

# 外源蛋白酶水解白鲢内脏的工艺条件

余佳 荣建华 熊善柏\*\*

华中农业大学食品科技学院/湖北省水产品加工工程技术研究中心, 武汉 430070

**摘要** 为充分利用白鲢废弃物,利用碱性蛋白酶水解白鲢内脏,考察了温度、pH值、加酶量、料液比对白鲢内脏水解效果的影响。通过正交试验优化水解条件,结果表明:白鲢内脏水解的最佳条件是,酶解温度 50℃, pH 9.0,加酶量 2 000 U/g,料液比 1:3。在最佳酶解条件下水解 7.5 h,内脏蛋白质的水解度为 41.73%,氮收率为 64.76%。

**关键词** 蛋白酶;白鲢内脏;水解

**中图分类号** TS 254.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)02-0241-04

白鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)是我国淡水养殖中年产量较大鱼类之一,年产量约 338 万 t。白鲢的可食比例小,鱼头、内脏及其它废弃物所占的比重较大,其中内脏就占 10%以上<sup>[1-2]</sup>。白鲢内脏中含有丰富的蛋白质,目前对内脏的处理大多将其作为肥料、饲料,利用较少,这不仅造成资源浪费,而且常因处理不当带来严重的环境污染<sup>[3-5]</sup>。

蛋白质经蛋白酶水解后生成游离氨基酸和短肽,易被人体消化吸收。白鲢内脏中含有内源蛋白酶,近年来有学者利用鱼体自身内脏中存在的消化酶水解鱼蛋白,但酶解过程较难控制,生产过程中易造成微生物污染,且酶量有限,产物功能特性较差<sup>[4-5]</sup>,在食品工业上应用有限。添加外源蛋白酶水解是更常用的一种蛋白质水解方法,有学者在鱼头、鱼骨、鱼鳞等废弃物中添加外源蛋白酶,研究开发出一系列新产品<sup>[6-9]</sup>。笔者以白鲢内脏为原料,选择合适的蛋白酶并优化其酶水解工艺,旨在为合理利用淡水鱼内脏蛋白质提供科学依据。

## 材料与方 法

### 供试材料与设备

1) 供试材料。白鲢(1 500 g/尾左右)购于华中农业大学农贸市场,取其内脏,洗净后待用。

2) 主要设备。722S 型可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司生产;HH-6 型数显恒温水浴

锅,常州国华电器有限公司生产;TDL-80-2B 型离心机,上海沪西分析仪器厂。

### 试验方法

1) 鱼内脏水解物的制备。称取一定量的鱼内脏,绞碎,按比例加入适量的蒸馏水,用 2 mol/L 的 NaOH 或 HCl 调节 pH 值,然后加酶并恒温水浴 3 h,水解结束后沸水浴灭酶 15 min,于 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液备用。

2) 原料主要成分的分析。蛋白质含量的测定,凯氏定氮法(GB/T 5009.5-2003);粗脂肪的测定,索氏抽提法(GB/T 5009.6-2003);水分含量的测定,常压干燥法(GB/T 5009.3-2003);灰分的测定,灰化法(GB/T 5009.4-2003)。白鲢内脏粗蛋白含量 14.83%、粗脂肪含量 10.65%、水分 64.38%。

3) 水解度的测定。取一定体积的按本文中“1.2”1)的方法制备的上清液,分别采用茚三酮法、凯氏定氮法测定其中的游离氨基态氮含量和原料总氮含量。

4) 氮收率的测定。参考单守水等<sup>[10]</sup>的方法,用凯氏定氮法测定按本文中“1.2”1)的方法制备的上清液中的总氮量和原料总氮量。

## 结果与分析

### 蛋白酶的选择

根据鱼内脏蛋白质的特性,选择复合蛋白酶、中

收稿日期:2009-05-15; 修回日期:2009-06-24

\* 现代农业生产技术体系建设专项资金(NYCYTX-49)资助

\*\* 通讯作者. E-mail: xiongsb@mail.hzau.edu.cn

余佳,男,1981年生,硕士研究生,研究方向:水产品加工与贮藏. E-mail: jiajia2483@163.com

性蛋白酶、碱性蛋白酶 3 种酶作为试验酶,在各自适宜的条件下水解鱼内脏 3 h,并分别测定水解产物的氮收率和水解度,其结果见表 1。

由表 1 可知,与对照相比,添加各种蛋白酶后,可显著提高水解产物的氮收率和水解度。在 3 种蛋白酶各自适宜条件下,鱼内脏蛋白质用碱性蛋白酶水解时水解产物的氮收率和水解度最高,

