

大黄鱼肝油提取工艺优化及品质分析

Optimization of extraction process and quality analysis of *Pseudosciaena crocea* liver oil by response surface methodology

窦鑫^{1,2} 吴燕燕¹ 杨贤庆¹ 胡晓¹ 王悦齐¹

DOU Xin^{1,2} WU Yan-yan¹ YANG Xian-qing¹ HU Xiao¹ WANG Yue-qi¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所农业农村部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

(1. South China Sea Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Aquatic Products Processing, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Guangzhou, Guangdong 510300, China; 2. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

摘要:以大黄鱼肝脏为原料,选用最佳的蛋白酶水解提取大黄鱼肝油,以提取率为评价指标,对酶解工艺条件进行优化,并分析其品质和脂肪酸组成。结果表明,大黄鱼肝油的最佳酶解工艺为中性蛋白酶添加量 2.5%、料液比 1:2 (g/mL)、pH 7.3、酶解时间 4 h、酶解温度 50.3 °C。该工艺条件下提取率为 78.39%,其品质较淡碱法好,油脂澄清,酸价为 (5.83 ± 0.15) mg/g,碘价为 (142.65 ± 0.22) mg/100 g,含有 13 种脂肪酸(较淡碱法多 5 种),且不饱和脂肪酸为 8 种,其中饱和脂肪酸含量为 19.71 g/100 g,单不饱和脂肪酸含量为 62.63 g/100 g,多不饱和脂肪酸含量为 17.62 g/100 g。酶法提取大黄鱼肝油的提取率、品质及脂肪酸组成均优于淡碱法。

关键词:大黄鱼;鱼肝油;酶法;提取率;脂肪酸

Abstract: The large yellow croaker liver was used as the raw material, and the optimal protease was used to extract and extract the large yellow croaker liver oil. Taking the large yellow croaker liver oil extraction rate as an evaluation index, the best enzymatic extraction process was determined through single-factor experiments and response surface experiments. The extraction rate, quality, and fatty acid composition of the large yellow croaker liver oil were compared with those obtained by light alkali method.

基金项目:现代农业产业技术体系专项资金(编号:CARS-47);国家重点研发计划资助(编号:2019 YFD0901903);国家自然科学基金面上项目(编号:31571869);广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金(编号:2019KJ151);中国水产科学研究院基本科研业务费(编号:2020TD69)

作者简介:窦鑫,女,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:吴燕燕(1969—),女,中国水产科学研究院南海水产研究所研究员,博士生导师,博士。

E-mail: wuyygd@163.com

收稿日期:2020-03-05

The results showed that the best enzymatic extraction conditions were as followed: for large yellow croaker liver was using neutral protease, the ratio of material liquid ratio was 1:2, the amount of enzyme added was 2.5%, the value of pH was 7.3, the hydrolysis time was 4 h, and the hydrolysis temperature was 50.3 °C. Under the conditions, the extraction rate of large yellow croaker liver oil was 78.39%, and the quality was better than that of light alkali method. The oil was clear, the acid value was (5.83 ± 0.15) mg/g, the iodine value was (142.65 ± 0.22) mg / 100 g. There were 13 kinds of fatty acids, 5 more than that of light alkali method. There are 8 kinds of unsaturated fatty acids, including 19.71 g/100 g saturated fatty acids, 62.63 g/100 g monounsaturated fatty acids and 17.62 g/100 g polyunsaturated fatty acids. The extraction rate, quality and fatty acid composition of liver oil from large yellow croaker by enzymatic method were better than those by alkali method.

Keywords: large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*); liver oil; enzymolysis; extraction rate; fatty acid

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是中国特有的海洋鱼类,主要分布于东南沿海,尤其是闽浙沿海地区。2019年,中国鱼类产量 4 991.06 万 t,而海水养殖鱼类中,大黄鱼产量最高,为 19.80 万 t^[1]。随着大黄鱼产量的逐渐增加,其速冻加工过程产生大量的内脏下脚料,而内脏中大黄鱼肝占比达 36.65%^[2]。

目前,有关大黄鱼肝脂质的研究较少^[3],而鱼肝中含有丰富的脂质。海水鱼油比陆生动物油脂更健康,含有更丰富的多不饱和脂肪酸^[4],特别是长链式二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)具有有益健康的作用^[5-8],此类多不饱和脂肪酸通常存在于从鱼类(如大黄鱼)提取的油脂中^[9-10]。目前,从鱼肝脏中提取油脂的方

法较多,主要有蒸煮法^[7]、压榨法^[11]、溶剂抽提法^[12-13]、淡碱水解法^[14]以及酶解法^[15-18]等。酶解法具有生产条件温和、得率高、产品质量好的特点,蛋白酶水解原料产生的水解液富含氨基酸等物质可进一步加工利用^[11]。试验拟以酶法提取大黄鱼肝中油脂,优化其提取工艺,并分析大黄鱼肝油的品质特性,旨在为其利用开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大黄鱼肝脏:宁德市金盛水产有限公司;

