

喷雾干燥对籽瓜种子蛋白理化及功能特性的影响

邓芝串^{1,2}, 张超¹, 张晖², 王立², 钱海峰², 齐希光², 张春华³

(1.北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100097) (2.江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

(3.上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 为探究喷雾干燥对籽瓜种子蛋白质理化结构及功能特性的影响。以冷冻干燥的籽瓜种子蛋白质作对比, 探究喷雾干燥对蛋白质体积密度、色泽、体外消化率、氨基酸组成、热变性温度、表面疏水性、内源荧光、二级结构、超微结构及功能特性的影响。研究表明: 与冷冻干燥相比, 喷雾干燥后的籽瓜种子蛋白质体积密度较大为 0.34 g/mL, 白度较大, 色泽较好, 体外消化率较高为 96.0%, 赖氨酸与精氨酸比值较低为 0.20, 必需氨基酸组成基本没有变化, 热稳定性较好, 变性峰值温度、热变性焓值较大分别为 89.06 °C、1.751 J/g, 内源荧光最大发射波长由 352 nm 向 354 nm 发生红移, 表面疏水性增加为 4097.5, β -转角含量增加为 29.62%, α -螺旋、 β -折叠和无规则卷曲均向 β -转角转变, 溶解性、持水持油性、乳化特性、起泡特性等功能特性均变差。

关键词: 籽瓜种子蛋白质; 喷雾干燥; 理化结构特性; 功能特性

文章编号: 1673-9078(2015)11-242-249

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.037

Effect of Spray Drying on the Physicochemical, Structural, and Functional Properties of Seed-watermelon Seed Proteins

DENG Zhi-chuan^{1,2}, ZHANG Chao¹, ZHANG Hui², WANG Li², QIAN Hai-feng², QI Xi-guang², ZHANG Chun-hua³

(1.Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

(2.School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(3.College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The aim was to explore the effect of spray drying on the physicochemical, structural, and functional properties of seed-watermelon seed proteins. The bulk density, color, *in vitro* digestibility, amino-acid composition, thermal denaturation, surface hydrophobicity, endogenous fluorescence, secondary structure, ultrastructure, and functional properties of spray-dried seed-watermelon seed proteins were compared to those of freeze-dried seed-watermelon seed proteins. The results showed that spray-dried seed-watermelon seed proteins had a larger bulk density ($\rho=0.34$ g/mL), greater whiteness, better color, higher *in vitro* digestibility (96%), a lower ratio of lysine and arginine (0.20), similar essential amino-acid composition, better thermal stability, a higher denaturation temperature (89.06 °C), and a higher thermal denaturation enthalpy value (1.75 J/g) compared to the freeze-dried proteins. Additionally, spray-dried seed-watermelon seed proteins showed a red shift in the endogenous fluorescence maximum-emission wavelength from 352 nm to 354 nm, and increased surface hydrophobicity (4097.5) and β -turn content (29.62%). There was also a shift from the α -helix, β -sheet, and random coil secondary structures to β -turns, as well as a decrease in the solubility, water- and oil-holding capacities, emulsifying activity, and foaming properties.

Key words: functional properties; physicochemical and structural characteristics; seed-watermelon seed protein; spray drying

籽瓜又称“打瓜”, 外形与西瓜相似但比西瓜略小, 味淡, 属葫芦科普通西瓜亚种的变种, 分为黑籽瓜和红籽瓜两种。我国籽瓜产区主要为吉林、山西、内蒙

收稿日期: 2014-12-31

基金项目: 国家高技术研究发展计划资助项目(863计划)(2013AA102203-07)

作者简介: 邓芝串(1990-), 男, 在读硕士, 主要从事粮食与植物蛋白方面的研究

通讯作者: 张晖(1966-), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事谷物与健康食品领域的研究

古等地, 年产量为百万吨以上^[1]。籽瓜种仁中含有大量的油脂和蛋白, 其中粗脂肪含量为 39.6%~48.2%左右, 蛋白含量为 36%~40%左右。近年来, 籽瓜籽油因具有轻质、不油腻、渗透力强、吸收快、高度保湿、溶解多余皮脂、油质稳定等特点, 是良好婴儿润肤油, 已经应用于化妆品行业, 尤其是在美国和英国, 而经脱脂后的籽瓜种子粕含有大量的蛋白质, 籽瓜种子蛋白含有丰富的必需氨基酸, 除了赖氨酸外, 其他几种必需氨基酸均达到或超过 FAO(联合国粮农组织)规

定的标准^[2-3],是一种优质的植物蛋白质资源,在食品加工领域有着广阔的开发前景,如不加以利用会造成资源的浪费。但是,近年来对籽瓜种子蛋白质的研究相对较少,只有张玉秀等对其氨基酸组成进行系统的评价和比较^[2]、张超等优化水酶法提取籽瓜种子蛋白质的工艺^[4],李春生优化了红籽瓜种仁分离蛋白的提取工艺,并探究了蛋白质的加工特性及酶解制备抗氧化肽的工艺^[5]。以上报道也全是针对冷冻干燥后籽瓜种子蛋白质进行研究,未见喷雾干燥后籽瓜种子蛋白质的报道,但是目前工业上,为了降低生产成本,普遍采用喷雾干燥法对植物蛋白进行干燥。在喷雾干燥过程中,虽然处理时间短,但由于其较高的温度,蛋白质仍会发生部分变性,势必会影响蛋白质的理化结构及功能特性。而冷冻干燥得到的植物蛋白因为干燥前后的理化及功能性质并没有发生明显改变通常被认为是未变性的。本文以籽瓜种子为原料,采用碱溶酸沉法提取籽瓜种子蛋白质,通过喷雾干燥和冷冻干燥两种方式制备籽瓜种子蛋白质,并分析蛋白质的理化结构及功能特性。通过与冷冻干燥对比来探究喷雾干燥对籽瓜种子蛋白质理化结构及功能特性的影响,该研究不仅能为籽瓜种子蛋白在工业应用中提供理论指导,而且为籽瓜种子蛋白质的深入研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

