

不同干燥方法对海鳗鱼片几种内源酶活力的影响

李佳, 万金庆, 邹磊, 钟耀广

(上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 干燥能赋予水产品独特风味, 而这些风味物质的形成与内源酶有关。本实验通过检测冰温真空干燥, 真空冷冻干燥和热风干燥海鳗鱼片中对滋味起主要作用的内源酶(AMP 脱氨酶、酸性磷酸酶、组织蛋白酶 B 和亮氨酸氨肽酶)活力和其催化形成的滋味物质(IMP 和游离氨基酸)的含量, 以探究不同干燥处理对内源酶的影响。结果表明: 干燥后 AMP 脱氨酶、酸性磷酸酶、组织蛋白酶 B 和亮氨酸氨肽酶潜在活力均降低, 真空冷冻干燥鱼片的 4 种酶活力保存率最高, 分别为 92.99%、85.58%、65.53% 和 54.26%, 冰温真空干燥次之, 热风干燥最低。不同干燥方法鱼片中 IMP 含量间有显著性差异, 冰温真空干燥鱼片含量最高, 从最初的 174.37 mg/100 g(干基)增加到 625.08 mg/100 g, 且游离氨基酸含量增幅最高, 达 33.07%。因此, 冰温真空干燥的海鳗鱼片, 4 种酶活力保存较好, 滋味物质含量最高。

关键词: 冰温真空干燥; 真空冷冻干燥; 热风干燥; 海鳗内源酶活力; IMP; 游离氨基酸

文章编号: 1673-9078(2015)8-254-260

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.040

Effect of Different Drying Methods on Several Endogenous Enzyme

Activities of *Muraenesox cinereus* Fillets

LI Jia, WAN Jin-qing, ZOU Lei, ZHONG Yao-guang

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Drying can endow aquatic products with unique flavor, whose formation is related to endogenous enzymes. In this study, the effects of different drying methods on enzyme activities and their metabolites inosine monophosphate (IMP) and free amino acid contents of *Muraenesox cinereus* fillets were investigated. Several enzymes playing the leading role in taste substances (such as AMP deaminase, acid phosphatase, cathepsin B and leucyl aminopeptidase) were selected. The drying methods included controlled freezing-point vacuum (CFVD), vacuum freeze drying (VFD) and hot air drying (HAD). Results showed that potential activities of the four enzymes mentioned above were decreased after drying. The highest retention of enzyme activities of fillets was observed in VFD, representing 92.99%, 85.58%, 65.53% and 54.26%, respectively, followed by CFVD. While HAD fillets had the lowest enzyme activities. The IMP and free amino acid contents in CFVD fillets were significantly higher than those in other treatments. IMP content increased from 174.37 mg / 100 g (dry basis) to 625.08 mg/100 g and free amino acid content increased by 33.07%. Therefore, four kinds of enzyme in CFVD fillets reach better retention in activities and the highest conversion rate.

Key words: controlled freezing-point vacuum drying; vacuum freeze drying; hot air drying; inosine monophosphate; free amino acid; endogenous enzyme activities of *Muraenesox cinereus*

海鳗 (*Muraenesox cinereus*), 肉质细滑、味道鲜美, 营养丰富, 且有一定的药用功能, 历来被称为优质食用鱼类, 但常温条件下极易腐败变质, 贮藏期较短, 必须采取有效手段进行保藏和加工处理。干燥是食品保藏的重要手段之一, 其主要是通过不同手段去除水分, 抑制或减缓微生物的生长繁殖, 降低制品内部生化反应速率, 从而延长食品的货架期^[1]。然而, 不同的干燥方式对食品的品质有很大影响。热风

收稿日期: 2015-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171764)

作者简介: 李佳(1988-), 女, 在读研究生, 研究方向: 水产品保鲜

通讯作者: 万金庆(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品保鲜

干燥后食品色泽、风味及复水性较差, 营养成分损失大。真空冷冻干燥虽然能保持产品的色、香、味和营养成分, 但设备昂贵, 效率低, 耗能大, 成本高。冰温真空干燥是在真空条件下, 控制物料温度在冰点范围内进行脱水的技术, 此种技术能最大限度保留食品营养成分。庞文燕等^[2]和陈青云^[3]等研究上述三种干燥方式对鱼片品质的影响, 结果显示: 干燥后冰温真空干燥鱼片的鲜味物质 IMP 含量可达真空冷冻干燥的 2 倍, 且色泽, 复水率均高于热风干燥的鱼片。

