

鲤鱼可溶性蛋白增溶回收工艺优化及营养特性分析

王远瞩^a, 王晓萱^b, 左 盼^a, 张津海^a, 赵华伟^b, 蒲 洋^{a,b}

(鲁东大学 a.农学院;b.生物纳米技术研究院,山东 烟台 264039)

摘要:为促进鲤(*Cyprinus carpio*)的高值化应用,本文运用pH值转换增溶法优化鲤鱼蛋白规模化增溶回收工艺,对鲤鱼鱼糜在不同pH值下的可溶性蛋白溶解度、可溶性蛋白分子量分布及氨基酸组成进行了测量分析。结果表明:不同pH值条件下蛋白溶解度呈现明显U型曲线,在pH值为1.0~3.0或11.0~13.0条件下溶解度较高;在pH值为2.0条件下,可溶性蛋白溶解度达到62.72%。通过高效液相色谱(HPLC)测得所有样品的可溶性蛋白分子量主要在10~45 kDa范围内,在pH值2.0条件下,这部分低分子量蛋白占比最高为72.6%,进一步测得此工艺条件下回收的可溶性蛋白中呈味氨基酸含量丰富,其中呈鲜味氨基酸,如:谷氨酸占比达到14.7%、天冬氨酸占比达到11.2%;呈甜味氨基酸,如:丙氨酸占比达到6.38%,甘氨酸占比达到5.8%。本研究结果为以鲤鱼或其它低值鱼为原料,规模化回收可溶性蛋白产品及制备后续的生物活性多肽奠定了前期工艺基础,提高了在食品、饲料等领域开发鱼蛋白相关高附加值产品的潜力。

关键词:pH值转换增溶法;可溶性蛋白;规模化提取;氨基酸组成分析;高值化应用

中图分类号:S9 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-8020(2024)02-0142-08

我国是一个渔业大国,沿海和内陆水域辽阔,水产资源非常丰富,不但海洋捕捞量常年领先世界,同时也是淡水渔业最发达的国家之一。淡水鱼类是我国人民食物的重要组成部分,具有高蛋白、低热量的优点,是良好的动物蛋白质来源之一^[1]。鲤(*Cyprinus carpio*)属硬骨鱼纲,是我国分布范围最广、养殖历史最悠久的淡水经济鱼类之一。鲤鱼营养价值高,蛋白质含量高,人体消化吸收率可达96%,并能供给人体必需的氨基酸、矿物质、维生素A和维生素D,含丰富的不饱和脂肪酸,能有效降低胆固醇,冠心病的发病率^[2-3]。

黄河鲤位居中国“四大淡水鱼”之首,具有耐缺氧、耐寒的特点,对食物和环境有极强的适应能力。近十年来,黄河鲤年产量达30万吨,年产值约30亿元,黄河鲤大部分用于鲜食,占自身重量30%~40%的鱼骨以罐头和鱼粉等低值产品为主,占自身重量3%~5%的鱼鳞用于提取生物活性肽,但受制于技术原因,这些资源综合利用率低,产业化进程缓慢,价值并未充分利用,尤其是其中高价值的可溶性蛋白^[4-8]。在美国,亚洲鲤

鱼的无序增长对每年价值高达70亿美元的商业渔获造成毁灭性打击,美国政府预计将花费180亿美元用于治理亚洲鲤鱼,这严重制约了环境保护和渔业发展^[9-11]。因此大量捕捞鲤鱼的同时,亟需一种符合经济成本规律的处理方案。

目前由于工农业的发展和人口的增长,世界对高价值蛋白质资源的需求日益增加,鲤鱼和其它低值鱼可以作为可溶性蛋白的重要来源之一^[12]。为安全的提取动物可溶性蛋白,近年来pH值转换增溶法(pH-shifting)被广泛使用。随着溶液pH值的变化,鲤鱼鱼糜中可溶性蛋白的侧链基因携带的电荷也随之发生改变,加入酸会增加水合氢离子,从而使谷氨酰胺和天冬氨酰胺侧链上的净正电荷增加;加入碱会增加羟基离子,从而增加酪氨酸、色氨酸、半胱氨酸、赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链上的净负电荷。可溶性蛋白表面净负电荷或净正电荷的积累导致产生蛋白质-蛋白质静电排斥;随着鲤鱼可溶性蛋白分子上的净电荷不断积累,极性增加,与水产生相互作用,进一步减少蛋白质-蛋白质之间的相互作用,

收稿日期:2023-11-24;修回日期:2024-01-20

基金项目:烟台市双百项目计划;鲁东大学博士启动基金(29350301)

