

限制性酶解结合大孔树脂吸附对葵花籽蛋白 色泽及功能特性的影响

秦那日苏,包小兰

(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院,呼和浩特 010018)

摘要:以低温脱脂葵花籽粕为原料提取葵花籽蛋白,对其分别进行大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色处理,对比不同处理的葵花籽蛋白白度值、绿原酸含量及功能特性(溶解性、乳化性、乳化稳定性、起泡性、泡沫稳定性、持油性、持水性和凝胶性)的差异。结果表明:限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白白度值(L^*)为 86.3,绿原酸含量为 0.16 mg/g,溶解性为 77.60%,起泡性为 20.87%,乳化性为 3.44 m²/g,乳化稳定性为 118.51 min,均显著优于葵花籽蛋白和大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白($P < 0.05$),持水性为 1.94 mL/g,显著优于葵花籽蛋白,但与大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白相当,持油性和泡沫稳定性分别为 4.40 mL/g 和 69.62%,显著低于葵花籽蛋白和大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白,限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白展现出较好的凝胶性。研究表明,经限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后,葵花籽蛋白色泽显著改善,其溶解性、乳化性、起泡性、持水性和凝胶性均显著提高。

关键词:葵花籽蛋白;脱色;限制性酶解;功能特性;白度值

中图分类号:TS229;Q814.9

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2021)03-0052-05

Effect of limited enzymatic hydrolysis combined with macroporous resin adsorption on the color and functional characteristics of sunflower seed protein

QIN Narisu, BAO Xiaolan

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The sunflower seed protein was extracted from low temperature defatted sunflower seed meal, then respectively bleached with macroporous resin and limited enzyme hydrolysis combined with macroporous resin. The difference in whiteness value, chlorogenic acid content and functional properties (solubility, emulsifying ability and emulsion stability, foamability and foam stability, oil holding capacity, water holding capacity and gelation) of the sunflower seed protein were determined. The results showed that the whiteness value (L^*), chlorogenic acid content, solubility, foamability, emulsifying ability and emulsion stability of the sunflower seed protein obtained by 10 min of limited enzymolysis combined with macroporous resin adsorption (EMSSP) were 86.3, 0.16 mg/g, 77.60%, 20.87%, 3.44 m²/g and 118.51 min respectively, significantly better than that of sunflower seed protein (SSP) and macroporous resin bleached sunflower seed protein (MSSP) ($P < 0.05$), the water holding capacity of the EMSSP was 1.94 mL/g, which was significantly better than that of SSP, but equal to that of

收稿日期:2020-06-13;修回日期:2020-11-26

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金(31860423);内蒙古自治区科技计划(2020GG0064)

作者简介:秦那日苏(1997),男,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail)qin223216@126.com。

通信作者:包小兰,副教授,博士(E-mail)xl06@163.com。

MSSP, and the oil holding capacity and foam stability of EMSSP were 4.40 mL/g and 69.62% respectively, significantly lower than that of SSP and MSSP. In addition, the EMSSP showed good gel properties. The research showed that the color of EMSSP not only improved significantly, but

also the solubility, emulsifying ability, foaming ability, water holding capacity and gelation improved.

Key words: sunflower seed protein; bleaching; limited hydrolysis; functional characteristics; whiteness value

葵花籽是一种重要的油料,有降血脂、抗衰老、防癌等生理活性^[1]。葵花籽制油后产生的副产物葵花籽粕含有丰富的蛋白质,含量在29%~43%^[2-3],葵花籽蛋白营养丰富、易吸收、口感好,是一种优质的植物蛋白^[4],可作为稳定剂或乳化剂应用于肉制品、乳制品等食品工业中。然而,由于葵花籽粕中存在绿原酸和其他多酚类物质导致其营养品质、色泽和加工特性下降。目前葵花籽粕利用率不高,多用作饲料或直接废弃。前期研究发现,利用限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色可显著改善葵花籽蛋白的色泽,其白度值(L^*)由55.7提高至86.3^[5]。在此基础上,如何进一步提高葵花籽蛋白的功能特性具有重要的意义。限制性酶解具有反应条件温和、成本低、可大规模应用等优点。为此,本研究探讨了限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色处理对葵花籽蛋白溶解性、乳化性、起泡性、持油性及凝胶性功能特性的影响,以期得到色泽和功能特性都较好的葵花籽蛋白,为葵花籽粕的高值化利用及葵花籽蛋白在食品工业中的应用开发提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

