

# 复合酶水解乳鸽肉的研究

周剑忠 陈晓红 张鑫欣 董明盛

(南京农业大学食品学院食品微生物研究室, 南京, 210095)

T6251

A

**摘要** 以乳鸽脯肉为原料,选择复合蛋白酶(Protamex)和复合风味酶(Flavourzyme)分步水解制备乳鸽肉水解液。通过对水解条件的研究确定 Protamex 酶最适酶解条件为:固液比为 1:2,反应温度为 55℃,pH 值 7.5,酶用量 0.2%,酶解时间 5 h;在此反应条件下,单一酶水解液最高水解度为 25%左右;分步酶解的工艺条件是:Protamex 酶反应进行 2 h 后,加入 0.5% Flavourzyme 酶,50℃下酶解时间 14 h,酶解度水解度达 40%,复合水解液呈亮黄色,味道鲜美。氨基酸分析结果表明,游离氨基酸含量约 46.41 mg/mL(色氨酸未计),必需氨基酸 28.38 mg/mL,占 61.2%。尤其是亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸等支链氨基酸含量以及谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸等呈味氨基酸含量丰富。结果为乳鸽肉复合水解液作为疗效营养剂或高级调味料提供了依据。

**关键词** 酶促水解,乳鸽肉,蛋白酶,风味酶

乳鸽营养丰富,而且具有很高的滋补效果和药用价值。我国中医学认为,性味咸平,滋肾益阴,可调精益气,补血养身,治肝风肝火,解诸药毒及治人癣疮疥<sup>[1]</sup>。作为优质的食品和珍贵的滋补品,乳鸽肉通过酶解,可大大提高其营养价值和商业价值。目前我国活性肽和蛋白水解物的研究主要集中在大豆蛋白、乳蛋白、鱼蛋白方面,其他类蛋白,尤其对乳鸽肉活性蛋白的研究几乎未见报道。随着人们生活水平的提高,天然健康食品正日益受到人们的青睐,乳鸽蛋白水解物作为优质的营养保健基料,若加工成食品,必有可观的市场前景。

由于酶反应的专一性,单一酶作用范围小,因此酶解时水解度不高,所得多肽分子质量较大。为获得较高的水解度,本实验试图采用复合酶解,为今后乳鸽深加工和综合利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

第一作者:博士研究生、工程师。

收稿时间:2002-08-06,改回时间:2002-12-25

乳鸽肉(胸脯肉):由江苏淮安市白羽王鸽业集团;复合蛋白酶(Protamex)、复合风味酶(Flavourzyme):丹麦 Novo Nordisk 酶制剂公司;其它试剂均为市售、分析纯。

### 1.2 实验仪器与设备

恒温水浴锅、磁力搅拌器、pHS-3C 型精密 pH 计、电子天平、组织捣碎机、氨基酸自动分析仪、离心沉淀机。

### 1.3 酶解原液的制备

冰冻乳鸽肉用清水洗净,按一定比例加水打成匀浆后,直接作为酶解原液备用。

### 1.4 测定方法

#### 1.4.1 总氮测定

凯氏定氮法<sup>[2]</sup>

#### 1.4.2 氨基酸态氮测定

甲醛滴定法<sup>[3]</sup>。

#### 1.4.3 水解度(DH)测定<sup>[4]</sup>

按 1.4.1 法和 1.4.2 变法分别测定水解液中总氨基态量与总氮量,水解度以水解液中总氨基态量与总氮量的百分比表示(%)。

#### 1.4.4 氨基酸测定

日立 835 型氨基酸自动分析仪(江苏省农科院实验室)

## 2 结果与分析

### 2.1 Protamex 酶对乳鸽肉的酶解进程曲线

将 Protamex 酶在 pH 8.0、55℃、固液比 1:2、酶用量 0.2% 对乳鸽肉。

水解 7 h, 每隔 1 h 取样测定水解度, 结果见图 1。

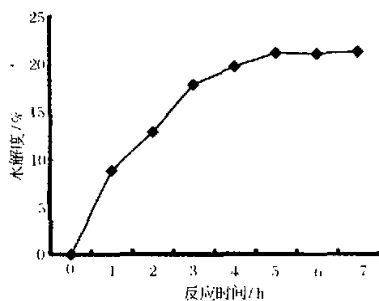


图1 Protamex 酶的水解进程曲线

从图 1 可见, Protamex 酶 1~4 h 内, 水解反应迅速, 而后水解速度变慢, 5 h 后酶解反应达到平衡状态, 水解度不再增加。这可能是水解度较高时, 产物中存在酶抑制因子的缘故。可见 5 h 为 Protamex 在该体系的最佳水解时间。

### 2.2 固液比对酶解效果的影响

Protamex 酶解乳鸽肉必须在水溶液中进行, 本文研究了不同固液比对酶解效果的影响, 结果见图 2。

由图 2 可见, 当固液比为 1:1、1:2 时, 酶解液的水解度随固液比增加有大幅度的增加。但是, 当固液比达到 1:3 时, 由于加水量过多, 使得 Protamex 酶浓度降低, 水解度反而降低, 因此, 选择固液比 1:2 为宜。

