

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480028915.8

[51] Int. Cl.
C07K 14/415 (2006.01)
C07K 1/14 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 11 月 15 日

[11] 公开号 CN 1863816A

[22] 申请日 2004.7.30
[21] 申请号 200480028915.8
[30] 优先权
 [32] 2003. 8. 1 [33] US [31] 60/491,564
 [32] 2003. 11. 4 [33] US [31] 60/516,875
[86] 国际申请 PCT/CA2004/001433 2004.7.30
[87] 国际公布 WO2005/012342 英 2005.2.10
[85] 进入国家阶段日期 2006.4.3
[71] 申请人 伯康营养科学 (MB) 公司
 地址 加拿大马尼托巴
[72] 发明人 B·E·格林 R·米拉诺瓦
 J·罗吉

[74] 专利代理机构 中国专利代理 (香港) 有限公司
 代理人 李 波 邹雪梅

权利要求书 2 页 说明书 20 页 附图 5 页

[54] 发明名称
 制备亚麻蛋白分离物的方法

[57] 摘要
 通过一种程序获得亚麻蛋白分离物，其中先提取亚麻油籽从中去除粘胶，然后碾碎来回收油和生产粗粉。 然后加工亚麻蛋白粗粉从中回收亚麻蛋白分离物。

1. 制备亚麻蛋白分离物的方法, 其中包括:
先提取亚麻油籽, 以从中去除粘胶,
碾碎提取过的油籽, 以回收油并保留粗粉, 以及
加工粗粉, 以从中回收亚麻蛋白分离物。
2. 权利要求 1 的方法, 其中通过碱性物质的弱碱水溶液进行所述先提取亚麻油籽以从中去除粘胶。
3. 权利要求 2 的方法, 其中所述弱碱水溶液的 pH 为约 7.5 至约 9。
4. 权利要求 1 的方法, 其中通过天然 pH 的碳酸氢钠水溶液进行所述先提取亚麻油籽以从中去除粘胶。
5. 权利要求 2 的方法, 在温度约 30°C 至约 70°C 下进行。
6. 权利要求 3 的方法, 在温度约 50°C 下进行。
7. 权利要求 2 的方法, 在种子与溶液的比例为约 1:1 至约 1:20 下进行。
8. 权利要求 3 的方法, 在种子与溶液的比例为约 1:5 至约 1:10 下进行。
9. 权利要求 2 的方法, 其中水溶液的弱碱物质浓度为约 0.2 至约 0.7M。
10. 权利要求 2 的方法, 通过在水溶液中搅拌油籽约 15 至约 60 分钟来进行。
11. 权利要求 3 的方法, 通过在水溶液中搅拌油籽约 30 至约 60 分钟来进行。
12. 权利要求 2 的方法, 其中多次提取油籽直到从油籽中再提取不出粘胶。
13. 权利要求 2 的方法, 其中所述弱碱物质是碳酸氢钠。
14. 权利要求 1 的方法, 其中所述先提取油籽以从中去除粘胶是通过在温度约 30°C 至约 70°C, 在碳酸氢钠水溶液中搅拌油籽约 15 至约 60 分钟来进行, 其中碳酸氢钠水溶液的 pH 为约 6.0 至约 7.5, 种子与溶液的比例为约 1:1 至约 1:20。
15. 权利要求 14 的方法, 其中所述碳酸氢钠水溶液浓度为约 0.2 至约 0.7M, 所述油籽与溶液的比例为约 1:5 至约 1:10 且搅拌进行约

30 至约 60 分钟, 并且进行多次提取油籽直到从油籽中再提取不出粘胶。

16. 权利要求 14 的方法, 其是在约 50°C 下, 用约 0.5M 的碳酸氢钠水溶液实施, 所述碳酸氢钠水溶液具有约 0.5M 的浓度, 并且种子与溶液的比例为约 1:10。

17. 权利要求 1 的方法, 其中通过一种操作而加工所述亚麻油籽粗粉以回收亚麻蛋白分离物, 所述操作包括从碱水溶液提取粗粉而产生的亚麻蛋白碱溶液中等电点沉淀亚麻蛋白溶液。

18. 权利要求 1 的方法, 其中加工所述亚麻油籽粗粉以回收亚麻蛋白溶液是通过:

通过用 pH 为约 5 至约 7 的具有至少约 0.10M 离子强度的氯化钠水溶液进行提取而溶解所述亚麻油籽粗粉中的蛋白, 以提供浓度为约 5 至约 40 g/L 的蛋白水溶液,

通过选择性膜技术将蛋白水溶液浓缩至浓度至少约 150 g/L, 用温度低于约 15°C 的水稀释浓缩的蛋白溶液来形成蛋白胶束, 以及

收集并回收作为亚麻蛋白分离物的蛋白胶团的所述蛋白胶束。

19. 权利要求 18 的方法, 其中蛋白胶团被干燥。

20. 权利要求 18 的方法, 其中从蛋白胶团回收的剩余液体被处理以回收额外量的亚麻蛋白分离物。

21. 亚麻蛋白分离物, 其蛋白含量为至少约 90 wt% ($N \times 6.25$) 并且包含分子量约 162,000 至 169,000 Da 的 7S 蛋白。

22. 权利要求 21 的亚麻蛋白, 其蛋白含量为至少约 100 wt% ($N \times 6.25$)。

23. 权利要求 21 的亚麻蛋白, 其基本上未变性的。

24. 权利要求 21 的亚麻蛋白, 包含约 60 至约 95 wt% 的 7S 蛋白、0 至约 20 wt% 的亚麻素和 0 至约 20 wt% 的辅亚麻素。

25. 亚麻的 7S 蛋白, 其分子量大约为 162,000 至 169,000。

制备亚麻蛋白分离物的方法

发明领域

本发明涉及从亚麻油籽粗粉中回收亚麻蛋白分离物。

相关申请参考

根据 35 USC 119(e) 本申请要求 2003 年 8 月 1 日提交的美国专利申请 No. 60/491,564 和 2003 年 11 月 4 日提交的美国专利申请 60/516,875 的优先权。

发明背景

在 2002 年 10 月 9 日提交的美国专利申请 No. 10/266,677 (WO 03/030652) 中描述了亚麻蛋白分离物的制备, 该申请指定转让给此处的受让人, 其中披露内容通过参考并入此处。如其中所述, 提供了蛋白含量为至少约 90 wt%, 优选地至少约 100 wt% 的亚麻油籽蛋白分离物, 基于干重由凯氏定氮法氮 $\times 6.25$ ($N \times 6.25$) 所确定。

该方法中, 由于水溶性粘胶的存在, 蛋白溶液不能浓缩至高蛋白含量, 所以亚麻蛋白分离物的产率被限制。亚麻种子粘胶是主要由多糖组成的胶质物质。用其他方法从亚麻油籽粗粉分离的蛋白产物中存在粘胶, 这使得难于生产蛋白含量足够高从而可分类为分离物的产物。

已知亚麻种子含有约 34 至约 37 wt% 的蛋白, 并已经鉴定多种不同蛋白成分, 它们在沉降系数(S)上有区别。这些蛋白包括被称为亚麻素(linin)的 12S 球蛋白以及被称为辅亚麻素(colinin)的 2S 清蛋白。

Linola[®]油籽由 Agricore United 分销, 是亚麻油籽的突变体, 通过传统的育种方法, 其中脂肪酸组成已经改变并且亚麻酸(C18:3)已从普通亚麻油籽中的约 50% 充分降到了约 2%。这些改进用于从所得 Linola 油籽中提供可食用的多不饱和油, 其在脂肪酸组成方面基本上和葵花油相似。

发明内容

现在已经令人惊奇的发现, 如果在提高的温度下用碳酸氢钠的弱碱溶液先提取亚麻种子以去除粘胶, 然后可以制得浓度高得多的浓缩蛋

白水溶液，这使得能够改善欲获得的亚麻蛋白分离物的产率。此外，可通过等电点沉淀或通过胶束途径(micellar route)从亚麻蛋白粗粉中生产亚麻蛋白分离物。

现也已经发现，本发明的亚麻蛋白分离物的主要蛋白成分是 7S 蛋白，这看起来是被称为亚麻素的 12S 球蛋白的一半，与 BioRad 动物蛋白标准比较，经 HPLC 保留时间测定，分子量约 162,000 到 169,000 Da。与 BioRad 动物蛋白标准相比，本发明亚麻蛋白分离物的其它蛋白成分包括亚麻素，与 BioRad 动物蛋白标准比较，经 HPLC 保留时间测定，分子量约 415,000 到 440,000 Da 和辅亚麻素，与 BioRad 动物蛋白标准比较，经 HPLC 保留时间测定，分子量约 16,000 到 17,000 Da。

