

# 高温豆粕大豆分离蛋白射流空化辅助提取

李良 周艳 邹智博 郭增旺 吴长玲 王中江

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 为高效提取高温豆粕中大豆分离蛋白,利用射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白,并进一步研究射流空化压力(0~2.0 MPa)对大豆分离蛋白提取率、二级结构、持油性、持水性、溶解度、起泡性及乳化性等性质的影响。结果表明,射流空化处理样品的游离巯基含量、蛋白质表面疏水性均显著高于未经处理的样品( $P < 0.05$ ),而二硫键含量显著降低( $P < 0.05$ )。当射流空化压力 1.5 MPa 时,大豆分离蛋白提取率为 58.97%,比未处理样品提高了 34.42%;大豆分离蛋白的持油性、持水性、溶解度、起泡性和乳化性均得到显著改善,表明射流空化处理使蛋白质分子解折叠,结构展开,暴露出更多的游离巯基,蛋白颗粒粒径减小,比表面积增加,有利于改善大豆分离蛋白的功能特性。当射流空化压力增加到 2.0 MPa 时,高压作用及极端热导致大豆分离蛋白的功能特性下降。将提取大豆分离蛋白与商品大豆分离蛋白的功能性质进行比较,表明射流空化处理工艺可提高高温豆粕中蛋白质的利用价值。

**关键词:** 高温豆粕;射流空化;大豆分离蛋白;结构;功能特性

**中图分类号:** TS214.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2019)09-0373-08

## Extraction of Soy Protein Isolate from Highly Denatured Soybean Meal by Jet Cavitation Assisted

LI Liang ZHOU Yan ZOU Zhibo GUO Zengwang WU Changling WANG Zhongjiang  
(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** The process of extraction soy protein isolate from highly denatured soybean meal by alkali lytic acid precipitation method with the aid of jet cavitation was aimed to increase the yield of protein. The effects of different jet cavitation powers(0~2.0 MPa) on soy protein isolate extraction rate, secondary structure, oil-holding capacity and water holding capacity, solubility, foaming and emulsifying properties were further studied. As the results shown, the free sulfhydryl contents and the surface hydrophobicity of the samples treated by jet cavitation were significantly higher than those of the untreated samples ( $P < 0.05$ ), while the disulfide bond contents were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). When the jet cavitation power was 1.5 MPa, the extraction rate of soy protein isolate was 58.97%, which was 34.42% more than the untreated sample. The oil-holding capacity and water holding capacity, solubility, foaming and emulsifying properties of soy protein isolate were significantly improved. The results indicated that the jet cavitation treatment unfolded the protein molecules, stretched the structure, exposed more free sulfhydryl groups, decreased the particle size of the protein particles, and increased the specific surface area, which was beneficial to improve the functional properties of soy protein isolate. When the jet cavitation pressure was increased to 2.0 MPa, the high pressure and extreme heat decreased the functional properties of soy protein isolate. At the same time, the functional properties of the extracted soy protein isolate and commercial soy protein isolate were compared, the results characterized the jet cavitation process in improving the utilization value of protein in high temperature soybean meal.

**Key words:** highly denatured soybean meal; jet cavitation; soy protein isolate; structure; functional properties

收稿日期: 2019-03-12 修回日期: 2019-04-20

**基金项目:** 黑龙江省应用技术与开发技术重大项目(GA17B002)、中国博士后科学基金项目(2018M641798)、黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(UNPYSCT-2018163)、黑龙江省自然科学基金项目(C2018024)和国家重点研发计划项目(2016YFD0400402-2)

**作者简介:** 李良(1981—),男,副教授,博士生导师,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: liliangneau@163.com

**通信作者:** 王中江(1987—),男,讲师,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: wzjname@126.com

## 0 引言

豆粕是大豆经破碎提取油脂后得到的一种副产物,一般呈不规则碎片状,颜色为浅黄色至浅褐色,其中含40%~45%的蛋白质、10%~15%的低聚糖、20%~25%的多糖与纤维素,具有极高的开发与利用价值<sup>[1]</sup>。根据提取工艺不同,豆粕分为低温豆粕和高温豆粕,其中95%以上豆粕为高温豆粕。与低温豆粕相比,高温豆粕的加工成本低,但高温处理工艺会使豆粕中蛋白质发生变性,导致蛋白质的溶解性质和部分功能性质降低,这极大地影响了高温豆粕中蛋白质在食品领域的应用。目前国内外对高温豆粕进行深加工研究的并不多,其主要被应用于牲畜和家禽饲料加工中,限制了高温豆粕的利用价值<sup>[2]</sup>。

射流空化技术是一种新型的强化均质手段,与超声和高压均质处理相比,具有空化场均匀、操作简便、效率高等特点,该技术是基于液体中的空化泡溃灭时产生的高温、高压、强烈的冲击波及高时速的射流产生机械效应、自由基效应、热效应<sup>[3]</sup>。文献[4]研究发现超声处理具有分解蛋白质和乳化蛋白质悬浮液的作用,可明显提高蛋白质溶液的亲水性和溶解性;文献[5]研究发现在300 W、12 Hz、8 min超声波条件下,浸出率提高到73%,说明通过超声波处理高温豆粕,蛋白质的浸出率显著提高,且溶解性明显增加;文献[6]研究蒸汽爆破辅助提取高温豆粕中的蛋白质时发现爆破条件为1.8 MPa、180 s时,蒸汽爆破处理使高温豆粕的氮溶解指数提高了1.1倍。上述研究结果表明,物理方法辅助处理可有效提高高温豆粕中大豆分离蛋白提取率及其功能特性,但目前关于利用射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白,及其对提取蛋白质功能特性影响尚需进一步探究。

