

焙烤对绿豆蛋白结构和功能性质的影响

张舒^{1,2}, 盛亚男¹, 冯玉超¹, 富天昕¹, 张艺玮¹, 姜颖俊¹, 于森¹, 王长远^{1,2,*}
(1. 黑龙江八一农垦大学食品科学学院, 黑龙江大庆 163319;
2. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319)

摘要: 本文以绿豆为原料, 测定了不同焙烤温度对绿豆蛋白的结构及功能性质的影响。用碱法提取绿豆中的总蛋白, 并对蛋白质的二级结构以及多种功能性质进行分析。结果表明, 当焙烤温度升高时, 除乳化稳定性外其他性质均有显著 ($P < 0.05$) 提高, 乳化性最高达到 $38.46 \text{ m}^2/\text{g}$, 在 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 下起泡性最高达到了 26% , 溶解性增加了 47.72% , 而乳化稳定性则明显下降。相比较, 在 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 时绿豆蛋白各项功能性质最佳。在电泳分析中, 焙烤加工使得绿豆蛋白各个部分发生不同程度的降解, 各个范围的条带均变浅, I、IV、V 条带几乎消失。在 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 第 III 条亚基带颜色加深与功能性质在 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 增强相对应。通过测定傅里叶红外光谱发现, 在 1640 cm^{-1} 处的峰在 110 和 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 分别出现红移, 其他温度下蛋白与生蛋白相比该峰值出现蓝移, 在 150 和 $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 蛋白图谱中 1050 cm^{-1} 波长处出现明显的峰值。焙烤加工后蛋白二级结构中 β -折叠结构含量显著 ($P < 0.05$) 增加, α -螺旋结构、 β -转角结构含量显著 ($P < 0.05$) 降低。综上, 经过高温焙烤热处理后的绿豆蛋白结构会发生改变, 基础功能特性会更加优异, $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 20 min 的焙烤强度可使绿豆蛋白功能性质提升到最佳。

关键词: 绿豆蛋白, 焙烤, 功能性质, 蛋白结构

Effects of Baking on the Structure and Functional Properties of Mung Bean Protein

ZHANG Shu^{1,2}, SHENG Yanan¹, FENG Yuchao¹, FU Tianxin¹,
ZHANG Yiwei¹, JIANG Yingjun¹, YU Miao¹, WANG Changyuan^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
2. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing 163319, China)

Abstract: Using mung beans as raw materials. In this paper, the structure and functional properties of mung bean protein extracted at different temperatures were determined. The total protein in mung bean was extracted by alkaline method, and the secondary structure and various functional properties of the protein were analyzed. The research results showed that when the baking temperature increasing, all the properties except the emulsification stability were significantly ($P < 0.05$) improved. The emulsification was up to $38.46 \text{ m}^2/\text{g}$. The foamability at $180 \text{ }^\circ\text{C}$ was up to 26% . The solubility increased by 47.72% . And the emulsion stability was significantly reduced. In comparison, mung bean protein had the best functional properties at $180 \text{ }^\circ\text{C}$. In the electrophoretic analysis, the roasting process causes various parts of mung bean protein to degrade in varying degrees. All the bands became shallow, and bands I, IV, and V almost disappeared. At $180 \text{ }^\circ\text{C}$, the deepening of the color of article II subunit bands echoes the enhancement of functional properties at $180 \text{ }^\circ\text{C}$. By measuring Fourier infrared spectroscopy, it was found that the peaks at 1640 cm^{-1} showed red shifts at 110 and $180 \text{ }^\circ\text{C}$, respectively. At other temperatures, the peaks of the protein showed blue shifts compared to the raw protein. At 150 and $180 \text{ }^\circ\text{C}$ protein maps, there are obvious peaks at 1050 cm^{-1} wavelength. From the perspective of protein functional maintenance and regulation after thermal processing. After baking, the contents of β -folding structure increased significantly, while that of α -helix structure and β -angle structure decreased significantly. In conclusion, after high temperature baking, the structure of mung bean protein would change, and the basic functional properties would be more excellent. The baking strength at $180 \text{ }^\circ\text{C}$ for 20 min could improve the functional properties of mung bean protein to the optimal level.

收稿日期: 2020-05-25

作者简介: 张舒 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 171952812@qq.com。

* 通信作者: 王长远 (1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程, E-mail: byndwcy@163.com。

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (LH2019C054); 黑龙江省博士后基金项目 (LBH-Z15217); 黑龙江省农垦总局科技项目 (HNK135-05-01); “十三五”国家重点研发计划项目 (2017YFD0401203); 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研资助项目 (YJSCX2019-Y58)。

Key words: mung bean protein; baking; functional properties; protein structure

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)04-0044-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050283

引文格式: 张舒, 盛亚男, 冯玉超, 等. 焙烤对绿豆蛋白结构和功能性质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 44-49.

