

酶解蚕豆蛋白制备多肽的工艺优化及多肽酒的发酵

杨希娟^{1,2} 党斌^{1,2} 耿贵工^{1,2} 刘玉皎^{2,3*}

(1. 青海省农林科学院 青藏高原农产品加工重点实验室, 西宁 810016;

2. 青海省高原作物种质资源创新与利用-国家重点实验室培育基地, 西宁 810016;

3. 青海大学 农林科学院, 西宁 810016)

摘要 以蚕豆蛋白为原料,采用碱性蛋白酶酶解、酒精发酵制备蚕豆多肽酒,对其加工工艺进行了研究。结果表明:1)蚕豆蛋白酶解的优化工艺为:蚕豆蛋白质量浓度 32 g/L,水解温度 43.2 ℃,酶用量 9 821.12 U/g,pH9.5,在此条件下酶解 2 h,蚕豆蛋白的水解度达到 19.64%;2)以蚕豆酶解液为原料制备多肽酒的发酵工艺为:加糖量 200 g/L,酵母接种量 0.22%,发酵温度 28 ℃,发酵时间 6 d,在此条件下制得的蚕豆多肽酒的酒精体积分数为 9.6%;发酵结束后添加柠檬酸 1.5 g/L,白砂糖 70 g/L,环糊精 6 g/L时,产品风味较好,显著降低了产品的苦味。

关键词 蚕豆; 蛋白; 酶解; 发酵; 多肽酒

中图分类号 TQ 936.16

文章编号 1007-4333(2013)02-0158-09

文献标志码 A

Optimization of preparation technology for broad bean polypeptide and fermentation of polypeptide wine

YANG Xi-juan^{1,2}, DANG Bin^{1,2}, GENG Gui-gong^{1,2}, LIU Yu-jiao^{2,3*}

(1. Tibetan Plateau Laboratory of Agric-Product Processing, Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Xining 810016, China;

2. The Cultivating Base of National Key Lab-Plateau Crop Gene Innovated and Utilized in Qinghai Province, Xining 810016, China;

3. Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract In order to obtain the broad bean peptides wine, broad bean protein was hydrolyzed by alkaline protease and then was alcoholically fermented in this experiment. The preparation technology of broad bean peptides wine was investigated. The result showed that the optimum conditions for the protein hydrolysates of broad bean were broad bean protein concentration 32 g/L, enzymatic hydrolysis temperature 43.2 ℃, dosage of enzyme 9 821.12 U/g and pH value 9.50, under which the degree of hydrolysis was 19.64%. The fermentation condition of broad bean peptides wine was 200 g/L sugar, 0.22% yeast quantity, and 28 ℃ for 6 days. The alcohol content of broad bean peptides wine is 9.6%. In order to mitigate the bitterness of the original wine, 1.5 g/L Citric acid, 70 g/L sugar and 6 g/L β -CD were added and the final product had a good mouth feel.

Key words broad bean; protein; hydrolysis; fermentation; peptides wine

蚕豆,别名胡豆、南豆、罗汉豆,是一种蛋白质含量丰富的豆科植物。蚕豆产量在全世界食用豆类中位居第六,在我国是除大豆和花生之外种植面积和产量最多的食用豆类作物^[1]。蚕豆中的蛋白质质量分数达 25%~35%,蚕豆蛋白的氨基酸组成接近人体和动物所需要的理想比例,其中赖氨酸质量分数

比谷类高出 3 倍,蚕豆被誉为植物蛋白质的新来源^[2-3]。目前蚕豆在我国主要用作蔬菜和饲料,食品加工工业主要利用蚕豆生产粉丝,而作为重要营养成分的蛋白质未被合理利用。

蛋白质在酶解过程中可获得许多功能性多肽,这些多肽具有抗高血压、降胆固醇、抗氧化、改善元

收稿日期: 2012-06-04

基金项目: 农业科技成果转化资金项目(2011GB2G200002); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-09); 青海高校“135 高层次人才培养工程”专项

第一作者: 杨希娟,副研究员,主要从事农产品精深加工研究,E-mail:156044169@qq.com

通讯作者: 刘玉皎,研究员,主要从事蚕豆遗传育种及加工利用研究,E-mail:Lyujiiao2000@yahoo.com.cn

素吸收、矿物质运输、促进生长等功能,在食品工业中具有广泛的应用前景^[4]。其中将多肽进行发酵加工制作多肽饮料及多肽酒是多肽重要的应用途径。目前关于乳清多肽饮料^[5]和大豆多肽饮料^[6]的研究较多。此外还有关于甲鱼生物饮料^[7]、鲤鱼酶解发酵饮料^[8]、甜玉米功能饮料^[9]、蛋清蛋白多肽营养饮料^[10]、牛乳多肽复合果汁乳酒^[11]的研究。利用蚕豆蛋白为原料制备蚕豆多肽酒的研究未见报道。本研究拟利用蛋白酶酶解蚕豆蛋白制备多肽酒,并研究多肽酒的发酵工艺及风味调配,以期蚕豆蛋白的综合利用提供理论依据。

