

## 不同方式提取的燕麦蛋白功能特性比较

Comparison on functional properties of oat protein extracted from different ways

许英一<sup>1</sup> 徐艳霞<sup>2</sup> 王宇<sup>2</sup>

XU Ying-yi<sup>1</sup> XU Yan-xia<sup>2</sup> WANG Yu<sup>2</sup>

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省畜牧研究所, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

(1. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China;

2. Heilongjiang Province Institute of Animal Science, Qiqihar, Heilongjiang 161005, China)

**摘要:**以燕麦粉为原料,分析碱提酸沉法提取的燕麦蛋白(AOP)和酶法提取的燕麦蛋白(EOP)的溶解性、起泡性、乳化性、氨基酸组成等功能特性。结果表明,在蛋白等电点,AOP与EOP的溶解性、起泡性和乳化性均达最小值,而乳化稳定性最高;AOP与EOP的溶解性、起泡性、泡沫稳定性和乳化性随NaCl浓度的增加基本都呈先升高后下降的趋势,而乳化稳定性随NaCl浓度的增加逐渐降低;AOP与EOP的氨基酸总量分别为57.27%,22.82%;EOP的溶解性、乳化性高于AOP,而AOP起泡性、泡沫稳定性、乳化稳定性及氨基酸总量均高于EOP。

**关键词:**燕麦;蛋白;碱提酸沉法;酶法;功能特性

**Abstract:** The oat flour as raw material, the oat proteins by alkali extraction and acid precipitation (AOP) and enzymatic method (EOP) were comparatively evaluated for functional properties (solubility, foaming properties, emulsifying properties, amino acid compositions). The results showed that at the isoelectric point of the protein, solubility, foaming and emulsifying properties of AOP and EOP reached minimum, and emulsion stability of AOP and EOP were the highest; with the increase of NaCl concentration, the solubility, foamability, foam stability and emulsifying properties were basically increased first and then decreased, and emulsion stability decreased; The total amino acids of AOP and EOP were 57.27% and 22.82%, respectively. The solubility, emulsifying properties of EOP were higher than those of AOP, while AOP had higher foaming properties, foam stability, emulsion stability and total amino acids than EOP.

**Keywords:** Oat; protein; alkali extraction and acid precipitation method; enzymatic method; functional properties

**基金项目:**黑龙江省教育厅基本业务专项(编号:135209274);黑龙江省教育厅基本业务专项(粮头食尾)(编号:LTSW201724)

**作者简介:**许英一(1971—),女,齐齐哈尔大学教授,硕士。

E-mail: wyxy-1@163.com

**收稿日期:**2017-12-17

燕麦(*Avena sativa* L.)含有多种易被人体吸收的营养成分,主要是燕麦膳食纤维、燕麦 $\beta$ -葡萄糖、燕麦蛋白质、燕麦抗氧化物质及燕麦脂肪等,具有降血脂、降血糖、减肥和美容等多种功能,是较受现代人欢迎的食物之一<sup>[1]</sup>。国内外栽培的燕麦蛋白质含量一般为11.19%~19.85%,其氨基酸均衡且配比合理,籽粒中蛋白含量高于其他谷物<sup>[2]</sup>。目前,提取蛋白的方法主要有碱提酸沉法<sup>[3]</sup>和酶法<sup>[4]</sup>。碱提酸沉法利用蛋白质在碱性条件易溶,而在酸性条件达到其等电点而生成沉淀的性质,用碱提酸沉达到分离或提纯的目的,是目前植物蛋白生产中常用的方法,但其缺点是使用了大量的酸和碱。酶法具有水解速度快、提取时间短、提取率高、不产生污染等优点<sup>[4]</sup>,适合工业化生产;而且采用酶法水解的方式,可以改善蛋白质的功能特性<sup>[5]</sup>。

