doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2025.09.066

谷朊粉生产废水中蛋白质回收工艺研究与结构分析

陈坤杰[1]　劳裕婷[1]　张士航[1]　董　艳[2]　孙　啸[2]　柏　钰[2]
(1.南京农业大学工学院,南京 210031;2.滁州学院生物与食品工程学院,滁州 239000)

摘要:为回收利用谷朊粉浓浆废水中的小麦蛋白质(WP),开展了碱提酸沉法(AEAP)的回收工艺研究。通过析因试验、最陡爬坡试验设计和响应面分析,确定 AEAP 最佳工艺参数;通过单因素试验和响应面分析,研究了超声辅助作用对 WP 回收效果的影响;采用傅里叶变换红外光谱和荧光光谱,对两种回收方法得到的 WP 结构进行表征。结果表明,WP 提取的最佳 AEAP 工艺条件为:碱提 pH 值为 9.6、温度为 45℃和时间为 55 min;酸沉 pH 值为 6、温度为 30℃和时间为 20 min。在此条件下,WP 回收率为(37.94±2.52)%。酸调后进行超声处理,在功率 140 W、处理时间 7 min 时,WP 回收率可提升至(53.83±1.37)%,表明超声处理可显著提高 WP 提取率。红外及荧光分析表明,与谷朊粉蛋白相比,回收蛋白的 β-折叠和 β-转角相对含量显著降低,无规则卷曲和 α-螺旋相对含量明显增加,荧光光谱不仅发生蓝移,而且荧光强度增强。研究结果为谷朊粉废水中 WP 资源的回收利用提供参考,具有潜在的工业应用价值。

关键词:谷朊粉;小麦蛋白质;碱提酸沉;超声辅助;结构特征
中图分类号:TS239　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-1298(2025)09-0759-07　　**OSID**:

Optimization of Wheat Protein Recovery from Gluten Production Wastewater and Its Structural Characterization

CHEN Kunjie[1]　LAO Yuting[1]　ZHANG Shihang[1]　DONG Yan[2]　SUN Xiao[2]　BAI Yu[2]
(1. *College of Engineering*, *Nanjing Agricultural University*, *Nanjing* 210031, *China*
2. *College of Biology and Food Engineering*, *Chuzhou College*, *Chuzhou* 239000, *China*)

Abstract: In order to recover wheat protein (WP) from gluten slurry wastewater, the recovery process of alkali extraction and acid precipitation (AEAP) was carried out. The optimal process parameters of AEAP were determined by analytical factorization experiments, steepest-climbing experimental design and response surface analysis; the effect of ultrasonic assisted action on the recovery effect of WP was investigated by one-way test and response surface analysis; the structures of WP obtained by the two recovery methods were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy and fluorescence spectroscopy. The results showed that the optimal AEAP process conditions for WP extraction were pH value of 9.6, temperature of 45℃ and time of 55 min for alkaline extraction, and pH value of 6, temperature of 30℃ and time of 20 min for acid precipitation. Under these conditions, the actual recovery of WP was (37.94±2.52)%. The addition of ultrasonication after acid conditioning increased the recovery of WP to (53.83±1.37)% at a power of 140 W and a treatment time of 7 min, indicating that ultrasonication can significantly increase the extraction rate of WP. Infrared and fluorescence analyses showed that compared with the gluten protein, the β-fold and β-turn content of the recovered protein was significantly reduced, and the content of irregular curls and α-helices was significantly increased, and the fluorescence spectra were not only blueshifted, but also the fluorescence intensity was enhanced. The results can provide an important reference for the recycling of WP resources in gluten wastewater and have potential industrial applications.

Key words: gluten; wheat protein; alkaline extraction and acid precipitation; ultrasound-assisted; structural characterization

收稿日期:2024-06-10　修回日期:2024-07-14
基金项目:滁州市八大产业链强链补链攻坚项目(2022GJ011)、安徽省教育厅高等学校科研计划项目(2022AH051095)、滁州学院科学研究项目(2022XJZD24)和滁州市“双创之星”产业创新团队项目
作者简介:陈坤杰(1963—),男,教授,博士生导师,主要从事农产品加工、无损检测及其智能化装备研究,E-mail:kunjiechen@njau.edu.cn

0 引言

小麦作为全球重要的粮食来源之一,对人类生活至关重要,35% ~40% 的人口将其作为主要粮食[1]。随着国内食品与饲料工业发展,市场对谷朊粉的需求持续上升。谷朊粉生产会产生大量高浓度的酸性有机废水。每生产 1 t 谷朊粉,排放有机废水 6 ~10 m^3[2]。每生产 1 t 谷朊粉,将会有 12 ~20 kg 蛋白质被浪费。由于谷朊粉废水的粘度大、浓度高,蛋白分离困难且成本高,目前谷朊粉生产企业多将此类废水当作污水进行处理,既造成大量蛋白质资源的浪费,又增加污水处理的难度。因此,开展谷朊粉生产废水中小麦蛋白质(Wheat protein, WP)回收工艺研究,对废弃资源回收利用和提高废水处理效率意义重大。

