

# 响应面试验优化碱提酸沉法提取微胚乳玉米蛋白工艺及其组成分析

卫萍, 张雅媛, 游向荣, 邓静友, 周葵, 杨兆杏

(广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所, 广西果蔬贮藏与加工新技术重点实验室, 广西香蕉保鲜与加工工程技术研究中心, 南宁 530007)

**摘要:**对碱提酸沉法提取微胚乳玉米蛋白的工艺条件进行优化,并分析其分子质量分布和氨基酸组成。以微胚乳玉米为原料,采用碱提酸沉法提取其中的蛋白质,以玉米蛋白得率为指标,采用单因素试验考察了料液比、提取 pH、提取温度和提取时间的影响,采用响应面试验进一步对微胚乳玉米蛋白提取的工艺条件进行了优化。采用 SDS-PAGE 和氨基酸组成分析比较了最优条件下提取的微胚乳玉米蛋白与普通玉米蛋白的差异。结果表明:微胚乳玉米蛋白的最优提取工艺条件为料液比 1:15、提取 pH 11.5、提取温度 50℃、提取时间 60 min,在此条件下微胚乳玉米蛋白得率为 20.40%;微胚乳玉米蛋白与普通玉米蛋白的分子质量均小于 60 kDa,但在 15~20 kDa 之间二者出现的条带略有不同,两种蛋白中氨基酸种类齐全,谷氨酸、亮氨酸、精氨酸、天门冬氨酸含量较高,微胚乳玉米蛋白的必需氨基酸含量占氨基酸总量的 36.15%,略高于普通玉米蛋白的 35.44%。该研究可为微胚乳玉米蛋白精深加工及其应用提供一定科学依据。

**关键词:**微胚乳玉米;玉米蛋白;碱提酸沉法;分子质量;氨基酸组成

中图分类号:TS209;TS201.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)08-0040-07

## Optimization of alkali-extraction and acid-precipitation extraction of micro-endosperm corn protein by response surface methodology and its composition analysis

WEI Ping, ZHANG Yayuan, YOU Xiangrong, DENG Jingyou, ZHOU Kui, YANG Zhaoxing

(Guangxi Engineering Technology Research Center of Banana Preservation and Processing, Guangxi Key Laboratory of Fruits and Vegetables Storage-processing Technology, Agro-food Science and Technology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

**Abstract:** The extraction conditions of micro-endosperm corn protein by alkali-extraction and acid-

收稿日期:2021-06-24;修回日期:2022-02-22

基金项目:广西科技计划项目(桂科 AB22080043,桂科 AA17202029);国家“万人计划”青年拔尖人才专项经费项目(组厅字[2015]48号);科技先锋队“强农富民”“六个一”专项行动项目(桂农科盟 202115);广西农科院基本科研业务专项(桂农科 2015YT87,桂农科 2018YM05,桂农科 2020YM40)

作者简介:卫萍(1986),女,副研究员,硕士,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail)weiping@gxaas.net。

通信作者:张雅媛,副研究员(E-mail)yayuanzhang@gxaas.net。

precipitation method were optimized, and its molecular weight distribution and amino acid composition were analyzed. With micro-endosperm corn protein yield as the index, the effects of ratio of material to liquid, extraction pH, extraction temperature and extraction time were studied by single factor experiment, and then the extraction conditions were optimized by response surface methodology. The difference between micro-endosperm corn protein and normal corn protein obtained under the optimal

conditions were compared by SDS - PAGE and amino acid composition analysis. The results showed that the optimal extraction conditions for micro - endosperm corn protein were obtained as follows: ratio of material to liquid 1:15, extraction pH 11.5, extraction temperature 50 °C and extraction time 60 min. Under the optimal conditions, the yield of micro - endosperm corn protein was 20.40%. The molecular weight of micro - endosperm corn protein and normal corn protein were both less than 60 kDa, but the bands appearing between 15 kDa and 20 kDa were slightly different. The two corn protein contained almost all kinds of amino acids with glutamic acid, leucine, arginine and aspartate being the predominant amino acids, and the essential amino acid content of micro - endosperm corn protein was 36.15%, which was slightly higher than that of normal corn protein(35.44%). This study can provide a certain scientific basis for the deep processing and application of micro - endosperm corn protein.