干燥能赋予水产品独特风味, 主要包括滋味(肌肉蛋白质水解产生的游离氨基酸、小分子多肽以及三磷酸腺苷降解产生的肌苷酸(IMP))和气味(脂肪氧化

分解和某些游离氨基酸进一步降解产生的醛、酮等挥发性物质)。而这些风味物质的形成与参与生物化学反应的內源性蛋白水解酶, 氨肽酶, 核苷酸酶和脂酶等有关。肌肉蛋白质降解主要是由组织蛋白酶 B、L、D 和 H 等內源蛋白酶引起的, 特别是组织蛋白酶 B, 具有广泛的底物特异性, 是肌肉中重要的內肽酶^[4]。氨肽酶主要在蛋白质降解的后期, 将各种內肽酶的降解产物分解, 产生游离氨基酸和小肽。其中, 亮氨酸氨肽酶是一类能水解以亮氨酸残基为氨基末端的蛋白质或多肽的酶类, 由于其底物、结构的特异性以及分布的广泛性, 已成为氨肽酶家族中最典型的代表^[5]。IMP 是由 ATP 经一系列反应生成 AMP 后, 经 AMP 脱氨酶催化生成的, 同时在磷酸酶的作用下进一步降解生成肌苷(HxR)和次黄嘌呤(Hx)。磷酸酶根据最适 pH 的不同, 可分为碱性磷酸酶(ALP, EC3.1.3.1)和酸性磷酸酶(ACP, EC3.1.3.2)。

目前关于鱼类內源酶的研究, 主要集中在酶的提取纯化, 性质研究。对于內源酶对风味形成影响的研究都集中在干腌火腿^[4,6], 且高瑞昌^[7]等仅对腌干鲢鱼风味形成中的组织蛋白酶 B, L 作用做了相关研究, 并未探讨核苷酸酶的作用。不同干燥条件对水产品內源酶(核苷酸酶及组织蛋白酶类)活力影响尚未知。本实验以海鳗为实验原料, 选取了几种对滋味起主要作用的內源酶(AMP 脱氨酶, ACP, 组织蛋白酶 B 和亮氨酸氨肽酶), 通过检测冰温

真空干燥, 真空冷冻干燥和热风干燥鱼片中活力和其催化形成的滋味物质(IMP, 游离氨基酸)含量, 以探究不同干燥条件下海鳗鱼片內源酶活力的变化, 以及鱼片滋味物质的产生与酶活力的关系, 以便为干制水产品风味变化机理提供理论指导。

1 实验材料和方法

1.1 实验材料

海鳗, 2014 年 7 月购于上海市铜川路水产品贸易市场, 体重 1500~1600 g/尾。购买后迅速充氧运回实验室, 置于保活箱中蓄养 1~2 h 后宰杀, 取其脊背肉, 去除红肉, 切成长约 5 cm×2 cm×0.5 cm 的鱼片, 用矿泉水清洗 3 遍, 然后滤纸擦干, 用真空袋包装以备用。

1.2 实验试剂与设备

1.2.1 实验试剂

三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、肌苷酸(IMP)、次黄嘌呤(Hx)、聚氧乙烯月桂醚(Brij-35)、TritonX-100、三羟甲基氮甲烷(Trizma base)、苯氧羧

基-精氨酸-精氨酸-酰胺-甲基香豆素(Z-Arg-Arg-AMC)、L-亮氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素(Leu-AMC)、7-氨基-4-甲基香豆素(AMC), Sigma 公司; 一磷酸腺苷(AMP)、次黄嘌呤核苷(HxR)标准品, 日本 TCI 公司; 甲醇、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾, 色谱纯, 上海安谱科学仪器有限公司; 氢氧化钾、氯化钠、氯化钾、磷酸、咪唑、蔗糖、铁氰化钾、磷酸苯二钠、三氯乙酸(TCA)、高氯酸(PCA)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、牛血清蛋白(BSA), 分析纯, 上海国药集团化学试剂有限公司。

1.2.2 实验设备

DHG-9053A 电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; Minifast-04 真空冷冻干燥机, 上海法德威化工科技有限公司; Avanti J-26XP 高效离心机, 美国 Beckman Coulter 公司; RF-5301PC 荧光分光光度计, 日本岛津公司; L-8800 氨基酸全自动分析仪, HITACHI 公司; Waters E2695 高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; AUW320 电子分析天平, 日本岛津公司; Agilent-34972A 温度采集仪, 安捷伦公司; FA25-18G 电动匀浆机, Fluko 公司; 雷磁 PHS-3C 酸度计, 上海精密科学仪器有限公司。

自行研制的冰温真空干燥实验装置, 如图 1 所示, 鱼片均匀放置在钢丝网托盘上, 鱼片的重量变化通过重力传感器实时监控。Pt100 温度传感器 I 和 T 型热电偶温度传感器 II 分别测量电加热板和鱼片的温度, 温度信号经 Agilent-34972A 温度采集仪采集。压力传感器监测真空干燥箱的压力变化。渗气阀 II 的开启, 便于鱼片中水蒸气的逸出, 渗气阀 I 起到维持真空压力恒定的作用。

