

不同提取方法对菜籽蛋白和亚麻籽蛋白 品质特性的影响

冶梓芬, 王进英, 马桂兰, 马金鸽, 李 瑾, 才拉毛

(青海大学 农牧学院, 西宁 810016)

摘要:旨在为菜籽蛋白和亚麻籽蛋白后续实际生产及加工应用提供参考依据,以菜籽饼和亚麻籽饼为原料,采用碱溶酸沉、乙醇浸提、酶解和盐析4种方法提取菜籽蛋白和亚麻籽蛋白,探讨了不同提取方法对菜籽蛋白和亚麻籽蛋白理化特性、结构特性及功能特性的影响。结果表明:乙醇浸提法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白提取率最高,分别为47.01%和48.19%,酶解法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的纯度最高,分别为89.30%和83.20%;4种方法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白等电点均为4.4;不同提取方法对蛋白质的结构有不同程度的影响;盐析法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的功能特性更佳,提取的两种蛋白的溶解度分别为68.19%和64.90%,持水性分别为58.00%和40.33%,持油性分别为57.00%和35.83%,起泡性分别为91.67%和89.29%,乳化性分别为71.38 m²/g和32.75 m²/g,乳化稳定性分别为65.33%和65.37%。综上,盐析法是一种适合工业化生产优质菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的提取方法。

关键词:菜籽蛋白;亚麻籽蛋白;碱溶酸沉法;乙醇浸提法;酶解法;盐析法

中图分类号:TS229;TS209

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2024)11-0130-08

Effect of different extraction methods on the quality characteristics of rapeseed protein and flaxseed protein

YE Ziqin, WANG Jinying, MA Guilan, MA Jinge, LI Jin, CAI Lamao

(College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract: Aiming to provide a reference basis for the subsequent practical production and processing application of rapeseed protein and flaxseed protein, using rapeseed cake and flaxseed cake as raw materials, rapeseed protein and flaxseed protein were extracted by four methods, namely alkali-soluble acid precipitation, ethanol extraction, enzymatic hydrolysis and salting-out, and the effects of different extraction methods on the physicochemical, structural and functional properties of rapeseed protein and flaxseed protein were explored. The results showed that the extraction rate of rapeseed protein and flaxseed protein extracted by ethanol extraction was the highest, 47.01% and 48.19%, respectively; the purity of rapeseed protein and flaxseed protein extracted by enzyme hydrolysis was the highest, 89.30% and 83.20%, respectively; the isoelectric point of rapeseed protein and flaxseed protein extracted by the four methods was 4.4; different extraction methods had different degrees of influence on the structure of the proteins. Rapeseed protein and flaxseed protein extracted by salting-out method had better functional

收稿日期:2023-12-16;修回日期:2024-05-19

基金项目:青海省基础研究计划项目(2023-ZJ-757)

作者简介:冶梓芬(1999),女,硕士研究生,研究方向为植物油品质保持及副产物综合利用(E-mail)1649338587@qq.com。

通信作者:王进英,副教授(E-mail)wangjinying0128@126.com。

properties, and the solubility of the two proteins extracted by salting-out method was 68.19% and 64.90%, water holding capacity was 58.00% and 40.33%, oil holding capacity was 57.00% and 35.83%, foaming capacity was 91.67% and 89.29%, emulsifying capacity was 71.38 m²/g and 32.75 m²/g, and emulsion stability was

65.33% and 65.37%, respectively. In conclusion, salting-out method is an extraction method suitable for industrial production of high quality rapeseed protein and flaxseed protein.

Key words: rapeseed protein; flaxseed protein; alkali-soluble acid precipitation; ethanol extraction; enzymatic hydrolysis; salting-out method

油菜籽和亚麻籽是我国重要的油料,其饼粕是植物油加工的副产物,具有较高的研究价值。例如:菜籽饼粕和亚麻籽饼粕均富含蛋白质,其中菜籽饼粕中蛋白质含量为35%~45%^[1],亚麻籽饼粕中蛋白质含量为32%~49%^[2]。菜籽蛋白是一种全价蛋白,含有丰富的碱性氨基酸和含硫氨基酸,氨基酸组成与WHO/FAO推荐的氨基酸组成模式相近,营养价值较高^[3]。亚麻籽蛋白的氨基酸模式与大豆分离蛋白相似,富含多种人体必需氨基酸,同时亚麻籽蛋白中必需氨基酸在总氨基酸含量中占比大于36%,具有良好的乳化性、持水性和起泡性等^[4]。但目前菜籽饼和亚麻籽饼主要被用作动物饲料等低价值产品,造成了较大的资源浪费。因此,有效利用菜籽饼粕和亚麻籽饼粕中的蛋白质资源具有重要意义。

