

T/HSKX

湖北省食品科学技术学会团体标准

T/HSKX 003—2025

虾壳副产物制备活性肽工艺技术规范

Specification for preparation of active peptides from crayfish shell by-products

2025-05-09 发布

2025-06-20 实施

湖北省食品科学技术学会发布

目 次

前言III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语与定义 1

4 基本要求 1

 4.1 虾壳原料要求 1

 4.2 辅料要求 2

 4.2 原料质量 2

5 基本要求 2

 5.1 工艺流程 2

 5.2 原料预处理 2

 5.3 脱矿 3

 5.4 脱甲壳素 3

 5.5 酶解工艺 3

 5.6 分离纯化 3

 5.7 浓缩 3

 5.8 干燥 4

6 包装与储存 4

7 质量控制 4

 7.1 质量指标 4

 7.2 功能活性 4

 7.3 工艺要点 4

8 废水排放要求 4

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所提出。

本文件由湖北省食品科学技术学会归口管理。

本文件起草单位：湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所，潜江市昌贵水产食品股份有限公司，湖北博奥食品股份有限公司。

本文件主要起草人：鉏晓艳，李海蓝，于巍，乔宇，李新，廖涛，邱亮，白婵，王炬光，张学柱，张学雄，郑星星，张程，陈弟君。

本文件实施应用中的疑问，可咨询湖北省食品科学技术学会，联系电话：027-87282187，邮箱：hbifst@mail.hzau.edu.cn；湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所，联系电话（管理部门）：027-87380171，邮箱（管理部门）：630074726@qq.com。

对本文件的有关修改意见建议请反馈至湖北省食品科学技术学会，联系电话：027-87282187，邮箱：hbifst@mail.hzau.edu.cn；湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所，联系电话（第一起草人）：027-87389098，邮箱（第一起草人）：zuxiaoyan@hbaas.ac.cn。

小龙虾预制菜及冷冻制品非热杀菌技术规程

1 范围

本文件规定了虾壳副产物制备活性肽工艺规程的原料要求、工艺流程、原料预处理、脱矿、脱甲壳素、酶解工艺、分离纯化、浓缩、干燥、包装与储存、质量控制、废水排放等相关内容。

本文件适用于以新鲜或冷冻的克氏原螯虾、罗氏沼虾、青虾、南美白对虾等常见淡水养殖或捕捞品种的虾壳为原料，制备成活性肽的工艺流程。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 2733 鲜、冻动物性水产品卫生标准
- GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
- GB 4789 食品安全国家标准 食品微生物学检验
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 5009.3 直接干燥法
- GB 5009.4 高温灼烧法
- GB 5009.5 凯氏定氮法
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 8978 污水综合排放标准
- GB 10136 食品安全国家标准 动物性水产制品
- GB/T 23527 蛋白酶制剂
- GB/T 30889 冻虾
- GB/T 30891 水产品抽样规范
- GB/T 35809 食品加工用酶制剂通用技术要求
- GB/T 36193 水产品加工术语

3 术语与定义

GB/T 36193界定的术语和定义适用于本文件。

4 基本要求

4.1 虾壳原料要求

原料虾壳质量应符合GB 2733、GB 2762的要求及企业内控标准。优先选用新鲜、无变质的虾壳，可来源于克氏原螯虾、罗氏沼虾、青虾、南美白对虾等常见养殖或捕捞品种。虾壳应在虾类加工后2小时内收集，避免高温暴露或长时间堆积导致腐败。

4.2 辅料要求

加工用水及制冰用水应符合GB 5749的规定。肽提取过程中所使用的添加剂应符合GB 2760的规定。

4.3 原料安全指标

4.3.1 理化指标

项 目	要 求	检测方法
水分	≤60%	GB 5009.3 直接干燥法
粗蛋白（干基）	≥15%	GB 5009.5 凯氏定氮法
灰分（干基，甲壳素、矿物质等）	≤40%	GB 5009.4 高温灼烧法
杂质（泥沙、肉渣等）	≤3%	目视筛选+称重法

4.3.2 安全指标

重金属：铅（Pb）≤0.5 mg/kg，镉（Cd）≤0.1 mg/kg（参考GB 2762）。

微生物：菌落总数≤5×10⁴ CFU/g，沙门氏菌不得检出（参考GB 4789系列标准）。

污染物：不得混入油脂腐败产物、化学清洁剂残留等。

5 活性肽制备工艺

5.1 工艺流程

虾壳原料 → 预处理 → 脱矿 → 脱甲壳素 → 酶解 → 灭活离心 → 超滤 → 脱盐 → 层析纯化 → 干燥 → 活性肽成品

5.2 原料预处理

5.2.1 清洗与分选

使用流动清水反复冲洗至无可见杂质，pH中性，最后用去离子水漂洗。剔除腐坏、发黑或异味虾壳，确保原料色泽均匀。

5.2.2 粉碎与灭菌

经机械粉碎成粒径≤2 mm的虾壳粉，提高后续酶解效率；采用121℃高温蒸汽灭菌15分钟或辐照处理（剂量≤5 kGy）。

5.2.3 原料储存

清洗后虾壳需在-18℃冷冻保存，保质期≤6个月。在使用前于4℃冷藏解冻，避免反复冻融导致蛋白变性。

5.2.4 原料验收

进行到货检查, 核对批次证明、感官检验(颜色、气味), 再对货物进行抽样检测, 每批次按5%比例抽样, 检测水分、灰分及微生物指标。拒收霉变、重金属超标或来源不明的原料, 记录并反馈供应商。

