

## 脱脂核桃蛋白粉制备工艺优化及其氨基酸组成

高盼<sup>1,2,3</sup>, 胡博<sup>1</sup>, 王澍<sup>3,4</sup>, 杨歆萌<sup>1</sup>, 胡传荣<sup>1</sup>, 何东平<sup>1,3</sup>, 张晖<sup>5,6</sup>, 张跃进<sup>6</sup>, 王兴国<sup>1,5,6</sup>

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 大宗粮油精深加工教育部重点实验室, 武汉 430023; 3. 国家市场监督管理总局重点实验室(食用油质量与安全), 武汉 430012; 4. 武汉食品化妆品检验所, 武汉 430012; 5. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122; 6. 云南摩尔农庄生物科技开发有限公司, 云南楚雄 675000)

**摘要:**为获得最佳的制备脱脂核桃蛋白粉的原料,分别以核桃仁和核桃饼为原料,制备脱脂核桃蛋白粉,利用正交实验优化脱脂核桃蛋白粉的制备工艺条件,并测定了脱脂核桃蛋白粉的氨基酸组成。结果表明:脱脂核桃蛋白粉最佳制备工艺条件为以核桃仁为原料、料液比 1:20、超声功率 400 W、超声时间 90 min、提取次数 2 次,在最佳条件下脱脂核桃蛋白粉的脱脂率为 99.38%,蛋白质分散指数(PDI)为 14.88%;通过与 FAO/WHO 推荐氨基酸摄入组成比较发现,脱脂核桃蛋白粉能基本满足成人的需求,部分满足 2~5 岁儿童的需求。以核桃仁为原料,可以得到高脱脂率和高 PDI 的脱脂核桃蛋白粉,且脱脂核桃蛋白粉是具有较高营养价值的植物蛋白源。

**关键词:**脱脂核桃蛋白粉;核桃仁;核桃饼;氨基酸组成

中图分类号:TS229;TQ937

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2022)09-0050-05

## Optimization of preparation of defatted walnut protein powder and its amino acid composition

GAO Pan<sup>1,2,3</sup>, HU Bo<sup>1</sup>, WANG Shu<sup>3,4</sup>, YANG Xinmeng<sup>1</sup>, HU Chuanrong<sup>1</sup>, HE Dongping<sup>1,3</sup>, ZHANG Hui<sup>5,6</sup>, ZHANG Yuejin<sup>6</sup>, WANG Xingguo<sup>1,5,6</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China; 2. Key Laboratory of Bulk Grain and Oil Intensive Processing, Ministry of Education, Wuhan 430023, China; 3. Key Laboratory of Edible Oil Quality and Safety for State Market Regulation, Wuhan 430012, China; 4. Wuhan Institute for Food and Cosmetic Control, Wuhan 430012, China; 5. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 6. Yunnan MORRE GARDEN Biotechnology Development Co., Ltd., Chuxiong 675000, Yunnan, China)

**Abstract:** In order to obtain the optimal material for preparing defatted walnut protein powder, the defatted walnut protein powder was prepared using walnut kernel and walnut cake as raw materials. The preparation process of defatted walnut protein powder was optimized by orthogonal experiment, and the amino acid composition of defatted walnut protein powder was determined. The results showed that the optimal preparation conditions were obtained as follows: with walnut kernel as a raw material, solid-liquid ratio 1:20, ultrasonic power 400 W, ultrasonic time 90 min and extraction times twice. Under the optimal conditions, the defatting rate was 99.38% and the PDI of defatted walnut protein powder was 14.88%. Compared with the intake amino acid composition recommended by FAO/WHO, the defatted walnut protein powder could basically meet the needs of adults and partially meet the needs of children

aged 2-5. Using walnut kernel as a raw material, defatted walnut protein powder with high defatting rate and PDI can be obtained, and the defatted walnut protein powder is a vegetable protein source with high nutritional value.

