

罗非鱼下脚料蛋白深度水解的工艺优化

彭燕, 关志强, 张钟, 张玲, 曾霞, 吕华容
(广东石油化工学院化学与生命科学学院, 广东 茂名 525000)

摘要:以水解率为指标, 采用单因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交优化试验确定内外源酶解罗非鱼下脚料的最适工艺条件。结果表明: 料液比 3:1、pH 7.0、胰蛋白酶添加量 0.1%、温度 60℃ 和反应时间 8.5 h 时, 罗非鱼下脚料中蛋白回收率较高, 水解液稳定并具有浓郁的鱼香味。

关键词: 罗非鱼; 下脚料; 内外源酶; 酶解

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

文章编号: 1004-874X(2011)06-0116-03

Study on profound hydrolyzation conditions of *Tilapia* byproduct proteins

PENG Yan, GUAN Zhi-qiang, ZHANG Zhong, ZHANG Ling, ZENG Xia, LV Hua-rong
(College of Chemistry and Life Sciences, Guangdong University of Petrochemical Technology, Maoming 525000, China)

Abstract: In this paper, the optimal hydrolysis parameters of *Tilapia* byproduct by endogenous and exogenous enzymes were determined through single element experiment and $L_9(3^4)$ orthogonal experiment. The results showed that the rate of recovery of protein was higher and the product was steady with seafood flavor when the ratio of raw and water reached 1:3, the value of pH was 7.0, the adding content of trypsin was 0.1%, and the water bath temperature was 60℃ for 8.5 hours.

Key words: *Tilapia*; byproduct; endogenous and exogenous enzymes; hydrolysis

罗非鱼, 俗名非洲鲫鱼, 属鲈形目鲈形亚目鲷科罗非鱼属鱼类, 共有 3 属约 700 种, 是联合国粮农组织推荐养殖的热带亚热带经济鱼类^[1], 目前全世界有 85 个国家和地区养殖罗非鱼, 其中我国是最大的罗非鱼养殖出口国, 2008 年罗非鱼产量达 120 万 t, 占当年世界总产量的 50%^[2]。

罗非鱼肉质洁白、营养丰富、味道鲜美、骨刺少、富含多不饱和脂肪酸, 已成为公认的健康食品, 一直受到欧美市场的青睐。目前, 罗非鱼主要以冻鱼片的产品形式出现在国际市场。在加工罗非鱼片的过程中, 产生了大量的下脚料(如鱼头、鱼排、内脏、碎肉、鱼皮、鱼鳞等), 每生产 1 t 罗非鱼片大约产生 2 t 的下脚料^[3]。由于罗非鱼下脚料中的蛋白质含量高于其他水产品下脚料中的蛋白质含量, 并且蛋白质组成中呈味氨基酸含量较高^[4], 罗非鱼下脚料具有较高的开发利用价值。本研究以罗非鱼下脚料为原料, 利用外源酶和鱼组织中的内源酶对下脚料中残留的蛋白质进行深度水解, 并对酶解工艺条件进行了优化, 得到了性质稳定和蛋白回收率较高的蛋白水解营养液, 为罗非鱼下脚料的综合利用提供了新途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料 供试原料为茂名佳辉水产品有限公司提供的罗非鱼下脚料。对罗非鱼鲜品采肉后, 余料为下脚料(包括鱼头、鱼骨和内脏), 去腮清洗后, 于 -20℃ 冻藏备用。

1.1.2 试验用酶 供试胰蛋白酶 ($2 \times 10^3 \sim 4 \times 10^3$ U/g)、木瓜蛋白酶 (6×10^6 U/g) 和胃蛋白酶 (3×10^6 U/g) 购于北京鼎

国生物技术有限责任公司, 试验常规试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器 供试仪器主要有 HH-6 数显恒温水浴锅(江苏金坛市佳美仪器有限公司)、800 型离心机(上海手术器械厂)、AUW120 分析天平(上海精密科学有限公司产品)、DJ150 打浆机(飞利浦公司产品)。

1.2 试验方法

1.2.1 工艺路线 罗非鱼下脚料 → 匀浆 → 加入外源酶 → 加入一定量 0.07 mol/L NaCl → 紫外照射 → 酶解 → 灭酶 → 离心 → 上清液。

