

去凝集素芸豆粉理化 与功能特性的研究

王 颖^{1,2}, 李林峰¹, 王欣卉¹, 张桂芳², 任娇艳³, 张东杰¹

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319;

2. 黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程研究中心, 黑龙江大庆 163319;

3. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510641)

摘 要:研究去凝集素芸豆粉理化与功能特性。溶剂浸提法制备去凝集素芸豆粉,测定其基本营养成分、堆积密度、吸水性指数、水溶性指数、吸水性、吸油性、乳化性、乳化稳定性、起泡性和泡沫稳定性等理化及功能性质。实验表明,去凝集素处理能够显著降低芸豆粉中蛋白质、总糖含量、吸水性指数、水溶性指数、吸水性、乳化性与起泡性($p < 0.05$),但对芸豆粉吸油能力、乳化稳定性及泡沫稳定性具有显著提高作用($p < 0.05$)。结果表明,去凝集素芸豆粉相对于普通芸豆粉仍保留了较好的营养成分组成及理化、功能特性,营养、理化及功能特性,可能更适用于复配杂粮膨化食品开发。

关键词:凝集素,芸豆粉,理化,功能,特性

Study on physicochemical and functional properties of kidney bean flour by phytohaemagglutinin-free

WANG Ying^{1,2}, LI Lin-feng¹, WANG Xin-hui¹, ZHANG Gui-fang², REN Jiao-yan³, ZHANG Dong-jie¹

(1. College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing 163319, China;

3. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology College of Food, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: To investigate the physicochemical and functional properties of kidney bean flour by phytohaemagglutinin-free. The kidney bean flours by phytohaemagglutinin-free were prepared by organic solvent extraction, and then the basic nutrient components, bulk density, water absorption index, water solubility index, hydrophilia, oil absorption, emulsibility, emulsion stability, foaming property and foam stability were measured. The experiment showed that the phytohaemagglutinin-free technology could reduce the protein, total sugar, water absorption index, water solubility index, hydrophilia, emulsibility and foaming property of kidney bean flour significantly ($p < 0.05$), and it also could improve the oil absorption, emulsion stability and foam stability of kidney bean flour significantly ($p < 0.05$). The results indicated that the kidney bean flour by phytohaemagglutinin-free had better nutrition, physicochemical and functional properties, which may be more suitable for the development of puffed foods.

Key words: phytohaemagglutinin; kidney bean flour; physicochemical; functional; properties

中图分类号: TS214.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)17-0064-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.17.004

芸豆 (*Phaseolus vulgaris* L.), 别名四季豆, 属豆科, 菜豆族菜豆属^[1]。研究表明^[2,3], 芸豆富含淀粉、蛋白质、膳食纤维、维生素、微量元素、多酚、皂苷及尿毒酶等, 具有提供能量、提高免疫力及抗氧化等功能活性。芸豆的食用必须采用彻底加热处理, 否则

具有食物中毒的危险^[4], 这主要是由于芸豆中具有一种非免疫球蛋白—凝集素 (Phytohemagglutinin, PHA), 凝集素可以结合细胞膜糖分子^[5], 促使红细胞凝集, 肠道表面绒毛细胞病变, 影响消化和吸收, 危害机体免疫系统, 通常被认为是一类抗营养因子, 因

收稿日期: 2016-03-01

作者简介: 王颖 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程及食品质量安全, E-mail: xubz19@163.com。

基金项目: 国家星火计划项目 (2013GA670001); 国家星火计划项目 (2015GA670008); 大庆科技局创新项目 (sjh-2013-65); 大庆指导项目 (sdfy-2015-55)。

此对于芸豆的食用,人们多提前采用各种理化因素对其所含凝集素灭活^[6-7]。然而,由于凝集素具有糖专一性,已被广泛应用于防御昆虫危害,杀灭有害微生物、血型鉴定及恶性肿瘤的检测与治疗等,具有重要的应用及经济价值。

