

挤压温度对火麻蛋白理化、加工功能特性的影响

毕崇慧¹, 马雨心¹, 王莉¹, 李凡¹, 段玉敏^{1,2*}, 肖志刚¹, 王鹏^{1,3}

(1. 沈阳师范大学粮食学院, 沈阳 110034; 2. 沈阳师范大学实验中心, 沈阳 110034;
3. 渤海大学食品学院, 锦州 121000)

摘要: **目的** 探究不同挤压温度(60、80、100、120、140°C)对火麻蛋白的理化、加工功能特性的影响。**方法** 以火麻蛋白饼粕为原料, 经过挤压前处理后, 使用碱溶酸沉法从火麻蛋白饼粕中提取火麻蛋白, 测定其提取率、等电点、氮溶解指数、体外消化率、巯基和二硫键含量、持水性和持油性, 并利用傅里叶红外光谱、内源性荧光光谱、差式扫描量热仪、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳、扫描电镜对火麻蛋白进行表征。**结果** 挤压处理会导致火麻蛋白的提取率、体外消化率和游离巯基含量提高, 但在140°C时游离巯基含量降低, 等电点、持水性、总巯基和二硫键含量均有所下降, 随着挤压温度的升高, 火麻蛋白的氮溶解指数先下降再升高后下降, 持油性先降低后升高; 傅立叶红外光谱和内源性荧光光谱结果表明挤压不会引起火麻蛋白生成新的吸收峰, 挤压温度的升高会使其荧光强度先增加后减少; 差式扫描量热仪结果表明在挤压温度为120°C时, 火麻蛋白氢键断裂, 热焓值升高; 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳结果显示挤压处理使火麻蛋白形成了大的聚集体, 条带较未挤压的火麻蛋白颜色变浅; 观察扫描电镜发现挤压处理导致火麻蛋白表面孔隙减小, 并且随着挤压温度的升高逐渐形成了致密的熔融结构。**结论** 挤压膨化会对火麻蛋白的理化、加工功能特性产生一定的影响, 本研究可为火麻蛋白的深加工提供理论依据。

关键词: 火麻蛋白; 挤压膨化; 理化性质; 加工功能性质

Effects of extrusion temperature on physical, chemical and processing functional properties of hemp protein

BI Chong-Hui¹, MA Yu-Xin¹, WANG Li¹, LI Fan¹, DUAN Yu-Min^{1,2*},
XIAO Zhi-Gang¹, WANG Peng^{1,3}

(1. College of Food Academy, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China; 2. College of Experimental Center, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China; 3. College of Food Academy, Bohai University, Jinzhou 121000, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different extrusion temperatures (60, 80, 100, 120, 140°C) on the physical, chemical and processing functional properties of hemp protein. **Methods** The hemp protein was extracted from the hemp protein meal by alkaline solution and acid precipitation after pre-extrusion treatment. The extraction rate,

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2019-ZD-0489)、沈阳市粮油深加工重点实验室课题基金资助项目(2023001、2023009)、沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目(RC210305)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation Project of Liaoning Province (2019-ZD-0489), the Project Fund of Shenyang Key Laboratory of Grain and Oil Deep Processing (2023001, 2023009), and the Shenyang Young and Middle-aged Science and Technology Innovation Talents Support Program (RC210305)

***通信作者:** 段玉敏, 教授, 主要研究方向为粮食油脂及植物蛋白工程。E-mail: 1457088955@qq.com

***Corresponding author:** DUAN Yu-Ming, Professor, College of Experimental Center, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China. E-mail: 1457088955@qq.com

isoelectric point, nitrogen dissolution index, *in vitro* digestibility, content of sulfhydryl and disulfide bonds, water and oil retention were determined. The hemp protein was characterized by Fourier transform infrared, endogenous fluorescence spectroscopy, differential scanning calorimeter, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and scanning electron microscope. **Results** Extrusion treatment could increase the extraction rate, *in vitro* digestibility and free sulfhydryl group content, but decrease the free sulfhydryl group content at 140°C, and the isoelectric point, water holding capacity, total sulfhydryl group and disulfide bond content decreased. With the increase of extrusion temperature, the nitrogen dissolution index of hemp protein first decreased, then increased, and then decreased, and the oil retention index first decreased and then increased. The results of Fourier transform infrared and endogenous fluorescence spectra showed that the extrusion did not cause new absorption peaks, and the fluorescence intensity increased first and then decreased with the increase of extrusion temperature. The results of differential scanning calorimeter showed that the hydrogen bond of hemp protein was broken and the enthalpy value increased when the extrusion temperature was 120°C. The results of sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis showed that large aggregates of hemp protein were formed by extrusion treatment, and the bands were lighter than those of unextruded hemp protein. Scanning electron microscopy showed that the surface pores of hemp protein were reduced by extrusion treatment, and a dense melting structure was formed gradually with the increase of extrusion temperature. **Conclusion** Extrusion and expansion can affect the physical, chemical and processing functional properties of hemp protein to some extent, this study can provide a theoretical basis for further processing of hemp protein.