本文主要对射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白进行研究,以期改善高温豆粕中蛋白质的提取率和功能特性,从而提高高温豆粕中蛋白质的利用价值,同时也为其他低值蛋白质深加工提供技术和理论支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

高温豆粕(氮溶解指数23.29%,蛋白质质量分数46.03%,粗脂肪质量分数5.23%,灰分质量分数4.77%),山东禹王实业有限公司提供;市售大豆分离蛋白(蛋白质质量分数92.53%),山东禹王实业有限公司提供;非转基因大豆油,九三粮油工业集团

有限公司;2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS),北京索莱宝科技有限公司;5,5-二硫双-2-硝基苯甲酸(DTNB)、8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS),美国Sigma公司;其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

M-110-EH-30型高压微射流纳米均质机,美国MFIC公司;CR22G型高速冷冻离心机,日立(Hitachi)公司;HYP-2型消化炉,上海纤检仪器有限公司;恒温水浴锅,余姚市东方电工仪器厂;Ultra-Turrax T18型高速分散器,德国Ika公司;VIC-212型电子天平,美国艾科勒公司;FTIR-7600型傅里叶红外光谱仪,日本岛津公司;TU-1810型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;LS45型荧光分光光度计,日本岛津公司;PHS-25C型数字酸度计,上海大普仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 大豆分离蛋白射流空化提取

高温豆粕粉碎过60目筛,然后与去离子水按料液比20 mg/L,用NaOH溶液(2 mol/L)将其pH值调至8.0,室温(20℃)下搅拌1 h,并在搅拌过程中保持pH值恒定;然后对豆粕粉溶液进行射流空化处理,射流空化压力为0、0.5、1.0、1.5、2.0 MPa,时间为20 min,并保持pH值恒定为8.0于室温下搅拌1 h;将射流空化处理后豆粕粉溶液于10 000 g、4℃条件下离心30 min,得上清液,用HCl溶液(2 mol/L)将上清液pH值调至4.5并在室温中静置1 h;静置后溶液在10 000 g、4℃条件下离心20 min取沉淀,用去离子水溶解并洗涤沉淀3次,最后用去离子水溶解沉淀,并用NaOH溶液(2 mol/L)调节pH值为7.0,在10 000 g、4℃条件下离心30 min,离心后取上清液预冻24 h,冷冻干燥后粉碎得大豆分离蛋白<sup>[7]</sup>。

#### 1.3.2 大豆分离蛋白提取率

以10.00 g豆粕粉计,准确称取1.3.1节中提取的大豆分离蛋白质量(精确到0.000 1 g),利用凯氏定氮法分别测定豆粕粉和大豆分离蛋白中的蛋白含量。大豆分离蛋白提取率计算公式为<sup>[8]</sup>

$$N = \frac{M_1 C_1}{M_0 C_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中  $N$ ——大豆分离蛋白提取率,%

$M_1$ ——所得大豆分离蛋白质量,g

$C_1$ ——分离蛋白中的蛋白质量分数,%

$M_0$ ——所用豆粕粉质量,g

$C_2$ ——豆粕粉中蛋白质量分数,%

#### 1.3.3 红外光谱

样品充分研磨过筛,置于干燥器内用 $P_2O_5$ 充分干燥,精确称取2.0 mg干燥样品加入200 mg的

KBr, 研磨混合均匀, 并进行压片处理, 红外光谱仪以 KBr 为背景扫描, 然后对样品进行红外光谱扫描, 扫描波段  $400 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$ , 分辨率  $4 \text{ cm}^{-1}$ , 扫描次数 32, 采集的红外图谱处理采用 Origin 9.0 和 Peakfit 4.21 数据处理软件<sup>[9]</sup>。

### 1.3.4 蛋白质游离巯基及二硫键含量

参照文献[10]改进的 Ellman 试剂法, 并做适当调整。

游离巯基含量测定: 2 mL 样品溶液 (5 mg/mL) 中, 加入 5 mL Tris - Gly 缓冲液 (含 0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L Glycine、4 mmol/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH 值 8.0), 再加入 0.10 mL Ellman 试剂 (0.01 mol/L), 测定时溶液经漩涡迅速混合后  $25^\circ\text{C}$  保温反应 15 min, 测定其在 412 nm 波长处吸光度。以不加 Ellman 试剂的溶液作为空白对照。每组样品测定 3 次。

总巯基含量测定: 2 mL 样品溶液 (5 mg/mL) 中, 加入 5 mL Tris - Gly 与 8 mol/L Urea、0.5% SDS (十二烷基苯磺酸钠) 的混合液, 再加入 0.10 mL Ellman 试剂 (0.01 mol/L), 测定时溶液经漩涡迅速混合后在  $25^\circ\text{C}$  下保温反应 15 min, 测定其在 412 nm 波长处吸光度。以不加 Ellman 试剂的溶液作为空白对照。每组样品测定 3 次。

游离巯基质量摩尔浓度计算公式为

$$C_{\text{-SH}} = \frac{73.53A_{412}D}{C} \quad (2)$$

二硫键质量摩尔浓度计算公式为

$$C_{\text{s-s}} = \frac{C_{\text{SH}} - C_{\text{-SH}}}{2} \quad (3)$$

式中  $C_{\text{-SH}}$ ——游离巯基质量摩尔浓度,  $\mu\text{mol/g}$   
 $A_{412}$ ——加 Ellman 试剂时样品的吸光度与不加 Ellman 试剂时样品的吸光度差值  
 $D$ ——样品稀释系数  
 $C$ ——样品溶液的质量浓度,  $\text{mg/mL}$   
 $C_{\text{SH}}$ ——总巯基质量摩尔浓度,  $\mu\text{mol/g}$   
 $C_{\text{s-s}}$ ——二硫键质量摩尔浓度,  $\mu\text{mol/g}$

