

活性炭与树脂对芝麻 ACE 抑制肽脱苦的工艺优化及其性能比较

芦鑫^{1,2}, 游静^{1,2}, 金璐^{1,2}, 宋国辉^{1,2}, 孙强^{1,2}, 黄纪念^{1,2,3}

(1. 河南省农业科学院农副产品加工研究中心, 郑州 450002; 2. 河南省农产品生物活性物质工程技术研究中心, 郑州 450002; 3. 农业部油料加工重点实验室, 武汉 430062)

摘要:为改善芝麻 ACE 抑制肽的味道, 分别采用活性炭与树脂对芝麻 ACE 抑制肽进行脱苦, 以脱苦率、多肽损失率为评价指标, 采用单因素实验和正交实验对两种脱苦工艺条件进行优化, 并比较两种脱苦方法对芝麻 ACE 抑制肽味觉特性、活性及氨基酸组成的影响, 以确定最适宜的脱苦方法。结果表明: 两种方法均能使芝麻 ACE 抑制肽液苦味降至无法察觉, 活性炭脱苦最佳工艺条件为活性炭 2 号添加量 6%、芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL、吸附温度 55 °C、吸附时间 15 min, 在此条件下脱苦率与多肽损失率分别为 $(96.46 \pm 0.57)\%$ 和 $(29.02 \pm 0.19)\%$ (电子舌测定苦味为 -0.61 ± 0.02); AB-8 大孔吸附树脂脱苦最佳工艺条件为树脂添加量 12.5%、pH 7、吸附温度 35 °C、吸附时间 15 min、芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL, 在此条件下脱苦率与多肽损失率分别为 $(95.21 \pm 0.93)\%$ 和 $(12.11 \pm 0.19)\%$ (苦味为 -0.03 ± 0.08); AB-8 大孔吸附树脂脱苦的芝麻 ACE 抑制肽活性显著强于活性炭脱苦的, 这与不同脱苦方法引起的多肽组成差异有关。综合考虑, AB-8 大孔吸附树脂可以更好地降低芝麻 ACE 抑制肽中苦味氨基酸含量, 适合用于芝麻 ACE 抑制肽的脱苦。

关键词:芝麻; ACE 抑制肽; 多肽脱苦; 树脂脱苦; 活性炭脱苦; 吸附脱苦

中图分类号: TS229; TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)03-0102-09

Optimization of debittering of sesame ACE inhibitory peptide by activated carbon and resin and their performance comparison

LU Xin^{1,2}, YOU Jing^{1,2}, JIN Lu^{1,2}, SONG Guohui^{1,2},
SUN Qiang^{1,2}, HUANG Jinian^{1,2,3}

(1. Research Center of Agricultural and Sideline Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Engineering Research Centre of Bioactive Substances in Agricultural Products, Zhengzhou 450002, China; 3. Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

Abstract: To improve the taste of sesame ACE inhibitory peptide, activated carbon and resin were used to eliminate the bitterness of sesame ACE inhibitory peptide, and the debittering rate and peptide loss rate were taken as the evaluation indexes, single factor experiment and orthogonal experiment were used to optimize the two debittering process conditions. The suitable debittering method was obtained based on

收稿日期: 2022-10-28; 修回日期: 2023-10-12

基金项目: 河南省科技攻关项目(222102110037); 河南省科技攻关项目(212102110076); 国家特色油料产业技术体系(CARS-14)

作者简介: 芦鑫(1981), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为油脂加工(E-mail) xinlu1981@foxmail.com。

通信作者: 黄纪念, 研究员, 博士(E-mail) hjinian@sina.com。

the comparison in taste characterization, sesame ACE inhibitory peptide activity, and amino acid composition between the two debittering methods. The results showed that both methods could reduce the bitterness of sesame ACE inhibitory peptide to imperceptible. The optimal debittering conditions of activated carbon were as follows:

addition of activated carbon No. 2 6%, sesame ACE inhibitory peptide solution mass concentration 10 g/100 mL, absorption temperature 55 °C, absorption time 15 min. Under the optimal conditions, the debittering rate and peptide loss rate were $(96.46 \pm 0.57)\%$ and $(29.02 \pm 0.19)\%$ (bitterness detected by electronic tongue was -0.61 ± 0.02). While the debittering rate and peptide loss rate of AB-8 macroporous resin reached $(95.21 \pm 0.93)\%$ and $(12.11 \pm 0.19)\%$ (the bitterness was -0.03 ± 0.08) under the optimal conditions of AB-8 macroporous resin dosage 12.5%, sesame ACE inhibitory peptide solution mass concentration 10 g/100 mL, pH 7, absorption temperature 35 °C and absorption time 15 min. The activity of ACE inhibitory peptide debittered by AB-8 macroporous resin was significantly stronger than that debittered by activated carbon, which was related to the difference in peptide composition caused by the debittering methods. Overall, AB-8 macroporous resin adsorption can better reduce the contents of bitter amino acids, and is suitable for sesame ACE inhibitory peptide debittering.

Key words: sesame; ACE inhibitory peptide; peptide debittering; resin debittering; activated carbon debittering; adsorption debittering

我国是高血压高发国家之一,成人患病率达到23.2%^[1],预防与治疗高血压疾病成为我国亟待解决的公共卫生问题。食源性ACE抑制肽被认为是辅助防控高血压的有效成分^[2]。研究表明,芝麻蛋白酶解物中含有ACE抑制肽^[3]。然而,芝麻ACE抑制肽具有苦味,这会削弱消费者的购买意愿。为了改善芝麻ACE抑制肽的味道,需要对其进行脱苦处理。

目前,脱苦方法有物理法与生物法^[4-5],其中物理法包括吸附、离子交换与包埋^[6-7],生物法分为酶法修饰与生物发酵^[8]。活性炭与树脂吸附脱苦法是食品脱苦的常用方法,具有操作简单、时间短、成本低、可重复利用、易于工业化等优点^[5,9]。虽然采用活性炭与树脂脱苦已经在食品工业中得到广泛应用,但上述两种方法应用于芝麻ACE抑制肽脱苦鲜有报道,且不涉及脱苦处理对ACE抑制肽活性的影响。因此,有必要开展活性炭与树脂对芝麻ACE抑制肽脱苦的研究。