目前,对谷朊粉废水蛋白回收处理技术的研究极少。文献[3]开展了聚砜膜超滤回收谷朊粉废水中 WP 的试验研究,显示 WP 回收率可达 83.10%。但是,由于谷朊粉生产废水含有大量淀粉,粘度较高,极易造成超滤膜的污染和堵塞,因此超滤回收 WP 的方法在实际生产中难以应用。文献[4]采用碱等电点法去除谷朊粉废水中 WP 的试验研究显示,WP 去除率仅为 8.56%,不具有实用价值。文献[5]研究表明,采用卡拉胶絮凝回收 WP,回收率可达 95.70%。但该方法需要消耗大量卡拉胶,处理成本过高,限制了其推广应用。碱提酸沉法(Alkali extraction and acid precipitation, AEAP)是一种相对高效、处理成本较低的蛋白分离方法,但目前尚未在谷朊粉废水方面有研究报道。超声波作为一种辅助的污水处理技术,通过高频振动和空化效应,可以增强溶剂渗透,有利于蛋白质分离提取,但在 AEAP 中的应用尚未深入研究[6]。

本文对 AEAP 回收谷朊粉废水中蛋白质工艺进行试验研究,并开发超声波辅助碱提酸沉法(Ultrasonic-assisted alkali extraction and acid precipitation, UAAEAP)的回收工艺。并对所提取的 WP 进行结构表征,以期为谷朊粉废水中 WP 资源再生利用提供理论和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

谷朊粉生产废水取自安徽省滁州市某公司。考马斯亮蓝 G-250、无水乙醇、磷酸、牛血清白蛋白、氢氧化钠、硫酸等为分析纯;溴化钾为光谱纯。

1.2 仪器与设备

Xinyi-950N 型超声波细胞破碎仪,宁波新艺超声设备有限公司;H1850 型台式高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;testo 205 型便携式 pH 计,德国仪器国际贸易(上海)有限公司;L5S 型紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;LC-10N-80A 型冷冻干燥机,上海力辰邦西仪器科技有限公司;IRAffinity-1S 型傅里叶变换红外光谱仪,日本岛津仪器公司;G9800A 型荧光分光光度计,安捷伦科技公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蛋白质含量测定与标准曲线绘制

参考 SN/T 3926—2014《出口乳、蛋、豆类食品中蛋白质含量的测定考马斯亮蓝法》以及文献[7]的方法,采用 Bradford 法测定谷朊粉生产废水的蛋白质含量。标准曲线的绘制:配置 2 mg/mL 的牛血清白蛋白溶液,分别吸取 0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06 mL 于试管中,定容至 0.1 mL。将 0.1 g 考马斯亮蓝 G-250、50 mL 95% 乙醇、100 mL 85% 磷酸于 1 L 容量瓶中定容。在不同蛋白质浓度的试管中加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,摇匀,静置 2 min,于波长 595 nm 处测吸光度。以标准牛血清白蛋白质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。蛋白质回收率计算方法参照文献[8]方法,公式为

$$Y = \left(1 - \frac{C_2}{C_1}\right) \times 100\% \tag{1}$$

式中 Y——蛋白质回收率,%

C_1——初始蛋白质质量浓度,mg/mL

C_2——回收处理后上清液中蛋白质质量浓度,mg/mL

1.3.2 碱提酸沉法工艺过程

参照文献[9]方法并做适当调整,将取回的谷朊粉生产废水进行初步处理。首先,以 4 000 r/min 离心 10 min,去除废水中的淀粉,留上清液并测其初始蛋白含量。随后,取上清,使用 2 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至碱性,恒温水浴一定时间,以 4 000 r/min 离心 10 min,留上清液。取经过碱提后的上清液,使用 1 mol/L 的 H_2SO_4 调节 pH 值至酸性,同样地,水浴一段时间后,4 000 r/min 离心 10 min。取酸沉后的上清测其蛋白含量。将沉淀物进行冷冻干燥,即得粗蛋白粉。

1.3.3 碱提酸沉析因试验

根据前期预试验,确定各因素水平范围。采用 Minitab 统计软件,选用Ⅳ级分辨度,中心点数为 4 的部分因子试验设计[10-11],对碱提 pH 值、碱提温度、碱提时间、酸沉 pH 值、酸沉温度、酸沉时间进行考察,每个因素取低水平编码(-1)、高水平编码(1)两个水平,以 WP 回收率作为响应值,试验设计

如表 1 所示。

表 1　部分因子设计因素与编码

Tab. 1　Fractional factorial design factors and codes

编码	因素					
	碱提 pH 值	碱提温度/℃	碱提时间/min	酸沉 pH 值	酸沉温度/℃	酸沉时间/min
-1	8	25	40	4	20	20
1	10	45	120	6	40	60

据部分因子试验结果，在调整后的范围内对碱提 pH 值(8.5、10.5)、碱提温度(28、48℃)、碱提时间(80、160 min)和酸沉时间(15、55 min)进行考察，以 WP 回收率作为响应值，进行全因子试验[12]。

1.3.4　最陡爬坡试验设计

最陡爬坡试验是一种通过逐步增加关键因素水平的方法，以寻找响应变量最快速度提高的方向，从而为后续的响应面提供指导和优化方向[13]。依据部分析因和全因子试验结果，确定影响 WP 回收率的显著因素。再根据部分析因试验各因素的正负相关性，选择合理的步长，进行最陡爬坡试验，从而逼近 WP 回收率最大的区域[14-15]。

