

单环刺螠体壁肌酶解产物的营养评价及溶解性分析

Nutrition evaluation and solubility analysis of hydrolysate from *Urechis unicinctus* body wall muscle

刘海梅 王苗苗 赵 芹

LIU Hai-mei WANG Miao-miao ZHAO Qin

(鲁东大学食品工程学院, 山东 烟台 264025)

(College of Food Engineering, Ludong University, Yantai, Shandong 264025, China)

摘要:通过测定单环刺螠体壁肌水解液的氨基酸组成、NSI、TCA-NSI, 计算 AAS 和 EAAI 值, 分析水解液的营养品质和溶解性。结果表明, 水解液中 18 种氨基酸种类齐全, 鲜味氨基酸含量丰富, 其中 Glu 含量最高, 为 218.263 mg/100 mL, 其次为 Gly 和 Ala, 再次为 Asp, 水解液具有浓郁的鲜美味, 是良好的海鲜调味料基料。必需氨基酸评分为 96~141, Leu 和 Ile 是两种限制性氨基酸, lys 含量丰富, EAAI 达到 86.50, EAA 含量丰富, 营养价值高。pH 为 4.5~8.0 时, 水解液的 NSI 达到 97% 以上, pH 为 7.0 时 NSI 最高, 为 99.65%, 且 TCA-NSI 也高达 99.60%, 水解液具有高溶解性能。

关键词:单环刺螠; 氨基酸; 营养评价; 氮溶解指数; 溶解性

Abstract: Nutrition and solubility were evaluated by assaying amino acids composition, AAS, EAAI, NSI and TCA-NSI of hydrolysate from *Urechis unicinctus* body wall muscle. The results showed that there were all of 18 types of amino acids, and umami amino acids were rich. In umami amino acids, the highest was Glu, 218.263 mg/100 mL, followed by Gly and Ala, third for Asp. Hydrolysate had strong delicious taste and it was a good seafood seasoning base. AAS of EAA was at range of 96~141, and EAAI was 86.50. They showed that EAA was rich and hydrolysate had a high nutritional value. When pH was at the range of 4.5 to 8.0, nitrogen solubility index (NSI) was over 97%. Especially, when pH was 7.0, NSI reached the highest value 99.65% and TCA-NSI also reached 99.60%. Hydrolysate had a high solubility.

Keywords: *Urechis unicinctus*; amino acid; nutrition evaluation; nitrogen solubility index; solubility

单环刺螠(*Urechis unicinctus*), 俗称海肠, 隶属于螠虫动物门(Echiurioidea), 螠纲(Echiurida), 无管螠目(Xenopneusta), 刺螠科(Urchidae), 其肉味鲜美, 不仅含有丰富的蛋白质及钙、锌、铁、硒等无机元素, 还含有丰富的鲜味氨基酸^[1-2], 是开发营养丰富的天然海鲜调味品的好原料。

天然海鲜调味品的呈味主要来源于氨基酸、呈味肽、核苷酸等呈味物质^[3]。已开发的单环刺螠调味品主要是经干燥后粉碎而成的粉末^[4-6], 而其中含有的蛋白质(占干重的 57%)未能充分发挥其呈味作用和营养价值。多肽不仅能提升调味品的整体风味, 且能提高必需氨基酸的利用率, 增强产品的营养价值。由此可见, 可利用单环刺螠体壁肌制备营养丰富、鲜味浓郁的多肽水解液, 为海鲜调味品的开发提供良好基料。

