

杏仁分离蛋白提取工艺的研究

李艳¹, 郑亚军²

(1. 山西农业大学农学院, 山西 太谷 030801) (2. 山西农业大学食品学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 本实验研究了碱液提取法提取杏仁分离蛋白的影响因素, 通过试验, 确定了提取杏仁分离蛋白的最佳工艺条件, 即提取温度为 40℃、pH 为 9.0、料液比为 1:30、时间为 60min, 在此条件下, 蛋白质的提取率可达到 74.80%。

关键词: 提取; 杏仁; 分离蛋白

中图分类号: TS255.6; **文献标识码:** B; **文章编号:** 1673-9078(2007)01-0057-03

Extraction of Separated Almond Protein

LI Yan, ZHEN Ya-jun

(1.College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801,China)

(2.College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801,China)

Abstract: This paper studied several influential factors in the extraction of almond separated protein using sodium hydroxide (NaOH) as extracting agent. The optimal temperature, solid-liquid ratio, pH value and extraction time were shown to be 40℃, 1:30, 10 and 60min, respectively, under which the extraction ratio was up to 74.80%.

Key words: Extraction; Almond; Separated protein

杏仁(*Semen armeniacaе amarae*)是蔷薇科李属植物杏或山杏的种子, 杏仁具有丰富的营养价值和良好的药用价值。杏仁中含有约 25%的蛋白质。杏仁蛋白质中含人体所需的 18 种氨基酸, 是一种良好的蛋白质营养强化剂和药食兼用的植物蛋白质, 可缓解目前的蛋白质资源短缺。杏仁的产量很大, 山西每年出口约 5×10^5 kg, 全国每年出口约 5×10^6 kg^[1]。当前, 杏仁已作为山西省雁北地区优化农业结构的两大经济干果之一。因此杏仁蛋白的研究和开发具有十分重要的意义。

1 试验材料与仪器

1.1 试验材料

脱脂杏仁粉: 购于山西农科院特用甜杏仁, 脱壳、去皮, 在通风干燥箱中干燥, 粉碎后过 60 目筛, 再用无水乙醚按料液比 1:15 对过筛所得杏仁粉的进行脱脂, 挥发掉乙醚, 得到脱脂杏仁粉。

试剂: 0.1mol/L 盐酸、0.1mol/L 氢氧化钠、无水乙醚、无水乙醇、冰乙酸、考马斯亮蓝 G-250 (进口分装)、硼酸、硫酸铜、甲基红等 (均为分析纯)。

1.2 试验仪器

721-型分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; FD-1 型冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司;

收稿日期: 2006-9-15

作者简介: 李艳, 在读研究生, 研究方向为作物栽培学与耕作学。

TGL-16G 型离心机, 上海安宁科学仪器厂; 电热恒温水浴锅; 凯氏定氮装置; pH-2 型酸度计。

2 试验方法

2.1 杏仁分离蛋白的提取^[2]

称取脱脂杏仁粉 2g, 按一定比例加入磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液, 在一定温度、pH (以氢氧化钠调节) 下浸提一定时间, 浸提时维持 pH 恒定 (± 0.1), 浸提后 4000r/min 离心 20min, 收集上清液, 考马斯 G-250 法测定蛋白质含量。然后等电点沉淀蛋白, 弃取上清液, 用蒸馏水洗涤沉淀 3~5 次, 冷冻浓缩干燥, 得到蛋白质提取物。

2.2 蛋白质浓度的测定

杏仁粉中的蛋白质含量用凯氏定氮法测定; 提取液中的蛋白质含量的测定用考马斯 G-250 法。

2.3 蛋白质提取率的计算

蛋白质提取率 = (提取液中蛋白 ÷ 杏仁中蛋白质) × 100%

3 结果与分析

3.1 pH 对提取率的影响

用 NaOH 调整浸提液的 pH 分别至 7、8、9、10、11, 然后在固液比 1:25 下 40℃ 浸提 1h, 测定蛋白质提取率, 结果如图 1。

如图 1, 在 pH 7~10 的范围内, 随着 pH 的升高, 蛋

白质的提取率升高,当pH 10时,达到最大;随后随着pH的升高,提取率反而下降,且样品液体中有异味。因为杏仁蛋白在碱性环境中发生酸式解离使其本身带负电荷,蛋白质分子间互相排斥,分散性好,溶解性较好,而且碱液对蛋白质分子的次级键特别是氢键具有破坏作用,使蛋白质分子表面具有相同的电荷,从而对蛋白质分子有增溶作用,这种增溶作用随着pH的升高而增大;但当pH再提高时,蛋白质过度水解,提取率降低,同时氨基酸之间有可能发生缩合反应,生成了异味物质^[3]。

