

油料蛋白

仙人掌果籽蛋白提取及功能性质研究

李雪,白新鹏,曹君,高威

(海南大学食品学院,生物活性物质与功能食品开发重点实验室,海口570228)

摘要:以仙人掌果籽为研究对象,脱脂后采用碱提酸沉法提取其中的蛋白。通过单因素实验研究了料液比、pH、提取时间和提取温度对蛋白提取率的影响,并确定提取工艺的最适条件。此外,对仙人掌果籽蛋白的功能性质如吸水性、吸油性、起泡性及泡沫稳定性和乳化性及乳化稳定性进行了研究,并探讨了pH、NaCl浓度、蛋白质量浓度等外在因素对其性质的影响。结果表明:碱提酸沉法的最适提取条件为料液比1:20、pH 10、提取时间40 min、提取温度40℃,在此条件下,蛋白提取率为(68.17±0.33)%;仙人掌果籽蛋白吸水性、吸油性良好,起泡性及泡沫稳定性和乳化性及乳化稳定性受pH、NaCl浓度和蛋白质量浓度等因素影响显著。

关键词:仙人掌果籽;碱提酸沉法;蛋白;功能性质

中图分类号:TS229;TS207

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)05-0039-05

Extraction and functional properties of cactus fruit seed protein

LI Xue, BAI Xinpeng, CAO Jun, GAO Wei

(Key Laboratory of Bioactive Substance and Functional Food, College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The protein of cactus fruit seed was extracted by the method of alkali extraction and acid precipitation. The effects of solid-liquid ratio, pH, extraction time and extraction temperature on the extraction rate of protein were studied by single factor experiment, and the optimal extraction conditions were determined. In addition, the protein functional properties such as water and oil absorption properties, foaming ability and foam stability, emulsifying ability and emulsion stability were analyzed, and the pH, NaCl concentration and protein mass concentration influencing the functional properties were discussed. The results showed that the optimal extraction conditions of alkali extraction and acid precipitation were obtained as follows: solid-liquid ratio 1:20, pH 10, extraction time 40 min and extraction temperature 40℃. Under the optimal conditions, the extraction rate of protein was (68.17±0.33)%. The water and oil absorption properties were good, and the influences of pH, NaCl concentration and protein mass concentration on foaming ability, foam stability, emulsifying ability and emulsion stability were remarkable.

Key words: cactus fruit seed; method of alkali extraction and acid precipitation; protein; functional property

收稿日期:2017-09-12;修回日期:2018-01-16

基金项目:海南省自然科学基金项目(20153159,314075);海南省重点研发计划项目(ZDYF2016093);校企合作项目(HD-KYH-2016007)

作者简介:李雪(1991),女,硕士研究生,研究方向为营养与功能食品(E-mail)crystal_lixue@126.com。

通信作者:白新鹏,教授,博士(E-mail)xinpeng2001@126.com;曹君,讲师,博士(E-mail)juncaoyd2007@126.com。

仙人掌果(*Opuntia ficus-indica*)为仙人掌属植物的果实,生长在南北美洲、亚热带大陆(中国云南、海南和广西)及附近一些岛屿,表皮为紫色、青绿色或者金黄色,果肉为紫色或红色,一般以鲜食为主^[1]。部分研究表明,仙人掌果是一种营养价值、经济利用价值极其显著的水果^[2]。仙人掌果根茎具有降血脂、降胆固醇、降血糖和抗炎活性^[3];果肉含有大量的酚类化合物^[2,4];果皮富含大量稳定的

甜菜素^[5],而有关于其果籽的研究甚少。

植物蛋白资源丰富、廉价,并具有独特的生理功能,因此其开发利用成为现今研究的热点^[6]。预实验显示仙人掌果在果肉加工后留下的副产物籽中含有丰富的蛋白质,因此研究仙人掌果籽蛋白的提取工艺及其功能性质具有积极的现实意义。

