

菊芋渣蛋白的提取及功能性质研究

胡雅喃, 范三红*, 张晓丽

(山西大学生命科学学院, 山西太原 030006)

摘要:采用超声波辅助碱法提取菊芋渣蛋白,并测定其部分功能特性。通过正交实验确定最佳提取工艺,实验结果表明,菊芋渣蛋白最佳提取条件为:pH13.5,料液比1:40(mg/mL),超声时间50min,超声温度60℃,在此条件下提取率可达71.2%±0.3%。菊芋渣分离蛋白的等电点在4.0左右,当pH=9.0时乳化能力可达80%,蛋白浓度4%时起泡性最好,70℃时溶解性最好。

关键词:菊芋渣蛋白,提取工艺,功能性质

Extraction and functional properties of protein from *Jerusalem artichoke*

HU Ya-nan, FAN San-hong*, ZHANG Xiao-li

(College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Protein from *Jerusalem artichoke* was extracted by ultrasonic auxiliary alkaline and some functional properties of the protein were analysed. The extraction process was optimized by orthogonal array design method. The results showed that the highest extraction yield of 71.2%±0.3% was achieved at pH of 13.5, solid-to-liquid ratio 1:40(mg/mL), ultrasonic duration 50min and ultrasonic temperature of 60℃. The isoelectric point of the protein was around 4.0 and the emulsifying capacity could reach 80% at pH9.0. Meanwhile, the foaming ability was highest with the protein concentration of 4% and the solubility was highest at 70℃.

Key words: *Jerusalem artichoke* residue protein; extraction process; functional properties

中图分类号: TS209

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)10-0288-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.10.052

菊芋(*Jerusalem artichoke*)又叫鬼子姜、洋姜,既是一种经济作物,也是一种有利用价值的饲料作物,被称为“21世纪人畜共用作物”。菊芋除了含有大量菊糖外,还含有一定量的其他成分,例如果胶、蛋白质和纤维素等^[1]。目前对于菊芋的研究主要是菊粉的制备、用菊粉生产乙醇、菊芋叶活性成分的研究等。菊芋渣是菊芋生产菊粉后的主要副产物,其中粗蛋白含量达9.6%,且氨基酸的利用率相对较高,属于一种优质植物蛋白质。1t菊芋块茎加工后可得650kg菊芋渣^[2],产量巨大,这些资源大多被用作饲料或被堆积甚至直接废弃,极大的造成了资源浪费和环境污染。因此利用菊芋渣生产蛋白质可以变废为宝,具有现实的意义。

目前,国内外对于菊芋渣蛋白的研究较少,张维等^[3]采用碱提酸沉法提取菊芋渣蛋白,提取率为22.7747mg/g。为了节省提取时间并提高提取率,本研究以菊芋渣为原料,采用超声波辅助碱法研究相关因素对菊芋渣蛋白提取率的影响,并对分离蛋白进

行功能性质的测定,大大提高其附加值和对菊芋渣资源的综合利用率,为菊芋渣的深加工提供了基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

菊芋渣 山西益生元生物科技有限公司;考马斯亮蓝G-250 美国Solarbio公司;福临门一级大豆油 中粮食品营销有限公司;盐酸、氢氧化钠、硼酸、硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸 均为分析纯。

TG16A-WS型高速离心机 武汉爱斯佩科学仪器有限公司;DHG-9053A型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司;BS 124 S型电子天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司;SP-2000UV型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;HH4型数显恒温水浴锅 杭州仪表电机有限公司;JP-040ST型超声波清洗机 深圳市洁盟清洗设备有限公司;868型酸度计 美国奥利龙公司。

收稿日期:2014-09-12

作者简介:胡雅喃(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学。

*通讯作者:范三红(1963-),男,副教授,研究方向:食品科学。

基金项目:山西省自然科学基金项目(2012011031-4);山西省高等学校高新技术产业化项目(20111003)。

1.2 实验方法

1.2.1 菊芋渣基本成分的测定 水分含量:GB 5009.3—2010《食品中水分的测定》;灰分含量:GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》;粗蛋白含量:GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》;脂肪含量:GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》。

