

以大豆蛋白微粒构建高蛋白食品体系的稳定性研究

张桃, 郭健, 杨晓泉, 何曼源, 王梓旭, 黄舒衍

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本研究以大豆分离蛋白(SPI)为原料,在pH 3.0、pH 3.4和pH 3.8等低酸性pH条件下对其进剪切热处理,制备获得粒度分布在2~100 μm的大豆蛋白微粒。当微粒制备的pH条件向SPI等电点(pH 4.5)靠近时,形成蛋白微粒的结构越致密,稳定性越高。在pH 3.8条件下制得微粒的内部蛋白含量达到34.22%,在pH 2.0~8.0范围内其粒径不发生明显改变,蛋白溶出率不超过13%。经过二次热处理(95 °C、30 min),该微粒的粒径和形貌没有发生明显变化,其分散液的粘度明显低于SPI分散液,在12%的浓度下仍然不形成凝胶。微粒化过程可以封闭大豆蛋白的疏水基团和氢键结合位点,使蛋白分子间的相互作用减弱,导致粘度降低。该大豆蛋白微粒可应用于饮料、酸奶等高蛋白食品体系中,在保持其口感的同时增加其蛋白质含量。

关键词: 大豆蛋白微粒; 低粘度; 稳定; 高蛋白食品

文章编号: 1673-9078(2018)11-57-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.010

Stability of High Protein Food System Constructed with Soy Protein Particles

ZHANG Tao, GUO Jian, YANG Xiao-quan, HE Man-yuan, WANG Zi-xu, HUANG Shu-yan

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Soy protein isolate (SPI) was subjected to shear and heat treatment under acidic conditions (pH 3.0, 3.4 and 3.8), and protein particles distributed from 2 to 100 μm were obtained. As prepared at pH condition was more close to the isoelectric point of SPI, the resulting particles had a higher degree of microparticulation and a better stability. For the soy protein particles prepared at pH 3.8, their internal protein content was 34.22%, and their protein leakage did not exceed 13% within the range of pH 2.0 to 8.0. The change of pH and re-heat treatment (95 °C for 30 min) had little effects on their particle size and morphology. Compared to SPI dispersion, the viscosity of soy protein particle dispersion decreased significantly after heat treatment. And heat-set gelation did not occur in this dispersion even when the particle concentration was 12%. These protein particles could be used in the high-protein foods such as beverage and yogurt, so as to make them have smooth mouthfeel and fortify their protein content.

Key words: soy protein particles; low viscosity; stability; high protein food

蛋白质是构成生命的基础物质,长期蛋白质摄入不足会导致发育不良、肌肉萎缩、代谢功能衰退、免疫力下降等健康问题,目前我国有较大部分人群处于一个负氮平衡的状态^[1],高蛋白食品能方便快捷地为负氮人群补充蛋白质。此外,越来越多的消费者追求健康生活方式,高蛋白食品以其在解决饥饿、提供持久的能量^[2],减肥和体重管理^[3,4]、运动康复和保持肌肉质量方面^[5,6]起到重要作用而受到广泛关注。但是在高蛋白食品体系中,由于蛋白质的含量较高(固体食

收稿日期: 2018-03-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31501425);广州市科技计划项目民生科技攻关计划项目(201803020042)

作者简介: 张桃(1992-),女,硕士生,研究方向:植物蛋白基颗粒的制备
通讯作者: 郭健(1982-),男,博士,助理研究员,研究方向:食品胶体结构的调控

品>12%,液体食品>6%),其侧链基团有更多机会相互接触;在加工过程随着肽链的展开,基团之间更容易发生多种相互作用(疏水作用、氢键和二硫键等),从而形成不同形貌的聚集体甚至三维凝胶网络。这导致高蛋白食品往往呈现坚韧、粗糙或高粘度的口感,降低消费者对这类产品的接受程度。

在经济全球化、快速都市化和老龄化的大背景下,动物蛋白资源难以可持续发展。因此,从环境友好、绿色加工和可持续发展的角度,为了满足日益增长对高蛋白食品的市场需求,迫切需要发展以植物蛋白为原料的食物蛋白配料^[7]。植物蛋白保守的空间结构使其聚集行为难以控制^[8,9],不能赋予产品顺滑的口感;植物蛋白原料多为粮油加工副产物,残留非极性物质的氧化往往导致不良风味的形成。为了改良植物蛋白在口感及风味的问题,需对其进行微粒化

(micro-particulation),即以热处理、高剪切等手段改变蛋白质的聚集方式,形成具有微米尺度(1~10 μm)、相对有序和刚性空间结构的微粒^[10-12]。在此过程中,蛋白质疏水基团的内卷,亲水基团倾向于分布于微粒的表面,随着疏水作用及氢键等相互作用的位点减少,蛋白微粒间相互作用减弱,体系的粘度及凝胶性能随之显著下降^[13],使高蛋白体系仍然处于液体状态并形成赋予顺滑细腻的口感^[14]。

目前,制备纳微尺度蛋白基微粒多采用反溶剂法和乳液模板法^[15-17]等。这些方法大多涉及有机溶剂的使用,制备操作要求精细且步骤繁琐,尚处于实验室制备阶段,难以在需要大规模生产、运输和储藏的食品工业中实现推广应用。本研究以大宗粮油加工副产物-大豆蛋白为原料,通过高温剪切及喷雾干燥等处理制备获得大豆蛋白微粒。由于蛋白质聚集行为很大程度上取决于所处 pH 条件,本研究着重探讨了热处理 pH 条件对所制备的蛋白微粒理化性质及结构稳定性的影响,探讨其作为新一代植物蛋白配料应用于高蛋白食品的可能性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料

