

小龙虾虾壳酶解液制备及其在小龙虾丸加工中的应用

Preparation of enzymatic hydrolysate from crayfish shells and its application in the processing of crayfish whole balls

杨祺福^{1,2,3,4,5} 徐文思^{1,2,3,4,5} 危纳强¹ 徐燕¹ 杨品红^{1,2,3,4,5}

YANG Qi-fu^{1,2,3,4,5} XU Wen-si^{1,2,3,4,5} WEI Na-qiang¹ XU Yan¹ YANG Pin-hong^{1,2,3,4,5}

(1. 湖南文理学院生命与环境科学学院, 湖南 常德 415000; 2. 水产高效健康生产湖南省协同创新中心, 湖南 常德 415000; 3. 环洞庭湖水产健康养殖及加工湖南省重点实验室, 湖南 常德 415000; 4. 常德市农业生物大分子研究中心, 湖南 常德 415000; 5. 常德市人工智能与生物医药研究中心, 湖南 常德 415000)
(1. College of Life and Environmental Sciences, Hunan University of Arts and Science, Changde, Hunan 415000, China; 2. Hunan Provincial Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production of Fisheries, Changde, Hunan 415000, China; 3. Hunan Provincial Key Laboratory for Health Aquaculture and Product Processing in Dongting Lake Area, Changde, Hunan 415000, China; 4. Changde Research Center for Agricultural Biomacromolecule, Changde, Hunan 415000, China; 5. Changde Research Centre for Artificial Intelligence and Biomedicine, Changde, Hunan 415000, China)

摘要:目的:提高小龙虾丸风味特性与营养价值,丰富小龙虾加工产品的多样性。方法:以小龙虾虾壳为原料制备酶解液,通过单因素和正交试验优化确定复合酶法制备小龙虾壳酶解液工艺,并对添加有酶解液冻干粉及虾肉的小龙虾“全虾丸”进行营养品质分析。结果:小龙虾壳酶解液最佳制备工艺条件为 1 g 虾壳粉中添加 0.5 mL 乳酸,60 °C 预处理 40 min,复合蛋白酶(*m*木瓜蛋白酶 : *m*风味蛋白酶 为 3 : 1)添加量为 5% (质量分数),酶解温度 60 °C,酶解时间 4 h,料液比 1 : 100 (g/mL),酶解液中蛋白提取率为 64.69%。酶解液冻干粉重金属含量均符合水产品重金属限量标准,且含有钙、镁、铁、硒等人体所需常量及微量元素;其成分分析显示,酶解液冻干粉有一定营养价值,在一定程度上可增加食品的鲜香风味,且符合安全标准。小龙虾丸的营养和质构分析表明,全虾丸蛋白质含量高,富含多种氨基酸,营养全面,风味独特,黏弹性及咀嚼性良好。结论:添加了虾壳酶解液冻干粉及虾肉的小龙虾丸有一定的营养价值,丰富了小龙虾即

食产品种类,提高了小龙虾利用率。

关键词:复合酶法;虾壳酶解液;小龙虾;营养风味;加工应用

Abstract: Objective: For enhancing the flavor characteristics and nutritional value of crayfish balls, and enriching the diversity of crayfish processed products. **Methods:** Determined the process of preparing the enzymatic hydrolysate from crayfish shell using compound enzymatic by single-factor and orthogonal array design. The nutritional quality of crayfish whole balls containing enzyme hydrolysate lyophilized powder and crayfish meat was analyzed. **Results:** The optimum condition for the preparation of crayfish shells enzymatic hydrolysate solution showed that 1 g crayfish shells powder with 0.5 mL of lactic acid was pretreated at 60 °C for 40 min. The dosage of compound enzymatic (papain and flavor protease mass ratio was 3 : 1) was 5% (mass fraction), the enzymatic hydrolysis temperature was 60 °C, time was 4 h, and solid/liquid ratio was 1 : 100 (g/mL), and the protein extraction efficiency in the enzymatic hydrolysis was 64.69%. The content of heavy metals in enzyme hydrolysate lyophilized powder was in line with the limit of heavy metals in aquatic products, and contains calcium, magnesium, iron, selenium and other macro and trace elements required by the human body. Its composition analysis showed that the enzymatic hydrolysate lyophilized powder had a certain nutritional value, which could increase the fresh flavor of the food and met the safety standards.

基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(编号:19C1280);湖南省自然科学基金项目(编号:2021JJ40380);湖南省水产产业技术体系建设项目(编号:湘农发[2019]26号)

作者简介:杨祺福,男,湖南文理学院讲师,博士。

通信作者:杨品红(1964—),男,湖南文理学院教授,博士。

E-mail: yph588@163.com

收稿日期:2022-08-16 **改回日期:**2023-01-26

The nutrition and texture analysis of crayfish balls showed that the crayfish whole balls had high protein content, rich in a variety of amino acids, comprehensive in nutrition, unique flavor, and with good viscoelasticity and chewiness. **Conclusion:** The crayfish whole balls added with crayfish shell enzyme hydrolysate lyophilized powder and crayfish meat have a certain nutritional value, which enriches the variety of crayfish ready-to-eat products, improves the utilization rate of whole crayfish.

