

高乳化活性大豆分离蛋白制备工艺*

迟玉杰 陈俊高 王喜波

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

【摘要】 为了制备高乳化活性的大豆分离蛋白(SPI),以豆粕为原始材料,采用微波辅助SPI磷酸化改性,以SPI质量分数、三聚磷酸钠(STP)添加量、微波功率和微波处理时间4个试验条件为影响因子,以乳化活性为响应值,采用中心组合旋转设计法,建立微波辅助SPI磷酸化对乳化活性影响的二次回归模型。结果表明:利用响应面法优化出制备高乳化活性大豆分离蛋白的最适工艺条件为:SPI质量分数10%、STP添加量16%、微波功率480 W、微波时间4 min;所得模型拟合度高,试验误差小,可将该模型应用于对微波辅助磷酸化SPI的乳化活性进行分析和预测。在最适工艺条件下,改性后SPI的乳化活性为66.8,乳化稳定性为29.80 min,分别较原粉提高了134.4%和61.6%。

关键词: 大豆分离蛋白 微波 磷酸化 乳化活性

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2011)09-0138-08

Preparation of Soybean Protein Isolate with High Emulsification Activity

Chi Yujie Chen Jungao Wang Xibo

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract

The soybean meal was used as the raw material to prepare soy protein isolate (SPI) with high emulsification activity (EA) by the method of microwave-assisted phosphorylation. A response model was established by the central composite rotatable design, with concentration of SPI, ratio of sodium tripolyphosphate (STP), microwave power, time of reaction as four variables and the emulsification activity (EA) as the evaluation index. Response surface analysis revealed that the optimized conditions of preparation of soybean protein isolate with high EA by microwave-assisted phosphorylation were as follows: concentration of SPI 10%, ratio of STP 16%, microwave power 480 W and time of reaction 4 min. The response model was valid in analyzing and predicting the extent of EA due to its higher fitting degree and less experimental error. Under the optimal conditions, the EA reached 66.8 and the emulsification stability (ES) reached 29.80 min. Compared with the previously unmodified SPI, the EA and the ES were increased by 134.4% and 61.6%, respectively.

Key words Soybean protein isolate, Microwave, Phosphorylation, Emulsification activity

引言

大豆分离蛋白(SPI)在食品领域的应用十分广泛^[1],然而,相对较差的溶解性和乳化性限制了其在弱酸性(pH值3~6)食品体系中的应用^[2~3]。对SPI进行化学改性可以有效改善其在弱酸性环境中的溶解性和乳化性^[4]。常用于化学改性的方法有

糖基化、酰化、酸处理、去酰胺和磷酸化等^[5~11]。磷酸化改性价低、效果好、对食物蛋白的消化率无明显影响^[12]、安全可靠且能大规模生产,是提高蛋白功能性的有效手段之一。目前常用于SPI磷酸化改性的试剂主要有磷酰氯(POCl_3)^[13]、五氧化二磷(P_2O_5)^[14]和三聚磷酸钠(STP)^[15]等,基于食品安全性和成本因素考虑,STP是最具发展前景和最可

收稿日期:2010-10-27 修回日期:2011-04-01

* 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2006AA10Z322)和黑龙江省自然科学基金资助项目(ZD200902)

作者简介:迟玉杰,教授,博士生导师,主要从事食品化学及农产品深加工研究, E-mail: yjchi@126.com

能大规模应用的磷酸化试剂。

微波具有加热迅速均匀、营养破坏少等诸多优点^[16],已广泛应用于食品与化工领域^[17]。但微波技术多见于物质提取方面,应用于大豆蛋白磷酸化的辅助改性鲜见报道。而目前报道的大豆蛋白磷酸化改性技术生产周期长达2~3 h,且原料预处理能耗大^[18],因此本文在前人研究的基础上,以低温脱脂豆粕为原料,采用微波过程处理的方式辅助 SPI 磷酸化改性,对改性阶段工艺参数进行优化并建立数学模型,得出制备高乳化活性 SPI 的最适工艺条件,为乳化型专用 SPI 粉的生产提供理论依据和技术参考,以期更加符合现代化的工艺需求。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

低温脱脂豆粕(哈高科大豆食品有限责任公司提供,经粉碎、过60目筛得到脱脂豆粉)。

大豆油(九三集团哈尔滨惠康食品有限公司)、三聚磷酸钠(STP)(天津市东丽区天大化学试剂厂)、十二烷基磺酸钠(SDS)为化学纯,其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

WD800型微波炉(乐津电子(天津)电器有限公司);BüChi Spray Dryer B-290型喷雾干燥仪(瑞士BüChi Spray Dryer公司);KND-HYP8型消化炉(上海纤检仪器有限公司);KDN-2008型全自动定氮仪(上海纤检仪器有限公司);722型分光光度计(天津市普瑞斯仪器有限公司);JJ-2B型高速组织捣碎机(金坛市荣华仪器制造有限公司);FS-1型可调高速匀浆机(金坛市荣华仪器制造有限公司);LD4-2A型离心机(北京医用离心机厂);FE20型pH计(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 SPI凝乳的制备

