

杜氏盐藻蛋白提取工艺优化及其理化性质研究

王晓辰 张 炜 荆永康 邢凤杰 张国栋 郑 鑫

(青海师范大学化学化工学院, 青海 西宁 810000)

摘要: [目的]以盐藻藻粉为原料,探究 pH 值、碱溶温度、碱溶时间和液料比对盐藻蛋白质提取的影响。[方法]采用单因素试验筛选最优条件,利用 Box-Behnken 设计响应面试验,以盐藻蛋白质提取率为指标,确定盐藻蛋白最优提取工艺参数;并测定盐藻蛋白的基团组成、二级结构、氨基酸组成及功能性质。[结果]最佳盐藻蛋白提取工艺条件为 pH 10.54,碱溶温度 51 ℃,碱溶时间 2.1 h,料液比 1:206 (g/mL),此条件下盐藻蛋白提取率为 52.98%。50 ℃时,盐藻蛋白质的持水量和持油量达到最高;当盐藻蛋白质量分数为 0.6% 时,盐藻蛋白起泡性(40%)和泡沫稳定性(62.5%)、乳化性(62%)和乳化稳定性(66%)达到最大。结构分析表明,盐藻蛋白的二级结构以 β -折叠为主(26.79%),必需氨基酸占 32.94%,疏水氨基酸占 39.52%。[结论]优化得到的盐藻蛋白提取工艺可显著提高蛋白提取率。

关键词: 杜氏盐藻;蛋白质提取;响应面优化;功能性质

Extraction process optimization of *Dunaliella* spp. protein and its physicochemical properties

Wang Xiaochen Zhang Wei Jing Yongkang Xing Fengjie Zhang Guodong Zheng Xin

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai 810000, China)

Abstract: [Objective] Using *Dunaliella* spp. powder as the raw material, to explore the effect of pH value, alkali dissolution temperature, alkali dissolution time, and solid-liquid ratio on *Dunaliella* spp protein extraction. [Methods] The optimal conditions are screened by single-factor experiments. Response surface experiments are designed by the Box-Behnken method to determine the optimal extraction process parameters for *Dunaliella* spp. protein with the *Dunaliella* spp. protein extraction rate as the indicator. Additionally, the group composition, secondary structure, amino acid composition, and functional properties of *Dunaliella* spp. protein are determined. [Results] The optimal extraction process conditions for *Dunaliella* spp. protein is pH 10.54, alkali dissolution temperature 51 ℃, alkali dissolution time 2.1 h, and a solid-liquid ratio of 1:206 (g/mL). Under these conditions, the extraction rate of *Dunaliella* spp. protein is 52.98%. At 50 ℃, *Dunaliella* spp. protein exhibits the highest water and oil holding capacity. At a mass fraction of 0.6%, *Dunaliella* spp. protein exhibits the highest foaming property (40%), foam stability (62.5%), emulsifying property (62%), and emulsifying stability (66%). Structural analysis shows that the secondary structure of *Dunaliella* spp. protein is mainly β -sheet (26.79%), with essential amino acids accounting for 32.94%, and hydrophobic amino acids accounting for 39.52%. [Conclusion] The optimized extraction process for *Dunaliella* spp. protein can significantly increase protein extraction rate.

Keywords: *Dunaliella* spp.; protein extraction; response surface optimization; functional property

随着人口的增长、土地荒漠化严重和淡水资源紧缺,全球食品产业面临着前所未有的挑战,其中蛋白质是未来必不可少的营养物质之一,人们迫切需要找到代替蛋

白质来源^[1]。微藻因其生长速度快、蛋白质含量高、环境效益好等优势,成为有潜力的蛋白质资源。微藻蛋白被联合国粮农组织确认为 21 世纪绿色健康食品^[2],是一种

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:22268035)

通信作者:张炜(1972—),女,青海师范大学教授,博士。E-mail:zhangwei@qhnu.edu.cn

收稿日期:2025-06-19 改回日期:2026-01-16

引用格式:王晓辰,张炜,荆永康,等. 杜氏盐藻蛋白提取工艺优化及其理化性质研究[J]. 食品与机械,2026,42(7):136-144.

Citation:Wang Xiaochen, Zhang Wei, Jing Yongkang, et al. Extraction process optimization of *Dunaliella* spp. protein and its physicochemical properties[J]. Food & Machinery, 2026, 42(7): 136-144.

优质蛋白质来源^[3-5],在已知种类的海藻或者微藻中蛋白质含量与传统蛋白质来源(大豆、牛奶、肉类等)相接近^[6]。藻类培养简单,不需要过多淡水和耕地即可生长,对土地的需求较低,可避免对农业用地的影响,减少农业生产中的竞争。

青海柴达木盆地是中国盐湖资源的聚集区,同时也是世界级盐湖产业基地^[7]。课题组在柴达木盆地尕斯库勒湖中采样、筛选、分离、纯化得到了杜氏盐藻(*Dunaliella* spp.)。杜氏盐藻隶属于绿藻门绿藻纲团藻目盐藻科杜氏盐藻属,广泛生长于海洋、盐湖、盐井等环境中,是最耐盐的真核生物之一^[8]。因独特的生理特性,杜氏盐藻能够积累高价值的生物活性物质,在食品、医药和能源领域有广泛的应用潜力^[9-10]。2009年,中国将杜氏盐藻及其提取物列为新资源食品,使其在食品领域的应用越来越广^[11]。内蒙古依托乌兰泰盐湖丰富的卤水资源,具备盐藻粉的年产量20 t和天然胡萝卜素水分散性干粉20 t的生产能力^[12]。杜氏盐藻蛋白含有包括人类所需的18种氨基酸在内的全部氨基酸,并以赖氨酸、精氨酸、丙氨酸、甘氨酸、蛋氨酸、氨基丁氨酸为主^[13]。

试验拟以盐藻藻粉为原料,采用碱溶酸沉法^[14]提取盐藻蛋白质,通过响应面法优化提取工艺参数,并分析盐藻蛋白质的理化性质,以期实现盐藻蛋白的高值化利用,开发高附加值的功能性食品、保健品等。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

