

天然海藻絮凝剂海藻酸钠回收带鱼(*Trichiurus haumela*)鱼糜漂洗液中蛋白质的研究*

武玉学¹ 靳挺¹ 王建平² 乐韵³ 林桂芳²

(1. 浙江大学宁波理工学院 生物与化学工程分院 宁波 315100; 2. 宁波市海洋与渔业研究院 宁波 315010;
3. 宁波市海洋与渔业执法支队 宁波 315020)

提要 采用海藻酸钠絮凝剂法、双缩脲法、重铬酸钾回流氧化等方法,研究了回收带鱼鱼糜漂洗液中蛋白质的最佳条件,以为鱼糜漂洗液蛋白质的利用提供参考。结果表明,海藻酸钠回收带鱼鱼糜漂洗液蛋白质的最佳条件为:海藻酸钠添加量为 1.11mg/ml,鱼糜漂洗液蛋白浓度 16.54mg/ml, pH 4.6, 温度 4℃, 处理时间 20min; 在此条件下蛋白质回收率达 86.68%, COD 去除率达 58.67%。实验表明海藻酸钠对鱼糜漂洗液蛋白质去除效果非常显著。

关键词 带鱼, 鱼糜漂洗液, 海藻酸钠, 蛋白质, 回收
中图分类号 Q53

鱼糜是将新鲜鱼原料经清洗、采肉、漂洗、精滤、脱水、擂溃(斩拌)、成型等工序而制成的产品(Bentis *et al*, 2005; 连喜军等, 2007)。在此加工过程中会产生大量的高 COD(化学需氧量)值有机废水, 这些废水大多没有经过特殊处理就直接进行排放, 对周边以及近海环境造成污染和生态威胁, 同时也浪费了废水中、特别是漂洗液中大量可以回收利用的蛋白质资源(Ioannis *et al*, 2008; 谢超等, 2009)。目前用于废水中水溶性蛋白质回收的方法主要有加热法(Huang *et al*, 1997)、pH 调节法(Nishioka *et al*, 1983)、超滤法(Huang *et al*, 1998; Ninomiya *et al*, 1985)和絮凝法(Vivek *et al*, 2003; Singgih *et al*, 2005)等; Huang 等(1997)采用加热的方法从太平洋鳕鱼加工废水中分离蛋白质, 发现在 70℃时, 33%的蛋白质凝结沉淀, COD 下降 59.3%。Kristinsson 等(2006)采用调节 pH 的方法, 从大西洋石首鱼加工废水中沉淀蛋白质, 蛋白质回收率达 78.7%。总体而言, 加热法和 pH 调节法一般回收率较低, 且存在能耗与处理费用较高的问题。Tei 等(1995)

采用超滤的方法, 从鱼糜加工废水中回收蛋白质, 并且将回收后的水循环使用, 这一方法可以实现鱼糜加工废水的实时处理, 但存在膜易堵塞、成本高昂等缺点, 难以推广使用。张宗恩等(1997)采用三氯化铁作为絮凝剂对白鲢鱼糜漂洗液中的水溶性蛋白质进行了回收, 回收率可达 80%以上, 且废水的 COD 同步下降 77%左右, 效果较为显著, 但该方法采用无机絮凝剂存在二次污染的问题, 给回收蛋白的后续加工利用带来困难。天然高分子絮凝剂具有原料来源广泛、价格低廉、安全无害、易于生物降解、回收蛋白后续加工利用大多情况下无需分离等特点, 是鱼糜漂洗液蛋白质回收处理的发展趋势。许永安等(2011)采用壳聚糖作为絮凝剂进行鱼糜漂洗水中水溶性蛋白质的回收试验, 获得蛋白质回收率为 73.17%, COD 去除率为 47.20%。张宗恩等(1999)采用褐藻胶作为絮凝剂, 结合 pH 调节法, 从鲢鱼鱼糜漂洗液中回收水溶性蛋白质, 回收率达 80%, 废水的 COD 下降 50%, 均取得了较好的结果。

