

鱼糜加工废水中蛋白质回收工艺的优化

李流川, 娄永江*, 杨文鸽

(宁波大学 海洋学院/应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 针对目前鱼糜加工企业排放废水中含有的大量蛋白质, 通过选取一种絮凝剂, 以其添加量、絮凝温度、絮凝时间、絮凝 pH 值进行单因素实验, 然后用 Design-Expert 软件的 Box-Behnken 中心组合设计进行四因素三水平响应面实验。结果表明: 三氯化铁添加量 0.13 g/L, 絮凝温度 18.44 °C, 时间 5 h, pH 5.44, 此时蛋白质回收率最高, 达 86.94%。该法具有蛋白质回收率高, 回收蛋白质安全卫生, 操作简便, 成本低等特点。

关键词: 鱼糜废水, 蛋白质回收, 絮凝, 响应面实验

中图分类号: TS 254.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)07—0743—06

Study on Protein Recovery Process Optimization of Surimi Processing Wastewater

LI Liu-chuan, LOU Yong-jiang*, YANG Wen-ge

(Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ministry of Education / School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: As to a large number of proteins from discharge wastewater of Surimi processing enterprises, A single factor experiment about the dosage, temperature, time, pH can be operated by selecting a flocculant. Then Design-Expert software is a experimental containing four factors and three levels. The result shows that: the optimal recovery process is adding the amount of ferric chloride 0.13 g/L, the flocculation temperature is 18.44 °C, the time is 5 h, the pH is 5.44. At this point, recovery rate achieves to 89.94%. The method has the features with a high protein recoveries, the safety and health of the recovery protein, easy operation, low cost, etc.

Keywords: surimi wastewater, protein recovery, flocculation, response surface experiment

鱼糜是一种新型的水产调理食品原料。它调理简便, 细嫩味美, 又耐储藏, 颇适合大众消费。鱼糜漂洗加工过程中流失的蛋白质约占全部鱼肉蛋白

质的 30%~40%^[1-3]。将漂洗水中流失的蛋白质进行回收和重新利用, 不仅能增加企业的效益, 而且可以显著降低废水中化学耗氧量(COD), 大大减少废

收稿日期: 2012-12-17

基金项目: 国家海洋局公益性项目(201305013)。

* 通信作者: 娄永江(1965—), 男, 浙江宁波人, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事水产品保鲜与加工研究。

E-mail: louyongjiang@abu.edu.cn

水处理的成本^[3-6]。

目前国内外回收蛋白质的方法有 pH 调节法、加热法、膜分离法、离子交换法和凝聚法等^[7]。但普遍存在回收停留在实验室理论阶段,未实现工业化投产;蛋白回收率不高,最高为 80%;操作复杂,工序较多;前期资金投入大,成本较高等问题^[8-10]。作者旨在找出一种经济实惠,安全可靠,回收率高,原料来源广泛,价格便宜的絮凝剂。如果絮凝剂的种类和投加量选择合适,回收的蛋白质可用作动物饲料优质蛋白直接利用,同时降低废水的 COD,降低废水处理成本,实现经济、环保、社会三赢。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

鱼糜加工废水:宁波象山某鱼糜加工企业提供;硫酸铁铵、硫酸铝、硫酸铁、氯化铝、氯化铁、明矾、阳离子聚丙烯酰胺、聚合硫酸铁、聚合硅酸铁:均为分析纯试剂;考马斯亮蓝 G-250、牛血清标准蛋白、壳聚糖、海藻酸钠:均为生化试剂。

HH-6 数显恒温水浴锅:常州中捷实验仪器制造有限公司产品;RO DI digital plus 实验室超纯水机:上海和泰仪器有限公司产品;SH220 石墨消解仪:济南海能仪器有限公司产品;UV2102-C 紫外可见分光光度计:尤尼柯(上海)仪器有限公司产品;HSF-3F pH 计:上海精密科学仪器有限公司产品。