### 1.3.5 表面疏水性

将样品配制成 1 mg/mL 溶液, 然后用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.0) 将样品液分别稀释 10、20、40 倍。取 4.0 mL 稀释后蛋白溶液与 40  $\mu\text{L}$  8 mmol/L ANS 磷酸盐缓冲液 (0.1 mol/L, pH 值 7.0) 混匀, 室温下避光放置 2 min 后测定荧光强度。激发波长 390 nm, 发射波长 470 nm, 扫描速率 240 nm/min, 狭缝宽度 5.0 nm。以蛋白质质量浓度为横坐标, 相应的荧光强度为纵坐标作图, 采用线性回归分析进行曲线拟合, 直线斜率即为蛋白质的表面疏水性指数<sup>[11]</sup>。

### 1.3.6 持油性及持水性

持油性: 准确称取 0.5 g 样品 (精确至 0.000 1 g) 与大豆油 3.5 mL 混匀, 静置 30 min 后, 9 000 g 离心 10 min, 测定上清液中大豆油的体积<sup>[12]</sup>。持油性指数计算公式为

$$c_1 = \frac{V_0 - V_1}{M_2} \quad (4)$$

式中  $c_1$ ——持油性指数,  $\text{mL/g}$

$V_0$ ——添加大豆油体积,  $\text{mL}$

$V_1$ ——上清液中大豆油体积,  $\text{mL}$

$M_2$ ——干燥样品质量,  $\text{g}$

持水性: 准确称取 5 g 样品 (精确至 0.000 1 g) 加入到预先称量的 50 mL 离心管中, 以小增量不断加入蒸馏水, 连续搅拌直至样品彻底润湿后, 将润湿样品在  $4^\circ\text{C}$ 、12 000 g 条件下离心 5 min<sup>[13]</sup>。持水性指数计算公式为

$$c_2 = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \quad (5)$$

式中  $c_2$ ——持水性指数

$W_0$ ——干燥样品的质量,  $\text{g}$

$W_1$ ——离心加干燥样品管的质量,  $\text{g}$

$W_2$ ——离心管加沉淀物质量,  $\text{g}$

### 1.3.7 溶解度

将 100 mg 样品和商品大豆分离蛋白分别溶于 10 mL 去离子水中配制成样品溶液, 室温下磁力搅拌 30 min,  $4^\circ\text{C}$ 、12 000 g 条件下离心 15 min。采用 Lowry 法测定上清液蛋白质含量, 以牛血清白蛋白为标准物绘制标准曲线, 测定 500 nm 处吸光度。溶解度为上清液蛋白质量浓度占总蛋白质量浓度的百分比<sup>[14]</sup>, 每个取样测定 3 次。

### 1.3.8 起泡性

将 30 mL 质量浓度 1.0 mg/mL 的样品和商品大豆分离蛋白溶液置于 50 mL 烧杯中, 样品溶液体积记为  $V$ 。样品溶液用高速乳化均质机以 12 000 r/min 的速度进行均质处理 3 次共计 2 min, 均质后乳液迅速倒入 50 mL 量筒中, 泡沫面体积记为  $V'_0$ , 静置 10 min 后再次记录泡沫面体积记为  $V'_{10}$ <sup>[15]</sup>。大豆分离蛋白的起泡性指数 (Foaming ability index, FAI) 和起泡稳定性指数 (Foaming stability index, FSI) 计算公式为

$$F_{AI} = \frac{V'_0 - V}{V} \times 100\% \quad (6)$$

$$F_{SI} = \frac{V'_{10} - V}{V'_0} \times 100\% \quad (7)$$

### 1.3.9 乳化性

烧杯中分别按照 3:1 的比例分别加入 15 mL 1.0 mg/mL 样品和商品大豆分离蛋白溶液与 5 mL

大豆油,利用高速均质机 12 000 r/min、3 min 乳化,分别在 0 min 和 30 min 时从测试管底部取出 50  $\mu\text{L}$  乳液,加入到 5 mL 0.1% SDS 溶液中,同时,于 500 nm 波长处分别测定乳液吸光度,记为  $A_0$  和  $A_{30}$ ,用 0.1% 的 SDS 做空白对照。乳化活性指数 (Emulsifying activity index, EAI) 和乳化稳定性指数 (Emulsifying stability index, ESI) 的计算公式分别为<sup>[16]</sup>

$$E_{AI} = \frac{2 \times 2.303A_0N}{0.25 \times 10\,000C'} \quad (8)$$

$$E_{SI} = \frac{30A_0}{A_0 - A_{30}} \quad (9)$$

式中  $E_{AI}$ ——乳化活性指数,  $\text{m}^2/\text{g}$   
 $E_{SI}$ ——乳化稳定性指数, min  
 $N$ ——稀释倍数,取 100  
 $C'$ ——乳化液形成前蛋白质水溶液中蛋白质质量浓度,  $\text{g}/\text{mL}$

#### 1.4 数据分析

每次实验做 3 次平行,采用 SPSS 18.0 对数据进行 ANOVA 差异显著性分析 ( $P < 0.05$  为显著性差异),利用 PeakFit 4.12 分析软件对数据进行处理,采用 Origin 9.0 进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆分离蛋白提取率

