

陶瓷膜微滤耦合大孔树脂处理 对罗非鱼肉酶解多肽理化性质的影响

贺倩¹, 杨萍¹, 蒋雄武¹, 洪鹏志^{1,*}, 周春霞¹, 陈康健²

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室,

广东省现代农业科技创新中心, 广东湛江 524088;

2. 广东省水产品深加工及副产物高值化利用工程技术研究中心,

湛江恒兴水产科技有限公司, 广东湛江 510300)

摘要: 本文研究无机陶瓷膜微滤和大孔树脂吸附联合处理对罗非鱼肉酶解多肽组分的影响, 采用 50 nm 陶瓷膜处理及 AB-8 大孔树脂动态吸附罗非鱼肉酶解多肽, 应用国标分析基本成分、高效体积排阻色谱 (HPSEC) 分析分子量分布、氨基酸分析仪测定氨基酸含量、反相液相分析氨基酸疏水性。结果表明, 陶瓷膜微滤处理对酶解多肽的氨基酸组成影响不大, 且陶瓷膜微滤处理后酶解多肽中 1~2、2~3、3~5、5~8 ku 组分的比例分别减少了 7.29%、17.13%、33.93% 和 50.0%, 说明陶瓷膜微滤对多肽有截留作用, 且分子量越大截留比例越大; AB-8 大孔树脂吸附使氨基酸总量降低 1.99%, 必需氨基酸含量降低 5.15%, 苦味氨基酸与疏水性氨基酸含量分别降低 12.35% 和 8.44%, 对 2~8 ku 多肽的吸附较敏感, 对游离氨基酸吸附较少; 反相液相分析结果显示, AB-8 大孔树脂吸附的洗脱组分含有更多的疏水性肽段。综上所述, AB-8 大孔树脂动态吸附可以有效改善罗非鱼肉酶解多肽的苦味。

关键词: 罗非鱼肉, 酶解, 陶瓷膜, 大孔树脂, 苦味

Effect of Ceramic Membrane Microfiltration Coupled with Macroporous Resin on Hydrolyzed Peptides of Tilapia Meat

HE Qian¹, YANG Ping¹, JIANG Xiong-wu¹, HONG Peng-zhi^{1,*}, ZHOU Chun-xia¹, CHEN Kang-jian²

(1. College of Food science and Engineering, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial

Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safe, Guangdong Modern

Agricultural Science and Technology Innovation Center, Zhanjiang 524088, China;

2. Guangdong Engineering Research Center for Advanced Processing of Aquatic Product and High-value

Utilization of by Product, Zhanjiang Hengxing Aquatic Technology Company Limited, Zhanjiang 510300, China)

Abstract: The effect of inorganic ceramic membrane microfiltration and macroporous resin adsorption on the physical and chemical properties of the hydrolyzed peptides of tilapia were studied to provide reference for their development and utilization. Dynamic adsorption of tilapia hydrolyzed peptides by 50 nm ceramic membrane and AB-8 macroporous resin. The basic components were analyzed by national standards, and high molecular weight exclusion chromatography (HPSEC) was used to analyze the molecular weight distribution and amino acid analyz for determination of amino acid contents, reverse phase liquid phase analyze for amino acid hydrophobicity. Results showed that the microfiltration treatment of ceramic membrane had little effect on the amino acid composition of enzymatic polypeptides, and the proportion of 1~2, 2~3, 3~5, 5~8 ku components decreased by 7.29%, 17.13%, 33.93% and 50.0% respectively after the microfiltration treatment of ceramic membrane, which indicated the interception effect of peptides, and the greater the molecular weight, the greater the interception ratio. The adsorption of AB-8 macroporous resin reduced the total amount of amino acids by 1.99%, the content of essential amino acids by 5.15%, and the contents of bitter amino acids and hydrophobic amino acids by 12.35% and 8.44%, respectively. And AB-8 macroporous resin was sensitive to the adsorption of 2~8 ku peptides, and less adsorption for free amino acids. RPLC results showed that the eluted fractions adsorbed by AB-8 macroporous resin contained more hydrophobic peptides. The dynamic adsorption of AB-8 macroporous resin could effectively improve the bitterness of the peptides digested by tilapia.

Key words: tilapia; enzymolysis; ceramic membrane; macroporous resin; bitterness

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)08-0043-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.08.008

收稿日期: 2018-06-26

作者简介: 贺倩 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品高值化加工与利用, E-mail: 18874531172@163.com。

* 通讯作者: 洪鹏志 (1966-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 水产品高值化加工与利用, E-mail: hongpengzhi@126.com。

基金项目: 广东普通高等学校水产品高值化加工与利用创新团队 (GDOU2016030503); 省部产学研合作专项 (2013A090100009)。

引文格式:贺倩,杨萍,蒋雄武,等.陶瓷膜微滤耦合大孔树脂处理对罗非鱼肉酶解多肽理化性质的影响[J].食品工业科技,2019,40(8):43-48.