低温脱脂葵花籽粕(蛋白质含量39.03%),内蒙古鲁花葵花仁油有限责任公司;AB-8型大孔树脂,郑州和成新材料科技有限公司;碱性蛋白酶,诺维信(中国)生物技术有限公司;大豆蛋白粉(蛋白质含量90%),河南万邦实业有限公司;试验所用试剂均为分析纯。

UV-2300型紫外分光光度计,北京中西远大科技有限公司;IKA-T10型均质机,浙江赛德仪器设备有限公司;Haake RS-6000型流变仪,北京拉贝姆科技有限公司;K116型凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;LGJ-10型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂。

1.2 试验方法

1.2.1 葵花籽蛋白的制备

将低温脱脂葵花籽粕磨碎成粉,过孔径0.250 mm(60目)筛。称取50 g葵花籽粕粉,按料液比1:10加入无水乙醇,在25℃恒温水浴中搅拌1 h,于

4 000 r/min离心15 min,收集沉淀,加15倍质量的蒸馏水搅拌均匀,然后用0.1 mol/L NaOH调节溶液pH至7.0,在50℃恒温水浴中搅拌1 h,于4 000 r/min离心15 min,收集上清液,用0.1 mol/L盐酸调节上清液pH至4.0,收集沉淀并用30 mL蒸馏水将沉淀水洗3次,4 000 r/min离心15 min,收集沉淀,用少量蒸馏水将沉淀溶解,再用0.1 mol/L NaOH调节溶液pH至7.0,冷冻干燥得到葵花籽蛋白,保存备用。

1.2.2 大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白的制备

参照Pickardt等^[6]的方法。称取50 g葵花籽粕粉(1.2.1中的),加入500 mL 7.06%的氯化钠溶液,在20℃恒温水浴中搅拌1 h,用0.1 mol/L NaOH调节溶液pH至6.0,然后在20℃恒温水浴中搅拌1 h,于4 000 r/min离心15 min,收集上清液,然后用0.1 mol/L NaOH调节溶液pH至7.0,加入10% AB-8型大孔树脂吸附120 min,过滤树脂收集上清液,用0.1 mol/L HCl调节pH至3.8,收集沉淀并用30 mL蒸馏水将沉淀水洗3次,4 000 r/min离心15 min,收集沉淀,用少量蒸馏水将沉淀溶解,再用0.1 mol/L NaOH调节溶液pH至7.0,冷冻干燥得到大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白,保存备用。

1.2.3 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白的制备

参照Pickardt等^[6]的方法并稍作修改。按照1.2.2方法,在加入大孔树脂前添加碱性蛋白酶于pH 7.0、55℃下酶解一段时间,然后再继续按1.2.2方法加入大孔树脂吸附脱色、冷冻干燥得到限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白,保存备用。

1.2.4 葵花籽蛋白色泽的测定

采用CR-10色差仪进行葵花籽蛋白色泽的测定。首先进行黑白板自动校正,自动校正完成后进入标准测量界面,按测试键,读出标准样的白度值(L^*),再进行样品色泽的测定。取3次测定的平均值^[7]。

