

4种蛋白酶对鲢鱼骨汤特性的影响

陈周 张美玲 尹涛 熊善柏 尤娟 胡杨

华中农业大学食品科学技术学院/国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心(武汉), 武汉 430070

摘要 以鲢脊骨为原料,采用高温蒸煮、酶解、真空浓缩、灌装、灭菌等工序制备鲢鱼骨汤,并研究了4种蛋白酶(中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶)对鱼骨汤的氮收率、基本组成、蛋白肽含量、外观、色度和滋味特性的影响。结果表明,与空白样品(未加酶)相比,酶解制备鱼骨汤的氮收率、游离氨基酸含量、钙含量和分子质量小于3 ku的蛋白肽含量显著增加($P<0.05$),其中采用风味蛋白酶制备鱼骨汤的这4项指标最高,分别比空白样品(未加酶)增加了46.61%、3478.82%、233.40%和56.25%。外观与色度结果表明,风味蛋白酶制备鱼骨汤颜色为深黄色, b^* 值最大(3.24),其次为其他3种蛋白酶制备的鱼骨汤(1.72~2.86),空白样品(未加酶)的最低(-1.78)。电子舌结果表明,风味蛋白酶制备的鱼骨汤鲜味最强,苦味最弱。综上所述,风味蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的营养、外观和滋味品质最佳。

关键词 鲢; 鱼骨汤; 蛋白酶; 酶解; 蛋白肽; 钙; 游离氨基酸; 滋味

中图分类号 TS 254.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)06-0041-07

淡水鱼的鱼头、鱼骨作为主要的固体副产物,约占全鱼质量的40%左右。目前,鱼骨通常作为废弃物丢掉或加工成为肥料、饲料添加剂等价值较低的产品^[1]。2018年全国养殖鲢产量为385.89万t^[2],如果这些鲢全部用于加工,将产生超过30万t的鱼骨。如何减少蛋白质资源的浪费,提高鱼骨的加工附加值,减少环境污染,是水产加工中亟待解决的关键问题。国内一些学者探究了以鱼骨为原料开发高附加值的产品,例如开发可食用微细化高钙鱼骨粉^[3-4]、生物活性羟基磷灰石^[5]、明胶^[6]和纳米鱼骨^[7-8]等,并探究添加鱼骨提取物对终端食品特性的影响^[9-11]。

骨汤具有营养丰富、滋味鲜美等特点。目前对于骨汤的研究,主要集中在猪骨、牛骨、鸡骨等的开发,并已实现工业化生产,而鱼骨的风味高汤研究较少。制备鱼骨汤可以充分利用鱼骨中的蛋白质、脂肪以及丰富的钙、铁、锌等矿物元素^[12]。酶解法较为常见,生产条件温和、高效,对蛋白质营养价值破坏小且有利于鱼骨中游离氨基酸的释放。采用酶解技术可将骨胶原蛋白分解为氨基酸和小分子肽,有效利用鱼骨中大量的I型胶原蛋白,将其水解成胶

原多肽及L-氨基酸,从而提高鱼骨汤的营养价值和功能特性^[13],更易于人体消化吸收利用。目前,已经有学者对鱼骨的酶解利用开展了一系列研究,例如朱迎春等^[14]以鲤鱼骨为原料,优化了脱脂和酶解工艺;陈晶等^[13]发现分步酶解方式可明显提高鲢鱼骨的水解度和氮收率;姜绍通等^[15]选择中性蛋白酶对鱼骨进行酶解,通过正交试验确定了酶解的最佳工艺条件,并得出酶解后鱼腥味减少、风味得到较大改善的结论。但是,应用不同种类蛋白酶制备鱼骨汤的研究还未见报道。

本试验以鲢鱼骨为原料,经高压蒸煮、均质后酶解,研究蛋白酶种类对鱼骨汤基本组成、色度和滋味等特性的影响,以期工业化生产营养鱼骨汤提供一定的技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1) 鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*),购于武汉市白沙洲集贸市场。选取质量约2.5 kg的活鱼将其宰杀,去除鱼鳞、内脏、头部等。经采肉机去肉后,留中间的脊骨,冻藏于-18℃冷库,备用。

收稿日期: 2019-07-24

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0901003)

