

高蛋白质含量大豆短肽的理化特性和抗氧化活性

李 丹^{1,2} 李煜馨² 李晓磊¹

1(长春大学生物科学技术学院, 长春, 130012) 2(国家大豆深加工技术研究推广中心, 长春, 130022)

摘 要 95.5%蛋白质含量的大豆短肽是一种白色、不吸潮、易溶于水和酸性环境、无异味的粉末状混和物。在280nm处表现出蛋白质的特征紫外吸收峰。200~1 000u短肽(二肽, 三肽和四肽)占总肽含量的73.65%;游离氨基酸含量为3.17%。大豆短肽使DPPH自由基减少50%时的半最大清除浓度 SC_{50} 是30.304 3 mg/mL, 均为抗坏血酸抗氧化能力的1/2 000。可广泛用于医疗食品、中老年食品、婴幼儿食品及运动员食品等。

关键词 大豆, 短肽, 高蛋白质含量, 抗氧化

大豆蛋白质的氨基酸组成与牛乳蛋白质相近, 除蛋氨酸略低外, 其余必需氨基酸含量均较丰富, 是植物性的营养完全蛋白质, 可与动物蛋白等同。美国FDA推荐: 每日摄入25g蛋白质可有效降低血清中胆固醇含量, 从而降低心脏病的发生率^[1]。

近期的研究表明, 人体摄入的蛋白质, 经消化道酶所水解, 大部分以短肽(二肽、三肽)形式吸收进入血液。并且, 人体对于大豆短肽的吸收速度和吸收率要高与其他蛋白质和氨基酸混合物^[2]。同时, 大豆短肽还具有降血压^[3,4]、降胆固醇、促进脂质代谢、促进微生物生长、低抗原、调节血糖^[5]、提高耐力、促进矿物质吸收等多种生理功能^[6]。

文中以工业化生产条件下所得到的具有高蛋白质含量的大豆短肽产品为研究对象, 测定了其分子量分布、氨基酸组成、紫外光谱特征等理化特性, 并验证了其具有多种生理功能基础的抗氧化活性, 旨在为大豆短肽的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

大豆短肽由营口渤海天然食品有限公司提供。

DPPH(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 自由基, 蛋白质分子量标准品(Ribonuclease A, 13 000~13 700 u; Cytochrome C, 12 400 u; Holo-transferrin, 77 000 u; Apomyoglobin, 16 951 u), 肽分子量标准品(Gly-Tyr, 239.2 u; Val-Tyr-val, 379.5 u; Met-enkephalin, 573.23 u; Leu-enkephalin, 555.63~569.65 u; Angiotensin II, 1 296 u)均购自美国Sigma公司; 乙腈和甲醇为色谱纯试剂, 购自美国Tedia公司; 二次蒸馏水为自制; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 水分含量的测定^[7]

采用102℃烘干恒重法。

1.3 蛋白质含量的测定^[8]

采用微量凯氏定氮法得到总氮含量, 再乘以系数6.25, 即得总蛋白质含量。

1.4 酸溶蛋白质含量的测定^[9]

称取样品2.00 g, 加入15% TCA(三氯乙酸)溶液10 mL, 混合均匀, 静置5 min。将溶液定量转移, 在4 000 r/min下离心10 min后, 取全部上清液, 按1.3规定的方法测定上清液中可溶性蛋白质含量。蛋白质换算系数为6.25, 检验结果应根据样品的干燥失重, 折算为干基。

1.5 游离氨基酸含量的测定^[10]

通过阳离子交换树脂, 固定及净化氨基酸。用2 mol/L NH_4OH 把氨基酸洗脱后, 脱氨浓缩。用氨基酸分析仪(L-8800, 日本日立公司)测定含量。

1.6 肽含量的测定^[9]

酸溶蛋白质含量减去游离氨基酸含量, 即为大豆肽含量。

1.7 分子量分布的测定^[9]

采用美国戴安Dionex Summit高效液相色谱仪, 测定条件: 色谱柱, TSKgel G 2000 SWXL (300 mm×7.8 mm, 日本东洋曹达)凝胶柱; 流动相: V(乙腈): V(水): V(三氟乙酸)=10:90:0.1; 检测波长: UV220 nm; 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 30℃; 进样体积: 10 μ L。

为使色谱系统符合检测要求, 规定在上述色谱条件下, 凝胶色谱柱效即理论塔板数(N)按三肽标准品(乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸)峰计算不低于10 000, 肽的分配系数(Kd)应在0~1。

分别用流动相制成质量分数为0.1%的上述不同分子量肽标准品溶液, 用孔径0.45 μ m的聚四氟乙烯膜过滤后进样, 得到系列标准品的色谱图。以分子质量的对数($\lg M_v$)对保留时间作图或作线性回

