

燕麦分离蛋白的提取及功能性测定

李玉娥,王 愈,陈振家

(山西农业大学 食品科学与工程学院,山西 晋中 030801)

摘要:以裸燕麦为原料,采用传统的碱提酸沉法,在料液比为1:10 g/mL, pH = 8.5(碱提)和 pH = 4.5(酸沉), T = 20 °C 条件下提取燕麦分离蛋白,蛋白提取率为75%,再在不同的 pH、离子强度和蛋白浓度条件下,进行燕麦分离蛋白的功能性测定,测定其乳化活性、起泡性、持水性、粘度。结果得出,燕麦分离蛋白在等电点附近时其乳化活性、起泡性、持水性数值最低,离子强度对各功能性指标的影响各不相同,燕麦分离蛋白粘度与其蛋白浓度成正比。

关键词:燕麦分离蛋白;乳化性;起泡性;持水性;粘度

中图分类号:TS 201.1 文献标识码:A 文章编号:1007-7561(2018)04-0031-05

Extraction of oat protein isolate and determination of the functionality

LI Yu-e, WANG yu, CHEN Zhen-jia

(School of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Jinzhong Shanxi 030801)

Abstract: Oat protein isolate was extracted by alkali extraction acid precipitation with naked oat as raw material. The protein extraction rate was 75% under the condition of the ratio of material to liquid 1:10 g/mL, pH = 8.5 (alkali extraction), pH = 4.5 (acid precipitation) and T = 20 °C. The functions, such as the emulsibility, foamability, moisture retention and viscosity of oat protein isolate, were measured under the condition of different pH, ionic strength and concentration. The results showed that the emulsibility, foamability and moisture retention were the lowest near the isoelectric point; the influence of ionic strength on each functional index was different; there was a positive correlation between protein concentration and its viscosity.

Key words: oat protein isolate; emulsibility; foamability; moisture retention; viscosity

燕麦为禾本科一年生草本植物,属小杂粮,《本草纲目》中称之为雀麦、野麦子。燕麦主要有两种,分别是皮燕麦和裸燕麦。裸燕麦成熟后不带壳,俗称油麦,即莠麦,以食用为主,国产燕麦大部分是这种;皮燕麦成熟后带壳,多用来生产饲料。我国是燕麦的原产地之一,其中莠麦是主要的高寒作物之一,为上等杂粮。燕麦在中国种植历史悠久,遍及各山区、高原和北部高寒冷凉地带。据中国医学科学院卫生研究所综合分析,中国裸燕麦含粗蛋白质 15.6%、脂肪 8.5%,还含有淀粉以及磷、铁、钙等元素,与小麦、大米、高粱、谷子、荞麦、玉米、黍、大麦 8 种粮食相比,均名列前茅。燕麦中水溶性膳食纤维分别是小麦和玉米的

4.7 倍和 7.7 倍;除此之外,燕麦中还含有丰富的 B 族维生素、尼克酸、叶酸、泛酸,特别是 V_E,每 100 g 燕麦粉中 V_E 高达 15 mg;同时,燕麦粉中还含有谷类粮食中缺少的皂甙(人参的主要成分)。燕麦分离蛋白质的氨基酸组分较其它粮食作物更加全面,人体必需的 8 种氨基酸含量比例合理,富含大米、小麦等粮食缺少的赖氨酸,含量高达 0.68 g/100 g。从营养学观点来看,燕麦分离蛋白的氨基酸平衡非常好(与联合国粮农组织规定的标准蛋白质相比),在谷物中独一无二,且其蛋白质分配也不同于其他谷物,醇溶谷蛋白所占比例低,仅占总蛋白的 10%~15%,球蛋白为 55%,谷蛋白约占 20%~25%。因此,燕麦分离蛋白是优质的蛋白质资源,对其进行加工和利用对人类生产生活具有十分重要的意义。燕麦的主要功能作用包括降血脂、降血糖、改善免疫功能,含有的微量元素和维生素有利于伤口愈合^[1]。对燕麦的加工可

收稿日期:2018-03-06

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(2017YFD0400200)

