

# 脱脂麦胚可溶性蛋白各组分中 黄酮含量的测定及脱除

朱科学<sup>1,2</sup>, 周惠明<sup>1,2</sup>, 钱海峰<sup>1,2</sup>, 李天真<sup>3</sup>

(1.江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036;

2.江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036;

3.湖州职业技术学院, 浙江 湖州 313000)

**摘 要:** 很多植物中都含有酚类物质, 它很容易与蛋白质相结合, 因此酚类物质是各种植物蛋白产品色泽和风味的一个主要影响因素, 并且它也会影响食品蛋白质的功能性质和营养特性。黄酮类化合物是麦胚中最主要的酚类物质。本文以脱脂麦胚为原料, 通过两种不同的方法制备脱脂麦胚可溶性蛋白组分, 测定各蛋白组分中黄酮类化合物的含量, 并尝试通过醇洗的方法脱除黄酮。实验结果表明: 制备获得了三种脱脂麦胚可溶性蛋白组分: 清蛋白、球蛋白和分离蛋白, 三种蛋白组分的蛋白质含量均超过 80%。小麦胚清蛋白中的黄酮类化合物含量最高, 分离蛋白次之, 球蛋白含量最低。黄酮类化合物可能主要是与麦胚清蛋白相结合。采用 50% 的冷乙醇对麦胚可溶性蛋白进行洗涤, 洗涤三次可以脱除 90% 以上的黄酮类物质。

**关键词:** 脱脂麦胚; 清蛋白; 球蛋白; 分离蛋白; 黄酮

## Determination and Removal of Flavonoids in Soluble Proteins from Defatted Wheat Germ

ZHU Ke-xue<sup>1,2</sup>, ZHOU Hui-ming<sup>1,2</sup>, QIAN Hai-feng<sup>1,2</sup>, LI Tian-zhen<sup>3</sup>

(1.School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2.Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China;

3.Huzhou Professional Technology College, Huzhou 313000, China)

**Abstract:** It is known that phenolic compounds possess a significant binding affinity for proteins. However, the protein-polyphenol interaction is the major cause of the dark colour and undesirable taste of vegetable protein products. Furthermore, it also influences functionality and nutritional bioavailability of food proteins. Flavonoids are the main phenolic compounds of wheat germ. Defatted wheat germ soluble proteins were prepared by two methods, and their flavonoid contents were determined, while 50% cold ethanol was tried to remove flavonoids in the protein products. The results showed that wheat germ albumins, globulins and protein isolates were obtained, and their protein contents were over 80%. The flavonoids content in wheat germ albumins was the highest, about 0.544%, while the protein isolates took the second place, and the globulins were the lowest. It was speculated that flavonoids in wheat germ mainly bound to albumins by certain interaction. The method of 50% ethanol could effectively remove the flavonoids in wheat germ soluble proteins, whereas 90% flavonoids were removed by washing three times.

**Key words:** defatted wheat germ; albumins; globulins; protein isolates; flavonoids

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0135-04

小麦胚芽的蛋白质含量高达 30% 左右。在麦胚蛋白质的组成中, 清蛋白占 30.2%,  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  三种球蛋白占 18.9%, 麦醇溶蛋白占 14.0%, 麦谷蛋白占 0.3%~0.37%, 水不溶性蛋白占 30.2%<sup>[1]</sup>。从其蛋白质组成可以

收稿日期: 2004-09-07

基金项目: 国家“十五”重点科技攻关项目(2001BA501A04)

作者简介: 朱科学(1978-), 男, 博士研究生, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。

不难看出,可溶性蛋白约占麦胚蛋白的50%,因此近年来许多的研究都集中到麦胚可溶性蛋白的分离制备、功能性质、物化性质、免疫学特性以及其在食品工业中的应用上。

麦胚中含有一定量的色素物质,主要包括黄酮、黄色素、胡萝卜素等,其中黄酮是最为主要的。1931年Anderson和Perkin从小麦的乙醚提取物中分离出麦黄酮(tricin),并发现这种黄酮是小麦籽粒中的主要黄酮类化合物,主要存在于小麦麸皮和小麦胚的胚轴中<sup>[2]</sup>。

