

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80972

碱溶酸沉法提取螺旋藻分离蛋白工艺优化及性质分析

赵巧丽^{1,2} 高永琴^{1,2} 谭杰丹^{1,2} 霍新月^{1,2} 汪卓^{1,2} 钟赛意^{1,2}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524090; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524090)

摘要: [目的] 优化螺旋藻分离蛋白的浸提工艺, 分析其理化和功能性质。[方法] 以螺旋藻分离蛋白提取量为评价指标, 通过单因素试验和正交试验优化其提取工艺, 并对其理化性质、结构特征和功能特性进行全面比较分析。[结果] 碱溶酸沉法浸提螺旋藻分离蛋白的最佳工艺条件为料液比 1:20 (g/mL)、提取时间 1 h、体系 pH 8.0、提取温度 40 °C, 此条件下螺旋藻分离蛋白提取量达 280.36 mg/g。所得螺旋藻分离蛋白外观呈墨绿色, 表面疏水性为 330.49, 游离巯基含量为 20.51 μmol/g, 主要亚基相对分子质量保持在 1.8×10^4 左右。与大豆分离蛋白、花生分离蛋白和鸡蛋清白蛋白相比, 螺旋藻分离蛋白具有较好的起泡性和乳化能力。[结论] 螺旋藻分离蛋白是一种功能性质相对较好的天然源植物蛋白, 具有较好的开发利用前景。

关键词: 螺旋藻分离蛋白; 提取量; 理化性质; 结构特征; 功能特性

Optimization of extraction process and property analysis of spirulina protein isolate by alkaline dissolution and acid precipitation

ZHAO Qiaoli^{1,2} GAO Yongqin^{1,2} TAN Jiedan^{1,2} HUO Xinyue^{1,2} WANG Zhuo^{1,2} ZHONG Saiyi^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524090, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524090, China)

Abstract: [Objective] To optimize the extraction process of spirulina protein isolate and analyze its physicochemical and functional properties. [Methods] The extraction process was optimized using single-factor test and orthogonal test, with the extraction yield of spirulina protein isolate as the evaluation index. Comprehensive comparisons and analyses were conducted on the physicochemical properties, structural characteristics, and functional properties of spirulina protein isolate. [Results] The optimal extraction conditions for spirulina protein isolate using alkaline dissolution and acid precipitation were as follows: solid-liquid ratio of 1:20 (g/mL), extraction time of 1 h, pH value of 8.0, and extraction temperature of 40 °C. Under these conditions, the yield of spirulina protein isolate reached 280.36 mg/g. The obtained spirulina protein isolate exhibited a dark green appearance, with a surface hydrophobicity of 330.49, a free sulfhydryl group content of 20.51 μmol/g, and a relative molecular mass of 1.8×10^4 . Compared with soybean protein isolate, peanut protein isolate, and egg white protein, it demonstrated superior foaming and emulsifying abilities. [Conclusion] Spirulina protein isolate is a natural plant-based protein with relatively favorable functional properties and holds promising prospects for development and utilization.

Keywords: spirulina protein isolate; extraction yield; physicochemical properties; structural characteristics; functional properties

螺旋藻 (*Spirulina platensis*) 是一种特殊的微藻, 具有较高的营养价值, 其蛋白质含量高达 55%~70%, 其中 10%~20% 属于藻蓝蛋白^[1-2]。此外, 螺旋藻还富含 γ-亚麻酸、藻多糖、类胡萝卜素等生物活性成分, 具有抗癌、降

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (编号: 32402136); 广东海洋大学科研启动基金项目 (编号: 060302042402); 广东海洋大学大学生创新创业训练计划项目 (编号: S202410566016)

通信作者: 钟赛意 (1979—), 男, 广东海洋大学教授, 博士。E-mail: zhongsy@gdou.edu.cn

收稿日期: 2024-09-20 **改回日期:** 2025-01-08

引用格式: 赵巧丽, 高永琴, 谭杰丹, 等. 碱溶酸沉法提取螺旋藻分离蛋白工艺优化及性质分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(6): 182-189.

Citation: ZHAO Qiaoli, GAO Yongqin, TAN Jiedan, et al. Optimization of extraction process and property analysis of spirulina protein isolate by alkaline dissolution and acid precipitation[J]. Food & Machinery, 2025, 41(6): 182-189.

血脂、延缓衰老等生理功效,素有“人类最理想的食物高蛋白源”之称^[3-4]。

螺旋藻蛋白是从钝顶螺旋藻中分离出的一种蛋白,因其营养价值较高,氨基酸组成均衡且易于消化吸收而备受关注^[5]。目前,国内外有关螺旋藻蛋白提取技术的研究主要包括反复冻融法^[6]、高压结合pH循环提取^[7]、超声辅助提取^[8]和深共晶溶剂辅助萃取^[9]等,且目标浸提蛋白以藻蓝蛋白为主。如Salari-Sichani等^[10]采用磁场辅助法提取藻蓝蛋白,在料液比17.11%、磁场强度27.13 mT、提取时间49.87 min的条件下,藻蓝蛋白的产量和纯度分别为26.34 mg/g和24.32。于晓蕾^[11]采用NaCl作为促进剂提取藻蓝蛋白,在料液比1:20(g/mL)、浸提时间24 h、NaCl质量浓度40 g/L、浸提温度15℃的条件下,藻蓝蛋白得率为92.4 mg/g。沈向阳等^[12]采用高速匀浆法提取藻蓝蛋白,所得藻蓝蛋白得率为213.32 mg/g。上述藻蓝蛋白提取方法相对绿色安全,但普遍存在提取成本高、提取率低等问题。碱溶酸沉法是植物蛋白的传统提取方法,利用植物蛋白易溶于碱性环境的特点将其与水溶性非蛋白成分和不溶性成分分离,随后在等电点下将其析出。该方法所得蛋白质提取率和纯度相对较高,操作过程相对简单,成本低廉,且对环境污染小。但目前有关此法提取螺旋藻分离蛋白的研究较少,有关螺旋藻分离蛋白理化性质和功能特性的全面分析评价尚未见报道。

