

# 异抗坏血酸钠改善米渣蛋白加工性能的研究

董欢欢<sup>1</sup>, 曹树稳<sup>1,\*</sup>, 余燕影<sup>2</sup>

(1. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

2. 南昌大学化学系, 江西 南昌 330031)

**摘 要:** 研究了酶解修饰法和异抗坏血酸钠还原法对米渣蛋白加工性能改善的影响, 并比较了各自的优劣; 通过梯度实验, 考察了添加量、pH 值、温度、时间、料液比等条件对异抗坏血酸钠还原法改善米渣蛋白加乳化性能的影响, 并采用响应面法优化了其工艺条件, 得到的产品乳化性能明显优于酶解修饰法产品性能, 其它各性能指标与酶解修饰法产品相当。异抗坏血酸钠还原法是改善米渣蛋白乳化性能的一种较好的方法, 具有良好的应用前景。

**关键词:** 米渣蛋白; 异抗坏血酸钠; 乳化性; 二硫键

## Improving Functional Properties of Rice Residue Protein by Sodium Erythorbate

DONG Huan-huan<sup>1</sup>, CAO Shu-wen<sup>1,\*</sup>, YU Yan-ying<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2. Department of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

**Abstract:** The process and advantages of enzymes modification and sodium erythorbate deoxidization on improving functional properties of rice residue protein were studied respectively. The influence of consumption of sodium erythorbate, pH, temperature, time, liquid to solid ratio on improving functional properties of rice residue protein was evaluated by gradient experiment, and the optimum process parameters was determined by response surface methodology. The results showed that sodium erythorbate deoxidization improved the emulsifying activity obviously better than enzymes modification and other functional properties consistent with enzymes modification. Therefore, sodium erythorbate deoxidization is a preferable method to improving the emulsifying activity of rice residue protein, and has broad application prospects.

**Key words** rice residue protein; sodium erythorbate; emulsifying activity; disulfide bond

中图分类号: TS210.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)04-0167-05

米蛋白是目前所知植物蛋白中惟一无抗原性蛋白, 其氨基酸接近 WHO/FAO 理想模式, 尤其蛋氨酸含量丰富, 是植物蛋白中的上品<sup>[1]</sup>。米渣为用大米作原料生产味精、糖浆等的副产物, 产量丰富, 其蛋白含量在 60% 以上, 是一种宝贵的食用植物蛋白资源。国外大多将米渣经处理后加工为蛋白营养保健食品, 经济价值可观; 而国内则未经任何处理, 仅以下脚料形式低价出售作动物饲料用, 产品附加值低, 这对本就短缺的蛋白资源造成巨大浪费。

在糖浆、味精等生产过程中, 其高温等加工工艺容易致使米渣蛋白发生变性, 使其加工性能, 如溶解性、疏水性等下降, 这大大降低了米渣在食品工业中的应用范围。研究表明高温致变性米渣蛋白中大量存在

着二硫键, 这是导致米渣蛋白加工性能, 特别是其乳化性能劣变的重要因素之一<sup>[2-3]</sup>。目前, 国内外一般采用酶解修饰的方法来提高米渣蛋白的水溶性、乳化性等加工性能<sup>[4]</sup>, 取得了较好的效果。但采用酶解修饰的方法改性米渣蛋白亦存在着易产生水解异味<sup>[5]</sup>, 乳化性能, 特别是乳化稳定性能改善不明显的不足。原因可能是酶法未能消除导致米渣蛋白乳化性能劣变的重要因素二硫键, 故不能从根本上解决问题。因而, 研究有效改善米渣蛋白乳化性能的方法在米渣深度开发利用中具有十分重要的意义。

有研究表明, 抗坏血酸<sup>[6]</sup>、亚硫酸钠<sup>[7]</sup>等还原剂可将蛋白质中的二硫键还原成巯基, 从而提高蛋白的功能性。但以异抗坏血酸钠为还原剂, 通过还原二硫键以