1945年Chen和Geddes对小麦中的色素进行了系统的研究,发现硬红春小麦(HRS)的麦胚中的黄酮类化合物的含量大约为52.8 $\mu$ g/g(以麦黄酮计算)<sup>[3]</sup>。1962年King从面粉厂的副产品——小麦胚中分离出两种黄酮类化合物,并鉴定为芹菜苷配物(apigenin glycosides),其含量占市售麦胚样品的0.2%~0.3%<sup>[4]</sup>。以后的几十年对小麦胚中黄酮类化合物的研究一直是国内外谷物化学家们的研究热点,对其的认识也越来越深入。

酚类物质对于蛋白质有着特定的亲和作用,因此在分离制备蛋白质时,酚类物质也很容易混入蛋白质产品中,不仅造成蛋白质产品的色泽暗淡,更主要的是可能影响蛋白质的功能性质和可消化性<sup>[5]</sup>。而对于小麦胚而言,其主要的酚类物质就是黄酮类化合物。本文主要测定分析了脱脂麦胚可溶性蛋白组分中的黄酮类化合物的含量,并尝试通过醇洗蛋白的方法脱除黄酮类化合物。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验原料:小麦胚芽由上海福新面粉厂提供;  
主要试剂:均为国产分析纯。

### 1.2 主要仪器和设备

ZOPR-52D冷冻离心机 日本东京日立Koki有限公司;721-分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;循环水真空泵(SHZ-3) 巩义市街光亚仪器厂;恒温水浴锅 江苏省医疗器械厂真空泵;PHS-3C精密pH计 上海雷磁仪器厂;磁力搅拌器 上海司乐仪器厂。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 原料的预处理

新鲜小麦胚筛掉细粉,灭酶(电热烘箱105℃,鼓风,20min),正己烷脱脂后粉碎成麦胚粉(过60目筛),然后置于冰箱4℃保存备用。

#### 1.3.2 样品的基本组成分析

水分的测定—105℃恒重法(GB 5497-85);

粗蛋白的测定—微量凯氏定氮法(GB 5511-85);

灰分的测定—550℃灼烧法(GB 5505-85);

粗脂肪的测定—索氏抽提法(GB 5512-85)。

### 1.3.3 麦胚可溶性蛋白的分级制备

可溶性蛋白主要包括水溶性蛋白(清蛋白)和盐溶性蛋白(球蛋白)。其制备方法主要有两种,即Osborne的分级制备法和碱提酸沉法。

#### 1.3.3.1 麦胚清蛋白、球蛋白的分级制备

取100g小麦胚粉于2L的不锈钢提取罐中,然后加入1000ml去离子水,在室温条件下搅拌浸提2h,然后8000r/min、4℃离心20min,过滤上清液。然后加500ml去离子水对沉淀进行相同的水提操作。合并两次所得的上清液,本实验采用两种方法制备清蛋白,第一种是直接将上清液进行冷冻干燥;第二种是采用饱和度为75%的硫酸铵进行清蛋白的沉淀,然后加水溶解沉淀,于去离子水中透析(透析袋截留分子量为12000),脱盐后冷冻干燥。

麦胚球蛋白的制备是将清蛋白浸提后的沉淀用0.5mol/L的NaCl进行浸提,其他操作条件同麦胚清蛋白的浸提。合并两次所得的上清液,于去离子水中透析(透析袋截留分子量为12000),然后离心获得沉淀,沉淀冷冻干燥即为麦胚球蛋白。

#### 1.3.3.2 麦胚分离蛋白的制备

麦胚分离蛋白的分离制备是按照N.S.Hettiarachchy等人的方法进行的<sup>[6]</sup>。

### 1.3.4 麦胚及其各蛋白组分中黄酮含量的测定

麦胚及麦胚各蛋白组分中黄酮的测定采用Adom等人<sup>[7]</sup>的方法,即AlCl<sub>3</sub>比色法,以芸香苷(芦丁)为标准,测定波长为510nm。

具体的测定方法为:原料用乙醇水浴浸提(乙醇浓度60%,水浴温度60℃,料水比1:20,时间1h)→过滤→定容→测定

标准曲线的绘制:配制芦丁标准溶液0.1mg/ml。吸取标准溶液0、0.5、1、1.5、2、2.5、3ml于10ml容量瓶中,加入1ml 1mol/L AlCl<sub>3</sub>溶液,定容,静置30min后于510nm处测定溶液吸光值。