通信作者简介:蒲洋(1981—),男,讲师,硕士研究生导师,博士,研究方向为海洋来源生物质材料的开发利用。E-mail:ypu@ldu.edu.cn

从而导致增溶^[13-14]。与传统的酶水解法、膜分离法、絮凝法相比,pH值转换增溶法具有提取时间短、蛋白回收率高、回收的可溶性蛋白功能特性较好等优点,是目前回收可溶性蛋白相对环保有效的方法^[15-18]。此方法还能有效保持可溶性蛋白的活性,在鱼蛋白高值化加工利用方面颇具应用前景^[19-20]。不管是酸增溶还是碱增溶,蛋白质的溶解度和回收率都很高,而且针对不同的鱼类样品以及后续加工工艺需求,酸增溶和碱增溶都有相应的优势。在国内外,pH值转换增溶法已用于提取鳕鱼、沙丁鱼、罗非鱼蛋白以及回收虹鳟鱼下脚料制备可溶性蛋白^[21-26]。

虽然改变pH值能够增加可溶性蛋白的溶解度,但是不同鱼类蛋白质溶解度存在差异,与物种和原料的前处理工艺有关,一般依据所处理的不同种类的渔业加工副产品来决定通过酸性条件增容还是碱性条件增溶以及具体工艺条件。基于此,本研究对鲤鱼鱼糜中可溶性蛋白回收的工艺条件进行了对比研究及优化,并对回收蛋白质的性质进行了分析,为鲤鱼及低值鱼蛋白资源的高值化利用提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

超低温冰箱冷冻去鳞鲤鱼鱼块(-80℃),购于烟台新红利海鲜市场。

1.2 主要试剂

本研究所用试剂如下:NaOH(优级纯),国药试剂;HCl(优级纯),国药试剂;考马斯亮蓝G-250,上海蓝季科技发展有限公司;乙腈(色谱纯),Sigma-Aldrich试剂公司;三氟乙酸(色谱纯),上海阿拉丁生化试剂公司。

1.3 实验仪器

本研究所用仪器如下:配备3mm孔板的台式绞肉机,匀浆机,胶体磨,自动电位滴定仪(ZD-2,上海雷磁),可见紫外分光光度计(TU-1810,北京普析),高效液相色谱(HPLC)(安捷伦1260 infinity II,德国安捷伦科技公司),凝胶色谱柱

(TSKgelG2000_{swXL},北京绿百草科技发展有限公司),高速氨基酸分析仪(LA8080 AminoSAAYA,日立高新技术科学)

1.4 实验方法

本研究实验方法简述如下。

1) 冷冻鲤鱼块流水解冻后经3mm孔板的台式绞肉机绞碎成鱼糜,用胶体磨按照1g鱼糜添加50mL冰冷去离子水的料液比进行研磨,再经组织匀浆机处理10min后使用。

2) 上述蛋白匀浆用HCl(或NaOH)溶液滴定,放于4℃冰箱15min,取出后11000r·min⁻¹离心20min,回收中间层的可溶性蛋白质(上层为脂肪层,下层为不溶性沉淀),用考马斯亮蓝法检测蛋白质溶解度。

3) 通过SDS-PAGE初步分析不同pH值条件下溶液中可溶性蛋白质(等体积)的分子大小和分布。

4) 以牛血清白蛋白为标准品,用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量,通过公式(1)计算溶解度,并通过单因素方差分析检验可溶性蛋白溶解度显著性差异。

$$solubility(\%) =$$

$$\frac{Protein\ content\ of\ S_1\ (\frac{mg}{ml})}{Protein\ content\ of\ H\ (\frac{mg}{ml})} \times 100, \quad (1)$$

式中, S_1 为离心前溶液蛋白浓度; H 为离心后溶液蛋白浓度。

5) HPLC检测,使用TSKgelG2000_{swXL}凝胶柱,流动相为乙腈:水:三氟乙酸体积比(20:80:0.1),用0.22μm微孔滤膜过滤可溶性蛋白样品,室温流速0.5mL·min⁻¹,进样体积20μL,检测波长220nm。用细胞色素c、抑肽酶、杆菌肽、氧化性谷胱甘肽、L-色氨酸五种标准品构建标准曲线并用Origin拟合方程。

6) 取pH值为2.0条件下回收的蛋白溶液冻干72h,称取50mg冻干粉加入15mL HCl(6mol·L⁻¹),充氮封口110℃酸解22h,取出过滤后,超纯水定容至50mL,取1mL样品氮吹赶酸,再次超纯水定容至10mL,0.22μm微孔滤膜过滤后取20μL使用高速氨基酸分析仪分析。