低温脱脂大豆粕,山东御馨生物科技有限公司;异硫氰酸荧光素酯(Fluorescein isothiocyanate isomer I, FITC),美国 Sigma 公司;Folin-酚试剂盒,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;氢氧化钠、盐酸均为分析纯,实验用水均为去离子水。

1.1.2 实验仪器

顶置式搅拌器 RW20,德国 IKA 公司;分散均质机 T25,德国 IKA 公司;小型喷雾干燥器 B-290,瑞士 Büchi 公司;杜马斯定氮仪 Rapid N cube,德国 Elementar 公司;便携式密度计 DMA35N,奥地利 Anton Paar 公司;激光粒度仪 Mastersizer 3000E,英国 Malvern 公司;旋转流变仪 RheoStress 600,美国 Thermo Fisher 公司;台式扫描电子显微镜 TM3000,日本 Hitachi 公司;紫外分光光度计 Genesys 10 s,美国 Thermo Fisher 公司;倒置生物显微镜 IX53,日本 Olympus 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆分离蛋白的制备

将低温脱脂大豆粕粉碎后过 60 目筛,得到的粉末以 1:10 (W/V) 的比例与去离子水混合,以 2 N 氢氧

化钠调节 pH 至 8.0,室温下搅拌 2 h 后以 8000 r/min 的转速离心 20 min,取上清液,以 2 N 盐酸调 pH 至 4.5 后再次以 8000 r/min 的转速离心 20 min,取沉淀复溶于水,回调 pH 至 7.0,去离子水中透析 48 h 后冷冻干燥,获得大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)。以快速定氮仪采用杜马斯燃烧法测得该 SPI 的蛋白质含量为 86.84% ± 0.61%。

1.2.2 大豆蛋白微粒的制备

将一定量 SPI 分散于去离子水中,室温下搅拌 2 h,获得 15% (W/W) 的分散液,分别调节 pH 至 3.0、3.4 和 3.8,将其置于 95 °C 的水浴锅中搅拌加热 60 min,然后冷却至室温,得到大豆蛋白微粒分散液,将其进行喷雾干燥,得到大豆蛋白微粒粉体。喷雾干燥条件:进口温度 180 °C,出口温度 90~110 °C,进样流量为 3 mL/min,空气流速为 600 L/h。

1.2.3 大豆蛋白微粒体积分数的测定

将大豆蛋白微粒配制成蛋白含量为 2% 的分散液;以蛋白微粒为分散介质、去离子水作为分散介质,在 25 °C 条件下以旋转粘度计和密度计分别测定该分散液的粘度和密度。根据 Einstein 粘度公式(公式 1)等计算蛋白微粒的体积分数(Φ)、密度(ρ_p)及内部蛋白含量(C_{p,w/w})。

$$\eta_{\text{eff}} = \eta_c \left(1 + \frac{5}{2} \Phi\right) \quad (1)$$

式中:η_{eff}为微粒分散液粘度;η_c为分散介质粘度。

$$\rho_p = \frac{\rho_{\text{eff}} - \rho_c(1 - \Phi)}{\Phi} \quad (2)$$

式中:ρ_p为微粒相密度;ρ_{eff}为微粒分散液密度;ρ_c为分散介质的密度。

$$C_{p,w/w} = \frac{C_{\text{eff},w/v}}{\Phi \rho_p} \quad (3)$$

式中:C_{eff,w/v}为微粒分散液的蛋白含量(2%)。

1.2.4 大豆蛋白微粒的微观形貌

以扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察微粒粉体的微观形貌。取少量微粒粉末以导电双面胶固定在样品台上,使用离子溅射仪对其表面进行喷金处理,喷金时电流设置为 20 mA,时间为 45 s,将喷好金的样品放入样品室,以 15 kV 的电压进行观察并拍照。

大豆蛋白微粒在分散液中的形貌观察采用 FITC 标记,取大豆蛋白微粒粉末用去离子水配制成 2% 的分散液,室温下搅拌 2 h,调节 pH 为 7.0,加入 FITC (终浓度为 2 mg/g 蛋白),避光缓慢搅拌 1.5 h,吸取 4 μL 置于载玻片上,盖上盖玻片,采用倒置生物显微镜以 460~495 nm 光源进行激发、在 510~550 nm 范围

收集荧光信号进行观察并拍照。

1.2.5 大豆蛋白微粒结构的 pH 稳定性

取大豆蛋白微粒粉末用去离子水配制成 1% 的分散液, 室温下搅拌 2 h, 调节 pH 分别为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0, 然后在 4 °C 冰箱中静置 24 h 使其充分溶胀。采用 Mastersizer 3000 激光粒度仪测定其在不同 pH 条件下的粒度分布, 分散介质为水, 微粒的折射率设置为 1.59; 同时采用 Zetasizer Nano ZS 粒度电位仪测定蛋白微粒在不同 pH 条件下的 ζ -电位。

将上述制备所得 1% 大豆蛋白微粒分散液以 10000 r/min 的转速离心 20 min, 取上清液采用 Lorry 法^[18]测定其蛋白质含量, 计算蛋白微粒在不同 pH 条件下的溶解度。以牛血清蛋白为标准样品, 绘制标准曲线 ($R^2=0.9988$)。

