

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

吴兴雨¹, 孙凯杨², 姚玥¹, 孙丰梅^{1,3}

(1. 河北北方学院 食品科学系, 河北 张家口 075000; 2. 河北北方学院 经济管理学院, 河北 张家口 075000;
3. 河北省农产品食品质量安全分析检测重点实验室, 河北 张家口 075000)

摘要:以亚麻籽饼粕为原料,分别采用双酶复合法和碱溶酸沉法提取亚麻籽蛋白,测定并比较两种亚麻籽蛋白的持水性、持油性、溶解性及氨基酸组成。结果表明:碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持水性在pH 6~7、40~80℃下优于双酶复合法;双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的持油性在pH 4~8下优于碱溶酸沉法,但碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持油性在40~100℃下优于双酶复合法;双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性在pH 2~9(pH 3和pH 7除外)、20~60℃、NaCl浓度0.3~1.5 mol/L下优于碱溶酸沉法;亚麻籽蛋白氨基酸种类丰富,谷氨酸含量最高,双酶复合法和碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的谷氨酸含量分别为10.793%和10.615%,两种方法氨基酸总和差异较小。

关键词:亚麻籽蛋白;持水性;持油性;溶解性;氨基酸组成;双酶复合法;碱溶酸沉法

中图分类号:TS229;TQ936.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)04-0043-05

Comparison of water holding capacity, oil holding capacity, solubility and amino acid composition of flaxseed protein extracted by two methods

WU Xingyu¹, SUN Kaiyang², YAO Yue¹, SUN Fengmei^{1,3}

(1. Department of Food Science, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China; 2. School of Economics and Management, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China;
3. Key Laboratory for Quality and Safety Analysis and Detection of Agricultural Products in Hebei Province, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

Abstract: With flaxseed meal as raw material, flaxseed protein was extracted by double enzyme complex method and alkali-solution and acid-precipitation method, and the water holding capacity, oil holding capacity, solubility and amino acid composition of flaxseed protein were determined and compared. The results showed that the water holding capacity of flaxseed protein extracted by alkali-solution and acid-precipitation method was better than that extracted by double enzyme complex method at pH 6-7 and 40-80℃. The oil holding capacity of flaxseed protein extracted by double enzyme complex method was better than that extracted by alkali-solution and acid-precipitation method at pH 4-8, but the oil holding capacity of flaxseed protein extracted by alkali-solution and acid-precipitation method was better than that extracted by double enzyme complex method at 40-100℃. The solubility of flaxseed

protein extracted by double enzyme complex method was better than that extracted by alkali-solution and acid-precipitation at pH 2-9 (except pH 3, 7), 20-60℃ and NaCl concentration 0.3-1.5 mol/L. The flaxseed protein had rich variety of amino acids. The content of glutamic acid in flaxseed protein was the highest, and the contents of glutamic acid in

收稿日期:2020-07-06;修回日期:2021-01-08

基金项目:河北省科技厅项目(18227132D);河北省教育厅项目(ZD2017205)

作者简介:吴兴雨(1994),女,硕士研究生,研究方向为粮食副产物的加工与利用(E-mail)1371961621@qq.com。

通信作者:孙丰梅,副教授,博士(E-mail)shiliu0616@163.com。

flaxseed protein extracted by double enzyme complex method and alkali - solution and acid - precipitation method were 10.793% and 10.615%, respectively. The total amino acid contents in flaxseed protein were similar.

Key words: flaxseed protein; water holding capacity; oil holding capacity; solubility; amino acid composition; double enzyme complex method; alkali - solution and acid - precipitation method

亚麻又名胡麻,为一年生植物,起源于印度,可分为纤维用、油用和油纤两用型亚麻^[1]。亚麻喜欢生长在较为凉爽的环境,在我国主要分布在山西、甘肃、宁夏、内蒙古等地^[2]。