作者简介:李玉娥,1969 年出生,女,高级实验师。

通讯作者:陈振家,1981 年出生,男,副教授。

分为初加工和深加工,初加工就是将燕麦加工成粉、片等,这些产品又可以继续加工制作成面食、日化产品、低脂产品等。深加工最主要的是提取燕麦中的营养活性成分^[2],目前国内对燕麦 β -葡聚糖、燕麦脂肪、燕麦抗氧化物及燕麦膳食纤维进行了广泛的研究,而其中对燕麦分离蛋白质的研究仅见于食品领域且多为提取工艺的研究。在食品领域,燕麦分离蛋白可用于酿造业,作为生产特殊窖藏啤酒风味辅助剂^[3]。在生物材料应用方面,有研究表明,燕麦分离蛋白与玉米蛋白、高粱醇溶蛋白相比,具有较强的可塑性,在与甘油等结合后具有增塑作用,这也是新型材料发展的一个良好方向^[4]。

燕麦的提取方法包括:碱法、酶法、表面活性剂法、超声提取法。本研究采取传统的“碱提酸沉”方法提取燕麦分离蛋白,裸燕麦经粉碎加工成粉后,按料液比1:10 g/mL,先加稀碱使蛋白质溶解借此除去不溶性的高分子成分,再用酸调节溶液的pH值至蛋白质等电点使蛋白质沉淀,除去燕麦中的非酸沉性物质,离心洗涤,调节pH至中性,再根据各指标测定方法对燕麦分离蛋白进行功能性测定。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 原料与试剂

裸燕麦:市购;氢氧化钠溶液(2 mol/L、6 mol/L):分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;稀盐酸(2 mol/L、6 mol/L):分析纯,成都市科龙化工试剂厂;大豆色拉油、食盐:均为食品级,市购。

1.1.2 实验仪器

乌氏粘度计:上海昌吉地址仪器有限公司;FSH-I型高速电动匀浆机:江苏金坛市环宇科学仪器厂;HH-8恒温水浴锅:江苏金坛市新航仪器厂;分光光度计:上海光谱仪器有限公司;TGL-16G型离心机:上海安亭科学仪器厂;酸度计:上海理达仪器厂;磁力搅拌器:上海司乐仪器有限公司;小型高速粉碎机(YS-04A):北京燕山正德机械设备有限公司;折光仪:北京万成北增精密仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蛋白质提取

将裸燕麦用小型高速粉碎机粉碎2 min成粉后,取50 g燕麦粉于烧杯中,按料液比1:10 g/mL添加500 mL的蒸馏水,将其用分散仪搅拌器搅拌

1 h使之充分混合,添加6 mol/L的NaOH调节溶液的pH至8.5,即碱提,目的是为了除去燕麦中不溶性的高分子物质,之后静置;使不溶性成分充分沉淀后,取上清液于离心管中,4 000 r/min离心15 min;取上清液至烧杯中,用6 mol/L的HCl调节溶液的pH至蛋白质的等电点4.5,即酸沉,目的是为了除去溶液中的非酸沉性物质,之后再静置30 min,将溶液在离心机3 000 r/min条件下作用3 min,使燕麦分离蛋白充分沉淀;倒掉上清液,在离心管中添加少量蒸馏水,3 000 r/min离心机条件下水洗5 min,水洗两次,将沉淀冻干备用,燕麦分离蛋白的提取率为75%。

1.2.2 乳化性测定

将提取的燕麦分离蛋白至于烧杯中(此时pH为7),在磁力搅拌器上搅拌并添加适当蒸馏水,配制1%燕麦分离蛋白溶液,待用。分别以离子强度和pH为变量测定燕麦分离蛋白的乳化性。在各离心管中加20 mL 1%的燕麦分离蛋白溶液和20 mL大豆色拉油,pH=7时,以离子强度为变量,设置离子强度分别为0、0.05、0.1、0.2 mol/L(即分别添加0、0.06 g、0.12 g、0.24 g的NaCl);离子强度为0时,以pH为变量,设置pH值分别为2、5、7、9(用稀盐酸和氢氧化钠调节pH值)。在高速电动匀浆机上均质2 min(均质速率控制在3档),均质结束后离心,离心速率控制在1 500 r/min,离心5 min。在离心管上标注乳化层高度,然后用量筒量取一定的蒸馏水至离心管标记刻度就可知道乳化层的体积,最后根据公式计算出乳化性。乳化性计算公式为:

$$\text{乳化性}/\% = \frac{\text{离心管乳化层高度}}{\text{离心管总高度}} \times 100$$

1.2.3 起泡性测定

将提取的燕麦分离蛋白用蒸馏水调至浓度为1%,选取pH和离子强度两个变量。在离子强度为0的条件下,选取pH值分别为2、5、7、9;在pH为7的条件下,选取离子强度分别为0、0.05、0.1、0.2 mol/L。量取15 mL 1%的燕麦分离蛋白溶液,在高速电动匀浆机中均质2 min(均质速率控制在3档),均质结束后记录均质停止时泡沫的体积。起泡性计算公式为:

$$\text{起泡性}/\% = \frac{\text{均质停止时泡沫体积}}{15} \times 100$$

1.2.4 持水性测定

将提取的燕麦分离蛋白用蒸馏水调节浓度至5%后,分别转移到带有刻度的10 mL离心管中,

选取 pH 和离子强度两个变量(在离子强度为 0 时,选取 pH 值为 2、5、7、9;在 pH 为 7 的条件下,选取离子强度为 0、0.05、0.1、0.2 mol/L),将离心管放置在水浴箱中水浴加热,水浴温度控制在 40 ℃,放置 30 min,水浴结束后在离心机中离心,离心速度控制在 1 000 r/min,离心 10 min,离心结束后用量筒测量游离水的体积。持水性计算公式为:

$$\text{持水性} = (4 - \text{游离水体积}) \div 0.5$$

1.2.5 粘度的测定

用蒸馏水配制一定浓度(2%、5%、7%、9%)的燕麦分离蛋白溶液,在 pH 7、20 ℃ 条件下用 NDJ-1 型粘度计测其表观粘度;选取离子强度分别为 0、0.05、0.1、0.2 mol/L,在 pH 7、20 ℃ 条件下用 NDJ-1 型粘度计测其表观粘度。粘度计算公式为:

$$\eta_2 = \frac{\rho_2 t_2}{\rho_1 t_1} \eta_1$$

式中: η_1 为蒸馏水的粘滞系数,0.839 mPa·s; η_2 为测定流体的粘滞系数; ρ_1 为蒸馏水的密度,1 g/cm³; ρ_2 为测定流体的密度; t_1 为蒸馏水在粘度计中的流动时间; t_2 指测定液体在粘度计中的流动时间。

2 结果与分析

2.1 影响燕麦分离蛋白乳化性的因素分析

蛋白质乳化性指的是蛋白质能使油与水形成稳定的乳化液而起乳化剂的能力,是蛋白质的重要功能性质之一。日常生活中的许多食品都是蛋白质稳定的乳状液,因为蛋白质分子中含有亲水基团和疏水基团,是一种非常典型的两亲结构,并且是一种易得廉价的天然表面活性剂和乳化剂,燕麦分离蛋白质分子能均匀散布在连续相和非连续相之间,有着降低油—水界面表面张力的作用,通过增加非连续相聚合的难度达到稳定蛋白质乳状液的功效。油水的蛋白质混合溶液中,蛋白质分子不断向水—油界面扩散,而且促使亲水性基团不断地往水相一面移动,这样就迫使非极性的疏水性多肽类分子不断往油相界面移动,在两种移动作用下,水和油就会慢慢混合成乳状液,并趋向于稳定。通过查阅文献和实验可知,影响蛋白质乳化性的因素有 pH、离子强度、蛋白质的溶解度等。pH 从等电点向两侧变化,蛋白质的溶解度增大,蛋白质向油—水界面扩张能力增强,界面面积增大,乳化活力开始增强,乳化稳定性逐渐下降^[5]。