我国对于芸豆的利用主要以普通食用及部分初加工为主,初加工产品主要为芸豆淀粉、芸豆全粉及杂粮挂面、杂粮方便粥等^[8-9],在此过程中多忽略凝集素的价值,采用热处理或高压处理直接破坏凝集素活性。另一方面,虽然国内已有部分豆类凝集素提取工艺的研究及产业化生产,但为提高豆类凝集素收率,多采用极性手段,从而导致剩余去凝集素豆粉只能废弃或用于饲料,这使得芸豆加工产业链较短,产品附加值较低。本课题组前提已获得具有自主知识产权的芸豆粉凝集素分离技术(芸豆凝集素去除率92%)^[10],在分离出芸豆中大部分凝集素的基础上,本文进一步研究了去凝集素芸豆粉的部分功能性质,旨在延长芸豆产业链,为芸豆精深加工及其后续产品的开发提供理论参考及数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

芸豆干种子(含水量11%),奶白花芸豆 当年新种,黑龙江省建三江农垦种业公司提供;市售芸豆粉(含水量12%),英国红芸豆 市售;一级花生油 山东鲁花集团有限公司。

DGG-9070A 型电热鼓风干燥机 上海森信实验仪器有限公司;FW100 型高速万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;JD1003B-3B 型电子分析天平 沈阳龙腾电子有限公司;TDL80-2B 型离心机 上海安亭科学仪器厂;2102PCS 型紫外-可见分光光度计 尤尼科(上海)仪器有限公司;JJ-2 组织捣碎匀浆机 常州赛普实验仪器厂;HWS-26 型恒温水浴锅 上海西箭仪器设备有限公司;R1005 型旋转蒸发仪 郑州长城科工贸有限公司;UVminiGL-22MS 型低温高速离心机 匡贝实业(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 去凝集素芸豆粉的制备 考虑到本文所制备去凝集素芸豆粉在后续食品开发中的应用,现针对前期研究工艺中溶剂及工艺时间加以适当改进。取一定量的成熟芸豆种子(饱满,无虫蛀),按1:10(质量:体积)的比例加入PB溶液(pH 7.6),浸泡4 h后匀浆,将匀浆液于4℃搅拌浸提24 h,浸提结束后匀浆液离心30 min(4℃,9000 r/min),沉淀与上清液分离,将沉淀45℃烘干(含水量12%),即为去凝集素芸豆粉,芸豆粉经进一步80目过筛。上清液为凝集素粗提液,4℃保存,后期进一步纯化研究。称取一定质量芸豆于按1:10(质量:体积)的比例加入普通去离子水,浸泡浸泡4 h后匀浆,将匀浆液45℃烘干(含水量12%),即为芸豆浆粉,芸豆粉经进一步80目过筛。另取一定质量干芸豆种子,粉碎机粉碎制粉,过80目筛,即为普通芸豆粉,从市场购买英国红芸豆粉过80目筛,即为市售芸豆粉。

1.2.2 芸豆粉基本营养成分 分别按中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.5-2010、GB/T 5009.6-2003 及 GB/T 18738-2006 中规定的方法测定芸豆粉中蛋白质、脂肪及总糖含量,另采用试剂盒法检测芸豆粉中淀粉含量。

1.2.3 去凝集素芸豆粉理化特性

1.2.3.1 芸豆粉堆积密度 分别取四种芸豆粉轻缓的填入10 mL量筒中,轻轻敲打量筒低端,到样品高度至10 mL刻度处不再下降结束,称重。芸豆粉堆积密度采用单位体积样品质量表示(g/mL)。

1.2.3.2 芸豆粉吸水性指数和水溶性指数 参考文献方法^[11],分别称取四种芸豆粉2.5 g于试管中,加入30 mL去离子水,振荡混匀,转入已称重离心管中,用玻璃棒搅拌均匀,制成芸豆粉悬浮液。将芸豆粉悬浮液分别置于不同温度条件下水浴振荡30 min,随后自然冷却至室温,随后3800 r/min下离心20 min,分离上清液,将装有沉淀物的离心管于50℃下干燥至恒重,称重,上清液倒入恒重的蒸发皿中,105℃下干燥至恒重,称重。溶出物质量为 m_1 ,沉淀物质量为 m_2 ,芸豆粉吸水性指数(WAI)和水溶性指数(WSI)按以下公式计算:

$$WAI(g/g) = \frac{m_2}{2.5 - m_1}$$

$$WSI(\%) = \frac{m_1}{2.5} \times 100$$

1.2.4 去凝集素芸豆粉功能特性

1.2.4.1 芸豆粉吸水性和吸油性 参考文献方法^[12],常温下,分别取四种芸豆粉0.1 g于离心管中,离心管称重 m_3 ,向离心管中加入去离子水2 mL,25℃连续震荡20 min,将离心管室温静置10 min后,3800 r/min离心30 min,分离上清液,将装有沉淀物的离心管于50℃下干燥至恒重,称重 m_4 。芸豆粉吸水能力(WAC)按以下公式计算:

$$WAC = \frac{m_4 - m_3 - 0.1}{0.1}$$

另取四种芸豆粉0.1 g于离心管中,离心管称重 m_5 ,向离心管中加入1.4 g花生油,室温下连续震荡1 min,将离心管静置30 min后,3800 r/min下离心30 min,分离上清液后,将离心管缓慢倒置,吸除油脂,称重沉淀物与离心管 m_6 。芸豆粉吸油能力(OAC)按以下公式计算:

$$OAC = \frac{m_6 - m_5 - 0.1}{0.1}$$

1.2.4.2 芸豆粉乳化性和乳化稳定性 常温下,分别称取四种芸豆粉3.5 g于烧杯中,向其加入50 mL蒸馏水,10000 r/min高速匀浆30 s,向烧杯中加入25 mL花生油,10000 r/min高速匀浆30 s,继续向烧杯中加入25 mL花生油,以相同转速高速匀浆至液体呈均匀乳浊状(约70 s),测定液体乳浊液体积 V_1 。1000 r/min离心10 min后,测定溶液上层乳化层体积 V_2 。将烧杯置于85℃水浴锅中水浴15 min,冷却后1000 r/min离心10 min,测定溶液上层乳化层体积 V_3 。芸豆粉乳化性(EA)和乳化稳定性(ES)按以下公式计算:

表1 芸豆粉基本营养成分含量

Table 1 The basic nutrient components of kidney bean flours

样品	蛋白质(%)	脂肪(%)	总糖(%)	淀粉(%)
普通芸豆粉	23.15 ± 0.15 ^a	1.50 ± 0.01 ^a	7.41 ± 0.08 ^a	50.58 ± 0.87 ^a
市售芸豆粉	19.11 ± 0.16 ^b	1.33 ± 0.06 ^b	6.70 ± 0.13 ^b	47.13 ± 0.81 ^b
去凝集素芸豆粉	17.10 ± 0.12 ^c	1.51 ± 0.02 ^a	7.22 ± 0.05 ^c	49.96 ± 1.94 ^a
芸豆浆粉	23.08 ± 0.42 ^a	1.58 ± 0.01 ^c	7.42 ± 0.05 ^a	50.43 ± 0.98 ^a

注:a~c 代表同一指标不同样品差异显著性,字母不同表示差异有统计学意义($p < 0.05$),字母相同表示差异无统计学意义($p > 0.05$),表2同。

$$EA(\%) = \frac{V_2}{V_1} \times 100$$

$$ES = \frac{V_3}{V_2} \times 100$$

1.2.4.3 芸豆粉起泡性和泡沫稳定性 参考文献方法^[13],常温下,分别取四种 3% (w/v) 5 mL 芸豆粉悬浮液,记录体积 V_4 , 10000 r/min 高速搅拌 2 min,记录体积 V_5 ,将搅拌后的悬浮液静置 30 min,记录泡沫体积 V_6 。芸豆粉起泡能力(FC)和泡沫稳定性(FS)按以下公式计算:

$$FC(\%) = \frac{V_5 - V_4}{V_4} \times 100$$

$$FS(\%) = \frac{V_6}{V_5 - V_4} \times 100$$

1.2.5 统计学分析 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Spass 19.0 及 Origin 8.5 统计学软件进行统计学分析,并绘制相关图表,组间比较采用 T 检验, $p < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 芸豆粉基本营养成分

