

扇贝裙边酶水解工艺条件的研究^①

魏玉西¹⁾ 田学琳²⁾

(¹⁾青岛市卫生防疫站, 266003)

(²⁾青岛海洋大学水产学院, 266003)

扇贝在加工完干贝后, 大量的含有较高营养价值的扇贝裙边有待利用。本文就扇贝裙边利用不同蛋白酶的水解工艺条件进行了较深入的探讨, 以期找出扇贝裙边酶水解的最佳工艺条件。

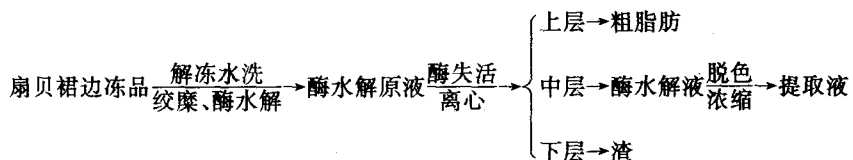
1 材料

扇贝(海湾)裙边购自青岛冷藏厂; 枯草杆菌 1.398 蛋白酶(125 000 单位/g)购自无锡酶制剂厂; 栖土曲霉 3.942 蛋白酶(10 000 单位/g); 放线菌 S166 蛋白酶(10 000 单位/g)购自上海佳乐酶制剂厂; 胰蛋白酶(25 000 万单位/g)购自莱阳生化制药厂。

2 方法

2.1 扇贝裙边的酶水解工艺

扇贝裙边解冻、水洗去杂、沥干、按 1:1 比例加水, 用高速组织捣碎机捣碎, 取 100g 糜放入 250ml 烧杯于超级恒温水浴中, 调 pH、温度, 待温度平衡后加入一定量的蛋白酶, 充分搅拌, 并在该温度下反应一定时间。酶水解完毕, 将酶水解原液加热至 80℃, 10min 以失活残留的酶和灭菌, 高速冷冻离心去渣和粗脂肪得酶水解液, 再经活性炭脱色, 减压浓缩即得提取液。全部流程如下:



2.2 氨基酸分析

2.2.1 固体样品的分析按日立 835-50 型氨基酸自动分析仪使用说明要求进行;

2.2.2 酶水解液中游离氨基酸的分析, 只需按一定倍数稀释, 再加碘基水杨酸沉淀肽类等, 离心即可上机测定。

氨基酸转化率计算公式:

$$\text{氨基酸转化率} = \frac{\text{酶水解液中游离氨基酸总量}}{\text{样品中氨基酸总量}} \times 100\%$$

2.3 蛋白质水解度的测定

蛋白质水解度是基于酶解液中 10% 三氯乙酸可溶性氮占总氮的比例算出的。在酶解完成后, 从酶解液中取 50ml 试样, 加入 50ml 20% 的三氯乙酸溶液, 造成三氯

乙酸最终浓度为 10%。上述溶液在转带为 10 000r/min 的离心机上离心 15min, 用凯氏定氮法测定上清液中氮和原酶解样品中总氮。蛋白质水解度计算公式:

$$\text{蛋白质水解度} = \frac{10\% \text{三氯乙酸可溶性氮}}{\text{样品中总氮}} \times 100\%$$

3 结果与讨论

酶水解工艺中有许多因素, 如酶的种类、加酶量、温度、pH 值、反应时间等影响酶水解效果。本实验采用各酶的最适 pH 值, 枯草杆菌 1.398 蛋白酶与胰蛋白酶组

① 本文得到陈修白先生的热心指导与帮助, 深表谢意。

成的混合酶采用 pH7.6。酶解的效果用蛋白质水解度和氨基酸转化率表示。本实验方案的设计采用解决多因素问题确有成效的实验方法——正交设计法^[1]，以获得最佳工艺条件。

3.1 因子与水平排列见表 1。

3.2 正交设计方案参照 $L_{25}(5^6)$ 设计，见表 2。

表 1 因子与水平排列表

水平	A(酶)	B(‰)	C(°C)	D(h)
1	E_1	3	35	2
2	E_2	4	40	2.5
3	E_3	5	45	3
4	E_4	6	50	3.5
5	E_1+E_4	7	55	4

表中：A、B、C、D 分别表示酶、用量、温度、时间； E_1 、 E_2 、 E_3 、 E_4 分别代表枯草杆菌 1.398 蛋白酶、栖土曲霉 3.942 蛋白酶、S166 放线菌蛋白酶、胰蛋白酶。

3.3 实验测得的水解度对应填入表 2 右侧。由此计算出的分散度表明，在该组实验条件下，温度的影响是最主要的，其次是酶的种类和加酶量， E_1 和混合酶 (E_1+E_4) 效果相近，时间在 2~4h 内对水解度影响不大，取短时 D_2 (2.5h)，则据此选出的最佳工艺条件是 $A_1B_5C_5D_2$ 或 $A_5B_5C_5D_2$ 。