2 结果与分析

2.1 鲤鱼蛋白在不同 pH 值下的溶解度

以鲤鱼鱼糜为原料,在料液比(鱼糜质量(g)与冰冷去离子水体积(mL)比)为 1:50,各 pH 值条件下可溶性蛋白溶解度见表 1。pH 值变化对鲤鱼鱼糜可溶性蛋白溶解度的影响非常明显,当 pH 值在 1.0~3.0 或 11.0~13.0 时,蛋白的溶解度较高,而 pH 值在 4.0~10.0 之间时,蛋白的溶解度较低,呈现明显的 U 型曲线,鲤鱼可溶性蛋白在 pH 值为 2.0 时溶解度极显著性升高($p < 0.01$),达到 62.72%;在 pH 值为 13.0 时溶解度极显著性升高($p < 0.01$),达到 81.73% (图 1)。

表 1 鲤鱼蛋白在各 pH 值下的溶解度
Tab. 1 Solubility of carp protein at various pH

pH 值	溶解度/%
1.0	57.89±0.62
2.0	62.72±0.11
3.0	60.93±0.35
4.0	40.85±0.98
10.0	59.99±1.04
11.0	55.53±0.42
12.0	63.55±0.47
13.0	81.71±0.42

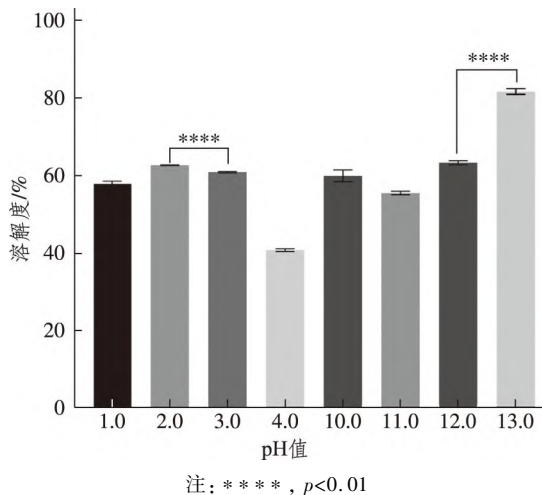


图 1 鲤鱼各 pH 值蛋白溶解度差异

Fig. 1 Differences in protein solubility of carp at different pH

2.2 鲤鱼可溶性蛋白 SDS-PAGE 电泳分析

上述各 pH 值条件下回收的可溶性蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳分析,结果如图 2 所示。pH

值分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、10.0、11.0、12.0 和 13.0,可溶性蛋白在 10~20 kDa、35~45 kDa 及大于 140 kDa 范围出现明显条带,在 45 kDa 时条带颜色较深,中位数蛋白分子量在 40~45 kDa,并且在 pH 值为 2.0、3.0、12.0、13.0 时,电泳条带颜色相对较深,这表明 pH 值在 2.0~3.0、12.0~13.0 时蛋白溶解度高于其他 pH 值条件,与蛋白溶解度曲线的变化趋势大致相同,由于 pH 值为 11.0 条件下的样品蛋白质变性,导致条带颜色较浅^[28]。由此进一步确定,可溶性蛋白在 pH 值 ≤ 3.0 或 ≥ 11.0 条件下为最佳增溶工艺条件。在 pH 值为 2.0 条件下回收的蛋白溶液在 10~45 kDa 范围内条带数量较多且颜色深于其他条件下的蛋白条带。为了确定最适回收可溶性蛋白的工艺条件,后续采用 HPLC 法对不同工艺条件下回收的可溶性蛋白溶液进行深入分析。

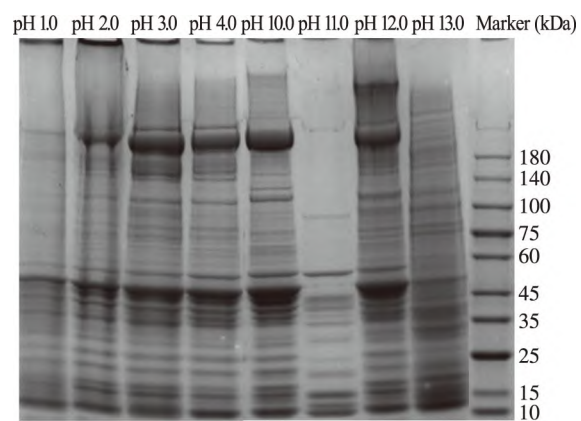


图 2 鲤鱼可溶性蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig. 2 SDS-PAGE of soluble protein in carp