按照上述制备微粒分散液的方法制备 10% 大豆蛋白微粒分散液。采用旋转流变仪, 选取直径为 35 mm 的平板探头, 板间隙设置为 1 mm, 在 25 °C 条件下记录不同 pH 的大豆蛋白微粒分散液剪切速率在 0.01~100 s⁻¹ 范围下的粘度变化。

1.2.6 大豆蛋白微粒结构的热稳定性

将大豆蛋白微粒配制成浓度 6%、8%、10%、12% 的分散液, 室温下搅拌 2 h, 调节 pH 为 7.0, 在 4 °C 冰箱中静置 24 h 后取出置于 95 °C 的水浴锅中热处理 30 min。采用旋转流变仪, 记录不同浓度的大豆蛋白微粒分散液热处理前后剪切速率在 0.01~100 s⁻¹ 范围下的粘度变化; 采用 Mastersizer 3000 激光粒度仪测定 6% 蛋白微粒分散液热处理前后的粒度分布变化。

1.2.7 数据统计分析

每项测试均重复进行三次, 利用数据分析软件 SPSS 19.0 对所有数据进行方差分析 (ANOVA), 采用 Duncan's 多重比较对差异显著性进行分析; 数据以平均值 \pm 标准偏差 (Means \pm SD) 表示, $p < 0.05$ 表示显著。

2 结果与讨论

2.1 大豆蛋白微粒的制备

热聚集可看作是变性蛋白质在热诱导下形成寡聚

体或多聚体的自组装过程, 经历结构转变、预成核、成核、聚合 (凝聚) 等阶段^[19]。天然球状蛋白质在加热时结构展开, 可以形成具有各种结构的聚集体或凝胶, 这取决于蛋白分子引力和斥力相互平衡的状态^[20]。pH 条件对于蛋白质的聚集行为及所形成聚集体的形貌具有非常重要的影响, 据报道, 在酸性且远离其等电点 (pH 4.5) 条件下进行热处理, 大豆蛋白分子形成长纤维状的半柔性聚集体, 而在接近等电点条件下形成的聚集体以颗粒或片状团簇结构为主^[21,22]。因此, 本研究以 pH 3.0、3.4 和 3.8 等三个低于大豆蛋白等电点的酸性条件, 利用蛋白质此时荷载正电荷的特点, 进行剪切热处理制备大豆蛋白微粒, 并考察 pH 条件对所成蛋白微粒的影响。在低浓度分散液中, 通过测定分散液粘度和分散介质粘度, 可利用 Einstein 公式计算获得制得微粒的体积分数^[23]。从表 1 可以看出, 当微粒制备的 pH 条件向其等电点靠近时, 微粒的平均粒径从 20.27 μm 下降至 14.60 μm , 其体积分数也随之从 0.47 下降至 0.04。同时, 以 pH 3.8 条件制得微粒的密度及内部蛋白含量分别达 1.091 g/mL 和 34.22%, 均显著高于以 pH 3.0 制得微粒 (1.010 g/mL 和 4.19%)。这表明, 以接近蛋白等电点条件制备微粒, 其在悬浮液所占体积明显减少, 多肽链上的侧链基团更倾向于内卷集中于颗粒的内部, 空间结构变得更紧凑, 趋向形成刚性颗粒状。热处理过程中, 蛋白质的空间结构逐渐展开, 疏水基团暴露。随着蛋白分子相互靠近、疏水相互作用驱动, 蛋白质形成聚集体。蛋白分子集中于在高速剪切的作用下形成的液滴内, 并在此空间形成三维网络。pH 条件越靠近等电点, 其表面电荷越少, 分子间的斥力越小, 这导致蛋白分子在疏水作用等吸引力作用下聚集形成网络的倾向越高。更多的疏水作用参与形成微粒内部的网络结构, 造成微粒的结构更显刚性且更少的疏水基团暴露于微粒表面。因此, 微粒间的相互作用也被削弱。而远离等电点时, 尽管经过热处理, 蛋白质仍然处于具有柔性的空间结构, 侧链基团的伸展使其在悬浮液中占有更多的体积。在此情况下, 相对松散的空间结构使得分子间及颗粒间更容易发生相互作用, 这对于降低高蛋白体系的粘度及成胶性能是不利的。

表 1 大豆蛋白微粒的理化性质

Table 1 Physical Properties of Soy Protein Particles

项目	平均粒径/ ($d_{4,3}$, μm)	微粒体积分数	微粒密度/ (ρ_p , g/mL)	微粒内部蛋白含量/(%, W/W)
pH 3.0 制得微粒	20.27 \pm 1.37 ^a	0.47 \pm 0.02 ^a	1.010 \pm 0.01 ^c	4.19 \pm 0.11 ^b
pH 3.4 制得微粒	13.73 \pm 0.21 ^b	0.27 \pm 0.02 ^b	1.020 \pm 0.01 ^b	7.71 \pm 0.79 ^b
pH 3.8 制得微粒	14.60 \pm 0.20 ^b	0.04 \pm 0.01 ^c	1.091 \pm 0.01 ^a	34.22 \pm 7.57 ^a