目前,蛋白提取的方法主要有碱提酸沉法、酶法、微波辅助法、超声波辅助法、膜分离法等,方法各有优劣^[7]。本实验以碱提酸沉法提取仙人掌果籽蛋白,研究其最适提取工艺和所提取的仙人掌果籽蛋白的吸水性、吸油性、起泡性及泡沫稳定性和乳化性及乳化稳定性等功能性质,并探讨 pH、NaCl 浓度、蛋白质量浓度等外在因素对其性质的影响,旨在为仙人掌果籽粕蛋白的开发利用提供参考,做到资源的有效开发利用。

1 材料与试剂

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

仙人掌果籽:海南三亚市售;石油醚(沸程 60~90℃)、硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸、硼酸、氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)等,分析纯,广州化学试剂厂。

1.1.2 仪器与设备

723PC 分光光度计,上海市奥谱勒仪器有限公司;DNY-II 自动凯氏定氮仪,潍坊普创仪器有限公司;DL-6000B 高速离心机,上海通显机械设备有限公司;雷磁 PHS-J4A 型实验室 pH 计,上海精密科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 仙人掌果籽营养成分分析

根据 GB/T 5009.6—2003,采用索氏抽提法测定仙人掌果籽粗脂肪含量;利用 HB43.S 快速水分测定仪测定仙人掌果籽水分含量;根据 GB 5009.4—2010 测定仙人掌果籽的灰分含量;根据 GB 5009.5—2010,采用凯氏定氮法测定仙人掌果籽的粗蛋白质含量。

1.2.2 仙人掌果籽粕的制备

将仙人掌果籽从果肉中分离后洗净烘干,打成粉,过 100 目筛,采用索氏抽提法提取粗脂肪,循环操作,直至粗脂肪含量不大于 0.5%,烘干,所得仙人掌果籽粕放入样品袋密封,待用。

1.2.3 仙人掌果籽蛋白等电点的确定

称取适量仙人掌果籽粕,按料液比 1:20 加入蒸馏水,用 1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 11,在水浴温度 40℃ 下提取 40 min,8 000 r/min 离心 10 min,上清液用 1 mol/L HCl 调节 pH 分别为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0,静置离心,弃上清液,冷冻干

燥后称质量,沉淀量最大时的 pH 即为仙人掌果籽蛋白的等电点。

1.2.4 碱提酸沉法提取仙人掌果籽蛋白

仙人掌果籽粕→加入适量蒸馏水,调节料液比→1 mol/L NaOH 溶液调节 pH→在不同温度的水浴摇床中提取一定时间→8 000 r/min 离心 10 min→上清液用 1 mol/L HCl 溶液调节 pH 至蛋白质等电点→室温静置沉淀 2 h→8 000 r/min 离心 10 min,弃上清液→去离子水洗沉淀至 pH 为 7.0→沉淀透析 48 h 除盐→冷冻干燥(-80℃,1.3 MPa,24 h)→仙人掌果籽蛋白。仙人掌果籽蛋白提取率 = $m_1/m_2 \times 100\%$,式中: m_1 为提取的仙人掌果籽蛋白质量,g; m_2 为仙人掌果籽中粗蛋白质质量,g。

1.2.5 仙人掌果籽蛋白吸水性及吸油性分析^[8]

吸水性:准确称取 0.5 g 仙人掌果籽蛋白,加入 8 mL 蒸馏水于已知恒重的试管中,振荡 2 min 后静置 30 min,再以 5 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,称量试管及内容物质量。

吸油性:准确称取 0.5 g 仙人掌果籽蛋白,加入 5 mL 大豆油于已知恒重的试管中,振荡 2 min 后静置 30 min,再以 5 000 r/min 离心 15 min,弃上清液,称量试管及内容物质量。

