

鲍壳形态结构及蛋白质组分研究

黄文文, 洪碧红, 孙继鹏, 谭然, 陈宇, 陈永强, 易瑞灶* (国家海洋局第三海洋研究所, 福建厦门 361005)

摘要 [目的] 研究鲍壳的形态结构、蛋白质含量及组分。[方法] 采用扫描电镜观察鲍壳横断面的形态结构, 采用凯式定氮法测定鲍壳的蛋白质含量, 采用离子色谱仪技术分析蛋白质水解后的氨基酸组分。[结果] 电镜下观察鲍壳横断面为交叉层状结构, 片层之间有蛋白质相连接, 鲍壳蛋白质含量高达 22%。氨基酸分析表明, 鲍壳中含有人体必需的多种氨基酸组分。[结论] 试验验证了鲍壳的微观结构, 探讨了其蛋白质含量及氨基酸组分, 鲍壳的药理学作用可能与鲍壳的蛋白质含量有关。

关键词 鲍壳; 氨基酸; 蛋白质

中图分类号 S96 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)35-13734-02

Morphological Structure and Protein Components of Abalone Shells

HUANG Wen-wen et al (The Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen, Fujian 361005)

Abstract [Objective] To study morphological structure and protein components of abalone shells. [Method] Using scanning electron microscope to observe morphological structure of cross section of abalone shells, Kjeldahl N determination method to get protein contents of abalone shells, ion chromatograph to analyze amino acid component after protein hydrolysis. [Result] The cross section of abalone shells shows crossed hierarchies, proteins connect the hierarchies, and the shell protein content achieves 22% and above, amino acid analysis shows that human body contains many amino acid components. [Conclusion] Microscopic structure of abalone shells is proved, protein content and amino acid components are explored, pharmacological action of abalone shells may be related to its proteins.

Key words Abalone shell; Protein; Amino acid

我国是世界第一养鲍大国, 占世界鲍鱼养殖总产量的 86%, 2011 年我国的鲍鱼养殖产量更是达到 7.68 万 t^[1], 而福建省的产量占全国总产量的 78.7%。随着鲍鱼消费量越来越大, 不能直接食用的鲍壳未得到充分的开发利用, 大多被直接丢弃, 不仅污染环境, 同时也造成了资源的严重浪费。

鲍壳是一种珍贵的药材, 又名“石决明”, 中医药典籍中早有记载, 有清热平肝、滋阴壮阳的作用, 中医临床常用来治疗高血压引起的头痛、眩晕、目昏, 及眼科的角膜炎、视神经炎等症^[2]。鲍壳的主要成分是 CaCO₃, 其含量约为 92%, 除此之外鲍壳中还含有少量的藻胆素、角壳蛋白及钠、硅、铝、镁、铁、钾等多种微量元素^[3-6], 可以作为保健食品的添加成分加以利用。

此外, 鲍壳属于方解石-文石型混合生物材料, 是研究生物矿化、开发新型仿生纳米复合材料的理想生物样品^[7]。目前对鲍壳的形成起调控作用或架构作用的鲍壳蛋白的研究仍非常有限, 笔者对鲍壳形态结构、蛋白质含量及氨基酸组成进行分析, 以期对鲍壳资源的进一步开发利用提供数据基础。

1 材料与方

1.1 材料 供试原料: 鲍壳, 福建水产养殖。主要试剂: 硫酸、盐酸、苯酚、硫酸铜、硫酸钾。主要仪器: S4800 扫描电子显微镜, FOSS 微量凯式定氮仪, 岛津紫外分光光度计, ICS3000 离子色谱仪。

1.2 方法

1.2.1 鲍壳样品处理。 取 30 只鲍壳, 水洗干净, 10 只进行自然风干干燥, 然后在鲍壳上取 3 个区 A、B、C, 每个区(采用打孔器)打孔 10 个, 收集打孔的鲍壳小片, 记为 A-1、B-1、C-1。

10 只在 60 ℃ 下烘干 2 h, 然后在鲍壳上取 3 个区 A、B、C, 每个区(采用打孔器)打孔 10 个, 收集打孔的鲍壳小片, 记为 A-2、B-2、C-2。

剩下 10 只在 120 ℃ 下烘干 4 h, 然后在鲍壳上取 3 个区 A、B、C, 每个区(采用打孔器)打孔 10 个, 收集打孔的鲍壳小片, 记为 A-3、B-3、C-3(图 1)。



