

预糊化协同超微粉碎对碎米蛋白品质的影响

刘晓飞, 吴 鸣, 吴浚滢, 张 光, 石彦国, 张 娜*
(哈尔滨商业大学食品工程学院 黑龙江省普通高等学校食品科学与工程重点实验室
黑龙江省谷物食品与资源综合加工重点实验室 哈尔滨 150028)

摘要 大米蛋白的低溶解性和高分子质量导致其乳化性能差,限制了稻米在食品加工领域的应用,延缓了稻米高值化利用的进程。对大米蛋白分子结构进行改造,提高其溶解性、乳化性具有重要意义。本试验以碎米为原料,分别进行预糊化、超微粉碎和超微预糊化协同处理,并对提取的米蛋白进行结构和功能特性检测,评估不同处理方法对米蛋白乳化特性的影响。结果显示:与预糊化米蛋白(PRP)和超微粉碎米蛋白(URP)相比,预糊化超微粉碎米蛋白(PURP)的红外特征吸收峰强度增大,紫外吸收光谱出现蓝移现象;预糊化超微粉碎协同技术使总巯基和二硫键含量由 RP 的 19.21 $\mu\text{mol/g}$ 和 7.53 $\mu\text{mol/g}$ 增加至 24.49 $\mu\text{mol/g}$ 和 11.36 $\mu\text{mol/g}$;4 种蛋白的 β -折叠含量均在 38.74%~41.30%,比例最高,二级结构稳定;PURP 的疏水部位和巯基暴露,促进了疏水相互作用和巯基向二硫键的交换反应,蛋白颗粒相互聚集,形成类似于面筋的网络结构。说明预糊化超微粉碎协同技术使稻米蛋白的乳化性、乳化稳定性、起泡率和起泡稳定性均有提高,4 种性质分别提高了 58.29%, 53.13%, 11.85%, 50.46%。

关键词 碎米; 预糊化; 超微粉碎; 蛋白质; 乳化性

文章编号 1009-7848(2024)12-0205-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.018

我国稻谷 2023 年年产量达 2.07 亿 t,在加工过程中产生的大量碎米、米胚、米糠、稻壳等加工副产品未能有效开发利用^[1]。稻谷加工过程中往往仅利用淀粉,优质的米蛋白未能充分利用,产品附加值较低,造成资源的极大浪费^[2]。蛋白质作为大米中的第二大营养成分,是影响米制食品品质的重要因素。由于其低溶解性和高分子质量,导致米蛋白的乳化性能差,限制了稻米在食品加工领域的应用,延缓了稻米高值化利用的进程,因此,改善米蛋白的溶解、乳化等功能性质,对于拓宽稻米蛋白的应用具有重要意义。

改善蛋白质功能特性是近年来的研究重点,其中超微粉碎和预糊化技术在改变蛋白质的结构和功能性方面具有重要作用。超微粉碎是一种利用对物料的冲击、碰撞、剪切、研磨等手段来克服物料内部凝聚力,从而达到破碎效果的微米级别粉碎技术^[3]。超微粉碎可改善谷物的理化性质及功能结构,表现出更高的生物活性^[4]。乔一腾等^[5]研究发现:随着大豆分离蛋白粒径的不断减小,其持油

性、起泡性、泡沫稳定性、乳化性、乳化稳定性以及凝胶性在一定粒径范围均有明显提高。张佳宁等^[6]发现超微粉碎处理对核桃蛋白的结构(微观结构和蛋白质二级结构)以及功能特性(溶解性、起泡性、持油性和乳化性等)有重要影响。糊化作用的本质是淀粉颗粒中有序及无序(晶质与非晶质)态的淀粉分子之间的氢键断开,分散在水中成为胶体溶液。Joshi 等^[7]发现预糊化样品的蛋白质消化率明显高于未加工样品,这是因为加热使蛋白质热变性,导致二级结构的构象变化和随后的水分损失,从而暴露了肽键。Buggenhout 等^[8]研究表明,大米蛋白在加热过程中聚集,大米谷蛋白是蛋白质网络的主要组成部分,通过二硫键聚合,氢键和疏水相互作用有助于网络的形成。Saleh 等^[9]指出,淀粉-蛋白质网络结构可保持淀粉颗粒的完整性,进而增强大米淀粉的糊化黏度和抗剪切能力。通过溶剂萃取从大米中去除醇溶蛋白则会导致大米淀粉峰值和最终黏度降低^[10],而通过水提取去除球蛋白会降低米粉中米蛋白的峰值黏度和最终黏度以及糊化温度^[11]。Li 等^[12]指出,共价键和非共价键结合作用加剧了糯米淀粉与蛋白质的分子间缠绕,显著提高了淀粉糊的流变特性。

本试验分别以预糊化、超微粉碎以及预糊化

收稿日期: 2023-12-03

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD2100902-3)

第一作者: 刘晓飞,女,博士,教授

通信作者: 张娜 E-mail: foodzhangna@163.com

和超微粉碎协同处理的3种方法处理碎米,提取相应的蛋白质,即预糊化米蛋白(pre-gelatinization rice protein,PRP)、超微粉碎米蛋白(ultrafine grinding rice protein,URP)和预糊化超微粉碎米蛋白(pre-gelatinization ultrafine grinding rice protein,PURP)。以碎米蛋白(rice protein,RP)为对照,探究蛋白结构的变化,阐明不同处理方法对碎米蛋白结构和功能特性的改变,并揭示蛋白质结构与乳化性等功能特性的内在联系,旨在拓宽稻米蛋白的应用领域,提升碎米的附加值。

