

酶法制备鲛鳔鱼骨超微钙粉的研究

余海霞¹, 余娟², 黄鹤勇², 杨水兵¹,
杨志坚¹, 胡亚芹^{1,3*}, 胡庆兰^{1,3}, 任西营^{1,3}

1. 浙江大学舟山海洋研究中心, 浙江 舟山 316021;
2. 中国水产舟山海洋渔业公司, 浙江 舟山 316021;
3. 浙江大学生工食品学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 为有效开发利用鲛鳔鱼骨下脚料, 实验采用酶解和超微粉碎技术从鲛鳔鱼骨中制备鱼骨超微钙粉, 并对鲛鳔鱼骨超微钙粉进行生物利用率研究。结果显示, 采用碱性蛋白酶净化鱼骨的优化条件为酶解温度 50 °C, 酶解时间 2.5 h, pH 11.0, 用酶量 1 300 U/g, 此时的净化脱除率为 33.8%; 经 100 min 粉碎后的超微钙粉粒度分布较窄, 平均粒径达到最小, 为 626.9 nm; 动物实验结果表明, 鲛鳔鱼骨超微钙粉的生物利用率较高, 经 100 min 粉碎后的超微钙粉组的钙吸收率为 79.3%~83.5%, 明显高于对照的碳酸钙组。最优条件下制备的鲛鳔鱼骨超微钙粉色泽洁白, 颗粒均匀细腻, 无异味, 钙含量达 29.5%。研究表明, 鲛鳔鱼骨超微钙粉是一种优质、安全、利用率极高的钙补充制剂。

关键词: 鲛鳔; 鱼骨; 超微钙粉; 酶解; 生物利用率

中图分类号: TS 254.9

文献标志码: A

钙是人类体内含量最丰富的矿物质元素, 其生理代谢对人体健康起着极为重要的作用。钙摄入缺乏会导致各种疾病, 特别是骨质疏松症。动物骨如猪^[1]、鸡^[2]等是目前钙制品来源的重要途径, 提取方法主要有酶、酸和碱提取法^[3]。近年来, 从水产品加工下脚料中制备高营养物质日渐受到重视, 从中获取优质钙也成为新的研究方向^[4-5]。鱼骨钙含量很高, 且属于磷酸钙, 接近于人体骨骼, 具有吸收率高、人体副反应小的优点, 是一种优质的天然钙源^[6]。鱼骨来源不同, 其结构、钙含量及钙吸收率也存在很大差异^[7], 有研究从鳕鱼^[8]、斑点叉尾鲷^[9]、鳊鱼^[10]等中制备可溶性钙、钙片。超微粉碎技术促使物料颗粒向微细化发展, 导致物料表面积和孔隙率大幅度地增加, 因此粉体具有独特的物理和化学性质, 如良好的溶解性、分散性、活性等, 应用领域十分广泛^[11-12]。它能够使产品颗粒达到人体所能吸收利用的程度, 并且保留所有

营养成分^[13]。有研究^[14-16]表明, 超微钙粉营养丰富, 粒径越小, 钙越容易吸收利用, 但对于超微鱼骨钙粉及其生物利用的研究还比较少见。

鲛鳔(*Lophius litulon*)具有极高的营养、食用与药用价值, 在日本、美国等市场深受欢迎。近年来出口需求旺盛, 产量和价格均有大幅增加。经产业化加工后所产生的大量鱼皮、鱼骨作为下脚料而被废弃^[17], 既污染环境, 又造成资源大量浪费, 因此对其下脚料的开发利用技术亟待研究。本实验以鲛鳔鱼骨为原料, 开发具有平均粒径极小、生物利用率高的鲛鳔鱼骨超微钙粉, 提高鲛鳔鱼骨的利用率及经济价值, 为海鱼鱼骨资源的高效利用提供了新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲛鳔鱼骨, 中国水产舟山海洋渔业公司提供;

收稿日期: 2012-03-24

修回日期: 2012-08-30

资助项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD38B09); 浙江省重大科技专项(2011C11016)