图 1 鲍壳样品处理分区

1.2.2 鲍壳横切面形态结构研究。 采用扫描电镜(SEM)观察鲍壳 A/B/C-1、-2、-3 的横切面形态结构。

1.2.3 鲍壳蛋白质含量的测定方法。 该试验采用凯式定氮法测定鲍壳样品蛋白含量。

1.2.4 离子色谱检测鲍壳氨基酸组成分析。 该试验采用离子色谱法分析鲍壳氨基酸组成。①消化。准确称取一定量的样品于 10 ml 消解瓶中, 加入 5 ml 浓盐酸, 烘箱 110 ℃ 加热 8 h, 冷却, 定容 50 ml, 0.45 μm 超滤膜过滤。②色谱条件。色谱柱: Aminopac PA-10, 2 × 250 mm; 洗脱条件: A 相为水, B

基金项目 厦门海洋研究开发院“鲍壳高值开发关键技术研究”资助项目; 海洋公益性行业科研专项(201405016)资助项目。

作者简介 黄文文(1983-), 女, 山东东营人, 助理研究员, 从事海洋资源开发研究。* 通讯作者, 研究员, 从事海洋资源开发研究。

收稿日期 2013-11-20

相为 0.25 μmol/L NaOH, 梯度洗脱, 最大流速 6 ml/min, 进样量 25 μl, 柱温 30 ℃。

2 结果与分析

2.1 扫描电镜 (SEM) 查看鲍壳横切面片层结构 由图 2 可见, 鲍壳不同区域微形态结构大致相同, 为片层状结构, 交

错排列, 使结构更加稳固。鲍壳珍珠层主要为多边形的无机文石片, 片层之间有机质存在, 起粘连稳固作用, 使其具有高强度、高刚度、高断裂韧性等力学性能^[9]; 而高温加热后的鲍壳薄片之间粘连的有机质明显减少, 可能是因为有机质随着温度的升高发生了热分解。