陈周,硕士研究生。研究方向: 水产品加工及贮藏工程。E-mail: 13163376881@163.com

通信作者: 尹涛,博士,讲师。研究方向: 水产品加工及贮藏工程。E-mail: yintao@mail.hzau.edu.cn

2)主要试剂。中性蛋白酶(100 U/mg)、碱性蛋白酶(200 U/mg)、风味蛋白酶(20 U/mg)、木瓜蛋白酶(800 U/mg),上海源叶生物科技有限公司;L-亮氨酸(L-leucine),上海源聚生物科技有限公司;钙元素标准溶液,国家有色金属及电子材料分析测试中心;浓硫酸、无水硫酸铜、硫酸钾、双氧水(30%)、茚三酮、L(+)-抗坏血酸、牛血清白蛋白(BSA)、Folin 酚试剂、碳酸钠、酒石酸钾钠、考马斯亮蓝 G-250 等,国药集团化学试剂有限公司。

3)主要仪器和设备。ZM-100 高温蒸煮锅,广州标际包装设备有限公司;T18 高速分散均质机,德国 IKA 公司;HH-6 型数显恒温水浴锅,金坛区西城新瑞仪器厂;TDL-5-A 型离心机,上海菲恰尔分析仪器有限公司;RE-3000 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;K9840 凯式自动定氮仪,济南海能仪器有限公司;722N 可见分光光度计,INESA;AA-6300c 原子吸收分光光度计,日本岛津公司;CR-400 色度计,CHROMA METER 公司;ASTREE 型电子舌,

法国 Alpha M.O.S 公司。

1.2 试验方法

1)鲢鱼骨汤的制备。制备工艺流程见图 1。鲢鱼骨经高压蒸煮→骨渣破碎→骨汤去油→混合液均质→酶解→灭活→离心→过滤→真空浓缩→灌装→杀菌后得到成品。具体步骤与工艺参数如下:①蒸煮:解冻鲢脊骨,按料水质量比 1:2 加入蒸馏水,置于高温蒸煮锅中 121℃ 熬制 1 h,软化鱼骨;②破碎:冷却后分离骨汤和骨渣,骨汤静置,去上层油脂,备用,骨渣加水(质量比 1:3)高速破碎,制成乳白色骨泥糊;③均质:将去除固体杂质后的骨泥糊和骨汤混合,搅匀后置于转速 10 000 r/min 下均质 90 s;④酶解:均质液加不同种类酶(2 000 U/g),置于不同种类蛋白酶的适宜温度下水解 3 h,然后 100℃ 沸水浴灭酶活 10 min;⑤离心过滤:4 000 r/min,离心 10 min,离心后纱布双层真空抽滤,得到清液;⑥真空浓缩:60℃ 温度和 0.09 MPa 真空度下浓缩 1 h;⑦包装杀菌:将鱼骨汤样品分装,95℃ 下水浴 35 min。

