

酶解南瓜籽粕制备低肽饮料的研究

刘 政

(辽宁工程技术大学 理学院, 辽宁 阜新 123000)

摘要:目前南瓜籽粕一般只被当作工业废料处理。有鉴于此,采用木瓜蛋白酶和中性蛋白酶同加的方法将南瓜籽粕蛋白酶解制备成短肽,研究以南瓜籽粕酶解物、木糖醇、柠檬酸和奶味香精为原料的低肽饮料调配工艺,以期提升南瓜籽粕的附加值。结果表明:南瓜籽粕蛋白质含量约为40%;最优酶解工艺条件为:底物质量浓度34 mg·mL⁻¹,加酶量5%,温度47℃,pH 7.5,酶解时间为3 h;饮料最优调配工艺参数为:每升样品添加0.3%柠檬酸及总质量0.010%食品级奶味香精,总质量7%的木糖醇时,口味最佳,最终产品的理化分析是蛋白质0.5%。当琼脂含量为0.030 g·L⁻¹,黄原胶含量为0.05 g·L⁻¹,羧甲基纤维素钠含量为0.07 g·L⁻¹时,理化稳定剂效果最好。制得的饮料酸甜适口,奶味纯正,具有良好的市场前景。

关键词:南瓜籽粕;酶解;低肽饮料

中图分类号:TS275.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)12-0104-04

近年来,经济发达国家由于膳食中动物性食品比重过大而出现营养过剩,引起一系列健康问题。美国人类营养需要委员会为此不得不做出一些规定并发出呼吁,认为求助于植物蛋白质是解决这类问题的主要途径。另一方面,广大发展中国家却苦于资源偏紧,人们因蛋白质摄入量不足而存在不同程度的营养不良。开发植物蛋白,提供质高价廉的蛋白质,成为解决这些国家人民营养需要的重要途径。我国同样存在此问题,一方面,与发展中国家一样受困于营养不良;另一方面,随着这些年经济高速增长,我国人民对动物性食品需求正快速增长,鉴于发达国家的教训,更由于我国耕地资源严重不足,很难提供足够的动物性食品,迫切需要开发植物蛋白以满足日益增长的食品与营养需要。次于大豆蛋白的南瓜籽粕蛋白也将成为植物蛋白中的重要产品^[1-3]。南瓜籽粕为油脂行业加工的副产品,价位低。因此开发利用南瓜籽饼粕中的蛋白质有着重要的社会意义和经济价值。近些年,人们越来越重视食物的营养及合理膳食,南瓜作为一种集方便性、纯天然性、复合营养保健性于一体的功能食品,其产品将得到进一步地开发与利用。将木糖醇与饮料结合起来顺应了时代发展的需要,满足了人们对保健、

时尚产品的追求^[4-5]。

该文在对制作南瓜籽粕低肽饮料酶解南瓜籽粕最佳工艺、南瓜籽粕低肽饮料基本配方、以及所用乳化稳定剂添加工艺进行分析试验,并用正交最佳配方进行了研究。旨在开发大众喜爱的具有功能性、保健性和营养性的南瓜籽粕低肽饮料。

1 材料与方法

1.1 试验材料及药品

南瓜脱脂籽粕由阜新振隆土特产有限公司提供。供试药剂为无水硫酸铜、硼酸、硫酸钾、氢氧化钠、碳酸钠、柠檬酸、木糖醇、黄原胶、琼脂、羧甲基纤维素钠、木瓜蛋白酶、枯草杆菌 AS1.398 中性蛋白酶、甲基蓝、甲基红、无水乙醇、浓盐酸、浓硫酸和甲醛。试验仪器有精密 pH 计、电子天平、手持糖度仪、高速粉碎机、水浴锅、恒温干燥箱、离心机和凯氏定氮仪。

1.2 主要指标的测定方法

总氮的测定采取凯氏定氮法。游离氨基氮的测定采取甲醛滴定法。水解度(DH)的计算公式为 DH=游离氨基氮/总氮,饮料调配评分指标见表1。增稠剂的评分指标见表2。

表1 饮料调配评分指标

评分标准	分值
口感柔和细腻	0~3
酸甜适中	0~4
具有奶香味无特殊异味	0~3

收稿日期:2011-07-16

作者简介:刘政(1977-),男,吉林省敦化市人,硕士,讲师,从事生物工程研究。E-mail:liuzhengworkbag@163.com。

表 2 增稠剂的评分指标

分值	18~25 分	12~18 分	6~12 分	0~6 分
稳定性	10 d 无沉淀分层	10 d 有微量沉淀	5 d 有微量沉淀	5 d 分层
粘度	适当粘度	粘度低	粘度高	粘度偏低
色泽	乳白	白色	淡黄色	黄色
口感	圆滑爽口	稍涩, 口感一般	口感较差, 发涩	发涩, 口感差

