

DOI:10.16433/j.1673-2383.202403280001

杨迎,郭兴凤,张明,等.含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白工艺优化及产品特性研究[J].河南工业大学学报(自然科学版),2024,45(5):25-32,96.

YANG Y, GUO X F, ZHANG M, et al. Optimization of the process and product characteristics of alcohol leacher soybean protein concentrate prepared from solvent-containing meal [J]. Journal of Henan university of technology (natural science edition), 2024, 45(5): 25-32, 96.

含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白工艺优化及产品特性研究

杨迎¹, 郭兴凤^{1*}, 张明², 朱婷伟¹, 张相凤¹

1. 河南工业大学粮油食品学院, 河南 郑州 450001

2. 济宁市机械设计研究院, 山东 济宁 272023

摘要:为了优化醇法制备大豆浓缩蛋白的工艺,减少能源消耗,采用未经脱溶处理的含正己烷的脱脂大豆粕为原料制备浓缩蛋白,探究工艺条件对浓缩蛋白浸提效果以及原料对浓缩蛋白特性的影响。通过单因素及正交试验得到3个制备大豆浓缩蛋白的工艺条件:蛋白质含量优化组合条件制备蛋白的蛋白质含量66.32%、产品得率77.94%、蛋白质提取率93.98%;产品得率优化组合条件制备蛋白的蛋白质含量65.03%、产品得率80.17%、蛋白质提取率94.79%;蛋白质提取率优化组合条件制备蛋白的蛋白质含量65.33%、产品得率79.86%、蛋白质提取率94.86%。采用优化的工艺条件对比不同原料制备的大豆浓缩蛋白,发现与干粕制备的蛋白相比,含溶湿粕制备蛋白的蛋白质含量没有显著变化而溶解度提高,蛋白的表面疏水性、粒径、分子间疏水相互作用、氢键作用力降低,蛋白的溶解度与蛋白表面疏水性、疏水相互作用、氢键呈显著负相关。采用含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白的工艺更加简便,所制备的蛋白结构发生变化,溶解度更优。

关键词:含溶湿粕;大豆浓缩蛋白;工艺优化;溶解度;蛋白结构

中图分类号:TS201.1

文献标志码:A

文章编号:1673-2383(2024)05-0025-08

Optimization of the process and product characteristics of alcohol leacher soybean protein concentrate prepared from solvent-containing meal

YANG Ying¹, GUO Xingfeng^{1*}, ZHANG Ming², ZHU Tingwei¹, ZHANG Xiangfeng¹

1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China

2. Jining Machinery Design and Research Institute, Jining 272023, China

Abstract: In order to optimize the extraction process of alcoholic soybean protein concentrate and reduce energy consumption, In this study, defatted soybean meal containing n-hexane without desolvation treatment was used as the raw materials for the preparation of alcoholic protein concentrate, and to investigate the influence of alcoholic processing conditions on the leaching effect of soybean protein concentrate and the influence of raw materials on the characteristics of alcoholic soybean protein concentrate. Three process conditions for the preparation of soybean protein concentrate were optimized by one-way and orthogonal

收稿日期:2024-03-28

基金项目:国家重点研发计划(2022YFD2101403)

作者简介:杨迎(1998—),女,河南郑州人,硕士研究生,研究方向为蛋白质资源开发与利用。

*通信作者:郭兴凤,教授, E-mail: guoxingfeng@haut.edu.cn。

experiments. Protein content of protein concentrate prepared under optimized combination of conditions of protein content, product yield and protein extraction rate are 66.32%, 77.94% and 93.98%, respectively. Product yield optimized combination of conditions of protein concentrate prepared under optimized combination of conditions of protein content 65.03%, product yield 80.17%, protein extraction rate 94.79%; protein extraction rate optimized combination of conditions of protein concentrate prepared under optimized combination of conditions of protein content 65.33%, product yield 79.86%, protein extraction rate 94.86%. The optimized process conditions were used to prepare soybean concentrate from different raw materials. It was found that compared with the protein prepared from dry meal, the protein content of the protein prepared from solvent-containing meal did not change significantly, but the solubility increased, and the surface hydrophobicity, particle size, intermolecular hydrophobic interaction, and hydrogen bonding force of the protein decreased. The solubility of the protein was significantly negatively correlated with the surface hydrophobicity, hydrophobic interaction, and hydrogen bonding of the protein. The process of preparing soybean protein concentrate using the alcohol method with solvent-containing meal is more convenient, and the resulting protein structure changes, resulting in better solubility.

