酸碱法分离斑节对虾蛋白的营养特性研究

洪伟[1]，孙成波[2]，周春霞[1]，洪鹏志[1]，王云[1]
（1.广东省水产品加工与安全重点实验室，广东普通高等学校水产品深加工重点实验室，广东海洋大学食品科技学院，广东湛江 524088）（2.广东海洋大学水产学院，广东湛江 524088）

摘要：本研究分别以斑节对虾全虾和虾肉为原料，采用酸碱法（Isoelectric solubilization/precipitation）提取蛋白，探讨了极端酸碱 pH 溶解-沉淀条件对分离蛋白的提取得率、基本营养成分及营养品质的影响。结果表明：在料液比 1:9（g/mL）、pH 2.0、pH 3.0 以及 pH 11.0、pH 12.0 条件下溶解，pH 5.5 条件下沉淀，全虾的蛋白提取得率在 75.67%~82.72%，虾肉的蛋白提取得率在 68.33%~80.5%，且均在 pH 2.0 和 12.0 时有最大蛋白提取率。斑节对虾分离蛋白中干基粗蛋白含量在 82%以上，灰分含量在 1.3%左右，且酸性溶解条件提取的分离蛋白中粗蛋白和灰分含量显著（$p<0.05$）高于碱性溶解条件。对虾分离蛋白中必需氨基酸量、半必需氨基酸量、总氨基酸量和风味鲜度均高于原料对照，但虾味氨基酸量低于对照；所得分离蛋白的必需氨基酸配比符合 FAO/WHO/UNU 的理想模式。对虾分离蛋白中 K、Mg、Cu、Zn 和 Mn 五种元素的含量均显著（$p<0.05$）低于原料虾和虾肉，碱性溶解条件下分离蛋白中矿质元素含量低于酸性溶解条件（$p<0.05$）。酸碱法制备斑节对虾分离蛋白具有蛋白得率高、营养品质佳的特点，可用于生产优良的食品和饲料。

关键词：斑节对虾；酸碱法；pH；分离；蛋白质；营养；
文章篇号：1673-9078(2014)7-193-198

Isolation and Nutrient Composition of Protein Isolates from *Penaeus monodon* using Isoelectric Solubilization/Precipitation

HONG Wei[1], SUN Cheng-bo[2], ZHOU Chun-xia[1], HONG Peng-zhi[1], WANG Yun[1]
(1.Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, College of Food Science and Technology, Zhanjiang 524088, China) (2.College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In this study, effect of pH conditions in the extraction process on protein yield, changes of nutritional components and nutritional value of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp (*Penaeus Monodon*) using isoelectric solubilization/precipitation (ISP) was investigated. Protein isolates were obtained from tiger shrimp at a ratio of 1:9 with cold distilled water, dissolved at pH 2.0, 3.0 and pH 11.0, 12.0, subsequently precipitated at pH 5.5. Protein yields from whole and muscle of tiger shrimp were 75.67%~82.72% and 68.33%~80.5%, respectively. The highest protein extraction was observed at pH 2.0 and 12.0. Crude protein content in protein isolates extracted from both materials was more than 71% (dry weight), and the acidic treatments yielded significantly ($p<0.05$) higher contents of crude protein and ash in the recovered proteins than the basic treatments. The protein isolates from both pH treatments had increased contents of essential, semi essential and total amino acids as well as flavor amino acids but lowered content of shrimp-flavor amino acids than those of the starting materials. And their essential amino acids content met the FAO/WHO/UNU requirements. Both basic and acidic treatments gave rise to the removal of Cu, Mg, K, Zn and Mn, and the basic treatments yielded protein with significantly ($p<0.05$) higher amount of minerals than the acidic treatments. Therefore, protein isolates prepared from whole and muscle of tiger shrimp via ISP were high in protein yield and nutritional value and may be used for the development of human food and animal feeds.