现也已经发现，本发明的来自蛋白胶团 (protein micellar mass, PMM) 的亚麻蛋白分离物和来自上清液的亚麻蛋白分离物之间蛋白成分的相对比例是相似的。

尤其是，已经发现来自 PMM 的亚麻蛋白分离物具有至少约 90 wt% ($N \times 6.25$)、优选至少约 100 wt% 的蛋白含量，该分离物的蛋白成分含量中有约 65 至 95 wt% 的 7S 亚麻蛋白 (亚麻素的一半)，约 0 至 20 wt% 的亚麻素和约 0 至 20 wt% 的辅亚麻素。已经发现，来自上清液的亚麻蛋白分离物具有至少约 90 wt% ($N \times 6.25$)、优选至少约 100 wt% 的蛋白含量，该分离物的蛋白成分含量中有约 65 至 95 wt% 的 7S 亚麻蛋白 (亚麻素的一半)，约 0 至 20 wt% 的亚麻素和约 0 至 20 wt% 的辅亚麻素。

来自 PMM 和来自上清液的亚麻蛋白分离物中蛋白成分谱的相似性导致使用亚麻蛋白分离物的环境中相似的行为。相似的蛋白成分谱使得能够将来自 PMM 和来自上清液的亚麻蛋白分离物按照任意期望比例组合，而不改变其组成，因此使得该方法产率增加。

来自 PMM、来自上清液和来自等电点沉淀 (IEP) 的亚麻蛋白分离物具有极为相似的氨基酸谱。所得氨基酸谱如下面实施例中所述。

本发明提供具有独特蛋白谱的亚麻蛋白分离物以及涉及先提取油籽的制备相同蛋白分离物的方法。蛋白分离物被定义为按凯氏定氮法转化率为 $N \times 6.25$ 而确定的含有至少约 90 wt% 蛋白的蛋白。此处所用术语“蛋白含量”指的是基于干重表示的蛋白分离物中蛋白的量。

根据此处方法所生产的亚麻蛋白分离物可用于蛋白分离物的常规

应用，例如加工食品的蛋白强化、油的乳化、烘焙制品的主体成形剂以及充气（entrap gases）制品中的发泡剂。此外，蛋白分离物可制成蛋白纤维，用于肉类似物，它可用作蛋清替代物或者以蛋清为粘合剂的食品中的补充剂。亚麻蛋白分离物可用作营养补充剂。亚麻蛋白分离物的其他用途是用于宠物食品、动物饲料、和工业和化妆品以及个人护理产品。

附图说明

图 1 和 2 表示 Linola 分离物的 HPLC 色谱图，其中图 1 表示来自 PMM 的 Linola 蛋白分离物，图 2 表示来自上清液的 Linola 蛋白分离物；以及

图 3、4 和 5 表示 Linola 分离物的示差扫描量热法的热像图，其中图 3 表示来自 PMM 的 Linola 蛋白分离物，图 4 表示来自上清液的 Linola 蛋白分离物，以及图 5 表示来自 IEP 的 Linola 蛋白分离物。

本发明的一般描述

用水溶液进行亚麻种子的先提取，通常该水溶液的 pH 为约 7.5 至约 9，优选地在碱性物质水溶液的天然 pH 下，在约 30°C 至约 70°C 的提高温度，优选约 50°C。亚麻油籽的提取可在种子与溶液的比例为约 1:1 至约 1:20 时进行，优选约 1:5 至约 1:10，所用水溶液含有约 0.2 至约 0.7 M 弱碱性物质。优选地在约 50°C 以亚麻种子与溶液的比例为约 1:8 使用浓度为约 0.5 M 的碳酸氢钠水溶液。

第一次提取油籽通常通过在碱水溶液中搅拌混合油籽进行，持续约 15 至约 60 分钟，优选约 30 至约 60 分钟，优选用新鲜碱水溶液重复提取直到油籽中再提取不出粘胶为止。

然后加工提取过的油籽来回收油和提供油籽粗粉，从粗粉中可生产亚麻蛋白分离物。

通过等电点沉淀是可从亚麻油籽粗粉中形成亚麻蛋白分离物的一种方法。在进行此处所提供的初步去除粘胶之前，申请人还不能用电点沉淀处理亚麻油籽粗粉来生产亚麻蛋白分离物。等电点沉淀通常用于制备其他蛋白分离物，例如，大豆蛋白分离物。

在这种等电点沉淀中，用碱水溶液提取亚麻油籽粗粉或 linola 油籽粗粉，通常氢氧化钠水溶液 pH 为约 8 至约 12，优选约 9 至约 11，温度在约 0°至约 40°C，优选约 15°至约 25°C，粗粉浓度为约 2.5 至约

10%w/v, 优选约 5% w/v。

提取粗粉之后, 用任何方便的方式将蛋白水溶液与剩余粗粉分离, 例如通过使用真空过滤, 接着用离心和/或过滤来去除剩余粗粉。为了处理, 可将分离出的剩余粗粉干燥。

然后使用任何方便的酸如盐酸, 将亚麻蛋白溶液酸化至 pH 为约 3 到约 5, 优选约 4, 以形成亚麻或 linola 蛋白分离物的沉淀。将沉淀从上清液中去除并干燥。干燥的来自等电点沉淀 (IEP) 的亚麻蛋白分离物具有高蛋白含量, 超过约 90 wt% ($N \times 6.25$), 优选至少约 100 wt%。

作为替代以及优选地, 按照前述共同未决的美国专利申请 No. 10/266, 677 中所述方法制备亚麻蛋白分离物。此方法可按一系列批次操作或以连续或半连续方法来进行。

根据前述申请的操作步骤生产亚麻蛋白分离物的方法的初始步骤, 包括溶解亚麻油籽粗粉中的蛋白性物质。从亚麻籽粗粉中回收的蛋白物质可以是亚麻种子中天然存在的蛋白, 或者蛋白物质可以是经遗传操作修饰, 但却具有天然蛋白特征性的疏水性和极性性质的蛋白。亚麻粗粉可以是含有各种水平非变性蛋白的亚麻油籽中去除亚麻油时产生的任何亚麻粗粉, 例如从热己烷提取或冷油挤出方法中得到的。从亚麻油籽中去除亚麻油通常是作为独立于此处所述蛋白分离物回收步骤的操作来进行的。

用盐溶液进行蛋白溶解最为有效, 因为盐的存在可以加强可溶性蛋白从油籽粗粉中的去除。盐通常是氯化钠, 尽管也可以使用其它的盐, 如氯化钾。盐溶液的离子强度至少约 0.10 M, 优选至少约 0.15 M, 一般最高达约 2.0 M 以便能够进行显著量蛋白的溶解。随着盐溶液离子强度的增加, 油籽粗粉中蛋白的溶解程度在初始时增加直至达到最大值。任何后来的离子强度的增加都不增加溶解的总蛋白。获得最大程度蛋白溶解的盐溶液的离子强度各不相同, 这有赖于关注的盐以及所选的油籽粗粉。

考虑到随着离子强度的增加, 蛋白沉淀需要更大程度的稀释, 通常优选采用离子强度值小于约 1.0, 更优选约 0.15 至约 0.6 的值。

批次方法中, 在高于约 0°C 的温度, 优选最高达约 35°C 时进行蛋白的盐溶, 优选伴有搅拌来减少溶解时间, 这通常是约 10 至约 90 分

钟。优选进行溶解来从油籽粗粉中提取基本上最大量的蛋白，以提高产率。由于在批次模式下更高的温度水平使该方法变得不够经济，所以选择约 35°C 的优选上限温度。

在连续方法中，任何兼容从亚麻油籽粗粉中连续提取蛋白的方式都可以用来从亚麻油籽粗粉中提取蛋白。在一个实施方案中，连续混合亚麻油籽粗粉与盐溶液并且让混合物在一定流速下通过一定长度的管或管道以确保停留时间足以按此处所述的参数来进行期望的提取。在这种连续操作中，在最长达约 10 分钟的时间内，快速进行盐溶步骤，优选进行溶解来从亚麻油籽粗粉中提取基本上最大量的蛋白。连续操作中的溶解优选在提高的温度下进行，通常最高达约 60°C 或更高。