Key words: solvent-containing meal; soybean protein concentrate; process optimization; solubility; protein structural

大豆中蛋白质含量高达 40%^[1],因此大豆制油后的饼粕可以用来生产蛋白制品,其中低温豆粕可用于大豆浓缩蛋白(SPC)的生产^[2]。大豆浓缩蛋白是除去可溶性非蛋白成分后制得的蛋白制品,蛋白质含量在 65%以上^[3],通过醇法制备的大豆浓缩蛋白具有色泽好、风味淡等优点^[4]。正己烷广泛用于大豆等油料的提油过程,具有提油残留率低、效率高的优点^[5],在低温豆粕制备过程中,需要脱除正己烷等浸提溶剂,该过程会造成蛋白质变性^[6],而以未经过脱溶处理的湿粕为原料直接醇法制备大豆浓缩蛋白能够降低蛋白质变性程度、减少消耗、节约能源。不仅如此,还有学者研究发现在己烷存在条件下采用醇法制备浓缩蛋白时,己烷等非极性物质的存在对乙醇具有阻碍作用,能够降低乙醇引起的蛋白质醇变性,从而提高蛋白的溶解度^[7],同时研究发现己烷与乙醇两种溶剂混合能够加快浸提速度。此外,己烷能够提高油脂等呈色、呈味物质的浸出率,进而得到色泽浅、风味淡、残油率少、蛋白质含量高的优质产品^[8-9]。

目前研究多为低温豆粕制备大豆浓缩蛋白,针对含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白的工艺及产品特性研究较少。因此作者以湿粕为原料,研究工艺条件(乙醇体积分数、浸提温度、液料比、浸提时间)对大豆浓缩蛋白浸提效果(蛋白质含量、产品得率、蛋白质提取率)的影响,并结合单因素及正交试验优化工艺条件,采用常规的经过脱溶工艺处理的低温豆粕与含有正己烷的模拟

湿粕、未经脱溶工艺处理的大豆脱脂干粕与含有正己烷的大豆脱脂湿粕为原料醇法制备大豆浓缩蛋白,研究大豆浓缩蛋白的性能,为含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

低温豆粕:山东万德福有限公司;脱皮大豆:山东省潍坊市太保庄镇。

无水乙醇、正己烷、氢氧化钠:天津天力有限公司;脲、溴酚蓝、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、三氯乙酸:天津市科密欧化学试剂有限公司; β -巯基乙醇:麦克林生化有限公司;以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FW-100 高速万能粉碎机:北京市永明医疗仪器有限公司;HH-6 数显恒温水浴锅:常州普天仪器制造有限公司;722s 可见分光光度计:上海精密科学仪器有限公司;BeNano 90 Zeta 纳米粒度仪:丹东百特仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料及醇法大豆浓缩蛋白的制备

低温豆粕:将低温豆粕粉碎过 60 目筛。

模拟湿粕:称取 10 g 低温豆粕,加入正己烷,采用玻璃棒搅拌,混合均匀后得到含容量 30% 的模拟湿粕。

大豆脱脂干粕:将脱皮大豆粉碎过 60 目

筛,以正己烷为溶剂进行索氏抽提,将脱脂后的湿粕置于通风橱内于常温脱除溶剂,24 h 后将已脱溶的大豆粕研磨并过 60 目筛,得到大豆脱脂干粕。

大豆脱脂湿粕:称取大豆脱脂干粕 10 g,加入正己烷,采用玻璃棒搅拌,混合均匀后得到含容量 30% 的大豆脱脂湿粕。

醇法大豆浓缩蛋白:将乙醇溶液与原料按所需液料比混合,然后放入恒温水浴,按所需温度搅拌浸提,达到浸提时间后抽滤 7 min,将固体与浸提液分离,所得滤饼初步粉碎后置于通风橱内自然干燥 24 h,将干燥后的蛋白研磨过 60 目筛得到大豆浓缩蛋白。

1.3.2 单因素试验

1.3.2.1 乙醇体积分数

设置浸提温度 50 ℃、液料比 7:1 mL/g、浸提时间 70 min,探究乙醇体积分数(55%、60%、65%、70%、75%)对大豆浓缩蛋白浸提效果的影响。

1.3.2.2 浸提温度

设置乙醇体积分数 65%、液料比 7:1 mL/g、浸提时间 70 min,探究浸提温度(40、45、50、55、60 ℃)对大豆浓缩蛋白浸提效果的影响。

1.3.2.3 液料比

设置浸提温度 50 ℃、乙醇体积分数 65%、浸提时间 70 min,探究液料比(4:1、5:1、6:1、7:1、8:1 mL/g)对大豆浓缩蛋白浸提效果的影响。

1.3.2.4 浸提时间

设置乙醇体积分数 65%、液料比 7:1 mL/g、浸提温度 50 ℃,探究浸提时间(50、60、70、80、90 min)对大豆浓缩蛋白浸提效果的影响。

1.3.3 正交试验设计

采用 $L_9(3^4)$ 正交表,以乙醇体积分数、浸提温度、液料比、浸提时间为因素,以蛋白质含量、产品得率、蛋白质提取率为指标进行正交试验。

1.3.4 蛋白质含量

参考文献[10]中使用的方法并略有改动,将 20 mL 脲溶液(8 mol/L)与 0.2 g 大豆浓缩蛋白混合,常温下磁力搅拌 1 h,5 000 r/min 离心 15 min。通过标准曲线计算蛋白质含量(P)。

$$P = \frac{(A - 0.0672) \times n \times V}{0.2343 \times m} \times 100\%$$

式中: A 为样品在波长 540 nm 处的吸光度; n 为稀释倍数; V 为蛋白溶液总体积,20 mL; m 为样品

质量,mg。

1.3.5 产品得率

产品得率(R_1)以浓缩蛋白产品质量占原料(干基)的百分比表示。

1.3.6 蛋白质提取率

蛋白质提取率(R_2)以浓缩蛋白产品中蛋白质的质量占原料中蛋白质质量的百分比表示。

1.3.7 氮溶解指数

氮溶解指数(NSI)的测定参考文献[11]中使用的方法并略有改动。称取 0.5 g 浓缩蛋白样品与 25 mL 蒸馏水混合,磁力搅拌 1 h,5 000 r/min 离心 15 min,按照 1.3.4 测定溶解的氮含量;总氮量测定采用凯式定氮法。以溶解的氮量占原料中总氮量的百分比表示氮溶解指数。