通讯作者: 胡亚芹, E-mail: yqhu@zju.edu.cn

Wistar 大鼠, 浙江大学动物实验中心提供, 实验动物质量合格证号: 2007000539072; 碱性蛋白酶, 诺维信(中国)生物科技有限公司提供。

DGG-9070A 鼓风干燥箱(上海森信); IKA-RH-basic1 电热恒温磁力搅拌器(德国 IKA); EF20K 酸度计(梅特勒); T6 紫外可见分光光度计(北京普析通用); HMB-7018 超微粉碎机(北京环亚天元); Nicomp380 ZLS 超细微粒度分析仪(Santa barbara, California, USA)。

1.2 实验方法

提取工艺 鲢鱼骨→剔除余肉、洗净、沥干→绞碎→酶解净化→脱腥、脱臭、脱涩→漂洗、沥干→干燥脱水→初级粉碎→过 100 目筛→粗钙粉→超微粉碎→超微钙粉。

鲢鱼骨酶解净化条件的确定 以净化脱除率表征酶解净化鱼骨的程度, 首先进行酶解温度、酶解时间、pH 值、用酶量 4 个单因素实验, 获得合适的酶解条件。在单因素实验基础上通过 $L_9(3^4)$ 进行正交实验和极差分析确定最佳组合条件。按如下公式计算净化脱除率:

$$\text{净化脱除率}(\%) = (\text{原料质量} - \text{净化后样品质量}) \times 100 / \text{原料质量}$$

鲢鱼骨超微粉碎条件的确定 以平均粒径表征超微粉碎的程度, 在转轮转速为 2 100~2 500 r/min, 旋风分离器转速为 2 100~25 000 r/min, 粉碎时间为 20~160 min, 进行钙粉超微粉碎实验, 获得合适的粉碎条件。

鲢鱼骨超微钙粉理化指标的测定 钙测定采用原子吸收分光光度法(GB/T 5009.92-2003); 磷测定采用分光光度法(GB/T 5009.87-2003); 砷测定采用氢化物原子荧光光度法(GB/T 5009.11-2003); 铅测定采用石墨炉原子吸收光谱法(GB/T 5009.12-2003); 镉测定采用石墨炉原子吸收光谱法(GB/T 5009.15-2003); 水分测定采用恒温烘干法

(GB/T 5009.3-2003); 蛋白质测定采用凯氏定氮法(GB/T 5009.5-2003); 脂肪测定采用索氏抽提法(GB/T 5009.6-2003)。

蛋白酶的活力测定 采用紫外分光光度计法测定蛋白酶活力^[18]并按照实测酶活力做后续实验。

超微钙粉平均粒径的测定 采用超细微粒度分析仪对超微鱼骨钙粉进行粒度分布和平均粒径检测^[19]。

生物利用率测定 大鼠经适应性喂养 1 周后, 按体质量随机分为 9 组, 每组 10 只, 分别为基础饲料+粗钙粉低剂量组(A1), 基础饲料+粗钙粉高剂量组(A2), 基础饲料+超微 20 min 钙粉低剂量组(B1), 基础饲料+超微 20 min 钙粉高剂量组(B2), 基础饲料+超微 100 min 钙粉低剂量组(C1), 基础饲料+超微 100 min 钙粉高剂量组(C2), 基础饲料+碳酸钙低剂量组(D1), 基础饲料+碳酸钙高剂量组(D2), 基础饲料组(E)^[20]。低、高剂量组中钙含量分别为 2 和 5 g/(kg·d), 基础饲料钙含量实测为 1.2 g/kg。按照参考文献[8]进行钙吸收率以及钙粉对大鼠股骨的影响试验。

数据处理 采用 SPSS 16.0 统计软件包进行统计学检验。

2 结果

2.1 鲢鱼骨酶解净化条件的优化

碱性蛋白酶可广泛应用于鱼肉蛋白水解, 经过预实验, 在进行木瓜蛋白酶、风味酶等酶解效果的对照基础上确定采用碱性蛋白酶为实验用酶。考察了酶解温度(30、40、50、60、70 °C)、酶解时间(1、2、3、4、5 h)、pH(8.5、9.5、10.5、11.5、12.5) 和用酶量(600、800、1000、1200、1400 U/g), 得到鲢鱼骨的碱性蛋白酶水解单因素实验结果, 即相对较佳条件为酶解温度 50 °C、酶解时间 2 h、pH 10.5、加酶量 1200 U/g。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交实验因素水平

