文章编号：1009－038X(2003)03－0097－04

牡蛎肉双酶复合水解工艺

王 亮[1]， 张 慜[1]， 杜卫华[2]， 孙金才[2]

(1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214036；2. 浙江海通食品集团股份有限公司，浙江宁波 315300)

摘 要：以牡蛎为原料，利用多种蛋白酶对牡蛎蛋白质进行水解，挑选中性蛋白酶 1398 和 Flavourzyme 蛋白酶进行复合酶解，得出酶解的最佳工艺参数为：时间 16 h，中性蛋白酶 1398 与 Flavourzyme 作用的时间比为 16∶15，中性蛋白酶 1398 酶与底物比为 300 U/g，Flavourzyme 酶与底物比为 1 200 U/g. 水解后，氨基态氮质量分数为 0.469%，总氮回收率为 91%.

关键词：牡蛎 蛋白酶 水解

中图分类号：Q 556.9 **文献标识码**：A

The Compound Hydrolytic Process of Oyster with Two kinds of Proteinase

WANG Liang[1]， ZHANG Min[1]， DU Wei-hua[2]， SUN Jin-cai[2]

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Zhejiang Haitong Food Group Co. LTD, Ningbo 315300, China)

Abstract: The protein of oyster was hydrolysed by many kinds of proteinase, and eventuallythe neutral proteinase 1 398 and flaourzyme were chosen for the hydrolysis. The optimal conditions were found as following: hydrolysis time: 16 hours, the acting time ratio of neutral proteinase 1 398 and flaourzyme: 16∶15, neutral proteinase 1 398 amount: 300 U/g, and flavourzyme amount 1 200 U/g. After hydrolysis, the content of amino nitrogen was 0.4690%, and the recovery of nitrogen was 91%.

Key words: oyster; proteinase; hydrolysis

牡蛎是世界第一大养殖贝类，也是我国四大养殖贝类之一. 牡蛎不仅因为肉质鲜美可口受到人们喜爱，而且由于其含有大量的氨基酸、糖元、牛磺酸以及大量的活性微量元素，具有很高的药用价值，近些年来对于牡蛎等水产品的深加工利用日益受到重视[1]. 在日本素有“海之玄米”之称，在欧美等国亦有“Sea Milk”之称. 日本从 20 世纪 60 年代就开始对牡蛎的营养、疗效功能进行研究，并开发、生产了一系列牡蛎保健食品、疗效品. 我国近 10 年来也开始对牡蛎进行开发、研究，并生产了“金牡蛎”等保健品. 随着酶制剂工业的不断发展，许多食品都利用酶进行加工处理，分解生物多聚物，以便于人体的消化吸收，增加可口性，同时也为了提高原料可食部分的得率，增加营养价值. 作者从牡蛎水

收稿日期：2002－07－09； 修回日期：2002－12－02.
基金项目：宁波市农业科研攻关项目(200C10018)资助课题.
作者简介：方慜嘉(1977－)，男，新疆乌鲁木齐人，工学硕士.

解入手,采用蛋白酶水解法[2],得出了牡蛎水解的最佳工艺参数,与以往的酶解不同,实验采取双酶复合水解,效果显著.

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

牡蛎:浙江海通食品集团提供;酸性蛋白酶:无锡酶制剂厂产品;中性蛋白酶 1398:无锡酶制剂厂产品;Protamex:丹麦诺维信公司产品;Flavourzyme:丹麦诺维信公司产品;其他试剂均为分析纯.

1.2 主要仪器

DS-1 高速组织捣碎机;FA1104 电子天平;HH-2 数显恒温水浴锅;DELTA320-S 数显 PH 计;HJ-3 恒温磁力搅拌器等.

1.3 制备水解液的工艺流程

新鲜牡蛎→去壳→洗净→打浆→热处理→酶解→灭酶→离心

1.4 测试指标和分析测定方法

总氮回收率 = 酶解液中的氮含量/原料中总氮含量

氨基态氮质量分数用甲醛滴定法测定[3].

酶解液和原料中的氮质量分数用微量凯氏滴定法测定[4].

以总氮回收率作为评价指标能够反映出蛋白酶对于蛋白质的水解效果,总氮回收率越高,说明蛋白质被有效地分解了,此时的蛋白酶的水解能力最强;反之亦然.

