

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20170003

麦麸水溶性膳食纤维蛋白脱除及理化性质研究

李茜, 吴涛, 刘锐, 张民

(食品生物技术教育部工程研究中心, 天津食品安全低碳制造协同创新中心,
天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 为了建立麦麸水溶性膳食纤维(water-soluble dietary fiber, SDF)中蛋白的最佳脱除技术,并探究其对SDF理化特性的影响,在酶法单因素和响应面实验的基础上,以蛋白脱除率和多糖损失率为指标,比较了pI法、TCA法、Sevag法及与酶法结合后的脱蛋白效果,筛选出最佳脱除技术为酶结合TCA法。最佳工艺条件为:碱性蛋白酶添加量1.6%、时间1.2 h、酶解温度55℃、pH 8.0、TCA终质量分数1.5%,在此条件下蛋白脱除率90.58%,多糖损失率28.88%,处理后SDF的溶解度、持水力、膨胀度和吸油性得到显著改善,为SDF的开发利用提供了理论依据。

关键词: 小麦麸皮; 水溶性膳食纤维; 蛋白脱除; 理化性质

中图分类号: S512 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2018)06-0027-08

Deproteinization of Soluble Dietary Fiber from Wheat Bran and its Effect on the Physicochemical Properties of SDF

LI Qian, WU Tao, LIU Rui, ZHANG Min

(Engineering Research Center of Food Biotechnology, Ministry of Education; Tianjin Food Safety & Low Carbon Manufacturing Collaborative Innovation Center; College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The optimum deproteinization technology for water-soluble dietary fiber (SDF) from wheat bran and its effect on the physicochemical properties of SDF were studied in this research. On the basis of enzymatic single factor and response surface experiments and using the removal rate of proteins and the loss rate of polysaccharides as indicators, several methods were compared including enzymatic method, isoelectric point method, sevag method, combination of enzymatic and isoelectric point method, combination of enzymatic and TCA method, and combination of enzymatic and sevag method. The results showed that the combination of enzymatic and TCA method was the best. The optimum conditions were determined with single factor experiment and response surface analysis: alkaline protease addition was 1.6%, reaction time 1.2 h, reaction solution temperature 55℃, pH 8.0, and then treated with 1.5% TCA. Under these conditions, the protein removal rate was 90.58% and the polysaccharide loss rate was 28.88%. The physicochemical properties closely related to SDF processing were significantly improved. The research can provide a theoretical basis for the comprehensive utilization of SDF in wheat bran.

Key words: wheat bran; water-soluble dietary fiber; deproteinization; physicochemical properties

膳食纤维是食品中有益于机体健康的成分,可预防葡萄糖代谢的相关疾病,降低血液中的胆固醇水平,调节肠道菌群,降低罹患结肠癌和直肠癌的风险^[1-4]。大宗粮食加工副产物来源广泛、价格低廉,是

膳食纤维的重要来源^[5-6]。然而,长期以来,除用作饲料以及在传统酿造业使用以外,大宗粮食加工副产物很少体现出经济价值和社会效益^[7-8]。

小麦麸皮中的阿拉伯木聚糖是其水溶性膳食纤维

收稿日期: 2017-01-04; 修回日期: 2017-08-12

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2018YFD0401005); 中国博士后科学基金资助项目(2018M631750)

作者简介: 李茜(1989—),女,山东莱芜人,博士研究生; 通信作者: 张民,教授, zm0102@tust.edu.cn

维(water-soluble dietary fiber, SDF)的主要成分,具有黏度高、持水性好、能够氧化凝胶的特性及诸多重要的生理活性,对谷物制品加工品质有重要影响^[9-11]。水提醇沉技术制备麦麸 SDF,避免了有机试剂的使用,但保留了大量的蛋白,导致 SDF 品质不高,不利于对其分离纯化、结构鉴定,影响了加工适应性和生物活性及构效关系等的研究^[12-13]。因此,如何有效地去除小麦麸 SDF 中的蛋白,又可以较多的保留其有效成分,是研究制备高品质小麦麸 SDF 的重点。

目前,脱蛋白常用的方法主要有氯仿正丁醇(Sevag)法^[14]、三氯乙酸(TCA)法^[15]、硫酸铵沉淀法^[16]、等电点沉淀(isoelectric point, pI)法^[17]、树脂柱层析法^[18]、蛋白酶酶解法^[19]等。其中,Sevag、TCA等利用有机溶剂使蛋白变性进而脱除蛋白的方式,在处理次数过多或反应强度过于强烈时,可能会引起多糖结构的破坏;同时,由于有机溶剂的引入,在工业应用上受到限制。酶法是在蛋白酶的作用下使蛋白分解成为小肽,醇沉时小肽不能随多糖一起沉降。由于制备原料小麦麸其本身成分的复杂性,目前还没有一种单一的方法即完全有效的脱除其蛋白^[20],对于小麦麸 SDF(主要成分为多糖),其蛋白脱除技术系统性的研究报道并不多见。本文对 pI 法、TCA 法、Sevag 法及与酶法结合后的小麦麸 SDF 蛋白脱除工艺进行了比较研究,旨在为小麦麸皮粗多糖脱蛋白找到最佳工艺方法,并确定其具体参数,为小麦麸 SDF 的进一步纯化、结构鉴定构效关系的研究及综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