### 1.3.5 醇洗麦胚蛋白脱除黄酮类化合物的效果测定

由于黄酮类化合物溶于50%的乙醇中,所以本实验尝试采用醇洗法来脱黄酮。考虑到醇洗可能会造成蛋白质的变性,因此本实验中所用的50%的乙醇都是经预冷处理的(4℃)。

分别取麦胚清蛋白(经硫酸铵沉淀的)和麦胚分离蛋白2g,分别放入150ml的具塞三角瓶内,分四次洗涤,每次加冷的50%乙醇25ml,静止浸泡20min,然后对抽滤的各蛋白组分再进行黄酮含量的测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 原料组成分析

在实验前我们对原料的基本组成进行了分析, 具体结果见表 1。

表 1 新鲜麦胚和麦胚粉的基本化学组成  
Table 1 Proximate chemical composition of fresh wheat germ and defatted wheat germ flour

	水分 (%)	灰分 (%)	脂肪 (%)	蛋白质(N × 5.45) (%)	碳水化合物 (%)
新鲜麦胚	12.70	4.34	10.01	27.61	45.34
小麦胚粉	10.04	4.84	0.81	31.22	53.09

从上表的测定结果来看, 小麦胚脱脂后, 其蛋白质含量高达 31.22%(湿基含量), 将其换算为干基含量为 34.70%, 脱脂麦胚粉是蛋白质含量极为丰富的植物资源, 是人体很好的蛋白补充剂, 因此麦胚蛋白一直备受食品营养科研人员的重视。这里需要说明的是在植物蛋白质进行凯式定氮时, 其换算系数一般都是取 6.25。而 Tkachuk<sup>[8,9]</sup>通过研究麦胚氨基酸组成发现小麦胚蛋白含有较多的非蛋白氮, 建议其定氮系数为 5.45。

## 2.2 麦胚蛋白各组分的分离制备

通过 Osborne 的蛋白质分级分离的方法, 分离制备得到麦胚清蛋白和球蛋白; 同时通过传统的碱提酸沉的方法制备得到麦胚分离蛋白。表 2 中列出了麦胚各蛋白组分的得率及蛋白质含量, 其中蛋白质含量我们是通过凯式定氮的方法测得的。就蛋白的提取得率而言, 麦胚清蛋白、分离蛋白的得率与前人报道的比较接近, 而麦胚球蛋白的得率相对较低<sup>[1][6]</sup>。

表 2 麦胚各蛋白组分的得率及蛋白质含量  
Table 2 The yield and protein content of various protein fractions extracted from wheat germ

	麦胚清蛋白 *	麦胚球蛋白	麦胚分离蛋白
得率(g/100g 脱脂麦胚粉)	11.23	4.16	11.95
蛋白质含量(%)	82.45	80.26	84.09

\* 为经 75% 饱和硫酸铵沉淀所得清蛋白组分。

## 2.3 麦胚及麦胚蛋白各组分中黄酮含量的测定

图 1 为本次实验中黄酮含量测定的标准曲线。通过对新鲜小麦胚、脱脂麦胚粉和麦胚蛋白各组分中黄酮含量的测定, 结果表明经 75% 硫酸铵沉淀制备的麦胚清蛋白中黄酮含量最高, 而麦胚球蛋白中的含量最低(见图 2)。新鲜小麦胚中的黄酮总含量为 0.299%, 这与 King<sup>[4]</sup>的报道相符合。经正己烷脱脂后, 麦胚粉中的黄酮含量增加, 说明黄酮在正己烷及麦胚油中的含量甚微。对比未经和经硫酸铵沉淀制备所得的麦胚清蛋白中黄酮含量的变化, 我们可以不难发现, 经沉淀纯化后的麦胚清蛋白中的黄酮含量显著增加, 这说明清蛋白和黄酮类化合物是被一起沉淀下来的, 麦胚清蛋白与黄酮类化合物的结合力比较强, 它们之间到底以何种作用力相结