1 材料与方方法

1.1 材料、试剂及仪器

蚕豆,青海省农林科学院提供;葡萄酒用高活性干酵母,湖北安琪酵母股份有限公司;碱性蛋白酶,北京奥博星生物技术有限责任公司,活性 $\geq 200\ 000$ U/g,生化试剂;偏重亚硫酸钾(二氧化硫质量分数为50%)、氢氧化钠、盐酸、环糊精等均为国产分析纯;蔗糖、柠檬酸为市售食品级。

S-263 凯氏定氮仪,瑞典 FOSS; SP-1500 型实验型喷雾干燥机,上海顺仪实验有限公司; TGL-20M 高速台式冷冻离心机,湘仪离心机仪器有限公司;雷磁 PHS-25 型 pH 计,上海雷磁仪器厂;电子恒温不锈钢水浴锅,上海光地仪器设备有限公司;电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; FW-80 高速万能粉碎机,北京德威特仪器有限公司; DHP-9272 电热恒温培养箱,苏州江东精密仪器有限公司; UV-1801 紫外-可见分光光度计,北京北分瑞丽分析仪器(集团)公司。

1.2 试验方法

1.2.1 蚕豆蛋白制备工艺流程^[12]

蚕豆→脱皮→粉碎(过 80 目筛)→调 pH 至碱

性→加热搅拌 1 h→4 000 r/min 离心 20 min →过滤→滤液调 pH 酸性并搅拌→4 000 r/min 离心 20 min →沉淀层水洗至中性→喷雾干燥。

1.2.2 蚕豆多肽酒的制备^[13]

1) 工艺流程。

蚕豆蛋白→酶解→灭酶→离心→酶解液→调配→接种活化酵母→发酵→终止发酵→离心或抽滤→配制→过滤→装瓶→灭菌→冷却后封口保存。

2) 操作要点。

酶解:将蚕豆蛋白加水配成质量浓度 32 g/L 的溶液,然后调节 pH 至 9.0,加入 10 000 U/g 碱性蛋白酶,45 °C 进行酶解 2 h,在酶解过程中保持酶解液温度恒定,并用 0.1 mol/L 的氢氧化钠维持 pH 不变。

灭酶、离心:酶解完成后加热煮沸 5 min 灭酶,3 000 r/min 离心 15 min,得到酶解上清液。

调配:酶解液先加入 SO₂ 100 mg/L,再加入占酶解液体积 220 g/L 的蔗糖,搅拌溶解,于 37 °C 的水浴中预热。

活化酵母:将安琪葡萄酒用活性干酵母加入蚕豆多肽液中,在 35~40 °C 的培养箱里培养 0.5 h。

发酵:将活化后的酵母接种到发酵液中发酵,在一定的温度下发酵一定时间,至可溶性固形物不再下降停止发酵,发酵结束后酒精体积分数达到 9% 左右。

灭菌:在 70 °C 条件下灭菌 15 min,冷却至室温后封口保存。

1.2.3 蚕豆蛋白酶解优化试验

以影响蚕豆蛋白水解度的蚕豆蛋白溶液质量浓度、温度、酶用量及 pH 为 4 个试验因子,以蚕豆蛋白的水解度(DH)为目标进行中心组合试验设计(表 1)。通过 Design Expert 8.0.5 软件对试验数据进行回归分析,用以确定蚕豆蛋白酶解的最佳工艺条件。

表 1 蚕豆蛋白酶解中心组合设计因素与水平

Table 1 Factors and the level of central composite design from broad bean protein hydrolysis

水平编码 Z_i Code level	X_1 , 蚕豆蛋白质量浓度/(g/L) Broad bean protein concentration	X_2 , 酶解温度/°C Temperature	X_3 , 酶用量/(U/g) Dosage of enzyme	X_4 , pH
+2	50	51	14 000	10.0
+1	40	48	12 000	9.5
0	30	45	10 000	9.0
-1	20	42	8 000	8.5
-2	10	39	6 000	8.0
变化幅度 Δ_j Range of variation	10	3	2 000	0.5

