

菜籽饼粕脱毒及菜籽蛋白提取的研究进展

周爱东¹, 杨红晓², 贺 祝¹

(1. 南京大学化学化工学院, 南京 210093; 2. 南京师范大学分析测试中心, 南京 210097)

摘要: 菜籽饼粕是一个潜在营养价值很高的巨大植物蛋白资源, 科学合理利用廉价的菜籽蛋白具有重要的社会和经济意义。分析了当前油菜籽的生产状况, 论述了菜籽饼粕脱毒及菜籽蛋白提取的 5 种工艺方法, 结合工业生产的实例, 展望了全球油菜籽生产和菜籽蛋白深加工的良好前景。

关键词: 菜籽; 菜籽饼粕; 菜籽蛋白; 脱毒; 提取

中图分类号: TQ936.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2008)01-0097-03

Research Advance on Detoxification of Rapeseed Meal and Extraction of Rapeseed Protein

ZHOU Ai-dong¹, YANG Hong-xiao², HE Zhu¹

(1. Chemistry and Chemical Engineering College, Nanjing University, Nanjing 210093;
2. Analyzing and Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210097)

Abstract: Rapeseed is an enormous plant protein resource with high latent nutritional value. Utilizing sixpenny rapeseed protein reasonably and scientifically is of important social and economical significance. In this paper, current global production of rapeseed was analyzed, detoxification of rapeseed meal was discussed and 5 ways of rapeseed protein's extraction were reviewed. The foregrounds of global rapeseed's production and rapeseed protein's comprehensive processing were described on the base of industrial examples.

Key words: rapeseed; rapeseed meal; rapeseed protein; detoxification; extraction

当前主要四种植物油料蛋白—大豆蛋白、花生蛋白、棉籽蛋白、菜籽蛋白的氨基酸组成、营养效价和生物价相比较, 菜籽蛋白的生物价和营养效价最高。油菜籽是北半球温带气候条件下最重要的油料和蛋白作物。业内人士预测^[1], 2010 年我国蛋白质饲料消费量约为 6 000 万 t, 缺口 3 800 万 t, 科学合理利用大量廉价的菜籽蛋白具有重要的经济意义和社会意义。

1 油菜籽及菜籽饼粕产量

《油世界》预测: 2007~2008 年度全球油菜籽产量预计提高到 5 100 万 t^[2], 主产地欧盟, 2007~2008 年度油菜籽播种面积预计达到历史最高纪录。20 世纪 80 年代以来, 我国成为世界上菜籽产量最多国家。2007 年 3 月, 第 12 届国际油菜大会主题报告^[3]指出: 中国油菜总产量达到 1 300 多万 t, 油

菜籽榨油产量约 470 万 t, 占我国自产植物油产量的 44 % 左右。

在现代工业条件下加工菜籽, 可得到 55 % 左右的菜籽饼粕^[2], 全球每年菜籽经过榨油后的饼粕产量为 2 800 万 t 左右。菜籽饼粕是一个潜在营养价值很高的巨大的植物蛋白资源, 其营养价值可与联合国粮农组织和世界卫生组织推荐的模式蛋白质相媲美^[3-4]。一般情况下, 菜籽饼粕含蛋白质 35 %~45 %, 糖分 38 %, 脂肪 1.8 %~4.0 %; 生物素、维生素 B1、维生素 B2 及微量元素钙、硒等^[5]。

2 制备菜籽蛋白产品过程中存在的问题

菜籽饼粕中的硫代葡萄糖甙、植酸、单宁、芥子碱、皂素等毒物和抗营养成分存在, 限制了它在饲料及食品工业中的应用, 以致造成蛋白质资源的浪费。菜籽饼粕脱毒及菜籽蛋白产品的制备过程中存在的主要问题^[5]有: 蛋白质损失率高、产品中植酸含量高, 硫甙及其降解物脱除不完全, 产品色泽差等。

3 菜籽蛋白提取方法

去除菜籽饼粕中毒物和抗营养成分受到国内外

收稿日期: 2007-08-18
第一作者简介: 周爱东(1973-), 男, 江苏省淮安市人, 讲师, 从事膜分离研究。 Tel: 025-83594195; E-mail: aidongzhou@yahoo.com.cn.

