

诸永志,卞欢,吴海虹,等.提高鲫鱼汤原料蛋白溶出率的工艺优化[J].江苏农业科学,2018,46(8):189-192.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.08.047

提高鲫鱼汤原料蛋白溶出率的工艺优化

诸永志,卞欢,吴海虹,贡雯玉,张新笑,陈琳,徐为民

(江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014)

摘要:拟研究不同工艺条件对提高鲫鱼汤原料蛋白溶出率的影响。在单因素试验结果的基础上,对不同加热时间(90、105、120 min)、不同加热温度(85、90、95 ℃)、不同加盐量(2%、3%、4%)和不同料液比(1 g:2 mL、1 g:3 mL、1 g:4 mL)进行正交优化试验。结果表明,上述4个因素对鲫鱼汤原料蛋白溶出率的影响大小依次为加热时间(A)>加热温度(B)>料液比(D)>加盐量(C),而这4个因素的最优水平均为第3水平,其中只有加盐量(C)的3个水平之间差异不显著。综合考虑各因素水平的差异显著性以及产品的口感等情况,最终确定最佳工艺组合为加热时间120 min,加热温度95 ℃,料液比1 g:4 mL,加盐量2%,在此条件下测得鲫鱼汤中蛋白质的溶出率为16.42%。

关键词:鲫鱼汤;蛋白溶出率;工艺优化

中图分类号: TS254.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)08-0189-03

在我国悠久的烹饪饮食文化中,荤汤是必不可少的一部分,俗语云“无汤不成席”,所谓煲汤就是用火长时间炖煮食材,动物原料经过一定时间的文火煮制后,其中的蛋白质、脂肪、矿物质等溶入水中,因此汤汁不仅味道鲜美,还含有丰富的短肽、游离氨基酸、游离脂肪酸、胶原蛋白、维生素以及矿物质元素等水溶性营养成分^[1-2],极易被人体吸收和利用。以家庭经常食用的鲫鱼汤为例,其营养全面且易于消化吸收,常食可增强抵抗力,防止呼吸道发炎,尤其对儿童哮喘病的治疗有益,而鱼汤中的卵磷脂对病体的康复也有利^[3]。

鱼汤的品质除了受原料影响外,还取决于加工工艺,如加水量、火候、加工时间等。好的加工工艺可以使原料中的营养物质、挥发性风味物质等充分溶出,使汤的营养、滋味和香味等品质更好^[4]。目前国内的相关报道有李小华等对猪排骨汤中蛋白质溶出率的研究,该研究比较了不同烹饪方式所得蛋白质溶出率的不同^[5];陈宇丹等分析鸡汤在不同熬汤时间内其主要营养浸出物质含量的变化规律等^[6]。然而,以淡水鱼类为原料制汤的工艺研究相对较少。本研究以鲫鱼为原料,选取加热时间、加热温度、加盐量、料液比为影响因素,以蛋白质溶出率为评价指标,研究鲫鱼汤加工工艺条件对原料蛋白质溶出率的影响,确定最佳制汤工艺,以为后期开发高蛋白凝胶鲫鱼汤新产品提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

电子秤,中国凯丰集团有限公司;电子天平,意大利 BEL 公司;数字恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;万用电炉,天津市泰斯特仪器有限公司;烘箱,上海索谱仪器有限公司。

收稿日期:2016-11-28

基金项目:江苏省重点研发计划(编号:BE2016320)。

作者简介:诸永志(1975—),男,江苏南京人,硕士,研究员,主要从事肉制品加工与质量控制技术研究。E-mail:yongzhizhu@163.com。

通信作者:徐为民,博士,研究员,主要从事肉制品加工与质量控制技术研究。E-mail:weiminxu2002@aliyun.com。

1.2 材料与试剂

鲫鱼,购自当地农贸市场;纯水,由美国 Millipore 公司的纯水仪制备;食盐,购自当地的苏果超市;硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、氢氧化钠为分析纯产品。

