

高粱蛋白的碱法提取工艺及营养价值评价

李浩丽^{1,2,3}, 尹方平^{1,2,3}, 孙旭阳^{1,2,3}, 汤晓智^{1,2,3*}

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院, 南京 210023; 2. 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 南京 210023; 3. 江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室(南京财经大学), 南京 210023)

摘要: 采用碱提酸沉法提取高粱谷蛋白, 研究了 NaOH 浓度、液料比、提取温度和提取时间 4 个因素对高粱蛋白提取率的影响, 通过正交试验优化得到高粱谷蛋白的最佳提取条件为 NaOH 浓度 0.15%, 液料比 14:1 (mL·g⁻¹), 温度 40℃, 提取时间 1.5 h, 此条件下蛋白质提取率为 21.57%, 最终得到的蛋白质纯度为 85.47%。对该蛋白质进行氨基酸组成分析以及营养价值评价, 结果表明, 该蛋白质必需氨基酸与总氨基酸的比值 (E/T) 37.25%, 营养价值良好。凝胶电泳表明所提取高粱蛋白主要条带集中在 43.0 kDa, 为高粱谷蛋白。

关键词: 高粱蛋白; 碱提酸沉法; 营养评价

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)04-0589-06

Extraction process of sorghum protein by alkaline method and the nutritional value evaluation

LI Haoli^{1,2,3}, YIN Fangping^{1,2,3}, SUN Xuyang^{1,2,3}, TANG Xiaozhi^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023;

2. Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, Nanjing 210023;

3. Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023)

Abstract: In this paper, sorghum protein was extracted by alkali extraction and acid precipitation. The optimum extraction conditions for sorghum protein by orthogonal test were 0.15% NaOH at the ratio of liquid to solid 14:1 (mL·g⁻¹), 40℃ and extracting for 1.5 h. Under this condition, protein extraction rate was 21.57% and the final protein purity was 85.47%. The amino acid composition analysis and nutritional value evaluation of the protein showed that the ratio of the essential amino acids to the total amino acids (E/T) of the protein was 37.25%, and the nutritional value was good. SDS-PAGE electrophoresis showed that the main band of the extracted sorghum protein was concentrated at 43.0 kDa, which is sorghum glutenin.

Key words: sorghum protein; alkali extraction and acid precipitation; nutrition assessment

高粱在中国种植广泛, 在秦岭、黄河以北地带分布较多。2017 年中国的高粱消费量达 1 000 万 t, 然而相对于小麦、玉米等大宗粮食产品, 高粱的价值发掘和利用经验还很缺乏。到目前为止, 高粱利用主要以淀粉为主, 应用于酿酒、糖料、动物饲料、生物能源等多个方面^[1], 而对高粱蛋白的利用很少, 一方面是由于高粱蛋白消化率低、溶解性差, 另一方面是因为高粱蛋白提取的研究比较少^[2]。已有的关于高粱蛋白的提取研究主要采用有机溶剂提取法和还原剂提取法 2 种, 并且主要用于高粱醇溶蛋白

的提取^[3-7], 关于谷蛋白的提取研究还鲜有报道。而谷蛋白在高粱中含量高于醇溶蛋白, 氨基酸组成优于醇溶蛋白^[8], 有必要对高粱谷蛋白提取进行研究。

在蛋白的提取方法中, 碱法因具有操作简单成本低的优点而被广泛使用。碱法主要是应用于谷蛋白的提取, 因为谷蛋白可以溶解于稀酸和稀碱, 而不溶于水 and 盐溶液。杜金娟^[9]利用碱提法提取甜高粱谷蛋白, 但提取率较低, 仅为 11.23%; 碱法用于其他粮食产品谷蛋白的提取已有较高的提取率, 如张铁^[10]对玉米黄粉进行膨化预处理, 然后利用碱法

收稿日期: 2018-12-19

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD)资助。

作者简介: 李浩丽, 实验师。E-mail: 274088448@qq.com

* 通信作者: 汤晓智, 教授。E-mail: warmtxz@njue.edu.cn

提取谷蛋白,提取率可达 50.12%。杨美莲和赵丽娜^[11]采用碱法提取甜荞麦麸皮中的蛋白质,得到了最佳提取条件为温度 45℃,时间 4 h,料液比 1:25,沉淀 pH 值 10.5,提取率可达 70.5%;然而利用碱法提取高粱谷蛋白的高效工艺尚鲜见报道。