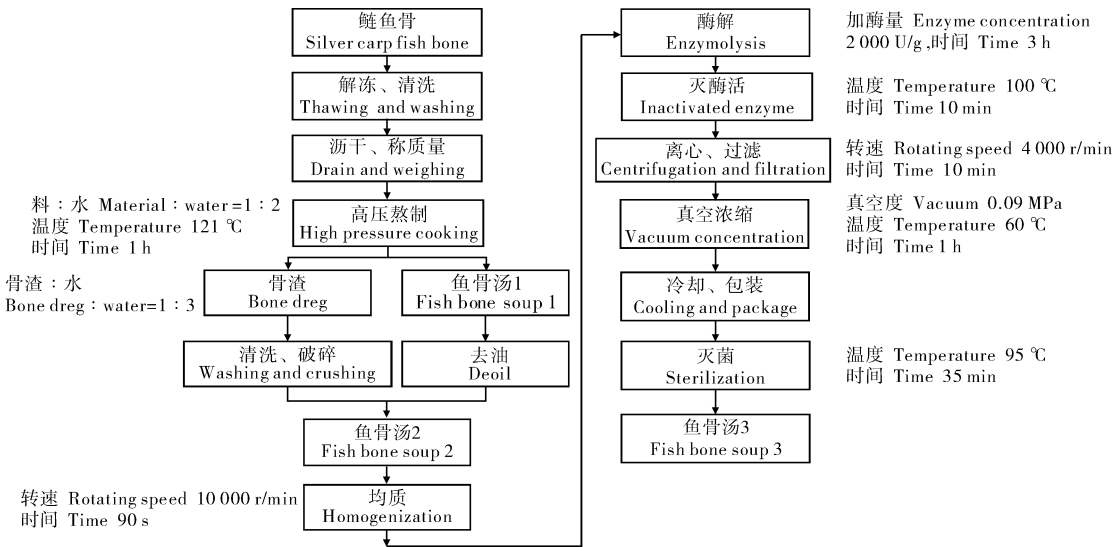


图 1 鲢鱼骨汤的制备工艺流程图

Fig.1 Flowing chart of preparation of silver carp fish bone soup

2)氮收率的测定。蛋白质含量的测定参照 GB 5009.5—2016 中凯氏定氮法。氮收率=鱼汤中蛋白质含量/清洗后鱼骨中蛋白质含量×100%^[13]。

3)游离氨基酸总量的测定。采用茚三酮法测定。

4)可溶性蛋白含量的测定。参考李亚杰等^[16]的方法并作修改,常压过滤样品,得到澄清样液。在 4 000 r/min 下离心 10 min,上清液中可溶性蛋白含量采用 Lowry 法测定^[17]。

5)不同分子质量蛋白肽含量测定。参考李亚杰等^[16]的方法并作修改,常压过滤样品,得到澄清样液。在 4 000 r/min 下离心 10 min,采用分子质量分别为 3 000、10 000、100 000 u 超滤管截留后,用 Lowry 法^[17]测定不同分子质量组分中的肽含量。

6)钙含量的测定。参照 GB/T 9695.13—2009 方法,用原子吸收分光光度计法测定。

7)鱼骨汤样品外观。按本文试验方法“1.2 1)”制备的鱼骨汤,装于 10 mL 瓶中,手机拍摄正面图。

8)色度的测定。室温下,吸取待测鱼汤样品 5 mL,置于玻璃皿中,采用 CR-400 型色度仪测定。

9)电子舌的测定。鲢鱼骨汤的滋味特征参考韩剑众等^[18]所述方法并作修改,采用 TS-5000Z 电子舌进行测定。电子舌参数:样品延迟时间 0 s,获取时间 120 s,搅拌速率 60 r/min。

1.3 数据处理

电子舌数据采用 PEN3-Win Muster 数据处理软件进行主成分分析(PCA);采用 Excel 和 Origin Pro9.0 进行数据与图像处理;采用 SPSS 软件进行方差分析与显著性检验,显著性方差分析法为 LSD,检测限为 0.05。

2 结果与分析

2.1 鲢鱼骨汤的基本成分

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的基本成分见表 1。由表 1 可知,空白样品中氮收率为 16.52%,添加中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶

的鱼骨汤样品的氮收率分别为空白(未加酶)样品的 1.4、1.4、1.5 和 1.5 倍。空白样品中游离氨基酸总量为 49.66 μg/mL,添加中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶的鱼骨汤样品的游离氨基酸总量分别为空白(未加酶)样品的 8.5、10.1、35.8 和 7.2 倍。空白样品中可溶性蛋白含量为 297.45 μg/100 mL,添加中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶鱼骨汤样品的可溶性蛋白含量与空白(未加酶)样品相比分别下降了 98.9%、97.6%、87.7%和 99.2%。综合氮收率、游离氨基酸含量和可溶性蛋白含量结果,表明添加 4 种蛋白酶后鱼骨蛋白水解程度显著增加($P<0.05$),其中风味蛋白酶对鱼骨蛋白的酶解作用最强。

空白(未加酶)样品中 Ca 含量为 5 mg/100 mL,添加中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶鱼骨汤样品的 Ca 含量与空白(未加酶)样品相比分别增加了 62.4%、59.8%、133.4%、61.0%,表明添加风味蛋白酶的鱼骨样品中 Ca 含量最高。