民籽一号籽瓜种子:甘肃省民勤县金谷源农业科技有限公司;福临门一级大豆油:中粮集团;1-苯氨基萘-8-磺酸(ANS):Sigma标准试剂公司;分析纯氢氧化钠、浓盐酸、浓硫酸、正己烷等:国药集团化学试剂有限公司

1.2 仪器设备

冷冻干燥机:美国 Laboconcor 公司;尼鲁喷雾干燥机;F-7000型荧光光谱仪:日本 HITACHI 公司;Nicolet is10 傅里叶变换红外光谱仪:美国赛默飞公司;日立 S-4800 场发射扫描电子显微镜:日本日立株式会社;安捷伦 1100 型液相色谱仪:美国安捷伦科技有限公司等

1.3 试验方法

1.3.1 籽瓜种仁成分的测定

水分含量的测定:GB/T5009.3-2010 采用常压干燥法进行;粗脂肪含量的测定:GB/T5009.6-2003 采用索氏提取法;灰分含量的测定:GB5009.4-2010 采

用干法灰化法测定;粗蛋白含量的测定:GB/T5009.5-2010 采用凯氏定氮法进行

1.3.2 籽瓜种子蛋白质的提取

籽瓜种子手动脱壳,万能粉碎机粉碎,按 1:4 (*m/V*) 用正己烷脱脂(温度 50 °C, 时间 8 h),于通风橱中干燥 8 h,再于鼓风干燥箱中 50 °C 干燥 12 h,过 60 目筛备用。脱脂后粉末按 1:10 (*m/V*) 料液比加入去离子水,用 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液调 pH 至 11.5,61.5 °C 下搅拌水浴浸提 77 min,3500 r/min、25 °C 离心 15 min,取上清液调 pH 至 5.0 使蛋白沉淀,8000 r/min、4 °C 离心 15 min 得蛋白沉淀,用去离子水洗涤沉淀 2~3 次,调 pH 至 7.0,备用^[6]。

1.3.3 蛋白质的干燥方式

冷冻干燥的条件为:物料厚度不超过 10 mm,温度为 -45 °C,真空度为 5~10 pa,冻干时间为 24 h。

喷雾干燥的条件为:浆料的浓度 10% (*m/m*),进口温度 170 °C,出口温度 80 °C,压力 0.4 MPa

1.3.4 蛋白质功能特性的测定

籽瓜种子蛋白质的溶解度、持水性、持油性、乳化性及乳化稳定性、起泡性及起泡稳定性均参照文献^[7]中的方法进行。

1.3.5 蛋白质的体积密度的测定

将蛋白样品放入 5 mL 容量已经称重好的标准塑料管中 (W_1) 并将其填满至刻度线。对应刻度线的体积为籽瓜种子蛋白质样品的体积。将填满的离心管再次称重 (W_2),则填入管的样品重量为 $W_2 - W_1$,通过计算可以得到籽瓜种子蛋白质的体积密度,单位为 g/mL。

1.3.6 蛋白质色泽及体外消化率的测定

色泽:采用 UltraScan Pro1166 型高精度分光测色仪测定蛋白质的色度。

体外消化率:采用文献^[8]中使用胃-胰蛋白酶两步法测定籽瓜种子蛋白质的体外消化率。

1.3.7 蛋白质氨基酸组成及含量的测定

称取一定量的蛋白样品于 20 mL 水解管中,加入 10 mL 6 mol/L 的 HCl 溶液,抽真空至 7 Pa 后封口。将水解管置于 110 °C 恒温烘箱内水解 24 h 后冷却,混匀,开管,过滤,吸取适量滤液,60 °C 抽真空蒸干,加入 3~5 mL pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲液,摇匀,离心,取上清液,以外标法于安捷伦 AG1100 型氨基酸专用液相色谱仪定量测定^[9]。

1.3.8 蛋白质热变性温度的测定

用配备热分析软件(TA Instruments-Waters LLC)的差示扫描量热仪(DSC)来测量蛋白质的热变性温度。将蛋白质按 1:4 与去离子水混合,制成蛋白质浆,

4 °C 下平衡过夜。取一定量浆状的蛋白质置于仪器配套的铝制坩内,以 5 °C/min 的速率,从 70 °C 升温到 110 °C,进行扫描测量,同时以空坩做参比。最后用仪器配套的软件进行数据处理。

