



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113754759 A

(43) 申请公布日 2021.12.07

(21) 申请号 202111087444.X *C07K 1/34* (2006.01)
(22) 申请日 2021.09.16 *C07K 1/30* (2006.01)
(71) 申请人 润科生物工程(福建)有限公司 *G12P 21/06* (2006.01)
地址 363300 福建省漳州市诏安县金都工 *A23L 33/16* (2016.01)
业集中区(国家科技兴海产业示范基地)
(72) 发明人 李媛媛 许团辉 陈璇 郑晓辉
王文谦 郑震堃
(74) 专利代理机构 汕头市潮睿专利事务有限公
司 44230
代理人 林天普 朱明华
(51) Int. Cl.
C07K 14/78 (2006.01)
C07K 14/46 (2006.01)
C07K 1/14 (2006.01)

权利要求书3页 说明书9页

(54) 发明名称

一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺

(57) 摘要

一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,包括下述步骤:(1)鱼鳞脱杂蛋白;(2)鱼鳞脱脂;(3)鱼鳞脱色;(4)鱼鳞脱灰,获得有机酸钙溶液和脱钙鱼鳞;(5)有机酸钙结晶;(6)对脱钙鱼鳞进行酸法和酶法提胶,得到酸溶性胶原蛋白溶液、酶溶性胶原蛋白溶液及残渣;(7)胶原蛋白酶解,获得酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液;(8)纳滤获得酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液;(9)酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液灭菌、喷雾干燥,获得酸溶性胶原蛋白肽粉、酶溶性胶原蛋白肽粉;(10)残渣碱法分离,获得角蛋白。本发明能够获得有机酸钙、胶原蛋白肽和角蛋白,实现鱼鳞的充分利用。

1. 一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征在于包括下述步骤:

(1) 鱼鳞脱杂蛋白

将新鲜鱼鳞洗净后,用重量百分比浓度为4~10%的氯化钠溶液于4~12℃下浸泡8~12小时后取出,用清水漂洗;

(2) 鱼鳞脱脂

将经步骤(1)脱杂蛋白后的鱼鳞用重量百分比浓度为0.4~0.8%的氢氧化钠溶液于4~12℃下浸泡4~6小时后取出,用清水漂洗;

(3) 鱼鳞脱色

将经步骤(2)脱脂后的鱼鳞用重量百分比浓度为1~2%的过氧化氢溶液于4~12℃下浸泡4~8小时后取出,用清水漂洗;

(4) 鱼鳞脱灰

将经步骤(3)脱色后的鱼鳞用有机酸溶液在60~75℃下且在搅拌的情况下浸泡4~8小时,搅拌结束后静置,再将上清液与沉淀物分离,其中上清液为有机酸钙溶液,沉淀物为脱钙鱼鳞;

(5) 有机酸钙结晶

将步骤(4)获得的上清液冷冻结晶,获得的结晶体即为有机酸钙;

(6) 酸法和酶法提胶

将步骤(4)获得的脱钙鱼鳞加入有机酸溶液在4~8℃下浸泡,浸泡结束后将溶解液与沉淀物分离,得到的溶解液为酸溶性胶原蛋白溶液;

将沉淀物加水调配成料液后,加入碱性蛋白酶进行酶解,获得酶溶性胶原蛋白溶液,分离酶溶性胶原蛋白溶液后获得残渣;

(7) 胶原蛋白酶解

对步骤(6)获得的酸溶性胶原蛋白溶液和酶溶性胶原蛋白溶液分别进行酶解,获得酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液;

(8) 纳滤

将步骤(7)获得的酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液分别进行纳滤,分别获得酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液;

(9) 灭菌

将步骤(8)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行杀菌;

(10) 喷雾干燥

用喷雾干燥机将步骤(10)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行喷雾干燥,分别获得酸溶性胶原蛋白肽粉、酶溶性胶原蛋白肽粉;

(11) 碱法分离角蛋白

将步骤(6)所得残渣与氢氧化钠溶液混合,于55~65℃下反应至残渣全部溶解,然后加入浓盐酸调pH值至角蛋白等电点,静置后分离出沉淀物,该沉淀物即为角蛋白。

2. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(4)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为3~10%,其所含有机酸为柠檬酸、苹果酸、乳酸中的一种或其中多种的组合;

步骤(4)中,脱色后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:8~1:20;

步骤(4)中,在30~50 转/分钟的转速下进行搅拌。

3. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(5)中,冷冻结晶温度为-8~-12℃,结晶时间为6~12小时。

4. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(6)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为5~10%,其所含有机酸为乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸中的一种或其中多种的组合;

步骤(6)中,脱灰后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:8~1:20,浸泡时间为18~24小时。

5. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(6)中,沉淀物与水的重量比为1:8~1:20;加入的碱性蛋白酶的重量为沉淀物的1~3%,在25~35℃下酶解12~24小时;

步骤(6)所用的碱性蛋白酶活力单位为30~80万单位。

6. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(7)中,将酸溶性胶原蛋白溶液加入到第一酶解罐中,然后加水调节至酸溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8~15%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5~9,升温至45~60℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶,碱性蛋白酶的重量为酸溶性胶原蛋白的1~3%,中性蛋白酶重量为酸溶性胶原蛋白的1~3%;然后在搅拌的情况下酶解4~8小时,酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酸溶性胶原蛋白酶解液;

步骤(7)中,将酶溶性胶原蛋白加入到第二酶解罐中,然后加水调节至酶溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8~15%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5~9,升温至45~60℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶,碱性蛋白酶的重量为酶溶性胶原蛋白的1~3%,中性蛋白酶重量为酶溶性胶原蛋白的1~3%;然后在搅拌的情况下酶解4~8小时,酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酶溶性胶原蛋白酶解液;

步骤(7)所用的碱性蛋白酶的活力单位为30~80万单位,中性蛋白酶的活力单位为10~30万单位。

7. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(8)纳滤使用的纳滤膜的孔径为150~300纳米;

步骤(9)中,杀菌方式为巴氏灭菌,在80~85℃下保持20~30分钟;

步骤(10)中,喷雾干燥的进风温度为150~185℃,出风温度为60~85℃。

8. 根据权利要求1所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:步骤(11)中,氢氧化钠溶液的重量百分比浓度为4~8%,氢氧化钠溶液的重量为残渣的10~20倍;

步骤(11)中,静置时间为30~60分钟,静置后采用离心机分离出沉淀物,离心机转速为3000~5000rpm,离心时间为10~30分钟。

9. 根据权利要求8所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:将步骤(11)分离出的沉淀物用重量百分比浓度为1~3%的氢氧化钠溶液溶解,再用盐酸调至中性,获得角蛋白溶液;然后将获得的角蛋白溶液进行纳滤,获得角蛋白浓缩液;再将角蛋白浓缩液进行杀菌,喷雾干燥后获得干燥的粉末状角蛋白。

10. 根据权利要求8所述的从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征是:将步骤(11)

分离出的沉淀物进行冷冻干燥,获得干燥的角蛋白。

一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,具体涉及一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺。

背景技术

[0002] 鱼鳞是有鳞鱼类加工过程中产生的副产物,我国每年可产生100万吨以上的鱼鳞,除部分作为饲料原料利用外,大部分被丢弃,不但浪费了资源,还造成环境污染。鱼鳞全身是宝,其中鱼鳞胶原蛋白具有抗氧化、提高机体免疫力等功能;角蛋白可作为医学生物材料的良好原料;从鱼鳞中提取的羟基磷灰石具有良好的生物相容性,是良好的补钙原料,还可作为骨骼或牙齿的支架材料。

[0003] 鱼鳞含有丰富的蛋白质和各种矿物质,主要由蛋白质和羟基磷灰石组成。蛋白质占鱼鳞总质量的50~70%,主要为胶原蛋白和角蛋白,还含有少量的球蛋白、粘蛋白等。胶原蛋白主要分布在鱼鳞的内层,完整结构的胶原蛋白是一种纤维蛋白骨鳞,一般分为两层:上层为骨质层,主要成分是羟基磷灰石,还有少量碳酸钙、磷酸镁、磷酸钠等无机盐,并零散地分布着胶原蛋白;下层为纤维质层,胶原纤维在同一薄层中紧密地平行排列,且与相邻薄层中的胶原纤维成不同夹角的夹板结构。

[0004] 鱼鳞胶原蛋白具有良好的生物学特性,与细胞增生、分化、运动、免疫、关节润滑、伤口愈合等密切相关。胶原肽具有较好的加工特性和生理功效,且符合人们对“低脂高蛋白”的食品需求,可用于开发多种保健制品。特别是它具有保护胃粘膜、抗溃疡、促进皮肤胶原代谢的美容效果和预防关节炎以及骨质疏松症等功效,可开发美容饮料和预防骨质疏松症的保健食品。由于胶原肽吸收快、吸收率高,还可添加到运动饮料中。