射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白提取率如图 1(图中不同字母表示差异显著,下同)所示,随着射流空化压力的逐渐增加,大豆分离蛋白提取率呈现出先升高后降低的趋势,且当射流空化压力为 1.5 MPa 时,大豆分离蛋白提取率为 58.97%,与对照组样品(即射流空化压力为 0 MPa)相比提取率显著增加 ( $P < 0.05$ ),提高了 34.42%。这可能是由于射流空化产生的空穴作用和机械效应使高温豆粕中蛋白质发生一定程度的解离和伸展,分子的立体结构变得松散,从而暴露出更多的极性基团,促进

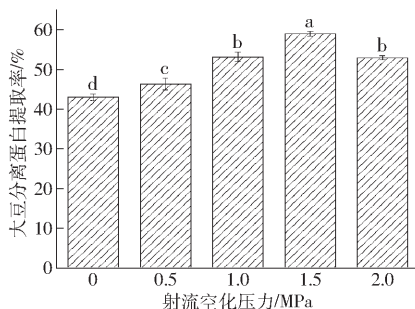


图 1 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白提取率的影响

Fig. 1 Effect of jet cavitation powers on SPI extraction yield in highly denatured soybean meal

蛋白质的溶解<sup>[17]</sup>。当射流空化压力继续增大 (2.0 MPa) 时,大豆分离蛋白提取率下降,这种现象出现的原因可能是由于射流空化压力过大时,伴随产生的高压和极端热效应导致蛋白质分子过度伸展,暴露出大量的极性基团,使得蛋白质分子间通过非共价键(疏水作用力)和共价键(二硫键)相互作用形成难溶性聚合物,影响蛋白质溶出,导致其提取率下降<sup>[18]</sup>。上述结果表明射流空化处理可显著增加豆粕中大豆分离蛋白提取率。

### 2.2 红外光谱分析

蛋白质红外光谱酰胺 I 带 ( $1\,700 \sim 1\,600 \text{ cm}^{-1}$ ) 主要是 C=O 键的伸缩振动和 N—H 之间的氢键性质,可反映蛋白质的二级结构,是研究蛋白质二级结构的常用方法。根据文献[19]报道,拟合图谱中各子峰与二级结构类型对应关系:  $1\,650 \sim 1\,660 \text{ cm}^{-1}$  为  $\alpha$ -螺旋结构,  $1\,618 \sim 1\,640 \text{ cm}^{-1}$  为平行式  $\beta$ -折叠结构,  $1\,670 \sim 1\,690 \text{ cm}^{-1}$  为反平行式  $\beta$ -折叠结构,  $1\,660 \sim 1\,700 \text{ cm}^{-1}$  为  $\beta$ -转角结构,  $1\,640 \sim 1\,649 \text{ cm}^{-1}$  为无规卷曲结构。射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的二级结构相对含量分析结果如图 2 和表 1 所示,随射流空化处理压力增加,大豆分离蛋白的  $\alpha$ -螺旋相对含量呈现减少的趋势,且在 1.5 MPa 时取得最小值 6.34%,  $\beta$ -折叠结构和无规卷曲相对含量呈增加趋势。在 0.5 ~ 1.5 MPa 射流空化压力处理时,空穴效应和机械剪切作用削弱了蛋白质分子间相互作用,导致蛋白质结构延伸和分子排列无序性增加,同时可能会导致蛋白质分子发生解折叠,极性基团暴露,蛋白质构象改变<sup>[20]</sup>。但当射流空化压力过大时,射流空化产生的高压及极端热等作用加速了蛋白分子运动,增加分子碰撞的可能性,导致一部分蛋白质分子发生聚集,形成难溶性聚集体<sup>[21]</sup>。结果说明射流空化处理可能使大豆分离蛋白内部氢键结构排列发生改变,大豆分离蛋白构象发生变化,也说明蛋白质由紧凑的分子结构变得更加松散。

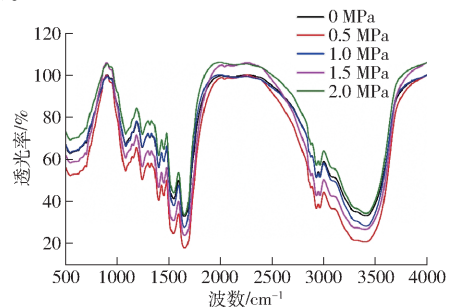


图 2 射流空化压力下大豆分离蛋白的红外光谱图

Fig. 2 Infrared spectra of soy protein isolate by different jet cavitation powers

表1 不同射流空化压力下大豆分离蛋白的二级结构相对含量

Tab.1 Secondary structure content of soy protein isolate by jet cavitation powers %

射流空化压力/MPa	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠	$\beta$ -转角	无规卷曲
0	(9.25 ± 0.23) <sup>a</sup>	(39.49 ± 0.16) <sup>e</sup>	(17.94 ± 0.07) <sup>a</sup>	(33.31 ± 0.11) <sup>d</sup>
0.5	(7.87 ± 0.08) <sup>e</sup>	(42.09 ± 0.06) <sup>d</sup>	(14.56 ± 0.56) <sup>b</sup>	(35.47 ± 0.33) <sup>c</sup>
1.0	(7.05 ± 0.13) <sup>d</sup>	(45.85 ± 0.03) <sup>b</sup>	(10.13 ± 0.27) <sup>d</sup>	(36.96 ± 0.19) <sup>b</sup>
1.5	(6.34 ± 0.03) <sup>e</sup>	(47.88 ± 0.01) <sup>a</sup>	(7.85 ± 0.21) <sup>e</sup>	(38.93 ± 0.01) <sup>a</sup>
2.0	(8.45 ± 0.17) <sup>b</sup>	(43.02 ± 0.16) <sup>c</sup>	(12.55 ± 0.05) <sup>c</sup>	(35.97 ± 0.22) <sup>c</sup>