专家的重视,从菜籽粕中提取菜籽蛋白是近 20 年来的热门课题,主要有以下几种方法。

3.1 水相萃取法

水相萃取法主要是采用不同水相将蛋白萃取出,然后在菜籽蛋白等电点附近将蛋白沉淀,再分离干燥制取菜籽分离蛋白。最常用萃取水相是稀碱、水、稀酸、NaCl 水溶液及六偏磷酸钠溶液等。

20 世纪 70 年代 Agriculture Canada's Food Research Institute 和 Karlshamns 公司开发了菜籽浓缩蛋白制取工艺:将破碎了的菜籽用沸水或干热使芥子酶失活、硫甙用水洗脱除,脱毒粕经取油、脱溶、磨细得到浅黄色浓缩蛋白。用上述方法得到的浓缩蛋白中蛋白质含量达到 60%~65%,植酸含量偏高,达到 5%~7%。国内的研究比较活跃,何再庆^[6]等采用 1:20 料液比经三级对流萃取,蛋白得率在 80%以上,浓缩蛋白的蛋白质含量为 59%。李顺灵^[7]等采用水剂法与六偏磷酸钠浸出法(SHMP)结合工艺,得到 1.0%SHMP 蛋白浸出液(pH7.0),经超滤浓缩、离子交换,得到高品质菜籽分离蛋白,蛋白含量为 87.5%,产品无硫甙,低植酸,味淡色浅。姜绍通^[8]以菜籽饼粕为原料,通过 NaOH 溶液将蛋白质浸出,上层蛋白溶液用盐酸调节等电点,蛋白沉淀后冷冻干燥,未沉淀的蛋白经超滤后进行喷雾干燥;下层饼粕残渣用盐酸浸取,经二次中和沉淀、精制,得植酸钙。总的植酸钙含量达 90%以上,植酸钙的回收率达 85%以上,该工艺解决了菜籽加工副产物的综合利用问题。

研究表明:盐溶液提取和碱溶液提取对蛋白质的提取率影响不是很大,碱溶液提取的蛋白质色泽深,溶解性和起泡性较差。

水相萃取法制备浓缩蛋白具有工艺简单、成本低等优点,容易得到实际应用,存在的主要问题是蛋白质损失大,原因在于菜籽蛋白组成非常复杂,其等电点和分子量相差很大,部分蛋白质(20%~40%)等电点 pH 高达约 11,分子量仅 13 000,而其余部分蛋白质等电点在 pH4~8。

3.2 有机溶剂法

用醇、酮等有机溶剂液萃取蛋白是常用的去除粕中毒性物质的方法。醇类不光对去毒除硫甙的效果好,还有除去粕中残油、酚、色素等因子,提高产品风味,改变色泽的特殊功效。

严奉伟^[9]用 70%丙酮、乙醇等有机溶剂依次提取菜籽饼粕中多酚和植酸后,得到含 70.23%蛋白质的粕,而有害物硫代葡萄糖甙及抗营养物质多酚与植酸量分别为 0.76 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, 1.33 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 3.01%,分别比处理前下降 96.55%, 95.88%,

38.45%。曾晓波^[10]分别用乙醇和丙酮溶液作浸提液,采用响应面分析法对影响菜籽浓缩蛋白中蛋白质及多酚含量的丙酮浓度、NaCl 浓度和 pH 进行优化,发现用乙醇所得蛋白质含量略高于丙酮,而多酚含量亦高于丙酮。分析原因是丙酮的极性小于乙醇,使蛋白质变性程度较小,可与蛋白质竞争,与多酚形成氢键,断开多酚与蛋白质的连接;乙醇对可溶性糖类的溶出能力较强,对饼粕中其它杂质的溶出能力也较强,所得产品中蛋白质相对含量稍高。由于多酚类物质易溶于丙酮,同时植酸、硫甙在丙酮水溶液中有较大溶解性,就此得出结论:用丙酮替代乙醇制取菜籽浓缩蛋白效果更好。