表 1 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的氮收率和基本成分

Table 1 Nitrogen yield and main ingredients of fish bone soup preparedwith different proteases				
蛋白酶种类 Enzyme type	氮收率/% Nitrogen yield	游离氨基酸总量/ (μg/mL) Free amino acids content	可溶性蛋白含量/ (μg/100 mL) Soluble protein content	Ca 含量/ (mg/100 mL) Calcium content
中性蛋白酶 Neutral protease	22.58±0.63a	423.56±0.10bc	3.34±0.02c	8.12±0.01b
碱性蛋白酶 Alkaline protease	23.49±0.30a	503.05±0.05b	7.05±0.43c	7.99±0.02b
风味蛋白酶 Flavor protease	24.22±1.73a	1 777.24±0.55a	36.57±2.52b	16.67±0.01a
木瓜蛋白酶 Papain	24.10±0.06a	356.26±0.08bc	2.45±0.05c	8.02±0.01b
空白(未加酶) Without enzyme	16.52±0.71b	49.66±0.03c	297.45±13.32a	5.00±0.00c

注:同列数据不同字母表示差异显著, $P<0.05$ 。Note:Different capitals in the same column represent significant difference, $P<0.05$.

2.2 鲢鱼骨汤的蛋白肽含量

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的蛋白肽含量见表 2。由表 2 可知,鱼骨汤中蛋白肽分子质量主要分布在>10 ku 范围内。空白样品位于分子质量区间<3 ku、10~100 ku 和>100 ku 的蛋白肽含量分别为 0.08、3.58、4.49 μg/mL。不同分子质量区间,采用中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量均显著高于空白样品组($P<0.05$)。不同酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量有显著性差异($P<0.05$)。在分子质量区间<3 ku,风味蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最高,碱性蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最低;在分子质量区间 10~100 ku,木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最高,风味蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最低;在

分子质量区间>100 ku,木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最高,风味蛋白酶制备的鱼骨汤蛋白肽含量最低。以上结果表明,风味蛋白酶水解鱼骨蛋白为低分子质量蛋白肽的能力最强。

2.3 鲢鱼骨汤的色度

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的色度见表 3。由表 3 可知,中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶与空白(未加酶)样品的鱼骨汤在色度参数上有显著性差异($P<0.05$)。空白(未加酶)样品的 L^* 值为 28.85,未加酶鱼骨汤亮度最高,其次分别是中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶制备的鱼骨汤。空白(未加酶)样品的 a^* 值为 -0.15,添加中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶和木瓜蛋白酶后 a^* 绝对值显著增加($P<0.05$),添

加不同酶鱼骨汤的 a^* 值无显著性差异($P>0.05$)。空白(未加酶)样品的 b^* 值为 -1.78 , 添加 4 种蛋白酶鱼骨汤样品的 b^* 值范围为 $1.72\sim 2.85$ 。与空白样品相比, 添加 4 种蛋白酶后 b^* 值显著增加($P<0.05$), 不同蛋白酶鱼骨汤的 b^* 值有显著性差异($P<0.05$), 其中添加风味蛋白酶鱼骨汤样品的 b^* 值最大, 其次分别是碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤。

以上结果表明, 采用蛋白酶处理后鱼骨汤的亮度下降, 色度向黄色变化, 且风味蛋白酶制备的鱼骨汤黄色最深。鱼骨汤的外观结果(图 2)也表明, 采用风味蛋白酶制备的鱼骨汤颜色最黄, 具有更诱人色泽。

表 2 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的蛋白肽含量

Table 2 Peptide content of fish bone soup prepared with different proteases					$\mu\text{g/mL}$
分子质量/ku Molecular weight	中性蛋白酶 Neutral protease	碱性蛋白酶 Alkaline protease	风味蛋白酶 Flavor protease	木瓜蛋白酶 Papain	空白(未加酶) Without enzyme
<3	$3.95\pm 0.05\text{b}$	$3.13\pm 0.04\text{c}$	$4.58\pm 0.12\text{a}$	$4.07\pm 0.08\text{b}$	$0.08\pm 0.02\text{d}$
10~100	$19.96\pm 2.28\text{bc}$	$20.96\pm 0.19\text{ab}$	$15.76\pm 0.31\text{c}$	$23.61\pm 0.20\text{a}$	$3.58\pm 0.05\text{d}$
>100	$23.04\pm 0.62\text{b}$	$21.42\pm 0.18\text{c}$	$16.03\pm 0.25\text{d}$	$28.92\pm 0.24\text{a}$	$4.49\pm 0.09\text{e}$

注: 同行数据不同字母表示差异显著, $P<0.05$; 下同。Note: Different capitals in the same row represent significant difference, $P<0.05$; The same as below.