KEY WORDS: hemp protein; extrusion and expansion; physical and chemical properties; processing functional properties

0 引言

火麻又称大麻, 是一种药食同源的草本植物, 根据四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol, THC)的含量, 火麻可以分为工业火麻(THC<0.3%)和火麻(THC>0.3%)^[1], 火麻的果实称为火麻仁。研究表明, 火麻仁含有 20%~25%蛋白质、20%~35%油脂、20%~30%碳水化合物以及 10%~15%不溶性纤维和丰富的钙、铁、钠、镁、锌等矿物质, 具有降血糖、润肠通便等作用^[2]。随着人们对大麻接受度的提高, 以及生长周期短、培育成本低、可再生资源等自身特点, 大麻已经被广泛应用于造纸、纺织、复合材料、生物燃料和食品工业中^[3]。

近年来, 各国开始重视资源的可持续开发, 包括蛋白资源和其他低值蛋白资源的利用。大豆蛋白、小麦蛋白等相继被发现具有多种可利用价值并成功产业化。然而, 火麻蛋白是目前尚未被充分利用的一类低值优质蛋白资源。XU 等^[4]研究发现相比于大豆、豌豆、乳清和鸡蛋蛋白, 火麻蛋白的精氨酸水平最高, 并且结构紧密疏水性强, 但其蛋白总含量和氨基酸含量最低, 需要对火麻蛋白进行适当的修饰和处理才能加以利用。WANG 等^[5]指出火麻蛋白的氨基酸组成(除赖氨酸与含硫氨基酸外)符合联合国粮食及农业组织提出的膳食要求, 且火麻蛋白更易于消化, 是一种优质的人类蛋白摄入来源。在火麻蛋白的生理功能方面, 丛涛等^[6]通过给大鼠喂食不同的蛋白与火麻蛋白形成对照, 以此来观察不同蛋白对大鼠生理功能的影响。通过喂食实

验后, 发现火麻蛋白具有调节血糖、促进脑组织发育以及减肥等作用。因此, 需要对其加工特性进行深入研究, 充分利用火麻蛋白这一优质资源。

火麻蛋白的提取有挤压膨化法、碱溶酸沉法、酶解法、盐溶盐析法、喷射蒸煮技术、亚临界萃取工艺、超声辅助有机溶剂法等^[7], 其中挤压膨化法是常见的食品改性和加工方法^[8], 但关于挤压膨化法提取火麻蛋白, 以及对其蛋白质提取率、理化和加工功能特性的研究还鲜有报道。陈莹^[9]将脱脂火麻仁饼粕和小麦淀粉混合后, 通过研究挤压过程中的加水量、挤压温度、螺杆转速、喂料速度对组织化火麻仁蛋白的影响, 优化后得到最佳挤压工艺参数, 并且品质优于市售的组织化蛋白。LEONARD 等^[10]在较低的水分含量(30%)和较高的螺杆转速(300 r/min)下, 对大麻籽油饼粕进行挤压, 发现挤压显著增加了游离多酚、类黄酮、苯丙酰胺含量的比例, 但抑制了 α -葡萄糖苷酶和乙酰胆碱酯酶的活性。本研究利用挤压膨化作为前处理, 结合碱溶酸沉法从火麻饼粕中提取火麻蛋白, 为探究火麻蛋白的最佳挤压温度, 控制水分含量、螺杆转速、喂料速度等条件一定, 并比较挤压温度对提取火麻蛋白的理化、加工功能特性的影响, 以期为以后火麻蛋白的挤压加工奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

火麻蛋白饼粕[水分含量 \leq 12%; 灰分含量 4.88%; 蛋

白质含量(干基)60.3%; 脂肪含量 19.5%; 膳食纤维含量 8.9%, 辽宁俏牌生物科技有限公司]。

胃蛋白酶(酶活 ≥ 250 U/mg)、胰蛋白酶(酶活 1:250)、Tris、甘氨酸、乙二醇四乙酸、盐酸胍(分析纯)(上海麦克林生物科技有限公司); 氢氧化钠、硼酸、盐酸、硫酸铜、硫酸钾、三氯乙酸(分析纯, 天津市瑞金特化学品有限公司); 预染蛋白双色 Marker (10~250 kDa, 上海百赛生物技术股份有限公司); 聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)凝胶制备试剂盒(北京博迈德基因技术有限公司); 大豆油(九三非转基因大豆油)。

1.2 仪器与设备

BSA224S-CW Max220g 天平[精度 0.1 mg, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; 9FZ-20型爪齿粉碎机(四川东工电机有限公司); UVTE-36 双螺杆挤压机(长沙创享食品科技有限公司); LXJ-IIB 低速离心机(上海安亭科学仪器厂); HH-6 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); L-200 冷冻干燥机(瑞士 BUCHI 有限公司); SKD-200 凯氏定氮仪(上海沛欧分析仪器有限公司); PW-70 台式全温振荡培养箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司); RT10 磁力搅拌器(德国 IKA 公司); UV1800-型紫外分光光度计(上海美普达仪器有限公司); Nicoletteis50 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); Q20 差式扫描量热仪(differential scanning calorimeter, DSC)(美国 TA 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 挤压膨化实验的设计

首先将火麻蛋白饼粕进行粉碎过 80 目筛, 然后将火麻蛋白饼粕粉进行挤压膨化处理, 挤压参数设置为: 水分含量为 24%、转速为 220 r/min、喂料速度为 10 kg/h, 挤压膨化区域的机筒温度分别为 60、80、100、120、140°C, 挤压后的膨化物料置于 50°C 烘箱中干燥, 然后粉碎过 80 目筛, 得到挤压的火麻蛋白饼粕粉, 未进行挤压处理的火麻蛋白饼粕粉作为对照。

1.3.2 火麻蛋白的提取

参照卫萍等^[11]的火麻蛋白提取工艺并稍加修改, 称取 250 g 样品, 以 1:10 的料液比加入蒸馏水, 充分搅拌, 用 1.0 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 到 10, 于 50°C 下水浴 1 h, 然后 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 用 1.0 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 到 5.5, 并在 2800 r/min 搅拌 1 h, 再 4000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀物, 加水搅拌后将 pH 调为 7, 然后冷冻干燥, 得到火麻蛋白。

