味,但操作过程中,需要添加大量的碱液,酸碱中和又会造成盐分过高。另外,小麦面筋蛋白中含有大量的脯氨酸,多肽中碱性氨基酸与脯氨酸毗邻这种特殊氨基酸序列会产生强烈苦味,碱性蛋白酶的酶切位点不包括碱性氨基酸残基的肽键,苦味肽尚存,所以采用端解酶脱苦,也不能达到理想的目标,市

场上其它常见的食品级蛋白酶(中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、风味蛋白酶)水解度较低,不能保证小肽的有效含量。

发明内容

[0004] 本发明的主要目的在于提供一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,以克服现有技术的不足。

[0005] 为实现前述发明目的,本发明采用的技术方案包括:

[0006] 本发明的实施例中提供了一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其包括:将小麦面筋蛋白加入水中形成悬浮液,之后依次进行酶解、高温灭酶、脱酰胺处理,再取所获物料以7000r/min以上的转速进行高速离心处理,并将收集的上清液进行喷雾干燥,获得所述低苦味肽粉;

[0007] 所述酶解处理过程中采用的酶包括ProteAX酶,所述脱酰胺处理中采用的酶包括Glutaminase SD-C100S酶。

[0008] 进一步的,所述的酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法包括:将小麦面筋蛋白加入水中,升温至50-60℃,并将形成的悬浮液持续搅拌0.5~1h。

[0009] 优选的,所述高速离心处理包括:以7000~7500r/min的转速离心10-15min,之后收集所述的上清液。

[0010] 优选的,所述酶解处理包括:向所述悬浮液内加水至料液比为1:10~20,待温度为45~55℃时,加入ProteAX酶,在恒温条件下维持反应体系的pH值=6.5~7.0,酶解270~330min,之后于90-95℃灭酶10~15min。

[0011] 优选的,所述ProteAX酶与小麦面筋蛋白的质量比为1.5~2.5%:1。

[0012] 优选的,所述脱酰胺处理包括:将经酶解处理后的酶解液冷却至65℃,并调节酶解液的pH值=6.0~7.0,随后加入Glutaminase SD-C100S酶,保持温度在60~70℃,酶解120~180min。

[0013] 优选的,所述Glutaminase SD-C100S酶与小麦面筋蛋白的质量比为3~4%:1。

[0014] 进一步的,所述ProteAX酶和Glutaminase SD-C100S酶选自市售食品级蛋白酶。

[0015] 进一步的,在所述酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法中,可以通过HCl、NaOH等调节物料体系的酸碱度。

[0016] 进一步的,所述低苦味肽粉中游离氨基酸含量以干基计<25%,分子量分布区间在180~500Da之间的小肽含量以干基计>50%,苦味值<1.0。

[0017] 进一步的,所述低苦味肽粉较之所述小麦面筋蛋白的蛋白回收利用率>80%。

[0018] 与现有技术相比,本发明的优点包括:

[0019] (1) 本发明工艺采用的原料系小麦面筋蛋白,其属于纯天然植物蛋白,来源丰富、物美价廉、食用安全,同时,采用的ProteAX酶兼具蛋白内切和外切活性,水解位点广泛,可以有效的制备含有较高比例小肽的肽粉,特别是ProteAX酶在深度水解小麦面筋蛋白过程中,与碱性蛋白酶相比,在同等水解度下,所需添加的NaOH量明显减少,降低肽粉盐分;

[0020] (2) 本发明工艺采用的ProteAX酶水解精氨酸和赖氨酸的羧基末端,避免了小肽中碱性氨基酸与脯氨酸的毗邻,有针对性的解决了这种特殊氨基酸序列产生的强烈苦味,同时,本发明工艺还生成了大量游离谷氨酸,与钠离子结合生成谷氨酸钠,提高产品的鲜味的

同时,发挥了增鲜抑苦的特效,进一步降低了肽粉的苦味。

[0021] (3) 本发明无需采用其它吸附、过滤、添加掩蔽剂等脱苦措施,生产成本较低,必需氨基酸保留率高,营养性强,特别适用于生产幼龄动物适用的优质饲料。

附图说明

[0022] 图1是本发明对照例1~2和实施例1~5中生成肽粉苦味值分布柱状图。

具体实施方式

[0023] 鉴于现有技术中的不足,本案发明人经长期研究和大量实践,得以提出本发明的技术方案。如下将对该技术方案、其实施过程及原理等作进一步的解释说明。

[0024] 本发明的一个方面的一些实施例提供了一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法,其包括:以小麦面筋蛋白为原料,经过预处理、酶解、高温灭酶、脱酰胺处理后,7000~7500r/min转速下离心约10~15min,收集的上清液再经喷雾干燥即得富含小肽的小麦面筋蛋白低苦味肽粉。

