

# 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞制备胶原肽的工艺优化\*

申锋 杨莉莉 熊善柏\*\* 赵思明

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** 以草鱼鱼鳞为材料, 研究蛋白酶种类、酶解条件对鱼鳞酶水解的水解度、氮收率和凝胶强度的影响, 并采用正交试验对鱼鳞胶原肽制备工艺进行优化, 以获得较高凝胶强度的鱼鳞胶原肽。结果表明: 在胃蛋白酶、复合蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶4种蛋白酶中, 采用胃蛋白酶水解鱼鳞胶原蛋白时氮收率较高, 且水解产物具有凝胶形成能力; 酶解条件对鱼鳞胶原蛋白的水解度、氮收率和凝胶强度均有显著影响; 胃蛋白酶在底物质量分数为5%、起始pH值为4.0、加酶量为140 U/g、水解温度为65℃条件下, 水解鱼鳞120 min, 鱼鳞水解产物的凝胶强度和氮收率都较好, 其中水解度为1.46%、氮收率为64.38%、凝胶强度为2.051 g。

**关键词** 鱼鳞; 胃蛋白酶; 酶解; 凝胶强度

**中图分类号** TS 254.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)03-0387-05

胶原肽是动物结缔组织中胶原蛋白的降解产物, 因其具有良好的营养功能和生理功效, 已广泛应用于食品、化妆品和医药等行业<sup>[1]</sup>。2006年全世界胶原肽的年产量已超过20万t<sup>[2]</sup>, 其原料主要是牛、猪等哺乳动物的皮和骨, 但随着疯牛病、口蹄疫等疾病的流行, 世界各国都趋向从水产品加工下脚料中提取胶原肽<sup>[3]</sup>。鱼鳞富含胶原蛋白是理想的替代原料之一, 据统计, 2007年我国淡水鱼年产量已达1 908.5万t, 鱼鳞约占鱼体质量的3.0%~5.0%<sup>[4]</sup>, 利用废弃的鱼鳞生产高附加值的胶原肽具有很好的市场前景<sup>[5]</sup>。

胶原肽的理化性质和功能除了取决于原料来源外, 还与其制备方式及水解程度密切相关。胶原肽的制备方法主要有酸法、碱法和酶法等<sup>[6]</sup>, 酸法难以得到高质量的产品, 导致胶原蛋白损失<sup>[7]</sup>; 碱法可以得到高质量的胶原肽, 但存在生产周期长、产生的废液多等缺陷<sup>[8]</sup>; 酶法具有反应时间短、条件温和等特点<sup>[9]</sup>, 利用蛋白酶的专一性, 可以控制水解产物的水解程度。在实际应用中, 不同的用途对胶原蛋白的水解程度有不同的要求<sup>[10]</sup>, 适度水解可获得较高收率, 还能保持良好的胶凝性和成膜性, 适用于开发药用胶囊的外壁与化妆品中的高档面膜; 水解度过高

可显著提高收率但其凝胶能力丧失, 可应用于功能保健品和营养性护肤品等。

近年来, 国内已有学者对鱼鳞胶原肽的制备工艺进行了研究<sup>[11-12]</sup>, 但关于蛋白酶种类和酶解条件对酶解产物的凝胶强度的影响及其与水解度的相关性的研究较少。

笔者以草鱼鱼鳞为材料, 研究蛋白酶种类、酶解条件对草鱼鱼鳞酶水解的水解度、氮收率和凝胶强度的影响, 并采用正交试验优化鱼鳞胶原肽的制备工艺, 旨在获得氮收率较高、凝胶强度较大的鱼鳞胶原肽。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试草鱼鱼鳞采自华中农业大学菜市场。鱼鳞经自来水冲洗2次后, 用5倍体积的质量分数为3%盐酸处理1d, 然后用5倍体积的饱和石灰水处理1d, 25℃干燥后用植物粉碎机粉碎备用, 其中蛋白质质量分数为66.84%。胃蛋白酶, 1.75×10<sup>4</sup> U/g, 上海华美生物工程公司生产; 复合蛋白酶, 1.70×10<sup>4</sup> U/g, 诺维信天津公司生产; 木瓜蛋白酶, 3.04×10<sup>4</sup> U/g, 南宁庞博生物工程有限公司生

