

doi:10.16055/j.issn.1672-058X.2015.0012.016

鸡骨多肽保健饮品工艺研究*

马 龙¹, 唐春红^{1,2**}, 余 艳¹, 张春晖³

(1.重庆工商大学 环境与生物工程学院,重庆 400067;2.重庆工商大学 绿色食品研究院,400067;
3.中国农业科学院 农产品加工研究所/农业部农产品加工重点实验室,北京 100193)

摘 要:采用具有较高营养价值的橙汁、蜂蜜、蔗糖、柠檬酸为调味品,与复合蛋白酶酶解制得的鸡骨多肽液调配成酸甜适中、气味较好、色泽淡黄的骨蛋白多肽饮料,探索保健饮料的最佳工艺配方及稳定剂最佳配方,并对营养保健饮品进行调香;最佳工艺配方及稳定剂配方结果:橙汁 12.00%,蜂蜜 2.30%,柠檬酸 0.11%,蔗糖 5.50%,复合稳定剂 0.12%的 β -环状糊精和 0.11%的(CMC-Na)羧甲基纤维素钠,添加 0.40%的香草香精调香;多肽饮品风味独特,酸甜爽口,稳定性好,功能性强,具有营养保健双重功效,质量指标符合国家标准,有很大的市场和开发前景。

关键词:多肽;调味;复配;质量

中图分类号:TP273

文献标志码:A

文章编号:1672-058X(2015)12-0076-08

蛋白质是人体所需的重要营养物质之一,蛋白质经过人体中蛋白酶消化后被肠道吸收,以氨基酸和肽类的形式吸收,研究发现,多肽在人体的新陈代谢方面有重要的生理功能,人体对它的消化吸收优于大分子蛋白质和小分子游离氨基酸,并且有着不同的体内输送系统。生物酶水解多肽有很高的生物活性,此类活性肽在人体中发挥着无可替代的作用。利用鸡骨酶解多肽,可配制成新型保健饮品,目前,只有羊骨和牛骨等少部分动物骨蛋白废弃物被利用,并加工成骨蛋白多肽,并进一步开发成多肽饮品。鸡肉类加工副产物不仅成本低廉,并且营养丰富,含有丰富的氨基酸,其中多肽饮品不仅生物廉价高,而且易于消化吸收,这些多肽具有一定的保健功能^[1]。应用生物蛋白酶酶解技术和膜分离技术,制备鸡骨架多肽,并以多肽为风味基料复配多肽保健饮品,多肽饮品兼具营养和保健双重功效,具有很大的市场和应用前景。

1 材料与方 法

1.1 材 料

鸡骨多肽:重庆工商大学绿色食品研究院实验室自制;Alcalase 碱性蛋白酶:酶活 1.9×10^5 U/g 购于丹麦诺维信公司;柠檬酸、天然蜂蜜、自制橙汁、CMC-Na(羧甲基纤维素钠)、 β -环糊精、香草香精、桶装自来水,食品级。三氯乙酸、氢氧化钠、甲醛、双缩脲,均为化学纯。

1.2 主要仪器

SN-WN1 糖度仪(上海帅宁仪器有限公司);JA2003B 电子天平(杭州友恒称重设备有限公司);

收稿日期:2015-05-12;修回日期:2015-06-22.

* 基金项目:国家自然科学基金(31401623);国家科技合作与交流专项(010S2012ZR0302).

作者简介:马龙(1987-),男,河北石家庄人,硕士研究生,从事农副产品废弃物资源化.