采用碱溶酸沉法制备 SPI 凝乳。选用过60目的脱脂豆粉,按1:9(豆粕粉质量(g)与水体积(mL)的比例)的固液比配成物料溶液,在50℃下搅拌40 min,并保持pH值8.5,过滤,将滤液调至pH值4.5,离心弃上清液,得 SPI 凝乳以备。

1.3.2 SPI成分含量的测定

取部分上述 SPI 凝乳调配成适宜的浓度,采用喷雾干燥法制得 SPI 粉,进而对其主要成分进行测定。蛋白质含量测定参照 GB/T 5009.5—2003;含水率测定参照 GB/T 5009.3—2003;脂肪含量参照 GB/T 5009.6—2003;灰分含量测定参照 GB/T 5009.4—2003。

1.3.3 微波辅助磷酸化大豆分离蛋白的制备工艺

添加 STP 调 pH 值



制备工艺为:SPI 悬浮液→均质→搅拌→微波处理→酸沉→洗涤→中和→喷雾干燥→出粉冷却→成品。考虑到工业化连续生产及降低成本,本试验中 SPI 悬浮液由 1.3.1 节所制得的凝乳调配而成。

1.3.4 乳化活性及乳化稳定性的测定

本试验采用浊度法^[19],略作改进:用 pH 值 7.0,0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液配制 100 mL 质量浓度 0.1 g/mL 的蛋白悬浮液,取 30 mL 蛋白液于高速匀浆机中,加入 10 mL 大豆油,10 000 r/min 均质 1 min 以形成乳浊液,均质后,分别在 0 min 与 10 min 时从底部吸取 100 μL 分散于 10 mL 质量浓度 0.1 g/mL 的 SDS 溶液中,于波长 500 nm 处测定吸光度(测定 3 次取平均值),乳化活性和乳化稳定性的计算公式为

$$E_A = 100A_0 \quad E_S = \frac{\Delta TA_0}{A_0 - A_{10}}$$

式中 E_A ——乳化活性

E_S ——乳化稳定性, min

A_0 ——0 min 时的吸光度

ΔT ——测定乳化性的两次时间间隔,本文取 10 min

A_{10} ——10 min 时的吸光度

1.4 磷酸化程度的测定

样品的磷酸化程度采用样品中结合磷含量表示,而磷含量按以下方法测定:

(1)样品中总磷含量参照 GB/T 5009.87—2003 进行测定。

(2)样品中无机磷含量测定:准确称取 1 g 样品(干基),置于 100 mL 容量瓶中,加入 10 mL 盐酸和硝酸(1:1)数滴,加水 30 mL,加入 2 滴酚酞,用 NaOH 滴至淡红色,再加硝酸 0.3 mL,用水稀释至刻度,摇匀,过滤,弃去初始的 30 mL 滤液,为试样分解液^[20]。取一定体积的分解液按钼兰比色法测定无机磷含量。磷酸化程度计算公式为

$$P_E = P_t - P_i$$

式中 P_E ——磷酸化程度, mg/g

P_t ——总磷含量, mg/g

P_i ——无机磷含量, mg/g

1.5 对照试验

由于采用微波对 SPI 磷酸化反应进行辅助改性,有可能对蛋白质的结构产生影响,从而影响产物的乳化性质,为了区别磷酸化和微波处理对产物的影响,本文设置了 3 组对照样,即空白对照样、微波

对照样和磷酸化对照样。3种对照试样的制备方法分别为:空白试样(N-SPI),将由1.3.1节方法制备所得的SPI凝乳调至适宜浓度,并中和至pH值7.0后进行喷雾干燥所得;微波试样(M-SPI),将SPI凝乳质量分数稀释至10%(SPI占水的质量百分比,下同),中和至pH值7.0后采用480W的微波功率处理4min,喷雾干燥得试样;磷酸化试样(P-SPI),将SPI凝乳质量分数调至10%,STP添加量(STP占SPI的质量百分比)为16%,其余操作同1.3.3节方法。

1.6 磷酸化反应的验证

采用傅里叶红外光谱仪对上述4种样品进行红外吸收光谱分析,对磷酸化反应的实质进行验证。分析方法为:取适量待测蛋白样品,同磨碎的KBr粉末混合,压片后置于红外光谱仪中全波段($400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$)扫描分析,以KBr作为空白,每个样品红外光谱图为多次扫描的叠加图。

1.7 试验设计

根据单因素试验,确定选取SPI质量分数(%)、STP添加量(%)、微波功率(W)和微波处理时间(min)4个因素为自变量(x_i),以乳化活性为响应值(Y),进行的中心组合旋转试验设计^[21],共30个试验点。试验的因素水平编码见表1。试验结果数据采用Design-Expert 7.1软件进行统计分析。