2 结果与分析

2.1 南瓜籽粕的成分

经测定,南瓜籽粕的蛋白质含量约为 40%。

2.2 酶解预处理试验结果

由图 1 可知,样品的水解度先缓慢升高再下降,在 10 min 时出现最佳值。综合考虑,90℃ 预处理条件下处理 10 min 为最佳。

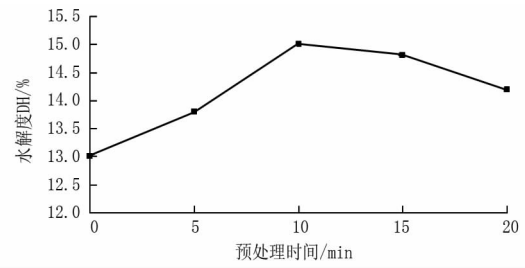


图 1 预处理时间对 DH 的影响

2.3 酶解单因素试验结果

2.3.1 底物浓度单因素试验结果分析 从图 2 可看出,在底物浓度为 32 mg·mL⁻¹之前水解度呈上升趋势。

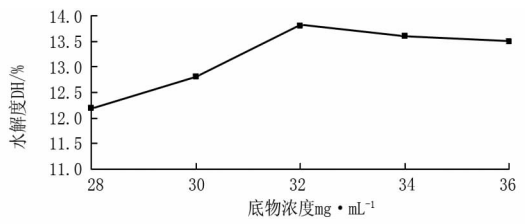


图 2 底物浓度对 DH 的影响

底物浓度 32 mg·mL⁻¹为水解度最高点。之后呈下降趋势。所以 32 mg·mL⁻¹为此单因素最佳点。当底物浓度较低时,酶与底物结合几率较少,反应速度降低,导致水解度下降,适当增加底物浓度有利于反应向生成物方向进行。底物浓度较大时,在不断受热情况下,南瓜籽蛋白易产生交链聚合现象,导致 DH 下降。

2.3.2 酶用量单因素试验结果分析 由图 3 可看出,随着酶用量增加,水解度呈上升趋势。酶用量 5%以后趋于平滑。所以 5%为最佳单因素酶解位点。酶用量越大,与底物接触机会就大。当

达到 5%时酶解作用趋于平缓。底物量有限,5%的酶可达到最佳效果。所以只需 5%的酶即可。

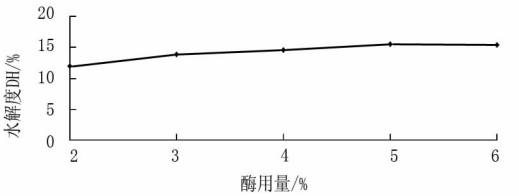


图 3 酶用量对 DH 的影响

2.3.3 温度单因素试验结果分析 由图 4 可看出,在反应温度为 47℃之前水解度上升趋势比较快。47℃为水解度最高点,之后趋于平缓,并有下降趋势。所以 47℃为此单因素最佳点。因为温度过高或过低都远离酶的最适温度。

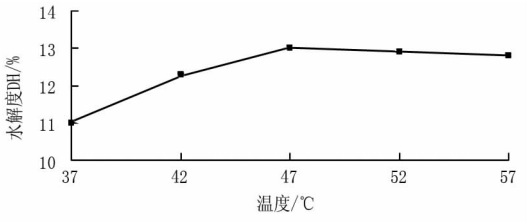


图 4 温度对 DH 的影响

2.3.4 pH 单因素试验结果分析 从 pH 单因素试验结果可知,在 pH 为 7.5 时水解度最高。大于或小于此值都不理想。因为酸性和碱性比较大的情况下会破坏底物结构及酶的活性。

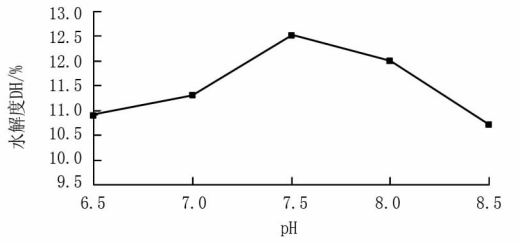


图 5 pH 对 DH 的影响

在进行 pH 单因素试验时,通过查阅文献确定反应时间为 2 h、木瓜蛋白和枯草芽孢杆菌蛋白酶为1:1添加。最后得出,以底物质量浓度、加酶量、pH 及温度分别进行单因素试验,结果表明,木瓜蛋白和枯草芽孢杆菌蛋白酶单因素试验