研究拟以钝顶螺旋藻超微粉碎粉为原料,采用碱溶酸沉法提取螺旋藻分离蛋白,通过单因素试验结合正交试验对其提取工艺参数进行优化,以最大限度提高螺旋藻分离蛋白的提取量。以大豆分离蛋白、花生分离蛋白和鸡蛋清白蛋白为对照,分析比较螺旋藻分离蛋白的理化性质、结构特征和功能特性,以期为扩大螺旋藻分离蛋白在食品工业中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

螺旋藻超微粉碎粉:西安亿瑞林生物科技有限公司;
大豆分离蛋白、花生分离蛋白、鸡蛋清白蛋白:生化级,上海源叶生物科技有限公司;

考马斯亮蓝G-250:生化级,麦克林生物科技有限公司;
SDS-PAGE凝胶配制试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

紫外—可见分光光度计:TU-1901型,上海沪粤明科学仪器有限公司;

高速分散器:T18型,德国IKA公司;

落地高速冷冻离心机: SorvallLYNX4000型,嘉兴伍源分析仪器经营部;

圆二色谱仪:Chirascan V100型,英国应用光物理公司;

纳米粒度分析仪:Zetasizer Nano ZS型,上海蓓米尔生物科技有限公司;

荧光光谱仪:RF-5301PC型,日本岛津公司;

冷冻干燥机:FD-551型,青岛澳海源国际贸易有限公司;

分光测色仪:NS810型,上海亚测仪器科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 螺旋藻分离蛋白的提取 准确称取2.0 g螺旋藻超微粉碎粉,加入适量去离子水,搅拌均匀,采用1 mol/L的NaOH溶液调节体系pH至9.0,水浴搅拌,8 500 r/min离心15 min,收集上清液,用1 mol/L的HCl溶液调节体系pH至4.5,室温静置2 h,8 500 r/min离心15 min,取沉淀,加入少量蒸馏水溶解,调节pH至7.0,冷冻干燥,得螺旋藻分离蛋白,于-20℃贮藏备用。

1.2.2 单因素试验 固定料液比1:20(g/mL),提取时间2 h,提取温度45℃,体系pH 9.0,分别考察料液比[1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50(g/mL)]、提取时间(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 h)、体系pH(7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0)和提取温度(35, 40, 45, 50, 55℃)对螺旋藻分离蛋白提取量的影响。

1.2.3 正交试验 基于单因素试验,以螺旋藻分离蛋白提取量为评价指标,根据L₉(3⁴)表设计正交试验,进一步确定螺旋藻分离蛋白的最佳提取工艺。

1.2.4 螺旋藻分离蛋白提取量测定 采用考马斯亮蓝G250比色法。

1.2.5 螺旋藻分离蛋白的理化性质分析

(1) 粒径和Zeta电位:用超纯水配制0.1 mg/mL螺旋藻分离蛋白分散液,采用纳米粒度仪测定体系的颗粒大小及Zeta电位,并与大豆分离蛋白、花生分离蛋白和鸡蛋清白蛋白进行对比分析。

(2) 表面疏水性:参照赵巧丽^[13]的方法。

(3) 游离巯基含量:用pH 8.0的Tris-甘氨酸缓冲液(含0.086 mol/L Tris, 0.09 mol/L甘氨酸, 4 mmol/L乙二醇四乙酸)将螺旋藻分离蛋白稀释至2 mg/mL,随后,取4.5 mL稀释的蛋白溶液,加入50 μL质量浓度为4 mg/mL的DNTB试剂,混匀,30℃孵育30 min,测定412 nm处吸光度,按式(1)计算游离巯基含量。

$$C_{SH} = \frac{75.53 \times A \times D}{C}, \quad (1)$$

式中:

C_{SH}——游离巯基含量, μmol/g;

A——样品的吸光度;

D——稀释倍数;

C——蛋白质浓度, mg/mL。

(4) SDS-PAGE凝胶电泳:配制1 mg/mL螺旋藻分离蛋白分散液,将其与5×上样缓冲液混合,100℃水浴5 min,冷却,参照赵巧丽^[13]的方法进行SDS-PAGE凝胶电泳分析。

(5) 色泽:采用分光测色仪测定螺旋藻分离蛋白的色泽值L、a*和b*,并与大豆分离蛋白、花生分离蛋白和鸡蛋

清白蛋白进行对比分析,按式(2)计算色差^[13]。

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}, \quad (2)$$

式中:

ΔE ——色差;

L ——亮度;

b^* ——黄蓝值;

a^* ——红绿值。

(6) 圆二色谱:参照赵巧丽^[13]的方法。

(7) 荧光光谱:参照赵巧丽^[13]的方法。

1.2.6 螺旋藻分离蛋白的功能特性分析

(1) 溶解性:参照赵巧丽^[13]的方法。

(2) 持水力和持油力:参照赵巧丽^[13]的方法。

(3) 起泡能力和泡沫稳定性:参照赵巧丽^[13]的方法。

(4) 乳化活性指数和乳化稳定性指数:参照赵巧丽^[13]

的方法。

1.2.7 数据处理 所有试验数据均用“平均值±标准差”表示,使用SPSS 25.0软件对数据结果进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 螺旋藻分离蛋白的提取工艺优化

