

双酶法在水产品水解动物蛋白制作 工艺中的应用研究

邓尚贵 章超桦

(湛江海洋大学水产学院食品与制冷工程系, 524025)

摘 要 本文研究了以价廉的相手蟹、翡翠贻贝、马氏珍珠贝和青鳞鱼为原料, 采用双酶法水解它们的蛋白质, 经减压浓缩或喷雾干燥制作水产 HAP 的工艺。结果表明: (1) 四种水产原料的蛋白质水解度分别为 43.4%、82.0%、82.6% 和 93.6%; (2) 水解液的脱臭除腥方法以酵母较好, 脱苦以风味酶效果最佳。水产 HAP 使用方便、价廉物美, 具有独特的海鲜风味和特殊的营养保健功能, 是一种营养保健型的食品添加剂。

关键词 水产品, 双酶法, 水解动物蛋白, 酵母粉, 风味酶

水解动物蛋白(Hydrolyzed Animal Protein, HAP)是指动物蛋白水解产物, 是以酪蛋白、明胶、鱼肉、鱼粉、猪肉粉等为原料, 经水解制得的[凌关庭等 1989]。原料蛋白质一般经盐酸完全水解为氨基酸和少量二肽, 蛋白质水解度超过 70%。日本对 HAP 的研究应用较广泛, 其年产量已超过 11 000 吨, 我国的研究则刚刚起步。1992 年 8 月, 上海鱼品厂以马面头、皮、鳍下脚料为原料, 采用酸水解法研制了鱼味素。

酸水解法虽能将蛋白质原料彻底水解, 但它有许多缺陷: (1) 反应条件剧烈, 对设备要求高, 环境污染严重; (2) 蛋白质被水解的同时, 碳水化合物也被水解, 色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸生成黑腐物, 外观难以接受; (3) 强酸水解后, 必须脱盐, 成本较高; (4) 原料中脂肪含量较高时, 易产生致癌物质, 对产品的安全性带来问题。为了克服酸法水解的缺点, 许多研究者力图以条件温和的酶法水解代替酸法水解, 取得了一定成绩。然而任何一种酶对蛋白质的水解都是有限的, 难以达到酸法的水解度。本文拟用双酶水解新技术制作水产 HAP。近年来的研究成果表明海洋资源含有大量对人体有益的生物活性物质, 如 EPA、DHA、牛磺酸、海藻多糖等, 它们有益于人类防病治病、强身健体、延年益寿。因此大力开发海洋资源, 大力开展水产品深加工应是廿一世纪的一个重要研究领域。利用水产原料特别是低值水产原料开发水产 HAP 应是廿一世纪中的一个重要研究课题。

1 材料与方 法

1.1 原 料

相手蟹(*Sesacma*) 俗名螳螂, 原料采自湛江市东海岛, 清洗后备用。翡翠贻贝(*Perna viridis* L.), 俗名青口螺, 原料购自湛江民享市场, 人工取肉清洗后备用。马氏珍珠贝(*Pinctada martensii* D.), 原料购自湛江市海康珍珠养殖场。青鳞鱼(*Harengula zunasi* B.) 俗名青皮, 原料购自湛江市东风市场, 去内脏清洗后备用。

1.2 双酶法水解

原料经自来水冲淋解冻匀浆后,用枯草杆菌中性蛋白酶(酶活力 100 000 单位)和胃蛋白酶(酶活力 3 000 单位)水解,再经脱臭脱腥,减压浓缩或喷雾干燥即得 HAP[章超桦和邓尚贵 1997]。

1.3 分析方法

水分,常压直接干燥法;灰分,总灰分测定法;粗脂肪,索氏抽提法;粗蛋白,微量凯氏定氮法[无锡轻工业学院和天津轻工业学院 1983]。非蛋白氮和蛋白质水解度,三氯醋酸法[邓尚贵等 1996]。 α -氨基氮,甲醛滴定法[赵洪根和黄慕让 1987]。

2 结果与讨论

2.1 原料的适制性

表 1 原料的常规成分(g/100g 干基)

Tab. 1 Routine Composition of Materials (g/100g dry basis)

测定项目	蛋白质	粗脂肪	灰分
相手蟹	42.0	3.36	38.7
翡翠贻贝	61.1	7.57	9.57
马氏珍珠贝	76.1	4.84	7.96
青鳞鱼	72.1	14.7	13.1