木瓜蛋白酶(20 万 U/g)、碱性蛋白酶(200 U/mg):上海麦克林生化科技有限公司;

中性蛋白酶(200 U/mg)、胰蛋白酶(250 U/mg):合肥博美生物科技有限责任公司;

胃蛋白酶:3 000~3 500 NFU/mg,上海源叶生物科技有限公司。

1.2 试剂与仪器设备

盐酸:分析纯,广州化学试剂厂;

14%三氟化硼—甲醇溶液:分析纯,上海安谱科学仪器有限公司;

氯仿、甲醇、氢氧化钠、正己烷和氯化钠:分析纯,广州辉俊生物科技有限公司;

韦氏试剂:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

石油醚:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

气相色谱—质谱联用仪:QP2010 型,日本岛津公司;

均质机:IKA-T50 型,德国 IKA 公司;

台式低速离心机:TDZ5-WS 型,湖南湘仪离心机有限公司;

脂肪分析仪:Soxtec TM 2050 型,丹麦 Foss 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料预处理 将大黄鱼肝脏经自然解冻后,使用组织捣碎机破碎,制备肝脏匀浆。

1.3.2 大黄鱼肝脂肪的测定 按 GB 5009.6—2016 执行。

1.3.3 酶解法提取大黄鱼肝油 称取适量经预处理后的大黄鱼肝匀浆于锥形瓶中,依次按不同的料液比及 pH,并向其中加入一定量的酶,混匀。将锥形瓶置于恒温振荡器中,一定温度下进行酶解,105 ℃烘箱灭酶 15 min,趁热离心,分离上层油相,备用。

1.3.4 单因素试验设计

(1) 酶种类:固定料液比 1:2 (g/mL),酶用量 1.5%,酶解时间 3.5 h,分别用胰蛋白酶(50 ℃,pH 7.5)、木瓜蛋白酶(50 ℃,pH 6.5)、中性蛋白酶(50 ℃,pH 7.0)、碱性蛋白酶(50 ℃,pH 8.0)、胃蛋白酶(45 ℃,pH 2.5)进行酶解,考察酶种类对大黄鱼肝油提取率的影响。

(2) 料液比:固定中性蛋白酶添加量 1.5%,酶解时间

3.5 h,酶解温度 50 ℃,pH 7.0,考察料液比[1:1,1:2,1:3,1:4,1:5 (g/mL)]对大黄鱼肝油提取率的影响。

(3) 中性蛋白酶添加量:固定料液比 1:2 (g/mL),酶解时间 3.5 h,酶解温度 50 ℃,pH 7.0,考察中性蛋白酶添加量(0.5%,1.0%,1.5%,2.0%,2.5%)对大黄鱼肝油提取率的影响。

(4) 酶解温度:固定料液比 1:2 (g/mL),中性蛋白酶添加量 1.5%,酶解时间 3.5 h,pH 7.0,考察酶解温度(40,45,50,55,60 ℃)对大黄鱼肝油提取率的影响。

(5) 酶解时间:固定料液比 1:2 (g/mL),中性蛋白酶添加量 1.5%,酶解温度 50 ℃,pH 7.0,考察酶解时间(1.5,2.5,3.5,4.5,5.5 h)对大黄鱼肝油提取率的影响。

(6) pH:固定料液比 1:2 (g/mL),中性蛋白酶添加量 1.5%,酶解时间 4.5 h,酶解温度 50 ℃,考察 pH 值(6.0,6.5,7.0,7.5,8.0)对大黄鱼肝油提取率的影响。

1.3.5 响应面试验设计 在单因素试验基础上根据 SPSS 显著性差异分析($P < 0.05$),以酶添加量、pH、酶解时间、酶解温度为试验因素,以提取率为响应值,设计四因素三水平响应面试验优化大黄鱼肝油提取工艺条件。

1.3.6 理化性质分析

(1) 感官评价:按 SC/T 3502—2016 执行。

(2) 酸价:按 GB 5009.229—2016 执行。

(3) 碘值:按 GB/T 5532—2008 执行。

(4) 水分及挥发物:按 GB 5009.236—2016 执行。

1.3.7 大黄鱼肝油提取率的测定 按式(1)计算大黄鱼肝油提取率^[14]。

$$c = \frac{m_1}{m_2 c_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——大黄鱼肝油提取率,%;

c_1 ——大黄鱼肝脂肪含量,g/100 g;

m_1 ——大黄鱼肝脏质量,g;

m_2 ——大黄鱼肝油质量,g。

1.3.8 脂肪酸成分分析 向大黄鱼肝油中加入 14%三氟化硼—甲醇溶液 2 mL,60 ℃水浴 30 min,冷却,加入 1 mL 正己烷和蒸馏水振荡摇匀。静置分层后,用注射器通过 0.22 μm 有机滤膜过滤获得上清液,上清液经 GC-MS 分析^[19-20]。

