

doi: 10.11830/ISSN.1000-5013.201605014



响应面法优化酶法提取马鲛鱼油

黄惠莉¹, 童记强¹, 汪泳², 马赫¹

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021;

2. 惠安瑞芳食品有限公司, 福建 泉州 362131)

摘要: 为了提高马鲛鱼的综合利用价值,采用单因素实验和响应面优化实验对马鲛鱼下脚料中鱼油的提取工艺进行研究,并对其脂肪酸组成进行分析.结果表明:马鲛鱼油提取的适宜工艺条件是 pH 值为 7,中性蛋白酶加酶量为 1.5%,酶解时间为 3 h,液固比为 3:1,酶解温度为 52℃,马鲛鱼油提取率为 75.38%.对马鲛鱼油的脂肪酸进行分析,共检出 12 种脂肪酸,其中,不饱和脂肪酸质量分数为 54.13%,二十碳五烯酸(EPA)质量分数为 8.40%,二十二碳六烯酸(DHA)质量分数为 7.06%,EPA 和 DHA 的质量分数较高.

关键词: 马鲛鱼油; 酶解; 脂肪酸; 响应面法

中图分类号: TS 224; TQ 644

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2016)05-0595-05

Optimization of Enzymatic Extraction Conditions of Spanish Mackerel Oil by Response Surface Methodology

HUANG Huili¹, TONG Jiqiang¹, WANG Yong², MA He¹

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;

2. Huian Ruifang Food Corporation Limited, Quanzhou 362131, China)

Abstract: In order to improve the comprehensive utilization value of spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*), the single factor and response surface optimization experiments were used to study the extraction process of oil from spanish mackerel waste and the fatty acid composition was also analyzed. Experiment results showed that: pH 7.5, dosage of neutral protease enzyme 1.5%, hydrolysis time 3 h, rate of liquid to material 3:1, and hydrolysis temperature 52℃ were the optimal processing conditions. Under these conditions, the extraction rate of spanish mackerel oil was 75.38%. Furthermore, by fatty acid analysis of spanish mackerel oil, 12 kinds of fatty acids were determined. The unsaturated fatty acids were 54.13% of the total fatty acids, and EPA was 8.40%, DHA was 7.06%, which showed higher content of EPA and DHA.

Keywords: spanish mackerel oil; enzymatic hydrolysis; fatty acid; response surface methodology

马鲛鱼(*Scomberomorus niphonius*)体内含有较多的脂肪酸,尤其是不饱和脂肪酸和蛋白.常食可增强机体免疫力^[1].目前,马鲛鱼的利用主要在冻品、鲜销,以及制备马鲛鱼卷或其他鱼食品方面^[2].在马鲛鱼制品的加工过程中,下脚料废弃较多,充分开发这些下脚料有利于提高马鲛鱼的附加值.近年来,关于鱼类油脂提取工艺的研究较多^[3-6],但利用马鲛鱼下脚料提取鱼油的研究较少^[7].目前,鱼油的提取方法主要有压榨法、溶剂法、蒸煮法、淡碱水解法、酶解法与超临界流体萃取法等^[5,8-9].酶解法是利用蛋白酶对蛋白质的水解,破坏蛋白质和鱼油的结合关系,从而释放出鱼油.酶解法提取鱼油工艺条件温和,提取出的鱼油品质好,且蛋白质水解液可以再利用.本文通过酶法水解马鲛鱼下脚料,通过响应面法优

收稿日期: 2015-09-28

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

基金项目: 福建省重点科研资助项目(2013N0022)

化酶法水解工艺,并测定其脂肪酸组成.

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 实验原料 将马鲛鱼下脚料(主要为鱼皮和鱼骨,福建省泉州市惠安瑞芳食品有限公司)于-20℃的冰箱冷冻,再将其切碎,贮藏备用.

