

文章编号:1005-8737(2001)03-0081-05

碱性脂肪酶酶解鲎碎肉脂肪的研究

吴汉民¹, 沈莲清², 桑卫国¹, 董明敏¹, 黄晓春¹, 黄光荣²

(1. 宁波大学食品科学研究所, 浙江 宁波 315211; 2. 杭州应用工程技术学院, 浙江 杭州 310035)

摘要:采用扩展青霉(*Penicillium expansum*) PF868产生的碱性脂肪酶为酶源, 酶解脱脂鲎碎肉, 其最适条件为: 32~34℃, pH 9.3, 酶活浓度 40 u/ml, 碎肉的质量与酶液体积比为 1g:5ml, 脱脂时间 50min。鲎碎肉的干基残脂率低于 4.0%。

关键词:扩展青霉 PF868; 碱性脂肪酶; 酶解; 鲎碎肉; 干基残脂率

中图分类号: TS254.41

文献标识码: A

鲎(*Pneumatophorus japonicus*), 又名鲎, 是暖水性上层集群洄游性鱼类。据报道^[1~3], 目前, 鲎的世界年捕获量已超过 3×10^6 t, 中国大陆已超过 35×10^4 t, 已成为我国海洋捕捞的主要鱼种之一。但由于其脂肪含量高, 一般在 9.0%~28%^[2] (质量分数), 而且不饱和脂肪占大多数, 极易氧化酸败, 加上其内脏酶活强, 组胺含量较高, 腥味也重^[3], 因此加工难度大。用一般方法对鲎鱼片脱脂, 其干基残脂率(残脂量/样品干重)皆难达到 10% 以下, 这是因为鱼片组织中脂肪不能与脱脂介质或脂酶充分接触之故。因而, 其成品的保质期达不到半年, 仅 3~4 个月。为了充分利用鲎资源, 开发合适新产品, 必须解决鲎脱脂去腥难题。1997 年福建师范大学生物工程学院研究开发成功扩展青霉(*Penicillium expansum*) PF868 产生的碱性脂肪酶为鲎酶法脱脂提供了酶源^[4]。该酶的 $LD_{50} > 5\ 000$ mg/kg 体重, 对人食用安全^[5]。我们研究采用鲎片酶法脱脂后的干基残脂率为 11.01% (对照为 25.92%)。考虑损失蛋白质回收时, 其干基残脂率为 8.02%^[2]。显然这样的干基残脂率不能满足制品半年保质期的要

求。因此, 我们将鲎进行碎鱼肉化后再酶法脱脂, 采用 PF868 产生的碱性脂肪酶为酶源, 探讨该酶酶解脱脂鲎碎肉的最适条件, 以考察其脱脂效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料鱼 4、5 月的鲎为市售冰鲜品, 12 月的鲎为冷冻鲎。

1.1.2 碱性脂肪酶 福建师范大学吴松刚教授提供。

1.1.3 试剂 聚乙烯醇(PVA), 聚合度为 $1\ 750 \pm 50$, 上海化学试剂分装厂; 三丁酸油脂, AR, 天津巨能化学有限公司; 其他分析试剂, AR, 丙酮—无水乙醇(酶反应终止液); PVA 乳化液(碎鱼肉溶液, 需现用现配); pH 9.2 的甘氨酸—氢氧化钠缓冲液由 0.2 mol/L 甘氨酸与 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液组合; 0.4 mol/L 无水氯化钙溶液; 0.05 mol/L 氢氧化钠标准液; 1 g/dl 酚酞指示液。

1.2 方法

1.2.1 碱性脂肪酶活测定 NaOH 滴定法^[5]。取 100 ml 锥形瓶 6 只分为 2 组, A 组为空白瓶, B 组为样品瓶, 往锥形瓶中各加碎鱼肉溶液 5.0 ml 和 pH 9.2 甘氨酸—氢氧化钠缓冲液 4.0 ml 及 0.4 mol/L 无水氯化钙溶液 0.10 ml, 再于 A 锥形瓶中加入终止液 20.0 ml, 接着在 A、B 组中各加入酶液 1.0 ml, 立即混匀计时, 在 $(34 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 水浴中振荡反应 10

收稿日期: 2001-05-10

基金项目: 浙江省科委资助项目(981103114)

作者简介: 吴汉民(1934-), 男, 教授, 主要从事水产品保鲜与综合利用、食品生物化学等方面的研究。

Tel: 0574-87604368, E-mail: hmwurifs@nbu.edu.cn

min, 在结束时, 对 B 组锥形瓶立即补加终止液 20.0 ml 终止反应, 取出。再往各锥形瓶中各加酚酞指示液 2 滴, 用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准液滴定, 直至在微红色保持 30 s 不褪色为其终点, 记录消耗 0.05 mol/L 氢氧化钠标准液体积(ml)。