2.3 鲤鱼可溶性蛋白 HPLC 分析

通过对细胞色素 c、抑肽酶、杆菌肽、氧化性谷胱甘肽、L-色氨酸五种标准品的 HPLC 分析,得到保留时间和分子量的函数关系,并得到拟合方程:

$$y = 6.166 \times 10^5 \times e^{\left(\frac{-x}{3.147}\right)} - 899.456 (R^2 = 0.998)。$$

经 HPLC 分析得到不同 pH 值条件下,各分子量蛋白的保留时间图谱(图 3),结合标准品拟合得到的方程,计算出不同 pH 值条件下各分子量蛋白所占质量百分比,结果如图 4 所示。可溶性蛋白分布比较集中,在保留时间 13 min 之前,蛋白分子量在 10~45 kDa 之间;在 pH 值 ≤ 3.0 条件下,10~45 kDa 蛋白分子量分布最为集中,峰面积约占总体 50%~70%;当 pH 值 ≥ 11.0 条

件下,10~45 kDa 蛋白分子量分布最为集中,峰面积约占总体 70% 左右。结果表明,pH 值在 ≤ 3.0 或 ≥ 11.0 时,保留时间 13 min 之内,蛋白分子量分布最为集中。其中 pH 值为 2.0 条件下回收的蛋白溶液,在保留时间为 12 min 左右吸光度达到最高约 750 mAU,10~45 kDa 小分子蛋白所占比例达到 72.6%,大大高于其他 pH 值处理条件下的小分子蛋白的质量百分比(小于 55%),与 SDS-PAGE 电泳分析结果一致。另外在后续工艺中将用酸性蛋白酶制备可溶性多肽,综合考虑后选取 pH 值 2.0 为最适条件进行可溶性蛋白回收,并对此 pH 值条件下回收蛋白质中的氨基酸组成进行详细分析。

2.4 鲤鱼鱼糜中氨基酸组成分析

通过氨基酸分析仪测定了 pH 值为 2.0 条件下回收的鲤鱼可溶性蛋白中 17 种氨基酸的组成(表 2)。其中组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、苏氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸 8 种必需氨

基酸含量占比达到 43.72%,其中赖氨酸占比最高,达到 9.8%;谷氨酸、天冬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、精氨酸、脯氨酸 9 种非必需氨基酸含量占比达到 56.28%,其中谷氨酸占比最高,达到 14.71%。

表 2 pH 值 2.0 条件下回收鲤鱼可溶性蛋白中各氨基酸干重占比

Tab.2 Dry weight proportion of various amino acids in the recovered soluble protein of carp at pH 2.0

必需氨基酸/%		非必需氨基酸/%	
赖氨酸	9.80±0.01	谷氨酸	14.71±0.04
亮氨酸	8.38±0.16	天冬氨酸	11.24±0.13
缬氨酸	5.02±0.01	丝氨酸	4.47±0.07
异亮氨酸	4.83±0.08	甘氨酸	5.80±0.08
苯丙氨酸	4.62±0.10	丙氨酸	6.38±0.10
苏氨酸	4.71±0.08	半胱氨酸	0.69±0.01
组氨酸	3.73±0.19	酪氨酸	3.65±0.08
甲硫氨酸	2.63±0.05	精氨酸	5.67±0.21
		脯氨酸	3.67±0.05
总量	43.72±0.68	总量	56.28±0.77

