

研究简报

# 低酶水解法提取无苦味鲱鱼水解蛋白

## PREPARATION OF FISH NON-BITTER HYDROLYSATE FROM ANCHOVY (*ENGRAULIS JAPONICUS*) BY LIMITED HYDROLYSIS

王长云 薛长湖 陈修白

(青岛海洋大学水产学院, 266003)

Wang Changyun, Xue Changhu and Chen Xiubai

(Fisheries School, Ocean University of Qingdao, 266003)

**关键词** 鲱鱼, 水解蛋白, 无苦味, 低酶水解法

**KEYWORDS** *Engraulis japonicus*, hydrolyzed protein, non-bitter, limited hydrolysis

对低值鱼类、易变质鱼类和鱼类加工下脚料进行深加工, 从中回收蛋白质, 获取高营养、易保藏的蛋白质制品的报道较多[Montecalvo等, 1984; Spinelli等, 1975; Mohr, 1980; Vega和Brennan, 1988]。鲱鱼(*Engraulis japonicus*)是一种小型中上层鱼类, 难保藏, 也难加工利用。但鲱鱼蛋白营养价值高, 是制取水解鱼蛋白的理想原料。

用蛋白酶水解法制得的水解鱼蛋白具有较高营养价值和良好理化性质[Lalasis等, 1978; Yanez等, 1976], 但其有苦味, 在食品中的应用受到限制。鱼蛋白水解后产生氨基酸、肽等, 其中, 疏水性氨基酸和短肽是水解液苦味的来源[Hevia和Olcott, 1977]。水解蛋白的脱苦方法很多, 如链端外切酶水解法、类蛋白合成法、有机溶剂萃取法、吸附法和掩盖法等[Arai等, 1970; Helbig等, 1980; Hevia和Olcott, 1977]。本文探讨了免除苦味的新方法, 用低酶水解法在限定酶量、pH、温度、时间条件下使蛋白质水解不充分, 形成大量可溶性蛋白质和少量氨基酸、多肽等, 避免苦味肽的产生, 从而减小苦味。

### 1 材料与方法

鲱鱼于1990年2月由青岛海洋渔业公司渔船捕于黄海, 海上速冻, 岸上-18℃冷藏。枯草杆菌中性蛋白酶(AS 1.398), 活力50,000 IU/g, 适用温度30-45℃, pH6.5-7.5。研究发现AS1.398酶水解鲱鱼蛋白较为理想(刘洋, 1992), 本研究沿用该酶。最佳水解条件用正交方案L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)优选。以苦味评分(Bitterness Score, BS)和水溶蛋白得率(Yield of Soluble Protein, YSP)为指标, 分析主要因素酶量、温度和时间。

收稿日期: 1994-08-12。

(1) 刘洋, 1992. 水解鲱鱼蛋白的制取及其营养评价。

YSP 为水解后清液蛋白质质量与水解前原样液总蛋白质质量之比。BS 为苦味评定小组(5 男 5 女,均为味觉敏感者)的平均得分。评分标准:无苦味,0;微苦,20;略苦,40;较苦,60;很苦,80;极苦,100。鲢鱼经空气解冻,加 1.5 倍(v/w)水切碎匀浆,加 AS1.398 酶水解。水解后升温灭酶(85℃, 10 min),离心分离(6,000rpm, 15 min)。清液加入 1.0%(w/v)活性炭脱色(pH6.5,65℃,30 min)。离心并真空抽滤。清液用 85A 型旋转蒸发器真空浓缩(36-60℃)至固形物含量 16%。用微波炉预热至 90℃,在 QZ-5 型高速离心喷雾干燥机上喷雾干燥。干燥条件:进口温度 250℃,出口温度 90℃,流速 30ml/min。蛋白质、脂肪、灰分、水分和碳水化合物分别用凯氏定氮法、索氏抽提法、灰化法、常压干燥法和斐林氏容量法测定[黄伟坤等,1989],氨基酸用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 最佳低酶水解工艺条件的优选

