

响应面法优化燕麦麸蛋白的挤压提取工艺

张佳婵¹,李小鹏^{1,2},李赫宇³,王昌涛^{1,*}

(1. 北京工商大学 植物资源研究开发北京市重点实验室,北京 100048;2. 石河子大学 食品学院,新疆 石河子 832000;3. 天津市益倍建生物技术有限公司,天津 300457)

摘要:利用响应面法优化燕麦麸蛋白的挤压提取工艺条件。在单因素试验基础上,选择挤压温度、螺杆转速、水分含量和柠檬酸含量为自变量,以燕麦麸蛋白提取率为响应值,采用 Box-Behnken 试验设计方法,研究各自变量及其交互作用对燕麦麸蛋白提取率的影响。利用响应面分析确定挤压提取燕麦麸蛋白的最优工艺参数为,挤压温度 199 ℃、螺杆转速 7 r/min、水分含量 59 %、柠檬酸含量 1.3 %,在此条件下,蛋白提取率为 13.51 mg/g。验证实验表明,所得模型方程能较好地预测实验结果。

关键词:燕麦麸;挤压法;蛋白质;响应面分析法

Optimization of Extrusion-assisted Extraction of Protein from Oat Bran using Response Surface Methodology

ZHANG Jia-chan¹, LI Xiao-peng^{1,2}, LI He-yu³, WANG Chang-tao^{1,*}

(1. Beijing Technology and Business University, Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development, Beijing 100048, China;2. School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang, China;3.Tianjin Ubasichealth Nutrition Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

基金项目:北京市科技新星项目(2008B08);“中青年骨干人才培养计划”项目(PHR20110873);质检公益性行业科研专项(201010023)

作者简介:张佳婵(1987—),女(汉),硕士,研究方向:食品生物技术。

*通信作者:王昌涛(1975—),男,副教授,博士,研究方向:生物化工。

有相似的结构变化,补充林蛙油可使肝细胞损伤减轻。这可能是林蛙油能提高肝脏细胞 SOD 活性和降低 MDA 含量,有利于自由基的清除。表明林蛙油具有保护肝脏细胞正常结构,增强机体防御体系的功能,进而防止运动性损伤及提高运动能力,也为林蛙油的深度开发提供参考。

参考文献:

- [1] 胡鑫,刘成柏,陈晓平,等.林蛙油中主要营养保健成分含量的研究[J].吉林农业大学学报,2003, 25(2):218~220
- [2] 毛焕新,尤成新,程光惠,等.林蛙油软胶囊抗疲劳作用的试验研究[J].华南预防医学,2005,31(6):40~41
- [3] 崔敬爱,胡耀辉.林蛙油软胶囊小鼠负重游泳试验的研究[J].食品科学,2005,26(8):374~375
- [4] 王高雪,姚嘉赞.哈士蟆油复方抗疲劳作用研究[J].中成药,2008,30(1):121~122
- [5] 宋春梅,沈楠,马洪波,等.林蛙油对冷应激小鼠抗氧化能力的影响[J].食品科学,2009,30(13):256~257

- [6] 于勇,刘阳,范文今,等.林蛙油耐缺氧与调节血脂的作用[J].环境与职业医学,2002,19(3):204~205
- [7] 董改宁,王新军,唐量,等.二硫苏糖醇对小鼠运动耐力、肝组织自由基代谢、肝糖原含量及血清 GPT 活性影响研究 [J].陕西师范大学学报:自然科学版, 2003, 31(2):63~66
- [8] 张军,熊正英,王家宏.槐米与维生素 C 对运动训练小鼠协同抗氧化作用的研究 [J].陕西师范大学学报:自然科学版, 2004, 32 (4):87~89
- [9] 李秋霞,熊正英,张全江,等.一次性力竭运动对肝部分生化指标及肝细胞超微结构的影响[J].天津体育学院学报,2000(4):24~27
- [10] 唐量,熊正英.芦荟对运动训练小鼠肝组织自由基代谢及超微结构影响的实验研究[J].中国运动医学杂志, 2002,21(6):607~609
- [11] 熊正英,刘小杰,唐量.沙棘油口服液对运动训练小鼠肝脏组织自由基代谢和超微结构影响的实验研究[J].沙棘,2004,17(3):16~19
- [12] 李秋霞,熊正英,张全江.褪黑激素对耐力训练小鼠一次力竭运动后肝、肾细胞超微结构的影响褪[J].中国运动医学杂志,2004,23 (4):404~408

