

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A23J 3/34

A23L 1/23

//A23L1/227

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 97199321.1

[45] 授权公告日 2001 年 7 月 4 日

[11] 授权公告号 CN 1067859C

[22] 申请日 1997. 10. 13 [24] 颁证日 2001. 5. 2

[21] 申请号 97199321.1

[30] 优先权

[32] 1996. 10. 30 [33] DK [31] 1209/1996

[32] 1997. 7. 2 [33] DK [31] 0783/1997

[86] 国际申请 PCT/DK97/00444 1997. 10. 13

[87] 国际公布 WO98/18343 英 1998. 5. 7

[85] 进入国家阶段日期 1999. 4. 29

[73] 专利权人 诺沃挪第克公司

地址 丹麦鲍斯韦

[72] 发明人 L·V·科弗德 M·费希尔

P·M·奈尔森 K·波默

[56] 参考文献

US5100679 1992. 3. 31 A23J3/14

US5130149 1992. 7. 14 A23L1/234

US5141757 1992. 8. 25 A23J3/34

WO9425580A 1994. 11. 10 C12N9/62

WO9613988A 1996. 5. 17 A23L1/23

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 郭建新

审查员 谢 妍

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 生产食品调味剂的方法

[57] 摘要

本发明涉及食品调味剂的生产。更具体地说,本发明提供了一种生产食品调味剂的方法,该方法包括下列步骤:制备植物蛋白和不溶性植物材料的含水浆料,用蛋白酶处理该浆料而将蛋白质水解,熟化,其中在前两步之间未进行不溶性材料的分离。通过本方法可增强和改善植物蛋白水解产物的风味。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4



权 利 要 求 书

1. 一种生产食品调味剂的方法，该方法包括如下步骤：
 - a)制备包括 1~40wt% 植物蛋白和不溶性植物材料的含水浆料，
 - b)用蛋白酶处理该浆料而使蛋白质水解至水解度在 25% 以上，
 - c)在 80~100℃ 下熟化 2~12 小时，在 100~120℃ 下熟化 30 分钟~4 小时，或者在 120~140℃ 下熟化 10 分钟~2 小时，其中在步骤 a)和步骤 c)之间未进行不溶性材料的分离。
2. 权利要求 1 的方法，其中所述不溶性植物材料是不溶性植物细胞壁材料。
3. 权利要求 1 的方法，其中所述植物蛋白是大豆。
4. 权利要求 1 的方法，其中所述植物蛋白是脱脂大豆或小麦面筋。
5. 权利要求 4 的方法，其中所述植物蛋白呈片状或粉状的形式。
6. 权利要求 1 的方法，其中该植物蛋白和该不溶性植物材料是由包括豆科植物种子的植物材料提供的。
7. 权利要求 1 方法，它进一步包括在蛋白酶处理之前于 80~125℃ 下蒸煮所述浆料 20 分钟~2 小时。
8. 权利要求 1 的方法，其中所述蛋白酶包括细菌蛋白酶或真菌蛋白酶。
9. 权利要求 1 的方法，其中所述蛋白酶得自芽孢杆菌属或曲霉属的菌株。
10. 权利要求 1 的方法，其中步骤 b)中的酶处理包括第二种非蛋白酶，它作用于植物材料中存在的非蛋白质组分。
11. 权利要求 10 的方法，其中所述第二种酶是糖酶。
12. 如权利要求 11 中定义的方法，其中所述糖酶选自阿拉伯聚糖酶、木聚糖酶、半乳聚糖酶、纤维素酶、 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、葡糖淀粉酶、 α -阿拉伯呋喃糖苷酶、1, 3-或 1, 4- β -木糖苷酶、 β -1, 4-半乳聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、甘露聚糖酶、

