

不同种类低值鱼酶解效果的比较及优化

范蕴莹

(佛山市海天调味食品股份有限公司, 广东佛山 528000)

摘要: 本文对比了不同海洋低值鱼的蛋白质含量和酶解效果, 并对青鳞鱼和斑鲮的酶解方案进行优化。结果表明: 蓝园鲹和青鳞鱼的蛋白质含量较高, 为 17% 以上; 斑鲮、黄鲫、刺鲳、鲮鱼、鳊鱼的蛋白质含量为 15~16%。但蓝园鲹、黄鲫、刺鲳、鲮鱼的酶解效果较好, 青鳞鱼、斑鲮和鳊鱼的酶解效果较差。青鳞鱼的最佳酶解方案为: 木瓜蛋白酶 0.05%, 风味蛋白酶 0.1%, 水解蛋白酶 0.05%, 胰蛋白酶 0.15%, 可提高蛋白质利用率为 86.07%, 氨基酸转化率为 49.24%, 酶解清液出品量为 11.30 mL。斑鲮的最佳酶解方案为: 木瓜蛋白酶 0.15%, 风味蛋白酶 0.1%, 水解蛋白酶 0.05%, 胰蛋白酶 0.15%, 可提高蛋白质利用率为 83.22%, 氨基酸转化率为 49.14%, 酶解清液出品量为 10.91 mL。

关键词: 低值鱼; 种类; 酶解

文章编号: 1673-9078(2012)7-814-818

Comparison of Enzymatic Hydrolysis Effect on Different Kinds of Trash Fish and the Optimization of Hydrolysis Conditions

FAN Yun-ying

(Foshan Haitian Flavoring and Food Co., Ltd, Foshan 528000, Guangdong, China)

Abstract: The content of proteins and the enzymatic hydrolysis effects on different kinds of trash fishes were compared. And the enzymatic hydrolysis effects of *Hanergula zunasi* and *Clupanodon punctatus* were be modified. The results showed that the protein contents of *Decapterus maruadsi* and *Hanergula zunasi* are more than 17%, and for *Clupanodon punctatus*, *Setighnna taty*, *Hanergula zunasi*, *Mugil cephalus* and *Llisha elongata*, the protein contents were ranged in 15-16%. The enzymatic hydrolysis effects of *Decapterus maruadsi*, *Setighnna taty*, *Hanergula zunasi* and *Mugil cephalus* were better than those of *Hanergula zunasi*, *Clupanodon punctatus* and *Llisha elongate*. The best enzymes for *Hanergula zunasi* hydrolysis are the mixture of 0.05% papain, 0.1% Flavourzyme, 0.05% Alcalase and 0.15% trypsin, with which 86.07% of protein recovery, 49.24% of degree of hydrolysis and 11.30 ml of the production quantity were achieved. The best enzymes for *Clupanodon punctatus* were the mixute of 0.15% papain, 0.1% Flavourzyme, 0.05% Alcalase and 0.15% trypsin, with which 83.22% of protein recovery, 49.14% of degree of hydrolysis and 10.91 ml of the production quantity were achieved.

Key words: trash fish; different kinds; enzymatic hydrolysis

我国海洋渔业资源丰富, 是世界上水产品产量最大的国家之一。其中, 海洋捕捞的水产品中低值小杂鱼的产量占比较大, 一般占捕捞物的 28~59%^[1-3]。低值小杂鱼个体较小, 一般有较多细小骨刺, 部分由于脂肪含量高导致风味不佳, 使低值小杂鱼总体上来说都不适宜于直接食用, 因此较多用来生产养殖用饲料、鱼粉等低值产品, 或由于腐烂变质而直接作为废弃物丢弃, 导致大量食物资源的浪费, 也造成了环境的污染。低值小杂鱼的蛋白质含量较高, 一般为 15~18% 左右 (以湿基计), 是一个较好的蛋白资源来源。赵

收稿日期: 2012-03-28

基金项目: 广东省中国科学院全面战略合作项目 (2010A090100023)