四种原料的蛋白质含量都在 40% 以上,尤其是马氏珍珠贝和青鳞鱼高达 70% 以上。翡翠贻贝、马氏珍珠贝、青鳞鱼的高蛋白特性决定了它们可以用来制造高氨基酸含量的水产 HAP。大量的蟹壳使相手蟹总灰分高达 38.7%,青鳞鱼有较多细小骨刺使总灰分也达到 13.1%,而马氏珍珠贝、翡翠贻贝含较多灰分主要是它们含有较多的钾、钠、磷、钙、锌、镁等矿物质元素。粗脂肪含量以青鳞鱼最高,其次是翡翠贻贝,马氏珍珠贝和相手蟹则相对较低。原料中的脂肪在水解过程中受其它因素(如原料的铁等金属,酶制剂的脂肪,空气中的 O_2 等)的影响往往会发生变化,出现一些低分子的醛、酮、酸等,使水解液出现腥臭等异味。特别是水产品,因其含有较多的不饱和脂肪酸,更易发生上述变化。因此,以脂肪含量较高的水产品为原料制作水产 HAP 时,水解液有较浓的腥臭味,必须进行脱臭除腥处理或先对原料进行脱脂处理。

2.2 双酶水解

双酶法是用两种酶对原料蛋白质进行水解的方法。枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白酶对蛋白质底物的特异性有互补作用:①前者能水解酪蛋白、弹性蛋白、胶原蛋白、类粘蛋白和粘蛋白等[邬显章 1988],后者能水解酪蛋白、球蛋白、麸质、胶原蛋白、组蛋白及角蛋白,不能水解类粘蛋白、海绵硬蛋白、精蛋白及毛的角蛋白等[黄文涛和胡学智 1989];④前者优先水解肽键氨基侧有侧链的苯丙氨酸、酪氨酸残基的肽键,后者优先水解肽键羧基侧有侧链的苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸残基的肽键[王璋 1990],同时后者还能优先切断苯丙氨酸、亮氨酸或谷氨酸羧基侧的肽键[黄文涛和胡学智 1989]。基于以上原因建立了枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白

酶双酶水解法[章超桦和邓尚贵 1997]。然而,由于水产原料不同,原料的蛋白质种类和蛋白质中氨基酸构成及比例也各异,因而不同的水产原料,双酶法的水解条件也有较明显的差别(如表 2)。表 2 的最适条件是应用正交试验方法确定的[邓尚贵和章超桦 1997]。

表 2 不同原料双酶法的最适水解条件

Tab. 2 Optimal Conditions for Hydrolysis by Bienzyme Method

原料	枯草杆菌中性蛋白酶				胃蛋白酶			
	pH	温度(℃)	酶浓度(μ/mL)	时间(h)	pH	温度(℃)	酶浓度(μ/mL)	时间(h)
相手蟹	7.5	45	6	4	3.5	45	6	2
翡翠贻贝	7.5	45	6	2.5	4.0	55	6	2
马氏珍珠贝	6.5	40	3	3	3.0	60	4.5	3
青鳞鱼	7.5	40	3	3	2.5	45	9	4

枯草杆菌中性蛋白酶对不同原料蛋白质的水解能力有较明显的差异(表 3)。青鳞鱼肉蛋白最易被水解,水解度达到 66.0%;相手蟹蛋白质最不易被水解,水解度仅有 34.9%;贝肉蛋白质以马氏珍珠贝较易水解,而翡翠贻贝肉蛋白较难水解。胃蛋白酶对不同原料的水解能力也有明显差别。蟹肉蛋白最难被胃蛋白酶水解,水解度仅为 8.5%;翡翠贻贝最易被水解,水解度达到 33%;青鳞鱼和马氏珍珠贝被胃蛋白酶水解的水解度分别为 27.6% 和 23.1%。原料蛋白的双酶法水解度以青鳞鱼最高,达 93.6%;相手蟹最低,仅为 43.4%;贝类的翡翠贻贝和马氏珍珠贝两者几乎无差异有关,蛋白质的双酶水解度介于相手蟹和青鳞鱼之间。水解度的明显差异是否与四种原料蛋白质侧链上的苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸含量和位置存在着较大差异,还有待于进一步研究证实。但有一点可以肯定,相手蟹不宜采用枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白酶这一双酶法进行水解,因其蛋白质水解度太低,而翡翠贻贝、马氏珍珠贝和青鳞鱼适宜采用上述双酶法对其蛋白质水解,因此以下不再讨论相手蟹。

表 3 双酶法对原料蛋白质的水解效果

Tab. 3 Hydrolytic Efficiency of Material Protein by Bienzyme Method

测定项目	枯草杆菌中性蛋白酶		胃蛋白酶	
	水解液氨态氮(mg/100mL)	水解度(%)	水解液氨态氮(mg/100mL)	水解度(%)
相手蟹	129	34.9	144	43.4
翡翠贻贝	178	49.0	295	82.0
马氏珍珠贝	204	59.9	358	82.6
青鳞鱼	211	66.0	574	93.6

