

综合利用河虾加工下脚料的工艺研究

夏文水 王璋

〈食品科学与工程系〉

摘要 本文测定了河虾加工下脚料的成分,研究了蛋白酶对河虾加工下脚料作用的最适条件,分析了采用酶法回收的蛋白质提取物的组成及性质,提出了采用酶法和化学法相结合的综合利用河虾加工下脚料的工艺路线。

关键词 综合利用;酶水解;虾下脚料;甲壳素;蛋白质

0 前 言

虾加工下脚料中由于含有15%—40%的蛋白质和15%—30%的甲壳素(Chitin)^[1],因而近几十年来国内外学者对此类资源的开发和利用一直非常关注^[2,3],目前主要的工作是以虾加工下脚料为原料来生产甲壳素或壳聚糖(Chitosan)^[1,4],其生产工艺是采用酸碱化学法进行脱盐和消除蛋白质,特别是为了除尽蛋白质,常利用碱液煮沸和反复处理的方法,致使蛋白质破坏,极大地浪费了蛋白质资源^[5]。此外,也有报道从虾下脚料中提取蛋白质^[6]或色素类物质^[7,8]等;我国沿海一带还常用虾下脚料来生产虾黄酱或调味料^[9-11],而这些都没有考虑到甲壳素的利用。因此,无论前述的那种方式,都未能将甲壳素的提取和蛋白质的回收形成综合利用工艺。本研究主要是采用酶法和化学法相结合的方法,设计新的生产工艺,从而使虾加工下脚料资源得到综合利用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 河虾加工下脚料 江苏宝应水产冷冻加工厂提供。鲜河虾经人工挤出虾仁后所剩下的虾头、虾壳和虾尾,于-20℃速冻后,冷藏。原料解冻后经打浆即得蛋白酶作用的底物。

1.1.2 酶制剂 1398蛋白水解酶,食品级,酶活力4.4万u/g

1.2 实验方法

1.2.1 总氮测定 凯氏定氮法^[12]

1.2.2 粗脂肪含量的测定 索氏抽提法^[13]

1.2.3 甲壳素含量的测定^[14] 河虾加工下脚料干燥恒重,精确称重于离心管中,用丙酮在40—50℃浸泡30min,离心(4000r/min),弃去丙酮液,用乙醚洗涤两次,残渣按1:5—10

的比例加入6molNaOH溶液,沸水浴加热1h,离心(10000r/min),弃去上层液,残渣水洗至中性,重复操作直至得到白色沉淀物,干燥,进行凯氏定氮(N),按下式计算甲壳素含量^[14]

$$\text{Chitin}\% = N \times 14.5$$

1.2.4 粗蛋白质含量的测定 按下式计算^[15]

$$\text{粗蛋白质}\% = (\text{总N} - \text{Chitin N}) \times 6.25$$

1.2.5 灰分含量测定 在马福炉内(550—600℃)灼烧至恒重

1.2.6 蛋白质含量测定 采用福林-酚法^[16],以牛血清蛋白为基准绘制标准曲线。

1.2.7 蛋白质提取物分子量分布测定 采用凝胶过滤法,凝胶材料 SephadexG-25,柱床体积 $\phi 1.1 \times 70\text{cm}$,洗脱液0.1mol磷酸缓冲液(pH7.6含0.05mol NaCl),流速5ml/h,采用OD280nm检测蛋白质。

1.2.8 水分含量测定 EB 330 Moc.Moisture Balance 日本岛津

1.2.9 氨基酸含量测定 日立835-50型氨基酸自动分析仪。

1.2.10 红外光谱测定 富里叶变换红外光谱仪5DXC,美国Nicolet

1.2.11 X-射线衍射图谱测定 X-衍射仪D-max/III-B型,日本理学电机株式会社

1.2.12 酶法提取蛋白质 将河虾加工下脚料解冻,经挑选、清洗后打浆,按一定比例加入水,控制适当的温度和pH,然后加入一定量的蛋白酶,在酶解作用进行到适当程度时,加热使酶失活,经离心得蛋白质提取液。

1.2.13 甲壳素提取 取经蛋白酶水解提取蛋白质后的残渣,在室温下加4%—6%稀盐酸处理20—30min,然后离心,将残渣水洗,再加5%NaOH煮沸反应2h,离心将沉淀物水洗至中性,干燥即得白色片状甲壳素。