1.2.4 蚕豆多肽酒发酵条件优化

在单因素的基础上,以加糖量、酵母接种量、发

酵温度为因素,以酒精含量为指标,采用四因素三水

平 $L_9(3^4)$ 的正交试验(表 2)进行优化选择。

表 2 蚕豆多肽酒发酵正交试验设计

Table 2 Factors and levels of orthogonal test on fermentation conditions of broad bean polypeptide wine

水平编码 Code level	因素 Factors		
	A,糖添加量/(g/L)	B,酵母接种量/%	C,发酵温度/°C
	Sugar addition	Inoculation amount of yeast	Fermentation temperature
1	200	0.18	22
2	220	0.20	25
3	240	0.22	28

1.2.5 蚕豆多肽酒风味调配

根据感官评定标准,选择柠檬酸添加量、加糖量、环糊精添加量为主要因素,进行 $L_9(3^4)$ 的正交

优化试验(表 3),以感官评定为指标,组织 20 名人员根据感官评分标准(表 4)对产品进行感官综合评定。

表 3 蚕豆多肽酒风味调配正交试验设计

Table 3 Factors and levels of orthogonal test on addition amounts of adjuncts for broad bean polypeptide wine

水平编码 Code level	因素 Factors		
	E,柠檬酸添加量/(g/L)	F,糖添加量/(g/L)	G,环糊精添加量/(g/L)
	Citric acid addition	Sugar addition	β -CD addition
1	1.0	30	6
2	1.5	50	8
3	2.0	70	10

表 4 蚕豆多肽酒感官评分标准

Table 4 Sensory evaluation standards for broad bean peptides wine

项目 Item	评分标准及分值 Grading standard and score			
色泽 Color	淡黄色,透光度好,有光泽(15~20分) Pale yellow, transmittance and shiny (15~20 score)	浅黄色,无光泽(10~15分) Pale yellow, tarnish (10~15 score)	微黄色,透光度差(5~10分) Slightly yellow, poor transmittancy (5~10 score)	灰白色(1~5分) Offwhite(1~5 score)
状态 State	均匀,无沉淀(15~20分) Homogeneous, no sediment(15~20 score)	略浑浊(10~15分) Slightly turbidity (10~15 score)	有少许沉淀(5~10分) Trifle sediment (5~10 score)	有沉淀(1~5分) Sediments(1~5 score)
口感 Taste	口味纯正,醇厚,无涩味和苦味(23~30分) Pure taste and no astringency and bitter (23~30 score)	口味纯正,苦味和涩味较淡(15~22分) Pure taste and light astringency and bitter (15~22 score)	口味较纯正,涩味或苦味较重(8~14分) Fine taste and heavy astringency and bitter (8~14 score)	口味不纯正,涩味或苦味很重(1~7分) Bad taste and very heavy astringency and bitter (1~7 score)
滋味和气味 Flavor	清香宜人,具有天然的发醇醇香(23~30分) Pleasant scent and natural fermentation aroma(23~30 score)	香味较淡,有发醇香(15~22分) Light scent and fermentation aroma (15~22 score)	无香味,无发醇香(8~14分) No scent and fermentation aroma (8~14 score)	有杂味(1~7分) Off-flavor(1~7 score)

1.3 测定指标与方法

酒精度的测定：采用酒精计法^[14]。

水解度的测定^[15]：水解度 $DH/\% = (N_1/N_2) \times 100$ 。式中 N_1 为水解后生成的 NH_2 基的量, g/100 mL; N_2 为样品总氮含量, g/100 mL。水解后生成的 NH_2 基的量由氨基氮的测定法即双指示剂甲醛滴定法测得, 样品总含氮量由微量凯氏定氮法测定。