[0025] 进一步的,所述预处理过程为将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至约50~60℃,搅拌悬浮液0.5~1h以增溶。

[0026] 进一步的,所述酶解过程为加水补足至料液比1:10~20,待温度为45~55℃时,加入ProteAX酶,恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH值=6.5~7.0,酶解270~330min,90~95℃灭酶10~15min。

[0027] 进一步的,所述脱酰胺过程为待温度冷却至约65℃时,用HCl或NaOH等调节灭酶后酶解液pH值=6.0~7.0,随后加入Glutaminase SD-C100S酶,保持温度在60~70℃,酶解120~180min。

[0028] 进一步的,所述ProteAX酶和Glutaminase SD-C100S酶可选自市售的食品级蛋白酶。

[0029] 进一步的,所述的ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算)的添加量为1.5~2.5%。

[0030] 进一步的,所述的Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算)的添加量为3~4%。

[0031] 本发明的另一个方面的一些实施例提供了一种富含小肽的小麦面筋蛋白低苦味肽粉,其中蛋白回收利用率>80%,游离氨基酸含量(以干基计%)<25%,分子量分布区间在180~500Da之间的小肽含量(以干基计%)>50%,苦味值<1.0。

[0032] 本发明提出的一种酶解小麦面筋蛋白制备低苦味肽粉的方法采用的ProteAX酶酶解位点广泛,包括谷氨酰胺、精氨酸和赖氨酸残基的肽键,避免了多肽中碱性氨基酸与脯氨酸毗邻这种特殊氨基酸序列产生的强烈苦味。同时酶解液产物中大量的游离谷氨酰胺在Glutaminase SD-C100S酶的脱酰胺作用下,转化为游离谷氨酸。游离谷氨酸与钠离子的结合提高了肽粉的鲜味,发挥了增鲜抑苦的特效,进一步降低了肽粉的苦味。

[0033] 以下结合实施例及对照例对本发明的技术方案作出进一步的解释说明。

[0034] 实施例1:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至60℃,搅拌1h以增溶,加水补足至料液比1:10,待温度为55℃时,加入2.5%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水

浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解330min,95℃灭酶15min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.0,随后加入4%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在70℃,酶解180min,酶解反应结束后,7500r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉,经包装即得到富含小肽的小麦面筋蛋白低苦肽粉。

[0035] 实施例2:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至55℃,搅拌1h以增溶,加水补足至料液比1:15,待温度为50℃时,加入2%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解300min,90℃灭酶15min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.5,随后加入3.5%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在65℃,酶解150min,酶解反应结束后,7300r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉,经包装即得到富含小肽的小麦面筋蛋白低苦肽粉。

[0036] 实施例3:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至50℃,搅拌0.5h以增溶,加水补足至料液比1:20,待温度为45℃时,加入1.5%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=6.5,酶解270min,90℃灭酶10min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.0,随后加入3%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在60℃,酶解120min,酶解反应结束后,7000r/min转速下离心10min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉,经包装即得到富含小肽的小麦面筋蛋白低苦肽粉。

[0037] 实施例4:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至55℃,搅拌0.5h以增溶,加水补足至料液比1:15,待温度为50℃时,加入2%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解330min,90℃灭酶15min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.5,随后加入3.5%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在65℃,酶解150min,酶解反应结束后,7300r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉,经包装即得到富含小肽的小麦面筋蛋白低苦肽粉。

[0038] 实施例5:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至55℃,搅拌0.5h以增溶,加水补足至料液比1:15,待温度为50℃时,加入2%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解270min,90℃灭酶15min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.5,随后加入3.5%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在65℃,酶解150min,酶解反应结束后,7300r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉,经包装即得到富含小肽的小麦面筋蛋白低苦肽粉。

[0039] 对照例1:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至55℃,搅拌1h以增溶,加水补足至料液比1:15,待温度为50℃时,加入2%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解120min,90℃灭酶15min;待温度冷却至65℃时,用HCl或NaOH调节灭酶后酶解液pH=6.5,随后加入3.5%Glutaminase SD-C100S酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),保持温度在65℃,酶解150min,酶解反应结束后,7300r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉。