本文以芝麻ACE抑制肽液为研究对象,分别采用活性炭与树脂对其进行脱苦,采用单因素实验和正交实验对两种脱苦工艺条件进行优化,并比较两种脱苦方法的ACE抑制肽多肽损失率、活性、味觉差异及氨基酸组成,为芝麻ACE抑制肽脱苦方法的选择及工业化生产提供理论基础与数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

芝麻ACE抑制肽液冻干粉,参照文献[3],采用碱性蛋白酶与风味蛋白酶先后水解芝麻蛋白,再经浓缩、冻干后得到。

活性炭1号(木质)、活性炭2号(木质与椰壳

混合物)、活性炭3号(椰壳),郑州科林净水材料有限公司;D001强酸阳离子交换树脂、D201强碱阴离子交换树脂、D301弱碱阴离子交换树脂、D113弱酸阳离子交换树脂、AB-8大孔吸附树脂(弱极性)、D3520大孔吸附树脂(非极性),天津允开树脂科技公司;S-8大孔吸附树脂(极性),广州伟伯科技有限公司;盐酸奎宁,分析纯,西安玉宁生物科技有限公司;其他试剂,分析纯,国药集团有限公司。

1.1.2 仪器与设备

DELTA 320型pH计,上海梅特勒-托利多仪器有限公司;ZW-A振荡器,常州博远实验分析仪器有限公司;Rotanta460R离心机,德国Hettich科学仪器公司;K1100全自动凯氏定氮仪,海能未来技术集团股份有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司;TS-500Z电子舌,日本Insent公司。

1.2 实验方法

1.2.1 芝麻ACE抑制肽的活性炭脱苦

取芝麻ACE抑制肽液冻干粉,加入蒸馏水配成一定质量浓度的溶液后,加入一定量的活性炭,于一定温度水浴搅拌脱苦一定时间后,10 000 r/min离心15 min,取上清液进行脱苦率与多肽损失率测定。

1.2.2 芝麻ACE抑制肽的树脂脱苦

取芝麻ACE抑制肽液冻干粉,加入蒸馏水配成10 g/100 mL溶液后,调节pH,加入一定量的树脂,在一定温度、120 r/min下振荡吸附一定时间后,过0.075 mm(200目)筛,取滤液进行脱苦率与多肽损失率测定。

1.2.3 脱苦率评价

参考谷宇等^[10]的方法,以盐酸奎宁为苦味基准

物,称取 0.1 g 盐酸奎宁于 100 mL 体积分数为 95% 的乙醇中,混合均匀,取 10 mL 混合溶液于 100 mL 蒸馏水中,配成 1×10^{-4} g/mL 盐酸奎宁溶液,再分别稀释得到质量浓度为 9×10^{-5} 、 8×10^{-5} 、 7×10^{-5} 、 6×10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 4×10^{-5} 、 3×10^{-5} 、 2×10^{-5} 、 1×10^{-5} g/mL 的盐酸奎宁溶液,分装于不同瓶子中,随机抽取 5 瓶,安排实验室人员对上述溶液进行排序,选拔出能正确排序的人员,而后安排三点实验,从能正确区分的人员中抽出 5 人,参加芝麻 ACE 抑制肽液的苦味评价。

将上述盐酸奎宁溶液(包括 1×10^{-4} g/mL)质量浓度从低到高依次设定为苦味值 1~10 分,以盐酸奎宁的苦味值为参比,对芝麻 ACE 抑制肽液的苦味进行评分,确定苦味值。按照公式(1)计算脱苦率(Y)。

$$Y = \left(1 - \frac{D_d}{D_o}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: D_d 为芝麻 ACE 抑制肽液脱苦后的苦味值; D_o 为未脱苦芝麻 ACE 抑制肽液苦味值。

1.2.4 多肽损失率测定

将 1 mL 芝麻 ACE 抑制肽液和 2 mL 10 g/mL 的三氯乙酸溶液混合均匀,8 000 r/min 离心 20 min,取上清液并用凯氏定氮法测定多肽含量。按公式(2)计算多肽损失率(X)。

$$X = \left(1 - \frac{P_d}{P_o}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中: P_d 为脱苦后芝麻 ACE 抑制肽液中的多肽质量,g; P_o 为未脱苦芝麻 ACE 抑制肽液中的多肽质量,g。

1.2.5 电子舌鉴定芝麻 ACE 抑制肽液味觉特征

采用 TS-500Z 电子舌测定芝麻 ACE 抑制肽液的酸、甜、苦、咸、鲜、涩味等味觉特征。测试中,参比溶液为 30 mmol/L 氯化钾溶液(含 0.3 mmol/L 酒石酸),视其为无味。基本味觉值是传感器在样品中电压(V_s)与其在参比溶液中电压(V_r)的差值,回味值是将传感器简单清洗后,再次测定在参比溶液中电压与 V_r 的差值,其反映某种味觉的持续性。味觉指标数值越大,反映样品与参比溶液差异越大,数值正负则反映样品与参比溶液的强弱。

1.2.6 芝麻 ACE 抑制肽活性测定

参照 Wang 等^[11]的方法测定芝麻 ACE 抑制肽活性。

1.2.7 芝麻 ACE 抑制肽氨基酸组成测定

参考贾聪等^[3]的方法测定芝麻 ACE 抑制肽氨基酸组成。

1.2.8 数据分析

无特殊说明,实验测定 3 次平行。采用 SAS9.2 进行单因素实验与正交实验方差分析,其中 $p < 0.05$ 为显著, $p < 0.01$ 为极显著。使用 OriginPro 2022 作图,图表中同一指标不同字母的数据代表差异显著。

2 结果与讨论

2.1 活性炭对芝麻 ACE 抑制肽脱苦的工艺优化

2.1.1 活性炭类型对脱苦的影响

在芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL、活性炭添加量 1% (以溶液体积计算)、吸附温度 30 °C、吸附时间 15 min 条件下,考察不同类型活性炭对芝麻 ACE 抑制肽的脱苦效果,结果见图 1。

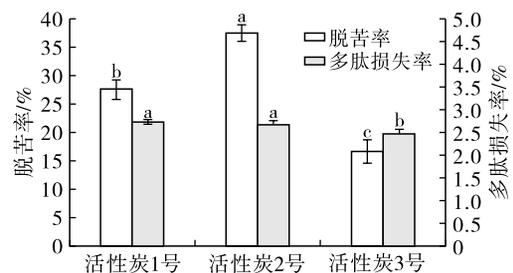


图1 不同类型活性炭对芝麻 ACE 抑制肽的脱苦效果

由图 1 可知,3 种类型活性炭脱苦能力依次为活性炭 2 号 > 活性炭 1 号 > 活性炭 3 号。3 种活性炭脱苦差异与活性炭材质、结构有关^[12]。活性炭 3 号的多肽损失率显著低于活性炭 1 号和活性炭 2 号的,这可能与活性炭材质的组成成分存在差异,从而影响吸附性能有关^[13]。综合脱苦效果与多肽损失情况,采用活性炭 2 号进行后续研究。