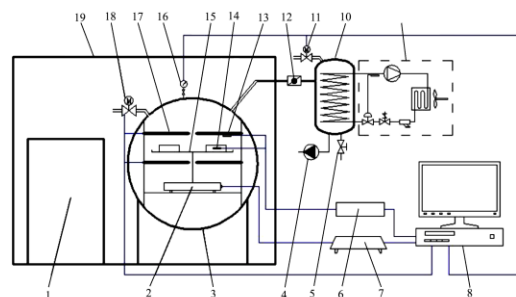


图 1 冰温真空干燥装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of controlled freezing-point vacuum drying device

注: 1.冷库门, 2.重力传感器, 3.真空干燥箱, 4.真空泵, 5.排水阀, 6.温度采集仪, 7.电子天平, 8.计算机采集及控制系统, 9.制冷系统, 10.冷阱, 11.渗气阀 I, 12.蝶阀, 13.温度传感器 I, 14.温度传感器 II, 15.钢丝网物料托盘, 16.压力传感器, 17.电加热板, 18.渗气阀 II, 19.冷库。

1.3 实验方法

1.3.1 冰点测定

将 T 型热电偶插入海鳗体表下约 0.5 cm 处并固定, 放入 -18 °C 冻藏室, 用 Agilent-34972A 温度采集仪, 每间隔 10 s 采集一次温度 (精确度 ± 0.1 °C), 试验结束后绘制冻结曲线, 确定冰温带范围。

1.3.2 不同干燥方式设定及干燥曲线

冰温真空干燥: 冷库设为 -1 °C, 真空箱压力为 1400 Pa~1500 Pa, 实验通过控制渗气方式 (渗气阀 I 或渗气阀 II 渗气)、电加热板温度和冷库温度使干燥控制在冰温带范围内; 热风干燥: 温度 50 °C, 风速 1.5 m/s; 冷冻干燥: 预冻温度 -30 °C, 升华干燥加热板温度 -20 °C, 解析干燥加热板温度为 20 °C, 干燥室压力 25~35 Pa。鱼片最终含水率为 20~30% 左右, 停止干燥。

1.3.3 蛋白质浓度的测定

测定参照 Lowry^[8]方法, 以牛血清白蛋白 BSA 作标准蛋白。

1.3.4 ATP 及其关联化合物测定

参考 Yokoyama^[9]的方法, 略有改动。分别称取新鲜样品 5 g, 干燥样品 1.5 g, 加入 10 mL 10% 的高氯酸, 匀浆, 然后用冷冻离心机转速 10000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 沉淀用 5 mL 5% 的高氯酸洗涤, 再离心取上清液, 重复操作 2 次, 合并上清液。滴加 10 mol/L 和 1 mol/L 的 KOH 调 pH 至 6.5, 静置 30 min 后取上清液定容至 50 mL。摇匀, 用 0.45 μ m 膜过滤后测定。整个过程在 0~4 °C 下操作。

ATP 关联物的检测: 采用高效液相色谱仪分析, 条件: GL Sciences 公司 Inertsil ODS-SP C18 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m) 液相色谱柱; 保护柱柱芯: Inertsil ODS-SP (4 mm \times 10 mm, 5 μ m); 流动相: A 为 0.05 mol/L 磷酸二氢钾和磷酸氢二钾 (1:1) (上海安谱科学仪器公司, 中国) 溶液, 用磷酸调至 pH 为 6.5, B 为甲醇溶液; 等梯度洗脱; 流速: 1 mL/min; 柱温: 28 °C; 进样量: 10 μ L; 检测波长: 254 nm。

1.3.5 游离氨基酸的检测

参考 Maruji^[10]方法, 略有改动。取剁粹的鱼肉各 2 g 加入 15 mL 15% 三氯乙酸, 匀浆 2 min, 静置 2 h 后离心 (10000 r/min, 4 °C, 15 min), 取 5 mL 上清液, 用 NaOH (3 mol/L) 溶液调节 pH 至 2.0 左右, 用超纯水定容至 10 mL, 用 0.45 μ m 微孔过滤后待测。分析条件: L-8800 型氨基酸自动分析仪, 样品分析周期 53 min。色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm, 7 μ m); 通道 1 流速: 0.4 mL/min, 通道 2 流速: 0.35 mL/min; 柱温:

50 °C。流动相: 柠檬酸和柠檬酸钠混合缓冲液 (pH 分别为 3.3、3.2、4.0、4.9) 和浓度 4% 茚三酮缓冲液。

1.3.6 鱼肉中 AMP 脱氨酶的提取及活力测定

提取和活力测定参照 Lushchak^[11]的方法, 并作了适当修改。鱼肉绞碎后, 按料液比 1:5 加入提取液 (250 mmol/L 蔗糖, 20 mmol/L 咪唑-HCl, 150 mmol/L KCl, 少量 PMSF) 匀浆。然后离心 30 min (12000 r/min, 4 °C), 上清液即为粗酶液。