作者简介: 范蕴莹 (1979-), 女, 工程师, 主要从事调味品食品工艺研究与应用

明等^[4-7]报道可将低值鱼通过复合蛋白酶深度酶解, 获得富含游离氨基酸和呈味肽的酶解液, 并以酶解液为原料, 制备获得酱香型美拉德反应产物。

在南海珠海海域海洋捕捞中有不少的低值鱼类, 常见的有蓝园鲹、青鳞鱼、金色小沙丁、斑鲮、鳊鱼、黄鲫、凤尾鱼、鲮鱼、头梅童鱼、刺鲳、红狼牙鰕虎鱼、小公鱼、海河、长蛇鲻、黄姑鱼、眼镜鱼、海龙等。在研究中发现, 不同种类的低值鱼其酶解效果差别较大, 这可能与不同低值鱼的营养组成差异较大有关。本文主要结合所获得的酶解液的氨基酸态氮含量和酶解清液数量来考虑, 通过对比不同种类低值鱼的酶解效果, 确定用于酶解的优质低值小杂鱼种类, 并对酶解效果欠佳的低值鱼的酶解方案进行优化。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蓝园鲹(*Decapterus maruadsi*)、青鳞鱼(*Hanergula zunasi*)、斑鲹(*Clupanodon punctatus*)、刺鲳(花仓)(*Psenopsis anomala*)、鳙鱼(蔬依尾)(*Llisha elongata*)、黄鲫(尖鼻)(*Setighnna taty*)、凤尾鱼(*Coil iamystus*)、鲮鱼(济鱼)(*Mugil cephalus*)、小公鱼(*Stolephorus anchovy*)、棘头梅童鱼(黄皮)(*Colichthy lueidus*): 购于珠海, 体长约 8~16 cm, 清洗后冷冻备用。

风味蛋白酶(Flavourzyme 500 L, 500 LAPU/g)、碱性蛋白酶(Alcalase 2.4 L, 2.4 AU/g): 购于诺维信公司。

胰蛋白酶(4000 U/g)、木瓜蛋白酶(8.0×10^5 U/g): 购于广西南宁庞博生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

派美牌 2046 型强力搅拌机: 三水合成塑料五金制品有限公司; HZS-H 型超级恒温水浴振荡器: 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司; T-3000 型电子天平: 常州双杰测试仪器厂; 电位自动滴定仪: 瑞士万通; UDK132 半自动凯氏定氮仪: 意大利 VELP。

1.3 方法

1.3.1 蛋白质测定方法

将低值鱼解冻清洗后, 用搅拌机绞碎, 以凯氏定氮法测定。

1.3.2 酶解清液的制备方法^[6]

将低值鱼解冻清洗后, 切块, 用搅拌机绞碎, 称重后加入 1:1 的蒸馏水, 高速匀浆, 用少量蒸馏水溶解 0.05% 碱性蛋白酶、0.05% 胰蛋白酶、0.1% 风味蛋

白酶, 和鱼浆混合均匀后, 水浴振荡加热至 55 °C, 恒温酶解 48 h。酶解结束后, 将酶解液加热至 95 °C 灭酶 20 min, 过滤, 除去沉渣和悬浮物, 添加食用冰醋酸调节酶解液总酸至 0.01 g/mL, 添加氯化钠至含量为 0.20 g/mL, 搅拌溶解均匀后, 静置分层 24 h。分层后去除上部悬浮物, 取下清液加入 0.6% 活性炭, 加热至 85 °C 搅拌保温 30 min 后, 过滤, 获得酶解清液。

1.3.3 总酸检测方法

甲醛滴定法。

1.3.4 氨基酸态氮检测方法

甲醛滴定法。

1.3.5 全氮检测方法

凯氏定氮法。

1.3.6 蛋白质利用率、氨基酸转化率、出品量

蛋白质利用率(%) = 酶解清液全氮(10^{-2} g/mL) × 酶解清液数量(mL) / 100×6.25 / [低值鱼蛋白质含量(%) × 低值鱼重量(g)] × 100%

注: 6.25-蛋白质折算系数。

氨基酸转化率(%) = 酶解清液氨基氮(10^{-2} g/mL) / 酶解清液全氮(10^{-2} g/mL) × 100%

出品量(mL) = [酶解清液体积(mL) × 酶解清液氨基氮含量(10^{-2} g/mL) / 0.6] / [低值鱼重量(g) × 低值鱼粗蛋白含量(%)]

注: 出品量-每克低值鱼粗蛋白可生产标准酶解清液(氨基氮含量为 0.6 g/100 mL) 的数量, 以 mL 计算; 0.6-标准酶解清液的氨基氮含量, g/100 mL。

2 结果与讨论

2.1 不同种类低值鱼酶解效果的比较

表 1 不同低值鱼的酶解效果比较

Table 1 Comparison of enzymatic hydrolysis effect on different kinds of trash fish

