

多酶法在鱼露生产工艺中的应用^{*}

邓尚贵² 彭志英¹ 杨 萍² 夏杏洲²

1(华南理工大学食品生物工程学院,广州,510640)

2(湛江海洋大学水产学院食品科学与工程系,湛江,524025)

摘 要 应用正交试验优选了碱性蛋白酶和中性蛋白酶对青鳞鱼下脚料(鱼头、鱼骨、内脏、鱼皮等)的水解条件,在此基础上,同时用碱性蛋白酶和中性蛋白酶,再用风味酶对青鳞鱼下脚料蛋白质进行水解,确定了以多酶法生产鱼露的新工艺。结果表明,青鳞鱼下脚料中蛋白质含量达14.8%,经多酶水解和适当调配可制得风味浓郁的鱼露。多酶法水解蛋白质的条件为:同时用1.5%碱性蛋白酶和1.5%中性蛋白酶在pH7.0、50℃条件下水解120 min后,再加入2%风味酶继续水解60 min,新工艺生产鱼露中必需氨基酸含量达40.3%,总氮达19 mg/L,氨基氮达11 mg/g,占总氮的61.0%,呈味氨基酸含量达49.5%。因此新工艺鱼露营养丰富,味道鲜美。

关键词 青鳞鱼,下脚料,蛋白酶,水解蛋白,鱼露

传统的鱼露生产工艺采用自然发酵法生产,生产周期很长,难以进行自动化连续生产,生产规模小。随着现代生物化学技术的高速发展,酶技术在食品工业中的应用也越来越广泛。1996年迟玉森^[1]等以鲮鱼为原料采用As1398蛋白酶水解,制成鱼鲜酱油,生产周期缩短到20 h左右;同年邓尚贵^[2]以青鳞鱼为原料采用双酶法使蛋白质的水解率有了大幅度的提高,但水解产物的风味与鱼露相比仍存在着差距;1998年邓尚贵^[3]在双酶法的基础上采用风味酶对水解液进行进一步的酶解,水解产物与鱼露的风味较为接近,为多酶法生产鱼露奠定了基础。

本研究的主要目的在于对传统的鱼露生产工艺进行改造,从而缩短生产周期,提高经济效益,也为大规模的自动化生产提供技术保证,同时,以鱼或鱼的下脚料为原料制造鱼露也可解决鱼品加工企业的废物利用问题。

1 材料与方法

1.1 原 料

第一作者:博士,副教授。

^{*} 广东省科技厅资助项目(No. 2KM06002S)

国家发明专利 CN00118904A 并获香港国际专利技术博览会金牌奖

收稿时间:2001-09-18

青鳞鱼下脚料,购自湛江民享市场,采肉后分装为每袋100 g,冷冻备用。

1.2 主要试剂

枯草杆菌碱性蛋白酶, 1.20×10^5 IU/mL; 枯草杆菌中性蛋白酶, 1.0×10^5 IU/g (均为无锡杰能科生物工程有限公司生产); 风味酶, 1 000 IU/g (丹麦诺和诺德公司生产)。

1.3 主要仪器、设备

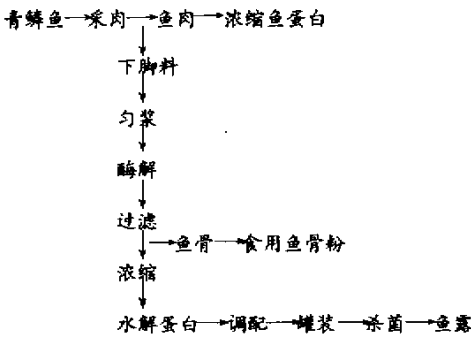
组织捣碎机,电热恒温水浴锅,鼓风干燥箱,马福炉,索氏抽提装置,半微量凯氏定氮装置,糖量计等。

1.4 主要分析方法

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:半微量凯氏定氮法; α -氨基态氮:双指示剂法^[4];可溶性固形物:糖度计法。