收稿日期: 2007-05-07

作者简介: 董欢欢(1984-), 男, 硕士研究生, 主要从事食品科学研究。E-mail: ezzone@ncu.deu.cn

\* 通讯作者: 曹树稳(1962-), 男, 教授, 主要从事食品科学研究。E-mail: cswyyy@nc.jx.cn

改善米渣蛋白加工性能的研究尚未见报道。本研究通过考察酶解修饰法和异抗坏血酸钠还原法改善米渣蛋白加工性能,比较了它们的优劣;采用梯度实验,探讨了添加量、pH值、温度、时间、料液比等因素对异抗坏血酸钠还原法改善米渣蛋白乳化性能的影响,并通过响应面法优化了其工艺条件,得到的产品乳化性能明显优于酶解修饰法产品性能,其它各性能指标与酶解修饰法产品相当。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

米渣蛋白 江西恒天实业有限公司,蛋白含量62%,水分3%;纤维素酶 国药集团(沪试BR, 15000U/g);  $\alpha$ -淀粉酶 北京双旋公司(BR, 5000U/g);胰蛋白酶 国药集团(沪试BR, 2500U/mg),复合蛋白酶 诺维信公司(NOVO BR, 25000U/g);异抗坏血酸钠 江西德兴市百勤异VC钠有限公司;大豆油 深圳金龙鱼食用油有限公司。

### 1.2 仪器

UV-2450 紫外可见分光光度计 日本岛津公司;FJ-200 高速分散均质机 上海标本模型厂;PHS-3C 精密酸度计 上海虹益仪器仪表有限公司;DZF-150 真空烘箱 郑州长城科工贸有限公司;HH-1 恒温水浴锅 国华电器有限公司;TDL-40B 飞鸽离心机 上海安亭科学仪器厂;78HW-1 恒温加热磁力搅拌器 杭州仪表电机有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 蛋白质含量测定

按GB/T 5009.5—2003法进行。

#### 1.3.2 去杂米渣蛋白制备

米渣脱脂后按料液比1:10加水稀释调pH值至6.0,按米渣重量的1%加入 $\alpha$ -淀粉酶,70℃作用30min,90℃灭酶后调pH值至5.0,按米渣重量的0.1%加入纤维素酶,50℃作用30min后,90℃水浴30min灭酶冷却离心,沉淀真空干燥得去杂米渣蛋白(蛋白含量82.9%),供后续改性实验用。

#### 1.3.3 米渣蛋白改性

##### 1.3.3.1 胰蛋白酶法改性

米渣按料液比1:5加水,90℃预处理30min,冷却至45℃,补足水后调pH值至9.0,按米渣重量的1%加入胰蛋白酶,每15min调节pH至9.0,80min后90℃水浴30min灭酶,离心沉淀真空干燥粉碎即得。

##### 1.3.3.2 复合蛋白酶改性

米渣按料液比1:5加水,90℃预处理30min,冷却至45℃,补足水调pH值至7.0,按米渣重量的1%加入复合蛋白酶,每15min调节pH至7.0,90min后90℃

水浴30min灭酶,离心沉淀真空干燥粉碎即得。

##### 1.3.3.3 异抗坏血酸钠改性

米渣按料液比1:5加水,90℃预处理30min,冷却至40℃,补足水调pH值至5.0,按米渣重量的1%加入异抗坏血酸钠,反应90min,离心,沉淀真空干燥粉碎即得。

#### 1.3.4 改性米渣蛋白加工性能测定

##### 1.3.4.1 持水性

参照文献[8],并作改进为:称取蛋白样品0.5g与4ml水放入小离心管中,细金属丝搅拌1min,40℃水浴静置30min,使之充分吸水,3000r/min离心25min,去除分离水,测定残留物的重量,以每克蛋白样品(干重)吸附水的克数表示持水性,计算公式如下:

$$\text{持水性(g/g)} = \frac{\text{离心分离后残留物重(g)} - \text{样品干重(g)}}{\text{样品干重(g)}}$$

