

大豆-鸡蛋清复合蛋白粉功能性质的研究

廖安¹, 吴卫国^{1, 2}

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

(2. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

摘要: 本文通过单因素试验设计对大豆分离蛋白-蛋清蛋白混合粉的功能特性进行研究。结果表明, 大豆分离蛋白与蛋清蛋白的配比和 pH 值对实验结果都有显著影响。中性条件下, 蛋清蛋白的比例由 0% 增加到 80% 时, 混合蛋白粉的溶解度由 12% 上升到 58%, 凝胶强度由 59 g 上升到 1604 g; 大豆分离蛋白的比例由 0% 增加到 80% 时, 混合蛋白粉的起泡性由 86.5% 上升到 184%, 失水率由 80% 降低为 35%。通过实验得出了两种蛋白质之间的非线性作用, 两种蛋白质在胶凝性上表现为协同作用, 在起泡性上表现为拮抗作用, 而在溶解度上二者表现为简单的线性叠加。

关键词: 混合蛋白粉; 溶解性; 起泡性; 胶凝性

文章编号: 1673-9078(2013)7-1606-1610

Functional Properties of Soybean-eggwhite Protein Composite Blends

LIAO An¹, WU Wei-guo^{1,2}

(1.College of Food Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China)

(2.Hunan Provincial Key Lab of Food Science and Bio-technology, Changsha 410128, China)

Abstract: single factor experiment design was used to study the effects of ingredient interactions on properties of soybean-egg white protein mixture. Solubility, foaming property and gel property of the protein mixtures were tested as the main properties. The result showed that the mixture ratio and pH had a significant effect on the properties of the mixture. As the ratio of eggwhite protein increased from 0% to 80%, the solubility of mixture increased from 12% to 58% and gel strength also increased from 59 g to 1604 g. When the ratio of soybean protein increased from 0% to 80%, the foaming capacity increased from 86.5% to 184% and the rate of water loss was reduced from 80% to 35%. The method accounted for nonlinear interactions between the ingredients. The two proteins showed synergistic effects on gel property, antagonistic effects on foaming properties and linear additive effects on solubility.

Key words: mixed protein; solubility; foaming; gelation

蛋白质的功能特性是指除营养价值外的那些对食品需宜特性有利的蛋白质的物理化学性质^[1], 这些性质在食品加工中起着非常重要的作用。然而, 一些重要蛋白质的功能特性却不能满足其加工需求。于是一些科学家开始研究蛋白质的改性方法以改善各种蛋白质的功能特性。但是, 蛋白质改性往往会大大增加生产成本或者引入化学试剂^[2-3], 不能为生产厂家和消费者广泛接受, 所以急需另外一种能够显著改善蛋白质功能特性的方法拓宽其应用范围。目前, 已有一些学者开始研究混合蛋白粉的功能特性, 并将混合蛋白粉应用于产品中以弥补各个蛋白粉功能性的不足, 改善产品的感官质量, 同时起到增加营养功效和降低成本的作用^[4-9], 但尚缺乏利用系统的分析方法分析混合蛋白粉各组分对功能特性的影响及蛋白质之间的相互作用

用的研究^[10-15]。

大豆分离蛋白氨基酸种类全面且低廉的价格, 被运用到各种仿制食品中; 蛋清蛋白氨基酸组成接近人体氨基酸组成, 是食物中最理想的蛋白质。但由于它们本身某些性质的缺陷, 限制了其在食品加工中的应用。利用两种蛋白质混合, 不仅能改善单一蛋白质功能性上的不足, 还能起到营养互补, 降低成本的作用, 从而拓宽其在食品生产中的应用范围。本研究以大豆分离蛋白和蛋清蛋白为原料, 通过大豆分离蛋白和蛋清粉的等梯度混合配比, 研究混合蛋白粉的溶解度、起泡性和胶凝性的变化, 考查蛋白粉的混合在其功能特性上的“协同作用”, 以期在使用蛋白粉时能更好的发挥其功能特性, 为混合蛋白产品的设计提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验原料与试剂

