

骨蛋白水解物的功能特性及抗氧化性的研究进展

刁静静¹ 孔保华² 陈洪生³

(1.2.东北农业大学食品学院 哈尔滨 150030 3.黑龙江八一农垦大学食品学院 大庆 163000)

摘要: 本文主要对酶解骨蛋白所使用的酶类、水解产物以及功能特性及抗氧化性进行了综述,并介绍了国内外骨蛋白水解物功能特性以及抗氧化性的研究现状,展望了骨蛋白水解物的应用前景。

关键词: 骨蛋白;水解;酶;抗氧化性

Abstract: The paper introduced the enzyme of hydrolyzing bone protein and hydrolysates possessed property and antioxidant characteristic, summarized the present research condition of property and antioxidant characteristic of bone protein hydrolysates in the world, viewed the applied outlook of bone hydrolysates.

Keywords: bone protein; hydrolyze; enzyme; antioxidant characteristic

1. 前言

畜禽鲜骨是肉类加工业中一个非常重要的副产物,约占胴体的10~15%,鲜骨中含有丰富的蛋白质、脂肪酸、磷脂质、磷蛋白,这些都能促进大脑神经的发育和健脑增智的功效。鲜骨中骨胶原、胶原素等有滋润皮肤、养颜美容和抗衰老的作用,鲜骨中还含有大量的维生素和矿物质,特别是其钙、铁的含量很高^[1]。骨头本身含有11~15%的蛋白质,骨骼中的蛋白质90%为胶原、骨胶原及软骨素(酸性粘多糖),骨蛋白含有人体所需的8种必需氨基酸,而且骨中的胶原蛋白是一种结构蛋白,呈纤维状,它是动物体内含量最丰富的蛋白质,占动物体内总蛋白的25~30%。而我国蛋白质资源比较紧缺,大力开发和合理利用蛋白质资源显得非常必要。而骨中的蛋白质含量高,而且富含的人体所需的营养成分,应予以重视和利用^[2]。我国是个畜禽消费大国。但多集中于畜禽肉类的消费,大量的

畜禽骨骼得不到利用或者是加工成附加值低的产品,这样既浪费了资源,又在骨处理的问题上污染了环境。造成一定的环境压力^[3]。

通过酶解可有效利用骨中的胶原蛋白,将其水解成胶原多肽及氨基酸,将更易于人体消化吸收,发挥出独特的营养功效,同时还可提高其功能特性,胶原多肽是胶原蛋白的酶解产物,与胶原蛋白相比,分子量要低的多,有研究表明胶原多肽具有良好的功能特性,如溶解性、吸油性、起泡性和吸水性等,而且骨蛋白的水解物还具有一定的抗氧化性,而食品中的油脂氧化又是食品生产和贮藏中面临的最大的问题,如:风味的变化、营养成分的丧失甚至还能产生有毒物质。为了防止食品变质以及变质所带来的危害,所以抑制食品的脂肪氧化是非常重要的,防止脂肪氧化最直接的方法就是添加抗氧化剂,人工合成的抗氧化剂(BHA、BHT等)有很强的抗氧化能力,但是,由于使用这些合成抗氧化剂对人们的身体健康存在一定的潜在危害,因而它的使用量受到严格的控制。因此对天然抗氧化剂的开发是非常有必要的,现在常用的有 α -生育酚,类胡萝卜素、儿茶酚以及一些多酚化合物。这些都是从一些植物中提取的天然抗氧化剂,属于非蛋白质,而且由于这些天然抗氧化剂对食品的颜色和风味有一定的影响,因而其应用也受到一定的限制。故而对于一些高效的天然抗氧化剂的开发具有广阔的发展前景。

基于此,酶解骨蛋白将会是一条优化利用骨蛋白的途径,它可将一般加工温度和短时间加热难以利用的骨胶原蛋白水解成多肽及L-氨基酸,可大大提高其营养价值和功能特性,从而变废为宝,为企业减少经济损失、提高经济效益。因此,运用酶解回收利用骨蛋白、开发研制骨蛋白食品