我国是罗非鱼养殖大国,近十年来产量稳居世界首位,2015年我国罗非鱼产量达到177.95万吨^[1]。我国罗非鱼在国内市场的销售较少,出口的加工产品主要是冻罗非鱼片和整条冻罗非鱼,产品单一、技术含量不高、附加值低。从2014年开始,我国罗非鱼出口量出现下滑趋势,产业出现停滞不前的状态^[1],寻找新的加工方法具有重要的现实意义。随着生物技术的不断发展,已有报道鱼蛋白通过酶解后可以制备多肽,这些多肽具有多种功能性^[2]。研究结果证实罗非鱼肉酶解液具有抗氧化^[3-4]、降血压^[5-6]等生物活性。酶解法制备的鱼蛋白酶解液有苦味重、杂质多、颜色深等缺点,是后续开发应用的瓶颈问题。

陶瓷膜具有机械强度大、耐磨性好、耐高温、耐酸碱、耐有机溶剂、分离效率高、易清洗等优点,在食品领域的应用日益广泛,在果汁的澄清^[7]、乳蛋白浓缩^[8]、酪蛋白与乳清蛋白的分离^[9]、酱油除杂^[10]等均有报道,但在水产加工方面的应用报道不多。张晓瑜等^[11]用200 nm陶瓷膜微滤处理马氏珠母贝肉蛋白酶解液,发现陶瓷膜微滤可以改善酶解液的色值和澄清度,且使分子量小于5000 u的多肽在透过液中得到了富集。大孔树脂具有多孔性和较大的比表面积,主要通过物理作用从溶液中有选择性地吸附有机物质,从而达到分离纯化的目的。另外,大孔树脂具有化学稳定性好,价格便宜,易于工业化等特点^[12],因此大孔吸附树脂分离技术现已大量用于环保、化工、医药和食品行业。本实验室前期采用大孔树脂AB-8和DA20-C动态吸附罗非鱼下脚料蛋白酶解液^[13],结果表明经吸附处理后的罗非鱼下脚料酶解液,腥味和苦味均变淡变小。

本文采用无机陶瓷膜微滤耦合大孔树脂动态吸附处理罗非鱼肉酶解液,分析陶瓷膜处理和大孔树脂吸附对酶解中多肽组分的影响,旨在为水产蛋白酶解肽的开发应用提供参考,为酶解罗非鱼肉制备多肽的规模化生产积累基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

罗非鱼 湛江恒兴水产科技有限公司提供;中性蛋白酶(2×10^5 U/g)、木瓜蛋白酶(6.5×10^5 U/g) 南宁庞博生物工程有限公司;陶瓷膜(材料 Al_2O_3 ,平均孔径50 nm,面积 0.12 m^2) 杭州沃腾膜工程有限公司;大孔吸附树脂AB-8 南开大学化工厂;分子量标准品细胞色素C(12500 Da)、抑菌酶(6500 Da)、杆菌酶(1450 Da)、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸(451 Da)、乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸(189 Da) Sigma公司。

28L电加热酶解罐 温州东顶机械制造有限公司;WTM-CM-01陶瓷膜装 杭州沃腾膜工程有限公司;FDU真空冷冻干燥机 东京理化器械株式会社;S-433D全自动氨基酸分析仪 德国Sykam;AKTA Purifier 100 美国GE医疗保健生物科学公司;

Agilent 1200 半制备高效液相 美国安捷伦科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 罗非鱼酶解多肽的制备 取新鲜罗非鱼肉均匀搅碎后,取4~5 kg放入酶解罐中,按料液比为1:2.5(m/v)的比例加入蒸馏水加热,待物料达到50℃后,同时加入中性蛋白酶(500 U/g)和木瓜蛋白酶(425 U/g),酶解5 h后,升温至100℃灭酶10 min,酶解液冷却后,5000 r/min离心15 min,取清液进行50 nm陶瓷膜微滤(循环流量为20 L/min,跨膜压力差为0.06 MPa),得透过液,混合均匀后取部分进行AB-8大孔树脂动态吸附(上样体积为7.5 BV,流速3 BV/h),之后用浓度为60%乙醇进行洗脱(洗脱流速为3 BV/h)。各种处理得到的液体铺成约为5 mm厚的薄层,再置于-40℃低温下过夜后经冷冻干燥成粉状(冻干温度为-58℃),酶解离心后的上清液多肽、经过陶瓷膜微滤后的多肽、经过大孔树脂处理流出的多肽、吸附在大孔树脂上洗脱下来的多肽分别记为罗非鱼肉酶解多肽(A)、陶瓷膜微滤多肽(B)、大孔树脂流出多肽(C)、大孔树脂洗脱多肽(D)。