收稿日期:2012-05-08

Abstract: Extrusion treatment was introduced to the extraction of protein from Oat Bran and the extraction process was optimized by response surface methodology. The extraction efficiency of protein was investigated with respect to four variables including extrusion temperature, screw speed, addition amount of water and content of citric acid. On the basis of a series of one-factor-at-a-time experiments, a polynomial regression model equation was fitted by the combined use of Box-Behnken experimental design and regression analysis. By analyzing the regression model using response surface analysis, the optimum extraction conditions of protein from Oat Bran were identified as follows: extrusion temperature of 199 °C, screw speed of 7 r/min, addition amount of water of 59 % and citric acid content of 1.3 %. The extraction efficiency of protein was up to 13.51 mg/g under the optimized conditions. The established models prove to be reasonable by the verification experiment.

Key words: Oat Bran; extrusion; protein; response surface methodology

燕麦蛋白主要由谷蛋白、醇溶蛋白、球蛋白和清蛋白组成^[1],氨基酸含量高,且配比合理,被认为是谷类的最佳平衡蛋白,营养保健价值很高^[2]。燕麦麸皮是燕麦加工的副产物,其中含16%~30%蛋白质,是一种良好的蛋白资源^[3]。以此为原料提取蛋白质,廉价易得,但目前燕麦麸皮仅用作饲料,尚没有深入开发。

目前,对燕麦蛋白提取方法的研究主要有碱法^[4]、酶法^[5]、超声法^[6]及复合法^[7]等方法,但应用挤压法对燕麦麸蛋白的提取工艺研究尚未见报道。

挤压技术指经预处理的原料通过喂料机借螺杆推动力作用连续均匀进入挤压机,经强烈的挤压、剪切及高温处理,通过一个专门设计的孔口而挤出的方法。挤压机在结构上由4个部分组成即挤压系统、传动系统、加热(冷却)系统和模头系统^[8]。挤压过程是一个高温、高压的过程,利用挤压技术的热、压效应,强化出料汽、汁、废料的排料分流,控制腔体内的温度和压力参数,对物料挤压调质,可以在短时间内高效提取物料中不同理化性质的天然产物^[9]。响应面法(Response Surface Methodology, RSM)可以采用二次回归方程拟合多个因素与多个响应值之间的函数关系,通过回归方程分析寻求最佳工艺参数^[10~12]。本实验首次将挤压法引入到对燕麦麸皮蛋白的提取研究中,并采用响应面分析法对提取工艺进行了优化,对燕麦麸蛋白的快速、高效提取进行了积极的理论探索。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

燕麦麸皮:张家口面粉厂。

考马斯亮蓝 G-250:北京迪朗生化科技有限公司;柠檬酸:国药集团化学试剂有限公司;磷酸、95%乙醇、盐酸、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SJSZ-35 锥型双螺杆挤压机:张家港市万塑机械有限公司;DSHZ-300 数显恒温水浴锅:国华电器有限公司;T6 紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;3-18K 离心机:Sigma 公司。

1.3 方法

1.3.1 燕麦麸皮的挤压工艺

烘干的燕麦麸皮→过20目~60目的筛→调整水分含量和柠檬酸含量→一定温度和转速下挤压→挤压燕麦麸皮

1.3.2 燕麦蛋白提取工艺^[13~14]

挤压燕麦麸皮烘干粉碎,以料液比1:16、温度50 °C、pH 9.6于恒温振荡水浴锅120 r/min 提取60 min,浸提液4 000 r/min 离心25 min,得蛋白提取上清液。

