

欧洲鳗肌肉蛋白营养评价及体外模拟消化特性

孙梦莹¹, 石林凡^{1,2,3}, 任中阳^{1,2,3}, 陈俊^{1,2,3}, 郝更新^{1,2,3}, 翁武银^{1,2,3*}

¹集美大学食品与生物工程学院 福建厦门 361021

²鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心 福建厦门 361021

³厦门市海洋功能食品重点实验室 福建厦门 361021)

摘要 为探究欧洲鳗肌肉蛋白的营养特性,测定鳗鲡肌肉及其水溶性蛋白(WP)、盐溶性蛋白(SP)的氨基酸并做营养评价以及蛋白体外模拟消化特征评价。结果表明,鳗鲡肌肉、WP和SP的必需氨基酸占总氨基酸比例分别为37.81%、36.53%和42.71%,其中缬氨酸为肌肉蛋白和SP的第1限制氨基酸,而甲硫氨酸+半胱氨酸为WP的第1限制氨基酸。SP的必需氨基酸指数、生物价和蛋白质效率比分别为98.72、95.91和3.90,显著高于WP。SDS-PAGE结果表明WP比SP更容易被胃蛋白酶消化降解。将蛋白与油脂一同加热后,WP和SP的模拟消化产物中游离氨基酸占比明显增加,然而,抑制了酪蛋白的消化。结论:欧洲鳗肌肉中SP的营养价值比WP高,加热可以促进WP和SP的消化。

关键词 欧洲鳗; 肌肉蛋白; 氨基酸; 营养评价; 体外模拟消化

文章编号 1009-7848(2022)06-0315-08 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.06.033

鳗鲡(*Anguilla*)是一种江河性洄游鱼类,在全世界有19种,其中日本鳗、欧洲鳗和美洲鳗属于重要的养殖品种^[1]。我国是鳗鲡养殖、生产和出口大国,2019年福建和广东两省的鳗鲡年产量高达20万t^[2]。

高蛋白和高脂肪是鳗鲡肌肉的主要特征^[3],对鳗鲡加工产品的品质有重要影响。通常,富含油脂的鳗鲡主要被加工成烤鳗产品^[4]。烤鳗加工中鳗鲡肌肉蛋白和脂质不仅会发生分解和氧化反应,而且彼此间会发生相互作用,影响鳗鲡加工产品的营养品质。有研究报道,脂质在热加工中容易发生氧化,在脂质次生氧化物的间接作用下蛋白质的结构和功能性质容易发生变化^[5]。然而,关于加热对鳗鲡肌肉蛋白消化特性的影响研究尚未见报道。

蛋白质的营养价值主要取决于必需氨基酸的种类、含量和组成,以及蛋白质消化和代谢的量,而吸收的氨基酸可以调节机体的新陈代谢^[6-7]。Zhou等^[8]研究加热处理对金华火腿肌原纤维蛋白

体外模拟消化的影响时,发现100℃加热的火腿中肌原纤维蛋白消化率高于70℃处理的火腿,而低于120℃处理的火腿。适度加热促进蛋白多肽链的展开,而过度加热导致蛋白质发生交联和聚集,对蛋白质的消化率和生物活性产生影响^[9]。还有研究表明,过度加热导致食源性碳量子点的形成,抑制胃蛋白酶和胰蛋白酶的活性,进而影响蛋白质的消化^[10]。

目前鳗鲡加工产品主要是烤鳗,产品单一且以出口为主。鳗鲡产业抵御市场的风险能力非常薄弱。有关鳗鲡加工的研究主要集中在鳗鲡产品的质量安全和监控等方面。鳗鲡肌肉蛋白的营养评价鲜有报道。本研究以欧洲鳗为原料,评价鳗鲡肌肉蛋白的营养品质,以及加热对鳗鲡蛋白消化特性的影响,旨在为研发高品质的鳗鲡热加工产品提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

欧洲鳗购于当地水产品批发市场。乙腈及甲醇,美国INC公司;邻苯二甲醛、氯甲酸-9-苄基酯,美国Agilent公司;盐酸、胰酶、胃蛋白酶,中国上海国药集团化学试剂有限公司;十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulphate, SDS)、丙烯酰胺,美国Bio-Rad公司。

收稿日期: 2021-06-24

基金项目: 福建省自然科学基金重点项目(2019J02013);
福建省海洋经济发展专项(FJHJF-L-2021-3)

作者简介: 孙梦莹(1994—),女,硕士生

通信作者: 翁武银 E-mail: wwymail@jmu.edu.cn

1.2 仪器与设备

1200 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; AI600 多色荧光凝胶成像仪, 美国 GE Healthcare 公司; Avanti J-25 高速冷冻离心机, 美国 Beckman 公司; SK-SO35 多功能蒸汽焗炉, 日本山崎(国际)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 鳗鲡肌肉蛋白的提取 鳗鲡水溶性蛋白(water-soluble protein, WP)的提取参考 Zheng 等^[11]的方法。取鳗鲡白肉切成小块, 按质量体积比为 1:15 加入蒸馏水后进行匀浆, 利用高速冷冻离心机离心, 获得的上清液在碎冰上静置并去除冻结的油脂, 经冷冻干燥后制备成 WP。鳗鲡盐溶性蛋白(salt-soluble protein, SP)的提取参考了 Bertram 等^[12]的方法。将上述离心后的沉淀加入与 20 mmol/L PBS(pH 7.0)混合配制为 50 g/L 的溶液并进行匀浆, 再次离心, 获得的沉淀和 0.6 mol/L KCl 溶液混合配制为 100 g/L 的溶液并匀浆, 离心后收集上清液, 用蒸馏水透析除盐, 冷冻干燥后制备成 SP。

