

动态高压微射流对小麦面筋蛋白功能性质影响的研究

刘国琴^{1,2}, 阎乃珺¹, 陈璐瑶¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001)

摘要: 本文研究了动态高压微射流对小麦面筋蛋白功能性质的影响及其机理。结果表明: 微射流对面筋蛋白功能性质的改变与其压力和蛋白浓度密切相关。随着压力的升高, 在大于等于4%浓度时, 溶解度先增大后减小, 在80MPa时达到最大值, 在小于4%浓度时正好相反; 蛋白浓度为4%时, 起泡性减小, 泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性增大, 在100MPa时达到最大, 其他浓度例如2%和6%时正好相反。SDS-PAGE和DSC图谱显示, 微射流使面筋蛋白大分子量亚基被破坏, 形成新的具有更加紧凑的空间结构的水溶性聚集体, 从而改变了面筋蛋白的功能特性。

关键词: 动态高压微射流; 小麦面筋蛋白; 溶解性; 起泡性; 乳化性

文章编号: 1673-9078(2013)5-936-940

Functional Properties of Wheat Gluten Influenced by Dynamic High Pressure Microfluidization Treatment

LIU Guo-qin^{1,2}, YAN Nai-jun¹, CHEN Lu-yao¹

(1. College of Light industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: The effect and mechanism of dynamic high pressure microfluidization (DHPM) on functional properties of gluten protein was investigated. The results showed that DHPM could change the functional properties of gluten protein and there was close relationship between the changes in functional properties and the pressure of DHPM or protein concentration. When the concentration was above 4% the solubility was increased and then decreased with the increase of pressure. When the concentration was less than 4% the solubility was decreased and then increased with the increase of pressure, with the limit of 80 MPa. When the concentration was 4%, the foaming ability decreased and the foaming stability, emulsifying ability and emulsifying stability increased with the increase of pressure; while the opposite as the other concentration such as 2% and 6%. SDS-PAGE and DSC analysis indicated that high molecular weight subunit was destroyed and some new aggregation was formed, which changed the functional property of gluten protein.

Key words: dynamic high pressure microfluidization(DHPM); wheat gluten; solubility; foaming properties; emulsifying properties

小麦面筋蛋白(wheat gluten)俗称谷朊粉, 是小麦淀粉生产过程中的副产品^[1]。它是小麦籽粒的主要储藏蛋白, 其蛋白质质量分数高达72~85%, 并且氨基酸组成比较齐全, 是一种来源丰富、营养充足的纯天然植物性蛋白源^[2]。小麦面筋蛋白具有很强的吸水性、粘弹性、薄膜成型性、粘附热凝固性、吸脂乳化性等多种独特的物理特性^[3], 在食品、饲料、化工和造纸等领域都有着潜在的开发价值和广阔的应用前景。但

收稿日期: 2013-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20976036); “十二五”国家科技支撑计划重大项目(2012BAD37B01)

作者简介: 刘国琴(1962-), 女, 博士, 教授, 主要从事油脂与植物蛋白研究

是, 溶解性较低的缺点使小麦面筋蛋白往往在实际应用中受限^[4]。因此采用物理的和化学的方法^[5]提高蛋白质的溶解性, 改善起泡性和乳化性等功能特性, 提高其综合利用价值, 在当前显得颇为重要。

动态高压微射流技术(Dynamic high pressure microfluidization, DHPM)是一种新兴的高压均质技术, 与传统高压均质技术相比其处理压力更高、流体速度更快、碰撞能力更大、产品颗粒更细, 被认为是一种食品加工中最有潜力和发展前途的物理改性手段^[6]。文献报道, 高压微射流处理能不同程度改善乳球蛋白^[7]、芸豆分离蛋白^[8]、大豆分离蛋白^[9]、乳清蛋白^[10]和红豆分离蛋白^[11]的功能特性, 然而小麦面筋蛋白的组成比较复杂, 主要由棒状和球状的麦谷蛋白和醇

