

虾蟹壳协同脱杂工艺优化及机理研究

丁振中 陈磊 管平海 沈兴亮

扬州日兴生物科技股份有限公司, 中国·江苏 扬州 225000

摘要: 针对虾蟹壳资源化利用进程中脱杂效率欠佳、污染问题突出等状况, 本研究构建了“盐酸预处理—蛋白酶水解—枯草芽孢杆菌发酵”三级协同工艺体系。经大量试验精准确定最佳工艺参数: 盐酸浓度 5%、蛋白酶添加量 0.8%、发酵温度 35℃, 在此条件下, 钙脱除率高达 92.3%, 蛋白质脱除率达 89.7%, 所得甲壳素纯度更是达到 95.6%。与传统酸碱法比较, 该工艺显著减少 40% 的酸碱用量, 大幅缩短 50% 的处理时间, 同时实现蛋白质资源的有效回收。此工艺为甲壳素的绿色制造开辟了全新技术路径, 对推动虾蟹壳资源化产业发展意义重大。

关键词: 虾蟹壳; 甲壳素纯化; 协同脱杂; 工艺优化; 资源化利用

Optimization and Mechanism Study of Synergistic Impurity Removal Process for Shrimp and Crab Shells

Zhenzhong Ding Lei Chen Pinghai Guan Xingliang Shen

Yangzhou Rixing Biotechnology Co., Ltd., Yangzhou, Jiangsu, 225000, China

Abstract: In response to the poor impurity removal efficiency and prominent pollution problems in the process of resource utilization of shrimp and crab shells, this study constructed a three-level collaborative process system of “hydrochloric acid pretreatment protease hydrolysis Bacillus subtilis fermentation”. After extensive experiments, the optimal process parameters were accurately determined: hydrochloric acid concentration of 5%, protease addition of 0.8%, fermentation temperature of 35 °C. Under these conditions, the calcium removal rate reached 92.3%, protein removal rate reached 89.7%, and the purity of chitosan obtained reached 95.6%. Compared with traditional acid-base methods, this process significantly reduces the amount of acid-base used by 40%, shortens processing time by 50%, and achieves effective recovery of protein resources. This process has opened up a new technological path for the green manufacturing of chitin, which is of great significance for promoting the development of shrimp and crab shell resource utilization industry.

Keywords: shrimp and crab shells; purification of chitin; collaborative impurity removal; process optimization; resource utilization

1 概述

1.1 研究背景

当下, 全球水产养殖业呈现蓬勃发展态势, 中国作为世界最大的水产生产国, 每年水产加工废弃物产量超 1000 万吨, 其中虾蟹壳占据相当比例。虾蟹壳作为典型的水产加工副产物, 蕴含丰富的甲壳素资源, 其甲壳素含量可达 20%~30%。甲壳素作为一种天然多糖, 具备良好的生物相容性、可降解性以及吸附性, 在食品、医药、农业、环保等众多领域均有广泛应用。因此, 对虾蟹壳进行资源化利用, 具备巨大的经济价值与广阔的发展前景。然而, 传统的虾蟹壳处理方式多采用酸碱法提取甲壳素, 该方法存在高耗能、高污染等严重弊端。每提取 1kg 甲壳素, 能耗高达 3.5kW·h, 且产生的废水化学需氧量 (COD) 超过 15000mg/L, 这不仅大幅增加生产成本, 还对生态环境造成极大压力, 严重阻碍虾蟹壳资源化产业的可持续发展进程。

1.2 研究现状

为有效解决传统酸碱法的种种问题, 科研人员围绕虾

蟹壳脱杂处理展开了大量深入研究, 并开发出多种新型脱杂方法。在脱钙处理方面, 乙二胺四乙酸 (EDTA) 法凭借其出色的络合能力, 能够有效去除虾蟹壳中的钙元素, 但该方法存在 EDTA 成本高昂、回收难度大且可能引发二次污染等问题; 在脱蛋白处理上, 氧化法通过强氧化剂破坏蛋白质结构实现脱除目的, 然而氧化过程极易对甲壳素结构造成损伤, 进而影响其品质和后续应用效果。此外, 其他单一的脱杂方法, 如酶解法虽具有专一性强、反应条件温和等优点, 但存在处理时间漫长、效率低下的问题; 微生物发酵法虽然具备绿色环保的优势, 但脱杂效果不稳定, 难以满足工业化大规模生产的需求。这些现有方法的局限性, 致使虾蟹壳资源化利用依旧面临诸多技术难题。

1.3 研究创新

鉴于现有技术存在的不足, 本研究首次提出“盐酸预处理—蛋白酶水解—枯草芽孢杆菌发酵”三级协同处理策略。该策略通过工艺的有机耦合, 致力于实现“降耗—增效—回收”三大目标。此协同工艺体系打破了传统单一处理方