氨基酸组成分析:制品经6 mol/L HCl水解后,采用日立835-50型高速氨基酸分析仪进行蛋白质的氨基酸组成分析。

1.5 工艺流程



2 结果与讨论

2.1 下脚料的常规成分

从表 1 可见 ,下脚料中的蛋白质含量是鱼肉中的 70.88% ,蛋白质含量丰富 ,但组成较复杂 ,除鱼头、鱼骨的软骨粘蛋白、胶元、软骨蛋白及弹性蛋白等不必水解可作为食用鱼骨粉的原料外 ,肌肉组织中的肌蛋白、肌原蛋白、动蛋白、肌动蛋白等肌肉蛋白则可用几种酶水解为氨基酸、肽等并作为水解蛋白的主要成分。下脚料的脂肪和灰分含量比鱼肉高 ,前者主要源于鱼皮和内脏的存在 ,而后者则主要因为鱼骨的存在。下脚料的高脂肪特性和高不饱和脂肪酸含量决定了容易酸败和腐烂 ,因此加工处理要及时。

表 1 下脚料的常规成分 %

原 料	水 分	灰 分	粗蛋白	粗脂肪
鱼 肉	74.49	1.62	20.88	4.73
下脚料	74.26	4.97	14.80	6.73

2.2 酶水解条件的确定

本研究采用正交试验法安排酶水解处理过程^[5] ,并以 α-氨基氮和水解液的可溶性固形物为指标 ,分别确定碱性蛋白酶和中性蛋白酶对青鳞鱼下脚料的水解条件。

表 2 是按照正交试验对碱性蛋白酶和中性蛋白酶水解青鳞鱼下脚料所得到的实验结果。对于碱性蛋白酶而言 ,在 pH7.0~10.0 的范围内随着 pH 的增加 ,水解液的 α-氨基氮含量逐渐降低 ,pH 7.0 时达到最大值 ;在 40~55℃ 的温度范围内 ,随着温度的升高 ,水

表 2 酶水解条件的选择

因 素	水 平	α-氨基氮	可溶性
		/g·L ⁻¹	固形物
碱性蛋白酶	pH 值	7.0	132.77±58.36
		8.0	103.50±25.55
		9.0	83.97±31.68
		10.0	79.77±27.54
	温度 /℃	40	78.96±4.03
		45	90.27±17.66
		50	107.42±44.20
		55	123.36±66.07
	酶浓度 /%	0	65.88±18.46
		0.5	98.18±20.98
		1.5	114.52±58.15
		2.0	121.43±64.35
中性蛋白酶	酶解时间 /min	30	87.03±18.44
		60	89.78±37.01
		90	109.51±36.58
		120	113.68±66.21
	pH 值	6.0	182.79±84.82
		7.0	147.49±79.52
		8.0	110.45±17.81
		9.0	80.41±37.16
	温度 /℃	40	90.43±16.53
		45	107.54±33.51
		50	165.73±77.61
		55	157.44±101.19
	酶浓度 /%	0	66.53±27.89
		0.5	119.81±29.54
		1.5	168.74±71.67
		2.0	169.06±84.02
	酶解时间 /min	30	103.30±60.62
		60	128.11±80.26
		90	164.18±78.60
		120	166.54±82.12

解液的 α-氨基氮含量逐渐增加 ,可溶性固形物也有增加的趋势 ,这说明碱性蛋白酶对下脚料蛋白质的水解需要相对较高的温度条件 ,在底物浓度一定的前提下 ,酶浓度的大小对水解效果起着决定的作用 ,正因为如此 ,酶浓度在 0%~2.0% 的范围内使得水解液的 α-氨基氮的含量逐渐增加 ,同时也使可溶性固形物也随之增加 ,但酶浓度 2.0% 与 1.5% 相较增加的程度已不明显 ,因此本研究选择酶浓度为 1.5% ,在水解时间方面 ,随着水解时间的延长 ,水解液 α-氨基氮和可溶性固形物逐渐增加 ,120 min 比 90 min 增加的程度与 90 min 比 60 min 增加的程度比较几乎减