* 宁波市农业科技创新创业重点项目, 2011C92019 号; 国家重点星火计划项目, 2010GA701005 号。武玉学, 硕士, 讲师, E-mail: wyx@nit.net.cn

通讯作者: 王建平, 研究员, E-mail: wjping805@126.com

收稿日期: 2011-09-23, 收修改稿日期: 2011-11-15

海藻中含有丰富的海藻蛋白质、多糖、脂肪、维生素、矿物质以及具有特殊功能的生理活性物质,是提供食品、饲料和药物的天然原料宝库(吴佩等, 2010)。海藻酸钠($C_6H_7O_8Na$)_n 主要由海藻酸的钠盐组成,由 -L-甘露糖醛酸(M 单元)与 -D-古罗糖醛酸(G 单元)依靠 1,4-糖苷键连接并由不同 GGGMMM 片段组成的共聚物,是一类理想的天然海藻絮凝剂,目前在水处理领域得到推广和应用。本文采用天然海藻絮凝剂海藻酸钠对带鱼(*Trichiurus haumela*)鱼糜漂洗液中的蛋白质进行回收研究,探索最佳回收条件,为鱼糜加工废水处理以及实现“变废为宝”提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原材料 市售冷冻小带鱼(*Trichiurus haumela*),购于宁波东裕市场,均重 150g。

1.1.2 试剂 海藻酸钠(CP,上海展云化工有限公司生产),配成质量分数为 1% 的海藻酸钠溶液;硫酸铜、浓氨水、氢氧化钠和氯化钠等试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

分光光度计(722S),上海精密科学仪器有限公司; pH 计(DELTA 320),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;恒温振荡器(HZ-9511K),太仓市科教器材厂;恒温水浴锅(HHS),巩义市英峪予华仪器厂;台式离心机(L535R),长沙湘仪离心机机械有限公司;电子分析天平(BP211D),Sartorius;超声波清洗器(KQ5200),昆山市超声仪器有限公司;冰箱(BCD-235F),伊莱克斯中国有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鱼糜漂洗液的制备

(1) 取原冷冻小带鱼解冻、去鳞、去头、去内脏后,手工采肉、绞碎,称量鱼肉重量。

(2) 用 0.3% NaCl 溶液漂洗(Huang *et al.*, 1997; Baxter *et al.*, 2008),漂洗时控制鱼肉和水的比例为 1:3,水温为 4℃ 左右,先慢速搅拌 10min,再静置 10min,后用四层纱布滤出,得到粗制漂洗液。

(3) 将粗制漂洗液放入离心管中,以 4000r/min 的速度离心 10min,取离心后的上清液得到精制鱼糜漂洗液,置于冰箱 0—4℃ 冷藏备用。

1.3.2 pH 对鱼糜漂洗液蛋白质回收的影响 分别取 40ml 已知浓度的漂洗液放入 8 个 100ml 的烧杯里,并分别加入 3ml 海藻酸钠溶液,用 1.0mol/L HCl 溶液

和 1.0mol/L NaOH 溶液调节 pH 为 3.0—9.0;搅拌均匀,静置 10min,离心 10min;取上清液,测定上清液的蛋白质浓度,并计算蛋白质的回收率。实验在室温下进行。

1.3.3 温度对鱼糜漂洗液蛋白质回收的影响 分别取 40ml 已知浓度的漂洗液放入 8 个 100ml 的烧杯里,均调节 pH 为 6.0;各烧杯置于温度设置为 4—60℃ 范围内的恒温水浴锅内;漂洗液中分别加入 3ml 海藻酸钠溶液,搅拌均匀,静置 30min,离心 10min;取上清液,测定上清液的蛋白质浓度,并计算蛋白质的回收率。

