

# 翡翠贻贝双酶水解法的建立

邓尚贵 章超桦 黄 晋  
(湛江海洋大学食品与制冷工程系, 524025)

**摘 要** 研究了双酶法水解技术水解翡翠贻贝并制作海鲜调味料。研究表明: (1) 水产品快速自溶技术不能应用于翡翠贻贝肉蛋白的水解; (2) 翡翠贻贝肉蛋白可以用外源酶对其水解; (3) 枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白酶都可以对贝肉蛋白水解; (4) 利用正交试验分别确定了两种酶的最适水解条件并用双酶法水解新技术对贝肉蛋白水解; 蛋白质水解率达到 82%; (5) 试验中确定的酶的水解条件为枯草杆菌中性蛋白酶 pH7.5, 温度 45℃, 酶浓度 0.2%, 钙离子浓度 0.1%, 水解时间 2.5h; 胃蛋白酶 pH4.0, 温度 55℃, 酶浓度 0.2%, 水解时间 2.0h。 (6) 翡翠贻贝肉蛋白经双酶水解, 减压浓缩, 适当调配可制作营养丰富、海鲜风味浓郁、具有一定保健功能的海鲜调味料。

**关键词** 翡翠贻贝, 双酶法, 正交试验

## Establish on bienzyme method of *Perna viridis*

Deng Shanggui, Zhang Chaohua, Huang Jin  
(Dept of Food & Refrigeration Eng., Zhanjiang Ocean University, 524025)

**ABSTRACT** The seafresh seasoner has been made by the bienzyme method used to hydrolyze mussel meat. The results show: (1) Mussel meat protein can be hydrolyzed with the addititious enzyme (e. g. B. Subctls neutral proteinase & stomach protease etc.), without the quick autolysis technology of aquatic products. (2) The bienzyme optimum hydrolyzed conditions have been ensured with the orthogonality trials, the optimum conditions of B. Subctls neutral proteinase involves pH7.5, temperature 45℃, 0.2% enzyme consistency, 0.1% calciumion consistency, hydrolyzed time 2.5h; another involves pH4.0, temperature 55℃, 0.2% enzyme consistency, hydrolyzed time 2.0h. (3) DH of mussel meat protein reaches 82% by the newly-established method according to above conditions. (4) Through the processes of hydrolyzation, concentration, allicatation, a high quality seafresh seasoner with nutrient, delicate flavour and sanitarian function were prepared.

**KEYWORDS** *Perna viridis*, bienzyme method, orthogonality trials

生物组织细胞中的自溶(Autolysis)作用是指细胞中自身存在的各种水解酶(包括蛋白酶, 脂酶, 磷酸化酶, 糖苷酶等)自发而缓慢地对组织细胞起着协调一致的分解作用。水产加工中往往利用这种作用改善水产原料的风味和质构。如海产甲壳类的虾体内存在的这些水解酶活性很高, 只要适当地激活并提供一系列适宜的环境因子, 这些水解酶能在短暂的时间内分解虾的组织结构, 同时产生复杂的香味成分。但是水产原料种类不同, 其体内存在的水解酶的种类、含量、活力也不同, 而且还会受到体内其它物质的影响, 如海产贝类中的贻贝。王璋等<sup>[1]</sup>认为贻贝体内存在着天然的蛋白酶抑制剂, 问题还在于它们本身也是蛋白质, 要破坏其抑制活性目前的措施只能是采用热凝固法, 但采用这种方法的同时也会使体

广东省海洋与水产业经费资助项目, 粤水产科字 9703; 本技术已获国家专利, 专利申请号 96102671.5.

第一作者简介: 邓尚贵, 男, 1966 年 5 月生, 硕士、副教授。Tel: 0759- 2382026, E-mail: dengsg@163.net

收稿日期: 1998-01-21

内存在的自溶水解酶活性丧失。因此贝类要利用自身存在的水解酶对其快速水解是十分有限和困难的。本文研究选择性质不同的两种外源酶水解翡翠贻贝肉蛋白。

## 1 材料与方 法

### 1.1 原料

翡翠贻贝(*Perna viridis* L.) 购于市场。清洗蒸煮去壳取肉, 贝肉分装 100g / 袋备用。

### 1.2 试剂和设备

胰蛋白酶, 胃蛋白酶, 枯草杆菌中性蛋白酶, 木瓜蛋白酶, 菠萝蛋白酶, 氢氧化钠, 盐酸等。组织捣碎机, 控温式磁力搅拌器, 夹层锅等。

### 1.3 方法

原料及试制品的水分, 灰分, 脂肪, 蛋白质等采用常规分析<sup>[2]</sup>; 氨基态氮用甲醛滴定法<sup>[3]</sup>; 非蛋白氮的测定采用三氯醋酸沉淀法<sup>[4]</sup>; 酶解条件的确定用正交试验法<sup>[5]</sup>。

