

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20240038

网络首发日期: 2024-07-15; 网络首发地址: <http://link.cnki.net/urlid/12.1355.n.20240710.2015.010>

螺杆转速对高湿挤压蛋白品质及结构特性的影响

张雅菲¹, 李茜¹, 张宝伟², 宁海凤¹, 康继¹, 郭庆彬¹

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457; 2. 天津锦城智能科技有限公司, 天津 300202)

摘要: 通过设定不同的螺杆转速来探究双螺杆挤压机对高湿挤压蛋白产品的品质特性、结构特性和比机械能的影响,并揭示了上述特征之间的相关性。结果显示,随着螺杆转速的增加,在宏观层面上,产品水分含量逐渐降低,在 340 r/min 时自由水峰面积比最高,此时产品的硬度、咀嚼度达到最大值,组织化度提高到 1.14;在微观层面上, β -折叠比例下降, β -转角比例上升,焓变在 340 r/min 时下降到最低,产品的纤维结构最明显。相关性分析表明,比机械能与硬度/弹性/咀嚼度/组织化度之间、自由水峰面积比与纤维孔洞结构特征之间、变性温度与二级结构/硬度/弹性/咀嚼度等质构特性之间均呈显著相关性($P < 0.05$)。这表明结构特性与品质特性之间相互印证,为高湿挤压技术制备植物肉提供理论参考。

关键词: 高湿挤压技术; 螺杆转速; 比机械能; 质构特性; 结构特性

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2025)03-0027-10

Effect of Screw Speed on the Quality and Structural Properties of High-Moisture Extruded Protein

ZHANG Yafei¹, LI Xi¹, ZHANG Baowei², NING Haifeng¹, KANG Ji¹, GUO Qingbin¹

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin Jincheng Intelligent Technology Co., Ltd., Tianjin 300202, China)

Abstract: By setting different screw speeds, we explored the effects of twin-screw extruder on the quality characteristics, structural properties and specific mechanical energy of high-moisture extruded protein products, and further investigated the correlation between these characteristics. The results showed that, at the macro level, with the increase of screw speed, the moisture content of the product gradually decreased, and the peak area ratio of free water was the highest at 340 r/min. At this time, the hardness and chewiness of the product reached the maximum values, and the texture degree was improved to 1.14. At the microlevel, the β -folding ratio decreased, the β -rotation angle increased, and the enthalpy change value also decreased to the lowest at 340 r/min rotation speed, and the fiber structure of the product was the most obvious. Correlation analysis showed that there were significant correlations between specific mechanical energy and hardness/elasticity/chewiness/texture, between free water peak area ratio and fiber pore structure characteristics, and between denaturation temperature and secondary structure/hardness/elasticity/chewiness and other texture characteristics ($P < 0.05$). The results indicated that structure and quality characteristics were mutually confirmed, which is expected to provide theoretical reference for the preparation of plant meat by high-moisture extrusion technology.

Key words: high-moisture extrusion technology; screw speed; specific mechanical energy; textural properties; structural properties

引文格式:

张雅菲, 李茜, 张宝伟, 等. 螺杆转速对高湿挤压蛋白品质及结构特性的影响[J]. 天津科技大学学报, 2025, 40(3): 27-

收稿日期: 2024-03-07; 修回日期: 2024-04-14

基金项目: 天津市科技计划项目(21ZYJJC00110, 22YDTPJC00370)

作者简介: 张雅菲(1998—), 女, 甘肃人, 硕士研究生; 通信作者: 郭庆彬, 教授, guoqingbin008322@tust.edu.cn

36.

ZHANG Y F, LI X, ZHANG B W, et al. Effect of screw speed on the quality and structural properties of high-moisture extruded protein[J]. Journal of Tianjin university of science and technology, 2025, 40(3): 27-36.

动物源蛋白质是全世界人类饮食中重要的蛋白质来源,然而动物源蛋白质的生产会增加温室气体的排放,造成水分、土地以及能源的消耗^[1]。寻找可持续的肉类替代品是未来食品的发展方向,以植物蛋白为原料的植物肉市场迅速向全球扩张^[1],该领域的创新将推动人们选择更健康、更环保的饮食,但植物肉产品存在表面粗糙、组织化程度低、咀嚼度差等问题,高湿挤压技术的出现使以上问题得到解决。该技术是目前应用最为广泛的新兴植物蛋白生产技术^[2]。将蛋白质原料经过复配、混合等预处理后,在挤压机内通过高温高压双螺杆齿轮高速剪切后,迅速通过长直冷却模具,形成具有一定纤维结构的高湿挤压蛋白产品。该产品质地均匀、富有韧性、纤维化程度高,可以模仿肉类的独特结构、质地^[3]。

尽管挤压工艺已经广泛应用于植物肉的生产,但研究多依赖经验,挤压机内部物料变化复杂且难以检测^[2]。研究工艺参数的变化对产品结构特性及品质特性的影响,有助于探究蛋白质在挤压过程中的结构变化及变性程度。相较于温度和水分含量对产品的影响,螺杆转速的影响最容易被忽略。通过改变螺杆转速直接影响剪切速率,改变蛋白质混合物在挤压机内的停留时间,适当提高螺杆转速可以促进蛋白质分子之间的交联^[4],有利于形成类似于肉类的纤维结构,提高产品的硬度、咀嚼度等质构特性和组织化度。Sisay 等^[5]采用颜色追踪方法评估产品在机筒内的停留时间分布,发现螺杆转速的增加会导致平均停留时间减少。Palanisamy 等^[6]通过测定挤出机响应(模头压力、产品温度、扭矩和比机械能),与产品色泽、质构特性及扫描电子显微镜结果之间建立相关性。肖志刚等^[7]测定产品的质构特性、微观结构、热特性和表面疏水性,当螺杆转速为 280 r/min 时,二级结构中无规则卷曲比例增加,产品纤维结构和质构特性结果最优。以上研究表明螺杆转速变化会对挤压机参数、产品特性、结构特性产生影响,但对于螺杆转速变化下,比机械能、结构特性、品质特性之间没有进行系统的论述。

本课题组与山东艾琪食品有限责任公司合作,根据实际生产时调节的挤压机参数设计实验,通过改变挤压机的螺杆转速,系统阐述在不同转速下扭矩及比机械能(specific mechanical energy, SME)的变化,挤