收稿日期: 2009-04-20; 修回日期: 2009-09-30

\* 现代农业产业技术体系建设专项资金(NYCYTX-49)和国家科技支撑计划项目(2006BAD05A18)资助

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

申锋, 男, 1982年生, 硕士研究生。研究方向: 蛋白质酶解及酶解产物功能评价。E-mail: shinefeng@webmail.hzau.edu.cn

产;碱性蛋白酶,  $1.65 \times 10^5$  U/mL, 诺维信天津公司生产;其它化学试剂为国产分析纯。

## 1.2 试验方法

1) 蛋白酶活力的测定。参考文献[13]的方法, 采用福林-酚法。

2) 草鱼鱼鳞蛋白的水解工艺。参考文献[14]和文献[15]的方法, 取一定质量的草鱼鱼鳞, 加入蒸馏水调节底物质量分数, 用 2 mol/L 的盐酸或氢氧化钠调节 pH 值, 加酶混匀后在恒温水浴振荡器 (120 r/min) 中水解一定时间, 沸水浴 10 min 灭酶, 调节 pH 值至 5.0, 4 000 r/min 离心 20 min, 上清液经喷雾干燥即得胶原肽样品。

3) 水解度的测定。分别采用茚三酮法<sup>[16]</sup>和凯氏定氮法<sup>[17]</sup>测定水解液的游离氨基态氮含量和原料总氮含量。

4) 氮收率的测定。用凯氏定氮法测定鱼鳞水解

液和原料的总氮量。

5) 凝胶强度的测定。质量分数为 6.67% 的胶原肽溶液在 4 °C (冰箱中) 凝冻 16~18 h 后被压缩变形 10 mm 所需的最大应力定义为凝胶强度 (g)<sup>[15,18]</sup>。采用 TA \* Xtzi 物性仪测定, 测试条件: 采用 N<sub>6</sub>-P/0.5 探头, 下压速度 2 mm/s, 下压高度 10 mm。

6) 数据分析。采用 SAS 和 Excel 处理试验数据, 结果取 3 次试验的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 水解蛋白酶的选择

在预备试验基础上, 选用胃蛋白酶、复合蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶 4 种蛋白酶, 在其各自适宜反应条件下, 对草鱼鱼鳞进行水解, 测定水解产物的水解度、氮收率、凝胶形成能力以及水解液的风味等, 结果见表 1。

表 1 4 种蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果<sup>1)</sup>

Table 1 Comparison of the hydrolysis effect of grass carp scales by four proteases

蛋白酶种类 Protease types	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen recovery	凝胶形成能力 Gel-forming ability	水解液风味 Hydrolysate taste	水解液澄清度 Hydrolysate clarity
胃蛋白酶 Pepsin	1.85±0.01 d	79.01±0.65 ab	+	口味平淡 Plain taste	澄清 Clarified
复合蛋白酶 Protamex	6.78±0.22 b	78.37±0.35 b	-	苦味强 High bitterness	澄清 Clarified
木瓜蛋白酶 Papain	7.52±0.12 a	79.44±0.50 a	-	口味平淡 Plain taste	澄清 Clarified
碱性蛋白酶 Alcalase	5.17±0.09 c	74.29±0.71 c	-	苦味弱 Low bitterness	较浑浊 Turbid

1) 底物质量分数为 5% Substrate concentration 5%; 胃蛋白酶添加量 300 U/g Pepsin dosage 300 U/g; 其余蛋白酶添加量 3 000 U/g Other proteases dosage 3 000 U/g; 水解时间 120 min Hydrolyzing time 120 min; “+”表示可以形成凝胶 “+” represents having gel-forming ability; “-”表示不能形成凝胶 “-” represents not having gel-forming ability.

