

酶解章鱼下脚料的产物分析

黄惠莉^{1,2}, 张爽¹, 张育荣³, 张鹭鹰³, 王开明³

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021;

2. 华侨大学 环境与资源技术研究所, 福建 厦门 361021;

3. 厦门东海洋水产品进出口有限公司, 福建 厦门 361012)

摘要: 为了提高下脚料的综合利用率,用 4 种商业蛋白酶对章鱼下脚料进行水解,并初步分析检测产物中的氨基酸和抗氧化多肽.实验结果表明:动物蛋白酶水解液中的复合氨基酸获取率占总氨基酸的 57.12%,达到 57.12%;而 4 种蛋白酶水解产物中肽类物质的 $\cdot\text{OH}$ 清除力 IC_{50} 均小于 $1.28\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, Fe^{2+} 螯合力 IC_{50} 均小于 $2.82\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,还原力随多肽质量浓度增加而提升;这种工艺条件和方法可以同时获取两类活性物质(复合氨基酸、抗氧化性多肽),为章鱼下脚料资源的最大化利用提供实验依据.

关键词: 章鱼;下脚料;蛋白酶水解;复合氨基酸;抗氧化多肽

中图分类号: TS 254.9

文献标志码: A

生物活性氨基酸和多肽在人体新陈代谢的调节中发挥着十分重要的作用,可以作为改善人类健康和预防疾病的功能性食品、保健品和药品^[1].游离氨基酸关系到或构建成进行生理活动的蛋白质,同时也是激素和含氮碱基的前体^[2].另外,食物中的必需氨基酸很好地维持机体的健康^[3].从海洋生物蛋白质中获取的天然活性多肽,与活性蛋白质相比更易被人体吸收,而与氨基酸相比又保持着多种多样的功能性特征^[4].Raghavan 等^[5]利用风味酶水解罗非鱼蛋白质,获得血管紧张素转换酶(ACE)抑制活性肽.Anusha 等^[6]发现鳕鱼可以在体内自我水解,得到具有抗氧化活性的片段.许多商业蛋白酶已被用来获取海洋水产品中的氨基酸和活性肽^[7],但对章鱼下脚料的水解液研究较少.本文利用 4 种常见商业蛋白酶(碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、动物蛋白酶 A_5),酶解章鱼下脚料中蛋白质,对氨基酸和粗肽液分析,判断获取率和性能,为废物的利用提供实验依据.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1) 材料.章鱼内脏(-20°C 保存,厦门市东海洋水产品进出口有限公司);碱性蛋白酶(6.668 mkat)、中性蛋白酶(6.668 mkat)、木瓜蛋白酶(33.34 mkat)、动物(复合)蛋白水解酶 A_5 (2.500 5 mkat) (-20°C 保存,广州市南宁庞博生物工程有限公司).

2) 试剂.磷酸二氢钠,磷酸氢二钠,水杨酸,过氧化氢, FeSO_4 , FeCl_2 , $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, FeCl_3 , Ferrozine (西陇化工股份有限公司);氢氧化钠,酒石酸钾钠,硫酸铜,三氯乙酸(上海国药集团化学试剂有限公司);牛血清白蛋白(美国 Amresco 公司).

1.2 仪器与设备

JJ-2 型组织捣碎匀浆机(江苏省常州市国华电器有限公司);pH700 型 pH 计(美国 Eutech Instruments 公司);DKZ-2 型电热恒温振荡水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);RO-NF-UF-4010 型膜分离设备, HPS-10, HPS-1 型超滤膜组件(上海摩速科学器材有限公司);VIS-7220 型分光光度计(北京瑞利

收稿日期: 2015-05-03

通信作者: 黄惠莉(1962-),女,教授,主要从事海洋资源开发与利用的研究. E-mail: hlhuang@hqu.edu.cn

基金项目: 福建省厦门市农业科技重点项目(2013N0022)

分析仪器公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 复合氨基酸的制备 蛋白酶(广西南宁庞博生物工程有限公司)的水解最优条件,如表 1 所示。表 1 中: θ 为温度; ρ 为底物质量浓度; t 为时间。复合氨基酸的制备过程如下:章鱼下脚料匀浆→调固液比、pH 值、预热至反应温度 10 min→加酶水解→灭酶(100 ℃水浴,10 min)→4 500 r·m⁻¹,离心 15 min→上清液通过氨基酸分析仪分析检测。