2 结果与分析

2.1 蚕豆蛋白酶解试验结果分析

2.1.1 回归模型的建立及显著性检验

采用四因素中心组合试验设计对蚕豆蛋白酶解的工艺进行优化, 试验方案及结果见表 5。以蚕豆蛋白的水解度为响应面, 蚕豆蛋白质量浓度(X_1), 酶解温

表 5 中心组合设计试验结果
Table 5 The result of central composite design

试验号 Test number	X_1 , 蚕豆蛋白质量浓度 Broad bean protein concentration	X_2 , 酶解温度 Temperature	X_3 , 酶用量 Dosage of enzyme	X_4 , pH	水解度/% Degree of hydrolysis	
					实际值 Actual value	预测值 Predictive value
1	-1	-1	-1	-1	10.06	9.80
2	1	-1	-1	-1	8.24	7.82
3	-1	1	-1	-1	11.35	11.73
4	1	1	-1	-1	9.09	9.21
5	-1	-1	1	-1	11.44	11.87
6	1	-1	1	-1	6.02	5.61
7	-1	1	1	-1	12.95	13.40
8	1	1	1	-1	6.19	6.60
9	-1	-1	-1	1	13.45	13.55
10	1	-1	-1	1	17.55	17.02
11	-1	1	-1	1	6.26	6.58
12	1	1	-1	1	9.42	9.51
13	-1	-1	1	1	15.58	15.37
14	1	-1	1	1	14.43	14.56
15	-1	1	1	1	7.06	8.00
16	1	1	1	1	6.47	6.65
17	-2	0	0	0	14.12	13.26
18	2	0	0	0	9.50	9.93
19	0	-2	0	0	8.66	9.46
20	0	2	0	0	4.71	3.48
21	0	0	-2	0	9.53	9.85
22	0	0	2	0	9.80	9.06
23	0	0	0	-2	12.53	12.39
24	0	0	0	2	16.48	16.19
25	0	0	0	0	19.03	18.69
26	0	0	0	0	18.48	18.69
27	0	0	0	0	18.48	18.69
28	0	0	0	0	18.48	18.69
29	0	0	0	0	18.18	18.69
30	0	0	0	0	19.58	18.69
31	0	0	0	0	18.48	18.69

度(X_2), 酶用量(X_3), pH(X_4)为自变量, 采用 Design expert 8.0.5 软件对表 4 中的数据进行二次多元回归拟合, 得到碱性蛋白酶酶解蚕豆蛋白的数学模型(已剔除不显著项)为

$$Y = 18.69 - 0.83X_1 - 1.49X_2 + 0.95X_4 - 1.77X_1^2 - 3.05X_2^2 - 2.31X_3^2 - 1.10X_4^2 - 1.07X_1X_3 + 1.36X_1X_4 - 2.23X_2X_4$$

式中: Y 为酶解蚕豆蛋白水解度, %。回归方程经方差分析后进行显著性及拟合度检验, 由表 6 可知, 回归方程 $P = 0.0001 < 0.01$, 达到极显著水平, 失拟项检验 $P = 0.1394 > 0.01$, 复相关系数 $R^2 = 0.9881$, S/N(信噪比)为 31.187 远大于 4, 表明该数学模型中 4 个因素对酶解蚕豆蛋白水解度的影响达 98.81%, 而其他因素的影响和误差占 1.19%, 即只有

1.19% 的变异不能由该模型解释, 预测值和实测值有高度的相关性。该回归方程可较好地描述各因素与响应值之间的真实关系, 可利用该回归方程确定最佳酶解工艺条件。

各个因素与蚕豆蛋白水解度的显著性分析结果(表 6)表明, 蚕豆蛋白质量浓度(X_1)、酶解温度(X_2)、pH(X_4)对水解度的影响达到极显著水平, 即蚕豆蛋白质量浓度、酶解温度和 pH 对水解度有极显著的影响; 四个因素的二次项均极显著, 表明四个因素对蚕豆蛋白水解度的影响不是简单的线性关系, 存在明显的二次关系; 蚕豆蛋白质量浓度(X_1)与加酶量(X_3), 底物浓度(X_1)与 pH(X_4)、酶解温度(X_2)与 pH(X_4)的交互项回归系数极显著, 即表明它们之间存在明显的交互作用。

表 6 回归模型的方差分析表

Table 6 Variance analysis of regression model

变异来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
X_1	16.63	1	16.63	33.86	0.001 0	**
X_2	53.64	1	53.64	109.20	< 0.000 1	**
X_3	0.94	1	0.94	1.91	0.186 4	
X_4	21.62	1	21.62	44.02	< 0.000 1	**
X_1X_2	0.29	1	0.29	0.59	0.445 2	
X_1X_3	18.28	1	18.28	37.21	< 0.000 1	**
X_1X_4	29.65	1	29.65	60.36	< 0.000 1	**
X_2X_3	0.16	1	0.16	0.33	0.571 4	
X_2X_4	79.30	1	73.30	161.44	< 0.000 1	**
X_3X_4	0.06	1	0.06	0.13	0.726 0	
X_1^2	89.83	1	89.83	182.88	< 0.000 1	**
X_2^2	266.65	1	266.65	542.85	< 0.000 1	**
X_3^2	152.41	1	152.41	310.28	< 0.000 1	**
X_4^2	34.52	1	34.52	70.27	< 0.000 1	**
回归模型 Regression model	653.74	14	46.70	95.06	< 0.000 1	**
剩余 Residual	7.86	16	0.49			
失拟误差 Lack of fit	6.33	10	0.63	2.48	0.198 9	不显著 Not significant
纯误差 Pure error	1.53	66	0.26			
总和 Cor total	661.60	30				

注: * 表示差异显著, $P < 0.05$; ** 表示极显著, $P < 0.01$ 。Note: * Significant at 5% level; ** Significant at 1% level.

