

响应面优化氯化胆碱-丙三醇体系提取芝麻蛋白工艺条件

曹培换¹, 张晨霞¹, 刘燕², 马宇翔¹, 刘华敏¹, 郑永战^{1,3}

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 合肥燕庄食用油有限责任公司, 合肥 231282;

3. 河南省农业科学院, 郑州 450002)

摘要:为提高芝麻油副产物芝麻饼粕中蛋白质的综合利用率,以芝麻粕为原料,选用氯化胆碱-丙三醇(物质的量比1:3)体系(低共熔溶剂,DES)提取芝麻蛋白,通过单因素试验和响应面法优化提取工艺条件,分析最优条件下提取的芝麻蛋白的功能特性,并采用傅里叶变换红外光谱和扫描电子显微镜对芝麻蛋白进行结构表征,同时与传统碱溶酸沉法提取工艺进行对比。结果表明:DES提取芝麻蛋白的最优条件为DES含水量10%、固液比1:29.4、提取温度59.0℃、提取时间1 h、搅拌速度750 r/min,在此条件下芝麻蛋白提取率为(64.65±0.52)%,显著低于碱溶酸沉法芝麻蛋白的提取率[(74.19±1.79)%];DES提取的芝麻蛋白的溶解性、吸油性、泡沫稳定性和乳化稳定性均显著高于碱溶酸沉法提取的,而吸水性显著低于碱溶酸沉法提取的;DES提取的芝麻蛋白的 β -折叠含量显著低于碱溶酸沉法提取的,而其他二级结构(α -螺旋、无规卷曲、 β -转角、 β -逆折叠)的含量则显著高于碱溶酸沉法提取的。综上,DES提取法可作为新型绿色的芝麻蛋白提取方法。

关键词:低共熔溶剂;芝麻粕;芝麻蛋白;氯化胆碱;功能特性;二级结构

中图分类号:TS229;TQ936 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)01-0102-08

Response surface optimization of the extraction process conditions for sesame protein using choline chloride-glycerol system

CAO Peihuan¹, ZHANG Chenxia¹, LIU Yan², MA Yuxiang¹,

LIU Huamin¹, ZHENG Yongzhan^{1,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. Hefei Yanzhuang Edible Oil Co., Ltd., Hefei 231282, China; 3. Henan Academy of Agricultural Sciences,

Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To improve the comprehensive utilization rate of protein in sesame cake and meal, a by-product of sesame oil, sesame protein was extracted from sesame meal using choline chloride-glycerol (molar ratio 1:3) system (deep eutectic solvent, DES), the extraction process conditions were optimized through single factor experiments and response surface methodology, and the functional characteristics of sesame protein extracted under the optimal conditions were analyzed. Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy were used to characterize the structure of sesame protein. In addition, the sesame protein extracted by DES method was compared with that by alkali solution-acid precipitation method. The results showed that the optimal conditions for extracting sesame protein were as follows: moisture content in DES 10%, solid-liquid mass ratio 1:29.4, extraction temperature

59.0℃, extraction time 1 h, and stirring speed 750 r/min. Under these conditions, the extraction rate of sesame protein was (64.65±0.52)%, significantly lower than that of the alkali solution-acid precipitation method ((74.19±1.79)%). The solubility, oil absorption, foam stability and

收稿日期:2023-12-26;修回日期:2024-07-31

基金项目:国家现代农业产业技术体系资助(CARS-14-1-29, CARS-14-1-01)

作者简介:曹培换(1997),女,硕士研究生,研究方向为油脂制取理论与加工(E-mail)18436020494@163.com。

通信作者:郑永战,研究员(E-mail)sesame168@163.com。

emulsification stability of sesame protein extracted by DES were significantly higher than those extracted by alkali solution - acid precipitation method, while the water absorption was significantly lower than that extracted by alkali solution - acid precipitation method. The β - folding contents of the protein obtained by DES was significantly lower than that obtained by alkali solution - acid precipitation method, while the contents of other secondary structures (α - helix, aperiodical coil, β - turn angle, β - inverse folding) were significantly higher than those obtained by alkali solution - acid precipitation method. In conclusion, the DES extraction method can be used as a new green sesame protein extraction method.

