

响应面法优化玉米蛋白挤出工艺

张艳荣, 周清涛, 张传智, 王大为*

(吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118)

摘要: 双螺杆挤出改性处理脱脂玉米蛋白粉。以脱脂玉米蛋白粉含水量、挤出温度、螺杆转速为响应因素, 可溶性蛋白含量为响应值, 采用响应面分析方法, 确定脱脂玉米蛋白粉挤出改性的最佳工艺条件。结果表明: 物料含水量 68%、挤出温度 163℃、螺杆转速 30Hz(225r/min)时, 挤出脱脂玉米蛋白粉中可溶性蛋白含量最高, 为 3.43%。采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定挤出改性后玉米可溶性蛋白的分子质量分布, 结果显示其分子质量介于 3500~14300D 之间, 且主要是分子质量为 3500~6500D 的多肽。改性后的玉米蛋白粉其理化性质都有了较明显的改善, 说明双螺杆挤出改性玉米蛋白粉效果明显, 切实可行。

关键词: 脱脂玉米蛋白粉; 双螺杆挤出; 改性

Optimization of Twin-screw Extrusion Technology of Defatted Corn Gluten Meal by Response Surface-Methodology

ZHANG Yan-rong, ZHOU Qing-tao, ZHANG Chuan-zhi, WANG Da-wei*

(College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: The objective of the present study was to optimize the process conditions for the modification of defatted corn gluten meal by two-screw extrusion by response surface methodology. The soluble protein content of extruded corn gluten meal was investigated with respect to water content before extrusion, extrusion temperature and screw rotation speed. The results indicated that the optimal twin-screw extrusion conditions were water content of 68%, extrusion temperature of 163 °C and rotation speed of 30 Hz (225 r/min). Under the optimal conditions, the soluble protein content of extruded corn gluten meal reached up to 3.43%. SDS-PAGE analysis demonstrated that the molecular weight distribution of soluble proteins in extruded corn gluten meal was in the range of 3500—14300 D, mainly consisting of polypeptides with a molecular weight between 3500 D and 6500 D. Modified corn gluten meal showed an obvious improvement in its physicochemical properties. Therefore, twin-screw extrusion is feasible to produce modified corn gluten meal.

Key words: defatted corn gluten meal; twin-screw extrusion; modification

中图分类号: TS213

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0072-07

玉米蛋白粉(corn gluten meal, CGM)是由玉米籽粒经湿法工艺提取玉米淀粉时产生的副产物。玉米蛋白粉中总蛋白质含量高达 65%、碳水化合物含量 15%、脂肪含量 7%、纤维含量 2%、灰分 1%, 还含有玉米黄素、叶黄素等^[1]。我国近年来玉米产量在 1.6 亿吨左右, 是世界第二大玉米生产国, 约占世界总产量的 20%, 占我国粮食总产量的 25%。国内有湿法玉米淀粉生产企业 600 多家, 生产量占全国各种淀粉产量的 80%, 玉米蛋白粉资源量约 21 万吨^[1]。由于其具有浓重的异杂味, 主要为不溶性醇溶蛋白, 可消化性差, 只能用于饲料生

产原料, 某些企业甚至将含有玉米蛋白的黄浆水未作任何利用而自然排放。目前, 我国每年随废液排放的玉米蛋白高达 8 万多吨^[2]。不仅经济效益低, 极大浪费了资源, 而且造成了环境污染。螺杆挤出技术是 20 世纪 60 年代后才兴起的一种新技术^[3], 它集混合、压缩、蒸煮、改性、杀菌、膨化等单元操作于一体, 物料在机筒内受到高温、高压、剪切、蒸煮等综合作用而发生理化及生物化学反应^[4-5], 分子组成及物性发生显著变化。本研究通过双螺杆高温高压可控挤出处理对脱脂玉米蛋白粉进行改性处理, 提高玉米蛋白粉中可溶性蛋白

收稿日期: 2011-02-13

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD27B07)

作者简介: 张艳荣(1965—), 女, 教授, 博士, 研究方向为粮食、油脂与植物蛋白工程。E-mail: xcpyfzx@163.com

* 通信作者: 王大为(1960—), 男, 教授, 博士, 研究方向为粮食、油脂与植物蛋白工程。E-mail: xcpyfzx@163.com

含量, 去除异杂味, 改善其加工性能, 使其有利于进一步制备生物活性蛋白粉或用于工程食品的生产, 提高玉米资源利用率, 减少环境污染, 具有广阔的应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蛋白粉 长春大成新资源集团有限公司; 丙烯酰胺 天津市大茂化学试剂厂; 甲叉双丙烯酰胺 北京鼎国生物技术有限责任公司; 过硫酸铵 天津市科密欧化学试剂有限公司; 巯基乙醇 北京鼎国生物技术有限责任公司; 盐酸(分析纯)、氢氧化钠(分析纯) 北京北化精细化学品有限责任公司; Low-rang rainbow markers RPN755 (2500~45000D) 上海卓康生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

