

# 挤出参数控制对大豆蛋白微观构象的影响

张浩嘉<sup>1</sup>, 朱秀清<sup>1,\*</sup>, 孙莹<sup>2,\*</sup>

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150028;

2. 哈尔滨商业大学旅游烹饪学院, 黑龙江 哈尔滨 150028)

**摘要:** 本实验以大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)为原料, 在不同挤压系统参数下对大豆分离蛋白进行挤压, 通过测定蛋白质溶解度、Zeta电位、粒径、蛋白质亚基及蛋白质二级结构, 研究挤压温度、物料水分质量分数和螺杆转速条件对大豆蛋白构象的影响, 揭示大豆拉丝蛋白形成机理。结果表明, 随着挤压温度升高, SPI天然结构被破坏, 内部巯基基团暴露, 二硫键含量的增加促使蛋白形成团聚体, 过高或过低的温度均不利于蛋白质聚集和形成稳定状态; 在过低或过高物料水分质量分数条件下, 挤出模口难以形成较完整的挤出物, 物料水分质量分数在20%~22%时因水的保护作用使得挤出物状态最佳, 形成体系均一的SPI聚集体。较低的螺杆转速(130 r/min以下)会使机械能输入不足, 蛋白质不能完全变性和解聚; 较高的螺杆转速(140 r/min以上)条件下, 高剪切力促进了蛋白质原有天然结构的破坏, 形成了分子质量较大的蛋白质聚集体。综上, 在适当的挤出条件下挤压处理有助于获得最佳的挤出物品质, 过于极端的挤出条件会造成挤出物成型困难或质地不均匀。本研究可为大豆拉丝蛋白品质优化提供理论依据。

**关键词:** 双螺杆挤压; 大豆蛋白; 挤压参数; 结构

## Effect of Extrusion Parameters on Soybean Protein Conformation

ZHANG Haojia<sup>1</sup>, ZHU Xiuqing<sup>1,\*</sup>, SUN Ying<sup>2,\*</sup>

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China;

2. Tourism & Cuisine College, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

**Abstract:** The study investigated the effect of different extrusion parameters: temperature, material moisture of raw material, and screw speed on the conformation of soybean protein. After being extruded, soy protein isolate (SPI) was measured for protein solubility, zeta potential, particle size, protein subunits and protein secondary structure. Additionally, the formation mechanism of fibrous soybean protein was uncovered. The results showed that with an increase in extrusion temperature, the natural structure of SPI was destroyed, the internal groups were exposed, and the content of disulfide bonds increased, promoting the formation of protein aggregates. Too high or too low temperature was not conducive to the formation and stability of protein aggregates. At too low or too high raw material moisture content, a relatively complete extrudate was difficult to form at the extrusion mouth, while at raw material moisture contents of 20%–22%, the extrudate was in the best state due to the protective effect of water, and a uniform SPI aggregate was formed. Low screw speed (below 130 r/min) could lead to insufficient mechanical energy input, so that the protein was not completely denatured and depolymerized. While at high screw speed (above 140 r/min), the effect of high shear force promotes the destruction of the original natural structure of proteins, resulting in the formation of large protein aggregates. In summary, under appropriate extrusion conditions, the optimal extrudate quality can be obtained, while extreme extrusion conditions make extrusion molding difficult or result in nonuniform texture. This study can provide a theoretical basis for optimizing the quality of fibrous soybean protein.

**Keywords:** twin-screw extrusion; soy protein; extrusion parameters; structure

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220721-246

中图分类号: TS214.2; TS201.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)15-0103-10

收稿日期: 2022-07-21

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2021ZX12B04)

第一作者简介: 张浩嘉(1998—)(ORCID: 0000-0001-8081-9443), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物蛋白加工技术。

E-mail: 1683057899@163.com

\*通信作者简介: 朱秀清(1968—)(ORCID: 0000-0001-7825-1449), 女, 教授, 硕士, 研究方向为蛋白质分子化学及大豆深加工。E-mail: xqzhuwang@163.com

孙莹(1982—)(ORCID: 0000-0001-6884-8794), 女, 副教授, 博士, 研究方向为烹饪科学。

E-mail: sunying625@163.com

引文格式:

张浩嘉, 朱秀清, 孙莹. 挤出参数控制对大豆蛋白微观构象的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 103-112. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220721-246. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Haojia, ZHU Xiuqing, SUN Ying. Effect of extrusion parameters on soybean protein conformation[J]. Food Science, 2023, 44(15): 103-112. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220721-246. <http://www.spkx.net.cn>

大豆蛋白因其高营养价值、低成本和健康益处一直处于植物蛋白应用与研究前沿<sup>[1]</sup>。大豆拉丝蛋白是以未变性脱脂豆粕和大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)为主要原料,经双螺杆挤压技术生产的新型大豆蛋白,常被用作肉类的替代品<sup>[2-5]</sup>。

在挤压过程中,各种复杂的加工操作会导致食品聚合物的结构和物理化学性质发生转变<sup>[6-7]</sup>。如大豆球蛋白,通常首先发生变性,然后通过蛋白质-蛋白质之间的强相互作用发生聚集<sup>[8-9]</sup>,挤压过程会导致蛋白质分子从球状结构转变为线形结构,提高天然大豆蛋白二级结构中的 $\beta$ -转角结构比例,同时明显降低其表面疏水性,而二硫键、疏水作用和氢键是维持其线形结构的主要作用力<sup>[10-11]</sup>。大豆蛋白在上述化学键的作用下形成了分子质量较大的聚集体,其分子结构的改变也影响了大豆拉丝蛋白的功能特性。

现有的研究工作探讨了挤压条件对大豆拉丝蛋白功能特性的影响和品质改良<sup>[8,11-14]</sup>,但双螺杆挤压参数对组织化大豆蛋白分子构象的影响鲜有研究系统阐释。探究挤出参数对蛋白构象的影响机理有助于理解SPI低水分挤出产物性能的影响机理,可为调控大豆拉丝蛋白品质提供理论依据。因此,本实验系统研究挤压机筒温度、螺杆转速和物料水分质量分数对大豆蛋白的溶解性、粒径和二级结构等的影响,以此探究大豆蛋白在挤压过程中的构象变化,以期阐明挤出物形成机理,为大豆拉丝蛋白品质优化提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

冷榨豆粕粉(蛋白质量分数52.48%)由哈高科大豆食品有限责任公司提供;其余试剂均是分析纯。

### 1.2 仪器与设备

DSE-25同向旋转啮合型双螺杆挤压机(螺杆直径25 mm、长径比25)德国Brabender公司;傅里叶变换红外光谱仪美国珀金埃尔默公司;Zetasizer nano激光粒度分析仪英国马尔文仪器公司;UV759S紫外-可见分光光度计上海市谱光仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 SPI的提取