表 1 4 种蛋白酶的最优水解条件
Tab.1 Optimal hydrolysis conditions of four kinds of proteases

蛋白酶种类	$\theta/^\circ\text{C}$	pH 值	$\rho/\%$	$z/\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$	t/h
ku 碱性蛋白酶	50	8.0	4	13.336	2.5
中性蛋白酶	50	7.5	5	8.335	2.5
木瓜蛋白酶	60	6.5	5	10.002	1.5
动物蛋白酶 A ₅	45	7.0	5	10.002	2.5

抗氧化肽类的制备如下:章鱼下脚料匀浆→调固液比、pH 值、预热至反应温度 10 min→加酶水解→灭酶(100 ℃水浴,10 min)→纱布过滤→超滤膜 10 ku(截留相对分子质量 10 ku)过滤→超滤膜 1 ku(截留相对分子质量 1 ku)过滤→1~10 ku 的浓缩液→冷冻干燥备用→检测抗氧化性能时用去离子水溶解即可。

1.3.2 氨基酸的测定 酸解液(全部氨基酸溶液 GBT 5009.124—2003)及水解液(游离氨基酸溶液)委托青岛科标检测中心进行检测。

1.3.3 抗氧化性能检测 1) 羟基(·OH)清除能力的测定.将 0.5 mL 不同质量浓度的多肽溶液,0.5 mL 的 FeSO₄(6 mmol·L⁻¹),及 0.5 mL 的 H₂O₂(6 mmol·L⁻¹)混匀,静置 10 min.在溶液中加入 0.5 mL 的水杨酸(6 mmol·L⁻¹),记为 A_i;在溶液中加入去离子水,记为 A_j;在溶液中加入多肽,记为 A_j。将溶液静置 30 min 后,12 000 r·min⁻¹离心 2 min,取上清液于 510 nm 下测定吸光度,即

$$Y = [1 - (A_i - A_j)/A_o] \times 100\% . \tag{1}$$

式(1)中:Y 为羟基(·OH)清除率,%;A_i 为多肽水溶液吸光值;A_j 为多肽水溶液空白吸光值;A_o 为试剂空白吸光值。

2) Fe²⁺螯合能力的测定.将 1 mL 不同质量浓度的多肽溶液,3.7 mL 的水,0.1 mL 的 FeCl₂(2 mmol·L⁻¹),及 0.2 mL 的 Ferrozine(0.5 mmol·L⁻¹)混匀,记为 A_i;用去离子水代替 Ferrozine,记为 A_j;去离子水代替多肽溶液,记为 A'_i;去离子水代替多肽溶液和 Ferrozine,记为 A'_j。溶液静置 20 min 后,于 562 nm 下测定吸光度,有

$$Y = (A_i - A_j)/(A'_i - A'_j) \times 100\% . \tag{2}$$

式(2)中:Y 为 Fe²⁺螯合率,%;A_i 为多肽水溶液吸光值;A_j 为多肽水溶液不加显色剂吸光值;A'_i 为水溶液吸光值;A'_j 为水溶液不加显色剂吸光值。

3) 还原能力的测定.将 1 mL 不同质量浓度的多肽溶液,1 mL 的 PBS(pH 值为 6.6),1 mL 的 K₃Fe(CN)₆(质量分数为 1%)混匀,在 50℃下,反应 20 min.在溶液中加入 1 mL 的 TCA(质量分数为 10%)后,3 000 r·min⁻¹离心 10 min.取 1 mL 的上清液,加入 1 mL 的去离子水和 0.2 mL 的 FeCl₃(质量分数为 0.1%),于 700 nm 下测定吸光度,做多肽浓度与吸光值的曲线。

4) 粗肽液验证.利用反相高效液相色谱法,对 4 种蛋白酶水解液中的 1~10 ku 的粗肽液进行初步分离纯化,判断其纯化效果.具体实验条件如下:色谱柱为 Bio-C18;流动相 A 为 0.1%的 TFA,B 为乙腈-TCA;流速为 1.0 mL·min⁻¹;检测波长为 280 nm;柱温为室温;进样量为 5 μL;多肽质量浓度为 1 mg·mL⁻¹。

2 结果与分析

2.1 水解产物中氨基酸分析

根据节 1.3.1 的实验方法,利用氨基酸分析仪,对 4 种商业蛋白酶水解章鱼下脚料获取的复合氨基

酸上清液进行氨基酸分析,不同水解方法获得的 17 种氨基酸结果,如表 2 所示.

