

啤酒糟蛋白的提取及超声波改性技术 对其功能特性的影响

刘 玲, 刘 茜, 宗绪岩

(沈阳农业大学 食品学院, 沈阳 110866)

摘要: 首先提取啤酒糟蛋白并对其主要成分进行检测, 然后采用超声波技术改变啤酒糟蛋白的功能特性。通过单因素试验, 研究超声功率、超声时间、pH 值及蛋白质浓度对持水性、乳化性、溶解性的影响。结果表明: 最佳条件为 pH 值 9、超声功率 40W、料液比 5%、超声时间 4min 持水性达到 395%。当超声功率 60W、pH 值 7、超声时间 6min、料液比 3% 时, 乳化性为 250%。pH 值 9、超声时间 8min、超声功率 60W、料液比 2%, 溶解性为 4.02%。综合三个功能性质分析, 超声功率 40W、料液比 3%、pH 值 9、超声时间 4min 为最适改性条件。

关键词: 啤酒糟蛋白; 超声波; 持水性; 乳化性; 溶解性

中图分类号: S238; S274.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-1700(2010)04-0453-05

Extraction of the Brewer's Grain Protein and Effect of Ultrasonic Technology to Grain Protein Functional Properties

LIU Ling, LIU Qian, ZONG Xu-yan

(College of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: The brewer's grain proteins were extracted and the main components were determined, then the brewer's grain protein functional properties were changed by ultrasonic technology. The effects of ultrasonic power, ultrasonic time, pH and protein concentration on the water holding capacity, holding oil and solubility were studied through single-factor test. The result showed that the best experimental conditions were pH9, 40W of ultrasonic power, the mass fraction of 5% and 4min of ultrasound time, with water holding capacity of 395%. Under the conditions of 60W of ultrasonic power, pH7, 6min of ultrasonic time and the mass fraction of 3%, oil-holding capacity reached 250%. Under the conditions of pH9, 8 min of ultrasonic time, 60W of ultrasonic power and the mass fraction of 2%, the solubility was 4.02%. Comprehensively the conditions of pH9, 40W of ultrasonic power, the mass fraction of 3% and 4min of ultrasound time were confirmed to the optimum experimental conditions.

Key words: BSG; ultrasonic; water-holding capacity; oil-holding capacity; solubility

啤酒糟是麦汁制备工序的副产品, 其主要成分是大麦芽壳和未糖化的麦芽及辅料(大米)中的不溶性高分子物质, 其中还含有很多蛋白质、残糖等营养物质。近年来, 我国啤酒工业发展迅速, 已成为世界第二大啤酒生产国, 年生产啤酒 5×10^7 t, 产生的啤酒糟可达 9.2×10^6 t。但我国啤酒企业对啤酒糟的处理多数是将其直接排放, 或廉价出售给农民作粗饲料, 造成很大的污染和资源浪费。

近年来, 我国对啤酒糟的加工利用主要有: 直接或经发酵生产高蛋白饲料、发酵生产饮料, 生产营养水解物和发酵生产饲料用酶^[1], 用于食用菌栽培以及水溶性戊聚糖、 β -葡聚糖、膳食纤维的提取等^[2]。在国外, 对于啤酒糟的综合加工主要包括利用其中的糖类作为霉菌的能源生产柠檬酸、单糖及多糖, 酶解啤酒糟生产可溶性糖, 麦糟加入氮源生产 α -淀粉酶、碱性蛋白酶、地衣多糖酶等, 培养假丝酵母、霉菌等生产单细胞蛋白饲料和各种精饲料^[3]。如果对啤酒糟进行恰当处理和综合应用, 既有利于环境保护, 还能为啤酒厂创造部分经济价值^[4]。啤酒糟蛋白改性之后蛋白质的持水性、乳化性和溶解性都能够显著提高, 应用这样的改性蛋白加工食品即拓宽了蛋白质的应用领域, 改善传统食品的加工性能, 提高食品风味、品质, 降低成本, 又可以作为一些昂贵原材料的替代品, 因此在食品工业中具有广阔的应用前景。目前在国内, 对啤酒糟蛋白进行改性处理并进一步深加工的研究开展很少^[5]。本研究在提取蛋白的基础上, 采用超声波方法对啤酒糟蛋白进行改性, 研究其功能性的变化, 为啤酒糟蛋白改性并提高其功能性质奠定基础。