少一半,说明 90 min 后碱性蛋白酶对下脚料蛋白质的水解已基本结束,因此本研究选择水解时间为 90 min。

对于中性蛋白酶而言,在 pH6.0~9.0 的范围内随着 pH 的升高,水解液 α -氨基氮逐渐降低而可溶性固形物却有升高的趋势,说明中性蛋白酶对下脚料蛋白质的水解最适 pH 处于中性偏酸性的范围,在中性时可溶性固形物为最高说明此时既有下脚料蛋白质的溶解又有酶蛋白的溶解,当 pH 处于中性偏碱性范围时,可溶性固形物突降到最低后又逐渐升高说明酶蛋白的溶解度突降而下脚料蛋白质的溶解度逐渐升高,综合上述分析选择中性蛋白酶的水解最佳 pH6.0;酶水解时的温度条件对水解的效果有很大的影响,在 40~50℃ 时随着温度的升高, α -氨基氮和可溶性固形物都逐渐升高,但当温度达到 55℃ 时 α -氨基氮的含量却降低,这说明此时的温度已使部分酶蛋白变性而失去活性,因此本研究选择酶作用的温度为 50℃;当酶浓度为 0%~2.0% 时,随着浓度的增加 α -氨基氮和

可溶性固形物也增加,但当酶浓度增加到 2.0% 时,二者的增加幅度比从 0.5% 升高到 1.5% 时的增加幅度小得多,从生产的成本考虑选择中性蛋白酶浓度为 1.5%;从水解时间来看,在 30~120 min 的范围内,随着时间的延长 α -氨基氮和可溶性固形物也增加,但当时间达到 90 min 后二者已没有明显的增加,因此从生产周期考虑选择酶水解的时间为 90 min。

综上所述,确定的碱性蛋白酶的水解条件为: pH7.0、温度 55℃、酶浓度 1.5%、水解时间 90 min;中性蛋白酶的水解条件为: pH6.0、温度 50℃、酶浓度 1.5%、水解时间 90 min。

2.3 多酶水解法的建立

按照上述确定的酶水解条件,先用碱性蛋白酶对青鳞鱼下脚料进行水解,然后用中性蛋白酶继续水解,每 60 min 测定水解液的 α -氨基氮和可溶性固形物值,结果如表 3 所示。

表 3 双酶与复合酶水解作用

酶解方式	60 min		120 min		180 min	
	α -氨基氮	可溶性固形物	α -氨基氮	可溶性固形物	α -氨基氮	可溶性固形物
1	186.66	4.1	261.59	5.0	268.50	5.1
2	139.51	4.7	198.29	5.9	285.48	8.0

注:方式 1:先用碱性蛋白酶水解,然后用中性蛋白酶水解;2:采用 1.5% 碱性蛋白酶同时和 1.5% 中性蛋白酶在 pH7.0、50℃ 条件下水解 120 min,然后再加入 10 mL 风味酶继续水解 60 min。

从表 3 可以看到,在 120 min 内,同时使用枯草杆菌碱性蛋白酶和中性蛋白酶时,水解液 α -氨基氮含量远低于先用枯草杆菌碱性蛋白酶水解 60 min,再用枯草杆菌中性蛋白酶水解 60 min 的处理,而可溶性固形物则略高。这可能是 2 种酶在水解鱼肉蛋白质的同时,也发生了酶的相互水解,造成部分酶活性损失而失去水解鱼肉蛋白质的能力,使得 2 种酶共同水解时 α -氨基氮的含量远低于先用碱性蛋白酶再用中性蛋白酶水解的处理;至于可溶性固形物略高则是酶制剂其他微量酶如糖酶、脂肪酶等将 2 种酶制剂填充料和鱼

