

不同干燥方式对大豆蛋白二级结构的影响

闫洁, 马晓军*

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122)

摘要: 分别采用喷雾干燥、冷冻干燥进行豆浆制粉, 用红外光谱测定其大豆蛋白的二级结构。通过与原豆浆中大豆蛋白的二级结构进行比较, 可知未进行任何保护措施的喷雾干燥会使大豆蛋白过度变性, 从而失去凝胶能力; 而冷冻干燥因没有使蛋白过度变性, 因而还具有良好的凝胶能力。

关键词: 喷雾干燥, 冷冻干燥, 大豆蛋白二级结构, 红外光谱

Effect of different desiccant-manner on the secondary structure of soybean protein

YAN Jie, MA Xiao-jun*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of
Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Through making soybean powder separately by spray drying and freeze drying, the secondary structure of soybean protein was determined by infrared spectroscopy. Comparing with the original sample, the results showed that spray drying which had no protect measures could make soybean protein excess denature, as a result the protein lost its gel ability; while freeze drying leave soybean protein still had well gel ability because of its moderate denature.

Key words: spray drying; freeze drying; the secondary structure of soybean protein; infrared spectroscopy

中图分类号: TS214.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2008)05-0131-03

目前, 工业上生产豆粉所采用的干燥方式大多为喷雾干燥。在喷雾干燥的过程中, 由于其较高的温度, 大豆蛋白会发生变性。变性是大豆蛋白产生凝胶能力的前提, 但过分的变性也会阻碍凝胶的形成。因此在实际生产中, 人们会采取一些措施, 如在干燥或造粒的过程中添加卵磷脂和糊精^[1,2], 除了改善其冲调性外, 也对大豆蛋白的变性具有一定的保护作用。除了喷雾干燥外, 还有其他的一些干燥方法, 如冷冻干燥、真空干燥等, 也同样可以制得豆粉, 并且其产品的凝胶性较喷雾干燥的豆粉要好, 其原因可能与蛋白质的变性程度有关。不同干燥方式对大豆蛋白结构的影响的比较鲜有报道, 本研究主要比较了冷冻干燥与喷雾干燥对大豆蛋白二级结构的影响, 以期为进一步的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

大豆 市售; KBr 分析纯。

欧科料理机 佛山市顺德区欧科电器有限公司; 电磁炉 上海奔腾企业有限公司; QZ-5 型喷雾干燥塔 锡山市林州干燥机厂; ACPHA1-4 型冷冻

干燥机 CHRIST 公司; 红外光谱仪 Nicolet Nexus470 FT-IR; 粉碎机 江苏金坛市环宇科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 样品准备

1.2.1.1 大豆选择 选择无虫蛀、无霉变、籽粒饱满的大豆为原料。

1.2.1.2 浸泡 浸泡条件为大豆:水 = 1:6 (质量比) 左右, 浸泡时间 8~10h。

1.2.1.3 打浆 大豆浸泡膨胀后打浆机打浆, 然后将浆渣分离, 浆液即为生豆浆, 备用。

1.2.1.4 煮浆 将生豆浆用大火加热至沸, 然后在 95℃ 下维持 5min, 以灭除其抗营养因子和酶。煮熟的浆即为熟豆浆, 冷却备用。

1.2.2 冷冻干燥 将熟豆浆倒入平皿中, 放入冷冻干燥箱中干燥 48h。干燥后的固体用粉碎机粉碎, 制成豆粉。

1.2.3 喷雾干燥 将熟豆浆用喷雾干燥器干燥, 参数设定为: 进风温度: 185℃; 出风温度: 90℃, 制得的产品即为喷雾干燥豆粉。

1.2.4 蛋白质二级结构的测定 红外光谱仪测定^[3]。

1.2.4.1 图谱采集 冷冻干燥和喷雾干燥所得的豆粉采用溴化钾压片, 豆浆加入变温 ATR 中, 到指定温度后, 平衡 5min, 以相同温度下的 1mL 水作为背景,

收稿日期: 2007-09-03 * 通讯联系人

作者简介: 闫洁 (1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 豆制品的研发。

均用红外光谱仪扫描,测定波段为 $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$,扫描次数为 32 次。