1.3.9 蛋白质表面疏水性的测定

依据 Paulson^[10]使用的 ANS 法:用 1-苯氨基萘-8-磺酸(ANS)作为荧光探针。用 pH 7 的磷酸盐缓冲液,配制一系列浓度的蛋白质溶液,浓度范围 0.0005 mg/mL~0.015 mg/mL。取 2 mL 不同浓度的蛋白溶液加入 10 μL 的 ANS 溶液(8.0 mmol/L, pH 7 的磷酸盐缓冲液配制),立即采用 F-7000 型荧光光谱仪在 390 nm 的激发波长(狭缝 5 nm)和 470 nm 的发射波长下,以未加 ANS 溶液的蛋白溶液做空白,测定样品的荧光强度 FI。以荧光强度对蛋白浓度做曲线,曲线初始阶段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水活性 S_0 。

1.3.10 蛋白质的内源荧光测定

依据 Yun Deng^[11]使用的方法,用 0.01 M pH=7 的磷酸盐缓冲液将蛋白质配成 0.2 mg/mL 的蛋白溶液,采用 F-7000 型荧光光谱仪对蛋白溶液进行波长扫描,激发波长为 290 nm(狭缝 5 nm)和扫描波长为 300~500

nm(狭缝 5 nm)扫描速率为 1200 nm/min。

1.3.11 蛋白质二级结构的测定(FT-IR)

按照 Nabet A 和 Pezolet M 的方法^[12]在傅立叶变换红外光谱仪上测定其红外光谱图,并选取酰胺 I 带(1600-1700 cm^{-1})进行蛋白二级结构分析,应用 PeakFit 4.1.2 软件进行 Gauss 函数多峰拟合红外谱图,分析籽瓜籽瓜子蛋白质二级结构的变化。

1.3.12 蛋白质超微结构分析

取少量冻干的蛋白质样品,用 1% 的四氧化锇固定 1 h,经过离子溅射仪喷金处理后,置于日立 S-4800 场发射扫描电子显微镜下,放大 2000×和 10000×的条件下进行观察、拍照,分析蛋白质的超微结构^[13]。

1.3.13 数据处理

试验所涉及到的测定结果均做 3 次平行,试验数据用 Origin8.6 进行数据处理,用 SPSS 软件进行显著性分析处理。

2 结果与讨论

2.1 籽瓜子蛋白质的基本成分分析

表 1 籽瓜子蛋白质的基本成分分析

Table 1 Chemical composition of watermelon-seed meal, defatted flour, and protein

基本组成	籽瓜种仁粉末	脱脂种仁粉末	蛋白质(喷干)	蛋白质(冻干)
蛋白质/%	37.05±0.84 ^a	64.36±3.33 ^b	90.73±3.68 ^c	91.17±4.95 ^c
粗脂肪/%	45.71±1.77 ^a	6.27±0.14 ^b	0.74±0.05 ^c	0.68±0.02 ^c
水分/%	4.81±0.11 ^a	3.67±0.10 ^a	6.27±0.84 ^b	4.33±0.95 ^a
灰分/%	3.55±0.09 ^a	3.43±0.07 ^a	1.33±0.16 ^b	1.12±0.12 ^b

注:表中±标准误差(n=3),每一行中的不同小写字母表示有显著性差异($P < 0.05$),下同。

由表 1 可知籽瓜种子的主要成分为脂肪和蛋白质,其含量分别为 45.71%和 37.05%。经正己烷脱脂后籽瓜子粉末的脂肪含量下降为 6.27%。通过冷冻干燥和喷雾干燥两种方式制得的籽瓜子蛋白的基本成分组成几乎没有差别,蛋白纯度均达到 90%以上,但喷雾干燥后籽瓜子蛋白质的水分含量较高为 6.27%。

2.2 籽瓜子蛋白质体积密度的测定

由图 1 可知喷雾干燥的籽瓜子蛋白的结构更为紧实,具有更高的体积密度为 0.34 g/mL,而冷冻干燥后蛋白质微观结构较为疏松,表面具有孔洞,其体积密度也较低仅为 0.23 g/mL,这与图 6 的结果是一致的。有研究表明在米糠蛋白和葵花籽蛋白中也观察到这种现象^[14]。这是由于不同干燥机理造成的,冷冻干燥时,料液首先被冻至冰点以下,后置于高真空的冻干机腔体中,通过供热,使水分由固体冰直接升华为

水汽,从而使物料的干燥,所以经过该种干燥方式干燥的物料多能维持多孔的结构,干燥后蛋白质的体积密度较小,而喷雾干燥时籽瓜子蛋白质料液通过喷头进入罐体时被高压空气瞬间打成细小的雾滴,雾滴与热空气接触时,水分被瞬时蒸发,从而实现物料干燥,所以经过喷雾干燥的粉末大多呈现细小的规则或不规则的球型,干燥后蛋白质的体积密度相对较大^[15]。

2.3 籽瓜子蛋白质的体外消化率的测定

由图 2 可知喷雾干燥得到的蛋白质的体外消化率较好为 96.0%,与大豆分离蛋白的消化率 93%~97%^[16]相当,而经冷冻干燥后蛋白质的体外消化率则相对较差为 90.3%。这是因为籽瓜子蛋白质在喷雾干燥过程中受热,发生了部分的变性,蛋白质内部的一些疏水基团由内部向外暴露,蛋白质表面的疏水性氨基酸增加,表面疏水性升高,这与图 4a 的结果相一致,而