1.3.3 蛋白质提取率的测定

分别取 0.2 g 火麻蛋白饼粕粉和提取的火麻蛋白样品, 采用凯氏定氮法测定蛋白质含量。计算公式如式(1)。

$$\text{蛋白质提取率}/\% = \frac{\text{提取样品的蛋白质含量} - \text{原料中蛋白质的含量}}{\text{原料中蛋白质的含量}} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.4 蛋白质等电点的测定

称取一定量的样品, 以 1:10 的料液比加入蒸馏水后, 在水浴锅中以 50°C 浸提搅拌 1 h, 以 4000 r/min 离心 15 min, 保留上清液, 分别将 pH 调节至 3.5、4.5、5.5、6.5、7.5, 再以 4000 r/min 离心 15 min, 收集沉淀, 用凯氏定氮法测定蛋白质含量, 蛋白质含量最多的即为蛋白质的等电点。

1.3.5 氮溶解指数的测定

根据赵城彬等^[12]所述的方法稍加修改, 取 0.3 g 样品, 加入 6 mL 蒸馏水, 涡旋混合 10 s 后, 于 20°C 振荡培养 30 min, 然后将溶液于 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液用凯氏定氮法测定蛋白含量, 计算公式如式(2)。

$$\text{氮溶解指数}/\% = \frac{\text{上清液中蛋白质含量}}{\text{样品中总的蛋白质含量}} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 蛋白质体外消化率的测定

根据刘文华等^[13]所述的方法稍加修改, 取 1.0 g 样品, 加入 80 mL pH 为 1.5 的盐酸溶液, 再加入 0.01 g 胃蛋白酶于 39°C 下水浴搅拌 2 h, 然后将溶液 pH 调至中性, 加入 0.01 g 胰蛋白酶于 39°C 下水浴搅拌 2 h, 于 8000 r/min 离心 15 min, 取上清液用凯氏定氮法测定蛋白质含量。计算公式如式(3):

$$\text{蛋白质消化率}/\% = \frac{n_1}{n_2} \times 100\% \quad (3)$$

式中, n_1 为消化后上清液中蛋白质的含量(%); n_2 为未消化时蛋白质的含量(%)。

1.3.7 巯基和二硫键的测定

参照罗明江等^[14]的 Ellman's 试剂比色法测定巯基和二硫键含量。

1.3.8 持水性的测定

根据 KAMARA 等^[15]所述方法的方法稍作修改测定持水性。取 0.2 g 样品, 加入 10 mL 蒸馏水, 于 20°C 振荡培养 30 min 后, 于 4000 r/min 离心 15 min, 去除上清液, 测定沉淀质量。计算公式如式(4):

$$\text{持水性}/(\text{g/g}) = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \quad (4)$$

式中: M_1 表示样品的重量(g); M_2 表示沉淀物的重量(g)。

1.3.9 持油性的测定

根据高瑜璇^[16]所述的方法稍作修改, 取 0.2 g 样品, 加入 10 mL 大豆油, 于 20°C 振荡培养 30 min 后, 4000 r/min 离心 15 min, 用移液枪吸取上清液, 测定沉淀质量。计算公式如式(5):

$$\text{持油性}/(\text{g/g}) = \frac{M'_2 - M'_1}{M'_1} \quad (5)$$

式中: M'_1 表示样品的重量(g); M'_2 表示沉淀物的重量(g)。

1.3.10 傅里叶红外光谱的测定

根据王丽爽等^[17]所述的方法稍加修改, 取适量冻干后的样品覆盖在 ATR-FTIR 金属探测器表面, 以 4 cm^{-1} 的分辨率进行 64 次扫描, 记录 400~4000 cm^{-1} 范围内的谱图。

1.3.11 热分解特性的测定

用 DSC 测定样品的热分解特性, 取 5 mg 冷冻干燥后的样品, 密封于固体铝盘中, 用空气作为对照, 在 25~180°C 的温度范围内以 10°C/min 的升温速率加热, N₂ 流量为 20 mL/min。

1.3.12 内源荧光光谱的测定

根据徐鹏伟^[18]所述的方法稍加修改。将 0.2 g 待测样品加入到 20 mL 磷酸钠缓冲溶液(0.1 mol/L)中, 于 20°C 振荡培养 30 min 后, 9000 r/min 离心 15 min, 取上清液后用磷酸钠缓冲溶液稀释 4 倍, 在荧光分光光度计上记录荧光光谱, 激发波长设置为 275 nm, 发射波长为 290~450 nm。

1.3.13 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定

根据陈莹等^[19]所述的方法稍加修改, 将 6 mg 样品加入到 1 mL 蒸馏水中, 采用微型凝胶电泳系统, 每道上样 10 μL。将电流调为 20 mA, 电压恒定在 80 V。先用固定液进行固定 2 h, 采用考马斯亮蓝染色 4 h, 然后用脱色液进行脱色, 每隔 2 h 换一次脱色液, 至背景变为透明能清晰看到条带为止。

1.3.14 扫描电镜分析

根据 XIAO 等^[20]所述的方法稍加修改, 用导电双面胶带将样品固定在样品台上, 吹掉多余的样品, 在真空环境下将金箔喷涂在样品表面, 在 3 kV 条件下分别放大至 40 倍后对样品的表面形态进行观察。

1.4 数据处理

实验平行测定 3 次, 数据结果取平均值±标准偏差。采用 SPSS 27.0 软件对实验数据进行统计处理, 利用 Origin 2021 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 挤压膨化对火麻蛋白理化特性的影响