1.3.2 鳗鲡油脂的提取 鳗鲡油脂的提取参考 Lin 等^[13]的方法并稍作修改。取鳗鲡白肉切成小块, 按质量体积比为 1:10 加入蒸馏水并进行匀浆, 沸水浴 15 min 后进行离心, 在上清液中加入质量浓度为 20 g/L 的白色硅藻土, 4 °C 保存 120 min 后, 再次离心, 获得的上清液冷冻干燥后作为本研究的鳗鲡油脂使用。

1.3.3 基本成分测定 水分测定参照 GB 5009.3-2016 直接干燥法; 粗蛋白质测定参照 GB 5009.5-2016 凯氏定氮法; 粗脂肪测定参照 GB 5009.6-2016 索氏抽提法; 灰分测定参照 GB 5009.4-2016 马福炉灼烧法。

1.3.4 氨基酸组成分析及其营养评价

1.3.4.1 氨基酸组成的测定 参照 Shi 等^[14]报道的氨基酸测定方法。样品用 6 mol/L HCl 溶解, 在充满氮气的消化管中于 110 °C 消化 22 h, 通过旋转蒸发去酸后再用 0.02 mol/L HCl 溶解, 经 0.22 μm 水系膜过滤后, 利用高效液相色谱仪测定样品的氨基酸组成。色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse AAA 柱(4.6 mm×150 mm); 流动相 A 为 40 mmol/L 的磷酸二氢钠(pH 7.8), 流动相 B 为有机相(乙腈

: 甲醇: 超纯水=45:55:10, V/V); 流速为 2 mL/min, 梯度洗脱; 紫外检测波长为 338.10 nm 和 262.16 nm。其中, 色氨酸采用碱水解后再利用高效液相色谱仪测定。

1.3.4.2 氨基酸营养价值评价 根据联合国粮农组织/世界卫生组织(food and agriculture organization of the united nations/world health organization, FAO/WHO)推荐的氨基酸评分标准模式和鸡蛋蛋白质的氨基酸模式, 分别按以下公式计算氨基酸评分(essential amino acid scores, EAAS)、必需氨基酸指数(essential amino acid index, EAAI)、生物价(biological value, BV)和蛋白质效率比(protein efficiency ratio, PER)^[15]。

$$EAAS = \frac{\text{待评蛋白氨基酸含量(g/100g)}}{\text{FAO/WHO 评分模式中同种氨基酸含量(g/100g)}} \quad (1)$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{a}{ae} \times \frac{b}{be} \times \dots \times \frac{h}{he}} \times 100 \quad (2)$$

$$BV = 1.09 \times EAAI - 11.7 \quad (3)$$

$$PER = 0.468 + 0.454 \times \text{Leucine} - 0.105 \times \text{Tyrosine} \quad (4)$$

式中: n ——比较的 EAA 个数; a, b, c, \dots, h ——待评蛋白质的 EAA 含量(g/100g); ae, be, ce, \dots, he ——鸡蛋蛋白质相应的 EAA 含量(g/100g)。

1.3.5 模拟烤鳗加热处理 将 WP 和 SP 分别与油脂按照鳗鲡肌肉基本成分组成的比例(脂肪 20%、蛋白 15%和水分 65%)混合后, 模拟烤鳗的加热条件(80 °C 烘烤 10 min, 然后 95 °C 蒸煮 5 min, 最后 90 °C 烘烤 3 min), 对鳗鲡肌肉、WP 和 SP 进行加热, 制备的样品冷却至室温后供以下试验使用。

1.3.6 体外模拟消化 参照 Cinq-Mars 等^[16]的方法进行体外模拟胃肠液消化试验。将样品分散于 pH 1.5 的盐酸水溶液中, 配制的样品溶液按质量比 3:100(酶/蛋白)加入胃蛋白酶, 混匀后在 37 °C 恒温振荡水槽中酶解 60 min。获得的模拟胃消化液利用 1 mol/L NaOH 将消化液的 pH 值调至 7.5, 按质量比 4:100(酶/蛋白)加入胰酶, 混匀后在 37 °C 恒温振荡水槽中酶解 60 min。在消化过程中对消化液进行电泳分析, 并对消化产物的游离氨基酸进行分析。

1.3.6.1 Tricine-SDS-PAGE 利用含有 2% SDS、8 mol/L 尿素和 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.8) 的蛋白变性剂溶解消化产物, 根据 Schagger^[17]报道的方法进行 Tricine-SDS-PAGE 分析。