Tab. 1 Factors and levels of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

水平 level	因素 factor			
	A	B	C	D
	酶解温度/°C temperature	酶解时间/h time	pH pH	用酶量/(U/g) enzyme dosage
1	45	1.5	10	1100
2	50	2	10.5	1200
3	55	2.5	11	1300

表 2 L₉(3⁴)正交实验结果与极差分析
Tab. 2 Result of L₉(3⁴) orthogonal experiment and range analysis

试验号 treatment no.	因素 factor				净化脱除率/% the removal rate
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	25.0
2	1	2	2	2	29.7
3	1	3	3	3	32.3
4	2	1	2	3	29.4
5	2	2	3	1	30.0
6	2	3	1	2	33.2
7	3	1	3	2	29.3
8	3	2	1	3	31.2
9	3	3	2	1	27.2
K _{1j}	29.000	27.900	29.800	27.400	
K _{2j}	30.867	30.300	28.767	30.733	
K _{3j}	29.233	30.900	30.533	30.967	
R _{j(k)}	1.867	3.000	1.766	3.567	

根据上述单因素实验结果进行 L₉(3⁴)正交实验设计(表 1), 确定鲛鳔鱼骨的最佳净化条件。正交实验结果见表 2。由表 2 可知, 影响酶解净化的条件因素主次顺序为: 用酶量> 酶解时间> 酶解温度>pH。最优的因素组合为 A₂B₃C₃D₃, 即酶解温度为 50 ℃, 酶解时间为 2.5 h, pH 为 11, 用酶量为 1300 U/g。对最佳处理条件进行验证试验, 重复 3 次所得结果高度一致, 平均净化脱除率为 33.8%。净化后所得的鱼骨色泽洁白。

2.2 鲛鳔鱼骨超微粉碎条件的优化

超微粉碎机粉碎时间对微细化效果有着重要的影响。不同超微粉碎时间处理后的超微钙粉样品的颗粒粒径分析见图 1~图 3。由于粗骨粉平均粒径

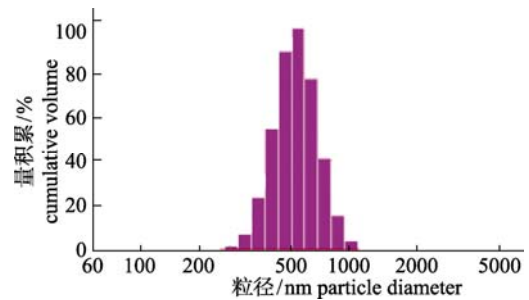


图 2 超微粉碎 100 min 后的钙粉的粒度曲线图
Fig. 2 The particle size distribution of ultra-micro calcium powder crushed 100 min later

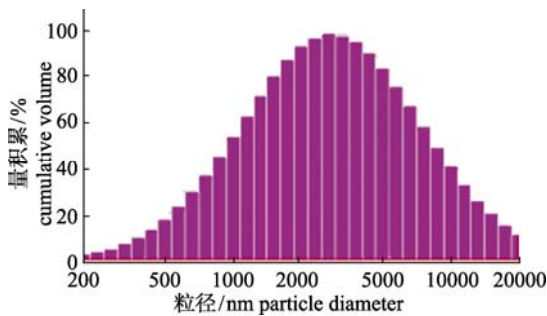


图 1 超微粉碎 20 min 后的钙粉的粒度曲线图
Fig. 1 The particle size distribution of ultra-micro calcium powder crushed 20 min later

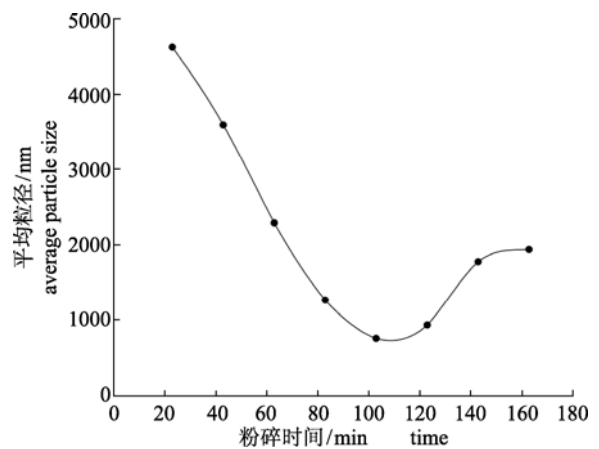


图 3 不同粉碎时间下的钙粉平均粒径变化曲线
Fig. 3 The average particle size of ultra-micro calcium powder variation with different time