胃蛋白酶主要水解苯丙氨酸、亮氨酸等疏水性氨基酸组成的肽键,它要求断裂点两侧的残基都是疏水性氨基酸,因此这些暴露的疏水性氨基酸能增加胃蛋白酶的酶切位点,有利于胃蛋白酶的酶解,从而提高了蛋白的体外消化率。

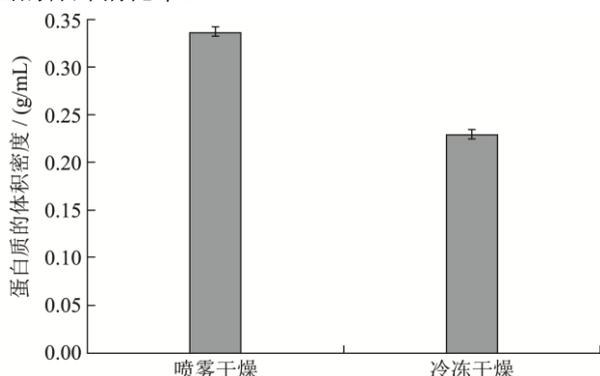


图1 不同干燥方式对蛋白的体积密度的影响

Fig.1 Bulk density of seed-watermelon seed proteins

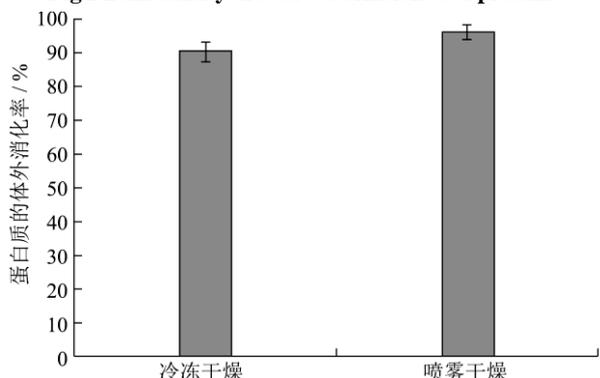


图2 不同干燥方式对蛋白体外消化率的影响

Fig.2 In vitro digestibility of seed-watermelon seed proteins

2.4 籽瓜种子蛋白质色泽的测定

表2 不同干燥方式对籽瓜种子蛋白质色泽的影响

Table 2 Color of seed-watermelon seed proteins

干燥方式	a*	b*	L*
喷雾干燥	-0.29 ± 0.08	7.22 ± 0.05	90.76 ± 0.02
冷冻干燥	0.72 ± 0.04	16.97 ± 0.05	83.17 ± 0.01

L*值表示黑-白,数值越大表明样品越白; a*值表示红-绿,数值越大则样品越红; b*值表示黄-蓝,数值越大则样品越黄。由表2可知,经喷雾干燥的蛋白质的红度、黄度较小,白度较大,说明喷干后的蛋白质颜色较白,色彩纯正,无其他异色,而经冷冻干燥的蛋白质的红度、黄度较大,白度较小,说明冻干后的蛋白质样品色彩偏暗,颜色偏黄,这种颜色的差别是由于不同干燥方式制得的蛋白质的颗粒大小、形态及表面结构不同造成的。

2.5 籽瓜种子蛋白质的氨基酸组成分析

表3 籽瓜种子蛋白质的氨基酸组成及含量

Table 3 Amino-acid composition of seed-watermelon seed proteins

氨基酸含量/(g/100g)	冷冻干燥	喷雾干燥	FAO/WHO标准
异亮氨酸	4.07 ± 0.11	4.03 ± 0.09	4.00
亮氨酸	6.48 ± 0.02	6.51 ± 0.11	7.04
赖氨酸	2.75 ± 0.10	2.67 ± 0.07	5.44
甲硫氨酸	2.51 ± 0.04	2.36 ± 0.10	2.20
苯丙氨酸	5.50 ± 0.16	5.35 ± 0.11	2.80
苏氨酸	3.76 ± 0.06	3.71 ± 0.12	4.00
色氨酸	0.98 ± 0.03	0.97 ± 0.04	0.96
缬氨酸	4.72 ± 0.28	4.79 ± 0.17	4.96
丙氨酸	4.40 ± 0.06	4.27 ± 0.13	
脯氨酸	3.84 ± 0.11	3.31 ± 0.10	
酪氨酸	3.04 ± 0.04	3.34 ± 0.07	
精氨酸	13.44 ± 0.23	13.07 ± 0.19	
甘氨酸	4.12 ± 0.10	4.32 ± 0.12	
半胱氨酸	0.65 ± 0.05	0.56 ± 0.07	
天冬氨酸	8.04 ± 0.03	7.87 ± 0.11	
组氨酸	2.27 ± 0.03	2.15 ± 0.05	
丝氨酸	4.26 ± 0.04	4.56 ± 0.06	
谷氨酸	16.51 ± 0.07	15.91 ± 0.12	

由表3可知冷冻和喷雾干燥得到的籽瓜种子蛋白质的氨基酸组成没有明显差别,与FAO/WHO的推荐标准相比,除赖氨酸含量较低外,其必需氨基酸均接近或高于标准值,这与Ali Abas Wani的研究结果相一致^[17]。冷冻干燥后籽瓜种子蛋白质必需氨基酸与总氨基酸之比为30.77%,而经喷雾干燥后蛋白质的必需氨基酸与总氨基酸的比值为30.39%,均低于大豆蛋白(39.81%)^[18]。籽瓜种子蛋白质中谷氨酸含量最高,其次是精氨酸和天冬氨酸,其含量分别为16.51%、13.44%和8.04%,其赖氨酸与精氨酸的比值均为0.20,远低于其他一些蛋白质如大豆蛋白(0.58)、酪蛋白(1.28)等,精氨酸可以转化为有效的血管舒张剂,从而抑制血小板粘附和聚集,动物实验表明,蛋白质较低的赖氨酸与精氨酸之比可以减少动物的动脉粥样硬化^[19]。因此,籽瓜种子蛋白质是一种优质蛋白质资源,应给与相当的重视。