表1 中心组合旋转设计因素水平编码

Tab.1 Factors and levels of central composite rotatable design

编码	因素			
	SPI质量分数	STP添加量	微波功率	微波处理
	$x_1/\%$	$x_2/\%$	x_3/W	时间 x_4/min
2	13	21	800	5
1	10	16	640	4
0	7	11	480	3
-1	4	6	320	2
-2	1	1	160	1

2 结果与分析

2.1 SPI的成分含量

试验所制备的N-SPI、M-SPI、P-SPI以及MP-SPI(即以1.3.3节方法制得的微波辅助磷酸化蛋白试样)4种试样的主要成分及含量见表2。

由表2可以看到,4种蛋白样品主要成分的含量变化不明显。相对来说,2种磷酸化样品(P-SPI和MP-SPI)的蛋白质含量较N-SPI试样稍低而灰分含量稍多,这是因为试样中尚有未反应完全的磷

酸化试剂,部分残留在试样中。

表2 4种SPI样品的主要成分含量

Tab.2 Contents of the major components of four SPI samples

样品	蛋白质含量	含水率	灰分含量	脂肪及粗纤维含量/%
N-SPI	87.52	5.84	4.47	1.98
M-SPI	87.33	5.90	4.41	1.93
P-SPI	86.25	5.72	5.53	1.81
MP-SPI	86.50	5.88	5.66	1.73

2.2 乳化活性与乳化稳定性的比较

本试验采用微波辅助磷酸化大豆分离蛋白(MP-SPI)与空白对照样(N-SPI)、微波对照样(M-SPI)和磷酸化对照样(P-SPI)进行比较分析,研究改性前后蛋白粉乳化活性与乳化稳定性的变化情况,结果如表3所示。

表3 乳化活性及乳化稳定性对照

Tab.3 Comparison of the EA and ES of various samples

样品类别	乳化活性	乳化稳定性/min
N-SPI	28.5 ± 0.6^a	18.44 ± 0.52^a
M-SPI	35.2 ± 0.8^b	18.91 ± 0.21^a
P-SPI	41.9 ± 1.0^c	23.47 ± 0.41^b
MP-SPI	60.8 ± 0.7^d	27.20 ± 0.31^c

注:同一列有相同字母表示差异不显著($p > 0.05$),有完全不相同字母表示差异显著($p < 0.05$),下同。

由表3可知,单独使用微波处理也可使SPI的乳化活性在一定程度上得以提高,且效果显著($p < 0.05$),但对乳化稳定性的影响效果不显著($p > 0.05$);单独使用磷酸化处理使改性后SPI的乳化活性和乳化稳定性都得到较大程度上的提高,由此推断,微波辅助磷酸化改性SPI的乳化性能得以较大幅度的提高是微波处理和磷酸化共同作用的结果。经过复合改性后的SPI在乳化性能方面明显优越于3组对照样,从而验证了微波辅助SPI磷酸化改性制备高乳化性产品的可行性。为了更进一步提高产品的乳化性,需要对工艺参数重新加以优化。

2.3 红外光谱分析

对SPI与STP的磷酸化反应进行傅里叶红外光谱分析,结果如图1所示。由图1可见,经微波处理的样品同空白样品相比,红外峰形和峰位变化不大。经磷酸化和微波辅助磷酸化处理的样品也只有部分吸收峰发生了变化,表明磷酸化只是对某些特殊的氨基酸残基起作用,对于大多数的氨基酸残基没有影响。经磷酸化和微波辅助磷酸化处理的样品均在 900 cm^{-1} 处产生一个尖锐的负峰,而 PO_4^{3-} 的吸收谱

