

张佳兰. 鲶鱼下脚料分离蛋白质的制备及功能性质的研究[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 245-248.

# 鲶鱼下脚料分离蛋白质的制备及功能性质研究

张佳兰

(长江大学动物科学学院, 湖北荆州 434025)

**摘要:**利用美国鲶鱼生产鲶鱼片加工的下脚料制备分离蛋白质, 研究提取液 pH 值、提取时间、提取温度和料液比等单因素对蛋白质提取率的影响, 通过正交试验得出分离蛋白质的最佳工艺参数, 再通过酸沉、水洗、脱腥和喷雾干燥等步骤最终得到分离蛋白质粉, 对此分离蛋白质进行部分性质与功能的鉴定与分析。结果表明, 鲶鱼加工下脚料中含有大量蛋白质, 其含量高达 55.42%。分离蛋白质的最佳工艺参数: 料液比为 1:10(g:mL), 提取液 pH 值 11, 提取时间 90 min, 提取温度 40℃; 并通过在等电点 pH 值 5.2 时酸沉、水洗、添加 30 g/L  $\beta$ -环糊精进行脱腥, 最后经喷雾干燥得到分离蛋白质粉。蛋白质得率为 42.12%, 提取率为 76.0%。分离蛋白质的溶解度在 pH 值为 5.0 左右时最小, 其保水性为 1.48 mL/g, 吸油性为 2.8 mL/g, 乳化性为 40.59%, 乳化稳定性为 57.97%。

**关键词:**鲶鱼; 分离蛋白质; 制备; 性质与功能

**中图分类号:** TQ93; S91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0245-03

美国斑点叉尾鲶(*Ictalurus punctatus*) 别称沟鲶, 属鲶形目(Siluriformes) 鲶科(Ictaluridae), 因其身体两侧有明显不规则的黑色斑点而得名<sup>[1]</sup>。斑点叉尾鲶肉质鲜美且富含人体所必需的各种氨基酸, 如异亮氨酸、亮氨酸、精氨酸等, 同时不饱和脂肪酸约占 55.7%<sup>[1-3]</sup>。由于美国斑点叉尾鲶肉质细嫩, 无椎间刺, 目前主要用于加工生鱼片和冷冻鱼糜<sup>[3]</sup>, 而对于鲶鱼加工下脚料主要用于制造饲料鱼粉<sup>[4]</sup>。但是随着食品科技的发展, 尤其是水产加工业的发展, 人们对鱼类加工的附加值提出了更高的要求。另外, 随着人口的增长, 食物资源的日益短缺必然要求综合利用鱼体价值, 因此, 鱼加工废弃物的开发利用越来越受到重视。已报道的有生产鱼露, 分离降血压组分, 提取凝乳酶及抗细菌、抗真菌成分, 制作发酵基质等<sup>[4]</sup>。从鱼产品加工下脚料中分离制备蛋白质、回收胶原蛋白也是目前研究热点。尽管近年来对鱼加工下脚料综合利用的研究越来越多并取得了很多进展, 但综合利用鱼加工下脚料的整体水平并未显著提高。由于鱼的品种不同, 其营养成分组成也不同, 加工工艺存在很大差异, 确定每种鱼的加工下脚料再利用的最佳工艺条件, 以及生产成本较低、附加值较高的优化产品仍需进行大量的研究。鲶鱼加工下脚料中含有丰富的蛋白质, 但是目前国内外对鲶鱼加工下脚料的利用还很有限, 造成资源极大的浪费。本研究对鲶鱼加工下脚料分离蛋白质的制备工艺和分离蛋白质的性质与功能进行探

讨, 为鲶鱼加工下脚料的资源的充分再利用提供相应的试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

鲶鱼加工下脚料: 来自湖北湘宜水产品有限公司; 主要试剂包括氢氧化钠、硫酸、盐酸、硼酸、双氧水、硼砂、硫酸铵(以上均为分析纯), 标准牛血清蛋白、甲基红指示剂、定氮指示剂、 $\beta$ -环糊精、精炼大豆油等。主要仪器及设备包括 DL-5-C 低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂); UV1800 紫外可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司); PL303 电子天平(感量为 0.000 1 g, 上海精密科学仪器有限公司); 101A-1 电热鼓风干燥箱(上海市试验仪器总厂); HH-4 数显恒温水浴锅(江苏省常州市国华电器有限公司); MDRP-5 离心喷雾干燥机(江苏省无锡市锡山区现代喷雾干燥厂); pH-510 数字酸度计(四川成都贝斯达仪器有限公司); 85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂); 凯式定氮仪(上海旦鼎国际贸易有限公司)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 鲶鱼加工下脚料分离蛋白质的制备