油菜籽、亚麻籽等油料蛋白常见的提取方法有碱溶酸沉法、乙醇浸提法、酶解法、盐析法等,其中碱溶酸沉法应用最为广泛^[5]。蛋白质的提取率及蛋白品质特性受提取方法的影响,Karaca等^[6]研究发现,与盐析法相比,碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白具有更低的溶解度和表面疏水性,而盐析法提取的亚麻籽蛋白具有更好的乳化性及其他加工特性;Tirgar等^[7]采用碱溶酸沉法、酶解法和酶辅助溶剂法提取亚麻籽蛋白,结果表明,碱溶酸沉法提取率较低,但其具有最高的乳化性能。目前关于菜籽饼和亚麻籽饼中蛋白的研究较少,有关不同提取方法对蛋白品质特性影响的研究报道更少。因此,本文采用碱溶酸沉法、乙醇浸提法、酶解法和盐析法分别从菜籽饼和亚麻籽饼中提取蛋白,并从理化特性、结构特性和功能特性3方面对所提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白进行对比分析,明确不同提取方法对菜籽蛋白和亚麻籽蛋白品质特性的影响,以期为菜籽蛋白和亚麻籽蛋白资源的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

油菜籽和亚麻籽,产自青海省海东市互助县;氢氧化钠,优级纯;硼酸、盐酸、硫酸、硫酸铵、蔗糖、五水硫酸铜、硫酸钾、石油醚、丙酮均为分析纯; α -淀粉酶(15 000 U/mg),北京索莱宝科技有限公司;纤

维素酶(15 000 U/mg),上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

XZ-YZ200 液压榨油机,广州旭众食品机械有限公司;索氏抽提器;KQ-800D 型台式医用数控超声波清洗器;CS55-9 冷冻干燥机;RF-530 荧光分光光度仪;UV-1780 紫外可见分光光度计;Nicolet-6700 傅里叶红外光谱仪,岛津仪器有限公司;JSM-6610LV 电镜扫描仪,日本 Hitachi 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菜籽饼及亚麻籽饼的制备

油菜籽和亚麻籽除杂后,采用液压压榨法在70℃下压榨得到菜籽油和亚麻籽油,收集菜籽饼和亚麻籽饼并将其粉碎、脱脂(索氏抽提法)后备用。

1.2.2 菜籽蛋白、亚麻籽蛋白的提取

碱溶酸沉法:分别称取8 g 脱脂菜籽饼和亚麻籽饼,按料液比1:30与蒸馏水混合均匀后,用0.1 mol/L NaOH 溶液调节pH至9.5,50℃水浴1 h后离心取上清液,加入0.1 mol/L HCl 溶液调节pH至4.5,8 000 r/min 离心10 min后收集沉淀,真空冷冻干燥12 h获得样品蛋白。

酶解法:分别称取8 g 脱脂菜籽饼和亚麻籽饼,按料液比1:30与蒸馏水混合均匀后,加入0.24 g 纤维素酶和0.32 g α -淀粉酶,调节pH至6.0,在50℃下酶解4 h后,92℃灭酶10 min,8 000 r/min 离心10 min后取上清液浓缩,真空冷冻干燥12 h获得样品蛋白。

乙醇浸提法:分别称取8 g 脱脂菜籽饼和亚麻籽饼,按料液比1:8加入体积分数为70%的乙醇溶液,混合均匀,置于恒温振荡箱中,在50℃下振荡75 min后,在-0.6 kPa 真空度下抽滤,滤渣浸提2次后真空冷冻干燥12 h获得样品蛋白。

盐析法:分别称取8 g 脱脂菜籽饼和亚麻籽饼,按料液比1:20加入0.17 mol/L NaCl 溶液混合均匀后,用0.1 mol/L NaOH 调节pH至9.5,在50℃水浴60 min,8 000 r/min 离心10 min,取其上清液透析48 h后浓缩,真空冷冻干燥12 h获得样品蛋白。

1.2.3 蛋白提取率及纯度测定

提取率测定:参照GB 5009.5—2016采用分光

光度法测定蛋白质含量。按公式(1)计算蛋白提取率(X)。

$$X = m_1/m \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为样品蛋白中的蛋白质质量, g; m 为原料脱脂饼中的蛋白质质量, g。

蛋白纯度测定:将样品蛋白制成 0.1 mg/mL 的蛋白溶液,在 400 W、45 °C 条件下超声 40 min, 8 000 r/min 离心 5 min,取 2 mL 上清液于 10 mL 离心管中,避光加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,反应 5 min 后在 595 nm 处测吸光值,代入以牛血清白蛋白为标准确定的标准曲线方程($y = 8.935 0x + 0.572 3, R^2 = 0.999 3$, 式中: x 为吸光值, y 为蛋白质含量)中计算得到蛋白质含量。按公式(2)计算蛋白纯度(Y)。

$$Y = c/c_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: c 为上清液中蛋白质含量, mg/mL; c_0 为蛋白溶液质量浓度, mg/mL。

1.2.4 样品蛋白理化特性的测定

1.2.4.1 等电点

分别将样品蛋白用 pH 为 10 的 NaOH 溶液以 1:30 的料液比溶解,依次调节混合物 pH 为 3.6、4.0、4.4、4.8、5.2, 8 000 r/min 离心 10 min 后吸取 1 mL 上清液于 10 mL 离心管中,按 1.2.3 方法测定 595 nm 处不同 pH 下蛋白溶液的吸光值,以最小吸光值所对应的 pH 为蛋白等电点。