2.1.2 活性炭脱苦单因素实验

活性炭吸附物质分为 3 个阶段:第一阶段吸附物从液相界膜扩散至活性炭表面,即膜扩散阶段;第二阶段吸附物从活性炭表面向颗粒内部扩散,为颗粒内扩散阶段;第三阶段吸附物的吸附与解吸达到平衡阶段^[14]。吸附温度、活性炭添加量、吸附时间、芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度对脱苦率与多肽损失率的影响如图 2 所示。

由图 2a 可知,随着吸附温度的升高,脱苦率逐渐上升,当吸附温度超过 55 °C 后,脱苦率有所下降。温度升高会加强膜扩散与颗粒内扩散速度,促进活性炭吸附苦味肽分子,有利于降低苦味,但温度过高,苦味肽分子运动速度过快,难以被吸附,削弱脱苦效果。随着吸附温度升高,多肽损失率逐渐增加,当吸附温度达到 55 °C 后,多肽损失率基本保持稳定。综合脱苦效果与多肽损失情况,吸附温度选择 55 °C。

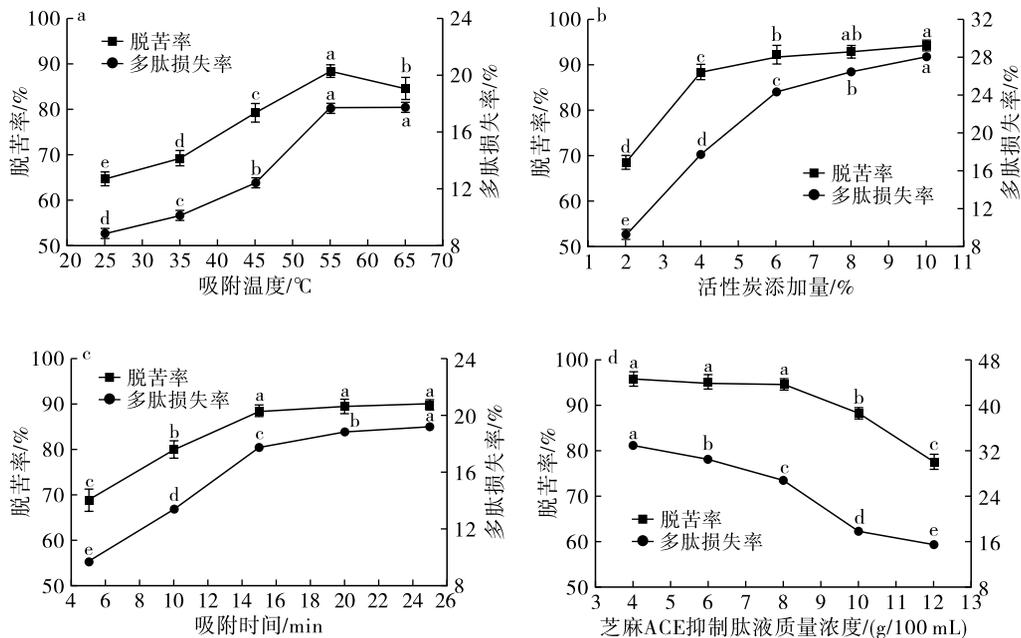
由图 2b 可知,随着活性炭添加量的增加,脱苦率

逐渐增加,当活性炭添加量超过6%后,脱苦率逐渐稳定,而多肽损失率随着活性炭添加量增加而不断升高。活性炭吸附的专一性较差,当活性炭对苦味肽吸附平衡后,继续添加活性炭会增加其对其他多肽的吸附,从而造成多肽损失率上升。因此,活性炭添加量以6%为宜。前人采用活性炭对不同蛋白水解液脱苦时,活性炭添加量差异大,如大豆肽脱苦的活性炭添加量为1%^[15],核桃肽脱苦的活性炭添加量为50%^[6]。造成上述明显差异的原因可能是:①活性炭品种不同,吸附性能差异显著^[16];②原料蛋白的氨基酸组成与水解程度差异,其苦味值差异大^[17]。

由图2c可知,随着吸附时间的延长,脱苦率与多肽损失率逐渐增加,当吸附时间超过15 min后,脱苦率无显著变化,而多肽损失率仍小幅增长。这

表明活性炭-芝麻ACE抑制肽体系中,活性炭吸附平衡基本在15 min左右完成,继续延长吸附时间会增加多肽损失率。因此,吸附时间控制在15 min。

由图2d可知,芝麻ACE抑制肽液质量浓度从4 g/100 mL增加到8 g/100 mL时,脱苦率下降但无显著差异,当芝麻ACE抑制肽液质量浓度超过8 g/100 mL时,脱苦率显著下降。随着芝麻ACE抑制肽液质量浓度的增加,多肽损失率显著下降。当芝麻ACE抑制肽液质量浓度较低时,活性炭吸附容量剩余,除彻底吸附苦味肽外,还能充分吸附其他多肽,造成高脱苦率与高多肽损失率;当芝麻ACE抑制肽液质量浓度过高时,活性炭吸附容量饱和,造成苦味肽残留,导致脱苦率下降。综合考虑,芝麻ACE抑制肽液质量浓度控制在8 g/100 mL为宜。



注:固定条件为活性炭添加量4%、吸附时间15 min、芝麻ACE抑制肽液质量浓度10 g/100 mL、吸附温度55℃,考察其中一个因素时,其他因素条件固定

图2 活性炭吸附条件对芝麻ACE抑制肽脱苦的影响

2.1.3 活性炭脱苦正交实验

根据单因素实验结果,以脱苦率与多肽损失率为评价指标,固定吸附时间15 min,选取吸附温度(A)、活性炭添加量(B)、芝麻ACE抑制肽液质量浓度(C)为考察因素进行正交实验。活性炭脱苦正交实验设计及结果见表1,正交实验方差分析见表2。