1.2.2 基本成分测定 总氮的测定:参照GB 5009.5-2016食品中蛋白质的测定;灰分的测定:参照GB 5009.4-2016食品中灰分的测定;水分的测定:参照GB 5009.3-2010食品中水分的测定;脂肪的测定:索氏抽提法(GB/T 5009.6-2016)另外,拍照观察各种多肽粉的颜色。

1.2.3 多肽分子量分布分析 采用AKTA Purifier 100分析酶解液的分子量分布。色谱柱:Superdex™ Peptide 10/300 GL;流动相:0.02 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH 7.5,含0.15 mol/L NaCl),流速0.7 mL/min;检测波长214 nm;根据标准品分子量大小的对数与保留体积得到标准品回归方程为 $\lg M_w = -0.1874x + 6.0058$ ($R^2 = 0.9826$),样品分子量分布根据保留体积与回归方程求得。

1.2.4 氨基酸组成与含量分析 经陶瓷膜和大孔树脂处理、冻干后的样品用6 mol/L HCl水解12 h后,50 mL容量瓶定容,取50 μL上柱分析,采用全自动氨基酸分析仪测定氨基酸。

1.2.5 反相液相分析多肽极性 采用高效液相系统分析陶瓷膜微滤前后、AB-8大孔树脂吸附流出和洗脱酶解液的极性。称取0.100 g 1.2.1样品,再加入2 mL超纯水溶解,过0.22 μm微滤膜备用。色谱柱:XTerra R MS C18(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:A超纯水(0.05%三氟乙酸),B乙腈(100%),流速0.6 mL/min;检测器:UV波长220 nm;柱温:25℃;上柱量:自动进样10 μL。流动相梯度:A:95%~40%;B:5%~60%;时间:30 min。

1.3 数据处理

所有实验均重复三次,实验数据以平均值±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,使用Microsoft Office Excel 2010进行数据分析,用SPSS 19.0软件进行方差分析,以

表1 处理前后多肽的基本成分(干基计,%)

Table 1 Basic ingredients of hydrolysis peptides before and after refining(dry basis,%)

样品	蛋白质	灰分	脂肪
酶解多肽(A)	91.67 ± 3.37	5.03 ± 0.08	0.37 ± 0.01
微滤多肽(B)	91.92 ± 1.21	4.53 ± 0.05	0.79 ± 0.05
流出多肽(C)	89.85 ± 0.69	5.67 ± 0.44	1.94 ± 0.07
洗脱多肽(D)	88.86 ± 0.83	6.55 ± 0.35	2.11 ± 0.13

p < 0.05 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 对罗非鱼肉多肽基本成分的影响

由表1可知,B与A相比,蛋白质含量差别不大,灰分减少了9.94%,脂肪增加了113.51%,可见陶瓷膜微滤对灰分有截留作用,且由于微滤过后酶解液蛋白质含量变化不明显,灰分含量有所减少,而陶瓷膜对脂肪没有截留作用,所以B与A相比脂肪含量增加;C与B相比,蛋白质含量降低了2.25%,灰分增加了25.17%,脂肪增加145.57%;D与B相比,蛋白质含量降低了3.33%,灰分增加了44.59%,脂肪增加了167.09%。这可能是蛋白质含量的降低,导致灰分与脂肪含量的相对升高。可见,50 nm陶瓷膜微滤处理罗非鱼肉酶解液可以降低灰分含量,升高脂肪含量。经AB-8大孔树脂动态吸附处理后,无论是流出液还是60%乙醇洗脱液灰分含量、脂肪含量均升高;综上所述:陶瓷膜微滤和大孔树脂吸附洗脱对酶解液蛋白质含量影响不大,而陶瓷膜对灰分有一定的截留作用。如图1,微滤多肽粉(B)比酶解多肽粉(A)澄清、颜色白,说明陶瓷膜处理能起到除色作用。大孔树脂吸附后的多肽粉(C)比酶解多肽粉(A)颜色白,而洗脱多肽粉(D)略呈黄色,可见大孔树脂吸附也能起到脱色的效果。