Key words: *Penaeus monodon*; isoelectric solubilization/precipitation; pH; extraction; proteins; nutrition

收稿日期：2014-03-09
基金项目：国家高技术研究发展计划（863 计划）项目（2013AA102201）；国家自然科学基金资助项目（31201389）
作者简介：洪伟（1987-），男，硕士研究生，研究方向为水产品加工及贮藏工程
通讯作者：周春霞（1979-），女，博士，副教授，主要从事水产品深加工研究

我国是世界上对虾产量最大的国家，且对虾养殖产量呈现逐年递增的趋势。2012 年，世界对虾产量 313 万 t，其中我国养殖对虾产量达 169.7 万 t[1]。斑节对虾是世界上三大养殖虾类中养殖面积和产量最大的对虾养殖品种，也是中国南方沿海诸省的重要养殖对象之一。作为一种高蛋白低脂肪的健康水产品，我国斑节对虾除了以活体销售外，相应的加工利用率还很低。为了提高对虾经济价值，往往会利用虾肉蛋白生产高附加值产品，如虾丸、虾肠等。传统虾肉分离方法，即采用手工或用机械手段使虾肉与虾壳分离的方法，会产生虾头、虾壳等下脚料（约占虾体重量的 30%~40%），部分用于生产饲料和甲壳素，造成了下脚料中蛋白资源的浪费和一定的环境污染[2]。如何采用新的方法充分利用对虾资源成为了亟待解决的问题。

20 世纪 90 年代末，Hultin 等发明了酸碱法（Isoelectric solubilization/precipitation），也称 pH 调节法，制备分离蛋白的技术，即在极端酸碱 pH 值条件下溶解蛋白质，再利用等电点性质沉淀分离蛋白[3]。该方法最早是为了解决传统鱼糜生产中存在的蛋白得率不高，产生的污水多，下脚料和低值鱼蛋白无法回收等问题开发的。此外，pH 值调节法还有回收的蛋白质脂肪含量低，操作温度低，节省劳动力；不会引起氨基酸消旋化，也不会产生丙胺酸等致癌物；回收的蛋白质的功能特性和食品安全性较好等特点。目前，酸碱法在鱼分离蛋白方面研究较多[4]，如鲱鱼[5]、鲢鱼[6]、鳕鱼[7]、罗非鱼[8]等及加工下脚料蛋白[9]均有报道，但在虾类分离蛋白中，仅见于磷虾[10-14]。本文拟运用酸碱法回收斑节对虾分离蛋白，并对提取得率、基本营养成分及营养品质进行了分析，旨在为斑节对虾蛋白的高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

斑节对虾，由海南南疆海洋生物技术有限公司三联基地养殖场提供，体长 5~7 cm，冷冻运回实验室，虾肉通过去头、去壳、去肠线获得，并经清洗、沥干、绞碎后分装（80 g/袋）于-20 ℃冷冻备用，采用凯氏定氮法检测全虾和虾肉的粗蛋白含量分别为（13.20±0.25）%和（16.20±0.21）%。试验所用试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

CR 22GⅡ冷冻离心机，日本日立公司；CQ-C10 马弗炉，河南洛阳纯青炉业有限公司；DGH-9023A 鼓风干燥箱，上海精密科学仪器有限公司；日立 835-50 氨基酸自动分析仪，日本日立公司；361CRT 原子吸收分光光度计，上海精密科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 斑节对虾蛋白分离方法

分别取适量全虾和虾肉的冷冻样品，经 4 ℃解冻后分散于 9 倍体积（mL/g）的冷蒸馏水（4 ℃）中，均质。将均质后的浆液分别用 2 mol/L HCl 和 NaOH 调节 pH 为 2.0、3.0 及 11.0、12.0，低速（400 r/min）搅拌 10 min，离心（4 ℃，10000 r/min，20 min,），收集上清液，重复上述操作，收集两次离心后的上清液即为可溶性蛋白溶液。再将上述蛋白上清液的 pH 调至 5.5，沉淀蛋白，离心（4 ℃，10000 r/min，20 min），所得沉淀即为全虾和虾肉的分离蛋白。