**Key words:** micro - endosperm corn; corn protein; alkali - extraction and acid - precipitation; molecular weight; amino acid composition

玉米,同小麦和稻谷并称为世界三大粮食作物<sup>[1]</sup>,在粮食作物中位居第3位<sup>[2]</sup>。我国是全球第二大玉米生产国,仅次于美国,玉米产量占世界总产量的20%<sup>[3]</sup>。普通玉米中含有70%的淀粉,主要用于生产玉米淀粉<sup>[4]</sup>,近年来发展了新型高油高蛋白玉米,改善了玉米籽粒的营养成分,研究新型高油高蛋白玉米具有显著的社会效益和经济效益。赖氨酸和色氨酸是必需氨基酸,只能从食物中摄取,高蛋白玉米中赖氨酸含量在0.4%以上,其色氨酸含量也比普通玉米高1倍左右。从食用价值方面来看,高蛋白玉米具有改善人体营养的作用,特别是对儿童的身体、智力发育大有裨益,对严重营养不良的儿童有一定的治疗作用,此外对预防癞皮病也有较好的疗效<sup>[5]</sup>。微胚乳玉米是一种新型高油高蛋白玉米,与普通玉米相比,胚乳含量极低,籽粒含油率高,油酸、V<sub>E</sub>、甾醇等有益营养成分多,具有玉米的特有香味,榨油后的粕蛋白质含量亦很高,且氨基酸组成合理,深加工潜力大。因而对新型微胚乳高蛋白玉米开展蛋白提取及性质研究,对其后续加工利用具有重要意义。

目前常用的蛋白提取方法有碱提酸沉法<sup>[6]</sup>、溶剂法<sup>[7]</sup>、酶法、反胶束萃取法<sup>[8]</sup>以及微波和超声波辅助提取法<sup>[9-10]</sup>等。其中碱提酸沉法因操作简单、易于控制、成本低廉等优点成为应用最多且已用于工业化的蛋白提取方法<sup>[6]</sup>。本研究首先采用单因素试验考察碱提酸沉法提取微胚乳玉米蛋白的主要工艺参数,然后以玉米蛋白得率为指标,采用响应面法优化获得微胚乳玉米蛋白的最优提取条件,然后对最优条件下提取的微胚乳玉米蛋白和普通玉米蛋白的组成进行了比较,以期对微胚乳高蛋白玉米的

综合开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

微胚乳玉米(水分7.13%、粗脂肪24.7%、粗蛋白质21.6%、总淀粉27.1%、灰分3.2%),广西益宝油料玉米有限公司;普通玉米(爆米花用),广西南宁市广百佳超市;氢氧化钠、盐酸、冰乙酸、溴酚蓝、甘氨酸、甘油、过硫酸铵,均为分析纯;丙烯酰胺、亚甲基双丙烯酰胺、考马斯亮蓝R250、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、十二烷基硫酸钠(SDS)、N,N,N,N-四甲基乙二胺(TEMED,超纯级)、 $\beta$ -巯基乙醇(生化级)、标准蛋白,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

JY6002 电子天平,上海良平仪器仪表有限公司;RRH-100 万能高速粉碎机,欧凯莱芙(香港)实业有限公司;L550 低速大量离心机,湖南湘仪实验仪器开发有限公司;PHS-3C pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;LGJ-18 冷冻干燥机,北京松源华兴科技发展有限公司;XH-C 涡旋混合器,江苏省金坛市荣华实验器材有限公司;HH-S4 数显恒温水浴锅,金坛市万华实验仪器厂;DYCZ-25E 电泳仪,北京六一生物科技有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 玉米蛋白等电点的确定

将微胚乳玉米干燥,然后准确称取50.0 g干微胚乳玉米,粉碎过0.18 mm(80目)筛,经索氏抽提脱脂后按1:10的料液比加500 mL蒸馏水充分混匀,用1.0 mol/L NaOH调节pH至11,在50 °C恒温水浴中振荡60 min后以4 000 r/min离心20 min,底部沉淀重复提取1次,将2次提取的上清液合并分

别用 1.0 mol/L HCl 调 pH 至 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0, 静置 30 min 出现分层, 以 4 000 r/min 离心 20 min, 弃去上清液, 沉淀经真空冷冻干燥后称质量, 计算玉米蛋白得率。以 pH 为横坐标, 玉米蛋白得率为纵坐标, 绘制曲线, 曲线中玉米蛋白得率最高的点对应的 pH 即为玉米蛋白的等电点。玉米蛋白得率按式(1)计算。

$$Y = m_1/m_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $Y$  为玉米蛋白得率;  $m_1$  为玉米蛋白(沉淀)质量, g;  $m_0$  干玉米粒质量, g。

### 1.2.2 碱提酸沉法提取玉米蛋白

准确称取一定量的干玉米粒, 粉碎过 0.18 mm (80 目) 筛, 经索氏抽提脱脂后按一定料液比加蒸馏水充分混匀, 用 1.0 mol/L NaOH 调节至一定的 pH, 置于一定温度的恒温水浴锅中振荡提取一定时间后, 离心取上清液用 1.0 mol/L HCl 调 pH 至玉米蛋白等电点, 静置, 待玉米蛋白沉降后以 10 000 r/min 离心 10 min, 取沉淀真空冷冻干燥后即得玉米蛋白。