燕麦蛋白具有良好的营养特性和功能特性,可广泛应用于食品行业中。2种提取方法又有各自的优点,因此,研究不同方式提取燕麦蛋白的功能特性具有重要意义。目前,中国关于燕麦蛋白的研究主要集中于蛋白质的提取等方面,以往研究主要以燕麦麸为原料<sup>[6-8]</sup>,且多数采用碱提酸沉法<sup>[9-12]</sup>,对酶法提取燕麦全粉蛋白的研究很少,而不同提取方法对燕麦蛋白功能特性的影响还未见报道。本研究以燕麦全粉为原料,分别对酶法提取的燕麦蛋白(AOP)和碱提酸沉法提取的燕麦蛋白(EOP)的功能特性进行比较分析,更好地了解燕麦蛋白的加工特性,以期为全面开发燕麦全粉中蛋白质资源提供理论依据。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

甜燕麦:1号,黑龙江省畜牧研究所试验基地;

碱性蛋白酶:酶活力 $1.0 \times 10^5$  U/g,上海源叶生物科技有限公司;

十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS):美国Sigma公司;

Amino Acids Mixture Standard Solution, Type H; 日本 Wako 公司;

其他化学试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

高速药物粉碎机:WK-600A型,青州市精诚机械有限公司;

高速组织捣碎机:DS-1型,上海标本模型制造厂;

台式低速离心机:TDL-5-A型,上海安亭科学仪器厂;

pH计:PB-10型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

水浴恒温振荡器:SHA-C型,常州荣华仪器制造有限公司;

可见分光光度计:722S型,上海菁华科技仪器有限公司;

全自动氨基酸分析仪:L-8900型,日本日立公司。

1.3 方法

1.3.1 脱脂燕麦粉的制备 将新鲜燕麦清理后粉碎,用正己烷按1:2(g/mL)比例室温下振荡脱脂过夜,挥干溶剂,备用。

1.3.2 燕麦蛋白的提取

(1) 碱提酸沉法提取燕麦蛋白工艺:

脱脂燕麦粉(80目)→调浆→稀碱提取[pH 10.0, 温度 25℃, 料水比 1:8(g/mL), 时间 120 min, 搅拌速度 60 r/min]→离心(4 000 r/min, 20 min)→上清液→酸沉(pH 4.0)→沉淀冻干(-85℃, 48 h)→燕麦蛋白(AOP)

(2) 酶法提取燕麦蛋白工艺:

脱脂燕麦粉(80目)→加水[料液比 1:8(g/mL)]→酶解(碱性蛋白酶, 酶解温度 50℃、酶解时间 2.0 h、酶解 pH 8.0、酶加量 2 g/100 g 底物)→灭酶(90℃, 10 min)→离心(4 000 r/min, 10 min)→上清液→酸沉(pH 4.0)→沉淀冻干(-85℃, 48 h)→燕麦蛋白(EOP)

1.3.3 蛋白含量的测定 采用凯氏定氮法<sup>[13]</sup>。

1.3.4 氨基酸含量的测定 采用离子交换色谱茚三酮柱后衍生法对氨基酸组成进行分析,称取 50 mg 冻干的燕麦蛋白,加入 6 mol/L HCl 后真空封管,于 110℃ 条件下水解 24 h。用氨基酸自动分析仪进行分析。参数设计:泵 1(洗脱溶液)流速:0.40 mL/min(压力 2.0~14.7 MPa);泵 2(茚三酮溶液)流速:0.35 mL/min(压力 0.2~2.0 MPa);分析柱温

度:57℃;反应器温度:135℃;进样体积:20 μL,标准分析时间:30 min/个样。

1.3.5 pH 及 NaCl 浓度对燕麦蛋白功能特性的影响

(1) pH 对燕麦蛋白功能特性的影响:在不同 pH(2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0)条件下,对 2 种方法提取的燕麦蛋白进行功能特性分析,测定 2 种蛋白的溶解性、起泡性和泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性。

(2) NaCl 浓度对燕麦蛋白功能特性的影响:在不同 NaCl 浓度(蒸馏水, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00 mol/L)条件下,以氮溶解指数为指标,分析 2 种方法提取的燕麦蛋白的溶解性,同时,在不同 NaCl 浓度(蒸馏水, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mol/L)条件下,分析 2 种蛋白的起泡性和泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性。