1.3.2 pH 值调节法提取蛋白的得率

采用凯氏定氮法测定蛋白含量。pH 值调节法提取蛋白质得率用等电点沉淀蛋白质的量（g）与原料中所含蛋白质的量（g）的百分比来表示。

1.3.3 基本营养成分测定方法

参照国标 GB5009-85 中方法，水分含量采用直接干燥法；粗蛋白采用半微量凯氏定氮法；粗脂肪的测定采用索氏抽提法；灰分的测定采用干法灰化法。

1.3.4 氨基酸组成分析及营养评价

取适量冷冻干燥后的样品，在 110 ℃经 6 mol/L 盐酸水解 24 h 后，定容过滤，取滤液用日立 835-50 氨基酸自动分析仪测定天冬氨酸等 17 种氨基酸含量。色氨酸含量在样品碱水解后用同机测定。依据 FAO/WHO/UNU 1973 年建议的每克蛋白质氮氨基酸评分标准模式[15]和中国预防医学科学院、营养与食品卫生研究所提出的鸡蛋蛋白模式[8]，分别计算氨基酸评分（AAS）、化学评价（CS）和必需氨基酸指数（EAAI）。

1.3.5 分离蛋白的矿质元素含量检测

按 GB/T 5009-2003 进行样品预处理及计算。样品中 K、Mg、Cu、Zn 和 Mn 含量均采用 361CRT 原子吸收分光光度计进行测定。

1.3.6 数据统计方法

实验结果采用 JMP 7.0.2 软件进行统计分析，各组数据用平均数±标准方差（Mean±SD）的形式。$p<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 提取条件对斑节对虾分离蛋白得率的影

响

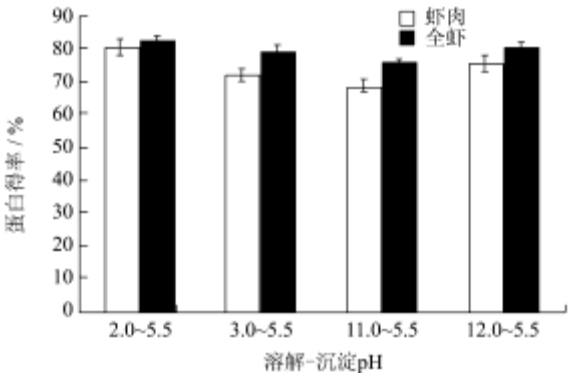


图 1 不同提取条件下斑节对虾蛋白的得率（%）

Fig.1 Recovery yield (%) of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp solubilized at different pH and precipitated at pH 5.5

将斑节对虾全虾和去头、壳的虾肉分别在 4 种近极端 pH 条件（pH 2.0、3.0、11.0 和 12.0）下溶解，取离心后上清液，调至 pH 5.5 沉淀，溶解-沉淀过程中的蛋白得率如图 1 所示。由图可知，在给定 pH 范围内，斑节对虾的蛋白提取得率较高，全虾的蛋白得率 75.67%~82.72%，虾肉的蛋白得率 68.33%~80.5%。蛋白质的溶解性受 pH 影响较大，在偏离等电点的极端酸性或碱性 pH 值条件下，一方面蛋白质带同种正电荷或负电荷发生静电排斥，另一方面水分子同这些带电荷蛋白质结合促使蛋白质发生溶解；而在极端酸性（pH≤3.0）或碱性（pH≥11.0）条件时，极端 pH 环境使得蛋白质静电排斥和水合作用加大，蛋白质的增溶效果更明显[15]。在溶解 pH 为 2.0 和 12.0 时，斑节对虾全虾和虾肉蛋白提取率均分别高于（$p<0.05$）溶解 pH 为 3.0 和 11.0 时的情况。李芳等[11]在研究 pH 调节法回收南极磷虾蛋白试验中也发现在 pH 为 1.5 和 12.0 时回收率最大。这可能与 pH 在 2.0 和 12.0 时蛋白质溶解度更高有关。Nolsøe 等[16]在总结了酸碱法对 13 个品种鱼蛋白回收率时发现，其中有 10 个品种在极端酸性条件蛋白回收率要好于极端碱性条件。李芳等[11]通过 SDS-PAGE 分析南极磷虾分离蛋白组分时，发现极端酸性条件下回收的蛋白组分多于碱性条件。然而，本文中极端酸性条件下蛋白提取率高于极端碱性条件，但差异不显著（$p>0.05$）。鱼类蛋白回收率因种属关系会有差异，通常在 42%~90%之间[4]，考虑到对虾体内水解酶类丰富且有较多的肌浆蛋白，理论上虾类蛋白的回收率要比鱼类低。从原料分析，采用斑节对虾全虾的蛋白提取率要普遍高于虾肉。可能是因为虾肉做原料时，处理操作如匀浆、搅拌等引起蛋白变性聚集程度要高于全虾，使得实际溶解的蛋白浓度降低。也可能是由于全虾原料中某些蛋白比虾肉蛋白更易溶解导致。