表 3 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的色度参数值

Table 3 Color parameters of fish bone soup prepared with different proteases					
色度指标 Chroma index	中性蛋白酶 Neutral protease	碱性蛋白酶 Alkaline protease	风味蛋白酶 Flavor protease	木瓜蛋白酶 Papain	未加酶 Without enzyme
L^*	$24.41\pm 0.47\text{b}$	$23.83\pm 0.32\text{c}$	$23.65\pm 0.22\text{c}$	$23.79\pm 0.16\text{c}$	$28.85\pm 0.06\text{a}$
a^*	$-1.22\pm 0.05\text{b}$	$-1.15\pm 0.06\text{b}$	$-1.27\pm 0.02\text{b}$	$-1.01\pm 0.02\text{b}$	$-0.15\pm 0.54\text{a}$
b^*	$2.85\pm 0.06\text{b}$	$2.86\pm 0.03\text{b}$	$3.24\pm 0.04\text{a}$	$1.72\pm 0.02\text{c}$	$-1.78\pm 0.01\text{d}$

注: L^* 表示亮度; $+a^*$ 表示颜色偏红, $-a^*$ 表示颜色偏绿; $+b^*$ 表示颜色偏黄, $-b^*$ 表示颜色偏蓝。Note: L^* indicates lightness; $+a^*$ indicates that the color is reddish, $-a^*$ indicates that the color is greenish; $+b^*$ indicates that the color is yellowish, and $-b^*$ indicates that the color is blue.

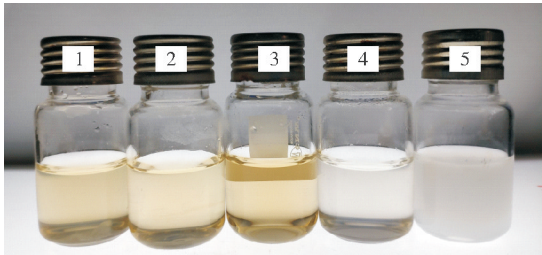
2.4 鲢鱼骨汤的外观

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤外观见图 2。由图 2 可知, 中性蛋白酶和碱性蛋白酶制备的鱼骨汤颜色淡黄, 风味蛋白酶制备的鱼骨汤清亮透明、颜色深

黄, 木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤颜色浅黄, 空白(未加酶)鱼骨汤颜色乳白。鱼骨汤的外观颜色和测定的 b^* 值基本一致。

2.5 鲢鱼骨汤的滋味特征主成分分析

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤滋味特征主成分分析见图 3。由图 3 可知, 第一主成分(PC1)贡献率为 81.26%, 第二主成分(PC2)贡献率为 14.82%, 总贡献率为 96.08%, 表明前 2 个主成分已经基本包含原始数据信息。空白样品位于第一象限, 添加碱性蛋白酶样品位于第四象限, 添加中性蛋白酶和木瓜蛋白酶样品分别位于主成分 1 负坐标轴和主成分 2 正坐标轴上, 添加风味蛋白酶样品位于第二象限, 5 种样品无重叠区, 表明中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶和未加酶的鱼骨汤滋味特征之间有明显差异($P<0.05$)。风味蛋白酶样品距离空白样品最远, 表明与空白样品滋味特征差异最明显。



样品编号 1~5 依次为中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、木瓜蛋白酶、未加酶的鲢鱼骨汤。Samples numbers of 1-5 are silver carp fish bone soup prepared with neutral protease, alkaline protease, flavor protease, papain and without enzyme, respectively.