[0005] 胶原肽具有良好的生物相容性及良好的抗衰老活性、抑制活性、慢性降压作用和抗皮肤光老化作用等生物活性,使其在生物医学领域运用中有着很好的前景。

[0006] 角蛋白是一类具有结缔和保护功能的非营养性纤维状硬蛋白,属于外胚层细胞的结构蛋白,其性质稳定,不溶于水、盐溶液、稀酸或稀碱,具有很强的抗牵张性能,富含大量半胱氨酸残基,在动物体内起保护作用。天然角蛋白具有良好的生物相容性、生物活性、生物可降解性、优异的材料力学性能和自然丰度等特性,广泛应用于纺织、生物材料、包装材料、医学、化妆品等众多领域。

[0007] 现有技术对鱼鳞的利用尚不充分,大多仅利用胶原蛋白、角蛋白、钙质中的一种或两种。公告号为CN106834397A的中国发明专利申请公开了鱼鳞角蛋白的制备方法,按该制备方法可获得胶原蛋白和角蛋白,但该申请并没有涉及如何分离胶原蛋白,而采用酶水解获得角蛋白,虽然角蛋白结构保存完整,但得率太低。

发明内容

[0008] 本发明所要解决的技术问题是提供一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,这种工艺能够将鱼鳞中所含的胶原蛋白、角蛋白以及钙质都提取出来,实现鱼鳞的充分利用。采用的技术方案如下:

一种从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺,其特征在于包括下述步骤:

(1) 鱼鳞脱杂蛋白

将新鲜鱼鳞洗净后,用重量百分比浓度为4~10%的氯化钠溶液于4~12℃下浸泡8~12小时后取出,再用清水漂洗;

(2) 鱼鳞脱脂

将经步骤(1)脱杂蛋白后的鱼鳞用重量百分比浓度为0.4~0.8%的氢氧化钠溶液于4~12℃下浸泡4~6小时后取出,再用清水漂洗;

(3) 鱼鳞脱色

将经步骤(2)脱脂后的鱼鳞用重量百分比浓度为1~2%的过氧化氢溶液于4~12℃下浸泡4~8小时后取出,再用清水漂洗;

(4) 鱼鳞脱灰

将经步骤(3)脱色后的鱼鳞用有机酸溶液在60~75℃下且在搅拌的情况下浸泡4~8小时,搅拌结束后静置,再将上清液与沉淀物分离,其中上清液为有机酸钙溶液,沉淀物为脱钙鱼鳞;

(5) 有机酸钙结晶

将步骤(4)获得的上清液冷冻结晶,获得的结晶体即为有机酸钙;

(6) 酸法和酶法提胶

将步骤(4)获得的脱钙鱼鳞加入有机酸溶液在4~8℃下浸泡,浸泡结束后将溶解液与沉淀物分离,得到的溶解液为酸溶性胶原蛋白溶液;

将沉淀物加水调配成料液后,加入碱性蛋白酶进行酶解,获得酶溶性胶原蛋白溶液,分离酶溶性胶原蛋白溶液后获得残渣;

(7) 胶原蛋白酶解

对步骤(6)获得的酸溶性胶原蛋白溶液和酶溶性胶原蛋白溶液分别进行酶解,获得酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液;

(8) 纳滤

将步骤(7)获得的酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液分别进行纳滤,分别获得酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液;

(9) 灭菌

将步骤(8)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行杀菌;

(10) 喷雾干燥

用喷雾干燥机将步骤(10)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行喷雾干燥,分别获得酸溶性胶原蛋白肽粉、酶溶性胶原蛋白肽粉;

(11) 碱法分离角蛋白

将步骤(6)所得残渣与氢氧化钠溶液混合,于55~65℃下反应至残渣全部溶解,然后加入浓盐酸调pH值至角蛋白等电点,静置后分离出沉淀物,该沉淀物即为角蛋白。

[0009] 一种优选方案中,将步骤(11)分离出的沉淀物用重量百分比浓度为1~3%的氢氧化钠溶液溶解,再用盐酸调至中性,获得角蛋白溶液;然后将获得的角蛋白溶液进行纳滤,获得角蛋白浓缩液;再将角蛋白浓缩液进行杀菌,喷雾干燥后获得干燥的粉末状角蛋白。