DS-30B型双螺杆试验机(螺杆转速1Hz=7.5r/min) 山东赛信膨化机械有限公司; CT15RT型高速冷冻离心机 上海天美生化仪器设备工程有限公司; LXJ-II型离心沉淀机 上海医用分析仪器厂; 101A-2E型数显式电热鼓风干燥箱 上海实验仪器厂有限公司; GB1302电子精密天平 梅特勒-托利多仪器有限公司; HZS-HA水浴振荡器 哈尔滨市东联电子科技有限公司; DYY-10C型电泳仪 北京市六一仪器厂; SH10A水分快速测定仪 上海恒平科学仪器有限公司; SX-8-10型箱式电阻炉 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 成分测定

水分测定: GB 5009.3—2003《食品中水分的测定》采用直接干燥法与快速水分测定仪法。脂肪测定: GB 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》索氏提取法。蛋白质测定: GB 5009.5—2003《食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法。灰分测定: GB 5009.4—2003《食品中灰分的测定》灼烧称量法。淀粉测定: GB 5009.9—2003《食品中淀粉的测定》方法。

1.3.2 可溶性蛋白含量的测定

取不同条件下挤出改性处理的玉米蛋白粉, 于50℃烘箱中烘24h左右, 水分含量低于6%, 粉碎过60目筛, 采用Folin-酚试剂法测定其可溶性蛋白含量^[6]。

1.3.3 脱脂玉米蛋白粉制备

将玉米蛋白粉按料水比1:5(g/mL)加入20℃以下的清水, 搅拌均匀并静置至分层, 去除上清液, 重复洗涤多次至玉米蛋白粉洗涤液呈中性, 所得湿玉米蛋白粉溶液在转速4000r/min条件下离心脱水5min, 使其含水量低于26%, 自然晾干或低温烘干至水分含量低于12%, 粉碎至可全部通过0.147mm孔径筛。采用超临界CO₂萃

取技术对上述处理后的玉米蛋白粉进行脱脂脱异味处理。萃取压力2.5MPa、萃取温度50℃、萃取时间100min、CO₂流量25L/h, 所得产品颜色乳黄, 风味纯正无异味, 脂类含量低于0.5%。

1.3.4 脱脂玉米蛋白粉挤出改性单因素试验设计

1.3.4.1 含水量对可溶性蛋白含量的影响

在挤出温度为160℃, 螺杆转速为30Hz的条件下, 分别对含水量为50%、60%、70%、80%、90%的脱脂玉米蛋白粉进行改性处理, 以可溶性蛋白含量为评价指标, 考察含水量对可溶性蛋白含量的影响。

1.3.4.2 挤出温度对可溶性蛋白含量的影响

在脱脂蛋白粉含水量为60%, 螺杆转速为30Hz的条件下, 分别考察挤出温度为140、150、160、170、180℃对可溶性蛋白含量的影响。

1.3.4.3 螺杆转速对可溶性蛋白含量的影响

在挤出温度为160℃, 脱脂蛋白粉含水量为60%的条件下分别考察螺杆转速26、28、30、32、34Hz对可溶性蛋白含量的影响。

1.3.5 脱脂玉米蛋白粉挤出改性工艺的优化

综合单因素试验结果, 选取对脱脂蛋白粉挤出作用影响较大的因素水分含量(X_1)、挤出温度(X_2)、螺杆转速(X_3)设计挤出中心组合试验, 以挤出物中可溶性蛋白含量(Y)作为考核指标, 采用SAS 8.1分析软件及Box-Behnken中心设计原理, 确定最佳挤出条件。试验因素水平及编码水平见表1。

表1 脱脂玉米蛋白粉挤出改性工艺Box-Behnken试验因素水平编码

Table 1 Factors and their coded levels in the Box-Behnken experimental design for optimizing extrusion process of defatted corn gluten meal