##### 1.3.4.2 吸油性

参照文献[8],并作改进为:称取0.4g的蛋白样品与4ml食用油放入小离心管中,细金属丝搅拌1min,40℃恒温静置30min后,3000r/min离心25min,去除游离油,测定残留物重量,以每克蛋白样品(干重)吸附油的克数表示持油性,计算公式如下:

$$\text{吸油性(g/g)} = \frac{\text{离心分离后残留物重(g)} - \text{样品干重(g)}}{\text{样品干重(g)}}$$

##### 1.3.4.3 乳化性(EA)与乳化稳定性(ES)

采用浊度法<sup>[9-10]</sup>,并作改进为:样品用0.2mol/L pH 7.0的磷酸盐缓冲液配制成0.5%的悬浮液,加入10ml大豆油,12000r/min分散2min,立即取25 $\mu$ l下层乳液,加入25ml 0.1%SDS(十二烷基硫酸钠)中,于500nm处测定吸光度 $A_1$ ,以 $A_1$ 放大100倍值表示为乳化活性 $E_A$ 。静止8min后,重新取样测定吸光度 $A_2$ ,则乳化稳定性 $E_s$ (min)计算公式如下:

$$E_s = \frac{A_1 \times 8}{A_1 - A_2}$$

#### 1.3.5 异抗坏血酸钠改性米渣蛋白乳化性能

以产品乳化性能改善情况为指标,分别考察pH值、异抗坏血酸钠用量、时间、温度四种因素对米渣蛋白乳化性能的影响。

##### 1.3.5.1 pH值的影响

固定料液比为1:5、作用温度45℃、时间90min、异抗坏血酸钠添加量为0.1g等条件,考察不同pH值下(3.0、5.0、7.0、9.0)对米渣蛋白乳化性能的影响。

##### 1.3.5.2 异抗坏血酸钠用量的影响

固定料液比1:5、作用温度45℃、pH 5.0、时间

90min 等条件, 考察添加不同异抗坏血酸钠用量对米渣蛋白乳化性能的影响, 分别按每 5 g 米渣蛋白添加异抗坏血酸 0.10、0.15、0.20、0.25g 进行比较。

### 1.3.5.3 时间的影响

固定料液比 1:5、作用温度 45℃、pH5.0、异抗坏血酸钠添加量为 0.1g 等条件, 考察不同作用时间(30、60、90、120min)对米渣蛋白乳化性能的影响。

### 1.3.5.4 温度的影响

固定料液比 1:5、pH5.0、时间 90min、异抗坏血酸钠添加量 0.1g 等条件, 考察不同作用温度(20、40、60、80℃)对米渣蛋白乳化性能的影响。

### 1.3.6 改性米渣蛋白乳化性的响应面试验

选取温度、异抗坏血酸钠用量和反应时间三个因素为自变量, 以所得产物乳化性为响应值, 设计三因素三水平的响应面分析试验, 因素水平设计表见表 1。

表 1 三因素三水平试验设计  
Table 1 Test design of factors and levels

因素	编码	因素取值	水平
温度(℃)	X	+1	50
		0	60
		-1	70
异抗坏血酸钠用量(g)	Y	+1	0.10
		0	0.15
		-1	0.20
时间(min)	Z	+1	75
		0	90
		-1	105

