

大豆球蛋白吸附在空气-水和油-水界面上的比较研究

周春霞¹, 洪鹏志¹, 杨晓泉², 温其标²

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524025) (2. 华南理工大学食物蛋白研究工程中心, 广东 广州 510640)

摘要: 采用动态滴形分析法研究了大豆球蛋白在空气-水和油-水界面上的吸附特性, 主要检测了大豆球蛋白吸附在空气-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的界面张力和膨胀流变特征参数随吸附时间的变化。结果表明: 吸附速率随着初始体相蛋白浓度的增加而加快, 受界面类型的影响比较明显; 大豆球蛋白在三种界面上吸附的速率顺序为: 正十四烷-水界面>空气-水界面>花生油-水界面; 在空气-水和花生油-水界面上, 大豆球蛋白的吸附及其吸附膜的形成机制基本类似; 而在花生油-水和正十四烷-水界面上, 吸附膜的膨胀流变特性差别较大。

关键词: 大豆球蛋白; 空气-水界面; 油-水界面; 界面张力; 界面膨胀流变特性

中图分类号: TS201; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0539-05

Comparative Study of the Soy Glycinin Adsorbed at the Air-water and Oil-water Interfaces

ZHOU Chun-xia¹, HONG Peng-zhi¹, YANG Xiao-quan², WEN Qi-biao²

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China) (2. Research and Development Centre of Food Proteins, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Adsorption properties of soy glycinin adsorbed at the air-water and oil-water interfaces were studied by dynamic drop shape analysis. The time courses of interfacial tension and dilatational rheological characteristic parameters of glycinin adsorbed at the air-water, pure peanut oil-water and tetradecane-water interfaces were determined. The results showed that the rate of adsorption increased with increasing protein concentration in the initial bulk phase, and obviously depended on the type of interface. The order of adsorption rates of glycinin at three interfaces were tetradecane-water interface > air-water interface > peanut oil-water interface. The adsorption mechanism and dilatational rheological properties of adsorption films were similar to the adsorption of glycinin at air-water and peanut oil-water interfaces, whereas the dilatational rheological properties were distinct for that at peanut oil-water and tetradecane-water interfaces.

Key words: soy glycinin; air-water interface; oil-water interface; interfacial tension; interfacial dilatational rheological properties

蛋白质在空气-水和油-水界面上的吸附是发泡和乳化体系形成过程中必不可少的步骤, 在食品和非食品工业中都有广泛的应用^[1,2]。在泡沫或乳状体系形成过程中, 蛋白质必须快速吸附到空气-水或油-水界面上, 使界面张力降低, 张力降低的程度和速率与体系的形成能力密切相关。同时, 蛋白质分子结构在界面上发生变化, 由此产生的分子间相互作用导致气泡或油滴周围形成粘弹性的吸附膜, 阻止气泡或油滴重新聚合, 由此维持体系的稳定^[3,4]。大豆蛋白作为一种重要的蛋白质来源, 在食品和非食品工业中的应用越来越广泛。

收稿日期: 2008-02-15

作者简介: 周春霞 (1979-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为蛋白质化学与工程

为了更好地了解大豆蛋白分散体系的特性, 本研究对大豆球蛋白在空气-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的吸附及其吸附膜的界面膨胀流变特性进行了探讨, 主要目的是获得与大豆蛋白发泡和乳化体系有关的界面流变学基础信息。

1 材料与方法

1.1 实验材料

低温脱脂豆粕: 山东万德福植物蛋白厂, 蛋白质含量为 50.2%, 水分含量为 4.9%, 残油量为 0.2%, 经粉碎并过 100 目筛后备用; 花生油: 市售食用油, 使用前先用 60~100 目的 Florisil 筛 (Aldrich) 反复吸附处理以除去具有界面活性的物质, 处理后的花生油

与纯水间的界面张力为 $30.0 \pm 0.5 \text{ mN/m}$; 正十四烷: 分析纯试剂, 经吸附处理后与纯水间的界面张力为 $49.0 \pm 0.5 \text{ mN/m}$; 相同条件下, 纯水的表面张力为 $71.0 \pm 0.5 \text{ mN/m}$ 。吸附实验用水均为双蒸并经过离子处理的纯水。

