

甲鱼的酶解液化及保健冲剂研究^{*}

段旭昌, 徐怀德, 李志成, 杨公明

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 对甲鱼的酶解液化技术和以甲鱼酶解液化液为主要原料制备甲鱼保健冲剂的生产工艺进行了研究。通过对比试验和正交试验, 确定了甲鱼的最适水解酶是胰蛋白酶, 最适酶解条件是甲鱼加10倍水, 经高压蒸煮15 min, 在酶浓度(E/S)为6.4 g/kg, 温度45℃, pH 7.5条件下水解6 h, 甲鱼水解液化较为彻底。甲鱼保健冲剂的优选配方为: 甲鱼酶解液65份, 糖28份, 奶粉20份, 固形物125 g/kg的药食同源提取物22份, 环麦芽糊精6份, 柠檬酸1.5份, 产品的冲调性、色泽、风味、口感都较好。采用该法生产的酶解甲鱼固体冲剂具有动植物营养成分和保健功能成分互补、利于人体吸收、保健性能优良、风味独特的特点。

[关键词] 甲鱼; 酶解; 保健冲剂

[中图分类号] TS278

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)02-0128-05

甲鱼, 又称鳖、团鱼, 是一种珍贵的水生经济动物, 肉质鲜嫩味美, 营养丰富, 每千克肉中含蛋白质165 g, 脂肪10 g, 碳水化合物16 g, 灰分9 g, 钙1 070 mg, 磷1 350 mg, 铁14 mg, 硫胺素6.2 mg, 核黄素3.7 mg, 尼克酸37 mg, 具有强身健体、延年益寿之功效^[1]。同时, 甲鱼肉中还含有不饱和脂肪酸、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA), 对预防脑血栓、心肌梗塞和心绞痛等心脑血管疾病具有显著疗效。甲鱼提取液具有延缓衰老和提高免疫的功能。甲鱼中含有的特殊脂肪酸和丰富的Mg, Fe, Ca, Zn, Mn, Se元素, 具有补血、强骨、益智、抗疲劳、抗氧化的作用。由于甲鱼具有很高的营养价值及药用价值, 自古就是我国传统食疗滋补佳品, 日本及东南亚一带也把它视为补体强身的珍品, 是开发高级保健食品的良好原料^[2~4]。

近年来, 随着甲鱼人工养殖业的发展和养殖技术的提高, 甲鱼资源越来越丰富, 市场呈现出了甲鱼供大于求的趋势, 因此, 研究开发甲鱼制品的新工艺、新技术、新途径和新产品具有一定的现实意义。本研究采用酶水解技术对甲鱼进行酶解液化, 不仅提高了甲鱼的利用率, 而且利于人体消化吸收, 加入精选的党参、枸杞、红枣、薏仁等药食同源保健食品提取物后, 既强化了甲鱼的保健性能, 又具有动植物营养成分和保健功能成分互补的作用。经采用真空低温浓缩和真空低温干燥工艺, 最大限度地保存了

原料中的营养保健成分。用该加工技术生产的酶解甲鱼保健冲剂是一种高级营养滋补保健食品。

1 材料与方法

1.1 材料

甲鱼由陕西渭南华睿甲鱼生物工程有限责任公司提供; 木瓜蛋白酶(1 000~1 500 U/g)、胰蛋白酶(1 000~1 500 U/g)、胃蛋白酶(500~1 000 U/g)由上海蓝季生物工程有限公司生产。

1.2 仪器设备

A-88型组织捣碎机由江苏省金坛市医疗器械厂生产; AF-I型电子恒温水浴槽由北京化玻联医疗器械有限公司生产; 硅藻土过滤器由陕西三原美乐食品机械公司生产; x-50高压均质机由上海前进均质机厂生产; 低温真空浓缩锅由陕西三原美乐食品机械公司生产; 真空干燥箱由上海医疗器械厂生产; 破碎造粒机由陕西三原美乐食品机械公司生产。

1.3 测试方法

氨基态氮含量测定用双指示剂甲醛滴定法^[5]。

1.4 工艺流程

甲鱼→宰杀→热烫去皮膜→加10倍水高压蒸煮→酶解→灭酶过滤→加乳酸菌发酵→硅藻土过滤→调配→均质→高温瞬时杀菌→低温真空浓缩→加药食同源食品提取物→低温真空干燥→包装→成品。

