

海洋贝类酶解液重金属控制与脱除技术研究 Heavy metal control and removal technology analysis in marine shellfish enzymatic hydrolysates

杨小满^{1,2,3}, 戴文津^{2,3}, 孙恢礼²

(1. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 2. 中国科学院 南海海洋研究所, 广东 广州 510301;
3. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

中图分类号: P593

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)03-0115-06

我国海岸线漫长, 海洋资源丰富, 生物物种多样。海洋贝类一直是我国重要的海洋经济产物。但近半个世纪以来, 随着近海人类活动影响的加剧, 工业废水、城市污水的排放使近海环境遭到严重破坏, 贝类由于其滤食性特点而易受到重金属、农药、生物毒素、细菌、病毒等的污染。其中重金属污染

显地域性特点, 污染区域主要集中在珠三角海域及浙江等经济发达地区, 主要污染原因为陆源污染物质的排放致使的沿海污染。所检测的重金属中 Hg、Cr 含量相对较低, 未见超标; 部分地区 Pb、As 含量已接近国家限定标准值, 甚至部分地区已超出国家标准, 值得关注。所有超标重金属中以 Cd 最为严重

移至洁净的水环境中,在无污染的水环境中暂养,利用贝类自身代谢过程将体内的重金属等污染物排出体外直至达到安全标准的过程。洁净水暂养是目前活体贝类脱除重金属的唯一手段,此方法的主要缺点在于所需成本较高,花费时间较长,往往暂养损耗率超过 50%以上,在经济上存在着较大的不可行性,不适宜大规模推广,且在暂养过程中会对暂养区水质造成一定的污染。研究表明重金属在贝类体内往往与亲和力最强的生物蛋白结合形成稳定的结合体^[15],因其配位结合非常稳固,直接使用洁净水

海水暂养对重金属脱除的效果不甚理想。总体上讲目前对于重金属的贝类净化脱除方法仍处在初级阶段,未见大规模应用。为了提高暂养过程中重金属的去除效果,有研究者提出在暂养海水中加入重金属配合物的方法提高俘获提高脱除重金属能力,如 Seki^[16]使用腐植酸作为一种竞争吸附剂,对扇贝中 Cd 进行有效脱除研究;孙继鹏^[17]报道了壳寡糖钙(COS-Ca)、壳寡糖镁(COS-Mg)配合物对栉孔扇贝体内镉的脱除作用,经 COS-Ca、COS-Mg 处理净化,3 d 内栉孔扇贝体内镉含量分别降低了 46%和 41.8%。

表 1 中国沿海地区贝类重金属污染状况

样品分类、采集地及评测标准	年份	Pb	Cd	As	Hg	Cr	参考文献
农产品安全质量无公害水产品安全要求限量标准(≤mg/kg 湿重)	2003	0.5	0.1	1.0	0.3	2.0	[12]
上川岛	2003	0.20	0.51	-	0.02	0.35	[5]
海陵岛沿岸	2004	0.59	1.64	-	0.0016	0.155	[6]
辽宁沿海	1994	0.05	0.45	-	0.03	-	[7]
山东沿岸	2008	0.08	0.78	0.19	0.01	0.16	[8]
江苏南通沿岸	2002	0.43	0.14	0.28	0.06	0.41	[9]
浙江沿岸	1998	0.49	1.54	0.52	0.02	-	[10]
广东沿海地区	2007	0.39	1.26	-	-	0.85	[11]

*注:表内贝类数据不包括牡蛎

2.2 蛋白酶解液重金属脱除技术

蛋白酶解液重金属脱除技术指通过蛋白酶将海洋动物蛋白制备为液态酶解液,并于酶解液中去除重金属的技术。利用酶解技术将海洋贝类蛋白质酶解成氨基酸、多肽等小分子可溶性成分,有效提高海洋贝类的资源利用率并提高其经济附加值,是制备海洋制品的必要途径,因酶解后得到的酶解液为液态介质,更加有利于重金属的脱除,目前已有的一些蛋白酶解液中重金属脱除技术的报道。此外还有其他领域去除重金属方法的研究,特别是一些脱除材料的改性技术,虽然不能直接地应用于酶解液去除重金属的实验中,但是可以提供很好的借鉴作用。综合各领域,可应用于酶解液中重金属的去除方法有:络合法、吸附法、离子交换树脂法、壳聚糖法等。表 2 列举了常见的脱除方法及改性研究,并对其优缺点进行比较。