1.2 大豆球蛋白的制备

按 Nagano 等^[5]提出的方法, 所得大豆球蛋白 (glycinin) 经冷冻干燥后于 4°C 贮存, 在一周内使用, 采用 SDS-PAGE 法检测其纯度高于 90%。

1.3 界面张力的检测

采用动态滴形分析法检测大豆球蛋白吸附到空气-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的界面张力 (σ) 随吸附时间 (t) 的变化。所采用的检测系统为 OCA20 视频光学接触角测量系统 (DataPhysics, 德国), 图 1a 为系统组成示意图 (检测界面张力的变化时不开启振荡发生器)。

蛋白液滴在空气或油相中形成 (如图 1b) 后, 高速视频摄像系统采集液滴外形图象 (如图 1c), 图象传到电脑, 根据 Young-Laplace 方程对液滴外形轮廓 (界面) 图象进行分析 (如图 1d) 计算出 σ :

$$\sigma = \frac{\Delta\rho \cdot g}{C} \dots\dots\dots (1)$$

$$\frac{1}{x} \cdot \frac{d}{dx} (x \cdot \sin\Theta) = \frac{2}{b} - C \cdot z \dots\dots\dots (2)$$

式 (1) 和 (2) 中: $\Delta\rho$ 为蛋白溶液与空气或油的密度差; g 为重力加速度; C 为毛细管常数; b 为液滴顶点 P 的曲率半径。

实验时, 连接在毛细管上的不锈钢针插入玻璃槽内 (或预先将玻璃槽盛好 3/4 体积的油) 并用醋酸纤维薄膜将槽密封 (如图 1b)。新鲜配制的蛋白溶液置于注射器中, 由电动注射单元推入毛细管并在针尖上形成 $10 \mu\text{L}$ 的液滴, 立即开始采集液滴外形图象, 检测 3 h 内 σ 随吸附时间的变化。蛋白溶液质量分数 (初始体相蛋白质质量分数, C_0) 为 0.1% 和 0.001%, pH 值为 7.0 和 3.0, 离子强度 0.05 mol/kg 。实验重复 3 次以上, σ 的误差为 $\pm 0.5 \text{ mN/m}$ 。

1.4 界面膨胀流变特性的检测

采用与界面张力检测相同的系统 (如图 1), 根据动态滴形分析法检测大豆球蛋白吸附到三种界面上的界面膨胀模量 (E)、界面膨胀弹性 (E_d)、界面膨胀粘性 (E_v) 以及相角 (θ) 随吸附时间 (t) 的变化。蛋白液滴形成后, 开启振荡发生器, 在适当的频率 (f) 和振幅 (A_d) 条件下按正弦规律振荡, 其界面面积 (A) 发生微小的变化 (膨胀应变), 从而引起 σ 的变化 (膨胀应力)。在线性粘弹性范围内, 界面膨胀模量可表示

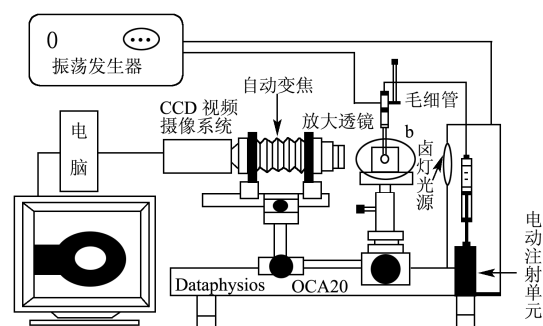
为^[6]:

$$E = \frac{d\sigma}{dA/A} \dots\dots\dots (3)$$

$$E = \left(\frac{\sigma_0}{A_a/A_0} \right) (\cos\theta + i \sin\theta) = E_d + iE_v \dots\dots (4)$$

式 (4) 中: A_0 和 σ_0 分别表示平衡时的界面面积和界面张力。本实验中, 通过形变扫描确定的线形粘弹性膨胀应变的振幅 ($\Delta A/A_0$) 范围为 0~8%。

