

贮藏温度与时间对鱿鱼内脏液体 蛋白组成和水解的影响

王家林¹, Einar Lied²

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
2. Institute of Nutrition, Directorate of Fisheries, Bergen, Norway)

摘 要:以鱿鱼内脏和加热处理的鱿鱼内脏为原料分别制备液体蛋白,置于6、13、20、25、30和39℃贮藏32 d,取新鲜原料和39℃贮藏液体蛋白样品测定化学组成,取制备当天、第1~4、8、16和32天液体蛋白样品分析测定蛋白质水解度。鱿鱼内脏液体蛋白39℃贮藏4、18、32 d的分析测定结果表明,其蛋白质、脂肪、灰分、干物质和氨基酸组成基本反映原料原有的化学成分,不受贮藏温度和时间的影响。蛋白质水解度DH值变化的线性回归结果表明,在6℃和13℃贮藏温度下,鱿鱼内脏液体蛋白的水解过程无明显差异,在20、25、30和39℃贮藏温度下,鱿鱼内脏液体蛋白的水解过程也无明显差异。鱿鱼内脏液体蛋白具有均质性和一定的粘稠性。而加热处理后的原料所制备的液体蛋白,其蛋白质水解度在贮藏前后无明显变化,基本保持不变。

关键词:鱿鱼内脏;液体蛋白;贮藏温度;贮藏时间;水解
中图分类号:S984.42 **文献标识码:**A

文章编号:1005-8737(2002)01-0065-04

早在1930年,丹麦就尝试用酸来保藏鱼类并制成液体鱼蛋白^[1],挪威从20世纪70年代开始从事有关液体鱼蛋白生产及应用技术的研究和开发工作,到目前为止,这项技术在挪威渔业养殖和鱼品加工业中发挥了非常重要的作用,从根本上解决了上述原料可能引起的环境污染和鱼病传播问题,也为渔业养殖提供了较鱼粉价廉且优质的饲料蛋白源,提高了水产养殖业的市场竞争力。美国、英国、加拿大等国也有相关的研究^[1]。国内目前在此领域的研究和应用较少。大量相关研究显示,在液体鱼蛋白中,细菌腐败过程已完全被抑制,但受原料中原有内脏酶的作用,蛋白质被逐渐水解^[2~7],从鲑鳟鱼养殖生长实验可观察到,以液体鱼蛋白作为鱼饲料的蛋白源,蛋白质的消化利用率与其水解程度密切相关^[8~10]。由于液体鱼蛋白中蛋白质的水解过程及其最终水解度受原料种类和贮藏温度影响很大,不同原料之间或相同原料不同贮藏温度之间都可能

存在明显差异^[7,11],故有必要进行深入研究。本文通过研究贮藏温度对鱿鱼内脏液体蛋白组成和蛋白质水解过程的影响,旨为其今后的生产应用提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 鱿鱼内脏液体蛋白制备

取新鲜冷冻鱿鱼(*Ommastrephes sloani pacificus*)内脏,绞碎后按22 g/kg的比例添加甲酸(85%)混匀,装入48只500 ml带盖塑料瓶,分6组,每组7瓶各置于(6±0.7)℃、(13±0.4)℃、(20±1.2)℃、(25±0.1)℃、(30±0.3)℃和(39±0.4)℃下贮藏,取制备当天及贮藏期间第1~4、8、16和32天各组样品进行分析测定。再将绞碎的鱿鱼内脏经微波炉加热20 min至中心温度90℃后,按同样方法制备6瓶样品分别置于上述温度下贮藏32 d并进行分析测定。

1.2 化学分析方法

分析测定原料、制备当天及不同贮藏时间样品的蛋白质水解度。采用改良的比色法^[12]测定样品

收稿日期:2001-04-29.

基金项目:中挪“北斗”渔业管理与研究合作项目(1998-2000).

作者简介:王家林(1961-),男,副研究员,从事水产动物营养研究.

