

分类号

密级

硕士学位论文

题目：小麦胚水解物在食品保藏中的应用

英文并列题目：THE APPLICATION OF WHEAT GERM
HYDROLYSATES IN FOOD PRESERVATION

研究生：沈卫东 专业：食品工程

研究方向：食品资源开发

导师：向瑞春、王荣民 沈国惠

学位授予日期：

1989年6月15日

无锡轻工业学院

地址：无锡市青山湾

无锡轻工业学院研究生论文纸

摘要

本课题探讨了脱脂小麦胚水解液用作持水剂的研究及应用。

研究了1398中性蛋白酶对小麦胚蛋白的水解动力学,结果表明:水解脱脂小麦胚的最佳条件为:温度 $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.0$,酶与底物的浓度比 $E/S=800\mu\text{g}$,底物浓度 $[S]=10\%$ 。

分别研究了用酸 ($1\text{NH}_2\text{SO}_4$, 9hr), 酶 ($800\mu\text{g}$ 中性蛋白酶 4hr), 及酸-酶结合 ($0.5\text{NH}_2\text{SO}_4$, 5hr - $400\mu\text{g}$ 中性蛋白酶, 4hr) 的水解工艺。所有含固形物 20% 的蛋白液水解液中, 以酸-酶结合水解液具有最低的水分活性 $a_w=0.899$, 并得出水分活性与各种参数间的关系:

$$a_w = 0.894 + 0.0055x_1 + 0.0005x_2 - 0.003x_3 + 0.05087x_1^2 + 0.00487x_2^2 + 0.01588x_3^2 + 0.01725x_1x_2 + 0.00125x_1x_3 + 0.00025x_2x_3$$

$$\text{式中: } x_1 = (t_a - 5) / 2$$

t_a : 酶水解时间 (hr)

$$x_2 = (E/S - 400) / 100$$

E/S : 酶底物浓度比 (μg)

$$x_3 = (t_e - 4) / 2$$

t_e : 酸水解时间 (hr)

若以 20% 添加到香肠中, 其降低水分活性效果可代替 4% NaCl。此水解液具有抗氧化作用, 随添加量的增加, 其抗氧化效果增加。在室温条件下贮存时, 添加蛋白液水解液的香肠, 其货架寿命明显延长, 室温贮存 10 天后, 添加的香肠其 CFU/g 为未添加的香肠的 $1/2000$ 。感官分析结果表明: 两种香肠的差别显著, 但可接受性差异不显著。

关键词: 脱脂小麦胚, 持水剂, 水分活性, 水解液

无锡轻工业学院研究生论文纸

ABSTRACT

This paper studied the technology and application of defatted wheat germ(DWG) hydrolysates as humectants.

The hydrolysis kinetics of DWG protein with 1398 neutral proteinase has been investigated. The results showed that the suitable conditions for this enzyme were temperature $T=50^{\circ}\text{C}$, $\text{PH}=7.0$, substrate concentration $S=10\%$, and about 800 units of enzyme per gram DWG powder.

The hydrolysis technologies of acid ($1\text{N H}_2\text{SO}_4$, 9hr), 1398 neutral proteinase (800U/g, 4hr) and acid-enzyme ($0.5\text{N H}_2\text{SO}_4$, 5hr, -400U/g 1398 neutral proteinase, 4hr) have been studied respectively. The acid-enzyme(A-E) hydrolysate solution had the lowest water activity ($A_w=0.889$) of all the DWG hydrolysates in solution at a 20% solids level. The relationship between water activity(A_w) and technologic variable was $A_w=0.894+0.0055X_1 +0.0005X_2 -0.003X_3+0.05087X_1^2 +0.00487X_2^2 +0.01588X_3^2 +0.01725X_1X_2 +0.00125X_1X_3+0.00025X_2X_3$

$$\text{where: } X_1=(t_a-5)/2$$

t_a : the time of acid hydrolysis (hr)

$$X_2=(E/S-400)/100$$

E/S: the ratio of enzyme and substrate concentration (U/g)

$$X_3=(t_e-4)/2$$

t_e : the time of enzyme hydrolysis (hr)

When 18% of this A-E hydrolysate was incorporated into sausages, A_w was reduced to a level equivalent to that

无锡轻工业学院研究生论文纸

with 4% N_2Cl . The antioxidant activity of hydrolysates was increased with the amount increasing. The shelf life of the sausage added protein hydrolysate stored at room temperature was extended significantly. The supplemented sausages had CFU/g 1/2000 of that for the unsupplemented controls after 10-day aerobic storage at room temperature. The sensory analysis results showed that the difference in flavor and texture between the supplemented and unsupplemented sausages was significant. But the difference of their acceptability was not significant.

