

# 芸豆蛋白的营养价值和功能特性研究

张丙云,袁亚兰,高瑜璟,苏雪艳,任海伟\*

(兰州理工大学生命科学与工程学院,甘肃兰州 730050)

**摘要:**以芸豆蛋白(KBP)为研究对象,采用比值系数法和模糊识别法全面评价其营养价值。结果表明,芸豆蛋白的必需氨基酸组成符合FAO/WHO标准模式,其氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、必需氨基酸指数(EAAI)、生物价(BV)、营养指数(NI)和氨基酸比值系数分(SRCAA)分别为91.25、67.59、78.07、43.54、74.55和62.38。对芸豆蛋白的溶解性、乳化性、乳化稳定性、起泡性和起泡稳定性等功能特性进行初步测定,结果表明其功能特性良好。SDS-PAGE分析表明蛋白组分的相对分子质量主要集中在8条带上,分别对应为90.5、81.3、65.8、43.9、41.5、33.7、30.2、17.5kDa。

**关键词:**芸豆蛋白,营养评价,功能特性,SDS-PAGE,傅里叶变换红外光谱

## Study on nutritional assessment and functional properties of kidney bean protein

ZHANG Bing-yun, YUAN Ya-lan, GAO Yu-jing, SU Xue-yan, REN Hai-wei\*

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** Taking kidney bean protein(KBP) as material, the method on fuzzy discernment and ratio coefficient was applied to general nutrition assessment of KBP. Results showed that the proportion between essential amino acids(EAAs) was suitable and conformed to recommended reference pattern of FAO/WHO. The amino acid score(AAS), chemical score(CS), essential amino acid index(EAAI), biological value(BV), nutrition index(NI) and score of ratio coefficient of amino acid(SRCAA) of KBP were 91.25, 67.59, 78.07, 43.54, 74.55 and 62.38, respectively. In conclusion, the protein nutrient value of KBP was very high. Moreover, the functional properties of KBP such as solubility, foam ability, foam stability, emulsifying property and emulsion stability were also discussed in the present study. SDS-PAGE analysis indicated that the relative molecular weights of different protein components were 90.5, 81.3, 65.8, 43.9, 41.5, 33.7, 30.2, 17.5kDa, respectively.

**Key words:** kidney bean protein(KBP), nutrition valuation, functional properties, SDS-PAGE, FT-IR

中图分类号:TS201.2<sup>+</sup>1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2010)11-0347-04

芸豆(*Phaseolus vulgaris* Linn.sp)学名菜豆,是普通菜豆(如小黑芸豆、小白芸豆等)和多花菜豆(如圆奶华芸豆、H、N、D、X等)之总称,属豆科(*Leguminosae*)菜豆属(*Phaseolus* L.)的小宗杂粮作物。芸豆具有极高的营养和药用价值,蛋白含量20.29%~27.73%,脂肪含量1.02%~2.03%,维生素C含量1.88~1.96mg/100g,维生素B<sub>1</sub>含量3.52mg/100g,维生素B<sub>2</sub>含量2.87mg/100g,Ca、Fe含量分别是鸡肉的7倍和4倍<sup>[1]</sup>。中医理论记载,芸豆味甘平,性温,具有温中下气、利肠胃、止呃逆、益肾补元气等功效。现代研究表明,芸豆还含有花色苷、皂苷等有效成分,能提高人体非特异性免疫,增强抗病能力,激活淋巴T细胞,抑制肿瘤细胞发展,受到医学界的广泛重视<sup>[2]</sup>。本研究以产自甘肃临夏的涇川白芸豆为材料,以芸豆蛋白为研究对象,从蛋白组成成分、营养价值、相对分子质量及功能特性等方面进行系统研

究,以期对芸豆等杂粮作物的开发和产业化提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

涇川白芸豆 蛋白质含量22.47%,脂肪含量2.56%,产自甘肃临夏;蛋白质分子量标准 maker 肌球蛋白200kDa,半乳糖苷酶116kDa,磷酸酶97.2kDa,牛血清蛋白66.4kDa,卵清蛋白44.3kDa,大连宝生物有限公司。

