

青鳞鱼下脚料水解蛋白的制取及其营养评价*

杨萍 邓尚贵 夏杏洲 吴玉廉

(湛江海洋大学水产学院 524025)

提要 以青鳞鱼(*Haemulon zonatum*)下脚料为原料,采用碱萃取、蛋白酶水解、浓缩、喷雾干燥等手段,制得水解鱼蛋白。研究了碱萃取、蛋白酶水解条件及不同沉淀方法对水解鱼蛋白沉淀效果的影响,并对水解鱼蛋白制品营养价值进行了评价。结果表明:下脚料水解鱼蛋白制品含粗蛋白72.9%,氨基酸总量67.6%,其中必需氨基酸占44.6%,氨基酸分为96,苏氨酸为其限制性氨基酸(1973年FAO/WHO标准);无机盐钙、镁、铁、锌、铜、磷含量丰富,以有机溶剂(异丙醇、乙醇)为沉淀剂沉淀水解蛋白时,粗蛋白损失率约为30%(干基计)。

关键词 青鳞鱼(*Haemulon zonatum*),下脚料,水解蛋白,沉淀

水产品加工过程中会产生许多废弃物(下脚料),如鱼品加工时的鱼头、内脏、鱼鳞和鱼骨等。对这些下脚料的利用,目前我国主要用来生产饲料鱼粉,对其中有价值的成分尚未充分利用。因此,如何综合利用鱼类加工下脚料以挖掘其经济价值和食用价值,是一个很有现实意义的研究课题。近几年来,国内不少研究者对鱼类加工下脚料的利用进行了探讨^[1-4],主要是利用酶法提取下脚料蛋白水解物,为下脚料的高值化利用积累了有意义的基础数据。本文以青鳞鱼(*Haemulon zonatum*)下脚料为原料,采用碱萃取、酶水解等方法制取水解鱼蛋白,探讨了不同沉淀方法对水解鱼蛋白沉淀效果的影响,并对水解鱼蛋白制品的营养价值进行了评价。旨在进一步丰富水产品加工下脚料的高值化利用的理论和方法,为其综合加工与利用开辟新的途径。

1 材料与方 法

1.1 原料

青鳞鱼于2000年11月~2001年5月购自湛江民享市场,新鲜采肉后余下即为下脚料(含鱼头、鱼骨、内脏),分装为50g/袋冷冻备用。

1.2 试剂及仪器

异丙醇和95%乙醇均为分析纯;2709蛋白酶,酶活力100000U/g(北京市房山酶制剂总厂);YXS-A台式离心机,裕鑫实业有限公司生产;电热恒温水浴锅,

组织捣碎机,常规仪器设备。

1.3 方法

水分:常压干燥法;灰分:550℃干法;粗脂肪:索氏抽提法;粗蛋白:微量凯氏定氮法^[5];可溶性固形物:糖度计法。重金属铅、无机砷、汞按GB/T5009.12-1996,GB/T5009.45-1996,GB/T5009.17-1996方法测定;氨基态氮:中性甲醛滴定法;水解度:(水解液中总氨基态氮/总氮)×100%。

氨基酸组成分析,样品经6mol/L HCl水解后,采用日立835-50高速氨基酸分析仪进行17种蛋白质构成氨基酸的分析。另取样用5mol/L NaOH水解后,采用同机测定其色氨酸含量。

无机质,样品经湿法灰化并定容备用。 Fe^{3+} 用原子吸收分光光度法测定,其他元素采用等离子体发射光谱法(IRIS/AP,美国TJA公司)测定。

蛋白质萃取率,测定碱萃取液中粗蛋白含量,碱萃取液经4500r/min离心5min,测定上清中的粗蛋

$$\text{蛋白质萃取率}(\%) = \frac{\text{上清中粗蛋白含量}}{\text{萃取液中粗蛋白含量}} \times 100\%$$

* 广东省科技厅资助项目2KM06002S号。

第一作者:杨萍,出生于1964年,硕士,讲师,从事水产品深加工研究。通讯地址:广东省湛江霞山解放东路40号湛江海洋大学食品工程系, E-mail:yp051@163.net