收稿日期: 2010-03-27

作者简介: 刘 玲(1973-), 女, 沈阳农业大学副教授, 博士, 从事食品质量控制研究。

1 材料与方法

1.1 材料

啤酒糟样品由华润集团雪花啤酒公司提供,色拉油市购,石油醚、考马斯亮蓝 G-250、盐酸、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器设备

KQ-100DB 型数控超声波粉碎机、TGL-16G 型高速台式离心机、HITACHI CR-21G 型高速冷冻离心机、RE-52AA 型索氏提取器、紫外可见分光光度计、HH-6 型电热恒温水浴锅、JJ-1 型精密增力电动搅拌器、立式胶体磨、电热鼓风干燥箱、微量取样器、粉碎机和 VORTER GENIUS3 混合器。

1.3 方法

1.3.1 啤酒糟蛋白提取 将新鲜啤酒糟与水的混合物倒入胶体磨中反复研磨 2~3 遍,之后过筛($\phi 200 \times 50$),去除筛上物,悬浮液体于高速冷冻离心机离心 3min, $6000r \cdot \text{min}^{-1}$,去除上清液,沉淀烘干,粉碎,过 80 目筛。粉末用石油醚脱脂,再烘干,得到啤酒糟蛋白粉末。

1.3.2 测定项目 蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250(Coomassie brilliant blue G-250)法^[6]。水分含量测定采用烘干减重法^[7]。脂肪含量测定采用索氏提取法^[7]。

1.3.3 蛋白质提取率的计算 蛋白质的提取率=提取的蛋白质含量/啤酒糟中蛋白质含量 $\times 100\%$ 。

1.3.4 超声波改性方法 (1)超声功率的选择。啤酒糟蛋白溶液 60mL,料液比 1:20,超声时间 6min,pH 值 9.0。超声功率分别为 100W,80W,60W,40W。(2)超声波时间的选择。啤酒糟蛋白溶液 60mL,料液比 1:20,超声功率 100W,pH 值 9.0。超声时间分别为 4min,6min,8min,10min,12min。(3)pH 值的选择。啤酒糟蛋白溶液 60mL,料液比 1:20,超声时间 6min,超声功率 100W,pH 值分别取 5.0,6.0,7.0,8.0,9.0。(4)啤酒糟蛋白料液比的选择。啤酒糟蛋白溶液 60mL,超声功率 100W,超声时间 6min,pH 值 9.0。分别取料液比 1:100,1:80,1:60,1:40,1:20。

1.3.5 功能特性测定 (1)持水性的测定^[8]。取改性的蛋白质粉末 0.2g 移入离心管中,加入 1mL 蒸馏水,离心 10min($3000r \cdot \text{min}^{-1}$),过滤除去上清液,称量,按下面公式计算啤酒糟蛋白的持水能力(WHC):

$$\text{WHC}=(m_2-m)/m_1 \times 100$$

式中: m 为离心管的质量(g); m_1 为离心管中蛋白质的质量(g); m_2 为去除上清液后离心管的质量(g)。

(2)乳化性的测定^[9]。取改性的蛋白质粉末 0.2g 移入离心管中,加入 1mL 色拉油,离心 10min($3000r \cdot \text{min}^{-1}$),过滤除去上清液,称量,用下面公式计算出啤酒糟蛋白的乳化能力(OHC):

$$\text{OHC}=(m_2-m)/m_1 \times 100$$

式中: m 为离心管的质量(g); m_1 为离心管中蛋白质的质量(g); m_2 为去除上清液后离心管的质量(g)。

(3)溶解性的测定^[10]。将改性的蛋白 60mL 室温下搅拌 30min,取 1mL 放入离心管中离心 4min, $6000r \cdot \text{min}^{-1}$,用考马斯亮蓝 G-250 法测定上清液中的蛋白质含量。所得蛋白溶解度为下:

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{\text{上清液中蛋白质含量}}{\text{样品蛋白质含量}} \times 100$$

1.3.6 设计正交试验 为了确定各因素对啤酒糟蛋白功能性的影响,在单因素试验的基础上,对功率、时间、浓度和 pH 等 4 个因素进行正交试验,选择 4 个水平,选用 $L_{16}(4^4)$ 进行试验,以蛋白质的溶解性、持水性和乳化性为考察指标。其试验因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 The factors and level table of orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor			
	A 功率/W Power	B 时间/min Time	C 料液比/% Mass fraction	D pH 值 pH value
1	40	4	2	6
2	60	6	3	7
3	80	8	4	8
4	100	10	5	9