**Key words:** defatted walnut protein powder; walnut kernel; walnut cake; amino acid composition

收稿日期:2021-12-23;修回日期:2022-04-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32001735);云南省重大科技专项计划——生物种业和农产品精深加工重大专项(202102AE090055)

作者简介:高盼(1990),女,讲师,博士,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail) gaopan925@163.com。

我国是世界上最大的核桃生产和消费国,近年来,除了直接食用核桃仁以及制备核桃油外,核桃副产品的应用也逐渐兴起,其中脱脂核桃蛋白粉的食用逐渐流行。脱脂核桃蛋白粉是指核桃蛋白含量低于60%,由核桃饼粕等原料经过喷雾干燥技术生产的速溶蛋白粉<sup>[1]</sup>。脱脂核桃蛋白粉含有18种氨基酸,其中8种必需氨基酸的含量较丰富,特别是具有良好保健功能的谷氨酸和精氨酸<sup>[2-4]</sup>。谷氨酸被证实是影响青少年智力及记忆发育的主要物质<sup>[5-7]</sup>,核桃蛋白中氨基酸组成符合FAO/WHO建议的6岁以下儿童所需的赖氨酸与精氨酸比例<sup>[8]</sup>。

核桃蛋白粉分为脱脂核桃蛋白粉和全脂核桃蛋白粉。核桃仁常用来制备全脂核桃蛋白粉,但全脂型因含油过高,货架期短,速溶性不好<sup>[9]</sup>。脱脂核桃蛋白粉主要采用冷榨核桃饼制备,核桃饼经过脱脂处理后生产的蛋白粉具有较好的流动性和溶解性。目前,未见直接采用核桃仁作为原料制备脱脂核桃蛋白粉。因此,比较核桃饼和核桃仁两种原料制备的脱脂核桃蛋白粉品质,可以为脱脂核桃蛋白粉的生产提供更加多元的原料来源。考虑到脱脂核桃蛋白粉的评价指标,即残油率更低,白度更高<sup>[10]</sup>,本文采用脱脂率作为评价其制备工艺条件的指标之一。另外,蛋白活性也是评价蛋白粉质量的标准之一。蛋白质分散指数(PDI)是样品中的可溶性蛋白质占粗蛋白质的比例,常用来考察蛋白质的变性程度,样品的PDI越高,说明其蛋白活性越好<sup>[11]</sup>。因此,本文选择脱脂率和PDI两个指标来优化脱脂核桃蛋白粉的制备工艺条件。

本文通过正交实验优化以核桃饼和核桃仁为原料制备脱脂核桃蛋白粉的工艺条件,比较不同原料制备脱脂核桃蛋白粉的脱脂率和PDI,得到最佳的制备脱脂核桃蛋白粉的原料,检测最佳条件下制备的脱脂核桃蛋白粉的氨基酸组成,以为优质脱脂核桃蛋白粉的生产提供指导依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

核桃、核桃饼,由湖北圭萃园农林股份有限公司提供。核桃仁,由核桃剥壳得到。

正己烷、盐酸、氢氧化钠、硼酸溶液、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、95%乙醇溶液、乙醚,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

K984自动凯氏定氮仪;八孔消化炉;KQ-AS5000DE型数控超声波清洗器;FZ102型微型植物粉碎机;通用实验室pH计;101-1-S数显鼓风干

燥箱;DZF-6021真空干燥箱;SZ-93自动双重纯水蒸馏器;Waters 2695高效液相色谱仪(配紫外检测器),沃特世科技(上海)有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 脱脂核桃蛋白粉的制备

将核桃饼/核桃仁粉碎,过0.25 mm(60目)筛,称取15 g核桃饼粉/核桃仁粉,滤纸包裹后置于正己烷中,放入超声波清洗器超声处理一段时间,然后旋转蒸发,去除残余正己烷,冷冻干燥,得到脱脂核桃饼/脱脂核桃仁,粉碎过0.15 mm(100目)筛,得脱脂核桃蛋白粉。

#### 1.2.2 基本指标的测定

水分含量的测定,参照GB 5009.3—2016;蛋白质含量的测定,参照GB 5009.5—2016;粗脂肪含量的测定,参照GB 5009.6—2016;灰分含量的测定,参照GB 5009.4—2016。

#### 1.2.3 脱脂率与蛋白质分散指数(PDI)的测定

脱脂率为原料中的粗脂肪质量与脱脂核桃蛋白粉的粗脂肪质量的差值占原料中粗脂肪质量的比例。

PDI的测定:取脱脂核桃蛋白粉样品,以料液比1:10分散于蒸馏水中,充分搅拌30 min,将溶解液在3 000 r/min下离心10 min,取上清液测定蛋白质含量。PDI为上清液中蛋白质含量占脱脂核桃蛋白粉中蛋白质含量的比例。

#### 1.2.4 高效液相色谱法测定核桃蛋白氨基酸组成

HPLC条件:Luna C18色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 3 μm);流动相为0.2 mol/L pH 3.0柠檬酸钠溶液-0.2 mol/L pH 9.8硼酸钠溶液(体积比1:1),流速0.4 mL/min;进样量20 μL;柱温37℃;荧光检测器激发波长338 nm,发射波长420 nm。