收稿日期:2001-12-28;修回日期:2002-03-30

白含量。

1.4 工艺流程

青鳞鱼下脚料 → 解冻 → 匀浆 → 碱液萃取 → 过滤 → 离心 → 酶解 → 过滤 → 水解蛋白(液体) → 真空浓缩 → 喷雾干燥 → 水解蛋白(固体)。

2 结果与讨论

2.1 青鳞鱼下脚料常规成分

从表 1 可见,下脚料中粗蛋白含量达 58.7%,是青鳞鱼鱼肉粗蛋白的 76%、去内脏青鳞鱼的 86%,比低值鱼鳃鱼略高,可以说是一种丰富的可利用蛋白质源;下脚料中的脂肪含量较高,主要缘于内脏的存在;

表 1 青鳞鱼下脚料的常规成分(干重)

Tab.1 Proximate composition of *Harengula zunast's* offal

种类	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	灰分(%)
青鳞鱼下脚料	58.7	18.6	28.5
去内脏青鳞鱼 ^[6]	68.3	9.07	17.1
青鳞鱼鱼肉 ^[7]	77.0	15.1	7.2
鳃鱼 ^[8]	52.5	29.8	14.6

灰分含量也较高,主要因为鱼骨的存在。

2.2 萃取条件的确定

下脚料酶解前的碱萃取,目的在于使蛋白质充分释放出来,以利于酶解。同时,萃取液经过滤、离心可以除掉鱼刺、内脏中泥沙等杂质以及一部分脂肪。影响蛋白质溶出的因素有 pH、温度、加水量、时间、离心力等,本实验在萃取时间为 40 min,离心力为 4 500 r/min 条件下考察 pH、温度、加水量对蛋白质溶出的影响。用萃取率表示各因素对蛋白质溶出的影响。

2.2.1 pH 的影响 pH 对萃取率的影响情况见表 2。结果显示,蛋白质的溶解度是随 pH 值的变化而变化的。pH 7.5 即弱碱性时,萃取率最低,为 66.14%,比 pH 7.0 时萃取率还低(80.38%);pH 值在 8.0~11.0 的碱性范围内,萃取率在 91.3%~95.9% 之间稍有波动。考虑到碱性太强蛋白质会过度变性并引起氨基酸构型的变化,本研究选择 pH 9.0 为萃取 pH 值。

2.2.2 温度的影响 温度对萃取率的影响情况见表 3。随温度的升高,萃取率逐渐降低,以常温的萃取率最高,为 95%。这是因为随温度的升高,蛋白质变

表 2 pH 值对蛋白质萃取率的影响

Tab.2 Effect of pH on protein extracting rate

原料(g)	pH	加水量(ml)	温度(℃)	萃取率(%)
50	7.0	300	60	80.4
50	7.5	300	60	66.1
50	8.0	300	60	92.8
50	8.5	300	60	91.3
50	9.0	300	60	94.6
50	9.5	300	60	94.0
50	10.0	300	60	92.2
50	10.5	300	60	93.5
50	11.0	300	60	95.9

表 3 温度对蛋白质萃取率的影响

Tab.3 Effect of temperature on protein extracting rate

原料(g)	pH	加水量(ml)	温度(℃)	萃取率(%)
50	9.0	300	常温	95.0
50	9.0	300	45	92.0
50	9.0	300	55	89.4
50	9.0	300	65	85.3

性沉淀,因而使萃取率有所降低。从生产的角度来说,常温也节省能源、方便操作。因此本研究确定萃取温度为常温。

2.2.3 加水量的影响 加水量对萃取率的影响情况见表 4。试验结果表明,加水量在实验范围内,萃取率在 90.5%~93.1% 之间稍有波动,其对萃取

表 4 加水量对蛋白质萃取率的影响

Tab.4 Effect of water volume on protein extracting rate

原料(g)	pH	加水量(ml)	温度(℃)	萃取率(%)
50	9.0	200	常温	91.1
50	9.0	250	常温	93.1
50	9.0	300	常温	90.5
50	9.0	350	常温	92.7

率的影响不大。本实验确定加水量为原料重的 5 倍。

2.3 酶解条件的确定

每个酶催化反应体系都有一个最适宜的 pH 值、温度、底物浓度、酶用量及最佳反应时间。底物浓度由前面碱萃取条件确定为 1:5。本实验采用可溶性固形物为指标,探讨其他各个单因素对酶水解反应的影响。在 35~65℃ 范围内,可溶性固形物随时间的增加

