

[文章编号] 1003—4684(2019)02-0118-03

棉籽蛋白脱酚方法研究

蒋园园¹, 吴正奇², 叶文祥¹, 王慧娟¹, 万端极¹

(1 湖北工业大学土木建筑与环境学院, 湖北 武汉 430068; 2 湖北工业大学生物工程与食品学院, 湖北 武汉 430068)

[摘 要] 以棉籽粕为原料, 采用碱提酸沉法提取棉籽蛋白, 对酸沉得到的蛋白质用蒸馏水、乙醇、双氧水、亚硫酸氢钠进行洗涤以进一步去除棉酚, 经过对比选择亚硫酸氢钠作为脱除剂, 并对其脱除条件进行优化。得到亚硫酸氢钠脱除棉酚的最佳条件为添加量为 0.3%、温度为 40 ℃, 搅拌时间为 2 h。在最佳条件下, 棉酚脱除率达到了 68.92%, 蛋白质含量为 85.47%。

[关键词] 棉籽蛋白; 亚硫酸氢钠; 棉酚; 脱除

[中图分类号] TS201.2

[文献标识码] A

棉花是世界上最主要的经济作物之一^[1], 其中棉籽也是重要的油料资源。棉籽粕是棉籽榨油后的主要副产物, 价格低廉, 蛋白质含量高, 常作为反刍动物的营养来源^[2]。棉籽蛋白在生物效价上与豆类蛋白相近, 其营养价值高于谷类蛋白, 是一种很好的食用蛋白和饲用蛋白来源^[3]。但随着油脂提取工艺的改进, 棉油中游离棉酚的含量逐渐降低, 而将更多的棉酚保留在了棉籽粕中, 在很大程度上限制了棉籽粕的开发应用。因此进一步研究我国棉籽蛋白的营养价值及棉酚特性, 开发具有经济效益的棉酚降解技术, 对于促进棉籽粕及棉籽蛋白的合理利用具有重要意义^[4]。目前多采用碱法、盐法和醇洗法等提取油料蛋白, 由于棉酚对碱、热、光均不稳定, 易被氧化^[5], 因此采用碱法提取棉籽蛋白的同时可以去除一部分棉酚, 但是棉酚含量仍较高, 因此本文以棉籽粕为原料, 在碱提酸沉的基础上用不同溶剂对提得的蛋白质进行洗涤进一步去除棉籽蛋白中的棉酚, 拓宽棉籽蛋白的应用领域。

1 材料与实验方法

1.1 实验材料与器材

棉籽粕粉碎过 80 目筛, 测其蛋白质含量为 48.44%, 水分含量 10.96%, 粗脂肪含量 0.94%, 游离棉酚含量 870 mg/kg; 棉酚标准品 北京世纪奥科生物技术有限公司; 盐酸, 氢氧化钠, 亚硫酸氢钠, 乙醇,

双氧水等均为分析纯; FW177 中草药粉碎机, 电子分析天平, TDL-5-A 离心机, HYP-308 硝化炉、KDN-102F 自动定氮仪, SYZ-B 型石英亚沸高纯水蒸馏器, ST2100pH 计, DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 低温鼓风干燥箱, 戴安液相色谱分析仪。

1.2 实验方法

1.2.1 棉籽粕中各项指标的测定 粗蛋白参照 GB/T 5511—2008 测定, 蛋白质换算系数为 6.25; 水分参照 GB/T 5009.3—2010 测定; 灰分参照 GB 5009.4—2010 测定; 粗脂肪参照 GB/T 5512—2008 测定; 游离棉酚参照 GB 5009.148—2014 测定。

1.2.2 碱溶酸沉法提取棉籽蛋白 依据白雪^[6]的方法略有改动, 具体条件如下: 提取液 pH=12.0, 提取温度 60 ℃, 提取时间 2 h, 固液比为 1:15 的条件下, 棉籽分离蛋白的提取率为 80.49%, 蛋白含量 88.06%; 蛋白质中游离棉酚的含量为 330 mg/kg, 为使棉酚含量进一步降低, 对酸沉得到的蛋白质采用蒸馏水、乙醇、双氧水、亚硫酸氢钠洗涤, 真空冷冻干燥获得棉籽蛋白粉。按下式计算脱除率。

$$\text{脱除率} = \frac{m - m_1}{m} \times 100\%$$

式中: m 为蛋白质中棉酚含量, g; m_1 为洗涤液中棉酚含量, g。

1.2.3 亚硫酸氢钠洗涤棉籽蛋白的优化实验

1) 单因素实验 控制洗涤时间 2 h, 温度 35 ℃,

[收稿日期] 2018—09—26

[第一作者] 蒋园园(1993—), 女, 河南尉氏人, 湖北工业大学硕士研究生, 研究方向为现代分离技术

[通信作者] 万端极(1953—), 男, 湖北枝江人, 湖北工业大学教授, 研究方向为循环利用, 清洁生产, 膜技术集成技术工业企业工艺改造

分别添加 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% 亚硫酸氢钠进行洗涤,测定洗涤液中棉酚的含量,选出最优值;选择最佳添加量,洗涤温度 35℃,分别洗涤 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h,测定洗涤液中棉酚的含量,选出最优值;在最佳添加量、最佳洗涤时间下,分别在 20℃、30℃、40℃、50℃、60℃ 下进行洗涤,测定洗涤液中棉酚的含量,选出最优值。