1.3 试验方法

1.3.1 鲫鱼汤前处理工艺流程 鲫鱼→洗净、沥干→称质量→加水→加盐→设定温度、时间恒温煮制→鲫鱼汤→蛋白质含量测定。

1.3.2 蛋白质含量测定 蛋白质含量测定参考文献[7]。

1.3.3 单因素试验设计 (1)加热时间对蛋白质溶出率的影响。对于称质量后的鲫鱼,添加原料质量2%的食盐,按料液比1 g:3 mL装入不锈钢锅内,置于90 ℃水浴锅中,分别保持60、90、120、150、180 min煲汤,测定不同加热时间对蛋白质溶出率的影响,每组试验重复3次。

(2)加热温度对蛋白质溶出率的影响。对于称质量后的鲫鱼,添加原料质量分数2%的食盐,按料液比1 g:3 mL装入不锈钢锅内,分别置于60、70、80、90、100 ℃水浴锅中保持90 min煲汤,测定不同温度对蛋白质溶出率的影响,每组试验重复3次。

(3)加盐量对蛋白质溶出率的影响。对于称质量后的鲫鱼,按照料液比1 g:3 mL装入不锈钢锅内,分别加入原料质量1%、2%、3%、4%的食盐,置于90 ℃水浴锅中,保持90 min煲汤,测定不同加盐量对蛋白质溶出率的影响,每组试验重复3次。

(4)料液比对蛋白质溶出率的影响。对于称质量后的鲫鱼,添加原料质量2%的食盐,分别按料液比1 g:2 mL、1 g:3 mL、1 g:4 mL、1 g:5 mL、1 g:6 mL装入不锈钢锅内,置于90 ℃水浴锅中,保持90 min煲汤,测定不同料液比对蛋白质溶出率的影响,每组试验重复3次。

1.3.4 正交试验设计 根据单因素试验结果,选择加热温度、加热时间、加盐量、料液比进行4因素3水平 $L_9(3^4)$ 正交试验。

1.3.5 计算公式 相关计算公式如下:

$$\text{蛋白质含量} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0.014}{m \times \frac{10}{100}} \times 6.25 \times 100\%。$$

式中: V_1 为样品消耗盐酸标准液的体积, mL; V_2 为空白对照消耗盐酸标准溶液的体积, mL; N 为盐酸标准溶液的当量浓度, mol/L; m 为测定样品的质量, g。

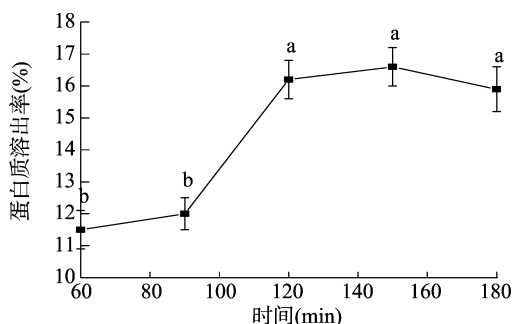
蛋白质溶出率 = 鱼汤蛋白质浓度 (g/mL) × 鱼汤体积 (mL) / 鱼质量 (g) × 100%。

1.3.6 数据统计与分析方法 数据均经过 3 次平行测量, 用 Excel 和 SPSS 17.0 进行处理, 图形均用 Origin Pro 8 绘制。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 加热时间对蛋白质溶出率的影响 由图 1 可知, 加热时间对鲫鱼汤中蛋白质溶出有很大影响。加热时间在 60 ~ 150 min 时, 随着加热时间的延长, 鱼汤中蛋白含量呈持续上升的趋势, 其中 90 ~ 120 min 阶段上升显著 ($P < 0.05$), 当加热到 150 min 时蛋白溶出率达到最大值, 而后不再显著变化, 甚至略微下降。这可能是因为长时间的加热条件下, 蛋白质部分水解, 生成肽、氨基酸等产物, 而这些水解产物进一步参与到美拉德反应中, 生成挥发性的风味物质, 最终以气体的形式挥发出去^[8-9]。因此, 判断最佳加热时间在 90 ~ 120 min 之间。这与瞿明勇等对排骨汤、鸡汤中蛋白质溶出的研究结果^[10-11]一致。