** 通讯作者:唐春红(1965-),女,新疆人,博士,教授,从事功能性食品与天然防腐剂研究.E-mail:023tch@163.com.

C21-sk2105 电炉(广东美的生活电器制造有限公司);安捷伦 6410 型液相色谱仪(天美(中国)科学仪器有限公司);XK97-A 菌落计数器(江苏省金坛市杰瑞尔电器有限公司);WSKLONG-66 无菌操作台(苏州亿达净化实验室设备有限公司);KT-J70 九阳榨汁机(厦门晶睿机电科技公司);wi59636 胶体磨(东西仪(北京)科技有限公司);DZ.8-SFJ-5 均质机(北京卓川电子科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 多肽健康饮品复配工艺流程

试验采用具有较高营养价值的橙汁、蔗糖、蜂蜜、柠檬酸为调味品,鸡骨多肽调配成酸甜适中、色泽蛋黄、气味绝佳的骨蛋白多肽饮料。具体工艺流程如下:多肽溶解→溶糖(蔗糖)→加入 CMC-Na 及 β -环状糊精→加入自制橙汁、天然蜂蜜、柠檬酸→混合→过胶体磨→20 MPa 均质→调香(香草香精)→灌装→杀菌→包装→成品。

1.3.2 氨基态氮的测定

氨基态氮含量^[2]:指示剂甲醛电位滴定法。

1.3.3 可溶性固形物含量测定

总可溶性固形物含量用 MASTER-53M 手持式折射仪直接测定^[3]。

1.3.4 总铅、总磷的测定

总铅、总磷的测定:钙、磷的测定参照 GB/T 5009.4—2010 方法测定^[4]。

1.3.5 氨基酸的测定

样品氨基酸含量测定^[5]:取适量各组分冻干粉配制成 0.1 g/mL 基础溶液,进行游离氨基酸含量测定。

参考 J. Y. Imm 等的方法并作适当调整,采用高效液相色谱法测定样品游离氨基酸含量。液相系统:安捷伦 6410 型液相色谱仪搭配四通道进样泵、可变容积自动进样器及可变波长检测器;色谱柱:Waters AccQ.Tag 氨基酸柱(3.9×150 mm);流动相 A:AccQ.Tag Eluent A;流动相 B(乙腈);流动相 C(超纯水);流速(1 mL/min);柱温(37 °C);进样量(10 μ L);检测波长(254 nm)。

取 1 mL 样品用超纯水稀释 10 倍后,加入等体积 7.5% TCA 溶液,沉淀离心后取全部上清液用超纯水定容至 50 mL,取 10 μ L 经 0.45 μ m 过滤器过滤后的样品按照 AccQ.Tag 氨基酸测定方法衍生后进样,氨基酸标准品稀释成适当的梯度后采用相同的衍生方法处理后进样,数据使用安捷伦数据分析软件进行处理。

1.3.6 菌落总数测定、大肠杆菌测定

菌落总数测定:参照 GB 4789.2—2010 方法测定;大肠杆菌测定:参照 SNT 0169—2010 方法测定^[6]。

1.3.7 感官评定指标

采用具有高营养价值的橙汁、蜂蜜、蔗糖、柠檬酸为调味品,与超滤后的酶解液调配成骨蛋白多肽饮料。选取 10 人实验室成员组成专业评定小组,依照多肽饮料综合评定指标对饮品进行评定及打分。感官评定标准见表^[7]1。

表 1 多肽饮料感官评定标准

	色泽(30)	滋味(40)	透明度(30)	评分/分
优	淡黄色,均匀 (25-30)	爽口,酸甜恰当 (35-40)	清澈,透明 (25-30)	85-100
良	黄色(15-25)	酸甜恰当 (25-35)	透明,微混浊 (15-25)	55-85
及格	淡褐色(9-15)	酸甜较恰当 (15-25)	混浊(9-15)	33-55
差	褐色(3-9)	偏酸、偏甜或酸甜 极不恰当(8-15)	极为混浊或有 沉淀(3-9)	14-33

2 结果与分析

2.1 多肽健康饮品风味配方的确定

2.1.1 添加自制橙汁对饮品风味的影响

取适量多肽,用 50~60 ℃ 温水溶解。在蜂蜜为 2%,蔗糖 6%,柠檬酸 2% 的配方中,分别添加 6%、8%、10%、12%、14% 的橙汁进行实验,评定结果见表 2。由表 2 得出橙汁添加量为 12% 时,饮品的色泽、滋味、透明度均为最好,所以选择橙汁添加量为 12%。

