



周勇杰,李孟洋,罗永康,洪惠,谭雨青. 酶法提取鲢鱼内脏鱼油的工艺优化、微胶囊制备及其体外消化特性[J]. 中国农业大学学报,2025,30(01):161-171.
ZHOU Yongjie, LI Mengyang, LUO Yongkang, HONG Hui, TAN Yuqing. Optimization of the enzymatic extraction process of fish oil from silver carp viscera, preparation of microcapsules and its *in vitro* digestion characteristics[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(01): 161-171.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.01.14

酶法提取鲢鱼内脏鱼油的工艺优化、微胶囊制备 及其体外消化特性

周勇杰 李孟洋 罗永康 洪惠 谭雨青*

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要 针对鲢鱼内脏鱼油的高效提取及其微胶囊的消化特性问题,采用单因素试验和Box-Behnken响应面分析法,对蛋白酶添加量、酶解时间和料液比进行研究,并探究明胶-六偏磷酸钠复凝聚微胶囊的制备及其在模拟消化系统中的行为。结果表明:1)每1 g样品蛋白质中添加7 000 U的蛋白酶(Protamex®1.6)、酶解时间1.3 h、料液(内脏与水)比为5 g:2 mL时,鲢鱼内脏鱼油的提取率可达81.09%;2)明胶-六偏磷酸钠复凝聚反应体系pH为4.0时,鱼油的包埋率为90.95%;3)30℃贮藏10天,鱼油微胶囊的保留率维持在99%以上;4)在体外模拟消化试验中,胃相的总释放率为10.69%,肠相总释放率为46.40%,具有一定的缓释和控释特性。本研究不仅优化了鲢鱼内脏鱼油的提取工艺,有效提高了提取率,而且通过精细调整复凝聚体系,成功制备出具有显著保护、缓释、控释能力的鱼油微胶囊,为鱼油在食品和营养补充品等领域的应用提供了科学依据和技术支持。

关键词 鲢鱼内脏; 鱼油; 复凝聚; 微胶囊; 胃肠模拟消化; 鲢鱼副产品利用

中图分类号 S917.4

文章编号 1007-4333(2025)01-0161-11

文献标志码

Optimization of the enzymatic extraction process of fish oil from silver carp viscera, preparation of microcapsules and its *in vitro* digestion characteristics

ZHOU Yongjie, LI Mengyang, LUO Yongkang, HONG Hui, TAN Yuqing*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract To address the issue of efficient extraction of fish oil from silver carp viscera and the digestion characteristics of its microcapsules, the single-factor test and Box-Behnken response surface analysis were used to study the protease dosage addition, enzyme hydrolysis time, and solid-to-liquid ratio to investigate the preparation of gelatin-sodium hexametaphosphate complex coacervation microcapsules and their behavior in a simulated digestion system. The results revealed that: 1) The extraction rate of fish oil from silver carp viscera could reach 81.09% when 7 000 U protease (Protamex® 1.6) was added per 1 g of sample protein, an enzyme hydrolysis time of 1.3 h, and an solid-liquid (viscera to water) ratio of 5 g:2 mL; 2) The gelatin-sodium hexametaphosphate complex coacervation reaction system at pH 4.0 resulted in 90.95% encapsulation rate of fish oil; 3) The retention rate of fish oil microcapsules was maintained above 99% after storage at 30℃ for 10 days; 4) In the *in vitro* simulated digestion experiment, the total release

收稿日期: 2024-06-01

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFD2100905); 现代农业产业技术体系专项基金(CARS-45)

第一作者: 周勇杰(ORCID:0009-0002-9772-949X), 博士研究生, E-mail: yjz5520@126.com

通讯作者: 谭雨青(ORCID:0000-0003-2906-0026), 副教授, 主要从事淡水鱼加工副产物的高值化利用研究, E-mail: yuqingtan@cau.edu.cn

rate of the gastric phase was 10.69% and the total release rate of the intestinal phase was 46.40%, which showed a certain sustained-release and controlled-release characteristics. This study optimized the extraction process of fish oil from silver carp viscera and effectively improved the extraction rate, successfully prepared fish oil microcapsules with significant protection, sustained-release and controlled-release capabilities by finely adjusting the complex concertation system. This study provided the scientific basis and technical support for the application of fish oil in food and nutritional supplements.

Keywords silver carp viscera; fish oil; complex coacervation; microcapsules; gastrointestinal simulation digestion; silver carp by-product utilization

鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)是我国四大养殖鱼类之一,2022年的淡水养殖产量达到387.9万t,仅次于草鱼^[1]。巨大的养殖量使得鲢鱼成为淡水鱼糜的主要原料来源。然而,在鱼糜生产过程中,大量鲢鱼内脏通常被直接丢弃,这不仅造成了严重的环境污染,也极大浪费了资源。已有研究^[2]表明,鲢鱼内脏中的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳五烯酸(DHA)等多不饱和脂肪酸含量较高,*n*-3族多不饱和脂肪酸总含量达到34.9%。其 ω -3与 ω -6的比值约为1.7,远高于其他淡水鱼类,且接近海水鱼的水平。因此,从鲢鱼内脏中提取鱼油不仅能显著增加鱼类副产品的经济价值,还有助于提升整个渔业的竞争力,实现资源的高效利用。

近年来,随着人们健康意识的增强,全球对高质量鱼油的需求急剧增加。传统的鱼油提取方法主要包括液压压榨、热萃取和溶剂萃取^[3-5]。这些方法各有不足:液压压榨的效率较低,热萃取因高温操作容易导致鱼油氧化和变质,溶剂萃取则可能使最终产品中含有残余溶剂。为克服这些限制,研究人员已经开发出新的技术如酶解提取^[6]和超临界流体萃取^[4]。尽管超临界流体萃取在提取效率和产品质量方面表现优异,并且环境污染较少,但其较高的成本限制了其在工业上的广泛应用。此外,利用蛋白酶的水解作用破坏脂肪与蛋白质的结合来提取鱼油的方法,因其工艺简单、提取效率高和产品质量稳定性好,已经获得了广泛的研究关注和应用^[7-9]。

