

乙醇萃取3种酶解产物鲜味肽的研究

Study on umami peptide extracted from three enzymatic hydrolysates with ethanol

姚玉静¹ 杨 昭¹ 黄佳佳¹ 韩晋辉² 梁志理¹ 崔 春³

YAO Yu-jing¹ YANG Zhao¹ HUANG Jia-jia¹ HAN Jin-hui² LIANG Zhi-li¹ CUI Chun³

(1. 广东食品药品职业学院食品学院, 广东 广州 510520; 2. 广东食品药品职业学院实验实训中心, 广东 广州 510520; 3. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

(1. School of Food Science, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520, China; 2. Experiment and Practice Training Center, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520, China; 3. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510641, China)

摘要:以牡蛎、鸡肉和南极磷虾为原料,利用胰蛋白酶和风味蛋白酶组成复合酶对其进行酶解,以感官评分、肽分子量分布和氨基酸组成为指标,考察乙醇萃取3种酶解产物鲜味肽过程中感官评分、肽分子量分布和氨基酸组成的变化。研究结果表明:90%乙醇萃取牡蛎、鸡肉和南极磷虾3种酶解产物的上清液均具有较强的鲜味,分子量在5 ku以下的肽比例分别为93.00%,86.82%,87.86%。3种酶解产物中分子量>10 ku和5~10 ku的肽,经过90%乙醇萃取后明显减少。90%乙醇萃取3种酶解产物的上清液小分子肽中含有较高比例的甜味和鲜味氨基酸。90%乙醇萃取方法可用于牡蛎、鸡肉和南极磷虾酶解产物中鲜味肽的快速萃取。

关键词:牡蛎;鸡肉;南极磷虾;鲜味肽;乙醇

Abstract: The compound enzyme composed of trypsin and flavour protease was used to hydrolyse the oyster, chicken and antarctic krill. Taking sensory score, peptide molecular weight distribution and amino acid composition as indexes, the change of them was investigated during ethanol extraction of umami peptide from 3 kinds of hydrolysates. Results showed that the sensory evaluation of supernatant of the 3 enzymatic hydrolysates extracted by 90% ethanol showed strong umami taste and the peptide ratio of the peptide molecular weight distribution < 5 ku from oyster, chicken and Antarctic krill was 93%, 86.82%, 87.86%, respectively. The peptides of 3 enzyme hydrolysates > 10 ku and 5~10 ku were significantly reduced after 90% ethanol extraction.

The small molecular peptides of the supernatant of three kinds of hydrolysates extracted by 90% ethanol contained a high proportion of sweet and umami amino acids. The 90% ethanol extraction method can be used for rapid extraction of umami peptide from oysters, chicken and antarctic krill hydrolysates.

Keywords: oyster; chicken; antarctic krill; umami peptide; ethanol

牡蛎、鸡肉和南极磷虾富含蛋白质,为重要的蛋白质资源,其酶解产物具有较高的营养价值和商业价值。为探究酶解过程中鲜味肽产生的机理及鲜味成分构成,需要对鲜味肽进行快速分离和结构鉴定。酶解产物组分复杂,分离纯化其中的鲜味肽成为质谱鉴定最为重要的样品处理工作。目前分离鲜味肽的方法主要有大孔树脂、超滤、纳滤、有机试剂萃取、凝胶色谱和离子交换色谱等^[1-3]。侯清娥^[4]将牡蛎酶解产物先通过超滤处理,再采用 Sephadex G-25 葡聚糖凝胶分离鲜味肽。邓莉等^[5]采用葡聚糖凝胶过滤柱法对鸡肉酶解产物中不同分子量的多肽进行了分离。有机试剂萃取法可以避免其他方法操作繁琐、耗时长、耗费大和分离肽种类少等缺点,为快速大规模分离小分子肽的最佳方法。乙醇为常用的萃取溶剂。目前国内外采用乙醇萃取小分子肽的研究较少。Lebogang 等^[6]研究 60%,70%和 80%乙醇分级大豆蛋白酶解产物,发现醇溶部分含有超过 85%的低相对分子质量肽(<2 ku)。利嘉祥等^[7]研究发现乙醇快速富集亚麻籽油中的 4 种环肽,可替代柱层析法。张佳男^[8]采用乙醇梯度分离花生中呈味肽,并对呈味特性进行了研究。目前未有文献报道采用乙醇萃取牡蛎、鸡肉和南极磷虾酶解产物中的鲜味肽的研究。

基金项目:广州市科技计划项目(编号:201604020067);广东省自然科学基金博士启动项目(编号:2017A030310633)

