超声波对蛋白质提取及改性影响的研究进展

Research progress of ultrasonic effect on protein extraction and modification

吴倩 张丽芬 陈复生

WU Qian ZHANG Li-fen CHEN Fu-sheng

(河南工业大学粮油食品学院, 河南 郑州 450000)

(College of Grain & Oil, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450000, China)

摘要: 蛋白质是生命活动的基础,也是人体必不可少的三大能量物质之一。超声波作为一种物理技术目前已被应用于多糖、蛋白质等大分子的提取和改性的研究中。文章综述近年来国内外在超声波对蛋白质的提取率、结构特性与功能特性影响的研究成果,并对超声波技术辅助提取和改性蛋白质的应用前景进行展望。

关键词: 超声波;蛋白质;提取;改性

Abstract: Protein is the basis of life activity, and is also one of the three largest indispensable energy materials. Ultrasonic, as a physical technique, has been applied in the research of extraction and modification of large molecules such as proteins and polysaccharides. The effect of ultrasonic on the physical and chemical properties, structure and functional properties of protein was discussed, and put forward the direction and expectation.

Keywords: ultrasonic; protein; extraction; modification

蛋白质是极其重要的能量物质,其良好的功能特性(如凝胶性、起泡性、乳化性)可以在一定程度上改善食品的口感,增加食品的弹性、持水性及保藏性,因此,在食品行业中应用广泛^[1]。但是食品加工过程中对蛋白质特定功能性的高强度要求,也使蛋白质的应用受到限制,因而,采用一定方法改变蛋白质结构进而改善其功能特性的蛋白质改性技术近年来备受关注。目前,常用的蛋白质改性技术主要有物理改性法、化学改性法以及生物改性法。物理改性技术主要是依靠热、电、机械作用改变蛋白质的高级结构来改进其功能

特性,其改善效果往往比较局限;化学改性技术可以有效地改善蛋白质的功能特性,但往往会造成环境和安全问题;生物改性技术可以有针对性地改变蛋白质的结构特性,但技术还不太完善。物理改性中的超声波改性方法,由于其独特的超声波效应使得蛋白质改性效果大大提升而被广泛应用^[2]。在提取蛋白质的过程中,传统的提取主要借助加热和剧烈晃动,通过溶剂的溶解对物质进行提取,提取率有限;而超声波的应用,使溶剂可以渗入到物质的分子内部,同时使体系温度升高,溶解效率得到极大提升。文章拟就近年来国内外有关超声波效应及其对蛋白质理化、结构与功能特性影响的研究成果进行详细综述。

1 超声波作用机理

超声波是一种机械波,频率为 20 kHz~100 MHz,其在介质中传播时会引起介质粒子的机械振动,由此,超声波与介质之间相互作用,引起一系列的物理化学作用,形成热效应、机械效应、空化效应等。超声波引起的这些独特的效应使其被广泛地用于食品、药物、农作物组分物质的提取和改性^[3-5]。超声波在介质中传播时,介质在不同频率和强度的超声波的作用下受迫振动,由此,介质的质点位移、速度、加速度以及介质中的应力会随着超声波的振动不断变化。超声波在传播过程中,其引起的介质质点的位移虽然很小,但超声引起的质点的加速度却很大,会使介质质点产生激烈而快速变化的机械振动^[6]。同时,超声波也是一种电磁波,超声的非线性振动会产生锯齿形波动效应,此锯齿形波面在波动过程中产生周期性变化的激波,在波面上会形成很大的压强梯度,此压强梯度差形成的振动能量不断被介质吸收后部分转化为介质的热量,可升高介质的整体温度以及边界处的局部温度等^[7]。而超声波在液体中传播时,与声波一样是一种疏密的振动波,液体分子时而受拉时而受压,在快速变换受拉和受压的过程中产生近于真空或含少量气体的空穴。声波压缩时,空穴被压缩至崩溃,崩溃的瞬间,空穴周围的液

