

文章编号: 1674-8085(2018)03-0024-04

鲢鱼鱼鳞蛋白提取工艺研究

*胡爱军^{1,2}, 赵晨¹, 郑捷¹, 郜申红¹, 程文雯¹, 王洪国¹

(1.天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457; 2.天津市宽达水产食品有限公司, 天津 300304)

摘要:以鲢鱼鱼鳞为研究对象,研究了提取温度,提取时间,料液比对鱼鳞蛋白质提取率的影响,并进一步通过正交实验对其提取工艺进行了优化。研究表明:鱼鳞蛋白质提取率随着提取温度、提取时间、料液比的增加而提高。其提取的最佳条件是:提取温度 90 ℃,提取时间 6 h,料液比 1:25,在此条件下鲢鱼鱼鳞蛋白质的提取率为 77.41%。

关键词:鲢鱼鱼鳞;蛋白质;提取

中图分类号: TS254.9

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2018.03.006

EXTRACTION TECHNOLOGY OF FISH SCALE PROTEIN FROM SILVER CARP

*HU Ai-jun^{1,2}, ZHAO Chen¹, ZHENG Jie¹, GAO Shen-hong¹, CHENG Wen-wen¹, WANG Hong-guo¹

(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin City Kuanda Aquatic Food Co., Ltd., Tianjin 300304, China)

Abstract: silver carp scale was taken as the raw material to extract protein. In the process, the influence of the extraction temperature, time and ratio of solid to liquid on the extraction yield of protein was investigated. Then the extraction conditions were further optimized by the orthogonal experiments. The results showed that the extraction yield of protein was enhanced with the increase of extraction temperature, time and ratio of solid to liquid. The extraction yield of protein reached up to 77.41% under the extraction temperature of 90 ℃, extraction time of 6 h and the ratio of solid to liquid of 1:25 (m/V).

Key words: silver carp; protein; extraction

中国作为淡水鱼大国,其产量一直稳居世界前列^[1]。相关统计报告显示,近年来我国水产品总产量逐年递增,2015年,我国水产品总产量达到6700万吨,淡水产品产量为3200余万吨,其中鲢鱼产量为435.5万吨,仅次于草鱼,位于产量第二位^[2]。水产加工过程中会产生大量的下脚料,包括鱼皮、鱼头、内脏、鱼鳞、鱼骨、虾头、

蟹壳等,目前这些下脚料的一小部分被用来生产饲料鱼粉,剩余的大部分则被废弃,很多价值很高的材料并未充分回收和利用^[3]。

近年来很多学者对带鱼、鲤鱼、鲫鱼、草鱼、金线鱼^[4-6]等鱼类鱼鳞的成分进行了研究,结果表明,鱼鳞中含有丰富的蛋白质和多种矿物质,其中有机物占41%~55%,磷酸钙占38%~46%,还

收稿日期: 2018-01-05; 修改日期: 2018-02-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(中国博士后科学基金面上项目, 2013M540211); 天津市农业科技成果转化与推广项目(201704080); 天津科技大学科学研究基金项目(20110104); 天津市东丽区科技型中小企业发展专项资金产学研合作项目

作者简介: *胡爱军(1968-),男,安徽铜陵人,教授,博士,硕士生导师,主要从事食品加工技术与功能成分研究(E-mail:huaijun@tust.edu.cn); 赵晨(1991-),女,河北石家庄人,硕士生,主要从事食品加工技术与功能成分研究(E-mail:2416168475@qq.com); 郑捷(1971-),女,海南海口人,高级工程师,硕士生导师,主要从事水产品与功能食品的研究(E-mail:jane@tust.edu.cn); 郜申红(1993-),男,山西忻州人,硕士生,主要从事食品加工技术与功能成分研究(E-mail:779738506@qq.com); 程文雯(1992-),女,湖北宜昌人,硕士生,主要从事食品加工技术与功能成分研究(E-mail:1136349466@qq.com); 王洪国(1992-),男,山东淄博人,硕士生,主要从事食品加工技术与功能成分研究(E-mail:491363575@qq.com)。

含少量碳酸钙、磷酸镁、磷酸钠等无机盐,鱼鳞的有机组成中除胶质外,大部分为鱼类特有的鱼鳞硬蛋白、脂肪、色素等。同时,鱼鳞还具有很高的药用价值,如鱼鳞提取物可以降低血压、降低胆固醇、延缓衰老等^[7-8]。

目前鱼鳞还没有成熟的有效利用途径。就目前全世界的研究来看,鱼鳞可以加工成胶原蛋白^[9-10]、明胶^[11-12]、羟基磷灰石^[13-14]、鱼银^[15]等。

鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*),隶属于鲤形目,鲤科,是我国著名的四大家鱼之一,具有重要的经济价值。鲢鱼鱼鳞中含有丰富的蛋白质,且大部分蛋白质以胶原蛋白的形式存在^[16-17]。如将鱼鳞中的蛋白质提取出来加以纯化利用将能产生重要的社会和经济效益^[18]。

本实验采用热力学法提蛋白,考察提取温度、提取时间、料液比对蛋白质提取率的影响,通过正交实验优化蛋白质提取工艺参数,参照相关文献,之前并无类似报道。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

鲢鱼鱼鳞,购自天津市金元宝农贸市场;硫酸铜、氨水、氢氧化钠、牛血清蛋白标准品均为分析纯试剂;紫外可见分光光度计(Alpha-1502)购于上海谱元仪器有限公司;电子天平(FA2204B)购于诸暨市超泽衡器有限公司。

1.2 蛋白质提取

鱼鳞蛋白的提取参考 Jongjareonrak 等^[19]报道的方法并做些许改动。采用热力学法提鱼鳞蛋白,按一定的料液比加入蒸馏水,在一定的温度下浸提一段时间,过滤,离心,滤液真空浓缩,干燥,得到固体蛋白。

1.2.1 提取率测定

采用双缩脲法测定提取液中的蛋白质含量。

双缩脲试剂:按照 NY/T 1678-2008 乳与乳制品中蛋白质的测定双缩脲比色法进行配制。

标准溶液:称取一定量的牛血清蛋白标准品溶于 100 mL 0.9% 的 NaCl 溶液,配成浓度为 10 mg/mL

的标准溶液。取具塞试管编号,分别加入 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL 的标准蛋白质溶液,加蒸馏水补足至 10 mL,备用。

标准曲线的制备:取 8 支试管,将上述配置好不同浓度的标准蛋白质溶液 3 mL 从低到高依次加入 8 支试管,并在试管中加入双缩脲试剂 2 mL,充分混匀。

标准曲线的测定:取上述试管,以经过相同处理步骤的去离子水为参比溶液,在 540 nm 处测定其吸光度,以蛋白质浓度为横坐标,吸光值为纵坐标绘制标准曲线。同时测定提取蛋白质的吸光度值,并根据标准曲线的线性回归方程读取浓度。

蛋白质提取率计算:

$$\text{提取率} = \frac{X_1 \times V}{X_2 \times m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: X_1 : 提取液中蛋白质含量, g/mL;

V : 提取液体积, mL;

X_2 : 脱钙后鱼鳞蛋白质含量, % (实验室测得脱钙后鱼鳞蛋白质含量为 86.90%);

M : 脱钙鱼鳞质量, g。

1.2.2 不同因素对提取率的影响

(1) 提取温度对提取率的影响^[20]

固定料液比为 1:20,提取时间 6 h,分别在 50、60、70、80、90 °C 条件下提取,考察不同提取温度对蛋白质提取率的影响。

(2) 提取时间对提取率的影响

固定料液比为 1:20,提取温度 80 °C,分别在 2、4、6、8、10 h 条件下提取,考察不同提取时间对蛋白质提取率的影响。

(3) 料液比对提取率的影响

固定提取时间 6 h,提取温度 80 °C,分别在料液比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 条件下提取,考察不同料液比对蛋白质提取率的影响。

1.2.3 蛋白质提取工艺参数优化

以提取时间、提取温度、料液比为影响因素,依据单因素实验的结果选择合适的影响因素水平,以蛋白质提取率为考察指标,设计四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交实验。正交试验因素水平见表 1。

表 1 正交实验因素水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experiment

水平	提取温度 (°C)	提取时间 (h)	料液比
1	70	4	1:15
2	80	6	1:20
3	90	8	1:25

2 结果与讨论

2.1 蛋白质浓度标准曲线

根据数据作图绘制标准曲线, 拟合出回归方程为 $y = 0.1192x + 0.0191$, 其中 y 为吸光度, x 为蛋白质浓度 (单位 mg/mL), 相关系数 $R^2 = 0.9986$, 相关性良好。

