

刘恒洋, 郭晓徐, 尹玉鑫, 等. 鸡蛋壳、壳下膜分离工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 193–200. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020090076

LIU Hengyang, GUO Xiaoxu, YIN Yuxin, et al. Optimization of Separation Process of Eggshell and Shell Membrane[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(12): 193–200. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020090076

· 工艺技术 ·

鸡蛋壳、壳下膜分离工艺优化

刘恒洋^{1,2}, 郭晓徐¹, 尹玉鑫¹, 宋绍奇¹, 刘美玉^{1,2,*}, 何鸿举^{3,*}

(1. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北邯郸 056038;
2. 邯郸市天然产物与功能性食品开发重点实验室, 河北邯郸 056038;
3. 河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003)

摘要: 为了开发利用鸡蛋壳和蛋壳膜, 首先必须使二者分离。本文采用机械粉碎、水浮选和稀酸处理相结合的方法进行壳膜分离, 筛选了鸡蛋壳、壳下膜分离的条件; 通过单因素实验考察盐酸体积、反应时间、盐酸浓度对蛋壳膜脱钙率的影响, 并采用响应面分析方法, 对稀盐酸除蛋壳膜中残留蛋壳的工艺条件进行优化。结果表明: 鸡蛋壳在粉碎机运行 5 s/次、粉碎 3 次的条件下壳膜分离效果最佳, 出粉率 58.72%, 脱膜率 87.91%, 综合得分 72.91; 用盐酸去除蛋壳膜中残留蛋壳的最佳工艺条件为粗蛋壳膜 1 g 时, 使用盐酸体积 20 mL、反应时间 19 min、盐酸浓度 0.5 mol/L, 此时脱钙率可达 89.21%。该工艺为鸡蛋壳的精深加工提供技术支撑。

关键词: 鸡蛋壳, 壳下膜, 分离, 响应面优化

中图分类号: TS253.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2023)12-0193-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020090076



本文网刊:

Optimization of Separation Process of Eggshell and Shell Membrane

LIU Hengyang^{1,2}, GUO Xiaoxu¹, YIN Yuxin¹, SONG Shaoqi¹, LIU Meiyu^{1,2,*}, HE Hongju^{3,*}

(1. College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China;
2. Handan Key Laboratory of Natural Products and Functional Food Development, Handan 056038, China;
3. School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: The two must be separated first to exploit the eggshell and the eggshell membranes. In this paper, a combination of mechanical crushing, water flotation and dilute acid treatment was used for shell membrane separation, and the conditions of eggshell and subshell membrane separation were screened. The effects of hydrochloric acid volume, reaction time and hydrochloric acid concentration on the rate of eggshell membrane decalcification were investigated by single-factor tests. And the response surface method (RSM) was applied to optimize the process conditions for removing the residual eggshells from the eggshell membranes with dilute hydrochloric acid. The results showed that the shell-membrane separation effect was the best when the eggshells were crushed under the condition that the crusher runs for 5 s/time and crushes 3 times. The powder extraction rate was 58.72%, the membrane removal rate was 87.91%, and the comprehensive score was 72.91. The best conditions for removing the residual eggshell in the eggshell membrane with hydrochloric acid were 1 g crude eggshell membrane, 20 mL hydrochloric acid, 19 min reaction time, and 0.5 mol/L hydrochloric acid concentration, and the decalcification rate could reach 89.21%. This process would provide the technical support for the intensive processing of the eggshell.

Key words: eggshell; shell membrane; separation; response surface optimization

我国鸡蛋生产和消费量连续 30 多年位居世界第一^[1], 约占世界总产量的 45% 以上^[2-3], 大量鸡蛋被

消费的同时, 鸡蛋壳常被当做废品丢弃掉。据统计 2020 年产生约 400 万吨废弃蛋壳^[4-5], 造成了严重的

收稿日期: 2022-09-08

基金项目: 河北省重点研发计划项目-农业高质量发展关键共性技术攻关专项 (19227127D); 邯郸市科技研究与发展计划项目 (21422012249)。

作者简介: 刘恒洋 (1998-), 男, 硕士, 研究方向: 农产品精深加工及综合利用, E-mail: 1753704868@qq.com。

* 通信作者: 刘美玉 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品精深加工, E-mail: lmy200751@163.com。

何鸿举 (1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品质量快速检测与分析, E-mail: hongju.he@hist.edu.cn。

环境污染和资源浪费^[6]。鸡蛋壳包含蛋壳和蛋壳膜,蛋壳中含有大量的碳酸钙,是一种良好的天然钙源^[7]。蛋壳粉碎制得蛋壳粉可作为动物和人体的钙类补充剂^[8];通过蛋壳制备的葡萄糖酸钙^[9]、柠檬酸钙^[10]等生物活性钙^[11],安全无毒^[12-13],容易被机体所吸收利用^[14]。蛋壳膜俗称凤凰衣,由直径为 2 μm 的纤维组成,呈网状结构,主要成份为蛋白质,以糖蛋白形式存在^[15-17],包括弹性蛋白、角蛋白^[18]、透明质酸^[19]、硫酸软骨素^[20]等。蛋壳膜具有很多特殊的性质,比如表面积高、不溶于水、耐有机溶剂、化学性质稳定,并拥有丰富的表面功能基团。此外壳膜提取物有助于减轻膝关节和骨关节炎导致的关节疼痛^[21-22],在治疗皮肤烫伤及外伤性鼓膜穿孔中有良好的效果^[23-24],还具有良好的透气性和吸附性^[25],对处理污水中的放射性元素,以及对染料废水进行脱水具有很好的效果^[26-27]。

