

L-半胱氨酸处理对玉米醇溶蛋白提取的影响

徐艳艳¹, 李梦琴^{1,*}, 任红涛¹, 蔡花真²

(1.河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002;

2.河南质量工程职业学院, 河南 平顶山 467000)

摘要: 在单因素试验的基础上, 通过正交试验优化玉米醇溶蛋白(zein)的提取工艺, 研究L-半胱氨酸用量、液料比、超声波时间、超声波温度、pH值因素对玉米醇溶蛋白提取率的影响, 并确定最佳工艺条件为L-半胱氨酸用量0.65%、液料比7:1、超声波时间1.5h、超声波温度40℃、pH5.0, 在此条件下得到最终玉米醇溶蛋白提取率为89.06%, 纯度为92.51%。

关键词: L-半胱氨酸; 玉米醇溶蛋白; 提取

Effect of L-cysteine Treatment on Zein Extraction

XU Yan-yan¹, LI Meng-qin^{1,*}, REN Hong-tao¹, CAI Hua-zhen²

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Henan Quality Engineering Vocational College, Pingdingshan 467000, China)

Abstract: Based on one-factor-at-a-time experiments, process optimization for zein extraction using L-cysteine treatment followed by ultrasonic-assisted extraction was performed using an orthogonal array design. Zein extraction yield was investigated with respect to L-cysteine amount, ratio of liquid to material, ultrasonic treatment time, temperature and pH. The optimal process conditions for zein extraction were achieved as follows: L-cysteine amount 0.65%, ratio of liquid to material 7:1, ultrasonic treatment time 1.5 h, temperature 40 °C, and pH 5.0. Under these conditions, the yield and purity of zein were 89.06% and 92.51%, respectively.

Key words: L-cysteine; zein; extraction

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)22-0016-04

玉米黄粉(corn gluten meal, CGM)是湿磨工艺生产玉米淀粉的主要副产品, 其主要成分是玉米醇溶蛋白(zein), zein占玉米黄粉中总蛋白含量的68%^[1-2], zein可以溶解于60%~95%的乙醇溶液中, 其主要成分是 α -zein、 β -zein和 γ -zein, β -zein和 γ -zein在外部, 含量分别占10%~15%、5%~10%, α -zein在内部, 含量占75%~85%, β -zein和 γ -zein含有的二硫键是 α -zein的5~7倍, 增加了 α -zein的稳定性和滞留性, 降低了 α -zein的溶解性, 从而限制了其在食品中的应用, 又因为玉米黄粉口感粗糙, 水溶性差, 具有特殊的气味和色泽, 尤其是赖氨酸、色氨酸等必需氨基酸的缺乏而影响了其在食品工业的应用, 常作为饲料, 营养价值低^[3-5]。经研究发现, 玉米醇溶蛋白具有无毒、

可食、良好的成膜性、抗氧化性、黏接性等特性, 广泛用于各类药片包衣、食品保鲜膜、黏接剂、发泡剂和乳化剂等, 并可用于防潮、隔氧、抗紫外线、保鲜、防静电等, 还有一定的抑菌作用, 因此在特种食品、医药和生物降解塑料工业领域有着良好的潜在应用前景, 具有很高的商业价值^[6-10]。

近年来, 人们对玉米醇溶蛋白的研究越来越深入, 但提取率普遍较低, 提高玉米醇溶蛋白的提取率很有必要。含有较多巯基基团(—HS—)的有机溶剂可以打破 β -zein和 γ -zein的二硫键(—S—S—), 使得 α -zein游离出来, 从而可以提高玉米醇溶蛋白的提取率, 因此, 研究L-半胱氨酸对玉米醇溶蛋白提取率的影响具有实际应用价值。

收稿日期: 2011-05-19

基金项目: 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2010A550008); 河南农业大学重点学科资助项目

作者简介: 徐艳艳(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品深加工。E-mail: xuyanyan1014@163.com

*通信作者: 李梦琴(1965—), 女, 副教授, 本科, 研究方向为粮油深加工。E-mail: lmqfood@163.com

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

玉米黄粉 河南莲花味精股份有限公司。

L-半胱氨酸 国药集团化学试剂有限公司；可溶性淀粉 北京双旋微生物培养基制品厂； α -淀粉酶(3700U/g) 北京奥博星生物技术有限责任公司；所用试剂均为分析纯。

胶体磨 河北防爆电机厂；TDL-5-A型离心机 上海安亭科学仪器厂；实验室pH计 汕头市澳新电子有限公司；SKF-12超声波清洗器 上海科导超声仪器有限公司；KDY-08C凯氏定氮仪 上海瑞正仪器设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 添加L-半胱氨酸提取玉米醇溶蛋白的工艺流程