亚麻籽榨油后剩余的产物被称为亚麻籽饼粕,我国一般将其作为饲料使用或者直接丢弃,造成资源的浪费^[3]。亚麻籽饼粕中蛋白质的含量高达32%~49%,含有丰富的氨基酸,其中包括人体所需的8种必需氨基酸^[4]。与大豆蛋白相比,亚麻籽蛋白含有更多的天冬氨酸、精氨酸、谷氨酸和亮氨酸,并且性质更加稳定,可见亚麻籽蛋白是一种优质的植物蛋白,在食品工业领域有着广阔的应用前景。在糕点类制品、冰淇淋、面包等产品的制作过程中,蛋白质的持水性和持油性是重要的影响因素^[5-8]。蛋白质的持水性可以提高产品的品质,改善产品的口感,持油性则可以增强产品对脂肪的吸收与保留能力,提高产品的风味。蛋白质的溶解性影响着起泡性和凝胶性,是判断蛋白质潜在应用价值的一个指标,此外蛋白质的溶解性也与其在饮料中的应用直接相关^[9-11]。

不同方法提取的蛋白质性质可能不同,目前对此方面的研究鲜有报道。本试验通过 α -淀粉酶和碱性蛋白酶结合提取亚麻籽蛋白,测定不同条件下亚麻籽蛋白的持水性、持油性及溶解性并与碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白对比,为亚麻籽蛋白在食品工业的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

亚麻籽饼粕,康保明光粮油有限公司;碱性蛋白酶(活性50 U/mg),北京奥博星生物技术有限公司; α -淀粉酶(活性 $\geq 3\ 700$ U/g),北京奥博星生物技术有限公司;盐酸(分析纯),北京化工厂;大豆油,亿家福;正己烷(分析纯),天津市科密欧化学试剂有限公司;考马斯亮蓝-G250,北京亚米生物科技有限公司;牛血清蛋白,北京博尔西科技有限公司;壳聚糖(食品级),河南多美姿生物科技有限公司;氢氧化钠(分析纯),天津市永大化学试剂有限公司。

JA1003N 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;HH-S 数显恒温水浴锅,金坛市医疗仪器厂;PHS-3C 酸度计,上海佑科仪表有限公司;HC-3018 高速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;79-1 磁力加热搅拌器,常州澳华仪器有限公司;DS-T300 高速多功能粉碎机,上海市顶帅工贸有限公司;UV76 紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;JYL-C50T 九阳料理机,九阳股份有限公司;BCD-249CF 美菱电冰箱,合肥美菱股份有限公司;HY-4A 调速振荡器,常州澳华仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 脱胶脱脂亚麻籽饼粕粉的制备

亚麻籽饼粕 \rightarrow 粉碎过0.180 mm 孔径(80目)筛 \rightarrow 按料液比1:20加入蒸馏水并且75℃水浴90 min \rightarrow 静置弃去上清液 \rightarrow 重复3次洗胶 \rightarrow 烘干粉碎过筛 \rightarrow 加入30倍的正己烷 \rightarrow 振荡6 h \rightarrow 静置1 h \rightarrow 回收正己烷 \rightarrow 干燥粉碎 \rightarrow 脱胶脱脂亚麻籽饼粕粉^[12]。

1.2.2 亚麻籽蛋白的提取

双酶复合法:称取脱胶脱脂亚麻籽饼粕粉并按料液比1:15加入蒸馏水,基于前期的试验,依次采用 α -淀粉酶(2.5%的 α -淀粉酶,在pH 6.0、60℃条件下酶解4 h)和碱性蛋白酶(1%的碱性蛋白酶,在pH 10.1、47.5℃条件下酶解3 h)提取亚麻籽蛋白,100℃条件下灭酶,4 000 r/min 离心15 min,取上清液加入1%壳聚糖沉淀蛋白质,4 000 r/min 离心15 min,沉淀冷冻干燥得到亚麻籽蛋白^[13]。

碱溶酸沉法:按料液比1:15将脱胶脱脂亚麻籽饼粕粉与蒸馏水混合,用1 mol/L NaOH调pH为10.5,70℃水浴浸提1.5 h,4 000 r/min 离心10 min,取上清液调节pH至4.4(亚麻籽蛋白等电点),静置1.5 h,4 000 r/min 离心15 min,沉淀冷冻干燥得到亚麻籽蛋白^[14]。

