

超微粉碎对大豆蛋白功能特性的影响研究

高国祥,关二旗,李萌萌,卞 科

(河南工业大学 粮油食品学院,郑州 450001)

摘要:以低温脱脂豆粕为原料,采用布勒磨、超微粉碎机等设备粉碎豆粕,得到不同粒度分布的脱脂豆粉。探究粒度对脱脂豆粉功能特性的影响。结果表明:随脱脂豆粉粒度的减小,脱脂豆粉的溶解度、起泡能力、乳化稳定性、暴露巯基含量、总巯基含量显著提高;泡沫稳定性没有显著的改变;乳化活性、黏度降低较为显著;粒度为 15.11 μm 和 12.58 μm 的脱脂豆粉具有较好的功能特性。

关键词:脱脂豆粉;超微粉碎;粒度;功能特性

中图分类号:TQ646.5;TQ645.9+ 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)03-0030-05

Effect of superfine comminution on functional property of soybean protein

GAO Guoxiang, GUAN Erqi, LI Mengmeng, BIAN Ke

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Low-temperature defatted soybean meals were grinded using the Buhler mill and superfine grinder to get different particle sizes of defatted soybean flour. The effects of particle size on the functional properties of defatted soybean flour were investigated. The results showed that with the particle size of defatted soybean flour decreasing, the solubility, foamability, emulsion stability, exposure sulphur content and total sulphur content of defatted soybean flour significantly increased, foam stability did not significantly changed, and emulsifying activity and viscosity decreased significantly. Defatted soybean flour of 15.11 μm and 12.58 μm had good functional properties.

Key words: defatted soybean flour; superfine comminution; particle size; functional property

为了赋予大豆蛋白期望的功能特性,通常采用物理、化学、酶等技术对大豆蛋白进行改性。物理改性包括热^[1]、微波、超高压、超声波^[2]等手段。化学改性包括酸碱^[3]、接枝链、交联、酰化^[4]等。酶改性包括胰蛋白酶、木瓜蛋白酶等。超微粉碎技术作为新兴的技术手段,通过降低物料粒度,让物料结构和比表面积发生改变,并且产生原物料不具备的特性(表面活性、机械性能、理化特性等),相比于其他粉碎方法超微粉碎后的物料具有良好的分散性。Mut-takin 等^[5]对超微粉碎脱脂豆粉的研究表明,随着粒度的降低脱脂豆粉的持水性、水溶性、持油性、感官

特性显著提高。乔一腾等^[6]研究表明,大豆分离蛋白通过超微粉碎显著改善了功能特性。超微粉碎将蛋白粉碎到较小的粒度范围(10~25 μm),改变了蛋白质分子的二级、三级结构,造成蛋白质分子链的舒张和伸展,暴露亲水基团、疏水基团、氢键等活性基团,通过分子间作用力改善蛋白的功能特性,拓展其在工业中的应用范围。

本研究以脱脂豆粉为原料,分析脱脂豆粉随着粒度的降低,溶解度、黏度、乳化性、起泡性、巯基含量的变化,以期增强脱脂豆粉的功能特性,为脱脂豆粉的工业应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

低温脱脂豆粕:购于江苏永友食品科技有限公司;金龙鱼大豆油:购于丹尼斯超市;考马斯亮蓝 G-250、乙醇(95%)、磷酸(85%)、十二烷基硫酸钠(SDS)、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、氨基乙酸(Glycine)、 Na_2EDTA 、2-硝基苯

收稿日期:2017-10-23;修回日期:2017-12-25

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201303070);中原学者人才项目(豫科人组[2015]2号)

作者简介:高国祥(1992),男,硕士研究生,研究方向为谷物加工理论与技术(E-mail)915663248@qq.com。

通信作者:卞 科,教授(E-mail)kebian@163.com。

甲酸(DTNB),均为分析纯。

MUL-202型布勒实验磨:瑞士布勒;QYF-100型气流式超微粉碎机;MS 2000激光粒度仪:英国马尔文公司;NDJ-8S旋转黏度计;5810R型离心机:德国Eppendorf;UV-2000型紫外可见分光光度计;FJ-200型高速分散均质机。

1.2 实验方法

1.2.1 脱脂豆粉的组分测定

水分的测定参照GB 5009.3—2010;蛋白质的测定参照GB 5009.5—2010;粗脂肪的测定参照GB 5009.6—2016;灰分的测定参照GB 5009.4—2010。