1.2.4.2 表面疏水性

分别称取 10 mg 样品蛋白溶于磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4),制备质量浓度分别为 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/mL 的样品蛋白溶液。取 20.0 μ L 1.0 mmol/L 8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS)溶液与 5.0 mL 蛋白溶液混合均匀,避光反应 2 min 后迅速采用荧光分光光度计测定其荧光强度,激发波长和发射波长分别为 280 nm 和 340 nm,以样品蛋白质量浓度为横坐标,荧光强度为纵坐标作图,并拟合得回归线性方程,方程直线斜率即为样品蛋白表面疏水性。

1.2.5 蛋白质结构表征

1.2.5.1 二级结构

分别称取 10 mg 样品蛋白,按 1:100 加入 KBr 进行研磨,混合均匀后压片器压片,于傅里叶红外光谱仪中做全波段(400 ~ 4 000 cm^{-1})扫描,扫描条件:分辨率 4 cm^{-1} ,精度 0.01 cm^{-1} ,扫描次数 128 次。

1.2.5.2 三级结构

内源荧光光谱法:称取 150 mg 样品蛋白,用磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.0)配制 3 mg/mL 蛋白溶液,水析膜过滤除杂,使用 5 nm 狭缝在激发波

长 295 nm 下记录 300 ~ 500 nm 发射光谱。

紫外光谱法:采用紫外分光光度计测定上述已除杂的蛋白溶液的吸光度,样品扫描波长范围为 220 ~ 340 nm。

1.2.5.3 微观结构

分别称取 10 mg 样品蛋白,用棉签蘸取蛋白样品,将其固定在载玻片上,喷金后于真空环境下采用电镜扫描仪对其微观结构进行扫描观察(放大 1 000 倍)。

1.2.6 样品蛋白功能特性测定

1.2.6.1 溶解度

分别配制 10 mg/mL 的样品蛋白溶液, 8 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液,按照 1.2.3 中考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白质质量(m)和样品中总蛋白质质量(m_0),按公式(3)计算溶解度(S)。

$$S = m/m_0 \times 100\% \quad (3)$$

1.2.6.2 持水性和持油性

称取一定质量的样品蛋白(m_0)于 10 mL 已恒重的离心管中,称量样品蛋白与离心管的质量(m_1)。向离心管中加入 10 mL 蒸馏水/大豆油,室温静置 30 min, 8 000 r/min 离心 10 min 后,将上清液的水/油去除后称量沉淀和离心管的总质量(m_2)。按公式(4)计算样品蛋白的持水性(C_w)/持油性(C_o)。

$$C_w/C_o = (m_2 - m_1)/m_0 \times 100\% \quad (4)$$

1.2.6.3 起泡性和泡沫稳定性

分别取 15 mL 1 mg/mL 蛋白溶液于烧杯中(溶液高度 L), 12 000 r/min 均质 2 min,迅速测量起泡层高度(L_0),静置 30 min 后,测量泡沫高度(L_{30})。分别按公式(5)和公式(6)计算起泡性(F_c)及泡沫稳定性(F_s)。

$$F_c = L_0/L \times 100\% \quad (5)$$

$$F_s = L_{30}/L \times 100\% \quad (6)$$

1.2.6.4 乳化性及乳化稳定性

分别取 20 mL 1 mg/mL 蛋白溶液与 60 mL 大豆油混合, 7 000 r/min 均质 2 min。从底部移取 100 μ L 溶液与 50 mL 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液(pH 7.0, 0.1%)混合,使用紫外分光光度计在 500 nm 波长下测定吸光值(A_0),静置 20 min 后,再次测定吸光值(A_{20}),分别按公式(7)和公式(8)计算乳化性(I_{EA})和乳化稳定性(I_{ES})。

$$I_{EA} = \frac{2 \times 2.303}{C \times 0.75 \times 10^4} \times A_0 \times 50 \quad (7)$$

$$I_{ES} = A_{20}/A_0 \times 100\% \quad (8)$$

式中: C 为蛋白溶液的质量浓度, mg/mL。

1.2.7 数据处理及分析

所有数据平行测定3次,结果取平均值,采用SPSS 26.0、Nicolet Omnic和Peak Fit 4.12软件对数据进行统计分析,Origin 2023作图。

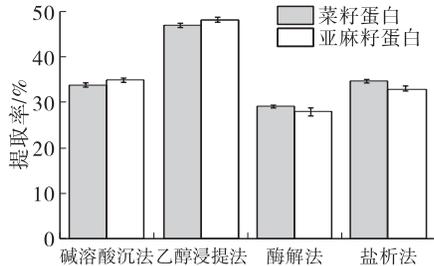


图1 不同提取方法的蛋白提取率及纯度

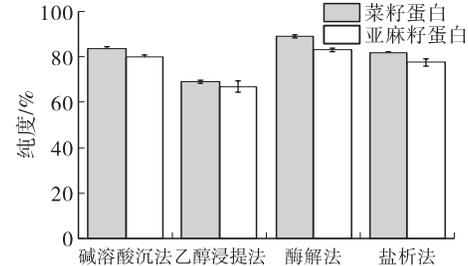
Fig.1 Extraction rate and purity of proteins extracted by different methods