较大,无法精确测量,因此以经过 20 min 超微处理的骨粉为第 1 对照样品。如图 1~图 3 所示,钙粉的平均粒径随着超微粉碎时间的增加呈先下降后上升的趋势,钙粉经 100 min 超微粉碎后,平均粒径由 20 min 超微粉碎后的 4497.4 nm 降到最低为 626.9 nm,并且钙粉此时的粒度分布较 20 min 超微处理的更为均匀集中,在 100 min 之后,随着粉碎时间的延长,平均粒径又开始增大。超微粉碎时间试验结果表明,钙粉进行超微粉碎的最佳时间为 100 min,

此条件下所得的超微钙粉平均粒径为 626.9 nm,颗粒均匀细腻、无粘结现象,无腥味和臭味,口感无涩味。

2.3 鲢鳙鱼骨超微钙粉的理化性质分析

取 100 g 按照优化工艺制备的鲢鳙鱼骨超微钙粉,测定各项理化指标(表 3),超微钙粉钙含量高达 29.5%,脂肪含量仅为 0.58%,可大大降低钙粉贮藏过程中因脂肪氧化导致的变质变味的风险。重金属含量符合国家标准,是一种安全的钙制剂。

表 3 鲢鳙鱼骨超微钙粉的理化指标($n=3$)

指标 index	钙 calcium	磷 phosphorus	砷 arsenic	铅 lead	镉 cadmium	水分 moisture	蛋白质 protein	脂肪 fat
含量 content	29.5±0.71	13.8±0.46	<0.0001	<0.0001	<0.0001	3.2±0.22	4.2±0.17	0.58±0.03

2.4 鲢鳙鱼骨超微钙粉的生物利用研究

生物利用率评估实验结果如表 4~表 5 所示,由表 4 可知基础饲料组钙吸收率为负值,表明大鼠体内呈现钙的负平衡,机体严重缺钙。其他各组大鼠与基础饲料组相比,均吸收了饲料中添加的钙,吸收率均大于 58%,且具有显著性差异($P < 0.05$)。粗钙粉组吸收率较低,不及碳酸钙组。超微粉碎钙粉的吸收率明显高于碳酸钙组且存在极显著差异($P < 0.01$),其中 100 min 粉碎后的超微钙粉的吸收率可达到 79.3%~83.5%。在鲢鳙鱼骨钙粉组内横向比较,高剂量组的吸收率要高于低剂量组。以上结

果表明,100 min 粉碎后的鲢鳙鱼骨超微钙粉的吸收率最高,是一种优质的补充钙制剂。

由表 5 可看出,除骨磷含量之外,基础饲料组大鼠的股骨长、干重、灰重、骨钙含量和骨折负荷力均明显小于超微钙粉组;100 min 粉碎后的超微钙粉组对大鼠的影响要明显强于粗钙粉以及 20 min 粉碎后的超微钙粉;钙制剂低剂量组股骨长度、灰重与基础饲料组之间无显著性差异($P > 0.05$),而钙制剂高剂量组要明显强于基础饲料组且存在显著性差异($P < 0.05$);超微钙粉组同剂量条件下在干重、灰重和骨钙含量上强度明显高于碳酸钙组,

表 4 不同钙制剂对大鼠钙代谢的影响

Tab. 4 Effect of calcium sources on calcium metabolism of rats

组别 group	摄入钙量/(mg/d) calcium content	粪钙量/(mg/d) feces calcium content	钙吸收率/% calcium absorption
A1	53.1±2.88	22.2±1.76	58.2±3.48 ^a
A2	110.9±5.12	41.7±3.22	62.4±4.67 ^{ac}
B1	127.1±4.89	38.9±2.13	69.4±3.29 ^{ad}
B2	207.9±8.91	47.4±3.65	77.2±5.12 ^{bd}
C1	208.7±10.5	43.2±3.18	79.3±3.20 ^{bd}
C2	218.4±7.30	27.3±1.34	83.5±3.75 ^{ad}
D1	148.4±6.83	54.3±3.42	63.4±3.18 ^b
D2	227.1±16.3	73.8±6.81	67.5±5.14 ^a
E	6.0±0.41	6.4±0.52	-7.0±0.47