盐藻藻粉:实验室培养;

考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白:上海源叶生物科技有限公司;

氢氧化钠、盐酸、磷酸等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

无水乙醇:分析纯,天津利安隆得华有限公司。

1.2 仪器与设备

高压均质机:UH-24型,永联生物科技(上海)有限公司;

pH计:Pb-10型,赛多利斯科学仪器有限公司;

高速离心机:H1850型,湖南湘仪实验仪器有限公司;

电子天平:BSA224S-CW型,赛多利斯科学仪器有限公司;

冷冻干燥机:VFD-2000型,北京博医康实验仪器有限公司;

恒温磁力搅拌器:TC-100C型,德国IKA公司;

循环水式真空泵:SHZ-D型,巩义市予华仪器有限公司;

双光束紫外分光光度计:TU-1901型,北京普析通用仪器有限公司;

傅里叶红外光谱仪:IRSpirit型,日本Shimadzu公司;

全自动凯氏定氮仪:K9860型,海能未来技术集团股份有限公司;

氨基酸分析仪:Biochrom 30+型,英国Biochrom公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品预处理 将实验室培养的盐藻沉降收集,洗涤,冷冻干燥,粉碎,过筛,于-4℃贮藏备用。

1.3.2 盐藻蛋白质含量测定 根据GB 5009.5—2016方法测定总蛋白质含量。采用考马斯亮蓝法测定盐藻蛋白质^[15],按式(1)计算蛋白质提取率。

$$c = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C——蛋白质提取率,%;

m_1 ——提取的蛋白质量,g;

m_2 ——盐藻中总蛋白质量,g。

1.3.3 盐藻蛋白质提取 准确称取盐藻藻粉,加入适量蒸馏水,搅拌混匀,50 MPa下循环往复破碎,于显微镜下观察,直至观察不到完整的细胞结构,即为破碎完全。用0.2 mol/L NaOH溶液调节到适宜的pH,一定温度下搅拌碱溶,使蛋白质溶出。8 000 r/min离心10 min,收集蛋白质上清液,用0.2 mol/L HCl溶液将上清液pH值调至蛋白质等电点附近,室温静置1 h,8 000 r/min离心10 min,收集蛋白质沉淀,用蒸馏水洗涤沉淀2~3次,冷冻干燥,得到盐藻蛋白质粉末,其粗蛋白质纯度为77.6%,于-20℃贮藏^[16]。

1.3.4 标准曲线绘制

(1) 考马斯亮蓝 G-250溶液配制:准确称取100 mg考马斯亮蓝 G-250,加入50 mL体积分数为95%的乙醇溶液,加入100 mL质量分数为85%的磷酸溶液,用蒸馏水定容至1 000 mL。摇匀,抽滤,滤液转移至棕色瓶中避光保存。

(2) 标准曲线绘制:准确称取25 mg牛血清白蛋白,用蒸馏水定容,得250 μg/mL的蛋白质储备液。量取40 mL蛋白质储备液,用蒸馏水定容,得到100 μg/mL的蛋白质溶液。准确移取0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL蛋白质溶液,分别加入1.0,0.8,0.6,0.4,0.2,0 mL蒸馏水,得到质量浓度分别为0,20,40,60,80,100 μg/mL的蛋白质溶液,加入5.0 mL考马斯亮蓝 G-250溶液,摇匀,用紫外可见分光光度计测定595 nm处吸光度,标准曲线方程为 $y = 0.00195 + 0.00632x$, $R^2 = 0.99937$ 。

(3) 样品测定:取1 mL碱溶离心后的上清液,加入5 mL考马斯亮蓝 G-250溶液,摇匀,用紫外可见分光光度计测定595 nm处吸光度,每组样品平行测3次,取平均值。

1.3.5 盐藻蛋白质等电点测定 参照邵端阳等^[16]的方法。

1.3.6 单因素试验 固定 pH 10.5, 碱溶温度 50 ℃, 碱溶时间 2 h, 料液比 1:200 (g/mL), 分别考察 pH 值(9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0)、碱溶温度(40, 45, 50, 55, 60 ℃)、碱溶时间(1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h)^[17-20]和料液比[1:100, 1:150, 1:200, 1:250, 1:300 (g/mL)]^[21-22]对盐藻蛋白质提取率的影响。

1.3.7 Box-Behnken 响应面试验 利用 Design-Expert 13 软件, 以 Box-Behnken 响应面法优化试验方案, 分别以 pH 值、碱溶温度、碱溶时间和料液比为响应因子, 以盐藻蛋白提取率为指标。

1.3.8 盐藻蛋白功能性分析

(1) 持水量: 称取 0.05 g 盐藻蛋白, 加入 5 mL 蒸馏水, 分别于 20, 30, 40, 50, 60, 70 ℃ 水浴 1 h, 3 000 r/min 离心 15 min, 取沉淀称重。按式(2)计算持水量。

$$\omega = \frac{m_2 - m_1}{m}, \quad (2)$$

式中:

ω ——持水量/持油量, g/g;

m_2 ——离心管和沉淀质量, g;

m_1 ——离心管和样品质量, g;

m ——样品质量, g。

(2) 持油量: 称取 0.05 g 盐藻蛋白, 加入 5 mL 大豆油, 分别于 20, 30, 40, 50, 60, 70 ℃ 水浴 1 h, 3 000 r/min 离心 15 min, 取沉淀称重。按式(2)计算持油量。

(3) 蛋白起泡性和泡沫稳定性: 分别称取 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20 g 盐藻蛋白, 加入 20 mL 蒸馏水, 10 000 r/min 均质 2 min, 测量均质结束时泡沫体积, 室温下静置 30 min 后再测泡沫体积。分别按式(3)、式(4)计算蛋白起泡性和泡沫稳定性。

$$\kappa = \frac{V_1}{V} \times 100\%, \quad (3)$$

$$\kappa_s = \frac{V_2}{V_1} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