由表1、表2可看出:脱苦率的正交实验模型显著并且 R^2 接近1,该模型可以客观反映吸附温度、活性炭添加量、芝麻ACE抑制肽液质量浓度对脱苦率的影响并准确预测脱苦率变化;吸附温度与活性炭添加量是脱苦率的显著影响因素,且吸附温度的影响强于活性炭添加量,而芝麻ACE抑制肽液质量浓

度为非显著影响因素。脱苦率最佳因素水平组合为 $A_2B_3C_1$,极差分析结果显示活性炭添加量6%与7%对应的脱苦率无显著差异。因此,为节约活性炭添加量与增加处理量,脱苦率的最优因素水平组合选择 $A_2B_2C_3$ 。

由表1、表2还可看出:多肽损失率的正交模型显著,且 $R^2 = 99.49%$,说明该模型能客观揭示考察各因素对多肽损失率的影响;3个因素影响主次顺序为活性炭添加量(B) > 吸附温度(A) > 芝麻ACE抑制肽液质量浓度(C),其中活性炭添加量与吸附温度对多肽损失率的影响显著,芝麻ACE抑制肽液质量浓度对多肽损失率的影响不显著。最低多

肽损失率对应的因素水平组合为 A₁B₁C₃。综合脱苦率与多肽损失率,确定最佳因素水平组合为 A₂B₂C₃,即吸附温度 55 ℃,活性炭添加量 6%,芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL,在此条件下进行验证实验,脱苦率与多肽损失率分别为 (96.46 ± 0.57)% 和 (29.02 ± 0.19)%。

表 1 活性炭脱苦正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	脱苦率/%	多肽损失率/%
1	1(50 ℃)	1(5%)	1(6 g/100 mL)	90.00	22.12
2	1	2(6%)	3(10 g/100 mL)	92.08	27.04
3	1	3(7%)	2(8 g/100 mL)	93.33	29.63
4	2(55 ℃)	1	2	94.17	24.98
5	2	2	1	96.67	29.11
6	2	3	3	96.88	30.98
7	3(60 ℃)	1	3	92.50	24.20
8	3	2	2	94.17	29.36
9	3	3	1	96.04	32.05
脱苦率					
k_1	91.81 ^c	92.22 ^b	94.24		
k_2	95.90 ^a	94.31 ^a	93.89		
k_3	94.24 ^b	95.42 ^a	93.82		
R	4.10	3.19	0.42		
多肽损失率					
k_1	26.26 ^b	23.77 ^c	27.76		
k_2	28.36 ^a	28.50 ^b	27.99		
k_3	28.54 ^a	30.89 ^a	27.41		
R	2.27	7.12	0.58		

表 2 活性炭脱苦正交实验方差分析

项目	自由度	方差和	均方差	F	p
脱苦率					
模型	6	41.62	6.94	33.89	2.89 × 10 ⁻²
A	2	25.55	12.77	62.41	1.58 × 10 ⁻²
B	2	15.77	7.88	38.52	2.53 × 10 ⁻²
C	2	0.30	0.15	0.73	0.58
误差	2	0.41			
多肽损失率					
模型	6	88.91	14.82	65.07	1.52 × 10 ⁻²
A	2	9.58	4.79	21.04	4.54 × 10 ⁻²
B	2	78.81	39.40	173.02	5.70 × 10 ⁻³
C	2	0.52	0.26	1.14	0.47
误差	2	0.46			

注:脱苦率与多肽损失率的正交模型 R² 分别为 99.02% 和 99.49%

2.2 树脂对芝麻 ACE 抑制肽脱苦的工艺优化

2.2.1 树脂类型对脱苦的影响

在树脂添加量 10% (以溶液体积计算)、吸附温度 35 ℃、吸附时间 15 min 条件下,考察不同类型树脂对芝麻 ACE 抑制肽的脱苦效果,结果见图 3。

由图 3 可知,AB-8 大孔吸附树脂具有最佳的脱苦效果,且多肽损失率较低,这与树脂极性与苦味

肽极性有关。研究表明:苦味肽分子多含有疏水性氨基酸残基,其中对苦味贡献较大的疏水氨基酸有脯氨酸(Pro)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)与色氨酸(Trp)^[17-18],另外,特定位置上的极性氨基酸能增强苦味,如碱性氨基酸残基在 N 端^[17, 19-20],此外,极性氨基酸残基的存在也有利于提高多肽的水溶性。故苦味肽呈现弱极性,有利于与弱极性 AB-8 发生吸附,从而实现脱苦^[21]。综合脱苦效果与多肽损失情况,选择 AB-8 大孔吸附树脂进行后续脱苦研究。