1.2.1.1 分离蛋白的提取工艺 鲶鱼加工下脚料分离蛋白的提取工艺如图 1 所示。

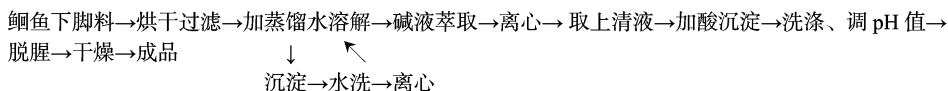


图1 鲶鱼加工下脚料分离蛋白的提取工艺

1.2.1.2 碱液提取的单因素试验 在碱液提取过程中, 影响

碱液提取的因素主要有提取液 pH 值、提取温度、提取时间和料液比等。本试验采取 4 500 r/min 离心 10 min, 考察提取液 pH 值、提取温度、提取时间和料液比等对蛋白质溶出的影响。pH 值设置为 9、10、11、12; 提取温度设置为 35、40、45、50℃; 提取时间设置为 0.5、1.0、1.5、2.0 h; 料液比设置为 1:6、1:8、1:10、1:13(g:mL), 进行单因素试验。每次处理称

收稿日期: 2013-02-03

基金项目: 湖北省教育厅项目(编号: Q20091206)。

作者简介: 张佳兰(1971—), 女, 陕西武功人, 博士, 副教授, 从事动物生产与饲料添加剂方面的研究。E-mail: zjlgpy88@sohu.com。

取 1.500 0 g 样品,离心分离后提取液稀释至标准曲线范围内,用 U-V 分光光度法测定其中的蛋白质吸光度,计算出提取液中的蛋白质含量。

1.2.1.3 碱液提取的正交试验 在料液比为 1:10(g:mL)的条件下,考察提取液 pH 值、提取温度、提取时间等主要因素。选用  $L_9(3^4)$  正交表进行正交试验。每次仍称取 1.500 0 g 鲮鱼鱼渣粉,进行分离蛋白质提取工艺因素的优化试验。

1.2.1.4 等电点(PI)的确定 提取液离心之后用 0.05 mol/L HCl 溶液调整 pH 值到其等电点范围,使鲮鱼蛋白质液中大多数蛋白质凝聚沉淀,然后静置约 30 min 进行离心,得到其分离蛋白质,再用室温水洗多次后,用 0.05 mol/L 溶液将溶液中和至 pH 值 7.0。

1.2.1.5 蛋白液脱腥 在鲮鱼下脚料蛋白液中分别加入 1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%、4.0%  $\beta$ -环糊精,搅拌均匀,放置 30 min,评定腥味强弱<sup>[5]</sup>。

1.2.1.6 喷雾干燥 中和脱腥后的鲮鱼下脚料蛋白液在热空气入口温度为 180 ℃(自控)、出口温度为 80 ℃、进料流速为 1 L/h 的条件下进行喷雾干燥<sup>[6]</sup>。

1.2.1.7 产品得率及蛋白质提取率的确定 产品得率 = 喷雾干燥蛋白粉重量/样品重量  $\times 100\%$ ; 蛋白质含量 = 喷雾干燥蛋白粉重量/(样品重量  $\times$  粗蛋白质含量)。

1.2.2 蛋白质含量测定 原料中蛋白质总量的测定采用微量凯氏定氮法<sup>[7]</sup>,测得原料中粗蛋白含量为 55.42%。水溶液中蛋白质含量的测定采用牛血清蛋白法<sup>[7]</sup>。根据 U-V 分光光度法测定出标准蛋白浓度的吸光度  $D_{280\text{nm}}$ ,以标准牛血清蛋白浓度为横坐标  $x$ ,  $D_{280\text{nm}}$  值为纵坐标  $y$ ,绘制标准曲线,其标准曲线函数为  $y = 0.6267x + 0.0291$ ,  $r^2 = 0.9914$ 。