由表 1 可知, 采用胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞时所得水解产物的氮收率较高, 水解度较小, 且胃蛋白酶的水解产物具有其它蛋白酶水解产物所不具备的凝胶性能, 水解液澄清, 口味平淡。因此, 本试验选用胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞制备胶原肽。

### 2.2 水解条件对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响

1) 温度。温度是蛋白酶水解的重要参数之一, 水解温度对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响见表 2。由表 2 可知, 45 °C 时胃蛋白酶水解鱼鳞产物的凝胶强度最大, 但氮收率只有 68.07%, 这会影响到胶原肽生产的经济效益。氮收率在 60 °C 时达到最大, 其值为 84.07%, 此时凝胶强度为 1 118 g, 两者都比较大。本试验以凝胶强度和氮收率为主要指标, 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞的适宜温度约为 60 °C。

2) 底物质量分数。底物浓度对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响见表 3。

由表 3 可知, 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞时, 随着底物质量分数增加, 水解度和氮收率都降低, 而凝胶强

度逐渐增加。底物质量分数为 5% 时凝胶强度和氮收率比较适中, 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞比较适宜的底物质量分数在 5% 左右。

表 2 温度对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of hydrolyzing temperature on hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength

水解温度/°C Hydrolyzing temperature	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen recovery	凝胶强度/g Gel strength
40	1.22±0.02 f	59.91±1.28 g	1 179±86 ab
45	1.35±0.03 e	68.07±0.18 f	1 210±119 a
50	1.52±0.02 d	77.30±0.39 e	1 102±16 b
55	1.60±0.05 c	82.34±0.79 b	940±52 c
60	1.68±0.01 b	84.07±0.57 a	1 118±65 b
65	1.80±0.01 a	80.82±0.46 c	1 225±14 ab
70	1.61±0.05 c	79.79±0.35 d	1 246±77 a

1) pH=3.0, [S]=5%, E/S=280 U/g, t=120 min; 数值后小写字母相同者表示在 0.05 水平上差异不显著 (DMRT), 下同。The data with the same letters in the column are not significantly different in the level of 5% (DMRT), the same as below.

表 3 底物质量分数对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响<sup>1)</sup>

Table 3 Effects of substrate concentration on hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength

底物质量分数/% Substrate concentration	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen recovery	凝胶强度/g Gel strength
1	2.44±0.09 a	92.26±0.16 a	242±15 e
3	2.40±0.01 a	90.96±0.34 b	305±13 d
5	2.16±0.04 b	81.59±0.36 c	467±27 c
7	1.87±0.02 c	73.77±0.27 d	550±28 b
9	1.40±0.01 d	67.13±0.19 e	679±52 a

1)  $t=60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH}=2.0$ ,  $\text{E/S}=280\text{ U/g}$ ,  $t=120\text{ min}$ .

3) 加酶量。蛋白酶添加量对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响见表 4。

表 4 加酶量对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响<sup>1)</sup>

Table 4 Effects of pepsin dosage on hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength

加酶量/(U/g) Pepsin dosage	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen recovery	凝胶强度/g Gel strength
0	1.12±0.01 d	55.52±1.11 d	1 034±88 a
140	2.25±0.01 c	71.24±0.44 c	475±26 b
280	2.28±0.04 c	76.56±0.11 b	444 ±33 c
560	2.46±0.21 b	79.69±1.57 a	42±2 d
840	2.50±0.08 a	80.44±1.20 a	31±7 e

1)  $t=60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH}=2.0$ ,  $[\text{S}]=5\%$ ,  $t=120\text{ min}$ .

由表 4 可知,与未添加酶组比较,添加 280 U/g 胃蛋白酶可使鱼鳞水解 1.04%,说明添加胃蛋白酶可显著提高草鱼鱼鳞水解产物的氮收率。继续增加胃蛋白酶添加量,氮收率变化不大,但凝胶强度

表 6 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞的正交试验及其结果<sup>1)</sup>

Table 6 The results of orthogonal experiment of enzymatic hydrolysis of grass carp scales with pepsin

序号 No.	因素 Factors				水解效果 Effects of hydrolysis		
	A 水解温度/ $^{\circ}\text{C}$ Hydrolyzing temperature	B 起始 pH 值 Initial pH	C 底物质量分数/% Substrate concentration	D 加酶量/(U/g) Enzyme dosage	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen Recovery	凝胶强度/g Gel strength
1	55	2.0	3	140	2.20±0.01	81.24±0.60	927±51
2	55	3.0	5	280	2.45±0.02	76.02±0.15	476±45
3	55	4.0	7	420	1.92±0.01	66.26±0.58	1 359±108
4	60	2.0	5	420	2.52±0.03	80.17±0.33	112±20
5	60	3.0	7	140	1.47±0.07	52.63±0.63	1 401±51
6	60	4.0	3	280	2.21±0.18	80.94±1.03	1 261±56
7	65	2.0	7	280	1.95±0.03	74.03±1.35	193±20
8	65	3.0	3	420	2.26±0.08	88.63±1.15	305±13
9	65	4.0	5	140	1.46±0.05	64.38±1.31	2 051±119

