

蛋白水解度对食品风味特征的影响

吕雪娟¹ 梁兰兰² 黄华京² 宁正祥²

(1 华南农业大学生物技术学院, 广州, 510642; 2 华南理工大学食品科学与工程系)

摘要 对木瓜酶解蛋白奶及酵母自溶过程中蛋白水解度与其风味特征的研究结果表明,处于 β -转角的氨基酸最先受到蛋白酶的 attack,其次是 α -螺旋的N端和C端氨基酸。 α -螺旋内部和 β -折叠中的氨基酸受到蛋白酶作用的概率基本接近。随着蛋白质酶解度的提高,游离氨基酸的疏水能增加,蛋白水解液的风味逐渐变苦。综合味感值与游离氨基酸的综合疏水能之间存在极显著的负相关。

关键词 氨基酸; 风味; 疏水能; 蛋白质

中图分类号 TS201.21

在食品生产过程中,常需对食品蛋白质进行有限水解,以改善蛋白质的食品功能特性。但随着蛋白质的降解,有时会使食品产生不同程度的苦味(巨智勇,1992)。一些研究者认为这是蛋白质水解过程中产生苦味肽的结果(Fujimadi,1977; Kinsela,1978),认为水解蛋白肽链的长度是苦味的致因,并试图通过酶促蛋白修饰的方法改善蛋白质食品的风味(Adler-Nissen,1979)。但迄今未能获得突破性进展。本文通过测定木瓜酶解蛋白奶及酵母自溶过程中溢出氨基酸的组成及其含量的变化对食品风味特征的影响,探讨蛋白质水解度和游离氨基酸组成及其含量对蛋白质类食品的功能特性的影响及其变化规律,旨在为农副产品的深加工提供理论与实践依据。

1 材料与方法

1.1 酵母菌体培养及自溶条件

面包干酵母(*Saccharomyces siccus*)接种于11°Brix麦芽汁培养基中,在30℃恒温水浴摇床上往复振荡培养16h,4000 r/min离心15 min,用蒸馏水洗涤3次,收集并称取菌体25g,悬浮于0.5mol/L醋酸钠缓冲液(pH6.0)中,定容100mL,置55℃恒温水浴摇床上自溶。

1.2 木瓜酶解蛋白奶条件

全脂奶粉3g,加入木瓜蛋白酶50U,定容20mL,置55℃恒温水浴中酶解。

1.3 蛋白质含量及氨基酸组成分析

蛋白质含量采用茚三酮法。氨基酸总量测定采用甲醛滴定法(黄伟坤,1989)。氨基酸组成及含量测定采用日立835-50型氨基酸自动分析仪测定。

2 结果与分析

2.1 酵母自溶过程中菌体蛋白的降解规律

酵母在 pH 6.0, 55℃恒温条件下自溶时，其菌体蛋白降解和氨基酸溢出的结果列于表

表 1 酵母自溶过程中氨基酸和蛋白质溢出规律

| 自溶时间 /min | 氨基酸含量 (A) /g° L ⁻¹ | 蛋白质含量 (B) /g° L ⁻¹ | A: B/(%) |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|----------|
| 40 | 0.446 | 1.961 | 22.76 |
| 200 | 1.301 | 3.359 | 38.72 |
| 320 | 2.144 | 4.621 | 46.41 |
| 440 | 2.331 | 5.121 | 45.53 |
| 640 | 2.581 | 5.139 | 50.21 |
| 820 | 2.752 | 6.509 | 42.27 |
| 1040 | 2.781 | 8.671 | 32.08 |
| 1320 | 2.925 | 10.609 | 27.57 |

1. 可看出，随着自溶作用的进行，溢出菌体细胞的氨基酸含量呈双曲函数型增加，在自溶作用的前期，自溶液中的氨基酸含量迅速增加，5~6h后，则渐趋于平衡。而降解后的菌体蛋白溢出细胞的速率则相对比较稳定。在自溶作用进行22h后，其溢出速率仍未降低。从而导致自溶液中氨基酸与蛋白质的比值依自溶作用的进行呈抛物线型变化，在自溶作用进行6~7h左右达到峰值。由于酵母属胞内自溶型，未降解的蛋白大分子极难透过胞壁而逸出到胞外。因而不难推知，在自溶作用进行的前期，溢出菌体的主要是一些小分子量的短肽，随着自溶作用的进行，溢出菌体的降解蛋白的分子量逐渐增大。结合氨基酸的溢出动态可看出，在酵母自溶过程中，菌体蛋白的水解主要在前期，而中后期主要是降解物由胞内向胞外扩散。

