

芝麻蛋白酶法制备工艺优化

赵思雅¹, 张天宇¹, 王 澍², 雷芬芬^{1,2,3}, 何东平^{1,2,3}, 周 力^{1,2,3}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 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 430023; 3. 国家粮食局粮油资源综合利用工程技术研究中心, 武汉 430023)

摘要:为了提高芝麻蛋白的纯度,以脱脂芝麻粕为原料,采用超声波辅助碱提法耦合碱性纤维素酶和碱性果胶酶酶解技术制备芝麻蛋白。以芝麻蛋白纯度为指标,通过单因素实验对芝麻蛋白的提取工艺条件进行了优化。结果表明,芝麻蛋白制备的最优工艺条件为匀浆处理时间 15 min、碱溶时间 1.0 h、酶用量 0.1%、酶处理超声功率密度 0.5 W/cm²、酶解时间 2.0 h,在此条件下芝麻蛋白提取率为 74.8%,纯度为 89.8%,与未耦合酶法提取的芝麻蛋白纯度(75.6%)相比提高了 14.2 个百分点。综上,超声波辅助碱提法耦合酶法可以获得高纯度的芝麻蛋白。

关键词:芝麻;芝麻蛋白;碱提法;酶法;碱性纤维素酶;碱性果胶酶

中图分类号:TS229;TQ645

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2023)12-0054-04

Optimisation of the enzymatic preparation of sesame protein

ZHAO Siya¹, ZHANG Tianyu¹, WANG Shu², LEI Fenfen^{1,2,3},
HE Dongping^{1,2,3}, ZHOU Li^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2. Key Laboratory for State Market Regulation (Edible Oil Quality and Safety), Wuhan 430023, China;
3. Grain and Oil Resources Comprehensive Exploitation and Engineering Technology Research Center of State Administration of Grain, Wuhan 430023, China)

Abstract: To increase the purity of sesame protein, the extraction process of sesame protein from defatted sesame meal using ultrasound-assisted alkaline extraction coupled with enzyme hydrolysis with alkaline cellulase and alkaline pectinase was investigated. The purity of sesame protein was used as an index, and the extraction process conditions of sesame protein were optimized by single factor experiment. The results showed that the optimal process conditions for the sesame protein extraction were as follows: homogenization time 15 min, alkaline extraction time 1.0 h, enzyme dosage 0.1%, ultrasonic power density 0.5 W/cm² for enzyme treatment, enzyme hydrolysis time 2.0 h. Under the optimal conditions, the extraction rate of sesame protein reached 74.8%, and the purity was 89.8%, which increased by 14.2 percentage points than the purity of sesame protein (75.6%) extracted by ultrasound-assisted alkaline extraction. In conclusion, high purity sesame protein can be obtained by the method of ultrasound-assisted alkaline extraction coupled with enzymatic method.

Key words: sesame; sesame protein; alkaline extraction; enzymatic method; alkaline cellulase; alkaline pectinase

收稿日期:2023-08-16;修回日期:2023-10-17

基金项目:国家市场监督管理总局重点实验室(食用油质量与安全)开放研究基金(SYYKF202306);中国科协青年人才托举工程项目(YESS20200380)

作者简介:赵思雅(1998),女,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail)1051913981@qq.com。

通信作者:周 力,博士(E-mail)zhouli910228@163.com。

芝麻(*Sesamum indicum*)是我国一种重要的油料作物,原产于非洲,在汉代时期传入我国,主要在我国黄河及长江中下游以及河南、湖北等省份分布^[1]。2019年全球芝麻产量为626.44万t(粮农组织统计数据库),我国芝麻产量为46.7万t^[2]。芝麻富含脂肪(44%~58%)、蛋白质(18%~25%)和