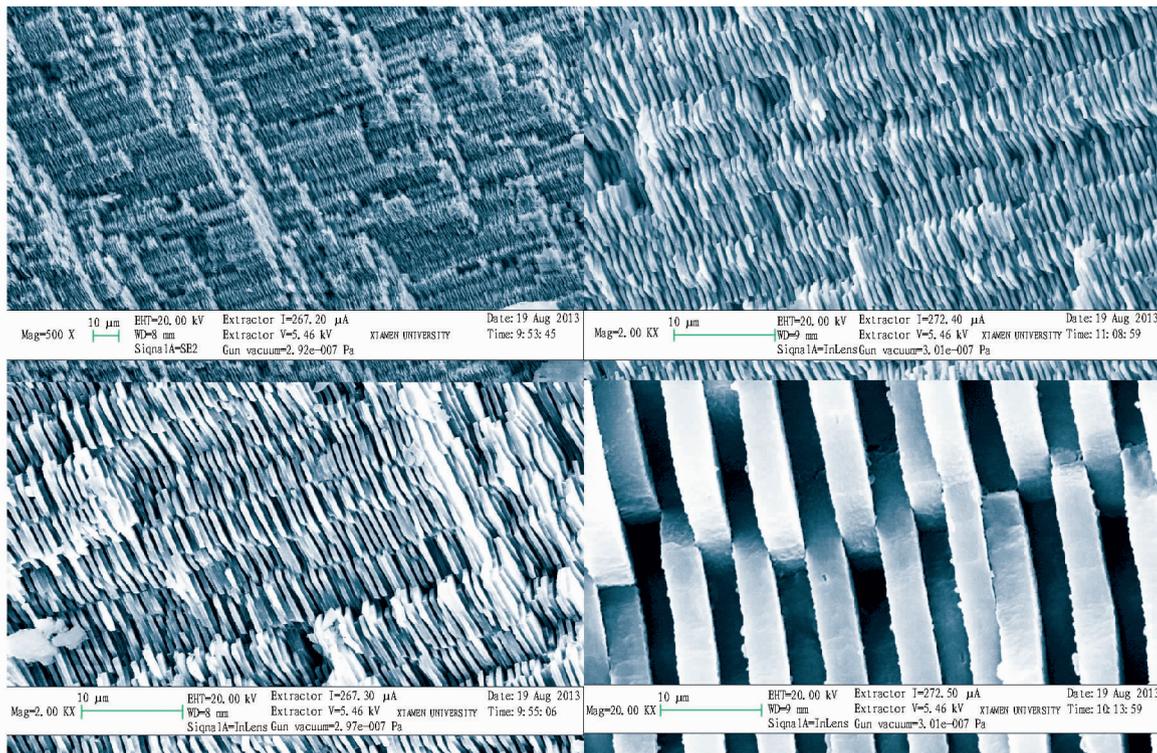


图 2 鲍壳横切面片层结构

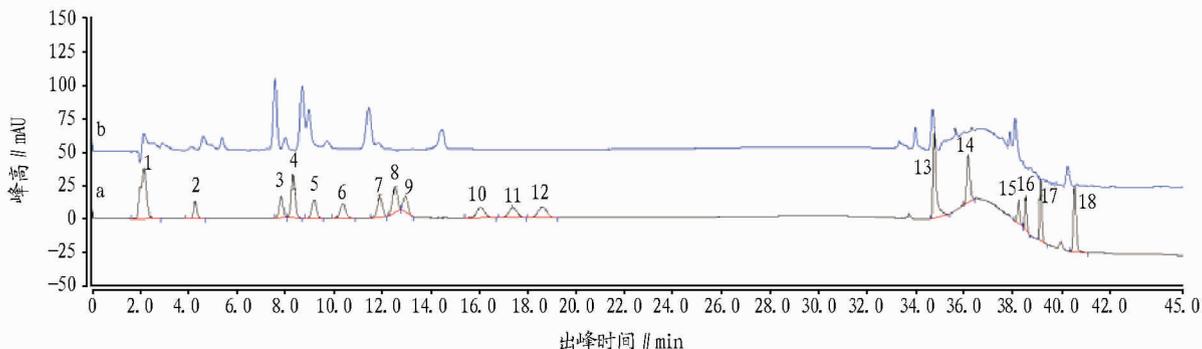
2.2 鲍壳蛋白质含量测定结果 由表 1 可知, 温度对鲍壳蛋白质含量有影响, 自然干燥及 60 ℃ 烘干的鲍壳蛋白质含量较高, A 区域蛋白质含量分别为 24.44%、23.29%; 120 ℃ 干燥的鲍壳蛋白质含量普遍降低, A 区域为 22.94%。随着温度的升高, 蛋白质含量有所降低, 进一步证实前述的片层之间蛋白质成分由于高温分解含量降低。

表 1 鲍壳不同区域、不同处理蛋白质含量

处理	重量//g	消耗 HCl 的体积//ml	蛋白质含量//%
A-1	1.014	2.90	24.44
B-1	0.986	3.00	25.99
C-1	1.000	2.18	18.80
A-2	1.000	2.68	23.29
B-2	1.000	3.02	24.92
C-2	1.000	2.80	23.79
A-3	0.961	2.58	22.94
B-3	0.992	3.04	26.17
C-3	1.021	2.70	22.60

2.3 鲍壳氨基酸组成分析 经氨基酸组分分析, 鲍壳水解后含有多种氨基酸, 包括精氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苏氨酸、甘氨酸、羟脯氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、酪氨酸等, 均为人体必需的氨基酸成分, 进一步确认了鲍壳中蛋

白质成分的存在。



注: a. 18 种氨基酸混合标准品, b. 鲍壳; 1. 精氨酸, 2. 赖氨酸, 3. 丙氨酸, 4. 苏氨酸, 5. 甘氨酸, 6. 缬氨酸, 7. 羟脯氨酸, 8. 丝氨酸, 9. 脯氨酸, 10. 异亮氨酸, 11. 亮氨酸, 12. 蛋氨酸, 13. 组氨酸, 14. 苯丙氨酸, 15. 谷氨酸, 16. 天冬氨酸, 17. 胱氨酸, 18. 酪氨酸。