TGL-16 高速冷冻离心机 湘仪离心机公司;DYY-2C 型电泳仪、DYJ-28A 型垂直板电泳槽 BIO-RALaboratories-series(Milan)Italy;FD-1-55 冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司;835-50 氨基酸自动分析仪 日本 Hitachi 公司;FT-IR380 傅里叶红外光谱仪 配有 DTGS/KBr 检测器,美国 Nicolet 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 芸豆蛋白的分离制备 采用碱溶酸沉法<sup>[3]</sup>。

1.2.2 蛋白主要理化指标分析 水分的测定参照 GB/T5009.3-2003;灰分的测定参照 GB/T5009.4-

收稿日期 2009-12-01 \* 通讯联系人

作者简介 张丙云(1968-)女,副教授,研究方向:食品科学。

基金项目 2009 年国家大学生创新性实验计划项目。

2003 粗脂肪的测定参照 GB/T14772-2008 ;总蛋白含量的测定参照 GB/T5009.5-2003。

1.2.3 7s 和 11s 球蛋白的超速离心分析 参考文献 [4] 中采用的改良 Nagano 法。

1.2.4 蛋白氨基酸组成分析 准确称取研细的待测样品 0.5g , 装于 10mL 水解管中 , 加入 8mL 6mol/L 的盐酸 , 真空泵抽至真空后充入高纯氮气 , 重复 3 次 , 用酒精喷灯封管 , 110℃ 水解 24h。取出 , 打开水解管 , 转入 50mL 容量瓶中并用水稀释至刻度 , 过滤 , 取滤液 10mL 于蒸馏烧瓶中 55℃ 水浴蒸发至干 , 加样品稀释液 10mL , 超声溶解后过 0.45μm 膜 , 置于 2mL 进样瓶中供仪器测定用。用碱水解法测定色氨酸。

1.2.5 蛋白营养价值的评价

1.2.5.1 比值系数法 以 FAO/WHO 推荐的必需氨基酸模式和鸡蛋氨基酸模式作参比 , 计算氨基酸评分 (AAS)、化学评分 (CS)、氨基酸比值系数 (RC)、必需氨基酸比率 (A/E)、必需氨基酸指数 (EAAI)、氨基酸比值系数分 (SRCAA)、生物价 (BV) 和营养指数 (NI)<sup>[4-5]</sup>。

1.2.5.2 模糊识别法 参考文献 [6] 中兰氏距离法计算芸豆蛋白与标准蛋白 α 的贴适度。

1.2.6 芸豆分离蛋白功能性质的研究

1.2.6.1 溶解性 称取一定量的蛋白样品 , 用 25mL PBS 缓冲溶液制备成不同 pH 梯度的蛋白分散系 , 室温下搅拌 1h , 在 3000r/min 离心 20min , 用半微量凯氏定氮法测定上清液中蛋白质含量。重复测定 3 次。

1.2.6.2 起泡性和起泡稳定性 起泡性 称取一定量蛋白样品溶解到 100mL 蒸馏水 (pH7.0) 中 , 在 3000r/min 条件下室温均质 5min , 测定搅拌停止 30s 时的体积 , 重复测定 3 次。体积的增加量与原来体积的百分比值表示为起泡能力。起泡稳定性 : 静置 30min 后的泡沫体积与搅拌停止 30s 时体积的百分比值表示起泡稳定性。

1.2.6.3 乳化性及乳化稳定性 乳化性 称取一定量蛋白样品溶于 100mL 蒸馏水 (pH7.0) 中 , 取其中 30mL 加入花生色拉油 10mL , 在 12000r/min 条件下室温均质 2min , 分别在 0、5、10、15、20、25、30min 取样。用 pH7.0、0.1% SDS 溶液稀释 50 倍 , 500nm 处测定吸光度 , SDS 溶液作空白。重复测定 3 次。以 0 时刻的吸光值乘以稀释倍数表示乳化性 (EA)。乳化稳定性 绘制吸光度随时间变化的关系曲线 , 以降到零时刻 50% 吸光值的时间表示乳化稳定性。

1.2.7 电泳分析 芸豆蛋白组分的相对分子质量测定采用 SDS-PAGE 法。浓缩胶 5% 浓度 , 分离胶 10% 浓度。蛋白样品 (1~2mg/mL) 溶于 0.025mol/L pH8.3 Tris-Gly 缓冲液中 , 每孔加 20μL 样品进行电泳 , 电泳恒压 120V 进行 , 浓缩胶 10mA , 分离胶 20mA。

