

# 小麦面筋蛋白琥珀酰化改性研究

张红印<sup>1</sup>, 朱加进<sup>1</sup>, 郑晓冬<sup>1</sup>, 席筠芳<sup>1</sup>, 王 兰<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 浙江大学食品科学与营养系 杭州 310029; <sup>2</sup> 郑州工程学院生物工程系, 郑州 450052)

**摘要:** 采用琥珀酸酐对小麦面筋蛋白进行酰化改性的研究表明, 小麦面筋蛋白琥珀酰化的最佳反应条件为: 面筋蛋白浓度为 10%, 反应温度为 40℃, 琥珀酸酐用量为小麦面筋蛋白用量的 15%。琥珀酰化改性后的面筋蛋白, 溶解度、乳化能力和起泡能力得到了提高, 琥珀酰化小麦面筋蛋白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; 琥珀酰化

## Study on Modification by Succinylation of Wheat Gluten

ZHANG Hong-yin<sup>1</sup>, ZHU Jia-jin<sup>1</sup>, ZHENG Xiao-dong<sup>1</sup>, XI Yu-fang<sup>1</sup>, WANG Lan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Food Science and Nutrition Department, Zhejiang University, Hangzhou 310029;

<sup>2</sup> Biology Engineering Department, Zhengzhou Institute of Technology, Zhengzhou 450052)

**Abstract:** In this subject, succinic anhydride was used to modify the wheat gluten. The experiments show that the optimum conditions for acylation of wheat gluten are: the concentration of gluten 10%, the temperature of reaction is 40℃, the ratio of succinic anhydride to wheat gluten 15%. After succinylation, the solubility, emulsifying ability and foaming ability of wheat gluten are much improved, and its effect on intensify weak biceps flour is improved.

**Key words:** Wheat; Gluten; Succinylation

小麦面筋蛋白已作为改良剂用于改善食品品质, 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, 限制了在食品中的利用范围<sup>[1]</sup>。因此, 利用一定的生物化学手段改善面筋蛋白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的应用范围, 为中高档食品生产提供系列化的品质改良剂<sup>[2]</sup>。对小麦面筋蛋白进行改性的方法有化学方法、物理方法、基因工程法和生化方法(即酶促改性)等<sup>[3]</sup>, 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、羧基的酯化作用和蛋白质的交联等<sup>[1]</sup>。我国对植物蛋白质改性的研究起步较晚, 而在利用酰化反应对小麦面筋蛋白改性的研究方面尚未见相关报道。为此, 笔者对小麦面筋蛋白的酰化

改性进行了初步研究, 以达到改善其功能、拓宽小麦面筋应用范围的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及仪器

谷朊粉, 市售; 琥珀酸酐, 上海化学试剂研究所出品; 85-1 恒温磁力搅拌器, 常州国华仪器厂产品; JJ-1 电动搅拌机, 江苏金坛中大仪器厂产品; 7230 分光光度计, 厦门分析仪器厂产品; TGL-IGC 高速台式离心机、微量凯氏定氮仪, 上海玻璃仪器厂产品; BRABENDER 粉质仪, 德国制造。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 谷朊粉水分、蛋白质含量测定** 水分含量测定采用 GB5479—85<sup>[4]</sup>介绍的方法。蛋白质含量测定采用 GB5511—85<sup>[4]</sup>。

**1.2.2 酰化小麦面筋蛋白的制备方法** 称取一定

量谷朊粉,置于装有水的烧杯中,边加谷朊粉边用玻璃棒搅拌,使其溶于水中,配成溶液或悬浊液。用 1 mol 的 NaOH 溶液调节 pH 值,使其 pH 达到 8.0~8.5 之间。分批加入琥珀酸酐进行酰化反应,反应过程中保持恒定的温度,并用磁力搅拌器或电动搅拌器对反应体系进行搅拌。酰化反应中产生的副产物乙酸或琥珀酸会使体系的 pH 下降,而酰化反应需要在弱碱性的条件下进行,因此,反应过程中用 2 mol 的 NaOH 溶液调节反应体系的 pH 值,使其保持在 8.0~8.5 之间。反应结束后,用高速离心机 3 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,45℃ 下鼓风干燥,粉碎,即可得琥珀酰化小麦面筋蛋白。

