

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

※※※

※ 黃豆蛋白質中嘌呤之去除及應用--(1)去除方法之建立 ※
※ The elimination of purine in soy protein and its application— ※
※ (1) The method of purine elimination ※

※※※

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 89-2313-B-041-022-

執行期間：89年8月1日至90年7月31日

計畫主持人：柯易昌
共同主持人：周政輝

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：嘉南苜蓿科技大學食品衛生系

中華民國 90 年 10 月 25 日

黃豆蛋白質中嘌呤之去除及應用--(1)去除方法之建立

The elimination of purine in soy protein and its application--(1) The method of purine elimination

計畫編號：NSC89-2313-B-041-22

執行期限：89.8.1-90.7.31

主持人：柯易昌 嘉南藥理科技大學食品衛系

共同主持人：周政輝 嘉南藥理科技大學食品衛系

一、中文摘要

本研究之目的在探討如何降低黃豆蛋白中之嘌呤含量，並研究在不同之條件下，去嘌呤處理時對蛋白質結構與物性所造成的影響。當黃豆蛋白以 0.2N HCl 加熱處理時，發現溫度愈高，則去嘌呤效果愈佳。若延長加熱時間，也有相似效果。70°C 下提高 HCl 濃度處理黃豆蛋白，也會增加嘌呤之去除率。作黏度分析發現黃豆蛋白酸處理液之黏度會隨著溫度上升而上升，在 60°C 左右達到最高點，超過 60°C 後又逐漸下降。以梯度聚丙烯醯胺電泳分析各種去嘌呤黃豆蛋白，發現 7S 與 11 S 蛋白在經過 30°C 之 0.2N HCl 處理 1 小時之後，就幾乎全部消失了。但梯度的 SDS 聚丙烯醯胺電泳分析 (SDS-PAGE) 則顯示，經過 70°C 的 0.2N HCl 處理 1 小時之黃豆蛋白，它的次單位(subunits)僅有部份之破壞而已。總之，黃豆蛋白在 70°C 的 0.4N HCl 加熱 1 小時之後，嘌呤去除率可高達 93%，並且其次單位結構之破壞程度不大。

關鍵詞：黃豆蛋白、嘌呤含量、高尿酸血症

Abstract

The object of this study is to investigate the effect of low purine content soy protein and on its functional properties and chemical structures. When the soy protein was hydrolyzed at 50°C-90°C, in 0.2N HCl, for 1 hr. The greater is the temperature, is greater the removing ability of purine content. The longer is the hydrolysis time, the lower is the purine content. The same as the HCl concentration do. We found that the

largest viscosity is at about 60°C. The PAGEs showed that 7S and 11S proteins were disappear after treating 1hr with a 30°C 0.2N HCl solution. But SDS-PAGEs showed that the soy protein subunits were destroyed lightly after heating for 60min in 0.4N HCl at 70°C. This condition can get a very low purine content soy protein as 7%.

Keywords: soy protein, purine content, goat, hyperuricemia

二、緣由與目的

痛風(gout)為一種關節性病變，起因於水難溶的尿酸(uric acid)堆積在關節內腔所引起的發炎反應，會造成劇烈之疼痛及腫脹。在高尿酸血症(hyperuricemia)患者(血尿酸值大於 7.0mg/dl 者)之中，約有十分之一的人會轉變成為痛風，且容易罹患尿路結石及腎臟病⁽¹⁾。Edozien 等⁽²⁾曾作人體試驗發現，健康常人在進食高量的嘌呤食物之後，血與尿液中的尿酸濃度都明顯上升^(3,4)。因此，建議每人每日進食之嘌呤含量應在 4g 以下。尿酸乃是嘌呤之代謝產物，而嘌呤之來源除自身體之合成或組織中核酸之分解外，最主要來自於食物中之核酸物質，尤其是內臟、魚肉類、胚芽與黃豆類製品。因此，對高尿酸血症與痛風病人之食物中嘌呤含量的控制十分重要^(5,6)。

