

响应面优化超声波辅助碱法提取海带蛋白工艺

袁莉婷, 刘玉德*, 石文天, 郭甲

(北京工商大学人工智能学院, 北京 100048)

摘要: 以干海带为原料, 提取海带中蛋白质。通过对海带中氨基酸含量和种类的测定, 选取适宜提取方式。以蛋白质的提取率为指标, 进行单一碱法和超声波辅助碱法对比的单因素试验。通过分析原料粒度, 料液比, 提取时间, 提取温度, 超声功率, pH 等因素对蛋白质提取率的影响, 选择适宜的提取条件。利用响应面法对提取工艺进行优化, 针对超声功率, 提取时间, 提取温度和 pH 对海带蛋白提取率的影响进行分析, 并对海带中各蛋白质组分进行分析。结果表明: 超声波辅助碱法提取海带蛋白的提取方式优于单一碱法提取, 不仅可以有效缩短提取时间, 还可以提高提取率。响应面法分析下最优提取条件为: 原料粒度 80 目, 料液比 1:55 (m:V), 超声功率 333W, 提取时间 2h, 提取温度 53℃, pH10.1。此条件下海带蛋白的提取率可达 8.105%。分析发现海带中谷蛋白含量较高。

关键词: 海带; 蛋白质; 超声波; 响应面法; 提取率; 工艺优化

中图分类号: S985.4+1/TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-2513 (2021) 04-0023-11

doi: 10.19804/j.issn1006-2513.2021.04.005

Optimization of ultrasonic-assisted alkaline extraction of kelp protein by response surface method

YUAN Li-ting, LIU Yu-de*, SHI Wen-tian, GUO Jia

(Institute of Artificial Intelligence, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048)

Abstract: Dried kelp was used as raw material to extract protein from kelp. The content and species of amino acids in kelp were determined and the suitable extraction method was selected. A single factor experiment was conducted to compare the extraction rate of protein with single alkaline method and ultrasonic-assisted alkaline method. By analyzing the effects of raw material particle size, solid-liquid ratio, extraction time, extraction temperature, ultrasonic power, pH and other factors on the extraction rate of protein, the appropriate extraction conditions were selected. The extraction process was optimized by response surface methodology (RSM). The effects of ultrasonic power, extraction time, extraction temperature and pH on the extraction rate of kelp protein were analyzed. And the protein components in kelp were analyzed. The results showed that the ultrasonic-assisted alkaline extraction method was better than the single alkaline extraction method, which could not only effectively shorten the extraction time, but also improve the extraction rate. The optimal extraction conditions were as follows: particle size of 80 mesh,

收稿日期: 2020-01-26

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2018YFD0400800); 北京工商大学2020年研究生科研能力提升计划资助项目。

作者简介: 袁莉婷 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工。

*通讯作者: 刘玉德 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品机械。

solid-liquid ratio of 1 : 55 (m : V), ultrasonic power of 333W, extraction time of 2h, extraction temperature of 53℃ and pH of 10.1. Under these conditions, the extraction rate of kelp protein could reach 8.105%. Analysis showed that kelp had a high content of gluten.

Key words: kelp; protein; ultrasonic; response surface methodology (RSM); extraction rate; process optimization

海带又名昆布,作为迄今为止人类普遍食用的冷水性大型褐藻之一,具有较为丰富的海带多糖、碘、膳食纤维、蛋白质和各种矿物质^[1],并具有抗肿瘤、增强身体免疫力、降血糖^[2]等生理活性,深受人们喜爱。海带中蛋白质含量高于蔬菜,具有人体所必需的8种氨基酸^[3]。海带蛋白能实现生物体的氮平衡且满足机体成长的需求。李伟等^[4]对海带蛋白质的生理活性进行了研究,发现海带蛋白不仅有抑菌活性,还有降压作用。Admassu H等^[5]对海带提取物进行了研究,发现酶解后的海带蛋白具有抗糖尿病和抗氧化的作用。基于以上研究发现,可以将其应用于保健品^[6]中,或作为染色剂^[7]添加到食品中,也可以添加到洗发剂、染发剂等产品中起到保护头发的作用。我国盛产海带,其产量达世界第一,但海带利用率较低,通常以食用为主。因此,有必要充分研究和利用海带蛋白,增大其提取率,实现其功能价值。

在对海带蛋白的研究中,吴凤娜等^[8]研究了利用酶法提取海带蛋白工艺,提取率可达到7.44%。但该方法适宜在实验室操作,且需要灭酶的过程,对实验环境要求较高。超声波辅助碱法提取蛋白质既使得蛋白质在碱液中更易溶出,又不会引入杂质,同时能够增大蛋白质提取率,适宜工业中批量生产。唐鑫媛等^[9]提取辣椒渣蛋白质时采用超声波辅助碱法,两种方法协同作用下,可大大缩短提取时间,增大提取效率。尹文翠等^[10]利用超声波辅助提取发菜藻蓝蛋白的研究中,发现利用超声波能够增大提取率,保护蛋白质活性。因此,利用超声波辅助碱法提取海带蛋白有一定优势。

响应面分析法^[11]是一种统计方法,能够分析多种变量之间交互影响问题。吴凤娜等^[12]在利用响应面优化海带蛋白提取实验后,对比发现较正交试验的结果更为准确,工艺参数选取更可

信。本研究以提高蛋白质提取率为目标,将单因素试验法与响应面分析法相结合,优化超声波辅助碱法提取海带蛋白的最佳工艺,以期提高蛋白质的提取率,从而为海带蛋白的深层次,全面利用提供基础。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

干海带:市购,产地为山西省太原市;氢氧化钠:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;硫酸、盐酸:分析纯,衡阳市凯信化工试剂有限公司;硫酸铜、硫酸钾、硼酸:分析纯,北京化工厂;茚三酮、苯酚:分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