肉脂肪水解为可溶性物质及 2 种酶相互水解等的共同作用所致。虽然同时加入枯草杆菌碱性蛋白酶和中性蛋白酶在 120 min 内水解液 α -氨基氮远低于先加入碱性蛋白酶再加入中性蛋白酶的处理,似乎不应采取同时加酶这一方法,但是,同时加 2 种酶水解后为风味酶提供了更多更合适的底物如二肽、三肽等,因而当加入风味酶 60 min 后不仅水解液 α -氨基氮和可溶性固形物的含量迅速增加,而且水解产物产生了浓郁的鱼露风味。因此,建议采用同时加酶法(即多酶法):同时用 1.5% 碱性蛋白酶和 1.5% 中性蛋白酶在

pH7.0、50℃ 条件下水解 120 min 后再加入 2% 风味酶继续水解 60 min。

3 新工艺制备鱼露

按照上述确立的工艺路线和多酶法的水解条件,以青鳞鱼下脚料为原料,采用新工艺,制备鱼露,并对其主要营养成分进行了研究,结果如表 4、表 5 所示。表 4 结果表明,新工艺鱼露氨基酸氮含量略高于国标的上限值,总氮则比国标值上限高得多,而食盐则比国标值上限略低。这些说明新工艺鱼露的质量略高于国标的要求。

表 4 新工艺鱼露与国标鱼露的比较 g/mL

项 目	氨基态氮	全 氮	食 盐
新工艺	0.011	0.019	0.24
国 标	0.005~0.01	0.007~0.014	≤0.29

表 5 产品的无机质含量 g/kg

无机质	Ca	Fe	Cu	P
新工艺鱼露	33.7	0.64	0.03	69.2
黑虾油 ^[8]	100	0.3	0.08	16

新工艺鱼露中的 4 种无机质,以 P 含量最高,达 0.692 mg/g,比类似产品黑虾油^[8]约高出 4 倍,是一种含磷较丰富的食品。Ca 含量虽仅为黑虾油的 1/3,但由于它是可溶性钙,因此易于被人体吸收^[8]。

4 结 论

(1)青鳞鱼下脚料是一种丰富的蛋白质资源。除软骨粘蛋白、胶元、软骨蛋白及弹性蛋白等未被水解而留在鱼骨中作为食用鱼骨粉的原料外,其余的如肌蛋白、肌球蛋白、动蛋白、肌动蛋白等肌肉蛋白可采用多酶水解法降解为氨基酸或短肽而成为鱼露的主要成分。

(2)青鳞鱼下脚料蛋白质多酶水解法条

件为:同时用 1.5% 碱性蛋白酶和 1.5% 中性蛋白酶在 pH 7.0、50℃ 条件下水解 120 min 后再加入 2% 风味酶继续水解 60 min。下脚料经多酶水解法水解后具有浓郁的鱼露风味,因而可用多酶水解技术代替传统的发酵法生产鱼露。

(3)采用多酶法制得的具有浓郁鱼露风味的青鳞鱼下脚料水解蛋白,经适当调配可制得新工艺鱼露。与传统发酵法鱼露相比,新工艺鱼露具有几个突出的特点:①必需氨基酸含量丰富(尤其是植物性食品较为缺乏的赖氨酸),占氨基酸总量的 40.3%;②甘味呈味氨基酸的含量较高,可能使新工艺鱼露具有独特的甘味特性;③氨态氮占总氮高达 61.0%,表明新工艺鱼露的质量非常高;④钙含量为 33.7 mg/g,且为可溶性高吸收率钙,更适合缺钙的老人、儿童作饮食佐料。

