

文章编号:1673-1689(2007)06-0043-05

小核桃蛋白性质及其乳液制备

马云辉, 裘爱泳, 顾颖

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 水剂法取油后的小核桃浆液中含有大量的蛋白质,为使该蛋白质得到充分利用,试验研究了小核桃蛋白的基本性质及其清乳液的制备工艺。结果表明,其最佳条件为:浸提液 pH 值 8.5,浸提温度 70 ℃,料液比为 1:8(g/mL),浸提时间 3 h,对浆液浸提 3 次,添加焦磷酸钠 0.5 g/L,蛋白质提取率可达到 63.78%。经 2 次研磨,蛋白质提取率可提高到 72.16%。通过对乳液的调配,制得了稳定性好的小核桃蛋白乳,其感官及理化指标达到国家标准。

关键词: 小核桃;蛋白质;水剂法;提取率;乳液

中图分类号: Q 51

文献标识码: A

Study on the Property and Milk Processing of Small Walnut Protein during Aqueous Oil Extraction

MA Yun-hui, QIU Ai-yong, GU Ying

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: After the aqueous extraction of oil from small walnut, the slurry which was separated from the top oil layer contain a great deal of protein. To make use of the protein, the properties and milk processing of small walnut protein during aqueous oil extraction were studied in this article. The optimum conditions were: pH 8.5 temperature 70 ℃, solid-to-water ratio 1:8(g:mL), extraction time 3 h, times of reextractions 3, the mass concentration of sodium pyrophosphate 0.5 g/L, and the extraction yield of protein was 63.78%. The yield can be improved to 72.16% by grinding secondly. The concoction made small walnut protein milk have good stability, and its sense and physicochemical index could reach the national standards of walnut milk.

Key words: small walnut; protein; aqueous extraction; extraction yield; milk

小核桃属胡桃科干果,集中产于安徽和浙江交界处,栽培面积广,资源丰富。它含有丰富的脂肪、蛋白质、碳水化合物、维生素及多种微量元素,并具有润肺、滋补、抗癌、降低血脂等功效,是一种健脑益肾的优质保健食品。

水剂法提油工艺中,小核桃经过烘烤、磨浆,利用油水密度不同将核桃浆中的油脂与蛋白质同时分离,得到去油蛋白浆液,以此为原料加工成小核桃蛋白

乳,可充分利用该蛋白资源^[1]。在测定小核桃蛋白基本性质^[2]的基础上,研究了蛋白乳液的制备工艺,并对产品稳定性及感官和理化指标进行了分析。

1 材料与amp;方法

1.1 主要试剂与amp;材料

小核桃仁:由安徽宁国詹氏企业提供;氯化钠、

收稿日期:2006-12-11.

作者简介:马云辉(1982-),女,黑龙江伊春人,食品科学硕士研究生. Email: yiw_x_003@163.com

氯化钙、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、磷酸氢二钾、多聚磷酸钠,均为化学纯;柠檬酸钠、焦磷酸钠、磷酸氢二钠、氢氧化钠、盐酸、碳酸氢钠等,均为分析纯;分子蒸馏单甘酯(DMG)、蔗糖酯(SE15),均为食用级。

1.2 主要仪器

FA1006型电子天平、HH-S214型电热恒温水浴锅、SC202-2型电热恒温干燥箱、NR-5010型粉碎机、石磨、PHS-3C精密pH计、LD4-2型离心机、恒温磁力搅拌器、UV-2100型紫外可见分光光度计。

1.3 实验方法

1.3.1 小核桃仁基本成分的测定 粗脂肪含量:参照 GB/T 5512-85;粗蛋白质含量测定:参照 GB/T 5511-85;水分测定:参照 GB 5497-85;灰分测定:参照 GB 5505-85。

1.3.2 小核桃蛋白中各种蛋白质的分析 Osbome法,参见文献[3]。

1.3.3 小核桃蛋白的氨基酸分析 将样品分别置于消解管中,加入 6 mol/L 的 HCl 溶液,在 110 °C 下密封水解 24 h,冷却后定容,过滤,蒸干,再加入 0.02 mol/L 的 HCl 溶液在真空中放置 30 min,用氨基酸自动分析仪测定除色氨酸以外的其它氨基酸的含量。

1.3.4 小核桃蛋白等电点的测定 称取 5 g 脱脂小核桃粉分散于 50 mL 蒸馏水中,调节 pH 值(2~10),振荡 2 h,离心 15 min(10 000×g)。上清液用凯氏定氮法定氮,蛋白质的溶解性表示为上清液中蛋白质量占相对应的总蛋白质量的百分比。