### 1.2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

参照卫萍等<sup>[11]</sup>的方法进行 SDS-PAGE 分析, 其中样品制备方法略有修改。样品制备方法: 分别称取 1 mg 玉米蛋白溶于 5 mL 2 倍蛋白样品缓冲液中, 涡旋混合器混匀溶解成透明的深蓝色溶液, 沸水浴中煮沸 10 min 使蛋白质充分变性。

### 1.2.4 氨基酸组成分析

参考 GB 5009.124—2016 测定样品的氨基酸组成。

### 1.2.5 数据处理

每个试验重复 3 次。单因素试验数据利用 SPSS17.0 软件进行方差分析, 并用 Origin 8.1 软件进行绘图, 响应面试验采用 Design Expert 8.0.6.1 软件进行多元回归拟合及工艺参数优化。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米蛋白的等电点

按 1.2.1 方法测定玉米蛋白等电点, pH 与玉米蛋白得率的关系见图 1。

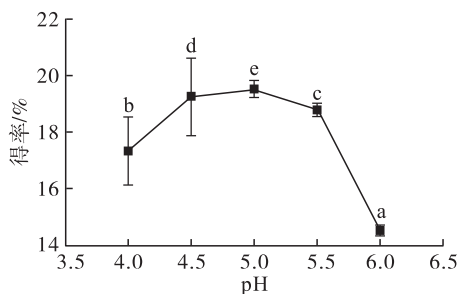


图 1 pH 对玉米蛋白得率的影响

由图 1 可知, 随着 pH 的升高, 玉米蛋白得率先升高后下降。在 pH 为 5.0 时, 玉米蛋白得率达到最大值, 为 19.54%。这是因为在等电点时蛋白质分子颗粒在溶液中不存在同电荷的相互排斥作用, 其颗粒极易相互碰撞凝聚而沉淀析出, 此时溶液中蛋白质的溶解度最小<sup>[10]</sup>。因此, 确定玉米蛋白的等电点为 5.0。另外, 试验中发现二次提取对玉米蛋白得率影响较小, 故后续试验使用一次提取工艺, 以便节约时间和成本。

### 2.2 微胚乳玉米蛋白提取单因素试验

#### 2.2.1 料液比对玉米蛋白得率的影响

在提取温度 50 ℃、提取时间 60 min、提取 pH 11 条件下, 考察料液比对玉米蛋白得率的影响, 结果见图 2。

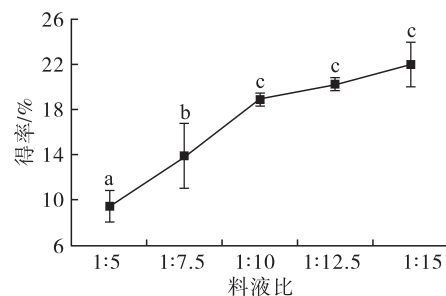


图 2 料液比对玉米蛋白得率的影响

由图 2 可知, 随着料液比的增加, 玉米蛋白得率先迅速增加后缓慢增加。在料液比为 1:5 时, 玉米蛋白得率最低, 为 9.51%, 在料液比为 1:10 时玉米蛋白得率迅速增加至 18.93%。这是因为在料液比较低时, 一方面提取体系黏度大, 分子扩散速率低, 蛋白质分子的溶出速率低, 另一方面蛋白质浓度较高, 分子间的相互排斥力阻碍更多蛋白质的溶出<sup>[12]</sup>, 而随料液比的增加, 稀释作用加强, 提取体系的黏度和蛋白质浓度都有所下降, 蛋白质溶出增加, 从而使玉米蛋白得率增加。但当料液比超过 1:10 时, 玉米蛋白得率增加放缓, 并且与料液比 1:10 时的玉米蛋白得率差异不显著 ( $p > 0.05$ )。分析原因可能是蛋白质的溶解度达到饱和状态, 继续增加溶剂蛋白质溶解也不明显<sup>[13]</sup>。综合考虑, 料液比为 1:10 左右较适宜。

#### 2.2.2 提取 pH 对玉米蛋白得率的影响

在提取温度 50 ℃、提取时间 60 min、料液比 1:10 的条件下, 考察提取 pH 对玉米蛋白得率的影响, 结果见图 3。由图 3 可知, 随着提取 pH 的升高, 玉米蛋白得率逐渐增大, 在提取 pH 为 11.5 时达到最大, 为 18.56%。原因在于碱液能使细胞紧密结构变得疏松, 破坏蛋白质分子的次级键特别是氢键, 使

