

文章编号:1004-1478(2011)01-0034-05

玉米醇溶蛋白提取工艺选择与优化

相恒绪¹, 陈琦², 敬思群¹

(1. 新疆大学 生命科学与技术学院, 新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830046;
2. 江苏科技大学 生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212018)

摘要:以玉米蛋白粉为材料,采用乙醇浸提法、碱提酸沉法和盐析法提取玉米醇溶蛋白,利用正交试验对提取条件进行了优化与选择.结果表明,乙醇浸提法最优,提取率高,变性程度最小.乙醇浸提法的最佳工艺条件为:提取温度60℃,料液比1g/8mL,浸提时间5h,乙醇浓度80%,此时提取率可达82.21%,玉米醇溶蛋白变性率仅为10.23%.

关键词:玉米醇溶蛋白;乙醇浸提法;碱提酸沉法;盐析法

中图分类号:TS201.21 **文献标志码:**A

Optimization and selection of extraction technology of corn zein

XIANG Heng-xu¹, CHEN Qi², JING Si-qun¹

(1. College of Life Sci. and Tech., Xinjiang Univ., Urumqi 830046, China;
2. School of Biotech. and Envmt. Eng., Jiangsu Univ. of Sci. and Tech., Zhenjiang 212018, China)

Abstract: Corn zein was obtained via ethyl alcohol extraction method, alkali-extraction and acid precipitation method and salting-out method with corn gluten meal as raw material. Extraction conditions were optimized through orthogonal test. The results showed that ethyl alcohol extraction method was the optimal method which not only the extraction rate of zein was high, but also the denaturation degree of corn zein was weak. The optimum extraction technology of ethyl alcohol extraction method was obtained as follows: temperature 60℃, solid-liquid ratio 1g/8mL, time 5h, ethanol concentration 80%; extraction rate was 82.21%, denaturation degree was 10.23%.

Key words: corn zein; ethyl alcohol extraction method; alkali-extraction and acid precipitation method; salting-out method

0 引言

玉米蛋白粉是淀粉乳分离蛋白质时产生的黄浆水经过滤得到的不溶于水的蛋白质,俗称“黄粉子”,是玉米淀粉湿法加工过程中的副产物^[1].玉米

蛋白粉含有62%左右的玉米蛋白,蛋白质含量较其他同类原料高出很多^[2].玉米蛋白的成分,根据溶解性不同,可以分为白蛋白、球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白4种主要组分,其中玉米醇溶蛋白含量最高,约占68%以上,是玉米中的主要贮藏蛋白^[3-4].玉米

收稿日期:2010-09-05

基金项目:新疆维吾尔自治区科技支撑项目(200991236)

作者简介:相恒绪(1984—),男,江苏省连云港市人,新疆大学硕士研究生,主要研究方向为食品科学.

通信作者:敬思群(1966—),女,四川省宜宾市人,新疆大学副教授,主要研究方向为食品科学.

蛋白粉中提取醇溶蛋白的常用有机溶剂有乙醇、异丙醇等。以往,有些厂家用86%的异丙醇作为溶剂提取醇溶蛋白,该法与乙醇浸提法相比,产率较高,但产品带有异味,不宜在食品加工中应用^[5]。碱提酸沉法和盐析法提取的醇溶蛋白含有的大量无机离子吸附于蛋白质上,若不反复冲洗,会残存于产品中,从而降低产品的耐水性^[6]。本文拟采用乙醇浸提法、碱提酸沉法和盐析法提取玉米醇溶蛋白,并对其提取工艺进行优化,以期为工业化生产提供理论依据。

1 实验

1.1 材料及仪器

材料:玉米蛋白粉,新疆天达生物工程有限公司提供; α -淀粉酶,杰能科酶制剂有限公司产;糖化酶,江阴星达生物有限公司产;碱性蛋白酶,北京诺维信生物有限公司产;牛血清白蛋白,国药集团化学试剂有限公司产。

仪器:HH—S型水浴锅,巩义市英峪予华仪器厂产;RE—52AA型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂产;UV—2000型紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司产;JY92—2D型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司产。