开发利用蛋壳,首先需要将蛋壳与壳下膜有效的分离,目前蛋壳、膜分离的方式主要有三种,物理法、化学法和生物酶法^[28]。物理法是将蛋壳粉碎后加入水中,经过反复搅拌后静置使其分离;化学法是通过强酸或强碱浸泡蛋壳,使化学试剂溶解于乳头层基质中的碳酸钙,破坏动物乳头核心膜和卵壳膜纤维之间的牢固连结,进而达到分离的效果^[29];生物酶法是通过生物蛋白酶对壳下膜进行生物酶解,降低它们的结合力从而达到壳膜分离的效果^[30-31]。对比三种分离方法,物理法使蛋壳壳膜分离不彻底,且蛋壳膜中的钙残留较高;化学法则使蛋壳膜中会残留化学物质,造成化学污染;生物酶法则成本太高,不利于批量生产。目前蛋壳及壳下膜的分离常采用多种方法联合,吸取各个方法的长处进行综合分离。Yoo 等^[32]提出了一种新型的方法,该方法为空气溶解浮选分离壳膜的方法,首先也是通过机械粉碎将蛋壳以及蛋壳膜分离开来,再向水中持续注入空气,较重的蛋壳沉底效果明显,较轻的蛋壳膜浮于水面上,该方法分离出的蛋壳以及蛋壳膜纯度良好,且效率较高,但此分离方法比较繁琐。而本文采取物理法和化学法相结合,物理法的加入解决了化学法中过量使用酸碱的问题,通过机械粉碎、水浮选进行壳膜分离,再对分离完成后的蛋壳膜通过稀盐酸浸泡,减少其中的钙残留,该方法简单、实用,能有效分离鸡蛋壳、膜,大幅度减少了酸的用量,最大限度的保持鸡蛋壳及蛋下膜原有的性质,为鸡蛋壳利用做好前期准备。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鸡蛋壳 新鲜、干净,壳色一致,收集于河北省邯郸市美食林工业园;纯蛋壳膜 自制;氢氧化钠(分析纯)、盐酸(分析纯)、乙二胺四乙酸二钠(含量 ≥ 99.5%) 天津欧博凯化工有限公司;钙羧酸钠盐(分析纯) 天津科密欧化学试剂有限公司;碳酸钙(含量 ≥ 99%) 天津福晨化学试剂有限公司。

JA1002N 电子分析天平 上海精密科学仪器有限公司;标准分样筛 80 目 浙江上虞市道墟张兴纱筛厂;F-1000 摇摆式高速中药粉碎机 新昌县德科机械有限公司;UV-2700 紫外可见分光光度计 岛津仪器有限公司;GTR16-2 型高速冷冻离心机 广东佛衡仪器有限公司;DGG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱 上海博珍仪器设备制造厂;HH-6 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司;85-2 恒温磁力搅拌机 上海司乐仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鸡蛋壳、膜分离工艺

1.2.1.1 试验工艺流程 试验工艺流程如图 1。

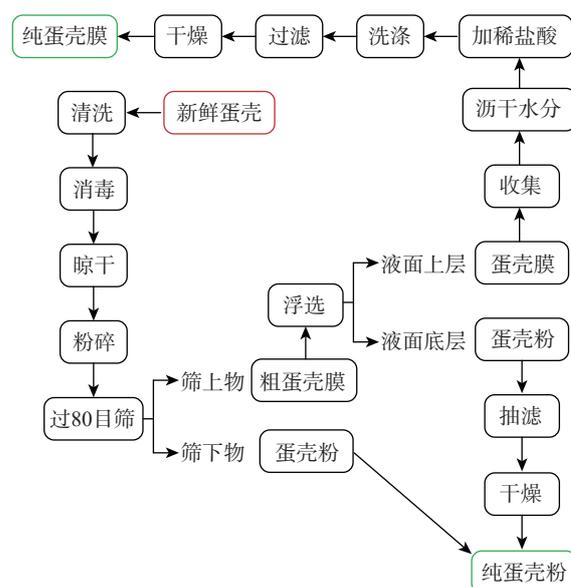


图 1 鸡蛋壳、膜分离工艺流程

Fig.1 Eggshell and membrane separation process flow

1.2.1.2 操作要点 鸡蛋壳选择和处理: a.挑选干净、完整、蛋壳颜色一致的鸡蛋壳,清洗干净,用 63 °C 热水、30 min 或 72~75 °C 热水、20 min 消毒,消毒好的蛋壳摊开放置鼓风干燥箱内,30 °C 下,烘干 5~6 h 或自然晾干,备用; b.蛋壳粉碎、过筛:将处理好的蛋壳用粉碎机粉碎,过 80 目筛,筛下物为蛋壳粉;筛上物为粗蛋壳膜(混有少量蛋壳),备用; c.粗蛋壳膜浮选:将筛上物粗蛋壳膜收集,用 10 倍清水浮选三次,即搅拌三次,静止三次,液面下层为蛋壳粉,抽滤、干燥,液面上层的悬浮物为蛋壳膜,每次浮选都收集液面上层的蛋壳膜。将收集好的蛋壳膜倒入纱布中,用清水过滤,并放入鼓风干燥箱中,在 30 °C 下,烘 4~5 h,干燥,备用; d.粗蛋壳膜加稀盐酸纯化:在一定量干燥的蛋壳膜中加入适量的稀盐酸,有效去除蛋壳膜中残留的少量蛋壳。稀盐酸与残留蛋壳的反应方程式如下: $\text{CaCO}_3 + \text{HCl} = \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \uparrow$; e.洗涤、过滤、干燥:将盐酸处理后的蛋壳膜用清水洗涤,除掉反应产物和残留的盐酸,过滤,干燥,即得纯蛋壳膜,可作为功能性食品或医药用品的原料。