玉米蛋白质分子表面带有相同电荷,促进结合物与蛋白质的分离,使蛋白得率增加<sup>[14-15]</sup>。当提取 pH 大于 11.5 时,玉米蛋白得率反而降低,原因可能是蛋白质水解导致的<sup>[10]</sup>。另外,试验中发现,随着提取 pH 的升高,玉米蛋白的颜色会变深。因此,选择提取 pH 为 11.5 左右较适宜。

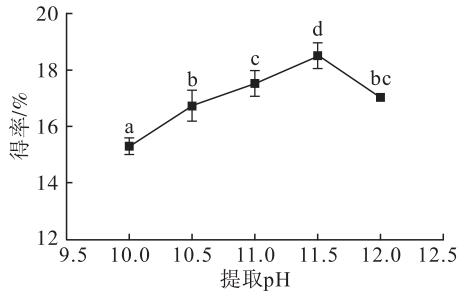


图3 提取 pH 对玉米蛋白得率的影响

### 2.2.3 提取温度对玉米蛋白得率的影响

在提取时间 60 min、提取 pH 11、料液比 1:10 的条件下,考察提取温度对玉米蛋白得率的影响,结果见图 4。

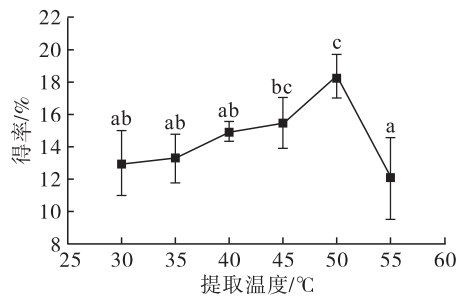


图4 提取温度对玉米蛋白得率的影响

由图 4 可知,随着提取温度的升高,玉米蛋白得率先增大后减小,在提取温度为 50℃ 时,玉米蛋白得率最大,为 18.35%,这与任秀艳等<sup>[16]</sup>研究获得的最佳提取温度一致。当提取温度高于 50℃ 后,玉米蛋白得率开始显著下降。分析原因可能是温度较高时,水发生了解离,Sereewatthanawut 等<sup>[17]</sup>利用色谱分析也证明了水的解离现象,同时在高温条件下蛋白质会发生降解,共同造成了玉米蛋白得率的降低。因此,选择提取温度 50℃ 左右较适宜。

### 2.2.4 提取时间对玉米蛋白得率的影响

在提取温度 50℃、提取 pH 11、料液比 1:10 的条件下,考察提取时间对玉米蛋白得率的影响,结果见图 5。

由图 5 可知,随着提取时间的延长,玉米蛋白得率增加,在提取时间为 90 min 时,玉米蛋白得率达到最大,为 18.10%,之后玉米蛋白得率随着提取时间的延长反而降低。分析原因可能是提取时间太长,玉米蛋白发生部分变性或降解。因此,适宜的提

取时间为 90 min 左右。

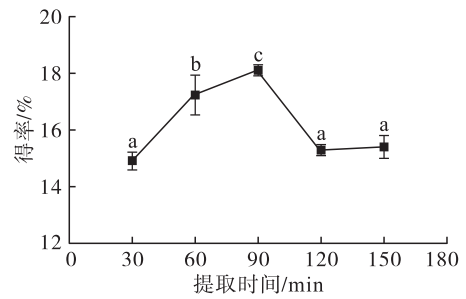


图5 提取时间对玉米蛋白得率的影响

## 2.3 微胚乳玉米蛋白提取响应面试验

### 2.3.1 响应面试验设计及结果

根据单因素试验,以料液比(A)、提取 pH(B)、提取温度(C)及提取时间(D)4 个因素为自变量,以玉米蛋白得率(Y)为响应值,采用中心组合设计进行响应面试验,响应面试验因素与水平见表 1,响应面试验方案及结果见表 2。

表1 响应面试验因素及水平

水平	料液比	提取 pH	提取温度/℃	提取时间/min
-2	1:5	10.5	40	30
-1	1:7.5	11.0	45	60
0	1:10	11.5	50	90
1	1:12.5	12.0	55	120
2	1:15	12.5	60	150