UDK 159 凯氏定氮仪:意大利VELP公司;高速万能粉碎机:北京中兴伟业仪器有限公司;高速台式离心机:上海安亭科学仪器厂;DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器:巩义市予华仪器有限责任公司;超声波微波协同反应工作站:南京先欧仪器制造有限公司;日立L-8900全自动氨基酸分析仪:日本日立公司;紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;冷冻干燥机:北京博医康实验仪器有限公司。

2 实验方法

2.1 海带中氨基酸成分测定

根据GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》^[13],利用全自动氨基酸分析仪对海带中的氨基酸含量进行测定。将海带粉碎过筛,准确称取0.5g置于水解管中,加入12mL 6mol/L 盐酸溶液和4滴苯酚后冷冻3min,将水解管抽真空并充入氮气,重复进行3次抽真空后充入氮气的操作。密封后放在110℃±1℃的电热鼓风恒温箱内水解,22h后冷却。将水解液

定容后制备氨基酸标准液,利用氨基酸分析仪进行分析。需注意色氨酸在酸水解下全部损失。

2.2 海带蛋白提取工艺

工艺流程:干海带→粉碎→过筛→碱法搅拌提取/超声辅助碱法提取→离心→盐析沉淀→冷冻干燥→海带粗蛋白。

将干海带粉碎,80目过筛,每次称取2g干粉,进行3组平行试验。在料液比为1:25(m:V),pH为9,提取温度为40℃,搅拌提取1h或在超声功率100W的条件下破碎1h,将其以5000r/min的转速下离心10min,所获得的上清液中加入饱和硫酸铵溶液,取沉淀冷冻干燥,所得即为海带粗蛋白。

2.3 海带蛋白提取率的计算

参照GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》^[14],利用凯氏定氮法测定总蛋白质和提取液蛋白质的含量。测定总蛋白质含量时,将干海带粉碎,60目过筛,准确称取2g海带粉,消化后利用凯氏定氮仪测定。测定提取液蛋白质含量时,量取10~15mL提取液测定。均进行三次平行测定,最终测得其总蛋白质含量为10.073%。蛋白质提取率按照如下进行计算:

$$\text{蛋白质提取率}/\% = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

式中, m_1 表示提取的上清液中蛋白质质量,mg; m_0 表示海带中总蛋白质质量,mg。

2.4 单因素试验

通过改变原料粒度(20、40、60、80、100、120目)、超声功率(100、150、200、250、300W)、料液比(1:25、1:40、1:55、1:70、1:85(m:V))、提取时间(0.5、1、1.5、2、2.5、3h)、提取温度(30、40、50、60、70℃)、pH(8、9、10、11、12)等影响因素进行单因素试验。单一因素改变时,其它条件与上文提取工艺一致。以蛋白质提取率为指标,进行单一碱法和超声波辅助碱法试验,并通过对比得到较优的提取方案。

2.5 响应面优化试验

根据单因素试验分析,可知超声波辅助提取海带蛋白的工艺较优,因此,对此方法进行优化设计。综合考虑,在选定原料粒度和料液比的适

宜值后,以超声功率(A)、提取时间(B)、提取温度(C)、pH(D)为影响因子,海带蛋白的提取率为响应值(Y),设计响应面优化试验。响应面试验设计因素水平见表1。

表1 响应面试验设计因素水平
Table 1 Response surface test design factor level

水平	因素			
	A 超声功率/ W	B 提取时间/ h	C 提取温度/ ℃	D pH
-1	250	1	40	9
0	300	1.5	50	10
1	350	2	60	11

2.6 海带蛋白的分级制备工艺

采取Osborne法对海带蛋白进行提取,可得到分级处理的各蛋白组分,在实际应用过程中,不同组分应用前景不同。工艺流程:海带粉→过筛→去离子水溶解→搅拌→离心(上清液为清蛋白提取液)→残渣→Tris-HCL缓冲液溶解→搅拌→离心(上清液为球蛋白提取液)→残渣→乙醇溶解→搅拌→离心(上清液为醇溶蛋白提取液)→残渣→NaOH溶液溶解→搅拌→离心(上清液为谷蛋白提取液)→残余物。

3 结果与分析

3.1 海带中氨基酸成分的测定结果

根据表2可以发现,海带中氨基酸的含量丰富全面,其中必需氨基酸含量约占总氨基酸的29%左右,其组成接近人体必需氨基酸模式,能够满足人们对高品质氨基酸的需求。测定的氨基酸中酸性氨基酸占比较大,而碱性氨基酸约占比8%。亲水性氨基酸超过一半。因此,可以推断出蛋白质中绝大部分为酸性蛋白质,在碱性环境下更稳定,这使得选择碱法提取海带蛋白有了依据。

表2 海带中氨基酸组成
Table 2 Amino acid composition in kelp

氨基酸分类	氨基酸种类	氨基酸含量(%)
必需氨基酸(EAA)	苏氨酸	0.22
	亮氨酸	0.50

氨基酸分类	氨基酸种类	氨基酸含量 (%)
必需氨基酸 (EAA)	苯丙氨酸	0.37
	缬氨酸	0.29
	赖氨酸	0.24
	蛋氨酸	0.13
	异亮氨酸	0.29
非必需氨基酸 (NEAA)	丝氨酸	0.24
	天冬氨酸	0.99
	谷氨酸	1.93
	精氨酸	0.29
	酪氨酸	0.31
	脯氨酸	0.42
	组氨酸	0.06
	甘氨酸	0.33
	丙氨酸	0.54
	总氨基酸 (TAA)	7.15

注：亲水氨基酸：苏氨酸、赖氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、酪氨酸、组氨酸、甘氨酸；疏水氨基酸：亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、丙氨酸；碱性氨基酸：赖氨酸、精氨酸、组氨酸；酸性氨基酸：天冬氨酸、谷氨酸。