水平	因素		
	X_1 水分含量/%	X_2 挤出温度/℃	X_3 螺杆转速/Hz
1	60	150	28
0	70	160	30
-1	80	170	32

1.3.6 数据统计与分析

采用SAS 8.1软件对Box-Behnken试验结果进行回归方差分析^[7]。

1.3.7 持水性和吸水性的测定

1.3.7.1 持水性测定

产品持水性参考美国谷物化学家协会方法(american association of cereal chemist, AACC 88-04)进行, 称取约4g玉米蛋白粉, 放入50mL离心管内并称量(M_1), 加入20mL蒸馏水, 振荡混合均匀, 静置10min, 在3000r/min条件下离心15min, 取出, 吸干上层液体, 称量(M_2)。每个样品重复3次。

$$\text{产品持水性}/(\text{g/g}) = \frac{M_2 - M_1}{M_1}$$

1.3.7.2 吸水性测定

称取约 4g 未粉碎样品(W_1), 放入 50mL 烧杯中, 加入 30mL 蒸馏水, 在 40℃ 条件下保温吸水 60min, 取出沥干 10min, 称量持水后产品质量(W_2)。每个样品重复 3 次。

$$\text{产品吸水性}/(\text{g/g}) = \frac{W_2 - W_1}{W_1}$$

1.3.8 持油性的测定

参考谢良等^[8]方法进行测定。准确称取 2g 玉米蛋白粉(a)样品置于离心管中, 连管称量, 总质量记为 b , 加入约 15mL 植物油, 先后在 25℃、37℃ 条件下分别静置 60min, 后在 3000r/min 条件离心 30min, 弃去上层游离的油, 然后用滤纸吸干挂在试管壁的油, 最后称取试管质量记为 c , 3 次平行试验取平均值即为最终结果。

$$\text{持油性}/(\text{g/g}) = \frac{c - b}{a}$$

1.3.9 乳化性及乳化稳定性

将玉米蛋白粉配制成质量分数 0.5% 的蛋白溶液, 取 40mL 色拉油和 80mL 待测液在胶体磨中均质 1min, 用微量进样器取 100μL, 用 0.1% SDS 溶液的稀释成 10mL, 立即用分光光度计在 500nm 波长处测定其吸光度^[9]。乳化性及乳化稳定性计算公式如下:

$$\text{ESI}/\text{min} = \frac{t \times A_0}{A_0 - A_{10}}$$

$$\text{EAI}/(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times (2.303A) \times 10}{\phi \times I \times C} \times \text{稀释倍数}$$

式中: ESI 为乳化稳定性/min; A_0 为均质后迅速被稀释的乳化液的吸光度; A_{10} 为乳化液在静止 10min 后的吸光度; t 为时间(本实验是 10min); EAI 为每克蛋白的乳化面积/(m²/g); A 为 500nm 处的吸光度; ϕ 为油相所占的分数, 本实验为 1/3; C 为蛋白质的质量分数, 本实验为 0.5%; I 为比色池的光径(10mm)。

1.3.10 起泡性及泡沫稳定性

采用搅拌法^[10]取 3g 玉米蛋白粉, 加入蒸馏水 100mL 于烧杯中, 调节 pH7, 用高剪切均质机, 8000r/min 条件下均质 2min。记录均质停止时溶液中泡沫的体积 V_1 以及均质停止 30s 后的泡沫体积 V_2 。起泡性及泡沫稳定性分别按下式计算:

$$\text{起泡性}/\% = \frac{V_1}{100} \times 100$$

$$\text{泡沫稳定性}/\% = \frac{V_2}{100} \times 100$$

1.3.11 玉米蛋白分子质量的测定

采用不连续 SDS-PAGE^[11], 分离胶质量分数为 18%, 浓缩胶质量分数为 5%, 电极缓冲液含 0.5mol/L Tris, 0.384mol/L 甘氨酸, 0.1% SDS(pH8.3)电泳用样品溶解液(内含 2% SDS、5% 的巯基乙醇、10% 甘油、0.02% 溴酚蓝及浓度为 0.05mol/L、pH8.0 的 Tris-HCl 缓冲液)。上样量为 10μL, 开始电泳时电流为 10mA, 待样品进入分离胶后改为 20mA; 考马斯亮蓝染色。

2 结果与分析

2.1 原料基本成分分析(表 2)

表 2 原料基本成分分析结果

Table 2 Main ingredients of corn gluten meal, defatted corn gluten meal and extruded defatted corn gluten meal

成分	蛋白/%	粗脂肪/%	淀粉/%	水分/%	灰分/%
原 CGM	67.8	6.25	12.6	11.83	1.3
脱脂 CGM	78.26	0.37	9.64	6.13	1.1
挤出后 CGM	77.52	0.33	8.22	9.43	1.5

2.2 可溶性蛋白含量的测定

以牛血清白蛋白质量浓度为横坐标, 以其在 500nm 波长处的吸光度为纵坐标, 做出一条关于牛血清白蛋白浓度与其在 500nm 波长处吸光度的关系曲线, 运用 Excel 软件对其进行线性回归拟合, 得到线性回归方程为 $y = 1.3523x + 0.0547$, 相关性系数为 $R^2 = 0.9991$, 相关性良好。