### 2.3 温度对酶解效果的影响

Protamex 酶的适合温度一般在 40~70℃ 之间, 随底物不同而有差异。以乳鸽肉为底物时, Protamex 酶的最适温度可由图 3 来确定。

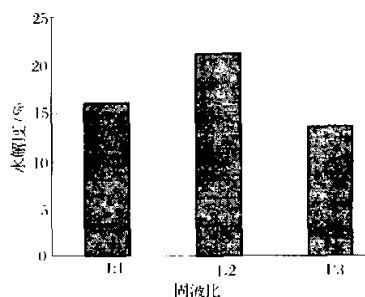


图2 固液比对酶解效果的影响

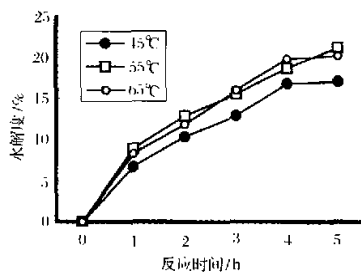


图3 反应温度对酶解效果的影响

由图 3 可见, 55℃ 水解 5 h 时, 酶解速度快, 酶解液水解度最大, 而 45℃ 下酶水解度始终比 55℃ 低, 且苦味明显; 65℃ 下开始前 4 h 水解度上升快, 但 4 h 以后水解度不再上升。因此, 55℃ 为该体系的最适水解温度。

### 2.4 初始 pH 对酶解效果的影响

将乳鸽肉匀浆液 pH 值分别调至 6.5、7.5、8.5、9.5, 然后入 55℃ 水浴锅酶解 4 h, 定时取样灭酶后测其水解度, 结果见图 4。

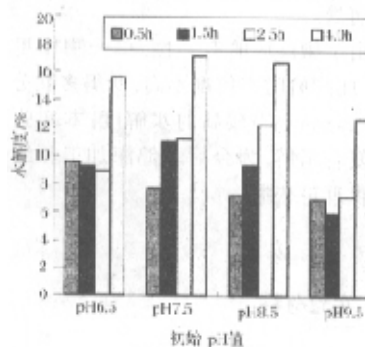


图4 初始 pH 对酶解效果的影响

由图 4 可见, 在 pH 为 7.5 与 8.5 时酶

解度的水解度较大,  $\text{pH} \leq 6.5$  或  $\text{pH} \geq 9.5$  时, 酶解速度变慢, 最终水解度也较低。此外, 品尝试验表明在水解的过程中前 3 h 时 4 个样液均出现明显苦味, 但水解 4 h 以后 pH 值为 7.5、8.5、9.5 的样液苦味逐渐消失, 而 pH 值为 6.5 的样液仍有苦味。因此, Protamex 在该体系中 pH 值为 7.5~8.5 较适宜。

## 2.5 酶用量对酶解效果的影响

在确定了底物浓度、降解温度和降解的 pH 值后, 酶的浓度也是一个影响因素, 本文研究在固液比 1:2、pH 7.5 及 55℃ 下不同酶用量对酶解液水解度的影响, 结果见图 5。

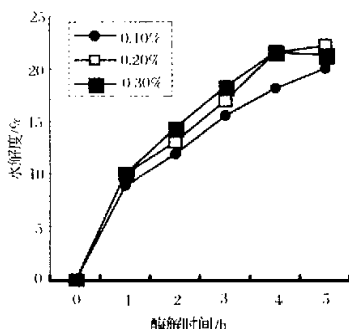


图5 酶添加量对酶解效果的影响

由图 5 可见, 随着酶用量的增加, 酶解速度加快, 酶用量为 0.1% 时, 酶解液水解度上升较慢; 当酶浓度为 0.4% 时, 前 3 h 样液水解度上升较快, 3 h 以后酶解液水解度上升变得缓慢, 4~5 h 时酶解液水解度和酶用量为 0.2% 时无明显差异。因此, 从生产成本角度出发, 选择酶用量为 0.2%。

## 2.6 Protamex 酶与 Flavourzyme 酶分步水解试验

据报道 Flavourzyme 的水解产物有较好的风味, 可以消除 Protamex 酶解产生的苦味, 因此, 本实验利用 Protamex 与 Flavourzyme 进行分步水解试验。结果见图 6。

图 6 结果表明, 用 Protamex 先水解 2 h, Flavourzyme 再水解 14 h 的方法不仅可提高

水解度, 而且风味好。

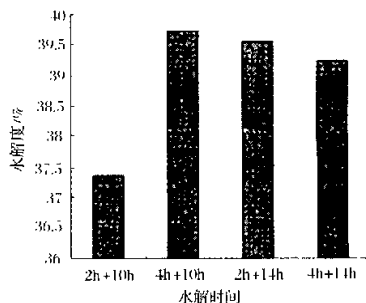


图6 双酶水解试验结果

## 2.7 水解液的氨基酸测定

乳鸽肉水解液的氨基酸组成及含量见表 1。

表1 乳鸽肉分步水解液的氨基酸分析结果

含量 >100/mg·mL <sup>-1</sup>		含量 <100/mg·mL <sup>-1</sup>	
天门冬氨酸(Asp)	162	苏氨酸(Thr)	313
丝氨酸(Ser)	218	谷氨酸(Glu)	426
脯氨酸(Pro)	48.9	甘氨酸(Gly)	122
丙氨酸(Ala)	272	胱氨酸(Cys)	94.1
缬氨酸(Val)	399	蛋氨酸(Met)	228
异亮氨酸(Ile)	328	亮氨酸(Leu)	623
酪氨酸(Tyr)	178	苯丙氨酸(Phe)	405
组氨酸(His)	104	精氨酸(Arg)	292
赖氨酸(Lys)	428	色氨酸(Trp)	-