碳水化合物(13%~20%),此外还含有植物甾醇、 β -胡萝卜素和木脂素等生物活性成分^[3-5]。

工业化发展和全球人口的显著增长导致了对可再生蛋白质资源的需求显著增加^[6],虽然动物源蛋白质具有许多优点,但由于资源可持续性、食物和能源的可获得性的限制以及对环境的不利影响,需要开发植物蛋白资源^[7]。芝麻中富含蛋白质,是一种可开发的植物蛋白资源。目前,碱溶酸沉法是提取芝麻蛋白常用的方法,如 Achouri^[8]、Sá^[9]、Taha^[10]、韩亚飞^[11]等均采用碱溶酸沉法制备了芝麻蛋白。然而,采用常规的碱溶酸沉法提取的芝麻蛋白纯度不高,如陶然等^[12]报道了糖化酶辅助碱溶酸沉法相较于单独的碱溶酸沉法将芝麻蛋白纯度提高15.2个百分点。芝麻饼粕中的部分蛋白质与纤维素、可溶性糖结合,形成紧密结合物,影响提取的蛋白纯度^[13]。通过添加纤维素酶和果胶酶水解纤维素和果胶,破坏其与蛋白质的结合,理论上可以提高芝麻蛋白的纯度。

本文以脱脂芝麻粕为原料,通过碱溶酸沉法与酶法耦合制备芝麻蛋白,以芝麻蛋白纯度为指标,通过单因素实验对芝麻蛋白制备条件进行了优化,以期后续芝麻蛋白相关产品的开发提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

脱脂芝麻粕,本实验室使用特级初榨芝麻油低温压榨制油时得到的芝麻饼通过溶剂浸出脱脂制得;双蒸水,自制;丙酮、盐酸、石油醚、正辛醇、乙醚、乙醇、硫酸铜、柠檬酸钠、茚三酮、硝酸银、氢氧化钾、硫酸联氨、磷酸二氢钾均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;碱性纤维素酶、碱性果胶酶,成都西亚化工股份有限公司。

XHF-D 高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司;JY92-IIIN 超声波细胞破碎仪,济宁天华超声电子仪器有限公司;TD5Z 离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;AB204-E 电子分析天平、pH 计,Switzerland 公司;FD-20 真空干燥箱、101-1-S 鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;FD-8 真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;SK3300HP 超声波清洗器,上海科导超声仪器有限公司;SFY-6 快速水分测定仪,深圳市冠亚电子科技有限公司;SH220N/SH220F 石墨消解仪、K9840 凯氏定氮蒸馏仪、海能 SOX406 脂肪测定仪,济南海能仪器股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 芝麻蛋白的制备

将脱脂芝麻粕与水以 1:40 的比例混合,以 10 000 r/min 转速匀浆处理一定时间,升温至 50℃,加入 NaOH 溶液调节 pH 至 10.5,同时进行超声波处理(超声波频率为 20 kHz、超声功率密度为 1.0 W/cm²)提取一定时间(碱溶时间)后,在 4 500 r/min 离心分离 15 min,调上清液的 pH 至 10,加入适量的碱性纤维素酶和碱性果胶酶(质量比为 2:1),超声波处理(超声波频率为 20 kHz,超声功率密度待定)酶解一定时间后,于 90℃ 灭酶 15 min,再用盐酸将溶液 pH 调至 4.0,静置,待芝麻蛋白完全沉淀后,以 10 000 r/min 离心 20 min,将沉淀水洗、真空冷冻干燥后获得芝麻蛋白。

1.2.2 基本理化指标的测定

水分的测定,使用 SFY-6 快速水分测定仪在 135℃ 下测定;粗蛋白质的测定,参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》;粗脂肪的测定,参照 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》;灰分的测定,参照 GB 5009.4—2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》。

1.2.3 数据分析

所有实验均重复 3 次,结果以“平均值±标准差”表示。使用 Excel 2019 软件对实验数据进行记录整理,并绘制图表,使用 SPSS17.0 统计分析软件进行平均值之间的差异显著性检验。