表2 响应面试验方案及结果

试验号	A	B	C	D	Y/%
1	-1	-1	-1	-1	16.55 ± 0.19
2	1	-1	-1	-1	18.75 ± 0.28
3	-1	1	-1	-1	18.75 ± 0.11
4	1	1	-1	-1	20.13 ± 0.10
5	-1	-1	1	-1	17.15 ± 0.15
6	1	-1	1	-1	19.15 ± 0.24
7	-1	1	1	-1	16.83 ± 0.18
8	1	1	1	-1	18.59 ± 0.28
9	-1	-1	-1	1	14.00 ± 0.09
10	1	-1	-1	1	17.00 ± 0.25
11	-1	1	-1	1	16.41 ± 0.21
12	1	1	-1	1	18.62 ± 0.24
13	-1	-1	1	1	15.82 ± 0.18
14	1	-1	1	1	19.55 ± 0.16
15	-1	1	1	1	15.50 ± 0.12
16	1	1	1	1	17.40 ± 0.26
17	-2	0	0	0	16.26 ± 0.14
18	2	0	0	0	20.37 ± 0.18
19	0	-2	0	0	15.15 ± 0.20
20	0	2	0	0	16.57 ± 0.26
21	0	0	-2	0	18.42 ± 0.15

续表 2

试验号	A	B	C	D	Y/%
22	0	0	2	0	18.56 ± 0.22
23	0	0	0	-2	18.02 ± 0.17
24	0	0	0	2	15.50 ± 0.20
25	0	0	0	0	18.53 ± 0.19
26	0	0	0	0	18.26 ± 0.21
27	0	0	0	0	18.46 ± 0.24
28	0	0	0	0	18.27 ± 0.17
29	0	0	0	0	18.89 ± 0.18
30	0	0	0	0	18.25 ± 0.20

### 2.3.2 回归模型的建立及方差分析

对表 2 试验数据进行拟合,得到二次多项回归方程: $Y = 18.44 + 1.10A + 0.30B + 2.500E - 003C - 0.69D - 0.23AB + 0.038AC + 0.22AD - 0.68BC - 0.071BD + 0.29CD - 6.042E - 003A^2 - 0.62B^2 + 0.038C^2 - 0.39D^2$ 。对回归模型进行方差分析,结果见表 3。

表 3 回归模型方差分析

来源	总和	自由度	均方	F	p
模型	67.52	14	4.82	60.41	<0.000 1***
A	29.04	1	29.04	363.76	<0.000 1***
B	2.10	1	2.10	26.31	0.000 1***
C	1.500E-004	1	1.500E-004	1.879E-003	0.966 0
D	11.54	1	11.54	144.52	<0.000 1***
AB	0.85	1	0.85	10.60	0.005 3**
AC	0.02	1	0.02	0.28	0.603 3
AD	0.77	1	0.77	9.59	0.007 4**
BC	7.51	1	7.51	94.04	<0.000 1***
BD	0.08	1	0.08	1.02	0.329 1
CD	1.38	1	1.38	17.29	0.000 8***
A <sup>2</sup>	1.001E-003	1	1.001E-003	0.01	0.912 3
B <sup>2</sup>	10.54	1	10.54	131.98	<0.000 1***
C <sup>2</sup>	0.04	1	0.04	0.49	0.495 3
D <sup>2</sup>	4.28	1	4.28	53.55	<0.000 1***
残差	1.20	15	0.08		
失拟项	0.89	10	0.09	1.44	0.359 9
纯误差	0.31	5	0.06		
总和	68.71	29			

注:\*\*\*为差异极显著( $p < 0.001$ );\*\*为差异高度显著( $p < 0.01$ );\*为差异显著( $p < 0.05$ )

由表 3 可知,模型的  $p$  小于 0.000 1,表明模型差异极显著,失拟项  $p$  为 0.359 9,大于 0.05,表明失拟项不显著,说明未知因素对结果干扰很小,该模型基本能反映料液比、提取 pH、提取温度及提取时间与玉米蛋白得率的关系,可以用此模型分析和预测碱提酸沉法提取玉米蛋白的结果。由  $F$  值可以看出各因素影响主次顺序为  $A$ (料液比)  $> D$ (提取时间)  $> B$ (提取 pH)  $> C$ (提取温度)。由  $p$  值可知

$AB$ 、 $AD$  交互作用差异高度显著( $p < 0.01$ ), $BC$ 、 $CD$  交互作用差异极显著( $p < 0.001$ )。

为了验证二次回归模型的可信性,分别对模型的决定系数( $R^2$ )、校正决定系数( $R^2_{Adj}$ )、变异系数等特征参数进行分析,结果表明:模型的  $R^2$  为 0.982 6, $R^2_{Adj}$  为 0.966 3,说明此模型与实际试验拟合较好,自变量与响应值之间关系显著;模型的预测决定系数( $R^2_{pred}$ )为 0.919 0,说明该模型预测性良好;模型的变异系数为 1.60%,小于 5%,表明模型有良好的重现性;模型的信噪比为 32.880,远大于 4,说明模型可信,可以用此模型来分析预测响应值随自变量的变化规律。