2.2 斑节对虾分离蛋白的主要营养成分分析

表 1 斑节对虾分离蛋白的主要营养成分（%）

Table 1 Proximate composition (%) of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp solubilized at different pH and precipitated at pH 5.5

原料	溶解-沉淀 pH 值	水分	粗蛋白（干基）	灰分（干基）
虾肉	2.0~5.5	10.20±0.19	89.89±2.11	1.30±0.22
	3.0~5.5	11.44±0.18	88.19±0.92	1.26±0.30
	11.0~5.5	15.85±0.16	86.36±1.42	1.28±0.01
	12.0~5.5	13.61±0.17	87.57±1.64	1.21±0.41
全虾	2.0~5.5	10.20±0.18	84.84±2.14	1.37±0.02
	3.0~5.5	10.81±0.15	82.07±1.50	1.34±0.56
	11.0~5.5	14.36±0.16	82.99±2.03	1.32±0.39
	12.0~5.5	11.01±0.18	83.45±2.23	1.24±0.12

分别对全虾和虾肉的分离蛋白主要营养成分进行检测，其结果见表 1。由表可知，所得斑节对虾分离蛋白中粗蛋白的含量最高，均占 82%以上（以干基计），高于已报道的酸碱法提取磷虾分离蛋白中 77.7%的粗蛋白干基含量[12]。造成分离蛋白中粗蛋白含量差异原因可能是品种差异。在溶解 pH 分别为 2.0 和 12.0 时，分离蛋白中粗蛋白含量均最高。酸性 pH 溶解条件下提取的分离蛋白，跟碱性条件相比，其粗蛋白和灰分含量更高。与用全虾做原料相比，从虾肉中提取的蛋白中粗蛋白含量显著升高（$p<0.05$），而灰分含量显著降低（$p<0.05$）。各分离蛋白样品的灰分含量均较低（≤2%），且要略少于正常虾肉中灰分含量，但显著（$p<0.05$）低于全虾中灰分含量。Chen 等[13]也有关于酸碱法提取的分离蛋白中也有灰分含量低于全虾的报道。说明酸/碱提取和等电点沉淀过程可以有效除去斑节对虾中其他不溶性杂志，有效降低灰分含量，提高蛋白纯度[8]。

2.3 斑节对虾分离蛋白的氨基酸组成及营养评价

对斑节对虾分离蛋白中氨基酸进行组分和含量分析，其结果见表 2。由表可知，斑节对虾分离蛋白的氨基酸组成与虾肉和全虾中氨基酸组成基本一致，其中谷氨酸的含量最高。与对照组原料蛋白相比，分离蛋白中除甘氨酸含量降低（约 50%），其它各氨基酸含量均有不同程度的提高。这可能是因为部分甘氨

酸为游离氨基酸，在蛋白等电点沉淀过程中被除去。据报道酸碱法提取的罗非鱼分离蛋白中甘氨酸含量也有减少的趋势[8]。

表 2 斑节对虾分离蛋白中氨基酸组分及含量（10^{-2}g/g）

Table 2 Amino acid composition and contents of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp solubilized at different pH and precipitated at pH 5.5

