

腐乳白点的成分鉴定

鲍松林 丁霄霖

(食品科学与工程系)

摘要 腐乳白点,经化学定性、HPLC定量鉴定、重结晶显微观察等试验,证实了其
主要成分是73%~76%的酪氨酸和一些菌丝体。不同腐乳样品的游离氨基酸图谱
显示了白点的出现与游离酪氨酸含量之间有密切关系。

关键词 腐乳;白点;鉴定

0 前 言

腐乳白点指的是附着于成熟白腐乳表面上的乳白色硬质圆粒状小晶体,大者直径达1毫米;有时也结成片状,有时则附着于腐乳表面松散的菌丝体上呈悬浮态。1981年桂林腐乳厂任多悦^[1]报导了对白点成分的研究,认为是草酸钙结晶;同年华南工学院袁振远等^[2]对其提出质疑,并指出白点的化学本质是酪氨酸;由此人们对白点的构成看法各不一样,有的则认为很复杂,无法确定。1990年雷时奋^[3]撰文支持酪氨酸说,但在市场上又出现了白点是石膏的传闻。因此,有必要对不同来源的腐乳白点进行成分鉴定,一方面可以明了不同来源对白点成分的影响,另一方面可以为白点问题研究提供更确凿的资料。

1 材料与amp;方法

1.1 样本来源

DX 江苏某酿化厂1992年11月生产,白点明显。

GH 广东某腐乳厂1992年10月生产,白点明显。

SL 实验室制品,白点明显。

GZ 贵州某酱菜厂1992年9月生产,无白点。

JX 浙江某酿造厂1992年11月生产,白点不明显。

XH-A, XH-B, XH-C 广东某食品厂分别于1992年8月、9月、10月生产,无白点。

1.2 白点分离

收稿日期:1993-04-03

采用常规法挑取,水洗,风干。

1.3 试验方法

1.3.1 溶解性 取白点少许观察其在清水、沸水、0.01mol/LHCl,0.01mol/LNaOH,0.2 mol/LHCl,1mol/LNaOH 溶液中的溶解情况;同时定量酸溶残余成分。

1.3.2 燃烧性 酒精灯火焰常规法。

1.3.3 水分和灰分测定 105℃干燥至恒重,然后取样于 600℃灰化。

1.3.4 还原能力检验 取白点适量以 0.2mol/LHCl 溶解,同时配制酪氨酸、草酸钙溶液作对比;采用 0.02mol/LKMnO₄ 热滴定。

1.3.5 氨基酸定性试验。茚三酮显色法。

1.3.6 酪氨酸半定量分析 Folin-酚法。

1.3.7 酪氨酸定量分析及氨基酸图谱 采用日立 835-5D 型氨基酸自动分析仪。

1.3.8 重结晶及显微观察 于白点的盐酸溶液中滴加 2mol/LNaOH,测 pH 并观察结晶现象,至 pH6 结束结晶;取生化试剂 L-酪氨酸以同样处理作对比。150 倍显微观察。

2 结果

(1) 所有白点样品在清水、沸水、0.01mol/LHCl 和 NaOH 溶液中溶解现象不明显;但迅速溶解于 0.2mol/LHCl 及 1mol/LNaOH 溶液中。测得 GH 和 SL 白点的菌丝体等酸溶残余物质分别占干重 6.4%和 9.2%。

(2) 白点在酒精灯火焰上燃烧,残存物极少;表明白点主成分是有有机物。

(3) 所有白点样品的灰分含量干物质计均低于 1%;其中 GH 和 SL 白点的水分含量分别为 45.5%和 38.7%。

(4) 不同来源白点的还原能力检验结果如表 1 所示,由此可推断白点不是草酸钙,而可能是酪氨酸。

表 1 不同来源白点还原能力之比较(反应摩尔比)

样品	0.02mol/L KMnO ₄ (ml)	酪氨酸 : KMnO ₄	草酸钙 : KMnO ₄
DX 白点 10mg	7.57	1 : 2.7	1 : 1.9
GH 白点 10mg	7.94	1 : 2.8	1 : 2.0
SL 白点 10mg	7.34	1 : 2.6	1 : 1.8
L-酪氨酸 10mg	8.90	1 : 3.1	/
草酸钙	/	/	2.5 : 1