1 材料与amp;方法

1.1 原料与试剂

碎米,购于黑龙江北大荒米业有限责任公司。

8-苯胺基-1-萘磺酸铵(ANS),5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、氢氧化钠、盐酸、无水乙醇均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DC-1 500A型高速多功能粉碎机,浙江武义鼎藏日用金属制品厂;YF2-2型超微粉碎机,上海亚荣生化仪器厂;S3500型激光衍射式粒度分析仪,美国麦奇克有限公司;S3400N型电子显微镜,日本日立公司(Hitachi);PerkinElmer UATR Two型傅里叶红外光谱仪,珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司;J-815型圆二色谱,英国应用光物理公司;UV-5800C型紫外分光光度计,上海元析仪器有限公司;FA25型高速分散均质机,上海弗鲁克流体机械制造有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的制备 米粉的制备:碎米粗粉碎,过100目筛密封避光备用;

超微粉碎米粉的制备:将上述米粉经超微粉碎机粉碎,过500目筛密封避光备用;

预糊化米粉的制备:将上述2种米粉分别添加蒸馏水调制成质量分数为10%的悬浮液,搅拌、沸水浴加热糊化30 min,于-80℃预冻,进行冷冻干燥,密封避光保存。

1.3.2 米蛋白的提取 取1.3.1节中的4种米粉,分别加入0.5 mol/L NaOH溶液,以5:1的米粉质量比,于40℃水浴搅拌1 h后,10 000 r/min离心20 min,上清液用1 mol/L的盐酸溶液调节pH值

至4.8,10 000 r/min离心10 min,去离子水洗涤沉淀物质3次后冷冻干燥,备用^[13]。制备的4种蛋白质样品分别命名为RP、URP、PRP和PURP。

1.3.3 蛋白质粒径及Zeta电位的测定 将4种蛋白质样品分别用蒸馏水稀释至1 mg/mL,0.45 μm滤膜过滤,注入样品池进行测量,用粒度仪依次进行粒径和Zeta-电位的测定,重复测定3次。

1.3.4 扫描电镜观察 将4种蛋白样品分别进行固定,喷金,置于SEM下观测蛋白质的形态结构。放大倍数为2 000倍^[14]。

1.3.5 傅里叶红外光谱测定 测试前,将蛋白样品与溴化钾溶液按1:100(质量比)的比例混合压片,以空气为空白测试背景,参数设置为:扫描波长4 000~400 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹,一个样品扫描64次,波长间隔2 nm^[15]。

1.3.6 圆二色光谱的测定 将4种蛋白样品分别稀释至200 μg/mL,以去离子水为空白,测定蛋白质在波长190~250 nm之间的远紫外CD光谱^[16]。

1.3.7 游离巯基和二硫键的测定 于试管中称取8 mg蛋白样品,加入20 mL Tris-Gly的标准缓冲液,5 000 r/min离心20 min,收集上清液,即为蛋白质样品溶液。

将L-半胱氨酸溶解在0.2 mol/L Tris-Gly缓冲液中,配置0.00,0.02,0.03,0.04,0.05,0.06 μmol/mL的巯基标准溶液。分别取4 mL的巯基标准溶液,加入0.1 mL 10 mmol/mL DTNB,于412 nm测定吸光度,建立标准曲线。

游离巯基含量测定:分别取4.00 mL蛋白质样品溶液,加0.1 mL 10 mmol/mL DTNB,静置20 min,412 nm测定吸光度,根据标准曲线计算游离巯基含量。

总巯基含量测定:分别取1.00 mL蛋白质样品溶液,依次加入4 mL 0.2 mol/L Tris-Gly缓冲液,10 mL 12%的三氯乙酸,振荡2 h,于5 000 r/min条件下离心15 min,收集沉淀,加入10 mL 0.2 mol/L Tris-Gly缓冲液,振荡直至沉淀溶解,加入0.1 mL 10 mmol/mL DTNB,静置20 min,412 nm测定吸光度,根据标准曲线计算总巯基含量^[17]。

二硫键含量计算公式:

$$m_3 = \frac{m_1 - m_2}{2} \quad (1)$$

式中: m_1 为总巯基含量, $\mu\text{mol/mL}$; m_2 为游离巯基含量, $\mu\text{mol/mL}$; m_3 为二硫键含量, $\mu\text{mol/mL}$ 。

1.3.8 表面疏水性的测定 蛋白样品的表面疏水性采用 ANS 作荧光探针检测。用 0.01 mol/L pH 7.0 的磷酸盐缓冲液配制蛋白质质量浓度在 0.005~0.500 mg/mL 之间, 取 4 mL 蛋白质样品, 与 50 μL 8 mmol/L ANS 溶液混匀。采用荧光分光光度计测定激发波长为 365 nm 和发射波长为 484 nm 下的荧光强度, 以蛋白质浓度作为横坐标, 荧光强度作为纵坐标, 绘制曲线, 采用最小二乘法对曲线进行拟合, 曲线斜率即为蛋白质的表面疏水性指数^[18]。

1.3.9 乳化性、乳化稳定性的测定 将 4 种蛋白质分别配制成 20 mL 3% 的溶液, 调节 pH 值至 7.0, 12 000 r/min 分散 30 s, 大豆油 40 mL 分别加入溶液中, 继续分散 2 min, 将乳化好的乳化液快速地倒入 100 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 5 min, 量出乳化层体积。在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下得到的混合液体放置 30 min, 取出待测样品冷却到室温后, 3 000 r/min 离心 5 min, 测出乳化层体积。算得乳化性与乳化稳定性^[19]。

