

文章编号 :1009 - 038X(2002)03 - 0239 - 05

小麦面筋蛋白质的乙酰化改性

张红印¹, 王兰², 席筠芳¹, 郑晓冬¹

(1. 浙江大学 食品科学与营养系, 浙江 杭州 310029; 2. 郑州工程学院 生物工程系, 河南 郑州 450052)

摘要: 采用乙酸酐对小麦面筋蛋白质进行乙酰化改性. 结果表明: 小麦面筋蛋白质乙酰化的最佳反应条件为面筋蛋白质质量分数 5%, 反应温度 35 ℃, 乙酸酐用量为小麦面筋蛋白质用量的 15%; 乙酰化改性后的面筋蛋白质, 溶解度、乳化能力和起泡能力均得到了提高, 乙酰化小麦面筋蛋白质对弱筋粉粉质特性的改善效果强于普通谷朊粉.

关键词: 小麦面筋蛋白; 乙酰化; 功能特性

中图分类号: TS 210.1

文献标识码: A

Modification of Wheat Gluten by Acylation

ZHANG Hong-yin¹, WANG Lan², XI Yu-fang¹, ZHENG Xiao-dong¹

(1. Food Science and Nutrition Department Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Biology Engineering Department Zhengzhou Institute of Technology, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: In this subject, acetic anhydride was used to modify the wheat gluten. The experiments showed that the optimal conditions of acylation of wheat gluten were [S] 5%, 35 ℃, and a ratio of 15% of acetic anhydride to wheat gluten. After acylation, the solubility, emulsifying activity, and foaming capacity of wheat gluten were improved much. The effect of modified wheat gluten on the intensification of weak biceps flour was improved.

Key words: Wheat gluten; acylation; functionality

小麦面筋蛋白质已作为改良剂用来改善食品品质, 特别是改善烘焙食品的物理性质以及饲料的粘着性和组织性. 但由于面筋蛋白质含有较多的疏水性氨基酸, 分子内疏水作用区域较大, 溶解性较低, 故限制了其在食品中的应用范围^[1]. 因此, 利用一定的生物化学手段改善面筋蛋白质的一些生物化学性质, 提高其功能特性, 可拓宽小麦面筋蛋白质的应用范围, 为中高档食品生产提供系列化的品质改良剂^[2].

对小麦面筋蛋白质进行改性有化学方法、物理

方法、基因工程法和生化方法(即酶促改性)等^[3], 其中化学改性是研究的热点. 化学改性的方法主要有蛋白质的水解作用、糖基化作用、磷酸化作用、酰化作用、脱氨作用、羧基的酯化作用, 蛋白质的交联等^[1].

国内对植物蛋白质改性研究起步较晚, 在利用酰化反应对小麦面筋蛋白质改性的研究方面尚未见相关报道, 为此, 作者对小麦面筋蛋白质的酰化改性进行了初步研究.

收稿日期: 2002-03-19; 修订日期: 2002-04-01.

作者简介: 张红印(1972-)男, 河南南阳人, 食品科学博士研究生, 讲师.

万方数据

1 材料与方法

1.1 实验材料

市售谷朊粉,乙酸酐、琥珀酸酐,上海化学试剂研究所提供。

1.2 主要仪器

85-1型恒温磁力搅拌器,常州国华仪器厂产品;JJ-1型电动搅拌器,江苏金坛中大仪器厂产品;7230型分光光度计,厦门分析仪器厂产品;TGL-IGC高速台式离心机,上海玻璃仪器厂产品;微量凯氏定氮仪,上海玻璃仪器厂产品;BRABENDER粉质仪,德国制造。

1.3 实验方法

1.3.1 谷朊粉水分含量测定 GB5479—85^[4]。

1.3.2 谷朊粉蛋白质含量测定 凯氏半微量定氮法 GB5511—85^[4]。

1.3.3 酰化小麦面筋蛋白质的制备方法 称取一定量谷朊粉(10 g)溶于水中,用1 mol/L NaOH调pH值(8.0~8.5),磁力搅拌或电动搅拌,分批加入酸酐,反应过程中用2 mol/L NaOH调节pH值(8.0~8.5),离心(3 000 r/min,10 min),鼓风干燥(45℃)粉碎,保存。