1.3.5 小核桃蛋白乳液的制备 水剂法提取小核桃油后的小核桃浆液及浆渣中含有丰富的蛋白质,将浆料与浆渣调匀后制成去油小核桃浆。将去油核桃浆进行浸提,考察浸提液 pH 值、浸提时间、浸提次数、料液比、浸提温度及不同浸提液等因素对蛋白质提取率的影响,以确定最佳浸提工艺,使蛋白质溶出率达到最大。制备工艺如下:

$$\text{蛋白质提取率} = \frac{m_{\text{蛋白液}} \times m_{\text{蛋白质}}}{m_{\text{核桃浆}} \times m_{\text{蛋白质}}} \times 100\%$$

1.3.6 蛋白乳液稳定性的研究 将乳液分别在 3 000 r/min 离心 20 min,室温下静置,采用浊度法^[8-10]测定其稳定性;取 1 mL 上层清液用质量分数 1% 的 SDS 稀释一定倍数,在 500 nm 波长下测定该稀释液的吸光度。以相对吸光度 A/A_0 来衡量蛋白乳液稳定性。

1.3.7 乳液产品感官及理化指标的分析 脂肪含量的测定,参照 GB/T 5512-85;蛋白质质量的测定,参照 GB/T 5511-85;总固形物含量的测定,参照 GB/T 12143.1-89。

2 结果与讨论

2.1 小核桃仁基本成分

小核桃仁基本成分的测定照 1.3.1 方法,其成分见表 1。

表 1 小核桃仁基本成分

Tab.1 Main composition of small walnut kernel

组成	质量分数/%
粗脂肪	66.08
粗蛋白	13.05
水分	4.64
灰分	1.50
其它	14.73

2.2 小核桃蛋白中各种蛋白质的分析

按照 1.3.2 方法,小核桃蛋白中各种蛋白质含量见表 2。

表 2 小核桃蛋白中各种蛋白质含量

Tab.2 Results of various protein contents in small walnut protein

种类	质量分数/%*	质量分数/%
总蛋白	46.25	100
清蛋白	7.22	15.61
球蛋白	3.07	6.64
醇溶蛋白	3.36	7.26
谷蛋白	26.38	57.04
不溶蛋白	6.22	13.45

注:* 此含量意为 g/(100 g 脱脂小核桃粉)。

由表 2 可知,小核桃蛋白质中谷蛋白含量最高,约占蛋白质总量的 57.04%,其次为清蛋白,含量为 15.61%,而醇溶蛋白和球蛋白含量较低。

2.3 小核桃蛋白的氨基酸分析

按照 1.3.2 方法分析小核桃蛋白的氨基酸含量,见表 3。

表 3 小核桃中的必需氨基酸含量

Tab.1 Essential amino acids contents in small walnut

样品	mg/hg						
	赖氨酸	亮氨酸	异亮氨酸	苯丙氨酸	苏氨酸	缬氨酸	蛋氨酸
小核桃	324.8	636.3	372.3	493.8	328.6	439.6	153.3

由表 3 可知,小核桃组成蛋白质的必需氨基酸种类较齐全,营养价值丰富。

2.4 小核桃蛋白等电点的测定

以脱脂小核桃粉为原料,测定不同 pH 值条件下提取液中蛋白质的含量,并以该蛋白质含量为基础计算蛋白质的溶解度。

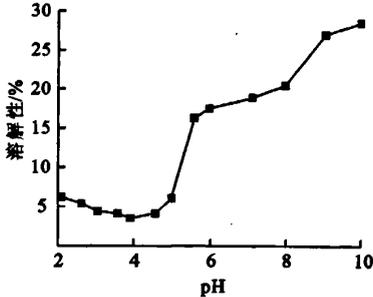


图 1 pH 值对小核桃蛋白溶解性的影响

Fig. 1 Effect of pH on the small walnut solubility

由图 1 可知,小核桃蛋白的等电点在 pH4 左右,此时蛋白质的溶解度最小,而在偏离等电点的酸性和碱性条件下,其溶解度较高。

2.5 小核桃蛋白乳液的制备

称取一定量的去油小核桃浆,加入所需的溶液,在搅拌下以不同的浸提条件提取,浸提后的溶液在 3 000 r/min 离心 20 min,凯氏定氮法测定提取液中的蛋白质含量,以蛋白质提取率和提取液中蛋白质质量分数为考察指标。