1.3.4 吸附时间对鱼糜漂洗液蛋白质回收的影响 分别取 40ml 漂洗液,调节 pH 均为 6.0;漂洗液中分别加入 2ml 海藻酸钠溶液,搅拌均匀,于约 14℃ 下静置。每隔一定时间(5min—4h)分别按编号取一只烧杯中的反应物离心 10min。取上清液,测定上清液的蛋白质浓度,并计算蛋白质的回收率。

1.3.5 絮凝剂添加量和鱼糜漂洗液蛋白浓度对蛋白质回收的影响 制作三种不同浓度的鱼糜漂洗液:以海藻酸钠为絮凝剂, $C_1 = 6.83\text{mg/ml}$, $C_2 = 10.18\text{mg/ml}$, $C_3 = 16.54\text{mg/ml}$;取 9 个烧杯编号,分别加入浓度为 C_1 的漂洗液 40ml,均调节 pH 为 6.0;漂洗液中分别加入海藻酸钠溶液 1—8ml,搅拌均匀,于室温下静置 15min,离心 10min;取上清液,测定上清液的蛋白质浓度,并计算蛋白质的回收率。取浓度为 C_2 和 C_3 的鱼糜漂洗液,分别重复以上操作。

1.3.6 最佳回收率的确定 根据以上不同 pH、温度、吸附时间、絮凝剂添加量以及漂洗液蛋白浓度对于回收效果影响的实验,确定海藻酸钠回收蛋白质的最佳条件,并测定在最优条件下的蛋白质回收率。

1.3.7 COD 去除率的测定 采用重铬酸钾回流氧化法(刘蕊等, 2009)测定原鱼糜漂洗液的 COD 及最佳回收条件下的漂洗液 COD。

1.4 分析方法

1.4.1 鱼糜漂洗液和上清液中蛋白质含量的测定 采用双缩脲法(刘燕等, 2006)测定漂洗液和上清液中蛋白含量,每组试样重复测定 3 次。

1.4.2 蛋白质回收率的计算

$$\rho(\%) = \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中, ρ 为蛋白质回收率, C 为上清液漂洗液蛋白质浓度(mg/ml), C_0 为原漂洗液蛋白质浓度(mg/ml)。

1.4.3 COD 去除率的计算

$$COD(\text{mg/L}) = \frac{8 \times 1000(V_0 - V_1) \cdot C}{V} \quad (2)$$

式中, V 为鱼糜漂洗液样品的体积(ml), V_0 为空白试验所消耗的硫酸亚铁铵标准溶液的体积(ml), V_1 为鱼糜漂洗液样品测定所消耗的硫酸亚铁铵标准溶液的体积(ml), C 为硫酸亚铁铵标准溶液的浓度(mol/L), 8 为氧(1/2O)摩尔质量(g/mol)。

COD 去除率按式(3)计算:

$$COD \text{ 去除率}(\%) = \left(1 - \frac{COD_1}{COD_0} \right) \times 100\% \quad (3)$$

式中, COD_0 为原鱼糜漂洗液的 COD 值(mg/ml), COD_1 为絮凝后的漂洗液的 COD 值(mg/ml)。

2 结果与讨论

2.1 pH 对蛋白质回收率的影响

以海藻酸钠为絮凝剂, 不同 pH 对蛋白质回收率的影响结果如表 1 所示。由表 1 可知, pH 对海藻酸钠回收蛋白质具有明显的影响, 随着 pH 的增大蛋白质的回收率逐渐升高, 当 pH 为 4.6 时, 回收率最大, 达到 83.37%, pH 超过 4.6 后回收率又快速降低。分析原因, 主要是由于 pH 的改变影响了鱼糜漂洗液中蛋白质所带电荷的性质和数量, 从而导致海藻酸钠与蛋白质之间的相互作用发生了变化。从数据变化情况看, pH 应该是影响蛋白回收效果的最主要因素之一。

