文章编号: 1004-7271(2000)04-0313-06

马氏珍珠贝肉营养液的研制及营养评价

吴燕燕, 李来好, 陈培基, 杨贤庆, 刁石强, 李刘冬

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300)

摘 要:采用酶技术,利用珍珠养殖场开珠后的废弃物——马氏珍珠贝肉,研制珍珠贝肉营养液。结果显示,采用枯草杆菌中性蛋白酶和风味酶 Flavouryzme 联合水解马氏珍珠贝肉的效果最好,通过正交试验法确定了酶法水解的最佳工艺条件是:温度 50℃,时间 5h,pH 6.5,枯草杆菌中性蛋白酶和 Flavouryzme 的添加量分别为 0.6%和 0.25%。对营养液的营养价值进行分析评价,营养液中蛋白质达到 73.6mg/mL,富含人体所需的 8 种必需氨基酸,尤其是谷氨酸、天门冬氨酸、精氨酸、牛磺酸,也含有一定量的脂肪酸、钙和微量元素锌等,可见马氏珍珠贝肉酶解液是一种很好的蛋白质营养源;由于味道鲜美、营养丰富,可作为强化食品的基体材料、调味料或营养口服液等。

关键词:马氏珍珠贝肉;蛋白酶;酶解工艺;营养评价

中图分类号:TS 254.9 **文献标识码**: A

Experimental preparation of nutrient liquid from shellfish *Pinctada martersii* meat and nutritional evaluation

WU Yan-yan, LI Lai-hao, CHEN Pei-ji, YANG Xian-qin, DIAO Shi-qiang, LI Liu-dong

(*South China Sea Fisheries Institute, CAFS, Guangzhou* 510300, *China*)

Abstract: Nutrient liquid was prepared by enzymatic hydrolysis of shellfish meat (*Pinctada martensii*) which was usually disposed as wastes in pearl farm. A mixture of enzymes including bacillin neutral proteinase (0.6%) and flavourzyme (0.25%) was used in the hydrolytic process with the best result obtained. The optimum conditions set by the orthogonal test for enzymolysis were temperature 50℃, hydrolysis time 5 hr, and pH 6.5. The nutritional composition in the liquid involve 73.6 mg/mL of protein, 8 kinds of essential amino acids, particularly rich in Glu, Asp, Arg, and taurine, a certain amount of fatty acids, and some minerals such as Ca and Zn, so it is a nutrient source of protein. It tastes delicious and nutritious and also can be prepared for food enhancer, seasoning and oral nutrient liquid.

Key words: Pinctada martensii meat; proteinase; technology of enzymatic hydrolysis; nutrional evaluation

我国马氏珠母贝(*Pinctada martersii*)的养殖主要分布在广东、广西和海南三省(区),约有八千多个珍珠养殖场[1]。据统计,1998 年广东省的海水珍珠养殖面积达 0.33 万 hm^2,收珠后的珍珠贝肉约 2500 吨[2],若加上海南、广西的产量,其收珠后的贝肉就更多了。目前收珠后的贝肉除了少数直接食用外,一般作饲料,利用价值极低。马氏珍珠贝肉是一种高蛋白、低脂、低糖的海产食品,贝肉含有一些微小的天然珍珠和大量珍珠粘液,富含多种生理活性物质,如从其生殖腺中提取的物质能治疗妇女子宫出血等,

收稿日期: 2000-07-12

基金项目:中国水产科学研究院南海水产研究所所长基金项目(99-05)

作者简介:吴燕燕(1969-),女,广东广州市人,助理研究员,从事水产品加工和综合利用及海洋药物的研究。

具有丰富的营养价值和药用价值[3,4]。本文运用酶技术，利用采珠废弃贝肉研制了风味较好的贝肉营养液，为马氏珍珠贝肉的加工利用开辟了新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 马氏珍珠贝肉