鱼种	鱼重/g	蛋白质含量/%	酶解清液氨基氮/(10^{-2} g/mL)	酶解清液全氮/(10^{-2} g/mL)	酶解清液体积/mL	蛋白质利用率/%	氨基酸转化率/%	出品量/mL
青鳞鱼	300.00	17.54	0.57	1.27	505.00	76.18	44.88	9.12
蓝园鲹	300.00	17.10	0.68	1.29	560.00	88.01	52.71	12.37
刺鲳	300.00	15.68	0.57	1.14	543.00	82.25	50.00	10.97
鲮鱼	300.00	15.23	0.60	1.19	521.00	84.81	50.42	11.40
鳙鱼	300.00	15.16	0.53	1.07	536.00	78.81	49.53	10.41
斑鲹	300.00	15.10	0.55	1.12	494.00	76.34	49.11	10.00
黄鲫	300.00	15.01	0.58	1.16	518.00	83.40	50.00	11.12
凤尾鱼	300.00	15.00	0.58	1.13	527.00	82.71	51.33	11.32
棘头梅童鱼	300.00	14.90	0.60	1.18	506.00	83.48	50.85	11.32
小公鱼	300.00	14.36	0.53	1.07	530.00	82.27	49.53	10.87

对珠海市场售卖较多的青鳞鱼、蓝园鲮、刺鲃、鲮鱼、斑鲮、黄鲫、凤尾鱼、棘头梅童鱼和小公鱼进行蛋白质含量测定, 并进行酶解效果的比较, 结果见表 1。

从表 1 可见, 10 种常见的低值鱼蛋白质含量有较大的差别, 青鳞鱼和蓝园鲮的蛋白质含量最高, 为 17% 以上, 刺鲃、鲮鱼、斑鲮、黄鲫的蛋白质含量居中, 为 15~16% 左右, 凤尾鱼、棘头梅童鱼、小公鱼的蛋白质含量最低, 为 15% 以下, 这与这几种鱼种个体比较细小、鱼骨含量比例较大有关。

对比这 10 种鱼类的酶解效果, 从蛋白质利用率来看, 其并不随着低值鱼粗蛋白的增加而增加, 蓝园鲮的利用率最高, 为 88.0%, 其次为鲮鱼、棘头梅童鱼、黄鲫、凤尾鱼、小公鱼、刺鲃, 而鲮鱼、斑鲮、青鳞鱼的蛋白质利用率则为最低, 均为 80% 以下。从氨基酸转化率来看, 也是蓝园鲮的转化率最高, 为 52.7%, 其次为凤尾鱼, 棘头梅童鱼、鲮鱼、刺鲃、黄鲫居中, 鲮鱼、小公鱼、斑鲮、青鳞鱼最低, 为 50% 以下。

从酶解清液的出品量来看, 出品量也并不随着低值鱼粗蛋白的增加而增加。蓝园鲮的酶解清液出品量最高, 达到 12.4 mL; 其次为鲮鱼、凤尾鱼、棘头梅童鱼、黄鲫、刺鲃和小公鱼, 出品量能达到 11 mL 左右; 鲮鱼、斑鲮、青鳞鱼最低。

综合蛋白质含量、蛋白质利用率、氨基酸转化率和酶解清液出品量来看, 蓝园鲮的酶解效果最好, 为最佳的酶解低值鱼种类。鲮鱼、凤尾鱼、棘头梅童鱼、黄鲫、刺鲃和小公鱼的酶解效果居中, 鲮鱼、斑鲮和青鳞鱼的酶解效果则较差。其中, 青鳞鱼作为蛋白质含量最高的低值鱼品种, 其蛋白质利用率、氨基酸转化率和出品量反而最低。据邓尚贵报道, 青鳞鱼的蛋白质含量较高, 但由于脂肪和血合肉的含量较高, 导致制品腥臭味重、口感差、易氧化变质等^[3,8]。从表 1 的数据来看, 青鳞鱼的蛋白质利用率和氨基酸转化率都偏低, 这显示了在酶解过程中, 青鳞鱼中有较多的蛋白质未被蛋白酶所分解, 残留于沉渣和悬浮物中尚未被利用, 从而也导致了酶解清液出品量偏低, 这可能与与其肌肉组成中脂肪含量较高, 从而造成酶解液中脂蛋白含量高, 清液回收率低有关。斑鲮、鲮鱼的蛋白质利用率、氨基酸转化率和酶解清液出品量也均偏低, 也是鱼体中粗蛋白未被完全利用的结果。这说明了原有的酶制剂使用方案并不适用于这 3 种低值鱼, 尤其是内切蛋白酶的数量可能不足。