本研究利用碱提酸沉法提取高粱谷蛋白,并根据单因素试验的结果设计正交试验进行提取工艺优化,得到高粱蛋白碱提酸沉的最优提取条件,并对所提取的蛋白质进行氨基酸组成成分分析及凝胶电泳分析,旨在为高粱谷蛋白的生产和深度利用提供一定的基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

脱壳高粱米:购于苏果超市;Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(索莱宝生物科技有限公司);氢氧化钠、盐酸、浓硫酸、石油醚、乙醇、冰醋酸、十二烷基磺酸钠(SDS)、甘氨酸、2-巯基乙醇(2-Me)(国药化学集团有限公司),所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器

H1850R 离心机(湖南湘仪仪器公司);RG-18 恒温加热磁力搅拌器(予华仪器公司);JXFM110 锤式旋风磨(上海嘉定粮油仪器公司);pHS-3C 精密数显 pH 计(上海精密科学仪器厂);K-360 凯氏定氮仪(瑞士 Buchi 公司);BD6 垂直电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 高粱米基本成分分析 脱壳高粱米经锤式旋风磨粉碎过 60 目筛,得到微细高粱粉,为后续实验做准备。

(1)高粱粉粗蛋白含量测定:参照 AACC46-11A,微量凯氏定氮法^[12];

(2)高粱粉粗脂肪含量测定:参照 AACC 30-25,测定粗脂肪含量^[13];

(3)高粱粉水分含量测定:参照 AACC 44-19,135℃烘箱干燥法^[14];

(4)高粱粉灰分的测定:参照 GB5505-85,550℃灼烧法(GB5505-85);

(5)高粱粉淀粉含量测定:参照 GB5514-85,酸水解法(GB5514-85)。

1.3.2 碱法提取高粱蛋白的试验流程 称取高粱粉置于石油醚中(溶剂:高粱粉,7:1)在室温条件下震荡 8 h 后 40℃低温烘干。取脱脂后高粱粉于烧杯中,按一定比例加入 NaOH 溶液,用恒温加热磁力搅拌器,搅拌提取一定时间,5 000 r·min⁻¹ 离心 20

min,使用试剂盒测定上清液的蛋白含量。上清液冷却后调节 pH 为 5.0,静置 1.5 h,离心取沉淀,继续将沉淀水洗并离心 3 次,弃去上清液,冷冻干燥后即得高粱碱溶蛋白质(简称冻干蛋白粉)。

1.3.3 单因素试验设计 固定其他反应条件,分别设定料液比(碱液:高粱粉)为 8:1、10:1、12:1、14:1、16:1、18:1 和 20:1,NaOH(*W/V*)浓度为 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10%、0.15%和 0.20%,提取温度为 20、30、40、50 和 60℃,提取时间为 0.5、1、1.5、2、2.5 和 3 h,离心取上清,使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒,测定高粱蛋白浓度,计算提取率,公式如下:

$$\text{蛋白质提取率} = \frac{C_1 \times V}{C_0 \times m} \times 100 \quad (1)$$

式(1)中: C_1 是上清蛋白质浓度(mg·mL⁻¹); V 是上清体积(mL); C_0 是高粱粗蛋白含量(%); m 是 高粱粉质量(mg)。

1.3.4 正交试验设计 依据单因素试验结果,以料液比、NaOH 浓度、温度及提取时间为影响因素,设计 L₉(3⁴)正交试验。

1.3.5 高粱碱溶蛋白的氨基酸组成分析 准确称取 0.1 g 高粱蛋白于水解管中,加入 10 mL 6 mol·L⁻¹ HCl(减压条件下)密封水解管放入烘箱,110℃水解 24 h。将水解后的样品过滤后放入圆底烧瓶,旋蒸去除盐酸。残留样品用 0.02 mol·L⁻¹ HCl 定容至 50 mL,吸取稀释后的水解液经 0.22 μm 滤膜过滤,装入进样瓶中通过氨基酸分析仪测定。采用碱水解的方法测定色氨酸含量。