ZHANG Shu, SHENG Yanan, FENG Yuchao, et al. Effects of Baking on the Structure and Functional Properties of Mung Bean Protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 44-49. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

绿豆属于豆科植物(别称青小豆、菘豆、植豆等),其营养价值和药用价值较高,种子和茎被广泛食用。绿豆中蛋白含量较高为22%~26%^[1],具有很多生理功能,可以起到刺激神经系统,促进肠胃蠕动的作用^[2]。绿豆蛋白的水解物还可以提高胆汁中胆盐的分泌量,从而发挥降胆固醇的功效^[3]。在不同加工方式下,蛋白质组分及其氨基酸构成会发生变化,影响其营养及功能性质^[4-5]。热处理会导致蛋白变性,降低豆类蛋白营养和功能的有效性^[6]。王雅卉等^[7]发现高温加工不同于一般性加工,会引发酶解产物的聚合,改变蛋白的特性。热处理通常会影响蛋白质的基本功能性质,如持油性、持水性、乳化及稳定性、溶解性和起泡及稳定性等^[8]。夏珂等^[9]发现热处理过程中会导致自由氨基和羰基含量的改变,从而影响蛋白质的功能性质。

食品热加工分为湿热、干热、微波加热三种,除常见的湿热加工的产物——绿豆汤,被人们认为是清热解暑的“良药”外,干热加工的焙烤类食品如绿豆休闲豆、绿豆冲调粉以及五谷杂粮代餐粉等新产品也越来越受到人们的喜爱。梁亚静^[10]发现在焙烤期间会因美拉德反应的发生,产生氨基酸脱羧、醛类等风味物质,但也会对蛋白质含量及功能性质造成一定的影响。为了更好的保持和调控绿豆焙烤类食品的营养特性,本研究通过在不同的焙烤强度下对绿豆进行熟制加工,研究绿豆蛋白的结构及功能性质,并找出功能性质相对较好的焙烤条件。有助于提高人们对热加工改性后绿豆蛋白的认知,并为焙烤绿豆蛋白的结构以及功能性质研究提供理论参考,同时以为绿豆焙烤类新兴产品的加工生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

绿豆 山西明绿豆;盐酸、氢氧化钠、硫酸铜、碳酸钠、福林-酚试剂、SDS(十二烷基硫酸钠)、牛血清白蛋白 国药集团化学试剂有限公司;SDS-PAGE凝胶试剂盒 南京建成生物工程研究所;蛋白Marker(SM0431) 立陶宛 Fermentas Life Sciences 公司;考马斯亮蓝 G250 天津市科密欧化学试剂厂。

TG16-WS 离心机 长沙湘仪有限责任公司;烤箱 北京厨邦盛世厨房设备有限公司;DGG-9140 电热恒温鼓风干燥箱、DL700 超高压等静压机 上海大隆机器厂;Alpha 1-2 LD plus 冷冻干燥机 德国 Christ 公司;精密增力电动搅拌器 常州国华电器有限公司;MAGNA-IR560 傅立叶变换红外光谱系统 美国尼高力公司;DYY-8C 型垂直电泳仪 北

京市六一仪器厂;UV757CRT 紫外可见分光光度计 上海分析仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 绿豆前处理 将绿豆除去饱满粒、发霉粒后,洗净。称取等份绿豆放入托盘中,铺平,用烤箱分别在110、130、150、160、180、200℃六种温度下烤至可食用状态,具体时间为:110℃下焙烤70 min、130℃下焙烤50 min、150℃下焙烤30 min、160℃下焙烤25 min、180℃下焙烤20 min、200℃下焙烤15 min。待温度降低至室温,粉碎后过80目筛,冷冻备用。

1.2.2 绿豆蛋白的提取 将粉碎好的绿豆粉脱脂后晾干装入封闭袋中待用。使用碱提酸沉法提取绿豆蛋白,参照乔宁^[11]的实验方法:用1 mol/L NaOH 溶液将混合后绿豆粉与蒸馏水(按1:10比例混匀)的pH调节至10.0,在50℃水浴锅中用电动搅拌桨搅拌2 h后离心20 min(条件为4000 r/min),取上层液体;将所取液体的pH调至4.6,静置产生明显分层后倒出上清液,将剩余部分离心20 min,将沉淀涂板,冷冻干燥后,于-80℃备用。