在眾多高嘌呤食物中，筆者先選擇黃豆作為我們探討之對象，其原因在於由黃豆作成之豆漿、豆腐、豆乾、豆皮、分離黃豆蛋白、人造肉等與我們日常之飲食息息相關且產量相當

大。例如，其中之分離黃豆蛋白其蛋白質含量高於90%且含九種必需胺基酸，為一完全蛋白食品⁽⁷⁾，為製造人造肉、百頁豆腐或當肉品加工充量劑之最主要素材，臺灣每年約有4000公噸之使用量。但筆者發現其為高嘌呤物質，嘌呤含量344.3mg/100g (dried wt.) 約是黃豆嘌呤含量139.8 mg/100g (dried wt.)的2.5倍^(8,9)。嘌呤含量如此高，使得其下游產品之嘌呤含量亦相對提高，因此實不適合高尿酸或痛風患者食用。也因此，我們希望能利用簡單的加工方法，除去大部分嘌呤，製成低嘌呤黃豆蛋白質，可作為黃豆相關產品的主要原料或填充料，希望對高尿酸或痛風患者帶來相當的幫助。

本研究有二個重點 (1) 低嘌呤黃豆蛋白最佳製備方法之探討 (2) 低嘌呤黃豆蛋白之物化性質分析。首先，我們希望以熱酸液處理黃豆蛋白，尋找可除去大部份嘌呤又避免破壞蛋白質的條件。其次，以不同之加熱溫度、加熱時間與熱酸液濃度處理黃豆蛋白，作黏度分析與電泳分析，希望可以深入瞭解溫度、時間與濃度三種因子的去嘌呤效果與蛋白質的破壞效應。

三、結果與討論

起初我們試著以NaOH溶液加熱水解去除黃豆蛋白中的嘌呤，結果效果不佳，因為DNA的C2'處沒有-OH，不能生成2'與3'-環狀磷二酯中間物，所以不受OH⁻水解。Lassek報告⁽¹⁰⁾中也指出嘌呤極易被酸水解，在本研究中也證實黃豆蛋白在0.2N HCl中嘌呤含量會隨著加熱溫度而下降(圖一)，而在70°C加熱一小時下嘌呤去除率約70%。若以此條件為準，改變HCl濃度來去除嘌呤，也有類似效果(圖二)。若黃豆蛋白溶在0.2N HCl中，以50°C及70°C加熱水解，也得到同樣效果(圖三、四)，只是明顯地50

°C水解的效應比70°C差。所以，70°C與0.4N HCl是理想的條件，去嘌呤能力強(93.0%)，又不會打斷胍汰鍵，因為一般要水解胺基酸的條件是110°C與6N HCl。

當以毛細管黏度計測定加熱過的0.2N HCl黃豆蛋白液，發現50°C者150 min時黏度最高，70°C黏度曲線則最低(圖五)。可能70°C，30min加熱下之黃豆蛋白之四級結構已遭嚴重破壞，故黏度隨加熱時間而下降。但70°C，180 min時的黏度仍比未加熱前高，可能此狀況下的一級構造仍未被破壞。但若以90°C，60 min時的黏度(圖六)則比未加熱前低。不管中性(pH7.0)或酸性(0.2N HCl)，曲線達到最高值，可能超過60°C後，蛋白質三、四級構造已完全伸展開來了，並開始打斷胍汰鍵了。而同條件下之黏度，0.2N HCl者又比pH7.0者大，可能是前者變性比後者大所引起的。⁽¹¹⁾

由電泳圖(圖七)可看出0.2N HCl，60°C，60 min的條件已使7S和11S幾乎完全消失。但SDS-PAGE電泳圖顯示0.2N HCl，70°C，60min的條件下， α ， α' ， β ，A和B等次單位只有部份被破壞(圖七(f), lane 4)。尤其 α ， α' 二次單位是成膠性質好不好的重要成份⁽¹²⁾。Scilingo⁽¹³⁾發現適量之鈣離子5mg/g可防止黃豆蛋白之熱變性，若在其去嘌呤黃豆蛋白製程中加入鈣離子應可改善它的成膠性質。

四、計畫成果自評

1. 建立了一套良好的除去黃豆蛋白中之嘌呤之方法。(去除率達93.0%)
2. 可以瞭解pH，加熱溫度及加熱時間對黃豆蛋白中之嘌呤去除率之影響。
3. 可以瞭解低嘌呤黃豆蛋白之黏度，分子量之特異性。

五、參考文獻

- (1) Hesse A, Siener R, Heynck H and Jahn A (1993) The influence of dietary factors on the risk of urinary

stone formation. *Scanning Microscopy* 7: 1119-1128.