盐的水溶液和亚麻油籽粗粉具有约 5 至约 7 的天然 pH，这使得可以通过胶束途径形成蛋白分离物，如下面更为详细的描述。亚麻或 linola 蛋白分离物的最大产率的最适 pH 值因所选亚麻油籽粗粉而异。

在 pH 范围的边限和接近该边限时，蛋白分离物的形成仅仅有部分是 通过胶束途径发生的，并且其产率低于 pH 范围内其它值时可获得的产率。因此，优选的 pH 值为约 5.3 至约 6.2。

当需要的时候，对于提取步骤的应用，可用任何方便的酸或碱将盐溶液的 pH 调整到约 4 至约 7 范围内的任何期望值，通常酸用盐酸，通常碱用氢氧化钠。

在溶解步骤中油籽粗粉在盐溶液中的浓度可以在宽范围内变化。典型的浓度值是约 5 至约 15% w/v。

使用盐水溶液的蛋白提取步骤具有另外的溶解脂肪作用，脂肪可能存在于亚麻籽粗粉中，然后使脂肪出现在水相中。

来自提取步骤的蛋白溶液的蛋白浓度一般约 5 至约 40 g/L，优选地约 10 至约 30 g/L。

之后可以用任何方便的方式将来自提取步骤的水相从剩余亚麻油籽粗粉中分离出来，例如通过使用真空过滤，接着用离心和/或过滤来去除剩余粗粉。为了处理，可将分离出的剩余粗粉干燥。

当亚麻籽粗粉含有显著量脂肪时，那么可对分离出的蛋白水溶液和下面讨论的浓缩蛋白水溶液进行脱脂，该脱脂步骤在美国专利 Nos. 5,844,086 和 6,005,076 中有描述，所述专利转让给此处的受让人，

并通过参考并入此处。

作为使用盐水溶液提取亚麻油籽粗粉的替代方案，可单独用水来进行提取，但与盐水溶液相比，单独用水更倾向于从亚麻油籽粗粉中提取出较少蛋白。当使用此替代方案时，为了在下面描述的浓缩步骤中将蛋白保留在溶液中，可在从剩余亚麻油籽粗粉中分离蛋白溶液之后，在上面讨论的浓度下，将盐加入到蛋白溶液中。

之后浓缩蛋白水溶液来增加其蛋白浓度，并使其离子强度基本上维持恒定。通常进行该浓缩以便提供蛋白浓度至少约 150 g/L，优选地至少约 250 g/L 的浓缩蛋白溶液。

浓缩步骤可按任何兼容批次或连续操作的方便方式使用膜来进行，例如通过使用任何方便的选择性膜技术，例如超滤或渗滤，所用膜如中空纤维膜或缠绕式膜 (spiral wound membrane)，根据膜材质和构造差异，所述膜具有合适的截留分子量，例如约 3,000 至约 100,000 道尔顿，优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿，而对于连续操作，所述膜的尺寸当蛋白水溶液透过膜时允许期望的浓缩程度。

然后将浓缩的蛋白溶液进行渗滤步骤，其中使用与提取溶液具有相同摩尔浓度和 pH 的盐水溶液，所述盐水溶液通常是氯化钠溶液。这种渗滤可用从约 2 至约 20 倍体积的渗滤溶液来进行，优选约 5 至约 10 倍体积的渗滤溶液。在渗滤操作中，通过使透过物透过膜，从蛋白水溶液中去掉更多量的污染物。可将渗滤进行到渗透物中不再有明显量的污染物为止。根据膜材料和构造差异，可使用截留分子量在约 3,000 至约 100,000 道尔顿范围的膜来进行此渗滤，优选约 5,000 至约 10,000 道尔顿。

在至少部分渗滤步骤中渗滤介质中可以存在抗氧化剂。抗氧化剂可以是任何方便的抗氧化剂，例如亚硫酸钠或抗坏血酸。抗氧化剂在渗滤介质中的使用量有赖于所用材料并且可以从约 0.01 至约 1 wt% 变化，优选约 0.05 wt%。

可在任何方便的温度下，通常约 15°C 至约 60°C，在获得期望浓缩程度的时间，进行浓缩步骤和任选的渗滤步骤。温度以及其他所用条件在一定程度上有赖于进行浓缩所用的膜设备和期望的溶液蛋白浓度。

众所周知，超滤和类似选择性膜技术允许低分子量物质通过而阻

止高分子量物质通过。低分子量物质不仅包括食品级盐的离子物质还包括从原材料中提取的低分子量物质，例如碳水化合物、色素和抗营养因子、以及任何低分子量形式的蛋白。根据膜材料和构造差异，通常选择膜的截留分子量要确保保留溶液中大部分蛋白，而允许污染物通过。

可将浓缩过和任选渗滤过的蛋白溶液进行巴氏消毒以便杀灭可能出现在原粗粉中并在提取步骤中从粗粉提取到亚麻蛋白分离物溶液中的任何细菌，这些细菌是由于贮存或其他原因引起的。该巴氏消毒可在任何期望的巴氏消毒条件下进行。通常将浓缩的和任选经渗滤的蛋白溶液加热至约 55°至约 70°C，优选约 60°至约 65°C，持续约 10 至约 15 分钟，优选约 10 分钟。然后可将经巴氏消毒的浓缩蛋白溶液冷却，优选冷却到约 25°至约 40°C 的温度，以进行下面所述的进一步处理。

根据浓缩步骤中使用的温度，浓缩的蛋白溶液可加温到至少约 20°，最高至约 60°C，优选约 25°至 40°C，以降低浓缩蛋白溶液的粘度以便促进后续稀释步骤和胶束形成的操作。不应将浓缩的蛋白溶液加热超过这样的温度，高于该温度时浓缩蛋白溶液不允许在冷水稀释时形成胶束。如果需要，如美国专利 Nos. 5,844,086 和 6,005,076 中所述，可将浓缩蛋白溶液进行进一步脱脂操作。

然后通过将浓缩蛋白溶液与冷水混合，将来自浓缩步骤和任选除脂步骤的浓缩蛋白溶液进行稀释来形成胶束，其中所需的冷水体积应可获得预期的稀释程度。将浓缩蛋白溶液稀释约 15 倍或更少，优选约 10 倍或更少。

与浓缩蛋白溶液相混合的冷水的温度低于约 15°C，通常约 3°至 15°C，优选低于约 10°C，因为在所用稀释因子下，用这些较冷的温度可获得更高产率的蛋白胶团形式的蛋白分离物。

在批次操作中，如上所述将批次的浓缩蛋白溶液加入到具有期望体积的静态冷水中。浓缩蛋白溶液的稀释以及后续离子强度的降低可引起形成高度缔合的蛋白分子的云状团，它们是胶束形式的离散蛋白滴形式。在批次操作中，允许蛋白胶束在冷水体中沉降而形成聚集的、聚结的、密集的、无定形的、粘性面筋状的蛋白胶团 (PMM)。例如可通过离心的方法来辅助这一沉降过程。这种诱导的沉降降低了蛋白胶团的液体含量，从而将含水量从总胶团的通常约 70 重量%至约 95 重量%

降低到通常约 50 重量%至约 80 重量%。以此方式降低胶团的含水量也降低保留于胶团中的盐含量，以及干燥的分离物的盐含量。

作为替代，稀释操作可连续进行，让浓缩蛋白溶液连续通过 T-形管的一个入口，而稀释水输入 T-形管的另一个入口，使其在管内混合。稀释水输入 T-形管的速率应足以获得浓缩蛋白溶液的期望稀释程度。

浓缩蛋白溶液和稀释水在管中的混合引起蛋白胶束形成，混合物连续地从 T-形管出口流出并进入到沉降容器中，当充满的时候，允许上清液从该容器中溢出。优选按照使液体湍流最小的方式将混合物输入沉降容器的液体中。