1.2.2 不同粒度脱脂豆粉的制备

将低温脱脂豆粕通过布勒实验磨的皮磨磨粉,调节磨辊轧距(左侧为0.09 mm,右侧为0.09 mm)。研磨后的物料过60 GG筛网,得到粉末状的物料。将部分物料继续用9 XX、11 XX和15 XX筛网筛理。另一部分物料采用QYF-100型气流式超微粉碎机进行超微粉碎处理,气流压力为(0.80±0.5) MPa,气流温度为(2~12)℃,通过调整气流式超微粉碎机的变频电机转速(3 000~15 000 r/min),控制物料的粉碎粒度。

1.2.3 脱脂豆粉的粒度测定

采用MS 2000激光粒度仪测定脱脂豆粉的粒径和粒度分布,结果由仪器软件计算所得。 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 分别表示在粒径累积曲线上,小于或等于该值的样品占样品比例为10%、50%、90%。

1.2.4 脱脂豆粉的溶解度测定

参照Shen等^[7]的方法并稍作修改。准确称量0.3 g脱脂豆粉样品溶于30 mL蒸馏水中,室温下采用磁力搅拌器搅拌1 h后,用0.5 mol/L NaOH调节pH至7.0,在20℃下8 000 r/min离心20 min,取上清液50 μL,采用考马斯亮蓝法测定上清液的蛋白质含量。标准蛋白选用牛血清蛋白,绘制标准曲线。用蛋白质分散指数(PDI)表示蛋白质的溶解度,即上清液中可溶性蛋白质含量占样品中总蛋白质含量的百分比。

1.2.5 脱脂豆粉的起泡性测定

参照Yu等^[8]的方法测定。起泡能力为蛋白质溶液增加的体积百分比;泡沫稳定性为静置30 min后泡沫保留的体积百分比。

1.2.6 脱脂豆粉的乳化性测定

参照耿蕊等^[9]的方法稍作修改。准备0.1%的样品溶液40 mL,用0.5 mol/L的HCl或NaOH调节pH至7.0,均质20 s,加入10 mL大豆油,室温条件下10 000 r/min均质2 min,分别在0、10 min时,从溶液

底部吸取50 μL溶液加入到5 mL 0.1%的SDS溶液中,稀释振荡5 s后,用紫外分光光度计在500 nm处测定其吸光度,以SDS溶液为空白。

1.2.7 脱脂豆粉的黏度测定

配制10%的样品溶液50 mL,室温条件下磁力搅拌1 h。样品黏度的测定选用NDJ-8S旋转黏度计。

1.2.8 脱脂豆粉的巯基含量测定

参照Shen等^[10]的方法并稍作修改。将30 mg样品溶于10 mL 0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 7.0),吸取上清液2 mL于试管中,用3 mL Tris-Glycine缓冲液(0.086 mol/L Tris-0.09 mol/L Glycine-4 mmol/L Na₂EDTA)稀释,加入0.05 mL DTNB(4 mg/mL, Tris-Glycine缓冲液)悬浮液置于25℃下15 min,测定溶液在412 nm处的吸光度。以0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 7.0)作为空白,以不加DTNB为样品对照,计算巯基含量的摩尔消光系数是13 600 mol⁻¹·cm⁻¹。测定总巯基含量方法同上,将Tris-Glycine缓冲液换为缓冲液(0.086 mol/L Tris-0.09 mol/L Glycine-4 mmol/L Na₂EDTA-8 mol/L尿素)。

1.2.9 数据处理

实验数据经过Excel 2010和SPSS 20软件对数据进行统计学方差分析,显著性检验水平为 $P < 0.05$,采用Origin 8.5进行作图。

2 结果与讨论

2.1 脱脂豆粉基本组分(见表1)

表1 脱脂豆粉的基本组分			%
水分	蛋白质	粗脂肪	灰分
9.25±0.08	49.58±0.50	0.44±0.01	6.22±0.14

由表1可知,低温脱脂豆粕通过布勒实验磨皮磨系统的研磨,穿过60 GG筛网的物料水分含量为9.25%,蛋白质含量为49.58%,粗脂肪含量为0.44%。与市场中销售的脱脂大豆粉的蛋白质含量相近,符合脱脂豆粉的蛋白质含量要求。