基金项目: 国家自然科学基金(编号:31171790,21176058,21376064);863项目(编号:2013AA102208-5);郑州市创新型科技人才队伍建设工程(编号:ISTTCPZZC);河南工业大学高层次人才基金(编号:2013BS061)

作者简介: 吴倩(1990—),女,河南工业大学在读硕士研究生。
E-mail:ningjinghaiwq@126.com

通讯作者: 陈复生

收稿日期: 2015-05-08

体高速冲入空穴,在空穴附近的液体中产生强烈的局部激波,也形成了局部的高温高压,空穴的形成、成长和崩溃过程会形成超声空化效应^[8]。超声空化效应可以产生粉碎、乳化、分散、促进化学反应等一系列的效应,超声处理技术在液体中的应用,大部分与超声的空化效应有关^[9]。

2 超声波对蛋白质提取的影响

超声波作为一种独特的能量输入方式,其具有的高效能是单独的光、电、热所无法达到的。超声波在传播过程中产生的超声效应可以使介质的形态、结构等发生一定程度的变化,因此被广泛应用于食品加工以及蛋白质等物质的提取与改性。低强度的超声波作为一种非破坏性技术,常用来分析检测食品的理化性质,如物质的组成、质构及其流变学性质等;高强度的超声波主要被应用于食品的物理和化学改性领域,如嫩化肉、促进乳化、加快化学反应、钝化酶、提高大豆蛋白质的浸提率、改善蛋白的理化性质等^[9,10]。

2.1 对蛋白质提取率的影响

自1982年,Moulton等^[11]通过超声辅助对大豆蛋白进行提取,发现20 kHz,550 W超声条件下的提取优于采用碱溶酸沉法的提取试验,在超声波的作用下,高温脱脂大豆粉的蛋白质提取率由30%提高到80%。目前大豆蛋白分离技术被广泛关注^[12]。梁汉华等^[13]利用低频超声波处理大豆浆体及其豆渣,结果表明:大豆浆体及其豆渣经过低频超声处理后其蛋白质和固形物的萃取率可以得到有效提高。王小英等^[14]也在大量试验的基础上证明,超声处理能显著提高大豆蛋白的溶解性,在超声功率700 W,超声20 min,蛋白质量浓度为12.5 mg/mL时,大豆蛋白的NSI(氮溶解指数)是超声前的5.9倍。

有研究者^[15]还将超声波技术应用于大豆蛋白质的反胶束萃取过程中,采用响应面设计法,优化了超声波辅助反胶束萃取大豆蛋白,最佳得率为(93.78±0.35)%,明显高于未用超声波时反胶束萃取蛋白的得率。反胶束后萃动力学研究^[16,17]表明:反胶束后萃过程中存在较大的界面阻力,超声波所产生的超声效应可增大反胶束界面间的湍动程度,促进蛋白质向反胶束的表面扩散,促进蛋白质的浸出,从而提高反胶束萃取蛋白质的萃取率。

超声波技术同样也可以辅助提高花生、碎米蛋白等的提取率。熊柳等^[18]以低变性花生蛋白粉为原料,蛋白得率和氮溶解指数(NSI)为指标,通过单因素和正交试验得出在超声波频率60 kHz,料液比1:10(m:V),pH 8.5,提取温度30℃,提取时间30 min时,花生分离蛋白得率达到37.27%,蛋白含量为95.4%,NSI为76.34%,证明了超声波提取法优于传统的碱溶酸沉法。朱建华等^[19]以稻谷加工业副产物碎米为原料,采用超声波技术提取其可溶性蛋白质,研究了超声处理时间、超声功率、固液比对碎米蛋白质提取率的影响,结果表明:超声提取碎米蛋白的最优条件是超声处理时