1.3.3 蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝法测定蛋白含量^[15]。准确量取1 mL蛋白上清液,加入0.1 mg/mL的考马斯亮蓝液5 mL,常温反应5 min,于595 nm处测定吸光值。由回归方程 $y=7.5307x+0.0483, R^2=0.9951$ (式中y为吸光度值,x为蛋白浓度mg/mL)计算得到蛋白含量。

1.3.4 影响挤压法提取燕麦麸皮蛋白的单因素试验

对挤压温度、螺杆转速、物料水分含量、柠檬酸含量进行单因素研究,分别考察这4个因素对燕麦麸皮蛋白提取率的影响。

1.3.5 响应面法试验优化设计^[16~18]

在单因素试验的基础上,应用SAS8.0软件,根据Box-Behnken中心组合试验设计原理,选择挤压温度 X_1 、水分含量 X_2 、螺杆转速 X_3 和柠檬酸含量 X_4 4个因素为自变量,按方程 $x_i = (X_i - X_0) / \Delta X$ 对自变量进行编码。其中, x_i 为自变量的编码值, X_i 为自变量的真实值, X_0 为试验中心点处自变量的真实值,为 ΔX 自变量的

变化步长,蛋白质提取率(γ)为响应值,设计四因素五水平的响应面分析设计。试验因素水平及编码见表 1。

表 1 响应面因素水平及编码

Table 1 Independent variables and levels in Box-Behnken CCD

因素	代码		编码值与真实值换算公式	水平				
	编码值	真实值		2	1	0	-1	-2
挤压温度/℃	x_1	X_1	$x_1 = (X_1 - 170)/15$	200	185	170	155	140
螺杆转速/(r/min)	x_2	X_2	$x_2 = (X_2 - 9)/3$	15	12	9	6	3
水分含量/%	x_3	X_3	$x_3 = (X_3 - 50)/7.5$	65	57.5	50	42.5	35
柠檬酸含量/%	x_4	X_4	$x_4 = (X_4 - 1.4)/0.3$	2	1.7	1.4	1.1	0.8