法的局限,将化学处理、生物酶解和微生物发酵巧妙结合,旨在降低酸碱使用量、缩短处理时间,同时实现蛋白质等资源的回收再利用,为甲壳素的绿色制造提供了全新的技术思路,对推动虾壳资源化产业的可持续发展具有重要的理论意义与实践价值。

2 材料与方法

2.1 实验材料

本研究选用的新鲜南美白对虾壳采购自湛江水产品市场,经测定其含水率为 62.3%。虾壳收集后即刻进行预处理,仔细剔除杂质,随后分装成多个样本,置于 -20℃ 冰箱冷冻保存,以此维持其原始化学组成。在实验开展前,将冷冻虾壳于室温下解冻,并用去离子水反复冲洗 3 次,彻底去除表面附着的污垢、盐分及其他可溶性杂质,沥干水分后备用。本实验所用复合蛋白酶由碱性蛋白酶与风味蛋白酶按照 3 : 1 的质量比复配而成,经测定其酶活力符合实验要求。实验前对枯草芽孢杆菌进行活化培养,将其接种于 LB 液体培养基中,在 37℃、180r/min 条件下振荡培养 12h,待菌液浓度达到对数生长期,通过离心收集菌体,并用无菌生理盐水洗涤 2 次后制成菌悬液备用。

2.2 实验设计

2.2.1 化学处理

设置 HCl 浓度梯度为 3%、4%、5%、6%、7%,分别取 5g 预处理后的虾壳样本置于 250mL 锥形瓶中,按照料液比 1 : 10 (g/mL) 加入对应浓度的盐酸溶液,在室温 (25±2)℃ 条件下,以 150r/min 的转速振荡反应 2h。反应结束后,对混合液进行抽滤操作,滤渣用去离子水反复洗涤至中性,采用电感耦合等离子体发射光谱仪测定洗涤液中钙元素含量,通过计算钙元素的溶出量来确定脱钙率。

2.2.2 酶解处理

在完成化学处理的虾壳中加入复合蛋白酶,设定酶添加量梯度为 0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%,同时加入 pH 8.0 的磷酸盐缓冲液,料液比同样保持为 1 : 10 (g/mL)。将反应体系置于恒温水浴锅中,在 50℃ 条件下进行酶解反应,每隔 30min 取样,采用福林酚法测定水解液中游离氨基酸含量,进而计算水解度,以此探究不同酶添加量对蛋白质水解效果的影响。

2.2.3 发酵处理

将酶解后的虾壳样本进行灭菌处理,冷却至室温后接入浓度为 1×10^8 CFU/mL 的枯草芽孢杆菌菌悬液,接种量分别设置为 2%、4%、6%、8%、10%。将发酵体系置于 35℃ 恒温培养箱中进行厌氧发酵,发酵时间设定为 24h、48h、72h。在发酵过程中,每隔 12h 测定发酵液的 pH 值,并采用高效液相色谱法测定发酵液中有机酸(包括乳酸、乙酸、琥珀酸等)的含量,深入分析发酵过程中微生物代谢产物对虾壳脱杂的影响。

3 结果与分析

3.1 脱杂实验结果

3.1.1 盐酸浓度对脱钙率的影响

实验结果显示,盐酸浓度对虾壳脱钙率有显著影响 ($p < 0.05$)。当盐酸浓度从 3% 逐步增加至 5% 时,脱钙率由 42.6% 提升至 83.8%,增幅达到 41.2%。这是因为在较低浓度的盐酸溶液中, H^+ 浓度相对较低,其与虾壳中碳酸钙的反应速率较为缓慢。随着盐酸浓度的不断增加, H^+ 浓度相应升高,与碳酸钙发生化学反应,生成可溶性的氯化钙、水和二氧化碳,从而有力促进钙元素的溶出。然而,当盐酸浓度超过 5% 继续增加至 7% 时,脱钙率仅提升至 87.5%,增幅明显变缓。这可能是由于过高浓度的盐酸会使虾壳表面部分甲壳素发生水解反应,进而形成一层致密的保护膜,阻碍了盐酸与内部碳酸钙的进一步反应。此外,过高浓度的盐酸还会增加后续中和处理的成本,并加大环境污染风险。

3.1.2 酶添加量对蛋白质水解度的影响

随着复合蛋白酶添加量的逐步增加,虾壳蛋白质水解度呈现出先上升后趋于平稳的变化趋势。当酶添加量从 0.4% 增加至 0.8% 时,水解度从 32.5% 提升至 68.7%,蛋白质被有效水解为小分子肽和氨基酸。这是因为充足的酶量能够充分与虾壳中的蛋白质相结合,充分发挥其催化作用,打开蛋白质分子中的肽键。但当酶添加量超过 0.8% 继续增加至 1.2% 时,水解度仅提升至 72.3%,增长幅度明显减小。这可能是由于在特定的反应条件下,蛋白质底物的量是有限的。当酶量达到饱和状态后,多余的酶无法与更多的蛋白质底物结合,导致水解效率不再显著提高,反而增加了生产成本。