1.3.6 燕麦蛋白功能特性测定

(1) 溶解性:参照文献<sup>[14]</sup>。

(2) 起泡性和泡沫稳定性:参照文献<sup>[15]<sup>33</sup></sup>。

(3) 乳化性和乳化稳定性:采用浊度法<sup>[15]<sup>33-34</sup></sup>。

1.4 数据处理

所用试验均重复 3 次,各试验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。数据采用 Excel 进行统计学处理。

2 结果与分析

2.1 燕麦蛋白的蛋白含量及氨基酸组成分析

2.1.1 燕麦蛋白的蛋白含量 AOP 和 EOP 2 种燕麦蛋白的蛋白含量分别为(64.12±2.10)%和(27.38±0.38)%。

2.1.2 燕麦蛋白的氨基酸组成分析 2 种不同提取方法的燕麦蛋白(AOP 和 EOP) 的必需氨基酸和非必需氨基酸含量分别见表 1、2。氨基酸组成分析见表 3。

由表 1、2 可知,2 种燕麦蛋白氨基酸种类都很丰富,8 种必需氨基酸齐全,且都含有赖氨酸,摄食燕麦蛋白粉可以弥补中国传统膳食结构中赖氨酸的不足。

由表 3 可知,AOP 氨基酸总量为 57.27%,EOP 氨基酸总量仅为 22.82%,说明 2 种提取方法中 AOP 氨基酸总量明显高于 EOP。但二者的 E/T 和 E/N 比值都分别高于 FAO/WHO 标准规定的 40% 和 0.6,因此 2 种燕麦蛋白均为氨基酸比例均衡的优质蛋白。

表 1 燕麦蛋白中必需氨基酸含量

Table 1 Content of essential amino acid in oat protein %

样品	异亮氨酸	亮氨酸	赖氨酸	蛋氨酸+胱氨酸	苯丙氨酸+酪氨酸	苏氨酸	缬氨酸	总计
AOP	2.62	5.09	2.42	1.39	5.61	3.02	3.52	23.67
EOP	0.78	1.83	0.84	0.70	1.95	0.86	1.26	9.22

表 2 燕麦蛋白中非必需氨基酸含量

Table 2 Content of nonessential amino acid in oat protein %

样品	天冬氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	总计
AOP	4.64	2.58	12.52	2.43	2.81	1.31	4.51	2.80	33.60
EOP	1.75	1.25	4.93	1.20	1.22	0.47	1.17	1.61	13.60

表 3 AOP 和 EOP 氨基酸组成比较<sup>†</sup>

Table 3 Comparison of amino acid composition between AOP and EOP

样品	EAA/%	NEAA/%	TAA/%	E/T/%	E/N
AOP	23.67	33.60	57.27	41.33	0.70
EOP	9.22	13.60	22.82	40.40	0.68

<sup>†</sup> EAA 为必需氨基酸含量;NEAA 为非必需氨基酸含量;TAA 为总氨基酸含量;E/T 为必需氨基酸与总氨基酸含量的比值;E/N 为必需氨基酸与非必需氨基酸的比值。

2.2 燕麦蛋白溶解性

2.2.1 pH 对燕麦蛋白溶解性的影响 EOP 与 AOP 的氮溶解指数(NSI)在不同 pH 下变化趋势一致:在接近等电点处(pH 为 4)NSI 最低,当 pH 大于或小于等电点时,NSI 逐渐增大;在 pH 为 10 时,两者的 NSI 均达最大值。燕麦蛋白溶解性随 pH 变化规律与李洋<sup>[16]30</sup>的研究结果基本一致。这是由于在等电点时,蛋白质分子净电荷为零,不存在同种电荷互斥现象,分子间的作用力减弱,其颗粒极易碰撞、凝聚而产生沉淀,溶解度最低;溶液的 pH 低于或高于蛋白质的等电点时,加强了蛋白质与水分子的相互作用,同时也加强了蛋白质链之间的相互排斥作用,因此都有利于蛋白质水溶性的增加,提高了蛋白的溶解性。从图 1 中还可以看出,EOP 的溶解性要好于 AOP,可能是酶解后产物的亲水基团羧基和氨基数目增加,使蛋白质的亲水作用增强,其溶解性提高。