1.4 蛋白提取率计算

$$\text{蛋白提取率}/(\text{mg/g}) = \frac{\text{提取液中蛋白的质量}}{\text{燕麦麸皮的质量}}$$

2 结果与分析

2.1 燕麦麸蛋白提取工艺单因素试验

2.1.1 挤压温度对蛋白提取率的影响

在物料水分含量 50 %、螺杆转速 10 r/min、柠檬酸含量 1.2 % 的条件下,挤压温度对蛋白提取率的影响如图 1 所示。

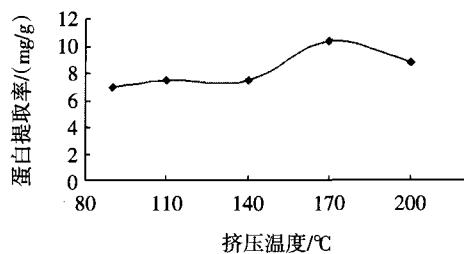


图 1 挤压温度对蛋白提取率的影响

Fig.1 Effect of extrusion temperature on extraction rate of oat bran protein

结果表明,温度小于 140 ℃时,蛋白提取率随温度的增加变化不明显,温度达到 170 ℃时,蛋白提取率达到最大。

2.1.2 物料水分含量对蛋白提取率的影响

在挤压温度 170 ℃、螺杆转速 10 r/min、柠檬酸含量 1.2 % 的条件下,物料水分含量对蛋白提取率的影响见图 2。

结果表明,水分含量从 40 % 到 50 % 时,蛋白提取率增加显著,之后随着水分含量的增加蛋白提取率下降,并且在水分含量 70 % 时出现给机器喂料困难,故

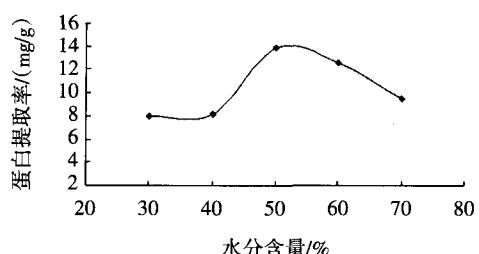


图 2 物料水分含量对蛋白提取率的影响

Fig.2 Effect of moisture content on extraction rate of oat bran protein

确定水分含量 50 % 为最佳物料水分含量。

2.1.3 螺杆转速对蛋白提取率的影响

在挤压温度 170 ℃、物料水分含量 50 %、柠檬酸含量 1.2 % 的条件下,螺杆转速对蛋白提取率的影响见图 3。

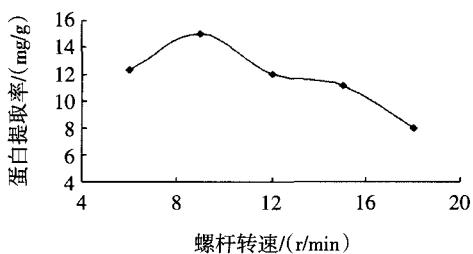


图 3 螺杆转速对蛋白提取率的影响

Fig.3 Effect of screw speed on extraction rate of oat bran protein

由图 3 可知,当螺杆转速为 9 r/min 时,蛋白提取率最高为 15.94 mg/g。之后随着转速的提高蛋白提取率逐渐降低,且在 18 r/min 时出现轻微喷料现象。

2.1.4 柠檬酸含量对蛋白提取率的影响

在挤压温度 170 ℃、物料水分含量 50 %、螺杆转速 9 r/min 的条件下,柠檬酸含量对蛋白提取率的影响如图 4 所示。

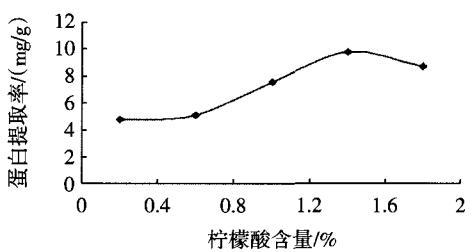


图 4 柠檬酸含量对蛋白提取率的影响

Fig.4 Effect of citric acid content on extraction rate of oat bran protein

结果表明,随着柠檬酸含量的增加蛋白提取率略有提高,在 1.4 % 时达到最大值 9.78 mg/g,之后蛋白提取率下降。

2.2 挤压法提取燕麦麸皮蛋白的响应面试验设计及结果

挤压法提取燕麦蛋白的结果见表 2。

表 2 挤压法提取燕麦麸蛋白的响应面实验设计及结果

Table 2 Center composite design arrangement and experimental results

试验号	挤压温度 X_1	螺杆转速 X_2	水分含量 X_3	柠檬酸含量 X_4	蛋白提取率/(mg/g)
1	-1	-1	-1	-1	14.379
2	-1	-1	-1	1	9.827
3	-1	-1	1	-1	8.201
4	-1	-1	1	1	7.901
5	-1	1	-1	-1	13.041
6	-1	1	-1	1	8.274
7	-1	1	1	-1	6.952
8	-1	1	1	1	6.058
9	1	-1	-1	-1	16.374
10	1	-1	-1	1	13.192
11	1	-1	1	-1	9.996
12	1	-1	1	1	9.784
13	1	1	-1	-1	14.986
14	1	1	-1	1	9.428
15	1	1	1	-1	7.951
16	1	1	1	1	7.012
17	-2	0	0	0	7.059
18	2	0	0	0	9.095
19	0	-2	0	0	7.801
20	0	2	0	0	7.729
21	0	0	-2	0	15.307
22	0	0	2	0	11.107
23	0	0	0	-2	13.793
24	0	0	0	2	8.879
25	0	0	0	0	9.323
26	0	0	0	0	9.302
27	0	0	0	0	8.852
28	0	0	0	0	8.915
29	0	0	0	0	9.136
30	0	0	0	0	8.986
31	0	0	0	0	9.325