#### 1.2.5 数据处理

采用Excel 2016统计分析和Design-Expert 8.0.6软件进行数据处理、分析、作图,所有实验数据取3次测定平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同核桃原料的基本组成成分

对核桃饼、核桃仁及其脱脂组分的基本组成成分进行测定,结果见表1。

表1 不同核桃原料的主要成分 %

样品	水分	粗蛋白质(N × 6.25)	粗脂肪	灰分
核桃饼	7.29	31.99	19.15	6.19
脱脂核桃饼	9.35	44.74	1.04	4.41
核桃仁	5.78	30.88	52.36	4.39
脱脂核桃仁	7.16	40.80	0.62	2.73

由表1可知,脱脂会使两种原料的水分含量略

微升高而灰分含量略微下降,而灰分和水分的加和总体基本不变。脱脂能大幅度提高粗蛋白质含量,核桃饼和核桃仁脱脂后粗蛋白质含量分别上升了12.75个百分点和9.92个百分点,同时,两种原料的脱脂效率极佳,粗脂肪含量基本降低到1.0%以下。此时,这两种原料是较好的提取分离蛋白的原料。

## 2.2 核桃饼/核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的正交实验优化

在前期单因素实验基础上,选择料液比(A)、超声功率(B)、超声时间(C)和提取次数(D)为因素,以脱脂率和PDI为指标,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交实验优化核桃饼/核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的工艺条件。正交实验设计及结果见表2。

表2 核桃饼/核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	空列	核桃饼		核桃仁	
						脱脂率/%	PDI/%	脱脂率/%	PDI/%
1	1(1:10)	1(300 W)	1(90 min)	1(1)	1	98.90	10.13	98.99	10.24
2	1	2(350 W)	2(120 min)	2(2)	2	98.71	11.36	98.51	11.45
3	1	3(400 W)	3(150 min)	3(3)	3	98.70	11.48	98.70	12.05
4	1	4(450 W)	4(180 min)	4(4)	4	98.67	10.95	98.58	10.16
5	2(1:15)	1	2	3	4	98.98	11.07	99.24	11.33
6	2	2	1	4	3	98.88	10.95	98.84	11.66
7	2	3	4	1	2	98.79	12.92	99.12	10.85
8	2	4	3	2	1	98.95	10.36	99.13	12.20
9	3(1:20)	1	3	4	2	99.03	11.77	99.29	14.26
10	3	2	4	3	1	99.17	13.06	99.35	12.43
11	3	3	1	2	4	99.28	12.76	99.38	14.88
12	3	4	2	1	3	99.17	13.68	99.47	13.58
13	4(1:25)	1	4	2	3	99.08	12.27	99.03	11.92
14	4	2	3	1	4	98.35	13.48	99.15	12.35
15	4	3	2	4	1	99.12	13.01	99.23	13.73
16	4	4	1	3	2	98.56	10.73	99.36	11.36
核桃饼脱脂率									
$k_1$	98.75	99.00	98.91	98.80	99.04				
$k_2$	98.90	98.78	99.00	99.01	98.77				
$k_3$	99.16	98.97	98.76	98.85	98.96				
$k_4$	98.78	98.84	98.93	98.93	98.82				
$R$	0.41	0.22	0.24	0.21	0.27				
PDI									
$k_1$	10.98	11.31	11.14	12.55	11.64				
$k_2$	11.33	12.21	12.28	11.69	11.70				
$k_3$	12.82	12.54	11.77	11.59	12.10				
$k_4$	12.37	11.43	12.30	11.67	12.07				
$R$	1.84	1.23	1.16	0.96	0.46				
核桃仁脱脂率									
$k_1$	98.70	99.14	99.14	99.18	99.18				
$k_2$	99.08	98.96	99.11	99.01	99.07				
$k_3$	99.37	99.11	99.07	99.16	99.01				
$k_4$	99.19	99.14	99.02	98.99	99.09				
$R$	0.67	0.18	0.12	0.19	0.17				
PDI									
$k_1$	10.98	11.94	12.04	11.76	12.15				
$k_2$	11.51	11.97	12.52	12.61	11.98				
$k_3$	13.79	12.88	12.72	11.79	12.30				
$k_4$	12.34	11.83	11.34	12.45	12.18				
$R$	2.81	1.05	1.38	0.85	0.32				