1.3.6.2 游离氨基酸的测定 游离氨基酸的测定参照 Liu 等^[18]报道的方法并稍作修改。样品溶液加入相同体积 100 g/L 磺基水杨酸, 混匀后室温静置 120 min, 离心后获得的上清液于 55 °C 下浓缩蒸干, 再用 0.02 mol/L HCl 溶解, 按照 1.3.4.1 节的方法对氨基酸组成进行测定。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 17.0 软件对所得数据进行 ANOVA 方差分析, 显著性检验方法为 Duncan 多重检验, 显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 鳗鲡肌肉组分分析

表 1 显示了鳗鲡肌肉的基本成分。除了水分以外, 鳗鲡肌肉中脂肪含量最高, 表明鳗鲡属于多脂鱼类, 这与罗鸣钟等^[3]的研究结果类似。通常鱼类肌肉的水分含量为 73%~82%^[19]。然而, 在鳗鲡肌肉中水分含量却只有 67.06%, 这可能是鳗鲡肌肉脂肪含量高达 19.72% 的缘故。也有研究表明, 大西洋鲑鱼肌肉脂肪含量越高的部位水分含量越低^[20]。

2.2 氨基酸组成分析

蛋白质的氨基酸组成是决定蛋白质营养价值的重要依据, 因此对鳗鲡肌肉及其 WP 和 SP 的氨基酸进行测定, 结果如表 2 所示。在鳗鲡肌肉 WP 的 EAA 中, 赖氨酸占比最高, 其次是亮氨酸。类似的趋势也在鳗鲡 SP 的 EAA 中观察到。除了缬氨酸和苯丙氨酸, SP 中的其它 6 种 EAA 占比都高于 WP。有研究报道, 赖氨酸可以促进机体生长发育和矿物质的吸收, 进而增强免疫力^[21], 亮氨酸可以调节肌肉中蛋白质的合成^[22]。Mohanty 等^[23]对 27 种食用鱼类肌肉氨基酸进行分析, 结果发现冷水鱼鱼肉的赖氨酸高达 16.1%, 海水鱼鱼肉的亮氨酸高达 10.4%, 而黄鳍结鱼的赖氨酸和亮氨酸分别为 7.6% 和 9.4%, 与鳗鲡肌肉最接近, 这可能是黄鳍结鱼和鳗鲡都属于淡水鱼的缘故。鳗鲡肌肉 EAA 介于 WP 和 SP 之间。鳗鲡肌肉中 EAA 占总

表 1 鳗鲡肌肉基本成分 (% , 湿重; n=3)

Table 1 Compositions of eel muscle (% , wet weight; n=3)

	水分	脂肪	蛋白质	灰分
含量	67.06 ± 3.83	19.72 ± 1.21	15.78 ± 0.95	0.97 ± 0.02

表 2 鳗鲡肌肉及其分离蛋白的氨基酸组成、必需氨基酸指数 (EAAI)、蛋白质效率比 (p-PER) 和生物价 (p-BV) (g/100 g, 蛋白干重; n=3)

Table 2 Amino acid profiles, essential amino acid index (EAAI), predicted protein efficiency ratio (p-PER), and predicted biological value (p-BV) of eel muscle and its isolated protein (g/100 g, dry weight basis; n=3)

	WP	SP	肌肉
Lys	7.98 ± 0.32 ^b	9.52 ± 0.12 ^a	8.69 ± 0.30 ^b
Leu	6.77 ± 0.10 ^c	8.04 ± 0.18 ^a	7.30 ± 0.03 ^b
Val	4.67 ± 0.03 ^a	4.44 ± 0.06 ^a	4.79 ± 0.18 ^a
Ile	4.07 ± 0.10 ^b	4.73 ± 0.11 ^a	4.30 ± 0.11 ^b
Thr	3.75 ± 0.03 ^c	4.35 ± 0.10 ^a	4.24 ± 0.03 ^b
Phe	4.67 ± 0.01 ^a	3.53 ± 0.08 ^b	3.71 ± 0.10 ^b
Met	2.01 ± 0.02 ^c	3.12 ± 0.01 ^a	2.71 ± 0.02 ^b
Trp	2.69 ± 0.40 ^b	5.25 ± 1.13 ^a	2.07 ± 0.33 ^b
总 EAA	36.53 ± 0.76	42.71 ± 0.50	37.81 ± 1.26
Glu	10.11 ± 0.21 ^c	18.50 ± 0.42 ^a	15.35 ± 0.07 ^b
Asp	9.30 ± 0.21 ^a	9.39 ± 0.34 ^a	9.22 ± 0.07 ^a
Arg	11.86 ± 0.78 ^a	6.33 ± 0.14 ^c	8.33 ± 0.04 ^b
Ala	5.36 ± 0.11 ^b	5.26 ± 0.10 ^b	5.66 ± 0.04 ^a
Gly	4.64 ± 0.17 ^a	3.12 ± 0.05 ^b	4.99 ± 0.13 ^a
His	10.22 ± 0.64 ^a	2.22 ± 0.03 ^c	4.76 ± 0.07 ^b
Ser	3.29 ± 0.10 ^b	3.87 ± 0.09 ^a	3.80 ± 0.06 ^a
Pro	2.95 ± 0.07 ^b	2.85 ± 0.33 ^b	3.77 ± 0.21 ^a
Tyr	2.77 ± 0.04 ^c	3.66 ± 0.07 ^a	3.30 ± 0.09 ^b
Hyp	2.26 ± 0.08 ^a	1.89 ± 0.26 ^b	2.31 ± 0.02 ^a
Cys	0.70 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.00 ^b	0.71 ± 0.02 ^a
总 NEAA	63.47 ± 2.45	57.29 ± 1.49	62.19 ± 0.82
EAAI	80.72	98.72	84.27
p-BV	76.29	95.91	80.16
p-PER	1.58	3.90	1.93