压产品的水分含量及分布,硬度、弹性、咀嚼度、流变性能、色泽、组织化度等品质性质,以及微观的二级结构、热特性及扫描电子显微镜下纤维结构的变化,深入探究其相关性。通过探究螺杆转速变化对蛋白质的影响,研究工艺、系统和产品参数之间的相关性,为高湿挤压蛋白的生产提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

大豆粉、大豆分离蛋白,临沂山松生物制品有限公司;谷朊粉,滨州中裕食品有限公司;实验用水为蒸馏水。

1.2 仪器与设备

双螺杆挤压机,山东艾琪食品有限责任公司;Micro MR-25 型核磁共振成像分析仪,苏州纽迈电子科技有限公司;CR-10 型色差仪;TA-XT Plus 型物性测试仪,英国 Stable Micro System 公司;DSC3500 Sirius 型差示扫描量热仪(DSC),德国耐驰科学仪器商贸(上海)有限公司;IS50 型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)、旋转流变仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;SU1510 型扫描电子显微镜(SEM),日立(中国)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 不同蛋白原料基本性质及功能性质的测定

粗蛋白的测定:参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的自动凯氏定氮法进行测定。

溶解氮(NSI)的测定:参照 NY/T 1205—2006《大豆水溶性蛋白含量的测定》测定上清液质量($m_{\text{上清液}}$)和样品质量($m_{\text{样品}}$),根据式(1)计算溶解氮(ω_{NSI})^[8]。

$$\omega_{\text{NSI}} = \frac{m_{\text{上清液}}}{m_{\text{样品}}} \times 100\% \quad (1)$$

持水性和持油性测定:参考薛晓程等^[9]的方法,按照式(2)和式(3)计算持水性(ω_{water})和持油性(ω_{oil})。

$$\omega_{\text{water}} = \frac{m_3 - m_2 - m_1}{m_2} \times 100\% \quad (2)$$

$$\omega_{\text{oil}} = \frac{m_5 - m_4 - m_1}{m_4} \times 100\% \quad (3)$$

式中: m_1 为 100 mL 离心管的质量, g; m_2 为粉样的质量, 10.00 g; m_3 为离心后剩余粉样与离心管的质量, g; m_4 为粉样的质量, 3.00 g; m_5 为离心后剩余粉样和离心管的质量, g。

1.3.2 螺杆转速变化下高湿挤压蛋白的挤压工艺

工艺流程^[10]: 蛋白粉样品称量→按照不同比例混合均匀→加到喂料机中→设定进水量和机筒温度→改变螺杆转速→机筒内高温高压高剪切处理→进入长直冷却模具→切刀切割→自然冷却→取样。

将大豆分离蛋白、大豆粉、谷朊粉以质量比 1 : 6 : 3 的比例进行挤压。在进行高湿挤压实验时, 自动喂料机的加料量为 60 kg/h, 水分含量设定为 62% (蛋白质原料本身水分计算在内), 挤压机共分为Ⅷ段, I、II 段为升温阶段, III—Ⅷ段温度设定依次为 80、155、160、80、50、40 °C。根据生产车间以往经验, 螺杆转速低于 300 r/min, 机筒内部转速太低可能会阻碍物料向前推动, 导致机器内部容易发生堵料, 而螺杆转速过高, 会使电能消耗过大, 所以选择螺杆转速的梯度为 300、320、340、360 r/min。

1.3.3 比机械能的测定

在挤压过程中记录电机扭矩、螺杆转速和挤压机稳定时的质量流量, 并在每个实验条件下扭矩趋于平稳时收集样品^[11]。比机械能(e_{SME})按照式(4)计算。

$$e_{SME} = \frac{2\pi \times n \times T}{q_m} \quad (4)$$

式中: e_{SME} 为比机械能, kJ/kg; n 为螺杆转速, r/min; T 为电机扭矩, N·m; q_m 为质量流量, kg/h。

1.3.4 螺杆转速变化下高湿挤压蛋白品质特性的测定

水分的测定: 参照 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》中的直接干燥法。

水分分布的测定: 样品切割成 10 mm × 10 mm × 10 mm 的尺寸放入核磁管中, 以大豆油为参比, 使用 Micro MR-25 型核磁共振成像分析仪的 Carr-Purcell-Meiboom-Gill(CPMG)序列测定自旋-自旋弛豫时间(t_2)^[12], NS 设置为 14, TW 设置为 1 000 ms, 重复 3 次, 记录 3 个弛豫时间(t_{21} 、 t_{22} 、 t_{23})^[13]。

色泽的测定: 采用 CR-10 型色差仪, 以白色 A4 纸为空白标准板, 用于校正色差仪, 输出 ΔE 、 L^* 、 a^* 、 b^* 。以空白 A4 纸作为对照, 其中 L^* 代表产品的明暗度, 若为正值, 说明产品亮于背景板, 反之则暗; a^* 代表红绿度, 若为正值, 说明产品较标准偏红色, 反之偏绿色; b^* 代表黄蓝度, 若为正值, 说明产品较标准

偏黄色, 反之偏蓝色; ΔE 代表总体色差的大小, 可以通过 L^* 、 a^* 、 b^* 进行计算。随机测定 10 个不同位点。

质构特性的测定: 参考孙志欣^[14]的方法略作修改, 采用 TA-XT Plus 型物性测试仪, 从全质构分析(TPA)测定挤压样品的硬度、弹性、咀嚼度等指标。样品(尺寸为 20 mm × 20 mm × 10 mm)放置在平台样品架上, 使用 P100 圆柱形探头, 操作参数: 测试前、测试中、测试后速度分别为 2 mm/s、1 mm/s、2 mm/s, 下压程度 50%, 间隔时间 3 s^[15], 往复 2 次, 每次实验重复 5 次。

流变性质的测定: 参考肖志刚等^[7]的方法略作修改, 将样品削至 1 mm 厚度后放在流变仪的平台上, 采用 P35 探头, 以 0.5% 恒定应变幅度在 25 °C 下 0.1 ~ 20 Hz 的范围内进行频率扫描。

组织化度的测定: 采用 TA-XT Plus 型物性测试仪分别沿垂直方向(横向剪切力)和平行于挤压方向(纵向剪切力)对高湿挤压蛋白进行切割^[16]。样品尺寸为 25 mm × 35 mm × 10 mm, 操作参数: HDP/BS 探头, 测试前、测试中、测试后速度分别为 1.0 mm/s、1.0 mm/s、2.0 mm/s, 剪切程度 75%^[14], 每次实验重复 5 次。组织化度为横向剪切力与纵向剪切力的比值。