2.2 超微粉碎脱脂豆粉的粒度分布

采用布勒实验磨和气流式超微粉碎机粉碎脱脂豆粕,通过改变筛孔的大小和变频电机的转速,得到不同粒度的脱脂豆粉样品。脱脂豆粉样品的粒度分布见表2。

由表2可知,在脱脂豆粉穿过15 XX筛网时,样品的中位粒径达到26.38 μm,基本符合超微粉体的粒度范围(10~25 μm)。随着变频电机转速的增大,脱脂豆粉的粒度逐步降低,比表面积逐渐增大。当变频电机转速达到12 000 r/min时,脱脂豆粉的

D_{50} 达到 9.61 μm ,比表面积增大到 1.13 m^2/g 。从脱脂豆粉粒度分布范围(D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90})可见,随着变

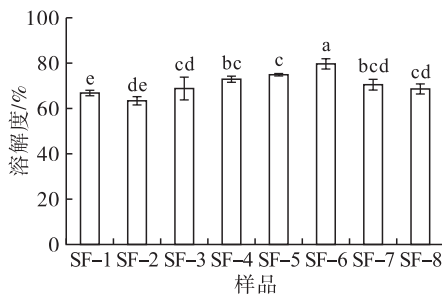
频电机转速的增大,脱脂豆粉粒度分布变得窄小,表明脱脂豆粉均一性、同质性显著改善。

表2 脱脂豆粉的粒度分布

脱脂豆粉	处理条件	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	比表面积/ (m^2/g)
SF-1	60 GG/9 XX	38.82	188.97	355.75	0.08
SF-2	9 XX/11 XX	17.84	116.46	213.00	0.14
SF-3	11 XX/15 XX	10.67	71.39	147.73	0.24
SF-4	15 XX/-	6.87	26.38	67.36	0.50
SF-5	电机转速 4 800 r/min	5.66	20.93	54.92	0.61
SF-6	电机转速 7 500 r/min	4.76	15.11	35.85	0.85
SF-7	电机转速 9 000 r/min	4.35	12.58	28.23	0.96
SF-8	电机转速 12 000 r/min	3.93	9.61	19.35	1.13

2.3 粒度对脱脂豆粉溶解度的影响

图1为不同粒度脱脂豆粉的溶解度。



注:柱上不同小写字母代表差异显著,下同。

图1 粒度对脱脂豆粉溶解度的影响

由图1可知,随着样品粒度的降低,脱脂豆粉的溶解度显著提高,样品的粒度 D_{50} 降低到15.11 μm 时,溶解度达到最大值79.73%,随着粉体粒度的继续降低,溶解度显著降低。可能的原因是随着粒度降低,脱脂豆粉比表面积增大,提高了大豆蛋白与水的结合能力^[5];同时粒度降低,粉体表面电荷增大,蛋白质分子间的静电排斥力增大,促进大豆蛋白的溶解。超微粉碎脱脂豆粉时,在高压剪切作用下不溶性聚合物破碎或降解成为较小的可溶性聚合物,提高蛋白质的溶解度^[11]。随着粉体粒度的降低,大豆蛋白分子链伸展和舒张、分子柔性增大,暴露了包埋在蛋白质分子内部的疏水基团、巯基和氢键,疏水基团的暴露造成分子表面亲水基团的内埋,将水分子包埋在蛋白质分子内部,提高大豆蛋白的溶解度。随着粒度的继续降低,分子中包埋的—SH和疏水基团暴露的数量增大,产生的疏水相互作用、—SH/—S—S—交换,促使蛋白质—蛋白质间的相互作用产生高分子聚合物,样品溶解度减小。