Keywords: compound enzymatic; crayfish shell enzymatic hydrolysate; crayfish; nutrient and flavor; processing application

小龙虾(Crayfish)是中国主要的经济淡水虾之一,经过加工及食用后产生的虾壳、虾头等废弃物占整虾的70%~80%,资源未被充分利用^[1-2]。为了解决资源浪费问题,科研人员^[3-4]提取小龙虾虾壳等副产物中的甲壳素和虾青素,将其应用于化工及生命科学领域,也有利用发酵技术制备高蛋白养殖用饲料的^[5-6],但因成本高,附加值难提升而未被工业化应用。通过复合酶解法制备的小龙虾虾壳酶解物富含多肽、寡肽及多种氨基酸等蛋白质类物质,且有一定风味特性及营养价值,因此可以作为一种蛋白补充源,添加至小龙虾丸中,提升产品风味及营养,实现副产物再利用。

目前市售的虾丸大多是以低值鱼加工的鱼糜为主要原料,并根据小龙虾的外形和风味特点对鱼糜进行加工处理制备成“仿生”龙虾丸。而仿生龙虾丸中的虾肉含量极少,甚至没有,其风味及营养价值与小龙虾丸有一定差距。研究拟通过单因素和正交试验优化,确定复合酶法制备小龙虾虾壳酶解物的最佳工艺条件,再对虾壳酶解物和添加了虾壳酶解物的小龙虾丸进行营养成分和氨基酸组成分析,以评价虾壳酶解物的营养价值,以期为小龙虾深加工和综合利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

小龙虾、猪肉糜、食盐、复合磷酸盐、大豆分离蛋白、谷氨酰胺转氨酶(TG酶)、白砂糖、淀粉、鸡蛋、紫苏水、料酒、白胡椒粉、蒜汁、姜粉等:市售;

木瓜蛋白酶(酶比活力80万U/g)、风味蛋白酶(酶比活力30U/mg):上海源叶生物科技有限公司;

乳酸、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、氢氧化钠、硼酸、甲基红、溴甲酚绿等:分析纯,湖南汇虹试剂有限公司。

1.2 试 验 设 备

真空冷冻干燥机:LC-18N-50A型,上海立辰邦西仪器科技有限公司;

自动凯氏定氮仪:KT8400型,福斯分析仪器有限公司;

气相色谱-质谱仪:7820A GC-5977E MSD型,美国

安捷伦公司;

超高效液相色谱仪:AcQuity H class型,美国Waters公司;

质谱仪:TA-XT Express型,英国Stable Micro Systems公司;

电感耦合等离子体原子发射光谱仪:Optima 8300型,美国珀金埃尔默公司。

1.3 试 验 方 法

1.3.1 原料处理 超声清洗新鲜小龙虾,分离虾壳与虾肉。虾壳用2%醋酸浸泡2h,洗至中性,冷冻干燥;虾肉及其他辅料用于加工制备小龙虾丸。

1.3.2 虾壳酶解工艺 称取1g虾壳粉,加入100mL水,加入0.5mL乳酸,60℃搅拌40min,加入复合蛋白酶水解。100℃灭酶5min,5000r/min离心15min,上层清液为虾壳酶解液,冷冻干燥得酶解液冻干粉。

1.3.3 小 龙 虾 丸 制 作 工 艺

取小龙虾虾肉盐析→加入1.5%(质量分数,下同)大豆分离蛋白、30%蛋清液→擂溃→加入30%猪肉糜→擂溃→加入5%淀粉→擂溃→11.3%虾壳酶解液冻干粉→擂溃→加入0.5% TG酶→擂溃→加入调味料→擂溃→水煮定型→成品(调味料:2%白砂糖、2%紫苏汁、8%料酒、0.5%白胡椒粉、0.2%蒜汁、0.2%姜粉)

1.3.4 酶解工艺优化 参照王燕等^[7]的方法并稍作修改,选取复合蛋白酶种类为木瓜蛋白酶和风味蛋白酶。首先考察乳酸预处理对蛋白提取率的影响。其次,设置单因素试验,考察的条件有复合蛋白酶比例($m_{\text{木瓜蛋白酶}} : m_{\text{风味蛋白酶}}$ 分别为1:1.5,1:3,6:1,5:1,4:1,3:1,2:1,1:1;酶用量2%,酶解温度60℃,酶解时间4h)、蛋白酶用量(质量分数1%,2%,3%,4%,5%,6%; $m_{\text{木瓜蛋白酶}} : m_{\text{风味蛋白酶}} = 4:1$,酶解时间4h,酶解温度60℃)、酶解时间(1,2,3,4,5,6h;酶用量4%, $m_{\text{木瓜蛋白酶}} : m_{\text{风味蛋白酶}} = 3:1$,酶解温度60℃)、酶解温度(55,60,65℃;酶用量4%, $m_{\text{木瓜蛋白酶}} : m_{\text{风味蛋白酶}} = 4:1$,酶解时间4h)。

根据单因素试验的数据结果,选择复合蛋白酶比例($m_{\text{木瓜蛋白酶}} : m_{\text{风味蛋白酶}}$)、蛋白酶用量、酶解时间和酶解温度为试验因素,蛋白质提取率为评定指标,确定复合酶法制备酶解液的最佳工艺。

1.3.5 酶解蛋白提取率测定 采用凯氏定氮法测定酶解液和原料虾壳粉中蛋白质含量,按式(1)计算酶解液蛋白提取率。

$$c = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——蛋白提取率,%;

m_1 ——酶解液中蛋白质质量,g;

m_2 ——原料中蛋白质质量,g。

1.3.6 营养与风味成分分析

- (1) 水分:按 GB 5009.3—2016 直接干燥法执行。
- (2) 灰分:按 GB 5009.4—2016 干法灰化法执行。
- (3) 脂肪:按 GB 5009.6—2016 索氏提取法执行。
- (4) 粗蛋白:按 GB 5009.5—2016 凯氏定氮法执行。
- (5) 总糖:按 GB/T 9695.31—2008 苯酚—硫酸法执行。
- (6) 氨基酸分析:参照文献[8]。
- (7) 脂肪酸分析:参照文献[9]。
- (8) 游离氨基酸测定:参照文献[8]。
- (9) GMP 与 IMP 测定:按 GB 5413.40—2016 执行。

1.3.7 矿物元素与重金属元素测定 参照文献[8]。

1.3.8 质构分析 将水煮定型的小龙虾丸切成 1.2 cm×1.2 cm×0.5 cm 方块状,采用 TA-XT2 质构仪上的 P0.5 探头,测量虾丸硬度、弹性、内聚性和咀嚼性。参数设定为:测前 2.0 mm/s,测中 3.0 mm/s,测后 5.0 mm/s,测定的时间间隔为 5 s,压缩比为 40%,每个样品进行 10 个平行试验,取平均值。

