

微波辅助酶解制备藏羊血蛋白及其产物特性分析

余喜露^{1,2} 辜雪冬^{1,2} 陈与进^{1,2} 张鸿鑫^{1,2} 次仁旦珠^{1,2}

(1. 西藏农牧大学食品科学学院, 西藏 林芝 860000;

2. 西藏特色农牧资源研发省部共建协同创新中心, 西藏 林芝 860000)

摘要: [目的]以新鲜藏羊血为原料,考察微波辅助技术对酶解效率的提升作用,实现藏羊血高值化利用。[方法]采用微波辅助胰蛋白酶法,对其中的蛋白质进行酶解,通过单因素和响应面法获得最佳酶解条件,采用扫描电镜和全自动氨基酸分析仪等技术对藏羊血酶解物进行结构表征。[结果]最佳酶解工艺条件为微波温度 40℃、微波时间 50 min、酶解时间 240 min、酶添加量 6 000 U/g、微波功率 348 W、酶解 pH 10、酶解温度 45℃、底物浓度 11%,此条件下蛋白水解度最高,可达(26.38±0.75)%。酶解后小分子活性肽相对分子质量>5 000 的组分占 0.54%,5 000~1 000 的占 10.74%,<1 000 的占 88.72%。[结论]经微波辅助酶解后产物消化吸收性能优异;酶解氨基酸种类及整体组成模式基本保持一致。微波辅助酶解法适用于藏羊血蛋白工艺优化。

关键词:藏羊血;微波辅助;工艺优化;相对分子质量分布;氨基酸组成;蛋白酶解

Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of Tibetan sheep blood protein and analysis of product characteristics

Yu Xilu^{1,2} Gu Xuedong^{1,2} Chen Yujin^{1,2} Zhang Hongxin^{1,2} Ciren Danzhu^{1,2}

(1. College of Food Science, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Nyingchi, Xizang 860000, China;

2. Provincial-Ministerial Co-Constructed Collaborative Innovation Center for Tibetan Special Agricultural and Animal Husbandry Resources, Nyingchi, Xizang 860000, China)

Abstract: [Objective] This study aims to utilize fresh Tibetan sheep blood as raw material, investigate the enhancing effect of microwave-assisted technology on enzymatic hydrolysis efficiency, and achieve high-value utilization of Tibetan sheep blood. [Methods] A microwave-assisted trypsin hydrolysis method is employed to enzymatically hydrolyze the proteins. The optimal hydrolysis conditions are established through single-factor experiments and response surface methodology. The resulting hydrolysates are characterized using scanning electron microscopy (SEM) and a fully automated amino acid analyzer. [Results] The optimal hydrolysis conditions are determined as follows: microwave temperature of 40℃, microwave time of 50 min, enzymatic hydrolysis time of 240 min, enzyme-to-substrate ratio of 6 000 U/g, microwave power of 348 W, hydrolysis pH of 10, hydrolysis temperature of 45℃, and substrate concentration of 11%. Under these conditions, the highest degree of hydrolysis reaches (26.38±0.75)%. The molecular weight distribution of the resultant small-molecule active peptides shows that fractions with molecular weight >5 000, between 5 000~1 000, and <1 000 account for 0.54%, 10.74%, and 88.72%, respectively. [Conclusion] The products obtained via microwave-assisted enzymatic hydrolysis exhibit excellent digestibility and absorption properties, and the composition of free amino acids after hydrolysis is more balanced. The microwave-assisted enzymatic hydrolysis method is therefore suitable for optimizing the process optimization of Tibetan sheep blood protein.

Keywords: Tibetan sheep blood; microwave-assisted; process optimization; relative molecular weight distribution; amino acid composition; enzymatic hydrolysis of protein

基金项目:西藏自治区重点研发项目(编号:XZ202401ZY0045);西藏农牧大学研究生创新计划项目(编号:YJS2025-29);西藏农牧大学雪域英才工程学术名师支持计划(编号:XYYC-2026-03)

通信作者:辜雪冬(1978—),男,西藏农牧大学教授,博士。E-mail:xuedonggu@xza.edu.cn

收稿日期:2026-01-09 **改回日期:**2026-06-13

引用格式:余喜露,辜雪冬,陈与进,等.微波辅助酶解制备藏羊血蛋白及其产物特性分析[J].食品与机械,2026,42(7):18-27.

Citation:Yu Xilu, Gu Xuedong, Chen Yujin, et al. Microwave-assisted enzymatic hydrolysis of Tibetan sheep blood protein and analysis of product characteristics[J]. Food & Machinery, 2026, 42(7): 18-27.

藏羊是青藏高原特有的古老原始绵羊品种,现已成为西藏、青海、甘肃等地区畜牧业的重要经济支柱之一^[1]。据青海、西藏、四川、甘肃及云南等省区统计年鉴及政府工作报告统计,青藏高原藏羊总存栏量约为3 000万只^[2-6]。依此推算,结合藏羊出栏率及单只血量参数,该区域藏羊血理论年产量约为2.5万~4.0万t^[7]。藏羊血营养丰富,含有大量蛋白质、维生素和矿物质,同时脂肪与碳水化合物含量较低,具有较高的营养与开发价值^[8]。然而,受屠宰条件及加工技术限制,中国动物血液资源整体利用率低^[9],藏羊血液本身带有特殊腥味,且营养物质不易被人体直接消化吸收,目前多被作为废弃物处理,未能实现有效利用^[10]。目前,有关藏羊血的利用研究主要集中在抗氧化肽制备^[11]、亚铁血红素提取^[12]及血红蛋白酶解物抑菌效果^[13]等方面。藏羊血具有抗氧化与补血等功效^[14],但国内外针对高原特有藏羊血液酶解研究,从而提高藏羊血蛋白水解度工艺优化较少,其关键工艺技术尚不清晰。酶解技术是提升动物血液蛋白生物利用度的有效途径,通过蛋白酶将大分子血红蛋白水解为小分子肽和氨基酸,可显著改善其消化吸收特性并降低腥味^[15-16]。然而,传统水浴酶解方法存在加热不均匀、升温速率慢、能耗较高等问题,导致酶解效率偏低、反应周期较长,难以满足工业化生产需求^[17]。微波辅助酶解技术作为一种新型绿色加工手段,利用微波的快速穿透性和选择性加热特性,能够使反应体系在短时间内达到设定温度,激活酶分子构象,促进酶与底物的有效碰撞,从而显著提高酶解效率和水解程度^[18-19]。同时,微波非热效应可能改变底物蛋白的空间结构,暴露更多酶切位点,进一步增强水解效果^[20]。