玉米黄粉→酶解去除玉米淀粉→水浴碱法去除异味物质(90℃、1mol/L NaOH溶液、1h)→L-半胱氨酸处理→超声波提取玉米醇溶蛋白(乙醇体积分数77%、超声波温度68℃、超声波时间1.5h、液料比14:1)→50℃烘干得干样

1.2.2 玉米醇溶蛋白提取率和纯度的测定

参照GB/T 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》进行测定。

2 结果与分析

2.1 单因素 的确定

2.1.1 L-半胱氨酸用量对玉米醇溶蛋白提取率的影响

液料比5:1(mL/g)、温度40℃、时间1.0h条件下,在反应液中添加不同量的L-半胱氨酸,进行超声波提取。

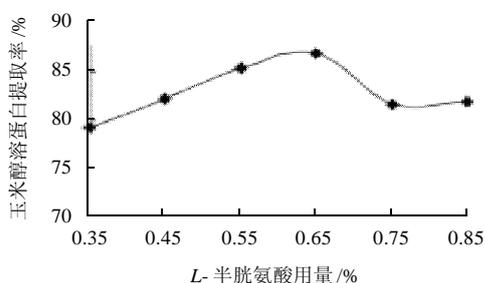


图1 L-半胱氨酸用量对玉米醇溶蛋白提取率的影响
Fig.1 Effect of L-cysteine amount on zein extraction

由图1可知,随着L-半胱氨酸用量的增大,玉米醇溶蛋白提取率先增加后下降。L-半胱氨酸有机溶液中含有较多的巯基基团(-HS-),可发生氧化反应形成二硫键(-S-S-),伴随着二硫键的形成,L-半胱氨酸

转变为L-胱氨酸^[11]。从而破坏 β -zein和 γ -zein的二硫键,从而引起 α -zein游离出来,提高了玉米醇溶蛋白的提取率。但是用量过大时,一方面反应产生的L-胱氨酸极难溶于水,一定程度阻碍了L-半胱氨酸的提取效果;另一方面会增大生产成本,综合考虑实际生产和经济因素,确定L-半胱氨酸用量为0.65%。

2.1.2 液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响

L-半胱氨酸用量0.65%、温度40℃、时间1.0h、pH5.0,在不同液料比的条件下进行超声波提取。

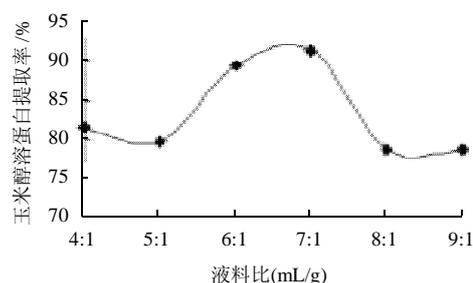


图2 液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响
Fig.2 Effect of ratio of liquid to material on zein extraction

由图2可知,随着液料比的增大,玉米醇溶蛋白的提取率先增加后下降。因为溶剂用量的增加降低了蛋白质的含量,提高了玉米醇溶蛋白与L-半胱氨酸溶液的接触,从而提高了蛋白质的扩散速度,增加了醇溶蛋白的溶解度,引起蛋白提取率提高。若液料比过小,就会增大提取体系的黏度系数,降低L-半胱氨酸与蛋白的反应的活化能,不利于蛋白质的提取^[12];若液料比过大,会造成溶剂和能源的浪费,同时会降低L-半胱氨酸的含量,而且造成较大的渗透压^[13],引起玉米醇溶蛋白的提取率下降,综合考虑,确定液料比为7:1。

2.1.3 超声波时间对玉米醇溶蛋白提取率的影响

L-半胱氨酸用量0.65%、温度40℃、液料比为7:1、pH5.0条件下,采用不同的时间进行超声波提取。

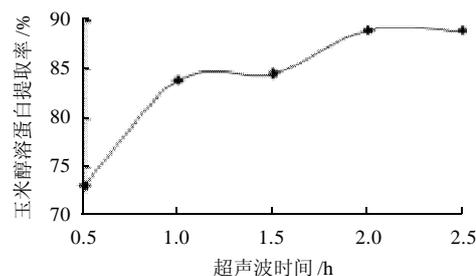


图3 超声波时间对玉米醇溶蛋白提取率的影响
Fig.3 Effect of ultrasonic treatment time on zein extraction

由图3可知,随着萃取时间的延长,醇溶蛋白提取率呈上升趋势,当萃取时间为2.0h时,醇溶蛋白的提取率已基本达最大值,再延长提取时间,意义不大。一般来说,萃取时间越长,反应物接触越充分,碰撞频率越高,则提取率越高,但是2.0h后,再延长时间来提高提取率意义不太大,反而增加生产周期。因此,确定超声波萃取时间为2.0h为宜。

