

双液相技术对亚麻蛋白氨基酸组成及其疏水性的影响

李高阳^{1,2}, 丁霄霖¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214036 2. 湖南省农产品加工研究所, 湖南长沙 410125)

摘要:通过比较亚麻籽双液相(TPS)粕、低温粕、高温粕及其分离蛋白中氨基酸组成及蛋白疏水性,考察双液相技术对亚麻蛋白氨基酸组成和疏水性的影响。研究表明,双液相技术有利于提高亚麻粕和分离蛋白中蛋白质的含量,分别达到37.4%和63.6%;必需氨基酸所占比例分别为37.91%和35.98%,略低于低温粕而高于高温粕;同时降低蛋白质疏水性,TPS分离蛋白的疏水性Q值为1051.4cal/mol略高于低温分离蛋白的1047.8cal/mol小于大豆分离蛋白和油菜籽分离蛋白。TPS蛋白中氨基酸组成平衡合理,是一种优质食品蛋白原料。

关键词:双液相系统,亚麻粕,氨基酸,疏水性

Abstract The effect of two-phase-system was studied on the amino acid composition and hydrophobicity of proteins extracted from TPS flake, low and high temperature soybean flake. The results indicate that two-phase-system could improve protein content in flaxseed flake protein concentrate and flaxseed protein isolate to 37.4% and 63.6% respectively. The essential amino acid content of TPS protein concentrate was 37.91% and that in TPS protein isolate was 35.98% which is higher than that obtained with low temperature soy flake and lower than with high temperature soy flake. Hydrophobicity of flaxseed protein product was reduced. The hydrophobicity of TPS protein isolate is lower than that obtained with soy flake and rapeseed. Q value of TPS protein isolate is 1044.25cal/mol less than that obtained with low temperature soy flake. TPS protein containing rational amino acids and is a good food protein source.

Key words two-phase system, flaxseed flake, amino acid, hydrophobicity

中图分类号: TS201.2⁴ 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2006)01-0057-04

亚麻籽是我国第四大油料作物,年产量已达42万吨,其蛋白质含量丰富,据相关报道含量可达20%以上,是一种优质的蛋白资源。亚麻壳中含蛋白

20%,子叶中含蛋白28%,品种、产地、种植方式、气候均对其有影响^[1]。虽然亚麻籽有很高的利用价值,但因其中毒性物质和抗营养因子,如粘胶、植酸、变应原、生氰糖苷、胰蛋白酶抑制剂、抗V_{B5}因子等的存在,尤其是生氰糖苷的毒性,使其应用仅局限于限量添加到哺乳动物饲料中^[3,4]。目前在亚麻籽油加工中大多采用高温蒸炒工艺,虽然能破坏亚麻粕中亚麻甾苷和抗营养因子,但也造成亚麻蛋白的严重变性,影响了亚麻粕的进一步利用。双液相浸出技术是加拿大多伦多大学Rubin Diosady^[5]等人提出的,是进行油料提油去毒的新技术,在油菜籽的提油去硫苷和棉籽的提油去棉酚中取得了很好的效果。本研究对亚麻籽分别经含水乙醇正己烷双液相浸出、正己烷单相低温浸出和高温压榨三种不同提油工艺处理后的亚麻粕进行蛋白氨基酸和疏水性分析,考察TPS技术对亚麻粕和分离蛋白中氨基酸组成及其疏水性的影响,为下一步亚麻蛋白的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

亚麻籽、高温粕 宁夏银川福德生物食品工程有限公司提供;TPS粕 实验室自制,亚麻籽粉碎过筛后经含水酒精正己烷双液相体系提油去甾苷,脱溶后得到的亚麻粕;低温粕 实验室自制,亚麻籽粉碎过筛后经正己烷单相体系提油,脱溶后得到的亚麻粕;盐酸、磺基水杨酸等 均为分析纯和色谱纯;双蒸水。