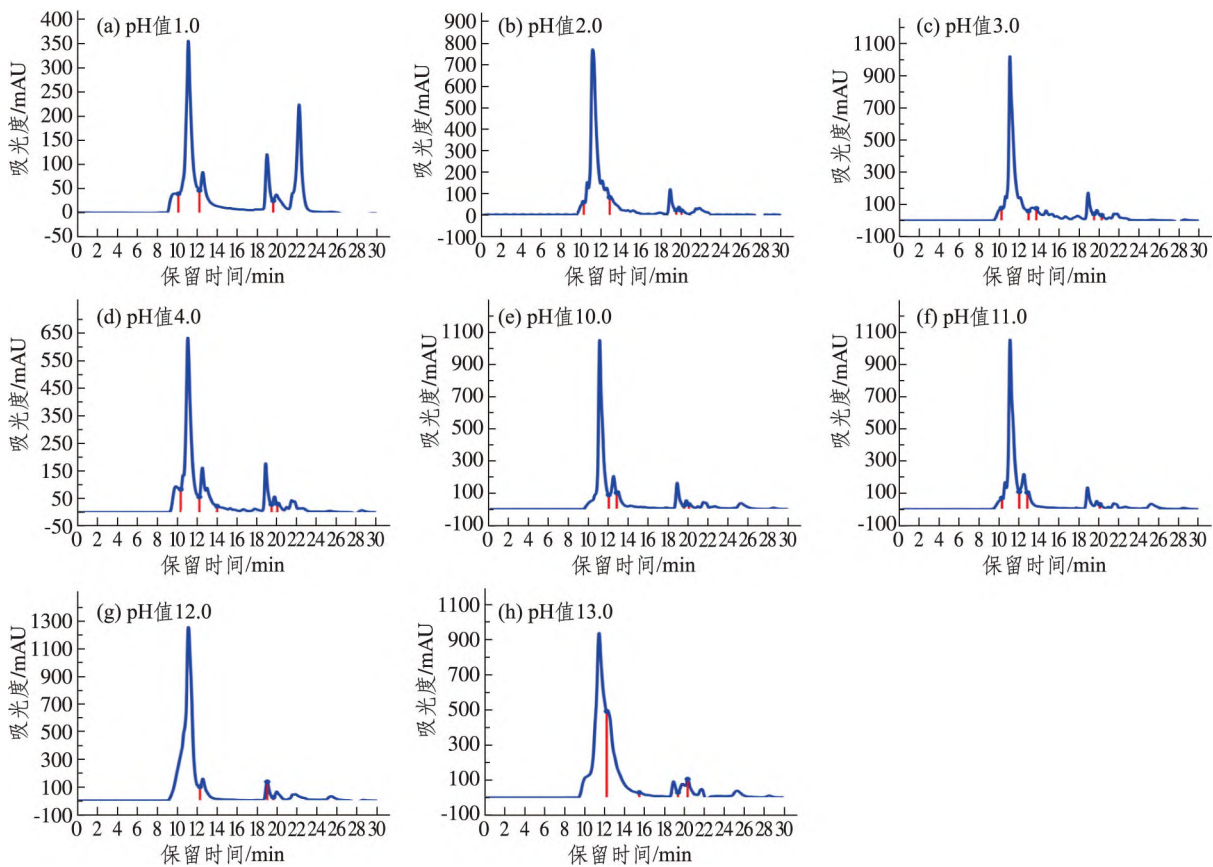


图 3 不同 pH 值条件下鲤鱼可溶性蛋白 HPLC 图谱

Fig.3 HPLC chromatogram of soluble protein in carp under different pH conditions

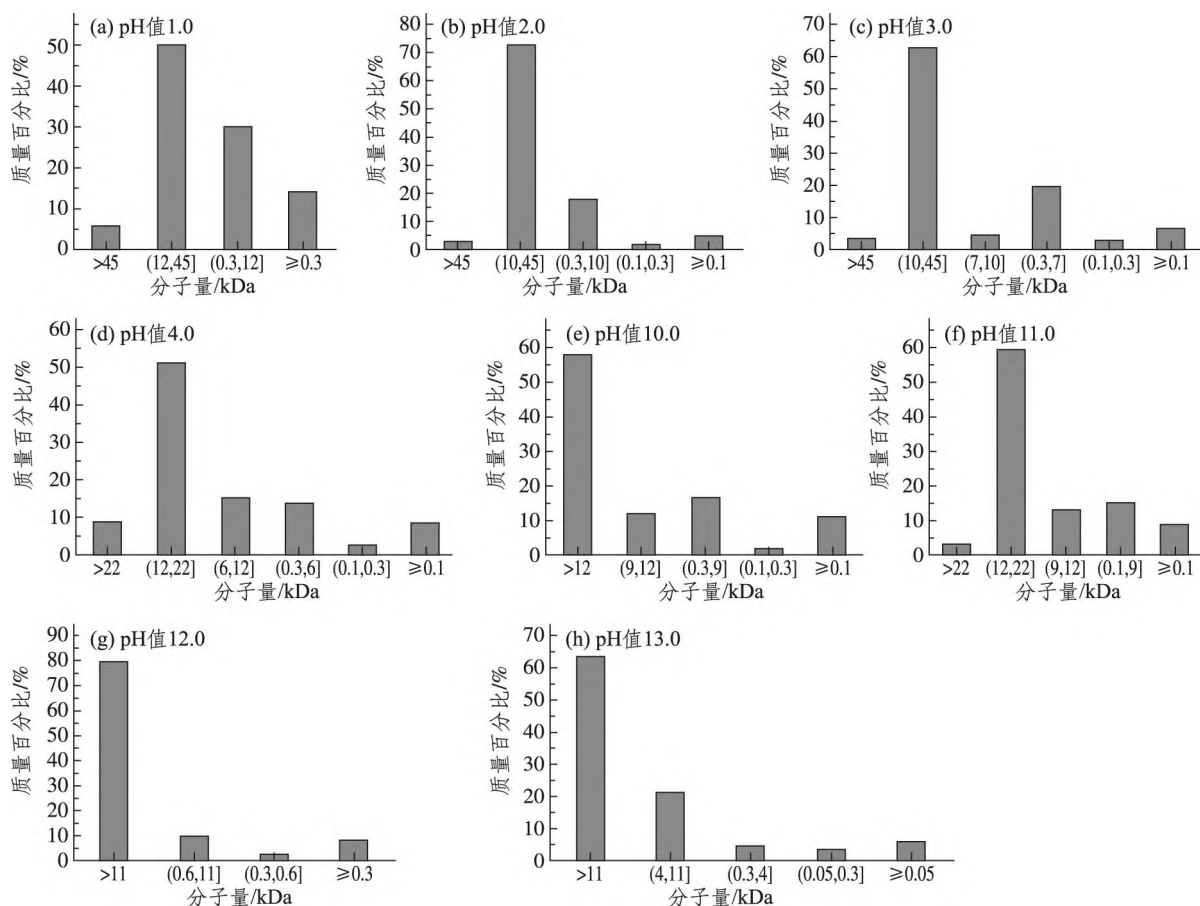


图 4 不同 pH 值条件下各分子量鲤鱼可溶性蛋白所占质量百分比

Fig. 4 Mass percentage of soluble protein in carp under different pH conditions

3 讨论

本文以鲤鱼鱼糜为原料,通过调节 pH 值增溶回收鲤鱼鱼糜中的可溶性蛋白,鲤鱼鱼糜可溶性蛋白分子在强酸性或强碱性环境下,分子紧密有序的折叠状态由于静电斥力展开,蛋白质-水相互作用占优势,从而导致鲤鱼可溶性蛋白增溶,但强酸性条件下可能引起硫醇氧化和蛋白质疏水基团的过度外露,导致蛋白聚集而使溶解性降低,因此强碱性(pH 值>11.0)条件下回收可溶性蛋白的溶解度高于强酸性(pH 值<3.0)条件下回收可溶性蛋白的效果,但碱性处理容易产生有毒物质,而酸性处理可大大减少此类问题的出现^[5]。对比已有文献可知,通过等电点沉淀法回收鲤鱼鱼糜、罗非鱼鱼糜、鲑鱼鱼糜中的可溶性蛋白,所需时间较长,可溶性蛋白活性较低,而 pH 值转换增溶法回收可溶性蛋白的时间较短,可溶性蛋白的活性较高,不同 pH 条件下可溶性蛋白溶解度