图 2 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤外观

Fig.2 Appearances of fish bone soup prepared with different proteases

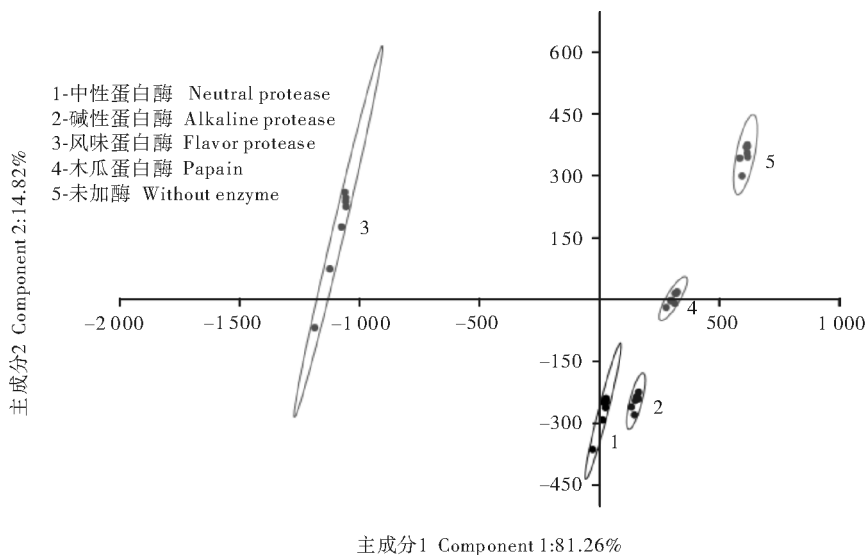


图 3 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤滋味特征主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of taste characteristics of fish bone soup prepared with different proteases

2.6 鲢鱼骨汤的电子舌味觉雷达图

不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的电子舌味觉雷达图见图 4。由图 4 可知,经电子舌评定,在鱼汤鲜味方面,风味蛋白酶样品>中性蛋白酶样品>碱性蛋白酶样品>木瓜蛋白酶样品>空白样品;在苦味方面,空白样品>木瓜蛋白酶样品>碱性蛋白酶样

品>中性蛋白酶样品>风味蛋白酶样品;在咸味方面,风味蛋白酶样品>木瓜蛋白酶样品>空白样品>中性蛋白酶样品>碱性蛋白酶样品;在甜味方面,空白样品>风味蛋白酶样品>木瓜蛋白酶样品>碱性蛋白酶样品>中性蛋白酶样品;在酸味方面,风味蛋白酶样品>中性蛋白酶样品>碱性蛋白酶

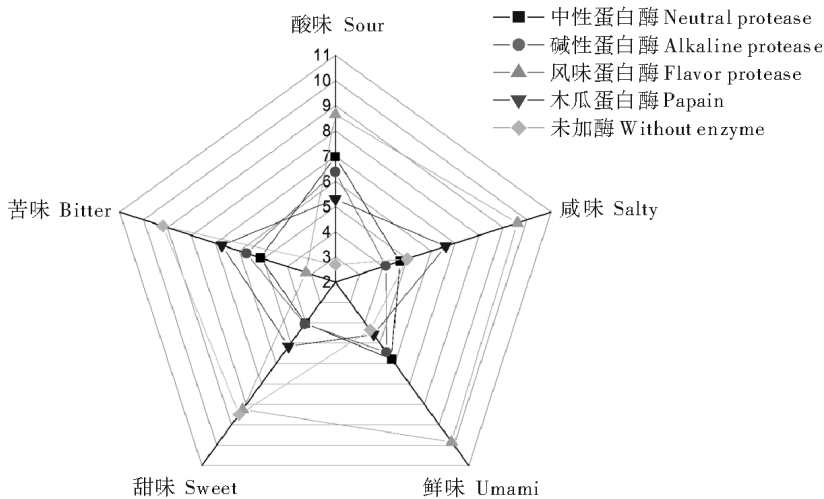


图 4 不同蛋白酶制备的鲢鱼骨汤电子舌味觉雷达图

Fig.4 Electronic tongue taste radar of fish bone soup prepared with different proteases