试验拟采用微波辅助酶解技术,利用微波的快速均匀加热特性改善酶与底物的接触效率,提升藏羊血蛋白的水解程度;结合响应面法对酶解时间、微波功率、酶添加量等关键参数进行系统优化,以水解度为主要评价指标,建立高效、可控的藏羊血蛋白酶解工艺。研究旨在克服传统酶解周期长、水解不充分等局限,为藏羊血蛋白资源的高值化利用提供工艺支撑,也为高原特色动物血液资源开发拓展新的技术路径。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

藏绵羊:公羊6只,半牧半饲养,2周岁,西藏自治区林芝市巴宜区临河屠宰场;

胰蛋白酶:来源猪胰脏,酶活 ≥ 250 U/mg,上海易恩化学技术有限公司;

4%枸橼酸钠抗凝剂:上海源叶生物科技有限公司;

细胞色素C(重均相对分子质量12 400):上海瑞齐生物科技有限公司;

杆菌酶(重均相对分子质量1 450):上海生科生物科技有限公司;

四肽(乙氨酸—乙氨酸—酪氨酸—精氨酸,重均相对分子质量451):常州翔龙医药科技有限公司;

三肽(乙氨酸—乙氨酸—乙氨酸,重均相对分子质量189)标准品:深圳博森格科技有限公司;

乙腈、三氟乙酸、氢氧化钠、硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸、硼酸、盐酸、无水乙醇:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

pH计:PHS-25型,上海仪电科学仪器股份有限公司;

电子天平:X532001L型,德国Mettler Toledo公司;

高速离心机:5415-D型,德国Eppendorf公司;

超纯水机:Arium® Mini型,德国Sartorius AG公司;

集热式恒温加热磁力搅拌器:DF101S型,上海力辰仪器科技有限公司;

微波发生器:XO-SM50型,南京先欧仪器有限责任公司;

紫外可见分光光度计:UV-18000型,日本岛津公司;

冷冻干燥机:LGJ-25C型,北京四环科学仪器厂;

凯氏定氮仪:KDN-520型,青岛路博环保科技有限公司;

扫描电子显微镜:Evo18型,德国卡尔·蔡司公司;

氨基酸分析仪:S433D型,德国赛卡姆公司;

高效液相色谱仪:waters 1525型,美国沃特世公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 取藏绵羊颈部大动脉血,加入4%枸橼酸钠抗凝剂,加入等体积蒸馏水进行稀释,以此为样品液,取部分样品液于一65℃冷冻干燥成藏羊原血粉。另取200 mL样品液于锥形瓶中,经微波反应器处理后,将样品液转移至磁力搅拌器,调节pH值并按预定酶底比加入定量酶液。参照高丹丹等^[18]的方法并略作调整:将样品在一定温度与pH值下酶解,沸水浴10 min,冷却,4 000 r/min离心,收集上清液置于40℃水浴中减压浓缩至原体积的1/5,转移至冻干瓶,于一65℃冷冻干燥成酶解藏羊血肽粉。

1.2.2 藏羊血蛋白水解度测定

(1) 氨基态氮含量:采用甲醛电位滴定法^[14-15]。

(2) 总氮含量:参照GB 5009.5—2025。

(3) 水解度(DH):参照徐杨林等^[14]的方法,按式(1)计算水解度。

$$c = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——水解度,%;

m_1 ——酶解液中氨基态氮的质量,mg;

m_2 ——酶解液中总氮的质量,mg。

1.2.3 单因素试验 参照黄典等^[21-23]的方法稍加改进。固定微波预处理条件(功率 350 W、温度 40 ℃、时间 50 min),酶解 pH 10.0,酶解温度 40 ℃,底物浓度 10%,酶添加量 6 000 U/g,酶解时间 240 min。分别考察微波功率(200, 250, 300, 350, 400, 450 W)、微波温度(30, 35, 40, 45, 50, 55 ℃)、微波时间(20, 30, 40, 50, 60, 70 min)、酶解 pH(8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0)、酶解温度(30, 35, 40, 45, 50, 55 ℃)、底物浓度(4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%)、酶添加量(2 000, 3 000, 4 000, 5 000, 6 000, 7 000 U/g)和酶解时间(120, 150, 180, 210, 240, 270 min)对水解度的影响。

1.2.4 响应面试验 根据单因素试验结果筛选试验变量,以藏羊血蛋白水解度为响应值,基于 Box-Behnken Design 原理设计四因素三水平试验^[24-26],进一步优化胰蛋白酶水解藏羊血蛋白的工艺条件。

1.2.5 藏羊血蛋白酶解理化指标测定

- (1) 总蛋白含量:按 GB 5009.5—2025 执行。
- (2) 水分含量:按 GB 5009.3—2016 执行。
- (3) 粗脂肪含量:按 GB 5009.6—2016 执行。
- (4) 灰分含量:按 GB 5009.4—2016 执行。
- (5) 总糖含量:按 GB/T 9695.31—2008 执行。
- (6) 氨基酸组成与含量:按 GB 5009.124—2016 执行。

1.2.6 藏羊血蛋白相对分子质量分布测定

(1) 色谱分离条件:采用 TSKgel 2000 SWXL 型色谱柱(300 mm×7.8 mm),流动相为乙腈—水—三氟乙酸(体积比 45:55:0.1),流速 0.5 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 220 nm。

(2) 相对分子质量标准曲线绘制:参照 GB/T 22492—2008,分别取细胞色素 C、杆菌酶、四肽及三肽标准品,用流动相溶解并稀释至约 0.2 mg/mL,经色谱分析后由 GPC 软件拟合得相对分子质量标准曲线。

(3) 待测样品处理与分析:精密称取 100 mg 样品,用流动相定容,经 0.45 μm 滤膜过滤后进样。在相同色谱条件下测定,通过 GPC 软件分析数据,获得样品中肽的相对分子质量分布情况^[27]。

1.2.7 扫描电镜分析 参照段洁珍等^[28]的方法稍加改进。将藏羊原血粉和酶解藏羊血肽粉用导电双面胶固定至样品台上,通过薄金喷层进行喷金处理,于 10 kV 加速电压下观察涂层样品,250 倍镜下拍摄得到扫描电镜图。

1.3 数据处理与分析

各试验均独立重复 3 次,结果以“平均值±标准差”表示。数据可视化分析及原始数据的初步整理与计算借助 Excel 2016 软件完成;采用 Design Expert 11.0 软件进行响应面试验设计及分析。采用 SPSS 软件进行方差分析, $P<0.05$ 表示显著, $P<0.01$ 表示极显著。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 微波功率 由图 1 可知,当微波功率为 200~350 W 时,水解度随微波功率的升高而增大。增大微波功率,水解度未发生明显变化,且增大微波功率会使溶液温度迅速升高。当微波功率达到一定程度时,蛋白水解达到平衡,不会产生更多的小分子物质^[29]。同等水解度条件下,微波功率越低能耗越低^[24],所以选取微波功率为 350 W。