1.2.6 仙人掌果籽蛋白起泡性及泡沫稳定性分析^[9-10]

pH 的影响:称取 0.5 g 仙人掌果籽蛋白于 50 mL 蒸馏水中,用 0.1 mol/L HCl 或 NaOH 溶液调至不同的 pH(2、4、6、8、10),在 30℃ 水浴保温下静置 10 min。然后以 8 000 r/min 均质 2 min,快速记录均质停止时泡沫的体积。在 30℃ 水浴保温下,记录均质停止 5 min 后泡沫体积。

蛋白质量浓度的影响:称取适量仙人掌果籽蛋白样品于 50 mL 蒸馏水中,使蛋白质量浓度分别为 1、2、3、4、5 g/100 mL,调节溶液 pH 为 7,在 30℃ 水浴保温下静置 10 min。其余同上。

NaCl 浓度的影响:称取 0.5 g 仙人掌果籽蛋白样品溶于 pH 为 7 的不同浓度的 NaCl 溶液中,使得蛋白质量浓度为 1 g/mL,NaCl 溶液浓度分别为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L,在 30℃ 水浴保温下静置 10 min。其余同上。

记录泡沫初始体积(V_0)以及静置 5 min 后的泡沫体积(V_1),起泡性(FC) = $V_0/50 \times 100\%$,泡沫稳定性(FS) = $V_1/V_0 \times 100\%$ 。

1.2.7 仙人掌果籽蛋白乳化性及乳化稳定性分析^[11]

pH的影响:称取0.2 g仙人掌果籽蛋白,溶于50 mL蒸馏水中,加入体积分数25%的大豆油,调节pH(2、4、6、8、10),不加NaCl的条件下,以8 000 r/min分散乳化1 min,从底部取20 μ L乳状液与10 mL 0.1% SDS缓冲溶液混合,立即测定稀释样品在500 nm波长处吸光度(A_0);10 min后再从底部取100 μ L乳状液,稀释同样倍数,测定吸光度(A_T)。

蛋白质质量浓度的影响:称取适量仙人掌果籽蛋白,溶于一定体积蒸馏水中,使蛋白质质量浓度分别为1、2、3、4、5 g/100 mL,其余同上。

NaCl浓度的影响:称取0.1 g仙人掌果籽蛋白,溶于10 mL蒸馏水中,加入体积分数25%的大豆油,调节pH为7,加入适量NaCl,使NaCl浓度分别为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L,其余同上。

乳化特性以乳化能力指数 A_0 和乳化稳定性指数 ESI 表示, $ESI = A_T \times t / (A_0 - A_T)$,式中: t 为静置时间,min。

2 结果与分析

2.1 仙人掌果籽基本营养成分(见表1)

表1 仙人掌果籽基本营养成分(湿基) %

| 水分 | 粗脂肪 | 粗蛋白质 | 灰分 |
|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| 40.36 \pm 0.02 | 20.28 \pm 0.68 | 15.92 \pm 0.50 | 2.18 \pm 0.43 |

由表1可知,仙人掌果籽富含粗脂肪(20.28 \pm 0.68)%和粗蛋白质(15.92 \pm 0.50)%,水分含量较高,为(40.36 \pm 0.02)%,灰分含量为(2.18 \pm 0.43)%。

2.2 仙人掌果籽蛋白等电点

pH对仙人掌果籽蛋白沉淀量的影响见图1。

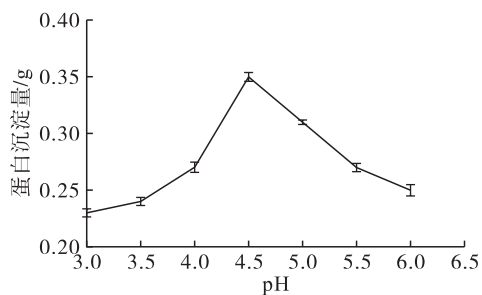


图1 仙人掌果籽蛋白等电点测定结果

由图1可知,随着pH的增大,仙人掌果籽蛋白沉淀量先增大后减小,在pH为4.5时,蛋白沉淀量达到最大值,而大多数植物蛋白最低溶解度出现在等电点附近,因此仙人掌果籽蛋白的等电点为4.5。