注: EAA: 必需氨基酸; NEAA: 非必需氨基酸; 标有不同字母的组别间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

氨基酸比例达到 37.81%, 高于 FAO/WHO (2013) 的成人氨基酸标准模式 (27.60%), 说明鳗鲡肌肉是满足成人食用的优质蛋白。鳗鲡肌肉的必需氨

氨基酸指数(EAAI)为 84.27,高于其它鱼类如草鱼(72.43)^[24],表明鳗鲡肌肉的必需氨基酸组成较为合理,营养价值较高。根据 EAAI 值的结果,还可以发现鳗鲡 SP 的营养价值高于 WP。蛋白质对人体的 BV 与 EAA 的含量密切相关,因此 p-BV 值大小趋势与 EAAI 相同。通常,PER 大于 2.0 被认为是高质量的蛋白质,1.5~2.0 为中等质量的蛋白质,而小于 1.5 则认为低质量的蛋白质^[25]。鳗鲡肌肉的 p-PER 为 1.93,与罗非鱼(1.93)相近^[26],低于鲭鱼与鲱鱼^[27]。这是由于欧洲鳗养殖在淡水中,因此其肌肉营养价值与淡水鱼相近,但是,SP 的 p-PER 高达 3.90,可以与海水鱼类蛋白相媲美。

参考 FAO/WHO(2013)的标准氨基酸模型,对鳗鲡肌肉及其提取蛋白质的营养价值进行评价,结果如表 3 所示。WP 的第一限制氨基酸为甲硫氨酸+半胱氨酸,鳗鲡肌肉和 SP 中的第一限制氨基酸为缬氨酸。除苯丙氨酸+酪氨酸外,SP 中必需氨基酸评分(EAAS)均高于 WP,鳗鲡肌肉 EAAS 介于 WP 和 SP 之间。鳗鲡肌肉的 EAAS 评分最高的为色氨酸,据报道,色氨酸可以增强人体的免疫能力,其代谢产物褪黑素更是具有抗氧化和抗衰老等多种生理功能^[28]。值得注意的是,除色氨酸外,苯丙氨酸+酪氨酸的评分也很高,结果表明鳗鲡肌肉必需氨基酸均衡性好。

2.3 体外模拟消化

2.3.1 Tricine-SDS-PAGE 利用 Tricine-SDS-PAGE 对鳗鲡蛋白的体外模拟消化过程进行评价(图 1)。

鳗鲡 WP 分子质量为 12~97 ku 范围内可观察到多条清晰的蛋白条带。当 WP 经胃蛋白酶消化 15 min 后,只有 97,55,45 和 12 ku 及以下出现较淡的蛋白条带。伴随消化时间的延长,SDS-PAGE 中的蛋白条带数量逐渐减少(图 1a)。当模拟胃消化产物经胰酶消化 15 min 后,仅在 55 ku 处出现较淡的蛋白条带。当鳗鲡 SP 经胃蛋白酶消化 15 min 后,大于 100 ku 的蛋白条带立即消失(图 1b)。随着胃蛋白酶消化时间的延长,除了 80 ku 附近的蛋白条带以外其它蛋白条带逐渐变淡。当模拟胃消化产物经胰酶消化后,30 ku 以上的蛋白条带迅速消失,30 ku 以下的涂布状条带随着消化时间的延长逐渐变淡。这些结果表明,WP

表 3 鳗鲡肌肉及其分离蛋白的必需氨基酸评分(EAAS, %)

Table 3 Essential amino acid scores (EAAS, %) of eel muscle and its isolated protein

氨基酸	WP	SP	肌肉	FAO/WHO (2013)
Lys	145.16	173.11	157.91	55
Ile	101.63	118.24	107.55	40
Leu	96.72	114.80	104.32	70
Val	93.31	88.87	95.78	50
Thr	93.65	108.76	106.08	40
Met+Cys	77.45	94.64	97.67	35
Phe+Tyr	124.04	119.79	116.73	60
Trp	261.95	498.81	206.64	10

比 SP 更容易被胃蛋白酶消化降解。Minkiewicz 等^[29]在比较鲤鱼肌肉的肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的体外模拟消化时,也发现肌浆蛋白比肌原纤维蛋白容易消化。鳗鲡肌肉除了 WP 和 SP 以外,还富含胶原蛋白,因此伴随胃蛋白酶的消化,胶原蛋白逐渐明胶化并溶解出来,在 SDS-PAGE 中会呈现出一些与 WP 和 SP 消化不一样的蛋白条带(图 1c)。然而,这些蛋白条带在胰酶消化中也逐渐消失。

