

大豆 7S 和 11S 凝胶样乳液流变特性及 微观结构的研究

罗立君, 唐传核

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 研究了不同预热温度 (75 °C、85 °C、95 °C) 下制备的大豆 7S、11S 及两者的混合物 ($m/m=1:1$) 冷致凝胶样乳液的流变特性及微观结构。结果表明相同预热温度下, 大豆 11S 形成的凝胶样乳液的强度大于 7S 乳液, 混合蛋白乳液的强度最弱, 11S 凝胶样乳液的表现粘度最大可达 339 Pa·s, 而 7S 和混合蛋白乳液的最大值仅为 1.73 Pa·s 和 0.36 Pa·s, 预热温度对大豆 7S、11S 及两者的混合物凝胶样乳液的影响是不同的, 11S 凝胶样乳液与 7S 和混合蛋白乳液的微观结构有显著差异。

关键词: 凝胶样乳液; 预加热温度; 流变特性; 微观结构

文章编号: 1673-9078(2013)2-242-246

Rheological Properties and Microstructure of Cold, Gel-like Emulsions Prepared with β -conglycinin and Glycinin Soy Proteins

LUO Li-Jun, TANG Chuan-He

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The cold, gel-like emulsions were prepared with β -conglycinin soy protein (7S), glycinin soy protein (11S) and the mixture ($m/m=1:1$) which were preheated at 75 °C, 85 °C and 95 °C. The rheological properties and microstructures of gel-like emulsions were studied. It was found that at the same preheating temperature, 11S gel-like emulsions had the highest viscosity and elasticity, followed by 7S emulsions, and the mixture emulsions had the smallest viscosity and elasticity. The maximum apparent viscosity of 11S gel-like emulsions was 339 Pa·s, while the maximum apparent viscosity of 7S and mixture emulsions were just 1.73 Pa·s and 0.36 Pa·s. The effects of preheating temperature on different emulsions were distinct. CLSM indicated that the emulsions made from 7S, 11S and mixture exhibited remarkable microstructure differences.

Key words: gel-like emulsion; preheating temperature; rheological properties; microstructure

近年来, 乳液凝胶在食品工业中的越来越受到关注, 因为很多食品都属于乳液凝胶体系, 如奶酪、酸奶等。而且乳液凝胶还被证实可以用来包埋脂溶性的生物活性物质, 以达到控制其释放速度的目的^[1]。乳液凝胶的形成方式通常可以分为两类: 热致凝胶和冷致凝胶。热处理是目前诱导乳液凝胶形成最常用的方式。但是热处理会导致副反应发生^[2], 而且热致凝胶不适合作为热敏成分的包埋载体。相比之下, 冷致凝胶的应用范围就更加广泛。

Khanitta^[3]等利用组织化乳清浓缩蛋白 (WPC) 制备出一种新型冷致凝胶样乳液, 该乳液具有良好的热稳定性, 且制备过程中不需要添加任何凝胶剂。Liu^[4]

等将大豆分离蛋白 (SPI) 经过一定的预热处理, 再经过微射流均质, 也得到了冷致凝胶样乳液。大豆分离蛋白作为一种来源丰富的优质植物蛋白, 近年来被广泛的用于食品加工和科学研究^[5-6]。但是大豆分离蛋白是一种多组分体系, 7S 和 11S 是其主要成分^[7-8]。由于其分子特性的不同, 7S 和 11S 对大豆分离蛋白凝胶样乳液的形成的贡献可能是不同的, 因此研究 7S 和 11S 凝胶样乳液的性质的差异有很大必要。

本文研究不同预热温度下制备的大豆 7S、11S 及混合蛋白凝胶样乳液的流变特性及微观结构, 探索预热温度对凝胶样乳液的影响, 并研究 7S 和 11S 形成的凝胶样乳液性质的差异, 揭示 7S 和 11S 对大豆分离蛋白凝胶样乳液形成的贡献的大小。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

收稿日期: 2012-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972049)

作者简介: 罗立君 (1986-), 女, 硕士研究生

通讯作者: 唐传核, 副教授

大豆 7S 和 11S, 自制; 商用 MTGase, 江苏一鸣生物制品有限公司; 福临门大豆油, 广州好又多超市; 尼罗红, 美国 Sigma 公司; 尼罗蓝, 美国 Sigma 公司, 其他化学试剂均为分析纯。