小麦麸皮,发达面粉集团股份有限公司。

牛血清白蛋白,美国 Sigma 公司;碱性蛋白酶(20 000 U/mL)、耐高温 α -淀粉酶(25 000 U/mL)和高转化糖化酶(30 000 U/mL),诺维信(中国)生物技术有限公司;其他均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

Alpha-1506 型紫外-可见分光光度计,上海谱元仪器有限公司;pH-400 型数显 pH 计,安莱立思仪器科技上海有限公司;ST-40R 型高通量台式离心机,美国 Thermo Scientific 公司;RE-52AA 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;LC-20AT 型高效液相色谱仪,日本岛津公司。

1.3 小麦麸皮水溶性粗多糖的制备

小麦麸经粉碎后过 40 目筛。称取 100 g 小麦麸,按固液比 1 : 10 添加蒸馏水,混合均匀后,调节 pH 为 6。按 1% 麸皮的比例加入耐高温 α -淀粉酶,95 °C 恒温搅拌 1 h,碘液检测无淀粉残留;冷却物料至 60 °C,再按 1% 麸皮的比例加入糖化酶,恒温搅拌 30 min,95 °C 加热 15 min 灭酶处理。在 95 °C 恒温搅拌 1 h,抽滤,滤渣再次提取,重复提取 3 次,所得滤液合并,离心浓缩至原体积的 1/10,即为粗多糖浓缩液,待进一步脱除蛋白。

1.4 粗多糖脱蛋白技术关键参数实验

1.4.1 酶添加量的选择

取一定量粗多糖浓缩液,按碱性蛋白酶(20 mg/mL)添加量分别为 0.5%、1%、1.5%、2%、3% (以底物计)加入,调节 pH = 8,50 °C 水浴 2 h,95 °C 高温灭酶 15 min,离心,测定上清液中蛋白含量。

1.4.2 酶解温度的选择

取一定量粗多糖浓缩液,加入 3% 碱性蛋白酶,分别在 40、45、50、55、60、65 °C 水浴 2 h,调节 pH = 8,95 °C 高温灭酶 15 min,离心,测定上清液中蛋白含量。

1.4.3 酶解时间的选择

取一定量粗多糖浓缩液,加入 3% 碱性蛋白酶,调节 pH = 8,50 °C 水浴,分别酶解 0.5、1、1.5、2、3 h,95 °C 高温灭酶 15 min,离心,测定上清液中蛋白含量。

1.4.4 优化实验

根据单因素实验结果,运用响应面程序 Design Expert 8.0,对蛋白酶脱蛋白的条件进行优化。

1.5 不同蛋白脱除技术对蛋白脱除率及多糖损失率的影响

1.5.1 pI 法

取一定体积粗多糖浓缩液,分别调节 pH 至 3.0、3.5、4.0、4.5,4 °C 静置 12 h 后离心,取上清液,分别测定上清液中多糖和蛋白的含量。

1.5.2 TCA 法

取一定体积的粗多糖浓缩液,向该溶液中加入等体积的一定浓度的 TCA 溶液,使 TCA 最终质量分数分别达到 0.5%、1.0%、1.5%、3.0%、6.0%,混合均匀后静置 30 min,离心去除沉淀,测定上清液中多糖和蛋白的含量。

1.5.3 Sevag 法

取一定体积粗多糖浓缩液,加入该溶液体积 1/5 体积的 Sevag 试剂(氯仿与正丁醇体积比为 4 : 1),

剧烈振摇 15 min, 分离除去中间层变性的蛋白和下层的有机溶剂, 上清液重复上述步骤多次, 分别测定上清液中多糖和蛋白的含量。

1.5.4 不同方法与酶法的结合

取一定体积粗多糖浓缩液, 在最佳酶解条件下酶解后, 分别同 pI 法、TCA 法和 Sevag 法处理, 进一步脱蛋白。

1.6 多糖与蛋白含量的测定

多糖含量测定采用苯酚-硫酸比色法, 以葡萄糖作为标准品^[21]; 蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法, 以牛血清白蛋白作标准品^[22]。多糖含量测定标准曲线方程为 $y = 2.0773x + 0.0305$, 相关系数 $R^2 = 0.9924$ 。蛋白含量测定标准曲线方程为 $y = 9.2917x - 2.338$, 相关系数 $R^2 = 0.9919$ 。多糖损失率和蛋白脱除率分别按照式(1)和式(2)计算。

$$\text{多糖损失率} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为初始样品中多糖的含量, $\mu\text{g/mL}$; A_1 为经过脱蛋白处理后样品中多糖的含量, $\mu\text{g/mL}$ 。

$$\text{蛋白脱除率} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_0 为初始样品中蛋白的含量, $\mu\text{g/mL}$; C_1 为经过脱蛋白处理后样品中蛋白的含量, $\mu\text{g/mL}$ 。