其值分别为 59.77 %和 27.13 %,比用中性蛋白酶水解时的水解产物分别高出 7.00 %和 7.38 %,比用复合蛋白酶水解时的水解产物分别高出 6.68 %和 4.03 %,比未添加外源蛋白酶时的水解产物分别高出 23.73 %和 11.38 %。因此,选用碱性蛋白酶作为外源酶,研究不同水解条件对白鲢内脏酶解效果的影响。

表 1 不同蛋白酶对白鲢内脏中蛋白质水解效果的影响<sup>1)</sup>

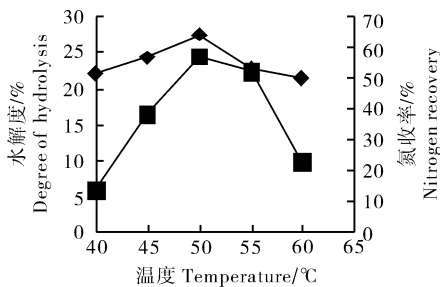
Table 1 Effects of different enzyme on hydrolysis of protein in silver carp viscera

酶 Enzyme	温度/ Temperature	pH	加酶量/(U/g) Proteases dosage	氮收率/% Nitrogen recovery	水解度/% Degree of hydrolysis
对照 Control	50	9.0	—	36.04 ±2.31 c	15.75 ±2.87 d
复合蛋白酶 Protamex	50	6.0	2 000	53.09 ±2.99 b	23.10 ±0.45 b
中性蛋白酶 Neutral protease	50	7.5	2 000	52.77 ±1.68 b	19.75 ±1.33 c
碱性蛋白酶 Alcalase	55	8.0	2 000	59.77 ±1.07 a	27.13 ±2.58 a

1) 数值后小写字母相同者表示在 0.05 水平上差异不显著,下同。The data with the same letters in the column are not significantly different in the level of 5 %,the same as below.

水解条件对酶解效果的影响

1) 温度对酶解效果的影响。选取不同温度,在 pH 值 8.0,酶用量 2 000 U/g,料液比 1 : 3,水解 3 h,结果如图 1 所示。由图 1 可知,当温度从 40 上升到 50 时,白鲢内脏蛋白水解产物的氮收率和水解度随温度的升高而增加,50 时达到最大,超过 50 后,随着温度的上升,白鲢内脏蛋白水解产物的氮收率和水解度开始下降,这可能是随着温度的进一步升高,蛋白酶失活所造成。因此,白鲢内脏酶解的最适温度为 50 ,其酶水解产物的氮收率和水解度均达到最大,分别为 64.61 %和 24.65 %。



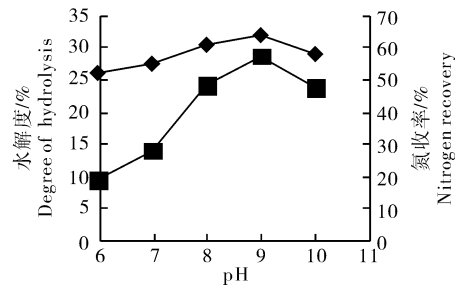
水解度 Degree of hydrolysis; 氮收率 Nitrogen recovery

图 1 温度对白鲢内脏中蛋白质酶解效果的影响

Fig. 1 Effects of temperature on hydrolysis of protein in silver carp viscera

2) 起始 pH 值对酶解效果的影响。选取不同 pH 值,在温度为 55 ,酶用量 2 000 U/g,料液比 1 : 3,水解 3 h,结果如图 2 所示。由图 2 可知,随着起始 pH 值的升高,白鲢内脏蛋白质用碱性蛋白酶水解时产物的水解度和氮收率先不断上升,在起始

pH 值为 9 时,水解度和氮收率达到最大,分别为 28.83 %和 63.90 %,当 pH 值继续加大时,水解度和氮收率下降。

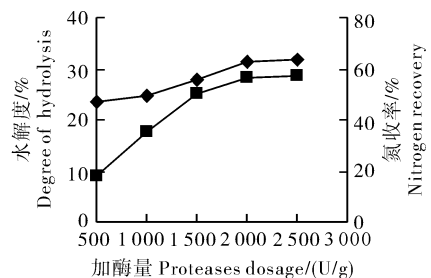


水解度 Degree of hydrolysis; 氮收率 Nitrogen recovery

图 2 起始 pH 值对白鲢内脏中蛋白质酶解效果的影响

Fig. 2 Effects of initial pH value on hydrolysis of protein in silver carp viscera

3) 加酶量对酶解效果的影响。选取不同加酶量,在温度为 55 ,pH 值为 8.0,料液比 1 : 3,水解 3 h,结果如图 3 所示。由图 3 可知,白鲢内脏蛋白



