

# 超声增容对大豆11S蛋白-刺槐豆胶冷致凝胶性质的影响

朱建华

(韶关学院英东食品科学与工程学院, 广东韶关 512005)

**摘要:** 通过超声处理大豆11S蛋白-刺槐豆胶共混溶液, 并随后添加葡萄糖酸内酯(GDL)冷致酸化制备刺槐豆胶增强大豆11S蛋白共混复合凝胶材料。结果表明, 与对照样相比, 经47.5 W功率超声强度处理4 min后, 共混凝胶的强度有显著提高, 且刺槐豆胶分散相所占孔隙率和平均孔隙直径分别降低了50.6%和34.6%。随超声处理功率的增加, 孔隙率和孔隙直径进一步降低, 表明有效改善了刺槐豆胶与大豆11S蛋白的相容性。共混凝胶强度随超声处理功率增加呈先增加后降低趋势, 且超声处理样共混凝胶强度均大于对照样。

**关键词:** 超声; 大豆11S蛋白; 刺槐豆胶; 微结构; 流变性质

**文章编号:** 1673-9078(2012)12-1612-1616

## Effect of Improving Compatibility with Ultrasonication on the Properties of Cold-set Soybean 11S Protein-locust Bean Gum Mixed Gels

ZHU Jian-hua

(Yingdong Food Science and Technology College, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China)

**Abstract:** The soybean 11S protein- locust bean gum (LBG) mixed gels were prepared for two steps. Firstly the blend solutions were treated with ultrasonic vibration, and then GDL were added to form cold-set gels. Results showed that, compared with the sample without ultrasonic treatment the strength of the mixed gel was enhanced significantly after treatment with 47.5 W for 4 min, while the porosity and average pore diameter of LBG dispersed phase reduced 50.6% and 34.6% respectively. The porosity and average pore diameter were further decreased with sonication power increases, indicating ultrasonic treatment was beneficial to improving the compatibility between the soybean 11S protein-LBG. The strength of blend gels were increased firstly and then decreased with the sonication power increases, but the strength of ultrasonic treatment sample blend gels was still greater than the control.

**Key words:** ultrasonic; soy bean 11S protein; locust bean gum; microstructure; rheological properties

蛋白与多糖是最常见存在于食品体系中的生物大分子聚合物, 二者为构建食品微结构的两大重要基材, 其共混体系具热力学不相容特征<sup>[1-4]</sup>。对于热力学不相容的两相或多相生物聚合物共混体系, 有效地改善聚合物组分之间的相容性, 控制分散相的形态及其相互凝聚, 以及减小分散相的尺度, 是实现食品材料功能性优化优化的关键。因此通过改善蛋白-多糖组分间的相容性, 并利用胶凝固化控制体系相分离程度、分散相形态及介观尺度以构建预期微结构, 成为获得具有高

品质质构、控释等功能特性的结构化食品产品的理想途径。

超声波处理指利用功率超声波调制体系中的物理或化学反应作用, 因可以在液态体系中产生空化、剪切、剧烈搅拌等作用而具突出的分散效应, 可为实现将目标物质分散到液态体系的过程提供一种高效分散的物理场环境<sup>[5]</sup>。同时超声波在较低的温度下就可以提供分散所需的能量, 因此成为增容蛋白-多糖溶液共混体系的理想工具。利用超声对高分子共混物进行增容的文献多见于化工和材料领域高分子共混体系的研究过程, 宫晓颐等研究了水溶液中甲基纤维素的超声波辐照降解反应, 证实该反应具有一般的降解特征, 所得高聚物是接枝、嵌段兼有的共聚物<sup>[6]</sup>。徐坚等应用超声波技术使聚氧化乙烯与甲基丙烯酸钠在共混过程中生成部分可以增容的接枝或嵌段共聚物, 为油气田开发

收稿日期: 2012-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101215); 广东省自然科学基金项目(10451200501004341); 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目资助(LYM10120)

作者简介: 朱建华(1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为食品大分子及其混合体系结构-功能关系、食品材料学

提供一种兼具优良减阻防湍性能和附着力强、相容性良好的新型高分子共混材料<sup>[7]</sup>。但迄今为止国内外未见应用超声场作用增容蛋白多糖共混体系的文献报道。