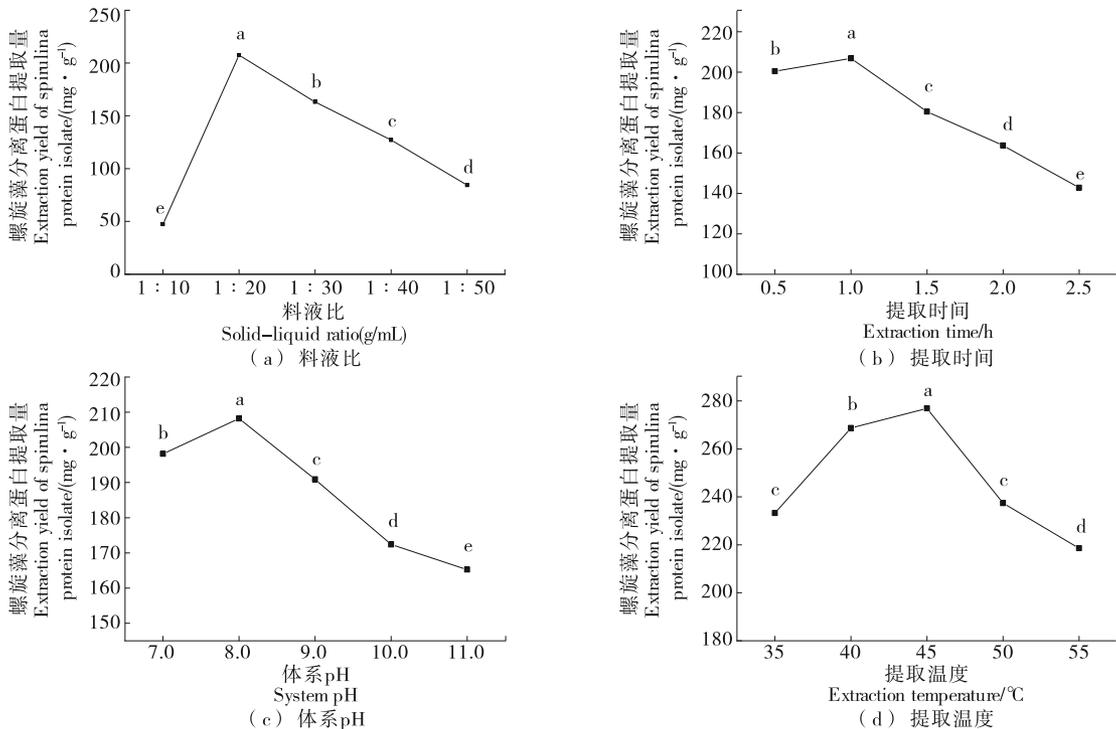
2.1.1 单因素试验 由图1(a)可知,随着料液比的增加,螺旋藻分离蛋白提取量不断增大,并在料液比为1:20(g/mL)时达到最大值。这可能是由于料液比过小导致物料较为

黏稠,使螺旋藻分离蛋白的溶出受阻,适当增大料液比有助于蛋白质的溶出和扩散。当料液比 $>1:20$ (g/mL)时,螺旋藻分离蛋白提取量逐渐降低,这可能是因为较大的料液比对完全溶出的蛋白具有一定的稀释作用。此外,料液比较大使得相同时间内体系升温较慢,且会影响后续的冻干效率。因此,选取1:20(g/mL)为螺旋藻分离蛋白提取的最佳料液比。

由图1(b)可知,随着提取时间的延长,螺旋藻分离蛋白提取量呈先增加后降低趋势,当提取时间为1.0 h时,螺旋藻分离蛋白提取量最大。这可能是因为提取时间过短,螺旋藻分离蛋白的溶出不完全,当提取时间 >1.0 h时,由于加热时间的延长可能会引起蛋白质变性或降解,从而导致提取量降低。因此,选取螺旋藻分离蛋白的最佳提取时间为1.0 h。

由图1(c)可知,螺旋藻分离蛋白提取量随着体系pH的增加呈先增大后减小趋势,并在pH 8.0时达到最大值。适当的碱性环境有利于浸提过程中将蛋白质从螺旋藻细胞中溶出,但当体系pH过高时,强碱环境可能会导致蛋白质变性或聚集,进而降低其提取量。因此,选取螺旋藻分离蛋白提取的最佳体系pH为8.0。

由图1(d)可知,当提取温度 <45 °C时,螺旋藻分离蛋白提取量随着提取温度的升高不断增大,并在提取温度为45 °C时达到最大提取量。这可能是因为适当升高温度会促进分子运动,加快蛋白质的扩散速度,使其更易于从



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图1 各因素对螺旋藻分离蛋白提取量的影响

Figure 1 Effects of various factors on the extraction yield of spirulina protein isolate

螺旋藻细胞中溶出。当温度继续上升时,螺旋藻分离蛋白提取量开始下降,这是因为过高的温度会破坏蛋白质的结构和性质,导致蛋白质变性和降解。因此,选取螺旋藻分离蛋白的最佳提取温度为45℃。

2.1.2 正交试验 在单因素试验基础上,进一步采用正交试验对螺旋藻分离蛋白的提取工艺进行优化,正交试验因素水平见表1,试验设计及结果见表2。由表2可知,料液比对螺旋藻分离蛋白提取量影响最大,体系pH和提取温度次之。螺旋藻分离蛋白的最佳提取工艺条件为料液比1:20(g/mL)、提取时间1.0 h、体系pH 8.0、提取温度40℃。

表1 正交试验因素水平

水平	A 料液比 (g/mL)	B 提取时间/h	C 体系pH	D 提取温度/℃
1	1:10	0.5	7.0	40
2	1:20	1.0	8.0	45
3	1:30	1.5	9.0	50