(1) 色谱条件:色谱柱为 HP-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm,0.25 μm);进样温度 250 ℃;分流比 1:30,进样体积 1 μL ,流速 1.52 mL/min,载气为高纯氮;加热程序为 110 ℃加热 4 min,10 ℃/min 加热 1 min,然后 4 ℃/min 加热 1 min;升温至 210 ℃持续 3 min,最后以 4 ℃/min 升温至 240 ℃,并持续 8 min。

(2) 质谱条件:离子源温度 200 ℃;电源电压 70 eV;溶剂延迟时间 3 min。

1.4 数据处理

分别使用计算机 NIST 0.5 谱库数据库以及 MS 图库中的标准谱图进行检索与比较,确认大黄鱼肝油中脂肪酸甲酯成分,采用面积归一化法(以峰值面积的百分比表示)测定脂肪酸的百分含量^[21-22]。各试验平行 3 次,结果表示为平均值±标准差。采用 Excel 软件绘图,采用 SPSS 统计分析软件的 ANOVA 和 Duncan 法($\alpha=0.05$)分析鱼油脂肪酸含量, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 酶种类 由图 1 可知,木瓜蛋白酶和中性蛋白酶对大黄鱼肝油的提取效果较好,其中中性蛋白酶鱼油的提取率最大,为 69.02%。综上,选用中性蛋白酶作为大黄鱼肝油的提取用酶。

2.1.2 料液比 由图 2 可知,大黄鱼肝油提取率随料液比的增加先增大后减少,当料液比为 1:2 (g/mL) 时,提取率最大为 72.13%。料液比过低,其酶浓度分布不均,故与底物间的反应不充分,导致提取率降低;而料液比浓度过高,底物的浓度就会减少,这样酶与底物的接触机会减少,提取率也会降低^[23-24]。综上,选择最佳料液比为 1:2 (g/mL)。

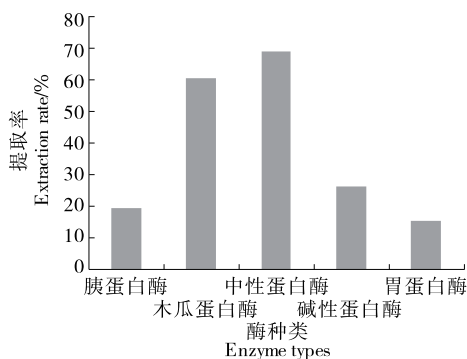


图 1 酶种类对大黄鱼肝油提取率的影响

Figure 1 Effect of enzyme on extraction rate of liver oil of *Pseudosciaena crocea*

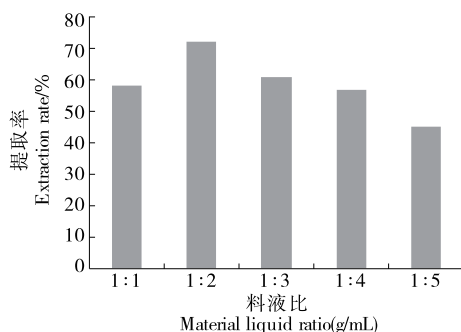


图 2 料液比对大黄鱼肝油提取率的影响

Figure 2 Effect of material liquid ratio on extraction rate of liver oil of *Pseudosciaena crocea*

2.1.3 酶添加量 由图 3 可知,大黄鱼肝油提取率随酶添加量的增加先升高后趋于平稳,当酶添加量为 1.5% 时,提取率最高为 72.13%。刘超等^[23-24]研究发现鳕鱼肝油提取率随酶用量的增加而降低,可能与酶种类有关,酶用量过大,其水解能力加强,原料中的油脂被降解,提取率下降。故最适酶添加量为 1.5%。

2.1.4 酶解温度 由图 4 可知,大黄鱼肝油提取率随酶解温度的增加先升高后降低,当酶解温度为 50 °C 时,提取率最大为 72.13%,这是由于 50 °C 是中性蛋白酶的最佳酶解温度,故此温度下大黄鱼肝油的提取效果最好。酶解温度过高或过低会使酶变性或失活,酶反应速率下降,鱼油提取率较低。故选择最适酶解温度为 50 °C。