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.3 游离巯基及二硫键质量摩尔浓度

二硫键是存在于蛋白质分子间和分子内的唯一共价侧链交联键,是维持蛋白分子空间结构的重要作用力,其中巯基是二硫键的形成原体,因此,巯基含量分析用来探究变性后蛋白结构变化<sup>[16]</sup>。射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的游离巯基质量摩尔浓度、二硫键质量摩尔浓度及游离巯基占总巯基物质的量百分比变化如图3所示。随射流空化压力增加,大豆分离蛋白的游离巯基与总巯基的比值变化趋势呈现出先增大后减少的变化趋势;游离巯基含量先增加后减小,而二硫键含量呈现出先减少后增加的趋势,且各组之间差异显著( $P < 0.05$ )。射流空化处理产生的空穴效应可能会导致蛋白质分子发生解折叠,结构展开,使埋藏在蛋白质分子中半胱氨酸残基上的巯基基团被逐渐暴露出来,游离巯基含量增加,同时部分蛋白质结构内部的二硫键因结构展开而暴露到分子表面,导致蛋白质分子中的二硫键含量降低<sup>[15]</sup>。但随射流空化压力逐渐增大,暴露出更多的游离巯基,其中一部分游离巯基可能会通过交换反应或被氧化形成二硫键<sup>[22]</sup>。此外,射流空化处理产生的高压及极端热可能使一些蛋白质分子的巯基基团重折叠包埋于分子内部,使得游离巯基含量下降<sup>[23]</sup>。文献<sup>[16]</sup>研究发现,游离巯基与总巯基的比值可反映蛋白质三级结构的解折叠程度,游离巯基与总巯基的比值越大,大豆蛋白的解折叠程度越强,该实验结果与2.2节中大豆分离蛋白二级结构无序性增加的结论相一致。

### 2.4 表面疏水性

蛋白质表面疏水性是评价蛋白质构象改变的一个重要指标,与蛋白质的功能性密切相关。如图4所示,与对照(射流空化压力为0 MPa)相比,射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的表面疏水性显著提高( $P < 0.05$ )。该结果可能是由于射流空化产生的空穴效应及超高压条件诱导蛋白质分子中 $\alpha$ -螺旋相对含量减少, $\beta$ -折叠相对含量增加,蛋白质分子排列无序性增加,导致分子内部的疏水基团部分暴露出来。同时,超高压作用和极端热也可

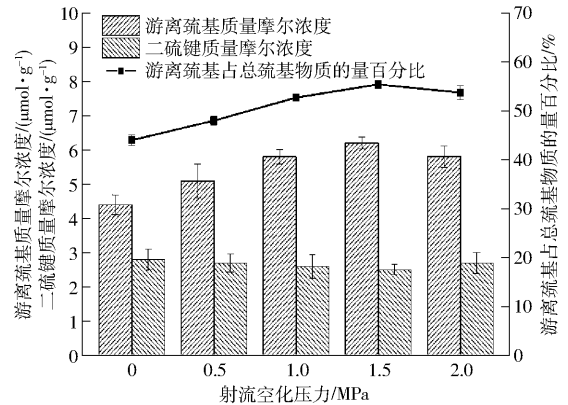


图3 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白巯基含量的影响

Fig.3 Effect of jet cavitation powers on sulfhydryl content of SPI in highly denatured soybean meal

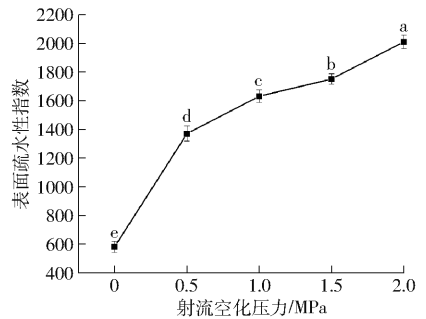


图4 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白表面疏水性的影响

Fig.4 Effect of jet cavitation powers on surface hydrophobicity of SPI in highly denatured soybean meal

能会破坏蛋白质分子中的弱氢键和范德华作用力,导致蛋白质结构构象发生改变,伴随着疏水基团的暴露。此外,大部分蛋白质分子聚集形成的颗粒在高剪切作用下分散成更小的单元,暴露出更多的蛋白质表面及疏水基团,导致蛋白质表面疏水性的提高<sup>[24]</sup>。

### 2.5 持油性及持水性

持油性和持水性是指一定量的干基蛋白质样品对添加水或油的保持能力。水和油与蛋白质的相互作用对食品的风味和质地有显著影响,因此在食品系统中非常重要<sup>[25]</sup>。射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的持油性及持水性如图5所示。随

射流空化压力增加,大豆分离蛋白的持油性指数及持水性指数呈现出先增加后减小的趋势,且各组之间差异显著( $P < 0.05$ )。当射流空化压力为1.5 MPa时,持油性指数和持水性指数最大值分别为8.402 3 mL/g和5.565 9。这可能是由于射流空化处理产生的空穴效应和高速碰撞作用使得蛋白颗粒发生一定程度的破碎,粒径减小,颗粒的比表面积、表面能和空隙率提高,增大了与水分子的接触面积,改善了大豆分离蛋白的持水性。同时,在流体动力的作用下,小粒径的蛋白颗粒与油的接触部位、接触面积增加,致使蛋白分散性增强,进而使蛋白持油性增加。文献[26]指出蛋白质柔性的增加和蛋白质体密度的改变改善了蛋白质的吸油能力。当射流空化压力继续增大时,高压和极端热导致部分极化的蛋白分子通过非共价相互作用形成难溶性聚集体,蛋白分子粒径增加,导致大豆分离蛋白的持油性和持水性降低。