1.3.5 螺杆转速变化下高湿挤压蛋白微观结构的测定

二级结构的测定: 参考 Xia 等^[13]的方法, 称取 1 mg 样品和 150 mg 溴化钾制成透明片, 采用傅里叶变换红外光谱进行测定, 室温下扫描范围 500 ~ 4 000 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描 64 次。采用 OMNIC 9.2 软件用于基线校正、平滑、傅里叶自反卷积和二阶导数拟合对数据进行处理^[17]。

热特性的测定: 样品冷冻干燥后磨粉过筛, 参照刘长姣等^[18]的方法略作修改, 称取 2 mg 样品置于坩埚中, 再加入 3 倍质量水(除去样品本身的含水量), 采用差示扫描量热仪进行测定, 升温程序设定为: 温度 20 ~ 210 °C, 升温速率 10 °C/min, 每个实验重复 3 次。

微观结构的测定: 将样品切成 10 mm × 10 mm × 2 mm 的尺寸, 然后将样品进行冷冻干燥, 参考 Wu 等^[19]的方法, 将冷冻干燥样品用双倍胶带固定在铝柱上, 喷金 15 min, 在 5.0 kV^[13]加速电压下通过扫描电子显微镜观察。

1.4 数据分析

数据以“平均值 ± 标准差”表示, 采用 Origin 9.0 软件、IBM SPSS Statistics 26 等对数据进行处理, 计算皮尔逊相关系数。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白原料的基本性质和功能性质

对大豆分离蛋白、大豆粉和谷朊粉进行挤压,这3种原料是目前常用的生产高湿挤压植物肉的原料。

表 1 不同蛋白原料基本性质及功能性质测定结果

Tab. 1 Measurement results of basic and functional properties of different protein raw materials

蛋白原料	蛋白质含量/%	溶解氮/%	持水性/%	持油性/%
大豆分离蛋白	74.66 ± 1.10 ^a	81.83 ± 2.66 ^{ab}	630.47 ± 36.90 ^a	218.83 ± 10.13 ^a
大豆粉	44.72 ± 1.12 ^c	84.21 ± 0.25 ^a	101.80 ± 1.58 ^c	111.56 ± 1.84 ^b
谷朊粉	67.94 ± 0.36 ^b	5.82 ± 0.10 ^c	126.07 ± 0.06 ^b	75.00 ± 1.71 ^c

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 螺杆转速对比机械能的影响

比机械能是每单位质量熔体吸收的机械能的指标^[15]。由表 2 结果分析可知,随着螺杆转速的增加,扭矩和 SME 显著增大^[21]($P<0.05$),这与 Maung 等^[22]和 Kang 等^[23]的结论一致,转速的增加会增大螺杆与物料之间的摩擦,提高挤压机机筒内的压力和扭矩^[20],所以需要输入更大的 SME。

表 2 螺杆转速对 SME 的影响

Tab. 2 Effect of screw speed on SME

螺杆转速/ (r·min ⁻¹)	扭矩/(N·m)	质量流量/ (kg·h ⁻¹)	比机械能/(kJ·kg ⁻¹)
300	46 ± 0.60 ^c	24 ± 0.45 ^c	3 614.88 ± 114.90 ^c
320	47 ± 0.80 ^c	26 ± 0.33 ^a	3 635.84 ± 108.01 ^c
340	51 ± 0.40 ^b	25 ± 0.22 ^b	4 358.53 ± 72.53 ^b
360	55 ± 0.50 ^a	25 ± 0.55 ^b	4 979.54 ± 54.78 ^a

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)。

2.3 螺杆转速对挤压蛋白品质特性的影响

2.3.1 螺杆转速对挤压蛋白的水分含量、自由度及色泽的影响

螺杆转速对挤压蛋白水分含量的影响如图 1 所示。随着螺杆转速的增加,挤压蛋白水分含量呈下降趋势,但在 340 r/min 时放缓,表明螺杆转速的增加会使物料的温度升高,导致挤压蛋白水分蒸发。图 2 是不同螺杆转速下挤压蛋白水分弛豫时间 t_2 反演图。低场核磁共振技术可测定植物蛋白体系中水分迁移状况^[24]。图 2 中的峰从左到右依次为深层结合水、弱结合水、自由水,随着螺杆转速的增加,峰逐渐向结合水的方向偏移,这与挤压蛋白水分含量降低的趋势一致,表明螺杆转速越高,其水分自由活跃度越低,越能促进产品内部蛋白质分子之间的交联。

借助色差仪对挤压蛋白的色泽进行分析,不同螺杆转速下挤压蛋白色泽数据及与水分含量的相关性

不同蛋白原料基本性质及功能性质测定结果见表 1。大豆分离蛋白的蛋白质含量相对较高,其拥有最优越的持水性和黏性;大豆粉有很高的溶解氮指数,其与凝胶性、乳化性功能特性密切相关;谷朊粉独有的麦醇蛋白和麦谷蛋白有助于高湿挤压蛋白形成高弹性的网络结构^[20]。

见表 3。螺杆转速对挤压蛋白的 a^* 、 b^* 都有显著影响($P<0.05$),对 L^* 的影响不显著, ΔE 呈现显著性变化($P<0.05$)。随着螺杆转速的增大, a^* 、 b^* 逐渐减小,这可能是螺杆转速增大会缩短物料在机筒内的停留时间,进而减弱美拉德反应的程度^[25],降低产品偏红和偏黄的程度,使挤压蛋白颜色逐渐偏浅。相关性分析显示,水分含量与 ΔE 、 a^* 、 b^* 都呈现正相关($P<0.05$)关系,说明螺杆转速增大会使机筒内部温度升高,水分含量下降,也会影响最终挤压蛋白的颜色。

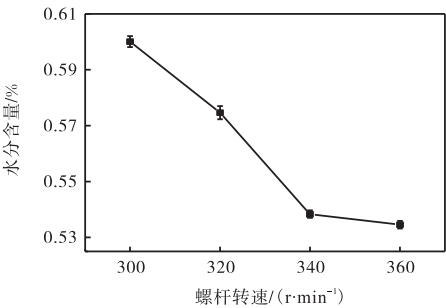


图 1 螺杆转速对挤压蛋白水分含量的影响

Fig. 1 Effect of screw speed on the moisture content of extruded protein

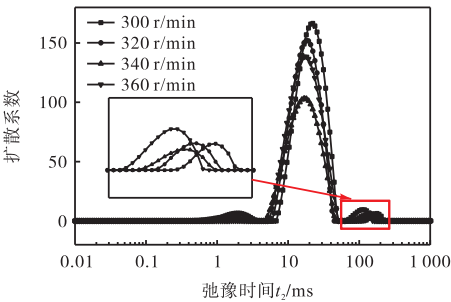


图 2 不同螺杆转速下挤压蛋白水分弛豫时间 t_2 反演图

Fig. 2 Inversion diagram of water relaxation time t_2 of extruded products under different screw speeds