1.2.2 菊芋渣蛋白的提取工艺流程 菊芋渣→干燥粉碎(45目)→调pH,240W超声浸提→3500r/min,离心10min→取上清液→调节pH等电点(PI)→3500r/min,离心10min→取沉淀物→水洗中和、干燥→粗蛋白^[4]。

1.2.3 蛋白提取率测定 采用Bradford法测定蛋白质的质量^[5]。

$$\text{蛋白质提取率}(\%) = \frac{\text{提取液中蛋白质质量}}{\text{菊芋渣中蛋白质总质量}} \times 100$$

1.2.4 单因素实验设计

1.2.4.1 料液比单因素的实验设计 超声波法提取蛋白过程中控制体系时间20min,pH13.0,温度50℃,超声功率240W,分别在料液比为1:20、1:30、1:40、1:50、1:60(mg/mL)的条件下超声波提取。

1.2.4.2 pH单因素的实验设计 超声波法提取蛋白过程中控制体系时间20min,料液比1:40(mg/mL),温度50℃,超声功率240W,分别在pH为10、11、12、13、13.5、14的条件下超声波提取。

1.2.4.3 温度单因素的实验设计 超声波法提取蛋白过程中控制体系料液比1:40(mg/mL),pH13.5,时间20min,超声功率240W,分别在温度为40、45、50、55、60、65℃的条件下超声波提取。

1.2.4.4 时间单因素的实验设计 超声波法提取蛋白过程中控制体系料液比1:40(mg/mL),pH13.5,温度50℃,超声功率240W,分别在时间为10、20、30、40、50min的条件下超声波提取。

1.2.5 正交实验设计 在单因素实验基础上,进行正交实验,选择料液比、超声温度、pH、超声时间为自变量,结果用菊芋渣蛋白提取率表示,设计 $L_9(3^4)$ 正交实验^[6]。因素水平如表1。

表1 因素水平表

Table 1 Different levels of factors

水平	因素			
	A 料液比 (g/mL)	B pH	C 超声温度 (℃)	D 超声时间 (min)
1	1:30	13	50	30
2	1:40	13.5	55	40
3	1:50	14	60	50

1.2.6 菊芋渣蛋白质功能性质的测定

1.2.6.1 乳化性 称取4g蛋白溶于150mL蒸馏水,调pH分别为3.0、4.0、5.0、7.0、9.0,再加150mL植物油,12000r/min均质2min,之后再1500r/min离心5min,记下乳化层高度;上述样品60℃水浴30min,冷却后再1500r/min离心5min,记下乳化层高度^[7]。

$$\text{乳化能力}(\%) = \frac{\text{乳化层高度}}{\text{液体总高度}} \times 100$$

$$\text{乳化稳定性}(\%) = \frac{30\text{min后乳化层高度}}{\text{初始乳化层高度}} \times 100$$

1.2.6.2 起泡性 制备浓度分别为1%、2%、3%、4%、5%(pH至中性)、pH分别为3、4、5、7、9的蛋白溶液,12000r/min均质5min,记下均质前、后的泡沫体积,放置30min后泡沫体积^[8]。

$$\text{起泡能力}(\%) = \frac{\text{均质停止时泡沫体积}}{\text{均质前液体体积}} \times 100$$

$$\text{泡沫稳定性}(\%) = \frac{30\text{min后泡沫体积}}{\text{均质停止时泡沫体积}} \times 100$$

1.2.6.3 溶解性 制备浓度为1%的蛋白溶液,pH分别调成3、4、5、7、9(水浴温度为60℃),置于40、50、60、70、80、90℃ 30min(蛋白浓度为1%),3000r/min离心10min,测上清液蛋白含量^[9]。

$$\text{溶解性PDI}(\%) = \frac{\text{溶于水中的蛋白含量}}{\text{菊芋渣蛋白含量}} \times 100$$

1.2.6.4 等电点 用最佳提取工艺提取蛋白,将上清液的pH分别调成3.4、3.6、3.8、4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2,3500r/min离心5min,测上清液蛋白含量^[10]。