溶蛋白组成, 目前关于DHPM对小麦面筋蛋白功能特性的影响尚未有报道。本文研究DHPM对小麦面筋蛋白功能性质的影响, 为进一步探讨DHPM对小麦面筋蛋白的作用机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

加拿大硬红冬麦粉, 南方面粉有限公司提供; 刀唛 Knife 花生油, 深圳南顺油脂有限公司; 其他化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

JJM54S面筋洗涤仪, 上海嘉定粮油仪器有限公司; Wizard2.0真空冷冻干燥机, 美国VirTis公司; FW100高速万能粉碎机, 天津泰斯特仪器有限公司; BSA224S-CW型分析天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; M-110EH高压微射流纳米均质机, 美国Microfluidics公司; IKA T25高速分散机, 德国IKA公司; CR22G高速冷冻离心机, 日本Hitachi公司; Kjeltac 2300全自动凯氏定氮仪, 丹麦FOSS公司; UV754N紫外/可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; Perkin-Elmer Diamond DSC, 型号N536-0022, Perkin Elmer公司, 美国。

1.3 实验方法

1.3.1 小麦面筋蛋白的制备

称取 6.0 g 小麦面粉缓慢倒入底部垫有金属膜的面筋洗涤杯中, 将杯安装至洗涤仪后启动面筋洗涤按钮, 开始和面与洗涤。洗涤分为两次, 第一次采用 5% 的氯化钠溶液去除淀粉和球蛋白, 第二次采用蒸馏水去除氯化钠和清蛋白。整个和面及洗涤过程在 10 min 内完成^[12]。洗涤完成后, 小心取出面筋(不要让面筋遗留在搅拌轴上), 码盘并放置于-18℃的低温冰箱中进行预冻, 然后进行冷冻干燥。将冻干后的小麦面筋蛋白高速粉碎, 过 120 目筛, 取筛下物装袋并置于干燥器皿中备用。

1.3.2 微射流处理小麦面筋蛋白

取一定量的冻干样品溶解到水中, 配制不同浓度的蛋白分散液并进行 60 min 的磁力搅拌溶解。随后分别进行 0、40、60、80、100 MPa 压力的微射流均质处理, 冻干备用。

1.3.3 小麦面筋蛋白处理液溶解度的测定

DHPM 处理后的蛋白液离心 15 min, 转速为 10000 r/min, 温度为 4℃。取离心后上清液 20 mL, 利用凯氏定氮法测定其中的蛋白质含量。

1.3.4 小麦面筋蛋白处理液起泡性的测定

取 1.3.2 中蛋白液 10 mL 于小烧杯中, 于 10000

r/min 均质机搅打 1 min 后迅速将液体与泡沫转移至 50 mL 量筒中。记录搅打前的液体体积 V_0 , 搅打停止时的泡沫体积 V_1 和搅打停止 30 min 后的泡沫体积 V_t 。起泡性和泡沫稳定性表示如下^[13]:

$$\text{起泡性(FC)} = V_1/V_0 \times 100\%$$

$$\text{泡沫稳定性(FS)} = V_t/V_1 \times 100\%$$

1.3.5 小麦面筋蛋白处理液乳化性的测定

取 1.3.2 中蛋白液 9 mL 于小烧杯中, 加入 3 mL 纯正花生油。室温下于 10000 r/min 下均质 1 min, 分别在静置 0 和 15 min 后从烧杯底部取 0.05 mL 乳状液到标号为 1 和 2 的试管中, 用 5 mL 0.1% SDS 溶液稀释, 在分光光度计上测其 500 nm 处的吸光值。另外在 0 号试管中加入 0.05 mL 的蒸馏水以调整仪器零点。结果以 1 号试管测得的吸光值表示其乳化性, 以 2 号试管测得的吸光值表示其稳定性^[14]。