1.1.2 实验药品 木瓜蛋白酶(酶活 333.4 kat·g⁻¹)、风味蛋白酶(酶活 6.668 kat·g⁻¹)、中性蛋白酶(酶活 66.68 kat·g⁻¹)、碱性蛋白酶(酶活 6.668 kat·g⁻¹)、动物蛋白酶(酶活 0.25 kat·g⁻¹)均由南宁庞博生物工程有限公司提供;石油醚(沸点 60~90℃)、盐酸、氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇、硫酸、正己烷(分析纯)均由上海国药集团化学试剂有限公司提供.

1.1.3 实验仪器与设备 SXT-02 型索氏提取器(上海洪纪仪器设备有限公司);ME204E 型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);PK-S22 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);HJ-4A 型数显恒温磁力搅拌器(江苏省金坛市医疗仪器厂);pH 700 型台式 pH 计(美国优特公司);TG16-WS 型台式高速冷冻离心机(长沙市湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);GCMC-QP 2010 Plus 型气相色谱联用仪(日本岛津公司).

1.2 实验方法

1.2.1 马鲛鱼下脚料基本成分的测定 水分测定采用常压干燥法,参照国家标准 GB 5009.3-2010《食品中水分的测定》;粗蛋白质测定采用凯氏定氮法,参照国家标准 GB 5009.5-2010《食品中蛋白质的测定》;粗脂肪测定采用索氏提取法,参照国家标准 GB/T 5009.6-2003《食品中脂肪的测定》;灰分测定可采用灼烧法,参照国家标准 GB 5009.4-2010《食品中灰分的测定》.

1.2.2 酶法提取马鲛鱼油工艺 称取 25 g 马鲛鱼下脚料,放入 250 mL 烧杯中,加一定量的水,调节 pH 值,加入一定量的蛋白酶,控制搅拌速度为 400 r·min⁻¹,在一定温度条件下,酶解一定时间.酶解完成后,在 8 000 r·min⁻¹的条件下,离心 10 min,分离出上层液,即为马鲛鱼油.最后称量,计算提取率,提取率的计算式为

$$\text{提取率} = \frac{m(\text{鱼油})}{m(\text{下脚料}) \times w} \times 100\%.$$

式中:w 为马鲛鱼下脚料的粗脂肪质量分数.

1.2.3 单因素实验 根据实验结果,选择蛋白酶种类、pH 值、温度、液固比、加酶量、酶解时间作为单因素,以鱼油提取率为评价参数,确定酶法提取马鲛鱼油的工艺范围.

1.2.4 响应面优化实验 根据单因素实验的结果,选取加酶量(ϕ)、酶解时间(t)、液固比、酶解温度(θ)等 4 个影响因素为自变量,以鱼油提取率作为响应值,根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,运用 Design Expert 8.0 进行响应面设计. +1, 0, -1 分别代表 4 因素的高、中、低水平,设计响应面实验因素水平,如表 1 所示.

表 1 响应面实验因素水平表
Tab. 1 Experimental factors and levels of response surface methodology

| 实验水平 | 因素 | | | |
|------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| | A ($\phi/\%$) | B (t/h) | C (液固比/mL·g ⁻¹) | D ($\theta/^\circ\text{C}$) |
| -1 | 0.5 | 1 | 1 : 1 | 45 |
| 0 | 1.0 | 2 | 2 : 1 | 50 |
| +1 | 1.5 | 3 | 3 : 1 | 55 |

1.2.5 气质联用测脂肪酸组成^[10] 取 2 滴样品于 10 mL 试管,加 0.5 mol·L⁻¹氢氧化钾-甲醇溶液 1.0 mL,摇匀,在 60℃水浴中反应 30 min.取出冷却至室温,加入 3 mL 质量分数为 14%的硫酸-甲醇溶液,摇匀,60℃水浴加热 5 min,冷却至室温,加入 3 mL 正己烷提取上层溶液用于气相色谱分析.

色谱柱为 Rtx-5Ms,载气为高纯氮,进样温度为 260℃,柱流量为 2.05 mL·min⁻¹,分流比为 30 : 1.程序升温条件为 120℃,保持 1 min,以 10℃·min⁻¹升温到 200℃,保持 5 min,再以 10℃·min⁻¹

升温到 240 ℃，保持 5 min. 电离方式为电子轰击电离(EI)，离子源温度为 230 ℃，接口温度为 250 ℃，质荷比为 45.00~400.00 $m \cdot z^{-1}$ ，检测器电压为 1 kV.