鱼油的生物利用度受到胃部酸性环境的影响,是当前研究的重点^[10],微胶囊技术通过改变芯材的表面性能和提高其稳定性,不仅可以控制活性成分的释放,实现缓释和控释,还能显著提升鱼油的贮藏稳定性。因此,利用微胶囊技术包埋鱼油,以提高其在胃肠道中的稳定性和利用率,有助于解决上述问题并拓宽鱼油在食品领域的应用。

本研究拟采用操作简单且成本效益高的酶解

法从鲢鱼内脏中提取鱼油。基于单因素分析,进一步采用Box-Behnken响应面法优化提取工艺,确定鱼油提取的最佳工艺参数;本研究还利用复凝聚微胶囊技术对提取的鱼油进行包埋,评估其在胃肠消化过程中的缓释性和控释性,以及贮藏稳定性,旨在开发一种新的微胶囊技术,以提高鲢鱼油的稳定性和生物利用度。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验在中国农业大学食品科学与营养工程学院水产品加工实验室进行。鲢鱼内脏由湖北井力水产食品有限公司提供。所用蛋白酶为Neutrase®0.8L、Protamex®1.6和Novozym®11039,均购自丹麦诺维信生物技术公司。试验使用的主要化学试剂:三氯甲烷、浓硫酸、盐酸、无水乙醚等由国药集团化学试剂有限公司提供;硼酸、无水碳酸钠、碘化钾、硫代硫酸钠由上海麦克林生化科技有限公司供应;异丙醇、氢氧化钠、碘酸钾标准滴定液、福林酚、冰乙酸、活性炭粉、甲醇及三氯乙酸均购自北京索莱宝科技有限公司。

试验使用的主要仪器:KDY-9820型凯氏定氮仪,格林凯瑞精密仪器有限公司;DHG-9030型电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;AY220型电子分析天平,日本岛津公司;Supermax 3000FA型酶标仪,上海闪谱生物科技有限公司;GL-21M型冷冻离心机,长沙平凡仪器仪表有限公司;数显恒温磁力搅拌水浴锅,湖南前沿科技有限公司;FE20型pH计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 鲢鱼内脏的基本成分测定

鲢鱼内脏的粗蛋白含量、粗脂肪含量、水分含量以及灰分含量均参考张慧娟等^[11]的方法进行。

1.2.2 蛋白酶的筛选

蛋白酶提取鱼油的方法参考李文佳等^[12]的方法。精确称取 15 g 鲢鱼内脏并以 1 g:1 mL 的料液比加入蒸馏水混匀。使用浓度为 1 mol/L 的盐酸或 1 mol/L 氢氧化钠溶液调整混合液 pH 至蛋白酶的最适 pH(表 1)。将内脏置于蛋白酶相应最适温度下水浴加热 15 min。按照鲢鱼内脏的粗蛋白含量,每 1 g 蛋白质中添加 10 000 U 蛋白酶,并在相同的

最适温度下持续酶解 2 h。酶解完成后,样品在 95 ℃ 水浴中加热 15 min 以灭活酶。在 4 ℃ 以 10 000 g 的离心力离心 20 min,取上清液的鱼油并称重。选择提取率最高的蛋白酶进行后续试验。鱼油提取率的计算公式如下:

$$\text{鱼油提取率} = \frac{M_1}{M_2 \times C} \times 100\%$$

(1)

式中: M_1 为上清油质量,g; M_2 为鲢鱼内脏质量,g; C 为鲢鱼内脏的粗脂肪含量,%。

表 1 不同蛋白酶的最适反应条件及酶活
Table 1 The optimum reaction conditions and enzyme activity of different proteases

酶 Enzymes	pH	温度 /℃ Temperature	酶活 Enzyme activity
Neutrase®0.8L	7.0	50	26 000 U/mL
Protamex®1.6	7.0	60	46 000 U/g
Novozym®11039	7.5	60	113 000 U/g

1.2.3 单因素试验

1)蛋白酶添加量。按照 1.2.2 节所筛选的蛋白酶,在其最佳 pH 和温度条件下,根据描述的鱼油提取工艺进行试验。设定酶解反应时间为 2 h,料液比(本研究中料液比指的是内脏质量与水的体积之比,全文同)为 1 g:1 mL,改变蛋白酶添加量,每 1 g 样品蛋白质中分别添加 2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 U 蛋白酶,对鲢鱼内脏进行处理,并分别测定鱼油提取率。

2)酶解时间。料液比固定为 1 g:1 mL,依据已确定的蛋白酶添加量,对鲢鱼内脏在不同酶解时间(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h)进行处理后计算每个时

间点的鱼油提取率。

3)料液比。在设定的酶添加量和酶解时间基础上,调整料液比分别为 1 g:1 mL、1 g:2 mL、1 g:3 mL、1 g:4 mL,以不添加水的内脏组为对照,对鲢鱼内脏进行酶解,并计算在各种料液比条件下的鱼油提取率。

1.2.4 响应面优化设计分析

采用 Design-Expert 13 软件进行 Box-Behnken 设计的响应面分析。基于 1.2.3 节的单因素试验结果,本研究选取蛋白酶添加量(X_1)、酶解时间(X_2)及料液比(X_3)作为自变量,以鱼油提取率(Y)为响应值,试验因素和水平见表 2。

表 2 响应面试验分析因素水平表
Table 2 Factors and levels of response surface methodology

水平 Level	因素 Factor		
	X_1 ,酶添加量 / U Amount of enzyme added	X_2 ,时间 / h Time	X_3 ,料液比 Solid-liquid ratio
—1	4 000	0.5	对照组(不加水)
0	6 000	1.0	1 g:1 mL
1	8 000	1.5	1 g:2 mL