1.2 操作方法

1.2.1 乙醇浸提法提取工艺 脱色玉米蛋白粉→粉碎(过80目筛)→加入80%乙醇(料液比1 g/10 mL)→调节温度(60℃)→浸提(24 h)→离心(4 000 r/min)→取上清液→冷水稀释乙醇体积分数至40%→静置→离心(4 000 r/min)→洗涤沉淀→冷冻干燥→粉碎→玉米醇溶蛋白。

1.2.2 碱提酸沉法提取工艺 脱色玉米蛋白粉→粉碎(过80目筛)→加入80%乙醇(料液比1 g/10 mL)→调节温度(60℃)→调pH值至12(0.1 mol/L的NaOH)→浸提(24 h)→离心(4 000 r/min)→取上清液→调pH值至6.0(0.1 mol/L的HCl)→静置→离心(4 000 r/min)→洗涤沉淀→冷冻干燥→粉碎→玉米醇溶蛋白。

1.2.3 盐析法提取工艺 脱色玉米蛋白粉→粉碎(过80目筛)→加入80%乙醇(料液比1 g/10 mL)→调节温度(60℃)→盐析(不同饱和的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液)→离心(4 000 r/min)→洗涤沉淀→脱盐→冷冻干燥→粉碎→玉米醇溶蛋白。

1.2.4 玉米醇溶蛋白标准曲线的制作^[7] 用凯氏定氮法测定实验制得的玉米蛋白粉的蛋白含量,取含量最高的样品为标准样品,称取250 mg样品于250 mL容量瓶中用体积分数80%的乙醇完全溶解并定容,再将该标准溶液用体积分数80%的乙醇准确配制成浓度为10%~100%的梯度溶液。在278 nm处测定各梯度溶液的吸光值,制作标准曲线。回归方程为 $y = 0.8156x + 0.0093$, $r = 0.9999$,在0~1 g/L浓度范围内呈良好的线性关系。

1.3 测定方法

可溶性蛋白的测定:采用Folin-酚法。蛋白变性率的测定^[8]:称取10 g玉米蛋白,过80目筛,放入烧杯中,加入80%的乙醇溶液100 mL,搅拌溶解,8 500 r/min离心10 min,静置1 h,取上层清液,2 800 r/min离心10 min,取10 mL上层清液测定分散蛋白质含量,测定3次取平均值。

$$\text{蛋白质分散指数(PDI)} =$$

$$\frac{\text{水中分散蛋白质/总蛋白质} \times 100\%}{\text{蛋白变性率}} =$$

$$\frac{\text{提取蛋白 PDI/标准蛋白 PDI} \times 100\%}{\text{玉米醇溶蛋白含量及其提取率的计算:根据}} =$$

1.2.4制作的标准曲线,计算不同条件下提取液中玉米醇溶蛋白的含量,并以此为基础计算提取率。

$$\text{提取液中玉米醇溶蛋白的含量} =$$

$$\frac{\text{提取液中玉米醇溶蛋白的含量} \times \text{提取液的总体积} \times \text{配制标准溶液的蛋白质样品的纯度}}{\text{玉米醇溶蛋白的提取率} =}$$

$$\frac{\text{提取液中玉米醇溶蛋白的质量/}}{\text{蛋白粉中玉米醇溶蛋白的质量} \times 100\%}$$

$$\frac{\text{蛋白粉中玉米醇溶蛋白的质量} =}{\text{玉米蛋白粉的质量} \times \text{蛋白粉中蛋白质的含量} \times 65\%}$$

$$\text{其中,玉米蛋白粉中醇溶蛋白含量按总蛋白含量的} 65\% \text{计}^{[9]}。$$

2 结果与讨论

2.1 乙醇浸提法最佳提取工艺条件的确定

2.1.1 温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响 准确称取脱色玉米蛋白粉样品5份,每份5.00 g,加入80%乙醇50.0 mL作溶剂,在不同水浴中浸提4 h,将浸提液离心分离后取上清液,稀释至一定倍数测其吸光度值,计算提取率。结果见图1。

由图1可以看出,在30~60℃时,玉米醇溶蛋

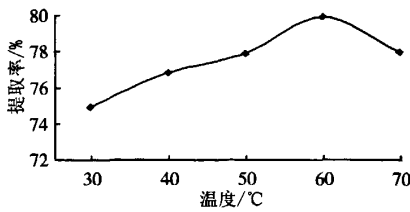


图1 温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

白溶液的提取率随着温度的升高逐渐增加,60 °C 时达到最大值 79.89%,之后有下降趋势.温度过高提取率反而下降的原因可能是玉米醇溶蛋白在温度过高时会发生部分变性,影响提取率.