表 2 不同蛋白酶水解产物中氨基酸质量比
Tab. 2 Ratio of amino acids from different protease hydrolysates

氨基酸类型	质量比				总氨基酸
	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	动物蛋白酶 A ₅	
天门冬氨酸	0.012 3	0.009 4	0.004 40	0.022 9	0.083 7
苏氨酸	0.017 3	0.006 9	0.004 30	0.025 1	0.025 8
丝氨酸	0.012 3	0.007 2	0.004 60	0.020 7	0.032 5
谷氨酸	0.021 0	0.015 0	0.009 40	0.038 8	0.085 9
甘氨酸	0.005 7	0.004 1	0.002 40	0.007 9	0.045 1
丙氨酸	0.014 2	0.008 4	0.004 20	0.021 2	0.039 6
胱氨酸	0.003 7	0.002 0	0.001 30	0.005 8	0.008 0
缬氨酸	0.013 3	0.008 0	0.004 90	0.020 1	0.020 3
甲硫氨酸	0.008 1	0.004 5	0.002 40	0.010 6	0.018 4
异亮氨酸	0.014 1	0.008 2	0.004 30	0.017 1	0.017 5
亮氨酸	0.026 6	0.016 2	0.009 30	0.046 0	0.049 5
酪氨酸	0.008 2	0.002 0	0.001 60	0.028 6	0.030 6
苯丙氨酸	0.020 9	0.011 3	0.006 10	0.027 8	0.042 3
赖氨酸	0.022 4	0.014 1	0.008 20	0.030 4	0.044 7
组氨酸	0.007 7	0.004 2	0.002 30	0.009 6	0.017 2
精氨酸	0.004 0	0.000 1	0.000 02	0.019 9	0.044 3
脯氨酸	0.005 7	0.005 3	0.001 40	0.008 0	0.025 7
总量	0.227 5	0.126 9	0.071 10	0.360 5	0.631 1

由表 2 可知:碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、以及动物蛋白酶 A₅ 水解得到的复合游离氨基酸的质量比分别为 0.227 5,0.126 9,0.071 1,0.360 5,分别占蛋白质全部水解生成复合氨基酸总量的 36.05%,20.11%,11.27%,57.12%.由此可见:动物蛋白酶水解章鱼下脚料获取氨基酸的效果最好;4 种蛋白酶水解得到的必需氨基酸质量分数分别占每种蛋白酶水解液中总游离复合氨基酸的 53.93%,54.53%,55.56%,49.72%.

由于人和脊椎动物无法自身合成必需氨基酸,或合成速度很慢,所以必需从食物和饲料中摄取和补充,而 4 种蛋白酶水解生成的必需氨基酸,均符合食品与饲料所需的全部 8 种必需氨基酸.

根据 Cui 等^[8]利用碱性和中性蛋白酶对不同动物下脚料进行水解研究,发现不同内脏所得氨基酸比例与种类基本相似,从而判断一种商业蛋白酶对不同蛋白质的酶切位点基本一致.本实验碱性蛋白酶水解产生的氨基酸集中在 Glu,Phe,Lys,Leu 上(均大于 2%),与 Kechaou 等^[9]利用碱性蛋白酶水解乌贼下脚料生成的氨基酸种类相似.碱性蛋白酶水解生成氨基酸顺序为:Leu,Lys,Glu,Phe,Tyr,Thr(大于 50%),中性蛋白酶为 Leu,Glu,Lys,Phe,Aps(大于 50%),木瓜蛋白酶为 Glu,Leu,Lys,Phe(大于 50%).较多集中在疏水性氨基酸上,证实了 3 种蛋白酶具有内切酶的特性.而动物蛋白酶水解生成氨基酸顺序为 Leu,Glu,Lys,Tyr,Phe,Thr(大于 50%),疏水性与亲水性的氨基酸数量基本一致,证实了这种蛋白酶在水解过程,同时发挥了内切和外切酶的特性.另外,部分芳香族氨基酸和脂肪族氨基酸对产品的风味有突出贡献,降低了氨基酸水解液的腥味.