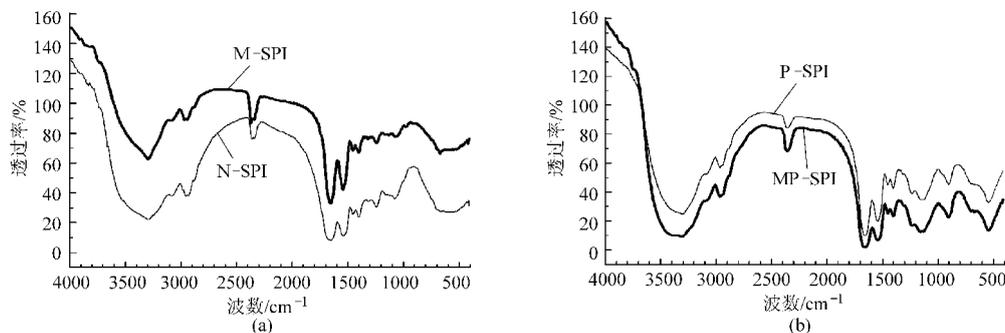


图1 4种样品的红外图谱

Fig.1 FT-IR Spectrum of four samples

带位于 $1120 \sim 940 \text{ cm}^{-1}$, 峰值强且范围宽^[22], 因此可以推断 900 cm^{-1} 处的吸收峰是 PO_4^{3-} 产生的。另外, 据查找 P-N 在 $560 \sim 390 \text{ cm}^{-1}$ 有吸收, 改性后的样品在 538 cm^{-1} 处有强列的吸收负峰, 由此可以认为改性后的蛋白分子中新增加了磷酸根, 并且这一磷酸根是连接在氮原子上的, 磷酸化反应的实质是赖氨酸活性基团 $\epsilon\text{-NH}_2$ 的氨基磷酸酯化, 这与 Motohiko Hirotsuka^[23]、Ferrel^[14] 等的研究结果相吻合。

2.4 响应面分析

2.4.1 回归方程的建立

根据中心组合旋转设计要求, 30 组试验结果见表 4, 利用 Design-Expert 7.1 软件进行最小二乘法拟合回归分析, 得到一个能够在给定范围内有效预测响应值的二次多元回归方程。微波辅助磷酸化大豆分离蛋白乳化活性的回归模型为

$$Y = 60.83 + 3.80X_1 + 1.53X_2 + 1.30X_3 + 1.40X_4 + 1.61X_1X_2 + 0.27X_1X_3 + 0.47X_1X_4 - 0.36X_2X_3 - 0.26X_2X_4 - 0.54X_3X_4 - 0.81X_1^2 - 1.62X_2^2 + 0.31X_3^2 - 0.68X_4^2$$

表 5 为中心组合旋转设计方差分析结果, 由此可以看出回归方程极显著 ($p < 0.01$) 且模型失拟度不显著 ($p > 0.05$)。模型决定系数 $R^2 = 0.9833$, 说明 98.33% 的变更能通过该模型解释; 模型调整决定系数为 0.9678, 说明该模型可以解释 96.78% 的响应值变化, 进而表明此模型拟合度高, 试验误差较小。因此, 将本模型应用于对磷酸化大豆分离蛋白的乳化活性进行分析和预测是切实可行的。

由表 5 可知, $X_1, X_2, X_3, X_4, X_1X_2, X_1X_4, X_3X_4, X_1^2, X_2^2, X_4^2$ 项对磷酸化 SPI 的乳化活性有显著影响, 其他因子影响不显著, 剔除影响不显著的因子得到的模型为

$$Y = 61.18 + 3.80X_1 + 1.53X_2 + 1.30X_3 + 1.40X_4 + 1.61X_1X_2 + 0.47X_1X_4 - 0.54X_3X_4 - 0.85X_1^2 - 1.66X_2^2 - 0.73X_4^2$$

表 4 中心组合旋转设计方案与响应值

Tab.4 Central composite rotatable design and response values

试验序号	X_1	X_2	X_3	X_4	乳化活性 Y
1	-1	-1	-1	-1	50.8
2	1	-1	-1	-1	55.2
3	-1	1	-1	-1	52.5
4	1	1	-1	-1	62.2
5	-1	-1	1	-1	55.1
6	1	-1	1	-1	58.3
7	-1	1	1	-1	54.6
8	1	1	1	-1	65.8
9	-1	-1	-1	1	54.5
10	1	-1	-1	1	59.4
11	-1	1	-1	1	55.3
12	1	1	-1	1	66.4
13	-1	-1	1	1	55.6
14	1	-1	1	1	62.5
15	-1	1	1	1	54.4
16	1	1	1	1	67.5
17	-2	0	0	0	50.7
18	2	0	0	0	64.1
19	0	-2	0	0	51.8
20	0	2	0	0	56.5
21	0	0	-2	0	58.4
22	0	0	2	0	65.3
23	0	0	0	-2	54.8
24	0	0	0	2	61.0
25	0	0	0	0	60.8
26	0	0	0	0	61.4
27	0	0	0	0	60.5
28	0	0	0	0	61.2
29	0	0	0	0	61.3
30	0	0	0	0	59.8

对回归方程进行中心标准化处理,可以直接从回归方程系数绝对值的大小来分析各个试验条件的改变对磷酸化 SPI 乳化活性的影响程度。回归方程一次项系数绝对值的大小依次为 X_4 、 X_2 、 X_1 、 X_3 , 表明 4 个试验因素对磷酸化大豆分离蛋白乳化活性的影响从大到小依次为:微波处理时间、STP 添加量、SPI 质量分数、微波功率。

表 5 中心组合旋转设计方差分析

Tab.5 Analysis of variance of the regression parameters for the response surface model