1.3.8 表面疏水性

参考 Shen 等^[12]的方法并略有改动。称取 0.1 g 浓缩蛋白样品,与 0.1 mol/L (pH 7.0) 磷酸盐缓冲液 20 mL 混合,磁力搅拌 1 h,取 4 mL 蛋白溶液,加入 1 mg/mL 溴酚蓝溶液(无水乙醇配制)800 μ L,混合均匀,室温静置 15 min,10 000 r/min 离心 10 min。取上清液 1 mL,用 0.1 mol/L (pH 7.0) 磷酸盐缓冲液稀释 10 倍,用蒸馏水做空白对照,于波长 595 nm 处测定吸光度 A_1 ;将 2 mL 磷酸盐缓冲液与 1 mg/mL 溴酚蓝溶液 400 μ L 混合均匀后取 1 mL,代替上清液重复以上步骤稀释后测定吸光度 A_0 。计算表面疏水性(S): $S = 200 \times (A_0 - A_1) / A_0$ 。

1.3.9 粒径

参考文献[13]中使用的方法并略有改动,采用 0.1 mol/L (pH 7.0) 的磷酸盐缓冲溶液配制 1 mg/mL 的大豆浓缩蛋白溶液,上样体积 2 mL,设置平衡时间 25 s。

1.3.10 蛋白分子间作用力

参考文献[14]中使用的方法并略有改动。所用溶液体系: S_1 为 0.1 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液; S_2 为 1% SDS 溶液; S_3 为 6 mol/L 脲溶液; S_4 为 2% β -巯基乙醇溶液, S_2 、 S_3 、 S_4 均用 0.1 mol/L (pH 7.0) 磷酸盐缓冲液配制。称取 4 份 0.2 g 浓缩蛋白样品,分别加入 20 mL 上述 4 种溶液,磁力搅拌 1 h,5 000 r/min 离心 10 min,取 2 mL 上清液,加入 2 mL 20% 三氯乙酸混匀,静置 30 min,5 000 r/min 离心 10 min,所得沉淀用 0.5 mol/L NaOH 溶液溶解,采用双缩脲法得到各溶液体系中可溶性蛋白含量。

1.4 数据处理

每个指标至少重复测定 3 次取平均值。采用 SPSS 20、Origin 2021 对数据进行处理与分析。

2 结果与分析

2.1 加工工艺对醇法大豆浓缩蛋白浸提效果的影响

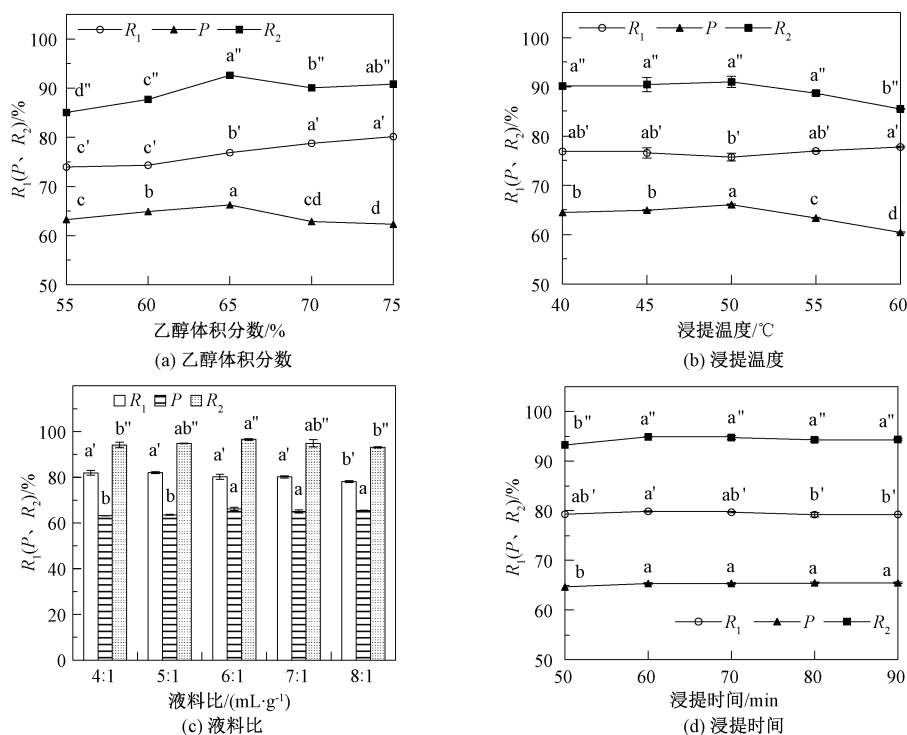
由图 1(a)可知,随乙醇体积分数升高,产品的蛋白质含量及蛋白质提取率先升高后降低并在乙醇体积分数 65% 时达到最高,产品得率不断升高。乙醇体积分数由 55% 升高至 65%,豆粕中异黄酮的溶解度随乙醇体积分数升高而增大,因此产品蛋白质含量提高^[15];乙醇体积分数进一步升高,蛋白质凝固,构象更紧密,不利于可溶物浸出^[16],因此蛋白质含量降低而产品得率升高。综合选择乙醇体积分数为 65%。