(5) 各白点样品与茚三酮反应均显蓝紫色,呈氨基酸反应;进一步表明白点可能是酪氨酸。

(6) Folin-酚法测得 DX, GH, SL 白点中的酪氨酸含量分别为 87%, 90%, 86%(干物质),由此确定进行氨基酸定量分析。

(7) GH, SL 白点氨基酸图谱分别见附图 1 和附图 2,其氨基酸含量及组成如表 2。

表 2 GH, SL 白点的氨基酸含量及组成(%干物质)

	Ser	Gly	Cys	Met	Tyr	Phe	Ala	Val	TAA
GH 白点	1.5	0.8	2.0	1.2	75.9	5.8	0.4	0.9	88.5
SL 白点	1.2	0.7	4.0	1.3	73.2	5.5	/	/	85.9

由此确证白点的主成分是L-酪氨酸,其在GH和SL白点中分别占干物质的75.9%和73.2%。附图3示意腐乳样品GH的游离氨基酸图谱;各种腐乳样品的游离氨基酸含量及组成如表3所示,其中第一组为无白点或白点不明显样品,第二组为有明显或大量白点样品。表3中各数据转换成的相对值见图1,图2,图3。图1表明使用相同菌株相同酿造条件生产的腐乳,其游离氨基酸模式基本一致;而比较图2和图3则可以看出有无白点的腐乳其游离氨基酸组成明显不同,主要是酪氨酸、胱氨酸的含量相差较大。

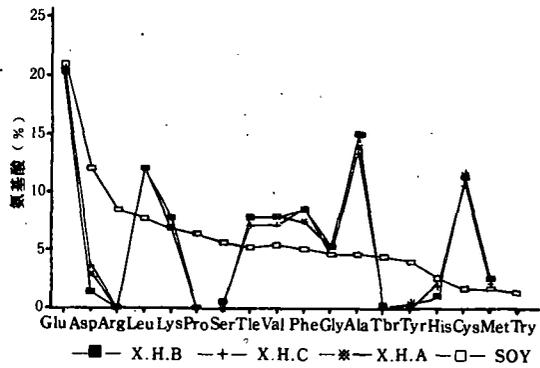


图1 香化腐乳的游离氨基酸组成及其与大豆蛋白质氨基酸的比较

表3 各种腐乳的游离氨基酸含量及组成(mg/100g)

腐乳	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	Lys	His	Arg	TAA	
第一组	XH-A	105	0	0	736	0	190	496	413	283	76	276	431	11	263	283	31	0	3593
	XH-B	38	5	14	572	0	146	419	316	219	72	219	337	0	237	218	27	0	2812
	XH-C	95	0	0	537	72	114	343	275	184	46	184	313	0	222	180	47	0	2612
	GZ	43	0	0	925	0	215	732	432	286	73	289	457	20	289	298	0	0	4059
	JX	42	4	3	915	0	184	637	355	255	63	255	412	20	282	267	5	0	3699
第二组	DX	141	99	47	508	29	99	204	0	221	85	183	311	134	217	154	31	33	2496
	GH	195	83	27	473	70	98	199	0	178	46	147	248	87	172	147	33	0	2203
	SL	209	117	139	261	32	122	214	0	227	88	224	388	127	241	242	44	7	2682