以及将骨蛋白水解物的抗氧化等功能特性应用于食品中都极具研究意义和价值。

2. 酶解骨蛋白的研究现状

二十世纪七十年代标志着食用蛋白质的酶解研究作为一门相对独立的研究领域的建立^[4]。酶法水解骨蛋白已成为其中研究的一个分支。国内外越来越多的研究者对此方面进行了逐步深入的研究和探索。

国内外对肉骨的加工主要用于对肉骨的综合利用,如:将肉骨制成骨粉、骨饲料等;日本率先利用畜骨进行水解,提取营养素成为功能性营养食品配料,利用现代科技,以新鲜的特定部位的畜骨加工成各种骨汤精,成为天然提取的营养调味料。近几年,国内外对骨又进行了深一步的研究,将骨蛋白进行酶水解,提取其中的有用成分加以利用,制得新产品,这在国内外都已经成为一个新的研究方向,也为骨产品的加工开发提供了新的发展技术。

国外关于酶水解骨蛋白的研究比较多, Gilbderg 等人(2002)^[5]用酶水解鲑鱼骨蛋白以提高蛋白的乳化性; Morimura 等人 (2002)^[6]通过酶水解家畜以及鱼骨,对其中的胶原质进行了有效利用;由于天然抗氧化剂具有安全性,所以许多研究者对开发更多的抗氧化剂做了很多的研究。研究发现一些抗氧化物质可以从天然食品中获取,尤其是通过酶水解途径所获取。而且已经证实这些抗氧化物质能有效防止脂肪氧化。如: Kim (2001)^[7]等人对阿拉斯加产的鲑鱼皮进行水解,并从中分离出来具有抗氧化性的肽。还有 Mendisa, (2005)^[8]等人从鲑鱼皮中提取胶原蛋白,并进行酶水解,发现这些水解产物具有很强的抑制氧化作用,还具有清除自由基的作用。随着对抗氧化研究的深入,近来研究得出从不同蛋白水解物中提取的肽具有一定的抗氧化性,其中鱼和甲壳类动物的蛋白水解物具有抗油脂氧化的作用,虽然他们的抗氧化机理还不明确,但是它已作为一种安全的食品抗氧化剂应用在食品中。从目前的研究来看,采用酶法从动物皮及其加工副产物中提取胶原蛋白及其多肽的研究相对较多,而应用酶法对动物骨进行水解分析其功能特性的研究报道较少。

国内对骨的开发利用多在于熬汤补钙、制骨

胶、骨粉等,多应用于饲料行业。国内酶解利用植物蛋白(如米糠蛋白、大豆蛋白)和动物蛋白的研究很多,但是对于酶解骨蛋白的研究却很少。而且对于骨等副产物的水解研究多集中在它的水解物的营养评定,以及酶解条件的优化。熊光权(1997)、何建君(1997)^[9]以小杂鱼及鲢鱼下脚料为原料,加酶分解蛋白质,并进行恒温发酵,研制了淡水鱼露。熊光权等人(1992)^[10]对鲢鱼进行水解,他们用胰蛋白酶、胃蛋白酶和木瓜蛋白酶比较了对鲢鱼的水解效果,证明胰蛋白酶水解效果好。赵胜年等人(1995)^[11]用胰蛋白酶对牛骨进行水解的研究,赵玉红等人(2000)用碱性蛋白酶对鲢鱼下脚料进行了水解,探讨了水解度对蛋白水解物的影响;王朝旭等人(2001)^[12]进行了酶法水解骨蛋白最佳条件的研究;赵霞(2004)^[4]通过羊骨的酶解来开发多肽饮料。而对于骨蛋白水解物的其他功能特性却鲜有报道。