在连续操作中，允许蛋白胶束沉降在沉降容器中来形成聚集的、聚结的、密集的、无定形的、粘性面筋状的蛋白胶团 (PMM)，并且继续该步骤直到在沉降容器底部累积到期望量的 PMM，然后将累积的 PMM 从沉降容器中移出。

沉降的分离物从剩余水相或上清液中分离出来，例如通过从沉降物中倾出剩余水相或通过离心。可使用湿润形式或干燥形式的 PMM，通过任何方便的技术，例如喷雾干燥、冷冻干燥或真空鼓干燥来获得其干燥形式。干燥的亚麻蛋白分离物具有高蛋白含量，超过约 90 wt% 的蛋白，优选至少约 100 wt% 蛋白 ($N \times 6.25$)，并且基本上没有变性（如示差扫描量热法所测定）。从脂肪油籽粗粉中分离出的干燥亚麻蛋白分离物中残留的脂肪含量低，当应用 USP 5,844,086 和 6,005,076 的方法时残留脂肪含量可低于约 1 wt%。

PMM 形成和沉降步骤的上清液含有显著量的亚麻蛋白，在稀释步骤中没有将其沉淀，而可处理上清液来从中回收附加量的蛋白。

在这种方法中，除去 PMM 之后，可将稀释步骤的上清液浓缩以便增加其蛋白浓度。可用任何方便的选择性膜技术使用膜进行这种浓缩，如超滤，所用膜具有合适的截留分子量，允许低分子量物质通过膜，包括食品级盐和其他从原材料中提取的非蛋白低分子量物质，而将亚麻蛋白保留在溶液中。根据膜材料和构造差异，可以用截留分子量约 3,000 至 100,000 道尔顿的超滤膜。按此方式进行的上清液浓缩也降低了需要干燥以回收蛋白的液体体积，从而降低干燥所需的能量。在干燥之前，通常将上清液浓缩至约 50 至 300 g/L，优选约 100 至约 200 g/L 的蛋白浓度。

可以用任何方便的技术,例如,喷雾干燥、冷冻干燥或真空鼓干燥,将浓缩上清液干燥成干燥形式来提供额外的亚麻蛋白分离物。这种额外的亚麻蛋白分离物蛋白含量高,通常超过约 90 wt%的蛋白($N \times 6.25$),优选至少 100 wt%,并且基本上没有变性(如示差扫描量热法所测定)。如果希望,可在干燥之前将湿 PMM 和浓缩上清液组合,然后用任何方便的技术干燥组合蛋白流来提供组合亚麻蛋白分离物。组合亚麻蛋白分离物蛋白含量高,超过约 90 wt%的蛋白($N \times 6.25$),优选至少约 100 wt%,并且基本上没有变性(如示差扫描量热法所测定)。

在另一个替代方案中,仅部分浓缩上清液可与至少部分 PMM 混合,并干燥所得混合物。可以和任何剩余的 PMM 一样将剩余浓缩上清液进行干燥。此外,也可以将干燥 PMM 和干燥上清液按任何期望的相对比例干燥混合。

通过按此种方式操作,可以回收多种亚麻蛋白分离物,形式可以是干燥的 PMM、干燥的上清液以及 PMM 和上清液各种重量比例的干燥混合物,通常重量比是从约 5:95 至约 95:5,这可以是获得不同功能和营养性质所期望的。

作为替代,共同未决的美国专利申请 No. 60/544,346 中描述的回收 canola 蛋白分离物的方法可用于回收亚麻蛋白分离物,所述申请提交于 2004 年 2 月 17 日,转让给此处的受让人,并且其中所公开内容通过参考并入此处。根据其中所述方法,直接干燥来自蛋白溶液浓缩步骤的浓缩蛋白溶液,而不是加工生产 PMM,也不是分别加工上清液。可按任何方便的方式对浓缩蛋白溶液进行上述干燥,例如喷雾干燥、冷冻干燥或真空鼓干燥,所述浓缩蛋白溶液也可任选地渗滤和脱脂。

与经上述方法所获得的相比,因为所述直接干燥方法形成的蛋白分离物通常纯度较低,尤其盐含量较高,优选将它们用于非-人应用,尽管可以用任何方便的方法处理蛋白分离物来降低它们的盐含量,例如透析。

在任何给定的蛋白分离物中各种蛋白的相对量可用任何方便的分析技术来确定,例如分析分离技术。这些技术中最常见的使用在柱子中的选择性基质,该基质允许基于大小进行分离。对于凝胶渗透色谱(GPC)的应用,使用球形凝胶状材料。当使用压力时,如高压液相色谱(HPLC),就使用硬介质。后面的技术也被称为大小排阻色谱(SEC)。

对于按照此处所述制备的亚麻蛋白分离物样品，使用这些技术所得的结果包含在下面实施例中。

来自 PMM 的亚麻蛋白分离物以及来自上清液的亚麻蛋白分离物主要由 7S 亚麻蛋白（亚麻素的一半）组成，其分子量约 162,000 至 169,000 Da，还有小量亚麻素，其分子量约 415,000 至 440,000 Da，以及辅亚麻素，其分子量约 16,000 至 17,000 Da。一般而言，来自 PMM 的蛋白含有：

约 65 至 95 wt% 的 7S 亚麻蛋白（亚麻素的一半）；

约 0 至 20 wt% 的亚麻素；以及

约 0 至 20 wt% 的辅亚麻素。

一般而言，来自上清液的蛋白含有：

约 65 至 95 wt% 的 7S 亚麻蛋白（亚麻素的一半）；

约 0 至 20 wt% 的亚麻素；以及

约 0 至 20 wt% 的辅亚麻素。

实施例

实施例 1:

本实施例举例说明从 Linola 油籽粗粉中去除粘胶。

通过碳酸氢钠水溶液与 Linola 油籽按照 1:8 的种子：溶剂比例用设置在高速的架空混合器在 50°C 混合 1 小时，所述 Linola 油籽已经用各种浓度水平的碳酸氢钠洗涤过。

在每种碳酸氢钠水溶液测试浓度下进行洗涤，以便比较从种子中去除的粘胶量。用每种浓度的 4 L 碳酸氢钠洗涤总共 500 g linola。

倾出每次洗涤的上清液，并从每次的上清液中取 100 ml 用 88% 乙醇按 1:1 稀释来沉淀任何溶解的粘胶。然后收集并干燥粘胶来计算从种子中去除的粘胶总量。

在各种浓度的碳酸氢钠溶液下提取的量如表 I 所示：

表 1

每个浓度下第一次洗涤期间除去的粘胶的重量

碳酸氢钠浓度	粘胶重量(g)
0.1M	16.0g
0.3M	16.4g
0.5M	32.0g

从表 I 可以看出, 0.5 M 的碳酸氢钠浓度去除粘胶比更低浓度有效得多。此外, 浓度为 0.5 M 时, 种子仍有由粘胶产生的粘感。进行第二次相同洗涤, 又去除 34 克粘胶。第二次洗涤之后, 进行第三次洗涤, 又去除 36.4 克粘胶。第四次洗涤产生很少的粘胶, 证明从 500 克 linola 种子中完全去除粘胶。总共去除了 102.8 克粘胶。

这些洗涤之后, 种子没有由粘胶带来的“粘”感, 这为大多数粘胶已经去除提供又一个良好的证明。

实施例 2:

本实施例举例说明根据本发明一个实施方案制备亚麻粗粉。

将 25 kg linola 油籽, 品种 2047, 加入到盛有 200 L 50°C 0.5 M 碳酸氢钠的 400 L 混合罐中。剧烈搅拌浆液 1 小时。沉降之后, 倾出水相并弃去废料。倾出水相中的一升用等体积乙醇稀释, 以便沉淀粘胶来提供去除粘胶量的大致估算。

倾出水相之后, 用热自来水漂洗种子两次来去除任何残留的洗涤溶液。重复 5 次碳酸氢钠提取、分离和洗涤步骤。然后用热自来水洗涤种子 4 次来去除任何残留的洗涤液和粘胶。发现种子已经失去了特征性的粘感, 这为已经去除粘胶提供了良好指征。