2.2.1 壳聚糖

壳聚糖是天然生物高分子化合物甲壳素的脱乙酰基产物,壳聚糖分子中具有氨基和羟基,可络合金属离子,相比较碱金属,壳聚糖对重金属具有更

好的选择性^[18],同时无毒,无污染,可以生物降解的特点使其更适合应用于食品工业中。Muzzsrelli^[19]曾对壳聚糖与金属离子作用机理进行了研究,认为金属离子主要通过三种方式与壳聚糖结合,包括离子交换、物理吸附与螯合,这个结论目前也得到了学术界的普遍认同。

目前关于壳聚糖对重金属吸附的研究主要集中在吸附动力学、热力学及其功能改性方面。动力学、热力学包括探讨外部因素如温度、pH 值、吸附时间等对吸附的影响,而溶液的 pH 值、壳聚糖的脱乙酰度及吸附时间被认为是对吸附效果影响最大的因素^[20]。壳聚糖的 C-2 氨基和 C-6 伯羟基有良好的化学反应性,易于改性或接枝其他功能基团。通过改性可以增加壳聚糖的吸附容量以及对金属离子的选择性,如在壳聚糖中加入戊二醛、甲醛及环氧氯丙烷等交联剂制成交联壳聚糖树脂,可拓宽壳聚糖的 pH 适用范围,使壳聚糖可以在酸性条件下而不被质子化,同时有利于回收再生利用^[21]。此外还可以通过引入功能性基团提高对重金属的螯合能力,Wang^[22]用内旋化的冠醚做为改性基团进行反应,得到了新型壳

聚糖-冠醚, 生成的产物同时兼具了冠醚对重金属的络合选择性和壳聚糖树脂的可再生性。分子印迹技术是改性壳聚糖技术创新点, 通过印记过程提高壳

聚糖对印记离子的选择性, Su^[23]采用分子印迹技术, 以 Ni(II) 为印记离子制备了镍印迹壳聚糖分子, 提高了壳聚糖对二价金属离子尤其是 Ni 的吸附能力。

表 2 海洋贝类重金属控制与脱除方法比较

脱除方法	优缺点比较	改性研究
洁净水暂养	适用于活体贝类脱除, 但暂养成本高, 对暂养水环境造成污染, 不适宜规模化	贝类净化过程中添加各类重金属配合物
壳聚糖	无毒、无污染, 易于生物降解, 表面有大量活性基团易于改性	分子印迹技术、交联树脂改性及活性官能团的功能基团取代
离子交换树脂法	选择性好, 吸附量大, 易于再生, 可工业化, 但部分离子无法脱除, 洗脱条件苛刻	金属印迹或通过在树脂上装载金属离子提高选择性与吸附能力
络合法	选择性好, 脱除率高, 但脱除后不易固液分离, 且络合剂用量需严格控制	新型无污染络合材料的应用研究
吸附法	工艺简单、吸附容量大、可再生易于改性, 但选择性较差, 在脱除污染物同时营养物质损失严重	沸石可通过装载金属, 活性炭可通过表面包覆、氧化、硫化等改性方法提高其性能与吸附容量

目前已有一些利用壳聚糖于蛋白酶解液介质中的重金属脱除研究, 如梁鹏^[24]报道了壳聚糖吸附重金属镉离子的最佳条件, 并在 pH=8, 吸附时间 6 h 的条件下脱附了贝肉匀浆液中的重金属镉离子, 吸附率超过 98%, 表明壳聚糖对贝类水解液中的镉具有较强的吸附性能。戴志远^[25]用壳聚糖在 pH 6.5~8.0, 温度 60~80 摄氏度温度下降低了贻贝蒸煮液中重金属含量, 并在脱除过程中较好地保持了贻贝蒸煮液中的营养成分。此外还有对壳聚糖改性后对酶解液的重金属脱除研究, 如刘炳杰^[26]以壳聚糖为原料制备了壳聚糖锌(CTS-Zn)等树脂, 研究了其对扇贝裙边酶解液中重金属 Cd 的脱除作用, 脱除率可达到 80%以上, 树脂再生性能良好。另外壳聚糖有很好的澄清效果, 是很好的澄清剂, 将壳聚糖应用到酶解液脱除重金属领域中, 可以有效地对酶解液进行澄清, 壳聚糖价格低廉易于改性且无毒环保的特点使其成为未来研究重点, 尤其是开展可再生的改性壳聚糖树脂的研究, 增强壳聚糖对重金属选择性, 具有广阔前景。

2.2.2 大孔螯合性树脂

螯合树脂是一类能与金属离子形成多配位络合物的交联功能高分子材料。螯合树脂以交联聚合物(如苯乙烯/二乙烯苯树脂)为骨架, 连接以特殊功能基构成。树脂上的功能原子通过配位作用与金属离子发生反应, 形成类似小分子螯合物的稳定结构, 使之与金属离子有很强的结合力, 选择性也更高。相对于其他方法螯合树脂有操作简便, 与金属离子的