第一作者: 博士, 副教授(李晓磊为通讯作者)。

收稿日期: 2006-06-27

归得到分子校正曲线方程。

称取大豆短肽 20.0 mg 于 10 mL 容量瓶中,用流动相定容至刻度,超声振荡 10 min,使样品充分溶解混匀,再用孔径 0.45 μm 的聚四氟乙烯过滤膜过滤后,上机进样。

将所制备的样品溶液在上述色谱条件下分析,然后用 GPC 数据处理软件,将样品的色谱数据代入校正曲线方程中进行计算,即可得到样品的分子质量及其分布范围。用峰面积归一法可计得不同分子质量范围肽的相对百分比。

1.8 紫外光谱分析

将适量大豆短肽溶于二次蒸馏水中,使其在 280nm 处的吸光度在 0.8~1.0 之间。以二次蒸馏水为空白,采用岛津 UV-2200 紫外可见分光光度计,在 265~305 nm 波长范围,对样品进行扫描,记录吸收曲线。

1.9 抗氧化活性的测定^[11]

将大豆短肽和抗坏血酸溶于 100 mmol/L pH7.4 的 Tris-HCl 缓冲液,分别配成 20, 40, 60, 80, 100 mg/mL 和 0.005, 0.05, 0.15, 0.25, 0.35 μg/mL 的样品溶液。将 700 μL 样品溶液和 800 μL 0.5 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液剧烈混和,在暗处放置 20min。空白为 700μL Tris-HCl 缓冲液和 800 μL DPPH 乙醇溶液的混和液。样品的抗氧化活性用 DPPH 在 517 nm 处的褪色来定量,并由此计算 DPPH 减少 50% 时的半最大清除浓度 (Half-maximal Scavenging Concentration, SC₅₀)。

2 结果与讨论

2.1 高蛋白含量大豆短肽的表现特征

研究中所用的高蛋白含量大豆短肽为白色粉末;极

轻,不吸潮,易被流动的空气吹起;易溶于水,室温下溶解度可以达到 100%,在酸性条件下也不产生沉淀,溶液粘性小,受热不凝固;气味清淡,无豆腥味、无苦味。

2.2 高蛋白含量大豆短肽的主要成分

表 1 的结果表明,研究中所用的工业化条件下生产的大豆短肽具有 95.5% 的蛋白质含量,文中将其称为高蛋白含量大豆短肽,以明显区别于蛋白质含量在 88% 左右的大豆短肽产品。

高蛋白含量大豆短肽的另一个特征就是具有非常少的游离氨基酸,仅占 3.17%,而肽的含量高达 91%。因此这种产品非常适于进一步用来研究其理化特性和生物活性。酸溶蛋白质含量为 94.17%,从另外一个方面也反映了其具有较高的肽含量。

表 1 高蛋白含量大豆短肽的成分

指标 ¹⁾	数值/%
水分	4.48
酸溶蛋白	94.17
总蛋白	95.50
游离氨基酸	3.17
肽	91.00

注:1)除水分外,其余均以干基计。

2.3 高蛋白含量大豆短肽的分子质量

对图 1 进行分析,结果列于表 2。所有肽组分的分子质量均小于 3 600 u;200~1 000 u 短肽(二肽,三肽和四肽)占总肽含量的 73.65%;小于 130 u 的组分可能含有大量的游离氨基酸。

表 2 高蛋白含量大豆短肽的分子质量分布(220nm)

分子量范围/u	峰面积百分比/%	数均分子量/u	重均分子量/u
>3 000	0.26	3 436	3 564
3 000~1 000	4.05	1 429	1 523
1 000~500	15.48	676	706
500~300	16.23	400	421
300~130	41.94	197	208
<130	22.04	-	-

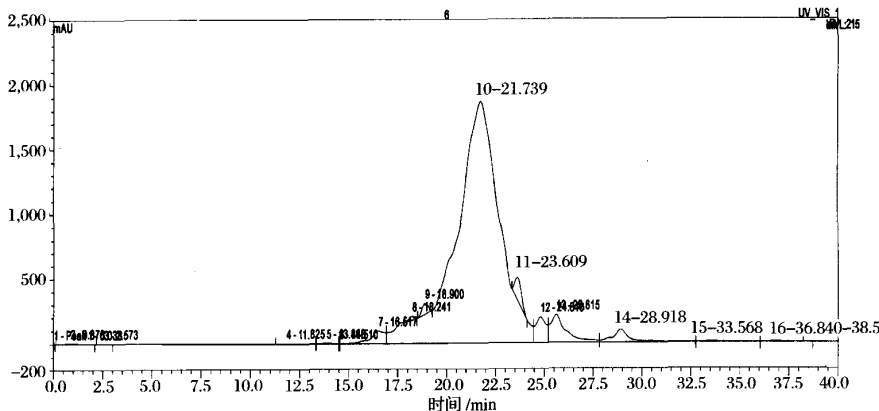


图 1 高蛋白含量大豆短肽高效凝胶渗透色谱图(220 nm)