表 1 pH 对海藻酸钠回收蛋白质的影响

Tab.1 Effect of pH on the recovery of protein by sodium alginate

pH	蛋白质回收率(%)
3.4	68.40
3.8	70.02
4.2	81.12
4.6	83.37
5.0	82.06
5.4	75.23
5.8	63.26

2.2 温度对蛋白质回收率的影响

以海藻酸钠为絮凝剂, 不同温度对蛋白质回收率的影响结果如表 2 所示。由表 2 可知, 温度对蛋白质回收率具有显著的影响, 呈现先高后低, 而后又逐渐升高的趋势。这主要是由于络合作用、分子热运动以及蛋白质凝结沉淀三者相互作用的结果。低温时, 体系中起主导作用的是海藻酸钠与鱼糜蛋白间的络合作用, 温度越低作用力越强, 使鱼糜蛋白的回收率

也越高; 而随着温度的升高, 分子的热运动得到了加强, 从而削弱了这种络合作用, 致使蛋白回收率略有降低; 但随着温度的进一步升高, 蛋白质相互凝结沉淀的作用得到强化, 在体系中起到了主导作用, 使蛋白回收率又得到了一定程度的提高(刘庆慧等, 1991), 这也与 Huang 等(1997)采用加热的方法从太平洋鳕鱼加工废水中分离蛋白质的实验结果相吻合。考虑到鱼糜加工过程中漂洗工序为降低营养损失, 同时起到保鲜作用, 一般采用冰水洗涤的实际, 在蛋白质回收率相差不大的情况下, 选择 4℃ 作为蛋白回收的最佳温度, 此时更有利于节约处理成本, 提高回收收益。

表 2 温度对海藻酸钠回收蛋白质影响

Tab.2 Effect of temperature on the recovery of protein by sodium alginate

温度(℃)	蛋白质回收率(%)	温度(℃)	蛋白质回收率(%)
4	67	32	67.39
14	63.5	38	68.56
20	55.71	44	74.02
26	56.88	50	74.8

2.3 处理时间对蛋白质回收率的影响

以海藻酸钠为絮凝剂, 不同处理时间对蛋白质回收率的影响结果如表 3 所示。由表 3 可知, 处理时间与蛋白回收率存在一定的依存关系, 随着时间延长, 蛋白质回收率逐渐增大, 在吸附时间为 20min 时蛋白质回收效果最好, 这说明蛋白质与海藻酸钠的络合过程需要一定的时间; 但时间过长, 则可能出现解吸附现象, 蛋白回收率反而降低。

表 3 处理时间对海藻酸钠回收蛋白质影响

Tab.3 Effect of time on the recovery of protein by sodium alginate

时间(min)	蛋白质回收率(%)	时间(min)	蛋白质回收率(%)
5	39.18	35	44.32
10	40.46	40	44.32
15	44.96	45	44.32
20	50.1	50	44.32
25	48.81	55	44.96
30	47.53	60	44.96

2.4 絮凝剂添加量和漂洗液蛋白浓度对蛋白质回收率的影响

不同海藻酸钠添加量对三种不同蛋白浓度鱼糜漂洗液的回收效果如图 1 所示。随着海藻酸钠添加量的增加, 蛋白回收率也逐渐升高, 但并不是添加量越

大越好,过高的絮凝剂添加量,反而会导致蛋白回收率的下降。这说明在一定的范围内,蛋白质与海藻酸钠的络合作用存在正相关性,但超出了这个范围,过高的海藻酸钠浓度造成了漂洗液粘度的升高,反而不利于蛋白质的絮凝,从而造成了蛋白质回收率的降低;实验还发现,在一定范围内,相同的海藻酸钠添加量下,蛋白质浓度越高,越有利于络合,蛋白的回收率也越高(张宗恩等,1999)。所以在选择絮凝条件时,应综合考虑这两个因素,选取合适的范围区间。