**1.2.3 小麦面筋蛋白酰化程度的测定** 茚三酮法<sup>[5,6]</sup> 吸取茚三酮溶液(0.1%) 1 ml 加入蛋白溶液(1%) 1 ml 混合后在 100℃ 的沸水浴中加热 5 min,冷却到 25℃。加入 100 ml 蒸馏水,以蒸馏水/茚三酮溶液作为空白,测定其在 580 nm 处的吸光度。吸光度表示游离氨基与茚三酮试剂的反应程度,吸光度越大表示改性蛋白的酰化程度越低,酰化程度的计算公式为:

$$\text{酰化程度}(\%) = \frac{\text{谷朊粉的吸光度} - \text{酰化面筋蛋白的吸光度}}{\text{谷朊粉的吸光度}} \times 100\%$$

**1.2.4 小麦面筋蛋白溶解度的测定** 双缩脲法<sup>[5]</sup> 配制 1% 蛋白溶液平衡 30 min 后,3 000 r/min 离心 5 min,取 1 ml 上清液于小烧杯中,加入 4 ml 双缩脲试剂,用磁力搅拌器搅拌 10 min 后,放置 30 min,于 540 nm 处进行比色测定。标准曲线用牛血清蛋白制作,配制 10 mg·ml<sup>-1</sup> 的牛血清蛋白溶液 10 ml,分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml 于试管中,用蒸馏水补足到 1 ml,加入 4 ml 双缩脲试剂于 540 nm 处进行比色测定,以牛血清蛋白浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,制作标准曲线,把待测蛋白的吸光度值代入标准曲线,即可求出待测蛋白的溶解度值。

表 1 谷朊粉理化指标

Table 1 The physical and chemical quality of wheat gluten

样品指标 Example quality	水分含量 Moisture content (%)	蛋白质含量 Protein content (%)	溶解度 Solubility (mg·ml <sup>-1</sup> )	乳化度 Emulsifying ability (ml)	起泡性 Foaming ability (ml)	起泡稳定性 Foaming stability (ml)
谷朊粉 Gluten	5.10	64.18	0.30	10.00	100.00	50.00

**2.2 谷朊粉浓度对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及产物功能性的影响**

按照 1.3.8 介绍的方法,分别配制不同浓度的

**1.2.5 小麦面筋蛋白乳化度的测定**<sup>[7]</sup> 配制 1% 的面筋蛋白溶液,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,取 20 ml 置入离心管中,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的乳化度值。

**1.2.6 小麦面筋蛋白起泡性及起泡稳定性的测定**<sup>[8]</sup> 准确称取 2 g 面筋蛋白,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 量筒中,记录泡沫体积,表示起泡能力大小,静置 10 min 后,再次测量泡沫体积,即为泡沫稳定性。

**1.2.7 数据处理** 在对酰化面筋蛋白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进行处理,借助计算机,由 Mathematica 软件编程得出产物各功能性的综合评价<sup>[9]</sup>。

**1.2.8 各有关因素对小麦面筋蛋白酰化的影响** 谷朊粉浓度的影响:分别配制不同浓度的谷朊粉溶液或悬浊液进行酰化反应,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%;反应温度的影响:酰化反应时分别采用不同的温度,其它反应条件固定为谷朊粉浓度 5%,酰化试剂用量为谷朊粉的 10%;酰化试剂用量的影响:酰化反应时分别添加不同量的琥珀酸酐,其它反应条件固定为谷朊粉浓度 5%,反应温度 20℃。

**1.2.9 面粉粉质特性的测定** 采用 BRABENDER 粉质仪,按照 GB/T 14614-93<sup>[4]</sup> 介绍的方法测定面粉的吸水量及面团揉和性能。

## 2 结果与分析

### 2.1 谷朊粉理化指标的测定

为了了解谷朊粉的特性以确定合适的改性条件,笔者分别测定了谷朊粉的水分含量、蛋白质含量及各项功能性值(表 1)。

谷朊粉溶液或悬浊液,分批加入等量琥珀酸酐进行酰化反应,反应过程中保持相同温度,测定产物的酰化指标和各项功能特性(表 2)。

表 2 谷朊粉浓度对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及产物功能性的影响

Table 2 The influence of wheat gluten concentration to the extent of modification and functionality of product

谷朊粉浓度 Gluten concentration (%)	酰化程度 Succinylation (%)	溶解度 Solubility ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	起泡性 Foaming ability (ml)	起泡稳定性 Foaming stability (ml)	乳化度 Emulsifying ability (ml)	综合评价 (归一化值) Overall merit
1	7.6	3.1	65	15	10.0	0.112276
3	13.7	3.8	160	60	11.2	0.152441
5	29.1	4.8	165	65	11.8	0.165336
8	59.1	6.4	175	90	12.6	0.194022
10	58.8	6.3	180	100	12.2	0.188272
15	51.8	6.2	180	100	12.2	0.187653