1.2 方法

蛋白质测定:考马斯亮蓝法^[11-12],牛血清蛋白标准曲线法^[13]。

回收率:通过牛血清蛋白标准曲线法测出废水蛋白质质量浓度,然后按下式计算。

$$W/\% = \frac{M_2}{M} = \frac{(M-M_1)}{M} \times 100$$

式中:W 为蛋白回收率,%;M 为鱼糜废水原液蛋白质质量浓度,g/L;M₁ 为絮凝后上清液蛋白质质量浓度,g/L;M₂ 为絮凝后蛋白质质量浓度,g/L。

1.2.1 单因素絮凝法 等电点沉淀法^[14]:用 HCL、NaOH 溶液调节鱼糜废水的 pH 值,使 pH 控制在(3、3.5、4~7、7.5、8)。

絮凝剂及其质量浓度对回收效果影响:将壳聚糖、海藻酸钠、阳离子聚丙烯酰胺、聚合硫酸铁、微生物絮凝剂、硫酸铁铵、硫酸铝、硫酸铁、氯化铝、氯化铁、明矾,分别按质量浓度(0、0.05、0.1~0.3、0.35、

0.4 g/L)加入到鱼糜废水中。

絮凝时间、温度回收效果影响:在上述实验的基础上,对选定的絮凝剂控制作用温度(5、10、15、20、25、30 ℃),沉降时间(0、1、~7、8 h)进行单因素试验。

1.2.2 响应面优化实验 在单因素实验的基础上,采用 Design-expert 软件的 Box-Behnken 中心组合设计^[15-16],以回收率作为实验指标,进行絮凝剂添加量、絮凝时间、絮凝温度、絮凝 pH 的四因素三水平响应面实验。

2 结果与分析

2.1 等电点絮凝法

在等电点时,蛋白质分子以两性离子形式存在,其分子净电荷为零(即正负电荷相等),此时蛋白质分子颗粒在溶液中因没有相同电荷的相互排斥,分子相互之间的作用力减弱,其颗粒极易碰撞、凝聚而产生沉淀,所以蛋白质在等电点时,其溶解度最小,最易形成沉淀物^[10]。用 HCL、NaOH 溶液调节鱼糜废水溶液 pH 分别为:3、3.5~7.5、8,通过牛血清标准蛋白曲线法,测得蛋白质回收率,结果见图 1。

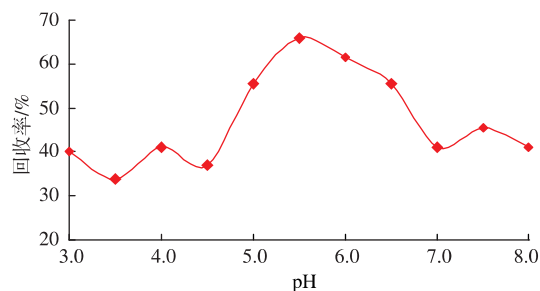


图 1 pH 对鱼糜废水中蛋白质回收率的影响

Fig. 1 Effects on surimi wastewater protein recycling of pH

从图 1 可见,鱼糜废水中蛋白质的回收率随 pH 的增加先增大,后减小最后趋于平缓。当 pH=5.5 时陡然达到最大,此时回收率为 65.8%。据此,确定鱼糜废水中蛋白质的等电点为 5.5。

2.2 絮凝剂的选择

以阳离子聚丙烯酰胺、聚合硫酸铁、聚合硅酸铁、海藻酸钠、壳聚糖、硫酸铁铵、硫酸铝、硫酸铁、氯化铝、氯化铁、明矾共 11 种絮凝剂,对鱼糜废水蛋白进行回收实验,结果见图 2。

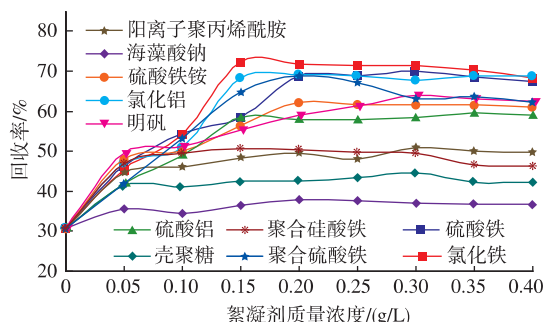


图2 絮凝剂种类对鱼糜废水蛋白回收的效果图影响

Fig. 2 Effect on surimi wastewater protein recycling of flocculant species

从图2可见,上述絮凝剂都具有随添加量的逐渐增大,蛋白回收率先急速增大最后逐渐趋于平缓的特点。当氯化铁添加量为0.15 g/L时,鱼糜废水蛋白回收率最大为72.25%。鉴于三氯化铁价格较为便宜,来源方便,安全可靠,综合分析,确定选用三氯化铁作为鱼糜废水蛋白回收的絮凝剂。