1.2.5 葵花籽蛋白中绿原酸含量的测定

参照罗丰收^[8]的方法测定。

1.2.6 葵花籽蛋白功能特性的测定

参照Bera等^[9]的方法稍作改动,测定葵花籽蛋

白在 pH 7.0 下的溶解性。

参照 Motoi 等^[10]的方法测定葵花籽蛋白的起泡性及泡沫稳定性。

参照 Pearcea 等^[11]的方法测定葵花籽蛋白的乳化性及乳化稳定性。

参照 Saetae 等^[12]的方法测定葵花籽蛋白的持油性及持水性。

参照何轩辉^[13]的方法测定葵花籽蛋白的凝胶性。将样品配制为 20% 的蛋白溶液,置于流变仪平行板之间,应变范围 0.01% ~ 100%,进行第一次剪切应力范围扫描,以确保所有测量均在线性黏弹范围内进行。为了促使形成热凝胶,样品溶液从 25 °C 被连续加热至 95 °C,升温速率为 6 °C/min,再降温至 25 °C。加热及冷却过程中,记录弹性模量(G')、黏性模量(G'')的变化。

1.2.7 数据处理

试验重复 3 次,使用 Excel 2010、SPSS 和 Origin 2018 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色处理对葵花籽蛋白色泽的影响

绿原酸在蛋白质提取过程中发生氧化作用与蛋白质共价结合,使葵花籽蛋白呈现消费者难以接受的深灰色,阻碍葵花籽蛋白进一步开发利用。前人研究发现经脱酚和酶处理的葵花籽蛋白色泽明显改善,白度值(L^*)由 47.1 提高至 70.3^[14]。在本研究试验条件下,不同葵花籽蛋白样品的白度值及绿原酸含量如表 1 所示。

表 1 不同葵花籽蛋白的白度值及绿原酸含量

样品	白度值(L^*)	绿原酸含量/(mg/g)
A	55.7 ± 0.16 ^d	1.27 ± 0.02 ^d
B	73.1 ± 0.31 ^c	0.28 ± 0.03 ^b
C	78.2 ± 0.21 ^b	0.46 ± 0.08 ^c
D	86.3 ± 0.41 ^a	0.16 ± 0.06 ^a
E	78.5 ± 0.58 ^b	0.48 ± 0.12 ^c
F	78.2 ± 0.56 ^b	0.46 ± 0.08 ^c

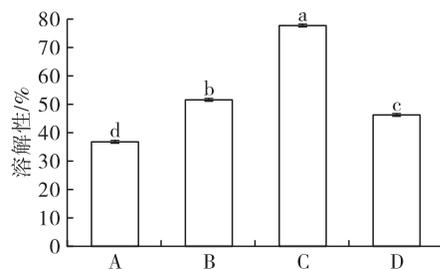
注:A. 葵花籽蛋白;B. 大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;C. 限制性酶解 5 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;D. 限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;E. 限制性酶解 15 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;F. 限制性酶解 20 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白。不同小写字母表示同列数据间有显著差异($P < 0.05$)。

由表 1 可知:未脱色葵花籽蛋白的色泽较差,白

度值仅为 55.7,绿原酸含量为 1.27 mg/g,呈深灰色;经大孔树脂吸附脱色后白度值提高至 73.1,绿原酸含量降低至 0.28 mg/g,经限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的白度值提高至 86.3,绿原酸含量降低至 0.16 mg/g,绿原酸基本被脱除,葵花籽蛋白呈浅白色,脱色效果显著。这可能是由于通过碱性蛋白酶限制性酶解后葵花籽蛋白的结构发生改变,折叠结构发生伸展,变得更加开放和暴露,从而使大孔树脂可以更好更深地吸附脱除葵花籽蛋白内的酚类化合物。但是随着限制性酶解时间延长至 15 min 和 20 min 时,葵花籽蛋白的白度值又下降了,表明过度酶解对后续的大孔树脂吸附脱色有不利的影响。因此,本研究后续以白度值最高的限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白为原料进行功能特性的测定及分析。

2.2 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色对葵花籽蛋白功能特性的影响

2.2.1 溶解性(见图 1)



