

综合利用

对虾虾头中磷脂提取工艺的研究

李晓彬¹, 孙世康², 韩利文¹, 吕宪峰³, 何秋霞¹, 张姗姗¹, 张轩铭¹, 侯海荣¹, 于涛³, 刘可春¹

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省科学院生物研究所, 山东省生物传感器重点实验室, 山东省科学院药物筛选重点实验室, 济南 250103; 2. 济南大学 医学与生命科学学院, 济南 250022; 3. 蓬莱海洋(山东)股份有限公司, 山东 蓬莱 265607)

摘要:为充分利用对虾加工副产物资源, 采用溶剂提取法, 探讨以对虾虾头为原料提取磷脂的最佳工艺和影响因素。以磷脂纯度为指标, 通过单因素实验与正交实验, 考察料液比、乙醇体积分数、提取时间及提取次数对磷脂提取的影响, 制定出虾头磷脂的最佳提取工艺。结果表明, 虾头磷脂的最佳提取工艺条件为: 料液比 1:6, 采用 90% 乙醇溶液作为提取液提取虾头 2 次, 每次提取 6 h。在最佳提取工艺条件下, 虾头提取物中磷脂纯度为 45.81%。该提取工艺简单、污染少、提取效率高, 为低附加值海产品加工副产物的高值化利用提供有效途径。

关键词:对虾虾头; 磷脂; 提取工艺

中图分类号: TS254.9; TQ645 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)01-0112-04

Extraction process of phospholipids from shrimp head

LI Xiaobin¹, SUN Shikang², HAN Liwen¹, LÜ Xianfeng³, HE Qiuxia¹, ZHANG Shanshan¹, ZHANG Xuanming¹, HOU Hairong¹, YU Tao³, LIU Kechun¹

(1. Key Laboratory for Drug Screening Technology of Shandong Academy of Science, Key Laboratory for Biosensor of Shandong Province, Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China; 2. School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan, Jinan 250022, China; 3. Penglai Marine (Shandong) Co., Ltd., Penglai 265607, Shandong, China)

Abstract: In order to make full use of the byproducts of shrimp processing, the optimal process and influencing factors of extraction phospholipids from shrimp head were studied by solvent extraction method. The effects of ratio of material to solvent, volume fraction of ethanol, extraction time and extraction times on the extraction of phospholipids were researched by single factor experiment and orthogonal experiment with phospholipids purity as index to obtain the optimal extraction process of phospholipids from shrimp head. The results showed that the optimal extraction conditions of phospholipids from shrimp head were obtained as follows: ratio of material to solvent 1:6, volume fraction of ethanol 90%, extraction time 6 h and extraction twice. Under these conditions, the phospholipids purity in shrimp head extract was 45.81%. The process had advantages of simple, less pollution and high extraction efficiency, which provided an effective way for the high value utilization of low-value-added seafood byproducts.

Key words: shrimp head; phospholipid; extraction process

收稿日期: 2017-05-16; 修回日期: 2017-10-24

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项经费项目 (201505030-2); 山东省重点研发计划项目 (2016YYSP004); 烟台市科技计划项目 (2016YTZD0007); 山东省三院联合基金项目 (ZR2015YL009)

作者简介: 李晓彬 (1985), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为天然活性成分 (E-mail) bin8566666@163.com。

通信作者: 刘可春, 研究员 (E-mail) hliukch@sas.org。

磷脂是一类含磷酸根的一类脂化合物, 是组织细胞的基本组成成分, 包括鞘磷脂和甘油磷脂两大类。前者主要见于高等动物的红细胞膜中, 后者在动物肝脏、脑及卵巢中含量丰富。磷脂不仅具有较高的营养价值, 还具有生理调节机能、促进人体新陈代谢、增强免疫力、预防疾病等作用^[1-2]。现在, 美国、日本等发达国家已将磷脂应用于临床中, 预防脑、