^{*} [收稿日期] 2002-10-22

[基金项目] 企业协作甲鱼综合加工项目

[作者简介] 段旭昌(1965-), 男, 陕西武功人, 助理研究员, 主要从事食品加工及野生植物开发利用研究。

1.5 工艺操作要点

甲鱼的选择与宰杀: 所用甲鱼必须鲜活。用清水养殖1周后进行宰杀, 去除大块脂肪, 在95℃的热水中热烫10~15 s, 取出除去外膜, 于清水中彻底清洗后进行提汁。

高压预煮提汁: 称处理好的甲鱼, 加10倍水(质量比)于高压锅中预煮15 min。然后将甲鱼肉骨汤用绞碎机搅匀, 用于酶解。

酶解: 采用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶3种蛋白酶在不同条件下进行酶解。通过对比试验和正交试验确定最适的水解酶和最适酶水解条件^[6,7]。

灭酶过滤: 酶解完成后经过95℃灭酶15 min, 然后采用硅藻土过滤机进行过滤, 滤液放入发酵罐中, 用蔗糖调整发酵液的糖含量为80 g/kg, 准备发酵。

发酵: 将酶解液温度调整到40℃时, 接入3% (以酶解液质量计) 的用嗜热乳酸链球菌(*S. t*)和保加利亚乳酸杆菌(*L. b*)按2:1混合的发酵剂, 于42℃恒温发酵4 h。发酵好后, 发酵液经硅藻土过滤机过滤, 滤液用于调配饮料冲剂^[8]。

调配: 按配方要求称取一定量的甲鱼酶解发酵液, 与其他辅料一起放入配料缸, 调配混匀, 用硅藻土过滤机过滤后进行均质杀菌。

均质杀菌: 在压力20~40 MPa下均质, 在温度为121℃条件下杀菌5 s, 然后进行浓缩。

低温真空浓缩: 在真空度为0.05 MPa下浓缩, 使料液固形物含量达到75%时停止浓缩, 放出料液, 加入精选的药食同源的枸杞、党参、红枣等浓缩提取物, 搅拌均匀后装盘, 进行真空干燥。

低温真空干燥: 在真空度0.045 MPa, 温度45~60℃条件下干燥8~10 h, 在物料水分含量≤3%时终止干燥, 待冷却后进行粉碎。

包装: 采用复合铝塑包装纸, 用自动颗粒包装机进行定量自动包装, 包装后经检验合格后即为成品。

1.6 甲鱼水解酶的选择及水解条件的确定方法^[9]

1.6.1 甲鱼水解酶的选择

表1 不同蛋白酶水解液中甲鱼氨基态氮含量测定结果

Table 1 Amino-N measuring result of turtle hydrolyzed by different protein enzyme

编号 Number	酶种类 Enzyme type	酶解条件 Enzyme hydrolyzing condition		氨基态氮含量/(mg·kg ⁻¹) Concentration of amino-N			
		T/℃	pH	1 h	2 h	3 h	4 h
1	木瓜蛋白酶 Papain	55	6.5	55	55	55	55
2	胰蛋白酶 Trypsin	40	8.5	60	60	68	77
3	胃蛋白酶 Pepsin	50	2.0	28	29	43	58

从表2的正交试验结果的极差分析可知, 在4

个试验因素中, 影响胰蛋白酶水解效果的主次因素

白酶、胃蛋白酶在相同的底物浓度和相同的酶单位浓度条件下, 对各蛋白酶的理論最适条件进行对比水解试验, 以水解液中的氨基态氮含量的高低确定最优的甲鱼水解蛋白酶。

1.6.2 甲鱼水解蛋白酶水解条件的确定

以优选的甲鱼水解蛋白酶与底物浓度比($E/S, A$) 3, 4, 8, 6, 4 g/kg; 酶解温度(T, B) 40, 45, 50℃; pH(C) 7.5, 8.5, 9.5; 水解时间(t, D) 4, 5, 6 h为试验因素, 按L₉(3⁴)正交表进行正交试验, 以测定的水解氨基态氮含量的高低确定该酶的最适水解条件。

2 结果与分析

2.1 甲鱼水解酶的选择及水解条件的确定

从各单酶水解试验结果(表1)可以看出, 木瓜蛋白酶水解4 h, 氨基态氮含量几乎没有变化, 说明其对甲鱼蛋白的水解能力很弱; 胰蛋白酶和胃蛋白酶在4 h的水解期内, 氨基态氮含量都随水解时间的延长而增加, 以胰蛋白酶水解液的氨基态氮含量增加最多, 其次为胃蛋白酶水解液, 说明这两种蛋白酶都对甲鱼蛋白质有一定的水解能力, 以胰蛋白酶的水解速度最快, 其次为胃蛋白酶。因此, 根据不同酶在不同水解时间测定的氨基态氮含量变化值得出胰蛋白酶是甲鱼的最佳水解蛋白酶。