由图 1(b)可知,浸提温度由 40 °C 升高至 60 °C,产品蛋白质含量先升高后降低并在 50 °C 时达到最大,产品得率先降低后升高,蛋白质提取率降低。温度升高有利于分子运动,豆粕中异黄酮等物质溶出率增加,温度由 50 °C 进一

步升高,导致蛋白变性凝固,豆粕中异黄酮等物质难以被提出^[15,17]。综合选择浸提温度为 50 °C。

由图 1(c)可知,随液料比增大,产品的蛋白质含量先增加后无明显变化,产品得率降低,蛋白质提取率先增加后降低。被浸提物内外体积分数差随液料比增加而增大,当液料比增加到一定程度,可溶性物质扩散入溶剂中的程度达到最大^[18],因此液料比增加使豆粕中可溶于乙醇溶液的物质和水溶性物质更多地被浸提出。综合选择液料比为 6:1 mL/g。

由图 1(d)可知,随浸提时间增加,蛋白质含量和提取率先增加后无明显变化,80、90 min 时产品得率较 60 min 降低。研究发现糖类物质和异黄酮的浸提需要一定时间,随浸提时间延长,物质浸出使产品蛋白质含量提高,浸提时间进一步延长,溶液中浸出物达到饱和,仅有少量醇溶及水溶物质溶出^[19],因此浸提时间由 60 min 继续延长,蛋白质含量不再有明显变化。此外,研究发现浸提时间大于 80 min 时清蛋白发生溶解,清蛋白提取率降低^[20],因此浸提时间过长导致产品得率有所降低。综合选择浸提时间为 60 min。



注: R_1 为产品得率, P 为蛋白质含量, R_2 为蛋白质提取率。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 图 2、图 3 同。

图 1 单因素对大豆浓缩蛋白浸提效果的影响

Fig. 1 Effect of single factor on extraction of SPC

2.2 正交试验

根据单因素试验结果,设计四因素三水平正交试验优化提取条件,结果见表 1。正交试验中以蛋白质含量为指标优化的工艺条件醇法制备大豆浓缩蛋白,蛋白质含量 66.32%、产品得率 77.94%、蛋白质提取率 93.98%,即蛋白质含量优化组合;正交试验中以产品得率及蛋白质提取率为指标优化得到的工艺条件醇法制备大豆浓缩蛋白,蛋白质含量不符合标准。正交试验中,当乙醇体积分数 70%、浸提温度 45℃、液料比 6:1 mL/g、浸提时间 60 min 时,产品的蛋白质含量达到标准要求,为 65.03%,产品得率

80.17%、蛋白质提取率 94.79%,即产品得率优化组合;进一步结合单因素试验结果,当乙醇体积分分数 65%、浸提温度 50℃、液料比 6:1 mL/g、浸提时间 60 min 时,产品的蛋白质含量达到标准要求,为 65.33%,蛋白质提取率 94.86%、产品得率 79.86%,即蛋白质提取率优化组合。溶解度作为蛋白质的重要功能特性,能够影响蛋白质其他功能性质^[21],在实际应用过程中蛋白溶解度起着关键作用,因此选择优化得到的 3 个条件醇法制备大豆浓缩蛋白,探究含溶湿粕与干粕醇法制备大豆浓缩蛋白溶解度的变化。

表 1 正交试验结果与分析

Table 1 Orthogonal experimental results and analysis

编号	A 液料比/(mL·g ⁻¹)	B 乙醇体积分数/%	C 浸提温度/℃	D 浸提时间/min	蛋白质 含量/%	产品 得率/%	蛋白质 提取率/%
1	5:1	60	45	50	64.78	79.74	93.92
2	5:1	65	50	60	64.04	79.81	92.93
3	5:1	70	55	70	62.60	81.19	92.41
4	6:1	60	50	70	65.13	77.64	91.94
5	6:1	65	55	50	64.10	78.85	91.90
6	6:1	70	45	60	65.03	80.17	94.79
7	7:1	60	55	60	61.64	76.78	86.05
8	6:1	65	45	70	66.14	76.95	92.54
9	6:1	70	50	50	65.67	78.54	93.78
蛋白质含量							
k_1	63.81	63.85	65.32	64.85	$R_C > R_D > R_A > R_B$ 最佳水平组合:A ₂ B ₂ C ₁ D ₁		
k_2	64.75	64.76	64.95	63.57			
k_3	64.48	64.43	62.78	64.62			
R	0.95	0.91	2.54	1.28			
产品得率							
k_1	80.25	78.05	78.95	79.04	$R_A > R_B > R_D > R_C$ 最佳水平组合:A ₁ B ₃ C ₁ D ₁		
k_2	78.89	78.54	78.66	78.92			
k_3	77.42	79.97	78.94	78.59			
R	2.82	1.91	0.29	0.45			
蛋白质提取率							
k_1	93.09	90.64	93.75	93.20	$R_C > R_B > R_A > R_D$ 最佳水平组合:A ₁ B ₃ C ₁ D ₁		
k_2	92.88	92.45	92.88	91.26			
k_3	90.79	93.66	90.12	92.29			
R	2.09	3.02	3.63	1.94			