1.2.2 鸡蛋壳、壳下膜分离试验设计 称取蛋壳 50 g,

放在摇摆式粉碎机中研磨,过 80 目筛,筛上物为蛋壳膜(残留一定量的鸡蛋壳),筛下物即为蛋壳粉。在预试验基础上确定了蛋壳粉的出粉率和膜残留量,与打磨时间和次数有关,设计打磨时间 5、10、15 s,分别打磨 1、2、3 次,进行筛选试验,共 1~9 组试验具体试验设计见表 1。

表 1 壳膜分离筛选试验设计

Table 1 Design of shell membrane separation and screening test

实验号	打磨时间(s)	打磨次数
1	5	1
2	5	2
3	5	3
4	10	1
5	10	2
6	10	3
7	15	1
8	15	2
9	15	3

蛋壳出粉率最高和脱膜率最高的为打磨最佳方案。蛋壳出粉率计算公式如下:

$$\text{蛋壳出粉率}(\%) = \frac{\text{筛下物重量}(\text{g})}{50 \text{ g}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

1.2.3 粗蛋壳膜纯化试验设计

1.2.3.1 单因素实验 在多组预实验基础上,选取盐酸体积、反应时间、盐酸浓度,三个因素进行单因素实验,以脱钙率作为判断指标,考察不同因素对蛋壳膜中脱钙率效果的影响。准确称取 1 g 蛋壳膜,置于锥形瓶中,先暂定盐酸体积 20 mL、反应时间 15 min、盐酸浓度 0.5 mol/L,再设计盐酸体积、反应时间、盐酸浓度,单因素实验结果设计如表 2。

表 2 单因素水平设计

Table 2 Single-factor horizontal design

水平	A 盐酸体积(mL)	B 反应时间(min)	C 盐酸浓度(mol/L)
1	5	5	0.1
2	10	10	0.2
3	15	15	0.3
4	20	20	0.4
5	25	25	0.5
6	30	30	0.6

1.2.3.2 响应面试验 根据单因素实验结果,选择盐酸体积、盐酸浓度以及反应时间等三个因素,以脱钙率为判断指标,设计三因素三水平响应面试验,响应面因素和水平设计见表 3。

表 3 响应面分析因子水平编码

Table 3 Level coding of response surface analysis factors

因素	-1	0	1
A 盐酸体积(mL)	10	15	20
B 反应时间(min)	10	15	20
C 盐酸浓度(mol/L)	0.3	0.4	0.5

1.3 指标测定方法

1.3.1 蛋壳中膜残留量的测定 蛋壳膜含量标准曲线的制作:参考聂珍媛等^[33]操作方法,制得蛋壳膜标准溶液,取 0.5、1、2、3、4、5 mL 溶液于试管中,分别添加 5% 的 NaOH 溶液补足至 5 mL,以 5% 的 NaOH 溶液为空白对照,在 278 nm 波长的吸光度下测定样品的吸光度,绘制标准曲线,根据标准曲线计算蛋壳中的蛋壳膜含量^[34]。

膜残留量测定方法:取 1 g 粗蛋壳粉置于 100 mL 烧杯中,根据标准曲线方法制备蛋壳膜水解液,取此溶液在 278 nm 处测定其吸光度,根据标准曲线和稀释倍数,计算蛋壳中膜残留量。

$$\text{脱膜率}(\%) = (1 - \text{膜残留量}) \times 100$$

以出粉率 100%、脱膜率 100% 为满分 100 分标准,出粉率、脱膜率综合得分计算公式如下:

$$\text{综合得分} = (\text{出粉率} \times 100 + \text{脱膜率} \times 100) / 2$$

1.3.2 粗蛋壳膜中脱钙率的测定 钙含量标准曲线的制作:分别取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 的 Ca 标准溶液(钙离子浓度为 1 mg/L)分别置于 100 mL 锥形瓶中,用蒸馏水补充至总体积 5 mL,再加 7.5 mL 的 0.2 mol/L NaOH,滴入 5 滴钙羧酸指示剂。采用浓度为 1% 的 EDTA 标准溶液进行滴定,颜色呈浅蓝色为滴定终点,记录 EDTA 消耗体积,平行滴定三次取平均值。以钙含量为横坐标,以 EDTA 滴定体积为纵坐标绘制标准曲线。

脱钙率的测定方法:在 50 mL 烧杯中加入 1 g 粗蛋壳膜,加入 1 mol/L 的盐酸溶液 30 mL,30 °C 下浸泡 2 h,离心,取上清液,放入 50 mL 容量瓶中,用 1 mol/L 的盐酸定容,摇匀。取其上清液 1 mL,用 EDTA 滴定法,平行滴定三次,取平均值;以 1 mol/L 盐酸溶液作空白对照,根据钙含量标准曲线,计算溶液中的钙含量,即为粗蛋壳膜中残留的总钙含量(X)。用上述同样方法测定 1.2.3.1 方法制得的上清液中的钙含量,为反应后上清液中的钙含量(X₁)。脱钙率(X)的计算公式如下:

$$X(\%) = X_1 / X \times 100$$

式中: X₁ 为反应后上清液中的钙含量, mg; X 为粗蛋壳膜中残留的总钙含量, mg。

2 结果与分析

2.1 壳、膜分离试验结果与分析

蛋壳膜含量标曲线性回归方程为: $Y=0.3785x+0.0524$, $R^2=0.9986$, 以此计算出蛋壳中膜残留量,并换算得到脱膜率,计算综合得分。鸡蛋壳出粉率、脱膜率和综合得分如图 2 所示。从图 2 看出,试验 3 的综合得分最高,达 72.91 分。此时出粉率为 58.72%,脱膜率为 87.1%。