注: 不同的字母表示各颗粒样品的数值在 $p < 0.05$ 区间的显著性差异。

蛋白分散液在进行喷雾干燥的过程中会产生自组装行为,蛋白微粒的粒径、表面的基团及喷雾干燥的条件等都会影响自组装过程,从而改变喷干微粒粉体的形貌。

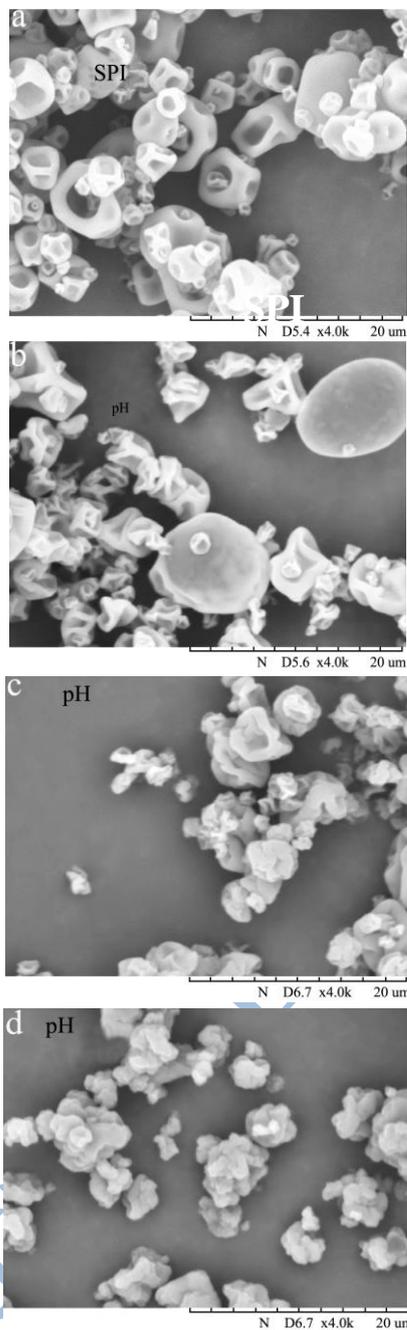


图1 大豆蛋白微粒的粉体扫描电子显微镜图片

Fig.1 SEM images of soy protein particles

如图1所示,经过微粒化的大豆蛋白粉体与原料大豆分离蛋白粉体在形貌上存在较明显的差异。后者经喷雾干燥后,粉体呈现为塌陷的中空球体状。这可能是雾化的液滴在干燥室内与热空气进行传热传质时,溶于水中的蛋白质分子随水分迁移到液滴表面;水分蒸发后,液滴表面蛋白膜的强度不足以维持球状,因而塌陷。而微粒化的蛋白质经过喷干后,则形成由

多个实心微粒堆积而成粉体颗粒。随着微粒制备的pH条件向等电点靠近,微粒堆积现象愈发明显。这可能是由于经过接近等电点热处理后,蛋白质形成了刚性微球,集中分布于颗粒内部,干燥过程中蛋白质并不随水分迁移或迁移较慢;当水分瞬间蒸发后,这些微粒堆积在一起,形成不规则实心球体。当制备的pH条件向等电点靠近时,大豆蛋白的微粒化程度越高,微粒致密,迁移速度慢,因而微粒堆积越明显。对于蛋白微粒粉体微观形貌的观察也表明以接近蛋白等电点的pH条件进行剪切热处理更有利于蛋白微粒化。

2.2 大豆蛋白微粒结构的pH稳定性

蛋白质在溶液中有两性电离的现象;随着pH环境的改变,蛋白分子表面所带电荷及溶解性也会发生变化。

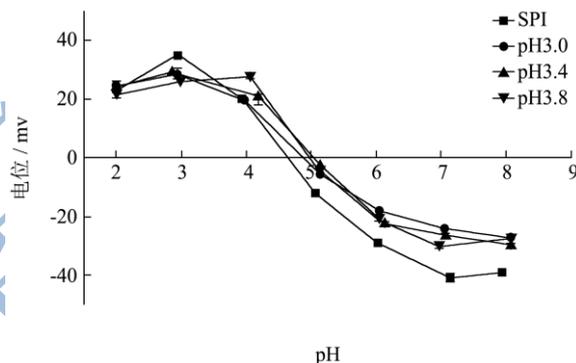


图2 大豆蛋白微粒在不同pH值条件下ζ-的电位

Fig.2 Zeta-potential of soy protein particles under different acid condition

由图2及表2可知,微粒化处理没有显著改变大豆蛋白荷电量及溶解性随pH的总体变化趋势,也就是在靠近等电点情况下,蛋白的荷电量和溶解度较低;远离等电点的情况下,其荷电量和溶解度较高。然而,其中蛋白的荷电量及溶解性实际也随着微粒的形成而发生改变。大豆分离蛋白原料等电点约为pH 4.6,微粒化后蛋白的等电点向pH 5.0偏移。微粒化是蛋白质结构展开、聚集并形成颗粒的过程,其溶解性必然受到影响。表2结果显示,随着制备pH条件靠近等电点,所得微粒化蛋白在同一环境下的溶解性显著下降。pH 3.8条件下制备的蛋白微粒在pH 2.0~8.0范围内蛋白溶解度不超过13%,且受pH的影响较少,进一步证明该微粒化条件下制备的蛋白聚集程度高,结构稳定。

以不同条件制备获得的大豆蛋白微粒,具有不同空间结构及形貌,在不同pH条件下微粒结构的稳定性也不尽相同。将大豆蛋白微粒以1%的浓度分散于水中,考察了微粒在pH 2.0~8.0范围下的粒度分布。