氨基酸	虾肉					全虾				
	干粉	不同溶解-沉淀 pH 条件下制备的蛋白粉				干粉	不同溶解-沉淀 pH 条件下制备的蛋白粉			
		2.0~5.5	3.0~5.5	11.0~5.5	12.0~5.5		2.0~5.5	3.0~5.5	11.0~5.5	12.0~5.5
天冬氨酸△	7.99	10.30	10.70	10.00	10.60	6.91	9.71	9.29	8.81	9.06
苏氨酸*	3.01	3.84	4.06	3.81	4.11	2.74	3.60	3.56	3.51	3.56
丝氨酸	2.84	3.63	3.91	3.67	3.87	2.65	3.40	3.39	3.33	3.37
谷氨酸△	13.00	15.90	16.90	16.10	16.70	10.90	14.20	13.30	13.70	13.50
脯氨酸	2.88	3.12	2.98	2.37	2.27	2.18	2.61	2.50	2.53	2.11
甘氨酸△▲	7.75	3.68	3.86	3.82	3.78	7.10	3.58	3.26	3.41	3.36
丙氨酸△▲	4.59	5.48	5.75	5.45	5.58	4.37	5.04	4.66	4.72	4.65
缬氨酸*	3.45	4.59	4.65	4.42	4.56	3.30	4.03	3.99	3.83	3.94
甲硫氨酸*	2.56	4.03	3.89	3.80	3.77	2.39	2.82	2.74	2.85	2.82
异亮氨酸*	3.34	4.43	4.68	4.46	4.56	3.90	4.04	4.07	4.13	3.98
亮氨酸*	6.08	8.01	8.58	8.13	8.34	5.46	7.26	7.06	7.21	7.21
酪氨酸	2.81	3.50	3.75	3.56	3.43	2.29	3.36	3.27	3.31	3.25
苯丙氨酸*	3.20	4.29	4.31	4.08	4.20	2.97	3.85	3.86	3.65	3.72
赖氨酸*	6.56	8.52	8.96	8.51	8.94	5.36	7.38	6.61	6.60	6.70
组氨酸**	1.30	1.73	1.88	1.72	1.88	1.08	1.82	1.96	1.73	1.84
精氨酸**▲	7.45	6.97	7.45	7.12	7.19	5.73	6.34	5.85	6.00	5.90
色氨酸*	0.77	0.53	0.55	0.78	0.70	0.12	0.20	0.11	0.12	0.20
TAA	79.58	92.55	96.86	91.80	94.48	69.45	83.24	79.48	79.44	79.17
EAA	28.97	38.24	39.68	37.99	39.18	26.24	33.18	32.00	31.90	32.13
HEAA	8.75	8.70	9.33	8.84	9.07	6.81	8.16	7.81	7.73	7.74
NEAA	41.86	45.61	47.85	44.97	46.23	36.40	41.90	39.67	39.81	39.30
DAA	33.33	35.36	37.21	35.37	36.66	29.28	32.53	30.51	30.64	30.57
SAA	19.79	16.13	17.06	16.39	16.55	17.20	14.96	13.77	14.13	13.91
EAA/NEAA	69.21	83.84	82.93	84.48	84.75	72.09	79.19	80.67	80.13	81.76
EAA/TAA	36.40	41.32	40.97	41.38	41.47	37.78	39.86	40.26	40.16	40.58

注：干粉 1 为虾肉冻干粉，干粉 2 为全虾冻干粉；TAA 为氨基酸总量，EAA 为必需氨基酸总和，HEAA 为半必需氨基酸总和，NEAA 为非必需氨基酸总和，DAA 为鲜味氨基酸总和，SAA 为虾味氨基酸总和；*为必需氨基酸，**为半必需氨基酸，△为鲜味氨基酸，▲为虾味氨基酸。

总体而言，分离蛋白的必需氨基酸量（EAA）、非必需氨基酸量（NEAA）、半必需氨基酸量（HEAA）、总氨基酸量（TAA）和鲜味氨基酸量（DAA）均比原料中高，然而虾味氨基酸量却减少了，表明用酸碱法制备虾分离蛋白，提高了必需氨基酸的含量、蛋白质的营养价值以及风味鲜度，却会导致虾风味成分的减少。与 Chen 等[10]报道的酸碱法提高了分离蛋白中的必需氨基酸、非必需氨基酸含量及必需氨基酸与氨基酸总量的比值相一致。酸碱法生产的斑节对虾分离蛋白中必需氨基酸与氨基酸总量的比值（EAA/TAA）为 40%左右，必需氨基酸与非必需氨基酸总量（EAA/NEAA）比值为 80%以上，其必需氨基酸组成符合 FAO/WHO/UNU 推荐的理想模式（EAA/TAA 为 40%，EAA/NEAA 为 60%以上）[15]，说明此法生产的分离蛋白可以作为优质蛋白源。斑节对虾分离蛋白的必需氨基酸营养评价结果如表 3 所示。根据 AAS，分离蛋白中赖氨酸最高，色氨酸最低，因此分离蛋白的第一限制性氨基酸是色氨酸。同时，酸溶解法与碱溶