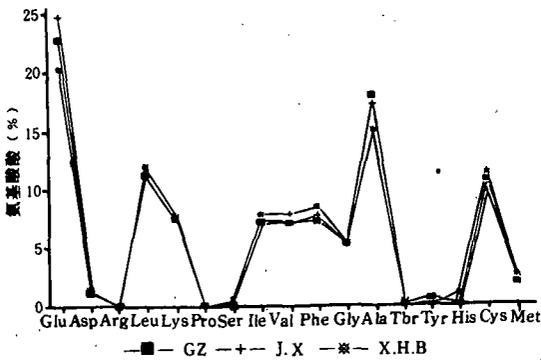


图2 无白点腐乳的游离氨基酸组成

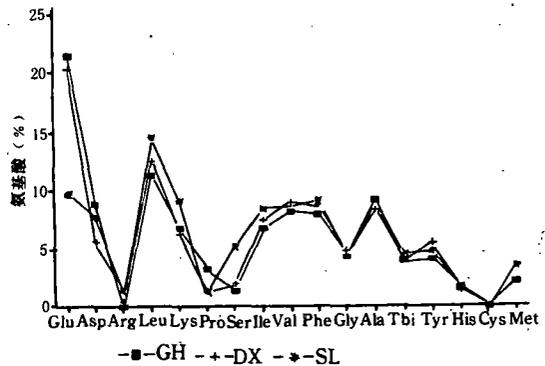


图3 有白点腐乳的游离氨基酸组成

(8) 重结晶所获晶体在150倍、600倍显微镜下与生化试剂L-酪氨酸晶型一致,呈针状晶体,符合文献记述。

3 讨 论

(1) 试验结果表明白点的主要成分是酪氨酸的结晶体。酪氨酸在所有已知的蛋白质氨

基酸中,其溶解度最小,在25℃水中的溶解度为0.045。白点在清水、沸水及酸碱度较低的溶液中,溶解不明显与此一致。酪氨酸是两性电解质,故在0.2mol/LHCl和1mol/LNaOH溶液中迅速溶解。另外,在溶解性试验中可清楚地观察到白点中附着或包埋了不少的真菌菌丝,白点溶解时这些菌丝被释放并悬浮在溶液中,静置稍久则下沉。

(2) 白点的主要成分是游离态的酪氨酸而不是其金属盐,这由白点灰分低于1%可得到证实。如果白点是酪氨酸钙盐,则其灰分含量是14.0%;若是镁盐则灰分含量为10.5%。腐乳白点中的钙、镁等定量可采用原子吸收光谱法,但必要性不大。

(3) 还原能力的检验否定了白点是草酸钙的说法,并表明白点是酪氨酸的可能性较大。草酸盐与 KMnO_4 的氧化还原反应有着严格的当量关系,通常标定 KMnO_4 溶液是采用草酸钠法;酪氨酸与 KMnO_4 的反应较复杂,当量关系不明确。试验中 KMnO_4 与白点液反应的摩尔比为1:2.6~2.8;与酪氨酸反应摩尔比为1:3.1较为接近。

(4) 白点干燥失重39%~46%,在干物质中,菌丝体等酸溶残余物质占6%~9%,游离氨基酸占86%~89%;其中酪氨酸为最主要成分,占干物质的73%~76%,其次是苯丙氨酸占5%~6%。有的学者^[2]仅以Folin-酚法定量白点中的酪氨酸,其结果将明显偏高;前面试验以Folin-酚法测得白点中酪氨酸含量高达86%~90%,而定量化分析结果仅为73%~76%。这是由于Folin-酚法本身的局限,白点中的一些杂质对测定有较大干扰。另外,白点中的苯丙氨酸、胱氨酸等因相对含量较低,故在普通的氨基酸薄层层析中不易检出^[2]。总之,不同来源对腐乳白点成分的影响不大,主要是干燥失重、菌丝体含量及微量氨基酸组成有所差别,而主要成分均是酪氨酸。

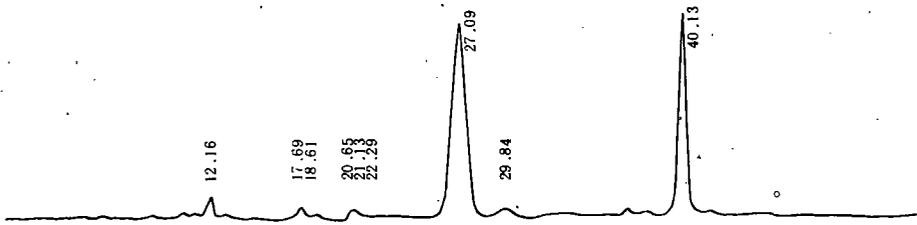
(5) 对不同腐乳样品游离氨基酸图谱进行分析比较,可以看出,凡是有白点出现的腐乳,无论是汤液还是腐乳块,其中酪氨酸含量均呈过饱和状态;而不出现白点的腐乳样品其中酪氨酸含量均很低甚至未检出。由此可进一步证实白点与酪氨酸含量有密切关系。另外,重结晶及显微观察也为酪氨酸说提供了证据。