表 2 大豆蛋白微粒的蛋白流出率

Table 2 Protein leakage of soy protein particles

项目	pH 2.0	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
SPI	87.29±1.76 ^a	90.41±6.75 ^a	6.70±0.19 ^c	5.29±0.10 ^c	86.67±12.62 ^a	97.05±0.88 ^a	92.69±12.33 ^a
pH 3.0 微粒	35.55±0.41 ^b	34.71±1.83 ^b	12.46±0.56 ^a	8.09±0.18 ^a	11.67±0.21 ^b	17.51±1.07 ^b	28.31±0.12 ^b
pH 3.4 微粒	30.33±3.47 ^b	24.84±0.65 ^c	11.92±0.15 ^a	6.64±0.62 ^b	9.66±0.29 ^b	14.95±1.12 ^c	22.68±1.12 ^b
pH 3.8 微粒	12.92±0.29 ^c	11.03±0.29 ^d	8.96±0.32 ^b	4.74±0.14 ^c	7.67±0.35 ^b	10.60±0.43 ^d	12.34±0.29 ^b

注：不同的字母表示各颗粒样品的数值在 $p < 0.05$ 区间的显著性差异。

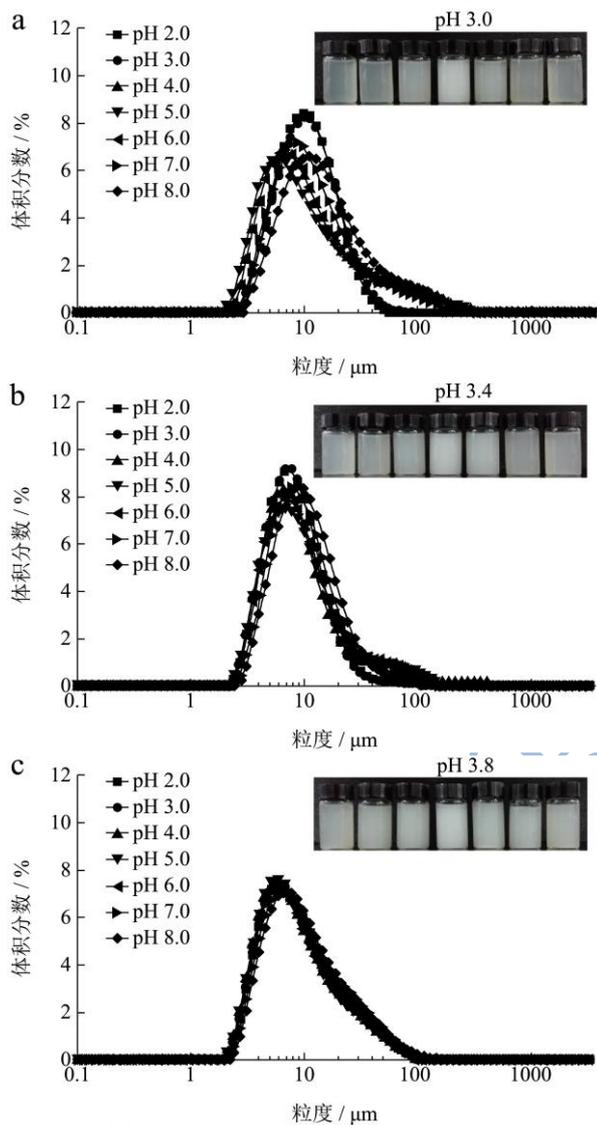


图 3 大豆蛋白微粒在 pH 2.0~8.0 范围内粒径变化

Fig.3 The particle size changes of soy protein particles in the pH range of 2.0~8.0

注：插图为 1% 微粒分散液在不同 pH 下的外观图，按 pH 2.0~8.0 从左到右摆放。

从图 2 中可知，pH 3.0 条件下制得微粒的粒度分布曲线随所处 pH 改变而有所变化。在远离等电点的 pH 环境中，微粒发生溶胀，粒径随之增加。当微粒制备的条件向等电点靠近时，所得颗粒的粒度分布随 pH

环境改变的程度明显下降。pH 3.8 条件下制备微粒的粒度分布曲线几乎不随 pH 的改变而发生变化。观察微粒在不同 pH 条件下的分散情况（图 3），发现蛋白微粒悬浮于水中，分散液呈现乳白色。

蛋白质流体的粘度取决于蛋白质分子的内在特性以及蛋白质-溶剂和蛋白质之间的相互作用^[24]。从图 4 可以看到 SPI 原料和大豆蛋白微粒的表观粘度均随剪切速度的增加而降低，呈剪切变稀的趋势。在靠近等电点的 pH 环境中，蛋白分散液的粘度最低。蛋白质分子在等电点附近由于静电斥力减小而发生聚集。蛋白质分子间的相互作用正是聚集体形成的驱动力。随着大量疏水基团被掩盖于聚集体内部，颗粒间的相互作用减弱，体系的粘度从而下降。微粒化蛋白分散液的粘度高于未经处理的大豆蛋白。这是由于大豆蛋白在进行微粒化处理时经历了热处理，蛋白分子的结构展开，导致分子间的粘滞作用增强，粘度增加。对比不同 pH 条件下制备的微粒，发现微粒化程度越高其分散液粘度越小。以 pH 3.8 条件下制备的微粒分散液在 pH 3.0~8.0 范围内的粘度接近于天然大豆蛋白，说明蛋白质在微粒化过程中会封闭大豆蛋白的疏水基团和氢键结合位点，蛋白分子间的相互作用减弱，导致粘度降低。由以上试验结果可知，随着大豆蛋白微粒化程度的提高，其粒度分布、粘度等性质受 pH 环境变化的影响越低。

2.3 大豆蛋白微粒结构的热稳定性

热处理是食品加工中为了改善产品品质及杀菌等而进行的操作。在此过程中，大豆蛋白质分子的空间结构部分展开，包埋在内部的基团得以暴露，蛋白分子通过共价或非共价的相互作用形成聚集体；当体系中蛋白质达到一定浓度时，蛋白质分子可以形成三维网络结构，即蛋白质凝胶。