收稿日期: 2013-02-06

作者简介: 廖安(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学

通讯作者: 吴卫国(1968-), 男, 博导, 研究方向为食品科学

大豆分离蛋白 (SPI), 上海颐而康保健食品有限公司; 鸡蛋白粉 (EW), 浙江省长兴艾格生物制品有限公司; 其它试剂均为分析纯试剂。

1.2 主要仪器与设备

KDN-102F 型自动定氮仪; TP-213 型 101A-3ET 电热鼓风干燥箱; TP-213 型电子天平; PHS-3C 型精密数显 PH 计; DD5 离心机; SHZ-82 水浴恒温振荡器; TA.XT plus 质构仪; JSM-6380LV 扫描电子显微镜。

1.3 试验方法

1.3.1 溶解度测定

按照比例 (SPI/EW: 100/0、80/20、60/40、40/60、20/80、0/100) 称取蛋白粉共 3 g 于 200 mL 烧杯中, 量取 80 mL 水, 用玻璃棒充分分散样品, 用 0.1% 的 HCl 或 NaOH 分别调节 pH 至 5、6、7、8、9。室温下磁力搅拌混合物 120 min, 转移到 100 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度。静置数分钟后取上层清液 40 mL 至 50 mL 离心管中, 离心分离 (4000 r/min) 10 min, 取上清液 20 mL 进行凯氏定氮。另外, 测定该蛋白粉样品的总氮含量。每个样品重复试验 3 次。水溶性氮计算如下:

$$\text{水溶性氮}/\% = \frac{(B-S) \times N \times 100 \times 0.14}{\text{样品质量}}$$

注: B 是反滴定空白的碱液体积, mL; S 是反滴定样品的碱液体积, mL; N 是碱浓度, mol/L。

$$\text{氮溶解指数 (NSI 值)} = \frac{\text{水溶性氮}}{\text{总氮}} \times 100\%$$

1.3.2 起泡性及泡沫稳定性的测定

按照比例 (SPI/EW: 100/0、80/20、60/40、40/60、20/80、0/100) 称取蛋白粉共 1 g, 稀释至 100 mL, 玻璃棒充分搅拌均匀, 用 0.1% 的 HCl 或 NaOH 调节 pH 至 4、5、6、7、8、9。取蛋白质溶液, 用电动打蛋机快速搅打 (6 档) 5 min, 将所产生的泡沫迅速转入 500 mL 量筒并记录总体积 V。在 0 min (V_0) 和 30 min (V_{30}) 时刻记录渗出液体体积, 考察失水率的大小来判断泡沫稳定性, 失水率越小, 泡沫稳定性越强。每个样品都重复三次实验。起泡力和失水率按照以下公式进行计算:

$$\text{起泡力}/\% = \frac{V - V_0 - 100}{100} \times 100\%$$

$$\text{失水率}/\% = \frac{V_{30}}{V} \times 100\%$$

1.3.3 凝胶强度的测定

本试验蛋白质凝胶的形成采用的是热致凝胶的方法, 按照比例 (SPI/EW: 100/0、80/20、60/40、40/60、20/80、0/100) 称取蛋白粉 3 g, 配制成 15% 的蛋白质

混合溶液, 不断搅拌, 使蛋白质样品均匀分散。用 0.1% 的 HCl 或 NaOH 调节 pH 值至 5、6、7、8、9, 不停搅拌以使糊状液内部酸碱度均一, 保证胶体各部分性状一致, 保持糊状物表面平整。盖上锡箔纸防止水分蒸发, 95 °C 水浴加热 1 h, 然后迅速冷却至室温, 再放入冰箱 12 h, 第二天取出陈化 30 min 后待测。

使用质构仪测定凝胶强度 (GH)。质构仪操作条件为: 采用 p0.5 胶体专用探头, 测前速度: 5.0 mm/s, 测速: 2 mm/s, 测后速度: 5 mm/s, 下压距离 10 mm, 下压凝胶 10 mm 所需的力即为凝胶强度。

1.3.4 微观结构测定

采用扫描电镜对蛋白质凝胶的微观结构进行观察。取 5 mm 见方的蛋白质凝胶样品放入 3% 的戊二醛溶液中固定 2 h, 将样品用蒸馏水清洗后, 用戊二醛-醋酸双固定 1 h; 用体积分数 30%、50%、70%、80%、90%、100% 的乙醇溶液反复梯度脱水; 采用二氧化碳临界点干燥法进行干燥; 离子喷射仪喷金。在扫描电镜下进行微观结构的扫描, 拍摄 10000 倍、5000 倍、1000 倍、500 倍和 100 倍下的图像, 观察样品的结构差异和特点。