2.1.1 pH 对燕麦分离蛋白乳化性的影响

pH 值对分离蛋白乳化性的影响见图 1,由图可

知,燕麦分离蛋白的乳化性随 pH 值的增大先减小后增大,在等电点附近时燕麦分离蛋白的乳化性最差,远离等电点时乳化性值增大,表现出较好的乳化性。

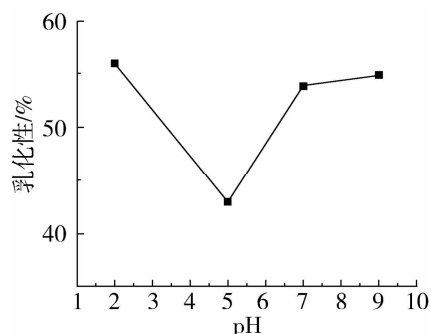


图1 pH 值对乳化性的影响

蛋白质的溶解度与其乳化性质之间存在着正相关,在等电点时蛋白质的溶解度最小,此时蛋白质表面电荷为零,失去了相互排斥的能力,容易产生凝聚和沉淀,使燕麦分离蛋白大量沉淀,亲水能力下降,吸附在油—水界面的蛋白质含量减少,乳化活性降低。

2.1.2 离子强度对燕麦分离蛋白乳化性的影响

离子强度对燕麦分离蛋白乳化性的影响见图 2,测试条件:pH=7, T=20 ℃。

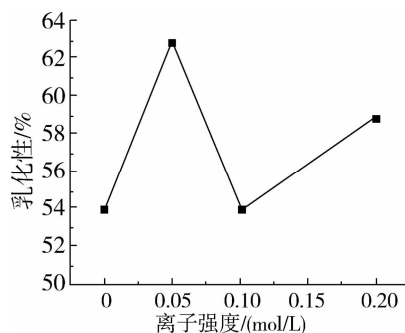


图2 离子强度对乳化性的影响

由图可知,随着离子强度的增加,燕麦分离蛋白的乳化性先提高后减小,之后再提高。在 NaCl 浓度较低时,溶液中的 Na⁺ 通过离子键吸附在燕麦分离蛋白表面,中和蛋白质表面的负电荷,使蛋白质的亲水性降低,疏水性增强,造成蛋白质构象发生变化,形成更加刚性的结构,使蛋白质的溶解性降低,从而使扩散到油—水体系中的蛋白质减少,界面面积减少,乳化活力下降。随着 NaCl 浓度的升高,更多的 Na⁺ 吸附至蛋白质表面,使蛋白质的亲水性增加,蛋白质分子溶剂化,使蛋白质的溶解性增大,从而使扩散到油—水体系中的蛋白质增多,界

面面积增大,乳化活力上升。

2.2 影响燕麦分离蛋白起泡性的因素分析

燕麦分离蛋白的起泡性是指蛋白质在气-液界面形成坚韧薄膜使气体并入并稳定的能力,由于分散的两相之间存在着界面张力,蛋白质吸附在两相之间能够降低气-液界面的张力,同时产生必要的流变学特性和稳定作用,作用于产生的吸附膜以增加膜的强度、粘度和弹性以对抗外来不利因素的作用。影响燕麦分离蛋白起泡性的因素有蛋白质的内禀性质、盐类、糖类、蛋白质浓度、机械处理、加热处理、pH等。

2.2.1 pH对燕麦分离蛋白起泡性的影响

pH值对燕麦分离蛋白起泡性的影响见图3。测试条件:离子强度(I)=0,温度(T)=20℃。

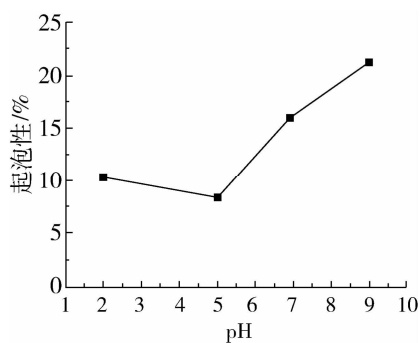


图3 pH对起泡性的影响

由图可知,燕麦分离蛋白的起泡性随pH值的提高先减小后增大,在等电点附近起泡性最差,远离等电点气泡性逐渐增大,并且碱性条件下起泡性优于酸性条件。因为在等电点时蛋白质的溶解度最低,使得形成泡沫的蛋白质浓度降低,所以泡沫量最少,而在强酸强碱的条件下,蛋白质巯基和酪氨酸残基的离子化使其与水分子之间作用增强,分散性增大,溶解性增强,进而起泡性增强。