2.4 粒度对脱脂豆粉起泡性的影响

图2为粒度对脱脂豆粉起泡性的影响。由图2可知,随着粒度的降低,脱脂豆粉的起泡能力总体具有增高的趋势,样品粒度 D_{50} 在12.58 μm 时,脱脂

豆粉的起泡能力达到最大值70%。这可能是由于随着粒度的降低,大豆蛋白分子链破碎或被打断成为小分子的蛋白质单元,增大了分子链的柔性并促进分子的伸展和舒张,有利于蛋白质分子在汽—水界面上的快速展开、重排;外面疏水性的残基存在良好的表面活性,能够减小水的界面张力,产生大量的气泡。随粒度的降低,泡沫稳定性没有显著改变。这可能是由于随着蛋白质分子链的打开,包埋在内部的疏水残基凸显出来,促使蛋白质分子表面疏水残基间的相互作用强于自然状态,改善了泡沫的稳定性;或是分子内的自由巯基的暴露,进行巯基—二巯键之间的转化和分子间的非共价相互作用形成凝胶网状结构,这种结构具有良好的黏弹性、力学特性,改善蛋白质的泡沫稳定性^[12]。

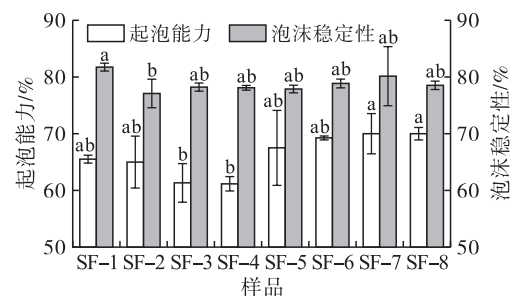


图2 粒度对脱脂豆粉起泡性的影响

2.5 粒度对脱脂豆粉乳化性的影响

图3为不同粒度脱脂豆粉的乳化性。由图3可知,脱脂豆粉的乳化活性随着粒度的降低呈现显著降低的趋势,当样品粒度 D_{50} 降低到12.58 μm 时,乳化活性达到最小值35.88 m^2/g ,这与孙婵婵等^[13]研究结果相一致。乳化稳定性随粒度的降低,先呈现显著的增长趋势,后略微降低。当样品粒度 D_{50} 在12.58 μm 时,乳化稳定性达到最大值97.49 min。蛋白质的乳化活性和乳化稳定性与蛋白质溶解度、表面电荷、表面疏水性、分子柔顺性密切相关。乳化稳定性主要受到水相的黏度和界面上蛋白质—蛋白

质、蛋白质-油的交互程度的影响,以及能否在油滴外壁形成较高强度的刚性结构^[14]。随着粒度的降低,蛋白质分子链展开,结构的疏松和疏水基团的暴露,产生的非共价键作用形成强度较大的网状结构,改善了大豆蛋白的乳化稳定性^[15]。当疏水基团暴露过多时,疏水相互作用造成蛋白质的凝聚,降低了蛋白质对界面张力的减小效率,导致大豆蛋白乳化稳定性的下降。

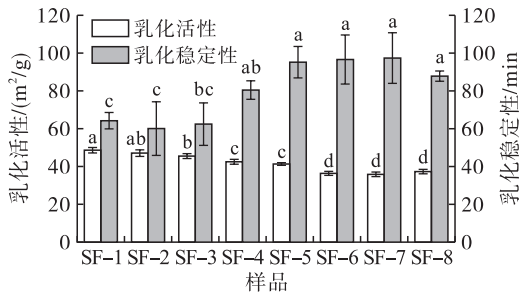


图3 粒度对脱脂豆粉乳化性的影响

2.6 粒度对脱脂豆粉黏度的影响

大豆蛋白的黏度影响其在胶黏剂中的应用,良好的黏度赋予胶黏剂丰富的产品形式,如糊状、液体、胶片等。胶黏剂黏度较大时,流动性差,增加反应釜出料、涂胶机加料的难度,涂胶均匀度较差,导致板材的胶合强度差异性大。孙丰文等^[16]研究表明,当豆胶的黏度较高时,适当地降低黏度,能够增大板材的胶合强度。图4为粒度对脱脂豆粉黏度的影响。