2.3 含水量对可溶性蛋白含量的影响

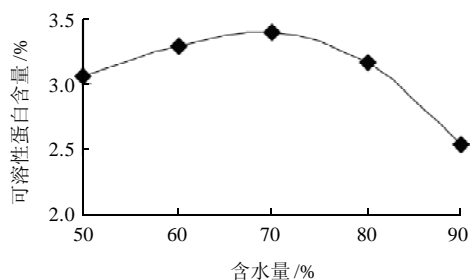


图 1 含水量对可溶性蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of water content before extrusion on soluble protein content

由图 1 可知, 随脱脂蛋白粉中含水量的增加可溶性蛋白含量有先增大后减少的趋势。这主要因为, 挤出处理过程中, 物料中水分含量影响挤出腔内的温度和压力, 影响物料在挤出腔内的停留时间^[12]。另外, 适量的水分不但使物料分散均匀, 蛋白质表面游离的氨基、

羧基、亚氨基等亲水基团,与水分子发生水合作用,形成胶体,改善脱脂玉米蛋白粉挤出改性效果^[13]。水分含量过高则减弱物料所受到的剪切力及摩擦力,降低了挤出头模口处的物料压力,大部分水分以液态形式存在挤出物中,减小物料挤出瞬间的汽化程度^[14-15],利用 Excel 软件,对试验数据进行二次回归拟合,获得挤出物可溶性蛋白含量(Y)脱脂蛋白粉含水量(X_1)的二次拟合公式为 $Y = -0.0014X_1^2 + 0.1935X_1 - 2.9811 (R^2=0.9852)$, 对其进行求导得出当含水量 $X_1=69.11\%$ 时,可溶性蛋白含量最大,因此脱脂玉米蛋白粉含水量取值范围为 60%、70%、80%。

2.4 挤出温度对可溶性蛋白含量的影响

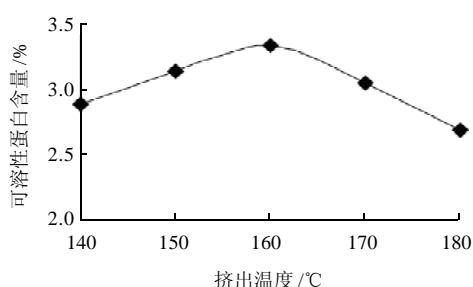


图2 挤出温度对可溶性蛋白含量的影响

Fig.2 Effect of extrusion temperature on soluble protein content

只有温度适当才能保证脱脂玉米蛋白粉挤出改性效果。挤出过程中从机筒壁传递的热量及物料在机筒内受剪切摩擦作用产生的热量使物料在一定的温度条件下完成挤出操作,尤其从机筒壁传递的热量所起的作用更大^[16]。由图2可看出,当温度达到160℃左右时,可溶性蛋白含量达到最大值,之后开始下降。这主要是因为当温度较低时,挤出物散碎,成型性差,此时物料在机筒内还未达到充分的熔融状态^[14],随着温度的逐渐升高,当达到160℃左右时,挤出物形成稳定的带状,且具有一定的抗拉伸能力,组织结构良好^[17]。当随着温度的继续升高,挤出物开始焦糊,摸头压力变大,挤出机工作电流变大,导致机器超负荷而自动停机。

利用 Excel 软件,对试验数据进行二次回归拟合,获得挤出物可溶性蛋白含量(Y)与挤出温度(X_2)的二次拟合公式为 $Y = -0.0012X_2^2 + 0.3879X_2 - 27.356 (R^2=0.9546)$, 对其进行求导得出当挤出温度 $X_2=161.2^\circ\text{C}$ 时,可溶性蛋白含量最大,因此挤出温度取值范围选取 150、160、170℃。

2.5 螺杆转速对可溶性蛋白含量的影响

由图3可知,螺杆转速在26~30Hz的范围内,挤出物中可溶性蛋白含量随螺杆转速的增大而增加,当螺杆转速持续增加,可溶性蛋白含量开始降低。这主要是随着螺杆转速的增大,剪切力也在增大,脱脂蛋白受到的压力也变大,表面的电荷重新分布且趋于均一

化,分子结构伸展、重组,分子间氢键、二硫键等次级键部分断裂^[13],有利于蛋白质的降解及可溶性蛋白含量的增加。螺杆转速过大,物料在机筒内停留的时间过短,物料来不及吸收足够的热量获得反应动能,降解反应进行不彻底^[18-19]。另外螺杆转速过高,挤出机运行也不稳定。

