SPI 挂面特性与其蛋白质结构特征的相关性

冯蕾，李梦琴，李超然
（河南农业大学食品科学技术学院，河南郑州 450002）

摘要：采用质构分析、核磁共振及傅里叶红外光谱技术研究了不同添加量 SPI 对挂面的烹调性质、质地特性、水分状态及蛋白质结构特征参数的影响，结果表明：大豆分离蛋白显著影响挂面的烹调性质以及质地性质；添加大豆分离蛋白的挂面的 T_{21}增加，T_{22}减小；随大豆分离蛋白含量的增加，挂面中巯基含量波动上升（10.53~14.22 μmol/L），二硫键含量整体波动降低（12.26~6.56 μmol/L）；酰胺 I 谱带（1700 cm^{-1}~1600 cm^{-1}）中蛋白质二级结构经过去卷积，二阶导数拟合，出现 β-折叠片层，延伸及分子内耦合，β-折叠、α-螺旋、β-转角、β-折叠片层、反向平行五个特征峰，且随着 SPI 添加量增加，蛋白质二级结构的百分含量变化差异显著；SPI 挂面的弯曲距离与蛋白质二级结构中 β-折叠片层，延伸及分子内耦合和 β-折叠结构含量呈极显著正相关，与 α-螺旋、β 转角以及反向平行结构含量呈极显著负相关。

关键词：挂面特性；大豆分离蛋白质；蛋白质二级结构；相关性
文章篇号：1673-9078(2014)1-55-62

The Correlation of Protein Structural Features and Properties of Dry Noodles Added with SPI

FENG Lei, LI Meng-qin, LI Chao-ran
(Food science and Technology College of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The properties and protein structural features of dry noodles added with soybean protein isolate (SPI) were analyzed by texture analysis,NMR and FT-IR technologies. The results showed that SPI had significant influence on texture and cooking properties of dry noodles. T_{21} of dry noodle added with SPI was increased while T_{22} was decreased. When addition level of SPI was increased, hydrosulphonyl content of dry noodle fluctuated increased (10.53~14.22 μmol/L) and disulfide bond content decreased in volatility (12.26~6.56 μmol/L). Meanwhile, the characteristic peaks in the secondary structures of protein, including anti-parallel β-sheet, aggregated strands, β-strand, α-helix, β-sheet, extension and intramolecular coupling were appeared. With SPI content increased, the percentage of protein secondary structures displayed significant difference. The bending distance to dry noodle and percentage of characteristic peak in protein secondary structures of anti-parallel β-sheet, aggregated strands, and β-strand were highly significant positive correlation. The percentage of characteristic peak in protein secondary structure including α-helix, β-sheet, reverse parallel structure was negative correlation.

Key words: properties of dry noodles; soybean protein isolated; protein secondary structure; correlation

随着人们生活水平的提高以及社会的快速发展，具有经济快捷、贮藏期长、易于流通以食用方便等优势的挂面，已成为国内产量最大、覆盖面最广的方便食品之一，且深受消费者的欢迎。90 年代以来，杂粮（荞麦、大麦、大豆等）面条、冷冻面、食疗兼备（加芦荟、杜仲等）的面条、藻类面条、活性酵母面条、蔬菜面条、发酵面条等中高档花色品种进入市场，但各类杂粮挂面的质量差异较大，容易出现断条、酥条等质量问题，究其原因在一定程度上是盲目添加杂粮而无理论依据。

面粉加水形成面团的过程中，蛋白质吸水膨胀，分子之间发生缔合，蛋白质三维网状结构的聚合物（即面筋）形成，面筋中肽链分子间键和分子内键相互键合，主要包括离子键、疏水键、氢键等，其中二硫键的形成是使挂面具有弹性的关键因素，而水是形成面筋结构的必要因素，面团形成过程中水分的扩散和水合影响蛋白质侧链的旋转，增加了侧链上的反应基团生成化学键，形成分子间的缔合[1]。

蛋白质的质量是影响面制品的关键因素，特别是蛋白质的化学组成成分，空间结构、二硫键的数目以及二级结构单元的构成等，面筋蛋白是由麦胶蛋白和

收稿日期：2013-09-04
基金项目：河南省教育厅自然科学研究计划项目（2010A550008）
作者简介：冯蕾(1987-)，女，硕士，研究方向为食品科学
通讯作者：李梦琴(1965-)，女，副教授，研究方向为食品科学与农产品加工

麦谷蛋白构成的高分子聚合体，依靠氢键、疏水键以及分子内及分子间的二硫键连接，构成紧密的三维结构，国内外学者主要研究可溶性蛋白质和贮藏性蛋白质与面制品的品质[2]。大豆分离蛋白质的加入在增加面团中蛋白质含量的同时，也将与水形成新的氢键结合，从而引起面团中蛋白质、淀粉之间的水分迁移。本研究采用大豆分离蛋白质（soy protein isolated，SPI）为原料，研究其添加对挂面特性的影响，采用核磁共振（Nuclear Magnetic Resonance, NMR）技术及傅里叶红外光谱（Fouier transform infrared spectroscopy, FT-IR）技术研究大豆分离蛋白质添加对挂面水分迁移及挂面中蛋白质结构的变化的影响，揭示挂面特性变化的结构基础，为开发高蛋白质类（豆类）挂面提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