不同处理间标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同
图1 加热时间对蛋白质溶出率的影响

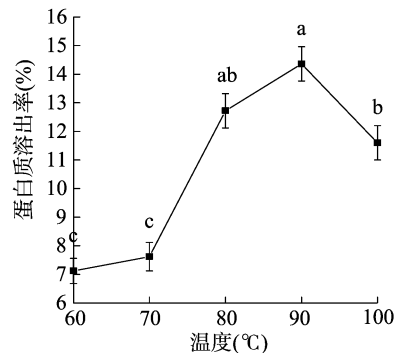


图2 加热温度对蛋白质溶出率的影响

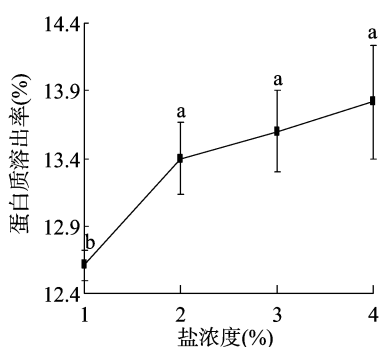


图3 加盐量对蛋白质溶出率的影响

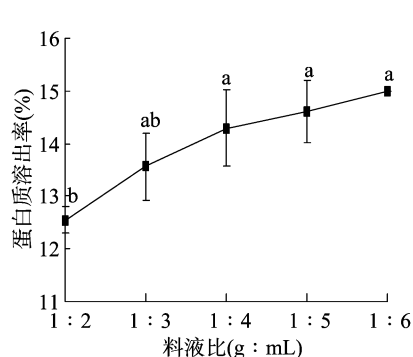


图4 料液比对蛋白质溶出率的影响

2.2 正交优化试验结果与分析

通过以上单因素试验得出的结果, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进一步优化, 试验因素水平见表 1, 正交试验、方差分析结果分别见表 2、表 3。

由表 3 方差分析结果可知, $F_A = 6.544$, $F_B = 5.374$, $F_C =$

2.1.2 加热温度对蛋白质溶出率的影响 由图 2 可知, 随着温度的升高, 蛋白质溶出率一开始呈缓慢上升趋势, 70 °C 后溶出率显著提高 ($P < 0.05$), 80 °C 后蛋白质溶出速度逐渐放慢, 曲线趋于平缓, 直到 90 °C 达到最高值。而当温度高于 90 °C 后, 蛋白质溶出率显著下降 ($P < 0.05$), 这可能是由于高温条件下鲫鱼汤中蛋白质发生变性凝固沉淀。张建友等在热处理对猪骨高汤品质变化的影响研究中发现, 当原料骨中蛋白及多肽完全溶出后, 在持续高温加热作用下, 溶出蛋白含量到达最大值后呈现降低的趋势^[12], 这与本研究结果基本一致。本试验确定鲫鱼汤适宜的加热温度应控制在 80 ~ 90 °C 之间。

2.1.3 加盐量对蛋白质溶出率的影响 由图 3 可知, 当加盐量在 1% ~ 2% 时, 随着盐浓度的增加, 蛋白质溶出率显著提高 ($P < 0.05$)。这可能是由于当盐浓度较低时, 盐可以增加蛋白质分子表面的电荷, 并且增强蛋白质分子与水分子的作用, 使原料中的盐溶性蛋白加速溶出^[13-14]。当加盐量从 2% 增至 4% 时, 蛋白质溶出率增加并不显著, 主要是因为盐浓度继续增大后, 可能会导致离子强度过高而使蛋白质发生盐析作用^[15], 从而降低其溶出率。苑瑞生等研究了滚揉时间和食盐浓度对鸡肉调理制品的保水性及盐溶性蛋白质溶出量的影响, 发现盐溶性蛋白溶出量在食盐添加量为 2.5% 时达到较高水平, 继续增加食盐浓度则盐溶性蛋白质溶出量增长缓慢^[16], 这与本研究结果的趋势相同。本试验确定加盐量应控制在 2% ~ 4% 之间。