(6) 白点生成原因及防止措施有待进一步研究。但由以上游离氨基酸图谱可得出初步结论,白点的出现与否,直接取决于腐乳中游离酪氨酸产生量的大小。一般而言,大豆因品种、栽培条件等差异造成大豆蛋白质中酪氨酸含量的波动,不可能明显影响腐乳成品中的游离酪氨酸含量;微生物在生长过程中即使过量合成酪氨酸也不致于这样明显影响腐乳成品的游离酪氨酸含量;最大的影响因子可能是酿造用菌株的酶系差异及酿造条件。有大量研究表明,各种肽酶的底物特异性各不一样,例如米曲霉的氨肽酶I和II^[4],一般优先水解N-末端为亮氨酸的肽类;而枯草杆菌蛋白酶^[5]则优先水解含有芳香族氨基酸的肽键。以上各腐乳样品的游离氨基酸图谱各有特征,与其所用菌株的酶系尤其是肽酶类别的差异密切相关,而菌株的酶系又在一定程度上受培养条件影响,但有关深入研究尚未见报导。

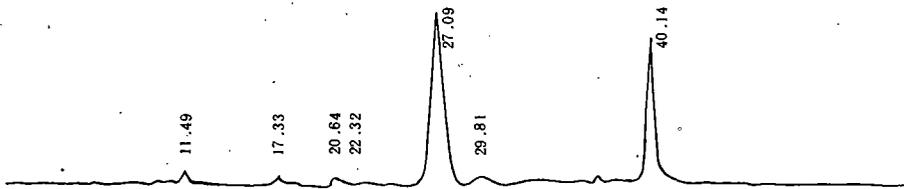
参 考 文 献

- 1 任多悦:关于腐乳白点的研究.食品科学,1981,3
- 2 袁振远等.腐乳白点的化学本质.调味副食品科技,1981,9:1~4
- 3 雷时奋.对有白斑的腐乳如何进行质量判定.中国酿造,1990,2:36
- 4 Nakadai T et al. Purification and Properties of Leucine Aminopeptidase I from *Aspergillus oryzae*. Agric. Biol. Chem. 1973,37(4):767~774
- 5 村田克己等.市販プロテアーゼによる发酵豆乳カドの调制.日食工志,1989,36(5):417~423

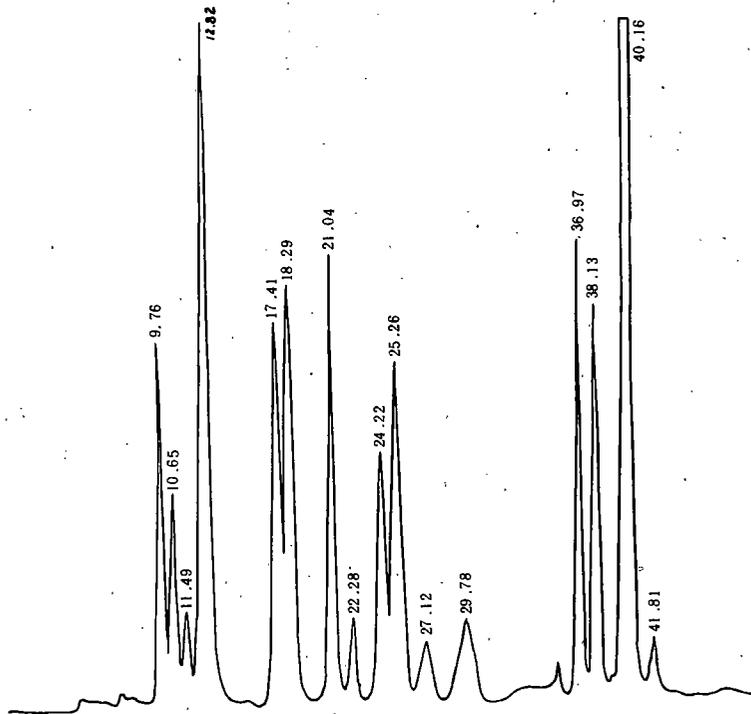
附图:



附图1 腐乳GH白点的氨基酸图谱



附图2 腐乳SL白点的氨基酸图谱



附图3 腐乳GH的游离氨基酸图谱

Identification of White Particles on the Surface of Chinese Sufu

Bao Songlin · Ding Xiaolin
(Dept. of Food Sci. & Eng.)

Abstract The white particles which frequently occur on the surface of Chinese sufu were examined through recrystallization, microscopic observation, chemical assay and HPLC identification, which consisting of 73%~76% of tyrosine and certain amount of fungal mycellia. Amino acid profiles of different sufu products indicated that the occurrence of white particles is closely related to the amount of free tyrosine in sufu.

Key-words Sufu; White particle; Identification