1.2.3 绿豆蛋白提取率及纯度的测定 采用福林酚法对提取液中的蛋白含量进行测定,绿豆蛋白提取率的计算公式^[11-12]如下:

$$\text{绿豆蛋白提取率}(\%) = \frac{\text{提取液中蛋白含量}}{\text{绿豆中蛋白含量}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

$$\text{绿豆蛋白纯度}(\%) = \frac{\text{样品固形物中蛋白的质量}}{\text{总样品固形物质量}} \times 100$$

1.2.4 SDS-PAGE 测定 取0.5 mg/mL的蛋白溶液1 mL,加入1 mL样品缓冲液(0.25 mol/L Tris-HCl, 0.5% 溴酚蓝,10% SDS,50% 甘油,5% β -巯基乙醇)混匀,-20℃储存,沸水煮制3~5 min使蛋白充分变性。上层浓缩胶的质量分数和下层分离胶的质量分数分别为5%、12%,上样体积为10 μ L。起初电压80 V恒压,到分离胶电压改为120 V,当条带接近胶板下边缘时停止电泳。并用考马斯亮蓝 G250 染色后进行洗脱^[13]。

1.2.5 红外光谱测定 称取0.002 g干样品与0.2 g 溴化钾,将二者混合研磨均匀后压片测定 FTIR。在4000~400 cm^{-1} 处测定吸收光谱,分辨率4 cm^{-1} ,波数精度0.01 cm^{-1} ,扫描次数64次,环境温度25℃^[14]。

1.2.6 溶解性的测定 以牛血清白蛋白绘制标准曲线,标准曲线方程为: $y = 0.2043x + 0.0002$ ($R^2 = 0.9969$)。测定绿豆蛋白在不同加工条件下的吸光度。磷酸盐缓冲液(pH7.0)中加入一定量的样品,配

制成 5 mg/mL 的蛋白溶液, 搅拌 30 min 后静置, 离心^[15]。分别将离心后的上清液 1 mL, 碱性铜溶液 1 mL 和福林-酚试剂 4 mL 加入 25 mL 试管中, 立即摇匀, 置 55 °C 的水浴条件下反应 5 min, 冷水浴反应 10 min, 并于 650 nm 波长处测定吸光度。按式(2)计算蛋白质的溶解度。

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{\text{可溶性蛋白质量}(\text{g})}{\text{样品蛋白质量}(\text{g})} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

1.2.7 持水性、持油性的测定 将蒸馏水与绿豆蛋白按照 40:1 的比例在漩涡混合器中混匀后静置 20 min, 将混合液离心 30 min (条件为 3000 r/min), 测量上清液体积 V_1 , 蛋白的持水量为蒸馏水含量减去 V_1 。持油性同上 (绿豆蛋白与油的比例按照 1:20)^[16]。

1.2.8 乳化性、乳化稳定性的测定 参考 Wu 等^[17] 实验方法并进行适当调整, 用 pH = 7.0 浓度为 0.1 mol/L 的 PBS 溶液 (磷酸盐缓冲液) 配制蛋白质溶液, 使其质量浓度为 0.2%, 取 8 mL 蛋白质溶液加入 2 mL 大豆油, 在室温下用均质机均质 1 min (1000 r/min)。均质后立刻取浆液 50 μL , 取样位置在离心管底部 0.5 cm 处, 并倒入 5 mL 质量分数为 0.1% 的 SDS 溶液中, 振荡混匀后测吸光度 (500 nm) 记为 A_0 。将上述方法混合液静置 10 min 后在上述相同位置处取 50 μL 样液, 后续操作同上, 测定吸光度记为 A_ϕ 。(以 0.1% SDS 溶液做空白对照) 乳化性和乳化稳定性计算公式如下:

$$\text{乳化性}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303}{c \times \phi \times 10^4} \times A_0 \times 50 \quad \text{式(3)}$$

$$\text{乳化稳定性}(\%) = \frac{A_\phi}{A_0} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

式中: c 为蛋白质溶液浓度, g/mL; ϕ 为油相体积分数, %

1.2.9 起泡性、起泡稳定性的测定 参考 Agyare 等^[18] 的方法, 稍作改动: 在质量浓度为 1 g/100 mL 的蛋白溶液中取 100 mL, 用均质机均质 30 s, 快速移至 100 mL 量筒中, 记录泡沫体积 V_0 ; 30 °C 水浴锅中静置 30 min 后记录泡沫体积 V_1 。分别按式(5)、(6)计算起泡性和起泡稳定性。

$$\text{起泡性}(\%) = \frac{V_0(\text{mL})}{\text{液体总体积}(\text{mL})} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

$$\text{起泡稳定性}(\%) = \frac{V_1(\text{mL})}{V_0(\text{mL})} \times 100 \quad \text{式(6)}$$