乳化性和乳化稳定性公式如下:

$$\text{乳化性}(\%) = \frac{\text{乳化性层体积}}{\text{液体总体积}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{乳化稳定性}(\%) = \frac{30 \text{ min 后乳化层体积}}{\text{液体总体积}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.10 起泡性、起泡稳定性的测定 起泡性的测定: 将蛋白质样品配成 1% 溶液, 调 pH 值到 7.0, 以 13 500 r/min 高速分散搅拌 2 次, 30 s/次, 将分散后的溶液马上倾倒入 500 mL 的量筒中, 记录好停止时液体与泡沫的总体积^[20]。

$$X(\%) = \frac{V - V_0}{V_0} \times 100 \quad (4)$$

式中: X 为起泡率, %; V 为分散停止时液体与泡沫的总体积, mL; V_0 为没有搅拌时蛋白溶液的体积。

泡沫稳定性的测定: 将上述样品静止, 分别记录 15, 25, 35, 45, 55, 65 min 后剩余的泡沫体积。按下式的方法计算泡沫稳定性:

$$FS(\%) = \frac{V_r}{V_0} \times 100 \quad (5)$$

式中: V_r 为剩余的泡沫体积, mL; V_0 为没有搅

拌时蛋白溶液的体积, mL。

1.4 数据处理

试验数据利用 SPSS 25 软件进行统计分析, 采用 Origin 2022 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 粒径及 Zeta 电位分析

RP、URP、PRP 和 PURP 的粒径、电位结果如表 1 所示。

表 1 RP、URP、PRP 和 PURP 的粒径、电位
Table 1 Particle size and potential of RP, URP, PRP and PURP

样品	粒径/nm	电位/mV
RP	92.17 \pm 3.23 ^c	-21.13 \pm 0.32 ^{cd}
URP	70.82 \pm 2.94 ^d	-21.27 \pm 0.29 ^e
PRP	137.63 \pm 4.11 ^a	-23.31 \pm 0.34 ^a
PURP	132.29 \pm 3.87 ^b	-23.24 \pm 0.45 ^{ab}

注: 同一行不同字母的数据 (均值 \pm 标准差) 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

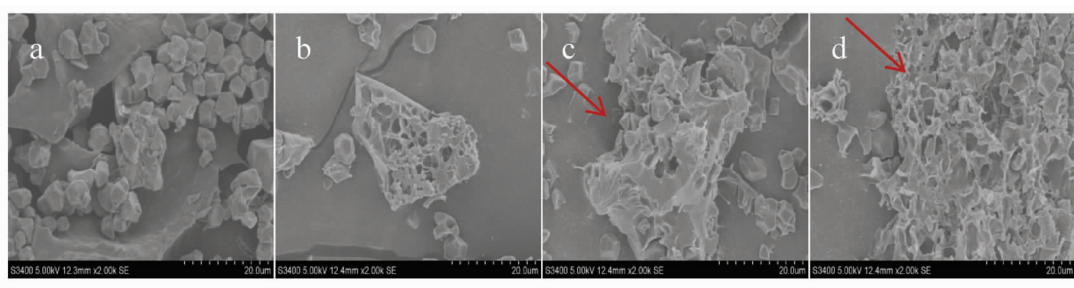
由表 1 可知, RP 和 URP 的粒径分别为 92.17 nm 和 70.82 nm, 通过预糊化处理 RP 和 URP 的粒径分别增到 137.63 nm 和 132.29 nm, 超微粉碎处理使 RP 和 PRP 分别降低了 21.35 nm 和 5.34 nm。可能是预糊化处理使蛋白质的结构变性展开, 暴露出原本埋藏在内部的疏水基团, 从而导致蛋白质分子更为分散, 增加颗粒的平均直径, 粒径增大^[21]; 超微粉碎处理使小颗粒蛋白被负压腔吸走, 得到的粒径减小的蛋白。

Zeta 电位代表粒子表面的净电荷, 通常用于表征粒子的静电稳定性, 直接影响蛋白质的功能性质^[22]。RP、URP、PRP 和 PURP 的电位分别为 -21.13, -21.27, -23.31, -23.24 mV, 绝对值呈增大趋势, 通过电位的数值可以看出加热使电位值绝对值变大, PURP 粒子间静电斥力最大, 体系最稳定^[23]。

2.2 微观形貌分析

RP、URP、PRP 和 PURP 的电镜结果如图 1 所示。

由图 1 可知, RP 有聚集现象, 形态较完整, 单颗粒之间界限清楚 (图 1a), URP 的聚合体被破碎, 部分聚集颗粒变小, 出现粘黏现象 (图 1b)^[24],



注:a为RP;b为URP;c为PRP;d为PURP。

图1 RP、URP、PRP和PURP的电镜图

Fig.1 Electron microscopy of RP, URP, PRP and PURP

PRP和PURP很难有单独颗粒的蛋白体,结构破坏,均相互粘黏(图1c、1d),这可能是因为大米蛋白受热导致部分分子结构展开,如疏水基团等官能团暴露后,相互作用,导致蛋白质聚集,形成网络结构^[25],这与图6中疏水性的结果一致。

2.3 傅里叶红外光谱结果分析

RP、URP、PRP和PURP的傅里叶红外光谱图如图2所示。

如图2可知,在 1651 cm^{-1} (酰胺I)处有强烈的C=O的伸缩振动,形成 β -转角, 1539 cm^{-1} (酰胺II)N-H键伸缩振动增强,属于 β -折叠,是由伸展的多肽链组成的,在 1153 cm^{-1} (酰胺III)处峰是N-H变角振动和C-N伸缩振动,形成 α -螺旋和无规则卷曲^[26]。相比RP,PURP各种官能团的特征吸收峰都有一定的偏移,官能团所处的环境发生了改变,引起了含硫氨基酸残基的氧化,导致PURP的二级结构受到一定的影响,加热使蛋白质结构舒展,折叠结构展开导致峰位向低波数偏移。

