

文章编号: 1007-2985(2010) 02-0101-04

# 微波辅助酶法水解草鱼鱼鳞的工艺条件<sup>\*</sup>

曹光辉, 黄 诚, 尹 红, 李永平

(吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000)

**摘 要:** 研究微波萃取技术对木瓜蛋白酶水解草鱼鱼鳞条件的影响, 探讨在一定的微波功率和辐射时间下, 酶用量、底物浓度、酶解温度及酶解时间对水解度的影响, 单因素试验确定较好的因素水平, 正交试验确定最佳提取工艺条件. 结果表明, 在设定微波功率和辐射时间为 400 W 60 s 时, 酶法水解草鱼鱼鳞最佳工艺条件是: 酶用量 5 g/L、底物浓度 20%、酶解温度 60 °C 和酶解时间 1 h.

**关键词:** 微波辅助; 酶法水解; 鱼鳞; 木瓜蛋白酶

中图分类号: T S512

文献标识码: B

胶原蛋白是一种重要的功能性蛋白质, 广泛应用于食品、医药、化妆品等行业. 鱼鳞中含有胶原蛋白, 其中含有大量的甘氨酸、脯氨酸、羧脯氨酸等.<sup>[1-2]</sup> 微波萃取技术最大的特点是缩短萃取时间, 提高效率, 节约成本.<sup>[3]</sup> 本实验利用微波辅助用木瓜蛋白酶水解鱼鳞提取水解产物, 有水解速度快、酶用量少及产品灰分少等特点, 可为鱼鳞胶原蛋白资源利用提供新思路.

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

草鱼鱼鳞, 吉首市砂子坳菜市场收集, 经清洗、风干、冷藏备用; 木瓜蛋白酶, 酶活力 400 000 u/g, 广州裕立宝生物科技有限公司出品.

### 1.2 仪器与设备

主要仪器设备有: NJL07-3 型实验微波炉(中国南京杰全微波设备有限公司); pH S-3D 精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司); LD4-2A 型低速离心机(北京医用离心机厂); RS-232 精密电子天平(上海恒平科学仪器有限公司); JJ-1 精密电动搅拌机(江苏金坛荣华仪器制造有限公司).

### 1.3 试验方法

1.3.1 实验流程 清洗并风干备用鱼鳞 → 鱼鳞前处理 → 洗涤 → 微波辅助酶水解 → 灭酶 → 过滤 → 滤液浓缩 → 测定水解度.

1.3.2 操作要点 (1) 鱼鳞前处理: 新鲜草鱼鱼鳞经清洗并风干, 用 0.5 mol/L EDTA 以 1:10 的料液比在 20 °C 低温下浸泡脱钙 4 h, 再用 0.15 mol/L NaCl 溶液常温浸泡 1 d, 除去滤液, 并用蒸馏水反复清洗至无漂浮物, 风干备用. (2) 微波辅助酶水解: 将处理好的鱼鳞与木瓜蛋白酶按一定的料液比在不同微波功率、微波水解时间下, 中速搅拌, 使鱼鳞与木瓜蛋白充分浸溶一定时间, 然后在一定温度下继续水解一定时

\* 收稿日期: 2009-12-15

作者简介: 曹光辉(1986-), 男, 湖南益阳人, 吉首大学资源与环境科学学院学生

通讯作者: 尹 红(1964-), 女, 湖南洞口人, 吉首大学资源与环境科学学院高级实验师, 主要从事食品检测技术与开发研究.

间后,经灭酶,滤液过滤浓缩,测定其水解度.

#### 1.4 测定方法

样品总氮含量测定参照凯氏定氮法<sup>[1]</sup>,氨基态氮含量测定参照甲醛-电位滴定法<sup>[4]</sup>.水解度用水解液氨基态氮总量减去样品中氨基态氮含量占样品总氮含量减去样品中氨基态氮含量的百分数计算.

## 2 结果与讨论

### 2.1 微波功率和辐射时间水解度的影响

称取 5 份 50 g 经前处理的鱼鳞于烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水,加入木瓜蛋白酶(按 4 g/L 比例)混合均匀,用 0.5 mol/L 乙酸调节 pH 值 6.0,分别在不同微波功率及辐射时间组合条件下水解,取出后继续在 60 °C 下水解 1 h,经灭酶、过滤后,将滤液浓缩,测定水解度.实验结果见表 1.实验结果表明:微波功率和辐射时间在 400 W 60 s 水解度最高,因此本实验确定微波功率和辐射时间为 400 W 60 s.