1.2.2 脱脂工艺 酶法脱脂工艺为:

鲢预处理 → 鱼片 → 碎鱼肉
 [→对照碎鱼肉
 →酶法浸泡碎鱼肉
 →理化法浸泡碎鱼肉] → 漂洗 → 脱水(离心机甩水)

理化法脱脂工艺为:

四去鱼片 → 斩碎 → 理化法浸泡 → 回收 → 漂洗 → 脱水(采用离心机甩水)。(四去鱼片指去头、去皮、

去内脏、去尾)。

1.3 仪器设备

TG 11B 精密标准天平, CS101-1AB 型电热鼓风干燥箱(重庆), HHS11-2 型电热恒温水浴锅(上海), 18108 型石英管加热式自动双重蒸馏器(上海), BCD-238 型容声冰箱(广东), 华美冷柜(杭州), DS-1 型高速组织捣碎机 8 000~12 000 r/min(上海), 微量凯氏定氮仪、索氏脂肪抽提器等均为常规仪器。

2 结果与讨论

2.1 不同月份鲢的体长、体重、脂肪与水分含量

结果见表 1。鲢脂肪含量受种类、季节、生长期、生态环境等多种因素的影响。

表 1 不同月份鲢的体长、体重、脂肪与水分含量

Table 1 The body length, body weight, lipid(on dry basis) and moisture content of chub mackerel in different months

月份 Month	体长/mm Body length	体重/g Body weight	含脂率/% Lipid rate			平均/% Average	含水率/% Moisture content rate			平均/% Average
Apr.	180~230	100~120	9.32	9.04	8.98	9.11±0.17	82.23	82.56	82.29	82.36±0.13
May	180~250	100~120	9.85	10.01	9.57	9.81±0.16	80.11	79.78	80.56	80.15±0.27
	270~320	300~350	20.80	20.41	21.06	20.76±0.36	78.02	78.65	78.76	78.48±0.30
Dec.	180~230	80~100	27.78	24.59	26.94	26.44±1.09	72.64	72.42	73.00	72.69±0.21

由表 1 可见, 水份与脂肪含量变化相反, 含脂量高的同时含水量就相对较低。12 月的含量大于 5 月, 5 月鲢体形大比体形小的脂肪量高, 体型小的鲢鱼 5 月与 4 月含量接近, 相对较低。

2.2 碱性脂肪酶酶解鲢碎肉的最适条件

2.2.1 碱性脂肪酶作用的最适 pH 用不同缓冲液代替酶活测定中的缓冲液, 测定不同 pH 下的酶活, 结果见表 2。

表 2 不同 pH 下的相对酶活

Table 2 The relative enzyme activity of alkaline lipase at different pH

pH	5	6	7	8	8.5	9.0	9.3	10	10.5
相对酶活/% Relative enzyme activity	12.0	30.2	63.8	72.4	81.0	89.6	100	87.9	67.2

由表 2 可见, pH 9.3 的相对酶活最高, pH 8.7 与 pH 10.0 的相对酶活均在 88% 左右。

2.2.2 碱性脂肪酶稳定作用的 pH 酶液不同 pH 缓

冲液按 1:4(V/V) 混合后, 置 4℃ 冰箱 24 h 后, 测定酶活, 结果见表 3。

表 3 不同 pH 的酶液在 4℃ 下贮藏 24 h 后的相对酶活

Table 3 The relative enzyme activity of enzyme solution at different pH and 4℃ after 24 h

pH	4	5	6	7	8	9	10	10.5
相对酶活/% Relative enzyme activity	0	25	77.6	100	100	100	99.5	95.3

由表 3 可见, 碱性脂肪在 pH 7~10 的范围非常稳定, 稳定 pH 范围广。可见酸性下失活随 pH 降低而加重, pH 4 时相对酶活为零。

2.2.3 应用于鲢碎肉脱脂的酶活力的测定 结果见表 4。

测定后, 酶粉置于密封的塑料袋, 第 1 次在 3 月 20 日测定, 第 2 次在 5 月 15 日测定, 历时近 2 个月, 酶活变化<3.9%。

2.2.4 酶液最适浓度的选择

表 4 碱性脂酶的酶活测定

Table 4 The enzyme activity of alkaline lipase determined

实验号 No.	耗碱量/ml Alkali consumption		酶活/($\text{u}\cdot\text{g}^{-1}$) Enzyme activity	均值/($\text{u}\cdot\text{g}^{-1}$) Average	稀释倍数 Dilution times
	样液 Sample	对照 Control			
平行 Parallel	1	7.71	5.75	2 460	250
样号	2	7.55	5.85	2 135	250
Sample No.	3	7.55	5.69	2 334	250
平行 Parallel	1	7.50	5.60	2 372	250
样号	2	7.35	5.70	2 185	250
Sample No.	3	7.50	5.70	2 247	250