的变化趋势均呈现明显 U 型曲线,只是因品种不同,各 pH 值条件下溶解度存在差异^[23,25,27-29]。其中 pH 值为 2.0 条件下回收的蛋白溶液,10 ~ 45 kDa 小分子蛋白所占比例达到 72.6%,远高于其他 pH 值条件下的小分子蛋白的质量百分比。

除了具有优异的蛋白质增溶效果外,pH 值 2.0 条件下回收的可溶性蛋白的氨基酸组成分析显示:此工艺条件得到的可溶性蛋白氨基酸组成与鲈鱼、石斑鱼、鲢鱼鱼肉蛋白质的氨基酸组成基本相似,必需氨基酸含量丰富,具有更高的营养。其中占比达到 9.8% 的赖氨酸在促进动物消化吸收、增强免疫功能方面应用广泛,还可作为天然防腐剂;非必需氨基酸中的精氨酸、丙氨酸和甘氨酸含氮量丰富,可作为有机氮源加以利用,还能够作为提高牲畜鱼类的免疫力和抵抗力的饲料添加剂,而且其制成的氨基酸叶面肥能显著提高水稻及其他农作物的产量和品质^[30-32]。由文献可知,通过酶水解法回收的鲤鱼可溶性蛋白氨基酸组成与 pH 值 2.0 酸处理增溶工艺回收的鲤鱼可溶性

蛋白氨基酸组成相比,必需氨基酸含量都比较丰富,占比约40%,但是非必需氨基酸组成差异较大。酶水解法回收的鲤鱼可溶性蛋白中的谷氨酸和天冬氨酸占比仅4.5%,而pH值2.0酸处理增溶工艺回收的鲤鱼可溶性蛋白中谷氨酸和天冬氨酸占比可达25.95%,明显提高了回收的可溶性蛋白中谷氨酸和天冬氨酸的含量^[33-35]。谷氨酸和天冬氨酸是呈鲜味氨基酸,谷氨酸可有效提高肉糜制品的口感和品质,天冬氨酸对抑制鲜切果蔬类褐变有着明显作用^[36-38]。综上所述,通过优化的pH值增溶工艺回收的富含谷氨酸、天冬氨酸、赖氨酸、精氨酸、丙氨酸和甘氨酸的可溶性蛋白在食品、饲料及农业领域有很大的应用潜力,同时也为回收的可溶性蛋白的高值化应用奠定了良好的基础。