2 结果和讨论

2.1 河虾加工下脚料中主要成分含量

对河虾加工下脚料进行分析测定,其结果见表1。从表中可看出,河虾加工下脚料中甲

表1 河虾加工下脚料中主要成分含量(按干基计)*

取样日期	内容物	总氮(%)	粗蛋白(%)	甲壳素(%)	粗脂肪(%)	灰分(%)
5—6月	虾外壳	6.25	28.5	24.4	/	45.7
6—7月	虾头、虾壳、虾尾	8.84	50.4	11.3	7.4	28.8
11—12月	虾头、虾壳、虾尾	7.66	42.2	13.2	8.17	34.1

*河虾加工下脚料中含水分70%—75%

壳素含量比海虾加工下脚料(15%—30%)要低,而蛋白质含量比海虾加工下脚料(15%—40%)要高。

2.2 蛋白酶的最适作用条件

河虾加工下脚料中蛋白质在酶作用下溶出速度(V)或溶出量见图1, 2, 3, 4和5。从图1—5的结果可知,蛋白酶对河虾加工下脚料的最适作用条件是: [S]/[E]=600, pH7.5, 温

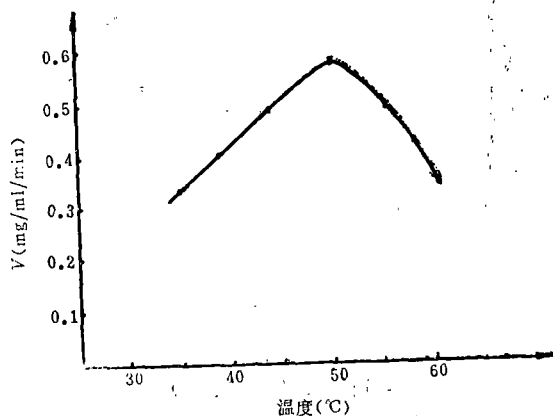


图1 温度对溶出速度的影响

底物浓度[S] = 40mg/ml, 酶浓度[E] = 0.1mg/ml
pH7.5

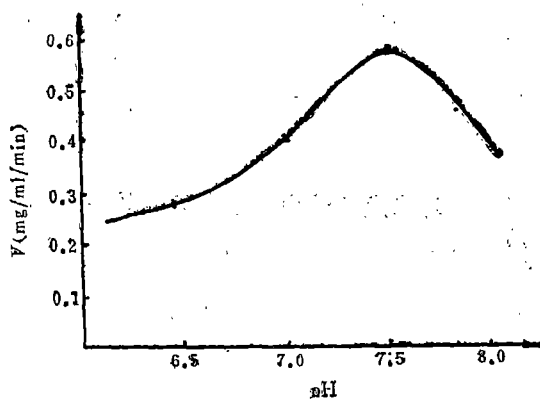


图2 pH对溶出速度的影响

[S] = 40mg/ml; [E] = 0.1mg/ml; 温度50°C

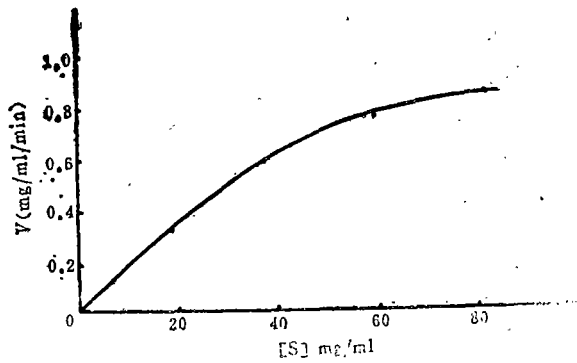


图3 底物浓度与溶出速度的关系
 $[E] = 0.1 \text{ mg/ml}$ $\text{pH} 7.5$, 温度 50°C

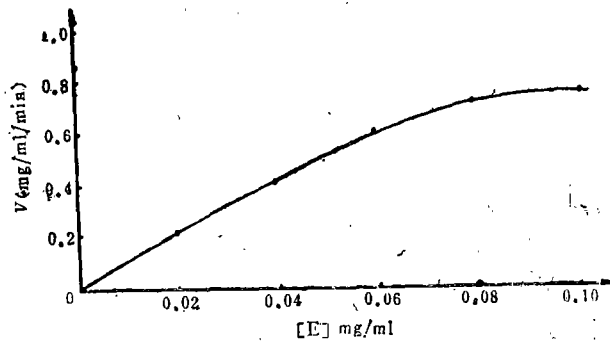


图4 酶浓度与蛋白质溶出速度的关系
 $[S] = 6. \text{ mg/ml}$; $\text{pH} 7.5$; 温度 50°C

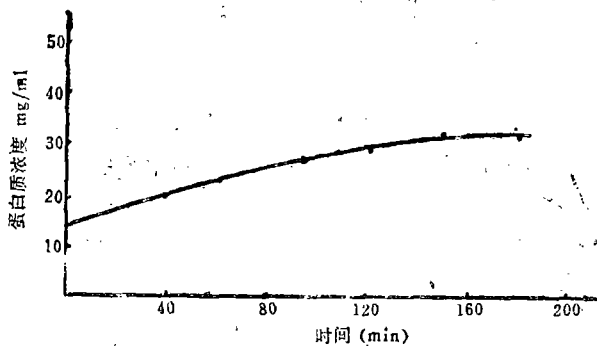


图5 反应时间与蛋白质溶出量的关系