采用海南三亚、广东澳头珍珠养殖场开珠后及时收集的贝肉，经急冻后置冷藏柜保存备用。

1.1.2 酶制剂

AS1398枯草杆菌中性蛋白酶，酶活力100 000μ/g，无锡杰能科生物工程有限公司出品。木瓜蛋白酶，酶活力800 000μ/g，广州酶制剂品厂出品。Alcalase，酶活力0.6AU/g，丹麦诺和诺德公司出品。Neutrase，酶活力0.5AU/g，丹麦诺和诺德公司出品。Flavourzyme，丹麦诺和诺德公司出品。

1.2 分析检测方法

(1)总氮量测定：半微量凯氏定氮法[6]。

(2)氨基酸态氮(FAN)测定：甲醛滴定法[6]。

(3)脂肪测定：皂化法[6]。

(4)灰分测定：550℃干法灰化法[6]。

(5)钙、锌测定：火焰原子吸收分光光度法[6]。

(6)氨基酸分析及牛磺酸含量测定：日立835－50型高速氨基酸分析仪[6]。

(7)水解度(DH)[9,10]

$$DH(\%) = \frac{\text{水解的肽键摩尔数}}{\text{原料中总肽键摩尔数}} \times 100 = \frac{B-C}{A-C} \times 100$$

式中A：原料中总的氨基酸摩尔数

B：水解液中的氨基氮摩尔数

C：原料中本身含有的氨基氮摩尔数

1.3 马氏珍珠贝肉营养液的制取

将马氏珍珠贝肉解冻，按一定比例加水，用高速组织捣碎机捣碎匀浆，浆液加入一定量的酶，在选定的水解条件下进行水解，酶解后加热灭酶，把酶解液离心，弃渣得上清液，该液进一步脱色脱腥，杀菌，得马氏珍珠贝肉营养液。

2 结果与讨论

2.1 酶的选择

酶是由活细胞合成的一种生物催化剂，种类很多，在生物化学反应中起催化作用[8]。选择一种对马氏珍珠贝肉水解效果较好的蛋白酶，需从酶的价格、水解能力、酶的来源等方面进行考虑。本文分别选用枯草杆菌中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、Neutrase蛋白酶、Alcalase蛋白酶，在各酶最适作用条件下进行水解马氏珍珠贝肉，其结果见表1。

从表1可见各种酶的水解能力为枯草杆菌蛋白酶 > Alcalase蛋白酶 > Neutrase蛋白酶 > 木瓜蛋白酶；而从水解液的风味来看，都是具有贝腥味，但木瓜蛋白酶还夹杂有不愉快的异味，使风味变差；从价格上讲，以木瓜蛋白酶最贵，其它三个价格差不多，但枯草杆菌中性蛋白酶为国产酶，水解能力强，获取较方便。综合考虑，选取枯草杆菌中性蛋白酶作为马氏珍珠贝肉的水解酶。

表 1　各种蛋白酶水解马氏珍珠贝肉的能力比较

Tab.1　Comparison hydrolysis ability of different proteinase for Pinctada martensii meat

酶种类	酶解条件					结果		
	温度（℃）	时间（h）	pH	肉水比	加酶量（%）	氨基氮（mg/mL）	水解度（%）	风味
枯草杆菌蛋白酶	50	5	6.5	1:2	2	5.23	64.76	贝腥味
木瓜蛋白酶	55	5	6.5	1:2	2	3.60	40.61	腥味夹异味
Neutrase 蛋白酶	45	5	7.0	1:2	2	3.80	43.57	贝腥味略淡
Alcalase 蛋白酶	55	5	8.0	1:2	2	4.33	51.45	贝腥味

2.2　底物浓度(S)的确定

选定枯草杆菌中性蛋白酶在温度为 50℃，pH 6.5，时间 5h，加酶量 1% 的条件下，对贝肉按不同底物浓度进行水解，测定水解液的氨基氮生成率，确定最佳的底物浓度，其结果见表 2。