作者简介:姚玉静,女,广东食品药品职业学院副教授,硕士。

通信作者:崔春(1978—),男,华南理工大学教授,博导,博士。

E-mail: cuichun@scut.edu.cn

收稿日期:2017-11-27

本研究以牡蛎、鸡肉和南极磷虾为原料,采用胰蛋白酶和风味蛋白酶组成复合蛋白酶酶解原料,通过乙醇萃取酶解产物中的鲜味肽,探究乙醇萃取鲜味肽过程中感官评分、肽分子量分布和氨基酸组成的变化,以期寻找一种快速分离3种酶解产物中鲜味肽的方法,为牡蛎、鸡肉和南极磷虾酶解产物中鲜味肽的结构鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜近江牡蛎:购于广州黄沙水产市场,开壳取肉,搅碎均匀后分装于封口袋中,−18℃冻藏备用;

新鲜清远鸡肉:购于广州龙洞上社市场,取鸡胸肉搅碎均匀后分装于封口袋中,−18℃冻藏备用;

南极磷虾:青岛东风远洋渔业有限公司,搅碎均匀后分装于封口袋中,−18℃冻藏备用;

胰蛋白酶:酶活4 000 U/g,重庆市全新祥盛生物制药有限公司;

风味蛋白酶:酶活500 LAPU/g,诺维信中国公司;

维生素B₁₂(MW 1 855 u)、抑肽酶(MW 6 512 u)、细胞色素C(MW 12 384 u)、卵清蛋白(MW 43 000 u)、氨基酸标准品(2.5 μmol/mL):美国Sigma公司;

食用盐、味精、蔗糖、柠檬酸:食品级;

其他试剂均为分析纯;

pH计:S220型,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;

凯氏定氮仪:K9840型,济南海能仪器股份有限公司;

水浴振荡培养箱:DKZ-3B型,上海一恒科学仪器有限公司;

分析天平:TLE104E型,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;

台式高速冷冻离心机:3K15型,德国Sigma公司;

高效液相色谱仪:LC-20A型,日本岛津制作所;

全自动氨基酸分析仪:L8900型,日本日立公司。

1.2 试验方法

1.2.1 酶解产物制备 根据文献[9],冻藏原料置于室温解冻后,根据原料的质量按照1:1的比例加入相应重量的蒸馏水,搅拌均匀,用1 mol/L氢氧化钠溶液调节pH至7.0(酶解过程中每隔2 h调pH 1次),添加牡蛎重量0.4%的胰蛋白酶和0.2%的风味蛋白酶,在55℃的水浴酶解24 h。酶解结束后沸水浴20 min灭酶,8 000 r/min离心20 min,取上清液即为酶解产物,于−18℃冻存备用。

1.2.2 乙醇萃取酶解产物鲜味肽 根据文献[6],修改如下:取50 mL酶解产物,在50℃下旋转蒸发浓缩至固形物含量为40%,加入95%乙醇调节乙醇浓度至90%,室温状态下搅拌萃取30 min,然后离心(4℃,6 000 r/min,30 min)收集上清液。通过旋转蒸发去除乙醇,浓缩物用10 mL蒸馏水复溶,溶液冷冻干燥后即得90%乙醇萃取物,−18℃冻藏备用。

1.2.3 水解度测定 氨基酸态氮含量根据甲醛滴定法测

定^[10]。总氮含量根据GB 5009.5—2010测定。水解度(DH)按式(1)计算:

$$DH = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

W₁——酶解液氨基酸态氮含量,g;

W₀——原料中氨基酸态氮含量,g;

W——原料总氮含量,g。

1.2.4 感官评定 根据文献[11],选取7名感官评定员在感官评价室进行感官评定。感官评定员在评定之前经过基本滋味培训,进行培训的标准品分别是鲜味(0.20%味精),甜味(1.00%蔗糖),咸味(0.35%食用盐),酸味(0.04%柠檬酸),苦味(0.02 g/L盐酸奎宁)。使用5点线性坐标,将标准品梯度稀释,最高浓度为10分,最低浓度为2分,每稀释一个梯度,感官分值降低2分。样品配制为固形物浓度为10%的溶液,采用滋味特征描述与感官定量分析对样品进行感官评定。评定步骤:评定员从低浓度至高浓度逐一品评某一滋味各稀释梯度标准液并记录滋味强度,标准液在口中停留15~20 s,之后吐掉,蒸馏水漱口,取5 mL测试样液放于口中,样液在口中停留15~20 s,之后吐掉,根据样品与各稀释梯度标准液滋味强度的相近性进行打分。同时用文字记录样品滋味特征。