李诺等^[7]和于文森等^[2]对干燥后的单环刺螠体壁氨基酸组成与含量进行了分析, 发现其含有人体所需的 8 种必需氨基酸, 且鲜味氨基酸含量较高; 王本新等^[8]采用复合蛋白酶酶解制备了一种海肠调味液; 刘海梅等^[9-11]采用多种蛋白酶对单环刺螠体壁肌进行水解, 得到了多种酶的酶解工艺参数。而经酶解后, 单环刺螠体壁中的蛋白质并不能被完全水解, 因此测定酶解液的氨基酸组成, 并对其进行营养评价十分必要。酶解液在不同 pH 下的溶解性是影响其在食品中应用的一个重要指标, 而氮溶解指数和三氯乙酸氮溶解指数是分析酶解液溶解性的两个通用指标^[12-13], 能准确反映酶解产物的溶解特性和肽链长短。

因此, 本研究拟选用动物蛋白水解酶对单环刺螠体壁肌进行水解获得多肽水解液, 研究水解液的氨基酸组成、氮溶解指数、三氯乙酸氮溶解指数, 分析其营养品质和溶解性能, 旨在为开发海鲜调味品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜单环刺螠: 烟台文化路农贸市场;

基金项目:山东省高等学校发展计划项目(编号: J12LD03); 山东省科技发展计划项目(编号: 2012YD07013)

作者简介: 刘海梅(1979—), 女, 鲁东大学教授, 博士。

E-mail: hellen_79@aliyun.com

收稿日期: 2016-02-03

动物蛋白水解酶:8万U/g,广西南宁庞博生物工程有限公司;

K₂SO₄:分析纯,天津市登科化学试剂有限公司;

CuSO₄·5H₂O、三氯乙酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

HCl、NaOH:分析纯,莱阳市康德化工有限公司;

浓H₂SO₄:分析纯,烟台三和化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

凯式定氮仪:K9840型,济南海能仪器股份有限公司;

离心机:Anke-5-A型,上海安亭科学仪器厂;

高速氨基酸自动分析仪:L-8900型,日本日立集团。

1.3 方法

1.3.1 单环刺螈体壁肌水解液的制备 单环刺螈体壁肌用食品调理机打碎,调整其与水质量比为1:5,置于三角瓶中进行沸水浴处理30min,冷却,用0.1mol/LNaOH调pH为7.0,加入1.5%的动物蛋白水解酶,置于50℃恒温水浴锅中酶解4h,沸水浴灭酶,冷却,真空抽滤机抽滤得到水解液^[9-11]。

1.3.2 蛋白质回收率的测定 用凯氏定氮法^{[14]52-54}测定水解液中的蛋白质含量和总蛋白含量,并按式(1)进行计算^[15]:

$$PR = \frac{M}{M_0} \times 100\%,$$

式中:

PR——蛋白质回收率,%;

M——水解液中可溶性蛋白质的质量,g;

M₀——原料中总蛋白的质量,g。

1.3.3 水解度的测定 用中性甲醛滴定法^{[14]61-62}和凯氏定氮法分别测定水解液中游离氨态氮(AN)的含量和原料的总氮(TN)含量,并按式(2)计算^[15]:

$$DH = \frac{AN}{TN} \times 100\%,$$

式中:

DH——水解度,%;

AN——水解液中游离氨态氮含量,g;

TN——原料总氮含量,g。

1.3.4 氨基酸组成的测定 样品用6mol/L盐酸在110℃水解24h,调制上机浓度,用氨基酸自动分析仪测定除色氨酸外的17种氨基酸^[16],色氨酸采用可见分光光度法^{[14]63-65}测定。

1.3.5 酶解液中氨基酸品质的评价 根据FAO/WHO1973年建议的氨基酸评分标准模式^[17]和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式^[18]分别按式(3)、(4)计算氨基酸评分(AAS)和必需氨基酸指数(EAAI)^[19]。

$$AAS = \frac{aa}{AA(FAO/WHO)},$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100a}{ae} \times \frac{100b}{be} \times \frac{100c}{ce} \cdots \times \frac{100j}{je}},$$

式中:

AAS——氨基酸评分;

EAAI——必需氨基酸指数;

aa——试验样品每克蛋白质中氨基酸含量,%;