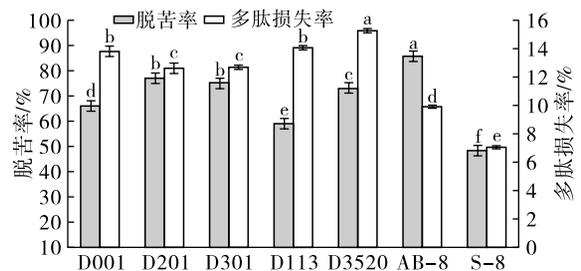


图 3 树脂类型对芝麻 ACE 抑制肽脱苦的影响

2.2.2 树脂脱苦单因素实验

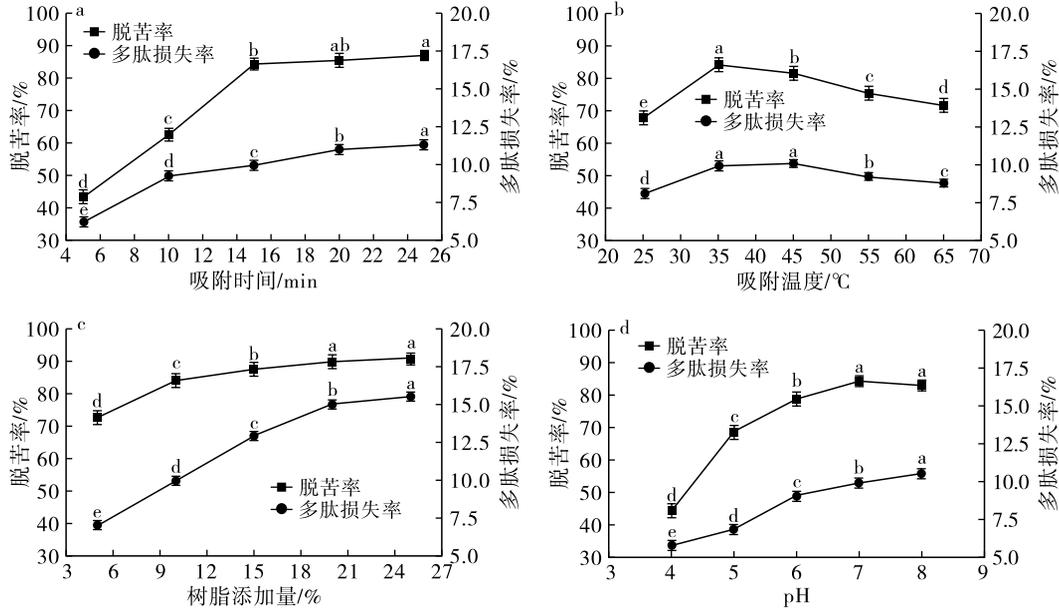
大孔树脂吸附条件对芝麻 ACE 抑制肽脱苦的影响见图 4。由图 4a 可知:随着吸附时间的延长,脱苦率显著增加,但吸附时间超过 15 min 后,脱苦率增加放缓;多肽损失率随着吸附时间的延长呈现显著增加趋势。上述变化表明,AB-8 大孔吸附树脂吸附苦味肽基本在 15 min 左右达到平衡。综合考虑,吸附时间以 15 min 为宜。另外,相较于活性炭吸附,由于树脂吸附具有专一性,故吸附其他多肽较少,多肽损失率较低。

由图 4b 可知,在 25 ~ 65 ℃ 范围内,脱苦率和多肽损失率均呈现先升高后降低的趋势,在 35 ℃ 时脱苦率达到最大值,为 (84.17 ± 1.14)%,而多肽损失率出现在 45 ℃。类似现象在大孔树脂脱苦菊粉中也有报道^[22]。推测是温度升高加速了多肽在大孔树脂表面与内部运动速度,促进了大孔树脂对多肽的吸附作用,提升了脱苦效果;但温度过高,削弱非共价相互作用,使部分多肽解吸,导致脱苦率与多肽损失率下降。综合考虑,吸附温度选择 35 ℃ 为宜。

由图 4c 可知,随着树脂添加量的增加,脱苦率显著增加,当树脂添加量超过 15% 后,脱苦率增加放缓,而多肽损失率在 5% ~ 25% 的树脂添加量范围内呈现上升趋势。大孔树脂脱苦柚汁也有类似现象^[23]。芝麻 ACE 抑制肽中苦味肽的含量一定,当树脂吸附苦味肽达到平衡后,脱苦率基本保持不变,而多余树脂会继续吸附其他多肽,增加多肽损失率。综合考虑,树脂添加量控制在 15% 以内。

由图4d可知,随着pH从4增加到8,脱苦率呈现快速增加到逐渐平稳的趋势,多肽损失率呈现逐渐增加趋势。大孔树脂吸附物质通过范德华引力、氢键等非共价键实现^[21,24],多肽具有两性解离性,

伴随着pH变化,其带电极性与强度会发生变化,这会影响到树脂吸附效果,从而造成脱苦率与多肽损失率发生变化。结合脱苦效果与多肽损失率,pH 7较为适宜。



注:固定条件为树脂添加量10%、吸附时间15 min、pH 7、吸附温度35 °C,考察其中一个因素时,其他因素条件固定

图4 树脂吸附条件对芝麻ACE抑制肽脱苦的影响

2.2.3 树脂脱苦正交实验

在单因素实验的基础上,选定AB-8大孔吸附树脂,固定芝麻ACE抑制肽液pH为7,以吸附时间(A)、吸附温度(B)和树脂添加量(C)为影响因素,开展正交实验。AB-8大孔吸附树脂脱苦正交实验设计及结果见表3,正交实验方差分析见表4。

表3 AB-8大孔吸附树脂脱苦正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	脱苦率/%	多肽损失率/%
1	1(12 min)	1(30 °C)	1(12.5%)	81.25	10.88
2	1	2(35 °C)	2(15.0%)	87.92	12.25
3	1	3(40 °C)	3(17.5%)	84.58	13.58
4	2(15 min)	1	2	90.83	13.47
5	2	2	3	95.42	14.11
6	2	3	1	94.17	11.75
7	3(18 min)	1	3	92.08	15.23
8	3	2	1	95.83	12.22
9	3	3	2	95.00	14.88
脱苦率					
k_1	84.58 ^b	88.06 ^b	90.42		
k_2	93.47 ^a	93.06 ^a	91.25		
k_3	94.31 ^a	91.25 ^{ab}	90.69		
R	9.72	5.00	0.83		
多肽损失率					
k_1	12.24 ^c	13.19	11.62 ^c		
k_2	13.11 ^b	12.86	13.53 ^b		
k_3	14.11 ^a	13.40	14.30 ^a		
R	1.87	0.54	2.69		

表4 AB-8大孔吸附树脂脱苦正交实验方差分析

项目	自由度	方差和	均方差	F	p
脱苦率					
模型	6	213.80	35.63	42.70	2.31×10^{-2}
A	2	174.20	87.10	104.38	8.50×10^{-3}
B	2	38.52	19.26	23.08	4.15×10^{-2}
C	2	1.08	0.54	0.65	0.61
误差	2	1.67			
多肽损失率					
模型	6	17.23	2.87	67.03	1.48×10^{-2}
A	2	5.27	2.64	61.53	1.60×10^{-2}
B	2	0.45	0.22	5.26	0.16
C	2	11.51	5.75	134.30	7.40×10^{-3}
误差	2	0.08			

注:脱苦率模型与多肽损失率模型的R²分别为99.22%和99.50%

由表3和表4可知,AB-8大孔吸附树脂对芝麻ACE抑制肽脱苦的正交模型显著,可以客观真实反映吸附时间、吸附温度、树脂添加量对脱苦率与多肽损失率的影响规律。3个因素对脱苦率的影响强弱顺序为吸附时间>吸附温度>树脂添加量,吸附时间和吸附温度影响显著,而树脂添加量影响不显著,最佳因素水平组合为A₃B₂C₂,吸附时间的极差分析结果表明15 min和18 min的脱苦率无显著差异,考虑缩短吸附时间与减少树脂用量,脱苦率的最佳因素水平组合是A₂B₂C₁。3个因素对多肽损失