2.1.4 超声波温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响

L-半胱氨酸用量0.65%、液料比7:1、时间2.0h、pH5.0,在不同的温度条件下进行超声波提取。

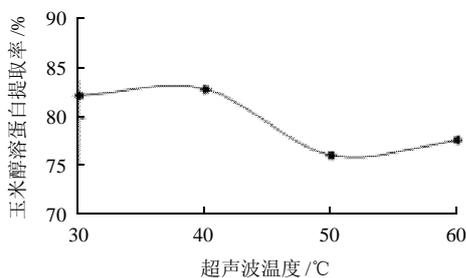


图4 超声波温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响
Fig.4 Effect of temperature on zein extraction

由图4可知,随着超声波温度的上升,提取率先缓慢上升后急速下降。在一定温度范围内(蛋白质不发生变性)反应体系温度升高时,活化分子数量增加^[14],故反应速率增加,引起*L*-半胱氨酸溶液对蛋白质溶液的作用力上升,从而增大提取效率。但是随着温度的升高,*L*-半胱氨酸溶液对蛋白质溶液的作用力下降,可能是有些原来在分子内部的疏水基团由于结构松散而暴露出来,分子的不对称性增加,因此黏度增加,扩散系数降低,引起玉米醇溶蛋白溶解度的降低,造成醇溶蛋白的提取率下降,因此,提取温度确定为40℃。

2.1.5 pH值对玉米醇溶蛋白提取率的影响

L-半胱氨酸用量0.65%、液料比7:1、时间2.0、温度40℃条件下,采用不同的pH值的料液进行超声波提取。

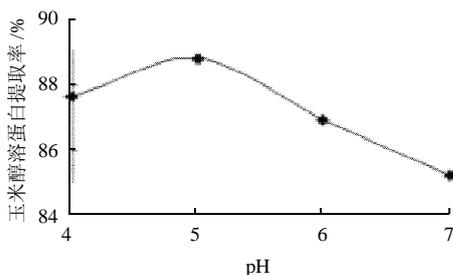


图5 pH值对玉米醇溶蛋白提取率的影响
Fig.5 Effect of pH on zein extraction

pH值的变化会影响蛋白质分子间的配位力和静电力,表现在越接近等电点越易分离^[15]。由图5可见,当pH5.0时,醇溶蛋白的提取率最大,这是因为玉米醇溶蛋白的等电点在5.0~6.0附近,在等电点附近蛋白质的溶解度最低,以沉淀形式析出。但是随着pH值的增加,醇溶蛋白提取率变化趋势缓慢,这可能说明在一定的pH值范围内,pH值对本试验条件中醇溶蛋白提取率影响不明显。因此,确定超声波萃取的pH5.0。

2.2 最佳工艺条件的选择

在单因素试验的基础上,调pH5.0,以*L*-半胱氨酸用量、液料比、超声波时间、超声波温度4个因素为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验设计以确定最佳工艺条件(表1),正交试验结果见表2。

表1 最佳工艺选择 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表

Table 1 Coded values and corresponding actual values of optimization parameters used in $L_9(3^4)$ orthogonal array design

水平	A <i>L</i> -半胱氨酸用量/%	B 液料比(mL/g)	C 超声波时间/h	D 超声波温度/°C
1	0.55	5:1	1.5	35
2	0.60	6:1	2.0	40
3	0.65	7:1	2.5	45

表2 最佳工艺选择 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal array design and experimental results

试验号	A	B	C	D	玉米醇溶蛋白提取率 / %
1	1	1	1	1	81.03
2	1	2	2	2	77.71
3	1	3	3	3	68.98
4	2	1	2	3	65.97
5	2	2	3	1	82.37
6	2	3	1	2	88.69
7	3	1	3	2	89.66
8	3	2	2	3	80.81
9	3	3	1	1	85.35
k_1	75.907	78.887	83.510	82.917	
k_2	79.010	80.297	76.343	85.353	
k_3	85.273	81.007	80.337	71.920	
R	9.366	2.120	7.167	13.433	

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验方差分析结果

Table 3 Analysis of variance for orthogonal array design experimental results

方差来源	偏差平方和	自由度	$F_{比}$	$F_{临界值}$	显著性
A	136.594	2	19.55000	19.000	*
B	6.987	2	1.000	19.000	
C	77.378	2	11.075	19.000	
D	307.3182	2	43.984	19.000	*
误差	6.99	2			

由表2、3可知,*L*-半胱氨酸用量、液料比、超

声波时间、超声波温度 4 个因素对玉米醇溶蛋白提取率的影响依次为：超声波温度 > *L*-半胱氨酸用量 > 超声波时间 > 液料比。*L*-半胱氨酸用量和超声波温度对玉米醇溶蛋白提取率的影响显著，超声波时间和液料比对玉米醇溶蛋白提取率的影响不显著。因此确定玉米黄粉中提取醇溶蛋白最佳工艺条件为 $A_3B_3C_1D_2$ ，即 *L*-半胱氨酸用量 0.65%、液料比 7:1、超声波时间 1.5h、超声波温度 40℃。