酶样品>木瓜蛋白酶样品>空白样品。综合电子舌雷达图数据,未加酶的鲢鱼骨汤苦味最重,而鲜味最弱。采用风味蛋白酶制备的鱼骨汤鲜味最重,苦味最弱。

3 讨 论

酶解后鱼骨蛋白大分子水解成小分子的氨基酸和蛋白肽,分子质量降低,体系组成发生改变,离子

性基团数目增加,更容易被人体吸收利用。采用风味蛋白酶制备的鲢鱼骨汤的氮收率最高;游离氨基酸含量最高,可达 $1\,777.24\ \mu\text{g}/\text{mL}$,是未加酶组的 36 倍;分子质量小于 $3\ \text{ku}$ 的蛋白肽含量最高,达到 $4.58\ \mu\text{g}/\text{mL}$,是未加酶组的 57 倍。结果表明风味蛋白酶更有利于鱼骨蛋白水解,这与冯丹丹等^[19]、沈雨佳等^[20]的研究结果基本一致。不同蛋白酶水解时切割位点不同,各种酶之间有明显差异。风味蛋白酶含有内切酶和肽酶,内切酶水解的多肽等产物继续被外切酶水解成氨基酸,促进了蛋白的溶出,增加了底物的水解位点,使酶解更彻底^[21]。采用风味蛋白酶制备的鱼骨汤 Ca 含量最高,其原因是与水解生成的氨基酸螯合鱼骨中的钙有关^[7]。李亚杰等^[7]报道鱼骨纳米化过程中游离氨基酸从 $25.84\ \mu\text{g}/\text{g}$ 增加到 $124.38\ \mu\text{g}/\text{g}$,相对应的鱼骨中钙的释放率从 0.13% 增加到 1.99%。钙离子为二价的金属阳离子。氨基酸在两端存在 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{COOH}$, $-\text{COOH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 与 Ca^{2+} 配位结合 ($p-\pi$), $-\text{COOH}$ 与 Ca^{2+} 通过离子键结合。

木瓜蛋白酶制备的鱼骨汤颜色浅黄,中性蛋白酶、碱性蛋白酶制备的鱼骨汤颜色较黄,风味蛋白酶制备的鱼骨汤颜色深黄,而空白样品颜色乳白。外观颜色与色度计测定的 b^* 一致。鱼骨汤颜色加深可能是与多肽、氨基酸和还原糖发生美拉德反应有关。另外,鱼骨胶原多层次结构在酶解作用下被破坏,促进包埋在内部的脂肪释放^[1],也可能使鱼骨汤变黄。

采用风味蛋白酶制备的鱼骨汤鲜味浓郁,苦味最小。风味蛋白酶对提高蛋白水解程度和生成氨基酸作用明显^[22]。风味蛋白酶切除肽链末端的疏水性氨基酸,从而使苦味减弱^[23];骨汤在加工过程中,骨中的蛋白质会逐渐分解产生游离氨基酸。游离氨基酸作为构成调味品独特风味的重要因素之一,是分析蛋白酶酶解效果和对风味的促进作用的重要指标。游离氨基酸含量的增加,使得鱼骨汤具有更加浓郁的鱼香味和鲜味,并有效减轻了鱼骨汤中的苦味。