2 结果与讨论

2.1 马鲛鱼下脚料基本成分

经检测，马鲛鱼下脚料中粗蛋白质质量分数为 22.76%，粗脂肪质量分数为 7.22%，可作为提取油脂的良好原料.

2.2 单因素实验

2.2.1 不同蛋白酶对马鲛鱼油提取率的影响 在加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 0.2%，酶解时间为 3 h，液固比为 1：1，以及酶最适 pH 值和温度的条件下进行酶解. 不同蛋白酶对马鲛鱼油提取率(δ)的影响，如图 1 所示.

由图 1 可知：木瓜蛋白酶得到的鱼油提取率最高，约 73%；其次为碱性蛋白酶和中性蛋白酶. 虽然木瓜蛋白酶的价格是中性蛋白酶价格的两倍，因此，对工业生产而言不是很经济. 而中性蛋白酶是在 pH 值为 7 的条件下，在水体系下的 pH 值约为 7，无需加其他物质调节 pH 值，这适用于工业生产. 因此，实验采用中性蛋白酶提取马鲛鱼油.

2.2.2 pH 值对马鲛鱼油提取率的影响 在酶解温度为 50 ℃，液固比为 1：1，加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 0.2%，酶解时间为 1 h，pH 值分别为 5,6,7,8,9 的条件下进行实验，考察 pH 值对鱼油提取率的影响，结果如图 2 所示.

由图 2 可知：随着 pH 值的升高，鱼油提取率上升；当 pH 值超过 8，鱼油提取率下降. 这是因为酶在特定条件下都有最适 pH 值，pH 值过高或过低都会导致酶的活性降低，甚至失活^[11]. 由于 pH 值在 6~8 时鱼油提取率变化不大，因此，在条件优化时，忽略 pH 值这个单因素.

2.2.3 酶解温度对马鲛鱼油提取率的影响 在 pH 值为 7，液固比为 1：1，加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 0.2%，酶解时间为 1 h，酶解温度分别为 20,30,40,50,60 ℃的条件下进行实验，考察酶解温度对鱼油提取率的影响，结果如图 3 所示.

由图 3 可知：随着酶解温度的升高，鱼油提取率逐渐升高；当酶解温度为 50 ℃时，提取率最高；当酶解温度超过 50 ℃时，提取率反而下降. 这是因为温度的升高有助于提高分子热运动，使酶能更好地与底物结合^[12]. 温度过高，鱼油的颜色也会加深，影响鱼油品质. 因此，最适酶解温度选择 50 ℃.

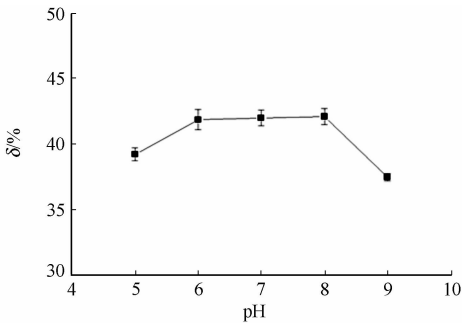


图 2 pH 值对马鲛鱼油提取率的影响
Fig. 2 Effect of pH on extraction rate of spanish mackerel oil

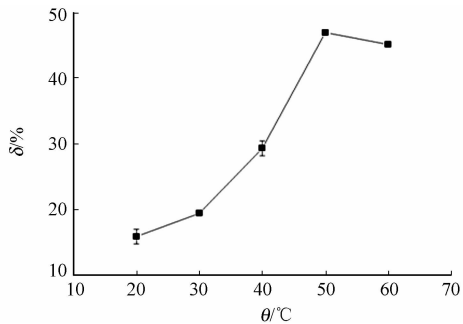


图 3 酶解温度对马鲛鱼油提取率的影响
Fig. 3 Effect of hydrolysis temperature on extraction rate of spanish mackerel oil

2.2.4 液固比对马鲛鱼油提取率的影响 在 pH 值为 7，酶解温度为 50 ℃，加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 0.2%，酶解时间为 1 h，液固比分别为 1：2,1：1,2：1,3：1,4：1 的条件下进行实验，考察液固比对鱼油提取率的影响，结果如图 4 所示.