1.3.4 小麦面筋蛋白质酰化程度的测定 茚三酮法 Moore and Stein^[5,6]。

1.3.5 小麦面筋蛋白质溶解度的测定 双缩脲法^[5]。

1.3.6 小麦面筋蛋白质乳化度的测定^[7,8] 配制1%的面筋蛋白质溶液,取100 mL该溶液和100 mL大豆色拉油,在高速组织捣碎机中以1 000 r/min的速度搅打30 s,1 500 r/min离心5 min,记录乳化层的体积,乳化层的体积即表示小麦面筋蛋白质的乳化度值。

1.3.7 小麦面筋蛋白质起泡性及起泡稳定性的测定^[9] 准确称取2 g面筋蛋白质,加入100 mL水置于装料杯中,在高速组织捣碎机中搅打1 min,迅速倒入500 mL的量筒中,记录泡沫体积,此表示起泡能力大小,静置10 min后,再次测量泡沫体积,即知泡沫稳定性。

1.3.8 数据处理 在对酰化面筋蛋白质功能性的综合评价中,采用了综合溶解度、起泡性、起泡稳定性、乳化性指标的方法,通过数学建模中的层次分析法对试验数据处理,借助计算机,由Mathematica软件编程,得出产物各功能性综合评价值^[10]。

1.3.9 各有关因素对小麦面筋蛋白质酰化的影响

1) 底物质量分数的影响

取1%、3%、5%、8%、10%、15%六个质量分数梯度作试验,其它反应条件固定为:反应温度20℃,酰化试剂用量为谷朊粉的10%,酰化程度的测定用茚三酮法。酰化度用吸光度值反映,吸光度值越大,说明酰化程度越小。

2) 反应温度的影响

取20℃、25℃、30℃、40℃、45℃六个温度梯度作试验,其它反应条件固定为:谷朊粉质量分数5%,酰化试剂用量为谷朊粉的10%。

3) 酰化试剂用量的影响

取1%、3%、5%、10%、15%、20%六个用量梯度作试验,其它反应条件固定为:谷朊粉质量分数5%,反应温度20℃。

1.3.10 酰化小麦面筋蛋白质的流变学特性的测定 GB/T 14614—93.详见文献[4]。

2 结果与讨论

2.1 谷朊粉理化指标测定结果

按实验方法测谷朊粉理化指标,结果见表1。

表1 谷朊粉理化指标

Tab.1 The physical and chemical quality of wheat gluten

水分质量分数/%	蛋白质质量分数/%	溶解度/(mg/mL)	乳化度/mL	起泡性/mL	起泡稳定性/mL
5.1	64.18	0.3	10	100	50

2.2 谷朊粉质量分数对小麦面筋蛋白质乙酰化作用及产物功能性的影响

从表2可知,随着谷朊粉质量分数的增加,小麦面筋蛋白质的酰化程度不断提高。其原因可能是随着谷朊粉质量分数的增加,单位体积溶液中可参加反应的蛋白质分子数目增多,与酰化试剂碰撞的机率增加,反应速度加快;另外一个原因可能是随着谷朊粉质量分数的增加,溶液中水分活度降低,当向溶液中加入乙酸酐后,乙酸酐水解为乙酸的速度降低,因此溶液中的乙酸酐浓度相对较高,使小麦面筋蛋白质酰化反应速度加快。

随着谷朊粉质量分数的增加,小麦面筋蛋白质酰化程度的增大,产物的功能性综合评价指标先快速增加,而后趋于平稳,且有所下降,这说明乙酰化小麦面筋蛋白质功能性综合评价指标并不与酰化程度成正比,而是有一个适宜的酰化程度范围。在此范围内,产物的功能性较好。还可知,当谷朊粉质量分数在5%~10%之间时,产物的功能性综合评价价值较高。

表2 谷朊粉质量分数对小麦面筋蛋白质乙酰化作用及产物功能性的影响

Tab.2 The effect of wheat gluten concentration on the extent of modification and functionality of product

