

## 扇贝裙边氨基酸营养粉的制备工艺研究

魏玉西<sup>1</sup> 殷邦忠<sup>2</sup> 刘 淇<sup>2\*</sup> 董欣伟<sup>1</sup> 赵炳军<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>青岛大学生物系, 266071)

(<sup>2</sup>中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 为了对扇贝裙边进行综合利用, 本文选择由中性蛋白酶、胰蛋白酶和复合蛋白酶3种酶组合成3对混合酶对扇贝裙边进行酶水解实验, 以水解液中游离氨基酸态氮为考察指标, 采用正交实验设计研究了加酶量、酶解时间、酶解温度及酶的种类对酶解效果的影响, 从而优化了扇贝裙边的酶法水解工艺条件。以最佳水解工艺条件获得的酶解液经喷雾干燥制成的氨基酸营养粉, 经检测, 其粗蛋白含量为82.89%, 粗脂肪含量为1.55%, 总糖含量为6.82%。该氨基酸营养粉中氨基酸种类齐全, 每100g粗蛋白中氨基酸总量达79.06%, 其中游离氨基酸总量达51.53%。

**关键词** 扇贝裙边 酶解 游离氨基酸态氮 氨基酸营养粉

**中图分类号** S986.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)03-0112-05

## Study on the preparation of amino acid nutrition powder with scallop mantle

WEI Yu-xi<sup>1</sup> YIN Bang-zhong<sup>2</sup> LIU Qi<sup>2\*</sup> DONG Xin-wei<sup>1</sup> ZHAO Bing-jun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Department of Biology, Qingdao University, 266071)

(<sup>2</sup> Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** In China the resource of the scallop mantle which is rich in proteins is so abundant that there is much to do to utilize them adequately. Combinations of any two of neutral protease (AS1. 398), trypsin and compound protease were used to hydrolyze the mantle of *Chlamys farreri*. The free amino acid nitrogen (AAN) in enzymolysis liquid was chosen as indicator of enzymolysis degree. By orthogonal experiments, effects of enzyme amount, reaction time, temperature and the type of proteases on the hydrolysis of the mantle were investigated. The best hydrolysis condition was optimized and then used to prepare amino acid nutrition powder by spray drying. The analysis results showed that in this product there was 82.89% crude protein, 1.55% crude fat and 6.82% total sugar. Furthermore, it contained all kinds of amino acids, and the content of total amino acids and free amino acids in 100g crude protein was 79.06g and 51.53g.

**KEY WORDS** Scallop mantle Enzymolysis Free amino acid nitrogen

公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-047)资助

\* 通讯作者。E-mail: liuqi@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85826690

收稿日期: 2008-12-18; 接受日期: 2009-01-09

作者简介: 魏玉西(1964-), 男, 教授, 主要从事水产资源综合利用研究。E-mail: yuxiw729@163.com, Tel: (0532)85953227

## Amino acid nutrition powder

扇贝属于软体动物门扇贝科,由于其肉质鲜美,营养丰富,被列入海产八珍之一。扇贝广泛分布于世界各个海域,我国已发现约45种,其中重要的经济品种包括栉孔扇贝、海湾扇贝和虾夷扇贝。随着扇贝养殖技术的不断完善,其产量逐年提高。扇贝的传统加工方法主要是将其闭壳肌加工成干贝、冷冻扇贝柱和扇贝罐头。扇贝加工下脚料仅山东省每年达30万t之多,由于资源量大、时间集中,加之现有技术水平的限制,尚未得到大规模高值化利用,是待深度开发利用的海洋生物资源。

近年来国内外学者研究发现,扇贝裙边的提取物中含有多种生理活性物质,如活性多肽(邢雁霞等 2008;宋永相等 2008;王红兵等 2007;曾庆祝等 2004;车勇良等 2004)、糖蛋白(顾谦群 1998)、不饱和脂肪酸、牛磺酸以及微量元素硒、钙等,具有抗衰老、抗肿瘤和降血脂等多种生理功能(Ding *et al.* 2003; Yao *et al.* 2002; 汪文瑛等 1994;黄翠丽等 2002;孙 谧等 1996)。关于扇贝裙边的深加工,近年来国内已有大量研究报道,如制作无色海鲜酱油、贝裙脆片和扇贝酱(纪 蓓等 2007)等产品。另外,由于其蛋白质含量高,为了提高其消化吸收率普遍采用酶解工艺(魏玉西 1993;纪 蓓等 2006;曾庆祝等 2001)并对其进行营养评价(魏玉西 1994)。但酶水解物中残存的特殊肽段使其呈苦味,原料中的腥味也无法去除,最终产品的质量和特性难以令人满意,因而限制了技术的推广。考虑到扇贝裙边的综合利用以及扇贝边中扇贝裙边和其余部分(主要是生殖腺和胃囊)组分差异较大,而且栉孔扇贝裙边蛋白质营养价值高于扇贝全边的特点(毛文君等 1997),本文旨在采取酶解法研制一种富含游离氨基酸等营养成分和扇贝多肽、糖胺聚糖、牛磺酸等活性成分的扇贝裙边氨基酸营养粉,以提高其利用附加值,同时也克服现有酶解产品的弊端。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