表 3 不同螺杆转速下挤压蛋白的色泽数据及与水分含量的相关性

Tab. 3 Color data of extruded protein under different screw speeds and their correlation with moisture content

螺杆转速/(r·min ⁻¹)	ΔE	L^*	a^*	b^*
300	16.83 ± 0.12 ^a	-13.40 ± 0.20 ^{ab}	4.97 ± 0.15 ^a	8.93 ± 0.12 ^a
320	16.93 ± 0.12 ^a	-13.67 ± 0.25 ^b	4.53 ± 0.06 ^b	8.90 ± 0.26 ^a
340	16.20 ± 0.28 ^b	-13.60 ± 0.23 ^b	4.45 ± 0.07 ^b	7.60 ± 0.14 ^b
360	14.93 ± 0.21 ^c	-13.00 ± 0.26 ^a	3.70 ± 0.01 ^c	6.37 ± 0.12 ^c
水分含量相关系数	0.785 ^{**}	-0.286	0.848 ^{**}	0.878 ^{**}

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$),**在 $P<0.01$ 级别(双尾)相关性显著。

2.3.2 螺杆转速对高湿挤压蛋白水分分布、质构特性、流变特性及组织化度的影响

不同螺杆转速下挤压蛋白的水分分布峰面积比见表 4, 其中 A_{20} 为强结合水的峰面积比, A_{21} 为弱结合水的峰面积比, A_{22} 为自由水的峰面积比^[12]。由表 4 可知, 在挤压蛋白内部, 水分主要以结合水的形式存在, 其中自由水的峰面积比随着螺杆转速的增大而增大($P<0.05$), 在 340 r/min 的转速下达到最大值。在挤压蛋白内部自由水峰面积越大, 越容易形成纤维的孔洞结构, 表明在 340 r/min 时挤压蛋白更具备形成孔洞结构的条件; 在 360 r/min 时自由水峰面积有所下降, 说明当其空间网络结构达到一定程度后, 再增加螺杆转速, 可能会对挤压产品造成过度剪切, 不利于纤维孔洞结构的形成。

表 4 不同螺杆转速下挤压蛋白的水分分布峰面积比

Tab. 4 Peak area ratio of moisture distribution in extruded protein under different screw speeds

螺杆转速/(r·min ⁻¹)	$A_{20}/\%$	$A_{21}/\%$	$A_{22}/\%$
300	2.84 ± 0.96 ^a	96.02 ± 0.89 ^b	1.15 ± 0.09 ^c
320	2.59 ± 0.67 ^a	96.10 ± 0.65 ^b	1.31 ± 0.14 ^{bc}
340	0.23 ± 0.32 ^b	97.45 ± 0.36 ^a	2.31 ± 0.57 ^a
360	0.59 ± 0.46 ^b	97.73 ± 0.45 ^a	1.67 ± 0.08 ^b

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)。

不同螺杆转速下挤压蛋白的质构特性见表 5。螺杆转速对硬度、黏性、咀嚼度有显著影响($P<0.05$), 对凝聚力的影响不显著^[25]($P>0.05$)。随着螺杆转速的增大, 在转速为 340 r/min 的时候硬度、黏性和咀嚼

度达到最大值。上述质构特性达到最大值而后下降, 原因可能是: 一方面螺杆转速的增加会增大螺杆对物料的剪切力度, 过快的螺杆转速可能造成过度剪切, 破坏蛋白质的分子结构; 另一方面螺杆转速快慢与物料在机筒内停留时间有关, 螺杆转速越快, 物料在机筒内的停留时间越短, 360 r/min 时物料在机筒内停留时间太短^[14], 不足以使挤压蛋白形成良好的质构。

不同螺杆转速下挤压蛋白的流变特性、弹性和组织化度如图 3 所示。流变特性中的储能模量 G' 代表样品的弹性, 损耗模量 G'' 表示样品的黏性^[26]。由图 3(a) 可知, G' 和 G'' 随角频率形成规律性的增加趋势, 且所有挤压条件下的 G' 均高于 G'' , 表明挤压蛋白的成形性能较好, 表现出良好的弹性。随着螺杆转速的增大, G' 在 340 r/min 时最高, 表明螺杆转速的增加有助于蛋白质和水分形成紧密的交联结构, 形成一定韧性。图 3(b) 中质构特性的弹性测定结果同图 3(a) 中的趋势一致, 也与硬度、黏性、咀嚼度趋势一致。图 3(c) 中组织化度横向剪切力基本呈现上升的趋势, 纵向剪切力先升高后下降, 最终的组织化度呈先上升后下降的趋势, 在 340 r/min 时达到最高值 1.14, 表明螺杆转速增大有助于组分之间形成相互交联的组织化结构。当达到一定程度后, 剪切力与组织化度成反比, 表明过高的螺杆转速可能会破坏组织化度, 这与 Ferawati 等^[11]的研究结果一致, 较高的螺杆速度可以提高硬度和切削强度(横向和纵向)值, 使组织化度增加, 但当螺杆转速过高时, 强剪切力导致纤维变弱。

表 5 不同螺杆转速下挤压蛋白的质构特性

Tab. 5 Textural property index of extruded protein under different screw speeds

螺杆转速/(r·min ⁻¹)	硬度/g	黏性	咀嚼度/g	凝聚力
300	11240.75 ± 595.79 ^d	8 910.42 ± 805.46 ^d	8 139.59 ± 195.00 ^d	0.79 ± 0.06 ^a
320	18 078.81 ± 809.69 ^c	13 790.74 ± 870.20 ^c	12 244.15 ± 731.97 ^c	0.76 ± 0.02 ^a
340	23 618.43 ± 837.33 ^a	18 796.86 ± 606.59 ^a	18 000.86 ± 723.46 ^a	0.80 ± 0.01 ^a
360	21 066.83 ± 185.78 ^b	17 166.91 ± 183.53 ^b	16 413.53 ± 723.29 ^b	0.82 ± 0.05 ^a

