

## 油料蛋白

## 复合法提取高温菜籽粕中蛋白质的研究

袁建,刘胜,鞠兴荣,王素雅

(南京财经大学食品科学与工程学院,江苏省粮油品质控制及深加工技术重点实验室,南京210003)

**摘要:**以高温菜籽粕为原料,研究了淀粉酶法与碱提法结合提取蛋白质的工艺,其优化条件为:酶解 pH 7.0,酶解温度 50℃,料液比 1:20,加酶量 2.5%,酶解时间 3 h;碱提 pH 10.0,碱提温度 55℃,碱提时间 2 h,料液比 1:12。在此条件下,菜籽蛋白质提取率达到 71.63%。经等电点沉淀、70%乙醇脱色及冷冻干燥后,产品呈浅灰色,菜籽蛋白质得率为 9.3%,单宁脱除率为 56.65%,植酸脱除率为 62.77%,硫甙脱除率达 93.66%。

**关键词:**高温菜籽粕;菜籽蛋白质;酶法;碱提法

**中图分类号:**TS229;TS202

**文献标志码:**A

**文章编号:**1003-7969(2010)01-0019-05

## Preparation of protein from high temperature rapeseed meal

YUAN Jian, LIU Sheng, JU Xingrong, WANG Suya

(College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance &amp; Economics,

Key Laboratory of Grain &amp; Oils Quality Control and Deep - Utilizing

Technology of Jiangsu Province, Nanjing 210003, China)

**Abstract:** Protein was extracted from high temperature rapeseed meal by the combined method of enzyme method and alkali extraction. The optimum conditions were determined as follows: enzymolysis pH 7.0, temperature 50℃, ratio of material to liquid 1:20, enzyme dosage 2.5%, reaction time 3 h; aqueous alkali pH 10.0, temperature 55℃, time 2 h, ratio of material to liquid 1:12. Under the optimal conditions, the extraction rate of rapeseed protein was 71.63%. The extract was precipitated at isoelectric points of rapeseed protein (pH 4.0); and then decolorized by 70% ethanol to obtain the rapeseed protein with light - gray. The yield of rapeseed protein was 9.3%. The removal rate of tannin, phytic acid and glucosinolate was 56.65%, 62.77% and 93.66%, respectively.

**Key words:** high temperature rapeseed meal; rapeseed protein; enzyme method; alkali extraction

菜籽粕是油菜籽加工的副产品,其粗蛋白质含量约 35%~45%,蛋白质氨基酸组成接近 WHO/FAO 推荐模式,是一种营养价值较高的植物蛋白质资源。虽然我国每年生产 600 万~700 万 t 菜籽饼粕<sup>[1]</sup>,但由于油菜籽中含有硫代葡萄糖甙、植酸、单宁等抗营养因子以及压榨制油工艺的高温,影响了菜籽粕资源的利用。因此,从高温菜籽粕中提取蛋白质,不仅可降低油菜籽加工中的巨大浪费,提高相关企业的经济

效益,而且能增加优质蛋白质的供应,满足市场的需求。

目前,菜籽蛋白质多以低温菜籽粕为原料制备,而对高温菜籽粕研究甚少,其主要原因是制油工艺中不脱皮、蛋白质高温变性等,使得蛋白质提取率较低。本文以高温菜籽粕为原料,探讨淀粉酶法与碱提法结合提取菜籽蛋白质的工艺条件,以期获得较高的蛋白质提取率。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料、试剂

高温菜籽粕,购于南京隆盛油脂有限公司; $\alpha$ -淀粉酶,无锡第一酶制剂厂生产。

氢氧化钠、硼酸、硫酸钾、硫酸、盐酸、邻苯二甲酸氢钾、无水乙醇等均为分析纯试剂。

收稿日期:2009-09-17

基金项目:国家 863 项目(2007AA10Z331)

作者简介:袁建(1965),男,教授,主要从事食品质量与安全方面的研究工作(Tel) 15850510547 (E-mail) yjian\_nj@163.com。

## 1.2 主要仪器、设备

pHS-25 型 pH 计, RE-52AA 旋转蒸发器, 722N 型可见分光光度计, 501 型超级恒温器, TDL-5-A 台式离心机, ALPHAI-4LD pluo 真空冷冻干燥机(德国 Marin Christ 生产)。