2.6 籽瓜种子蛋白质的热变性温度

由图3a可知,喷雾干燥后籽瓜种子蛋白质的初始变性温度为79.41℃,峰值变性温度为89.06℃,焓值为1.751 J/g。而冷冻干燥后籽瓜种子蛋白质的初始变性温度为77.97℃,变性峰值温度为88.86℃,焓值

为 0.6613 J/g。与冷冻干燥相比,喷雾干燥后蛋白质具有更好的热稳定性,变性更加困难,变性温度、焓值均变大,这是因为籽瓜种子蛋白质在喷雾干燥的过程中受热,致使蛋白质朝着更难变性的方向发生了部分变性,从而改变了蛋白质的热力学性质^[15,20]。

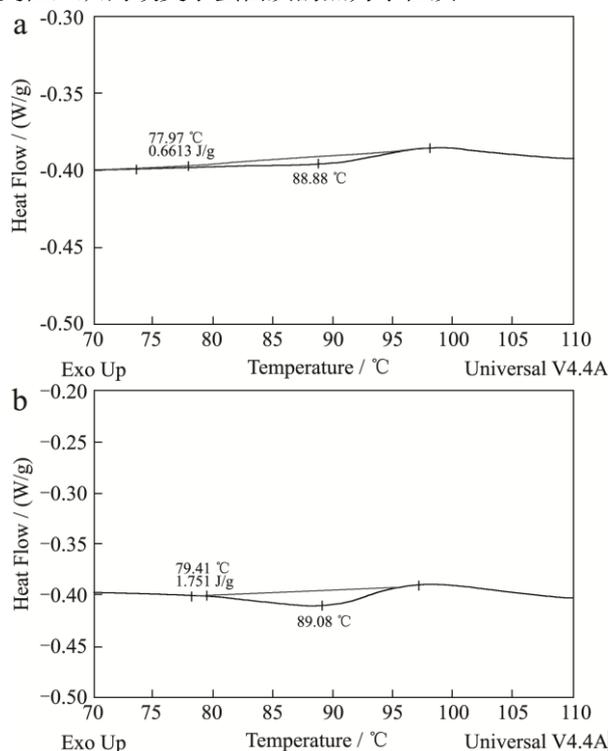


图3 籽瓜种子蛋白质的DSC图谱

Fig 3 DSC curves of seed-watermelon seed proteins following (a) freeze drying or (b) spray drying

注: a.冷冻干燥, b.喷雾干燥。

2.7 籽瓜种子蛋白质的表面疏水性及内源荧光的测定

由图 4a 可知,喷雾干燥的籽瓜种子蛋白的表面疏水值较高为 4097.5,而冷冻干燥的相对较低仅为 2391.6,这就说明经喷雾干燥的蛋白质表面具有更多的非极性基团形成的疏水区域。而蛋白质的内源荧光同样也能表示籽瓜种子蛋白质表面的疏水性,蛋白质发射的荧光光谱主要取决于蛋白质中色氨酸和酪氨酸残基所处的环境有关,当蛋白质内源荧光的最大发射波长发生红移时则表明色氨酸残基向蛋白质表面的亲水环境移动,使更多的疏水基团外漏,表面疏水性增加^[21]。由图 4b 可知,冷冻干燥后籽瓜种子蛋白质的内源荧光的最大发射波长为 352 nm,而喷雾干燥后的最大发射波长为 354 nm,与冷冻干燥相比,喷雾干燥后蛋白质内源荧光的最大发射波长发生红移,这说明喷雾干燥使蛋白质内部的色氨酸残基更多的向外暴

露,从而使蛋白质的表面疏水性增加,而较高的表面疏水性使蛋白质对水的亲和力减弱,对蛋白质的溶解性不利,同时也会改变蛋白质的乳化与起泡等特性。

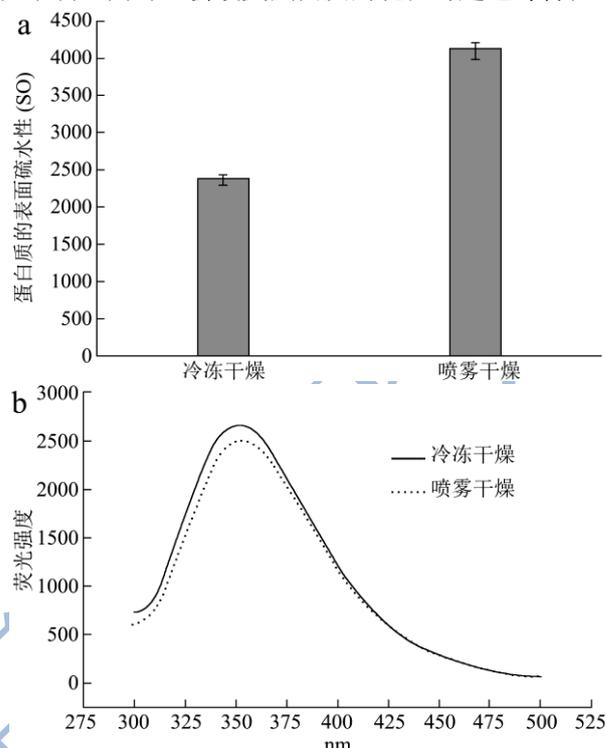


图4 籽瓜种子蛋白质的表面疏水性及内源荧光图

Fig 4 Intrinsic fluorescence emission spectroscopy and surface hydrophobicity of proteins