[0010] 另一种优选方案中,将步骤(11)分离出的沉淀物进行冷冻干燥,获得干燥的角蛋白。

[0011] 步骤(1)所起的作用是去除附着在鱼鳞上的色素及非胶原组分的杂蛋白。优选步骤(1)中用清水漂洗三遍。

[0012] 步骤(2)所起的作用是去除鱼鳞脂肪。优选步骤(2)中用清水漂洗三遍。

[0013] 步骤(3)所起的作用是对鱼鳞进行脱色。优选步骤(3)中用清水漂洗三遍。

[0014] 步骤(4)所起的作用是脱去鱼鳞中的钙。优选步骤(4)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为3~10%,其所含有机酸为柠檬酸、苹果酸、乳酸中的一种或其中多种的组合。优选步骤(4)中,脱色后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:8~1:20。优选步骤(4)中,在30~50转/分钟的转速下进行搅拌。

[0015] 优选步骤(5)中,冷冻结晶温度为-8~-12℃,结晶时间为6~12小时。

[0016] 优选步骤(6)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为5~10%,其所含有机酸为乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸中的一种或其中多种的组合。优选步骤(6)中,脱灰后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:8~1:20,浸泡时间为18~24小时。酸溶性胶原蛋白是通过加入酸破坏胶原蛋白与其他物质之间的离子键以及胶原蛋白内部的酰胺键,从而提取出来的胶原蛋白。酸法提取得到的胶原蛋白能较好的保持其三维结构。酸法提取胶原蛋白用酸量太低只能获得一部分胶原蛋白,用酸量过大容易破坏胶原蛋白,降低提取率。本发明在步骤(6)中采取较低的用酸量提取一部分胶原蛋白(较低的用酸量可避免胶原蛋白受破坏),再通过酶法进一步提取剩余的胶原蛋白,提高得率。此外,酸法提取也可采用盐酸来提取。

[0017] 优选步骤(6)中,沉淀物与水的重量比为1:8~1:20;加入的碱性蛋白酶的重量为沉淀物的1~3%,在25~35℃下酶解12~24小时。步骤(6)所得残渣含鱼鳞角蛋白。优选步骤(6)所用的碱性蛋白酶活力单位为30~80万单位。胶原蛋白是为具有三螺旋结构的蛋白质,相对分子量约为30000Da,其中甘氨酸几乎占总氨基酸残基的三分之一,含有较多在其它蛋白质中少见的羟脯氨酸和羟赖氨酸残基。胶原蛋白分子单位称为原胶原,每个原胶原分子由三条 α -肽链,三条链在氨基酸的相互作用下以同一轴为中心形成三螺旋。原胶原分子平行排列成束,通过共价交联,可形成稳定的胶原微纤维,进一步行聚集成束,形成胶原纤维,胶原分子通过分子内或分子间的交联成为不溶性的纤维。胶原蛋白的天然结构呈现非螺旋区-螺旋区-非螺旋区的形态,这种结构是胶原蛋白不溶于水的原因。采用蛋白酶将胶原蛋白两端的非螺旋区域切除掉,可获得酶溶性胶原蛋白,常用的酶包括胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、复合风味蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶等。

[0018] 优选步骤(7)中,将酸溶性胶原蛋白溶液加入到第一酶解罐中,然后加水调节至酸溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8~15%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5~9,升温至45~60℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶,碱性蛋白酶的重量为酸溶性胶原蛋白的1~3%,中性蛋白酶重量为酸溶性胶原蛋白的1~3%;然后在搅拌的情况下酶解4~8小时(优选搅拌转速为30~50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酸溶性胶原蛋白酶解液。可用布袋过滤机对酸溶性胶原蛋白溶液的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。优选所用的布袋过滤机的滤袋孔径为10~50微米。

[0019] 优选步骤(7)中,将酶溶性胶原蛋白加入到第二酶解罐中,然后加水调节至酶溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8~15%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5

~9,升温至45~60℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶,碱性蛋白酶的重量为酶溶性胶原蛋白的1~3%,中性蛋白酶重量为酶溶性胶原蛋白的1~3%;然后在搅拌的情况下酶解4~8小时(优选搅拌转速为30~50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酶溶性胶原蛋白酶解液。可用布袋过滤器对酶溶性胶原蛋白的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。优选所用的布袋过滤器的滤袋孔径为10~50微米。

[0020] 通过步骤(7)胶原蛋白酶解,胶原蛋白酶解后的产物为胶原蛋白肽,胶原蛋白的三螺旋结构彻底松开,并进一步变性,降解生成的分散的肽段,其相对分子质量从几百到几千道尔顿。