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值
模型	642.31	14	45.88	63.18	<0.000 1
X_1	347.32	1	347.32	478.29	<0.000 1
X_2	56.12	1	56.12	77.28	<0.000 1
X_3	40.82	1	40.82	56.21	<0.000 1
X_4	46.76	1	46.76	64.39	<0.000 1
X_1X_2	41.28	1	41.28	56.85	<0.000 1
X_1X_3	1.16	1	1.16	1.59	0.226 4
X_1X_4	3.52	1	3.52	4.84	0.043 9
X_2X_3	2.03	1	2.03	2.80	0.115 2
X_2X_4	1.05	1	1.05	1.45	0.247 7
X_3X_4	4.73	1	4.73	6.51	0.022 1
X_1^2	17.88	1	17.88	24.62	0.000 2
X_2^2	71.97	1	71.97	99.10	<0.000 1
X_3^2	2.56	1	2.56	3.52	0.080 3
X_4^2	12.77	1	12.77	17.58	0.000 8
残差	10.89	15	0.73		
失拟	9.04	10	0.90	2.44	0.168 6
纯误差	1.85	5	0.37		
总回归	653.21	29			

2.4.2 自变量对响应值的影响

为了更直观地反映各试验因素对乳化活性的影响,根据拟合的回归方程,分别将模型中的 SPI 质量分数、STP 添加量、微波功率和微波处理时间 4 个因素中的 2 个因素固定在零水平,得到另外两个因素交互作用对磷酸化 SPI 乳化活性影响的子模型,并根据子模型分别绘制三维响应曲面图,见图 2~7。

由图 2~4 可知,随着 SPI 质量分数的增加,微波辅助改性后大豆分离蛋白的乳化活性随之增强,起始时影响较为显著,当 SPI 质量分数增大到 10% 以上时乳化活性的增幅趋于平缓。其原因是 SPI 质量分数较低时,蛋白质分子充分溶解,随着其浓度的增大单位体积内蛋白质分子个数增多,与游离磷酸根发生碰撞的几率增大,蛋白质分子侧链氨基酸残基交联的磷酸根较多,改性蛋白功能性增强^[24]。

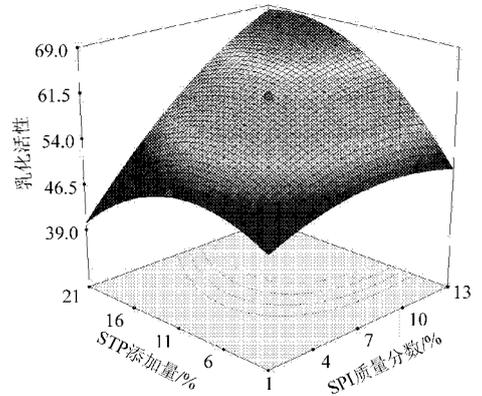


图 2 SPI 质量分数和 STP 添加量对乳化活性影响的响应曲面图

Fig. 2 Response surface for effects of concentration of SPI and ratio of STP on the EA

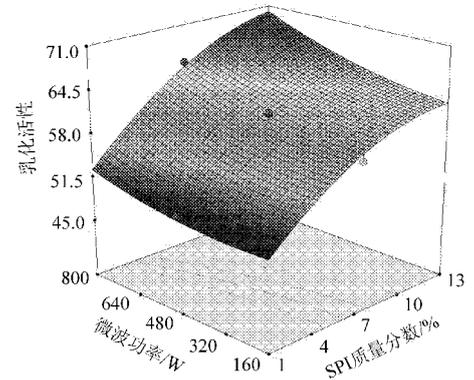


图 3 SPI 质量分数和微波功率对乳化活性影响的响应曲面

Fig. 3 Response surface for effects of concentration of SPI and microwave power on the EA

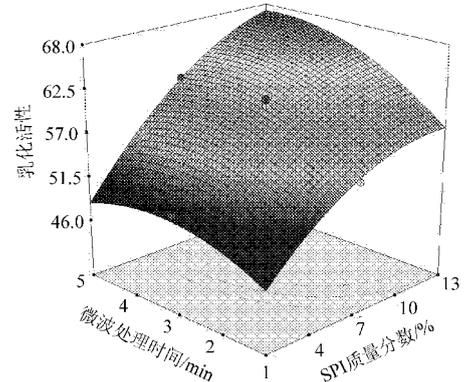


图 4 SPI 质量分数和微波处理时间对乳化活性影响的响应曲面

Fig. 4 Response surface for effects of concentration of SPI and time of reaction on the EA

SPI 质量分数增大到一定程度时,由于蛋白质的介电常数比水小,高浓度的蛋白溶液吸收微波能量的效率降低,阻碍了 SPI 与 STP 进一步反应,从而限制了 SPI 与磷酸根的结合程度。