用醇、酮等有机溶剂制备菜籽蛋白方法,因工艺复杂、成本高以及溶剂对蛋白质营养价值的影响^[11]等问题,对进一步工业化生产困难较大。

3.3 水相酶解法

水相酶解法主要是利用蛋白酶将菜籽粕中蛋白质充分溶出,改善植物蛋白质的溶解性、乳化性和起泡性,提高蛋白质的营养价值及蛋白质得率,消除油料饼粕中有害成分对人体和动物的不良影响,但是存在植物蛋白质经酶水解后产生苦味的问题^[12]。

刘玉兰^[13]等采用天然硫甙酶制剂和少量化学添加剂水溶液,在适宜的温湿度条件下,菜籽粕中硫代葡萄糖甙在硫甙酶的作用下迅速分解,分解成的异硫氢酸酯,噁唑烷硫酮,硫氢酸酯和腈类等有毒产物以及菜籽粕中原有的这些有毒分解产物与化学添加剂中的金属离子产生螯合作用,形成高度稳定的络合物,从而不被家禽吸收,达到去毒的目的。为了解油菜饼粕蛋白质经酶水解后产生苦味的程度,在制备油菜籽分离蛋白的基础上,熊善柏^[14]分析计算了油菜蛋白质的疏水性值,以选择合适的水解用蛋白酶。刘海梅^[15]用 3 000 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ 碱性蛋白酶水解菜籽蛋白 4 h,再添加 3 000 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ 木瓜蛋白酶水解 4 h 提高水解度,并将低肽末端的疏水性氨基酸水解形成游离氨基酸,从而降低或消除水解产物苦味,获得无苦味水解产物。

近年来,各种富硒营养保健食品的开发研制正日益受到人们的普遍关注。刘大川以恩施富硒菜籽脱皮脱脂粕为原料,制取菜籽富硒浓缩蛋白^[16],用中性蛋白酶进行酶水解,制成氨基酸、肽混合液,经过调质和灭菌处理得到富硒肽口服液,含硒量高达 0.68 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,是一种新型的富硒蛋白产品。

3.4 双液相萃取

利用饼粕中籽皮和籽仁在密度等性质上存在的差异,王车礼^[17]选择 CaCl_2 水溶液和二氯乙烷作液选剂处理菜粕。从粒度小于 0.2 mm 菜籽饼粕中得

到含量大于 58% 蛋白质, 但有少量籽皮; 其中粒度在 0.076 mm 以下饼粕蛋白质含量为 64%, 高出 Darlington H F 等测定纯仁蛋白质含量 10 个百分点^[18]。可能是因双液相萃取菜籽粕在制取过程中, 脱除硫甙及一部分糖类物质, 故有较高蛋白质含量。CaCl₂ 水溶液作为液选剂, 干物质损失约 9% ~ 15%, 蛋白质损失约 10% ~ 16%; 二氯乙烷作为液选剂, 干物质和蛋白质基本无损失, 分离效果良好。还研究了菜籽粕的蛋白质及植酸萃取率随温度变化的情况, 发现 pH12.0, 40℃ 作为萃取菜籽蛋白的适宜条件, 蛋白质的萃取率为 71.5%, 植酸率 33.6%。