结合力强, 选择性好, 吸附容量大, 容易再生等优势。传统上对于大孔螯合树脂的应用主要集中在工业废水处理^[27]及贵金属的回收利用^[28]等领域, 此外也有大量关于螯合树脂的改性研究, 如陈敬军^[29]用 Fe(III)改性处理大孔螯合树脂后使树脂对砷(V)有更好的螯合效果。刘春萍^[30]研究了铜印迹螯合树脂与非印迹螯合树脂对金属离子的吸附性能。结果表明:铜印迹树脂对 Cu²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺的吸附量比非印迹树脂有显著增大。

螯合树脂目前在食品工业中已经有应用实例。2006 年日本一专利使用 D401 大孔螯合树脂对海产品蒸煮液进行重金属脱除研究, 控制 pH 5.5 过柱检测重金属 Cd 脱除率达到 80%以上, 对营养物质的保留率也达到了 70%以上。张井^[31]研究了大孔螯合树脂对北太平洋鱿鱼内脏酶解液中重金属 Cd 的脱除, 分别使用静态吸附与过柱方法脱除, 并研究了穿透吸附容量及再生性能, 脱除率大于 90%, 通过树脂脱除可以有效控制重金属在限定范围之内。

2.2.3 络合法

络合法利用络合试剂对于重金属的螯合能力, 用于重金属的脱除。常见的络合剂有 EDTA、植酸、柠檬酸等。传统的络合剂如 EDTA 有着较长的应用历史, 曾作为食品添加剂来控制重金属含量, 但由于其过量使用及随意排放也使 EDTA 成为一种污染物而限制了其应用。新型无污染络合材料开始逐渐受到重视, 其中尤其值得关注的是植酸, 植酸有羧基和磷酸基等大量的活性基团, 可以与多种阳离

子形成稳定的螯合物^[32]。植酸相对于 EDTA 具有 pH 适用范围更广、螯合能力更强等特点,此外最大的优势在于其本身就是一种无毒的甚至对人体有益的食品添加剂,加入植酸不会对贝类造成污染^[33]。

目前已经有关于植酸应用于重金属脱除的研究。戴志远^[34]研究了用植酸法降低贻贝蒸煮液中重金属的方法,将植酸加入贻贝蒸煮液后调节适宜 pH 与温度反应一段时间后,离心去除沉淀。经脱除后贻贝蒸煮液中镉含量降低了 95%,且基本保留贻贝蒸煮液中营养成分:蛋白质存留大于 78%;总糖存留率大于 50.7%。

络合法处理重金属虽然在选择性和脱除率方面有其优势,但脱除过程中固液分离较为困难,以 EDTA 为例,加入后只是改变了重金属的存在形态,使重金属与络合剂结合降低其毒性,很难真正意义上去除重金属离子。在工业化生产过程中通常采用离心的方法来进行固液分离,因此无法再生利用,这也限制络合法在工业生产中的应用,但络合法仍可以作为一种辅助的脱除方法而发挥作用。

2.2.4 吸附法

吸附法指利用吸附材料的吸附性能对重金属进行吸附。吸附法中常用的吸附材料为活性炭^[35]和沸石^[36]。活性炭是一种很细小的炭粒,有很大的表面积,具有丰富的微孔,由于炭粒的表面积很大,所以能与杂质充分接触。当这些杂质被微孔吸附,起净化作用。目前活性炭吸附的机理研究认为,活性炭吸附重金属离子的机理主要有物理吸附,金属离子与活性炭表面的离子交换,金属阳离子与活性炭表面的静电作用等。

吸附法有工艺操作简单、吸附容量大、可再生等特点。此外可以通过对吸附材料的修饰改性以提高吸附性能,如沸石可以通过高温煅烧法以及碱改性法有效提高吸附容量及对金属阳离子的吸附能力。活性炭通过表面包覆、氧化、硫化等改性方法提高其性能与吸附容量,如 Lu^[37]用 EDTA 在颗粒活性炭表面涂层的方法对活性炭进行了改性,制成新型 EDTA 包覆活性炭,其吸附能力是改性前的 18 倍, Rangel^[38-39]研究了电化学、硝酸与臭氧三种氧化方法对活性炭性能的影响,尤其是电化学氧化法使活性炭吸附能力提高了 16.5 倍, Fan^[40]用 Mn 氧化物涂层对活性炭进行改性处理,改性后活性炭对于铜、镉的吸附能力有了明显的提升。Ahn^[41]使用表面活性剂对活性炭进行改性实验,对比未改性活性炭其吸附量