## 1.3 试验方法

1.3.1 分析方法 粗蛋白质测定, GB 5009.5—2003;粗脂肪测定, GB 5009.6—2003;水分测定, GB 5009.3—2003;灰分测定, GB 5009.4—2003;粗纤维测定 GB 5009.10—2003;淀粉测定, 3,5-二硝基水杨酸法<sup>[2]</sup>;单宁测定, 钼酸铵-钨酸钠(F-D)比色法<sup>[3]</sup>;植酸测定, 钼蓝比色法<sup>[4]</sup>;硫代葡萄糖甙测定, 硫脲紫外法<sup>[5]</sup>。

1.3.2 菜籽粕中蛋白质的提取工艺 称取粉碎过 80 目筛的菜籽粕粉 10 g, 加入一定比例的去离子水, 调节 pH 至一定值, 在一定温度下保温搅拌维持 10 min 后, 加入一定量的淀粉酶反应一定时间, 反应期间滴加 1 mol/L NaOH 维持反应体系 pH 不变, 反应

完成后, 立即于 100 ℃ 灭酶 10 min, 冷却后 3 000 r/min 离心 20 min, 下层沉淀加一定量的水, 调节至碱性 pH, 保温搅拌一定时间, 3 000 r/min 离心 20 min, 合并两次上清液, 调节 pH 至等电点, 4 000 r/min 离心 20 min, 下层沉淀再加 5 倍体积 70% 乙醇, 室温浸泡 30 min, 离心, 再分别用 2 倍体积去离子水洗涤两次, 离心, 下层沉淀冷冻干燥即得菜籽蛋白质。

## 1.3.3 蛋白质提取率和得率的计算

蛋白质提取率 = 上清液中菜籽蛋白质的量 / 菜籽粕粉中蛋白质的量 × 100%

蛋白质得率 = 菜籽蛋白质制品的质量 / 菜籽粕粉的质量 × 100%

## 2 结果与分析

### 2.1 菜籽粕基本成分

本研究选用的高温菜籽粕基本成分见表 1。由表 1 可知, 高温菜籽粕含蛋白质 39.33%, 是菜籽粕主要成分; 含有单宁 2.63%、植酸 2.82% 和硫甙 2.68 mg/g。

表 1 菜籽粕基本成分及含量

粗蛋白质 / %	粗脂肪 / %	水分 / %	灰分 / %	粗纤维 / %	淀粉 / %	单宁 / %	植酸 / %	硫甙 / (mg/g)
39.33	3.04	11.43	8.86	8.39	11.24	2.63	2.82	2.68

## 2.2 淀粉酶酶解对高温菜籽粕蛋白质提取率的影响

2.2.1 pH 对酶法提取菜籽蛋白质的影响 在 50 ℃, 料液比 1:15, 时间 3 h, 加酶量 2% 的条件下, 研究不同 pH 下淀粉酶法对高温菜籽粕蛋白质提取率的影响, 结果见图 1。由图 1 可知, pH 小于 7.0 时, 菜籽蛋白质的提取率随 pH 的增大而增大, 当 pH 大于 7.0 时, 蛋白质提取率降低。在 pH 7.0 条件下, 高温菜籽粕蛋白质的提取率达 38.73%。

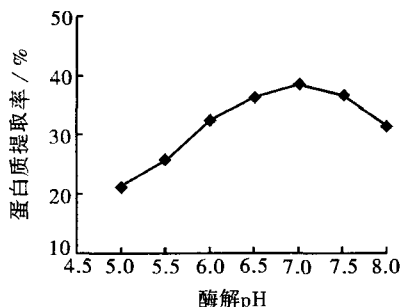


图 1 pH 对酶法提取菜籽蛋白质的影响

### 2.2.2 酶解温度对酶法提取菜籽蛋白质的影响

在 pH 7.0, 料液比 1:15, 时间 3 h, 加酶量 2% 的条件下, 研究温度对淀粉酶法提取高温菜籽粕蛋白质的影响, 结果见图 2。由图 2 可知, 50 ℃ 时菜籽蛋白质的提取率最高, 达到 38.27%, 而高于或低于该温度