注: $n=10$, 平均值±标准差。与基础饲料组比较: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与碳酸钙组比较: ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ 。

Notes: $n=10$, mean±SD. ^a $P < 0.05$ and ^b $P < 0.01$ as compared to the basic diet group; ^c $P < 0.05$ and ^d $P < 0.01$ as compared to the calcium carbonate group.

表 5 不同钙制剂对大鼠股骨的影响
Tab. 5 Effect of calcium sources on thigh bone of rats

组别 group	左侧股骨 left thighbone					
	长度/cm length	干重/(g/kg) dry weight	灰重/(g/kg) ash weight	骨钙/(mg/kg) bone calcium	骨磷/(g/kg) bone phosphorus	骨折负荷力/kg fracture load
A1	3.46±0.08	1.75±0.03	1.06±0.03	490±41 ^a	122±10	13.2±1.1 ^b
A2	3.50±0.03 ^a	1.84±0.07 ^{ac}	1.10±0.08 ^b	517±38 ^a	123±5	13.8±1.4 ^b
B1	3.47±0.09	1.79±0.06 ^c	1.12±0.05 ^c	512±27 ^{bc}	122±6	13.1±0.8 ^b
B2	3.52±0.06 ^b	1.90±0.09 ^{bc}	1.17±0.06 ^{bd}	543±35 ^{bc}	126±8	14.3±1.3 ^b
C1	3.49±0.07	1.82±0.10 ^{bd}	1.19±0.03 ^d	550±43 ^{bc}	129±10	14.0±0.7 ^{ac}
C2	3.55±0.10 ^{bc}	1.94±0.08 ^{bc}	1.25±0.08 ^{ac}	578±52 ^{bd}	135±15	14.8±1.4 ^{bd}
D1	3.48±0.06	1.78±0.06 ^b	1.07±0.07 ^a	503±36 ^b	125±12	13.0±0.9 ^b
D2	3.51±0.05 ^a	1.85±0.08 ^b	1.13±0.03 ^b	535±41 ^b	127±9	13.9±1.2 ^b
E	3.40±0.04	1.64±0.05	0.95±0.05	416±31	121±7	9.6±0.9

注: $n=10$, 平均值±标准差。与基础饲料组比较: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$; 与碳酸钙组比较: ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$

Notes: $n=10$, mean±SD. ^a $P < 0.05$ and ^b $P < 0.01$ as compared to the basic diet group; ^c $P < 0.05$ and ^d $P < 0.01$ as compared to the calcium carbonate group.

高剂量超微钙粉组和碳酸钙组强度均明显高于低剂量组, 差异显著性($P < 0.05$)。综合分析, 经过 100 min 粉碎后的超微钙粉生物学效价优于其他条件制备的钙粉及碳酸钙制剂, 在促进骨骼生长, 预防骨质疏松方面效果更佳。

3 讨论

附着在鱼骨表面的鱼肉容易腐烂变质, 亦会影响钙制品的成品品质。传统去除鱼肉有效提取钙质的方法为蒸煮、水荡分离, 现在也多采用酸法、碱法、酶法, 但是蒸煮后鱼骨钙在热作用下发生钙质凝固, 使得钙元素溶解度降低, 严重影响钙元素的生物利用率。薛长湖等^[21]、白艳等^[22]采用酸法虽然能有效提取鱼骨中的钙质, 但是钙粉气味不佳, 影响其实际应用。碱醇法制备的骨钙品质良好^[8], 但是操作比较麻烦。另外, 酸碱处理后废弃物及污水处理的环境负担亦需充分考虑。本研究中采用生物酶解方法, 通过生物酶温和降解, 可有效去除鱼肉等杂质, 实现钙离子高生物活性的目标; 操作简单, 实用性强; 制备的钙粉是氨基酸钙, 无异味、安全性高且利于机体的吸收。