从表 1 可以看出, 挤压膨化处理(挤压温度为 100°C)对火麻蛋白的提取率、等电点、消化率都有一定的影响。挤压后火麻蛋白的提取率增加了 33.01%, 原因可能是在挤压时的水分含量和螺杆转速适宜的条件下, 火麻蛋白没有长时间停留在挤压机内, 所以并没有导致蛋白质剧烈变性, 当挤出物遇到空气瞬间膨化时会有助于蛋白质的释放, 同时由于挤压时物料中的水分从液态转化为气态, 会留下很多孔隙, 这有助于后续碱溶酸沉提取火麻蛋白时碱液的渗入, 从而提高了火麻蛋白的提取率^[21]。挤压前火麻蛋白的等电点为 6.5, 挤压后火麻蛋白的等电点下降至 4.5, 这可能是因为蛋白的结构在挤压作用下被破坏, 各种氨基酸出现不同程度的损失, 氨基酸比例发生变化, 从而导致等电点发生改变^[22]。火麻蛋白的消化率较挤压前增加了 2.71%, GAO 等^[23]和 LEONARD 等^[24]也发现了类似的结果, 这可能是由于挤压处理后蛋白酶的作用位点增多, 促进了蛋白消化的发生, 但另一方面, 蛋白质聚集体的形成也会导致

火麻蛋白溶解度的下降, 这两种相反的作用使得挤压火麻蛋白的消化率虽有所增加, 但增加程度不大^[25]。

表 1 火麻蛋白挤压前后提取率、等电点、消化率的变化
Table 1 Changes in extraction rate, isoelectric point and digestibility of hemp protein before and after extrusion

理化特性	提取率/%	等电点	消化率/%
挤压前火麻蛋白	24.87±0.96	6.5±0.00	67.13±0.24
挤压后火麻蛋白	33.08±0.81**	4.5±0.00**	68.95±1.13*

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$)。

2.2 挤压温度对火麻蛋白氮溶解指数的影响

由图 1 可知, 挤压后火麻蛋白的氮溶解指数下降, 这是因为蛋白质在挤压过程中经过高温、高压、高剪切的作用而形成了不溶性的聚集体, 从而使得蛋白质的溶解性下降^[26]。随着挤压温度的升高, 氮溶解指数先减少再增加后减少, 在 120°C 时达到最高为 7.12%±0.39%, 这可能是因为随着挤压温度的升高, 蛋白质结构被破坏, 一些小分子物质和氨基酸残基解离出来, 从而使挤压后的蛋白质的溶解性提高^[27]。在 140°C 时氮溶解指数达到最低为 4.06%±1.16%, 这时火麻蛋白完全变性。

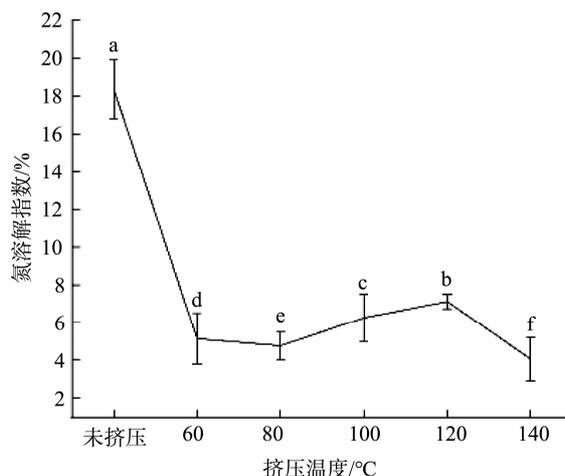


图 1 挤压温度对火麻蛋白氮溶解指数的影响

Fig.1 Effects of extrusion temperature on the nitrogen solubility index of hemp protein

2.3 挤压温度对火麻蛋白中巯基和二硫键的影响

根据研究表明, 挤压温度是影响巯基和二硫键的一个重要因素, 而巯基和二硫键含量的变化与蛋白质的结构变化有关^[16]。如表 2 所示, 挤压后, 总巯基和二硫键含量发生下降, 但游离巯基含量有所提高(除外的是: 在 140°C 时游离巯基含量降低), 这可能是因为挤压的过程中二硫键断裂, 转化为巯基与游离巯基, 使其含量增加, 但挤压作用的破坏力又会使巯基和游离巯基分解, 所以巯基含量总体减少^[16]。随着挤压温度的升高, 二硫键含量先减少后增加, 这可能是因为挤压剪切的作用下巯基基团暴露, 与空气接触后发生氧化, 从而形成新的二硫键^[28]。

表2 挤压温度对火麻蛋白中巯基和二硫键的影响
Table 2 Effects of extrusion temperature on sulfhydryl group and disulfide bond of hemp protein

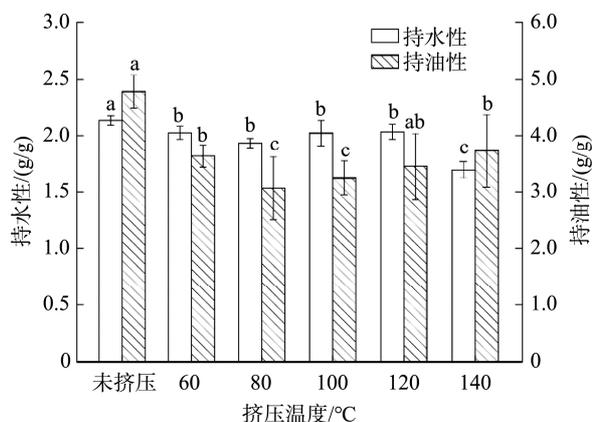
挤压温度 /°C	总巯基含量 /($\mu\text{mol/g}$)	游离巯基含量 /($\mu\text{mol/g}$)	二硫键含量 /($\mu\text{mol/g}$)
未挤压	42.44±3.74 ^{ab}	34.39±2.77 ^{bc}	4.03±2.89 ^a
60	42.01±4.78 ^{ab}	34.80±5.46 ^{abc}	3.61±4.23 ^{ab}
80	39.34±2.56 ^b	37.10±4.73 ^{ab}	1.12±4.67 ^b
100	41.32±6.43 ^a	37.18±3.53 ^{ab}	2.07±2.30 ^{ab}
120	41.96±2.57 ^{ab}	38.91±4.21 ^a	3.05±3.56 ^a
140	38.94±4.91 ^{ab}	31.50±5.76 ^c	3.72±2.31 ^{ab}