2.1.2 主效应分析

由于设计中各因素均经无量纲线性编码处理,且各一次项回归系数之间,各一次项回归系数与交互项、平方项的回归系数都不相关,用回归系数的绝对值大小可直接比较各因素一次项对酶解蚕豆蛋白水解度的影响。影响蚕豆蛋白水解度的因素顺序依次为酶解温度>pH 值>蚕豆蛋白质量浓度>酶用量。

2.1.3 交互作用分析

为观察因素交互作用的影响,固定任意 2 个因素在 0 水平,研究另 2 个因素的交互效应。 X_1X_3 (蚕豆蛋白质量浓度与酶用量)、 X_1X_4 (蚕豆蛋白质量浓度与 pH)、 X_2X_4 (酶解温度与 pH)存在明显的交互作用(表 6),其响应面与等高线图见图 1、图 2 和图 3。

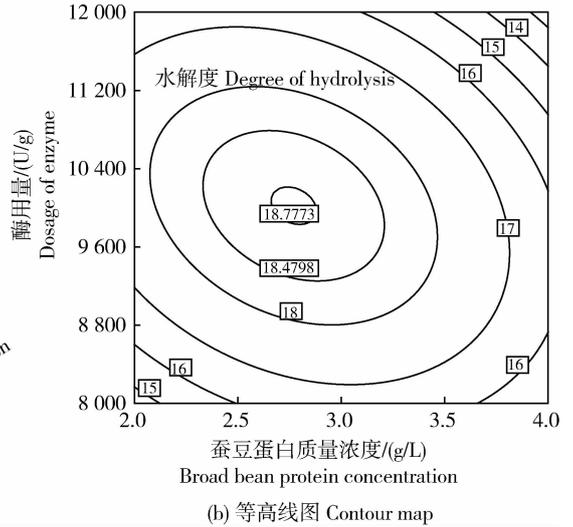
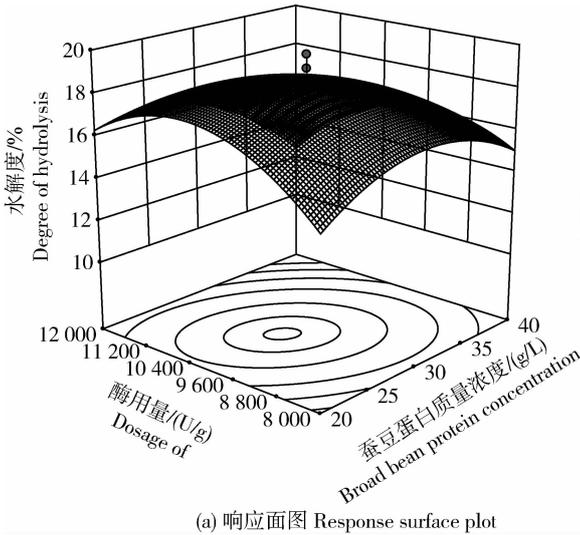


图 1 蚕豆蛋白质量浓度与酶用量交互作用对蚕豆蛋白水解度影响的响应面图与等高线图

Fig. 1 Response surface plot and contour map for the alternating effects of broad bean protein concentration(X_1) and dosage of enzyme(X_3) on DH(Y)