表 1 微波功率对水解度的影响

序号	1	2	3	4	5	6	7	8
功率/W(时间/s)	360(80)	360(120)	400(60)	400(80)	600(50)	600(60)	800(30)	800(40)
水解度/%	18.93	25.68	36.15	34.48	31.85	30.08	29.23	28.42

### 2.2 酶用量对水解度的影响

称取 5 份 50 g 经前处理的鱼鳞于烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水,分别按 2, 3, 4, 5, 6 g/L 比例加入木瓜蛋白酶混合均匀,用 0.5 mol/L 乙酸调节 pH 值 6.0,在 400 W/60 s 条件下水解,取出后继续在 60 °C 下水解 1 h,经灭酶、过滤后,浓缩滤液,测定水解度,结果如图 1 所示.实验结果表明:酶用量 4~6 g/L 为宜.

### 2.3 底物浓度对水解度的影响

分别称取 50, 75, 100, 125, 150 g 经前处理的鱼鳞于烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水,按 4 g/L 比例加入木瓜蛋白酶混合均匀,用 0.5 mol/L 乙酸调节 pH 值 6.0,在微波 400 W 60 s 下水解,取出后继续在 60 °C 下水解 1 h,经灭酶、过滤后,浓缩滤液,测定水解度,结果如图 2 所示.实验结果表明:底物质量分数在 20%~30% 较好.

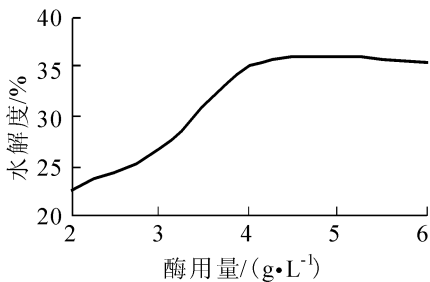


图 1 酶用量对水解度的影响

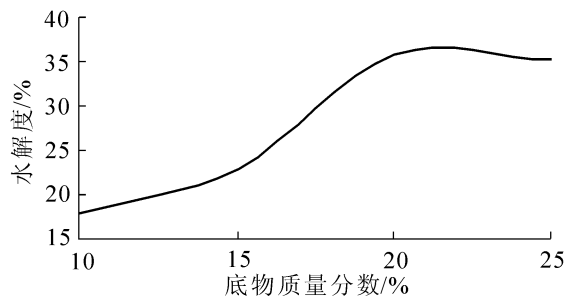


图 2 底物质量分数对水解度的影响

### 2.4 水解温度对水解度的影响

称取 5 份 50 g 经前处理的鱼鳞于烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水,按 4 g/L 用量加入木瓜蛋白酶混合均匀,用 0.5 mol/L 乙酸调节 pH 值 6.0,在 400 W 60 s 条件下水解,取出后再分别在 40, 50, 60, 70 °C 下水解 1 h,经灭酶、过滤后,浓缩滤液,测定水解度,结果如图 3 所示.实验结果表明:水解温度在 60~65 °C 较好.

### 2.5 水解时间对水解度的影响

称取 5 份 50 g 经前处理的鱼鳞于烧瓶中,加 500 mL 蒸馏水,按 4 g/L 用量加入木瓜蛋白酶混合均匀,用 0.5 mol/L 乙酸调节 pH 值 6.0,在微波 400 W 60 s 下水解,取出后继续在 60 °C 下分别水解 1, 2, 3, 4 h,经灭酶、过滤后,浓缩滤液,测定水解度,结果如图 4 所示.实验结果表明:水解时间在 1~2 h 左右较好.

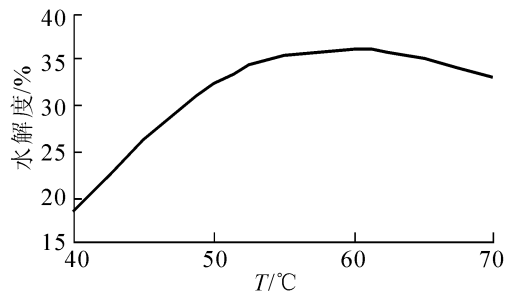


图3 水解温度对水解度的影响

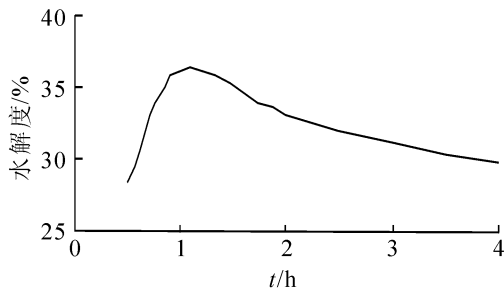


图4 水解时间对水解度的影响

## 2.6 最佳工艺条件组合实验

为进一步优化工艺,设定微波功率及微波处理时间为400 W 60 s,分别选择酶用量3, 4, 5 g/L,底物浓度20%, 25%, 30%,水解温度50, 60, 70 °C,水解时间1, 2, 3 h这3个水平进行正交试验 $L_9(3^4)$ .因素水平表见表2,正交试验设计及结果见表3.