2 结果与讨论

2.1 混合蛋白粉溶解性质分析

大豆分离蛋白与蛋清蛋白的质量比对混合蛋白粉溶解度的影响如图 1 所示。

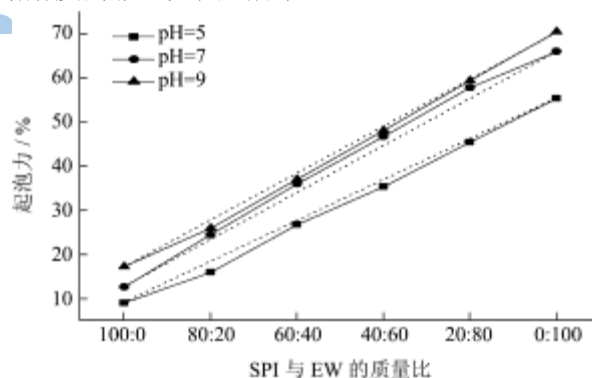


图 1 SPI 与 EW 质量比对混合蛋白粉溶解度的影响

Fig.1 Effect of SPI:EW on solubility of mixed protein

由图 1 可知, 蛋清粉的溶解度明显强于大豆分离蛋白, 且在 pH 5、7、9 时, 二者的溶解度都在 pH=5 的时候最差, 溶液 pH 由 5 升高至 9, 大豆分离蛋白溶解度由 9% 升高至 17%; 蛋清粉溶解度由 55% 升高至 71%。该现象可以解释为大豆分离蛋白的主要成分球蛋白和蛋清粉的主要成分卵白蛋白的等电点均在 4.5 附近, 在等电点时, 蛋白质分子以两性离子形式存在, 其分子净电荷为零, 此时蛋白质分子颗粒在溶液中因没有相同电荷的相互排斥, 分子相互之间的作用力减

弱，其颗粒极易碰撞、凝聚而产生沉淀。

另外，大豆分离蛋白的溶解度随着蛋清粉的线性添加基本呈现线性上升的趋势，证明二者混合，混合蛋白粉的溶解度是简单的线性叠加，不发生协同或者拮抗作用。两种蛋白粉混合，蛋白质表面的疏水亲水特性是影响其溶解性的主要因素，平均疏水性越低，蛋白质的溶解性越高，通过添加水合能力强的蛋清粉可以显著提高大豆分离蛋白的溶解性，从而拓宽大豆分离蛋白在食品加工中的应用。

2.2 混合蛋白粉起泡性质分析

2.2.1 起泡力

大豆分离蛋白与蛋清蛋白的质量比对混合蛋白粉起泡力的影响见图2。

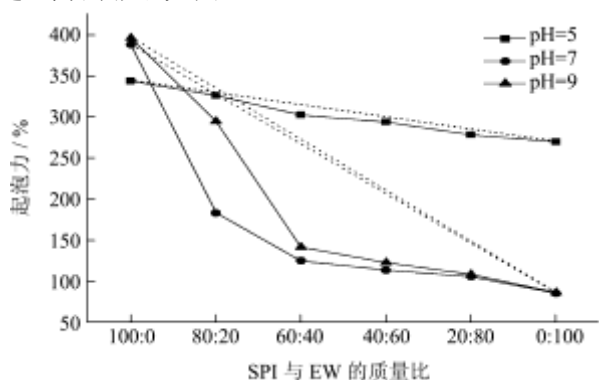


图2 SPI与EW质量比对混合蛋白粉起泡力的影响

Fig.2 Effect of SPI:EW on foaming capacity of mixed protein

由图2看出，大豆分离蛋白的起泡能力远远强于蛋清蛋白，且大豆分离蛋白的起泡性在pH值5、7、9时变化不大，而蛋清粉的起泡力在pH=5的时候最大，随pH升高迅速降低，由270%下降为86.5%。pH能影响蛋白质的带电状态，并改变蛋白质的相互作用，随之改变蛋白质起泡性质和泡沫稳定性。蛋清粉在pH靠近等电点时产生蛋白质-蛋白质相互作用并形成粘稠的膜，同时蛋清蛋白发生部分变性，疏水基团暴露，使蛋清粉起泡能力显著升高^[16]。

