

# Study on the Changes of the Activity of the Lipase and the Phospholipase in the Process of the Processing of the Smelly Mandarin Fish

Yan Zhang, Zhou Li, Yahua Wu\*

College of Food and Biological Engineering, Bengbu University, Bengbu, China  
Email: wuyahua2006@163.com

Received: Oct. 15<sup>th</sup>, 2019; accepted: Oct. 28<sup>th</sup>, 2019; published: Nov. 5<sup>th</sup>, 2019

---

## Abstract

Taking smelly mandarin fish as the object of study, the activities of acid lipase, neutral lipase and phospholipase in different parts of fish were analyzed in this paper. The results showed that the activity of the three enzymes increased gradually in the early stage of the salting, and with the increase of time, the activity of the acid lipase begins to decrease gradually, and the enzyme activity of the neutral lipase and the phospholipase is stable.

## Keywords

Smelly Mandarin Fish, The Course of Processing, Changes of Enzyme Activity

---

# 臭鳊鱼加工过程中脂肪酶和磷脂酶活性变化研究

张艳, 李周, 伍亚华\*

蚌埠学院食品与生物工程学院, 安徽 蚌埠  
Email: wuyahua2006@163.com

收稿日期: 2019年10月15日; 录用日期: 2019年10月28日; 发布日期: 2019年11月5日

---

\*通讯作者。

## 摘要

以臭鳊鱼为研究对象,对腌制过程中不同部位鱼肉的酸脂酶、中性脂肪酶和磷脂酶的酶活变化情况进行了分析。结果显示,在腌制初期,这三种酶的活性逐渐上升,随着时间增长,酸性脂肪酶活性的活性开始逐渐下降,中性脂肪酶和磷脂酶的酶活趋于稳定。

## 关键词

臭鳊鱼,加工过程,酶活变化

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

臭鳊鱼为新鲜鳊鱼腌制发酵后的产物,因其生“臭”熟香[1]、味道鲜美、风味独特[2],成为徽菜的代表之一。影响臭鳊鱼风味的物质较多,脂肪族醛类是较为重要的一大类[3],研究表明,脂质降解和氧化会产生脂肪族醛类[4]。一般而言,影响脂类物质水解的酶主要有脂肪酶和磷脂酶[5]。

本文以臭鳊鱼为研究对象,对加工过程中不同部位肌肉的酸脂酶、中性脂肪酶和磷脂酶活性的变化情况进行研究,以期为臭鳊鱼的深入研究提供参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

#### 2.1.1. 实验试剂

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、柠檬酸、氢氯酸、 $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 、Triton X-100、NaF、95%乙醇、 $\text{CuSO}_4$ 、酒石酸钾钠,均为分析纯。

#### 2.1.2. 仪器设备

匀浆机,722紫外分光光度计,电子天平,恒温数显水浴锅,荧光分光光度计,pH计,控温磁力搅拌器,冷冻离心机。

### 2.2. 实验方法

#### 工艺流程

原料处理、腌制→研碎→匀浆→离心→过滤→测粗酶含量→测酶活性

1) 原料处理、腌制 将新鲜鳊鱼解剖清理,采用浓度为2%淡盐水室温下腌制(分别腌制1 d, 3 d, 5 d, 7 d, 9 d),取鱼肚和鱼背处鱼肉进行以下实验。

2) 研碎、匀浆 称取鱼背和鱼肚处鱼肉各5 g,捣碎后,放入100 mL的烧杯,分别加入缓冲液A 50 mL,冰浴条件下,3000 r均浆15 s。

3) 离心、过滤 将匀浆完全的溶液放离心管内,5℃、10,000 r、离心15 min,抽滤,得粗酶提取液,待用。

## 2.3. 酶活的测定

### 1) 酸性脂肪酶

参照文献[6]。取 0.1 mL 粗酶提取液，加入 2.8 mL 缓冲液 B，混匀后，加入 0.1 mL、1.0 mM (g/mol) 的橄榄油作底物，37℃ 水浴保温 30 min 后，立即用 0.5 mL 95% 乙醇终止反应，用荧光光度计在 328 nm 和 470 nm 处测荧光度。

### 2) 中性脂肪酶

参照文献[6]。取 0.1 mL 粗酶提取液，加入 2.8 mL 缓冲液 C，混匀后，加入 0.1 mL、1.0 mM 的橄榄油作底物，37℃ 水浴保温 30 min 后，立即在冰水浴中冷却，1 min 内用荧光光度计在 328 nm 和 470 nm 处测荧光度。