3.5 超滤、渗滤法

利用超滤膜对分离组分的选择性, 截留分子量较大蛋白质分子或相当粒径胶体物质, 而溶剂和小分子物质透过, 可将蛋白质浓缩和分离并保留在截留物中。Maubois 等在 1976 年首先采用了超滤法生产菜籽分离蛋白, 得到的产品含 76% 蛋白质。J. Kroll^[19] 等人在菜籽饼粕的实验中发现: 通过超滤在所有的透过物中, 采用 20% 三氯乙酸溶液来检测, 均未检出蛋白质。加拿大多伦多大学开发出一系列菜籽分离蛋白提取过程^[20], 主要包括: 碱萃取与洗涤以提取粕中蛋白质、等电点沉淀以回收沉淀蛋白(PPI)、超滤浓缩和渗滤纯化得到可溶性蛋白(SPI)四个步骤, 该工艺具有高蛋白质得率、高产品质量的特点。在有活性碳情况下, Annadurai G^[21] 将浸提、超滤和透滤相结合, 用强碱阳离子交换树脂处理透滤截留物能产出蛋白含量约为 90% 分离蛋白, 且无硫代葡萄糖甙及其裂解物, 植酸盐含量较低, 成品色浅味淡。

国内学者应用膜分离技术从菜籽饼粕中提取菜籽蛋白, 做了大量富有成效的工作。刘志强等将水酶法和超滤(UF)结合同时提取菜籽油和菜籽蛋白过程^[22] 中, 按固液比 1 : 5, 添加纤维素酶、果胶酶复合酶, 经搅拌、反应、碱提、离心分离得出菜籽蛋白水提液, 超滤制备出菜籽蛋白粉。菜籽蛋白含量及得率达 90% 以上, 产品中粗脂肪、粗纤维及植酸低于酸沉法, 异硫氰酸酯、噁唑烷硫酮均未检出, 达到食用标准, 并且蛋白质功能特性得到很大改善。胡志和等使用中空纤维膜的超滤组件, 采用超滤法制备菜籽蛋白^[23]。结果表明: 只要选择截留分子量合适的膜, 就可以尽可能地减少萃取蛋白的损失。

由于料液中含有蛋白质、果胶等大分子物质, 超滤膜膜面或膜孔很容易被污染, 导致超滤膜的处理能力下降甚至不能工作, 而且污染后的清洗工作也相当繁杂, 从而使超滤这一先进工艺技术的推广和应用受到极大的限制。针对这一问题, 刘瑞兴^[24] 用

超滤透过液对工作中的超滤膜进行在线定期间歇反冲, 可明显控制膜污染程度、提高超滤速率, 使菜籽蛋白水溶液的超滤浓缩工艺向着工业化方向前进了一大步。

4 工业化的成功应用

中国科学院成都有机化学研究所率先成功解决了脱毒技术工业化问题, 并建立示范工厂。设计的脱毒塔集增温、氨化、稳定、干燥于一体, 获得专利^[25]。采用该技术对菜籽饼粕脱毒能有效防止有效赖氨酸的流失、脱毒饼粕适口性好、营养利用率提高。

2004 年华益油料公司建设了全球第一条 2 000 t·a⁻¹ 的油菜饼粕生产优质饲用蛋白及植酸盐生产线, 2010 年将达到 10 万 t。

典型的工业化实例表明: 对油菜饼粕中的蛋白与抗营养物质植酸和多酚形成的复合物加以修饰, 使普通的油菜饼粕转变为生物效价高的优质饲用蛋白, 同时对提取液分离纯化, 生产精细化工产品, 有利于提高菜籽饼粕的综合效价。

5 展望

随着全球消费的增长, 生物柴油需求强劲, 将鼓励农户多种植油菜籽。当前国内市场对油料及其制品的需求仍将保持旺盛势头, 为油菜油料加工产业的可持续发展提供了广阔的市场空间。

随着菜籽粕脱毒工艺及菜籽蛋白提取工艺技术的成熟, 菜籽蛋白将得到进一步的开发、利用, 市场潜力巨大。

参考文献:

[1] 伍坪, 胡佩. 油菜籽粕中蛋白质的提取与分离研究[J]. 资源开发与市场, 2007, 23(6): 483.
[2] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K, et al. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 28(6): 224-228.
[3] Lo M T, Hill D C. Evaluation of protein concentrates prepared from rapeseed meal[J]. J Sci Food Agric, 1971, 22: 128-130.
[4] Jones J D. Rapeseed protein concentrate preparation and evaluation[J]. JAOCS, 1979, 56: 716-721.
[5] Sosulski K, Sosulski F W. Enzyme-aided vs two-stage processing of canola: technology, product quality and cost evaluation[J]. J Am Oil Chem Soc, 1993, 70: 825-829.
[6] 何再庆, 莫柯. 从中国菜籽和双低菜籽中制取富含蛋白产品[J]. 中国油脂, 1989, 15(4): 37-39.
[7] 李顺灵, 严有兵, 李向珍. 食用菜籽蛋白的提取分离及其应用研究[J]. 广州食品工业科技, 1998(3): 12-14.
[8] 姜绍通, 邵平, 潘丽军, 等. 从菜籽饼粕中提取菜籽蛋白和植酸钙的工艺方法: 中国, CN1962671 [P]. 2007-05-16.

(下转 104 页)

polymorphic DNA, 随机微卫星扩增多态)

利用 RAPD 引物和微卫星上游或下游引物结合, 对基因组 DNA 进行扩增, 探索更有效的揭示所有微卫星及其他 DNA 遗传多态性的方法, 以期获得研究 DNA 多态性的新的分子标记方法。因该方法同时利用随机引物和微卫星引物进行扩增, 暂一定名为随机微卫星扩增多态 DNA^[10]。

4.3 SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism, 相关序列扩增多态性)

SRAP 标记是基于 PCR 技术的新型分子标记技术, 其原理是利用基因外显子里 G、C 含量丰富, 而启动子和内含子里 A、T 含量丰富的特点设计两套引物, 对开放阅读框架进行扩增。此技术具有简便、稳定、中等产率和容易得到选择条带序列的特点, 在基因组中分布均匀, 适合于不同作物的基因定位、基因克隆和遗传图谱构建^[11]。

4.4 TRAP 标记 (Target Region Amplified Polymorphism, 靶位区域扩增多态性)

TRAP 是由 H UJG 等于 2003 年从 SRAP 技术改进而来的新型分子标记技术, 其原理是借助大规模测序技术产生的庞大生物序列信息, 利用生物信息学工具和表达序列标签数据库信息设计引物, 对目标候选基因序列区进行 PCR 扩增产生多态性标记。此标记具有操作简单、重复性好、稳定性好、效率高的特点。目前已经成功应用于许多植物的遗传图谱构建、重要性状基因标记、种质资源的多样性研究及分子标记辅助育种等方面^[11]。

分子标记作为新的遗传标记, 具有比形态标记、

细胞标记和同工酶标记显著的优点, 因此自分子标记诞生短短 20 多年间, 已发展了许多种分子标记技术, 并已被广泛应用于动植物遗传育种、连锁图谱构建、基因定位与克隆和物种鉴定等方面。尽管分子标记有许多优势, 但目前发现的任何一种分子标记均不能满足作为理想的遗传标记的所有要求, 但可以预见, 在不久的将来, 分子标记技术会产生深远的影响。

参考文献:

[1] 王军, 谢皓, 郭二虎 等. DNA 分子标记及其在谷子遗传育种中的应用[J]. 北京农学院学报, 2005, 20(1): 76-80.

[2] 王晓梅, 杨秀荣. DNA 分子标记研究进展[J]. 天津农学院学报, 2000, 7(1): 21-24.

[3] 邓俭英, 刘忠, 康德贤, 等. RAPD 分子标记技术在蔬菜研究中的应用[J]. 种子, 2005, 24(3): 39-42.

[4] 胡学军, 邱正名, 李金泉. RAPD 分子标记技术及其在十字花科蔬菜研究中的应用[J]. 湖北农业科学, 2005(3): 107-110.

[5] 杨玉玲, 马祥庆, 张木清. ISSR 分子标记及其在树木遗传育种研究中的应用[J]. 亚热带农业研究 2006, 2(1): 18-24.