1) 表中各项结果为 3 次测定结果的平均值 Measurements were performed in triplicate; 水解时间为 120 min Hydrolyzing time was 120 min.

由表 6 和表 7 可知,各因素对试验的影响都达到了显著水平( $P<0.05$ )。就水解度而言,加酶量对水解度的影响最大,其次为底物浓度和起始 pH

急剧下降。胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞的适宜添加量为 280 U/g。

4) 起始 pH 值。表 5 显示了胃蛋白酶在不同起始 pH 值下水解草鱼鱼鳞的效果。

表 5 起始 pH 值对胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞效果的影响<sup>1)</sup>

Table 5 Effects of initial pH value on hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength

起始 pH 值 Initial pH value	水解度/% Hydrolyzing degree	氮收率/% Nitrogen recovery	凝胶强度/g Gel strength
1.5	2.47±0.02 a	83.80±0.02 a	385±21 e
2.0	2.45±0.03 a	83.70±0.05 a	444±30 d
3.0	1.78±0.09 b	81.51±0.24 b	939±60 c
4.0	1.45±0.05 c	71.92±0.77 c	1 115±90 b
5.0	1.03±0.01 d	56.85±0.86 d	1 295±46 a

1)  $t=60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $[\text{S}]=5\%$ ,  $\text{E/S}=280\text{ U/g}$ ,  $t=120\text{ min}$ .

由表 5 可知,随着起始 pH 值的增加,胃蛋白酶水解产物的水解度和氮收率都呈现降低的趋势,而凝胶强度逐渐增加。在起始 pH 值为 3.0 时,氮收率和凝胶强度比较适中。要得到凝胶强度和氮收率都较高的水解产物,胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞蛋白的适宜起始 pH 值约为 3.0。

### 2.3 胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞制备胶原肽的工艺优化

在单因素试验基础上,选取水解温度、起始 pH 值、底物质量分数、加酶量为试验因素,以水解度、氮收率和凝胶强度为指标,采用  $L_9(3^4)$  正交试验优化酶解工艺,结果见表 6。

值,水解温度的影响最小,水解度最大的组合为 A1B1C1D3;就氮收率而言,底物浓度的影响最大,其次为加酶量和起始 pH 值,水解温度的影响最小。

表 7 方差分析表( $F/p$ )Table 7 Analysis of variance on orthogonal experiment( $F/P$ )

因素 Factors	方差来源 Origin of variance			
	A 水解温度/ $^{\circ}\text{C}$ Hydrolyzing temperature	B 起始 pH 值 Initial pH value	C 底物质量分数/ $\%$ Substrate concentration	D 加酶量/(U/g) Enzyme dosage
水解度 Hydrolyzing degree/ $\%$	73.66/ $<0.0001$	102.81/ $<0.0001$	180.32/ $<0.0001$	275.70/ $<0.0001$
氮收率 Nitrogen recovery/ $\%$	119.39/ $<0.0001$	390.79/ $<0.0001$	2108.04/ $<0.0001$	1024.06/ $<0.0001$
凝胶强度 Gel strength/g	4.66/0.0175	935.97/ $<0.0001$	16.32/ $<0.0001$	711.15/ $<0.0001$

氮收率最大的组合为 A3B1C1D3。而对凝胶强度影响最大的是起始 pH 值,其次为加酶量和底物浓度,水解温度的影响最小,凝胶强度最大的组合为 A3B3C3D1。