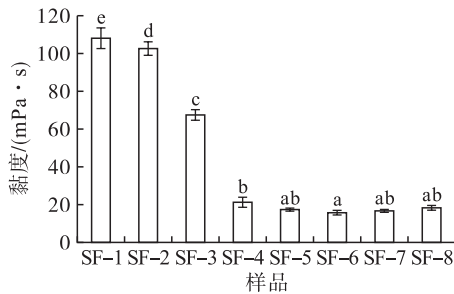


图4 粒度对脱脂豆粉黏度的影响

由图4可知,随粒度减小,黏度表现为先降低后稍微增长趋势。样品SF-1、SF-2和SF-3的黏度分别为108.10、102.60、67.47 mPa·s,显著高于其他样品。在较小粒度的微粉中,黏度的下降趋势相对平缓,当样品的粒度 D_{50} 在15.11 μm 时,黏度达到最小值15.73 mPa·s,随着粒度进一步降低,脱脂豆粉的黏度稍微回升。蛋白质溶液的黏度取决于分子间的交联程度和相互作用的强弱。粒度较大时,蛋白质分子的表面静电荷较低,造成分子间的距离降低,提高了短距离的相互吸附作用;大豆蛋白的相对分子质量较高,分子链在水中容易相互纠缠和连结,造成较高的黏度。超微粉碎脱脂豆粉导致高

分子大豆蛋白破碎、分解为小分子的蛋白质单元,蛋白质分子的结构、外形、表面电荷产生变化,在水中伸展度降低,造成分子的流动阻力降低,造成相对较低的黏度。随着粒度的继续降低,疏基暴露、疏水基团增加,通过疏水相互作用和—SH/—S—S—转化,造成蛋白质的凝聚和沉淀,增大聚合物的相对分子质量,造成黏度回升。

2.7 粒度对脱脂豆粉硫基含量的影响

图5为粒度对脱脂豆粉硫基含量的影响。

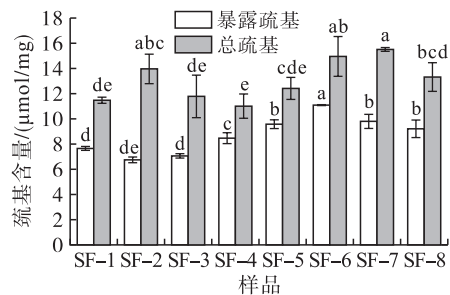


图5 粒度对脱脂豆粉硫基含量的影响

由图5可知,随着粒度的降低,脱脂豆粉中暴露硫基含量呈现显著的先增高后降低的趋势,粉体粒度 D_{50} 减小到15.11 μm 时达到最大值12.38 $\mu\text{mol}/\text{mg}$;粒度小于或等于25 μm 的脱脂豆粉,随粒度的减小,总硫基含量表现为显著的先增长后减小的趋势。脱脂豆粉的粒度 D_{50} 减小到12.58 μm 时达到最大值17.24 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 。暴露硫基含量与总硫基含量的比值随着粒度的降低呈现增长的趋势。暴露硫基含量与总硫基含量的比值增大,说明蛋白质分子的打开程度越大,分子柔性增强、分子链伸展或舒张。暴露硫基的增多是由于大豆蛋白/肽的打开,内埋硫基的暴露,及—SH氧化或—SH/—S—S—交换反应^[15]。粒度小于15 μm (样品SF-7、SF-8)时,暴露硫基和总硫基的含量降低,这可能是由于分子间作用力造成可溶性小分子聚合物的凝聚,导致硫基的包埋。

3 结论

脱脂豆粉的粒度对其功能特性具有显著的影响,经过超微粉碎后的脱脂豆粉随粒度的降低,其溶解度、起泡能力、乳化稳定性、暴露硫基、总硫基有显著性提高;泡沫稳定性无显著的变化;乳化活性与黏度显著降低。但超微粉碎的程度过强时,脱脂豆粉的功能特性则会相对的削弱。粒度 D_{50} 为15.11 μm 和12.58 μm 的样品具有良好的功能特性,便于在食品工业中应用。

参考文献:

[1] 王孟云,陈业明,孔祥珍,等.多元醇对热处理大豆分

- 离蛋白喷雾干燥的影响[J]. 中国油脂, 2017, 42(10): 47-51.
- [2] SUI X, BI S, QI B, et al. Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin; Its emulsifying property and emulsion stability [J]. Food Hydrocoll, 2017, 63:727-734.
- [3] ESLAH F, JONOBI M, FAEZIPOUR M, et al. Preparation and development of a chemically modified bio-adhesive derived from soybean flour protein [J]. Int J Adhes Adhes, 2016, 71:48-54.
- [4] 由耀辉, 陈利维, 项能双, 等. 马来酸酐酰化改性对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 中国油脂, 2017, 42(4):99-103.
- [5] MUTTAKIN S, KIM M S, LEE D U. Tailoring physicochemical and sensorial properties of defatted soybean flour using jet-milling technology [J]. Food Chem, 2015, 187:106-111.
- [6] 乔一腾, 司玉慧, 盖国胜, 等. 超微粉碎对大豆分离蛋白功能性质的影响 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(9): 57-61.
- [7] SHEN L, TANG C H. Microfluidization as a potential technique to modify surface properties of soy protein isolate [J]. Food Res Int, 2012, 48(1): 108-118.
- [8] YU L, YANG W, SUN J, et al. Preparation, characterisation and physicochemical properties of the phosphate modified peanut protein obtained from *Arachin conarachin* L. [J]. Food Chem, 2015, 170:169-179.
- [9] 耿蕊, 卢岩, 孔保华, 等. pH 偏移结合加热处理对大豆分离蛋白乳化特性的影响 [J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 173-180.
- [10] SHEN X, FANG T, GAO F, et al. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre- and post- thermal aggregation [J]. Food Hydrocoll, 2016, 63:668-676.
- [11] DISSANAYAKE M, VASILJEVIC T. Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high-pressure shearing [J]. J Dairy Sci, 2009, 92(4): 1387-1397.
- [12] SUN C, LIU R, WU T, et al. Effect of superfine grinding on the structural and physicochemical properties of whey protein and applications for microparticulated proteins [J]. Food Sci Biotechnol, 2015, 24(5): 1637-1643.
- [13] 孙婵婵, 张民, 田朝杰, 等. 超微粉碎-微粒化组合技术对乳清蛋白结构和加工特性的影响[J]. 现代食品科技, 2015(12):263-268.
- [14] SUN C, LIU R, WU T, et al. Combined superfine grinding and heat-shearing treatment for the microparticulation of whey proteins [J]. Food Bioprocess Technol, 2016, 9(2): 1-9.
- [15] AFIZAH M N, RIZVI S S H. Functional properties of whey protein concentrate texturized at acidic pH: Effect of extrusion temperature [J]. LWT - Food Sci Technol, 2014, 57(1):290-298.
- [16] 孙丰文, 闵德秀, 孙恩惠, 等. 豆粕粉制备胶合板用生物质胶黏剂的研究 [J]. 大豆科学, 2016, 35(2): 301-305.

(上接第 29 页)

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 唐精, 张宝彤, 李爱琴, 等. 蛋白溶解度在四种饼粕品质评价中的应用 [J]. 广东饲料, 2013, 22(7): 32-34.
- [3] 陈凤莲. 碱液浸提法分离小麦麸皮中蛋白质的研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2010, 26(3): 274-276.
- [4] 刘志同. 中国植物油料蛋白生产现状与发展趋势[J]. 中国油脂, 2004, 29(10): 5-10.
- [5] 时玉强, 鲁绪强, 马军, 等. 大豆蛋白在传统豆制品中的应用[J]. 中国油脂, 2017, 42(3): 155-157.
- [6] 叶婧, 曾育蒙, 王秀丽, 等. 腰果蛋白的提取及功能特性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(6): 43-49.
- [7] JUNG S, MAHFUZ A A. Low temperature dry extrusion and high-pressure processing prior to enzyme-assisted aqueous extraction of full fat soybean flakes [J]. Food Chem, 2009, 114(3): 947-954.
- [8] 张燕鹏. 蒸汽闪爆辅助提取高温豆粕中蛋白质的工艺及其机制研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2013.
- [9] RAMÓN-SIERRA J M, RUIZ-RUIZ J C, DE L L O E. Electrophoresis characterisation of protein as a method to establish the entomological origin of stingless bee honeys [J]. Food Chem, 2015, 183: 43-48.
- [10] 周岩民, 吴迪, 刘峰, 等. 蛋白质溶解度法评价几种主要油料饼粕品质的研究[J]. 粮食与饲料工业, 1996(6): 36-39.
- [11] 张寒俊. 碱溶酸沉法制备双低菜子分离蛋白的工艺探讨[J]. 农产品加工(学刊), 2005(5): 40-43.
- [12] 孔涛, 米平, 赵雪淞, 等. 碱法提取花生粕蛋白质工艺条件的优化 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 277-279.
- [13] 赵玉红, 林洋, 张智, 等. 碱溶酸沉法提取黑木耳蛋白质研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(16): 32-36.