采用 SAS8.0 软件对试验数据进行回归分析,得到试验因素对响应值的回归方程为:

$$Y=9.119\ 85+0.756\ 75X_1-0.670\ 667X_2-1.835\ 25X_3-1.259\ 667X_4-0.241\ 798X_1^2-0.249\ 125X_1X_2-0.176\ 75X_1X_3+0.038\ 875X_1X_4-0.319\ 798X_2^2+0.008\ 375X_2X_3-0.244\ 5X_2X_4+1.040\ 702X_3^2+0.982\ 125X_3X_4+0.572\ 952X_4^2$$

2.3 回归模型的方差分析

为了说明各因素对挤压法提取蛋白的影响程度大小和回归模型的有效性,对回归模型进行方差分析,结果见表 3 和表 4。

表 3 二次回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of the regression equation for the yield of xylan

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
X_1	1	13.744 0	13.744 09	15.378 97	0.001 217	**
X_2	1	10.795 0	10.795 91	12.079 91	0.003 121	**
X_3	1	80.835 4	80.835 42	90.450 88	0.000 1	**
X_4	1	38.082 2	38.082 2	42.612 16	0.000 1	**
X_1^2	1	1.671 88	1.671 88	1.870 753	0.190 294	
X_2^2	1	2.924 502	2.924 502	3.272 374	0.089 284	
X_3^2	1	30.970 95	30.970 95	34.654 97	0.000 1	**
X_4^2	1	9.387 152	9.387 152	10.503 87	0.005 117	**
X_1X_2	1	0.993 01	0.993 01	1.111 132	0.307 495	
X_1X_3	1	0.499 84	0.499 84	0.559 307	0.465 391	
X_1X_4	1	0.024 18	0.024 18	0.027 057	0.871 407	
X_2X_3	1	0.001 122	0.001 122	0.001 256	0.972 17	
X_2X_4	1	0.956 484	0.956 484	1.070 259	0.316 271	
X_3X_4	1	15.433 11	15.433 11	17.268 9	0.000 745	**
回归	14	208.814 6	14.915 33	16.689 52	0.000 1	**
误差	16	14.299 11	0.893 694			
总和	30	223.113 7				

由表 3 可知,4 个因素对挤压法提取燕麦麸蛋白的影响都极其显著 ($P<0.01$), F 值的大小反应了该因素对响应值的影响程度大小,所以影响挤压法提取蛋白率的因素由大到小依次为:水分含量 X_3 >柠檬酸含量 X_4 >挤压温度 X_1 >螺杆转速 X_2 。

表 4 响应值的方差分析

Table 4 Variance analysis of response value

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	Pr>F	显著性
一次项	4	143.456 8	0.643 0	40.13	<0.000 1	**
二次项	4	47.449 9	0.212 7	13.27	<0.000 1	**
交互项	6	17.907 7	0.080 3	3.34	0.025	*
总回归	14	208.814 5	0.935 9	16.69	<0.000 1	**

注: * 表示在 0.05 水平显著; ** 表示在 0.01 水平显著。

由表 4 可知,4 个因素的一次项、二次项极其显著 ($P<0.01$),交互项显著 ($P<0.05$),说明各个因素和各因素之间的交互作用对提取率都有显著的影响。总回归模型的均方值为 0.935 9,这表明有 93.59 % 数据都可以通过回归方程来解释,该回归方程模型达到极其显著。

2.4 挤压法提取蛋白的条件优化

采用SAS软件对试验数据进行分析,得到挤压法提取燕麦麸蛋白的最优因素编码为: X_1 在0.967 19水平、 X_2 在-0.823 53水平、 X_3 在0.613 271水平、 X_4 在-0.184 295水平,其相对应的最优工艺参数为:挤压温度199.01℃、螺杆转速7.06 r/min、水分含量59.19%、柠檬酸含量1.289%。此最优条件下蛋白的提取率预测值为13.51 mg/g。为便于操作,确定挤压温度为199℃、螺杆转速为7 r/min、水分含量为59%、柠檬酸含量为1.3%,在此条件下进行验证试验,得到的蛋白提取率为13.69 mg/g,与预测值基本一致,说明回归方程与试验数据拟合性好,响应面优化挤压法提取燕麦蛋白工艺可行。