Key words: deep eutectic solvent; sesame meal; sesame protein; choline chloride; functional characteristics; secondary structure

芝麻属于胡麻科油料作物,其种子中富含油脂和蛋白质,芝麻油因香味浓郁而广受消费者喜欢。芝麻制油后的副产物芝麻粕中蛋白质含量在 38% ~ 50%,是潜在的蛋白质来源^[1-3]。我国大部分芝麻都用于生产芝麻油,而副产物芝麻粕多用于动物饲料和农业肥料,造成了资源浪费^[4]。另外,芝麻蛋白中蛋氨酸和半胱氨酸含量高,赖氨酸含量低,将其与大豆蛋白一起食用,可以实现氨基酸互补^[5]。因此,从芝麻粕中提取芝麻蛋白不仅有助于资源的综合利用,还能为食品工业提供新的原料。

目前芝麻蛋白常用的提取方法有碱溶酸沉法、醇法、酶法^[6]等。其中:碱溶酸沉法的蛋白提取率较高,但所得蛋白功能特性较差,且排放的废液会对环境造成危害^[7],醇法提取的蛋白氮溶解指数(NSI)较低^[8],而酶法存在成本高等问题^[6]。为使芝麻蛋白质得到更好地应用,需继续开发提取高质量蛋白质的新方法。

低共熔溶剂(Deep eutectic solvents, DES)是一种与传统离子液体物理化学性质相似的溶剂,而且成本更低,对环境更友好。DES通常由2~3种廉价且安全的成分组成,这些成分充当氢键受体(HBA)和氢键供体(HBD),成分之间通过氢键相互作用形成DES,其熔点低于每个单独成分的熔点(通常DES在低于100℃时是液态的^[9-10])。DES已被广泛用于蛋白质、多糖、多酚等的绿色提取^[11-12]。Guzmán - Lorite等^[13]研究表明,与超声辅助碱缓冲液提取相比,超声辅助DES提取石榴籽中蛋白质时蛋白质回收率增加。Yue等^[14]研究表明,氯化胆碱-1,4-丁二醇/水二元混合物(DES)提取的燕麦蛋白的蛋白质含量较高,溶解度、起泡性和稳定性较好。Lin等^[15]研究表明,与碱法相比,氯化胆碱-尿素体系(DES)提取的沙棘籽蛋白中 β -折叠含量减少, β -转角含量增加,总氨基酸和必需氨基酸含量增加,

且表现出最高的体外消化率。总之,在对多种不同类型蛋白质来源的多项研究中,DES能够提取蛋白质,且具有一定的优势。

在前期试验的基础上,本文以芝麻粕为原料,选用氯化胆碱-丙三醇(物质的量比1:3)的DES体系提取芝麻蛋白,采用单因素试验和响应面优化提取工艺条件,对提取的芝麻蛋白的功能特性和结构进行分析,并与传统碱溶酸沉工艺进行对比,期为工业化生产芝麻蛋白提供新的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

芝麻粕:由河南省农科院提供的‘驻芝22号’芝麻,经湿法脱皮、液压压榨、粉碎成粗粉、索氏抽提脱脂、过0.25mm(60目)筛后获得,其水分含量为6.7%,粗蛋白质含量为48.65%,灰分含量为10.62%。氯化胆碱(纯度 $\geq 98\%$),上海麦克莱恩生物有限公司;丙三醇,天津天力化学试剂有限公司;无水乙醇,天津科密欧化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

LD5-10离心机,北京京立离心机有限公司;LGJ-18真空冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司;Nicolet iS20傅里叶变换红外光谱仪,美国Thermo Scientific公司;QUANTA FEG 250扫描电子显微镜。

1.2 试验方法

1.2.1 DES的制备

参照文献[16]采用加热法制备DES。将氢键受体氯化胆碱和氢键供体丙三醇按照1:3的物质的量比混合,加入适量水,在90℃下加热搅拌,直至形成液体,冷却至室温也为液体,即得DES。

1.2.2 DES提取芝麻蛋白

将芝麻粕粉和DES以一定固液比(质量比)加

入烧杯中,在一定温度、一定速度下机械搅拌提取一定时间。冷却至室温后,以 4 500 r/min 离心 10 min,收集上清液于烧杯中,加入适量无水乙醇,在 4℃下保持 18 h 以使蛋白质沉淀,以 4 500 r/min 离心 10 min,收集沉淀并用水多次洗涤(至少 3 次)以除去残留在芝麻蛋白中的 DES,洗涤后离心,用硝酸银溶液滴定洗涤液直至没有沉淀产生,最后将沉淀冷冻干燥,得到芝麻蛋白。

1.2.3 芝麻蛋白提取率的测定

采用凯氏定氮法测定芝麻粕和提取的芝麻蛋白中蛋白质含量,按式(1)计算芝麻蛋白提取率(Y)。

$$Y = \frac{m_2 \times \omega_2}{m_1 \times \omega_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_2 为提取的芝麻蛋白质量,g; ω_2 为芝麻蛋白中蛋白质含量; m_1 为原料芝麻粕的质量,g; ω_1 为芝麻粕中蛋白质含量。

1.2.4 芝麻蛋白功能特性的测定

1.2.4.1 吸水性和吸油性

称取 1.0 g 芝麻蛋白于离心管中,加入 10 mL 蒸馏水/一级大豆油,涡旋 2 min,再以 4 000 r/min 离心 10 min,弃上清液后称量沉淀物的质量,按下式计算吸水性/吸油性(W)。

$$W = (m_2 - m_1) / m_1 \quad (2)$$

式中: m_1 为芝麻蛋白的质量; m_2 为沉淀物的质量。

1.2.4.2 溶解性

将 2.0 g 芝麻蛋白与 200 mL 水混合,在室温下剧烈摇晃 1 h 后,在 4 000 r/min 下离心 10 min,将上清液倒入 250 mL 容量瓶中并定容,取 10 mL 采用凯氏定氮法测定水溶性氮含量。以样品中水溶性氮与总氮的比值表征溶解性。