KEYWORD: defatted wheat germ, humectant, water activity, degree of hydrolysis.

无锡轻工业学院研究生论文纸

目 录

摘要	ABSTRACT	
一. 前言		1
二. 实验部分		9
2.1. 实验所用到的原料、试剂及仪器		9
2.2. 实验方法与内容		11
2.2.1. 分析方法		11
2.2.2. 实验内容		13
1. 小麦胚芽粉的脱苦		13
2. 制粉		13
3. 酶法水解		14
4. 1398中性蛋白酶的部分特性		14
① 酶促反应的pH变化 (16)	② 最适作用温度 (17)	
③ 最适pH的确定 (17)	④ 最适底物浓度的确定 (18)	
⑤ 酶用量对反应速度的影响 (18)		
5. 最佳酶解工艺条件的选择 (响应曲面法)		19
6. 酶-酶结合水解最佳工艺条件的选择 (响应曲面法)		22
7. 水解物的脱苦		23
8. 水分活度的测定		24
9. 水解物脱色脱苦部分之凝胶电泳		24
10. TBA测定中香叶醇的配方		25

无锡轻工业学院研究生论文纸

11. 普鲁的水解活性测定	25
12. 微生物总平板计数 (CFU/g)	25
13. 感官评定	26
三. 结果与讨论	27
3.1 酶法水解工艺条件的选择	27
3.1.1. 酶法水解工艺参数的确定	27
3.1.2. 酶法水解的水解活性与水解度	28
3.2. 1398中性蛋白酶的部分特性	29
3.2.1. 酶促反应体系的pH变化	29
3.2.2. 1398中性蛋白酶以小麦胚为底物时的最适温度	30
3.2.3. 最适pH的确定	32
3.2.4. 最适底物浓度的确定	33
3.2.5. 酶用量对体系反应速度的影响	34
3.3 最佳酶解工艺条件的选择(响应曲面法)	36
3.3.1. 1398中性蛋白酶水解液的水解活性	36
3.3.2. 水解液的水解活性与各工艺参数间的关系	36
3.3.3. 酶法水解液的水解度	41
3.3.4. 水解液的水解度与各工艺参数间的关系	41
3.4. 酶-酶结合水解最佳工艺条件的选择(响应曲面法)	44
3.4.1 酶-酶结合水解根光率	44
3.4.2. 酶-酶法水解液的水解活性	45

无锡轻工业学院研究生论文纸

3.4.3. 水解物的水解活性与各种参数之间的关系	45
3.4.4. 酸-酶法水解液的水解度	50
3.4.5. 水解物的水解度与各种参数之间的关系	50
3.5. 水解物的脱苦	54
3.5.1. 苦味肽的性质	54
3.5.2. 蛋白酶水解物的苦味	54
3.5.3. 苦味蛋白酶水解物的脱苦方法	55
3.5.4. 脱苦前后氨基酸组成的变化	56
3.6 凝胶电泳法测定小麦胚水解物的分子分布	58
3.7. 小麦胚水解物作为食品添加剂的应用	60
3.7.1 脱苦小麦胚水解物的抗氧化作用	60
3.7.2. 香肠中添加小麦胚水解物的降低水解活性作用	62
3.7.3. 微生物总平板计数 (CFU/g)	63
3.7.4. 感官分析	64
四. 结论	65
五. 今后展望	66
六. 致谢	66
参考文献	67

无锡轻工业学院研究生论文纸

一. 前 言

在食品的加工过程中, 水分含量的控制是种古老的保藏方法。可以在圣经, 古埃及的家形文字学及马克·波罗的记载中找到关于日晒保藏食品的描述 (Lebuze, 1976)⁽⁴⁷⁾。埃及用盐和糖腌制食品的方法来保藏食品 (Tannahill, 1974, Darby, 1976)⁽⁴⁸⁾, 中国自古以来也用这种方法来保藏食品。这些方法的原则是除掉食品中的水分或将它与添加剂结合起来, 从而控制了食品中有效水分的含量, 这样, 使得食品对于微生物作用和化学降解变得稳定。这种现象发生的物理化学基础直到五十年代末期, 由 Scott (1957) 和 Salwin (1959) 间接介绍水分活度这个概念时才被人们所理解。⁽⁴⁹⁾