1.2.5 鱼油精炼

鱼油的精炼工艺(脱胶,脱酸,脱色,脱臭)参考吴永祥^[13],洪鹏志等^[14]的方法。

1.2.6 鱼油酸价测定

酸价测定参照 GB 5009.229—2016《食品中酸价的测定》^[15]。

1.2.7 鱼油过氧化值测定

过氧化值测定参照 GB 5009.227—2023《食品中过氧化值的测定》^[16]。

1.2.8 精炼鱼油的微胶囊制备

鱼油微胶囊的制备参考 Yang 等^[17]的方法。精确称取 8 g 明胶溶解于 100 mL 蒸馏水中,在 50 ℃ 的水浴中持续搅拌 1 h,确保明胶完全溶解。加入 6 g 精炼鱼油,并使用均质机在 10 000 r/min 的速度下均质 5 min,制成鱼油乳液。称取 0.53 g 六偏磷酸钠溶解于 100 mL 蒸馏水中,在 50 ℃ 的水浴中持续搅拌 5 min。将此溶液与等体积的鱼油乳液混合,在 50 ℃ 的水浴中进一步搅拌 1 min。在室温下使用浓度为 1 mol/L 的磷酸逐渐调节 pH 至 3.6、3.8、4.0、4.2,并持续搅拌 10 min。加入 50 mL 已调至相应 pH 且质量分数为 8% 的辛烯基琥珀酸淀粉钠水溶液,室温下继续搅拌 30 min。将所得混合物进行冷冻干燥 48 h,制得鱼油微胶囊。

1.2.9 精炼鱼油包埋率测定

鱼油微胶囊的包埋率测定参考 Yang 等^[17]的方法进行。

1) 微胶囊表面油含量(m_1)。

精确称取 1 g 微胶囊样品放入烧杯中,加入 15 mL 正己烷并持续震荡 2 min,使用滤纸进行过滤。用 10 mL 正己烷清洗烧杯,重复过滤 3 次。使用同样的方法,用 10 mL 正己烷清洗滤纸表面。将所有收集的正己烷溶液在 50 ℃ 下加热以挥发溶剂,再在 105 ℃ 下烘干至恒重,得到表面油含量 m_1 。

2) 总油含量(m_2)。

精确称取 1 g 微胶囊样品置于烧杯中,加入 20 mL 浓度为 4 mol/L 的 HCl,在 60 ℃ 的水浴中持续搅拌 3 h。加入 40 mL 正己烷,在室温下持续搅拌 2 h。过滤上清液,并向烧杯中加入 20 mL 正己烷,摇匀后再次过滤(重复此过程 3 次)。使用 20 mL 正己烷清洗滤纸表面。收集的正己烷溶液在水浴中加热以挥发溶剂,然后在 105 ℃ 下烘干至恒重,得到总油含量 m_2 。

鱼油包埋率计算公式为:

$$\text{包埋率} = \frac{m_2 - m_1}{m_2} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.10 鱼油微胶囊的表面形态观察

参考 Zhou 等^[18]的方法,精确称取 10 mg 微胶

囊,利用双面胶将微胶囊固定在样品板上并真空喷金,在加速电压 15 kV 下利用扫描电镜观察并捕获微胶囊的表面形态特征。

1.2.11 鱼油微胶囊的体外胃肠模拟消化

体外胃肠模拟消化参考李楠^[19]和白春清等^[20]的方法进行。

准确称取 0.015 g CaCl_2 和 0.1 g 淀粉酶溶于 150 mL 蒸馏水中,使用浓度为 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 调整 pH 至 7.0。精确称取 1 g 微胶囊,加入 20 mL 模拟唾液,在 37 ℃、150 r/min 条件下水浴消化 2 min。准确称取 0.2 g NaCl 溶解于 90 mL 蒸馏水中,用浓度为 1 mol/L HCl 调节 pH 至 1.2,加入 0.32 g 胃蛋白酶(酶活 30 000 U/g),随后用蒸馏水定容至 100 mL,得到模拟胃液。使用浓度为 1 mol/L HCl 将上述模拟口腔后的消化液的 pH 调至 1.2,加入 50 mL 模拟胃液,在 37 ℃、150 r/min 下水浴消化 2 h。精确称取 0.68 g K_2HPO_4 溶解于 90 mL 蒸馏水中,用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 6.8,加入 1 g 胰蛋白酶(酶活 250 000 U/mg),并用蒸馏水定容至 100 mL,即得模拟肠液。利用浓度为 1 mol/L NaOH 将上述模拟胃消化液的 pH 调节至 6.8,加入 50 mL 模拟肠液,在 37 ℃、150 r/min 下水浴消化 2 h。模拟肠期消化结束后,立即将消化产物置于冰浴中 10 min 以钝化酶活,向消化液加入 30 mL 正己烷进行震荡,经分液和过滤后,将收集的正己烷溶液水浴加热直至完全挥发,再在 105 ℃ 下烘干至恒重,以确定最终的油释放率。

1.2.12 鱼油微胶囊的贮藏稳定性测定

称取一定量微胶囊放置于 30 ℃ 贮藏,每 2 天收集 1 次样品并测试表面油含量,计算鱼油保留率。

1.3 统计分析

所有测试平行进行 3 次。结果以“平均数±标准差”表示。 $P < 0.05$ 水平差异为显著。使用 SPSS 24.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 鲢鱼内脏的基本成分组成

鲢鱼内脏的脂肪、粗蛋白、水分、灰分和碳水化合物的质量分数分别为 16.79%、5.73%、67.27%、4.93%、5.28%。由此可知,鲢鱼内脏是制备鱼油的良好来源。

2.2 不同蛋白酶对鱼油提取率的影响

3种蛋白酶的鱼油提取率分析显示,Protamex®1.6的鱼油提取率(74.83%)显著高于Neutrase®0.8L(提取率68.65%)和Novozym®11039(提取率61.19%)。因此,后续鱼油提取试验选用Protamex®1.6作为蛋白酶进行。