表 2 橙汁添加量感官评分

添加量/%	6	8	10	12	14
感官得分	75	80	83	85	82

2.1.2 添加柠檬酸对饮品风味的影响

在蜂蜜为 2%,蔗糖 6%,橙汁 12% 的配方中,分别添加 0.1%、0.12%、0.14%、0.16%、0.18% 的柠檬酸进行实验,分析结果见表 3。由表 3 得出柠檬酸添加量为 0.12% 时,饮品的色泽、滋味、透明度均为最好,所以选择柠檬酸添加量为 0.12%。

表 3 柠檬酸添加量感官评分

添加量/%	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18
感官得分	74	79	77	75	71

2.1.3 蜂蜜添加量对饮品风味的影响

在蔗糖 6%,橙汁 12%,柠檬酸 0.12% 的配方中,分别添加 2%、2.5%、3%、3.5%、4% 的蜂蜜进行实验,结果见表 4。由表 4 得出蜂蜜添加量为 2.5% 时,饮品的色泽、滋味、透明度均为最好,所以选择蜂蜜添加量为 2.5%。

表 4 蜂蜜添加量感官评分

添加量/%	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
感官得分	85	89	83	82	82

2.1.4 蔗糖添加量对饮品风味的影响

在橙汁 12%,柠檬酸 0.12%,蜂蜜 2.5% 的配方中,分别添加 3%、4%、5%、6%、7% 的蔗糖进行实验,结果见表 5。由表 5 得出蔗糖添加量为 6% 时,饮品的色泽、滋味、透明度均为最好,所以选择蔗糖添加量为 6%。

表 5 蔗糖添加量感官评分

添加量/%	3	4	5	6	7
感官得分	90	91	93	95	93

综上所述,由大量单因素实验得出,最好的工艺配方是橙汁添加量为 12.00%,柠檬酸添加量为 0.12%,蜂蜜添加量为 2.50%,蔗糖添加量为 6.00%。由于 4 个单因素之间可能存在交互作用,造成单因素实验结果不准确,因此有必要对各配方添加量进行优化,设计了四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交设计。

2.1.5 多肽保健饮品复配工艺条件的优化

饮品的配方受多种因素的影响,实验分别对影响多肽饮品风味的 4 个重要因素进行正交实验,以感官评价为指标,找出各因素的最佳添加量^[8]。以蔗糖、自制橙汁、柠檬酸、天然蜂蜜的添加量为 4 个因素,分别选取 3 个水平作正交试验^[9],结果见表 6。

表 6 配方正交实验设计

水 平	因 素			
	A	B	C	D
	橙汁/g	蜂蜜/g	柠檬酸/g	蔗糖/g
1	11.00	2.30	0.11	5.50
2	12.00	2.50	0.12	6.00
3	13.00	2.70	0.13	6.50

由表 7 实验数据分析出的最佳风味配方为 $A_2B_1C_1D_1$,此实验结果比实际第 6 组实验得出的最佳配方 $A_2B_3C_1D_2$ 结果不一致,需要进行实验验证。实验验证得出的结果是正交设计得出的 $A_2B_1C_1D_1$ 的色泽、口感滋味、透明度都要好于第 6 组 $A_2B_3C_1D_2$ 。并且从正交设计实验的分析结果可以得出各个因素对实验结果的影响,即 $A>C>D>B$,即橙汁>柠檬酸>蜂蜜>蔗糖。因此选择 $A_2B_1C_1D_1$ 作为风味保健饮品的最佳工艺配方,即自制橙汁添加量 12%,天然蜂蜜添加量 2.30%,柠檬酸添加量 0.11%,蔗糖添加量 5.50%。

表 7 风味配方正交实验表

试验号	因素				感官得分
	橙汁/%	蜂蜜/%	柠檬酸/%	蔗糖/%	
1	1(11)	1(2.30)	1(0.11)	1(5.50)	80.70
2	1	2(2.50)	2(0.12)	2(6.00)	76.60
3	1	3(2.70)	3(0.13)	3(6.50)	74.40
4	2(12)	1	2	3	80.00
5	2	2	3	1	79.30
6	2	3	1	2	81.70
7	3(13)	1	3	2	75.00
8	3	2	1	3	75.70
9	3	3	2	1	78.60
K1	77.20	78.57	79.37	79.53	
K2	80.33	77.20	78.40	77.77	
K3	76.43	78.20	76.20	76.67	
极差	3.90	1.37	3.17	2.87	
最优值	A2	B1	C1	D1	