1.4 数据处理

使用 SPSS 25.0 进行单因素方差分析。

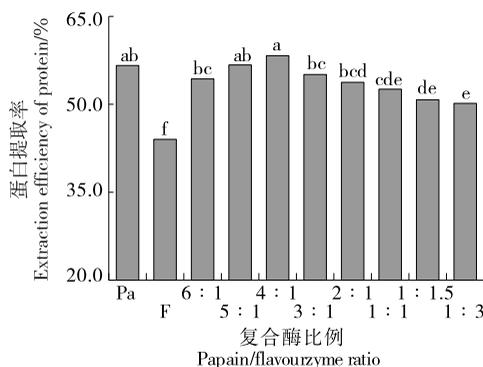
2 结果与讨论

2.1 酶解条件对蛋白提取率的影响

2.1.1 乳酸处理对蛋白提取率的影响 由于虾壳粉特殊的组织结构不利于蛋白酶渗透^[10],因此通过考察乳酸脱钙预处理对虾壳酶解效果的影响,结果发现在复合酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 3 : 1、酶用量为 4%、酶解时间为 4 h、酶解温度为 60 ℃条件下,添加与不添加乳酸进行前处理的试验组蛋白提取率分别为 60.75%,48.13%,添加乳酸比不加乳酸的蛋白提取率高 12.62%,可见添加乳酸对酶解的效果有显著影响。乳酸可有效脱离虾壳粉表面钙质并向内渗透,在提高虾壳粉组织松散程度的同时,使内层蛋白质空间结构发生变化,增加蛋白质与酶的接触位点,利于酶解反应进行^[11]。

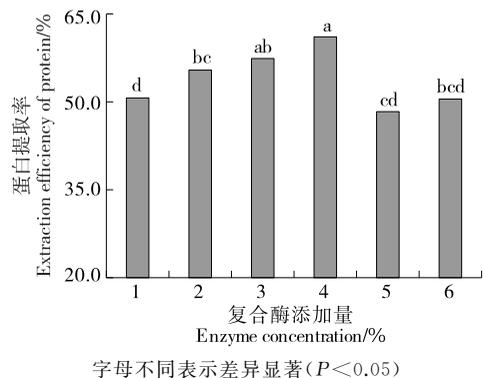
2.1.2 复合蛋白酶比例对蛋白提取率的影响 由图 1 可知,在酶用量为 2%、酶解时间为 4 h、酶解温度为 60 ℃条件下,单独使用木瓜蛋白酶(Pa)对虾壳进行酶解时,蛋白提取率为 56.62%,单独使用风味蛋白酶(F)进行酶解时,蛋白提取率仅为 44.03%。通过调节木瓜蛋白酶、风味蛋白酶的质量比进行复合酶酶解发现,木瓜蛋白酶比例适当提高可以显著提高虾壳中蛋白的提取率。木瓜蛋白酶可选择性降解甲壳素的 GlcNAc-GlcN 糖苷键,对虾壳粉的特殊机构有降解作用,有利于蛋白酶与内层蛋白接触^[12],进而提高酶解速率。当复合蛋白酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 4 : 1 时,蛋白提取率为 58.30%。不同的酶对蛋白的作用位点有差异,复合酶法提高了虾壳粉中蛋白与酶接触位点,提高蛋白溶出量。

2.1.3 蛋白酶用量对蛋白提取率的影响 在复合蛋白酶



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)
图 1 复合蛋白酶比例对蛋白提取率的影响
Figure 1 Effects of papain/flavourzyme ratio on the extraction efficiency of protein

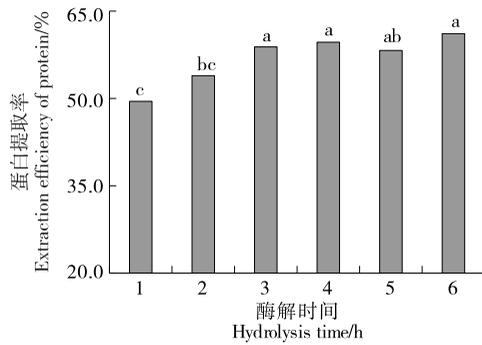
比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 4 : 1,酶解时间为 4 h、酶解温度为 60 ℃条件下,测定不同蛋白酶用量下的虾壳粉酶解液蛋白质提取率,结果如图 2 所示。当蛋白酶用量为 4%时,蛋白提取率最高,可能是因为酶与底物完全结合,酶促反应达到最佳作用点,再继续加入酶,底物与酶的结合位点饱和,此时酶本身会以底物的形式与酶结合,形成竞争关系,导致蛋白提取率降低。所以选取 4%复合酶添加量为最适用量。



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)
图 2 复合酶添加量对蛋白提取率的影响
Figure 2 Effects of enzyme concentration on the extraction efficiency of protein

2.1.4 酶解时间对蛋白提取率的影响 由图 3 可知,在复合蛋白酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 4 : 1、酶用量为 4%、酶解温度为 60 ℃条件下,随着酶解时间增加,蛋白提取率先逐渐增长后趋于平稳,在酶解时间达到 3 h 后,蛋白提取率达到了峰值。根据酶促反应动力学原理,酶解反应达到一定时间后,酶浓度饱和,底物浓度减少,酶促反应速率降低,因此选择 4 h 作为最适酶解时间。

2.1.5 酶解温度对蛋白提取率的影响 根据两种酶自身的最适温度,选择 55,60,65 ℃进行酶解试验。由图 4 可知,在复合蛋白酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 4 : 1、酶用量为 4%、酶解时间为 4 h 条件下,蛋白提取率在 55~