食品的水分活度 (a_w) 可以描述为: 在同一温度下, 食品中水的蒸汽压 (P_f) 与纯水的蒸汽压 (P) 之比。

$$a_w = P_f / P \quad (1)$$

如图 1.1 所示, 在连续食品体系中, 大部分水具有高的水分活度 (通常 $a_w > 0.90$)。这种食品接触干燥使食品水分小于 50% 或加入溶质来减少水分活度。

拉乌尔定律粗略地说明了一溶液水中水的克分子数和溶质克分子数与溶液水分活度的关系。所以, 还必须加入添加剂以降低水分活度。

无锡轻工业学院研究生论文纸

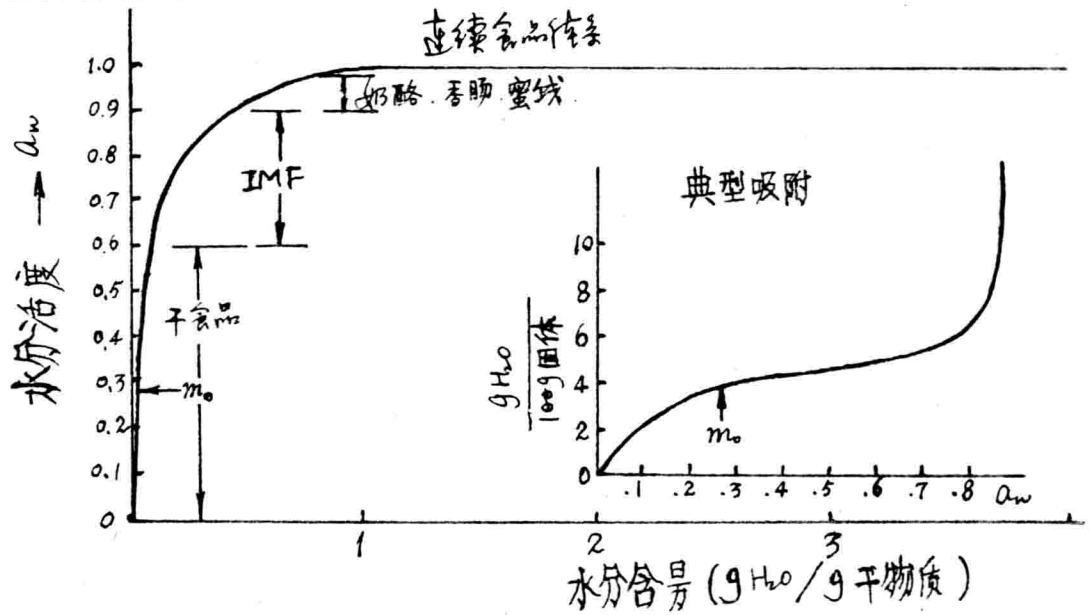


图1.1. 水分含量与水分活度的关系

m_0 为 BET 单分子层值

Ross (1975)⁵⁵ 叙述} 一个相当准确测定食品复杂基质中水分活度的基础。水分活度 a_w 是用每一个溶液与复杂溶液同样浓度下的单一溶液所测得的水分活度值的简单乘积。或者 $a_w = (a_w)_1 \times (a_w)_2 \times (a_w)_3 \dots$ 式中 $(a_w)_i$ 是食品系统的各组分。当食品的水量和它的环境相对湿度所占率之间存在平衡时, a_w 等于 RH, 即 $a_w = RH/100$ 。用水分吸附等温线可以准确地描述水分活度(或平衡时的 RH) a_w 和食品含水量之间的关系。

作为吸附等温线基础的物理-化学现象是 Labuza (1968)⁶⁶ 广泛分析的课题。当食品水分降低时, 水蒸汽压逐渐受到抑制, 这为 a_w 值的降低所证实。因此,

无锡轻工业学院研究生论文纸

保留于100g干蛋白中的40g水,其蒸汽压只相当于纯水的 $\frac{1}{10}$ 。

Ross (1975)⁵⁵以水的三相结构为基础报告了水和溶质之间的相互作用。不能认为水是相互分离的简单均一的混合物,它可认为以结合态一起形成一个三相网。并且也可能形成几种不同的三相结构,这些结构一直在进行重排和相互作用。当把溶质加进水中时,首先是水的浓度下降,其次是溶质和水的相互作用可能分解水分子或加强水的结构。