2.1.2 料液比对玉米醇溶蛋白提取率的影响 准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,分别以不同的液料比加入 80% 乙醇作溶剂,在 60 °C 下水浴浸提 4 h,将浸提液离心分离后取上清液,稀释至一定倍数测其吸光度值,计算提取率.结果见图 2.

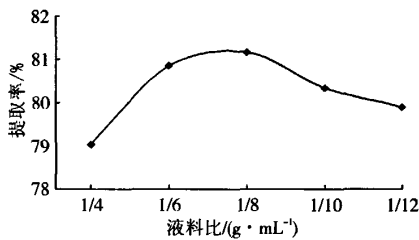


图2 液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响

由图 2 可以看出,玉米醇溶蛋白的提取率随着料液比中液体比值的增加而增加;液料比为 1 g/8 mL 时玉米醇溶蛋白的提取率达最大值 81.26%,之后继续增大料液比中液体比值,提取率下降.

2.1.3 浸提时间对玉米醇溶蛋白提取率的影响

准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,加入 80% 乙醇 50.0 mL 作溶剂,在 60 °C 水浴浸提不同时间,将浸提液离心分离后取上清液,稀释至一定倍数测其吸光度值,计算提取率.结果见图 3.

由图 3 可以看出,随着浸提时间的延长,玉米醇溶蛋白提取率不断增加.在 5 h 内醇溶蛋白提取率升高较快,在 5 h 后提取率有所下降.这表明醇溶蛋白在浸提 5 h 时接近溶解饱和度,此时玉米醇溶蛋白的提取率为 78.73%.

2.1.4 乙醇浓度对提取玉米醇溶蛋白的影响 准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,分别

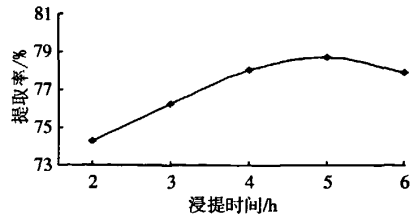


图3 浸提时间对玉米醇溶蛋白提取率的影响

加入不同浓度的乙醇溶液 50.0 mL 作溶剂,在 60 °C 水浴中浸提 4 h,将浸提液离心分离后取上清液,稀释至一定倍数测其吸光度值,计算提取率.结果见图 4.

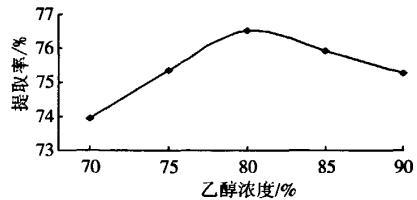


图4 乙醇浓度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

由图 4 可以看出,随着乙醇浓度的增大,提取率不断增加.当乙醇浓度达到 80% 后,玉米醇溶蛋白的提取率有所下降,此时玉米醇溶蛋白的提取率为 76.54%.

2.1.5 乙醇浸提法提取玉米醇溶蛋白的正交试验

以温度/°C (因素 A),料液比/(g · mL⁻¹) (因素 B),浸提时间/h (因素 C),乙醇浓度/% (因素 D) 为考察对象,对提取率进行测试,结果见表 1.

由表 1 可以看出,对蛋白质提取率的影响程度依次为乙醇浓度 > 提取时间 > 料液比 > 温度.提取

表 1 乙醇浸提法提取玉米醇溶蛋白的正交试验结果

序号	A	B	C	D	提取率/%
1	50	6	4	75	76.35
2	50	8	5	80	76.29
3	50	10	6	85	76.30
4	60	6	5	85	76.70
5	60	8	6	75	76.65
6	60	10	4	80	76.67
7	70	6	6	80	74.94
8	70	8	4	85	83.31
9	70	10	5	75	75.09
K ₁	76.31	76.67	75.67	71.33	
K ₂	76.67	76.33	76.67	74.67	
K ₃	75.11	76.00	76.67	83.00	
R	1.56	0.67	1.00	11.67	