解法提取的分离蛋白中，除碱溶解提取法在色氨酸比值上有差别外，在其它氨基酸上没有区别；根据 CS，斑节对虾分离蛋白中赖氨酸最高，色氨酸最低，其次是蛋+胱氨酸。因此色氨酸是第一限制性氨基酸，蛋+胱氨酸是第二限制性氨基酸；从 EAAI 上看，分离蛋白的必需氨基酸指数均高于原料，说明分离后蛋白营养价值得到了提升。总体上，鉴于赖氨酸评分最高，可以作为很好的营养强化剂与第一限制性氨基酸为赖氨酸的谷物搭配食用[10]，酸溶解法与碱溶解法提取的斑节对虾分离蛋白在氨基酸评分上没有明显差别[8]。

表 3 斑节对虾分离蛋白中必需氨基酸的营养评价

Table 3 Evaluation of essential amino acids of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp solubilized at different pH and precipitated at pH 5.5

评价标准	必需氨基酸	虾肉					全虾				
		干粉	不同溶解-沉淀 pH 条件下制备的蛋白粉				干粉	不同溶解-沉淀 pH 条件下制备的蛋白粉			
			2.0~5.5	3.0~5.5	11.0~5.5	12.0~5.5		2.0~5.5	3.0~5.5	11.0~5.5	12.0~5.5
AAS	异亮氨酸	1.34	1.77	1.87	1.78	1.82	1.56	1.62	1.63	1.65	1.59
	亮氨酸	1.38	1.82	1.95	1.85	1.90	1.24	1.65	1.60	1.64	1.64
	赖氨酸	1.93	2.50	2.64	2.50	2.63	1.58	2.17	1.94	1.94	1.97
	苏氨酸	1.20	1.54	1.62	1.52	1.64	1.10	1.44	1.42	1.40	1.42
	缬氨酸	1.11	1.48	1.50	1.43	1.47	1.06	1.33	1.28	1.23	1.27
	色氨酸	1.28	0.88	0.92	1.30	1.17	0.20	0.33	0.18	0.20	0.33
	蛋+胱氨酸	1.22	1.92	1.85	1.81	1.80	1.13	1.34	1.30	1.36	1.34
	苯丙+蛋氨	1.58	2.05	2.12	2.01	2.01	1.38	1.90	1.88	1.83	1.83
CS	异亮氨酸	1.01	1.34	1.41	1.35	1.38	1.18	1.22	1.23	1.24	1.20
	亮氨酸	1.14	1.50	1.61	1.52	1.56	1.02	1.36	1.32	1.35	1.35
	赖氨酸	1.49	1.93	2.03	1.93	2.02	1.21	1.67	1.50	1.50	1.52
	苏氨酸	1.03	1.31	1.39	1.30	1.41	0.94	1.23	1.22	1.20	1.22
	缬氨酸	0.84	1.12	1.13	1.07	1.11	0.80	0.98	0.97	0.93	0.96
	色氨酸	0.78	0.54	0.56	0.78	0.71	0.12	0.20	0.11	0.12	0.20
	蛋+胱氨酸	0.66	1.04	1.01	0.98	0.98	0.62	0.73	0.71	0.74	0.73
	苯丙+蛋氨	1.06	1.38	1.43	1.35	1.35	0.93	1.28	1.26	1.23	1.23
EAAI		97.45	120.35	124.61	124.68	126.04	72.61	94.46	85.58	86.45	92.29