3 结论

1) 采用响应面法对挤压提取燕麦蛋白工艺的挤压温度、螺杆转速、水分含量、柠檬酸含量4个主要因素进行方差分析。结果表明: X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_3^2 、 X_4^2 、 X_3X_4 对蛋白提取率的影响极其显著,其它变异项影响不显著,说明试验因素与响应值不是简单的线性关系。

2) 利用SAS统计软件分析得到挤压法提取燕麦蛋白的工艺参数为:挤压温度199℃、螺杆转速7 r/min、水分含量59%、柠檬酸含量1.3%。回归模型预测的蛋白提取率为13.51 mg/g,在此最优条件下,通过验证实验得到的蛋白提取率为13.69 mg/g,与模型预测值基本一致,说明此模型可靠,可用于生产实践的指导。

参考文献:

- [1] 管晓,姚惠源,陈正行,等.燕麦麸皮浓缩蛋白提取工艺研究[J].粮食与油脂,2005(12):17~19
- [2] 董银卯,冯明珠,何聪芬.燕麦麸蛋白质等电点测定及其稀碱法提取工艺优化的研究[J].食品科技,2007(3):258~265
- [3] Abdellatif Mohamed,Girma Biresaw,Jingyuan Xu. Oats protein iso-

late:Thermal, rheological, surface and functional properties[J].Food research international,2009(42):107~114

- [4] 翟爱华,季娜,刘恒芝.燕麦分离蛋白提取工艺研究[J].食品科学,2006,27(12): 439~441
- [5] 魏决,罗雯.燕麦中蛋白质的提取、纯化及氨基酸成分分析[J].成都大学学报:自然科学版,2007,26(4): 283~285
- [6] 吴素萍.超声辅助酶法提取燕麦蛋白的研究[J].粮食与饲料工业,2007,30(9): 22~25
- [7] 赵素斌,张小平,任清.3中方法提取燕麦麸蛋白及其产物的比较[J].食品科学,2010,31(14):71~79
- [8] 屠用利.挤压法研制葡萄糖糖果[J].食品工业,2004(6):14~16
- [9] 顾振宇,吴华勇,黄赣辉.挤压法提取竹叶多糖和黄酮的研究[J].中国食品学报,2010,10(3):13~20
- [10] 慕运动.响应面方法及其在食品工业中的应用[J].郑州工程学院学报,2001,22(3):91~94
- [11] 黄璞,谢明勇,聂少平,等.响应曲面法优化微波辅助提取黑灵芝孢子多糖工艺研[J].食品科学,2007,28(10):200~203
- [12] HOUX J,CHEN W. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible Bachu mushroom by response surface methodology[J]. Carbohydrate polymers,2008,72(1):67~74
- [13] 管晓,姚惠源.燕麦麸蛋白的组成及功能性质研究[J].食品科学,2006,27(7):72~76
- [14] Jing Liu,Xiao Guan,Daqi Zhu.Optimization of the enzymatic pretreatment in oat bran protein extraction by particle swarm optimization algorithms for response surface modeling[J]. LWT-Food science and technology,2008(41): 1913~1918
- [15] 李宁.几种蛋白质的测定方法比较[J].山西农业大学学报,2006,26(2):132~134
- [16] 吴缓瑾,王承明,吴谋成,等.响应曲面法优化棉籽粕中植酸的提取[J].中国油脂,2009,34(3):50~53
- [17] WANG Zhaojing,LUO Dianhui,CAI Ena.Optimization of polysaccharides extraction from Gynostemma pentaphyllumMakino using uniform design[J].Carbohydrate polymers,2007,69(2):311~317
- [18] CHANDRIKA L P,FEREIDOON S.Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology[J]. Food chemistry, 2005, 93(1): 47~56

收稿日期:2012-05-25