1.3.6 高粱碱溶蛋白的营养价值评价计算公式

$$AAS = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (2) \quad [15]$$

式(2)中: AAS 为氨基酸评分; m_1 为每克高粱蛋白中某种必需氨基酸含量(mg); m_2 为每克参考蛋白中该种必需氨基酸之和(mg)。

注:以 1973 年 FAO/WHO 推荐的模式(学龄前儿童)为标准蛋白。

$$\frac{E}{F} = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \times 100 \quad (3)$$

式(3)中: E/F 为必需氨基酸与总氨基酸之比; α_1 为 8 种必需氨基酸之和; α_2 为全部氨基酸之和。预测的蛋白质功效比值(PER):

$$PER I = -0.684 + 0.456 (\text{Leu}) - 0.047 (\text{Pro})$$

$$PER II = -0.468 + 0.454 (\text{Leu}) - 0.105 (\text{Tyr})$$

$$PER III = -1.816 + 0.435 (\text{Met}) + 0.780 (\text{Leu}) + 0.211 (\text{His}) - 0.944 (\text{Tyr})$$

1.3.7 蛋白质体外消化率 (IVPD) 的测定 参照 Hamaker 等^[16]的实验方法。取蛋白质样品 0.2 g 加入 35 mL 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸钾缓冲液, 调节溶液 pH 为 2.0, 并加入 1.5 g·L⁻¹ 胃蛋白酶在 37℃ 水浴恒温条件下振荡反应 2 h 后, 加入 2 mL 2.0 mol·L⁻¹ NaOH 溶液终止反应。结束后 5 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 收集沉淀并用 15 mL 超纯水水洗 3 次后冻干, 采用微量凯氏定氮法测定沉淀中未消化的蛋白质含量。根据式 (4) 计算 IVPD:

$$IVPD/\% = \frac{M-m}{M} \times 100 \quad (4)$$

式 (4) 中: M 为样品中蛋白质含量 (%); m

为沉淀中未消化的蛋白质含量 (%)。

1.3.8 SDS-PAGE 凝胶电泳分析高粱碱溶蛋白 方法见文献[17]。

1.3.9 数据处理和统计分析 采用 Origin8.0 和 SPSS18.0 数据处理软件对数据进行分析, 并用 Tukey 法进行显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 高粱基本成分分析

测得高粱米的各组分含量 (干基), 结果如表 1 所示。脱壳后的高粱中淀粉含量最高, 占比达 71.61%, 蛋白质含量次之, 为 10.17%。

表 1 脱壳高粱各组分含量

Table 1 Contents of each component in shelled sorghum

| 成分 Component | 水分 Water | 淀粉 Starch | 蛋白质 Protein | 粗脂肪 Crude fat | 灰分 Ash |
|--------------|------------|------------|-------------|---------------|-----------|
| 含量 Content | 12.48±0.27 | 71.61±0.74 | 10.17±0.12 | 2.34±0.31 | 2.10±0.19 |

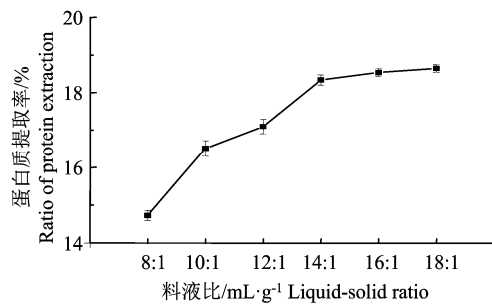


图 1 液料比对蛋白质提取率的影响

Figure 1 Effect of different liquid-solid ratios on the protein yield

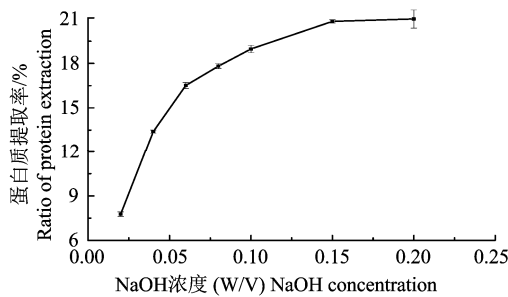


图 2 NaOH 浓度对蛋白质提取率的影响

Figure 2 Effect of different sodium hydra concentrations on the protein yield

2.2 液料比对蛋白质提取率的影响

由图 1 可知, 当液料比在 8:1~14:1 范围内变化时, 蛋白质提取率随液料比增大而显著增加, 当液料比达到 14:1 之后, 蛋白质提取率变化不显著。在蛋白质的碱提过程中, 若浸提液用量较少, 则蛋白质无法充分溶出, 提取率较低; 但当碱液增加到一定值, 若继续增加碱液量, 提取率变化不大。因此, 选择最适的液料比为 14:1。