2.2 水解产物中肽类物质的抗氧化性能检测

化合物抗氧化作用的方式和机制有很多种,对蛋白质水解产物进行体外抗氧化活性检测,包括清除自由基的能力、还原能力和金属螯合能力^[10].

用 4 种商业蛋白质水解章鱼下脚料,水解条件,如表 1 所示.水解液经 10 ku 的膜分离装置获取滤过液,再经过 1 ku 的膜分离装置获取浓缩液,即相对分子质量 1~10 ku 的粗肽液.不同类型和质量浓度的多肽难以比较,所以选择 IC50 为指标进行抗氧化性能的评价.

2.2.1 羟基(·OH)清除能力检测 自由基是机体正常氧化反应中产生的一种有害物质.一般经过体内抗氧化酶和其他氧化剂就可以达到清除的效果^[11].其中,羟基是自由基中氧化性最强的一种,Fe²⁺和

H_2O_2 置换生成 Fe^{3+} , OH^- 和 $\cdot\text{OH}$, 再通过水杨酸与 $\cdot\text{OH}$ 反应生成可显色的二羟基苯甲酸, 对比吸光度和 IC_{50} 即可判断清除能力的高低. 用 OriginPro 8.0 进行拟合分析, 结果如图 1 所示.

碱性蛋白酶: $y = 101.02 - 68.16/[1 + (x/0.85)^{2.8}]$,
 $R^2 = 0.9923$, $\text{IC}_{50} = 0.58 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

中性蛋白酶: $y = 138.45 - 114.08/[1 + (x/2.26)^{1.59}]$,
 $R^2 = 0.9988$, $\text{IC}_{50} = 1.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

木瓜蛋白酶: $y = 102.41 - 73.32/[1 + (x/0.86)^{2.15}]$,
 $R^2 = 0.9921$, $\text{IC}_{50} = 0.56 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

动物蛋白酶 A_5 : $y = 99.75 - 75.82/[1 + (x/1.66)^{2.48}]$,
 $R^2 = 0.9999$, $\text{IC}_{50} = 1.28 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

由图 1 可知: 4 种蛋白酶水解产物的拟合 R^2 均在 0.99 以上, 拟合度高. 碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解产物的最高清除能力可达 95% 以上, IC_{50} 分别为 $0.58, 0.56 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 中性蛋白酶和动物蛋白酶水解产物的最高清除能力在 95% 以下, IC_{50} 分别为 $1.04, 1.28 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. 酶解产物清除 $\cdot\text{OH}$ 的能力由大到小的蛋白酶为: 木瓜蛋白酶 > 碱性蛋白酶 > 中性蛋白酶 > 动物蛋白酶 A_5 .

经研究发现: 含硫氨基酸(Cys, Met)、芳香族氨基酸(Trp, Tyr, Phe)、含咪唑基氨基酸(His)能有效清除羟基, 但是单个氨基酸存在时无法发挥活性, 只能通过肽链或与蛋白质的结合达到清除羟基的活性作用^[12]. 由此推断碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解章鱼下脚料水解产物的肽类能暴露更有益于清除 $\cdot\text{OH}$ 的肽键和氨基酸.

2.2.2 Fe^{2+} 螯合能力检测 抗氧化化合物在抑制或缓解氧化时, 也可以通过螯合金属的方式. 1894 年, Fenton^[13] 发现 Fe^{2+} 与 H_2O_2 反应可以产生 $\cdot\text{OH}$, 证明 Fe^{2+} 能置换出羟基, 进而危害人类健康. 所以实验中利用 Fe^{2+} , Fe^{3+} 和 Ferrozine 的显色机理, 控制肽类的质量浓度减少 Fe^{2+} 的生成率, 对比吸光度和 IC_{50} 即可判断螯合能力的高低. 用 OriginPro 8.0 进行拟合分析, 结果如图 2 所示.