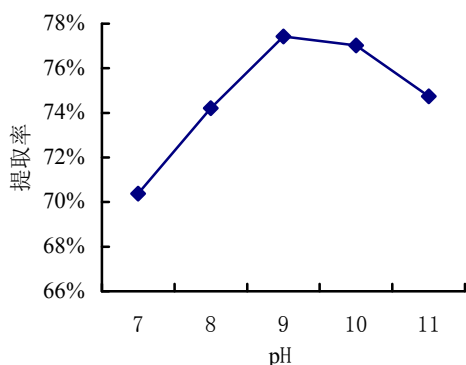


图1 pH对提取率的影响

3.2 温度对提取率的影响

选取pH10和固液比1:25的浸提液5份,分别在25℃、30℃、35℃、40℃、45℃、50℃的条件下浸提1h,测定蛋白质提取率,结果如图2。

图2知,45℃时,杏仁分离蛋白提取率最大;25~45℃时,提取率随温度的升高而增加;这是由于随着温度的升高,蛋白质分子的构象发生轻微改变,分子的立体结构变得伸展,有利于蛋白质分子和水分子的运动及其相互作用,温度的升高对蛋白质溶解起到了增溶作用;但当温度高于45℃时,维持蛋白质空间构象的次级键被破坏,引起天然构象解体,把原来在分子内部的一些疏水基团暴露到分子表面,促进了蛋白质分子间的相互结合而凝结沉淀。

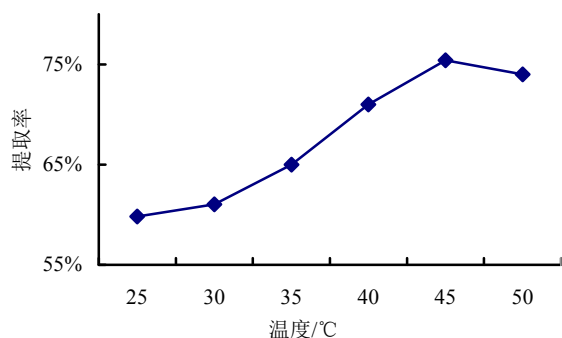


图2 温度对提取率的影响

3.3 料液比对提取率的影响

取pH10的浸提液,按固液比1:10、1:15、1:20、1:25、1:30在40℃下浸提1h,测定浸提率如图3。

从图3可知,随着料液比的增大,提取率开始变大,在料液比为1:10时,溶液的黏度较大,分子扩散速率低,导致体系分散不均匀,体系pH不均匀,从而影响了浸提液对蛋白质的提取;当料液比达到1:25时,随料液比的增大,提取率的提高不明显。因此,从经济角度出发,料液比为1:15~1:25较为适宜。

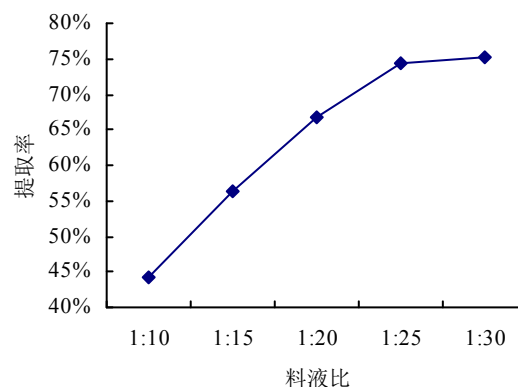


图3 料液比对提取率的影响

3.4 时间对提取率的影响

选取料液比为1:25, pH 10的浸提液5份,在40℃下分别浸提20min、30min、40min、50min、60min,测定蛋白质提取率,结果如图4。

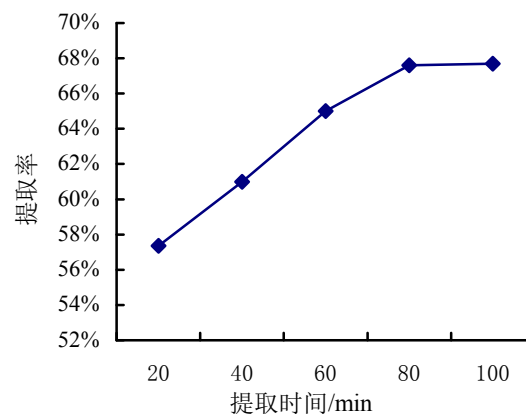


图4 时间对提取率的影响

从图4可看出,在一定条件下,浸提时间越长,对蛋白质的提取率越大。当浸提时间达到80min时,蛋白质的溶出率达到动态平衡,提取率变化不大。此时,延长提取时间对提取率的影响不大。因此,综合各种因素,提取时间以80min为适宜。