2.2 蛋白质水解液中氨基酸组成变化

对酵母自溶液及木瓜酶解蛋白奶离心上清液中的氨基酸组成分析结果列于表2和表

3. 可看出，不同氨基酸之间在含量变化上存在着较大的差异。谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸在酶解初期上清液中均占有优势的摩尔组分。说明这些氨基酸所参入的肽段极易被蛋白酶优先作用。异亮氨酸和组氨酸在两种供试蛋白系统中的摩尔组分均小。

供试样品液中各种游离氨基酸在蛋白质中出现的平均概率值计算结果见表4，其计算按宁正祥等（1995）方法。由表4可看出，处于β转角处的氨基酸最先受到蛋白酶的攻击。α-螺旋内部和β折叠中的氨基酸受到蛋白酶作用的概率基本接近。α-螺旋的N端和C端氨基酸被水解游离出来的速率也大体相同。由于处于端基位置的氨基酸数目远小于肽链内部，因此，蛋白酶解液中出现端基处的氨基酸的概率虽然小于肽链内部氨基酸概率1倍左右，但在端基位置的每个氨基酸受到蛋白酶进攻的平均概率则远远高于肽链内部。在蛋白质的三维结构中，β转角及端基氨基酸多处于蛋白质的表面结构域中，因而极易受到蛋白酶的作用。表4的计算结果充分说明这一点。

表 2 蛋白酶解时间对酵母自溶液 (pH5.5) 氨基酸组份的影响

mmol/L

| 氨基酸 | <i>t</i> /min | | | | | | | |
|------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 40 | 200 | 320 | 440 | 640 | 820 | 1040 | 1320 |
| 脯氨酸 | 0.217 | 0.464 | 0.543 | 0.576 | 0.548 | 0.682 | 0.757 | 0.869 |
| 精氨酸 | 0.119 | 0.536 | 0.645 | 0.621 | 0.718 | 0.712 | 0.731 | 0.782 |
| 组氨酸 | 0.018 | 0.127 | 0.156 | 0.176 | 0.192 | 0.227 | 0.231 | 0.231 |
| 赖氨酸 | 0.136 | 0.518 | 0.667 | 0.781 | 0.883 | 0.988 | 1.090 | 1.110 |
| 苯丙氨酸 | 0.266 | 0.501 | 0.644 | 0.746 | 0.694 | 0.552 | 0.518 | 1.060 |
| 酪氨酸 | 0.157 | 0.331 | 0.411 | 0.454 | 0.472 | 0.513 | 0.647 | 0.704 |
| 亮氨酸 | 0.245 | 1.040 | 1.370 | 1.530 | 1.576 | 1.660 | 1.760 | 2.310 |
| 异亮氨酸 | 0.089 | 0.596 | 0.799 | 0.887 | 0.902 | 0.983 | 1.030 | 1.320 |
| 蛋氨酸 | 0.094 | 0.194 | 0.246 | 0.274 | 0.292 | 0.283 | 0.292 | 0.371 |
| 缬氨酸 | 0.410 | 1.030 | 1.270 | 1.440 | 1.440 | 1.610 | 1.680 | 2.010 |
| 胱氨酸 | 0.053 | 0.171 | 0.169 | 0.175 | 0.199 | 0.210 | 0.209 | 0.186 |
| 丙氨酸 | 1.020 | 2.710 | 2.990 | 3.140 | 3.310 | 3.410 | 3.400 | 3.660 |
| 甘氨酸 | 0.308 | 0.883 | 0.988 | 1.050 | 0.090 | 0.210 | 0.270 | 1.540 |
| 谷氨酸 | 0.309 | 0.626 | 0.839 | 0.985 | 1.820 | 1.720 | 1.760 | 1.250 |
| 丝氨酸 | 0.256 | 0.682 | 0.863 | 0.993 | 1.050 | 1.120 | 1.040 | 1.240 |
| 苏氨酸 | 0.277 | 0.800 | 1.000 | 1.130 | 1.130 | 1.240 | 1.240 | 1.210 |
| 天冬氨酸 | 0.140 | 0.363 | 0.538 | 0.624 | 0.619 | 0.545 | 0.465 | 0.341 |
| 总计 | 4.115 | 11.572 | 14.118 | 15.582 | 15.885 | 16.665 | 17.102 | 20.194 |