表 2　底物浓度(S)对水解效果的影响

Tab.2　Effect of substrate concentration on the hydrolytic result

底物浓度 S（%）	30	35	40	45	50	60
氨基氮(mg/mL)	4.67	5.27	5.00	4.80	4.25	2.98

底物浓度与水解程度有密切关系，由表 2 可知，当底物浓度为 35% 时，氨基氮溶出率最高，水解效果最好。而随着底物浓度增加，氨基氮溶出率低，水解不彻底，这是因为蛋白含量对酶活力影响所致。所以确定最佳底物浓度为 35%。

2.3　枯草杆菌中性蛋白酶水解条件的确定

根据已有的资料和初步的实验分析，本实验以水解液中氨基氮含量为指标，选择加酶量(A)、温度(B)、时间(C)、pH 值(D)四个因素，每个因素确定四个水平，选用 $L_{16}(4^5)$ 正交表进行正交试验[7]。结果见表 3。

表 3　枯草杆菌中性蛋白酶 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计与结果分析

Tab.3　$L_{16}(4^5)$ orthogonal design and result of bacillin neutral proteinase

试验号	A 加酶量（%）	B 温度（℃）	C 时间（h）	D pH	E 空白	氨基氮（mg/mL）
1	1(0.2)	1(45)	1(3)	1(6.5)	1	3.60
2	1(0.2)	2(50)	2(4)	2(7.0)	2	4.36
3	1(0.2)	3(55)	3(5)	3(7.5)	3	3.91
4	1(0.2)	4(60)	4(6)	4(8.0)	4	3.62
5	2(0.4)	1(45)	2(4)	3(7.5)	4	3.87
6	2(0.4)	2(50)	1(3)	4(8.0)	3	4.00
7	2(0.4)	3(55)	4(6)	1(6.5)	2	4.63
8	2(0.4)	4(60)	3(5)	2(7.0)	1	4.35
9	3(0.6)	1(45)	3(5)	4(8.0)	2	3.90
10	3(0.6)	2(50)	4(6)	3(7.5)	1	5.32
11	3(0.6)	3(55)	1(3)	2(7.0)	4	4.75
12	3(0.6)	4(60)	2(4)	1(6.5)	3	4.33
13	4(0.8)	1(45)	4(6)	2(7.0)	3	3.73
14	4(0.8)	2(50)	3(5)	1(6.5)	4	5.50
15	4(0.8)	3(55)	2(4)	4(8.0)	1	4.57
16	4(0.8)	4(60)	1(3)	3(7.5)	2	4.40
$K_1/4$	3.87	3.78	4.19	4.52	4.46	
$K_2/4$	4.21	4.80	4.28	4.30	4.32	
$K_3/4$	4.58	4.47	4.42	4.38	3.99	
$K_4/4$	4.55	4.18	4.33	4.02	4.44	
R	0.71	1.02	0.23	0.50	0.47	

根据表 3 正交试验结果极差值和各因素的各水平的平均指标值大小，可以看出对贝肉水解效果影响最显著的因素是温度，其次是加酶量，pH 值和时间为次要因素。进一步方差分析见表 4，由 F 值的大小同样得出四个因素里，以温度为最显著因素。分析得出枯草杆菌中性蛋白酶对马氏珍珠贝肉最优的水解条件是：$A_3B_2C_3D_1$，即加酶量为 0.6%，温度 50℃，时间 5h，pH 6.5。

表 4　方差分析表

Tab.4　Variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 比	显著性
A	1.314	3	0.438	3.34	有影响
B	2.254	3	0.751	5.73	显著
C	0.107	3	0.036	0.275	不显著
D	0.515	3	0.172	1.313	不显著
误差	1.177	9	0.131		

