

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



# [12] 发明专利说明书

A23L 1/00 (2006.01)  
A23L 1/31 (2006.01)  
A23L 1/325 (2006.01)

专利号 ZL 03818643.8

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1331414C

[22] 申请日 2003.7.25 [21] 申请号 03818643.8

[30] 优先权

[32] 2002. 8. 2 [33] JP [31] 225580/2002

[86] 国际申请 PCT/JP2003/009502 2003.7.25

[87] 国际公布 WO2004/012524 日 2004.2.12

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.2

[73] 专利权人 味之素株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 金子智子 大隅雄一 中越裕行

[56] 参考文献

CN1286048A 2001.3.7

JP8-80176A 1996.3.26

US5518742A 1996.5.21

审查员 叶青

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 温宏艳 王景朝

权利要求书 1 页 说明书 9 页

[54] 发明名称

牲畜肉类和鱼介类食品用粘合剂以及使用粘合剂生产粘合成形食品的方法

[57] 摘要

本发明涉及牲畜肉类和鱼介类食品用粘合剂，所述粘合剂包含转谷氨酰胺酶、乳蛋白粉和至少一种选自下列的盐：碳酸钠、碳酸钾、磷酸三钠、磷酸三钾和焦磷酸四钾。

1. 牲畜和鱼介类产品用粘合剂，所述粘合剂包含转谷氨酰胺酶、乳蛋白粉和盐，其中该盐的1% (w/w) 水溶液的 pH 至少为 10 且小于 13，并且该盐在 20℃ 的溶解度至少为 20% (w/w) 且小于 100% (w/w)，其中所述粘合剂的 2% 水溶液的 pH 至少为 9 且小于 10。

2. 权利要求 1 的牲畜和鱼介类产品用粘合剂，其中所述盐是一种或多种选自碳酸钠、磷酸三钠和磷酸三钾的盐。

3. 牲畜和鱼介类产品用粘合剂，所述粘合剂包含转谷氨酰胺酶、乳蛋白粉和盐，其中该盐的 1% (w/w) 水溶液的 pH 至少为 10 且小于 13，并且该盐在 20℃ 的溶解度至少为 100% (w/w)，所述粘合剂的 2% (w/w) 水溶液的 pH 至少为 7.5 且小于 10。

4. 权利要求 3 的牲畜和鱼介类产品用粘合剂，其中所述盐是一种或多种选自碳酸钠和焦磷酸四钾的盐。

5. 权利要求 1-4 的牲畜和鱼介类产品用粘合剂，其中所述盐的平均粒径为 20-150  $\mu\text{m}$ ，并且具有 250  $\mu\text{m}$  或更小粒径的颗粒占 80% (w/w) 或更多。

6. 通过使用权利要求 1-5 的牲畜和鱼介类产品用粘合剂来生产粘合与重组食品的方法。

## 牲畜肉类和鱼介类食品用粘合剂以及 使用粘合剂生产粘合成形食品的方法

### 发明领域

本发明涉及用于通过将食品原料例如牲畜和鱼介类肉粘合在一起来生产粘合与成形（重组）食品的牲畜肉类和鱼介类产品用粘合剂，以及使用所述粘合剂来生产重组食品的方法。

### 发明背景

迄今为止，为了通过粘合与重组食品原料例如牲畜和鱼介类肉来生产粘合食品，已采用了多种方法。其实例包括使用蛋白材料或增稠性多糖作为糊剂的方法，联合使用这些材料与碱性物质的方法等。然而，大部分这些方法在食品粘着方面是功能不足的，因为粘着强度不令人满意，并且食品原料的外观、味道和风味受到显著破坏。

解决这些问题的方法有使用基于转谷氨酰胺酶（transglutaminase）的粘合剂的方法，其中所述粘合剂是由作为酶的转谷氨酰胺酶与酪蛋白的组合制成的。该方法使得能够生产其中食品原料的外观、味道和风味完全没有受到破坏的粘合与重组食品。