2.3 单因素试验分析

蛋白酶添加量、酶解时间和料液比对鱼油提取率的影响见图1。

2.3.1 蛋白酶添加量对鱼油提取率的影响

当Protamex®1.6的添加量为2 000~6 000 U(每1 g样品蛋白质加入蛋白酶的量,全文同)时,鱼油的提取率随蛋白酶添加量的增大而增大。然而,当蛋

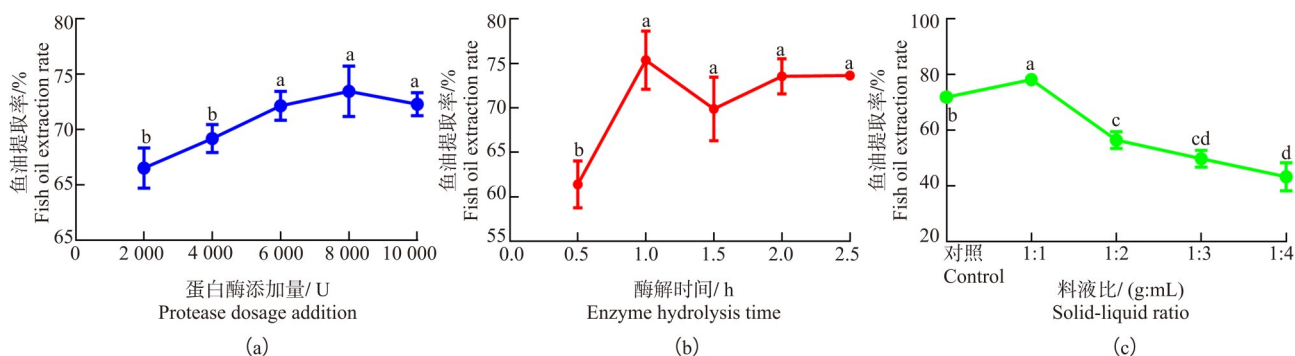
白酶添加量进一步增至8 000 U及10 000 U时,鱼油提取率并未显著性改变(图1(a))。因此,本研究选定Protamex®1.6的最佳添加量为6 000 U。

2.3.2 酶解时间对鱼油提取率的影响

酶解时间为0.5~1.0 h,鱼油提取率随时间延长而增加。当酶解时间延长至1.5~2.5 h时,与1.0 h相比,鱼油提取率未显示显著性差异(图1(b))。因此,确定最佳酶解时间为1.0 h。

2.3.3 料液比对鱼油提取率的影响

当料液比 ≤ 1 g:1 mL时,鱼油提取率随料液比的增加而逐步提高;然而,当料液比继续增大至1 g:2 mL~1 g:4 mL时,鱼油提取率反而下降(图1(c))。因此,确定最优料液比为1 g:1 mL。



不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),竖直线表示标准差。图4和图6同。

Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$), and vertical lines indicate standard deviation. Same as in Figs 4 and 6.

Same as in Figs 4 and 6.

图1 蛋白酶添加量(a)、酶解时间(b)和料液比(c)对鱼油提取率的影响

Fig. 1 Effect of protease dosage addition (a), enzyme hydrolysis time (b), and solid-liquid ratio (c) on the fish oil extraction rate

2.4 响应面优化试验分析

2.4.1 Box-Behnken响应面模型建立及分析

基于单因素试验结果,选定Protamex®1.6添加量(X_1)、酶解时间(X_2)以及料液比(X_3)为自变量,鱼油提取率(Y)为响应值。运用Box-Behnken设计原理,对3个因素进行3水平试验设计(表3),对试验结果拟合后,得到鱼油提取率的多元回归方程为:

$$Y = 71.79 + 3.85X_1 + 0.8338X_2 - 9.86X_3 - 1.44X_1X_2 - 2.36X_1X_3 - 3.19X_2X_3 - 4.58X_1^2 - 1.64X_2^2 - 11.47X_3^2$$

使用Design-Expert 13软件对回归模型进行方差分析,结果见表4。模型 $P < 0.01$,表明模型具有极显著性;失拟项 $P > 0.05$,表明失拟不显著;模型

决定系数 $R^2 = 0.96$,说明模型拟合精度高,能有效预测试验结果。在该模型中,一次项蛋白酶添加量(X_1)和料液比(X_3)对鱼油提取率的影响极显著($P < 0.01$)。二次项 X_1^2 对鱼油提取率差异显著($P < 0.05$), X_3^2 对鱼油提取率差异极显著($P < 0.01$)。综合 F 分布和 P 分析可见,影响鱼油提取率的主要因素顺序为: X_3 (料液比) $> X_1$ (蛋白酶添加量) $> X_2$ (酶解时间)。

2.4.2 Box-Behnken响应面设计结果分析

3种因素两两交互作用对鱼油提取率的影响见图2。 X_1 和 X_3 相互作用及 X_2 和 X_3 相互作用曲线,比 X_1 和 X_2 的相互作用曲线更加陡峭,但差异统计不显著($P > 0.05$),表明蛋白酶添加量,酶解时间和料液比两两间交互作用不显著,这与表4的结果一致。

表3 Box-Behnken 试验方案及试验结果

Table 3 Box-Behnken experimental protocol and experimental results

序号 Number	因素水平 Factor level			鱼油提取率/% Fish oil extraction rate
	x_1	x_2	x_3	
1	-1	0	-1	65.02
2	0	-1	-1	67.52
3	0	1	-1	77.30
4	1	0	-1	81.32
5	-1	-1	0	66.45
6	-1	1	0	70.34
7	0	0	0	78.12
8	0	0	0	77.44
9	0	0	0	79.52
10	0	0	0	74.12
11	0	0	0	80.36
12	1	-1	0	75.11
13	1	1	0	72.75
14	-1	0	1	44.78
15	0	-1	1	56.99
16	0	1	1	52.91
17	1	0	1	50.86

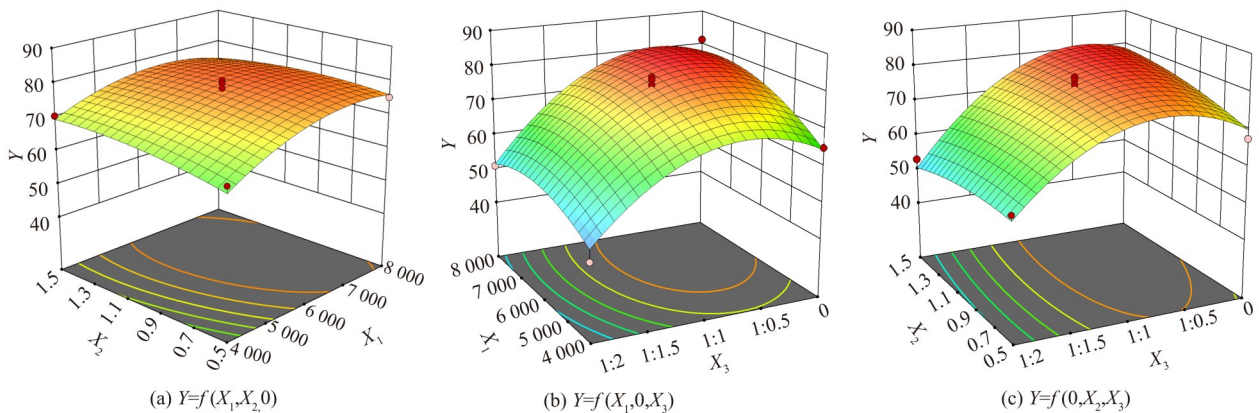
注: x_1 、 x_2 、 x_3 分别为蛋白酶添加量、时间、料液比的水平值。
Note: x_1 , x_2 , and x_3 are the horizontal values of protease addition, time, and solid-liquid ratio, respectively.