实验时, $10 \mu\text{L}$ 的蛋白液滴在针尖上形成后 (如图 1b), 立即加载正弦振荡 ($f=0.1 \text{ Hz}$, $\Delta A/A_0=6\%$), 检测 2 h 内 E 、 E_d 、 E_v 和 θ 随吸附时间的变化。实验重复三次以上, E 的误差为 $\pm 4.0 \text{ mN/m}$ 。



(a) OCA20 视频光学接触角测量系统组成示意图



(b) 液滴形成装置示意图 (c) 液滴外形轮廓图 (d) 滴形分析示意图

图 1 界面张力和膨胀流变特性检测系统示意图

Fig.1 Schematic diagram of the inspection system for interfacial tension and interfacial dilatational rheological properties

2 结果与讨论

2.1 界面张力随吸附时间的变化

图 2 所示为不同浓度和 pH 值条件下, 大豆球蛋白吸附在空气-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的界面张力 (σ) 随吸附时间的变化。由图 2 可知:

(1) 随着吸附时间的延长, σ 降低, 表明蛋白质分子逐渐吸附到了空气-水或油-水界面上; (2) 随着 C_0 的增加, σ 随吸附时间降低的程度和速率明显增加, 即吸附速率随 C_0 的增加而增大; (3) 当初始体相蛋白浓度较低时, $\sigma-t$ 曲线存在诱导期。诱导期之后, σ 迅速降低, 达到一定程度后 σ 的降低变得缓慢; (4) 在不同界面上 σ 降低的程度和速率也明显不同。当 pH 值等于 3.0 且 C_0 为 0.001% 时, 大豆球蛋白吸附在空气

-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的 σ - t 曲线的诱导时间分别为 780 s、45 s 和 10 s, 并且在 0~7200 s 时间范围内 σ 降低的值分别为 18.3 mN/m、13.2 mN/m 和 27.8 mN/m。因此, 大豆球蛋白在三种界面上吸附的速率顺序为: 正十四烷-水界面>空气-水界面>花生油-水界面。

从动力学的角度分析, 球蛋白分子吸附到空气-水或油-水界面上使界面张力降低需经历三个主要步骤^[7]: 首先蛋白质分子从体相扩散到界面附近, 形成界面层; 紧接着分子在界面上展开, 亲水基团暴露到水相, 疏水基团暴露到空气或油相, σ 迅速降低; 最后, 被吸附的蛋白质分子以更加紧密的结构在界面上重排, 在此过程中, 分子继续吸附到界面上, σ 进一步缓慢减小。当体相蛋白浓度较低时, 蛋白分子需要

一定的时间扩散到界面, 因而吸附出现诱导期; 另一方面, 疏水相的极性对分子展开和重排也有影响。据报道^[8], 在油-水体系中, 蛋白质分子多肽链的疏水区域很可能部分渗透到油相。若这一假设成立, 则分子在油-水界面上展开的程度较大, 界面张力降低的程度和速率也会因此而增大。在本实验中, 大豆球蛋白在正十四烷-水界面上的吸附与此类似, 而在花生油-水界面上的吸附则与此相反。由此表明, 球蛋白在正十四烷-水界面与花生油-水界面上的吸附机制很可能存在较大的差别, 即分子展开和重排的机制很可能不同。在正十四烷-水体系中, 被吸附到界面上的蛋白质分子很可能完全变性和展开, 分子结构被破坏, 导致界面张力迅速降低。