从表 2 可以看出 随着底物浓度的增加 小麦面筋蛋白的琥珀酰化程度先增加 当底物浓度增加到一定程度 再增加底物浓度 小麦面筋蛋白的琥珀酰化程度反而有所下降。其原因可能是:当底物浓度较低时 蛋白质分子处于溶解状态 增加底物浓度会增加单位体积溶液中活性蛋白质的分子数 因此与琥珀酸酐分子碰撞的几率就多 琥珀酰化反应速度较快。当小麦面筋蛋白的浓度增加到一定程度时 许多蛋白质分子呈不溶状态存在 在反应体系中 不能与琥珀酸酐分子发生有效碰撞 因此琥珀酰化的反应速度较慢 酰化程度降低。从表 2 还可以看出,

随着底物浓度的增大 产品的功能性综合评价值先逐步增加 而后略有下降 其变化趋势与酰化程度的变化趋势一致。琥珀酰化反应适宜的底物浓度范围在 5% ~ 10% 之间。

### 2.3 反应温度对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及产物功能性的影响

按照 1.3.8 介绍的方法 分别配制相同浓度的谷朊粉溶液或悬浊液 分批加入等量琥珀酸酐进行酰化反应 反应过程中保持不同的温度 测定产物的酰化指标和各项功能特性(表 3)。

表 3 反应温度对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及产物功能性的影响

Table 3 The influence of the temperature to the extent of modification and functionality of product

反应温度 Reaction temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	酰化程度 Succinylation (%)	溶解度 Solubility ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	起泡性 Foaming ability (ml)	起泡稳定性 Foaming stability (ml)	乳化度 Emulsifying ability (ml)	综合评价 (归一化值) Overall merit
20	29.1	4.8	165	65	11.8	0.154308
25	34.9	4.9	170	90	12.2	0.161391
30	40.4	5.0	175	95	12.3	0.164717
35	58.5	5.3	175	95	12.4	0.167185
40	62.5	5.8	185	105	12.2	0.173624
45	70.7	6.6	185	105	12.2	0.178775

从表 3 可知 在一定范围内 随着反应温度的增加 小麦面筋蛋白的酰化程度不断提高。这符合一般化学反应的规律 即随着反应温度的增加 反应速度加快 因此酰化程度也增高。从表 3 还可以看出 随着反应温度的升高 小麦面筋蛋白琥珀酰化程度的增加 产物的功能性综合评价值也逐步提高 其变化趋势与酰化程度的变化趋势一致。这说明在一定范围内 增加反应温度可提高产物的功能性 反应温度在 35 ~ 45 $^{\circ}\text{C}$  之间时 产物的功能性综合评价值较高。

### 2.4 琥珀酸酐用量对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及功能性的影响

按照 1.3.8 介绍的方法 分别配制相同浓度的

谷朊粉溶液或悬浊液 分批加入不同量的琥珀酸酐进行酰化反应 反应过程中保持相同温度 测定产物的酰化指标和各项功能特性(表 4)。

从表 4 可以看出 随着琥珀酸酐用量的增加 小麦面筋蛋白的琥珀酰化程度不断提高。这符合一般化学反应的规律 在一定的范围内 增加琥珀酸酐的量 则酰化反应的速度会增加 小麦面筋蛋白的琥珀酰化程度也会提高。从表 4 还可以看出 随着酰化试剂用量的增加 琥珀酰化面筋蛋白的功能性综合评价值也提高 但提高的速率逐渐降低 最后趋于平稳 其变化趋势与酰化程度的变化趋势大体一致。考虑到成本的因素 制备琥珀酰化面筋蛋白时 琥珀酸酐的用量应选择为小麦面筋蛋白量的 10% ~ 15%。

表4 琥珀酸酐用量对小麦面筋蛋白琥珀酰化程度及功能性的影响

Table 4 The influence of the succinic anhydride usage to the extent of modification and functionality of product

琥珀酸酐添加量 Succinic anhydride use level (%)	酰化程度 Succinylation (%)	溶解度 Solubility ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	起泡性 Foaming ability (ml)	起泡稳定性 Foaming stability (ml)	乳化度 Emulsifying ability (ml)	综合评价 (归一化值) Overall merit
1	7.7	1.5	75	30	10	0.116382
3	11.67	2.5	160	55	10.2	0.14771
5	17.56	3.2	165	65	10.6	0.159432
10	38.2	4.8	165	65	11.8	0.176835
15	55	5.5	175	100	11.8	0.196833
20	61.2	5.6	175	105	12.2	0.202809