2.8 籽瓜种子蛋白质的二级结构测定

由图 5 可知,冷冻干燥后蛋白质的红外图谱经峰拟合后出现 10 个子峰,而喷雾干燥出现 13 个子峰,根据各子峰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: 1612~1640 cm^{-1} 和 1670~1690 cm^{-1} 为 β -折叠; 1648~1660 cm^{-1} 为 α -螺旋; 1640~1650 cm^{-1} 为无规则卷曲; 1662~1684 cm^{-1} 为 β -转角^[22],经计算得到冷冻干燥和喷雾干燥后蛋白质的二级结构含量如表 4 所示。由表 4 可知,冷冻干燥后籽瓜种子蛋白质中 β -折叠和无规卷曲的含量较高分别为 36.66% 和 37.74%, α -螺旋和 β -转角的含量则较低为 19.10% 和 6.50%,而经喷雾干燥后籽瓜种子蛋白质中 β -转角的含量大量增加为 29.62%, β -折叠、无规卷曲、 α -螺旋的含量均降低,这是因为,蛋白质在喷雾干燥过程中短暂受热,蛋白质发生部分变化,使某些维持 α -螺旋、 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^[23],因此 β -转角结构所占的比例有所上升。这与闫洁,马晓军等在 2008 年研究不同干燥方式对大豆蛋白二级结构的影响得到的结论是相似的^[24]。

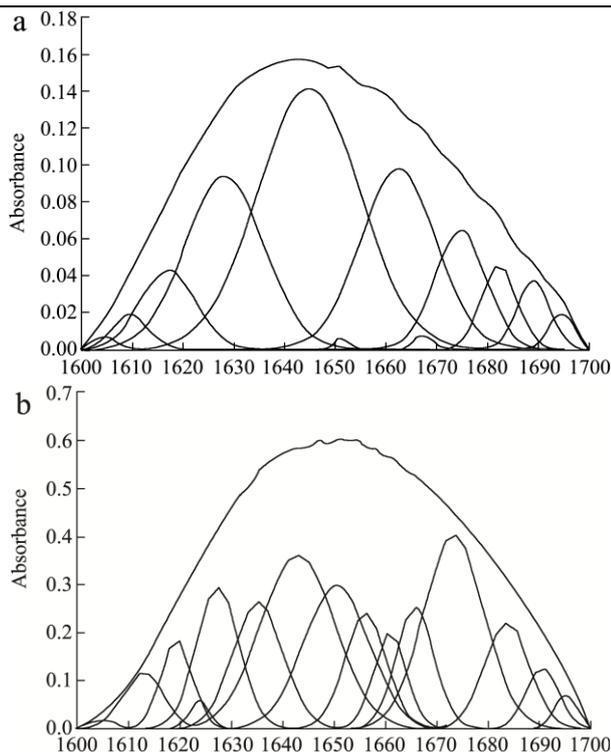


图5 籽瓜种子蛋白质的红外拟合图谱分析

Fig 5 Deconvoluted FTIR spectra and curve-fitting results of proteins following (a) freeze drying or (b) spray drying

注: a: 冷冻干燥, b 喷雾干燥。

2.9 籽瓜种子蛋白质的超微结构分析

由图6可知, 喷雾干燥和冷冻干燥后的籽瓜种子蛋白质的超微结构有着明显的差异。经冷冻干燥的蛋白呈现出比较稀松、多孔的大片层结构, 而喷雾干燥的蛋白质则呈现出大小不一, 带有褶皱的不规则球型结构。而蛋白质在超微结构上的不同会对它们在物理化

学特性及功能性方面产生一定的影响^[25]。冷冻干燥后的蛋白质结构比较稀松、空洞分布较多会使蛋白质的体积密度相对较小, 使蛋白质在与油水接触时的接触面积增大, 对蛋白质的持水性和持油性有利, 这与表5的结果相一致。而喷雾干燥后的蛋白质呈现大小不一, 结构不规则的球型, 颗粒较小, 从而导致蛋白质粉末的颜色较白, 体积密度较大, 这与表2和图1的结果相一致。

表4 籽瓜种子蛋白质的二级结构分析

Table 4 Estimation of the secondary structural compositions of seed-watermelon seed proteins

二级结构含量/%	冷冻干燥	喷雾干燥
α -螺旋	19.10	11.03
β -折叠	37.74	28.65
β -转角	6.50	29.62
无归卷曲	36.66	30.70