1.3.6 凝胶电泳分析

取 1.3.2 中冻干样品进行凝胶电泳分析, SDS-PAGE 根据 Laemmli 报道的方法^[15]。

1.3.7 小麦面筋蛋白的热稳定性

称取 1.3.2 中冻干样品约 5 mg, 均匀地铺在铝制坩埚中压片后进行扫描分析, 扫描速率为 10℃/min。

2 结果与分析

2.1 DHPM 对小麦面筋蛋白溶解性的影响

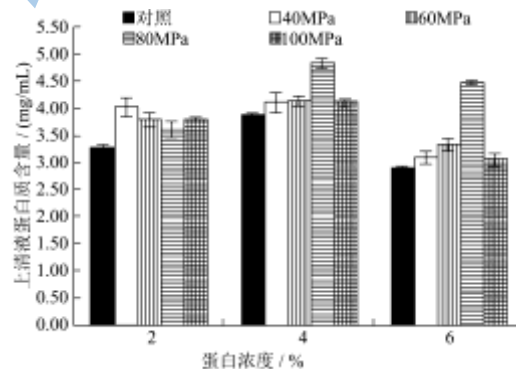


图 1 微射流处理对小麦面筋蛋白溶解性的影响

Fig.1 The influence of DHPM treatment on solubility of wheat gluten

图 1 是浓度为 2%、4%、6% 的小麦面筋蛋白溶液, 经过 0、40、60、80、100 MPa 压力的微射流均质处理后溶解度的变化。由图 1 可知, 在上述浓度和压力范围内, 与空白相比, 微射流处理均能提高小麦面筋蛋白的溶解度, 这可能是因为压力作用破坏了小麦面筋蛋白在溶液中的聚集状态, 增大了蛋白与水的接触面积^[6]。但蛋白浓度和微射流的压力不同, 其影响程度和变化趋势各不相同。图中可看出, 在实验的浓度范围内, 压力对其溶解度的影响都呈现出先增大后减

小的趋势,这是因为随着压力的升高,大量疏水基团暴露,失去了与水的结合能力,溶解度减小^[6]。还可以看出,低浓度下(2%),微射流压力对溶解度影响不大,在80 MPa时达到最小值 3.60 ± 0.14 mg/mL,仅高出对照10%,这可能是由于较低浓度的小麦面筋蛋白溶解度本身不大,受到微射流作用的面筋蛋白分子较少;高浓度时($\geq 4\%$),不同压力,对同一浓度的小麦面筋蛋白的溶解度影响较大,溶解度随压力的升高先增大后减小,在80 MPa时达到最大值 4.81 ± 0.08 mg/mL和 4.45 ± 0.04 mg/mL,分别高出对照24%及55%。从上图还可以看出,为了提高其溶解度,4%的蛋白浓度是最佳浓度,80 MPa是最佳的处理压力。