以 $A_3B_3C_1D_2$ 条件进行 3 次平行验证实验，得到最终玉米醇溶蛋白提取率为 89.06%，接近表 2 中试验结果最高值，说明实验数据具有重复性，可以为实际生产提供理论和实践依据，故该优化条件为最佳选择。

2.3 添加 *L*-半胱氨酸对玉米醇溶蛋白提取率的影响对比

表 4 最优实验结果对比

Table 4 Comparison of zein extraction with and without *L*-cysteine treatment

指标	不添加 <i>L</i> -半胱氨酸	添加 <i>L</i> -半胱氨酸
玉米醇溶蛋白提取率/%	81.36	89.06
纯度/%	75.08	92.51

由表 4 可见，按 1.2.1 节的条件进行 3 次平行实验，得到不添加 *L*-半胱氨酸时玉米醇溶蛋白的提取率为 81.36%，测得产品的纯度为 75.08%。在玉米醇溶蛋白的提取实验中添加 *L*-半胱氨酸后提取率提高了 7.70%，纯度提高了 17.43%。

3 结 论

3.1 在优化玉米醇溶蛋白提取工艺的基础上，添加 *L*-半胱氨酸，通过单因素试验和正交试验，优化了玉米醇溶蛋白的提取工艺，即 *L*-半胱氨酸用量 0.65%、液料比 7:1、超声波时间 1.5h、超声波温度 40℃、pH5.0，在此条件下得到最终玉米醇溶蛋白提取率为 89.06%，纯度为 92.51%。该工艺缩短了提取时间，降低了溶剂

的使用量，显著提高了玉米醇溶蛋白的提取率和纯度。

3.2 该工艺在添加 *L*-半胱氨酸后，显著提高了玉米醇溶蛋白的提取率和纯度。

3.3 得到的样品为浅黄色、无异味，扩大了玉米醇溶蛋白的应用范围，提高了玉米醇溶蛋白的生产和经济价值，为实际生产控制提供了重要的理论和实际参考价值。

参考文献：

- [1] NEUMANN P E, WALL J S. Chemical and physical properties of protein in Wet-Milled corn[J]. Cereal Chem, 1984, 61(4): 353-355.
- [2] 姚艾东. 玉米黄色素的提取及应用研究[J]. 食品工艺科技, 2001, 22(4): 32-34.
- [3] 鲁晓翔, 唐津忠. 玉米麸质综合利用研究进展[J]. 食品科技, 1999, 25(6): 52-53.
- [4] SHUKLA R, CHENYAN M. Zein: the industrial protein from corn[J]. Industrial Crops Products, 2001, 13(3): 171-192.
- [5] LIU Jingping, LEE W W. Methods of extracting corn proteins from corn gluten meal: American, 10/239367[P]. 2003-01-21.
- [6] DICKEY L C, DALLMER M F, RADEWORK E R, et al. Zein Batch extraction from dry-milled corn: cereal disintegration by dissolving fluid shear[J]. Cereal Chem, 1998, 75(4): 443-448.
- [7] 翟瑞文, 李雁群. 玉米肽的制备特性和应用[J]. 食品工业, 1998(3): 11-13.
- [8] HOFFMAN K L, HAN I Y, DAWSON P L. Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin lauric acid and EDTA[J]. J Food Protect, 2001, 64(6): 885-889.
- [9] 何慧, 王雪刚, 孔林, 等. 玉米醇溶蛋白膜在腌肉制品及果蔬中的保鲜作用研究[J]. 食品科学, 2004, 25(3): 184-187.
- [10] HOJILLA-EVANGELISTAL M P, JOHNSON L A. Optimizing extraction of zein and gluten-rice fraction during sequential extraction processing of corn[J]. Cereal Chem, 2000, 80(4): 481-484.
- [11] 徐国桓. 二硫键与蛋白质的结构[J]. 生物学通报, 2010, 45(5): 5-7.
- [12] 朱旻鹏, 谢玉国, 田将, 等. 超声波辅助碱液提取芝麻饼粕蛋白工艺的研究[J]. 油脂工程技术, 2007(8): 83-86.
- [13] 马森, 卢家炯, 初兰娜, 等. 超声波辅助提取啤酒废酵母中活性成分的研究[J]. 四川食品与发酵, 2008, 44(6): 10-13.
- [14] 董元彦, 李宝华, 路福绥. 物理化学[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 7-159.
- [15] 王丽, 张英华. 大豆分离蛋白的凝胶性及其应用的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(4): 96-99.