1.2.3 亚麻籽蛋白持水性和持油性的测定

取0.5 g(m_0)亚麻籽蛋白,加入10 mL水或大豆油,充分振荡,4 000 r/min 离心30 min,弃去水或大豆油,称量离心后沉淀的质量(m_1),按式(1)计算

持水性(h_1)或持油性(h_2)^[4]。

$$h_1(h_2) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.4 亚麻籽蛋白溶解性的测定

配制 10 mg/mL 的亚麻籽蛋白溶液, 4 000 r/min 离心 20 min, 取 0.5 mL 上清液采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量, 按式(2)计算亚麻籽蛋白溶解性(S)^[5]。

$$S = m/m_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: m 为上清液中蛋白质质量, g; m_0 为样品中蛋白质质量, g。

1.2.5 亚麻籽蛋白氨基酸组成及含量的测定

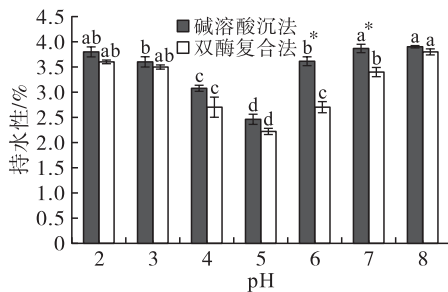
参考 GB 5009.124—2016《食品安全国家标准食品中氨基酸的测定》测定亚麻籽蛋白氨基酸组成及含量。

2 结果与分析

2.1 亚麻籽蛋白的持水性

2.1.1 pH 对亚麻籽蛋白持水性的影响

在 20 °C 的条件下考察 pH 对亚麻籽蛋白持水性的影响, 结果见图 1。



注:图中不同小写字母表示同一种方法提取的亚麻籽蛋白在不同条件下差异显著($P < 0.05$); * 代表不同方法提取的亚麻籽蛋白在相同条件下差异显著($P < 0.05$)。下同

图1 pH对亚麻籽蛋白持水性的影响

由图 1 可知, 亚麻籽蛋白的持水性在等电点附近最低, 在 pH 2 ~ 5 范围内, 亚麻籽蛋白的持水性随着 pH 的减小而增大, pH 大于 5 时, 亚麻籽蛋白的持水性随着 pH 的增大而增大, 当 pH 为 6、7 时, 碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持水性显著优于双酶复合法($P < 0.05$)。

2.1.2 温度对亚麻籽蛋白持水性的影响

在 pH 7 的条件下考察温度对亚麻籽蛋白持水性的影响, 结果见图 2。

由图 2 可知, 亚麻籽蛋白持水性随着温度升高呈现先上升后下降趋势。双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的持水性在不同温度下具有显著差异($P < 0.05$); 在 40 ~ 80 °C 下, 碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持水性显著优于双酶复合法($P < 0.05$)。

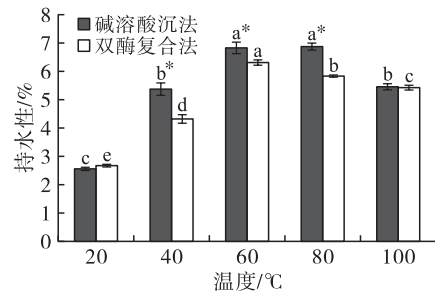


图2 温度对亚麻籽蛋白持水性的影响

2.2 亚麻籽蛋白的持油性

2.2.1 pH 对亚麻籽蛋白持油性的影响

在 20 °C 的条件下考察 pH 对亚麻籽蛋白持油性的影响, 结果见图 3。

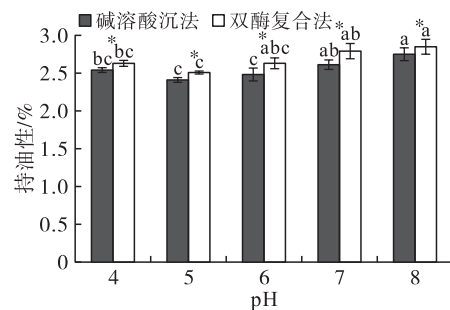


图3 pH对亚麻籽蛋白持油性的影响

由图 3 可知: 亚麻籽蛋白持油性在 pH 5 附近最低, 随着 pH 增大, 亚麻籽蛋白持油性出现上升趋势; 在 pH 4 ~ 8 时, 双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的持油性显著优于碱溶酸沉法($P < 0.05$)。