表2 正交试验结果†

试验号	A	B	C	D	螺旋藻分离蛋白提取量/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	179.84±2.50 ^f
2	1	2	2	2	201.08±1.76 ^d
3	1	3	3	3	187.53±2.06 ^e
4	2	1	2	3	247.82±3.20 ^b
5	2	2	3	1	277.20±1.04 ^a
6	2	3	1	2	214.15±2.57 ^c
7	3	1	3	2	178.51±0.59 ^f
8	3	2	1	3	130.71±6.77 ^e
9	3	3	2	1	201.22±5.12 ^d
<i>k</i> ₁	189.48	202.06	174.90	219.42	
<i>k</i> ₂	246.39	203.00	216.71	197.91	
<i>k</i> ₃	170.15	200.97	214.41	188.69	
<i>R</i>	76.24	2.03	41.81	30.73	

† 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

由表3可知,料液比、体系pH和提取温度对螺旋藻分离蛋白提取量影响显著($P<0.05$)。在最佳工艺条件下进行3次验证实验,得到螺旋藻分离蛋白提取量为(280.36±2.18) mg/g,均高于表2中任一试验组结果,表明所得的最佳工艺参数可靠。此外,最佳工艺条件下的螺旋藻分离蛋白提取量均显著高于磁场辅助提取^[10]、高速匀浆提取^[12]和以NaCl为促进剂^[11]的提取方法的,进一步说明碱溶酸沉法是一种提取效果相对较好的植物蛋白制备方法。

2.2 螺旋藻分离蛋白的理化性质

2.2.1 粒径及Zeta电位 由图2(a)可知,大豆分离蛋白

表3 方差分析和显著性检验结果†

Table 3 Results on analysis of variance and significance test

来源	平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	9 425.32	2	4 712.66	1 520.21	**
B	6.19	2	3.10	1.00	
C	3 314.36	2	1 657.18	534.57	**
D	1 492.21	2	746.10	240.68	**
总和	14 238.08				

† $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$; **表示差异极显著($P<0.01$); *表示差异显著($P<0.05$)。

的粒径较大,花生分离蛋白和鸡蛋清白蛋白的次之。相比之下,螺旋藻分离蛋白的粒径较小,仅为841.07 nm。

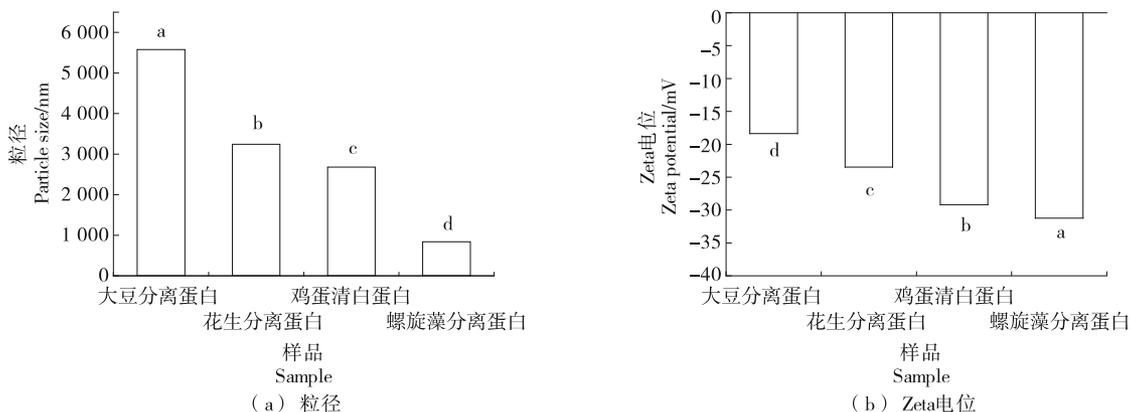
Zeta电位与纳米分散体系的稳定性以及聚集行为有关,电位绝对值越高,粒子之间的排斥力越大,因此体系越稳定,而较低的Zeta电位则可能导致粒子聚集或絮凝^[14]。由图2(b)可知,4种蛋白质的Zeta电位均为负值,其中,螺旋藻分离蛋白的绝对电位值最大,其次为鸡蛋清白蛋白,大豆分离蛋白的绝对电位值最小,说明螺旋藻分离蛋白表面的有效电荷量较多,体系稳定性较好。

2.2.2 表面疏水性和游离巯基含量 由图3(a)可知,鸡蛋清白蛋白的表面疏水性最高,螺旋藻分离蛋白的表面疏水性略低于鸡蛋清白蛋白,但显著高于花生分离蛋白和大豆分离蛋白。表明不同来源蛋白质的表面疏水性差异较大,可能与蛋白质中不同的氨基酸组成、空间构象和表面疏水基团含量有关。

由图3(b)可知,螺旋藻分离蛋白的游离巯基含量最高,花生分离蛋白和大豆分离蛋白的次之,而鸡蛋清白蛋白的游离巯基含量最低。综上,螺旋藻分离蛋白的活性相对较高,结构更为紧凑,其可能具有更加丰富的生理活性。

2.2.3 SDS-PAGE凝胶电泳分析 由图4可知,不同蛋白质的亚基组成差异较大。大豆分离蛋白的主要成分为7S球蛋白和11S球蛋白,7S球蛋白主要含有3种相对分子质量的蛋白亚基,分别为 α' 、 α 和 β ,主要分布在 $4.3\times 10^4\sim 9.7\times 10^4$,11S球蛋白主要含有AS和BS亚基,分布在 $3.5\times 10^4, 2.0\times 10^4$ 附近,与金银霜^[15]的结论相符。花生分离蛋白主要含有4种相对分子质量的蛋白亚基,分别位于 $2.1\times 10^4, 4.0\times 10^4, 4.3\times 10^4, 6.5\times 10^4$ 附近,与王化田等^[16]的研究结果类似。鸡蛋清白蛋白的主要亚基条带为溶菌酶(1.4×10^4)、卵清蛋白($3.1\times 10^4\sim 4.5\times 10^4$)和卵转铁蛋白(6.6×10^4)。相比之下,螺旋藻分离蛋白的分子量较小,蛋白亚基主要分布在 1.5×10^4 左右,与关瑞等^[17]的分子量分布基本一致。