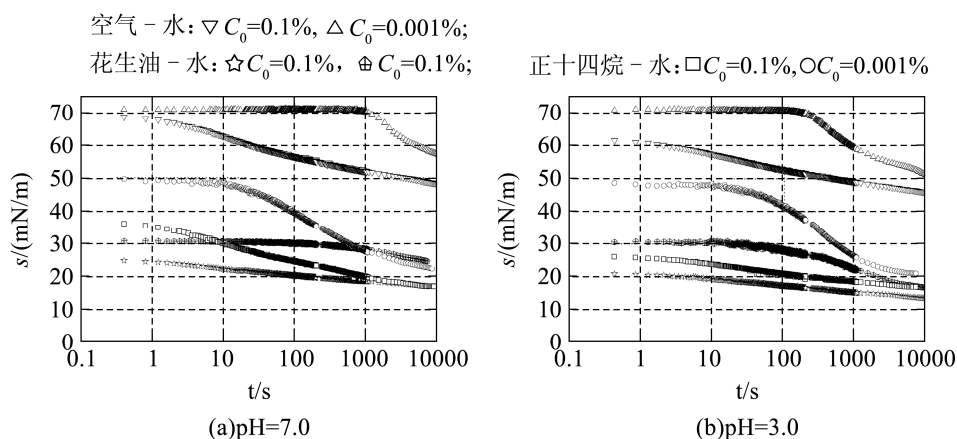


图2 大豆球蛋白吸附在空气-水、花生油-水和十四烷-水界面上的界面张力随吸附时间的变化

Fig.2 Time courses of interfacial tension of glycinin adsorbed at the air-water, pure peanut oil-water and tetradecane-water interfaces with different pH values

2.2 界面膨胀流变特性随吸附时间的变化

图3所示为大豆球蛋白吸附在空气-水、纯的花生油-水和正十四烷-水界面上的膨胀流变特征参数 (E , E_d , E_v 和 θ) 随吸附时间的变化。由图3可知: (1) 随着吸附时间的延长, E 和 E_d 增大而 θ 减小, 表明大豆球蛋白分子逐渐吸附到空气-水或油-水界面上引起了界面性质的变化; (2) 在吸附的初始阶段, E 和 E_d 的变化较快, 随着吸附的进行, 变化减慢; (3) 在实验范围内, E 和 E_d 的值基本相似, 而 E_v 的值较小, 且 θ 大于零而小于 90° , 表明大豆球蛋白吸附到界面上形成了以弹性为主的粘弹性结构; (4) 在三种界面上, 界面膨胀流变特征参数的值存在一定的差别。

从动力学的角度分析, 球蛋白分子吸附到界面上使界面张力降低的同时, 相邻蛋白质分子残基间产生的相互作用导致分子重新交联或聚合, 形成粘弹性的界面蛋白网络结构(吸附膜)^[7,9]。在界面膨胀/压缩过

程中, 这种粘弹性的吸附膜以及分子本身的结构稳定性导致了界面膨胀流变特性的产生。因此, 随着吸附的进行, E 和 E_d 增大而 θ 变小。并且, 在不同体系中, 分子在界面上展开和重排的程度不同, 界面网络结构的强度也不同。

2.3 界面类型对动态界面膨胀模量的影响

图4所示为界面类型对大豆球蛋白吸附膜动态界面膨胀模量的影响。实验所用的花生油和正十四烷都是去除了小分子表面活性物质的纯化油, 因此对相同浓度和 pH 值条件下的检测体系而言, 差别主要源于界面本身的特性及其对蛋白质分子结构的影响。由图4可知: (1) 在花生油-水和空气-水界面上, 吸附膜的界面膨胀模量随吸附时间的变化基本相似, 而在正十四烷-水和花生油-水界面上, 吸附膜的动态界面膨胀模量存在一定的差别。最为明显的是, 正十四烷-水界面上吸附膜的 E 值快速上升之后迅速趋于稳定,

且存在 E 值随吸附时间的延长先增大然后减小的情况 (如图 4a); (2) 当 pH 值等于 7.0 时, 三种模型体系中动态界面膨胀模量的差别较大, 而当 pH 值等于 3.0 时差别相对较小, 且总的趋势是当 pH 值为 3.0 时,

吸附膜的 E 值较大; (3) 不同浓度和 pH 值条件下, 界面类型的影响比较复杂。当 C_0 为 0.1% 时, 花生油-水界面上吸附膜的 E 值最大, 而当 C_0 降低到 0.001% 时, 花生油-水界面上吸附膜的 E 值最小。