κ ——蛋白起泡性, %;

κ_s ——泡沫稳定性, %;

V ——溶液体积, mL;

V_1 ——均质结束后体积, mL;

V_2 ——静置 30 min 后体积, mL。

(4) 蛋白乳化性和乳化稳定性: 分别称取 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20 g 盐藻蛋白, 加入 20 mL 蒸馏水, 加入 10 mL 大豆油, 10 000 r/min 均质 2 min。吸取 20 μ L 底部乳液, 加 5 mL 质量分数为 0.1% 的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液。以 0.1% SDS 溶液作空白对照, 测定 500 nm 处吸光

度, 静置 30 min 后再测吸光度。分别按式(5)、式(6)计算乳化能力和乳化稳定性。

$$\epsilon = A_{500} \times 100\%, \quad (5)$$

$$\epsilon_s = \frac{A_{500,30}}{A_{500}} \times 100\%, \quad (6)$$

式中:

ϵ ——乳化能力, %;

ϵ_s ——乳化稳定性, %;

A_{500} ——500 nm 处吸光度;

$A_{500,30}$ ——静置 30 min 后 500 nm 处吸光度。

1.3.9 红外光谱分析 将冷冻干燥后的盐藻蛋白质, 用 KBr 压片法制样, 利用傅里叶变换红外光谱仪于 400~4 000 cm^{-1} 进行扫描。

1.3.10 UV-Vis 吸收光谱测定 采用 0.5 mol/L 的醋酸溶液配制 2 g/L 的盐藻蛋白溶液, 以醋酸溶液为空白, 测定盐藻蛋白质于 200~400 nm 处的吸收光谱。

1.3.11 氨基酸分析 分别配制 pH 为 3.20, 4.25, 6.45 的柠檬酸缓冲液, 缓冲液流速 25 mL/h, 反应流速 10 mL/h, 再生溶液为 0.04 mol/L 氢氧化钠溶液, Na 型阳离子柱层析分离柱(Φ 400 mm $\times$ 4.6 mm, 8 μ m)。检测器波长分别为 570, 440 nm; 采用 55 ℃—65 ℃—77 ℃程序升温, 反应槽温度 138 ℃, 进样量 20 μ L。氨基酸在分离柱分离后与茚三酮反应, 采用分光光度计测定生成物浓度。

1.4 数据处理

所有试验均进行 3 次平行试验, 采用 Origin 2019 软件绘图, 采用 OMNIC 9.2 软件进行红外数据处理和绘图, 采用 PeakFit 4.12 对蛋白质二级结构进行拟合处理, 采用 Design-Expert 13 软件进行响应面试验数据分析。

2 结果与分析

2.1 等电点的确定

由图 1 可知, 残留液的蛋白质质量浓度在 pH 值增加呈先降低后升高趋势, 残留液蛋白质质量浓度越低, 蛋白质沉淀越充分。在 pH 4.0 时, 残留液蛋白质质量浓度最低, 即蛋白质沉淀最为完全, 所以盐藻蛋白等电点 pH 值为 4.0 左右, 故将 pH 值调至 4.0 左右, 以保证能最大程度得到蛋白质沉淀。

2.2 单因素试验

2.2.1 pH 值对盐藻蛋白质提取率的影响 由图 2 可知, 当 pH 值从 9.0 逐渐升高到 10.5 时, 蛋白提取率呈上升趋势, 在 pH 10.5 时达到最大值。继续升高 pH 值至 11.0 时, 提取率下降, 说明碱性环境有助于蛋白质的溶出, 但 pH 值过大, 过强的碱性环境会导致部分蛋白质变性, 蛋白质的空间结构发生瓦解, 同时, 强碱性也会水解蛋白质的某些氨基酸, 降低其提取率。因此, 选取 pH 值 10.0, 10.5, 11.0 进行后续优化。

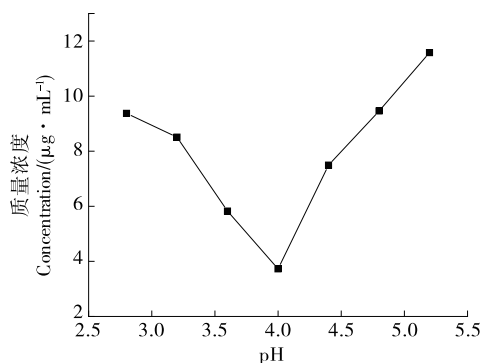


图1 蛋白质的等电点

Figure 1 Isoelectric points of proteins

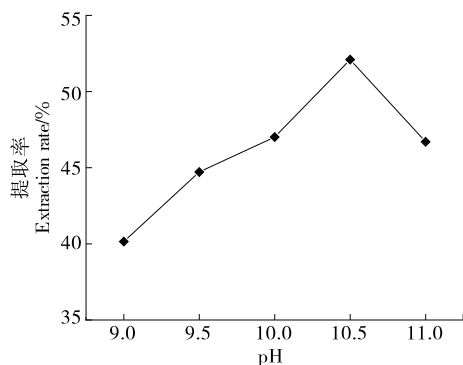


图2 pH值对蛋白提取率的影响

Figure 2 Effect of pH value on protein extraction rate

2.2.2 碱溶温度对盐藻蛋白质提取率的影响 由图3可知,随着碱溶温度的升高,蛋白提取率呈先增加后降低趋势,在50℃时达到最大值。这可能是较低温度下,适当升温有助于加速分子运动,蛋白质分子运动加快有助于蛋白质的溶出,但碱溶温度持续升高,蛋白质在高温条件下可能发生变性或降解,部分蛋白结构被破坏,溶解度降低。因此,选择碱溶温度45,50,55℃进行后续优化。