1.2.8 FT-IR 结构表征 芸豆蛋白的红外光谱结构表征采用溴化钾压片法<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 芸豆蛋白的组分分析

经测定 , 以干基计芸豆蛋白的蛋白质含量为 95.48% , 脂肪和灰分含量较低 , 说明提取的蛋白纯度较高。根据离心沉降法分析芸豆蛋白组分可知 , 7s 和 11s 球蛋白含量分别为 4.61% 和 10.22%。这与孙鑫<sup>[8]</sup>报道的芸豆蛋白主要成分为不含二硫键的 7S 球蛋白有所不同 , 原因可能是芸豆品种差异所致 , 文献中所用原料为东北红芸豆 , 而本实验中原料为涪川白芸豆。

### 2.2 氨基酸分析与营养价值评价

2.2.1 氨基酸组成分析 芸豆蛋白中共含有 18 种氨基酸 (见表 1) , 氨基酸总量达 85.30% , 其中谷氨酸含量最高 (13.69%) , 其次是天门冬氨酸 (10.13%)。谷氨酸在人体内可促进氨基丁酸的合成 , 从而降低血氨 , 促进脑细胞呼吸 , 可以用于治疗神经精神疾病 , 如精神分裂症和脑血管障碍等引起的记忆和语言障碍、小儿智力不全等。天门冬氨酸是一种良好的营养增补剂 , 可用于治疗心脏病、肝脏病、高血压症 , 具有防止和恢复疲劳的作用<sup>[9]</sup>。由表 1 还可知 , 蛋白中人体必需的 8 种氨基酸含量为 35.32% , 必需氨基酸占总氨基酸的比值 (EAA/TAA) 为 41.41% , 必需氨基酸与非必需氨基酸的比值 (EAA/NEAA) 为 70.62%。这与 FAO/WHO 提出的 EAA/TAA 比值为 40% 左右 , EAA/NEAA 为 60% 以上的参考蛋白模式相近 , 说明芸豆蛋白属于优质蛋白。

2.2.2 营养价值评价 一种营养价值较高的蛋白质 , 不仅必需氨基酸种类要齐全 , 而且比例也要适宜 , 最好能与人体需要相符合 , 这样氨基酸才能吸收完全。由表 2 可知 , 芸豆蛋白中必需氨基酸各自占总氨基酸的质量分数 , 除异亮氨酸、亮氨酸和苏氨酸略低于模式谱外 , 其它均高于 WFO/FAO 标准模式 , 必需氨基酸评分为 91.25 , 与标准模式接近 , 可见芸豆蛋白必需氨基酸比例均衡 , 有很高的营养价值。从蛋白的 RC 可以看出 , 异亮氨酸、苏氨酸和亮氨酸的 RC < 1 , 其余氨基酸均大于 1 , 说明异亮氨酸和苏氨酸含量偏少 , 分别为第一和第二限制性氨基酸。

现代营养学更多强调蛋白质的氨基酸平衡 , 氨基酸不足或过剩同样严重影响蛋白质的营养价值。氨基酸比值系数分 (SRCAA) 就是从各种必需氨基酸偏离氨基酸模式的离散度这个角度来评价其质量。SRCAA 越接近 100 , 其氨基酸组成与 FAO/WHO 模式越一致。同样 , 贴适度 (μ) 值反映了被评价蛋白的质量与标准蛋白质的接近程度。μ 值越接近 1 , 其蛋白质营养价值相对越高。营养指数 (NI) 综合衡量蛋白质的含量与其氨基酸组成 , 蛋白质的百分含量越高 , EAAI 值越大 , NI 值就越高 , 营养价值就高。由表 3 可知 , 芸豆蛋白的 AAS、CS、EAAI 和 NI 值均高于大豆蛋白和乳清蛋白 , 只有 SRCAA 和 BV 略低。另外 , 芸豆蛋白的贴适度为 0.92 , 与大豆和牛奶贴适度值相近<sup>[10-11]</sup>。尽管不同的评价指标对蛋白质进行营养评价 , 结果会有所差异 , 但综合各种指标充分说明了芸豆蛋白可以作为一种良好的优质植物蛋白源。