1.2.2 单因素试验 分别考察外源酶类(木瓜蛋白酶、胰蛋白酶和胃蛋白酶)、pH 值(6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5)、酶解温度(40、45、50、55、60、65、70℃)、酶解时间(2.5、3.5、4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5、11.5 h)、液料比(1:1、1.5:1、2:1、2.5:1、3.5:1、4:1) 和外源酶添加量 (0.05%、0.1%、0.155、0.25、0.25%、0.3%、0.35%) 对罗非鱼下脚料残留蛋白水解的影响。

1.2.3 正交试验 在单因素试验的基础上, 采用正交试验方法对罗非鱼下脚料蛋白深度水解的工艺进行优化。

1.2.4 分析方法 水分: 常压干燥法; 粗蛋白: 微量凯氏定氮法; 粗脂肪: 索氏提取法; 灰分: 干法灰化法^[5]。氨基态氮含量的测定采用甲醛电位滴定法^[6]; 蛋白氮和总蛋白含量的测定采用微量凯氏定氮法^[5]。

$$\text{水解率}(\%) = \frac{\text{水解后 } \alpha\text{-氨基氮含量} - \text{水解前 } \alpha\text{-氨基氮含量}}{\text{蛋白氮含量}} \times 100$$

$$\text{蛋白回收率}(\%) = \frac{\text{上清液总蛋白含量}}{\text{离心前水解液中总蛋白含量}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 罗非鱼下脚料的基本营养成分

罗非鱼下脚料的基本营养成分质量分数为: 粗蛋白

收稿日期: 2010-12-10

基金项目: 茂名学院自然科学基金(203256)

作者简介: 彭燕(1976-), 女, 博士, 讲师, E-mail: py00_2006@

126.com

13.10%,粗脂肪 14.77%,灰分 5.60%。其中粗蛋白含量略低于罗非鱼全体的蛋白含量^[7],由此可见罗非鱼下脚料具有较高的利用价值。

2.2 单因素试验

2.2.1 不同外源酶类对下脚料蛋白水解的影响 在液料比 2:1、温度 50℃、酶添加量 0.1%、pH 为各酶最适作用值和反应时间 3 h 的情况下,以不加入外源酶(即自溶)为对照,研究胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和胃蛋白酶对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响,结果如图 1 所示。由图 1 可知,胰蛋白酶对蛋白水解率的影响较大,木瓜蛋白酶和胃蛋白酶对蛋白水解率的影响不大,并且胰蛋白酶水解蛋白所得水解液的稳定性比自溶对照组和其他两种酶解液好,原因可能是胰蛋白酶使细胞间的蛋白水解而造成细胞离散更有利于内源酶发挥作用。所以选择胰蛋白酶作为外源酶类。

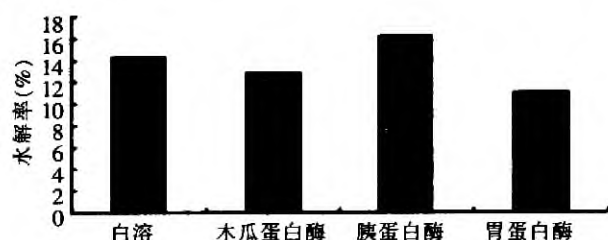


图1 不同外源酶对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.2.2 pH 值对下脚料蛋白水解的影响 在液料比 2:1、加酶量 0.1%、温度 50℃和酶解时间 3 h 的条件下,改变 pH 值,所得下脚料蛋白水解率与 pH 的关系如图 2 所示。从图 2 可以看出,当 pH 升至 7.0 时,罗非鱼下脚料蛋白水解率达到最高,说明胰蛋白酶和内源酶的适宜酸碱度为 7.0 左右;同时,在 pH 7.0~8.0 范围蛋白水解率均保持较好的水平,说明胰蛋白酶和内源酶的 pH 适应范围较广。此外,当 pH 值超过 9.0 时,蛋白水解率急速下降,原因可能是强碱导致酶变性失活。由此可见,溶液 pH 值是影响蛋白水解的一个重要因素。