 $[S] = 50 \text{ mg/ml}$; $[E] = 0.2 \text{ mg/ml}$; $\text{pH} 7.5$; 温度 50°C

度50℃。酶作用前,提取液中蛋白质浓度为13.98mg/ml,经酶作用3h后,提取液中蛋白质浓度达到34.22mg/ml,溶出量增加了约1.5倍。

2.3 酶解蛋白质提取物性质分析

将河虾加工下脚料的酶解提取物干燥,然后研究它的组成和性质。

2.3.1 提取物中成分含量 对提取物进行成分含量测定和氨基酸组成分析,其结果见表3和表4。由此可见,河虾加工下脚料经蛋白酶作用后,所得到的提取物中蛋白质含量较高,同时还含有粗脂肪,因而该提取物具有原河虾风味成份和营养价值,可用作配制鲜虾调味料或作为蛋白质补充剂用于食品加工中。

表2 酶法提取物成分含量

成分	水分	粗脂肪	蛋白质	无机盐	甲壳素
含量(%)	7.7	6.36	69.6	11.9	4.46

表3 河虾加工下脚料中蛋白质的氨基酸组成

氨基酸名称	水溶性蛋白质(mg/ml)	酶解溶出蛋白质(mg/ml)
天门冬氨酸(ASP)	81.57	63.98
苏氨酸(THR)	33.04	30.88
丝氨酸(SER)	30.72	27.58
谷氨酸(GLU)	94.82	80.94
甘氨酸(GLY)	28.58	41.72
丙氨酸(ALA)	36.68	48.11
缬氨酸(VAL)	37.05	35.73
蛋氨酸(MET)	18.40	17.22
异亮氨酸(ILE)	33.82	31.12
亮氨酸(LEU)	55.93	47.43
酪氨酸(TYR)	30.36	25.78
苯丙氨酸(PHE)	37.33	33.69
赖氨酸(LYS)	54.05	46.61
组氨酸(HIS)	21.78	15.40
精氨酸(ARG)	44.53	25.53
脯氨酸(PRO)	24.80	33.43

2.3.2 提取物中蛋白质分子量分布图6表示河虾加工下脚料经酶解后溶出蛋白质的分子量分布曲线。从图中可看出,河虾加工下脚料经蛋白酶作用后,溶出蛋白质与水溶性蛋白质相比,其组成产生显著变化,主要是分子量较低的肽和氨基酸的含量明显地增加。