1.2.6.5 持水性 取50mL离心管(m_1),称取1g蛋白放入,调pH分别为3.0、4.0、5.0、7.0、9.0,60℃水浴30min后冷却1h,4000r/min离心15min,去除上清液,称离心管质量(m_2)^[11-12]。

$$\text{持水性}(\text{g/g}) = \frac{m_2 - m_1}{\text{样品质量}}$$

2 结果与讨论

2.1 菊芋渣基本成分

表2 菊芋渣基本成分

Table 2 Basic chemical composition of Jerusalem artichoke

水分含量(%)	灰分含量(%)	粗蛋白含量(%)	脂肪含量(%)
6.23	5.93	23.13	1.02

通过对菊芋渣基本成分的测定,结果如表2所示,该菊芋渣的基本成分与参考文献[13]有一定的差异,这是因为菊芋的产地不同,提取菊粉的方法不同,菊芋渣的成分有所不同。从成分可以看出,菊芋渣含粗蛋白量较多,占23.13%,为研究菊芋渣蛋白的理化性质打下了良好的基础。

2.2 单因素实验

2.2.1 料液比对蛋白质提取率的影响 料液比对蛋白质提取率的影响如图1。当料液比1:40时蛋白提取

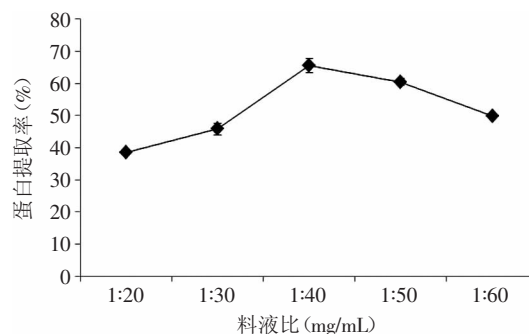


图1 不同料液比对蛋白质提取率的影响

Fig.1 Effect of material/liquid ratio on protein yield

率最大,其他条件下均较少,说明在料液比1:40时效果最好。这可能是由于料液比小时,菊芋渣内的蛋白质没有溶解完全;料液比过大,蛋白含量过稀,其绝对含量降低,同时产生过量的废液而增大成本^[14],综合考虑,初步选择料液比为1:40。

2.2.2 pH对蛋白质提取率的影响 pH对蛋白质提取率的影响如图2。在pH为10时菊芋渣蛋白质提取率较低,之后则变大,当pH为13.5时最大,之后降低。这可能是由于强碱使得蛋白质内部结构发生改变而引起蛋白质变性的结果^[15-16],pH越大,带电量就越多,分子间排斥力越大,极性增强,更易溶于水,提取率也随之增大^[17]。综合考虑,初步选择pH为13.5。

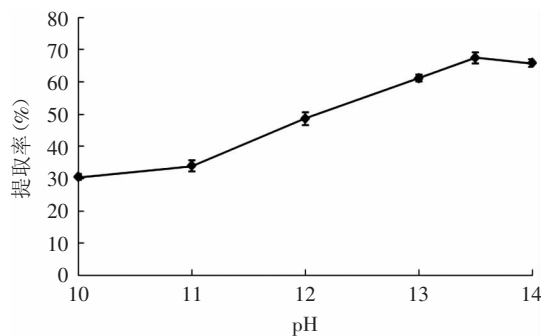


图2 不同pH对蛋白提取率的影响

Fig.2 Effect of extraction pH on protein yield

2.2.3 超声温度对蛋白质提取率的影响 超声温度对蛋白质提取率的影响如图3。温度在55℃时提取率最好,在其他温度,蛋白提取率均较少。可能是因为蛋白质变性温度之前,蛋白溶解性随温度不断增大,而超过变性温度则容易导致蛋白质变性,造成分离困难^[18]。初步选择温度为55℃。