2) 正交试验因素表的确定 采用正交试验分析法对亚硫酸氢钠脱酚工艺进行优化。根据单因素实验所得结果,确定了正交因素水平(表 1)。

表 1 因素水平表			
水平	因素		
	A 添加量/%	B 搅拌时间/h	C 搅拌温度/℃
1	0.2	1.5	30
2	0.3	2.0	40
3	0.4	2.5	50

2 结果与分析

2.1 不同溶剂洗涤蛋白质脱酚效果的比较

把经过酸沉的蛋白质用蒸馏水、乙醇、双氧水、亚硫酸氢钠进行洗涤,分别测定蛋白质中棉酚及蛋白质的含量。实验结果见表 2。

表 2 不同溶剂对蛋白质脱酚效果的影响			
试验号	洗涤剂	游离棉酚含量/ (mg·kg ⁻¹)	蛋白含量/%
1	空白	330.00	88.06
2	蒸馏水	270.00	86.56
3	乙醇	100.25	83.94
4	双氧水	161.62	86.34
5	亚硫酸氢钠	105.06	85.48

由表 2 可知:采用不同的溶剂洗涤蛋白质脱除棉酚的效果有较大的差异。但得到的蛋白质中游离棉酚的含量均低于世界卫生组织、联合国儿童基金会蛋白质顾问小组和联合国粮农组织建议的食用棉籽制品中的游离棉酚的含量(≤600 mg/kg)及美国食品及药物管理局规定的游离棉酚的残留量(≤450 mg/kg)的标准^[6],如果将其应用于食品工业,还需进一步去除蛋白质中棉酚的含量以减少对人类身体健康的危害。在热碱提取过程中,由于棉酚对碱、热不稳定,易被氧化^[5],与棉籽粕相比棉籽蛋白中棉酚含量降低 62.07%;由于棉酚不溶于水,因此采用蒸馏水洗涤对棉酚脱除效果不明显,且极易造成水溶性蛋白损失;棉酚是一类极活泼的酚类物质,通常情况下容易氧化变质,因此采用双氧水来降解棉酚,但氧化剂与蛋白质反应剧烈,得到的蛋白质口感苦味重^[4]。乙醇和亚硫酸氢钠对棉酚的脱除效果比较明显,但是经过乙醇洗涤后蛋白含量下降且回收乙醇比较困难;亚硫酸氢钠可以与棉酚中的醛

基发生加成反应生成可溶性盐,且对蛋白质含量无太大影响,蛋白质的颜色也明显变浅,因此选择亚硫酸氢钠作为洗涤剂,并优化其脱除条件。

2.2 亚硫酸氢钠洗涤棉籽蛋白单因素实验

由图 1 可知,随着亚硫酸氢钠用量的增加,脱除率不断增加,在加入量大于 0.3% 时,脱除率减缓,主要是由于随着亚硫酸钠用量的增加,溶液 pH 值降低抑制了加成反应正向进行。从脱除效果和经济效益两方面综合考虑,亚硫酸氢钠用量应控制在 0.3% 左右。

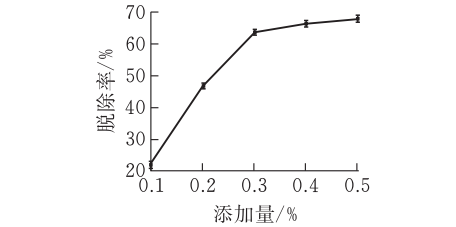


图 1 亚硫酸氢钠用量对棉酚脱除率的影响

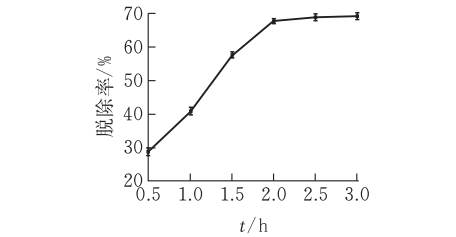


图 2 洗涤时间对棉酚脱除率的影响

由图 2 可知,在 2 h 之前棉酚脱除率随时间增加而明显增加,2 h 之后脱除率增加缓慢,主要是由于亚硫酸氢钠与棉酚反应需要一定的时间充分接触以达到平衡,若延长搅拌时间,则会增加水溶性蛋白的损失。

由图 3 可知,随着温度的升高,棉酚脱除效果明显,从棉酚脱除效果的角度出发,高温下棉酚易氧化,应该在较高温度下进行试验,但是温度过高不仅会增加蛋白质的溶解,而且还会破坏蛋白质结构,因此选择 35℃ 比较适宜。