参 考 文 献

- 迟玉森,郑延东,唐琳等.中国调味品,1996,(5):13~17
- 邓尚贵,章超桦,罗燕等.湛江水产学院学报,1996(2):58~61
- 邓尚贵,章超桦.水产学报,1998,22(4):353~356
- 大连轻工学院,华南理工大学等.食品分析.北京:中国轻工业出版社,1996.75~234
- 邓尚贵,章超桦.水产学报,1997,21(2):220~224
- 黄志斌.鱼露及水解蛋白.北京:农业出版社,1996.38~39
- 王光亚,沈治平,范文洵等.食物成分表(全国代表值).北京:人民卫生出版社,2000.86
- 章超桦,邓尚贵,洪鹏志.食品与发酵工业,2000,26(2):36~39

Application of Multi-enzymatic Method in Fermented Fish Sauce Production from *Harengula zunasi* 's Offal

Deng Shanggui¹ Peng Zhiying¹ Yang Ping² Xia Xingzhou²

1(Food and Bioengineering College , South China University of Technology , Guangzhou , 510640)

2(Fisheries College , Zhanjian Ocean University , Zhanjiang , 524025)

ABSTRACT The new technology of multi-enzymolysis method in fermented fish sauce production from *Harengula zunasi* 's offal , being defined as protein enzymolysis with flavorase after alkaline and neutral protease was established on the basis of orthogonality trials to select the best hydrolysis conditions to offal with alkaline and neutral protease. The conditions for multi - enzymolysis method are at pH7.0 , 50℃ , alkaline and neutral protease concentration 1.5% respectively , 120 min , and flavorase concentration 2.0% , 60 min. The new technology producing fermented fish sauce , which it is of abundant nutrition and delicious taste because of its essential amino acid content being 40.3% , delicious amino acid content being 49.5% (including in Glu , Asp , Gly , Ala , Pro and Ser) , total and amino nitrogen being respectively 19 and 11 mg/g , and amino acid nitrogen being 61.0% in total nitrogen , was made of *Harengula zunasi* 's offal containing 14.8% protein.

Key words *Harengula zunasi* , offal , proteinase , hydrolyzed protein , fermented fish sauce

美国公布 10 大健康食品

最新一期美国《时代》杂志公布了现代人 10 种最佳营养食品 ,其中亚洲人喜爱的绿茶榜上有名 ,而被西方人士视为主要食粮的马铃薯、白面包和白米饭被该杂志指为有损身体健康 ,并建议应少食。

这 10 大健康食品包括 :

番茄 :番茄中所含的番茄红素(lycopene)能大幅减少罹患前列腺癌的机率。

菠菜 :富含铁和 V_B ,能有效防止罹患血管方面的疾病。

果仁 :可提高有益胆固醇含量 ,并能降低血液中的三酸甘油酯 ,是预防心脏病的最佳食品。

菜花 :富含胡萝卜素及 V_C ,长期食用可以减少罹患乳癌、直肠癌及胃癌的机率。

燕麦 :可降低胆固醇与血压。

三文鱼 :可防止血管阻塞及防患老年痴呆症等疾病。

大蒜 :可以降低胆固醇 ,并具有杀菌作用。

蓝莓 :抗氧化剂含量极高 ,除可以预防心脏病和癌症外 ,还能增进脑力。

绿茶 :可以预防癌症及减少患心脏病的机率。

红酒 :由于葡萄皮中含有丰富的抗氧化剂 ,因此能够增加人体内有益胆固醇的含量 ,预防血管硬化。

日本啤酒销量近年持续走低

由麒麟、韩日、札幌、三得利和奥立文 5 大啤酒企业构成的日本啤酒产业 ,近些年来销量一直处于下降状态。2000 年 ,上述 5 大企业的合计啤酒销售量为 55.3 亿升 ,比 1999 年的 57.9 亿升减少 4.5% ,而 1999 年又比 1998 年的 62.1 亿升减少 8.9% ,1998 年也不是增产年 ,因为 1997 年和 1996 年都在 70 亿升以上。2000 年销量已经下降到 1987 年的 53.6 亿升的水平。