1.2.5 肽分子量分布测定 根据文献[9],将样品稀释至蛋白浓度为1 mg/mL,通过0.22 μm滤膜过滤,使用高效液相色谱测定样液中肽分子量分布情况,洗脱液为0.04 mol/L磷酸缓冲液,流速为1 mL/min,检测波长为220 nm,凝胶柱为TSK gel G2000 SWxL(300 mm×7.8 mm,5 μm)。标准肽样品分别为:卵清蛋白(MW 43 000 u),细胞色素C(MW 12 384 u),抑肽酶(MW 6 512 u),维生素B₁₂(MW 1 855 u)。根据标准肽样品的洗脱时间得到标准曲线方程:

$$y = -0.338 3x + 7.345 1 (R_2 = 0.991 7), \quad (2)$$

式中:

y——分子量的对数,u;

x——保留时间,min。

1.2.6 氨基酸组成分析 根据GB/T 5009.124—2003,采用全自动氨基酸分析仪测定。肽的氨基酸含量按式(3)计算:

$$T = T_1 - T_2, \quad (3)$$

式中:

T——肽的氨基酸含量,mg/100 mL;

T₁——总氨基酸含量,mg/100 mL;

T₂——游离氨基酸含量,mg/100 mL。

2 结果与分析

2.1 酶解产物水解度分析

为获得富含小分子肽和游离氨基酸的酶解产物,充分水解原料中的大分子蛋白质,采用水解产物风味较好的风味蛋白酶和水解效率较高的胰蛋白酶组成复合蛋白酶酶解原料。从图1可以看出,复合蛋白酶酶解牡蛎、鸡肉和南极磷虾均可达到较高的水解度。

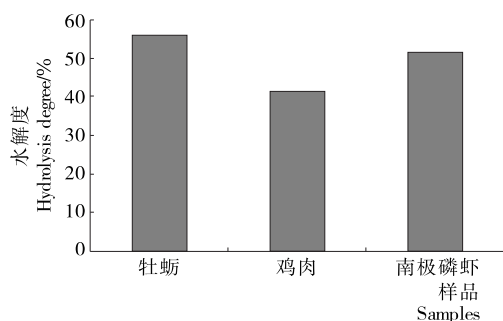


图 1 酶解产物水解度

Figure 1 Hydrolysis degree of enzymatic hydrolysate

2.2 乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽的感官评定

酸、甜、苦、咸和鲜为人类的 5 种基本味觉,产生的机理是溶解于水或唾液中的呈味成分刺激味蕾,信号传导至大脑皮层产生兴奋或味觉^[12]。人的感官评定是目前鉴定呈味肽最常用、有效和直观的方法。因此通过感官分析,可为筛选鲜味肽提供重要的依据。

从图 2 可以看出,牡蛎酶解产物滋味复杂,具有鲜味、甜味、咸味、酸味和苦味,鲜味评分值为 4.8。经过 90%乙醇萃取后,上清液具有鲜、咸和酸味,评分值分别为 7.9,2.7,3.8。90%乙醇萃取牡蛎酶解产物鲜味评分较萃取前酶解产物有较大的提高。鸡肉酶解产物滋味丰富,具有鲜味、甜味、咸味和酸味,没有苦味,鲜味评分值为 8.3。经过 90%乙醇萃取

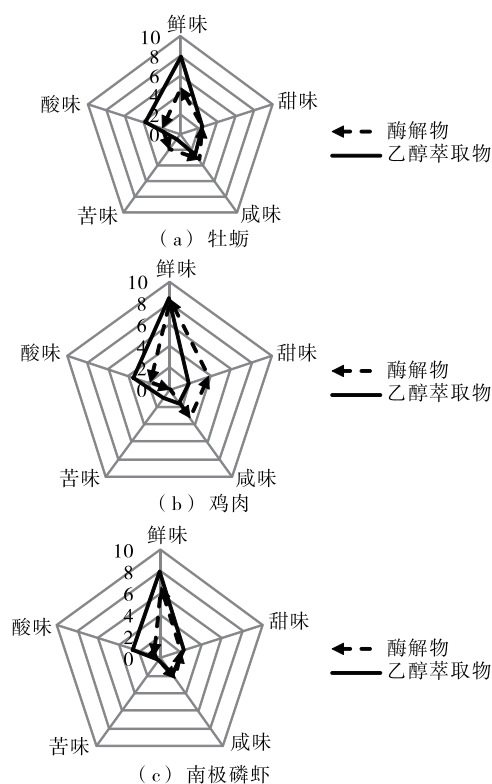


图 2 90%乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽过程中组分的滋味特性雷达图

Figure 2 Radar map of the components in the process of extracting three hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