2.1.4 料液比对蛋白质溶出率的影响 由图 4 可知, 当料液比为 1 g : 2 mL 时, 由于加水量过少, 原料蛋白质溶出量有限; 之后随着料液比增大, 蛋白质溶出率显著增加 ($P < 0.05$); 当料液比达 1 g : 3 mL ~ 1 g : 5 mL 时, 蛋白质溶出率虽然继续增大, 但增加不显著。孙晓明等在对高汤工业化生产中的相关工艺的研究中指出, 当骨水比增大到一定程度后, 骨中蛋白质的溶出率不再增大^[17], 本研究结果与之一致。此外, 料液比过大不仅会在熬汤过程中消耗过多的能量, 还会影响鱼汤的风味, 因此确定合适的料液比在 1 g : 2 mL ~ 1 g : 4 mL 之间。

0.613, $F_D = 1.567$, 因素 A、B 的显著水平均小于 0.05 ($F_A = 0.005$, $F_B = 0.012$), 因素 C、D 的显著水平均大于 0.05 ($F_C = 0.550$, $F_D = 0.229$)。结果表明, 4 个因素对蛋白质溶出率的影响大小依次为加热时间 (A) > 加热温度 (B) > 料液比 (D) > 加盐量 (C), 其中加热时间和加热温度影响显著, 而加盐量和

表 1 正交试验因素与水平

水平	A:加热时间 (min)	B:加热温度 (℃)	C:加盐量 (%)	D:料液比 (g : mL)
1	90	85	2	1 : 2
2	105	90	3	1 : 3
3	120	95	4	1 : 4

表 2 正交试验结果

试验号	A:加热时间	B:加热温度	C:加盐量	D:料液比	蛋白质溶出率(%)		
					重复 1	重复 2	重复 3
1	1	1	1	1	12.60	10.28	11.80
2	1	2	2	2	11.85	12.08	11.95
3	1	3	3	3	16.28	14.09	15.30
4	2	1	2	3	12.31	14.26	13.40
5	2	2	3	1	12.51	14.18	13.40
6	2	3	1	2	14.26	16.34	15.60
7	3	1	3	2	15.06	14.01	14.76
8	3	2	1	3	15.81	16.10	15.93
9	3	3	2	1	14.50	16.30	15.54

表 3 正交试验方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
加热时间	26.409	2	13.204	6.544	0.005
加热温度	23.150	2	11.575	5.374	0.012
加盐量	3.635	2	1.818	0.613	0.550
料液比	8.643	2	4.322	1.567	0.229
误差	13.001	18	0.722		
总计	74.838	26			

表 4 各因素对蛋白质溶出率的 Duncan’s 多重比较结果

因素	水平	试验数 (次)	各因素不同水平 多重比较(α=0.05)	
			子集 1	子集 2
加热时间	1	9	12.914 4	
	2	9	14.028 9	
	3	9		15.334 4
	P 值		0.109	
加热温度	1	9	13.164 4	
	2	9	13.756 7	
	3	9		15.356 7
	P 值		0.400	
加盐量	2	9	13.576 7	
	1	9	14.302 2	
	3	9	14.398 9	
	P 值		0.349	
料液比	1	9	13.456 7	
	2	9	13.990 0	
	3	9	14.831 1	
	P 值		0.109	

注:各因素处在同一子集中的结果之间差异不显著($P>0.05$),在不同子集中的结果差异显著($P<0.05$)。

通过正交试验得出的最优组合为 A₃B₃D₃C₃,但是综合考虑到 Duncan’s 多重比较结果的各因素差异显著性,以及产品的口感、经济实惠等因素,选取的最佳工艺组合为 A₃B₃D₃C₁。进一步进行验证比较试验,将组合 A₃B₃D₃C₁ 和 A₃B₃D₃C₃ 进

料液比影响不显著。

由表 4 的 Duncan’s 多重比较结果可知,4 个因素均为第 3 水平最好。但是加盐量在 3 个水平之间差异不显著,考虑到低盐有利于健康且经济,因此实际生产可选择低加盐量水平 1;料液比在 3 个水平之间差异也不显著,考虑到鲫鱼汤产品是以汤为主,因此在实际生产中可选择出汤比例较高的料液比水平 3。