### 2.2.1 核桃饼制备脱脂核桃蛋白粉最优工艺条件的确定

由表2可知,以核桃饼为原料时,对脱脂率影响的因素主次顺序为A>C>B>D,即料液比>超声时间>超声功率>提取次数,其最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即料液比1:20、超声功率300 W、超声时间120 min、提取次数2次。通过3次平行验证实验,最佳组合条件下平均脱脂率为99.24%,与A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>的实验结果相当。综合考虑,选择A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>为核桃饼制备脱脂核桃蛋白粉的最优方案,此时脱脂率高达99.28%。

以核桃饼为原料时,对PDI影响的因素主次顺序为A>B>C>D,即料液比>超声功率>超声时间>提取次数,其最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>4</sub>D<sub>1</sub>,即料液比1:20、超声功率400 W、超声时间180 min、提取次数1次。通过3次平行验证实验,最佳组合条件下平均PDI为13.59%,与A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>的实验结果相当。综合考虑,选择A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>为核桃饼制备脱脂核桃蛋白粉的最优方案,此时脱脂核桃蛋白粉的PDI高达13.68%。

综上,料液比对核桃饼制备脱脂核桃蛋白粉的脱脂率和PDI影响都最为重要,而提取次数的影响均最弱。脱脂率及PDI两个指标的最优料液比一致,均为1:20。对比脱脂率和PDI的结果发现,当选择PDI最优的实验条件(A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>)时,脱脂率达到99.17%,残油率低于1.0%,效果较好。因此,选择A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>,即料液比1:20、超声功率450 W、超声时间120 min、提取次数1次作为核桃饼制备脱脂核桃蛋白粉的最佳工艺条件。

### 2.2.2 核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉最优工艺条件的确定

由表2可知,以核桃仁为原料时,影响脱脂率的因素主次顺序是A>D>B>C,即料液比>提取次数>超声功率>超声时间,其最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即料液比1:20、超声功率300 W、超声时间90 min、提取次数1次。通过3次平行验证实验,最佳组合条件下平均脱脂率为99.44%,与A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>的实验结果相当。综合考虑,选择A<sub>3</sub>B<sub>4</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>为核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的最优方案,此时脱脂率高达99.47%。

以核桃仁为原料时,影响PDI的因素主次顺序是A>C>B>D,即料液比>超声时间>超声功率>提取次数,其最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即料液比1:20、超声功率400 W、超声时间150 min、提取次数2次。通过3次平行验证实验,最佳组合条件下平

均PDI为14.67%,与A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>的实验结果相当。综合考虑,选择A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>为核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的最优方案,此时脱脂核桃蛋白粉PDI高达14.88%。

与核桃饼为原料的结果相似,料液比对于核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的脱脂率和PDI影响都最重要,且脱脂率及PDI两个指标的最优料液比一致,均为1:20。对比脱脂率和PDI的结果发现,当选择PDI最优的实验条件时,脱脂率达到99.38%,脱脂效果较好。因此,选择A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>,即料液比1:20、超声功率400 W、超声时间90 min、提取次数2次作为核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的最佳工艺条件。

在各自最佳工艺条件下,以核桃仁为原料时,脱脂率和PDI均高于以核桃饼为原料的,由核桃仁制备的脱脂核桃蛋白粉残油率达到低于1.0%的要求,符合行业内公认的优质脱脂核桃蛋白粉的要求。因此,以核桃仁为原料,采用料液比1:20、超声功率400 W、超声时间90 min、提取次数2次制备脱脂核桃蛋白粉,可以得到高脱脂率、高PDI的优质脱脂核桃蛋白粉。

### 2.3 核桃仁制备脱脂核桃蛋白粉的氨基酸组成

以核桃仁为原料,在最佳条件下制备的脱脂核桃蛋白粉的氨基酸组成测定结果如表3所示。

表3 核桃仁和脱脂核桃蛋白粉的氨基酸

氨基酸	组成及含量		g/100 g	
	核桃仁	脱脂核桃蛋白粉	FAO/WHO 推荐指标 2~5岁	成人
天冬氨酸	4.35	10.17	-	-
谷氨酸	10.90	22.28	-	-
丝氨酸	2.15	5.70	-	-
组氨酸	1.50	2.48	1.9	1.9
甘氨酸	2.50	5.58	-	-
苏氨酸	2.35	3.79	3.4	0.9
精氨酸	6.50	14.80	-	-
丙氨酸	2.60	4.69	-	-
酪氨酸	1.80	2.80	-	-
胱氨酸	0.64	0.72	-	-
缬氨酸	3.10	4.23	3.5	1.3
蛋氨酸	0.64	1.16	2.5	1.7
苯丙氨酸	3.20	4.89	6.3	1.9
异亮氨酸	1.80	3.18	2.8	1.3
亮氨酸	3.70	7.20	6.6	1.9
赖氨酸	1.70	2.53	5.8	1.6
脯氨酸	2.90	4.25	-	-