而增加; 35 ~ 50 °C 范围内, 可溶性固形物增加不明显。55, 60 和 65 °C 可溶性固形物含量的变化见图 1。65 °C 时可溶性固形物含量急剧降低, 60 °C 各时间段的可溶性固形物含量都要比 55 °C 的高。60 °C, 30 min 时可溶性固形物为 20.1×10^{-2} , 与 120 min 时的 22.1×10^{-2} 相差不多; 可溶性固形物含量随酶浓度 (0.5% ~ 2.5%) 的增加先增加, 然后略减少, 以 2% 为转折点, 1.5%, 2.0% 和 2.5% 时可溶性固形物含量的变化见图 2。酶浓度 2.0%、反应 30 min 可溶性固形物含量为 21.2×10^{-2} , 120 min 时达最大值, 为 23.2×10^{-2} , 增加不明显。酶浓度 1.5%、反应 120 min 达到最大值为 21.2×10^{-2} 。而酶浓度 2.5% 的反应进程与酶浓度 2.0% 时几乎一致; 在 pH 7.5 ~ 10.5 范围内, 可溶性固形物随时间的增加而增加, 不同 pH 条件下可溶性固形物的最大值差别不大, 达到最大值的时间则有差别, pH 9.0、反应 30 min 达到最大值, 为 20×10^{-2} 。因此, 本研究选择 2709 蛋白酶水解最佳条件为: pH 9.0, 温度 60 °C, 酶用量为 2.0%, 反应时间 30 min, 此

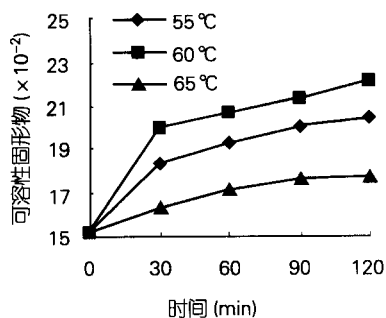


图 1 温度的选择
pH9.0, 原料: 水 = 1: 5, 酶浓度 2.0%
Fig.1 Selection of temperature

时的水解率为 21.4%。

2.4 水解蛋白沉淀效果的比较

不少有机溶剂如乙醇、甲醇、异丙醇等都可以使水溶液中的氨基酸、蛋白质、核酸、多糖, 以及其他小分子有机化合物发生沉淀。本文选择 (1) 1.5 倍异丙醇 + 0.5 倍无水乙醇; (2) 终浓度 75% 乙醇; (3) 喷雾干燥 3 种不同的沉淀方法沉淀水解蛋白 (以下简称试制品 1, 2, 3), 探讨不同沉淀方法的沉淀效果, 结果见表 5。

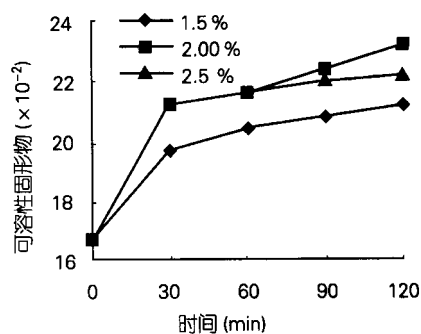


图 2 酶浓度的选择
pH9.0, 原料: 水 = 1: 5, 60 °C
Fig.2 Selection of enzyme concentration

表 5 不同沉淀方法沉淀水解蛋白的效果比较 (%)

Tab.5 Comparison of different precipitating methods on Hydrolyzed protein (%)

制品	水分	粗蛋白	脂肪	灰分
1	3.58	52.8	34.9	7.79
2	3.47	53.1	33.8	8.60
3	6.33	72.9	12.6	6.35

由表 5 可见, 制品 1、2 与制品 3 相比, 以干基计, 粗蛋白含量分别减少 29.6%, 29.3%, 脂肪增加 168.1%, 159.3%, 灰分增加 1.92%, 3.13%。本实验结果显示, 采用有机溶剂 (异丙醇、乙醇) 为沉淀剂, 水解蛋白损失较大 (约 30%), 效果较差。