表 5 酶液浓度对碎鱼肉脱脂的影响

Table 5 The effect enzyme concentration on surimi degreasing

批次 Batch	酶液浓度 ($\text{u}\cdot\text{ml}^{-1}$) Enzyme concentration	水分/% Moisture	蛋白质损失不回收 No-recovery of protein loss			蛋白质损失回收 Recovery of protein loss		
			脱脂率/% Degreasing rate	干基残脂率/% Residue rate	蛋白质/% Protein	蛋白质损失率/% Protein loss rate	脱脂率/% Degreasing rate	干基残脂率/% Residue rate
I	0	72.72		19.72				
	20	68.78	43.86	11.07	74.90	51.91	68.91	6.13
	30	71.06	53.50	9.17	73.90	56.79	76.22	4.69
	40	73.45	63.89	7.12	77.33	59.62	83.21	3.30
II	40	80.44	71.99	5.44	81.10	51.63	84.96	2.92
	50	81.62	60.92	7.59	74.04	58.75	81.00	3.69
	60	80.47	58.96	7.97	81.84	57.93	80.69	3.75

注:干基残脂率、蛋白质百分率均以干基计(下同)。Residue rate and protein percentage are both on a dry basis. The same below.

由表 5 可见,从 20 到 40 u/ml ,脱脂率增加,以酶液浓度 40 u/ml 脱脂率最高。增加酶液浓度反而脱脂率下降,这是因为碱性酶催化油脂水解反应是可逆反应,重新合成时发生交互酯化: $\text{RCOOR}' + \text{R}''\text{COOR}''' \rightarrow \text{RCOOR}''' + \text{R}''\text{COOR}'$ 。特别是在用水量受限制的反应体系中,脂肪水解能降低到最低限度,这样脂肪酶催化酯交换就成为主要反应,就有可能导

致原来被水解的大分子酰基基团与小分子酰基甘油酯之间发生交换反应,生成大分子的甘油酯,导致增重,从而使干基残脂率反而增高。

2.2.5 不同 pH 酶液对脱脂效果的影响 为了进一步确定对碎鱼肉脱脂应用的 pH,选择了 pH 8.71 与 pH 9.20 两者进行比较,结果见表 6。

表 6 不同 pH 酶液对脱脂效果的影响

Table 6 The effect of different pH of enzyme solution on degreasing

酶液 Enzyme solution	水分/% Moisture	蛋白质损失不回收 No-recovery of protein loss			蛋白质损失回收 Recovery of protein loss		
		脱脂率/% Degreasing rate	干基残脂率/% Residue rate	蛋白质/% Protein	蛋白质损失率/% Protein loss rate	脱脂率/% Degreasing rate	干基残脂率/% Residue rate
原料 Raw material	75.21		14.61	72.11			
pH 8.71	80.95	70.02	4.38	75.47	62.09	86.79	1.93
pH 9.20	80.14	76.11	3.49	77.93	54.42	87.68	1.80

由表 6 可明显看出:pH 9.20 的缓冲液比 pH 8.71 的脱脂率高,碱性适当地高有利于催化完成的脂肪酸皂化,脂肪酸钠盐也是油脂-水体系的乳化剂,有助于碎鱼肉中油脂与酶接触水解,从而使碎鱼肉的脱脂率较高。

2.2.6 碎鱼肉脱脂时间的确定 根据表 7 可筛选

出的脂肪酶适宜酶解作用时间:碎鱼肉脱脂时间取 50 min 为宜。

2.2.7 不同温度下,碱性脂肪酶作用的稳定性 将盛酶液的锥形瓶置于不同温度水浴中,间隔一定时间,取样测酶活,结果见表 8。

表 7 不同酶解时间对碎鱼肉干基残脂率的影响

Table 7 The effect of different hydrolysis time on lipid residue rate of surimi

项目 Item	酶解时间/min Hydrolysis time					
	0	30	40	50	60	70
干基残脂率/% Residue rate	15.80	9.70	6.39	5.59	5.66	6.19
		6.64	5.68	4.42	4.74	5.21

表 8 酶液在不同温度下, 放置不同时间的相对酶活

Table 8 The relative enzyme activity of enzyme solution undergoing different time at different temperature %

