

文章编号 :1009 - 038X(2002)03 - 0299 - 03

木瓜蛋白酶对蚌肉蛋白质的水解

张芝芬¹, 杨文鸽², 夏文水¹, 吴汉民²

(1. 江南大学 食品学院 江苏 无锡 214036; 2. 宁波大学 食品科学与工程系 浙江 宁波 315211)

摘要:以三角帆蚌为原料,利用木瓜蛋白酶对蚌肉蛋白质进行水解,正交试验结果表明,酶解最适条件为:温度 50 ℃、pH 6.5、时间 5 h、加酶量 0.6%,该条件下蚌肉蛋白质的水解度为 48.9%,蛋白质回收率达 78.1%。

关键词:三角帆蚌;木瓜蛋白酶;水解

中图分类号:S 944.1

文献标识码:A

The Hydrolysis of Freshwater Mussel Protein by Papain

ZHANG Zhi-fen¹, YANG Wen-ge², XIA Wen-shui¹, WU Han-min²

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Department of Food Science and Technology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Using *Hyriopsis cumingii* as material, the conditions for enzymatic hydrolysis of protein by papain were studied. The results of orthogonal tests showed that the optimum reaction occurred at 50 ℃, pH 6.5, for 5 h with the amount of enzyme 0.6%. Under these conditions, 48.9% of fresh vale mussel was hydrolyzed, and the recovery of the protein was 78.1%.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; papain; hydrolysis

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)俗称溪蚌、劈蚌,属珠蚌科帆蚌属,该蚌因其产珠质量好、成珠率高、生长迅速而被广泛养殖,是淡水育珠的优良品种^[1]。中国是淡水珍珠的生产大国,产量和出口量均居世界第一^[2]。尤其是江浙一带,珍珠养殖业已成为重要的地方经济产业,目前国内最大的珍珠市场就在浙江省诸暨境内。2000年浙江省年产珍珠约600余吨,估计淡水珠蚌产量在9000t以上。但在珍珠养殖业中,目前蚌肉作为一种取珠后的下脚料,其价格十分低廉,利用途径也仅限于用作饲料,造成了很大的资源浪费。据营养成分的分析结果^[3],河蚌的蚌肉含有丰富的蛋白质、钙、磷等无机

盐和烟酸、核黄素等维生素,是一种营养价值很高的蛋白质资源。作者采用木瓜蛋白酶对取珠后的三角帆蚌肉进行水解,通过正交试验确定酶解条件,旨在为蚌肉资源的开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

取珠后的三角帆蚌肉,由绍兴珍珠养殖场提供。去内脏后清洗沥干,用高速组织捣碎器捣碎,分装于食品保鲜袋中冻藏备用。木瓜蛋白酶(酶活为60~70万U/g)由广州远天酶制剂厂提供,其它试剂均为分析纯。

收稿日期:2001-12-28; 修订日期:2002-03-09.

作者简介:张芝芬(1966-),女,浙江诸暨人,工学学士,副教授。

万方数据

1.2 主要仪器

DS-200 高速组织捣碎器; MA110 电子分析天平 90-1 型恒温磁力搅拌器等.

1.3 蛋白质水解液制备工艺流程

蚌肉解冻→加水稀释→调 pH 值→加酶恒温水解→灭酶(90 °C, 10 min)→高速离心 30 min, →上清液测定游离氨基氮.

1.4 分析测定方法

1.4.1 蛋白质水解度(DH)测定

$DH = \text{酶解液中游离氨基氮} / \text{样品总氮量}$

样品总氮量用微量凯氏定氮法测定^[4].

氨基氮测定用甲醛电位滴定法测定^[5].

1.4.2 氮回收率计算

总氮回收率 = 蛋白质水解物中的氮含量 / 原料中总氮含量

2 结果与讨论

2.1 加酶量的初步确定

当底物质量浓度为 50 g/dL 时, 在酶解温度 55 °C、酶解时间 7 h、pH 6.5 的条件下, 测定不同加酶量时, 水解液中的氨基氮, 计算水解度, 结果见图 1.