率的影响强弱顺序为树脂添加量 > 吸附时间 > 吸附温度,其中树脂添加量和吸附时间影响显著,吸附温度影响不显著,最佳因素水平组合为 $A_1B_2C_1$ 。

综合脱苦率与多肽损失率,选择最佳因素水平组合为 $A_2B_2C_1$,即吸附时间 15 min、吸附温度 35 °C、树脂添加量 12.5%,在此条件下进行验证实验,脱苦率与多肽损失率分别为 $(95.21 \pm 0.93)\%$ 和 $(12.11 \pm 0.19)\%$ 。

观察活性炭与 AB-8 大孔吸附树脂脱苦过程发现:随着脱苦率增加,多肽损失率多有上升趋势更明显的现象。前人在对牛奶肽^[25]、玉米肽^[26]脱苦也有类似报道。这是由于蛋白在酶解过程中,不仅产生苦味肽,还产生大量非苦味肽^[27]。吸附剂多通过氢键、疏水相互作用、电荷作用力等非共价键与吸附物质相结合,其专一性较差,会吸附结构性质相似的非苦味肽。因此,当苦味肽被大量吸附时,也伴随着更多的非苦味肽被吸附,从而造成多肽损失率上升。

对比活性炭与 AB-8 大孔吸附树脂脱苦结果,两者脱苦效果相当,但 AB-8 大孔吸附树脂脱苦造成的多肽损失率小于活性炭的。产生上述差异的原因与两种脱苦方法的原理有关。活性炭是亲有机物的吸附剂^[28],能吸附极性与非极性有机化合物^[13, 29],而弱极性 AB-8 大孔吸附树脂主要吸附弱极性化合物,其专一性优于活性炭,故能减少对非苦味肽的吸附,从而产生较低的多肽损失率。

2.3 芝麻 ACE 抑制肽液脱苦前后的味觉差异

按照活性炭、AB-8 大孔吸附树脂最佳脱苦工艺进行脱苦,分别获得活性炭、AB-8 大孔吸附树脂的脱苦芝麻 ACE 抑制肽液,对两者进行感官评价,两者均无苦味,且有一定咸味。前人使用活性炭、树脂对其他食源肽脱苦也有类似结果,如活性炭能有效对玉米肽^[9]、大豆肽^[15]等多肽脱苦,树脂成功去除阿胶低聚肽苦味^[30]。这表明芝麻 ACE 抑制肽中的苦味肽与其他食源肽中苦味肽在疏水性、氨基酸组成与序列上有一定的相似性。为验证感官评价结果并揭示两种脱苦处理对芝麻 ACE 抑制肽液味觉特性的影响,采用电子舌进行分析,结果见表 5。

由表 5 可知,脱苦前后芝麻 ACE 抑制肽液均无酸味与甜味,有鲜味与咸味。经过活性炭、AB-8 大孔吸附树脂脱苦后,苦味、苦味回味、咸味显著降低。与活性炭脱苦相比,树脂脱苦还可以削弱涩味,提升鲜味;受苦味与咸味减弱的影响,脱苦芝麻 ACE 抑制肽液味觉丰富性有所降低。产生上述变

化的原因与芝麻 ACE 抑制肽液中多肽组成差异有关。研究表明,多肽可呈现甜、酸、苦、咸、鲜 5 种基本味觉^[31],这与氨基酸组成、空间结构有关,如苦味肽多含有疏水性的环状氨基酸结构,苦味肽与舌上苦味受体蛋白(T2Rs)通过疏水相互作用结合,随后经氢键、电荷作用力等分子间力加强两者结合,产生苦味信号^[15, 32]。

表 5 电子舌测定脱苦前后芝麻 ACE 抑制肽液的味觉特性

味觉特性	脱苦前	活性炭脱苦	树脂脱苦
苦味	1.84 ± 0.08^a	-0.61 ± 0.02^c	-0.03 ± 0.08^b
苦味回味	-0.77 ± 0.05^a	-1.28 ± 0.06^c	-1.04 ± 0.16^b
涩味	0.84 ± 0.01^a	0.88 ± 0.06^a	-0.86 ± 0.06^b
涩味回味	-1.48 ± 0.08^c	-1.21 ± 0.05^b	-0.97 ± 0.18^a
鲜味	14.25 ± 0.40^b	13.21 ± 0.14^c	14.94 ± 0.26^a
酸味	-31.70 ± 0.68^b	-25.96 ± 0.09^a	-31.71 ± 0.22^b
咸味	7.43 ± 0.01^a	6.23 ± 0.01^c	6.79 ± 0.10^b
甜味	-3.64 ± 0.04^b	-4.20 ± 0.07^c	-1.79 ± 0.02^a
丰富性	22.59 ± 0.16^a	11.52 ± 0.96^c	15.35 ± 1.28^b

2.4 脱苦对芝麻 ACE 抑制肽活性与氨基酸组成的影响

脱苦处理对芝麻 ACE 抑制肽活性与氨基酸组成的影响分别见图 5、表 6。

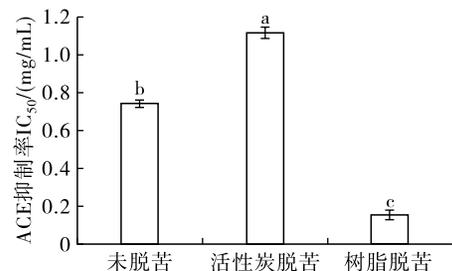


图 5 脱苦处理对芝麻 ACE 抑制肽活性影响

由图 5 可知,脱苦显著影响芝麻 ACE 抑制肽的活性,其中采用活性炭脱苦的芝麻 ACE 抑制肽的活性下降,ACE 抑制率的 IC_{50} 由脱苦前的 (0.74 ± 0.02) mg/mL 增加到脱苦后的 (1.12 ± 0.03) mg/mL,而树脂吸附脱苦会增加 ACE 抑制肽活性,其 ACE 抑制率的 IC_{50} 下降到 (0.15 ± 0.02) mg/mL。推测是两种脱苦方法造成多肽的组成差异从而导致其 ACE 抑制活性有显著差别。

由表 6 可看出:脱苦后,样品中疏水氨基酸(如 Val、Pro、Phe、Met、Ile、Leu、Ala)含量下降,另外,Arg 含量也有所下降。研究表明,多肽中有疏水氨基酸或 N 端为 Arg 会增强苦味^[17]。因此,上述氨基酸含量降低有利于降低苦味。前人也有类似报道,即相较于苦味较轻的 3 ~ 10 kDa 的多肽组分,苦味较重的分子质量小于 3 kDa 的多肽组分含有较高的