表4 鱼油提取回归模型的方差分析

Table 4 Analysis of variance of the regression model for fish oil extraction

方差来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F	P
模型 Model	1 946.76	9	218.31	21.07	$<0.01^{**}$
X_1	139.86	1	139.86	13.50	$<0.05^*$
X_2	6.53	1	6.53	0.64	0.45
X_3	916.35	1	916.35	88.46	$<0.01^{**}$
X_1X_2	9.77	1	9.77	0.94	0.36
X_1X_3	26.11	1	26.11	2.52	0.16
X_2X_3	48.02	1	48.02	4.64	0.07
X_1^2	103.89	1	103.89	10.03	$<0.05^*$
X_2^2	13.37	1	13.37	1.29	0.29
X_3^2	652.62	1	652.62	63.00	$<0.01^{**}$
残差 Residual	72.51	7	10.36		
失拟项 Lack of fit	49.29	3	16.43	2.83	0.17
纯误差 Pure error	23.22	4	5.81		
总离差 Cor total	2 037.28	16			
决定系数 R^2	0.96				

注:*和**分别表示显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)。
Note: * and ** indicate significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$), respectively.



X_1 , 蛋白酶添加量, U; X_2 , 酶解时间, h; X_3 , 料液比, g : mL; Y, 鱼油提取率, %。
 X_1 : protease dosage addition, U; X_2 : enzyme hydrolysis time, h; X_3 : solid-liquid ratio, g : mL; Y, fish oil extraction rate, %.

图 2 不同因素交互作用对鱼油提取率的响应面图

Fig. 2 Response surface maps of different factor interactions on fish oil extraction rate.

2.4.3 Box-Behnken 响应面最优结果验证

根据 Box-Behnken 响应面模型的优化预测,得到的最佳鱼油提取条件为:蛋白酶添加量 6 942.045 U, 酶解时间 1.296 h, 料液比 1 g:0.440 mL。在此条件下预测鱼油提取率为 82.17%。结合实际操作可行性,在蛋白酶添加量 7 000 U,酶解时间 1.3 h,料液比 5 g:2 mL 的试验条件下进行 3 组平行试验。试验结果显示,鱼油的提取率为 $(81.09 \pm 1.22)\%$,表明 Box-Behnken 模型的预测与实际结果相吻合,显著提升了鱼油的提取率,从基线的 60% 增加到 81%。

2.5 鱼油精炼前后的品质分析

精炼对鱼油外观的影响见图 3。利用优化后的条件提取的粗鱼油经过脱胶,脱酸,脱色,脱臭等精炼步骤后,鱼油品质显著改善。精炼后的鱼油色泽由原来的黄棕色和浑浊转变为透亮且清澈。此外,精炼前后的鱼油酸价从 18.38 mg/g 降至 14.16 mg/g,过氧化值从 0.41 g/100 g 降至 0.26 g/100 g。这些



图 3 鱼油精炼前后的表现

Fig. 3 Appearances of fish oil before and after refining

变化说明精炼工艺能有效提升鱼油的质量。

2.6 鱼油微胶囊包埋工艺分析

通过复凝聚法制备的鱼油微胶囊在不同 pH 条件下的包埋率存在显著差异(图 4)。当 pH 为 3.6~4.0 时,包埋率逐渐增大,pH4.0 时达到最高,为 $(90.95 \pm 1.02)\%$ 。然而,当 pH 进一步增大至 4.2 时,包埋率显著下降。基于这一结果确定最适 pH4.0 进行后续的鱼油微胶囊包埋试验。

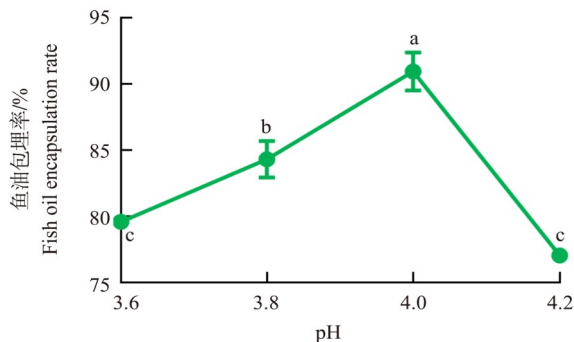


图 4 pH 对鱼油包埋率的影响

Fig. 4 Effect of pH on fish oil encapsulation rate

2.7 鱼油微胶囊的表现形态分析

图 5 示出鱼油微胶囊的表现形态和微观形态,微胶囊外观呈现为均匀的疏松粉末状,色泽浅黄。扫描电镜图像显示,在 150,500 以及 1 000 的放大倍数下观察,微胶囊大小相对均匀,形态完整,呈现致密的球形结构。这些结果表明所采用的包埋工艺能有效完整地包裹鱼油,保证了良好的包埋效果。