碱性蛋白酶: $y = 90.11 - 46.22/[1 + (x/0.61)^{6.54}]$,
 $R^2 = 0.9999$, $\text{IC}_{50} = 0.46 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

中性蛋白酶: $y = 80.60 - 79.14/[1 + (x/0.99)^{2.42}]$,
 $R^2 = 0.9994$, $\text{IC}_{50} = 1.20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

木瓜蛋白酶: $y = 59.21 - 55.11/[1 + (x/1.25)^{2.13}]$,
 $R^2 = 0.9999$, $\text{IC}_{50} = 2.66 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

动物蛋白酶 A_5 : $y = 62.81 - 63.38/[1 + (x/1.62)^{2.48}]$, $R^2 = 0.9992$, $\text{IC}_{50} = 2.82 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

由图 2 可知: 4 种蛋白酶水解产物的 R^2 均在 0.999 以上, 有的甚至达到 0.9999, 拟合度高. 碱性蛋白酶的 IC_{50} 为 $0.46 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 是 4 种蛋白酶水解产物中最小的, 说明其水解产物中多肽能十分有效快速地螯合 Fe^{2+} ; 另外与 $\cdot\text{OH}$ 清除率相比, 中性比木瓜蛋白酶水解产物更有效地螯合 Fe^{2+} , 但中性比木瓜蛋白酶水解产物的螯合能力大 20%, IC_{50} 分别为 $1.22 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $2.66 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 在动物蛋白酶中, 随着肽类质量浓度增加, 螯合率变化平缓, IC_{50} 为 $2.82 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

对金属螯合能力起到有效作用的多肽一般含有酸性或者碱性的氨基酸侧链. Chen 等^[14] 发现多肽的疏水性与螯合能力基本没有关系, 而与含有 His 的多肽链有关. 判断碱性蛋白酶在水解章鱼下脚料后的水解产物中肽类能暴露出更多有益于螯合 Fe^{2+} 的片段.

2.2.3 还原能力检测 还原能力的检测是判断酶解产物中的肽类是否具有将已被氧化的物质还原的能力, 还原力越强即自身抗氧化活性越好. 肽类将 Fe^{3+} (铁氰化钾) 还原成 Fe^{2+} (亚铁氰化钾), Fe^{2+} 与 FeCl_3 反应生成普鲁士蓝($\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$), 在 700 nm 下有最大吸收值, 对比吸光度即可判断还原力的

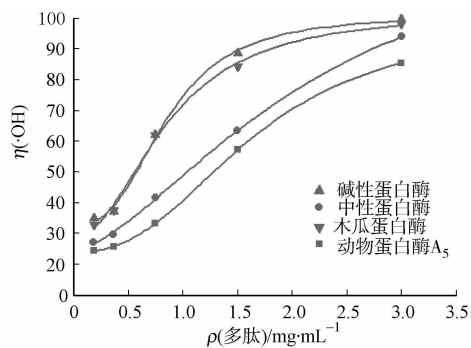


图 1 不同质量浓度肽类的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力

Fig. 1 $\cdot\text{OH}$ scavenging ability of different concentrations of peptides

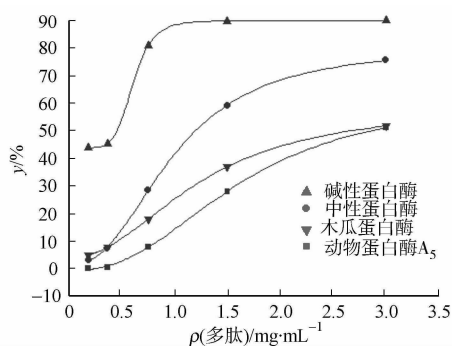


图 2 不同质量浓度肽类的 Fe^{2+} 螯合能力

Fig. 2 Fe^{2+} chelating ability of different concentrations of peptides

高低. 用 OriginPro 8.0 进行拟合分析,得到结果如图 3 所示. 图 3 中: D 表示吸光度.