纤维二糖水解酶、半纤维素酶、鼠李糖半乳糖醛酸酶、鼠李糖吡喃水解酶、多聚半乳糖醛酸酶、葡糖苷酸酶、 β -葡聚糖酶、 β -葡糖苷酶、果胶酶以及前述任意酶的组合。

13. 如权利要求 12 中定义的方法, 其中所述糖酶选自 α -淀粉酶、 β -葡聚糖酶、 β -淀粉酶、葡糖淀粉酶、半纤维素酶、纤维素酶和果胶酶。

14. 权利要求 13 的方法, 其中所述糖酶得自曲霉属菌株。

15. 权利要求 1 的方法, 其中所述熟化是在 pH4~7 下进行的。

16. 权利要求 1 的方法, 其中该熟化在 80~100℃下进行 2~12 小时或在 100~120℃下进行 1~4 小时。

17. 权利要求 1 的方法, 它进一步包括在熟化后分离固体物质。

生产食品调味剂的方法

本发明涉及生产食品调味剂的方法，该方法包括用蛋白酶处理植物蛋白以水解至少 25% 的肽键，即水解度 (DH) 在 25% 以上。

植物蛋白水解产物常用作食品调味剂。例如，W094/25580 以及 K. Pommer, 谷类食品世界 (Cereal Foods World), 745(1995) 描述了用含有 5 种或更多种蛋白酶成分的真菌蛋白酶制剂水解植物蛋白，以生产具有高水解度的调味剂。

现有技术提出了改变或改善植物蛋白水解产物的风味的各种方法。例如 US3,689,277 (授予 Bio-Technical Resources) 和 JP-A 52-41274 (Kikkoman) 描述了通过添加糖 (单糖或双糖) 和加热而改变蛋白质水解产物的风味的方法。现有技术还提议应用活性炭处理或闪蒸处理来改善蛋白质水解产物的风味 (MacLeod, G., 食品科学与营养评论 (Critical reviews in Food Science and Nutrition), 27, 4, 219-400)。

US 5,130,149 公开了通过一种方法制备咖啡调味料，该方法包括用蛋白酶对大豆粉进行酶水解，接着加热到 140~200℃ 达 0.5~5 小时。

US5,141,757 公开了通过一种方法生产调味剂，该方法包括用蛋白酶处理蛋白质材料，加热到 90~140℃ 达 10 秒~30 分钟 (最短的时间相应于最高的温度，反之亦然)，冷却并用得自曲的酶处理。

现有技术还描述了为了与食品调味剂无关的各种其它目的而用蛋白酶处理植物材料，例如用作功能蛋白或营养品的蛋白质类制品，此处需要低水解度 (DH)，例如 US5,100,679。

本发明的目的是提供一种改变通过用蛋白酶水解植物性蛋白质材料而制备的食品调味剂的风味的改进方法，该方法不需添加糖，也不需应用过高的温度。

意外地，我们发现了在不溶性植物材料（尤其是蛋白质水解后余下的不溶性植物细胞壁材料）存在下，在相当低的干物质浓度下通过适当温度下的最后熟化可增强和改善植物蛋白水解产物的风味。于是，可避免对活性炭处理或闪蒸处理的需要。

本发明人认为这种风味的形成部分地是由水解产物中存在的水解蛋白与碳水化合物（尤其是单糖）之间的美拉德反应引起的。本发明人还认为水解后的不溶性沉淀物可能起苦味肽和疏水性异味物质的天然吸附剂的作用。

因此，本发明提供了一种生产食品调味剂的方法，它包括如下步骤：

- a) 制备包括 1~40wt% 植物蛋白和不溶性植物材料的含水浆料，
- b) 用蛋白酶处理该浆料而使蛋白质水解至水解度在 25% 以上，
- c) 在 80~140℃ 下熟化，

其中在步骤 a) 和步骤 c) 之间未进行不溶性材料的分离。

植物蛋白和不溶性植物材料

可应用得自两种独立来源的植物蛋白和不溶性植物材料，或者可应用含这二者的植物材料。

不溶性植物材料可包括植物细胞壁碳水化合物，例如纤维素、半纤维素或果胶质；以及木质化植物材料，包括木质素。半纤维素可包括木聚糖、阿拉伯糖基木聚糖、木葡聚糖、甘露聚糖和 β -1,3-葡聚糖和/或 β -1,4-葡聚糖。果胶质可包括同型半乳糖醛酸聚糖 (homogalacturonan)、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖和木糖半乳糖醛酸聚糖 (xylogalacturonan)，并且它可含侧链，例如阿拉伯聚糖、半乳聚糖和阿拉伯半乳聚糖。

植物材料可以得自豆科植物、谷物或蔬菜的种子，例如大豆、羽扇豆、苜蓿、豌豆、蚕豆 (faba bean)、棉籽、芝麻、油菜籽、玉米、小麦、燕麦、大麦、黑麦、荞麦、蕃茄或胡萝卜。它可包括整颗的大豆、脱脂大豆、羽扇豆籽、油菜籽、整颗的小麦、小麦面筋、整颗的玉米、玉米面筋。还有，可应用细胞壁材料含量高的各种植物副产品，