时, 菜籽蛋白质的提取率均降低。

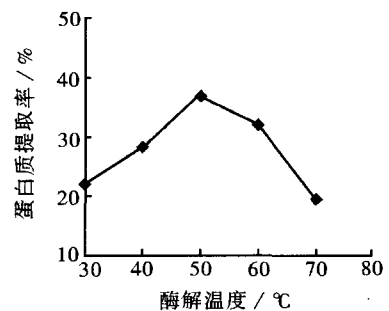


图 2 温度对酶法提取菜籽蛋白质的影响

2.2.3 料液比对酶法提取菜籽蛋白质的影响 在 50 ℃, pH 7.0, 时间 3 h, 加酶量 2% 的条件下, 研究料液比对淀粉酶法提取高温菜籽粕蛋白质的影响, 结果见图 3。

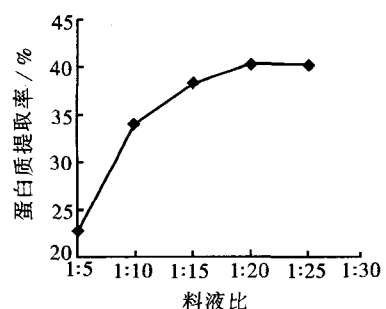


图 3 料液比对酶法提取菜籽蛋白质的影响

由图3可知,菜籽粕蛋白质的提取率随料液比增加而升高,料液比为1:20时提取率最高,达到40.34%,继续增加料液比,蛋白质提取率不再增加。料液比较小时反应体系流动性差,不利于底物与酶结合以及产物的扩散,酶解速率较低;当料液比过大时,会增大后续的处理难度,因此酶解需要合适的料液比,在后续的研究中选择料液比1:20。

2.2.4 加酶量对酶法提取菜籽蛋白质的影响 在料液比1:20, pH 7.0, 50℃, 时间3 h的条件下,研究淀粉酶添加量对高温菜籽粕蛋白质提取率的影响,结果见图4。由图4可知,随着加酶量的增加,菜籽蛋白质的提取率不断提高,加酶量达到2%之后,加酶量增加对蛋白质提取率的影响减小,从酶作用效率与生产成本考虑,在后续的研究中选择加酶量为2%左右。

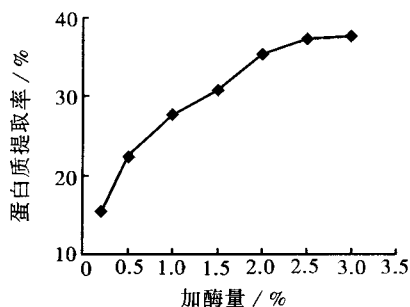


图4 加酶量对酶法提取菜籽蛋白质的影响

2.2.5 酶解时间对酶法提取菜籽蛋白质的影响 在加酶量为2%, pH 7.0, 50℃, 料液比1:20的条件下,研究淀粉酶酶解时间对高温菜籽粕蛋白质提取率的影响,结果如图5所示。由图5可知,在酶解的前4 h内,菜籽粕蛋白质的提取率随时间延长快速增加,酶解时间超过5 h后蛋白质提取率几乎不再增加。可能是在酶解初期淀粉酶活力较高且没有产物抑制作用,但随着时间的延长,酶受环境影响活力逐渐下降,而且pH 7.0时蛋白质的溶解度有限,继续延长酶解时间不能有效增加蛋白质的提取率。

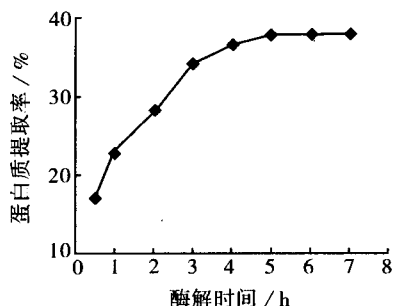


图5 酶解时间对酶法提取菜籽蛋白质的影响

2.2.6 淀粉酶法提取菜籽蛋白质条件的优化 以

蛋白质提取率为指标,在单因素试验的基础上,采用正交试验进一步优化酶解 pH(A)、酶解温度(B)、加酶量(C)和酶解时间(D)4因素对淀粉酶法提取菜籽蛋白质的影响,试验结果及极差分析见表2,方差分析见表3。