心、肝、肿瘤等疾病。此外,磷脂还具有乳化、润湿、抗氧化、改善物料黏度、防止淀粉老化等特征,使其在食品工业、轻工、化工等领域有着广泛的应用^[3-4]。

海产动物来源的磷脂因其侧链中富含 EPA 和 DHA 等 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸^[5-6],具有显著的降血脂、抗衰老、促进神经传导、提高大脑活力、预防心脑血管疾病、保肝、增强免疫力、抑制肿瘤细胞生长等多种功能^[6-9],开发利用前景广阔。我国海产品加工废弃物原料丰富,高值化利用市场前景好,但目前尚无规模化生产技术。鱼、虾、贝等加工下脚料大都用于加工低值产品或作为废弃物处理,造成了渔业资源的极大浪费,同时还存在着环境污染的隐患。因此,利用这些下脚料提取精制高经济附加值的 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸磷脂,对于提高海洋资源利用价值,突破海产磷脂产业化关键技术意义重大,且具有显著的经济价值和社会意义。

我国虾类资源极为丰富,年产约 40 万 t,多用于加工和出口。为了便于保鲜,出口的虾基本上都加工成冷冻虾,也有的加工成虾仁粗产品。在加工出口冷冻虾的过程中,占虾体重 30%~40% 的虾头被剔除,虾头量以数万 t 计^[10]。其中只有少数进行了初级加工利用,如制作虾酱、虾粉,绝大部分虾头被用作养殖饲料或丢弃,既污染了环境,又造成资源的浪费^[11-12]。现代研究发现,虾头富含磷脂类成分,极有潜在的利用价值,但针对虾下脚料中磷脂的提取方法报道较少^[13]。本研究通过对对虾虾头中的磷脂提取工艺进行研究,废物利用,为虾头中磷脂的规模化制备、加工技术提供理论依据,以期促进对虾养殖业、加工业产业的发展。

1 材料与方法

1.1 实验材料

市面购买新鲜对虾,清洗后切取虾头于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存;乙醇、磷酸二氢钾、三氯甲烷、酚酞、浓硫酸、高氯酸、氢氧化钠、无水氯化钙、 V_C 、冰乙酸、EDTA-2Na 为分析纯,山东沃恩生物科技有限公司。

EYELA OSB-2100-CE 旋转蒸发仪,Unico UV-2100 紫外可见分光光度计,电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),DS-200 组织匀浆搅拌机,JB90-D 强力电动搅拌机,KQ-300DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),海尔 BCD-649WADV 电冰箱。

1.2 实验方法

1.2.1 虾头中磷脂的提取

准确称取一定量的新鲜虾头解冻,按一定的料液比加入不同体积分数的乙醇溶液,匀浆后搅拌提取一定时间。提取不同的次数后,合并提取液,然后进行抽滤,滤液用旋转蒸发仪减压蒸馏脱除溶剂,真空干燥。以虾头提取物中磷脂纯度为考察指标,通过单因素实验和正交实验确定最佳提取工艺条件。

1.2.2 磷脂纯度的计算

虾头磷脂的定量测定采用紫外分光光度法^[14],在波长 820 nm 下,通过测定提取物中的含磷量计算提取物中磷脂的量,进而计算磷脂的纯度,计算公式:磷脂纯度 = $26.3 m/W \times 100\%$,式中: m 为提取物中的含磷量,g; W 为测定样品所用提取物的质量,g。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 乙醇体积分数对虾头磷脂纯度的影响

称取 5 份新鲜虾头(每份 10 g)解冻,按料液比 1:10 分别加入 80%、85%、90%、95%、100% (体积分数)乙醇,匀浆后搅拌提取 4 h。提取液抽滤后,用旋转蒸发仪蒸干,真空干燥,称重。以虾头提取物中磷脂纯度为指标,考察乙醇体积分数对磷脂提取效果的影响,结果见图 1。