这会导致体系的粘度增加、口感变粗糙。所以高蛋白食品的品质和口感往往不受消费者的欢迎。为此，本研究考察了二次热处理（95 °C、30 min）对经不同条件制得大豆蛋白微粒粒度的分布及流变特性的影响。

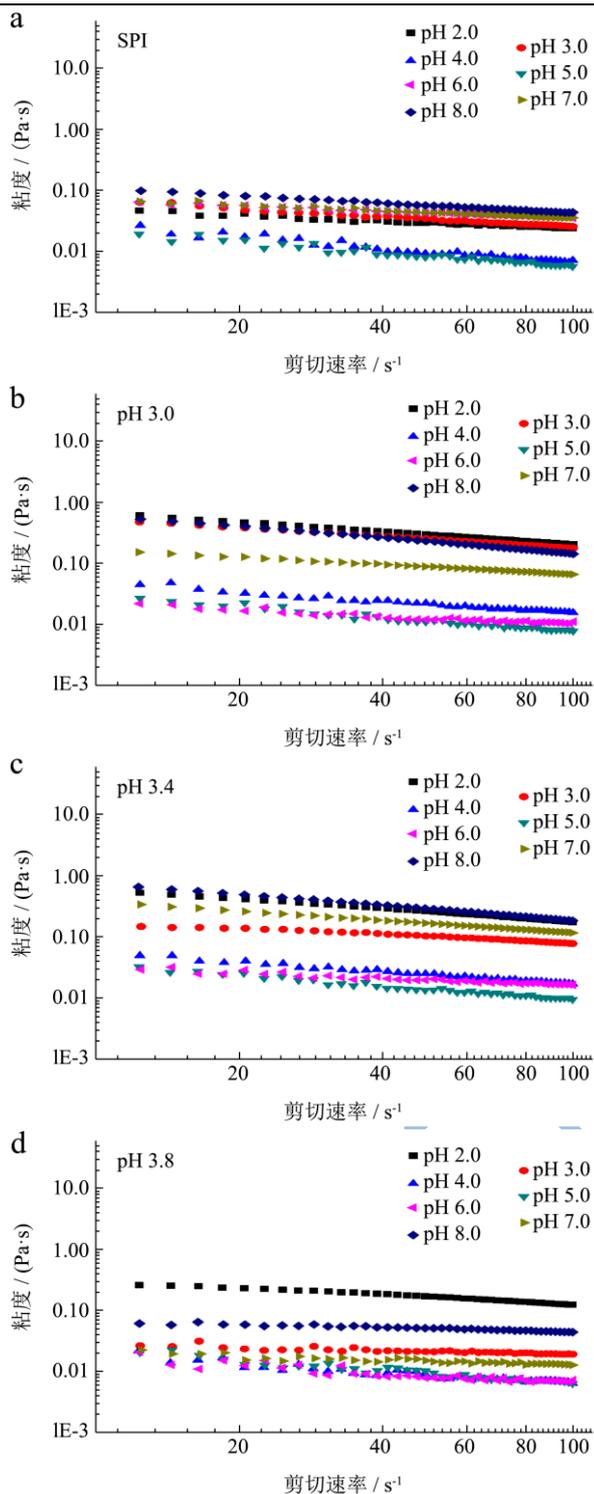


图4 大豆蛋白微粒在 pH 2.0~8.0 范围内粘度变化 (蛋白浓度 10%)

Fig.4 The viscosity changes of soy protein particles in the pH range of 2.0~8.0 (Protein concentration 10%)

图5的观察可知,大豆蛋白微粒在经过热处理之后,微粒粒径均稍有增加,表明在热处理过程中微粒还会发生部分溶胀, Saglam 等^[25]制备的乳清蛋白微粒也有类似的行为。其中 pH 3.0 条件下制得微粒的粒径增大较明显,这可能是由于在该条件下制得微粒的结

构比较松散,在热处理时蛋白分子更容易展开。微粒在水中溶胀后呈现不规则球体状,这是因为热聚集是一个综合复杂的过程,无序性导致微粒呈现不规则形状,想要的得到表面光滑的球体微粒还需要对微粒进行后续的加工,例如均质等过程。热处理对蛋白微粒的形貌没有明显影响,微粒仍呈现不规则球状。