本研究的主要目的是拟利用大豆11S球蛋白-刺槐豆胶作为蛋白多糖溶液共混体系模型通过微结构分析、流变学分析研究超声场调制蛋白多糖溶液共混体系的相容性,进而探讨增容蛋白-多糖溶液共混物的微结构及流变学性质,以期为蛋白-多糖溶液共混体系增容奠定基础及提供构造食品微结构的新思路和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

低温脱溶大豆胚片:山东禹王蛋白厂,蛋白(干基)质量分数为55%,水分质量分数为7.3%;刺槐豆胶(LBG):美国Sigma公司;葡萄糖酸内酯及其余试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器和设备

超声处理仪(scientz-IIID):宁波新芝生物科技股份有限公司;冷冻干燥机(Alpha-4):MATRIN CHRIST公司,德国;RHS600 哈克流变仪:德国HAKKE公司;Leica TCS-SP2 激光共聚焦仪:德国莱卡公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 大豆11S蛋白的分离制备

采用Nagano法来提取大豆豆粕中的蛋白质<sup>[8]</sup>,制备出的11S蛋白经冷冻干燥备用。

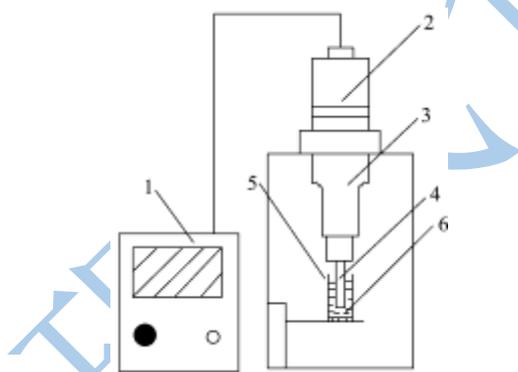


图1 超声处理实验装置示意图

Fig.1 Schematic of experimental apparatus

注:1. 超声波发生器;2. 磁致伸缩换能器;3. 变幅杆;

4. 处理探头;5. 溶液盛放容器;6. 蛋白多糖共混液。

#### 1.3.2 蛋白、多糖储备液及共混溶液的制备

冻干后的11S蛋白室温下搅拌2 h并用2 M的NaOH调节pH至7.6溶解,放置4 °C冰箱中充分水化过夜配制为8.8% (m/V)的蛋白溶液。0.33% (m/V)刺槐豆胶溶液经85 °C加热30 min使得多糖完全溶解制备。等体积比例混合11S蛋白和刺槐豆胶多糖溶液制得蛋白多糖共

混液,然后取适量共混液至一密闭容器中在95 °C下加热30 min以使蛋白变性,然后用水浴冷却至室温后按预设条件进行超声处理。

#### 1.3.3 超声处理

将超声探头浸入蛋白多糖共混液样品液面以下2 cm并位于液面中间,同时将乘放样品的烧杯置于冰水浴中(如图1),超声处理时间固定为4 min,超声处理功率依次为0 W,47.5 W,142.5 W及237.5 W。按实验条件处理完毕后于室温下按每1 mL样品加入100 μL 0.25% (m/V) GDL溶液制备冷致凝胶。

#### 1.3.4 冷致共混凝胶的微结构形态

利用激光共聚焦显微镜对加入蛋白质荧光标记试剂罗丹明B(RITC)(0.02%, m/V)的凝胶样品观察,Ar/Kr 激光器的激光作光源进行预扫描。参数如下:扫描模式像素:2048×2048;扫描速度:400Hz;RITC激发波长:488nm,发射波长:490~540 nm。xy平面扫描面积大小为140 μm×140 μm,z轴方向扫描厚度为20 μm,每隔1.0 μm扫描一张图片。并用Image-Pro Plus 专业图像软件分析图片中分散相孔隙率和平均孔隙直径。