2.2 对罗非鱼肉多肽分子量分布的影响

酶解多肽、微滤多肽、大孔树脂吸附流出多肽及洗脱多肽的HPSEC图见图2,分子量分布如表2。由表2可知,四种多肽主要由5 ku以下的肽段组成。

微滤处理后,酶解多肽中除了<1 ku组分比例增加了4.25%外,1~2、2~3、3~5、5~8 ku组分的比例分别减少了7.29%、17.13%、33.93%和50.0%,说明50 nm微滤处理对多肽有截留作用,分子量越大,截留比例越大;与微滤多肽相比,AB-8大孔树脂处理后,流出多肽中除了1~2、2~3 ku组分的比例分别增加了9.42%与2.51%外,其余组分的占比均下降;而洗脱多肽中,除了<1 ku组分比例减少了6.01%外,1~2、2~3、3~5、5~8 ku组分的比例分别增加了0.96%、62.01%、81.45%、200%,可见AB-8大孔树脂对2~8 ku多肽的吸附较敏感。宋雪梅^[14]利用凝胶色谱Sephadex G-25分离干酪中的苦味肽,结果表明所有苦味肽组分的分子量在189~5000 u之间。Ney^[15]发现,分子量大于6 ku的多肽没有苦味,蒋雄武等^[13]发现用大孔树脂吸附罗非鱼下脚料蛋白酶解液后,分子量在1~5 ku范围内的短肽含量的降低可能与酶解液的苦味改善有很大关系。刘伯业^[16]研究认为,如不考虑其它因素对苦味肽苦味阈值的影响,分子量处于0.5~3 ku区间的多肽比分子量处于0.18~0.5 ku区间的小肽含有更高比例的强苦味肽,解铭等^[17]发现鳕鱼肉酶解多肽苦味成分主要集中在分子量3~6 ku的多肽中,3 ku以下的多肽也有较明显的苦味,由此,推测洗脱多肽中富集了苦味肽。