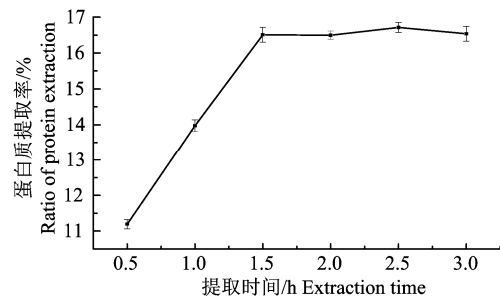


图 3 提取时间对蛋白质提取率的影响

Figure 3 Effect of different extraction time on the protein yield

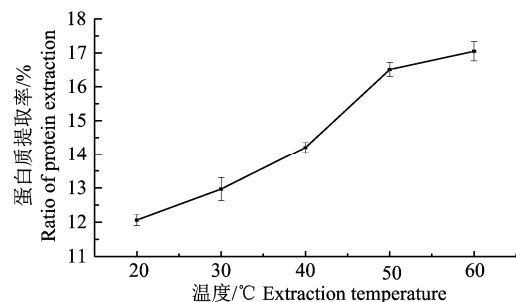


图 4 温度对蛋白质提取率的影响

Figure 4 Effect of extraction temperature on the protein yield

2.3 NaOH 浓度对蛋白质提取率的影响

由图 2 可知, 蛋白质提取率受 NaOH 浓度的影响较大。随着碱液浓度的增加, 蛋白提取率总体呈现上升趋势, 变化显著; 当 NaOH 浓度达到 0.15% 之后, 蛋白提取率变化不再显著。由于高粱蛋白与淀粉结合紧密的特性, 较难溶出, 较高浓度的碱液可以使其结构变得疏松, 促进蛋白与淀粉的分离。若碱液浓度过高, 可能使淀粉发生糊化, 提取时溶

液粘度增加,不利于后续离心分离,并且可能导致赖氨酸与丙氨酸或胱氨酸发生缩合反应产生有毒物

质 Lysinoaline 等^[18],造成蛋白质营养价值的降低。因此,选择最适 NaOH 浓度为 0.15%。

表 2 正交试验因素和水平

Table 2 The factors and levels of the orthogonal test

| 水平 Level | (A) NaOH 浓度/% NaOH concentration | (B) 液料比/mL·g ⁻¹ (V/W) Liquid-solid ratio | (C) 温度/℃ Temperature | (D) 时间/h Time |
|-------------|-------------------------------------|--|-------------------------|------------------|
| 1 | 0.05 | 10:1 | 40 | 1 |
| 2 | 0.10 | 12:1 | 50 | 1.5 |
| 3 | 0.15 | 14:1 | 60 | 2 |

表 3 正交试验结果

Table 3 The result of orthogonal test

| 试验号 Test No. | A | B | C | D | 提取率/% Extraction ratio |
|-----------------|--------|--------|--------|--------|---------------------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 13.26 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 15.87 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 17.21 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 14.58 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 13.91 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 18.72 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 19.55 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 20.18 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 18.79 |
| k1 | 15.447 | 15.797 | 17.387 | 15.320 | |
| k2 | 15.737 | 16.653 | 16.890 | 18.047 | |
| k3 | 19.507 | 18.240 | 16.413 | 17.323 | |
| R | 4.060 | 2.443 | 0.973 | 2.727 | |

2.4 提取时间对蛋白质提取率的影响

由图 3 可知,随着提取时间的增加,蛋白质提取率显著增加。当提取时间到 1.5 h 之后,随时间延长,提取率变化不显著。因此,选择最适的提取时间为 1.5 h。

2.5 提取温度对蛋白质提取率的影响

由图 4 可知,随着温度的上升,蛋白质提取率显著增加;当温度达到 50℃后,蛋白质提取率变化不再显著。其原因可能是随着温度的升高,加剧了分子运动速度,促进蛋白质溶出。但是温度不能过高,当温度继续上升达到 70℃,淀粉发生糊化,提取时溶液的粘度过大,难以离心分离,实验操作有一定困难。因此,选择最适的提取温度为 50℃。