表1为四种芸豆粉基本营养成分含量,从表中可以看出,采用奶白花芸豆制备的三种芸豆粉虽然在工艺及处理方面有所不同,但蛋白质、脂肪、总糖及淀粉含量均显著高于市售芸豆粉(去凝集素芸豆粉蛋白质含量除外)。通常芸豆中主要营养成分含量因品种、成长地域及天气等因素不同而存在差异,而本课题组前期已对该品种芸豆种子及其发芽过程中基本营养成分含量进行了定时与定量分析,结果均显著高于黑龙江省常见芸豆品种(未发表)。普通芸豆粉与芸豆浆粉在蛋白质含量及总糖含量方面差异无统计学意义($p > 0.05$),均显著高于去凝集素芸豆粉($p < 0.05$),但普通芸豆粉和去凝集素芸豆粉的脂肪含量显著低于芸豆浆粉($p < 0.05$),三种芸豆粉淀粉含量差异无统计学意义($p > 0.05$)。

2.2 去凝集素芸豆粉理化特性

2.2.1 芸豆粉堆积密度 图1为四种芸豆粉的堆积密度,从图中可以看出,普通芸豆粉、市售芸豆粉及芸豆浆粉堆积密度之间差异性无统计学意义($p > 0.05$),去凝集素芸豆粉堆积密度显著高于普通芸豆粉和市售芸豆粉($p < 0.05$)。结果表明,去凝集素处理能够显著提高芸豆粉堆积密度($p < 0.05$)。

2.2.2 芸豆粉吸水性指数和水溶性指数 芸豆粉 WAI 与 WSI 通常与芸豆粉中可溶性物质种类及含量有关。不同温度下芸豆粉 WAI 和 WSI 如图2所示。

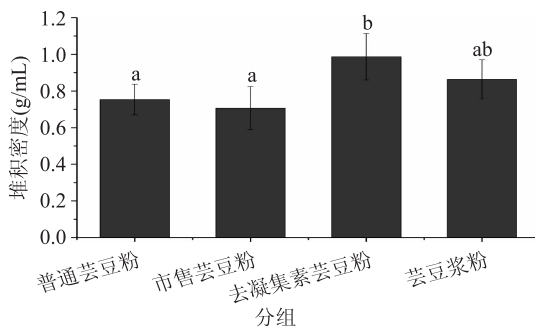


图1 芸豆粉堆积密度

Fig.1 The bulk density of kidney beans flours

注:a~b 代表不同样品指标差异显著性,字母不同表示差异有统计学意义($p < 0.05$),字母相同表示差异无统计学意义($p > 0.05$),图2同。

随着加热温度的升高,芸豆粉 WAI 整体呈上升趋势,而 WSI 整体呈下降趋势,但芸豆浆粉 WAI 受温度影响较大,并未严格符合上升规律。芸豆粉经加热处理后(25~85 °C),普通芸豆粉及市售芸豆粉 WAI 及 WSI 整体高于去凝集素芸豆粉(55 °C 除外)。结果表明,去凝集素处理能够降低芸豆粉 WAI 与 WSI,主要是由于去凝集素工艺中的浸提过程减少了芸豆粉中可溶性蛋白质等可溶性物质。

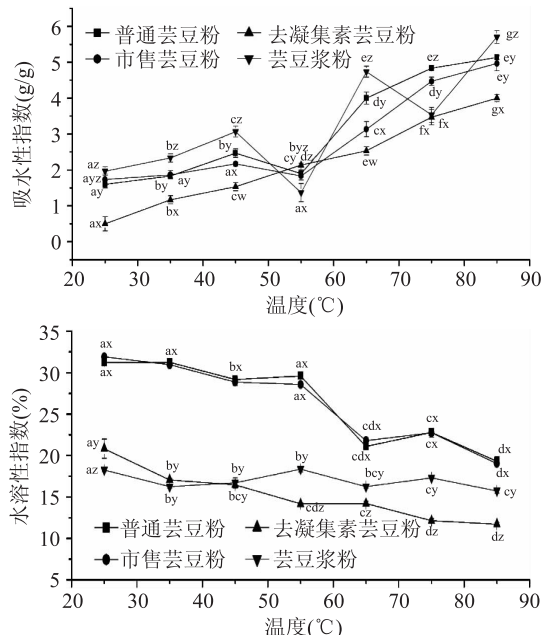


图2 芸豆粉吸水性指数和水溶性指数

Fig.2 The water absorption index and water solubility index of kidney beans flours