1.2.4.3 乳化性和乳化稳定性

称取 0.2 g 芝麻蛋白与 40 mL 蒸馏水混合,以 10 000 r/min 均质 30 s,加入 40 mL 一级大豆油,均质 2 min 以形成乳液。取 40 μ L 乳液,加入 10 mL 0.1 g/100 mL 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液,以 SDS 溶液作为空白,在 500 nm 处测定吸光度(A_0)。10 min 后,再次将乳液与 SDS 溶液混合并测定其吸光度(A_{10})。其中乳化性以初始吸光度表征,乳化稳定性(S_E)按下式计算。

$$S_E = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}} \quad (3)$$

1.2.4.4 起泡性和泡沫稳定性

称取 1.0 g 芝麻蛋白,加 100 mL(V_0)蒸馏水,以 10 000 r/min 均质 2 min,测量泡沫体积(V_1)和液体

体积(V_2)。静置 30 min,再次测量泡沫体积(V_3)。按下式计算起泡性(F_A)和泡沫稳定性(F_S)。

$$F_A = \frac{V_1 + V_2 - V_0}{V_0} \times 100\% \quad (4)$$

$$F_S = \frac{V_3}{V_1} \times 100\% \quad (5)$$

1.2.5 芝麻蛋白的结构表征

1.2.5.1 傅里叶变换红外光谱分析

将芝麻蛋白在 120℃下干燥至恒重,然后研磨成粉末^[17],再与 KBr 充分研磨并以 1:100 的比例压制,用傅里叶变换红外光谱仪进行分析,分析条件:分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 32 次,扫描范围 400 ~ 4 000 cm^{-1} 。

1.2.5.2 扫描电子显微镜分析

将芝麻蛋白于 120℃下干燥至恒重^[18]。使用双面粘合剂将干燥的蛋白质样品附着在短柱上,并喷金处理,用扫描电子显微镜在加速电压 7 kV 下进行检测。

1.2.6 数据处理

所有试验重复 3 次,结果以“平均值 \pm 标准偏差”表示。使用 IBM SPSS Statistics 20.0 版软件进行单因素方差分析和邓肯多重比较检验, $p < 0.05$ 为具有显著性。

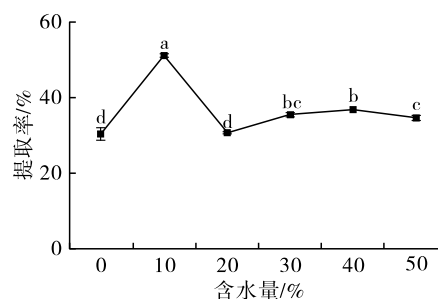
2 结果与分析

2.1 芝麻蛋白提取工艺条件优化

2.1.1 单因素试验

2.1.1.1 DES 含水量对芝麻蛋白提取率的影响

在固液比 1:20、提取温度 60℃、搅拌速度 750 r/min、提取时间 1 h 条件下,研究 DES 含水量分别为 0%、10%、20%、30%、40%、50% 时对芝麻蛋白提取率的影响,结果如图 1 所示。



注:不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图 1 DES 含水量对芝麻蛋白提取率的影响

Fig. 1 Effect of moisture content in DES on the extraction rate of sesame protein

由图 1 可知,芝麻蛋白提取率随 DES 含水量的增加没有明显的变化规律。这可能是由于 DES 含水量对芝麻蛋白提取率的影响是多方面的:首先,随着含水量的增加,DES 中氢键相互作用减弱,会降低蛋白提取率;其次,含水量增加会导致 DES 的黏度降低,增强溶剂的传质速率,从而对蛋白提取率有积极的影响^[19];最后,随着含水量的增加,DES 的极性会增强,可能会造成蛋白质结构发生变化,使疏水基团暴露在蛋白质表面,从而使蛋白质的溶解度降低。以上多重影响共同导致了芝麻蛋白提取率随 DES 含水量增加没有明显的变化趋势。在本研究条件下,当 DES 含水量为 10% 时,芝麻蛋白提取率最高,因此选择含水量为 10% 的 DES 进行后续研究。

2.1.1.2 搅拌速度对芝麻蛋白提取率的影响

在 DES 含水量 10%、固液比 1:20、提取温度 60℃、提取时间 1 h 条件下,研究搅拌速度分别为 250、500、750、1 000、1 250 r/min 时对芝麻蛋白提取率的影响,结果如图 2 所示。