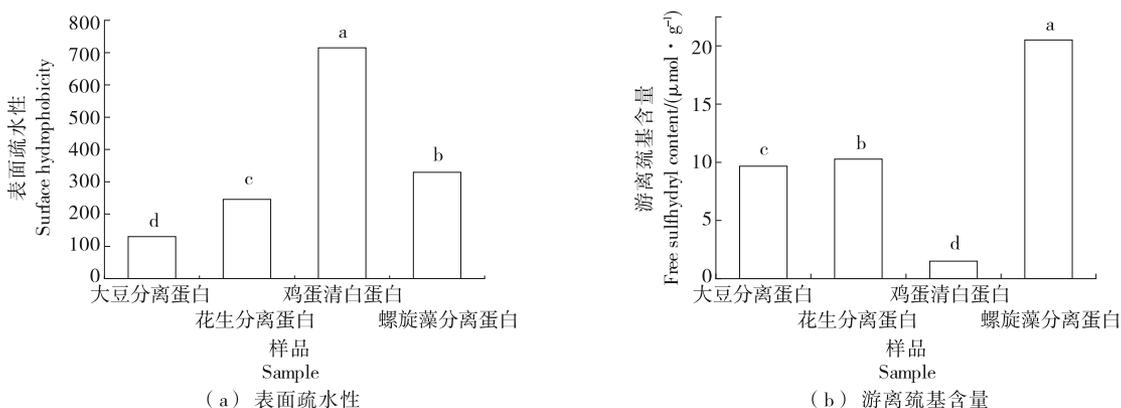
2.2.4 颜色 采用试验方法提取的螺旋藻分离蛋白外观呈墨绿色。通常,蛋白质的外观色泽与其色素含量、纯度和固有特性有关。由表4可知,螺旋藻分离蛋白的亮度值



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 不同蛋白的粒径和 Zeta 电位

Figure 2 Particle size and Zeta potential of different proteins



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 不同蛋白的表面疏水性和游离巯基含量

Figure 3 Surface hydrophobicity and free sulfhydryl content of different proteins

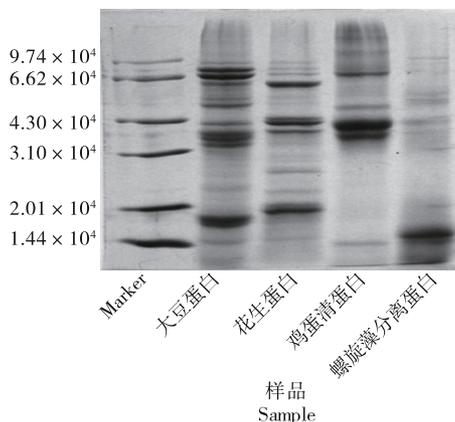


图 4 不同蛋白的凝胶电泳图

Figure 4 Gel electrophoresis images of different proteins

最小,颜色最暗,且与其他3种蛋白颜色差异较大,这可能与螺旋藻分离蛋白中稳定存在的藻蓝素有关。相比之下,鸡蛋清白蛋白的亮度值较高,颜色偏黄,而大豆分离蛋白和花生分离蛋白的外观偏白,颜色值较为接近。

表 4 不同蛋白的色度值和色差[†]

Table 4 Chromaticity values and color differences of different proteins

样品	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE
大豆分离蛋白	81.47±0.08 ^c	1.86±0.05 ^a	16.80±0.01 ^a	63.12±0.08 ^c
花生分离蛋白	84.09±0.02 ^b	1.42±0.02 ^b	14.32±0.01 ^b	65.18±0.01 ^b
鸡蛋清白蛋白	91.78±0.02 ^a	-0.72±0.01 ^c	12.95±0.02 ^c	72.36±0.01 ^a
螺旋藻分离蛋白	20.17±0.01 ^d	-6.32±0.03 ^d	4.20±0.01 ^d	—

[†] 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2.5 圆二色谱分析 由图 5(a)可知,所有样品在 207~210 nm 处有一个负峰,为蛋白质中典型的 α -螺旋结构,不同蛋白质的吸收峰强度不同,表明不同蛋白质的二级结构组成存在较大差异。通过 CDNN 软件分析圆二色谱图数据,得到不同蛋白质的 α -螺旋、 β -转角、 β -折叠和无规卷曲含量。由图 5(b)可知,4 种蛋白质的 β -转角和无规卷曲含量较为接近,基本保持在 6% 和 18% 左右。此外,大豆分离蛋白和花生分离蛋白的二级结构组成较为相近,其