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

2.4 挤压温度对火麻蛋白加工功能特性的影响

不同挤压温度对火麻蛋白持水和持油性的影响如图2所示。未经过挤压的火麻蛋白持水性为(2.14±0.04) g/g, 挤压后其持水性显著降低($P<0.05$), 在温度为140°C、水分含量为24%、螺杆转速为220 r/min时, 持水性最低为(1.69±0.07) g/g, 这可能是因为挤压时蛋白质的结构被破坏, 持水能力降低并且随着挤压程度的加深, 蛋白质熔融体形成, 蛋白质间的结构变得紧密, 截留水分的孔隙变少, 所以当温度为140°C时, 火麻蛋白的持水性最低^[29]。

挤压后火麻蛋白的持油性降低, 并且随温度的升高先下降后增加, 在挤压温度为80°C时, 火麻蛋白的持油性达到最低为(3.06±0.56) g/g, 较未挤压的火麻蛋白下降了35.98%。这是因为经过挤压后蛋白质内部的化学键断裂, 氨基酸极性发生改变, 使得蛋白质的持油性发生改变^[30]。同时挤压后形成了致密的蛋白结构, 使油脂和蛋白质的接触减少, 这也是火麻蛋白持油性下降的原因。随着挤压温度的升高, 蛋白质内部的疏水基团暴露, 与油脂的相互作用增强, 所以火麻蛋白的持油性有所增加。



注: 不同字母表示同一特性之间具有显著性差异($P<0.05$)。

图2 挤压温度对火麻蛋白持水、持油性的影响

Fig.2 Effects of extrusion temperature on the water-holding and oil-holding properties of hemp protein

2.5 傅里叶红外光谱分析结果

图3为挤压前后火麻蛋白在400~4000 cm^{-1} 的傅里叶红外

光谱图谱, 所有样品均具有蛋白质酰胺I带(1600~1700 cm^{-1})、酰胺II带(1500~1600 cm^{-1})、酰胺III带(1200~1300 cm^{-1})的特征峰。挤压火麻蛋白在酰胺I带1642 cm^{-1} 处的特征峰消失, 酰胺II带峰和酰胺III带峰分别从1531 cm^{-1} 和1234 cm^{-1} 处蓝移到1529 cm^{-1} 和1232 cm^{-1} 处, 这主要是由于N-H、C-N、C-C键收缩振动引起的。在挤压火麻蛋白结构中并没有形成新的吸收谱带, 表明挤压后蛋白没有形成新的酰胺键, 这与朱燕丽等^[29]的研究结果一致。

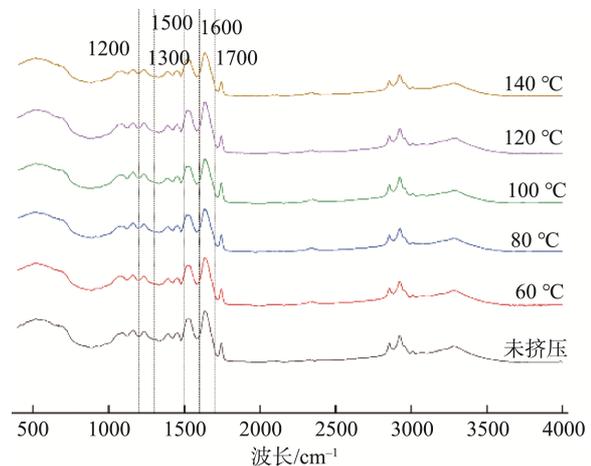


图3 不同挤压温度下火麻蛋白的傅里叶红外光谱图

Fig.3 Fourier infrared spectra of hemp protein at different extrusion temperatures

2.6 挤压温度对火麻蛋白热力学性质的影响

采用DSC表征不同挤压温度下火麻蛋白的热力学特性, 并比较了不同挤压温度下火麻蛋白的变性温度和热焓值。如表3所示, 未挤压火麻蛋白的变性温度为(127.66±1.89)°C, 热焓值为(73.89±3.99) J, 变性温度越大表示蛋白发生变性时所需温度越高, 蛋白质的热稳定性越好, 挤压后, 在挤压温度为60~100°C时火麻蛋白的变性温度发生下降, 这可能是因为挤压作用影响了火麻蛋白分子间作用力的强弱, 进而导致火麻蛋白的热特性有所改变^[31]。在挤压温度为120°C和140°C时挤压火麻蛋白的热焓值升高, 超过了未挤压的火麻蛋白, 这是因为分子间氢键作用力比较大, 挤压时受到剪切的作用力, 氢键断裂, 吸热反应加强, 所以热焓值升高^[32]。

表3 挤压温度对火麻蛋白热力学性质的影响
Table 3 Effects of extrusion temperature on thermodynamic properties of hemp protein

挤压温度/°C	变性温度/°C	热焓值/J
未挤压	127.66±1.89 ^c	73.89±3.99 ^c
60	126.57±1.28 ^c	70.63±4.27 ^c
80	125.93±2.67 ^c	67.95±2.68 ^d
100	121.05±2.98 ^d	58.56±1.65 ^c
120	141.99±3.22 ^a	116.8±5.41 ^a
140	130.19±1.95 ^b	102.4±2.37 ^b