中各因素最佳水平为:底物质量浓度 $34 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 加酶量 5%, 温度 47°C , pH 7.5。

2.4 酶解正交试验结果

由表 4 看出:四因素主次关系是: $B>A>C>D$ 。各工艺参数的最优组合为 $A_3B_4C_2D_2$ 。

表 3 正交因素水平

因素水平	A 底物浓度 / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	B 酶用量 /%	C 反应温度 / $^\circ\text{C}$	D 反应 pH
1	30	2	42	6.5
2	32	3	47	7.0
3	34	4	52	7.5
4	36	5	57	8.0

表 4 最佳酶解条件 $L_{16}(4^5)$ 正交试验结果分析

实验室	A	B	C	D	E	DH/%
1	1	1	1	1	1	14.02
2	1	2	2	2	2	17.52
3	1	3	3	3	3	13.81
4	1	4	4	4	4	18.67
5	2	1	2	3	4	16.51
6	2	2	1	4	3	17.75
7	2	3	4	1	2	17.95
8	2	4	3	2	1	17.21
9	3	1	3	4	2	15.85
10	3	2	4	3	1	18.04
11	3	3	1	2	4	19.59
12	3	4	2	1	3	19.81
13	4	1	4	2	3	15.60
14	4	2	3	1	4	14.85
15	4	3	2	4	1	17.44
16	4	4	1	3	2	18.62
K ₁	63.72	62.00	70.00	66.64	66.72	273.24
K ₂	69.40	68.16	71.28	72.96	69.96	
K ₃	73.32	68.80	61.72	67.00	67.00	
K ₄	66.52	74.32	70.28	69.72	69.64	
R	2.40	3.08	2.39	1.58	0.81	

2.5 最优酶解条件下酶解时间与酶解率的关系

最优酶解条件下选择不同时间梯度进行酶解试验,确定最优的酶解时间。酶解时间分别为 1、2、3、4 和 5 h。

由图 6 可知 3 h 酶解速度很快,3 h 后水解速度相对较慢。因为反应已趋于完全及所处环境理化性质有所改变。所以酶解时间定为 3 h 较为合理。

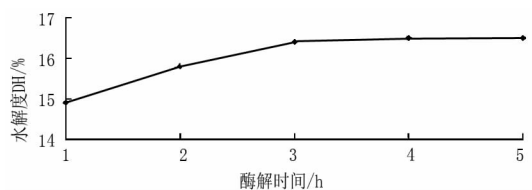


图 6 酶解时间与 DH 的关系

2.6 饮料调配单因素试验结果

2.6.1 木糖醇添加量单因素试验结果评分 由表 5 得出,当木糖醇添加量小于 7%时,不能满足

人们对甜味的要求。大于 7%时超出所能接受范围。所以饮料中 7%含量最适合。

表 5 木糖醇添加单因素试验评分结果

木糖醇添加水平/(w/w)	6	7	8	9	10
评分	6	10	6	4	4

2.6.2 柠檬酸添加量单因素试验结果评分 由表 6 得出,当柠檬酸添加量小于 0.30%时,不能满足人们对酸味的要求。大于 0.30%口味过酸。所以 0.30%时酸味最佳。

表 6 柠檬酸添加单因素试验评分结果

柠檬酸添加水平/%	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35
评分	4	5	6	10	4

2.6.3 柠檬酸添加量单因素试验评分结果 由表 7 看出,香精添加量小于 0.010%时口味过淡或微淡。大于 0.010%时口味过重,所以选择 0.010%。

表 7 奶味香精添加单因素试验评分结果

奶味香精添加水平 /(w/w)	0.006	0.008	0.010	0.012	0.014
评分	4	6	10	4	4

2.7 饮料正交调配结果

木糖醇、柠檬酸和奶香精添加量的正交试验结果表明:三因素主次关系是: $B>C>A$ 。各工艺参数的最优组合为: $A_3B_3C_1$ (见表 8,表 9)。

表 8 调配因素水平

水平	木糖醇含量/%	柠檬酸含量/%	香精添加量/%
1	6.0	0.1	0.010
2	6.5	0.2	0.012
3	7.0	0.3	0.014

表 9 饮料配方正交试验表

因素水平	A 木糖醇含量 /%	B 柠檬酸含量 /%	C 奶味香精含量 /%	感官评分
1	1	1	1	6.4
2	1	2	2	7.9
3	1	3	3	8.1
4	2	1	3	6.5
5	2	2	1	8.2
6	2	3	2	8.3
7	3	1	2	6.4
8	3	2	3	7.9
9	3	3	1	8.8
K1	7.47	6.43	7.80	
K2	7.67	8.00	7.53	
K3	7.70	8.40	7.50	
R	0.08	0.66	0.10	

