(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103275245 B
(45)授权公告日 2015.09.23

(21)申请号 201310245290.1

(22)申请日 2013.06.19

(73)专利权人 中国水产科学研究院南海水产研究所
地址 510300 广东省广州市海珠区新港西路231号

(72)发明人 陈胜军 李来好 杨贤庆 陈辉 吴燕燕 戚勃 马海霞 胡晓 邓建朝

(74)专利代理机构 广州知友专利商标代理有限公司 44104
代理人 宣国华

(51)Int.Cl.
C08B 37/08(2006.01)

(56)对比文件
CN 103130915 A,2013.06.05,
卢佳芳等．鱿鱼眼透明质酸的酶法提取与分离纯化．《中国食品学报》.2011,第10卷(第4期),全文．
秦乾安等．鱿鱼眼提取透明质酸去蛋白质酶解工艺研究．《食品工业科技》.2009,(第1期),
田甲春等．超声波辅助法提取硫酸软骨素的工艺研究.《食品科学》.2010,第31卷(第2期),

审查员 陈佳佳

权利要求书1页 说明书3页

(54)发明名称

一种罗非鱼眼透明质酸的提取方法

(57)摘要

本发明公开了一种罗非鱼眼透明质酸的提取方法,包括以下步骤:1、取罗非鱼眼玻璃体,用丙酮脱脂后放入冷冻干燥器中进行干燥后粉碎;2、将粉碎处理后的罗非鱼眼配成溶液超声处理;3、采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解;4、酶解结束后离心取上清液;5、浓缩干燥即得成品。本发明将超声波处理与酶解工艺相结合,促进罗非鱼眼中透明质酸与蛋白质分离,提高罗非鱼眼透明质酸的提取率和产品质量,产品得率为16%～18%,其中葡聚糖醛酸含量为32%～37%。

CN 103275245 B

1. 一种罗非鱼眼透明质酸的提取方法，其特征在于包括如下步骤：

(1) 从罗非鱼切片后的废弃部分中摘取罗非鱼眼玻璃体，并进行脱脂处理；

(2) 脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后，放入冷冻干燥器中进行干燥；

(3) 干燥后的玻璃体用高速粉碎机粉碎；

(4) 将粉碎处理后的罗非鱼眼配成溶液，用超声波进行处理，具体在 20KHz ～ 35KHz，100W ～ 300W 条件下超声处理 20min ～ 40min；

(5) 采用复合酶制剂进行酶解提取；酶解过程中，采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解，两种酶用量为 2000U/g ～ 3000U/g，酶解温度为 38℃～ 42℃，pH8.6 ～ 9.2，酶解时间 2h ～ 4h；

(6) 酶解结束后离心取上清液，并将上清液经抽真空旋转蒸发浓缩后冷冻真空干燥，即得成品；

所述步骤 (2) 中脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后，放入冷冻干燥器中干至水分含量 8%～ 12%；

所述步骤 (6) 中将上清液在 40℃～ 50℃经抽真空旋转蒸发浓缩至 50mg/mL ～ 200mg/mL 后冷冻真空干燥。

2. 根据权利要求 1 所述的罗非鱼眼透明质酸的提取方法，其特征在于所述步骤 (1) 中采用罗非鱼眼与丙酮质量比为 1 ： 1 ～ 1 ： 3 进行脱脂。

3. 根据权利要求 1 所述的罗非鱼眼透明质酸的提取方法，其特征在于所述步骤 (3) 中干燥后的玻璃体用高速粉碎机粉碎至 100 目以下。

4. 根据权利要求 1 所述的罗非鱼眼透明质酸的提取方法，其特征在于所述步骤 (4) 中在超声处理过程中，将粉碎处理后的罗非鱼眼粉末加水配成质量浓度为 20%～ 30%的溶液。

5. 根据权利要求 1 所述的罗非鱼眼透明质酸的提取方法，其特征在于所述步骤 (6) 中酶解结束后在 3000r/min ～ 4500r/min 的转速下，离心 10min ～ 20min 取上清液。