鳗鲡 WP 和 SP 与油脂混合后经过加热后,体外模拟消化的结果如图 1c,1d,1f 所示。加热后的 WP 在 SDS-PAGE 中只出现小于 10 ku 的蛋白条带,但随胃蛋白酶的消化蛋白条带数量先增加后减少(图 1d)。这可能是在与油脂加热过程中 WP 出现聚集和交联,但在胃蛋白酶消化中逐渐溶解出来。然而,与油脂共同加热的 WP 明显比未加热的 WP 不易被胃蛋白酶消化(图 1a 和 1d)。虽然 SP 与油脂加热后没有出现 WP 那样产生大分子,但是与油脂共同加热的 SP 在胃蛋白酶消化中比未加热的 SP 多了一些蛋白条带(图 1e)。模拟胃消化产物经胰酶消化后,WP 只有在 55 ku 附近存在一些蛋白条带,而 SP 却出现更多的蛋白条带。这些结果表明了与油脂共同加热后,SP 还是比 WP 不容易消化。相对于未加热的鳗鲡肌肉,经过加热的鳗鲡肌肉也出现了 WP、SP 与油脂共加热类似的现象(图 1f)。

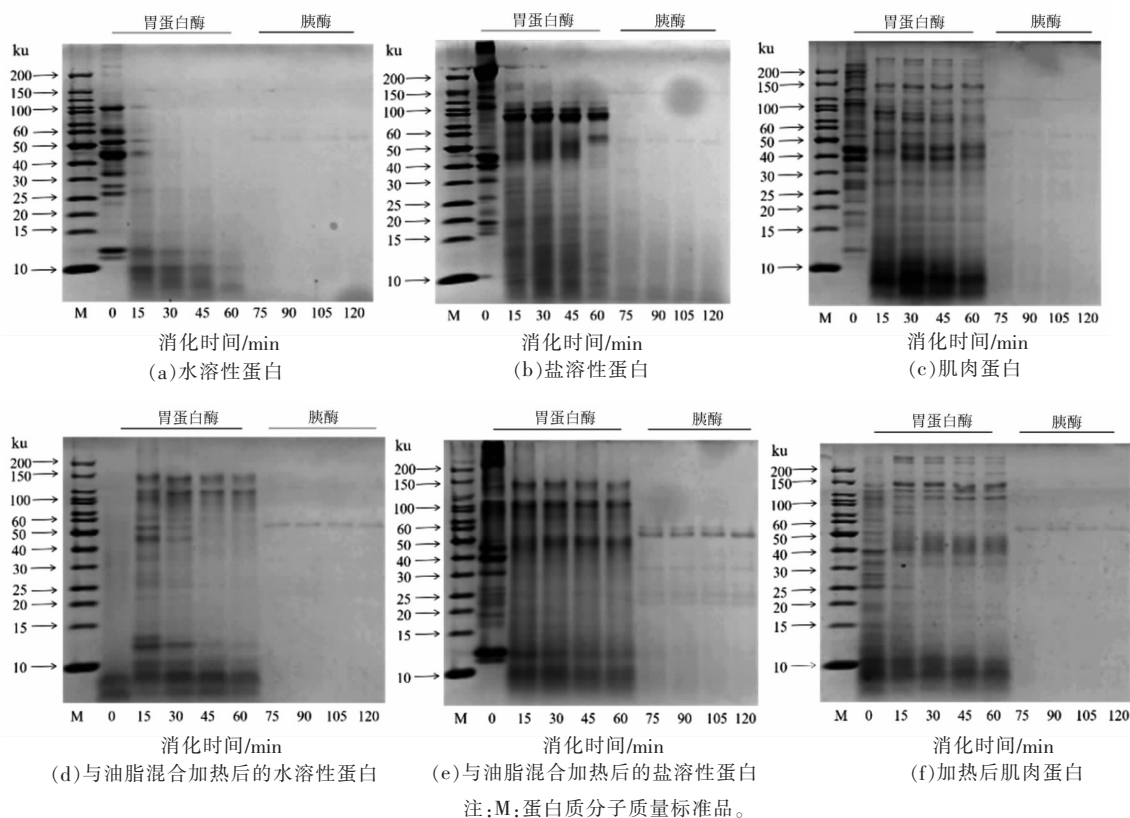


图 1 鳗鲡肌肉及其蛋白体外模拟消化产物的 Tricine-SDS-PAGE 图谱

Fig.1 Tricine-SDS-PAGE patterns of *in vitro* digested products of eel muscle and its isolated protein

2.3.2 游离氨基酸 对鳗鲡肌肉及其蛋白体外模拟消化产物中的游离氨基酸组成进行分析, 结果如表 4 所示。未加热的 WP 和 SP 经体外模拟消化后, 其消化产物中都有高含量的亮氨酸和苯丙氨酸等游离氨基酸。WP 消化产物中还富含精氨酸和赖氨酸, 而 SP 消化产物中富含丙氨酸和酪氨酸。亮氨酸、苯丙氨酸和赖氨酸为必需氨基酸, 精氨酸和酪氨酸则属于半必需氨基酸, 而且丙氨酸常用作营养补充剂, 它们在机体免疫能力的增强、肌肉蛋白的合成与分解中起到重要的作用^[22,30-32]。同样, 在鳗鲡肌肉模拟消化产物中主要游离氨基酸也是精氨酸、丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸和赖氨酸, 占游离氨基酸总量的 66.60%, 表明这些游离氨基酸可能可以作为评价鳗鲡肌肉消化产物的营养指标。

