

文章编号 :1009 - 038X(2000)05 - 0464 - 05

鲢鱼天然抽提物的研制

陈洁¹, 曹春雨², 夏燕¹

(1. 无锡轻工大学食品学院,江苏无锡 214036;2. 丹尼斯克(中国)有限公司,江苏昆山 215300)

摘要:主要研究了鲢鱼天然抽提物的制备工艺条件,着重探讨了抽提过程和酶解过程中各种影响产品风味和得率的因素.在 9 倍加水量、3% 加盐量及 pH 6.8,100 °C 条件下先抽提,然后利用 1% 中性蛋白酶,1% 木瓜蛋白酶和 0.3% 胰酶进行酶解和脱苦,可得到风味良好而且得率很高的鲢鱼天然抽提物.

关键词:鲢鱼;抽提;酶解

中图分类号:TS254.5;TS264.29

文献标识码:A

The Preparation of Silver Carp Extract

CHENG Ji¹, CAO Chun-yu², XIA Yan¹

(1. School of Food Science & Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036; 2. Danisco(China) Co., Ltd. Jiangsu Province, Kunshan 215300)

Abstract: High extraction rate was achieved by adding to the raw material 90% water, 3% salt and adjusting the pH to 6.8 at 100°C. The hydrolysis of the residue with a mixture of 1% papain, 1% neutral protease and 0.3% trypsin optimized the extraction rate and inhibited the occurrence of bitterness.

Key words: silver carp; extract; enzymic hydrolysis

天然抽提物是复合调味料的一种,是将天然食物中的水溶性成分包括各种氨基酸、肽、核酸系列风味物质,以及有机酸、糖、无机盐等浸提出来得到的抽提物,经烹调后会产生美拉德反应等各种反应,产生典型的天然食品风味,因此在国际市场上倍受青睐^[1].在日本,天然抽提物的原料使用最多的是各种海产品,包括松鱼(鲣)或鲣节(松鱼段)、金枪鱼、大马哈鱼、牡蛎、乌贼鱼、海带等,其次是各种禽类和畜类以及各种菌类.

复合调味料近年来在我国发展也很快,1998

年,各种复合调味料包括天然抽提物、植物水解蛋白(HVP)、动物水解蛋白(HAP)、酵母抽提物、核酸系列调味品等的总产量逾 100 万 t,比 1997 年增长 20% 左右,是调味品中增长最快的一类.其中 HVP、HAP 及酵母抽提物在复合调味品中所占比例较大,约 80% 以上,而各种天然抽提物则产量相对较低,研究也较少^[1,2].我国有大量的淡水鱼资源,淡水鱼产量为世界第一,1998 年的产量是 4000 万 t,其中低价值的鲢鱼几乎占了 1/4,这种鱼由于风味质构及出肉率等都不尽如人意,因此,一般只用于鲜食,

收稿日期:1999-11-23;修订日期:2000-05-25.

作者简介:陈洁(1969-),女,江苏太仓人,食品科学博士研究生,讲师.

万方数据

极少加工,这种情况严重制约了鲢鱼的生产,最近 3 年,淡水鱼连年以 5%~10% 的增长率增长的情况下,鲢鱼产量基本不增加。事实上,鲢鱼的营养价值很高,不仅含有平衡的氨基酸组成以及婴幼儿所必需的组氨酸,还含有丰富的牛磺酸以及各种矿物质,包括钾、钠、钙、镁、磷及硒、锌、铁等微量元素,是良好的营养来源^[3]。因此,开发鲢鱼制品,使其用于加工,无疑具有极好的经济价值。

本论文论述了鲢鱼抽提物的制备方法,着重从抽提和酶解两个方面探讨各种工艺条件对得率和风味的影响。

1 试剂和材料

鲢鱼 无锡市售;盐 无锡盐业分公司提供;ASI.398 中性蛋白酶 无锡市酶制剂厂提供;胰酶 上海生化试剂公司分装;木瓜蛋白酶 上海生化试剂公司分装;