从表 1 可见, 乳鸽肉复合水解液中, 游离氨基酸含量丰富, 约为 46.41 mg/mL (色氨酸未计), 其中必需氨基酸 28.38 mg/mL, 占 61.2%。值得注意的是亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸等支链氨基酸含量尤为丰富, 据报道这些氨基酸可治疗肝功能衰竭等疾病, 还可作为加快创伤愈合的治疗剂<sup>[5]</sup>; 赖氨酸被称为第一限制氨基酸, 在乳鸽肉复合水解液中含有量为 4.28 mg/mL, 它不仅可以起到增进食欲, 促进儿童生长和发育的作用, 还能提高钙的吸收及其在体内积累, 加速骨骼生长。此外, 谷氨酸(鲜味)、天门冬氨酸(鲜味)、甘氨酸(甜味)和丙氨酸(甜味)等呈味氨基酸含量丰富。由此可见, 乳鸽肉复合水解液营养价值高, 可用于制作婴幼儿健康食品或高级调味料, 特别适合于作为手术后病人的疗效

营养剂<sup>[6]</sup>。

### 3 结论与讨论

以水解率为指标,兼考虑水解液的口感、外观和游离氨基酸含量、生产成本,选择复合蛋白酶(Protamex)和复合风味酶(Flavourzyme)分步水解制备乳鸽肉水解液。通过对水解条件的研究发现,Protamex 酶最适酶解条件确定为:固液比为 1:2,反应温度为 55℃,pH 值 8.0,酶用量 0.2%,降解时间 5 h;在此反应条件下,单一酶酶解液最高水解度为 26% 左右;分步酶解的工艺条件是:Protamex 反应进行 2 h 后,加入 0.5% Flavourzyme,50℃ 下酶解时间 14 h,水解度可达到 40%,离心分离后,上清液呈亮黄色,澄清,味道鲜美。

乳鸽肉复合水解液氨基酸分析结果表明,游离氨基酸含约为 46.41 mg/mL(色氨酸未计),必需氨基酸 28.38 mg/mL,占 61.2%。尤其是亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸等支链氨基酸含量以及谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸等呈味氨基酸含量丰富。这一结果为乳鸽肉复合水解液作为疗效营养剂或高级调味料提供了依据。

在双酶水解初期水解液苦味明显,这是由于蛋白质在酶作用下,分解为氨基酸和肽类,其中短链的疏水性肽显苦味,大多由带芳香式侧链的中性氨基酸组成<sup>[7]</sup>。在蛋白质未水解时,疏水基被掩盖在分子中,水解过程中暴露出来而显现苦味。继续水解苦味物质。另外,本研究发现添加复合风味酶分步水解可以降解苦味肽,使苦味变淡至消失,但工艺时间太长,这有待进一步研究解决。

### 参 考 文 献

- 1 崔文俊,赵 胜. 陕西教育学院学报,2000.(1): 85-87
- 2 刘福玲等. 食品物理与化学分析方法. 北京:轻工业出版社,1987.2
- 3 大连轻工业学院. 食品分析. 北京:中国轻工业出版社,1995.221
- 4 赵新淮. 食品科学,1994(1):65-67
- 5 Ahmed F, Qadri S S. Nutr. Rep. Int., 1985, 31 (3): 711-715
- 6 Nidden J A. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins. London: New York: Elsevier Applied Science Publisher, 1986
- 7 杨 兰,刘通讯. 食品工业科技, 1999.(2):46

## Studies on Enzymatic Hydrolysis to Pigeon Meat

Zhou Jianzhong Chen Xiaohong Zhang Xinxin Dong Mingsheng

(Food Microbiology Lab., College of Food Science & Technology, Nanjing Agriculture University, Nanjing, 210095)

**ABSTRACT** Young pigeon meat was hydrolyzed to prepare amino acid hydrolysate using Protamex and Flavourzyme. The optimum temperature and initial pH and time of Protamex enzymatic hydrolysis were 55℃ and 7.5 and 5 h respectively. The optimum enzyme adding was 0.2% and ratio of pigeon meat to water 1:2. After 2 h hydrolysis of Protamex, Flavourzyme are used by step for 14 h. The contents of free amino acid in hydrosates amounted to 46.41 mg/mL and the contents of essential amino acid amounted to 28.38 mg/mL. The experiment results showed that hydrolysate by Protamex and Flavourzyme was used to develop health foods and natural flavouring agent.

**Key words** enzymolysis, pigeon meat, Protamex, Flavourzyme