2.5.1 浸提液 pH 值对蛋白质提取率的影响 在室温下,以料液比 1 : 6(g/mL)的水浸提去油小核桃浆,在不同的 pH 值下浸提 2 h,离心分离,测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋白质提取率及提取液中的蛋白质浓度。pH 值对蛋白质提取率和质量分数的影响如图 2 所示。

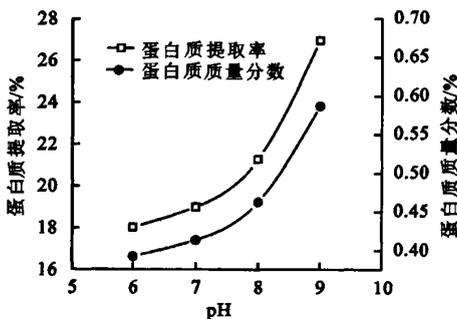


图 2 pH 值对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 2 Effect of extraction pH on the yield and concentration of protein

由图可知,碱性条件有利于小核桃蛋白的溶解,但浆液颜色也会随之变深,综合考虑,可以确定浸提液 pH 为 8.5。

2.5.2 浸提时间对蛋白质提取率的影响 在室温

下,以料液比 1 : 6(g/mL),pH 值为 6,采用不同时间浸提去油小核桃浆,离心分离后测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋白质提取率及提取液中蛋白质质量分数。浸提时间对蛋白质提取率和质量分数的影响如图 3 所示。

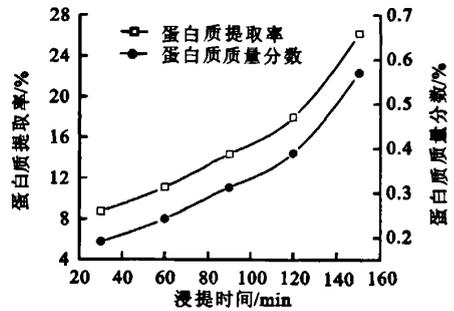


图 3 浸提时间对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on the yield and concentration of protein

由图可知,随着浸提时间的延长,蛋白质提取率和提取液中蛋白质质量分数都增加。因此,若要提高小核桃蛋白的利用率可以通过延长浸提时间而获得。

2.5.3 浸提次数对蛋白质提取率的影响 在室温下,以料液比 1 : 6(g/mL)、pH 6 的水浸提去油小核桃浆数次,浸提 2 h,离心分离,测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋白质提取率及提取液中蛋白质浓度。浸提次数对蛋白质提取率和质量分数的影响如图 4 所示。

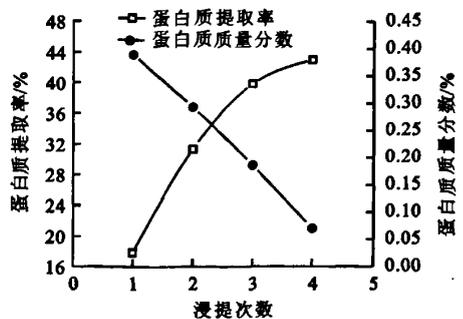


图 4 浸提次数对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 4 Effect of times of reextractions on the yield and concentration of protein

由图可知,随着浸提次数的增加,总蛋白提取率增加,而每批提取液中蛋白质的质量分数逐渐降低,提取液的累积蛋白质量分数也降低了。在浸提 3 次后蛋白质提取率的增加趋势减缓。因此,可以确定浸提次数为 3 次。

2.5.4 料液比对蛋白质提取率的影响 在室温下,添加不同比例 pH 6 的水浸提去油小核桃浆 2 h,离心分离,测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋

白质提取率及提取液中蛋白质质量分数。料液比对蛋白质提取率和质量分数的影响如图5所示。

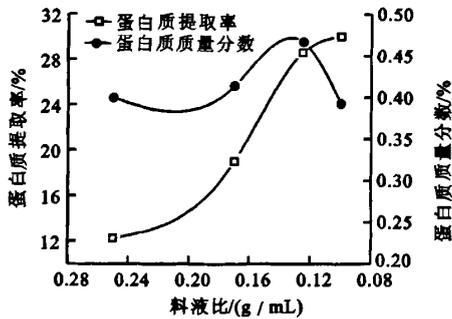


图5 料液比对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 5 Effect of solid-to-water ratio on the yield and concentration of protein