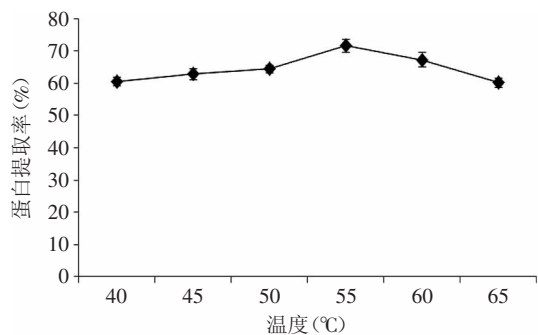


图3 不同温度对蛋白质提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on protein yield

2.2.4 超声时间对蛋白质提取率的影响 超声时间对蛋白质提取率的影响如图4。蛋白质提取率在40min最好,之后逐渐下降。长时间的浸提会使提取条件不稳定,且延长对提取率也不会产生很大的影响^[19]。因此初步时间定为40min。

2.3 菊芋渣蛋白提取工艺正交实验

2.3.1 正交实验 从表3极差可知,影响蛋白质提取率因素的主次顺序依次为B>A>C>D,即pH对其影响最大,料液比次之,其次是超声温度,最后为超声时

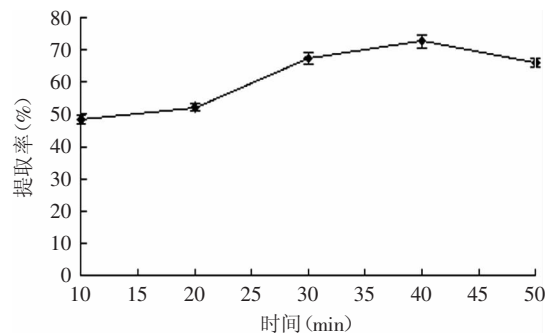


图4 不同超声时间对蛋白质提取率的影响

Fig.4 Effect of ultrasonic time on protein yield

表3 提取工艺正交实验结果

实验号	A	B	C	D	蛋白提取率 (%)
1	1	1	1	1	55.89
2	1	2	2	2	66.01
3	1	3	3	3	67.15
4	2	1	2	3	59.38
5	2	2	3	1	69.08
6	2	3	1	2	68.46
7	3	1	3	2	58.79
8	3	2	1	3	66.94
9	3	3	2	1	63.13
k ₁	63.017	58.020	63.763	62.700	
k ₂	65.640	67.343	62.840	64.420	
k ₃	62.953	66.247	65.007	64.490	
R	2.687	9.323	2.167	1.790	

表4 方差分析表

变异来源	SS	df	F值	F _a	p值显著性
A	14.104	2	2.287	19	
B	155.805	2	25.264		*
C	7.093	2	1.150		
D	6.167	2	1.000		
误差	6.17	2			

注:*表示显著性差异, $p < 0.05$ 。

间。由k值可看出,本实验最佳的水平组合为A₂B₂C₃D₃,即料液比1:40,pH13.5,超声温度60℃,超声时间50min。

表4方差分析可以看出,对蛋白提取率影响显著的因素是pH,其余因素影响都不显著。

2.3.2 验证实验 最佳实验组合A₂B₂C₃D₃不在正交表中,故按该条件提取菊芋渣蛋白,三次重复,求得平均值,得到提取率为71.2%±0.3%,比正交表中的任一组值都大,因此该条件可行。

2.4 分离蛋白的功能性质

2.4.1 乳化性及乳化稳定性 从图5可知,菊芋渣蛋白的乳化能力及其乳化稳定性呈V型,在pH4.0时最低,分别为32.43%和40%。可能是由于在等电点附近时,静电排斥作用缺乏,乳化性低。pH小于或大于4.0

时,蛋白质的水结合能力增大,从而乳化性增大,且碱性环境下比酸性环境较好,pH=9时乳化能力可达80%。

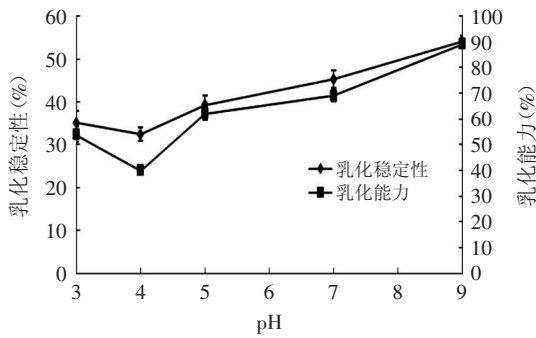


图5 pH对蛋白乳化性的影响

Fig.5 Effect of pH on emulsibility of the protein isolates

2.4.2 起泡性及其泡沫稳定性 由图6可知,当浓度在4%时,起泡性及其泡沫稳定性最好,分别为92.86%, 76.92%,在其他条件下均较差。可能是由于随着浓度增大,使得界面膜厚度增大,从而减弱泡沫粗化,稳定性降低^[20]。