图 3 氨基酸组成离子色谱

表 7 不同处理样品中儿茶素含量

%

贮存时间 d	利乐包	铝箔包	纸筒	锡箔袋 (小包装)	锡箔袋 (除氧)	锡箔袋 + 铁罐	锡箔袋 (除氧) + 铁罐	铁罐	原始包装 (5 ℃)	原始包装 (25 ℃)	原始包装 (37 ℃)
7	25.37 ± 0.36	24.60 ± 0.67	23.71 ± 0.79	24.46 ± 0.98	24.64 ± 0.63	25.34 ± 0.31	24.09 ± 0.47	23.52 ± 1.09	25.13 ± 0.85	24.73 ± 0.63	24.65 ± 0.59
14	23.58 ± 1.05	22.79 ± 0.94	23.21 ± 0.27	24.00 ± 0.88	23.66 ± 1.12	24.96 ± 1.14	23.73 ± 0.44	22.91 ± 0.59	24.19 ± 0.59	23.74 ± 0.72	23.65 ± 0.90
21	22.34 ± 0.89	21.90 ± 0.62	22.58 ± 0.64	23.59 ± 1.36	23.23 ± 0.91	23.87 ± 1.07	23.20 ± 0.35	22.46 ± 0.67	22.64 ± 1.22	22.19 ± 0.80	22.39 ± 0.84
28	21.30 ± 1.35	21.18 ± 1.15	22.21 ± 0.77	22.86 ± 0.73	22.60 ± 0.85	23.24 ± 1.37	22.83 ± 1.02	22.02 ± 1.57	22.40 ± 0.49	21.97 ± 0.47	21.95 ± 0.70
35	20.63 ± 1.29	20.37 ± 2.14	20.94 ± 1.02	22.61 ± 0.92	22.22 ± 1.49	21.86 ± 0.95	22.61 ± 1.04	20.82 ± 0.83	21.94 ± 0.66	21.75 ± 0.53	21.24 ± 0.93
42	19.44 ± 0.88	19.16 ± 1.77	20.26 ± 1.27	20.68 ± 0.73	21.03 ± 0.46	21.10 ± 1.29	21.14 ± 0.63	20.31 ± 0.83	20.63 ± 0.61	20.37 ± 0.52	20.45 ± 0.63
49	19.17 ± 0.65	18.99 ± 1.82	19.68 ± 0.94	20.30 ± 1.69	20.28 ± 0.59	20.83 ± 1.24	20.94 ± 1.03	19.59 ± 1.03	20.06 ± 0.78	19.88 ± 0.86	20.12 ± 0.70
56	18.55 ± 1.60	18.39 ± 0.63	17.61 ± 0.81	19.99 ± 1.94	19.91 ± 1.27	20.04 ± 0.85	20.36 ± 0.62	18.65 ± 0.64	19.34 ± 0.92	19.05 ± 1.47	19.35 ± 0.46

3 结论与讨论

铝箔复合膜,具有阻光和高气密性,对茶叶保色保香效果好,是目前使用较多的包装材料^[1,7];低温能有效减缓茶叶氨基酸的陈化速度从而达到保鲜效果,温度低于 8 ℃ 就能很好地保持茶叶的品质^[8]。在同样的贮藏条件下,112 ~ 140 d 后仍可以收到明显的辐射效果,品质得到很好的保持^[9]。同时,迅速低温去湿,低温真空包装贮藏,可使茶叶保鲜 1 年以上^[10]。从节约运行成本的角度出发,也开发出了常温保鲜贮藏茶叶的技术^[3,11]。利用常用的茶叶包装材料及新材料对名优绿茶的保鲜效果进行试验,试验结果表明,在高温高湿的条件下,硬纸筒以及铁罐的保鲜效果最差,聚酯/铝箔/聚乙烯袋的保鲜效果最好。可能原因为硬纸筒的透光度较高,气密度较低,对于空气和阳光隔绝效果都不好,因此品质下降的最快;而铁罐包装虽然从材质上来说,气密性及阻光的效果不错,但其良好的导热性使其在高温高湿处理下,金属包装表面温度高于其他材质,并且热量难以散发,使得与其直接接触的茶叶迅速变质,即便进行了锡箔/聚乙烯袋的复合包装,并进行了除氧处理,其一些热敏性的指标(如氨基酸等)也均不如聚酯/铝箔/聚乙烯袋。因此,目前名优茶常用的锡箔/聚乙烯袋 + 铁罐的复合包装不适宜摆放在温度较高的地方(如夏季无空调的货架,高亮度灯附近等)。

(上接第 13735 页)