行 3 次重复试验,结果得出组合 A₃B₃D₃C₃ 蛋白质溶出率为 16.50%,组合 A₃B₃D₃C₁ 的蛋白质溶出率为 16.42%,与理论最优组合的相对误差为 0.5%,可以作为实际应用的最佳工艺参数。

3 结论

本研究探讨了不同工艺条件对提高鲫鱼汤原料蛋白溶出率的影响,通过对加热时间、加热温度、加盐量和料液比 4 个工艺参数的单因素试验分析、正交试验优化以及比较验证,最终确定最佳工艺条件组合为 A₃B₃D₃C₁,即加热时间为 120 min,加热温度为 95℃,料液比为 1 g : 4 mL,加盐量为 2%,在此条件下测得鲫鱼汤中蛋白质溶出率为 16.42%。同时在此条件下制得的鲫鱼汤在经济性和口感方面均能够被接受,具有实际可操作性。

参考文献:

[1]赵 勇,邱祥国. 烹制对鸡汤灭菌作用及营养物质浸出的试验观察[J]. 扬州大学烹饪学报,2005,22(2):44-47.
[2]Martinez-Valverde I,Periago M J,Santaella M,et al. The content and nutritional significance of minerals on fish flesh in the presence and absence of bone[J]. Food Chemistry,2000,71(4):503-509.
[3]于 虹. 夏季多喝这些汤[J]. 今日科苑,2006(8):45.
[4]唐学燕,陈 洁,李更更,等. 加工方法对鱼汤营养成分的影响[J]. 食品工业科技,2008(10):248-251,255.
[5]李小华,黄小红,于 新,等. 制汤工艺条件对猪排骨蛋白质溶出率的影响[J]. 食品与发酵工业,2008,34(10):106-109.
[6]陈宇丹,芮汉明,张立彦. 清鸡汤中营养物质浸出规律的探讨[J]. 食品工业,2011(1):97-100.
[7]食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定:GB 5009.5—2010[S].
[8]彭 景. 烹饪营养学[M]. 北京:中国纺织出版社,2008.
[9]Zhang J,Yao Y,Ye X,et al. Effect of cooking temperatures on protein hydrolysates and sensory quality in crucian carp (Carassius auratus) soup[J]. Journal of Food Science and Technology,2013,50(3):

陈 杏,杨成丽,鲍炳鑫,等. 茶树菇 β -葡萄糖苷酶的纯化及应用研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(8):192-194.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.08.048

茶树菇 β -葡萄糖苷酶的纯化及应用研究

陈 杏,杨成丽,鲍炳鑫,张 璇,蒲 姝瑾,张煦彤,李大力,石若夫
(南京理工大学生物工程系,江苏南京 210094)

摘要:从茶树菇中分离纯化一种 β -葡萄糖苷酶,并对其进行酶学性质的研究。该 β -葡萄糖苷酶的分子量为 26 ku,最适 pH 值为 6.0,最适温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 。乙醇浸提喜树碱后的喜树果渣经 β -葡萄糖苷酶和纤维素酶协同水解后,还原糖和葡萄糖的生成量分别为 0.90、0.69 mg/mL。研究表明,茶树菇 β -葡萄糖苷酶可应用于中草药提取残渣的生物水解领域。

关键词:茶树菇; β -葡萄糖苷酶;纤维素酶;喜树残渣;糖化;纯化

中图分类号:R284.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)08-0192-03

β -葡萄糖苷酶属于水解酶类,它能催化 β -D-糖苷类物质生成葡萄糖和糖苷配基。 β -葡萄糖苷酶在生物体内广泛存在,包括细菌^[1-2]、真菌^[3-4]、植物^[5-6]、动物^[7-8]。 β -葡萄糖苷酶在食品、医药工业等领域具有重要的应用价值。 β -葡萄糖苷酶不仅能水解食品中 β -糖苷类的风味前体物质^[9],而且能制备多种药物活性分子,如京尼平^[10]、大豆异黄酮苷元^[11]、人参皂苷^[12]。此外, β -葡萄糖苷酶在纤维素生物质的资源化领域有着不可替代的作用^[13-14]。茶树菇是一类具有大型子实体的可食性真菌。在茶树菇的整个菌丝生长和出菇期间,分泌大量胞外 β -葡萄糖苷酶,促进菌丝细胞对纤维素等大分子物质的降解和子实体的生长发育^[15]。因此,茶树菇是一种能分泌高产、安全性高的 β -葡萄糖苷酶的酶源。目前,还未见研究茶树菇中 β -葡萄糖苷酶的报道。我国是中药大国,提取有效成分后的中药残渣一般含有丰富的粗纤维,但这些残渣大多被当作废物垃圾处理。中草药提取生物活性成分的加工过程包括碾碎^[16]、碱处理^[17]、有机溶剂处理^[18]等,因此,通过生物催化方法降解中药残渣,可简化预处理过程,而且得到的葡萄糖可作为一种重要的碳源,成为微生物发酵生产乙醇、甲醇的重要原料。本研究从茶树菇中