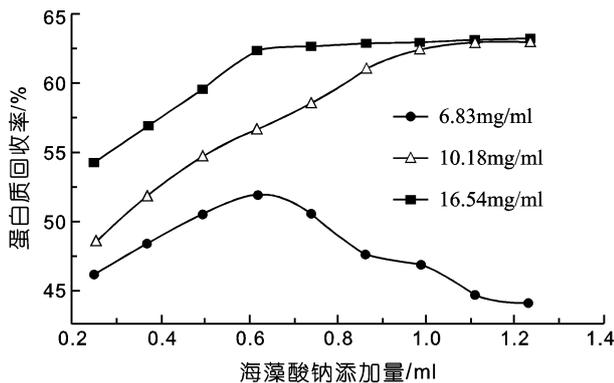


图1 海藻酸钠添加量和漂洗液蛋白浓度对回收蛋白质影响曲线

Fig.1 Effect curves of sodium alginate and protein concentration of surimi wash water on protein recovery by sodium alginate
注:图例表示漂洗液蛋白浓度

2.5 最佳回收条件

根据上述实验结果,综合鱼糜漂洗的生产实际和各因素的影响,作者得出了海藻酸钠絮凝法回收鱼糜漂洗液中蛋白质的最佳条件为:鱼糜漂洗液蛋白浓度为16.54mg/ml,海藻酸钠添加量为1.11mg/ml,pH为4.6,温度为4℃,处理时间为20min,在此条件下,通过实验实际测得蛋白的回收率可达86.68%。

根据公式(2),鱼糜漂洗原液COD平均值为14717mg/ml,最佳回收条件下的鱼糜漂洗液COD平均值为6082mg/ml。据此计算COD去除率为:

$$COD(\%) = \left(1 - \frac{6082}{14717}\right) \times 100\% = 58.67\%$$

3 结论

海藻酸钠回收鱼糜漂洗液中蛋白质的最佳条件为:鱼糜漂洗液蛋白浓度为16.54mg/ml,海藻酸钠添加量为1.11mg/ml,pH为4.6,温度为4℃,吸附时间为20min,在此条件下,回收率达到86.68%,COD去除率达到58.67%。研究表明海藻酸钠絮凝剂对鱼糜

漂洗液蛋白质的去除效果非常显著,是一种用于鱼糜漂洗液中蛋白质回收利用的有效方法。

参 考 文 献

- 刘蕊,胡本涛,2009.重铬酸钾法与快速测定法测定化学需氧量的比较.黑龙江环境通报,32(2):24—25
- 刘燕,张平,倪艳等,2006.双缩脲法测定大豆乳清废水中蛋白质含量.大豆通报,6:24—25
- 刘庆慧,吴大鹏,1991.pH对用褐藻胶回收蛋白质的影响.水产科学,10(3):42—43
- 许永安,吴靖娜,苏捷等,2011.壳聚糖絮凝法回收鱼糜漂洗水中水溶性蛋白质的工艺研究.南方水产科学,7(03):1—7
- 连喜军,柴春祥,却俊丽,2007.鱼糜加工工艺.农产品加工,4:55—56
- 吴佩,张秀梅,李婷等,2010.海藻多糖复合胶成膜性研究.海洋与湖沼,41(1):148—153
- 张宗恩,杨波,黄循鲸,1997.用三氯化铁回收鱼糜漂洗液中的水溶性蛋白.水产科技情报,24(05):207—210
- 张宗恩,汪之和,肖安华等,1999.鱼糜漂洗液中水溶性蛋白质的回收与利用.上海水产大学学报,8(1):59—62
- 谢超,邓尚贵,夏松养等,2009.带鱼(*Trichiurus lepturus*)下脚料蛋白水解物的成分分析及抗高血脂功效的研究.海洋与湖沼,40(3):307—312
- Baxter S R, Skonberg D I, 2008. Gelation properties of previously cooked minced meat from Jonah crab (*Cancer borealis*) as affected by washing treatment and salt concentration. Food Chemistry, 109(2): 332—339
- Bentis C A, Zotos A, Petridis D, 2005. Production of fish-protein products (surimi) from small pelagic fish (*Sardinops pilchardusts*), underutilized by the industry. Journal of Food Engineering, 68(3): 303—308
- Huang L, Chen Y, Morrissey M T, 1997. Coagulation of proteins from surimi wash water by ohmic heating. Journal of Food Process Engineering, 20(4): 285—300
- Huang L, Morrissey M T, 1998. Fouling of membranes during microfiltration of surimi wash water: Roles of pore blocking and surface cake formation. Journal of Membrane Science, 144(2): 113—123
- Ioannis S Arvanitoyannis, Aikaterini Kassaveti, 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. International Journal of Food Science & Technology, 43(4): 726—745
- Kristinsson H G, Liang Y, 2006. Effect of pH-shift processing and surimi processing on Atlantic croaker (*Micropogonias undulates*) muscle proteins. Journal of Food Science, 71(5): C304—C312
- Ninomiya K, Ookawa T, Tsuchiya T *et al*, 1985. Recovery of water soluble proteins in waste wash water of fish processing plants of ultrafiltration. Bulletin of the Japanese Society