表2 芸豆粉功能特性

样品	WAC(g/g)	OAC(g/g)	EA(%)	ES(%)	FC(%)	FS(%)
普通芸豆粉	1.43 ± 0.03 ^a	0.78 ± 0.01 ^a	76.00 ± 1.56 ^a	92.20 ± 0.98 ^a	21.67 ± 1.25 ^{ab}	42.90 ± 1.65 ^a
市售芸豆粉	1.50 ± 0.02 ^b	0.69 ± 0.02 ^b	73.50 ± 1.34 ^a	91.70 ± 0.87 ^a	20.07 ± 0.21 ^a	39.63 ± 1.53 ^b
去凝集素芸豆粉	1.09 ± 0.02 ^c	1.17 ± 0.02 ^c	60.77 ± 1.42 ^b	94.50 ± 1.11 ^b	16.97 ± 0.74 ^c	46.03 ± 1.23 ^c
芸豆浆粉	1.16 ± 0.04 ^d	1.22 ± 0.01 ^d	81.70 ± 1.65 ^c	85.90 ± 1.21 ^c	23.43 ± 2.03 ^b	32.13 ± 2.11 ^d

2.3 去凝集素芸豆粉功能特性

2.3.1 芸豆粉吸水性和吸油性 WAC 与 OAC 与芸豆粉蒸煮特性及相关产品风味、口感及制式直接相关。由表 2 可以看出,四种芸豆粉 WAC 大小关系为:去凝集素芸豆粉 < 芸豆浆粉 < 普通芸豆粉 < 市售芸豆粉($p < 0.05$),OAC 大小关系为:市售芸豆粉 < 普通芸豆粉 < 去凝集素芸豆粉 < 芸豆浆粉($p < 0.05$)。结果表明,去凝集素处理能够显著降低芸豆粉吸水性($p < 0.05$),但同时显著提高了芸豆粉吸油性($p < 0.05$),这主要是由于去凝集素处理能够破坏芸豆粉中部分淀粉结构,减少亲水性蛋白含量,从而降低芸豆粉吸水性,但处理后的芸豆淀粉结构、颗粒大小及芸豆粉中亲油性蛋白比例的改变对芸豆粉吸油性具有一定的提高作用。

2.3.2 芸豆粉乳化性和乳化稳定性 EA 及 ES 对芸豆粉在相关产品的制式、体系稳定性及货架期等具有显著影响,四种芸豆粉 EA 与 ES 如表 2 所示。四种芸豆粉 EA 大小关系为:去凝集素芸豆粉 < 普通芸豆粉 ≈ 市售芸豆粉 < 芸豆浆粉,ES 大小关系为:芸豆浆粉 < 普通芸豆粉 ≈ 市售芸豆粉 < 去凝集素芸豆粉。结果表明,去凝集素处理虽然显著降低了芸豆粉的乳化性($p < 0.05$),但是芸豆粉乳化稳定性却显著提高($p < 0.05$),该原因与芸豆粉吸水性指数和水溶性指数变化原因相类似。

2.3.3 芸豆粉起泡性和泡沫稳定性 FC 与 FS 作为杂粮粉重要功能性质之一,是杂粮粉产品开发过程中,制式及工艺确立的主要因素之一,四种芸豆粉 FC 与 FS 测定结果见表 2。去凝集素芸豆粉 FC 显著低于普通芸豆粉($p < 0.05$),但 FS 显著高于普通芸豆粉($p < 0.05$),同样经过溶剂浸提过程的芸豆浆粉 FC 最高,但是 FS 最低。结果表明,去凝集素处理能够显著降低芸豆粉起泡性,但对泡沫稳定性具有显著提高效果,这主要与去凝集素处理对芸豆粉中蛋白质含量及类型的改变有关,浸提过程导致的芸豆粉蛋白质损失直接表现为起泡性降低,但芸豆粉中疏水性蛋白比例增高,有利于泡沫稳定性。

