

鱿鱼风味料的制备工艺研究

高志中¹, 周小敏², 劳敏军¹, 沈艳², 李英^{1*}

(1. 浙江兴业集团有限公司, 浙江舟山 316101; 2. 舟山瑞洋水产品研发有限公司, 浙江舟山 316101)

摘要 [目的]填补鱿鱼风味料的市场空白。[方法]根据味料同源原理,以酶解度、感官评定为指标,对鱿鱼酶解工艺进行优化。通过单因素试验,筛选出酶解效果较好的碱性蛋白酶和风味蛋白酶,并进行复合酶解正交试验。[结果]鱿鱼原料酶解的最佳反应条件为温度 50 ℃, pH 6.0, 时间 6 h, 加酶量 0.2%, 其中碱性蛋白酶与风味蛋白酶的比例为 2:1。此条件下酶解液酶解度为 30.40%, 感官评定无苦味, 鱿鱼风味浓。[结论]该试验优化的工艺条件下可制得健康安全的海鲜调味品, 为鱿鱼风味料的开发奠定了基础。

关键词 鱿鱼; 酶解; 海鲜调味品

中图分类号 S986.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)06-0082-03

Study on Preparation Procedure of Squid Flavor Material

GAO Zhi-zhong¹, ZHOU Xiao-min², LAO Min-jun¹, LI Ying^{1*} et al (1. Zhejiang Industrial Group Co., Ltd., Zhoushan, Zhejiang 316101; 2. Zhoushan Ruiyang Aquatic Product R&D Co., Ltd., Zhoushan, Zhejiang 316101)

Abstract [Objective] To fill the market blank of squid flavor material. [Method] According to the principle of flavour material homologous, using the enzymolysis degree and sensory evaluation as indexes, enzymatic hydrolysis of squid was optimized. Alkaline protease and protease with better enzymatic hydrolysis were selected through single factor experiment, compound enzymolysis orthogonal experiment was also conducted. [Result] The results indicated that the suitable technological conditions for enzymolysis of squid were as follows: temperature 50 ℃, pH 8.0, enzymolysis time 6 h, adding amount of enzymes 0.2%, and the proportion of alkaline protease and flavourzyme 2:1. Under these conditions, the enzymolysis liquid enzymolysis degree was 30.40%, the sensory evaluation without bitterness, full of squid special flavor. [Conclusion] The obtained optimal conditions can produce health and safety seafood condiment, which will lay a foundation for development of squid flavor material.

Key words Squid; Enzymolysis; Seafood condiment

随着人们生活水平的不断提高,对调味品的营养、保健、天然和多样化有更大的需求^[1-2]。Skulas-Ray 等^[3]研究发现,当饮食中增加含抗氧化成分的调味品后,血液中抗氧化活动会增加 13%,胰岛素反应降低约 20%,有助于减轻多脂肪食物对人体造成的氧化压力,降低慢性疾病危险,符合现代人追求的健康饮食理念。

海洋动物蛋白水解物营养丰富,而且具有良好的安全性和功能特性^[4]。鱿鱼是生活在海洋中的软体动物,产量占渔获量的比例逐年上升^[5],是我国主要渔业加工品种之一。鱿鱼含有丰富的牛磺酸、赖氨酸、章鱼碱、甜菜碱、嘌呤、核苷酸类、糖类、氧化三甲胺等风味物质^[6-7],用酶解法将鱿鱼大分子蛋白质水解成短肽和氨基酸,可使其具有抗氧化、降血压等多种生理功能^[8]。鱿鱼作为营养保健型且风味良好的水产品,具有开发营养保健型调味品的潜力。袁亚辉等^[9]利用鱿鱼内脏废弃物,经过预处理、酶解、提取、精制、配料、干燥制成的海味素是一种海鲜味浓郁、氨基酸营养成分齐全的天然调味料。笔者以不同来源的蛋白酶对鱿鱼的酶解条件进行了研究,为鱿鱼风味料的开发奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要原料。鱿鱼原料为浙江兴业公司鱿鱼加工厂提供的北太平洋鱿鱼,将其二次细切处理以保证原料的均匀一