微生物任何细胞壁从外界提取营养物质并向外界排泄代谢产物时都需要水作为溶剂或介质,故而水实为微生物生长活动所必需的物质。对食品中有关微生物需要的水分活性进行大量研究的结果表明,各种微生物都有它自己生长最旺盛的适宜水分活性,水分活性下降,它们的生长率也下降。水分活性可以下降到微生物停止生长的水平。各种微生物保持生长的最低 a_w 值各不相同。大多数最重要的食品腐败菌所需的最低 a_w 值都在0.90以上。

在适合于嗜温微生物生长的范围内,水分活性实际上与温度无关 (Brockman, 1970)⁵⁷,对于微生物生长的水分活性极限值如下表 1.1 所示。

无锡轻工业学院研究生论文纸

表1.1 微生物生长所需的水分活度大致下限值

微生物	最低水分活度
细菌	0.91
酵母	0.88
霉菌	0.80
耐高盐细菌	0.75
适旱霉菌	0.65
嗜高渗酵母	0.60

注: 资料来自 Labuza 等 (1972A)⁴⁾

在食品的加工和贮存过程中, 在水的存在下, 蛋白质会发生非酶促褐变, 形成褐色素, 有时还会产生不良风味 (Markova et al, 1972). 失去稳定性及蛋白质营养价值降低 (Rao and Rao, 1972, Lea, 1958). 这种蛋白质营养价值损失, 是由于有赖 Lys 成为最初的反应物, 此外, 其它的氨基酸也参与了反应。在含水食品中, 水分对非酶促褐变显得特别重要, 它的反应速率要比干食品大得多 (Lea and Hamman, 1949, 1950; Labuza, 1971). 在含水食品中 (a_w 0.6~0.85), 非酶促褐变速率通常具有最大值⁽²⁶⁾。

如今, 用食品添加剂的方法来调节食品的水分活度到中等程度的范围的可能性是相有限的, 这主要

无锡轻工业学院研究生论文纸

是由于这些食品添加剂必须用高浓度才可达到降低水分活性的效果,并且会对食品的味道及其它物理特性起相反的效果。由于这个原因,也使用了非常规的添加剂,寻找对 Raoult's 定律有很大负偏差的化合物。在以前发表的论文中,对这个可能性作了理论探索,找出大量的电解质和非电解质化合物 (Benmergui et al., 1979; Ferro Fontan et al., 1979; Chirife et al., 1979)。然而,结果表明,要寻找对 Raoult's 定律有很大负偏差而能降低水分活性到一个安全的水平并不改变食品特性的添加剂是很困难的⁽²⁰⁾。

由于寻找安全、经济、有效的及无怪味、色浅的保湿剂或降低水分活性物质的困难,使中甘水分食品(IMF)的研究受到了阻碍,有些食品如香肠等,不能干燥,必须在中甘水分条件下保存,这就需要解决它的货架寿命问题。用于食品的最普遍的水分剂是食盐及蔗糖,然而,高盐食品的两个令人不可接受的特点是:①强烈的咸味 ②高血压病的加剧。使用蔗糖产生的甜味对肉类产品通常是不能接受的。Chen and Karmas (1980)⁽²¹⁾筛选了一些低分子量的化合物,试图将它们用于中甘水分食品中,以降低水分活性。在腰果及氨基酸试验中,甘油酸和丙氨酸对降低水分活性最有效。然而,由于丙

无锡轻工业学院研究生论文纸

氨酸与甘氨酸相比,在水中的溶解性较低而不同。所有被试验过的化合物中,甘氨酸、乳酸和 NaCl 产生最低的水合活性。这些化合物的应用,特别是与甘油相结合使用,用于中档水合食品的配方中。然而,纯氨基酸的添加会导致成本的增加,膨性食品中,乳酸的使用受到限制。