2 结果与讨论

2.1 脱脂芝麻粕的组成成分

脱脂芝麻粕的组成成分见表 1。

表 1 脱脂芝麻粕的组成成分

指标	含量/%
水分	5.13
粗蛋白质(N×5.45)	40.99
粗脂肪	0.95
灰分	10.08

由表 1 可知,脱脂芝麻粕富含蛋白质,粗蛋白质含量为 40.99%,粗脂肪含量较低,仅为 0.95%,灰分含量为 10.08%。皮诗宇等^[14]报道芝麻粕中粗蛋白质含量为 42.21%,与本研究结果类似。

2.2 芝麻蛋白制备工艺的单因素实验优化

2.2.1 匀浆处理时间对芝麻蛋白纯度的影响

在碱溶时间 1.0 h、酶用量 0.1%、酶处理超声功率密度 1.0 W/cm²、酶解时间 1.0 h 的条件下,考察匀浆处理时间对芝麻蛋白纯度的影响,结果如图 1 所示。

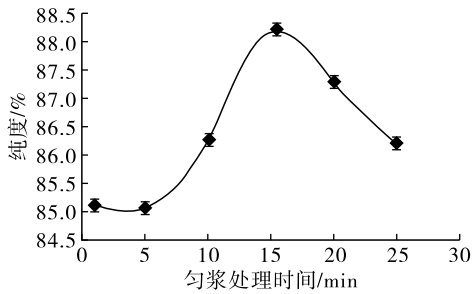


图1 匀浆处理时间对芝麻蛋白纯度的影响

由图1可知,随着匀浆处理时间的延长,芝麻蛋白纯度总体先升高后降低,在15 min时芝麻蛋白纯度最高,为88.3%。匀浆处理时间超过15 min后芝麻蛋白纯度下降,可能是因为芝麻粕颗粒与水的过度接触会影响蛋白质的水合作用,导致蛋白质纯度下降^[15]。刘珂等^[16]研究发现,鸡蛋中的4种主要过敏原结构受热加工影响,蛋白质在提取过程中需要适当时间,否则会导致纯度下降。因此,为提高蛋白质的纯度,蛋白质与水接触时间不宜过长。

2.2.2 碱溶时间对芝麻蛋白纯度的影响

在匀浆处理时间10 min、酶用量0.1%、酶处理超声功率密度1.0 W/cm²、酶解时间1.0 h的条件下,考察碱溶时间对芝麻蛋白纯度的影响,结果如图2所示。

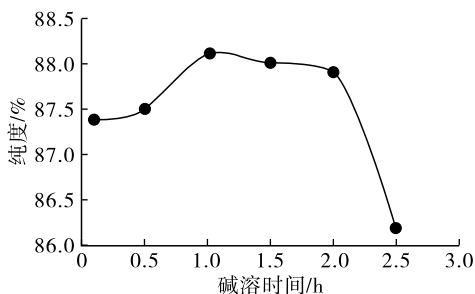


图2 碱溶时间对芝麻蛋白纯度的影响

由图2可知,随着碱溶时间的延长,芝麻蛋白纯度总体先升高后降低,在1.0 h达到最高,为88.1%。超声处理产生的空化效应,可以导致芝麻粕的粉碎、乳化、分散等一系列效应,短时间的超声碱溶处理可使芝麻粕很好地分散,有利于后期碱性纤维素酶和碱性果胶酶的作用,从而有利于提高芝麻蛋白纯度,而过长时间的超声碱溶可能导致芝麻粕中的蛋白质产生乳化效应,从而降低了芝麻蛋白的纯度^[17]。