1.7 SDF 重要的理化特性和相对分子质量分布测定

1.7.1 溶解度

准确称取样品 0.5 g 置于 100 mL 离心管中, 加入蒸馏水 20 mL, 30 °C 恒温水浴振荡 30 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 待试管干燥后, 称量沉淀的质量 (g), 按照式(3)计算溶解度 (g/100 g)。

$$\text{溶解度} = \frac{m_{\text{样品}} - m_{\text{沉淀}}}{20} \times 100 \quad (3)$$

1.7.2 持水力

准确称取样品 0.5 g 置于 10 mL 离心管中, 加入

蒸馏水 5 mL, 振荡均匀后室温放置 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液并吸干离心管壁上的水分后称质量 (g), 按照式(4)计算持水力 (g/g)。

$$\text{持水力} = \frac{m_{\text{吸水后}} - m_{\text{样品}}}{m_{\text{样品}}} \quad (4)$$

1.7.3 膨胀度

准确称取样品 0.5 g 置于 10 mL 量筒中, 加入蒸馏水 5 mL, 振荡均匀后室温放置, 读取液体中样品的体积 (mL), 按照式(5)计算膨胀度 (mL/g)。

$$\text{膨胀度} = \frac{V_{\text{膨胀后}} - V_{\text{膨胀前}}}{m_{\text{样品}}} \quad (5)$$

1.7.4 吸油性

准确称取样品 0.5 g 置于 10 mL 离心管中, 加入植物油 5 mL, 室温放置 60 min, 待麸皮完全浸润后, 3 000 r/min 离心 10 min, 测定游离油的体积 (mL), 按照式(6)计算吸油性 (mL/g)。

$$\text{吸油性} = \frac{5 - V_{\text{游离}}}{m_{\text{样品}}} \quad (6)$$

1.7.5 相对分子质量分布

采用高效凝胶渗透色谱 (HPLC) 测定各组分的相对分子质量分布。色谱条件: 检测器为 RID-10A 型示差折光检测器, 色谱柱为 OHPak SB-804 HQ, 柱温 30 °C, 流动相为超纯水, 样品质量浓度 5 mg/mL, 进样量 20 μL , 流量 0.8 mL/min。

采用流动相溶解相对分子质量已知、质量浓度为 5 mg/mL 的葡聚糖作标准品, 标准曲线方程为 $y = 10.88 - 0.6310x$, 相关系数 $R^2 = 0.9984$ 。

2 结果与分析

2.1 酶法脱蛋白的条件优化

2.1.1 单因素实验

酶的添加量、温度、时间直接影响酶解过程, 这 3 个因素对蛋白脱除率的影响如图 1 所示。

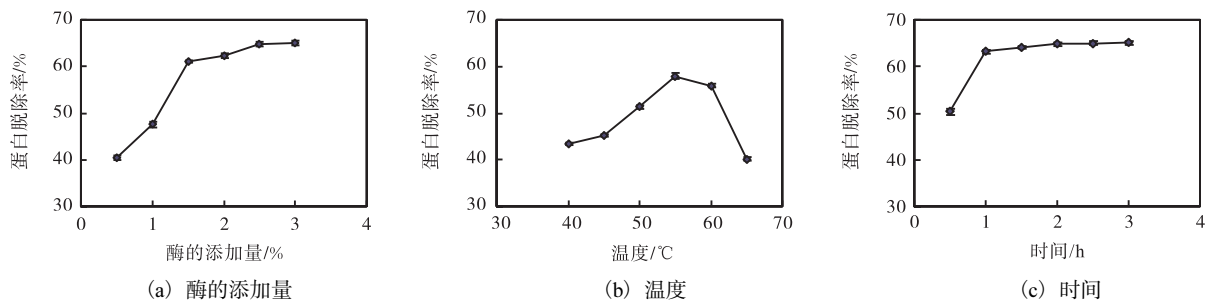


图 1 酶添加量、温度、时间对蛋白脱除率的影响

Fig. 1 Effect of protease amount, temperature and hydrolysis time on protein removal rate

由图 1(a)可以看出:酶的添加量在 0.5% ~ 1.5% 范围内,增加酶用量时,酶与底物结合增加,酶解作用加强,蛋白脱除率提高;当蛋白酶添加量超过 1.5% 后,蛋白脱除率增加趋于平缓. 综合经济原则,此酶解过程选择加酶量为 1.5% .

由图 1(b)可见:在 40 ~ 55 °C 范围内,随着温度的升高,酶解速度加快,蛋白脱除率增加;但温度超过 55 °C 时,蛋白脱除率开始降低. 温度升高有利于酶催化反应速率的增加;但过高的温度会导致蛋白变性,温度越高,变性程度越大,对酶活力的影响也较大. 所以,此酶解过程选择最适处理温度为 55 °C .

由图 1(c)可以看出:随着时间的增加,蛋白脱除率呈缓慢上升趋势;1 h 后,蛋白脱除率随时间的延长增加不显著,因此选择最佳酶解时间为 1 h .

2.1.2 中心复合响应面优化实验及结果分析

根据单因素实验结果,在 pH 8.0 条件下,以酶的添加量(A)、酶解时间(B)和温度(C)为变化量,以蛋白脱除率(Y)为响应值,运用响应面程序 Design Expert 8.0,对蛋白酶脱蛋白的条件进行优化,响应面 Box-Behnken 设计的实验结果见表 1,方差分析及显著性检验结果见表 2.