AA——FAO/WHO评分模式中同种氨基酸含量,%;

n——比较的氨基酸个数;

a、b、c、…、j——酶解液中的必需氨基酸含量,mg·g⁻¹;

ae、be、ce、…、je——全鸡蛋蛋白质的必需氨基酸含量,mg/g。

1.3.6 氮溶解度指数(NSI)测定 取一定量的酶解液,用2mol/L的HCl或NaOH调节pH,静置20min后离心(4000r/min,20min),然后测定上清液及酶解液中总氮含量,氮溶解度指数按式(5)计算^[12-13]:

$$NSI = \frac{N}{N_0} \times 100\%,$$

式中:

NSI——氮溶解度指数,%;

N——上清液中总氮量,g;

N₀——酶解液中总氮量,g。

1.3.7 三氯乙酸氮溶解度指数(TCA-NSI含量)测定 将酶解液与20%三氯乙酸溶液等体积混合振荡,静置20min,于4000r/min下离心20min,取上清液及酶解液测定总氮量,按式(5)计算三氯乙酸氮溶解度指数^[12-13]。

2 结果与分析

2.1 单环刺螈体壁肌中蛋白质的回收率和水解度

按照1.3.1的工艺制备单环刺螈体壁肌水解液,分别测定水解液的蛋白质回收率和水解度,其值分别为87.93%与48.65%,说明采用此工艺条件可以获得高回收率和水解度的蛋白质水解产物。

2.2 氨基酸组成

单环刺螈体壁肌水解液的氨基酸组成见表1。由表1可知,水解液中共检出氨基酸18种,构成齐全,其中必需氨基酸8种,半必需氨基酸2种,非必需氨基酸8种,鲜味氨基酸5种。总氨基酸含量为1311.863mg/100mL,必需氨基酸(Thr、Val、Met、Leu、Ile、Phe、Lys、Trp)占氨基酸总量的32.50%。鲜味氨基酸含量丰富,为703.615mg/100mL,占氨基酸总量的53.63%,其中Glu含量最高,为218.263mg/100mL,占氨基酸总量的16.64%,其次为Gly、Ala、Asp,分别占总氨基酸的14.42%,13.07%,8.15%,其中Gly和Ala是呈甜味的特征氨基酸^[20]。由此可见,水解液具有浓郁的鲜美味,是良好的海鲜调味料基料。

2.3 营养品质的评价

酶解液中AAS和EAAI的计算结果见表2。由表2可知,单环刺螈体壁肌酶解液中8种必需氨基酸齐全,8种必需氨基酸与cys、Tyr的氨基酸评分为96~141,其比例与成人所需必需氨基酸推荐模式接近,除Leu、Ile、Val外Lys、Thr、Trp、Met、Phe的氨基酸评分均高于FAO/WHO推荐的组成模式,Leu、Ile、Val氨基酸评分分别达到96,98,99,第一、二限制氨基酸分别为Leu和Ile,但两者的比例接近FAO/WHO

表 1 水解液的氨基酸组成[†]

Table 1 Amino acid composition of hydrolysate

氨基酸种类	氨基酸含量/ (10 ⁻² mg·mL ⁻¹)	氨基酸种类	氨基酸含量/ (10 ⁻² mg·mL ⁻¹)
天冬氨酸 Asp *	106.908	异亮氨酸 Ile	51.620
苏氨酸 Thr	46.601	亮氨酸 Leu	87.944
丝氨酸 Ser	44.187	酪氨酸 Tyr	42.156
谷氨酸 Glu *	218.263	苯丙氨酸 Phe	38.535
甘氨酸 Gly *	189.209	赖氨酸 Lys	87.728
丙氨酸 Ala *	171.390	组氨酸 His	26.132
胱氨酸 Cys	16.197	精氨酸 Arg *	17.845
缬氨酸 Val	65.152	脯氨酸 Pro	53.201
蛋氨酸 Met	32.761	色氨酸 Trp	16.034