由图 4 可知:随着液固比的增加,鱼油提取率逐渐上升;当液固比上升到 2 : 1 时,提取率最高;当液固比继续升高,鱼油提取率反而下降. 在反应体系中,当水的质量分数较低时,酶在反应体系中分布不均,不能很好地与底物接触^[13];当水的质量分数过高时,酶的相对浓度降低,使酶和底物接触减少,鱼油提取率会下降. 因此,最适的液固比选择 2 : 1.

2.2.5 加酶量对马鲛鱼油提取率的影响 在 pH 值为 7,酶解温度为 50 ℃,液固比为 2 : 1,酶解时间为 1 h,加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 0%,0.2%,0.5%,1%,3%的条件下进行实验,考察加酶量对鱼油提取率的影响,结果如图 5 所示.

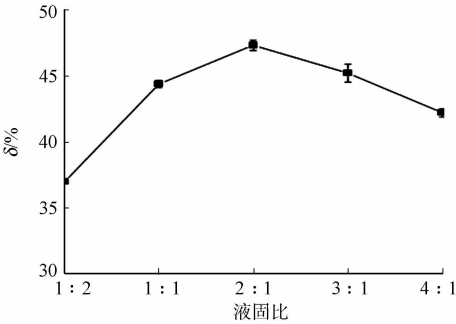


图 4 液固比对马鲛鱼油提取率的影响
Fig. 4 Effect of liquid to solid ratio on vextraction rate of spanish mackerel oil

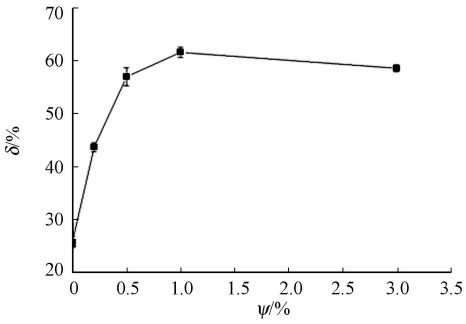


图 5 加酶量对马鲛鱼油提取率的影响
Fig. 5 Effect of enzyme dosage on extraction rate of spanish mackerel oil

由图 5 可知:随着加酶量的增加,鱼油提取率也升高;当加酶量达到 1%后,继续增加酶的质量分数,鱼油提取率没有明显变化,有少量下降. 随着酶质量分数的增加,更多的蛋白质被降解,被释放的脂肪质量分数也随之增加^[14]. 但当反应达到饱和后,过量的酶会对酶自身产生水解作用,导致提取率有少量降低. 因此,最适的加酶量为下脚料质量的 1%.

2.2.6 酶解时间对马鲛鱼油提取率的影响 在 pH 值为 7,酶解温度为 50 ℃,液固比为 2 : 1,加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 1%的条件下,调节酶解时间分别为 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 h 进行实验,考察酶解时间对鱼油提取率的影响,结果如图 6 所示.

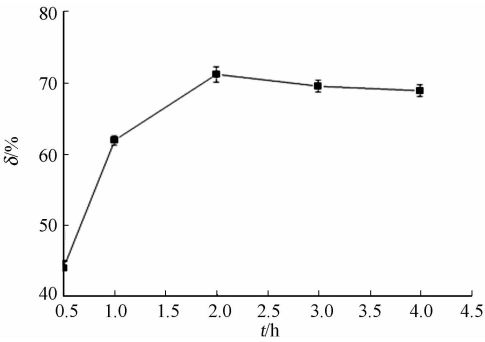


图 6 酶解时间对马鲛鱼油提取率的影响
Fig. 6 Effect of hydrolysis time on extraction rate of spanish mackerel oil

由图 6 可知:随着酶解时间的增加,鱼油的提取率逐渐升高;当酶解时间达 2 h 时,鱼油提取率达 71.2%;继续增加酶解时间,鱼油提取率没有明显变化;随着酶解时间的增加,酶和底物能更加充分地作用. 因此,鱼油提取率上升. 但酶解时间越长,提取鱼油的工艺生产周期也越长,不利于工艺生产的经济效益. 因此,最适的酶解时间选择为 2 h.