2.3 对酶解多肽氨基酸组成与含量的影响

表3分析了处理前后的罗非鱼肉蛋白酶解多肽中16种游离氨基酸含量(色氨酸没检测)。与A相比,B的游离氨基酸总量减少3.96%,C的总量增大

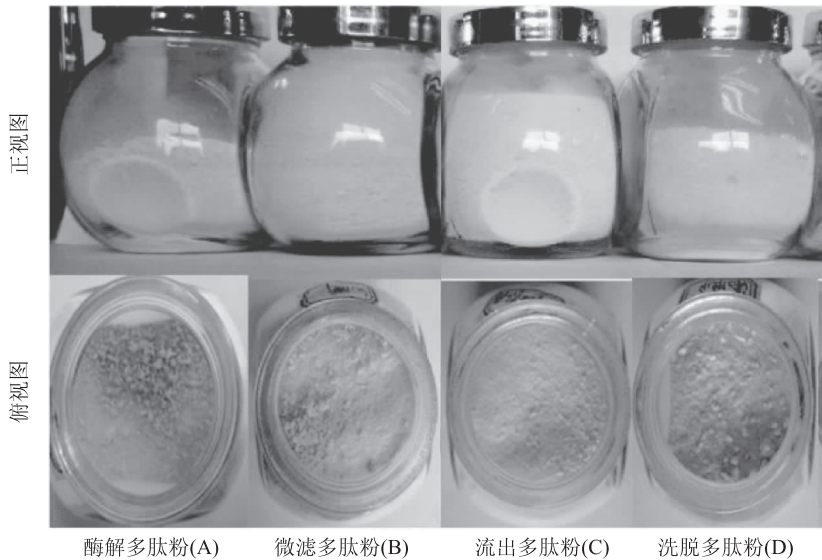


图1 精制前后多肽粉的色泽变化

Fig.1 Color changes of hydrolysis peptides before and after refining

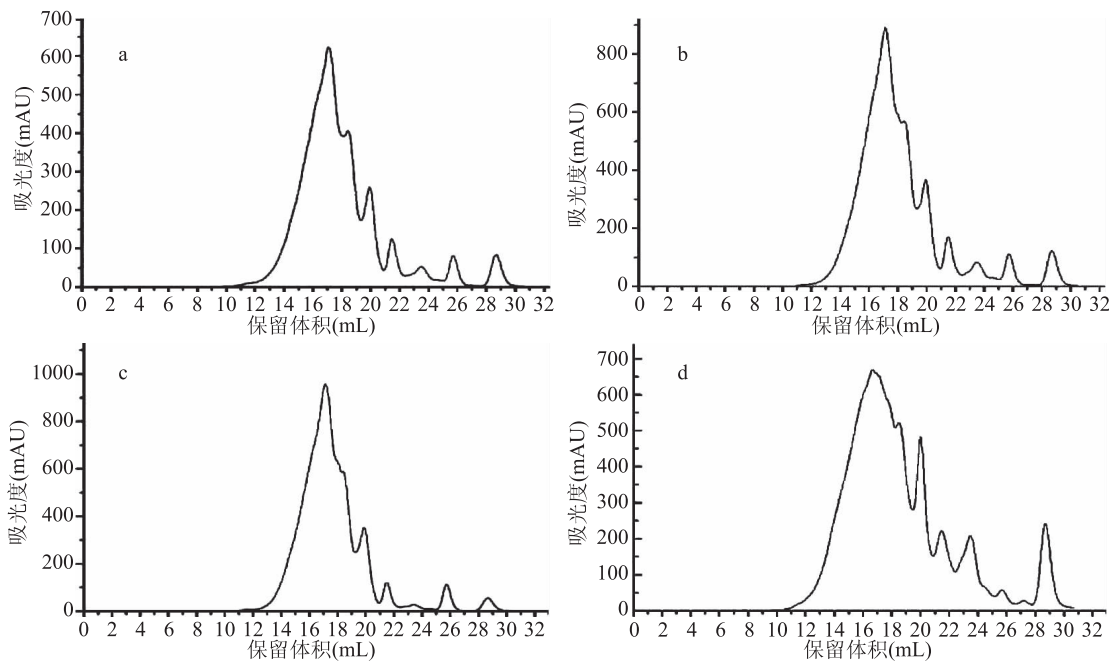


图2 处理前后多肽的分子量分布图(HPSEC 图)
Fig.2 HPSEC chromatogram of peptides before and after refining
注:a.酶解多肽;b.微滤多肽;c.流出多肽;d.洗脱多肽。

表2 处理前后多肽的分子量分布(%)
Table 2 HPSEC chromatogram of hydrolysis peptides before and after refining(%)

分子量(ku)	酶解多肽(A)	微滤多肽(B)	流出多肽(C)	洗脱多肽(D)
<1	73.26	76.37	74.73	71.78
1~2	20.16	18.69	20.45	18.87
2~3	4.32	3.58	3.67	5.80
3~3.5	0.79	0.56	0.5	1.24
3.5~5	0.89	0.55	0.44	1.47
5~8	0.46	0.23	0.18	0.69
>8	0.12	0.02	0.02	0.15

了19.06%,D的总量减少65.83%;A中必需氨基酸占总游离氨基酸的52.19%,B、C和D中则分别各占57.40%、53.33%和55.36%;说明微滤、吸附以及洗脱均提高了游离氨基酸中必需氨基酸的比例。

由表4可知,与A比较,B、C、D的氨基酸总量分别减少了1.09%、2.02%和1.94%,四种多肽中必需氨基酸分别占氨基酸总量的41.15%、40.70%、38.98%和45.18%,苦味氨基酸分别占氨基酸总量的26.65%、26.12%、23.10%和34.53%,疏水性氨基酸分别占氨基酸总量的40.67%、39.93%、36.90%和53.35%。与B比较,C的氨基酸总量降低0.94%,必需氨基酸含量降低5.13%,苦味氨基酸与疏水性氨基酸含量分别降低12.35%和8.44%。可见,陶瓷膜微滤对酶解多肽的氨基酸组成影响不大;大孔树脂吸附使酶解多肽氨基酸总量、必需氨基酸、苦味氨基酸与疏水性氨基酸含量降低;大孔树脂洗脱则使酶解多肽必需氨基酸、苦味肽与疏水性氨基酸含量提高。这也与魏芳等^[18]用大孔树脂分离阿胶低聚肽,测得分离后的阿胶低聚肽疏水性氨基酸含量比分离

表3 处理前后酶解多肽的游离氨基酸含量(干基计,%)
Table 3 Contents of free amino acids in components hydrolysis peptides before and after refining(dry basis,%)

氨基酸	游离氨基酸含量			
	酶解多肽(A)	微滤多肽(B)	流出多肽(C)	洗脱多肽(D)
Asp	0.26	0.15	0.24	0.06
Glu	0.60	0.39	0.65	0.17
Ser	0.19	0.19	0.25	0.06
Gly	0.53	0.51	0.87	0.23
Thr	0.19	0.18	0.25	0.07
Ala	0.36	0.31	0.43	0.11
Val	0.25	0.19	0.23	0.06
Tyr	0.48	0.42	0.36	0.09
Phe	0.70	0.63	0.62	0.21
Ile	0.32	0.25	0.27	0.09
Leu	1.19	1.26	1.46	0.43
Arg	0.54	0.56	0.60	0.17
Met	0.50	0.50	0.55	0.14
His	0.21	0.23	0.33	0.09
Lys	0.42	0.74	0.96	0.29
Pro	0.08	0.06	0.10	0.06
氨基酸总量	6.82	6.55	8.12	2.33
必需氨基酸	3.56	3.76	4.33	1.29