面粉：郑州海嘉食品有限公司提供；大豆分离蛋白：郑州金苑面粉厂提供。

黄原胶、甘氨酸、EDTA、5,5'-二硫基双-2-硝基苯甲酸、盐酸、氯化钠、十二烷基磺酸钠、尿素、亚硫酸钠等：均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

DMT-5 电动面条机：龙口市复兴机械有限公司；RQH-250 型程控人工气候箱：上海新诺仪器设备有限公司；TA-XA PLUS 物性测试仪：英国 Stable micro systems 公司；KDY-08C 凯氏定氮仪：上海瑞正仪器设备有限公司；DHG-9143BS-Ⅲ电热恒温鼓风干燥箱：上海新苗医疗器械制造有限公司；B5D 双功能搅拌机：广东省番禺市华粤电器厂；TDL-5-A 型低速大容量离心机：上海安亭科学仪器厂；722E 型可见分光光度计：上海光谱仪器有限公司；MicroMR 核磁共振成像仪：上海光谱仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蛋白质含量的测定

蛋白质含量测定：参照 GB 5009.5-2010 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定。蛋白质的含量测定结果为：面粉：12.36%，大豆分离蛋白 88.40%。

1.3.2 挂面的制作

大豆分离蛋白按一定比例（0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0%）与面粉混合均匀，制作大豆分离蛋白挂面备用。

操作要点：（1）和面：在混合粉中添加 0.2%的黄原胶，混合均匀，加入 2%的食盐水，其添加量为混合粉总重的 38%，在和面机上搅拌 15 min；（2）面团熟化：四层纱布覆盖，在温度为 25 ℃，相对湿度为 70%的恒温恒湿箱中静置熟化 30 min；（3）复合压片：压片过程参照 SB/T10137-93，轧片 5 次，轧距依次为 4 mm、3 mm、2 mm、1 mm，每轧距均对折合片轧片 2 次，最终面片厚度为 1 mm，面条宽度为 2.5 mm，长度为 220 mm。在每次调节压辊间距之后，试样面片应全部通过，之后再调节压辊间距，使每批式样的压片过程一致。（4）干燥：采用三段式干燥法[3]。

1.3.3 面条烹调性质的测定

参照蔡丽丽[4]测定煮后面条的干物质损失率和干物质吸水率。取一定质量的挂面于 500 mL 蒸馏水中，煮至面条白芯消失，即最佳蒸煮时间时捞出面条放在滤纸上沥干，称重计算干物质吸水率。将剩余面汤放置常温后转入 500 mL 容量瓶中定容混匀，量取 50 mL 面汤倒入恒重的 250 mL 烧杯中，放在可调式电炉上蒸发掉大部分水后，再量取 50 mL 面汤，如此重复操作 4 次，当量取的 200 mL 面汤在烧杯中蒸发至少许时，将烧杯放入恒温干燥箱内烘至恒重，计算干物质损失率。重复测定三次，计算平均值，计算公式如下：

$$干物质吸水率=[M_1-M_2\times(1-W)]/[M_2(1-W)]\times100\% \quad (1)$$

注：M_1-煮后面条的质量，g；M_2-煮前面条的质量，g；W-煮前面条的水分含量，%。

$$干物质损失率=2.5M/[G\times(1-W)]\times100\% \quad (2)$$

注：M-200 m 面汤中干物质的质量，g；G-煮前面条的质量，g；W-煮前面条的水分含量，%。

1.3.4 挂面质地测定

1.3.4.1 挂面的质地测定

取干燥好的挂面进行弯曲实验，测定挂面的抗弯曲强度和弯曲距离，每次测试重复三次，结果取三次测试的平均值。

探头：A/SFR

实验参数：

Mode（模式），compression；Test Speed（测试速度），1.0 mm/s；Post-Test Speed（测后速度），1.0 mm/s；Trigger Distance（触发距离），40 mm；Trigger Type（触发值），Auto-3 g。

1.3.4.2 挂面煮后质地的测定

取 40 根面条放入盛有 1000 mL 沸腾蒸馏水的 2000 mL 烧杯中，开始计时，当面条中的白芯消失时，迅速捞出，自来水中淋水 30 s 后浸于 200 mL 蒸馏水中 2 min，进行拉伸实验和剪切实验，参照尹守伟[5]

研究选择合适的实验模式。

（1）剪切实验

每次把 3 根煮熟的面条以相同的间隔水平放置在载物台上，对每个试样进行 5 次平行实验，去掉最大最小值，并求最大剪切力（F_{max}）的平均值。

探头：A/LKB

实验参数：

Mode（模式），compression；Pre-Test speed（测前速度），2.0 mm/s；Test Speed（测试速度），0.8 mm/s；Post-Test Speed（测后速度），0.8 mm/s；Strain（测试程度），90%；Trigger Type（触发值），Auto-3 g。