不管鳗鲡肌肉 WP, 还是鳗鲡肌肉 SP, 它们与油脂共同加热再经过体外模拟消化后, 模拟消化产物中的游离氨基酸总量均出现一定程度的增

加, 表明加热后可以促进蛋白消化。Semedo 等^[33]研究蒸煮、烘烤和油炸对鱼肉体体外模拟消化影响时, 也发现不管采用哪种加热方式加热后的鱼肉都更容易被消化。而且, 加热会使鳗鲡肌肉蛋白消化产物中的酪氨酸含量出现一定程度的下降 (表 4), 这可能是鱼肉在热加工中形成的食源性碳量子点抑制了酪氨酸的消化^[10]。值得注意的是, 经过加热后模拟消化产物中的主要游离氨基酸的比例都出现了下降的趋势, 也表明鳗鲡肌肉蛋白与油脂共同加热后会导致营养价值出现一定程度的下降。

3 结论

通过对鳗鲡肌肉 WP 和 SP 的氨基酸组成分析, 利用体外模拟消化分析蛋白与油脂加热前后的消化特征。结果表明, 鳗鲡 WP 中精氨酸含量明显高于 SP, 而 SP 中必需氨基酸和呈味氨基酸高于 WP, 且 SP 的氨基酸营养价值高于 WP。不管是加热还是未加热, 鳗鲡肌肉 WP 均比 SP 容易被消

表4 鳗鲡肌肉及其蛋白体外模拟消化产物的游离氨基酸组成(g/100 g,干重;n=3)

Table 4 Free amino acid *in vitro* digested products of eel muscle and its isolated protein (g/100 g dry weight; n=3)

	未加热			与油脂混合加热		
	WP	SP	肌肉	WP	SP	肌肉
Asp	-	-	-	-	-	-
Glu	-	-	-	-	-	-
Ser	0.16 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.02 ^b	0.16 ± 0.01 ^b	0.26 ± 0.02 ^a	0.28 ± 0.03 ^a	0.28 ± 0.06 ^a
His	0.44 ± 0.04 ^c	0.42 ± 0.04 ^c	0.55 ± 0.04 ^b	0.71 ± 0.12 ^a	0.60 ± 0.04 ^b	0.82 ± 0.11 ^a
Gly	0.39 ± 0.03 ^c	-	0.45 ± 0.03 ^b	0.48 ± 0.02 ^b	0.67 ± 0.05 ^a	0.73 ± 0.02 ^c
Thr	0.38 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.02 ^c	0.32 ± 0.08 ^b	0.56 ± 0.04 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.07 ^b
Arg	1.18 ± 0.03 ^b	0.16 ± 0.04 ^c	0.60 ± 0.12 ^c	1.58 ± 0.10 ^a	0.27 ± 0.02 ^d	0.66 ± 0.11 ^c
Ala	0.99 ± 0.04 ^c	1.04 ± 0.05 ^c	1.02 ± 0.05 ^c	1.77 ± 0.06 ^a	1.32 ± 0.10 ^b	1.46 ± 0.01 ^b
Tyr	1.17 ± 0.15 ^a	0.95 ± 0.03 ^{ab}	1.11 ± 0.08 ^a	1.05 ± 0.06 ^a	0.87 ± 0.07 ^b	0.99 ± 0.10 ^{ab}
Cys	0.26 ± 0.02 ^b	0.27 ± 0.03 ^b	0.30 ± 0.03 ^b	0.49 ± 0.07 ^a	0.50 ± 0.04 ^a	0.48 ± 0.08 ^a
Val	0.37 ± 0.02 ^c	0.30 ± 0.03 ^d	0.31 ± 0.03 ^d	0.82 ± 0.11 ^a	0.85 ± 0.08 ^a	0.58 ± 0.02 ^b
Met	0.20 ± 0.02 ^c	0.26 ± 0.01 ^c	0.30 ± 0.03 ^b	0.41 ± 0.05 ^a	0.33 ± 0.02 ^b	0.45 ± 0.05 ^a
Phe	1.31 ± 0.09 ^b	1.08 ± 0.08 ^c	1.19 ± 0.23 ^a	1.71 ± 0.17 ^a	1.41 ± 0.13 ^b	1.45 ± 0.08 ^b
Ile	0.23 ± 0.04 ^b	0.14 ± 0.04 ^c	0.21 ± 0.04 ^b	0.34 ± 0.06 ^a	0.35 ± 0.07 ^a	0.24 ± 0.03 ^b
Leu	1.16 ± 0.05 ^c	1.27 ± 0.11 ^c	1.59 ± 0.08 ^a	1.87 ± 0.16 ^a	1.45 ± 0.12 ^b	1.65 ± 0.09 ^a
Lys	1.14 ± 0.10 ^d	0.76 ± 0.04 ^f	0.91 ± 0.07 ^e	1.90 ± 0.18 ^a	1.39 ± 0.13 ^c	1.61 ± 0.09 ^b
Hyp	0.42 ± 0.09 ^c	0.44 ± 0.06 ^c	0.55 ± 0.05 ^c	1.35 ± 0.18 ^a	1.29 ± 0.10 ^a	0.92 ± 0.11 ^b
Pro	0.07 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	0.14 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a
TFAA	9.87 ± 0.32 ^c	7.44 ± 0.29 ^d	9.64 ± 0.33 ^c	15.44 ± 0.64 ^a	12.24 ± 0.47 ^b	12.83 ± 0.51 ^b
MFAA/TFAA(%)	70.42	70.70	66.60	63.99	54.82	60.95

