

# 花生蛋白脂肪乳状液中蛋白质的聚沉作用<sup>\*</sup>

## Peanut Protein Coagulation in Peanut Protein - fat Emulsion

陈元发 李熠<sup>\*\*</sup> 黄天冠<sup>\*\*\*</sup>

Chen Yuanfa Li Yi Huang Tianguan

(广西师范大学 桂林市育才路3号 541004)

(Guangxi Normal University, 3 Yucailu, Guilin, Guangxi, 541004)

**摘要** 花生蛋白脂肪乳状液中花生蛋白质的聚沉作用, 是发生在一个 pH 值区间。当提取剂 pH 值在 6.4 时, 聚沉 pH 值为 3.17~6.09; pH 值=8~10 时为 4.1~6.37。静置时间愈长聚沉愈完全, 但聚沉 pH 值不变。在花生蛋白脂肪乳状液中通入 CO<sub>2</sub> 时, 可使花生蛋白质聚沉。

**关键词** 花生蛋白质 乳状液 聚沉

中图法分类号 S 565.201

**Abstract** Peanut protein coagulation in peanut protein-fat emulsion arises in a specific range of pH values. When extractant pH=6.4, coagulation pH value was 3.17~6.09; extractant pH=8~10, coagulation pH value 4.1~6.37. Peanut protein coagulation was getting more complete along with the emulsion keeping static longer, but coagulation pH value did not change. Peanut proteins arose coagulation, when adding CO<sub>2</sub> to peanut protein-fat emulsion.

**Key words** peanut proteins, emulsion, coagulation

花生 (*Arachis hypogaea*) 是一种富含蛋白质和脂肪的油料作物。当将花生果去壳、脱红衣, 研磨, 除去不乳化物 (淀粉、纤维素、半纤维素等) 而得一种白色乳状液, 内含少许无机盐 (K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>), 有机物 (糖类、维生素等) 外, 主要含花生蛋白和花生脂肪, 将这种白色乳状液叫做花生蛋白脂肪乳状液。这种乳状液中的脂肪, 系呈微小球状分布<sup>[1]</sup>, 脂肪球表面有一层由花生卵磷脂及花生蛋白质构成的膜包裹着, 在一定 pH 值下具有一定的  $\zeta$  电位<sup>[2]</sup>, 因而这种乳脂球在乳状液中, 具有一定的动力学稳定性。但由于花生脂肪的密度小于乳状液介质水的密度, 因此乳脂球有一种上浮的趋势, 使乳状液呈现热力学的不稳定性。静置, 乳脂球可上浮溶液表面, 而形成一层白色的乳脂肪层。用离心分离的方法, 除去乳脂球, 得到仍然是白色的花生蛋白乳状液。乳状液中的花生蛋白质, 在电子显微镜下, 可观察到它是呈微粒状存在

的, 在一定 pH 值下有一定的  $\zeta$  电位, 且呈现两性状态<sup>[3]</sup>。

花生蛋白脂肪乳状液中的蛋白质聚沉作用, 显然与花生蛋白质及脂肪球的  $\zeta$ -电位及等电点有关, 但上述文献所测得的数据, 均系在花生蛋白与脂肪球于分离状态下分别测定的, 而在生产实际中, 花生蛋白和脂肪球系共存于同一个体系中的。本研究系在一系列 pH 值的缓冲溶液中加入一定量花生蛋白脂肪乳状液, 观测乳状液的聚沉现象; 在一定量的乳状液中, 间断地加入稀盐酸, 测定各时期的 pH 值, 并与计算理论值对比作图, 以观测 pH 值曲线变化规律; 在乳状液中通入 CO<sub>2</sub> 气体, 观测 pH 值变化和聚沉; 从而研究花生蛋白脂肪乳状液中蛋白质的聚沉作用。

### 1 实验材料与方法

#### 1.1 材料和设备

1.1.1 花生品种: 中花 117 号, 阳朔县产, 含花生蛋白质 28.8%, 脂肪 44.5%, 以及其它品种和不同产地。

1.1.2 主要设备: VIRTIS 匀浆器 (美国产), 酸度计 PHS-PI (上海雷磁仪器厂), 恒温水槽 (精度:  $\pm 0.5$  °C)。

1997-11-03 收稿。

\* 国家自然科学基金资助课题

\*\* 中山中学, 桂林, 541001 (Zhongshan Middle School, Guilin, Guangxi, 541001).