1.2.4.2 图谱处理 用 PeakFit v4.12 软件对酰胺 I 带 $1600\sim 1700\text{cm}^{-1}$ 波段的图谱进行分析。先校正基线,然后用 Gaussian 去卷积,再由俄二阶导数拟合^[4],多次拟合使残差最小。根据峰面积计算各二级结构的比率。各子峰与二级结构对应关系的指认为: $1618\sim 1640\text{cm}^{-1}$ 和 $1670\sim 1690\text{cm}^{-1}$ 为 β -折叠; $1650\sim 1660\text{cm}^{-1}$ 为 α -螺旋; $1640\sim 1650\text{cm}^{-1}$ 为无规则卷曲; $1660\sim 1700\text{cm}^{-1}$ 为 β -转角^[5,6]。

2 结果与分析

2.1 原样大豆蛋白的图谱分析

豆浆的红外光谱如图 1,在 30°C 下,即在蛋白质没有经过任何热变性处理的条件下,大豆蛋白的结构是以 β -折叠为主的,如表 1,其比例占到了 46.36%; 1648cm^{-1} 的峰被指认为无规则卷曲,它所占的比例为 22.79%,排在第二位; 1660cm^{-1} 的峰为 α -螺旋,含量为 15.5%; 所占比例最小的为转角结构,仅为 9.29%。Fukushima^[7] 对 7S 和 11S 球蛋白进行了研究,发现两种球蛋白分子内部的主要结构是 β -折叠和无规则卷曲结构。由于大豆蛋白的主要成分是 7S 和 11S 球蛋白,所以本研究的结果与 Fukushima 的结果基本吻合。

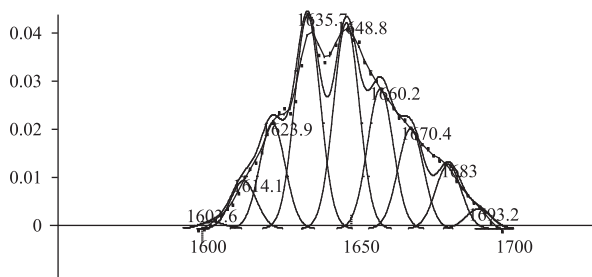


图 1 30°C 下大豆蛋白酰胺 I 带的拟合曲线

表 1 30°C 下大豆蛋白的酰胺 I 带

峰位置 (cm^{-1})	峰的指认	峰面积	所占的百分 含量(%)
1623.8	β -折叠	0.2147	
1635.4	β -折叠	0.4354	46.36
1670.1	β -折叠	0.2053	
1648.9	无规则卷曲	0.4208	22.79
1660.4	α -螺旋	0.2861	15.5
1683.6	β -转角	0.1314	9.29
1693.2	β -转角	0.0401	

2.2 冷冻干燥豆粉的图谱分析

冷冻干燥所得的豆粉在不经任何处理的条件下,如加入乳化剂和增稠剂,便具有良好的凝胶性。本实验还就其凝胶性进行了测定,数据未给出,所得结果比较理想。实验证实,豆粉在热水中溶解,加入凝固剂后数分钟内便能形成具有一定强度的凝胶。其红外光谱如图 2,比较了它与 30°C 下大豆蛋白的二级结构的差别,如表 2。经过冷冻干燥,原豆浆大豆蛋白中的 β -折叠结构明显减少,由 46.36% 降到了 35.91%; 原豆浆大豆蛋白的另一个主要的二级结构无规则卷曲也由 22.79% 减少到了 17.1%,分析其原因可能是在 0°C 下,水结冰从溶液中分离,各溶质组

分都得到了浓缩,体系中的盐饱和和沉淀,溶液 pH 改变,这使得蛋白质分子发生了变性,某些维持 β -折叠或无规则卷曲的多肽链发生了 180° 的反转,形成了 β -转角结构^[8],因此 β -转角结构所占的比例有所上升。虽然我们得到的只是不同的二级结构在含量上的变化,不过可以推断的是其在三级结构上也会发生某种程度的变化,如由紧密卷曲的三级结构变得舒展,使得深埋于分子内部的疏水基团得以暴露等,这些都有助于凝胶的形成。可能正是基于此,冷冻干燥的豆粉具有良好的凝胶性。