### 2.3 芸豆蛋白的功能特性

2.3.1 溶解性 本实验主要研究 pH 对溶解度的影

表1 芸豆蛋白氨基酸成分分析( g/100g ,以干基计)

氨基酸成分	含量	氨基酸成分	含量	氨基酸成分	含量
天门冬氨酸( Asp )	10.13	* 异亮氨酸( Ile )	3.65	甘氨酸( Gly )	3.44
谷氨酸( Glu )	13.69	* 亮氨酸( Leu )	6.88	丙氨酸( Ala )	3.12
丝氨酸( Ser )	1.07	酪氨酸( Tyr )	4.07	胱氨酸( Cys )	1.95
组氨酸( His )	2.58	* 苯丙氨酸( Phe )	5.73	脯氨酸( Pro )	2.62
* 苏氨酸( Thr )	3.79	* 赖氨酸( Lys )	6.52	* 缬氨酸( Val )	5.46
* 色氨酸( Trp )	1.26	精氨酸( Arg )	7.31	* 甲硫氨酸( Met )	2.03

注:\* 表示必需氨基酸。

表2 芸豆蛋白的各种营养评价指标

名称	FAO/WHO 模式	全鸡蛋蛋白	芸豆蛋白	AAS	CS	A/E	RC
甲硫氨酸 + 胱氨酸 Met + Cys	3.50	5.50	3.98	113.71	69.82	9.63	0.99
赖氨酸 Lys	5.50	6.40	6.52	118.55	93.14	15.77	1.04
* 异亮氨酸 Ile	4.00	6.60	3.65	91.25	67.59	8.83	0.80
亮氨酸 Leu	7.00	8.80	6.88	98.29	80.00	16.64	0.86
苯丙氨酸 + 酪氨酸 Phe + Tyr	6.00	10.0	9.80	163.33	105.38	23.71	1.43
* 苏氨酸 Thr	4.00	5.10	3.79	94.75	80.64	9.17	0.83
缬氨酸 Val	5.00	7.30	5.46	109.20	82.73	13.20	0.96
色氨酸 Trp	1.00	1.60	1.26	126.00	78.75	3.05	1.10
总量	36.00	51.30	41.34				

注:\* 为限制性氨基酸。

表3 芸豆蛋白与大豆蛋白和乳清蛋白营养指标比较

项目	AAS	CS	SRCAA	EAAI	BV	NI	$\mu$
芸豆蛋白	91.25a	67.59a	62.38c	78.07a	43.54c	74.55a	0.92b
大豆蛋白	48.3c	44.60c	76.60b	62.30c	56.20b	51.10c	0.90c
乳清蛋白	66.3b	61.40b	82.00a	69.50b	64.10a	56.00b	0.96a

注 a b c 表示营养价值从高到低排列。

响结果如图1所示。由图可知,芸豆蛋白在 pH4.0 附近溶解度最低,这主要是因为蛋白质是一种同时带有正负电荷的化合物,在其等电点 pH4.0 处缺乏静电排斥作用,疏水相互作用导致蛋白质的聚集和沉淀。同时,芸豆蛋白中 Asp 和 Glu 含量大于 Lys、Arg 和 His 含量,即酸性氨基酸的残基总和较大。另外,由于二、三级空间结构组成的蛋白质构象是脆弱的,pH 变化能引起蛋白质构象不同程度的改变。具体而言,在低于或高于等电点 pH4.0 时,蛋白质分别带有净的正电荷和净的负电荷,带电氨基酸残基的静电排斥和水合作用促进了蛋白质的溶解。这与周大寨等<sup>[2]</sup>报道的芸豆蛋白等电点为 pH4.7 研究结果相近。

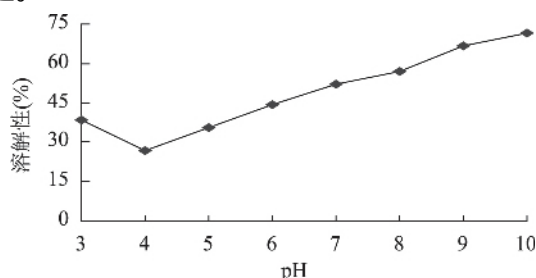


图1 芸豆蛋白不同 pH 下的溶解性

2.3.2 起泡性和泡沫稳定性 芸豆蛋白含有疏水基团和亲水基团,因而具有表面活性,能降低水的表面张力,在剧烈搅拌时可形成泡沫。从图2可以看出,蛋白浓度4%时,起泡性达到最大,蛋白浓度在1%~4%之间时,起泡性随蛋白浓度的增加而增大,这