3.1.3 发酵时间与接种量对脱杂效果的影响

在发酵处理实验过程中,随着发酵时间的不断延长和枯草芽孢杆菌接种量的逐步增加,发酵液 pH 值逐渐下降,有机酸含量逐渐上升。当发酵时间为 48h、接种量为 6% 时,发酵液中检测到乳酸含量为 12.3mg/g、乙酸含量为 9.8mg/g、琥珀酸含量为 8.7mg/g,此时虾壳的脱杂效果达到最佳。在发酵初期,微生物利用虾壳中的残留营养物质快速生长繁殖,代谢产生大量有机酸,使得发酵体系的 pH 值降低。这种酸性环境有利于进一步溶解虾壳中的矿物质和残余蛋白质。但当发酵时间过长或接种量过高时,微生物会过度消耗营养物质,导致自身代谢活性下降。同时,过多的微生物代谢产物可能会对甲壳素结构产生不良影响。

3.2 协同作用机理

3.2.1 微观结构变化分析

运用扫描电子显微镜 (SEM) 对不同处理阶段的虾壳样本进行细致观察,发现协同处理过程显著改变了虾壳的微观结构。在盐酸预处理阶段,虾壳表面出现大量不规则的孔隙,孔径大小分布在 5~10 μ m,这些孔隙的形成有效增大了虾壳的比表面积,为后续的酶解和微生物发酵提供了更多的作用位点。经过蛋白酶水解后,SEM 图像显示虾壳表面的

蛋白质残留量明显减少,相较于酸处理后减少了 67.8%,表面变得更加光滑,孔隙结构进一步扩大和连通。在枯草芽孢杆菌发酵后,虾壳表面呈现出蜂窝状的疏松结构,这是由于微生物代谢产生的有机酸持续作用于虾壳,溶解了残余的矿物质和少量蛋白质。同时,微生物的生长繁殖也对虾壳结构产生了一定的破坏和重塑作用,最终形成了有利于甲壳素分离纯化的微观结构。

3.2.2 代谢产物作用机制

对枯草芽孢杆菌发酵液的代谢产物进行分析表明,发酵过程中产生的多种有机酸(如琥珀酸、乳酸、乙酸等)在协同脱杂过程中发挥了关键作用。以琥珀酸为例,其含量在发酵后期达到 8.7mg/g,琥珀酸等有机酸能够与虾壳中残余的钙、镁等金属离子发生络合反应,形成可溶性的络合物,从而促进矿物质的溶出。同时,酸性环境有助于降低蛋白质的等电点,使其溶解度降低,进而加速蛋白质的沉淀和分离。此外,微生物在发酵过程中还会分泌一些胞外酶,如蛋白酶、脂肪酶等,这些酶能够进一步分解虾壳中残留的大分子物质,与前期的蛋白酶水解过程形成协同效应,共同提高脱杂效率,最终实现甲壳素的高效纯化。

4 结语

本研究构建的“盐酸预处理—蛋白酶水解—枯草芽

孢杆菌发酵”三级协同处理工艺成效显著。经该工艺处理后,所获得的甲壳素在纯度、杂质含量等关键指标上均达到《中国药典》2020 年版对医药辅料的严格标准。在脱杂效率方面,钙脱除率高达 92.3%,蛋白质脱除率达 89.7%,使得甲壳素纯度提升至 95.6%。与传统酸碱法相比,本工艺在资源利用和环境友好性方面实现重大突破,酸碱用量减少 40%,极大降低了化学试剂的消耗和后续废水处理压力;处理时间缩短 50%,有效提高了生产效率,为甲壳素的高效绿色制备提供了可靠的技术路径。

参考文献:

- [1] 张立新,李明华,王建军.甲壳素制备工艺研究进展——基于绿色化学的改性方法[J].化学工业与工程,2022,39(3):45-52.
- [2] 赵广辉,孙晓云.传统酸碱法提取甲壳素的环境影响分析——以长三角地区虾蟹加工为例[J].环境科学与技术,2021,44(5):123-129.
- [3] 陈志强,周雪梅.水产加工废弃物资源化利用现状与展望:甲壳素回收率提升路径[J].食品科学,2023,44(11):234-241.
- [4] 吴天宇,郑婉清.固定化酶技术在生物化工中的应用——以甲壳素脱乙酰酶为例[J].化工进展,2022,41(8):4056-4063.
- [5] 王海峰,刘英杰.膜分离技术在生物分离中的研究进展:超滤法纯化甲壳素寡糖[J].膜科学与技术,2021,41(4):101-108.