

条浒苔蛋白质的纤维素酶辅助提取及其性质

盘赛昆^{1,2} 姚东瑞^{2,3*} 朱 强^{1,2} 王淑军^{1,2} 王 艳²

(¹江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222005)

(²淮海工学院食品工程学院, 连云港 222005)

(³中国科学院植物研究所, 南京 210014)

摘 要 以条浒苔为研究对象, 以蛋白质提取率为指标, 通过单因素试验确定提取条件, 后采用均匀设计确定纤维素酶辅助提取工艺条件。结果表明, 条浒苔蛋白质的提取条件为 pH 11.0, 温度 60℃, 时间 5h; 纤维素酶辅助提取条件为料液比 1:50, 温度 30℃, pH 5.5, 时间 5.5h, 加酶量 5.0%, 纤维素酶处理后再经水提取 5h, 在此条件下蛋白质的提取率为 30.22%~35.74%。为浒苔深加工及资源化利用, 测定浒苔蛋白质的功能特性, 结果表明, 条浒苔蛋白质的等电点 pI=3.0, 在 pH 7 时起泡性最好, 起泡性随着蛋白质溶液的浓度增加而增强, 泡沫稳定性在 pH 3 和质量浓度 2mg/ml 时最好, 乳化性在 4mg/ml 时最好, 乳化稳定性在 2mg/ml 时最好, 条浒苔蛋白质的吸油性为 131.6%, 60℃时溶解性最大。

关键词 条浒苔 蛋白质 纤维素酶 均匀设计 等电点 起泡性 乳化性
中图分类号 TQ936.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)04-0109-09

Cellulase-assisted extraction and properties of protein from *Enteromorpha clathrata*

PAN Sai-kun^{1,2} YAO Dong-rui^{2,3*} ZHU Qiang^{1,2}
WANG Shu-jun^{1,2} WANG Yan²

(¹Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Lianyungang 222005)

(²School of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005)

(³Institute of Botany Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014)

ABSTRACT Using extraction ratio as the index, the extraction process of protein from *Enteromorpha clathrata* was investigated using single factor test and uniform design. Results showed that the optimal water extracting conditions were as follows: pH 11.0, temperature 60℃, and extraction time 5h. The cellulase-assisted extraction condition were as follows: solid/liquid ratio 1:50, temperature 30℃, pH 5.5, hydrolysis duration 5.5h, and enzyme dose 5.0%. The sample was first treated with cellulose, then extracted by water under the above conditions, and the extraction rate was 30.22%~35.74%. In order to utilize the protein of *E. clathrata*, the properties of the extracted protein were also tested. The isoelectric point (pI) of

国家科技支撑计划项目(2012BAC07B00)和江苏省海洋生物技术重点实验室开放基金项目(2009HS07)共同资助

* 通讯作者。E-mail: yaodr@hhit.edu.cn, Tel: (025)84347118

收稿日期:2012-08-30;接受日期:2012-11-30

作者简介:盘赛昆(1974-),男,副教授,博士,主要从事食品功能因子研究。E-mail: pskgx@163.com, Tel: 13775594236

the protein was 3; foaming capability peaked at pH 7 and was enhanced with the increase of the protein concentration; the highest foam stability at pH 3 and concentration of 2mg/ml; the highest emulsifying capability and emulsion stability at concentrations of 4 mg/ml and 2mg/ml, respectively. The oil adsorption ability of the protein was found to be 131.6%, and the maximum solubility was achieved at 60°C.

KEY WORDS *Enteromorpha clathrata* Protein Cellulase-assisted extraction
Uniform design Isoelectric point Foaming capacity
Emulsifying capability

浒苔属 *Enteromorpha*. spp 在分类学上属于绿藻门 Chlorophyta、石莼目 Ulvales、石莼科 Ulvaceae, 主要有条浒苔 *Enteromorpha clathrata*、肠浒苔 *E. intestinalis*、扁浒苔 *E. compressa*、浒苔 *E. prolifera*、缘管浒苔 *E. linza* 5 种, 生长在潮间带(李剑玄等 2010)。浒苔是一种绿海藻类, 2008 年奥运会期间曾在黄海中、南部海域暴发成灾, 引起了国家的高度重视。事实上, 浒苔是一种具有很高利用价值的藻类资源。研究表明, 浒苔含有丰富的营养成分, 干缘管浒苔含蛋白质 27.0%、碳水化合物 53.7%、粗纤维 10.2%、矿物质 8.2% 及脂肪 0.9%, 同时还含有丰富的维生素(何清等 2006)。在我国《食物营养成分表》中记载, 浒苔中铁含量达 283.7 mg/100 g, 为我国食品之最, Mg 和 Zn 的含量也较其他海藻高(杨月欣 2006)。浒苔蛋白质中氨基酸种类齐全, 必需氨基酸(EAA)占氨基酸总量(TAA)的 38%, 必需氨基酸与非必需氨基酸的比值(EAA/NEAA)为 0.62, 氨基酸评分为 79~80, 高于海带(47)和紫菜(54)(林文庭 2007)。此外, 缘管浒苔氨基酸中, 呈味氨基酸占 50% 左右, 其中谷氨酸的含量较高(何清等 2006), 为其风味的形成奠定了良好的物质基础。各项营养指标均表明浒苔蛋白质是一种优质的蛋白质, 同时由于浒苔生长迅速、生物量大, 因此浒苔是一种良好的植物蛋白质来源, 如果探明其功能性质, 开发其在食品、日化品等领域的应用, 将会对浒苔的资源化利用产生有利的推动作用。目前, 人们的研究主要集中在浒苔中含量最大的碳水化合物上, 而对蛋白质的研究相对较少, 条浒苔蛋白质的提取及性质研究尚未见报道。