蛋白质的最佳工艺条件为:提取温度 60 ℃,料液比 1 g/8 mL,浸提时间 5 h,乙醇浓度 80%。此时,提取率可达 82.21%。

对以上正交试验数据进行方差分析,结果见表 2。

表 2 乙醇浸提法提取玉米醇溶蛋白正交试验的方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	0.667	2	1.000	99.000	
料液比	0.667	2	1.000	99.000	
浸提时间	2.000	2	2.999	99.000	
乙醇浓度	216.667	2	324.838	99.000	*
误差	0.670	2			

注: * 表示达到极显著水平,下同。

由表 2 可以看出,乙醇浓度对蛋白提取具有极其显著的作用。

2.2 碱提酸沉法提取玉米醇溶蛋白最佳工艺条件的确定

2.2.1 温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,加入 80% 乙醇,料液比 1:10,在不同浸提温度下,水浴浸提 4 h,将浸提液离心分离,洗涤沉淀,计算提取率。结果见图 5。

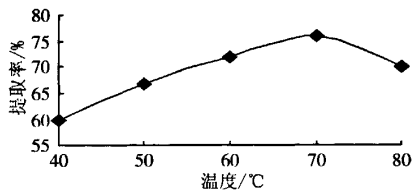


图 5 温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

由图 5 可以看出,随着温度的升高,玉米醇溶蛋白的提取率也随之提高,温度为 70 ℃ 时提取率达最大值,之后继续升温,提取率有所下降。这是由于高温会导致变性。

2.2.2 液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响

准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,分别以不同液料比加入 80% 乙醇,在 25 ℃ 水浴中浸提 4 h,将浸提液离心分离,洗涤沉淀,计算提取率。结果见图 6。

由图 6 可以看出,随着料液比中溶剂比例的提高,玉米醇溶蛋白的提取率也随之上升,当液料比为 1 g/10 mL 时提取率达最大值,之后继续增大溶

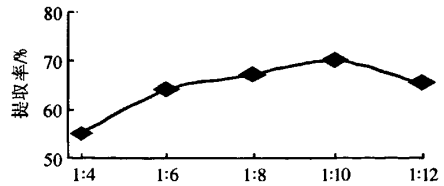


图 6 液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响

剂用量,提取率有所下降。

2.2.3 pH 对玉米醇溶蛋白提取率的影响

准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,分别以不同 pH 加入 80% 乙醇(料液比为 1 g/10 mL),在 25 ℃ 水浴中浸提 4 h,将浸提液离心分离,洗涤沉淀,计算提取率。结果见图 7。

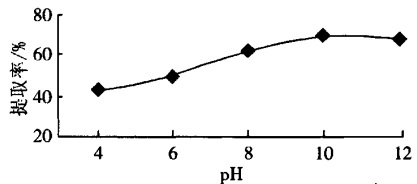


图 7 pH 对玉米醇溶蛋白提取率的影响

由图 7 可以看出,随着 pH 的提高,玉米醇溶蛋白的提取率也随之上升,当 pH = 10 时提取率达最大值,之后继续增大 pH 值,提取率有所下降。

2.2.4 碱提酸沉法提取玉米醇溶蛋白的正交试验

以温度/℃(因素 A),料液比/(g · mL⁻¹)(因素 B),pH(因素 C)为考察对象,对提取率进行测试。正交试验结果见表 3。

由表 3 可以看出,各因素对蛋白质提取率的影响程度依次为 pH > 液料比 > 温度,最佳工艺条件

表 3 碱提酸沉法提取玉米醇溶蛋白的正交试验结果

序号	A	B	C	提取率/%
1	60	8	8	75.35
2	60	10	10	75.65
3	60	12	12	75.54
4	70	8	10	75.60
5	70	10	12	75.54
6	70	12	8	75.48
7	80	8	12	73.63
8	80	10	8	77.65
9	80	12	10	74.94
K ₁	75.51	74.74	73.63	
K ₂	75.54	76.107	77.16	
K ₃	75.41	75.607	75.66	
R	0.13	1.37	3.53	

为:提取温度 60 ℃,料液比 1 g/8 mL,浸提时间 5 h,乙醇浓度 80%。此时提取率可达 75.87%。

对上述正交试验数据进行方差分析,结果见表 4。

表 4 碱提酸沉法提取玉米醇溶蛋白正交试验的方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	0.026	2	1	19	
料液比	2.884	2	110.923	19	*
pH	18.872	2	725.846	19	*
误差	0.670	2			