[†] *. 鲜味氨基酸;氨基酸总量 W_{TAA} 为 1 311.863 mg/100 mL, 非必需氨基酸总量 W_{NEAA} 为 827.135 mg/100 mL, 必需氨基酸总量 W_{EAA} 为 484. 728 mg/100 mL, 鲜味氨基酸 W_{FAA} 为 703.615 mg/100 mL, W_{EAA}/W_{TAA} 为 36.95%。

表 2 水解液中必需氨基酸的营养评价

Table 2 Nutrition evaluation of hydrolysate

氨基酸种类	FAO/WHO 评分模式	氨基酸含量/ (mg·g ⁻¹ ·Protein)	氨基酸 评分 AAS	鸡蛋蛋白/ (mg·g ⁻¹ ·Protein)
异亮氨酸 Ile	40	39.349	98	49
亮氨酸 Leu	70	67.032	96	81
赖氨酸 Lys	55	66.873	122	66
苏氨酸 Thr	40	56.340	141	45
缬氨酸 Val	50	49.664	99	54
色氨酸 Trp	10	12.222	122	17
蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys	35	37.320	106	47
苯丙氨酸+酪氨酸 Phe +Tyr	60	60.508	101	86
必需氨基酸指数 EAAI				86.50

5.0,6.0,7.0,8.0,9.0,测定其 NSI,见图 1。

由图 1 可知,水解液在 pH 3.5~9.0 范围内的溶解性不同,pH 3.5~4.0 和 7.0~9.0 呈下降趋势,pH 4.0~7.0 呈上升趋势。pH 4.5~8.0,NSI 大于 97%,且 pH 为 7.0 时,NSI 最大(为 99.65%)。由此可见,在 pH 4.5~8.0 范围内水解液具有较高的溶解性,可作为营养强化剂添加到食品中。

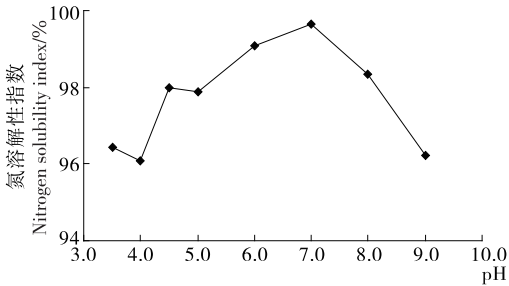


图 1 水解液在不同 pH 下的溶解性

Figure 1 Solubility of hydrolysate in different pH

推荐的吸收模式要求。机体蛋白质代谢中,对每种必需氨基酸的需要和利用按照一定的比值模式进行,以适应机体蛋白质合成的需要。必需氨基酸组成模式越接近人体需要,食物或蛋白质的生物利用率越高。由此可见,单环刺螈体壁肌酶解液中的必需氨基酸能按照 FAO/WHO 推荐的成人需求组成模式被人体吸收利用,其营养价值高于与成人需求组成模式相差较大的食物或蛋白质。Lys 的含量高达 66.873 mg/g,其 AAS 值为 122。Lys 是人的重要氨基酸,而其在大多数食物中相对缺乏,造成蛋白质利用率降低,此水解液可以与 lys 不足的粮谷类形成营养互补,有助于提高蛋白质的利用价值^[21]。因此,此水解液可以作为良好的 lys 营养补充剂,添加到食品中。

EAAI 是评价蛋白质营养价值的常用指标之一,反映的是 EAA 与标准蛋白相接近的程度^[22]。水解液 EAAI 为 86.50,表明 EAA 含量丰富,营养价值高。