2.3 仙人掌果籽蛋白提取工艺的研究

2.3.1 料液比对蛋白提取率的影响

在pH 11、提取温度40 $^{\circ}$ C、提取时间30 min的条件下,研究料液比对蛋白提取率的影响,结果见图2。

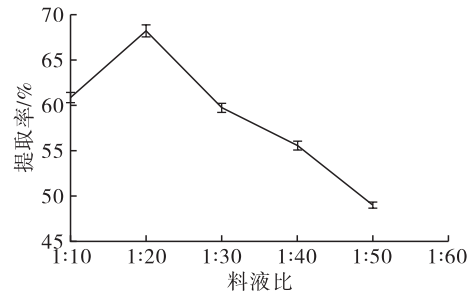


图2 料液比对蛋白提取率的影响

由图2可知,随着料液比的增大,仙人掌果籽蛋白提取率先增大后减小,在料液比为1:20时,提取率达到最大值(68.19 \pm 0.67)%。这是因为随着料液比的增加,果籽蛋白得以充分溶于溶剂中^[12]。而当料液比超过1:20时,蛋白提取率有所下降。

2.3.2 pH对蛋白提取率的影响

在料液比1:20、提取温度40 $^{\circ}$ C、提取时间30 min的条件下,研究pH对蛋白提取率的影响,结果见图3。

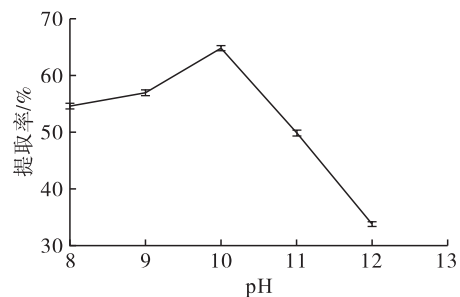


图3 pH对蛋白提取率的影响

由图3可知,当pH小于10时,随着pH的增加,提取率逐渐增大,可能因为仙人掌果籽蛋白在碱性环境中带负电荷,蛋白质分子间相互排斥,同时碱液对蛋白质分子的次级键有破坏作用,因此使溶液溶解性较好,提高了蛋白提取率^[13]。而当pH大于10时,可能导致蛋白质过度水解,使得蛋白提取率降低。

2.3.3 提取时间对蛋白提取率的影响

在料液比1:20、pH 11、提取温度40 $^{\circ}$ C的条件下,研究提取时间对蛋白提取率的影响,结果见图4。

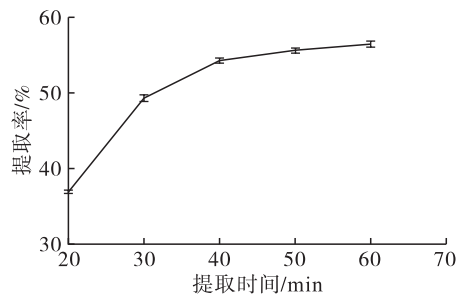


图4 提取时间对蛋白提取率的影响

由图4可知,随着提取时间的延长,仙人掌果

籽蛋白提取率逐渐增加,当提取时间超过 40 min 时,提取率增大幅度较小,趋于平缓。

2.3.4 提取温度对蛋白提取率的影响

在料液比 1:20、pH 11、提取时间 30 min 的条件下,研究提取温度对蛋白提取率的影响,结果见图 5。

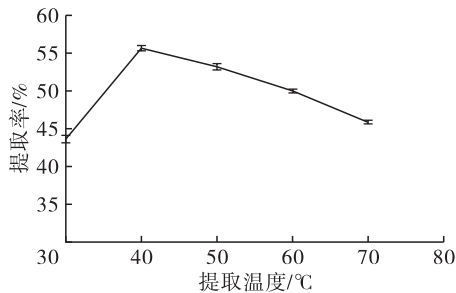


图 5 提取温度对蛋白提取率的影响

由图 5 可知,随提取温度升高,蛋白质提取率增加,这可能是因为温度升高可以降低溶液黏度,削弱分子间的相互作用,使得蛋白质溶解度增加;而当提取温度超过 40 °C 时,蛋白提取率下降,这可能是因为高温会引起蛋白变性,影响其溶解度,从而导致蛋白提取率降低^[14]。