2.6 正交试验设计及结果

根据单因素试验的结果设计正交试验,各因素水平如表 2,正交试验结果如表 3。

由方差分析结果(表 4)可知,影响碱溶蛋白提取率大小的因素先后顺序是 A>D>B>C,即 NaOH 浓度>时间>液料比>温度,NaOH 浓度影响显著,其余 3 个因素影响均为不显著。最佳的提取条件是 A₃D₂B₃C₂,即 NaOH 0.15%,液料比 14:1,温度 50℃,反应时间 1.5 h。在此条件下进行 3 次蛋白质提取的验证试验,蛋白质提取率平均为 21.57%,采用凯氏定氮法测定该冻干蛋白粉的蛋白质含量,最终得到的高粱碱溶蛋白质纯度为 85.47%。

表 4 正交试验方差分析

Table 4 The orthogonal analysis of variance

| 方差来源 Source of variance | 偏差平方和 SS | 自由度 DF | 均方 MS | F 值 F value | 显著性 Significance |
|----------------------------|-------------|-----------|----------|----------------|---------------------|
| A | 30.781 | 2 | 15.390 | 21.657 | * |
| B | 9.221 | 2 | 4.611 | 6.488 | |
| C | 1.421 | 2 | 0.711 | 0.154 | |
| D | 11.971 | 2 | 5.986 | 8.423 | |
| 误差 Error | 1.421 | 2 | 0.711 | | |

注: $F_{0.1(2,2)}=9.00$; $F_{0.05(2,2)}=19.00$; $F_{0.01(2,2)}=99.00$

2.7 高粱碱溶蛋白的氨基酸组成分析及营养价值评价

表 5、表 6 与表 7 为高粱谷蛋白的氨基酸组成成分分析。由表 7 可见碱法提取的高粱蛋白氨基酸组成中芳香族、疏水性、支链氨基酸占比较高,含量丰富。有研究表明肽链链端含有芳香族氨基酸、

疏水性氨基酸、支链氨基酸,用来制备 ACE 抑制肽可能具有较强的抑制活性^[18]。表 8 为高粱蛋白的营养评价。综合表 5 和表 8 可以看出,高粱谷蛋白中除了赖氨酸、色氨酸,其他的氨基酸的 AAS 均大于 1,说明其氨基酸含量大多满足 FAO/WHO 推荐标准,但在必需氨基酸组成上还是有所欠缺,色

氨酸、赖氨酸量偏低。蛋白质的营养价值主要是由氨基酸含量和配比所决定的, 尤其是必需氨基酸的含量及比例。依据 FAO/WHO 1973 年推荐标准, 必需氨基酸与总氨基酸的比值 (E/T) 在 36% 以上的为高品质蛋白, 而本试验所得高粱碱溶蛋白的 E/T 为 37.25%, 符合推荐要求, 营养价值良好。同时, 预测蛋白质效率比 (PER) 常作为判断蛋白质营养价值的评价指标, 通常认为蛋白的 PER 大于 2.0 时, 该蛋白的营养价值较高。高粱碱溶蛋白 PER I、PER

II 均大于 2.0, PER III 略小于 2.0, 说明其蛋白质氨基酸组成较为合理, 营养价值整体水平较好, 有一定的研究利用价值。由于高粱碱溶蛋白赖氨酸、色氨酸含量较低, 为限制性氨基酸, 若要将高粱碱溶蛋白投入实际生产应用中, 则需要依据蛋白质互补原则, 补充其他赖氨酸、色氨酸含量高的蛋白质以保证蛋白质营养均衡。此外, 表 8 显示, 高粱谷蛋白消化率为 74.32%, 远高于通常所报道的高粱蛋白的消化率^[19]。