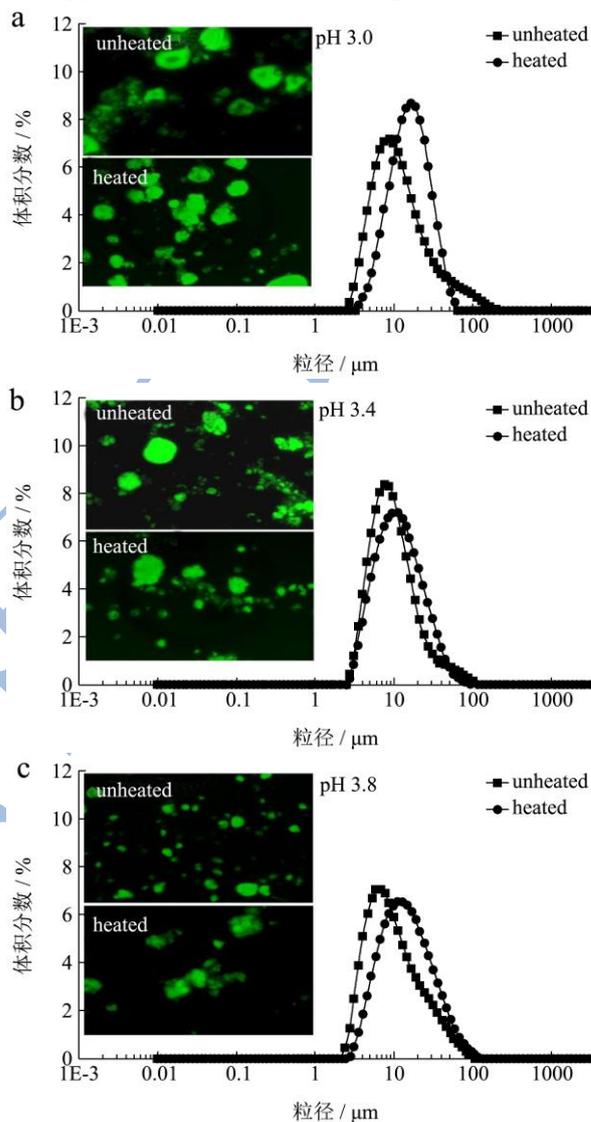


图5 大豆蛋白微粒的粒径和形貌在热处理前后的变化

Fig.5 The size and morphology changes of soy protein particles after heating

一般来说,经过高温热处理,球状蛋白质变性,会自发性形成不可逆的聚集^[22],从图6观察可知, SPI 分散液经过热处理后粘度增加明显,在 10% 的浓度下已形成凝胶。这表明,未经过处理大豆蛋白的空间结构易展开,导致蛋白分子间的相互作用增强,粘度增大,形成凝胶的浓度相对较低。经过二次热处理后,大豆蛋白微粒分散液的粘度明显降低;其中 pH 3.8 条件下制备的微粒粘度的下降最显著。该分散液在 12% 的浓度下仍不能形成凝胶,表观粘度为 0.48 Pa s (剪

切速率为 80 s^{-1})。这表明蛋白质形成微粒后很大程度上减少了活性基团的暴露,即蛋白微粒的结构稳定,在热处理环境中不易展开,因此微粒化过程降低了蛋白质之间相互作用,降低了体系的粘度及其凝胶性能。