谷朊粉质量分数	酰化指数/吸光度)	溶解度/(mg/mL)	起泡性/mL	起泡稳定性/mL	乳化度/mL	综合评价归一化值)
1%	0.760	2.2	65	35	10.3	0.146875
3%	0.650	2.6	160	55	10.5	0.163685
5%	0.534	2.9	185	70	10.6	0.172833
8%	0.409	2.9	185	70	11	0.17716
10%	0.360	2.8	170	60	10.8	0.170805
15%	0.346	2.8	170	60	10.6	0.168642

2.3 反应温度对小麦面筋蛋白质乙酰化作用及产物功能性的影响

从表3可知,随着反应温度的增加,小麦面筋蛋白质的酰化程度不断提高.这符合一般化学反应温度与速度的规律.由于实验条件的限制,本试验没有做在更高温度下的酰化反应,但可以推测,当反应温度升高到一定程度时,小麦面筋蛋白质会因变性而聚集,从而失去反应活性,使酰化程度降低.

表3 反应温度对小麦面筋蛋白质乙酰化作用及产物功能性的影响

Tab.3 The effect of the temperature on the extent of modification and functionality of product

反应温度	酰化指数/吸光度)	溶解度/(mg/mL)	起泡性/mL	起泡稳定性/mL	乳化度/mL	综合评价归一化值)
20℃	0.789	1.3	65	25	10	0.137071
25℃	0.704	2.6	150	50	10.5	0.162506
30℃	0.663	3.5	195	90	11	0.18485
35℃	0.499	3.2	180	70	11	0.178167
40℃	0.355	3.2	170	65	10.8	0.173941
45℃	0.192	2.1	170	60	10.5	0.163466

随着反应温度的升高,小麦面筋蛋白质酰化程度不断增加,但产物的功能性综合评价值的变化并不与酰化程度的变化趋势一致,而是先几乎呈线形增加,而后缓慢降低.这说明在一定范围内,提高反应温度可增加产物的功能性,但当温度提高到一定程度时,再增高温度,产物的功能性反而有所下降.由表3还可以看出,反应温度在30~40℃之间时,产物的功能性综合评价值较高.

2.4 乙酸酐用量对小麦面筋蛋白质乙酰化程度及功能性的影响

从表4可以看出,随着乙酸酐用量的增加,小麦面筋蛋白质的乙酰化程度不断提高.这符合一般化学反应的规律,在一定的范围,增加乙酸酐的量,则酰化反应的速度会增加,小麦面筋蛋白质的乙酰化程度也会提高.

表4 乙酸酐用量对小麦面筋蛋白质乙酰化程度及功能性的影响

Tab.4 The effect of the anhydride usage on the extent of modification and functionality of product

乙酸酐用量	酰化指数/吸光度)	溶解度/(mg/mL)	起泡性/mL	起泡稳定性/mL	乳化度/mL	综合评价归一化值)
1%	0.700	1.4	140	40	10.1	0.151528
3%	0.650	2.8	150	45	10.3	0.159983
5%	0.594	3.5	175	75	10.5	0.175591
10%	0.564	4.9	170	60	10.8	0.177542
15%	0.543	2.7	170	60	10.6	0.170605
20%	0.373	2.5	160	55	10.4	0.164752

随着乙酸酐用量的增加,乙酰化程度的提高,乙酰化小麦面筋蛋白质的功能性综合评价值先快速增加,而后缓慢下降.当乙酸酐的添加量在5%~10%之间时,产物的功能性综合评价值较高.

2.5 乙酰化最佳作用条件的确定

因为本课题的研究目的是通过酰化改性,提高小麦面筋蛋白质的功能性,从而扩大小麦面筋蛋白质的应用范围.因此,在通过正交试验确定乙酰化反应的最佳条件时,应以产物的功能性为指标,而不以酰化程度为指标.在单因素试验中讨论了各反应条件对产物溶解度、起泡性、起泡稳定性及乳化性的影响.在食品生产中,人们往往考虑蛋白质的综合性能,而不是某一项具体性能,况且蛋白质的各项性能是相互关联的.因此,在考虑产物的功能性时,应以各功能性的综合评价为指标.由单因素试验的结果确定各因素的取值范围.选用正交表 $L_9(3^4)$ 制定正交试验的因素水平,见表5.