H₂SO₄ AR;NaOH AR;NaHCO₃ AR;HCl AR;CuSO₄ AR;海砂 CR;乙醚 AR;冰醋酸 AR;硼酸 AR。

2 试验方法

2.1 测定方法

2.1.1 蛋白质 微量凯氏定氮法^[4]。

2.1.2 水分 105℃烘箱法^[4]。

2.1.3 脂肪 索氏抽提法^[4]。

2.1.4 灰分 见无锡轻工大学“食品分析实验”讲义。

2.1.5 水解度 称取 50 g 鱼肉,加入 500 mL 水,匀浆后置于 100℃水浴中 30 min,冷却,调 pH 达到所用酶的最适 pH,在最适温度下水解,同时用酸度计测定体系 pH,水解过程中不断用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 使之返回原 pH,直至体系 pH 不再明显下降为止。记录每次滴定所消耗的 NaOH 溶液体积及时间,按下式计算水解度:

$$DH = B \times N_b \times (1/a) \times (1/M_p) \times (1/H_t)$$

式中: B——碱耗量(mL);

N_b——碱浓度(mol/L);

M_p——蛋白质总量(g);

H_t——每克蛋白质底物中肽键总量,鱼类为 8.6;

a——α-氨基的离解度,随温度及 pH 的不同

而不同。1/a 值见表 1。
万方数据

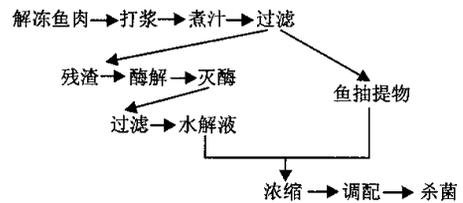
表 1 不同温度及 pH 条件下的鱼蛋白质 1/a 值

Tab.1 Calibration factors for the pH-sta(1/a)

温度/℃	鱼蛋白质的 1/a 值	
	pH 7.0	pH 7.5
25		2.59
30	5.00	2.27
40	3.00	1.63
50	2.27	1.4
60	1.79	1.25

2.2 抽提工艺条件

2.2.1 基本工艺流程 鲢鱼经预处理(去头、去皮、去骨、去内脏)清洗后,切成小块,然后分成 50 g 一份,冷冻保藏备用。工艺流程如下:



2.2.2 温度的影响 取 5 份 50 g 的鱼肉,解冻,然后分别加入 250 mL 水,打浆,分别在 80,90,100,110,120℃下抽提 15 min,冷却后,用 4 层纱布过滤,用微量凯氏定氮法测定清液中的蛋白质含量 w_B 及原料中的蛋白质含量 w_A,计算蛋白质提取率。

$$\text{蛋白质提取率} = w_B / w_A$$

2.2.3 抽提时间的影响 取 5 份 50 g 的鱼肉,解冻,然后分别加入 250 mL 水,打浆,分别在 100℃下抽提 10,15,20,25,30 min,冷却后,用 4 层纱布过滤,用微量凯氏定氮法测定清液中的蛋白质含量 w_B 及原料中的蛋白质含量 w_A,如 2.2.2 计算蛋白质提取率。

2.2.4 加水量的影响 取 5 份 50 g 的鱼肉,解冻,分别加入 150,250,350,450,550 mL 水,打浆,在 100℃下抽提 15 min,冷却后,用 4 层纱布过滤,用微量凯氏定氮法测定清液中的蛋白质含量 w_B 及原料中的蛋白质含量 w_A,如 2.2.2 计算蛋白质提取率。

2.2.5 加盐量的影响 取 5 份 50 g 的鱼肉,解冻,然后分别加入 450 mL 水,打浆,分别加入 0,1%,2%,3%,4% 的食盐,在 100℃下抽提 15 min,冷却后,用 4 层纱布过滤,用微量凯氏定氮法测定清液中的蛋白质含量 w_B 及原料中的蛋白质含量 w_A,如 2.2.2 计算蛋白质提取率。

2.2.6 pH的影响 取5份50 g的鱼肉,解冻,然后分别加入450 mL水,打浆,用NaOH和NaHCO₃分别调节pH为5,6,7,8,9,在100℃下抽提15 min,冷却后,用4层纱布过滤,用微量凯氏定氮法测定清液中的蛋白质含量 w_B 及原料中的蛋白质含量 w_A ,如2.2.2计算蛋白质提取率。