明显提高。

但吸附法在应用于酶解液时仍然存在着选择性不强的缺点,不同重金属之间存在选择性竞争关系,如活性炭对于镉离子的吸附相比铜离子及铬离子亲和性较低,因此可能因为其他重金属的存在导致吸附效果降低。此外酶解液在吸附过程中也会对大分子蛋白质、氨基酸造成吸附损失。因此今后的研究应主要集中在以提高吸附材料对于金属离子的选择性方面,制备出对营养物质损失较小新型改性吸附材料。

3 结论与展望

我国水产养殖业作为国家的出口支柱型产业,对国家经济贡献较大。但当前的重金属污染问题已严重影响了海产品的出口以及居民的食品安全。上述的几种食品中脱除镉等重金属的方法可以有效地控制和解决重金属污染问题,能为我国食品重金属问题提供解决思路。其中螯合树脂法及离子交换树脂因为具有开发成工业化应用前景将是未来研究的重点,而壳聚糖法因其无污染、来源广、易于改性等优势成为未来研究的热点,尤其是可再生利用的交联壳聚糖树脂将是重中之重。食品中重金属脱除过程中营养物质也会随着重金属脱除过程而脱除,因此开发营养物质损失较低的脱除方法值得格外关注。另外目前现有的脱除方法往往不能对于多种重金属进行同时脱除,如砷在食品中多以阴离子形式存在,用阳离子交换树脂无法进行脱除,因此多种方法协同脱除作用将是今后的研究重点。同时,国家应当重视沿海养殖区域的污染控制,加强法律监管力度,在源头简化污染问题,共同保障食品安全。

参考文献:

- [1] Harada M. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 1995, 25(1): 1-24.
- [2] Inab T, Kobayashi E, Suwazono Y, et al. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease [J]. *Toxicology Letters*, 2005, 159(2): 192-201.
- [3] Canli M, Furness R W. Toxicity of heavy metals dissolved in sea water and influences of sex and size on metal accumulation and tissue distribution in the norway lobster *Nephrops norvegicus* [J]. *Mar Environ Res*,