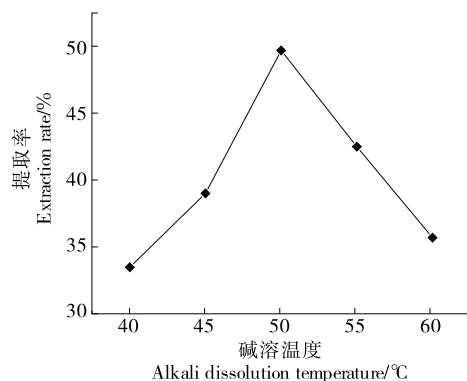


图3 碱溶温度对蛋白提取率的影响

Figure 3 Effect of alkali dissolution temperature on protein extraction rate

2.2.3 碱溶时间对盐藻蛋白质提取率的影响 由图4可知,蛋白提取率随着碱溶时间的延长呈先升高后降低趋势,在2h时达到最高值。当碱溶时间<2h时,蛋白质没有充足的时间溶出,部分蛋白质损失,提取率偏低。当碱溶时间>2h时,蛋白提取率反而下降,可能是长时间高温或机械作用导致部分蛋白质变性失活,提取液中高浓度蛋白发生聚集沉淀,导致蛋白质提取率降低。碱溶时间太短,蛋白质溶出不充分;碱溶时间过长,蛋白质会发生变性。因此,选择碱溶时间1.5,2.0,2.5h进行后续优化。

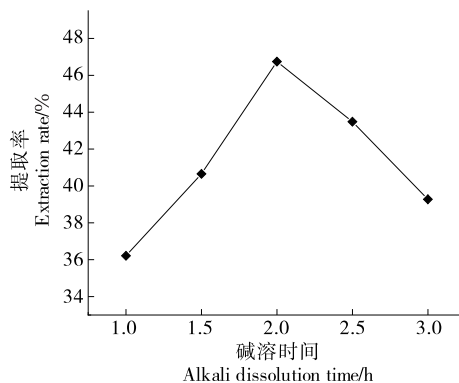


图4 碱溶时间对蛋白提取率的影响

Figure 4 Effect of alkali dissolution time on protein extraction rate

2.2.4 液料比对盐藻蛋白的蛋白质提取率的影响 由图5可知,当料液比为1:200 (g/mL)时,蛋白提取效果最好,整体呈先升高后降低趋势,可能是液料比过小,体系较为黏稠,不利于蛋白质分子从细胞中溶出,提取率偏低。当液料比从1:100 (g/mL)增大到1:200 (g/mL)时,溶剂用量相对增多,体系黏稠度降低,盐藻蛋白更易从细胞中溶解出来,提取效率提高。继续增大溶剂比例,提取率反而下降,可能是溶剂过多导致蛋白浓度被过度稀释,

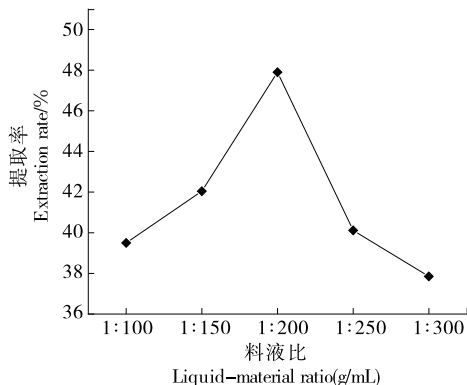


图5 液料比对提取率的影响

Figure 5 Effect of liquid-solid ratio on protein extraction rate

或者某些蛋白质在过低浓度下容易吸附至细胞碎片上。因此,选择料液比 1:150,1:200,1:250 (g/mL)进行后续优化。

2.3 响应面试验

2.3.1 模型建立 选取 pH 值、碱溶温度、碱溶时间和液料比进行响应面优化试验,各因素水平见表 1,试验设计及结果见表 2。

表 1 响应面试验因素水平表
Table 1 Factors and levels of response surface optimization

水平	A pH 值	B 碱溶温度/℃	C 碱溶时间/h	D 料液比 (g/mL)
−1	10.0	45	1.5	1:150
0	10.5	50	2.0	1:200
1	11.0	55	2.5	1:250

表 2 响应面试验设计与结果
Table 2 Designs and results of response surface optimization

试验号	A	B	C	D	蛋白提取率/%
1	−1	−1	0	0	43.22
2	1	−1	0	0	45.34
3	−1	1	0	0	46.58
4	1	1	0	0	47.22
5	0	0	−1	−1	43.06
6	0	0	1	−1	45.39
7	0	0	−1	1	45.56
8	0	0	1	1	47.96
9	−1	0	0	−1	43.73
10	1	0	0	−1	45.72
11	−1	0	0	1	45.56
12	1	0	0	1	47.25
13	0	−1	−1	0	43.58
14	0	1	−1	0	44.58
15	0	−1	1	0	44.39
16	0	1	1	0	47.56
17	−1	0	−1	0	43.63
18	1	0	−1	0	44.46
19	−1	0	1	0	45.22
20	1	0	1	0	46.27
21	0	−1	0	−1	45.40
22	0	1	0	−1	47.73
23	0	−1	0	1	46.17
24	0	1	0	1	47.76
25	0	0	0	0	53.74
26	0	0	0	0	52.24
27	0	0	0	0	53.52
28	0	0	0	0	53.86
29	0	0	0	0	52.67

对表 2 数据进行多元线性回归拟合,得到回归方程:
$$Y=53.206+0.693\ 333A+1.110\ 83B+0.993\ 333C-0.769\ 167D-0.37AB+0.055AC-0.075AD+0.542\ 5BC-0.185BD+0.017\ 5CD-4.133\ 83A^2-3.467\ 58B^2-4.451\ 33C^2-3.247\ 58D^2。$$
(7)

由表 3 可知,模型 $P<0.000\ 1$,极显著;失拟项 $P=0.620\ 1$,不显著,说明该模型拟合良好。回归模型中 $F=45.73$, $R^2_{Adj}=0.957\ 2$, $R^2=0.978\ 6$,说明该模型能够解释 97.86% 的响应值且误差较小。一次项 A、B、C、D 极显著,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 极显著,其中碱溶温度影响最大,其次为碱溶时间。