2.1.5 酶解时间 由图 5 可知,大黄鱼肝油提取率随酶解时间的增长先不断提高后趋于稳定。当酶解时间为 4.5 h 时,提取率达最大,为 71.49%。由于大黄鱼肝油经过长时间的酶解会导致鱼油被空气氧化,使大黄鱼肝油品质下降,故选择最适酶解时间为 4.5 h。

2.1.6 pH 由图 6 可知,大黄鱼肝油提取率随 pH 的升高先缓慢上升后迅速下降,当 pH 为 7.0 时,提取率最高,为 71.36%。故选择最适酶解 pH 为 7.0。

2.2 响应面优化设计

2.2.1 试验设计与结果分析 根据单因素试验结果,以

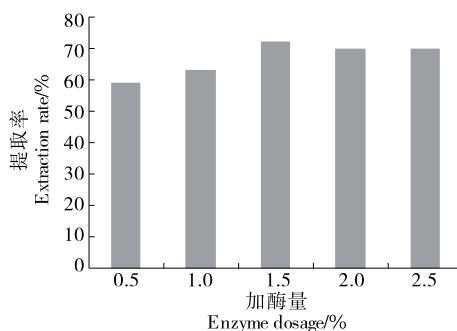


图 3 酶添加量对大黄鱼肝油提取率的影响

Figure 3 Effect of enzyme amount on the extraction rate of liver oil of *Pseudosciaena crocea*

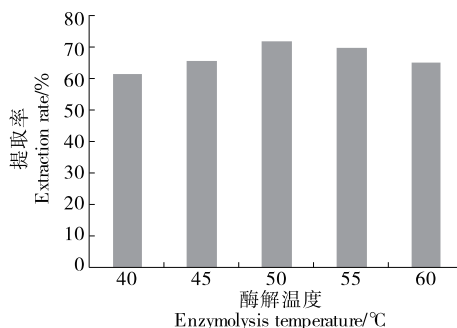


图 4 酶解温度对大黄鱼肝油提取率的影响

Figure 4 Effect of enzymolysis temperature on extraction rate of liver oil from *Pseudosciaena crocea*

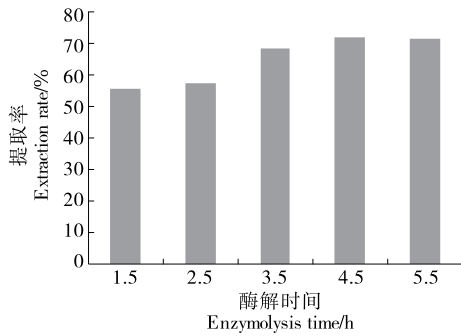


图 5 酶解时间对大黄鱼肝油提取率的影响
Figure 5 Effect of enzymolysis time on extraction rate of liver oil of *Pseudosciaena crocea*

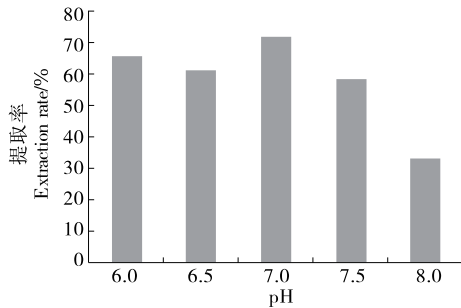


图 6 pH 对大黄鱼肝油提取率的影响
Figure 6 Effect of enzymatic pH on extraction rate of liver oil from *Pseudosciaena crocea*

大黄鱼肝油提取率为响应值,根据 Box-Behnken 中心组合原理进行响应面设计,试验因素水平表见表 1,试验设计与结果见表 2。

利用 Design-Expert 11.1.0.1 软件对响应面试验结果进行多元回归拟合,得到以大黄鱼肝油提取率(Y)为响应值的二次多项式回归方程:

$$Y=69.79+1.84A+1.94B-1.54C+0.674\ 2D+3.93AB-0.207\ 5AC-1.35AD+3.29BC-2.02BD-3.19CD+1.94A^2+0.925\ 0B^2+1.81C^2-7.81D^2。 \quad (2)$$

为检验回归方程中各因素对大黄鱼肝油提取率的影响程度及有效性,对式(2)中的回归方程进行方差分析,结果见表 3。由表 3 可知,回归模型 $P<0.000\ 1$ 表示该模型线性关系极显著,失拟项 $P=0.089\ 4>0.05$,不显著,说明该模型拟合性好;相关系数 $R^2=0.954\ 8$,校正决定系

表 1 试验因素水平表

Table 1 Response surface analysis factors and horizontal design				
水平	A 酶添加量/%	B pH	C 酶解温度/℃	D 酶解时间/h
-1	1.5	6.5	45	4.0
0	2.0	7.0	50	4.5
1	2.5	7.5	55	5.0