测定: 取 2 mL 反应液 (50 mmol/L 咪唑-HCl, pH7.0, 2 mmol/L AMP, 150 mmol/L KCl) 于 30 °C 下保温 5 min, 然后加入 0.1 mL AMP 脱氨酶粗液, 立即计时反应, 15 min 后加入 2 mL 10% 的高氯酸溶液终止反应。反应结束后, 在 285 nm 处, 用光程 10 mm 的石英比色皿, 以水为参比测量其吸光度。对照实验同上, 反应底物保温后用冰水预冷, 加高氯酸溶液后再加酶液。在上述条件下每分钟吸光值改变 0.001 为一个活力单位, 测定结果表示为每克鱼肉所含的 AMP 脱氨酶活力单位, 即 U/g。

1.3.7 鱼肉中酸性磷酸酶的提取及活力测定

ACP 的提取参照王彩霞^[12]的方法, 并作了适当修改。鱼肉绞碎后, 按料液比 1:3 加入 0.1 mol/L NaAc-HAc 缓冲液 (pH 5.0, 含 5 mmol/L 的巯基乙醇和 30% 甘油) 匀浆。匀浆后于 4 °C 下浸提 4 h, 离心 20 min (12000 r/min, 4 °C), 则上清液为粗酶液。

ACP 活力测定方法: 取 0.1 mL 的粗酶液加入 1.0 mL 0.2 mol/L 柠檬酸盐缓冲液 (pH 4.9), 并于 37 °C 预热 5 min, 加入 1.0 mL 0.02 mol/L 的磷酸苯二钠, 混匀后于 37 °C 保温 60 min, 再加入 2.0 mL 的碱性溶液和 3.0 mL 的铁氰化钾后混匀, 于 520 nm 的波长下测定吸光值。磷酸酶活力单位 (U) 定义: 在该条件下每分钟产生 1 μ mol 酚所需的酶量, 测定结果表示为每克鱼肉所含的磷酸酶活力单位, 即 U/g。

1.3.8 组织蛋白酶 B 的提取及活力测定

提取和测定参考 Floris^[6]的方法, 并作适当的修改。将鱼肉剔除可见红肉和脂肪, 切碎, 按照 300 mg 肌肉: 1 mL 提取液, 加入提取液 (100 mmol/L 乙酸盐缓冲液, pH 5.5, 1 mmol/L EDTA, 0.2% (V/V) TritonX-100), 在冰浴条件下用均质机高速均质 2 次 (5500 r/min, 每次 20 s, 间隔 10 s)。然后将均质液离心 30 min (4 °C, 12000 r/min) 离心, 上清液为组织蛋白酶 B 的粗液。

活力测定: 取 250 μ L 粗酶液放入实验管中, 加入 250 μ L 0.1% 的 Brij35 将粗提取液进行稀释, 然后加入 250 μ L 反应缓冲液 (250 mmol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄, pH 6.0, 2.5 mmol/L Na₂-EDTA, 5 mmol/L 巯基乙醇),

于 40 °C 水浴预热 5 min, 同时预热反应底物 5 min, 然后加入 250 μL 反应底物浓度为 20 μmol/L 的 Z-Arg-Arg-AMC (底物最终浓度为 5 μmol/L) 于 40 °C 计时反应 10 min, 加入 2 mL 的反应终止液 (30 mmol/L 乙酸钠, 70 mmol/L 乙酸, 100 mmol/L 氯乙酸, pH 4.3)。空白样, 对照组先加终止液后加酶液。然后利用荧光分光光度计测定反应后释放的 7-氨基-4-甲基香豆素 (AMC) 的荧光强度, 活力测定的激发波长为 360 nm, 发射波长 440 nm。

1.3.9 鱼肉亮氨酸氨肽酶的提取及活力测定

酶提取参考 Liu^[13] 的方法, 并进行了适当的修改。取 1.5 g 左右 (精确到 0.001 g) 绞碎鱼肉, 加入 3 倍体积的 25 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0, 含有 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟, 1 mmol/L 巯基乙醇) 中, 在 4 °C 的条件下高速匀浆 3 次 (22000 r/min, 每次 10 s, 间隔 20 s), 冷冻离心 (12000 r/min, 4 °C, 15 min), 上清液为粗酶液。

酶活力的测定方法: 取适当稀释的粗酶液 (100 μL) 加入 850 μL 磷酸缓冲液 (25 mmol/L, pH 7.0, 含有 1 mmol/L 巯基乙醇和 0.03% NaN₃) 中, 再加入 10 μmol/L 荧光合成底物 (Leu-AMC) 50 μL 并同时开始计时, 在 37 °C 条件下反应 10 min 后立即加入 2 mL 终止液 [V(甲醇):V(异丙醇):V(水)=35:30:35] 终止反应。空白样, 对照组先加终止液后加酶液。然后用荧光分光光度计于激发波长 360 nm, 发射波长 440 nm 下测定荧光产物 AMC 的释放量。

1.3.10 数据处理

采用 SPSS 17.0 和 Excel 2007 分析处理实验数据。所有实验都有三个平行样品, 结果用“平均值±标准偏差”的形式, 显著性差异通过一维方差分析 (ANOVA) 和 Duncan 多项极差检验法分析, 显著性水平为 p<0.05。