2.4 高蛋白含量大豆短肽的紫外吸收光谱

图2的结果表明,研究所用的大豆短肽在280 nm处具有吸收峰,没有异黄酮等杂峰出现,表现出特征的蛋白质紫外吸收曲线。这也说明,研究所用的大豆短肽具有极高的蛋白质含量。

2.5 高蛋白含量大豆短肽的游离氨基酸成分

表3的结果表明,亮氨酸和谷氨酸是高蛋白含量大豆短肽中含量最高的游离氨基酸,分别为7.76 mg/g和5.42 mg/g;含量最少的游离氨基酸是色氨酸,为0.24 mg/g;含硫氨基酸(胱氨酸和蛋氨酸)含量处于中等水平,总量为2.53 mg/g。这种氨基酸的比例模式与大豆粕完全不同。这些游离氨基酸也可以被人体直接吸收,也具有较高的营养价值。

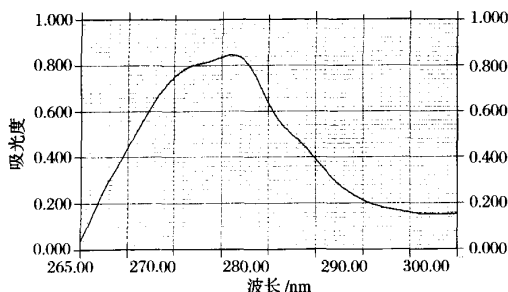


图2 高蛋白含量大豆短肽的紫外吸收光谱

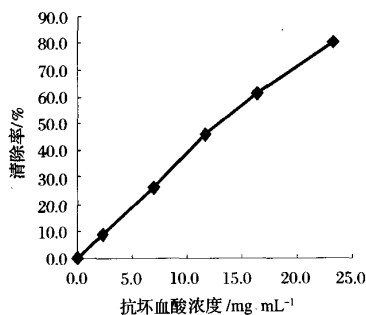
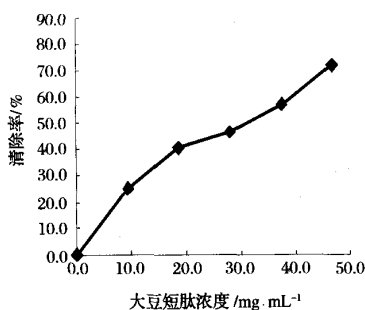


图3 高蛋白含量大豆短肽和抗坏血酸的抗氧化能力

3 结 论

高蛋白含量的大豆短肽是以分子质量为200~1 000u,2~4肽为主要成分的混合物,是一种无异味,无苦味,溶解度好的白色粉末,明显区别于目前国内市售的低蛋白含量的大豆肽产品。不但保留了大豆蛋白质的营养成分,而且具有抗氧化活性和酸溶性,易被人体消化吸收,是一种非常前景的医药保健品原料和功能性食品配料。可广泛用于医疗食品、中老年食品、婴幼儿食品及运动员食品等。

表3 高蛋白含量大豆短肽中的游离氨基酸组成

氨基酸名称	含量/mg·g ⁻¹	氨基酸名称	含量/mg·g ⁻¹
天门冬氨酸(Asp)	0.54	缬氨酸(Val)	1.19
谷氨酸(Glu)	5.42	蛋氨酸(Met)	1.38
丝氨酸(Ser)	0.48	苯丙氨酸(Phe)	3.61
组氨酸(His)	0.27	异亮氨酸(Ile)	1.01
甘氨酸(Gly)	0.25	亮氨酸(Leu)	7.76
苏氨酸(Thr)	1.11	赖氨酸(Lys)	0.87
精氨酸(Arg)	0.48	脯氨酸(Pro)	0.47
丙氨酸(Ala)	1.36	色氨酸(Trp)	0.24
酪氨酸(Tyr)	2.74		
胱氨酸(Cys)	1.15	总氨基酸	30.34

2.6 高蛋白含量大豆短肽的抗氧化能力

图3的结果表明,与常规抗氧化剂抗坏血酸对比,大豆短肽也是随着浓度的增加,抗氧化效果越好。分别以线性关系进行拟合,得到2个回归方程: $y = 3.4994x + 1.6756$ ($r^2 = 0.9929$)和 $y = 1.4144x + 7.1376$ ($r^2 = 0.9584$)。从而得到抗坏血酸和大豆短肽使DPPH减少50%时的半最大清除浓度SC50分别为13.80934 μg/mL和30.3043 mg/mL。因此,在同等质量/体积浓度下,抗坏血酸的抗氧化能力大约是大豆短肽的2 000多倍。