### 3) 磷脂酶

参照文献[7]。取 0.1 mL 粗酶提取液，加入 2.8 mL 缓冲液 D，混匀后，加入 0.1 mL、1.0 mM (g/mol) 的橄榄油作底物，37℃ 水浴保温 30 min 后，立即用 0.5 mL 95% 乙醇终止反应，用荧光光度计在 328 nm 和 470 nm 处测荧光度。

分别用缓冲液 B、C、D 配制不同浓度梯度的 4-甲基形酮溶液，作标准曲线，定义 1 g 酶在 1 h 内生成 1 mmol 4-甲基形酮，即为一个酶活单位，记为 U。

## 2.4. 各种缓冲溶液的配置

缓冲液 A：精确称取三羟甲基氨基甲烷 6.057 g， $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  18.612 g，Triton X-100 1.0 g，500 mL 容量瓶定容。

缓冲液 B：精确称取柠檬酸 7.163 g， $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2.101 g，Triton X-100 0.05 g，牛血清 0.08 g，100 mL 容量瓶定容。

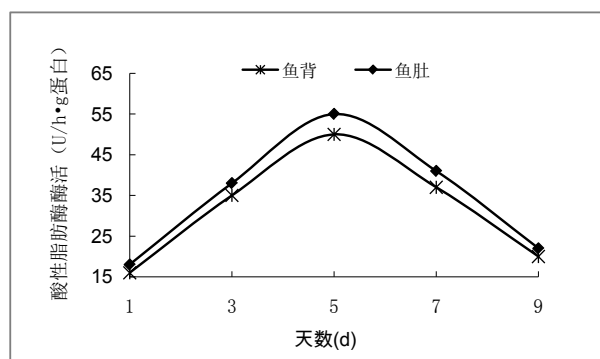
缓冲液 C：精确称取三羟甲基氨基甲烷 2.665 g，Triton X-100 0.05 g，置于 100 mL 容量瓶，定容至快到刻度线时采用 37% 盐酸溶液滴定至 pH7.5。

缓冲液 D：精确称取  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  7.163 g，柠檬酸 2.101 g，NaF 0.63 g，牛血清 0.08 g，100 mL 容量瓶定容。

## 3. 结果及分析

### 3.1. 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的酸性脂肪酶活性变化

臭鳊鱼生产过程中鱼背和鱼肚部位酸性脂肪酶活性变化情况见图 1。

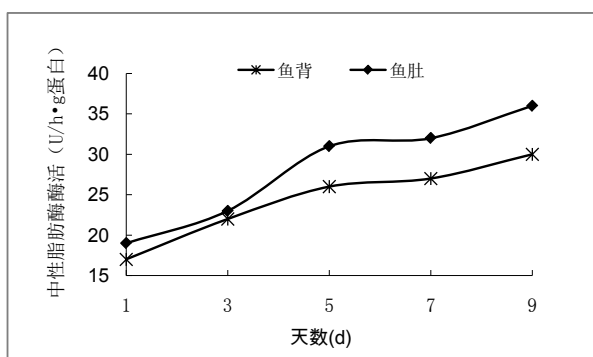


**Figure 1.** Changes of acid lipase activity in back and belly muscles during the production of smelly mandarin fish  
**图 1.** 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的酸性脂肪酶活性变化情况

由图 1 可知, 臭鳊鱼生产过程中鱼背和鱼肚部位的酶活性变化尽管不同, 但趋势基本一致, 都是初期酶活性(鱼肚 18, 鱼背 16)开始逐渐升高, 到达临界点(鱼肚 55, 鱼背 50)时开始降低, 最后趋于平缓状态(鱼肚 22, 鱼背 20)。而鱼肚的酶活性在过程中略大于鱼背的酶活性。

### 3.2. 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的中性脂肪酶活性变化

臭鳊鱼生产过程中鱼背和鱼肚部位中性脂肪酶活性变化情况见图 2。



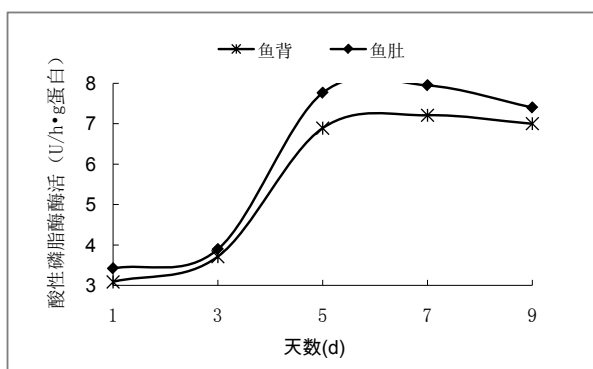
**Figure 2.** The changes of the neutral lipase activity of the back and belly muscles during the process of the production of smelly mandarin fish