3.2 单因素试验结果

3.2.1 原料粒度对提取率的影响

由图 1 可知，随着目数的增大，原料更为精细，提取率呈上升趋势。通过分析发现，海带原料粒度 80 目较 60 目的提取率有明显提升，在原料粒度为 80 目到 120 目时，蛋白质提取率增大

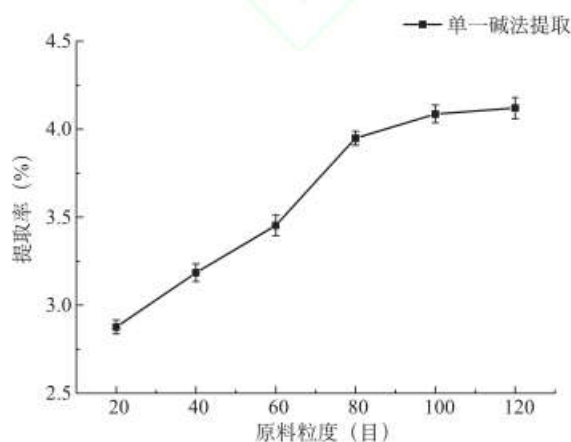


图 1 原料粒度对提取率的影响
Figure 1 Effect of raw material size on extraction rate

不明显。当目数增大时，蛋白质更易与其他物质分离，也更容易从细胞中析出。而原料越精细，需要的粉碎时间越长，粉碎机产生的热量越多，越容易引起蛋白质变性。同时，也更容易溶出海带中其他可溶性物质^[15]，会导致后期分离与纯化难度加大，使得到的蛋白质纯度偏低。综合考虑，选择原料粒度 80 ~ 120 目。

3.2.2 超声功率对提取率的影响

由图 2 可知，超声波辅助碱法提取海带蛋白的提取率有明显的提高，蛋白质的提取率随着超声功率的增大逐渐增大。在功率升高到 300W 时，提取率最大。由超声波的机理可知，超声波具有空化效应、机械作用和热效应，能够将细胞壁和细胞膜剪切破碎，从而使蛋白质分子加速溶于液体之中。因此，选超声功率为 250 ~ 350W。

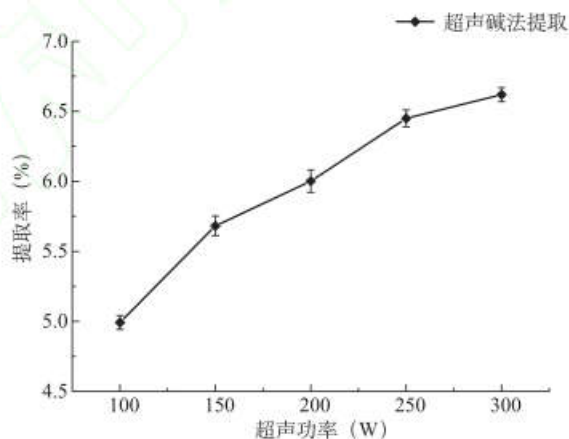


图 2 超声功率对提取率的影响
Figure 2 Effect of ultrasonic power on extraction rate

3.2.3 料液比对提取率的影响

由图 3 可以对比得出，单一碱法和超声碱法提取蛋白质的提取率呈现相似趋势，均为提取率先增大后微降且趋于平稳。在料液比为 1 : 70 (m : V) 时，单一碱法情况下的提取率达到最大。在料液比为 1 : 55 (m : V) 时，超声碱法情况下提取率最大，与料液比为 1 : 70 (m : V) 时的提取率相差很小。随着液体体积不断增大，体系黏度逐渐变低，传质过程加快^[16]，因而提取率提高。但是液体体积过高时，蛋白质溶出水平已达最大，因此蛋白质的提取率趋于平缓，此时不

应选择过大的液料比,以降低后期处理的难度。综合考虑,料液比选取 1:40~1:70 (m:V)。

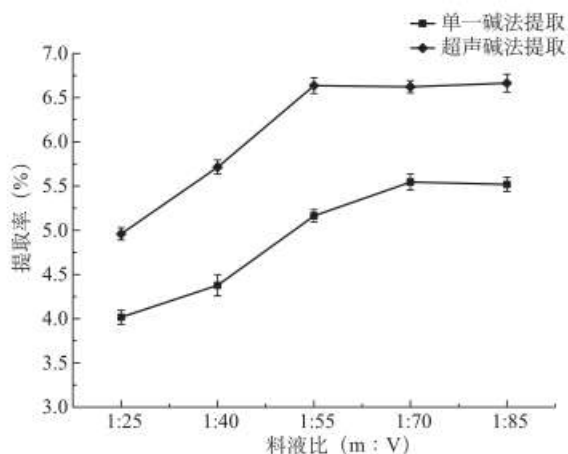


图3 料液比对提取率的影响

Figure 3 Effect of solid-liquid ratio on extraction rate

3.2.4 提取时间对提取率的影响

由图4可以对比看出,两种方法下的蛋白质提取率均随提取时间的增长而提高,在提取3h时,单一碱法和超声碱法的提取率均达最大,而在1.5h时,超声碱法提取率已经接近提取率最大值。超声波的振动能加速细胞破坏,使蛋白质亲水基团迅速作用,加速细胞内蛋白质溶出。但是浸提时间过长时,多糖混合蛋白质析出,会影响到提取的纯度^[17]。综合考虑,选择超声时间1~2h。