由图1可知,乙醇浸提法提取菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的提取率最高,分别为47.01%和48.19%,碱溶酸沉法和盐析法次之,酶解法提取率最低,仅为29.16%和28.01%。酶解法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的纯度最高,分别为89.30%和83.20%,乙醇浸提法所得蛋白纯度最低,分别为68.97%和66.93%。上述结果归因于不同提取方法对脱脂饼

2 结果与分析

2.1 不同提取方法对蛋白提取率及纯度的影响

不同提取方法的蛋白提取率及纯度如图1所示。



中其他非蛋白质成分(油脂、多糖和酚类化合物等)的去除效果不同,而这些成分会影响蛋白质的溶解度和稳定性^[8]。

2.2 不同提取方法对样品蛋白理化特性的影响

2.2.1 等电点

不同方法提取的蛋白的等电点如图2所示。

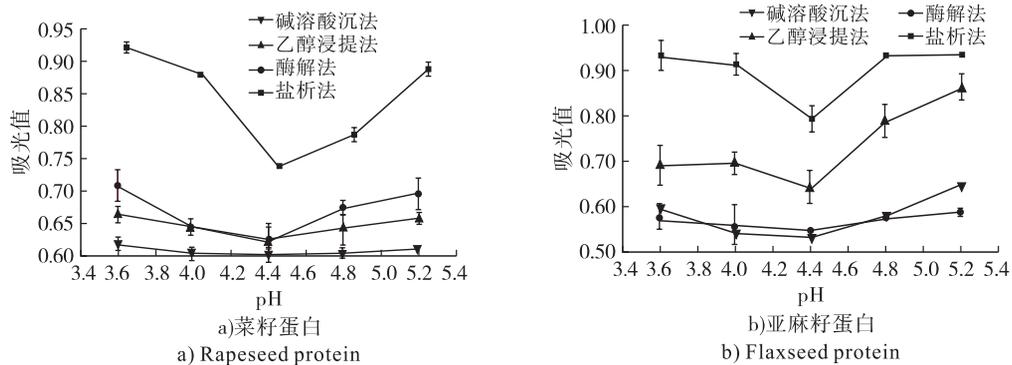


图2 不同方法提取的蛋白等电点

Fig.2 Isoelectric point of proteins extracted by different methods

由图2可知,两种样品蛋白的上清液中蛋白质含量均随pH的增大呈先下降后上升的趋势,当pH为4.4时,上清液中的吸光值均最低,表明此时菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的溶解度最低,因此4种提取方法所得菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的等电点均为4.4。翟晓娜^[9]、施树^[10]等分别利用碱溶酸沉法提取菜籽蛋白和亚麻籽蛋白,测得其等电点均为4.4;吴兴雨等^[2]采用双酶复合法提取亚麻籽蛋白,测得其等电点也为4.4;均与本研究结果一致。因此,不同提取方法对菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的等电点几乎不产生影响。

2.2.2 表面疏水性

不同方法提取的蛋白表面疏水性如图3所示。

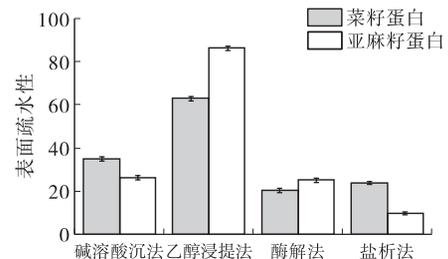


图3 不同方法提取的蛋白表面疏水性

Fig.3 Surface hydrophobicity of proteins extracted by different methods

由图3可知,乙醇浸提法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白表面疏水性分别为62.93和86.10,显著高于其他3种提取方法。蛋白表面疏水性主要取决于暴露在蛋白质分子表面的疏水性残基^[11],产生这

一结果的原因可能在于高浓度乙醇浸提过程中蛋白质分子结构发生变化,增加了游离巯基的数量,使得蛋白质分子的折叠程度降低,此时有较多的疏水性残基暴露在蛋白质分子表面,使得表面疏水性增加。