1.5 正交试验各因素与水平的安排

试验在挑选内切酶和确定最终双酶水解最佳工艺参数的时候,分别进行了 2 次正交试验.

在挑选内切酶时,以总氮回收率为主要指标,氨基态氮质量分数为次要指标,以酶的种类、酶解时间、酶与底物比和底物质量浓度为四因素,采用四因素三水平的正交试验设计来确定最佳条件[5].各因素与水平表见表 1.

表 1 酶解试验各因素水平表

Tab.1 Factors and levels of hydrolysis experiments

水平	*A* 酶的种类	*B* 时间/h	*C* 酶底比/(U/g)	*D* 质量浓度/(g/dL)
1	酸性蛋白酶	2	300	2
2	中性蛋白酶 1398	3	600	3
3	Protamex	4	900	4

为了得到复合酶解的最佳工艺参数,以总的酶解时间、中性蛋白酶 1398 与 Flavourzyme 作用时间比、中性蛋白酶 1398 的酶与底物比以及 Flavourzyme 的酶与底物比为四因素,采用氨基态氮质量分数和经济效益的综合指标进行正交试验.综合指标的计算如下:

氨基态氮质量分数占总份额 0.5,水解总时间占总份额 0.167,中性蛋白酶 1398 酶底比占总份额 0.167,Flavourzyme 酶底比占总份额 0.167.其中,总时间的份额:10 h 为 0.167,12 h 为 0.125,14 h 为0.084,16 h 为 0.042;中性蛋白酶 1398 酶底比的份额为:300 U/g 为 0.167,600 U/g 为 0.125,900 U/g为 0.084,1 200 U/g 为 0.042;Flavourzyme 酶底比的份额:600 U/g 为 0.167,900 U/g 为 0.125,1 200 U/g 为 0.084,1 500 U/g 为 0.042.

总份额(为各项份额之和) = 氨基态氮质量分数份额(0.5) + 水解总时间份额 + 中性蛋白酶酶底比份额 + Flavourzyme 酶底比份额

综合指标 = 氨基态氮质量分数 × 总份额

各因素水平表见表 2.

表 2 工艺参数优化的酶解试验各因素水平

Tab.2 Factors and levels of hydrolysis experiments

水平	(*A*) 总时间/h	(*B*) 1398 比 Fla 多作用时间/h	(*C*)(1398 酶底比)/(U/g)	(*D*)(Flavourzyme 酶底比)/(U/g)
1	10	0	300	600
2	12	1	600	900
3	14	2	900	1 200
4	16	3	1 200	1 500

2 结果与讨论

2.1 内切酶的确定

在单因素试验的基础上进行了正交试验(见表 1),从而得到单酶水解的最佳条件,进一步得到最佳的内切酶.正交设计方案及试验结果见表 3.

从试验中可以看出,总氮回收率越高,相应的氨基态氮质量分数就越高,这是因为蛋白质被酶水解为短肽,溶解于水解液中,得到的短肽越多,水解就能够更好地进行,最终产物氨基酸就会越多,这可以从氨基态氮质量分数的变化上看出.

由表 3 可以看出,$A_2D_1B_3C_3$ 是最佳的试验方案,由此找到了最佳的内切酶:中性蛋白酶 1398,最佳底物质量浓度为 2 g/dL.

万方数据

表 3　正交设计方案及试验结果

Tab.3　Orthogonal design and results

实验号		A	B	C	D	总氮回收率/%	氨基态氮质量分数/%
1		1	1	1	1	17.00	0.0476
2		1	2	2	2	19.17	0.0553
3		1	3	3	3	18.02	0.0602
4		2	1	2	3	61.89	0.0875
5		2	2	3	1	73.07	0.1092
6		2	3	1	2	64.70	0.0980
7		3	1	3	2	54.16	0.0959
8		3	2	1	3	55.36	0.0728
9		3	3	2	1	70.41	0.0973
总氮回收率/%	K_1	54.19	133.05	137.06	160.48		
	K_2	199.66	147.60	151.47	138.03		
	K_3	179.93	153.13	145.25	135.27		
	k_1	18.06	44.35	45.69	53.49		
	k_2	66.55	49.20	50.49	46.01		
	k_3	59.98	51.04	48.42	45.09		
	R	48.49	6.69	4.80	8.40		
氨基态氮质量分数/%	K_1	0.1631	0.2310	0.2184	0.2541		
	K_2	0.2947	0.2373	0.2401	0.2492		
	K_3	0.2660	0.2555	0.2653	0.2205		
	k_1	0.0544	0.0770	0.0728	0.0847		
	k_2	0.0982	0.0791	0.0800	0.0831		
	k_3	0.0887	0.0852	0.0884	0.0735		
	R	0.0438	0.0082	0.0156	0.0112		