2.2.3 酶处理超声功率密度对芝麻蛋白纯度的影响

在匀浆处理时间10 min、碱溶时间1.0 h、酶用量0.1%、酶解时间1.0 h的条件下,考察酶处理超声功率密度对芝麻蛋白纯度的影响,结果如图3所示。

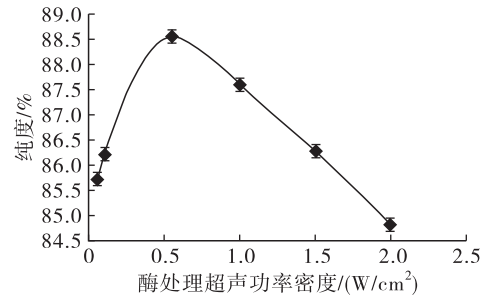


图3 酶处理超声功率密度对芝麻蛋白纯度的影响

由图3可知,随着酶处理超声功率密度的加大,芝麻蛋白纯度先升高后降低,在0.5 W/cm²时芝麻蛋白纯度最高,为88.5%。赵蓓等^[18]研究表明,超声功率的增加有助于菜籽蛋白的提取,但随着超声功率的持续增加,高功率导致的热效应可能会使部分蛋白质变性,影响蛋白质的得率和纯度。在本研究中,超声功率密度过高,其伴随的热效应会导致碱性纤维素酶和碱性果胶酶失活,使纤维素和果胶无法被充分酶解,从而导致芝麻蛋白的纯度降低。

2.2.4 酶解时间对芝麻蛋白纯度的影响

在匀浆处理时间10 min、碱溶时间1.0 h、酶用量0.1%、酶处理超声功率密度1.0 W/cm²的条件下,考察酶解时间对芝麻蛋白纯度的影响,结果如图4所示。

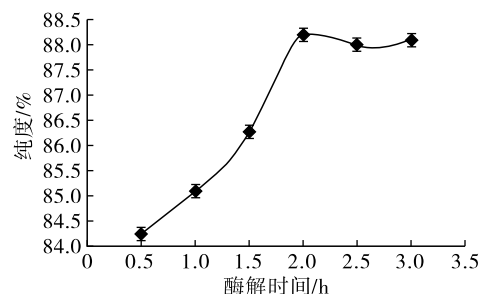


图4 酶解时间对芝麻蛋白纯度的影响

由图4可知,随着酶解时间的延长,芝麻蛋白纯度总体呈先增加后降低的趋势,在2.0 h时芝麻蛋白纯度最高,为88.3%。前期酶解时间的延长有助于芝麻蛋白纯度的增加是因为碱性纤维素酶和碱性果胶酶需要时间来酶解纤维素和果胶,后期是因为过长的酶解时间导致酶解的纤维素和果胶微小片段在搅拌的条件下与芝麻蛋白结合,从而使芝麻蛋白的纯度降低。

2.2.5 酶用量对芝麻蛋白纯度的影响

在匀浆处理时间10 min、碱溶时间1.0 h、酶处理超声功率密度1.0 W/cm²、酶解时间1.0 h的条件下,考察酶用量对芝麻蛋白纯度的影响,结果如图5所示。

由图5可知,随着酶用量的增加,芝麻蛋白纯度

总体呈先增加后微小浮动的变化趋势,在酶用量0.1%时,芝麻蛋白纯度最高,为87.5%。这是因为酶用量达到一定程度时已经将纤维素和果胶完全水解,因此过量的酶不再有明显作用,无法提高蛋白纯度。罗兰心等^[19]研究也说明,酶用量有最适值。

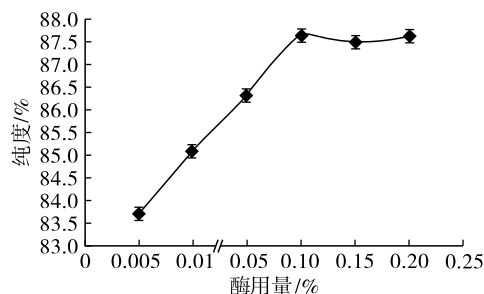


图5 酶用量对芝麻蛋白纯度的影响

综上,超声波辅助碱提法耦合碱性纤维素酶和碱性果胶酶酶解制备芝麻蛋白最优工艺条件为匀浆处理时间15 min、碱溶时间1.0 h、酶用量0.1%、酶处理超声功率密度 0.5 W/cm^2 、酶解时间2.0 h,在此条件下进行验证实验,得到芝麻蛋白提取率为74.8%,纯度为89.8%,与未耦合酶法提取的芝麻蛋白纯度(75.6%)相比提高了14.2个百分点。