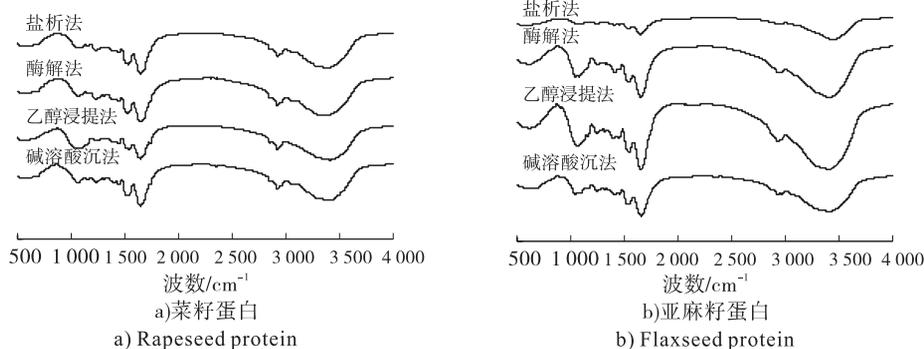


图4 不同方法提取的蛋白傅里叶红外光谱图

Fig. 4 Fourier infrared spectra of proteins extracted by different methods

由图4可知,与碱溶酸沉法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白相比,乙醇浸提法、酶解法和盐析法提取的蛋白波形均发生了红移,但每种方法红移的程度不同。乙醇浸提法红移的程度最小,酶解法次之,盐析法红移了约 10 cm^{-1} ,红移程度最大。可见,不同提取方法在提取过程中蛋白质二级结构受到了不同程度的影响,降低了结构的稳定性,原本的结构开始逐渐聚合。当氢键作用较强时, $\text{C}=\text{O}$ 的电子云密度逐渐降低,导致吸收峰向低波数方向红移^[8]。

2.3 不同提取方法对蛋白质结构的影响

2.3.1 二级结构

不同方法提取的蛋白傅里叶红外光谱图如图4所示。

由于酰胺I带吸收光谱($1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$)的改变是由蛋白质连接 $\text{C}=\text{O}$ 的拉伸振动所引起的,因此酰胺I带常被用于分析蛋白质二级结构含量的变化^[12]。采用Sadat等^[13]的分析方法,以 $1600\sim 1639\text{ cm}^{-1}$ 为 β -折叠, $1640\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ 为无规卷曲, $1651\sim 1660\text{ cm}^{-1}$ 为 α -螺旋, $1661\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 为 β -转角作为定量指标来分析蛋白质的二级结构。不同方法提取的蛋白的二级结构含量如表1所示。

表1 不同方法提取的蛋白的二级结构含量

Table 1 Secondary structure content of proteins extracted by different methods

提取方法	菜籽蛋白				亚麻籽蛋白				%
	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规卷曲	
碱溶酸沉法	11.83	29.72	33.99	24.46	12.06	30.39	33.90	23.65	
乙醇浸提法	11.84	30.11	34.40	23.65	11.48	29.60	35.27	23.65	
酶解法	11.17	30.84	35.71	22.28	11.38	29.37	36.10	23.15	
盐析法	12.03	30.91	33.82	23.24	10.96	35.47	28.75	24.82	

由表1可知,碱溶酸沉、乙醇浸提、酶解和盐析4种方法提取的菜籽蛋白中 α -螺旋与 β -折叠含量之和分别为41.55%、41.95%、42.01%和42.94%,亚麻籽蛋白中分别为42.45%、41.08%、40.75%和46.43%。可见,不同提取方法对蛋白质的二级结构有一定的影响。此外,蛋白质分子中 α -螺旋和 β -折叠能够形成紧密的无空腔结构,相比于无规卷曲具有更强的构象稳定性和紧密程度^[14],因此本研究中盐析法提取的蛋白具有相对更加稳定的二级结构。

2.3.2 三级结构

通过荧光光谱法可以获得蛋白质三级结构的信

息。蛋白质中的芳香族氨基酸(色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸)是产生内源荧光光谱的主要来源,三者均可在295 nm激发波长下发射荧光,且色氨酸残基的最大发射波长在340 nm左右^[15]。不同方法提取的蛋白荧光光谱图如图5所示。

由图5可知,不同方法提取的蛋白的荧光强度具有一定差异,说明不同提取方法对蛋白中芳香族氨基酸含量有一定影响。碱溶酸沉法提取的菜籽蛋白荧光强度最高,而盐析法提取的菜籽蛋白荧光强度最低;乙醇浸提法提取亚麻籽蛋白荧光强度最高,而碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白荧光强度最低。可见,不同提取方法对蛋白质的三级结构有一定影响。