2 结果与分析

2.1 啤酒糟中蛋白质含量和提取率

试验测得啤酒糟干物质中粗蛋白含量 30.15% (包含脂肪成分)。提取干物质中蛋白质含量为 23.94%,蛋白质的提取率为 81.98%,比较常见酶法提取蛋白提取率(60%~80%),采用该方法提取酒糟蛋白获得较高的提取率。

2.2 超声功率变化对啤酒糟蛋白功能特性的影响

由图1可见,啤酒糟蛋白的持水性随着超声功率的加强而缓慢增长。超声波功率的增强使得蛋白质适度变性,侧链基团暴露,亲水基团的暴露引起持水性增强。啤酒糟蛋白的乳化性随超声功率的加强而逐渐减小,可能是由于超声功率逐渐增大导致啤酒糟蛋白变性,部分蛋白质结构破坏。同时,啤酒糟蛋白的溶解性随超声功率的加强而逐渐增大。当功率增大时,蛋白质溶液受到的负压随之增大,水分子间平均距离因而增大,超过极限距离后,就会破坏蛋白质结构的完整性,造成空穴,蛋白质分子的结构变得疏松,蛋白溶解度得到提高。

2.3 超声时间对啤酒糟蛋白功能特性的影响

由图2可见,啤酒糟蛋白的持水性随超声时间的增加呈现先增大后减小的趋势,其中,超声时间达8min时,持水性达到最大值。随着超声时间的延长,蛋白质变性现象严重,空间构型解体,导致持水性降低。啤酒糟蛋白的乳化性随超声时间的增加呈现先增大后减小的趋势,其中,超声时间达6min时,乳化性达到最大值,这可能是由于6min的改性时间使蛋白质的亲油基团充分展开。啤酒糟蛋白的溶解性随超声时间的增加呈现先减小后增大再减小的趋势,其中,蛋白溶解度在8min时达到最大值。在超声波的作下,蛋白质分子的结构变得疏松,使疏水性多肽部分展开朝向脂质,极性部分朝向水相。时间继续延长蛋白质变性增大,不溶性蛋白质含量增多,溶解度随之降低,实验结果表明,时间为8min时可显著改善啤酒糟蛋白的溶解度。持水性和溶解性在超声时间为6min出现一个波谷,而此时恰是乳化性最好,这正好说明此时间蛋白质的疏水基团充分暴露出来。随时间进一步延长,蛋白质的空间结构逐渐松散,直至解体,各指标最终下降。

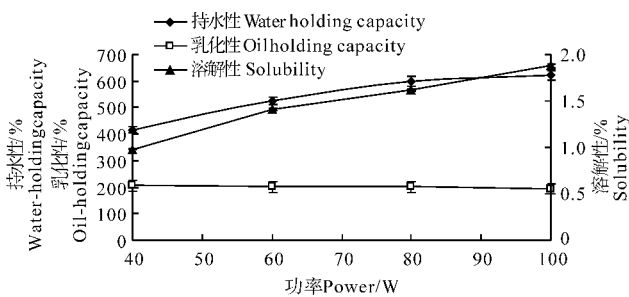


图1 超声功率对蛋白质功能性的影响

Table 1 Effect of ultrasonic power on protein functional properties

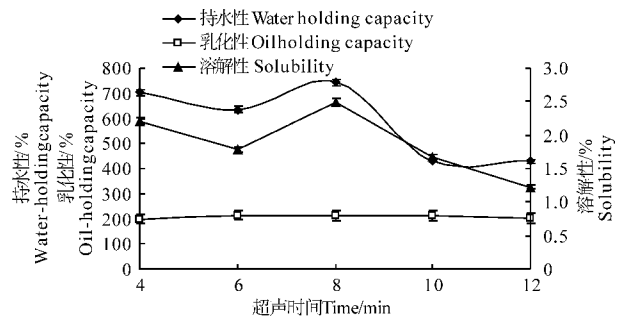


图2 超声时间对蛋白功能性的影响

Table 2 Effect of ultrasonic time on protein functional properties

2.4 pH值变化对啤酒糟蛋白功能特性的影响

由图3可见,啤酒糟蛋白的持水性随pH值的增加而逐渐减小,在pH值7后变化缓慢。说明当pH值7后,对啤酒糟蛋白持水性影响不大。啤酒糟蛋白的乳化性随pH值的增加呈现出先增大后减小的趋势,且当pH值7时,乳化性达到最大值,说明此时的空间构型最容易截留油分子。啤酒糟蛋白的溶解性随pH值的增加而逐渐增大。蛋白质的溶解性与氨基酸残基的平均疏水性和电荷频率有关。平均疏水性越小和电荷频率越大,蛋白质的溶解性越大。