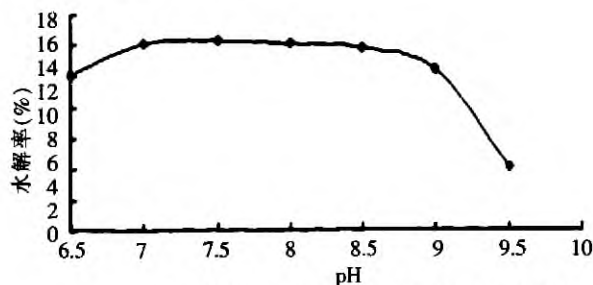


图2 pH 值对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.2.3 温度对下脚料蛋白水解的影响 在液料比 2:1、加酶量 0.1%、pH 7.0 和酶解时间 3 h 的条件下,改变温度,所得罗非鱼下脚料蛋白水解率与温度的关系如图 3 所示。从图 3 可以看出,当温度上升至 60℃时,蛋白水解率达到最高,之后急速下降,原因可能是高温导致酶蛋白变性失活。所以,温度也是影响蛋白水解的一个重要因素。

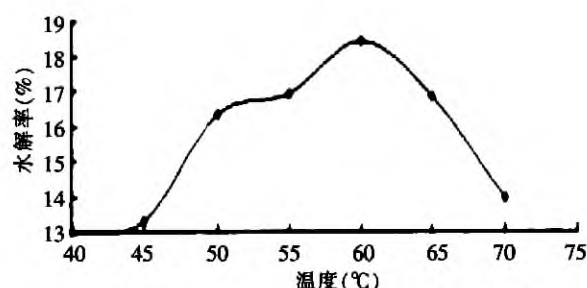


图3 温度对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.2.4 水解时间对下脚料蛋白水解的影响 在液料比 2:1、加酶量 0.1%、pH 7.0 和温度 60℃的条件下,改变水解时间,所得下脚料蛋白水解率与时间的关系如图 4 所示。由图 4 可知,下脚料中残留蛋白的水解率随着时间的延长而缓慢增加,在 8.5 h 后趋于稳定。考虑到内源酶种类的复杂性,选择 8.5 h 为酶适宜作用时间。

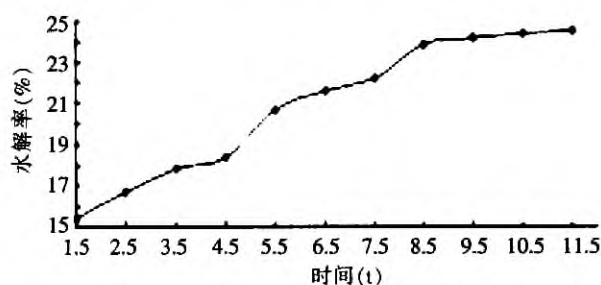


图4 水解时间对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.2.5 液料比对下脚料蛋白水解的影响 在加酶量 0.1%、pH 7.0、温度 60℃和水浴时间 8.5 h 的条件下,改变液料比,所得蛋白水解率与液料比的关系如图 5 所示。从图 5 可以看出,蛋白水解率随着水分的增加而缓慢升高并趋于稳定,到 3.5:1 时达到最大,超过此值,蛋白水解率开始下降。可见,液料比也是影响罗非鱼下脚料蛋白水解的重要因素。

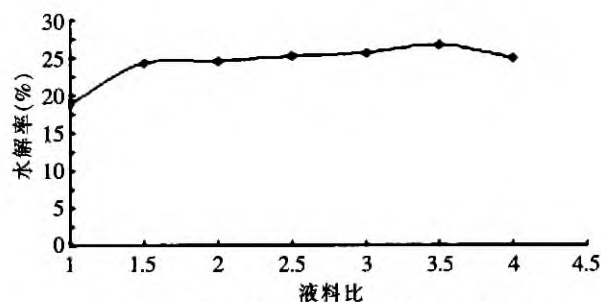


图5 液料比对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.2.6 加酶量对下脚料蛋白水解的影响 在液料比 3.5:1、pH 7.0、温度 60℃和水解时间 8.5 h 的条件下,改变胰蛋白酶的添加量,所得蛋白水解率与酶添加量的关系如图 6 所示。由图 6 可以看出,当胰蛋白酶添加量增加到 0.15% 时,蛋白水解率达到最高,之后开始下降。另外,从图 6 还可以看出,在酶解初期,蛋白水解率随着酶添加量的增加

而下降,原因可能是内源酶催化蛋白水解产生的产物与胰蛋白酶的活性中心结合从而导致酶失活,或者是胰蛋白酶与内源酶竞争地与底物结合,导致内源酶催化蛋白水解的反应出现反馈调节的逆反应。所以,外源酶添加量也是影响罗非鱼下脚料蛋白水解的重要因素。