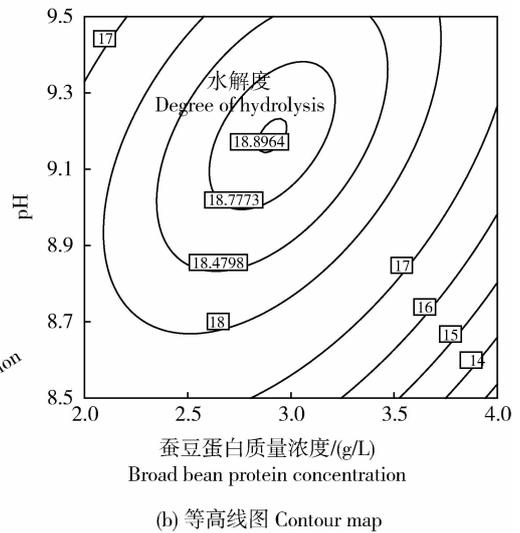
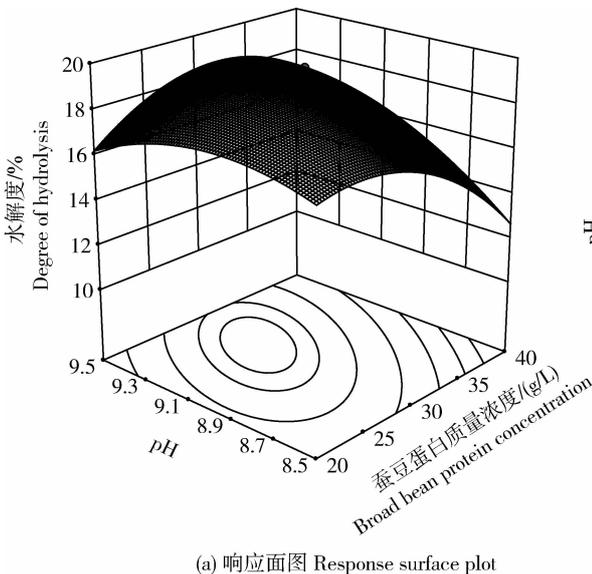


图 2 蚕豆蛋白质量浓度与 pH 交互作用对蚕豆蛋白水解度影响的响应面图与等高线图

Fig. 2 Response surface plot and contour map for the alternating effects of broad bean protein concentration(X_1) and pH(X_4) on DH(Y)

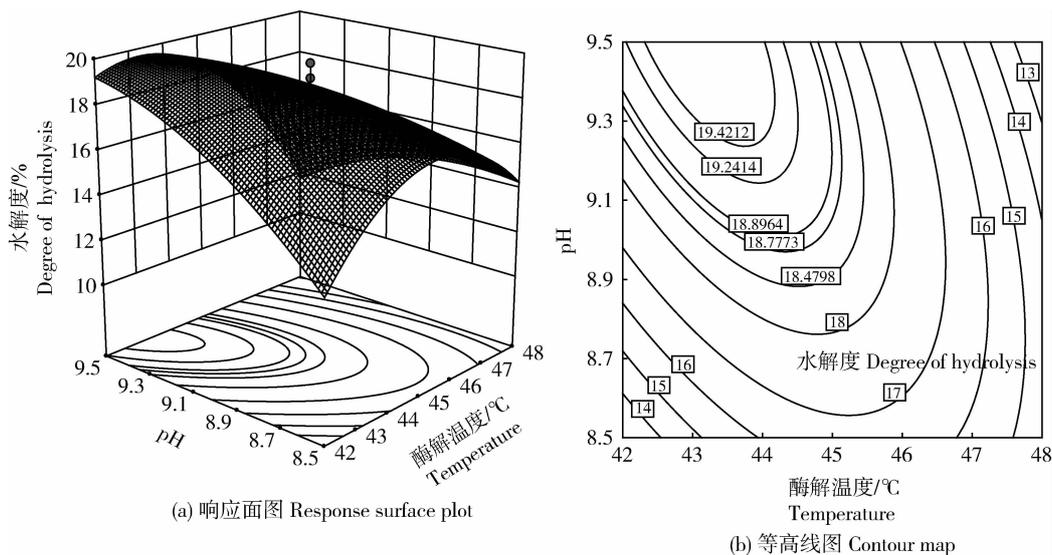


图3 酶解温度与pH交互作用对蚕豆蛋白水解度影响的响应面图与等高线图

Fig. 3 Response surface plot and contour map for the alternating effects of temperature(X_2) and pH(X_4) on DH(Y)

由图1可以看出,在一定的蚕豆蛋白质量浓度条件下,蚕豆蛋白的水解度随着酶用量的增加呈先增后减的趋势,存在极值。这是因为在底物充足,其他条件适宜且一定的条件下,酶解反应的速度与酶的浓度成正比,但当酶与底物结合达到饱和时,增加酶的用量对水解度没有任何贡献,甚至产生非竞争性抑制作用,降低酶解反应速度^[16]。当酶用量一定时,水解度随着蚕豆蛋白质量浓度的增加也呈先增后减的趋势,这是因为在酶活性中心被底物饱和之前,水解度随蚕豆蛋白质量浓度增大而增大,但蚕豆蛋白质量浓度过大,会导致底物分散不均匀,过多底物分子竞争酶的活性中心,影响酶的催化效率及产物分子的扩散,导致水解度降低。当蚕豆蛋白质量浓度在25~30 g/L时,酶用量在9 600~10 400 U/g时,蚕豆蛋白的水解度最高。