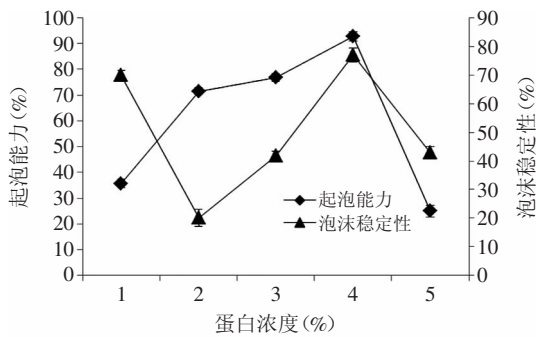


图6 蛋白质浓度对蛋白起泡性的影响

Fig.6 Effect of protein concentrations on the foaming capacity of the protein isolates

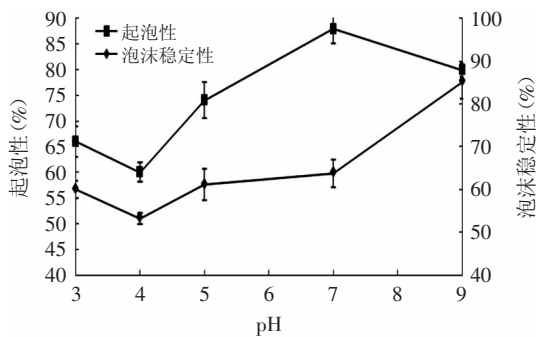


图7 pH对蛋白起泡性的影响

Fig.7 Effect of pH on the foaming capacity of the protein isolates

由图7可知,pH4.0时起泡性、泡沫稳定性最低,为60%和53.19%。此时泡沫消失的很快;而偏离4.0时则较好,pH越偏碱性,泡沫越细,稳定性也越好。这可能跟蛋白质溶解性有关系。

2.4.3 溶解性 由图8可知,溶解性随着温度的变化

呈抛物线型,温度达到70℃时溶解性最大,为91.65%。温度的变化导致蛋白结构发生改变。所以,70℃是蛋白质变性的临界温度。

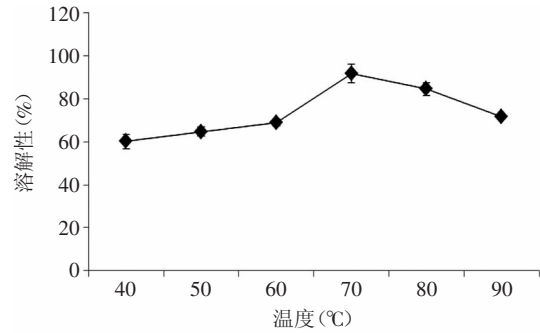


图8 温度对菊芋渣蛋白质溶解性的影响

Fig.8 Effect of temperature on the solubility of the protein isolates

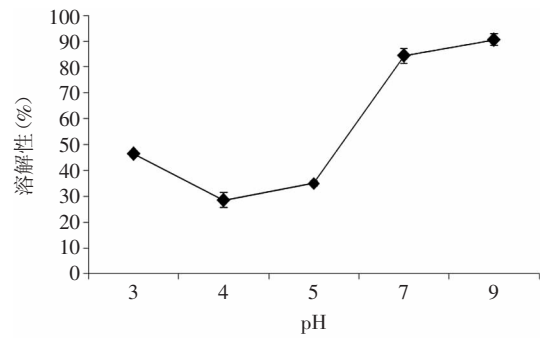


图9 不同pH对蛋白质溶解性的影响

Fig.9 Effect of pH on the solubility of the protein isolates

从图9可知,当pH为4时溶解度最小,为28.55%。小于和大于4.0时均较高,且碱性环境下最好,可能是因为pH=4.0时,所带静电荷少,蛋白易沉淀,所以溶解性低;当pH大于7.0时,溶解度超过80%,可能是因为菊芋渣蛋白含有较多碱性蛋白的缘故。