碱性蛋白酶: $y=1\,499.78-1\,499.62/[1+(x/150.7)^{1.84}]$, $R^2=0.992\,1$;
中性蛋白酶: $y=0.99-0.84/[1+(x/2.11)^{1.83}]$, $R^2=0.988\,3$;
木瓜蛋白酶: $y=158.71-158.82/[1+(x/11\,275.79)^{0.6}]$, $R^2=0.992\,1$;
动物蛋白酶 A_5 : $y=8.08-8.02/[1+(x/41.49)^{0.86}]$, $R^2=0.994\,1$.

由图 3 可知:4 种蛋白酶水解产物中粗酶液在还原能力检测上 R^2 接近 0.99,拟合度较好;碱性蛋白酶水解产物中肽类随着质量浓度的增加,还原能力大大增大,而其他 3 种蛋白酶水解产物中的肽类随着质量浓度的增加呈直线上升水平. 试验是通过吸光度判断肽类的还原能力,而 IC_{50} 的原理是计算清除率 50% 的蛋白质质量浓度,所以这里不用 IC_{50} 、仅对比吸光度判断肽类的还原能力. 对比其他文献,发现这 4 种蛋白酶水解章鱼下脚料的时间较短,但还原力较高^[15-16],可以作为很好的还原剂加以利用.

2.3 多肽的验证

对粗肽液进行反相高效液相色谱分析,判断多肽的可纯化程度结果,如图 4 所示. 图 4 中:1 为碱性蛋白酶;2 为动物蛋白酶;3 为中性蛋白酶;4 为木瓜蛋白酶.

由图 4 可知:Bio-C18 柱可以有效地分离多肽混合液. 4 种蛋白质水解液在相同质量浓度下进行分离纯化的,所以对比发现碱性蛋白酶水解液中多肽的种类和质量浓度较多,而动物蛋白酶的较少. 由此推断动物蛋白酶可以将章鱼下脚料中的蛋白质大部分水解成氨基酸,而碱性蛋白酶、中性蛋白酶和木瓜蛋白酶可以获取具有抗氧化活性较高的多肽,其中,碱性蛋白酶的抗氧化效果最好. 另外,通过反相高效液相色谱和 Bio-C18 柱的结合,可以一次性有效得分离纯化水解液中的小分子肽,相对于其他献中需要结合凝胶色谱、离子交换色谱等方法,更加简便快捷.

3 结束语

通过 4 种常见商业蛋白酶对章鱼下脚料中蛋白质的初步水解实验发现,动物蛋白酶 A_5 水解后获取的复合氨基酸质量分数最多,有着蛋白酶用量少、酶解时间较短的优点,可以作为工厂大规模加工获取复合氨基酸的参考及选择. 另外,4 种蛋白酶水解章鱼下脚料后获取的粗肽液均有不同程度的抗氧化能力,可以作为提取天然抗氧化的基础,但还需进一步纯化分析才能获取活性更好的化合物.

参考文献:

[1] COLIN B. Marine nutraceuticals and functional foods[M]. America;CRC Press Inc,2007:8-13.
[2] WU Guoyao. Amino acids: Metabolism, functions and nutrition[J]. Amino Acids,2009,37(1):1-17.
[3] YIN Huaixia,PU Jianing,WAN Yuting,et al. Rheological and functional properties of catfish skin protein hydrolysates[J]. Journal of Food Science,2010,75(1):11-17.
[4] NEKLYUDOV A D,IVANKIN A N,BERDUTINA A V. Properties and uses of protein hydrolysates (review) [J]. Applied Biochemistry and Microbiology,2000,36(5):452-459.
[5] RAGHAVAN S,KRISTINSSON H G. ACE-inhibitory activity of tilapia protein hydrolysates[J]. Food Chemistry,2009,117(4):582-588.