参照文献[12]并稍作修改,通过碱溶酸沉法

从冷榨豆粕中提取SPI。冷榨豆粕经正己烷(质量体积比1:20)浸泡振荡12 h,干燥后溶解于pH 8.5 0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液中,在45 °C下恒温水浴振荡1.5 h后经4 000 r/min离心20 min,取上清液,调至pH 4.5,静置30 min后4 000 r/min离心20 min,获得的沉淀即为SPI,将沉淀用适量去离子水溶解并调至pH 7,冷冻干燥备用。凯氏定氮法测得蛋白质含量为910 g/kg。

#### 1.3.2 挤压实验及参数的设定

表1中用下划线标明各试验因素的固定水平,如在考察物料水分质量分数对产品品质影响时,机筒温度固定为150 °C,螺杆转速固定为130 r/min,以此类推。在挤压前,通过添加蒸馏水将SPI的水分质量分数分别调整到对应水平,将原料密封在聚乙烯袋中过夜(12 h)使其充分混合。挤出物在40 °C电热鼓风干燥箱中烘干24 h后利用粉碎机粉碎,将其通过60目筛网。

表1 单因素试验水平

Table 1 Coded levels and corresponding actual levels of independent variables used for single factor experiments

试验编号	机筒温度(V区)/°C	物料水分质量分数/%	螺杆转速/(r/min)
1	120	16	100
2	130	18	110
3	140	20	120
4	<u>150</u>	<u>22</u>	<u>130</u>
5	160	24	140
6	170	26	150
7	180	28	160

注:标下划线的因素水平为考察其他试验因素时,该试验因素的固定水平。

#### 1.3.3 蛋白质溶解性测定

蛋白质的溶解度测定参照GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》。

#### 1.3.4 蛋白质游离巯基和二硫键含量测定

大豆蛋白的游离巯基含量和二硫键含量按照文献[15]的方法进行测定。

#### 1.3.5 蛋白质粒径的测定

用马尔文激光粒度仪测定大豆蛋白的粒径分布,利用pH值为7.20±0.05磷酸盐缓冲溶液将大豆蛋白样品的质量浓度调整为1.0 mg/mL,大豆蛋白样品的折射率为1.471,磷酸盐缓冲溶液折射率为1.330,每个取样检测3次,取平均值。

### 1.3.6 蛋白质Zeta-电位测定

参照文献[16]的方法用马尔文激光粒度仪测定SPI的Zeta-电位, 参数设定: 折光系数为1.330、介电常数为78.55、黏度为1.008 7 mPa·s。利用pH值为7.20±0.05的磷酸盐缓冲溶液将大豆蛋白样品的质量浓度调整为1.0 mg/mL, 测定相应的Zeta-电位。每个样品平行测定3次, 取平均值作为Zeta-电位。

### 1.3.7 蛋白质傅里叶变换红外光谱测定

傅里叶变换红外光谱是分析蛋白质二级结构的主要方法之一。参照文献[17]的方法作适当修改, 用傅里叶变换红外光谱仪进行全波段扫描(4 000~400 cm<sup>-1</sup>), 扫描次数为32, 分辨率设定为4 cm<sup>-1</sup>, 扫描背景光谱后进行上样, 大豆蛋白样品经冷冻干燥后取少量直接置于水平傅里叶变换红外光谱仪锗晶体表面上, 盖住锗晶体(直径2 mm)即可, 压平, 采集样品红外光谱谱图, 做3次平行实验。采用PeakFit V4.12软件分析红外光谱数据。

### 1.4 数据处理与分析

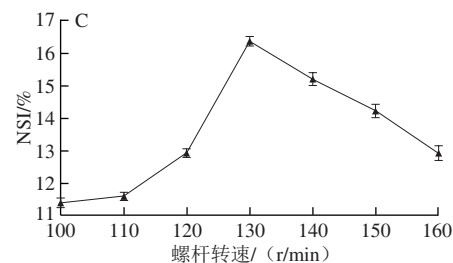
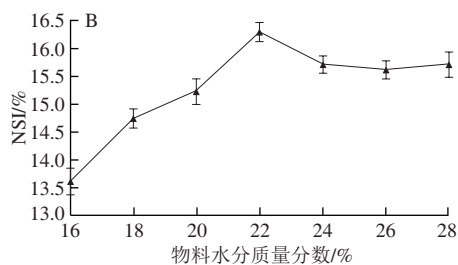
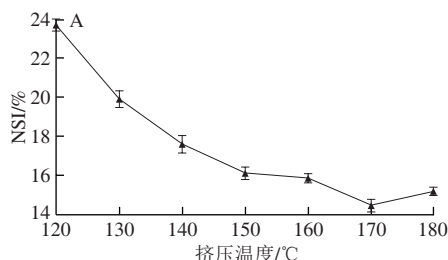
所有实验进行3次平行, 数据以平均值±标准差表示。采用单因素方差分析检验各指标的差异性统计学意义; 采用Origin 2021软件绘制曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 挤压系统参数对SPI氮溶解指数的影响

#### 2.1.1 不同机筒温度对SPI氮溶解指数的影响

随着挤压温度升高, 挤出物氮溶解指数(nitrogen solubility index, NSI)显著降低, 在170 °C的挤压温度条件下, NSI下降至最低值(14.45%) (图1A), 表明挤压处理会明显降低大豆蛋白的溶解度, 主要是由于挤压机内高温高剪切力的作用破坏了SPI原有的天然结构, 随着疏水基团的暴露以及非共价键的作用, 形成了分子质量较大的蛋白质聚集体<sup>[18]</sup>; 但随着挤压温度的继续升高, NSI不再继续降低, 反而在挤压温度180 °C下小幅上升, 可能是过高的挤压温度破坏了蛋白质聚集体结构, 小分子质量肽的比例增加<sup>[19]</sup>, 从而使SPI的NSI略有回升。



A.不同挤压温度对NSI的影响; B.不同水分质量分数对NSI的影响; C.不同螺杆转速对NSI的影响。

图1 挤压系统参数对蛋白溶解度的影响

Fig. 1 Effects of extrusion system parameters on protein solubility

#### 2.1.2 不同物料水分质量分数对SPI氮溶解指数的影响

随着物料水分质量分数的升高, SPI的NSI呈现先升高后降低趋势, 物料水分质量分数从16%升至22%时, NSI增加至最高值(16.30%) (图1B), 说明22%物料水分质量分数下挤压处理有利于SPI溶解度的提高; 当物料水分质量分数低于22%时, 水分含量较低导致挤压机模口处物料严重膨胀; 说明缺少水分的润滑保护作用, 挤压机内的高温、高压以及高剪切力作用使得SPI样品天然结构遭到严重破坏; 通过对挤压样品的观察, 当物料水分质量分数高于22%时, 挤出物严重断裂, 并在挤压机模口处出现喷料现象, 这可能是水分子在高温条件下的瞬间汽化导致模口压力过高, 不利于SPI聚集体的形成, 造成溶解度出现下降的趋势, 且不利于形成稳定的挤出物<sup>[20]</sup>。