综上,选用风味蛋白酶作为鲢鱼骨汤制备的酶源,能够增加对鱼骨蛋白质和钙的利用,提升鱼骨汤的品质。

参 考 文 献

- [1] 尹涛,石柳,张晋,等.加工方式对微粒化鱼骨泥营养品质的影响[J]. 华中农业大学学报,2016,35(6):124-128.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局.中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2019.
- [3] JEYASANTA K I, AIYAMPERUMAL V, PATTERSON J. Utilization of trash fishes as edible fish powder and its quality characteristics and consumer acceptance[J]. World journal of dairy food science, 2013, 8(1): 1-10.
- [4] BOUTINGUIZA M, POU J, COMESANA R, et al. Biological hydroxyapatite obtained from fish bones[J]. Material science engineering: C, 2012, 32(3): 478-486.
- [5] YIN T, DU H Y, ZHANG J, et al. Preparation and characterization of ultrafine fish bone powder[J]. Journal of aquatic food product technology, 2016, 25(7): 1045-1055.
- [6] AKAGÜNDÜZ Y, MOSQUERA M, GIMÉNEZ B, et al. Sea bream bones and scales as a source of gelatin and ACE inhibitory peptides[J]. LWT- food science and technology, 2014, 55(2): 579-585.
- [7] 李亚杰,熊善柏,尹涛,等. 4 种骨的纳米化加工及其制品的特性研究[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 38-44.
- [8] ZHANG J, YIN T, XIONG S B, et al. Thermal treatments affect breakage kinetics and calcium release of fish bone particles during high-energy wet ball milling[J/OL]. Journal of food engineering, 2016, 183: 74-80 [2019-07-24]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.027>.
- [9] YIN T, PARK J W, XIONG S B. Physicochemical properties of nano fish bone prepared by wet media milling[J]. LWT- food science and technology, 2015, 64(1): 367-373.
- [10] YIN T, PARK J W, XIONG S B. Effects of micron fish bone with different particle size on the properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi gels[J/OL]. Journal of food quality, 2017(2): 1-8 [2019-07-24]. <https://doi.org/10.1155/2017/8078062>.
- [11] YIN T, REED Z H, PARK J W. Gelling properties of surimi as affected by the particle size of fish bone[J]. LWT- food science and technology, 2014, 58(2): 412-416.
- [12] 常佳驹,白鲢鱼骨酶解浓汤的制备及其生理活性的研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2014.
- [13] 陈品,熊善柏,李洁,等.白鲢鱼骨蛋白水解工艺研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 326-330.
- [14] 朱迎春,郭丽,王琪钰.鲤鱼骨酶解工艺的优化[J]. 山西农业大学学报, 2011, 31(2): 179-183.
- [15] 姜绍通,常佳驹,林琳,等.白鲢鱼骨汤酶解工艺的研究及风味分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(9): 95-99.
- [16] 李亚杰,熊善柏,尹涛,等.六种纳米化鱼骨的理化特性比较研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(7): 125-132.
- [17] LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, et al. Protein measurement with Folin phenol reagent[J]. Journal of biological chemistry, 1951, 193: 256-275.
- [18] 韩剑众,黄丽娟,顾振宇,等.基于电子舌的鱼肉品质及新鲜度评价[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12): 141-144.
- [19] 冯丹丹,冯金晓,薛勇,等.四种蛋白酶对牡蛎的酶解效果研究

[J]. 食品工业科技,2015,36(12):189-192.

[20] 沈雨佳,陆利霞,林丽军,等.酶解鲫鱼肉制取呈味氨基酸研究[J].中国调味品,2015,40(1):27-31.

[21] TAN X Y, QI L B, FAN F J, et al. Analysis of volatile compounds and nutritional properties of enzymatic hydrolysate of protein from cod bone[J]. Food chemistry,2018,264:350-357.

[22] 郑志强,李宝林,郝利民,等.不同蛋白酶对小麦蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J].食品科学,2017,38(7):161-166.

[23] 肖龙泉,王新惠,李云成,等.蛋白酶水解骨素的对比及其优化研究[J].成都大学学报(自然科学版),2017,36(3):243-246.

Effects of four kinds of proteases on properties of silver carp fish bone soup

CHEN Zhou ZHANG Meiling YIN Tao XIONG Shanbai YOU Juan HU Yang

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
National R&D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing
(Wuhan), Wuhan 430070, China*

Abstract Fish bone soup was made from silver carp backbone sequentially by high-temperature cooking, enzymatic hydrolysis, vacuum concentration, filling and sterilization. Effects of protease type (neutral protease, alkaline protease, flavor protease and papain) on nitrogen yield, basic composition, peptide content, color, appearance and taste characteristics of the fish bone soup were investigated by atomic absorption spectrophotometer, colorimeter and E-nose device, etc. The results showed that, the nitrogen yield, free amino acid content, calcium content and peptide (<3 ku) content of fish bone soup prepared by enzymatic hydrolysis were significantly higher than those of the blank sample (without enzyme) ($P<0.05$). The four indicators of the fish bone soup prepared by flavor protease were the highest, which increased by 46.61%, 3 478.88%, 233.40% and 56.25%, respectively, compared with the blank sample. The fish bone soup prepared by the flavor protease was deep yellow. Color parameter of b^* value was the highest for the fish bone soup prepared by flavor protease (3.24), followed by the samples treated by the other three proteases (2.86-1.72), and then the blank sample. Principal component analysis (PCA) showed that there were significant differences in the taste characteristics of the five fish bone soups. The fish bone soup prepared by the flavor protease had the strongest umami taste and the weakest bitter taste. Overall, the fish bone soup prepared by the flavor protease has the best nutrition, appearance and taste quality.

Keywords silver carp; fish bone soup; proteases; enzymatic hydrolysis; peptide; Ca; free amino acid; taste

(责任编辑:赵琳琳)