2.3 响应面法优化酶解条件

响应面实验结果,如表 2 所示. 表 2 中:δ 为提取率. 对表 2 的数据进行多项式拟合回归,经优化后得到以鱼油得率(Y) 为因变量,以加酶量(A)、酶解时间(B)、液固比(C)、酶解温度(D)为自变量的回归方程,即

$$Y = 64.37 + 4.81A + 1.28B + 4.14C + 2.16D + 8.45AB + 5.28AC + 2.99AD + 1.92BC + 0.92BD + 2.80CD - 7.60A^2 - 3.56B^2 - 3.43C^2 - 11.31D^2.$$

回归方程方差分析表,如表 3 所示. 由表 3 可知: $P < 0.0001$,表明模型具有显著统计学意义,且失拟项 $P = 0.1288 > 0.05$,即失拟项无统计学意义. 模型 $R^2 = 0.9326$,校正 $R^2_{Adj} = 0.8540$,说明这个回归模型拟合地很好.

因此,此模型建立成功,适合用于酶法提取马鲛鱼油的条件优化. 其中,A,C,D,AB,AC, A^2 , B^2 , C^2 , D^2 的 P 值均小于 0.05,对鱼油提取率影响具有统计学意义,根据模型的线性数值大小,可以得出各

因素对鱼油提取率的影响大小为 $A>C>D>B$, 即加酶量>液固比>酶解温度>反应时间. 加酶量和酶解时间、加酶量和液固比的交互作用对鱼油提取率的影响较大.

表 2 响应面实验结果

Tab. 2 Experimental results of response surface methodology

| 试验号 | A | B | C | D | $\delta/\%$ | 试验号 | A | B | C | D | $\delta/\%$ |
|-----|------|------|------|-------|-------------|-----|------|------|------|-------|-------------|
| 1 | 1.50 | 1.00 | 2.00 | 50.00 | 46.52 | 15 | 1.50 | 3.00 | 2.00 | 50.00 | 69.48 |
| 2 | 1.00 | 2.00 | 3.00 | 55.00 | 54.03 | 16 | 1.50 | 2.00 | 2.00 | 55.00 | 57.72 |
| 3 | 0.50 | 2.00 | 2.00 | 55.00 | 42.60 | 17 | 1.00 | 2.00 | 1.00 | 55.00 | 45.27 |
| 4 | 1.00 | 3.00 | 2.00 | 45.00 | 46.38 | 18 | 0.50 | 3.00 | 2.00 | 50.00 | 42.08 |
| 5 | 1.00 | 2.00 | 2.00 | 50.00 | 62.86 | 19 | 0.50 | 2.00 | 2.00 | 45.00 | 41.87 |
| 6 | 1.00 | 2.00 | 1.00 | 45.00 | 49.91 | 20 | 1.50 | 2.00 | 2.00 | 45.00 | 45.03 |
| 7 | 1.00 | 3.00 | 3.00 | 50.00 | 63.89 | 21 | 0.50 | 1.00 | 2.00 | 50.00 | 52.91 |
| 8 | 1.50 | 2.00 | 3.00 | 50.00 | 69.46 | 22 | 1.00 | 1.00 | 3.00 | 50.00 | 61.05 |
| 9 | 1.00 | 1.00 | 2.00 | 55.00 | 49.03 | 23 | 1.00 | 2.00 | 2.00 | 50.00 | 65.41 |
| 10 | 1.00 | 1.00 | 2.00 | 45.00 | 45.58 | 24 | 1.00 | 2.00 | 2.00 | 50.00 | 64.85 |
| 11 | 0.50 | 2.00 | 3.00 | 50.00 | 49.69 | 25 | 1.00 | 2.00 | 3.00 | 45.00 | 47.47 |
| 12 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 50.00 | 57.41 | 26 | 1.50 | 2.00 | 1.00 | 50.00 | 44.69 |
| 13 | 1.00 | 3.00 | 2.00 | 55.00 | 53.51 | 27 | 0.50 | 2.00 | 1.00 | 50.00 | 46.03 |
| 14 | 1.00 | 3.00 | 1.00 | 50.00 | 52.55 | | | | | | |