2.3 水解液除臭脱腥

水产原料经双酶法水解后,水解液有异味,包括腥臭味、苦味等。腥臭味来源于原料本身和水解过程,其化学成份是氨、二甲胺、三甲胺、氮杂环己烷、吡啶、挥发性有机酸、低分子的醛、酮及 H₂S 等[吴光红等 1992],它们是鱼贝类的主要腥臭物质。青鳞鱼水解液腥臭味比贝类严重的原因可能是青鳞鱼本身是红肉鱼,血合肉、脂肪含量高,在水解过程中发生脂肪氧化和美拉德反应,出现较多的低分子挥发性醛、酮等物质。而水解液的苦味则可能是一些短肽中含有大体积的疏水侧链[王璋 1990],通常在胃蛋白酶水解后苦味更突出[白虹等 1994]。水解液的苦味可用风味酶(德国产)在 pH 7.5、40℃条件下处理 10 分钟即能除去。其作用机

理类似于羧肽酶 A。然而, 水解液最难解决的问题是如何除去腥臭味。还有介绍了活性炭、硅藻土、中药材等可作为除臭脱腥剂, 但是对于水产原料的水解液由于本身有较浓的腥臭味, 它们的除臭脱腥能力相当有限, 不能完全除掉腥臭味, 而且操作较复杂, 不便使用。

表 4 结果说明水产原料的酶水解液除臭脱腥以 β -CD 和酵母粉效果较为理想。腥臭味不浓的水解液(翡翠贻贝、马氏珍珠贝)既可使用 β -CD, 又可使用酵母粉; 腥臭味较浓的水解液(青鳞鱼) β -CD 不能完全除去腥臭味, 而酵母粉则可完全除去。 β -CD 之所以能除去腥臭味, 是因为它特殊的分子结构的吸附掩蔽作用。酵母粉能完全除臭脱腥的机理尚不清楚, 可能有以下几方面的作用: ①酵母疏松的结构对腥臭物质的吸附作用; ④酵母利用腥臭物质如醛、酮等合成大分子物质并被细胞聚积; ④酵母含有的多种酶以腥臭物质为底物转化为无腥臭物质。

表 4 水解液脱腥臭的有效方法

Tab. 4 Effective Methods for deodorization of Hydrolyzed Solution

水解液	处理方法	腥臭味	滋味	颜色
翡翠贻贝	1% β -CD 煮沸 3 分钟	无腥臭味	有海鲜味、微甜	淡黄色
	0.5% 酵母粉 40℃ 30 分钟	无腥臭味	有海鲜味	淡黄色
马氏珍珠贝	1% β -CD 煮沸 3 分钟	无腥臭味	微甜、鲜	黄色
	0.5% 酵母粉 40℃ 30 分钟	无腥臭味	鲜	黄色
青鳞鱼	1% β -CD 煮沸 3 分钟	淡腥臭味	微甜、有咸味	酱黄色
	0.5% 酵母粉 40℃ 30 分钟	无腥臭味	香甜、有咸味	酱黄色

2.4 水产 HAP 的制备

翡翠贻贝经双酶法水解、风味酶脱苦、 β -CD 脱腥、减压浓缩及真空喷雾干燥制得粉状 HAP; 马氏珍珠贝和青鳞鱼经双酶法水解、风味酶脱苦、 β -CD 或酵母粉脱腥, 减压浓缩制得液状 HAP。

综观表 5 可以认为利用双酶法生产的水产 HAP 是一种营养丰富的优质食品添加剂。因为水产原料含有许多生理活性物质, 谷氨酸和赖氨酸含量丰富, 所以作为食品添加剂时, 它可赋予食品特殊的营养保健功能, 增强食品的鲜味和海鲜风味, 提高蛋白质的生物价值。因此, 可以预测水产 HAP 具有广泛的应用前景。

表 5 水产品 HAP 的营养成分(%)

Tab. 5 Nutrient Composition of Aquatic HAP(%)

测定项目	水份	灰份	总氮	粗脂肪	总糖	氨态氮	固形物
翡翠贻贝	3.86	9.03	9.03	1.21	25.5	-	-
马氏珍珠贝	43.7	7.40	6.09	0.95	2.28	4.87	56.3
青鳞鱼	36.9	10.6	5.90	2.88	2.71	5.22	63.1