#### 1.3.5 冷致共混凝胶流变性质测定

采用平行板(直径为27.83 mm)哈克RS600流变仪测定粘弹性质。加入GDL振荡均匀后迅速取1 mL蛋白多糖共混液置于间隙设置为1 mm为平行板之间,在样品裸露部位添加一薄层硅化油防水分蒸发。采用控制应变( $\gamma=0.5\%$ )模式,频率 $\omega=1$  rad/s。平衡后溶液恒温25 °C测量3 h,记录此过程中的弹性模量( $G'$ )和粘性模量( $G''$ )随时间的变化趋势。频率扫描及振幅扫描测试均于25 °C条件下进行,其中频率扫描范围为0.1~100 rad/s,振幅扫描范围为0.0001~1。

#### 1.3.6 数据处理

应用Origin7.0软件对试验结果数据进行统计处理,样品组和对照组之间的差异显著性采用One way Anova方法分析。 $p<0.05$ 表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声处理对冷致共混凝胶微结构的影响

图1为不同超声功率(0 W、47.5 W、142.5 W及237.5 W)处理的大豆11S蛋白-刺槐豆胶冷致大豆11S蛋白凝胶微结构测定结果。对于未经超声处理的冷致11S-LBG共混凝胶,激光共聚焦测定结果显示形成典型的“海-岛”结构,形成多糖为分散相蛋白为连续相的微结构,与此前的研究结果相一致<sup>[9]</sup>。与对照相比,超声功率增加到47.5 W时,共混凝胶的微结构变化显著,此浓度条件下“岛”型分散相(多糖相)显著减小,混合体系

蛋白相（亮色区域）显著增加，此一现象可进一步由表1中分散相结构定量表征结果所反映，经超声功率增加到47.5W时处理的样品，分散相孔隙率和孔隙平均直径分别由对照样的85%和24.06±2.38 μm降低为42%，15.75±1.16 μm。进一步增加超声功率至142.5 W及237.5 W，共混体系中“岛”型分散相面积和平均直径进一步下降，且分散相分布的总体均匀性呈递增趋势，此趋势随超声功率的增加被强化。超声处理后共混体系冷致凝胶微结构随超声功率的增加显著变化，随超声功率的增加，微观结构中孔隙率及空隙直径随超声功率的增加呈降低趋势（表1）。

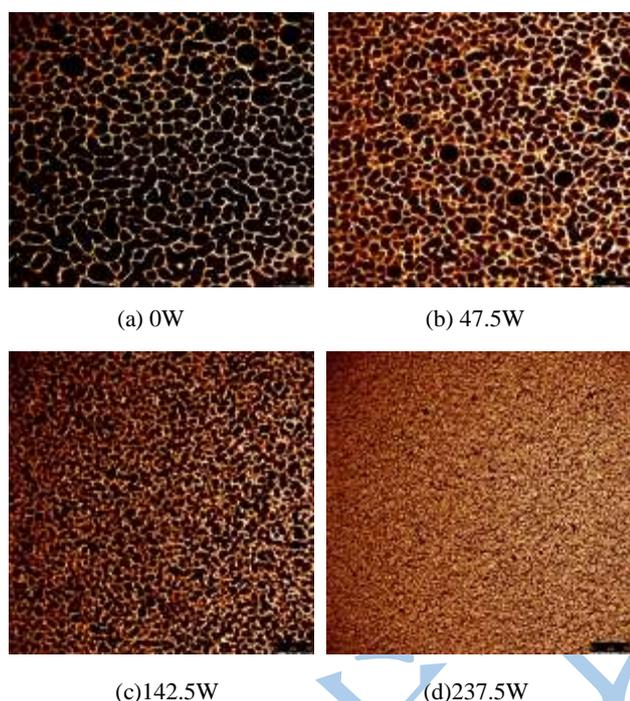


图2 不同超声功率处理条件下共混凝胶的 CLSM 图

Fig.2 CLSM microstructures of cold-set soybean 11S protein-LBG blend gels with different sonication power

表1 分散相分散状况的定量表征

Table 1 Characteristic analysis of the dispersed phase

超声处理功率/W	孔隙率/%	孔隙直径/μm
0	85	24.06±2.38
47.5	42	15.75±1.76
142.5	22	8.56±1.03
237.5	5	1.66±0.18

实验结果表明超声处理能够提高分散相的分散度，有效提高了蛋白多糖热力学不相容，引起此结果原因有可能是随超声功率增加进一步降低了降低刺槐豆胶的分子量，分子量分布出现变窄，从而使多糖的空间占有体积减小，从而使相分离现象弱化所致。