一种罗非鱼眼透明质酸的提取方法

所属技术领域

[0001] 本发明涉及一种从罗非鱼眼提取透明质酸的方法。

背景技术

[0002] 透明质酸(Hyaluronic acid,简称HA),又名玻璃酸,是一种酸性多聚粘多糖,其分子结构由N-乙酰葡萄糖胺和葡萄糖醛酸通过β-1,3糖苷键反复交替连接组成,分子量在10万至400百万之间。透明质酸以其独特的分子结构和理化性质在机体内显示出多种重要的生理功能,如润滑关节,调节血管壁的通透性,调节蛋白质,水电解质扩散及运转,促进创伤愈合等。尤为重要的是,透明质酸具有特殊的保水作用,是目前发现的自然界中保湿性最好的物质,被称为理想的天然保湿因子。透明质酸是一种多功能基质,透明质酸HA广泛分布于人体各部位。其中皮肤也含有大量的透明质酸。人类皮肤成熟和老化过程也随着透明质酸的含量和新陈代谢而变化,它可以改善皮肤营养代谢,使皮肤柔嫩、光滑、去皱、增加弹性、防止衰老,在保湿的同时又是良好的透皮吸收促进剂。与其他营养成分配合使用,可以起到促进营养吸收的更理想效果。HA由于其是构成人体细胞间质、眼玻璃体、关节滑液等结缔组织的主要成分,在体内发挥保水、维持细胞外空间、调节渗透压、润滑、促进细胞修复的重要生理功能,因此,在保健食品、化妆品、医药等方面正得到越来越广泛的应用。

[0003] 我国是世界罗非鱼养殖第一大国,其发展势头迅猛,产量从2000年的62.9万吨增加到2012年的155.3万吨,年均增长率约为12.2%,稳居世界首位。随着我国罗非鱼产业发展迅速,已经形成良好的养殖、加工生产体系,罗非鱼已经成为我国特别是我省具有竞争力的优势出口水产品。但是,罗非鱼的加工产品以冻罗非鱼片为主,罗非鱼片加工过程中产生50%～60%的下脚料,这些下脚料大多被废弃,少量被加工成廉价的饲料,这不但造成资源的浪费,而且污染环境,还在一定程度上增加了产品的成本,如何更好地利用这部分资源,提高罗非鱼原料的附加值,是罗非鱼产业急需解决的问题。罗非鱼眼主要由玻璃体构成,透明质酸含量高,易于收集,而且是天然透明质酸。因此,本发明从罗非鱼加工下脚料进行高值化研究利用的角度出发,以罗非鱼片加工中余下的废弃物中的鱼眼为原料,进行HA的提取利用,提高了罗非鱼原料的利用率和生产企业的经济效益。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供罗非鱼眼透明质酸的提取方法,提高罗非鱼眼透明质酸的提取率,促进其经济效益的提升。

[0005] 为实现上述目的,本发明一种罗非鱼眼透明质酸的提取方法,包括如下步骤:

[0006] (1)从罗非鱼切片后的废弃部分中摘取罗非鱼眼玻璃体,并进行脱脂处理;

[0007] (2)脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后,放入冷冻干燥器中进行干燥;

[0008] (3)干燥后的玻璃体用高速粉碎机粉碎;

[0009] (4)将粉碎处理后的罗非鱼眼配成溶液,用超声波进行处理,具体在20KHz～35KHz,100W～300W条件下超声处理20min～40min;

[0010] (5)采用复合酶制剂进行酶解提取;酶解过程中,采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解,两种酶用量为2000U/g～3000U/g,酶解温度为38℃～42℃,pH8.6～9.2,酶解时间2h～4h;

[0011] (6)酶解结束后离心取上清液,并将上清液经抽真空旋转蒸发浓缩后冷冻真空干燥,即得成品。

[0012] 优先的,本发明所述步骤(1)中采用罗非鱼眼与丙酮质量比为1:1～1:3进行脱脂。

[0013] 优先的,本发明所述步骤(2)中脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后,放入冷冻干燥器中干至水分含量8%～12%。

