鳀鱼水解蛋白脱苦方法的研究

STUDIES ON METHODS FOR DEBITERING ANCHOVY (*Engranlis japonicus*) PROTEIN HYDROLYSATE

刘　洋　　王长云　　薛长湖　　楼伟凤　　陈修白

(青岛海洋大学水产学院 266003)

蛋白质水解产物常带有苦味，鱼蛋白经过酶水解后也产生强烈的苦味[4,6]。苦味来自水解过程中产生的含疏水基团的短肽和疏水性氨基酸[5]，其中，带有疏水基团的短肽比疏水性游离氨基酸的苦味大[2]。短肽的苦味与其疏水基团的多少、种类及其排列顺序有直接关系。大多数苦味肽的链端都有亮氨酸(Leu)[3]。

水解蛋白的脱苦方法大致有5种[1~3]：水解法、类蛋白合成法、有机溶剂法、吸附法、掩盖法。

鳀鱼(*Engranlis japonicus*)属于中上层低值鱼类，在我国沿海蕴藏量很大。随着大多数经济鱼类资源的日益匮乏，开发利用鳀鱼具有重大意义。用酶解法提取的鳀鱼水解蛋白具有很高的营养价值，但其苦味很大，在食品工业中的应用受到限制。本文探讨了活性炭吸附法和β-环糊精掩盖法以脱去鳀鱼水解蛋白的苦味，为进一步深加工利用创造条件。

1　材料与方法

1.1　材料及试剂

1.1.1　鱼水解蛋白　鱼加1：1(*W/V*)水，切碎匀浆，用枯草杆菌AS 1398中性蛋白酶水解。水解条件为，酶量350IU/ml，温度42℃，时间12h，pH值6.5～7.0。水解物经离心、过滤得清液，即为鳀鱼水解蛋白液。蛋白质水解度为93.4%，蛋白质回收率54.18%。清液中蛋白质含量为4.52%，平均肽链长度为2.35。

1.1.2　脱苦材料　(1)吸附剂　活性炭，A型，10mm×Φ5mm；B型，6mm×Φ3mm；C型，4mm×Φ1.5mm；D型，100目。滑石粉和漂白土均为工业用，100目。(2)掩盖剂　β-环糊精，A.R.。

1.2　方法

1.2.1　吸附法脱苦实验　以鳀鱼水解蛋白液中蛋白质含量为根据，加入不同吸附剂，在一定温度下搅拌吸附一定时间，过滤得清液，由评定小组评定苦味。

1.2.2　β-环糊精脱苦实验　以鳀鱼水解蛋白液中蛋白质含量为依据，加入一定量β-环糊精，在80℃下搅拌20min，由评定小组评定苦味。

1.2.3　苦味评定方法　苦味程度以苦味值计，即由苦味评定小组评出的平均得分来度量。评定小组由10人组成，5男5女，均为味觉敏感者。苦味强弱及相应得分如下：0为无苦味；1为略有苦味感；2为有苦味感；3为有苦味；4为苦味较弱；5为苦味一般；6为苦味偏重；7为苦味较强；8为苦味很强；9为苦味极大。

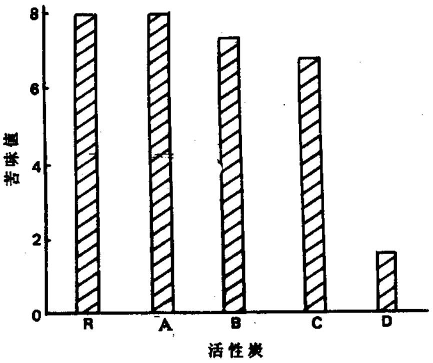

图1　活性炭颗粒大小和脱苦效果之间的关系

2　结果与讨论

未经脱苦处理的鳀鱼水解蛋白液苦味很大，苦味值为8.0±0.3。活性炭、滑石粉、漂白土吸附法和β-环糊精掩盖法脱苦效果分述如下：

2.1　吸附法脱苦效果

2.1.1　活性炭粒度对脱苦效果的影响　按鳀鱼水解蛋白液中蛋白质含量的100%分别加入A,B,C,D型活性炭，20℃下120min脱苦处理，结果见图1。由图1可见，活性炭粒度的大小对脱苦效果有明显影响，粒度越小，脱苦效果越好。A型活性炭几乎没有脱苦效果，D型

收稿日期：1994年9月20日

活性炭脱苦效果最好，可脱去绝大部分苦味。这可能是因为粒度小的活性炭比表面积大，有效吸附面积大，吸附能力强。

2.1.2 D型活性炭用量对脱苦效果的影响 D型活性炭不同用量的脱苦(20℃，60min)效果见图2。由图2可见，D型活性炭脱苦效果随着用量的增加而增强。在0～60%(*W/W*，相对于水解液中蛋白质量，以下同)范围内，脱苦效果随用量增加而大幅度增加，此后，增加幅度减小，当用量达到100%时，脱苦效果已经很好，基本可以脱去苦味。