式中: V_0 : 泡沫所占的体积 (mL); V_1 : 泡沫的残留体积 (mL)。

1.3 数据处理

实验均进行 3 次平行, 数据处理采用 Excel 2010、Origin 软件进行分析和作图, 采用 SPSS Statistics 24.0 软件中的 Duncan 法进行数据显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 绿豆蛋白的提取率及纯度

图 1 为不同焙烤强度下绿豆蛋白的提取率及得率纯度。焙烤加工后绿豆蛋白的提取率与未加工的绿豆蛋白相比显著 ($P < 0.05$) 降低。绿豆蛋白的纯

度为 87.2%, 加工后绿豆蛋白的纯度均在 86.3% ~ 86.9% 之间无显著差异。

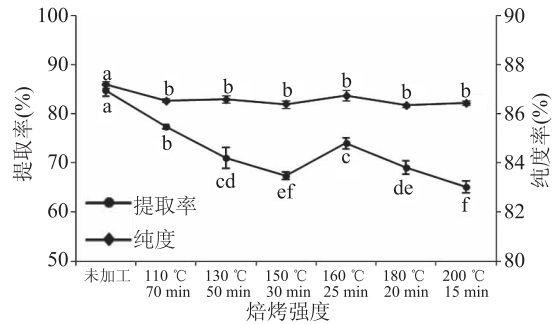


图 1 绿豆蛋白的提取率、纯度

Fig.1 Extraction rate and purity of mung bean protein

注: 同一指标不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$; 图 4~图 7 同。

2.2 SDS-PAGE 分析

由图 2 可知泳道 1~7 为绿豆蛋白条带, 共有 5 个亚基条带, 分别为 61.7、57.5、50.1、25.1 和 19.5 kDa。由于焙烤温度不同, 蛋白条带和亚基条带都会发生变化。随着焙烤温度的增加, 各个范围的条带均变浅, I、IV、V 条带几乎消失, 说明热变性使得绿豆蛋白各亚基条带发生不同程度的降解, 使蛋白质内部结构被破坏, 肽链断裂, 焙烤温度越高则蛋白质分子降解现象越为严重, 条带越浅。在 180 °C 时第 III 条亚基带颜色加深, 可能是由于大分子蛋白降解为小分子蛋白后重新聚集所致, 也可能在该温度下与其他物质发生了结合导致亚基条带加深。

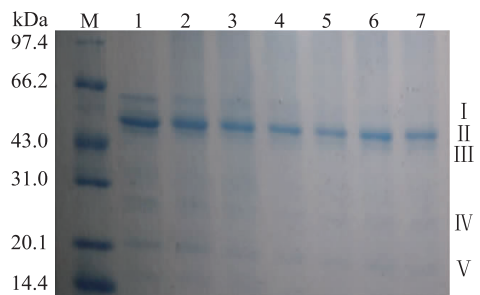


图 2 绿豆蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.2 SDS-PAGE electrophoresis of mung bean protein

注: M: 标准蛋白; 泳道 1: 生蛋白; 泳道 2: 110 °C 焙烤 70 min; 泳道 3: 130 °C 焙烤 50 min; 泳道 4: 150 °C 焙烤 30 min; 泳道 5: 160 °C 焙烤 25 min; 泳道 6: 180 °C 焙烤 20 min; 泳道 7: 200 °C 焙烤 15 min; I~VI: 不同处理温度下绿豆蛋白的亚基条带。

2.3 红外光谱分析

各峰位归属指认依据如表 1^[19]。随着焙烤强度的改变, 蛋白质的二级结构也受到影响进行改变。通过对酰胺 I 带进行傅里叶去卷积光谱拟合分析得到表 2, 可以看出绿豆蛋白的主要结构为 α -螺旋和 β -折叠, 而焙烤加工后 β -折叠结构含量显著 ($P < 0.05$) 增加, α -螺旋结构、 β -转角结构含量显著 ($P < 0.05$) 降低, 这与李朝阳等^[20] 的温度对蛋白结构的影响结论一致。维持蛋白质二级结构稳定性大部分由氢键完成, 当蛋白受热开始变性时, 则会破坏这些作