由图可知,随着料液比的增大,加速了蛋白质的溶解,当料液比增加到1:8(g/mL)后,提取率的增加趋势缓慢而提取液中蛋白质质量分数降低很多。水量的增加有利于蛋白质分子与水分子的充分接触,能促进蛋白质的溶解,而增加到一定程度,水量已足够溶解蛋白质,再增加水量提取率增长不多。综合考虑蛋白液的质量分数不宜太低,确定料液比为1:8(g/mL)。

2.5.5 浸提温度对蛋白质提取率的影响 在不同温度下,以料液比1:6(g/mL)、pH6的水浸提去油小核桃浆2h,离心分离,测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋白质提取率及提取液中蛋白质质量分数。浸提温度对蛋白质提取率和质量分数的影响如图6所示。

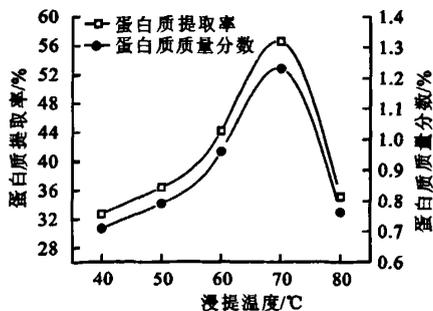


图6 浸提温度对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 6 Effect of extraction temperature on the yield and concentration of protein

由图可知,随着浸提温度的升高,蛋白质提取率增加,浸提温度超过70℃,提取率降低。温度较低时,不利于水分子和蛋白质分子的相互作用,当温度升高时,蛋白质分子构象发生改变,分子的立体结构伸展,有利于水分子和蛋白质分子的相互作用,故温度升高能起到促溶作用。温度过高则可能

引起蛋白质的变性。因此,浸提温度以70℃为宜。

2.5.6 添加不同盐类对蛋白质提取率的影响 在室温下,分别添加10g/L的亚硫酸钠、氯化钠、亚硫酸氢钠、磷酸氢二钾、磷酸氢二钠、柠檬酸钠、焦磷酸钠、多聚磷酸钠和六偏磷酸钠,以料液比1:6(g/mL)、pH6的水浸提去油小核桃浆2h,离心分离,测定提取液中的蛋白质含量,计算蛋白质提取率及提取液中蛋白质浓度。不同盐类对蛋白质提取率和质量分数的影响如图7所示。

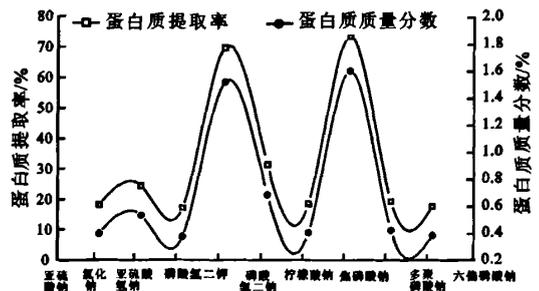


图7 不同盐类对蛋白质提取率和质量分数的影响

Fig. 7 Effect of various salt on the yield and concentration of protein

由图可知,在添加量一致的情况下,焦磷酸钠、磷酸氢二钾等能显著提高蛋白质的溶解度,其中焦磷酸钠的作用最明显。在蛋白液产品中添加磷酸盐类,可与金属离子螯合,防止这些离子与其它成分作用产生沉淀,而且还能起到增稠和增溶的作用,也能起到缓冲作用。

2.5.7 工艺条件的确定 由单因素试验可以看出,对蛋白质提取率影响较大的因素为浸提温度、料液比及浸提时间等。在综合考虑蛋白质提取率和提取液中的蛋白质浓度的情况下,根据试验结果可以确定蛋白乳液制备的工艺条件为浸提液pH8.5,浸提温度70℃,料液比为1:8(g/mL),浸提时间3h,浸提3次,添加焦磷酸钠0.5g/L,蛋白质提取率可达到63.78%。通过二次研磨,蛋白质提取率可提高到72.16%。

2.6 蛋白乳液稳定性的研究

由模拟实验可知,小核桃油水体系的最佳HLB值为10.18。经过不同乳化剂配比试验得到分子蒸馏单甘酯(DMG)和蔗糖酯(SE15)质量比为9:11时乳化稳定性最好,并且添加量以4g/L为宜。由最佳浸提工艺制得小核桃蛋白浆液,添加4g/L的DMG和SE15(质量比9:11)进行加热调质,均质两次,第一次均质压力20MPa,第二次均质压力为30MPa,均质温度70℃,灭菌时间20min,温度121℃,制备蛋白乳。采用浊度法测定蛋白乳液的稳定性,结果见表4。