例如马铃薯渣、番茄皮、甜菜废粕、木浆、麸壳、玉米蛋白质纤维或玉米芯。

浆料的制备

在制备浆料前，可任选对植物材料进行机械预处理以减小粒径，例如通过磨碎或湿磨。因此，植物材料可呈片、整颗的豆、整颗的谷物、面粉或粗粉形式应用。

任选地，可呈干形式或在制浆后通过加热对植物材料进行预处理，例如通过在 $80 \sim 125^{\circ}\text{C}$ 下蒸汽热压蒸煮 20 分钟 - 2 小时。

蛋白酶

能给出 25% 以上的水解度的任何蛋白酶或蛋白酶混合物都可应用。该蛋白酶或蛋白酶混合物可根据本领域中熟知的原理选择并且可包括内肽酶和外肽酶(羧肽酶和/或氨肽酶)。

蛋白酶可以是动物源的、植物源的或微生物源的。动物蛋白酶的实例是胰蛋白酶，例如牛胰蛋白酶或猪胰蛋白酶。微生物蛋白酶可以是真菌的或细菌的并且可得自下列属或种的菌株：芽孢杆菌属 (*Bacillus*)，地衣芽孢杆菌 (*B. licheniformis*)、枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 和解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*)；曲霉属 (*Aspergillus*)，米曲霉 (*A. oryzae*)。细菌蛋白酶可以是枯草杆菌蛋白酶，例如枯草杆菌蛋白酶 Carlsberg，可以商品名 Alcalase® 获得。

为了达到高水解度，可优选应用蛋白酶混合物。一个例子是 Flavourzyme™，它是一种得自米曲霉的蛋白酶制剂，含 5 种或更多种蛋白质分解组分，描述于 WO 94/25580 中。也可将真菌蛋白酶制剂(例如 Flavourzyme)与细菌蛋白酶(例如 Alcalase)一起应用。

酶促处理

应用蛋白酶的处理可在按本领域熟知的原理选择而适合选定的酶的条件下进行。常用的条件应是：在含 1~40wt% 干物质(优选含 2~20%)的浆料中在 pH4~9 的范围内， $30 \sim 60^{\circ}\text{C}$ 达 1~24 小时。在反应期间可采用缓慢的搅拌。

进行酶促处理为的是水解蛋白质(溶解的蛋白质和沉淀物中的蛋白质)中至少 25%的总肽键,即蛋白质的水解度(DH)至少为 25%。可以优选达到相当高的 DH 以便形成该风味,或者可以优选将该 DH 值保持较低而使处理过程更经济。所以, DH 一般应在 30~90%范围内,尤其在 35~80%范围内。蛋白酶用量通常将包括:外蛋白酶的量为 5~100LAPU/g 蛋白质,尤其 10~50LAPU/g 蛋白质,以及内蛋白酶的量为 0.1~5AU/g 蛋白质。(LAPU 和 AU 是蛋白酶活性的单位,定义见下文)。蛋白质水解和 DH 的测定可按下列文献中所述进行: J.Adler-Nissen, 农业食品化学杂志(J.Agric. Food Chem.), 27(6), 1256-1262(1979); J.Adler-Nissen, “食物蛋白的酶水解”(“Enzymic Hydrolysis of Food Proteins”), Elsevier, London and New York(1986), ISBN 0-85334-386-1; K.Pommer, 谷类食品世界, 745(1995)。

蛋白酶分析方法(LAPU 和 AU)

1 个亮氨酸氨肽酶单位(LAPU)指在下列条件下每分钟分解 $1\mu\text{M}$ 底物的酶量: 26mM L-亮氨酸-对-硝基 N-酰苯胺为底物, 0.1M Tris 缓冲液(pH8.0), 40℃, 10 分钟反应时间。

Anson 单位(AU)被定义于普通生理学杂志(Journal of General Physiology), 22, 79-89(1959)中。

任选的酶

任选地, 水解步骤可包括(除所述蛋白酶外)一种或多种能水解该植物材料的其它组分的其它酶。有利的是, 掺入这样的第二种酶有助于所述风味的形成。

例如, 含甘油三酯(脂肪或油)的植物材料可用脂肪酶与蛋白酶一起处理; 或者含碳水化合物的植物材料可用合适的糖酶与蛋白酶一起处理。所述碳水化合物可能是存在于不溶性植物细胞壁材料中的多糖, 例如纤维素、半纤维素或果胶; 或者它可能是可溶性或不溶性储存多糖, 例如淀粉、菊粉或半乳甘露聚糖, 或者是寡糖, 例如水苏糖、蜜三糖、蜜二糖或蔗糖。