间32 min,超声功率495 W,固液比1:15(m:V);在该条件下,碎米蛋白的提取率可达90.47%。

超声波应用于物质提取时,耗能少、时间短、纯度好、效率高,因此被广泛应用于物质提取。提取率的提高与超声波独特的热效应、机械效应、空化效应密不可分,但同时也与超声波对物质结构的影响有一定联系。

2.2 对蛋白质结构特性的影响

蛋白质是一种具有复杂天然构象的物质,它由氨基酸经过脱水缩合形成肽链后经过盘曲折叠形成一定的空间结构,从而发挥特定的功能特性。因此,超声效应在改变蛋白质的功能特性时也会改变蛋白质的结构特性。

朱建华等^[20]研究了超声处理对大豆蛋白分子的影响,结果表明,超声处理使大豆蛋白发生先解离后聚合的过程,且超声主要影响大豆蛋白的7S组分,超声波处理使大豆蛋白的7S组分发生可溶性聚合,其亚基降解也较为显著,然而超声对大豆蛋白的11S组分的酸性亚基和碱性亚基影响很弱。此类影响会改善大豆蛋白的提取率,也可以用来对大豆蛋白进行一定程度的改性。

Wang Li-chuan^[21]的研究表明:超声处理可明显提高蛋白质溶液的溶解性并促使蛋白质悬浮液的乳化以及蛋白质亚基的聚合等。通过凝胶过滤、凝胶电泳和超速离心法对超声处理形成的大豆蛋白聚合物进行分析,发现超声处理后大豆蛋白形成更多的聚合物,7S组分聚合成40~50S组分,大豆蛋白聚合物的体积接近空穴的体积,且比常规的蛋白聚合物更稳定。主要是由于超声处理使蛋白质中更多疏水基团暴露,使更多的蛋白质吸附在气/水界面上,降低了蛋白的黏性和刚性,从而减小了溶液的表面张力同时提高其表面疏水性,其聚合物也更加稳定^[22]。

超声处理过程中,超声空穴效应增大了固液接触的表面积,大量的空穴气泡使得蛋白颗粒周围形成较大的压强,促使蛋白质结构展开,肽键断裂,亲水性氨基酸暴露出来,改变大豆蛋白溶解度的同时,在很大程度上也改变着大豆蛋白的流变学特性。超声过程中体系温度升高,剪切力增加,使得蛋白分子运动加剧,显著降低表观黏度,可能是由于超声处理过程产生的剧烈声化学作用导致大分子之间的键连作用减弱,柔性减弱,因而使其动态黏弹性降低,但仍然呈现假塑性流体状态^[23]。红外和扫描电镜结果显示,超声处理也改变了蛋白质的膜的空间结构,使膜表面平滑、均匀^[24]。超声波的使用,在一定程度上使蛋白质内不同的氨基酸基团暴露,使得与这些基团紧密相关的结构特性也发生相应的改变。

张海华等^[25]在对小麦面筋蛋白进行超声处理时,借助红外光谱、扫描电镜、激光粒径仪了解超声波功率为540~900 W时,其对面筋蛋白二级结构、非共价键、二硫键及显微结构的影响。结果表明在超声的作用下,面筋蛋白二级结构中的 α -螺旋结构增加、 β -转角结构明显减少,而 β -折叠结构

的变化随超声功率不同变化不同;超声处理破坏了面筋蛋白分子间或分子内氢键、二硫键以及疏水键的紧密连接,使面筋蛋白形成松散的结构,平均粒径增大。

超声波的应用在不同程度上改变了蛋白质的空间构象及其平均粒径,在提高提取率的同时又改善其功能特性。常见的蛋白质物理改性方法虽然相对化学改性来说安全性好、作用时间短、对物质的营养特性影响较小,但其改性效果往往并不十分明显,借助超声波辅助提取和改性技术,可以很好地优化改性效果,提高其功能特性。