2.5 料液比对啤酒糟蛋白功能特性的影响

由图4可见,啤酒糟蛋白的持水性随其料液比的增大而逐渐减小。可能原因为:当蛋白含量逐渐增大时,在相等时间内超声波空化作用减弱,蛋白质分子结构改变变小,蛋白质物理截留能力未能得到充分的提高。啤酒糟蛋白的乳化性随其料液比的增大而逐渐减小,当料液比大于3%时,乳化性基本保持不变。在蛋白质中存在疏水基和亲水基,疏水基与蛋白质的乳化性关系密切。蛋白经超声波改性后,可能使得原先暴露在外的疏水基被亲水基所包围,或者原先未暴露的疏水基暴露于油中,二者相抵消,使得蛋白的乳化性变化很小。据资料报道,蛋白质乳化性受蛋白质含量、蛋白质颗粒表面性质、蛋白质疏水性和油的流动性等多方面因素影响^[1]。啤酒糟蛋白的溶解性随其料液比增大而逐渐减小。但从上清液中蛋白含量看,溶解在上清液中的蛋白量是逐渐增加的。当蛋白含量逐渐增大时,超声波的空化作用增强,蛋白质分子的结构变得疏松使疏水性多肽部分展开朝向脂质而极性部分朝向水相,导致蛋白溶解度增强,当蛋白含量继续增大时,在相等时间内超声波空化作用减弱,蛋白质分子结构改变变小,可溶性蛋白减少。

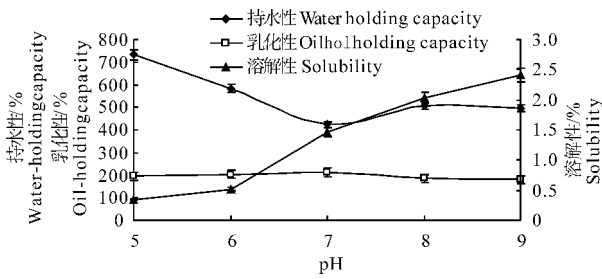


图 3 pH 值对蛋白功能性的影响

Table 3 Effect of pH value on protein functional propertise

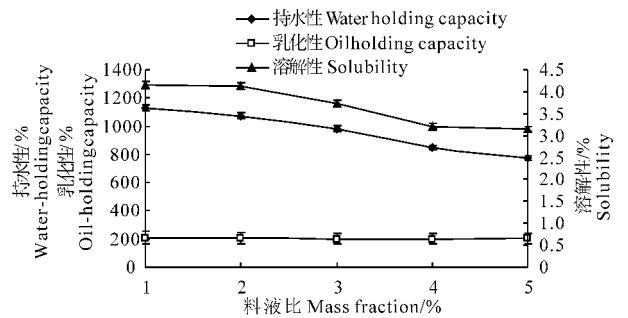


图 4 料液比对蛋白功能性的影响

Table 4 Effect of mass fraction on protein functional propertise

2.6 正交试验结果分析

由表 2 可见,对持水性的影响大小依次为:pH 值>超声功率>料液比>超声时间。所得的最优组合为 pH 值 9、超声功率 40W、料液比 5%、超声时间 4min。得到的最优组合并未出现在本试验方案中,需进行验证试验,按