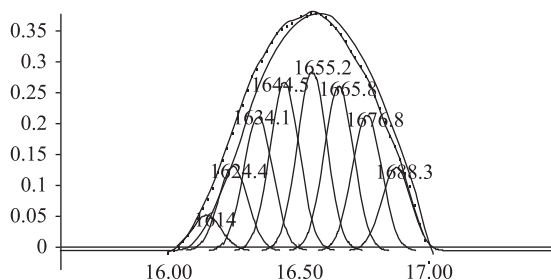


图 2 冷冻干燥大豆蛋白酰胺 I 带的拟合曲线

表 2 冷冻干燥大豆蛋白的酰胺 I 带

峰位置 (cm^{-1})	峰的指认	峰面积	所占的百分 含量(%)
1619.9	β -折叠	1.9324	
1629.6	β -折叠	3.0675	35.91
1677.8	β -折叠	3.1210	
1641.2	无规则卷曲	3.8755	17.1
1656.6	α -螺旋	4.1111	18.2
1666.2	β -转角	3.7772	
1693.2	β -转角	1.9148	25.17

2.3 喷雾干燥豆粉的图谱分析

本实验所进行的喷雾干燥也是未添加其它物质,没有进行其它保护措施,而仅仅是对豆浆进行的喷雾干燥,目的就在于单纯地考察喷雾干燥对大豆蛋白的影响,排除了采取其它措施可能引起的干扰或误差。对于喷雾干燥所得的豆粉,首先其溶解性很差,其次凝胶性也不理想,加入凝固剂后几乎不成凝胶,而只是成为疏松的絮状物。其红外光谱如图 3,喷雾干燥使得大豆蛋白的无规则卷曲结构完全消失, β -折叠结构也减少很多,与之相反的是 β -转角结构大幅度增加,由原来的 9.29% 增加到了 41.28%,如表 3,比冷冻干燥的大豆蛋白增加了将近 20%。分析其原因,可能是由于喷雾干燥过程中较高的温度,使得大豆蛋白的变性过度,蛋白质发生热降解,从而失去凝胶能力,而成为亚溶胶^[9]。

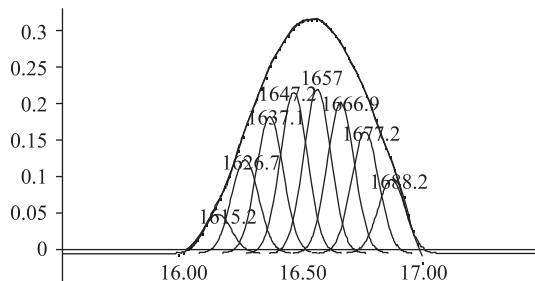


图 3 喷雾干燥大豆蛋白酰胺 I 带的拟合曲线

(下转第 136 页)

表3 甜杏仁蛋白的组成及纯度

蛋白质	蛋白组成百分比 (%, w/w)	各组分蛋白质纯度 (%, w/w)
清蛋白	77.16	89.36
球蛋白	2.73	81.45
醇溶蛋白	0.64	10.47
谷蛋白	19.45	80.12

3 结论

3.1 甜杏仁蛋白的等电点为4.5,其吸水性和吸油能力均优于大豆分离蛋白;当乳化温度由20℃上升至50℃时,乳化能力逐渐上升,60℃后乳化能力逐渐下降,乳化稳定性在40℃后显著下降;起泡性不如大豆分离蛋白,而泡沫稳定性与大豆分离蛋白相似;甜杏仁蛋白的表面疏水性指数远大于大豆分离蛋白。

3.2 对甜杏仁蛋白的氨基酸组成分析表明,其氨基酸种类齐全,谷氨酸含量丰富,是优质的蛋白质资源。

3.3 组成分析结果表明,甜杏仁蛋白中77%左右为清蛋白,其余三种蛋白含量较低。

参考文献:

- [1] Owen R Fennema, 王璋等译. 食品化学(第三版)[M]. 中国轻工业出版社, 2003.
- [2] 李翠芹, 陈桐, 章平, 等. 甜杏仁中微量元素及氨基酸成分的分析[J]. 贵州工业大学学报(自然科学版), 2006, 35(2):92~98.