致,分装后置于 -18 ℃ 的冰柜冷冻保存;碱性内切蛋白酶(Alcalase 2.4 L)、中性蛋白酶(Neutrase 0.8 L)、复合蛋白酶(Protamex)和风味蛋白酶(Flavourzyme 1 000 L)均为食品级,购于丹麦诺维信公司;食品级木瓜蛋白酶购于湖北安琪酵母股份有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器。722 型分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;H2050R-1 高速冷冻离心机,长沙湘仪集团;DGG-9620AD 型电热恒温鼓风干燥机,上海森信实验仪器有限公司;EMS-8B 磁力搅拌器,天津市荣誉仪器有限公司;TQ-5 型台式细切机,广东番禺市恒联食品机械厂;W5-100 SP 数显恒温水浴锅,上海申生科技有限公司;KDA-08A 自动凯氏定氮仪,上海昕瑞仪器仪表有限责任公司;JA2003 分析天平,上海方瑞仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 酶解工艺流程。鱿鱼用细切机切碎,称取 120 g 鱿鱼碎肉于 500 mL 烧杯中,按 1:1.5(g:mL)的料水比加水,搅拌均匀,调节最适 pH,待温度读数稳定后添加 0.2% 底物重量的酶。烧杯置于预先设定好温度的水浴锅中恒温水解,到一定酶解时间后,将烧杯置于沸水中灭酶处理 10 min,之后取出冷却至室温,离心取上清液并测量其体积,分装于 -20 ℃ 备用。各种蛋白酶分别按照厂家提供的最佳条件进行水解,具体如表 1 所示。

该试验在 5 种蛋白酶单酶水解的基础上,选出 2 种优质酶类(碱性蛋白酶和风味蛋白酶),采用正交试验确定原料最佳的复配酶解方案。选择反应 pH、反应时间、反应温度、酶的添加比例(碱性蛋白酶:风味蛋白酶)4 个因素,各因素选择 3 个水平进行正交试验,具体参数如表 2 所示。试验全程

基金项目 舟山市市级科技计划项目(2013C11006)。
作者简介 高志中(1983—),男,安徽阜南人,工程师,硕士,从事水产品精深加工研究。* 通讯作者,研究员,硕士,从事生物技术研究。
收稿日期 2016-11-30

均以水解率、感官评定作为指标,判断酶解效果,每组试验均 设置 2 组平行。

表 1 各蛋白酶酶活及水解条件

Table 1 The comparision of various protease activity and enzymatic hydrolysis conditions				
酶 Enzyme	酶活 Enzyme activity	最适温度 Optimal temperature//℃	最适 pH Optimal pH	加酶量 Enzyme addition(W/W) // %
碱性蛋白酶 Alkaline protease	≥2.4 AU/g	55	8.0	0.2
中性蛋白酶 Neutral protease	≥0.8 AU/g	50	6.5	0.2
复合蛋白酶 Compound protease	≥1.5 AU/g	50	6.5	0.2
风味蛋白酶 Flavor protease	≥1 000 LAPU/g	50	6.5	0.2
木瓜蛋白酶 Papain	≥600 U/mg	65	6.5	0.2

表 2 鱿鱼风味料酶解条件正交试验因素水平设计

Table 2 Factor and level of orthogonal test of squid flavor material enzymatic hydrolysis condition				
水平 Level	因素 Factor			
	反应 pH(A) Reaction pH	反应时间(B) Reaction time//h	反应温度(C) Reaction temperature//℃	酶的添加比例(碱性蛋白酶:风味蛋白酶)(D) Addition of enzyme (alkaline protease: flavor protease)
1	6	4	50	1:1
2	7	6	55	1:2
3	8	8	60	2:1

1.2.2 酶解度的测定。采用凯氏定氮法测定原料总氮含量,采用甲醛电位滴定法测定酶解液中游离氨基态氮的含量。

酶解度(DH) = (Ns - N0) / (Ntot - N0) × 100%
式中,N0 为初始原液中游离氨基酸态氮含量;Ns 为酶解液中游离氨基酸态氮含量;Ntot 为初始原液中总氮含量。

1.2.3 感官评定。将酶解液加热灭菌后,分别采用 5 分制,对酶解液的腥味、苦味、鲜味和色泽等感官质量进行评定,评定标准如表 3 所示。综合得分总分为 20 分,分值越高说明酶解液的口感越好。

表 3 酶解液感官评分标准

Table 3 Sensory evaluation standard of enzymatic hydrolysate				
评价得分 Score//分	苦味 Bitterness	腥味 Smell	鲜味 Umami	鱿鱼风味 Squid flavor
0~1	有苦味	有腥味	无鲜味	无鱿鱼风味
2~3	一般	一般	一般	一般
4~5	无苦味	无腥味	较鲜	鱿鱼风味浓

1.2.4 鱿鱼风味料的制备及风味对比。将喷雾干燥鱿鱼粉溶解、复配、浸泡,对得到的制品赏味等进行评比打分。

2 结果与分析

2.1 原料营养成分 鱿鱼原料主要成分如下:水分 82.98%,总蛋白 13.47%,粗脂肪 1.15%,灰分 1.60%,糖分 0.22%。

2.2 5 种不同蛋白酶酶解效果比较 各酶均按照各自生产说明的最适反应条件以相同料水比酶解 6.0 h,每隔 1.5 h 取 1 次样。5 种蛋白酶水解鱿鱼原料时氨基酸态氮含量的变化曲线见图 1,酶解 6.0 h 后各酶对鱿鱼原料的酶解效果如表 4 所示。