(2) Edozien JC, Udo UU, Young VR and Scrimshaw NS (1970) Effects of high levels of yeast feeding on uric acid metabolism of young men. *Nature* 228:180-181.

(3) Clifford AJ, Riumallo JA, Young VR and Scrimshaw NS (1976) Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. *J Nutr* 106:428-434.

(4) Clifford AJ and Story DL (1976) Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. *J Nutr* 106:435-442.

(5) Brule D, Sarwar G and Savoie L (1988) Purine content of selected Canadian food products. *J Food Comp Anal* 1: 130-138.

(6) Brule D, Sarwar G and Savoie L (1989) Effect of methods of cooking on free and total purine bases in meat and fish. *Can Inst Sci Technol J* 22:248-251.

(7) Chen SSC (1994) Soybeans and health. *中華營誌* 19: 335-345。

(8) 周政輝、柯易昌 (1999) 高嘌呤食物中嘌呤含量分析方法之探討。 *中華營誌* 24: 366-378。

(9) 何威德 (1986) 台灣常用食品的嘌呤和嘧啶含量之分析。 *中華營誌* 11: 41-62。

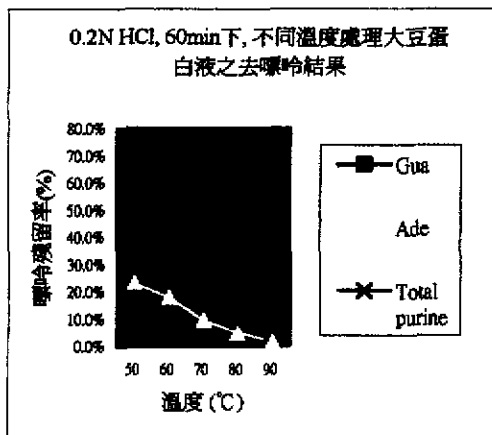
(10) Lassek E and Montag A (1987) Bestimmung der einzelnen purin- und pyrimidinbasen in kohlenhydratreichen lebensmitteln. *Z. Lebensm Unters. Forsch.* 184: 361-365.

(11) Puppo MC, Lupano CE and Anon MC (1995) Gelation of soybean protein isolates in acidic conditions. Effect of pH and protein concentration. *J Agric Food Chem* 43: 2356-2361.

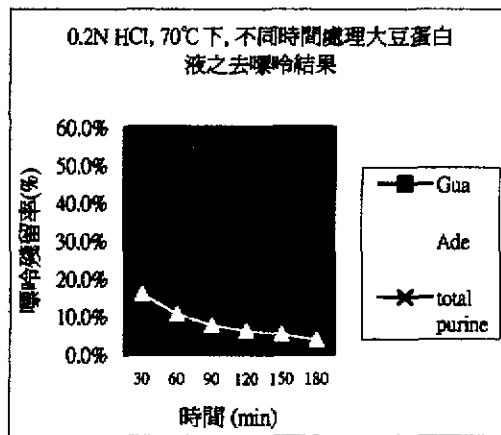
(12) Nagano T, Fukuda Y and Akasaka T (1996) Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of β -conglycinin-rich and

glycinin-rich soybean protein isolates. *J Agric Food Chem* 44: 3484-3488.

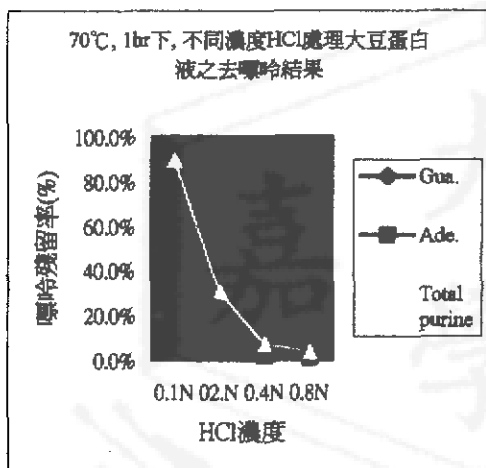
(13) Scifingo AA and Arnon MC (1996) Calorimetric study of soybean protein isolates: effect of calcium and thermal treatments. *J Agric Food Chem* 44: 3751-3756.