由表 4 可以看出,pH 和液料比对蛋白提取具有极其显著的作用。

2.3 盐析法提取玉米醇溶蛋白中盐浓度的确定

准确称取脱色玉米蛋白粉样品 5 份,每份 5.00 g,在不同盐浓度条件下,充分沉淀后离心,洗涤沉淀,计算提取率。盐浓度对玉米醇溶蛋白提取率的影响见图 8。

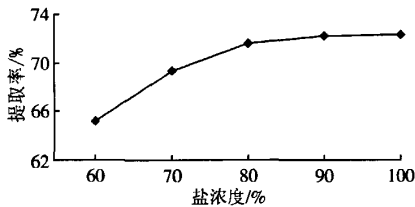


图 8 盐浓度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

由图 8 可以看出,随着盐浓度的提高,玉米醇溶蛋白的提取率也随之上升,当盐浓度达到 80% 后,提取率趋于平稳,考虑到实验成本的因素,选取 80% 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液提取玉米醇溶蛋白,提取率平均值达到 72.31%。

2.4 提取方法对玉米醇溶蛋白变性程度的影响比较

分别取在乙醇浸提法、碱提酸沉法和盐析法提取玉米醇溶蛋白的最佳条件下提取的玉米醇溶蛋白,并测定玉米醇溶蛋白的变性程度。结果见图 9。

由图 9 可以看出,乙醇浸提法、碱提酸沉法和盐析法提取玉米醇溶蛋白的提取率相近,但不同的提取方法对玉米醇溶蛋白变性程度影响差异显著。乙醇浸提法使玉米醇溶蛋白变性程度最小,仅为 10.23%,盐析法为 20.36%,而碱提酸沉法为 65.68%。

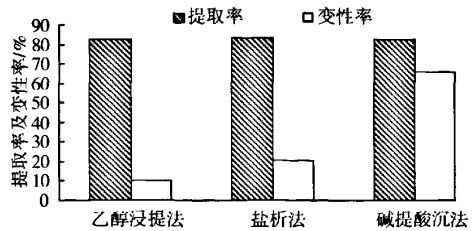


图 9 提取方法对玉米醇溶蛋白变性程度的影响

3 结论

在提取玉米醇蛋白的各种工艺中,乙醇浸提法的最佳条件为:提取温度 60 ℃,料液比 1 g/8 mL,浸提时间 5 h,乙醇浓度 80%,此时提取率为 82.21%;盐析法的最佳条件为: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的浓度为 80%,料液比 1 g/10 mL,提取时间 4 h,提取温度 60 ℃,此时提取率为 72.31%;碱提酸沉法的最佳条件法为:提取温度 60 ℃,料液比 1 g/10 mL,浸提时间 5 h,乙醇浓度 80%,此时提取率为 75.87%。3 种方法使玉米醇溶蛋白变性率分别为 10.23%,20.36%,65.68%。从玉米醇溶蛋白提取率和变性程度 2 方面考虑,应选择乙醇浸提法。

参考文献:

- [1] 蔡同一,赵文娟.玉米深加工及其综合利用[J].食品科学,2000,21(1):6.
- [2] 胡学烟,孙冀平.玉米蛋白粉开发与利用[J].粮食与油脂,2001(11):32.
- [3] 谦伟,郭兴风,熊拯.玉米的综合开发——醇溶蛋白的提取[J].粮食科技与经济,2006(6):43.
- [4] 张钟,齐爱云.玉米醇溶蛋白提取工艺及功能性质研究[J].粮食与饲料工业,2004(9):21.
- [5] 段纯明,董海洲.玉米醇溶蛋白的特性及应用研究[J].粮食与食品工业,2007,14(1):29.
- [6] 胡智学.玉米醇溶蛋白的提取及应用[J].河北化工,2007,30(12):8.
- [7] Kong B H, Xiong Y L. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a Liposome system and the possible mode of action[J]. Food Chem, 2006, 54(16):6059.
- [8] 杜立斌,韩孝族.玉米醇溶蛋白生产新工艺的研究[J].中国粮油学报,1998,13(6):28.
- [9] 李梦琴,李运罡,宋晓燕.玉米醇溶蛋白提取工艺的研究[J].食品工业科技,2008(12):135.