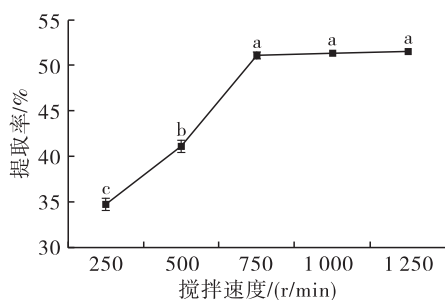


图 2 搅拌速度对芝麻蛋白提取率的影响

Fig. 2 Effect of stirring speed on the extraction rate of sesame protein

由图 2 可知,芝麻蛋白提取率随着搅拌速度的增加先增加后趋于稳定,这可能是因为增加搅拌速度可以促进 DES 与蛋白质的接触,从而提高芝麻蛋白提取率,但当搅拌速度超过一定值后,蛋白质溶出达到平衡,对蛋白提取率影响不显著。

2.1.1.3 固液比对芝麻蛋白提取率的影响

在 DES 含水量 10%、提取温度 60℃、搅拌速度 750 r/min、提取时间 1 h 的条件下,研究固液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 时对芝麻蛋白提取率的影响,结果如图 3 所示。

由图 3 可知:芝麻蛋白提取率随着 DES 量的增加呈现先增加后减少的趋势,可能是因为适当地增加 DES 会促进蛋白质在溶剂中的溶解,而过度增加 DES 导致蛋白质的浓度降低,难以在后续的醇沉中析出,同时过多的 DES 也会溶解芝麻粕中的其他物质,从而影响蛋白提取率。

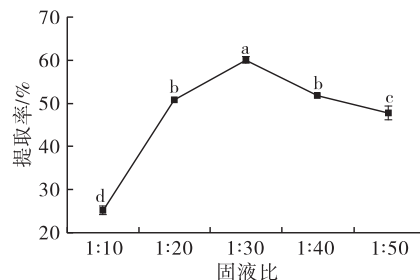


图 3 固液比对芝麻蛋白提取率的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of sesame protein

2.1.1.4 提取时间对芝麻蛋白提取率的影响

在 DES 含水量 10%、固液比 1:20、提取温度 60℃、搅拌速度 750 r/min 的条件下,研究提取时间分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 时对芝麻蛋白提取率的影响,结果如图 4 所示。

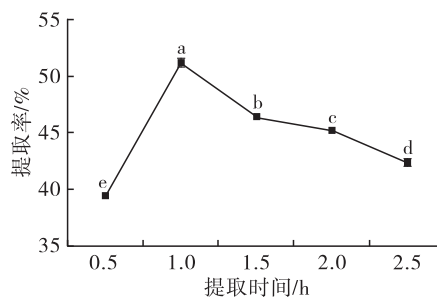


图 4 提取时间对芝麻蛋白提取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on the extraction rate of sesame protein

由图 4 可知,芝麻蛋白提取率随提取时间的延长呈先上升后下降的趋势。这可能是因为较短的时间内样品与 DES 无法充分接触,造成蛋白提取率较低,但是提取时间过长,可能会导致芝麻粕中非蛋白质析出,同时溶解的蛋白质也会与析出的杂质如多糖、纤维素等反应,导致蛋白提取率降低。

2.1.1.5 提取温度对芝麻蛋白提取率的影响

在 DES 含水量 10%、固液比 1:20、搅拌速度 750 r/min、提取时间 1 h 的条件下,研究提取温度分别为 30、40、50、60、70、80℃ 时对芝麻蛋白提取率的影响,结果如图 5 所示。

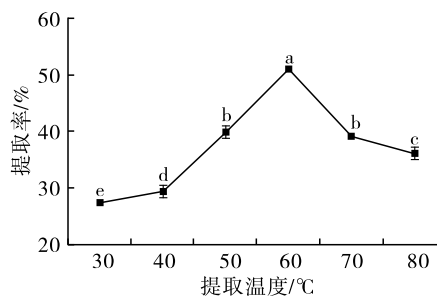


图 5 提取温度对芝麻蛋白提取率的影响

Fig. 5 Effect of extraction temperature on the extraction rate of sesame protein

由图 5 可知:提取温度在 30 ~ 60 °C 时,芝麻蛋白提取率随着提取温度的升高而提高,这可能是因为适当提高温度会降低 DES 的黏度,增强传质速率,从而有利于芝麻蛋白的提取;但是提取温度超过 60 °C 后,芝麻蛋白提取率随提取温度的升高呈下降趋势,这可能是因为温度过高导致了蛋白质变性,同时试验发现,在提取温度为 80 °C 时,提取液的颜色较深,可能是芝麻粕中的还原糖与蛋白质发生了美拉德反应^[20]。