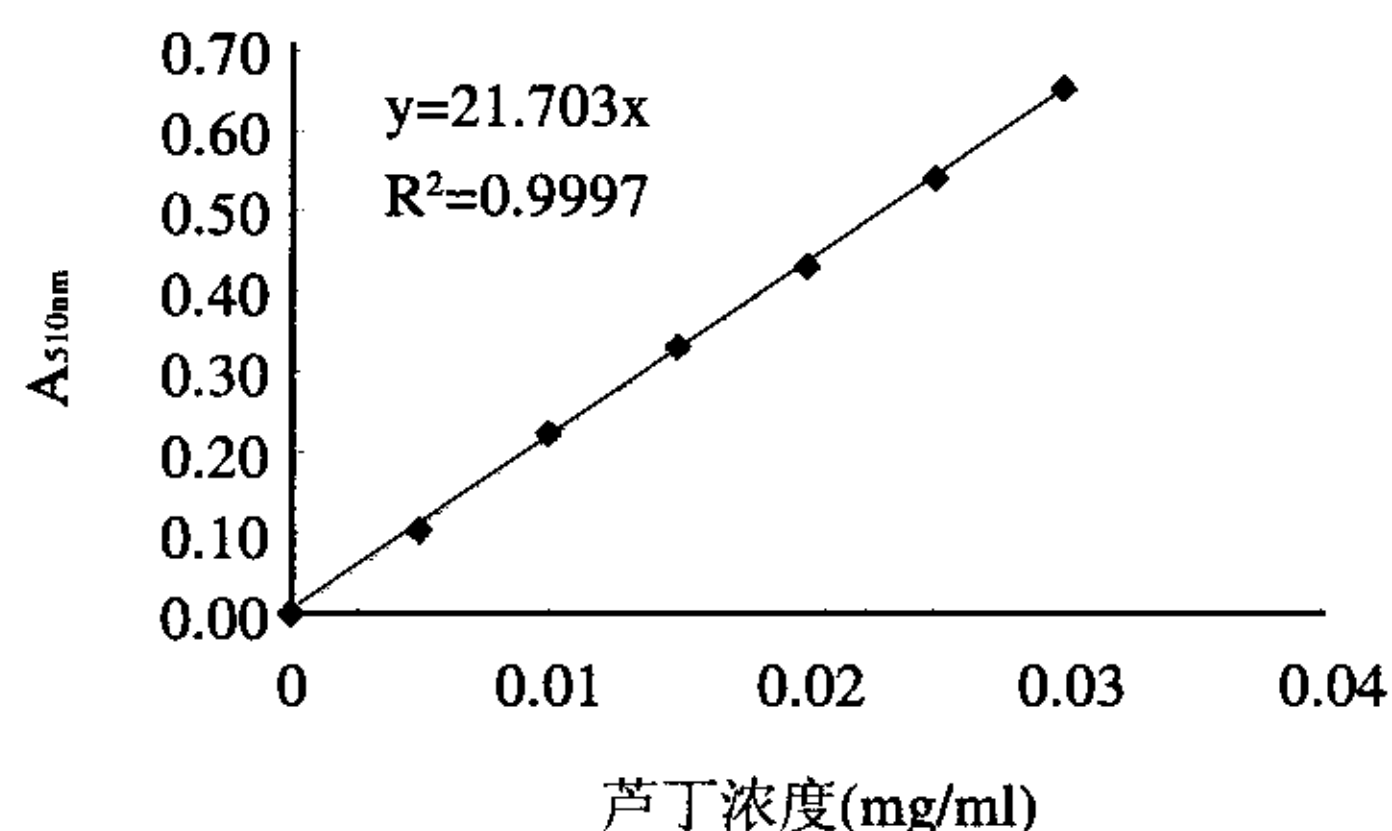
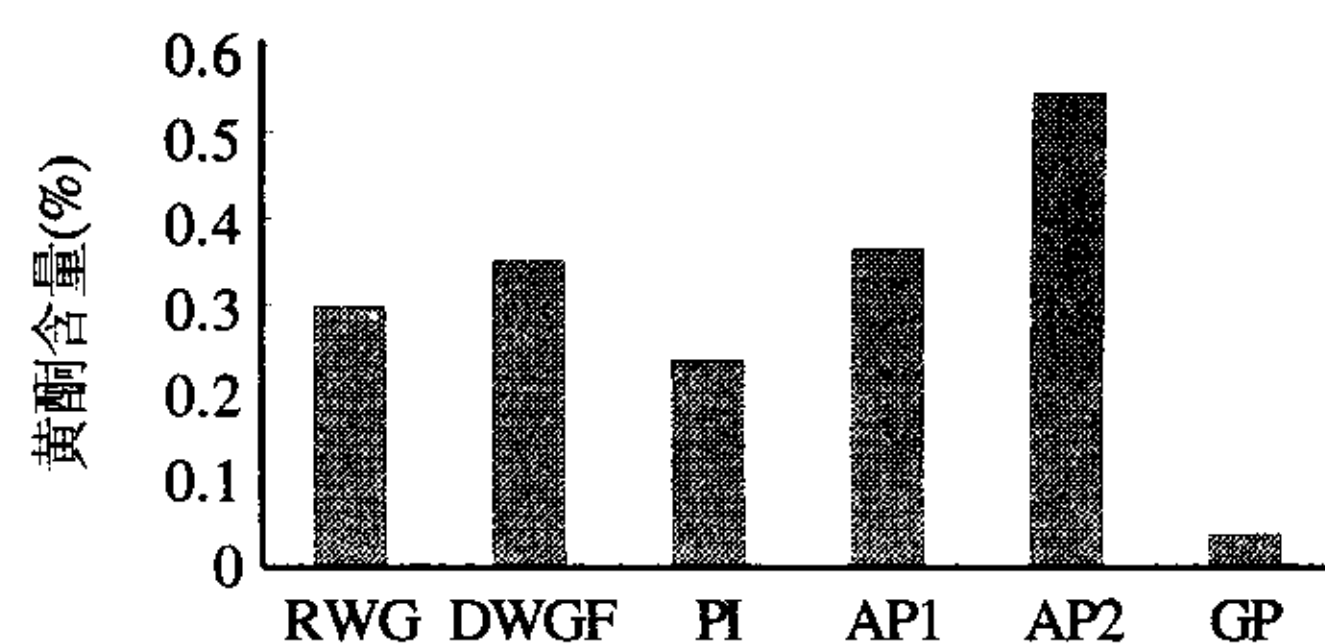