4 结论

本文采用优化的酸碱增溶工艺有效地回收了鲤鱼鱼糜中的可溶性蛋白,料液比为1:50条件下,当pH值低于3.0和高于12.0时,蛋白溶解度明显增大,pH值在4.0~11.0时,蛋白溶解度较低,在pH值2.0、3.0、12.0及13.0条件下溶解度较高,蛋白溶解度达60%以上。其中pH值为2.0时,蛋白溶解度达到63%,不但增溶效果显著,而且小分子蛋白占比高,10~45 kDa小分子蛋白质量占总蛋白质量的72%,高于其他pH值条件,这也为后续利用酸性蛋白酶水解获得多肽提供了最有利的条件。除此之外,呈鲜味氨基酸(谷氨酸、天冬氨酸)占比达到25.95%,呈甜味氨基酸(丙氨酸、甘氨酸)占比达到12.18%,这赋予了回收的可溶性蛋白良好的功能特性,其营养成分适合人类食用,更有利于开发高值化产品。本研究符合可持续发展的理念,为解决美国亚洲鲤鱼泛滥这一生态问题提供了一个符合经济效益的可行方案,为以鲤鱼为代表的低值鱼类可溶性蛋白资源的高值化利用提供了理论指导,并为规模化制备高附加值的蛋白产品提供了一条新的途径。

参考文献:

[1] 郑皎皎. 鲤鱼肌肉热加工过程中品质变化的研究[D]. 大连:大连工业大学,2014.
[2] 李艳青. 蛋白质氧化对鲤鱼蛋白结构和功能性的影

响及其控制技术[D]. 沈阳:东北农业大学,2013.
[3] 宋智,孟凤英. 鲤鱼保鲜技术的研究[J]. 食品科学,1995(6):45-48.
[4] ZHANG Y, LIU W T, LI G Y, et al. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Food Chemistry, 2007, 103(3):906-912.
[5] 刁韩月,曹燕峰,常立场等. 鲑鱼加工副产物酶解液美拉德反应工艺优化[J]. 鲁东大学学报(自然科学版), 2024, 40(1):26-31.
[6] 肖枫. 黄河鲤鱼鳞胶原蛋白的性质及胶原肽活性研究[D]. 镇江:江苏大学,2014.
[7] 徐文彦,郭国军,唐国盘,等. 河南省黄河鲤品牌化经营探析[J]. 河南水产, 2013(3):4-6.
[8] 赵银红,李红英,王妨. 响应面优化葱酥黄河鲤鱼加工工艺研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(9):120-125.
[9] 丁可. 亚洲鲤鱼在美国造成生态灾害的解决方案[J]. 科技创业月刊, 2015, 28(4):113-115.
[10] 徐仁杰. 基于经济价值视角的美国亚洲鲤鱼控制分析和对策研究[D]. 上海:上海海洋大学,2015.
[11] MAYER C M, ROBINSON K, DETTMERS J M. Research and management efforts to control or prevent invasion by invasive Asian carps in the Great Lakes [J]. Journal of Great Lakes Research, 2021, 47(1):1-2.
[12] JAFARPOUR A, GORCZYCA E M. Alternative techniques for producing a quality surimi and kamaboko from common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Journal of Food Science, 2008, 73(9):415-424.
[13] SURASANI V K R, KUDRE T, BALLARI R V. Recovery and characterization of proteins from pangas (*Pangasius pangasius*) processing waste obtained through pH shift processing [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25:11987-11998.
[14] RAWDKUEN S, SAI-UT S, KHAMSORN S, et al. Biochemical and gelling properties of *Tilapia surimi* and protein recovered using an acid-alkaline process [J]. Food Chemistry, 2009, 112(1):112-119.
[15] HUANG L, MORRISSEY M T. Fouling of membranes during microfiltration of surimi wash water: roles of pore blocking and surface cake formation [J]. Journal of Membrane Science, 1998, 144(1/2):113-123.
[16] HULTIN H O, KELLEHER S D. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition: USA, DE69727039 [P]. 2004-06-09.