然而，在该基于转谷氨酰胺酶的粘合剂中作为硬化剂的转谷氨酰胺酶是一种酶，并且所获得的粘合强度取决于转谷氨酰胺酶的量、反应温度和反应时间。对于这些参数，以大量使用转谷氨酰胺酶在生产成本方面是不利的，并且当原料是新鲜原料例如牲畜和鱼介类肉时，反应温度的提高在卫生控制例如保持新鲜方面是不利的。因此，当用少量转谷氨酰胺酶在低温下进行反应时，需要长的粘合时间。然而，长的粘合时间在生产效率和卫生控制方面也成问题。在 JP-A-6-284867 中公开的粘合剂是优良的，因为实际应用在 5℃ 进行反应 1 小时是可能的。然而，在实际的生产领域，为了进一步提高生产率和进一步改善卫生，需要在较短的反应时间内表现出较高粘合强度的食品粘合剂。

尤其是，由于卫生问题而难以采用长反应时间的粘合与重组牲畜食品和鱼介类产品的生产已强烈地需要缩短反应时间，特别是在其中施用粘合剂粉来进行粘合的方法（下文中称为撒粉法）中缩短反应时

间。

### 发明公开

本发明提供了含有转谷氨酰胺酶的粘合制剂，所述制剂能够在比现有技术短的反应时间内实现更强的粘合，同时没有增加转谷氨酰胺酶的混合量以及没有破坏食品原料，尤其是牲畜和鱼介类产品的外观、味道和风味。

本发明者们已经发现，通过除了转谷氨酰胺酶和乳蛋白粉以外还掺入表现出满足特定条件的碱性的盐（下文中称为碱性盐），直至获得实用粘合强度所需的反应时间缩短了并且获得了更强的粘合强度。这一发现使得本发明得以完成。该效果在撒粉法中尤其显著。

也就是说，本发明是牲畜和鱼介类产品用粘合剂，所述粘合剂包含转谷氨酰胺酶、乳蛋白粉和盐，其中该盐的 1%（在下文中%均是 w/w 百分比）水溶液的 pH 至少为 10 且小于 13，并且该盐在 20℃ 的溶解度至少为 20% 且小于 100%。此外，本发明是牲畜和鱼介类产品的粘合剂，其中该粘合剂的 2% 水溶液的 pH 至少为 9 且小于 10。

此外，本发明是牲畜和鱼介类产品用粘合剂，其中该盐的 1% 水溶液的 pH 至少为 10 且小于 13，并且该盐在 20℃ 的溶解度至少为 100%，所述粘合剂的 2% 水溶液的 pH 至少为 7.5 且小于 10，以及使用所述牲畜和鱼介类产品用粘合剂生产粘合与重组食品的方法。下面详细描述本发明。

本发明中的碱性盐的特征在于，单独的该碱性盐的溶液的 pH 足够高，并且其在水中的溶解度足够高。单独的该碱性盐的 1% 水溶液的 pH 优选至少为 10 且小于 13。此外，该盐在 20℃ 的溶解度至少为 20% 且小于 100%。满足这样的条件的该碱性盐的实例包括碳酸钠、磷酸三钠、磷酸三钾、氨基乙酸钠、氨基乙酸钾等。在这些盐当中，碳酸钠对于粘合强度给出最佳效果，成本低，并且比较稳定而易于操作。

其 1% 水溶液的 pH 小于 10 的盐或其在 20℃ 的溶解度小于 20% 的盐对于缩短反应时间较无效。此外，其 1% 水溶液的 pH 为 13 或更高的盐是不合需要的，因为用于牲畜和鱼介类产品的粘合剂粉形式的转谷氨酰胺酶的活性是不稳定的。其中单独盐的 1% 水溶液的 pH 为 10 或更低的盐的实例包括碳酸氢钠（小苏打）、多磷酸钠和柠檬酸三钠，

其中单独盐的 1% 水溶液的 pH 为 13 或更高的盐的实例包括氢氧化钠和氢氧化钾。其在 20℃ 的溶解度小于 20% 的盐的实例包括焦磷酸四钠和氧化钙（煅烧钙）。预计由这些盐不能得到象本发明盐一样令人满意的结果。

此外，粘合剂的 2% 的水溶液（20℃）的 pH 优选至少为 9 且小于 10。在小于 9 的 pH 下以及在 10 或更高的 pH 下，缩短反应时间的效果不能发现或者非常低。因此，建议调节碱性盐的混合量以使 pH 在该范围内。