前低的结果相一致。

从单个的氨基酸来分析,与酶解多肽相比,流出多肽中苯丙氨酸、脯氨酸和酪氨酸分别增加了107.00%、83.97%和32.63%,大孔树脂比较易于吸附苯丙氨酸、脯氨酸和酪氨酸;且其对异亮氨酸、亮氨酸和蛋氨酸也有较强吸附作用,即吸附较多的苦味氨基酸。这与赵谋明等^[19]研究发现大孔树脂对氨基

表4 处理前后酶解多肽的总氨基酸含量(干基计,%)
Table 4 Contents of total amino acidss in components hydrolysis peptides before and after refining(dry basis, %)

氨基酸	总氨基酸含量			
	酶解多肽 (A)	微滤多肽 (B)	流出多肽 (C)	洗脱多肽 (D)
Asp	8.11	8.17	8.37	7.59
Glu	13.65	13.88	14.98	9.73
Ser	3.49	3.44	3.61	2.69
Gly	4.39	4.34	4.66	4.14
Thr	4.06	3.98	4.21	3.00
Ala [*]	5.70	5.54	6.11	3.53
Val ^{#*}	4.31	4.16	4.11	3.95
Tyr ^{#*}	2.88	2.86	2.21	3.82
Phe ^{#*}	3.57	3.50	2.47	7.39
Ile ^{#*}	4.06	3.89	3.45	4.99
Leu ^{#*}	7.39	7.12	6.63	8.07
Cys	0.66	0.69	0.53	0.46
Met [*]	2.87	2.78	2.61	3.11
His	1.63	1.56	1.65	1.66
Lys	8.03	8.13	8.36	6.41
Arg	5.44	5.37	5.17	5.41
Pro [*]	3.12	3.07	2.55	5.74
氨基酸总量	83.35	82.44	81.67	81.73
必需氨基酸	34.30	33.56	31.84	36.92
苦味氨基酸 [#]	22.21	21.53	18.87	28.22
疏水性氨基酸 [*]	33.90	32.92	30.14	43.60

注:“#”表示苦味氨基酸,“*”表示疏水性氨基酸。
酸的吸附具有一定的选择性的结论相一致。同时,表4中C的前6种氨基酸含量与A、B、D相对偏高,可能是由于氨基酸受自身极性及其他因素的影响,不同

的氨基酸被大孔树脂吸附的量有所不同,而组分中总氨基酸含量的减少导致个别氨基酸含量的变动。

比较A、B、C、D四种多肽的游离氨基酸与总氨基酸总量,可得四种多肽中游离氨基酸的比例分别有8.18%、7.95%、9.94%、2.85%,说明大孔树脂对肽的吸附能力较强,游离氨基酸吸附较少。

综上所述,从游离氨基酸结果看,陶瓷膜微滤处理除了富集赖氨酸以外,对酶解多肽的氨基酸组成影响不大;大孔树脂对肽的吸附能力较强,游离氨基酸吸附较少;大孔树脂对苦味氨基酸和疏水性氨基酸有较强吸附作用,进一步推测出大孔树脂吸附处理后的洗脱组分可能富集了苦味肽。

2.4 处理前后酶解多肽的反相液相分析

苦味肽一般由几个带有疏水侧链的氨基酸组成,这些疏水性基团通常隐藏在蛋白质的内部,通过酶解暴露出来后与苦味受体相互作用进而产生苦味^[20]。反相液相(RP-HPLC)固相载体有疏水性,它可以根据被分离物质分子疏水性的不同而在反相柱中彼此分离,由此疏水性较弱的分子较快流出,疏水性相对较强的分子在柱内保留时间相对较长,出峰时间晚些。研究认为苦味肽的苦味强度与疏水性氨基酸含量有关^[14],Cliffe等^[21]证实在RPLC上保留时间短的是无苦味、低分子量的亲水性肽与氨基酸,保留时间长的是苦味、大分子量的疏水性肽。Wang等^[22]用HILICL-RPLC分离系统分离亲水性溶质与疏水性溶质,结果表明C₁₈柱对亲水性溶质的保留效果较弱。Newman等^[23]利用RP-HPLC和感官评定分析巴氏杀菌奶酪,结果发现疏水性多肽含量与苦味值成正相关。采用RP-HPLC分析的酶解多肽粉、微滤多肽粉、吸附多肽粉与洗脱多肽粉结果如图3。