2 结果与讨论

2.1 冰点测定

由图 2 可知, 海鳗的冻结点在 -1.4 °C 左右, 即冰温带为 -1.4 °C~0 °C。为使海鳗鱼片在冰温带范围内干燥, 应将冰温真空装置的温度严格控制在 -0.7±0.5 °C。

2.2 海鳗鱼片干燥曲线

图 3 为海鳗鱼片在三种干燥方式下的干燥速率曲线。随着干燥时间的增加, 鱼片中的水分含量逐渐降低。由于热风干燥的温度较高, 鱼片中的水分蒸发速

率快, 10 h 后达到干燥终点 (22.80%); 其次是冰温真空干燥, 24 h 后鱼片含水率为 26.34%。真空冷冻干燥速率最慢, 需要 28 h。

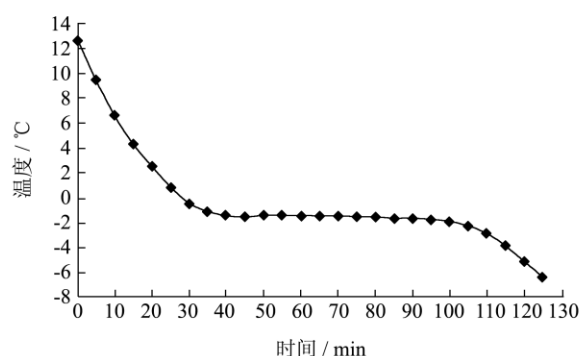


图 2 海鳗冻结曲线

Fig.2 The freezing curve of *Muraenox cinereus*

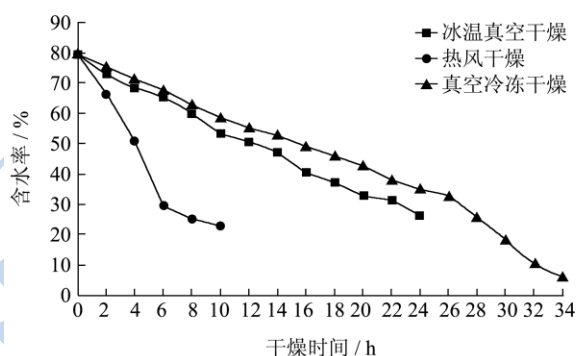


图 3 三种干燥方式下的干燥速率曲线

Fig.3 The drying rate curves of three kinds of drying methods

2.3 酸性磷酸酶 (ACP) 及 AMP 脱氨酶比活力

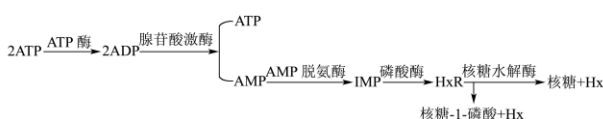


图 4 ATP 的降解途径

Fig.4 The degradation pathway of ATP

ATP 及其关联化合物与水产原料的风味和新鲜度紧密相关, 在鱼死后 ATP 的降解途径如图 4 所示。其中对鱼肉滋味起作用的主要是肌苷酸 IMP, 它是一种鲜味极强的增鲜剂, 与谷氨酸共存时能降低阈值, 增强鲜味。IMP 在磷酸酶作用下会被进一步降解为肌苷 (HxR) 和次黄嘌呤 (Hx), Hx 具有难以接受的苦味, 使鲜度下降, 但由于这个过程中生成快, 降解慢, IMP 经历一段时间后达到高峰。

ACP 及 AMP 脱氨酶对 IMP 含量的变化起着重要的影响, 其活力变化如表 1 所示。干燥后海鳗鱼片中 AMP 脱氨酶和酸性磷酸酶比活力均降低, 真空冷冻干

燥的酶比活力保留率最高, 分别为 92.99%, 85.58%, 与新鲜样酶活力较接近, 冰温真空干燥的次之, 热风干燥的最低。且不同干燥方式处理的鱼片中两种酶活力均有显著性差异 ($p < 0.05$)。其中, 热风干燥的 AMP 脱氨酶比活力保留率为 40.83%, 降低幅度最大, 这可

能是因为其最佳反应温度是 35~37 °C, 当温度超过 42 °C 时, 反应速度下降平缓, 当超过 52 °C, AMP 脱氨酶严重变性失活^[4], 反应速度快速下降, 而本实验热风干燥温度为 50 °C, 不利于酶活力的保存。

表 1 不同处理的磷酸酶和 AMP 脱氨酶比活力

Table 1 Specific activity of phosphatase and AMP-deaminase in different treatments

不同干燥方式	酸性磷酸酶(ACP)		AMP脱氨酶	
	酶比活力/(U/g)	酶活力保留率/%	酶比活力/(U/g)	酶活力保留率/%
新鲜样品	34.47±0.61 ^a	-	8.67±0.12 ^a	-
冰温真空干燥	26.57±1.02 ^c	77.08%	6.23±0.43 ^b	71.86%
真空冷冻干燥	30.19±2.14 ^b	85.58%	8.06±0.11 ^a	92.99%
热风干燥	19.80±0.91 ^d	57.45%	3.54±0.23 ^c	40.83%