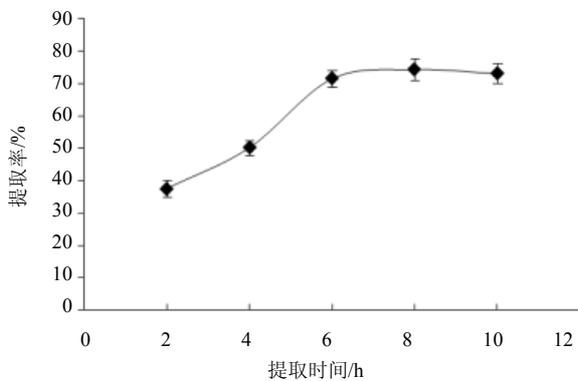


图 1 蛋白质标准曲线

Fig.1 Standard Curve of protein

2.2 温度对提取率的影响

温度对提取率的影响见图 2。

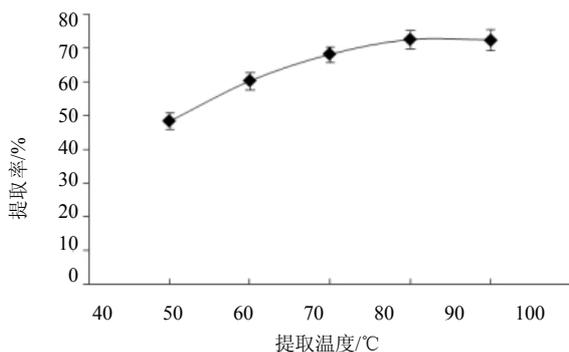
图 2 温度对提取率的影响 (Mean \pm SD, n = 3)

Fig.2 Effect of temperature on extraction yield

在 50~80°C 之间蛋白提取率随温度升高有较大幅度上升, 在 80°C 时达到最大, 之后温度升高, 提取率不再上升。这可能是由于温度升高, 在热力的作用下鱼鳞蛋白更多地溶出, 当 80°C 时可溶出的蛋白质已经充分溶出, 继续升高温度提取率不再上升。

2.3 时间对提取率的影响

提取时间对提取率的影响见图 3。

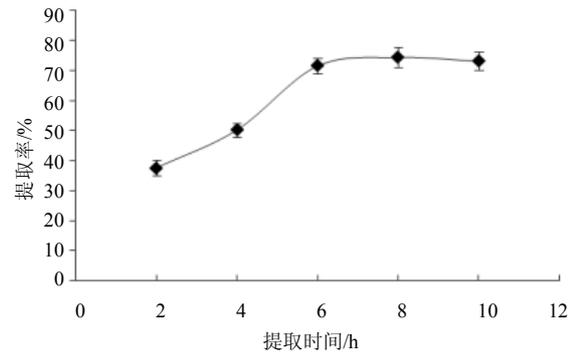
图 3 提取时间对提取率的影响 (Mean \pm SD, n = 3)

Fig.3 Effect of extraction time on extraction yield

在提取的前 6 h 鱼鳞蛋白质的提取率随着时间的延长而升高, 在 6 h 之后提取率不再上升。这可能是因为当提取时间比较短时, 鱼鳞表层结构没达到充分疏松, 蛋白质溶出率低, 在 6 h 之后, 可溶出的蛋白质基本被提取完全, 提取率不再上升。

2.4 料液比对提取率的影响

料液比对提取率的影响见图 4。

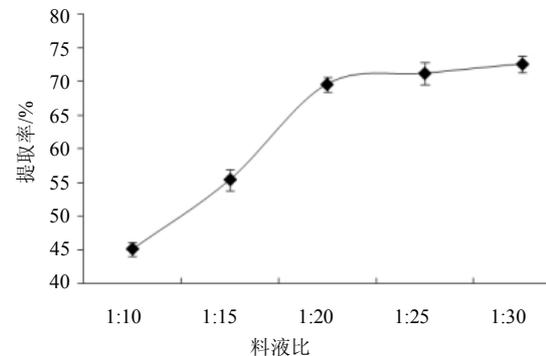
图 4 料液比对提取率的影响 (Mean \pm SD, n = 3)

Fig.4 Effect of solid-liquid ratio on extraction rate

当料液比从 1:10 变化至 1:20 时, 随着浸提液体体积的增加, 鱼鳞蛋白提取率不断升高, 当料液比大于 1:20 之后, 鱼鳞蛋白质的提取率升高不显著。这可能是因为鱼鳞蛋白质中含有胶体物质, 在料液比很小的情况下, 随着提取进行, 溶液的粘度、水在自由状态下的饱和程度都越来越大, 蛋白质难以溶出, 增大料液比可使提取率升高明显; 但当料液比达到可将鱼鳞蛋白质全部溶出之后, 增大料液比提取率将不再提高。

2.5 蛋白质提取工艺参数优化

正交试验结果见表2。

表2 $L_9(3^4)$ 正交实验结果

Table 2 Range analysis of $L_9(3^4)$ orthogonal test

实验号	温度(°C)	时间(h)	料液比	空白列	提取率(%)
1	70	4	1: 15	1	45.70
2	70	6	1: 20	2	60.03
3	70	8	1: 25	3	58.44
4	80	4	1: 20	3	61.72
5	80	6	1: 25	1	70.10
6	80	8	1: 15	2	62.04
7	90	4	1: 25	2	66.17
8	90	6	1: 15	3	63.47
9	90	8	1: 20	1	72.06
K_1	54.723	57.863	57.070	62.620	
K_2	64.620	64.533	64.603	61.847	
K_3	67.233	62.192	64.903	61.210	
R	12.510	6.670	7.833	1.410	