\*\*\* 桂林地区教育学院, 桂林, 541001 (Guilin Prefecture Educational College, Guilin, Guangxi, 541001).

广西科学 1998 年 8 月 第 5 卷第 3 期

## 1.2 花生蛋白脂肪乳状液的制备

取花生仁 4 g, 置于 40 °C 水中浸泡 1 h, 去红衣, 加水或用稀 NaOH 溶液调节 pH 值的水溶液 100 mL, 以 5 000 r/min 的转速捣碎、匀浆 5 min, 在 3 000 r/min 的转速下离心 5 min, 用倾滤法去掉沉淀, 再进行匀浆, 得花生蛋白脂肪乳状液。

## 1.3 花生蛋白脂肪乳状液在系列 pH 值缓冲溶液中的聚沉

### 1.3.1 系列 pH 值缓冲溶液的配制

根据文献 [4] 介绍的氢氧化钠-醋酸-磷酸-硼酸缓冲溶液配制方法配制一系列缓冲溶液。

### 1.3.2 实验观测方法

在若干支带塞的试管中, 分别注入各种缓冲溶液 30 mL, 加塞置于 25 °C 恒温水槽中, 恒温 20 min, 然后在各试管中加入 1 mL 已经恒温 25 °C 的花生蛋白脂肪乳状液, 摇匀, 仍置于恒温水槽中恒温, 定时观测聚沉现象。

### 1.3.3 花生蛋白脂肪乳状液的盐酸滴定曲线

花生蛋白质是一种既具有碱基 (—NH<sub>2</sub>), 也具有酸基 (—COOH) 的两性物质, 在高 pH 值的条件下, 用盐酸进行滴定时, —COO<sup>-</sup> 和 —NH<sub>2</sub> 先后将与 H<sup>+</sup> 作用, 在乳状液中形成的 pH 值, 将产生一定的规律变化。

表 1 花生蛋白质在系列 pH 值缓冲溶液中的聚沉现象 (25 °C, 静置 3 h)

Table 1 Peanut protein coagulation in a series of pH buffer solutions (25 °C, keep static for 3 h)

序号 No.	浸取液 pH 值 Extractant pH value	乳状液 pH 值 Emulsion pH value	聚沉现象 Coagulation											
			2.56	3.29	3.78	4.10	4.35	4.56	5.33	5.72	6.09	6.37	6.59	6.80
1	6.4	6.2	—	±	+	++	++	+++	++	+	—	—	—	—
2	6.4	6.2	—	±	+	++	++	+++	++	++	+	—	—	—
3	6.4	6.2	—	+	++	++	++	+++	++	++	(±)	—	—	—
4	6.4	6.2	—	+	++	++	++	+++	++	++	+	—	—	—
5	9.0	7.0	—	—	—	+	++	+++	++	++	+	(±)	—	—
6	10.0	7.5	—	—	—	+	++	+++	++	++	+	(±)	—	—
7	10.0	8.0	—	—	—	+	++	+++	++	++	+	(±)	—	—
8	9.0	8.0	—	—	—	+	++	+++	++	++	+	(±)	—	—

(±): 絮状沉淀, +: 沉淀, ++: 较多沉淀, +++: 大量沉淀, 上液澄清, —: 保持乳状液状态。(±): Flocculent precipitation, +: Precipitation, ++: More precipitation, +++: Massive precipitation, supernatant clarification, —: Keep emulsion.