3 讨论

目前对鲍壳中蛋白质成分种类的了解非常有限,文献报道鲍壳中含有 Lustrin A 蛋白、Perlucin 和 Perlustrin 蛋白、AP7、AP24、AP8 蛋白、Perlwapin 等高分子蛋白成分,对鲍壳的生物结构起着重要的作用,特别是对鲍壳矿物相的晶核生成、定性生长、表面形貌具有调控作用,其中 Perlwapin 蛋白具有人体免疫调节及杀菌抑菌的作用^[7]。该试验结果表明,鲍壳微结构呈交叉片层状结构排列,此排列结构本身具有较高的稳固性,片层之间交联蛋白质等物质,对加固鲍壳稳定性、韧性及强度具有重要作用。而高温加热可导致蛋白成分分解,使其含量降低,与陈忱等的研究结果一致^[8],故在鲍壳的研究及开发过程中,为保证蛋白质含量,应选择低温干燥条件。此外,蛋白质在鲍壳中含量高达 22%,含有多种复杂的高分子蛋白质,对其本身的调控机理尚知之甚少;同时,鲍壳中还含有大量人体必需的多种氨基酸。鉴于鲍壳作为传统中药,具有治疗高血压引起的头痛、眩晕、目昏,及眼科的

试验结果还表明,低温对于茶叶品质保留还是非常重要,口感均优于高温和室温,冷库储存有利于茶叶品质的保留。此外,像利乐包(纸/聚乙烯/铝箔)这种新的材料已经广泛应用到牛奶、饮料、果汁的包装上,在该试验中,利乐包也表现出对名优绿茶的良好的保鲜效果,还有待于今后做进一步深入的研究。

参考文献

- [1] 霍建聪,李湘利. 茶叶陈化机理及保鲜技术研究进展[J]. 四川农业科技,2005(4):40-41.
- [2] 郭桂玉,罗娜,王荣斌,等. 名优绿茶综合贮藏保鲜技术[J]. 湖北农业科学,2002(3):70-72.
- [3] 陶为民. 绿茶保鲜技术的研究与发展[J]. 上海茶业,2007(1):24.
- [4] 黄力华,汪志君,张凌云,等. 不同保鲜剂对碧螺春保鲜效果影响的研究[J]. 现代食品科技,2005,21(2):28-30.
- [5] 肖文军,刘仲华,胡祥文,等. 名优绿茶保鲜剂筛选研究[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2002,28(6):499-511.
- [6] 黄力华,汪志君,张凌云,等. 不同保鲜剂对碧螺春保鲜效果影响的研究[J]. 现代食品科技,2005,21(2):28-30.
- [7] 余雄辉. 茶叶保鲜贮藏包装技术的研究[J]. 广东茶业,2001(4):29-32.
- [8] 汪毅,龚正礼,骆耀平. 茶叶保鲜技术及之变成因的变化比较[J]. 中国食品添加剂,2005(5):19-22.
- [9] 钱之江,沈伟桥. 茶叶辐照杀菌效果及其对茶叶品质的影响[J]. 茶叶,2002,28(3):145-147.
- [10] 张正竹,童宗寿. 绿茶原料低温保鲜技术研究[J]. 保鲜与加工,2002,(1):16-18.
- [11] 叶锦凤. 茶叶保鲜技术试验报告[J]. 福建茶叶,2003(4):26.

角膜炎、视神经炎等症的多种药理作用,推测蛋白质在鲍壳的药用价值中同样起着重要的作用,此问题有待进一步的研究探讨。

参考文献

- [1] 柯才焕. 我国鲍鱼养殖产业现状与展望[J]. 中国水产,2013(1):27-30.
- [2] 郑丽琳,陈庆绸. 几种鲍壳中锌(II)、锰(II)、镁(II)、铜(II)的测定[J]. 福建分析测试,2012,21(3):41-43.
- [3] 万新民,关德康. 石决明成分与结构分析[J]. 时珍国医国药,2000,11(7):496-497.
- [4] 邱澄宇. 几种鲍壳主要化学组成的研究[J]. 台湾海峡,2001,20(1):80-83.
- [5] 文红梅,陈鸿根,关德康,等. 皱纹环鲍与白鲍贝壳成分的研究[J]. 中国医药杂志,1999,34(2):85-87.
- [6] 陈玉枝,林舒. 闽产鲍鱼壳中碳酸钙微量元素和氨基酸的分析[J]. 福建中医学院学报,1999,9(3):28-30.
- [7] 王志力,陈善飞. 鲍鱼壳蛋白组分研究进展[J]. 现代生物医学进展,2010,10(24):4778-4781.
- [8] 陈忱,赵杰. 鲍鱼壳的结构和力学性能[J]. 材料导报,2009,11(14):457-459.
- [9] 陈斌,吴新燕. 鲍鱼壳珍珠层无机文石片的层状微结构研究[J]. 功能材料,2006,10(37):1631-1633.