后,上清液具有鲜、咸、甜和酸味,评分值分别为 8.5,1.6,1.9,3.5。90%乙醇萃取鸡肉酶解产物鲜味评分与萃取前酶解产物差别较小。南极磷虾酶解产物具有鲜、咸和甜味,没有苦味,鲜味评分值为 6.5。经过 90%乙醇萃取后,上清液具有鲜、咸、甜和酸味,评分值分别为 8.0,1.9,2.3,2.6。90%乙醇萃取南极磷虾酶解产物鲜味评分较萃取前有所提高。

由以上研究可看出,经过 90%乙醇萃取 3 种酶解产物的上清液均具有较强的鲜味,并且 90%乙醇萃取牡蛎和南极磷虾酶解产物上清液鲜味评分均较萃取前有所提高。据此分析,90%乙醇萃取物中含有大量鲜味成分。

2.3 乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽的肽分子量分布

分子量分布是肽类产物的重要特征性指标,直接反映产物中不同大小分子量肽类的构成^[13]。肽类的滋味与其相对分子量密切相关,分子量>5 ku 的肽无滋味,<5 ku 的可能会显现出酸、甜、苦、咸和鲜味^[14]。Ogasawara 等^[15]发现大豆水解液中分子质量为 1~5 ku 的肽具有鲜味。Rhyu 等^[16]对韩国豆酱水提物进行分级研究,发现鲜味最强的组分是肽分子量为 0.5~1.0 ku 的短肽,对豆酱的风味起主要作用。因此,研究萃取产物肽分子量分布,对筛选鲜味肽具有重要的价值。

由图 3 可知,牡蛎酶解产物中肽分子量分布范围>10, 5~10, 3~5, 1~3, <1 ku 的比例分别为 2.05%,14.30%,38.97%,13.78%,30.90%,5 ku 以下的肽比例达 83.64%;经过 90%乙醇萃取后,上清液中肽分子量分布范围>10, 5~10, 3~5, 1~3, <1 ku 的比例分别为 0.21%,6.79%,19.48%,36.98%,36.55%,5 ku 以下的肽比例达 93%。鸡肉酶解产物中肽分子量分布范围>10, 5~10, 3~5, 1~3, <1 ku 的比例分别为 3.93%,20.79%,25.60%,25.53%,24.16%,5 ku 以下的肽比例达 75.28%;经过 90%乙醇萃取后,上清液中肽分子量分布范围>10, 5~10, 3~5, 1~3, <1 ku 的比例分别为 0.85%,12.33%,28.90%,27.39%,30.53%,5 ku 以下的肽比例达 86.82%。南极磷虾酶解产物

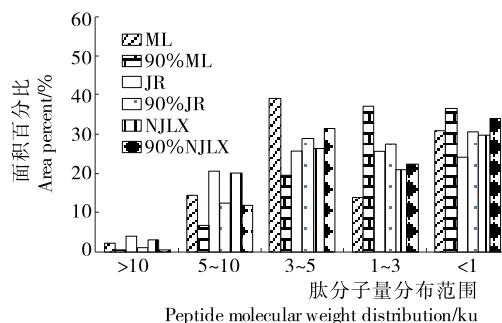


图 3 90%乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽过程中组分的肽分子量分布

Figure 3 Peptide molecular weight distribution of the components in the process of extracting three hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

中肽分子量分布范围>10,5~10,3~5,1~3,<1 ku 的比例分别为 3.10%,20.07%,26.33%,20.81%,29.68%,5 ku 以下的肽比例达 76.83%;经过 90%乙醇萃取后,上清液中肽分子量分布范围>10,5~10,3~5,1~3,<1 ku 的比例分别为 0.38%,11.76%,31.44%,22.30%,34.11%,5 ku 以下的肽比例达 87.86%。

以上结果分析可发现,酶解产物经过 90%乙醇萃取后,上清液中的小分子肽增多,大分子量肽明显减少。特别是酶解产物中分子量>10 ku 和 5~10 ku 的肽,经过 90%乙醇萃取明显减少。

2.4 乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽的氨基酸组成分析

现有大量鲜味肽被鉴定,从肽结构上分析可得出其中含量较高比例的鲜味和甜味氨基酸。崔春等^[17]从谷朊粉发酵液中鉴定出一个鲜味肽:Asp-Cys-Gly(由天冬氨酸、半胱氨酸和甘氨酸构成)。Yamasaki 等^[18]从木瓜蛋白酶处理的牛肉中分离了具有鲜味的牛肉辛肽:Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala(由赖氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酸、丝氨酸、亮氨酸和丙氨酸构成)。Noguchi 等^[19]从鱼肉蛋白酶解液中鉴定出一个鲜味极强的鲜味肽:Glu-Glu-Glu,阈值为