表 2 花生蛋白质在系列 pH 值缓冲溶液中的聚沉随时间变化 (25 °C)

Table 2 Peanut protein coagulation changes with time in a series of pH buffer solutions (25 °C)

序号 No.	浸取液 pH 值 Extractant pH value	乳状液 pH 值 Emulsion pH value	观察时间 Observation times(h)	聚沉现象 Coagulation											
				2.56	3.29	3.78	4.10	4.35	4.56	5.33	5.72	6.09	6.37	6.59	
1	6.4	6.2	3	—	+	++	++	++	+++	+++	++	(±)	—	—	
			6	—	+	++	++	++	+++	+++	++	(±)	—	—	
			48	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	
2	10	8	3	—	—	—	+	+	+++	+++	++	+	(±)	—	
			6	—	—	—	+	+	+++	+++	++	+	+	—	
			48	—	—	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—

(±): 絮状沉淀, +: 沉淀, ++: 较多沉淀, +++: 大量沉淀, 上液澄清, —: 保持乳状液状态。(±): Flocculent precipitation, +: Precipitation, ++: More precipitation, +++: Massive precipitation, supernatant clarification, —: Keep emulsion.

本研究采用上述制备花生蛋白脂肪乳状液的方法, 用浸取液 pH 值 8.0 制取。精确量取 50 mL, 乳状液 pH 值 6.80, 滴定时, 最初几点用 0.002 mol/L, 以后用 0.02 mol/L 盐酸, 用量前半段每次 1 mL, 后半段每次 2 mL, 搅匀, 稍静置, 用酸度计测定乳状液的 pH 值, 该值称为实测 pH 值; 而应用计算方法, 即已知滴定用的盐酸浓度, 每次用量的累加值和乳状液的总体积 (含加入的盐酸的体积), 不考虑盐酸和乳状液中游离碱和花生蛋白质基团的作用, 计算出乳状液盐酸的浓度, 换算为 pH 值, 此值称为理论值, 然后以理论 pH 值对实测 pH 值作图 (图 1)。

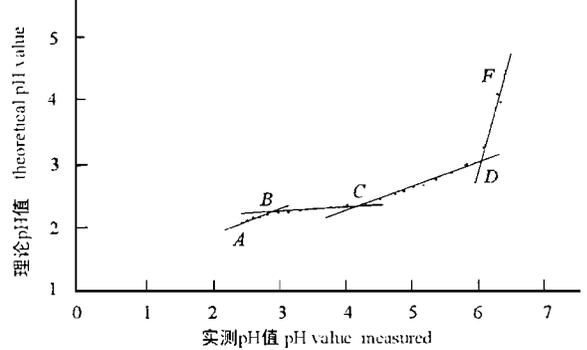


图 1 花生蛋白脂肪乳状液的盐酸滴定曲线

Fig. 1 Hydrochloric acid titration curve of peanut protein-fat emulsion

### 1.3.4 CO<sub>2</sub> 对花生蛋白脂肪乳状液的聚沉作用试验

本实验观察 CO<sub>2</sub> 对花生蛋白脂肪乳状液的聚沉作用。方法是用钢瓶装市售的 CO<sub>2</sub> (有随仪器进口的、国产的两种) 直接通入乳状液中, 用酸度计测定 pH 值 直到 pH 值不再变化, 记录 pH 值, 并观察聚沉现象。为了比较, 同时用蒸馏水、自来水作对比试验。

## 2 结果

花生蛋白脂肪乳状液在系列 pH 值缓冲溶液中, 恒温、静置 3 h, 聚沉现象观测结果列于表 1。

由表 1 可见, 静置 3 h, 沉淀最多的是在 pH 值 4.35 ~ 5.72 之间, 而聚沉 pH 值的上限和下限值, 是随浸取液的 pH 值不同而有不同。浸取液用蒸馏水, pH 值 6.4, 乳状液 pH 值 6.2 时, 在系列缓冲溶液中, 于 pH 值 3.29 处已有少许沉淀, 聚沉的上限为 pH 值 6.09; 而浸取液 pH 值 9 ~ 10 时, 浸取得的乳状液 pH 值 7 ~ 8, 聚沉的上限为 pH 值 6.37, 下限为 pH 值 4.10。