2.4 氮溶解指数(NSI)的测定

将蛋白酶解液分别取 10 mL,调节 pH 值为 3.5,4.0,4.5,

2.5 三氯乙酸氮溶解指数(TCA-NSI)的测定

经 TCA 沉淀后,溶液中蛋白质与 TCA 缔合形成微粒被脱除^[23],TCA-NSI 的高低反映了酶解产物中肽链的长短,TCA-NSI 越大,肽链越短。小肽和游离氨基酸作为小分子物质,其消化吸收能力高于大分子的蛋白质,酶解液的 TCA-NSI 越高说明所含的蛋白质分子含量越少。单环刺螈体壁肌经酶解后其酶解液的三氯乙酸氮溶解指数高达 99.60%,说明在酶解液中蛋白质含量较少,酶解产物主要以游离氨基酸和小肽形式存在^[24-25],这种存在形式更有利于人体的消化吸收。多数蛋白酶解产物的三氯乙酸氮溶解指数在 85%~95%^[12-13,26-29]。由此可推测,单环刺螈体壁肌酶解液的消化利用率高与其他酶解产物,营养价值高。

3 结论

通过测定单环刺螈体壁肌酶解液的氨基酸组成、氮溶解指数以及三氯乙酸氮溶解指数,评价了酶解液的营养品质,分析了在食品 pH 范围内的溶解性和主要存在形式。酶解

液中氨基酸种类齐全,鲜味氨基酸含量丰富,酶解液具有浓郁的鲜美味,是良好的海鲜调味料基料。必需氨基酸评分高于或接近 FAO/WHO 推荐的成人需求组成模式,符合成人对必需氨基酸的吸收比例要求,丰富的 lys 与粮谷类形成良好营养补充,营养价值高。在 pH 4.5~8.0 范围内具有较高的溶解性,且主要以游离氨基酸和小肽形式存在,可作为营养强化剂添加到食品中。

参考文献

[1] 李诺,宋淑莲,唐永政. 单环刺螠[J]. 生物学通报,1998, 33(8): 12-14.

[2] 于文森,刘凤叶,王乐栋,等. 冷冻干燥和热风干燥单环刺螠产品质量分析[J]. 食品工业科技,2014,35(22): 102-105.

[3] 吴进卫,颜伟. 海鲜调味料概述[J]. 中国食品添加剂,2008(S1): 120-124.

[4] 李新民. 一种海肠调味粉: 中国, 101273772A[P]. 2008-10-01.

[5] 原野. 一种海肠粉的加工方法: 中国, 102106569A[P]. 2011-06-29.

[6] 宋孝述. 运用冷冻真空干燥技术生产颗粒状海肠素(调味品)的方法: 中国, 1579238A[P]. 2005-02-16.

[7] 李诺,宋淑莲,唐永政,等. 单环刺螠体壁氨基酸组分与含量的分析[J]. 齐鲁渔业,2000(5): 26-27, 49.

[8] 王本新,李银塔,杨宏伟. 一种海肠调味液的制备方法: 中国, 104431931A[P]. 2015-03-25.

[9] 刘海梅,王苗苗,左为民,等. 单环刺螠体壁肌酶解工艺参数的研究—动物蛋白水解酶[J]. 中国调味品,2013, 38(9): 69-72, 79.

[10] 刘海梅,张治财,尹晓洁,等. 单环刺螠体壁肌酶解工艺参数的研究—复合风味蛋白酶[J]. 中国调味品,2013, 38(11): 14-17, 30.

[11] 刘海梅,刘欢欢,宋旗,等. 单环刺螠体壁肌酶解工艺参数的研究[J]. 中国酿造,2013, 32(10): 98-101.

[12] 贾伟,武关,赵丽娟,等. 超声辅助处理促进鹅血蛋白酶解效果的研究[J].食品科技,2015(3): 166-169.

[13] 姜绍通,罗蕾蕾,潘牧,等. 莱籽粕分步酶解制备水解产物的研究[J]. 食品科学,2009(10): 52-55.

[14] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社,1994.

[15] 陈文芬,赵谋明,崔春. 鲮鱼肉可溶性蛋白酶解工艺优化的研究[J]. 食品与机械,2008, 24(4): 8-12.