3.5 正交试验分析

在单因素分析的基础上,对影响杏仁蛋白提取率的pH、温度、料液比进行了(L₉(3⁴))正交试验,各因素

所取水平见表1, 不同因素水平试验结果见表2。

表1 实验因素和水平表

A	B	C	D
温度/℃	pH	料液比	时间/min
35	8.0	1:20	60
40	9.0	1:25	80
45	10.0	1:30	100

表2 正交实验结果分析表

	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	58.76
2	1	2	2	2	66.72
3	1	3	3	3	64.56
4	2	1	2	3	71.17
5	2	2	3	1	74.80
6	2	3	1	2	65.25
7	3	1	3	2	63.24
8	3	2	1	3	43.29
9	3	3	2	1	55.20
K ₁	190.04	193.17	167.31	188.76	563.00
K ₂	211.22	184.81	193.09	195.21	
K ₃	161.73	185.01	202.60	179.02	
k ₁	63.35	64.39	55.77	62.92	
k ₂	70.41	61.60	64.36	65.07	
k ₃	53.91	61.67	67.53	59.67	
R	16.50	2.79	11.76	5.40	

(上接第 56 页)

用酶, 水解条件为 pH 7.0, 温度 50℃, 底物浓度 5%, 酶浓度 8%, 水解时间 6h。

3.2 以苦味值为指标, 确定最佳脱苦条件, 大豆蛋白水解液采用 1%粉末状活性炭, 0.8% β-环状糊精和 0.08%柠檬酸, 三者联合脱苦风味较好。

参考文献

- [1] 刘志胜,李里特等.大豆蛋白营养品质和生理功能研究进展[J].大豆科学,2000,19(3):263-267
- [2] 荣建华.大豆多肽及其生物活性的研究[D].华中农业大学

从表2可知, 通过正交试验分析和极差分析, 各因素对杏仁蛋白提取率的影响顺序为: 温度>料液比>提取时间>pH; 而且最佳工艺为A₂B₂C₃D₁, 即温度40℃、料液比为1:30、pH为9.0、时间为60min。根据最佳工艺条件对杏仁蛋白质进行提取, 蛋白质的提取率可达74.8%。

4 结论

热减法提取杏仁蛋白的最佳工艺为: 温度40℃、料液比为1:30、pH为9.0、时间为60min。根据最佳工艺条件对杏仁蛋白质进行提取, 蛋白质的提取率可达74.8%。

热碱法提取杏仁蛋白质时, 易造成蛋白质变性和有害物质的生成, 因此, 减法提取杏仁蛋白质时, 应适当地选取提取液的pH和提取温度。

参考文献

- [1] 杜琨,牟丽丽.杏仁的营养价值与开发利用[J].食品研究与开发,2005,26(5):151-154
- [2] 赵东海,张建平,王云.米糠蛋白提取工艺和功能性质评价[J].食品工业,2005,(5):9-11
- [3] 邵佩兰,徐明.提取大豆分离蛋白的工艺研究[J].粮油加工与食品机械,2005,(9):47-51

硕士研究生学位论文.2001

- [3] 钱方, 邓岩, 玉凤翼, 季瑛, 马英使.蛋白酶及其大豆蛋白水解物苦味的研究[J].大连轻工业学报,2000,19(3):182-185
- [4] 刘大川, 杨国燕. 酶改性大豆分离蛋白产品的制备及产品功能性的研究[J].中国油脂, 2004, 29 (12) : 56- 61
- [5] 曹玉华, 杨惠萍. 固定化胰蛋白酶制备大豆肽正交实验的研究[J]. 食品科技, 2003, (10) : 33-35
- [6] 赵新淮等. 蛋白质水解物水解度的测定[J]. 食品科学, 1994, (11):65-67

方贵权荣膺首届“十大新粤商”称号

和 2006 广东十大经济风云人物

在 2007 年 1 月 18 日在广州召开的第三届中国企业文化论坛和在 2007 年 1 月 28 日在广州中山纪念堂隆重举行的“2006 广东十大经济风云人物”评选活动中, 珠江啤酒集团有限公司董事长方贵权荣膺“十大新粤商”称号和当选为“十大经济风云人物”和荣获“最具胆识与魄力”奖。