鲢鱼含蛋白质 16.70%,与通常食用的面条鱼、海鲫鱼、鲑鱼相近[王光亚等,1991]。加酶量、水解温度和水解时间是影响水解程度的主要因素。水解液的 BS 和 YSP 随酶量增加而增加,酶量大于 60 IU/ml 时,YSP 提高,但水解液呈明显苦味(BS>40)(图 1. A);水解温度提高苦味增加,42℃时苦味已很明显(BS>40)(图 1. B);BS 和 YSP 随时间延长而增加,超过 3h 时苦味较重(图 1. C)。因此,酶量、温度和时间分别不宜超过 60IU/ml、42℃和 3h。正交实验的因子水平依据上述各单因子适宜范围确定(表 1)。在本文讨论的酶解条件下,蛋白质只发生部分水解,氨基酸释放较少,pH 下降甚微,因此 pH 不作为考察因子,实验中保持 pH6.5-7.0。正交实验结果表明(图 2),酶量因子的 BS 和 YSP 的极差最大,温度因子的其次,时间因子的最小。因此,酶量因子是影响苦味和水溶蛋白得率的主要因素,温度影响其次,时间影响最小。酶量因子中,酶量增加时 YSP 大幅度增加,但 BS 也大幅度增加。酶量达到 55IU/ml 时水解液较苦(BS>60),到 60IU/ml 时已至很苦(BS>90)。综合两个指标,酶量取 50IU/ml。温度因子中,超过 40℃后 YSP 明显增加,但 BS 也明显增加;43℃时苦味很重。因此,温度取 40℃。时间因子中,超过 2h 时出现明显苦味,时间延长 BS 增加,而 YSP 提高已不明显。因此,时间取 1.5h。综上,获得水溶蛋白得率高且无苦味的最佳低酶水解条件为:酶量 50 IU/ml,温度 40℃,时间 1.5h。由此提出工艺流程(图 3)。

表 1 因子水平表

Table 1 Factors and levels

水平	加酶量(IU/ml)	温度(℃)	时间(h)
1	40	37	1.5
2	50	40	2.0
3	60	43	2.5

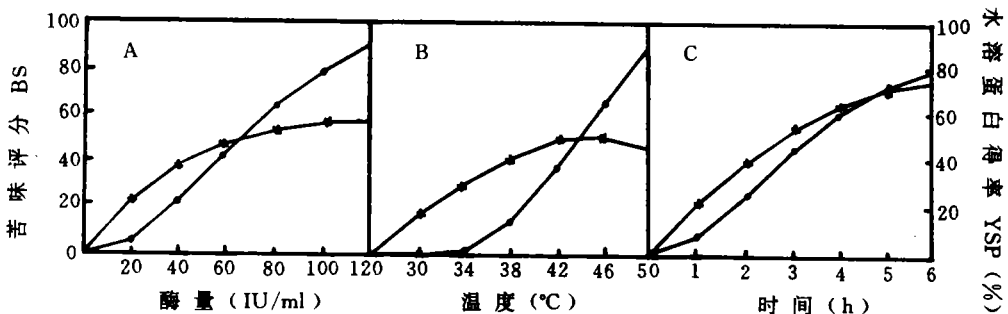


图 1 加酶量、水解温度和水解时间对水解液苦味和水溶蛋白得率的影响

Fig. 1 Effect of the amount of enzyme, temperature, and time on bitterness and yield of soluble protein

A: AS 1.398 酶,42℃,2h; B: AS 1.398 酶,60IU/ml,2h; C: AS1.398 酶,60IU/ml,42℃.

--- 苦味评分(BS); \*-\* 水溶蛋白得率 YSP.

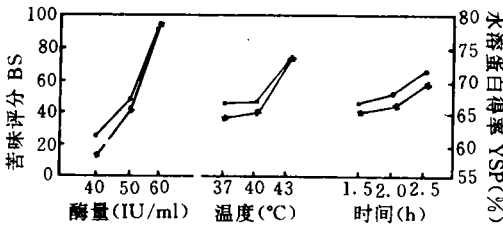


图2 正交试验结果分析

Fig. 2 Result of orthogonal experiments

--- 苦味评分      - \* - 水溶蛋白得率

2.2 大样试验

取鲱鱼 8Kg 按最佳工艺条件水解。水溶蛋白得率 41.17%，苦味评分 18±5。水解清液色泽透明，呈微黄色，有海鲜味(类似虾蟹)，口感良好。清液经浓缩并喷雾干燥得蛋白粉 576g。制品呈白色粉末状，香味浓郁，可溶于 pH3.0-8.5 冷水，无苦味及异味，有愉快海鲜味。蛋白粉相对原料产率 7.20%，蛋白质回收率 40.10%；含蛋白质 93.10%，脂肪

0.52%，碳水化合物 1.89%，灰分 2.28%，水分 2.17%。其氨基酸构成模式与原料相比没有明显差别，但谷氨酸和赖氨酸含量较高，分别达到 19.03mg/100mg 和 10.09mg/100mg 蛋白质。其必需氨基酸占总氨基酸 42.42%，氨基酸评分 64.03，第一限制氨基酸为苯丙氨酸，与高酶水解所得结果相似(刘洋, 1992)(表 2)。