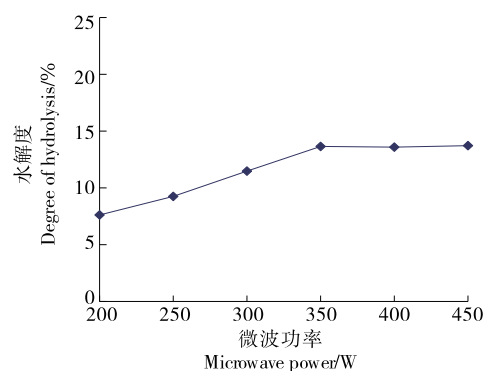


图 1 微波功率对藏羊血水解度的影响

Figure 1 Effect of microwave power on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

2.1.2 微波温度 由图 2 可知,当微波温度为 30~40 ℃ 时,水解度随微波温度升高而增大。升高微波温度有利于提高藏羊血蛋白水解能力和水解速度,使蛋白质在溶液内分布更均匀,从而增加与蛋白酶的结合效率。这与滕飞等^[30]的研究结果类似。故选择微波温度为 40 ℃。

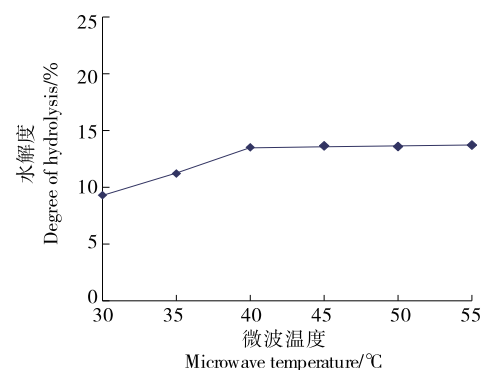


图 2 微波温度对藏羊血水解度的影响

Figure 2 Effect of microwave temperature on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

2.1.3 微波时间 由图 3 可知,当微波时间为 20~50 min 时,延长微波时间更易于蛋白水解,使多肽链充分断裂,从而提高水解度;微波处理时间超过 50 min 后,可暴露的酶切位点趋于饱和,因此继续延长处理时间对水解度的

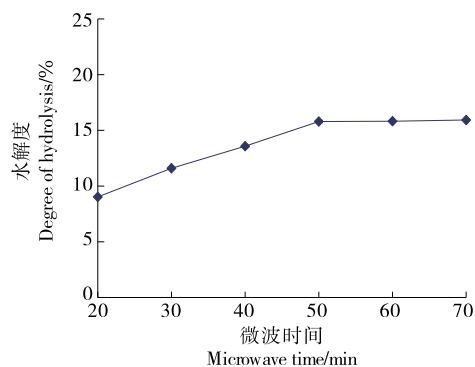


图3 微波时间对藏羊血水解度的影响

Figure 3 Effect of microwave time on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

促进作用有限^[24]。故选取微波时间为 50 min。

2.1.4 酶解 pH 由图 4 可知,水解度随酶解 pH 的增加先增大后减少, pH 10 时水解度达到最大值。这是由于 pH 值偏离最适范围时,酶的二级构象发生变性,其催化活性减弱或丧失^[23],导致水解度下降。故选择酶解 pH 为 10。

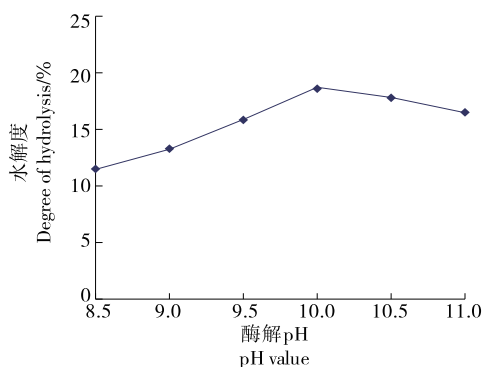


图4 酶解 pH 对藏羊血水解度的影响

Figure 4 Effect of pH on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

2.1.5 酶解温度 由图 5 可知,当酶解温度为 30~40 °C 时,水解度随酶解温度升高而增大,升高酶解温度,蛋白酶逐渐变性,水解度随之降低。酶只有在一定范围内才会发挥其较高的催化活性^[19];酶解液水解度随着酶解温度的升高而增加,在 40 °C 时藏羊血蛋白水解度达到峰值,可能是温度超过 40 °C 时蛋白酶逐渐失活,降低其与底物的反应速率。故选择酶解温度为 40 °C。

2.1.6 底物浓度 由图 6 可知,当底物浓度为 10% 时,水解度达到最高,可能是藏羊血蛋白随着水解时间不断延长,酶解产物逐步积累,对蛋白酶和底物之间形成隔断。增加底物浓度,水解度并未发生明显变化^[18]。故选择底物浓度为 10%。

2.1.7 酶添加量 由图 7 可知,水解度随酶添加量的增加呈先升后稳的趋势。当酶添加量由 2 000 U/g 增至

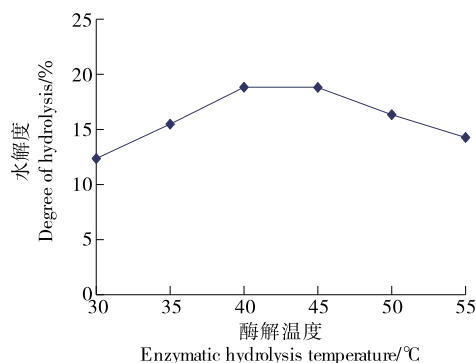


图5 酶解温度对藏羊血水解度的影响

Figure 5 Effect of temperature on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

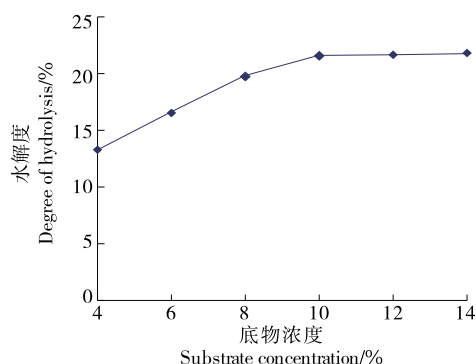


图6 底物浓度对藏羊血水解度的影响

Figure 6 Effect of substrate concentration on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

6 000 U/g 时,水解度持续上升;继续增加至 7 000 U/g 时,水解度基本持平^[22]。这是因为酶添加量达到 6 000 U/g 时已足以催化体系中绝大多数可及肽键的水解,过量的酶分子因缺乏足够的结合位点而无法进一步提升水解效率。故选择 6 000 U/g 为最佳酶添加量。