- [3] Amihud Kramer, W H Kwee. Functional and nutritional properties of tomato protein concentrates [J]. Journal of Food Science, 1977, 42:207~211.
- [4] D S Sogi, M S Arora, S K Garg, A S Bawa. Fractionation and electrophoresis of tomato waste seed proteins [J]. Food Chemistry, 2002, 76:449~454.
- [5] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of protein; evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1978, 26:716~723.
- [6] 郑亚军, 郝利平, 李艳. 杏仁蛋白质的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(11):208~211.
- [7] 大连轻工业学院等八大院校编. 食品分析[M]. 中国轻工业出版社, 1994.
- [8] 钟芳. 方便豆腐花的制备及大豆蛋白速凝机理研究[D]. 江南大学博士学位论文, 2001.
- [9] Lang Qing-yong, Wai Chien M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review [J]. Talanta, 2001, 53: 771~782.
- [10] 管晓, 姚惠源. 燕麦麸蛋白的组成及功能性质研究[J]. 食品科学, 2006, 27(7):72~76.
- [11] 曾卫国. 花生蛋白溶解性和乳化性的研究[J]. 农产品加工学刊, 2005(1):16~19.
- [12] 迟玉杰编. 实用蛋白质制备技术[M]. 哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社, 1998. 15~194.
- [13] 汪家政, 范明编. 蛋白质技术[M]. 北京:科学出版社, 2002. 35~103.

(上接第132页)

表3 喷雾干燥大豆蛋白的酰胺 I 带

峰位置 (cm ⁻¹)	峰的指认	峰面积	所占的百分 含量(%)
1629.6	β-折叠	1.8906	
1639.2	β-折叠	2.7549	37.42
1677.8	β-折叠	2.4564	
1652.7	α-螺旋	3.2476	17.1
1666.6	β-转角	3.3118	
1668.2	β-转角	3.0314	41.28
1693.2	β-转角	1.4925	

3 结论

通过比较冷冻干燥与喷雾干燥对大豆蛋白二级结构的影响,可以看出,这两种干燥方式均能使大豆蛋白的结构发生某种程度的变化,如β-折叠和无规则卷曲结构的减少,β-转角结构的增多。两种干燥方式使蛋白质结构发生变化的程度不同,喷雾干燥能使大豆蛋白的无规则卷曲结构完全消失,而β-转角结构大量增多;与之相比,冷冻干燥的处理手段显得较为温和,大豆蛋白的变性被维持在了一定的程度。结构决定性质,也许这正是两种干燥手段使得大豆蛋白表现出来的性质有所差异的原因所在。

参考文献:

- [1] 宋清, 熊文珂. 流化床卵磷脂喷涂技术在豆奶粉生产中的应用[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(2):32~34.
- [2] 葛毅强, 孙爱东. 食用乳化剂与增溶剂及其在食品工业中的应用[J]. 食品工业科技, 1998(3):76~78.
- [3] 陈允魁. 红外吸收光谱法及其应用[M]. 上海:上海交通大学出版社, 1993. 10~15.
- [4] 邢本刚, 梁宏. FT-IR 在蛋白质二级结构研究中的应用进展[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 1997, 15(3):45~48.
- [5] Zhao X, et al. FTIR spectra studies on the secondary structures of 7S and 11S globulins from soybean proteins using AOT reverse micellar extraction [J]. Food Hydrocolloids, 2007(1):19.
- [6] Jackson M, Mantsch H H. The use and misuse of FT-IR spectroscopy in the determination of protein structure [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 1995(30):95.
- [7] Fukushima D. Internal structure of 7S and 11S globulin molecules in soybean proteins [J]. Cereal Chem, 1968, 45(3):203~224.
- [8] 王璋, 许时婴, 汤坚. 食品化学[M]. 中国轻工业出版社, 1999. 123~174.
- [9] Peng I C, Quass D W, Dayton W R, et al. The Physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin—a review [J]. Cereal Chem, 1984, 61(6):480~490.