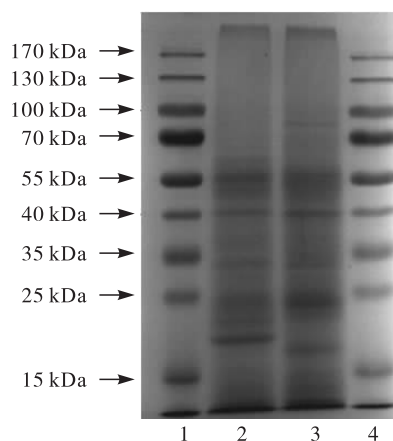
通过对回归模型求偏导,得到玉米蛋白提取的最优工艺条件为料液比 1:14.75、提取 pH 11.4、提取温度 48.95 °C、提取时间 61.20 min,在此条件下玉米蛋白得率的预测值为 20.42%。

### 2.3.3 验证试验

为了检验模型预测的准确性,采用响应面优化的工艺条件进行玉米蛋白提取试验,考虑实际操作的便利,将最优工艺条件修正为料液比 1:15、提取 pH 11.5、提取温度 50 °C、提取时间 60 min。试验重复 3 次,实际玉米蛋白得率平均值为 20.40%,与理论得率 20.42% 的相对误差为 0.10%,无显著性差异,说明模型可以很好地预测微胚乳玉米蛋白提取情况。

### 2.4 玉米蛋白的分子质量分布

分别以微胚乳玉米和普通玉米为原料,按照 1.2.2 方法,在响应面优化的微胚乳玉米蛋白提取最优工艺条件下,提取微胚乳玉米蛋白和普通玉米蛋白,并对两种蛋白进行 SDS-PAGE 分析,结果见图 6。



注:条带 1、2、3、4 分别代表 Marker(标准蛋白)、普通玉米蛋白、微胚乳玉米蛋白、Marker

图 6 玉米蛋白 SDS-PAGE 分析图



以标准蛋白的迁移率和分子质量对数制作工作曲线,再根据被测蛋白的迁移率估算其分子质量。由图6可见,微胚乳玉米蛋白与普通玉米蛋白出现条带的位置基本一致,且分子质量分布均小于60 kDa,普通玉米蛋白有5条主带,分子质量分别为55.59、40.62、30.46、24.82、19.21 kDa,微胚乳玉米蛋白亦有5条主带,分子质量分别为55.59、40.62、30.46、24.82、18.14 kDa,但是二者在15~20 kDa之间出现的条带略有不同,说明微胚乳玉米蛋白与普通玉米蛋白组成有区别,这可能会导致二者加工性质方面有所差异,有待进一步研究验证。

### 2.5 玉米蛋白的氨基酸组成

对最优工艺条件下提取的微胚乳玉米蛋白和普通玉米蛋白的氨基酸组成进行分析,结果如表4所示。

表4 玉米蛋白氨基酸组成及含量 %

氨基酸	普通玉米蛋白	微胚乳玉米蛋白
天门冬氨酸 Asp	2.67 ± 0.10	2.78 ± 0.22
苏氨酸 Thr *	1.51 ± 0.09	1.51 ± 0.15
丝氨酸 Ser	1.87 ± 0.17	2.02 ± 0.80
谷氨酸 Glu	6.02 ± 0.25	6.52 ± 0.16
脯氨酸 Pro	2.52 ± 0.18	2.57 ± 0.26
甘氨酸 Gly	1.97 ± 0.27	1.74 ± 0.10
丙氨酸 Ala	2.43 ± 0.08	2.85 ± 2.02
缬氨酸 Val *	2.18 ± 0.27	2.06 ± 1.50
蛋氨酸 Met *	0.83 ± 0.22	0.53 ± 0.34
异亮氨酸 Ile *	1.26 ± 0.26	1.37 ± 0.12
亮氨酸 Leu *	3.38 ± 0.19	4.37 ± 0.08
酪氨酸 Tyr	1.50 ± 0.15	1.52 ± 0.02
苯丙氨酸 Phe *	1.67 ± 0.14	1.99 ± 0.28
赖氨酸 Lys *	1.78 ± 0.25	1.59 ± 0.32
组氨酸 His	1.30 ± 0.12	1.07 ± 0.20
精氨酸 Arg	2.69 ± 0.14	2.63 ± 0.26
EAA	12.61	13.42
TAA	35.58	37.12