Karel (1976)⁽²⁴⁾ 建议用加入天然蛋白质(如大豆蛋白)的水解物来降低水合活性,然而,水解蛋白的苦味是一个问题。如能去除水解蛋白的苦味,则它作为持水剂(降低水合活性)有如下优点:①蛋白水解物的添加,不仅可以降低水合活性,起到保水食品的作用,而且可以提高食品产品的营养价值。②避免了用小分子化合物来降低水合活性而用大剂量所带来的令人不能接受的味道(如咸味,怪味等)。③无须考虑食用的安全问题,其理论添加量是不受限制的。④由于水解植物蛋白的添加,重量上代替了部分产品,其经济性增加。它的缺点可能是(如过多的添加会影响产品的质地。Guilbert et al., (1981)⁽²⁵⁾ 报道)在肉酱中,用蛋白水解产物作为持水剂。商品水解蛋白称为 "Soynap" 和 "glutanap", 是用酸水解制备的,并含有 44% 的 NaCl。这些产品的水合活性降低作用可能大部分是由 NaCl 所产生的。虽然,商品酶水解物具有降低水合活性效果,但肉类制品中一旦混入这些水解物,就有

无锡轻工业学院研究生论文纸

苦味蛋白 (Guilbert et al., 1981) ^{<25>}

小麦胚是小麦颗粒的一部分,约占麦粒重的2~3%,富含各种营养物质。目前,麦胚的利用问题未能很好地得到解决,只是将麦胚用作营养添加剂或制成烤麦胚片,属于初级加工,且产品保存性差。在国外,美国,加拿大,日本,法国,西德,英国等国家都曾有小麦胚的研究报道,其应用大致可分为七类:①营养添加剂;②功能代替剂;③麦胚新食品;④麦胚油制品;⑤浓缩维生素;⑥动物饲料;⑦特殊用途,如提取抗诱变剂^{<50>},麦胚凝集素等。

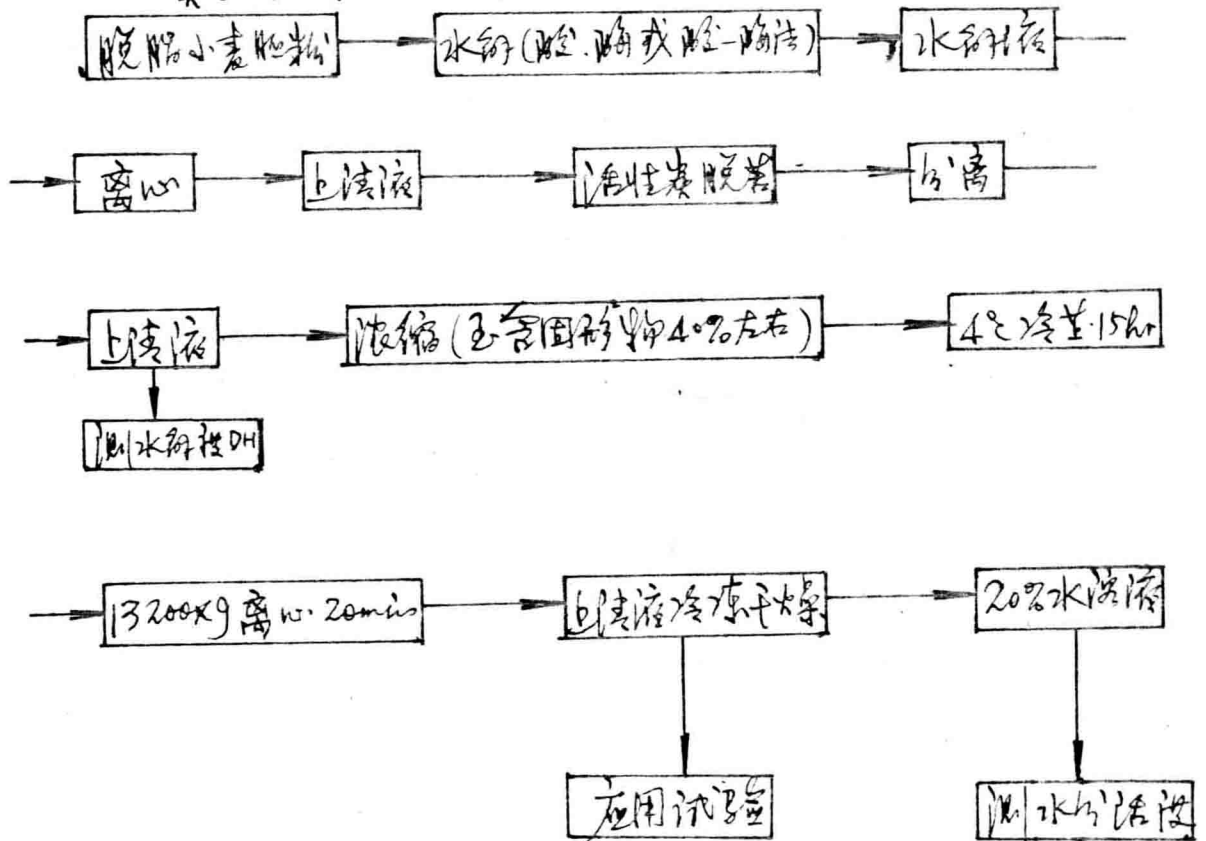
本课题的研究目的在于开发一种无苦味、无盐(NaCl)、色浅的脱脂小麦胚水解物,此水解物有降低水的活度的效果,可用于肉类制品中作为持水剂,从而对食品保鲜有利。并为小麦胚的利用开辟了一条新的途径,又强化了被添加的食品。比较脱脂小麦胚水解物与食盐在香肠中降低水的活度的作用效果及水解物分子量的分布范围。最后,研究香肠中添加此水解蛋白后的风味变化,微生物指标及其他特性。