应当选择糖酶以便对植物材料中存在的碳水化合物起作用。该糖酶是按酶命名法归入 EC3.2.1 的一类酶 - (水解 O - 糖基化合物的糖苷酶)。糖酶的一些实例有: 淀粉降解酶, 例如 α - 淀粉酶、 β - 淀粉酶、葡糖淀粉酶; 半纤维素酶, 例如阿拉伯聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、木聚糖酶、1,3- 或 1,4- β - 木糖苷酶、 β - 1,4- 半乳聚糖酶、 α - 半乳糖苷酶、 β - 半乳糖苷酶、甘露聚糖酶; 纤维素酶, 例如纤维二糖水解酶、内切葡聚糖酶; 果胶酶, 例如鼠李糖半乳糖醛酸酶 (rhamnogalacturonase) 、鼠李糖吡喃水解酶 (rhamnopyranohydrolase)、多聚半乳糖醛酸酶、葡糖苷酸酶 (glucuronisidase); 以及可水解植物碳水化合物的其它酶, 例如 β - 葡聚糖酶和 β - 葡糖苷酶。

所述糖酶可以是一种纯化了的单组分酶, 或者它可以是几种不同的酶的混合物。一些具体糖酶的实例如下:

得自棘孢曲霉 (*Aspergillus aculeatus*) 的 β - 1,4- 半乳聚糖酶 (S. Christgau 等, 当代遗传学 (Curr. Genet.), 1995, Vol. 27, 135 - 141), 它是一种释放半乳糖 (一种己糖) 和半乳糖寡聚体 (galactooligomers) 的酶。

Viscozyme™ (Novo Nordisk A/S 的产品), 是一种得自曲霉属菌株的菌株的多酶复合物, 包含宽范围的糖酶, 包括纤维素酶, β - 葡聚糖酶和各种类型半纤维素酶 (例如阿拉伯聚糖酶和木聚糖酶)。它还具有对见于大豆细胞壁中的分支类果胶物质的活性。

按 L. V. Kofod 等在碳水化合物生物工程 (Carbohydrate Bioengineering), Vol. 10, 1995, pp. 321 - 342 中所述, 得自棘孢曲霉菌株的单组分糖酶: 木聚糖酶 (指 Xyl I、Xyl II 和 Xyl III), 鼠李糖半乳糖醛酸酶, 鼠李糖半乳糖醛酸聚糖乙酰基酯酶, 半乳聚糖酶, 阿拉伯聚糖酶和 α - 阿拉伯呋喃糖苷酶。

Ultraflo™ (Novo Nordisk A/S 的产品), 即由选择的 *Humicola insolens* 菌株生产的一种多活性 β - 葡聚糖酶制剂, 其中主要活性是纤维素酶、木聚糖酶、戊聚糖酶和阿拉伯聚糖酶。

熟化

通过在 80~140℃ 下保温一般达 10 分钟~12 小时而进行熟化以便产生所述风味。最短的时间对应最高温度，反之亦然。例如，可在下列条件下进行熟化，即在 80~100℃ 下达 2~12 小时，在 100~120℃ 下达 30 分钟~4 小时，或者在 120~140℃ 下达 10 分钟~2 小时。若要产生最佳风味，则熟化期间的 pH 优选在 4~7 范围内(特别是 4.5~6)。于是，如果需要的话，可在熟化前调节 pH。

任选的加工步骤

任选地，酶处理后的浆料可在熟化前被浓缩，例如通过蒸发(任选在真空下)使干物质的浓度达 20~40%。

还任选在熟化后可从浆料中分离固体物。如果需要的话，可通过常规方法(例如过滤、超滤或离心)进行这种分离。

食品调味剂的应用

本发明的调味剂可按与常规水解植物蛋白(HVP)相同的方法应用而赋予宽范围的食品(例如汤和调味汁(sauces))以风味。

实施例

实施例 1

存在和不存在沉淀物时熟化的高 DH 蛋白质水解产物的风味

蛋白质水解过程描述

按如下操作在中间试验工厂规模制备高水解度(DH)的酶水解产物。

将 33kg 脱脂未烘烤粗大豆粉与 200 l 自来水充分混合，在 85℃ 下加热 5 分钟。使该混合物冷却至室温，将 pH 调节到 7。

将 5g Flavourzyme (850 LAPU/g)/100g 蛋白质和 1g Alcalase(2.4AU/g)/100g 蛋白质加到该反应混合物中。在 50℃ 下水解 5 小时，然后添加 1%的 NaCl，用 4N HCl 将 pH 调节到 5。又添加 2.5g Flavourzyme(850 LAPU/g)/100g 蛋白质，并在 50℃ 下继续水