[0014] 优先的,本发明所述步骤(3)中干燥后的玻璃体用高速粉碎机粉碎至100目以下。

[0015] 优先的,本发明所述步骤(4)中在超声处理过程中,将粉碎处理后的罗非鱼眼配成20%～30%溶液。

[0016] 优先的,本发明所述步骤(6)中酶解结束后在3000r/min～4500r/min的转速下,离心10min～20min取上清液。

[0017] 优先的,本发明所述步骤(6)中将上清液在40℃～50℃经抽真空旋转蒸发浓缩至50mg/ml～200mg/ml后冷冻真空干燥。

[0018] 采用本发明后可达到以下的有益效果:本发明采用将超声波处理与酶解工艺相结合的提取方法,超声促进了酶和糖蛋白的结合以及使得酶活力有所提高,从而增加的酶促反应速率及酶解效果促进罗非鱼眼中透明质酸与蛋白质分离,提高罗非鱼眼透明质酸的提取率和产品质量,试验证明随着超声波功率在100W～300W增加时,HA的提取率逐渐增加。根据本发明方法,从罗非鱼眼透明提取透明质酸产品得率为16%～18%,通过咔唑法检测产品葡聚糖醛酸含量为32%～37%。

具体实施方式

[0019] 实施例1

[0020] 将从新鲜罗非鱼切片后的废弃部分中摘取罗非鱼眼,取出罗非鱼眼玻璃体,用罗非鱼眼与丙酮质量比为1:1进行丙酮脱脂;脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后,放入冷冻干燥器中干至水分含量10%;冷冻干燥后的玻璃体在高速粉碎机粉碎至90目以下;将粉碎处理后的罗非鱼眼粉未加水配成质量浓度20%溶液,在20kHz,100W条件下超声处理20min;酶解温度38℃、pH8.6、采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解,两种酶用量均为2000U/g,酶解3h;将酶液在4000r/min的转速下,离心20min取上清液;将上清液在40℃经抽真空旋转蒸发浓缩至50mg/ml后冷冻真空干燥即得成品。粗产品得率为16.6%左右,其中葡聚糖醛酸含量为32.3%。

[0021] 实施例2

[0022] 将从新鲜罗非鱼切片后的废弃部分中摘取罗非鱼眼,取出罗非鱼眼玻璃体,罗非鱼眼与丙酮质量比为1:2进行丙酮脱脂;脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后,放入冷冻干燥器中干至水分含量8%;冷冻干燥后的玻璃体在高速粉碎机粉碎至80目以下;将粉碎处理后的罗非鱼眼粉未加水配成质量浓度30%溶液,在30kHz,200W条件下超声处理20min;酶解温度40℃、pH9.0、采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解,两种酶用量分别为2000U/g

和 4000U/g，酶解提取 2.5h ；将酶解液在 4000r/min 的转速下，离心 20min 取上清液 ；将上清液在 50℃经抽真空旋转蒸发浓缩至 100mg/ml 后冷冻真空干燥即得成品。粗产品得率为 18.6% 左右，其中葡聚糖醛酸含量为 36.3%。

[0023] 实施例 3

[0024] 将从新鲜罗非鱼切片后的废弃部分中摘取罗非鱼眼，取出罗非鱼眼玻璃体，罗非鱼眼与丙酮质量比为 1 ： 3 进行丙酮脱脂 ；脱脂后的罗非鱼眼玻璃体流水清洗后，放入冷冻干燥器中干至水分含量 12% ；冷冻干燥后的玻璃体在高速粉碎机粉碎至 100 目以下 ；将粉碎处理后的罗非鱼眼粉未加水配成质量浓度 30% 溶液，在 35kHz，300W 条件下超声处理 30min ；酶解温度 42℃、pH9.2、采用胰蛋白酶和复合蛋白酶进行酶解，两种酶用量均为 3000U/g，酶解提取 4h ；将酶解液在 4500r/min 的转速下，离心 20min 取上清液 ；将上清液在 45℃经抽真空旋转蒸发浓缩至 200mg/ml 后冷冻真空干燥即得成品。粗产品得率为 17.8% 左右，其中葡聚糖醛酸含量为 35.6%。

[0025] 以上所述实施例仅表达了本发明的部分种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。