[6] 孙琦, 孟昭东, 张发军, 等. SSR 标记在玉米遗传育种中的应用[J]. 玉米研究, 2006, 14(1): 37-39.

[7] 罗培高, 任正隆, 张怀渝, 等. AFLP 分子标记及其在作物遗传育种中的应用与前景[J]. 作物研究 2001, 19(4): 406-410.

[8] 伍春莲, 孙敏, 王颖, 等. AFLP 分子标记及其在禾本科作物遗传改良中的应用[J]. 作物研究, 2001 (4): 48-51.

[9] 钟鸣, 牛永春. DNA 分子标记技术在小麦抗锈病基因研究中的应用[J]. 植物保护, 2000(2): 32-35.

[10] 蓝贤勇, 陈宏, 张永德, 等. 一种新的分子标记方法—随机微卫星扩增多态 DNA (RMAPD)[J]. 遗传, 2006, 28(1): 78-84.

[11] 边银丙, 宋小亚. 几种新型 DNA 分子标记及其在食用菌研究中的应用[J]. 食用菌学报, 2006, 13(1): 73-81.

(上接 99 页)

[9] 严奉伟. 莱籽粕综合提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20 (2): 209-212.

[10] 曾晓波, 吴谋成, 王海英. 丙酮浸提法制取莱籽浓缩蛋白[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(4): 10-13.

[11] 王车礼, 史美仁. 莱籽粕脱毒提取莱籽蛋白研究进展 II. 莱籽分离蛋白的制取[J]. 中国油脂, 1997, 22(4): 53-56.

[12] 郭兴凤, 周瑞宝, 谷文英, 等. As1. 398 水解莱籽蛋白的酶水解条件的研究[J]. 中国油脂, 2001, 26(1): 50-51.

[13] 刘玉兰, 董秀云. 莱籽饼粕的生物化学脱毒研究[J]. 中国粮油学报, 1994, 9(3): 49-56.

[14] 熊善柏, 赵思明, 董汉萍, 等. 脱脂油菜饼粕中蛋白质的分步酶水解研究 I. 分离蛋白及其疏水性值的分析[J], 中国油料作物学报, 2000, 22(3): 30-34.

[15] 刘海梅. 脱脂油菜籽饼粕蛋白质分步酶水解研究: 碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶分步水解[J]. 粮食与油脂, 2002(3): 2-4.

[16] 张寒俊, 周俊梅, 刘大川. 富硒莱籽分离蛋白的制备工艺研究[J]. 河南工业大学(自然科学版), 2006, 27(1): 56-59.

[17] 王车礼, 史美仁. 温度对莱籽蛋白质及植酸萃取率的影响[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(3): 74-76.

[18] Darlington H F, Tecsí L, Harris N, et al. Starch granule associated proteins in barley and wheat[J]. J. of Cereal Science, 2000, 32(1): 21-29.

[19] Knoll J, Kujawa M, Schnaak W. 萃取超滤及渗率法制备莱籽蛋白[J]. 王斌贵, 李晓明, 译. 中国油脂, 1992(1): 26-30.

[20] Ghodsvai A, Khodaparast MHH, Vosoughi M, et al. Preparation of canola protein materials using membrane technology and evaluation of meals functional properties[J]. Food Research International, 2005, 38(2): 223-231.

[21] Annadurai G. Design of optimum response surface experiments for adsorption of direct dye on chitosan[J]. Bioproc Eng, 2000, 23: 451-455.

[22] 刘志强. 水相酶解法提取饲用莱籽蛋白新技术[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2003.

[23] 胡志和, 庞广昌, 王凤玲, 等. 萃取超滤技术制备食用莱籽蛋白[J]. 食品科学, 1991(1): 34-35.

[24] 刘瑞兴, 董君英. 莱籽蛋白超滤液反冲对超滤膜污染的控制研究[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 165-168.

[25] 刘多敏, 徐通杰, 蒋俊杰. 一种用于莱籽粕化学脱毒反应塔: 中国, 90212490 [P]. 1990-03-31.