比较图3a和图3b可知,微滤多肽中保留时间在

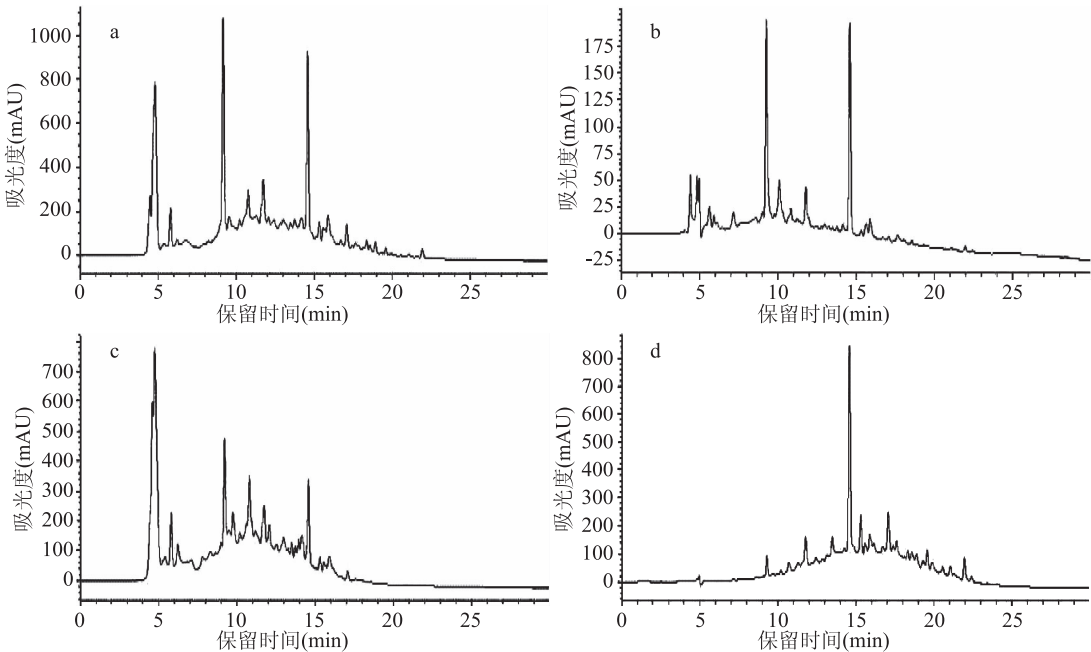


图3 处理前后酶解多肽的反相色谱图

Fig.3 RP-HPLC of hydrolysis peptides before and after refining
注:a 酶解多肽;b 微滤多肽;c 流出多肽;d 乙醇洗脱多肽。

10 min 前的组分含量减少,10 min 后的组分相差不大,这与氨基酸结果中微滤多肽的游离氨基酸含量减少一致;比较图 3b 和图 3c 可知,流出多肽中保留时间在 10 min 前的组分含量增加,10 min 后的组分含量减少,这也与氨基酸结果中流出多肽的游离氨基酸含量增加一致,同时表明 AB-8 大孔树脂主要吸附极性弱、疏水性强肽;比较图 3b 和图 3d 可知,洗脱多肽中保留时间在 15 min 前的组分含量大幅减少,这也与氨基酸结果中洗脱多肽的游离氨基酸含量大幅减少一致。根据反相色谱的原理,出峰时间是由溶质的亲水性和疏水性决定的,比较图 3a~图 3d,可知洗脱多肽中疏水性肽段较多,推测洗脱多肽中含有较多的苦味肽段,表明大孔树脂能吸附苦味肽。

3 结论

陶瓷膜微滤处理对罗非鱼肉酶解多肽的灰分有截留作用,对酶解多肽的其他基本成分含量基本无影响;与酶解多肽相比,大孔树脂 AB-8 吸附和洗脱处理后,蛋白损失率分别为 1.99% 和 3.07%,灰分和脂肪含量都有所增加。陶瓷膜微滤和大孔树脂吸附都起到脱色效果。

陶瓷膜微滤对酶解多肽粉的分子量分布影响不大。与微滤多肽相比,AB-8 吸附多肽中,除了 1~2、2~3 ku 组分的比例增加外,其余组分的占比均下降;而洗脱多肽中,除了 <1 ku 组分比例减少外,1~2、2~3、3~5、5~8 ku 组分的比例均增加,可见 AB-8 大孔树脂对 2~8 ku 多肽的吸附较敏感。

陶瓷膜微滤处理除了富集赖氨酸以外,对酶解多肽的氨基酸组成影响不大;AB-8 吸附使氨基酸总量、必需氨基酸、苦味氨基酸与疏水性氨基酸含量降低,对肽的吸附能力较强,对游离氨基酸吸附较少。