本试验以凝胶强度和氮收率为主要指标,选择 A3B3C2D1 作为最优组合,即底物质量分数为 5% 的草鱼鱼鳞在起始 pH 值为 4.0 时,添加 140 U/g 的胃蛋白酶,水解温度为 65  $^{\circ}\text{C}$  的条件下水解 120 min。在该条件下,胃蛋白酶水解产物的水解度、氮收率和凝胶强度分别为 1.46%、64.38% 和 2 051 g。

### 3 讨论

草鱼鱼鳞胶原蛋白是由 3 条肽链拧成的螺旋纤维状蛋白质<sup>[19]</sup>,富含甘氨酸、赖氨酸、羟赖氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸等,而苯丙氨酸、酪氨酸和亮氨酸含量偏少<sup>[20-21]</sup>。胶原肽胃蛋白酶水解草鱼鱼鳞的酶法制备就是利用蛋白酶将胶原蛋白端基的非螺旋区进行限制性降解为较小分子质量多肽的方法,常用的蛋白酶有胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和碱性蛋白酶等<sup>[10]</sup>。笔者利用这 4 种酶对草鱼鱼鳞胶原蛋白进行水解,采用胃蛋白酶水解鱼鳞胶原蛋白可获得较高的氮收率且水解产物具有凝胶形成能力。这可能是胃蛋白酶为酸性蛋白酶,主要作用于胶原分子非螺旋区端肽中苯丙氨酸、酪氨酸或亮氨酸参与形成的肽键,得到的产物基本为保持了 3 股螺旋结构的胶原肽<sup>[22]</sup>,在一定的温度和浓度下,可以形成比较稳定的三维凝胶网络结构。而胰蛋白酶是肽链内切酶,对精氨酸和赖氨酸形成的肽键具有强烈水解作用,木瓜蛋白酶优先水解精氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸参与的肽键,碱性蛋白酶具有较强的分解蛋白质的能力,随着时间的延长,分子量会越来越小<sup>[23]</sup>,小分子量多肽一般不具有凝胶形成能力。

胶原水解产物的理化性质和功能性质不仅与蛋白酶的种类有关,还与水解条件和水解程度密切相关。选择适当的酶及工艺条件,控制一定的水解程度,理论上可以得到所期望的分子量的胶原肽,这为

进一步开发成高附加值的产品提供了很好的基础<sup>[10]</sup>。一般肽的平均链长与水解度呈反比例关系<sup>[23]</sup>,水解度越小,平均链长越大。由本试验的数据可以得知,水解度越小,胶原肽的凝胶强度越大。这可能是因为胶原水解产物水解度越小,多肽的平均分子链长越长,水解产物具有相对较完整的螺旋结构<sup>[15]</sup>,因此在一定的温度下,具有较高的凝胶形成能力。

与哺乳动物来源的胶原蛋白相比,鱼类胶原蛋白对酶的反应更容易<sup>[19]</sup>。为了获得较高凝胶强度的胶原肽,应在比较温和的条件和低水解度下对胶原蛋白进行酶解。在胃蛋白酶、复合蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶等 4 种蛋白酶中,采用胃蛋白酶水解鱼鳞时不仅可获得较高的氮收率,而且水解产物具有凝胶形成能力。水解条件对鱼鳞胶原肽的水解度、氮收率和凝胶强度有显著影响。胃蛋白酶在底物质量分数为 5%、起始 pH 值为 4.0、加酶量为 140 U/g、水解温度为 65  $^{\circ}\text{C}$  条件下水解鱼鳞 120 min,鱼鳞胶原肽的凝胶强度和氮收率都较好,其水解度为 1.46%,凝胶强度为 2 051 g,氮收率为 64.38%。在本试验优化的条件下制得的鱼鳞胶原肽可以作为乳化剂、增稠剂和胶凝剂应用于食品和化妆品领域。

### 参 考 文 献

- [1] BINSI P K, SHAMASUNDAR B A, DILEEP A O, et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper fish: influence of gelatin on the gel-forming ability of mince[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23: 132-145.
- [2] BADII F, HOWELL N K. Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20: 630-640.
- [3] CHO S M, KWAK K S, PARK D C, et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18: 573-579.
- [4] 刘增胜, 柳正. 2007 年中国渔业年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [5] GOMEZ-GUILLEN M C, TURNAY J, FERNANDEZ-DIAZ M D, et al. Structural and physical properties of gelatin extrac-