2.3 絮凝时间、温度对实验的影响

2.3.1 作用时间对絮凝效果的影响 以三氯化铁作为絮凝剂,选用上图3中回收率最大添加量即为:0.15 g/L,室温(20℃)。控制絮凝时间为(0、1~7、8 h)进行实验,结果见图3。

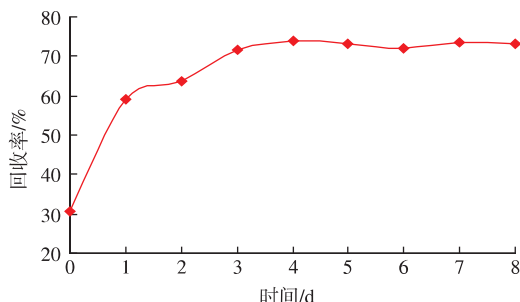


图3 絮凝时间对鱼糜废水中蛋白质回收率影响

Fig. 3 Effect on surimi wastewater protein recycling of flocculant time

从图3可见,随絮凝时间的延长,回收率先快速增大后趋于平缓。当絮凝4 h时,回收率最大达到73.74%。则,絮凝时间为4 h。

2.3.2 絮凝温度对絮凝效果的影响 控制三氯化铁的浓度为0.15 g/L,絮凝时间为4 h,以5、10、15、20、25、30℃的温度条件下进行蛋白质回收实验,结果见图4。

从图4可见,随絮凝温度的增大,回收率先缓慢增大再平稳下降。当絮凝温度为15℃时,回收率达最大为74.13%。

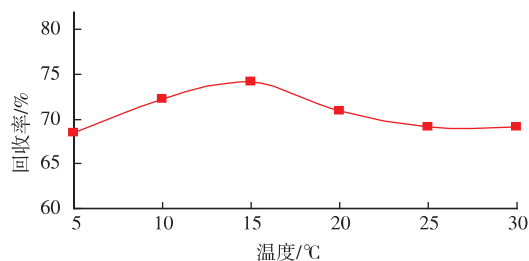


图4 絮凝温度对鱼糜废水回收的影响

Fig. 4 Effect on surimi wastewater protein recycling of flocculant temperature

2.4 响应面实验结果

2.4.1 响应面实验设计与结果分析 在以上絮凝剂添加量、絮凝时间、絮凝温度、絮凝pH单因素实验的基础上,选择合适的因素水平见表1,采用Design-expert软件的Box-Behnken中心组设计,设计四因素三水平实验,以回收率作为实验指标,Box-Behnken试验设计及结果见表2。

表1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and Levels of response surface experimental

水平	絮凝剂添加量/(g/L)	时间/h	温度/℃	pH
-1	1	4	15	4
0	1.5	5	20	5
1	2.0	6	25	6

表2 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 2 Box-Behnken design and results

处理	因素编码				回收率/%
	质量浓度 A/(g/L)	温度 B/℃	时间 C/h	pH D	
1	0	0	0	0	85.67
2	-1	0	1	0	86.42
3	0	0	0	0	85.56
4	1	0	1	0	77.54
5	1	-1	0	0	78.34
6	1	0	-1	0	78.56
7	1	0	0	-1	78.23
8	0	0	0	0	85.41
9	0	1	1	0	83.52
10	0	0	1	-1	84.57
11	0	1	0	1	79.12
12	0	0	-1	1	81.12
13	0	-1	0	-1	82.18
14	-1	0	0	-1	83.56
15	0	1	-1	0	85.13

续表 2

处理	因素编码				回收率/ %
	质量浓度 A/(g/L)	温度 B/°C	时间 C/h	pH D	
16	-1	-1	0	0	81.04
17	0	-1	1	0	88.76
18	0	0	-1	-1	85.25
19	1	1	0	0	77.53
20	-1	1	0	0	82.63
21	0	0	0	0	85.52
22	0	1	0	-1	83.02
23	0	0	1	1	82.23
24	0	-1	-1	0	82.27
25	0	0	0	0	85.59
26	0	-1	0	1	82.12
27	1	0	0	1	76.49
28	-1	0	0	1	81.27
29	-1	0	-1	0	82.82

利用 Design-Expert 软件对表 2 试验数据进行回归,得到鱼糜加工废水蛋白回收率对以上 4 因素的二次多项回归模型为:蛋白质回收率=522.65A+6.377B+4.829 17C+91.71D-2.4AB-23.1AC+5.5AD-0.265BC-0.384BD+0.895CD-1 570.5A²-0.064 9B²-0.056 25C²-8.34D²-274.335 83