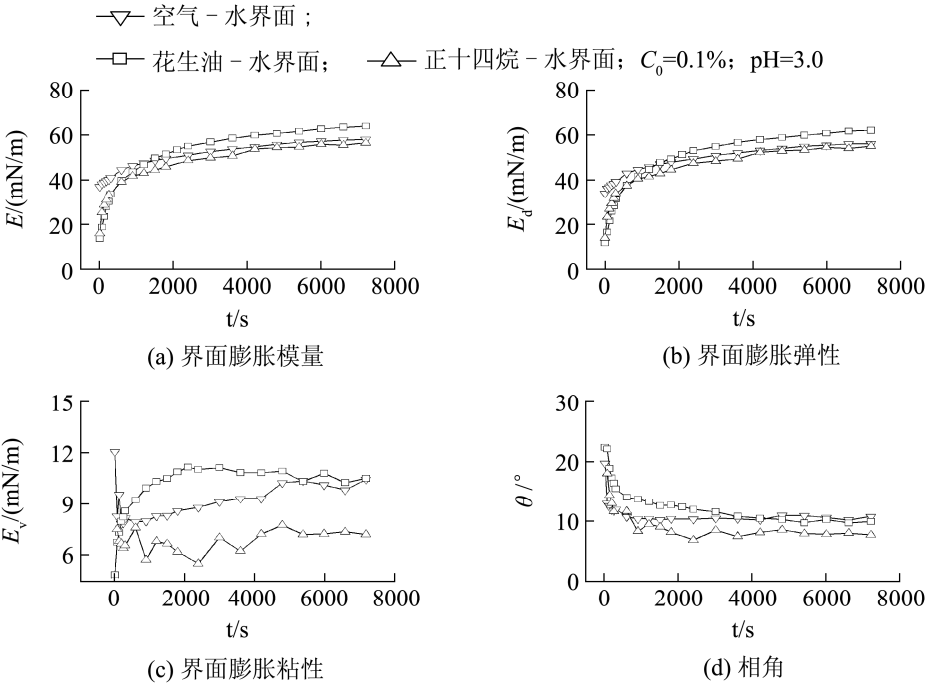


图3 大豆球蛋白吸附在空气-水、花生油-水和正十四烷-水界面上的界面膨胀流变特征参数随吸附时间的变化

Fig.3 Time courses of dilatational rheological characteristic parameters of glycinin absorbed at the air-water, pure peanut oil-water and tetradecane-water interfaces

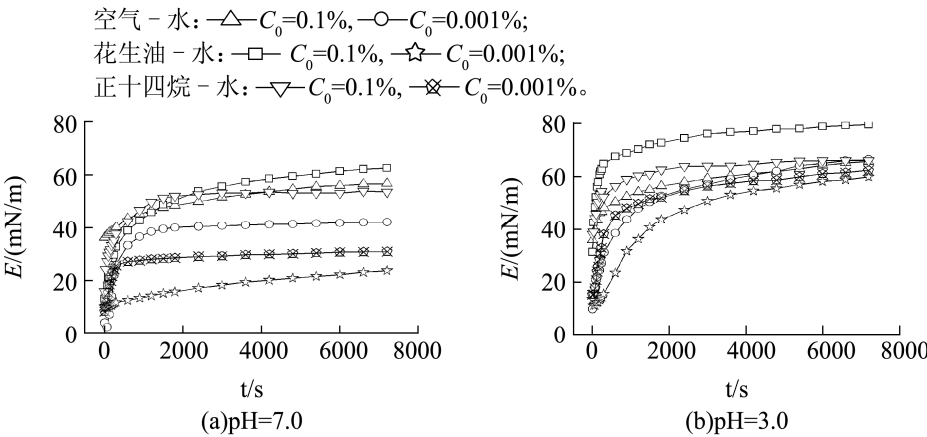


图4 空气-水、花生油-水和正十四烷-水界面上大豆球蛋白吸附膜的界面膨胀模量随吸附时间的变化

Fig.4 Time courses of dilatational modulus of glycinin absorbed at the air-water, pure peanut oil-water and tetradecane-water interfaces at different pH values