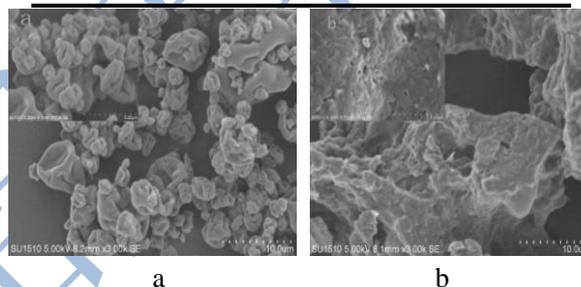


图6 籽瓜种子蛋白质的扫描电镜图

Fig 6 SEM pictures of seed-watermelon seed proteins following (a) spray drying or (b) freeze drying

注: a. 喷雾干燥, b. 冷冻干燥。

2.10 籽瓜种子蛋白质的功能特性分析

表5 籽瓜种子蛋白质的功能特性

Table 5 Functional characteristics of seed-watermelon seed proteins

蛋白质种类	溶解度/%	持水性 /(g/g)	持油性 /(g/g)	乳化性 /(m ² /g)	乳化稳定 性/min	起泡性/%	起泡稳定 性/%
冷冻干燥	22.41±1.26	2.21±0.13	3.11±0.06	36.42±2.16	40.76±0.62	18.74±1.14	51.03±1.29
喷雾干燥	17.65±0.74	1.89±0.04	2.68±0.06	38.91±3.54	39.74±0.75	20.03±1.63	52.71±1.93
大豆蛋白	62.70±1.83	6.58±0.53	1.49±0.04	139.6±4.87	36.98±0.91	82.31±1.74	59.76±2.01

由表5可知, 与大豆分离蛋白质相比, 除持油性较好外, 籽瓜种子蛋白质的其他功能特性均较差, 喷雾干燥得到的籽瓜种子蛋白质最差。喷雾干燥后籽瓜种子蛋白质的溶解度较低, 仅仅为大豆蛋白的28.15%, 而经冷冻干燥比喷雾干燥提高了26.97%。这是因为蛋白质在喷雾干燥的过程中受热, 发生了部分变性, 蛋白质的变性程度较高, 而致使蛋白质的溶解度降低^[26]。籽瓜种子蛋白质的持水性较差, 且经过喷雾干燥得到的蛋白质持水性最差, 仅为冷冻干燥的

85%, 这是因为蛋白质在喷雾干燥时受热, 一部分内部的疏水基团外漏, 表面的疏水基团增加, 对水的亲和力减弱, 对水的持留作用降低, 从而致使蛋白质的持水性降低^[27]。与大豆蛋白质相比, 籽瓜种子蛋白质的持油性明显较好, 且冷冻干燥后蛋白质的持油性比喷雾干燥好, 是喷雾干燥的1.16倍。这是因为经过冷冻干燥的蛋白质, 结构较为疏松具有较低的体积密度, 呈现多空的片层状超微结构, 对蛋白质持油性极为有利, 而经喷雾干燥的籽瓜种子蛋白质体积密度较大,

超微结构呈现扁平的球型,对持油性的贡献较小^[28]。

3 结论

冷冻和喷雾两种干燥方式制得的籽瓜种子蛋白质除水分含量有差异外,其他成分基本相同,氨基酸组成差别不大,赖氨酸与精氨酸的比值较低为0.20,必需氨基酸与总氨基酸的比分别为30.77%和30.39%。冷冻干燥的籽瓜种子蛋白质超微结构疏松、表面孔洞较多,体积密度小为0.23 g/mL,色彩偏暗,颜色偏黄、表面疏水性相对较低,热稳定性较差,与大豆蛋白相比,功能特性较差。而喷雾干燥的籽瓜种子蛋白呈大小不均、表面有褶皱的不规则球型,体积密度较大为0.34 g/mL,白度较大,色泽较好,体外消化率较高为96.0%。与冷冻干燥相比,喷雾干燥制得的籽瓜种子蛋白质的内源荧光的最大发射波长红移,蛋白质表面疏水性增大,热稳定、变性峰值温度增加,焓值增大为1.751 J/g,β-折叠、无规卷曲、α-螺旋含量降低,β-转角含量增大,溶解性、持水性、持油性变差,乳化特性及起泡特性变化不大。