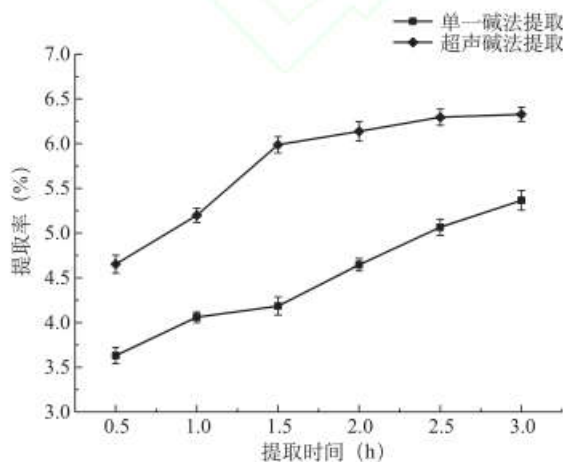


图4 提取时间对提取率的影响

Figure 4 Effect of extraction time on extraction rate

3.2.5 提取温度对提取率的影响

由图5可以对比看出,蛋白质的提取率在两种提取方法下均呈现上升趋势,在提取温度为50、60、70℃时,单一碱法情况下的提取率与超声碱法情况下的提取率均上升缓慢。温度提高的过程中,蛋白质分子的空间结构伸展,溶解度加大。但是当温度过高时,引起蛋白质变性^[18],提取到的蛋白质在后期处理和应用中没有活性,无法达到其应用效果。综合考虑,选取超声温度40℃~60℃。

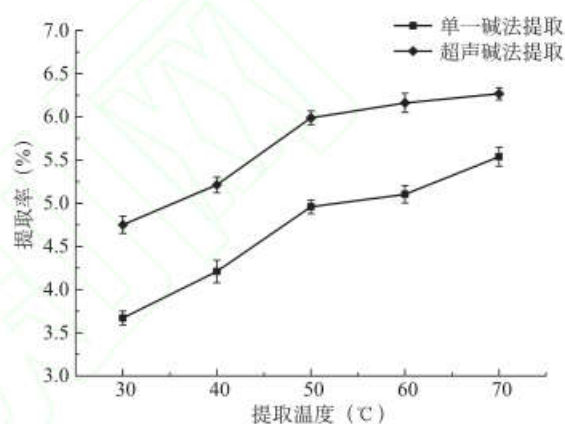


图5 提取温度对提取率的影响

Figure 5 Effect of extraction temperature on extraction rate

3.2.6 pH对提取率的影响

由图6可以对比看出,提取率均随着pH的增大先提高后降低。在pH为10时,单一碱法情

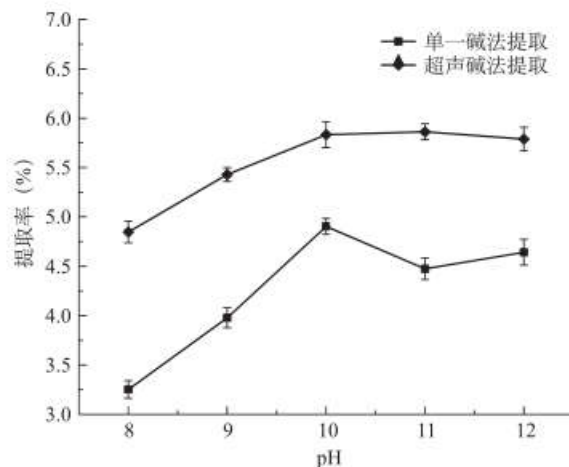


图6 pH对提取率的影响

Figure 6 Effect of pH on extraction rate

况和超声碱法情况下的提取率均达到最大。在氢氧化钠溶液浓度增大的过程中,随着 pH 增大,可以使蛋白质亲水性提高,使得蛋白质溶出较多。当 pH 增大到一定程度时,会使某些蛋白质转变成赖丙氨酸等有毒物质^[19],不能得到有利蛋白质。因此,选 pH 为 9~11。

3.3 响应面法优化提取工艺

3.3.1 响应面优化试验设计结果

根据单因素试验选取适宜工艺参数后,采用 Design Expert 10 进行优化设计,根据表 1 中因素和水平的设计试验,得到以蛋白质提取率为响应值的试验结果见表 3。

表 3 响应面优化试验设计结果
Table 3 Results of response surface optimization test design

试验号	A	B	C	D	Y 蛋白质提取率 (%)
1	1	1	0	0	8.051
2	-1	-1	0	0	6.594
3	0	1	0	-1	7.924
4	0	1	0	1	7.956
5	1	-1	0	0	7.335
6	0	-1	0	-1	6.969
7	0	-1	1	0	7.296
8	0	0	0	0	7.794
9	-1	0	-1	0	6.947
10	0	-1	-1	0	7.291
11	1	0	-1	0	7.622
12	-1	1	0	0	7.391
13	0	0	0	0	7.695
14	0	0	-1	1	7.424

试验号	A	B	C	D	Y 蛋白质提取率 (%)
15	0	0	-1	-1	7.348
16	0	0	0	0	7.741
17	0	0	0	0	7.698
18	0	1	1	0	7.835
19	0	1	-1	0	7.781
20	0	0	1	-1	7.483
21	0	0	1	1	7.648
22	0	0	0	0	7.652
23	-1	0	1	0	6.803
24	-1	0	0	-1	6.785
25	-1	0	0	1	6.959
26	0	-1	0	1	7.328
27	1	0	0	1	7.892
28	1	0	1	0	7.741
29	1	0	0	-1	7.605

将表 3 中得到的试验结果数据进行方差分析,得到 Y 关于 A、B、C 和 D 的二次多项回归拟合模型为:提取率 Y (%)=7.72+0.40A+0.35B+0.033C+0.091D-0.02AB+0.066AC+0.028AD+0.012BC-0.082BD+0.022CD-0.31A²-0.056B²-0.12C²-0.11D²。通过表 4 关于试验结果的方差和显著性进行分析可得,回归模型的 P<0.0001,说明模型极显著。又可知失拟项为 0.1424>0.05,表现出不显著,说明拟合效果较好。且 R² 为 0.9760>0.9,可得结论模型的结果符合实际试验结果,可用来对海带蛋白提取率进行预测和优化。