均匀设计是我国数学家王元等于 1978 提出的一种科学实验方法(方开泰 2004)。均匀设计与常用的正交设计的“均匀分散, 整齐可比”特点不同, 只考虑试验点在试验范围内的均匀散性, 能用较少的试验点获得最多的信息, 在研究多因素多水平试验时具有很大的优越性(张一芳等 2008)。但由于不具备“整齐可比性”, 因此试验结果的分析不能采用方差分析, 而必须采用回归分析。随着计算机的普及, 科学家们已开发出许多软件可用于均匀设计试验结果的分析, 为均匀设计法的普及应用奠定了基础。其中, 由唐启义等开发的 DPS (Date processing system) 数据处理系统包含了常用的各种统计方法, 是目前均匀试验设计与分析行之有效的分析软件(唐启义等 2007)。

本研究先采用单因素试验研究条浒苔蛋白质的提取工艺条件, 然后采用均匀设计确定纤维素酶辅助提取工艺条件。测定条浒苔蛋白质的等电点、起泡性、乳化性、溶解性、吸油性等性质, 以为浒苔深加工及资源化利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

浒苔, 2011 年 8 月采于福建厦门, 经鉴定为条浒苔 *Enteromorpha clathrata*; 鲜条浒苔采后用洁净海水清洗干净, 干燥备用, 粗蛋白质含量为 23.46%±0.64%; 纤维素酶(8 万 U/g), 张家港市金源生物化工有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与主要设备

DK20 消化系统、UDK132 半自动蒸馏装置, 意大利 VELP 公司; AF-06A 型密封型摇摆式中药粉碎机, 温

嶺市奥力中药机械有限公司;ZNC-701 超微粉碎机,北京兴时利和发展有限公司;pH 计(Seven Easy S20),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;日立 CR22G 高速冷冻离心机,日本 HITACH 公司;ALPHA-4 冷冻干燥机,德国 Christ 公司;PRO 250 精密组织匀浆器,美国 PRO Scientific 公司。

1.3 方法

1.3.1 原料处理

将干条浒苔用密封型粉碎机粉碎,过 80 目筛,然后超微粉碎,于广口瓶中储存备用。

1.3.2 蛋白质提取工艺流程

条浒苔→干燥→粉碎(粗粉碎→超微粉碎)→纤维素酶处理→提取→离心(10 000 r/min,15 min)取上清液→调整 pH 至等电点→离心(10 000 r/min,15 min)取沉淀→冷冻干燥→条浒苔蛋白质。

1.3.3 蛋白质测定及提取率计算

原料及提取液蛋白质质量和总氮质量采用凯氏定氮法测定,参照 GB5009.5-2010《食品中蛋白质的测定》(卫生部食品卫生监督检验所 2010)的方法进行,蛋白质换算系数取 6.25,蛋白质提取率按式(1)计算。

$$\text{蛋白质提取率}(\%) = \frac{\text{提取液中蛋白质的质量}(\text{mg})}{\text{原料中蛋白质的质量}(\text{mg})} \times 100 \quad (1)$$

1.3.4 提取单因素试验

称取 10.0 g 条浒苔超微粉,加水 200.0 ml(即料液比为 1:20)制成匀浆,以蛋白质提取率为指标,考察 pH、温度、时间对提取率的影响,每组做 3 个平行,取平均值,并对数据进行方差分析与多重比较。

1.3.4.1 pH 对蛋白质提取率的影响

pH 分别取 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0,6 个水平,60 °C 提取 2 h,测定上清液的蛋白质质量,计算提取率。