（2）拉伸实验

每次将一根煮熟的面条固定在两个平行的摩擦轮之间，轮子匀速运动直至面条断裂，每个试样做 5 次平行，去掉最大最小值，并求拉断力（F_{max}）平均值。

探头：A/SPR

实验参数：

Mode（模式），Extension；Pre-Test speed（测前速度），2.0 mm/s；Test Speed（测试速度），2.0 mm/s；Post-Test Speed（测后速度），10.0 mm/s；Trigger Distance（触发距离），100 mm；Trigger Type（触发值），0.5 g。

1.3.5 二硫键和巯基的测定

采用 Ellman's 试剂比色法测定 SPI 挂面中蛋白质的二硫键及巯基的含量[6]。

1.3.6 弛豫时间的测定

大豆分离蛋白质的加入，将改变面粉中淀粉、蛋白质的等与水的结合方式，导致水分的迁移，采用核磁共振仪测定挂面的弛豫时间，反映面团中水分结合状态的变化。

CPMG 实验条件：利用自旋回波序列 CPMG(Carr Purcell Meiboom Gill)脉冲序列测量样品的自旋-自旋弛豫时间（Transverse relaxation time for MxY, T_2）。称取挂面样品 1 g 置于永久磁场中心位置的射频线圈的中心，进行 CPMG 脉冲序列的扫描实验。

CPMG 实验参数：采样点数 TD=80140，重复扫描次数 NS=8，重复时间 TR=2000 ms，半回波时间 τ=200 μs。CPMG 弛豫衰减曲线用 T_2 反演拟合软件进行反演，得到 T_2。本软件反演的结果为生成弛豫图，各个弛豫过程的弛豫幅值，其对应时间常数（峰值）及其所占面积分数，每个峰起始时间和结束时间等[7]。

计算时间如下所示：

$T_{21}=\sum A_{21i}\times T_{21i}/A_{21\,总}$

$T_{22}=\sum A_{22i}\times T_{22i}/A_{23\,总}$

$T23=\sum A_{23i}\times T_{23i}/A_{23\,总}$

$T_{2\,总}=\sum A_i\times T_i/A_{\,总}$

1.3.7 傅立叶变换红外光谱分析

蛋白质的化学组成成分以及空间结构、二级结构单元的构成以及二硫键及巯基的数目是影响面制品的品质的关键因素，大豆分离蛋白的加入，将改变面团中水分状态，导致水分的迁移，从而影响淀粉的吸水以及蛋白质多肽链之间及内部的相互作用。因此利用傅立叶变化红外光谱分析蛋白质对面制品中蛋白质二级结构的变化，探讨二级结构与面制品品质的相关性。

傅立叶变换红外光谱常用于蛋白质结构分析，适用于蛋白质分子和多肽链的测定，红外光谱是在红外波段（10 cm^{-1}~10000 cm^{-1}）的吸收光谱，在此红外区蛋白质分子有若干个特征吸收带，如酰胺 I 谱带（1700 cm^{-1}~1600 cm^{-1}）是由于蛋白质分子骨架肽链羰基由于伸缩产生振动的红外吸收带，与蛋白质的二级结构相关，而水在 1640 cm^{-1} 附近也有吸收，因此水的红外吸收对酰胺 I 谱带有一定的影响；对于酰胺 I 带中，波数在 1650 cm^{-1}~1658 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 α-螺旋含量，1620 cm^{-1}~1640 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 β-折叠的含量[8]。

实验条件：称取一定量的挂面粉末，按样品与溴化钾质量比为 1:100 加入溴化钾混合，压制成薄片，即用 KBr 压片法在傅立叶红外光谱仪上做全波段（400~4000 cm^{-1}）扫描测定，以 KBr 作为空白；

实验参数：分辨率为 4 cm^{-1}，测试范围 400 cm^{-1}~4000 cm^{-1}。

采用 OMNIC 8.0 数据处理软件以及 Peakfit 4.12 软件对傅里叶红外光谱去卷积，进行二阶导数拟合使残差大于 0.96。指认蛋白质二级结构特征峰并计算各结构的百分含量。

1.4 数据处理

测定实验重复三次，用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析，并用 Excel 以及 Origin 6.0 软件进行作图以及进一步分析，显著性 $p\leq0.05$。

2 结果与分析

2.1 大豆分离蛋白质对挂面烹煮性质的影响

添加大豆分离蛋白制作的挂面，煮后面条的干物质吸水率及干物质损失率见图 1，分析蛋白质对挂面烹煮性质的影响。

图 1 中可知，添加 1.5%大豆分离蛋白的挂面干物质损失率较低，以及添加 2.0%时挂面干物质吸水率较

低以外，添加大豆分离蛋白的挂面干物质损失率以及干物质吸水率均大于不添加大豆分离蛋白的挂面。且随着大豆分离蛋白的添加量，挂面的干物质吸水率和损失率先随之降低而后又升高。