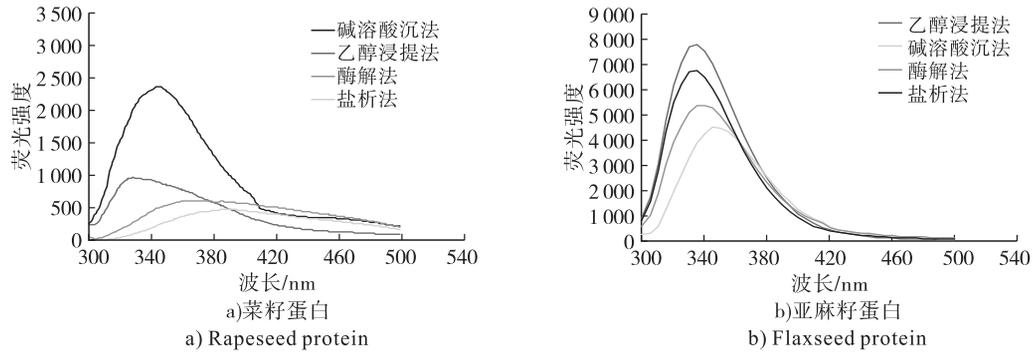


图5 不同方法提取的蛋白荧光光谱图

Fig. 5 Fluorescence spectra of proteins extracted by different methods

蛋白的紫外吸收强度与蛋白质侧链上的芳香族氨基酸紧密相关,它们在蛋白质中的存在数量与蛋

白质的紫外吸收强度成正比关系。不同方法提取的蛋白紫外光谱图如图6所示。

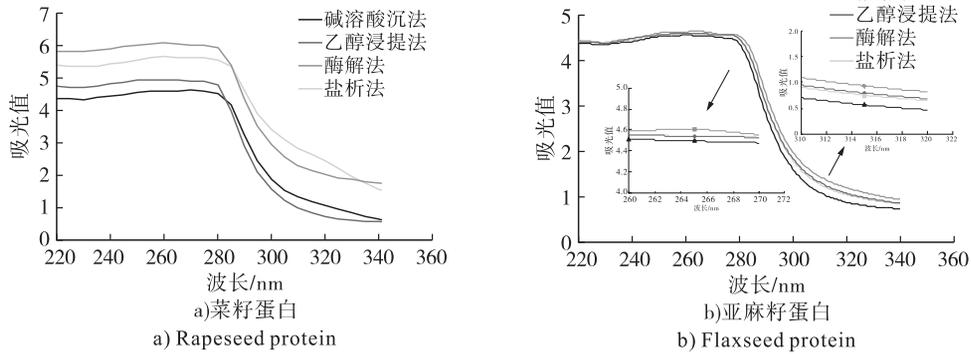


图6 不同方法提取的蛋白紫外光谱图

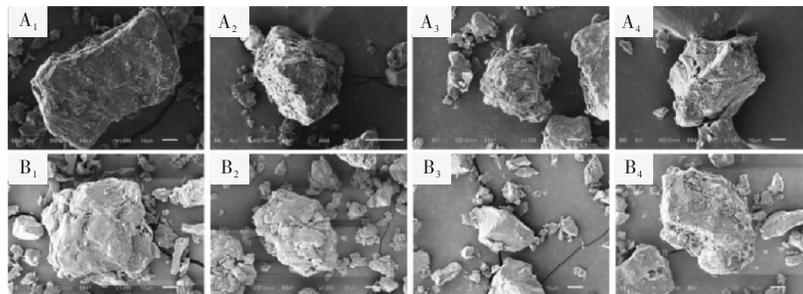
Fig. 6 UV spectra of proteins extracted by different methods

由图6可知,4种方法提取的蛋白的紫外吸光值的变化趋势基本一致,而吸光值各不相同,这说明4种蛋白质侧链上的色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的数量很相近但含量不同,进一步证明了不同提取方

法对蛋白质的三级结构有一定的影响。

2.3.3 微观结构

不同方法提取的蛋白微观结构如图7所示。



注: A₁ - A₄、B₁ - B₄ 依次为碱溶酸沉、乙醇浸提、酶解和盐析法提取的菜籽蛋白、亚麻籽蛋白

Note: A₁ - A₄, B₁ - B₄ are rapeseed protein and flaxseed protein extracted by alkali - soluble acid precipitation, ethanol extraction, enzymatic hydrolysis and salting - out methods in that order

图7 不同方法提取的蛋白扫描电镜图

Fig. 7 Scanning electron microscopy of proteins extracted by different methods

由图7可知,4种方法提取的蛋白颗粒大小不一,蛋白表面均有不同程度的破坏,这是由于分子间相互作用力导致蛋白质的聚合程度及分子间连接紧密度不一样^[16]。乙醇浸提法和酶解法提取的菜籽蛋白结构疏松,颗粒表面粗糙;而盐析法提取的菜籽蛋

白空间结构较为连续,块状表面有些许蜂窝与孔洞,但其结构影响较小。碱溶酸沉法和乙醇浸提法提取的亚麻籽蛋白呈现出不规则的多边形状,并呈分散状态,片状或大块的颗粒分布较多,且颗粒表面粗糙;酶解法提取的亚麻籽蛋白颗粒普遍较小,颗粒表面较

光滑,说明酶解对蛋白质的破坏较小;盐析法提取的亚麻籽蛋白颗粒不一,相对来说比较聚集,但颗粒表面细小颗粒很多,说明破坏程度较大。从4种蛋白的物理形态来看,其微观结构都发生了一定变化。