由表 4 可知,等量鱿鱼经不同蛋白酶酶解 6.0 h,酶解度有一定差异。酶解效果最好的是木瓜蛋白酶,酶解度为 29.57%;其次是碱性蛋白酶和风味蛋白酶,酶解度分别是 23.83% 和 22.45%;复合蛋白酶的酶解度略低,为 12.54%;

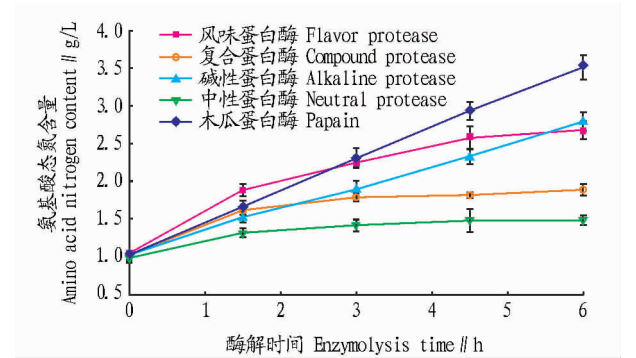


图 1 各蛋白酶鱿鱼酶解液中氨基酸态氮含量的变化曲线

Fig.1 The concentration of amino nitrogen in squid enzymolysis liquid

表 4 各蛋白酶水解效果

Table 4 The comparision of various enzymatic hydrolysis effect on squid raw materials			
酶种类 Enzyme type	酶解度 Enzymatic hydrolysis %	感官评定 Sensory evaluation 分	结果 Effect
风味蛋白酶 Flavor protease	22.45 ± 1.42	18	口感良好, 鱿鱼风味浓
复合蛋白酶 Compound protease	12.54 ± 0.81	14	略有腥味, 鱿鱼风味浓
碱性蛋白酶 Alkaline protease	23.83 ± 1.35	14	略有苦味
中性蛋白酶 Neutral protease	7.53 ± 0.73	13	略有腥味
木瓜蛋白酶 Papain	29.57 ± 1.86	8	苦味重, 无鱿鱼风味

中性蛋白酶的酶解度最低,为 7.53%。可能是因为内切酶的酶切作用位点在蛋白质分子内部,较难水解。酶解产物的感官评定结果得分最高的是风味蛋白酶酶解液,鱿鱼风味足,苦味和腥味淡;其次是复合蛋白酶、碱性蛋白酶和中性蛋白酶,略有苦味或腥味;木瓜蛋白酶酶解液的苦味较重,可能与木瓜蛋白酶水解后产生苦味肽有关。综合上述,5 种不同蛋

白酶酶解鱿鱼原料,其酶解液的酶解度和口感均有一定差异。木瓜蛋白酶的酶解液水解度最高,但口感偏苦,不适合用于调味品的酶解。风味蛋白酶和碱性蛋白酶的酶解液有较高的酶解度以及较好的口感。因此,选择风味蛋白酶和碱性蛋白酶继续进行后续工艺研究。

2.3 复合酶水解效果比较 碱性蛋白酶和复合蛋白酶的酶解最适条件存在差异,因此利用正交试验优化复合酶解的工艺条件,结果见表5。极差分析表明,影响酶解度的因素依次为反应时间、反应 pH、反应温度、酶添加比例。以酶解度为指标,最优组合为 A₃B₂C₂D₁,直观分析酶解度最高的是 A₃B₂C₁D₃,在这2个酶解条件下进行验证试验,得到的酶解液分别测定酶解度,并进行感官评定。

表5 鱿鱼风味料酶解条件正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal experiment of squid flavor material enzymatic hydrolysis conditions

试验号 Test No.	因素 Factor				酶解度 Enzymatic hydrolysis %
	反应 pH Reaction time	反应时间 Reaction time//h	反应温度 Reaction temperature ℃	酶添加比例 Enzyme addition ratio	
1	6	4	50	1:1	22.46
2	6	6	55	1:2	26.66
3	6	8	60	2:1	23.63
4	7	6	60	1:1	28.76
5	7	8	50	1:2	27.60
6	7	4	55	2:1	26.43
7	8	8	55	1:1	31.80
8	8	4	60	1:2	22.46
9	8	6	50	2:1	32.03
K ₁	24.25	23.78	27.36	27.67	
K ₂	27.60	29.15	28.30	25.57	
K ₃	28.76	27.68	24.95	27.36	
R	4.51	5.37	3.35	2.10	