Design Expert 8.0 软件对实验结果进行分析得二次多项回归拟合方程为

$$Y = 72.01 + 5.09 A + 6.63 B + 1.81 C + 0.58 AB - 1.77 AC - 1.99 BC - 5.71 A^2 - 4.16 B^2 - 14.42 C^2$$

表 1 酶法脱蛋白的响应面实验设计及结果

Tab. 1 Experimental design and results of Box-Behnken for enzymatic deproteinization

| 编号 | A/% | B/h | C/°C | Y/% |
|----|------|------|-------|-------|
| 1 | 1.50 | 1.00 | 55.00 | 70.03 |
| 2 | 1.50 | 1.00 | 55.00 | 71.02 |
| 3 | 1.50 | 1.00 | 55.00 | 73.01 |
| 4 | 1.00 | 1.50 | 55.00 | 63.12 |
| 5 | 1.00 | 0.50 | 55.00 | 52.01 |
| 6 | 2.00 | 1.50 | 55.00 | 73.43 |
| 7 | 2.00 | 0.50 | 55.00 | 60.01 |
| 8 | 1.50 | 1.50 | 50.00 | 61.13 |
| 9 | 1.50 | 1.00 | 55.00 | 72.31 |
| 10 | 2.00 | 1.00 | 50.00 | 57.05 |
| 11 | 1.00 | 1.00 | 50.00 | 42.29 |
| 12 | 1.00 | 1.00 | 60.00 | 50.25 |
| 13 | 1.50 | 1.50 | 60.00 | 59.98 |
| 14 | 1.50 | 0.50 | 60.00 | 49.71 |
| 15 | 1.50 | 1.00 | 55.00 | 73.67 |
| 16 | 1.50 | 0.50 | 50.00 | 42.89 |
| 17 | 2.00 | 1.00 | 60.00 | 57.92 |

表 2 酶法脱蛋白的回归方程模型方差分析及显著性检验

Tab. 2 Variance analysis and significance test for the regression equation model for enzymatic deproteinization

| 项目 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|-------------------------------|---------|-----|-------|-------|----------|-----|
| 总模型 | 1 785.5 | 9 | 198.4 | 98.5 | <0.000 1 | *** |
| A | 207.5 | 1 | 207.5 | 103.0 | <0.000 1 | *** |
| B | 351.7 | 1 | 351.7 | 174.6 | <0.000 1 | *** |
| C | 26.3 | 1 | 26.3 | 13.1 | 0.008 6 | *** |
| AB | 1.3 | 1 | 1.33 | 0.7 | 0.442 5 | |
| AC | 12.6 | 1 | 12.6 | 6.2 | 0.041 1 | ** |
| BC | 15.9 | 1 | 15.9 | 7.9 | 0.026 2 | ** |
| A ² | 137.2 | 1 | 137.2 | 68.1 | <0.000 1 | *** |
| B ² | 72.8 | 1 | 72.8 | 36.2 | 0.000 5 | *** |
| C ² | 875.9 | 1 | 875.9 | 434.9 | <0.000 1 | *** |
| 残差 | 14.1 | 7 | 2.0 | | | |
| 失拟项 | 5.4 | 3 | 1.8 | 0.82 | 0.548 6 | |
| 纯误差 | 8.8 | 4 | 2.2 | | | |
| 总离差 | 1 799.6 | 16 | | | | |
| R ² | 0.992 | | | | | |
| R ² _{Adj} | 0.982 | | | | | |

注: ***表示模型极显著(P<0.01); **表示模型显著(P<0.05).

模型相关系数为 R² = 0.992 2, P<0.000 1, 且失拟项不显著,表明模型拟合程度较好. 由表 2 可知:酶的添加量、时间、温度一次项达到极显著水平,表明 3 个因素对蛋白脱除率的影响极显著;交互项 AC、BC 的交互效应显著,表明各因素对蛋白脱除率的影响并不是简单的线性关系.

对回归模型结果进行响应面分析,得到各响应面等高线及 3D 分析图,如图 2 所示. 从图 2 的弧面和等高线的密集变化程度可以看出:温度为 55 °C 时,添加量 and 时间的等高线接近圆形,交互作用不显著,添加量达到 1.5% 左右,时间为 1.0 h 左右时蛋白脱除率达到最大值;时间为 1 h 时,添加量 and 温度的等高线呈椭圆状,交互作用显著,当添加量在 1.5% 左右,温度达到 55 °C 左右时,脱除率达到最大值;添加量为 1.5% 时,时间和温度的等高线为椭圆,交互作用显著,时间为 1.0 h 左右,温度达到 55 °C 左右时,脱除率达到最大值.

回归模型分析可知,酶添加量为 1.53%、时间 1.19 h、温度 54.30 °C 时,蛋白脱除率最大理论值为 73.77% . 根据实际情况调整为酶添加量 1.6%、时间 1.2 h、温度 55 °C,按预测的最佳条件分别处理 3 份粗多糖浓缩液,蛋白脱除率平均值为 73.91%,较理论值高 0.24%,表明该模型能较好地预测实际情况.