表 3 方差分析[†]
Table 3 Analysis of variance results

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	291.18	14	20.80	45.73	<0.000 1	**
A	5.77	1	5.77	12.68	0.003 1	**
B	14.81	1	14.81	32.55	<0.000 1	**
C	11.84	1	11.84	26.03	0.000 2	**
D	7.10	1	7.10	15.61	0.001 4	**
AB	0.55	1	0.55	1.20	0.291 1	
AC	0.01	1	0.01	0.03	0.872 8	
AD	0.02	1	0.02	0.05	0.827 2	
BC	1.18	1	1.18	2.59	0.130 0	
BD	0.14	1	0.14	0.30	0.591 9	
CD	0.00	1	0.00	0.00	0.959 3	
A^2	110.84	1	110.84	243.70	<0.000 1	**
B^2	77.99	1	77.99	171.47	<0.000 1	**
C^2	128.53	1	128.53	282.57	<0.000 1	**
D^2	68.41	1	68.41	150.41	<0.000 1	**
残差	6.37	14	0.45			
失拟项	4.34	10	0.43	0.85	0.620 1	不显著
纯误差	2.03	4	0.51			
总和	297.54	28				

† *表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$)。

2.3.2 响应面试验 通过 Design-Expert 13 软件分析并绘制盐藻蛋白提取率与 pH、碱溶温度、碱溶时间和料液比的响应面曲线图,如图 6 所示。结合模型得到最优工艺参数为 pH 10.538,碱溶温度 50.815 ℃,碱溶时间 2.061 h,液料比 1:205.67 (g/mL),此工艺下盐藻蛋白提取率为 53.427%。为验证模型准确性,将最佳工艺调整为 pH 10.54,碱溶温度 51 ℃,碱溶时间 2.1 h,液料比 1:206 (g/mL),进行验证实验,测得盐藻蛋白提取率为 52.98%,接近预测值,说明该模型能较好地模拟和预测盐藻蛋白质提取工艺。

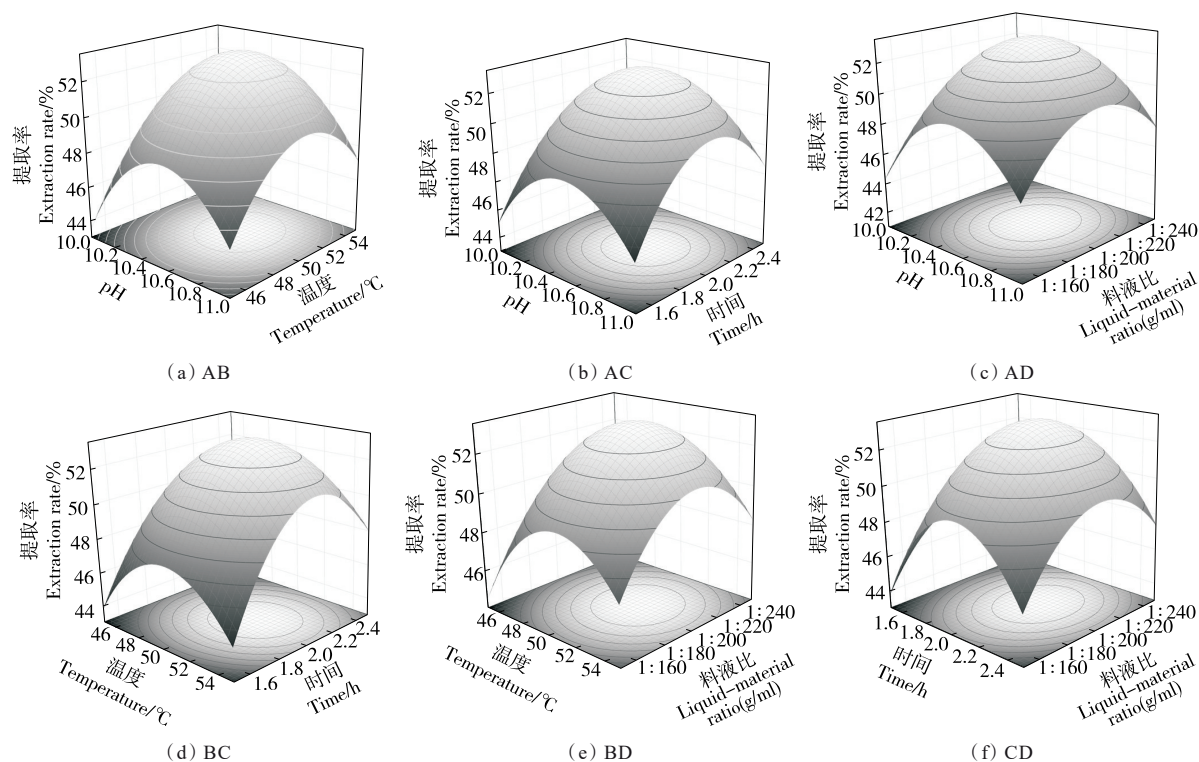


图6 提取率在不同条件影响下的响应曲面图

Figure 6 Response surface plots of extraction rate under different conditions

2.4 盐藻蛋白功能

2.4.1 持水性 由图7可知,盐藻蛋白质的持水量随着温度的升高呈先上升后下降趋势,在50℃达到最高。这可能是随着温度的升高,蛋白质分子运动加剧,使得蛋白质结构得到伸展,能够更好地与水分子接触,持水量上升;温度过高时,蛋白质会发生变性,空间结构被破坏,持水量降低。

2.4.2 持油性 由图8可知,随着温度的升高,持油量呈先升高后下降趋势,在50℃时达到最高。随着温度的升高,蛋白质能够更好地与油接触,持油量升高;温度过高,

蛋白质会发生变性,空间结构被破坏,同时大豆油的黏度降低,流动性增大,持油量降低。

2.4.3 蛋白起泡性和泡沫稳定性 由图9可知,随着蛋白质质量分数的增加,其起泡性和泡沫稳定性均呈先上升后下降趋势,在质量分数为0.6%时达到最高。随着蛋白质溶液质量分数的增大,蛋白质溶液黏度增大,易与气体结合,形成泡沫;蛋白质溶液质量分数过大时,由于表面张力的影响,泡沫不易生成,且泡沫稳定性较低。