表 4 试验结果的方差和显著性分析

Table 4 Variance and significance analysis of the test results

变量来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	4.14	14	0.30	40.70	< 0.0001	**
A	1.89	1	1.89	260.75	< 0.0001	**
B	1.42	1	1.42	195.24	< 0.0001	**
C	0.013	1	0.013	1.77	0.2044	
D	0.100	1	0.100	13.71	0.0024	*
AB	1.640E-003	1	1.640E-003	0.23	0.6419	

变量来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
AC	0.017	1	0.017	2.38	0.1451	
AD	3.192E-003	1	3.192E-003	0.44	0.5181	
BC	6.002E-004	1	6.002E-004	0.083	0.7779	
BD	0.027	1	0.027	3.68	0.0757	
CD	1.980E-003	1	1.980E-003	0.27	0.6097	
A ²	0.62	1	0.62	85.49	< 0.0001	**
B ²	0.020	1	0.020	2.81	0.1157	
C ²	0.098	1	0.098	13.43	0.0025	*
D ²	0.078	1	0.078	10.78	0.0054	
残差	0.1	14	7.263E-003			
失拟项	0.090	10	9.011E-003	3.12	0.1424	#
纯误差	0.012	4	2.892E-003			
总差	4.24	28				

注：“***”表示对结果影响极显著 ($P < 0.0001$)；“**”表示对结果影响显著 ($P < 0.05$)；“#”表示失拟项不显著 ($P > 0.05$)

3.3.2 各影响因素交互作用分析

通过做出不同影响因素之间响应面图和等高线来进行分析，响应面图可以直观形象的反映出两因素之间的交互作用，并且能够看出对蛋白质提取率的影响作用。等高线图可以更加明确交互作用的强弱^[20]。

3.3.2.1 超声功率与提取时间交互作用 由图 7 可知，在提取温度为 50 ℃，pH 为 10 时，超声功率不变，提取率随着提取时间的增大而增大。提取时间不变，提取率随着超声功率的增大而增大。等高线呈现椭圆形，表明 AB 两影响因素交互作用较强。

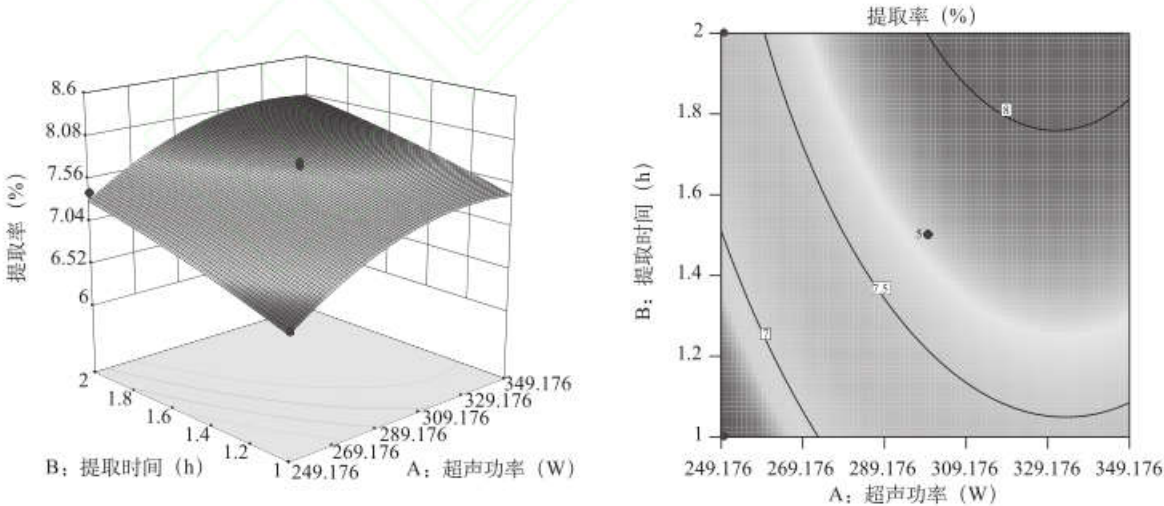


图 7 超声功率与提取时间交互作用影响的响应面及等高线
Figure 7 Response surface and contour of the interaction between ultrasonic power and extraction time