据报道^[8], 在油-水体系中, 蛋白质分子展开程度较大, 多肽链的疏水区域很可能部分渗透到油相。从动力学的角度分析, 如果这一假设成立, 则分子在油-水界面上展开的程度较大, 但相邻蛋白质分子残基间的相互作用很可能被油相的溶剂化作用所限制, 由此导致界面蛋白吸附膜的强度较小, 相应的结果应该是

σ 的迅速降低而吸附膜的 E 值较小。比较而言, 在本实验中, 大豆球蛋白吸附在正十四烷-水界面上的情况与此比较类似, 而在花生油-水界面上, 大豆球蛋白的吸附较慢。并且, 在整个实验中, 花生油-水和空气-水界面上吸附膜的膨胀流变特征参数随吸附时间的变化规律基本相同。综合分析, 在正十四烷-水体系中,

除了溶剂化作用的影响之外,更重要的是正十四烷使蛋白质分子完全变性和展开,分子内部结构被破坏。这也同时表明,在不同界面上,吸附膜的结构和形态特征很可能存在较大差别。因此,界面类型(尤其是油相的类型)对界面蛋白吸附膜膨胀流变特性的影响比较复杂。总的来说,大豆球蛋白在空气-水和花生油-水界面上的吸附及其吸附膜的形成机制基本相似;而在正十四烷-水和花生油-水界面上的吸附及其吸附膜的膨胀流变特性差别较大。

3 结论

采用动态滴形分析法研究了大豆球蛋白在空气-水和油-水界面上的吸附特性。随着吸附时间的延长,大豆球蛋白分子吸附到界面上,吸附速率随着初始体相蛋白浓度的增加而加快,受界面类型的影响比较明显;大豆球蛋白在三种界面上吸附的速率顺序为:正十四烷-水界面>空气-水界面>花生油-水界面。吸附诱导球蛋白分子结构的变化以及由此产生的分子间相互作用使蛋白质分子吸附到三种界面上形成以弹性为主的粘弹性界面蛋白吸附膜。因此,随着吸附时间的延长, E 和 E_d 增大, θ 减小。界面类型(尤其是油相的类型)对蛋白质界面吸附膜膨胀流变特性的影响比较复杂。总的来说,大豆球蛋白在空气-水和花生油-水界面上的吸附及其吸附膜的形成机制基本相似;而在正十四烷-水和花生油-水界面上的吸附机制及其吸附膜的膨胀流变特性差别较大。在正十四烷-水体系中,除了溶剂化作用的影响之外,更重要的是正十四烷使蛋白质分子完全变性和展开,分子内部结构被破坏。

参考文献

- [1] Dickinson E. Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface rheology[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999, 15: 161-176
- [2] El Kirat K, Chauvet J P, Roux B, et al. Streptomyces chromofuscus phospholipase D interaction with lipidic activators at the air-water interface [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2004, 1661: 144-153
- [3] Phan C M, Nguyen A V, Evans G M. Dynamic adsorption of beta-casein at the gas-liquid interface[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20: 299-304
- [4] Martinez K D, Sanchez C C, Ruiz-Henestrosa V P, et al. Soy protein-polysaccharides interactions at the air-water interface [J]. *Food Hydrocolloids*, 2007, 21: 804-812
- [5] Nagano T, Hirotsuka M, Mori H. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40: 941-948
- [6] Lucassen J, Van den Tempel M. Dynamic measurements of dilational properties of a liquid interface [J]. *Chemical Engineering Science*, 1972, 27: 1283-1291
- [7] Rodríguez Patino J M, Carrera Sánchez C, Molina Ortiz S E, et al. Adsorption of soy globulin films at the air-water interface [J]. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2004, 43: 1681-1689
- [8] Wüstneck R, Moser B, Muscholik G. Interfacial dilational behaviour of adsorbed β -lactoglobulin layers at the different fluid interface[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999, 15: 263-273
- [9] Graham D E, Phillips M C. Proteins at liquid interfaces. I. kinetic of adsorption and surface denaturation[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1979, 70: 403-414