1.3.5　响应面优化试验

以部分析因、全因子和最陡爬坡试验为基础，WP 回收率为响应值，分别考察碱提 pH 值、碱提温度、碱提时间对 WP 回收率的影响。进行中心复合设计(Central composite design, CCD)试验[16]，试验因素编码如表 2 所示。

表 2　碱提酸沉 CCD 设计因素与编码

Tab. 2　Alkaline extraction and acid precipitation CCD design factors and codes

编码	因素		
	碱提 pH 值	碱提温度/℃	碱提时间/min
-1	9.3	40	25
0	9.6	44	50
1	9.9	48	75

1.3.6　超声处理

经过响应面优化试验得出回收 WP 的最优工艺条件之后，参考文献[17]方法并做适当修改，在 AEAP 过程中引入超声波辅助。在调完酸后引入超声，采用工作 2 s、间歇 2 s 的模式。整个过程在烧杯中使用冰浴进行，以保持样品温度控制在 4℃以下。

研究超声功率的影响：固定超声时间为 6 min，探究不同功率下的 WP 回收效果。功率为：100、120、140、160、180、200 W。

探究超声时间的影响：固定超声功率为 140 W，研究不同时间下的 WP 回收效果。时间为：2、4、6、8、10、12 min。

根据超声的单因素结果，以 WP 回收率为响应值，设计了 CCD 响应面试验。其中超声功率设定为 120、140、160 W，而超声时间设定为 4、6、8 min。

1.4　小麦蛋白质的结构表征

1.4.1　傅里叶变换红外光谱测定

参照文献[18]采用溴化钾压片法。取一定量冷冻干燥后的 WP 粉末和光谱纯 KBr 粉末，以 1∶100(WP与 KBr 质量比)比例均匀混合。使用玛瑙研钵研磨至粉末平均粒径达到 2 μm，装入模具。使用压片机加压至 10 MPa，保持 1 min，得到样本薄片。利用 IRAffinity-1S 型傅里叶变换红外光谱仪对样品进行红外光谱测定。分辨率为 4 cm^{-1}，扫描范围为 4 000 ~ 500 cm^{-1}，扫描次数为 64 次。

1.4.2　荧光光谱的测定

参照文献[19-20]方法，使用 0.05 mol/L pH 值 7.0 的磷酸盐缓冲液将蛋白质试样配制成 1 mg/mL 的蛋白质溶液。使用 G9800A 型荧光分光光度计在室温(20℃)下测定蛋白质的荧光光谱。设定激发波长为 270 nm，扫描范围为 300 ~ 400 nm，激发狭缝和发射狭缝宽均为 10 nm，电压为 560 V。

1.5　数据处理

所有试验均进行 3 次平行。试验数据由 Excel 进行处理，差异显著性分析采用 Minitab Statistical 和 SPSS 软件完成，绘图则使用 Origin 2021 软件。傅里叶变换红外光谱数据则由 OMNIC 和 PeakFit 软件进行分析处理。

2　结果与分析

2.1　牛血清蛋白标准曲线

根据上述方法进行蛋白测定并绘制出标准曲线，如图 1 所示，在有效的浓度范围内，该曲线呈现出良好的线性关系。

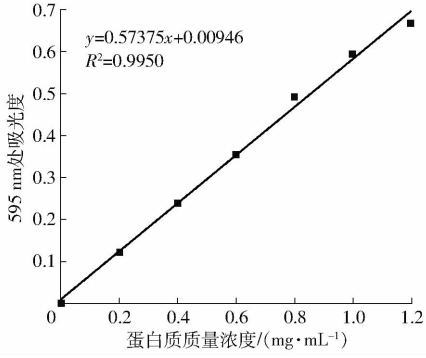

图 1　蛋白质标准曲线

Fig. 1　Protein standard curve

2.2　析因试验结果

由表 3(表中 X_1 ~ X_6 分别表示碱提 pH 值、碱提温度、碱提时间、酸沉 pH 值、酸沉温度、酸沉时间编

码值)可知,该模型显著性水平为 $P<0.01$,表明在统计学上具有极显著差异。模型 R^2 为 95.66%,R^2_{Adj} 为 86.26%,表明模型具有较高的拟合度和可信度,能够很好地解释蛋白质回收率变异性,并且误差较小。碱提 pH 值(X_1)、碱提温度(X_2)、碱提时间(X_3)和酸沉时间(X_6)对 WP 回收率的影响均极显著。其他因素对 WP 回收率影响不显著。因此,对碱提 pH 值、碱提温度、碱提时间和酸沉时间进行研究。

表 3 部分析因试验的拟合模型方差分析

Tab.3 ANOVA of fitted model for partial analysis factorization test

来源	自由度	平方和	均方	F	P
模型	13	1 611.73	123.98	10.18	0.005 **
线性	6	1 381.61	230.27	18.90	0.001 **
X_1	1	538.37	538.37	44.19	0.001 **
X_2	1	362.98	362.98	29.79	0.002 **
X_3	1	172.04	172.04	14.12	0.009 **
X_4	1	15.88	15.88	1.30	0.297
X_5	1	70.30	70.30	5.77	0.053
X_6	1	222.05	222.05	18.22	0.005 **
X_1X_2	1	95.15	95.15	7.81	0.031 *
X_1X_3	1	0.06	0.06	0.01	0.945
X_1X_4	1	8.44	8.44	0.69	0.437
X_1X_5	1	46.34	46.34	3.80	0.099
X_1X_6	1	0.39	0.39	0.03	0.864
X_2X_4	1	74.54	74.54	6.12	0.048 *
X_2X_6	1	5.21	5.21	0.43	0.537
误差	6	73.11	12.18		
失拟	3	27.48	9.16	0.60	0.656
纯误差	3	45.63	15.21		
合计	19	1 684.84			