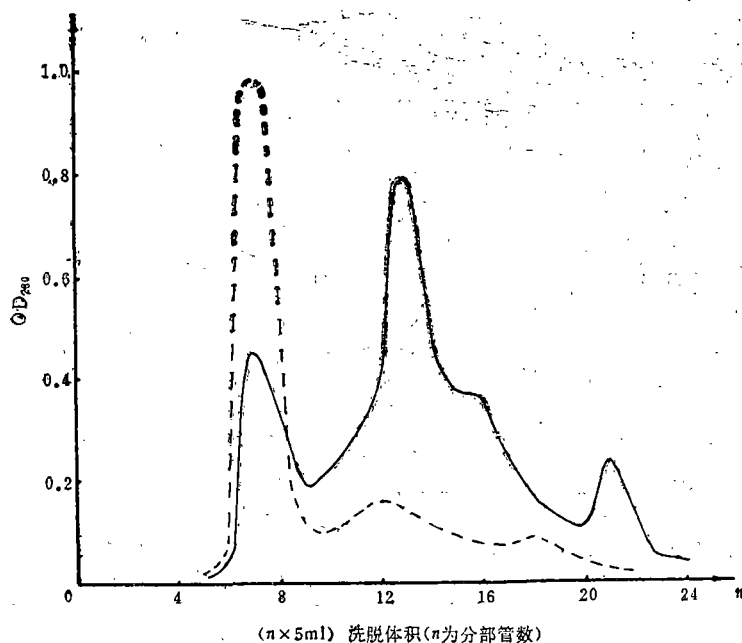


图6 酶解溶出蛋白质与水溶性蛋白质的分子量分布

其中：——河虾加工下脚料经酶解3h后溶出蛋白质的分子量分布

---河虾加工下脚料水溶性蛋白质的分子量分布

凝胶Sephadex G-25, 流速5ml/h

2.4 甲壳素的提取

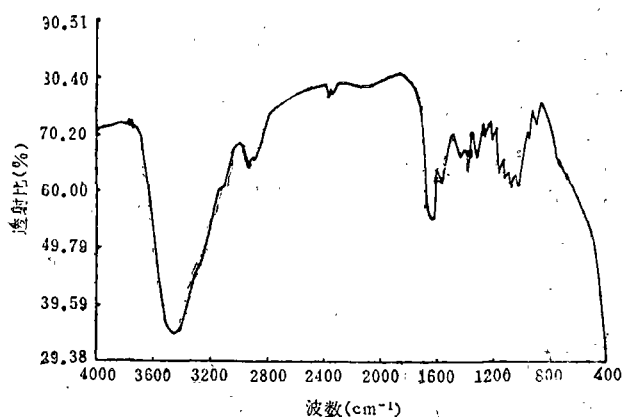


图7 河虾甲壳素的红外光谱

从河虾加工下脚料中提取的甲壳素经红外光谱(图7)和X-射线衍射图谱(图8)鉴定,其结果与文献报道^[18]完全一致。甲壳素成分含量和提取得率见表5。若甲壳素经过浓碱作用后,脱去乙酰基生成壳聚糖,可广泛应用于废水处理、食品、医药、造纸、纺织、化妆品、金属回收等众多领域^[19]。若再经过化学改性处理后,其用途更加广泛^[20]。

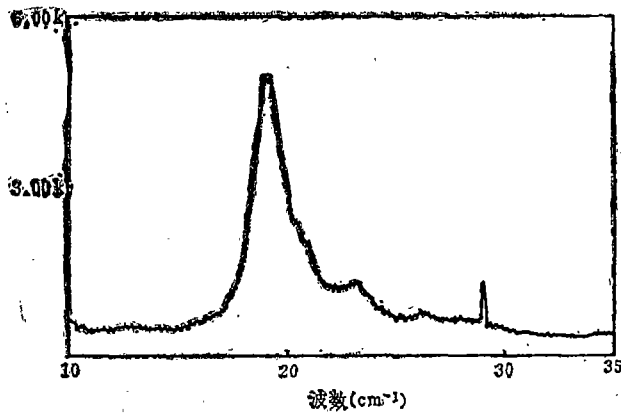


图8 河虾甲壳素的X-射线衍射图

表5 河虾甲壳素含量和提取得率

成分	氮	灰分	水分	得率
含量(%)	7.06	1.4	11.34	11

2.5 综合利用工艺路线

根据以上实验结果，河虾加工下脚料的综合利用，可采用酶法和化学法相结合的新工艺，其工艺路线如图9。该工艺与单一提取甲壳素工艺^[5]相比，不仅可回收利用蛋白质，而且在提取甲壳素时，酸碱处理次数和用量都相应减少(见表6)。因此，该综合利用工艺，简单可行，经济实用，可使虾加工下脚料得到合理的综合利用。