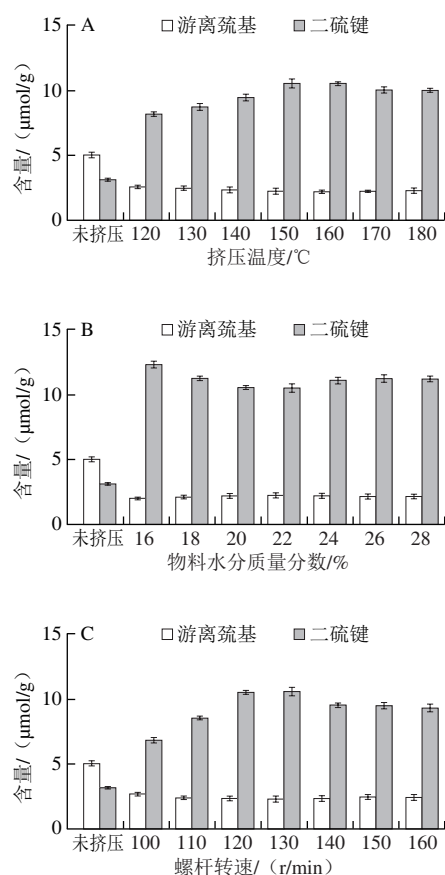
#### 2.1.3 不同螺杆转速对SPI氮溶解指数的影响

随着螺杆转速的升高, SPI的NSI呈现先增加后降低的趋势, 在螺杆转速从100 r/min增至130 r/min时, NSI提升至最大值(16.37%) (图1C), 推测是由于螺杆转速越高机械能输入越高, 较高机械能输入引起蛋白质解聚导致溶解度上升; 而较低螺杆转速会导致停留时间较长, 蛋白热变性时间过长导致溶解度较低; 但当螺杆转速超过130 r/min时, NSI降低, 在160 r/min的螺杆转速条件下NSI降至12.93%, 可能是在过高的螺杆转速条件下, 高剪切力的作用促进SPI原有的天然结构被破坏, 疏水基团暴露, 在非共价键的作用下, 形成了分子质量较大的蛋白质聚集体, 使得SPI的溶解度进一步降低<sup>[21]</sup>。

## 2.2 挤压系统参数对SPI游离巯基、二硫键含量的影响

### 2.2.1 不同机筒温度对SPI游离巯基、二硫键含量的影响

随着挤压温度的升高, SPI二硫键含量先增加后减少, 游离巯基含量则呈先下降随后趋于平稳的变化趋势(图2A), 推测可能是当SPI通过挤压处理后, 其天然结构被破坏, 分子链被打开, 分子内巯基基团暴露, 并且部分游离巯基基团被转换为二硫键, 导致游离巯基含量变化不明显, 可以推断SPI聚集体的形成过程中, 二硫键起到了重要作用; 温度超过160 °C时, 二硫键含量略有下降, 说明温度过高, 不利于内部巯基基团的暴露以及二硫键的形成, 相关研究也表明挤出温度过高会导致蛋白质分子直接形成的分子键被破坏<sup>[9]</sup>。



A.不同挤压温度对巯基、二硫键含量的影响; B.不同水分质量分数对巯基、二硫键含量的影响; C.不同螺杆转速对巯基、二硫键含量的影响。

图2 挤压系统参数对SPI巯基、二硫键的影响

Fig. 2 Effects of extrusion system parameters on the contents of sulfhydryl and disulfide bonds in SPI

### 2.2.2 不同物料水分质量分数对SPI游离巯基、二硫键含量的影响

随着物料水分质量分数从16%增加到22%, 二硫键含量逐渐降低, SPI游离巯基含量变化不显著(图2B), 说明该水分条件下物料由于水的保护润滑作用, 不利于内部巯基基团的暴露以及二硫键的形成, 较低或较高的物料

水分含量会加剧挤压处理对SPI天然构象的破坏; 在物料水分质量分数为22%时, 二硫键含量最低, 使得挤压后的SPI溶解度最高, 这与孙照勇等<sup>[22]</sup>的研究结论相似。

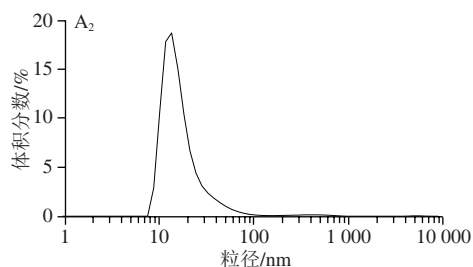
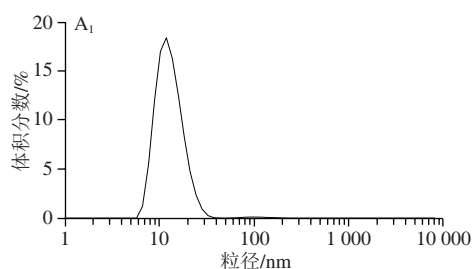
### 2.2.3 不同螺杆转速对SPI游离巯基、二硫键含量的影响