表 5 高粱碱溶蛋白的必需氨基酸组成

Table 5 The essential amino acid composition of sorghum alkali-soluble protein

| 氨基酸种类 Amino acids | 氨基酸含量 /mg·g ⁻¹ (protein) Amino acid content | AAS | FAO/WHO 推荐模式 | |
|----------------------|--|------|-----------------------------|----------|
| | | | FAO/WHO recommendation mode | |
| | | | 小孩 Child | 成人 Adult |
| 苏氨酸 Thr | 4.35 | 1.08 | 4.00 | 0.9 |
| 缬氨酸 Val | 5.91 | 1.18 | 5.00 | 1.3 |
| 蛋氨酸 Met | 3.13 | | | |
| 蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys | 3.16 | 1.26 | 2.50 | 1.7 |
| 苯丙氨酸 Phe | 4.74 | | | |
| 苯丙氨酸+酪氨酸 Phe+Tyr | 9.77 | 1.63 | 6.00 | 1.9 |
| 异亮氨酸 Ile | 4.97 | 1.24 | 4.00 | 1.3 |
| 亮氨酸 Leu | 8.24 | 1.89 | 7.00 | 1.9 |
| 赖氨酸 Lys | 2.82 | 0.51 | 5.50 | 1.6 |
| 色氨酸 Trp | 0.83 | 0.83 | 1.00 | 1.0 |
| 组氨酸 His | 2.26 | | | |

表 6 高粱碱溶蛋白的非必需氨基酸组成

Table 6 The nonessential amino acid composition of sorghum alkali-soluble protein

| 氨基酸种类 Amino acids | 含量/mg·g ⁻¹ (protein) Content | 氨基酸种类 Amino acids | 含量/mg·g ⁻¹ (protein) Content |
|-------------------|---|-------------------|---|
| 天冬氨酸 Asp | 6.94 | 丙氨酸 Ala | 10.00 |
| 谷氨酸 Glu | 20.00 | 酪氨酸 Tyr | 5.03 |
| 丝氨酸 Ser | 4.39 | 胱氨酸 Cys | 0.30 |
| 甘氨酸 Gly | 2.62 | 脯氨酸 Pro | 6.08 |
| 精氨酸 Arg | 7.39 | | |

表 7 高粱碱溶蛋白的氨基酸组成

Table 7 The amino acid composition of sorghum alkali-soluble protein

| 氨基酸种类 Amino acids | 含量/mg·g ⁻¹ Content |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 必需氨基酸 Essential amino acid | 37.25 |
| 芳香族氨基酸 Aromatic amino acid | 10.6 |
| 支链氨基酸 Branch amino acid | 19.12 |
| 疏水性氨基酸 Hydrophobic amino acid | 43.28 |

注: 芳香族氨基酸包括苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸; 支链氨基酸包括: 缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸; 疏水性氨基酸包括: 亮氨酸、甘氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸。

Note: aromatic amino acid: Phe, Tyr and Trp; branched chain amino acid: Val, Ile and Leu; hydrophobic amino acid: Leu, Gly, Ala, Ile, Val, Phe and Pro.

2.8 高粱碱溶蛋白质相对分子质量分析

图 5 是高粱碱溶蛋白质 (SP1) 经过考马斯亮蓝 R250 染色后的电泳图谱。与低分子量蛋白质 Marker 条带对比可以发现, 目标蛋白主要显示有 3 个条带, 相对分子质量分别为 43.0、27.0 和 15.0 kDa 左右, 说明 SP1 主要含有 3 种不同的蛋白组分。研究表明, 依据蛋白质相对分子量的不同^[20-21], 高粱主要蛋白成分醇溶蛋白可分为 23~25 kDa 的 α -醇溶蛋白、16~20 kDa 的 β -醇溶蛋白和 28 kDa 的 γ -醇溶蛋白 3 种, 图中 27.0 和 15.0 kDa 条带表明目标蛋白中包括了部分醇溶蛋白质, 43.0 kDa 条带部分主要是高粱谷蛋白。

表 8 高粱蛋白的营养评价

Table 8 Nutritional evaluation of sorghum protein

| 项目 Item | 高粱碱溶蛋白 Sorghum alkali-soluble protein |
|--|--|
| 必需氨基酸 (E/T) /% Essential amino acid | 37.25 |
| 第一限制性氨基酸 First restrictive amino acid | 赖氨酸 Lys |
| 第二限制性氨基酸 Second restrictive amino acid | 色氨酸 Trp |
| PER I | 2.79 |
| PER II | 2.74 |
| PER III | 1.70 |
| 蛋白质消化率/% Digestibility | 74.32±0.17 |