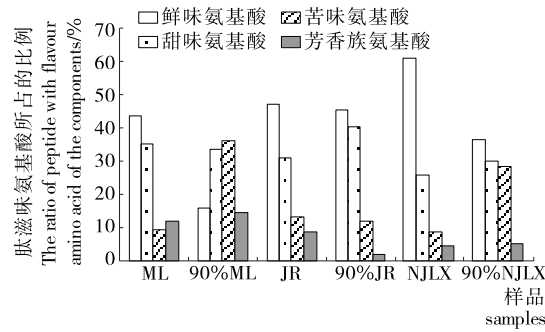
0.003 mol/L,并发现获得的 30 多条鲜味肽主要由谷氨酸残基组成。Rhyu 等^[16]认为具有酸性残基(谷氨酸,天冬氨酸)的小分子肽对鲜味滋味起到很大作用。Gómez-Ruiz 等^[20]同样发现谷氨酸残基数较多的多肽对奶酪鲜味呈味特性有关键作用。因此,研究萃取产物氨基酸组成并进行分析,对筛选鲜味肽具有重要的指导意义。

从表 1 和图 4 可以看出,牡蛎酶解产物中含有丰富的游离氨基酸,17 种氨基酸含量达到 134 mg/100 mL。小分子肽中 17 种氨基酸含量为 60.90 mg/100 mL,其中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸比例分别为 21.35%,19.05%,甜味氨基酸苏氨酸和甘氨酸比例分别为 11.82%,10.84%,其余滋味氨基酸比例较低。经过 90%乙醇萃取,上清液中游离氨基酸总量为 17.27 mg/100 mL,高于肽的氨基酸总量(6.07 mg/100 mL)。小分子肽中 17 种氨基酸比例均匀,没有甘氨酸,鲜味和甜味氨基酸比例为 49.09%,苦味氨基酸比例为 36.24%,芳香族氨基酸比例为 14.66%。其中甜味氨基酸苏氨酸和丙氨酸比例分别为 14.50%,11.53%,苦味氨基酸亮氨酸比例为 11.53%,其余滋味氨基酸比例较低。推测 90%乙醇萃取牡蛎酶解产物上清液小分子肽中含有较高比

表 1 牡蛎酶解产物及其乙醇萃取物的氨基酸组成

Table 1 Amino acid composition of the components in the process of extracting oyster hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

氨基酸 滋味	氨基酸 种类	酶解产物				乙醇萃取物			
		游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%	游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%
鲜味	天冬氨酸	7.40	19.00	11.60	19.05	1.10	1.52	0.42	6.92
鲜味	谷氨酸	14.00	27.00	13.00	21.35	2.40	2.60	0.20	3.29
鲜味	赖氨酸	10.00	12.00	2.00	3.28	0.77	1.10	0.33	5.44
甜味	苏氨酸	11.00	18.20	7.20	11.82	0.92	1.80	0.88	14.50
甜味	丝氨酸	6.60	8.10	1.50	2.46	0.84	1.10	0.26	4.28
甜味	脯氨酸	6.00	9.90	3.90	6.40	1.20	1.30	0.10	1.65
甜味	甘氨酸	8.40	15.00	6.60	10.84	1.50	1.50	0.00	0.00
甜味	丙氨酸	17.00	18.00	1.00	1.64	1.70	2.40	0.70	11.53
甜味	组氨酸	3.10	4.40	1.30	2.13	0.37	0.46	0.09	1.48
苦味	缬氨酸	7.60	9.10	1.50	2.46	1.30	1.60	0.30	4.94
苦味	蛋氨酸	4.10	5.10	1.00	1.64	0.58	0.81	0.23	3.79
苦味	异亮氨酸	7.20	8.30	1.10	1.81	1.00	1.50	0.50	8.24
苦味	亮氨酸	11.00	12.00	1.00	1.64	1.50	2.20	0.70	11.53
苦味	精氨酸	11.00	12.00	1.00	1.64	0.83	1.30	0.47	7.74
芳香族 氨基酸	胱氨酸	1.20	2.10	0.90	1.48	0.14	0.16	0.02	0.33
芳香族 氨基酸	酪氨酸	1.80	7.60	5.80	9.52	0.27	0.69	0.42	6.92
芳香族 氨基酸	苯丙氨酸	6.60	7.10	0.50	0.82	0.85	1.30	0.45	7.41
17 种氨基 酸含量		134.00	194.90	60.90	100.00	17.27	23.34	6.07	100.00



ML. 牡蛎酶解产物 90% ML. 90%乙醇萃取牡蛎酶解产物 JR. 鸡肉酶解产物 90% JR. 90%乙醇萃取鸡肉酶解产物 NJLX. 南极磷虾酶解产物 90% NJLX. 90%乙醇萃取南极磷虾酶解产物