2.2.2 离子强度对燕麦分离蛋白起泡性影响

离子强度对燕麦分离蛋白起泡性的影响见图4,测试条件:pH=7,T=20℃。

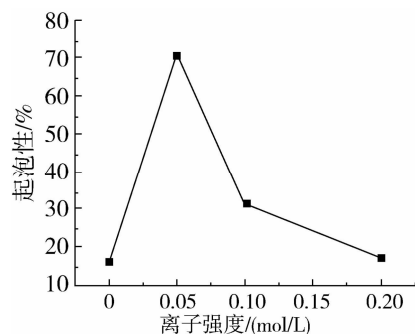


图4 离子强度对起泡性的影响

由图可知,燕麦分离蛋白的起泡性随离子强度的增强先增大后减小,在NaCl浓度为0.05 mol/L时起泡性最好,低浓度的离子强度有利于泡沫数量的增加,这是由于盐溶作用使蛋白质溶解度增加;高浓度的离子强度不利于泡沫数量的增加,这是因为盐析作用使蛋白质溶解度降低。

2.3 影响燕麦分离蛋白持水性的因素分析

燕麦分离蛋白的持水力是指蛋白质将水截留或保留在其组织中的能力,被截留的水包括吸附水、物理截留水和流体动力学水。Hermannson 研究表明,蛋白质制品要保持较好的持水性能必须具备3个条件:蛋白质所形成的凝胶网络;蛋白质颗粒复水后具有很好的粘度;蛋白质颗粒复水后充分溶胀但不溶解。蛋白质发生溶胀现象后,蛋白质颗粒的体积增大,形状愈加不规则,从而导致了体系粘度增加,粘度越大,持水性能越好。因此,可以认为影响燕麦分离蛋白溶胀性的因素均可以影响其持水性,这些因素包括蛋白质本身的结构、溶液温度、pH值、离子强度等^[6]。

2.3.1 pH对燕麦分离蛋白持水性的影响

pH值对燕麦分离蛋白持水性的影响见图5,测试条件:I=0,T=20℃。

由图可知,燕麦分离蛋白的持水性随pH值的增大先降低后升高,在等电点附近,持水性最差,因为在等电点时,蛋白质分子表面静电荷为零,分子间不存在静电斥力,蛋白质与蛋白质间的吸引力占上风,大部分极性基团参与蛋白与蛋白之间的相互作用而无法结合水,同时,吸引力的增强使水分子不利于向蛋白质颗粒内部扩散,蛋白质溶胀性能变差,粘度降低,持水性降低。远离等电点时,随着pH值的提高,溶胀性能和粘度增加,持水性增强。

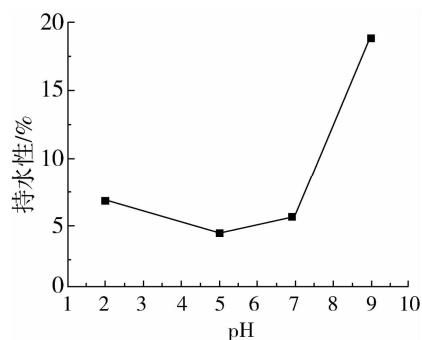


图5 pH对持水性的影响

2.3.2 离子强度对燕麦分离蛋白持水性的影响

离子强度对燕麦分离蛋白持水性的影响见图6,测试条件:pH=7,T=20℃。

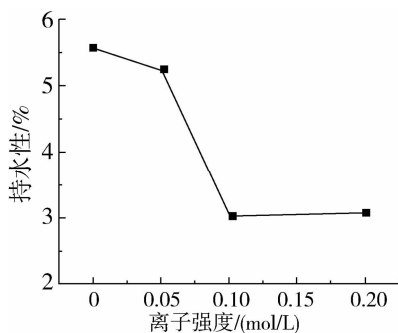


图6 离子强度对持水性的影响

由图可知,燕麦分离蛋白的持水性随离子强度的增大逐渐减小,NaCl 的加入可以抑制溶胀并且降低粘度,盐离子能够屏蔽蛋白质分子所带的电荷,减弱静电作用力,能够以和 pH 相同的方式影响溶胀和粘度,进而影响持水性。