2.2.2 NaCl 浓度对燕麦蛋白溶解性的影响 由图 2 可知,AOP 和 EOP 在不同 NaCl 浓度下溶解性均呈先增大后减小的趋势,且 EOP 的溶解性高于 AOP。当 NaCl 浓度为

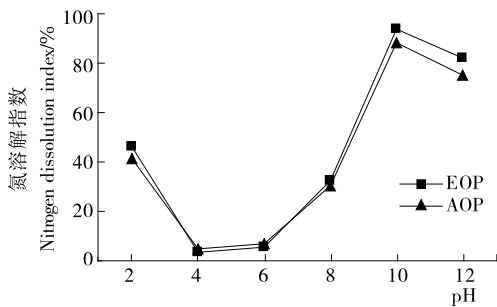


图 1 pH 对燕麦蛋白溶解性的影响

Figure 1 Effect of pH on the solubility of oat protein

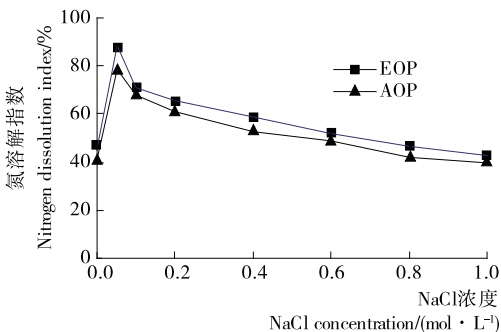


图 2 NaCl 浓度对燕麦蛋白溶解性的影响

Figure 2 Effect of NaCl concentration on the solubility of oat protein

0.05 mol/L 时,AOP 和 EOP 的 NSI 均达最大值。当 NaCl 浓度大于或小于 0.05 mol/L 时,燕麦蛋白的溶解性均减小。主要是因为低浓度中性盐会使蛋白质分子表面的电荷增加,使蛋白质的亲水作用增强,其溶解性提高,而高浓度中性盐会破坏蛋白质的胶体性质,其溶解性降低。

2.3 燕麦蛋白起泡性和泡沫稳定性

2.3.1 pH 对燕麦蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响 由图 3 可知,在不同 pH 条件下,AOP 的起泡性和泡沫稳定性更好。pH 对燕麦蛋白起泡性和泡沫稳定性影响很大。在蛋白等电点处,起泡性最低,泡沫稳定性最好;而随着 pH 的增大,燕麦蛋白的起泡性先增加后减小,而泡沫稳定性稍有降低,与李洋<sup>[16]33-34</sup>的研究基本一致。原因可能是偏离蛋白的等电点,燕麦蛋白的溶解性增强,使蛋白黏度下降,从而提高了蛋白的起泡性。