2.4.4 等电点 由图10可以看出,当pH在4.0左右时,菊芋渣蛋白提取的上清液的吸光度最小,故此时的沉淀最多,由此得出,菊芋渣蛋白的等电点为4.0。

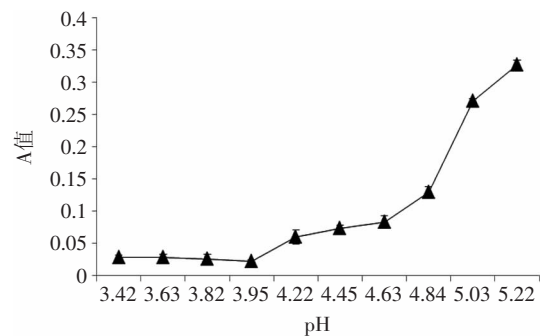


图10 菊芋渣蛋白的等电点

Fig.10 Isoelectric point of Jerusalem artichoke

2.4.5 持水性 由图11可知,在pH4.0时持水性最低,为4.264%。pH的增大引起蛋白带电量的变大,分子间相互排斥,蛋白质解聚,从而持水性增大^[21]。

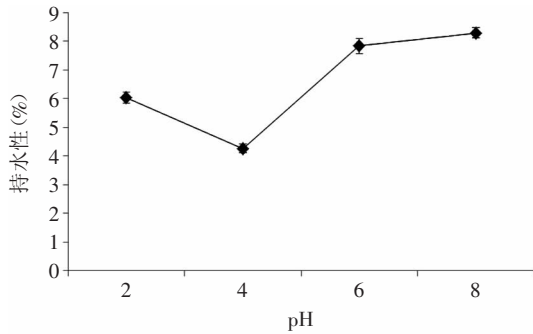


图11 不同pH对蛋白质持水性的影响

Fig.11 Effect of pH on the water-binding capacity of the protein isolates

3 结论

3.1 影响菊芋渣蛋白提取的因素依次是pH>料液比>提取温度>提取时间。最佳工艺条件:超声波240W下,料液比1:40,pH13.5,超声温度60℃,超声时间50min,此条件下得率达到71.2%±0.3%。

3.2 菊芋渣分离蛋白的乳化性在pH=9条件下可达到80%以上;等电点为4.0;菊芋渣蛋白的变性温度在70℃;pH4.0时起泡性最差。通过研究发现,菊芋渣蛋白的很多功能特性都与溶解性有着很大的关系,同时也会受到其他一些因素的影响。通过对菊芋渣分离蛋白的研究,可以将其应用于食品加工领域。

参考文献

- [1] 孙纪录,贾英民,桑亚新. 菊芋资源的开发利用[J]. 食品科技,2003(1):27-29.
- [2] 秦亚兵,徐长警,王华,等. 宁夏兴建菊芋系列产品加工业的构想与建议[J]. 宁夏农林科技,2004(1):31-36.
- [3] 张维,李雪雁,张秀兰,等. 响应面分析法优化菊芋渣中蛋白的提取工艺[J]. 食品工业科技,2012,33(1):305-308.
- [4] 姜莉,徐怀德,何玉君,等. 核桃渣中蛋白质的提取工艺及其功能性研究[J]. 食品科技,2007(4):237-240.
- [5] 赵静,傅泽田,路勇,等. 4种蛋白质分析方法在液态乳中的适用性研究[J]. 中国乳品工业,2010,38(6):43-46.
- [6] 王钦德,杨坚. 高级食品实验设计与统计分析[M]. 中国农

(上接第287页)