2.4 圆二色光谱结果分析

蛋白质的二级结构是多肽链骨架中局部肽段的构象,利用圆二色谱仪分析蛋白质的二级结构组成^[27]。RP、URP、PRP和PURP的圆二色谱图如图3所示,二级结构组成如图4所示。

α -螺旋的特征负峰位于 222 nm 和 208 nm 处,特征正峰位于 192 nm 附近。 β -折叠的特征负峰位于 216 nm ,特征正峰位于 $195\sim 200\text{ nm}$ 。PURP的 α -螺旋含量为 6.9% , β -折叠含量为 41.3% , β -转角含量为 19.6% ,无规则卷曲含量为 32.2% 。 β -折叠是通过分子间氢键维持蛋白质分子间的有序结构,无规则卷曲是蛋白质分子的无序结构^[28],经糊化和超微粉碎处理后, β -折叠比例上升, β -转角

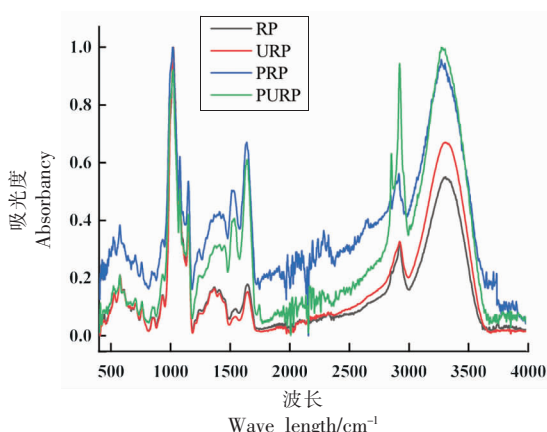


图2 RP、URP、PRP和PURP的傅里叶红外光谱谱图

Fig.2 Infrared spectra of RP, URP, PRP and PURP

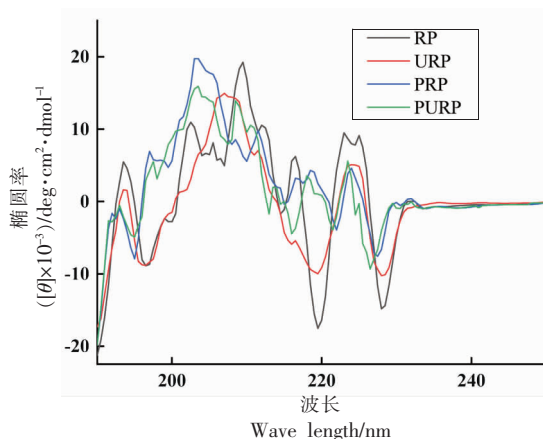


图3 RP、URP、PRP和PURP的圆二色谱图

Fig.3 Circular dichroism of RP, URP, PRP and PURP

和无规则卷曲比例下降,蛋白质分子间氢键作用增强,通过疏水相互作用,蛋白质分子进行再折叠,带电基团的暴露赋予共同组装结构较高的胶体稳定性,具有更高的折叠程度,蛋白结构逐步稳定^[29]。

2.5 巯基和二硫键含量分析

RP、URP、PRP 和 PURP 的巯基和二硫键含量如图 5 所示。

蛋白质中的 2 个巯基氧化后生成二硫键,是保持蛋白质三级结构极其重要的基团,是蛋白中重要的功能基团,蛋白质的变性程度可用其含量变化反映^[30],由图 5 可知,RP、URP、PRP 和 PURP 的总巯基和二硫键含量不断增加,游离巯基含量不断减少,PURP 的二硫键含量增加到了 11.36 $\mu\text{mol/g}$,二硫键含量的变化与游离巯基含量呈负相关趋势。可能是由于超微粉碎使蛋白质结构伸展,高级结构受到破坏,发生变性。蛋白质内部巯基暴露,肽链伸展,疏水键及离子键断裂,进而造成某些二硫键发生断裂,并形成巯基暴露出来,蛋白质高级结构难以维持^[31]。因此,加热会引起巯基和二硫键含量的变化,从而引起蛋白的变性。

2.6 表面疏水性分析

RP、URP、PRP 和 PURP 的疏水性如图 6 所示。

疏水作用是蛋白质维持三级结构的主要作用力,可以通过测定疏水作用的变化来表征蛋白质三级结构的变化,由图 6 可知,RS 的疏水性最低,PRP 和 PURP 的疏水性增加明显,PURP 的疏水性最高为 14.58,这是由于大米蛋白质含有大量疏水氨基酸,超微粉碎使蛋白质内部的三、四级结构打开,内部的疏水性基团被暴露出来。而加热处理使蛋白质内部的疏水基团暴露,增加了与 ANS 荧光探针结合的机会,所以表面疏水性指数增加,蛋白质结构发生变化^[32]。

2.7 乳化性、乳化稳定性分析

RP、URP、PRP 和 PURP 的乳化性和乳化稳定性如图 7 所示。

研究发现,蛋白质的乳化活性和乳化稳定性与蛋白质溶解性、表面电荷、表面疏水性、等密切相关^[33]。RP、URP、PRP 和 PURP 的乳化性和乳化稳定性依次增加,其中 PURP 最高,达到 34.57 m^2/g 和 29.57 min,超微粉碎后蛋白粒度越小,受到的机械作用越大,同时超微粉碎和预糊化使蛋白质片段基团被破坏,内部的疏水基团暴露,表面疏水性增强,界面张力降低,乳状液越稳定^[34-35]。