2.2 DHPM 对小麦面筋蛋白起泡性的影响

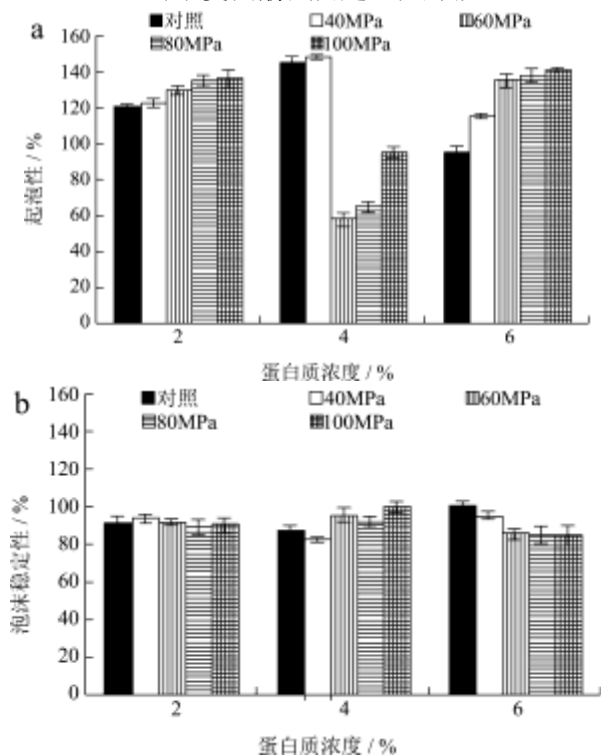


图2 微射流处理对小麦面筋蛋白起泡性的影响

Fig.2 The influence of DHPM treatment on foaming properties of wheat gluten

注: a 为起泡性, b 为泡沫稳定性。

影响蛋白起泡性的主要外在因素有蛋白质浓度、泡沫产生的方法等;内在的因素有溶解度、分子(链段)柔性、疏水性、带电基团和极性基团的配制^[7]。微射流处理对小麦面筋蛋白溶液的起泡性和泡沫稳定性的影响见图2。从图2a可看出,微射流处理对小麦面筋蛋白起泡性的影响趋势比较复杂,与浓度关系很大,当小麦面筋蛋白浓度为2%和6%时,起泡性随着压力的升高而增大,在100 MPa时达到最大,而当小麦面筋蛋白浓度为4%时,当压力小于等于40 MPa,微射流作用对小麦面筋蛋白的起泡性影响不大,而当

压力大于等于60 MPa时,起泡性减小,其中60 MPa时起泡性最低,仅仅是对照样品的40%,这说明虽然在4%蛋白浓度条件下溶解度最大,但微射流作用可能破坏了小麦面筋蛋白分子的疏水亲水基团和带电极性基团平衡,不适宜泡沫的形成。从图2b可看出,微射流处理对小麦面筋蛋白起泡稳定性影响不大,特别是当浓度为2%时,泡沫稳定性基本没变化;蛋白浓度为4%时,泡沫稳定性随着压力的升高而增大,在100 MPa时达到最大,比对照高出13.8%;蛋白浓度为6%时,泡沫稳定性随着压力的升高而减小,这可能是由于6%浓度条件下更多的面筋蛋白分子在微射流作用下被打散后聚集成团,不利于分子的分散,从而泡沫稳定性减小。

2.3 DHPM 对小麦面筋蛋白乳化性的影响

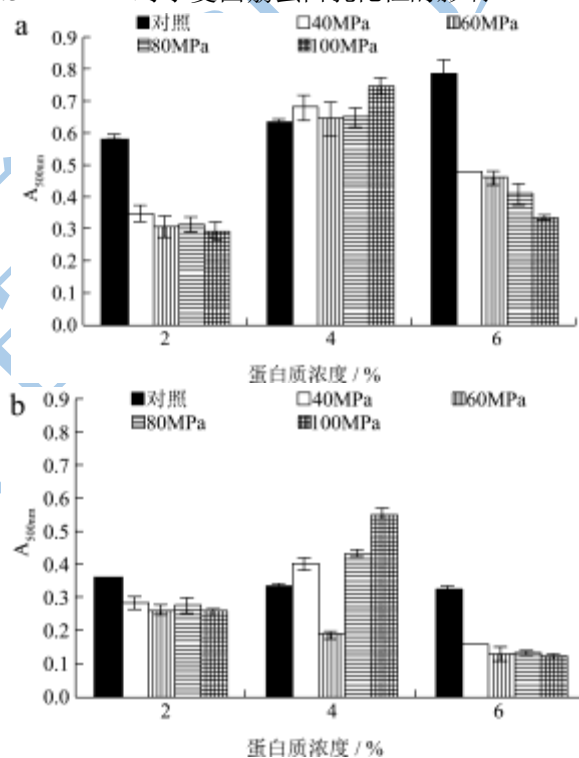


图3 微射流处理对小麦面筋蛋白乳化性的影响

Fig.3 The influence of DHPM treatment on emulsifying properties of wheat gluten

注: a 为乳化性, b 为乳化稳定性。

蛋白质的乳化特性与蛋白质的溶解度、表面疏水性和表面电荷分布相关^[8]。图3给出了微射流处理对小麦面筋蛋白乳化性和乳化稳定性的影响。由图3可看出,微射流压力对小麦面筋蛋白乳化性和乳化稳定性的影响与浓度密切相关,不同浓度下其乳化性和乳化稳定性随微射流压力的变化趋势各不相同,当小麦面筋蛋白浓度为4%时,微射流压力对乳化性和乳化稳定性的影响没有很强的规律性,在100 MPa时具有最高的乳化性和乳化稳定性,分别比对照高出17.4%