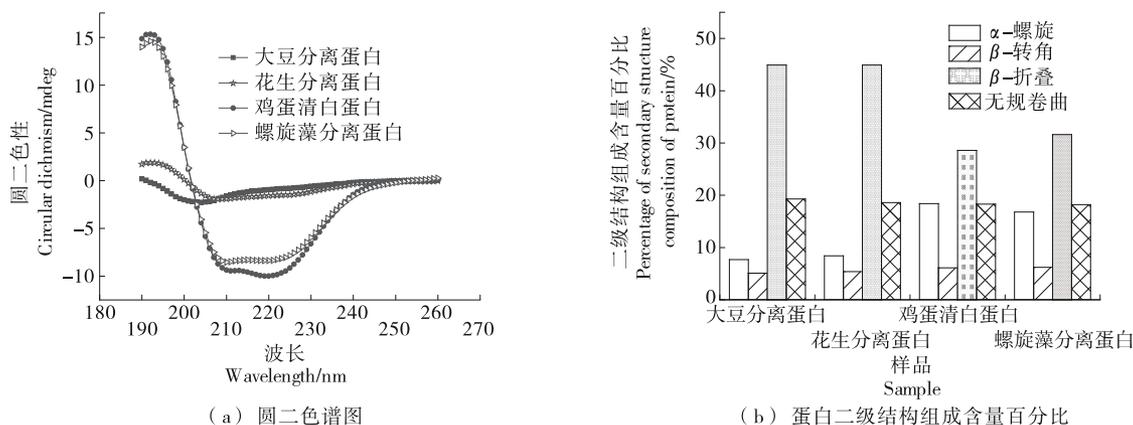


图5 不同蛋白的圆二色谱和二级结构组成

Figure 5 Circular dichroism spectra and secondary structure compositions of different proteins

β -折叠含量较高。相比之下,鸡蛋清白蛋白和螺旋藻分离蛋白的 β -折叠含量有所降低,而 α -螺旋含量显著升高。蛋白质的 α -螺旋含量与其结构稳定性有关,通常 α -螺旋含量越高,蛋白质的稳定性越好^[18]。综上,螺旋藻分离蛋白具有相对较好的稳定性和结构完整性。

2.2.6 荧光光谱分析 由图6可知,大豆分离蛋白、花生分离蛋白、鸡蛋清白蛋白和螺旋藻分离蛋白的最大荧光吸收峰分别位于335,326,335,336 nm。当最大吸收峰 < 330 nm时,色氨酸处于蛋白质的内部非极性区,由此说明,除花生分离蛋白外,其他3种蛋白质分子在溶液中的暴露程度较大,色氨酸残基更趋向于从蛋白质分子内部的疏水环境向表面极性较强的环境移动。此外,4种蛋白质的荧光强度相差较大,其中鸡蛋清白蛋白的荧光强度较高,螺旋藻分离蛋白的次之,而大豆分离蛋白和花生分离蛋白的较低,可能是由于不同蛋白质分子表面所暴露的色氨酸含量不同。通常,荧光强度越大,蛋白质分子表面暴露的色氨酸含量越多。此外,荧光强度还可以反映蛋白质的表面疏水性,蛋白质的荧光强度越高,其表面疏水性也越强^[19],与试验结果保持一致。

2.3 螺旋藻分离蛋白的功能特性分析

2.3.1 溶解性 由图7(a)可知,鸡蛋清白蛋白的溶解性

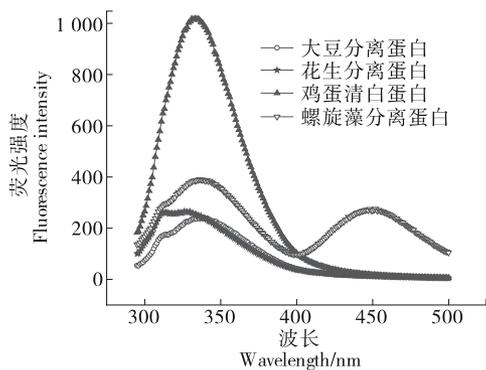


图6 不同蛋白的荧光光谱图

Figure 6 Fluorescence spectra of different proteins

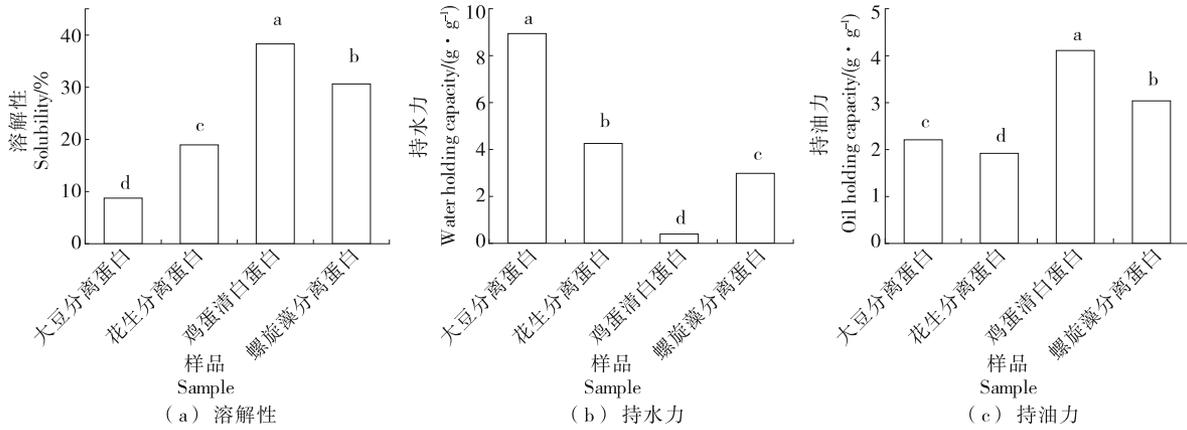
较好,螺旋藻分离蛋白的次之,花生分离蛋白和大豆分离蛋白(尤其是大豆分离蛋白)的溶解性较差,可能是由于大豆分离蛋白和花生分离蛋白的粒径较大,与水分子的相互作用较弱,导致蛋白分子间发生聚集^[20]。