2.4 斑节对虾分离蛋白中矿质元素含量分析

表 4 斑节对虾分离蛋白中的矿质元素含量

Table 4 Mineral content (mg/100g) of protein isolates from whole and muscle of tiger shrimp solubilized at different pH and precipitated at pH 5.5

原料	溶解-沉淀 pH	钾	镁	铜	锌	锰
虾肉	2.0~5.5	153.40±1.00	50.86±1.20	0.68±0.02	0.98±0.02	0.12±0.02
	3.0~5.5	139.90±1.20	46.92±1.10	0.56±0.02	0.80±0.02	0.09±0.01
	11.0~5.5	34.10±1.10	12.03±0.40	0.21±0.01	0.31±0.03	0.03±0.01
	12.0~5.5	30.00±1.20	9.44±0.30	0.12±0.01	0.23±0.02	0.01±0.00
	原料	200.00±3.10	59.00±1.00	0.94±0.01	1.46±0.01	0.15±0.01
全虾	2.0~5.5	168.30±1.00	55.24±0.90	0.78±0.01	1.12±0.02	0.13±0.02
	3.0~5.5	153.40±0.70	49.13±1.00	0.66±0.01	0.88±0.02	0.10±0.01
	11.0~5.5	48.40±0.90	14.31±0.40	0.31±0.02	0.41±0.03	0.03±0.01
	12.0~5.5	40.40±0.50	10.25±0.30	0.19±0.02	0.33±0.02	0.01±0.00
	原料	240.00±2.20	63.00±1.00	1.34±0.02	1.66±0.01	0.18±0.01

人体所需钙、镁、锌等矿物质元素几乎全部来自食物，动物性食品因其易消化吸收成为了矿物质的良

好来源。对斑节对虾分离蛋白中几种矿质元素的含量分析结果如表 3 所示。全虾中钾、镁、铜、锌和锰含量均比虾肉中多[17]，这与原料中全虾灰分含量高于虾肉的结论一致（数据未给出）。各对虾分离蛋白中矿质元素含量均比对应的对照组要少，可能是由于溶解-沉淀蛋白过程中，部分矿质元素被除去所致[10]。对比酸性与碱性溶解条件，发现酸性溶解条件提取的分离蛋白其钾、镁、铜、锌和锰含量要普遍高于碱性溶解条件，其中用虾肉做原料时要高出 70%，用全虾做原料时要高出 62%，与表 1 中酸性溶解条件下所得分离蛋白灰分含量高相一致。Sun 等[14]也发现酸碱法提取磷虾蛋白中碱处理能更有效减少钙、镁和锰等矿质元素含量。在 pH 为 2.0 和 11.0 的溶解条件下，各测定种类的矿质元素含量均最高。用全虾做原料时，所得分离蛋白中钾、镁、铜、锌和锰含量要显著（$p<0.05$）高于用虾肉做原料。这可能与虾壳中矿质元素含量高，部分矿质元素随虾壳蛋白一起被溶解-沉淀下来有关。

3 结论

通过在极端酸、碱性条件下溶解斑节对虾蛋白，再调节等电点分离沉淀的方式分离对虾蛋白，两种原料（虾肉和全虾）的分离蛋白得率均相对较高，蛋白氨基酸组成也符合 FAO/WHO 的理想模式。酸性 pH 溶解条件下，pH 为 2.0，提取蛋白得率、分离蛋白中粗蛋白和矿质养分含量均最高；碱性 pH 溶解条件下，pH 为 12.0 时分离蛋白的得率和粗蛋白含量最高，但 pH 为 11.0 时分离蛋白中灰分含量和所测矿质养分（K、Mg、Cu、Zn 和 Mn）含量最高。极端酸性条件比极端碱性条件更易提取分离蛋白，所得分离蛋白的粗蛋白含量和灰分含量及所测矿质养分含量均较高。与全虾原料相比，用虾肉提取的分离蛋白得率和蛋白矿质养分含量低但蛋白中粗蛋白和蛋白营养价值更高。总体分析，酸碱法能有效除去虾壳等不溶性杂质分离出较优质的食品蛋白，因此，在开发对虾优质蛋白资源上具有很大的开发应用潜力。