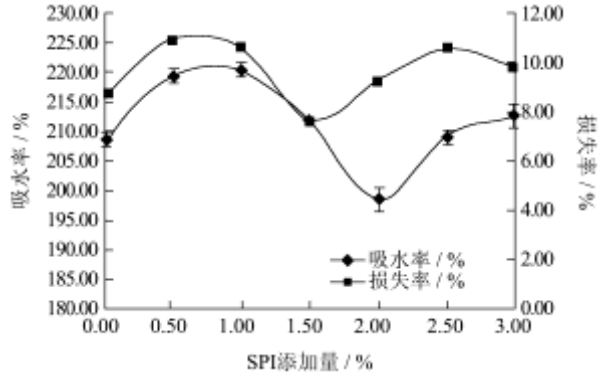


图 1 大豆分离蛋白对挂面烹煮性质的影响

Fig.1 Effect of SPI on noodle's cooking properties

由于面条吸水主要是淀粉的糊化，其次蛋白质的水合作用，试验结果显示，少量添加大豆分离蛋白，可以强化面筋网络，使得吸水率及损失率降低，但添加量逐渐增高时，面团的面筋网络结构被破坏，淀粉颗粒及蛋白质的损失率增加，蛋白质网络结构展开，功能性基团暴露，吸水率增加[9]。

2.2 大豆分离蛋白质对挂面质地的影响

挂面的质地包括干面条的抗弯曲强度实验以及煮后面条的剪切力和拉伸实验。

2.2.1 大豆分离蛋白对挂面抗弯曲强度的影响

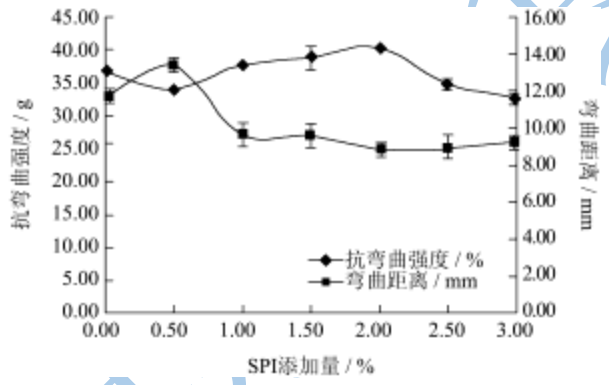


图 2 大豆分离蛋白对挂面质地的影响

Fig.2 Effect of SPI on dry noodle structure

挂面的抗弯曲强度与干面条的硬度以及脆性有关，采用质构仪测定大豆分离蛋白对挂面的抗弯曲强度以及弯曲距离的影响见图 2。

由图 2 可以看出，添加 0.5%的大豆分离蛋白挂面的抗弯曲强度较空白挂面小，而弯曲距离较大，但随着大豆分离蛋白添加量的增加，挂面的抗弯曲强度先升高后降低，而弯曲距离基本不变，均小于空白挂面，即干面条的硬度先增加后减小，弹性整体变差。

大豆分离蛋白少量添加时，增加了挂面中蛋白质的含量，干面条的硬度随之增加，但由于不含面筋蛋白，因此随着添加量的继续增加，混合粉中的面筋含量降低，蛋白质网络结构被破坏，弹性变差，干面条在弯曲挤压时的变形程度就会减小。

2.2.2 大豆分离蛋白对挂面煮后质地的影响

煮后面条的最大剪切力和拉断力与面条的筋力有关，采用质构仪测定大豆分离蛋白对挂面的最大剪切力和拉断力的影响见图 3。

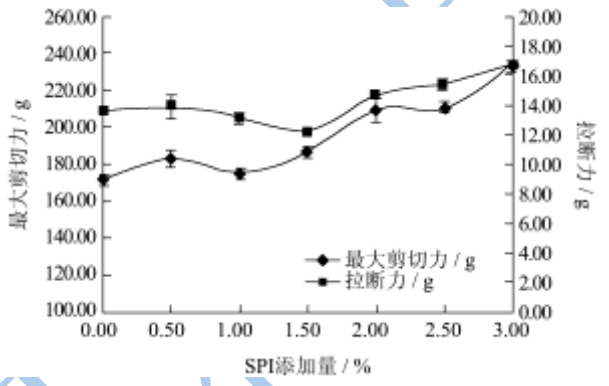


图 3 大豆分离蛋白对煮后挂面质地的影响

Fig.3 Effect of SPI on dry noodle quality

由图 3 可知，大豆分离蛋白添加到面粉中制作挂面，使煮后面条的最大剪切力随添加量的增加逐渐增加，而挂面的拉断力先减小后增大。

因此，少量添加大豆分离蛋白影响挂面面筋蛋白的形成，即煮后面条的拉断力降低，随着大豆分离蛋白的继续增加，面条拉断力又呈现增大趋势，即添加大豆分离蛋白能增大挂面的拉断力和最大剪切力。