注: 平行样为 3, 相同字母表示无显著性差异 ($p > 0.05$)。

2.4 核苷酸 ATP、AMP 及 IMP 分析

不同处理方式的 ATP、IMP 和 AMP 变化如图 5 所示, 与新鲜样相比, 冰温真空干燥和热风干燥鱼片中 ATP 迅速降解, 由初始的 781.86 mg/100 g (干基) 降到 21.39 mg/100 g, 而冷冻干燥的 ATP 含量高于另外 2 种干燥方式, 大部分被保留。冰温真空干燥的 ATP 含量与热风干燥间无显著性差异 ($p > 0.05$)。除热风干燥以外, 另外 2 种干燥方式鱼片中 AMP 含量均增加, 由初始的 50.84 mg/100 g (干基) 增加到 141.87 mg/100 g, 冷冻干燥鱼片中 AMP 含量显著高于其他干燥处理鱼片的含量 ($p < 0.05$)。冰温真空干燥鱼片中 IMP 含量与其他处理间有显著性差异, 增幅最高, 从最初的 174.37 mg/100 g (干基) 增加到 625.08 mg/100 g, 而真空冷冻干燥的含量最低 (228.36 mg/100 g)。

本实验酶活力测定是在酶的最适条件下进行的, 因此所测活力实际上是酶的潜在活力, 不是干燥过程中酶的实际活力, 而 AMP、IMP 含量可以从侧面反映实际酶活力大小。从表 1 和图 5 可知, 酶活力与其催化产物含量间未成正相关, 这可能与干燥过程有关。王彩霞^[1]等测得不同淡水鱼 ACP 酶的最适反应温度为 37~60 °C, 热风干燥的温度高, 水分蒸发速率快, 提高酶的浓度, 叶炜^[4]等研究表明, 当 AMP 脱氨酶质量浓度在小于 0.013 g/mL 范围内递增时, 催化反应速率与酶浓度成正比。故实际酶活高, ATP, AMP 分解彻底, 大部分 ATP 转化成 IMP, 使其含量高于鲜样。升华干燥是真空冷冻干燥的主要部分 (干燥时间约占总干燥时间 70% 左右), 搁板温度为 -20 °C, 鱼片中的自由水处于冻结状态, 阻止了酶与底物的接触, 酶并

未发挥作用, 大部分 ATP, AMP 被保留, 产生 IMP 少。而冰温真空干燥处于特殊的温度, 真空条件下随着水分蒸发, ATP 酶和 AMP 脱氨酶浓度逐步增大, 催化反应速率增加, ATP 逐步分解, 且低温抑制 ACP 酶活性, 使得 IMP 逐步累积。

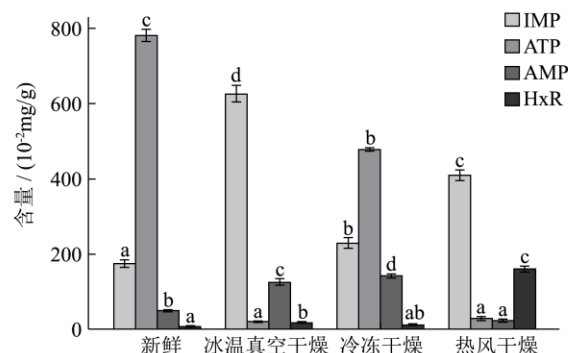


图 5 不同干燥方式海鳗 ATP、AMP 和 IMP 含量的变化

Fig.5 Changes of ATP, AMP and IMP contents of different treatments

2.5 组织蛋白酶 B 与亮氨酸氨肽酶比活力变化

不同处理鱼片中组织蛋白酶 B 和亮氨酸氨肽酶的比活力变化如表 2 所示, 干燥后鱼片中酶比活力均降低。其中, 真空冷冻干燥鱼片中两种酶比活力保留率均最高, 分别达到 65.53% 和 54.26%, 冰温真空干燥次之, 热风干燥最小。数据分析显示, 不同处理鱼片中组织蛋白酶 B 比活力有显著性差异, 而冰温真空干燥和真空冷冻干燥的亮氨酸氨肽酶比活力间无显著性差异 ($p > 0.05$)。

表 2 不同处理方式海鳗鱼片组织蛋白酶 B 和亮氨酰氨肽酶的比活力

Table 2 Specific activity of cathepsin B and leucyl aminopeptidase in different treatments of filets

不同处理方式	亮氨酰氨肽酶		组织蛋白酶 B	
	酶比活力/(U/g)	酶活力保留率/%	酶比活力/(U/g)	酶活力保留率/%
新鲜样品	25.15±0.45 ^a	-	26.68±0.15 ^a	-
冰温真空干燥	13.22±0.91 ^b	52.56	16.44±0.24 ^c	61.62
真空冷冻干燥	13.65±0.23 ^b	54.26	17.49±0.77 ^b	65.53
热风干燥	12.01±0.15 ^c	47.75	14.69±0.18 ^d	55.06%