表 3 蛋白酶解时间对木瓜酶解蛋白奶氨基酸组份的影响

mmol/L

| 氨基酸 | <i>t</i> /min | | | | | | 疏水能 <i>k</i> J ⁻¹ mol ⁻¹ | 味感 | 味感值 |
|------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|---|-----|-----|
| | 40 | 90 | 190 | 220 | 250 | 310 | | | |
| 脯氨酸 | 0.086 | 0.274 | 0.293 | 0.303 | 0.312 | 0.359 | 10.85 | | |
| 精氨酸 | 0.012 | 0.038 | 0.082 | 0.101 | 0.098 | 0.107 | 3.10 | 苦味 | -2 |
| 组氨酸 | 0.020 | 0.017 | 0.018 | 0.019 | 0.019 | 0.019 | 2.10 | 微苦味 | -1 |
| 赖氨酸 | 0.051 | 0.048 | 0.059 | 0.065 | 0.064 | 0.068 | 6.25 | 苦味 | -2 |
| 苯丙氨酸 | 0.087 | 0.093 | 0.136 | 0.152 | 0.153 | 0.171 | 11.10 | 苦味 | -2 |
| 酪氨酸 | 0.277 | 0.226 | 0.303 | 0.362 | 0.351 | 0.421 | 12.00 | 微苦味 | -1 |
| 亮氨酸 | 0.075 | 0.067 | 0.081 | 0.088 | 0.087 | 0.093 | 10.10 | 微苦味 | -1 |
| 异亮氨酸 | 0.012 | 0.011 | 0.017 | 0.017 | 0.018 | 0.016 | 12.40 | 苦味 | -2 |
| 蛋氨酸 | 0.029 | 0.030 | 0.031 | 0.041 | 0.040 | 0.076 | 5.45 | 苦味 | -2 |
| 缬氨酸 | 0.091 | 0.078 | 0.093 | 0.102 | 0.101 | 0.122 | 7.05 | 苦味 | -2 |
| 胱氨酸 | 0.031 | 0.032 | 0.038 | 0.044 | 0.041 | 0.060 | 4.20 | 苦味 | -2 |
| 丙氨酸 | 0.101 | 0.086 | 0.096 | 0.104 | 0.105 | 0.115 | 3.10 | | |
| 甘氨酸 | 0.371 | 0.316 | 0.392 | 0.399 | 0.411 | 0.396 | 0 | 甜味 | 2 |
| 谷氨酸 | 0.557 | 0.528 | 0.576 | 0.631 | 0.652 | 0.702 | 2.30 | 甜味 | 2 |
| 丝氨酸 | 0.165 | 0.137 | 0.162 | 0.178 | 0.175 | 0.185 | 0.17 | 鲜味 | |
| 苏氨酸 | 0.097 | 0.088 | 0.101 | 0.099 | 0.102 | 0.083 | 1.83 | 微甜味 | 1 |
| 天冬氨酸 | 0.450 | 0.404 | 0.544 | 0.574 | 0.598 | 0.368 | 2.25 | 微甜味 | 1 |
| 总计 | 2.513 | 2.472 | 3.031 | 3.278 | 3.326 | 3.326 | | | |

2 3 蛋白水解液中氨基酸组成对风味特征的影响

大多数氨基酸都有一定的味感，将甜味和微甜味分别以数量化值 2和 1代表，苦味和微苦味相应以 - 2和 - 1表示 (见表 3). 采用这一数量化值对不同酶解上清液中游离氨基酸的综合味感值的计算结果 (表 4) 可看出，随着蛋白酶作用时间的延长，蛋白水解液的感官风味由鲜甜逐渐变苦，游离氨基酸的综合味感值则渐次下降。这表明氨基酸的综合味感值可作为蛋白水解液或氨基酸口服液客观味感的重要量化参数。在供试样品系统中，正常味感值应在 0. 2以上。