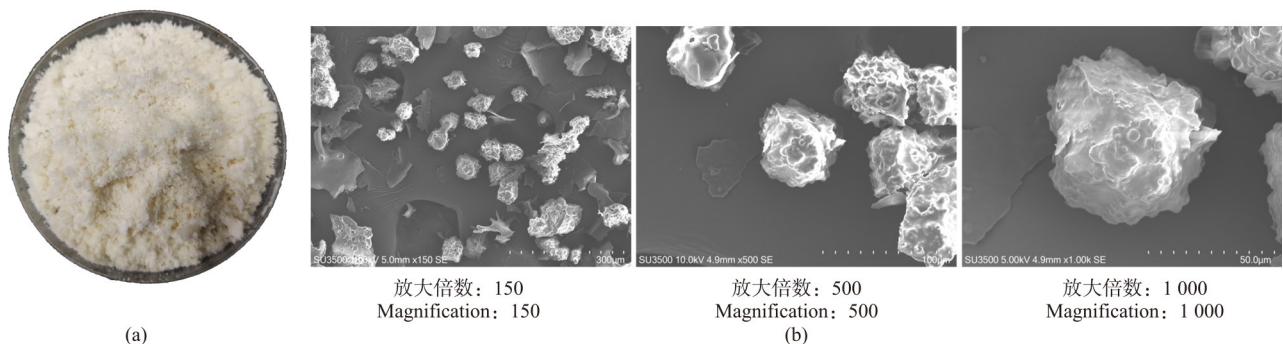


图5 鱼油微胶囊的外观(a)及微观结构(b)

Fig. 5 Appearance (a) and microstructure (b) of fish oil microcapsules

2.8 鱼油微胶囊体外胃肠模拟消化分析

微胶囊在模拟口腔消化 2 min 和模拟胃消化 2 h 后,鱼油释放率仅为 10.69%。继续在模拟肠消化 2 h 后,鱼油总释放率达 46.4%。这表明微胶囊能在肠道中实现定向释放,从而提高了鱼油在小肠的吸收率。

2.9 鱼油微胶囊的贮藏稳定性

微胶囊在 30 ℃ 条件下贮藏 10 天,鱼油的保留率维持在 99% 以上(图 6)。这一结果说明,微胶囊技术能有效延长鱼油的贮藏稳定性,保持其品质。

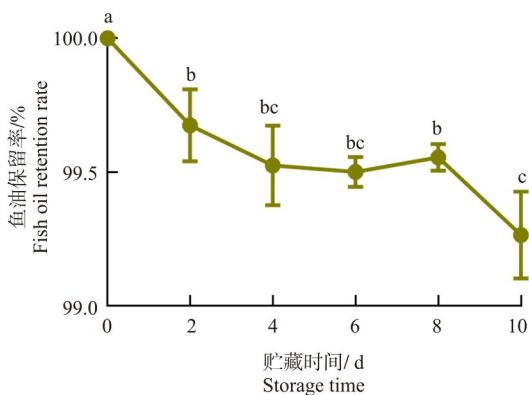


图6 鱼油保留率随贮藏时间的变化

Fig. 6 Variations in fish oil retention rate with storage time

3 讨论

3.1 鲢鱼内脏鱼油提取工艺的优化分析

酶解提取鱼油的原理是利用蛋白酶促进内脏中蛋白质的水解,从而释放出被蛋白质包裹的脂肪,达到鱼油提取的目的^[12]。不同蛋白酶由于对肽键的特异性不同,水解效果有所区别,蒋璇靛等^[21]

对沙丁鱼内脏鱼油以及王正云等^[22]对草鱼内脏鱼油的研究证实了这一点。本试验中,蛋白酶 Protamex®1.6 因其对鲢鱼内脏蛋白质具有更高的水解特异性,显示出较高的鱼油提取率。

在酶法提取鱼油过程中,蛋白酶的添加量、酶解时间以及料液比对鱼油的提取率及生产成本均有显著影响。当蛋白酶的初始浓度较低时,增加蛋白酶的添加量可以提高鱼油提取率,这是由于底物蛋白质的浓度较蛋白酶为高。然而,蛋白酶添加过量时,过高的水解度会促进乳状液的形成,这不利于脂肪的释放并可能降低蛋白酶的活性,王正云等^[23]对青鱼内脏鱼油及张喆等^[24]对大黄鱼内脏鱼油的研究支持了这一观点。酶解时间同样是一个关键变量,适当延长酶解时间可以增强蛋白酶与内脏蛋白质的相互作用,从而更有效地破坏蛋白质与脂肪的结合,提高鱼油提取率^[25]。料液比也是一个重要的试验参数,适当的水添加量有利于底物与酶的充分接触,促进脂肪分子的释放。然而,水添加量过高则会导致酶浓度的降低,减少其与底物蛋白的有效接触,从而降低提取率,这一点在沙丁鱼^[21]和大黄鱼内脏鱼油的提取^[24]的研究中也得到了体现。

3.2 鲢鱼内脏鱼油微胶囊制备及性质分析

pH 是鱼油-明胶-六偏磷酸钠复凝聚微胶囊形成的关键因素,具体来说,只有在特定的 pH 范围内,六偏磷酸钠与明胶之间静电相互作用才能有效发生^[26]。在酸性环境中,六偏磷酸钠始终保持负电荷,其电荷量与 pH 变化无关。相对地,明胶在酸性

条件下带正电荷,其电荷强度会随着pH的上升而减弱^[17]。本研究发现,当溶液体系的pH控制在3.6~4.0时,随着pH的升高,明胶的正电荷增加;在pH达到4.0之前,过高的正电荷可能导致形成的复合物之间出现较大的静电排斥作用,进而降低包埋率^[27]。当pH超过4.0后,明胶的正电荷减少,与六偏磷酸钠的静电相互作用减弱,也会导致包埋率的降低。因此,当pH恰好达到4.0时,明胶与六偏磷酸钠之间的相互作用最强烈,实现最大鱼油包埋率。

鱼油微胶囊的消化特性和贮藏稳定性是其在食品工业中潜在应用的重要指标。在本研究中,鱼油在肠的释放率显著高于胃。胃液消化过程中,由于明胶在低pH环境下易发生水解,微胶囊表面的电荷减少,无法维持足够的静电排斥力,导致微胶囊颗粒出现絮凝或聚结,在模拟胃液中的释放率降低^[28]。进入肠后,系统的pH由酸性转变为近中性,明胶由正电荷转变为负电荷,与六偏磷酸钠的负电荷相斥,导致复凝聚体系被破坏,从而促进鱼油的释放。同时,胰蛋白酶的活性也促进了明胶的进一步水解,提高了鱼油的释放率。本研究在30℃的条件下贮藏的鱼油微胶囊展现出良好的稳定性,10天内鱼油保留率始终维持在99%以上。这表明微胶囊技术通过形成保护层,在显著减少氧气和光的接触的同时,延长了产品的货架期。这些研究结果表明,开发的鱼油微胶囊具备在食品工业中进行定向和缓慢释放的潜力,预示着其广泛应用的可能性。