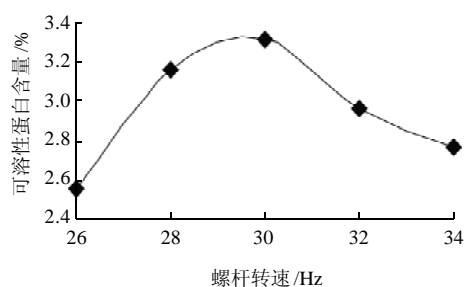


图3 螺杆转速对可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effect of screw rotation speed on soluble protein content

利用 Excel 软件,对试验数据进行二次回归拟合,获得挤出物可溶性蛋白含量(Y)与挤出温度(X_3)的二次拟合公式为 $Y = -0.038X_3^2 + 2.2926X_3 - 31.289 (R^2=0.8889)$, 对其进行求导得出当螺杆转速 $X_3=30.2\text{Hz}$ 时,可溶性蛋白含量最大,因此螺杆转速取值范围为 28、30、32Hz。

2.6 Box-Behnken 设计方案及结果

表3 玉米蛋白挤出工艺优化 Box-Behnken 设计方案及结果

Table 3 Box-Behnken experimental design and corresponding experimental results

试验号	X_1	X_2	X_3	Y 可溶性蛋白含量 / %
1	-1	-1	0	2.66
2	-1	1	0	2.03
3	1	-1	0	2.81
4	1	1	0	2.91
5	0	-1	-1	2.74
6	0	-1	1	3.21
7	0	1	-1	3.06
8	0	1	1	2.31
9	-1	0	-1	2.11
10	1	0	-1	2.84
11	-1	0	1	2.06
12	1	0	1	2.89
13	0	0	0	3.38
14	0	0	0	3.37
15	0	0	0	3.41

通过 SAS 8.1 软件对表3进行统计分析,经二次回归拟合后求得响应函数,即回归方程为 $Y = 3.386667 + 0.32375X_1 - 0.13875X_2 - 0.035X_3 - 0.569583X_1^2 + 0.1825X_1X_2 + 0.025X_1X_3 - 0.214583X_2^2 - 0.305X_2X_3 - 0.342083X_3^2$, 该方程的回归系数的方差分析结果见表4。

表4 回归系数方差分析结果

Table 4 Variance analysis for the regression coefficients in the fitted regression equation

来源	自由度	离差平方和	均方	F值	P值	显著性
X_1	1	0.838513	0.838513	90.9614	0.000214	**
X_2	1	0.154013	0.154013	16.7072	0.009471	**
X_3	1	0.0098	0.0098	1.063099	0.349779	
X_1^2	1	1.197878	1.197878	129.9451	0.0001	**
X_1X_2	1	0.133225	0.133225	14.45218	0.012608	*
X_1X_3	1	0.0025	0.0025	0.271199	0.62476	
X_2^2	1	0.170016	0.170016	18.44325	0.007755	**
X_2X_3	1	0.3721	0.3721	40.36521	0.001427	**
X_3^2	1	0.432078	0.432078	46.87155	0.001015	**
模型	9	3.121868	0.346874	37.62874	0.000459	**
误差	5	0.046092	0.009218			
总和	14	3.16796				

注: *.在 $\alpha=0.05$ 水平上显著; **.在 $\alpha=0.01$ 水平上极显著。

2.7 数学模型解析

2.7.1 主因子效应分析

由于各因素处理均经无量纲线性编码代换, 偏回归系数已不受因素取值的大小和单位的影响, 即已标准化, 其绝对值的大小直接反映了变量对响应值的影响程度。其中 X_1 、 X_2 都达到了极显著水平($P < 0.01$), 因此, 各因素在试验取值范围内对玉米蛋白粉中可溶性蛋白含量影响的大小顺序为 X_1 (含水量) $> X_2$ (挤出温度) $> X_3$ (螺杆转速)。

2.7.2 单因素效应分析

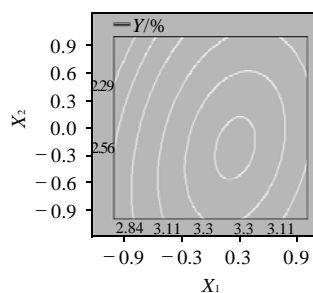
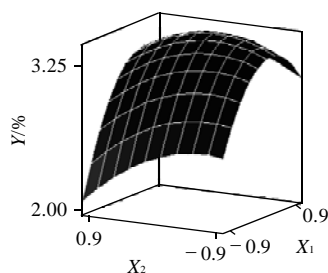
将回归方程中的3个未知数中令其中两个未知数固定于零水平, 对数学模型进行分析得到以其中一个因素为决策变量的偏回归模型:

$$\begin{cases} Y_1 = 3.386667 + 0.32375X_1 - 0.569583X_1^2 \\ Y_2 = 3.386667 - 0.13875X_2 - 0.214583X_2^2 \\ Y_3 = 3.386667 - 0.035X_3 - 0.342083X_3^2 \end{cases}$$