### 1.4 工艺流程

翡翠贻贝肉 → 匀浆 → 枯草杆菌中性蛋白酶 → 胃蛋白酶 → 过滤 → 水解液。

## 2 结果与讨论

### 2.1 原料常规成分分析

翡翠贻贝肉粗蛋白含量较高, 灰分和非蛋白氮含量较低(表 1)。蒸煮品与鲜品比较, 除水分外的各项指标都高, 其原因可能是原料经蒸煮后部分汁液流出, 虽也有部分水溶性成分流失但水分减少的比例相对较大。据章超桦等报道贻贝含有人体所需的 8 种必需氨基酸, 脂肪含量低但必需脂肪酸和多不饱和脂肪酸系列的 EPA 和 DHA 的含量甚高, 此外还含有较丰富的牛磺酸<sup>[6]</sup>。因此可用来制作营养丰富, 味道鲜美, 有一定保健功能的海鲜食品(如调味品)。

表 1 翡翠贻贝肉常规成分 (%)

| 原料  | 水份   | 灰分   | 蛋白质  | 脂肪   | 非蛋白氮(mg/100g) |
|-----|------|------|------|------|---------------|
| 蒸煮品 | 75.3 | 2.21 | 14.9 | 1.78 |               |
| 鲜去壳 | 81.5 | 1.17 | 11.3 | 1.40 | 190           |

### 2.2 酶解条件的确定

#### 2.2.1 酶解的确定

翡翠贻贝采用虾组织自溶技术的各种条件自溶时在 2.5h 内贝肉蛋白质的水解率在 5% 左右且水解曲线呈水平状; 即使是加入胰蛋白酶水解, 水解率也只有约 10%; 但贝肉经 pH7.0, 温度 90℃, 热处理 15min 后再加入胰蛋白酶水解, 水解率可达 34% (图 1)。这一结果说明贝肉中可能存在着胰蛋白酶抑制剂且其本身也是蛋白质, 抑制剂在热处理中丧失了抑制活性因而使贝肉蛋白的水解率达到 34%。由于翡翠贻贝的自溶难于进行, 说明贝肉细胞中存在的自溶水解酶活性不高或含量极少, 因此本研究确定采用酶法水解贝肉。

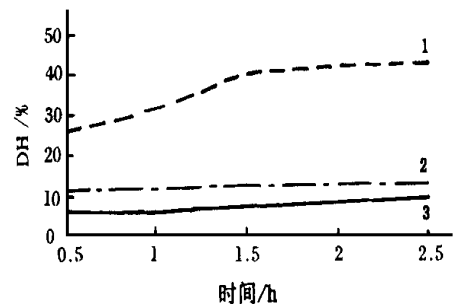


图 1 酶解的确定

Fig. 1 An establishment of the hydrolyzed method to use enzyme  
 — autolysis; ..... hydrolysis to use enzyme;  
 - - - hydrolysis to use enzyme after heating treatment

如表2所示,用木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶和胰蛋白酶<sup>[7-9]</sup>水解贝肉时,蛋白质水解率低于34%且水解液有异味;若用胃蛋白酶水解率为33%,水解液有鲜味,虽然有酸味但当pH为5.5~7.0时,酸味消失且显出海鲜味;若用枯草杆菌中性蛋白酶水解率达到49%且水解液味道鲜美。因此选择枯草杆菌中性蛋白酶或胃蛋白酶酶解贝肉,但单一的酶对蛋白质的水解总是有限的,故拟选择这两种酶对贝肉蛋白质酶解。

### 2.2.2 酶解条件的选择

试验中以水解液氨基态氮含量为指标,利用正交试验法确定枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白酶的最适水解条件(表3、图2、图3)。图中说明pH对两种酶的水解效果都有显著影响,是主要因素。由图中结果和生产实际确定枯草杆菌中性蛋白酶的最适水解条件<sup>[6]</sup>为:pH7.5,温度45℃,酶浓度0.2%,钙离子浓度0.1%,水解时间2.5h;胃蛋白酶的最适水解条件为:pH4.0,温度55℃,酶浓度0.2%,水解时间2.0h。按上述确定的条件水解贝肉蛋白质,前者的DH为49%,后者的DH为33%;双酶法的DH为82%。

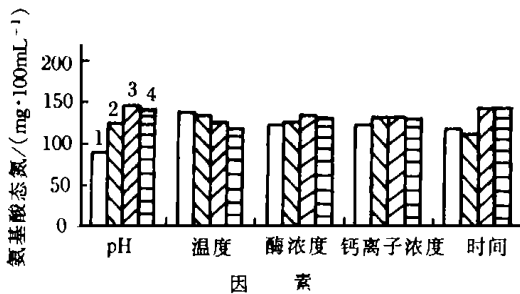


图2 枯草杆菌中性蛋白酶最适水解条件的确定

Fig. 2 The optimum hydrolysis conditions of *Bacillus subtilis* neutral proteinase