## 2.5 琥珀酰化最佳作用条件的确定

笔者在由单因素试验的结果确定各因素取值范围的基础上,进行三因素三水平正交优化试验。结果表明,对小麦面筋蛋白琥珀酰化改性效果最好的反应条件为:蛋白浓度为10%,反应温度为40℃,琥珀酸酐用量为15%。极差分析可以看出谷朊粉浓度对酰化产物功能性综合评价的影响最大,反应温度及酸酐用量的影响较小。

## 2.6 琥珀酰化小麦面筋蛋白与谷朊粉功能性的比较

按正交试验最佳反应条件,制取琥珀酰化小麦面筋蛋白,分别测定琥珀酰化小麦面筋蛋白及谷朊粉的各项功能性。

从表5看出,小麦面筋蛋白经琥珀酰化改性后,其溶解度、乳化度和起泡性能等各项功能性都得到了很大程度的提高。从单因素试验可以看出,琥珀酰化产物的各功能特性及其综合评价价值随酰化程度

的增加而增加。其原因在于:蛋白质的酰化作用是蛋白质分子的亲核基团(例如氨基或羟基)与酰化试剂中的亲电子基团(例如羰基)相互反应而引入新功能基的过程<sup>[10]</sup>。通过琥珀酰化改性,则在蛋白质的游离氨基中引入琥珀酰基( $-\text{OOCCH}_2\text{CH}_2-\text{CO}-$ ),从而将蛋白质的氨基阳离子用阴性的琥珀酰基封闭,增加了蛋白质的净负电荷,减少了其正电荷。琥珀酰化使蛋白质净负电荷增加,近程斥力代替远程引力,从而使蛋白质结构打开,减弱了由于蛋白质分子中氨基和羰基之间的引力使蛋白质分子集聚的程度,相反加强了蛋白质与水的作用。由于净负电荷的增加与改性程度呈正比,所以蛋白质在中性溶液中的溶解度随着改性程度的增加而增大<sup>[11]</sup>。而乳化性、起泡性和起泡稳定性等功能性也随之增加。因此,随着琥珀酰化程度的提高,琥珀酰化改性产物的功能性综合评价价值也随之增加。

表5 琥珀酰化小麦面筋蛋白同谷朊粉功能性比较

Table 5 The comparison of functionality between succinylated gluten with gluten

样品 Example	溶解度 Solubility ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	乳化度 Emulsifying ability (ml)	起泡稳定性 Foaming stability (ml)	起泡性 Foaming ability (ml)
谷朊粉 Gluten	0.3	10	100	50
琥珀酰化小麦面筋蛋白 Succinylated gluten	7.58	13.9	220	125

## 2.7 酰化面筋蛋白作为添加剂强化面粉试验

分别用BRABENDER粉质仪测定普通弱筋粉、添加2%谷朊粉的弱筋粉及添加2%琥珀酰化面筋蛋白的弱筋粉的吸水量及面团揉和性能(表6)。

由表6看出,添加2%的谷朊粉或琥珀酰化小麦面筋蛋白于低筋粉中进行粉质测定。结果表明,面粉的吸水量、面团形成时间和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#同2#粉质特性相比较可知,虽然2#各项指标较1#有所提高,但其吸水量、面团形成时

间和面团稳定时间均小于3#,而弱化度高于3#。这说明琥珀酰化改性后,小麦面筋蛋白强化弱筋粉的功能较谷朊粉有所提高。这是由于酰化改性使面筋蛋白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<sup>[11~13]</sup>。另一方面,酰化改性可提高面筋蛋白的溶解性,高溶解性的面筋蛋白吸水后,能更好地与面粉中的蛋白融为一体,对面筋网络结构强化充分,改良效果优于低溶解性的面筋蛋白。

表 6 不同面筋蛋白对面粉吸水量及面团揉和性能的影响

Table 6 The water adsorption and rheological properties of doughs added by different wheat gluten

样品 Example	吸水量 Soakage ( ml·100g <sup>-1</sup> )	面团形成时间 Dough formation time ( min )	面团稳定时间 Dough settle time ( min )	软化度 Softening degree ( Fu )
1 号普通弱筋粉 Weak biceps flour	66.98	5.4	4.2	135
2 号添加 2% 谷朊粉的弱筋粉 Weak biceps flour added by 2% gluten	67.68	7.2	4.4	130
3 号添加 2% 琥珀酰化面筋蛋白的弱筋粉 Weak biceps flour added by 2% succinylate gluten	68.12	7.6	9.0	70