极差大小表明因素对指标的影响程度,从表3可知,实验中各因素影响水解度主次顺序为底物质量分数、水解时间、水解温度、酶用量,因素最佳水平组合为 $A_2B_1C_2D_1$ .

表2 因素水平表

水平	因素			
	A(酶用量)/(g·L <sup>-1</sup> )	B(底物质量分数)/%	C(温度)/°C	D(时间)/h
1	4	20	50	1
2	5	25	60	2
3	6	30	70	3

表3  $L_9(3^4)$  正交试验结果

序号	因素				水解度/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	32.15
2	1	2	2	2	35.42
3	1	3	3	3	31.02
4	2	1	2	3	36.15
5	2	2	3	1	29.08
6	2	3	1	2	29.47
7	3	1	3	2	18.79
8	3	2	1	3	35.63
9	3	3	2	1	33.12
$K_1$	92.25	103.93	80.41	100.69	
$K_2$	101.04	83.29	98.35	92.18	
$K_3$	87.54	93.61	96.34	82.23	
$K_1/3$	30.75	34.64	26.80	33.56	
$K_2/3$	33.68	27.76	32.78	30.72	
$K_3/3$	29.18	31.20	32.11	27.41	
$R$	4.50	6.88	5.98	6.15	

## 3 结论

酶法水解草鱼鳞最佳工艺条件是:微波功率及辐射时间400 W 60 s;酶用量5 g/L;底物质量分数20%;水解温度60 °C;水解时间1 h.

## 参考文献:

- [1] 吴谋成. 食品分析与感官评定 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 18-22.
- [2] 王学川, 任龙芳, 强涛涛, 等. 胶原蛋白的研究进展及其在化妆品中的应用 [J]. 日用化学工业, 2005, 35(6): 388-391.

- [3] 张俊杰, 段蕊, 潘秀楼. 鲤鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白提取工艺的应用 [J]. 淮海工学院学报: 自然科学版, 2006, 4(15): 55-58.
- [4] 赵新淮, 冯志彪. 蛋白质水解物水解度的测定 [J]. 食品科学, 1994, 11(179): 65-67.

## Conditions of Microwave-Assisted hydrolyzation of Grass Carp Scale with Papain

CAO Guang-hui, HUANG Cheng, YIN Hong, LI Yong-ping

(College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, Hunan China)

**Abstract:** The impact of microwave extraction technique on papain hydrolyzing grass carp scale is investigated. Under certain conditions of microwave power and microwave radiation time, how enzyme dosage, substrate concentration, enzyme temperature and time influence degree of hydrolysis is discussed. The best extraction process conditions are determined by preferable level of factor which is decided by univariate test as well as orthogonal experiment. The results show that the best technological conditions of enzyme hydrolyzing grass carp scale are: papain dosage, 5 g/L, substrate concentration, 20%, enzyme temperature, 60 °C, enzyme time, 1 hour when microwave power is 400 W and microwave radiation time is 60 s.

**Key words:** Microwave-Assisted; enzyme hydrolyzation; scale; papain

(责任编辑 易必武)

(上接第 93 页)

## Preparation and Electrochemical Properties of $\text{AlPO}_4$ -Coated $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$

LIANG Kai<sup>1</sup>, XIONG Lizi<sup>1,2</sup>, TANG Ming<sup>1,3</sup>, HE Ze-Qiang<sup>1,2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou 416000, Hunan China; 2. College of Biology Resource and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, Hunan China; 3. School of Chemistry and Biological Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410076, China)

**Abstract:**  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$  was synthesized by high temperature solid state method, and  $\text{AlPO}_4$ -coated  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$  was prepared by sol-gel using  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$ ,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{H}_3\text{PO}_4$  as raw material. The microstructure, surface morphology and electrochemical properties were characterized by various electrochemical methods in combination with X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscope (SEM). Results show that amorphous  $\text{AlPO}_4$  is coated on the surface in  $\text{AlPO}_4$ -coated  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$ .  $\text{AlPO}_4$  can minimize the side reaction between electrode and electrolyte solution, reduce the surface film impedance and charge transferring impedance, and increase the diffusion velocity of lithium ion. Thus, the cycling performance and rate performance of  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$  are greatly improved.

**Key words:**  $\text{LiNi}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{O}_2$ ;  $\text{AlPO}_4$ ; coating

(责任编辑 易必武)