对模型进行回归方差分析,结果见表 3;对回归模型系数显著性检验,结果见表 4^[16]。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
回归模型	240.45	14	17.18	29.77	<0.000 1
残差	8.08	14	0.58		
失拟	8.04	10	0.8	87.87	0.000 3
纯误差	0.037	4	0.009 15		
总和	248.53	28			
R ² =0.967 5					

由表 3 可知,此模型的 F 值 29.77, P<0.000 1, 回归模型高度显著。表 4 结果表明:模型的一次项 A、D 极显著, B、C 不显著;二次项 A²、B²、D² 极显著, C² 不显著;交互项 AC、BC、BD 显著。

失拟项 P=0.000 3, 显著, 相关系数 R²=0.967 5, 说明模型拟合程度良好, 该模型可以较好的分析和预测絮凝剂对鱼糜废水蛋白质回收效果。

表 4 回归模型系数显著性检验

Table 4 Significance test of the regression model coefficients

系数项	回归系数	自由度	标准差	95%置信		P 值
				下限	上限	
常数	85.55	1.00	0.34	84.82	86.28	
A	-2.59	1.00	0.22	-3.06	-2.12	< 0.000 1
B	-0.08	1.00	0.22	-0.55	0.39	0.72
C	0.42	1.00	0.22	-0.05	0.89	0.073 5
D	-1.21	1.00	0.22	-1.68	-0.73	< 0.000 1
AB	-0.60	1.00	0.38	-1.41	0.21	0.136 4
AC	-1.16	1.00	0.38	-1.97	-0.34	0.008 8
AD	0.14	1.00	0.38	-0.68	0.95	0.722 7
BC	-1.33	1.00	0.38	-2.14	-0.51	0.003 6
BD	-0.96	1.00	0.38	-1.77	-0.15	0.024 1
CD	0.45	1.00	0.38	-0.37	1.26	0.258 3
A ²	-3.93	1.00	0.30	-4.57	-3.29	< 0.000 1
B ²	-1.62	1.00	0.30	-2.26	-0.98	< 0.000 1
C ²	-0.06	1.00	0.30	-0.70	0.58	0.853 1
D ²	-2.09	1.00	0.30	-2.72	-1.45	< 0.000 1

2.4.2 因素间交互作用 为了进一步研究相关变量之间的交互作用,通过 Design-expert 绘制响应曲面图和等高线图来进行直观分析,结果见图 5 和图 6。等高线图可以直观的反映两变量交互作用的显著程度,圆形表示两因素交互作用不显著,而椭圆形与之相反。