由图2可知,蚕豆蛋白质量浓度和pH对蚕豆蛋白水解度的影响存在极显著的交互作用。在一定的酶用量和酶解温度条件下,随着蚕豆蛋白质量浓度和pH的增加,蚕豆蛋白的水解度均呈先增后减的趋势。过高的pH致使碱性蛋白酶的活性降低,酶解的速度减小,水解度相应有所下降^[16-17]。蚕豆蛋白质量浓度为30 g/L左右,pH9.1~9.3时,蚕豆蛋白的水解度最高。

由图3可以看出,随着温度的增加,水解度呈现先增后减的趋势,存在极值,说明温度并不是越高越

好。过高的温度致使碱性蛋白酶的活性降低,酶解的速度减小,水解度相应有所下降^[16-17],随着pH的增加,水解度呈现不断增加的趋势,pH达到9.1以后,蚕豆蛋白水解度增加趋势趋于平缓。在酶解温度约43~45℃,pH9.3~9.5时,蚕豆蛋白的水解度最高。

2.1.4 蚕豆蛋白酶解的优化工艺验证

在试验结果分析及模型拟合的基础上,利用Design expert 8.0.5软件进一步优化试验参数,即为获得最大水解度情况下,优化得到碱性蛋白酶酶解蚕豆蛋白的适宜工艺参数为 $X_1 = 0.12$ 、 $X_2 = -0.61$ 、 $X_3 = -0.089$ 、 $X_4 = 1.00$ 、 $Y = 19.7411\%$,即当蚕豆蛋白质量浓度为32 g/L,水解温度为43.2℃,酶用量为9 821.12 U/g,pH为9.5的条件下酶解2 h,蚕豆蛋白的水解度理论最大值为19.7411%。在优化的工艺参数条件下酶解蚕豆蛋白,实际测得蚕豆蛋白水解度为19.64%,与预测值基本符合。

2.2 蚕豆多肽酒发酵的正交试验结果

由表7可知,各因素对多肽酒发酵酒精度的影响顺序为 $C > B > A$ 。极差分析的最优组合为 $A_1 B_3 C_3$,即加糖量200 g/L,酵母接种量0.22%,发酵温度28℃,发酵时间6 d,在此条件下制得的蚕豆多肽酒的酒精体积分数为9.6%,酒体呈棕黄色,口感醇正、鲜爽、无涩味、略有苦味,具有发酵酒的醇香。

表 7 蚕豆多肽酒正交试验结果与分析

Tabel 7 Results and range analysis of orthogonal test on fermentation conditions of broad bean polypeptide wine

处理 Treatment	因素 Factors				
	A,糖添加量/(g/L) Sugar addition	B,酵母接种量/% Inoculation amount of yeast	C,发酵温度/℃ Fermentation temperature	D,空列 Empty column	酒精体积分数/% Alcohol content
1	1(200)	1(0.18)	1(22)	1	5.8
2	1	2(0.20)	2(25)	2	8.4
3	1	3(0.22)	3(28)	3	9.2
4	2(220)	1	2	3	7.0
5	2	2	3	1	7.3
6	2	3	1	2	6.3
7	3(240)	1	3	2	6.8
8	3	2	1	3	7.1
9	3	3	2	1	7.6
均值 1 Mean 1	7.800 0	6.533 3	6.400 0	6.900 0	—
均值 2 Mean 2	6.866 7	7.600 0	7.666 7	7.166 7	—
均值 3 Mean 3	7.166 7	7.700 0	7.766 7	7.766 7	—
极差 Range	0.933 3	1.166 7	1.366 7	0.866 7	—

注：括号外数值为编码值，括号内为实际值。Note: value of bracket external is coding value, value of bracket internal is actual value.

2.3 蚕豆多肽酒风味调配正交试验结果

从正交试验结果(表 8)可知：各因素对多肽酒风味影响的顺序为 F>G>E,即加糖量是影响其风味的主要因素，白糖可以减少苦味的产生；其次是环

糊精添加量，环糊精有包埋作用，可以减少多肽酒的苦味；最后是柠檬酸添加量。最优组合为 E₂F₃G₁，即柠檬酸添加量为 1.5 g/L，加糖量 70 g/L，环糊精添加量为 6 g/L 时，产品风味较好，显著降低了产

表 8 蚕豆多肽酒风味调配正交试验结果与分析

Tabel 8 Results and range analysis of orthogonal test on addition amounts of adjuncts for broad bean polypeptide wine