上述3个方程的二次项系数均为负值, 说明其表征的抛物线都开口向下, 因此, 3个因素取值均存在最佳值, 过大或过小均会使响应值降低。

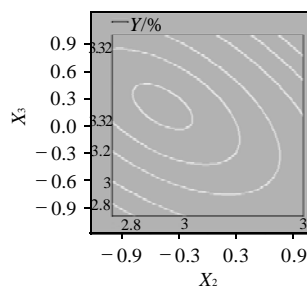
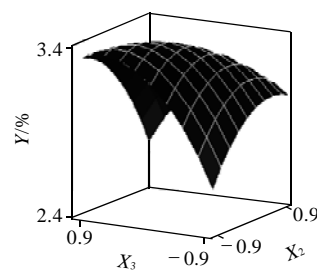
2.7.3 交互效应分析

对模型的方差分析表明, 在交互项中 X_1 与 X_2 达到了显著水平($P < 0.05$), 见图4A, X_2 与 X_3 达到了极显著水平($P < 0.01$), 见图4B, 而 X_1 与 X_3 之间的交互作用并不明显, 见图4C。



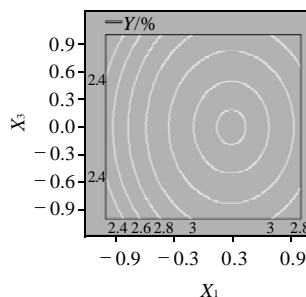
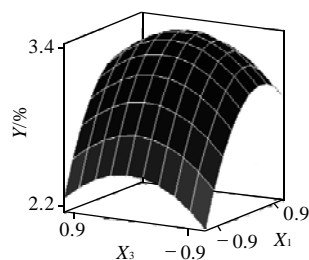
固定水平: $X_3=0$ 。

A. 物料含水量与挤出温度



固定水平: $X_1=0$ 。

B. 挤出温度与螺杆转速



固定水平: $X_2=0$ 。

C. 物料含水量与螺杆转速

图4 各两因素交互作用的响应面图及等高线图

Fig.4 Response surface and contour plots showing the effect of water content, extrusion temperature and screw rotation on soluble protein content

2.8 数学模型寻优

由表4可得: 回归方程模型 P 值为0.000459远小于0.01, 因此该模型极显著, 回归方程的决定系数 $R^2=0.9855$, 即98.55%的脱脂蛋白粉中可溶性蛋白含量数据变异, 方程的拟合性较好, 正确反映了可溶性蛋白含量与脱脂蛋白粉含水量、挤出温度、螺杆转速的关系^[20]。因此利用Maple 14软件对回归方程的三个未知数分别求偏导数, 可得如下方程组:

$$\begin{cases} 0.32375 - 1.139166X_1 + 0.025X_3 + 0.1825X_2 = 0 \\ -0.13875 + 0.1825X_1 - 0.429166X_2 - 0.305X_3 = 0 \\ -0.035 + 0.025X_1 - 0.305X_2 - 0.684166X_3 = 0 \end{cases}$$

对方程组求解得出 $X_1=0.24$ 、 $X_2=-0.28$ 、 $X_3=0.08$, 对应实际值为 $X_1=67.6\%$ 、 $X_2=162.8^\circ\text{C}$ 、 $X_3=29.84\text{Hz}$, 此条件下可溶性蛋白含量为3.44%。

为了验证方案的真实性, 在脱脂蛋白粉含水量68%、挤出温度 163°C 、螺杆转速30Hz的条件下进行挤出处理, 取3次测定结果的平均值为最终结果, 得到挤出后脱脂玉米蛋白粉中可溶性蛋白含量为3.43%, 与理论值较为接近, 表明数学模型对优化挤出工艺是可行的。因此, Box-Behnken设计优化得到的双螺杆挤出改性脱脂玉米蛋白粉条件准确可靠。

2.9 挤出前后玉米蛋白粉理化特性的变化

表5 挤出对玉米蛋白粉理化性质的影响

Table 5 Physicochemical properties of extruded corn gluten meal under different extrusion conditions