## 2 结果与分析

### 2.1 不同改性方法对米渣蛋白加工性能的影响

将不同改性方法得到的米渣蛋白分别在相同温度和相同 pH 值下测定其加工性能, 结果见图 1。

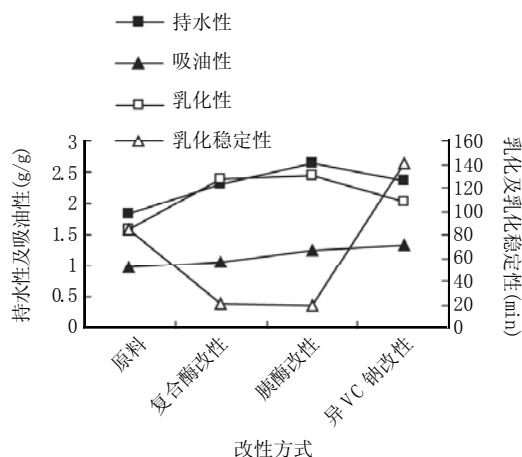


图 1 不同改性方式对米渣蛋白加工性能的影响

Fig.1 Effects of different methods on functionality of RRP

由图 1 可知, 米渣蛋白经不同方式改性后, 其加工性能均有不同程度的变化。两种酶修饰法所得产品加工性能相近, 其持水性、吸油性、乳化性等与改性前相比均有一定程度提高, 其中胰蛋白酶可显著改善米渣蛋白的持水性, 达到 2.642g/g; 但乳化稳定性均比改性前低, 分别降低了 51.2% 和 55.7%。经异抗坏血酸钠改性后的产品, 其加工性能各项指标均较改性前高, 虽然持水性稍弱于持水性最好的胰蛋白酶法, 但乳化性与酶处理法相当, 尤其在吸油性和乳化稳定性方面明显优于酶解法, 乳化稳定性达到 141.3min。经异抗坏血酸钠改性后的米渣蛋白, 其持水性、吸油性、乳化性、乳化稳定性分别较改性前提高了 28.8%、34.9%、28.6% 和 68.2%, 效果显著。

异抗坏血酸钠还原法是通过电子传递参与蛋白质二硫键与巯基间的转化过程, 增强蛋白质-蛋白质相互作用, 促进蛋白溶液形成高度有序的稳定网格结构, 从而显著改善蛋白加工性能<sup>[3,6]</sup>。

### 2.2 异抗坏血酸钠还原法改善米渣蛋白乳化性能梯度实验

#### 2.2.1 pH 值的影响

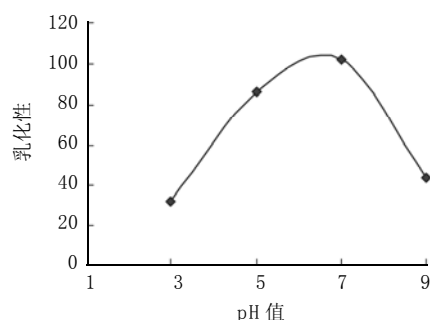


图 2 pH 值对乳化性能的影响

Fig.2 Effects of pH on emulsifying activity

结果如图 2 所示, 溶液 pH 值的变化对乳化性能的影响较大。溶液偏酸或偏碱性均不利于乳化性能的改善, 溶液 pH 为 7.0 时, 乳化性能达到较佳值。

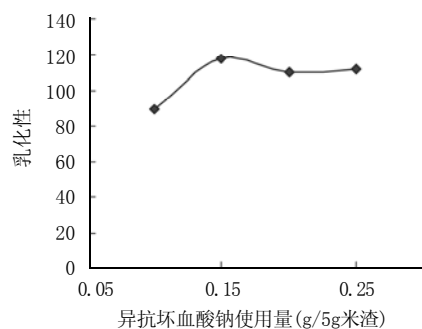


图 3 异抗坏血酸钠用量对乳化性能的影响

Fig.3 Effects of SE dosage on emulsifying activity

### 2.2.2 异抗坏血酸钠用量的影响

实验结果如图3所示,随着异抗坏血酸钠用量的增加,产物乳化性能逐渐升高,在0.15g时有较佳值,此时乳化性能较未改性前提高了40.5%,达到118。继续增加用量,产物乳化性能有一定程度下降,但变化不明显,故异抗坏血酸钠较佳用量为0.15g/5g米渣蛋白。

### 2.2.3 时间的影响

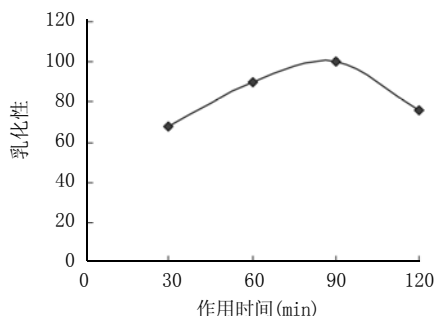


图4 时间对乳化性能的影响

Fig.4 Effect of reacting time on emulsifying activity

由图4可知,随作用时间的增加,产品乳化性能逐渐提高,这与逐渐暴露的疏水基团促进油滴结合有关,但增速较平缓,说明在该条件下疏水基团的暴露是一个较温和的过程。作用90min后,所得产品的乳化性能达到较佳值。反应继续进行,疏水基团暴露过多,产生小分子蛋白质,反而会使产物乳化性降低,表明较长时间的作用不利于产物乳化性能的提高,故较佳作用时间为90min。