3 结论

本文采用超声波辅助碱提法耦合酶法制备芝麻蛋白,通过单因素实验优化得到芝麻蛋白制备的最优工艺条件为匀浆处理时间15 min,碱溶时间1.0 h,酶用量0.1%,酶处理超声功率密度 0.5 W/cm^2 ,酶解时间2.0 h。在优化的工艺条件下芝麻蛋白提取率为74.8%,纯度为89.8%,与未耦合酶法相比,芝麻蛋白纯度提高了14.2个百分点。因此,超声波辅助碱提法耦合酶法可以获得高纯度的芝麻蛋白。

参考文献:

[1] 张建涛,李国强,刘海礁,等. 中国主产区芝麻生育期降水时空分布特征[J]. 山东农业科学,2023,55(1): 134-143.

[2] 王郅琪. 江西芝麻地方种质的遗传多样性分析和核心种质构建[D]. 湖北 荆州:长江大学,2022.

[3] 戚聿妍. 亚临界水提取芝麻粕中酚类化合物及水解芝麻蛋白的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016.

[4] 马素换. 芝麻植物甾醇提取与氧化特性的研究[D]. 郑州:河南工业大学,2015.

[5] 吴静. 芝麻油中木酚素的提取、纯化及抗氧化活性研究[D]. 南京:南京农业大学,2012.

[6] POJIĆ M, MIŠAN A, TIWARI B. Eco - innovative

technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin [J]. Trends Food Sci Tech, 2018, 75: 93 - 104.

[7] WEN C, ZHANG J, YAO H, et al. Advances in renewable plant - derived protein source: the structure, physicochemical properties affected by ultrasonication [J]. Ultrason Sonochem, 2019, 53: 83 - 98.

[8] ACHOURI A, BOYE J I. Thermal processing, salt and high pressure treatment effects on molecular structure and antigenicity of sesame protein isolate [J]. Food Res Int, 2013, 53(1): 240 - 251.

[9] SÁ A 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 - 08 - 16]. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104634>.

[10] TAHA F S, FAHMY M, SADEK M A. Low - phytate protein concentrate and isolate from sesame seed [J]. J Agric Food Chem, 1987, 35(3): 289 - 292.

[11] 韩亚飞,梅鸿猷,魏安池,等. 萌发处理对芝麻及其蛋白质的影响[J]. 中国油脂,2018,43(6): 19 - 22.

[12] 陶然,叶展,宋高翔,等. 糖化酶辅助制备芝麻蛋白的研究[J]. 中国油脂,2014,39(5): 23 - 26.

[13] 高锦鸿,芦鑫,杨文丽,等. 亚临界芝麻饼粕中糖类与蛋白质的综合利用研究[J], 河南农业科学,2017,46(7): 129 - 136.

[14] 皮诗宇,王常高,杜馨,等. 芝麻粕蛋白酶法提取工艺优化及组分分析[J]. 中国酿造,2020,39(7): 202 - 207.

[15] 张秀颖,张盼盼,王杰,等. 水溶液中蛋白质的热力学性质[J]. 曲阜师范大学学报(自然科学版),2021,47(1): 72 - 75.

[16] 刘珂,熊丽姬,高金燕,等. 热加工对鸡蛋中4种主要过敏原结构的影响[J]. 食品科学,2017,38(23): 51 - 58.

[17] 吴倩,张丽芬,陈复生. 超声波对蛋白质提取及改性影响的研究进展[J]. 食品机械,2015,31(4): 256 - 259.

[18] 赵蓓,王承明,张沙沙. 菜籽粕中清蛋白的超声辅助提取及氨基酸组成研究[J]. 中国粮油学报,2015,30(10): 32 - 36.

[19] 罗兰心,张静,刘洋,等. 响应面法优化酶法提取宁红茶多糖工艺[J]. 食品研究与开发,2023,44(2): 66 - 72.