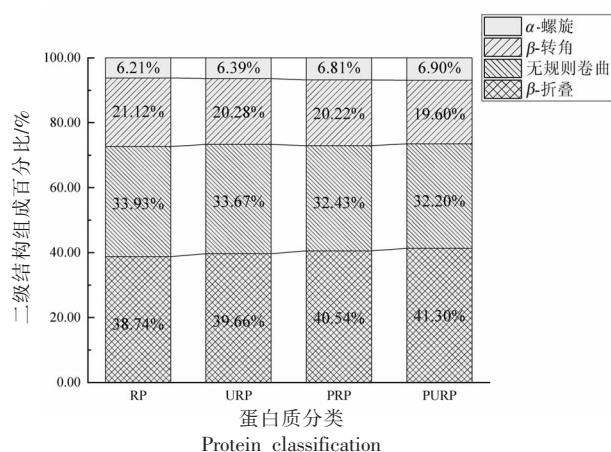


图 4 RP、URP、PRP 和 PURP 的二级结构组成
Fig.4 Secondary structures of RP, URP, PRP, and PURP

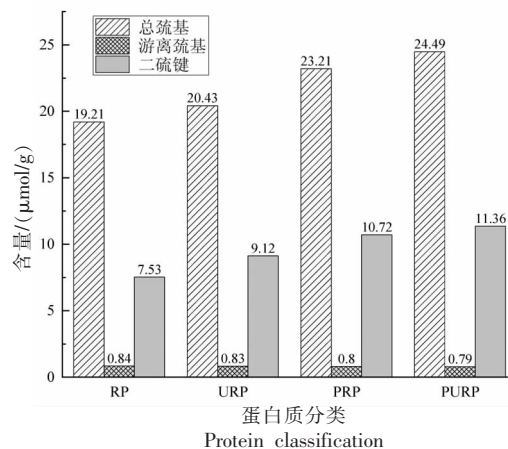


图 5 RP、URP、PRP 和 PURP 的巯基和二硫键含量结果
Fig.5 Results of sulfhydryl and disulfide bond contents in RP, URP, PRP and PURP

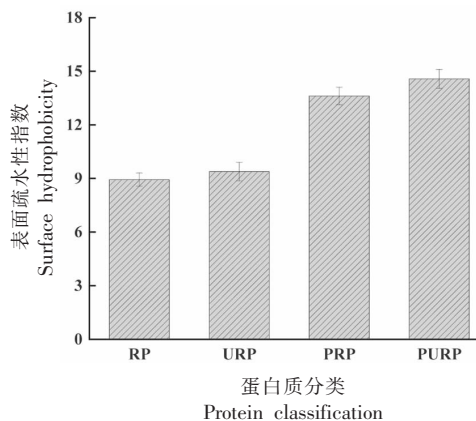
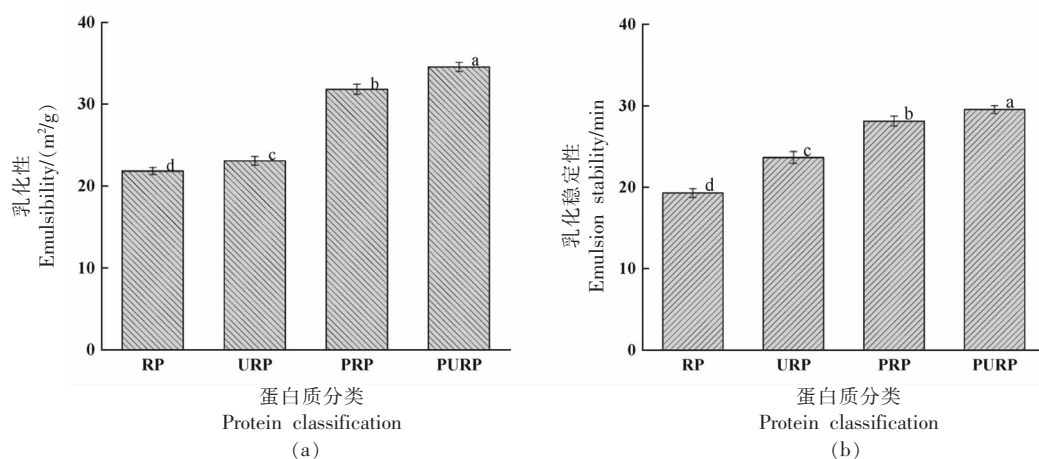


图 6 RP、URP、PRP 和 PURP 的疏水性结果
Fig.6 Hydrophobicity of RP, URP, PRP and PURP



注:同一列的不同字母代表有显著性差异($P<0.05$)。

图7 RP、URP、PRP 和 PURP 的乳化性和乳化稳定性

Fig.7 Emulsification and stability of RP, URP, PRP, and PURP

2.8 起泡性、起泡稳定性分析

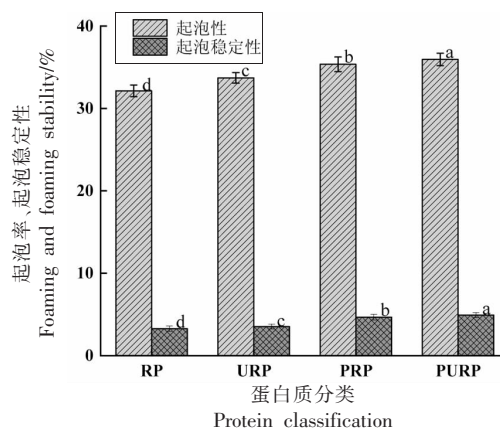
起泡性是蛋白质分散于界面并入大量气泡形成薄膜的能力,RP、URP、PRP 和 PURP 的起泡率和起泡稳定性如图 8 所示。