Phe、Leu、Ile、Val^[3]。此外,对于 Arg、Lys 与 Pro 含量,树脂吸附脱苦均高于活性炭吸附脱苦。多肽中含有 Pro 或 C 末端由 Arg 或 Lys 组成会增强 ACE 抑制肽活性^[33-35],上述氨基酸变化导致两种脱苦 ACE 抑制肽活性的差异。

表6 脱苦对芝麻 ACE 抑制肽氨基酸组成的影响 %

氨基酸	未脱苦	活性炭脱苦	树脂脱苦
天冬氨酸(Asp)	6.38 ± 0.04 ^b	7.18 ± 0.04 ^a	6.06 ± 0.07 ^c
谷氨酸(Glu)	17.07 ± 0.09 ^b	17.98 ± 0.12 ^a	16.97 ± 0.07 ^b
精氨酸(Arg)	13.08 ± 0.13 ^a	11.85 ± 0.11 ^c	12.69 ± 0.13 ^b
赖氨酸(Lys)	3.79 ± 0.05 ^b	3.12 ± 0.03 ^c	5.43 ± 0.07 ^a
组氨酸(His)	2.79 ± 0.02 ^c	3.72 ± 0.05 ^a	3.37 ± 0.03 ^b
半胱氨酸(Cys)	2.68 ± 0.03 ^c	4.75 ± 0.07 ^a	3.98 ± 0.02 ^b
甘氨酸(Gly)	4.10 ± 0.04 ^c	4.78 ± 0.06 ^b	4.92 ± 0.05 ^a
丝氨酸(Ser)	5.50 ± 0.03 ^c	6.51 ± 0.03 ^b	6.85 ± 0.12 ^a
苏氨酸(Thr)	4.52 ± 0.06 ^c	5.02 ± 0.02 ^b	5.11 ± 0.02 ^a
酪氨酸(Tyr)	4.88 ± 0.08 ^c	6.87 ± 0.02 ^a	5.52 ± 0.07 ^b
丙氨酸(Ala)	4.63 ± 0.06 ^a	4.29 ± 0.04 ^b	4.25 ± 0.05 ^b
亮氨酸(Leu)	8.29 ± 0.02 ^a	6.25 ± 0.07 ^b	6.18 ± 0.03 ^b
异亮氨酸(Ile)	3.83 ± 0.04 ^a	3.54 ± 0.05 ^c	3.66 ± 0.04 ^b
甲硫氨酸(Met)	4.04 ± 0.08 ^a	3.78 ± 0.03 ^b	3.85 ± 0.06 ^b
苯丙氨酸(Phe)	6.04 ± 0.05 ^a	3.74 ± 0.01 ^c	4.02 ± 0.03 ^b
脯氨酸(Pro)	2.92 ± 0.07 ^a	2.25 ± 0.03 ^c	2.62 ± 0.04 ^b
缬氨酸(Val)	5.45 ± 0.01 ^a	4.37 ± 0.02 ^c	4.52 ± 0.06 ^b

3 结论

活性炭与树脂均能有效对芝麻 ACE 抑制肽脱苦,活性炭脱苦最佳工艺条件为活性炭 2 号添加量 6%、芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL、吸附温度 55 °C、吸附时间 15 min,在此条件下脱苦率与多肽损失率分别为(96.46 ± 0.57)%和(29.02 ± 0.19)%;AB-8 大孔吸附树脂脱苦最佳工艺条件为树脂添加量 12.5%、pH 7、吸附温度 35 °C、吸附时间 15 min、芝麻 ACE 抑制肽液质量浓度 10 g/100 mL,在此条件下脱苦率与多肽损失率分别为(95.21 ± 0.93)%和(12.11 ± 0.19)%。

两种方法的脱苦肽液均能达到苦味难以被察觉的水平,但 AB-8 大孔吸附树脂脱苦方法的多肽损失率小,且 ACE 抑制肽活性高,故 AB-8 大孔吸附树脂适宜对芝麻 ACE 抑制肽脱苦。为推进树脂脱苦芝麻 ACE 抑制肽的工业化应用,有必要开展 AB-8 大孔吸附树脂动态吸附与解吸的规律研究,并研究解析出多肽的结构组成特性,为苦味肽的筛选识别提供参考。

参考文献:

[1] 陈海燕,张豪,徐建敏,等. 中国 45 岁及以上中老年人握力与高血压的关联研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(9): 782-787.
[2] 金融,王恬,许毅. 植物源降血压肽研究进展[J]. 中

国油脂, 2007, 32(9): 22-26.

[3] 贾聪,孟醒,游静,等. 低苦味芝麻 ACE 抑制肽的制备及氨基酸组成和结构分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(17): 172-178.
[4] 司阔林,李志国,李玲玉,等. 干酪苦味肽的形成及脱苦方法研究进展[J]. 食品工业, 2021, 42(3): 267-271.
[5] 郭兴峰,魏芳,周祥山,等. 苦味肽的形成机理及脱苦技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 207-211.
[6] 裴晓惠,张佳程,齐建勋,等. 核桃蛋白肽脱苦及其对 ACE 抑制活性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 236-239.
[7] 蔡华珍,潘振杰. 乌鸡酶解液的脱苦脱腥及其冻干粉制作[J]. 食品工业科技, 2013, 34(7): 223-225.
[8] 宋兰兰,马春丽,屈倩,等. 改善低盐干酪苦味附属发酵剂菌株的筛选[J]. 食品科学, 2017, 38(18): 42-48.
[9] 战旭梅,刘萍,祁兴普,等. 不同脱苦方法对玉米活性肽苦味脱除效果的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(13): 161-166.
[10] 谷宇,刘艳,涂钰,等. 高收率低苦味值大豆低聚肽的制备[J]. 中国酿造, 2014, 33(4): 87-89.
[11] WANG R, LU X, SUN Q, et al. Novel ACE inhibitory peptides derived from simulated gastrointestinal digestion *in vitro* of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein and molecular docking study[J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 1059[2022-10-28]. <https://doi.org/10.3390/ijms21031059>.
[12] 刘雨知,王晨,高玉,等. 活性炭表面性质对其吸附及氧化氢醌的影响[J]. 化工学报, 2018, 69(4): 1595-1601.
[13] TIRYAKI B, YAGMUR E, BANFORD A, et al. Comparison of activated carbon produced from natural biomass and equivalent chemical compositions[J]. J Anal Appl Pyrol, 2014, 105: 276-283.
[14] 鲁锋,牛塬塬,谷玉娜,等. 响应面法优化玉米芯基活性炭对培氟沙星的吸附性能研究[J]. 轻工学报, 2022, 37(5): 105-112.
[15] 李丹丹,江连洲,李杨,等. 风味酶和活性炭对大豆分离蛋白水解液脱苦效果比较研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(8): 24-27.
[16] 崔静,赵乃勤,李家俊. 活性炭制备及不同品种活性炭的研究进展[J]. 炭素技术, 2005(1): 26-31.
[17] ALUKO R E. Structural characteristics of food protein-derived bitter peptides[M]//ALIANI M, ESKIN M N A. Bitterness: Perception, chemistry and food processing. Chicago: IFT Press, 2017: 105-129.
[18] 胡勤玲,郑良清,王申,等. 基于电子舌对富含 ACE