图 1 黄酮含量测定标准曲线

Fig.1 The standard curve of determining the content of flavonoid



注: RWG: 新鲜小麦胚; DWGF: 脱脂麦胚粉; PI: 麦胚分离蛋白; AP1: 麦胚清蛋白(未经硫酸铵沉淀); AP2: 麦胚清蛋白(经 75% 硫酸铵沉淀); GP: 麦胚球蛋白。

图 2 麦胚、麦胚粉及麦胚各蛋白组分中黄酮的含量

Fig.2 The content of flavonoid in raw wheat germ, defatted wheat germ flour, and its various protein fractions

合, 还有待于进一步的研究。另外我们发现麦胚分离蛋白中的黄酮相对较多, 这也说明麦胚中的黄酮主要与清蛋白相结合, 因为麦胚分离蛋白中 80% 甚至 90% 以上的都是清蛋白, 其次是球蛋白<sup>[5]</sup>。麦胚球蛋白中黄酮的含量较低, 甚至可以认为不存在。

## 2.4 醇洗麦胚蛋白脱除黄酮类化合物的效果测定

我们分析了用 50% 的冷乙醇洗涤对麦胚清蛋白和分离蛋白中黄酮含量的影响, 测定结果见图 3。从图中的曲线我们可以发现, 醇洗可以明显降低麦胚可溶性蛋白中的黄酮含量, 并且经过三次洗涤后, 大约 90% 的黄酮被除去, 再用醇洗, 蛋白中的黄酮含量几乎不再发生变化。经过四次醇洗后的麦胚可溶性蛋白的色泽有了明显的改善, 脱除黄酮后的蛋白产品更易于被人们所接