5.3 脱矿

在脱矿处理中, 将虾壳浸泡在1-2%的盐酸或乙酸溶液中, 固液比一般为1:5~1:10 (w/v)。在室温或稍加热(40~50℃)条件下浸泡2~4小时, 期间可适当搅拌。使碳酸钙、磷酸盐等矿物质充分溶解。反应终点通过取样滴加稀硫酸无气泡(无CO₂生成)进行判定。完成后, 反应液经固液分离, 残渣用清水反复洗涤至中性。该步骤通过酸解选择性去除无机成分, 同时控制反应条件以避免有机组分过度降解。

5.4 脱甲壳素

将脱矿后的虾壳粉浸泡在1~2%的氢氧化钠(NaOH)溶液中, 固液比为1:5~1:10 (w/v)。加热至60~90℃, 持续搅拌2~4小时。过滤或离心分离固体残渣, 得到脱甲壳素后的虾壳。用清水反复冲洗至中性, 去除残留的碱液。

5.5 酶解工艺

5.5.1 酶解前处理

将粗产物粉碎至100-200目, 增加酶接触面积。再按固液比1:20 (m/v)加入清水, 整罐高压灭菌20分钟, 冷却后调节pH至酶最适范围。

5.5.2 蛋白酶种类

根据目标活性肽功能确定蛋白酶种类, 生产常用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、及混合酶(如: 质量比为1:1的碱性蛋白酶、胃蛋白酶配制而成)

5.5.3 酶解参数

在制备活性肽的过程中, 酶解参数至关重要。一般而言, 酶浓度应控制在1%~3% (以底物质量计), 温度设置在45℃~60℃之间, 具体温度应根据所用酶的活性温度进行调整。pH值方面, 使用碱性蛋白酶时应维持在7.0~9.0之间, 而使用酸性蛋白酶时应控制在4.0~6.0范围内。酶解时间通常为4~8小时, 搅拌速率保持在100~200转/分钟, 以确保酶解过程的均匀性和效率。

5.5.4 酶解终点控制

90℃加热10分钟终止反应, 冷却后离心(8000 × g, 15分钟)取上清液。

5.6 分离纯化

5.6.1 初级分离

使用超滤设备, 选择合适分子量(1~10 kDa)的超滤膜, 分离大分子杂质、去除盐分、同时截留目标分子量的活性肽段。

5.6.2 精制纯化

使用多级膜联用（如分子量1 kDa、3 kDa、5 kDa）进一步纯化不同的肽段（如目标肽为1~3 kDa）。

5.7 浓缩

使用真空浓缩设备，在低温（40~50℃）条件下浓缩活性肽溶液，或者使用纳滤或反渗透膜浓缩活性肽溶液，浓缩至固形物含量为20~30%。

5.8 干燥

将浓缩后的活性肽溶液通过喷雾干燥塔，进口温度180℃~200℃，出口温度90℃~100℃。

6 包装与储存

将活性肽粉末按规格分装，使用铝箔袋或真空包装，避免吸潮和氧化。储存于阴凉干燥处，避免阳光直射。其包装材料质量应符合GB 4806.7的规定。

7 质量控制

7.1 质量指标

使用Lowry法或BCA法测定样品中的总蛋白含量，要求 $\geq 80\%$ ；用HPLC或MALDI-TOF-MS分析样品分子量分布，主峰分子量 ≤ 5 kDa；溶解度 $\geq 95\%$ （水溶液，25℃）。产品污染物限量和微生物限量应符合GB 2762和GB 4789的规定。

7.2 功能活性

抗氧化活性中DPPH自由基清除率 $\geq 70\%$ （1 mg/mL浓度）。ACE抑制活性 $IC_{50} \leq 1$ mg/mL（参考降压肽标准）。

7.3 工艺要点

酶解组合：可尝试双酶分步水解，提升肽得率。

活性肽制备过程中的关键工序：原料验收、脱钙、脱甲壳素、酶解、分离纯化、浓缩干燥等要重点控制。

对活性肽提取过程中的关键参数：酶种类、酶解温度、酶解时间、分离纯化膜等的选择要重点控制。

废液回收：脱矿废液（含 Ca^{2+} ）可制备富钙产品，脱甲壳素废液可制备壳聚糖产品，实现资源化利用。

8 废水排放要求

废水排放管理：原料处理、加工过程产生的废水需经中和、沉淀处理后方可排放，符合GB 8978《污水综合排放标准》。