试验 3 对比试验 6、试验 9,虽然其出粉率分别达 61.88%、64.28%,但其脱膜率对比试验 3 分别降

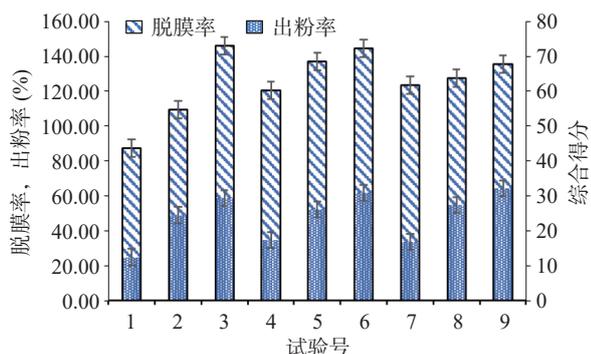


图2 鸡蛋壳出粉率、脱膜率和综合得分

Fig.2 Egg shell flour yield, decoating rate and comprehensive score

低了 5.5% 和 15.6%。这是因为随着粉碎时间延长和粉碎次数增加,蛋壳膜也会被粉碎的较为细小,易过筛,提高了筛下物蛋壳粉的膜残留量;试验 3 和试验 1、试验 2 对比可以发现试验 1 和试验 2 的出粉率较低,且脱膜率较低,这是因为粉碎次数少与粉碎时间低,蛋壳粉碎不彻底,过短的时间使粉碎机中刀片与蛋壳的冲击力不足,此时的蛋壳颗粒大小较大且蛋壳颗粒上仍附着蛋壳膜,导致无法通过筛网筛除,从而使出粉率、脱膜率均较低。试验 1 对比试验 4、试验 7 可发现,随着粉碎时间延长,出粉率提高,但当粉碎时间达 10 s 时,出粉率的变化不明显,这是因为随着粉碎时间增长,蛋壳粉粒径逐渐减小,当减小到一定程度会发生沉底现象,此时的蛋壳粒径大小并不均匀,较小的粒径伴随粉碎机的抖动会沉于机器的底部,而颗粒稍微到的粒径会堆积在机器的上方,细小的蛋壳粉会钻入粉碎机的转轴缝隙,从而增加转轴的内部摩擦力,造成粉碎机发热,降低粉碎效率。可通过减少打磨时间,增加研磨次数解决此问题。因此,壳膜分离的最佳工艺条件为粉碎机运行 5 s/次,粉碎 3 次,此时出粉率为 58.72%,脱膜率为 87.1%,综合得分最高达到 72.91。

2.2 粗蛋壳膜纯化试验结果与分析

钙含量线性回归方程为: $Y=101.71x+0.0145, R^2=0.994$ 。根据回归方程计算出钙含量,通过 1.3.2 脱钙率计算公式,进一步计算脱钙率。

2.2.1 不同盐酸体积对脱钙率的影响 暂定盐酸浓度为 0.5 mol/L,反应时间为 10 min 时,测定不同盐酸体积对脱钙率大小的影响,如图 3 所示。

蛋壳膜中的残留蛋壳主要是以 $CaCO_3$ 的形式存在的,与盐酸反应生成 $CaCl_2$,使钙离子游离在溶液中,过滤,从而达到去除残留蛋壳的目的。本试验采用弱酸进行去除蛋壳膜的残留钙,极大地减少了酸污染产生,最大限度的保存了蛋壳膜的物理化学性质^[35]。从图 3 中可以看出,不同盐酸体积对脱钙率的影响显著($P<0.05$),随着盐酸体积的增加,脱钙率也逐渐升高。5~15 mL 的区间,脱钙率迅速增加,15 mL 之后,脱钙率增加缓慢。在盐酸体积为 15 mL

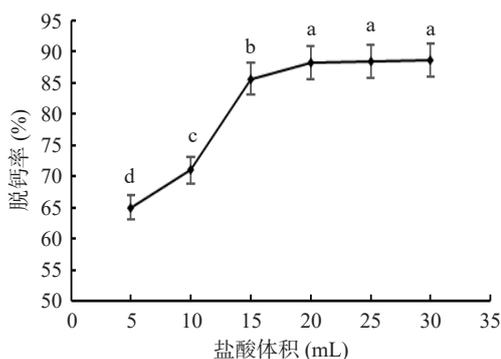


图3 不同盐酸体积对脱钙率的影响

Fig.3 Effect of different volume of hydrochloric acid on decalcification rate

注:不同字母表示同一指标不同条件下的显著性差异($P<0.05$);图 4-图 5 同。

时,脱钙率基本达到稳定值,此时的脱钙率为 85.60%。这是因为 15 mL 的盐酸基本上可以清除蛋壳膜中残留蛋壳,当盐酸体积大于 15 mL 时,此时增加盐酸体积,对脱钙率的影响不大,这是因为 15 mL 的盐酸基本上可以去除蛋壳膜中的钙残留,过高的盐酸量对脱钙率的影响不明显,因此从节约资源以及保护环境的角度,选择 15 mL 为盐酸最佳添加量。

2.2.2 不同反应时间对脱钙率的影响 在确定盐酸体积为 15 mL 的条件下,暂定盐酸浓度为 0.5 mol/L,测定不同反应时间对脱钙率的影响,如图 4 所示。由图 4 可以看出,不同反应时间对脱钙率的影响显著($P<0.05$),随着反应时间延长,脱钙率持续增加,反应时间从 5 到 15 min 阶段,脱钙率从 75.5% 逐渐上升至 87.5%,15 min 之后,脱钙率增加缓慢,增长开始平缓逐渐持平,分析其原因是因为反应时间 15 min 时可使蛋壳膜中的残留蛋壳基本消耗完毕,因此 15min 后延长反应时间并不会对脱钙率提升有显著影响^[36],所以综合考虑选择 15 min 为最佳反应时间。