注：查 F 表：$F_{0.1}(3,9)=2.81$　$F_{0.05}(3,9)=3.86$

2.4 混合酶工艺

马氏珍珠贝肉经枯草杆菌中性蛋白酶水解之后，水解液的风味除明显的贝腥味外还偏苦，这是由于蛋白酶水解专一性不同，直接影响水解产物的疏水性氨基酸位置，而肽链中疏水性氨基酸的位置是产生苦味的关键，如枯草杆菌中性蛋白酶可以裂解由疏水性氨基酸构成的肽键（His-Leu，Ala-Phe，Gly-Phe等），形成的肽链的N－端或C－端为疏水性氨基酸残基，水解产物于是产生苦味[5,10]。

由丹麦诺和诺德公司提供的Flavourzyme酶，它包涵有内切蛋白酶和外切蛋白酶两种活性，虽然对于完整的大分子蛋白质水解能力差，但它能使水解液不产生任何苦味和不良异味。该酶的最适作用条件是pH 6.5左右，温度50℃。所以，我们在优选出的枯草杆菌中性蛋白酶最佳水解条件下，添加Flavourzyme，既有利于水解，使马氏珍珠贝肉水解更彻底，同时也脱去苦味等不愉快气味，使营养液风味更好。

2.4.1 Flavourzyme添加量的确定

风味为指标，对Flavourzyme添加量进行实验。风味值以浓贝腥味夹苦味定义为10分，依次为9、8、7、6、5、4分，以淡贝腥味，无苦味为3分，无味为0分，结果见图1。

由图1可见，随着Flavourzyme添加量的增加，水解液中的贝腥味由浓变淡，苦味等异味逐渐消失。在添加量达0.25%之后，基本没有苦味等异味，只有淡贝腥味。从经济的角度考虑，Flavourzyme添加量选用0.25%。

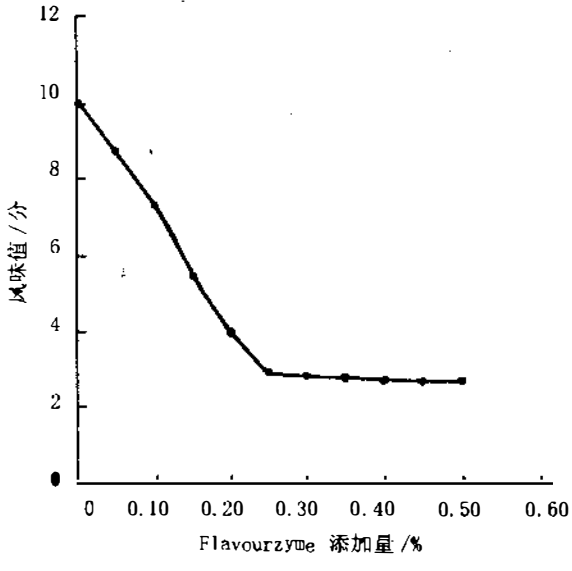

图1 Flavourzyme添加量对水解液风味的影响

Fig.1 Effect of flavourzyme added on flavour of hydrolytic solution

2.4.2 混合酶工艺的确定

在正交试验法优选出的枯草杆菌中性蛋白酶水解马氏珍珠贝肉的最佳工艺条件下，即底物浓度为35%，温度50℃，pH 6.5时，①先用0.6%枯草杆菌中性蛋白酶水解贝肉5h，之后加入0.25% Flavourzyme继续水解，测得水解液在加入Flavourzyme 1h、2h、3h后氨基氮溶出率分别为5.38mg/mL，5.59mg/mL，5.67mg/mL；②用0.6%枯草杆菌中性蛋白酶和0.25% Flavourzyme同时水解贝肉5h，测得水解液中氨基氮溶出率为5.69mg/mL。

在①条件下，Flavourzyme加入之后，随着水解时间的延长，氨基氮溶出率有所增加，在Flavourzyme加入3h后，水解效果与②条件下的水解效果相近，但总的水解时间却为8h，水解时间太长，会使水解液氧化变质，不可取。而②条件下进行水解，工艺较为方便，所以确定混合酶的最佳工艺为在底物浓度35%，温度50℃，pH6.5时，同时加入0.6%枯草杆菌中性蛋白酶和0.25% Flavourzyme，水解5h。