注：平行样为 3，相同字母表示无显著性差异 (p>0.05)。

2.6 游离氨基酸分析

游离氨基酸主要是由多肽和蛋白质在氨肽酶的作用下水解产生的，所以其含量可以从侧面反应组织蛋白水解酶和亮氨酰氨肽酶实际活力。表 3 列出了不同处理海鳗鱼片中 6 种主要的呈味游离氨基酸和游离氨基酸总量变化。干燥后游离氨基酸总量 (TFAA) 和呈味游离氨基酸含量均增加，冰温真空干燥增幅最高，达 33.07%，热风干燥增幅最小 (7.96%)。许多研究表明干腌火腿中的游离氨基酸浓度在整个加工过程中都增加，其中以干燥期增加最快，本实验结果与之相符^[6, 15]。呈味游离氨基酸中，甘氨酸、谷氨酸是鲜味物质，与 IMP 有协同增效作用。从表 3 中可以看出谷氨酸含量高于其阈值，说明其对滋味的贡献最大，冰温真空干燥后增加 12.51%，冷冻干燥增加最少。精

氨酸虽然干燥后含量增幅最高，但远远低于其阈值，不会对滋味有影响。干燥后鱼片中组织蛋白酶 B 和亮氨酰氨肽酶均保持较高的活力，其对蛋白质的降解有重要作用，真空冷冻干燥鱼片的游离氨基酸含量的增幅与酶活力不一致。这可能与冷冻干燥的机理有关，搁板温度在 -20 °C 左右，鱼肉组织自由水处于冻结状态，抑制酶与底物的接触。热风干燥的增幅较小，一方面可能是蛋白酶活力低，产生的量少，另一方面可能是某些氨基酸参与美拉德反应，生成小分子的醛，酮等风味物质^[16]。陈青云^[3]等研究不同干燥方式对海鳗鱼片挥发性物质影响，结果显示热风干燥鱼片中对风味起主要作用的醛，酮含量及种类最高，冰温真空干燥与冷冻干燥后均降低。这也从侧面证明热风干燥的游离氨基酸含量增加少。

表 3 不同干燥方式海鳗鱼片中游离氨基酸含量的变化 (mg/100 g, 湿基)

Table 3 Change of free amino acids content in different treatment of *Muraenesox cinereus* filets (mg/100 g, wet basis)

不同干燥方式	含量/(mg/100g,湿基)								
	苏氨酸 Thr	谷氨酸 Glu	甘氨酸 Gly	异亮氨酸 Ile	亮氨酸 Leu	精氨酸 Arg	呈味氨基酸 总量	游离氨基酸 总量(TFAA)	
新鲜样品	冰温真空干燥	2.59±0.80	5.70±0.04	28.39±2.57	2.65±0.19	5.97±0.24	1.81±0.12	47.11±3.87	102.25±7.11
	冷冻干燥	2.73±0.72	5.64±0.54	31.13±1.86	4.00±0.23	6.27±0.16	2.74±0.40	52.51±2.65	112.43±2.17
	热风干燥	3.91±0.03	5.08±0.14	28.61±0.77	2.43±0.12	6.37±0.01	1.53±0.22	47.93±1.27	104.49±2.40
干燥结束	冰温真空干燥	3.31±0.04	6.41±0.46	45.17±0.21	3.18±0.01	8.52±0.21	6.38±0.02	72.97±0.90	136.06±0.74
	冷冻干燥	2.95±0.04	5.65±0.01	45.26±0.27	4.65±0.04	7.65±0.22	3.08±1.17	69.24±1.58	133.86±1.59
	热风干燥	3.78±0.58	5.50±0.08	32.93±2.45	2.59±0.58	6.54±0.64	6.42±0.04	57.76±4.38	112.81±6.93
增幅	冰温真空干燥	27.70%	12.51%	59.11%	19.72%	42.68%	251.01%	54.89%	33.07%
	冷冻干燥	8.09%	0.14%	45.39%	16.00%	21.88%	12.10%	31.86%	19.06%
	热风干燥	-3.32%	8.26%	15.10%	6.61%	2.67%	318.14%	20.50%	7.96%
阈值	260	5	130	190	90	50			
呈味	甜味	鲜味	鲜甜味	苦味	苦味	苦味			

注：游离氨基酸总量 (TFAA) 共包括 17 种氨基酸：天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸、脯氨酸；本文主要列出了 6 种呈味游离氨基酸和游离氨基酸总量的变化情况。