### 2.2.4 温度的影响

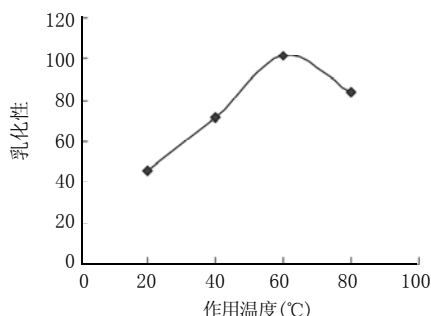


图5 温度对乳化性能的影响

Fig.5 Effects of temperature on emulsifying activity

实验结果如图5所示,随着作用温度的升高,异抗坏血酸钠改善米渣蛋白所得产品的乳化性能不断增加,60℃时乳化性能达到最佳。随后温度再升高,所得产品乳化性能则下降,表明高温并不利于改性过程的进行。故选取60℃为较佳作用温度。

### 2.3 异抗坏血酸钠还原法改善米渣蛋白乳化性能响应面试验

研究发现经酶法去杂后的米渣蛋白,加水稀释后悬浊液pH值为6.7~6.9,与单因素试验优化所得较佳pH值基本相符。因此,根据单因素试验结果,响应面试验中不再考虑pH值因素,只考察温度、异抗坏血酸钠用量和作用时间三个因素,以所得产品乳化性能为响应值,设计三因素三水平的响应面分析试验。响应面分析实验点安排及实验结果见表2。

表2 响应面分析试验点安排及试验结果

Table 2 Different levels of factors arranged in experiments and EA prepared in experiments

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
X	-1	-1	-1	-1	0	0	0	0	+1	+1	+1	+1	0	0	0
Y	-1	0	0	+1	-1	-1	+1	+1	-1	0	0	+1	0	0	0
Z	0	-1	+1	0	-1	+1	-1	+1	0	-1	+1	0	0	0	0
E <sub>A</sub>	54	82	59	109	60	47	112	114	80	107	103	100	107	109	105

试验以随机次序进行,平行测定两次,试验获得的乳化性平均值用SAS RSREG(response surface regression)程序进行分析,得出回归分析表(见表3)及回归方程,并采用MATLAB 7.1软件绘制响应面图,如图6所示。

计算回归方程为:

$DH = 107 + 10.75X + 24.25Y - 4.75Z - 8.375X^2 - 12.875Y^2 - 10.875Z^2 - 8.75XY + 4.75XZ + 3.75YZ$ , 相关系数  $R = 0.9827$ ,  $F = 6.743$ , 显著水平  $p = 0.02433 < 0.05$ , 方程显著,可用以对试验结果进行分析预测。对回归模型进行数学分析,在试验范围内求取极大值得:  $X = 0.1821$ 、 $Y = 0.8798$ 、 $Z = 0$ , 即温度58.18℃、异抗坏血酸钠添加量0.106g、作用时间90min,理论乳化性为118.64。为试验操作方便,最终异抗坏血酸钠改善米渣蛋白乳化性能优化工艺参数选为温度60℃、异抗坏血酸钠添加量0.1g、作用时间90min。在此条件下进行三次平行试验,产品乳化性平均值为116.33,较处理前提高38.49%。

表3 回归分析

Table 3 Regression results

变量	X	Y	Z	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Z <sup>2</sup>	XY	XZ	YZ
偏相关	0.7413	0.9286	-0.4826	-0.5463	-0.7211	-0.6159	-0.5680	0.3623	0.2903
t	2.733	6.450	1.259	1.394	2.263	1.878	1.645	0.8906	0.6498
p	0.03438	0.000860	0.2616	0.1961	0.06916	0.1103	0.1709	0.4085	0.5193