2.1.8 酶解时间 由图 8 可知,水解度随酶解时间的延长呈上升趋势,在 240 min 时达到峰值;继续延长酶解时间,

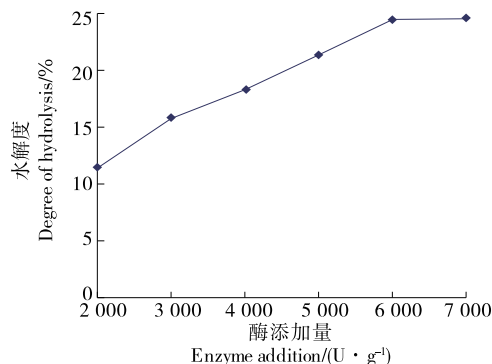


图7 酶添加量对藏羊血水解度的影响

Figure 7 Effect of enzyme-to substrate ratio on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

水解度趋于稳定。这是因为酶解初期底物浓度较高,可利用酶切位点较多,水解度快速增加;随着反应进行,可水解肽键逐渐减少,同时可能出现产物抑制效应和酶活下降^[30]。故选择酶解时间为 240 min。

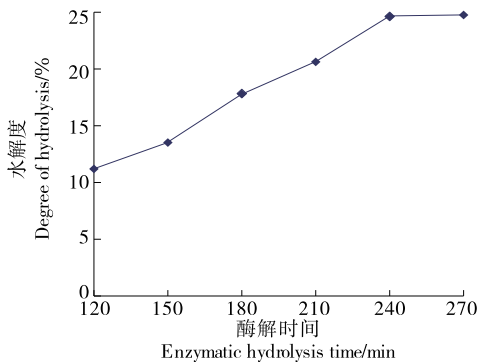


图 8 酶解时间对藏羊血水解度的影响

Figure 8 Effect of hydrolysis time on hydrolysis degree of Tibetan sheep blood

2.2 Box-Behnken Design 响应面试验

2.2.1 响应面试验结果分析 在单因素试验中,微波温度、微波时间、酶添加量和酶解时间对水解度的影响均呈现出明显的“边际效益递减”特征。当微波温度超过 40 ℃、微波时间超过 50 min、酶添加量超过 6 000 U/g、酶解时间超过 240 min 后,继续提高因素水平对水解度的提升幅度均小于 1 个百分点,进一步拓展该因素水平的实际意义不大。综合考虑能耗、成本与操作便捷性,将这 4 个因素分别固定为上述水平,以微波功率、酶解 pH、温度和底物浓度 4 个因素为自变量,设计四因素三水平响应面试验。响应面试验因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface methodology

水平	A 微波功率/W	B 酶解 pH	C 酶解温度/℃	D 底物浓度/%
1	300	9.5	35	8
0	350	10.0	40	10
-1	400	10.5	45	12

采用 Design Expert 11.0 软件进行多元回归分析,建立水解度与各因素之间的回归方程

$$Y=26.32+0.08A+1.68B+0.58C+2.93D+0.61AB+0.48AC-0.49AD+0.43BC+0.46BD-0.45CD-4.05A^2-4.52B^2-4.38C^2-4.08D^2。(2)$$

由表 3 可知,回归模型 F 值为 214.45, $P<0.000\ 1$,极显著,表明所建模型具有高度统计显著性,且因变量与自变量之间存在显著的相关性。一次项 B、C、D,交互项

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface methodology

试验号	A	B	C	D	水解度/%
1	-1	0	0	1	21.30±0.57
2	0	-1	0	1	18.54±0.49
3	0	0	0	0	26.39±0.32
4	1	1	0	0	19.91±0.63
5	-1	1	0	0	18.89±0.43
6	-1	0	1	0	16.68±0.35
7	0	0	0	0	26.12±0.59
8	-1	0	0	-1	14.32±0.33
9	0	1	-1	0	18.87±0.64
10	0	1	0	1	23.38±0.51
11	1	-1	0	0	15.42±0.37
12	1	0	0	1	20.77±0.68
13	0	0	-1	1	21.40±0.57
14	0	-1	1	0	14.78±0.29
15	0	1	1	0	18.56±0.31
16	1	0	0	-1	15.74±0.42
17	0	-1	0	-1	13.26±0.24
18	0	0	0	0	26.42±0.72
19	0	0	1	1	19.75±0.56
20	1	0	1	0	17.87±0.44
21	1	0	-1	0	18.43±0.52
22	-1	-1	0	0	16.85±0.40
23	-1	0	-1	0	19.16±0.35
24	0	0	0	0	26.69±0.65
25	0	0	1	-1	15.27±0.54
26	0	0	-1	-1	5.13±0.32
27	0	1	0	-1	16.27±0.51
28	0	-1	-1	0	16.82±0.69
29	0	0	0	0	25.98±0.72

AB、AC、AD、BC、BD、CD,以及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 达到显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)水平,说明各因素对响应值的影响呈现显著的二次抛物线关系,且各因素之间存在明显的交互作用。失拟项 $P>0.05$,不显著,说明模型拟合良好,残差主要来源于随机误差,可用该模型对试验条件进行有效预测。

模型的决定系数 R^2 为 0.995 4,表明该模型可解释 99.54% 的响应值变异,拟合优度较高。校正决定系数 (R^2_{Adj}) 为 0.990 7,表明模型可解释 99.07% 的响应变异,未解释变异 $<1\%$ 。此外,模型变异系数(CV)为 2.00%,处于较低水平,反映试验重复性较好。信噪比(R_{SN})为 45.91,显著高于一般判断阈值 >4 ,进一步说明模型具有较高的预测精度与可靠性,适用于实际条件的过程分析与优化。

表 3 响应面方差分析[†]

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	447.96	14	32.00	214.45	<0.000 1	**
A	0.07	1	0.07	0.49	0.493 9	
B	34.04	1	34.04	228.12	<0.000 1	**
C	3.97	1	3.97	26.59	0.000 1	**
D	102.96	1	102.96	690.06	<0.000 1	**
AB	1.50	1	1.50	10.06	0.006 8	**
AC	0.92	1	0.92	6.18	0.026 2	*
AD	0.95	1	0.95	6.37	0.024 3	*
BC	0.75	1	0.75	5.01	0.041 9	*
BD	0.84	1	0.84	5.61	0.032 8	*
CD	0.80	1	0.80	5.37	0.036 2	*
A ²	106.37	1	106.37	712.93	<0.000 1	**
B ²	132.72	1	132.72	889.50	<0.000 1	**
C ²	124.27	1	124.27	832.91	<0.000 1	**
D ²	107.76	1	107.76	722.21	<0.000 1	**
剩余	2.09	14	0.15			
失拟	1.78	10	0.18	2.32	0.216 9	
纯误差	0.31	4	0.08			
总误差	450.05	28				