鮫鱼骨粗钙粉颗粒较大, 吸收率偏低于碳酸钙组, 而鲑鱼骨钙^[23]、鳕鱼骨钙^[8]吸收率均高于碳酸钙组。本研究中鮫鱼骨粗钙粉采用超微技术进行粉碎, 超微粉碎粗钙粉时间在 100 min 以下时, 随着粉碎时间的延长, 钙粉的破碎程度增大, 平均

粒径减小; 当粉碎时间延长到 100 min 及以上时, 平均粒径又增大; 在粉碎 100 min 时平均粒径达到了最小, 为 626.9 nm。此时的超微钙粉的吸收率要比粗钙粉、超微粉碎 20 min 以及对照碳酸钙组高很多, 且在促进大鼠骨骼生长、预防骨质疏松方面效果更加显著。因此, 推断超微粉碎技术改善了鮫鱼骨钙粉的生物利用率, 超微钙粉平均粒径越小, 钙越易吸收利用, 生物学效价越佳, 这与袁玉燕等^[14]、张玉华^[24]、董文彦等^[25]的研究结果一致, 这可能是在粉碎的过程中钙粉受到剪切、碰撞、粉碎、挤压等机械力的复合作用, 使钙粉得到了超细化, 样品平均粒径变小, 进而对钙粉的理化特性或结构产生了影响, 其生物利用率得到改善。随着粉碎时间的延长导致钙粉的团聚效应越来越明显而导致平均粒径增大, 生物利用率会有一定程度的下降。

参考文献:

- [1] Calhoun C M, Schnell T D, Mandigo R W. Porcine bone marrow: extraction procedure and characterization by bone type [J]. *Meat Science*, 1998, 50(4):489-497.
- [2] Sirirat S, Prapaisri P S, Prapasri P. *In vitro* bioavailability of calcium from chicken bone extract powder and its fortified products [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2004, 17(3-4): 321-329.
- [3] Yin Y, He G. A fast high-intensity pulsed electric fields (PEF)-assisted extraction of dissoluble calcium from

- bone [J]. *Separation and Purification Technology*, 2008, 61(2):148-152.
- [4] Liaset B, Julshamn K, Espe M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with ProtamexTM [J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38(12): 1747-1759.
- [5] Sandnes K, Pedersen K, Hagen H. Continuous enzymatic processing of fresh marine bioproducts: Kontinuerlig enzyme prosessering av ferske marine bioproducter trondheim [C]. Norway: Stiftelsen RUBIN, 2003.
- [6] Horton J M, Summers A P. The material properties of acellular bone in a teleost fish [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2009, 212 (9): 1413-1420.
- [7] Toppe J, Albrektsen S, Hope B, *et al.* Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 2007, 146(3): 395-401.
- [8] 霍健聪, 邓尚贵, 童国忠. 鳕鱼骨钙片的制备及其生物利用[J]. *水产学报*, 2010, 34(3): 382-388.
- [9] 邵明栓, 陶敏, 向蔚, 等. 斑点叉尾鲷鱼骨脱脂及其制备 CMC 活性钙的工艺优化[J]. *食品科学*, 2010, 31(20): 111-115.
- [10] 白艳, 刘青梅, 杨性民. 响应面法优化鳗鱼骨可溶性钙提取的研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(4): 613-618.
- [11] 袁惠新, 俞建峰. 超微粉碎技术及其在食品加工中的应用[J]. *农牧与食品机械*, 1999(5): 32-34.
- [12] 袁惠新. 粉碎的理论与实践[J]. *粮食与饲料工业*, 2001(3): 19-22.
- [13] 金铁铃. 超微粉碎骨泥的研究[J]. *肉类工业*, 2010, 352(8): 50-51.
- [14] 袁玉燕, 韩爱军, 李凤生. 超细鲜骨粉的粒度及营养特性[J]. *食品工业*, 2001(3): 10-12.
- [15] 陈大鹏, 徐幸莲. 超细骨粉在肉松中的应用研究[J]. *肉类研究*, 2001(3): 42-43.
- [16] Miller G D, Dirienzo D. Age considerations in nutrient needs for bone [J]. *Journal of the American College Nutrition*, 1996, 15(6): 553-555.
- [17] 张小军, 张虹. 鲛鳕鱼硫酸软骨素的提取及性质研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(12): 258-260.
- [18] 姜锡瑞. 酶制剂应用技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 62-71.
- [19] 刘成梅, 刘伟, 林向阳, 等. Microfluidizer 对膳食纤维微粒粒度分布的影响[J]. *食品科学*, 2004, 25(1): 52-55.
- [20] 施新犹. 医学动物实验方法[M]. 北京: 人民出版社, 1980: 440-445.
- [21] 薛长湖, 李兆杰. 由鳕鱼排制备活性钙[J]. *青岛海洋大学学报: 自然科学版*, 1995, 25(2): 173-179.
- [22] 白艳, 谈小登, 黄晓, 等. 鳗鱼骨钙酸法提取工艺的研究[J]. *食品科技*, 2010, 35(8): 274-277.
- [23] Malde M K, Bügel S, Kristensen M, *et al.* Calcium from salmon and cod bone is well absorbed in young healthy men: a double-blinded randomised crossover design [J]. *Nutrition & Metabolism*, 2010, 7(1): 61-70.
- [24] 张玉华. 超微细鲜骨粉生物学功能的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(4): 78-81.
- [25] 董文彦, 张东平, 孙元智. 超微颗粒钙在大鼠体内的吸收和利用[J]. *营养学报*, 1998, 20(1): 31-36.