**图 2.** 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的中性脂肪酶活性变化

由图 2 可知, 腌制工艺能显著提高臭鳊鱼肌肉中中性脂肪酶的活性。随着腌制时间的推移酶活性(初期, 鱼肚 19, 鱼背 17)升高趋势减缓(后期, 鱼肚 36, 鱼背 30)且肚部的肌肉酶活性大于背部肌肉酶活性。

### 3.3. 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的酸性磷脂酶活性变化

臭鳊鱼生产过程中鱼背和鱼肚部位酸性磷脂酶活性变化情况见图 3。



**Figure 3.** Acid phospholipase activity of back and belly muscles during the production of smelly mandarin fish

**图 3.** 臭鳊鱼生产过程中背部和腹部肌肉的酸性磷脂酶活性变化

由图 3 可知, 臭鳊鱼肌肉中酸性脂肪酶活性在腌制工艺能显著提高(鱼肚 3.420 升至 7.764, 鱼背 3.086 升至 6.891)。随着腌制时间的推移酶活性升高趋势减缓(鱼肚 7.950, 鱼背 7.210)且肚部的肌肉酶活性大于背部肌肉酶活性, 随着腌制时间的推移, 酶活开始降低(鱼肚 7.400, 鱼背 7.001)。从酶水解的反应物以及水解的类型来看, 磷脂酶具有和脂肪酶相似的性质, 但是这两种酶属于不同组酶, 不属于丝氨酸水解酶一类的。

对于脂类物质前体而言,肉类的风味成分形成时,磷脂的贡献最大[8],磷脂酶尽管与脂肪酶归属不同组酶,但是二者的反应底物和水解方式相似。研究发现,腌制金华火腿时,温度及盐是影响磷脂酶活性的主要因子[9];板鸭加工时,盐份及水活度可很好地调控脂肪酶与磷脂酶的活性[10]。因此,研究臭鳊鱼加工过程中脂肪酶和磷脂酶活性变化,对调节臭鳊鱼加工过程中的水解,控制脂肪氧化,提高产品风味,意义较大。下一步,应考虑温度、盐份及水活度对臭鳊鱼加工的具体影响。

#### 4. 结论

在加工臭鳊鱼过程中,腌制前期和中期,酸性脂肪酶活性、中性脂肪酶与酸性磷脂酶的酶活基本上处于上升阶段,酶活随着时间的增加而增加,到腌制后期,酸性脂肪酶的活性开始下降,而中性脂肪酶与酸性磷脂酶的酶活变化不大。此外,鱼肚部位这三种酶活比鱼背部位的稍高。

#### 基金项目

2018 年国家级大学生创新创业训练计划项目(201811305031); 2017 安徽高等教育科学研究项目(KJ2017A567); 安徽省教育厅省级名师工作室(2016msgzs044)。

#### 参考文献

- [1] 宋亚琼, 闫晓明, 丁之恩, 等. 基于模糊数学的臭鳊鱼的感官评定[J]. 中国酿造, 2015, 34(5): 123-126.
- [2] 罗靓芷, 武俊瑞, 刘佳艺, 等. 臭鳊鱼中优良乳酸菌的分离筛选与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(10): 132-136.
- [3] 李春萍, 吴佳佳, 李燕, 等. 臭鳊鱼的风味物质及风味活性物质分析[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(7): 178-184.
- [4] Mottram, D.S. (1998) Flavour Formation in Meat and Meat Products: A Review. *Food Chemistry*, **62**, 415-424. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00076-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4)
- [5] 徐为民, 徐幸莲, 周光宏, 郑安俭, 王道营. 南京板鸭生产过程中脂肪酶和磷脂酶活力变化研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 302-305.
- [6] Vestertgaard, C.S., Schibazappa, C. and Virgili, R. (2000) Lipolysis in Dry Cured Ham Maturation. *Meat Science*, **55**, 1-5. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00095-9)
- [7] Toldra, F. and Flores, M. (1996) Concepcion Aristoy Pattern of Muscle Proteolytic and Lipolytic Enzymes from Light and Heavy Pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **71**, 124-128. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199605\)71:1%3C124::AID-JSFA564%3E3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199605)71:1%3C124::AID-JSFA564%3E3.0.CO;2-0)
- [8] 郇延军, 周光宏, 徐幸莲. 中西方干腌火腿风味成分比较及形成机理分析[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(11): 81-88.
- [9] 郇延军, 周光宏, 徐幸莲. 应用响应曲面法研究金华火腿生产过程中磷脂酶的变化干腌火腿风味成分比较及形成机理分析[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2): 120-123.
- [10] 徐为民, 徐幸莲, 周光宏, 等. 南京板鸭生产过程中脂肪酶和磷脂酶活力变化研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 302-305.