采用同一种花生品种 (阳朔汕油 523), 而用不同 pH 值的浸取液的花生蛋白脂肪乳状液, 在不同 pH 值的缓冲溶液中的聚沉随时间的变化情况见表 2。由表 2 可见, 因浸取液 pH 值不同, 聚沉 pH 值的上限和下限不同外, 而随着静置时间的不同, 沉淀的量发生很大变化。静置 48 h 后, 一些原沉淀较少的, 也完全沉淀了 (上层液澄清), 而原来没有发生聚结和聚沉的, 仍然没有产生聚沉现象。

CO<sub>2</sub> 对花生蛋白脂肪乳状液的聚沉结果见表 3。

表 3 CO<sub>2</sub> 对花生蛋白脂肪乳状液的聚沉作用 (常压, 22 °C)

Table 3 CO<sub>2</sub> coagulation function for peanut protein-fat emulsion (normal pressure, 22 °C)

序号 No.	品名 Solution	溶液 pH 值 Solution pH value	通 CO <sub>2</sub> 后 pH 值 pH value after adling CO <sub>2</sub>	备注 Remark
1	一次蒸馏水 Single distilled water	6.80	4.23	用国产 CO <sub>2</sub> Domestic CO <sub>2</sub>
2	一次蒸馏水 Single distilled water	6.80	4.13	用进口 CO <sub>2</sub> Import CO <sub>2</sub>
3	地下水 Ground tap water	7.18	5.41	
4	花生乳状液 Peanut emulsion	6.60	5.35	有沉淀 Precipitation

从实验可以看到, 用 pH 值 6.80 的蒸馏水, 制得花生蛋白乳状液 pH 值 6.60, 通入 CO<sub>2</sub> 至饱和 (pH 值不再发生变化) 时 pH 值为 5.35, 乳状液发生沉淀。当加入稀 NaOH 溶液至 pH 值 7.0 以上, 沉淀复溶解。表 3 结果说明 pH 值计的测定值是可靠的, 应用进口的和国

产的 CO<sub>2</sub>, 所获结果基本一致。在地下自来水和花生乳状液中通入 CO<sub>2</sub>, 所得 pH 值要比蒸馏水通 CO<sub>2</sub> 的偏高, 而两者基本一致。其偏高原因, 可能是自来水中含有盐类, 乳状液中含有花生蛋白质等, 通入 CO<sub>2</sub> 后形成碳酸盐和碳酸氢盐, 产生水解所致。

## 3 讨论

在表 1, 表 2 可以看到, 花生蛋白脂肪乳状液中花生蛋白质的聚沉作用, 不是产生在某个特定的 pH 值点, 而是产生在一个连续的 pH 值区间。这个聚沉规律, 在已往的文献中未见报道。我们在测定花生乳脂球和花生蛋白质微粒的  $\zeta$ -电位的研究<sup>[2,3]</sup> 中, 也曾发现它们处于  $\zeta=0$  时, 不是在一个特定的 pH 值点上, 而是处于一个 pH 值区间。

花生蛋白脂肪乳状液中, 花生蛋白质的这个聚沉规律, 可以根据胶体聚沉作用的理论<sup>[3]</sup> 来解释。该理论在叙述了电解质对溶胶聚沉作用的影响后认为, 将相反电荷的溶胶互相混合, 也会发生聚沉, 与电解质的聚沉作用不同之处在于两种溶胶用量应恰能使其所带的总电荷量相同时, 才会完全聚沉, 否则不能完全聚沉, 甚至不聚沉。从花生蛋白质的聚沉作用系产生在一个特定的 pH 值区间和胶体互相聚沉作用的理论, 可以推断花生蛋白脂肪乳状液中, 最少含两种花生蛋白质, 在这个聚沉作用的 pH 值区间的两个端点, 就分别是它们的等电点。当 pH 值处于这两个等电点之间时, 则这时的两个花生蛋白质将带相反电荷, 而将产生聚沉。