由图 2、3 和 6 可知,微波辅助磷酸化改性后 SPI 的乳化活性随着 STP 添加量的增加呈先增后减的

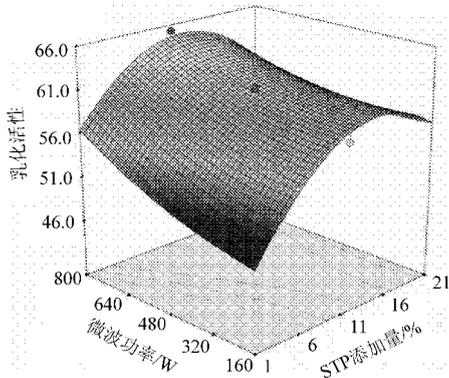


图5 STP添加量和微波功率对乳化活性影响的响应曲面

Fig. 5 Response surface for effects of ratio of STP and microwave power on the EA

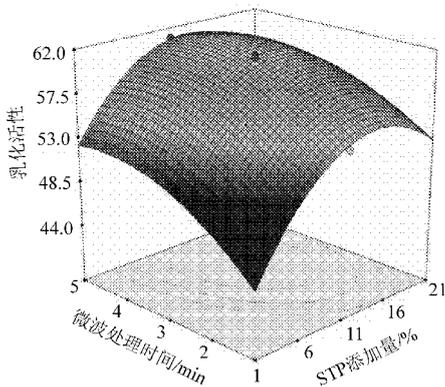


图6 STP添加量和微波处理时间对乳化活性影响的响应曲面

Fig. 6 Response surface for effects of ratio of STP and time of reaction on the EA

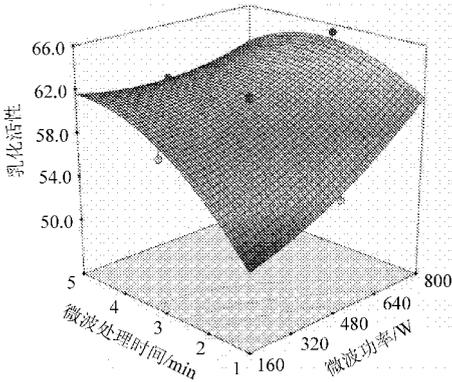


图7 微波功率和微波处理时间对乳化活性影响的响应曲面

Fig. 7 Response surface for effects of microwave power and time of reaction on the EA

趋势。这是由于在一定 STP 添加量范围内,随着 STP 添加量增大蛋白分子结合的磷酸根增多,改性蛋白的溶解性增强,而只有可溶性的蛋白质才具有油水界面扩张的能力,与界面接触后,磷酸根负电荷的引入大大降低了乳状液的表面张力^[25],使之更易形成稳定的乳状液滴,从而使乳化活性有较大的改

善。但当 STP 添加量高于 SPI 质量分数的 16% 时,蛋白质胶体被大量游离磷酸根基团包围,蛋白质负电性增加,分子间静电斥力过大,不利于液膜的形成,从而使乳化活性减弱。

由图 3、5 和 7 可知,改性后 SPI 的乳化活性随着微波功率的增大而增强。当固定微波温度为 3 min 时,相对于 SPI 质量分数和 STP 添加量,微波功率使乳化活性的增幅较小;在 SPI 质量分数和 STP 添加量固定在零水平时,微波功率与微波处理时间的交互作用较为显著($p < 0.05$)。由图 4、6 和 7 可知,微波处理时间在 1~4 min 时,随着处理时间的延长,改性后 SPI 的乳化活性逐渐增大,当微波处理时间大于 4 min 时,乳化活性几乎没变,甚至有下降的趋势(图 4)。究其原因,可能是由于在试验条件给定范围内,随着微波处理时间的延长,蛋白溶液受微波高频电磁作用诱导蛋白分子产生极化现象^[26],一方面使维持蛋白质空间结构的非共价键遭到破坏,大豆分离蛋白分子部分展开,分子的柔性提高,使蛋白质分子在不产生热变性的前提下与游离磷酸根更好地发生交联反应,改善了蛋白质的乳化性;另一方面微波促进了蛋白质分子的解聚(包括亚基的解聚),使蛋白质分子充分伸展开来^[18],内部的疏水基团暴露在表面,表面疏水性的增加导致蛋白质在油-水界面的吸附,界面蛋白质浓度增大使界面张力变小,故蛋白的乳化活性增强^[27-28]。但当微波处理时间继续延长时,微波处理时间和功率的协同作用使蛋白过度受热而变性,因此乳化活性降低。

2.5 最适条件的确定和模型的验证

综合考虑各项试验因素及其相互作用,根据二次多项回归方程,利用 Design-Expert 7.1 设计软件优化出微波辅助 SPI 磷酸化制备高乳化性的最适工艺条件为:SPI 质量分数 10%、STP 添加量 16%、微波功率 480 W、微波处理时间 4 min,在此条件下进行了 5 组验证试验得到微波辅助 SPI 磷酸化改性后的乳化活性为 66.8,而模型预测值为 67.3,相对误差为 0.74%,差异不显著,说明用响应面法优化出的工艺参数合理可靠,实际应用价值高。根据上述优化的试验条件进行验证试验,得到改性后的 SPI 样品与 SPI 原粉进行乳化性能的比较,采用 SPSS 13.0 分析软件进行数据处理,结果见表 6。