2.3 酶解工艺条件

2.3.1 不同酶对蛋白质提取率的影响 取50 g的鱼肉3份,解冻,加500 mL水,打浆,分别加入AS1.398中性蛋白酶、胰酶和木瓜蛋白酶各1%(以底物量计),分别在表2所列的条件下反应,记录反应过程中滴加的NaOH量和时间,计算DH,反应结束后灭酶,冷却,用4层纱布过滤,测定蛋白质提取率。

表2 蛋白酶的作用条件

Tab.2 The optimum pH and temperature of proteinases

酶	温度/℃	pH
中性蛋白酶	50	7.5
胰酶	55	7.5
木瓜蛋白酶	60	7.0

2.3.2 脱苦工艺 取50 g的鱼肉9份,解冻,加500 mL水,打浆后按L₉(3⁴)正交表做正交试验,分别在pH 7.5,50℃条件下反应3 h,测定蛋白质提取率并评定苦味。正交试验因素水平如表3所示。

表3 正交试验因素水平表

Tab.3 The factors of orthogonal test

A	中性蛋白酶	B	胰酶	C	木瓜蛋白酶
1	0.3%	0.3%	0.3%	0.3%	0.3%
2	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
3	1%	1%	1%	1%	1%

3 结果与讨论

3.1 原料基本成分测定

鲢鱼肉基本成分测定结果见表4。

表4 鲢鱼肉基本成分的质量分数

Tab.4 The ingredients of silver carp %

蛋白质 质量分数	脂肪 质量分数	水分 质量分数	灰分 质量分数
18.33	4.44	76.36	0.37

3.2 抽提工艺影响因素

由表4可以看出,鲢鱼肉除了少量的脂肪和碳水化合物外,主要是由蛋白质组成的。蛋白质的溶解度的影响因素包括pH,以及盐离子强度、加水

量、抽提温度和抽提时间等,这些将是影响鲢鱼抽提物风味和得率的主要因素^[5]。这些因素对鲢鱼蛋白质提取率的影响分别见图1~5。

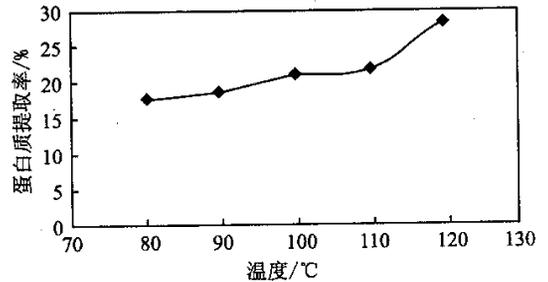


图1 温度对蛋白质提取率的影响

Fig.1 The effect of temperature on the protein yield

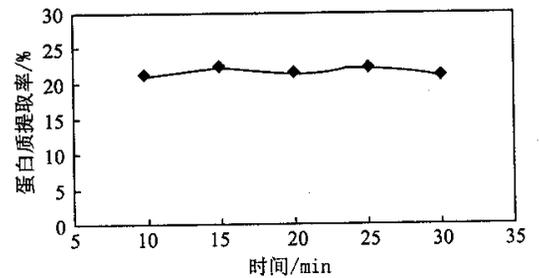


图2 提取时间对蛋白质提取率的影响

Fig.2 The effect of extracting time on the protein yield

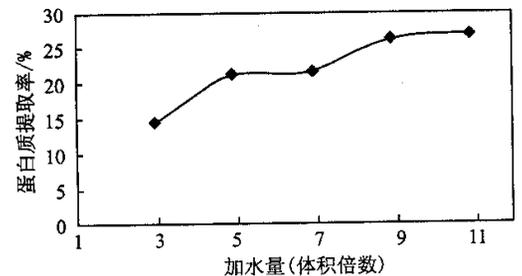


图3 加水量对蛋白质提取率的影响

Fig.3 The effect of water volume on the protein yield

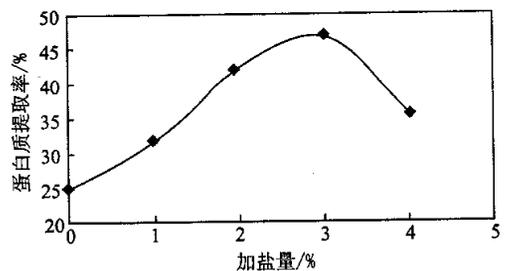


图4 加盐量对蛋白质提取率的影响

Fig.4 The effect of salt on the protein yield