2.3.2 持水力和持油力 由图7(b)可知,大豆分离蛋白的持水力较高,花生分离蛋白和螺旋藻分离蛋白的次之,鸡蛋清白蛋白的持水力最低。王化田等^[16]研究发现,大豆分离蛋白的持水力高于花生分离蛋白和豌豆分离蛋白。蛋白质的氨基酸组成对其持水力起着关键作用,氨基酸中的极性残基(如羟基、羧基、氨基等)能够与水分子形成氢键或离子键,从而增加蛋白质的水合能力和持水性。通常,含有大量极性氨基酸的蛋白质往往具有较高的持水性。此外,大豆分离蛋白和花生分离蛋白的颗粒尺寸较大,在水溶液中的溶解性较低,这可能也是造成其持水力相对较高的原因之一。

由图7(c)可知,鸡蛋清白蛋白的持油性较好,螺旋藻分离蛋白的次之,大豆分离蛋白和花生分离蛋白的较差。有研究^[16]指出,大豆分离蛋白和花生分离蛋白的持油力较低,且均显著低于牡丹籽蛋白的。这可能是由于蛋白质的持油性与其表面疏水基团密切相关,当蛋白质具有较多的表面疏水基团时,可使其更有效地与油脂结合,进而赋予其较高的持油力。

2.3.3 起泡性和泡沫稳定性 在食品加工中,蛋白质的起泡能力能够使面团更加松软、蓬松,而泡沫稳定性则能保持食品的体积和形状^[21]。由图8(a)可知,螺旋藻分离蛋白呈现较好的起泡能力和泡沫稳定性。此外,大豆分离蛋白也呈现相对较好的起泡能力,与王化田等^[16]的研究结果类似,但其泡沫稳定性较差,消泡速度较快。这可能是由于螺旋藻分离蛋白的 α -螺旋含量较高,同时具有良好的灵活性和稳定性,从而使其呈现相对较好的起泡特性^[18]。

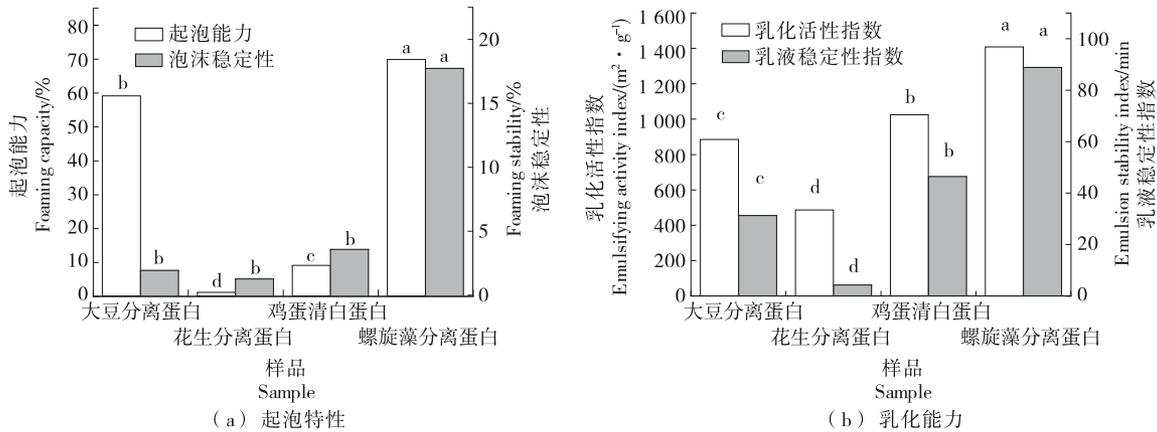
2.3.4 乳化能力 由图8(b)可知,螺旋藻分离蛋白的乳化活性指数和乳液稳定性指数均最高,可能是由于螺旋藻分离蛋白的粒径较小、主要亚基相对分子质量较低、水



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 7 不同蛋白的溶解性、持水力和持油力

Figure 7 Solubility, water holding capacity, and oil holding capacity of different proteins



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 8 不同蛋白的起泡特性和乳化能力

Figure 8 Foaming properties and emulsifying capacity of different proteins

溶性较好,使其能够更快迁移至油—水两相界面,形成稳定性较好的黏弹性界面膜。此外,鸡蛋清白蛋白也呈现相对较好的乳化活性指数和乳液稳定性指数。相比之下,大豆分离蛋白和花生分离蛋白的乳化活性指数和乳液稳定性指数较低,这主要归因于二者较大的颗粒尺寸和较差的水溶性,不利于其在油—水界面的有效吸附,导致体系中的油滴容易发生聚集和合并,进而降低了体系的稳定性^[22]。

3 结论

螺旋藻分离蛋白的最佳提取工艺参数为料液比 1:20 (g/mL)、提取时间 1.0 h、体系 pH 8.0、提取温度 40 ℃,此条件下螺旋藻分离蛋白提取量达到 280.36 mg/g。试验所得螺旋藻分离蛋白外观呈墨绿色,主要亚基相对分子质量保持在 1.8×10^4 右,表面疏水性为 330.49,游离巯基含量为 20.51 $\mu\text{mol/g}$ 。与大豆分离蛋白和花生分离蛋白相比,螺旋藻分离蛋白具有较好的溶解性、持油力、起泡

性和乳化能力。与鸡蛋清白蛋白相比,螺旋藻分离蛋白具有较好的持水力、起泡性和乳化能力,可视作一种功能性性质相对较好的天然源植物蛋白,在食品乳液体系构建、乳液泡沫体系开发等领域具有较好的开发利用前景。今后将进一步对螺旋藻分离蛋白的功能特性进行全面研究,以期扩大其在食品乳液体系中的应用。

参考文献

- [1]ATHIYAPPAN K D, ROUSTRAY W, PARAMASIVAN B. Phycocyanin from *Spirulina*: a comprehensive review on cultivation, extraction, purification, and its application in food and allied industries[J]. Food and Humanity, 2024, 2: 100235.
- [2]GUO X, WANG Q, YANG Q, et al. Effects of molecular structure and charge state on the foaming and emulsifying properties of *Spirulina* protein isolates[J]. Food Research International, 2024, 187: 114407.
- [3]陈盛仕,刘梓宜,李梦琪,等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白的提取工艺