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)。

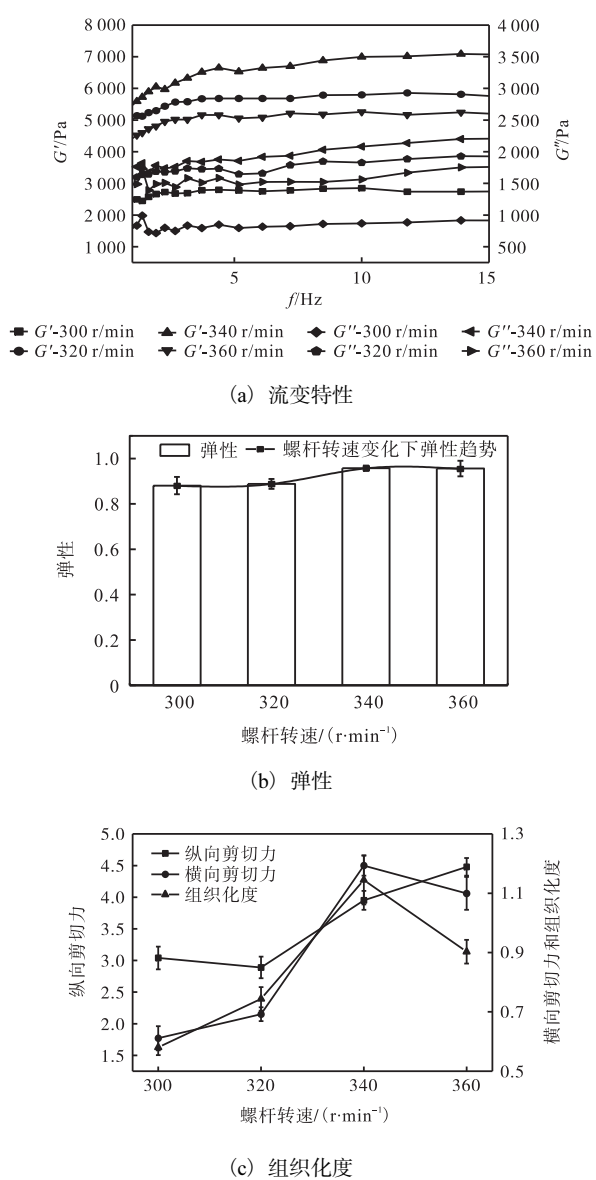


图3 不同螺杆转速下挤压蛋白的流变特性、弹性及组织化度

Fig.3 Rheological , elastic and textural degree of extruded protein under different screw speeds

2.4 螺杆转速对挤压蛋白微观结构的影响

2.4.1 二级结构

傅里叶变换红外光谱技术是目前研究氢键强有力的手段^[17],可用于分析蛋白质构象的变化、酰胺键

特征吸收峰的变化^[27],推测蛋白质分子的改性程度和交联情况^[28],酰胺 I 谱带的振动频率(1 600 ~ 1 700 cm⁻¹)对蛋白质二级结构较敏感,可推测蛋白质二级结构含量的变化^[29]。

由表 6 可知,蛋白原料挤压前后蛋白质二级结构变化显著($P<0.05$),蛋白质结构中 α -螺旋和 β -折叠属于有序结构, β -转角和无规卷曲属于无序结构。在挤压后, β -折叠和 α -螺旋比例显著增加($P<0.05$),无规则卷曲的比例显著下降($P<0.05$),表明挤压后的蛋白质结构更有序、更稳定。

随着螺杆转速的增大, β -折叠的比例显著下降($P<0.05$),无规则卷曲变化不显著, β -转角比例增大,在 340 r/min 时比例达到最大值(23.85 ± 0.98)%。 β -转角能很好地调整蛋白质内部的空间结构,这与组织化度的结果一致。Zhang 等^[30]也发现随着螺杆转速的增加,挤压蛋白的 β -折叠比例显著下降($P<0.05$), β -转角比例显著升高($P<0.05$)。这可能是由于提高螺杆转速增加了螺杆对物料的剪切作用及物料之间的压力^[25],使蛋白质中 β -折叠形成了聚集体,或重新排列形成松散的 β -转角结构,也表明氢键可能被削弱甚至断裂,未折叠的蛋白质分子链在通过长直冷却模具后会重新排列为 β -转角的簇状纤维结构。

2.4.2 热特性

差示扫描量热仪(DSC)可以用来测定挤压后蛋白质的构象变化,得到变性温度(T_p)和焓变(ΔH), T_p 反映蛋白质结构的热稳定性, ΔH 反映有序结构的含量^[25,31]。不同螺杆转速对挤压蛋白变性温度和焓变的影响见表 7。

随着螺杆转速的增大, T_p 没有显著差异($P>0.05$),在 340 r/min 时 T_p 最高约为 172 ℃; ΔH 有着显著的差别($P<0.05$),在 340 r/min 时,焓变为最小值,表明此转速下氢键可能发生断裂,与二级结构中 β -折叠的比例下降相对应。转速增大至 360 r/min 后,焓变升高的原因可能是螺杆转速过快,氢键断裂时吸热反应太剧烈^[29],分子聚集程度变大,这与肖志刚等^[7]的结果一致。

表 6 螺杆转速变化下蛋白原料及挤压后产品的二级结构比例情况

转速/(r·min ⁻¹)	β_1 比例/%	β_2 比例/%	β -折叠比例/%	无规则卷曲比例/%	α -螺旋比例/%	β -转角比例/%
蛋白原料	17.44 ± 1.03 ^d	13.32 ± 1.11 ^d	30.76 ± 0.98 ^d	14.22 ± 0.67 ^a	7.56 ± 0.56 ^b	19.34 ± 0.45 ^b
300	35.20 ± 1.06 ^a	19.40 ± 1.02 ^a	54.60 ± 1.00 ^a	9.76 ± 1.00 ^b	21.77 ± 1.00 ^a	13.87 ± 1.04 ^c
320	27.23 ± 1.20 ^b	18.73 ± 1.03 ^a	45.96 ± 1.00 ^b	9.77 ± 1.00 ^b	20.53 ± 1.01 ^a	23.73 ± 1.03 ^a
340	26.23 ± 0.74 ^b	20.13 ± 0.85 ^a	45.47 ± 0.82 ^{bc}	10.49 ± 0.96 ^b	21.92 ± 0.96 ^a	23.85 ± 0.98 ^a
360	23.61 ± 0.77 ^c	19.24 ± 0.75 ^a	43.74 ± 0.71 ^c	9.81 ± 0.01 ^b	20.96 ± 0.72 ^a	23.76 ± 0.74 ^a