随着温度的增加,蛋白质得率不断提高(图1),这可能是鱼肉中结缔组织溶解所致。而时间对得率几乎没有影响(图2)。抽提时,随着加水量的上升,

蛋白质得率也随之上升,但在加水量大于 9 倍体积时,得率上升缓慢(图 3)。加盐量对抽提有显著影响,随着加盐量的增加,蛋白质不断溶出,当加盐量大于 3% (0.5 mol/L 离子强度)后,出现“盐析”现象(图 4)。当溶液 pH 偏离鲢鱼蛋白质等电点(pH 6~7)时,蛋白质得率明显提高(图 5)。但由于 pH 偏离中性范围后抽提物风味不佳,考虑到本工艺后道还有酶解操作,因此抽提工艺条件选择 pH 6.8, 100 °C, 加盐量 3%, 时间 30 min, 加水量 9 倍体积。

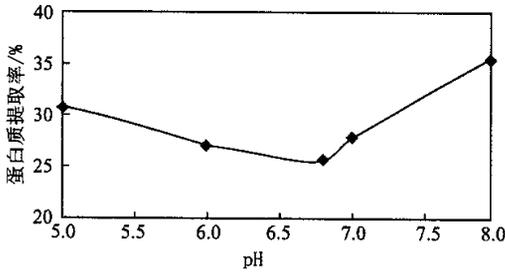


图 5 pH 对蛋白质提取率的影响

Fig.5 The effect of pH on the protein yield

3.3 酶解工艺条件

国内常用的 3 种蛋白酶——中性蛋白酶、胰酶、木瓜蛋白酶的水解度曲线见图 6,可以看出,对于鲢鱼蛋白质,AS1.398 中性蛋白酶的水解度最大,胰酶的其次,木瓜蛋白酶的最小;这 3 种蛋白酶的蛋白质提取率(见表 5)也是中性蛋白酶最高,可达 81% 以上,木瓜蛋白酶最低,仅 48% 左右,而口感只有木瓜蛋白酶的水解物不苦,其余两种酶的水解产物均很苦。

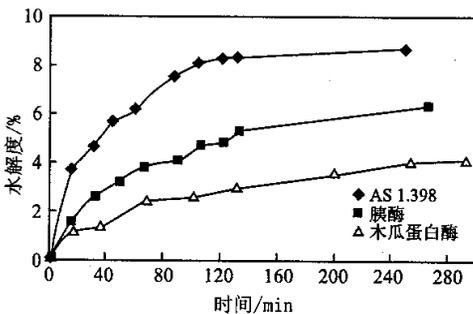


图 6 各种蛋白酶水解度曲线

Fig.6 The hydrolysis curves of proteinases

表 5 使用不同蛋白酶的蛋白质提取率和水解物口感

Tab.5 The effects of proteinases on the protein yield and mouth feeling

酶	蛋白质提取率/%	水解物口感
AS1.398 中性蛋白酶	81.48%	苦
胰酶	77.76%	苦
木瓜蛋白酶	48.03%	苦

鱼肉蛋白质酶水解后产生苦味的主要原因是水解过程产生了苦味肽。Kirimura 等研究认为,苦味肽主要含有侧链是大的烷基或芳香基的中性氨基酸,有些是在肽的末端含有疏水性氨基酸。目前去除水解蛋白质苦味的方法主要有 4 种:1) 选择性分离;2) Plastein 反应;3) 掩蔽法;4) 应用端肽酶降解。然而这 4 种方法对于本产品而言,均不够理想。选择性分离一般采用活性炭吸附,但总氮损失很大;Plastein 反应虽能有效减轻苦味,但不适合于可溶性水解蛋白质;掩蔽法会致产品产生异味;端肽酶太贵。

事实上,蛋白质水解度与苦味之间是有一定关系的,Adler-Nisson 研究认为,蛋白质水解度与水解液苦味之间存在如图 7 所示的关系,也就是说,随着水解度的增加,肽链长度的缩短,苦味逐渐显出并加重,当水解度超过一定值后,随着水解度的进一步降低及氨基酸的产生,苦味逐渐减弱^[6]。因此,根据这个研究结果,如果将鲢鱼蛋白质的水解度提高,则在保证得率的前提下,苦味是有可能解决的。