我们曾将花生蛋白乳状液进行醋酸纤维薄膜电泳研究<sup>[6]</sup>, 结果在电泳膜上显出 3 条谱带, 这说明最少有 3 种花生蛋白质; 应用等电聚焦电泳时, 结果发现有 11 条谱带, 其中有 6 条是主要的, 它们的等电点分别为 4.3, 4.4, 5.1, 5.4, 6.5, 6.7, 而不是像一些学者所说的是单一的等电点, 如有人说是 4.6<sup>[7]</sup>, 有人说是 4.5<sup>[8]</sup>, 也有说是 4.5 ~ 5.0<sup>[9]</sup>。在花生蛋白乳状液中, 因有多种类的花生蛋白质存在, 这就形成了聚沉产生一个 pH 值区间的原因。

由表 1 可见, 花生蛋白在 pH 值 4.56 ~ 5.72 范围沉淀最多, 而向 pH 值两边扩展时, 沉淀量逐渐减少直至与没有发生聚沉为分界, 这里有两个分界, 即 pH 值上限与下限分界, 这种分界因浸取液 pH 值不同而有所不同。当用蒸馏水 (pH 值 6.4) 浸制的乳状液 (pH 值 6.2), 聚沉的上限的 pH 值 6.09, 下限 pH 值 3.29, 而用 pH 值 8 ~ 10 作浸取液, 浸制的乳状液 pH 值 7.0 ~ 8.0 时, 聚沉的上限 pH 值 6.37, 下限 pH 值 4.10。

表 2 表明聚沉作用沉淀量随时间而变化, 延长时间可使之完全沉淀, 但它们聚沉的上限和下限却是不变的。

在表 1 中, 可看到, 序号 1~4 聚沉值上限是 6.09, 下限是 3.29, 而序号 5~8, 上限为 6.37, 下限为 4.1。虽然在配制缓冲溶液的 pH 值的区间距离较大, 但这差异是明显地存在, 这是由于花生品种不同(在表 1 中序号不同, 品种和种植地是不同的), 还是浸取液的 pH 差异所造成的? 在表 2 中, 是用同一种花生品种, 而用不同 pH 值的浸取液, 结果仍出现象表 1 一样的现象, 由此可见造成聚沉 pH 值的上限不同的和下限的不同, 是由于浸取液的 pH 值不同而引起的。

在文献[6], 我们用等电聚焦电泳方法对花生蛋白乳状液进行分析, 获得谱带 11 条, 其中明显的 6 条, 其等电点为 4.3, 4.4, 5.1, 5.4, 6.5, 6.7。如果用 pH 值 6.4 的蒸馏水浸制花生蛋白脂肪乳状液是无法把等电点为 6.5, 6.7 的花生蛋白质浸取出来的。在表 1 记录中, 聚沉作用的上限为 6.09, 而用 pH 值 8~10 的浸取液, 乳状液 pH 值为 7~8, 则上限为 6.37, 可见是提高了花生蛋白质浸取率。这可能就是用不同 pH 值的浸取液, 乳状液花生蛋白质的聚沉值上限不同的原因。这个发现, 为了从花生中提高蛋白质浸取率, 可提高浸取液的 pH 值。

用 pH 值 8~10 的浸取液, 得到的乳状液 pH 值 7~8, 则上限为 6.37, 但仍与等电点为 6.5, 6.7 的花生蛋白质相对应的聚沉值不一致, 当然这可能由于配制的缓冲溶液 pH 值间隔较大所起的误差, 或由胶体聚沉作用理论所说的, 两种胶体总电荷量不相等时, 只能引起部分沉淀或完全不聚沉来解释。前者可用来解释 6.5 这一点, 后者可用来解释 6.7 点。另在用 pH 值 8~10 为浸取液的, 下限聚沉值 pH 值为 4.1, 而用 pH 值 6.4 的却为 3.29, 它们相差甚远, 如果仍用上述两点说法解释, 似有点勉强, 而且总觉得不确实, 应用花生蛋白脂肪乳状液的盐酸滴定曲线可以得到聚沉 pH 值上限和下限值的判定。