然而，在使用其在 20℃ 的溶解度超过 100% 的盐例如焦磷酸四钾和碳酸钾时，当制剂的 pH 至少为 7.5 且小于 10 时发现了缩短反应时间的效果。因此，可使用焦磷酸四钾和碳酸钾来达到本发明的目的，只要含有它们的粘合剂的 2% 水溶液的 pH 至少为 7.5 且小于 10 即可。

当在撒粉法中使用粘合剂时，建议碱性盐的粒径是小的。具体来说，颗粒优选具有 20-150  $\mu\text{m}$  的平均粒径，并且 250  $\mu\text{m}$  或更小的粒径占至少 80%。更优选使用其中 250  $\mu\text{m}$  或更小的粒径占至少 90% 的颗粒。使用具有小粒径的碱性盐缩短了粘合所需的反应时间，并且提高了粘合强度，而且还可以降低掺入到粘合剂中的碱性盐的量。当使用具有强烈味道的碱性盐或者需要对欲粘合的材料的风味有较小破坏时，该方法是尤其有效的。

碳酸钠是白色粉末或块状物。作为粉末，有两种市售类型：具有小粒径和低比重的“轻苏打”，和具有大粒径和高比重的“重苏打”（heavy ash），可根据目的来选择使用它们。在大多数情况下，市场上供应的通常是重苏打（平均粒径约为 500  $\mu\text{m}$ ）。重苏打由于具有较少的尘屑而易于操作，但是其粒径大。因此，对于本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂，具有小粒径（平均粒径约为 100-150  $\mu\text{m}$ ）的轻苏打是优选的。

JP-A-6-284867 描述了在粘合剂中可使用 pH 调节剂。然而，根本没有提出任何具体的 pH 调节剂，没有公开使用 pH 调节剂的方法以及如何缩短反应时间，而这些都是本发明中阐明了。此外，用于面条的含有转谷氨酰胺酶、碳酸盐和蛋白水解产物的酶制剂是已知的（JP-A-11-346689）。然而，该制剂是通过产生二氧化碳来调整面条。因此，该酶制剂在要解决的问题和机理以及需求方面不同于本发明产品。

下面描述作为其它有效组分的乳蛋白。作为乳蛋白粉，可使用任何酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钾、酪蛋白酸钙等，只要从乳中制得的酪蛋白包含在其中即可。还可以使用通过方法例如酸水解、碱水解或酶促水解而部分水解的乳蛋白粉。然而，对于较高的水解比例，粘合强度往往会降低。乳蛋白粉占牲畜和鱼介类产品用粘合剂总量的混合比例为 30-90%，更优选为 40-70%。当混合比例低时，不能获得令人满意的粘合强度。当混合比例太高时，粘合强度不随混合比例增加，并且消耗较昂贵的蛋白粉，这在经济上是不利的。

在本发明中使用的转谷氨酰胺酶是催化肽链中的谷氨酰胺残基的  $\gamma$ -甲酰胺基团发生酰基转移反应的酶。当蛋白中的赖氨酸残基的  $\epsilon$ -氨基作为酰基受体时，该转谷氨酰胺酶在蛋白分子中以及蛋白分子之间形成  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)-Lys 交联。转谷氨酰胺酶还是这样的酶，当水作为酰基受体时，其进行其中谷氨酰胺残基被脱酰氨基以形成谷氨酸残基的反应。

该转谷氨酰胺酶包括独立于钙的转谷氨酰胺酶和依赖于钙的转谷氨酰胺酶。独立于钙的转谷氨酰胺酶包括源自微生物的酶（参见例如 JP-A-1-27471），依赖于钙的转谷氨酰胺酶包括源自豚鼠肝脏的酶（参见 JP-B-1-50382）、源自鱼介类的酶（例如 Seki Nobuo 等人“Nihon Suisan Gakkaishi” vol. 56, No. 1, p. 125 (1990)）等。此外，其还包括通过基因重组产生的酶（参见 JP-A-1-300889、JP-A-5-199883、JP-A-6-225775 等）。在本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂中，可使用任何这些转谷氨酰胺酶，并且其来源和制备方法不受限制。然而，出于功能和经济方面的考虑，独立于钙的转谷氨酰胺酶是优选的。例如，目前源自微生物的转谷氨酰胺酶是最佳的，因为其满足所有条件。