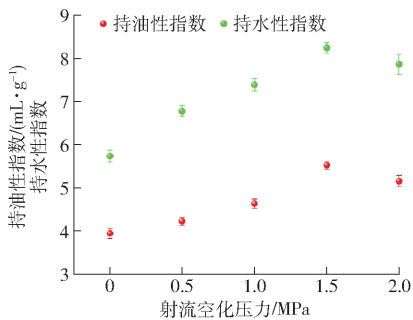


图5 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白持油性及持水性的影响

Fig. 5 Effect of jet cavitation powers on oil-holding capacity and water holding capacity of SPI in highly denatured soybean meal

## 2.6 溶解度

文献[17]指出溶解度是体现蛋白质水化作用的重要指标,是分析和研究蛋白其他功能特性的前提。射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的溶解度如图6所示。随射流空化压力增加,大豆分离蛋白的溶解度显著增加( $P < 0.05$ ),且其增加速度逐渐减小。这种现象出现的原因可能是射流空化产生的空穴效应使得蛋白质分子伸展,暴露出更多的极性分子,增加了表面表面电荷,增加了蛋白质和水分子之间的相互作用,从而改善了大豆分离蛋白的溶解度[27];另一方面,机械作用破坏了蛋白质的结构,使得其粒度变小,增加了大豆分离蛋白与水的接触面积,导致大豆分离蛋白的溶解度增大[24]。此外,射流空化处理产生的热量使得样品在高温高压下展开蛋白质分子,亲水性氨基酸残基暴露,从而使得大豆分离蛋白的溶解度得到提高[28]。与商品大

豆分离蛋白的溶解度相比,射流空化处理辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白使其溶解度得到一定程度的提高。

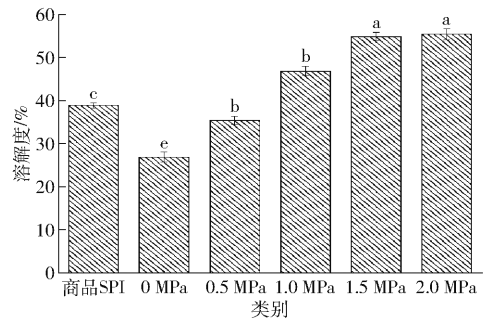


图6 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白溶解度的影响

Fig. 6 Effect of jet cavitation powers on solubility of SPI in highly denatured soybean meal

## 2.7 起泡性

大豆分离蛋白同时含有疏水性基团和亲水性基团,因此具有表面活性,能降低水的表面张力,在剧烈搅拌时易于形成泡沫。射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的起泡性和起泡稳定性如图7(图中不同小写字母表示起泡性指数差异显著,不同大写字母表示起泡稳定性指数差异显著)所示,大豆分离蛋白的起泡性和起泡稳定性随着射流空化压力增加呈现出先增加后降低的趋势。射流空化压力为0.5~1.5 MPa时,大豆分离蛋白溶液的起泡性和起泡稳定性得到显著改善,且各组之间差异显著( $P < 0.05$ )。射流空化处理产生的空穴效应及机械破坏作用导致蛋白质解聚成的小分子亚基,使迁移至气-水界面的蛋白分子数量增多,产生的气液界面面积也逐渐变大,从而使得大豆分离蛋白的起泡能力出现不同程度的提高[29]。同时,表面疏水性的提高使蛋白质分子易于吸附至水-空气界面,有利于增强水相和气相的平衡,形成的泡沫不易于被破坏,使得蛋白的起泡稳定性得到提高[16]。射流空化压力过大时,部分极化的蛋白分子之间通过非共价键作用重新形成更大的分子聚集体,可溶性蛋白浓度降低,吸附至蛋白膜表面分子数量减少,相互作用减弱,从而膜粘弹性下降,容易破裂,使得起泡性和起泡稳定性下降[30]。与商品大豆分离蛋白的起泡性相比,射流空化处理辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白使其起泡性和起泡稳定性均得到一定程度的改善。

## 2.8 乳化性

射流空化辅助提取高温豆粕中大豆分离蛋白的乳化活性和乳化稳定性如图8(图中不同小写字母表示乳化活性指数差异显著,不同大写字母表

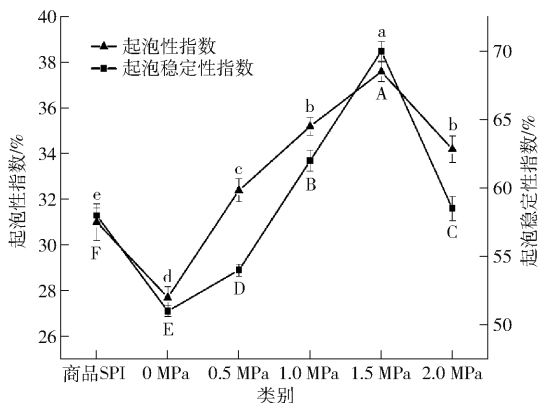


图7 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白起泡性和起泡稳定性的影响

Fig.7 Effect of jet cavitation powers on foam capacity and foam stability of SPI in highly denatured soybean meal