中游离 α -氨基含量,同时样品经6 mol/L HCl在110℃水解20 h后测定样品中总 α -氨基含量,样品中游离 α -氨基占总 α -氨基的百分比即为蛋白质水解度: $DH = (\text{游离 } \alpha\text{-amino N} / \text{总 } \alpha\text{-amino N}) \times 100$ 。

分析测定原料及39℃贮藏4、18、32 d的样品干物质、蛋白质、脂肪、灰份含量;分析测定原料及39℃贮藏32 d样品的氨基酸组成^[12]。干物质含量采用样品冷冻干燥后称量法测定。蛋白质测定使用PE2410 SERIES II定氮仪。脂肪含量采用氯仿/甲醇混合液萃取法测定。灰分含量采用样品550℃灰化20 h后称量法测定^[12]。氨基酸含量分析,样品在6 mol/L HCl中110℃水解22 h,并以0.25 mol/L正亮氨酸为内标准,经除酸过滤后用WATERS 411液相色谱仪测定。pH采用BACKMAN酸度计测定^[12]。

1.3 统计分析方法

将鱿鱼内脏液体蛋白贮藏天数转换为对数(lgd),计算各温度下DH随时间变化的线性回归方程 $y = a + bx$ 。回归方程之间,采用95%置信度分别加以检验, $P < 0.05$ 为显著差异。

2 结果与讨论

各组鱿鱼内脏液体蛋白贮藏期间的 $pH = 3.65 \pm 0.06$,无明显变化。液体鱼蛋白在贮藏期间,维持一定的pH是保持蛋白质营养价值的必要条件,若pH高于4.5,就会发生变质^[3]。研究结果显示,所选择的加酸量足以保证鱿鱼内脏液体蛋白贮藏期间pH的稳定性。

常见的鲱、马鲛及狭鳕加工下脚料等制备的液体鱼蛋白,其干物质、蛋白质、脂肪、灰份含量反映原料的化学成分,不受贮藏温度及时间的影响^[6,7]。本研究分析测定了鱿鱼内脏原料和39℃贮藏期间鱿鱼内脏液体蛋白的化学组成(表1),39℃下的结果与上述结论相符。鱿鱼内脏原料和39℃贮藏32 d鱿鱼内脏液体蛋白的氨基酸组成分析结果(表2)未见有明显的氨基酸降解现象。曾有研究指出,液体鱼蛋白中的色氨酸、甲硫氨酸和赖氨酸在贮藏期间会分解^[2,4,8,10],而近年来的研究结果显示,用新鲜原料制备的液体鱼蛋白中,色氨酸及其他绝大多数氨基酸是相当稳定的^[7,13],但当原料变质已生成了胺类物质或加酸量不足的情况下,则可出现液体鱼蛋白在贮藏期间部分氨基酸的明显降解现象。

表1 原料及39℃贮藏鱿鱼内脏液体蛋白的化学组成

Table 1 Composition of raw material and silage made from squid viscera stored at 39℃

样品 Sample	贮藏时间/d Storage days	干物质 Dry matter	蛋白质 Protein	脂肪 Fat	灰份 Ash
RM		312	181	121	17
S4	4	325	/	155	17
S18	18	323	/	160	17
S32	32	329	177	155	17

RM:原料,下同。Raw material, the same below.

表2 原料鱿鱼内脏液体蛋白的氨基酸组成

Table 2 Amino acids in silage made from squid viscera

氨基酸 Amino acids	RM	S32
Asp	129	132
Glu	154	157
Hyp	2	2
Ser	60	61
Gly	61	64
Tau	20	20
His	28	29
Thr	63	65
Ala	65	67
Arg	83	87
Pro	58	59
Tyr	49	54
Val	64	69
Met	19	22
Ile	67	71
Leu	99	102
Phe	62	64
Lys	92	95
NEAA	679	702
EAA	495	516

液体鱼蛋白贮藏期间最明显的化学变化是蛋白质水解。在液体鱼蛋白和浓缩鱼蛋白的生产及应用过程中,预测原料、贮藏时间和温度对其水解过程的影响是很重要的。DH可用于衡量判断液体鱼蛋白的贮藏时间长短和质量变化情况^[4-7]。新制备的鱿鱼内脏液体蛋白样品开始呈粘稠粥样状,贮藏32 d后各组样品虽粘度有所下降但仍为粘稠粥样状,