[0021] 优选步骤(7)所用的碱性蛋白酶的活力单位为30~80万单位,中性蛋白酶的活力单位为10~30万单位。

[0022] 优选步骤(8)纳滤使用的纳滤膜的孔径为150~300纳米。

[0023] 优选步骤(9)中,杀菌方式为巴氏灭菌,在80~85℃下保持20~30分钟。

[0024] 优选步骤(10)中,喷雾干燥的进风温度为150~185℃,出风温度为60~85℃。

[0025] 步骤(11)中,角蛋白在等电点时沉淀析出,可以实现角蛋白的分离纯化。优选步骤(11)中,氢氧化钠溶液的重量百分比浓度为4~8%,氢氧化钠溶液的重量为残渣的10~20倍。优选步骤(11)中,静置时间为30~60分钟,静置后采用离心机分离出沉淀物,离心机转速为3000~5000rpm,离心时间为10~30分钟。

[0026] 本发明与现有技术相比,具有如下的有益效果:

1、胶原蛋白的提取

目前胶原蛋白的提取方法主要有热水法、酸法、碱法和酶法。

[0027] 热水提取法含盐量较低,但水解时间长、需带压操作,产品相对分子质量分布不均匀且不易控制。

[0028] 碱法提取中,碱性溶液可与结缔组织中不溶性胶原蛋白相结合的脂肪发生皂化反应,非螺旋非端肽被切除,胶原纤维瓦解溶出,常用的碱处理剂有氢氧化钙、氢氧化钠等。在碱法提取过程中,由于胶原蛋白变性及肽键的部分水解,破坏了胶原蛋白的超螺旋结构,制得的胶原蛋白分子量比较低,肽链的水解导致天冬酰胺与谷氨酰胺转变为天冬氨酸和谷氨酸,降低了胶原蛋白的等电点。如果碱法水解严重,会导致氨基酸发生消旋作用,形成D型和L型氨基酸消旋混合物,而当D型氨基酸含量高于L型氨基酸含量时,L型氨基酸的吸收就会被抑制,并且绝大多数D型氨基酸有致畸或致癌的毒性。

[0029] 酸法提取胶原蛋白常用的酸处理剂有盐酸、醋酸、柠檬酸、甲酸、乳酸等,主要是溶解无交联或含有酰胺类交联键的胶原,得到的产物为酸溶性胶原蛋白。酸种类、浓度、提取温度及提取时间对胶原蛋白的提取效果有较大影响。提取温度对胶原蛋白成品的分子量影响显著,随着温度的升高,其分子量分布较宽,呈弥散性分布。提取时间只影响胶原蛋白的得率,对其分子量大小没有影响。此法获得的胶原蛋白具有较高的保水性、乳化稳定性和泡沫稳定性等性能。

[0030] 酶法是在酶的作用下,特异性地破坏胶原纤维分子内部的化学键,获得H螺旋结构保存完整的胶原蛋白的方法。酶解反应条件温和,反应速率高,时间短,不产生消旋作用,也不会影响氨基酸的特性,纯度高,安全性好。

[0031] 本发明采用酸法和酶法分两步提取鱼鳞中的胶原蛋白,一方面利用不同的提取原

理,能够将鱼鳞所含胶原蛋白更充分地提取出来,提高胶原蛋白的得率,另一方面,酸法和酶法提取获得的胶原蛋白具有更优的性能。

[0032] 2、角蛋白的提取

目前角蛋白的提取方法主要有酶法、还原法和碱法。

[0033] 酶法采用碱性蛋白酶法提取角蛋白,虽然角蛋白结构保存完整,但得率太低。

[0034] 采用还原法提取角蛋白,虽得率比碱法稍高,结构也保存较完整,但纯化困难,还原法中十二烷基硫酸钙起泡性强,在透析中不易除去。

[0035] 本发明采用碱法从提取胶原蛋白后剩余的残渣中提取角蛋白,其提取时间短,产品结构保存完整。

[0036] 3、钙质的提取

本发明通过有机酸法脱灰和结晶,获得了具有良好水溶性的有机酸钙。有机酸钙是由钙离子和有机酸离子螯合形成的复合有机钙盐,它拥有特殊的空间结构和生物活性,溶解性好,生物利用率高,有助于其他矿物质吸收,具有良好的风味,是一种良好的有机钙营养强化剂,在食品开发方面具有非常广泛的应用前景。