2.3 对蛋白质功能特性的影响

蛋白质的结构特性决定其功能特性。蛋白质多样的功能性质与其复杂多变的空间构象有密切联系,蛋白质的结构是其功能特性的基础,空间结构的改变会在一定程度上引起蛋白质功能特性的变化。

低频超声波降低蛋白质的储能模量和耗能模量,形成更有黏性的大豆分离蛋白。Hu Hao 等^[26]研究表明,超声处理后大豆分离蛋白的电泳现象无明显改变,但其自由巯基、表面疏水基和溶解度都有增加,表明超声后蛋白质分子间非共价键的相互作用减弱,大部分蛋白暴露了部分展开的 7S 和 11S 组分,尤其是 11S 组分,部分变性和蛋白的无序结构使其在油水界面可以更好地吸附,因而乳化性能提升。0.6 W/cm² 功率密度的超声波可以有效改善醇法提取的大豆浓缩蛋白的乳化性,使用超声技术后,大豆浓缩蛋白的起泡能力与起泡稳定性分别提高了 26.0% 和 13.7%,可能是因为超声波的空化效应使蛋白质分子结构疏松,分子内部的一些非极性基团暴露出来,这些暴露的非极性基团有效地改善了大豆浓缩蛋白的某些功能特性^[27,28]。

超声处理对乳清蛋白和芝麻蛋白的影响具有与大豆蛋白同样的效果。超声技术的使用减小了乳清蛋白的颗粒度,能明显改善其起泡性和泡沫稳定性,这可能与超声波的均质作用有关,均质作用使乳清蛋白的蛋白质和油脂成分更均匀地分散开来^[29,30]。在超声功率 400 W 下处理 3 min 时,芝麻浓缩蛋白的乳化性由 0.15 提高到 0.23,乳化稳定性也由 19.10 min 提高到 38.63 min。与此同时,芝麻浓缩蛋白的起泡性由 30.78% 提高到 47.23%,泡沫稳定性也由 38.89% 提高到 57.84%^[31]。

超声波处理后,亚基的聚集程度、表面电荷的数量、蛋白质结构的改变都影响着蛋白的凝胶特性。凝胶破裂强度的大小是反映凝胶网络结构牢固程度的重要参数。高强度的超声预处理能增强酸化大豆分离蛋白凝胶的持水能力、凝胶强度^[32]。朱建华等^[33]认为超声功率的增加使超声波产生更强烈的剪切作用和空化效应,使更多的声能转化为机械能、热能,超声所形成的这些效应协同盐溶和盐析效应使大豆蛋白的亚基更易于解离,蛋白解离后吸水溶胀,致使蛋白溶胶转变成蛋白凝胶,因此,经过超声处理的大豆蛋白所形成的凝胶的结构更紧致,也提高了大豆蛋白凝胶的硬度。

超声波处理不只对蛋白质的理化功能特性有影响,对蛋白质的生物活性也有一定程度的影响。在间歇性大功率超声波辐射下,酵母菌存活率下降,但在发酵前期使用高频低功率超声水浴会使啤酒酵母发酵速率加快,由于超声辐照改善啤酒酵母的发酵活性并能保持其活性,与一般啤酒发酵相比在发酵前期采用超声处理可以至少提前 72 h 完成发酵^[34]。

3 展望

目前,超声波技术已经被广泛应用于蛋白质的提取和改性研究中,超声波可提高蛋白质的提取率,改善其功能特性及生物活性。因此,将超声波技术用于蛋白质加工领域越来越受到研究者的关注。但目前对超声波技术的研究大多处于试验水平,还未能实现连续化、规模化的操作。同时,超声设备的精密程度也有待提高。相信在大量试验的基础上,超声技术一定可以在食品行业取得实质性进展。