转谷氨酰胺酶在本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂中的混合比例为每克粘合剂 1-500 单位，优选为每个粘合剂 20-100 单位。当转谷氨酰胺酶的量小于 1 单位时，不能获得令人满意的粘合强度。当转谷氨酰胺酶的量大于 500 单位时，粘着速度太高从而降低了操作效率并且在经济上是不利的。

转谷氨酰胺酶的活性单位是如下所述测定和定义的。也就是说，使用苜蓿基羧基-L-谷氨酰胺酰基甘氨酸和羟基胺作为底物来进行反应，并且在三氯乙酸存在下将纯化的异羟肟酸形成铁络合物。然后测

定在 525 nm 的吸收度,并由校正曲线获得异羟肟酸的量以计算活性(参见上述 JP-A-27471)。

本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂可按照需要含有调味品例如精制食盐、糖或胡椒粉,乳化剂例如卵磷脂或甘油单酯,填充剂例如乳糖或糊精,除非转谷氨酰胺酶和乳蛋白粉的粘合被削弱。

在通过撒粉法进行粘合时,如 JP-A-8-140594 所公开,适当地混合入二氧化硅细颗粒是更有效的。

通过采用适当量的这些组分来制备本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂没有任何特殊困难,并且其可通过简单的粉末混合而制得。由此制得的粘合剂当然可直接用于粘合食品原料。不必说,其可作为食品添加剂分配。

下面描述使用上述粘合剂通过撒粉法将欲粘合的材料粘合在一起的方法。将粘合剂粉末散布在盘子等上。将欲粘合的材料例如肉类轻轻地放在该粉末上,滚动并用粉末良好地涂敷。将涂有粘合剂的材料通过填充到包装管内来重组,或者在模盒中层压。当粘合表面之间有缺口时,这部分难以粘合。因此建议通过压缩等手段来将欲粘合的材料粘合在一起。

将该粘合与重组的产品在预定温度下保持预定长的时间,这取决于使用转谷氨酰胺酶交联反应的目的。因为转谷氨酰胺酶是一种酶,所以考虑将酶活化的条件来确定上述预定温度和时间。当温度低于使转谷氨酰胺酶失活的 60 至 70℃ 时,进行粘合。温度越高,粘合强度提高得就越快。然而,当欲粘合的牲畜和鱼介类产品是新鲜食品原料时,建议在 0-10℃ 处理它们以保持新鲜。所需反应时间随反应温度和欲粘合材料的类型或条件而变。所需粘合强度通常在 5 分钟-15 小时达到。当然,如果反应进行的时间长于该范围,粘合强度没有任何问题。在本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂中,在相同酶用量的情况下,所需的酶反应时间可以为使用转谷氨酰胺酶的常规粘合制剂的 1/2-1/4。此外,当反应时间足够长时,可获得比现有技术更高的粘合强度。

由此粘合的材料可以以这样的形式提供或者在加热或冷冻之后提供。另外,其可以在加热之后立即食用,或者可在冷却或冷冻之后提供。在此期间,可按照需要将材料切成适当的大小。具体来说,将鱼产品加工成生鱼片(切成薄片的未加工鱼肉)、烤鱼、烹饪鱼、油炸

鱼等，可将牲畜肉加工成肉排、炸肉等。象普通粘合剂一样，本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂可以在水溶方法中使用，其中是将粘合剂粉分散或溶解在水中，水的量是粘合剂粉的 2-10 倍，将粘合剂粉的溶液与欲粘合的材料混合，然后重组，以及可以在撒粉法中使用，其中是通过撒粉将粘合剂粉与欲粘合的材料混合，然后重组。