反相液相分析结果显示,洗脱多肽粉比酶解多肽粉、微滤多肽粉与吸附多肽粉含有更多的疏水性肽段,即大孔树脂可以吸附苦味肽改善罗非鱼肉酶解液的风味。

参考文献

- [1] 赵志霞,吴燕燕,李来好,等.我国罗非鱼加工研究现状[J].食品工业科技,2017,38(9):363-367,373.
- [2] Dabrowski K,Zhang Y F,Kwasek K,et al.Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition[J].Aquaculture Research,2010,41(5):668-683.
- [3] Dekkers E,Raghavan S,Kristinsson H G,et al.Oxidative stability of mahimahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates[J].Food Chemistry,2011,124(2):640-645.
- [4] 张金杨,胡晓,李来好,等.罗非鱼酶解物矿物离子结合能力及其结合物抗氧化活性[J].食品与发酵工业,2018,44(5):76-81.
- [5] Raghavan S,Kristinsson H G.ACE-inhibitory activity of

(上接第 42 页)

Immunoaffinity knockout of saponin glycosides from *Asparagus racemosus* to assess anti-lipid peroxidation[J].Phytochemical Analysis,2017,28(4):316-323.

[16] 王晓静,陈莉华,向明芳.火棘果多糖抗油脂氧化酸败分析[J].食品与发酵工业,2016,42(5):175-179.

tilapiaprotein hydrolysates[J].Food Chemistry,2009,117(4):582-588.

[6] 吝少伟.罗非鱼加工副产物中蛋白质利用及鱼油提取技术研究[D].武汉:武汉轻工大学,2014:36-45.

[7] 韩建群.宣木瓜果汁与速溶果粉的加工工艺研究[D].合肥:安徽农业大学,2016:41-42.

[8] 高红艳,刘振民,莫蓓红.陶瓷膜超滤技术浓缩乳清的工艺参数研究[J].食品工业科技,2012,33(2):351-354.

[9] 张瑞华,张书文,刘鹭,等.陶瓷膜对脱脂乳中酪蛋白与其他组分的高效分离[J].食品科学,2017,38(10):236-241.

[10] 赵士明,王辉,彭文博,等.陶瓷膜在晒制酱油生产中的应用[J].中国酿造,2017,36(2):39-44.

[11] 张晓瑜,杨萍,洪鹏志,等.陶瓷膜微滤对马氏珠母贝肉酶解液理化特性的影响[J].食品工业科技,2015,36(22):97-99,104.

[12] 张德谨,陈义勇,胡雅琳,等.大孔树脂纯化乌饭树叶黄酮工艺研究[J].食品与机械,2018,34(2):166-170.

[13] 蒋雄武,杨萍,张瑞瑞,等.大孔树脂动态吸附前后罗非鱼下脚料蛋白酶解液的理化特性比较[J].食品工业科技,2015,36(20):102-106.

[14] 宋雪梅.成熟温度对牦牛乳硬质干酪蛋白质降解的影响及其苦味肽特征的研究[D].兰州:甘肃农业大学,2015:77-78.

[15] Ney K H.Bitterness of peptides:Amino acid composition and chain length[J].Food Taste Chemistry,1979,115:149-173.

[16] 刘伯业.小麦蛋白低苦味肽的制备及其脱苦机理研究[D].无锡:江南大学,2017:21-22.

[17] 解铭,侯虎,张姝妹,等.鳕鱼酶解液苦味肽的纯化鉴定[J].现代食品科技,2016,32(2):190-195.

[18] 魏芳,周祥山,田守生,等.4 种大孔吸附树脂对阿胶低聚肽的脱苦效果研究[J].食品研究与开发,2018,39(13):1-6.

[19] 赵谋明,任娇艳,崔春,等.大孔吸附树脂静态吸附草鱼蛋白水解物中氨基酸的研究[J].食品与发酵工业,2006(4):22-26.

[20] 王知非,林璐,孙伟峰,等.苦味肽和苦味受体研究进展[J].中国调味品,2016,41(9):152-156.

[21] Cliffe A J,Marks J D.Isolation and characterization of nonvolatile flavours from cheese:Peptide profile of flavour fractions from cheddar cheese,determined by reverse-phase high performance liquid chromatography[J].International Dairy Journal,1993,3(4-6):379-87.

[22] Wang Y,Lu X,Xu G.Simultaneous separation of hydrophilic and hydrophobic compounds by using an online HILIC-RPLC system with two detectors[J].Journal of Separation Science,2015,31(9):1564-1572.

[23] Newman J,Egan T,Harbourne N.Correlation of sensory bitterness in dairy protein hydrolysates:Comparison of prediction models built using sensory,chromatographic and electronic tongue data[J].Talanta,2014,126:46-53.

[17] 程宁.多靶点黄酮衍生物的合成及抗糖尿病血管并发症研究[D].湘潭:湘潭大学,2014.

[18] Li B,Huang A L,Zhang Y L,et al.Design,synthesis and evaluation of hesperetin derivatives as potential multifunctional anti-alzheimer agents[J].Molecules,2017,22(7):1067-1081.