表2 绿豆蛋白二级结构组成比例
Table 2 Attribution basis of each peak position

焙烤强度	结构			
	α -螺旋结构	β -折叠结构	β -转角结构	无规则卷曲结构
0 °C 0 min	30.99 ± 0.04 ^a	34.21 ± 0.03 ^e	18.26 ± 0.01 ^a	16.54 ± 0.01 ^e
110 °C 70 min	29.51 ± 0.01 ^e	37.32 ± 0.02 ^b	15.73 ± 0.02 ^e	17.44 ± 0.04 ^a
130 °C 50 min	29.22 ± 0.02 ^f	39.40 ± 0.04 ^a	14.65 ± 0.01 ^f	16.73 ± 0.02 ^b
150 °C 30 min	30.36 ± 0.03 ^e	35.30 ± 0.01 ^e	17.73 ± 0.03 ^e	16.61 ± 0.01 ^d
160 °C 25 min	29.92 ± 0.01 ^d	36.11 ± 0.06 ^e	17.31 ± 0.03 ^d	16.66 ± 0.03 ^e
180 °C 20 min	30.46 ± 0.02 ^b	35.06 ± 0.03 ^f	17.94 ± 0.00 ^b	16.54 ± 0.02 ^e
200 °C 15 min	29.83 ± 0.01 ^d	35.95 ± 0.02 ^d	17.87 ± 0.05 ^{bc}	16.35 ± 0.03 ^f

注:同列不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

用力,从而破坏蛋白质分子稳定性,导致蛋白质结构发生显著变化。图3的红外光谱图中 1640 cm^{-1} 处的峰在110和180 °C分别出现红移,其他温度下蛋白与生绿豆蛋白相比该峰值出现蓝移,加工后蛋白在 1243 cm^{-1} 处均出现红移现象,表明加工后蛋白质的基团不稳定,与电泳图一致。在150和180 °C蛋白的谱图中可以看出 1050 cm^{-1} 波长处出现明显的峰值,该处是醇、酚、胺的特征吸收峰。说明在该温度下蛋白可能会与该类物质结合,或者由于美拉德反应而出现新的物质,这与电泳结果相呼应。

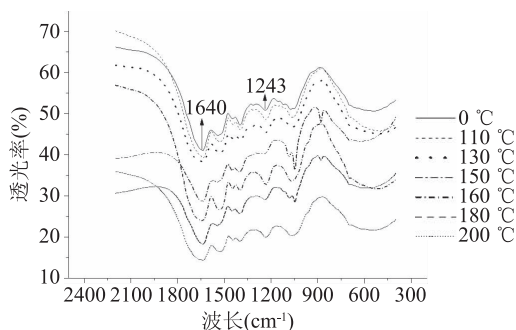


图3 绿豆蛋白红外光谱图

Fig.3 Infrared spectrum of mung bean protein

表1 各峰位归属指认依据

Table1 The attribution basis of each peak position

结构	波长
β -折叠结构	1615~1637、1682~1700 和 1230~1240 cm^{-1}
α -螺旋结构	1646~1664 和 1265~1300 cm^{-1}
无规则卷曲结构	1637~1645 和 1240~1260 cm^{-1}
β -转角结构	1664~1681 和 1305 cm^{-1}

2.4 溶解性分析

吸水后可溶性蛋白会分散成胶体即为溶解性,想要发挥功能特性则需要良好的蛋白溶解性^[21]。由图4可知,未进行加工绿豆蛋白溶解性较差约为27.31%,最高溶解性在焙烤温度为180 °C约为47.72%,相比之下进行热加工后的绿豆蛋白显著优于未进行热加工($P < 0.05$)。可能是蛋白质结构在合适的温度下会展开,其中内部的极性基团和肽键裸露得越来越多,进而增强了蛋白质与水的相互作用,使溶解性提高。这和周伟等^[22]对梨小豆蛋白溶

解性的研究趋势恰恰相反,出现这种形势第一可能由于豆类不同蛋白质变性适当温度不同,第二则可能是焙烤温度较高,当持续升高至200 °C时,蛋白质变性完全,其空间结构被毁坏并在其表面显现出多量疏水性基团,分子间的相互作用力相对减少,蛋白质发生堆积沉淀现象,从而降低溶解性^[23]。焙烤强度为150和180 °C的绿豆蛋白的结构组成含量较为接近,但溶解度呈现相反的趋势,可能是因为在加工过程中蛋白与酚类物质相互作用造成的。如图3所示150和180 °C温度下 1050 cm^{-1} 波长处均出现峰,且150 °C时峰更明显,推断与蛋白结合的酚类物质含量较高,当蛋白与酚类物质发生互作时适量的酚会增加蛋白的功能性质,而过量的酚会造成蛋白的基础功能性反而降低^[24-26],可能是因为过量的多酚类成分阻碍了蛋白质中的亲水性氨基酸的暴露^[27]。