4 结 论

本研究通过Box-Behnken响应面分析优化了鲢鱼内脏鱼油提取工艺,并探究明胶-六偏磷酸钠复凝聚微胶囊的制备及模拟消化对其影响,主要结论如下:通过优化酶法提取条件显著提升了鲢鱼内脏鱼油的提取率,在最佳条件下:Protamex®1.6添加量为7 000 U(每1 g样品蛋白质中蛋白酶的添加量),酶解时间1.3 h,以及料液比5 g:2 mL,鱼油的提取率达到81.09%。进一步研究显示,在pH 4.0时,明

胶与六偏磷酸钠的复凝聚体系能最大化鱼油的包埋率,达到90.95%。此外,体外胃肠模拟消化和贮藏稳定性试验均显示明胶-六偏磷酸钠微胶囊有效地保护了鱼油,并实现了其缓释和控释,这对于提高鱼油产品的稳定性和消费者接受度具有重要意义。因此,建议食品工业采用此微胶囊技术,以优化鱼油产品的市场表现。尽管这些发现具有有效性,但目前仅限于实验室层面,未来研究应探索其在工业规模应用的可行性及面临的挑战。

参考文献 References

- [1] 任中阳, 龙斯宇, 康宁哲, 石林凡, 翁武银, 黄琪琳. 鲢鱼糜漂洗液中不同回收方式肌浆蛋白的结构和功能特性[J]. 食品科学, 2024, 45(7): 225-232
Ren Z Y, Long S Y, Kang N Z, Shi L F, Weng W Y, Huang Q L. Structural and functional properties of sarcoplasmic proteins from silver carp surimi wash water recovered by different methods [J]. *Food Science*, 2024, 45(7): 225-232 (in Chinese)
- [2] 王海磊, 罗庆华, 黄美娥, 王苗苗, 吴沛霖, 向建国. 鲢鱼内脏油提取方法的比较研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(24): 248-252, 257
Wang H L, Luo Q H, Huang M E, Wang M M, Wu P L, Xiang J G. Study on comparison of extraction methods on fish oil from the viscera of silver carp[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(24): 248-252, 257(in Chinese)
- [3] de Oliveira D A S B, Licodiedoff S, Furigo A Jr, Ninow J L, Bork J A, Podestá R, Block J M, Waszczynskyj N. Enzymatic extraction of oil from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products: A comparison with other extraction methods[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(3): 699-705
- [4] García-Moreno P J, Morales-Medina R, Pérez-Gálvez R, Bandarra N M, Guadix A, Guadix E M. Optimisation of oil extraction from sardine (*Sardina pilchardus*) by hydraulic pressing[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2014, 49(10): 2167-2175
- [5] Rubio-Rodríguez N, de Diego S M, Beltrán S, Jaime I, Sanz M T, Rovira J. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 109(2): 238-248
- [6] Klomklao S, Benjakul S. Utilization of tuna processing byproducts: Protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2017, 41(3): e12970
- [7] 邵娜, 刘学军. 胰蛋白酶法提取草鱼内脏鱼油工艺优化[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 110-113
Shao N, Liu X J. Response surface methodology for the optimization of enzymatic extraction of fish oil from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) viscera using trypsin [J]. *Food Science*, 2013, 34(2): 110-113(in