2.7 内源性荧光光谱分析结果

内源性荧光光谱反映了蛋白质空间构象的变化, 其荧光强度的强弱与蛋白质内部的发色基团有关, 发色基团越多, 荧光强度越大^[33]。如图 4 所示, 经过挤压后, 火麻蛋白的荧光强度随着挤压温度的升高呈先上升后下降的趋势, 在温度为 120°C 和 140°C 时均出现蓝移, 与持水性和巯基含量的结果相一致, 这可能是由于经过挤压后蛋白质结构被破坏, 导致疏水基团暴露、巯基含量减少、持水性降低, 因而荧光强度减弱。未经过挤压处理的火麻蛋白的最高荧光强度对应的发射波长(λ_{max})为 325 nm, 经过不同的挤压温度处理后, 在 60、80、100、120、140°C 时 λ_{max} 分别为 321、326、329、328、328 nm, 部分挤压温度的 λ_{max} 出现红移现象, 这可能是由于挤压导致蛋白质的三级或四级结构发生改变, 色氨酸残基暴露, 使得发射波长变大^[17]。

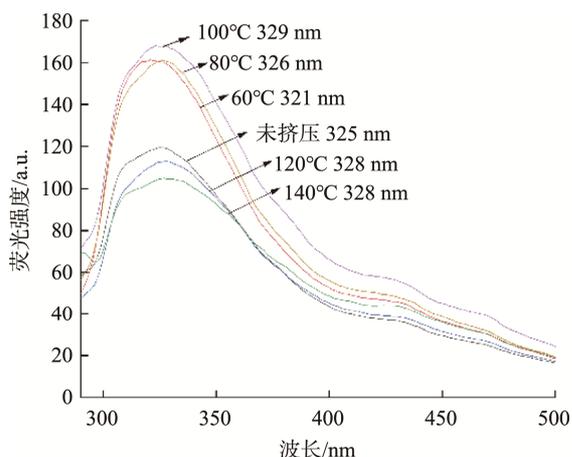
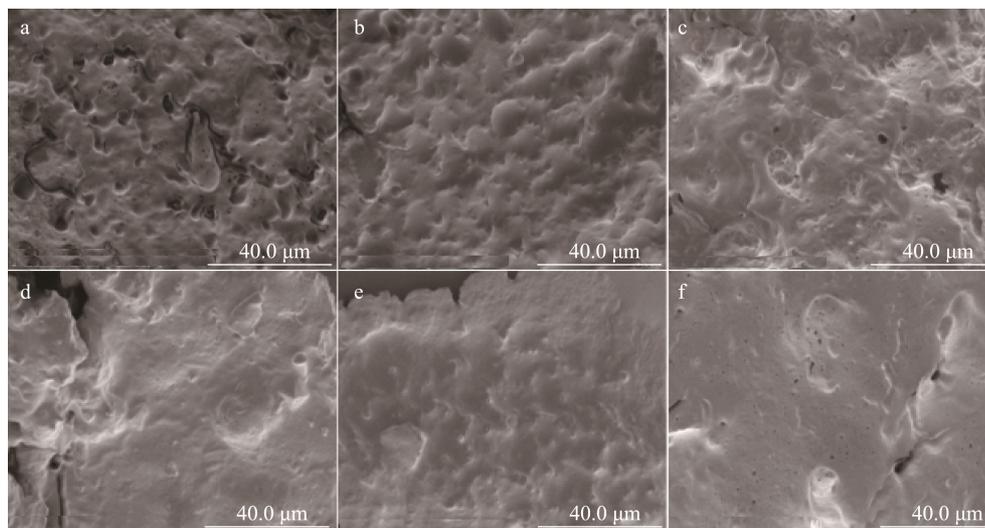


图4 不同挤压温度下火麻蛋白的内源性荧光光谱图
Fig.4 Endogenous fluorescence spectras of hemp protein at different extrusion temperatures



注: a为未挤压的火麻蛋白扫描电镜图; b-f分别代表挤压温度为60、80、100、120、140°C下提取的火麻蛋白扫描电镜图。

图6 不同挤压温度下火麻蛋白的扫描电镜图
Fig.6 Scanning electron microscopy image of hemp protein at different extrusion temperatures

2.8 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析结果

火麻蛋白主要由清蛋白和球蛋白组成, 其中清蛋白占蛋白含量的 75%, 分子量约为 50 kDa, 球蛋白占蛋白含量的 25%, 分子量低于 20 kDa^[34]。从图 5 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳图中可以看出, 经过挤压处理后提取的蛋白质大分子量和小分子量的条带颜色均变浅, 这可能是因为挤压后蛋白质形成了熔融态的聚集体, 这与扫描电镜的结果一致, 大分子量的聚集体没有被还原剂提取, 因而条带颜色变浅; 此外, 经过挤压后, 一些小分子量的亚基也可能被破坏, 在缓冲溶液中被洗脱, 因而小分子量的条带颜色也变浅^[35]。

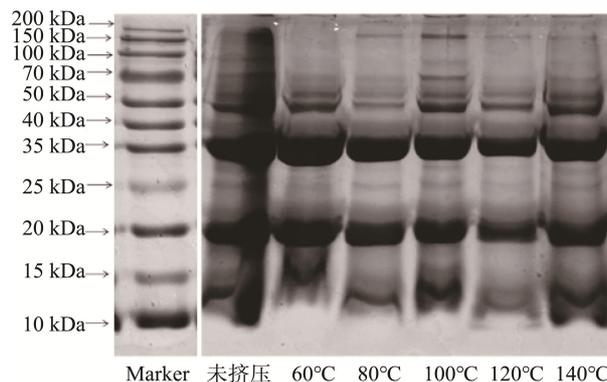


图5 不同挤压温度下火麻蛋白的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳谱图
Fig.5 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis spectra of hemp protein at different extrusion temperatures