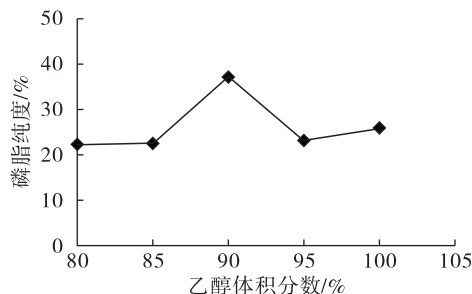


图 1 乙醇体积分数对虾头磷脂纯度的影响

由图 1 可知,磷脂纯度随着乙醇体积分数的增加而增加,当乙醇体积分数达到 90% 时提取物中磷脂纯度最高,达到 37.35%。乙醇体积分数继续增加,磷脂纯度反而下降。磷脂的亲水亲油平衡值决定了其在适当水分的存在下更容易溶出,适当水分的存在将更加有效地破坏磷脂与蛋白质、糖类等物质的结合,使磷脂的溶解度增大,有利于磷脂的提取;但随着水比例增多,溶液的极性进一步增大,导致磷脂的溶解度下降,磷脂提取效率下降^[15]。因此,适宜的乙醇体积分数为 90%。

2.1.2 料液比对虾头磷脂纯度的影响

称取 5 份新鲜虾头(每份 10 g)解冻,分别按料液比 1:4、1:6、1:8、1:10、1:12 加入 95% 乙醇溶液,匀浆后搅拌提取 4 h。提取液分别抽滤后,用旋转蒸发仪蒸

干,真空干燥,称重。以虾头提取物中磷脂纯度为指标,考察料液比对磷脂提取效果的影响,结果见图2。

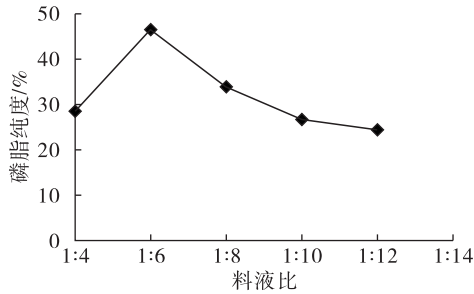


图2 料液比对虾头磷脂纯度的影响

由图2可知,当料液比为1:6时提取物磷脂纯度最大,可达46.73%,这可能因为增加溶剂用量,样品与溶剂的接触面积增大,促进磷脂的溶出,料液比为1:6时,磷脂纯度最大,继续增大溶剂用量,溶剂的提取能力达到饱和,同时还会浪费大量乙醇溶剂,不利于经济和环保。因此,适宜的料液比为1:6。

2.1.3 提取时间对虾头磷脂纯度的影响

称取5份新鲜虾头(每份10g)解冻,按料液比1:10加入95%乙醇溶液,匀浆,然后进行搅拌提取3、4、5、6、7h。提取液抽滤后,用旋转蒸发仪蒸干,真空干燥,称重。以虾头提取物中磷脂纯度为指标,考察提取时间对磷脂提取效果的影响,结果见图3。

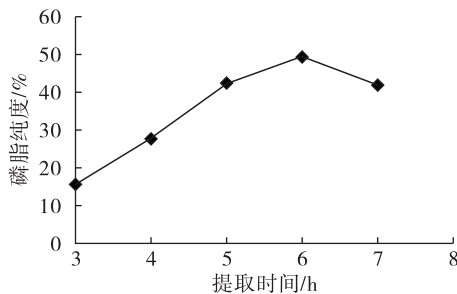


图3 提取时间对虾头磷脂纯度的影响

由图3可知,随着提取时间的延长,磷脂纯度也随之增加,在提取时间6h时磷脂纯度最大,可达49.73%。这是因为原料颗粒内部溶质的溶解及扩散需要一定的时间,提取时间延长有利于溶质溶出,但超过一定时间,随着磷脂的溶出增多,传质推动力减小,提取速率下降,且磷脂变质的概率也会增加。因此,适宜的提取时间为6h。