在这 10 种低值鱼中, 蓝园鲮、青鳞鱼、斑鲮、刺鲃和黄鲫每年的汛期较长, 捕获量较多, 而鲮鱼、鲮鱼、凤尾鱼、棘头梅童鱼、小公鱼的汛期短、不稳定,

每年的捕捞量少。结合上述研究的比较结果, 选取捕获量较大的青鳞鱼和斑鲮作为进一步优化酶解效果的低值鱼种类。

2.2 低值鱼酶解效果的优化方案研究

由于青鳞鱼和斑鲮的蛋白质利用率与其他鱼种类相比差距较大, 可确定酶解过程中首先起作用的内切蛋白酶数量不足, 导致了氨基酸转化率和酶解清液出品量也偏低, 因此以出品量为综合考察结果, 在原使用碱性蛋白酶、胰蛋白酶和风味蛋白酶的基础上, 尝试增加木瓜蛋白酶来提高内切酶活力^[9], 并研究 4 种蛋白酶对青鳞鱼和斑鲮的最佳复合酶解方案。

在原酶解方案上, 分别研究不同加酶量对青鳞鱼和斑鲮酶解液出品量的影响。结果见图 1 和图 2。

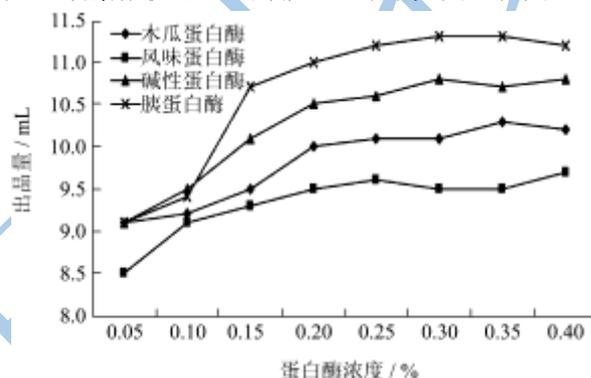


图 1 加酶量对出品量的影响 (青鳞鱼)

Fig.1 Effect of enzymes dosage on the production quantity (*Hanerugula zunasi*)

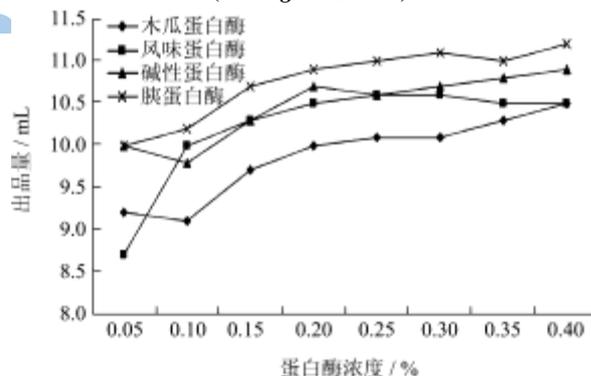


图 2 加酶量对出品量的影响 (斑鲮)

Fig.2 Effect of enzymes dosage on the production quantity (*Clupanodon punctatus*)

从图 1 和图 2 的结果来看, 单独增加木瓜蛋白酶、风味蛋白酶、碱性蛋白酶和胰蛋白酶都能提高青鳞鱼和斑鲮的出品量。0.10% 的风味蛋白酶比 0.05% 的出品量有明显提高, 后随着加酶量的增加出品量提高不明显。添加木瓜蛋白酶后出品量也有明显提升; 增加胰蛋白酶的用量, 出品量的提升也比较显著; 而增加碱性蛋白酶的用量, 出品量有提升但不显著。综合来看, 需采用正交试验分析确定最佳的复合酶解方案。根据

图 1 和图 2 的结果,设计试验方案表 2 进行正交试验。青鳞鱼酶解分析结果见表 3, 斑鲮酶解分析结果见表 4。

表 2 正交实验表

Table 2 Factors and levels in orthogonal experiment design

水平	因素			
	A (木瓜蛋白酶/%)	B (风味蛋白酶/%)	C (水解蛋白酶/%)	D (胰蛋白酶/%)
1	0.05	0.10	0.05	0.05
2	0.10	0.15	0.10	0.10
3	0.15	0.20	0.15	0.15
4	0.20	0.25	0.20	0.20

表 3 正交实验结果 (青鳞鱼)