注:A. 葵花籽蛋白;B. 大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;C. 限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色的葵花籽蛋白;D. 大豆蛋白。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

图 1 葵花籽蛋白的溶解性

由图 1 可见,在 pH 7.0 条件下不同葵花籽蛋白的溶解性差异显著。葵花籽蛋白的溶解性为 36.58%,大豆蛋白的溶解性为 46.04%,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的溶解性分别提高至 51.55% 和 77.60% ($P < 0.05$)。这是由于一方面限制性酶解后葵花籽蛋白的相对分子量降低、结构展开,导致蛋白质肽链暴露出更多的亲水性基团,有利于水分子的吸附,蛋白质更易溶于水溶液中,溶解性上升^[15]。另一方面,限制性酶解结合大孔树脂吸附处理基本脱除了葵花籽蛋白中绿原酸,醌-蛋白质共价结合体生成量减少,大的聚集体被吸附除去,从而提高了蛋白质的溶解性。

2.2.2 起泡性及泡沫稳定性(见图2)

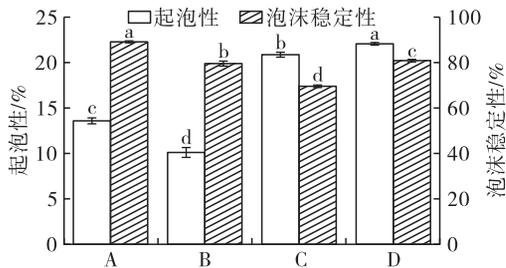


图2 葵花籽蛋白的起泡性及泡沫稳定性

由图2可见,葵花籽蛋白的起泡性为13.61%,大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白起泡性降低,经限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的起泡性提高至20.87% ($P < 0.05$),这可能是由于限制性酶解后蛋白质的相对分子质量降低,蛋白质更容易在界面扩散,分子柔性增大,酶解产物更容易吸附在气-液界面,降低了界面张力,所以起泡性增加^[15]。葵花籽蛋白的泡沫稳定性为89.17%,大豆蛋白的泡沫稳定性为81.02%,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的泡沫稳定性分别降低至79.72%和69.62%,这可能是由于相对分子质量越大,蛋白或多肽的泡沫稳定性越好,限制性酶解后产生的小肽不足以维持泡沫的稳定,导致泡沫稳定性降低^[15]。

2.2.3 乳化性及乳化稳定性(见图3)

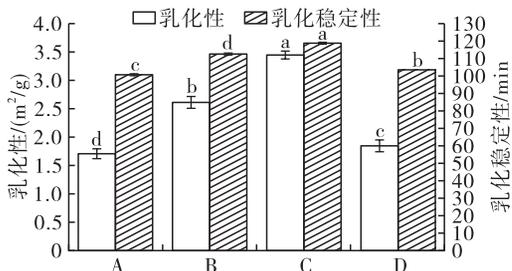


图3 葵花籽蛋白的乳化性及乳化稳定性

由图3可见,葵花籽蛋白的乳化性为1.71 m²/g,大豆蛋白的乳化性为1.85 m²/g,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的乳化性分别提高至2.61、3.44 m²/g,这可能是由于限制性酶解后蛋白质的相对分子质量降低,蛋白质更容易在界面扩散,界面的吸附能力加强,降低了界面张力,所以乳化性提高^[15]。葵花籽蛋白的乳化稳定性为100.59 min,大豆蛋白的乳化稳定性为103.51 min,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的乳化稳定性提高至112.50、118.51 min,表明适当的酶解对葵花籽蛋白的乳化性及乳化稳定性是有利的。

2.2.4 持油性及持水性(见图4)