1.2.3 鲮鱼下脚料分离蛋白的功能性质测定

1.2.3.1 溶解性的测定 取 8 个小烧杯,各加入 0.1 g 的喷雾干燥蛋白粉和 10 mL 蒸馏水,用 0.05 mol/L NaOH 溶液和 0.05 mol/L HCl 溶液分别调其 pH 值为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0(室温),搅拌使其充分溶解,40 min 后,4 500 r/min 离心 10 min,收集上清液,用 U-V 分光光度法测定上清液中蛋白质含量<sup>[7]</sup>。

1.2.3.2 吸水性的测定 取 1.0 g 喷雾干燥蛋白粉加入 10 mL 水,在离心管中充分振荡,混匀,静置 20 min,使之充分吸水,4 500 r/min 离心 10 min 后,测量残留物的重量。吸水性以 1 g 样品吸附水的体积(mL)表示, mL/g<sup>[8]</sup>。

1.2.3.3 吸油性测定 取 0.5 g 喷雾干燥蛋白质粉加入 10 mL 精炼大豆油,在离心管中充分振荡、混匀,静置 20 min,使之充分吸油,4 500 r/min 离心分离 10 min,测量剩余油的体积。吸油性以 1 g 蛋白质粉吸附油的体积(mL)表示, mL/g<sup>[8]</sup>。

1.2.3.4 乳化性和乳化稳定性测定 根据文献[9]操作如下:取 0.5 g 喷雾干燥蛋白质粉溶解到 10 mL 蒸馏水中,加 10 mL 精炼大豆油,搅拌,并用磁力搅拌器让其充分混合。然后 4 500 r/min 离心 10 min,测定离心管中液体总高度  $H$  和乳化层高度  $h$ 。将上述离心液转入刻度试管中,放置在 50 ℃ 水浴中,1 h 后测定其乳化层高度  $h_1$ 。具体计算如下:

$$\text{乳化性} = h/H \times 100\%;$$

$$\text{乳化稳定性} = h_1/h \times 100\%。$$

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质提取的单因素试验

2.1.1 提取液 pH 值对分离蛋白质提取的影响 在提取时间为 1 h、温度为 40 ℃、料液比为 1:13(g:mL)的条件下,提取液 pH 值对蛋白质含量的影响如图 2 所示。由图 2 可以看出,当 pH 值从 10 增加到 11 时,蛋白质含量显著增加;但当 pH 值大于 11 时,溶出的蛋白质含量又有下降趋势,即蛋白质含量在 pH 值为 11 时最高。

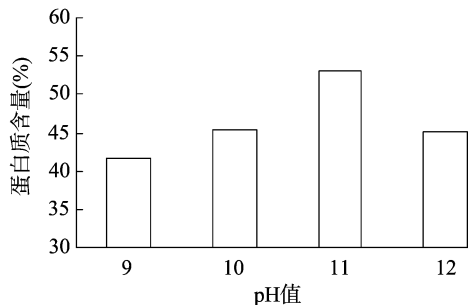


图2 不同 pH 值对溶出蛋白质含量的影响

2.1.2 料液比对分离蛋白提取的影响 在 pH 值为 11、提取温度为 40 ℃、提取时间为 1 h 的条件下,料液比对蛋白质含量的影响如图 3 所示。由图 3 可以看出,碱液提取效果随着提取剂的增加而增强,料液比达到 1:10(g:mL)时,蛋白质含量最高;但当料液比继续增大时,提取效果又有下降趋势,而且可以看出整体趋势变化不是很明显,曲线趋于平缓,也就是说料液比对碱液提取效果影响较小。

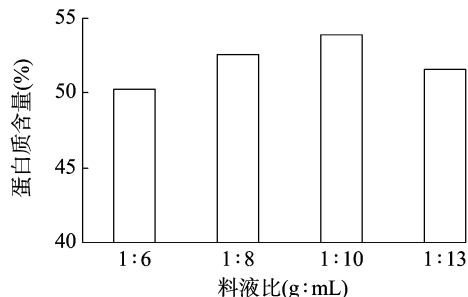


图3 不同料液比对溶出蛋白质含量的影响

2.1.3 提取时间对分离蛋白提取的影响 在提取液 pH 值为 11、提取温度为 40 ℃、料液比为 1:10(g:mL)的条件下,提取时间对蛋白质含量的影响如图 4 所示。由图 4 可知,在 1.5 h 以内,蛋白质含量随提取时间的延长而增加,当提取时间达到 1.5 h 时,提取出的蛋白质含量达到最大;1.5 h 后,随着时间继续延长,蛋白质的含量反而下降。这可能是由于提取时间过长,部分蛋白质发生变性和凝聚而导致,因此提取最佳时间为 1.5 h。