由表2中极差R可知各因素对蛋白提取效果影响程度相对大小的顺序为: 温度 > 料液比 > 时间。由提取率所确定的最优工艺条件组合为 $A_3B_2C_3$, 即温度 90°C , 时间 6 h, 料液比 1:25。

为了明确各因素对提取率影响的显著性, 进一步对表2中的试验结果进行方差分析, 方差分析结果见表3。

表3 方差分析表

Table 3 Results of variance analysis

变异来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
温度(°C)	261.274	2	130.637	59.850	0.016*
时间(h)	84.514	2	42.257	19.360	0.049*
料液比	118.202	2	59.101	27.077	0.036*
误差	4.365	2	2.183		

由表3, 方差分析结果表明, 各因素对提取率均有显著影响。这表明在鱼鳞蛋白质提取过程中, 温度、料液比和提取时间是决定提取率的关键因素。

2.6 优化工艺验证实验

由正交试验结果得到的提取最佳工艺参数为提取温度 90°C , 提取时间 6 h, 料液比 1:25。这个组合没有出现在正交表中, 因此需要对正交结果进行验证: 验证试验平行做3次, 取平均值, 测得此条件下提取率为 77.41%, 大于正交表中的最大值 72.06%。因此, 确定最佳提取工艺参数为提取温度 90°C , 提取时间 6 h, 料液比 1:25。

3 小结

蛋白质提取率随着提取温度、提取时间、料液比的增长而提高。鲢鱼鱼鳞蛋白提取最佳条件是: 提取温度 90°C , 提取时间 6 h, 料液比 1:25, 在此条件下鲢鱼鱼鳞蛋白的提取率为 77.41%。

参考文献:

- [1] 蒋高中. 我国综合养鱼发展现状及存在问题与对策探讨[J]. 南京农业大学学报: 社会科学版, 2007, 7(1): 71-76.
- [2] 吕兰兵. 新时期淡水鱼产业发展现状与对策分析[J]. 农技服务, 2016, 33(7): 123-123.
- [3] 鸿巢章二, 桥本周久. 水产利用化学[M]. 郭晓风, 邹胜祥 译. 北京: 农业出版社, 1992: 271-272.
- [4] 黄甫, 宋文东, 覃亮, 等. 金线鱼鱼鳞营养成分的分析研究[J]. 食品科技, 2006, 31(2): 132-134.
- [5] 刘庆慧, 王彩理. 鱼鳞胶原蛋白研究[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(3): 57-61.
- [6] 王彩理, 朱伯清. 鱼鳞胶及其在食品上的应用[J]. 北京水产, 2004(2): 32-33.
- [7] 陈贤杰, 吴森, 李红. 草鱼鱼鳞中提取卵磷脂的最佳工艺研究[J]. 江西化工, 2010(1): 105-108.
- [8] 刘庆慧, 王彩理. 鱼鳞提取物延缓衰老作用研究[J]. 海洋水产研究, 1999, 20(1): 75-79.
- [9] 孙宪迅, 孙齐英, 韩雪, 等. 罗非鱼鱼鳞胶原蛋白提取工艺研究[J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2012, 40(3): 105-107.
- [10] 郭瑶, 曾名勇, 崔文萱. 水产胶原蛋白及胶原多肽的研究进展[J]. 水产科学, 2006, 25(2): 101-104.
- [11] 黄华双. 罗非鱼鱼鳞明胶改性及其应用研究[D]. 广州: 广东海洋大学, 2012.
- [12] 黄焕, 王欣, 刘宝林. 鱼鳞胶原蛋白提取技术及其应用[J]. 食品科技, 2009(1): 208-212.
- [13] Ozawa M, Suzuki S. Microstructural development of natural hydroxyapatite originated from fish-bone waste through heat treatment[J]. Journal of the American Ceramic Society, 2002, 85(5): 1315-1317.
- [14] 郭庆, 艾春香. 鱼鳞资源的开发利用[J]. 福建畜牧兽医, 2005, 27(5): 32-33.
- [15] 李敏, 邓放明, 王乔隆. 淡水鱼下脚料的综合利用[J]. 中国食物与营养, 2007(2): 19-22.
- [16] 罗红宇. 海鱼鱼鳞营养成分的分析[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(3): 63-66.
- [17] 刘文涛, 李国英, 缪煜清, 等. 鱼鳞的研究现状及应用前景[J]. 水利渔业, 2006, 26(1): 20-23.
- [18] 王彩理. 鱼鳞制胶及其综合利用[J]. 齐鲁渔业, 2002, 19(3): 40-41.
- [19] Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(4): 492-501.
- [20] 邱小明, 黄聪亮, 陈建福. 响应面法优化酶解提取鲮鱼鱼鳞胶原蛋白的工艺研究[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2017, 38(3): 39-44.