解 20 小时。在 85℃ 下将酶灭活 5 分钟。

所得水解产物含 13% 干物质，其中约有 55% 是可溶性的。蛋白质含量是 8% (其中 85% 是可溶性的)，碳水化合物含量约为 2.5%。发现碳水化合物库含有可溶性的单糖和寡糖 (水苏糖和蜜三糖) 以及不溶性的细胞壁材料 (主要是具有高含量阿拉伯半乳聚糖的果胶质)。蛋白质的水解度 (DH) 是 60%。

存在和不存在沉淀物时的熟化 (热处理)：

为了形成蛋白质水解产物的所述风味，进行了热处理以利于美拉德反应。在低于 4.5 和高于 8 的 pH 值下产生难闻的异味。所以研究了该水解产物在 5~7 的 pH 间隔内风味的形成。为了研究底物的不溶性残余物对风味的影响，在离心步骤前和离心步骤后 (即分别存在和不存在沉淀物时) 在 125℃ 下将水解产物加热 1 小时。水解产物的风味特性按如下方法判断：

pH	沉淀物	风味特征
5	-	苦味, 稍许焦味, 稍许大豆腥味
5	+	稍许苦味, 无焦味, 无大豆腥味
6	-	很苦, 焦味, 大豆腥味
6	+	苦味, 无焦味, 无大豆腥味
7	-	特别苦, 焦味浓, 大豆腥味浓
7	+	苦味, 稍许焦味, 无大豆腥味

从上表清楚可见，有沉淀物存在下接受了热处理的水解产物风味特性中的苦味、焦味和大豆腥味更小。所以，存在不溶性植物部分时加热改善了产品的整体风味形式。

实施例 2

酶促水解的大豆蛋白

本方法由 4 步构成，即预处理、水解、熟化和后处理（分离、浓缩和喷雾干燥）。

预处理

将 50kg 大豆片与 200~300kg 水混合后直接预煮。预煮是在 95℃ 下进行 60 分钟。最终重量被调节到 250~350kg，然后将该混合物冷却。

水解

在 55℃ 和天然 pH 下进行水解。开始时添加 0.125kg Alcalase 2.4L 和 0.375kg Flavourzyme 1,000L。

进行水解达 3~4 小时。在 3~4 小时后将 pH 降到 5.0~5.5，再添加 0.375kg Flavourzyme 1000L 和 0.100kg Viscozyme。继续水解一夜，总计 16~20 小时。

熟化

水解后接着在 95℃ 下有沉淀物存在时蒸煮 4 小时。

后处理

或者应用 60℃ 下的超滤，或者通过简单的双层过滤板和板框式压滤机将水解产物分离。应用硅藻土作助滤剂。将透过液在 60℃ 下进行毫微级过滤直至浓度为 30~35 白利糖度。

在最后配制成最终组合物前，在 90℃ 下将该浓缩液熟化 4 小时以进一步增强风味。应用约 180℃ 的入口温度和约 80℃ 的出口温度进行喷雾干燥。

处理过的水解产物的味道没有大豆腥味。

实施例 3

存在和不存在糖酶时热处理过的蛋白质水解产物的风味。

水解过程描述

按如下操作在中间试验工厂规模制备高 DH 的酶水解产物。

将 33kg 脱脂未烘烤粗大豆粉与 200 l 自来水充分混合，在 85℃ 下加热 5 分钟。使该混合物冷却至室温，将 pH 调节到 7。

将 5g Flavourzyme (850 LAPU/g)/100g 蛋白质和 1g Alcalase(2.4 AU/g)/100g 蛋白质加到该反应混合物中。在 50℃下水解 5 小时, 然后添加 1% NaCl, 再用 4N HCl 将 pH 调节到 5。又添加 2.5g Flavourzyme(850 LAPU/g)/100g 蛋白质, 并在 50℃下继续水解 20 小时。在 85℃下将酶灭活 5 分钟。

所得水解产物含 13%干物质, 其中约有 55%是可溶性的。蛋白质含量是 8%(其中 85%是可溶性的), 碳水化合物含量约为 2.5%。碳水化合物库含有可溶性的单糖和寡糖(水苏糖和蜜三糖)以及不溶性的细胞壁材料(主要是具有高含量阿拉伯半乳聚糖的果胶质)。蛋白质的水解度(DH)是 60%。