注:* 表示差异显著($0.01 \leqslant P<0.05$),** 表示差异极显著($P<0.01$)。下同。

根据表 4 的正负相关性分析,可以确定全因子试验的方向。其中 X_1、X_2 和 X_3 的相关系数为正,X_6 的相关系数为负。这表明适当增大 X_1、X_2 和 X_3,以及减小 X_6,对提高 WP 回收效果有积极作用。

表 4 部分因子试验中因素正负相关性分析

Tab.4 Positive and negative correlation analysis of factors in selected factorial tests

项	效应值	相关系数	系数标准误差	T
常量		21.57	0.78	27.64
X_1	11.60	5.80	0.87	6.65
X_2	9.53	4.76	0.87	5.46
X_3	6.56	3.28	0.87	3.76
X_4	-1.99	-1.00	0.87	-1.14
X_5	4.19	2.10	0.87	2.40
X_6	-7.45	-3.73	0.87	-4.27

图 2 中,以回收率为响应,因子 X_1、X_2、X_3 和 X_1X_2 条形跨越 2.306 处的参考线,表明这些因子在当前模型项 0.05 水平上具有统计显著性。建立的回归模型具有高度显著性($P<0.01$),其中 $R^2=0.9258$,$R^2_{Adj}=0.8330$。经过分析,发现 X_1、X_2 和 X_3 对 WP 回收率的影响显著,而 X_6 不显著。因此,后续将重点考察 X_1、X_2 和 X_3 这 3 个因素。根据全因子试验得到的回归方程为

$$Y=-165.6+20.59x_1+3.43x_2-0.228x_3+0.480x_6+\alpha \quad (2)$$

其中 α 为交互项。$x_1 \sim x_6$ 表示 $X_1 \sim X_6$ 的真实值。根据回归方程,在全因子水平下,x_1 和 x_2 对回收率呈正相关,而 x_3 呈负相关。因此,在后续最陡爬坡试验中,将根据回归方程确定相关步长。将扩大 x_1 和 x_2 水平范围,并缩小 x_3 水平范围以探究其影响。

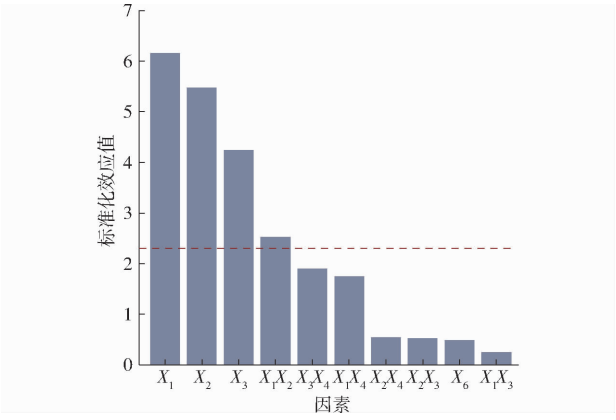

图 2 全因子标准化效应的 Pareto 图

Fig.2 Pareto plots of standardized effects across factors

2.3 最陡爬坡试验结果

由表 5 可知,WP 最大回收率出现在第 5 组试验附近。因此,选取碱提 pH 值为 9.6、碱提温度为 44℃、碱提时间为 50 min 作为 CCD 试验的中心水平点。

表 5 最陡爬坡试验设计及结果

Tab.5 Steepest climb test design and results

试验序号	碱提 pH 值	碱提温度/℃	碱提时间/min	酸沉 pH 值	酸沉温度/℃	酸沉时间/min	Y/%
1	8.4	28	150	6	30	20	16.24
2	8.7	32	125	6	30	20	17.57
3	9.0	36	100	6	30	20	30.37
4	9.3	40	75	6	30	20	31.10
5	9.6	44	50	6	30	20	38.55
6	9.9	48	25	6	30	20	36.39

2.4 碱提酸沉响应面分析结果

由表 6 可知,该模型 $P<0.01$ 极显著。$R^2=0.9340$,$R^2_{Adj}=0.8861$,表明所建立的模型与实际情况具有良好的拟合度,可用于分析与预测响应值。

表 6　响应面试验方差分析

Tab. 6　Response surface test ANOVA

来源	自由度	平方和	均方	F	P
模型	8	1 505. 29	188. 16	19. 47	< 0. 001 **
线性	3	495. 95	165. 32	17. 11	< 0. 001 **
X_1	1	45. 36	45. 36	4. 69	0. 053
X_2	1	339. 74	339. 74	35. 15	< 0. 001 **
X_3	1	110. 86	110. 86	11. 47	0. 006 **
X_1^2	1	129. 90	129. 90	13. 44	0. 004 **
X_2^2	1	0. 09	0. 09	0. 01	0. 926
X_3^2	1	188. 44	188. 44	19. 50	0. 001 **
X_1X_2	1	2. 43	2. 43	0. 25	0. 626
X_1X_3	1	70. 46	70. 46	7. 29	0. 021 *
误差	11	106. 30	9. 66		
失拟	6	42. 99	7. 17	0. 57	0. 746
纯误差	5	63. 31	12. 66		
合计	19	1 611. 59			