无明显分层现象,最终 DH 最高为 60%。这与常见的液体鱼蛋白大不相同,鲱、马鲛等原料制备的液体鱼蛋白,贮藏几天后粘度即迅速降低并呈水溶性,静置后可产生脂肪、水溶性蛋白和沉淀三相分层,最终 DH 最高可超过 90%^[2,3,6,7]。上述现象可能与鱿鱼内脏本身特性有关,具体原因尚待进一步研究。在不同贮藏温度下,样品中蛋白质的水解过程显示(图 1),蛋白质在开始阶段都水解较快,然后速度减慢,最后趋于平稳。温度和时间直接影响样品中蛋白质的 DH 值。贮藏 1 d 后的 DH 值在 6℃ 和 13℃ 的样品为 38%~43%,20、25、30 和 39℃ 的样品为 49%~52%,此后贮藏时间每增加 1 倍,6℃ 和 13℃ 的样品 DH 值提高 4%~5%,20、25、30 和 39℃ 的样

品 DH 值提高 2%~4%。6 种不同贮藏温度下鱿鱼内脏液体蛋白 DH 值随(lgd)变化的线性回归方程 $y = a + bx$ 显示(表 3),贮藏 1~32 d,截距 a ,除 39℃ 外,随贮藏温度的提高呈增加趋势,其中 6℃ 与 13℃ 无显著差异($P > 0.05$);20、25、30 和 39℃ 之间无显著差异($P > 0.05$)。斜率 b ,除 39℃ 外,随贮藏温度的提高呈减小趋势,其中 6℃ 与 13℃ 无显著差异($P > 0.05$);13、20 和 25℃ 之间无显著差异($P > 0.05$),20、25、30 和 39℃ 之间无显著差异($P > 0.05$)。加热处理的样品,在各温度下贮藏 32 d 后,DH 值仍与开始时基本一样(表 4),这是因为样品中的蛋白酶经加热处理后已失活。

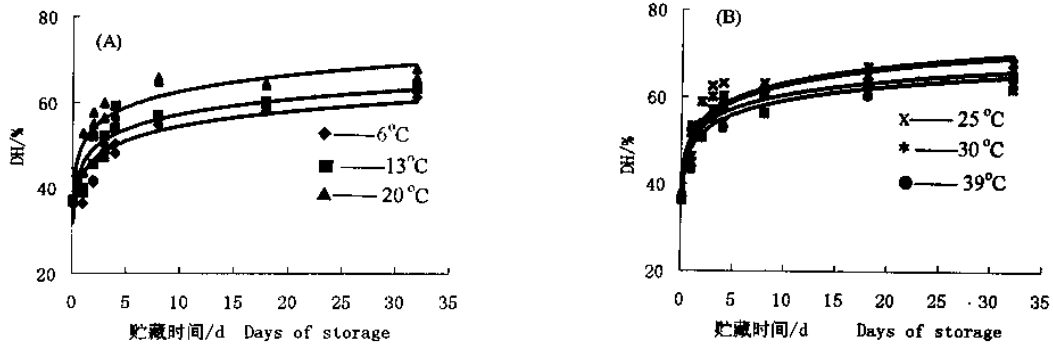


图 1 贮藏温度及时间对鱿鱼内脏液体蛋白 DH 值的影响

Fig. 1 Effects of storage days and storage temperatures on hydrolysis degree in silage made from squid viscera

表 3 贮藏温度及时间对鱿鱼内脏液体蛋白 DH 值的影响
Table 3 Effects of storage temperature and days on hydrolysis in silages made from squid viscera

线性回归方程 Regression lines	r	P
$y_{6℃} = 38.56 + 16.53x^{cb*}$	0.972	<0.001
$y_{13℃} = 42.99 + 14.56x^{bd}$	0.919	<0.001
$y_{20℃} = 50.92 + 11.52x^{abA}$	0.881	<0.001
$y_{25℃} = 50.94 + 11.92x^{abA}$	0.977	<0.001
$y_{30℃} = 51.86 + 8.24x^{aA}$	0.784	<0.001
$y_{39℃} = 48.93 + 10.09x^{aA}$	0.902	<0.001

y —样品中游离 α -amino-N 占总 α -amino-N 的百分比(DH), x —贮藏时间(d)的对数(lgd)。 y —free α -amino-N as percentage of total α -amino-N; X —the logarithm of storage days. *—含有相同大、小写英文字母上标分别表示线性方程之间截距、斜率无明显差异($P > 0.05$)。Regression lines followed by the same superscripts indicate significant difference.