多聚糖的降解

用如下糖酶制剂(单独用以及组合用)处理上述大豆蛋白水解产物而水解不溶性的细胞壁多糖: Viscozyme®L(Novo Nordisk), 即一种多-糖酶制品, 以及得自棘孢曲霉的 β -1,4-半乳聚糖酶、阿拉伯聚糖酶和 α -阿拉伯呋喃糖苷酶。

在水浴中将 2 升水解产物调节到 40℃, 并将 pH 调节到 5。添加酶使反应进行 4 小时。通过在 85℃下加热 5 分钟将酶灭活。酶的用量是: Viscozyme 1%干物质(2.6g: 260g DM), 半乳聚糖酶 0.006%DM, α -阿拉伯呋喃糖苷酶 0.006%DM, 和阿拉伯聚糖酶 0.006%DM。

熟化(热处理)以便形成风味

糖酶处理过的水解产物是在热处理步骤中(使之发生美拉德反应)形成风味的。

通过下列感官评定判断在 125℃下和 pH5 时 1 小时后形成的风味特征。本实验中包括一个未受糖酶处理的空白样品。

样品号	酶	风味特征
1	空白样品	肉和蔬菜
2	Viscozyme	烤肉, 熏制的, 蔬菜
3	半乳聚糖酶	烤肉, 熏制的
4	α -阿拉伯呋喃糖苷酶	熏制猪肉
5	半乳聚糖酶+ α -阿拉伯呋喃糖苷酶	烤肉, 熏制的食品 (比 3 和 4 更浓郁)
6	阿拉伯聚糖酶+ α -阿拉伯呋喃糖苷酶	熏制猪肉 (比 4 更甜)

从上表清楚可见, 由于糖酶处理而使风味存在明显差异。在糖酶降解后接受了热处理的水解产物与空白样品不同, 并且不同的糖酶给出不同的风味特征。释放的半乳糖和/或半乳糖寡聚体引起水解产物烘烤的风味特征, 而释放的阿拉伯糖却引起类似熏制的和猪肉的风味特征。除了阿拉伯糖和半乳糖外还释放木糖、鼠李糖、岩藻糖和葡萄糖的多酶复合物还增加蔬菜风味特征。

实施例 4

有得自小麦面筋或大豆粉的沉淀物时通过热处理使苦味减小。

用蛋白酶水解小麦面筋(Cargill Job 5141)或者小麦面筋和大豆粉(Cargill granulated 20/80/20)的混合物。水解过程中蛋白质含量是 10%(在大豆和小麦面筋的混合物中, 50%的蛋白质来自小麦面筋, 50%来自大豆粉)。

基于底物蛋白质计算的酶添加量为 2% Flavourzyme™1000L 和 1.0% Protamex™ 1.5 MG(Flavourzyme™ 和 Protamex™ 都得自 Novo Nordisk A/S, 丹麦)。在添加酶之前, 将 pH 调节到 6.5, 但在水解期间未调节 pH。在 50℃ 下进行水解达 18 小时, 然后将 pH 调节到 5。

将水解产物的一半离心以回收可溶性蛋白质, 在 125℃ 下将可溶

相加热 1 小时。在离心前将水解产物的另一半于 125℃ 下热处理 1 小时，再回收可溶性蛋白质。测定了水解产物的 DH，纯小麦面筋水解产物的 DH 约为 32%，混合的面筋和大豆蛋白的水解产物 DH 约为 35%。

将上清液稀释 8 倍后给训练有素的评味员作感官评价。请 12 名评味员对各水解产物的苦味记分，评分等级从 0 到 9。每种水解产物出示两次，将所有水解产物以随机顺序呈给不同的评味员。通过二向 ANOVA (two-way ANOVA) 对收集的数据进行统计处理，以评味员和水解产物为自变量，以苦味分数为因变量。计算各水解产物的平均值和两个不同处理的水解产物之间 95% 置信水平时的最小显著性差异 (Fishers LSD)。

结果给出于下表 1 中。

表 1

不同水解产物的平均苦味分数

水解产物	存在沉淀物时加热	不存在沉淀物时加热
小麦面筋	3.19	3.88
小麦面筋+大豆	1.48	2.40

该 LSD 值是 0.50。

从上表清楚可见，当热处理期间存在沉淀物(不溶性植物材料)时苦味减小了。此现象似乎对不溶性植物材料来说是一般现象，因为现已就大豆蛋白和小麦面筋蛋白以及就其混合物观察到了该现象。