2.1.4 提取次数对虾头磷脂纯度的影响

称取4份新鲜虾头(每份10g)解冻,按料液比1:10加入95%乙醇溶液,匀浆后分别搅拌提取1、2、3、4次,每次搅拌提取时间4h。每份提取液分别抽滤后,用旋转蒸发仪蒸干,真空干燥,称重。以虾头提取物中磷脂纯度为指标,考察提取次数对磷脂提取效果的影响,结果见图4。

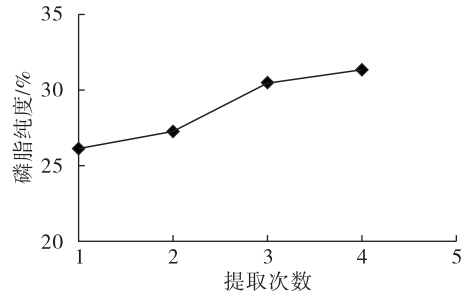


图4 提取次数对虾头磷脂纯度的影响

由图4可知,虾头磷脂纯度随着提取次数增加逐渐上升,在提取3次以后,提取物中磷脂纯度上升的趋势有所下降。这是因为增加提取次数,有利于磷脂的溶出,但超过3次后未溶出的溶质量越来越少,磷脂的溶出量也趋于饱和。因此,本着节约成本的原则,选择3次为最适宜的提取次数。

2.2 正交实验

在单因素实验基础上,以磷脂纯度为指标,进行四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交实验,确定最佳提取工艺。正交实验因素水平见表1,正交实验设计及结果见表2。

表1 正交实验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 料液比	C 提取时间/h	D 提取次数
1	85	1:4	5	2
2	90	1:6	6	3
3	95	1:8	7	4

表2 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	磷脂纯度/%
1	1	1	1	1	26.11
2	1	2	2	2	37.93
3	1	3	3	3	20.11
4	2	1	2	3	35.68
5	2	2	3	1	32.68
6	2	3	1	2	36.62
7	3	1	3	2	22.36
8	3	2	1	3	27.99
9	3	3	2	1	45.24
k_1	28.05	28.05	30.24	34.68	
k_2	34.99	32.87	39.62	32.30	
k_3	31.86	33.99	25.05	27.93	
R	6.94	5.94	14.57	6.75	

根据表2极差分析可得,虾头磷脂的提取过程中影响磷脂纯度的各因素主次顺序为 $C > A > D > B$,即提取时间>乙醇体积分数>提取次数>料液比。得出最佳的虾头磷脂提取工艺条件为 $A_2B_3C_2D_1$,即乙醇体积分数90%,料液比1:8,提取时间6h,提取2次。

根据表2中的实验结果做四因素的效应图, 见图5。

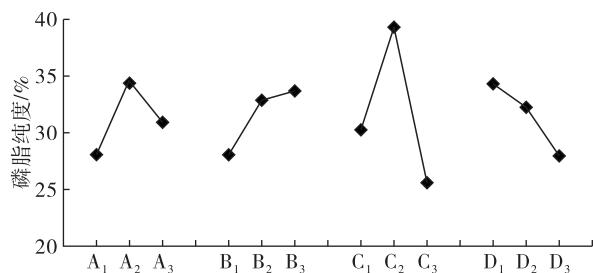


图5 因素效应图

由图5可知, 料液比1:6和1:8对应的虾头提取物中磷脂纯度的影响差别不大, 考虑到成本问题, 选择A₂B₂C₂D₁更适合工业生产, 即乙醇体积分数90%, 料液比1:6, 提取时间6h, 提取2次。

按以上最优提取工艺条件进行验证实验, 得到的虾头提取物的收率为8.50%, 磷脂纯度为45.81%, 优于表2中的最优结果, 证明了此最佳工艺的可行性。

3 结论

本实验主要研究了以乙醇溶液为提取液提取虾头中磷脂的最佳工艺条件。以磷脂纯度为指标, 通过单因素实验及正交实验, 筛选出最佳提取工艺条件为: 乙醇体积分数90%, 料液比1:6, 提取时间6h, 提取2次。在最佳提取工艺条件下, 虾头提取物中磷脂纯度为45.81%。