2.2.2 温度对亚麻籽蛋白持油性的影响

在 pH 7 条件下考察温度对亚麻籽蛋白持油性的影响, 结果见图 4。

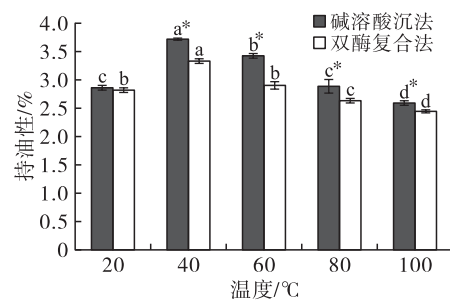


图4 温度对亚麻籽蛋白持油性的影响

由图 4 可知: 两种方法提取的亚麻籽蛋白持油性均随着温度升高均呈现先上升后下降的趋势, 出现这种情况的原因可能是高温使黏度下降, 持油性降低, 在 40 ~ 100 °C 时, 碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持油性显著优于双酶复合法($P < 0.05$)。

2.3 亚麻籽蛋白的溶解性

2.3.1 pH 对亚麻籽蛋白溶解性的影响

在 20 °C、不添加 NaCl 条件下考察 pH 对亚麻籽

蛋白溶解性的影响,结果见图5。

由图5可知:双酶复合法和碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的溶解性在pH 2~9的范围内曲线符合“V”字形,除pH 3与pH 5外,双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性在不同pH下具有显著性差异($P < 0.05$);碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的溶解性在pH 2~8范围内具有显著性差异($P < 0.05$);在pH 2~9范围内,除pH 3和pH 7外,双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性显著高于碱溶酸沉法($P < 0.05$)。

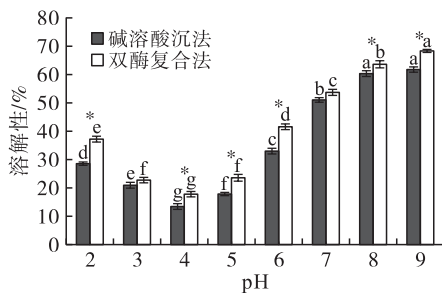


图5 pH对亚麻籽蛋白溶解性的影响

2.3.2 温度对亚麻籽蛋白溶解性的影响

在pH 7、不添加NaCl条件下考察温度对亚麻籽蛋白溶解性的影响,结果见图6。

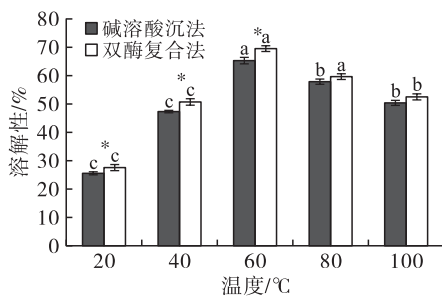


图6 温度对亚麻籽蛋白溶解性的影响

由图6可知:亚麻籽蛋白溶解性在60℃时最大,这是因为在一定温度范围内,随着温度的升高,可以增加蛋白质与水的作用力,但当温度超过60℃时,高温导致蛋白质结构被破坏,溶解性出现下降的趋势;在20~60℃时,双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性显著优于碱溶酸沉法($P < 0.05$)。

2.3.3 NaCl浓度对亚麻籽蛋白溶解性的影响

在20℃、pH 7条件下考察NaCl浓度对亚麻籽蛋白溶解性的影响,结果见图7。

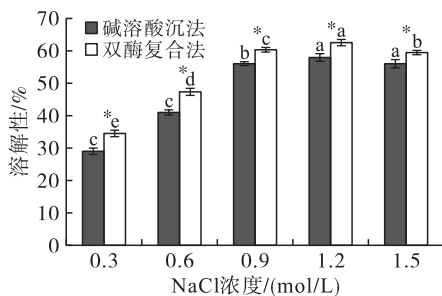


图7 NaCl浓度对亚麻籽蛋白溶解性的影响

由图7可知:当NaCl浓度小于1.2 mol/L时,亚麻籽蛋白溶解性随着离子浓度增加呈现上升趋势,当NaCl浓度增至1.5 mol/L时,产生盐析效应,降低蛋白质间的作用,溶解性出现下降的趋势^[18];在NaCl浓度为0.3~1.5 mol/L时,双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性显著优于碱溶酸沉法($P < 0.05$)。