3.3.2.2 超声功率与提取温度交互作用 由图 8 可知，提取时间为 1.5h，pH 为 10 时，超声功率不变，提取率随着提取温度的增大先增大后减

小。提取温度不变，提取率随着超声功率的增大先增大后减小。等高线呈现椭圆形，表明 AC 两影响因素交互作用较强。

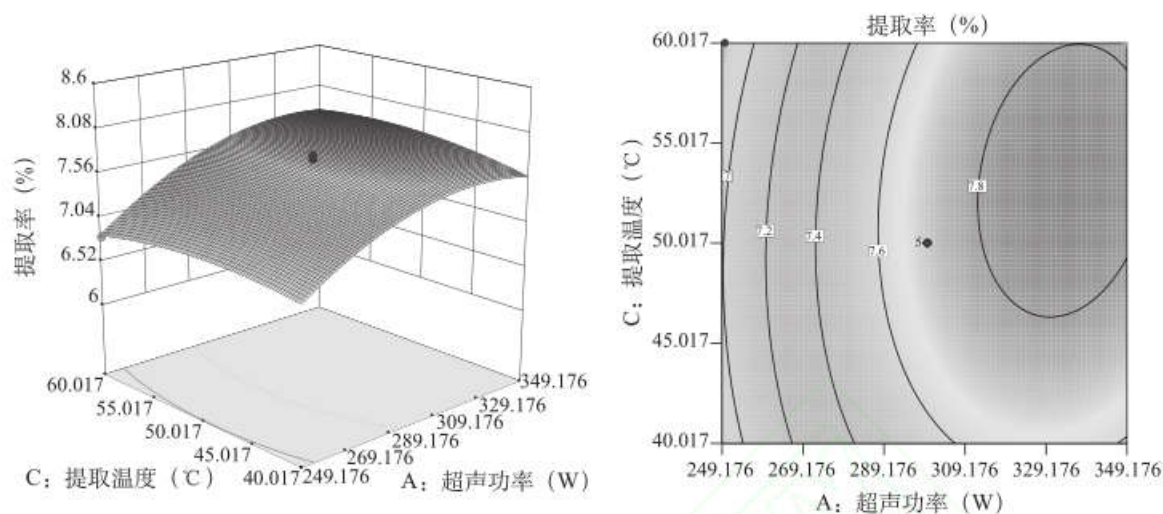


图8 超声功率与提取温度交互作用影响的响应面及等高线

Figure 8 Response surface and contour of ultrasonic power interaction with extraction temperature

3.3.2.3 超声功率与 pH 交互作用 由图 9 可知, 提取时间为 1.5h, 提取温度为 50℃时, 超声功率不变, 提取率随着 pH 的增大先增大后减小。pH

不变, 提取率随着超声功率的增大先增大后减小。等高线呈现椭圆形, 表明 AD 两影响因素交互作用较强。

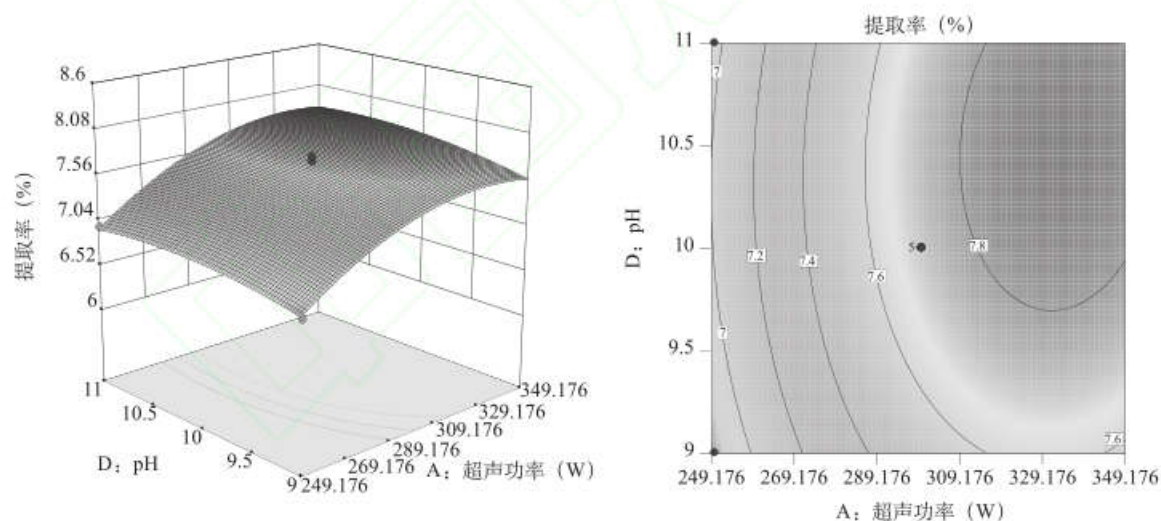


图9 超声功率与 pH 交互作用影响的响应面及等高线

Figure 9 Response surface and contour of the interaction between ultrasonic power and pH

3.3.2.4 提取时间与提取温度交互作用 由图 10 可知, 超声功率为 300W, pH 为 10 时, 提取时间不变, 提取率随着提取温度的增大先增大后减小。提取温度不变, 提取率随着提取时间的增大先增大后减小。等高线呈现圆形, 表明 BC 两影响因素交互作用较弱。

3.3.2.5 提取时间与 pH 交互作用 由图 11 可知, 超声功率为 300W, 提取温度为 50℃时, 提取时间不变, 提取率随着 pH 的增大先增大后减小。pH 不变, 提取率随着提取时间的增大先增大后减小。等高线呈现椭圆形, 表明 BD 两影响因素交互作用较强。

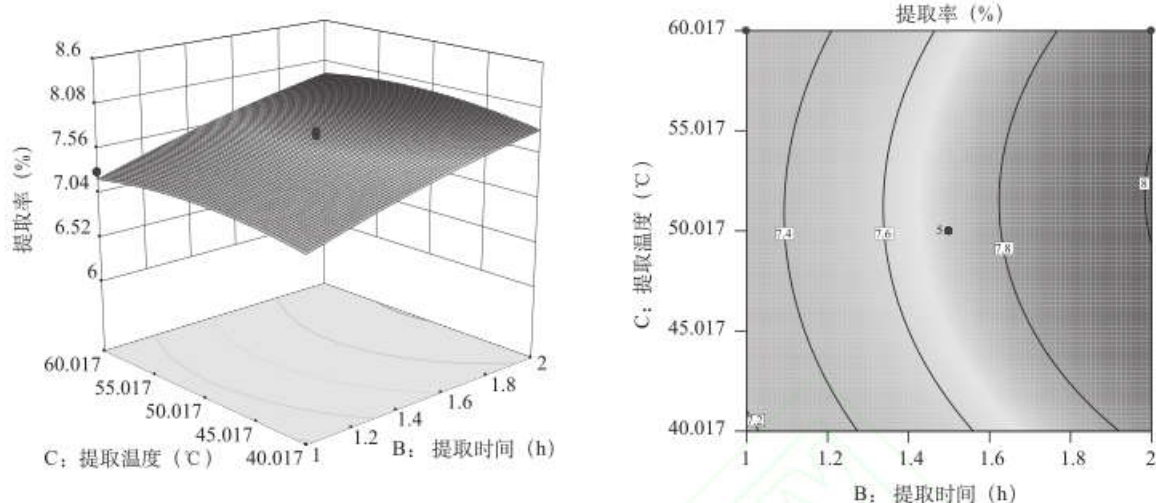


图 10 提取时间与提取温度交互作用影响的响应面及等高线

Figure 10 Response surface and contour of the interaction between extraction time and extraction temperature