美国安捷伦液相色谱仪 Agilent 1100,中草药粉碎机, TCL-16G 台式高速冷冻离心机, LGJ-1G 冷冻干燥机。

1.2 氨基酸分析酸水解预处理方法

精确称取亚麻籽仁或亚麻固体样品500mg左右于特制水解管中,加入8mL 6N的HCl,在真空状态

收稿日期: 2005-05-27

作者简介: 李高阳(1971—),男,博士研究生,主要从事食品科学与工程方面的技术研究。

下维持 10min,用酒精喷灯进行封口。然后放置 110℃ 的烘箱中水解 24h,取出冷却后小心全部转移至 25mL容量瓶中,取少量双蒸水冲洗三遍,定容至刻度摇匀,用双层滤纸过滤,取滤液 1mL于 25mL小烧杯中,于真空干燥器中进行干燥(40℃)后,将小烧杯取出加入 2mL 0.02N HCl,在空气中放置 30min,搅拌均匀,即可上机测定氨基酸。

1.3 亚麻籽中游离氨基酸分析前处理(除蛋白)方法

精确称取亚麻仁样品 200mg,加入 10mL 5%的磺基水杨酸沉淀 2h,吸取一定量的上清液,离心(10000r/min)15min,取一定体积的上清液调 pH至 2,定容,用 0.45μm微滤膜过滤至样品杯中,上机测定。

1.4 色谱条件

色谱柱型 4.0×125mmC18;柱温 40℃;流速 1.0mL/min;波长 338nm,262nm(P10);流动相 A 为 20mmol/L 醋酸钠液,流动相 B 为 20mmol/L 醋酸钠液 甲醇 乙腈=1:2:2(v/v)。

1.5 TPS分离蛋白和低温粕分离蛋白的制备

亚麻分离蛋白的提取采取碱溶酸沉法,取 100g TPS浸出粕,用 pH8(用 2mol/L的 NaOH调 pH)的蒸馏水 3000mL分三次进行浸提,第一次加 1500mL,搅拌 2h后经 2000r/min离心 20min,倾出上清液,沉淀渣再分别用 750mL蒸馏水按上述方法浸提二次,合并上清液,用 2mol/LHCl溶液调等电点 pH4.2,再经 2000r/min离心 20min蛋白沉淀完全,调蛋白沉淀至 pH=7,冷冻干燥得 TPS分离蛋白。

低温浸出粕分离蛋白(以下简称 LT分离蛋白)制取方式同上。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白原料中氨基酸组成

测定的亚麻仁游离氨基酸、亚麻仁、高温粕、TPS粕、TPS分离蛋白和 LT分离蛋白的氨基酸组成和含量见表 1,氨基酸的相对质量组成见表 2。TPS分离蛋白和大豆分离蛋白中必需氨基酸的含量及 FAO/WHO推荐必需氨基酸的比较分析见表 3。

由表 1可知,亚麻籽提油过程中前处理的脱壳工艺对亚麻粕和分离蛋白中蛋白质的含量有很大影响。蛋白质含量从高温粕的 28.699g/100g提高到 TPS粕的 37.354g/100g,同时相同的分离蛋白提取工艺,TPS分离蛋白中蛋白质的含量可达 63.549g/100g,而 LT分离蛋白中蛋白质含量仅为 37.644g/100g,远低于 TPS分离蛋白。这可能与亚麻籽壳中富含亚麻胶有关,提高了溶液的粘稠系数,在蛋白的沉降过程中,蛋白与一部分多糖一起沉淀下来,降低了分离蛋白中蛋白质的含量。

由表 2可知,五种不同亚麻蛋白原料的蛋白质中必需氨基酸丰富,含量大体一致,从 35.451g/100g到 38.114g/100g,略低于大豆分离蛋白的 39.4g/100g。从不同蛋白原料的氨基酸组成来看,高温压榨对赖氨酸的损耗较大,双液相体系提油去毒对胱氨酸和赖氨酸有一定影响。同时比较发现,亚麻 TPS分离蛋白的制取对赖氨酸、胱氨酸和蛋氨酸的影响很大,分别损失了 51.4%、33.0%和 19.0%,赖氨酸为亚麻分离蛋白中第一限制性氨基酸。