[0037] 简而言之,本发明通过有机酸法脱灰、酸法及酶法提取胶原蛋白、以及碱法提取角蛋白,能够获得有机酸钙、胶原蛋白肽和角蛋白,并进一步将胶原蛋白分为酸溶性胶原蛋白和酶溶性胶原蛋白,分别获得酸溶性胶原蛋白肽粉和酶溶性胶原蛋白肽粉,由此实现鱼鳞的充分利用。

具体实施方式

[0038] 实施例1

本实施例中,从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺包括下述步骤:

(1) 鱼鳞脱杂蛋白

将新鲜鱼鳞(本实施例采用新鲜鲤鱼鱼鳞)洗净后,用重量百分比浓度为6%的氯化钠溶液于4℃下浸泡8小时后取出,再用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(2) 鱼鳞脱脂

将经步骤(1)脱杂蛋白后的鱼鳞用重量百分比浓度为0.5%的氢氧化钠溶液于4℃下浸泡6小时后取出,再用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(3) 鱼鳞脱色

将经步骤(2)脱脂后的鱼鳞用重量百分比浓度为2%的过氧化氢溶液于4℃下浸泡4小时后取出,再用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(4) 鱼鳞脱灰

将经步骤(3)脱色后的鱼鳞用有机酸溶液在65℃下且在搅拌的情况下浸泡8小时(在40 转/分钟的转速下进行搅拌),搅拌结束后静置,再将上清液与沉淀物分离,其中上清液为有机酸钙溶液,沉淀物为脱钙鱼鳞;

本步骤(4)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为4%,其所含有机酸为柠檬酸和苹果酸(柠檬酸和苹果酸的重量比为1:2);脱色后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:10;

(5) 有机酸钙结晶

将步骤(4)获得的上清液冷冻结晶(冷冻结晶温度为-12℃,结晶时间为12小时),

获得的结晶体即为有机酸钙；

(6) 酸法和酶法提胶

将步骤(4)获得的脱钙鱼鳞加入有机酸溶液在4℃下浸泡24小时,浸泡结束后将溶解液与沉淀物分离,得到的溶解液为酸溶性胶原蛋白溶液;将沉淀物加水调配成料液后,加入碱性蛋白酶进行酶解,获得酶溶性胶原蛋白溶液,分离酶溶性胶原蛋白溶液后获得残渣;

本步骤(6)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为8%,其所含有机酸为柠檬酸;脱灰后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:10;

本步骤(6)中,沉淀物与水的重量比为1:12;加入的碱性蛋白酶的重量为沉淀物的1%,在35℃下酶解12小时;所用的碱性蛋白酶活力单位为80万单位;

(7) 胶原蛋白酶解

对步骤(6)获得的酸溶性胶原蛋白溶液和酶溶性胶原蛋白溶液分别进行酶解,获得酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液;

本步骤(7)中,将酸溶性胶原蛋白溶液加入到第一酶解罐中,然后加水调节至酸溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5,升温至52℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶(所用的碱性蛋白酶的活力单位为50万单位,中性蛋白酶的活力单位为20万单位),碱性蛋白酶的重量为酸溶性胶原蛋白的3%,中性蛋白酶重量为酸溶性胶原蛋白的1%;然后在搅拌的情况下酶解8小时(搅拌转速为50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酸溶性胶原蛋白酶解液。用布袋过滤器对酸溶性胶原蛋白溶液的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。所用的布袋过滤器的滤袋孔径为30微米;

本步骤(7)中,将酶溶性胶原蛋白加入到第二酶解罐中,然后加水调节至酶溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为8%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5,升温至52℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶(所用的碱性蛋白酶的活力单位为50万单位,中性蛋白酶的活力单位为20万单位),碱性蛋白酶的重量为酶溶性胶原蛋白的3%,中性蛋白酶重量为酶溶性胶原蛋白的1%;然后在搅拌的情况下酶解8小时(搅拌转速为50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酶溶性胶原蛋白酶解液。用布袋过滤器对酶溶性胶原蛋白的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。所用的布袋过滤器的滤袋孔径为30微米;

(8) 纳滤

将步骤(7)获得的酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液分别进行纳滤(纳滤使用的纳滤膜的孔径为200纳米),分别获得酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液;

(9) 灭菌

将步骤(8)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行杀菌(杀菌方式为巴氏灭菌,在85℃下保持30分钟);