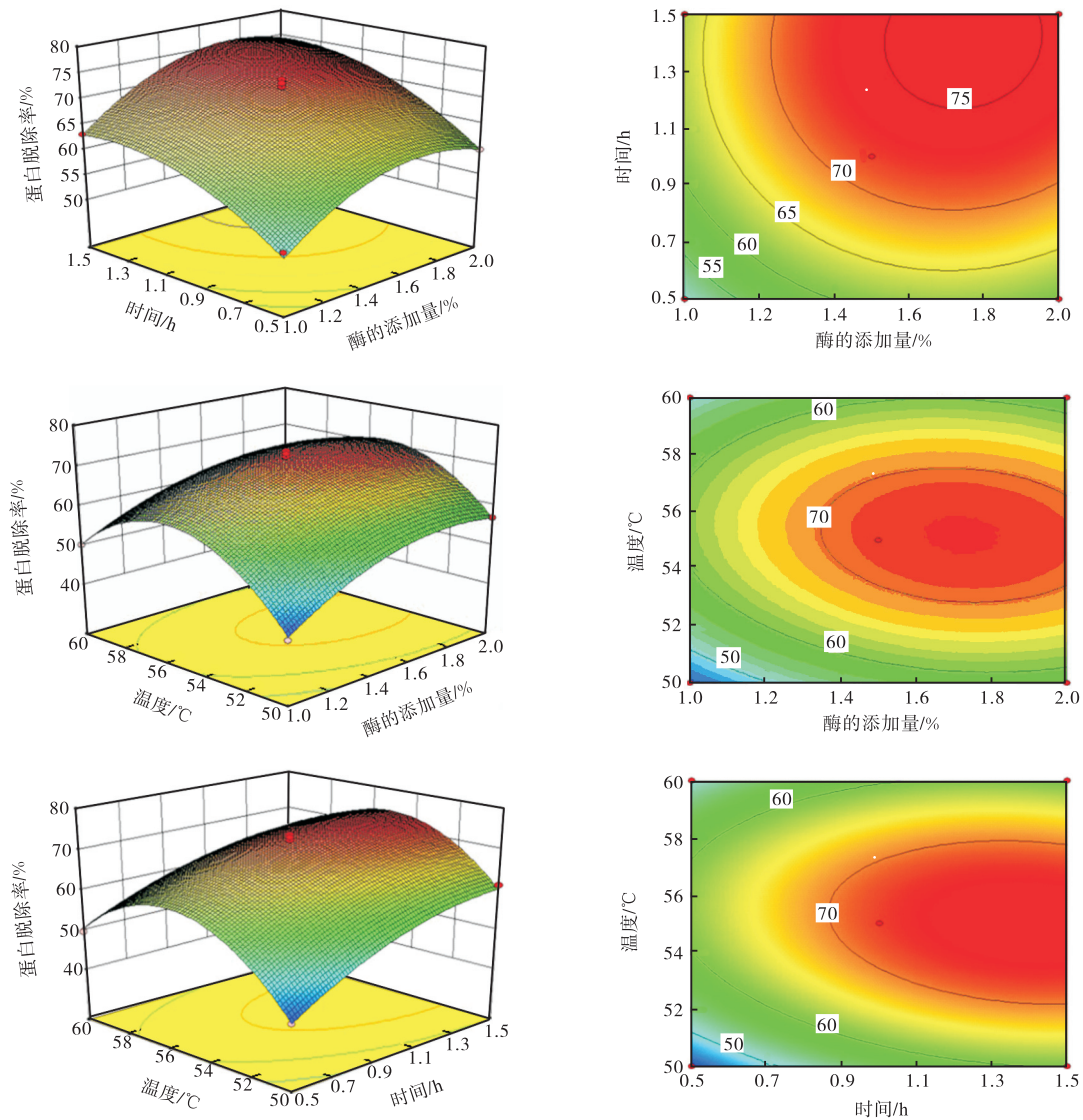


图 2 因素相互作用对蛋白脱除率影响的响应面和等高线图

Fig. 2 Response surface plots for the effect of interactions on protein removal rate

2.2 不同脱蛋白技术对蛋白脱除率及多糖损失率的影响

不同脱蛋白工艺对蛋白脱除率及多糖损失率的影响如图 3 所示。

pI 法结果表明: 在 pH 为 3.5 ~ 4.5, 随着 pH 的减小, 蛋白脱除率先增加后减少; 在 pH 为 3.5 时, 蛋白脱除率达到最大。但多糖的损失率随 pH 的减小逐渐增加。因此, 综合考虑选择 pH 3.5 为最佳等电点。

在 TCA 终质量分数 0.5% ~ 1.5% 范围内, 随 TCA 质量分数的增加, 蛋白脱除率增加, 多糖损失率也增加, 高达 50% 左右。综合考虑蛋白脱除率与多糖损失率, 选择 TCA 最佳终质量分数为 1.5%。

由图 3(c) 可知: 随着 Sevag 处理次数的增加, 多糖溶液蛋白脱除率增加, 3 次处理后, 蛋白脱除率增

加趋势减弱; 经 5 次脱蛋白处理, 蛋白的脱除率为 56.32%, 但多糖的损失率却达到了 58.02%。由此可见, 直接用 Sevag 法脱蛋白的效果不理想。