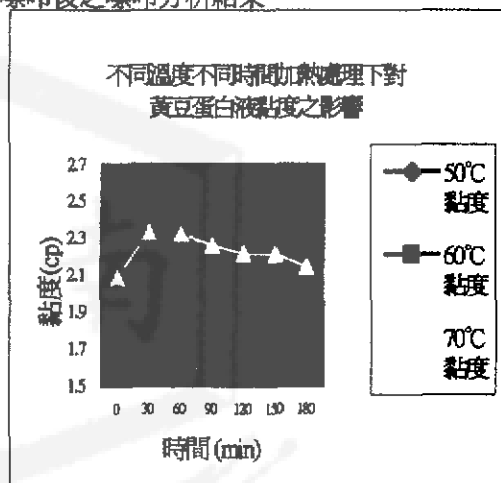
圖一. 每 3g 黃豆蛋白泥在 30ml 0.2N HCl 中分別以 50,60,70,80,90°C 加熱 1hr 去嘌呤後之嘌呤分析結果



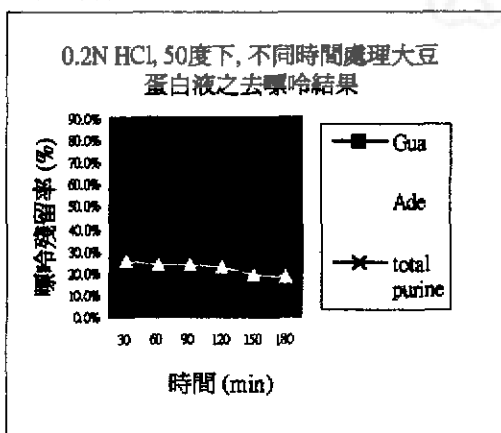
圖四. 每 3g 黃豆蛋白泥在 60ml 0.2N HCl 中, 分別以 70°C 加熱 30,60, 90,120, 150,180min 去嘌呤後之嘌呤分析結果



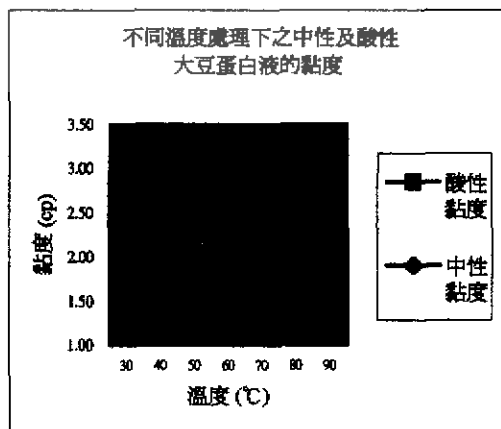
圖二. 每 3g 黃豆蛋白泥在 30ml 不同濃度 0.1, 0.2, 0.4, 0.8N HCl 下, 分別以 70°C 加熱 1hr 後之嘌呤分析結果



圖五. 每 50g 黃豆蛋白泥在 500ml 0.2N HCl 中, 分別以 50, 60, 70°C 加熱 30, 60, 90, 120, 150, 180min 去嘌呤後之黏度分析結果