近年来人们研究发现,食物蛋白⁸对冠心病、肾病和癌症有一定的效果。谷氨酸⁹含量丰富的食物资源能支持机体免疫系统和提高运动能力,精氨酸¹⁰含

表 1 亚麻仁、压榨粕和 TPS粕中蛋白氨基酸组成

氨基酸种类	水解氨基酸含量 g/100g					亚麻仁游离氨基酸含量
	亚麻仁	高温粕	TPS粕	TPS分离蛋白	LT分离蛋白	
天冬氨酸 Asp	2.067	2.908	3.744	7.400	4.058	0.034
谷氨酸 Glu	4.220	6.713	8.040	14.152	9.037	0.066
丝氨酸 Ser	1.074	1.460	2.042	3.067	1.563	0.011
组氨酸 His	0.443	0.651	0.802	1.420	0.840	0.008
甘氨酸 Gly	1.251	1.823	2.292	3.251	2.266	0.026
苏氨酸 Thr	0.838	1.193	1.556	2.253	1.313	0.015
丙氨酸 Ala	1.064	1.257	1.889	3.872	2.103	0.013
精氨酸 Arg	1.955	3.055	3.579	6.444	3.629	ND
酪氨酸 Tyr	0.509	0.739	0.851	1.600	0.874	0.004
胱氨酸 Cys-s	0.214	0.760	0.343	0.391	0.200	ND
缬氨酸 Val	1.180	1.593	2.034	3.843	2.315	0.014
蛋氨酸 Met	0.394	0.518	0.600	0.827	0.501	ND
苯丙氨酸 Phe	1.113	1.600	1.936	3.936	2.098	0.018
异亮氨酸 Ile	0.948	1.238	1.627	3.384	1.930	0.007
亮氨酸 Leu	1.361	2.047	2.473	3.872	2.377	0.004
赖氨酸 Lys	0.872	0.542	1.619	1.337	0.897	0.003
脯氨酸 Pro	1.156	1.282	1.927	2.500	1.643	0.022
总必需氨基酸	7.874	10.881	13.841	22.863	13.345	0.073
合计	20.659	28.699	37.354	63.549	37.644	0.245

表 2 亚麻仁、高温粕和 TPS粕中蛋白氨基酸相对质量组成

氨基酸种类	氨基酸相对含量 (g/100g)					
	亚麻仁	高温粕	TPS粕	TPS分离蛋白	LT分离蛋白	大豆分离蛋白 ⁶
天冬氨酸 Asp	10.359	10.133	10.023	11.644	10.78	11.9
谷氨酸 Glu	20.427	23.391	21.524	22.269	24.006	20.5
丝氨酸 Ser	5.199	5.087	5.467	4.826	4.152	5.5
组氨酸 His	2.144	2.268	2.147	2.234	2.231	2.5
甘氨酸 Gly	6.055	6.352	6.136	5.116	6.019	4.0
苏氨酸 Thr	4.056	4.157	4.166	3.545	3.488	3.7
丙氨酸 Ala	5.150	4.380	5.057	6.093	5.587	5.4
精氨酸 Arg	9.463	10.645	9.581	10.140	9.640	7.8
酪氨酸 Tyr	2.464	2.575	2.278	2.518	2.322	3.7
胱氨酸 Cys-s	1.036	2.648	0.918	0.615	0.531	1.0
缬氨酸 Val	5.712	5.551	5.445	6.047	6.150	4.8
蛋氨酸 Met	1.907	1.805	1.606	1.301	1.331	1.1
苯丙氨酸 Phe	5.387	5.575	5.183	6.194	5.573	3.9
异亮氨酸 Ile	4.589	4.314	4.356	5.325	5.127	4.9
亮氨酸 Leu	6.588	7.133	6.62	6.093	6.314	7.7
赖氨酸 Lys	4.221	1.889	4.334	2.104	2.383	6.1
脯氨酸 Pro	5.596	4.467	5.159	3.934	4.365	5.3
总必须氨基酸	38.114	37.914	37.054	35.977	35.451	39.4

表 3 不同蛋白原料的必需氨基酸含量及 FAO/WHO推荐的氨基酸需求标准

氨基酸	氨基酸含量 (mg/g蛋白质)			FAO/WHO推荐的氨基酸需求标准 ⁷			
	TPS分离蛋白	大豆分离蛋白	面粉	1岁	2~5岁	10~12岁	成人
Thr	35.5	38.4	29.33	43	34	28	9
Cys+Met	19.3	68.1	38.7	42	25	22	17
Val	60.5	49.1	42.7	55	35	25	13
Ile	53.5	47.1	33.4	46	28	28	13
Leu	60.9	85.1	68.5	93	66	44	19
Tyr+Phe	87.1	96.6	77.8	72	63	22	19
His	22.3	25.4	21.9	26	19	19	16
Lys	21.0	63.4	26.6	66	58	44	16