2.5 马氏珍珠贝肉营养液的营养评价

在选定的最佳酶解工艺条件下水解马氏珍珠贝肉，把制得的营养液进行营养成分分析，见表5和表6。

表5 马氏珍珠贝肉营养液主要成分

Tab.5 The main nutrients contents of nutrient solution from *Pinctada martensii* meat

蛋白质(mg/mL)	粗脂肪(mg/mL)	灰分(mg/mL)	锌(mg/100mL)	钙(mg/100mL)
73.6	3.8	19.6	7.06	81.1

表6　马氏珍珠贝肉营养液的氨基酸分析

Tab.6　Contents of amino acids of nutrient solution from *Pinctada martensii* meat

氨基酸名称	营养液中氨基酸含量 (mg/mL)	各种氨基酸所占比例 (%)	氨基酸名称	营养液中氨基酸含量 (mg/mL)	各种氨基酸所占比例 (%)
天门氨酸 Asp	6.38	11.20	*异亮氨酸 Ile	2.83	4.97
*苏氨酸 Thr	2.51	4.41	*亮氨酸 Leu	4.47	7.85
丝氨酸 Ser	2.00	3.51	酪氨酸 Tyr	2.34	4.11
谷氨酸 Glu	9.10	15.98	*苯丙氨酸 Phe	2.03	3.57
脯氨酸 Pro	2.61	4.58	*赖氨酸 Lys	4.12	7.24
甘氨酸 Gly	4.91	8.62	组氨酸 His	0.97	1.70
丙氨酸 Ala	3.83	6.73	精氨酸 Arg	4.38	7.69
胱氨酸 Cys	0.16	0.28	*色氨酸 Trp	未检	
*缬氨酸 Val	2.97	5.22	氨基酸总量	56.94	
*甲硫氨酸 Met	1.33	2.34	牛磺酸 Tau	5.17	

注.表中*为必需氨基酸。

结果显示这是一种高蛋白、低脂肪的营养液，含有的18种氨基酸总量为56.94mg/mL，其中人体所需的8种必需氨基酸为20.26mg/mL，占氨基酸总量的35.6%。氨基酸中以谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸、精氨酸含量较高，故营养液味道鲜甜，具有贝类独特的风味。而每100mL营养液中就含有517mg牛磺酸，7.06mg锌，81.1mg钙。

近来的研究表明：精氨酸能刺激下丘脑和垂体释放促性腺激素，提高机体免疫能力。牛磺酸是人类大脑神经细胞间质相互连接的介质，可调节脑神经功能和心肌收缩力，能够降血压、血脂，促进垂体激素分泌；为新生儿大脑发育的必需物质，婴幼儿牛磺酸摄入不足会造成智力、发育、视觉等多种疾病，但目前市场尚没有天然的牛磺酸食品供给婴幼儿食用。钙是人体生长发育和健康维持的重要营养素之一，体内缺乏会引起种种障碍；而微量元素尽管在人体内的含量不到万分之一，却与人体的生长发育、生殖等密切相关，特别是锌离子为儿童身体发育、智力发展或老年人体内由于衰老而严重不足的必需微量元素。我国一半以上儿童有缺锌、钙症状，市面上的葡萄糖酸锌、钙等可作为锌、钙补充剂，但过多摄入化学合成物会造成中毒。马氏珍珠贝肉营养液具有海产品所特有的生理活性物质，营养价值高，富含牛磺酸，生物钙和锌等元素大都以离子状态存在，极易被人体吸收，这些是陆生动、植物所不能比拟的，更是人工调制的任何一种保健品所不能比的。由此可见，该营养液是儿童、老人、体弱病者的理想营养食物，也可进一步加工制取成具有某种特殊效能的保健药物。