可能是因为高蛋白浓度提高了黏度,有助于在界面形成多层的黏合蛋白质膜。而当浓度继续增加时,起泡性随蛋白浓度的增加而有所减小。由图还可知,随着蛋白质浓度的增加,泡沫稳定性呈上升的趋势,在1%~4%之间增幅较大,之后上升趋势比较平缓。因为蛋白质浓度较大时,蛋白质与蛋白质的相互作用导致形成较厚的吸附膜,对泡沫的稳定性是有益的。

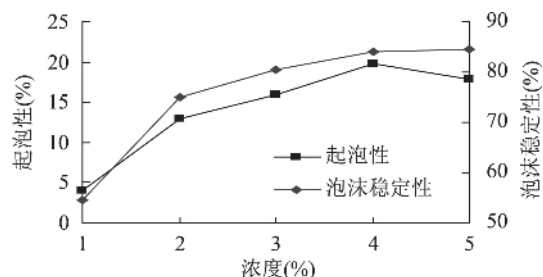


图2 蛋白浓度与起泡性和泡沫稳定性的关系

2.3.3 乳化性和乳化稳定性 相同条件下不同浓度蛋白的乳化性和乳化稳定性结果见图3。由图可知,当蛋白质浓度达4%时,乳化性和乳化稳定性增加趋势减缓;同时在实验浓度范围内,乳化能力及其稳定性均随蛋白浓度的增加而增大,这是因为蛋白质在界面上的吸附特点为分级吸附,随着蛋白质浓度的增加,单分子吸附层变为多分子吸附层,继而形成排列更加紧密的有一定强度的界面膜,使得乳化能力和乳化稳定性增加。

2.4 电泳分析



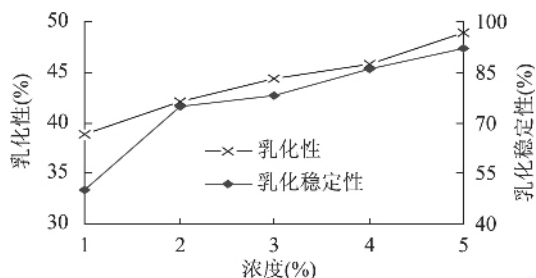


图3 蛋白浓度与乳化性和乳化稳定性的关系

图4为芸豆蛋白和7s球蛋白的SDS-PAGE电泳图谱。根据标准蛋白相对分子质量的对数( $\lg M_w$ )对其相对迁移率( $R_f$ )作标准曲线,得到回归方程为: $\lg M_w = -0.683R_f + 3.8945$ ,相关系数 $R^2 = 0.9918$ 。分析可知,芸豆蛋白的相对分子质量分布均在97.2kDa以下,主要集中在8条带上,从大到小分别对应为90.5、81.3、65.8、43.9、41.5、33.7、30.2、17.5kDa左右,其中65.8kDa和41.5kDa对应的两条蛋白组分谱带强度较亮,推断可能其含量较高,但各相对分子质量对应的蛋白组分百分含量比还需要进一步分析研究。

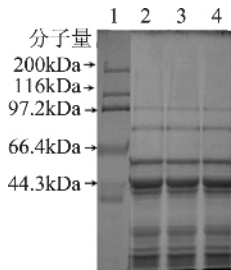


图4 芸豆蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

注:1为蛋白质 marker 2 3 4 为芸豆蛋白。

## 2.5 FT-IR 结构表征

芸豆蛋白的 FT-IR 图谱如图5所示。由图可知,3200~3500 $\text{cm}^{-1}$ 之间3421.11 $\text{cm}^{-1}$ 的强吸收归属于酰胺 A 带的 N-H 伸缩(氢键)振动峰,2928.68 $\text{cm}^{-1}$ 和2960.25 $\text{cm}^{-1}$ 附近的弱吸收峰为酰胺 B 带的 C-H ( $-\text{CH}_2$  或  $-\text{CH}_3$ )伸缩振动。1643.57 $\text{cm}^{-1}$ 处的较强吸收为酰胺 I 带羰基 C=O 伸缩振动吸收峰,1539.52 $\text{cm}^{-1}$ 处为酰胺 II 带 N-H 弯曲振动吸收峰,酰胺 I 和 II 带是蛋白质的特征吸收峰。此外,