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Experimental design and results of response surface					
序号	A	B	C	D	提取率/%
1	0	1	0	1	63.64
2	0	-1	1	0	65.49
3	1	0	0	1	66.33
4	1	1	0	0	78.31
5	1	0	1	0	74.11
6	0	0	0	0	69.33
7	-1	0	0	-1	59.66
8	1	0	-1	0	78.40
9	0	-1	0	1	65.98
10	0	0	-1	1	67.49
11	0	0	1	1	58.82
12	0	0	1	-1	64.21
13	0	0	-1	-1	60.12
14	0	1	-1	0	73.82
15	-1	0	1	0	70.52
16	0	0	0	0	70.47
17	-1	0	0	1	63.02
18	0	0	0	0	69.56
19	-1	-1	0	0	72.59
20	-1	0	-1	0	73.98
21	0	1	0	-1	65.28
22	0	-1	0	-1	59.56
23	0	-1	-1	0	75.16
24	0	1	1	0	77.32
25	1	0	0	-1	68.36
26	-1	1	0	0	69.41
27	1	-1	0	0	65.77

数 $R^2_{adj}=0.902\ 0$,说明该模型可靠,可用于优化酶法提取大黄鱼肝油提取工艺。各因素对大黄鱼肝油提取率的影响程度为酶解时间>酶添加量>pH>酶解温度。

2.2.2 试验因素间的交互作用 由图 7 可知,交互项 AB、BC 以及 CD 对大黄鱼肝油提取率存在显著影响($P<0.05$),交互项 AC 与 AD 对大黄鱼肝油提取率的影响不显著,与方差分析结果一致。

2.2.3 验证实验 经响应面分析得最佳酶解工艺条件为中性蛋白酶添加量 2.49%、pH 7.32、酶解时间 4.01 h、酶解温度 50.25 ℃,此条件下大黄鱼肝油提取率为 79.05%。为检验响应面结果的可靠性,实际选取最优工艺参数为中性蛋白酶添加量 2.5%、pH 7.3、酶解时间 4.0 h、酶解温

表 3 方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance of regression equation

来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值	显著性
模型	827.09	14	59.08	18.09	<0.000 1	
A	40.70	1	40.70	12.47	0.004 1	
B	44.97	1	44.97	13.77	0.003 0	
C	28.52	1	28.52	8.74	0.012 0	
D	5.45	1	5.45	1.67	0.220 5	
AB	61.78	1	61.78	18.92	0.000 9	
AC	0.17	1	0.17	0.05	0.822 2	
AD	7.26	1	7.26	2.22	0.161 6	
BC	43.36	1	43.36	13.28	0.003 4	
BD	16.24	1	16.24	4.97	0.045 6	
CD	40.70	1	40.70	12.47	0.004 1	
A ²	20.10	1	20.10	6.16	0.028 9	
B ²	4.56	1	4.56	1.40	0.260 0	
C ²	17.55	1	17.55	5.37	0.038 9	
D ²	325.10	1	325.10	99.58	<0.000 1	
残差	39.18	12	3.26			
失拟差	38.45	10	3.85	10.58	0.089 4	
纯误差	0.73	2	0.36			
总误差	866.27	26				