图2还表明，大豆分离蛋白的起泡性随着蛋清蛋白的添加而显著下降；反之，随着大豆分离蛋白的增加，混合蛋白粉的起泡性升高，往蛋清蛋白制品（如蛋糕）里添加大豆分离蛋白，可以增强其起泡性，提高产品的蓬松度。

两种蛋白粉彼此之间若无协同或者拮抗作用，则其功能特性随着蛋白粉的线性添加，应呈现线性比例变化，如图虚线所示。图2显示，pH=5时，两种蛋白质之间的相互作用不明显，而在pH=7或9的情况下，蛋清粉会显著降低大豆分离蛋白的起泡能力，二者之间表现出明显的拮抗作用。

2.2.2 泡沫稳定性

大豆分离蛋白与蛋清蛋白的质量比对混合蛋白粉泡沫稳定性的影响见图3。

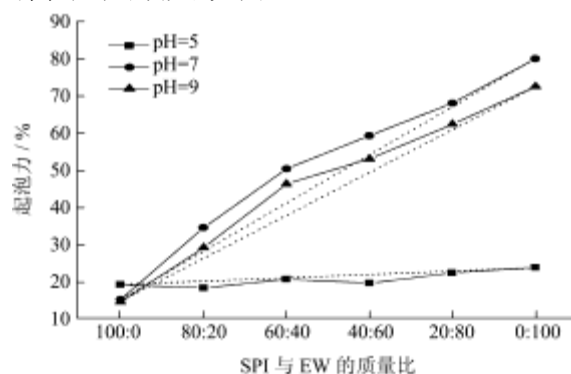


图3 SPI与EW质量比对混合蛋白粉失水率的影响

Fig.3 Effect of SPI:EW on water losing rate of mixed protein

由图3可知，大豆分离蛋白的失水率低于蛋清蛋白，这说明大豆分离蛋白的泡沫稳定性强于蛋清蛋白。预实验得出，蛋清粉在pH从4~9的变化过程中，失水率先降低后上升，在pH=5的时候最小，而大豆分离蛋白的失水率在pH4~9范围内变化不大，这表明，蛋清蛋白的泡沫稳定性在pH=5的时候最好，而大豆分离蛋白的泡沫稳定性在此期间变化不大。

随着大豆分离蛋白减少，蛋清粉增加，混合蛋白粉的失水率不断上升，泡沫稳定性逐渐下降。在pH=7或者9的时候，往大豆分离蛋白中等梯度线性添加蛋清粉，混合蛋白质的失水率比预测值（虚线）要高，证明，在失水率上大豆分离蛋白与蛋清粉之间不是简单的叠加作用，而是存在协同作用，相反，在泡沫稳定性上，二者存在拮抗作用。在pH=5时，二者之间的作用不明显。

2.3 混合蛋白粉凝胶性质分析

2.3.1 凝胶强度

蛋清蛋白添加量对大豆分离蛋白凝胶强度的影响见图4。

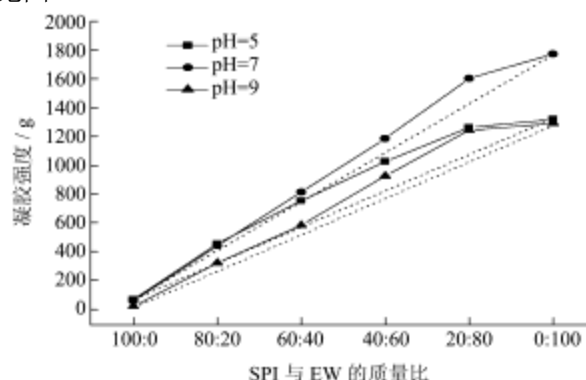


图4 SPI与EW质量比对混合蛋白粉凝胶强度的影响

Fig.4 Effect of SPI:EW on gel strength of mixed protein

不同pH条件，不同配比情况下的胶凝性曲线如图4所示。胶凝是变性蛋白质分子发生的有序聚集反

应。凝胶是一种三维网状结构,可以容纳其他的成分,对食品质地有很重要的作用。图4反应了蛋清蛋白有很好的胶凝性,且在pH=7附近时具有最大的凝胶强度,约为1774 g;另一方面,大豆分离蛋白的胶凝性很差,且随pH值变化凝胶强度变化不大。