2.5 青鳞鱼下脚料水解蛋白的营养价值

根据上述试验结果, 按照已确定的工艺条件制取水解蛋白, 试制品 1, 2, 3 的氨基酸分析见表 6。由表可知, 青鳞鱼下脚料所含氨基酸总量为 13.96%, 其中必需氨基酸占 42.12%, 是具有丰富营养价值的蛋白质源。试制品 1, 2, 3 的氨基酸总量分别 39.9%, 40.2%, 67.6%, 其中必需氨基酸各占 45.9%, 44.2%, 44.6%; 与试制品 3 相比较, 试制品 1, 2 的氨基酸总量分别减少了 41%, 40.5%, 其中各种氨基酸含量均有所减少, 以赖氨酸、谷氨酸减少的幅度最大, 分别为 40.3%, 51.4% 与 48.5%, 46.3%。以 1973 年 FAO/WHO 推荐的成人必需氨基酸需要模式对试制品蛋白质的营养价值进行评价, 结果见表 7。试制品 3 的限制性氨基酸为苏氨酸, 氨基酸分为 96, 其余各种必需氨基酸含量与比例适当, 尤其是赖氨酸含量高达 5.76%, 与原料相比 (第一限制性氨基酸为含硫氨基

酸,氨基酸分为 86) 蛋白质的营养价值有了很大的提高;试制品 1 除了赖氨酸、苯丙氨酸、色氨酸为非限制性氨基酸;试制品 2 除了苯丙氨酸、色氨酸为非限制性氨基酸以外,其余各种必需氨基酸均为限制性氨基酸,其中亮氨酸为第一限制性氨基酸,氨基酸分分别为 76, 75, 与试制品 3 相比,亮氨酸损失率分别为 40.98%, 40.53%。各种氨基酸在不同的有机溶剂与水的混合液中的溶解度不同,溶解度大的损失掉了,而溶解度小的进入到了产品中。在本实验条件下,赖氨酸、谷氨酸、亮氨酸的溶解度较高不易沉降,因而损失率较大。试制品 3 的矿物质含量见表 8,以磷含量最高,为 7.917×10^6 ,钙、镁、铁、锌、铜含量也很丰富,其中钙、磷、镁含量与大豆¹⁹相仿,而微量元素铁、锌、铜含量高出大豆很多。无机砷、汞含量均低于食品卫生标准,铅含量则稍高于食品卫生标准。上述结果显示:试制品 3 不仅蛋白质含量高,其必需氨基酸比例适当,无机质含量丰富,是一种营养价值高的食品。

3 结论

3.1 青鳞鱼下脚料粗蛋白含量为 58.7% (干基),是一种营养丰富的蛋白质源;灰分 28.5% (干基),是丰富的无机质来源。

3.2 制取水解鱼蛋白(固体)工艺条件为:(1)碱萃取的最佳工艺条件:常温, pH9.0,加水量为原料重的 5 倍,萃取率为 93.06%;(2)蛋白酶水解的最佳

表 6 原料与制品的氨基酸组成分析

Tab.6 Amino acid composition in Hydrolyzed protein

氨基酸	代号	氨基酸含量(%)			
		原料	制品 1	制品 2	制品 3
天门冬氨酸	Asp	1.33	4.54	4.71	6.99
苏氨酸	Thr	0.56	1.69	1.69	2.81
丝氨酸	Ser	0.44	1.39	1.41	2.12
谷氨酸	Glu	2.02	5.08	5.31	9.88
脯氨酸	Pro	0.77	1.44	1.63	2.93
甘氨酸	Gly	1.22	3.46	3.48	4.98
丙氨酸	Ala	1.00	2.14	2.16	4.50
胱氨酸	Cys	0.02	0.49	0.57	0.59
缬氨酸	Val	0.81	2.61	2.58	4.25
蛋氨酸	Met	0.43	0.96	0.98	1.98
异亮氨酸	Ile	0.61	2.02	1.97	3.23
亮氨酸	Leu	1.06	2.84	2.81	5.45
酪氨酸	Tyr	0.43	1.59	1.57	2.17
苯丙氨酸	Phe	0.61	2.16	2.21	2.94
赖氨酸	Lys	1.22	3.44	2.80	5.76
组氨酸	His	0.29	0.76	0.83	1.68
精氨酸	Arg	1.01	2.74	2.91	4.36
色氨酸	Trp	0.13	0.54	0.60	0.94
氨基酸总量		13.96	39.9	40.2	67.6

工艺条件:原料:水=1:5,pH9.0,温度 60℃,酶浓度 2.0%,水解时间 30 min;(3)有机溶剂(异丙醇、乙醇)为沉淀剂沉淀水解蛋白,其沉淀效果相似,与喷雾

表 7 原料与制品 1,2,3 中必需氨基酸与 FAO(1973)模式标准比较

Tab.7 Amino acid comparison of material and Hydrolyzed protein and FAO(1973)