扇贝裙边:购自青岛市沙子口的栉孔扇贝,取出贝柱,然后将扇贝全边中的消化腺、生殖腺除去(留作它用),淡水冲洗、沥干即得扇贝裙边。

### 1.2 试剂

食品级酶制剂:中性蛋白酶(AS1.398,13万单位/g)购自无锡市雪梅酶制剂科技有限公司,胰蛋白酶(4800单位/g)购自济南亚康力诺生物工程有限公司,复合蛋白酶(10万单位/g)购自广州市天河区远天酶制剂厂。主要试剂:氢氧化钠、甲醛、盐酸、硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸和石油醚等均为分析纯试剂。

### 1.3 仪器

电动搅拌机;PHS-3D pH计;DN-04 消化炉;5ml 微量滴定管;索氏脂肪抽提器;BS124S 电子天平;RE-52A 旋转蒸发器;JJ-2 组织捣碎匀浆机;CR21G 高速冷冻离心机;85-2 恒温磁力加热搅拌器;YC-015 实验型喷雾干燥机;DK-98-1 型电热恒温水浴锅;LDZ4-0.8A 低速自动平衡微型离心机;日立 835-50 型氨基酸自动分析仪。

### 1.4 扇贝裙边酶解条件的优化

#### 1.4.1 工艺步骤

参照文献(魏玉西等 1993)并作适当改进。扇贝裙边按1:1比加水,用高速组织捣碎机捣碎,取200g放入500ml烧杯于超级恒温水浴中,调pH=7.0和适宜温度,待温度平衡后加入一定量的混合蛋白酶,充分搅拌,并在该温度下反应一定时间。酶解完毕,高速离心后再经喷雾干燥即得扇贝裙边氨基酸营养粉。

#### 1.4.2 正交实验方案

酶水解工艺中有许多因素,如酶的种类、加酶量、温度、pH值和反应时间等均影响酶水解效果。本实验方

案的设计采用解决多因素问题确有成效的实验方法——正交设计法(茆诗松 2004),以获得最佳工艺条件。因子与水平排列见表 1,正交实验方案参照  $L_9(3^4)$  设计(见表 2)。

1.4.3 粗蛋白质、粗脂肪、氨基酸态氮、总糖、灰分和水分含量的测定

按文献(李建武等 2002;无锡轻工业学院等 1994)方法进行。

1.4.4 氨基酸组成和含量测定

按日立 835-50 氨基酸自动分析仪操作要求进行。

2 结果与讨论

2.1 酶解条件优化结果

酶解结果以酶解液中游离氨基酸态氮含量(AAN,单位:g/100ml)表示并将其填入表 2 右侧。对结果进行的方差分析表明,在该组设定

的实验条件下,酶种类的影响是最主要的,其次是加酶量,而酶解温度和时间影响最小。酶种类以第一种组合即由中性蛋白酶(AS1.398)和胰蛋白酶按 1:1 的比例组成的混合酶效果最好,该结果与关于扇贝裙边酶解工艺研究的文献报道一致(魏玉西等 1993);关于加酶量的选择,从实验结果以及使用成本两方面综合考虑,最佳加酶量应为 0.6%,酶解温度对 AAN 的影响,随着酶解温度的上升 AAN 呈上升趋势,因此可选酶解温度为 55℃。另外,酶解时间在 2~4 h 范围内对 AAN 的影响甚微,选 3 h 即可。因此,通过正交实验及方差分析确定的扇贝裙边酶解的最佳工艺条件为:使用中性蛋白酶和胰蛋白酶按比例 1:1 组成的混合酶,加酶量为 0.6%,酶解时间 3 h,酶解温度 55℃。在此最佳条件下进行实验,测得扇贝裙边水解液中氨基酸态氮的含量(AAN)为 0.386g/100ml。

2.2 扇贝裙边氨基酸营养粉感官及成分分析

采用最佳工艺条件酶解扇贝裙边,经离心(转速为 8 000r/min)后将上清液用实验型喷雾干燥机喷雾干燥得扇贝裙边氨基酸营养粉。该营养粉呈浅褐色,味鲜,无苦味,具海产品特有的香气,易溶于水。其成分分析和