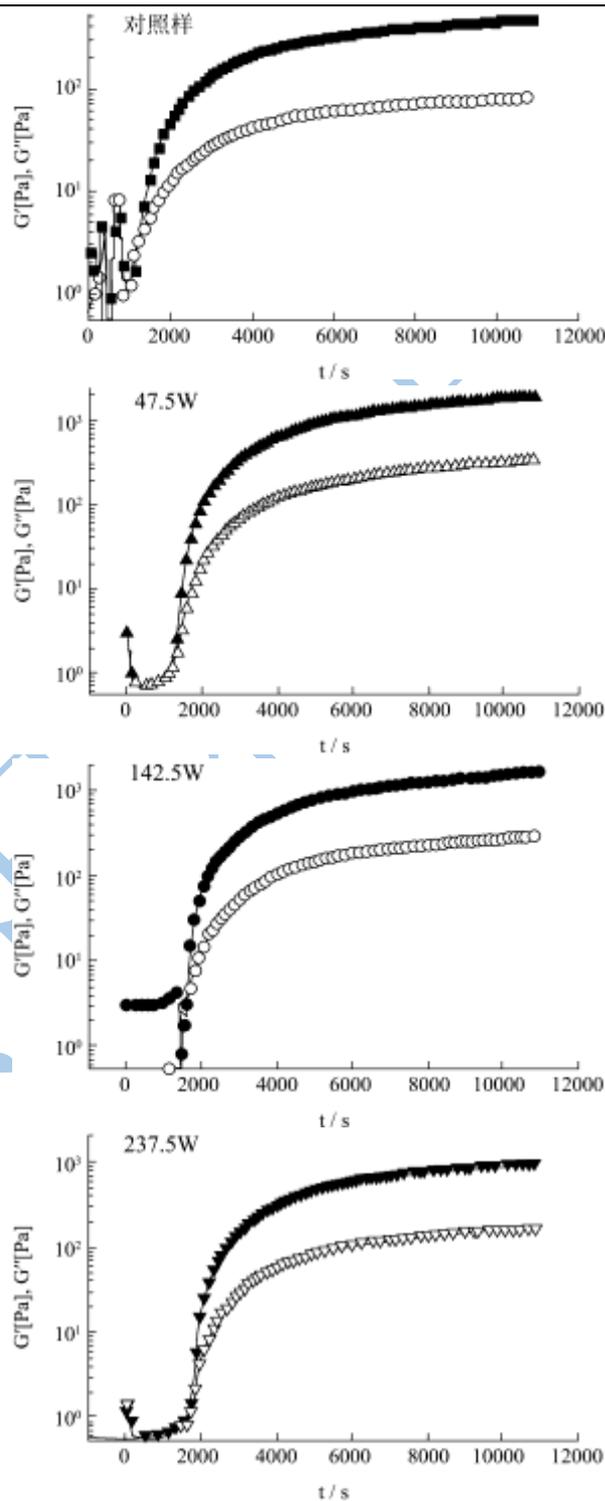


图3 超声功率对共混凝胶流变粘弹性质的影响

Fig.3 Effect of ultrasound power on viscoelastic properties of blend gels

注：实心图例为弹性模量值，空心图例为对应粘性模量值。

研究人员探讨超声处理对高分子多相体系时曾发现过类似超声增容现象，Chen等人研究超声作用下聚丙烯及其共混填充体系结构与性能时发现超声振荡可

显著帮助打散分散相，促进分散相沿流动方向的剪切变形并破裂形成更小的液滴，降低两相的界面张力，经过超声辐照，增加了聚丙烯和三元乙丙橡胶共混物的相容性<sup>[10]</sup>。超声处理能打散或降解团聚的生物高分子（蛋白和多糖），使其在基体中分散更均匀，但不同构型的生物大分子在超声振动场中的响应方式不同<sup>[11]</sup>。有趣的是从微结构观察发现超声对多糖分子的作用性显著大于对蛋白分子的作用，主要源于多糖分子呈长线性，在高频高振荡超声波作用下，链结构更容易被崩解，而球蛋白的球状具“粒子”性结构，在随超声波波峰波谷交替高频振荡过程被破坏的可能性就小得多。