在 A₃B₂C₂D₁ 酶解条件下,酶解液的酶解度为 33.60%,感官评定得分为 14 分,有淡苦味,鲜味足,鱿鱼风味淡;在 A₃B₂C₁D₃ 酶解条件下,酶解液的水解度 30.40%,感官评定得分 18 分,无明显苦味,鲜味足,鱿鱼风味浓。考虑到鱿鱼调味料用于食品调味,其鱿鱼风味足和苦味少更为重要,因此选择最佳酶解条件为 A₃B₂C₁D₃,即碱性蛋白酶:风味蛋白酶为2:1,反应温度为 50℃,反应 pH 8.0,酶解时间 8 h。

2.4 鱿鱼风味料在秘鲁鱿鱼制品中的应用 鱿鱼酶解液经过双效浓缩、调配、喷雾干燥即可制成鱿鱼风味料。鱿鱼风味料即为鱿鱼天然浸出物,其风味特点可以概括为味感鲜美浓郁、丰满醇厚、留香持久。秘鲁鱿鱼又称美洲大鱿鱼、巨鱿鱼,主要分布在东部太平洋,是迄今为止发现的个体最大、资源最丰富的鱿鱼种类之一^[10]。秘鲁鱿鱼具有色白、营养丰

富等特点,其可食部分含粗蛋白 15.6%,粗脂肪 1.5%,灰分 1.0%^[11],是一种高蛋白、低脂肪的美味食品^[12-13]。秘鲁鱿鱼个体大、生长周期短、价格便宜,但是其肉质口感有酸涩味,影响了其产品性。脱酸后的秘鲁鱿鱼失去了天然鱿鱼风味,使用鱿鱼风味料可以显著提高鱿鱼风味。

鱿鱼风味料、盐、HVP 按比例溶解到水中,制备成鱿鱼复合调味液,将脱酸后切成细条的秘鲁鱿鱼浸泡在其中,1 h 后沥水、裹粉、油炸,再进行风味评定。结果表明,鱿鱼风味料能够明显提升秘鲁鱿鱼风味,进而提高了产品竞争力。

3 结论

该研究通过比较 5 种不同来源的蛋白酶对鱿鱼的酶解效果,探讨酶制剂种类和酶解时间、酶解温度、酶解 pH 及对样品酶解效果、酶解液风味感官评定的影响,筛选出酶解效果较好的酶种类:碱性蛋白酶和风味蛋白酶。风味蛋白酶和碱性蛋白酶的酶解液有较高的水解度以及良好的口感。通过正交试验对反应温度、反应 pH、反应时间和酶添加比例进行复合酶解条件优化,得出最佳酶解条件为碱性蛋白酶:风味蛋白酶2:1,反应温度 50℃,反应 pH 8.0,酶解时间 6 h。鱿鱼风味料在秘鲁鱿鱼加工中的成功应用,将使秘鲁鱿鱼制品风味更加浓郁,可大大提高秘鲁鱿鱼产品的市场价值。

参考文献

[1] 中研普华. 2015-2020 年中国调味品行业研究分析及市场前景预测报告[R]. 2014:2-5.

[2] 林洪,曹立民,刘春娥,等. 水产品资源有效利用[M]. 北京:化学工业出版社,2007:41.

[3] SKULAS-RAY A C, KRIS-ETHERTON P M, TEETER D L, et al. A high antioxidant spice blend attenuates postprandial insulin and triglyceride responses and increases some plasma measures of antioxidant activity in healthy, overweight men [J]. Journal of nutrition, 2011, 141 (8): 1451-1457.

[4] 夏松养, 奚印慈, 谢超. 水产食品加工学[M]. 北京:化学工业出版社, 2008:201.

[5] 郭金富, 陈丕茂. 南海头足类资源开发利用研究[J]. 热带海洋, 2000, 19(4): 51-58.

[6] 陈意. 鱿鱼的营养及食用价值[J]. 食品与药品, 2006, 8(6): 75-76.

[7] 邓尚贵, 张晓敏, 谢超. 现代鱿鱼加工[M]. 北京:经济日报出版社, 2008:15-16.

[8] 林燕, 王鸿飞, 李和生, 等. 鱿鱼皮酶解产物的功能特性[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 83-88.

[9] 袁亚辉, 姚美君. 利用鱿鱼内脏生产海味素的研究[J]. 渔业现代化, 2002(1): 27-28.

[10] 郑贤孟, 杨文鸽, 徐大伦. 木瓜蛋白酶嫩化秘鲁鱿鱼肉工艺条件的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 203-206.

[11] THANONKAEW A, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W. Chemical composition and thermal property of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle[J]. Journal of food composition and analysis, 2006, 19(2/3): 127-133.

[12] 陆海霞, 张蕾, 李学鹏, 等. 超高压对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1107-1114.

[13] 夏松养. 秘鲁鱿鱼肌肉酸性物质去除的初步研究[J]. 食品科技, 2007(9): 121-123.