- 抑制肽大米蛋白水解物的脱苦评价[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 24-28.
- [19] XU B, CHUNG H Y. Quantitative structure; Activity relationship study of bitter di-, tri- and tetrapeptides using integrated descriptors[J/OL]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2846[2022-10-28]. <https://doi.org/10.3390/molecules24152846>.
- [20] SOLTANI S, HAGHAEI H, SHAYANFAR A, et al. QSBR study of bitter taste of peptides: Application of GA-PLS in combination with MLR, SVM, and ANN approaches [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 501310[2022-10-28]. <https://doi.org/10.1155/2013/501310>.
- [21] 杨敏, 张天锡, 史磊, 等. 大孔吸附树脂分离纯化中药成分影响因素探讨[J]. 中草药, 2020, 51(15): 4050-4058.
- [22] 陈兴都, 翟丹云, 杨晓丽, 等. 菊苣菊粉的大孔树脂脱苦工艺研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(4): 132-136.
- [23] 唐辉, 肖仔君, 钟瑞敏, 等. 大孔树脂对长坝柚汁脱苦工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 276-280.
- [24] 刘丹, 吴叶红, 李玮桓, 等. 大孔吸附树脂在天然产物分离纯化中的应用[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2764-2770.
- [25] 杨柳, 彭辉, 叶明. 活性炭和仲丁醇对牛乳蛋白水解液的脱苦效果研究[J]. 食品科学, 2009, 30(22): 116-118.
- [26] 隋玉杰, 何慧, 王进, 等. 玉米醒酒肽的脱苦及其对活性的影响[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(5): 44-48.
- [27] 付光中, 章超桦, 吉宏武, 等. 虾头自溶产物苦味与蛋白平均疏水度的联系及脱苦[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 121-123.
- [28] 赵利, 李雁群, 余世望, 等. 乳蛋白质水解液脱苦方法研究[J]. 天然产物研究与开发, 1998(4): 72-75.
- [29] 贺斯佳, 张硕, 孙昊, 等. 活性炭吸附饮用水中三卤甲烷的实验研究[J]. 浙江大学学报(理学版), 2022, 49(4): 489-497.
- [30] 魏芳, 周祥山, 田守生, 等. 4种大孔吸附树脂对阿胶低聚肽的脱苦效果研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(13): 1-6.
- [31] 苗晓丹, 刘源, 仇春泱, 等. 呈味肽构效关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(6): 357-362.
- [32] SINGH N, PYDI S P, UPADHYAYA J, et al. Structural basis of activation of bitter taste receptor T2R1 and comparison with class A G-protein-coupled receptors (GPCRs)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(41): 36032-36041.
- [33] ABDELHEDI O, NASRI M. Basic and recent advances in marine antihypertensive peptides: Production, structure-activity relationship and bioavailability[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2019, 88: 543-557.
- [34] TU M L, CHENG S Z, LU W H, et al. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions[J]. *Trac-trend Anal Chem*, 2018, 105: 7-17.
- [35] SAADI S, SAARI N, ANWAR F, et al. Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications[J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(1): 80-116.
-
- (上接第93页)
- [9] YI F, WU K, YU G, et al. Preparation of Pickering emulsion based on soy protein isolate-gallic acid with outstanding antioxidation and antimicrobial [J/OL]. *Colloids Surf B*, 2021, 206: 111954[2023-01-16]. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111954>.
- [10] 赵世光, 谢东宝, 储欣颖, 等. 混菌发酵制备茶籽多肽及其抗氧化作用[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 147-153.
- [11] 王婕婷, 刘睿, 丁士勇, 等. 响应面优化混菌发酵蜂王幼虫制备抗氧化肽及其结构鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 210-217.
- [12] 张新昌, 刘芳, 宋亚蕊, 等. 茶籽蛋白的营养价值评价[J]. 中国油脂, 2013, 38(2): 45-47.
- [13] HU X M, WANG Y M, ZHAO Y Q, et al. Antioxidant peptides from the protein hydrolysate of monkfish (*Lophius litulon*) muscle: Purification, identification, and cytoprotective function on HepG2 cells damage by H₂O₂ [J/OL]. *Mar Drugs*, 2020, 18(3): 153[2023-01-16]. <https://doi.org/10.3390/md18030153>.
- [14] 林童, 张旭, 周灯银, 等. 小麦胚芽肽的制备及抗氧化活性分析[J]. 食品工业, 2021, 42(8): 47-52.
- [15] 王岸娜, 苏子豪, 吴立根, 等. O-糖链对猕猴桃糖蛋白抗氧化能力及构象的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2016, 37(2): 79-85.
- [16] JIANG Y, ZHANG M, LIN S, et al. Contribution of specific amino acid and secondary structure to the antioxidant property of corn gluten proteins[J]. *Food Res Int*, 2018, 105: 836-844.
- [17] LIANG R, ZHANG Z, LIN S. Effects of pulsed electric field on intracellular antioxidant activity and antioxidant enzyme regulating capacities of pine nut (*Pinus koraiensis*) peptide QDHCH in HepG2 cells[J]. *Food Chem*, 2017, 237: 793-802.
- [18] 王玉梅, 张晶, 谢慧慧, 等. 菜籽多肽稳定性及RP-HPLC分离制备高抗氧化活性(ORAC)组分研究[J]. 中国食物与营养, 2015, 21(5): 36-39.
- [19] 王南南, 王靖蕊, 李璐, 等. 茶渣蛋白抗氧化肽制备及其活性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(17): 145-152.