2.3 大豆分离蛋白质对弛豫时间的影响

当水分和亲水性物质紧密结合时，水分子的流动性受到抑制，T_2 值降低；流动性较强，T_2 值较大，即水分子的流动性与弛豫时间成正比关系[10]。

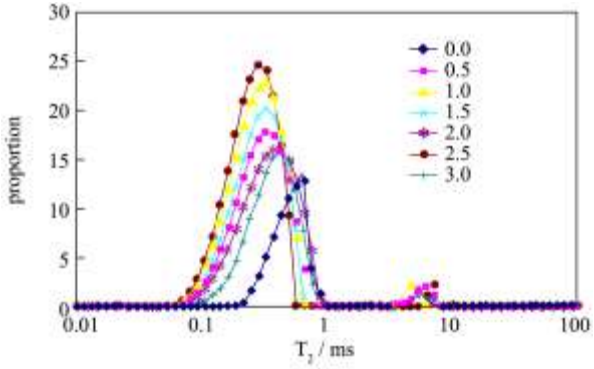


图 4 大豆分离蛋白挂面的 T_2 分布图

Fig.4 Integral area illustration of relaxation time T2 of noodles added SPI

图 4 为添加不同量的大豆分离蛋白制作的挂面样

品经过核磁共振测定的自旋-自旋弛豫时间图，根据 T_2 值所示可知，T_2 值均小于 100 ms，即挂面中的水分为结合水，挂面中出现不同的两个自旋-自旋弛豫时间，说明存在两部分流动性不同的水分，主要存在两种状态，分别为：1) T_2<1 ms (T_{21})，表示一部分与蛋白质-淀粉网络结构亲水基团结合紧密的水分的弛豫时间，这部分水分的流动性较弱，即化合水；2) T_2> 1 ms (T_{22})，表示存在于淀粉颗粒、蛋白质网络结构结合程度相对较弱的水分的弛豫时间，这部分水分的流动性强于 T_{21}。

根据加权求和，计算添加大豆分离蛋白的挂面 T_{21} 及 T_{22} 值，见表 2。从表 2 中可以看出，添加大豆分离蛋白的挂面的 T_{21} 较空白挂面大，而 T_{22} 值较空白挂面小。但是 T_{22} 的增加幅度比 T_{21} 的大，且存在显著性差异，这可能是因为添加一定量的大豆分离蛋白，能够减弱水分与蛋白质-淀粉网络结构等的结合，使得环境中能够自由游动的质子数目增多。

表 1 大豆分离蛋白添加量对挂面 T_2 的影响

Table 1 Effect of SPI addition on T_2 content of dry noodles

SPI 添加量/%	T_{21}/ms	T_{22}/ms
0.0	0.30±0.01^{b}	6.46±0.93^{b}
0.5	0.32±0.02^{ab}	5.15±0.75^{e}
1.0	0.33±0.02^{ab}	4.67±1.10^{g}
1.5	0.36±0.04^{b}	6.14±0.97^{c}
2.0	0.37±0.02^{a}	6.83±1.02^{a}
2.5	0.30±0.04^{b}	5.96±0.85^{d}
3.0	0.33±0.03^{ab}	4.79±0.85^{f}

2.4 大豆分离蛋白对挂面的游离巯基和二硫键变化的影响

表 2 大豆分离蛋白对挂面中的巯基和二硫键含量的影响

Table 2 Effect of SPI on content of -SH and -S-S- of dry noodles added with

SPI 添加量/%	巯基含量/(μmol/L)	二硫键含量/(μmol/L)
0.0	8.25±0.18^{g}	4.00±0.09^{g}
0.5	10.53±0.23^{f}	11.72±0.13^{b}
1.0	11.32±0.20^{e}	12.26±0.08^{a}
1.5	13.34±0.16^{b}	10.04±0.11^{d}
2.0	12.80±0.24^{c}	8.48±0.09^{e}
2.5	11.42±0.16^{d}	10.79±0.11^{c}
3.0	14.22±0.31^{a}	6.56±0.07^{f}

二硫键（-S-S-）是共价键连接的两个硫原子，由两个巯基通过氧化反应生成，二硫键的键能很大，对蛋白质的一级结构以及高级结构的形成和维持中均具有十分重要的作用，且二硫键的形成促使氨基酸残基结合，迫使同一肽链或不同肽链相互靠拢，同时疏水氨基酸残基围绕二硫键，形成疏水中心，有利于高级结构的稳定[11]，二硫键是动态变化的，在断裂和重新键合的变化中蛋白质的高级结构发生变化。面筋蛋白中的麦谷蛋白含量的变化与游离巯基以及二硫键的含量变化具有一定的相关性，而麦谷蛋白赋予面团以粘弹性和延伸性等，与挂面的品质密切相关[12]。如表 2 所示，为添加大豆分离蛋白挂面的巯基和二硫键含量。

由表 2 可知，添加大豆分离蛋白的挂面的巯基含量以及二硫键含量均大于不添加大豆分离蛋白的空白挂面，且随着大豆分离蛋白添加量的增加，挂面中巯基含量呈整体波动上升趋势（10.53~14.22 μmol/L），相反，二硫键含量呈整体波动降低趋势（12.26~6.56 μmol/L），且波动变化较大。