通过感官判定,在蛋白质含量为15%时,蛋清粉形成坚硬但缺乏弹性的蛋白质凝胶,而单独的大豆分离蛋白只能形成软质脆弱的凝胶,或者几乎不能成胶。这是因为蛋清粉较之大豆蛋白有较低的变性温度,因而在相同的温度条件下能形成硬度更大的凝胶。通过大豆分离蛋白和蛋清蛋白混合形成的蛋白质硬度和弹性都比较好。鸡蛋白属于凝聚型蛋白质,它在加热变形后,分子间随机结合形成不溶性蛋白质凝块,而大豆蛋白是凝胶型蛋白质,热变性后的凝胶形成是一个有序的过程,由大的聚集蛋白质粒子形成的凝胶不透明,缺少弹性^[1]。通过混入大豆蛋白,有利于形成有序、均一、透明、凝胶强度和弹性均较好的蛋白质胶体。

从图4看,随着蛋清粉的添加,混合蛋白粉的凝胶强度增大,当蛋清粉的添加量达到80%时,凝胶强度与单独的蛋清蛋白胶体基本相等。比较实际测量值与预测值(虚线),可知混合蛋白粉凝胶强度的实际测量值要比预测值大,证明两种蛋白质之间有协同作用。在中性条件下,往大豆分离蛋白中添加蛋清蛋白,当蛋清蛋白含量由0%增加到60%时,蛋白凝胶强度由59 g上升为1186 g,为原来的20倍,当添加量达到80%时,混合蛋白粉的凝胶强度为1604 g,与全蛋清蛋白的凝胶强度(1774 g)基本持平。通过添加蛋清粉可以显著改善大豆蛋白粉的凝胶强度。

2.3.2 扫描电子显微镜

通过电子显微镜技术,可以对一些蛋白质凝胶的结构进行直接的观察。在图5中,a是大豆分离蛋白凝胶的电镜扫描图,可以观察到,其蛋白质网络结构含有较大的孔隙,孔隙大小不均匀,聚集体间交联较少,且很粗糙;c图是蛋清蛋白的电镜扫描图,蛋清蛋白网络结构含有大量的细小孔隙,含有浓密的交联网络,且质地较为细腻,较为平整;b图为大豆分离蛋白的蛋清蛋白的混合物,其蛋白质网络结构处于二者之间。对比蛋白质的凝胶强度,蛋清蛋白形成细腻且强度大的凝胶,而大豆分离蛋白形成的凝胶为软质粗糙的凝胶,且质地较为稀疏。早有研究表明,蛋白质网络结构越致密、均匀,其胶凝性越好^[17],与实验结果相符。

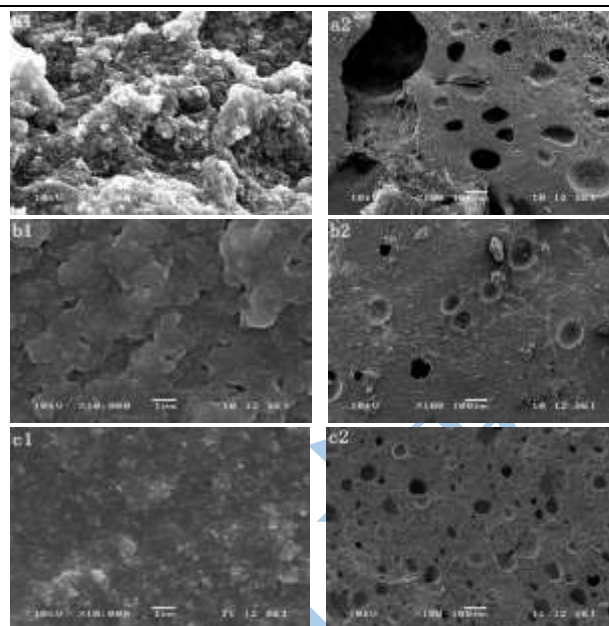


图5 SPI, EW, SPI&EW 混合物凝胶的电子显微镜扫描图

Fig.5 Scanning electron micrograph of 15% protein gel

注: a₁: SPI 凝胶 10000×; a₂: SPI 凝胶 100×; b₁: SPI&EW 混合物凝胶 10000×; b₂: SPI&EW 混合物凝胶 100×; c₁: EW 凝胶 10000×; c₂: EW 凝胶 100×。