表 1 正交设计因素与水平排列

Table 1 The factors and levels of orthogonal  $L_9(3^4)$  design

水平 Levels	因素 Factors			
	A(加酶量,%) Enzyme dosage	B(酶解时间,h) Enzymolysis time	C(酶解温度,℃) Enzymolysis temperature	D(混合酶,1:1) Mixture of enzyme
1	0.4	2	45	中性蛋白酶+胰蛋白酶
2	0.6	3	50	中性蛋白酶+复合蛋白酶
3	0.8	4	55	胰蛋白酶+复合蛋白酶

表 2 酶解正交实验方案及结果分析

Table 2 Orthogonal design of enzyme hydrolysis and results analysis

实验号 No. 列号 Column No.	酶解条件 Conditions of enzyme hydrolysis				实验结果 AAN (g/100ml) Result of orthogonal design			
	A	B	C	D	第 1 次 First	第 2 次 Second	第 3 次 Third	合计(yi) Total (yi)
1	1	1	1	1	0.248 5	0.255 5	0.251 3	0.755 3
2	1	2	2	2	0.232 4	0.235 2	0.233 1	0.700 7
3	1	3	3	3	0.250 6	0.249 2	0.245 0	0.744 8
4	2	1	2	3	0.261 1	0.262 5	0.261 1	0.784 7
5	2	2	3	1	0.353 5	0.360 5	0.357 7	1.071 7
6	2	3	1	2	0.254 8	0.257 6	0.256 9	0.769 3
7	3	1	3	2	0.240 8	0.242 2	0.242 2	0.725 2
8	3	2	1	3	0.221 9	0.227 5	0.224 7	0.674 1
9	3	3	2	1	0.287 0	0.288 4	0.291 2	0.866 6
I	2.200 8	2.265 2	2.198 7	2.693 6	$G = \sum_{i=1}^9 y_i = 7.092 4$ $G^2 = 50.302 1$ $CT = G^2/9m = 1.863 0 \quad m=3$			
II	2.625 7	2.446 5	2.352 0	2.195 2				
III	2.266 4	2.380 7	2.541 7	2.203 6				
$R_j^2$	16.874 4	16.784 2	16.826 4	16.930 2				
$R_j^2/3m$	1.874 9	1.864 9	1.869 6	1.881 1				
$S = \frac{R_j^2}{3m} - CT$	0.011 9	0.001 9	0.006 6	0.018 1				

注: $R_j^2 = I_j^2 + II_j^2 + III_j^2$

氨基酸分析结果分别见表3和表4。

表3 扇贝裙边氨基酸营养成分分析结果

Table 3 Composition analysis of the amino acids nutrition powder from scallop mantle

指标 Index	粗蛋白 Crude protein	氨基酸态氮 AAN	粗脂肪 Crude fat	总糖 Total sugar	总灰分 Total ash	水分 Moisture
含量(%) Content (%)	82.89	4.46	1.55	6.82	3.15	5.59

据报道(毛文君等 1997)扇贝裙边蛋白质生物学价值较高,是一种理想的高蛋白低脂肪类食物。从表3可见,该营养粉粗蛋白的含量高达82.89%,而脂肪含量在2%以下(1.55%)。另外,该营养粉中游离氨基酸态氮的含量(4.46%)尤其值得关注。虽然组成蛋白质的20种氨基酸的平均相对分子质量为138,但在多数蛋白质中分子量较小的氨基酸占优势,因此平均相对分子质量接近128(王镜岩等 2002)。据此可推算出,该营养粉中游离氨基酸的含量可高达40%以上,适宜作为高档氨基酸营养品食用。

表4 扇贝裙边氨基酸营养粉总氨基酸以及游离氨基酸组成和含量

Table 4 Composition and content of total amino acids and free amino acids in the amino acids nutrition powder from scallop mantle

氨基酸 Amino acids	AA(%)	FAA(%)	氨基酸 Amino acids	AA(%)	FAA(%)	TAA(%)	TFAA(%)
天冬氨酸 Asp	5.78	4.01	亮氨酸 Leu	4.02	2.56		
苏氨酸 Thr	2.76	1.83	酪氨酸 Tyr	1.98	1.22		
丝氨酸 Ser	3.12	1.97	苯丙氨酸 Phe	1.87	1.31		
谷氨酸 Glu	11.36	7.58	赖氨酸 Lys	2.76	1.75		
甘氨酸 Gly	9.24	7.42	氨 NH <sub>3</sub>	1.46		65.53	42.71
丙氨酸 Ala	3.12	1.95	组氨酸 His	1.25	0.86		
胱氨酸 Cys	1.32	0.80	精氨酸 Arg	5.45	3.31		
缬氨酸 Val	3.13	1.71	色氨酸 Trp	0.82	0.55		
蛋氨酸 Met	1.82	1.20	脯氨酸 Pro	1.59	0.95		
异亮氨酸 Ile	2.68	1.73					