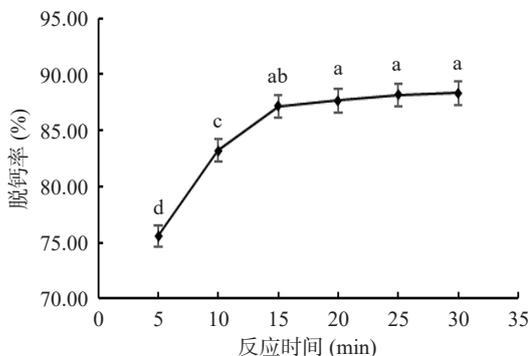


图4 不同反应时间对脱钙率的影响

Fig.4 Effect of different reaction time on decalcification rate

2.2.3 不同盐酸浓度对脱钙率的影响 在确定盐酸体积为 15 mL、反应时间为 15 min 的条件下,测定不同盐酸浓度对脱钙率大小的影响,如图 5 所示。盐酸是一种强电解质,随浓度增加,溶液中氢离子浓

度增加,与碳酸钙的而结合能力增强,即盐酸浓度越高与碳酸钙的集合能力越强,除去蛋壳膜中的残留蛋壳能力也越强^[37]。由图 5 可以看出,不同盐酸浓度对脱钙率的影响显著($P<0.05$),随着盐酸浓度的增高,脱钙率明显上升,当盐酸浓度从 0.1 mol/L 增加到 0.4 mol/L 时,脱钙率从 26.9% 提升至 86.54%,此阶段脱钙率迅速增加,盐酸浓度达到 0.4 mol/L 时,脱钙率增加缓慢,逐渐持平,分析其原因,这是由于 0.4 mol/L 的盐酸基本可以除去粗蛋壳膜中的残留蛋壳,此时增加盐酸浓度对脱钙率的影响不大,所以从经济角度考虑选择 0.4 mol/L 为最佳盐酸浓度。

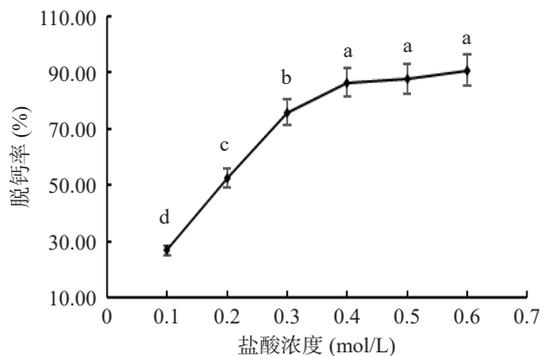


图 5 不同盐酸浓度对脱钙率的影响

Fig.5 Effect of different concentration of hydrochloric acid on decalcification rate

2.2.4 响应面优化试验结果与分析 根据单因素实验的结果,以盐酸体积(A)、反应时间(B)、盐酸浓度(C)作为响应因素,选取脱钙率为主要判断指标,筛选稀盐酸最佳脱钙率参数的最优制备工艺条件。响应面试验结果见表 4。

表 4 响应面试验结果
Table 4 Response surface test results

实验号	A	B	C	脱钙率(%)
1	-1	-1	0	40.2
2	1	-1	0	67.83
3	-1	1	0	40.35
4	1	1	0	69.59
5	-1	0	-1	33.04
6	1	0	-1	56.72
7	-1	0	1	50.29
8	1	0	1	88.37
9	0	-1	-1	49.12
10	0	1	-1	50.80
11	0	-1	1	70.17
12	0	1	1	76.31
13	0	0	0	62.28
14	0	0	0	63.59
15	0	0	0	62.71
16	0	0	0	62.71
17	0	0	0	64.03

对表 4 中试验数据进行多元回归拟合,得到各因素与响应值的二次多项回归模型为: $Y=63.06+14.83A+1.22B+11.93C+0.4AB+3.6AC+1.12BC-6.53A^2-2.04B^2+0.57C^2$

对回归模型进行方差分析,结果见表 5。根据 P 值的大小可以显示模型及其各个考察因素的显著水平。当 $P<0.05$ 时,表明该模型或其各因素影响显著, $P<0.01$ 时,表明该模型或其各因素影响极显著。

表 5 方差分析
Table 5 Variance analysis

方差分析	平方和	自由度	均值	F值	P值	显著性
模型	3171.22	9	352.36	243.86	<0.0001	**
A	1759.13	1	1759.13	1217.44	<0.0001	**
B	11.83	1	11.83	8.19	0.0243	*
C	1139.08	1	1139.08	788.32	<0.0001	**
AB	0.65	1	0.65	0.45	0.5245	
AC	51.84	1	51.84	35.88	0.0005	**
BC	4.97	1	4.97	3.44	0.1060	
A ²	179.72	1	179.72	124.38	<0.0001	**
B ²	17.49	1	17.49	12.11	0.0103	*
C ²	1.39	1	1.39	0.96	0.3596	
残差	10.11	7	1.44			
失拟项	8.04	3	2.68	5.17	0.0733	不显著
误差	2.08	4	0.52			
总离差	3181.34	16				
$R^2=0.9968$ $R^2_{adj}=0.9927$ $CV=2.03\%$ $Adeq.Precision=58.054$						