### 2.2 超声处理对冷致共混凝胶流变性质的影响

图3为超声功率对11S-刺槐豆胶共混凝胶动态流变监控的粘弹模量跟踪测定结果，表2为不同超声功率对大豆11S蛋白-刺槐豆胶冷致共混凝胶起始点及温控程序终点粘弹模量。与对照样相比，经47.5 W超声功率处理后，凝胶强度得到提高，同时其凝胶起始点被提前，主因超声处理降解了部分刺槐豆胶结构进而使共混体系中相分离现象减弱引起。经142.5 W超声功率处理后的混合体系凝胶强度较峰值低，但仍高于对照样强度值。进一步升高超声处理功率至237.5 W的混合体系终值凝胶强度继续被降低。表明多糖作为分散相时当其孔隙率和孔隙平均直径大小在一定分布区间时才有利于维持较高强度的三维网络结构，宏观上显示为具较高的凝胶强度。随超声功率增加，凝胶强度先上升然后由峰值降低，此现象是因为作为填充料的多糖分子链存在一临界值，过大或过小均会弱化蛋白多糖网络并导致凝胶强度下降引起。

表 2 凝胶起始点及温控程序终点粘弹模量及相角分析结果

Table 2 Results of the initial gelation time, elastic, viscous modulus and phase angle at the procedure end

超声处理功率/W	*t <sub>gel</sub> /s	G'/Pa	G''/Pa	相角 (δ)
0	1215	479.3	81.89	9.696
47.5	851	1911.0	331.6	9.841
142.5	1580	1629.0	287.1	9.994
237.5	1216	950.7	163.9	9.782

注：\* 凝胶起始点，定义为初始G'>G''的时间点值。

### 2.3 超声处理对共混凝胶频率扫描特性的影响

为从流变学进一步检验不同超声功率处理后蛋白-多糖共混体系凝胶网路形成情况，控温程序结束后对样品进行频率扫描，考察粘弹模量对频率变化的响应。图4为不同超声功率处理后11S蛋白-刺槐豆胶频率扫描图测定结果。由图4可知超声处理后样品的G'>G''值且随频率变化较小，说明都能形成三维网络结构，

但同频率下G'及G''值经47.5 W处理的样品最大，其次为142.5 W及237.5 W处理样品，最小为对照样，说明三维网络结构的紧密程度依次为：47.5 W 样>142.5 W 样>237.5 W 样>对照样，进一步说明适当超声强度处理后可增强大豆11S蛋白-刺槐豆冷致凝胶。