注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异($P<0.05$), β -折叠比例= β_1 比例+ β_2 比例。

表 7 不同螺杆转速对挤压蛋白变性温度和焓变的影响

Tab. 7 Effect of screw speed denaturation temperature and enthalpy change of extruded protein

螺杆转速/(r·min ⁻¹)	起始温度 T_0 /°C	变性温度 T_p /°C	结束温度 T_e /°C	焓变 ΔH /(J·g ⁻¹)
300	162.40 ± 1.56 ^a	169.10 ± 0.99 ^a	182.70 ± 1.56 ^{ab}	1 421.00 ± 5.66 ^a
320	159.95 ± 2.76 ^a	170.90 ± 3.11 ^a	180.45 ± 0.35 ^a	1 377.00 ± 7.07 ^{ab}
340	163.90 ± 0.28 ^a	172.00 ± 0.71 ^a	181.50 ± 1.27 ^{ab}	1 262.50 ± 64.35 ^c
360	162.60 ± 4.81 ^a	171.45 ± 1.48 ^a	179.80 ± 1.27 ^b	1 285.00 ± 5.66 ^{bc}

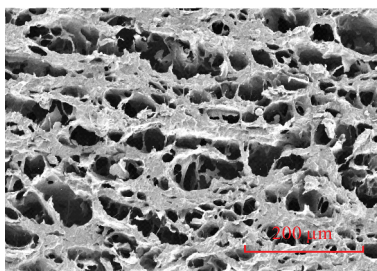
注:同一列的不同字母表示组间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4.3 纤维结构

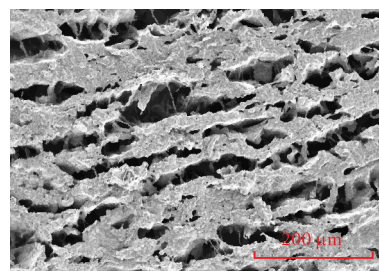
高湿挤压蛋白纤维结构的形成是由于在双螺杆挤压机后面接有冷却模具, 熔融状态下的蛋白质和水的混合物, 通过长冷却模具时突然冷却, 从而形成一定的纤维结构^[26, 32]。

图 4 为不同螺杆转速下挤压蛋白的扫描电子显微镜图。当螺杆转速为 300 r/min 时, 挤压蛋白表面散落着孔洞, 但未形成致密有序的层次; 当螺杆转速增大到 320 r/min 时, 挤压蛋白有清晰的层状结构, 排列

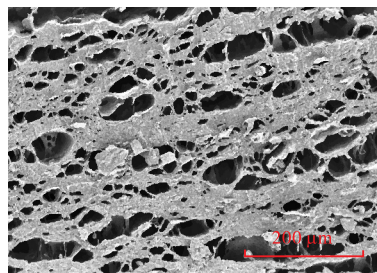
较为整齐; 在 340 r/min 时, 挤压蛋白截面排列整齐的层次之间有明显的交联, 结构呈现纤维状; 但当螺杆转速增加到 360 r/min 时, 挤压蛋白横截面的交联程度有所降低, 且有断裂现象。螺杆转速的增加可以帮助挤压蛋白形成更加致密的纤维细丝结构, 组织蛋白层状结构清晰且整齐, 具有精细的定向结构^[29], 但过高的螺杆转速, 可能会破坏其致密的结构, 这与王秋野^[25]的结论一致。当螺杆转速增大到一定程度后, 样品的粗糙程度会增加, 内部气孔数量增多。



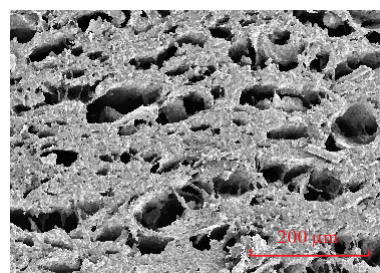
(a) 300 r/min



(b) 320 r/min



(c) 340 r/min



(d) 360 r/min

图 4 不同螺杆转速下挤压蛋白的扫描电子显微镜图

Fig. 4 SEM images of extruded protein under different screw speeds

2.5 SME、挤压产品品质特性、微观结构及其相关性分析

SME、挤压产品的品质特性、微观结构及其相关性如图 5 所示, 其中***表示 $P < 0.001$, **表示 $P < 0.01$, *表示 $P < 0.05$ 。由图 5 可知, SME 与 ΔE 、 b^* 、 a^* 呈显著负相关 ($P < 0.05$), 表明螺杆转速增大使机筒内部的剪切力变大, 在高扭矩的作用下, 会使挤压蛋白的颜色变浅, 有利于改善色泽。SME 与质构特性、组织化度呈现显著正相关 ($P < 0.05$), 这与 Pietsch

等^[33]和 Palanisamy 等^[6]的结论一致, 表明增加内部的压力和扭矩有助于蛋白质交联和组织化的增加, 硬度、咀嚼度等质构特性随着 SME 的增大而增大。

螺杆转速变化下自由水峰面积与质构特性、组织化度之间都呈现显著正相关 ($P < 0.05$), 自由水的峰面积变化与组织化度呈现极显著正相关 ($P < 0.01$), 表明挤压蛋白内自由水的分布与纤维化的孔洞结构具有相关性。挤压蛋白的硬度、弹性、咀嚼度等和组织化度两两之间也存在着极显著的正相关关系 ($P <$

0.01)。随着螺杆转速的变化,质构特性之间互相关联,硬度的增加会使挤压蛋白拥有更大的弹性和咀嚼度,增加产品的口感和韧性,有助于形成拉丝状态,也会生成更像肉类的纤维化孔洞结构。

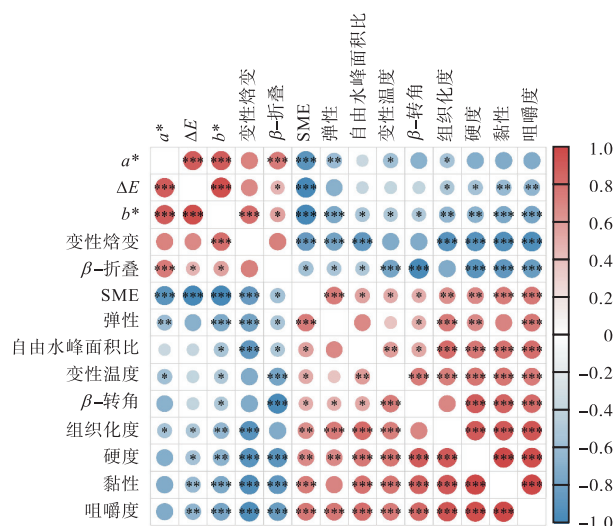


图5 SME、挤压蛋白的品质特性、微观结构及其相关性
Fig. 5 SME, quality characteristics, microstructure of extruded protein, and their correlation