处理 Treatment	因素 Factors				
	E,柠檬酸添加量/(g/L) Citric acid addition	F,糖添加量/(g/L) Sugar addition	G,环糊精添加量/(g/L) β-CD addition	H(空列) Empty column	感官评价/分 Sense scores
1	1(1.0)	1(30)	1(6)	1	58
2	1	2(50)	2(8)	2	60
3	1	3(70)	3(10)	3	70
4	2(1.5)	1	2	3	56
5	2	2	3	1	66
6	2	3	1	2	72
7	3(2.0)	1	3	2	54
8	3	2	1	3	64
9	3	3	2	1	68
均值 1 Mean 1	62.666 7	56.000 0	64.666 7	64.000 0	—
均值 2 Mean 2	64.666 7	63.333 3	61.333 3	62.000 0	—
均值 3 Mean 3	62.000 0	70.000 0	63.333 3	63.333 3	—
极差 Range	2.666 7	14.000 0	3.333 3	2.000 0	—

注：括号外数值为编码值，括号内为实际值。Note: value of bracket external is coding value, value of bracket internal is actual value.

品的苦味。

3 结 论

采用碱性蛋白酶酶解蚕豆蛋白,在蚕豆蛋白质量浓度 32 g/L,水解温度 43.2 °C,酶用量 9 821.12 U/g,pH9.5 的条件下酶解 2 h,蚕豆蛋白的水解度达到 19.64%。

采用葡萄酒用活性干酵母发酵蚕豆多肽酒,加糖量 200 g/L,酵母接种量 0.22%,发酵温度 28 °C,发酵时间 6 d,在此条件下制得的蚕豆多肽酒的酒精体积分数为 9.6%,酒体呈透明的棕黄色,口感醇正、鲜爽、略有苦味,具有发酵酒的醇香。为了降低蚕豆多肽酒发酵结束后的苦味,利用环糊精的包埋作用和白糖及柠檬酸的掩盖作用,当柠檬酸添加量为 1.5 g/L,加糖量 70 g/L,环糊精添加量为 6 g/L 时,产品风味较好,产品的苦味较低。

参 考 文 献

- [1] 李正明,王兰君.植物蛋白生产工艺与配方[M].北京:中国轻工业出版社,1998:11-43
- [2] 宋绪晓.蚕豆蛋白的营养特点加工技术及利用途径[J].中国粮油学报,1993(S1):51-54
- [3] 周如太.豆类粉丝厂废水中蛋白质的回收利用[J].饲料工业,1995,16(9):40-41
- [4] Korhonen H, Pihlanto A. Food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods [J]. Curr Pharm

Design, 2003, 9(16):1297-1308

- [5] 齐海萍,胡文忠,范圣第.乳清多肽酒的开发[J].食品工业科技,2006(5):133-135
- [6] 崔蕊静,李汉臣,杜茂宝,等.豆乳酒发酵条件优化[J].农业工程学报,2007,23(7):257-262
- [7] 李志成,徐怀德,段旭昌,等.甲鱼浸汁及甲鱼酶解液发酵技术研究[J].中国食品学报,2004,4(2):43-47.
- [8] 徐怀德,殷金莲,孙卉,等.鲤鱼酶解发酵制饮料的技术研究[J].农业工程学报,2006,22(11):257-260
- [9] 李次力,缪铭.酶解甜玉米糖化液开发营养性饮料的研究[J].食品科学,2005(26):175-178
- [10] 李研,迟玉杰.蛋清蛋白多肽营养饮料的研制[J].食品工业,2006(2):27-28
- [11] 段旭昌,白艳红,徐怀德,等.酶解牛乳蛋白多肽复合果汁乳酒工艺研究[J].农业工程学报,2006,22(3):138-142
- [12] 李雪琴,苗笑亮.蚕豆分离蛋白的制备及其功能性质研究[J].粮食与饲料工业,2003(5):41-43
- [13] 姜莉,徐怀德,陈金海,等.核桃多肽的制备及核桃多肽酒的研制[J].食品科学,2009,30(8):307-310
- [14] 王叔淳.食品卫生检验技术手册[M].3版.北京:化学工业出版社,2002:506
- [15] 李红敏,周小理.荞麦多肽的制备及其抗氧化活性的研究[J].食品科学,2006,27(10):301-306
- [16] 刘大川,周俊梅.富硒菜籽蛋白肽的精制研究[J].食品科学,2008,29(21):129-133
- [17] Pedroche P, Yust M M, Megías C, et al. Utilisation of rapeseed protein isolates for production of peptide with angiotensin I-converting enzyme (ACE) -inhibitory activity [J]. Grasas y Aceites, 2004, 55(4):354-358

责任编辑:刘迎春