个试验因素中, 影响胰蛋白酶水解效果的主次因素

依次为pH> 水解时间> 酶解温度> 酶用量, 经显著性检验分析,pH 对胰蛋白酶的水解效果在 0.1 水平 ($F_{0.1}(2, 2) = 9.00$) 有显著影响, 胰蛋白酶的理论最佳水解组合条件为 A3B2C1D3, 即酶用量 (E/S) 6.4 g/kg, 水解温度 45℃, pH 值为 7.5 时, 水解 6 h 效果较好。在此条件下, 胰蛋白酶水解甲鱼蛋白的氨基酸氮含量为 137.5 mg/kg。为验证正交试验的可靠性, 特将最优水解条件和正交表中的试验较好者 (6

号) 作了重复对比试验, 在重复验证试验中, 最优水解条件下的氨基酸氮含量为 138.6 mg/kg, 6 号试验的重复结果为 83.21 mg/kg, 重现性较好, 说明了试验的理论结果与实际情况相符, 即甲鱼最适酶水解条件为甲鱼加 10 倍水, 经高压蒸煮 15 min, 采用胰蛋白酶浓度为 E/S 6.4 g/kg, 温度 45℃, pH 7.5 条件下水解 6 h, 甲鱼水解较为彻底。

表 2 胰蛋白酶水解甲鱼蛋白正交试验结果分析

Table 2 Analyzing result of orthogonal experiments of turtle hydrolyzed by Trypsin					
序号 Number	$E/S/(g \cdot kg^{-1})$ A	$T/^\circ C$ B	pH C	t/h D	氨基酸氮含量/ ($mg \cdot kg^{-1}$) Concentration of amino-N
1	A1(3)	B1(40)	C1(7.5)	D1(4)	65.99
2	A1	B2(45)	C2(8.5)	D2(5)	68.74
3	A1	B3(50)	C3(9.5)	D3(6)	54.99
4	A2(4.8)	B1	C2	D3	76.99
5	A2	B2	C3	D1	60.49
6	A2	B3	C1	D2	82.49
7	A3(6.4)	B1	C3	D2	52.24
8	A3	B2	C1	D3	137.5
9	A3	B3	C2	D1	38.49
K_1	63.24	65.10	95.30	54.99	
K_2	73.32	88.91	61.41	67.82	
K_3	76.10	58.70	55.91	89.83	637.92
R	12.86	30.20	39.39	34.84	
F		5.47	9.70	6.58	

2.2 甲鱼保健冲剂配方的确定结果

通过表 3 的统计分析和极差分析可知, 影响产品最终品质的主次因素依次为: 糖含量> 甲鱼酶解液含量> 环状麦芽糊精含量> 柠檬酸含量> 奶粉含量> 药食同源提取物含量。经显著性检验分析, 糖含量对产品品质的影响在 0.05 水平 ($F_{0.05}(4, 12) = 5.91$) 显著, 甲鱼酶解液含量对产品的品质影响在 0.1 水平 ($F_{0.1}(4, 12) = 3.90$) 显著, 因此糖含量和甲鱼酶解液含量对甲鱼保健冲剂的冲调性、色泽、风味、口感都起着决定性的作用。对正交试验调查结果

的统计分析表明, 甲鱼保健冲剂配方的理论最优组合为 A4B3C4D4E3F3, 即甲鱼酶解液 65 份、糖 28 份、奶粉 20 份、固形物 125 g/kg 的药食同源提取物 22 份、麦芽糊精 6 份、柠檬酸 1.5 份, 此时, 甲鱼保健冲剂的冲调性、色泽、风味、口感都较好。为证实理论结果的真实性, 特将理论结果与正交试验结果中得分较高的 18、19 号进行了对比试验, 请 10 名学生进行了复评, 证实理论结果的冲调性、色泽、风味、口感均优于 18、19 号。