2.1.4 提取温度对分离蛋白质提取的影响 在提取液 pH 值为 11、提取时间为 1.5 h、料液比为 1:10(g:mL)的条件下,提取温度对蛋白质含量的影响如图 5 所示。由图 5 可知,在温度为 35~40 ℃ 时,蛋白含量随着提取温度升高而升高;当温度达到 40 ℃ 时,蛋白质提取含量为最高;当提取温度超过 40 ℃ 时,蛋白质含量开始降低,可能是温度升高加剧了蛋

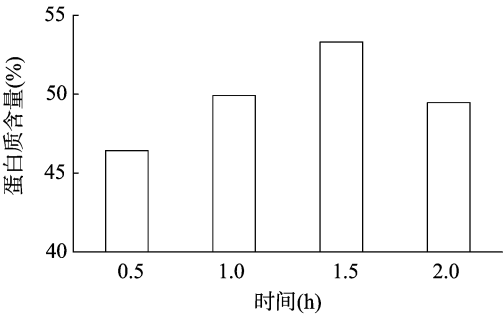


图4 不同提取时间对溶出蛋白质含量的影响

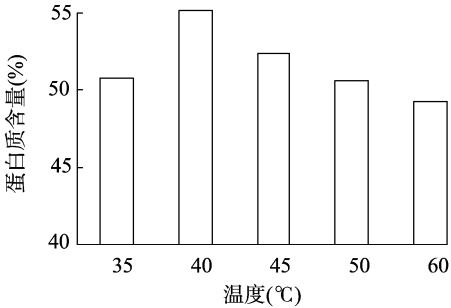


图5 不同温度对溶出蛋白质含量的影响

白质的变性,所以最适提取温度为 40 ℃。

2.2 蛋白质提取的正交试验

由蛋白质提取单因素试验可以看出,料液比对蛋白质提取影响最小,且趋势很平缓,所以正交试验确定最佳料液比为 1 : 10 (g : mL),在此条件下,选取提取液 pH 值、提取温度、提取时间 3 个因素进行试验(表 1)。选用  $L_9(3^4)$  正交表,以获得提取蛋白质的最佳工艺参数。

表 1 鲟鱼加工下脚料蛋白质提取工艺正交试验因素水平

水平	A:pH 值	B:温度(℃)	C:时间(min)
1	10.5	35	70
2	11.0	40	90
3	11.5	45	110

正交试验及分析结果如表 2 所示,由表 2 极差分析可知,主次关系为 pH 值影响最大,其次为提取时间,提取温度影响最小。最优参数组合为料液比固定为 1 : 10 (g : mL)、提取液 pH 值为 11.0,提取温度为 40 ℃,提取时间为 90 min 时,提取液中的蛋白质含量最大。而最优组合没有在正交试验的实施组中,所以需要做验证试验。在最优参数组合条件下,分别做验证试验 3 次,蛋白质平均含量为 53.8%。

2.3 等电点的确定

通过酸沉试验发现,鲟鱼加工下脚料蛋白液在 pH 值为 5.2 时,絮状沉淀最多,而在继续滴加盐酸时,絮状沉淀又有所减少,所以确定鲟鱼加工下脚料在经过最佳碱提过程后,用 0.05 mol/L HCl 溶液酸沉,可确定其蛋白质等电点为 5.2。

2.4 溶液脱腥结果

通过添加不同量的  $\beta$ -环糊精对鲟鱼加工下脚料蛋白液进行脱腥处理,具体结果见表 1。由感官评定可以得出,在  $\beta$ -环糊精的添加量超过 30 g/L 时,脱腥效果最为明显。但是考虑到添加量大,会有结晶析出,以及节约成本,所以本试验最终采取  $\beta$ -环糊精添加量 30 g/L 为脱腥最佳选择。本