2.2 多肽保健饮品稳定剂配方的确定

2.2.1 β -环状糊精对饮品稳定性的影响

实验通过添加羧甲基纤维素钠 CMC-Na 和 β -环状糊精使之与多肽形成稳定复合体,从而提高鸡骨多肽饮品的稳定性^[10]。按表 8 添加量添加稳定剂 β -环状糊精,7 d 后观察其稳定性和口感,结果见表 8。由表 8 可以发现,添加 0.02%、0.06%、0.10%、0.14% 的 β -环状糊后多肽饮品滋味都比较爽口,而添加 0.10% 的 β -环状糊后,放置一星期后有极少量上清液析出并且无沉淀产生,且口感爽口,效果最好,稳定性最好。

表 8 β -环状糊精对多肽饮品的影响

添加量/%	稳定	口感
0.02	分层有 1/10 上清液析出	爽口
0.06	有少量上清液析出	爽口
0.10	有极少量上清液析出	爽口
0.14	有极少量上清液析出	稍粘稠

2.2.2 CMC-Na 的使用对饮品稳定性的影响

由表 9 可以发现,添加 0.11%、0.12%、0.13% 的 CMC-Na 后产生不同的口感,并且放置一周后都会有上清液析出,单独使用羧甲基纤维素钠对饮品的稳定性增强没有明显效果,不够理想。

表 9 CMC-Na 对多肽饮品的影响

添加量/%	稳定	口感
0.11	产生分层,上清液占 1/5	爽口
0.12	分层,上清液析出 1/10	圆滑稍粘
0.13	有少量上清液析出占 1/15	略有糊口感

2.2.3 复合稳定剂的使用对饮品稳定性的影响

鉴于单个使用 β -环状糊精和羧甲基纤维素钠(CMC-Na)的稳定效果均不够理想,而多种稳定剂复合使用有相互增效的作用,因此将以上两种种稳定剂混合添加到保健饮品中放置一周后测定稳定性,结果见表 10。由表 10 看出, β -环状糊精和羧甲基纤维素钠的协同使用,明显起到同时增效作用,两种稳定剂发挥各自的优点,增强对饮品的稳定效果,提高稳定性,是饮品均匀,且不产生分层。同时考虑稳定性效果及滋味口感,最佳的复合稳定剂配方是 0.12% 的 β -环状糊精和 0.11% 的(CMC-Na)羧甲基纤维素钠。

表 10 两种稳定剂复合使用对多肽饮品口感及稳定性的影响

β -环状糊精添加量/%	CMC-Na 添加量/%	稳定性	口感
0.08	0.12	不太均匀,微量分层	稍粘
0.08	0.13	不太均匀,微量分层	爽口
0.10	0.11	不太均匀,微量分层	发粘
0.10	0.12	较均匀,无分层	稍粘
0.10	0.13	较均匀,无分层	发粘
0.12	0.12	均匀,无分层	稍粘
0.12	0.11	均匀,无分层	爽口

2.2.4 多肽保健饮品调香配方的确定

从最佳的工艺配方复配出多肽饮料后,加入复合稳定剂,取 50 mL 饮料,按表 11 添加不同香草香精进行调香^[11],由分析结果得知,添加 0.40%的香草香精饮料风味独特,爽口入味,稳定效果更好,具有一定的开发价值和市场前景。

表 11 多肽饮品调香配方的确定

添加量/%	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
感官得分	80	90	93	95	91	90

2.3 多肽饮品质量指标的确定

2.3.1 感官指标分析

从表 12 感官分析结果看出,多肽饮料的色泽、口感与气味和组织状态都复合市场上售卖的饮料,如出一辙,但其功能性与市售饮料无可比拟,因其添加了抗氧化活性肽,所以更具有叫卖性。