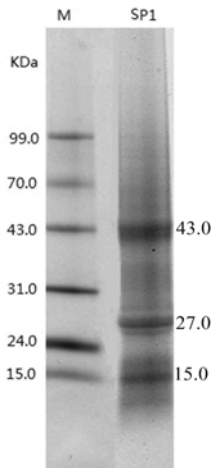


图 5 高粱碱溶蛋白的 SDS-PAGE 图谱

Figure 5 SDS-PAGE spectrogram of sorghum alkali-soluble protein

3 结论

通过单因素和正交试验优化高粱碱溶蛋白提取工艺, 得到最佳提取条件为 NaOH 浓度 0.15%, 液料比 14:1, 提取温度 50℃, 提取时间 1.5 h。在此条件下进行 3 次验证试验, 蛋白质提取率为 21.57%, 最终得到的蛋白质纯度为 85.47%。

在最佳条件下提取高粱蛋白并测定蛋白质的氨基酸组成。研究表明高粱碱溶蛋白必需氨基酸与总氨基酸的比值 (E/T) 37.25%, 消化率为 74.32%, 营养价值良好, 有一定的研究利用价值。

通过 SDS-PAGE 凝胶电泳对蛋白质进行分子量分析, 结果表明高粱碱溶蛋白主要存在相对分子质量为 43.0、27.0 和 15.0 kDa 左右的 3 种蛋白组分, 其中主要条带集中在 43.0 kDa, 为高粱谷蛋白。

参考文献:

- [1] 田新惠, 唐玉明, 任道群, 等. 酿酒高粱蛋白提取工艺优化及其亚基组成分析[J]. 食品工业, 2018, 39(3): 48-51.
- [2] DUODU K G, TAYLOR J R N, BELTON P S, et al. Fac-

tors affecting sorghum protein digestibility[J]. J Cereal Sci, 2003, 38(2): 117-131.

- [3] HAMAKER B R, MOHAMED A A, HABBEN J E, et al. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method [J]. Cereal Chem, 1995, 72(6): 583-588.
- [4] PARK S H, BEAN S R. Investigation and optimization of the factors influencing sorghum protein extraction[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(24): 7050-7054.
- [5] WANG Y, TILLEY M, BEAN S, et al. Comparison of methods for extracting kafirin proteins from sorghum distillers dried grains with solubles[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(18): 8366-8372.
- [6] CREMER J E, BEAN S R, TILLEY M M, et al. Grain sorghum proteomics: integrated approach toward characterization of endosperm storage proteins in kafirin allelic variants[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(40): 9819-9831.
- [7] WONG J H, LAU T, CAI N, et al. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm[J]. J Cereal Sci, 2009, 49(1): 73-82.
- [8] 张壮. 不同高粱品种食用品质性状的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016: 7-8.
- [9] 杜金娟. 甜高粱 ACE 抑制肽的制备及其特性研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2013: 12-13.
- [10] 张铁. 玉米黄粉谷蛋白的提取、酶解及物性研究[D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学, 2012: 14-21.
- [11] 杨芙莲, 赵丽娜. 甜荞麦麸皮蛋白质提取工艺研究[J]. 陕西科技大学学报(自然科学版), 2015, 33(1): 126-130.
- [12] AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Crude protein-Improved kjeldahl method, copper catalyst modification: AACC 46-11A [S]. USA: AACC, 2002: 3.
- [13] AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Crude fat in wheat, corn, and soy flour, feeds, and mixed feeds: AACC 30-25 [S]. USA: AACC, 2002: 2.
- [14] AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Moisture-air-oven method, drying at 135°C: AACC44-19 [S]. USA: AACC, 2002: 1.
- [15] 王光慈. 食品营养学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [16] HAMAKER B R, KIRLEIS A W, MERTZ E T, et al. Effect of cooking on the protein profiles and in vitro digestibility of sorghum and maize[J]. J Agric Food Chem, 1986, 34(4): 647-649.
- [17] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 42-46.
- [18] DE GROOT A P, SLUMP P. Effects of severe alkali treatment of proteins on amino acid composition and nutritive value[J]. J Nutr, 1969, 98(1): 45-56.
- [19] CUSHMAN D W, CHEUNG H S, SABO E F, et al. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme[J]. Am J Cardiol, 1982, 49(6): 1390-1394.
- [20] 戴凌燕, 蔡欣月, 陈卓, 等. 高粱醇溶蛋白的研究进展[J]. 食品工业, 2018, 39(3): 253-257.
- [21] 耿存花. 高粱醇溶蛋白的提取及应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014: 11-12.