注:FAO/WHO 推荐指标引自文献[12]

由表3可知,脱脂核桃蛋白粉的氨基酸含量均高于核桃仁的,更符合FAO/WHO推荐的氨基酸摄

入组成,说明将核桃仁制备成脱脂核桃蛋白粉产品的必要性。本实验测定的脱脂核桃蛋白粉氨基酸种类与豁银强<sup>[10]</sup>、Li<sup>[13]</sup>等的研究结果接近,虽然检测的氨基酸种类略少于他们的,但其中蛋氨酸、苏氨酸、组氨酸等氨基酸含量高于他们的。脱脂核桃蛋白粉基本满足成人氨基酸的需求标准,除赖氨酸、蛋氨酸和苯丙氨酸外,脱脂核桃蛋白粉也满足2~5岁儿童的推荐需求,证明脱脂核桃蛋白粉产品是具有较高营养价值的植物蛋白源。

### 3 结论

本研究比较了不同原料制备脱脂核桃蛋白粉产品,通过正交实验优化了制备工艺条件。结果表明:制备脱脂核桃蛋白粉的最佳工艺条件为以核桃仁为原料、料液比1:20、超声功率400 W、超声时间90 min、提取次数2次,在最佳条件下,脱脂核桃蛋白粉的脱脂率为99.38%,蛋白质分散指数为14.88%。通过检测脱脂核桃蛋白粉氨基酸组成,并和FAO/WHO推荐量比较发现,脱脂核桃蛋白粉是一种优质的适合成人使用的植物蛋白源。同时,应进一步优化工艺或核桃仁原料来源,探索提高脱脂核桃蛋白粉中赖氨酸、蛋氨酸和苯丙氨酸的含量,使其能满足儿童对氨基酸需求的可行性,以扩大脱脂核桃蛋白粉的应用领域。

### 参考文献:

- [1] 冯贞,方晓璞.核桃加工副产物综合利用途径[J].中国油脂,2018,43(9):71-74,87.  
 [2] 史双枝,李疆,王新刚.核桃蛋白质的开发现状及前景[J].安徽农学通报,2008,14(7):93-94.  
 [3] 毛晓英,吴庆智,田洪磊,等.核桃仁抗氧化作用研究

- 进展[J].中国油脂,2017,42(8):82-85.  
 [4] 沈敏江,刘红芝,刘丽,等.核桃蛋白质的组成、制备及功能特性研究进展[J].中国粮油学报,2014,29(1):123-128.  
 [5] PEREIRA J A, OLIVEIRA I, SOUSA A, et al. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(6):2103-2111.  
 [6] POULOSE S M, BIELINSKI D F, SHUKITT-HALE B. Walnut diet reduces accumulation of polyubiquitinated proteins and inflammation in the brain of aged rats [J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(5):912-919.  
 [7] 王丰俊,杨朝晖,马磊,等.响应面法优化核桃蛋白提取工艺研究[J].中国油脂,2011,36(3):33-37.  
 [8] 苏彦苹,赵爽,齐国辉,等.26份新疆核桃种仁蛋白质与氨基酸相关性分析[J].中国油脂,2020,45(6):110-114.  
 [9] 李笑笑.核桃内种皮多酚的提取及核桃油与核桃蛋白粉的稳定性研究[D].江苏无锡:江南大学,2017.  
 [10] 豁银强,刘传菊,聂荣祖,等.核桃蛋白的组成、制备及特性研究进展[J].中国粮油学报,2020,35(12):191-197.  
 [11] 沈蓓英,唐年初,潘秋琴,等.影响蛋白质PDI和NSI因素[J].中国油脂,1997,22(3):9-11.  
 [12] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量(2013版)[M].北京:科学出版社,2014.  
 [13] LI X, GUO M, CHI J, et al. Bioactive peptides from walnut residue protein [J/OL]. Molecules, 2020, 25(6):1285 [2021-12-01]. <https://doi.org/10.3390/molecules25061285>.

·公益广告·



节能减排 提质增效  
 油脂加工 精准适度

《中国油脂》宣