2.4 亚麻籽蛋白的氨基酸组成及含量

双酶复合法与碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的氨基酸组成及含量见表1。

氨基酸	碱溶酸沉法	双酶复合法
天冬氨酸	5.674	5.571
苏氨酸	2.139	2.170
丝氨酸	2.224	2.259
谷氨酸	10.615	10.793
甘氨酸	2.908	2.949
丙氨酸	2.429	2.463
胱氨酸	0.690	0.695
缬氨酸	2.372	2.386
蛋氨酸	0.894	0.900
异亮氨酸	2.453	2.505
亮氨酸	3.317	3.368
酪氨酸	1.408	1.443
苯丙氨酸	2.790	2.828
赖氨酸	1.393	1.407
组氨酸	1.092	1.106
精氨酸	5.677	5.751
脯氨酸	1.514	1.523
色氨酸	1.080	1.110
总和	50.669	51.227

由表1可知,亚麻籽蛋白的氨基酸种类丰富,且含有人体所需的8种必需氨基酸,同时富含婴幼儿生长需要的组氨酸、精氨酸和酪氨酸^[4]。亚麻籽蛋白中谷氨酸含量最高,双酶复合法和碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白谷氨酸含量分别为10.793%和10.615%。双酶复合法提取的亚麻籽蛋白氨基酸总和为51.227%,碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白氨基酸总和为50.669%,两者差异较小。

3 结论

碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持水性在pH 6~7和40~80℃条件下优于双酶复合法;双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的持油性在pH 4~8条件下优于碱溶酸沉法,但碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的持油性在40~100℃条件下优于双酶复合法。双酶复合法提取的亚麻籽蛋白的溶解性在pH 2~9 (pH 3和pH 7除外)、20~60℃和NaCl浓度0.3~

(下转第51页)

素主次顺序为 D(树脂添加量) > C(吸附时间) > B(pH) > A(吸附温度), 最佳脱色工艺条件为 A₁B₂C₂D₂, 即吸附温度 20℃、pH 7.0, 吸附时间 120 min、树脂添加量 12%, 在此条件下葵花籽蛋白的 L* 值为 86.3、a* 值为 2.6、b* 值为 10.7, 其蛋白质含量和得率分别为 97.50% 和 8.50%。葵花籽蛋白在未脱色之前呈深灰色, 在最佳工艺条件下脱色后的葵花籽蛋白呈浅白色, 质地柔软细腻。

3 结论

碱性蛋白酶结合 AB-8 型大孔树脂吸附后葵花籽蛋白的脱色效果最佳, 进一步进行单因素试验及正交试验优化葵花籽蛋白的脱色工艺条件, 结果发现, 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色的最佳工艺参数为 pH 7.0、吸附温度 20℃、吸附时间 120 min、树脂添加量 12%。在最佳工艺条件下, 葵花籽蛋白的 L* 值为 86.3、a* 值为 2.6、b* 值为 10.7, 葵花籽蛋白由深灰色变为浅白色, 脱色效果显著, 其蛋白质含量和得率分别为 97.50% 和 8.50%。

参考文献:

- [1] 冷玉娟. 水酶法提取葵花籽油和葵花籽蛋白的回收[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2007.
- [2] TAHA F S, MOHAMED S S, WAGDY S M, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of enzymatic hydrolysis products from sunflower protein isolate [J]. World Appl Sci J, 2013, 21(5): 651-658.
- [3] SABIR M A, SOSULSKIF W, FINLAYSON A J. Chlorogenic

acid-protein interactions in sunflower [J]. J Agric Food Chem, 1974, 22(4): 575-578.