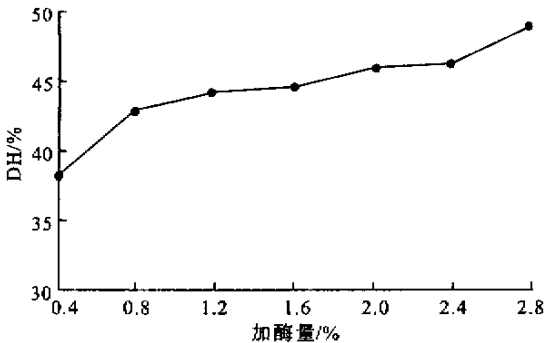


图 1 加酶量与水解度的关系

Fig.1 Effect of the amount of enzyme on hydrolysis

由图 1 可见, 随着加酶量的增大, 反应体系水解度逐渐上升, 而加酶量在 0.8% ~ 2.4% 之间时, 水解度增加并不明显, 故加酶量取 0.8% 较为适宜.

2.2 酶解时间的初步确定

当底物质量浓度为 50 g/dL 时, 在酶解温度 55 °C、加酶量 0.8%、pH 6.5 的条件下, 测定反应体系经过不同时间酶解后的水解度, 结果见图 2.

由图 2 可见, 随着酶解时间的延长, 体系水解度逐渐上升, 而当酶解时间超过 7 h 时, 水解度增加趋缓, 故酶解时间取 7 h 较为适宜.

2.3 底物质量浓度对水解度的影响

在酶解温度 55 °C、加酶量 0.8%、pH 6.5 的条

件下, 经过 7 h 酶解, 测定底物在不同稀释比例下的反应体系水解度, 结果见图 3.

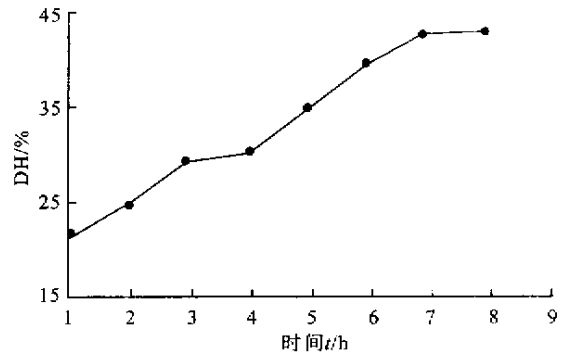


图 2 酶解时间对水解度的影响

Fig.2 Effect of time on enzymatic hydrolysis

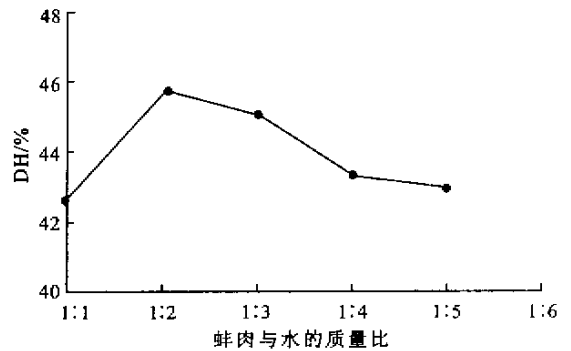


图 3 底物质量浓度对水解度的影响

Fig.3 Effect of substrate concentration on enzymatic hydrolysis

2.4 正交试验

为了进一步考察 pH 值、温度等因素对水解度的影响, 参考有关文献并在上述预备试验的基础上, 取蚌肉 5 g, 加 10 mL 蒸馏水, 以水解度为指标, 温度、pH 值、时间、加酶量为 4 因素, 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交设计确定酶的最佳反应条件^[6,7,8]. 各因素与水平排列见表 1, 正交设计方案及试验结果见表 2, 方差分析结果见表 3.