3 结论

不同的水产原料, 蛋白质种类和构成蛋白质的氨基酸及其比例不同决定了双酶法水解条件和原料蛋白质的双酶水解程度。相手蟹的蛋白质水解度为 43.4%, 达不到酸水解法蛋白质的水解度。翡翠贻贝、马氏珍珠贝、青鳞鱼三种原料蛋白质水解度分别为 82.0%、82.6% 和 93.6%, 超过了酸水解法的蛋白质水解度。因此, 翡翠贻贝、马氏珍珠贝和青鳞鱼的 HAP 可以用双酶法水解工艺制作, 相手蟹的双酶水解需选用其它酶。双酶法条件温和, 操

作简单、设备要求低、生产周期短,因而可以广泛应用于水产 HAP 制造过程中。

双酶法制得的水解液一般有苦味和腥臭味。苦味物质的化学成分主要是水解液的一些短肽,它们具有大体积的疏水侧链。风味酶和羧肽酶 A 能水解这些侧链,不仅能除去苦味,还能增加游离氨基酸的含量,因而是一种理想的脱苦剂。水解液的腥臭物质一方面来源于水产原料,另一方面也来源于双酶水解过程中生成的各类化合物,如氨、二甲胺、三甲胺、氮杂环己烷、吲哚、 H_2S 及一些低分子挥发性有机酸、醛、酮等。 β -CD 能有限地掩蔽腥臭味。腥臭味较淡的水解液可用 β -CD 共沸法处理脱去腥臭味。青鳞鱼蛋白水解液有较浓的腥臭味,可以用酵母粉处理完全除掉腥臭味。

水产 HAP 具有营养功能和保健功能双重特性,既可直接用于制作高级海鲜调料,又可作为植物性食品的配料之一,以提高其蛋白质的生物价值。因此水产 HAP 是一种良好的食品添加剂,具有广泛的应用价值和广阔的应用前景。可以预测大力开发水产 HAP 将成为廿一世纪水产加工行业的一个重要研究课题。

参 考 文 献

- 王 璋. 1990. 食品酶学. 北京: 轻工业出版社. 180~ 188.
- 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院(合编). 1983. 食品分析. 北京: 中国轻工业出版社. 220~ 224.
- 邓尚贵, 章超桦, 罗宏文等. 1996. 青鳞鱼 HAP 的试制. 湛江水产学院学报, 16(2): 58~ 61.
- 邓尚贵, 章超桦. 1997. 利用正交试验优化贻贝水解工艺. 水产学报, 21(2): 220~ 224.
- 白 虹, 刘德富, 张宝华. 1994. 蛋白酶水解法在蚕蛹蛋白食品加工中的应用. 食品科学, 5: 25~ 27.
- 邬显章. 1988. 酶的工业生产技术. 长春: 吉林科学技术出版社. 443~ 445.
- 吴光红, 洪玉菁, 张金亮. 1992. 水产食品学. 上海: 上海科学技术出版社. 118~ 124.
- 赵洪根, 黄慕让. 1987. 水产品检验. 天津: 天津科学技术出版社. 161~ 166.
- 凌华庭, 王亦芸, 唐述潮. 1989. 食品添加剂手册(上册). 北京: 化学工业出版社.
- 章超桦, 邓尚贵. 1997. 天然海鲜调味料生产新工艺. 发明专利公报, 13(14): 5~ 6.
- 黄文涛, 胡学智. 1989. 酶应用手册. 上海: 上海科学技术出版社. 107~ 108.

TECHNOLOGICAL STUDY ON PREPARATION OF AQUATIC HYDROLYZED ANIMAL PROTEIN BY BIENZYME METHOD

DENG Shang-Gui, ZHANG Chao-Hua
(Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, 524025)

ABSTRACT The bienzyme method used to hydrolyze four aquatic species such as *Sesacma*, *Perna viridis* L., *Pinctada martensii* D., and *Harengula zunasi* B. for the preparation of aquatic Hydrolyzed Animal Protein(HAP) was studied. The bienzyme involves B. Subctls neutral proteinase with activity 10^5 U/g and pepsin with activity 3 000 U/g. The degree of hydrolysis by the bienzyme method was 43.4% for *Sesacma*, 82.0% for *Perna viridis* L., 82.6% for *Pinctada martensii* D., and 93.6% for *Harengula zunasi* B.. Moreover, the deodorization and debitterization of hydrolyzed solutions by means of yeast powder and flavourease were also studied in this papaer. Through the processes of deodorization, debitterization, and concentration or spray drying, a high quality product of HAP with good smell and deliciate flavour was prepared, which can be used as food additive.

KEYWORDS Aquatic product, Bienzyme method, Hydrolyzed Animal Protein, Yeast powder, Flavourease