欲用本发明牲畜和鱼介类产品用粘合剂粘合的食品原料包括所有牲畜和植物原料例如牲畜肉类（包括家禽肉类）、鱼肉类、贝类、卵、蔬菜和水果。这些可以是自身形式的粘合产品，或者进行过热处理例如蒸煮、烘烤、蒸汽处理或烧烤，进行过酸或碱处理，或用调味品例如精制食盐、酱、糖等调味。此外，可将两种或多种这些粘合产品组合。

通过实施例来更具体地描述本发明。然而，本发明的技术范围不受实施例的限制。此外，本发明特别是为了改善在低温下的反应。因为在室温或能够激活转谷氨酰胺酶的高温区域进行的反应得到了进一步改善，所以产率提高了或者酶用量降低了，并且采用通常的反应时间。因此，显然这在经济方面是有利的。

本说明书包括在日本专利申请 2002-225580 的说明书中描述的内容，该申请构成了本申请的常规优先权基础。

#### 实施本发明的最佳方式

以下通过实施例来描述本发明。然而，本发明的范围不受这些实施例的限制。

#### 实施例 1

通过将表 1 所示的原料混合来制备用于牲畜和鱼介类样本的粘合剂 (a) - (h)。使用源自属于链轮丝菌属 (*Streptverticillium*) (有时归为链霉菌属 (*Streptomyce*)) 放线菌的微生物 (茂原链轮丝菌 (*Streptverticillium mobaraense*) IFO 13819) 的转谷氨酰胺酶 (比活性 1 单位/克) 作为转谷氨酰胺酶。使用酪蛋白酸钠粉作为乳蛋白粉。使用 K.K Tokuyama 生产的碳酸钠 (无水) 轻苏打 (平均粒径 120  $\mu\text{m}$ 、250  $\mu\text{m}$  或小于 96%) 作为碳酸钠 (无水)。使用 Fuji Silicia Kagaku K.K 生产的 Silopage #720 作为二氧化硅细颗粒。

表 1

粘合剂配方 (单位: %)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
转谷氨酰胺酶	5	5	5	5	5	5	5	5
酪蛋白酸钠	50	50	50	50	50	50	50	50
二氧化硅	0	2	2	0	0	0	0	2
多磷酸钠	0	0	5	0	0	0	0	0
焦磷酸四钠	0	0	0	5	0	0	0	0
碳酸钠(无水)轻苏打	0	0	0	0	5	0	0	5
磷酸三钠	0	0	0	0	0	5	0	0
焦磷酸四钾	0	0	0	0	0	0	5	0
乳糖	45	43	38	40	40	40	40	38
2%粘合剂水溶液的 pH (20℃)	6.3	6.3	8.2	8.1	9.9	9.9	7.8	9.9
粘合强度 (g/cm <sup>2</sup> ) 反应时间 10 分钟	52				98			
粘合强度 (g/cm <sup>2</sup> ) 反应时间 30 分钟	73	85	90	95	113	101	116	125
粘合强度 (g/cm <sup>2</sup> ) 反应时间 60 分钟	86				119			
粘合强度 (g/cm <sup>2</sup> ) 反应时间 120 分钟	100	110	114		128	120		136

将每一这些粘合剂散布在盘子上至约 5 mm 的厚度。将原料猪肉(上猪腿)小片(约 2 cm<sup>2</sup>) 在盘子上面滚动以让粘合剂均匀地粘合在其上面。将这些猪肉片填充到圆柱形包装中, 折叠宽度为 75 mm, 在压缩下捆扎。将包装在 5℃ 保持 10 分钟-2 小时以引起转谷氨酰胺酶的酶反应。然后将样本在 -30℃ 的冷冻器中完全冷冻以停止酶反应。之后将样本半融化, 切成 9 mm 厚的薄片。将薄片进一步切成宽 25 mm 的

矩形。完全融化后，使用 Fudo Kogyo K.K. 生产的流变仪将这些片进行拉伸试验。粘合强度以拉伸强度 ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) 表示。此外，使用 pH 计测定每一粘合剂的 2% 水溶液的 pH。为了制备粘合剂的 2% 水溶液，将粘合剂粉加到水中，把混合物搅拌 5 分钟，然后在  $20^\circ\text{C}$  的水温测定 pH。结果如表 1 所示。