小核桃蛋白乳液均匀细腻,离心和久置后均无分层及沉淀现象,实验表明该复配乳化剂稳定效果好。

表4 小核桃蛋白乳的稳定性实验结果

天数	室温法	离心法
	A/A ₀	A/A ₀
15	0.98	
30	0.96	
45	0.95	0.91
60	0.93	
75	0.91	
90	0.90	

2.7 乳液产品感官及理化指标的分析

2.7.1 感官指标 小核桃蛋白乳的感官指标分析见表5。

2.7.2 理化指标 小核桃蛋白乳的理化指标分析见表6。

3 结语

目前国内关于小核桃蛋白的性质及加工工艺报道较少。本文研究结果表明,小核桃蛋白是一种谷蛋白含量丰富的蛋白质,氨基酸种类较齐全,营养价值高,是一种适合于加工优质植物蛋白营养参考文献(References):

饮料的原料。因此在水剂法提油工艺中,将去油小核桃浆开发成具有小核桃清香的蛋白乳,为特种小核桃仁的综合利用提供了一条经济实用的途径。

表5 小核桃蛋白乳的感官指标分析

Tab. 5 Analysis of the sense index of small walnut protein milk

项目	产品指标	国家标准
色泽	呈均匀一致的乳白色	呈均匀一致的乳白色或微黄色
滋味与气味	具有核桃乳特有的滋味和香气,无异味	具有核桃乳特有的滋味和香气,无异常滋味和气味
外观	呈均匀、细腻的乳浊液,久置后无分层及沉淀现象	呈均匀、细腻的乳浊液,久置后允许稍有分层,但摇匀后仍能均匀一致
杂质	无肉眼可见的外来杂质	无肉眼可见的外来杂质

表6 小核桃蛋白乳的理化指标分析

Tab. 1 Analysis of the physicochemical index of small walnut protein milk

项目	产品指标	国家标准
可溶性固形物(20℃,按折光计)%	10.5	≥7.5
蛋白质质量分数/%	1.5	≥0.8
脂肪质量分数/%	3.0	≥2.0

- [1] 俞国统,张爱芹.花生粕的综合利用—花生蛋白饮料的研制[J].无锡轻工大学学报,1995,(3):192-193.
YU Guo-guang,ZHANG Ai-qin. Systematic utilization of peanut dregs—research of peanut protein drink[J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*, 1995, (3): 192-193. (in Chinese)
- [2] 张涛,江波,王璋.鹰嘴豆分离蛋白质的特性[J].食品与生物技术学报,2005,24(3):66-68.
ZHANG Tao,JIANG Bo,WANG Zhang. Characteristics of chickpea protein isolates[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(3): 66-68. (in Chinese)
- [3] Osborne T B. The Protein of the Sheat Kernel[M]. Washington:Publication of the Camegie Institute, 1984:1-119.
- [4] Chevalier F, Chobert J-M, Popineau Y, et al. Improvement of functional properties of β-Lactoglobulin glycosylated through the maillard reaction is related to the nature of the sugar[J]. *International Dairy Journal*, 2001, 11: 145-152.
- [5] 王璋,许时婴,林岚,等.酶法从全脂大豆中同时制备大豆油和大豆水解蛋白工艺的研究[J].无锡轻工大学学报,1994,(3):179-183.
WANG Zhang,XU Shi-ying, LIN Lan, et al. Study on the enzymatic process of simultaneously preparing soy oil and soy protein hydrolysate from full fat soy bean[J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*, 1994, (3): 179-183. (in Chinese)
- [6] 庞凌云,段玉峰,周美红,等.中华蚱蜢蛋白质的提取[J].食品与生物技术学报,2005,24(1):102-104.
PANG Ling-yun,DUAN Yu-feng, ZHOU Mei-hong, et al. Studies on the protein extracting technology and classifications of acrica cinerea[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(1): 102-104. (in Chinese)
- [7] Chavan V D, Mckenzie D B, Shahidi F. Functional properties of protein isolates from bean pea[J]. *Food Chem*, 2002, 74: 177-187.
- [8] Kevin N. Pearce and John E. Kinsella. Emulsifying properties: evaluation of a turbidimetric technique[J]. *J Agric Food Chem*, 1978, 26(3): 716-723.
- [9] Ahmad K, Ho C C, Fong W K, et al. Properties of palm oil-in-water emulsions stabilized by nonionic emulsifiers[J]. *J Colloid Interface Science*, 1996, 181: 595-604.
- [10] Spiclin H, Gasperlin M, Kmetec V. Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsion[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 222: 271-279.

(责任编辑:杨萌)