水解度 Degree of hydrolysis; 氮收率 Nitrogen recovery

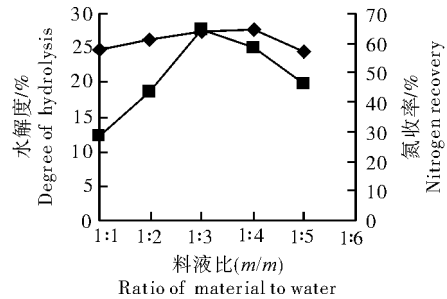
图 3 加酶量对白鲢内脏中蛋白质酶解效果的影响

Fig. 3 Effects of proteases dosage on hydrolysis of protein in silver carp viscera

质水解产物的氮收率和水解度随着酶用量的增加而增大,当加酶量由 500 U/g 增加到 2 000 U/g 时,水解产物的氮收率和水解度变化较大,氮收率由 47.43 % 增加到 62.35 %,水解度由 9.00 % 增加到 28.36 %,但当酶添加量超过 2 000 U/g 时,水解产物的氮收率和水解度变化不明显。

4) 料液比对酶解效果的影响。选取不同料液比,在温度为 55 ,酶用量 2 000 U/g, pH 值为 8.0,水解 3 h,结果如图 4 所示。

由图 4 可知,料液比 1 : 3 时,白鲢内脏蛋白水解产物的氮收率为 63.68 %,水解度达到最大,为 27.62 %,然后水解度呈下降趋势;而料液比为 1 : 4 时,水解度为 25.18 %,氮收率达到最大,为 64.26 %,继续加水,氮收率下降。从节约用水减少能耗方面考虑,选择料液比 1 : 3 作为白鲢内脏蛋白质水解的最适料液比。根据上述单因素试验结果,白鲢内脏蛋白水解的最适条件:温度



水解度 Degree of hydrolysis; 氮收率 Nitrogen recovery

图 4 料液比对白鲢内脏中蛋白质酶解效果的影响

Fig. 4 Effects of ratio of material to water on hydrolysis of protein in silver carp viscera

50 ,起始 pH 值 9.0,酶添加量 2 000 U/g,料液比为 1 : 3。

正交试验分析

在单因素试验的基础上,以温度、pH 值、加酶量、料液比为因素,采用正交试验  $L_9(4^3)$ ,对白鲢内脏水解条件进行优化,其结果见表 2 和表 3。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal design

序号 Number	因素 Factors				水解效果 Effects of hydrolysis	
	温度/ Temperature	pH	加酶量/(U/g) Proteases dosage	料液比 Ratio of material to water	水解度/ % Degree of hydrolysis	氮收率/ % Nitrogen recovery
1	45	8.0	1 500	1 : 2	13.71 ±0.74	52.40 ±1.20
2	45	9.0	2 000	1 : 3	31.11 ±1.19	65.78 ±0.60
3	45	10.0	2 500	1 : 4	18.74 ±3.97	59.43 ±1.27
4	50	8.0	2 000	1 : 4	19.66 ±1.44	63.84 ±0.84
5	50	9.0	2 500	1 : 2	31.89 ±3.44	62.71 ±0.89
6	50	10.0	1 500	1 : 3	18.64 ±3.52	60.61 ±0.45
7	55	8.0	2 500	1 : 3	17.40 ±0.61	62.94 ±1.24
8	55	9.0	1 500	1 : 4	29.62 ±0.69	63.25 ±0.33
9	55	10.0	2 000	1 : 2	20.11 ±1.99	65.09 ±1.52

表 3 方差分析结果 (F/ )<sup>1)</sup>

Table 3 Result of variance (F/ )

项目 Items	温度 Temperature	pH	加酶量 Proteases dosage	料液比 Ratio of material to water
水解度 Hydrolysis degree	26.96/ <0.000 1	1336.2/ <0.000 1	79.15/ <0.000 1	3.82/ 0.062
氮收率 Nitrogen recovery	95.01/ <0.000 1	66.65/ <0.000 1	91.42/ <0.000 1	7.96/ 0.046

1) 0.01 为极显著 Quite significant; 0.01 < 0.05 为显著 Significant.