由表 6 可知,与没有经过改性的 SPI 原粉相比,采用微波辅助 SPI 磷酸化改性后其乳化活性和乳化稳定性都有很大幅度的提高。改性后 SPI 的乳化活性和乳化稳定性分别较原粉提高了 134.4% 和 61.6%。改性后 SPI 的磷酸化程度为 26.72 mg/g,说明约有 2.67% 的蛋白进行了磷酸化反应,佐证了

表6 微波辅助磷酸化 SPI 与 SPI 原粉乳化性能的比较

Tab.6 Comparison of the EA between SPI modified by microwave-assisted phosphorylation and native SPI

蛋白样品	磷酸化程度	乳化活性	乳化稳定性
	/mg·g ⁻¹		
SPI 原粉		28.5 ± 0.6 ^a	18.44 ± 0.42 ^a
微波辅助磷酸化 SPI	26.72	66.8 ± 0.4 ^b	29.80 ± 0.88 ^b

2.3 节中的结论。

3 结论

(1) 红外光谱分析证实, 所得 SPI 产品蛋白分子上确有磷酸根基团的接入。对照试验显示, 所得 SPI 产品的乳化性能得以较大幅度的提高是微波处

理和磷酸化共同作用的结果。

(2) 采用响应面分析法建立了微波辅助大豆分离蛋白磷酸化反应的数学模型, 分析得出制备高乳化活性 SPI 的最适工艺条件为: SPI 质量分数 10%、STP 添加量 16%、微波功率 480 W、微波处理时间 4 min。微波处理时间和 STP 添加量与 SPI 质量分数的交互作用对改性蛋白样品乳化活性的提高有极显著 ($p < 0.01$) 的影响; 微波功率与微波时间对改性蛋白样品乳化活性的提高效果显著 ($p < 0.05$)。

(3) 改性后大豆分离蛋白的乳化性得到显著改善。改性后 SPI 的乳化活性为 66.8, 乳化稳定性为 29.80 min, 分别较原粉提高了 134.4% 和 61.6%。

参 考 文 献

- Tang C H, Wu H, Chen Z, et al. Formation and properties of glycinin-rich and β -conglycinin-rich soy protein isolate gels induced by microbial transglutaminase[J]. Food Research International, 2006, 39(1): 87~97.
- Ralet M C, Fouques D, Chardot T, et al. Enzymatic phosphorylation by a casein kinase II of native and succinylated soy storage protein glycinin and β -conglycinin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(1): 69~75.
- Ross L F, Bhatnagar D. Enzymatic phosphorylation of soybean proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1989, 37(4): 841~844.
- Hirotsuka M, Taniguchi H, Narita H, et al. Functionality and digestibility of a highly phosphorylated soybean protein[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1984, 48(1): 93~100.
- 刘燕, 裘爱泳. 大豆蛋白与多糖的接枝改性[J]. 中国油脂, 2006, 31(1): 37~41.
Liu Yan, Qiu Aiyong. Modification of soy protein by graft with polysaccharide[J]. China Oils and Fats, 2006, 31(1): 37~41. (in Chinese)
- Gruener L, Ismond M A H. Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin[J]. Food Chemistry, 1997, 60(4): 513~520.
- 熊正俊, 赵国华. 酰化对大豆蛋白结构和功能性质影响[J]. 粮食与油脂, 2001(9): 5~7.
Xiong Zhengjun, Zhao Guohua. Effects of acylation on functionalities and structure of soy protein[J]. Journal of Cereals and Oils, 2001(9): 5~7. (in Chinese)
- Wagner J R. Thermal and electrophoretic behavior, hydrophobicity, and some functional properties of acid-treated soy isolates [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(7): 1881~1889.
- Chan W M, Ma C Y. Acid modification of proteins from soymilk residue[J]. Food Research International, 1999, 32(2): 119~127.
- 姚玉静, 杨晓泉, 张新会. 大豆分离蛋白的磷酸化改性研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(10): 5~8.
Yao Yujing, Yang Xiaoquan, Zhang Xinhui. Research on functional properties of phosphorylated soybean protein isolate[J]. Food and Fermentation Industries, 2001, 27(10): 5~8. (in Chinese)
- 代微, 迟玉杰, 孙波, 等. 磷酸化共价交联条件对大豆浓缩蛋白持水性的影响研究与探讨[J]. 食品工业科技, 2007, 28(7): 97~100.
- Matheis G, Whitaker R. Chemical phosphorylation of food protein: an overview and a prospectus[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1984, 32(4): 699~705.
- 卢寅泉, 陈彤华, 陈连就. 磷酸化大豆蛋白功能特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 1993(1): 17~24.
Lu Yinquan, Chen Tonghua, Chen Lianjiu. Function properties of phosphorylated soybean protein [J]. Food and Fermentation Industries, 1993(1): 17~24. (in Chinese)
- Ferrel R E, Olcott H S. Phosphorylation of proteins with phosphoric acid containing excess phosphorus pentoxide [J]. Journal of the American Chemical Society, 1948, 70(6): 2101~2107.
- 刘天一, 迟玉杰. 大豆分离蛋白的磷酸化改性及功能性质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(6): 118~122.
Liu Tianyi, Chi Yujie. Study on phosphorylated modification of soybean protein isolate and its functional properties [J].