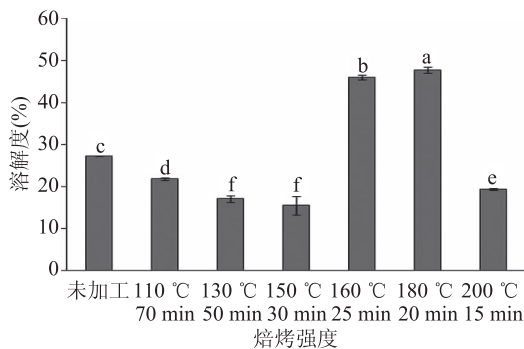


图4 焙烤强度对绿豆蛋白溶解性的影响

Fig.4 Effect of baking strength on solubility of mung bean protein

2.5 持水、持油性分析

图5为不同焙烤温度下绿豆蛋白的持油性及持水性变化。由图5可知绿豆蛋白的持水性随焙烤温度的升高出现先上升后降低再上升的变化,这与高柳^[28]对黑米蛋白持水性的研究结果相似。由图5可知热加工后的蛋白持水性显著高于生蛋白($P < 0.05$),但在150 °C时与生蛋白持水性差异并不显著,可能是由于温度升高过程中加剧了蛋白质链的展开,蛋白分子中的氢键和离子键水合作用降低,增加聚集作用的形成^[29]。随后出现升高现象可能是由于温度的升高在一定程度上改变了蛋白质内部结构,增大了延展性,使小分子水与大分子蛋白之间

相互作用更为剧烈,则蛋白质吸水性增大,持水率增高。

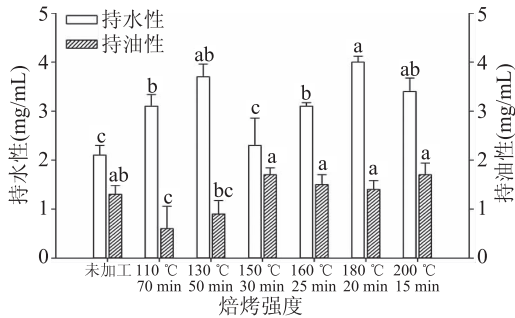


图5 焙烤强度对绿豆蛋白的持水、持油性的影响

Fig.5 Effect of baking strength on water and oil holding capacity of mung bean protein

绿豆蛋白的持油性随温度逐渐降低后升高,当温度在 150 °C 以上时加工后的绿豆蛋白持油性均大于生蛋白,但相差并不显著,此与高柳等^[28]对大米谷蛋白的持油性结论相似。在起初温度相对较低的焙烤条件下,蛋白质结构发生变化,极性键逐渐暴露,结合油脂能力降低并达到饱和,所以持油性下降。而随着温度的增高,蛋白质分子的结构又重新聚合可能更为紧密,油脂在蛋白的网状结构里流动性相对较低,蛋白质分子会将其截留、包裹,持油性显著 ($P < 0.05$) 增加。这可能与蛋白质的含量、类型以及氨基酸组成有关,特别是与脂肪分子中和烃链相互作用的疏水性残基相关^[30]。

2.6 乳化性、乳化稳定性分析

通过机械搅拌互不相溶的液体形成乳状液的能力称为乳化性。由图 6 可知,生蛋白的乳化性较低,经过焙烤加工处理后的绿豆蛋白乳化性显著增大 ($P < 0.05$),并随着焙烤温度的增加,呈现先降低后升高的变化趋势。在 150 °C 下焙烤的绿豆蛋白乳化性最低约为 21.42 m^2/g ,当温度大于 150 °C 时,蛋白质经过热变性,分子结构逐渐舒展开来,同时因溶解性的提高变得更加柔顺,在乳化界面中也更容易扩散,从而提高了绿豆蛋白的乳化性。

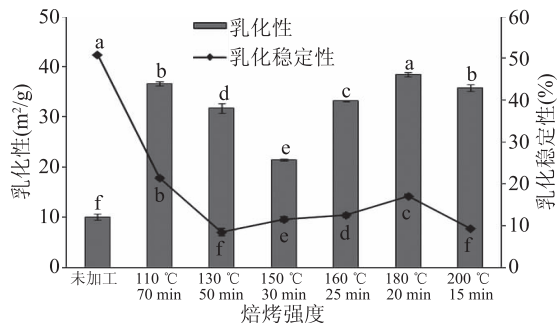


图6 焙烤强度对绿豆蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

Fig.6 Effect of baking strength emulsification and stability of mung bean protein

未进行热加工的生蛋白乳化稳定性很高为 50.86%,而随着焙烤温度的提升乳化稳定性显著下降 ($P < 0.05$),在 130 °C 下最低值为 8.5%。焙烤温度未达到蛋白变性适宜温度时,不能充分打开蛋白肽

链,很难形成空间网状结构,所以乳化稳定性在降低,这与刘建奎^[31]对燕麦蛋白的乳化稳定性在随温度先下降后升高再下降的趋势相似。热动能会在焙烤温度高于变性温度时增加,这将会展开蛋白质结构并暴露出非极性基团,加速了绿豆蛋白质的聚集和沉淀,使其乳化性能急剧下降^[32]。