试验号	持水性/(g/g)	吸水性/(g/g)	持油性/%	乳化性/%	乳化稳定性/%	起泡性/%	泡沫稳定性/%
1	1.79	3.19	1.77	8.86	18.17	72	60
2	1.62	3.13	1.7	8.85	16.68	67	54
3	1.98	3.26	1.79	9.01	18.45	77	63
4	1.99	3.28	1.84	8.99	18.41	76	61
5	1.87	3.23	1.81	8.96	18.27	74	62
6	2.19	3.39	1.91	9.04	21.12	90	70
7	2.1	3.43	1.92	9.08	20.04	87	68
8	1.71	3.19	1.76	8.95	18.22	73	62
9	1.67	3.12	1.72	8.93	17.2	71	59
10	1.92	3.27	1.79	9.02	18.55	78	64
11	1.63	3.07	1.68	8.89	16.89	68	56
12	1.98	3.36	1.89	9.01	18.43	76	63
13	2.16	3.58	2.10	9.13	21.27	91	71
14	2.16	3.6	2.04	9.07	21.21	94	71
15	2.21	3.51	2.01	9.12	21.19	92	69
最佳条件	2.24	3.62	2.11	9.15	21.23	95	74
未改性CGM	1.37	2.6	1.36	6.23	16.3	63	49

蛋白质的功能性质与其本身的结构有着密切的关系, 玉米蛋白粉在挤出机机筒内受到高温、剪切、高压、蒸煮等综合作用, 使蛋白质的分子结构发生伸展, 重组分子表面的电荷重新分布, 导致维持蛋白质三级、

四级结构的结合力变弱, 分子间氢键、二硫键部分断裂, 蛋白质分子由球状聚集态重组为纤维状, 发生变性^[5], 并导致蛋白质发生不同程度的降解, 大分子的蛋白部分降解为小分子蛋白甚是多肽, 进而改变了蛋白质的溶解性、持水性及保水性, 持油性, 起泡性, 乳化性等特性, 提高了蛋白质的利用率, 由表6可看出, 经过双螺杆挤出改性后的玉米蛋白粉较改性前, 其功能性质都有了明显的改善。

2.10 玉米蛋白粉分子质量分布

2.10.1 SDS-PAGE电泳标准曲线

以标准蛋白(Marker)的蛋白谱带相对迁移率为横坐标、标准蛋白质分子质量为纵坐标作图, 标准曲线见图5。

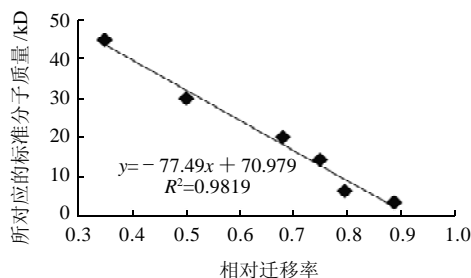
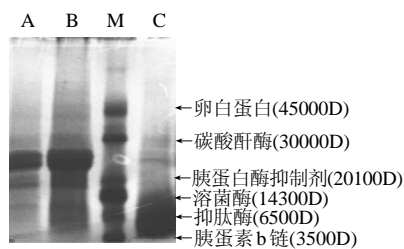


图5 标准曲线

Fig.5 Standard curve for molecular weight estimation

从图5可看出, 蛋白谱带的相对迁移率与标准蛋白质分子质量在3.5~45kD范围内有良好的线性关系, 得出线性回归方程 $y=77.49x+70.979$, 相关系数 $R^2=0.9819$ 。

2.10.2 玉米蛋白粉 SDS-PAGE 电泳图谱



A、B.挤出改性前玉米蛋白粉电泳谱带; C.挤出改性后玉米可溶蛋白粉电泳谱带; M.Marker电泳谱带。

图6 玉米蛋白粉的SDS-PAGE电泳图谱

Fig.6 SDS-PAGE of extruded and unextruded corn gluten meal

由于挤出改性前的玉米蛋白粉微溶于水, 很难在电泳图谱上形成较为清晰的条带, 因此实验过程中将挤出改性前的玉米蛋白粉溶解于0.05mol/L、pH8.0的Tris-HCl缓冲液并加入了1% SDS和2% 巯基乙醇进行助溶, 在12000r/min条件下离心10min, 取上清液加等体积样品缓

冲液后进行不连续 SDS-PAGE, 最后得到较为清晰的电泳图谱。挤出改性后的玉米蛋白粉取适量溶于水中, 于 4000r/min 条件下离心 15min, 取上清液冷冻干燥, 得到改性后玉米可溶蛋白粉, 然后取适量可溶蛋白粉于 0.05mol/L、pH8.0 的 Tris-HCl 缓冲液配成蛋白含量 0.5~1mg/mL 的溶液, 在 12000r/min 条件下离心 10min, 然后取适量上清液与样品缓冲溶液等体积混合后进行不连续 SDS-PAGE。