2.2.2 响应面分析 由图9可知,各响应面随因素水平升高均呈先上升后下降趋势,表明藏羊血蛋白水解度存在明确的最优条件区域。AB交互中,pH方向曲面变化更为陡峭,等高线呈椭圆状密集分布,说明pH的影响较微波功率更为显著;AC交互显示,温度方向的响应变化幅度更大,曲面呈明显椭圆形,表明酶解温度的作用强于微波功率;AD交互中,底物浓度对应的曲面梯度显著陡于微波功率,说明底物浓度为更关键的影响因子;BD交互呈现类似特征,底物浓度方向的响应变化较pH更为突出;BC交互表明,pH变化引起的响应梯度大于酶解温度;CD交互则显示底物浓度的效应强度高于酶解温度。

综上,各因素对藏羊血蛋白水解度的影响程度依次为底物浓度>酶解pH>酶解温度>微波功率,与方差分析结果一致。

2.2.3 模型验证实验 采用Design Expert 11.0软件求解方程,得出最优工艺条件为微波功率348.68 W、酶解pH 10.16、酶解温度45.14℃、底物浓度11.10%,此时水解度为26.82%。为了操作方便,将最优工艺条件修正为微波功率348 W、酶解pH 10、酶解温度45℃、底物浓度11%,在此条件下进行3次平行验证实验,测得水解度平均值为(26.38±0.75)%,与模型预测值较为接近,表明该水解工艺条件参数准确可靠,具有实用价值。

2.3 藏羊血蛋白酶解物基本营养成分分析

由表4可知,酶解物中总蛋白含量(干基)高达

91.68%,表明酶解工艺条件温和,产物仍然以蛋白质及其水解物为主要成分。该高蛋白含量说明藏羊血经酶解处理后,可作为优质的蛋白质基料应用于食品工业。水分含量为3.53%,表明产品水分含量较低,有利于降低贮藏过程中结块、微生物生长及品质劣变的风险。粗脂肪含量仅为0.46%,较低的脂肪含量有利于降低贮存过程中脂质氧化和异味产生的风险,提高其贮藏稳定性。灰分含量为4.23%,其主要来源于血液中固有的矿物质元素,赋予了产品一定的矿物质营养价值。总糖含量仅为0.10%,几乎可以忽略不计,进一步印证该酶解产物是以蛋白质为主要成分的高纯度产品。

2.4 藏羊血酶解产物的组成与结构特征

为全面评价微波辅助酶解对藏羊血蛋白产物特性的影响,从氨基酸组成及肽段相对分子质量分布两个方面进行分析。

2.4.1 氨基酸组成分析 由表5可知,从氨基酸组成来看,藏羊血中含量最高的氨基酸为甘氨酸,原血粉中达

表 4 酶解藏羊血肽粉中的基本营养成分

Table 4 Basic nutrients of enzymatically hydrolyzed sheep blood peptide powder %				
总蛋白	水分	粗脂肪	灰分	总糖
91.68	3.53	0.46	4.23	0.10

表 5 藏羊原血粉和酶解藏羊血肽粉中氨基酸组成

Table 5 Amino acid composition of sheep blood powder and enzymatically hydrolyzed sheep blood peptide powder g/100 g		
氨基酸	藏羊原血粉	酶解藏羊血肽粉
天门冬氨酸	6.65±0.23	6.06±0.19
苏氨酸	2.12±0.09	1.98±0.12
丝氨酸	3.70±0.12	3.37±0.18
谷氨酸	11.12±0.28	10.70±0.23
脯氨酸	13.65±0.37	13.32±0.31
甘氨酸	24.63±0.54	24.85±0.48
丙氨酸	9.88±0.31	9.32±0.37
缬氨酸	2.89±0.05	2.58±0.08
蛋氨酸	0.76±0.08	0.69±0.12
异亮氨酸	1.59±0.15	1.35±0.21
亮氨酸	3.25±0.19	2.97±0.22
酪氨酸	0.32±0.02	0.28±0.05
苯丙氨酸	1.87±0.11	1.75±0.17
赖氨酸	3.78±0.23	3.67±0.17
组氨酸	0.88±0.05	0.86±0.08
精氨酸	8.54±0.24	7.93±0.17
色氨酸	0.95±0.07	0.89±0.09
氨基酸总量	96.58±0.37	92.57±0.31