和 64.6%，这主要是因为 100 MPa 微射流作用使得因为溶解度增大而增加的参与乳化作用的分子和达到平衡的亲水性亲油性基团相互促进相互增强^[18]。而当小麦面筋蛋白浓度为 2% 和 6% 时，乳化性和乳化稳定性随着微射流压力的升高反而减小，这可能是因为经过微射流处理后的小麦面筋蛋白表面疏水性和表面电荷分布发生了更大的变化。

2.4 DHPM 处理对小麦面筋蛋白分子的影响

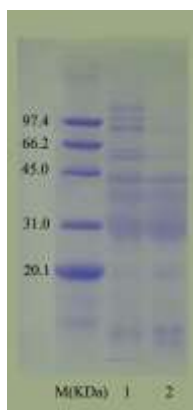


图 4 微射流处理前后小麦面筋蛋白的 SDS-PAGE 图

Fig.4 The SDS-PAGE of wheat gluten untreated or treated by DHPM

注：1 为对照，2 为 100 MPa 微射流处理样品。

图 4 显示了 4% 蛋白浓度的小麦面筋蛋白经过 100 MPa 微射流处理前后其 SDS-PAGE 图谱的差异。由图 4 可以看出，经过微射流处理的小麦面筋蛋白(条带 2)与对照(条带 1)相比，有明显的大分子条带(50~100 kDa)的消失和小分子条带(<20 kDa)的增加的现象。该研究结果说明微射流作用使得大分子量亚基被破坏，生成更多的小分子量亚基，进而形成新的水溶性聚集体^[10]，从而溶解度得到提高。同时新生成的水溶性聚集体更容易在气水界面和水油界面吸附，降低界面张力，提高小麦面筋蛋白的泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性。这与前人研究结果(DHPM 对蛋白质的微观结构不改变或者改变甚微)不一致，这可能与小麦面筋蛋白中纤维状麦谷蛋白和球状麦醇溶蛋白形成独特的三维网状结构相关。

2.5 DHPM 处理后小麦面筋蛋白的热学特性研究

变性转变温度 (T_d) 反映蛋白质的热稳定性，而蛋白质的变性焓 (ΔH) 则代表的是蛋白质的聚集程度^[19]。微射流处理对小麦面筋蛋白热稳定性和聚集程度的影响结果见图 5 和表 1。经过 100 MPa 微射流处理后的小麦面筋蛋白热变性转变温度和变性焓均增加，这可能是由于微射流作用将小麦面筋蛋白破碎成更小的颗粒，这些小颗粒重新聚集成新的聚集体具有更加紧凑的空间结构和独特的空间构象，使得小麦面

筋蛋白具有更高的热稳定性。因此，在此条件下其泡沫稳定性和乳化稳定性都明显增加。

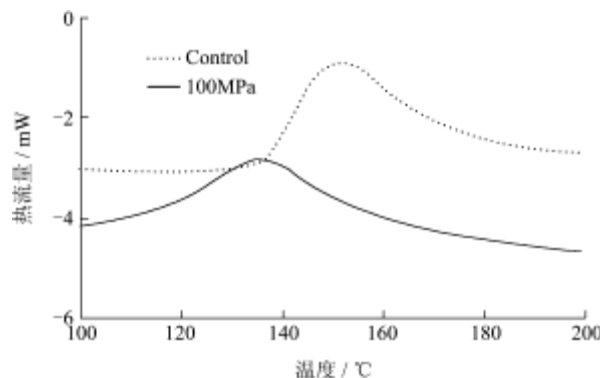


图 5 微射流处理前后小麦面筋蛋白的 DSC 图

Fig.5 The DSC of wheat gluten untreated or treated by DHPM

表 1 微射流处理前后小麦面筋蛋白的热学特性

Table 1 The thermal characteristics of wheat gluten untreated or treated by DHPM

样品名称	$T_d/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J/g})$
微射流处理前(对照)	135.70	91.39
微射流处理后(样品)	151.68	111.16