- Food and Fermentation Industries, 2004, 30(6): 118 ~ 122. (in Chinese)
- 16 Zhao S M, Xiong S B, Qiu C G, et al. Effect of microwaves on rice quality[J]. Journal of Stored Products Research, 2007, 43(4): 496 ~ 502.
- 17 管军军. 微波合成大豆蛋白-糖接枝物机理、结构及功能性[D]. 无锡:江南大学, 2005.
- 18 海日罕,迟玉杰. 微波辅助磷酸化改性提高大豆分离蛋白乳化性的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(6): 36 ~ 39.
Hai Rihaan, Chi Yujie. Modifying soy protein isolate by microwave-assisted phosphorylation to improve emulsification properties[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009, 24(6): 36 ~ 39. (in Chinese)
- 19 Pearce K N, Kinsella J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716 ~ 723.
- 20 史景熙,郭睿,蔡国平. 胶原蛋白水解肽磷酸化的研究[J]. 生物技术, 2003, 13(3): 16 ~ 19.
Shi Jingxi, Guo Rui, Cai Guoping. Studies on phosphorylation of the collagen hydrolysate [J]. Biotechnology, 2003, 13(3): 16 ~ 19. (in Chinese)
- 21 袁志发,周静芊. 试验设计与分析[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- 22 邓芹英,刘岚,邓慧敏. 波普分析教程[M]. 2版. 北京:科学出版社, 2007.
- 23 Motohiko Hirotsuka, Hitoshi Taniguchi, Hiroshi Narita, et al. Functionality and digestibility of a highly phosphorylated soybean protein[J]. Journal of the American Chemical Society, 1984, 48(1): 93 ~ 100.
- 24 田少君,李小阳,曾艳菊,等. 大豆分离蛋白的磷酸化改性[J]. 中国粮油学报, 2003, 18(2): 46 ~ 49.
Tian Shaojun, Li Xiaoyang, Zeng Yanju, et al. The modification of soybean proteins by phosphorylation [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2003, 18(2): 46 ~ 49. (in Chinese)
- 25 Zhang K S, Li Y Y, Ren Y X. Research on the phosphorylation of soy protein isolate with sodium tripoly phosphate [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79(4): 1 233 ~ 1 237.
- 26 Guan J J, Qiu A Y, Liu X Y, et al. Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions [J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 577 ~ 585.
- 27 申世强,傅亮,徐康,等. 大豆分离蛋白磷酸化改性研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(6): 141 ~ 144.
Shen Shiqiang, Fu Liang, Xu Kang, et al. Study on phosphorylation of soybean protein isolate [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(6): 141 ~ 144. (in Chinese)
- 28 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.

(上接第 128 页)

- 10 张桂花,汤楚宙,熊远福,等. 包衣稻种物理特性的测量及其应用[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2004, 30(1): 68 ~ 70.
Zhang Guihua, Tang Chuzhou, Xiong Yuanfu, et al. Measurement and application of the capsuled seed physical characteristics [J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences, 2004, 30(1): 68 ~ 70. (in Chinese)
- 11 郭胜,赵淑红,杨悦乾,等. 除芒稻种摩擦特性测量[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(7): 118 ~ 121.
Guo Sheng, Zhao Shuhong, Yang Yueqian, et al. Material characteristics determination of paddy kernal deawned [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2010, 41(7): 118 ~ 121. (in Chinese)
- 12 Sylvia Larsson. Fuelpellet production from reed canary grass [D]. Stockholm: Swedish University of Agricultural Sciences, 2008.
- 13 张善荣. 散料输送与贮运[M]. 北京:化学工业出版社, 1994.
- 14 罗娟,侯书林,赵立欣,等. 典型生物质颗粒燃料燃烧特性试验[J]. 农业工程学报, 2010, 26(5): 220 ~ 226.
Luo Juan, Hou Shulin, Zhao Lixin, et al. Experimental study on combustion and emission characteristics of biomass pellets [J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(5): 220 ~ 226. (in Chinese)
- 15 姚宗路,赵立欣, Ronnback M, 等. 生物质颗粒燃料特性及其对燃烧的影响分析[J]. 农业机械学报, 2010, 41(10): 97 ~ 102.
Yao Zonglu, Zhao Lixin, Ronnback M, et al. Comparison on effect of characterization of biomass pellet fuels on combustion behavior [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(10): 97 ~ 102. (in Chinese)