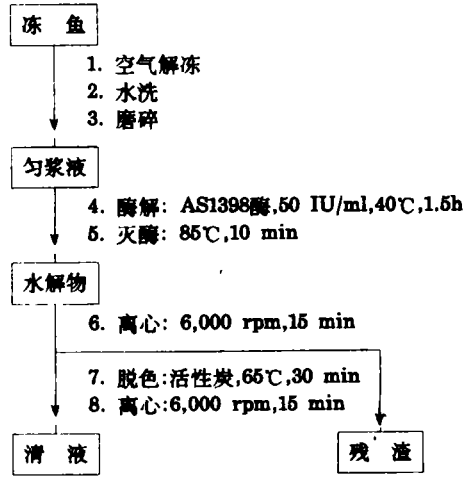


图3 鲱鱼水解蛋白低酶水解工艺流程

Fig. 3 Flow diagram of lower enzyme hydrolysis of anchovy hydrolytic protein

表 2 原料鱼和鲱鱼水解蛋白氨基酸分析(mg/100mg 蛋白质)

Table 2 Amino acids of anchovy raw material and hydrolytic protein (mg/100mg protein)

氨基酸	原料鲱鱼	水解蛋白	WHO/FAO 模式
天冬氨酸 Asp	9.21	8.66	
苏氨酸 Thr	4.11	3.62	4.0
丝氨酸 Ser	3.97	3.08	
谷氨酸 Glu	13.62	19.03	
甘氨酸 Gly	5.47	4.88	
丙氨酸 Ala	6.52	7.45	
胱氨酸 Cys2	0.35	0.25	
蛋氨酸 Met	3.65	3.48	3.5
缬氨酸 Val	6.60	6.48	5.0
异亮氨酸 Ile	3.74	4.58	4.0
亮氨酸 Leu	7.51	9.80	7.0
酪氨酸 Tyr	2.94	2.50	
苯丙氨酸 Phe	3.97	3.18	6.0
赖氨酸 Lys	7.53	10.09	5.5
组氨酸 His	9.15	3.20	
精氨酸 Arg	8.47	6.62	
色氨酸 Try	1.46	1.19	1:0
脯氨酸 Pro	1.23	1.90	
EAA/TAA	38.76	42.42	
AAS	66.17	64.03	

注: EAA/TAA, 必需氨基酸/总氨基酸, AAS, 氨基酸分。

### 3 讨论

本文用低酶水解法提取鳀鱼蛋白,克服了高酶水解法带来的苦味,所得鳀鱼水解蛋白氨基酸组成合理,可作为蛋白质强化剂、模拟海鲜调料及其它用途的食品添加剂。低酶水解法较高酶水解法的蛋白质回收率低,有部分蛋白质未经水解或水解不完全而进入离心残渣。残渣可作为饲料原料,以充分回收利用鳀鱼蛋白。

### 参 考 文 献

- [1] 王光亚等,1991. 食物成分表,38-41. 人民卫生出版社(京).
- [2] 黄伟坤等,1989. 食品检验与分析,8-49. 轻工业出版社(京).
- [3] Arai, S. *et al.*, 1970. Applying proteolytic enzymes on soybean, 6. Deodorization effect of aspergillopeptidase A and debittering effect of aspergillus acid carboxypeptidase. *J. Food Sci.*, **35**: 392-395.
- [4] Helbig, N.B. *et al.*, 1980. Debittering of skim milk hydrolysates by absorption for incorporation into acidic beverage. *J. Food Sci.*, **45**: 331-335.
- [5] Hevial, P. and H. S. Olcott, 1977. Flavor of enzyme-solubilized fish protein concentrate fractions. *J. Agric. Food Chem.*, **25**(4): 772-775.
- [6] Lalasidis, G. *et al.*, 1978. Low molecular weight enzymatic fish protein hydrolysates; Chemical composition and nutritive value. *J. Agric. Food Chem.*, **26**(3): 751-756.
- [7] Mohr, V., 1980. Enzymes technology in the meat and fish industries. *Proc. Biochem.*, **6**: 18-32.
- [8] Montecalvo, J. JR. *et al.*, 1984. Optimization of processing parameters for the preparation of flounder frame protein product. *J. Food Sci.*, **49**: 172-176.
- [9] Spinelli, J. *et al.*, 1975. Functional protein isolates and derivatives from fish muscle. *Proc. Biochem.*, **12**: 31-42.
- [10] Vega, R. E. and J. G. Brennan, 1988. Enzymic hydrolysis of fish offal without added water. *J. Food Engin.*, **8**: 201-215.
- [11] Yanez, E. *et al.*, 1976. Enzymatic fish protein hydrolysate; Chemical composition, nutritive value and use as a supplement to cereal protein. *J. Food Sci.*, **41**: 1289-1292.