图 4 90%乙醇萃取 3 种酶解产物鲜味肽过程中组分的肽滋味氨基酸比例

Figure 4 The ratio of peptide with flavour amino acid of the components in the process of extracting three hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

例的甜味和鲜味氨基酸。

由表 2 和图 4 可知,鸡肉酶解产物中游离氨基酸的含量与小分子肽中氨基酸含量比较接近,17 种氨基酸含量分别为 241.45,195.85 mg/100 mL。小分子肽中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸比例分别为 21.44%,16.44%,其余滋味氨基酸比例较低。经过 90%乙醇萃取,上清液中游离氨基酸总量为 41.70 mg/100 mL,高于肽的氨基酸总量(11.60 mg/100 mL)。这 17 种氨基酸小分子肽中均存在,鲜味和甜味氨基酸比例较高,鲜味和甜味氨基酸比例为 86.03%,苦味氨基酸比例为 12.07%,芳香族氨基酸比例为 1.90%。其中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸比例分别为 26.72%,17.07%,甜味氨基酸脯氨酸和甘氨酸比例均为 13.79%,其余滋味氨基酸比例较低。推测 90%乙醇萃取鸡肉酶解产物上清液小分子肽中含有极高比例的甜味和鲜味氨基酸。

从表 3 和图 4 可以看出,南极磷虾酶解产物中含有丰富的游离氨基酸,17 种氨基酸含量达到 201.60 mg/100 mL。

表 2 鸡肉酶解产物及其乙醇萃取物的氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of the components in the process of extracting chicken hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

氨基酸 滋味	氨基酸 种类	酶解产物				乙醇萃取物			
		游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%	游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%
鲜味	天冬氨酸	9.80	42.00	32.20	16.44	0.52	2.50	1.98	17.07
鲜味	谷氨酸	25.00	67.00	42.00	21.44	3.00	6.10	3.10	26.72
鲜味	赖氨酸	21.00	39.00	18.00	9.19	2.00	2.20	0.20	1.72
甜味	苏氨酸	19.00	20.00	1.00	0.51	3.10	3.60	0.50	4.31
甜味	丝氨酸	11.00	18.00	7.00	3.57	1.60	1.80	0.20	1.72
甜味	脯氨酸	4.20	18.00	13.80	7.05	1.00	2.60	1.60	13.79
甜味	甘氨酸	7.10	26.00	18.90	9.65	1.20	2.80	1.60	13.79
甜味	丙氨酸	17.00	29.00	12.00	6.13	3.70	4.00	0.30	2.59
甜味	组氨酸	7.10	15.00	7.90	4.03	1.00	1.50	0.50	4.31
苦味	缬氨酸	15.00	24.00	9.00	4.60	3.50	4.00	0.50	4.31
苦味	蛋氨酸	12.00	13.00	1.00	0.51	2.60	2.70	0.10	0.86
苦味	异亮氨酸	17.00	23.00	6.00	3.06	3.70	4.00	0.30	2.59
苦味	亮氨酸	30.00	37.00	7.00	3.57	7.60	8.00	0.40	3.45
苦味	精氨酸	27.00	30.00	3.00	1.53	2.10	2.20	0.10	0.86
芳香族 氨基酸	胱氨酸	2.40	4.30	1.90	0.97	0.32	0.40	0.08	0.69
芳香族 氨基酸	酪氨酸	0.85	14.00	13.15	6.71	0.96	1.00	0.04	0.34
芳香族 氨基酸	苯丙氨酸	16.00	18.00	2.00	1.02	3.80	3.90	0.10	0.86
17 种氨基 酸含量		241.45	437.30	195.85	100.00	41.70	53.30	11.60	100.00

表3 南极磷虾酶解产物及其乙醇萃取物的氨基酸组成

Table 3 Amino acid composition of the components in the process of extracting antarctic krill hydrolysates umami peptide with 90% ethanol