注:表中样品氨基酸量以AA表示,氨基酸总量以TAA表示;游离氨基酸量以FAA表示,游离氨基酸总量以TFAA表示

由表4可知,该氨基酸营养粉中氨基酸种类齐全,氨基酸总量占65.53%,其中必需氨基酸占19.86%,而且该氨基酸营养粉中游离氨基酸总量达42.71%,与氨基酸态氮测定结果一致。该氨基酸营养粉中谷氨酸、甘氨酸含量最高,是主要的呈鲜味氨基酸;另外脯氨酸、天冬氨酸和丙氨酸等氨基酸的含量也较高,它们的存在使营养粉呈现圆润柔和鲜味。如以营养粉中粗蛋白计,则每100g粗蛋白中氨基酸总量达79.06%,其中游离氨基酸达51.53%。

另外,扇贝裙边氨基酸营养粉中除富含蛋白质、游离氨基酸和矿物质等营养成分外,尚含有具多种药理活性的扇贝多肽,并且在制备过程中很好地保留了糖胺聚糖、牛磺酸和微量元素等活性物质,因而同时具有抗肿瘤、抗病毒和抗衰老等多种生物功能(汪文项等 1994;黄翠丽等 2002),适宜作为高附加值的营养品、海鲜调味品食用。因此,该项研究不仅高值化利用扇贝裙边,变废为宝,提高扇贝下角料的附加值,同时也为我们利用其他水产加工废弃物提供了新的思路。

## 参 考 文 献

- 王镜岩,朱圣庚,徐长法主编.2002.生物化学(上册)第3版.北京:高等教育出版社,160
- 毛文君,李八方,程贤明.1997.扇贝边蛋白质营养价值的评价.海洋科学,1:10~12
- 车勇良,孙 溢,欧阳五庆,姚如水,王跃军,王春波,张 琇.2004.扇贝多肽对氧化所致胸腺细胞凋亡的影响.海洋水产研究,25(3):33~38
- 无锡轻工业学院、天津轻工业学院合编.1994.食品分析.北京:中国轻工业出版社,74
- 纪 蓓,周 坤.2007.扇贝酱发酵工艺研究.中国调味品,7:44~47
- 纪 蓓,冷鹏飞.2006.扇贝边酶法水解工艺的优化.齐齐哈尔大学学报,22(6):27~30
- 孙 溢,向葆卿,王跃军,马英杰,易仁元.1996.扇贝内脏团提取物对药物性肝损伤的保护作用.海洋水产研究,17(1):22~29
- 李建武,萧能赛,余瑞元,袁明秀,陈丽蓉,陈雅蕙,陈来同合编.2002.生物化学实验原理和方法.北京:北京大学出版社,160
- 邢雁霞,苏 爱,杜 卫,王春波.2008.扇贝多肽经由 aSMase-JNK 通路抑制 UVA 诱导 HaCaT 细胞凋亡.高等学校化学学报,29(4):757~761
- 汪文瑛,李珏声.1994.扇贝裙边对大鼠血脂水平的影响.营养学报,16(1):436~439
- 宋永相,孙 溢,王海英,王跃军,李 伟,郝建华.2008.海洋酶法利用海产品下脚料制取活性胶原肽的研究.海洋水产研究,29(2):28~33
- 菲诗松.2004.实验设计.北京:中国统计出版社,411
- 顾谦群,方玉春.1998.扇贝糖蛋白的化学组成与抗肿瘤活性的研究.中国海洋药物,17(3):23~26
- 黄翠丽,刘 赛,于树君,张 健,刘占涛,仲伟珍.2002.扇贝裙边提取物抗动脉粥样硬化作用及其机理研究.中国海洋药物,4:12~19
- 曾庆祝,许庆陵,林鲁萍,曾庆孝.2004.扇贝边活性肽的分离及其对羟自由基的清除活性研究.中国食品学报,4(3):10~15
- 曾庆祝,汪 涛,叶于明.2001.扇贝边酶解技术研究.中国水产科学,8(1):64~67
- 魏玉西.1994.酶解扇贝裙边蛋白质的营养评价.营养学报,16(3):296~299
- 魏玉西,田学琳.1993.扇贝裙边酶水解工艺条件的研究.海洋科学,4:5~7
- Ding, B. X., and Wang, C. B. 2003. Inhibitory effect of polypeptide from *Chlamys farreri* on UVB-induced apoptosis and DNA damage in normal human dermal fibroblasts in vitro. Acta. Pharmacol. Sin. 24(10):1 006~1 010
- Yao, R. Y., and Wang, C. B. 2002. Protective effects of polypeptide from *Chlamys farreri* on HeLa cells damaged by ultraviolet A. Acta. Pharmacol. Sin. 11:1 018~1 022