表2 正交试验结果及极差分析

试验号	A	B /℃	C /%	D /h	蛋白质提取率/%
1	1(6.5)	1(40)	1(1.5)	1(3)	33.95
2	1	2(50)	2(2.0)	2(4)	39.57
3	1	3(60)	3(2.5)	3(5)	37.63
4	2(7.0)	1	2	3	38.84
5	2	2	3	1	42.06
6	2	3	1	2	39.44
7	3(7.5)	1	3	2	37.60
8	3	2	1	3	40.33
9	3	3	2	1	38.63
$k_1$	37.05	36.80	37.91	38.21	
$k_2$	40.11	40.65	39.01	38.87	
$k_3$	38.85	38.57	39.10	38.93	
R	3.06	3.86	1.19	0.72	

表3 正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F	$F_{0.05}$	显著性
A	14.22	2	14.91	19.00	
B	22.36	2	23.44	19.00	*
C	2.65	2	2.78	19.00	
D	0.95	2	1	19.00	
误差	0.95	2			

由表2可知,酶解温度对淀粉酶法提取高温菜籽粕蛋白质的影响最为显著,其次是pH,加酶量与酶解时间的影响较小,即影响淀粉酶法提取菜籽蛋白质的主次因素顺序为:B>A>C>D。由表3可知,4个因素中只有酶解温度的影响达到显著水平。比较各因素不同水平均值可知酶法提取菜籽蛋白质的最佳条件为:A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>。但数据分析发现D<sub>1</sub>与D<sub>3</sub>的均值差异并不明显,从节约能源与时间的角度考虑,最终选择A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>组合作为淀粉酶法提取菜籽蛋白质的工艺条件,即pH 7.0、酶解温度50℃、加酶量2.5%、酶解时间3 h。验证试验表明该条件下菜籽蛋白质的提取率为41.79%。

2.3 碱提法对高温菜籽粕蛋白质提取率的影响

淀粉酶法仅能提取出高温菜籽粕中约42%的蛋白质,为了提高菜籽蛋白质的提取率,用碱提法对酶法提取后的菜籽粕进行再次提取,从而达到提高菜籽蛋白质提取率的目的。

2.3.1 pH对碱提菜籽蛋白质的影响 将酶法提取后的菜籽粕按1:10的比例分散于水中,调至不同的pH后,在50℃提取2h,结果见图6。由图6可看出,菜籽蛋白质的提取率随pH的增大而升高。由于强碱环境中精氨酸会脱氨,降低蛋白质的营养价值;并且氨基酸之间发生脱水缩合,生成赖氨酰丙氨酸等对人体有害的物质<sup>[6]</sup>。此外,碱性环境促进美拉德反应<sup>[7]</sup>,造成提取的蛋白质中色素沉积。因此,本试验选用pH 10.0碱液提取菜籽蛋白质。

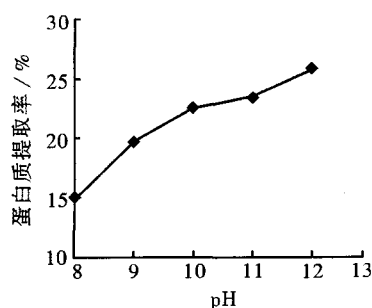


图6 pH对菜籽蛋白质提取率的影响

2.3.2 料液比对碱提菜籽蛋白质的影响 将酶法提取后的菜籽粕按不同比例分散于水中,调pH至10.0,在50℃提取2h,结果见图7。由图7可看出,菜籽蛋白质提取率随料液比的增大而增高,但增幅逐渐减缓。当料液比达到1:12时,蛋白质提取率达26%左右,之后随料液比的增加菜籽蛋白质提取率几乎不再增加。因此,以料液比1:12作为后续研究的基础。