靠依据。

参考文献

- [1] Niel E,Scherrmann J M. Colchicine today[J]. Joint Bone Spine, 2006,73:672-678.
- [2] Cerquaglia C,Diaco M,Nucera G,et al. PharmaCological and clinical basis of treatment of familial mediter ranean fever(FMF) with Colchicine or analogues:an update[J]. Curr Drug Targets InflammAllergy, 2005,4:117-124.
- [3] 陈旻,陈英. HPLC测定秋水仙碱片的含量及含量均匀度[J]. 中国现代应用药学,2010,27(2):141-143.
- [4] 何纯莲,任凤莲,吴泓毅,等. 百合中秋秋水仙碱的分离及结构表征[J]. 中南大学学报:自然科学版,2006,37(2):286-289.
- [5] 张颖. 超声波辅助提取百合秋水仙碱工艺优化[J]. 食品工

业大学出版社,2008(8):65-92.

- [7] Zhang H J,Zhang H,Wang L,et al. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran[J]. Food Research International,2012,47(2):359-363.
- [8] Haizhou J,Wang C.A pilot plant study of continuous ultrasonic extraction of soybean protein.[J]. Food Research International, 2004,137:731-738.
- [9] Nath Jr,Rao Msn. Functional properties of guar proteins[J]. Journal of Food Science,1981,46(4):1255-1259.
- [10] 杨瑾. 山核桃饼粕蛋白质提取纯化工艺及其功能特性的研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2012:6.
- [11] Ponnampalam R,Goulet G,Amiot J,et al. Some functional and nutritional properties of oat flours as affected by proteolysis [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry,1987,35:279-285.
- [12] 朱国君. 紫苏饼粕蛋白质的分离提取及其功能特性研究 [D]. 重庆:西南大学,2008:6.
- [13] 李凤英,崔蕊静,李春华. 葡萄籽蛋白质的提取工艺研究 [J]. 中国油脂,2005,30(4):50-53.
- [14] Szetao K Wc,Sathe Sk. Walnut (Juglans regia) proximate composition,protein solubility,protein amino acid composition and protein *in vitro* digestibility[J]. J Sci Food Agric,2000,80:1393-1401.
- [15] 阙俊鹏,阮长青,王立冬,等. 大麦芽根蛋白提取工艺条件优化[J]. 食品科学,2012,33(22):95-98.
- [16] 张晓云,谢玲燕,季明敏,等. 超声波辅助碱法提取芡实蛋白工艺[J]. 食品研究与开发,2012,23(11):96-99.
- [17] Ana Cristina Lopes Barbosa, Franco M Lajolo, Marianes Genovese.Influence of temperature,pH and ionic strength on the production of isoflavone rich soy protein isolates[J]. Food Chemistry,2006,98:757-766.
- [18] 赵玉红,李莉. 超声波辅助提取松仁蛋白的工艺研究[J]. 中国林副特产,2008(1):6-8.
- [19] 马勇,张丽娜,齐凤元,等. 榛子蛋白质提取及其功能特性研究[J]. 食品科学,2008,29(8):318-322.
- [20] 崔莉,葛文光. 核桃蛋白质功能性质的研究[J]. 宁夏农学院学报,1999,20(4):44-48.
- [21] 黄群,麻成金,周姣,等. 干燥方法及理化因素对鹤鹑蛋白粉功能特性的影响[J]. 食品科学,2008,29(10):299-301.

业,2012,33(7):42-44.

- [6] 吴现芳,赵成爱,余梅燕,等. 响应面法优化八宝景天叶总黄酮的超声提取工艺[J]. 食品工业科技,2013,34(1):224-228.
- [7] WEI Lingyun, WANG jianhua, ZHENG xiaodong, et al. Studies on the extraction technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers[J]. Journal of Food Engineering,2007,79(3):1087-1093.
- [8] 乔孟,屈晓清,丁之恩. 响应面法优化超声波辅助提取湖北海棠叶中总黄酮工艺[J]. 食品科学,2013,34(2):143-147.
- [9] 杨文雄,高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂,2005(2):62-71.
- [10] 刘剑青,肖小年,许英伟,等. 响应面法优化麩头中皂苷的提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2013,34(1):254-262.