表 12 感官指标分析结果

测定项目	色泽	口感与气味	组织状态
多肽饮料	橙黄色	有香草的气味和芳香,酸爽可口,无异味	无分层,无沉淀,清澈透明

2.3.2 理化指标分析

从表 13 对多肽饮品的理化指标分析看出,多肽饮品中含有一定量的钙、磷元素且含量较低,主要是把鸡骨蛋白水解成多肽物质,鸡骨中含有丰富的钙、磷元素,酶解对于鸡骨中的钙、磷元素的回收利用不是很明显,对饮料中进行总铅及总磷的含量测定结果符合国家食品限量标准。

表 13 理化指标分析结果

测定项目	氨基态氮含量/(g/L)	可溶性固形物含量/(brix%)	总铅/($\mu\text{g/L}$)	总磷/($\mu\text{g/L}$)
多肽饮料	2.20	11.00	<1.20	<0.01

2.3.3 多肽饮品中氨基酸含量测定

由表 14 看出,多肽保健饮品中氨基酸种类很齐全,共检出 17 中氨基酸,几乎包含了蛋白质中的所有氨基酸且含量都较高。人体所需的 8 种必需氨基酸中,其中有 7 种必需氨基酸被检出,只有色氨酸没有被检出,非必需氨基酸共检出 11 种。在所检测的所有氨基酸中,亮氨酸含量最高,其次是精氨酸。必需氨基酸中亮氨酸含量最高,其次是赖氨酸。在保健饮品被检出的氨基酸总量为 6.86 mg/g,所有氨基酸中必需氨基酸占氨基酸总量的 52.77%,非必需氨基酸占 47.23%,其中必需氨基酸/总氨基酸和必需氨基酸/非必需氨基酸的比值分别为 0.52 和 1.11,两者均高于 FAO/WHO^[12] 建议值 0.40 和 0.60,鸡骨抗氧化活性肽主要由这些氨基酸组成,说明鸡骨多肽饮品中氨基酸含量丰富,营养价值高,是一种不得多的富含抗氧化活性肽的生物保健饮品,具有广泛的应用前景。

表 14 多肽饮品中氨基酸含量测定

序号	氨基酸	英文名称	分子量	质量浓度/(mg/g)
1	苏氨酸	Thr	119.10	0.49
2	缬氨酸	Val	117.10	0.40

续表 14

序号	氨基酸	英文名称	分子量	质量浓度/(mg/g)
3	蛋氨酸	Met	149.20	0.28
4	异亮氨酸	Ile	131.20	0.38
5	亮氨酸	Leu	131.20	0.82
6	苯丙氨酸	Phe	165.20	0.58
7	赖氨酸	Lys	146.20	0.67
8	色氨酸	Trp	204.10	0.00
9	门冬氨酸	Asp	133.10	0.24
10	丝氨酸	Ser	105.10	0.20
11	谷氨酸	Glu	147.10	0.67
12	甘氨酸	Gly	75.10	0.16
13	丙氨酸	Ala	89.10	0.45
14	胱氨酸	Cys	240.30	0.04
15	酪氨酸	Tyr	181.20	0.25
16	组氨酸	His	155.20	0.15
17	精氨酸	Arg	174.20	0.75
18	脯氨酸	Pro	115.10	0.33
	\sum AA			6.86
	\sum EAA			3.62
	\sum NEAA			3.24

注: \sum AA 表示氨基酸总量; \sum EAA 表示必须氨基酸含量; \sum NEAA 表示非必须氨基酸含量

2.3.4 微生物指标测定

由表 15 可看出,对饮品中菌落总数、大肠杆菌、致病菌的检出结果均小于国家规定的蛋白质类功能保健食品中的菌落总数和大肠菌群。

表 15 微生物指标测定结果

测定项目 Test items	测定值
菌落总数/(cfu/mL) Total plate count	1.3
大肠杆菌 E.coli(MPN/100 mL)	<20
致病菌	未检出