分离纯化得到 β -葡萄糖苷酶,并初步探索了茶树菇 β -葡萄糖苷酶和纤维素酶对提取喜树碱后喜树果渣的协同糖化作用。

1 材料与方法

1.1 材料

茶树菇子实体购自江苏省南京市孝陵卫农贸市场,对硝基苯- β -D-葡萄糖苷(pNPG)购自 Aladdin 公司。其他试验所用的试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。主要试验设备为高速冷冻离心机(himac CR21G)、紫外-可见分光光度计(HITACHI)、数显高速均质机(杭州齐威仪器有限公司)、切向流超滤装置(Millipore Pellicon-2)、制备电泳仪(BIO-RAD 491 型)。

1.2 方法

1.2.1 茶树菇 β -葡萄糖苷酶的分离纯化 称取茶树菇子实体,充分匀浆,纱布过滤得到滤过液,将滤过液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 g 下离心 10 min,上清液即为粗酶液。依次使用截留分子量为 500、10 ku 的超滤膜进行浓缩分离,得到的酶液经 40%~85% 饱和度的硫酸铵分级沉淀后,透析。利用美国 BIO-RAD 491 型制备型电泳仪纯化酶蛋白。以 5% 浓缩胶和 10% 分离胶进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,使用磷酸缓冲液(50 mmol/L, pH 值 7.0)洗脱。电泳过程在低温下进行,工作电压为 200 V。

将纯化后的酶蛋白分别进行 Native-PAGE 和 SDS-PAGE。Native-PAGE 使用含 0.05% 的 β -D-葡萄糖苷-

收稿日期:2016-11-29

作者简介:陈 杏(1992—),女,湖北石首人,硕士研究生,主要从事生物催化研究。E-mail:13770319302@139.com。

通信作者:杨成丽,博士,副教授,主要从事生物催化研究。E-mail:bioedu@sina.com。

542-548.

[10] 瞿明勇,张瑞霞,赵思明,等. 工艺参数对排骨汤营养特性的影响[J]. 食品科技,2007,32(12):123-126.

[11] 曾清清,张立彦. 熬煮条件对鸡骨高汤品质的影响研究[J]. 食品工业科技,2014,35(1):106-110,115.

[12] 张建友,邵 鹏,茹巧美,等. 热处理对猪骨高汤品质变化的影响研究[J]. 食品工业科技,2013,34(3):143-146.

[13] Defreitas Z, Sebrancek J G, Olson D G, et al. Carrageenan effects on salt-soluble meat proteins in model systems[J]. Journal of Food Science, 1997, 62(3): 539-543.

[14] Verbeke D, Neirincx N, van Der Meeren P, et al. Influence of κ -carrageenan on the thermal gelation of salt-soluble meat proteins[J]. Meat Science, 2005, 70(1): 161-166.

[15] 李罗明, Wang C H, 郑兵福, 等. 淡水鱼加工副产品中蛋白质提取及鱼冻的配方研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(4): 119-123.

[16] 苑瑞生, 梁荣蓉, 罗 欣. 滚揉时间和食盐浓度对鸡肉调理制品的保水性及盐溶性蛋白质溶出量的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(1): 162-166.

[17] 孙晓明, 吴素玲, 张卫明, 等. 高汤工业化生产中相关工艺试验研究[J]. 中国调味品, 2008, 33(5): 48-52.