3　小结

3.1　本文采用酶法水解马氏珍珠贝肉，为马氏珍珠贝肉的深加工开辟了一条新的途径，充分地利用开珠后的贝肉资源，变废为宝，制出的贝肉酶解液营养价值高，尤其富含牛磺酸，是一种优质的食品添加剂，可用作强化食品基体材料、调味料、营养口服液等。从而赋予食品特殊的营养保健功能，增强食品的鲜味，提高蛋白质的生物价值。

3.2　在所试验的四种酶中，枯草杆菌中性蛋白酶是水解马氏珍珠贝肉的理想蛋白酶。该酶与Flavourzyme同时使用，能消除由于枯草杆菌中性蛋白酶作用下产生的苦味等不良异味，使水解液风味更佳。通过正交试验，确定了最佳酶解工艺条件。

3.3　在最佳酶解工艺条件下水解度达72.5%，蛋白质含量为7.36%。贝肉由于水解作用使肽链变短，基本上形成低分子多肽，这样就增加了溶液的稳定性。

参考文献：

[1]　潘炳炎，黄文贵，文仲芬　珍珠实用新技术[M]北京：中国农业科技出版社，1994. 297－313.

[2] 穗 穗. 广东省海水珍珠养殖业方兴未艾[J]. 现代渔业信息,1998,13(1): 8.
[3] 刁石强,李来好,陈培基,等. 马氏珍珠贝肉营养成分分析及评价[J].浙江海洋学院学报,2000,19(1):42-46.
[4] 王顺年,李桂春,汪 慧,等.合浦珠母贝精卵液治疗功能性子宫出血[J].海洋药物,1983, 2(1): 30-34.
[5] 杨 兰,刘通讯.酶法水解鸡肉蛋白及其水解液脱苦方法的研究[J].食品工业科技,1999, 20(2): 4-6.
[6] 黄伟坤,赵国君,赖献桐,等.食品化学分析[M].上海:上海科学技术出版社,1979. 13-80.
[7] 正交设计法编写组编写.正交设计法及其应用[M].江西: 江西人民出版社,1979.45-49,139-183.
[8] 黄文涛,胡学智.酶应用手册[M].上海:上海科学技术出版社,1989. 106-108.
[9] 周 涛. 酶解鲐鱼蛋白制取低分子肽的初步研究[J].浙江水产学院学报, 1997, 16(1): 12-18.
[10] Faswal A S. Amino acid hydrolysate from crab processing waste[J]. Food sci. 1990, 55,378-391.

欢迎订阅 2001 年《上海水产大学学报》

《上海水产大学学报》是上海水产大学主办的以水产科学技术为主的综合性学术性刊物。主要反映各学科科研成果,促进学术与教学研究的交流与繁荣。主要刊载渔业资源、水产养殖和增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器、渔业经济与技术管理以及水产基础研究等方面的论文、调查报告、研究简报、综述与评述、简迅等,并酌登学术动态和重要书刊的评价等。

本刊为季刊,大 16 开,国内外公开发行。每期单价:6.00 元。国际标准刊号:ISSN 1004-7271,国内统一刊号:CN31-1613/S。国内邮发代号:4-604,国际发行代号 4822Q。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款到编辑部订阅。

编辑部地址:上海市军工路 334 号,上海水产大学 38 信箱,邮编:200090。

联系电话:(021)65710892,**传真**:(021)65680965。

E-mail:xuebao@shfu.edu.cn

欢迎订购《上海水产大学学报(光盘版)》

《上海水产大学学报(光盘版)》是经批准正式出版发行的电子出版物,已于 2000 年 8 月正式推出,它集中了《上海水产大学学报》自 1992 年创刊至 1999 年出版的 8 卷 33 期(包括为第三届世界华人鱼虾营养研讨会而出版的 1 期增刊)的内容,共计论文 606 篇。反映了上海水产大学在此时段内的教学和科研成果,为广大从事水产科学研究人员提供了大量水产科研信息,具有一定的使用和收藏价值。全套 CD-ROM 光盘共 1 张,定价 300 元(含邮费)。欲订购者可直接汇款至上海市军工路 334 号《上海水产大学学报》编辑部,邮编 200090。