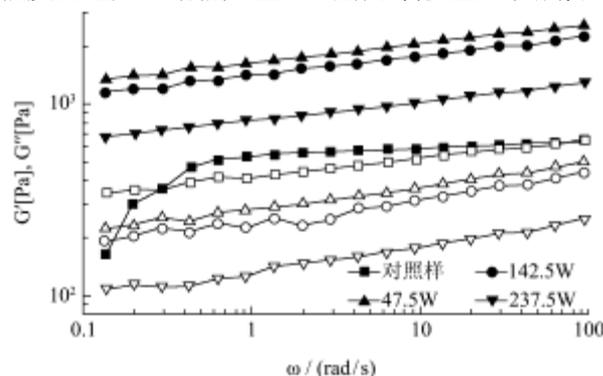


图 4 超声处理对共混凝胶频率扫描特性的影响分析

Fig.4 Effect of ultrasound power on frequency sweep spectrum of mixed gels

注：实心图例为弹性模量值，空心图例为对应粘性模量值。

### 2.4 超声处理对共混凝胶应变扫描特性的影响分析

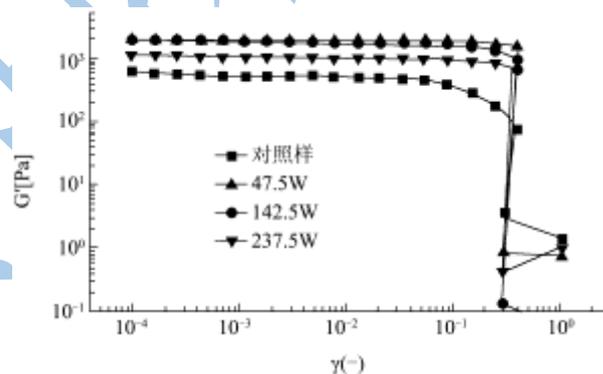


图 5 超声功率对共混凝胶应变扫描特性的影响分析

Fig.5 Effect of ultrasound power on strain sweep spectrum of mixed gels

图5为混合凝胶在控温程序最后阶段的振幅扫描图。由图5可知混合凝胶的线性粘弹区域均大于0.5%，且除对照样外均达1%，表明本实验采用控制0.5%变形测试过程均在线性粘弹范围。超声处理后，混合凝胶的线性粘弹区域均增加但不随功率的增加而增加。线性粘弹区以47.5 W功率处理样最大，其次为142.5 W和237.5 W处理样，最小的为对照样，此结果与动态流变和频率扫描的结果是一致的。超声处理蛋白多糖共混液后形成的冷致凝胶可增强凝胶结构，但作为填料的多糖分子链只有位于适当大小的时候才能维系最高强度，可从提升超声处理强度值142.5 W和237.5 W后，线性粘弹区长度得到降低的结果所证实。

## 3 结论

功率超声振动处理能有效改善大豆11S蛋白-刺槐豆胶多糖共混溶液的热力学相容性,提高刺槐豆胶增强大豆11S蛋白冷致凝胶材料的致密性,刺槐豆胶相在基体中均匀分布,且与蛋白连续相结合良好。超声处理能改善共混凝胶的粘弹性能。42.5 W功率超声处理4 min后凝胶材料的弹性模量提高显著,由479.3 Pa提高到1911.0 Pa,孔隙率和孔隙直径较之未经超声处理降低了50.6%和34.6%。超声处理功率并非越大越好,随处理功率的增加,共混凝胶材料的弹性模量和线性粘弹值均由峰值降低。经47.5 W超声功率处理4 min后就能基本满足对共混凝胶材料微结构均匀以及高弹性模量强度的要求。后续试验拟进一步研究超声处理对蛋白多糖共混体系中蛋白与多糖的分子结构及分子量分布的变化,以阐明超声处理对蛋白多糖共混体系增容的机理。

#### 参考文献

- [1] Mezzenga R, Schurtenberger P, Burbidge A, et al. Understanding foods as soft materials [J]. *Nature Mater.*, 2005, 4: 729-740
- [2] Polyakov V I, Grinberg V Y, Tolstoguzov, V B. Thermodynamic incompatibility of proteins [J]. *Food Hydrocolloids*, 1997, 11: 171-180
- [3] Tolstoguzov V B. Some thermodynamic considerations in food formulation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2003, 17: 1-23
- [4] Kasapis Stefan. Phase Separation in Biopolymer Gels: A Low-to High-Solid Exploration of Structural Morphology and Functionality [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2008, 48(4): 341-359
- [5] Suslick K S. The chemical effects of ultrasound [J]. *Sci Am*, 1989, 2: 80-86
- [6] 徐坚,徐僊.超声辐照下PEO与NaMAA嵌段共聚反应的研究[J].*高等学校化学学报*.1986,7(10):947-952
- [7] 宫晓颀,陈克强,徐僊.在超声波辐照下甲基纤维素的降解及与丙烯腈共聚反应的研究[J].*化工学报*.1987,38(3):318-327
- [8] NAGANO T, HIROTSUKA M, MORI H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(6): 941-944
- [9] 朱建华,杨晓泉.大豆11S蛋白-刺槐豆胶冷致共混凝胶控释核黄素性能研究[J].*现代食品科技*,2012,28(11):1429-1433
- [10] Chen Y, Li H. Effect of ultrasound on extrusion of PP/EPDM blends: Structure and mechanical properties [J]. *Polym Eng Sci*, 2004, 44(8): 1509-1513
- [11] 罗志刚,卢静静.超声处理对玉米淀粉热性质的影响[J].*现代食品科技*,2010,7:666-668

欢迎订阅中文核心期刊·《现代食品科技》

邮发代号: 46-349 刊号: ISSN 1673-9078/CN 44-1620