2.4.4 蛋白乳化性和乳化稳定性 由图10可知,随着质量分数的增加,盐藻蛋白的乳化性和乳化稳定性均呈先

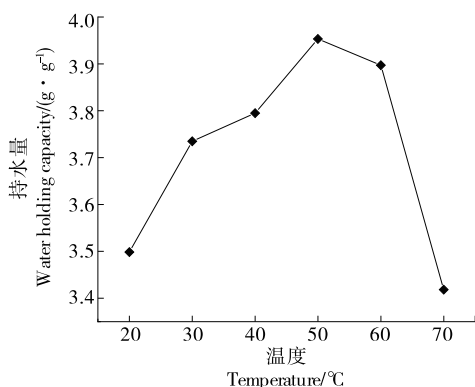


图7 温度对持水量的影响

Figure 7 Effect of temperature on water holding capacity

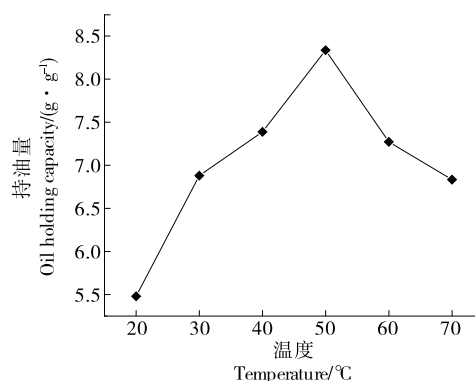


图8 温度对持油量的影响

Figure 8 Effect of temperature on the oil holding capacity

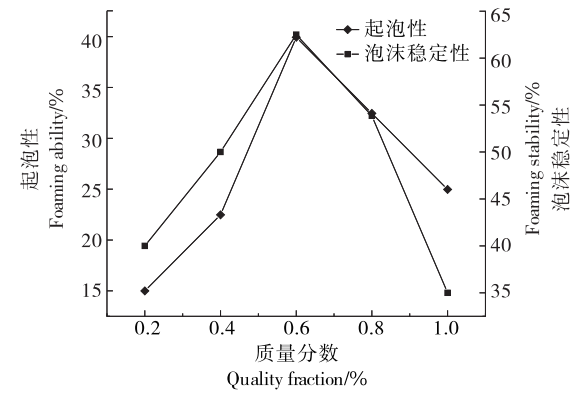


图9 蛋白质量分数对起泡性和泡沫稳定性的影响
Figure 9 Effect of protein mass fraction on foaming property and foam stability

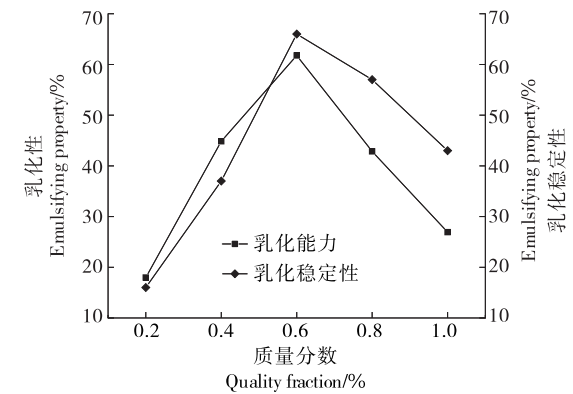


图10 蛋白质量分数对乳化性和乳化稳定性的影响
Figure 10 Effect of protein mass fraction on emulsifying property and emulsifying stability

增加后下降趋势。当蛋白质质量分数为0.6%时,乳化能力和乳化稳定性分别达到最高。随着质量分数的增加,蛋白质分子吸附到界面,界面膜的完整性和紧密性增强,乳化能力和乳化稳定性提高;蛋白质质量分数过高,蛋白质分子间的相互作用增强,容易发生聚集沉淀,降低在油水界面的有效吸附,降低其乳化能力和乳化稳定性。

2.5 傅里叶变换红外光谱分析

由图 11 可知,通过红外光谱测定盐藻蛋白时,蛋白有许多特征吸收峰,2 980~2 850 cm^{-1} 处为 C—H 的伸缩振动;1 700~1 600 cm^{-1} 处为酰胺 I 带,为蛋白质 C=O 伸缩振动峰;1 600~1 500 cm^{-1} 处为酰胺 II 带,为 C—N 伸缩振动和 N—H 变形振动。

由图 12 可知,对盐藻蛋白质红外谱图中 1 700~1 600 cm^{-1} 处的酰胺 I 带进行二阶导数拟合,采用 PeakFit 4.12 进行数据处理,对输出峰面积进行统计,结果见表 4。由表 4 可知,1 600~1 640 cm^{-1} 为 β -折叠,1 640~1 650 cm^{-1} 为无规卷曲,1 650~1 660 cm^{-1} 为 α -螺旋,

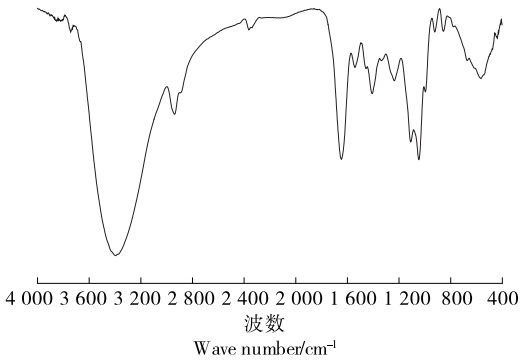


图 11 盐藻蛋白质红外光谱图
Figure 11 Infrared spectrum of *Dunaliella* spp. protein

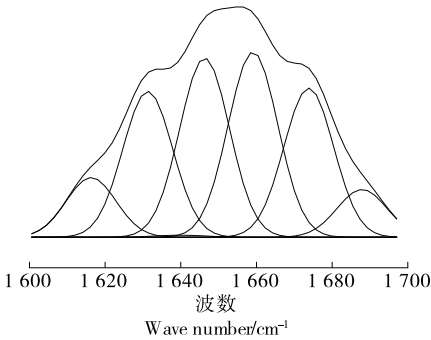


图 12 盐藻蛋白质酰胺 I 带拟合图
Figure 12 Fitting graph of the amino acid I band of *Dunaliella* spp. protein