3.4 实验测得的氨基酸转化率亦对应填入表 2。据此作出水解度与氨基酸转化率的关系图 (见图 1)。

右侧，据此作出水解度与氨基酸转化率的关系图 (见图 1)。

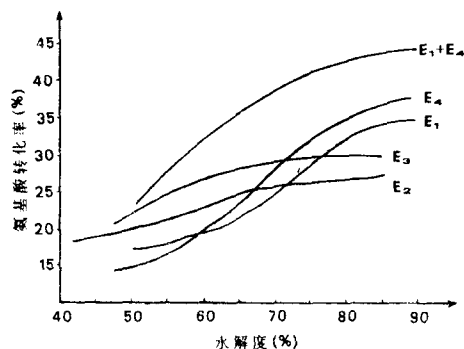


图 1 水解度——氨基酸转化率曲线

由图 1 可见，对于某一酶解过程 (使用一种或几种酶) 而言，蛋白质水解度与氨基酸转化率的变化趋势是

一致的。当水解度达 85% 以上时，氨基酸转化率上升幅度愈来愈小。这是因为：(1) 蛋白质酶解过程是由肽链内切酶和肽链外切酶共同完成的，前者的水解产物为多肽，后者的水解产物为游离氨基酸，而源加的蛋白酶主要是前者，后者来源于原料本身；(2) 在上述酶解条件下，由于部分蛋白质仅能水解成小分子肽，而原料中氨基酸总量是在蛋白质用强酸 (色氨酸用强碱水解测得) 全部水解条件下测得的。因此，随着酶解过程的进行，酶解液中 10% 三氯乙酸可溶性氮愈来愈多。其中，除氨基酸态氮外，尚包括小分子肽及小分子非蛋白质含氮化合物，而且后者的增加较前者甚。这就使测得的水解度与氨基酸转化率呈上述关系。

表 2 正交设计方案及实验结果

试验号	A	B	C	D	水解度 (%)	氨基酸转化率 (%)
1	1	1	1	1	51.3	17.3
2	1	2	2	2	61.8	24.9
3	1	3	3	3	86.8	34.4
4	1	4	4	4	87.5	34.5
5	1	5	5	5	91.9	34.9
6	2	1	2	3	40.0	18.0
7	2	2	3	4	63.8	24.1
8	2	3	4	5	70.4	25.5
9	2	4	5	1	75.1	26.1
10	2	5	1	2	47.4	19.3
11	3	1	3	5	65.3	28.0
12	3	2	4	1	70.2	28.8
13	3	3	5	2	73.6	28.9
14	3	4	1	3	48.9	21.0
15	3	5	2	4	61.8	26.8
16	4	1	4	2	69.5	28.6
17	4	2	5	3	76.8	33.5
18	4	3	1	4	47.7	14.0
19	4	4	2	5	60.7	20.1
20	4	5	3	1	72.6	30.3
21	5	1	5	4	85.7	42.8
22	5	2	1	5	58.1	30.2
23	5	3	2	1	68.1	36.8
24	5	4	3	2	82.6	42.5
25	5	5	4	3	89.2	43.9
I	387.3	311.8	253.4	337.3	总和	
II	296.7	338.7	300.4	342.9	$T=$	
III	319.8	346.6	371.1	341.7	1714.8	
IV	327.3	354.8	306.8	346.5	总平均	
V	383.7	362.9	403.1	346.4	$\mu=$	
I/5	77.46	62.36	50.60	67.46	68.59	
II/5	55.34	67.74	60.08	68.58		
III/5	63.96	69.32	74.22	68.64		
IV/5	65.46	70.96	77.36	69.30		
V/5	76.74	72.58	80.62	69.28		
分散度	261.22	61.28	642.03	2.76		

由图 1 还可看出，在达到同一较高水解度 (50% 以上) 时，混合酶 (E_1+E_4) 的氨基酸转化率明显高于前四

者。

所以,综合蛋白质水解度与氨基酸转化率两项指标,扇贝裙边酶水解的最佳工艺条件应选为 $A_5B_5C_5D_2$ 。即使用由枯草杆菌 1.398 蛋白酶与胰蛋白酶组成的混合酶,加酶量为 7%,温度为 55°C ,时间为 2.5h。

另外,在利用上述酶进行扇贝裙边的酶解试验时,因水解度较氨基酸转化率易测,故测出水解度后利用图 1 就可方便地得知氨基酸转化率如何,从而可对酶解过程加以有效控制。

3.5 利用上述选出的最佳工艺条件进行酶解,所得提取液所含游离氨基酸中必需氨基酸占 45.7%,该

比例明显高于扇贝闭壳肌(37.5%)和扇贝裙边(36.6%)。

经计算,利用最佳工艺条件进行扇贝裙边酶水解,水解度可达 93.2%。查图 1 可得知,氨基酸转化率达 44.8%。

参考文献

- [1] 北京大学数学力学系概率统计组编,1975。正交设计法,石油化学出版社。