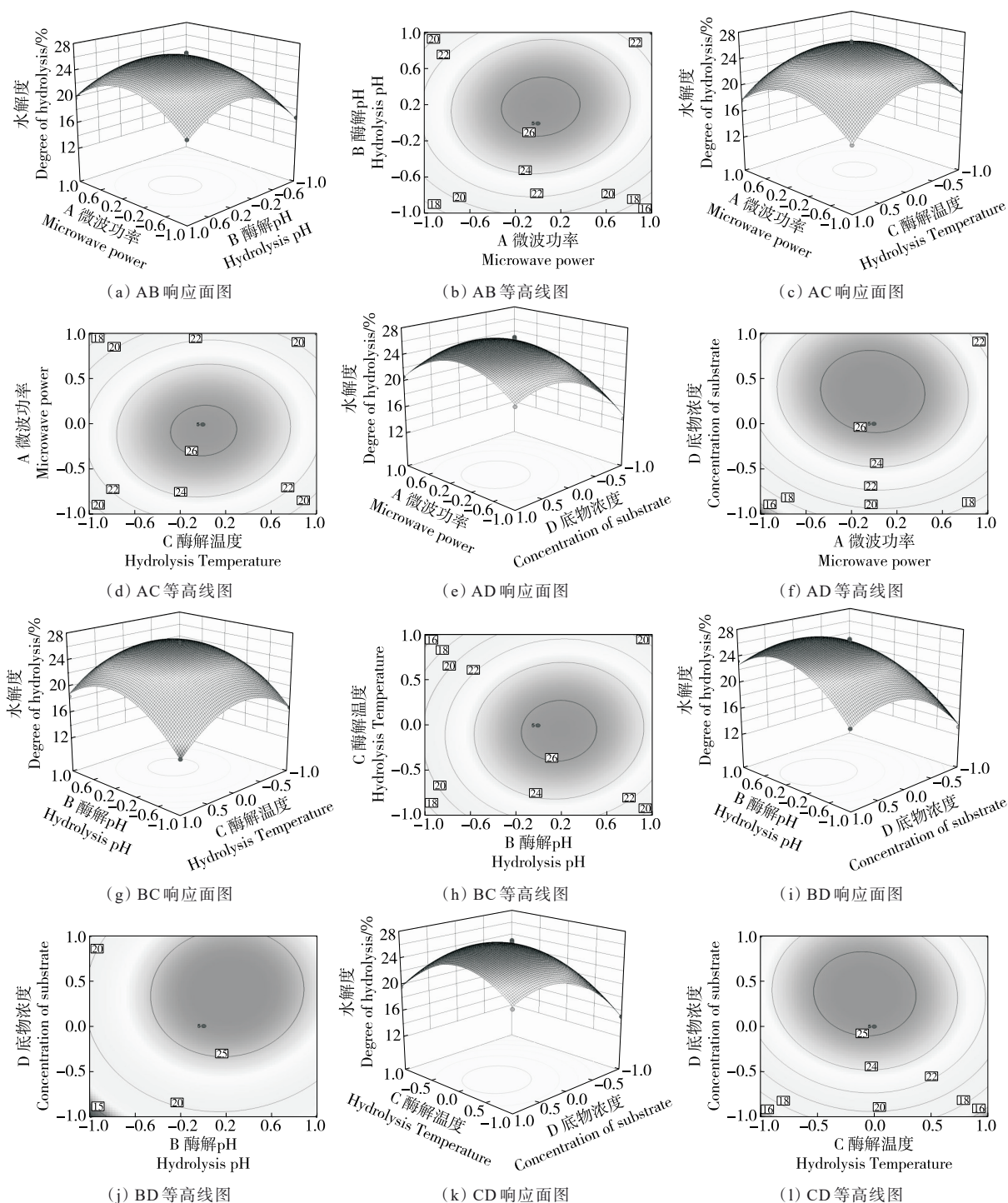


图9 各因素对水解度影响的响应面和等高线图

Figure 9 Response surface and contour plots showing the interactive effects of factors on hydrolysis degree

24.63 g/100 g, 酶解后略升至 24.85 g/100 g, 占总氨基酸的 26%; 其次为脯氨酸、谷氨酸和天门冬氨酸。甘氨酸和脯氨酸作为胶原蛋白的特征性氨基酸, 其高含量表明藏羊血中可能混有部分结缔组织蛋白, 与血液来源特性相符。蛋氨酸和色氨酸含量相对较低, 符合动物血蛋白中含硫氨基酸缺乏的特点。酶解后甘氨酸含量略有上升, 其余

氨基酸出现不同程度的下降, 但整体变化幅度较小, 说明微波辅助酶解主要是将大分子蛋白质切割为小分子肽段, 并未显著改变氨基酸的组成结构, 在保持蛋白质营养价值方面具有优势^[31]。

进一步分析必需氨基酸组成及与人体需求模式的适配性, 藏羊血中必需氨基酸(EAA)约占总氨基酸的

17.3%, 蛋氨酸为第一限制性氨基酸, 氨基酸评分^[32] (AAS) 较低; 缬氨酸、异亮氨酸亦相对不足。但藏羊血富含甘氨酸、脯氨酸及精氨酸, 具有开发功能性肽产品的潜力^[33]。综上, 藏羊血不宜作为完全蛋白单独来源, 更适合与其他富含蛋氨酸的蛋白源复配或用于特定功能肽的制备。酶解后氨基酸与蛋白肽保留良好, 该制备工艺温和, 能够保持藏羊血蛋白的特有氨基酸模式。

2.4.2 相对分子质量分布 由表 6 可知, 从相对分子质量分布来看, 相对分子质量 < 1 000 的组分占主导地位。其中, 500~180 的肽段峰面积百分比最高, 达 38.97%; 相对分子质量 < 180 的占 26.16%, 两者合计占总峰面积的 65.13%, 表明酶解产物以小分子肽和游离氨基酸为主。相对分子质量在 1 000~500 的肽段占 23.59%, 1 000~2 000 的占 7.91%, 2 000~3 000 的占 2.21%, 3 000~5 000 的占 0.62%, 而 > 5 000 的大分子肽段仅占 0.54%。

表 6 肽的相对分子质量分布及其分布范围

Table 6 Relative molecular mass distribution and distribution ranges of peptides

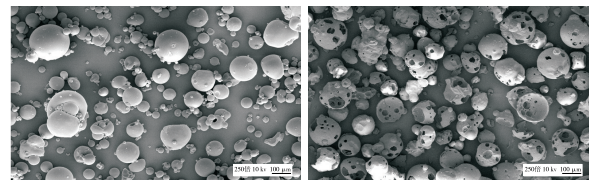
相对分子质量范围	峰面积百分比/%	数均相对分子质量	重均相对分子质量
> 5 000	0.54	7 538	8 608
5 000~3 000	0.62	3 670	3 754
3 000~2 000	2.21	2 357	2 389
2 000~1 000	7.91	1 303	1 353
1 000~500	23.59	656	681
500~180	38.97	280	301
< 180	26.16	/	/

从相对分子质量统计指标来看, 各区间数均相对分子质量和重均相对分子质量较为接近, 表明肽段相对分子质量分布相对均一。在占比最高的 500~180 区间, 数均相对分子质量为 280, 重均相对分子质量为 301, 二者比值接近 1, 说明该区间主要为二肽、三肽及少量游离氨基酸的混合物。表明试验采用的酶解工艺对藏羊血蛋白水解较为彻底, 能够将大分子蛋白质有效降解, 生成小分子肽和氨基酸。小分子肽 (特别是二肽、三肽) 通常具有更好的溶解性、稳定性和吸收利用效率, 且部分肽段可能具有抗氧化、降血压等生物活性。因此, 该酶解产物可作为功能性食品基料或营养补充剂的优质原料^[30-31]。

2.5 藏羊血粉和酶解藏羊血肽粉扫描电镜分析

由图 10 可知, 酶解前原血粉蛋白质的三维颗粒结构较为致密, 表面相对平整, 粒径分布不均, 无明显孔隙。这可能是由于蛋白的大型聚集体堆叠形成较稳定的结构。血肽粉对比原血粉表面孔径疏松多孔, 颗粒明显细化, 呈现疏松多孔的海绵状或网状结构, 表面粗糙, 比表

面积显著增大, 可见大量孔隙与碎片, 说明酶解过程有效破坏了蛋白质的原有结构, 酶解后颗粒结构更加疏松、破碎, 这有利于提高其分散性和溶解性^[30]。



(a) 原血粉

(b) 血肽粉

图 10 藏羊原血粉和酶解藏羊血肽粉电镜扫描图

Figure 10 Scanning electron microscopy of sheep blood powder and enzymatically hydrolyzed sheep blood peptide powder