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图3 酶解时间对蛋白提取率的影响

Figure 3 Effects of hydrolysis time on the extraction efficiency of protein

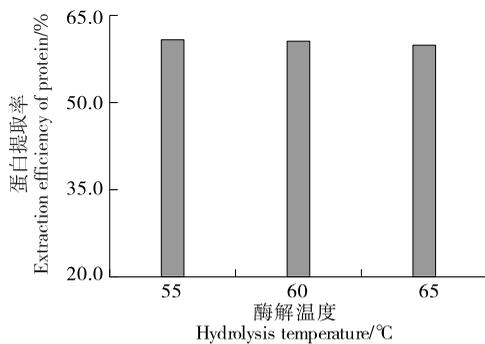


图4 酶解温度对蛋白提取率的影响

Figure 4 Effects of hydrolysis temperature on the extraction efficiency of protein

65 °C 温度范围内无显著差异,但本着节能减排,缩减成本的理念,可选取 55 °C 为最适温度进行正交优化。

2.2 正交优化

通过单因素试验确定复合蛋白酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)、酶解时间、复合酶用量、酶解温度的因素水平取值(见表 1),在此基础上,以蛋白提取率为响应指标进一步优化酶解条件,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。

由表 2 可知,4 个因素对制备虾壳酶解液影响从大到小的顺序依次是 B(蛋白酶用量) $>$ D(酶解温度) $>$ C(酶解时间) $>$ A(复合蛋白酶质量比),且酶解效果最佳的方案是 $A_1B_3C_2D_2$,但是与表 2 中最佳提取率的试验组($A_1B_3C_3D_2$)不相符合,进行验证实验,结果显示 $A_1B_3C_2D_2$ 组的蛋

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶	B 加酶量/%	C 酶解时间/h	D 酶解温度/°C
1	3 : 1	3	3	55
2	4 : 1	4	4	60
3	5 : 1	5	5	65

白质提取率为 64.69%,数据明显比 $A_1B_3C_3D_2$ 组的(61.79%)要高。所以确定制备虾壳酶解液的最佳方案为 $A_1B_3C_2D_2$,即复合酶比例(m 木瓜蛋白酶 : m 风味蛋白酶)为 3 : 1、酶用量为 5%、酶解时间为 4 h、酶解温度为 60 °C。

2.3 酶解液冻干粉营养品质分析

2.3.1 基本成分分析 将最佳酶解条件下制备的虾壳酶解液冻干粉进行基本成分分析。由表 3 可知,小龙虾虾壳酶解液冻干粉中含粗蛋白含量为(20.62±0.43)%,略高于原料粉中蛋白含量,总糖含量为(3.86±0.43)%,表明虾壳酶解物含有一定的蛋白质与碳水化合物等,有一定营养价值。与原料粉相比,酶解物冻干粉中灰分含量明显降低,为(32.60±0.15)%^[13],主要是无机盐及其氧化物,说明虾壳酶解液冻干粉中可能含有丰富的矿物质元

表 2 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experimental design and results

试验号	A	B	C	D	蛋白提取率/%
1	1	1	1	1	52.32
2	2	2	1	2	59.98
3	3	3	1	3	58.73
4	1	2	2	3	59.28
5	2	3	2	1	60.55
6	3	1	2	2	55.76
7	1	3	3	2	61.79
8	2	1	3	3	52.71
9	3	2	3	1	58.26
k_1	57.797	53.597	57.010	57.043	
k_2	57.747	59.173	58.530	59.177	
k_3	57.583	60.357	57.587	56.907	
R	0.214	6.760	1.520	2.270	

表 3 小龙虾虾壳酶解液冻干粉成分分析

Table 3 Basic components of crayfish shell enzyme hydrolysate lyophilized powder

粗蛋白/%	总糖/%	灰分/%	Pb/(mg · kg ⁻¹)	Hg/(mg · kg ⁻¹)	As/(mg · kg ⁻¹)	Cd/(mg · kg ⁻¹)
20.62±0.43	3.86±0.43	32.60±0.15	0.082±0.002	0.004 0±0.000 9	0.259±0.012	0.003 7±0.000 3
Zn/(mg · kg ⁻¹)	Ca/(mg · kg ⁻¹)	Mg/(mg · kg ⁻¹)	Fe/(mg · kg ⁻¹)	Se/(mg · kg ⁻¹)	GMP/(10 ⁻² mg · g ⁻¹)	IMP/(10 ⁻² mg · g ⁻¹)
6.74±0.54	1.21×10 ⁵ ±0.00	1.92×10 ³ ±0.00	33.50±1.23	1.27±0.24	20.38±0.54	29.87±4.67

素,测定出包括钙(Ca)、镁(Mg)、锌(Zn)、铁(Fe)、硒(Se)等在内的矿质元素。由于水产加工副产物中重金属含量是制约其高值化利用的重要因素,因此对酶解液冻干粉中铅(Pb)、汞(Hg)、砷(As)、镉(Cd)等重金属元素进行了测定,其结果均小于水产品重金属限量标准。虾壳是制作水产调味料的优质原料,富含多种风味物质^[14-15]。虾壳酶解液冻干粉中,鸟苷酸(GMP)含量为(20.38±0.54) mg/100 g,肌苷酸(IMP)含量为(29.87±4.67) mg/100 g,这些核苷酸类化合物可以起到非常强烈的呈鲜味作用,是判断食品风味程度的重要依据^[16]。GMP有着特殊的香菇鲜味,可用于酱油、调味料生产中,与IMP以1:1配合可广泛应用于各类产品^[17]。肌苷酸鲜味剂是芳香杂环化合物,对甜味有增效的作用,对腥味、焦味、苦味、酸味等一些不好的滋味有消减作用^[18]。复合酶酶解虾壳的酶解液冻干粉不仅有一定营养价值,而且在一定程度上可增加食品的鲜香风味,且符合安全标准。