氨基酸	FAO(1973)成人模式	氨基酸含量($\times 10^3$)			
		原料	制品 1	制品 2	制品 3
亮氨酸	70	71.1	53.8	52.9	74.8
异亮氨酸	40	40.9	38.3	37.1	44.3
赖氨酸	55	81.9	65.2	52.7	79.0
蛋氨酸+胱氨酸	35	30.2	27.5	29.2	35.3
苏氨酸	40	37.6	32.0	31.8	38.6
苯丙氨酸+酪氨酸	60	69.8	71.0	71.2	70.1
缬氨酸	50	54.4	49.4	48.6	58.3
色氨酸	10	8.7	10.2	11.3	12.9

表 8 制品 3 的矿物质含量($\times 10^6$)

Tab.8 Minerals in Hydrolyzed protein ($\times 10^6$)

品名	钙	镁	铁	锌	铜	锰	磷	铅(以 Pb 计)	无机砷	汞(以 Hg 计)
制品 3	2 879	2 584	191	128	237	3.8	7 917	2.8	0.05	0.08
大豆	2 400	3 100	80	18	12	28	7 800			

干燥相比,水解蛋白损失以干基计约 30%,其中各种氨基酸均有所损失,以赖氨酸、谷氨酸、亮氨酸的损失率比较大。

3.3 以青鳞鱼下脚料为原料,通过匀浆、碱萃取、蛋白酶水解、浓缩、喷雾干燥,制得水解鱼蛋白。制品含粗蛋白 72.9%,氨基酸总量 67.6%,其中必需氨基酸占 44.56%,氨基酸分为 96,苏氨酸为限制性氨基酸,各种必需氨基酸含量与比例适当,因此水解鱼蛋白制品营养价值高,尤其是赖氨酸含量高达 5.76%,可作为赖氨酸奇缺的谷类食物的理想补充剂。

3.4 制品无机盐如磷、钙、镁、铁、锌、铜含量丰富,可作为补充人体所需的良好来源。

参考文献

- 1 周涛、林建利、李新勇。酶解鲈鱼废弃物制取鱼蛋白质水解物的研究,浙江水产学院学报,1998,17(2): 102~108
- 2 陈奕华、肖斌。综合利用鲮鱼加工下脚料鱼头的工艺探讨,广州食品工业科技,1999,15(1):8~10,12
- 3 刘红。酶法水解加工鱼头的工艺探讨,水产科学,2000,19(2):31~32
- 4 余杰、陈美珍。酶法制备水解鳗鱼头蛋白及其应用的研究,中国海洋药物,2000,19(5):50~54
- 5 赵洪根、黄慕让。水产品检验。天津:天津科学技术出版社,1987。159~171
- 6 邓尚贵、章超华。青鳞鱼 HAP 的试制,湛江水产学院学报,1996,2:58~61
- 7 邓尚贵。青鳞鱼浓缩蛋白制取技术的研究,上海水产大学学报,2000,1:39~44
- 8 师晓栋、何海伦、王运涛等。酶法进行海洋低值蛋白资源高值化利用初探,海洋科学,2001,25(3):4~7
- 9 王尔惠。大豆蛋白质生产新技术。北京:中国轻工出版社,1999。17

PROCESSING OF HYDROLYZED PROTEIN FROM *Harengula zunast's* OFFAL AND ITS NUTRITIONAL EVALUATION

YANG Ping DENG Shang-gui XIA Xing-zhou WU Yir-lian
(Fishery College, Zhanjiang Ocean University, 524025)

Received: Dec., 28, 2001

Key Words: *Harengula zunast's*, Offal, Hydrolyzed protein, Precipitate

Abstract

Hydrolyzed protein was obtained from *Harengula zunast's* offal by alkal; extraction, enzymatic hydrolysis, concentration and spray dry. The conditions of the alkal; extraction enzymatic hydrolysis and the effects of different sediment methods on hydrolyzed protein were studied. The content of crude protein of hydrolyzed protein is 72.9%. The total amino acid content was 67.6% with the essential amino acids being 44.6%. The amino acid score is 96 with the limited amino acid being Thr as compared with the FAO/WHO suggested level (1973). Hydrolyzed protein is rich in minerals such as Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, P. The method of precipitating hydrolyzed protein with organic solvent (isopropyl alcohol, ethanol) makes the loss rate of crude protein of hydrolyzed protein be 30% (dry basis).

(本文编辑:刘珊珊)