表 2 鲟鱼下脚料蛋白质提取工艺正交试验结果及分析

试验号	pH 值	温度(℃)	时间(min)	蛋白质含量(%)
1	1	1	1	48.1
2	1	2	2	52.5
3	1	3	3	48.3
4	2	1	2	53.0
5	2	2	3	52.8
6	2	3	1	51.0
7	3	1	3	49.8
8	3	2	1	50.4
9	3	3	2	50.7
$k_1$	49.6	50.3	49.9	
$k_2$	52.3	51.9	52.1	
$k_3$	50.3	50.0	50.3	
极差 R	2.7	1.9	2.2	

表 3 鲟鱼下脚料蛋白质提取工艺脱腥结果及感官评定

$\beta$ -环糊精添加量(g/L)	脱腥结果	结果评定
15	+++	腥
20	++	微腥
25	+	淡腥
30	-	无腥
35	-	无腥
40	-	无腥

脱腥的方案是在先得到酸沉蛋白后进行的,避免了在酸沉过程中因加入其他物质而影响蛋白质的等电点沉淀。另外, $\beta$ -环糊精脱腥法,相比活性炭脱腥来说,具有干扰因素少、对结果影响小的特点。

2.5 蛋白质得率及提取率

取 20.003 5 g 干燥好的鲟鱼加工下脚料,在 pH 值为 11、提取温度 40 ℃,提取时间为 90 min 的最优碱提条件下进行蛋白质提取,在 pH 值为 5.2 条件下进行等电点酸沉,用蒸馏水洗涤,添加 30 g/L  $\beta$ -环糊精进行脱腥,最终进行喷雾干燥,可获得 8.425 g 干燥的蛋白质粉。因此,试验中蛋白质得率为 42.12%,蛋白质提取率为 76.0%。

2.6 鲟鱼加工下脚料分离蛋白的性质与功能

由图 6 可知,pH 值为 5.0 左右时,大部分蛋白质溶解性差,也可以证明鲟鱼分离蛋白质的等电点在 5.0 左右时符合酸沉试验。而当 pH 值 > 7.0 时,鲟鱼加工下脚料分离蛋白的溶解性随着 pH 值的增加而增加。

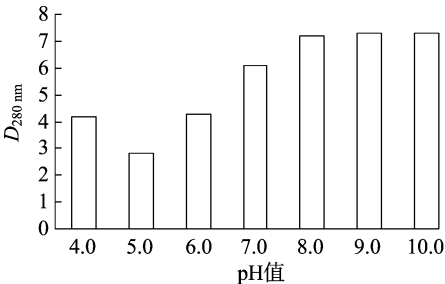


图6 不同 pH 值对鲟鱼分离蛋白质溶解度的影响

由试验测定并计算得,鲟鱼加工下脚料分离蛋白的吸水性为 1.48 mL/g,吸油性为 2.8 mL/g,乳化性为 40.59%,乳化

缪函霖,包海蓉,赵路漫. 金枪鱼肉冷藏过程中理化特性的变化[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):248-251.

# 金枪鱼肉冷藏过程中理化特性的变化

缪函霖,包海蓉,赵路漫

(上海海洋大学食品学院/上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心,上海 201306)

**摘要:**以新鲜金枪鱼为试材,通过分析 4 ℃ 冷藏过程中金枪鱼肉 pH 值、肌原纤维蛋白盐溶性、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、巯基含量和  $K$  值的变化规律,考察金枪鱼肉在冷藏过程中理化特性及新鲜度的变化情况。结果表明:在 4 ℃ 冷藏过程中,鱼肉 pH 值在冷藏后 1 d 下降,达到最低值 6.78,之后呈波动状上升趋势;肌原纤维蛋白盐溶性、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、巯基含量均呈下降趋势,8 d 后分别下降了 26.90%、75.18%、23.67%,其中, $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性和巯基含量的下降趋势相似; $K$  值在前 7 d 基本呈稳定上升趋势,前 4 d 未超过 20%,8 d 后超过 50%。

