

超滤对罗非鱼下脚料蛋白酶解物功能特性的影响

任增超¹, 左伟², 周春霞³, 洪鹏志³

(1. 广东兴亿海洋生物工程有限公司, 广东广州 510545) (2. 奈氏力斯(中国)广州管理中心, 广东广州 510545)
(3. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘要: 以罗非鱼下脚料为原料, 采用 pH-stat 法控制酶解, 制备 5.0% 的罗非鱼下脚料酶解蛋白。采用截留分子量为 5 kDa 的超滤膜对罗非鱼下脚料胰蛋白酶水解产物 (DH 5.0%) 进行超滤。结果显示: 蛋白回收率为 89.21%, 脱盐率为 87.59%, 乳化活性提高 1.2 倍, 乳化稳定性提高 1.1 倍; 发泡性略有提高。

关键词: 罗非鱼下脚料; 蛋白酶解物; 超滤; 发泡性; 乳化性

文章编号: 1673-9078(2012)9-1133-1135

Effect of Ultrafiltration on Functional Properties of Protein Hydrolysate from Tilapia By-products

REN Zeng-chao¹, ZUO Wei², ZHOU Chun-xia³, HONG Peng-zhi³

(1. GuangDong Shinyee Marine Biology Engineering Co., Ltd, Guangzhou 510545, China)

(2. Management Center of Naturies (China) in Guangzhou, Guangzhou, 510545, China)

(3. College of Food Science & Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Hydrolyzed Tilapia by-products proteins were prepared and the degree of hydrolysis was controlled as 5.0% by pH-stat method in this study. Trypsin-hydrolysates (DH 5.0%) were ultrafiltered by 5 kDa ultrafiltration membrane. The results showed that the protein recovery was 89.21% and the desalination rate reached 87.59% after ultrafiltration. Emulsifying activity increased by 1.2 times and emulsion stability increased by 1.1 times after ultrafiltration. Foaming properties was also improved by ultrafiltration treatment.

Key words: tilapia by-products; protein hydrolysate; ultrafiltration; emulsifying properties; foaming properties

水解鱼蛋白是肽、氨基酸和呈味核苷酸等组成的优质蛋白资源, 具有较突出的营养价值^[1], 但功能特性较差且本身风味不好, 特别是分散性差、吸湿性强以及腥味和苦味等问题尤其突出, 无法满足食品加工工艺的需求。目前, 国内外针对鱼蛋白酶法改性进行了大量研究, 期望改善其功能特性和风味^[2]。但由于酶解过程的连续性和随机性, 使得酶解产物呈易变性、多样性、复杂性的特点, 且含有大量的盐离子, 不仅影响酶解蛋白的功能特性, 而且对其风味也有较大的影响, 需要对酶解产物中不同分子量或不同特性的功能性成分进行分离和脱盐处理。

超滤作为一种常用的分离方法, 由于其操作条件温和, 具有相对高的选择性^[3], 在蛋白质分离纯化中已得到了广泛的应用。通过选择适当的膜和操作参数, 可以有效地除去蛋白体系中的小分子蛋白、肽段和盐

离子等^[4-6], 由此可以改善体系的功能特性。本研究采用超滤膜对罗非鱼下脚料蛋白酶解产物进行超滤分级, 研究超滤产物的功能特性、分子量分布等, 探讨超滤对酶解产物功能特性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

罗非鱼下脚料: (湛江) 亚洲海产有限公司提供, 包括鱼头、鱼骨以及少量黏附在鱼骨上的鱼肉;

1.2 酶制剂

Alcalase 2.4L FG (2.4 AU/mL): 购自诺维信(中国)产品; 中性蛋白酶 (2.0×10⁵ U/g)、胰蛋白酶 (1:750)、木瓜蛋白酶 (8×10⁴ U/g)、风味蛋白酶 (2.0×10⁴ U/g)、动物蛋白水解复合酶 (1×10⁵ U/g): 均购自广西南宁庞博生物。

1.3 实验方法

1.3.1 罗非鱼下脚料酶解蛋白的制备

罗非鱼下脚料→清洗、沥干、绞碎→分装 (200 g/袋) → -18℃冷冻备用→取样解冻 (4℃过夜) →加水 (料:水=1:1)