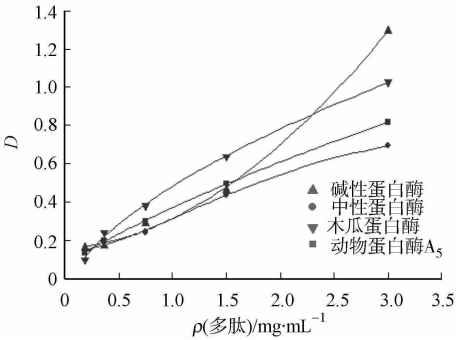


图 3 不同质量浓度多肽的吸光度
Fig. 3 Absorbance of different concentrations of peptides

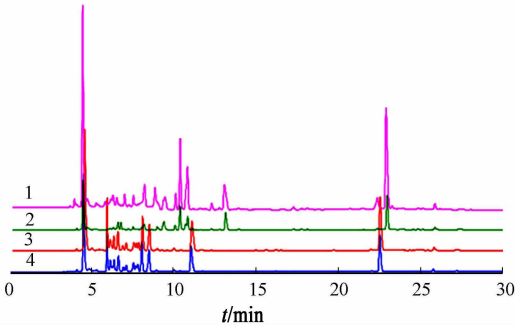


图 4 4 种粗肽液的反相高效液相色谱
Fig. 4 RP-HPLC of four crude peptide liquids

[6] ANUSHA G P,EUNICE C Y. Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from pacific hake (*merluccius productus*)[J]. Food Chemistry,2008,107(2):768-776.

[7] SHANIDI F,ZHONG Y. Bioactive peptides[J]. Journal of Aoac International,2008,91(4):914-931.

[8] CUI Jian,CHONG B,RUTHERFURD S M,et al. Gross and true ileal digestible amino acid contents of several animal body proteins and their hydrolysates[J]. Meat Science,2013,94(3):349-354.

[9] KECHAOU E S,DUMAY J,CLAIRE D M,et al. Enzymatic hydrolysis of cuttlefish (*sepia officinalis*) and sardine (*sardina pilchardus*) viscera using commercial proteases: Effects on lipid distribution and amino acid composition [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering,2009,107(2):158-164.

[10] 陈洁,胡晓赞. 蛋白水解物的抗氧化性研究与展望[J]. 中国食品学报,2011,11(9):111-119.

[11] 张昊,任发政. 天然抗氧化肽的研究进展[J]. 食品科学,2008,29(4):443-447.

[12] CHAN K M. Endogenous skeletal muscle antioxidants[J]. Food Science Nutrition,1994,34(4):403-426.

[13] FENTON H J H. LXXIII-Oxidation of tartaric acid in presence of iron[J]. Journal of Chemical Society,1894,65: 899-910.

[14] CHEN H M,MURAMOTO K,YAMAUCHI F,et al. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,1998,46(1):49-53.

[15] 厉望,靳挺,武玉学. 带鱼蛋白酶解条件优化及酶解物抗氧化性能[J]. 食品科学,2013,34(9):234-239.

[16] 余杰,杨振国,钟炼,等. 酶法制备牡蛎抗氧化肽研究[J]. 中国海洋药物杂志,2012,31(3):31-36.

Product Analysis of Protein Hydrolysate From Octopus Leftovers

HUANG Huili^{1,2}, ZHANG Shuang¹, ZHANG Yurong³,
ZHANG Luying³, WANG Kaiming³

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;
2. Environment and Resource Institute, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;
3. Xiamen East China Sea Aquatic Products Import and Export Company Limited, Xiamen 361012, China)

Abstract: In order to improve the comprehensive utilization of leftovers, four kinds of proteases were used to hydrolyze the octopus leftovers, and the amino acids and antioxidant peptides from the hydrolysate were preliminarily analyzed. The results show that the compound amino acid content from the animal protease hydrolysate could reach up to 57.12%. The •OH scavenging ability IC₅₀ of four kinds of hydrolysates were all less than 1.28 mg • mL⁻¹, and the Fe²⁺ chelating ability IC₅₀ were all less than 2.82 mg • mL⁻¹. The reduction increased with the peptide concentration increasing. It indicates that the process conditions and method can obtain two kinds of active substances (amino acid and antioxidant peptide), which provides experimental basis for the maximum utilization of the octopus leftovers.

Keywords: octopus; leftovers; enzymatic hydrolysis; compound amino acid; antioxidant peptide

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 刘源岗)