2.3.5 仙人掌果籽蛋白提取工艺的确定

在单因素实验的基础上,采用各单因素最佳点进行验证实验,即料液比 1:20、pH 10、提取时间 40 min、提取温度 40 °C,得到仙人掌果籽蛋白提取率为 $(68.17 \pm 0.33)\%$ 。

2.4 仙人掌果籽蛋白功能性质

2.4.1 吸水性和吸油性

经测定,仙人掌果籽蛋白吸水性为 (15.81 ± 0.32) g/100 g,吸油性为 (7.73 ± 0.18) g/100 g,相对较好。

2.4.2 起泡性及泡沫稳定性

蛋白质的起泡性是指蛋白样品经过一定时间的搅拌后形成泡沫的能力;泡沫稳定性是指泡沫形成后的维持能力^[15]。仙人掌果籽蛋白的起泡性及泡沫稳定性与蛋白质量浓度、pH 和 NaCl 浓度的关系如图 6 ~ 图 8 所示。

由图 6 可知,起泡性与泡沫稳定性随着蛋白质量浓度的增加而增大,可能是因为参与成膜的蛋白增多,蛋白质分子间的作用使产生的吸附膜更加紧密、厚度增大,从而产生的气泡不易破裂,稳定性较高。由图 7 可知,pH 4 为趋势的分界线,当 pH 小于 4 时,起泡性随 pH 增大而减小,泡沫稳定性则逐渐增加,可能的原因是,当 pH 在等电点附近时,参与形成泡沫的蛋白质量浓度较低,使得其泡沫量最少,但此时不溶性颗粒由于静电作用吸附于气-液界面,使得蛋白膜黏性、厚度增大,泡沫稳定性增

加^[16]。由图 8 可知,起泡性与泡沫稳定性随着 NaCl 浓度的增加而增大,可能是因为随着 NaCl 的加入,使得蛋白质的溶解度、黏度等发生变化,从而增强了起泡性与泡沫稳定性。