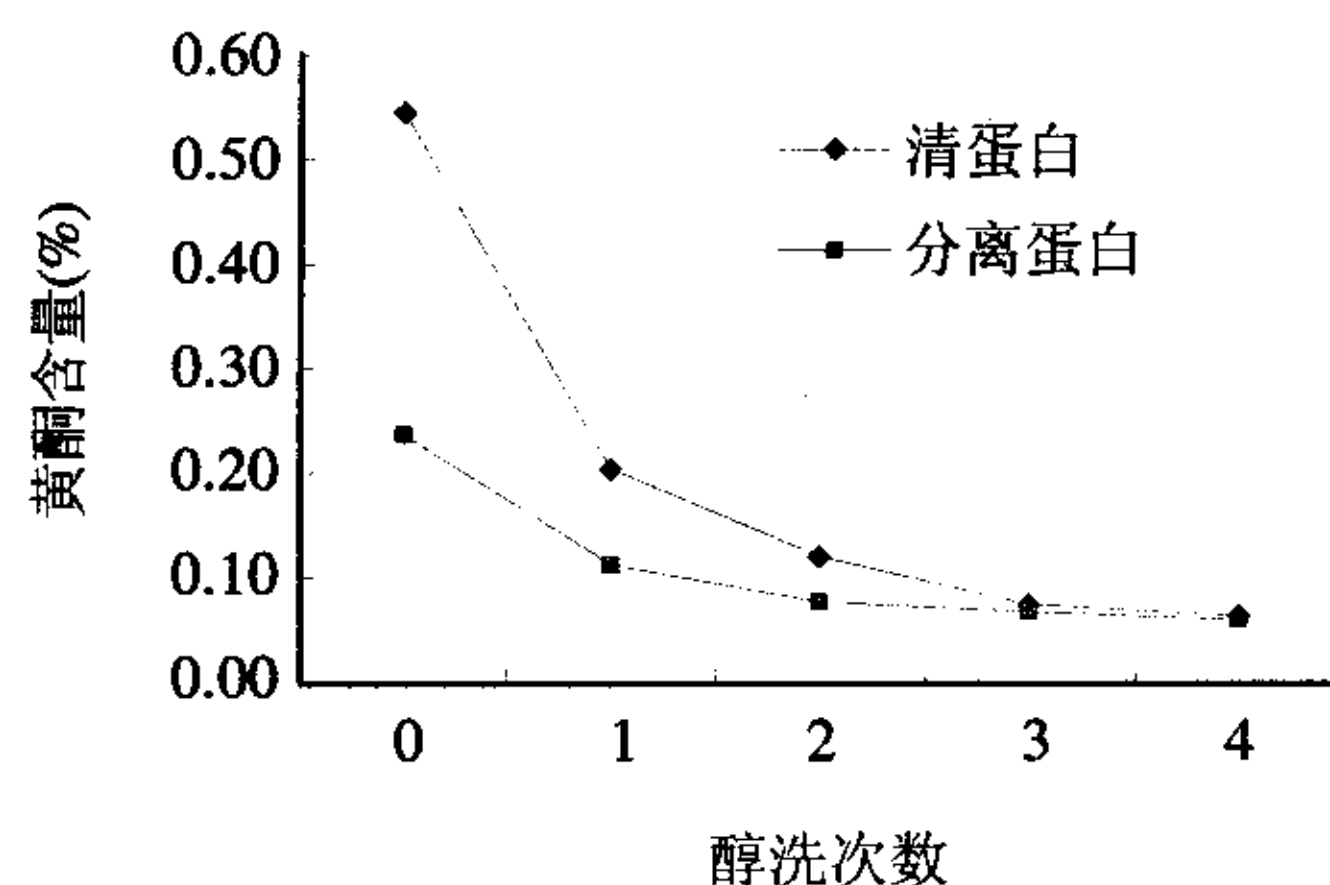


图 3 醇洗麦胚蛋白对黄酮类化合物含量的影响

Fig.3 The effect of ethanol-washing on the content of flavonoid in wheat germ protein fractions