2.7 起泡性、起泡稳定性分析

食品产品中蛋白质的起泡性和起泡稳定性极为重要。在液体和气体相连接处蛋白质形成一层膜状物质,并使气体大量进入产生气泡的能力即为起泡性。而蛋白质能够使泡沫稳固的能力即为起泡稳定性^[33]。由图 7 可知,加工后绿豆蛋白的起泡性和起泡稳定性随着温度增高呈现先下降后上升再次下降的趋势,且与生蛋白有较显著差异 ($P < 0.05$),该情况和焙烤温度与溶解性的关系极为相似,在焙烤温度 180 °C 下起泡性值最高为 26%。郑煜炎等^[34]在温度对米糠蛋白的影响中得出在温度较低时起泡性随温度升高增大,当温度超过某适当温度值时起泡性会降低。而在游离于表面的蛋白质分子中,影响蛋白质起泡性的可能是疏水性氨基酸的数量^[35]。从热处理角度来看,它可能会使蛋白质打开后的肽链变得更为柔软且更易展开,使蛋白质分子膨胀并吸附在气体和液体相接触的界面上;而另一程度上它会使疏水性氨基酸大量地暴露在空气中,使蛋白质更易与空气相融合^[36]。而起泡稳定性下降可能由于加热会导致空气膨胀,产生的气泡会发生破裂影响泡沫稳定。

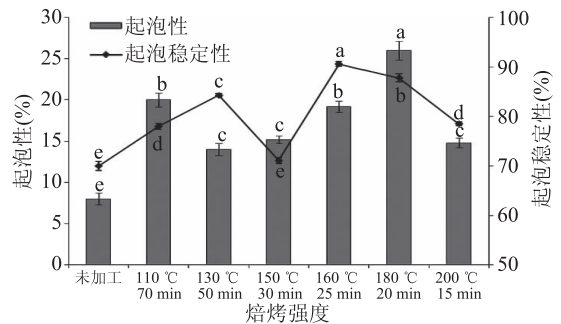


图7 焙烤强度对绿豆蛋白起泡性和起泡稳定性的影响

Fig.7 Effect of baking strength foaming and stability of mung bean protein

3 结论

本研究通过对焙烤加工后的绿豆蛋白结构及功能特性变化规律进行研究,发现焙烤加工对绿豆蛋白的结构及功能性质都产生较大的影响。在电泳分析中,不同焙烤温度下的绿豆蛋白主要有 5 个亚基条带,分别为 61.7、57.5、50.1、25.1 和 19.5 kDa,热变性使得绿豆蛋白各亚基发生不同程度的降解,使蛋白条带越来越浅。在红外图谱中,加工后蛋白质的基团不稳定使其发生红移或蓝移,在 150 和 180 °C 时蛋白与醇、酚、胺类物质结合或发生美拉德反应使 1050 cm^{-1} 波长处出现明显的峰值,对蛋白酰胺 I 带进行拟合得出焙烤加工后 β -折叠结构含量显著增加, α -螺旋结构、 β -转角结构含量显著降低。在焙烤加工下,绿豆蛋白的功能性质除乳化稳定性外均得

到显著提升,经过数据分析比较,焙烤加工后的绿豆蛋白与生蛋白相比,持水、持油性分别提高了47.4%、12.5%,起泡性和起泡稳定性分别提高了69.2%和22.7%,乳化性和溶解性分别提高了74%和47.72%,180℃的焙烤温度可使绿豆蛋白功能性质提升到最佳。综上,一般情况下植物蛋白的功能特性较差,但经过高温焙烤热处理后的绿豆蛋白变性后各个功能性质会更加优异。本实验为绿豆蛋白在不同温度焙烤下结构与功能性质的研究提供了理论参考,随着绿豆蛋白在热加工处理领域中的深入研究,可以更全面地利用绿豆蛋白的结构及功能性质开展应用。