3 结 论

通过利用鸡骨多肽进行保健饮品的复配,为寻找最佳复配工艺条件,并对成品进行质量指标检测,结论如下:

- (1) 风味保健饮品的最佳工艺配方:即橙汁添加量 12.00%,蜂蜜 2.30%,柠檬酸 0.11%,蔗糖 5.50%;
- (2) 最佳的复合稳定剂配方:0.12%的 β -环状糊精和 0.11%的(CMC-Na)羧甲基纤维素钠并添加0.40%的香草香精,饮料风味独特,酸甜爽口,感官效果极佳,稳定效果更好,具有一定的开发价值和市场前景。
- (3) 对酶解液和骨蛋白多肽饮品中的氨基酸进行检测,结果表明:构成蛋白质的所有氨基酸,几乎都被

检出,必须氨基酸中除色氨酸外,其余全部被检出,且必需氨基酸占氨基酸总量的 50%以上,说明鸡骨多肽饮品具有很高的营养价值。并对饮料的理化指标和微生物指标进行测定,均符合国家标准,可放心饮用。

参考文献:

- [1] 庞广昌.生物活性肽的研究进展理论基础与展望[J].食品科学,2001(2):80-83
- [2] 大连轻工业学院,华南理工大学.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,2009
- [3] 张淑娟,张海红.柿子可溶性固形物含量的可见-近红外光谱检测[J].农业工程学报,2009,25(2):345-347
- [4] 蔡秀萍.分光光度法测定水中总磷的若干影响因素[J].江苏农业科学,2011,39(4):436-438
- [5] SPACKANN D H,STEIN W H,MOORE S. Automatic Recording Apparatus For use in the Chromatography of Amino Acids[J]. Analytical Chemistry, 1958,30:1190-1206
- [6] 苏丽晶.大肠杆菌检验方法的探究与分析[J].中国卫生产业,2012(3):9-10
- [7] 佟海涛,齐海萍.乳清多肽饮料的开发[J].饮料工业,2005,8(4):18-21
- [8] 张根生,喻朝阳,周云.鸡蛋蛋白水解多肽饮料的研究[J].食品科技,2002(4):44-47
- [9] 邓曦.一种天然明目保健复合饮料的研制[J].重庆工商大学学报:自然科学版.2004,21(3):43-49
- [10] 苏永昌,刘淑集.罗非鱼多肽饮料的制备及抗氧化抗疲劳作用[J].福建水产,2013,35(2):112-116
- [11] 敬思群.核桃多肽饮料的研制[J].饮料研究,2012(2):237-241
- [12] 关海宁,迟殿忠.基于队 FAO/WHO 阳相对氨基酸新评分模式的建立及其应用探讨[J].食品工程,2008(12):114-117

Technology Research on Chicken Polypeptide in Health Drink

MA Long¹, TANG Chun-hong^{1,2}, YU Yan¹, ZHANG Chun-hui³**

(1.School of Environmental and Biological Engineering,Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China;2.Green Food Research Institute,Chongqing Technology and Business University,Chongqing 400067, China; 3.Comprehensive Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture / Institute of Agro-Products Processing Science and Technology,Chinese Academy of Agricultural Sciences,Beijing 100193, China)

Abstract: With high nutritional value of orange juice, honey, sugar, citric acid as flavoring, chicken polypeptide from a protease enzyme complex is formulated into bone polypeptides drinks with moderate sweet and sour, good smell and light yellow color. The optimal health drink formula and stabilizers formula are explored and perfumer are added into the nutritional drinks. The optimum formulation and stabilizer formula results are 12.00% orange juice, 2.30% honey, 0.11% citric acid, 5.50% sucrose, 0.12% stabilizer compound β -cyclodextrin and 0.11% (CMC-Na) carboxymethyl sodium carboxymethylcellulose and 0.40% vanilla flavoring. The polypeptide drinks with unique flavor, sweet and sour taste, good stability, functionality have the dual effect of nutrition and health, and quality indicators are in line with national standards. There are great market application and development prospects.

Key words: polypeptide; seasoning; compounding; quality