(10) 喷雾干燥

用喷雾干燥机将步骤(10)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行喷雾干燥(喷雾干燥的进风温度为172℃,出风温度为75℃),分别获得酸溶性胶原蛋白肽粉、酶溶性胶原蛋白肽粉;

(11) 碱法分离角蛋白

将步骤(6)所得残渣与氢氧化钠溶液混合,于65℃下反应至残渣全部溶解,然后加

入浓盐酸调pH值至角蛋白等电点(调pH值至4.5),静置后分离出沉淀物,该沉淀物即为角蛋白;

本步骤(11)中,氢氧化钠溶液的重量百分比浓度为5%,氢氧化钠溶液的重量为残渣的12倍;静置时间为30分钟,静置后采用离心机分离出沉淀物,离心机转速为4000rpm,离心时间为20分钟。

[0039] 将步骤(11)分离出的沉淀物用重量百分比浓度为2%的氢氧化钠溶液溶解,再用盐酸调至中性,获得角蛋白溶液;然后将获得的角蛋白溶液进行纳滤,获得角蛋白浓缩液;再将角蛋白浓缩液进行杀菌,喷雾干燥后获得干燥的粉末状角蛋白。角蛋白溶液的纳滤、杀菌、喷雾干燥参照上述步骤(8)-(10)进行。

[0040] 本实施例中,有机酸钙的得率为8.7%,酸溶性胶原蛋白的得率为6.4%,酶溶性胶原蛋白的得率为10.2%,角蛋白的得率为3.7%。

[0041] 经检测,酸溶性胶原蛋白肽粉中分子量1000Da以下的蛋白肽含量为94.2%;酶溶性胶原蛋白肽粉中分子量1000Da以下蛋白肽含量为95.3%。

[0042] 其他实施方案中,也可将步骤(11)分离出的沉淀物进行冷冻干燥,获得干燥的角蛋白。

[0043] 实施例2

本实施例中,从鱼鳞中提取多种营养成分的工艺包括下述步骤:

(1) 鱼鳞脱杂蛋白

将新鲜鱼鳞(本实施例采用新鲜草鱼鱼鳞)洗净后,用重量百分比浓度为5%的氯化钠溶液于8℃下浸泡12小时后取出,用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(2) 鱼鳞脱脂

将经步骤(1)脱杂蛋白后的鱼鳞用重量百分比浓度为0.6%的氢氧化钠溶液于8℃下浸泡4小时后取出,用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(3) 鱼鳞脱色

将经步骤(2)脱脂后的鱼鳞用重量百分比浓度为1.5%的过氧化氢溶液于8℃下浸泡5小时后取出,用清水漂洗(用清水漂洗三遍);

(4) 鱼鳞脱灰

将经步骤(3)脱色后的鱼鳞用有机酸溶液在65℃下且在搅拌的情况下浸泡8小时(在30转/分钟的转速下进行搅拌),搅拌结束后静置,再将上清液与沉淀物分离,其中上清液为有机酸钙溶液,沉淀物为脱钙鱼鳞;

本步骤(4)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为5%,其所含有机酸为柠檬酸和乳酸(柠檬酸和乳酸的重量比为2:1);脱色后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:12;

(5) 有机酸钙结晶

将步骤(4)获得的上清液冷冻结晶(冷冻结晶温度为-12℃,结晶时间为12小时),获得的结晶体即为有机酸钙;

(6) 酸法和酶法提胶

将步骤(4)获得的脱钙鱼鳞加入有机酸溶液在4℃下浸泡24小时,浸泡结束后将溶解液与沉淀物分离,得到的溶解液为酸溶性胶原蛋白溶液;将沉淀物加水调配成料液后,加入碱性蛋白酶进行酶解,获得酶溶性胶原蛋白溶液,分离酶溶性胶原蛋白溶液后获得残渣;

本步骤(6)中,有机酸溶液的重量百分比浓度为8%,其所含有机酸为柠檬酸;脱灰后的鱼鳞与有机酸溶液的重量比为1:10;

本步骤(6)中,沉淀物与水的重量比为1:10;加入的碱性蛋白酶的重量为沉淀物的1%,在25℃下酶解12小时;所用的碱性蛋白酶活力单位为80万单位;

(7) 胶原蛋白酶解

对步骤(6)获得的酸溶性胶原蛋白溶液和酶溶性胶原蛋白溶液分别进行酶解,获得酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液;