表 3 回归方程方差分析表

Tab. 3 Variance analysis of regression equation

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F | P | 显著性 |
|----------------|----------|-----|--------|-------|-----------|-----|
| 模型 | 1 828.13 | 14 | 130.58 | 11.86 | < 0.000 1 | 显著 |
| A | 277.63 | 1 | 277.63 | 25.22 | 0.000 3 | — |
| B | 19.74 | 1 | 19.74 | 1.79 | 0.205 4 | — |
| C | 206.09 | 1 | 206.09 | 18.72 | 0.001 0 | — |
| D | 55.99 | 1 | 55.99 | 5.09 | 0.043 6 | — |
| AB | 285.44 | 1 | 285.44 | 25.93 | 0.000 3 | — |
| AC | 111.41 | 1 | 111.41 | 10.12 | 0.007 9 | — |
| AD | 35.76 | 1 | 35.76 | 3.25 | 0.096 6 | — |
| BC | 14.82 | 1 | 14.82 | 1.35 | 0.268 4 | — |
| BD | 3.39 | 1 | 3.39 | 0.31 | 0.589 4 | — |
| CD | 31.36 | 1 | 31.36 | 2.85 | 0.117 2 | — |
| A ² | 308.05 | 1 | 308.05 | 27.99 | 0.000 2 | — |
| B ² | 67.64 | 1 | 67.64 | 6.14 | 0.029 0 | — |
| C ² | 62.70 | 1 | 62.70 | 5.70 | 0.034 3 | — |
| D ² | 682.22 | 1 | 682.22 | 61.98 | < 0.000 1 | — |
| 残差 | 132.09 | 12 | 11.01 | — | — | — |
| 失拟 | 128.50 | 10 | 12.85 | 7.15 | 0.128 8 | 不显著 |
| 误差 | 3.59 | 2 | 1.80 | — | — | — |
| 总和 | 1 960.22 | 26 | — | — | — | — |

2.4 最佳条件预测与验证

根据 Box-Behnken 方法分析, 得到鱼油提取率的最佳反应条件: 加酶量为 1.5%, 酶解时间为 3 h, 液固比为 3 : 1, 酶解温度为 51.98 ℃. 此时, 提取率的预测值为 77.41%. 将其最佳反应条件进行调整: 加酶量为 1.5%, 酶解时间为 3 h, 液固比为 3 : 1, 酶解温度为 52 ℃, 在此条件下进行 3 次平行实验, 得平均值为 75.38%, 与理论值接近. 这说明采用响应面优化得到的 DAG 数据可靠, 具有预测使用价值.

2.5 马鲛鱼油脂肪酸组成分析

对提取的马鲛鱼油进行 GC/MS 分析, 结果如表 4 所示. 表 4 中: η 为质量分数. 由表 4 可知: 从马鲛鱼油分离出 12 种脂肪酸, 多不饱和脂肪酸以二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)为主. 由此

可知:马鲛鱼油中 EPA 和 DHA 的质量分数比一般鱼类的高^[11,13-14],具有一定的开发利用价值.