由表5~7可知:对小麦面筋蛋白质乙酰化改性效果最好的反应条件为: $A_1B_2C_3$,即蛋白质质量分数为5%,反应温度为35℃,酸酐用量为15%.极差分析可以看出谷朊粉质量分数对酰化产物功能性综合评价指标的影响最大,反应温度及酸酐用量的影响较小.

表5 正交试验因素水平

Tab.5 The level of every factor

实验号	谷朊粉质量分数 A	反应温度 B	乙酸酐用量 C	空白 D
1	1(5%)	1(30℃)	1(5%)	1
2	1(5%)	2(35℃)	2(10%)	2
3	1(5%)	3(40℃)	3(15%)	3
4	2(8%)	1(30℃)	2(10%)	3
5	2(8%)	2(35℃)	3(15%)	1
6	2(8%)	3(40℃)	1(5%)	2
7	3(10%)	1(30℃)	3(15%)	2
8	3(10%)	2(35℃)	1(5%)	3
9	3(10%)	3(40℃)	2(10%)	1

表6 正交实验结果

Tab.6 The results of orthogonal test

实验号	溶解度/(mg/mL)	起泡性/mL	起泡稳定性/mL	乳化度/mL	综合评价(归一化值)	排序
1	3.3	185	50	10.8	0.110709	3
2	4.7	195	75	12	0.127363	1
3	3.7	200	75	11.5	0.12402	2
4	2.8	180	60	10.5	0.108991	4
5	2.7	175	60	10.4	0.106966	6
6	3.4	170	55	10.5	0.106884	7
7	2.3	175	45	10.3	0.102155	9
8	2.2	175	50	11	0.105523	8
9	3.1	175	55	10.5	0.107389	5

表7 极差分析

Tab.7 The results of optimization

	谷朊粉质量分数	反应温度	酰化试剂用量
I	0.362092	0.321855	0.325064
II	0.32284	0.339852	0.336402
III	0.315067	0.338293	0.338534
R	0.047025	0.017997	0.01347

2.6 乙酰化小麦面筋蛋白质与谷朊粉功能性的比较及机理探讨

按正交试验最佳反应条件,制取乙酰化小麦面筋蛋白质,分别测定乙酰化小麦面筋蛋白质及谷朊粉的各项功能性,结果见表8。

表8 乙酰化小麦面筋蛋白质同谷朊粉功能性的比较

Tab.8 The functionality of acylated gluten and gluten

样品	溶解度/(mg/mL)	乳化度/mL	起泡性/mL	起泡稳定性/mL
谷朊粉	0.3	10	100	50
乙酰化小麦面筋蛋白质	4.84	12.5	195	75

从表8可以看出,小麦面筋蛋白质经乙酰化改性后,其溶解度、乳化度、起泡性能等各项功能性都得到了较大程度的提高。其原因在于,蛋白质的酰化作用是蛋白质分子的亲核基团(如氨基或羟基)与酰化试剂中的亲电子基团(如羰基)相互反应而引入新功能基的过程^[11]。小麦面筋蛋白质通过乙酰化改性在蛋白质的游离氨基上引入乙酰基($\text{CH}_3\text{—CO—}$)从而将蛋白质中的氨基阳离子用中性的乙酰基封闭,减弱了蛋白质分子间的静电引力,降低了蛋白质分子间的集聚作用,增加了蛋白质的水溶性,而其它功能性也随之增大^[12]。从各反应条件对小麦面筋蛋白质乙酰化作用及产物功能性的影响可以看出,乙酰化小麦面筋蛋白质的功能性综合评价值并不与其乙酰化程度成正比,当乙酰化程度低时,随着乙酰化度的提高,其功能性综合评价值也提高;但当乙酰化程度高到一定程度,再提高其乙酰化程度,其功能性综合评价值反而降低。其原因在于,当乙酰化度太高时,小麦面筋蛋白质的亲水性基团减少,且酰化引起的蛋白质构象改变会导致内部疏水性基团暴露,从而使面筋蛋白质的表面疏水性提高,水溶性降低,其它功能性也随之降低。