RP、URP、PRP 和 PURP 的起泡率和起泡稳定性逐步提高,起泡率从 32.14% 提高到 35.95%,起泡稳定性从 3.27% 提高到 4.92%,这可能是由于超微粉碎破坏了蛋白空间结构,蛋白质分子结构展开,柔性更高,埋藏在内部的疏水性基团裸露出来,促进空气-水界面的形成,同时预糊化处理后来蛋白形成网络结构,致使起泡性增大^[36-37];蛋白质疏水部位和巯基的暴露,促进了疏水相互作用和巯基和二硫键的交换反应,增强蛋白质分子间的相互作用力,提高了泡沫稳定性。

2.9 相关性分析

RP、URP、PRP 和 PURP 4 种蛋白的空间结构与理化性质之间的相关性如图 9 所示。

结果显示,4 种蛋白结构的 α -螺旋与蛋白质的起泡性和起泡稳定性呈极显著正相关($P<0.01$),同时与 Zeta 电位、疏水性、乳化性、乳化稳定性均呈现显著相关($P<0.05$),说明蛋白质的稳定结构可增加分子间静电斥力,提高疏水性,进而增强蛋白质的乳化和起泡特性,RP、URP、PRP 和 PURP 的 α -螺旋结构增加,蛋白质的稳定性逐渐增强,致使蛋白质的其它理化性质随之改变;总巯基含量、游离巯基含量与蛋白质的 Zeta 电位、疏水性、乳化性、乳化稳定性、起泡性、起泡稳定性均呈现



注:同一列的不同字母代表有显著性差异($P<0.05$)。

图8 RP、URP、PRP 和 PURP 的起泡率和起泡稳定性
Fig.8 Foaming rates and stability of RP, URP, PRP and PURP

显著相关($P<0.05$),其原因可能是蛋白质变性过程中高级结构受到破坏,疏水结合及离子结合的键被切断,随着 RP、URP、PRP 和 PURP 的高级结构的破坏程度递增,其静电斥力逐步增强,疏水性提高,起泡性和乳化性也随之改变;二硫键含量与乳化性、乳化稳定性、起泡性、起泡稳定性均呈现显著相关($P<0.05$),二硫键是蛋白质中的两个巯基氧化反应的产物,可保持蛋白质的三级结构,RP、URP、PRP 和 PURP 的三级结构稳定性递增,因而其乳化特性和起泡特性增强。

3 结论

米蛋白经过超微粉碎和热诱导之后,分子热

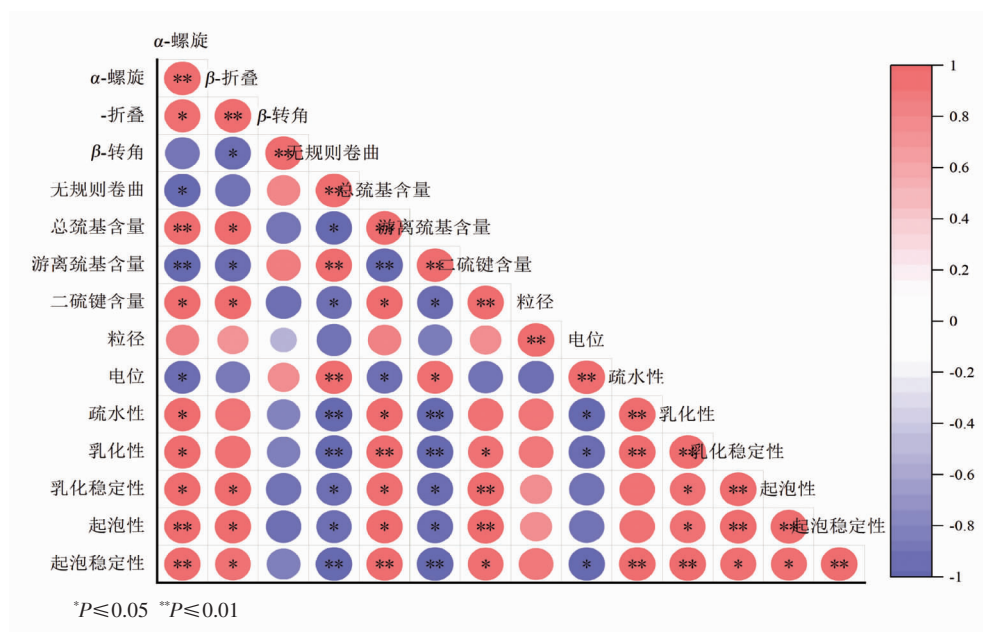


图 9 RP、URP、PRP 和 PURP 相关性分析热图

Fig.9 Correlation analysis heat map of RP, UR, PR and PURP

运动剧烈,引起蛋白质分子内部结构发生变化;与 RP、URP 和 PRP 相比,PURP 颗粒相互粘黏,粒径增大,电位绝对值变大;各种官能团的特征吸收峰有偏移,二级结构受到一定的影响,粒子间静电斥力最大,体系最稳定。PURP 红外特征吸收峰强度增大,紫外吸收光谱出现了蓝移现象,总巯基和二硫键含量增加,形成类似于面筋的网络结构。蛋白质内部结构的变化引起了功能特性的改变,蛋白质空间结构的改变增强了蛋白质表面疏水性,界面张力降低,乳状液稳定性增强;蛋白质巯基暴露,促进了巯基向二硫键的交换反应,增强了蛋白质的起泡性,说明超微粉碎和预糊化协同技术可以改善大米蛋白的溶解性、起泡性、乳化性等功能特性,从而实现大米蛋白由低值资源向高值资源转化的可行性,不仅可以增加大米的附加值,还可以延伸稻米的产业链。