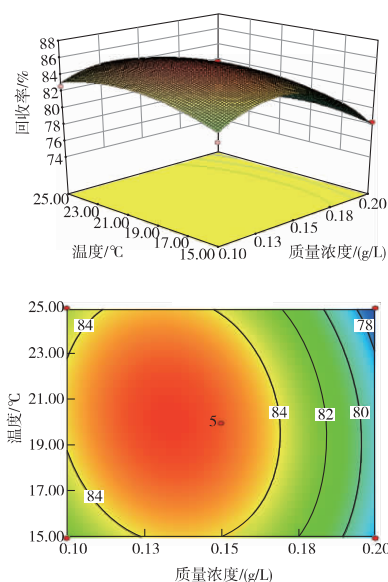


图 5 絮凝剂质量浓度和温度对回收率的影响

Fig. 5 Effects on recovering of Flocculant concentration and temperature

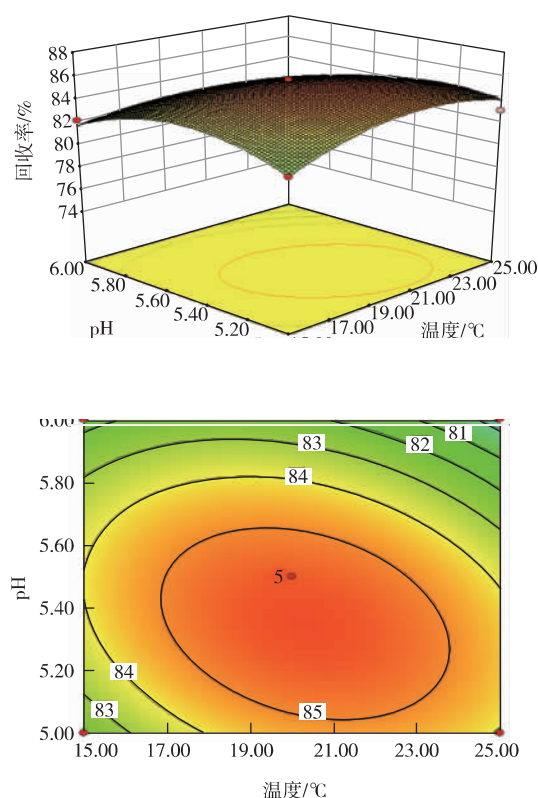


图6 絮凝温度和pH值对回收率的影响

Fig. 6 Effects of the the flocculation temperature and pH on recovery

从图5和图6可以明显看出絮凝剂添加量和絮凝温度,絮凝温度和絮凝pH值之间存在明显的交互作用,表现为等高线呈椭圆形。缘于其他各因素的交互作用不明显,这里不再讨论。

由该软件分析得出最优配方及评定结果为:三氯化铁添加量为0.13 g/L、絮凝温度为18.44 °C、时间5 h、pH为5.44,此时回收率最大为87.04%。

按照响应面最佳条件,对鱼糜废水蛋白质进行3次平行回收验证实验。结果表明验证实验的平均值为86.94%,而预测最大值为87.04%,两者吻合得较好。

3 结语

1)最优实验条件絮凝法,较之单一的等电点回收和自然条件絮凝剂沉降回收,鱼糜废水蛋白回收率具有很大的提高。

2)通过响应面实验得出:采用三氯化铁添加量0.13 g/L、絮凝温度18.44 °C、时间5 h、pH 5.44对鱼糜废水中蛋白质进行回收,回收率可达86.94%,较之目前最大的回收率80%有了很大的提高。三氯化铁来源广泛,价格便宜,回收操作简单,是一种高效实用的蛋白质回收方法。

参考文献:

- [1] 汪之和,陶妍,刘振华. 白鲢漂洗鱼糜和未漂洗碎鱼肉营养成分的分析比较[J]. 淡水渔业,1999,29(8):16-19.
WANG Zhi-he,TAO Yan,LIU Zhen-hua. Analysis and comparison of nutrient composition between washed surimi and unwashed fish meat in Silver carp[J]. *Freshwater Fisheries*, 1999,29(8):16-19.(in Chinese)
- [2] 朱靖. 鱼糜加工废水治理工程实例分析[J]. 环境污染与防治,2009,31(2):105-107.
ZHU Jing. Case analysis of the surimi production wastewater treatment[J]. *Environmental pollution and control*, 2009,31(2): 105-107.(in Chinese)
- [3] 方志民,杨莲芬,金大勇. 海产品加工废水蛋白质回收的研究[J]. 浙江工业大学学报,2008,36(2):133-137.
FANG Zhi-min,YANG Lian-fen,JIN Da-Yong. Study on recovery of protein from wastewater of processing seafood [J]. *Journal of Zhejiang University of Technology*, 2008,36(2):133-137.(in Chinese)
- [4] 张宗恩,汪之和,肖安化. 鱼糜漂洗液中水溶性蛋白质的回收与利用[J]. 上海水产大学学报,1999,8(1):59-64.
ZHANG Zong-en,WANG Zhi-he,XIAO An-hua. Utilization of recycling of surimi rinse water soluble protein [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1999,8(1):59-64.(in Chinese)
- [5] 廖洪明,马青兰. 水产加工废水处理工艺设计[J]. 杭州电子科技大学学报,2005,25(2):70-73.
LIAO Hong-ming,Ma Qing-lan. The design of a fishery manufacturing wastewater treatment process [J]. *Journal of Hangzhou Dianzi University*, 2005,25(2):70-73. (in Chinese)
- [6] 邵明栓,陆剑锋,林琳,等. 白鲢鱼糜漂洗液中蛋白质的回收再利用[J]. 食品工业科技,2011(4):78-84.
SHAO Ming-shuan,Lu Jian-feng,Lin lin,et al. The recovery and reuse of protein in silver carp surimi washings[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011(4):78-84.(in Chinese)
- [7] 王雅敏. 鱼糜和鱼糜制品的加工现状及其展望[J]. 现代渔业信息,2003,5(2):22-25.
WANG Ya-min. Processing status and prospect of surimi and surimi-based products [J]. *Modern Fisheries Information*,