挂面中二硫键以及巯基含量的变化主要是由于小麦面筋蛋白中半胱氨酸残基的巯基变化引起[13,14]，其中麦醇溶蛋白只含有分子内二硫键，水化之后赋予面团流变性，麦谷蛋白是大分子复合体，有 HMW-GS 和 LMW-GS，含有大量分子间二硫键，水化后使面团具有良好的弹性和延伸性，添加大豆分离蛋白的面团巯基含量增加，但在搅拌过程中，蛋白质分子间以及分子内的二硫键的形成受到面筋蛋白含量的影响。

2.5 SPI 挂面的傅立叶红外光谱分析

蛋白质的化学组成成分及二级结构单元的构成、蛋白质的空间结构、二硫键和巯基的数目均是影响面制品的品质的关键因素，大豆分离蛋白加入挂面，会对蛋白质、淀粉等分子产生影响，影响挂面品质。

傅立叶红外光谱（Fouier transform infrared spectroscopy，FT-IR）常用于蛋白质结构分析，如酰胺 I 谱带（1700 cm^{-1}~1620 cm^{-1}）与蛋白质的二级结构相关，其中波数在 1660 cm^{-1}~1700 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 β-折叠的含量，1650 cm^{-1}~1658 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 α-螺旋含量，1640 cm^{-1}~1650 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 β-折叠的含量，1620 cm^{-1}~1640 cm^{-1} 处峰面积百分含量代表 β-折叠的含量[15]。因此利用傅立叶变化红外光谱分析蛋白质对挂面中蛋白质二级结构的变化，如图 5 所示。

在红外光谱中 2000~1500 cm^{-1} 是双键的伸缩振动区，是非常重要的区域，其中蛋白质的二级结构分析中，酰胺 I 带的谱峰研究较为成熟[16]，图 5 为添加不同含量的大豆分离蛋白挂面的傅里叶红外光谱图，将蛋白质酰胺 I 带（1700~1600 cm^{-1}）的光谱进行傅里叶红外去卷积，求二阶导数拟合，不同谱峰对应挂面中

蛋白质各结构部分的不同振动，主要特征峰与蛋白质的二级结构相对应，如图 6 为挂面的蛋白质酰胺 I 带的傅里叶红外去卷积，二阶导数拟合图谱。

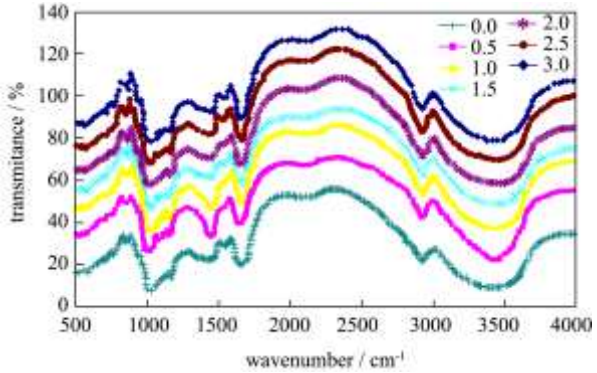


图 5 SPI 挂面的傅立叶红外光谱图

Fig.5 FT-IR of noodles added SPI

表 3 蛋白质酰胺 I 带各波数二级结构指认

Table 3 Assignment of deconvoluted amide I bands in the FTIR spectrum of protein

波数/cm^{-1}	结构特征
1600~1610	侧链振动
1610~1625	β-折叠片层，反向平行
1625~1633	β-折叠
1643~1645	无规则卷曲
1650~1659	α-螺旋
1660	β-转角
1668	β-转角
1680-1682	β-折叠片层，延伸及分子内耦合

如图 6 所示，将挂面的傅里叶红外光谱图的酰胺 I 带（1700 cm^{-1}~1600 cm^{-1}）基线校正，进行特征峰拟合，特征峰的峰面积百分含量发生变化，即二级结构中如 α-螺旋、β-折叠、无规则卷曲等结构含量随着变化，表 3 为蛋白质酰胺 I 带各特征谱带归属[17~18]。