Table 3 The results of orthogonal experiment (Hanergula zunasi)

试验号	A	B	C	D	空列	出品量/mL
1	1	2	3	2	3	9.5
2	3	4	1	2	2	9.9
3	2	4	3	3	4	10.6
4	4	2	1	3	1	11.0
5	1	3	1	4	4	10.5
6	3	1	3	4	1	11.1
7	2	1	1	1	3	9.2
8	4	3	3	1	2	9.4
9	1	1	4	3	2	10.8
10	3	3	2	3	3	11.3
11	2	3	4	2	1	10.7
12	4	1	2	2	4	10.6
13	1	4	2	1	1	9.3
14	3	2	4	1	4	9.5
15	2	2	2	4	2	10.9
16	4	4	4	4	3	11.4
T ₁	40.1	41.7	40.6	37.4	42.1	
T ₂	41.4	40.9	42.1	40.7	41.0	T=165.7
T ₃	41.8	41.9	40.6	43.7	41.4	$\sum y_i^2=1724.77$
T ₄	42.4	41.2	42.4	43.9	41.2	S _T =8.73
S	0.71	0.15	0.69	7.01	0.17	
来源	平方和	自由度	均方	F 比		
A(木瓜蛋白酶)	0.71	3	0.24	4.00		
B(风味蛋白酶)	0.15	3	0.05	0.83		
C(水解蛋白酶)	0.69	3	0.23	3.83		
D(胰蛋白酶)	7.01	3	2.34	39.00		
误差 e	0.17	3	0.06			
总计	8.73	15		F _{0.95} (3, 3) =9.28		

表 4 正交实验结果 (斑鲮)

Table 3 The results of orthogonal experiment (Clupanodon punctatus)

试验号	A	B	C	D	空列	出品量/mL
1	1	2	3	2	3	10.2
2	3	4	1	2	2	10.6
3	2	4	3	3	4	10.8
4	4	2	1	3	1	11.0
5	1	3	1	4	4	10.4
6	3	1	3	4	1	10.8
7	2	1	1	1	3	9.1
8	4	3	3	1	2	9.5
9	1	1	4	3	2	10.7
10	3	3	2	3	3	10.9
11	2	3	4	2	1	10.5
12	4	1	2	2	4	10.3
13	1	4	2	1	1	9.2
14	3	2	4	1	4	9.7
15	2	2	2	4	2	10.8
16	4	4	4	4	3	11.0
T ₁	40.5	40.9	41.1	37.5	41.5	T=165.5
T ₂	41.2	41.7	41.2	41.6	41.6	$\sum y_i^2=1717.9$
T ₃	42.0	41.3	41.3	43.4	41.2	1
T ₄	41.8	41.6	41.9	43.0	41.2	S _T =6.02
S	0.34	0.10	0.10	5.45	0.03	
来源	平方和	自由度	均方	F 比		
A(木瓜蛋白酶)	0.34	3	0.11	11.00		
B(风味蛋白酶)	0.10	3	0.03	3.00		
C(水解蛋白酶)	0.10	3	0.03	3.00		
D(胰蛋白酶)	5.45	3	1.82	182.00		
误差 e	0.03	3	0.01			
总计		15		F _{0.95} (3, 3) =9.28		

由表 3 方差分析结果可见, 当用 4 种蛋白酶进行复合酶解时, 不同浓度的胰蛋白酶对青鳞鱼酶解所获得的清液出品量显著不同, 而不同浓度的木瓜蛋白酶、风味蛋白酶和水解蛋白酶对酶解清液的出品量的影响则不显著, 因此胰蛋白酶的加酶量应选择较高水平, 而木瓜蛋白酶、风味蛋白酶和水解蛋白酶则从经济节约方面考虑则都可选择最低水平。当胰蛋白酶的加酶量为 0.15% 时, 平均出品量能达到 10.9 mL, 当加酶量为 0.20% 时, 平均出品量为 11.0 mL, 从经济节约和投入产出比效果方面考虑, 应选择 0.15% 比较合适。因此对于青鳞鱼来说, 4 种蛋白酶的最佳复合方案为 A₁B₁C₁D₃, 即木瓜蛋白酶 0.05%, 风味蛋白酶 0.1%, 碱性蛋白酶 0.05%, 胰蛋白酶 0.15%。以此蛋白酶组

合方案对青鳞鱼进行酶解,获得的酶解清液氨基氮为 0.65 g/100 mL,全氮为 1.32 g/100 mL,酶解清液 549 mL,蛋白质利用率为 86.07%,氨基酸转化率为 49.24%,酶解清液出品量为 11.30 mL。