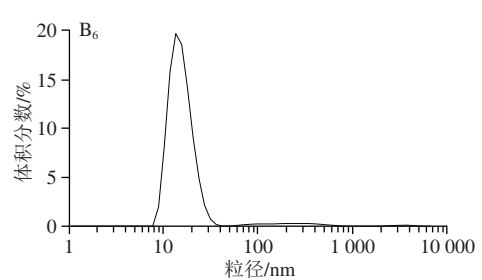
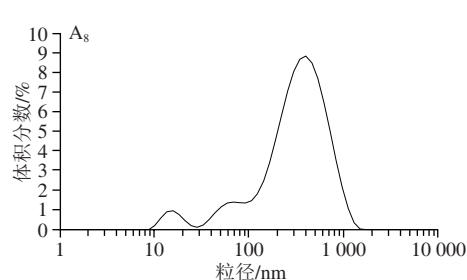
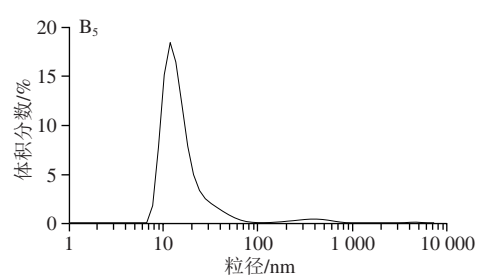
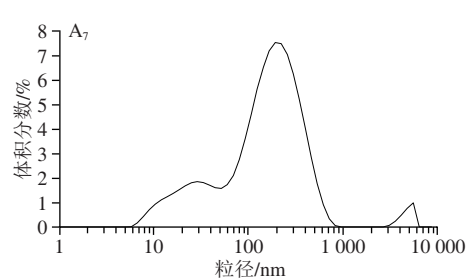
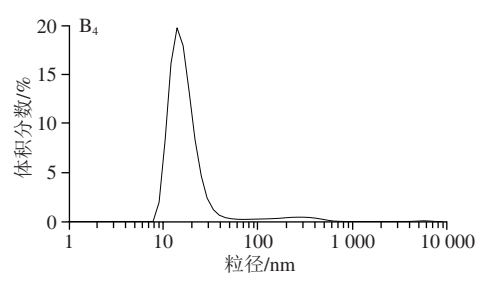
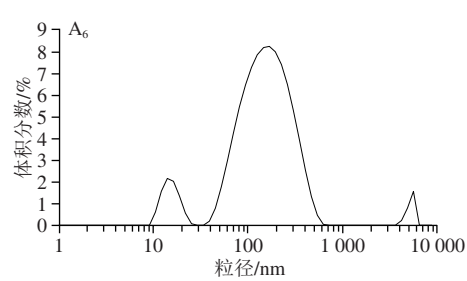
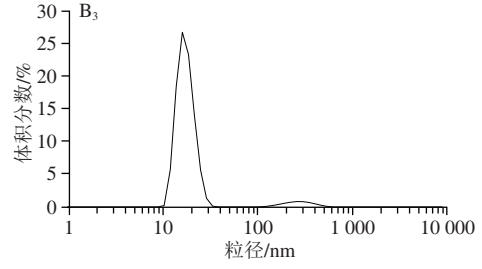
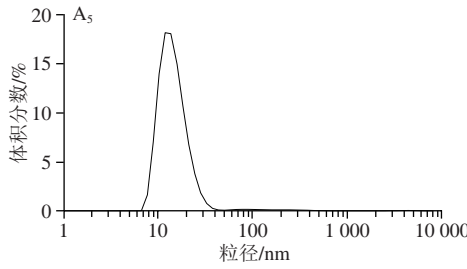
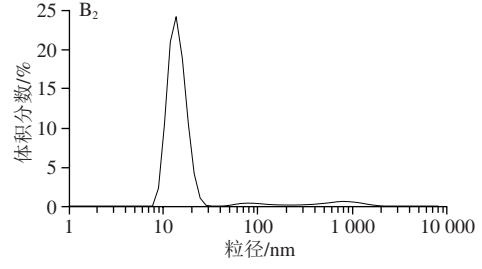
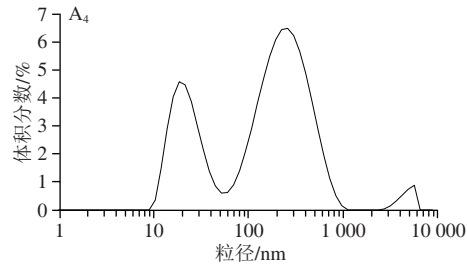
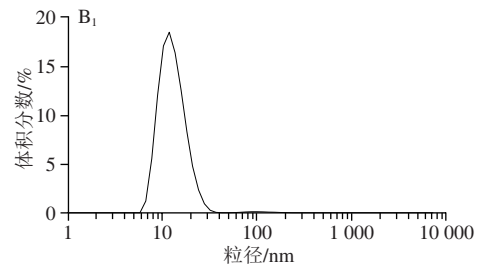
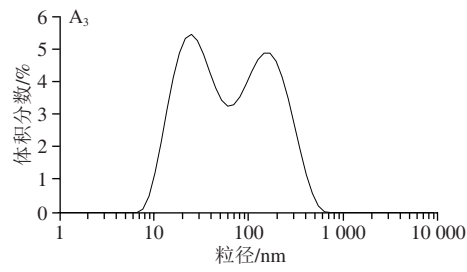
随着螺杆转速增加, SPI游离巯基含量下降, 二硫键含量呈现先增加后减少的趋势(图2C), 说明SPI经过螺杆的剪切力作用后, 蛋白质天然结构被破坏, 内部基团暴露, 从而引起二硫键含量上升, 二硫键在SPI聚集体的形成过程中起到了关键作用。螺杆转速为130 r/min时, 二硫键含量达到最高值, 此时SPI在二硫键的作用下聚集程度较高且溶解度较高, 但螺杆转速超过130 r/min时, 二硫键含量略有下降, 说明过高的螺杆转速不利于内部巯基基团的暴露以及二硫键的形成, 且造成SPI溶解度的进一步降低, 使得SPI亚基组中小分子质量组分进一步减少<sup>[23]</sup>。