注: **表示 $P<0.01$ 影响极显著; *表示 $P<0.05$ 影响显著。

由表 5 可以看出,以脱钙率为响应值时,该模型 P 值 <0.001 表明二次方程模型极显著,且失拟项 P 值为 $0.0733>0.05$ 不显著,说明试验误差较小,模型拟合良好;模型决定系数 R^2 为 0.9968 , $R^2_{adj}=0.9927$,两者的数值较高,且较为接近,说明模型具有较好的准确性和通用性,该模型能够反映响应值 Y 值的变化,可采用该模型对稀盐酸最佳脱钙率参数进行预测和分析;通过变异系数 CV 可以反应出模型的可信度, CV 值越低,模型的可信度越高,该试验的变异系数 $CV=2.03\%$,表明该模型稳定,可以用来分析响应值的变化。根据 F 值可知,各因素对蛋壳膜脱钙率的影响由高到低依次为 $A>C>B$,即盐酸体积>盐酸浓度>反应时间。

根据回归方程得出 AB 、 AC 、 BC ,即盐酸体积与反应时间、盐酸体积与盐酸浓度,反应时间与盐酸浓度之间交互作用,得出的响应面和等高线,见图 6~图 8。

图 6~图 8 中 3D 响应面图可直观描绘回归模型;等高线图形状越趋于圆形,表明两个自变量间的交互效应越弱;若等高线的形状接近椭圆形,表明两个自变量间交互作用显著。相对而言,本试验中 A (盐酸体积)与 C (盐酸浓度)交互作用曲面最为陡峭,表明盐酸在与蛋壳膜反应的同时,盐酸浓度的上升,对盐酸体积的影响显著($P<0.01$)。盐酸体积与盐酸浓度升高,脱钙率也会升高。

由回归模型预测和分析得出用盐酸去除中残留蛋壳的最佳工艺条件为粗蛋壳膜 1 g 时,盐酸体积 20 mL、反应时间 18.34 min、盐酸浓度 0.5 mol/L,此时的脱钙率可达 88.383%。

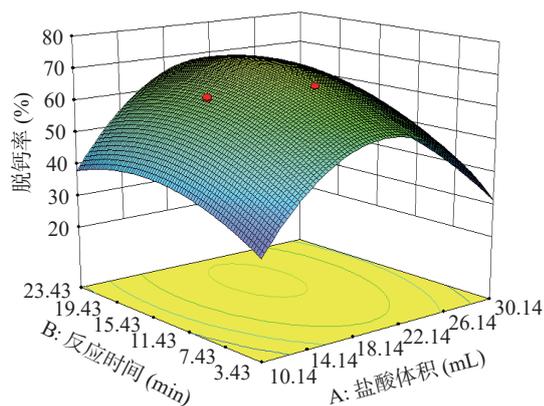


图6 盐酸体积与反应时间之间的交互作用对脱钙率的影响

Fig.6 Influence of interaction between hydrochloric acid volume and reaction time on decalcification rate

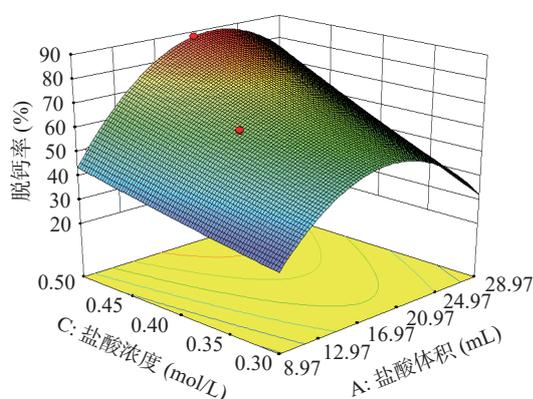


图7 盐酸体积与盐酸浓度之间的交互作用对脱钙率的影响

Fig.7 Influence of the interaction between HCl volume and HCl concentration on decalcification rate

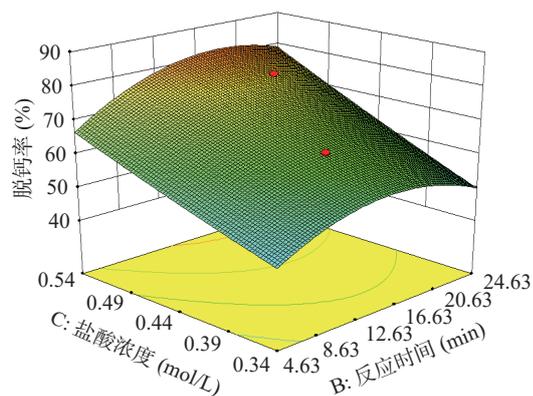


图8 反应时间与盐酸浓度之间的交互作用对脱钙率的影响

Fig.8 Effect of interaction between reaction time and concentration of hydrochloric acid on decalcification rate

2.2.5 验证试验 考虑到实际情况,粗蛋壳膜 1 g 时,选择盐酸体积 20 mL,反应时间 19 min,盐酸浓度 0.5 mol/L,在此条件下,脱钙率达到了 89.21% 与理论值 88.383% 接近,拟合度较好,相对误差仅为 0.94% (<5%),说明采用响应面设计得到的工艺参数真实可信。