3 结论

研究表明，微射流处理可以增加小麦面筋蛋白的溶解度，而微射流压力对其溶解度的影响与蛋白浓度有关，4% 是最佳浓度，在 80 MPa 时达到最大值。微射流对小麦面筋蛋白起泡性能和乳化性能的影响也与蛋白浓度相关：蛋白浓度为 4% 时，随着压力的升高，起泡性先不变后减小，泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性增大，在 100 MPa 时达到最大；蛋白浓度为 2% 和 6% 时，随着压力的升高，起泡性增大，在 100 MPa 时达到最大，泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性减小。经过 SDS-PAGE 和 DSC 图谱分析说明了微射流处理使得小麦面筋蛋白大分子量亚基被破坏，生成更多的小分子量亚基，进而形成新的具有更加紧凑的空间结构的水溶性聚集体，从而影响了小麦面筋蛋白的溶解度、起泡和乳化性能。

参考文献

[1] Lao Liao, Tong-xun Liu, Mou-ming Zhao, et al. Functional, nutritional and conformational changes from deamidation of wheat gluten with succinic and citric acid [J]. Food Chemistry, 2010, 123: 123-130

[2] 张瑞昌,徐志宏,刘邻渭.小麦蛋白改性技术的研究进展[J].粮食与饲料工业,2006,2:25-27

[3] 王岁楼,张国超.超高压对小麦蛋白乳化性和乳化稳定性的影响[J].食品与机械,2008,24(2):9-11

- [4] Kingsley K Agyare, Kwaku Addo, Youling L Xiong. Emulsifying and foaming properties of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate as influenced by pH, temperature and salt [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23:72-81
- [5] 史新慧,王兰.植物蛋白的改性[J].郑州粮食学院学报,1996, 17(4):60-63
- [6] Wei Liu, Zhao-Qin Zhang, Cheng-Mei Liu, et al. Effect of molecular patch modification on the stability of dynamic high-pressure microfluidization treated trypsin [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 16:349-354
- [7] J Z Zhong, W Liu, C M Liu, et al. Aggregation and conformational changes of bovine β -lactoglobulin subjected to dynamic high-pressure microfluidization in relation to antigenicity [J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(8):4237-4245
- [8] 尹寿伟,唐传核,温其标,等.微射流处理对芸豆分离蛋白构象和功能特性的影响[J].华南理工大学学报,2009,37(10): 112-116
- [9] Lan Shen, Chuan-He Tang. Microfluidization as a potential technique to modify surface properties of soy protein isolate [J]. Food Research International, 2012, 48(1): 108-118
- [10] Daniela Oboroceanu, Lizhe Wang, Ardy Kroes-Nijboer, et al. The effect of high pressure microfluidization on the structure and length distribution of whey protein fibrils [J]. International Dairy Journal, 2011, 21(10): 823-830
- [11] 黄科礼,尹寿伟,杨晓泉.微射流处理对红豆分离蛋白结构及功能特性的影响[J].现代食品科技,2011,27(9):1062-1065
- [12] 刘国琴,阎乃珺,赵雷,等.冷冻储藏对面筋蛋白二级结构的影响[J].华南理工大学学报(自然科学版), 2012, 40(5): 115-120
- [13] Bernardi Don L S , Pilosof A M R, Bartholomal G B. Enzymatic modification of soy protein concentrates by fungal and bacterial proteases [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1991, 68:102-105
- [14] Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26: 716-723
- [15] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227, 680-685
- [16] 涂宗财,迟海霞,刘成梅,等.动态超高压微射流对卵清蛋白功能性质的影响[J].食品研究与开发,2010,31(3):4-6
- [17] 涂宗财,姜颖,陈钢,等.动态超高压微射流对花生球蛋白结构和功能性质的影响[J].食品工业科技,2009,30(12):73-75
- [18] PUPPO M C, SPERONI F, CHAPLEAU N, et al. Effect of high pressure treatment on emulsifying properties of soybean proteins [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(2): 289-296
- [19] 刘国琴,柳小军,李琳,等.冻藏时间对小麦湿面筋蛋白结构和热性能的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版), 2011, 32(5):1-5