1.3.4.2 温度对蛋白质提取率的影响

设定提取 pH 11、时间 2 h,考察提取温度 30、40、50、60、70、80、90 °C 7 个水平对蛋白质提取率的影响。

1.3.4.3 时间对蛋白质提取率的影响

设定提取 pH 11、温度 60 °C,考察提取时间 2、3、4、5、6 h 5 个水平对蛋白质提取率的影响。

1.3.5 纤维素酶辅助提取条件优化

称取条浒苔超微粉 20 份,每份 2.00 g,分别按方案设定的料液比加水配成匀浆,以蛋白质提取率为指标,考察温度、pH、时间、料液比、加酶量 5 个因素对纤维素酶辅助提取的影响,每因素取 10 个水平,参照潘丽军等(2008)采用 $U_{10}(10^8)$ 均匀设计表的使用表安排实验。纤维素酶处理结束后各处理均加水调整到 100 ml,再用单因素试验确定的提取条件进行提取,每组做两个平行试验,取平均值,采用 DPS 7.02 对试验结果进行二次多项式逐步回归分析,确定条浒苔蛋白质的纤维素酶辅助提取最佳工艺参数。

1.3.6 条浒苔蛋白质的功能特性测定

参照马勇等(2008)、张维农等(2002)的方法并略有修改,测定条浒苔蛋白质的等电点、起泡性及泡沫稳定性、乳化能力及乳化稳定性、吸油性和溶解性等性质。

1.3.6.1 等电点(pI)的测定

分别量取 20.0 ml 提取液,用稀酸(0.1 mol/L HCl)调节到不同的 pH 值(1.2、1.5、1.8、2.1、2.4、2.7、3.0、3.3、3.6、3.9、4.2、4.5、4.8),静置 2 h,离心(4 000 r/min,10 min),小心弃去上清液,离心管与沉淀于 105 °C 干燥至恒重。分别测定空离心管的质量和离心后离心管与沉淀的总质量,计算蛋白质质量,蛋白质质量最大时的 pH 值即为条浒苔蛋白质的等电点。

1.3.6.2 起泡性

配制质量浓度为 1 mg/ml 的条浒苔蛋白质溶液,分别调节至不同的 pH 值,然后用均质器均质(14 000 r/min,2 min),记下均质前液体的体积、均质后泡沫的体积及静置 30 min 后下层析出液的体积,按式(2)计算起泡能力。

$$\text{起泡能力}(\%) = \frac{\text{均质停止时泡沫的体积}}{\text{均质前液体的体积}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.6.3 泡沫稳定性

配制不同质量浓度的条浒苔蛋白质溶液,调整 pH 至起泡性最好时的 pH 值,然后用均质器均质(14 000 r/min, 2 min),记下均质前液体的体积、均质后泡沫的体积及静置 30 min 后泡沫的体积,按式(3)计算泡沫稳定性。

$$\text{泡沫稳定性}(\%) = \frac{\text{放置 30 min 后泡沫的体积}}{\text{均质停止时的泡沫体积}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.6.4 乳化能力及乳化稳定性

称取不同质量的条浒苔蛋白质移入 10 ml 离心管中,加入 4.0 ml 水和 4.0 ml 植物油,均质(14 000 r/min, 5 min),离心(1 500 r/min, 5 min),测量乳化层高度和 30 min 后的乳化层高度,按式(4)和式(5)计算乳化能力及乳化稳定性。

$$\text{乳化能力}(\%) = \frac{\text{离心管中乳化层的高度}}{\text{离心管中液体的总高度}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{乳化稳定性}(\%) = \frac{\text{30 min 后乳化层的高度}}{\text{初始时乳化层的高度}} \times 100 \quad (5)$$

1.3.6.5 吸油性

称取 0.50 g 的样品和 6.0 ml 植物油加入到 10ml 离心管中,用玻璃棒搅拌 2 min 后静置 30 min,离心(3 000 r/min, 20 min),弃去游离油,称试管重,按式(6)计算吸油性。

$$\text{吸油性}(\%) = \frac{\text{弃游离油后离心管和沉淀的总质量(g)} - \text{离心管和样品的总质量(g)}}{\text{样品质量(g)}} \times 100 \quad (6)$$

1.3.6.6 温度对溶解性的影响

配制 1 mg/ml 的条浒苔蛋白质溶液,调节 pH 至 7.0,分别在不同温度(40、50、60、70、80 °C)下水浴 30 min,离心(3 000 r/min, 10 min),测上清液的总氮量,按式(7)计算氮溶指数。

$$\text{氮溶指数(NSI)}(\%) = \frac{\text{上清液中总氮质量(mg)}}{\text{蛋白质样品中总氮质量(mg)}} \times 100 \quad (7)$$