参考文献

- [1] 滕聪, 么杨, 任贵兴. 绿豆功能活性及应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3286-3291.
- [2] Swee K Y, Boon K B, Wan Y H, et al. *In vivo* antioxidant and hypolipidemic effects of fermented mung bean on hypercholesterolemic Mice [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 2015: 1-6.
- [3] 侯珮琳, 赵肖通, 张彦青, 等. 绿豆蛋白降血脂水解物的制备及纯化工艺[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 186-192, 199.
- [4] Benitez V, Cantera S, Aguilera Y, et al. Impact of germination on starch, dietary fiber and physicochemical properties in non-conventional legume [J]. Food Research International, 2013, 50(1): 64-69.
- [5] Abdelmomeimo E, Rita B. Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour [J]. Food Chemistry, 2010, 121(2): 387-392.
- [6] Carbonaro M, Maselli P, Nucara A. Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties [J]. Food Research International, 2015, 76: 19-30.
- [7] 王雅卉, 邢霖云, 徐婧婷, 等. 高温热处理对大豆蛋白消化利用效果的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 92-99.
- [8] 景新俊. 不同热加工对萌动青稞加工特性和营养作用的影响[D]. 郑州: 郑州轻工业大学, 2019.
- [9] 夏珂. 热处理对苦荞蛋白结构及功能特性的影响[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2016.
- [10] 梁亚静. 不同加工方式对芸豆营养特性及抗氧化活性的影响[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2015.
- [11] 乔宁. 绿豆 (*Vigna radiata*) 蛋白的提取及其功能性质研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2014.
- [12] 柳芬芳, 李迎秋. 绿豆蛋白提取工艺的响应面法优化[J]. 轻工学报, 2020, 35(2): 7-16.
- [13] 梁征, 熊思慧, 郭莹, 等. 紫米蛋白-多酚复合物的结构组成及分子形貌[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 85-90.
- [14] Sulhattin Yasar, Ramazan Tosun, Zeynep Sonmez. Fungal fermentation inducing improved nutritional qualities associated with altered secondary protein structure of soybean meal determined by FTIR spectroscopy [J]. Measurement, 2020, 161: 107895.
- [15] 马楠. 三种不同处理工艺对米糠蛋白功能特性的影响研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2018: 10-11.
- [16] 高柳, 向琴, 李佳纪, 等. 黑米蛋白的功能结构性质[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(4): 89-94.
- [17] Wu W, Hettiarachchy N S, Qi M. Hydrophobicity, solubility and emulsifying properties of soy protein peptides prepared by papain modification and ultrafiltration [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1998, 75(7): 845-850.
- [18] Agyare K K, Addo K, Xiong Y L. Emulsifying and foaming properties of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate as influenced by pH, temperature and salt [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 72-81.
- [19] 杨勇, 毕爽, 王中江, 等. 超声波处理对绿豆蛋白结构及功能特性的影响[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 69-73.
- [20] 李朝阳, 李良玉, 刁静静. pH和温度对蛋白结构和功能特性影响的研究进展[J]. 科学技术创新, 2019(18): 59-60.
- [21] Nicolasa D, Lawrence J. Effects of extraction temperature and preservation method on functionality of soy protein [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2007, 84(3): 259.
- [22] 周伟, 于笛, 张丽萍, 等. 梨小豆蛋白功能特性及消化特性的研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(8): 166-173.
- [23] 孙燕婷, 黄国清, 孙萍, 等. 大豆分离蛋白溶解性和乳化性影响因素研究[J]. 粮油食品科技, 2011, 19(1): 32-35.
- [24] Wan Z L, Wang J M, Wang L Y, et al. Complexation of resveratrol with soy protein and its improvement on oxidative stability of corn oil/water emulsions [J]. Food Chemistry, 2014, 161(6): 324-331.
- [25] Tang F, Xie Y X, Cao H, et al. Fetal bovine serum influences the stability and bioactivity of resveratrol analogues: A polyphenol-protein interaction approach [J]. Food Chemistry, 2017, 219: 321-328.
- [26] 曹艳芸. 乳清蛋白与多酚在中性 pH 条件下的相互作用对蛋白功能性质的影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [27] Friedman M, Brandon D L. Nutritional and health benefits of soy proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(3): 1069-1086.
- [28] 高柳. 黑米蛋白的提取及谷蛋白功能性质和改性研究[D]. 成都: 西华大学, 2019.
- [29] 史瑞婕, 郭丰铭, 董亚楠, 等. 杏鲍菇蛋白质功能特性研究[J]. 食品科技, 2018, 43(2): 132-136.
- [30] Kinsella J E. Functional properties of soy proteins [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1979, 56(3Part1): 8216-8223.
- [31] 刘建垒. 燕麦蛋白的提取及其亚基与功能特性研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2013.
- [32] 王璋. 食品化学(高校教材)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 295-358.
- [33] 李弓中, 赵英, 王俊彤, 等. 超声处理对蛋清蛋白结构性质及蛋清液起泡性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 68-75.
- [34] 郑煜焱, 曾洁, 李晶, 等. 米糠蛋白的组成及功能性[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 143-149.
- [35] Stefanovic A, Jovanović, Dojčinović, et al. Impact of high-intensity ultrasound probe on the functionality of egg white proteins [J]. Journal of Hygienic Engineering & Design, 2014, 6: 215-224.
- [36] Guo F X, Xiong Y L, Qin F, et al. Surface properties of heat-induced soluble soy protein aggregates of different molecular masses [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(2): C279-C287.