2.3.2 氨基酸分析 对虾壳酶解液冻干粉的氨基酸组成进行检测,结果如表 4 所示。小龙虾虾壳酶解物中检测到 16 种氨基酸,必需氨基酸占总氨基酸的(61.83±

表 4 小龙虾虾壳酶解液冻干粉氨基酸组成分析[†]

Table 4 Analysis of amino acid composition of crayfish shell enzyme hydrolysate lyophilized powder %

氨基酸	总氨基酸相对含量	游离氨基酸相对含量
天冬氨酸(Asp) [○]	5.56±0.19	0.05±0.01
谷氨酸(Glu) [○]	7.87±0.25	0.32±0.01
丝氨酸(Ser) [#]	2.70±0.02	1.69±0.10
精氨酸(Arg)	5.08±1.65	2.66±0.38
甘氨酸(Gly) [#]	2.60±0.89	0.81±0.05
苏氨酸(Thr) ^{*#}	2.85±0.07	2.95±0.04
脯氨酸(Pro) [#]	2.64±0.09	0.93±0.04
丙氨酸(Ala) [#]	3.76±0.11	4.27±0.15
缬氨酸(Val) [*]	3.09±0.25	4.83±0.13
半胱氨酸(Cys)	0.43±0.09	3.14±0.16
异亮氨酸(Ile) [*]	2.62±0.09	7.48±0.53
亮氨酸(Leu) [*]	3.77±0.11	16.52±0.90
苯丙氨酸(Phe) [*]	3.94±0.35	13.66±0.32
组氨酸(His)	6.40±2.45	7.17±0.56
赖氨酸(Lys) [*]	45.57±0.93	20.80±2.44
酪氨酸(Tyr)	2.03±0.12	12.69±0.68
必需氨基酸(EAA)	61.83±1.08	—
非必需氨基酸(NEAA)	38.17±1.08	—
甜味氨基酸	—	10.66±0.37
鲜味氨基酸	—	0.37±0.02

† * 为必需氨基酸;# 代表甜味氨基酸;○代表鲜味氨基酸。

1.08)%。必需氨基酸中,赖氨酸最多,为(45.57±0.93)%。赖氨酸具有增强胃液分泌、提高蛋白质利用率、增强造血机能与抗病能力的作用^[19];鱼糜制品的网状结构由TG酶催化形成,TG酶的主要作用是催化肌球蛋白重链与更多的赖氨酸共价交联,从而提高凝胶强度^[12],所以在TG酶的作用下,赖氨酸含量高也有助于虾丸凝胶性的增强。因此虾壳酶解液冻干粉可作为营养源添加至鱼糜制品中。小龙虾虾壳酶解液中含有的 16 种游离氨基酸根据其呈味特性可以划分为鲜味氨基酸和甜味氨基酸等,甜味氨基酸相对含量为(10.66±0.37)%、鲜味氨基酸相对含量为(0.37±0.02)%,二者在一定程度上增加了食物的风味。天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)除了作为鲜味氨基酸提供鲜味外,还能够增加食品的甜味感觉以及滋味的厚度和持久性^[16],使味道更加丰富及醇厚。

2.4 小龙虾虾丸营养品质分析

2.4.1 质构分析 利用质构仪检测了小龙虾全虾丸的硬度、弹性、内聚性和咀嚼性,结果见表 5。硬度与内聚性可衡量虾丸内部组织组合成一个整体的程度,弹性与咀嚼性可反映虾丸变形后恢复原来状态的程度^[20-21]。与殷俊等^[22]对肉丸质构分析结果比较,小龙虾全虾丸的内聚性、弹性、咀嚼性数值均大于肉丸。根据孙啸等^[23]对火腿肠质构分析,结合对全虾丸的类比与感官品鉴发现,全虾丸弹性较好,且内部结构较紧密,总体感官较好。徐晨等^[24]研究发现,添加 6% 的小麦面筋蛋白或者 4%~6% 的大豆分离蛋白能有效提高小龙虾虾丸质地和口感。制备虾丸时添加了 11.3% 酶解液冻干粉(蛋白含量 20.62%),即向小龙虾虾丸中添加了约 2.3% 的外源蛋白,此外还添加了 1.5% 大豆分离蛋白,这两种蛋白可以增强小龙虾全虾丸的质地与口感。

表 5 小龙虾全虾丸质构分析

Table 5 Texture analysis of crayfish whole balls

硬度/N	弹性	内聚性	咀嚼性
1.84±0.40	15.29±2.04	1.58±0.22	45.34±6.68

2.4.2 营养成分分析 熟制的小龙虾全虾丸水分含量(26.50±0.29)%,灰分含量(1.90±0.02)%,低于油炸虾丸^[24]的水分含量(62.86)%,水分含量越低,则微生物活性被抑制,有利于小龙虾全虾丸的贮藏。虾丸中脂肪含量为(25.19±0.33)%高于油炸虾丸^[25]中的(16.19)%,可能是虾丸中添加猪肉糜所致;蛋白质含量为(25.86±0.13)%高于油炸虾丸^[24]的(10.34%);总糖含量为(1.26±0.70)%。小龙虾全虾丸蛋白含量丰富,营养价值较高。

2.4.3 氨基酸组成分析 由表 6 可知,小龙虾全虾丸中含有 18 种氨基酸,其中人体必需氨基酸占总氨基酸的(71.30±0.83)%。赖氨酸含量最高,约占 44%;色氨酸也是人体和动物体必需氨基酸,占总氨基酸的(13.55±

表 6 小龙虾全虾丸总氨基酸组成分析[†]