- [17] SRUASANI V K R. Acid and alkaline solubilization (pH shift) process: a better approach for the utilization of fish processing waste and by-products[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(19):18345-18363.
- [18] 丁小强. 鱼糜漂洗液中蛋白质回收及其性质的研究[D]. 南昌:江西科技师范大学,2017.
- [19] 刘楚怡,李八方,王长伟,等. 一种高溶解性的鲑鱼蛋白:CN107151686B[P]. 2021-03-26.
- [20] CHOI Y J, PARK J W. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(8):2962-2967.
- [21] NOLSOE H, UNDELAND I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art[J]. Food and Bioprocess Technology, 2009, 2:1-27.
- [22] CHEN Y C, JACZYNSKI J. Protein recovery from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) processing by-products via isoelectric solubilization/precipitation and its gelation properties as affected by functional additives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22):9079-9088.
- [23] INGRID U, STEPHEN D K, HULTIN H O. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(25):7371-7379.
- [24] TASKAYA L, CHEN Y C, JACZYNSKI J. Functional properties of proteins recovered from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by isoelectric solubilization/precipitation [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(6):1082-1089.
- [25] TIAN Y Y, WANG W, YUAN C H, et al. Nutritional and digestive properties of protein isolates extracted from the muscle of the common carp using pH-shift processing[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(1):e12847.
- [26] 周春霞,刘诗长,王瑛,等. 酸/碱溶解-等电点沉淀法回收罗非鱼蛋白的工艺优化及蛋白组成分析[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2015, 28(4):390-395.
- [27] UNDELAND I, KELLEHER S D, HULTIN H O. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(25):7371-7379.
- [28] 刘诗长,周春霞,洪鹏志,等. 罗非鱼下脚料分离蛋白的制备及其性质研究[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(6):38-42.
- [29] KRISYINSSON H G, INGADOTTIR B. Recovery and properties of muscle proteins extracted from tilapia (*Oreochromis niloticus*) light muscle by pH shift processing [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(3):E132-E141.
- [30] 程镇燕,曲木,孙颖,等. 精氨酸在体内和体外试验中对鲤鱼免疫力的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(9):3293-3300.
- [31] SUBBARAO G V, ITO O, BERRY W L, et al. Sodium—a functional plant nutrient [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2003, 22(5):391-416.
- [32] 宋聪. 叶面喷施氨基酸对香稻产量、品质和香气的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2022.
- [33] 刘金龙,郑小江,程加刚. 鲢鱼氨基酸生产工艺优化研究[J]. 食品科学, 2009, 30(24):68-73.
- [34] 朱健,王建新,龚永生,等. 几种鲤鱼肌肉的一般营养成分及蛋白质氨基酸组成的比较[J]. 湛江海洋大学学报, 2000(4):9-12.
- [35] 王伟. pH调节对鲤(*Cyprinus carpio*)肌肉蛋白的结构与功能的影响[D]. 大连:大连海洋大学,2015.
- [36] 张本,陈国华. 四种石斑鱼氨基酸组成的研究[J]. 水产学报, 1996(2):111-119.
- [37] 胡思嘉,李新福,熊强. ϵ -聚赖氨酸作为天然防腐剂在食品中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6):452-459.
- [38] 刘箕箕. 天冬氨酸抑制鲜切马铃薯褐变的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2019.

Optimization of Solubilization Recovery and Nutritive Properties Analysis of Carp Soluble Protein

WANG Yuanzhu^a, WANG Xiaoxuan^b, ZUO Yang^a, ZHANG Jinhai^a, ZHAO Huawei^b, PU Yang^{a,b}

(a. School of Agriculture; b. Bio-Nanotechnology Research Institute, Ludong University, Yantai 264039, China)

Abstract: To improve the high-value application of carp (*Cyprinus carpio*), the pH conversion solubilization method was used to optimize the large-scale solubilization and recovery process of carp protein. The solubility of soluble protein, molecular weight distribution of soluble protein, and amino acid composition of carp mince at different pH were measured and analyzed. The results showed that the protein solubility showed a clear U-shaped curve under different pH conditions, with higher solubility at $1.0 \leq \text{pH} \leq 3.0$ or $11.0 \leq \text{pH} \leq 13.0$. Under the condition of pH 2.0, the solubility of soluble protein reached 62.72%. The molecular weight of soluble proteins measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is mainly in the range of 10 ~ 45 kDa. At pH 2.0, the proportion of low molecular weight proteins in this part is the highest at 72.6%. Furthermore, it was found that the recovered soluble proteins under this process conditions contain rich flavor amino acids, including umami amino acids, such as glutamic acid accounting for 14.7% and aspartic acid accounting for 11.2%, and sweet amino acid, such as alanine accounting for 6.38% and glycine accounting for 5.8%. The results of this study laid the foundation for the large-scale recovery of soluble protein products and the preparation of subsequent bioactive peptides using carp or other low value fish as raw materials, and increased the potential for developing high value-added products from fish protein in the fields of food and feed.

Keywords: pH shifting method; soluble protein; large scale extraction; amino acid composition analysis; high value applications

(责任编辑 李维卫)