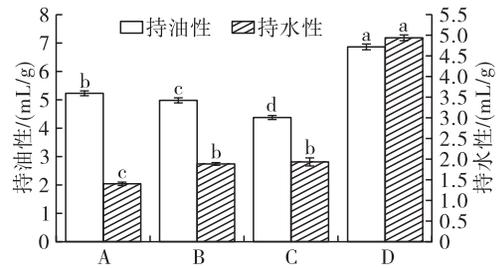


图4 葵花籽蛋白的持油性和持水性

由图4可见,大豆蛋白的持油性及持水性都显著优于葵花籽蛋白,葵花籽蛋白的持油性为5.24 mL/g,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的持油性分别降低至5.00、4.40 mL/g,这可能是由于限制性酶解破坏了蛋白质原有的一级结构和二级结构,网状结构的破坏减弱了其物理包覆能力,蛋白质的吸附能力降低,最终导致持油性下降^[15]。对植物蛋白经水解后持油性降低的报道很多^[16]。葵花籽蛋白的持水性为1.44 mL/g,经大孔树脂吸附脱色和限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的持水性分别提高至1.80、1.94 mL/g。这可能是由于限制性酶解后肽键发生断裂,导致结构变得疏松从而使疏水性降低,很多埋藏的亲水基团暴露出来,形成了很多水的结合位点,留住了更多的水分从而导致持水性提高。芸豆分离蛋白经水解后也表现出持水性增加的趋势^[17]。

2.2.5 凝胶性(见图5~图8)

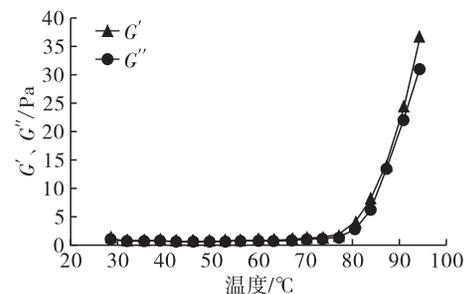


图5 葵花籽蛋白的流变学曲线

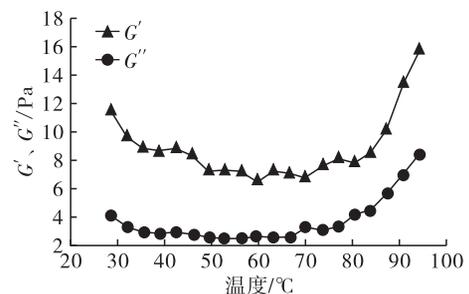


图6 大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白的流变学曲线

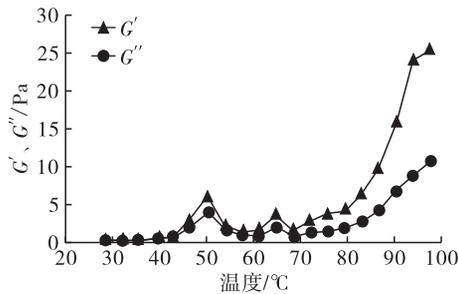


图7 限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白的流变学曲线

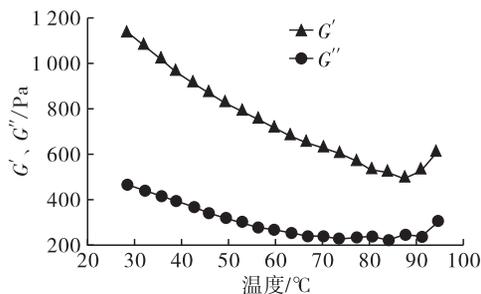


图8 大豆蛋白的流变学曲线

由图5可见,葵花籽蛋白 G' 和 G'' 值在温度低于 75°C 的范围内一直处于重叠状态,随着温度的继续升高, 75°C 之后 G' 值才开始高于 G'' 值,但是增幅较小,并没有显示出较好的凝胶状态。由图6可见, G' 值始终高于 G'' 值,但是未显示出凝胶点,这表明大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白更倾向于弹性状态。由图7可见,限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白的初始平衡时间较短, G' 和 G'' 值在 45°C 后开始增加,且 G' 值始终高于 G'' ,表明该蛋白显示出了较好的凝胶状态且凝胶形成时间缩短。由图8可见,大豆蛋白的 G' 始终高于 G'' ,但是未有凝胶点出现,因而更倾向于弹性状态,很多研究发现大豆蛋白具有较好的凝胶结构,但是图8并没有显示出凝胶状态,这或许是因为原料或溶液浓度的不同所致,需要进一步探究。张俊婷^[4]使用碱性蛋白酶处理花生蛋白后也观察到同样的结果,酶解后花生蛋白的 G' 和 G'' 值在一定时间后开始增加且 G' 逐渐高于 G'' 值,形成较好的凝胶曲线。