如图 3(d) 所示, 与单一使用等电点法脱蛋白结果一致, 在 pH 3.5 左右蛋白脱除率达到最大, 多糖的损失率仍随 pH 的减小而逐渐增加。因此选择 pH 3.5 为小麦粗多糖浓缩液脱蛋白的最佳等电点。

由图 3(e) 可以看出: 经过酶解后的粗多糖浓缩液蛋白脱除率随 TCA 浓度增加呈现先增加后降低的趋势, 多糖损失率呈现增加趋势。当 TCA 最终浓度达到 1.5% 时, 蛋白的脱除率达到最大 90.58%, 多糖损失率较小为 28.88%, 与单一使用 TCA 法脱蛋白相比, 蛋白脱除率明显增加, 多糖损失率显著降低。综合考虑 TCA 最终质量分数为 1.5% 为最佳。

酶结合 Sevag 法脱蛋白的效果如图 3(f) 所示. 酶解后的粗多糖浓缩液, 随 Sevag 处理次数的增加, 蛋白的脱除率增加的趋势较小, 但多糖损失率却

随处理次数的增加而增加, 经 Sevag 法 5 次脱蛋白处理, 多糖损失率高达 51% 左右. 由此可见, 酶解后的粗多糖液不再适合 Sevag 法脱蛋白.

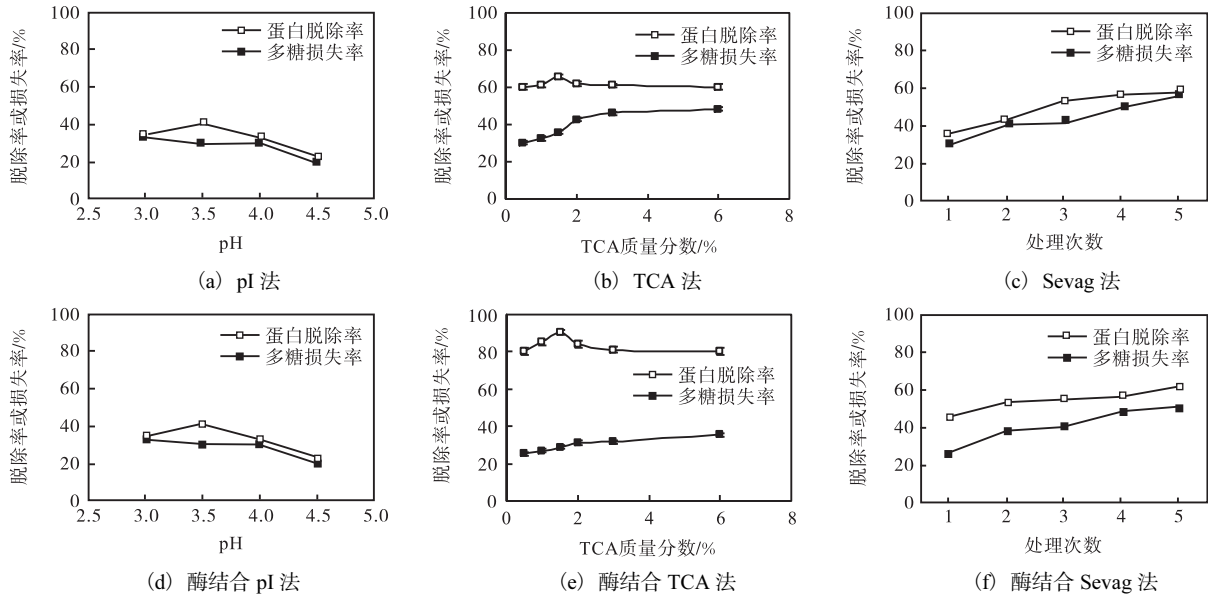


图 3 不同脱蛋白工艺对蛋白脱除率及多糖损失率的影响

Fig. 3 Effect of deproteinization technology on removal protein rate and polysaccharide loss rate

2.3 pI 法、TCA 法、Sevag 法及与酶法结合脱蛋白技术效果比较

pI 法、TCA 法、Sevag 法及与酶法结合脱蛋白技术效果比较如图 4 所示, 图中同一类型柱顶端的不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$).