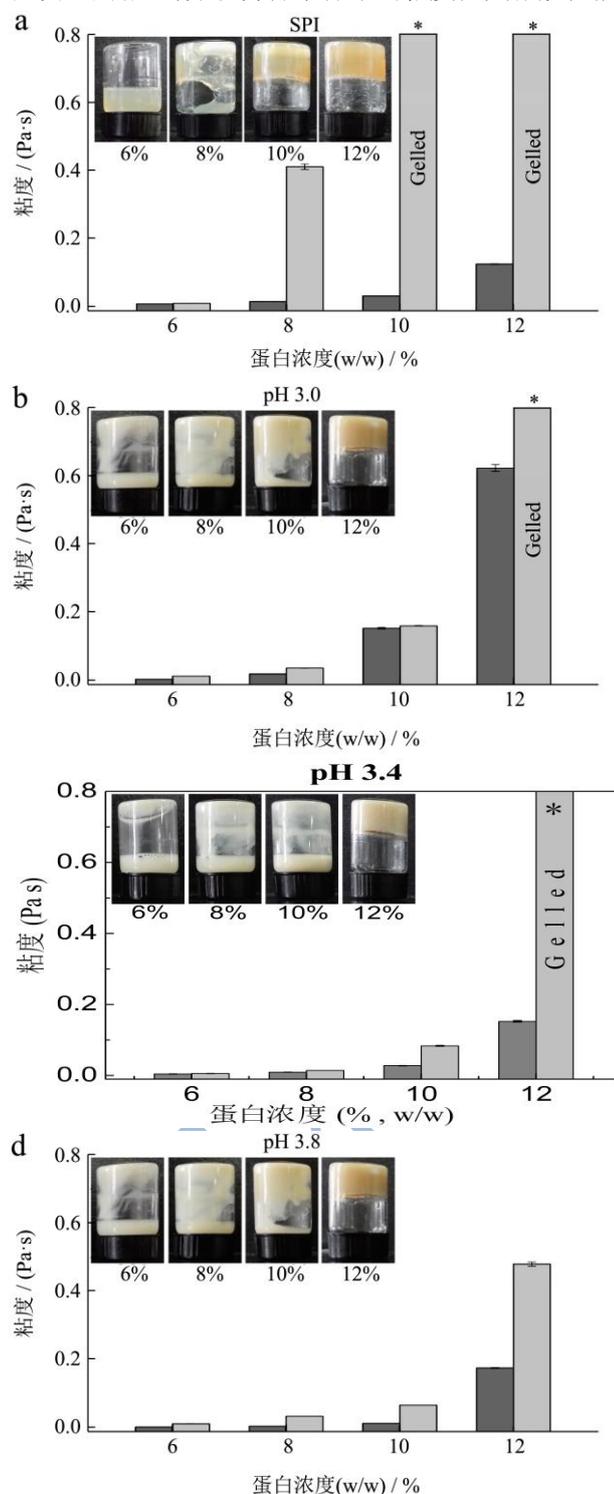


图6 大豆蛋白微粒的粘度在热处理前后的变化

Fig.6 The viscosity changes of soy protein particles after heating

注: ■ 未热处理、■ 热处理; 剪切速率 80 s^{-1} 。

3 结论

3.1 本研究以剪切热处理的方式在低酸性的条件制得粒度分布在 $2\sim 100\ \mu\text{m}$ 的大豆蛋白微粒。当微粒制备的 pH 条件向等电点靠近时,蛋白微粒的密度和内部蛋白含量越高,形成的微粒结构越致密。对其在不同 pH 条件下及二次热处理后的稳定性进行考察,发现当微粒制备的 pH 条件向等电点靠近时,所得微粒结构的 pH 稳定性和热稳定性更好,在 pH 3.8 条件下制备的蛋白微粒其微粒内部蛋白含量达到 34.22%,在 pH 2.0~8.0 范围内蛋白微粒的粒径基本不发生改变,蛋白溶出率不超过 13%。二次热处理 ($95\ ^\circ\text{C}$, 30 min) 对微粒的粒径和形貌也没有明显影响。与 SPI 原料分散液的粘度相比,该大豆蛋白微粒分散液的粘度显著降低,在 12% 的浓度下仍然不能形成凝胶。

3.2 大豆蛋白微粒的活性基团内卷并且结构稳定,能够有效减弱蛋白质与蛋白质间的相互作用,降低体系的粘度及其凝胶性能。因此微粒化的蛋白可以作为一种工具来修饰蛋白产品的质构,应用于饮料、酸奶等食品体系中,在保持其口感的同时增加其蛋白质含量,制备出易于被消费者所接受高蛋白食品。这对于科学改善国民营养健康素质及促进我国社会经济可持续发展具有重要意义。

参考文献

- [1] 国家卫生和计划生育委员会,疾病预防控制中心.中国居民营养与慢性病状况报告[R].北京:人民卫生出版社,2015
National health and family planning commission, disease prevention and control bureau. report on Chinese resident's chronic disease and nutrition [R]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015
- [2] Anderson G H, Moore S E. Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans [J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134(4): 974S-979S
- [3] Westerterp-Plantenga M S. The significance of protein in food intake and body weight regulation [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 2003, 6(6): 635-638
- [4] Dunshea F R, Ostrowska E, Ferrari J M, et al. Dairy proteins and the regulation of satiety and obesity [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2007, 47(9): 1051-1058
- [5] Pwr L. Dietary protein requirements in athletes [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 1997, 8(2): 52-60
- [6] Latner J D, Schwartz M. The effects of a high-carbohydrate, high-protein or balanced lunch upon later food intake and hunger ratings [J]. Appetite, 1999, 33(1): 119-128
- [7] Day L. Proteins from land plants—potential resources for human nutrition and food security [J]. Trends in Food

- Science & Technology, 2013, 32(1): 25-42
- [8] 郭健.大豆蛋白热聚集行为控制及其结构表征的研究[D]. 广州:华南理工大学,2012
- GUO Jian. Control of soy protein thermal aggregation behavior and structural characterization of soy protein aggregates [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [9] 袁德保.大豆蛋白热聚集行为及其机理研究[D].广州:华南理工大学,2010
- YUAN De-bao. Heat-induced aggregation of soy protein and its mechanism [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010
- [10] Purwanti N, Peters J P, Aj V D G. Protein micro-structuring as a tool to texturize protein foods [J]. Food & Function, 2013, 4(2): 277-282
- [11] Zhong Q X, Jin M F. Zein nanoparticles produced by liquid-liquid dispersion [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2380-2387
- [12] Sağlam D, Venema P, Vries R D, et al. Preparation of high protein micro-particles using two-step emulsification [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1139-1148
- [13] Singer N S, Dunn J M. Protein microparticulation: The principle and the process [J]. Journal of the American College of Nutrition, 1990, 9(4): 388-397
- [14] Rade W, Mej T, Janssen A M, et al. Perceived creaminess of semi-solid foods [J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(8): 412-422
- [15] Öhgren C, Lorán N, Altskär A, et al. Surface-directed structure formation of β -lactoglobulin inside droplets [J]. Biomacromolecules, 2011, 12(6): 2235-2242
- [16] Venema P, Sagis L M C, Boon T W, et al. Protein particles and their use in food: U.S., patent application 13/142, 691 [P]. 2009-12-29.
- [17] Surh J, Vladisavljevic G T, Mun S, et al. Preparation and characterization of water/oil and water/oil/water emulsions containing biopolymer-gelled water droplets [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(1): 175-184
- [18] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265-275
- [19] Guo J, Yang X Q, He X T, et al. Limited aggregation behavior of β -conglycinin and its terminating effect on glycinin aggregation during heating at pH 7.0 [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(14): 3782-3791
- [20] Cornacchia L, Venema P. Heat-induced aggregation of whey proteins in aqueous solutions below their isoelectric point [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(3): 733-741
- [21] Akkermans C, Aj V D G, Venema P, et al. Micrometer-sized fibrillar protein aggregates from soy glycinin and soy protein isolate [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2007, 55(24): 9877- 9882
- [22] Nicolai T, Durand D. Controlled food protein aggregation for new functionality [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2013, 18(4): 249-256.
- [23] Coskun A E I, Sağlam D, Venema P, et al. Preparation, structure and stability of sodium caseinate and gelatin micro-particles [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45:291-300
- [24] 傅玉颖,武肖,潘伟春,等.高浓度下热诱导大豆蛋白聚集体流变特性研究[J].农业机械学报,2014,45(7):196-201
- FU Yu-ying ,WU Xiao, PAN Wei-chun, et al. Heat-induced soybean protein aggregates and rheological properties of their concentrated suspensions [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(7): 196-201
- [25] Sağlam D, Venema P, Vries R D, et al. Concentrated whey protein particle dispersions: heat stability and rheological properties [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(1): 100-109