[†] **表示 P<0.01,*表示 P<0.05; $R^2=0.954\ 8$, $R^2_{Adj}=0.902\ 0$ 。

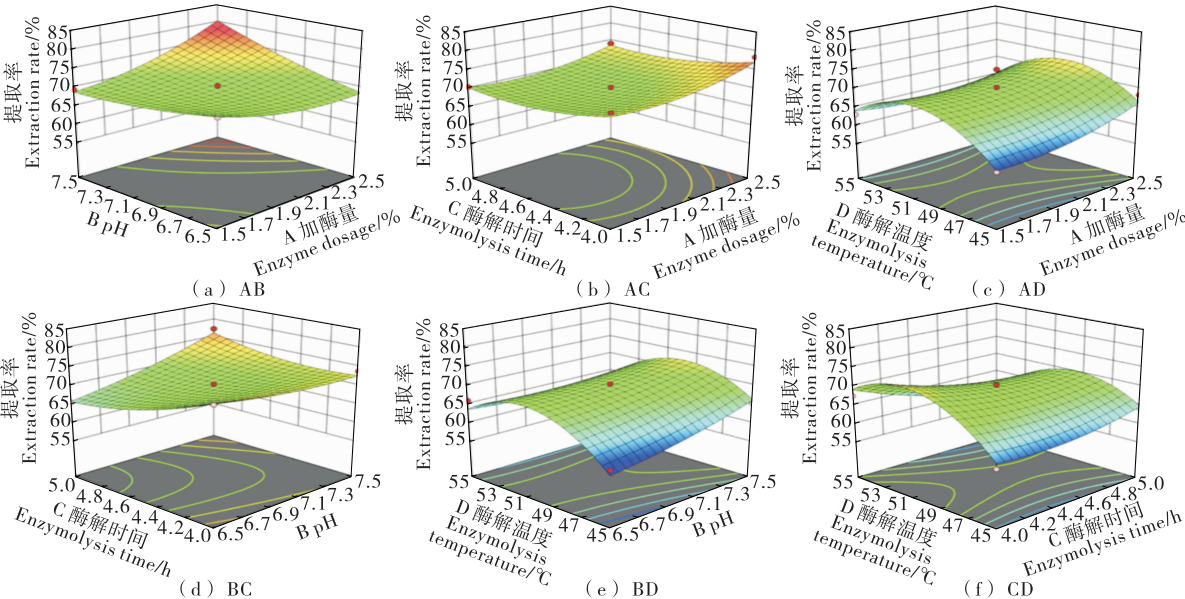


图 7 各因素间的交互作用

Figure 7 Response surface of interaction of enzyme dosage, temperature, time and pH on extraction rate of rhubarb cod liver oil

度 50.3 ℃, 进行验证实验 ($n=3$), 得实测提取率为 78.39%, 与预测值相差 0.66%, 证明用所建模型预测大黄鱼肝油提取率是准确可行的。

2.3 大黄鱼肝油的品质分析

由表 4 可知, 酶法提取的大黄鱼肝油提取率为

(78.39±1.91)%, 比淡碱法提高了 1.8 倍。酶法提取的大黄鱼肝油呈黄色、较澄清, 气味具有鱼肝油的腥味, 而淡碱法提取的大黄鱼肝油呈深黄色、且有少量浑浊, 气味具有鱼肝油的腥味, 稍有鱼肝油的酸败味, 这是因为淡碱法在水解过程中温度过高, 部分不饱和脂肪酸氧化^[24], 最终

表 4 酶法与淡碱法提取的大黄鱼肝油品质比较[†]

Table 4 Analysis of physicochemical properties of liver oil of *Pseudosciaena crocea* by dilute hydrolysis and enzymatic hydrolysis

方法	颜色	气味	提取率/%	酸价/(mg·g ⁻¹)	水分及挥发物/%	碘价/(10 ⁻² mg·g ⁻¹)
淡碱法	深黄色、少量浑浊	具有鱼肝油的腥味	43.27±0.13 **	7.01±0.02 **	0.50±0.01	134.99±0.05 **
酶解法	黄色、较澄清	具有鱼肝油的腥味	78.39±1.91	5.83±0.15	0.45±0.23	142.65±0.22

† **表示差异极显著(P<0.01)。

导致大黄鱼肝油品质下降。酶法提取的大黄鱼肝油酸价低于淡碱法的,碘价虽略高于淡碱法的但仍符合 SC/T 3502—2016。

2.4 大黄鱼肝油的脂肪酸组成

由表 5 可知,酶解法与淡碱法提取的大黄鱼肝油中脂肪酸组成差异极显著(P<0.01),酶解法鱼油中共检出 13 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸 5 种,单不饱和脂肪酸 3 种,多不饱和脂肪酸 5 种。淡碱法鱼油中共检出 8 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸 3 种,单不饱和脂肪酸 2 种,多不饱和脂肪酸 3 种。淡碱法中总饱和脂肪酸含量为 30.35 g/100 g,高于酶解法的(19.71 g/100 g);酶解法鱼油中单不饱和脂肪酸含量为 62.63 g/100 g,淡碱法的为

表 5 大黄鱼肝油的脂肪酸组成[†]

Table 5 Composition comparison of fatty acids in liver oil of *Pseudosciaena crocea* by light alkali hydrolysis and enzymatic hydrolysis g/100 g

脂肪酸	酶法鱼油	淡碱法鱼油
C _{14:0}	1.19±0.09	1.64±0.11
C _{15:0}	0.23±0.03	—
C _{16:0}	15.45±0.29	24.37±0.98 **
C _{16:1}	27.92±0.98	16.59±0.60 **
C _{17:0}	0.16±0.01	—
C _{17:1}	0.30±0.09	—
C _{18:0}	2.71±0.17	4.34±0.20 *
C _{18:1}	34.41±0.67	35.38±0.97
C _{18:2(n-6)}	12.64±0.26	14.71±0.61 *
C _{20:3}	0.36±0.03	—
C _{20:4(n-6)}	0.54±0.05	—
EPA	1.65±0.27	0.11±0.01 *
DHA	2.43±0.64	2.86±0.33
SFA	19.71	30.35 **
MUFA	62.63	51.97 **
PUFA	17.62	17.68 **