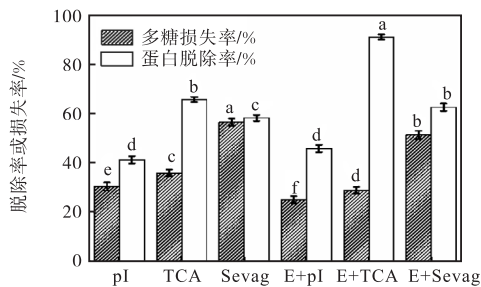


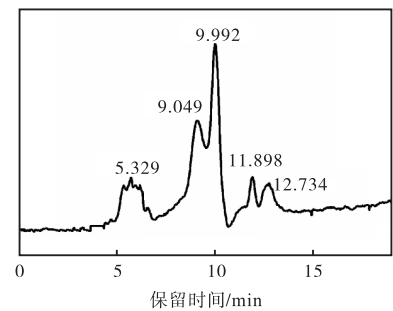
图 4 蛋白脱除技术适用性综合比较

Fig. 4 Comparison of protein removal methods

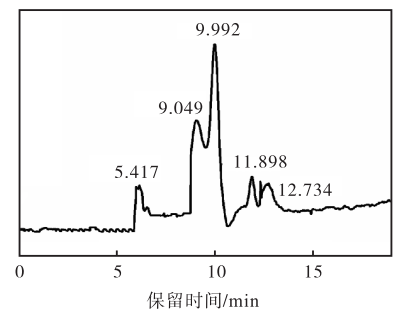
由图 4 可知: 虽然等电点法及等电点法与酶法结合, 多糖损失相对较低, 但蛋白脱除率也都不高. 这是因为相对温和的作用条件无法有效彻底脱除蛋白. TCA 法、Sevag 法单一作用, 蛋白脱除率较等电点法均显著提高, 但 Sevag 法的多糖损失率远高于其他两者; 二者结合酶法后蛋白脱除率均显著高于单独作用, 且酶结合 TCA 法的蛋白脱除率显著高于酶结合 Sevag 法, 多糖损失率显著低于后者. 综合考虑, 选择酶结合 TCA 法脱除小麦麸水溶性粗多糖中蛋白.

2.4 SDF 重要的理化特性和相对分子质量分布

蛋白脱除前后 SDF 相对分子质量分布和理化特性如图 5 和图 6 所示.



(a) 脱蛋白前



(b) 脱蛋白后

图 5 蛋白脱除前后 SDF 相对分子质量分布

Fig. 5 Comparison of molecular weight distribution between natural and deproteinized SDF

经优化的蛋白脱除技术处理后的 SDF 相对分子质量的较高组分明减少,其溶解度、持水力、膨胀度及吸油性均显著高于未处理的 SDF. 这是因为在蛋白脱除后,打破了蛋白分子对 SDF 的包裹或与糖苷键的结合,使 SDF 中多糖分子暴露出来,同时增加了液体与多糖的接触面积,进而提高了溶解度、持水力和膨胀度. 分子间接触概率变大,分子间不断碰撞. 而未处理的 SDF 中蛋白与多糖分子聚合在一起,分子间接触概率较低,无法与液体分子充分作用,因此各理化测定值相应较低.

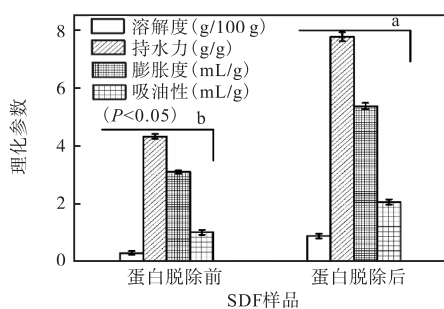


图6 蛋白脱除前后 SDF 理化特性

Fig. 6 Comparison of physicochemical properties between natural and deproteinized SDF

3 结语

在酶法脱蛋白单因素和响应面实验的基础上,以蛋白脱除率和多糖损失率为检测指标,比较了 pI 法、TCA 法、Sevag 法及与酶法结合后在麦麸 SDF 组分脱蛋白工艺中的适用性. 实验结果表明:酶与 TCA 法结合更适合小麦麸水溶性膳食纤维中蛋白的脱除,可显著提高蛋白脱除率,并保证了相对较小的多糖损失率. 最终确定酶结合 TCA 法为去除小麦麸皮粗多糖中蛋白较适合的脱蛋白技术,最佳工艺条件为:碱性蛋白酶添加量 1.6%、时间 1.2 h、酶解温度 55 °C、pH 8.0、TCA 终质量分数 1.5%,在此条件下蛋白脱除率可达 90.58%,多糖损失率为 28.88%. 经此蛋白脱除技术处理的 SDF 与其加工特性密切相关的理化特性得到较显著的改善,为麦麸高品质水溶性膳食纤维的进一步开发研究提供了理论依据.

参考文献:

- [1] Weickert M O, Pfeiffer A F H. Low-glycemic index vs high-cereal fiber diet in type 2 diabetes[J]. Journal of the American Medical Association, 2009, 301 (15) : 1538 - 1539.
- [2] Nicholson J K, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. Science, 2012, 336 (6086) : 1262-1267.
- [3] Garrett W S. Cancer and the microbiota[J]. Science, 2015, 348 (6230) : 80-86.
- [4] Gophna U. The guts of dietary habits[J]. Science, 2011, 334 (6052) : 45-46.
- [5] Haska L, Andersson R, Nymant M. The effect of dietary fiber from wheat processing streams on the formation of carboxylic acids and microbiota in the hindgut of rats [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59 (7) : 3406-3413.
- [6] Blandino M, Locatelli M, Sovrani V, et al. Progressive pearling of barley kernel: Chemical characterization of pearling fractions and effect of their inclusion on the nutritional and technological properties of wheat bread [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63 (25) : 5875-5884.
- [7] Wu Z Y, Yang J, Liu Y H, et al. Optimizing semi-simultaneous saccharification and fermentation for ethanol production from Chinese distiller's spent grains [J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2015, 73 (2) : 190-194.
- [8] Xiang Z Y, Runge T. Co-production of feed and furfural from dried distillers' grains to improve corn ethanol profitability[J]. Industrial Crops and Products, 2014, 55 (1) : 207-216.
- [9] Lei Z, Shao Y X, Yin X N, et al. Combination of xylanase and debranching enzymes specific to wheat arabinoxylan improve the growth performance and gut health of broilers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64 (24) : 4932-4942.
- [10] Ramseyer D D, Bettge A D, Morris C F. Endogenous and enhanced oxidative cross-linking in wheat flour mill streams[J]. Cereal Chemistry, 2011, 88 (2) : 217-222.
- [11] Buksa K, Ziobro R, Nowotna A, et al. Water binding capacity of rye flours with the addition of native and modified arabinoxylan preparations[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2014, 16 (5) : 1083-1095.
- [12] 李姣, 王珂, 王瑞坡, 等. 芦笋多糖提取纯化工艺及其体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2011, 32 (8) : 65-69.
- [13] Yadav M P, Hicks K B. Isolation of barley hulls and straw constituents and study of emulsifying properties of their arabinoxylans[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 132 (1) : 529-536.