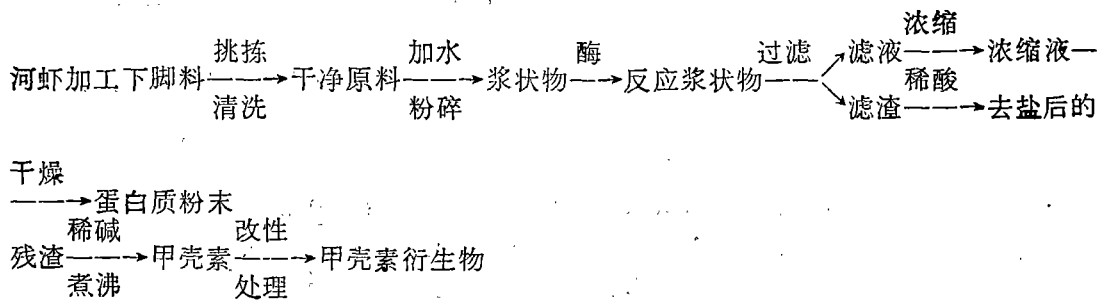


图9 综合利用河虾加工下脚料的工艺路线

表6 综合利用工艺与单一法工艺对比

方法	碱浓度	酸浓度	处理次数	蛋白质回收率	甲壳素得率
单一法	10%	10%	≥3	/	11%
综合利用	5%	4%—6%	1—2	60%—80%	11%

参 考 文 献

- 1 Johnson E L and Peniston Q P. Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan, MIT Sea Grant Program, Cambridge, 1978; 80—87
- 2 Lovell R T Lafleur J R and Hoskins F H. *J Agr Food Chem*, 1968; 16, (2): 204—207
- 3 Knorr D. *Food Technology*, 1984; 38; (1): 85—97
- 4 美马精一, 见矢胜等. 特许公报, 1981; 昭56-34201
- 5 谢雅明. *化学世界*, 1983; 4: 118
- 6 Bataille M P, Bataille P E. *J Chem Tech Biotechnol*, 1983; 33B: 203-208
- 7 Chen H M, Meyers S P. *J of Food Science*, 1982; 47: 892—896
- 8 Simpson B K, Haard N F. *J of Applied Biochemistry*, 1985; 7: 212-222
- 9 江尧森、殷邦忠、王家林. *食品科学*, 1985; 1: 20
- 10 李光全. *中国调味品*, 1985; 8: 13
- 11 顾晨光. *食品科学*, 1988; 12: 23
- 12 蔡武城、袁厚积. *生物物质常用化学分析法*, 北京科学出版社, 1982; 89
- 13 北京大学生物系生物化学教研室. *生物化学实验指导*. 人民教育出版社, 1980; 43
- 14 日本食品工业学会, 食品分析法编辑委员会, 郑州粮食学院《食品分析方法》翻译组. *食品分析方法*, 四川科学技术出版社, 1986; 144
- 15 Watkins B E, Adair J and Oldfield J E. *Journal of Animal Science*, 1982; 55; (3): 578—589
- 16 Stelmock R, Husby F M and Brundge A L. *J Dairy Sci*, 1985; 68: 1502—1506
- 17 Melaren A D. *Enzymologia*, 1963; 26: 237
- 18 Muzzarelli R A A. *Natural Chelating Polymers*, 1973; 55
- 19 Muzzarelli R A A. *Chitin*, Pergamon Press. New York, 1977
- 20 Muzzarelli R A A. *Carbohydrate Polymers*, 1983; 3: 53

Studies on the Technology of Comprehensive Utilization of Freshwater Shrimp Processing Wastes

Xia Wenshui Wang Zhang

(Dept. of Food Sci. and Eng.)

Abstract The contents of the components in freshwater shrimp processing wastes were determined, the optimum conditions of proteolytic enzyme to hydrolyze shrimp wastes were investigated, and the composition of the extract recovered from shrimp wastes by enzymatic hydrolysis as well as the molecular weight distribution of protein hydrolysate, were measured. The technology of comprehensive utilization by using a combined method with chemical and enzymic treatments was developed.

Keywords Comprehensive utilization; Enzymic hydrolysis; Shrimp waste; Chitin; Protein