- 2003, 5(2):22-25. (in Chinese)
- [8] Singgih Wibowo, Gonzalo Velazquez, Vivek Savant, et al. Surimi washing water treatment for protein recovery: effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein adsorption[J]. **Bioresource Technology**, 2005(9):665-671.
- [9] 徐永安, 吴靖娜, 苏捷, 等. 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[J]. **南方水产科学**
XU Yong-an, WU Jing-na, SU Jie, et al. Technology of recovering soluble protein from surimi washings by chitosan flocculating method[J]. **South China Fisheries**, 2011, 7(3):1-7. (in Chinese)
- [10] 徐律, 杨金生, 丁迎燕, 等. 鱼糜漂洗水中鱼蛋白的提取研究[J]. **饲料工业**, 2010, 31(16):41-44.
XU Lv, YANG Jin-sheng, DING Ying-yan, et al. The research of withdrawing about the fish protein in the aquatic product processing waste water[J]. **Feed Industry**, 2010, 31(16):41-44. (in Chinese)
- [11] Bourtoom T, Chinnann M S. Recovery and characterization of proteins precipitated from surimi wash-water [J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2009(3):599-605.
- [12] 黄婉玉, 曹炜, 李青. 考马斯亮蓝法测定果汁中蛋白质的含量[J]. **食品与发酵工业**, 2009(5):160-162.
HUANG Wan-yu, Cao Wei, Li Qing. Determination of protein content in juice by coomassie brilliant Blue [J]. **Food and Fermentation Industry**, 2009(5):160-162. (in Chinese)
- [13] 张宗恩, 杨波, 黄循鲸. 用三氯化铁回收鱼糜漂洗液中的水溶性蛋白[J]. **水产科技情报**, 1997(5):13-16.
ZHANG Zong-en, Yang Bo, HUANG Xun-jing. Water soluble protein in surimi water is recovered With ferric chloride[J]. **Fisherie Science and Technology Information**, 1997(5):13-16. (in Chinese)
- [14] CHEN Xiao-lin, LI Cui-ping, JI Xia. Recovery of protein from discharged wastewater during the production of chitin [J]. **Technology**, 2008, 99(3):570-574.
- [15] 张冬冬, 陶文沂, 崔凤杰, 等. 响应面法优化白首乌中抗氧化成分的提取[J]. **食品与生物技术学报**, 2006, 25(5):16-28.
ZHANG Dong-dong, TAO Wen-yi, Cui Feng-jie, et al. Optimization of the processing parameters for the extraction of antioxidants from cynanchum auriculatum royle ex wight using response surface methodology [J]. **Journal of Food science and Technology**, 2006, 25(5):16-28. (in Chinese).
- [16] 陆晨, 皱雨虹. 响应面法优化超声辅助提取茶渣蛋白质的工艺条件[J]. **食品与生物技术学报**, 2012, 31(3):319-325.
LU Chen, ZHOU Yu-hong. Optimization of ultrasound-assisted extraction of protein from tea residue by response surface methodology[J]. **Journal of Food science and Technology**, 2006, 26(9):25-29. (in Chinese)

会 议 信 息

会议名称(中文): 中国农业工程学会 2013 年学术年会(CSAE 2013)

所属学科: 农林基础、作物学及林木育种、生物学、植物营养学、农林植物保护学

开始日期: 2013-08-18

结束日期: 2013-08-20

所在城市: 江苏省 镇江市 具体地点: 江苏大学 主办单位: 中国农业工程学会 承办单位: 江苏大学

联系人: 张晓彤

联系电话: 010-65929450

传真: 010-65929450

E-MAIL: hqcsae@agri.gov.cn

通讯地址: 北京市朝阳区麦子店街 41 号 中国农业工程学会

邮政编码: 100125

会议网站: http://www.csae.org.cn/news_look.asp?typecode=0601&Id=2229

会议名称(中文): 第一届生物颗粒制备技术与产业化应用技术研讨会

所属学科: 生物技术与生物工程

开始日期: 2013-09-20

结束日期: 2013-09-22

所在城市: 新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐市

主办单位: 中国颗粒学会生物颗粒专业委员会

承办单位: 沈阳药科大学

全文截稿日期: 2013-08-24

联系人: 毛世瑞, 黎亮

联系电话: 024-23986358

E-MAIL: bioparticle@163.com; cuifude@163.com

会议网站: http://csp.org.cn/progress/2013/0427_702.html