3 结论

经限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色后葵花籽蛋白的白度值提高,色泽明显改善,解决了葵花籽蛋白色泽深让消费者难以接受的困扰。限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色显著提高了葵花籽蛋白的溶解性、起泡性、乳化性、乳化稳定性和持水性,而持油性和泡沫稳定性降低;限制性酶解 10 min 结合大孔树脂吸附脱色葵花籽蛋白具有较好的凝胶性。研究表明,限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色

处理改善了葵花籽蛋白的色泽,使其具有较好的功能特性,能更广泛地应用于食品工业中。

参考文献:

- [1] LIST G. Sunflower seed and oil[J]. *Lipid Technol*, 2014, 26(1): 24 - 34.
- [2] 董聪,李芳,王琳. 双酶酶解葵花籽粕蛋白制备抗氧化多肽的研究[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(11): 116 - 121.
- [3] 郑喜群,蒋继丰,刘晓兰,等. 水提醇沉法从葵花籽中提取绿原酸[J]. *食品科学*, 2006(1): 159 - 161.
- [4] 张俊婷. 限制性酶解法制备花生蛋白凝胶及其性质研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2017.
- [5] JAKOBEK L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins[J]. *Food Chem*, 2015, 175: 556 - 567.
- [6] PICKARDT C, NEIDHART S, GRIESBACH C, et al. Optimisation of mild - acidic protein extraction from defatted sunflower (*Helianthus annuus* L.) meal[J]. *Food Hydrocolloid*, 2009, 23: 1966 - 1973.
- [7] 武佳乐. 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色对葵花籽蛋白加工特性和结构的影响[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2019.
- [8] 罗丰收. 葵花籽粕蛋白提取及其改性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2014.
- [9] BERA M, MUKHERJEE R. Solubility, emulsifying, and foaming properties of rice bran protein concentrates[J]. *J Food Sci*, 1989, 54(1): 142 - 145.
- [10] MOTOI H, FUKUDOME S, URABE I. Continuous production of wheat gluten peptide with foaming properties using immobilized enzymes[J]. *J Eur Food Res Technol*, 2004, 219(5): 522 - 528.
- [11] PEARCEA K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. *J Agric Food Chem*, 1978, 26(3): 716 - 723.
- [12] SAETA D, KLEEKAYAI T, JAYASENA V, et al. Functional properties of protein isolate obtained from physic nut (*Jatropha curcas* L.) seed cake[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2011, 20(1): 29 - 37.
- [13] 何轩辉. 超高压对花生分离蛋白凝胶特性的影响及其机理研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2013.
- [14] 胡梦姣,吕冠薇,唐辛悦,等. 商品酶 Cellulase A "Amano"3 处理提升葵花籽蛋白色泽和功能性质[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(9): 34 - 39.
- [15] 张慧莹. 碱性蛋白酶改性对葵花分离蛋白结构与功能特性的影响[D]. 黑龙江 齐齐哈尔:齐齐哈尔大学, 2015.
- [16] 汪立君,李里特,张晓峰,等. 利用 DSC 对大豆蛋白质热变性的研究[J]. *中国农业大学学报*, 2001(6): 93 - 96.
- [17] WANIA I A, SOGI D S, GILL B S. Physicochemical and functional properties of native and hydrolysed protein isolates from Indian black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2015, 60: 848 - 854.