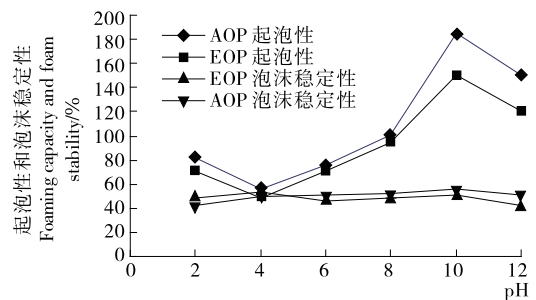


图 3 pH 对燕麦蛋白的起泡性和泡沫稳定性的影响

Figure 3 Effect of pH on foaming capacity and foam stability of oat protein

2.3.2 NaCl 浓度对燕麦蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响 由图 4 可知,在不同 NaCl 浓度下,AOP 的起泡性和泡沫稳定性均好于 EOP,AOP 和 EOP 的起泡性和泡沫稳定性随 NaCl 浓度的升高基本都呈先升高后下降的趋势。在 NaCl 溶液浓度为 0.2 mol/L 时,起泡性和泡沫稳定性都达到最大。而随着 NaCl 浓度的增大,燕麦蛋白的起泡性和泡沫稳定性都呈下降趋势。这是因为较低浓度的盐溶液溶解性增强,使蛋白黏度下降,可以提高蛋白质的起泡性和泡沫稳定性;反之将降低蛋白质的起泡性和泡沫稳定性。

2.4 燕麦蛋白乳化性和乳化稳定性

2.4.1 pH 对燕麦蛋白乳化性和乳化稳定性的影响 由图 5

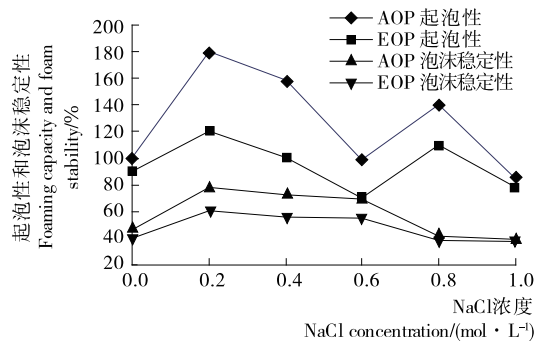


图 4 NaCl 浓度对燕麦蛋白的起泡性和泡沫稳定性的影响

Figure 4 Effect of NaCl concentration on foaming capacity and foam stability of oat protein

可知,在不同 pH 条件下,EOP 的乳化性高于 AOP,但 AOP 的乳化稳定性高于 EOP。燕麦蛋白的乳化性随 pH 增加,呈现先减小后增大的趋势,等电点处乳化性最低;而乳化稳定性的变化规律正好相反,与李洋<sup>[16]36</sup>的研究基本一致。这是因为在等电点处净电荷为零,不存在同种电荷互斥,易于在界面达到最高蛋白质载量,并促使高黏性膜的形成,利于乳状液的稳定性,同时等电点时溶解性最低,也使其乳化活性降低。

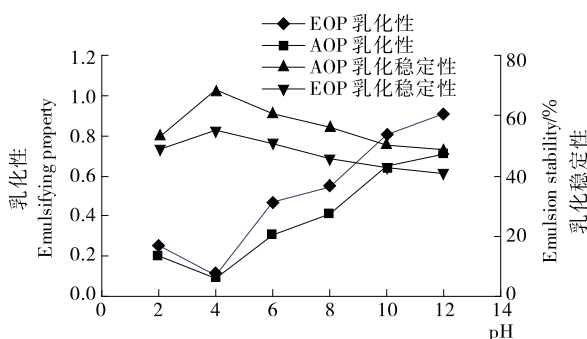


图5 pH对燕麦蛋白的乳化性和乳化稳定性的影响  
Figure 5 Effect of pH on emulsifying property and emulsion stability of oat protein

2.4.2 NaCl 浓度对燕麦蛋白乳化性和乳化稳定性的影响 从图6可以看出,在不同 NaCl 浓度条件下,EOP 的乳化性和乳化稳定性均高于 AOP。因为燕麦蛋白酶解后,其溶解性增大,利于蛋白质迅速扩散而降低了油水界面的自由能,所以乳化性有所改善。AOP 和 EOP 的乳化性随 NaCl 浓度的增加呈现先增大后减小的趋势,在浓度为 0.2 mol/L 时,两者的乳化性最高,而乳化稳定性随 NaCl 浓度的增加而逐渐降低。