从图 3 可知，碱提 pH 值和碱提时间等高线呈密集的椭圆形状，表明两者之间存在显著的交互作用。由 Minitab 软件分析预测，得到的最佳试验条件为：碱提 pH 值为 9. 6、碱提温度为 48℃、碱提时间为 54. 79 min、酸沉 pH 值为 6、酸沉温度为 30℃、酸沉时间为 20 min。根据预测，其理论回收率为 41. 43%。考虑到温度过高可能引起蛋白质变性，因此将碱提温度调整为 45℃，碱提时间为 55 min。经 3 次平行试验，WP 回收率为(37. 94 ± 2. 52)%。基于预测结果与实际结果良好的一致性，说明所建立的模型可靠且准确度高。与文献[4]相比，其在小麦淀粉废水中蛋白质去除率为 8. 56%，AEAP 在 WP 回收方面具有显著优势。

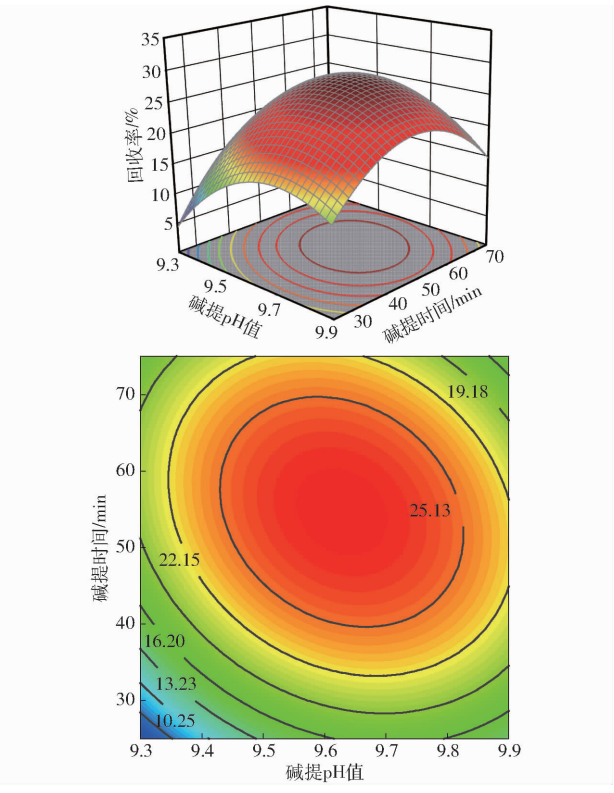

图 3　碱提 pH 值和时间的响应面和等高线图

Fig. 3　Response surface and contour plots of pH value and time of alkaline extraction

2. 5　超声处理试验结果

在超声辅助碱提酸沉回收谷朊粉生产废水中蛋白质的试验中，据图 4(图中不同字母表示差异显著(P < 0. 05))结果可知，随着超声功率升高，回收率也逐步上升，但当功率超 140 W 后，回收率开始下降并趋于稳定。这可能由于过高的超声功率引起样品机械剪切，使得蛋白过度溶解从而影响其回收率[21]。

另一方面，当超声时间从 2 min 延长至 6 min 时，蛋白质回收率呈上升趋势。而当超声时间超过 6 min 后，回收率出现波动并趋于稳定。这可能是由于超声波作用并非线性，超声时间延长到一定程度后，超声波能量已充分作用于样品，继续延长时间对提高蛋白质回收率不显著。试验结果表明，当超声功率为 140 W、超声时间为 6 min 时，蛋白质回收率达最大值。因此，选定该参数组合作为 CCD 响应面试验的中心点。

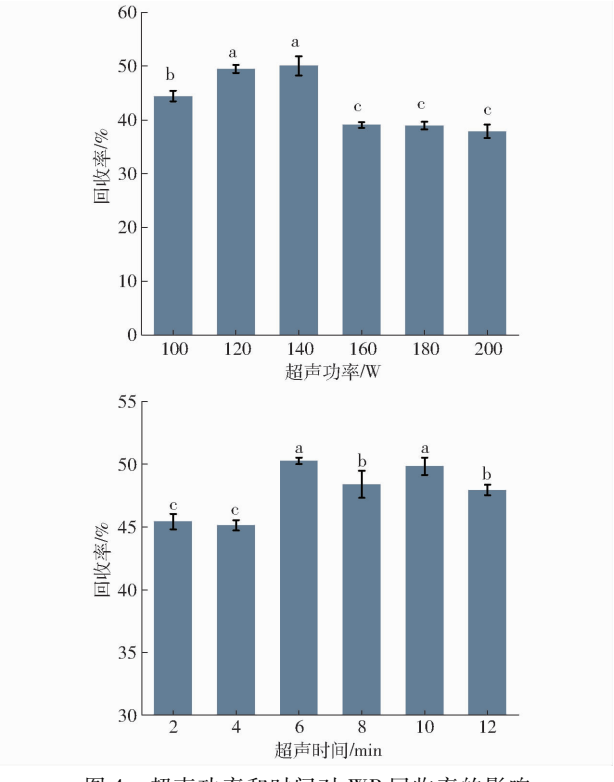

图 4　超声功率和时间对 WP 回收率的影响

Fig. 4　Effect of ultrasound time and power on WP recoveries

由表 7(表中 X_7、X_8 分别表示超声功率、超声时间编码值)可知，该模型具有极显著性(P < 0. 01)，

并且拟合程度良好，R^2 为 0.947 8，R^2_{Adj} 为 0.910 6，这表明该模型对实际情况的解释性较强，拟合效果良好。在超声功率和超声时间的变化范围内，超声功率对蛋白回收率的影响更为显著，而时间变化对回收率的影响较小。经 Minitab 软件分析，预测的最佳试验条件为：超声功率 135.35 W、超声时间 6.74 min，理论回收率为 54.14%。结合实际，将超声功率调整为 140 W，超声时间为 7 min。通过 3 次平行试验后蛋白质回收率为(53.83 ± 1.37)%，该结果与理论预测相近，表明通过响应面法优化得到的最佳条件可靠。