氨基酸 滋味	氨基酸 种类	酶解产物				乙醇萃取物			
		游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%	游离氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	总氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸/ (10 ⁻² mg · mL ⁻¹)	肽的氨基酸 比例/%
鲜味	天冬氨酸	7.40	25.00	17.60	24.14	0.31	2.40	2.09	10.43
鲜味	谷氨酸	18.00	38.00	20.00	27.43	1.70	6.00	4.30	21.47
鲜味	赖氨酸	16.00	23.00	7.00	9.60	1.60	2.50	0.90	4.49
甜味	苏氨酸	16.00	17.00	1.00	1.37	2.00	2.30	0.30	1.50
甜味	丝氨酸	9.20	11.00	1.80	2.47	1.00	1.60	0.60	3.00
甜味	脯氨酸	9.60	16.00	6.40	8.78	1.60	3.40	1.80	8.99
甜味	甘氨酸	9.80	17.00	7.20	9.88	1.30	2.80	1.50	7.49
甜味	丙氨酸	18.00	19.00	1.00	1.37	2.80	4.20	1.40	6.99
甜味	组氨酸	4.50	5.90	1.40	1.92	0.59	1.00	0.41	2.05
苦味	缬氨酸	13.00	16.00	3.00	4.12	2.30	3.70	1.40	6.99
苦味	蛋氨酸	8.60	8.90	0.30	0.41	1.40	2.00	0.60	3.00
苦味	异亮氨酸	14.00	16.00	2.00	2.74	2.40	3.70	1.30	6.49
苦味	亮氨酸	21.00	22.00	1.00	1.37	3.50	5.30	1.80	8.99
苦味	精氨酸	17.00	17.00	0.00	0.00	1.40	2.00	0.60	3.00
芳香族 氨基酸	胱氨酸	2.40	2.80	0.40	0.55	0.09	0.20	0.11	0.55
芳香族 氨基酸	酪氨酸	1.10	2.90	1.80	2.47	0.58	0.80	0.22	1.10
芳香族 氨基酸	苯丙氨酸	16.00	17.00	1.00	1.37	1.80	2.50	0.70	3.49
17种氨基 酸含量		201.60	274.50	72.90	1.00	26.37	46.40	20.03	100.00

小分子肽中17种氨基酸含量为72.90 mg/100 mL,其中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸比例分别为27.43%,24.14%,甜味氨基酸甘氨酸比例为9.88%,其余滋味氨基酸比例较低。经过90%乙醇萃取,上清液中游离氨基酸总量为26.37 mg/100 mL,与肽的氨基酸总量(20.03 mg/100 mL)较为接近。小分子肽中17种氨基酸均存在,鲜味和甜味氨基酸比例为66.40%,苦味氨基酸比例为28.46%,芳香族氨基酸比例为5.14%。其中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸比例分别为21.47%,10.43%,其余滋味氨基酸比例较低。推测90%乙醇萃取南极磷虾酶解产物上清液小分子肽中含有较高比例的甜味和鲜味氨基酸。

结合感官评定、肽分子量分布和氨基酸组成分析结果,可认为90%乙醇萃取3种酶解产物的小分子肽中含有较高比例的鲜味肽。

3 结论

采用复合蛋白酶酶解牡蛎、鸡肉和南极磷虾,获得高水解度的酶解产物。通过90%乙醇分别萃取3种酶解产物,萃取上清液可获得丰富的鲜味肽。90%乙醇萃取3种酶解产物的上清液感官评定均具有较强的鲜味,且90%乙醇萃取牡

蛎和南极磷虾酶解产物上清液鲜味评分均较萃取前有所提高。90%乙醇萃取牡蛎、鸡肉和南极磷虾酶解产物上清液中分子量<5 ku的肽比例分别为93.00%,86.82%,87.86%。3种酶解产物中分子量>10 ku和5~10 ku的肽,经过90%乙醇萃取后明显减少。90%乙醇萃取3种酶解产物的上清液小分子肽中含有较高比例的甜味和鲜味氨基酸。本研究表明利用90%乙醇可快速萃取牡蛎、鸡肉和南极磷虾酶解产物中的鲜味肽,为快速萃取酶解产物中的鲜味肽提供了新的方法。

参考文献

[1] 李荣,于君,姜子涛,等.微波辅助分步酶解紫苏饼粕蛋白制备鲜味肽[J].食品科学,2017,38(20):169-175.

[2] CHEISON S C, WANG Zhang, XU Shi-Ying. Use of macroporous adsorption resin for simultaneous desalting and debittering of whey protein hydrolysates[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(10): 1 228-1 239.

[3] 仇春决,王锡昌,刘源.食品中的呈味肽及其分离鉴定方法研究进展[J].中国食品学报,2013,13(12):129-138.