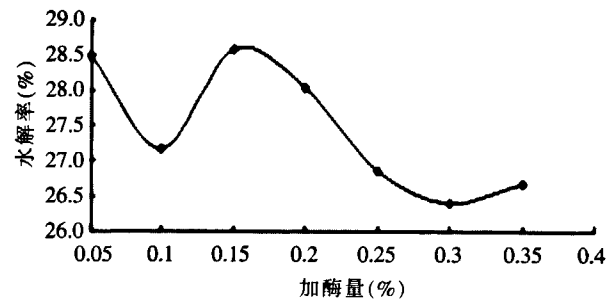


图6 加酶量对罗非鱼下脚料蛋白水解的影响

2.3 正交试验

在单因素试验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验综合考查pH值、温度、料液比和加酶量等4个因素对下脚料中残留蛋白水解的影响,结果如表1所示。由表1可以看出,影响罗非鱼下脚料蛋白水解的因素顺序为 $A>D>B>C$,即料液比是影响罗非鱼下脚料蛋白水解的主要因素,其次是温度,最小的是pH值和加酶量。依据各因素的最好水平,最佳工艺参数组合为 $A_1B_3C_3D_2$,由于组合 $A_1B_3C_3D_2$ 和 $A_1B_2C_1D_2$ 的 K 值相差不大,从经济成本的角度考虑,本试验最终选取工艺参数组合 $A_1B_2C_1D_2$,即液料比3:1、pH 7.0、外源胰蛋白酶添加量0.1%、温度60℃。经验证试验发现,在工艺参数组合 $A_1B_2C_1D_2$ 下,罗非鱼下脚料水解8.5 h,蛋白回收率达到84.33%,蛋白水解液颜色为亮黄色,溶液稳定并具有较浓的鱼香味和鲜味。

表1 正交试验设计方案及结果

试验号	A(料液比)	B(pH值)	C(加酶量,%)	D(温度,℃)	水解率(%)
1	1(3:1)	1(6.5)	1(0.10)	1(55)	26.67
2	1	2(7.0)	2(0.15)	2(60)	29.26
3	1	3(7.5)	3(0.20)	3(65)	28.54
4	2(3.5:1)	1	2	3	26.85
5	2	2	3	1	27.48
6	2	3	1	2	29.62
7	3(4:1)	1	3	2	17.37
8	3	2	1	1	15.02
9	3	3	2	3	15.20
K_1	84.47	70.89	71.31	69.17	
K_2	83.95	71.76	71.31	76.25	
K_3	47.59	73.36	73.39	70.59	
k_1	28.16	23.63	23.77	23.06	
k_2	27.98	23.92	23.77	25.42	
k_3	15.80	24.45	24.46	23.53	
R	12.36	0.82	0.69	2.36	

3 结语

本试验结果表明,罗非鱼下脚料粗蛋白含量为13.10%,高于其他水产品下脚料中的蛋白含量,具有一定的开发利用潜力。外源胰蛋白酶与罗非鱼组织中的内源酶结合更有利于下脚料中残留蛋白的水解,酶解适宜条件为:液料比3:1、pH 7.0、胰酶添加量0.1%、温度60℃和反应时间8.5 h,在此工艺条件下,可以得到鱼香味较浓、蛋白水解率较高和稳定性好的酶解液。

参考文献:

[1] 王磊.罗非鱼及下脚料在食品工业中应用研究[J].肉类研究,2008

(11):91-93.
[2] 白洋,高晓东,罗光炯,等.罗非鱼下脚料提取鱼油工艺及市场讨论[J].广西工业,2010 (9):1-2.
[3] 吉宏武,洪鹏志,章超桦,等.罗非鱼油的制备及其脂肪酸组成分析[J].福建水产,2005 (2):51-57.
[4] 郝淑贤,李来好,杨贤庆,等.5种罗非鱼营养成分分析及评价[J].营养学报,2007,29(6):614-618.
[5] 韩雅珊.食品化学试验指导[M].北京:中国农业大学出版社,1996.
[6] 宁正祥.食品分析手册[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
[7] 彭燕,李瑞伟,关志强,等.不同模式养殖罗非鱼的营养成分比较[J].茂名学院学报,2008,18(3):19-22.