2.4 不同提取方法对样品蛋白功能特性的影响

2.4.1 溶解度

不同方法提取的蛋白的溶解度如图8所示。

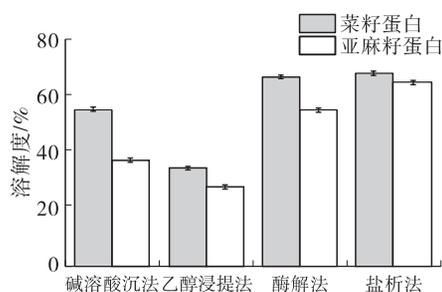


图8 不同方法提取的蛋白溶解度

Fig. 8 Solubility of proteins extracted by different methods

由图8可知,盐析法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白溶解度最高,分别为68.19%和64.90%,其次是酶解法(66.72%和55.23%)和碱溶酸沉法(55.44%和37.54%),最低的是乙醇浸提法(34.78%和27.95%)。碱溶酸沉法和乙醇浸提法提取的蛋白溶解度较低可能是由于蛋白样品在乙醇溶液及强酸强碱处理下发生了变性,结构变得松散,暴露出更多的疏水基团,可溶性下降^[17]。此外,菜籽蛋白和亚麻籽蛋白中的其他组分如脂肪、纤维等也会一定程度上影响其溶解性。吴兴雨等^[2]通过酶解法和碱溶酸沉法提取亚麻籽蛋白,结果显示,酶解法提取的亚麻籽蛋白的溶解性显著高于碱溶酸沉法,与本研究结果一致。

2.4.2 持水性和持油性

不同方法提取的蛋白的持水性和持油性如图9所示。

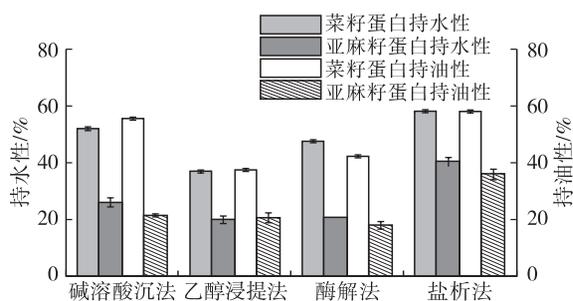


图9 不同方法提取的蛋白持水性和持油性

Fig. 9 Water holding and oil holding properties of proteins extracted by different methods

由图9可知,盐析法制备的两种蛋白持水性和持油性均最高,其中菜籽蛋白持水性和持油性分别为58.00%和57.00%,亚麻籽蛋白的持水性和持油

性分别为40.33%和35.83%。

2.4.3 起泡性和泡沫稳定性

不同方法提取的蛋白起泡性及泡沫稳定性如图10所示。

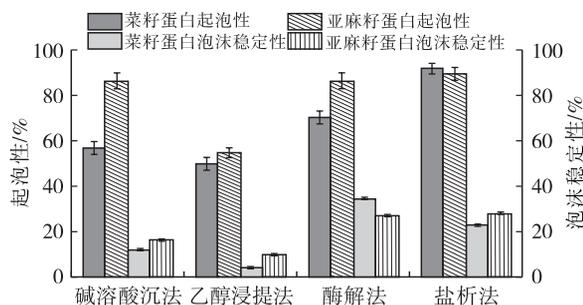


图10 不同方法提取的蛋白起泡性及泡沫稳定性

Fig. 10 Foaming capacity and foam stability of proteins extracted by different methods

由图10可知,盐析法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的起泡性高达91.67%和89.29%,而乙醇浸提法提取的两种蛋白的起泡性较差,仅为49.77%和54.78%。酶解法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白则具有较好的泡沫稳定性,分别为34.31%和27.00%。

2.4.4 乳化性和乳化稳定性

不同方法提取的蛋白乳化性及乳化稳定性如图11所示。

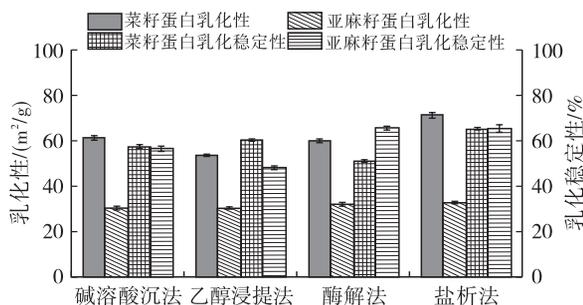


图11 不同方法提取的蛋白乳化性及乳化稳定性

Fig. 11 Emulsifying capacity and emulsion stability of proteins extracted by different methods

由图11可知,盐析法提取的菜籽蛋白乳化性(71.38 m²/g)和乳化稳定性(65.33%)较好。其他3种方法提取的菜籽蛋白的乳化性与蛋白的溶解度呈正相关,这是因为溶解度大的蛋白质,其分子向水油界面的扩散速度更快,利于分散体系的快速形成^[16]。酶解法和盐析法提取的亚麻籽蛋白的乳化性和乳化稳定性差异较小,其中乳化性分别为32.06 m²/g和32.75 m²/g,乳化稳定性分别为65.56%和65.37%。孙雪等^[18]研究表明蛋白质的乳化性能与其氨基酸组成、电荷分布、分子大小以及构象有关,因而说明不同提取方法对蛋白品质特性产生了一定影响。