螺杆转速变化下挤压蛋白微观结构中的 T_p 、二级结构中的 β -折叠、 β -转角含量呈显著相关性 ($P < 0.05$), 但 ΔH 与它们的相关性不显著。 β -折叠与 β -转角呈现极显著负相关 ($P < 0.01$), 表明螺杆转速的变化使 β -折叠比例下降、 β -转角比例上升。 T_p 与 β -转角呈现显著正相关, 说明 β -转角结构生成后帮助提高挤压蛋白的稳定性。

T_p 、 β -转角与质构特性、组织化度之间呈现显著正相关关系 ($P < 0.05$)。 T_p 越大, 表明挤压蛋白的微观结构越稳定; β -转角的形成有助于挤压蛋白重新排列形成纤维状结构, 有助于挤压蛋白形成良好的质构特性, 提高组织化度。这进一步说明挤压蛋白的微观结构和品质特性之间存在相互印证的关系, 表明在挤压机高温高压高剪切的作用下, 蛋白质发生变性, 内部体系进行重新组合排列, 改善质构特性和组织化度。

3 结 论

以大豆分离蛋白、大豆粉、谷朊粉为原料进行混合, 探究了双螺杆挤压机的螺杆转速对高湿挤压蛋白的品质特性、微观结构特性以及比机械能的影响, 分析了上述特征之间的相关性。结果显示, 随着螺杆转

速的增大, 螺杆对蛋白质物料的剪切力增大, 增加螺杆与物料之间的摩擦和扭矩, 促进蛋白质在机筒内的熔融状态, 加强蛋白质分子之间的交联作用。挤压蛋白质构特性和组织化度与 SME 呈正相关 ($P < 0.05$), 与 L^* 和 ΔE 呈负相关, 硬度、弹性、咀嚼度等和组织化度都在 340 r/min 时最大, 说明过高的螺杆转速减少了蛋白质在机筒内的停留时间或者造成物料被过度切割, 不利于形成良好的质构特性和纤维结构, 降低挤压蛋白的颜色深度。微观结构特性表明, β -折叠和 α -螺旋显著增大 ($P < 0.05$), 使挤压蛋白的结构更稳定, 随着转速的增大, β -折叠、 β -转角、变性温度呈现显著相关性 ($P < 0.05$), 说明 β -转角比例的增大也会帮助形成更加稳定的结构。挤压蛋白的品质特性与微观结构之间呈现显著相关性 ($P < 0.05$), 表明螺杆转速的变化会改变蛋白质分子之间的交联作用, 改变蛋白质变性程度和稳定性, 从而影响挤压蛋白的品质特性。

本研究根据实际生产设定螺杆转速梯度 (300、320、340、360 r/min), 从比机械能、品质特性、微观结构 3 个维度分析螺杆转速变化对产品的影响, 形成较为系统的研究体系, 为将来生产高湿挤压蛋白时螺杆转速的调节提供理论支持和依据。但是, 本研究只对高湿挤压蛋白成品的性质进行系统研究, 没有探究蛋白物料在机筒内混合区、熔融区以及冷却区的不同阶段的产品性质, 对于在机筒内部的结构变化研究有一定的限制性。因此, 将来在探究工艺参数变化时可以进行停机实验, 探究各个阶段蛋白质的品质和结构特性, 为高湿挤压蛋白的研究提供更有价值的理论支撑。

参考文献:

- [1] BOHRER B M. An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products[J]. Food science and human health, 2019, 8(4): 320-329.
- [2] OSEN R, TOELSTED S, WILD F, et al. High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: raw material characteristics, extruder responses, and texture properties[J]. Journal of food engineering, 2014, 127: 67-74.
- [3] WITTEK P, KARBSTEIN H P, EMIN M A. Blending proteins in high moisture extrusion to design meat analogues: rheological properties, morphology development and product properties[J]. Foods, 2021, 10(7): 101509.
- [4] ZHANG J, LIU L, LIU H, et al. Changes in conforma-