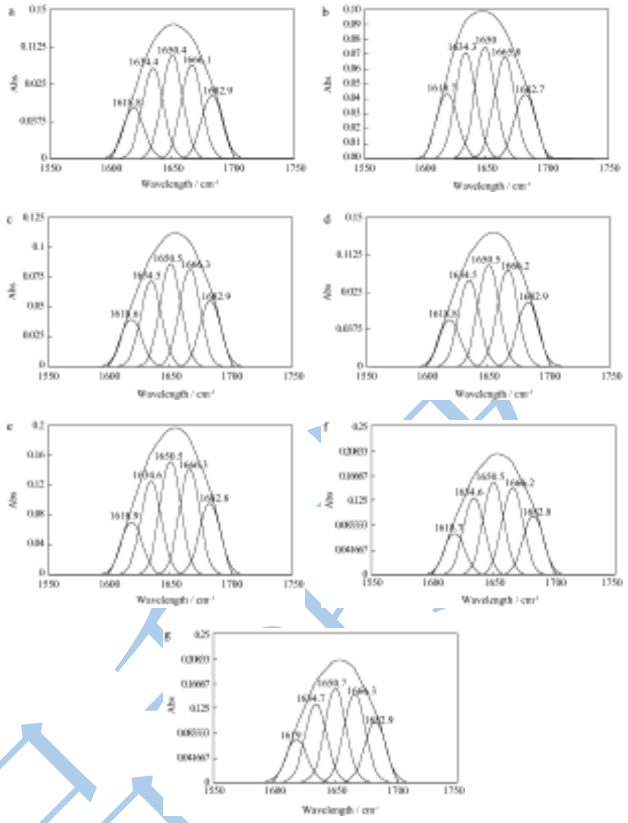


图 6 大豆分离蛋白挂面蛋白质去卷积图谱

Fig.6 Stacked plot of deconvoluted infrared spectra of protein added with SPI

注：A 0.0%，B 0.5%，C 1.0%，D 1.5%，G 3.0%，E 2.0%，F 2.5%，G 3.0%。

由不同大豆分离蛋白含量的挂面酰胺 I 带基线校正，进行特征峰拟合后，可知，挂面中蛋白质二级结构包括 β-折叠片层，延伸及分子内耦合，β-折叠，α-螺旋，β 转角，β-折叠片层，反向平行五个特征峰，挂面中蛋白质酰胺 I 带特征峰百分含量，即蛋白质二级结构的百分含量，如表 4 所示。

表 4 蛋白质二级结构的含量

Table 4 Plot of integrated intensity of several infrared spectral bands of protein

SPI 添加量/%	β-折叠片层,延伸及分子内耦合/%	β-折叠/%	α-螺旋/%	β-转角/%	β-折叠片层,反向平行/%
0.0	12.72±0.04^{b}	22.58±0.23^{b}	25.64±0.13^{a}	23.43±0.35^{bc}	15.64±0.06^{a}
0.5	14.44±0.08^{a}	23.59±0.12^{a}	24.90±0.24^{b}	22.73±0.32^{c}	14.34±0.20^{b}
1.0	11.82±0.07^{c}	21.49±0.10^{c}	25.78±0.18^{a}	24.40±0.21^{a}	16.51±0.21^{a}
1.5	12.03±0.02^{c}	21.73±0.08^{c}	25.60±0.75^{a}	24.27±0.39^{ab}	16.37±0.53^{a}
2.0	12.03±0.03^{c}	21.55±0.03^{c}	25.89±0.58^{a}	24.20±0.26^{ab}	16.33±0.32^{a}
2.5	11.91±0.50^{c}	21.56±0.05^{c}	25.91±0.20^{a}	24.29±0.18^{ab}	16.34±0.29^{a}
3.0	11.92±0.23^{c}	21.67±0.09^{c}	25.82±0.25^{a}	24.24±0.23^{ab}	16.35±0.19^{a}

蛋白质的二级结构是多肽链沿同一方向排列，通过氢键结合形成的周期性结构。由表 4 所示可知，添加大豆分离蛋白挂面蛋白质的二级结构 β-折叠片层，延伸及分子内耦合和 β-折叠结构含量先减小后变化缓慢，α-螺旋，β 转角以及 β-折叠片层，反向平行结构含量先增大后变化缓慢，且含量之间存在显著性差异。

2.6 SPI 挂面质构特性与结构特征参数的相关性分析

添加大豆分离蛋白，挂面的煮后最大剪切力和拉断力以及干面条的抗弯曲强度发生显著性的变化，而挂面中水分分布以及迁移率、巯基以及二硫键含量、红外光谱中蛋白质二级结构百分含量变化存在显著性差异，因此建立挂面的质构性质与挂面的分子结构变化参数的相关性，分析并探讨挂面品质变化机理。表 5 为大豆分离蛋白挂面的质构指标与挂面中蛋白质分子结构参数变化的相关性分析结果。

表 5 SPI 挂面质构特性与结构特征参数的相关性

Table 5 The relation of structure characteristic parameters and texture properties of dry noodles added with SPI

结构特征	抗弯曲强度/g	弯曲距离/mm	最大剪切力/g	拉断力/g
β-折叠片层，延伸及分子内耦合/%	-0.37	0.94**	-0.38	-0.16
β-折叠/%	-0.39	0.98**	-0.44	-0.18
α-螺旋/%	0.34	-0.90**	0.42	0.30
β-转角/%	0.36	-0.97**	0.42	0.13
β-折叠片层，反向平行/%	0.40	-0.95**	0.37	0.12
巯基含量/%	0.03	-0.65	0.73	0.31
二硫键含量/%	0.04	-0.02	-0.16	-0.30
T_{21}/ms	0.66	-0.38	0.19	-0.22
T_{22}/ms	0.62	-0.16	-0.09	-0.19

注：**p<0.01 极显著水平；*p<0.05 显著水平。

由表 5 所示，大豆分离蛋白挂面的弯曲距离与蛋白质二级结构中 β-折叠片层，延伸及分子内耦合和 β-折叠结构含量呈极显著正相关，与 α-螺旋，β 转角以及 β-折叠片层，反向平行结构含量呈极显著负相关。