发现每次连续碳酸氢钠水溶液洗涤比前次洗涤去除的粘胶更少, 第五次洗涤时, 当用乙醇稀释时, 从一升洗涤溶液中沉淀出很少的粘胶, 这为从种子中已经除去大多数粘胶提供良好指征。

然后干燥、洗涤并脱脂种子来从种子中去除油。

实施例 3:

本实施例举例说明通过等电点沉淀从粘胶减少的粗粉中制备 Linola 蛋白分离物。

按照实施例 2 所述制备的 10 kg 脱脂的 Linola 油籽粗粉, 加入到 200 L 室温 0.15 M NaCl 溶液中, 用 50 wt% 氢氧化钠溶液将混合物 pH 调整到 11.0。持续 1 小时搅拌浆, 此后允许提取后的粗粉从所得蛋白溶液中沉降 1 小时。

然后将蛋白含量为 13 g/L 的 100 L 蛋白溶液倾出并在压滤机中经 20 和 0.2 μm 过滤器过滤以使溶液澄清。然后将澄清的溶液置于 4°C 冷却器持续 16 小时使任何出现的油升到表面, 能够将其撇去。看到很少的油, 表明脱脂步骤很有效。

在环境温度下用 3 N HCl 将蛋白溶液的 pH 调整到 4.0, 蛋白立即开始沉淀, 并且溶液颜色从金黄色变为乳白色。一旦停止混合, 蛋白迅速从溶液中沉淀出来。两小时沉降期后, 倾出上清液并分析蛋白含量。

去除上清液之后, 在 $10,000 \times g$ 下将 10 L 沉降物离心 5 分钟来减少沉淀蛋白的残留上清液含量。将所得沉淀重新配制到 4 L 水中, 喷雾干燥, 提供 293 g 干燥的来自 IEP 的 Linola 蛋白分离物。喷雾干燥蛋白的蛋白含量为 101 wt% ($N \times 6.25$) d.b.

实施例 4:

本实施例举例说明实施例 3 中生产的 Linola 蛋白分离物的功能特性。

与根据未决美国专利申请 No. 10/137, 391 中所述方法生产的来自 PMM 和来自上清液的 Canola 蛋白分离物 (CPI) 的典型样品相比, 对根据实施例 3 的方法 (IEP Linola) 生产的来自 IEP 的 Linola 蛋白分离物的发泡和持油能力进行功能特性测试, 所述美国专利申请 No. 10/137, 391 于 2002 年 5 月 3 日提交 (WO 02/089597), 转让给此处受让人, 并且其公开内容通过参考并入此处。

所用测试方法参见共同未决的美国专利申请 No. 10/137, 306, 提交于 2002 年 5 月 3 日 (WO 02/089597), 转让给此处受让人, 并且其公开内容通过参考并入此处。

对于发泡, 所用方法如 Phillips et al, J. Food Sci. 55:1441, 1990 中所述。将 3.75 g 蛋白分离物样品各自单独置于 150 ml 烧杯中。将 60 ml 0.075 M NaCl 溶液加入到蛋白中, 通过先用若干 ml 液体制备糊以溶解蛋白。用带有磁力搅拌棒的搅拌器持续混合混合物 10 分钟。用 0.1 M NaOH 将溶液 pH 调整到 7.00, 再搅拌溶液 10 分钟。重新调整 pH 到 7.00, 并用需要量的 0.075 M NaCl 将溶液体积补充至 75 ml 来获得 5%w/v 蛋白溶液。向 Hobart 混合器碗中倾入 75 ml 溶液, 记录溶液、碗和附加搅拌器的总质量。以速度 3 搅动蛋白溶液 5 分钟。

用橡胶刮刀轻轻舀出足够泡沫来装满两个衡配的 125 ml 量杯。用大刀片的平端沿着与量杯顶端平齐的水平刮掉多余的泡沫并记录泡沫的质量。轻轻将泡沫返回到混合碗中再搅动 5 分钟。然后重复该方法。轻轻将泡沫返回到混合碗中再搅动 5 分钟, 总共持续 15 分钟。再次重

复该方法。

根据如下等式计算溢出：

$$\% \text{溢出} = \frac{(\text{wt125 mL 蛋白}) - (\text{wt125 ml 泡沫})}{(\text{wt125 ml 泡沫})} \times 100$$

也测试了泡沫的稳定性。除了以水平 3 搅动蛋白溶液 15 分钟外，如测量%溢出程度中所述相同方式准备蛋白溶液。用橡胶刮刀小心地将泡沫转入置于 250 ml 量筒顶部的 1 L 长颈漏斗中。将少量石英棉置于漏斗出口顶部防止泡沫排出而仍能允许液体排出。

测量 5、10 和 15 分钟时收集在量筒中液体的体积。将保持在石英棉中的体积加入到最终体积中。

对于持油能力，本实施例中所用方法描述于 Swift et al, Food Technol. 15, 436-72 (1961)。

表 II 中所述配方用于制备乳液：

成分	添加的重量(g)
蛋白分离物	0.5
醋（未命名的 5%乙酸）	55.2
Canola 油 (CSP Foods)	N/D
糖（Rogers 精制砂糖）	4.1
盐 (Sifto)	1.2
蒸馏水	52.4

N/D=未测定

将糖、盐和蛋白分离物在 600 ml 烧杯中干燥混合。混合水和醋，通过先用几 ml 液体溶解蛋白制成糊。在搅拌器上用磁棒将混合物混合 5 分钟。将 (Canola) 油装入 2000 ml 烧杯并记录重量。将抽吸软管置于油中。

将软管的分配端与匀浆器连接，启动泵用设置#1 以约 40-50ml/分钟分配油。与此同时，将匀浆器 (Silverson LHRT) 调至 5,000 rpm 并打开泵来分配油。观察乳液最粘的点。在反转点立即关闭泵和匀浆器。用夹子将抽吸软管末端夹住以保持油在里面，并确定 200 ml 烧杯中剩余的油的重量。

所得结果如下面表 III 和 IV 所述:

表 III

IEP 来源的 Linola 蛋白分离物与 Canola PMM 来源的 CPI

批次	%溢出 (泡沫体积)	泡沫稳定性 (M1 排出物在 15 分钟)	持油能力 (M1 油/100mg 蛋白)	球形尺寸 (μM)
CPI-1	1471.8	17.5	147.7	18.9
CPI-2	1030.4	32.7	190.5	29.1
CPI-3	1216.5	24.0	119.8	24.3
CPI-4	1051.2	45.3	115.4	21.6
CPI-5	1091.6	35.3	124.5	28.0
CPI-6	1196.1	34.0	166.9	24.6
来源于 IEP 的 Linola	1770.9	0.67	118.9	59.0

表 IV

IEP 来源的 Linola 蛋白分离物与 Canola 上清液来源的 CPI

批次	%溢出 (泡沫体积)	泡沫稳定性 (M1 排出物在 15 分钟)	持油能力 (M1 油/100mg 蛋白)	球形尺寸 (μM)
CPI-7	2603.6	22.7	67.2	72.6
CPI-8	1984.8	21.3	53.6	151.7
CPI-9	1924.4	22.0	43.3	151.7
CPI-10	1889.2	17.3	41.3	192.4
来源于 IEP 的 Linola	1170.9	0.67	118.9	59.0

从表 III 可以看出, IEP Linola 蛋白分离物的泡沫特性优于 PMM 来源的 Canola 蛋白分离物, 具有更高泡沫体积和更少排出物 (更好的稳定性)。IEP Linola 蛋白分离物的持油能力与 PMM 来源的 Canola 蛋白分离物的相当, 但是球形尺寸更大。

从表 IV 可以看出, IEP Linola 蛋白分离物产生的泡沫体积少于上清液来源的 Canola 蛋白分离物所产生的, 但是泡沫要稳定得多。Linola 蛋白分离物的乳化特性优于上清液来源的 Canola 蛋白分离物。Linola 蛋白分离物的持油能力约是上清液来源的 Canola 蛋白分离物的两倍, 并具有更小的球形尺寸。

实施例 5:

本实施例举例说明通过胶束途径从粘胶减少的粗粉中制备 Linola 蛋白分离物。

将按照实施例 2 中所述制备的 4 kg 脱脂 Linola 油籽粗粉加入到 80 L 室温 0.5 M 的 NaCl 溶液 (5% w/v) 中。混合浆 1 小时, 之后让浆沉降半小时并倾出蛋白水溶液。倾出的蛋白水溶液的蛋白含量为 7.1 g/L, 体积为 55 L。滤液通过压滤机中的 20 μM 过滤垫以去除悬浮固

体。用 20 L 水冲洗压滤机来提供蛋白含量为 5.28 g/L 的 75 L 滤出液。

用截留分子量为 300 道尔顿的超滤膜对滤出液进行超滤，将溶液浓缩为 1.3 L 浓缩蛋白水溶液（保留物），蛋白含量为 174 g/L。然后将保留物稀释到 9 倍体积的 4°C 水中，从而产生白云状的蛋白胶束。

允许 16 个小时的沉降期，之后倾出上清液并将其离心来回收尽可能多的沉淀物以便提供蛋白含量为 1.11 g/L 的 11 L 上清液。也对沉淀步骤中获得的 Linola 蛋白分离物沉淀进行离心将体积减少到最小水平。

干燥 Linola 蛋白分离物沉淀来产生 81 g 干燥蛋白，这代表从 Linola 籽粗粉中提取的 20 wt% 蛋白产率。干燥的 Linola 蛋白分离物的蛋白含量为 112 wt% (N × 6.25) d. b.。

澄清的上清液用截留分子量为 300 道尔顿的膜浓缩至含有 63.3 g/L 蛋白的 1.25 L 浓缩上清液。干燥浓缩的上清液，产生 77 g 蛋白含量为 106 wt% (N × 6.25) d. b. 的 Linola 蛋白分离物（20% 产率）。

如共同未决的美国专利申请 No. 10/413,371 中所述，对两个 Linola 组分进行高压液相色谱（HPLC）分析，所述申请提交于 2003 年 4 月 15 日 (W0 03/088760)，转让给此处受让人，其公开内容通过参考并入此处。

实施例 6

本实施例举例说明实施例 5 中产生的 PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物的功能特性。

与根据前述美国专利申请 No. 10/137,391 (W002/089597) 中所述方法生产的典型 PMM 来源的和上清液来源的 canola 蛋白分离物（CPI）相比，根据实施例 4 中所述方法，对根据实施例 5 方法制备的 PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物进行发泡和持油能力的功能特性测试。

所得结果如随后的表 V 和 VI 所述：

表 V

Linola 蛋白分离物与 canolaPMM 来源的 CPI

批次	% 溢出 (泡沫体积)	泡沫稳定性 (在15分钟时 排出物ml数)	持油能力 (ml油/100 mg 蛋白)	球形尺寸 (μ M)
CPI-1	1471.8	17.5	147.7	18.9
CPI-2	1030.4	32.7	190.5	29.1
CPI-3	1216.5	24.0	119.8	24.3
CPI-4	1051.2	45.3	115.4	21.6
CPI-5	1091.6	35.3	124.5	28.0
CPI-6	1196.1	34.0	166.9	24.6
PMM来源的Linola	1464.0	2.0	139.5	19.8
上清液来源的Linola	1470.0	0	81.4	11.8

表 IV

Linola 蛋白分离物与 canola 上清液来源的 CPI

批次	% 溢出 (泡沫体积)	泡沫稳定性 (在15分钟时 排出物ml数)	持油能力 (ml油/100 mg 蛋白)	球形尺寸 (μ M)
CPI-7	2603.6	22.7	67.2	72.6
CPI-8	1984.8	21.3	53.6	151.7
CPI-9	1924.4	22.0	43.3	151.7
CPI-10	1889.2	17.3	41.3	192.4
CPI-11	2776.8	4.0	47.1	118.9
PMM来源的Linola	1464.0	2.0	139.5	19.8
上清液来源的Linola	1470.0	0	81.4	11.8

从表 V 和 VI 可以看出, PMM 来源的和上清液来源的 canola 蛋白分离物的功能特性很相似, 正如从它们的相似 HPLC 特性可以预期的, 主要差异是乳液特性, 差异在于两个组分间的持油能力和球形尺寸。

在大多数分类中, PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物的功能性等同于或优于 PMM 来源的和上清液来源的 canola 蛋白分离物。在泡沫体积方面, PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物不如 PMM 来源的和上清液来源的 canola 蛋白分离物, 但是 Linola 泡沫的稳定性要好得多。

实施例 7:

本实施例举例说明对实施例 5 中产生的 PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物的分析。

从图 1 和 2 中可以看出, 两种 Linola 分离物的 HPLC 分析显示每种分离物主要由相同的成分组成, 其中 HPLC 分析按照共同未决的美国专利申请 No. 10/413, 371 (WO 03/088760) 所述进行, 该申请提交于 2003 年 4 月 15 日, 转让给此处的受让人, 并且其公开内容通过参考并

入此处。在两种 Linola 分离物中，主要蛋白成分的分子量都约为 162,000 至 169,000 Da，还有较少成分，其中一种的分子量在 16,000 至 17,000 Da 范围，另一种的分子量在 415,000 至 440,000 Da。这些结果总结于下表 VII 和 VIII 中：

表 VII

PMM 来源的 Linola 蛋白分离物的 HPLC 谱

蛋白组分	12S - 亚麻素	7S - 半亚麻素 (half linin)	2S - 辅亚麻素	其它
蛋白峰的 %	11.9	78.0	9.2	0.9
MW (kDa)	415-440	162-169	16-17	

表 VIII

上清液来源的 Linola 蛋白分离物的 HPLC 谱

蛋白组分	12S - 亚麻素	7S - 半亚麻素	2S - 辅亚麻素	其它
蛋白峰的 %	6.4	76.9	12.6	4.1
MW (kDa)	415-440	162-169	16-17	

实施例 8:

本实施例举例说明氨基酸分析。

对如实施例 3 和 5 所述制备的 Linola 蛋白分离物进行氨基酸含量分析。

氨基酸分析列于下表 IX:

表 IX

g/100 g干物质				
氨基酸 MW (1)	氨基酸	PMM来源的 分离物	上清液来源 的分离物	IEP来源 的分离物
133.1	天冬氨酸	11.50	11.40	11.90
119.1	苏氨酸	3.97	3.80	3.77
105.1	丝氨酸	4.74	4.87	4.88
204.2	色氨酸	1.84	1.81	1.75
146.1	谷氨酸	21.10	21.00	19.10
75.1	甘氨酸	5.61	5.62	5.26
89.1	丙氨酸	4.67	4.78	4.90
121.1	半胱氨酸	1.30	1.28	0.96
117.1	缬氨酸	5.30	5.70	5.92
149.2	甲硫氨酸	1.47	1.42	1.48
131.2	异亮氨酸	4.33	4.49	4.93
131.2	亮氨酸	5.33	5.36	5.76
181.2	酪氨酸	2.29	2.36	2.25
165.2	苯丙氨酸	4.85	4.86	5.86
155.2	组氨酸	2.03	2.02	2.09
146.2	赖氨酸	2.73	2.34	2.69
174.2	精氨酸	11.80	12.10	12.20
115.1	脯氨酸	3.71	3.87	4.05
	总计:	98.57	99.08	99.75
	平均aa MW (1)	134.75	135.33	136.43
	无水MW (2)	116.74	117.32	118.41

注: (1) “游离”氨基酸的分子量

(2) 多聚氨基酸的重均分子量。注: 不对谷氨酰胺或天冬酰胺进行调节, 它们分别包括于谷氨酸和天冬氨酸。

表 IX 中出现的值代表每 100 克干重量中的氨基酸克数。将数据调整到以 100 g 氨基酸为基准, 修正的数据表示于下表 X:

表 X

氨基酸小结: g/100 g氨基酸			
氨基酸	PMM来源的 分离物	上清液来源 的分离物	IEP来源的 分离物
天冬氨酸*	11.7	11.5	11.9
苏氨酸 ^e	4.0	3.8	3.8
丝氨酸	4.8	4.9	4.9
色氨酸 ^e	1.9	1.8	1.8
谷氨酸*	21.4	21.2	19.1
甘氨酸	5.7	5.7	5.3
丙氨酸	4.7	4.8	4.9
半胱氨酸 ^e	1.3	1.3	1.0
缬氨酸 ^e	5.4	5.8	5.9
甲硫氨酸 ^e	1.5	1.4	1.5
异亮氨酸 ^e	4.4	4.5	4.9
亮氨酸 ^e	5.4	5.4	5.8
酪氨酸	2.3	2.4	2.3
苯丙氨酸 ^e	4.9	4.9	5.9
组氨酸 ^e	2.1	2.0	2.1
赖氨酸 ^e	2.8	2.4	2.7
精氨酸 ^e	12.0	12.2	12.2
脯氨酸	3.8	3.9	4.1
总计:	100.0	100.0	100.0
总计必需氨基酸	45.6	45.6	47.5

e = 11 种必需氨基酸 aa = 氨基酸

*谷氨酸和天冬氨酸分别包括谷氨酰胺和天冬酰胺

从表 IX 和表 X 中可以看出, PMM 来源的、上清液来源的和 IEP 来源的 Linola 蛋白分离物的氨基酸谱极为相似。

表 IX 包括各个氨基酸的分子量。合并单个量, 三种蛋白分离物的“游离”氨基酸的平均分子量被示出, 都是约 135 Da。由于蛋白是无水氨基酸的生物聚合物, 所以还示出了无水的重均分子量, (每个氨基酸减去一个水分子, 不包括每个多肽的一个末端氨基酸)。平均多聚氨基酸分子量都是约 117 至 118 Da。表 X 还指出人类不能合成的必需氨基酸。三种蛋白分离物中 11 种必需氨基酸的总体含量极为相似。

实施例 9:

本实施例举例说明 Linola 蛋白分离物的示差扫描量热分析。

对如实施例 3 和 5 所述制备的 Linola 蛋白分离物进行示差扫描量热法分析。示差扫描量热法是一种仪器分析法, 它测量生物分子引起的相变。将样品和一些水或缓冲液一起置于密封的盘中, 并以恒定的速度加热, 例如 10°C/分钟, 来覆盖某特定温度范围, 例如 20°C 至 150°C。同步加热盛有水或缓冲液的第二个盘来作为参照。在温度升高

期间记录称为吸热热流的能量吸收的热像图。复杂的生物物质，例如蛋白，吸收能量并且此能量改变分子的构象，使其变性或去折叠。变性行为对单个蛋白或其他生物分子是特异性的，该分析提供样品的变性温度 T_D 以及以焦耳/克为单位的焓变 (ΔH)。热像图显示代表从天然到变性蛋白的相变的能“井”。“井”底代表 T_D 值。任何能“井”的消失表明已经发生了完全变性。

从图 3、4 和 5 可以看出，在热稳定性方面，PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物是相似的，正如从它们相似的 HPLC 特性中所可以预期的，上清液来源的 Linola 蛋白分离物具有稍高的稳定性。IEP 来源的 Linola 蛋白分离物的示差扫描量热法热谱表明该蛋白分离物基本上是变性的，相比而言 PMM 来源的和上清液来源的 Linola 蛋白分离物基本上未变性。

公开内容简述

就本公开总体而言，本发明提供生产亚麻蛋白分离物的改进方法，其中在去除亚麻油和制备亚麻油籽粗粉之前首先从亚麻油籽中提取粘胶，这样能获得更高的蛋白分离物产率以及在分离方法中具有更大灵活性。本发明还提供具有独特蛋白分离物的新亚麻蛋白分离物。可以在本发明范围内进行改进。

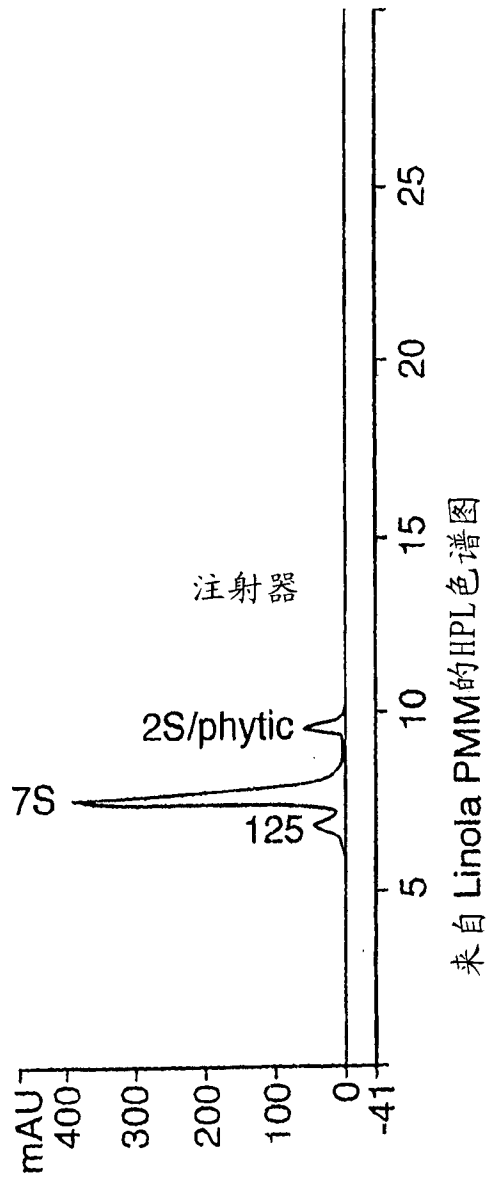
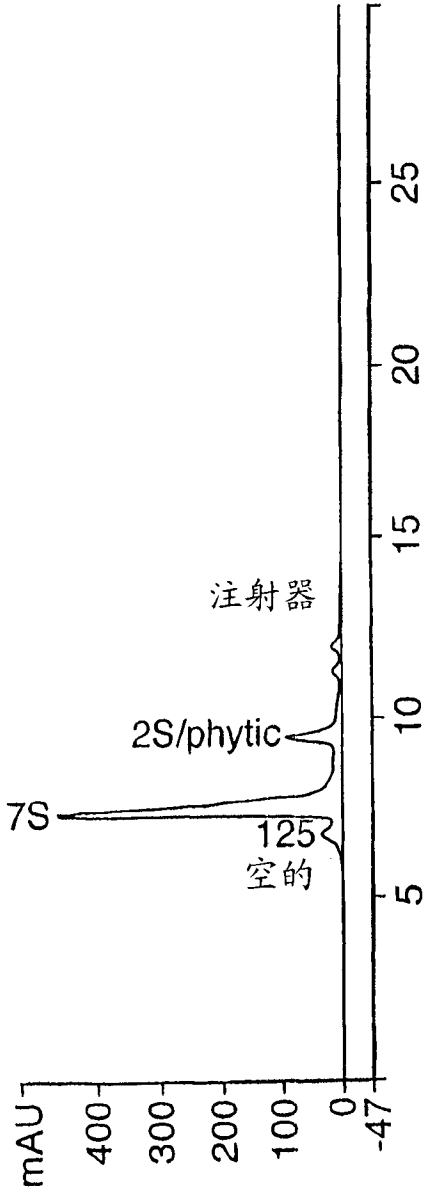