2 结果与讨论

2.1 提取单因素试验

2.1.1 pH 对条浒苔蛋白质提取率的影响

溶液的 pH 值影响蛋白质之间以及蛋白质与溶液间的相互作用,从而影响了蛋白质在溶液中的溶解性。方差分析表明,pH 对蛋白质提取率有显著影响,由图 1 可知,随着 pH 值的增大,蛋白质在溶液中的溶解性也逐渐升高。当 pH 值超过 11 的碱性条件下易导致蛋白质水解甚至氨基酸结构的改变,影响蛋白质的营养价值及功能性质。同时,pH 值太高,在酸沉时会消耗大量的酸,导致产品中盐分增加,不利于后续分离工序的进行。所以,提取适宜 pH 值选择为 11。

2.1.2 温度对条浒苔蛋白质提取率的影响

由图 2 可知,条浒苔蛋白质的提取率随着温度的升高而增加,60 °C 时达到最大,而当温度超过 60 °C 时,提取率呈下降趋势,可能是因为高温引起蛋白质结构的改变,使其疏水作用提高从而降低其水溶性。一般情况下,提高温度有利于增加物质的溶解度,减少溶液的黏度。对于蛋白质而言,在稳定其高级结构的作用力中,疏水相互作用是唯一的随着温度的提高而增强的作用力,但超过一定温度后水的结构逐渐分裂而导致疏水相互

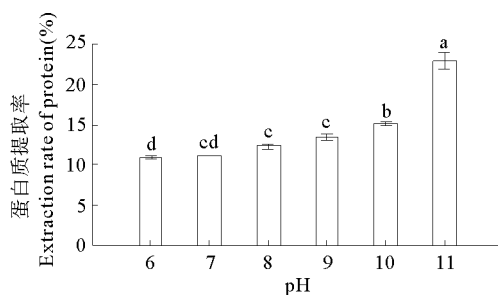


图 1 pH 对条浒苔蛋白质提取率的影响
Fig. 1 Effect of pH on extraction ratio of protein from *E. clathrata*

作用去稳定,从而引起蛋白质的变性(王 璋等 1999)。此外,蛋白质变性也影响其功能性质,黏度增大,提取能耗也会增加。因此,条浒苔蛋白质的提取适宜温度为 60 ℃,这一结果与李剑玄(2010a)的报道相吻合。

2.1.3 提取时间对条浒苔蛋白质提取率的影响

由图 3 可知,蛋白质的提取率随着提取时间的延长而增加。经方差分析发现时间因素影响显著,多重比较分析发现,4 h 后,随着时间的延长,提取率并无显著差异。物质的溶出需要一个时间过程,因为溶剂穿透样品颗粒接触到蛋白质,使其逐步水化而缓慢溶出需要一定时间。当分配达到平衡后,延长对提取并没有帮助,反而可能由于时间的延长而导致部分蛋白质变性和能耗的增加。因此,在保证提取效果的前提下,提取时间取 5 h,在此条件下提取率为 27.05%±0.47%($\bar{x}\pm SD$)。

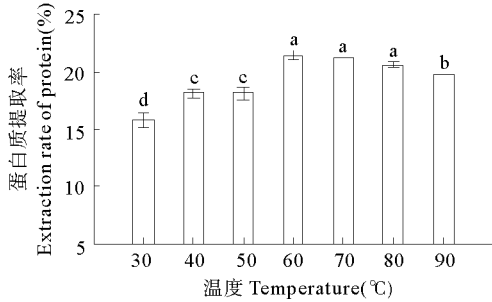


图 2 温度对条浒苔蛋白质提取率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on extraction ratio of protein from *E. clathrata*

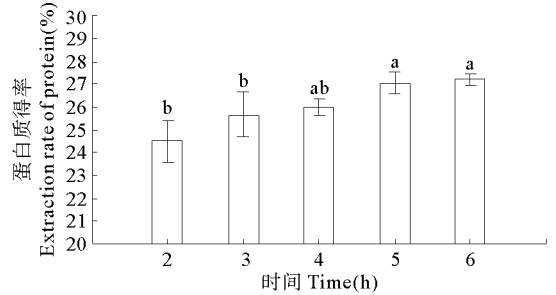


图 3 提取时间对条浒苔蛋白质提取率的影响

Fig. 3 Effect of hydrolysis duration on extraction ratio of protein from *E. clathrata*

2.2 纤维素酶辅助提取均匀设计结果与分析

采用 DPS 7.02 数据处理系统对表 1 试验结果进行二次多项式逐步回归分析得回归方程:

$$Y = 22.846 - 0.979X_3 + 0.0436X_4 + 0.0683X_{32} + 0.420X_{52} - 0.00201X_1X_5 - 0.197X_2X_5 + 0.0373X_3X_4 - 0.0277X_4X_5$$

模型相关系数 $R=1.0000$, $F=62499.9063$, 显著水平 $P=0.0031$, 剩余标准差 $S=0.0006$, 调整后的相关系数 $R_a=1.0000$, 决定系数 $R^2=1.0000$, 说明该方程能很好地拟合条浒苔蛋白质的纤维酶辅助提取过程。对该模型各项进行显著性检验,结果见表 2。