参考文献

- 1 Tian Shao-jun, Chen Jie, Small D M. Enhancement of solubility and emulsifying properties of soy protein isolates by glucose conjugation [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2011, 35(1): 80~95.
- 2 魏彦杰. 食品蛋白质改性研究[J]. *肉类研究*, 2010(5): 24~27.
- 3 Trindade Alex S N, Dantas Alailson F, Lima Daniel C. Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for determination of Cu, Fe, Ni and Zn in vegetable oils by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2015, 185: 145~150.
- 4 赖红芳, 黄秀香, 陆俊宇. 超声波辅助提取山豆根中的黄酮和多糖工艺优化[J]. *食品与机械*, 2014, 30(1): 196~198, 223.
- 5 王娟, 央金卓嘎, 黄惠华. 茶树花精油超高压、超声波与微波辅助萃取工艺优化[J]. *食品与机械*, 2014, 30(2): 146~148, 180.
- 6 Malcolm J W Povey. Ultrasound particle sizing: A review [J]. *Particuology*, 2013, 2(11): 135~147.
- 7 杨昱, 白靖文, 俞志刚. 超声辅助提取技术在天然产物提取中的应用[J]. *食品与机械*, 2011, 27(1): 170~174.
- 8 Rastogi N K. Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing [J]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2011, 51(8): 705~722.
- 9 朱建华, 杨晓泉, 熊健. 超声波技术在食品工业中的最新应用进展[J]. *酿酒*, 2005, 32(2): 54~57.
- 10 Mason T J, Paniwnyk L, Lorimer J P. The uses of ultrasound in food technology [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1996, 3(3): S253~S260.
- 11 Moulton K J, Wang Li-chuan. A pilot-plant study of continuous ultrasonic extraction of soybean protein [J]. *Journal of Food Science*, 1982, 47(4): 1127~1129.
- 12 Patist A, Bates D. Ultrasonic innovations in the food industry:

- from the laboratory to commercial production[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2008, 9(2): 147~154.
- 13 梁汉华, 杨汝德. 超声处理大豆浆体对提高蛋白质和固形物萃取率的作用[J]. *中国乳品工业*, 1998, 26(3): 7~11.
- 14 王小英, 李娜. 超声处理对大豆蛋白溶解性及蛋白组分的影响[J]. *中国油脂*, 2009, 34(4): 31~34.
- 15 时冬梅, 陈复生, 刘海远, 等. 响应面法优化超声波辅助含酶反胶束体系后萃大豆蛋白的研究[J]. *食品科技*, 2011, 36(3): 183~188.
- 16 高亚辉, 陈复生, 赵俊廷. 反胶束萃取大豆蛋白后萃过程的动力学研究[J]. *农业工程学报*, 2007, 23(7): 206~211.
- 17 Zhu Ke-xue, Sun Xiao-hong, Zhou Hui-ming. Optimization of ultrasound-assisted extraction of defatted wheat germ proteins by reverse micelles [J]. *Journal of Cereal Science*, 2009, 50(2): 266~271.
- 18 熊柳, 孙高飞, 王建化, 等. 花生分离蛋白的超声波制取工艺[J]. *中国油脂*, 2009, 34(2): 20~23.
- 19 朱建华, 邹秀容, 罗红. 稻谷加工业副产物碎米中蛋白的超声提取工艺研究[J]. *江西农业学报*, 2013(1): 106~108.
- 20 朱建华, 杨晓泉. 超声处理对大豆蛋白分子结构的影响[J]. *粮油加工*, 2010, 7(4): 39~42.
- 21 Wang Li-chuan. Soybean protein agglomeration: promotion by ultrasonic treatment [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1981, 29(1): 177~180.
- 22 朱建华, 杨晓泉, 熊捷. 超声处理对大豆蛋白表面性质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(3): 16~20.
- 23 Jambrak A R, Lelas V, Mason T J, et al. Physical properties of ultrasound treated soy proteins[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 93(4): 386~393.
- 24 韦小英. 超声处理对大豆蛋白膜性能和微观结构的影响[J]. *食品科技*, 2006, 31(10): 55~58.
- 25 张海华, 朱科学, 周惠明. 超声波对小麦面筋蛋白结构的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(22): 4 687~4 693.
- 26 Hu Hao, Wu Jia-hui, Li-Chan E C Y, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(2): 647~655.
- 27 孙冰玉, 石彦国. 超声波对醇法大豆浓缩蛋白乳化性的影响[J]. *中国粮油学报*, 2006, 21(4): 60~63.
- 28 孙冰玉, 石彦国. 超声波对醇提大豆浓缩蛋白起泡性的影响[J]. *中国食品学报*, 2007, 6(6): 100~104.
- 29 Jambrak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins [J]. *Journal of Food Engineering*, 2014, 121: 15~23.
- 30 Jambrak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions[J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 86(2): 281~287.
- 31 张涛, 魏安池, 郑华丽, 等. 醇法芝麻浓缩蛋白的超声波改性研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2013, 34(1): 26~30.
- 32 Hu Hao, Fan Xin, Zhou Zhi, et al. Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013, 20(1): 187~195.
- 33 朱建华, 杨晓泉, 熊捷. 超声处理对大豆分离蛋白热致凝胶功能性质的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(1): 15~20.
- 34 罗华. 超声波对葡萄酒微生物活性影响及部分相关基因表达水平研究[D]. 陕西: 西北农林科技大学, 2013.