2.8 增稠剂添加试验结果

由表 11 可知,三因素主次关系是:C>A>B。各工艺参数的最优组合为:A₂B₂C₂。

表 10 乳化稳定剂因素水平

因素水平	A 琼脂/g·L ⁻¹	B 黄原胶/g·L ⁻¹	C CMC-Na/g·L ⁻¹
1	0.025	0.04	0.06
2	0.030	0.05	0.07
3	0.035	0.06	0.10

表 11 增稠剂正交试验结果

水平	因素			感官及稳定性评价				
	A	B	C	稳定性	粘度	色泽	口感	总评分
1	1	1	1	12	6	12	12	42
2	1	2	2	25	25	25	18	93
3	1	3	3	18	18	18	12	66
4	2	1	2	25	25	25	25	100
5	2	2	3	18	25	18	12	73
6	2	3	1	18	18	18	18	72
7	3	1	3	18	6	12	12	48
8	3	2	1	12	18	12	6	48
9	3	3	2	25	25	18	18	86
k1	201.0	189.9	162.0					
k2	245.1	213.9	279.0					
k3	182.1	186.0	186.9					
R	21.0	9.3	39.0					

2.9 最终产品的理化分析结果

对最佳调配工艺下制作出来的最终成品,根据 GB/T5009.5 进行了分析,结果表明:蛋白质含量大于等于 0.5%。符合国家 GB/T 2438-2006 标准。

3 结论

通过对脱脂南瓜籽粕的最优酶解条件的研

究,然后将酶解液进行离心处理,取上清液作为饮料调配原液,并对低肽饮料的调配工艺参数进行优化,其研究结果为南瓜籽粕蛋白质含量约为 40%。南瓜籽粕蛋白质在 90℃下保温 10 min 为最佳预处理条件。最优酶解工艺条件为:底物质量浓度 34 mg·mL⁻¹,加酶量 5%,温度 47℃,pH 7.5,酶解时间 3 h;饮料调配试验最优调配工艺参数为每升酶解液添加 0.3%柠檬酸、总质量 0.010%食品级奶味香精和总质量 7%的木糖醇时,口味最佳。最终产品的理化分析是蛋白质含量大于等于 0.5%。当琼脂含量为 0.030 g·L⁻¹,黄原胶含量为 0.05 g·L⁻¹,羧甲基纤维素钠含量为 0.07 g·L⁻¹时,乳化稳定剂效果最好。制得的饮料酸甜适口,奶味纯正,相信会有很好的市场发展前景。

参考文献:

[1] 任永新. 浅谈南瓜的保健功能及药理作用[J]. 食品工程, 2007,12(6):50-67.

[2] 魏冰. 南瓜籽油的开发和利用研究[J]. 粮油加工, 2008, 13(5):60-62.

[3] 吴荣书,戈振扬. 南瓜籽蛋白饮料的研制[J]. 云南农业大学学报,1996(3):185-189.

[4] 王晓,程传格,董富英,等. 南瓜籽油脂脂肪酸的 GC-MS 分析[J]. 食品科学,2002,23(3):115-116.

[5] 樊金娟,张幼竹. 植物源低聚肽的研究进展[J]. 食品科技, 2009,34(7):175-178.

Study on Enzymolysis Pumpkin Seed Meal
to Prepare Low Peptide Beverage

LIU Zheng

(Science College of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

Abstract:Currently pumpkin seed meal is generally treated as industrial waste. Using papain and neutral protease together to hydrolyze the pumpkin seed meal into short peptides, the low peptide beverage processing was studied by the raw materials of hydrolysates of pumpkin seed meal, xylitol, citric acid and food grade flavors. The purpose was to enhance the added value of pumpkin seed meal. The results showed that pumpkin seed meal protein content was about 40%. Optimal hydrolysis conditions were: substrate concentration 34 mg·mL⁻¹, enzyme dosage of 5%, temperature 47℃, pH 7.5, time 3 h; experimental parameters for the optimal allocation of samples was to add 0.3% per liter of citric acid, and total 0.010% food grade quality creamy flavor, 7% of the total mass of xylitol, the taste was the best. Physical and chemical analysis of the final product was 0.5% protein content. When agar concentration of 0.030 g·L⁻¹, xanthan gum content of 0.05 g·L⁻¹, sodium carboxymethyl cellulose content of 0.07 g·L⁻¹, the emulsion stabilizer was the best. The prepared sweet and sour drinks were with pure creamy and a good market.

Key words: pumpkin meal; enzymolysis; low peptide drinks