表 4 盐藻蛋白质的二级结构含量
Table 4 Secondary structure content of *Dunaliella* spp. protein

β -折叠	无规卷曲	α -螺旋	β -转角
26.79	23.30	24.07	25.84

1 660~1 700 cm^{-1} 为 β -转角各二级结构类型的总峰面积与总峰面积比值即二级结构占比,其中 β -折叠占 26.79%,无规卷曲占 23.30%, α -螺旋占 24.07%, β 转角占 25.84%。蛋白质二级结构中,以 β -折叠为主。

2.6 UV-Vis 吸收光谱

由图 13 可知,盐藻蛋白质在 230 nm 处有吸收峰,符合 I 型胶原蛋白三股螺旋结构的紫外吸收特征^[18]。

2.7 氨基酸组成分析

由表 5 可知,盐藻蛋白质氨基酸含量为 117.528 mg/g,其中谷氨酸含量为 19.405 mg/g,占总含量的 16.01%。必需氨基酸(苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸)总含量为 39.934 mg/g,占总氨基酸的 32.94%。

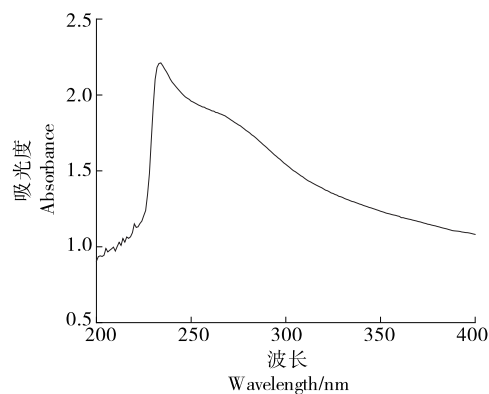


图 13 盐藻蛋白 UV-Vis 吸收光谱

Figure 13 UV-Vis absorption spectrum of *Dunaliella* spp. protein

表 5 盐藻蛋白质氨基酸组成[†]

Table 5 Amino acid composition of *Dunaliella* spp. protein

氨基酸	含量/(mg·g ⁻¹)	质量分数/%
天冬氨酸	12.980	10.71
苏氨酸*	6.233	5.14
丝氨酸	5.945	4.90
谷氨酸	19.405	16.01
甘氨酸	7.067	5.83
丙氨酸 [#]	8.233	6.79
胱氨酸	3.439	2.84
缬氨酸**	6.793	5.60
蛋氨酸**	3.020	2.49
异亮氨酸**	5.678	4.68
亮氨酸**	9.400	7.75
酪氨酸 [#]	4.562	3.76
苯丙氨酸**	6.526	5.38
组氨酸*	2.284	1.88
赖氨酸	7.308	6.03
精氨酸	8.655	7.14
脯氨酸 [#]	3.718	3.07
必需氨基酸	39.934	32.94
疏水氨基酸	47.930	39.52
总氨基酸	121.246	100.00

[†] *为必需氨基酸;#为疏水氨基酸。

3 结论

碱溶酸沉法提取盐藻蛋白质的最佳工艺条件为 pH 10.54, 碱溶温度 51 ℃, 碱溶时间 2.1 h, 液料比 1: 206 (g/mL), 此条件下盐藻蛋白提取率为 52.98%。尽管该研究取得了一定成果, 但仍有许多方面需进一步研究和探索。例如在料液比设置中, 实验室小规模提取采用

的高料液比, 虽然能减少因稀释带来的误差, 但在大规模生产中, 高料液比可能会增加耗水量, 扩大反应容器体积, 酸碱用量也会有所增加, 不利于控制成本。未来可结合新型提取技术, 进一步提高盐藻蛋白提取率, 降低能耗和生产成本。在产品开发层面, 可基于盐藻蛋白的功能特性, 开发高附加值的功能性食品、生物制药和化妆品等产品。

参考文献

[1] 白仁奥. 紫菜作为替代蛋白质可持续来源研究进展[J]. 绿色科技, 2024, 26(18): 257-264, 276.

Bai R A. Research progress of laver as a sustainable source of alternative protein[J]. Journal of Green Science and Technology, 2024, 26(18): 257-264, 276.

[2] Karyotis T, Iliadis C, Noulas C, et al. Preliminary research on seed production and nutrient content for certain quinoa varieties in a saline - sodic soil[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2003, 189(6): 402-408.

[3] 吉红, 肖芬芬, 邢君霞, 等. 微藻资源在水产饲料中应用的研究进展[J]. 饲料工业, 2020, 41(16): 1-12.

Ji H, Xiao F F, Xing J X, et al. Research progress on the application of microalgae resources in aquatic feed[J]. Feed Industry, 2020, 41(16): 1-12.

[4] 陆超华, 谢文造. 利用盐藻开发功能食品的前景[J]. 广州食品工业科技, 1995, 11(4): 14-17.

Lu C H, Xie W Z. The prospects of developing functional foods using *Dunaliella salina*[J]. Guangzhou Food Science and Technology, 1995, 11(4): 14-17.

[5] 杨雪梅, 吴起元. 盐藻的研究与开发[J]. 生命科学, 1994, 6(5): 7-10.

Yang X M, Wu Q Y. Research and development of *Dunaliella Salina*[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 1994, 6(5): 7-10.

[6] 罗成伟, 范春霞, 叶帅静, 等. 微藻的活性成分及应用研究进展[J]. 农业灾害研究, 2024, 14(12): 10-12.