2.2　复合酶解条件的确定

在挑选出最佳的内切酶以后，又用挑选出的内切酶，配合已有的外切酶进行双酶水解. 在单因素试验的基础上，进行了正交试验，以产品得率和经济效益的综合指标为最终指标，得到双酶水解的最佳条件，正交设计方案及试验结果见表 4.

以表 4 正交试验中得到的氨基态氮质量分数与表 3 正交试验中得到的氨基态氮质量分数作比较，可以清楚的看到，双酶水解的氨基态氮质量分数得到了很大的提高，基本上都提高了 2～4 倍，这就是双酶水解相比于单酶水解的优点. 内切酶主要将蛋白质水解为肽类，这时加入外切酶，从肽的两端进行水解而得到氨基酸. 所以，将内切酶和外切酶配合水解，水解效率确实得到了极大地提高.

由表 4 可以看出，最佳方案为 $A_4B_2C_1D_3$，即总的酶解时间为 16 h，中性蛋白酶 1398 与 Flavourzyme 作用的时间比为 16∶15，中性蛋白酶 1398 的酶底比为 300 U/g，Flavourzyme 的用量为 1 200 U/g. 由试验得出的最佳条件所得的产品的氨基态氮质量分数为 0.469%，总氮回收率为 91%.

3　结　论

1）采用双酶复合水解比单酶水解的效果好，双酶复合水解在经济上是可行的，产品的质量更好.

2）由本试验得出的最佳条件进行水解，产品的氨基态氮质量分数为 0.469%，总氮回收率为 91%.

万方数据

表 4 正交试验及试验结果

Tab.4 Orthogonal design and results

实验号	A	B	C	D	氨基态氮质量分数/%	综合指标	实验号	A	B	C	D	氨基态氮质量分数/%	综合指标
1	1	1	1	1	0.2611	0.2611	14	4	2	3	1	0.3934	0.3114
2	1	2	2	2	0.2898	0.2657	15	4	3	2	4	0.4620	0.3273
3	1	3	3	3	0.3388	0.2823	16	4	4	1	3	0.4165	0.3297
4	1	4	4	4	0.3549	0.2581	K_1	1.0672	1.2051	1.2435	1.1276		
5	2	1	2	3	0.3766	0.3138	K_2	1.1929	1.2447	1.1947	1.1684		
6	2	2	1	4	0.4025	0.3354	K_3	1.2587	1.1941	1.1915	1.2580		
7	2	3	4	1	0.3206	0.2672	K_4	1.2773	1.1522	1.1664	1.2421		
8	2	4	3	2	0.3318	0.2765	K_1	0.2668	0.3013	0.3109	0.2819		
9	3	1	3	4	0.4536	0.3213	K_2	0.2982	0.3112	0.2987	0.2921		
10	3	2	4	3	0.4690	0.3322	K_3	0.3147	0.2985	0.2979	0.3145		
11	3	3	1	2	0.3626	0.3173	K_4	0.3193	0.2881	0.2916	0.3105		
12	3	4	2	1	0.3290	0.2879	R	0.0525	0.0231	0.0193	0.0326		
13	4	1	4	2	0.4361	0.3089							

参考文献：

[1] MontecalvoJ J R. Opimization of processing parameters for the preparation of flounder frame protein product[J]. **J Food Sci**, 1984,49:172－176.

[2] Vega R E,Brennan J G. Enzymic hydrolysis of fish offal without added water[J]. **J Food Engin**,1988,(8):201－215.

[3] **赵洪根,黄慕让.水产品检验**[M].**天津:天津科学技术出版社**,1987.

[4] **大连轻工业学院.食品分析**[M].**北京:中国轻工业出版社**,1990.

[5] **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.

(责任编辑 杨 萌)

万方数据