本步骤(7)中,将酸溶性胶原蛋白溶液加入到第一酶解罐中,然后加水调节至酸溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为10%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5,升温至52℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶(所用的碱性蛋白酶的活力单位为50万单位,中性蛋白酶的活力单位为20万单位),碱性蛋白酶的重量为酸溶性胶原蛋白的3%,中性蛋白酶重量为酸溶性胶原蛋白的1.5%;然后在搅拌的情况下酶解6小时(搅拌转速为50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酸溶性胶原蛋白酶解液。用布袋过滤机对酸溶性胶原蛋白溶液的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。所用的布袋过滤机的滤袋孔径为30微米;

本步骤(7)中,将酶溶性胶原蛋白加入到第二酶解罐中,然后加水调节至酶溶性胶原蛋白的重量百分比浓度为10%,用球磨机进行均浆,再用氢氧化钠调节至pH值为7.5,升温至52℃,加入碱性蛋白酶和中性蛋白酶(所用的碱性蛋白酶的活力单位为50万单位,中性蛋白酶的活力单位为20万单位),碱性蛋白酶的重量为酶溶性胶原蛋白的3%,中性蛋白酶重量为酶溶性胶原蛋白的1.5%;然后在搅拌的情况下酶解6小时(搅拌转速为50rpm),酶解结束后经过滤获得酶解上清液,即为酶溶性胶原蛋白酶解液。用布袋过滤机对酶溶性胶原蛋白的酶解产物进行过滤,获得酶解上清液。所用的布袋过滤机的滤袋孔径为30微米;

(8) 纳滤

将步骤(7)获得的酸溶性胶原蛋白酶解液和酶溶性胶原蛋白酶解液分别进行纳滤(纳滤使用的纳滤膜的孔径为200纳米),分别获得酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液;

(9) 灭菌

将步骤(8)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行杀菌(杀菌方式为巴氏灭菌,在85℃下保持30分钟);

(10) 喷雾干燥

用喷雾干燥机将步骤(10)获得的酸溶性胶原蛋白酶解浓缩液和酶溶性胶原蛋白酶解浓缩液分别进行喷雾干燥(喷雾干燥的进风温度为178℃,出风温度为76℃),分别获得酸溶性胶原蛋白肽粉、酶溶性胶原蛋白肽粉;

(11) 碱法分离角蛋白

将步骤(6)所得残渣与氢氧化钠溶液混合,于60℃下反应至残渣全部溶解,然后加入浓盐酸调pH值至角蛋白等电点(调pH值至4.6),静置后分离出沉淀物,该沉淀物即为角蛋白;

本步骤(11)中,氢氧化钠溶液的重量百分比浓度为5%,氢氧化钠溶液的重量为残渣的10倍;静置时间为30分钟,静置后采用离心机分离出沉淀物,离心机转速为4000rpm,离心时间为20分钟。

[0044] 将步骤(11)分离出的沉淀物用重量百分比浓度为3%的氢氧化钠溶液溶解,再用盐酸调至中性,获得角蛋白溶液;然后将获得的角蛋白溶液进行纳滤,获得角蛋白浓缩液;再将角蛋白浓缩液进行杀菌,喷雾干燥后获得干燥的粉末状角蛋白。角蛋白溶液的纳滤、杀菌、喷雾干燥参照上述步骤(8)-(10)进行。

[0045] 本实施例中,有机酸钙的得率为7.9%,酸溶性胶原蛋白的得率为6.9%,酶溶性胶原蛋白的得率为12.2%,角蛋白的得率为4.2%。

[0046] 经检测,酸溶性胶原蛋白肽粉中分子量1000Da以下的蛋白肽含量为93.1%;酶溶性胶原蛋白肽粉中分子量1000Da以下蛋白肽含量为95.6%。

[0047] 其他实施方案中,也可将步骤(11)分离出的沉淀物进行冷冻干燥,获得干燥的角蛋白。

[0048] 有机酸钙得率=有机酸钙重量/鱼鳞重量 \times 100%。酸溶性胶原蛋白得率=酸溶性胶原蛋白重量/鱼鳞重量 \times 100%。酶溶性胶原蛋白得率=酶溶性胶原蛋白重量/鱼鳞重量 \times 100%。角蛋白得率=角蛋白重量/鱼鳞重量 \times 100%。以上鱼鳞重量均为干重。

[0049] 蛋白肽分子量分布测量方法根据GB 31645-2018 食品安全国家标准 胶原蛋白肽采用高效体积排阻色谱法测定。