参考文献

[1] 郝向举.第五届中国对虾产业发展论坛在湛江召开[J].中国水产,2013,5:13
HAO Xiang-ju. The fifth shrimp industry development forum in Zhanjiang [J]. China Fisheries, 2013, 5: 13

[2] 易湘茜,蔡冰娜,潘剑宇,等.凡纳滨对虾下脚料综合加工工艺研究[J].中国调味品,2013,4:75-79
YI Xiang-xi, CAI Bing-na, PAN Jian-yu, et al. Study on comprehensive processing technology of *Litopenaeus vannamei* waste [J]. China Condiment, 2013, 4: 75-79

[3] Hultin S D, Kelleher H O. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition: USA, 6005073 [P], 1997

[4] Gehring C, Gigliotti J, Moritz J, et al. Functional and nutritional characteristics of proteins and lipids recovered by isoelectric processing of fish by-products and low-value fish: a Review [J]. Food Chemistry, 2011, 124(2): 422-431

[5] Marmon S K, Undeland I. Protein Isolation from Gutted Herring (Clupea harengus) Using pH-shift Processes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(19): 10480-10486

[6] 孙月娥,王卫东,付湘晋.酸碱法提取鲢鱼肌肉蛋白的胶凝特性[J].食品科学,2012,6:123-126
SUN Yue-e, WANG Wei-dong, FU Xiang-jin. Gel properties of pH-shift isolated proteins from silver carp muscle [J]. Food Science, 2012, 6: 123-126

[7] Brenner T, Johannsson R, Nicolai T. Characterisation and thermo-reversible gelation of cod muscle protein isolates[J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 26-31

[8] 刘诗长,周春霞,洪鹏志,等.罗非鱼肉分离蛋白的营养成分分析[J].现代食品科技,2011,27(7):843-846,834
LIU Shi-chang, ZHOU Chun-xia, HONG Peng-zhi, et al. Analysis of nutritional components of protein isolates from tilapia muscle [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(7): 843-846, 834

[9] Taskaya L, Jaczynski J. Flocculation-enhanced protein recovery from fish processing by-products by isoelectric solubilization/precipitation [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(2): 570-575

[10] Chen Y C, Tou J, Jaczynski J. Amino acid and mineral composition of protein and other components and their recovery yields from whole antarctic krill (*Euphausia superba*) using isoelectric solubilization/precipitation [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): H31-H39

[11] 李芳,刘俊荣,梁姗姗,等.南极磷虾蛋白质的分离特性及其组分分析[J].大连海洋大学学报,2013,2:191-194
LI Fang, LIU Jun-rong, LIANG Shan-shan, et al. Recovery and composition of antarctic krill *euphausua superba* protein[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2013, 2: 191-194

[12] Gigliotti J C, Jaczynski J, Tou J C. Determination of the nutritional value, protein quality and safety of krill protein concentrate isolated using an isoelectric solubilization/precipitation technique [J]. Food Chemistry, 2008, 111(1): 209-214

[13] Chen Y C, Jaczynski J. Gelation of protein recovered from whole antarctic krill (Euphausia superba) by isoelectric solubilization/precipitation as affected by functional additives [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(5): 1814-1822

[14] Sun L C, Kaneko K, Okazaki E, et al. Comparative study of proteins recovered from whole north pacific krill euphausia pacifica by acidic and alkaline treatment during isoelectric solubilization/precipitation [J]. Fisheries Science, 2013, 79(3): 537-546

[15] Pellett P L, Yong V R. Nutritional Evaluation of Protein Foods [M]. Tokyo: The United National University Publishing Company, 1980: 26-29

[16] Nols E H, Undeland I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art [J]. Food and Bioprocess Technology, 2009, 2(1): 1-27

[17] 张祥刚,周爱梅,林晓霞,等.南美白对虾虾头、虾壳化学成分的对比研究[J].现代食品科技,2009,(3):224-227
ZHANG Xiang-gang, ZHOU Ai-mei, LIN Xiao-xia, et al. Comparative study of chemical compositions of white shrimp head and shell [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, (3): 224-227

现代食品科技