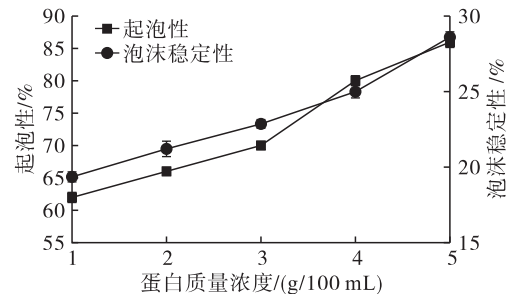


图 6 蛋白质量浓度对起泡性及泡沫稳定性的影响

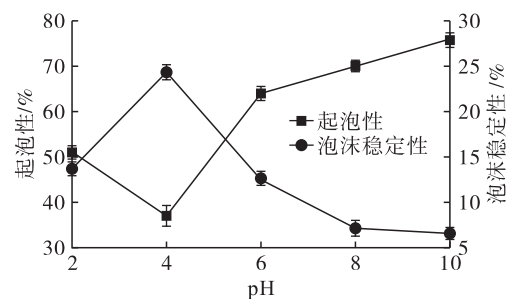


图 7 pH 对起泡性及泡沫稳定性的影响

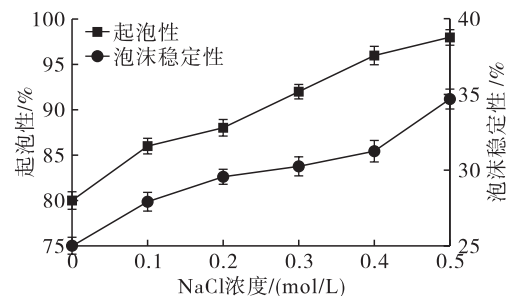


图 8 NaCl 浓度对起泡性及泡沫稳定性的影响

2.4.3 乳化性及乳化稳定性

仙人掌果籽蛋白的乳化性及乳化稳定性与蛋白质量浓度、pH 和 NaCl 浓度的关系如图 9 ~ 图 11 所示。

由图 9 可知,乳化性与乳化稳定性随着蛋白质量浓度的增加而增大,可能是因为随着蛋白质量浓度的增加,增大了界面膜的厚度,增强了界面膜的强度,从而使得仙人掌果籽蛋白的乳化性与乳化稳定性增强。由图 10 可知,当 pH 小于 4 时,随着 pH 的增加,乳化性与乳化稳定性不断下降,当 pH 大于 4 时,乳化性与乳化稳定性随着 pH 的增大而增强,可能是因为当 pH 在蛋白质等电点附近时,其乳化性与乳化稳定性最差,而远离等电点时,则乳化性与乳化稳定性逐渐增强^[17]。由图 11 可知,仙人掌果籽蛋白的乳化性随着 NaCl 浓度的增大,先减小后增大,乳化稳定性趋势正好相反,当 NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时,其乳化性最小,而乳化稳定性最强,原因可能是随

着 NaCl 浓度的增大,影响了分子间的疏水作用力,从而影响了蛋白的乳化性与乳化稳定性^[18]。

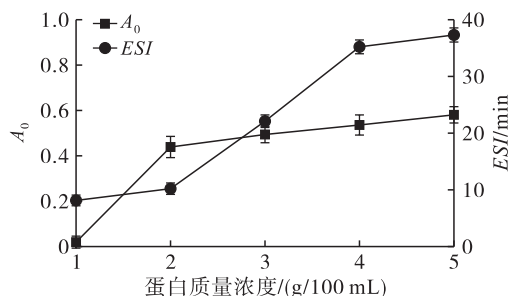


图9 蛋白质质量浓度对乳化性及乳化稳定性的影响

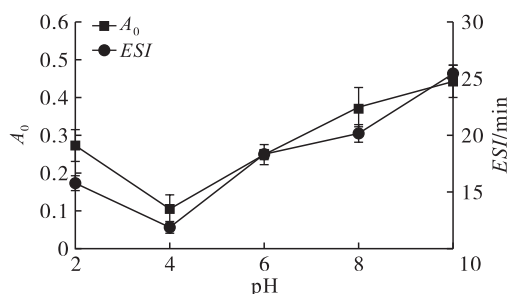


图10 pH对乳化性及乳化稳定性的影响

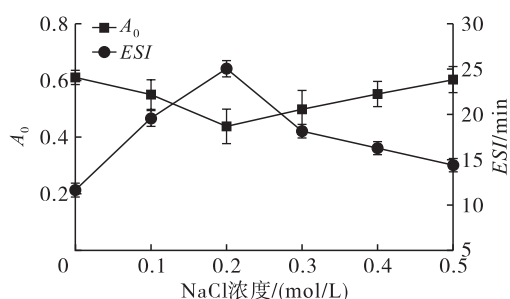


图11 NaCl浓度对乳化性及乳化稳定性的影响

3 结论

本实验研究碱提酸沉法提取仙人掌果籽蛋白各个单因素对提取率的影响,通过单因素实验确定最适提取条件为料液比 1:20、pH 10、提取时间 40 min、提取温度 40 ℃,此时仙人掌果籽蛋白提取率为 $(68.17 \pm 0.33)\%$ 。