2.9 扫描电镜分析结果

从图 6a 中可以看出, 从未挤压的火麻蛋白饼粕中提取的火麻蛋白表面有很多孔洞, 而从图 6b-f 可以看出, 经过

不同挤压温度处理后的火麻蛋白逐渐出现熔融状态, 表面孔隙减少, 并且变得光滑平整, 出现了致密的微观结构^[17]。

3 结 论

本研究以火麻蛋白饼粕为原料, 经过挤压前处理后, 使用碱溶酸沉法从火麻蛋白饼粕中提取火麻蛋白, 比较了不同挤压温度对提取的火麻蛋白理化和加工功能特性的影响。研究结果表明挤压后火麻蛋白的提取率和消化率有所提高, 傅里叶红外光谱结果显示挤压前后火麻蛋白没有新的酰胺键形成, 这表明挤压加工适用于火麻蛋白。扫描电镜观察到随着挤压温度的升高, 火麻蛋白逐渐形成了致密的微观结构, 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳也表明挤压后火麻蛋白形成了不溶性聚集体, 这导致了火麻蛋白氮溶解指数、持水性和持油性的下降。并且由于挤压处理的破坏作用, 火麻蛋白的等电点、总巯基、二硫键含量均下降, 游离巯基含量增加(除外的是: 在 140°C 时游离巯基含量降低), 氢键断裂, 疏水基团暴露; 综上所述, 在挤压温度为 100°C, 还未完全经过高温膨化时, 为火麻蛋白的最适挤压温度。本研究并未深入揭示挤压膨化过程中火麻蛋白结构和加工功能特性改变的机制, 还需进一步研究。

参考文献

- [1] AHMED ATMF, ZAHIDUL MI, SULTAN MM, *et al.* Hemp as a potential raw material toward a sustainable world: A review [J]. *Heliyon*, 2022, 8(1): e08753.
- [2] SACILIK K, ÖZTÜRK R, KESKIN R. Some physical properties of hemp seed [J]. *Biosyst Eng*, 2003, 86(2): 191–198.
- [3] CHEN C, PAN Z. Cannabidiol and terpenes from hemp-ingredients for future foods and processing technologies [J]. *J Future Foods*, 2021, 1(2): 113–127.
- [4] XU Y, SISIMOUR E, BRITLAND JW, *et al.* Physicochemical, structural, and functional properties of hemp protein vs several commercially available plant and animal proteins: A comparative study [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 2(10): 1672–1680.
- [5] WANG XS, TANG CH, YANG XQ, *et al.* Characterization, amino acid composition and *in vitro* digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins [J]. *Food Chem*, 2008, 107(1): 11–18.
- [6] 丛涛, 江雪媛, 赵霖, 等. 火麻仁蛋白质粉对生长期大鼠营养生理功能的影响研究[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(2): 60–69.
CONG T, JIANG XY, ZHAO L, *et al.* Effects of hemp seed protein powder on nutritional physiological function in growing rats [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2011, 11(2): 60–69.
- [7] 齐丽颖, 郭倩, 赵明, 等. 火麻仁蛋白及多肽提取工艺研究进展[J]. *高师理科学刊*, 2022, 42(12): 61–63, 85.
QI LY, GUO Q, ZHAO M, *et al.* Research progress on extraction technology of hemp seed protein and polypeptide [J]. *J Sci Teach Colg Univ*, 2022, 42(12): 61–63, 85.
- [8] 施建斌, 隋勇, 熊添, 等. 葛根全粉挤压膨化棒工艺优化及其品质分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(16): 250–258.
SHI JB, SUI Y, XIONG T, *et al.* Process optimization and quality analysis of Kudzu all-powder extruded rod [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(16): 250–258.
- [9] 陈莹. 脱脂火麻仁粕挤压性质研究及产品开发[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
CHEN Y. Research on extrusion properties and product development of defatted sesame seed meal [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [10] LEONARD W, ZHANG P, YING D, *et al.* Effect of extrusion technology on hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil cake: Polyphenol profile and biological activities [J]. *J Food Sci*, 2021, 86(7): 3159–3175.
- [11] 卫萍, 游向荣, 张雅媛, 等. 响应面法优化火麻蛋白提取工艺研究[J]. *中国油脂*, 2016, 41(5): 24–29.
WEI P, YOU XR, ZHANG YY, *et al.* Study on optimization of protein extraction process of hemp by response surface method [J]. *China Oils Fats*, 2016, 41(5): 24–29.
- [12] 赵城彬, 张浩, 刘景圣. 挤压温度对膨化豆粕品质及蛋白质结构的影响[J]. *中国油脂*, 2017, 42(7): 45–49.
ZHAO CB, ZHANG H, LIU JS. Effects of extrusion temperature on quality and protein structure of extruded soybean meal [J]. *China Oils Fats*, 2017, 42(7): 45–49.
- [13] 刘文华, 张晖, 钱海峰, 等. 挤压对果蔬谷物早餐组分的变化研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(1): 66–69, 73.
LIU WH, ZHANG H, QIAN HF, *et al.* Squeeze the change of components of fruit and vegetable breakfast cereals research [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(1): 66–69, 73.
- [14] 罗明江, 罗春霞, 吴赣香. Ellman's 试剂比色法测定食品中蛋白质的巯基和二硫键[J]. *郑州粮食学院学报*, 1986, (1): 92–95.
LUO MJ, LUO CX, WU GX. Determination of sulfhydryl and disulfide bonds in protein by Ellman's reagent colorimetry [J]. *J Zhengzhou Grain Coll*, 1986, (1): 92–95.
- [15] KAMARA MT, AMADOU I, TARAWALIE F, *et al.* Effect of enzymatic hydrolysis on the functional properties of foxtail millet (*Setaria italica* L.) proteins [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2010, 45(6): 1175–1183.
- [16] 高瑜璇. 挤压对大米蛋白特性影响研究与复合组织化蛋白配方优化[D]. 延吉: 延边大学, 2022.
GAO YX. Effect of extrusion on rice protein properties and optimization of compound structured protein formula [D]. Yanji: Yanbian University, 2022.
- [17] 王丽爽, 于小帅, 段玉敏, 等. 米谷蛋白对挤压淀粉复合物结构及性质的影响[J]. *精细化工*, 2023, 40(8): 1–12.
WANG LS, YU XS, DUAN YM, *et al.* Oryzenin structures and properties of extruded starch composites [J]. *Fine Chem*, 2023, 40(8): 1–12.
- [18] 徐鹏伟. 火麻仁蛋白制备、性能表征及超声改性研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2020.
XU PW. Hemp seed protein preparation, performance characterization and ultrasonic modification research [D]. Beijing: University of Chinese