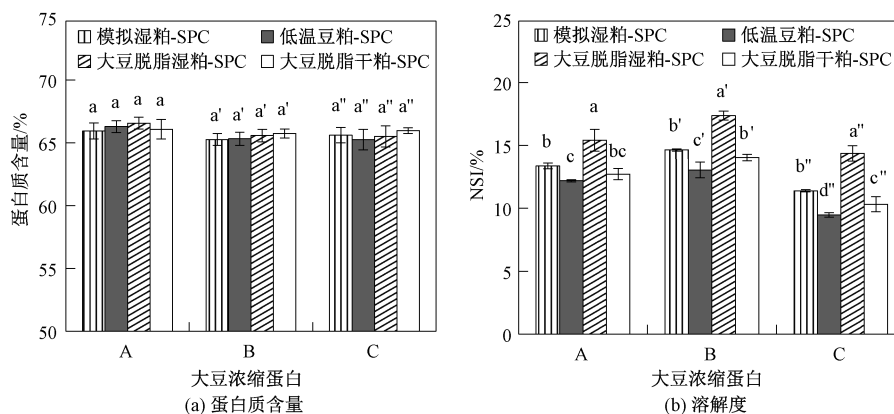
2.3 原料特性对大豆浓缩蛋白的蛋白质含量及氮溶解指数的影响

蛋白质含量是蛋白质的主要指标,分别采用模拟湿粕、低温豆粕、大豆脱脂湿粕、大豆脱脂干粕醇法制备大豆浓缩蛋白,由图 2(a)可知,原料特性对蛋白质含量的影响不显著。由图 2(b)可知,与低温豆粕制备的蛋白相比,模拟湿粕制备的蛋白 NSI 提高;与大豆脱脂干粕制备的蛋白相比,大豆脱脂湿粕制备的蛋白 NSI 提高。与干粕

制备的大豆浓缩蛋白体系相比,含溶湿粕中存在正己烷,减小蛋白质的醇变性程度,醇变性会导致蛋白分子表面粗糙,蛋白分子间结构紧密,较大的蛋白分子间发生聚集,使蛋白质溶解度降低^[22]。

2.4 原料特性对大豆浓缩蛋白表面疏水性的影响

由图 3 可知,与低温豆粕制备的蛋白相比,模拟湿粕制备的蛋白表面疏水性降低,与大豆脱脂干粕制备的蛋白相比,大豆脱脂湿粕制备的蛋



注:A、B、C 分别代表采用蛋白质含量优化组合、产品得率优化组合、蛋白质提取率优化组合制备的大豆浓缩蛋白。图 3 同。

图 2 原料特性对产品蛋白质含量、溶解度的影响

Fig. 2 The effect of raw materials on the protein content and solubility of the product

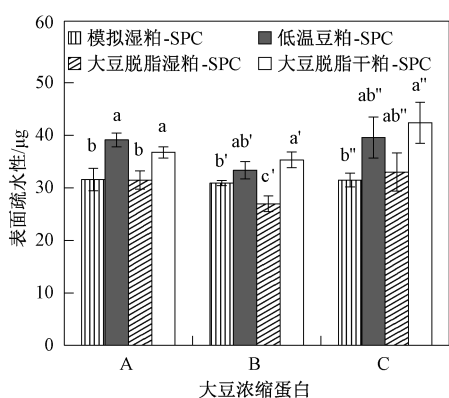


图 3 原料特性对蛋白表面疏水性的影响

Fig. 3 Effect of raw materials properties on the hydrophobicity of protein surfaces

白表面疏水性降低。决定蛋白表面疏水性的主要因素为蛋白分子表面的疏水残基,采用干粕制备大豆浓缩蛋白,体系中只有乙醇溶液,含溶湿粕制备蛋白溶液体系中正己烷的存在使乙醇溶液被稀释,研究发现乙醇溶液体积分数增加能够使蛋白质解折叠,内部的疏水残基暴露^[23],因此含溶湿粕制备的蛋白疏水性残基暴露程度较小。