参 考 文 献

- 2005 Soyfoods Guide, <http://www.soybean.org/sfg.pdf>
- Rutherford - Markwick KJ, Moughan PJ. Bioactive peptides derived from food[J]. J AOAC Int, 2005, 88(3):955~66
- Ishihara K, Fukuchi Y, Mizunoya W, et al. Amino acid composition of soybean protein increased postprandial carbohydrate oxidation in diabetic mice [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2003, 67(12):2 505~2 511
- Wu J, Aluko R E, Nakai S. Structural requirements of Angiotensin I - converting enzyme inhibitory peptides: quantitative structure - activity relationship study of di - and tripeptides[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(3):732~738

- 5 Lo WM, Li-Chan EC. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from in vitro pepsin-pancreatin digestion of soy protein[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(9):3 369~3 376
- 6 李 丹,崔 凯.食品蛋白质的改性技术[J].食品与发酵工业,1999, 25(6):58~62
- 7 中华人民共和国国家标准.食品中水分的测定[S]. GB/T 5009.3—2003
- 8 中华人民共和国国家标准.食品中蛋白质的测定[S]. GB/T 5009.5—2003
- 9 中华人民共和国轻工行业标准.大豆肽粉[S]. QB/T 2653—2004
- 10 中华人民共和国国家标准.食品氨基酸的测定[S].GB/T 5009.124—2003
- 11 Blois M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical[J]. Nature (Lond.), 1958,181:1 199~1 200

Some Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Soybean Short Peptide with High Protein Content

Li Dan^{1,2} Li Yuxin² Li Xiaolei¹

1(College of Biological Sci. & Tech. in Changchun University, Changchun 130012, China)

2(National R&D Center for Soybean Processing Technology, Changchun 130022, China)

ABSTRACT Soybean short peptide of 95.5% protein content was a white powder with excellent solubility in water or acid without hygroscopy and strange smell. The typical UV absorption peak of protein was found at 280 nm. Dipeptides, tripeptides and quapeptides of 200~1 000 u occupied 73.65% in total peptides. Free amino acid was 3.17%. SC50, the half-maximal scavenging concentration decreasing DPPH 50%, was 30.304 3 mg/mL. Antioxidant capacity of soybean short peptide with high protein content was 1/2 000 times than that of ascorbic acid. This peptide could be used in foods for people with special needs such as patients, seniors, infants and athletes.

Key words soybean, short peptide, high protein content, antioxidant

信息窗

仪器信息网“新品发布”栏目全新改版

经过仪器信息网编辑部、技术部工作人员近一个月的紧张筹备,全新改版后的“新品发布”栏目(<http://www.instrument.com.cn/newproduct/>)终于和大家见面了。此次改版主要有以下几个特色:

- (1)增加了智能搜索功能,访问者可根据“上市时间”、“仪器类别”、“仪器产地”进行任意组合的新品搜索;
- (2)在栏目中增加了“新品动态”板块,该板块将及时报道中国乃至全球市场的最新仪器信息;
- (3)增加了“上月十大热门新品排行榜”,栏目中的新品仪器将按照各自上月的3i指数进行排序,前10名进入当月榜单。

本排行榜每月更新一次。

欢迎广大网友访问本栏目,并请网上仪器展(www.netshow.com.cn)各参展厂商踊跃在后台申报相关新品。

市场动态

“蒙牛”将大举进攻高档婴幼儿乳粉市场

蒙牛乳业与丹麦阿拉·福兹合资组建的乳粉公司将推出以蒙牛为品牌的高端婴幼儿乳粉,大举进攻高档配方乳粉市场。

目前我国配方乳粉通常的技术工艺是先检测牛乳成分,然后按照配方进行配制。而该合资公司则先将牛乳中的所有成分分离,再按照配方的要求进行组合,这样可保证按不同人群进行设计的各种营养成分的精确度更高。

目前我国高档配方乳粉市场基本被洋品牌所垄断,国产品牌凤毛麟角。阿拉·福兹公司乳品主业名列全球第二位、欧洲第一位,技术力量雄厚,尤其配方乳粉技术处于全球领先地位;蒙牛液态乳、冰淇淋销量全国第一,利乐枕单品销量全球第一,蒙牛与阿拉·福兹合作生产高档配方乳粉,一方面可逐步占领国内高档配方乳粉市场;另一方面,可提升蒙牛产品的品质,蒙牛与阿拉·福兹的合作,不仅是中国乳业的大事,也是全球乳业的大事。