量丰富的有预防心脏病的效果。另外,蛋白中赖氨酸和精氨酸比率低的¹¹比高的产生动脉粥样硬化和高血脂的几率低。亚麻蛋白和别的植物蛋白一样,也含有丰富的精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸。在亚麻仁和TPS粕中,赖氨酸和精氨酸的比率为0.446和0.452,基本处于一个稳定的指数,而TPS分离蛋白和LT分离蛋白中两者之比分别为0.207和0.247,小于亚麻粕的比率,更远小于大豆分离蛋白0.782的比率。

总而言之,TPS分离蛋白与大豆分离蛋白在氨基酸组成上大体相似,总必须氨基酸含量高且较为平衡,是食品工业上可利用的一种优质蛋白原料。

2.2 蛋白质的疏水性^{12 13}

蛋白质的疏水性计算,根据各种蛋白的氨基酸组成结果,算出每100g蛋白质中各种氨基酸的毫摩尔系数及氨基酸的总毫摩尔系数,再以总的毫摩尔数除以各个氨基酸的毫摩尔系数,其商与各个氨基酸侧链的疏水性值 Δf_i 相乘,即可算出各个氨基酸的疏水性值 ΔQ ,则蛋白质的疏水性值 Q 值就等于各个氨基酸疏水性值 ΔQ 的和,即:

$$\Delta Q_i = AA_i \cdot M_i \cdot \sum AA_i \cdot M_i \cdot \Delta f_i; Q = \sum \Delta Q_i$$

式中: AA_i 为100g蛋白质中每种氨基酸的含量(g); M_i 为各种氨基酸的摩尔质量(g/mol); $AA_i \cdot M_i$ 为100g蛋白质中氨基酸的总摩尔数(mol); Δf_i 为氨基酸侧链疏水性值(cal/mol); Q 值为蛋白质的疏水性值,不同亚麻粕中蛋白的疏水性值见表4。

由表4可知,亚麻籽在油料的提取过程中,不管是低温浸取粕还是TPS粕对亚麻蛋白质的疏水性(Q 值)都有影响,低于亚麻仁的 Q 值1073.7cal/mol,而TPS分离蛋白的疏水性比LT分离蛋白强, Q 值分别为1051.4cal/mol和1047.8cal/mol。高温对亚麻粕中蛋白的疏水性影响较大,高温粕的 Q 值为1029.7cal/mol,TPS粕的 Q 值为1044.3cal/mol。

由于不同亚麻蛋白原料的蛋白质疏水值都远小于1.4kcal/mol,根据Ney等人的研究可以预测,亚麻蛋白质水解产生苦味相对较小¹⁴。在TPS亚麻籽分离蛋白、油菜籽分离蛋白和大豆分离蛋白的蛋白质疏水性(Q 值)中,TPS分离蛋白最小,低于油菜籽分离蛋白的1116.0cal/mol和大豆分离蛋白的1194.6cal/mol,说明TPS分离蛋白比油菜分离蛋白和大豆分离蛋白的水解产物不易产生苦味,具有更好的开发水解产物

表 4 亚麻仁、压榨粕和 TPS粕中蛋白的疏水性 (Q 值)

氨基酸种类	分子量 g/mol	Δf cal/mol	每个氨基酸的 ΔQ (cal/mol)						
			亚麻仁	高温粕	TPS粕	SP TPS	SP LT	SSP	RSP ⁵
天冬氨酸 Asp	133.1	540	53.48	52.31	51.75	60.11	55.65	62.58	37.27
谷氨酸 Glu	147.1	550	97.19	111.29	102.41	105.95	114.22	99.36	100.81
丝氨酸 Ser	105.1	40	2.52	2.46	2.65	2.34	2.01	2.71	2.07
组氨酸 His	155.2	500	8.79	9.30	8.80	9.16	9.15	10.44	14.00
甘氨酸 Gly	75.1	0	0	0	0	0	0	0	0
苏氨酸 Thr	119.1	440	19.07	19.54	19.58	16.67	16.40	17.72	20.63
丙氨酸 Ala	89.1	730	53.69	45.66	52.72	63.52	58.25	57.35	51.50
精氨酸 Arg	174.2	730	50.46	56.77	51.09	54.07	51.41	42.37	37.24
酪氨酸 Tyr	181.2	2870	49.66	51.90	45.91	50.75	46.80	75.97	40.31
胱氨酸 Cys-s	120.2	—	—	—	—	—	—	—	—
缬氨酸 Val	117.1	1690	104.90	101.94	100.00	111.05	112.95	89.80	105.33
蛋氨酸 Met	149.2	1300	21.14	20.01	17.81	14.42	14.76	12.42	23.02
苯丙氨酸 Phe	165.2	2650	109.96	113.80	105.80	126.44	113.76	81.10	98.86
异亮氨酸 Ile	131.2	2970	132.19	124.27	125.48	153.39	147.69	143.79	117.38
亮氨酸 Leu	131.2	2420	154.63	167.42	155.38	143.01	148.20	184.11	170.24
赖氨酸 Lys	146.2	1500	55.11	24.66	56.58	27.47	31.11	81.13	96.96
脯氨酸 Pro	115.1	2600	160.86	128.40	148.29	113.08	125.47	155.19	175.68
合计			1073.7	1029.7	1044.3	1051.4	1047.8	1116.0	1194.6