由表 3 可以看出, 在本试验中以温度对蚌肉蛋白质水解的影响最大, 已达到显著水平, 而因素 A、B 和 C 的 F 值均小于 $F_{0.1}(3, 3)$, 即加酶量、酶解时间和 pH 条件在设定的试验范围内对水解度的影响都不显著. 根据 F 值的大小, A 因素对 DH 影响的主次顺序为温度 > pH 值 > 加酶量 > 时间, 这与表 2 中极差分析的结果相一致. 试验结果的分析表明: 本试验的最佳组合为 $A_4B_4C_1D_4$. 在该试验条件下, 体系水解度等于 50.2%. 但考虑到酶解时间、加酶量和 pH 值在本实验中对 DH 的影响均不显著, 故从节省时间、能源及操作方便性等角度出发, 实

际应用时可选择 $A_1B_1C_2D_4$ 为水解条件.在此条件下对蚌肉进行水解,水解度为 48.9%.测得其蛋白质回收率为 78.09%.

表 1 酶水解实验各因素水平表

Tab.1 Factors and levels of enzymatic hydrolysis experiment

水平	时间/h	加酶量*/%	pH 值	温度/℃
	A	B	C	D
1	5	0.6	6.0	65
2	6	0.8	6.5	60
3	7	1.0	7.0	55
4	8	1.2	7.5	50

*注 酶占蚌肉质量分数

表 2 $L_{16}(4^5)$ 正交设计方案及试验结果

Tab.2 The $L_{16}(4^5)$ orthogonal design and results

试验号	A	B	C	D	水解度/%
1	1	1	1	1	36.84
2	1	2	2	2	31.76
3	1	3	3	3	38.34
4	1	4	4	4	44.90
5	2	1	2	4	42.69
6	2	2	1	3	46.31
7	2	3	4	2	36.14
8	2	4	3	1	32.80
9	3	1	3	2	33.99
10	3	2	4	1	32.90
11	3	3	1	4	47.55
12	3	4	2	3	48.01
13	4	1	4	3	40.98
14	4	2	3	4	46.16

续表 2

试验号	A	B	C	D	水解度/%
15	4	3	2	1	38.83
16	4	4	1	2	39.82
k_1	37.96	38.63	42.63	35.34	
k_2	39.49	39.28	40.32	35.43	
k_3	40.61	40.22	37.82	43.41	
k_4	41.45	41.38	38.73	45.33	
R	3.49	2.75	4.81	9.99	

注:每次实验作 3 个平行 取平均值.

表 3 方差分析结果

Tab.3 The result of test analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	均方差	F 值	显著性
因素 A	27.35	3	9.12	0.89	
因素 B	17.21	3	5.74	0.56	
因素 C	53.26	3	17.75	1.73	
因素 D	337.60	3	112.53	10.97	**
误差	30.78	3	10.26		
总和	435.42	15			

注: $F_{0.01}(3,3)=29.46$, $F_{0.05}(3,3)=9.28$, $F_{0.1}(3,3)=5.39$

3 结 语

采用木瓜蛋白酶水解三角蚌肉蛋白质,酶解条件中以温度对水解度的影响最大,pH 值、酶量及酶解时间在本实验设定水平上对水解度的影响都不显著.酶解的最佳条件可选择为温度 50℃、pH 值 6.5、时间 5 h,加酶量 0.6%,此时水解度达 48.9%,蛋白质回收率达 78.1%.

参考文献:

[1] 蔡如星.浙江动物志 软体动物[M].杭州 浙江科学技术出版社,1991.
 [2] 潘炳炎.珍珠实用新技术[M].北京 中国农业科技出版社,1994.
 [3] 李炜.河蚌蛋白质的利用[J].饲料博览,2000(3):43.
 [4] 张龙翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术(第二版)[M].北京 高等教育出版社,1997.
 [5] 大连轻工业学院.食品分析[M].北京 中国轻工业出版社,1990.
 [6] 魏玉西.扇贝裙边酶水解工艺条件的研究[J].海洋科学,1993(4):5-7.
 [7] 王志民,袁永俊,张艳萍.水解动物蛋白(HVP)的酶法制备及应用[J].食品工业科技,1998(5):12-14.
 [8] 邓尚贵,章超群.利用正交试验优化贻贝水解工艺[J].水产学报,1997,21(2):220-224.