- 1993, 36(4): 217-236.
- [4] Metian M, Warnau M, Oberhänsli F, et al. Interspecific comparison of Cd bioaccumulation in European Pectinidae (*Chlamys varia* and *Pecten maximus*) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology (0022-0981) (Elsevier), 2007, 353(1): 58-67.
- [5] 唐以杰, 林炜. 上川岛沿岸经济贝类体内重金属含量分析[J]. 广东教育学院学报, 2005, 25(3): 87-90.
- [6] 唐以杰, 钟诚, 陈明旺, 等. 海陵岛沿岸经济贝类体内重金属含量及食用安全分析[J]. 中国现代医药科技, 2004, 4(3): 8-10.
- [7] 薛克, 韩家波, 庄人沁, 等. 辽宁沿海贝类体内重金属含量分析 [J]. 水产科学, 1994, 13(2): 16-19.
- [8] 杜瑞雪, 范仲学, 魏爱丽, 等. 山东沿岸经济贝类体内重金属含量分析[J]. 山东农业科学, 2009, 8: 58-63.
- [9] 王咸钢, 张卫兵, 周颖, 等. 南通沿岸经济贝类体内重金属含量分析[J]. 海洋水产研究, 2003, 24(3): 45-49.
- [10] 吕海燕, 曾江宁, 周青松, 等. 浙江沿岸贝类生物体中Hg、Cd、Pb、As含量的分析 [J]. 东海海洋, 2001, 19(2): 25-30.
- [11] 姜杰, 丘红梅, 张慧敏, 等. 广东沿海海域产品中重金属的含量及评价 [J]. 环境与健康杂志, 2009, 26(9): 814-816.
- [12] GB 18406.4-2001.农产品安全质量无公害水产品安全要求限量标准[S]. 北京: 国家标准化管理委员会, 2001.
- [13] 乔庆林, 蔡友琼, 张振益, 等. 贝类净化技术研究和应用[J]. 现代渔业信息, 2000, 15(12): 6-10.
- [14] Chan K W, Cheung R Y H, Leung S F, et al. Depuration of metals from soft tissues of oysters (*Crassostrea gigas*) transplanted from a contaminated site to clean sites [J]. Environmental Pollution, 1999, 105(3): 299-310.
- [15] Wang Wen-Xiong, Nicholas S. Fisher. Effects of calcium and metabolic inhibitors on trace element uptake in two marine bivalves [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1999, 236(1): 149-164.
- [16] Seki H, Suzuki A. A New Method for the Removal of Toxic Metal Ions from Acid-Sensitive Biomaterial [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1997, 190(1): 206-211.
- [17] 孙继鹏, 汪东风, 李国云, 等. 壳寡糖钙、镁配合物对栉孔扇贝体内镉的脱除[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(2): 33-37.
- [18] Tianwei T, Xiaojing H, Weixia D. Adsorption behavior of metal ions on imprinted chitosan resin [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2001, 76(2): 191-197.
- [19] Muzzarelli R A A. Carboxymethylated chitins and chitosans [J]. Carbohydrate Polymers, 1988, 8(1): 1-21.
- [20] Muzzarelli R A A. Chitin [M]. New York: Pergamon Press, 1997: 11-34.
- [21] 党明岩, 张延安, 王娉. 交联壳聚糖树脂 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 1-226.
- [22] Yang Zhikuan, Wang Yuting, Tang Yurong.[J] J Appl Polym Sci., 2000, 75(10): 1255.
- [23] Su Haija, Wang Zhixing, Tan Tianwei. Preparation of a surface molecular imprinted adsorbent for Ni²⁺ based on Penicillium chrysogenum [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2005, 80: 439.
- [24] 梁鹏, 吴晓萍, 徐慧, 等. 壳聚糖脱除牡蛎匀浆液中重金属镉的初步研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 107-109.
- [25] 用壳聚糖降低贻贝蒸煮液中重金属的方法[P]. 中国: 200710066984.3, 2007.
- [26] 刘炳杰, 汪东风, 孙继鹏, 等. 交联壳聚糖树脂对扇贝裙边酶解液中镉的脱除研究[J]. 安徽农业大学学报, 2010, 37(1): 11-14.
- [27] 莫建军, 熊春华. 亚胺基二乙酸树脂对镉的吸附性能及其机理[J]. 中国有色金属学报, 2006, 16(5): 11-17.
- [28] 王先良, 王小利, 徐顺清. 大孔螯合树脂可用于处理中药重金属污染 [J]. 中成药, 2005, 27(12): 1376-1379.
- [29] 陈敬军, 蒋柏泉. Fe(III)改性D401螯合树脂吸附微量砷(V)的研究 [J]. 南昌大学学报, 2005, 27(4): 25-28.
- [30] 刘春萍, 刘淑芬, 郭振良, 等. 铜印迹螯合树脂对金属离子的吸附特性[J]. 离子交换与吸附, 2003, 19(6): 504-510.
- [31] 张井. 北太平洋鱿鱼内脏酶解液中重金属镉的脱除研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [32] Cheryan M. Phytic acid interactions in food system [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1980, 13(4): 297-335.
- [33] Ekholm P, Virkki L, Ylinen M, et. al. The effect of phytic acid and some nature chelating agents on the

- solubility of mineral elements in oat bran [J]. Food Chemistry, 2003, 80: 165-170.
- [34] 用植酸降低贻贝蒸煮液中重金属的方法 [P]. 中国: 200710066983.9, 2007.
- [35] Carmen C, Paula M, Jose F, et al. Single and competitive adsorption of Cd and Zn onto a granular activated carbon [J]. Water Research, 1996, (30): 3050-3060.
- [36] Erdem E, Karapinar N, Donat R. The removal of heavy metal cations by natural zeolites [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2004, 280(2): 309-314.
- [37] Lu Y J, Subramanian K S, Chakrabarti C L, et al. Removal of Trace Cadmium(II) by Edta-Coated Granular Activated Carbon [J]. Journal of Environmental Science and Health Part a-Environmental Science and Engineering & Toxic and Hazardous Substance Control, 1993, A28(1): 113-133.
- [38] Rangel-Mendez J R, Tai M H, Streat M, et al. Removal of cadmium using electrochemically oxidized activated carbon [J]. Process Safety and Environmental Protection, 2000, 78(2): 143-148.
- [39] Rangel-Mendez, J R, Streat M. Adsorption of cadmium by activated carbon cloth: influence of surface oxidation and solution pH [J]. Water Research, 2002, 36(5): 1244-1252.
- [40] Fan H J, Anderson P R. Copper and cadmium removal by Mn oxide-coated granular activated carbon [J]. Separation and Purification Technology, 2005, 45(1): 61-67.
- [41] Ahn C K, Park D, Woo S H, et al. Removal of cationic heavy metal from aqueous solution by activated carbon impregnated with anionic surfactants [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 164(2-3): 1130-1136.