受。至于脱除黄酮后的麦胚蛋白的功能性质与原始蛋白的相比,是否有所变化,还有待于进一步的研究证实。

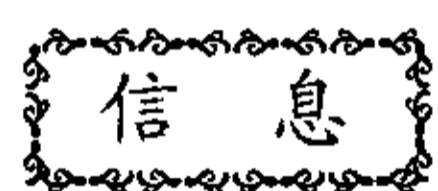
考虑到酚类物质和蛋白质的结构的多样性,它们之间的结合从原理上分主要有四种:氢键、离子键、疏水性作用力和共价键<sup>[10]</sup>。需要说明的是,本次实验中所测定的黄酮总量只是表示在 60℃能够溶解于 60% 乙醇中的黄酮总量,如果某些黄酮类化合物以结合力很强的共价键的作用方式与麦胚蛋白相结合,就很难测定出。

### 3 结 论

小麦胚是一种尚未得到深度开发的农副产品资源之一,目前国内外主要是通过超临界萃取技术制备小麦胚芽油,而对于脱脂后的麦胚而言,仍旧是被遗弃或者用作饲料。本文以开发脱脂麦胚为出发点,通过两种不同的分离方法制备得到麦胚可溶性蛋白,其蛋白质含量都在 80% 以上。并对其黄酮含量进行了比色法测定,发现麦胚中的黄酮类化合物主要以某种作用力与麦胚清蛋白相结合。最后又采用低温醇洗的方法脱除黄酮,从而制备出黄酮含量甚微的麦胚可溶性蛋白产品,为开发脱脂麦胚粉提高了新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Grewe E, LeClerc J A. Commercial wheat germ, its composition[J]. Cereal Chemistry, 1943, 20: 423-434.
- [2] Anderson J A, Perkin A G. The yellow coloring matter of Khapli wheats, Triticum dicoccum[J]. J Chem Soc, 1931, 2624-2625.
- [3] Chen K-T, Gedes W F M Sc. Thesis, quoted by Fortman K L, Jainer R R. In 'Wheat: Chemistry and Technology, Volume I' (Y. Pomeranz,rd.) AACCC, St Paul, Minnesota, 1988. 476-487.
- [4] King H G C. Phenolic compounds of commercial wheat germ [J]. Journal of Food Science, 1962, 27: 446-454.
- [5] Athina Papadopoulou, Richard A Frazier. Characterization of protein-polyphenol interactions[J]. Trends in Food Science and Technology, 2004, 15: 186-190.
- [6] Hettiarachchy N S, Griffin V K, Gnanasambandam R. Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ[J]. Cereal Chemistry, 1996, 73: 364-367.
- [7] Kafui Kwami Adom, Mark E Sorrells, Rui Hai Liu. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2005, 53: 2297-2306.
- [8] Tkachuk R. Nitrogen-to-Protein conversion factors for cereals and oilseed meals[J]. Cereal Chem, 1969, 46: 419-424.
- [9] Tkachuk R, Irvine G N. Amino acid compositions of cereals and oilseed meals[J]. Cereal Chem, 1969, 46: 206-218.
- [10] Hoon Il Oh, Johan E Hoff, Glenn S Armstrong, et al. Hydrophobic Interaction in Tannin-Protein Complexes[J]. J Agric Food Chem, 1980, 28: 394-398.



## 美国生物质能技术发展趋势

有关专家估计,生物质能到本世纪中叶,采用新技术生产的各种替代燃料将占全球总能耗的 40% 以上。

生物质能包括自然界可用作能源用途的各种植物、人畜排泄物以及城乡有机废物转化成的能源,如薪柴、沼气、生物柴油、燃料乙醇、林业加工废弃物、农作物秸秆、城市有机垃圾、工农业有机废水和其他野生植物等。生物质能是仅次于化石能而居于世界能源消费总量第四位的能源,其消费总量位居六大可再生能源之首,极有可能成为未来可持续能源系统的重要组成部分。

目前,生物质能技术的研发已成为世界重大热门课题之一。包括沼气技术、生物质热裂解气化、生物质液体燃料等主要技术项目均受到世界各国政府与科学家的关注。美国为此制定了“能源农场”开发研究计划,同时推进生物质能技术和装置的商业化应用,实现了规模化产业经营。在美国,生物质能转化为高品位能源利用已具有相当可观的规模,占该国一次能源消耗量的 4%。美国还设立了世界上最大的日处理垃圾 4000 吨的垃圾发电厂,以及建立了 1 兆瓦、年产酒精 2500 吨的稻壳发电示范工程。