3 结论

经真空冷冻干燥，冰温真空干燥和热风干燥后，海鳗鱼片中 AMP 脱氨酶，酸性磷酸酶，组织蛋白酶 B

和亮氨酸氨酶潜在比活力均降低,前2种干燥方式的鱼片酶活力较高,而热风干燥的最低,说明低温有助于酶活力的保存。滋味物质 IMP 和游离氨基酸总量,冰温真空干燥鱼片中含量最高,真空冷冻干燥的 IMP 含量最低,热风干燥的游离氨基酸含量最低,酶潜在活力大小与滋味物质含量并未存在正相关,可能与干燥过程中温度,水分活度,真空度,物料的状态,以及酶的交互作用有关,并不能通过单一的酶活高低来解释其催化产物量的高低。干燥过程较复杂,目前条件很难模拟干燥条件测得真实酶活,只能结合潜在活力与其催化产物量综合表示。真空冷冻干燥的潜在酶活最高,是否会在继续干燥中产生更多的滋味物质,值得今后工作去探索研究。综合以上分析,冰温真空干燥对海鳗鱼片4种内源酶活力保存较好,滋味物质含量最高,在海鳗鱼片的加工中具有良好应用前景。

参考文献

- [1] Mujumdar A S, Law C L. Drying technology: trends and applications in postharvest processing [J]. Food and Bioprocess Technology, 2010, 3(6): 843-852
- [2] 庞文燕,王金庆,姚志勇,等.不同干燥方式对青鱼片鲜度的影响[J].广东农业科学,2013,40(15):124-126
PANG Wen-yan, WAN Jin-qing, YAO Zhi-yong, et al. Effects of different drying methods on freshness of black cap fillet [J]. Guangdong agricultural science, 2013, 40(15): 124-126
- [3] 陈青云,王金庆,齐自元,等.冰温真空干燥海鳗鱼片的鲜度和挥发性成分的对比研究[J].现代食品科技, 2014, 30(3): 210-215
CHEN Qing-yun, WAN Jin-qing, QI Zi-yuan, et al. Freshness and volatile compounds of muraenesox cinereus fillet with ice-temperature vacuum drying [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(3): 210-215
- [4] Toldra F. Curing: dry [M]. Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition), 2014
- [5] Matsui M, Fowler J H, Walling L L. Leucine amino peptidases: diversity in structure and function [J]. Biological Chemistry, 2006, 387(12): 1535-1544
- [6] Flores M, Aristoy M C, Antequera T, et al. Effect of brine thawing/salting on endogenous enzyme activity and sensory quality of Iberian dry-cured ham [J]. Food Microbiology, 2012, 29: 247-254
- [7] 高瑞昌,苏丽,黄星奕,等.腌干鲢鱼组织蛋白酶B、L活力变化的响应面法预测研究[J].食品科学,2012,33(17):136-140
GAO Rui-chang, SU Li, HUANG Xing-yi, et al. Prediction of cathepsin B and L activities in cured silver carp during drying using response surface methodology [J]. Food chemistry, 2012, 33(17): 136-140
- [8] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with Folin phenol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193: 265-275
- [9] Yokoyama Y, Sakaguchi M, et al. Change in concentration of ATP-related compounds in various tissues of oyster during ice storage [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58(11): 2125-2136
- [10] Maruji Y, Shimizu M, Murata M, et al. Multiple taste functions of the umami substances in muscle extracts of yellowtail and bastard halibut [J]. Fisheries Science, 2010, 76(3): 521-528
- [11] Lushchak V I, Husak V V, Storey K B. Regulation of AMP-deaminase activity from white muscle of common carp *Cyprinus carpio* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2008, 149(2): 362-369
- [12] 王彩霞,刘茹,刘友明,等.淡水鱼肌肉中酸性磷酸酶的酶学特性[J].华中农业大学学报,2010,29(4):518-521
WANG Cai-xia, LIU Ru, LIU You-ming, et al. Enzymatic characteristics of acid phosphatase in muscle of freshwater fish [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2010, 29(04): 518-521
- [13] Liu B, Du X, Zhou L, et al. Purification and characterization of a leucine aminopeptidase from the skeletal muscle of common carp (*Cyprinus Carpio*) [J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 140-147
- [14] 叶炜,田吕明,姚鹃,等.AMP脱氨酶的生化性质研究[J].食品工业科技,2012,33(1):164-179
YE Wei, TIAN Lv-ming, YAO Juan, et al. Study on the biochemical characteristics of AMP deaminase [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(1): 164-179
- [15] Flores M, Aristoy MC, Antequera T, Barat JM, Toldra F. Effect of prefreezing hams on endogenous enzyme activity during the processing of Iberian dry-cured hams [J]. Meat Science, 2009, 82(2): 241-246
- [16] 陆应林,周光宏,徐幸莲,施帅,等.南京板鸭加工过程中肌肉蛋白降解的研究[J].食品科学,2006,27(7):44-47
LU Ying-lin, ZHOU Gong-hong, XU Xing-lian, SHI Shuai, et al. Study on processing proteolysis for nanjing dry-salted duck [J]. Food chemistry, 2006, 27(7): 44-47