本工艺合理可行、过程简单, 只涉及乙醇一种有机溶剂, 污染少, 使加工虾的副产物得到高值化利用, 为提高海洋资源的利用价值提供参考, 且具有一定的经济和社会意义。

参考文献:

[1] 姚凯, 薛芸, 李静, 等. 磷脂分析方法的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(15): 2972-2975.
 [2] 王湘, 魏芳, 吕晰, 等. 磷脂分析方法与应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(2): 141-150.

[3] 路英军, 杨福明. 大豆磷脂的应用及展望[J]. 科技信息, 2007(18): 291, 424.
 [4] 吕名蕊, 吕名秀, 蔡春明, 等. 注射级大豆磷脂提取工艺的研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(9): 59-62.
 [5] ALONZO F, VIRTUE P, NICOL S, et al. Lipids as trophic markers in Antarctic krill. II. Lipid composition of the body and digestive gland of *Euphausia superba* in controlled conditions[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2005, 296: 65-79.
 [6] 吕晴, 隋晓, 刘坤, 等. 太平洋磷虾磷脂提取工艺研究及脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 236-240.
 [7] 王琦, 薛长湖, 徐杰, 等. HPLC-ELSD法测定几种水产品卵及生殖腺中磷脂的组成[J]. 分析仪器, 2012(5): 18-22.
 [8] 郝颖, 汪之和. EPA、DHA的营养功能及其产品安全性分析[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 180-183.
 [9] 赵静, 姜国良, 田丹. 常见海产动物磷脂研究进展[J]. 食品工业, 2011(10): 86-89.
 [10] 杨洋. 虾头的综合开发利用研究进展[J]. 齐鲁渔业, 2005, 22(1): 34-35.
 [11] CAO W H, ZHANG C H, HONG P Z, et al. Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate[J]. LWT - Food Sci Technol, 2009, 42(1): 244-249.
 [12] GUERARD F, SUMAYA - MARTINEZ M T, LAROQUE D, et al. Optimization of free radical scavenging activity by response surface methodology in the hydrolysis of shrimp processing discards[J]. Process Biochem, 2007, 42(11): 1486-1491.
 [13] 边晶晶, 谢晶, 陈舜胜. 南美白对虾虾头中磷脂提取工艺的优化[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 11-16.
 [14] 袁延强, 侯海荣, 王希敏, 等. 分光光度法测定鲑鱼生殖腺提取物中总磷脂[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(1): 63-65.
 [15] 陈文娟, 陈丽娇. 大黄鱼鱼卵磷脂提取及磷脂成分分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2012, 41(4): 498-502.

(上接第84页)

[10] GOKOGLU N, YERLIKAYA P, TOPUZ O K, et al. Effects of plant extracts on lipid oxidation in fish croquette during frozen storage [J]. Food Sci Biotechnol, 2012, 21(6): 1641-1645.
 [11] BORAN G, KARACAM H, BORAN M. Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time [J]. Food Chem, 2006, 98(4): 693-698.
 [12] NIELSEN N S, JACOBSEN C. Retardation of lipid oxidation in fish oil - enriched fish pâté - combination effects [J]. J Food Biochem, 2013, 2(1): 65-67.

[13] REHMAN Z U, SALARIYA A M. Effect of synthetic antioxidants on storage stability of Khoa—a semi-solid concentrated milk product [J]. Food Chem, 2006, 96(1): 122-125.
 [14] WANG H, LIU F, YANG L, et al. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage [J]. Food Chem, 2011, 128(1): 93-99.
 [15] ZUTA P C, SIMPSON B K, ZHAO X, et al. The effect of α -TOH on the oxidation of mackerel oil [J]. Food Chem, 2007, 100(2): 800-807.