3 结论与讨论

芸豆凝集素作为芸豆中高含量蛋白质的一种,其抗营养性与糖专一性作为一对矛盾特性长期以来阻碍其在芸豆精深加工领域的应用。本课题组前期获得的具有自主知识产权芸豆凝集素分离技术,能够同时制备较高纯度的芸豆凝集素及高安全性去凝集素芸豆粉,工艺简单,成本低廉,利于工业化生产和推广应用。本文在制备去凝集素芸豆粉的基础上,进一步研究了去凝集素芸豆粉基本营养成分、理化及功能性质,探讨其在后续产品开发方面的应用可能性。

目前杂粮粉的精加工产品主要为功能食品及膨化类速食食品,因此杂粮粉营养成分、理化及功能形式是其在上述两类食品中应用可能性的直观表征。芸豆粉基本营养成分测定实验结果表明,去凝集素处理能够显著降低芸豆粉中蛋白质及总糖含量($p < 0.05$),但对脂肪和淀粉无显著影响($p > 0.05$),这主要可能是由于去凝集素芸豆粉制备工艺中的 pH 环境相对于芸豆浆粉制备工艺中的去离子水环境,更容易提取出部分蛋白质、脂肪、总糖及淀粉,虽然去凝集素粉制备工艺中减少了芸豆粉中部分脂肪,但该工艺却避免了高速磨碎制粉过程引起的脂肪损失^[14]。芸豆粉理化性质测定结果表明,去凝集素处理能够显著提高芸豆粉堆积密度,降低 WAI 与 WSI($p < 0.05$),这主要是由于芸豆粉在去凝集素过程中部分不规则小分子蛋白或肽溶解于溶剂中,随溶剂弃除,同时芸豆粉中部分淀粉及大分子蛋白质吸水膨胀后断裂^[15]。芸豆粉功能特性测定结果表明,去凝集素处理能够显著降低芸豆粉 WAC、EA 及 FC($p < 0.05$),但同时芸豆粉 OAC、ES 及 FS 具有显著提高作用($p < 0.05$),这进一步证明了去凝集素处理对芸豆粉的主要影响为减少芸豆粉中部分可溶性蛋白质等成分,破坏部分蛋白质及淀粉结构,改变亲水性与疏水性、亲油性与疏油性成分比例^[16]。

随着人们对芸豆营养功能及芸豆凝集素在医疗方面应用认识的逐渐深入,按需分离芸豆中活性分别应用于食品、医疗及功能食品逐渐成为芸豆为代表的杂粮精深加工新思路。综合本实验所述,本课题组获得的具有自主知识产权的芸豆粉凝集素分离技术虽然对芸豆粉基本营养成分、理化及功能性质具有一定的影响,主要影响作用为改变芸豆粉中蛋白及淀粉等基础成分的含量及结构,但其制备的去凝集素芸豆粉仍具有较好的营养、理化及功能性质,可能更适用于复配杂粮膨化食品的开发^[17-18],同时该技术制备的芸豆去凝集素具有较高的经济及应用价值。因此,该技术在杂粮精深加工领域将有广阔的工业化生产和推广应用前景。

参考文献

[1] 刘高梅,任海伟.不同功率超声波对芸豆蛋白理化和功能性质的影响[J].中国粮油学报,2012,27(12):17-21.
[2] ávila F W, Faquin V, ávila P A, et al. Effect of phosphite supply in nutrient solution on yield, phosphorus nutrition and enzymatic behavior in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants [J]. Australian journal of crop science, 2013, 7(5): 67-74.
[3] Luna-Vital D A, Mojica L, Mejía E G D, et al. Biological

(下转第 74 页)