(下转第220页)

信息窗

完善食品添加剂监管 让人民吃得安全放心

政府工作报告提出,让消费者买得放心、吃得安全。当前,我国食品安全形势持续稳中向好,但公众中仍存在谈“添”(食品添加剂)色变问题。

食品添加剂,是指为改善食品品质和色、香、味以及为防腐、保鲜和加工需要而加入食品中的人工合成或者天然物质。使用食品添加剂是保障食品安全、提升食品质量和食品创新发展的客观需要。当今世界,食品添加剂已经在各种食品中广泛使用。例如二氧化碳是啤酒、汽水、可乐等的防腐剂;做豆腐用的卤水、石膏是食品凝固剂。可以说,没有食品添加剂,就没有现代食品产业。

长期以来,我国一直强化食品添加剂的生产许可以及使用范围和最大使用量(或最大残留量)的监管,这很有必要,也非常有效。但我国在食品添加剂的标示和宣传的监管方面,还存在法规漏洞,食品安全国家标准《预包装食品标签通则》中并没有明文规定不准标示食品中没有什么或没有添加什么,《中华人民共和国广告法》中也没有明确规定不准宣传食品中没有什么或没有添加什么。这让个别食品企业钻了空子,它们一边在食品中使用食品添加剂,一

边在食品标签上醒目标示“不加防腐剂、不含人工色素、不含人工香料”等字样,大做“没有添加剂”等广告。

事实上,宣称“不添加”的食品企业,大都在使用食品添加剂,它们的一般做法是添加了甲种食品添加剂时却又标示不添加乙种食品添加剂,或是用特大号字标示“不添加”,再用特小号字注明不添加某某食品添加剂。这些做法实际上在暗示消费者“不添加”“无添加”好,添加就不好。长此下去,消费者对食品添加剂的误解会越来越深。对此,

第一,尽快修订完善食品安全国家标准《预包装食品标签通则》(GB7718),明确规定预包装食品标签只允许标示食品中有什么,不准标示食品中没有什么。禁止使用“无添加”“不添加”“零添加”之类的字样。

第二,尽快修订完善《中华人民共和国广告法》,明令禁止做“无添加”“不添加”“零添加”之类的广告。

最后,加强食品添加剂科普,让生产者和消费者对食品添加剂的作用和安全性有更客观的了解和认识。

(来源: <http://www.cifst.org.cn>)

(上接第161页)

- [4] 侯清娥. 基于神经网络的牡蛎呈味肽制备及呈味特性研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011: 30-41.
- [5] 邓莉, 郝学财, 刘娜. 呈味肽的制备、纯化与鉴定[J]. 中国酿造, 2017, 36(4): 142-148.
- [6] LEOGANG Keabaitse, 王璋. 乙醇分级大豆肽的氨基酸组成与相对分子质量分布[J]. 食品工业科技, 2004(11): 81-84.
- [7] 利嘉祥, 连莹君, 张参, 等. 乙醇萃取-HPLC法快速分析亚麻籽油中四种环肽研究[J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(2): 8-12.
- [8] 张佳男. 花生鲜味肽的释放及其鲜味强度提升作用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016: 30-42.
- [9] 姚玉静, 杨昭, 黄佳佳, 等. 复合酶深度酶解牡蛎制备呈味基料的研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(6): 180-184.
- [10] 周爱梅, 张祥刚, 陈毅雯, 等. 内、外源酶复合酶解南美白对虾虾头、虾壳的研究[J]. 食品工业科技, 2010(5): 241-244.
- [11] 孙红梅, 张春晖, 李侠, 等. 鸡骨素及其酶解液 Maillard 反应产物滋味成分研究[J]. 现代食品科技, 2013(8): 1 872-1 877.
- [12] 李燕, 刘清君, 徐莹, 等. 味觉传导机理及味觉芯片技术研究进展[J]. 科学通报, 2005, 50(14): 1 425-1 433.
- [13] 任娇艳, 卢韵君, 廖文镇, 等. 凝胶色谱测定核桃肽分子量方法比较[J]. 现代食品科技, 2015(5): 267-271.
- [14] 肖如武. 蓝蛤蛋白源鲜味肽的制备及分离研究[D]. 广州: 华南

理工大学, 2010: 1-2.

- [15] OGASAWARA M, KATSUMATA T, EGI M. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1 000 to 5 000 Da peptide[J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 600-604.
- [16] RHYU M R, KIM E Y. Umami taste characteristics of water extract of Doenjang, a Korean soybean paste: Low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1 210-1 215.
- [17] 崔春, 钱杨鹏, 彭皖皖, 等. 谷朊粉发酵液中鲜味肽的分离、鉴定与呈味分析[J]. 现代食品科技, 2015(9): 175-179.
- [18] YAMASAKI Y, MAEKAWA K. A peptide with delicious taste[J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1978, 42(9): 1 761-1 765.
- [19] NOGUCHI M, ARAI S, YAMASHITA M, et al. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1975, 23(1): 49-53.
- [20] GÓMEZ-RUIZ J Á, TABORDA G, AMIGO L, et al. Sensory and mass spectrometric analysis of the peptidic fraction lower than one thousand daltons in manchego cheese[J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(11): 4 966.