2.4 影响燕麦分离蛋白粘度的因素分析

蛋白质体系的粘度和稠度是流体食品如饮料、肉汤和奶油的主要功能性质,影响食品的品质和质地。蛋白质的流体粘度特性主要受分散蛋白质分子或颗粒的表观直径影响,而蛋白质的表观直径又受蛋白质分子的固有特性、蛋白质和溶剂(水)分子间的相互作用情况、蛋白质分子间的相互作用情况影响。因此,影响燕麦分离蛋白粘度特性的外在因素有:蛋白质浓度、蛋白质溶解性、pH、温度、离子强度等。

2.4.1 蛋白浓度对燕麦分离蛋白粘度的影响

蛋白浓度对燕麦分离蛋白粘度的影响见图7,测试条件:pH=7,I=0,T=20℃。

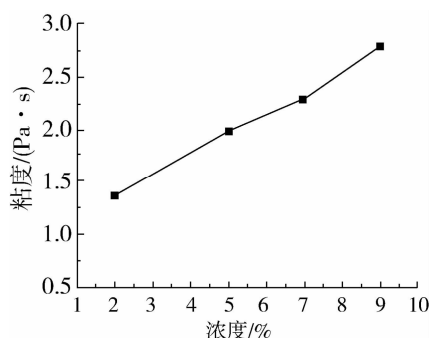


图7 蛋白浓度对燕麦粘度的影响

由图可知,燕麦分离蛋白的粘度随浓度的增加呈上升趋势,浓度越大燕麦分离蛋白分子间所受的流动阻力越大,粘度增加。

2.4.2 离子强度对燕麦分离蛋白粘度的影响

离子强度对分离蛋白粘度的影响见图8,测试条件:pH=7,T=20℃。

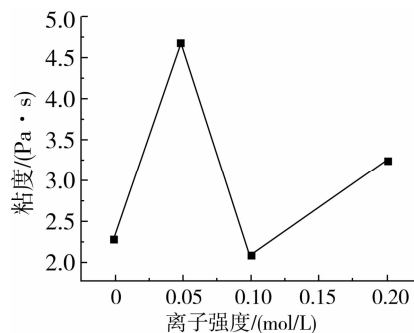


图8 离子强度对粘度的影响

由图可知,燕麦分离蛋白的粘度随着离子强度的增加先增大后减小再增加,在低离子强度中燕麦分离蛋白分子间因净电荷较多而产生排斥力,随着离子强度的增加,逐渐中和蛋白质表面的负电荷使其表面的净电荷数减少,电荷的排斥作用降低,使蛋白分子的聚集作用加剧,进而提高了燕麦分离蛋白溶液的粘度。所以,在低浓度时,NaCl 的量越多,燕麦分离蛋白表面静电荷屏蔽越显著,粘度增大的程度就越大;在较高盐浓度条件下,会导致盐析,离子强度的增大会促进蛋白质与水的相互作用,使蛋白质出现聚集和凝结,因而使燕麦分离蛋白溶液粘度下降。

3 结论

(1)燕麦分离蛋白的乳化性、起泡性和持水性在不同 pH 值条件下的变化与其溶解度的变化趋势密切相关,都是在等电点附近最小,远离等电点时逐渐增大。

(2)燕麦分离蛋白的乳化活性、起泡性和粘度在低离子强度条件下均成升高趋势,但随离子强度的继续增加又呈下降趋势。持水性随离子强度的增加呈现下降趋势。

(3)燕麦分离蛋白的粘度随着蛋白浓度的增加呈上升趋势。

参考文献:

- [1]安鸣,刘森,孟静岩,等. 燕麦主要功能作用及加工现状分析[J]. 农产品加工(学刊),2014(20):75-76,78.
- [2]陈磊. 燕麦的营养功能及综合加工利用[J]. 食品与机械,2012(2):236-237.
- [3]章海燕,张晖,王立,等. 燕麦研究进展[J]. 粮食与油脂,2009(8):7-9.
- [4]Gillgren T., Stading M. Mechanical and Barrier Properties of Avenin, Kafirin, and Zein Films. Food Biophysics, 2008(3):287-294.
- [5]何帼英,张丽萍. 燕麦麸皮中分离蛋白的功能特性研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2016(4):49-54,104.
- [6]华欲飞,顾玉兴. 大豆蛋白的吸水和持水性能[J]. 中国油脂,1999(4):64-67.