表 1 $U_{10}(10^8)$ 均匀设计试验方案及结果

Table 1 Scheme and result of $U_{10}(10^8)$ uniform design

水平 Level	因素 Factors							
	X_1 温度 Temperature (°C)	X_2 pH	X_3 时间 Time (h)	X_4 固液比 Solid liquid ratio	X_5 加酶量 Enzyme dose (%)	蛋白质提取率 Extraction rate of protein (%)	模型拟合提取率 Fitting extraction rate of model (%)	拟合误差 Error of fitting
1	1(25)	3(4.0)	4(3.5)	5(1:25)	9(4.5)	26.22±1.20	26.2200	0.0000
2	2(30)	6(5.5)	8(5.5)	10(1:50)	7(3.5)	28.26±1.29	28.2600	0.0000
3	3(35)	9(7.0)	1(2.0)	4(1:20)	5(2.5)	21.14±0.14	21.1400	0.0000
4	4(40)	1(3.0)	5(4.0)	9(1:45)	3(1.5)	26.77±0.26	26.7697	0.0003
5	5(45)	4(4.5)	9(6.0)	3(1:15)	1(0.5)	22.85±0.75	22.8499	0.0001
6	6(50)	7(6.0)	2(2.5)	8(1:40)	10(5.0)	24.84±0.55	24.8401	-0.0001
7	7(55)	10(7.5)	6(4.5)	2(1:10)	8(4.0)	21.19±0.49	21.1899	0.0001
8	8(60)	2(3.5)	10(6.5)	7(1:35)	6(3.0)	27.82±0.14	27.8200	0.0000
9	9(65)	5(5.0)	3(3.0)	1(1:5)	4(2.0)	20.47±0.62	20.4700	0.0000
10	10(70)	8(6.5)	7(5.0)	6(1:30)	2(1.0)	24.73±0.14	24.7305	-0.0005

表2数据显示,模型中各项对响应值均有极显著影响。主效应中仅 X_3 、 X_4 对响应值有显著影响,而其他因素的主效应影响不显著,但交互项和平方项对响应值有显著影响,表明对提取率的影响主要是因素之间的交互作用而不是因素的主效应,如果用单因素试验法是很难得到一个较优方案的,所以均匀设计法是一种很好的寻优方法。

经DPS 7.02数据处理系统优化,纤维素酶辅助提取的最优条件为: $X_1 = 25.00$, $X_2 = 3.00$, $X_3 = 6.50$, $X_4 = 50.00$, $X_5 = 5.00$,即纤维素酶辅助提取的条件为温度 $25.0\text{ }^\circ\text{C}$ 、pH 3.0、时间6.5 h、固液比1:50、加酶量5.0%,在此条件下模型的预测值为34.04%,较实际实验中提取率最高的2号实验提高了5.78%。

2.3 验证试验

为了验证模型预测值的可靠性,按最优条件安排3次验证实验,3次实验的蛋白质提取率分别为33.24%、34.73%、32.56%,平均蛋白质提取率为 $33.51\% \pm 1.11\%$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$)。采用SPSS V13.0进行 t 检验,结果表明,实际提取率与模型预测值没有显著差异($P=0.495 > \alpha=0.05$),因此,在最优纤维素酶辅助提取条件下的实际提取率为30.22%~35.74%(95%置信度)。

2.4 纤维素酶辅助抽提法与传统热水提取法的比较

表3显示,纤维素酶辅助抽提法能显著提高条浒苔蛋白质的提取率,说明纤维素酶在条浒苔蛋白质的提取时有明显的促进蛋白质溶出的效果,是一种有效的辅助提取方式。Aguilera-Morales等(2005)的研究表明,浒苔细胞壁主要由纤维素和半纤维素组成,纤维素酶可能是通过破坏浒苔的细胞壁结构而起到促进蛋白质溶出的作用。

表3 纤维素酶辅助提取法与水取法的比较

Table 3 Comparison between cellulase-assisted extraction and water extraction method

提取方法	Extraction method	蛋白质提取率	Extraction rate of protein (%)
纤维素酶辅助提取	Cellulase-assisted extraction	33.51 ± 1.11	*
水提取	Water extraction	27.05 ± 0.47	

注: **表示与传统热水提取有极显著差异

Note: ** indicates highly significant difference between cellulase-assisted and the traditional water extraction method

2.5 条浒苔蛋白质功能特性

2.5.1 条浒苔蛋白质的等电点

蛋白质是多价的两性物质,在等电点(pI)时净电荷为零,因而容易相互聚集成为较大的颗粒而沉淀,偏离等电点则蛋白质的溶解性增加。因此,等电点是蛋白质提取、分离及应用的一项重要性质。提取时应使环境pH偏离pI从而提高提取率,分离时则应使