Table 6 Analysis of total amino acids in crayfish whole balls %

氨基酸	相对含量	氨基酸	相对含量
天冬氨酸(Asp)	4.37±0.12	异亮氨酸(Ile)*	2.03±0.06
谷氨酸(Glu)	6.43±0.17	亮氨酸(Leu)*	3.24±0.09
丝氨酸(Ser)	2.10±0.07	色氨酸(Trp)*	13.55±3.76
精氨酸(Arg)	3.62±0.11	苯丙氨酸(Phe)*	3.50±0.97
甘氨酸(Gly)	2.42±0.05	组氨酸(His)	3.85±0.02
苏氨酸(Thr)*	1.92±0.05	赖氨酸(Lys)*	43.79±1.69
脯氨酸(Pro)	1.65±0.04	酪氨酸(Tyr)	1.61±0.16
丙氨酸(Ala)	2.43±0.06	必需氨基酸(EAA)	71.30±0.83
缬氨酸(Val)*	2.25±0.01	非必需氨基酸(NEAA)	28.70±0.83
蛋氨酸(Met)*	1.02±0.07	EAA/TAA	0.71±0.01
半胱氨酸(Cys)	0.23±0.03	EAA/NEAA	249.00±0.10

† * 为必需氨基酸。

3.76)%,在消化调节、免疫调节、蛋白质合成调节、抗应激反应等各个方面发挥不可替代的作用^[26];含量最少的是半胱氨酸,仅占(0.23±0.03)%。据 WHO/FAO 提出的理想模式标准,质量较好的蛋白质其 EAA/TAA 的比值为 40%左右,EAA/NEAA 在 60%左右^[27],小龙虾全虾丸的 EAA/TAA 比值和 EAA/NEAA 值分别是 71%和 249%,表明全虾丸中的蛋白质营养价值较高,氨基酸种类较齐全。

2.4.4 脂肪酸组成分析 由表 7 可知,小龙虾全虾丸中有 5 种饱和脂肪酸(SFA),5 种单不饱和脂肪酸(MUFA)和 3 种多不饱和脂肪酸(PUFA)。含量最高的 SFA、MUFA、PUFA 分别为 C_{16:0} (14.46±0.33)%、C_{18:1n9} (35.90±3.39)%、C_{18:2n6} (26.89±1.86)%。总 SFA、MUFA、PUFA 的比例接近 1:1:1。脂肪酸中 MUFA 含量高,能够降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL)的氧化敏感性,保护血管内皮,控制血压,正向调节血脂代谢和降低血液中的血糖水平^[28]。

表 7 小龙虾全虾丸脂肪酸分析

Table 7 Analysis of fatty acids in crayfish whole balls %

脂肪酸	相对含量	脂肪酸	相对含量
C _{14:0}	1.09±0.02	C _{18:0}	12.11±0.93
C _{16:1n7}	2.14±0.11	C _{20:4n6}	0.75±0.07
C _{16:0}	14.46±0.33	C _{20:2n7}	0.74±0.08
C _{17:0}	0.36±0.00	C _{20:1n11}	1.21±0.22
C _{18:2n6}	26.89±1.86	C _{20:0}	0.63±0.05
C _{18:1n9}	35.90±3.39	∑SFA	28.32±1.18
C _{18:1n5}	3.78±0.30	∑MUFA	43.30±3.04
C _{18:1n7}	0.41±0.03	∑PUFA	28.37±2.01

2.4.5 游离氨基酸分析 小龙虾全虾丸含有 17 种游离氨基酸,其中呈鲜、甜味的氨基酸占 40.51%,甜味为小龙虾全虾丸的主要味道特征。味道强度值(TAV)是呈味物质在样品中的含量与其对应的味道阈值的比值,一般 TAV 值>1,表示呈味物质对样品的滋味有重要贡献^[8]。由表 8 可知,小龙虾全虾丸游离氨基酸的 TAV 值均小于味道阈值^[29-30],适当多食用一些时鲜甜味明显。

表 8 小龙虾全虾丸游离氨基酸分析[†]

Table 8 Analysis of free amino acids in crayfish whole balls

游离氨基酸	相对含量/ %	含量/ (mg·g ⁻¹)	味道阈值/ (mg·g ⁻¹)	TAV
天冬氨酸(Asp) [○]	0.15±0.06	0.001±0.001	1.0	0.00
谷氨酸(Glu) [○]	0.54±0.10	0.004±0.001	0.3	0.01
丝氨酸(Ser) [#]	10.60±0.29	0.083±0.005	1.5	0.06
精氨酸(Arg)	16.63±0.40	0.130±0.004	0.5	0.26
甘氨酸(Gly) [#]	10.36±0.29	0.081±0.002	1.3	0.06
苏氨酸(Thr) [#]	2.56±0.60	0.020±0.004	2.6	0.01
脯氨酸(Pro) [#]	5.15±0.45	0.040±0.002	3.0	0.01
丙氨酸(Ala) [#]	11.16±0.21	0.087±0.003	0.6	0.15
缬氨酸(Val)	4.61±0.18	0.036±0.002	0.4	0.09
甲硫氨酸(Met)	1.36±0.11	0.011±0.001	0.3	0.04
异亮氨酸(Ile)	1.89±0.11	0.015±0.001	0.9	0.02
亮氨酸(Leu)	2.53±0.18	0.020±0.002	1.9	0.01
色氨酸(Trp)	2.38±0.15	0.019±0.001	/	/
苯丙氨酸(Phe)	3.34±0.07	0.026±0.002	0.9	0.03
组氨酸(His)	9.57±0.35	0.075±0.002	0.2	0.37
赖氨酸(Lys)	14.44±1.85	0.113±0.017	0.5	0.23
酪氨酸(Tyr)	2.75±0.23	0.021±0.003	/	/
甜味氨基酸	39.82±1.08	0.310±0.008	/	/
鲜味氨基酸	0.69±0.15	0.005±0.001	/	/