3 结论

微波辅助酶解藏羊血的最佳酶解工艺条件为微波功率 348 W、微波温度 40 ℃、微波时间 50 min、酶解 pH 10、酶解温度 45 ℃、底物浓度 11%、酶添加量 6 000 U/g、酶解时间 240 min, 此时藏羊血蛋白水解度可达 (26.38 ± 0.75)%, 表明微波辅助技术能有效提升酶解效率。产物特性分析显示, 酶解后蛋白结构破坏, 呈疏松多孔状; 相对分子质量 < 1 000 的组分占 88.72%, 其中 500~180 肽段占比最高 (38.97%), 以小分子肽和游离氨基酸为主; 氨基酸组成分析表明, 酶解前后氨基酸种类未发生明显变化, 但多数氨基酸含量有所下降, 氨基酸总量由 96.58 g/100 g 降至 92.57 g/100 g, 甘氨酸含量略有升高, 组成更加均衡, 证实该工艺在高效降解蛋白的同时, 较好地保留了原料蛋白的氨基酸组成特征。此外, 微波辅助酶解技术适用于高原特色动物血液蛋白加工。后续需对不同相对分子质量区间肽段进行分离纯化与结构鉴定, 深入解析其构效关系, 以拓展应用场景。

参考文献

- [1] 闫忠心, 靳义超, 白海涛, 等. 藏羊本品种选育研究现状与展望[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2014, 44(4): 55.
Yan Z X, Jin Y C, Bai H T, et al. Research status and prospect of Tibetan sheep breeding[J]. Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2014, 44(4): 55.
- [2] 青海省农牧业信贷担保有限责任公司. 青海农担引金融活水赋能乡村特色产业[EB/OL]. (2024-11-15) [2026-01-08]. <http://www.qinghai.gov.cn/zwgk/system/2024/11/16/030058391.shtml>.
Qinghai Agricultural and Animal Husbandry Credit Guarantee Co Ltd. Qinghai agricultural guarantee introduces financial vitality to empower rural characteristic industries[EB/OL]. (2024-11-15) [2026-01-08]. <http://www.qinghai.gov.cn/zwgk/system/2024/11/16/030058391.shtml>.
- [3] 西藏日报. 念好“养羊经”产业助振兴—畜牧业科技助力西藏

- 羊产业快速发展[N/OL]. 西藏日报, 2022-06-15. http://ttt.tibet.cn/cn/fp/202206/t20220615_7221532.html.
- Xizang Daily. Enhancing sheep farming industry to boost rural revitalization-animal husbandry technology facilitates rapid development of Xizang's sheep industry[N/OL]. Xizang Daily, 2022-06-15. http://ttt.tibet.cn/cn/fp/202206/t20220615_7221532.html.
- [4] 四川省农业农村厅. 阿坝州若尔盖县“三个坚持”推动草原畜牧业高质量发展[EB/OL]. (2025-09-10) [2025-12-18]. <http://nynct.sc.gov.cn/nynct/c100632/2025/9/10/ac49512a838d47e8ba7fcef5a02784e6.shtml>.
- Sichuan Provincial Department of Agriculture and Rural Affairs. "Three persistences" of Zoigê County, Aba prefecture promote high-quality development of grassland animal husbandry[EB/OL]. (2025-09-10) [2025-12-18]. <http://nynct.sc.gov.cn/nynct/c100632/2025/9/10/ac49512a838d47e8ba7fcef5a02784e6.shtml>.
- [5] 王晶, 丁玉梅, 何嫻珺. 从藏羊产业链看“两山”转化路径探索[N]. 青海日报, 2025-07-18(1).
- Wang J, Ding Y M, He X J. Exploring the transformation path of "two mountains" from the perspective of tibetan sheep industry chain[N]. Qinghai Daily, 2025-07-18(1).
- [6] 国家民族事务委员会经济发展司, 国家统计局国民经济综合统计司. 中国民族统计年鉴: 2020[M]. 北京: 中国统计出版社, 2021: 8-5.
- State Ethnic Affairs Commission of the People's Republic of China, Department of Economic Development, National Bureau of Statistics of China, Department of Comprehensive Statistics of National Economy. China's ethnic statistical yearbook: 2020 [M]. Beijing: China Statistics Press, 2021: 8-5.
- [7] 郭亚敏, 王文基, 景小平, 等. 藏羊和小尾寒羊生长性能及血液生理指标对不同能量低氮日粮的响应特性[J]. 草业科学, 2018, 35(9): 2 252-2 261.
- Guo Y M, Wang W J, Jing X P, et al. Effect of dietary with different energy level to Tibetan and small-tailed Han sheep on the growth performance and blood physiological indexes under the low nitrogen condition[J]. Pratacultural Science, 2018, 35 (9): 2 252-2 261.
- [8] 周成伟, 李芮洋, 李景敏, 等. 羊血的开发和利用[J]. 科技视界, 2019(13): 81-82.
- Zhou C W, Li R Y, Li J M, et al. Development and utilization of sheep blood[J]. Science & Technology Vision, 2019(13): 81-82.
- [9] 张莺莺, 戴建军, 林月霞, 等. 湖羊和崇明白山羊血液营养成分分析与蛋白质营养价值评价[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2021(5): 7-14.
- Zhang Y Y, Dai J J, Lin Y X, et al. Blood nutritional components analysis and protein nutritional value evaluation of Hu sheep and Chongming Baishan Tibetan sheep[J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2021 (5): 7-14.
- [10] Ghaedi A M, Ghaedi M, Vafaei A, et al. Adsorption of copper (II) using modified activated carbon prepared from *Pomegranate* wood: optimization by bee algorithm and response surface methodology[J]. Journal of Molecular Liquids, 2015, 206: 195-206.
- [11] 王珍如. 羊血来源生物活性肽抗氧化活性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021: 13-14.
- Wang Z R. Antioxidant activity of bioactive peptides from sheep blood[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021: 13-14.
- [12] 韩晴, 王维婷, 王守经, 等. 羊血亚铁血红素的酶法制备及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(3): 147-154.
- Han Q, Wang W T, Wang S J, et al. Enzymatic preparation and antioxidant activity of ferroheme from sheep blood[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(3): 147-154.
- [13] 侯欣, 訾阳, 乔依娜, 等. 羊血红蛋白复合酶解物抑菌活性的研究[J]. 饲料工业, 2025, 46(5): 110-115.
- Hou X, Zi Y, Qiao Y N, et al. Study on antibacterial activity of hemoglobin composite enzymatic hydrolysate of sheep[J]. Feed Industry, 2025, 46(5): 110-115.
- [14] 徐杨林, 严宏孟, 高蕾, 等. 苦杏仁醇溶蛋白酶解抗氧化肽的制备工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 201-210, 192.
- Xu Y L, Yan H M, Gao L, et al. Optimizing antioxidant peptide preparation using the proteolysis of the prolamins produced by *Prunus dulcis* var. amara[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 201-210, 192.
- [15] 马诗文, 高云, 韩思杨, 等. 复合酶协同水解法制备绿豆抗氧化多肽[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 161-165, 183.
- Ma S W, Gao Y, Han S Y, et al. Preparation of mung bean antioxidant polypeptide by complex enzyme synergistic hydrolysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(15): 161-165, 183.
- [16] 刘鑫, 赵成周, 韩丽娟, 等. 藏羊血多肽制备工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(5): 114-121, 211.
- Liu X, Zhao C Z, Han L J, et al. Optimization of the preparation process of Tibetan sheep blood peptide and its antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2025, 46(5): 114-121, 211.
- [17] 潘风光, 李洪山, 刘静波, 等. 超声预处理微波辅助酶解生产猪血活性肽工艺优化[J]. 农业工程学报, 2011, 27(S2): 282-287.
- Pan F G, Li H S, Liu J B, et al. Bioactive peptides produced from ultrasonic-pretreated swine blood by microwave-assisted hydrolyzation[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(S2): 282-287.
- [18] 高丹丹, 兰家国, 赵佩佩, 等. 中性蛋白酶水解藏羊血清蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 229-233, 238.
- Gao D D, Lan J G, Zhao P P, et al. Preparation of antioxidant peptide by hydrolization of Tibitan sheep serum protein by neutral protease[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(15): 229-233, 238.
- [19] 李昕宇, 马金璞, 张玉璇, 等. 碱性蛋白酶水解羊血清蛋白的工艺研究[J]. 现代畜牧兽医, 2022(8): 26-30.
- Li X Y, Ma J P, Zhang Y X, et al. Study on optimum conditions