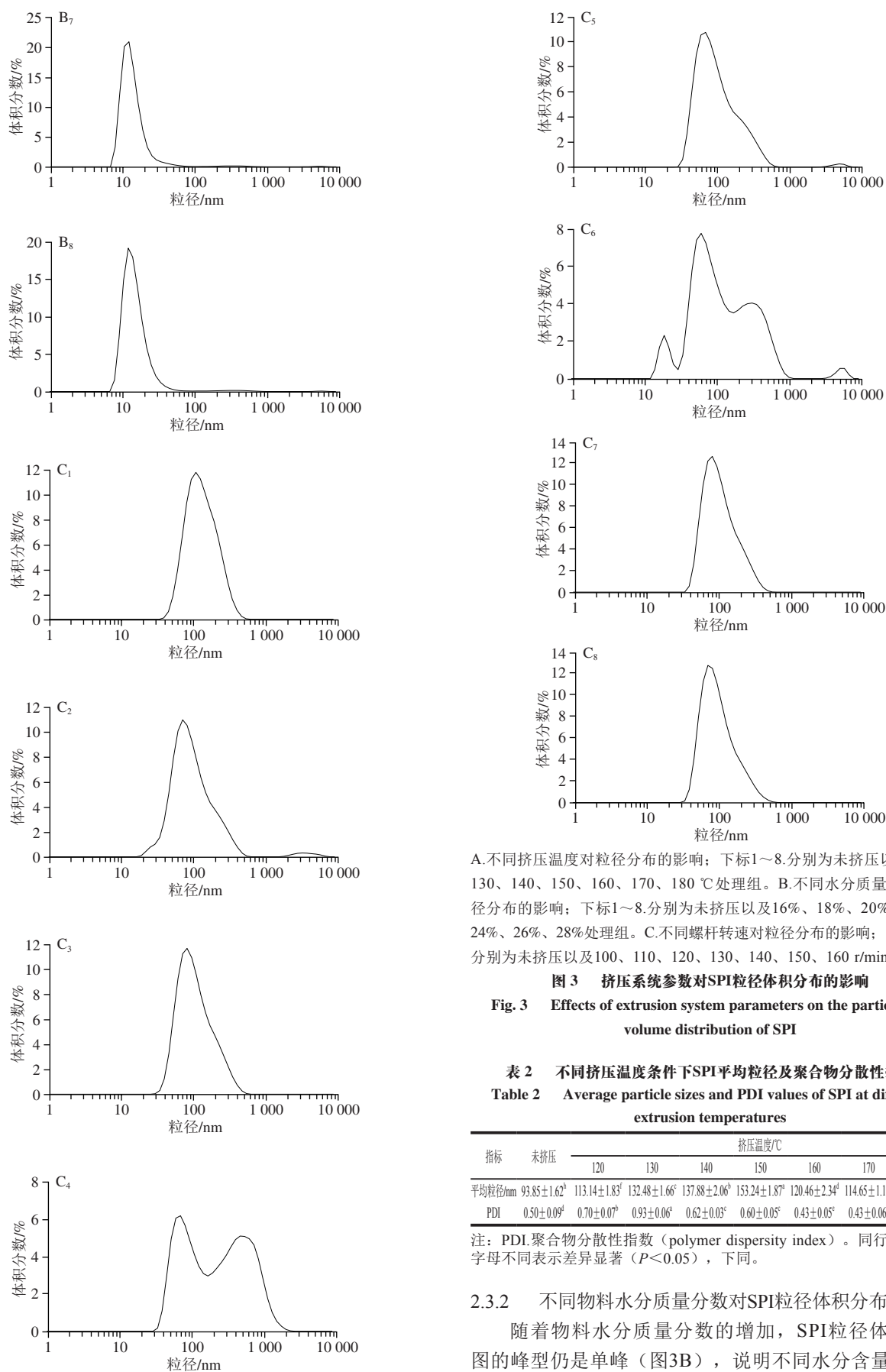
## 2.3 挤压系统参数对SPI粒径体积分布的影响

### 2.3.1 不同机筒温度对SPI粒径体积分布的影响

天然状态下SPI样品为单峰, 且粒径分布较为均一, 经过挤压处理后, SPI粒径体积分布图由原来的单峰变成了双峰或三峰, 随着挤压温度的升高, 粒径分布逐渐右移, SPI平均粒径呈现增大的趋势, 较大的蛋白质粒径会降低其溶解度<sup>[24]</sup>。SPI平均粒径在150 °C时增加至最大值(表2), 并观察到图谱中出现粒径较大的吸收峰(图3A), 推测是随着温度升高, 蛋白质分子链解聚再聚集成更大的团聚体, 导致平均粒径值升高; 当温度继续增加超过160 °C时, 粒径较大的吸收峰逐渐消失, 但是仍处于宽峰状态, 说明高温挤压条件会破坏部分较大的SPI聚集体, 此现象的出现也可能是高温处理后SPI形成的疏松结构易于被破坏所致<sup>[25]</sup>。







A.不同挤压温度对粒径分布的影响；下标1~8.分别为未挤压以及120、130、140、150、160、170、180℃处理组。B.不同水分质量分数对粒径分布的影响；下标1~8.分别为未挤压以及16%、18%、20%、22%、24%、26%、28%处理组。C.不同螺杆转速对粒径分布的影响；下标1~8.分别为未挤压以及100、110、120、130、140、150、160 r/min处理组。

图3 挤压系统参数对SPI粒径体积分布的影响

Fig. 3 Effects of extrusion system parameters on the particle size volume distribution of SPI

表2 不同挤压温度条件下SPI平均粒径及聚合物分散性指数  
Table 2 Average particle sizes and PDI values of SPI at different extrusion temperatures

指标	未挤压	挤压温度/℃						
		120	130	140	150	160	170	180
平均粒径/nm	93.85±1.62 <sup>b</sup>	113.14±1.83 <sup>c</sup>	132.48±1.66 <sup>c</sup>	137.88±2.06 <sup>b</sup>	153.24±1.87 <sup>c</sup>	120.46±2.34 <sup>d</sup>	114.65±1.10 <sup>e</sup>	112.65±0.98 <sup>f</sup>
PDI	0.50±0.09 <sup>d</sup>	0.70±0.07 <sup>b</sup>	0.93±0.06 <sup>c</sup>	0.62±0.03 <sup>e</sup>	0.60±0.05 <sup>e</sup>	0.43±0.05 <sup>e</sup>	0.43±0.06 <sup>c</sup>	0.53±0.04 <sup>d</sup>

注：PDI.聚合物分散性指数（polymer dispersity index）。同行肩标小写字母不同表示差异显著（ $P < 0.05$ ），下同。

### 2.3.2 不同物料水分质量分数对SPI粒径体积分布的影响

随着物料水分质量分数的增加，SPI粒径体积分布图的峰型仍是单峰（图3B），说明不同水分含量的样品

均能获得体系较为均一的SPI聚集体。从表3可以看出,当物料水分质量分数较低时,SPI平均粒径较低,此现象可能是由于较低的水分含量条件使SPI天然构象破坏严重,SPI中不溶性组分含量增加,能够溶解进入粒径测试液的多为小分子肽,故造成粒径出现减小的趋势;当物料水分质量分数增加到22%时,平均粒径增加至最大值,继续增加物料水分质量分数平均粒径下降,说明高物料水分含量有利于形成较稳定SPI聚集体,但由于水具有润滑保护作用,此水分条件下蛋白变性程度较低,较多的蛋白维持了其天然构象,所以溶解度较高,这可能是较高的物料水分抑制了SPI内部疏水基团的暴露,水分子与SPI之间的结合一定程度上抑制了SPI天然构象的破坏以及聚集体的形成<sup>[26]</sup>。

表3 不同物料水分质量分数条件下SPI平均粒径及PDI  
Table 3 Average particle sizes and polymer dispersity index values of SPI at different material moisture contents

指标	未挤压	物料水分质量分数/%						
		16	18	20	22	24	26	28
平均粒径/mm	93.85±1.62 <sup>d</sup>	87.39±1.22 <sup>f</sup>	90.47±1.87 <sup>e</sup>	137.88±1.49 <sup>e</sup>	153.24±1.87 <sup>b</sup>	140.46±2.01 <sup>b</sup>	136.29±1.10 <sup>f</sup>	141.25±1.29 <sup>f</sup>
PDI	0.50±0.09 <sup>f</sup>	0.69±0.04 <sup>f</sup>	0.58±0.07 <sup>b</sup>	0.39±0.02 <sup>e</sup>	0.60±0.05 <sup>b</sup>	0.43±0.02 <sup>d</sup>	0.43±0.07 <sup>d</sup>	0.53±0.06 <sup>e</sup>