1: 水平 1; 2: 水平 2; 3: 水平 3; 4: 水平 4

表2 蛋白酶对贝肉酶解的影响

| 蛋白酶       | 水解率(%) | 色泽   | 风味   |
|-----------|--------|------|------|
| 木瓜蛋白酶     | 27     | 浅灰   | 异味   |
| 菠萝蛋白酶     | 21     | 黄绿   | 异味   |
| 胰蛋白酶      | 34     | 浅绿   | 异味   |
| 枯草杆菌中性蛋白酶 | 49     | 浅绿至绿 | 味鲜   |
| 胃蛋白酶      | 33     | 灰绿   | 味鲜、酸 |

表3 因素及水平的设定

| 水平       | 枯草杆菌中性蛋白酶 |     |     |     | 胃蛋白酶 |     |     |
|----------|-----------|-----|-----|-----|------|-----|-----|
|          | 1         | 2   | 3   | 4   | 1    | 2   | 3   |
| pH       | 6.5       | 7.0 | 7.5 | 8.0 | 3.0  | 3.5 | 4.0 |
| 温度(℃)    | 45        | 50  | 55  | 60  | 50   | 55  | 60  |
| 酶浓度(%)   | 0.1       | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.2  | 0.5 | 0.8 |
| 钙离子浓度(%) | 0         | 0.1 | 0.2 | 0.3 | -    | -   | -   |
| 时间(h)    | 1.5       | 2.0 | 2.5 | 3.0 | 2.0  | 2.0 | 2.0 |

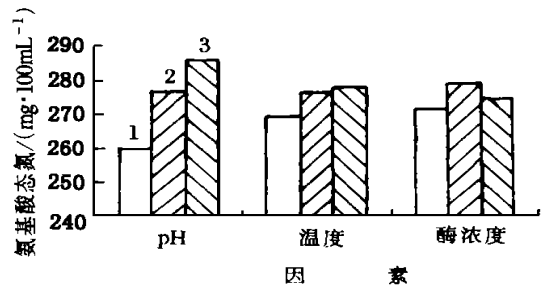


图3 胃蛋白酶水解条件的确定

Fig. 3 The optimum hydrolysis conditions of pepsinase

1: 水平 1; 2: 水平 2; 3: 水平 3

## 3 结语

翡翠贻贝是我国主要的养殖贝类资源,含有人体所需的8种必需氨基酸,脂肪含量低但必需脂肪酸和多不饱和脂肪酸系列的EPA和DHA的含量较高;此外,还含有较丰富的牛磺酸和维生素及矿物质等,因而,具有较高的营养价值和利用价值。但是,它含有天然的蛋白酶抑制剂且其本身也是蛋白质,这就使水产品快速自溶技术在翡翠贻贝上的应用受到限制。研究结果表明:翡翠贻贝贝肉蛋白的自溶水解率仅为5%;单一的木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶和胰蛋白酶的水解率也分别仅为27%、21%和34%;而用枯草杆菌中性蛋白酶和胃蛋白酶两种外源酶建立的双酶法对翡翠贻贝贝肉蛋白进行水解可以获得较好的水解效果;两种外源酶的最适条件分别为:pH7.5、温度45℃、酶浓度0.2%、钙离子浓度0.1%、水解时

间 2.5 小时和 pH4.0、温度 55℃、酶浓度 0.2%、水解时间 2.0 小时; 翡翠贻贝肉蛋白的双酶水解率可达到 82%。按图示工艺流程制作的水解液可用于制作海鲜调味料, 也可经后续加工后用于制作口服液、运动型饮料, 还可以用于制作饼干、挂面等。因此, 翡翠贻贝双酶法的建立和应用为其深加工开辟了一条新的途径, 制得的翡翠贻贝的水解液具有广泛的用途。

### 参 考 文 献

- 1 王 璋. 食品化学. 北京: 中国轻工业出版社. 1991, 386~ 370.
- 2 王叔淳. 食品卫生检验技术. 化学工业出版社. 1998, 144~ 162
- 3 赵洪根, 黄慕让. 水产品检验. 天津: 天津科学技术出版社. 1987, 161~ 166
- 4 邓尚贵, 章超桦, 罗宏文. 青鳞鱼的 HAP 试制. 湛江水产学院学报, 1996, 16(2): 58~ 61
- 5 邓尚贵, 章超桦. 利用正交试验优化贻贝水解工艺. 水产学报, 1997, 21(2): 220~ 224
- 6 章超桦, 邓尚贵. 天然海鲜调味料生产新工艺. 中国发明专利公报. 1997, 13(14): 5~ 6
- 7 邬显章. 酶的工业生产技术. 吉林: 科学技术出版社. 1988, 443~ 445
- 8 黄文涛, 胡学智. 酶应用手册. 上海: 上海科学技术出版社 1989, 107~ 108
- 9 王 璋. 食品酶学. 北京: 轻工业出版社. 1990, 180~ 188