2.1.2 响应面试验

根据单因素试验的结果,固定 DES 含水量为 10%,搅拌速度为 750 r/min,选用提取时间、固液比和提取温度作为试验因素,以芝麻蛋白提取率为响应值,采用 Design Expert 10 软件进行三因素三水平的 Box - Behnken 响应面设计,对芝麻蛋白提取工艺进行优化。响应面设计因素与水平如表 1 所示,响应面设计与结果如表 2 所示。

表 1 响应面设计因素与水平

Table 1 Response surface test factors and levels

水平	A 固液比	B 提取温度/°C	C 提取时间/h
-1	1:25	55	0.75
0	1:30	60	1.00
1	1:35	65	1.25

表 2 响应面设计与结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	提取率/%
1	0	0	0	64.29 ± 1.11
2	0	0	0	63.85 ± 0.37
3	0	0	0	64.04 ± 0.13
4	0	0	0	65.46 ± 0.83
5	0	0	0	65.28 ± 0.39
6	0	1	1	52.29 ± 0.22
7	0	-1	1	57.81 ± 0.75
8	0	1	-1	54.22 ± 0.84
9	0	-1	-1	57.23 ± 0.87
10	1	0	1	50.64 ± 0.93
11	-1	0	1	56.24 ± 0.36
12	1	0	-1	53.14 ± 0.95
13	-1	0	-1	55.58 ± 0.99
14	1	1	0	46.38 ± 0.36
15	-1	1	0	52.76 ± 0.91
16	1	-1	0	54.54 ± 0.75
17	-1	-1	0	55.64 ± 0.54

运用 Design Expert 10 软件对表 2 试验数据进行多元回归模型拟合,得回归方程: $Y = 64.58 - 1.94A -$

$2.45B - 0.40C - 1.32AB - 0.79AC - 0.63BC - 6.87A^2 - 5.38B^2 - 3.81C^2$ 。对回归方程进行方差分析,结果见表 3。

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	513.95	9	57.10	131.94	<0.000 1	**
A	30.11	1	30.11	69.57	<0.000 1	**
B	47.87	1	47.87	110.61	<0.000 1	**
C	1.27	1	1.27	2.94	0.130 2	
AB	6.97	1	6.97	16.10	0.005 1	**
AC	2.50	1	2.50	5.77	0.047 4	*
BC	1.58	1	1.58	3.64	0.098 1	
A ²	198.77	1	198.77	459.25	<0.000 1	**
B ²	122.02	1	122.02	281.92	<0.000 1	**
C ²	61.22	1	61.22	141.46	<0.000 1	**
残差	3.03	7	0.43			
失拟项	0.86	3	0.29	0.53	0.687 8	
纯误差	2.17	4	0.54			
总误差	516.98	16				

注: * 表示 $p < 0.05$, 差异显著; ** 表示 $p < 0.01$, 差异极显著

Note: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

由表 3 可知,模型 p 值小于 0.01,极显著,而失拟项 p 值大于 0.05,不显著,说明模型可靠。模型的决定系数 (R^2) 为 0.994 1,调整后的决定系数为 0.986 6,接近于 1,且变异系数 (CV 值) 为 1.15% ($< 10%$),说明模型拟合较好。3 个因素对芝麻蛋白提取率影响的强弱顺序为提取温度 $>$ 固液比 $>$ 提取时间,其中提取温度和固液比的影响极显著,而提取时间的影响不显著。交互项 AB 以及二次项对芝麻蛋白提取率的影响均为极显著,交互项 AC 影响显著,而交互项 BC 影响不显著。

由回归方程优化得到芝麻蛋白提取的最优工艺条件为固液比 1:29.4、提取温度 58.9 °C、提取时间 0.994 h,在此条件下芝麻蛋白理论提取率为 64.963%。考虑到实际操作情况,将最优工艺条件调整为固液比 1:29.4、提取温度 59.0 °C、提取时间 1 h,经 3 次试验验证,芝麻蛋白提取率为 (64.65 ± 0.52)%,接近预测值,说明该模型真实可靠。与传统的碱溶酸沉法(工艺条件参照文献[21])的芝麻蛋白提取率 [(74.19 ± 1.79)%] 相比,本研究中的芝麻蛋白提取率偏低,这可能是因为提取原理不同导致的。

2.2 芝麻蛋白功能特性

对碱溶酸沉法提取的芝麻蛋白(AP)、本研究中最优条件下采用 DES 提取的芝麻蛋白(CC-GP)和

原料芝麻粕(SSP)的功能特性进行比较,结果见表4。

表4 芝麻蛋白的功能特性

Table 4 Functional characteristics of sesame protein

样品	溶解性/%	吸水性/(g/g)	吸油性/(g/g)	起泡性/%	泡沫稳定性/%	乳化性	乳化稳定性
SSP	13.95 ± 0.76 ^a	2.81 ± 0.02 ^c	2.71 ± 0.07 ^c	13.40 ± 0.41 ^a	45.50 ± 0.62 ^b	0.15 ± 0.00 ^a	19.07 ± 0.34 ^a
AP	2.88 ± 0.31 ^c	3.82 ± 0.04 ^a	2.93 ± 0.12 ^b	6.30 ± 0.45 ^b	37.57 ± 0.48 ^c	0.04 ± 0.00 ^b	13.44 ± 0.24 ^c
CC-GP	10.43 ± 0.02 ^b	3.06 ± 0.04 ^b	3.45 ± 0.04 ^a	6.17 ± 0.12 ^b	54.66 ± 0.76 ^a	0.05 ± 0.00 ^b	15.93 ± 0.50 ^b