### 2.3.3 不同螺杆转速对SPI粒径体积分布的影响

经过不同的螺杆转速挤压处理后,SPI粒径体积分布图由天然状态的单峰变成了多峰,随着螺杆转速的升高,粒径分布图中峰位逐渐右移,SPI平均粒径呈现增大的趋势,并观察到图谱中出现粒径较大的吸收峰(图3C);130 r/min时粒径达到最大值(表4),且分布较为均一(图3C<sub>5</sub>),此条件下SPI溶解度最高,说明此挤压条件有利于形成稳定的SPI聚集体;随着螺杆转速的继续增加,在140~160 r/min条件下SPI分子PDI较低,粒径的体积分布又逐渐变为均一且粒径较大的单峰,Zhang Jinchuang等<sup>[27]</sup>研究也发现蛋白质在较高的螺杆转速(即高剪切力的作用)下有利于形成粒径均一的聚集体。

表4 不同螺杆转速条件下SPI平均粒径及PDI  
Table 4 Average particle sizes and PDI values of SPI at different screw speeds

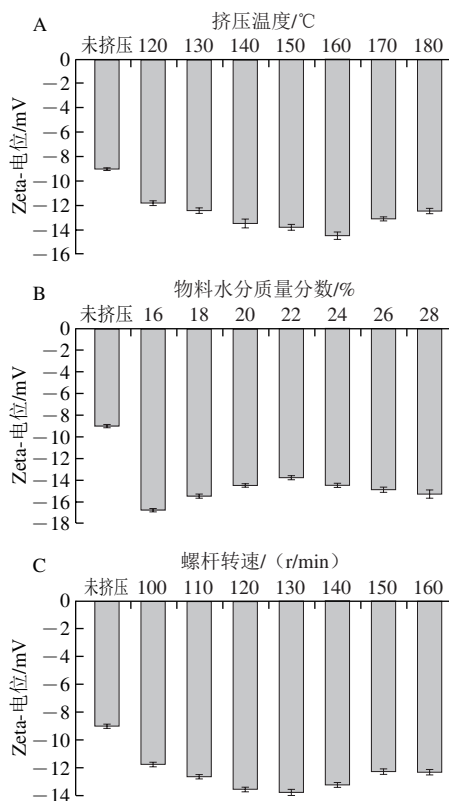
指标	未挤压	螺杆转速/(r/min)						
		100	110	120	130	140	150	160
平均粒径/mm	93.85±1.62 <sup>b</sup>	123.27±2.43 <sup>f</sup>	139.58±2.16 <sup>d</sup>	149.88±2.85 <sup>b</sup>	153.24±1.66 <sup>c</sup>	143.16±1.84 <sup>e</sup>	130.39±1.13 <sup>f</sup>	135.27±0.56 <sup>e</sup>
PDI	0.50±0.09 <sup>d</sup>	0.82±0.04 <sup>f</sup>	0.75±0.07 <sup>b</sup>	0.59±0.04 <sup>f</sup>	0.43±0.03 <sup>e</sup>	0.52±0.05 <sup>d</sup>	0.41±0.03 <sup>e</sup>	0.39±0.03 <sup>f</sup>

## 2.4 挤压系统参数对SPI Zeta-电位的影响

### 2.4.1 不同机筒温度对SPI Zeta-电位的影响

Zeta-电位绝对值的高低表示分子表面所带正或负电荷数量的多少,SPI Zeta-电位的绝对值越高,说明体系内蛋白质分子表面的电荷数量越多,在较大的静电斥力作用下能够维持SPI结构处于相对稳定的状态。与未挤压处理SPI相比,挤压处理使SPI整体Zeta-电位绝对值明显

增加;且随着挤压温度的提高,SPI的Zeta-电位绝对值呈现先增大后减小的趋势(图4A);挤压温度达到160℃时SPI Zeta-电位绝对值达到最高,此时SPI分子间的静电斥力最大,说明SPI在挤压处理后,通过二硫键、疏水作用以及静电作用力等化学作用力聚集形成的蛋白质聚集体增多;随着挤压温度进一步升高,Zeta-电位绝对值不再继续增加,SPI分子表面静电荷密度减小,说明过高的挤压温度条件下不利于蛋白质聚集体形成。挤压处理可以破坏SPI天然结构,在诱导不溶性蛋白质聚集体形成的同时促进蛋白质分子内部疏水残基以及带电基团暴露,从而引起SPI Zeta-电位绝对值的增加<sup>[28]</sup>。



A.不同挤压温度对Zeta-电位的影响; B.不同水分质量分数对Zeta-电位的影响; C.不同螺杆转速对Zeta-电位的影响。

图4 挤压系统参数对SPI的Zeta-电位的影响

Fig. 4 Effects of extrusion parameters on the zeta potential of SPI

### 2.4.2 不同物料水分质量分数对SPI Zeta-电位的影响

经过挤压处理后,挤出物Zeta-电位绝对值均明显增加,随着物料水分质量分数增加呈现先降低后升高的趋势,物料水分质量分数为22%时,SPI Zeta-电位绝对值达到最低(图4B),此时SPI分子间的静电斥力最小,说明SPI在此条件下挤压处理后形成的蛋白质聚集体较少;较高或较低的物料水分质量分数均会导致Zeta-电位绝对值增加,SPI分子表面静电荷密度增加,说明较高或较低的物料水分含量条件下有利于不溶性蛋白质聚集体形成,结合粒径分析数据来看,较高或较低的物料水分含量导致

挤出物平均粒径较低, PDI较高, 不能形成体系均一的SPI聚集体, 这与Li Xianghong等<sup>[29]</sup>的研究结果相似。综上, 挤压处理时不同的水分质量分数对SPI聚集影响差异明显, 较低的物料水分质量分数有利于SPI聚集体的形成, 但不能形成均一的聚合体系, 且不利于挤压过程中SPI与油脂之间的结合, 较高的水分质量分数条件下, 水分子的汽化也会破坏SPI稳定聚集体的形成。

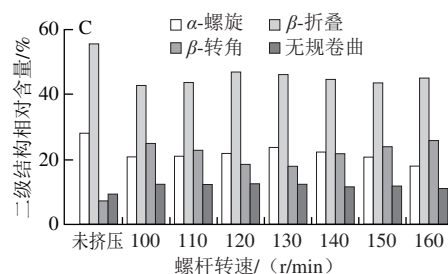
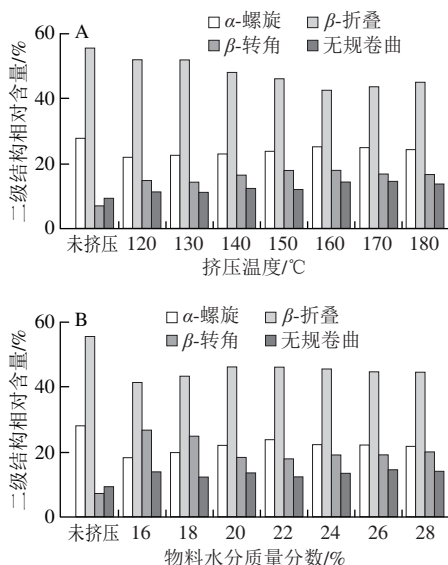
#### 2.4.3 不同螺杆转速对SPI Zeta-电位的影响