表 4 供试样品液中各种氨基酸在蛋白质结构中出现的平均概率 (%) 及综合味感值

| 处理 | <i>t</i> /min | β 转角 | α 螺旋的 N 端 | α 螺旋的 内部 | α 螺旋的 C 端 | β 折叠 | 疏水能 /kJ · mol ⁻¹ | 综合 味感值 | 感官评定 |
|-------------|---------------|---------|--------------|-------------|--------------|---------|--------------------------------|-----------|---------|
| 酵母 自溶液 | 40 | 6. 059 | 1. 853 | 3. 930 | 1. 727 | 3. 573 | 20. 403 | 0. 661 | 鲜甜 |
| | 200 | 16. 807 | 4. 951 | 11. 163 | 4. 918 | 10. 402 | 58. 918 | 0. 291 | 略甜 |
| | 320 | 20. 551 | 6. 095 | 13. 611 | 5. 994 | 12. 788 | 73. 734 | - 0. 857 | 苦、稍涩 |
| | 440 | 22. 717 | 6. 783 | 15. 041 | 6. 606 | 14. 178 | 81. 649 | - 1. 494 | 苦涩、灼舌 |
| | 640 | 21. 963 | 7. 453 | 16 143 | 7. 081 | 14. 355 | 84. 394 | - 3. 374 | 苦涩带酸 |
| | 820 | 23. 251 | 7. 716 | 16 655 | 7. 339 | 15. 120 | 89. 509 | - 3. 679 | 苦 |
| | 1040 | 23. 959 | 7. 867 | 16 995 | 7. 512 | 15. 618 | 94. 257 | - 4. 442 | 苦 |
| | 1320 | 29. 394 | 8. 537 | 19. 449 | 8. 524 | 18. 696 | 113. 599 | - 4. 401 | 苦馊 |
| 木瓜酶 解蛋白奶 | 40 | 23. 751 | 7. 942 | 10. 495 | 5. 495 | 9. 746 | 10. 278 | 0. 273 | 淡甜鲜 |
| | 90 | 23. 848 | 8. 045 | 9. 658 | 5. 195 | 9. 055 | 11. 402 | 0. 171 | 淡甜、后味稍苦 |
| | 190 | 29. 499 | 9. 549 | 11. 715 | 6. 328 | 11. 445 | 14. 084 | 0. 121 | 甜中带苦 |
| | 220 | 31. 745 | 10. 247 | 12 745 | 6. 917 | 12. 517 | 15. 581 | 0. 051 | 稍苦 |
| | 250 | 32. 201 | 10. 482 | 12 957 | 7. 009 | 12. 598 | 15. 622 | 0. 004 | 稍苦 |
| | 310 | 32. 031 | 10. 349 | 13. 174 | 7. 292 | 12. 874 | 17. 297 | - 0. 199 | 苦 |

对蛋白水解液中各种氨基酸的综合疏水能的计算结果表明，蛋白液中游离氨基酸的综合疏水能依蛋白水解度的提高而增加。

蛋白水解液的综合味感值与游离氨基酸的综合疏水能之间存在极显著的负相关。在酵母自溶液和木瓜酶解蛋白奶中的相关系数分别为 - 0. 87819 (*n*= 8, *r*_{0. 01}= 0. 7646) 和 - 0. 9303 (*n*= 6, *r*_{0. 01}= 0. 8745)。这说明随着蛋白质酶解程度的提高，苦味增加的原因主要是游离氨基酸的疏水能依蛋白水解度提高而增加的结果。

参 考 文 献

巨智勇. 1992. 广东传统乳品制作. 中国乳品工业. 20 (3): 125~ 126
宁正祥, 赵谋明编著. 1995. 食品生物化学. 广州: 华南理工大学出版社, 53~ 56, 69
黄伟坤编著. 1989. 食品检验与分析. 北京: 轻工业出版社, 57
Adler- Nissen I, Olsen H S. 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. Am Chem Soc. 43. 125~ 146.

- Fujimaki M, Arai S, Yamashita M. 1977. Enzymatic protein degradation and resynthesis for protein improvement. Am Chem Soc, 43 156~ 184
- Kinsela J E. 1978. Texturized proteins fabrication, flavoring, and nutrition. CRC Crit Rev Food Sci Nutri, 10 147~ 207

EFFECTS OF HYDROLYSIS DEGREE OF PROTEINS ON FOOD TASTE

Lu Xuejuan¹ Liang Lanlan² Huang Huajing² Ning Zhengxiang²

(1 College of Biotechnology, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642;

2 Dept. of Food Engineering, South China Univ. of Technology)

Abstract

Effects of hydrolysis degree of milk protein treated with papain and of yeast protein by cell autolysis on taste were studied. It was shown that amino acids at the β -turn and at the end of N-terminal or C-terminal of α -helix were easily attacked by proteinase, those inside an α -helix and a β -sheet had about equal hydrolysis rate. With protein hydrolysis, the hydrophobic energy of free amino acids increased, and the taste became bitter gradually, the hydrophobic energy was significantly negatively correlated to the taste at the level $P < 0.01$.

Key words amino acids; taste; hydrophobic energy; proteinase