**关键词:**金枪鱼;冷藏;理化特性;肌原纤维蛋白;新鲜度

**中图分类号:**TS254.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)08-0248-04

金枪鱼属硬骨鱼纲鲈形目鲭科鱼类,生活在海洋中上层,分布于太平洋、大西洋和印度洋的热带、亚热带和温带广阔水域中,是大洋暖水性洄游鱼类。金枪鱼不但肉质柔嫩,口感上佳,而且具有高蛋白、低脂肪和低能量的特点,是国际营养学会推荐的三大营养鱼之一<sup>[1]</sup>。鱼肉蛋白质中氨基酸种类齐全,包含人体所必需的 8 种氨基酸,同时,还含有大量的多不饱和脂肪酸,DHA 的含量尤为突出,此外还含有多种维生素、矿物质,是有益健康的海洋美味,深受消费者青睐。近年来,国内外学者对金枪鱼冻藏过程中品质变化的研究较多<sup>[2-5]</sup>,而对冷藏过程中品质变化的研究较少。在常见的生食料理店里,作为生鱼片进行销售的冻藏金枪鱼肉,在销售前通常会被

转入冷藏条件下进行解冻和贮藏,在冷藏过程中,金枪鱼肉会发生一系列的品质变化。肌原纤维蛋白约占金枪鱼肉总蛋白质含量的 30%~50%,与鱼肉的品质特性有较大关联,是水产品加工中主要的研究对象<sup>[6]</sup>。本研究以肌原纤维蛋白盐溶性、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、巯基含量、鱼肉 pH 值和  $K$  值作为指标,考察金枪鱼肉在冷藏过程中的理化特性及新鲜度的变化情况,以为金枪鱼的贮藏、加工和销售提供一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 试样及预处理 黄鳍金枪鱼:取 -60 ℃ 冻藏黄鳍金枪鱼背部肉,装入聚乙烯保鲜袋并密封,立即置于 4 ℃ 冰箱中冷藏。每隔 24 h 取肉进行测定,每个指标重复测定 3 次。

1.1.2 主要仪器 XHF-1 型高速分散器:上海金达生化仪器厂;GL-12B 型高速冷冻离心机:上海嘉鹏科技有限公司;SG2 型酸度计:梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;T6(新世纪)型紫外分光光度计:沈阳鑫科之杰实验仪器有限

收稿日期:2013-04-02

基金项目:国家“863”计划(编号:2012AA092302)。

作者简介:缪函霖(1989—),男,硕士研究生,浙江舟山人,主要从事食品品质评价的研究。E-mail: watch56@163.com。

通信作者:包海蓉,博士,上海人,副教授,主要从事食品加工工艺和水产品保鲜方面的研究。Tel: (021) 61900373; E-mail: hrbao@shou.edu.cn。

稳定性为 57.97%。

## 3 结论

鲷鱼加工下脚料分离蛋白提取的最佳工艺参数:料液比为 1:10(g:mL),提取液 pH 值 11.0、提取温度 40 ℃,提取时间 90 min,在此条件下提取液中的蛋白质含量最高,为 0.538。鲷鱼加工下脚料分离蛋白的等电点为 5.2。添加 30 g/L  $\beta$ -环糊精进行鲷鱼加工下脚料分离蛋白液脱腥效果最好。鲷鱼加工下脚料分离蛋白得率为 42.12%,蛋白质提取率为 76.0%。鲷鱼加工下脚料分离蛋白质粉的溶解性在 pH 值为 5.0 时最小;鲷鱼加工下脚料分离蛋白粉的吸水性为 1.48 mL/g,吸油性为 2.8 mL/g,乳化性为 40.59%,乳化稳定性为 57.97%。

## 参考文献:

[1] 沈继成. 美国斑点叉尾鲷概况[J]. 水产科技情报,1992(3):19.

[2] 王利琴,汪之和. 美国斑点叉尾鲷及其加工利用[J]. 渔业现代化,2002(2):32-33.

[3] 封功能,张雪梅,刘汉文,等. 斑点叉尾鲷含肉率及肌肉营养成分分析[J]. 江西农业学报,2007,19(7):79-80.

[4] 苑艳辉,钱和,姚卫蓉. 鱼下脚料综合利用之研究近况与发展趋势[J]. 水产科学,2004(11):40-42.

[5] 张晓敏. 带鱼下脚料水解蛋白的制备及其利用研究[D]. 重庆:西南大学,2008.

[6] 刘东儿,吕天喜. 绿豆分离蛋白的制备及其功能性质的研究[J]. 食品科技,2007,4(2):27-30.

[7] 张水华. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2006:156-163.

[8] 杜健,张晖,郭晓娜,等. 苦荞麦分离蛋白的提取及功能性质研究[J]. 粮油深加工及食品,2007(3):17-19.

[9] 张联英. 几种主要淡水鱼胶原蛋白的制备及其特性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2004.