注:TFAA:总游离氨基酸;MFAA:主要游离氨基酸(包括精氨酸、丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸和赖氨酸);标有不同字母的组别间有显著性差异($P<0.05$)。

化。经过加热后,蛋白模拟消化产物中游离氨基酸占比明显增加,表明加热可以促进鳗鲡肌肉蛋白质的消化降解。然而,根据模拟消化产物的游离氨基酸的分析结果,表明加热会导致鳗鲡肌肉蛋白质的营养价值下降。

参 考 文 献

- [1] OZOGUL Y, OZYURT G, OZOGUL F, et al. Freshness assessment of european eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods[J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 745-751.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- Fisheries and Fisheries Administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2020[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020.
- [3] 罗鸣钟, 关瑞章, 靳恒. 五种鳗鲡的含肉率及肌肉营养成分分析[J]. 水生生物学报, 2015, 39(4): 714-722.
- LUO M Z, GUAN R Z, JIN H. Analysis on the ratio of flesh content and the nutritional composition in the muscle of five species of eel[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(4): 714-722.
- [4] 高橋美保, 下村道子, 吉松藤子. 魚の種類と調理方法との関係[J]. 調理科学, 1988, 21(4): 296-301.
- TAKAHASHI M, SHIMOMURA M, YOSHIMATU F. Relationship between kinds of fish meat and cooking methods[J]. Cookery Science, 1988, 21(4): 296-301.

- [5] LUND M N, HEINONEN M, BARON C P, et al. Protein oxidation in muscle foods: a review[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55(1): 83–95.
- [6] 姚清华, 苏德森, 颜孙安, 等. 不同种菲律宾鳗鲡肌肉脂肪酸及氨基酸组成特征比较[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(4): 244–250.
- YAO Q H, SU D S, YAN S A, et al. Comparison of composition mode of fatty acid and amino acid in *anguilla bicolor pacifica* and *anguilla marmorata* muscle[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(4): 244–250.
- [7] SOULTOUKIS G A, PARTRIDGE L. Dietary protein, metabolism, and aging[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2016, 85(6): 5–34.
- [8] ZHOU C Y, PAN D D, SUN Y Y, et al. The effect of cooking temperature on the aggregation and digestion rate of myofibrillar proteins in Jinhua ham[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(9): 3563–3570.
- [9] KAJAK-SIEMASZKO K, AUBRY L, PEYRIN F, et al. Characterization of protein aggregates following a heating and freezing process[J]. *Food Research International*, 2011, 44(10): 3160–3166.
- [10] SONG Y K, CAO L, LI J Q, et al. Interactions of carbon quantum dots from roasted fish with digestive protease and dopamine[J]. *Food & Function*, 2019, 10(6): 3706–3716.
- [11] ZHENG H N, ZHANG C H, QIN X M, et al. Study on the protein fractions extracted from the muscle tissue of *Pinctada martensii* and their hydrolysis by pancreatin[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2012, 47(10): 2228–2234.
- [12] BERTRAM H C, KRISTENSEN M, ANDERSEN H J. Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment – a low-field NMR study[J]. *Meat Science*, 2004, 68(2): 249–56.
- [13] LIN C Y, LI R J. Fuel properties of biodiesel produced from the crude fish oil from the soapstock of marine fish[J]. *Fuel Processing Technology*, 2009, 90(1): 130–136.
- [14] SHI L F, HAO G X, Chen J, et al. Nutritional evaluation of Japanese abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) muscle: Mineral content, amino acid profile and protein digestibility[J]. *Food Research International*, 2020, 129: 108876.
- [15] DENG Y, WANG Y G, YUE J, et al. Thermal behavior, microstructure and protein quality of squid fillets dried by far-infrared assisted heat pump drying[J]. *Food Control*, 2014, 36(1): 102–110.
- [16] CINC-MARS C D, HU C, KITTS D D, et al. Investigations into inhibitor type and mode, simulated gastrointestinal digestion, and cell transport of the angiotensin i-converting enzyme-inhibitory peptides in pacific hake (*Merluccius productus*) fillet hydrolysate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(2): 410–419.
- [17] SCHÄGGGER H. Tricine-SDS-PAGE[J]. *Nature Protocols*, 2006, 1(1): 16–22.
- [18] LIU D M, CHEN X, HUANG J C, et al. Stability of antioxidant peptides from duck meat after post-mortem ageing[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(12): 2513–2521.
- [19] 蒲德成, 苏胜齐, 姚维志, 等. 云南盘鮠肌肉营养成分分析与营养评价[J]. *食品科学*, 2015, 36(10): 129–133.
- PU D C, SU S Q, YAO W Z, et al. Analysis and evaluation of the nutritional components in *discogobio yunnanensis* muscle[J]. *Food Science*, 2015, 36(10): 129–133.
- [20] KATIKOU P, HUGHES S I, ROBB D H F. Lipid distribution within Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets[J]. *Aquaculture*, 2001, 202(1/2): 89–99.
- [21] GHOSH S, PELLETT P L, AW-HASSAN A, et al. Impact of lysine-fortified wheat flour on morbidity and immunologic variables among members of rural families in northwest Syria[J]. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008, 29(3): 163–171.
- [22] DUAN Y H, LI F N, LI Y H, et al. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism[J]. *Amino Acids*, 2016, 48(1): 41–51.
- [23] MOHANTY B, MAHANTY A, GANGULY S, et al. Amino acid compositions of 27 food fishes and their importance in clinical nutrition[J]. *Journal of Amino Acids*, 2014: 269797.
- [24] 王雪锋, 涂行浩, 吴佳佳, 等. 草鱼的营养评价及关键风味成分分析[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(12): 182–189.
- WANG X F, TU X H, WU J J, et al. Nutritional evaluation and analysis of the volatile flavor compo-