Luo C W, Fan C X, Ye S J, et al. Research progress on the active components and applications of microalgae[J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 2024, 14(12): 10-12.

[7] 孔凡晶, 郑绵平, 张洪霞, 等. 盐湖农业及其发展战略研究[J]. 中国工程科学, 2019, 21(1): 148-152.

Kong F J, Zheng M P, Zhang H X, et al. Salt lake agriculture and its development strategy[J]. Strategic Study of CAE, 2019, 21(1): 148-152.

[8] 周毅航, 陈晓倩, 杨敏, 等. 杜氏盐藻的基础生物学和开发应用研究进展[J]. 广西植物, 2025, 45(4): 793-808.

Zhou Y H, Chen X Q, Yang M, et al. Research advances on basic biology and development and application of *Dunaliella*[J]. Guihaia, 2025, 45(4): 793-808.

[9] 李正华, 江树勋, 蔡桂琴, 等. 盐藻分子生物学研究概况[J]. 海洋科学, 2005, 29(6): 69-72.

- Li Z H, Jiang S X, Cai G Q, et al. Review on molecular biology of *Dunaliella* sp.[J]. Marine Sciences, 2005, 29(6): 69-72.
- [10] 古玉环, 陈军. 盐生杜氏藻 *Dunaliella salina* 的生物学特性与培养研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 1995, 31(4): 52-55.
- Gu Y H, Chen J. Biological properties and culture conditions of *Dunaliella salina*[J]. Journal of Northwest Normal University (Natural Science), 1995, 31(4): 52-55.
- [11] 高风正, 葛保胜, 向文洲, 等. 生物技术研究引领中国微藻产业发展的六十年: 回顾与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(1): 26-39.
- Gao F Z, Ge B S, Xiang W Z, et al. Development of microalgal industries in the past 60 years due to biotechnological research in China: a review[J]. Scientia Sinica (Vita), 2021, 51(1): 26-39.
- [12] 景素琴, 丁红霞. 运城盐湖盐藻产业的前景展望[J]. 盐业与化工, 2016, 45(11): 8-10.
- Jing S Q, Ding H X. Prospect on *Dunaliella salina* industry of Yuncheng salt lake[J]. Journal of Salt and Chemical Industry, 2016, 45(11): 8-10.
- [13] 郭金耀, 杨晓玲. 盐藻蛋白质的提取分离[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 232-235.
- Guo J Y, Yang X L. Extraction and separation of *Dunaliella salina* protein[J]. Food Science and Technology, 2010, 35(8): 232-235.
- [14] 萨如拉, 贾丽丽, 杨昕雨, 等. 碱溶酸沉法优化大豆粕分离蛋白的提取工艺[J]. 粮食与饲料工业, 2025(3): 97-103.
- Sa R L, Jia L L, Yang X Y, et al. Extraction process of soybean meal protein isolate optimized by alkaline solution and acid isolation[J]. Cereal & Feed Industry, 2025(3): 97-103.
- [15] 祝连彩, 唐士金, 周丽. 考马斯亮蓝 G 250 法测定蛋白质含量的教学实践及方法学探讨[J]. 教育教学论坛, 2020(23): 266-269.
- Zhu C L, Tang S J, Zhou L. Teaching practice and methodological investigation of protein content determination using coomassie brilliant blue G250[J]. Education Teaching Forum, 2020(23): 266-269.
- [16] 邵端阳, 常鑫, 李东辉. 响应面法优化碱蓬蛋白质提取工艺及抗氧化活性分析[J]. 锦州医科大学学报, 2024, 45(6): 1-7.
- Shao D Y, Chang X, Li D H. Analysis on optimization of extraction technology of *Suaeda salsa* protein by response surface methodology and its antioxidant activity[J]. Journal of Jinzhou Medical University, 2024, 45(6): 1-7.
- [17] 杨慧芬, 李思燕, 段兴芳, 等. 超声辅助碱溶酸沉法提取黑牛肝菌蛋白质工艺优化[J]. 广州化工, 2025, 53(2): 32-35, 39.
- Yang H F, Li S Y, Duan X F, et al. Optimization of ultrasonic-assisted alkali-solution and acid-isolation method for extraction of protein from boletus aereus[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2025, 53(2): 32-35, 39.
- [18] 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.
- Zhao Q L, Gao Y Q, Tan J D, 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.
- [19] 薛建娥, 王英翰, 洪金明, 等. 响应面优化核桃蛋白的提取及性质研究[J]. 食品工业, 2024, 45(5): 49-54.
- Xue J E, Wang Y H, Hong J M, et al. Response surface optimization for the extraction and properties of walnut protein [J]. The Food Industry, 2024, 45(5): 49-54.
- [20] 高晓杰, 聂玲萍, 罗紫嫣, 等. 双孢蘑菇糖蛋白提取工艺优化[J]. 中南农业科技, 2025, 46(2): 30-33.
- Gao X J, Nie L P, Luo Z Y, et al. Optimization of the extraction process of glycoproteins from *Agaricus bisporus*[J]. South-Central Agricultural Science and Technology, 2025, 46(2): 30-33.
- [21] 马琰彬, 张炜, 隋成博, 等. 泡沫分离刚毛藻蛋白工艺优化及其功能特性分析[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(2): 119-128.
- Ma Y B, Zhang W, Sui C B, et al. Optimization of foam separation process of *Cladophora* protein and analysis of functional characteristics[J]. Food Research and Development 2025, 46(2): 119-128.
- [22] 马琰彬, 张炜, 赵鹤然. 青海湖刚毛藻蛋白泡沫分离工艺优化及理化性质[J]. 精细化工, 2025, 42(12): 2 717-2 726.
- Ma Y B, Zhang W, Zhao H R. Optimization of protein foam separation process and physicochemical properties of *Cladophora* Qinghaiensis[J]. Fine Chemicals, 2025, 42(12): 2 717-2 726.