随着疏水性增加,分子水溶性降低并迫使相邻的大分子与其疏水部分聚集^[24],因此含溶湿粕制备的蛋白与干粕制备的蛋白相比,表面疏水性降低而溶解度提高。

2.5 原料特性对大豆浓缩蛋白粒径的影响

粒径可以反映蛋白分子之间的聚集情况,因此对蛋白粒径进行分析,结果见表 2,与干粕制备的蛋白相比,含溶湿粕制备的蛋白平均粒径减小。与单纯采用乙醇制备的浓缩蛋白相比,采用正己烷与乙醇混合溶剂浸洗得到的浓缩蛋白形成的聚集体较小,蛋白分子发生聚集的概率较低^[22]。己烷的存在使混合溶液的极性低于单一乙醇溶液的极性,乙醇溶液对维持蛋白质分子的空间结构的盐键影响降低,蛋白质醇变性程度降低^[7],蛋白质聚集程度减小。研究发现蛋白质聚集体粒径减小时,蛋白质与水分子的接触面积增加,并且粒径减小还能够增加蛋白质与水分子间氢键形成概率,蛋白质溶解度提高^[25],因此含溶湿粕制备的蛋白与干粕制备的蛋白相比,平均粒径减小而溶解度增加。

表 2 原料特性对蛋白平均粒径的影响

Table 2 Effect of raw materials characteristics on the average particle size of proteins

样品	组合平均粒径/nm		
	A	B	C
模拟湿粕-SPC	9 180.48±715.95 ^b	8 795.17±504.76 ^{a'}	5 263.08±1 394.72 ^{b''}
低温豆粕-SPC	11 141.27±403.90 ^a	9 796.79±510.93 ^{a'}	9 018.00±1 576.69 ^{a''}
大豆脱脂湿粕-SPC	5 853.58±166.02 ^c	6 333.08±680.43 ^{b'}	3 363.09±144.68 ^{b''}
大豆脱脂干粕-SPC	9 792.22±1 151.15 ^b	8 732.02±1 211.33 ^{a'}	9 518.85±230.18 ^{a''}

注:A、B、C 分别代表采用蛋白质含量优化组合、产品得率优化组合、蛋白质提取率优化组合制备的大豆浓缩蛋白。表 3 同。

2.6 原料特性对大豆浓缩蛋白分子间相互作用的影响

蛋白质分子间疏水相互作用不仅影响蛋白

分子内构象及蛋白分子间聚集,也与蛋白质的功能特性有着密切关联^[12]。由表 3 可知,含溶湿粕制备的蛋白分子间疏水相互作用较弱,这是由于

表 3 原料特性对蛋白分子间作用力的影响

Table 3 Effect of raw materials characteristics on the interaction between protein molecules mg/mL

组合	样品	对照组	疏水相互作用	氢键	二硫键
A	模拟湿粕-SPC	0.81±0.01 ^c	4.10±0.04 ^{a†}	2.90±0.01 ^{bc*}	1.19±0.03 ^{cm}
	低温豆粕-SPC	0.73±0.01 ^d	4.21±0.02 ^{a†}	2.94±0.02 ^{ab*}	1.40±0.04 ^{bm}
	大豆脱脂湿粕-SPC	1.03±0.03 ^a	3.12±0.08 ^{b†}	2.85±0.02 ^{c*}	1.61±0.09 ^{am}
	大豆脱脂干粕-SPC	0.99±0.01 ^b	3.14±0.07 ^{b†}	2.99±0.06 ^{a*}	1.45±0.11 ^{bm}
B	模拟湿粕-SPC	0.81±0.01 ^c	4.09±0.06 ^{a†}	2.79±0.01 ^{ab*}	1.42±0.01 ^{cm}
	低温豆粕-SPC	0.79±0.01 ^c	4.28±0.26 ^{a†}	2.87±0.03 ^{a*}	1.41±0.02 ^{cm}
	大豆脱脂湿粕-SPC	1.19±0.02 ^a	3.27±0.23 ^{c†}	2.59±0.04 ^{c*}	1.48±0.02 ^{bm}
	大豆脱脂干粕-SPC	1.10±0.03 ^b	3.72±0.14 ^{b†}	2.71±0.11 ^{b*}	1.53±0.02 ^{am}
C	模拟湿粕-SPC	0.70±0.01 ^c	4.25±0.04 ^{a†}	3.14±0.02 ^{ab*}	1.01±0.01 ^{cm}
	低温豆粕-SPC	0.65±0.01 ^d	4.30±0.06 ^{a†}	3.20±0.02 ^{a*}	0.98±0.04 ^{cm}
	大豆脱脂湿粕-SPC	1.17±0.03 ^a	3.90±0.14 ^{b†}	3.12±0.05 ^{b*}	1.23±0.02 ^{bm}
	大豆脱脂干粕-SPC	1.08±0.03 ^b	3.93±0.11 ^{b†}	3.21±0.11 ^{a*}	1.51±0.03 ^{am}

采用干粕制备蛋白时,不存在正己烷,较高体积分数的乙醇溶液使蛋白分子的结构过度展开,疏水基团暴露使蛋白质表面疏水基团增多,蛋白分子间疏水相互作用力增强,蛋白分子间发生疏水性聚集形成聚集体,导致蛋白质溶解度降低^[11]。干粕制得的蛋白与含溶湿粕制备的蛋白相比,疏水相互作用、氢键作用加强,干粕制备的蛋白分子间聚集程度较大导致蛋白分子与水分子结合能力减弱,蛋白质溶解度降低。