† # 代表甜味氨基酸;○代表鲜味氨基酸;/表示未查阅到。

3 结论

采用复合酶法制备的小龙虾虾壳酶解液冻干粉,可作为一种营养风味蛋白源制作小龙虾丸。添加了虾壳酶解液冻干粉的小龙虾丸,其黏弹性及咀嚼性良好,内部结构紧实;蛋白含量高,以赖氨酸为主要的人体必需氨基酸含量丰富;脂肪含量低,且脂肪酸中 MUFA 含量较高;非挥发性风味物质中呈鲜、甜味的氨基酸约占 40%。小龙虾全虾丸口感良好,甜味鲜味俱存,有独特的小龙虾风味,营养丰富,有很高的食用价值。接下来将进一步研究小龙虾虾壳酶解液冻干粉在速冻食品中的应用,提高其经济价值。

参考文献

[1] 蔡一芥, 马申嫣, 程佳琦, 等. 克氏原螯虾壳高值化利用的研究

- 进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(10): 334-338, 344.
- CAI Y J, MA S Y, CHEN J Q, et al. Research progress on high value-added utilization of *Procambarus clarkii* shells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(10): 334-338, 344.
- [2] 徐文思, 李柏花, 张梦媛, 等. 小龙虾及其副产物加工利用研究进展[J]. 农产品加工, 2021(1): 60-63, 68.
- XU W S, LI B H, ZHANG M Y, et al. Research progress on processing and utilization of crayfish and its by-products [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2021(1): 60-63, 68.
- [3] ANEESH P A, ANANDAN R, KUMAR L R G, et al. A step to shellbiorefinery: Extraction of astaxanthin-rich oil, protein, chitin, and chitosan from shrimp processing waste[J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2023, 13(1): 205-214.
- [4] CHANDRA ROY V, HO T C, LEE H J, et al. Extraction of astaxanthin using ultrasound-assisted natural deep eutectic solvents from shrimp wastes and its application in bioactive films [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 284: 125417.
- [5] 侯会绒, 孙兆远, 贡汉坤. 超声波提取克氏原螯虾壳中虾青素[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(9): 209-214.
- HOU H R, SUN Z Y, GONG H K. Extraction of astaxanthin from *Procambarus clarkia* shell by ultrasound[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(9): 209-214.
- [6] BAEK H H, CADWALLADER K R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products[J]. Journal of Food Science, 2010, 60(5): 929-935.
- [7] 王燕, 邓放明, 刘焱, 等. 酶法提取克氏原螯虾头和虾壳的中蛋白质[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 1-5.
- WANG Y, DENG F M, LIU Y, et al. Enzymatic extraction of protein from crayfish head and shell[J]. Food Science, 2013, 34(12): 1-5.
- [8] 徐文思, 胡诗雨, 邓娟丽, 等. 小龙虾加工水煮液营养成分与风味物质分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 279-286.
- XU W S, HU S Y, DENG J L, et al. Analysis of nutrient and flavor compounds in boiled crayfish wastewater[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 279-286.
- [9] MA R, LIU X H, TIAN H N, et al. Odor-active volatile compounds profile of triploid rainbow trout with different marketable sizes[J]. Aquaculture Reports, 2020(17): 1-7.
- [10] 晏依洋, 王美丹, 张权, 等. 基于电镜与红外光谱技术研究不同处理方式对小龙虾壳粉外观结构的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3 182-3 187.
- YAN N Y, WANG M D, ZHANG Q, et al. Study on the effect of different treatment methods on the apparent structure of *Procambarus clarkii* shell powder based on electron microscopy and infrared spectroscopy[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(8): 3 182-3 187.
- [11] 朱继国, 廖涛, 张庆芳, 等. 超声波辅助法对小龙虾壳制备葡萄糖酸钙的工艺研究[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(3): 66-74.
- ZHU J G, LIAO T, ZHANG Q F, et al. Ultrasonic-assisted preparation of calcium gluconate from crayfish shell[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(3): 66-74.
- [12] 宋恭帅, 陈康, 俞喜娜, 等. 热杀菌对即食鲟鱼鱼糜制品品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(24): 153-160, 167.
- SONG G S, CHEN K, YU X N, et al. Effect of thermal sterilization on ready-to-eat sturgeon (*Acipenser sinensis*) surimi product quality[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(24): 153-160, 167.
- [13] 徐文思, 杨祺福, 张梦媛, 等. 两步酶解法制备小龙虾副产物多肽及其抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(24): 147-154.
- XU W S, YANG Q F, ZHANG M Y, et al. Extraction and antioxidant capacity of polypeptides from crayfish by-products by two-step enzymatic hydrolysis [J]. Food Research and Development, 2021, 42(24): 147-154.
- [14] 王紫薇. 超声辅助酶解制备克氏原螯虾调味料的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2019: 11-65.
- WANG Z W. Study on preparation of *Procambarus clarkii* flavoring by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis [D]. Changchun: Jilin University, 2019: 11-65.
- [15] 王常高, 杜馨, 林建国, 等. 酿造虾头虾壳功能性调味料用高产菌株选育研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(8): 17-19.
- WANG C G, DU X, LIN J G, et al. Study on breeding of high-yield strain used for functional seasoning of brewed shrimp head and shell[J]. China Condiment, 2021, 46(8): 17-19.
- [16] 黄百祺, 黄创成, 吴巨贤, 等. 4种龟肉酶解液的氨基酸及呈味特性比较[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(8): 12-17.
- HUANG B Q, HUANG C C, WU J X, et al. Comparison of amino acids and taste characteristics in four kinds of emydidae meat enzymatic hydrolysate[J]. Food Research and Development, 2021, 42(8): 12-17.
- [17] 曹伟, 许晓曦. HPLC测定不同热处理方式对镜鲤鱼中呈味核苷酸的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 136-137, 203.
- CAO W, XU X X. Determination of the different heat treatment in mirror carp meat flavor nucleotides by HPLC [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(3): 136-137, 203.
- [18] ZHENG J, TAO N, GONG J, et al. Comparison of non-volatile taste-active compounds between the cooked meats of pre-and post-spawning Yangtze *Coilia ectenes*[J]. Food Science and Technology, 2015, 81(3): 559-568.
- [19] 温文娟, 刘珊, 黄远丽. 鳄鱼肉的氨基酸组成分析及营养评价[J]. 中国食品, 2021(9): 53-55.
- WEN W J, LIU S, HUANG Y L. Analysis of amino acid composition and nutritional evaluation of crocodile meat[J]. China Food, 2021(9): 53-55.
- [20] 赵改名, 郝洪涛, 柳艳霞, 等. 肉糜类制品质地的感官评定方法[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(2): 100-105.
- ZHAO G M, HAO H T, LIU Y X, et al. Sensory evaluation approaches for texture characteristics of minced meat products[J]. Journal of China Agricultural University, 2010, 15(2): 100-105.