[0040] 对照例2:将小麦面筋蛋白加水溶解,升温至55℃,搅拌1h以增溶,加水补足至料液比1:15,待温度为50℃时,加入2%ProteAX酶(按小麦面筋蛋白物料质量计算),恒温水浴,采用NaOH溶液维持反应体系pH=7.0,酶解300min后,90℃灭酶15min;7300r/min转速下离心15min,收集上清液;将收集的上清液经喷雾干燥得小麦面筋蛋白肽粉。

[0041] 采用微量凯氏定氮GB/T5511-2008方法和大豆肽粉GB/T22492-2008中所规定的游离氨基酸含量的测定方法对上述对照例1-2和实施例1-5中小麦面筋蛋白肽粉的蛋白回收利用率、游离氨基酸含量进行检测,统计结果如表1所示。

[0042] 采用Waters 1525高效液相色谱仪(配2487紫外检测器和Empower工作站GPC软件)色谱柱为TSK gel 2000 SWXL 300 mm×7.8nm,测量对照例1-2和实施例1-5中小麦面筋蛋白肽分子量分布,吸取样品100mg左右于10mL容量瓶中,用流动相乙腈/水/三氟乙酸(10/90/0.1,v/v)定容,然后用微孔过滤膜过滤后进样,其中柱温为30℃,流速选择0.5mL/min,在220nm下检测。其中,分子量校正曲线所用标准品为:细胞色素C(MW12384),杆菌酶(MW 1422),乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸(MW 451),乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸(MW 189)。分子量在180-500Da之间的小肽含量(以干基计%)的统计结果如表1所示。

[0043] 表1对照例1~2与实施例1~5的检测结果对比

[0044]

项目名称	对照例 1	对照例 2	本发明产品				
			实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5
蛋白质回收利用率(%)	71.25%	82.44%	80.32%	82.23%	82.31%	82.29%	81.36%
游离氨基酸含量(%)	10.92%	21.07%	23.29%	20.74%	20.15%	24.78%	20.31%
小肽(180-500 Da)含量(%)	41.26%	53.18%	50.85%	53.64%	52.45%	50.19%	53.04%

[0045] 采用感官评测的方法分别给对照例1-2和实施例1-5中肽粉的苦味强度进行评分。将盐酸奎宁配制成不同浓度的溶液,以此为标准进行评分。标准溶液的浓度分别为0、 8×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 2.4×10^{-5} 、 3.2×10^{-5} 和 4×10^{-5} g/mL,对应的分值为0、1、2、3、4和5分,苦味越高,得分越高。将样品与标准溶液(小麦面筋蛋白水解物浓度1%,pH=6.5)在室温下进行对比,并按照标准分值对待测样品进行评分。感官评定小组由10位经过专业训练的风味评定员组成(年龄20~40岁,5男5女),酶解液风味的最终得分为10位感官评定员打分的平均值,统计结果如图1所示。

[0046] 应当理解,上述实施例仅为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人士能够了解本发明的内容并据以实施,并不能以此限制本发明的保护范围。凡根据本发明精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

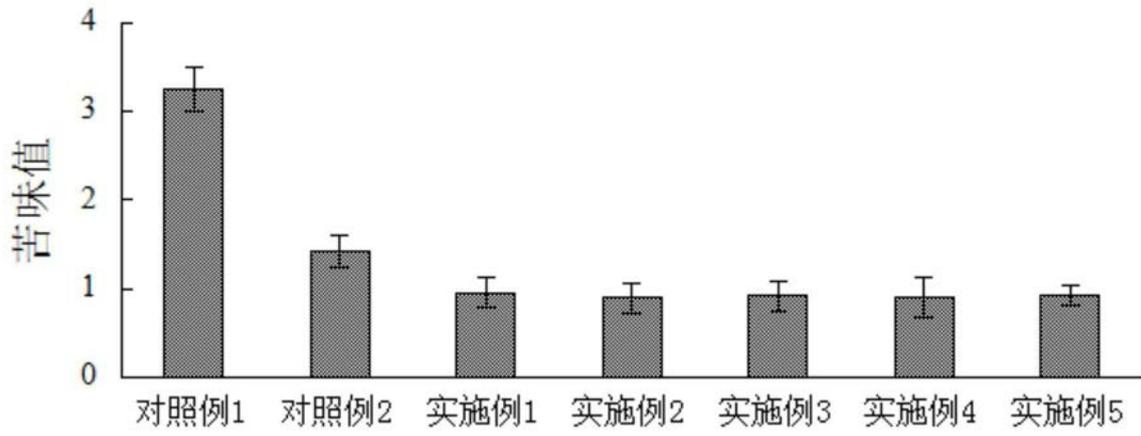


图1