### 3 讨论

我国是小麦生产大国,近几年来,由于小麦的连年增产,小麦供大于求,一些小麦的主产区,小麦积压严重,小麦价格一降再降,严重挫伤了农民的种粮积极性。如何解决小麦的出路,成为食品科技工作者面临的紧迫问题。小麦可分离为淀粉和面筋蛋白,淀粉的用途广泛,而面筋蛋白由于功能特性较差,限制了它的应用范围。目前小麦面筋蛋白仅被用来加工成湿面筋、油面筋等传统食品及用在饲料工业上。小麦面筋蛋白经琥珀酰化反应后,产物的溶解度、起泡性、起泡稳定性及乳化等功能特性都得到了较大程度的提高,在强化弱筋粉的试验中也得到了较好的效果。小麦面筋蛋白原料丰富,价格低廉,采用琥珀酰化的方法对面筋蛋白进行改性,提高其功能特性,就可以拓宽面筋蛋白的使用范围,提高产品的附加值,获得较高的经济效益。本试验对小麦面筋蛋白的开发与利用提供了新的思路。

对琥珀酰化小麦面筋蛋白在食品中的应用效果尚未进行探讨,今后应加强对琥珀酰化小麦面筋蛋白在食品工业及其它行业中的应用研究,探讨工业生产条件下使用琥珀酰化小麦面筋蛋白的可行性,并对琥珀酰化小麦面筋蛋白对人体的安全性进行评价。

### References

[ 1 ] Barber Kathleen J , Warthesen Joseph J . Some functional properties of acylated wheat gluten. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* , 1982 ( 30 ) :930 - 934 .  
 [ 2 ] 史新慧,王 兰.小麦面筋蛋白改性的研究. 郑州粮食学院学报, 2000 ( 1 ) :27 - 28 .  
 Shi X H , Wang L . Study on the modified gluten protein. *Journal of Zhengzhou Grain College* , 2000 ( 1 ) :27 - 28 .( in Chinese )

[ 3 ] 史新慧,王 兰.植物蛋白的改性. 郑州粮食学院学报, 1996 , 17( 4 ) :60 - 63 .  
 Shi X H , Wang L . Study on the modified plant protein. *Journal of Zhengzhou Grain College* , 1996 , 17( 4 ) :60 - 63 .( in Chinese )  
 [ 4 ] 王肇慈.粮油食品品质分析. 北京:中国轻工业出版社, 2000 : 349 - 361 .  
 Wang Z C . *The Quality Analysis of Grain and Oil* . Beijing : China Light Industry Press , 2000 :349 - 361 .( in Chinese )  
 [ 5 ] 宁正祥.食品成分分析手册. 北京:中国轻工业出版社, 1998 : 119 - 124 .  
 Ning Z X . *The Handbook of Food Ingredient Analysis* . Beijing : China Light Industry Press , 1998 :119 - 124 .( in Chinese )  
 [ 6 ] Franzen K L , Kinsella J E . Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. *Journal of Agriculture Food Chemistry* , 1976 , 24( 4 ) :788 - 795 .  
 [ 7 ] Franzen K L , Kinsella J E . Functional properties of succinylated and acetylated leaf protein. *Journal of Agriculture Food Chemistry* , 1976 , 24( 4 ) :914 - 919 .  
 [ 8 ] Childs E K , Park K K . Functional properties of acylated glandless cottonseed flour. *Journal Food Sciences* , 1976 , 41 :1 557 - 1 561 .  
 [ 9 ] 左国超,唐民刚. Mathematica 软件在学生素质测评中的应用. 云南大学学报, 2001 23( 1 ) :13 - 15 .  
 Zuo G C , Tang M G . The application of Mathematica software in student 's disposition test. *Journal of Yunnan University* , 2001 23( 1 ) :13 - 15 .( in Chinese )  
 [ 10 ] 李 丹,崔 凯.食品蛋白质的改性研究. 食品与发酵工业, 1999 25( 6 ) :58 - 62 .  
 Li D , Cui K . Modified technology of food protein. *Food and Fermentation Industries* , 1999 25( 6 ) :58 - 62 .( in Chinese )  
 [ 11 ] Paulson A T , Tung M A . Solubility , hydrophobicity and net charge of succinylated canola protein isolate. *Journal of Food Sciences* , 1987 52( 6 ) :1 557 - 1 561 .  
 [ 12 ] Gruener I , Ismond M A H . Effects of acetylation and succinylation on the functional properties of the canola 12S globulin. *Food Chemistry* , 1997 60( 4 ) :513 - 520 .  
 [ 13 ] Czuchajowaka Z . Is wet gluten good for baking ? *Cereal Chemistry* , 1996 73 :483 - 489 .