- of hydrolyzation of sheep serum protein by alkaline protease [J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2022(8): 26-30.
- [20] 于志成, 黄福气, 许宙, 等. 碱性蛋白酶酶解酱油渣蛋白制备免疫活性肽[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11): 125-130.
- Yu Z C, Huang F Q, Xu Z, et al. Optimized process of immuno-active peptides from soy sauce residue protein hydrolyzed by alkaline protease[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(11): 125-130.
- [21] 黄典, 高雅, 刘蕾, 等. 蛋白酶水解美味牛肝菌工艺优化及酶解产物的抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 209-217.
- Huang D, Gao Y, Liu L, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of enzymatic hydrolysate from *Boletus edulis* hydrolyzed by protease[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 209-217.
- [22] 张瑞棋, 宋伟, 武志亿, 等. 响应面法优化鳖甲胶原蛋白肽制备工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(4): 192-201.
- Zhang R Q, Song W, Wu Z Y, et al. Preparation optimization of trionycis carapax collagen peptide using response surface methodology and research on antioxidant activity[J]. Food & Machinery, 2026, 42(4): 192-201.
- [23] 苏克楠, 刘丽莉, 程伟伟, 等. 酶解—磷酸化协同改性猪血红蛋白制备工艺优化及特性分析[J]. 食品与机械, 2024, 40(9): 36-43.
- Su K N, Liu L L, Cheng W W, et al. Optimization of preparation process and characteristics analysis of porcine hemoglobin modified by enzymatic hydrolysis-phosphorylation [J]. Food & Machinery, 2024, 40(9): 36-43.
- [24] 刘伟, 刘玉双, 洪瑞, 等. 刺五加果多糖的微波辅助提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 饲料工业, 2026, 47(1): 146-152.
- Liu W, Liu Y S, Hong R, et al. Optimization of microwave-assisted extraction process and antioxidant activity of polysaccharide from fruit of *acanthopanax senticosus*[J]. Feed Industry, 2026, 47(1): 146-152.
- [25] 米春孝, 周慧, 胡兴媛, 等. 微波辅助酶解罗非鱼皮抗氧化肽制备及结构分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(6): 173-181.
- Mi C X, Zhou H, Hu X Y, et al. Preparation and structural analysis of antioxidant peptides from *Tilapia* skin by microwave-assisted enzymatic hydrolysis[J]. Food and Machinery, 2025, 41(6): 173-181.
- [26] Gao D D, Cao Y S, Li H X. Antioxidant activity of peptide fractions derived from cottonseed protein hydrolysate[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(11): 1 855-1 860.
- [27] 胡滨. 猪血蛋白的酶法水解及其产物的生物活性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011: 33.
- Hu B. Study on enzymatic hydrolysis of porcine blood protein and bioactivity of its hydrolysates[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2011: 33.
- [28] 段洁珍, 林江涛, 史嘉良, 等. 脱蛋白方法对银耳多糖的结构以及抗氧化活性的影响[J/OL]. 食品工业科技. (2025-12-19) [2025-12-21]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025080191>.
- Duan J Z, Lin J T, Shi J L, et al. Effects of deproteinization methods on the structure and antioxidant activity of *Tremella fuciformis* polysaccharides[J/OL]. Science and Technology of Food Industry. (2025-12-19) [2025-12-21]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2025080191>.
- [29] 林彦, 段涵怡, 叶敬榕, 等. 微波辅助热水浸提黄芩茎叶多糖的工艺优化[J]. 饲料工业, 2024, 45(10): 106-112.
- Lin Y, Duan H Y, Ye J R, et al. Optimization of microwave assisted hot water extraction of polysaccharides from *Scutellaria baicalensis* stems and leaves[J]. Feed Industry, 2024, 45(10): 106-112.
- [30] 滕飞, 李欣蕊, 孟繁达, 等. 超声波—微波预处理辅助酶解制备大豆降糖肽及其稳定性分析[J]. 现代食品, 2023, 29(21): 59-65.
- Teng F, Li X X, Meng F D, et al. Preparation of soybean glucose-lowering peptide by ultrasound-microwave pretreatment-assisted enzymatic digestion and its stability analysis[J]. Modern Food, 2023, 29(21): 59-65.
- [31] 刘海梅, 王苗苗, 赵芹. 单环刺蜚体壁肌酶解产物的营养评价及溶解性分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 20-23.
- Liu H M, Wang M M, Zhao Q. Nutrition evaluation and solubility analysis of hydrolysate from *Urechis unicinctus* body wall muscle[J]. Food & Machinery, 2016, 32(5): 20-23.
- [32] Gaudichon C. Evolution and significance of amino acid scores for protein quality[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1437853.
- [33] Ryan J T, Ross R P, Bolton D, et al. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish[J]. Nutrients, 2011, 3(9): 765-791.