3. 酶的选择及水解物的组成成分

蛋白质水解物的生产方式分为化学降解法和酶降解法。化学法是利用酸碱水解蛋白,反应条件剧烈,生产过程中氨基酸受损严重。酶法水解与化学法相比,可以减少营养物质的损失。酶工程属现代生物技术,酶法水解骨蛋白属高新技术范畴。而且酶水解蛋白的产物主要是多肽和游离氨基酸,目前国内外的研究结果表明蛋白质的酶水解产物还具有一定的抗氧化性。

用于蛋白质水解的酶有三类:植物蛋白酶(如木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶等)、动物蛋白酶(如胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶等)和微生物蛋白酶。目前用的较多的蛋白酶有胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶。对于骨蛋白水解所使用的酶是以动物蛋白酶以及碱性蛋白酶居多,这是由于胶原蛋白不易被普通蛋白酶水解,但能被动物胶原酶以及动物蛋白酶断裂,断裂的碎片自动变性后才可被普通蛋白酶水解。研究显示,除胶原酶外,胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶和木瓜蛋白酶等也可以水解胶原蛋白。如: Won-Kyo Jung(2004)^[13]等人将从金枪鱼胃肠中提取的粗酶用于水解骨头,并对其的化学成分以及钙结合物的特性进行了分析。Jae-Young Je (2001)^[14]对于从阿拉斯加鲑鱼皮中提取的胶原蛋白的水解就

是使用碱性蛋白酶, 还有胶原酶等几种酶循环进行水解的, 并研究了其水解物的抗氧化特性。Michel Linder 等人(1995)^[15]将小牛骨骼进行酶法水解, 确定了最佳水解条件, 从而成功进行了酶解回收小牛骨蛋白的研究; Benjakul(1997)^[16]研究了鳕鱼的废弃物的利用, 将其废弃物(包括鱼头、皮、骨、内脏和肌肉组织)绞碎, 分别用中性和碱性蛋白酶水解, 选择了最优酶和最佳水解条件, 所得产物蛋白质含量高(79.97%), 氨基酸组成与鱼肌肉十分相近。

胶原蛋白是结缔组织中最重要蛋白质, 它存在于动物的骨、皮和结缔组织中^[17]。骨胶原有异常高含量的脯氨酸、羟脯氨酸和甘氨酸, 很少的蛋氨酸, 不含胱氨酸和色氨酸。骨胶原蛋白虽然是可溶性的, 但是若是从老化的动物中提取骨胶原, 虽然加热能使骨胶原得到溶解, 但最终还是能剩下不能溶解的。因而不易从老化的动物骨骼中提取骨胶原^[18]。

据研究表明, 一些动物和植物蛋白质的水解产物多为肽类(二肽, 五肽等)和一些游离的氨基酸, 骨蛋白水解液中含有胶原蛋白和软骨素等物质, 而骨中的胶原蛋白水解物多为胶原多肽和游离氨基酸, 胶原多肽是一种生物活性肽, 水解后得到的蛋白尤其是二肽、三肽还具有易吸收、易消化的特点。酶切断蛋白质的肽键使其成为小分子肽或者是氨基酸, 这用水解度表示, 一般水解度越高说明被切断的肽键数越多, 生成的低分子肽和游离氨基酸就多。蛋白水解产物是大量的肽类和少量的氨基酸, 现代营养学研究表明: 在蛋白质消化期间, 以肽形式存在的氨基酸的浓度比游离氨基酸的浓度大, 而且小肽的吸收速度也比等量的游离氨基酸快, 数量也更多。这就说明了小分子肽比等量的游离氨基酸具有更高的生物效价和营养价值^[19]。

4. 骨蛋白水解物的功能特性及抗氧化特性

肽是蛋白质与氨基酸的中间物。肽除有易消化、易吸收的营养功能外, 还具有抗应激、降低血压、抗胆固醇、增强免疫等许多生理功能, 而酶水解的产物是低分子的肽以及氨基酸, 它们同样具有这些功能特性, 而且水解后的肽和氨基酸还具有一定的抗氧化作用。研究发现, 将骨蛋白水解物的氨基酸成分进行测定后, 发现它几乎含有构成