- [21] 蒋丽婷, 李理. 豆腐乳质构与其成分相关性研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(8): 797-800, 854.
JIANG L T, LI L. The relation of chemical component to texture of White Sufu[J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(8): 797-800, 854.
- [22] 殷俊, 梅灿辉, 陈斌, 等. 肉丸品质的质构与感官分析[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 50-55.
YIN J, MEI C H, CHEN B, et al. Sensory evaluation and instrumental measurement of meatballs[J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(1): 50-55.
- [23] 孙啸, 尤金杰, 周颀, 等. 添加木质素的火腿肠品质特性分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 153-159.
SUN X, YOU J J, ZHOU D, et al. Analysis on quality characteristics of ham sausage with woody breast[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 153-159.
- [24] 徐晨, 诸永志, 葛庆丰, 等. 不同外源蛋白对小龙虾丸品质的影响[J]. 肉类研究, 2020, 34(4): 20-26.
XU C, ZHU Y Z, GE Q F, et al. Effect of exogenous proteins on the quality of crayfish balls[J]. Meat Research, 2020, 34(4): 20-26.
- [25] 赵子科, 曹文红, 何啸峰. 中国毛虾虾丸的研制[J]. 食品科技, 2013, 38(11): 142-152.
ZHAO Z K, CAO W H, HE X F. Development of the Shrimp Ball based on *Acetes chinensis*[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(11): 142-152.
- [26] 刘岩, 李翔宇, 李成会. 色氨酸营养研究进展[J]. 中国饲料, 2019(5): 50-53.
LIU Y, LI X Y, LI C H. The research of tryptophan nutrition[J]. China Feed, 2019(5): 50-53.
- [27] FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements, report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation, world health organization technical report series 724[R]. Geneva: WHO, 1985: 121-123.
- [28] 张泽生, 高山, 郭擎, 等. 棕榈油酸的研究现状及展望[J]. 中国食品添加剂, 2016(9): 198-202.
ZHANG Z S, GAO S, GUO Q, et al. Processing and comprehensive utilization of palmitoleic acid [J]. China Food Additives, 2016(9): 198-202.
- [29] DEMAN J M, FINLEY J W, HURST W J, et al. Principles of Food Chemistry[M]. [S.l.]: Springer, Cham, 2018.
- [30] KATSUMI K, EMI H, HIROMI K, et al. Taste-masking effects of various foods on crude drug products[J]. Japanese Journal of Food Chemistry and Safety, 2019, 26(1): 68-76.
-
- (上接第 109 页)
- [27] HE L, LAN W, AHMED S, et al. Electrospun polyvinyl alcohol film containing pomegranate peel extract and sodium dehydroacetate for use as food packaging[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 22: 100390.
- [28] KHALID S, YU L, FENG M, et al. Development and characterization of biodegradable antimicrobial packaging films based on polycaprolactone, starch and pomegranate rind hybrids[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 18: 71-79.
- [29] ZAHRA E D, AREZOO M, SEYED A, et al. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef[J]. Packaging Technology and Science, 2015, 28(10): 869-881.
- [30] HANANI Z A N, YEE F C, NOR-KHAIZURA M A R. Effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 253-259.
- [31] 户帅锋, 谢庆超, 梁贤波, 等. 含石榴皮提取物的活性薄膜在猪肉保鲜中的应用研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 131-136.
LU S F, XIE Q C, LIANG X B, et al. Application of active film containing pomegranate peel extract in pork preservation[J]. Food & Machinery, 2016, 32(5): 131-136.
- [32] MELENDEZ P A, CAPRILES V A. Antibacterial properties of tropical plants from puerto rico [J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2006, 13(4): 272-276.
-
- (上接第 116 页)
- [13] ROUILLARD V, SEK M A. Creating transport vibration simulation profiles from vehicle and road characteristics [J]. Packaging Technology and Science, 2013, 26: 82-95.
- [14] 高德, 吴朝武, 陆俊杰. 运输包装系统振动行为研究与发展趋势分析[J]. 包装工程, 2020, 41(15): 51-58.
GAO D, WU C W, LU J J. Dynamic behavior research and dynamic development of transportation packaging system [J]. Packaging Engineering, 2020, 41(15): 51-58.
- [15] 王立军. 产品运输包装系统的加速随机振动试验研究[D]. 广州: 暨南大学, 2019: 2-4.
WANG L J. Investigation on accelerated random vibration test of product transportation packaging system [D]. Guangzhou: Jinan University, 2019: 2-4.
- [16] 宋卫生, 薛阳, 边文慧, 等. 瓦楞纸板楞形参数对力学性能的影响[J]. 包装工程, 2020, 41(17): 147-151.
SONG W S, XUE Y, BIAN W H, et al. Influence of corrugated parameters of corrugated board on mechanical properties [J]. Packaging Engineering, 2020, 41(17): 147-151.
- [17] 石岩, 张括, 王芳, 等. 全瓦楞纸板的红酒包装内衬设计及跌落分析[J]. 包装工程, 2017, 38(9): 135-140.
SHI Y, ZHANG K, WANG F, et al. Design and dropping analysis of package lining for red wine with all corrugated board [J]. Packing Engineering, 2017, 38(9): 135-140.