注: \* 表示必需氨基酸;EAA 为必需氨基酸;TAA 为总氨基酸

由表4可见,玉米蛋白中共检出16种氨基酸,种类较为齐全,未检测到色氨酸、天门冬酰胺、谷氨酰胺和胱氨酸,可能是因为酸性条件下水解,色氨酸被沸酸完全破坏,天门冬酰胺和谷氨酰胺侧链的酰胺基也被水解成了羧基。普通玉米蛋白和微胚乳玉米蛋白包含7种人体必需氨基酸(色氨酸除外),分别占氨基酸总量的35.44%和36.15%,两种玉米蛋白的蛋氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、组氨酸含量较少,但是谷氨酸、亮氨酸、精氨酸、天门冬氨酸含

量较高,其中普通玉米蛋白这4种氨基酸分别占氨基酸总量的16.92%、9.50%、7.56%和7.50%,微胚乳玉米蛋白这4种氨基酸分别占氨基酸总量的17.56%、11.77%、7.09%和7.49%。高含量的谷氨酸是表征玉米蛋白的一个重要特性,这与唐红明<sup>[18]</sup>报道的结果相似。谷氨酸可促进机体生物代谢,提高大脑思维活跃水平,可用于治疗神经衰弱和记忆力减退<sup>[19]</sup>。

### 3 结论

在单因素试验的基础上,利用响应面法建立了微胚乳玉米蛋白提取工艺的二次项数学模型,该模型拟合度良好。影响微胚乳玉米蛋白得率的因素主次顺序为料液比 > 提取时间 > 提取 pH > 提取温度,最优提取工艺条件为料液比 1:15、提取 pH 11.5、提取温度 50℃、提取时间 60 min。在最优条件下,微胚乳玉米蛋白得率为 20.40%。对最优条件下提取的微胚乳玉米蛋白与普通玉米蛋白进行 SDS-PAGE 分析,二者出现的条带位置基本一致,只是在 15~20 kDa 出现的条带略有不同。两种玉米蛋白的氨基酸种类一致,较为齐全,同时谷氨酸、亮氨酸、精氨酸、天门冬氨酸含量较高,其中微胚乳玉米蛋白的必需氨基酸含量较普通玉米蛋白高。本试验结果为进一步研究利用新型微胚乳玉米蛋白提供了良好的研究基础。

### 参考文献:

- [1] 王丽艳,郭树国. 玉米蛋白粉挤压膨化工艺参数优化研究[J]. 粮食与饲料工业, 2012, 9(8): 40-42.
- [2] 姬晨曦,杜晶芳,王诗馨,等. 酶解法制备玉米蛋白抗氧化肽的工艺研究[J]. 农产品加工, 2019(9): 51-55.
- [3] 王鑫,侯威,赵磊,等. 不同分子特性玉米蛋白高F值活性肽的制备及其模拟消化吸收[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1): 58-65.
- [4] 王雨婷. 高蛋白酶活性益生芽孢杆菌的筛选及发酵玉米蛋白粉工艺研究[D]. 武汉:武汉轻工大学, 2017.
- [5] 吴春胜,贾士芳,王成己,等. 高蛋白玉米、高油玉米与普通玉米品质的对比研究[J]. 玉米科学, 2004, 12(1): 57-60.
- [6] 赵月,高琦,王晓文,等. 响应面试验优化碱溶酸沉法提取山药储藏蛋白工艺[J]. 食品科学, 2015, 36(16): 7-11.
- [7] 杨柳,尤丽新,张英楠. 有机溶剂法提取玉米蛋白的研究[J]. 吉林农业, 2015(1): 59.
- [8] 龙娇妍,李少华,李长滨,等. 不同提取方法对玉米胚芽蛋白功能特性的影响[J]. 农产品加工, 2016(3): 70-72.

(下转第61页)

用无毒、无味、表面光滑、抗腐蚀、不易脱落的材料制作,并易于清洁和保养,必要时应进行消毒。与油脂接触的设备、管道、管件(垫片),其材质应符合 GB 9685—2016 的规定,不宜采用塑料材质。

应避免润滑油及其他污染源混入原料、半成品及成品中。所有生产设备运转部件的润滑宜采用食品级润滑油。

## 8.2 生产场所

生产场所应符合 GB 8955—2016 的要求。生产车间应根据生产工艺、生产特性以及生产过程对清洁程度的要求合理划分作业区(如清洁作业区、准清洁作业区和一般作业区),不同作业区应采取有效分离或分隔。

生产车间内各项设施应保持清洁,生产场所应具有防止虫害侵入及滋生的设施。地面应使用无毒、无味、不渗透、耐腐蚀的材料建造,应平坦防滑、无裂缝,并易于清洁、消毒和排污。