† EPA 为二十碳五烯酸,DHA 为二十二碳六烯酸,SFA 为饱和脂肪酸,MUFA 为单不饱和脂肪酸,PUFA 为多不饱和脂肪酸;* 表示差异显著(P<0.05),** 表示差异极显著(P<0.01)。

51.97 g/100 g,二者具有极显著性差异(P<0.01);两种制备方法的多不饱和脂肪酸总量相差相对较小。

2.4.1 饱和脂肪酸 两种方法制备的大黄鱼肝油中,C_{18:0}(硬脂酸)与 C_{16:0}(棕榈酸)含量有较大差异,淡碱法鱼油的硬脂酸和棕榈酸分别为酶法的 1.6 倍。研究^[25-26]表明,硬脂酸可以降低胆固醇吸收,从而降低血清和肝脏中的胆固醇水平,对人体起一定保护作用。棕榈酸可以降低血清中胆固醇含量,是心脏运动期间合成的首选脂肪酸^[27]。淡碱法鱼油的饱和脂肪酸含量虽略高于酶解法的,但其饱和脂肪酸种类少于酶法的,其中 C_{14:0}(肉蔻酸)与 C_{17:0}(珍珠酸)在淡碱法中未检出。

2.4.2 单不饱和脂肪酸 酶法鱼油的单不饱和脂肪酸含量更为丰富,高于鳙鱼肝油的^[28]。其中 C_{17:1}在淡碱法与鳙鱼肝油中未检出。酶法鱼油的 C_{16:1}(棕榈油酸)含量较多,为淡碱法的 1.7 倍,其 C_{18:1}(油酸)含量也相对较多,说明酶法提取对鱼肝中单不饱和脂肪酸的破坏较小,而油酸和棕榈油酸的结合对缓解血栓形成、降低心律失常和中风风险、降低低密度脂蛋白(LDL)胆固醇水平和提高高密度脂蛋白(HDL)浓度具有积极作用,这些作用有助于降低血压和增加动脉血管舒张^[29-30]。

2.4.3 多不饱和脂肪酸 酶法鱼油中多不饱和脂肪酸种类高于淡碱法的,其含量高于鳙鱼肝油中的^[28]。酶法鱼油中含有少量 C_{20:3}(花生三烯酸)和 C_{20:4(n-6)}(花生四烯酸),而淡碱法中未检出。C_{18:2(n-6)}(亚油酸)为含量最高的多不饱和脂肪酸,酶法、淡碱法鱼油中亚油酸含量分别为(12.64±0.26),(14.71±0.61) g/100 g。亚油酸是一种必需脂肪酸,为磷脂的重要组成部分;又是合成前列腺素的前体,有利于皮肤修复,对促进生长发育、视力和肝肾功能发挥重要作用。临床和流行病学研究^[31]表明,EPA 和 DHA 仅存在于鱼类和海产品中,并且在预防人类冠状动脉疾病中起着极其重要的作用。

3 结论

试验表明,大黄鱼肝油的最佳酶解工艺为中性蛋白酶添加量 2.5%、料液比 1:2 (g/mL)、pH 7.3、酶解时间 4.0 h、酶解温度 50.3 ℃,此工艺条件下提取率达 78.39%,比一般的淡碱法提高了 1.8 倍,且鱼肝油澄清,酸价仅为(5.83±0.15) mg/g,碘价为(142.65±0.22) mg/100 g,其脂肪酸组成更为丰富,共检出 13 种脂肪酸,其中饱和脂肪

酸5种,单不饱和脂肪酸3种,多不饱和脂肪酸5种。而淡碱法鱼肝油中仅检测到8种脂肪酸,且以饱和脂肪酸为主,因此,酶解法的大黄鱼肝油提取率及脂肪酸组成均优于传统淡碱法。后续可进一步制备大黄鱼肝活性肽。