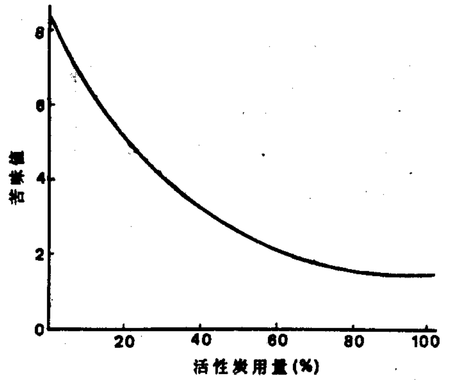

图2 活性炭用量和脱苦效果之间的关系

2.1.3 D型活性炭吸附时间对脱苦效果的影响 用相当于鳀鱼水解蛋白液中蛋白质量的60%的D型活性炭20℃下进行实验，吸附时间与脱苦效果的关系见图3。

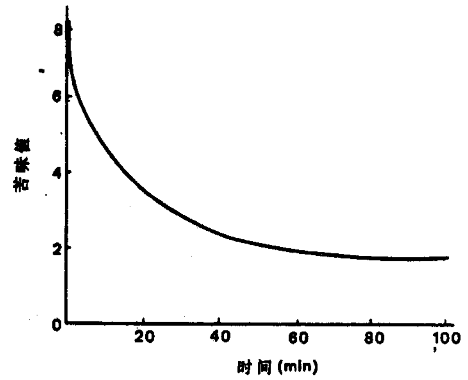

图3 活性炭吸附时间和脱苦效果之间的关系

由图3可见，活性炭吸附脱苦作用随时间的延长而增加，但超过60min后，脱苦效果增加缓慢，100min后，脱苦效果已不再增加，显示活性炭颗粒已处于吸附饱和状态。

2.1.4 D型活性炭吸附温度对脱苦效果的影响 按水解蛋白液中蛋白量的60%加入D型活性炭，在不同温度下搅拌吸附60min，其脱苦效果参见图4，由图4可见，吸附温度对活性炭脱苦效果影响较小。从20℃上升到90℃脱苦效果只提高28%。这与Helbig(1980)[2]所得结果一致。

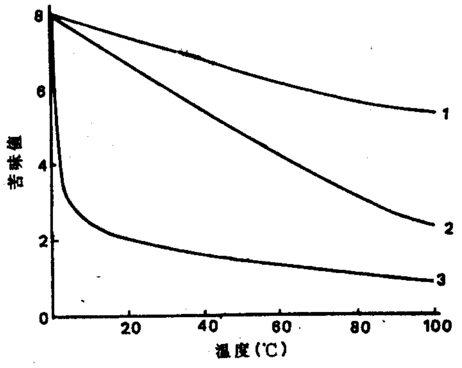

图4 活性炭、滑石粉、漂白土的脱苦效果的比较

1. 活性炭；2. 滑石粉；3. 漂白土

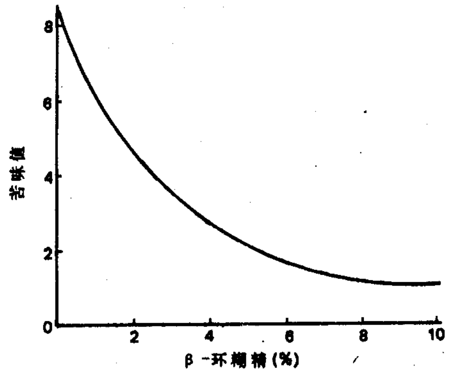

图5 β-环糊精掩盖苦味作用

2.1.5 活性炭(D型)、滑石粉、漂白土脱苦效果比较 按蛋白量的60%加入各吸附剂，在不同温度下吸附60min。结果见图4。由图4可见，在相同条件下，活性炭脱苦效果明显高于滑石粉和漂白土。漂白土脱苦作用甚微，而滑石粉的脱苦作用受温度影响较大，温度在90℃时可脱去一半左右的苦味。

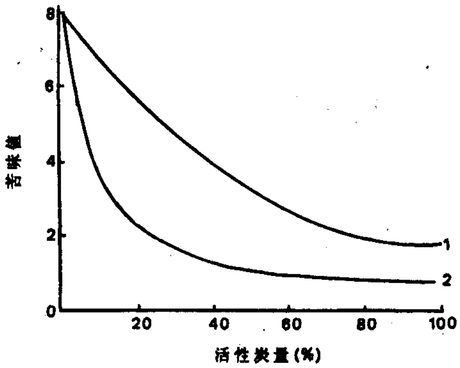

图6 β-环糊精对活性炭脱苦效果的增进作用

1. 40%活性炭;2. 40%活性炭+2% β-环糊精

表1 脱苦处理对水解液中氨基酸含量的影响(mg/100mg 蛋白质)