由表 4 方差分析结果可见,当用 4 种蛋白酶进行复合酶解时,不同浓度的木瓜蛋白酶和胰蛋白酶对斑鲈酶解所获得的清液出品量影响显著,而不同浓度的风味蛋白酶和水解蛋白酶对酶解清液的出品量的影响则不明显,因此木瓜蛋白酶和胰蛋白酶的加酶量应选择较高水平,而风味蛋白酶和水解蛋白酶则从经济节约方面考虑则都可选择最低水平。当木瓜蛋白酶的加酶量为 0.15% 时,平均出品量即达到最高水平,为 10.5 mL,与加酶量为 0.20% 时基本一致,因此选择 0.15% 即可;胰蛋白酶的加酶量为 0.15% 时,平均出品量能达到 10.9 mL,与加酶量为 0.20% 时基本一致,因此也从经济节约和投入产出比效果方面考虑,选择 0.15% 即可。因此对于斑鲈来说,4 种蛋白酶的最佳复合方案为 A₃B₁C₁D₃,即木瓜蛋白酶 0.15%,风味蛋白酶 0.1%,碱性蛋白酶 0.05%,胰蛋白酶 0.15%。以此蛋白酶组合方案对斑鲈进行酶解,获得的酶解清液氨基氮为 0.57 g/100 mL,全氮为 1.16 g/100 mL,酶解清液 520 mL,蛋白质利用率为 83.22%,氨基酸转化率为 49.14%,酶解清液出品量为 10.91 mL。

3 结论

3.1 不同种类的低值鱼的蛋白质含量相差较大。蓝园鲈和青鳞鱼的蛋白质含量最高,为 17% 以上,黄鲫、斑鲈、刺鲳、鲮鱼、鳊鱼的蛋白质含量居中,为 15~16%,凤尾鱼、棘头梅童鱼、小公鱼的蛋白质含量最低,为 15% 以下。

3.2 综合蛋白质含量、蛋白质利用率、氨基酸转化率和酶解清液出品量来看,蓝园鲈的酶解效果最好,为

最佳的酶解低值鱼种类;鲮鱼、凤尾鱼、棘头梅童鱼、黄鲫、刺鲳和小公鱼的酶解效果居中;鳊鱼、斑鲈和青鳞鱼的酶解效果则较差。

3.3 将青鳞鱼的复合酶添加方案调整为:木瓜蛋白酶 0.05%,风味蛋白酶 0.1%,水解蛋白酶 0.05%,胰蛋白酶 0.15%,可提高蛋白质利用率为 86.07%,氨基酸转化率为 49.24%,酶解清液出品量为 11.30 mL。将斑鲈的复合酶添加方案调整为:木瓜蛋白酶 0.15%,风味蛋白酶 0.1%,水解蛋白酶 0.05%,胰蛋白酶 0.15%,可提高蛋白质利用率为 83.22%,氨基酸转化率为 49.14%,酶解清液出品量为 10.91 mL。

参考文献

- [1] 郑伟,石伟勇.低值鱼高值化研究进展综述[J].中国水产,2005,9:70-71
- [2] 谢燕,章超桦,刘书成,等.南海 8 种低值小杂鱼脂肪含量和脂肪酸组成分析[J].南方水产,2007,3(6):47-52
- [3] 邓尚贵.青鳞鱼鱼肉提取物在加热过程中的性质研究[J].福建水产,2000,1(3):17-22
- [4] 崔春,赵谋明,林伟锋,等.蓝园鲈快速自溶机理研究[J].食品工业科技,2005,26(2):85-87
- [5] 赵谋明,崔春,林伟锋,等.低值鱼深度酶解过程中的生化变化及其原因[J].中国调味品,2005,3(3):19-22
- [6] 赵谋明,崔春.利用低值鱼制备不同香型热反应香精的研究[J].食品科技,2006,9:148-151
- [7] 崔春,赵谋明,刘珊,等.低值鱼蛋白酶解产物对酱香型美拉德反应产物风味的影响[J].现代食品科技,2006,2(88):9-12
- [8] 王杏珠.青鳞鱼加工和利用的研究[J].食品科学,1995,16(12):38-42
- [9] 赵珊珊,朱志伟,曾庆孝,等.不同蛋白酶酶解罗非鱼肉制备蛋白水解液的过程变化规律研究[J].现代食品科技,2008,2(24):115-119