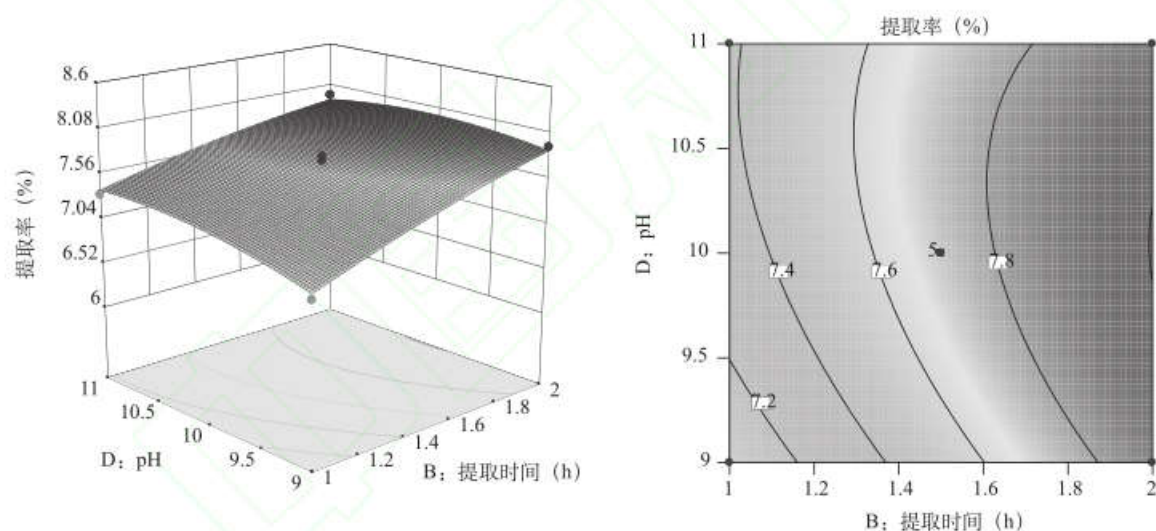


图 11 提取时间与 pH 交互作用影响的响应面及等高线

Figure 11 Response surface and contour of interaction between extraction time and pH

3.3.2.6 提取温度与 pH 交互作用 由图 12 可知, 超声功率为 300W, 提取时间为 1.5h 时, 提取温度不变, 提取率随着 pH 的增大先增大后减小。pH 不变, 提取率随着提取温度的增大先增大后减小。等高线呈现圆形, 表明 CD 两影响因素交互作用较弱。

3.3.3 验证试验

根据 Design Expert 10 设计的响应面试验预测的优化方案为: 超声功率 332.793W, 提取时

间 2h, 提取温度 53.728℃, pH10.163, 此条件下的提取率为 8.137%。为对优化方案进行验证, 并保证可行性, 选择提取条件为: 原料粒度 80 目, 料液比 1:55 (m:V), 超声功率 333W, 提取时间 2h, 提取温度 53℃, pH10.1。经过三次平行试验后, 发现最终海带蛋白提取率能够达到 8.105%, 与预测值接近, 说明此模型和实际情况较为统一。

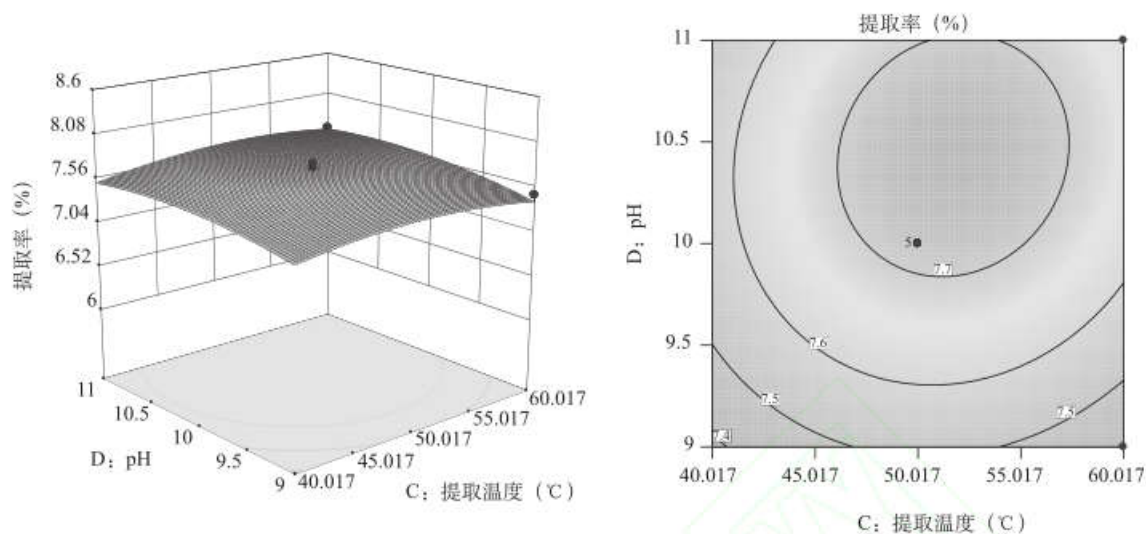


图 12 提取温度与 pH 交互作用影响的响应面及等高线

Figure 12 Response surface and contour of interaction between extraction temperature and pH

3.4 海带蛋白分级制备结果

根据 Osborne 分级方式对海带中蛋白质的组分进行分析和制备,其相对含量见表 5,可以看出海带中四种组分中含量依次是谷蛋白>球蛋白>醇溶蛋白>清蛋白。部分海带蛋白还会残留在残余物中。可通过分级处理发现海带中蛋白质在不同溶液中的溶解性。在工业生产中,也可以此为考虑依据,在将海带蛋白作为添加剂时,针对不同物质,添加不同组分的蛋白更为高效有利。

表 5 海带蛋白组分及相对含量

Table 5 Protein composition and relative content of kelp.