氨基酸	脱苦前	脱苦后	WHO/FAO 模式
苏氨酸 Thr	3.921[1)]	3.734[1)]	4.0
胱氨酸 Cys2	0.263	0.246	3.5
蛋氨酸 Met	3.457	3.176	
缬氨酸 Val	7.403	6.581	5.0
异亮氨酸 Ile	6.453	5.583	4.0
亮氨酸 Leu	11.860	9.929	7.0
酪氨酸 Tyr	3.107	2.473	6.0
苯丙氨酸 Phe	4.039	3.373	
赖氨酸 Lys	9.874	10.050	5.5
色氨酸 Try	1.002	1.186	1.0
天冬氨酸 Asp	6.673	8.627	
丝氨酸 Ser	3.445	3.301	
谷氨酸 Glu	15.437	19.321	
甘氨酸 Gly	3.989	4.861	
丙氨酸 Ala	8.304	7.568	
组氨酸 His	4.373	3.380	
精氨酸 Arg	4.707	6.663	
脯氨酸 Pro	1.745	1.329	
氨基酸分	98	93	
必需氨基酸含量	51.43	46.1	

1)第一限制性氨基酸。

2.2 β-环糊精的掩盖苦味作用

β-环糊精的苦味掩盖作用是由其化学结构决定的。β-环糊精是由α-1,4连接的7个葡萄糖单位组成的寡糖,分子呈环状结构,其疏水基团集中在环的内部,形成一个能结合疏水基团的疏水中心。当β-环糊精加到蛋白水解液中,水解蛋白的小分子肽和氨基酸的疏水基团与疏水中心结合而被包络到环内部。如此,游离的疏水性肽和氨基酸数量减少,水解蛋白的苦味因此降低。

本实验中将一定量β-环糊精加入鳀鱼水解蛋白液中,80℃搅拌20min,其掩盖苦味效果见图5。

由图5可见,β-环糊精对鳀鱼水解蛋白液的苦味有明显掩盖作用,加入相当于蛋白质量2%的β-环糊精,苦味可降低31%(苦味值从8.0降到5.3±0.4);用量达5%时,苦味可降低75%(苦味值降至2.0±0.3);用量达10%时,苦味降低81%(苦味值降至1.5±0.2)。但随着β-环糊精用量增加,成本也增加。

2.3 β-环糊精对活性炭脱苦效果的增进作用

考虑成本因素,尽量减少β-环糊精用量,先用D型活性炭20℃下吸附脱苦60min,过滤去活性炭,再加入2%β-环糊精,80℃下搅拌20min。脱苦效果见图6。

由图6(参见图2)可知,先经活性炭吸附,再以β-环糊精掩盖,其脱苦效果比两者单独使用时具有明显的增效作用。这表明,活性炭和β-环糊精对疏水性肽和氨基酸吸附和掩盖具有选择性,共同使用时具有互补增效作用。当用40%活性炭结合2%β-环糊精处理时,苦味可基本脱去(苦味值1.5±0.2)。因此,本文推荐的脱去鳀鱼水解蛋白液中苦味的理想方法为:鳀鱼水解蛋白液先经40%活性炭20℃下吸附60min,分离除去活性炭;继用2%β-环糊精在80℃下加热20min。

用上述方法进行脱苦处理,蛋白质损失3.71%。脱苦前后水解液的氨基酸组成如表1所示。

水解液经脱苦处理后的氨基酸组成略有变化,亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸和芳香族氨基酸均有一定的损失,但必需氨基酸间的比例仍与WHO/FAO模式相近。,必需氨基酸占总氨基酸的46.1%,氨基酸分为93。

综上所述,本文探讨了吸附法和掩盖法脱去鳀鱼水解蛋白液中的苦味。活性炭脱苦效果优于滑石粉和漂白土;活性炭颗粒越小脱苦效果越好;在一定范围内增加活性炭用量、延长吸附时间、提高吸附温度均可提高脱苦效果;β-环糊精具有明显的苦味掩盖作用。40%活性炭(按水解液中蛋白质含量计)吸附结合2%β-环糊精(按蛋白量计)掩盖为本文推荐的脱苦方法。

参考文献

[1] Arai, S. *et al.*, 1970. *J. Food Sci.* 35: 392-395.

[2] Helbig, *et al.*, 1980. *J. Food Sci.* 45: 331-335.

[3] Hevia, P. and Ollcott, H.S., 1977. *J. Agric. Food Chem.* 25(4): 772~775。

[4] Lalasidis, G. *et al.*, 1978. *J. Agric. Food Chem.* 26(3): 751-756.

[5] Motecalvo, J. J. R. *et al.*, 1984. *J. Food Sci.* 49: 1 305-1 309.

[6] Yanez, *et al.*, 1976. *J. Food Sci.* 41: 1 289-1 292.