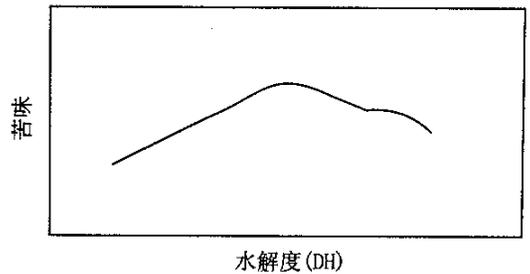


图 7 蛋白质苦味与水解度的关系

Fig.7 The relationship of bitterness and DH

由于木瓜蛋白酶与胰酶和中性蛋白酶的作用点有显著不同(表 6),将这 3 种酶组合起来对鲢鱼蛋白质进行水解,水解度可望有明显提高。正交试验结果显示(表 7),在木瓜蛋白酶加量达到 1% 时,再配以胰酶或中性蛋白酶,都能有效减轻苦味,并能提高蛋白质提取率。结合考虑经济因素,酶解条件选择:1% 木瓜蛋白酶,1% 中性蛋白酶和 0.3% 胰酶,在 pH 7.5, 50 °C 条件下反应 3 h。

表 6 不同蛋白酶的作用点

Tab.6 Preferential specificity of proteinases

酶	作用点
AS1.398 中性蛋白酶	Tyr, Phe, Try
胰酶	Tyr, Phe, Try, Lys, Arg, Ale
木瓜蛋白酶	Asn-Glu, Glu-Ala, Leu-Val, Phe-Tyr

表7 $L_9(3^4)$ 组合酶水解鲢鱼蛋白正交试验结果

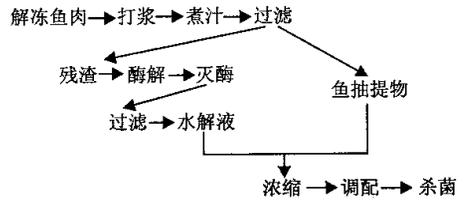
Tab.7 The result of orthogonal test for enzymic hydrolysis of silover carp

	A	B	C	D	蛋白质提取率/%	口感
1	1	1	1	1	74.75	苦
2	1	2	2	2	76.69	苦
3	1	3	3	3	81.37	不苦
4	2	1	2	3	74.52	苦
5	2	2	3	1	77.05	不苦
6	2	3	1	2	84.39	苦
7	3	1	3	2	81.02	不苦
8	3	2	1	3	85.71	苦
9	3	3	2	1	84.44	苦
K_1	232.01	230.29	244.85	237.24		
K_2	235.96	239.45	235.65	242.10		
K_3	251.17	250.20	239.44	241.60		
K_1	77.34	76.76	81.62	79.08		
K_2	78.96	79.86	78.55	80.70		
K_3	83.72	83.40	79.81	80.53		
R	6.38	6.64	3.07	1.62		

3.4 鲢鱼抽提物制备

抽提工艺条件为:pH 6.8,100℃,加盐量3%,时间30min,加水量9倍体积.酶解工艺条件为:1%木瓜蛋白酶,1%中性蛋白酶和0.3%胰酶,在pH 7.5,50℃条件下反应3h.采用以上工艺条件,最终蛋白质提取率可达88.9%.

鲢鱼抽提物按如下工艺过程制备:



抽提液和酶水解液混合浓缩时加入适量的姜和料酒,可以使得到的鲢鱼天然抽提物风味更好.

参考文献

- [1] 窦炳义.我国调味品的现状和发展趋势[J].中国调味品,1999(4):2~4.
- [2] 李勇.天然调味料的开发与应用[J].中国调味品,1994(4):2~7.
- [3] 金庆华,李桂玲等.中国鲢鱼营养成分的研究[J].食品科学,1998(8):41~43.
- [4] 刘福岭,戴行钧编.食品物理与化学分析方法[M].北京:轻工业出版社,1987.
- [5] 吴庆熊.水产化学.台湾:华香园出版社,1992.
- [6] ADLER NISSON. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins[M]. London and New York:Elsevier Applied Science Publishes LTD, 1986.

(责任编辑:秦和平)