含有碳酸钠、磷酸三钠和焦磷酸四钾的牲畜和鱼介类样本用粘合剂需要比通过常规方法获得的 (a)、(b)、(c) 和 (d) 更短的粘合时间来提高粘合强度。此外，联合使用细二氧化硅 (h) 表现出更高的粘合强度。

将通过用每一粘合剂 (a) - (h) 处理 30 分钟的反应时间而获得的粘合的上猪腿样本切成 10-12 mm 厚的肉片。将肉片的两个表面分别在热板上于约  $200^\circ\text{C}$  烘烤 2 分钟，用手拉样本以比较粘合强度。结果发现，用 (e)、(f)、(g) 和 (h) 处理的肉在操作时具有足够的粘合强度。然而，用 (a)、(b)、(c) 和 (d) 处理的粘合的肉易于瓦解，并且粘合强度不令人满意。所有粘合的肉都保持着与未粘合的肉（肉中内在味道和风味根本没有受破坏）相等的风味和口感。

#### 实施例 2

将 4.5% 与实施例 1 所用相同的源自微生物的转谷氨酰胺酶（比活性 1 单位/mg）、50% 酪蛋白酸钠粉末和 2% 细二氧化硅粉末与 1-10% 粒径不同的碳酸钠（无水）以及余量（使总量为 100%）的麦芽糖醇浆粉末混合。由此制备 12 种用于牲畜和鱼介类样本的粘合剂，使用与实施例 1 相同的方式制备粘合的上猪腿样本。所用的碳酸钠是 K.K. Tokuyama 生产的轻苏打（平均粒径 120  $\mu\text{m}$ 、250  $\mu\text{m}$  或小于 96%）和重苏打（平均粒径 500  $\mu\text{m}$ 、250  $\mu\text{m}$  或小于 6%）。反应在  $5^\circ\text{C}$  进行 30 分钟。反应完全后，将样本在  $-30^\circ\text{C}$  的冷冻器中完全冷冻。按照与实施例 1 相同的方式，进行半融化和切片。用流变仪进行拉伸试验以测定粘合强度。按照与实施例 1 相同的方法测定每一粘合剂的 2% 水溶液的 pH。结果如表 2 所示。当碳酸钠（无水）的混合量为 2-5% 时，2% 粘合剂水溶液的 pH 为 9-10，尤其是获得了高粘合强度，并且具有小粒径的轻苏打以小的混合量给出了高粘合强度。

碳酸钠（无水） 的混合量（%）	2%水溶液的 pH（20℃）	拉伸强度（g/cm <sup>2</sup> ）	
		使用轻苏打的 粘合剂	使用重苏打的 粘合剂
0	6.3	87	87
1	7.6	102	91
2	9.0	110	95
2.5	9.3	125	104
3	9.6	118	107
5	9.9	107	115
10	10.4	97	90

### 实施例 3

将弯刀鱼（cutlass fish）切成三部分，除去骨以获得鱼片（约 5 cm × 10 cm）。将在实施例 1 中获得的制剂（c）、（e）或（h）涂敷在其肠侧上。将两个鱼片的肠侧粘合在一起，用包裹物覆盖。将样本在 5℃ 保持 2 小时以进行转谷氨酰胺酶的酶反应。将使得样本在 -30℃ 的冷冻器中完全冷冻以停止酶反应。之后将样本融化。在样本完全融化后立即由 10 名专业人员进行剥落试验。用手评估粘合强度，获得平均值。在该评估中，“强粘合”计为 10 分，“暂时粘合但易于通过拉扯分离”计为 5 分，“根本未粘合”计为 1 分。

结果发现，（c）被计为 5.5 分，（e）被计为 6.7 分，（h）计为 7.1 分。此外，通过在 200℃ 的热板上进行适当烘烤来吃样本。结果，所有样本都保持着与未粘合的弯刀鱼（cutlass fish）片（鱼中内在味道和风味根本没有受破坏）相等的风味和口感。

### 工业实用性

与现有技术相比，在食品粘合方面，通过使用包含转谷氨酰胺酶、乳蛋白粉和特定碱性盐的组的含酶粘合剂，本发明使得在更短的反应时间内表现出更高的粘合强度。