表 2 正交试验结果和分析

Table 2 The result and analysis of orthogonal experiment

序号 No.	功率/W Power	时间/min Time	料液比/% Mass fraction	pH 值 pH value	持水性/% Water holding capacity	乳化性/% Oil holding capacity	溶解性/% Solubility
1	1	1	1	1	380	210	0.39
2	1	2	2	2	380	235	0.37
3	1	3	3	3	390	210	2.66
4	1	4	4	4	385	205	2.88
5	2	1	2	3	370	200	2.43
6	2	2	1	4	380	200	3.63
7	2	3	4	1	340	210	0.87
8	2	4	3	2	355	200	1.09
9	3	1	3	4	390	205	2.68
10	3	2	4	3	360	190	1.46
11	3	3	1	2	350	205	1.47
12	3	4	2	1	345	200	0.59
13	4	1	4	2	345	205	0.79
14	4	2	3	1	350	200	0.17
15	4	3	2	4	385	190	3.11
16	4	4	1	3	355	195	2.26
k1	383.75	371.25	366.25	353.75			
k2	361.25	367.5	370	357.5			
k3	361.25	366.25	371.25	368.75			
k4	358.75	360	357.5	385			
R	25.0	11.25	13.75	31.25			
k1'	215	205	202.5	205			
k2'	202.5	206.25	206.25	211.25			
k3'	200	203.75	203.75	198.75			
k4'	197.5	200	202.5	200			
R'	17.5	6.25	3.75	12.5			
K1''	1.575	1.573	1.937	0.505			
K2''	2.005	1.407	1.625	0.930			
K3''	1.550	2.027	1.650	2.202			
K4''	1.583	1.705	1.500	3.075			
R''	0.455	0.620	0.437	2.570			

照最优组合进行试验后得到持水性为395%。对乳化性的影响大小依次为:超声功率>pH值>超声时间>料液比。所得的最优组合为超声功率40W、pH值7、超声时间6min、料液比3%。按照最优组合进行验证试验,得到乳化性结果为250%。对溶解性的影响大小依次为:pH值>超声时间>超声功率>料液比。分析所得的最优组合为pH值9、超声时间8min、超声功率60W、料液比2%。按照最优组合进行试验后得到溶解性为4.02%,采用最优组合进行试验后所得结果高于各单项试验结果。

3 讨论

(1)超声功率对乳化性是最大影响因素,对持水性和溶解度来讲属于次要的因素,40W功率是持水性和乳化性的最好水平,对溶解度影响不大,因此超声功率选取40W为好。试验数据表明,超声时间是影响蛋白功能性的次要因素,影响不大,以节约能源考虑4min为宜。料液比是持水性较次要的影响因素,是乳化性和溶解度最次要影响因素,结果显示持水性和乳化性的料液比取3%为最佳。从持水性和溶解性看,pH值的影响最显著,且pH值9是最好的水平。对乳化性影响并不大,因此pH值取9为好。综上结果,超声功率40W,料液比3%,pH值9,超声时间4min为最适反应条件。

(2)结果表明,pH值对持水性和溶解性都有显著影响,对乳化性也有一定影响,为最主要影响因素。而料液比对主要功能性质影响都不大,为最次要影响因素。因此在啤酒糟蛋白加工过程中,pH值一定要严格控制。

(3)超声波改性技术作为一种物理性改性方法,主要导致蛋白质高级结构的改变。其中适当的超声条件,可以控制蛋白质侧链基团的暴露,蛋白质电荷的频率和蛋白质的表面性质。一般而言,改性过程中超声功率需要不大,时间也不长,所以对能源的消耗很小,因此超声波改性技术对啤酒糟蛋白功能性改变具有良好的实际应用前景。

参考文献:

- [1] 肖连冬,李慧星,臧晋. 啤酒糟中蛋白质的酶法提取及功能特性研究[J].中国酿造,2008(19):36-39.
- [2] 宗绪岩,刘长江,李丽,等. 蛋白酶水解啤酒糟蛋白动力学研究[J].食品工业科技,2009,30(12):108-112.
- [3] MUS SATTO S I, DRAGONE G, ROBERTO I C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications [J]. Journal of Cereal Science,2006,43(1):1-14.
- [4] 牟德华,李艳.啤酒糟的成分分析及综合利用[J].食品科学,1991(9):29-30.
- [5] 刘长江,宣丽,宗绪岩,等.啤酒糟提取蛋白吸水性和吸油性的研究[J].中国酿造,2009(9):65-69.
- [6] 李健武.生物化学实验原理与方法[M].北京:北京大学出版社,2000:174-176.
- [7] 大连轻工业学院.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,2008:221-222,75-78,139-140.
- [8] 华欲飞,顾玉兴.功能性大豆浓缩蛋白的性能及应用研究[J].中国油脂,1997,22(1):22-24.
- [9] 谢良,王璋,蔡宝玉,等.大豆分离蛋白的组成与功能特性[J].中国粮油学报,2000(12):6-10.
- [10] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:中国轻工业出版社,1989:55-58.
- [11] 董贝森,董贝磊,陆晓滨.花生蛋白粉的制取及其在食品工业中的应用研究[J].花生科技,1998(2):1-5.

[责任编辑 亓国]