大豆分离蛋白的添加，增加的蛋白质的含量，且改变了小麦粉挂面中蛋白质的结构组成，引起挂面的品质发生变化。因此，挂面品质的变化主要是由于维持网络结构的蛋白质二级结构的组成的相互转化引起。

3 结论

3.1 挂面的 T_{21} 随着大豆分离蛋白含量的增加而增加，T_{22} 减小，且存在显著性差异；随着大豆分离蛋白添加量的增加，挂面中巯基含量整体呈上升趋势（10.53~14.22 μmol/L），二硫键含量呈整体波动降低趋势（12.26~6.56 μmol/L）。

3.2 挂面中蛋白质二级结构经过去卷积，二阶导数拟合，出现 β-折叠片层，延伸及分子内耦合，β-折叠、α-螺旋、β-转角、β-折叠片层、反向平行五个特征峰，随着大豆分离蛋白，蛋白质二级结构的百分含量变化差异显著。

3.3 大豆分离蛋白挂面的弯曲距离与蛋白质二级结构中 β-折叠片层，延伸及分子内耦合和 β-折叠结构含量呈极显著正相关，与 α-螺旋、β 转角以及反向平行结构含量呈极显著负相关。

参考文献

[1] Yaakoy Levy, José N. Onuchic. Water and proteins: A love-hate relationship [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(10): 3325-3326

[2] 付苗苗,王晓曦.小麦蛋白质及其各组分与面制品品质的关系[J].粮食与饲料工业,2006,8:10-13
FU Miao-miao, WANG xiao-xi. Relationships of protein and protein fraction to quality of wheat flour products [J]. Cereal and feed industry, 2006, 8: 10-13

[3] 高飞.挂面高温干燥系统工艺参数控制及挂面品质的研究[D].河南:河南工业大学,2010
GAO Fei. The study of control parameters of high temperature drying system of noodles and its qualities [D]. Henan: Henan university of technology, 2010

[4] 蔡丽丽.水对面条品质的影响[D].河南:河南工业大学,2007
CAI Li-li. Effect of the water on the noodle quality [D]. Henan: Henan technology university, 2007

[5] 尹守伟,陆启玉,杨秀改.面条评价方法的研究[J].河南工业大学学报,2005,26(3):45-48
YIN Shou-wei, LU Qi-yu, YANG Xiu-gai. Study on Noodle Evaluating Methods [J]. Journal of Henan University of Technology, 2005, 26(3): 45-48

[6] Peter W Riddles, Robert L Blakeley, Burt Zerner. Ellman's reagent: 5,5′-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) - a reexamination [J]. Analytical Biochemistry, 1979, 94(1): 75-81

[7] T L Kojima, A K Horigane, M Yoshida, et al. Change in the Status of Water in Japanese Noodles During and After Boiling Observed by NMR Micro Imaging [J]. Journal of Food Science, 2001, 66(9): 1361-1365

[8] Jilie KONG, Shaoning YU. Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2007, 39(8): 549-559

[9] 任国普,曾宇.大豆蛋白在面条中的应用研究[J].食品工业科技,2003,24(10):82-83
REN Guo-pu, ZENG Yu. The application of soy protein in

noodle proceasing [J]. Science and Technology of Food Industry, 2003, 24(10): 82-83

[10] R Roger Roan, Xiaoan Wang, Paul L Chen, et a1. Study of water in dough using nuclear magnetic resonance [J]. Trends in Food and Technology, 1999, 10(10): 213-320

[11] Wedemeyer W J, Welker E, Narayan M, et a1. Disulfide bonds and protein folding [J]. Biochemistry, 2000, 39(15): 4207-4216

[12] Hogg P J. Disulfide bonds as switches for protein function [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2003, 28(4): 210-214

[13] 张玉荣,刘四奎,周显青.小麦受蛀食性害虫侵害后期面筋蛋白结构的变化[J].河南工业大学学报(自然科学版), 2011, 32(5):6-10
ZHANG Yu-rong, LIU Si-kui, ZHOU Xian-qing. Changes of gluten structure of wheat infected by boring pests [J]. Journal of Henan University of Technology, 2011, 32(5): 6-10

[14] Gary G A, Samil M K, Shahwar I, et al. The interaction of dietary fibres with disulphide bonds(S-S) and a potential strategy to reduce the toxicity of the gluten proteins in coeliac disease [J]. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. 2012, 28(1): 115-130

[15] M Carbonaro, A Nucara. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region [J]. Amino Acids. 2010, 38 (3): 679-690

[16] Lauren P D, Ziad G, Rebecca A. Amide I′-II′ 2D IR Spectroscopy Provides Enhanced Protein Secondary Structural Sensitivity [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131 (9): 3385-3391

[17] Belton P S, Colquhoun I J, Grant A, et al. FTIR and NMR studies on the hydration of a high-Mr subunit of glutenin [J]. J Biol Macromol, 1995, 17: 74-80

[18] Kavanagh G M, Clark A H, Ross-Murphy S B. Heat-induced gelation of globular proteins: part 3. molecular studies on low pH β-lactoglobulin gels [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2000, 28: 41-50

现代食品科技