3 结论

本研究利用废弃蛋壳作为原材料,采用机械粉

碎结合水浮选进行壳膜分离,同时使用稀盐酸对分离的蛋壳膜进行提纯。结果表明:蛋壳出粉率为 58.72%,蛋壳脱膜率可达 87.10%,综合得分为 72.91。此方法最大限度的保证了蛋壳、蛋壳膜的特性,分离效果好。采用响应面法优化去除蛋壳膜残留蛋壳的工艺条件,以脱钙率为指标,采用 EDTA 法测定蛋壳膜中的钙含量,得出用盐酸除去蛋壳膜中残留蛋壳的最佳工艺参数为粗蛋壳膜 1 g 时,盐酸体积 20 mL、盐酸浓度 0.5 mol/L、反应时间 19 min,此时的脱钙率可达 89.21%。本研究有效的对蛋壳,壳膜进行分离,并对蛋壳膜进行纯化,稀盐酸的采用极大地减少了酸的用量,此试验采用的方法与其他方法做比较,具有节约资源,并降低了对环境的污染,且有利于保留蛋壳膜原有的理化性质的优点。且此分离方法,成本低廉,安全高效较为环保,且分离效果良好,可用于大规模蛋壳、膜的分离,为之后的鸡蛋壳膜精深加工奠定了基础。本文在对去蛋壳膜去除残留的蛋壳方面仍有提升的空间,可在较好的实验条件下进一步对所分离的蛋壳膜进行纯化。

参考文献

- [1] 刘元,姚骏,王玥玮,等. 蛋壳深加工产业现状[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(23): 220-224. [LIU Y, YAO J, WANG Y W, et al. Current status of eggshell deep processing industry[J]. Food Research and Development, 2020, 41(23): 220-224.]
- [2] 吕玲,吴荣富. 国内外蛋品产业发展现状及消费趋势[J]. 中国家禽, 2015(1): 10. [LÜ L, WU R F. Development status and consumption trend of egg industry at home and abroad[J]. China Poultry, 2015(1): 10.]
- [3] WAHEED M, YOUSAF M, SHEHZAD A, et al. Channelling eggshell waste to valuable and utilizable products: A comprehensive review[J]. Trends in Food Science and Technology, 2020, 106: 78-90.
- [4] 刘德婧,马美湖. 蛋壳源有机钙的研究发展现状[J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 372-376. [LIU D J, MA M H. Research and development status of eggshell derived organic calcium[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(9): 372-376.]
- [5] 章友昌,保明狄,李文昕,等. 鸡蛋壳膜分离技术研究进展[J]. 中国家禽, 2022, 44(7): 90-95. [ZHANG Y C, BAO M D, LI W X, et al. Research progress of egg shell membrane separation technology[J]. China Poultry, 2022, 44(7): 90-95.]
- [6] TONG T Z, HUANG F Y, CHEN Z. Research progress on comprehensive development of egg shell resources[J]. Popular Science and Technology, 2021, 23(11): 39-42.
- [7] ELAHEH M. U-Assisted preparation of nano eggshell powder: A novel catalyst in green and high efficient synthesis of 2-aminochromenes[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20: 1436-1441.
- [8] 田春美,王艳领. 蛋壳粉苏打饼干的研制[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(7): 45-47. [TIAN C M, WANG Y L. Preparation of eggshell soda cracker[J]. Grain and Oil, 2020, 33(7): 45-47.]
- [9] 江丹莉,张焯深,孙俊峰,等. 蛋壳粉少量替代石粉对蛋鸭产蛋性能、蛋品质及钙代谢的影响[J]. 广东农业科学, 2020, 47(3): 117-122. [JIANG D L, ZHANG C S, SUN J F, et al. Effects of