参考文献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴: 2019[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 172.
- [2] 吴燕燕, 陶文斌, 李来好, 等. 宁德地区养殖大黄鱼形态组织结构与品质特性[J]. 水产学报, 2019, 43(6): 1 472-1 482.
- [3] 唐小红. 鲨鱼肝油中角鲨烯和烷氧基甘油分析方法的建立及应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 1-2.
- [4] 黄卉, 李来好, 杨贤庆, 等. 喷雾干燥微胶囊化罗非鱼油的研究[J]. 南方水产, 2009, 5(5): 19-23.
- [5] JEROMSON S, GALLAGHER I J, GALLOWAY S D R, et al. Omega-3 fatty acids and skeletal muscle health[J]. Marine drugs, 2015, 13(11): 6 977-7 004.
- [6] 曾学熙, 刘书成, 欧广勇, 等. 从鱼糜下脚料中提取鱼油的研究[J]. 南方水产, 2007(2): 60-65.
- [7] 刘汝萃, 王彩华, 肖品, 等. 鱼油的提取、富集与应用研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2017, 24(5): 5-8.
- [8] SCHMIDT N, MØLLER G, BÆKSGAARD L, et al. Fish oil supplementation in cancer patients: Capsules or nutritional drink supplements? A controlled study of compliance[J]. Clinical Nutrition ESPEN, 2020, 35: 63-68.
- [9] WOOTEN J S, NICK T N, SEIJA A, et al. High-fructose intake impairs the hepatic hypolipidemic effects of a high-fat fish-oil diet in C57BL/6 mice[J]. Journal of Clinical and Experimental Hepatology, 2016, 6(4): 265-274.
- [10] GOMAA A M S, ABD EL-AZIZ E A. Omega-3 fatty acids decreases oxidative stress, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1 beta in hyperthyroidism-induced hepatic dysfunction rat model[J]. Pathophysiology, 2016, 23(4): 295-301.
- [11] 钟佳泽, 师艺冰, 岑万, 等. 酶解法制备鳗鱼内脏鱼油及品质分析[J]. 福建轻纺, 2019(8): 20-25.
- [12] YEBRA-PIMENTEL I, MARTÍNEZ-CARBALLO E, REGUEIRO J, et al. The potential of solvent-minimized extraction methods in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish oils[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1/2/3/4): 1 036-1 043.
- [13] ENCINA C, MÁRQUEZ-RUIZ G, HOLGADO F, et al. Effect of spray-drying with organic solvents on the encapsulation, release and stability of fish oil[J]. Food Chemistry, 2018, 263: 283-291.
- [14] 臧丽芹, 郑羽丽, 陈小娥, 等. 提取方法对鳕鱼肝油油脂提取率及理化特性影响[J]. 粮油食品科技, 2012, 20(6): 38-40, 56.
- [15] 骆婷. 鲑鱼腹部鱼油的提取工艺研究及品质分析[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 4.
- [16] HAO Shu-xian, WEI Ya, LI Lai-hao, et al. The effects of different extraction methods on composition and storage stability of sturgeon oil[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 274-282.
- [17] 刘晓丽, 魏长庆, 詹晓北, 等. 超声辅助制备草鱼油微胶囊及其贮藏稳定性和降血脂作用研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 163-168.
- [18] 车馨子, 段续, 王月月, 等. 喷雾冷冻干燥制备鱼油微胶囊[J]. 食品与机械, 2019, 35(7): 193-198, 209.
- [19] 王霞, 林婉玲, 李来好, 等. 气相色谱-质谱法分析六种鲈形目海水鱼脂肪含量和脂肪酸组成[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 250-255.
- [20] 韩迎雪, 林婉玲, 杨少玲, 等. 15种淡水鱼肌肉脂肪含量及脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(20): 217-222.
- [21] BERRY S. Lipid analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids[J]. Nutrition Bulletin, 2004, 29(1): 72-73.
- [22] GÜNEY M, OZ A T, KAFKAS E. Comparison of lipids, fatty acids and volatile compounds of various kumquat species using HS/GC/MS/FID techniques[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(6): 1 268-1 273.
- [23] 刘超, 苗钧魁, 刘小芳, 等. 酶解法提取鳕鱼肝油的生产工艺研究[J]. 粮油食品科技, 2015, 23(3): 95-100.
- [24] 刘超. 鳕鱼肝油的提取工艺优化及品质评价[D]. 青岛: 青岛大学, 2015: 3.
- [25] 张惠君, 王兴国, 金青哲. 3种海洋鱼油脂肪酸组成及其位置分布[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 59-63.
- [26] YLI-JAMA P, MEYER H E, RINGSTAD J, et al. Serum free fatty acid pattern and risk of myocardial infarction: A case-control study[J]. Journal of Internal Medicine, 2002, 251(1): 19-28.
- [27] SUNDRAM K, HAYES K C, SIRU O H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1994, 59(4): 841-846.
- [28] 刘金海, 黄世玉, 黄玉英, 等. 鳗鱼肝脏和骨中脂肪酸测定及比较[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 223-226.
- [29] GRIEL A E, CAO Y, BAGSHAW D D, et al. A macadamia nut-rich diet reduces total and LDL-cholesterol in mildly hypercholesterolemic men and women[J]. The Journal of Nutrition, 2008, 138(4): 761-767.
- [30] HIRAOKA-YAMAMOTO J, IKEDA K, NEGISHI H, et al. Serum lipid effects of a monounsaturated (palmitoleic) fatty acid - rich diet based on macadamia nuts in healthy, young Japanese women[J]. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2004, 31(S2): S37-S38.
- [31] SAHENA F, ZAIDUL I S M, JINAP S, et al. PUFAs in fish: Extraction, fractionation, importance in health[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2009, 8(2): 59-74.