组分	相对含量 (%)
清蛋白	11.11
球蛋白	33.33
醇溶蛋白	16.67
谷蛋白	38.89

4 结论

通过本次试验设计,可以发现:(1)针对海带中氨基酸的含量与种类的分析,表现出海带中酸性氨基酸与亲水性氨基酸占比较大,因此酸性蛋白质较多。由此选择单一碱法和超声波辅助碱法进行海带蛋白的提取工艺具有可行性。(2)经过单因素试验和两提取方式的对比发现,超声波

辅助碱法提取海带蛋白工艺更优,在超声波的作用下,不仅可以缩短提取时间,还能增大蛋白质的提取率。(3)在单因素试验的基础上,利用响应面法分析研究超声功率、提取时间、提取温度、pH 等影响因素对海带蛋白提取率的影响作用,并对提取方案进行优化。根据响应面试验设计结果,发现其模型具有显著性,各影响因素对海带蛋白提取率的影响作用为:超声功率>提取时间>pH>提取温度。且根据响应面优化预测,最终在原料粒度 80 目,料液比 1:55 (m:V),超声功率 333W,提取时间 2 h,提取温度 53 °C, pH10.1 的提取工艺条件下的发现蛋白质提取率能够达到 8.105%。(4)对海带蛋白的各组分进行制备分析,发现其中谷蛋白含量最多,清蛋白含量最少。在实际应用过程中,可以针对不同蛋白质的溶解性,来进行不同方面的利用。在响应面优化超声波辅助碱法提取海带蛋白工艺的研究中,提高了海带蛋白的提取率,为海带蛋白的提取提供了理论依据,为海带蛋白的大量使用提供了基础前提。

参考文献:

- [1] 杜连启,杨艳.海藻食品加工技术[M].北京:化学工业出版社,2013:14-15.
- [2] 孟然.海带提取物的辅助降血糖功能研究[D].大连:大连理工大学,2018.

- [3] Tadmor S N, Neori A. Seaweeds protein quality could be better and the shadow price of production lower than in terrestrial plants[J]. *Phycologia*, 2017, 56 (4): 183-183.
- [4] 李伟, 郭丽君, 肖妍君, 等. 海带蛋白的提取和活性研究[J]. *水产科学*, 2008, 27 (10): 530-532.
- [5] Admassu H, Gasmalla M A A, Yang R J, et al. Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: Antihypertensive, antioxidant, and antidiabetic properties[J]. *Journal of Food Science*, 2018, 83 (1): 6-16.
- [6] Černá M. Seaweed proteins and amino acids as nutraceuticals[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2011, 64: 297-312.
- [7] Hou X R, Hansen J H, Bjerre A B. Integrated bioethanol and protein production from brown seaweed *Laminaria digitata*[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 197: 310-317.
- [8] 吴凤娜, 贾秀春, 李迎秋, 等. 海带蛋白提取工艺研究[J]. *山东轻工业学院学报: 自然科学版*, 2012, 26 (1): 5-8.
- [9] 唐鑫媛, 夏延斌, 文新昱, 等. 超声波辅助碱法提取辣椒渣中蛋白质的工艺优化[J]. *食品与机械*, 2015, 31 (2): 222-226.
- [10] 尹文翠, 陈雪峰. 超声波辅助提取发菜藻蓝蛋白工艺的优化[J]. *食品科技*, 2012, 37 (3): 250-254.
- [11] Gebreluel T, He M L, Zheng S Y, et al. Optimization of enzymatic degradation of dealginated kelp waste through response surface methodology[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32 (1): 529-537.
- [12] 吴凤娜, 贾秀春, 李迎秋, 等. 响应面法优化海带蛋白提取工艺[J]. *山东食品发酵*, 2013 (3): 17-22.
- [13] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定: GB 5009.124-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [15] 陆晨, 张士康, 朱科学, 等. 碱提酸沉法提取茶叶蛋白质的研究[J]. *现代食品科技*, 2011, 27 (6): 673-677.
- [16] 庞庭才, 胡上英, 黄海, 等. 银叶树果壳蛋白质的提取及功能性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2017 (6): 86-92.
- [17] Wang L, Fan J H, Guo S Y, et al. Extraction process optimization of fucoidan from dealginated kelp waste[J]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2020, 1622: 012039.
- [18] 刘俊红, 袁冰倩, 李爽, 等. 超声波-碱法提取小麦麸皮蛋白质的工艺研究[J]. *食品工业*, 2018, 39 (9): 5-8.
- [19] Ansharullah, Hourigan J A, Chesterman C F. Application of carbohydrases in extracting protein from rice bran[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1997, 74 (2): 141-146.
- [20] 吴兴雨, 马佳, 姚玥, 等. 响应面法优化酶法提取亚麻蛋白工艺[J]. *食品工业科技*, 2020, 41 (14): 166-171.

行业组织 品牌展览

2021中国国际天然提取物和健康食品配料展览会 (FIC-健康展)

暨第二十一届全国秋季食品添加剂和配料展览会

展出时间: 2021年11月10日~12日

展出地点: 广州中国进出口商品交易会展馆B区9.1馆、10.1馆、11.1馆

主办单位: 中国食品添加剂和配料协会 《中国食品添加剂》杂志社有限公司
北京中食添会展中心

网址: www.cfaa.cn 电话: 010-59795833