注:同列不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

由表4可知:就蛋白溶解性而言,最高的是芝麻粕,可能是因为未经任何处理其蛋白质没有发生变性;AP溶解性较差,可能是因为疏水基团的暴露,以及强碱条件导致芝麻蛋白变性,使得溶解性较差^[22]。AP表现出最好的吸水性,而CC-GP表现出最好的吸油性,这可能是由于它们不同的提取原理,使得多肽侧链极性基团上水、油结合位点暴露程度的不同导致的^[23]。AP与CC-GP的起泡性无显著差异,但是CC-GP的泡沫稳定性显著高于AP,可能是因为其溶解性好,此外也与蛋白质膜的流变特性、蛋白质结构的灵活性和疏水性有关。此外,AP与CC-GP的乳化性无显著差异,CC-GP的乳化稳定性显著高于AP,可能是因为提取原理不同,受溶解度、疏水性、电荷、分子质量、pH、离子强度和温度等因素的共同影响所致。总之,提取方法的不同会导致芝麻蛋白功能特性的不同,可以根据食品加工领域对芝麻蛋白功能特性要求的不同,采用不同的方法进行提取。

2.3 芝麻蛋白的结构表征

2.3.1 傅里叶红外光谱分析

蛋白质的红外光谱特征带主要在1600~1700 cm^{-1} 处的酰胺I谱带,该区域描述蛋白质二级结构的变化;不同的波数范围代表蛋白质不同的二级结构,包含 α -螺旋(1650~1660 cm^{-1})、 β -折叠(1610~1642 cm^{-1})、 β -转角(1660~1680 cm^{-1})、 β -逆折叠(1680~1700 cm^{-1})和无规卷曲(1642~1650 cm^{-1})。图6为芝麻蛋白的红外光谱

图,其二级结构含量见表5。

由表5可知,与芝麻粕相比,AP和CC-GP的 β -折叠含量都有显著的提升,且AP的 β -折叠含量显著高于CC-GP,而AP其他二级结构的含量则显著低于CC-GP, β -折叠是以拉伸状态存在的结构, β -折叠的增加伴随着蛋白质表面疏水基团的暴露。与芝麻粕相比,AP和CC-GP的 α -螺旋含量均有升高,其中CC-GP的 α -螺旋含量最高, α -螺旋含量的增加伴随着多肽链的氨基氢(NH-)和羰基氧(-CO)分子内氢键连接的增强,这可能与DES的提取有关,在DES提取蛋白质的过程中,DES中的氢键受体和氢键供体之间形成的氢键可以与蛋白质的氨基或羧基形成氢键。 β -折叠和 α -螺旋含量的增加表明芝麻蛋白从无序弹性结构转变为规则稳定结构。与芝麻粕相比,AP和CC-GP的 β -折叠与 α -螺旋含量之和均有显著提升,AP和CC-GP的结构更稳定。

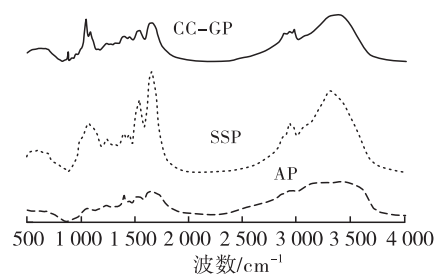


图6 芝麻蛋白的红外光谱图

Fig. 6 Infrared spectrogram of sesame protein

表5 芝麻蛋白二级结构含量

Table 5 Secondary structure content in sesame protein

样品	β -折叠	α -螺旋	无规卷曲	β -转角	β -逆折叠
SSP	35.73 ± 0.21 ^c	15.42 ± 0.02 ^b	12.21 ± 0.04 ^a	25.13 ± 0.18 ^a	11.52 ± 0.03 ^a
AP	48.27 ± 0.04 ^a	15.66 ± 0.21 ^b	10.34 ± 0.01 ^c	17.96 ± 0.06 ^c	7.77 ± 0.04 ^c
CC-GP	42.93 ± 0.22 ^b	16.29 ± 0.01 ^a	11.56 ± 0.10 ^b	20.90 ± 0.02 ^b	8.38 ± 0.01 ^b