表2 二次多项式逐步回归模型各项显著性分析

Table 2 Significance analysis of quadratic polynomial regression model established by DPS

因素	偏相关	t 检验值	P 值
Factor	Correlation	t -test	P value
X_3	-1.000 0	795.406 7	0.000 1
X_4	1.000 0	812.277 0	0.000 1
X_{32}	1.000 0	519.259 9	0.000 1
X_{52}	1.000 0	4 051.495 2	0.000 1
$X_1 X_5$	-1.000 0	404.270 8	0.000 1
$X_2 X_5$	-1.000 0	4 030.273 4	0.000 1
$X_3 X_4$	1.000 0	3 022.063 3	0.000 1
$X_4 X_5$	-1.000 0	1 731.492 6	0.000 1

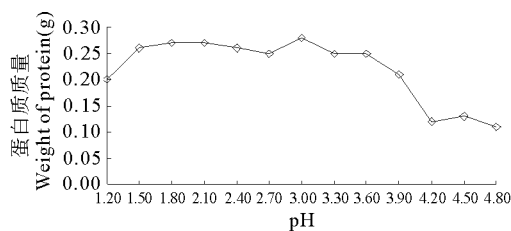


图4 pH值与条浒苔蛋白质沉淀质量的关系

Fig. 4 Relationship between pH value and sedimentation mass of *E. clathrata* protein

蛋白质处于 pI 使其沉淀从而达到与其他组分分离的目的,而应用时往往要求蛋白质是可溶的,因而要求蛋白质所处的环境 pH 偏离 pI。不同来源的蛋白质其等电点往往是不同的,大多数蛋白质的等电点偏酸。由图 4 可见,条浒苔蛋白质的 pI 为 3,这一结果表明条浒苔蛋白质的等电点与浒苔蛋白质的等电点(李剑玄 2010a)是一致的,但与来源于浒苔属其他品种藻类的蛋白质的等电点是否一致,有待进一步研究。结合 pH 对提取率的影响,条浒苔蛋白质可采用碱提酸沉的工艺进行制备。

2.5.2 起泡性及泡沫稳定性

蛋白质具有两亲性,某些蛋白质在水-气两相中可迅速转移到界面上并能形成具有一定强度的界面膜,因而具有优良的起泡性和泡沫稳定性,因此可应用于由一个连续水相和一个分散气相组成的食品或化妆品等产品中。影响蛋白质起泡性除了蛋白质的分子性质外,还有 pH、盐、蛋白质浓度、温度等环境因素。本研究考察了 pH 和蛋白质质量浓度对条浒苔蛋白质起泡能力及泡沫稳定性的影响,结果见图 5 及图 6。

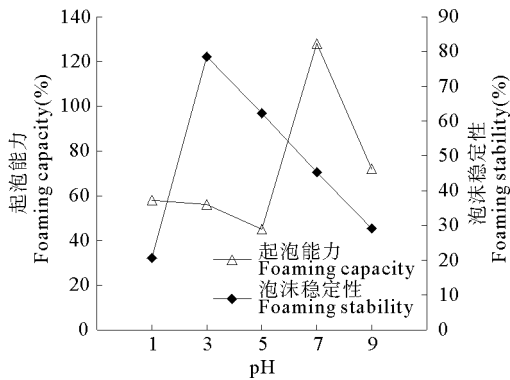


图5 pH 值与条浒苔蛋白质泡沫性质的关系

Fig. 5 Relationship between pH value and foaming properties of *E. clathrata* protein

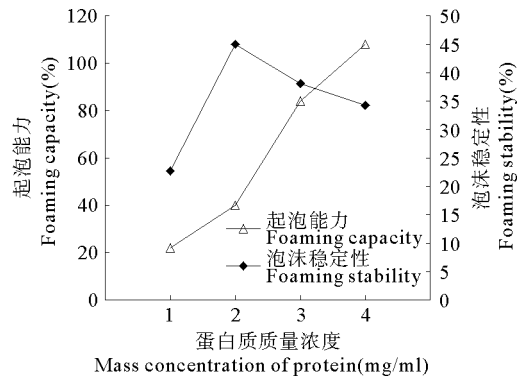


图6 浒苔蛋白质的浓度与泡沫性质的关系

Fig. 6 Relationship between the concentration and foaming properties of *E. clathrata* protein