- tion and quality of vegetable protein during texturization process by extrusion[J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2019, 59(20): 3267–3280.
- [5] SISAY M T, EMIRE S A, RAMASWAMY H S, et al. Residence time distribution and flow pattern of reduced-gluten wheat-based formulations in a twin-screw extruder[J]. Food science and technology, 2017, 79: 213–222.
- [6] PALANISAMY M, FRANKE K, BERGER R et al. High moisture extrusion of lupin protein; influence of extrusion parameters on extruder responses and product properties[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2019, 99(5): 2175–2185.
- [7] 肖志刚, 霍金杰, 江睿生, 等. 螺杆转速对素肉饼质构特性和结构特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(6): 148–153.
- [8] 中华人民共和国农业部. 大豆水溶性蛋白含量的测定: NY/T 1205—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [9] 薛晓程, 李兴魁, 安红周, 等. 谷朊粉原料特性与挤压组织化蛋白品质关系的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(4): 29–34.
- [10] 刘明, 蒋华彬, 刘艳香, 等. 复配蛋白对小麦蛋白挤压组织化产品特性的影响[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(6): 1–6.
- [11] FERAWATI F, ZAHARI I, BARMAN M, et al. High-moisture meat analogues produced from yellow pea and faba bean protein isolates/concentrate: effect of raw material composition and extrusion parameters on texture properties[J]. Foods, 2021, 10(4): 843.
- [12] 张乐道, 任广跃, 曾又华, 等. 加水温度对莜麦面团水分分布状态和质构特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(2): 23–26.
- [13] XIA S, XUE Y, XUE C, et al. Structural and rheological properties of meat analogues from *Haematococcus pluvialis* residue-pea protein by high moisture extrusion[J]. Food science and technology, 2022, 154: 112756.
- [14] 孙志欣. 高湿挤压技术生产组织化大豆蛋白工艺研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
- [15] ZHANG J, LI L, SONG Z, et al. Texturisation behaviour of peanut-soy bean/wheat protein mixtures during high moisture extrusion cooking[J]. International journal of food science and technology, 2018, 53(11): 2535–2541.
- [16] MURILLO J L S, OSEN R, HIERMAIER S, et al. Towards understanding the mechanism of fibrous texture formation during high-moisture extrusion of meat substitutes[J]. Journal of food engineering, 2019, 242: 8–20.
- [17] XIAO Z, JIANG R, HUO J, et al. Rice bran meat analogs: relationship between extrusion parameters, apparent properties and secondary structures[J]. Food science and technology, 2022, 163: 113535.
- [18] 刘长姣, 熊湘炜, 田海娟, 等. 差示扫描量热法测量大豆分离蛋白热变性温度的不确定度评定[J]. 中国食品添加剂, 2017(8): 188–190.
- [19] WU M, HUANG X, GAO F, et al. Dynamic mechanical properties and fractal analysis of texturized soybean protein/wheat gluten composite produced by high moisture extrusion[J]. International journal of food science & technology, 2018, 54(2): 499–508.
- [20] PIETSCH V L, WERNER R, KARBSTEIN H P, et al. High moisture extrusion of wheat gluten: relationship between process parameters, protein polymerization and final product characteristics[J]. Journal of food engineering, 2019, 259: 3–11.
- [21] ZHANG J, ZHEN M, CHENG Q, et al. Plant-based meat substitutes by high-moisture extrusion: visualizing the whole process in data systematically from raw material to the products[J]. Journal of integrative agriculture, 2022, 21(8): 2435–2444.
- [22] MAUNG T T, GU B Y, RYU G H. Influence of extrusion process parameters on specific mechanical energy and physical properties of high-moisture meat analog[J]. International journal of food engineering, 2021, 17(2): 149–157.
- [23] KANG L N, WEI Y M, ZHANG B. Effects of processing parameters on specific mechanical energy in soy protein texturization by high moisture extrusion[J]. Journal of the Chinese cereals and oils association, 2007, 22(3): 38–42.
- [24] 钱鑫, 李良怡, 周文化, 等. 银杏粉对小麦面团流变学特性和水分分布及迁移规律的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(12): 74–80.
- [25] 王秋野. 豌豆蛋白基植物肉的研制及特性分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
- [26] 肖志刚, 张雪萍, 王哲, 等. 挤压温度对高水分植物蛋白肉流变学和结构特性的影响[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(2): 133–137.
- [27] 丁静, 钱俊青. 蛋白质二级与三级结构的表征方法[J]. 浙江化工, 2020, 51(11): 49–54.
- [28] 苏靖, 石晶红, 王金帅. 基于红外光谱分析河套春小麦

- 储藏期蛋白质二级结构变化[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(11): 24–27.
- [29] 岳程程, 王哲, 佟丽凤, 等. 水分添加量对高水分挤压大豆粕植物蛋白肉品质及结构特性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 52–60.
- [30] ZHANG J, LIU L, JIANG Y, et al. Converting peanut protein biomass waste into “double green” meat substitutes using a high-moisture extrusion process: a multi-scale method to explore a process for forming a meat-like fibrous structure[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2019, 67(38): 10713–10725.
- [31] 黄晓毅, 韩剑众, 王彦波, 等. 差示扫描量热技术(DSC)在肉类研究中的应用进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(9): 353–357.
- [32] 程潜. 植物肉的制备及其功能性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [33] PIETSCH V L, BUEHLER J M, KARBSTEIN H P, et al. High moisture extrusion of soy protein concentrate: Influence of thermo mechanical treatment on protein-protein interactions and rheological properties[J]. Journal of food engineering, 2019, 251: 11–18.

责任编辑: 郎婧

(上接第 26 页)

- [12] MADEIRA F, PEARCE M, TIVEY A R N, et al. Search and sequence analysis tools services from EMBL-EBI in 2022[J]. Nucleic acids research, 2022, 50(1): 276–279.
- [13] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular biology and evolution, 2021, 38(7): 3022–3027.
- [14] 赵冰雪, 聂功平, 张小惠, 等. 芝麻 AP2/ERF 基因家族生物信息学鉴定与分析[J]. 应用技术学报, 2022, 22(4): 399–412.
- [15] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic acids research, 2009, 37: 202–208.
- [16] CHEN C, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular plant, 2020, 13(8): 1194–1202.
- [17] SIEZEN R J, DE VOS W M, LEUNISSEN J A, et al. Homology modelling and protein engineering strategy of subtilases, the family of subtilisin-like serine proteinases[J]. Protein engineering, 1991, 4(7): 719–737.
- [18] LI Y, HU Z, JORDAN F, et al. Functional analysis of the propeptide of subtilisin E as an intramolecular chaperone for protein folding: refolding and inhibitory abilities of propeptide mutants[J]. Journal of biological chemistry, 1995, 270(42): 25127–25132.
- [19] MSADEK T, KUNST F, HENNER D, et al. Signal transduction pathway controlling synthesis of a class of degradative enzymes in *B. subtilis*: expression of the regulatory genes and analysis of mutations in *degS* and *degU*[J]. Journal of bacteriology, 1990, 172(2): 824–834.
- [20] MSADEK T, KUNST F, HENNER D, et al. DegS-DegU and ComP-ComA modulator-effector pairs control expression of the *B. subtilis* pleiotropic regulatory gene *degQ*[J]. Journal of bacteriology, 1991, 173(7): 2366–2377.
- [21] GUO J P, MA G, ZHU H X, et al. Three-dimensional structure homology modeling of alkaline protease from *Aspergillus oryzae*[C]//International Science and Engineering Center, Wuhan Institute of Technology. Proceedings of 2010 First International Conference on Cellular, Molecular Biology, Biophysics & Bioengineering (Volume 6). Hong Kong: International Science and Engineering Center, 2010: 422–425.
- [22] ZHAO H Y, FENG H. Engineering *Bacillus pumilus* alkaline serine protease to increase its low-temperature proteolytic activity by directed evolution[J]. BMC Biotechnology, 2018, 18(1): 34–45.
- [23] ZHANG H, SANG J, ZHANG Y, et al. Rational design of a *Yarrowia lipolytica* derived lipase for improved thermostability[J]. International journal of biological macromolecules, 2019, 137: 1190–1198.
- [24] CAO J, HAN X, ZHANG T, et al. Genome-wide and molecular evolution analysis of the subtilase gene family in *Vitis vinifera*[J]. BMC Genomics, 2014, 15: 1116.
- [25] CUI H, ZHOU G, RUAN H, et al. Genome-wide identification and analysis of the maize serine peptidase S8 family genes in response to drought at seedling stage[J]. Plants-basel, 2023, 12(2): 369–376.

责任编辑: 郎婧