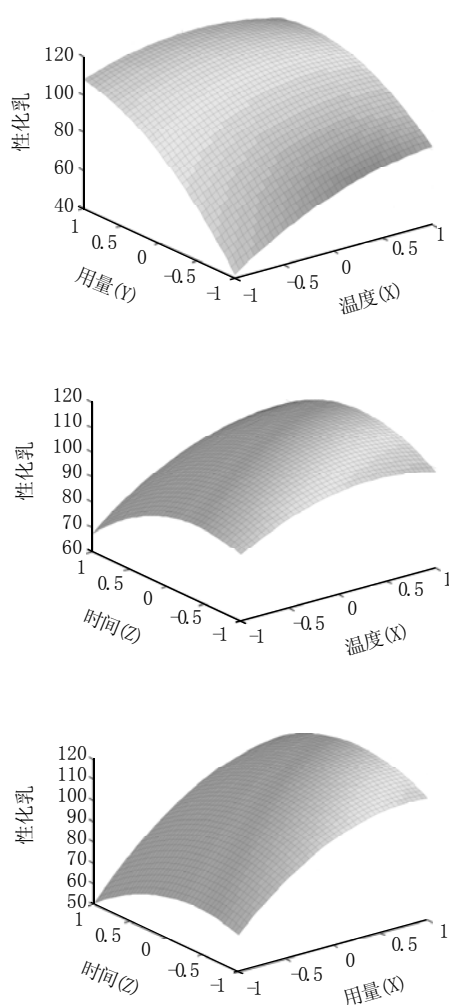


图6 乳化性的响应面分析图

Fig.6 RSM graph of EA

### 3 结论

本研究结果表明, 酶解修饰法和异抗坏血酸钠还原法均能较好地改善米渣蛋白的加工性能, 其中酶解修饰法对米渣蛋白乳化性能, 特别是乳化稳定性能改善不明显; 异抗坏血酸钠还原法对米渣蛋白乳化性能, 特别是乳化稳定性能改善效果明显优于酶解修饰法, 其它各性能指标与酶解修饰法产品相当。因而, 异抗坏血酸钠还原法是改善米渣蛋白乳化性能的一种较好的方法, 具有良好的应用前景。

### 参考文献:

- [1] 王章存, 申瑞玲, 姚惠源. 大米蛋白开发利用[J]. 粮食与油脂, 2004 (1): 12-14.
- [2] 王章存, 姚惠源. 大米蛋白乳化性质研究[J]. 食品科学, 2005, 26 (2): 43-46.
- [3] 齐军茹, 彭志英. 蛋白乳化活性与分子结构的关系[J]. 中国食品添加剂, 2004 (2): 52-55.
- [4] 莫文敏, 曾庆孝. 蛋白质改性研究进展[J]. 食品科学, 2000, 21 (6): 6-10.
- [5] 赵国华, 陈宗道. 蛋白质水解物苦味研究进展[J]. 粮食与油脂, 2000 (1): 26-30.
- [6] 黄行健, 潘思轶, 王可兴. 抗坏血酸改性大豆7S球蛋白物化特性研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19 (5): 47-50.
- [7] 朱小乔, 刘通讯. 大豆分离蛋白(SPI)乳化稳定性的研究[J]. 粮油食品科技, 2003, 11 (1): 16-18.
- [8] 郭荣荣, 潘思轶, 王可兴. 碱法与酶法提取大米蛋白工艺及功能特性比较研究[J]. 食品科学, 2005, 26 (3): 173-177.
- [9] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique[J]. J Agric Food Chem, 1978, 26 (3): 716-723.
- [10] ANDERSON A, HETTIARACHCHY N S, JU Z Y. Physicochemical properties of pronase-treated rice glutelin[J]. J America Oil Chem Sociat (JAOCs), 2001, 78 (1): 1-6.