收稿日期: 2012-05-22

基金项目: 广东省科技计划项目 (2011A020102005); 粤港关键领域重点突破项目 (2009498021)

作者简介: 任增超 (1982-), 男, 工程师, 主要研究方向: 水产品深加工

→预热到 60 °C, 调 pH 8.0→加 Alcalase 蛋白酶→滴加 NaOH 标准溶液维持 pH 值 8.0(pH-stat 法^[7]测定和控制水解度)→反应达到所需的水解度后灭酶(沸水浴, 15 min)→离心(10000×g, 4 °C, 15 min)→过滤→罗非鱼下脚料蛋白酶解液

1.3.2 超滤实验

超滤试验^[8-9]装置: 德国 Sartorius 公司生产的 Vivaflow50 型板框式超滤器, 每个膜组件的有效膜面积为 50 cm², 超滤膜的材料为聚醚砜, 所选用超滤膜的截留分子质量为 5 kDa。超滤工作压力由 MASTERFLEX L/S 泵提供。超滤流程及压力: 采用全回流的操作方式。在整个超滤过程中, 工作压力(0.15 MPa)、温度(25 °C)、pH 值(8.0)和流速(250 mL/min)保持不变。

$$J = \frac{V}{t \times A} \quad (1)$$

其中, V 为透过液体积 (L); t 为超滤时间 (h); A 为膜面积 (m²)。

$$X = \frac{V_0}{V_r} \quad (2)$$

其中, V₀ 为原料液体积 (mL); V_r 为浓缩液体积 (mL)。

$$\text{蛋白回收率}(\%) = \frac{C_2 V_2}{C_1 V_1} \times 100 \quad (3)$$

其中, C₁ 为原液蛋白含量 (g/L); V₁ 为原液体积 (L); C₂ 为回收液蛋白含量 (g/L); V₂ 为回收液体积 (L)。

$$\text{脱盐率}(\%) = \left(1 - \frac{C_2 V_2}{C_1 V_1}\right) \times 100 \quad (4)$$

其中, V₁ 为水解液体积 (mL); C₁ 为水解液盐浓度 (10⁻² g/mL); V₂ 为回收液体积 (mL); C₂ 为回收液盐浓度 (10⁻² g/mL)。

1.3.3 乳化性的测定

采用浊度法^[10]测定酶解液的乳化活性 (EA) 和乳化稳定性 (ES)。取蛋白浓度为 0.5% (m/V) 的酶解液 9 mL 于 25 mL 量杯中, 加入 3 mL 花生油, 均质 1 min (固定一个位置, 转速约 12000 r/min)。迅速从量杯底部取 20 μL 清液加入到 5 mL 0.1% (m/V) 的 SDS 溶液中, 摇匀, 立即在 500 nm 波长下比色 (以 0.1% SDS 为空白) 测定 0 min 的吸光值 (A₀); 放置 10 min 后再取样同上检测吸光值 (A₁₀)。在本实验中, EA 和 ES 用乳化性指数 (EAI) 和乳化稳定性指数 (ESI) 来表示。

$$\text{EAI} (\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0}{0.25 \times \text{蛋白质量}(\text{g})} \quad (5)$$

$$\text{ESI} (\text{min}) = A_0 \times \Delta t / \Delta A \quad (6)$$

式 6 中, ΔA=A₀-A₁₀; Δt=10min。

1.3.4 发泡性的测定

采用搅打发泡法^[11]测定酶解液的发泡活性 (FA)

和泡沫稳定性 (FS)。取蛋白浓度为 2% (m/V) 的酶解液 100 mL, 在搅拌机内搅打发泡 2 min, 迅速倒入 250 mL 量筒中, 立即记录泡沫体积 (V₀), 静置 30 min 后, 再次记录泡沫体积 (V₃₀)。在本实验中, FA 和 FS 分别用发泡活性指数 (FAI) 和泡沫稳定性指数 (FSI) 来表示。