由图 6 可以看出, 挤出改性前的玉米蛋白粉亚基主要集中在 25000D 左右, 挤出改性后的玉米可溶蛋白粉其分子质量主要集中在 14300D 以下, 其中大部分是在 6500~3500D 之间的多肽, 因此, 挤出改性使玉米蛋白发生了降解, 将部分大分子的不溶性蛋白质降解为可溶的小分子蛋白和多肽, 提高了其可溶性蛋白的含量(是未挤出样的 2.5 倍), 且风味、加工性能均得到较大改善, 可用作高蛋白食品的加工原料。

3 结 论

本实验通过响应面分析研究物料含水量、挤出温度、螺杆转速对挤出改性玉米蛋白粉效果的影响, 并得到可溶性蛋白含量与试验参数相关的数学模型, 方差分析结果表明, 所得模型高度显著, 决定系数 $R^2=98.55\%$, 并对双螺杆挤出改性脱脂玉米蛋白粉进行工艺优化。优化结果显示: 物料含水量 68%、挤出温度 163℃、螺杆转速 30Hz 时挤出后的脱脂玉米蛋白粉中可溶性蛋白含量为 3.43%。凝胶电泳结果显示, 其中可溶性蛋白分子质量主要分布在 14300D 以下, 其中大部分是分子量在 6500~3500D 的多肽, 使玉米蛋白粉的应用及加工性能得到改善。

参考文献:

- [1] 金英姿, 王大为, 张艳荣. 玉米蛋白粉的深加工及应用前景[J]. 吉林农业科学, 2005, 30(5): 60-62.
- [2] 尤新. 玉米的综合利用及深加工[M]. 北京: 中国轻工出版社, 1993: 81-82.
- [3] 赵海波, 马涛. 螺杆挤出技术在食品工业中的应用[J]. 农产品加工, 2006, 67(6): 39-41.
- [4] HARPER J M. Food extruders and their applications[A]. MERCIER C, LINKO P, HARPER J M. Extrusion cooking[M]. St. Paul, MN: AACC, 1989: 1-16.
- [5] TOLSTOGUZOV V B. Thermoplastic extrusion - the mechanism of the formation of extrudate structure and properties[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1993, 70(4): 417-423.
- [6] 陈毓荃. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 164-166.
- [7] 岳朝龙, 黄永兴, 严忠. SAS 系统与经济统计分析[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2003: 229-238.
- [8] 谢良, 王璋, 蔡宝玉. 大豆分离蛋白的组成与功能性质[J]. 中国粮油学报, 2000, 15(6): 6-10.
- [9] ZHENG Xiqun, LI Lite, LIU Xiaolan, et al. Production of hydrolysate with antioxidative activity by enzymatic hydrolysis of extruded corn gluten[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 73(4): 763-770.
- [10] MORR C V. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates[J]. J Food Sci, 1985, 50(5): 1406-1412.
- [11] 沃兴德. 蛋白质电泳与分析[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2009: 39-56.
- [12] 尚永彪, 唐浩国. 膨化食品加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 83-84.
- [13] 安红周, 贾旭, 李益欣, 等. 双螺杆挤压对大豆组织蛋白组织化度的影响研究[J]. 粮油加工, 2010(7): 33-35.
- [14] 俞微微, 刘俊荣, 王勇, 等. 双螺杆挤出机操作参数对膨化水产饲料物性的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(3): 379-384.
- [15] LIN S, HUFF H E, HSIEH F. Extrusion process parameters, sensory characteristics, and structural properties of a high moisture soy protein meat analog[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(3): 1066-1072.
- [16] 杨绮云, 李德溥, 徐克非. 操作参数对双螺杆挤出机挤出效果影响的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(2): 14-17.
- [17] 赵多勇. 高水分组织化大豆蛋白产品特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006: 24-25.
- [18] 吴卫国, 杨伟丽, 唐书泽, 等. 双螺杆挤出机操作参数对早餐谷物产品特性影响的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 150-155.
- [19] EVON P H, VANDENBOSSCHE V, PONTALIER P Y, et al. Direct extraction of oil from sunflower seeds by twin-screw extruder according to an aqueous extraction process: Feasibility study and influence of operating conditions[J]. Industrial Crops and Products, 2007, 26(3): 351-359.
- [20] 谢捷, 李红娟, 郑兴宗. 响应面法优化厚朴酚及厚朴酚的闪式提取工艺的研究[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(4): 20-24.