仙人掌果籽蛋白吸水性为 (15.81 ± 0.32) g/100 g,吸油性为 (7.73 ± 0.18) g/100 g,而蛋白质质量浓度、pH 和 NaCl 浓度对起泡性及泡沫稳定性和乳化性及乳化稳定性具有显著的影响。仙人掌果籽蛋白的起泡性与泡沫稳定性随着蛋白质质量浓度和 NaCl 浓度的增加而增大;而随着 pH 的增大,起泡性先减小后增大,pH 为 4 时,起泡性最小,泡沫稳定性趋势则相反。仙人掌果籽蛋白的乳化性与乳化稳定性随着蛋白质质量浓度的增加而增大,却随着 pH 的增大,先减小后增大,pH 为 4 时,得到其最小值;而仙人掌果籽蛋白的乳化性随着 NaCl 浓度的增大,先减小后增大,乳化稳定性趋势正好相反,当 NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时,其乳化性

最小,而乳化稳定性最强。

参考文献:

- [1] OT LORA M C, CARRIAZO J G, LTURRIAGA L, et al. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus - indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents [J]. Food Chem, 2015,187:174 - 181.
- [2] 李雪,白新鹏,曹君,等. 仙人掌果酒发酵动力学及其抗氧化性[J]. 食品科学, 2017,38(4):87 - 92.
- [3] EL - MOSTAFA K, EL K Y, BADREDDINE A, et al. Nopal cactus (*Opuntia ficus - indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease [J]. Molecules, 2014,19(9):14879 - 14901.
- [4] MOUSSA - AYOULB T E, JAEGER H, YOUSSEF K, et al. Technological characteristics and selected bioactive compounds of *Opuntia dillenii* cactus fruit juice following the impact of pulsed electric field pre - treatment [J]. Food Chem, 2016,210:249 - 261.
- [5] MO NHAMMER M R, MAIER C, STINTZING F C, et al. Impact of thermal treatment and storage on color of Yellow orange cactus pear (*Opuntia ficus - indica* [L.] Mill. cv. 'Gialla') juices [J]. J Food Sci, 2010,71(7):C400 - C406.
- [6] 陈贵堂,赵霖. 植物蛋白的营养生理功能及开发利用 [J]. 食品工业科技, 2004(9):137 - 140.
- [7] 刘建全,张玲,郝利平. 燕麦蛋白提取分离的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2014(1):132 - 136.
- [8] 彭瑶瑶. 牡丹籽油脂和蛋白的提取、精制和性能研究 [D]. 江苏 无锡:江南大学, 2014.
- [9] 薛蕾,李大文,尉芹,等. 苦杏仁蛋白的功能特性 [J]. 食品科学, 2013,34(7):70 - 75.
- [10] 吴晓红,毛坤财,王宏伟,等. 红松种子水溶性蛋白乳化性及起泡性研究 [J]. 中国油脂, 2011,36(9):31 - 33.
- [11] 麻成金,黄群,余佶,等. 茶叶籽粕蛋白功能特性研究 [J]. 食品科学, 2014,35(23):114 - 118.
- [12] 赵节昌. 响应面法优化酸枣仁蛋白提取工艺 [J]. 食品科学, 2013,34(16):134 - 138.
- [13] 李艳,郑亚军. 杏仁分离蛋白提取工艺的研究 [J]. 现代食品科技, 2007,23(1):64 - 66.
- [14] 张娜,潘思轶. 棉籽蛋白提取工艺研究 [J]. 中国油脂, 2008,33(11):28 - 30.
- [15] 李升福. 玉米蛋白水解的研究及其产物的应用 [D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2002.
- [16] 陶健,毛立新,杨小姣,等. 荞麦蛋白的功能特性研究 [J]. 中国粮油学报, 2005,20(5):46 - 50.
- [17] 崔森,唐年初,陈聪颖,等. 沙棘籽粕蛋白的功能性质研究 [J]. 中国油脂, 2012,37(4):52 - 56.
- [18] 张涛. 汉麻籽分离蛋白的制备工艺、功能性质及应用研究 [D]. 江苏 无锡:江南大学, 2008.