$$\text{FAI}(\%) = \frac{V_0}{100} \times 100\% \quad (7)$$

$$\text{FSI}(\%) = \frac{V_{30}}{V_0} \times 100\% \quad (8)$$

2 结果与分析

2.1 不同酶解产物超滤后功能特性的比较

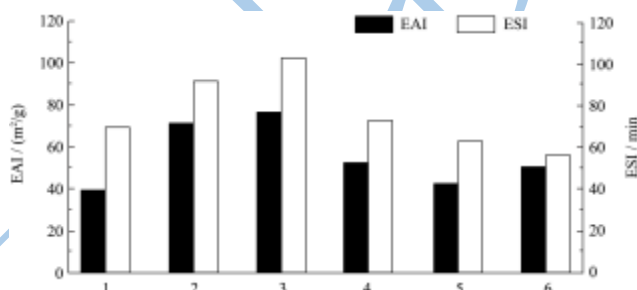


图 1 超滤对罗非鱼下脚料蛋白酶解物 (DH 5%) 乳化性影响
Fig.1 Effect of ultrafiltration on emulsifying properties of Tilapia by-products protein hydrolysate (DH 5.0%)

注: 1: Alcalase 蛋白酶; 2:中性蛋白酶; 3:胰蛋白酶; 4:木瓜蛋白酶; 5:风味蛋白酶; 6:动物水解复合蛋白酶。

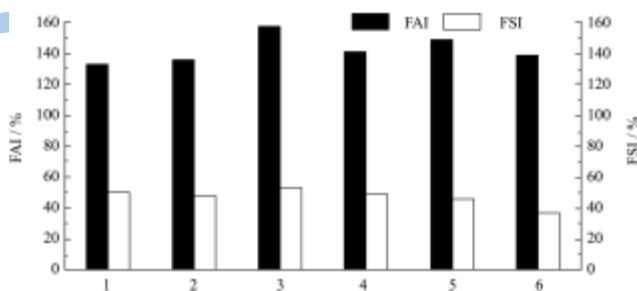


图 2 超滤对罗非鱼下脚料蛋白酶解物 (DH 5.0%) 发泡性影响
Fig.2 Effect of ultrafiltration on foaming properties of Tilapia by-products protein hydrolysate (DH 5.0%)

注: 1: Alcalase 蛋白酶; 2:中性蛋白酶; 3:胰蛋白酶; 4:木瓜蛋白酶; 5:风味蛋白酶; 6:动物水解复合蛋白酶。

为进一步确定超滤实验对象, 我们将六种蛋白酶水解产物 (DH5.0%) 进行超滤, 然后测定其在 pH 7.0 条件下的乳化性和发泡性, 并进行比较, 作 t-检验分析, 结果如图 1 和图 2 所示。由图可知, 胰蛋白酶水解产物乳化活性和发泡性能最好 (t<0.01, 差异显著)。因此本研究将胰蛋白酶水解产物 (DH 5.0%) 作为下一步超滤实验对象。

2.2 超滤实验膜通量与浓缩系数变化规律

超滤分离过程中,影响膜通量的大小因素主要包括水解度、温度、初始物料浓度、压力等。实验重点研究超滤对除掉小分子蛋白及盐分的水解产物的功能特性的影响。因此,实验采用全回流的操作方式,在整个超滤过程中,工作压力(0.15 MPa)、温度(25 °C)、pH值(8.0)和流速(250 mL/min)保持不变。

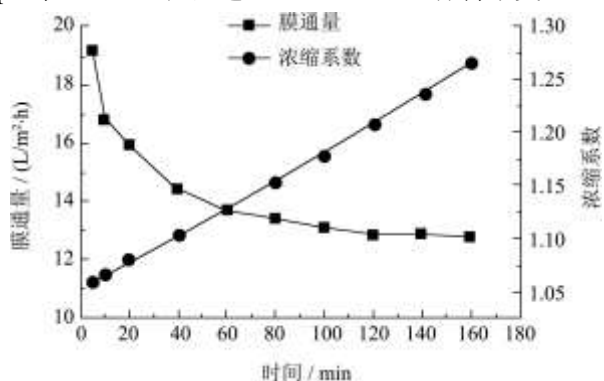


图3 胰蛋白酶水解物(DH 5.0%)超滤过程中膜通量与浓缩系数的关系

Fig.3 Membrane flux and enrichment factor of tilapia by-products trypsin-hydrolysates (DH 5%)

胰蛋白酶水解产物超滤实验膜通量与浓缩系数变化如图3所示,由图3可知,在本实验范围内,超滤过程中,初始阶段膜通量急剧下降,随着超滤的进行,膜通量缓慢下降。膜通量的急剧下降是由于料液溶质在膜材料上的吸附造成的,料液溶质和膜材料的吸附是超滤初始阶段膜通量下降的主要原因;膜材料和料液溶质的吸附达到平衡后,膜通量缓慢下降。而浓缩系数随着超滤进行呈直线上升趋势。综合膜通量和浓缩系数,确定超滤时间为2 h。