时间/min Time	温度/℃ Temperature		
	30	35	40
0	100	100	100
30	100	100	59.3
60	100	83.4	27.8

表 9 酶法与理化法对碎鱼肉脱脂效果的比较

Table 9 Comparison on degreasing effect between the enzymolysis and physical chemistry method (PCM) for surimi degreasing

方法 Method	水分 Moisture	蛋白质损失不回收 No-recovery of protein loss		蛋白质损失回收 Recovery of protein loss			
		脱脂率 Degreasing rate	干基残脂率 Residue rate	蛋白质 Protein	蛋白质损失率 Protein loss rate	脱脂率 Degreasing rate	干基残脂率 Residue rate
对照 Control	75.21		14.61	72.11			
酶法 Enzymolysis							
pH 8.7	82.95	70.02	4.38	75.47	62.09	86.72	1.94
pH 9.2	80.14	76.11	3.49	77.93	54.42	87.68	1.80
理化 PCM	76.32	48.53	7.52	83.20	52.06	73.31	3.90

由表 9 可见, 在最适条件下, 鲢碎肉脱脂的干基残脂率可低于 4.0%, 流失的蛋白质回收非常重要, 蛋白质回收时则干基残脂率可以降低到 3% 以下。当然, 并非脂肪越低越好, 保证在半年以上保质期的情况下, 干基残脂率控制在干基 4.0% 已能满足。

3 结论

在 PF868 产生的碱性脂酶的最适酶解条件下, 对鲢碎肉脱脂, 鲢碎肉最后的干基残脂率可以低于 4.0%, 它能满足调味干品半年保质期的要求。

参考文献:

[1] DAI Zhi-yuan, GU Xiang-yuan, ZHENG Bin. Studies on process-

由表 8 可见, 在 30℃ 下作用 1 h, 酶稳定性好; 温度到 35℃, 则在 30 min 内稳定, 作用 1 h, 相对酶活为 83.4%; 温度升高到 40℃ 作用 30 min 时, 酶活只有 59.3%, 作用 1 h 时酶活只剩下 27.8%。显然, 在 36℃ 相对酶活最高, 但从酶作用的温度稳定性考虑, 宜取 32~34℃。

2.3 酶法和理化法对碎鱼肉脱脂效果的比较

漂洗操作要点: 碱盐水: 碎鱼肉 = 4:1, 碱盐水中碳酸氢钠为 0.25%, 氯化钠为 1%, 温度小于 10℃, 浸漂 1 h, 每隔 10 min 搅拌 1 次。经挤压后, 再漂洗 3 次, 每隔 15 min 换 1 次水, 最后用离心机脱水。

ing technique of small-package frozen chub mackerel and Blue scad [A]. The Fourth Asian Fisheries Forum [C], Beijing: China Ocean Press, 1997. 603~605.

- [2] 吴汉民, 董明敏, 桑卫国, 等. 鲢鱼不同脱脂工艺的比较研究[J]. 水产学报, 2001, 25(1): 67~72.
- [3] 桑卫国, 吴汉民. 鲢柳丝生产技术及其效益分析模型[J]. 宁波大学学报, 2001, 14(2): 7~11.
- [4] 郑毅, 施巧琴, 黄建忠, 等. 脂肪酶在鲢鱼片脱脂中的应用研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 1999, 15(1): 85~89.
- [5] 叶清如, 费柯. 鲢鱼鱼腩研制工艺条件的探讨[J]. 食品工业, 1993, (1): 18~22.
- [6] 黄建忠. 中温碱性脂肪酶的研究[J]. 工业微生物, 1995, 25(3): 1~5.

Hydrolysis of lipids in chub mackerel surimi using alkaline lipase

WU Han-min¹, SHEN Lian-qing², SANG Wei-guo¹,
DONG Ming-min¹, HUANG Xiao-chun¹, HUANG Guang-rong²
(1. Food Science Institute, Ningbo University, Ningbo 315211, China;
2. Applied Engineering and Technology Institute, Hangzhou 310035, China)

Abstract: Using alkali lipase produced from *Penicillium expansum* (PF868) as an enzyme source to degrease surimi of chub mackerel, the optimum degreasing conditions are: temp. 32~34℃, pH 9.3, enzyme activity 40 u. ml⁻¹, and the ratio between the surimi mass and the volume of enzyme solution is 1:5 (20 g:100ml), degreasing time 50min. The lipid residue rate in the surimi is lower than 4.0% on dry basis.

Key Words: *Penicillium expansum* PF868; alkaline lipase; enzymic hydrolysis; chub mackerel surimi, lipid residue rate