在花生蛋白脂肪乳状液盐酸滴定的实测 pH 值与理论 pH 值对比曲线中, 可以明显地看成是由 AB, BC, CD, DF 四条直线段组成, B、C、D3 个拐点的相应的实测 pH 值为 3.25, 4.28, 6.40, 这与表 1、表 2 测定的, 用 pH 值 8~10, 和 pH 值 6.4 浸取研磨制得的乳状液的聚沉作用的上限和下限值基本一致。这佐证了聚沉作用上限和下限值的存在。这似乎也证明

了, 用稀盐酸滴定花生蛋白脂肪乳状液时, DF 是中和乳状液中的游离碱, CD 是中和花生蛋白分子中的羧基  $-\text{COO}^-$ , BC 是中和  $-\text{NH}_2$  基, AB 则是形成过剩的游离酸。AB、DF 线段的斜率较大, CD 次之, BC 更次之。

## 4 小结

花生蛋白脂肪乳状液中的花生蛋白质的聚沉作用, 系在一个 pH 值区间发生, 但由于浸取液 pH 值不同, 聚沉 pH 值区间的上限和下限值有所不同, 用 pH 值 6.4 的蒸馏水浸磨得到的花生蛋白脂肪乳状液的 pH 值为 6.2, 聚沉 pH 值的上限和下限值为 6.06~3.17; 而浸取液 pH 值在 9~10, 乳状液 pH 值 7~8 时, 则聚沉 pH 值 4.1~6.37。在用稀盐酸对乳状液滴定, 酸度计测定 pH 值, 作理论 pH 值对实测 pH 值对比曲线时, 在曲线上有 3 个拐点: 3.25, 4.28, 6.40, 基本上与聚沉值相对应, 在聚沉 pH 值区间, 静置 3h 后观察, 于 pH 值 4.56~5.72 区间沉淀最多, 经长时间静置, 则在聚沉 pH 值区间几乎全部产生完全沉淀, 上层溶液澄清, 但在聚沉 pH 值区间之外, 原不发生聚沉的, 依然不发生聚沉。在花生蛋白脂肪乳状液中, 于常温(22℃), 常压下, 通  $\text{CO}_2$ , 则花生蛋白发生聚沉, 当通入  $\text{CO}_2$  达饱和时, 溶液的 pH 值 5.35。

## 参考文献

- 1 张杏辉, 陈全斌等. 花生蛋白脂肪乳状液中脂肪球的大小分布. 广西师范大学学报(自然科学版), 1994, 12(3): 59~65.
- 2 陈全斌, 黄天冠, 陈元发等. 花生乳脂球  $\zeta$ -电位及其乳化膜组成的研究. 广西科学, 1995, 2(1): 23~27.
- 3 黄天冠, 陈元发等. 花生蛋白微粒  $\zeta$ -电位的测定. 广西师范大学学报(自然科学版), 1995, 3(3): 53~56.
- 4 楼书聪. 化学试剂配制手册, 南京: 江苏科学技术出版社, 1993. 992.
- 5 傅献彩等. 物理化学. 第四版. 下册. 北京: 高等教育出版社, 1990. 1027.
- 6 韦一能, 陈元发, 陈全斌等. 花生蛋白质的主要种类和等电点研究. 广西科学, 1995, 2(4): 1~5.
- 7 Cater M et al. . Aqueous extraction of oilseed JAOCS, 1974, 50: 137~141.
- 8 Lusas E W. Food uses of peanut protein. JAOCS, 1979, 56: 425~430.
- 9 Subrahmanyam J et al. . Integrated processing of peanut for the separation of major constituents. J Amer Oil Chem Soc, 1959, 36: 66.

(责任编辑: 蒋汉明 黎贞崇)