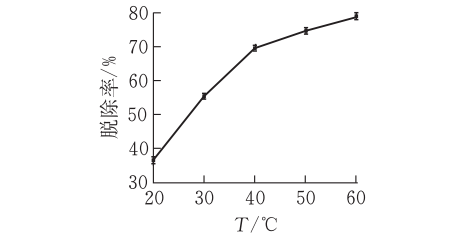


图 3 温度对棉酚脱除率的影响

2.3 亚硫酸氢钠脱除棉籽蛋白中游离棉酚条件的正交实验

由表 3 可知:对棉酚脱除率而言,亚硫酸氢钠添加量对其影响最大,搅拌时间影响最小,最优组合为 A₃B₃D₃,即亚硫酸氢钠添加量为 0.4%,温度为

50 ℃,搅拌时间为 3 h,在此条件下,棉籽蛋白中棉酚的脱除率最高,但是对蛋白含量而言,搅拌时间对其影响最大,其次是温度,影响最小的是亚硫酸氢钠的添加量,最优组合为 A₁B₁C₁。考虑到温度过高能耗增加,且在高温条件下,蛋白质容易变性,所以采用 A₂B₂C₂较为合适,即亚硫酸氢钠添加量为 0.3%、温度为 40 ℃,搅拌时间为 2 h。

表 3 正交试验结果					
试验号	A	B	C	脱除率/%	蛋白含量/%
1	1	1	1	55.60	87.38
2	1	2	2	62.51	85.56
3	1	3	3	65.71	84.43
4	2	1	2	68.69	86.68
5	2	2	3	70.83	85.32
6	2	3	1	64.90	85.06
7	3	1	3	68.46	85.48
8	3	2	1	65.50	86.43
9	3	3	2	71.48	85.08
K ₁	61.273	64.250	62.000	—	—
K ₂	68.140	66.280	67.560	—	—
K ₃	68.480	67.363	68.333	—	—
R ₁	7.207	3.113	6.333	—	—
K ₁	85.903	86.527	86.463	—	—
K ₂	85.687	85.930	85.773	—	—
K ₃	85.823	84.975	85.177	—	—
R ₂	0.216	1.570	1.286	—	—

2.4 验证实验

由于脱除条件的最优组合未出现在正交试验表中,所以对最优组合进行验证实验,在亚硫酸氢钠添加量为 0.3%、温度为 40 ℃,搅拌时间为 2 h 条件下,棉籽分离蛋白中游离棉酚的脱除率为 68.92%,蛋白质含量为 85.47%。

Removal of Gossypol from Cottonseed Protein

JIANG Yuanyuan¹, WU Zhengqi², YE Wenxiang¹, WANG Huijuan¹, WAN Duanji¹

(1 School of Civil Engin.Architecture and Environment ,Hubei Univ.of Tech.,Wuhan 430068,China ;
2 School of Biological Engineering and Food Science ,
Hubei Univ. of Tech., Wuhan 430068, China)

Abstract: Using cottonseed meal as raw material, this study extracted cottonseed protein by alkali extraction and acid precipitation. With distilled water, ethanol, hydrogen peroxide and sodium sulfite, the protein obtained from acid precipitation was washed to further remove gossypol. Sulfurous acid was selected through comparison as a remover and its removal conditions were then optimized. The optimum conditions for obtaining gossypol to remove gossypol are the added amount at 0.3%, the temperature at 40 ℃, and the stirring time with 2 h. Under the optimal conditions, the gossypol removal rate reached 68.92% and the protein content was 85.47%.

Keywords: cottonseed protein; sodium sulfite; gossypol; removal

3 结论

1)采用蒸馏水、乙醇、双氧水、亚硫酸氢钠洗涤蛋白质能有效地脱除棉酚,但脱除效果差异较大,其中以乙醇和亚硫酸钠的脱除效果最佳,但是从经济效益方面考虑,亚硫酸氢钠最为合适。

2)亚硫酸氢钠脱除棉籽蛋白中游离棉酚的最佳条件:亚硫酸氢钠添加量为 0.3%、温度为 40 ℃,搅拌时间为 2 h,棉籽蛋白中游离棉酚的脱除率为 68.92%,蛋白质含量为 85.47%。

3)本文探索出了一条棉籽蛋白脱酚的有效途径,但是采用亚硫酸氢钠洗涤蛋白会不会降低棉籽蛋白的营养价值,还有待验证。

[参 考 文 献]

[1] He Z, Chapital D C, Cheng H N, et al. Application of tung oil to improve adhesion strength and water resistance of cottonseed meal and protein adhesives on maple veneer[J]. Industrial Crops & Products, 2014, 61 (61):398-402.

[2] 马梦婷,王艺静,王青林,等. 超声波辅助碱法提取棉籽蛋白工艺条件的优化[J]. 食品工业, 2017(8): 66-71.

[3] 刘大川. 植物蛋白工艺学[M]. 北京:商业出版社, 1993:17-18.

[4] 赵大伟,劳泰财,叶强,等. 棉酚的特性与棉籽粕脱毒方法的研究进展[J]. 广东饲料, 2015, 24(6):37-40.

[5] 戴卫东,卢伯南,钱礼华,等. 热碱法脱除游离棉酚的实验研究[J]. 应用化工, 2004, 33(6):57-59.

[6] 白雪,田少君. 棉籽分离蛋白的提取及脱酚效果研究[J]. 农业机械, 2011(32):65-68.