2.3.2 扫描电子显微镜分析

图7为芝麻蛋白的微观结构。

由图7可见,原料芝麻粕表面可以看到大量蛋

白质的存在,还有少许淀粉和粗纤维,AP和CC-GP均表现出表面较粗糙的颗粒状,这可能是由于蛋白质聚集行为导致的。

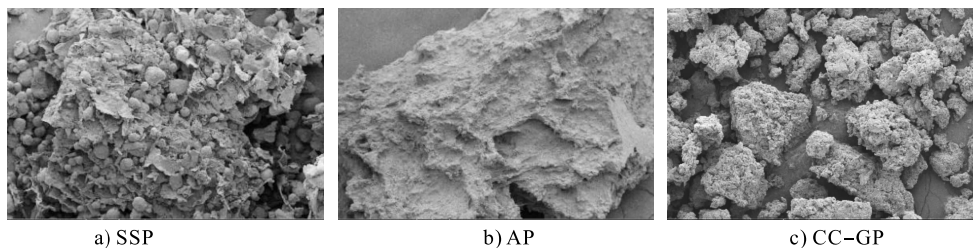


图7 芝麻蛋白的微观结构

Fig.7 Microstructure of sesame protein

3 结论

本研究确定了氯化胆碱-丙三醇(物质的量比1:3)体系提取芝麻蛋白的最优条件,即DES含水量10%、固液比1:29.4、提取温度59.0℃、提取时间1h、搅拌速度750 r/min,在此条件下芝麻蛋白提取率为(64.65 ± 0.52)%,显著低于碱溶酸沉法的,但是,该方法提取的芝麻蛋白溶解性、吸油性、泡沫稳定性和乳化稳定性均显著高于碱溶酸沉法的,因此DES提取法可作为新型绿色的芝麻蛋白提取方法。

参考文献:

- [1] ELLEUCH M, BESBES S, ROISEUX O, et al. Quality characteristics of sesame seeds and by-products [J]. *Food Chem*, 2007, 103(2): 641-650.
- [2] NAMIKI M. Nutraceutical functions of sesame: A review [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2007, 47(7): 651-673.
- [3] YULIARTI O, KIAT KOVIS T J, YI N J. Structuring the meat analogue by using plant-based derived composites [J/OL]. *J Food Eng*, 2021, 288: 110138 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110138>.
- [4] ORRUÑO E, MORGAN M. Purification and characterisation of the 7S globulin storage protein from sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *Food Chem*, 2005, 100(3): 926-934.
- [5] SÁA G A, PACHECO M T B, MORENO Y M F, et al. Cold-pressed sesame seed meal as a protein source: Effect of processing on the protein digestibility, amino acid profile, and functional properties [J/OL]. *J Food Compos Anal*, 2022, 111: 104634 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104634>.
- [6] 张国治, 张富重, 黄纪念. 芝麻加工的研究进展及展望 [J]. *粮食加工*, 2020, 45(1): 43-46.
- [7] 郑华丽, 魏安池, 牛新培. 芝麻饼粕蛋白应用进展 [J]. *粮食与油脂*, 2012, 25(8): 8-10.
- [8] 张涛, 魏安池, 牛新培, 等. 醇法芝麻浓缩蛋白的物理改性研究 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2012, 33(4): 52-56.
- [9] CALVO-FLORES F G, MINGORANCE-SÁNCHEZ C. Deep eutectic solvents and multicomponent reactions: Two convergent items to green chemistry strategies [J]. *Chem Open*, 2021, 10(8): 815-829.
- [10] CASTRO V I B, CRAVEIRO R, SILVA J M, et al. Natural deep eutectic systems as alternative nontoxic cryoprotective agents [J]. *Cryobiology*, 2018, 83: 15-26.
- [11] PANIĆ M, GUNJEVIĆ V, CRAVOTTO G, et al. Enabling technologies for the extraction of grape-pomace anthocyanins using natural deep eutectic solvents in up-to-half-litre batches extraction of grape-pomace anthocyanins using NADES [J/OL]. *Food Chem*, 2019, 300: 125185 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125185>.
- [12] YUE J X, ZHU Z B, YI J H, et al. Structure and functionality of oat protein extracted by choline chloride-dihydric alcohol deep eutectic solvent and its water binary mixtures [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 112: [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106330>.
- [13] GUZMÁN-LORITE M, MARINA M L, GARCÍA M C. Successive extraction using natural deep eutectic solvents and pressurized liquids for a greener and holistic recovery of proteins from pomegranate seeds [J/OL]. *Food Res Int*, 2022, 161: 111862 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111862>.
- [14] YUE J X, ZHU Z B, YI J H, et al. One-step extraction of oat protein by choline chloride-alcohol deep eutectic solvents: Role of chain length of dihydric alcohol [J/OL]. *Food Chem*, 2021, 376: 131943 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131943>.
- [15] LIN J J, XIANG H, SUN-WATERHOUSE D, et al. Deep eutectic solvents and alkaline extraction of protein from seabuckthorn seed meal: A comparison study [J]. *Food Sci Hum Well*, 2022, 11(4): 1028-1035.