- ted from different marine species; a comparative study[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16: 25-34.
- [6] 陈胜军, 曾名勇, 董士远. 水产胶原蛋白及其活性肽的研究进展[J]. 水产科学, 2004, 23(6): 44-46.
- [7] 王学川, 任龙芳, 强涛涛, 等. 胶原蛋白的研究进展及其在化妆品中的应用[J]. 日用化学工业, 2005, 32(6): 388-392.
- [8] DAMRONGSAKKUL S, RATANATHAMMAPAN K, KOMOLPIS K, et al. Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and neutrase[J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2008, 14: 202-206.
- [9] 涂宗财, 陈剑兵, 刘伟, 等. 酶解鱼鳞胶制备小分子多肽的工艺研究[J]. 食品科学, 2005, 8(26): 211-213.
- [10] 胡胜, 李志强, 陈敏. 皮胶原蛋白的酶法提取及在高附加值领域的应用[J]. 皮革科学与工业, 2002, 12(5): 39-43.
- [11] 刘庆慧, 王彩理, 张培新, 等. 鱼鳞酶解工艺的研究[J]. 海洋水产研究, 1998, 19(2): 74-79.
- [12] 陈晶, 刘友明, 熊善柏, 等. 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.
- [13] 李春美, 彭光华, 胡元华, 等. 鱼鳞酶解及酶解液脱腥工艺研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(3): 136-138.
- [14] 赵新雅, 冯志彪. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学, 1994, 11: 65-67.
- [15] 刘小玲. 鸡骨明胶的制备、结构及功能性质研究[D]. 无锡: 江南大学食品学院, 2005.
- [16] 刘睿, 李才国, 刘鼎一. 7S球蛋白的风味蛋白酶改性和功能性质评价[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(2): 263-266.
- [17] 杨倩, 熊善柏, 王婷婷, 等. 大米蛋白酶水解条件及水解度对合成类蛋白的影响[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(4): 565-569.
- [18] 宋小岩. 骨胶原的酶解反应与酶法制胶工艺研究[D]. 北京: 中国化工大学材料科学与工程学院, 2003.
- [19] 张其清, 王彭延, 朱明华, 等. 胶原材料的生物学评价[J]. 生物医学工程学杂志, 1989, 6(3): 216-218.
- [20] 金成. 草鱼鱼鳞胶原蛋白的提取及特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学食品科技学院, 2005.
- [21] 张忠楷. 胶原、明胶和胶原水解物的物理化学性能及护肤功能的研究[D]. 成都: 四川大学轻工与食品工程学院, 2006.
- [22] 付强. 胶原高得率提取法及胶原膜性能的研究[D]. 成都: 四川大学轻工与食品工程学院, 2006.
- [23] 殷金莲. 甲鱼多肽提取分离及功能特性的研究[D]. 陕西: 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 2007.

## Optimizing Processing of Collagen Peptide Extraction from Scales of Grass Carp with Pepsin

SHEN Feng YANG Li-li XIONG Shan-bai ZHAO Si-ming

*College of Food Science and Technology/Aquatic Products Engineering and Technology  
Research Center of Hubei Province, Wuhan 430070, China*

**Abstract** The collagen peptide were prepared from scales of grass carp with pepsin, protamex, papain and alcalase. The effects of protease types and hydrolyzing conditions on the hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength of the hydrolysates were investigated. To obtain high gel strength collagen peptide, conditions for hydrolyzing were optimized with orthogonal experiment. The results showed that the nitrogen recovery of pepsin hydrolysate was much high, and the hydrolysate had the ability to form gel at low temperature. The results of orthogonal experiment indicated that hydrolyzing conditions had a significant effect on the hydrolyzing degree, nitrogen recovery and gel strength. To obtain higher gel strength and nitrogen recovery, the optimum value for substrate concentration, pepsin dosage, initial pH value and hydrolyzing temperature were 5.0%, 4.0, 140.0 U/g, and 65 °C, respectively. The hydrolyzing degree of scales of grass carp by pepsin was 1.46%, with nitrogen recovery of 64.38%, gel strength of 2 051 g when hydrolyzing 120 minutes.

**Key words** scales; pepsin; enzymatic hydrolysis; gel strength