表 4 贮藏温度及时间对加热处理鱿鱼内脏液体蛋白 DH 的影响

Table 4 Effects of storage temperature on hydrolysis in silages made from cooked squid viscera %

贮藏温度/℃ Storage temp.	样品 Sample	
	DH ₀	DH ₃₂
6	36.6	35.8
13	36.6	37.5
20	36.6	35.8
25	36.6	38.7
30	36.6	38.5
39	36.6	39.6

DH₀, DH₃₂: 加热处理鱿鱼内脏液体蛋白贮藏 0、32 d. The DH of silage made from cooked squid viscera and stored for 0 and 32 d respectively.

参考文献:

[1] Peter M. Fish silage in Norway [J]. Bull Aqu Assoc Can, 1991, 8: 28-53.

- [2] Beckhoff H. Some chemical changes in fish silage[J]. Food Technol, 1976, 11:353-636.
- [3] Raa J, Gildberg A. Autolysis and proteolytic activity in cod viscera[J]. Food Technol, 1976, 11:619-628.
- [4] Tatterson I N. Fish silage-preparation, properties and uses[J]. Anim Feed Sci Technol, 1982, 7:153-159.
- [5] Haaland H, Njaa L R. Effect of temperature on the autolysis of capelin silages stored for one year[J]. Fisk Dir Skr ser Ernaering, 1989, II (7):219-226.
- [6] Haaland H, Espe M, Njaa L R, et al. Chemical composition and variation in some parameters during storage of 8 formic acid silages prepared from capelin[J]. Fisk Dir Skr ser Ernaering, 1990, III (2):59-74.
- [7] Espe M, Lied E. Fish silage prepared from different cooked and uncooked raw materials: Chemical changes during storage at different temperatures [J]. Sci Food Agric, 1999, 79:327-332.
- [8] Jackson A J, Kerr A K, Cowey C B. Fish silage as a dietary ingredient for salmon. I. Nutrition and storage characteristics[J]. Aquaculture, 1984, 38:211-220.
- [9] Stone F E, Hard R W, Shearer K D, et al. Utilization of fish silage by rainbow trout (*Salmo salar*) [J]. Aquaculture, 1989, 76:109-118.
- [10] Shahidi F, Han X-Q, Synowiecki J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin[J]. Food Chem, 1995, 53:285-293.
- [11] Espe M, Sveier H. Nutrient absorption and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate[J]. Aquaculture, 1998, 174:119-137.
- [12] Directorate of Fisheries. The quality handbook of institute of nutrition[M]. Bergen; Scandinavian University Press, 1996.
- [13] Espe M, Raa J, Njaa L R. Nutrition value of stored fish silage as a protein source for young rats[J]. Sci Food Agric, 1989, 49:259-270.

Effects of storage temperature and time on quality and hydrolysis of liquid protein from squid viscera

WANG Jia-lin¹, Einar Lied²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266001, China;

2. Institute of Nutrition, Directorate of Fisheries, Bergen, Norway)

Abstract: Freshly-iced squid, *Ommastrephes sloami pacificus*, was smashed and mixed with formic acid (85%) to prepare the fish silage. The silage was divided into several samples and stored at 6, 13, 20, 25, 30 and 39 °C, respectively. At each temperature, the storage periods were designed for 1, 2, 3, 4, 8, 16 and 32 d, respectively. At each end of the designed period, the hydrolysis degree (DH) of the protein in the silage was analyzed. The results show that temperature and storage period affect the DH of the protein directly that with the increase of storage temperature except 39 °C or with the increase of storage time, the DH increases and the protein hydrolyzes fast at the beginning, but gradually slows down with the time going and gets smooth at the end; there is no significant difference between 6 °C and 13 °C in DH. After 4, 8 and 32 d storage at 39 °C, the composition of protein, lipids, ash, dry material and amino acids in the silage is not affected by the storage temperature and storage time. In the silage made from the cooked squid viscera, the DH of protein does not change obviously between pre-and post-storage.

Key words: squid viscera; fish silage; storage temperature; storage period; hydrolysis