- 优化及其纯化研究[J]. 广西科学院学报, 2022, 38(4): 388-402.
- CHEN S S, LIU Z Y, LI M Q, et al. Study on the optimization of the extraction and purification of phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2022, 38(4): 388-402.
- [4] KUSUMASTUTI M R, YULIANI S, HIDAYAT C, et al. Modification techno-functional properties of spirulina protein concentrates (*Arthrospira platensis*) as O/W emulsifier by conjugation and electrostatic complexations[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2024, 95: 103727.
- [5] 陈林倩, 李云兴, 毛焱, 等. 螺旋藻分离蛋白-透明质酸乳液凝胶的构建及其应用[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(12): 39-45.
- CHEN L Q, LI Y X, MAO Y, et al. Construction and application of *Spirulina* protein isolate-hyaluronic acid emulsion hydrogel [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(12): 39-45.
- [6] 罗爱国, 范瑶瑶, 杨艳君, 等. 多目标因素钝顶螺旋藻蛋白提取工艺分析[J]. 食品工业, 2021, 42(2): 100-103.
- LUO A G, FAN Y Y, YANG Y J, et al. Optimal extraction process analysis of *Spirulina platensis* protein based on multi-objective factors[J]. The Food Industry, 2021, 42(2): 100-103.
- [7] GIANNOGLOU M, ANDREOU V, THANOU I, et al. Kinetic study of the combined effect of high pressure and pH-value on *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) proteins extraction[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2023, 85: 103331.
- [8] CHIA S R, CHEW K W, LEONG H Y, et al. Sonoprocessing-assisted solvent extraction for the recovery of pigment-protein complex from *Spirulina platensis*[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 398: 125613.
- [9] ZHUANG D L, CHEW K W, TEOH W Y, et al. Extraction of phycocyanin from *Spirulina* using deep eutectic solvent liquid biphasic system[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2023, 151: 105125.
- [10] SALARI-SICHANI B, JAHADI M, NOURANI M. Magnetic-field-assisted extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Microchemical Journal, 2024, 206: 111463.
- [11] 于晓蕾. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白提取与纯化的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2023: 22-32.
- YU X L. Study on extraction and purification of phycocyanin from *Spirulina platensis*[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2023: 22-32.
- [12] 沈向阳, 梁霄, 付云, 等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白的提取工艺研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 198-204, 136.
- SHEN X Y, LIANG X, FU Y, et al. Study of the extraction process of phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 198-204, 136.
- [13] 赵巧丽. 紫苏粕蛋白基高内相乳液体系的构建、表征及其性能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023: 44-47.
- ZHAO Q L. Fabrication, characterization and performance investigation of perilla residue protein-based high internal phase emulsion system[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023: 44-47.
- [14] 施小迪, 郭顺堂. 稀释介质种类对豆乳蛋白胶体粒子zeta电位测定效果的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 34(7): 270-275.
- SHI X D, GUO S T. Effect of diluent type on analysis of zeta potential of colloid particles of soymilk protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 34(7): 270-275.
- [15] 金银霜. 天然大豆分离蛋白稳定高内相乳液的制备及表征[J]. 现代食品科技, 2019, 35(8): 55-61, 41.
- JIN Y S. Fabrication and characterization of high internal phase emulsions stabilized by natural soy protein isolates[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(8): 55-61, 41.
- [16] 王化田, 董卓凡, 李亮, 等. 牡丹籽粕蛋白的提取工艺优化及其性质研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(19): 217-224.
- WANG H T, DONG Z F, LI L, et al. Optimization of extraction process and properties of protein from peony seed meal[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(19): 217-224.
- [17] 关瑞, 王玉, 曹雷鹏, 等. 螺旋藻中分析级藻蓝蛋白的高效制备[J]. 南昌大学学报(理科版), 2023, 47(2): 157-164.
- GUAN R, WANG Y, CAO L P, et al. Efficient production of analytical-grade phycocyanin from *Spirulina platensis*[J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2023, 47(2): 157-164.
- [18] 高思聪, 黄文选, 黄志超, 等. 食叶草蛋白的提取工艺及其性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(1): 189-198.
- GAO S C, HUANG W X, HUANG Z C, et al. Study on the extraction process and properties of protein from edible dock [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(1): 189-198.
- [19] 卢玉婷, 刘丽莉, 于影, 等. 酶解-糖基化对猪皮胶原蛋白特性的影响[J]. 食品与机械, 2024, 40(7): 24-29.
- LU Y T, LIU L L, YU Y, et al. Effects of enzymolysis and glycosylation on the characteristics of porcine skin collagen[J]. Food & Machinery, 2024, 40(7): 24-29.
- [20] 卢秋玲, 李琅, 杨敏, 等. 超声处理对文冠果种粕蛋白结构及性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(20): 79-87.
- LU Q L, LI L, YANG M, et al. Effect of ultrasound treatment on structural and functional properties of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge seeds meal protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(20): 79-87.
- [21] JIN H B, JIN Y G, PAN J J, et al. Comprehensive identification and hydrophobic analysis of key proteins affecting foam capacity and stability during the evolution of egg white foam[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 134: 108033.
- [22] 李琳, 孙一熙, 秦文, 等. 限制性酶解结合糖基化改性对大豆分离蛋白乳化性质的影响[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 1-11.
- LI L, SUN Y X, QIN W, et al. Effects of limited enzymolysis and glycosylation on emulsifying properties of soybean protein isolates[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 1-11.