氨基酸的所有蛋白质, 而且人体所必需的氨基酸水平较高, 所以是一种优质的蛋白质。而且将骨蛋白用碱性蛋白酶水解后, 得到的水解溶液有较高的热稳定性, 即使在蛋白质的等电点附近也有较高的溶解性; 其另一主要性质是在高浓度范围内仍有较低的粘度, 这些都有利于加工工艺的实施, 尤其是在富含蛋白的饮料中有广阔的应用前景^[20]。

蛋白质水解产物的功能特性如: 溶解性、粘性、乳化性、起泡性、凝胶性和风味特征都不同于完全蛋白质的特性, 这些在很大程度上取决于分子大小或者是水解度, 而且这些功能特性还受蛋白质水解所使用的酶、完全蛋白质的物理、化学本质和水解条件的影响。如: 赵玉红(2001)^[21]等人以鲑鱼下脚料中的蛋白质为原料, 加酶水解制成水解产物, 从而研究得出水解物的功能特性, 鱼蛋白酶解产物具有很好的溶解性; 水解产物具有优良的热稳定性和冷藏稳定性, 受热不凝集, 冷藏解冻后不产生沉淀; 而且水解产物比原蛋白具有更好的起泡性; 粘性也较原蛋白急剧下降。

而且一些动物和植物蛋白质在水解后具有一定的抗油脂和脂肪酸氧化的功效, 最具有代表性的有: 乳清蛋白水解物、大豆蛋白、鱼蛋白、玉米蛋白、蛋黄蛋白等^[22]的水解物。现在报道最多的是大豆蛋白水解物, 还有一些酪蛋白水解物的抗氧化的作用^[23], 尤其是这些蛋白质的水解产物, 据报道水解产生的二肽具有相当高的抗氧化性, 尤其在水合体系中其抗氧化能力明显高于一些氨基酸。Saiga(2003)^[24]对猪的肌原纤维蛋白用蛋白酶水解后显示出了高的抗氧化能力, 它的水解物具有清除自由基和金属螯合的作用。从而研究进一步得出是蛋白质水解后的肽和氨基酸具有抗氧化作用^[25]。一些氨基酸, 如酪氨酸、甲硫氨酸、组氨酸等已经被公认为具有强的抗氧化能力。

从发现动植物蛋白质的水解物具有一定的抗氧化性, 研究者就开始对这种抗氧化特性进行了深入的研究。但都仅限于大豆蛋白的水解物、乳清蛋白、鱼蛋白、还有蛋黄蛋白等等, 而对于骨蛋白的水解相对较少。Morimura 等人(2002)^[6]研究发现, 将鱼骨和猪皮用酶水解后, 其水解产物具有强的抗自由基能力。他们是将鱼骨和猪皮中的胶原蛋白提取出来然后用酸性和碱性酶分别进行水解, 从而测得其水解物的成分, 将其运用于化妆品中,

测得其有抗自由基的能力。Mendis (2005)^[8]等人将胶原蛋白用胰蛋白酶水解后,用水解产物和天然抗氧化剂以及合成抗氧化剂做了对照分析,在亚油酸氧化体系中测其抗氧化效果,发现用胰蛋白酶水解的产物具有抑制氧化的作用,而且其抗氧化效果很明显,但是其水解产物没有金属螯合作用。他们还将水解物进行分离纯化,发现分子量小于3kDa的肽具有明显的抑制氧化作用。

5. 骨蛋白水解物的应用前景

我国是一个畜禽生产大国,骨头等副产物较多,而且骨头中含有丰富的胶原蛋白,但由于近年来,疯牛病、口蹄疫和禽流感的暴发为多种动物骨的开发利用带来不安全因素。因此,目前国内外对动物骨中胶原蛋白的开发重点由常见的猪、牛、鸡等动物转移到具有安全指数高的水生动物和高原条件下生长的动物。尽管动物骨胶原蛋白具有很高的开发利用价值,但如何运用高新技术使骨胶原蛋白得到更为有效合理的利用仍有待于进一步研究探讨。而我国的蛋白资源却相当匮乏,因而如何将这副产物更好的开发利用,如何变废为宝,如何生产高附加值的产品,以及如何开发新的抗氧化剂,减少生产成本,将是一项具有深远意义的研究。