参考文献

- [1] 梁琪,蒋玉梅,张盛贵,等.甘肃省不同产地籽瓜瓤皮成分分析[J].甘肃农业大学学报,1999,34(1):79-83
LIANG Qi, JIANG Yu-mei, ZHANG Sheng-gui, et al. Components of seed-used watermelon fruit in gansu of china [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 1999, 34(1): 79-83
- [2] 张玉秀,赵文明.籽瓜种子蛋白质的氨基酸成分分析[J].果树科学,1992,9(4):231-233
ZHANG Yu-xiu, ZHAO Wen-ming. The amino acid composition analysis of seeds-melon seeds protein [J]. Journal of Fruit Science, 1992, 9(4): 231-233
- [3] EL-ADAWY Tarek A, Taha Khaled M. Characteristics and composition of different seed oils and flours [J]. Food Chemistry, 2001, 74(1): 47-54
- [4] 张超,罗述博,赵晓燕,等.水酶法提取籽瓜种子蛋白质工艺的优化[J].食品工业,2012,33(12):21-24
ZHANG Chao, LUO Shu-bo, ZHAO Xiao-yan, et al. Optimization of aqueous-enzymatic extraction of seed-watermelon seed protein [J]. The Food Industry, 2012, 33(12): 21-24
- [5] 李春生.红籽瓜种仁分离蛋白特性研究与抗氧化肽制备[D].内蒙古农业大学,2011
LI Chun-sheng. Study on extraction and characteristics of protein and produce of anti-oxidation peptide from red melon seeds [D]. Inner Mongolia Agricultural University, 2011
- [6] 张超,郭晓飞,李武,等.籽瓜种子蛋白质组成及其提取工艺优化的研究[J].中国粮油学报,2013,28(9):119-123
ZHANG Chao, GUO Xiao-fei, LI Wu, et al. Composition and extraction of watermelon seed protein [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, 28(9): 119-123
- [7] 邓芝串,张超,张晖,等.黑籽瓜种子蛋白质的功能特性[J].食品工业科技,2014,35(10):115-119
DENG Zhi-chun, ZHANG Chao, ZHANG Hui, et al. Functional properties of black seed-watermelon seeds protein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 115-119
- [8] TANG C H. Functional properties and in vitro digestibility of buckwheat protein products: Influence of processing [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 82(4): 568-576
- [9] FAN Li, DONG Ying-jia, KAI Yao. Amino acid composition and functional properties of collagen polypeptide from yak (bos grunniens) bone [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(5): 945-949
- [10] PAULSON Allan T, TUNG Marvin A. Solubility, hydrophobicity and net charge of succinylated canola protein isolate [J]. Journal of Food Science, 1987, 52(6): 1557-1561
- [11] DENG Yun, LUO Ya-li, WANG Yue-gang, et al. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets [J]. Food Chemistry, 2015, 171: 168-176
- [12] NABET Anne, PEZOLET Michel. Two-dimensional FT-IR spectroscopy: a powerful method to study the secondary structure of proteins using HD exchange [J]. Applied Spectroscopy, 1997, 51(4): 466-469
- [13] 张海华,朱科学,周惠明.超声波对小麦面筋蛋白结构的影响[J].中国农业科学,2010,43(22):4687-4693
ZHANG Hai-hua, ZHU Ke-xue, ZHOU Hui-ming. Effect of ultrasonic on the structure of wheat gluten protein [D]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(22): 4687-4693
- [14] VENKTESH Aruna, PRAKASH V. Functional properties of the total proteins of sunflower (Helianthus annuus L.) seed-effect of physical and chemical treatments [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41(1): 18-23
- [15] ZHAO Qiang, XIONG Hua, SELOMULYA Cordelia, et al. Effects of spray drying and freeze drying on the properties of protein isolate from rice dreg protein [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(7): 1759-1769
- [16] Bodwell C E, Hopkins D T. Nutritional characteristics of oil seed proteins [J]. New Protein Foods (USA), 1985, 3:

- 123-136
- [17] WANI Ali Abas, Sogi Dalbir Sring, SINGH Preeti, et al. Characterization and functional properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) seed protein isolates and salt assisted protein concentrates [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2011, 20(4): 877-887
- [18] 毛晓英.核桃蛋白质的结构表征及其制品的改性研究[D]. 江南大学,2012
MAO Xiao-ying. Studies on the structure characterization and products' modification of walnut protein [D]. Jiangnan University, 2012
- [19] KRITCHEVSKY D, TEPPER S A, CZARNECKI S K, et al. Atherogenicity of animal and vegetable protein: Influence of the lysine to arginine ratio [J]. *Atherosclerosis*, 1982, 41: 429-431
- [20] 王文高,陈正行,姚惠源.不同干燥方法对大米蛋白质功能性质的影响[J].*粮食与饲料工业*,2002,5:44-45
WANG Wen-gao, CHEN Zheng-xing, YAO Hui-yuan. The influence of different drying methods of rice protein functional properties [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2002, 5: 44-45
- [21] MOHAMED A, HOJILLA-EVANGELISTA M P, PETERSON S C, et al. Barley protein isolate: thermal, functional, rheological, and surface properties [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2007, 84(3): 281-288
- [22] Carbonaro M, Nucara A. Secondary structure of food proteins by fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region [J]. *Amino Acids*, 2010, 38(3): 679-690
- [23] 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.2001
ZHONG Fang. The preparation of convenient bean curd and the research of quick-setting mechanism of soybean protein [D]. Jiangnan University, 2001
- [24] 闫洁,马晓军.不同干燥方式对大豆蛋白二级结构的影响[J].*食品工业科技*.2008,29(5):131-136
YAN Jie, MA Xiao-jun. Effect of different desiccant-manner on the secondary structure of soybean protein [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008, 29(5): 131-136
- [25] JOSHI M, ADHIKARI B, ALDRED P, et al. Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1513-1522
- [26] HU Xiao-zhong, CHENG Yong-qiang, FAN Jun-feng, et al. Effects of drying method on physicochemical and functional properties of soy protein isolates [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2010, 34(3): 520-540
- [27] WU Hai-wen, WANG Qiang, MA Tie-zheng, et al. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein [J]. *Food Research International*, 2009, 42(3): 343-348
- [28] 李开放,蒋将,刘元法.干燥方式对 pH 改性豌豆分离蛋白功能性和结构的影响[J].*中国油脂*,2014,39(3):74-79
LI Kai-fang, JIANG Jiang, LIU Yuan-fa. Influences of drying methods on function and structure of ph-modified pea protein isolate [J]. *China Oils and Fats*, 2014, 39(3): 74-79