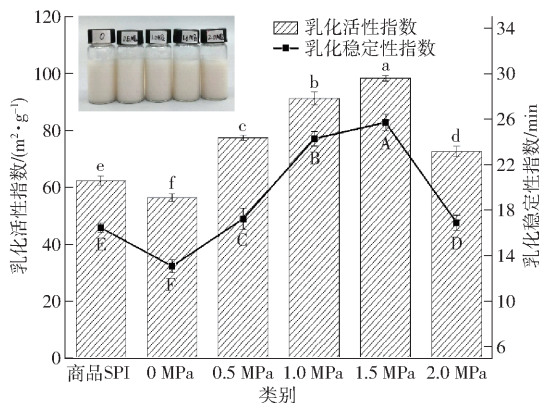


图8 射流空化压力对高温豆粕中大豆分离蛋白乳化活性和乳化稳定性的影响

Fig.8 Effect of jet cavitation powers on emulsification and emulsion stability of SPI in highly denatured soybean meal

示乳化稳定性指数差异显著)所示,随着射流空化处理压力增加,乳化活性和乳化稳定性呈先增大后减小的趋势。随射流空化压力增加,高温豆粕

中大豆分离蛋白的乳化活性指数和乳化稳定性指数显著提高( $P < 0.05$ ),随射流空化压力进一步增加,两者均略有降低。当处理压力为 1.5 MPa 时,乳化活性指数和乳化稳定性指数分别达到 98.41 m<sup>2</sup>/g 和 25.71 min。这可能是由于射流空化产生的空穴效应和高压作用诱导蛋白质分子部分解折叠,暴露出更多的疏水性基团,使得蛋白质分子更快地吸附油至水界面,促进蛋白质与油相结合,从而改善了大豆分离蛋白的乳化性<sup>[17]</sup>。随射流空化压力继续增加,乳化性降低,可能是因为射流空化压力过大时,蛋白分子间通过疏水相互作用、二硫键、静电相互作用及氢键等重新形成难溶性分子聚集体,蛋白质表面积缩小,导致其乳化能力下降<sup>[30]</sup>。同时,机械作用与热效应的双重影响使得蛋白发生一定程度的变性,也会导致大豆分离蛋白乳化性略有下降。大豆分离蛋白的乳化稳定性改善可能是由于射流空化处理的空穴和剪切效应导致蛋白液滴比表面积增加、粒径减少,降低了沉降速率。

### 3 结束语

射流空化辅助提取可显著提高高温豆粕中大豆分离蛋白提取率和功能特性,当射流空化压力为 1.5 MPa 时,大豆分离蛋白提取率为 58.97%,比未处理样品提高了 34.42%。射流空化处理可诱导蛋白质分子部分解折叠,结构展开,暴露出更多的巯基基团和疏水性基团,使得蛋白质的游离巯基含量和表面疏水性显著增加,而二硫键含量显著降低。同时,射流空化处理使蛋白质颗粒粒径减小,比表面积增加,有利于改善大豆分离蛋白的持油性及持水性、溶解度、起泡性、乳化性等功能特性。

### 参 考 文 献

[1] 于冬蕾,李婷婷,吴海波,等. 超声辅助酶解高温豆粕制备抗氧化产物[J]. 食品科学, 2018, 39(20):268-277.  
YU Donglei, LI Tingting, WU Haibo, et al. Preparation of antioxidant products by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of soybean meal[J]. Food Science, 2018, 39(20):268-277. (in Chinese)

[2] 张静,李理. Alcalase 蛋白酶酶解高温豆粕制备水溶性大豆多肽[J]. 食品工业科技, 2012, 33(10):212-215.  
ZHANG Jing, LI Li. Preparation of water-soluble soybean peptide by enzymatic hydrolysis of high-temperature soybean meal by Alcalase protease[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(10): 212-215. (in Chinese)

[3] 任晓敏,黄永春,杨锋,等. 基于撞击流-射流空化效应的羟自由基制备工艺优化[J]. 食品与机械, 2018, 34(6):197-201.  
REN Xiaomin, HUANG Yongchun, YANG Feng, et al. Optimization of hydroxyl radical preparation process based on impinging stream-jet cavitation effect[J]. Food and Machinery, 2018, 34(6):197-201. (in Chinese)

[4] WANG Lichuan. Soybean protein agglomeration: promotion by ultrasonic treatment[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1981, 29(1):177-180.

[5] 杨晓泉,熊健,陈中,等. 低频超声对豆粕蛋白浸出率及 SPI 功能特性的影响[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2003, 31(11):30-33.  
YANG Xiaoquan, XIONG Jian, CHEN Zhong, et al. Effects of ultrasonification on protein extraction of defatted soy flakes and functionality of SPI [J]. Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition), 2003, 31(11): 30-33. (in Chinese)

[6] 张燕鹏,杨瑞金,华霄,等. 蒸汽爆破辅助提取高温豆粕中的蛋白质[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(1):190-193.  
ZHANG Yanpeng, YANG Ruijin, HUA Xiao, et al. Soybean meal protein thermal extraction by steam flash-explosion [J].