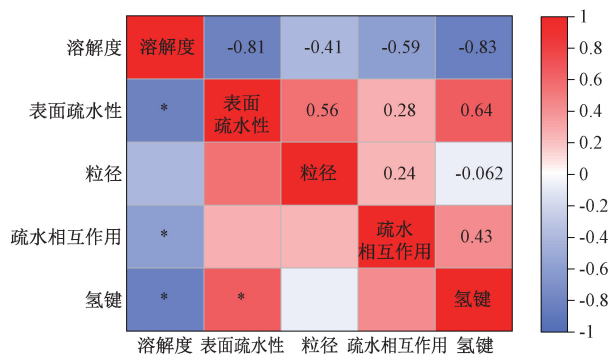
2.7 醇法大豆浓缩蛋白溶解度与结构特性相关性热图分析

由图 4 可知,大豆浓缩蛋白溶解度与蛋白表面疏水性、疏水相互作用、氢键呈显著负相关,相关性系数分别为-0.81、-0.59、-0.83。多位学者研究发现蛋白质表面疏水性与溶解度呈负相关,大豆浓缩蛋白表面疏水性越大,表面疏水基团越多,溶解度降低^[26-27],与本研究结果一致。随着醇法大豆浓缩蛋白分子间疏水相互作用、氢键作用力的增大,蛋白分子聚集更紧密,此状态会减

弱蛋白分子与水的结合能力,导致溶解度降低,因此醇法大豆浓缩蛋白溶解度与疏水相互作用、氢键呈负相关关系。

3 结论

采用含溶湿粕为原料醇法制备大豆浓缩蛋白,研究工艺条件对浓缩蛋白浸提效果的影响,通过单因素和正交试验最终确定 3 个工艺条件:在乙醇体积分数 65%、浸提温度 45℃、液料比 6:1 mL/g、浸提时间 50 min 下制备的浓缩蛋白蛋白质含量最高,为 66.32%,产品得率 77.94%、蛋白质提取率 93.98%;在乙醇体积分数 70%、浸提温度 45℃、液料比 6:1 mL/g、浸提时间 60 min 下制备的浓缩蛋白蛋白质含量 65.03%,产品得率最高,为 80.17%、蛋白质提取率 94.79%;在乙醇体积分数 65%、浸提温度 50℃、液料比 6:1 mL/g、浸提时间 60 min 下制备的浓缩蛋白蛋白质含量 65.33%,蛋白质提取率最高,为 94.86%,产品得率 79.86%;在优化的工艺条件下研究原料对浓缩蛋白特性的影响,发现与干粕制备的浓缩蛋白相比,含溶湿粕制备的浓缩蛋白蛋白质含量没有显著变化,而模拟湿粕、大豆脱脂湿粕制备的浓缩蛋白与低温豆粕、大豆脱脂干粕制备的浓缩蛋白相比,溶解度改善,表面疏水性、粒径、分子间疏水相互作用、氢键相互作用较低,相关性分析结果显示大豆浓缩蛋白溶解度与蛋白表面疏水性、疏水相互作用、氢键呈负相关。本研究为含溶湿粕醇法制备大豆浓缩蛋白提供了理论依据,后续可继续探讨所制备的大豆浓缩蛋白其他功能特性及实际应用价值。



注: * 表示显著($P < 0.05$)。

图 4 溶解度与结构特性相关性热图

Fig. 4 Heat map of the correlation between solubility and structural properties

参考文献:

- [1] PREECE K E, HOOSHYAR N, ZUIDAM N J. Whole soybean protein extraction processes: a review [J]. *Innovative food science & emerging technologies*, 2017, 43: 163-172.
- [2] 秦健, 许皎皎, 童惠英, 等. 食用级豆粕的加工新技术及其应用 [J]. *粮食与食品工业*, 2016, 23(3): 29-31.
- [3] 李林桂, 肖伟伟, 葛梦兰. 大豆浓缩蛋白的生产工艺、营养组成及在动物日粮中的应用 [J]. *饲料工业*, 2015(S1): 29-32.
- [4] TAN J X, TAN C C, DHARMAWAN J, et al. Effects of ethanol washing on off-flavours removal and protein functionalities of pea protein concentrate [J]. *Food and bio-products processing*, 2023, 141: 73-80.
- [5] 李五宝, 刘大良, 魏冰, 等. 新型浸出制油技术研究进展 [J]. *粮食与食品工业*, 2015, 22(3): 19-24.
- [6] 林凤岩, 伊晓丽, 郭兴凤, 等. 醇法制备大豆浓缩蛋白大型智能化成套装备技术开发及产业化 [J]. *中国油脂*, 2020, 45(4): 28-31.
- [7] 刘大川, 张维农, 胡小泓. 混合溶剂降低蛋白质醇变性机理的探讨 [J]. *中国油脂*, 1997, 22(5): 31-33.
- [8] 吕琪, 熊道陵, 张建平, 等. 正己烷-无水乙醇体系萃取茶叶籽浆液工艺研究 [J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(9): 82-85.
- [9] 张维农, 刘大川, 胡小泓. 正己烷-含水乙醇混合溶剂制取大豆浓缩蛋白工艺的研究 [J]. *中国油脂*, 2002, 27(4): 42-44.
- [10] 汤虎, 孙智达, 徐志宏, 等. 超声波改性对小麦面筋蛋白溶解度影响的研究 [J]. *食品科学*, 2008, 29(12): 368-372.
- [11] 赵方园, 郭兴凤, 赵树超, 等. 加工条件对醇法大豆浓缩蛋白溶解性及结构的影响 [J]. *中国油脂*, 2023, 48(10): 57-63, 70.
- [12] SHEN H, ZHAO M M, SUN W Z. Effect of pH on the interaction of porcine myofibrillar proteins with pyrazine compounds [J]. *Food chemistry*, 2019, 287: 93-99.
- [13] 齐宝坤, 李杨, 王中江, 等. 不同品种大豆分离蛋白 Zeta 电位和粒径分布与表面疏水性的关系 [J]. *食品科学*, 2017, 38(3): 114-118.
- [14] 张莹莹, 石长硕, 王瑞红, 等. 大豆蛋白复配对面团特性及面条品质的影响 [J]. *粮食与饲料工业*, 2019(8): 32-36, 42.
- [15] 唐银, 朱梓瑞, 许树荣, 等. 响应面法优化酱渣中大豆异黄酮超声辅助乙醇提取工艺 [J]. *中国调味品*, 2023, 48(4): 115-119, 126.
- [16] PENG Y, KYRIAKOPOULOU K, NDIAYE M, et al. Characteristics of soy protein prepared using an aqueous ethanol washing process [J]. *Foods*, 2021, 10(9): 2222.
- [17] 赵益菲, 布冠好, 陈复生. 热处理对 β -伴大豆球蛋白结构及免疫活性的影响 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(5): 50-56.
- [18] 李娟, 牟小凤. 热浸提法提取茶叶中茶多酚的方法优化 [J]. *绵阳师范学院学报*, 2022, 41(2): 50-55.
- [19] 刘茜琼, 马婷婷, 干昭波, 等. 响应面优化大豆低聚糖提取工艺及对肠道益生菌增殖的影响 [J]. *精细与专用化学品*, 2022, 30(2): 41-47.
- [20] 贾丽丽, 张闪闪, 包陈力根, 等. 奇亚籽清蛋白提取工艺优化及结构、抗氧化活性的研究 [J]. *粮食与油脂*, 2022, 35(11): 123-128.
- [21] 闫红燕, 章绍兵, 王朝君. 超声改性对花生蛋白乳液凝胶荷载姜黄素性能的影响 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2024, 45(2): 41-48, 57.
- [22] 张晓丽. 花生浓缩蛋白制备工艺及功能性研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2010.
- [23] 冯晷晷, 王浩, 于栋, 等. 乙醇诱导改性对乳清分离蛋白结构及乳化特性的影响 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(23): 1-7.
- [24] LI T, WANG C Y, LI T Q, et al. Surface hydrophobicity and functional properties of citric acid cross-linked whey protein isolate: the impact of pH and concentration of citric acid [J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2383.

- Wheat and oat brans as sources of polyphenol compounds for development of antioxidant nutraceutical ingredients [J]. *Foods*, 2021, 10(1): 115.
- [20] CUI Y Q, OUWEHAND J N W, VAN DER LANS R G J M, et al. Aspects of the use of complex media for submerged fermentation of *Aspergillus awamori* [J]. *Enzyme and microbial technology*, 1998, 23(1/2): 168-177.
- [21] 李莹. 白腐真菌菌剂及固定化酶对多环芳烃——石油烃复合污染土壤的修复研究 [D]. 北京: 北京建筑大学, 2023.
- [22] 徐安民, 李力, 马森, 等. 毛木耳 5.584 产漆酶发酵条件优化及降解麦麸的研究 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2020, 41(3): 65-71.
- [23] SCHNEIDER W D H, COSTA P C, FONTANA R C, et al. Upscale and characterization of lignin-modifying enzymes from *Marasmiellus palmivorus* VE111 in a bioreactor under parameter optimization and the effect of inducers [J]. *Journal of biotechnology*, 2019, 295: 1-8.
- [24] MA Z B, XU M M, WANG Q, et al. Development of an efficient strategy to improve extracellular polysaccharide production of *Ganoderma lucidum* using L-phenylalanine as an enhancer [J]. *Frontiers in microbiology*, 2019, 10: 2306.
- [25] WANG F, YU X L, YU Z, et al. Improved laccase production by *Trametes versicolor* using Copper-Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine as a novel and high-efficient inducer [J]. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2023, 11: 1176352.
- [26] 谷晓丹. 漆酶 Lac-W 广谱高效降解饲料中六种主要霉菌毒素的研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2023.

(责任编辑 姚玮华)

(上接第 32 页)

- [25] 左硕静, 李道燕, 刘晓涵, 等. 超声处理对牡蛎肌浆蛋白结构和溶解性的影响 [J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(23): 29-34, 98.
- [26] 许晶, 齐宝坤, 赵青山, 等. 大豆分离蛋白结构特性与表面疏水性的关系 [J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(8): 32-36, 41.
- [27] RAHMATI N F, KOOCHEKI A, VARIDI M, et al. Introducing Speckled sugar bean (*Phaseolus vulgaris*) protein isolates as a new source of emulsifying agent [J]. *Food hydrocolloids*, 2018, 79: 498-508.

(责任编辑 姚玮华)