生产车间入口及车间内必要处,应按需设置更衣室、换鞋(穿戴鞋套)设施或工作鞋靴消毒设施。应在清洁作业区入口设置洗手、干手和消毒设施。如有需要,应在作业区内适当位置加设洗手和消毒设施。

原料、半成品、成品、包装材料等应依据性质的不同分设储存场所或分区域码放,并有明确标识,防止交叉污染。必要时仓库应设有温度、湿度控制设施。

应配备存放生产废弃物(如原料清理出的杂质和下脚料)的专用场所和设施,依废弃物特性分类存放,并有明确标识。应制订废弃物存放和清除制

度,有特殊要求的废弃物处理方式应符合有关规定。

## 9 结束语

随着近年来我国对食用油安全的严格管理以及消费者对高品质粮油产品的迫切需求,业内很多科研工作者对食用植物油包括油茶籽油生产中风险成分成因、防范和控制方法进行了系统深入的研究,取得了显著的成果,油茶籽油质量安全控制方面取得长足进步,油茶籽油安全品质和营养品质得到大幅提升。但还有一些油茶籽油加工企业油茶籽油生产过程质量安全控制技术认识不够,重视不足,仅停留在一般的生产技术层面,造成油茶籽油质量安全事件时有发生。油茶籽油质量安全生产规范的提出,可以实现产品的标准化,技术规范实施过程中还可以及时更新技术如增加最新的油茶籽油鲜果压榨技术规范,并将新技术、新成果应用于标准化建设中,实现对行业的升级改造,为生产标准化的高档油茶籽油奠定良好的基础。

## 参考文献:

- [1] 李文林,黄凤洪,王利宾. 油茶籽加工和综合利用研究进展[J]. 中国油脂,2011,36(11):55-57.
- [2] 孟桂元,韩杰城,詹兴国,等. 我国油茶产业分析与发展对策[J]. 中国油脂,2021,46(7):104-108,113.
- [3] 吴雪辉,何俊华,翁依洵,等. 油茶籽油精炼过程中品质指标的变化规律研究[J]. 中国粮油学报,2022,37(4):135-140.
- [4] 张立伟,王辽卫. 我国油茶产业的发展现状与展望[J]. 中国油脂,2021,46(6):6-9,27.
- [5] 梅方炜,胡静,欧天山,等. 油茶深精加工研究进展[J]. 粮食与油脂,2021,34(11):6-8,40.
- [6] SHEN L Q, WANG X Y, WANG Z Y, et al. Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods [J]. Food Chem, 2008, 107(2): 929-938.
- [7] 任秀艳,曹戈,王孟云,等. 玉米胚芽蛋白的碱法提取工艺及特性研究[J]. 食品工业科技,2014,35(10):279-283.
- [8] SEREEWATTHANAWUT L, PRAPINTIP S, WATCHIRARUJI K, et al. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis [J]. Bioresour Technol, 2008, 99(3): 555-561.
- [9] 梁丽敏,徐勇. 微波辅助提取玉米醇溶蛋白方法的研究[J]. 食品科技,2014,39(3):128-131.
- [10] 薛颖,王联结,党艳妮,等. 超声波辅助碱法提取玉米胚芽粕蛋白质工艺研究[J]. 食品工业科技,2015,36(2):248-252.
- [11] 卫萍,游向荣,张雅媛,等. 响应面法优化火麻蛋白提取工艺研究[J]. 中国油脂,2016,41(5):24-29.
- [12] 王振宇,杨丽娜,李宏菊. 碱提酸沉提取红松仁分离蛋白的工艺研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2008,20(6):71-72.
- [13] 赵见军,张润光,马玉娟,等. 核桃粕中蛋白提取工艺的优化[J]. 食品科学,2014,35(18):40-46.
- [14] 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):57-59.
- [15] SHEN L Q, WANG X Y, WANG Z Y, et al. Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods [J]. Food Chem, 2008, 107(2): 929-938.
- [16] 任秀艳,曹戈,王孟云,等. 玉米胚芽蛋白的碱法提取工艺及特性研究[J]. 食品工业科技,2014,35(10):279-283.
- [17] SEREEWATTHANAWUT L, PRAPINTIP S, WATCHIRARUJI K, et al. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis [J]. Bioresour Technol, 2008, 99(3): 555-561.
- [18] 唐红明. 玉米蛋白粉深加工及利用探讨[J]. 南方农业,2020,14(21):190-191.
- [19] 汪正兴,韩强,郜海燕,等. 响应面试验优化亚临界水提取核桃粕蛋白工艺及其氨基酸分析[J]. 食品科学,2017,38(20):191-196.

(上接第45页)