表 7 超声辅助的响应面试验方差分析

Tab.7 Response surface test ANOVA with ultrasound assistance

来源	自由度	平方和	均方	F	P
模型	5	447.960	89.592	25.44	<0.001 **
线性	2	169.987	84.994	24.13	0.001 **
X_7	1	168.263	168.263	47.78	<0.001 **
X_8	1	1.724	1.724	0.49	0.507
X_7^2	1	168.496	168.496	47.84	<0.001 **
X_8^2	1	17.246	17.246	4.90	0.063
X_7X_8	1	12.656	12.656	3.59	0.100
误差	7	24.654	3.522		
失拟	3	10.051	3.350	0.92	0.508
纯误差	4	14.603	3.651		
合计	12	472.614			

2.6 傅里叶变换红外光谱分析

由图 5(WG(Wheat gluten)为谷朊粉；P－AEAP 表示碱提酸沉法下回收的小麦蛋白；P－UAAEAP 表示超声辅助碱提酸沉法下回收的小麦蛋白)可知，经两种不同回收方法处理，WP 的主要官能团与结构发生一定程度的改变。3 500～3 300 cm^{-1} 处为羟基(—OH)官能团振动[22]；2 928.4 cm^{-1} 和 2 847.6 cm^{-1} 处吸收峰为脂肪酸链上亚甲基(—CH_2)反对称伸缩振动和对称伸缩振动[23]；1 676.6 cm^{-1} 和 1 544.6 cm^{-1} 处两个吸收峰可能分别为伯酰胺酰胺Ⅱ(NH_2变角振动)和仲酰胺酰胺Ⅱ(C—N—H 弯曲振动)引起的[24]；1 049.2 cm^{-1} 处吸收峰为糖类化合物中 C—O 键的伸缩振动引起的，表明蛋白质中含有糖基或糖类物质；575.3 cm^{-1} 处吸收峰可能为硫-氧单键(S—O)的伸缩振动引起的。

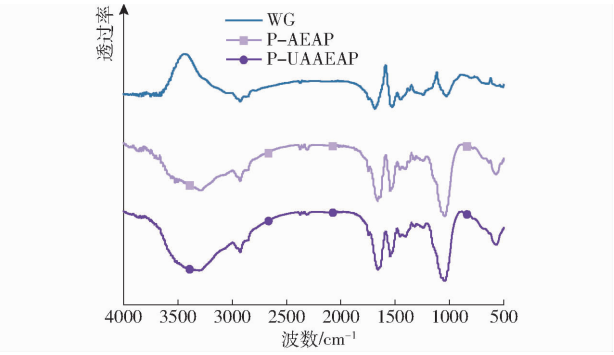

图 5 小麦蛋白质红外光谱图

Fig.5 Infrared spectra of wheat proteins

由表 8(不同字母表示同个指标之间的差异显著($P<0.05$))可知，两种回收方法下 WP 与谷朊粉二级结构相比，无规则卷曲和 α-螺旋的相对含量增加，而 β-折叠和 β-转角相对含量显著下降。不规则卷曲相对含量的增加可能表明蛋白质结构的形成变得更加混乱[25]。α-螺旋通常是一种稳定的二级结构，其含量的增加可能提高蛋白质的整体稳定性。β-折叠相对含量的降低可能意味着蛋白质结构的疏水性增强。β-转角相对含量的降低可能会改变蛋白质的折叠路径。此外，相比于 AEAP 方法，UAAEAP 方法对 WP 的 β-折叠、α-螺旋、无规则卷曲和 β-转角相对含量均显示出显著差异。这种差异可能源于 UAAEAP 引起的高频振动，导致蛋白质链的拉伸和扭曲，从而影响蛋白质分子的构象。总体而言，超声对蛋白二级结构的作用尚无统一标准，且受不同蛋白种类及超声条件的影响[26]。

表 8 小麦蛋白质二级结构相对含量

Tab.8 Secondary structure of wheat proteins %

样品	β-折叠	无规则卷曲	α-螺旋	β-转角
WG	(26.88 ± 0.44)^{a}	(16.39 ± 0.10)^{c}	(18.94 ± 0.05)^{b}	(37.78 ± 0.58)^{a}
P－AEAP	(26.52 ± 0.73)^{ab}	(22.45 ± 0.01)^{a}	(22.71 ± 0.95)^{a}	(28.32 ± 0.23)^{c}
P－UAAEAP	(25.81 ± 0.34)^{b}	(21.46 ± 0.90)^{b}	(23.12 ± 0.24)^{a}	(29.61 ± 0.31)^{b}