[16] 张萌,王宝周,陈俊,等. 脱色工艺对鱼皮胶原肽品质的影响[J]. 食品与机械,2015(4): 212-217,259.

[17] Pellett P L, Yong V R.Nutritional evaluation of protein foods [M]. Tokyo: The United National University, 1980: 26-29.

[18] 桥本芳郎. 养鱼饲料学[M]. 蔡完其,译. 北京: 中国农业大学出版社,1980: 114-115.

[19] 刘丛力,李娟,张双灵,等. 虹鳟鱼皮营养成分及其胶提工艺探讨[J]. 食品研究与开发,2013, 34(8): 97-99.

[20] 吴进卫,李朝慧. 酶解黄花鱼粉的制备及其营养评价[J]. 食品工业科技,2007, 28(8): 227-228.

[21] 陈巧玲,李忠海,陈素琼. 5 种地产食用菌氨基酸组成比较及营养评价[J]. 食品与机械,2014, 30(6): 43-46, 81.

[22] 彭智华,龚敏方. 蛋白质的营养评价及其在食用菌营养评价上的应用[J]. 食用菌学报,1996, 3(3): 56-64.

[23] 蒋治良,邹节明,王力生,等. 蛋白质与三氯乙酸相互作用的共振散射光谱研究及分析应用[J]. 分析化学,2003(1): 70-73.

[24] 张苗,武俊瑞,代金月,等. 响应面优化三氯乙酸沉淀测定豆浆游离氨基酸中蛋白质[J]. 食品科学,2013(10): 16-20.

[25] 臧玉红,李仁杰. 响应面法优化三氯乙酸脱除滑子菇粗多糖蛋白质的工艺[J]. 食品工业科技,2014(16): 243-247.

[26] 杨桂文,安利国,孙忠军. 单环刺螠营养成分分析[J]. 海洋科学,1999(6): 13-14.

[27] 张苗,木泰华. 预热处理对甘薯蛋白酶解特性的影响[J]. 农业工程学报,2012(S1): 356-362, 383.

[28] 刘海梅,熊善柏,谭汝成. 脱脂莱籽粕中蛋白质的分步酶水解研究[J]. 中国油脂,2003(7): 15-17.

[29] 于美娟,马美湖,单杨,等. 采用两酶复合水解猪血红蛋白(Hb)制备水解蛋白的研究[J]. 食品科学,2007(1): 196-200.

信息窗

华中农业大学油菜育性调控机理研究获进展

中国科学报讯,华中农业大学植科院作物遗传改良国家重点实验室油菜团队杨光圣课题组在油菜育性调控机理研究方面取得新进展。研究人员成功克隆一个芸薹属特异新基因 MS5,相关成果在线发表于《植物细胞》杂志。

据了解, 利用杂交种是提高油菜产量的重要途径之一,而细胞核雄性不育常被用于杂交种的制种。Yi3A 是我国发现的原生型细胞核雄性不育类型。遗传分析显示, Yi3A 的育性受到 MS5 位点的 3 个复等位基因控制。

此次研究人员成功克隆了 MS5,并与中科院遗传发育所程祝宽团队合作,对该基因的功能进行了解析。研究显示,MS5 编码一个功能未知的芸薹属特异蛋白(孤儿基因),并通过调控减数分裂早期染色体的结构和减数分裂进程,调控生殖细胞发育。

进一步研究显示,该基因在减数分裂过程中功能的发挥,可能依赖于其功能蛋白的表达量,并以单倍剂量不足的方式,导致基因型为 MS5bMS5c 的单株雄性不育,从而使 MS5 的 3 个复等位基因型之间呈现完全的显隐性关系。

相关专家表示,该基因的克隆不仅增进了人们对减数分裂早期过程调控的认识,而且为在油菜杂种优势利用中有效应用该基因奠定了理论基础。

(来源:www.foodmate.net)