由图 5 显示,pH 7 时起泡性最好,偏离该 pH 可使起泡能力大大降低,泡沫稳定性也受 pH 显著影响,pH 3 泡沫稳定性最好,偏离该 pH 也可使泡沫稳定性大大降低。这可能是由于 pH 3 处于条浒苔蛋白质的等电点,虽然有利于泡沫的稳定,但由于蛋白质的溶解度较低而不利于泡沫的形成(王璋等 1999),而 pH=7 时,蛋白质有较好的溶解性,表面的亲水-疏水区的分布也有利于蛋白质迁移至界面,但不利于蛋白质之间形成黏弹性的膜。因此,在此 pH 下虽然起泡性很高,但泡沫稳定性却很差。由图 6 可知,起泡能力随着蛋白质浓度增大而提高,而泡沫稳定性则在质量浓度为 2 mg/ml 时最好。质量浓度超过 2 mg/ml 时,起泡性呈下降趋势,可能是由于蛋白质浓度过高,扩散速度快,拉伸形成的新界面能迅速得到蛋白质的覆盖,减弱泡沫粗化,泡沫稳定性降低(董贝森等 1999)。李剑玄(2010b)的研究表明,浒苔分离蛋白的起泡性和泡沫稳定性均随蛋白质浓度的增大而增强,随着 pH 值的增加,浒苔分离蛋白的起泡性先降后升,在等电点附近最小,而泡沫稳定性在等电点处最为稳定。虽然,条浒苔蛋白质的起泡性及泡沫稳定性随 pH 和蛋白质质量浓度的变化趋势与浒苔分离蛋白的变化趋势不尽相同,但也有一些相似的性质,如在等电点时起泡能力最差而泡沫稳定性最好,起泡性随浓度的增加而增大。

2.5.3 乳化性及乳化稳定性

乳化能力是衡量蛋白质促进油-水型乳状液形成能力的指标,乳化稳定性是指维持乳状液稳定存在的能力(张维农等 2002)。蛋白质具有乳化剂的特征结构,即两亲结构,在蛋白质分子中同时含有亲水基团和亲油基团(陈慧 2007),因此,蛋白质是一种表面活性剂,它能降低水和油的表面张力,使之易于乳化;另一方面,蛋白质分散在非连续相和连续相之间的界面上,阻止非连续相的聚积,起到稳定乳状液的作用(张维农等 2002)。

由图7可知,条浒苔蛋白质的乳化能力随着浓度升高而增加,达到4mg/ml时趋于平缓。乳化稳定性在浓度大于2mg/ml时变化不大,条浒苔蛋白质乳化性随浓度变化的趋势说明界面膜的厚度随着条浒苔蛋白质的浓度增大而增加,膜的强度也随着提高,增加了乳化性。比较发现,条浒苔蛋白质乳化能力及乳化稳定性的变化趋势与浒苔分离蛋白的变化趋势是一致的(李剑玄 2010b)。

2.5.4 吸油性

蛋白质的吸油性表现在促进脂肪吸收作用和控制脂肪吸收作用两个方面,在实际应用中具有重要意义(李玉珍等 2008)。吸油性与蛋白质的种类、油脂种类、温度及加工条件等因素有关。本研究选用市售大豆油测定条浒苔蛋白质在室温(25℃)下的吸油性,结果见表4。

表4 条浒苔蛋白质的吸油性

Table 4 Oil absorption of *E. clathrata* protein

样品质量 Weight of the sample (g)	离心管+样品重量 Weight of the sample plus test tube (g)	去游离油后离心管+样品重量 Weight of the sample plus test tube after removal of the free oil (g)	吸油性 Oil absorption ability (%)
0.50	4.828	5.486	131.6

与榛子蛋白(马勇等 2008)相比,条浒苔蛋白质具有较好的吸油性,这一性质可能为其在肉类食品中的应用奠定一定的基础。蛋白质加入肉制品中能形成乳状液和凝胶基质,防止脂肪向表面移动,因而起到促进脂肪吸收和脂肪结合的作用,从而减少肉制品加工过程中脂肪和汁液的损失,有助于维持外形的稳定(李玉珍等 2008)。

2.5.5 溶解性

溶解性是蛋白质最重要、最基本的功能性质,不溶性的食品蛋白质的应用是非常有限的。因为,蛋白质的溶解性往往影响着蛋白质其他的功能性质,例如起泡性、乳化性、凝胶作用及增稠等。蛋白质的溶解性受pH、温度、离子强度及有机溶剂的影响,本研究考察了条浒苔蛋白溶解性与温度的关系,结果见图8。

由图8可知,在40~60℃范围内浒苔蛋白质的溶解性随温度的升高而增大,60℃以上溶解性开始下降,由此可见,60℃是条浒苔蛋白质开始变性的临界温度。结果表明,条浒苔蛋白具有较好的溶解性,在60℃时氮溶指数(NSI)可达95%,为其在食品中的应用及其功能性质的发挥奠定了基础。值得注意的是条浒苔蛋白的溶解性对温度较为敏感,温度的变化可导致溶解度较大的变化,因此,在应用时应充分考虑这一特点。