注:SP(TPS)为双液相浸出粕分离蛋白;SP(LT)为低温浸出粕分离蛋白;SSP为大豆分离蛋白;RSP为油菜籽分离蛋白。

前景。

3 结论

3.1 双液相提取技术有利于提高 TPS粕和分离蛋白中蛋白含量,分别达到 37.3%和 63.6%,远高于低温分离蛋白中 37.6%的蛋白含量。

3.2 TPS粕中必需氨基酸所占比例为 37.91%,高于高温粕的 37.05%,低于亚麻仁的 38.11%。TPS分离蛋白中必需氨基酸所占相对比例为 35.98%,略低于 TPS粕而高于 LT分离蛋白的 35.45%。TPS粕和 TPS分离蛋白中氨基酸组成平衡合理,具有较高的营养价值,是一种优质的食品蛋白原料。

3.3 TPS分离蛋白比 LT分离蛋白的疏水性强,低于亚麻仁蛋白疏水性。在 TPS分离蛋白、油菜籽分离蛋白和大豆分离蛋白的蛋白质疏水性(Q值)中,TPS分离蛋白最小,为 1044.3cal/mol,蛋白水解产生苦味将会相对较小。

参考文献:

- 1 K T Madhusudha et al Detoxification of commercial Linseed meal use in Broiler Ration J. Poultry Sci 1986 65 164~171
- 2 K T Madhusudha et al Effect of detoxification treatment on the physicochemical properties of Linseed proteins J. J Agric Food Chem 1985 33 1219~1222
- 3 Dipak K Dev et al Nitrogen Extractability and Buffer Capacity of Defatted Linseed Flour J. J Sci Food Agric 1986 37 199~205
- 4 R S Bhatti Compositional Analysis of Laboratory —

Prepared and Commercial Samples of Linseed Meal and of Hull Isolation from Flax J. J A O C S 1990 67 79~84

5 L J Rubin L L Diosady C R Phillips Solvents extraction of oil bearing seeds P. US Patent 446054 1984-07-14

6 张国治 陈洁 刘国琴等.大豆分离蛋白在冰淇淋加工中的应用 J.郑州粮食学院学报 1996 17 4 231~235

7 FAO/WHO/UNU (1985).Energy and protein requirements Report of a Joint FAO/WHO/UNU expert consultation World health organization technical rep ser 724 WHO Geneva

8 Oomah B D, Mazza G. Bioactive components of flaxseed occurrence and health benefits M. Phytochemicals and Phytopharmaceuticals Champaign AOCS Press 2000 105~120

9 Blenford D E Use of amino acids and peptides in sports nutrition J. International Food Ingredients 1996 3 20~23

10 Pszczola D E Genes and diet the specialized role ingredients may play J. Food Technology 2000 10 82~84 96

11 E C Y Li-Chana et al Thermal analysis of flaxseed proteins by differential scanning calorimetry J. Food Chemistry 2002 77 495~502

12 Jens Adler-Nissen Enzymic Hydrolysis of Food Proteins M. Elsevier Applied Science Publishers 1986

13 熊善柏 赵思明 董汉萍等.脱脂油菜饼粕中蛋白质的分步酶水解研究 J.中国粮油学报 2001 3 26~29

14 I Lovsin Kukman M Zelenik-Blatnik V Abram Isolation of low-molecular-mass hydrophobic bitter peptides in soybean protein hydrolysates by reversed-phase high-performance liquid chromatography J. Journal of Chromatography A 1995 704 113~120