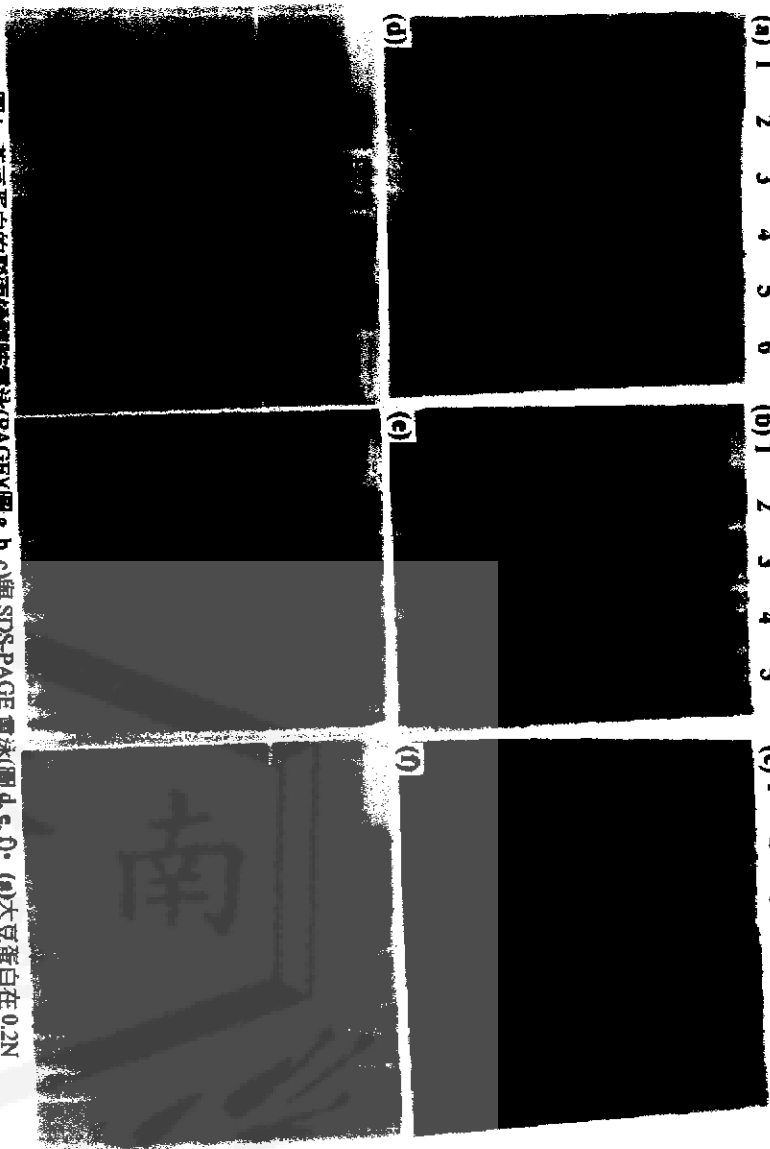


圖三. 每 3g 黃豆蛋白泥在 60ml 0.2N HCl 中, 分別以 50°C 加熱 30,60, 90,120, 150,180min 去嘌呤後之嘌呤分析結果



圖六. 每 50g 黃豆蛋白泥在 500ml 0.2N HCl 中, 分別以 30,40,50,60,70°C 加熱 60 min 去嘌呤後之黏度分析結果(酸性, 0.2N HCl)及調回中性 (pH 7.0) 後之黏度分析結果

(a) 1 2 3 4 5 6 (b) 1 2 3 4 5 (c) 1 2 3 4 5 6



圖七 黃豆蛋白的聚丙烯酰胺電泳(PAGE)圖 a, b, c)與 SDS-PAGE 電泳(圖 d, e, f)。(a)大豆蛋白在 0.2N HCl 中, 以 30, 60, 70, 90°C 水解 60min 之 PAGE. Lane 1. HMW std. 2. control 3. 30°C 4. 60°C 5. 70°C 6. 90°C (b)在 0.2N HCl, 70°C 下, 水解大豆蛋白液 60, 120, 180 min 之 PAGE. Lane 1. HMW std. 2. control 3. 60 min 4. 120 min 5. 180 min (c)在 0.1, 0.2, 0.4, 0.8N 的 HCl, 70°C 下, 水解大豆蛋白液 60min 之 PAGE. Lane 1. HMW std. 2. control 3. 0.1N 4. 0.2N 5. 0.4N 6. 0.8N (d)大豆蛋白在 0.2N HCl 中, 以 30, 60, 70, 90°C 水解 60min 之 SDS-PAGE. Lane 1. LMW std. 其餘同圖(a) (e)在 0.2N HCl, 70°C 下, 水解大豆蛋白液 60, 120, 180 min 之 SDS-PAGE. Lane 1. LMW std. 其餘同圖(b) (f) 在 0.1, 0.2, 0.4, 0.8N 的 HCl, 70°C 下, 水解大豆蛋白液 60min 之 SDS-PAGE. Lane 1. LMW std. 2. 0.1N 3. 0.2N 4. 0.4N 5. 0.8N 6. control