表 3 甲鱼保健冲剂配方正交试验结果调查统计分析

Table 3 Stat. result of orthogonal experiments of formula of health beverage of turtle							
编号 Number	试验因素 Examination factor						统计结果 Stat. result
	甲鱼酶解液(A) Turtle solution	糖(B) Sugar	奶粉(C) Milk powder	提取物(D) Extract	环状麦芽糊精(E) Cyclodextrin	柠檬酸(F) Citric acid	
1	1(50 份)	1(24 份)	1(14 份)	1(16 份)	1(2 份)	1(0.5 份)	1.895
2	1	2(26 份)	2(16 份)	2(18 份)	2(4 份)	2(1.0 份)	2.078
3	1	3(28 份)	3(18 份)	3(20 份)	3(6 份)	3(1.5 份)	2.436
4	1	4(30 份)	4(20 份)	4(22 份)	4(8 份)	4(2.0 份)	2.465
5	1	5(32 份)	5(22 份)	5(24 份)	5(10 份)	5(2.5 份)	2.038
6	2(55 份)	1	2	3	4	5	1.998
7	2	2	3	4	5	1	2.067
8	2	3	4	5	1	2	2.456

续表 3 Continue Table 3

编号 Number	试验因素 Examination factor						统计结果 Stat result
	甲鱼酶解液(A) Turtle solution	糖(B) Sugar	奶粉(C) M ilk powder	提取物(D) Extract	环状麦芽糊精(E) Cyclod- extrin	柠檬酸(F) Citric acid	
9	2	4	5	1	2	3	2 458
10	2	5	1	2	3	4	2 264
11	3(60 份)	1	3	5	2	4	2 238
12	3	2	4	1	3	5	2 259
13	3	3	5	2	4	1	2 586
14	3	4	1	3	5	2	2 332
15	3	5	2	4	1	3	2 324
16	4(65 份)	1	4	2	5	3	2 338
17	4	2	5	3	1	4	2 386
18	4	3	1	4	2	5	2 654
19	4	4	2	5	3	1	2 633
20	4	5	3	1	4	2	2 438
21	5(70 份)	1	5	4	3	2	2 189
22	5	2	1	5	4	3	2 208
23	5	3	2	1	5	4	2 217
24	5	4	4	2	1	5	2 254
25	5	5	3	3	2	1	2 128
K ₁	2 182 0	2 131 6	2 270 6	2 253 4	2 263 0	2 261 8	57 339
K ₂	2 248	2 199 6	2 250 0	2 304 0	2 311 2	2 289 6	
K ₃	2 347 8	2 469 8	2 261 6	2 256 0	2 356 2	2 352 8	
K ₄	2 489 8	2 428 4	2 354 4	2 339 8	2 339 0	2 314 0	
K ₅	2 199 2	2 238 4	2 331 4	2 314 6	2 198 4	2 240 6	
R	307. 8	338. 2	104. 4	86. 4	157. 8	112. 2	
F	5. 74	8. 32				3. 19	

3 产品质量标准

3 1 感官指标

乳色颗粒, 冲调时溶解性好, 有淡淡奶香味和甲鱼特殊香味, 无异味, 无杂质, 不结块。

3 2 理化指标

水份含量 ≤ 30 g/kg, 固体甲鱼提取物 ≥ 100 g/kg, 固体药食同源提取物 ≥ 20 g/kg, 糖含量 ≤ 300 g/kg, 砷< 0. 5 mg/kg, 铅< 1 mg/kg, 铜< 10 mg/kg。

3 3 卫生指标

细菌总数< 3 × 10⁴ 个/g, 大肠菌数< 0. 3 个/g, 致病菌不得检出。

4 结 论

- 1) 木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶对甲鱼水解情况的结果表明, 胰蛋白酶是甲鱼水解较理想的酶。
- 2) 采用正交试验确定了胰蛋白酶水解甲鱼的最适条件为: 甲鱼加 10 倍水, 经高压蒸煮 15 min, 在酶浓度为 E/S 6. 4 g/kg, 温度 45 ℃, pH 7. 5 条件下水解 6 h, 甲鱼水解较为彻底。
- 3) 采用正交试验确定了甲鱼保健冲剂的最优配方为: 甲鱼酶解液 65 份、糖 28 份、奶粉 20 份、固形物含量为 125 g/kg 的药食同源提取物 22 份、麦芽糊精 6 份、柠檬酸 1. 5 份, 产品的冲调性、色泽、风味、口感都较好。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典(下)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 2723- 2726.

[2] 桂 林, 聂向庭, 张福娥. 甲鱼脂肪酸和微量元素含量的分析及其抗氧化作用研究[J]. 营养学报, 2000, (4): 325- 327.