2.7 乙酰化小麦面筋蛋白质作为添加剂强化面粉试验

由表9看出,添加2%的谷朊粉或乙酰化小麦面筋蛋白质于低筋粉中,粉质测定结果表明,面粉的吸水量、面团形成时间、面团稳定时间均有部分提高,弱化度有所降低。说明即使在添加量很小的情况下,面团内部面筋的韧性、强度和弹性仍有所增强。把3号的粉质特性同2号的相比较可知,虽然2号各项指标较1号的有所提高,但除了面团形成时间大于3号的外,其它各项指标均小于3号的,而弱化度高于3号的。这说明酰化改性后,小麦面筋蛋白质的筋力较谷朊粉有所提高。这是由于酰化改性使面筋蛋白质分子引入了亲水性基团,从而增强了蛋白质分子对周围水分的吸引力,吸水后的湿面筋保持原有的活性及物理状态,具有粘弹性、延伸性等,其粘弹性、延伸性等性能与吸水能力有关^[13,14]。另一方面,酰化改性可提高面筋蛋白质的

溶解性,高溶解性的面筋蛋白质吸水后,能更好地与面粉中的蛋白质融为一体,对面筋网络结构强化充分,因此改良效果优于低溶解性的面筋蛋白质。

表 9 不同面筋蛋白质添加到面粉中后的粉质特性

Tab.9 The rheological properties of doughs added by different wheat gluten

样品	每百克的 吸水量/ mL	面团形 成时间/ min	面团稳 定时间/ min	弱化 度/Fu
1 普通面粉	66.98	5.4	4.2	135
2 添加 2% 谷朊粉 的面粉	67.68	7.2	4.4	130
3 添加 2% 乙酰化 面筋蛋白质的面粉	67.94	5.6	5.0	90

3 结 论

1) 小麦面筋蛋白质在进行酰化反应后,产物的

酰化程度、溶解度、起泡性、起泡稳定性及乳化性与谷朊粉质量分数、反应温度及酰化试剂用量之间存在着一定的关系。经单因素试验及正交试验,以产物功能性的综合评价为标准,最后确定乙酰化小麦面筋蛋白质制取的最佳工艺条件:谷朊粉质量分数 5%,反应温度 35℃,乙酸酐用量为谷朊粉质量的 15%;

2) 经乙酰化改性后,小麦面筋蛋白质功能性得到了较大的提高。

3) 用乙酰化小麦面筋蛋白质来强化低筋力的面粉,由于溶解度高,吸水后能更好地与面粉中的蛋白质融为一体,对面筋网络结构强化充分,其强化低筋力粉的效果优于普通面筋蛋白质。

参考文献:

- [1] 何慧如. 碱处理面筋功能性之探讨[J]. 食品科学, 1981, 19(2): 241-252.
- [2] 史新慧, 王兰. 小麦面筋蛋白改性的研究[J]. 郑州粮食学院学报, 2000(1): 27-28.
- [3] 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.
- [4] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000. 349-361.
- [5] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 119-124.
- [6] FRANZEN KAY L, KINSELLA JOHN E. Functional properties of succinylated and acetylated soy protein[J]. *J Agric Food Chem*, 1976, 24(4): 788-795.
- [7] 华欲飞, 顾玉兴. 功能性大豆浓缩蛋白的性能及应用研究[J]. 中国油脂, 1997, 22(1): 22-24.
- [8] 阚健全, 陈宗道, 杨辉, 等. 蛋白质溶液表面张力及其功能性质的关系[J]. 中国粮油学报, 1999, 14(5): 30-33.
- [9] 刘大川, 张立伟. 富硒菜籽分离蛋白的制备及功能特性的研究[J]. 中国油脂, 1994, 19(5): 14-18.
- [10] 左国超, 唐民刚. Mathematica 软件在学生素质测评中的应用[J]. 云南大学学报, 2001, 23(1): 13-15.
- [11] 李丹, 崔凯. 食品蛋白质的改性研究[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(6): 58-62.
- [12] GRUENER I, ISMOND M A H. Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin[J]. *Food Chem*, 1997, 60(4): 513-520.
- [13] PAULSON A T, TUNG M A. Solubility, hydrophobicity and net charge of succinylated canola protein isolat[J]. *J Food Sci*, 1987, 52(6): 1557-1561.
- [14] CZUCHAJOWAKA Z. Is wet gluten good for baking[J]. *Cereal Chem*, 1996, 73: 483-489.

(责任编辑: 秦和平)