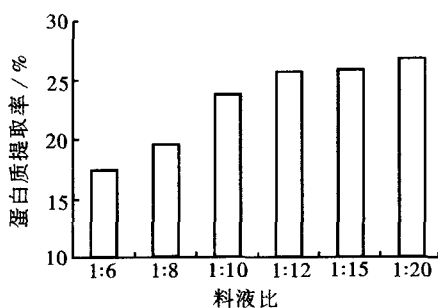


图7 料液比对菜籽蛋白质提取率的影响

2.3.3 提取时间对碱提菜籽蛋白质的影响 将酶法提取后的菜籽粕按1:12分散于水中,调pH至10.0,在50℃提取不同时间,结果见图8。由图8可知,菜籽蛋白质提取率随时间的延长而增加,提取2h时提取率为25.78%,其后随时间延长增加缓慢。因此,以碱提2h作为后续研究的基础。

2.3.4 温度对碱提菜籽蛋白质的影响 将酶法提取后的菜籽粕按1:12分散于水中,调pH至10.0,在不同温度条件下提取2h,结果见图9。由图9可

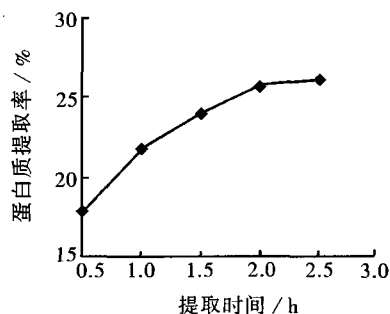


图8 提取时间对菜籽蛋白质提取率的影响

知,菜籽蛋白质的提取率随温度的升高先增加后降低,当温度达到60℃时菜籽蛋白质提取率最高,为27.85%,考虑到超过此温度蛋白质提取率会下降,而55℃时的提取率与60℃时相差不大,因此后续试验以55℃作为研究基础。

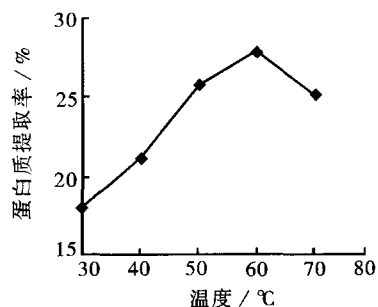


图9 温度对菜籽蛋白质提取率的影响

2.4 淀粉酶法与碱提复合法提取高温菜籽粕蛋白质的效果

以优化的淀粉酶作用条件为基础,再采用碱提法(提取条件为料液比1:12,pH 10.0,55℃碱提2h),高温菜籽粕的蛋白质提取率可达71.63%;而单纯碱提时(料液比1:20,pH 12.0,50℃提取3h,浸提2次)蛋白质提取率为46.60%,单纯淀粉酶法蛋白质提取率为41.79%。由此可见,淀粉酶法与碱提复合法能有效提高高温菜籽粕蛋白质提取率,且提取工艺中pH不高,有利于减少色素形成。复合法提取率高的原因是:油菜籽中含有的淀粉经高温蒸炒、压榨、浸提、脱溶等工序后发生了糊化、老化等一系列反应,老化的淀粉将菜籽蛋白质包裹束缚,阻碍其溶出<sup>[8]</sup>。菜籽粕中的淀粉经淀粉酶作用后分解,有利于蛋白质的溶出,提取率得到显著提高。

2.5 菜籽蛋白质的沉淀分离

选用pH 3.0~6.0对提取的蛋白质溶液进行沉淀,其沉淀率变化如图10所示。由图10可知,高温菜籽粕蛋白质的沉淀率在pH 4.0时最高。

利用等电点沉淀(pH为4.0)法获得的蛋白质经70%乙醇脱色处理后,产品颜色明显变浅,呈浅

灰色,菜籽蛋白质得率为9.3%。菜籽蛋白质成分见表4。由表4可知,抗营养因子大幅降低,单宁脱除率为56.65%,植酸脱除率为62.77%,硫甙脱除率达93.66%,其硫甙含量低于饲用4 mg/g、食用0.4 mg/g的允许要求<sup>[9]</sup>。

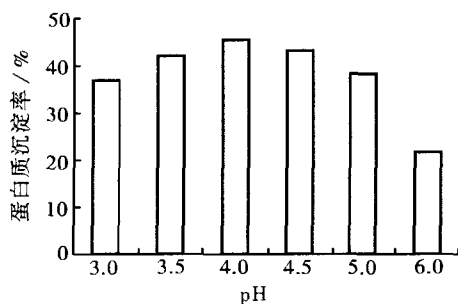


图10 pH对菜籽蛋白质沉淀率的影响

表4 菜籽蛋白质成分及含量

粗蛋白质 / %	总糖 / %	灰分 / %	水分 / %	单宁 / %	植酸 / %	硫甙 / (mg/g)
78.44	5.06	4.24	4.88	1.14	1.05	0.17