参 考 文 献

- [1] TAPAS R, ANUPAMA S, T.P. S, et al. Rice protein: Emerging insights of extraction, structural characteristics, functionality, and application in the food industry[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 123(10): 105581.
- [2] 陈媛, 张志国. 大米蛋白研究进展[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(7): 13-16.
CHEN Y, ZHANG Z G. Research progress of rice protein[J]. Food and Oil, 2017, 30(7): 13-16.
- [3] 刘颖, 高帅, 张云亮, 等. 超微粉碎对大豆、玉米、发芽糙米物化特性影响[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 168-173.
LIU Y, GAO S, ZHANG Y L, et al. Effects of ultrafine grinding on physicochemical properties of soybean, corn and germinated brown rice[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(9): 168-173.
- [4] 张爱琴, 孙乾, 李芳, 等. 超微粉碎对红花籽粕蛋白质形态和理化功能性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(1): 115-120.
ZHANG A Q, SUN Q, LI F, et al. Effects of ultrafine grinding on protein morphology and physicochemical function of safflower seed meal[J]. Food and Fermentation Industry, 2019, 45(1): 115-120.
- [5] 乔一腾, 司玉慧, 盖国胜, 等. 超微粉碎对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 中国食品学报, 2012, 12(9): 57-61.
QIAO Y T, SI Y H, GAI G S, et al. Effects of ultrafine grinding on functional properties of soybean protein isolates[J]. Acta Food Sinica, 2012, 12(9): 57-61.
- [6] 张佳宁, 李俊, 郝艳宾, 等. 超微粉碎处理对核桃

- 蛋白结构及功能性质的影响[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(8): 23-29, 130.
- ZHANG J N, LI J, HAO Y B, et al. Effects of ultrafine grinding treatment on Structure and functional properties of walnut protein[J]. Food Research and Development, 2023, 44(8): 23-29, 130.
- [7] JOSHI S, SHARMA S, SHARMA R, et al. Influence of pre - gelatinization in conjunction with guar gum addition on texture functionality, bioactive profile, *in vitro* nutrient digestibility, morphology and secondary structure of protein of quality protein maize pasta[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2023, 58(6): 3448-3457.
- [8] BUGGENHOUT J, BRIJS K, DELCOUR A J. Impact of processing conditions on the extractability and molecular weight distribution of proteins in par-boiled brown rice [J]. Journal of Cereal Science, 2013, 58(1): 8-14.
- [9] SALEH M I. Protein -starch matrix microstructure during rice flour pastes formation[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 74(3): 183-186.
- [10] BAXTER G, BLANCHARD C, JIAN Z. Effects of prolamin on the textural and pasting properties of rice flour and starch[J]. Journal of Cereal Science, 2004, 40(3): 205-211.
- [11] BAXTER G, ZHAO J, BLANCHARD C. Albumin significantly affects pasting and textural characteristics of rice flour[J]. Cereal Chemistry, 2010, 87(3): 250-255.
- [12] LI Z N, WANG L, CHEN Z X, et al. Impact of binding interaction characteristics on physicochemical, structural, and rheological properties of waxy rice flour[J]. Food Chemistry, 2018, 266(15): 551-556.
- [13] 许龙. 大米蛋白降解改性及起泡性能的研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2013.
- XU M. Study on degradation, modification and foaming properties of rice protein[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2013.
- [14] 李璐, 黄亮, 苏玉, 等. 超微化雷竹笋膳食纤维的结构表征及其功能特性[J]. 食品科学, 2019, 40(7): 74-81.
- LI L, HUANG L, SU Y, et al. Structural characterization and functional properties of dietary fiber from superfine bamboo shoots[J]. Food Science, 2019, 40(7): 74-81.
- [15] 孙晓静, 麻琳, 张丽霞, 等. 低温花生粕粉对小麦面团特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 35-39, 50.
- SUN X J, MA L, ZHANG L X, et al. Effect of Low-temperature peanut meal on wheat dough characteristics[J]. Food Research and Development, 2020, 41(20): 35-39, 50.
- [16] YUE J X, GU Z X, ZHU Z B, et al. Impact of defatting treatment and oat varieties on structural, functional properties, and aromatic profile of oat protein[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112(3): 106368.
- [17] 岳苗. 马铃薯浆-小麦面粉复配面团特性及面条品质研究[D]. 咸阳: 陕西科技大学, 2021.
- YUE M. Study on dough characteristics and noodle quality of potato pulp-wheat flour mixture[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2021.
- [18] 王斐. 藜麦蛋白和淀粉的分离提取及性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- WANG F. Isolation, extraction and properties of protein and starch from quinoa[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [19] 钟振声, 文锡莲, 陈然. 物理改性对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 中国油脂, 2008, 33(5): 21-24.
- ZHONG Z S, WEN X L, CHEN R. Effects of physical modification on functional properties of soybean protein isolate[J]. China Oils and Fats, 2008, 33(5): 21-24.
- [20] JIRAPORN S, TOYA I, KENTARO M, et al. Comparison of surface and foaming properties of soy lipophilic protein with those of glycinin and β -conglycinin[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112(2): 106345.
- [21] WANG J, XIA N, YANG X Q, et al. Adsorption and dilatational rheology of heat-treated soy protein at the oil-water interface: relationship to structural properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(12): 3302-3310.
- [22] LÓPEZ-MONTEERRUBIO D I, LOBATO-CALLEROS C, ALVAREZ -RAMIREZ J, et al. Huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.) protein: Composition, structure, physicochemical and functional properties [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108(11): 106043.
- [23] 朱颖, 黄雨洋, 刘琳琳, 等. 热处理对大豆分离蛋