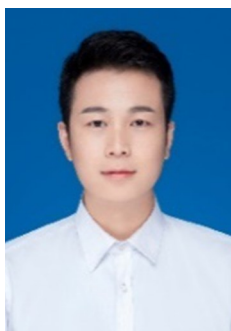
- Chinese)
- [8] 付雪媛, 钟宏, 宋文山, 李八方. 章鱼内脏鱼油的提取及品质分析[J]. 中国油脂, 2020, 45(5): 17-22
- Fu X Y, Zhong H, Song W S, Li B F. Extraction and quality analysis of octopus viscera fish oil[J]. *China Oils and Fats*, 2020, 45(5): 17-22(in Chinese)
- [9] 王倩倩, 吕顺, 陆剑锋, 姜绍通, 林琳. 酶法提取罗非鱼内脏鱼油及脂肪酸组成分析[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(9): 72-78
- Wang Q Q, Lü S, Lu J F, Jiang S T, Lin L. Extraction of fish oil from *Tilapia* viscera by enzyme and analysis of fatty acid composition [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2015, 30(9): 72-78 (in Chinese)
- [10] Khoshnoudi-Nia S, Forghani Z, Jafari S M. A systematic review and meta-analysis of fish oil encapsulation within different micro/nanocarriers [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(8): 2061-2082
- [11] 张慧娟, 刘月, 罗永康, 洪惠, 谭雨青. 鲢鱼加工副产物的酶解产物对益生菌生长特性的影响[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(4): 147-158
- Zhang H J, Liu Y Y, Luo Y K, Hong H, Tan Y Q. Effects of hydrolysates made from silver carp processing by-products on the growth of probiotics [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(4): 147-158 (in Chinese)
- [12] 李佳佳, 张见, 刘元法. 水酶法提取虹鳟鱼骨中鱼油工艺条件及优化[J]. 食品工业, 2023, 44(11): 65-68
- Li J J, Zhang J, Liu Y F. Optimization of process conditions for extracting fish oil from *Oncorhynchus mykiss* bones by enzymatic hydrolysis[J]. *The Food Industry*, 2023, 44(11): 65-68(in Chinese)
- [13] 吴永祥, 雍张, 王茜, 吴丽萍, 胡长玉. 鳊鱼内脏副产物中鱼油的精炼及其品质分析[J]. 食品与机械, 2022, 38(9): 204-210, 226
- Wu Y X, Yong Z, Wang Y, Wu L P, Hu C Y. Refining and quality analysis of fish oil from mandarin fish viscera byproducts[J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(9): 204-210, 226(in Chinese)
- [14] 洪鹏志, 刘书成, 章超桦, 吉宏武. 金枪鱼油的精炼及其脂肪酸组成特征[J]. 中国油脂, 2006, 31(6): 90-93
- Hong P Z, Liu S C, Zhang C H, Ji H W. Refining of tuna oil and its fatty acid compositions [J]. *China Oils and Fats*, 2006, 31(6): 90-93 (in Chinese)
- [15] GB 5009.229—2016 食品安全国家标准 食品中酸价的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016
- GB 5009.229—2016 National standard for food safety determination of acid value in food[S]. Beijing: Stands Press of China, 2016 (in Chinese)
- [16] GB 5009.227—2023 食品安全国家标准食品中过氧化值的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023
- GB 5009.227—2023 National standard for food safety determination of peroxide value in food [S]. Beijing: Stands Press of China, 2023 (in Chinese)
- [17] Yang M Y, Peng J W, Zi Y, Shi C P, Kan G Y, Wang X C, Zhong J. Encapsulation of fish oil by complex coacervation and freeze drying with modified starch aid[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 137: 108371
- [18] Zhou Y J, Ding N, Zhang Y, Zhang H J, Hong H, Luo Y K, Tan Y Q. Plastein reaction augments the metal chelating capabilities of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) hydrolysates: Unlocking the chemical modification mechanism[J]. *Food Chemistry*, 2024, 438: 138030
- [19] 李楠, 孙丞, 杨春杰, 李云杰, 孙元琳, 周素梅. 模拟消化中小扁豆活性物质释放和抗氧化能力变化 [J]. 中国粮油学报, 2024, 39(6): 59-66
- Li N, Sun C, Yang C J, Li Y J, Sun Y L, Zhou S M. Active substances release and antioxidant capacity change of lentil during simulated digestion [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2024, 39(6): 59-66 (in Chinese)
- [20] 白春清. 功能性油脂微纳米胶囊的制备及其性能评价[D]. 南昌: 南昌大学, 2014
- Bai C Q. Preparation and performance evaluation of functional oil micro-nano capsules[D]. Nanchang: Nanchang University, 2014 (in Chinese)
- [21] 蒋璇靛, 李鑫森, 陈洪彬, 郭娟娟, 林雯, 郭凤仙, 郑宗平. 酶法提取沙丁鱼内脏鱼油工艺优化及其品质分析[J]. 中国油脂, 2023, 48(11): 14-19
- Jiang X J, Li X M, Chen H B, Guo J J, Lin L, Guo F X, Zheng Z P. Optimization of enzymatic extraction of fish oil from sardine viscera and its quality analysis [J]. *China Oils and Fats*, 2023, 48(11): 14-19 (in Chinese)
- [22] 王正云, 刘子潇, 展跃平. 超声波辅助酶法提取草鱼内脏鱼油工艺优化及脂肪酸组成分析[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 190-195
- Wang Z Y, Liu Z X, Zhan Y P. Study on ultrasonic assisted enzymatic extraction of grass carp visceral oil and analysis of its fatty acid composition[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(9): 190-195(in Chinese)
- [23] 王正云, 蒋慧亮, 周洁, 戚楚叶. 微波辅助酶法提取青鱼内脏鱼油工艺优化及脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(3): 182-187
- Wang Z Y, Jiang H L, Zhou J, Qi C Y. Technological optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of fish oil from black carp viscera and analysis of fatty acid composition [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(3): 182-187(in Chinese)
- [24] 张喆, 梁鹏, 许艳萍, 孙雨晖. 酶解法提取大黄鱼内脏鱼油的工艺研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(1): 112-116
- Zhang Z, Liang P, Xu Y P, Sun Y H. Study on enzymatic extraction technology of oil from large yellow croaker viscera [J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(1): 112-116(in Chinese)
- [25] 顾盼祺, 魏晓倩, 赵利, 陈丽丽, 江勇, 白春清, 袁美兰. 酶法提取淡水鱼内脏鱼油的工艺优化 [J]. 中国调味品, 2021, 46(3): 95-99
- Gu P Q, Wei X Q, Zhao L, Chen L L, Jiang Y, Bai C Q, Yuan M L. Optimization of enzymatic extraction of offal oil from fresh water fish [J]. *China Condiment*, 2021, 46(3): 95-99 (in Chinese)
- [26] Wang B, Adhikari B, Barrow C J. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation[J]. *Food Chemistry*, 2014, 158: 358-365
- [27] 侯岭. 明胶与六偏磷酸钠的复凝聚研究[J]. 农业与技术, 2023, 43(21): 27-32
- Hou L. Study on the complex coagulation of gelatin and sodium hexametaphosphate [J]. *Agriculture and Technology*, 2023, 43(21): 27-32(in Chinese)

[28] 毕成名, 徐丽梅, 祁百巍, 陈炼红. 牦牛酥油微胶囊的制备及其特性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(23): 226-235

of yak ghee microcapsules [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(23): 226-235 (in Chinese)

Bi C M, Xu L M, Qi B W, Chen L H. Preparation and characterization

责任编辑: 刘迎春



第一作者简介:周勇杰, 中国农业大学食品科学与营养工程学院在读博士生。主要研究方向为水产品加工副产物高值化利用, 蛋白肽营养功能评价。以第一作者发表SCI论文8篇。



通讯作者简介:谭雨青, 中国农业大学食品科学与营养工程学院副教授, 博士生导师, 中国科协第七届青年人才托举工程托举对象。硕士、博士毕业于密西西比州立大学, 并在美国农业部西部地区研究中心健康食品加工研究组进行博士后研究工作。中国水产学会青年委员, 中国营养学会海洋食品营养与健康分会理事, 《肉类研究》青年编委。主要研究领域及方向为: 水产品蛋白质功能特性研究; 水产品加工副产物高值化利用研究及产品开发; 动物源蛋白肽及天然产物功能活性评价。近年来在本领域国际主流学术期刊上发表论文40余篇, 主持国家重点研发计划中美国际合作项目1项, 国家自然科学基金青年项目1项、北京市自然科学基金面上项目1项, 国家重点研发项目子课题2项, 横向项目8项, 作为骨干参与现代农业产业技术体系大宗淡水鱼加工研究室质量安全与营养品质评价岗位工作。申请发明专利12项, 总策划《大国渔业》系列科普视频网络播放量超过2 000万次, 参与出版专著1部。以主要参与人和主持人获得教育部科技进步二等奖和中国商业联合会科技进步一等奖各1项。