随着螺杆转速的提高, SPI的Zeta-电位绝对值呈现先增大后减小的趋势; 螺杆转速为130 r/min时SPI Zeta-电位绝对值达到最高(图4C), 说明此时SPI分子间的静电斥力最大, 现有研究也表明, SPI在挤压处理后, 通过二硫键、疏水作用以及静电相互作用等化学作用力聚集形成的蛋白质聚集体数量增多<sup>[30]</sup>; 随着螺杆转速进一步升高, Zeta-电位绝对值开始下降, SPI分子表面静电荷密度减小, 说明较高的螺杆转速对机筒内输入了较高的机械能, 导致SPI聚集体被破坏或阻碍形成更多蛋白聚集体, 但较高的螺杆转速有利于形成的SPI聚集体体系趋向均一。

### 2.5 挤压系统参数对SPI二级结构的影响

#### 2.5.1 不同挤压温度对SPI二级结构相对含量的影响

大豆蛋白经挤压处理后, 二级结构中 $\alpha$ -螺旋结构、 $\beta$ -折叠结构的相对含量减小,  $\beta$ -转角、无规卷曲结构的相对含量增大(图5A)。随着挤压温度的升高,  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、无规卷曲结构的相对含量变化趋势均为先增大后减小; 而 $\beta$ -折叠结构的相对含量变化趋势为先减小后增大, 160 °C时 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角结构相对含量达到最高值, 分别为25.20%和17.98%,  $\beta$ -折叠的相对含量达到最低值(42.45%); 而无规卷曲在170 °C时相对含量达到最高值(14.56%)。王冬梅等<sup>[31]</sup>研究发现, 在挤压处理后, SPI二级结构中 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠向 $\beta$ -转角和无规卷曲转化, 无序性程度提高, 与本研究结果一致。



A.不同挤压温度对二级结构相对含量的影响; B.不同水分质量分数对二级结构相对含量的影响; C.不同螺杆转速对二级结构相对含量的影响。

图5 挤压系统参数对SPI的二级结构相对含量的影响

Fig. 5 Effects of extrusion system parameters on the secondary structure content of SPI

#### 2.5.2 不同物料水分质量分数对SPI二级结构相对含量的影响

随着物料水分质量分数的增加, 无规卷曲结构的相对含量有小幅波动, 而 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠结构相对含量呈现出与 $\beta$ -转角相反的变化趋势(图5B), 水分质量分数为22%时 $\alpha$ -螺旋结构相对含量达到最高值, 水分质量分数为16%时 $\beta$ -转角结构相对含量最高, 为26.75%,  $\beta$ -折叠的相对含量达到最低值(41.30%)。在22%物料水分质量分数条件下, 由于水的润滑保护作用导致蛋白变性程度最低, 二级结构含量比例最接近原始稳定状态, 高于或低于此水分条件均会导致蛋白无序程度增加; 根据前文挤压处理后SPI平均粒径及Zeta-电位分析结果, SPI聚集体含量的增加,  $\beta$ -转角结构起到了主要作用, 而挤压处理后SPI形成均一稳定聚集体需要 $\alpha$ -螺旋结构的参与。研究表明,  $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠含量较高的蛋白聚集体稳定性也更高<sup>[32-34]</sup>。

#### 2.5.3 不同螺杆转速对SPI二级结构相对含量的影响

大豆蛋白经不同的螺杆转速挤压处理后, 二级结构中 $\alpha$ -螺旋结构、 $\beta$ -折叠结构的相对含量减少,  $\beta$ -转角相对含量增多, 无规卷曲结构相对含量略有增加, 随着螺杆转速的增加,  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠结构的相对含量变化趋势为先增大后减小; 而 $\beta$ -转角的相对含量变化呈现出与 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠含量变化相反的趋势(图5C), 根据现有研究结果推断, 在挤压处理后, SPI变性程度提高, 二级结构中 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠向 $\beta$ -转角和无规卷曲转化。螺杆转速在120~130 r/min范围内蛋白二级结构比例更接近原始状态, 低于或高于此范围会导致蛋白无序程度上升, 可能是过低的螺杆转速导致SPI停留时间较长, 蛋白变性程度提高, 过高的螺杆转速导致机械能输入增加, 造成蛋白天然结构破坏<sup>[35]</sup>。



### 3 结 论

本实验以SPI为原料,研究不同挤压温度(120~180℃)、螺杆转速(100~160 r/min)和物料水分质量分数(22%~28%)对冷榨豆粕中大豆蛋白构象的影响,结果显示:150℃下挤出物蛋白聚合度较高,纤维形成效果较好,过高或过低的温度均不利于蛋白质聚集和形成稳定状态;物料水分质量分数在20%~22%时,因水的保护作用使挤出物状态最佳,形成体系均一的SPI聚集体,物料水分质量分数过低或过高时因模口压力过大导致难以形成较完整的挤出物;较低的螺杆转速会使得机械能输入不足且SPI停留时间过长,蛋白质不能完全变性和解聚,较高的螺杆转速条件下,高剪切力的作用促进了SPI原有天然结构的破坏,形成了分子质量较大的蛋白质聚集体。综上,在适当的系统参数下挤出有助于获得最佳的挤出物品质,过低则蛋白变性不完全,蛋白聚合度不高,纤维形成效果差,过高则会引起蛋白过度变性,导致已经形成的纤维结构被破坏,挤出物品质下降。