3 结论

本研究以菜籽饼和亚麻籽饼为原料,分别采用碱溶酸沉法、乙醇浸提法、酶解法和盐析法提取菜籽蛋白和亚麻籽蛋白,并对不同方法提取的蛋白样品的品质特性进行对比研究。结果表明:不同提取方法对菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的等电点不产生影响,但对蛋白质二级结构、三级结构有一定影响。盐析法和酶解法提取的菜籽蛋白和亚麻籽蛋白溶解度均较高,此外盐析法提取的两种蛋白的持水性、持油性、起泡性和乳化性均优于其他3种方法。综上,盐析法是一种适合工业化生产优质菜籽蛋白和亚麻籽蛋白的提取方法。

参考文献:

- [1] 易起达. 酶解制备菜籽肽及其抗氧化作用研究[D]. 南京: 南京财经大学, 2013.
- [2] 吴兴雨, 孙凯扬, 姚玥, 等. 两种方法提取的亚麻籽蛋白持水性、持油性、溶解性和氨基酸组成比较[J]. 中国油脂, 2021, 46(1): 43-46, 51.
- [3] 刘胜. 高温菜籽粕蛋白质的提取及其酶法改性[D]. 南京: 南京财经大学, 2010.
- [4] 马德坤. 亚麻籽蛋白提取表征及负载脂溶性小分子研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [5] 孙乾, 张爱琴, 薛雨菲, 等. 化学改性对核桃谷蛋白结构表征及功能特性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 87-93.
- [6] KARACA A C, LOW N, NICKERSON M. Emulsifying properties of canola and flaxseed protein isolates produced by isoelectric precipitation and salt extraction[J]. Food Res Int, 2011, 44(9): 2991-2998.
- [7] TIRGAR M, SILCOCK P, CARNE A, et al. Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates[J]. Food Chem, 2017, 215: 417-424.

(上接第129页)

3 结语

我司目前已经拥有较为成熟的脱酚棉籽蛋白生产工艺,采用改进工艺生产的脱酚棉籽蛋白各指标优于GB/T 40154—2021的限量要求,尤其是游离棉酚含量为200 mg/kg,远低于国标限量(≤ 400 mg/kg),且产品质量稳定,溶剂消耗由5 kg/t降至0.9 kg/t,节约了成本。

参考文献:

- [1] 赵小龙, 刘大川. 棉籽蛋白资源开发研究进展[J]. 中

- [8] 杨洁茹, 刘海波, 李晴, 等. 油茶饼粕中多肽的分离纯化及抗氧化研究[J]. 粮食与食品工业, 2022, 29(5): 4-9.
- [9] 翟晓娜, 汪涛, 梁亮, 等. 菜籽粕蛋白的碱溶酸沉工艺优化及其活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 164-171.
- [10] 施树. 胡麻分离蛋白的提取及其性质的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [11] 邓芝串, 张晖, 张超, 等. 籽瓜种子蛋白质的持水及持油性研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(9): 49-54.
- [12] WANG H, JOHNSON L A, WANG T. Preparation of soy protein concentrate and isolate from extruded - expelled soybean meals[J]. J Am Oil Chem Soc, 2004, 81(7): 713-717.
- [13] SADAT A, JOYE I J. Peak fitting applied to Fourier transform infrared and Raman spectroscopic analysis of proteins[J/OL]. Appl Sci, 2020, 10(17): 5918[2023-12-16]. <https://doi.org/10.3390/app10175918>.
- [14] 田然, 冯俊然, 隋晓楠, 等. 高强度超声处理对大豆7S和11S球蛋白结构和理化性质的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(5): 87-97.
- [15] LIANG L, SUBIRADE M. Study of the acid and thermal stability of β -lactoglobulin - ligand complexes using fluorescence quenching[J]. Food Chem, 2012, 132(4): 2023-2029.
- [16] 冯芳, 刘文豪, 陈志刚. 大豆7S、11S蛋白的结构与热致凝胶特性的分析[J]. 食品科学, 2020, 41(2): 58-64.
- [17] 张英蕾, 姚鑫淼, 卢淑雯, 等. 碱溶酸沉法提取黑豆蛋白工艺优化[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(1): 60-68.
- [18] 孙雪, 赵晓燕, 朱运平, 等. 反胶束对植物蛋白的结构、功能性和应用的影响研究进展[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(1): 196-202.

国油脂, 2014, 39(1): 23-26.

- [2] 刘大川, 苏望懿. 食用植物油和植物蛋白[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 185-242.
- [3] 周向军, 张雪, 康桂琴, 等. 棉籽肽的制备工艺、抗氧化活性及部分特性研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(3): 30-35.
- [4] 赵巧玲. 棉籽粕脱酚蛋白的工艺研究[J]. 粮食与食品工业, 2015, 22(3): 34-36.
- [5] 柴秀航, 付元元, 毕艳兰, 等. 棉仁中游离棉酚提取工艺的优化[J]. 中国油脂, 2014, 39(5): 61-65.