表 4 马鲛鱼油脂肪酸组成
Tab. 4 Composition of fatty acid of spanish mackerel oil

| | | | | | | | | |
|-----------|-------|--------|-------|-------|-------|---------|---------|------|
| 脂肪酸名称 | 肉豆蔻酸 | 十五烷酸 | 棕榈酸 | 棕榈油酸 | 十七酸 | 硬脂酸 | 油酸 | 亚油酸 |
| $\eta/\%$ | 10.98 | 0.88 | 22.98 | 15.29 | 0.97 | 7.89 | 19.02 | 0.95 |
| 脂肪酸名称 | 花生酸 | 二十碳四烯酸 | EPA | DHA | 饱和脂肪酸 | 单不饱和脂肪酸 | 多不饱和脂肪酸 | |
| $\eta/\%$ | 0.56 | 3.41 | 8.40 | 7.06 | 44.26 | 34.31 | 19.82 | |

3 结论

1) 通过马鲛鱼下脚料提取单因素设计和响应面优化,得到马鲛鱼油提取的预测模型. 最佳提取条件:pH 值为 7,中性蛋白酶加酶量为马鲛鱼下脚料质量的 1.5%,酶解时间为 3 h,液固比为 3 : 1,酶解温度为 52 ℃,马鲛鱼油提取率为 75.38%.

2) 采用 GC/MS 对马鲛鱼油进行分析,检测出 12 种脂肪酸. 其中,棕榈酸的质量分数最高,达到 22.98%;不饱和脂肪酸质量分数为 54.13%,油酸质量分数最高. 多不饱和脂肪酸以 EPA,DHA 为主, EPA 的质量分数为 8.40%,DHA 质量分数为 7.06%,马鲛鱼油的 EPA 和 DHA 的质量分数比一般粗鱼油更高.

参考文献:

[1] 王攀峰. 马鲛鱼加工副产物酶促水解制备铁结合肽的研究[D]. 杭州:中国计量学院,2014:10.

[2] 娄永江,杨文鸽,王扬,等. 马鲛鱼方便食品的开发[J]. 食品科技,2000,17(6):31.

[3] 胡卫强. 草鱼内脏油脂的提取及其生物柴油的制备研究[D]. 湘潭:湘潭大学,2012:6-7.

[4] MENEGAZZO M L,PETENUCI M E,FONSECA G G. Production and characterization of crude and refined oils obtained from the co-products of *Nile tilapia* and hybrid sorubim processing[J]. Food Chemistry,2014,157(10): 100-104.

[5] RUBIO-RODRÍGUEZ N,De DIEGO S M,BELTRÁN S,et al. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods[J]. Journal of Food Engineering,2012,109(2):238-248.

[6] SAHENA F,ZAIDUL I S M,JINAP S,et al. Fatty acid compositions of fish oil extracted from different parts of *Indian mackerel (Rastrelliger kanagurta)* using various techniques of supercritical CO₂ extraction[J]. Food Chemistry,2010,120(3):879-885.

[7] 毛丽芳,朱新亮,桑卫国. 亚临界流体萃取马鲛鱼加工下脚料中鱼油的研究[J]. 宁波大学学报(理工版),2012,25(4):10-15.

[8] QIAN Junqing,ZHANG Hongyong,LIAO Qiyuan. The properties and kinetics of enzymatic reaction in the process of the enzymatic extraction of fish oil[J]. Journal of Food Science and Technology,2011,48(3):280-284.

[9] KHODDAMI A,ARIFFIN A A,BAKAR J,et al. Fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Sardinella lemuru*) [J]. World Applied Sciences Journal,2009,11(7):127-131.

[10] 郝苗,金黎明,姜波. 气相色谱法测定鲑鱼脂肪酸的含量[J]. 食品与药品,2007,9(10):22-23.

[11] 王苗苗,罗庆华,王海磊,等. 酶解法提取大鲈尾部油的工艺研究[J]. 中国油脂,2015,40(4):6-10.

[12] 李文佳,孟宗,李进伟,等. 响应面法优化淡水鱼内脏酶法水解工艺研究[J]. 中国油脂,2014,39(3):65-69.

[13] 李梦凡,陶宁萍,刘承初,等. 酶解法制备罗非鱼油工艺研究[J]. 中国油脂,2015,40(7):6-11.

[14] 姚东瑞,周鸣谦,刘云鹤,等. 响应面法优化酶法提取泥鳅鱼油的研究[J]. 中国粮油学报,2012,27(6):66-70.

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)