由表 2 和表 3 可知,以氮收率为指标,最适酶解条件为起始 pH 值 9.0,加酶量 2 000 U/g,温度 50 ,料液比 1 : 3 和 1 : 4。以水解度为指标,各因素对水解效果影响的大小顺序为起始 pH 值 > 加酶量 > 温度 > 料液比,最适酶解条件为起始 pH 值 9.0,加酶量 2 000 U/g,温度 50 ,料液比对酶解效果影响不大。综合考虑 2 个指标,确定碱性蛋白酶水解白鲢内脏蛋白的最佳条件是:起始 pH 值

9.0,加酶量 2 000 U/g,温度 50 ,料液比 1 : 3。

酶解时间对酶解效果的影响

白鲢内脏蛋白在最佳条件水解,酶解时间对酶解效果的影响见表 4。

由表 4 可以看出,随着水解时间的延长,白鲢内脏蛋白水解产物的氮收率和水解度也随之增加。水解 3 h,水解产物的氮收率和水解度分别为 63.02 % 和 33.68 %,水解 7.5 h,氮收率和水解度达到 64.76 %

表4 酶解时间对酶解效果的影响

Table 4 Effects of hydrolysis time on hydrolysis of protein in silver carp viscera

项目 Items	1.5 h	3.0 h	4.5 h	6.0 h	7.5 h	9.0 h
水解度 Degree of hydrolysis/ %	32.12 ±0.47 d	33.68 ±0.59 ac	34.75 ±1.03 c	38.07 ±2.24 b	41.73 ±0.08 a	42.00 ±0.14 a
氮收率 Nitrogen recovery/ %	56.57 ±0.65 d	63.03 ±1.02 c	63.29 ±0.06 bc	64.52 ±1.32 a	64.76 ±0.36 a	65.37 ±0.77 a

和41.73%,但水解7.5 h后,水解度增加不明显;氮收率在水解6.0 h后,增加比较小。因此,确定白鲢内脏蛋白的水解时间为7.5 h。

## 讨论

我国鱼类资源丰富,淡水鱼产量逐年增加。近些年来,随着我国水产品深加工的迅速发展,鱼类加工工艺与理论的研究也逐步深入。鱼内脏蛋白质含量丰富,且蛋白质经酶解后产物往往具有多种生物活性和功能。本试验在复合蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶中,选用碱性蛋白酶水解白鲢内脏蛋白,其水解产物的氮收率和水解度最高,分别为59.77%和27.13%,比用中性蛋白酶水解产物分别高出7.00%和7.38%,比未添加外源蛋白酶蛋白酶水解产物分别高出23.73%和11.38%。温度、pH值、加酶量、料液比对碱性蛋白酶水解的效果有影响,优化后水解的最佳条件为水解温度50℃,pH值9.0,碱性蛋白酶加入量2 000 U/g,料液比1:3,水解时间为7.5 h。在此水解条件下,白鲢内脏蛋白的水解度可达41.73%,氮收率为64.76%。

## 参考文献

- [1] 张愨,张骏. 国内外低值淡水鱼加工与下脚料利用的研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2006,9(5):115-121.
- [2] 陈奇,何新益. 鲢鱼及其副产物综合利用与开发研究[J]. 内陆水产,2007(5):11-13.
- [3] 陈有容,张雪花. 白鲢废弃物发酵鱼露的成份分析及评价[J]. 中国水产,2002(4):72-74.
- [4] SIKORSKI Z E, NACZKM. Modification of technological properties of fish protein concentrates[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1981(4):201.
- [5] SHAHIDI F. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin[J]. Food Chem,1995,53:285.
- [6] 苑艳辉,钱和,姚卫蓉. 鱼下脚料综合利用之研究近况与发展趋势[J]. 水产科学,2002,23(11):40-42.
- [7] 陈晶,刘友明,熊善柏. 复合蛋白酶与风味蛋白酶分步水解鱼骨蛋白工艺的优化[J]. 华中农业大学学报,2007,26(5):704-708.
- [8] 盛灿梅,刘永乐,陈永发. 淡水鱼头水解条件的研究[J]. 食品与机械,2006,22(4):19-21.
- [9] 胡耀星,周念波,赵为. 鱼鳞中胶原蛋白的提取纯化及应用[J]. 武汉生物工程学院学报,2006,2(2):115-117.
- [10] 单守水,程美科,王芳,等. 酶法水解大麦蛋白质新工艺的研究[J]. 食品工业科技,2008,29(3):171-173.

## Optimization of Enzymolysis Technology of Silver Carp Visceral Protein

YU Jia RONG Jian-hua XIONG Shan-bai

College of Food Science and Technology/ Aquatic Products Engineering  
and Technology Research Center of Hubei Province,  
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

**Abstract** Silver carp visceral protein was hydrolyzed by Alcalase. The optimum hydrolysis conditions for Alcalase are as follows:50℃,pH 9.0, ratio of Alcalase to fish protein being 2 000 U/g, ratio of material to water being 1:3,7.5 hrs. The degree of hydrolysis and the recovery rate of protein was 41.73% and 64.76%, respectively.

**Key words** Alcalase; silver carp viscera; hydrolyze

(责任编辑:陆文昌)