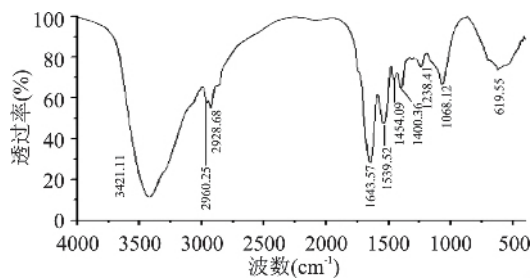


图5 芸豆活性蛋白 FT-IR 光谱图

1454.09 $\text{cm}^{-1}$ 的微弱吸收代表 C-H 的弯曲振动峰,1238.41 $\text{cm}^{-1}$ 为酰胺 III 带的 N-H 变形峰。从蛋白微观结构看,主要根据酰胺 I 带(1700~1600 $\text{cm}^{-1}$ )来归属蛋白质的二级结构,其中1624~1642 $\text{cm}^{-1}$ 为 $\beta$ -转角,1650 $\pm$ 1.0 $\text{cm}^{-1}$ 处为无规卷曲,1656 $\pm$ 2.0 $\text{cm}^{-1}$ 处为 $\alpha$ -螺旋,1666~1688 $\text{cm}^{-1}$ 处为转角。由1643.57 $\text{cm}^{-1}$ 处的较强吸收峰可以推断芸豆蛋白二级结构主要以 $\beta$ -转角结构为主。

## 3 结论

芸豆蛋白的氨基酸种类齐全,必需氨基酸组成符合 FAO/WHO 标准模式,其氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、必需氨基酸指数(EAAI)、生物价(BV)、营养指数(NI)和氨基酸比值系数分(SRCAA)分别为91.25、67.59、78.07、43.54、74.55和62.38。功能特性的初步研究表明,芸豆蛋白具有良好的起泡性和乳化能力等功能特性。SDS-PAGE 分析表明芸豆蛋白不同组分对应的相对分子质量主要集中在8条带上,分别对应为90.5、81.3、65.8、43.9、41.5、33.7、30.2、17.5kDa。通过对芸豆蛋白进行全面的营养评价和初步的功能特性研究,发现芸豆蛋白具有很高的营养价值和应用价值,可以作为一种优质的植物蛋白资源开发利用。

## 参考文献

- [1] 柴岩,冯佰利,孙世贤.中国小杂粮品种[M].中国农业科学技术出版社,2007:1-20.
- [2] 周大寨,朱玉昌,周毅锋.芸豆蛋白质的提取及超滤分离研究[J].食品科学,2008,29(8):386-390.
- [3] 任海伟,李志忠,王鸣刚,等.超滤对芸豆蛋白酶解物抗氧化活性的影响[J].食品科学,2009,30(18):212-216.
- [4] 张国华,王常青,王海凤.变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白特性的研究[J].食品工业科技,2009,30(6):149-151.
- [5] 曲晓婷,张名位,温其标.米糠蛋白提取工艺的优化及其特性研究[J].中国农业科学,2008,41(2):525-532.
- [6] 杨琴,杜双田,郝小娟,等.博湖大蘑菇蛋白质营养价值评价[J].食品科学,2009,30(5):100-103.
- [7] 任海伟,张国华,宋育璇.豆渣中可溶性大豆蛋白肽的提取及结构表征[J].食品工业科技,2009,30(5):275-277.
- [8] 孙鑫,唐传核,尹寿伟.芸豆7S球蛋白的热性质研究[J].现代食品科技,2008,24(8):777-780.
- [9] 周侃,熊华,陈升军.高蛋白含量米蛋白肽制备及产品营养成分分析[J].食品与生物技术学报,2009,28(1):28-32.
- [10] 张泽生,郭宝芹,刘素稳.乳清浓缩蛋白和大豆分离蛋白的营养价值评价[J].大豆通报,2007(5):22-24.
- [11] 张晓霞.EM 生物蛋白的氨基酸营养分析的研究[J].现代测量与实验室管理,2008(3):27-29.