[3] 刘小立, 孙秀发. 甲鱼提取液延缓衰老和提高免疫功能作用研究[J]. 食品科学, 1997, (9): 64- 66.

[4] 向 荣, 向宇菲. 甲鱼多糖制剂的抗肿瘤作用和对免疫功能影响的初步试验研究[J]. 上海免疫学杂志, 1994, 14(4): 206- 208.

[5] 樊明涛. 食品分析与检验[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1998.

[6] 王朝旭, 赵 丹, 王晓雪. 酶法水解骨蛋白最佳条件的研究[J]. 食品科学, 2001, (2): 48- 49.

[7] 熊善柏, 王启明, 赵 山. 乌鸡肉蛋白质分步酶解工艺与水解液澄清方法研究[J]. 食品工业科技, 2000, (4): 17- 19.

[8] 杨 兰 酶法水解鸡肉蛋白及其水解液脱苦方法的研究[J]. 食品工业科技, 1999, (2): 4- 6

[9] Etstvier K, Tens A dlev N issen. Eneyme Hydrolysis of Food Protein[M]. New York: Applied Science Publisher, 1984

Research on technology of fluidization of turtle hydrolyzed by enzyme and health beverage

DUAN Xu-chang, XU Hua i-de, L I Zhi-cheng, YANG Gong-m ing

(College of Food Science and Engineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Shaanxi, Yangling 712100, China)

Abstract This paper studied the technology of fluidization of turtle hydrolyzed by enzyme and the processing technology of health beverage with solution of turtle hydrolyzed by enzyme. By contrast examinations and orthogonal experiments, the optimum hydrolyzing enzyme of turtle was selected as trypsin. The optimum hydrolyzing technology condition of the enzyme was: after boiled for 15 minute under high pressure at adding 10 times water of turtle weight, hydrolyzed for 6 hours at enzyme concentration (E/S) 6.4 g/kg, 45 °C, pH 7.5, turtle was hydrolyzed completely. The optimum formula of health beverage of turtle which was determined was 65 shares of solution of turtle hydrolyzed by enzyme, 28 shares of sugar, 20 shares of milk powder, 22 shares of solid concentration 125 g/kg extracted substance of diets which are served as food and medicine, 6 shares of cyclodextrin, 1.5 shares of citric acid, the solvency, the colour, the flavor and the taste of the production were good. Health solid beverage of turtle produced by this way was a health beverage with mutual benefit function of animal and vegetable nutrition to be assimilated by people and with specialty flavor.

Key words: turtle; enzyme hydrolyze; health beverage

· 简 讯 ·

“甲鱼生物加工技术及其在饮品中的应用研究”通过鉴定

2003年1月5日,陕西省科技厅主持并组织专家组对西北农林科技大学杨公明、徐怀德主持,由渭南华睿黄河甲鱼生物工程有限公司资助的“甲鱼生物加工技术及其在饮品中的应用研究”项目进行了技术成果鉴定。鉴定委员会听取了课题组的工作报告、技术报告,品尝了试验样品,查看了检测结果,审阅了有关技术资料和查新报告,经过质询及充分讨论后一致认为:

1 我国甲鱼资源已具备规模化深加工的原料基础,该项目以甲鱼为主要原料进行综合加工,研制出甲鱼生物饮品及系列产品。通过对甲鱼成分的分析,为认识甲鱼的营养成分和功能提供了科学依据。

2 首次全面分析了甲鱼肉、卵、肝、血、裙边营养成分及甲鱼肉、血、卵、肝的18种氨基酸组成和多糖含量,甲鱼脂肪的脂肪酸组成,甲鱼肉的矿物质元素和部分微量元素,甲鱼肉、卵、肝、血中的 V_A 、 V_E 、 V_D 、 V_B 和牛黄酸。并分析了甲鱼肉中的重金属含量。

3 首次利用酶工程技术将甲鱼水解成小分子蛋白、多肽、氨基酸,并将酶解技术和发酵技术相结合去除腥味,改善了甲鱼酶解液的风味,研制出了甲鱼生物饮品和甲鱼血(肝、卵)粉胶囊、甲鱼胆酒、甲鱼骨粉、甲鱼油等系列产品。该项研究对水产品、动物肉产品的深加工提供了新的途径。

综上所述,该项目选题正确,立意新颖,研究方法科学,内容丰富,工艺技术先进,具有广阔的应用前景,总体水平达到国际先进,其中酶解、发酵连用技术去除甲鱼腥味和改善甲鱼水解液风味的研究属国内首创。

(屈李纯 供稿)