- Food and Fermentation Industry, 2013, 39(1): 190 - 193. (in Chinese)
- [7] ZHAO X, ZHANG X, LIU H, et al. Functional, nutritional and flavor characteristic of soybean proteins obtained through reverse micelles[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 74:358 - 366.
- [8] 吴海波, 齐宝坤, 江连洲, 等. 挤压膨化及添加粗酶对水相制取大豆油和蛋白质的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(10):71 - 79.
- WU HaiBo, QI Baokun, JIANG Lianzhou, et al. Effect of extrusion pretreatment and crude on oil and protein from aqueous extraction processing of soybean[J]. Chinese Journal of Food Science, 2017, 17(10): 71 - 79. (in Chinese)
- [9] ZHANG Z, WANG X, YU J, et al. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran conjugates[J]. LWT—Food Science and Technology, 2017, 78:241 - 249.
- [10] SHIMADA K, CHEFTEL J C. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat-induced gels of soy protein isolate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1988, 36(1):147 - 153.
- [11] WAGNER J R, SORAGENTINI D A, ANON M C. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepares soy protein isolates [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(8):3159 - 3165.
- [12] FUHRMEISTER H, MEUSER F. Impact of processing on functional properties of protein products from wrinkled peas[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 56(2):119 - 129.
- [13] TOMOTAKE H, SHIMAOKA I, KAYASHITA J, et al. Physicochemical and functional properties of buckwheat protein product [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(7):2125 - 2129.
- [14] 源博恩, 赵强忠, 赵谋明. 酸性条件下高压均质对大豆蛋白结构与功能特性的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 117 - 120.
- YUAN Boen, ZHAO Qiangzhong, ZHAO Mouming. Effects of high-pressure homogenization in acid condition on the structure and functional properties of soybean proteins [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(8):117 - 120. (in Chinese)
- [15] 沙小梅, 胡姿姿, 涂宗财, 等. 高压微射流压力对大豆蛋白-大豆多糖体系功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 32(17):281 - 286.
- SHA Xiaomei, HU Zizi, TU Zongcai, et al. Effect of dynamic high-pressure microfluidization on functional properties of soy protein isolate-soybean soluble polysaccharides system[J]. Transactions of the CSAE, 2016, 32(17):281 - 286. (in Chinese)
- [16] 杨昱, 雷泽夏, 白靖文, 等. 极端 pH 处理对大豆分离蛋白、 $\beta$ -伴大豆球蛋白、大豆球蛋白结构和功能特性的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(7):306 - 313.
- YANG Yu, LEI Zexia, BAI Jingwen, et al. Effect of extreme pH treatment on the structure and functional properties of soybean protein,  $\beta$ -conglycinin and glycinin[J]. Chinese Journal of Food Science, 2018, 18(7):306 - 313. (in Chinese)
- [17] 沈兰, 王昌盛, 唐传核. 高压微射流处理对大豆分离蛋白构象及功能特性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(3):72 - 76.
- SHEN Lan, WANG Changsheng, TANG Chuanhe. Effect of high pressure microfluidization on functional and conformational properties of SPI [J]. Food Science, 2012, 33(3):72 - 76. (in Chinese)
- [18] 林文杰, 陈稚, 陈明莉, 等. 黑豆蛋白质提取工艺的优化探索[J]. 广东化工, 2018, 45(20):20 - 21.
- LIN Wenjie, CHEN Zhi, CHEN Mingli, et al. Study on optimization of extraction technology of protein in black bean [J]. Guangdong Chemical Industry, 2018, 45(20): 20 - 21. (in Chinese)
- [19] SEUNG J C, HYUN J K, KWAN H P, et al. Molecular characteristics of ovalbumin-dextran conjugates formed through the Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2004, 92(1):93 - 99.
- [20] İBRAHİM G, DEMET G, BRUCE B D, et al. Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2007, 14(2):173 - 183.
- [21] ARZENI C, MARTINEZ K, ZEMA P, et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 108(3):463 - 472.
- [22] KAJIYAMA N, ISOBE S, UEMURA K. Changes of soy protein under ultra-high hydraulic pressure[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 30(2):147 - 158.
- [23] HU H, LI-CHAN E C Y, WAN L, et al. The effect of high intensity ultrasonic pre-treatment on the properties of soybean protein isolate gel induced by calcium sulfate[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32(2):303 - 311.
- [24] 王笑宇, 韩东, 陈子净, 等. 超声处理对  $\beta$ -伴大豆球蛋白乳化性能的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(6):153 - 159.
- WANG Xiaoyu, HAN Dong, CHEN Zijing, et al. Effects of ultrasonic treatment on the emulsifying properties of  $\beta$ -conglycinin [J]. Chinese Journal of Food Science, 2018, 18(6): 153 - 159. (in Chinese)
- [25] TOMÁS L, CARLOS Á, GLORIA B, et al. Characterization of functional properties of proteins from Ganxet beans (*Phaseolus vulgaris* L. var. *Ganxet*) isolated using an ultrasound-assisted methodology[J]. LWT—Food Science and Technology, 2018, 98:106 - 112.
- [26] WANG Xiansheng, TANG Chuanhe, LI Biansheng, et al. Effects of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(4):560 - 567.
- [27] 张燕鹏. 蒸汽闪爆辅助提取高温豆粕中蛋白质的工艺及其机制研究[D]. 无锡:江南大学, 2013.
- ZHANG Yanpeng. Technology and mechanism of steam flash explosion assisted extraction of protein from high temperature soybean meal[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013. (in Chinese)
- [28] SHANMUGAM A, CHANDRAPALA J, ASHOKKUMAR M. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 16:251 - 258.
- [29] 张涛. 鹰嘴豆分离蛋白的制备及其功能性质研究[D]. 无锡:江南大学, 2005.
- ZHANG Tao. Preparation and functional properties of chickpea protein isolate [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2005. (in Chinese)
- [30] 李迎秋. 脉冲电场对大豆蛋白理化性质和脂肪氧化酶的影响[D]. 无锡:江南大学, 2007.
- LI Yingqiu. Effects of pulsed electric field on physical and chemical properties of soybean protein and lipoxigenase [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007. (in Chinese)