2.7 荧光光谱分析

荧光光谱主要基于芳香族氨基酸，色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的荧光性质[27]。由图 6 可知，谷朊粉和 AEAP 方法下 WP 最大荧光峰位均为 351.9 nm，UAAEAP 方法下为 350.0 nm。超声处理后，荧光最大吸收峰蓝移，且荧光强度显著增强。相比之下，谷朊粉的荧光强度最低，表明大部分色氨酸残基包裹在蛋白质内部。经过碱提酸沉、超声辅助处理后，WP 的相对荧光强度增加，可能是 pH 值变化导致一部分蛋白分子结构展开，而超声波处理进一步促进其展开，疏水基团暴露在分子链外，从而增强了荧光强度。这一结果与文献[28]结论一致。

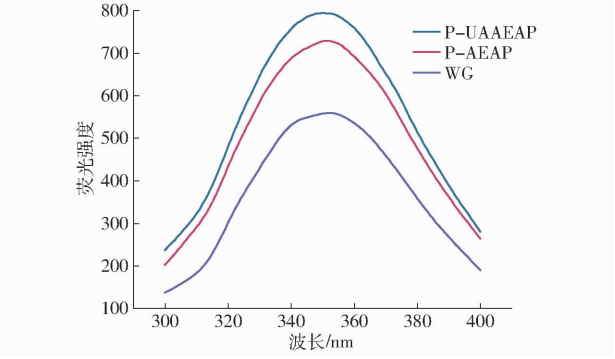

图 6　小麦蛋白质荧光光谱

Fig. 6　Fluorescence spectra of wheat proteins

3　结论

(1) AEAP 是一种从谷朊粉生产废水中回收 WP 的有效方法，在最佳试验条件：碱提 pH 值 9.6、碱提温度 48℃、碱提时间 54.79 min、酸沉 pH 值 6、酸沉温度 30℃、酸沉时间 20 min 下，WP 理论回收率可达 41.43%。经调整后，实际回收率可达(37.94 ± 2.52)%。

(2)超声处理对提高谷朊粉生产废水中 WP 回收率有显著作用，UAAEAP 方法在碱提 pH 值 9.6、碱提温度 45℃、碱提时间 55 min、酸沉 pH 值 6、超声功率 140 W、超声时间 7 min、酸沉温度 30℃、酸沉时间 20 min 的最佳条件下，WP 回收率可提高到(53.83 ± 1.37)%。

(3)傅里叶变换红外光谱和荧光光谱分析表明，超声处理会影响 WP 的分子构象变化，也会对 WP 分子间空间排布和相互作用产生一定的影响。该结果可为进一步探索超声处理对 WP 分子结构和功能的影响机制及其再利用提供依据。

参　考　文　献

[1] 赵广才，常旭虹，王德梅，等. 小麦生产概况及其发展[J]. 作物杂志，2018(4)：1－7.
ZHAO Guangcai, CHANG Xuhong, WANG Demei, et al. General situation and development of wheat production[J]. Crops Journal, 2018(4): 1－7. (in Chinese)

[2] TURKER M, SELIMOGLU S M, TASPINAR-DEMIR H. Waste (water) to feed protein: effluent characteristics, protein recovery, and single-cell protein production from food industry waste streams[J]. Clean Energy and Resource Recovery, 2022, 2: 201－244.

[3] 任俊艳. 超滤浓缩小麦淀粉/谷朊粉生产废水研究[D]. 郑州：郑州大学，2006：21－42.
REN Junyan. Ultrafiltration concentration of wheat starch/gluten production wastewater study[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2006: 21－42. (in Chinese)

[4] 严汪汪. 从小麦淀粉废水中分离回收戊聚糖的方法研究[D]. 广州：华南理工大学，2015：36－44.
YAN Wangwang. The method of pentosan reclamation from wheat starch wastewater[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015: 36－44. (in Chinese)

[5] 孔令知. 复凝聚法回收淀粉加工废水中蛋白质的研究[D]. 无锡：江南大学，2015：42－49.
KONG Lingzhi. Study on recovering proteins from starch processing waste water by complex coacervation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015: 42－49. (in Chinese)

[6] SONG H, ZHONG M, SUN Y, et al. Ultrasound-assisted alkali removal of proteins from wastewater generated during oil bodies extraction[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 96: 106436.

[7] MAEHRE H K, DALHEIM L, EDVINSEN G K, et al. Protein determination-method matters[J]. Foods, 2018, 7(1): 5.

[8] 齐祥明，王路，逯慎杰，等. 壳聚糖絮凝回收分级等电沉淀后鱼糜漂洗水中蛋白质[J]. 农业工程学报，2015，31(6)：327－332.
QI Xiangming, WANG Lu, LU Shenjie, et al. Recovering protein from surimi wash water after isoelectrically precipitate by chitosan flocculation[J]. Transactions of the CSAE, 2015, 31(6): 327－332. (in Chinese)

[9] 姚佳. 马铃薯蛋白高效提取分离技术及其功能特性的研究[D]. 长春：吉林农业大学，2013：9－30.
YAO Jia. Highly effective extraction of potato protein and its functional[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013: 9－30. (in Chinese)

[10] SIEWE F B, KUDRE T G, NARAYAN B. Optimisation of ultrasound-assisted enzymatic extraction conditions of umami compounds from fish by-products using the combination of fractional factorial design and central composite design[J]. Food Chemistry, 2021, 334: 127498.