- of Scientific Fisheries, 51(7): 1133—1138
- Nishioka F, Shimizu Y, 1983. Recovery of proteins from washings of minced fish by pH shifting methods. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 49: 795—800
- Singih Wibowo, Gonzalo Velazquez, Vivek Savant *et al*, 2005. Surimi wash water treatment for protein recovery: effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein adsorption. Bioresource Technology, 96(6): 665—671
- Tei M L, Jae W P, Morrissey M T, 1995. Recovered protein and reconditioned water from surimi processing waste. Journal of Food Science, 60(1): 4—9
- Vivek D, Savant J, Antonio Torres, 2003. Fourier transform infrared analysis of chitosan based coagulating agents for treating surimi waste water. Journal of Food Technology, 1(2): 23—28

RESEARCH ON THE RECOVERY OF PROTEIN FROM SURIMI WASH WATER OF HAIRTAIL *TRICHIURUS HAUMELA* BY NATURAL ALGAE FLOCCULANT SODIUM ALGINATE

WU Yu-Xue¹, JIN Ting¹, WANG Jian-Ping², LE Yun³, LIN Gui-Fang²

(1. School of Biotechnology and Chemical Engineering, Ningbo Institute of Technology, Zhejiang University, Ningbo, 315100; 2. Ningbo Ocean & Fishery Institute, Ningbo, 315010; 3. Ningbo Ocean and Fishery Enforcement Detachment, Ningbo, 315020)

Abstract To obtain the optimum conditions of sodium alginate flocculants used for the recovery of protein from surimi wash water of hairtail *Trichiurus haumela*, the methods of sodium alginate flocculants, biuret and potassium dichromate oxidation were adopted. Results showed that the optimum recovery conditions of sodium alginate were as follows: sodium alginate 1.11mg/ml; protein concentration of surimi wash water 16.54mg/ml; pH 4.6; temperature 4℃; time 20min. Under the above condition, protein recovery ratio and removal ratio of COD was 86.68% and 58.67%, respectively. The removal effect of protein from surimi wash water was obvious by adding sodium alginate.

Key words Hairtail *Trichiurus haumela*, Surimi wash water, Sodium alginate, Protein, Recovery

2011 年度《海洋与湖沼》动态

(1) 《海洋与湖沼》2011 年最新公布的总被引频次在海洋科学期刊中名列第一位; 影响因子为 1.404, 学科影响指标和综合评价总分均列海洋科学期刊首位; 综合评价总分在全国科技期刊中排第 18 位。

(2) 荣获 2011 年度百种中国杰出学术期刊奖。

(3) 荣获 2011 年度中国精品科技期刊奖。