2.3 超滤实验蛋白回收率和脱盐率

胰蛋白酶水解产物经膜超滤后的蛋白回收率和脱盐率结果见表1。通过超滤除去了罗非鱼下脚料蛋白水解液中的小分子物质,蛋白质含量在7.02%。超滤后,蛋白质回收率接近90%,蛋白回收率比较高。

表1 超滤对蛋白回收率和脱盐率的影响

Table 1 Effect of ultrafiltration on protein recovery and desalination rate

水解产物(DH5%)	蛋白含量/%	蛋白回收率/%	脱盐率/%
超滤前	5.29±0.31	-	-
超滤后	7.02±0.47	89.21±0.58	87.59±1.27

由于在酶解过程中为了保证反应过程中的pH值保持不变,需要不断加入NaOH溶液进行滴定以及用HCl调节pH值时产生一定量的盐分(主要是NaCl),所以水解液具有一定的咸味,通过超滤,可以将水解液中的NaCl除掉,大大降低了盐分含量,脱盐率达到87.59%。

2.4 超滤产物功能特性分析

表2 超滤对胰蛋白酶水解产物(DH 5.0%)功能特性的影响

Table 2 Effect of ultrafiltration on functionality of tilapia by-products trypsin-hydrolysates

胰蛋白酶水解产物	EAI/(m ² ·g ⁻¹)	ESI/min	FAI/%	FSI/%
超滤前	76.00	102.02	158.00	53.04
超滤后	89.40	112.24	160.00	53.13

胰蛋白酶水解产物超滤前后的乳化性和发泡性比较见表2。由表2可知,相比较而言,胰蛋白酶水解产物超滤后的乳化性、发泡性均有提高。尤其是乳化活性提高较为明显,是超滤前的1.18倍,乳化稳定性是超滤前的1.1倍;但发泡性的提高并不明显。由此可见,胰蛋白酶水解产物通过超滤,不仅蛋白损失小,脱盐效果明显,而且能够除掉其中的小分子,从而有助于提高其功能特性。

3 结论

超滤不仅能够起到除小分子、浓缩作用,而且有助于改善酶解产物的功能特性,同时脱盐效果显著,蛋白损失小。5 kDa的超滤膜超滤后,蛋白质回收率为89.21%,脱盐率达到87.59%。乳化性提高1.2倍,发泡性略有提高。经超滤,酶解产物中氨基酸含量略有减少,但不明显。

参考文献

- [1] 张静,郝记明,吉宏武,等.吉尾鱼酶解蛋白粉的营养组成与评价[J].现代食品科技,2008,4:387-389
- [2] 陈义勇,王伟,沈宗根.罗非鱼下脚料水解工艺的研究[J].现代食品科技,2006,22(4):136-138,126
- [3] Martin M, Denis I, Francois L, et al. Production of soy protein concentrates using a combination of electroacidification and ultrafiltration [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 6991-6996
- [4] Omosaiye O, Cheryan M, Mathews E. Removal of oligosaccharides from soybean water extracts by ultrafiltration [J]. Journal of Food Science, 1978, 43: 354-360
- [5] Nichols D J, Cheryan M. Production of soy isolates by ultrafiltration: factors affecting yield and composition [J]. Journal of Food Science, 1981, 46: 367-372
- [6] Kumar N S K, Yea M K, Cheryan M. Soy protein concentrates by ultrafiltration [J]. Journal of Food Science, 2003, 68: 2278-2283
- [7] Adler-Nissen J. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins [M]. London: Elsevier Applied Science Publishers Ltd, 1986. 132-133

- [8] 王湛.膜分离技术基础[M].北京:化学工业出版社,2000
- [9] 陈山,杨晓泉,郭祀远,等.大豆肽超滤分离纯化过程的研究[J].食品与发酵工业,2002,29(1):49-52
- [10] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978,26: 716-723
- [11] Sathe S K, Salunkhe D K. Functional properties of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties [J]. Journal of Food Science, 1981, 46: 71-74, 81

现代食品科技