[11] 马逢时，周暐，刘传冰. 六西格玛管理统计指南：MINITAB 使用指导[M]. 北京：中国人民大学出版社，2018：401－470.

[12] SABBAGH H A K, HUSSEIN-AL-ALI S H, HUSSEIN M Z, et al. A statistical study on the development of metronidazole-chitosan-alginate nanocomposite formulation using the full factorial design[J]. Polymers, 2020, 12(4): 772.

[13] 贺伟，刘永乐，王发祥. 响应面法优化莲子磨皮粉中蛋白质的提取工艺[J]. 食品科学，2015，36(8)：24－28.
HE Wei, LIU Yongle, WANG Faxiang. Optimization of extraction process for peel waste protein from lotus seeds by response surface methodology[J]. Food Science, 2015, 36(8): 24－28. (in Chinese)

(下转第 788 页)

[24] HAN Jiangyi, WANG Fan, WANG Yuhang. A control method for the differential steering of tracked vehicles driven independently by a dual hydraulic motor[J]. Applied Sciences, 2022, 12(13): 6355.
[25] 机械电子工业部洛阳拖拉机研究所. 拖拉机设计手册(上册)[M]. 北京:机械工业出版社, 1994.
[26] CAI W, WU Xiaogang, ZHOU Minghao, et al. Review and development of electric motor systems and electric powertrains for new energy vehicles[J]. Automotive Innovation, 2021, 4(1): 3 - 22.
[27] YANG Yue, CHEN Lei, YANG Lijun, et al. Capacity fade characteristics of lithium iron phosphate cell during dynamic cycle [J]. Energy, 2020, 206: 118155.
[28] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 农业拖拉机 通用技术条件 第4部分:履带拖拉机: GB/T 15370.4—2012[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
[29] 国家市场监督管理总局,中国国家标准化管理委员会. 农业拖拉机 试验规程 第5部分:转向圆和通过圆直径: GB/T 3871.5—2022[S]. 北京:中国标准出版社,2022.
[30] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 农业拖拉机 试验规程 第9部分:牵引功率试验: GB/T 3871.9—2006[S]. 北京:中国标准出版社,2006.
[31] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 铧式犁: GB/T 14225—2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

(上接第 765 页)

[14] 陈嘉鹤. 桑黄在中国的潜在分布、液体发酵培养与多糖抗氧化研究[D]. 沈阳:辽宁大学,2023: 22 - 28.
CHEN Jiahe. Potential distribution in China, liquid fermentation optimization and antioxidation of polysaccharides of *Sanghuangporus*[D]. Shenyang: Liaoning University, 2023: 22 - 28. (in Chinese)
[15] ALASALVAR H, YILDIRIM Z. Ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from *Lavandula angustifolia* flowers using natural deep eutectic solvents: an experimental design approach[J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2021, 22: 100492.
[16] PARES D, TOLDRA M, CAMPS E, et al. RSM optimization for the recovery of technofunctional protein extracts from porcine hearts[J]. Foods, 2020, 9(12): 1733.
[17] ALVAREZ C, LELU P, LYNCH S A, et al. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound[J]. LWT, 2018, 88: 210 - 216.
[18] YANG K, XU T R, FU Y H, et al. Effects of ultrasonic pre-treatment on physicochemical properties of proteins extracted from cold-pressed sesame cake[J]. Food Research International, 2021, 139: 109907.
[19] 高思聪,黄文选,黄志超,等. 食叶草蛋白的提取工艺及其性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(1): 189 - 198.
GAO Sicong, HUANG Wenchuan, HUANG Zhichao, et al. Study on the extraction process and properties of protein from edible dock[J]. Food and Fermentation Industry, 2025, 51(1): 189 - 198. (in Chinese)
[20] PIGNATARO M F, HERRERA M G, DODERO V I. Evaluation of peptide/protein self-assembly and aggregation by spectroscopic methods[J]. Molecules, 2020, 25(20): 4854.
[21] SU J, CAVACO-PAULO A. Effect of ultrasound on protein functionality[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 76: 105653.
[22] 牛雅倩. 基于生物技术的马铃薯淀粉废水处理工艺研究[D]. 天津:天津科技大学, 2021: 26 - 28.
NIU Yaqian. Study on patato starch wastewater treatment process based on biotechnology[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021: 26 - 28. (in Chinese)
[23] KRILOV D, BALARIN M, KOSOVIC M, et al. FT - IR spectroscopy of lipoproteins-a comparative study[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2009, 73(4): 701 - 706.
[24] 翁诗甫. 傅里叶变换红外光谱分析[M]. 北京:化学工业出版社, 2010: 493 - 496.
[25] ALAVI F, EMAM-DJOMEH Z, MOHAMMADIAN M, et al. Physico-chemical and foaming properties of nanofibrillated egg white protein and its functionality in meringue batter[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105554.
[26] CHENG J, CUI L. Effects of high-intensity ultrasound on the structural, optical, mechanical and physicochemical properties of pea protein isolate-based edible film[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 80: 105809.
[27] SUN X, ZHANG W, ZHANG L, et al. Effect of ultrasound-assisted extraction on the structure and emulsifying properties of peanut protein isolate[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(3): 1150 - 1160.
[28] LI Y, CHENG Y, ZHANG Z, et al. Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 69: 105240.