参考文献

- [1] 郭明勋, 史玉敏. 骨的成分与胶原蛋白[J]. 明胶科学与技术, 2001, 21(4): 204~209.
- [2] 赵霞, 马丽珍. 酶解利用骨蛋白的研究进展[J]. 肉类工业, 2003(6): 32~35.
- [3] 吴立芳, 马美湖. 我国畜禽骨的综合利用[J]. 包装与食品机械, 2005, 23(1): 29~34.
- [4] 赵霞, 马丽珍. 羊骨的酶解与多肽饮料的开发[D]. 2004, 山西农业大学硕士学位论文.
- [5] Gildberg, A., Arnesen, J. A., Carleh, G. M. Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation, Process Biochemistry 2002(38)475~480.
- [6] Morimura, S., H. Nagata, Y. Uemura, A. Fahmi, T. Shigematsu, K. Kida. Development of an effective process for utilization of collagen from livestock and fish waste[J]. Process Biochemistry. 2002, 37, 1403~1412.
- [7] Kim, S. K., Kim, Y. T., Byun, H. G., Nam, K. S., Joo, D. S., Shahidi, F., Isolation and Characterization of Antioxidative Peptides from Gelatin Hydrolysate of Alaska Pollack Skin[J]. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 1984~1989.
- [8] Mendis, E., Rajapakse, N., Byun, H. G., Kim, S. K., Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects[J]. Life Sciences 2005 (77): 2166~2178.
- [9] 何建军, 叶丽秀. 淡水鱼露的研制. 食品工业, 1997, (5): 18.
- [10] 熊光权, 张弘. 低值淡水鱼的酶法水解. 中国水产, 1992, (8): 37.
- [11] 赵胜年, 周兵, 耿嘉琦, 翟俊杰. 酶法水解鲜牛骨骼的研究[J]. 食品科学, 1995, 16(10): 38~40.
- [12] 王朝旭, 等. 酶法水解骨蛋白最佳条件的研究. 食品科学, 2001(2): 48~49.
- [13] Jung, W. K., Park, P. J., Byun, H. G., Moon, S. H., Kim, S. K., Preparation of hoki (*Johnius belangeri*) bone oligophosphopeptide with a high affinity to calcium by carnivorous intestine crude proteinase[J]. Food Chemistry, 2005 (91): 333~340.
- [14] Je, J. Y., Park, P. J., Kim, S. K., Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate[J]. Food Research International 2001 (38): 45~50.
- [15] Michel Linder et al. Protein Recovery from Veal Bones by Enzymatic Hydrolysis[J]. J. of Food Sci, 1995(60): 949~952.
- [16] Sootawat Benjakul. Protein Hydrolysates from Pacific Whiting solid Wastes[J]. J. agric. Food Chem, 1997, 46: 4323~4330.
- [17] 李琼. 畜禽鲜骨再生利用与肉类调味料开发研究[D]. 东华大学博士学位论文.
- [18] 张雅利, 陈锦屏. 骨胶原的功能及应用[J]. 中国畜产与食品, 2000, 7(5)228~229.
- [19] 陈子林等. 乳肽研究进展. 湖南食品与发酵, 1997, (3): 32.
- [20] 赵玉红. 骨的综合利用, 肉类工业, 2001 (3): 23~24.
- [21] 赵玉红, 孔保华, 张立钢, 王玮, 历夏. 鱼蛋白水解物功能特性的研究, 2001, 32(2): 105~110.
- [22] kong, B. h., et al. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action[J]. Agricultural and food chemistry, 2006, 54, 6059~6068.