- Academy of Sciences, 2020.
- [19] 陈莹, 成玉梁, 钱和. 加水量对组织化火麻仁蛋白特性影响研究[J]. 中国油脂, 2023. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210221
CHEN Y, CHENG YL, QIAN H. Add water impact study on characteristics of organized cannabis protein [J]. China Oils Fats, 2023. DOI: 10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210221
- [20] XIAO ZG, WANG LS, ZHANG YR, *et al.* Synthesis and characterization of a novel rice bran protein-cerium complex for the removal of organophosphorus pesticide residues from waste water [J]. Food Chem, 2020, 320: 126604.
- [21] 张宁. 柠条蛋白质提取的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2013.
ZHANG N. Study on protein extraction from *Caragana caragana* [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2013.
- [22] 李小鹏. 燕麦麸皮的挤压改性工艺优化及功效研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2012.
LI XP. Study on optimization and effect of extrusion modification process of oat bran [D]. Shihezi: Shihezi University, 2012.
- [23] GAO C, JIA J, YANG Y, *et al.* Structural change and functional improvement of wheat germ protein promoted by extrusion [J]. Food Hydrocolloid, 2023, 137: 108389.
- [24] LEONARD W, ZHANG P, YING D, *et al.* Transformation of hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil cake proteome, structure and functionality after extrusion [J]. Food Chem, 2022, 383: 132499.
- [25] 范冬雪, 李静洁, 杨金芹, 等. 热处理对小米蛋白体外消化率的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(2): 56–61.
FAN DX, LI JJ, YANG JQ, *et al.* Effect of Heat treatment on *in vitro* digestibility of millet protein [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2016, 16(2): 56–61.
- [26] 段庆松, 段玉敏, 肖志刚, 等. 挤压稳定化处理对米糠各组分蛋白结构及功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(19): 283–290.
DUAN QS, DUAN YM, XIAO ZG, *et al.* Effects of extrusion stabilization on structure and functional properties of protein components of rice bran [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2019, 36(19): 283–290.
- [27] 张富重. 亚临界芝麻蛋白挤压组织化工艺研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2021.
ZHANG FZ. Study on extrusion and texturization process of subcritical sesame protein powder [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2021.
- [28] 刘宗浩, 张高鹏, 孙立娜, 等. 挤压对谷物蛋白的微观结构和功能特性影响的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(6): 158–165.
LIU ZH, ZHANG GP, SUN LN *et al.* Research progress of effects of extrusion on microstructure and functional properties of cereal protein [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2021, 36(6): 158–165.
- [29] 朱燕丽, 范小平, 邹子爵, 等. 挤压膨化对美藤果饼粕蛋白的理化及功能性质的影响[J]. 中国调味品, 2023, 48(4): 43–49.
ZHU YL, FAN XP, ZOU ZJ, *et al.* Effects of extrusion on physicochemical and functional properties of protein from Meiteng fruit cake [J]. Chin Cond, 2023, 48(4): 43–49.
- [30] WITTEK P, ZEILER N, KARBSTEIN HP, *et al.* High moisture extrusion of soy protein: Investigations on the formation of anisotropic product structure [J]. Foods, 2021, 10(1): 102.
- [31] 王依凡. 基于不同制备方法的大豆蛋白微粒结构及性质研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2021.
WANG YF. Study on structure and properties of soybean protein particles based on different preparation methods [D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2021.
- [32] 张百汝. 挤压对豌豆蛋白结构和性质的影响及应用研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2022.
ZHANG BR. Effect of extrusion on Structure and properties of pea protein and its application [D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2022.
- [33] 张俊杰, 郑嘉琛, 谢宜桐, 等. 高水分挤压温度对绿豆蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 130–136.
ZHANG JJ, ZHENG JC, XIE YT, *et al.* High moisture extrusion temperature on the influence of mung bean protein structure [J]. J Food Sci Technol, 2022, 43(20): 130–136.
- [34] SHEN P, GAO Z, XU M, *et al.* The impact of hempseed dehulling on chemical composition, structure properties and aromatic profile of hemp protein isolate [J]. Food Hydrocolloid, 2020. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.105889
- [35] BRISHTI FH, CHAY SY, MUHAMMAD K, *et al.* Texturized mung bean protein as a sustainable food source: Effects of extrusion on its physical, textural and protein quality [J]. Innov Food Sci Emerg, 2021, 67: 102591.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



毕崇慧, 硕士研究生, 主要研究方向为粮食油脂及植物蛋白工程。
E-mail: ml3351394329@163.com



段玉敏, 教授, 主要研究方向为粮食油脂及植物蛋白工程。
E-mail: 1457088955@qq.com