图 1



来自Linola的HPL色谱图

图 2

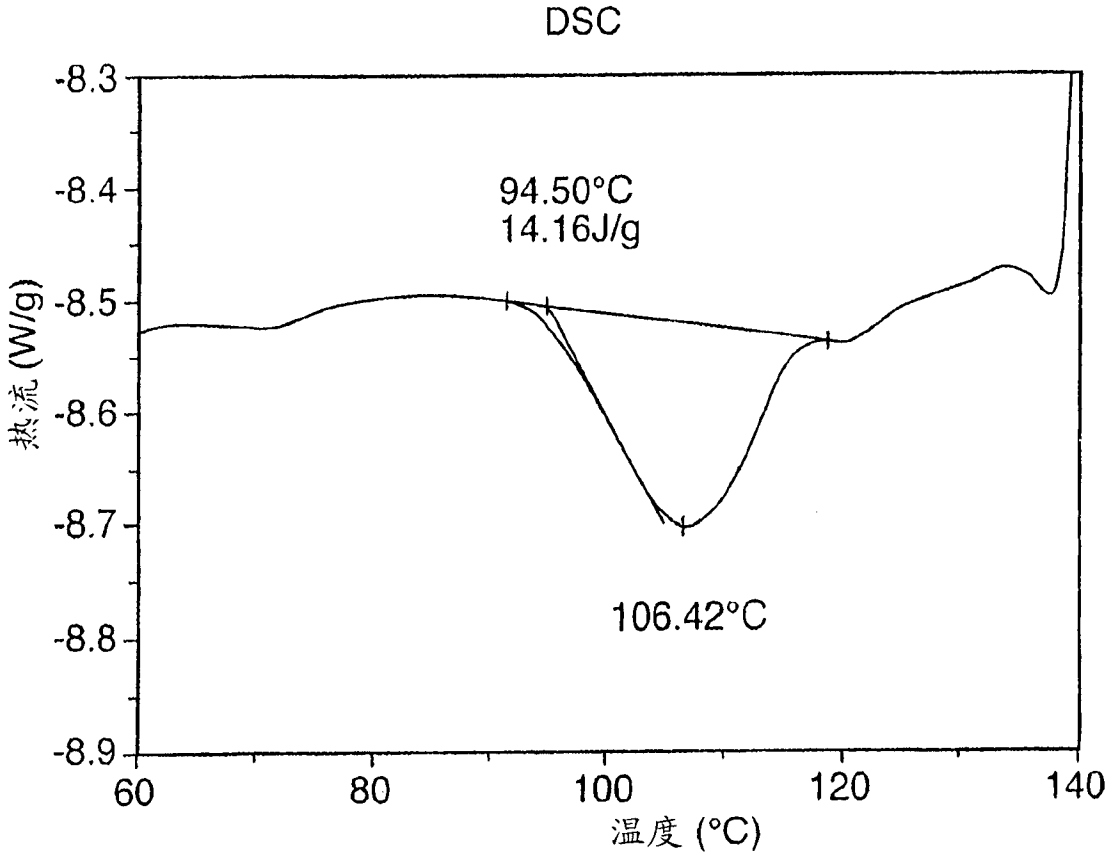


图 3

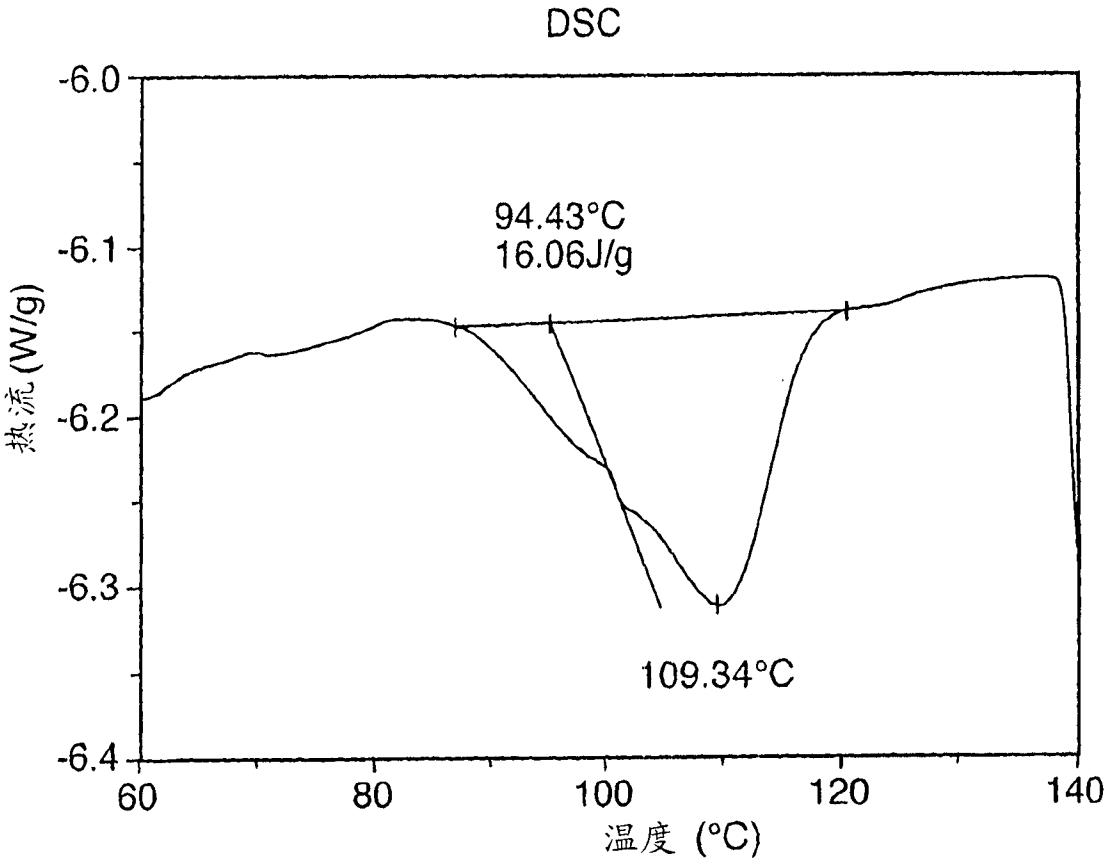


图 4

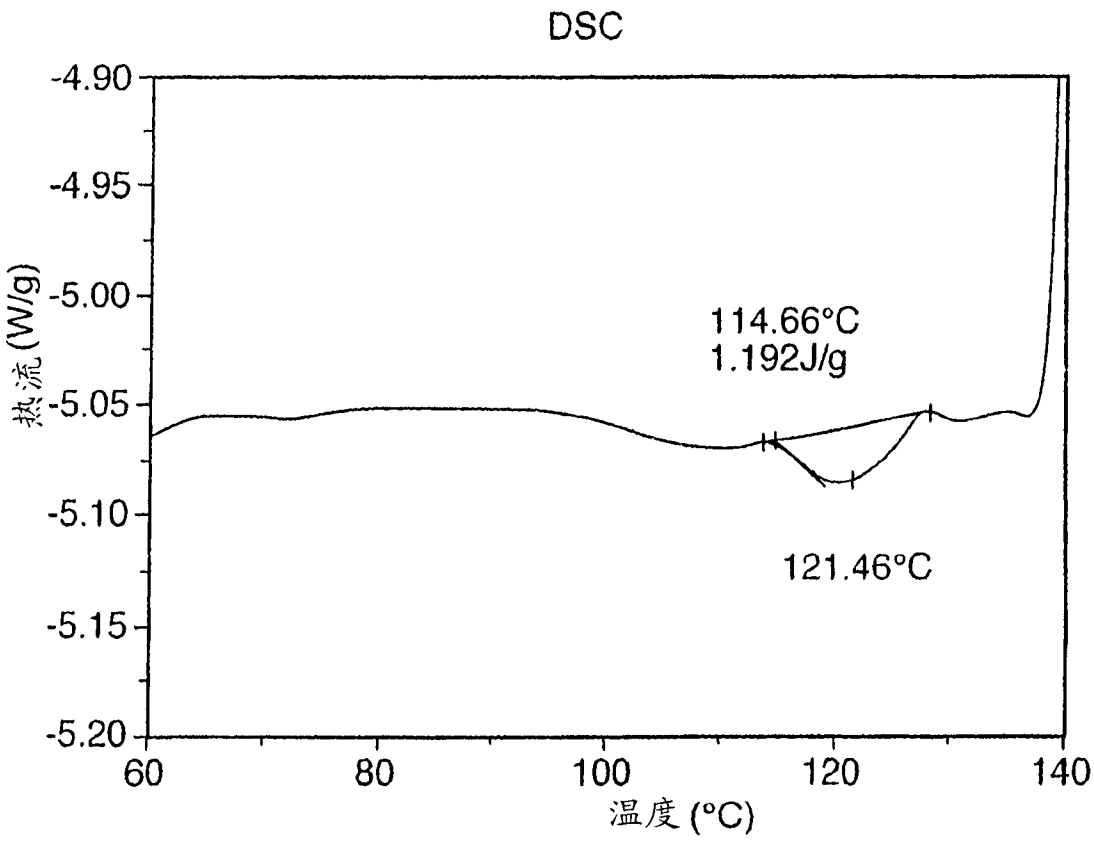


图 5