Studies on the processing of ultramicro calcium powder from goosefish (*Lophius litulon*) bones by enzymatic hydrolysis

YU Hia-xia¹, YU Juan², HUANG He-yong², YANG Shui-bing¹,
YANG Zhi-jian¹, HU Ya-qin^{1,3*}, HU Qing-lan^{1,3}, REN Xi-ying^{1,3}

(1. Ocean Research Center of Zhoushan, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China;

2. CNFC Zhoushan Marine Fisheries Corporation, Zhoushan 316021, China

3. School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Calcium plays an important role in human health. Lack of calcium intake causes many kinds of diseases, especially osteoporosis. Animal bone provides an important way of obtaining calcium. Fishbone is a kind of natural calcium resource, and it has the merits of high absorbability and low side effects on human. Till now, most of researches on utilization of fishbone have focused on the preparation of calcium tablet from seawater fish, such as haddock, using acid or alkali method. Ultrafine comminution technology is widely used in food processing to make ultrafine powder, and is given more attention nowadays. The ultrafine powder has many particular characteristics, such as increasing the utilization rate of materials, improving performances and the quality of products. Absorption of ultra-micro calcium powder with rich nutrition improved with smaller average particle size. Increasing processing of goosefish (*Lophius litulon*) is associated with a large amount of waste fish bone and fish head, which will cause environment pollution and resource waste as well. How to utilize this kind of calcium source efficiently is now one of the focuses in the field of fish processing. Nevertheless, no research on goosefish bone using ultrafine comminution technology has been found yet. In this study, ultramicro calcium powders were prepared from goosefish bone by enzymatic hydrolysis followed by ultrafine comminution technique, and the bioavailability of the obtained bone powder was investigated as well. The results showed that the removal rate achieved 33.8% under the optimum purification conditions of goosefish bone hydrolyzed by 1300 U/g alkaline protease at temperature of 50°C, for 2.5 h. Particle size distribution of calcium powders by superfine comminution for 100min was narrow, and the average particle size reached the minimum of 626.9 nm. The results of animal experiments showed that the bioavailability of ultramicro calcium powders of goosefish bone was much higher, and ultramicro calcium powders by superfine comminution for 100min exhibited calcium absorption rates of 79.3%-83.5%, which is obviously higher than that of the calcium carbonate control group. Goosefish ultramicro calcium powder prepared under the optimum conditions had pure white color, good appearance quality, and no peculiar smell with calcium content of 29.5%. It was considered as a kind of safe calcium supplementation of high quality and bioavailability.

Key words: *Lophius litulon*; bone; ultra-micro calcium powder; enzymatic hydrolysis; bioavailability

Corresponding author: HU Ya-qin. E-mail: yqhu@zju.edu.cn