- ment of grass carp[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(12): 182–189.
- [25] FRIEDMAN M. Nutritional value of proteins from different food sources. a review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(1): 6–29.
- [26] ADEYEYE E I. Amino acid composition of three species of Nigerian fish: *Clarias anguillaris*, *Oreochromis niloticus* and *Cynoglossus senegalensis* [J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 43–46.
- [27] OLUWANIYI O O, DOSUMU O O, AWOLOLA G V. Effect of local processing methods (boiling, frying and roasting) on the amino acid composition of four marine fishes commonly consumed in Nigeria[J]. Food Chemistry, 2010, 123(4): 1000–1006.
- [28] REITER R J, TAN D X, FUENTES-BROTO L. Melatonin: A multitasking molecule[J]. Progress in Brain Research, 2010, 181(6): 127–151.
- [29] MINKIEWICZ P, VEGARUD G E, BORAWSKA-DZIADKIEWICZ J, et al. European Carp (*Cyprinus carpio* L.) protein-derived ex vivo digests and *in vitro* hydrolysates differ in the ACE I inhibitory activity and composition of released ACE inhibitory peptides [J]. Protein & Peptide Letters, 2016, 24(2): 156–164.
- [30] CASTILLO S, HALLIGAN S, GATLIN D M. Growth responses of juvenile red drum *sciaenops ocellatus* to dietary phenylalanine and tyrosine can be used to calculate the total aromatic amino acid requirement[J]. Journal of Nutrition, 2015, 145(10): 2341–2346.
- [31] GEIGER R, RIECKMANN J C, WOLF T, et al. L-Arginine modulates t cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity[J]. Cell, 2016, 167(3): 829–842.
- [32] ZANDONA B A, RAMOS R A, OLIVEIRA C D S D, et al. Reduced dose of beta-alanine is sufficient to maintain performance in repeated sprints[J]. The Journal of Strength and Conditioning Research, 2020, 36(6): 1636–1642.
- [33] SEMEDO TAVARES W P, DONG S, YANG Y, et al. Influence of cooking methods on protein modification and *in vitro* digestibility of hairtail (*Thichiu-rus lepturus*) fillets[J]. LWT- Food Science & Technology, 2018, 96(10): 476–481.

Nutritional Evaluation and *in Vitro* Digestion Characteristics of Muscle Protein in European Eel

Sun Mengying¹, Shi Linfan^{1,2,3}, Ren Zhongyang^{1,2,3}, Chen Jun^{1,2,3}, Hao Gengxin^{1,2,3}, Weng Wuyin^{1,2,3*}

(¹College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian

²Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education, Xiamen 361021, Fujian

³Key Laboratory of Marine Functional Food in Xiamen, Xiamen 361021, Fujian)

Abstract To investigate the nutritional properties of European eel muscle protein, the amino acids composition and *in vitro* digestion characteristics of muscle and its isolated water-soluble protein(WP) and salt-soluble protein (SP) were analyzed. The essential amino acids of muscle, WP and SP accounted for 37.81%, 36.53% and 42.71%, respectively. Valine was the first limiting amino acid of muscle protein and SP, while that of WP was methionine + cysteine. The essential amino acid index, biological value and protein efficiency ratio of SP were 98.72, 95.91 and 3.90, respectively, which were significantly higher than those of WP. The SDS-PAGE result indicated that WP was more digestible by pepsin than SP. After being heated with eel muscle oil, the free amino acids in the *in vitro* digested products of WP and SP increased significantly, while the digestion of casein were inhibited. Based on the present result, it is concluded that the nutritional value of SP in the European eel muscle is higher than that of WP, and heating treatment can promote the digestion of WP and SP.

Keywords European eel; muscle protein; amino acids; nutrition evaluation; *in vitro* digestion