在研究过程中,采用脲(硫酸)和酶(1398中性蛋白酶)以及脲-酶结合的方法水解脱脂小麦胚。并对1398中性蛋白酶以脱脂小麦胚为底物的部分特性作了探讨。在酶法及脲-酶法水解工艺条件的研究中,应

无锡轻工业学院研究生论文纸

用响应曲面法 (Response Surface Analysis, RSA) 来选择水解的最佳工艺条件, 该法的优点是能给出具体的函数表达式或绘制成图, 反映出各独立变量对响应值的影响。同正交法相比, 响应曲面法能较正确、全面地了解响应值的变化趋势, 为实际生产提供更有价值的的数据, 便于找出最佳工艺条件。

实验流程如下:



无锡轻工业学院研究生论文纸

二. 实验部分

2.1 实验所用到的原料、试剂及仪器

2.1.1 实验用主要原料

1. 小麦胚：由北京面粉厂提供。其组成成分如下表所示。

表 2.1 小麦胚的组成成分表

名称	蛋白质	脂肪	水分	灰分	碳水化合物	粗纤维
含量(%)	27.92	9.71	9.20	4.13	46.8	2.10

2. 酶制剂：无锡酶制剂厂生产，食品级 A.5.1398 枯草芽孢杆菌中性蛋白酶，活力 20 万单位/g。

3. 猪肉：购自当地菜场。

4. 肠衣：购自食品商店。

2.1.2 实验用主要试剂：

1. 石油醚：宜兴市试剂厂生产，沸程 30~60°C，AR。

2. 活性炭：上海化学试剂采购供应站经销，CP 级。

3. 浓硫酸：洋溪第 1 化工厂生产，AR 级。

4. 甲醛：宜兴县化学试剂厂生产，AR 级。

5. Sephadex G-25：Pharmacia 进口装，上海化学试剂公司分装。

6. 蓝色葡聚糖-2000 (Blue Dextran 2000)
Sigma 公司

7. $V_{B_{12}}$ ： $(C_{63}H_{88}O_{14}N_{14}PCo = 1355.42)$ ，上海化学试剂

无锡轻工业学院研究生论文纸

单购供应站试剂级. 国产分装.

8. 氢氧化钙: 上海向化二厂. CP.

9. 乙醚: 宜兴县第二化学试剂厂. AR.

10. 盐酸: 徐渡化二厂. AR.

11. 氯化钠: 淮安县化二厂. AR.

12. 水台部三同: 上海化学试剂总厂所居上海试剂三厂.
AR级

13. 蔗糖: 上海试剂一厂. AR.

14. 琼脂粉: 上海化学试剂新站分装厂.

15. 牛肉浸膏: 上海化学试剂新站经销

16. 牛肉蛋白胨.

2.1.3. 实验用主要仪器及设备.

1. LG-3型家用冰冻干燥机. 宁波市生化仪四厂

2. FL-20型冷冻离心机. 上海医用分析仪四厂

3. STN 5021型水台语投仪. 国营江宁机械厂制造

4. FS-2型可调高速分散器

5. SF 170-30型高速粉碎机. 上海中药机械厂

6. 501型超级恒温水浴. 上海市实验仪四厂

7. 浸虫皿. 定制. 南通县宇西五金仪四厂

8. 721型分光光度计. 上海第三分析仪四厂

9. 夹层保温反应瓶. 定制. 无锡县仪四厂