- [4] SCHERZE I, MUSCHIOLIK G. Effects of various whey protein hydrolysates on the emulsifying and surface properties of hydrolysed lecithin [J]. J Colloid Surface B, 2001, 21(1): 107-111.
- [5] 罗丰收. 葵花籽粕蛋白提取及其改性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014.
- [6] 彭友舜, 韩占霞, 李嘉明. 芦笋多糖活性炭法脱色工艺 [J]. 河北科技师范学院学报, 2014, 28(2): 15-20.
- [7] 徐丹丹. 葵花籽绿原酸的提取及富集研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2015.
- [8] 年贺凤, 朱桂花, 韦萌萌, 等. 葡萄籽蛋白脱色试验研究 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(15): 14-18.
- [9] 杨旭, 谢盈. 茶渣硒蛋白的分离纯化及其性质研究 [J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 146-150.
- [10] 夏玮, 吕庆, 张文清, 等. 大孔吸附树脂脱色桑叶多糖的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(2): 141-144.
- [11] FU B Q, LIU J, LI H, et al. The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid [J]. J Chromatogr, 2005, 1089(1): 18-24.
- [12] PICKARDT C, GEORG M W, PETER E, et al. Processing of low polyphenol protein isolates from residues of sunflower seed oil production [J]. Proced Food Sci, 2011, 1: 1417-1424.
- [13] 武佳乐. 限制性酶解结合大孔树脂吸附脱色对葵花籽蛋白加工特性和结构的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.

(上接第 46 页)

1.5 mol/L 条件下优于碱溶酸沉法。亚麻籽蛋白中的谷氨酸含量最高, 双酶复合法和碱溶酸沉法提取的亚麻籽蛋白的谷氨酸含量分别为 10.793% 和 10.615%, 亚麻籽蛋白的氨基酸种类丰富, 且含有人体所需的 8 种必需氨基酸, 是一种非常优质的植物蛋白。

参考文献:

- [1] 张雪, 徐立群, 王庆峰, 等. 不同用途亚麻的研究进展 [J]. 东北农业科学, 2018, 43(5): 16-20.
- [2] 许晖. 亚麻籽分离蛋白流变学特性的研究 [J]. 中国食品学报, 2002, 2(4): 25-29.
- [3] 李轩领, 张炜, 陈亮. 亚麻籽饼粕中亚麻蛋白的初步泡沫分离 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2015, 36(1): 55-61.
- [4] 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.
- [5] 许晖, 郑桂富. 金属离子和 pH 对亚麻蛋白溶解性和持水性的影响 [J]. 食品工业科技, 2003(4): 21-23.
- [6] 张慧君, 孙岩, 王丽娜. 响应面优化酶法提取亚麻粕蛋白的工艺研究 [J]. 食品工业, 2013, 34(8): 67-70.

- [7] DEV D K, ERIKA Q, RUDOLF H. Nitrogen extractability and buffer capacity of defatted linseed (*Linum usitatissimum* L.) flour [J]. J Sci Food Agric, 1986, 37(2): 199-205.
- [8] 胡晓军, 李群, 许光映, 等. 亚麻籽中主要营养成分的分布研究 [J]. 中国油脂, 2013, 37(12): 64-66.
- [9] SATHE S, DESHPANDE S, SALUNKHE D. Functional properties of lupinseed (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates [J]. J Food Sci, 1982, 47(2): 491-497.
- [10] 张维农, 刘大川, 胡小泓. 花生蛋白产品功能特性的研究 [J]. 中国油脂, 2002, 27(5): 60-65.
- [11] WU H W, WANG Q, MA T Z, et al. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein [J]. Food Res Int, 2009, 42(3): 343-348.
- [12] 张泽生, 张兰, 徐慧, 等. 亚麻粕中亚麻胶的提取与纯化 [J]. 食品研究与开发, 2010, 31(9): 234-236.
- [13] 张薇. 超声波辅助双酶法提取米糠蛋白及其应用的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2014.
- [14] 许光映, 胡晓军, 李群, 等. 亚麻分离蛋白提取工艺的研究 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(3): 45-48.