(上接第 217 页)

- 13 张翠玉, 王彦超, 薛长湖, 等. 大孔树脂对海地瓜多肽脱色工艺的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(7): 77~80.
- 14 吕振磊, 王雨生, 修方珑, 等. 活性炭对紫贻贝蛋白酶液脱色效果的影响[J]. *食品与机械*, 2012, 28(3): 32~36.
- 15 郭玉华, 李钰金, 吴新颖, 等. 鲑鱼皮胶原蛋白酶解液脱色脱腥工艺的研究[J]. *中国食品添加剂*, 2010(4): 125~128.
- 16 王芙蓉, 黄文, 陈红秀, 等. 谷氨酸菌体蛋白酸水解及脱色工艺研究[J]. *食品科学*, 2005, 26(7): 155~158.
- 17 扈瑞平, 敖长金, 杜玲, 等. 沙葱多糖活性炭脱色工艺的研究[J]. *科学技术与工程*, 2010, 34(10): 8 380~8 383.
- 18 Gu Rui-zeng, Li Chen-yue, Liu Wen-ying, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) skin[J]. *Food Research International*, 2011, 44(5): 1 536~1 540.
- 19 张毅, 华欲飞, 孔祥珍, 等. 活性炭对大豆多肽脱色效果的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2010(8): 31~33.
- 20 Ma Yong-sheng, Wang Lin-tong, Sun Xian-hui, et al. Study on soybean polypeptide refining process[J]. *Advanced Materials Research*, 2013, 652~654: 439~442.
- 21 Julio C, Rodriguez-Díaz, Louise E K, et al. Optimization of the enzymatic hydrolysis of Blue shark skin[J]. *Journal of Food Science*. 2011, 76(7): C938~C949.
- 22 Wasswa J, Tang Jian, Gu Xiao-hong. Functional properties of Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), Nile perch (*Lates niloticus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin hydrolysates [J]. *International Journal of Food Properties*. 2008, 11(2): 339~350.
- 23 陈瑞峰, 陈璐, 陈廷登. 用活性炭分离纯化苯丙氨酸与酪氨酸的研究[J]. *浙江工业大学学报*, 2006, 34(4): 373~376.
- 24 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, 32(4): 22~26.
- 25 王喜波, 迟玉杰, 孙波. 活性炭吸附分离芳香族氨基酸的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(1): 62~64.
- 26 程云辉, 王璋, 许时婴. 大孔吸附树脂对麦胚肽的吸附特性研究[J]. *食品与机械*, 2005, 21(6): 7~12.