- 白-姜黄素互作机理及消化特性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 53-59.
- ZHU Y, HUANG Y Y, LIU L L, et al. Effect of Heat Treatment on Interaction mechanism and digestion characteristics of soybean protein isolate and curcumin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 53-59.
- [24] 张焕丽, 肖志刚, 马慧, 等. 挤压大米蛋白-葡聚糖接枝复合物的功能性质及结构表征[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(15): 122-129.
- ZHANG H L, XIAO Z G, MA H, et al. Functional properties and structural characterization of extruded rice protein-dextran graft complex[J]. Food Research and Development, 2016, 37(15): 122-129.
- [25] 司玉慧. 超微粉碎对大豆分离蛋白功能作用的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- SI Y H. Effect of ultrafine grinding on function of soybean protein isolate[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012.
- [26] SINGH A B, JASPREET S, LOVEDEEP K, et al. Meat analogs: Protein restructuring during thermo-mechanical processing[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(2): 1221-1249.
- [27] 高柳. 黑米蛋白的提取及谷蛋白功能性质和改性研究[D]. 成都: 西华大学, 2019.
- GAO L. Study on extraction of black rice protein and functional properties and modification of gluten [D]. Chengdu: Xihua University, 2019.
- [28] CHOI S M, MA C Y. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using circular dichroism and Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 150-160.
- [29] YANG W, TU Z, WANG H, et al. High-intensity ultrasound enhances the immunoglobulin (Ig)G and Ig E binding of ovalbumin[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2017, 97(9): 2714-2720.
- [30] CHEN F L, WEI Y M, ZHANG B, et al. System parameters and product properties response of soybean protein extruded at wide moisture range [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(2): 208-213.
- [31] LI T, HU J L, TIAN R, et al. Citric acid promotes disulfide bond formation of whey protein isolate in non-acidic aqueous system[J]. Food Chemistry, 2021, 338(15): 127819.
- [32] 高国祥, 关二旗, 李萌萌, 等. 超微粉碎对大豆蛋白功能特性的影响研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(3): 30-34.
- GAO G X, GUAN E Q, LI M M, et al. Effect of ultrafine grinding on functional properties of soybean protein[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(3): 30-34.
- [33] 何兴芬. 热处理对藜麦蛋白质功能特性、结构及体外消化的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020.
- HE X F. Effects of Heat treatment on functional properties, structure and *in vitro* digestion of quinoa protein[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2020.
- [34] 柳双双. 超微粉碎对绿豆粉物性及其蛋白质功能特性的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020.
- LIU S S. Effects of ultrafine grinding on physical properties and protein functional properties of Mung bean meal [D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2020.
- [35] SHI D, LI C H, STONE A K, et al. Recent developments in processing, functionality, and food applications of microparticulated proteins[J]. Food Reviews International, 2021, 39(3): 1309-1332.
- [36] 李迎秋, 陈正行. 高压脉冲电场对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 194-198.
- LI Y Q, CHEN Z X. Effect of high voltage pulsed electric field on functional properties of soybean protein isolate[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(8): 194-198.
- [37] 张慧, 卞科, 万小乐. 超微粉碎对谷朊粉理化特性及功能特性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 127-131.
- ZHANG H, BIAN K, WAN X L. Effects of ultrafine grinding on physicochemical properties and functional properties of gluten[J]. Food Science, 2010, 31(1): 127-131.

The Influence of Pre-Gelatinization and Ultrafine Grinding on the Quality Characteristics of Crushed Rice Protein

Liu Xiaofei, Wu Ming, Wu Junying, Zhang Guang, Shi Yanguo, Zhang Na*

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Key Laboratory of Food Science and Engineering of Heilongjiang Ordinary Higher Colleges, Key Laboratory of Grain Food and Comprehensive Processing of Heilongjiang Province, Harbin 150028)

Abstract The low solubility and high polymer quality of rice protein lead to poor emulsification performance, which limits the application of rice in food processing and delays the process of high-value utilization of rice. It is of great significance to improve the solubility and emulsification of rice protein by modifying its molecular structure. In this experiment, crushed rice was used as raw material, and pre-gelatinization, ultra-fine grinding, and ultra-fine pre-gelatinization were carried out respectively, then the structure and functional characteristics of the extracted rice protein were detected to evaluate the effect of different processing methods on the emulsifying properties of rice protein. The results showed that compared with pre-pasteurized rice protein (PRP) and ultra-micro-milled rice protein (URP), the intensity of infrared characteristic absorption peaks of pre-pasteurized ultra-milled rice protein (PURP) increased, and the ultraviolet absorption spectra showed a blue-shift phenomenon; the synergistic technique of pre-pasteurization and ultra-micro-milling increased the total sulfhydryl group and disulfide bond contents from 19.21 and 7.53 $\mu\text{mol/g}$ in RP to 24.49 and 11.36 $\mu\text{mol/g}$; the β -folding content of all four proteins ranged from 38.74% to 41.30%, with the highest ratio and stable secondary structure; and, the total sulfhydryl and disulfide bond content increased, with the highest β -folding content and stable secondary structure. The hydrophobic sites and sulfhydryl groups of the PURPs were exposed, which promoted the hydrophobic interactions and sulfhydryl group-to-disulfide bond exchange reactions, and the protein particles aggregated with each other to form a gluten-like network structure. It indicates that the synergistic technique of pregelatinized ultra-fine milling improved the emulsification, emulsion stability, foaming rate, and foaming stability of rice protein, and the four properties were improved by 58.29%, 53.13%, 11.85% and 50.46%, respectively.

Keywords broken rice; pre-gelatinization; ultrafine grinding; protein; emulsifying property