3 结论

1) 条浒苔蛋白质在碱性条件下有利于提取,提取条件为pH 11、温度60℃、时间5h。

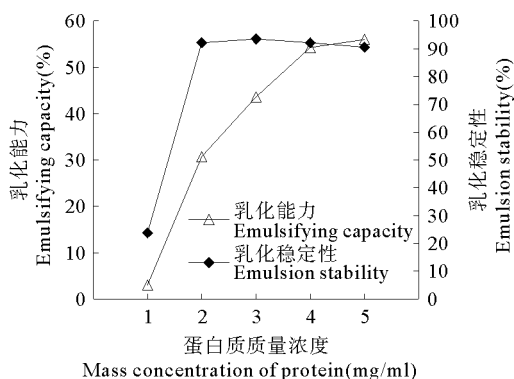


图7 条浒苔蛋白质浓度与乳化性质的关系

Fig. 7 Relationship between the concentration and emulsifying properties of *E. clathrata* protein

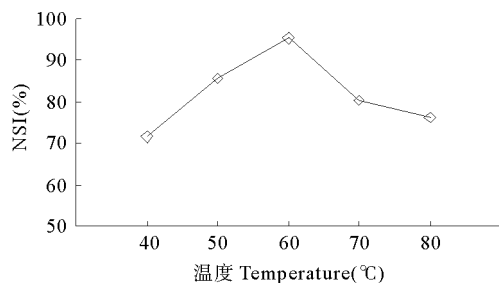


图8 温度对条浒苔蛋白质溶解性的影响

Fig. 8 Effect of temperature on the solubility of *E. clathrata* protein

2) 均匀设计优化得到的最优纤维素酶辅助提取工艺条件为温度 25.0 °C、pH 3.0、时间 6.5h、固液比 1:50、加酶量 5.0%,纤维素酶处理后调整 pH 至 11,温度 60 °C,再提取时间 5 h,在此条件下蛋白质的实际提取率为 30.22%~35.74%。

3) 蛋白质性质测定结果表明,条浒苔蛋白质的等电点 $pI=3$,在 pH 7 时起泡性最好,而 pH 3 时泡沫稳定性最好,质量浓度为 2 mg/ml 时泡沫稳定性最好;质量浓度为 4 mg/ml 时乳化能力最大,2 mg/ml 时乳化稳定性最好;条浒苔蛋白质的吸油性为 131.6%,60 °C 时溶解性最好。条浒苔蛋白具有优异起泡能力、乳化稳定性、吸油性及溶解性,是一种具有开发应用前景的蛋白质资源。

参 考 文 献

- 卫生部食品卫生监督检验所. 2010. GB 5009.5-2010 食品中蛋白质的测定. 北京: 中国标准出版社
- 马 勇, 张丽娜, 齐凤元, 郑 岩. 2008. 榛子蛋白质提取及功能特性研究. 食品科学, 29(8): 318-322
- 方开泰. 2004. 均匀试验设计的理论、方法和应用—历史回顾. 数理统计与管理, 23(3): 69-80
- 王 璋, 许时婴, 汤 坚. 1999. 食品化学. 北京: 中国轻工业出版社, 165
- 何 清, 胡晓波, 周峙苗, 王小燕. 2006. 东海绿藻缘管浒苔营养成分分析及评价. 海洋科学, 30(1): 34-38
- 杨月欣. 2006. 食物营养成分速查. 北京: 人民日报出版社
- 李玉珍, 肖怀秋, 兰立新. 2008. 大豆分离蛋白功能特性及其在食品工业中的应用. 中国食品添加剂, 1(4): 121-124
- 李剑玄, 齐玉堂. 2010a. 浒苔蛋白质提取工艺的研究. 粮食加工, (6): 103-105
- 李剑玄. 2010b. 浒苔蛋白的分离提取及功能特性的研究. 见: 武汉工业学院硕士研究生学位论文
- 陈 慧. 2007. 大豆分离蛋白的功能特性及开发与利用. 石河子科技, (5): 38-39
- 张一芳, 耿 焯. 2008. 用电子表格 Excel 进行均匀设计的数据处理. 数理医药学杂志, 21(5): 534-535
- 张维农, 刘大川, 胡小泓. 2002. 花生蛋白产品功能特性的研究. 中国油脂, 27(5): 60-65
- 林文庭. 2007. 浅论浒苔的开发与利用. 中国食物与营养, (9): 23-25
- 唐启义, 冯明光. 2007. DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社
- 董贝森, 朱海涛, 于跃芹. 1999. 花生蛋白粉溶液流变学特性及功能性的研究. 农业工程学报, 15(1): 251-252
- 潘丽军, 陈锦全. 2008. 试验设计与数据处理. 南京: 东南大学出版社
- Aguilera-Moralesa M, Casas-Valdeza M, Carrillo-Dominguez S and 2 others. 2005. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potential food source. Journal of Food Composition and Analysis 18(1): 79-88