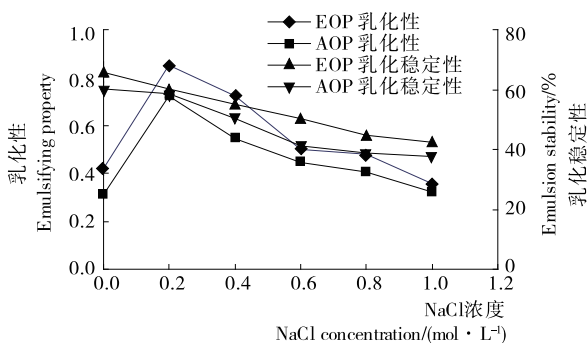


图6 NaCl浓度对燕麦蛋白的乳化性和乳化稳定性的影响  
Figure 6 Effect of NaCl concentration on emulsifying property and emulsion stability of oat protein

### 3 结论

(1) 对2种方法提取的燕麦蛋白的蛋白质含量和氨基酸组成进行分析,结果表明,AOP的蛋白含量和氨基酸总量明显高于EOP,二者的E/T和E/N比值都分别高于FAO/WHO标准规定的40%和0.6,因此2种燕麦蛋白均为优质植物蛋白,且AOP蛋白质量优于EOP。

(2) 2种方法制备的燕麦蛋白的功能特性有较大差异。

AOP的起泡性、泡沫稳定性、乳化稳定性及氨基酸总量均高于EOP,由于AOP具有良好的起泡性,因此AOP更适合添加于冷冻食品、蛋糕、饼干及奶糖中;而EOP的溶解性和乳化性高于AOP,由于EOP更易在脂肪球和水之间形成一层界面膜以防止乳状液分层及凝聚沉淀,因此EOP更易应用于人造黄油、海鲜食品、冰淇淋及蛋糕中。

### 参考文献

- [1] 张雪莹, 翟爱华. 酶解法对燕麦蛋白水解性的影响[J]. 安徽农学通报, 2017, 23(6): 32-33, 130.
- [2] 乔瑶瑶, 赵武奇, 胡新中, 等. 近红外光谱技术检测燕麦中蛋白质含量[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(8): 138-142.
- [3] 朱效兵, 石晶红, 郭瑞, 等. 超声处理结合碱提酸沉法提取葵花粕蛋白的工艺研究[J]. 食品工业, 2017, 38(8): 95-99.
- [4] 梅鑫东, 曾江南, 蒋柏泉. 酶法提取鱼鳞胶原蛋白的工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 156-159.
- [5] 陆启明, 陈志成, 何爱丽. 玉米淀粉加工副产物玉米蛋白粉的应用与开发[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(3): 467-474.
- [6] 郭增旺, 陆涛, 韩闯, 等. 磁化水法提取燕麦麸皮蛋白工艺参数的研究及分子量测定[J]. 中国食品添加剂, 2016(7): 193-199.
- [7] 王长远, 全越, 李玉琼, 等. 燕麦麸皮球蛋白的糖基化结构修饰及功能性变化[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 143-148.
- [8] 张民, 王婵, 毕华, 等. 裸燕麦麸皮蛋白的提取工艺及理化性质研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(11): 1495-1499.
- [9] 管骁, 姚惠源, 陈正行. 碱提酸沉法制备燕麦麸浓缩蛋白的工艺及其改进[J]. 粮食与饲料工业, 2006(4): 22-24, 27.
- [10] 张杰, 李洋, 韩小贤, 等. 燕麦蛋白的碱法提取工艺及其提纯研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 121-124.
- [11] 刘建全, 郝利平. 影响碱提酸沉法提取燕麦蛋白因素的分析[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2013, 33(5): 429-435.
- [12] 管骁, 姚惠源, 陈正行. 燕麦麸皮浓缩蛋白提取工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2005(12): 17-19.
- [13] 王永华. 食品分析[M]. 2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 119-122.
- [14] 陈丽丽, 白春清, 袁美兰, 等. 草鱼多肽功能性质及营养价值[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(5): 33-42.
- [15] 孙晓宏. 反胶束法萃取小麦胚芽蛋白的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [16] 李洋. 燕麦蛋白分离提纯工艺及功能性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2012.