### 3 结论

(1)本试验采用淀粉酶与碱提法对高温菜籽粕蛋白质进行浸提,蛋白质提取率比单一碱提法高25%,并有效地降低了碱液的使用量,避免了浸提时溶液pH过高等问题。

(2)通过优化试验确定该工艺的最佳条件为:酶解pH 7.0,酶解温度50℃,料液比1:20,加酶量2.5%,酶解时间3h;碱提pH 10.0,碱提温度55℃,碱提时间2h,料液比1:12。在此条件下菜籽蛋白质提取率达71.63%,显著提高了高温菜籽粕中蛋白质的提取率。

(3)利用等电点沉淀法获得的蛋白质经70%乙醇脱色处理后,产品颜色明显变浅,呈浅灰色,菜籽蛋白质得率为9.3%,抗营养因子大幅降低,单宁脱除率为56.65%,植酸脱除率为62.77%,硫甙脱除率达93.66%。

(4)试验也存在一些不足之处,如提取时间过长,利用等电点沉淀蛋白质使得蛋白质得率偏低,抗营养因子脱除率不是特别理想等问题,因此提取工艺还有待做进一步的改进研究。

### 参考文献:

- [1] 刘文冰. 浅析我国油菜生产的现状与发展[J]. 中国种业, 2005(1):17.
- [2] 赵凯,徐鹏举,谷广焯. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8):534-536.
- [3] 吴谋成,张燕. 油菜籽中单宁的提取、组成及性质的研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(2):17-21.
- [4] 刘坤,高华,张东峰,等. 不同植酸测定方法的对比分析[J]. 青岛医学院学报, 1997, 33(3):191-192.
- [5] 余英,安廷士,罗朝忠. 菜籽粕中硫代葡萄糖甙测定方法的改进[J]. 中国油料, 1994, 16(2):52-54.
- [6] HAMADA J S. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization [J]. Cereal Chem, 1991, 74(5): 662-668.
- [7] WANG W, HETLIARSCHCHV N S. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47:411-416.
- [8] 颜晓霞. 米糠可溶性蛋白的提取工艺和特性研究[D]. 江苏 无锡:无锡轻工大学, 1999.
- [9] 何国菊. 菜籽饼粕综合利用研究[D]. 重庆:西南农业大学, 2004.

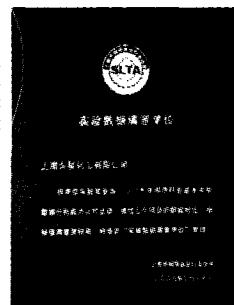
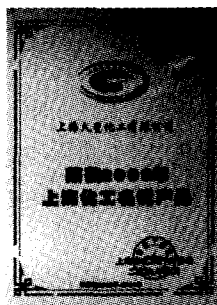
· 广告 ·



## 久星导热油 导热永长久 SOLOD 导热油系列

上海久星化工有限公司创始于20世纪90年代,是集研发、生产、销售和服务于一体的导热油和热油炉清洗剂的专业公司,生产的导热油系列及热油炉节能在线清洗剂等产品可与国际品牌媲美。

久星有鲍求培主编的17万字200页华东理工大学出版社出版的《导热油应用手册》。www.9xchem.com久星导热油网是导热油行业专业网站。公司健全各项管理制度,严格按照ISO国际质量管理体系运作。公司有一支凝聚力强、能战能胜的团队。自主创新是企业永恒地追求。近年来,公司相继开发研制成多种新型导热油新产品,顺应了市场的需求,得到市区相关领导的多次嘉奖。久星在企业成长过程中形成自己独特的激励机制,逐渐形成了自己独具特色的品牌文化,并在行业内独树一帜,在市场享有盛誉,已成为企业快速发展的强大推动力。



上海久星化工有限公司  
启东久星化工有限公司

地址: 上海茂兴路96号6楼  
电话: 021-58708588  
网址: www.9xchem.com  
热线: 4008-810-018  
电邮: bqp@9xchem.com