#### 参考文献:

- [1] 石彦国,刘琳琳.大豆蛋白与豆腐品质相关性研究进展[J].食品科学技术学报,2018,36(6):1-8. DOI:10.3969/j.issn.2095-6002.2018.06.001.
- [2] SAMARD S, RYU G H. Physicochemical and functional characteristics of plant protein-based meat analogs[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(10): 11-12. DOI:10.1111/jfpp.14123.
- [3] SAMARD S, GU B Y, RYU G H. Effects of extrusion types, screw speed and addition of wheat gluten on physicochemical characteristics and cooking stability of meat analogues[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(11): 4922-4931. DOI:10.1002/jsfa.9722.
- [4] 栾滨羽,马爽,潘伟春,等.基于揉混处理和扩散波谱分析的大豆分离蛋白流变特性研究[J].食品科学技术学报,2022,40(2):45-52.61. DOI:10.12301/spxb202100920.
- [5] LIN S, HUFF H E, HSIEH F. Texture and chemical characteristics of soy protein meat analog extruded at high moisture[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(2): 264-269. DOI:10.1111/j.1365-2621.2000.tb15991.x.
- [6] ALAM M S, KAUR J, KHAIRA H, et al. Extrusion and extruded products: changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(3): 445-475. DOI:10.1080/10408398.2013.779568.
- [7] SINGH S, GAMLATH S, WAKELING L. Nutritional aspects of food extrusion: a review[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(8): 916-929. DOI:10.1111/j.1365-2621.2006.01309.x.
- [8] CHEN F L, WEI Y M, ZHANG B. Chemical cross-linking and molecular aggregation of soybean protein during extrusion cooking at low and high moisture content[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(4): 957-962. DOI:10.1016/j.lwt.2010.12.008.
- [9] LIU K S, HSIEH F H. Protein-protein interactions during high-moisture extrusion for fibrous meat analogues and comparison of protein solubility methods using different solvent systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(8): 2681-2687. DOI:10.1021/jf073343q.
- [10] ZHANG J, LIU L, LIU H, et al. Changes in conformation and quality of vegetable protein during texturization process by extrusion[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(20): 3267-3280. DOI:10.1080/10408398.2018.1487383.
- [11] MOZAFARPOUR R, KOOCHEKI A, MILANI E, et al. Extruded soy protein as a novel emulsifier: structure, interfacial activity and emulsifying property[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 361-373. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.02.036.
- [12] WANG Y, LIU C, MA T, et al. Physicochemical and functional properties of gamma-aminobutyric acid-treated soy proteins[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 267-273. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.128.
- [13] BEVERIDGE T, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's reagent[J]. Journal of Food Science, 1974, 39(1): 49-51. DOI:10.1111/j.1365-2621.1974.tb00984.x.
- [14] THANNHAUSER T W, KONISHI Y, SCHERAGA H A. Sensitive quantitative analysis of disulfide bonds in polypeptides and proteins[J]. Analytical Biochemistry, 1984, 138(1): 181-188. DOI:10.1016/0003-2697(84)90786-3.
- [15] CHEN Y, LIANG Y, JIA F, et al. Effect of extrusion temperature on the protein aggregation of wheat gluten with the addition of peanut oil during extrusion[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 1377-1386. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.11.017.
- [16] GUO S T, ONO T, MIKAMI M. Incorporation of soy milk lipid into protein coagulum by addition of calcium chloride[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(3): 901-905. DOI:10.1021/jf9805247.
- [17] WANG F, GAO Y, GU X L, et al. High-moisture extrusion cooking on soybean-wheat protein mixtures: effect of sodium alginate/xanthan gum/maltodextrin on promoting a fibrous structure[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 9: 1077601. DOI:10.3389/fnut.2022.1077601.
- [18] SILVA A C C, ARÊAS E P G, SILVA M A, et al. Effects of extrusion on the emulsifying properties of rumen and soy protein[J]. Food Biophysics, 2010, 5(2): 94-102. DOI:10.1007/s11483-010-9149-0.
- [19] YU L, RAMASWAMY H S, BOYE J. Twin-screw extrusion of corn flour and soy protein isolate (SPI) blends: a response surface analysis[J]. Food and Bioprocess Technology, 2009, 5(2): 485-497. DOI:10.1007/s11947-009-0294-8.
- [20] SHEWRY P R, SAYANOVA O, TATHAM A S, et al. Structure, assembly and targeting of wheat storage proteins[J]. Journal of Plant Physiology, 1995, 145(5/6): 620-625. DOI:10.1016/s0176-1617(11)81273-3.
- [21] GRABOWSKA K J, ZHU S C, DEKKERS B L, et al. Shear-induced structuring as a tool to make anisotropic materials using soy protein concentrate[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 188: 77-86. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2016.05.010.
- [22] 孙照勇,魏益民,张波,等.物料含水率对大豆蛋白挤压组织化产品特性的影响[J].中国粮油学报,2009,24(10):28-32.
- [23] BUENO A S, PEREIRA C M, MENEGASSI B, et al. Effect of extrusion on the emulsifying properties of soybean proteins and pectin mixtures modelled by response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 90(4): 504-510. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2008.07.028.

- [24] 于翠平, 查越, 吴凡, 等. 超微粉碎技术对蛋白质理化及功能性质影响的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 360-365.
- [25] VAZ L C, AREAS J A. Recovery and upgrading bovine rumen protein by extrusion: effect of lipid content on protein disulphide cross-linking, solubility and molecular weight[J]. Meat Science, 2010, 84(1): 39-45. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.08.010.
- [26] MULCAHY E M, FARGIER-LAGRANGE M, MULVIHILL D M, et al. Characterisation of heat-induced protein aggregation in whey protein isolate and the influence of aggregation on the availability of amino groups as measured by the ortho-phthaldialdehyde (OPA) and trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) methods[J]. Food Chemistry, 2017, 229: 66-74. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.01.155.
- [27] ZHANG Jinchuang, YING Danyang, WEI Yimin, et al. Thermal transition and decomposition properties of pH- and phosphate-induced defatted soybean meals[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2016, 128(2): 699-706. DOI:10.1007/s10973-016-5991-8.
- [28] LIU Y Q, HUANG Y Y, DENG X Q, et al. Effect of enzymatic hydrolysis followed after extrusion pretreatment on the structure and emulsibility of soybean protein[J]. Process Biochemistry, 2022, 116: 173-184. DOI:10.1016/j.procbio.2022.03.012.
- [29] LI Xianghong, CHENG Yunhui, YI Cuiping, et al. Effect of ionic strength on the heat-induced soy protein aggregation and the phase separation of soy protein aggregate/dextran mixtures[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 1015-1023. DOI:10.1016/j.foodhyd.2008.07.024.
- [30] WANG X F, HE Z Y, ZENG M M, et al. Effects of the size and content of protein aggregates on the rheological and structural properties of soy protein isolate emulsion gels induced by  $\text{CaSO}_4$ [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 130-138. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.10.019.
- [31] 王冬梅, 范志军, 安然, 等. 大豆蛋白热聚集体的结构表征[J]. 现代食品, 2020(10): 153-155. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2020.10.052.
- [32] LIN S, HUFF H, HSIEH F. Extrusion process parameters, sensory characteristics, and structural properties of a high moisture soy protein meat analog[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(3): 1066-1072. DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb09454.x.
- [33] HSIAO Y H, LU C P, KUO M I, et al. Coacervation of beta-conglycinin, glycinin and isoflavones induced by propylene glycol alginate in heated soymilk[J]. Food Chemistry, 2016, 200: 55-61. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.01.011.
- [34] ZHANG W, LI S J, ZHANG BO, et al. Relationships between the gelatinization of starches and the textural properties of extruded texturized soybean protein-starch systems[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 174: 29-36. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2015.11.011.
- [35] TAN S H, MAILER R J, BLANCHARD C L, et al. Emulsifying properties of proteins extracted from Australian canola meal[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 57(1): 376-382. DOI:10.1016/j.lwt.2013.12.040.