- eggshell powder on laying performance, egg quality and calcium metabolism of laying ducks[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(3): 117-122.]
- [10] 李孟艳,王永,杨孟孟,等.鸡蛋壳直接制备葡萄糖酸钙的工艺探索[J].*中国卫生检验杂志*,2020,30(22):2695-2697. [LI M Y, WANG Y, YANG M M, et al. Preparation of calcium gluconate from egg shells[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Science*, 2020, 30(22): 2695-2697.]
- [11] 刘宪红.利用鸡蛋壳制备柠檬酸钙的工艺研究[J].*现代盐化工*,2021,48(1):29-31. [LIU X H. Preparation of calcium citrate from egg shell[J]. *Modern Salt Chemical Industry*, 2021, 48(1): 29-31.]
- [12] 许先猛,张增帅,郭俊花,等.鸡蛋壳赖氨酸螯合钙的制备及其结构表征[J].*现代食品科技*,2020,36(8):80-85,109. [XU X M, ZHANG Z S, GUO J H, et al. Preparation and characterization of lysine chelated calcium from egg shell[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(8): 80-85,109.]
- [13] 李彦坡,马美湖.蛋壳及蛋壳膜的研究和利用[J].*粮食与食品工业*,2008,15(5):27-31. [LI Y P, MA M H. Study and utilization of eggshell and eggshell membrane[J]. *Grain and Food Industry*, 2008, 15(5): 27-31.]
- [14] 王丽娜.蛋壳粉馒头的研制[J].*粮油食品科技*,2018,26(1):21-24. [WANG L N. Research and development of eggshell flour steamed bread [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foodstuffs*, 2018, 26(1): 21-24.]
- [15] HINCKE M T, GAUTRON J, PANHELEUX M, et al. Identification and localization of iyozyme as a component of eggshell membranes and eggshell[J]. *Matrix Biology*, 2000, 19(5): 443-453.
- [16] 周艳华,张春艳.鸡蛋壳膜的开发与应用前景[J].*江苏调味品副食品*,2022(2):5-7. [ZHOU Y H, ZHANG C Y. Development and application prospect of egg shell film[J]. *Jiangsu Flavored Food*, 2022(2): 5-7.]
- [17] HUANG X, ZHOU Y H, MA M H, et al. Chemiluminescence evaluation of antioxidant activity and prevention of DNA damage effect of peptides isolated from soluble eggshell membrane protein hydrolysate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(23): 12137-12142.
- [18] 张伟云,张凤清.鸡蛋壳膜多肽酶解工艺及抗氧化活性研究[J].*食品研究与开发*,2021,42(21):47-55. [ZHANG W Y, ZHANG F Q. Enzymatic hydrolysis of egg shell polypeptide and its antioxidant activity[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(21): 47-55.]
- [19] 刘元,郝惠阳,暴悦梅,等.可溶性蛋壳膜蛋白的提取工艺研究[J].*食品研究与开发*,2021,42(14):87-92. [LIU Y, HAO H Y, BAI Y M, et al. Study on Extraction technology of soluble eggshell membrane protein[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(14): 87-92.]
- [20] 李敏,侯增森,李晓颖,等.改良吡啶法测定重组人溶菌酶滴眼液中透明质酸钠的含量[J].*化学分析计量*,2019,28(1):95-98. [LI M, HOU Z M, LI X Y, et al. Determination of sodium hyaluronate in recombinant human lysozyme eye drops by modified carbazole method[J]. *Chemometrics*, 2019, 28(1): 95-98.]
- [21] 刘涛,张铁鹏,梁欣悦,等.响应面法优化蛋壳膜硫酸软骨素提取工艺[J].*包装工程*,2019,40(17):48-55. [LIU T, ZHANG T P, LUAN X Y, et al. Optimization of chondroitin sulfate extraction from eggshell membrane by response surface method[J]. *Packaging Engineering*, 2019, 40(17): 48-55.]
- [22] KALMAN D S, HEWLINGS S. The effect of oral hydrolyzed eggshell membrane on the appearance of hair, skin, and nails in healthy middle-aged adults: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial[J]. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2020, 19(6): 1463-1472.
- [23] KIERS J L, BULT J H F. Mildly processed natural eggshell membrane alleviates joint pain associated with osteoarthritis of the knee: A randomized double-blind placebo-controlled study[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2020, 24(3): 292-298.
- [24] 梁欣悦.蛋壳膜多糖的提取及应用研究[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2016. [LUAN X Y. Study on extraction and application of eggshell membrane polysaccharide[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2016.]
- [25] INO T, HATTORI M, YOSHIDA T, et al. Improved physical and biochemical features of a collagen membrane by conjugating with soluble egg shell membrane protein[J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 2006, 70(4): 865-873.
- [26] 杨引玲,温雅琼,李毅,等.蛋壳膜原位生长 PbS 纳米颗粒及其机理初探[J].*化学研究与应用*,2011,23(7):907-910. [YANG Y L, WEN Y Q, LI Y, et al. In situ growth of PbS nanoparticles on eggshell membrane and its mechanism[J]. *Chemical Research and Application*, 2011, 23(7): 907-910.]
- [27] ISHIKAWA I, SUYAMA K, SATOH I. Biosorption of actinides from dilute waste actinide solution by egg-shell membrane [C]//State of New Jersey: Twentieth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, 1999: 521-533.
- [28] MAFU L D, MSAGATI T A M, MAMBA B B. Adsorption studies for the simultaneous removal of arsenic and selenium using naturally prepared adsorbent materials[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2013: 1-10.
- [29] 李逢振.蛋壳膜分离技术的研究[J].*农产品加工*,2020(4):6567. [LI F Z. Research on separation technology of eggshell shell and membrane[J]. *Agricultural Product Processing*, 2020(4): 6567.]
- [30] TORRES MANSILLA A C, DELGADO MEJÍA E. Influence of separation techniques with acid solutions on the composition of eggshell membrane[J]. *International Journal of Poultry Science*, 2017, 16(11): 1-456.
- [31] 石珊珊.茶皂素提取并提纯工艺研究概述[J].*粮食与食品工业*,2019,29(3):25-29. [SHI S S. Research overview on extraction and purification technology of tea saponin[J]. *Grain and Food Industry*, 2019, 29(3): 25-29.]
- [32] YOO S, HSIEH J S, ZOU P, et al. Utilization of calcium carbonate particles from eggshell waste as coating pigments for inkjet printing paper[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(24): 6416-6421.
- [33] 聂珍媛,任凤莲,夏金兰,等.一种禽蛋壳膜高效分离新方法[J].*食品科技*,2008(2):66-69. [NIE Z Y, REN F L, XIA J L, et al. A new method for separation of eggshell membrane[J]. *Food Science and Technology*, 2008(2): 66-69.]
- [34] 王瑞环,任发政,黄正杰,等.联合冲击破碎、浮选和酸处理禽蛋壳膜提取方法的研究[J].*食品工业科技*,2012,33(2):

- 291-294,299. [WANG R H, REN F Z, HUANG Z J, et al. Research on extraction method of egg shell membrane by combined impact crushing, flotation and acid treatment[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(2): 291-294,299.]
- [35] 李涛, 马美湖, 蔡朝霞, 等. 鸡蛋壳膜高效环保分离方法的研究[J]. 环境工程, 2009, 27(S1): 533-537. [LI T, MA M H, CAI Z X, et al. Study on high efficiency and environmental protection separation of egg shell membrane[J]. Environmental Engineering, 2009, 27(S1): 533-537.]
- [36] 苏彦文, 闫增光, 张凤荣, 等. 鲜蛋壳内膜高效快速分离技术的研究[J]. 吉林化工学院报, 2016, 33(9): 15-20. [SU Y W, YAN Z G, ZHANG F R, et al. Study on efficient and rapid separation technology of fresh eggshell inner membrane[J]. Journal of Jilin University of Chemical Technology, 2016, 33(9): 15-20.]
- [37] 王岩, 宫春宇, 王存堂, 等. 响应面法优化鸡蛋壳膜分离工艺条件的研究[J]. 食品工业, 2015, 36(8): 112-114. [WANG Y, GONG C Y, WANG C T, et al. Optimization of eggshell membrane separation technology by response surface method[J]. Food Industry, 2015, 36(8): 112-114.]