(下转第121页)

- 术及其功能研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2022, 43(3): 125-132, 140.
- [68] YU T, GUO J, ZHU S, et al. Protective effects of selenium-enriched peptides from *Cardamine violifolia* on D-galactose-induced brain aging by alleviating oxidative stress, neuroinflammation, and neuron apoptosis [J/OL]. *J Funct Foods*, 2020, 75: 104277 [2023-06-08]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104277>.
- [69] 冯明菊. 富硒糙米蛋白理化特性及其酶解物的抗氧化与抗炎活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [70] WU S, WU Q, WANG J, et al. Novel selenium peptides obtained from selenium-enriched *Cordyceps militaris* alleviate neuroinflammation and gut microbiota dysbacteriosis in LPS-injured mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(10): 3194-3206.
- [71] 王真真, 何慧, 王驰, 等. 富硒玉米醒酒肽的制备及活性研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(18): 239-242, 248.
- [72] 蔡爽. 富硒绿豆肽的理化性质与抗氧化、抗辐射活性研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [73] 何家伟, 蔡俊. 合成硒代谷胱甘肽酿酒酵母菌株的筛选与发酵优化[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(20): 91-101.
- [74] 董蕾. 大豆硒肽制备及其防治铅中毒作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [75] 王杨阳. 富硒平菇肽的制备及其性质研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2021.
- [76] 吴佳南. 鳕鱼皮明胶肽硒复合物的结构表征及其抗氧化活性研究[D]. 辽宁大连: 大连工业大学, 2020.
- [77] BROWN A C, FRASER T R. On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from *Strychnia*, *Brucia*, *Thebaia*, *Codeia*, *Morphia*, and *Nicotia* [J]. *J Anat Physiol*, 1868, 2(2): 224-242.
- [78] 李俊玲, 李咸璞. 机器学习在化学研究中的应用进展[J]. *广州化工*, 2021, 49(21): 20-23.
- [79] 杨涛, 牛茵茵, 向极轩, 等. 生物活性硒肽制备及功能的研究进展[J/OL]. *中国粮油学报*, 2023: 1-16 [2023-06-18]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000113>.
- [80] 意如, 李贤. 多肽-硒螯合物的应用研究进展[J]. *微量元素与健康研究*, 2022, 39(5): 74-76.
- [81] 颀宇. 柠条籽蛋白抗氧化肽的制备及其延缓油脂氧化机制研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020.
- [82] XIA Z, MIAO J, CHEN B, et al. Purification, identification, and antioxidative mechanism of three novel selenium-enriched oyster antioxidant peptides [J/OL]. *Food Res Int*, 2022, 157: 111359 [2023-06-08]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111359>.
- [83] QIN X Y, ZHANG J T, LI G M, et al. Structure and composition of a potential antioxidant obtained from the chelation of pea oligopeptide and sodium selenite [J/OL]. *J Funct Foods*, 2020, 64: 103619 [2023-06-08]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103619>.
- [84] CHEN B, MIAO J, YE H, et al. Purification, identification, and mechanistic investigation of novel selenium-enriched antioxidant peptides from *Moringa oleifera* seeds [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(11): 4625-4637.
- 7220-7227.
- [20] LI W W, ZHAO H B, HE Z Y, et al. Modification of soy protein hydrolysates by Maillard reaction: Effects of carbohydrate chain length on structural and interfacial properties [J]. *Colloids Surface B*, 2016, 138: 70-77.
- [21] 郑华丽, 魏安池, 代红丽, 等. 从脱皮冷榨芝麻饼中制备分离蛋白的工艺研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2013, 34(2): 14-18.
- [22] CHRYSANTHI N, MARIA D, CHARIKLEIA K, et al. Structural and physicochemical properties of sesame cake protein isolates obtained by different extraction methods [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2024, 151: 109757 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109757>.
- [23] LING B, OUYANG S H, WANG S J. Effect of radio frequency treatment on functional, structural and thermal behaviors of protein isolates in rice bran [J]. *Food Chem*, 2019, 289: 537-544.
- (上接第 108 页)
- [16] CHEN X Y, WANG R P, TAN Z J. Extraction and purification of grape seed polysaccharides using pH-switchable deep eutectic solvents-based three-phase partitioning [J/OL]. *Food Chem*, 2023, 412: 135557 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135557>.
- [17] BASKINCI T, GUL O. Modifications to structural, techno-functional and rheological properties of sesame protein isolate by high pressure homogenization [J/OL]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 250: 126005 [2023-12-26]. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126005>.
- [18] SHARMA L, SINGH C. Sesame protein based edible films: Development and characterization [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 61: 139-147.
- [19] BAI C J, WEI Q F, REN X L. Selective extraction of collagen peptides with high purity from cod skins by deep eutectic solvents [J]. *ACS Sustain Chem Eng*, 2017, 5(8):