- [14] Sevag M G, Lackman D B, Smolens J. The isolation of the components of streptococcal nucleoproteins in serologically active form[J]. Journal of Biological Chemistry, 1938, 124(2) : 425-436.
- [15] Szwengiel A, Stachowiak B. Deproteinization of water-soluble β -glucan during acid extraction from fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 146(1) : 310-319.
- [16] Peng Y F, Han B Q, Liu W S, et al. Deproteinization and structural characterization of bioactive exopolysaccharides from *Ganoderma sinense* mycelium[J]. Separation Science and Technology, 2016, 51(2) : 359-369.
- [17] Huang G L, Shu S Q, Cai T T, et al. Preparation and deproteinization of garlic polysaccharide[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012, 63(6) : 739-741.
- [18] Yang R, Meng D M, Song Y, et al. Simultaneous decoloration and deproteinization of crude polysaccharide from pumpkin residues by cross-linked polystyrene macroporous resin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(34) : 8450-8456.
- [19] Synowiecki J, Alkhateeb N A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2003, 43(2) : 145-171.
- [20] 周鸿立, 杨晓虹. 玉米须多糖中蛋白质脱除的 Sevag 与酶法联用工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(8) : 129-132.
- [21] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3) : 350-356.
- [22] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2) : 248-254.

责任编辑: 郎婧

(上接第 19 页)

果,方便保存和运输,便于在社区医院和家庭中使用,而且作为辅助诊断主要工具,弥补了国产肺炎链球菌诊断试纸暂无市售的空缺,具有较高的市场潜力和应用前景。

参考文献:

- [1] 杨帆,张婴元,McGee L,等.肺炎链球菌呼吸道感染分离株的耐药性[J].中国抗感染化疗杂志,2001,1(1):13-16.
- [2] 凌步致,李炜焯.尿液C多糖抗原对肺炎链球菌感染的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2014,35(22):3057-3058.
- [3] Foo R L, Graham S M, Suthisarnsuntorn U, et al. Detection of pneumococcal capsular antigen in saliva of children with pneumonia[J]. Annals of Tropical Paediatrics, 2000, 20(2) : 161-163.
- [4] Nunes A A, Camargos P A, Costa P R, et al. Antigen detection for the diagnosis of pneumonia[J]. Pediatric Pulmonology, 2004, 38(2) : 135-139.
- [5] van Haeften R, Palladino S, Kay I, et al. A quantitative LightCycler PCR to detect *Streptococcus pneumoniae* in blood and CSF[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2003, 47(2) : 407-414.
- [6] 樊慧珍,黄文杰,梁昆.反向斑点杂交快速检测肺炎链球菌[J].新医学,2004,35(3):145-146.
- [7] 颜善活,孙雷,符可鹏,等.实时荧光定量 PCR 快速诊断肺炎链球菌[J].检验医学,2013,28(3):221-224.
- [8] 张颖华,王传清,郭奕芳,等.尿肺炎链球菌抗原诊断肺炎链球菌感染的研究[J].中国预防医学杂志,2002,3(1):49-50.
- [9] 龙聪,朱丽莎,范文.尿抗原测定快速诊断肺炎链球菌感染的临床研究[J].中华医院感染学杂志,2013,23(1):231-232.
- [10] Sjögren A M, Holme T. A highly specific two-site ELISA for pneumococcal C-polysaccharide using monoclonal and affinity-purified polyclonal antibodies[J]. Immunological Methods, 1987, 102(1) : 93-100.
- [11] 王廷华.抗体理论与技术[M].3版.北京:科学出版社,2013:101-108.
- [12] 严杰,罗海波,陆德源.现代微生物学试验技术及应用[M].北京:人民卫生出版社,1997:105-115.
- [13] Domínguez J, Galí N, Blanco S, et al. Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples[J]. Chest, 2001, 119(1) : 243-249.
- [14] Casado Flores J, Nieto Moro M, Berrón S, et al. Usefulness of pneumococcal antigen detection in pleural effusion for the rapid diagnosis of infection by *Streptococcus pneumoniae*[J]. European Journal of Pediatrics, 2010, 169(5) : 581-584.

责任编辑: 郎婧