3 结论

3.1 本研究条件下,蛋清粉的添加对大豆-蛋清混合蛋白粉的起泡性,溶解度和凝胶特性都有极显著的影响,但是各评价指标的变化趋势不同。

3.2 在不同的pH值下,两种单体蛋白质的各种功能特性都有显著变化;且同一pH值下,两种蛋白质的功能特性也有很大差异:大豆分离蛋白有很好的起泡性和泡沫稳定性,而蛋清粉有较好的溶解性和凝胶强度。

3.3 大豆分离蛋白起泡性好,溶解度和胶凝性差;蛋清粉溶解度和胶凝性较好,而起泡性较差;往大豆分离蛋白里添加蛋清粉可显著提高大豆分离蛋白的胶凝性和溶解度,而往蛋清粉里面添加大豆分离蛋白可以明显改善蛋清粉的起泡性。在大豆蛋白仿肉制品的生产中,可以加入部分蛋清蛋白,改善仿肉制品的口感和品质;在以蛋清蛋白为主要蛋白质的蛋糕生产中,加入部分大豆分离蛋白,能使蛋糕的孔隙更加致密细小,弹性更小,口感更细腻。

3.4 大豆分离蛋白和蛋清粉之间的作用不是简单的线性叠加作用。在起泡性上,二者混合会产生拮抗作用;在胶凝性上,二者产生协同作用;而二者的作用对溶解度没有显著影响。

参考文献

- [1] 赵新淮,徐红华,姜毓君.食品蛋白质-结构、性质与功能[M].北京:科学出版社,2009
- [2] 孔祥珍,周惠明.食品蛋白质改性研究[J].粮食与油脂,2004,2:22-24
- [3] 刘通讯,李媛.低值鱼蛋白酰化改性与其酶解特性关系的研究[J].现代食品科技,2008,24(7):635-637
- [4] 莫重文.质构化蛋白及仿肉食品研制[J].郑州工程学院学报,2001,22(3):9-13
- [5] John F Kerry, Frank Stack, Denis J Buckley. The rheological properties of exudates from cured porcine muscle: effects of added non-meat proteins [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79: 101-106
- [6] 陈婉珠,芮汉明.均衡高营养蛋白香菇肠的研发[J].现代食品科技,2005,22(3):92-95
- [7] 张彩,童华荣,章道明,等.植物蛋白饮料配方优化研究[J].西南农业大学学报(自然科学),2006,28(2):197-200
- [8] Castro I A, Tirapegui J, Silva R S S F. Protein mixtures and their nutritional properties optimized by response surface methodology [J]. Nutr Res, 2000, 20: 1341-1353
- [9] P I AKUBOR1, I A ONIMAWO. Functional properties and performance of soybean and maize flour blends in cookies [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2003, 58: 1-12
- [10] E Matringe, R Phan Tan Luu, D Lorient. Functional Properties of Milk-Egg Mixtures [J]. JOURNAL OF FOOD SCIENCE, 1999, 64(5): 787-791
- [11] NAOTOSHI MATSUDOMI, YUKA KANDA, HIROMI MORIWAKI. r-Casein Improves the Gel Properties of Dried Egg White [J]. JOURNAL OF FOOD SCIENCE, 2003, 51(24): 7140-7145
- [12] 于滨,迟玉杰.单纯形格子法研究混合蛋白粉功能性[J].食品与发酵工业,2009,35(8):151-155
- [13] Omer Zorba, Sukru Kurt. Optimization of emulsion characteristics of beef, chicken and turkey meat mixtures in model system using mixture design [J]. Meat Science, 2006, 73: 611-618
- [14] I A Castro, R S F Silva, J Tirapegui, et al. Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: constrained simplex method approach [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2003, 38: 103-110
- [15] 孙照勇.植物蛋白复合挤压组织化特性研究[D].中国农业科学院,2009
- [16] 孙敏杰,迟玉杰,张明江.提高蛋清粉起泡性能的工艺[J].农业工程学报,2008,11(24):274-278
- [17] 车永真.高凝胶性蛋清粉的研究[D].无锡:江南大学食品科学,2008