冷冻离心机, 日本 Hitachi 公司; M-110EH 高压微射流纳米均质机, 美国 Microfluidics 公司; 高速分散机, 德国 IKA 公司; AR550 流变仪, 美国 TA 公司; 激光共聚焦扫描显微镜, 德国 LEICA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 凝胶样乳液的制备

配制 6% (*m/V*) 的 7S、11S 和两者的混合蛋白溶液, 添加 0.02% 叠氮钠, 4 °C 过夜水化。次日, 将蛋白溶液的 pH 调至 7.0, 然后在 75、85 °C 和 95 °C 水浴锅中加热 15 min, 立即冷却至室温。取上述不同的蛋白溶液与大豆油按 7:3 (*V/V*) 混合, 先用 IKA 均质机 10000 r/min 下处理 2 min, 再经过微射流 40 MPa 处理一次。

1.2.2 表观粘度

乳液的表观粘度采用 AR550 流变仪表征, 测试温度为 25 °C。将样品置于平行板之间, 间隙设为 1 mm, 抹去过量的样品, 并在样品裸露的边缘处涂上一层薄薄的硅油, 以防止水分蒸发。剪切速率范围设定为 1~100 s⁻¹。

1.2.3 乳液的流变性能

模式选用小振幅动态频率扫描, 测试温度为 25 °C。将样品置于平板之间, 在样品裸露的边缘处涂上一层薄薄的硅油, 以防止水分蒸发。扫描频率范围设定为 0.1-100 rad/s, 应变固定在 0.5%。

1.2.4 激光共聚焦显微镜 (CLSM)

乳液的内部结构通过激光共聚焦显微镜进行观察, 蛋白和油滴分别采用尼罗红 (0.1%) 和尼罗蓝 (1%) 进行染色, 激发波长为 488 和 633 nm。

2 结果与讨论

2.1 7S 和 11S 亚基组成表征

大豆 7S 和 11S 的 SDS-PAGE 图谱如图 1 所示。7S 主要由 α' 、 α 和 β 三种亚基组成, 其分子量分别为 77 kDa、72 kDa 和 56 kDa, 11S 主要由酸性亚基 (AS) 和碱性亚基 (BS) 组成, 其分子量分别为 35 kDa 和 17 kDa^[9]。

2.2 外观形态

由图 2 可见, 7S 和混合蛋白乳液呈现流动性好的液态, 混合蛋白乳液的流动性更好, 11S 乳液呈凝胶形态, 其形态与 Liu^[4]等人利用预热处理的乳清浓缩蛋白制成的凝胶样乳液相似。

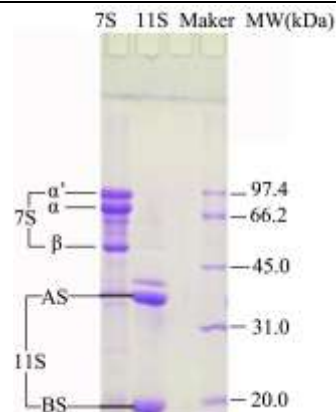


图 1 7S 和 11S 的凝胶电泳图谱

Fig.1 SDS-PAGE profile of 7S and 11S

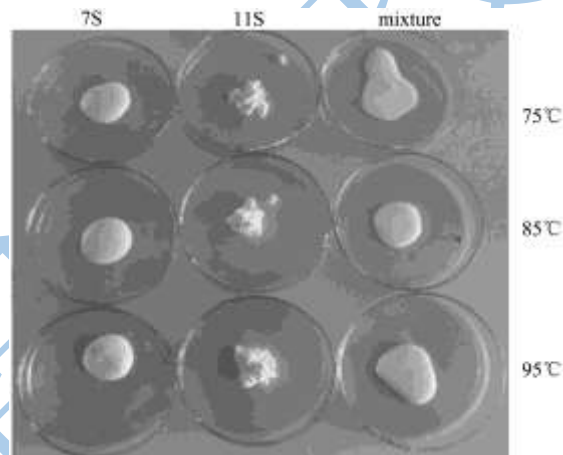


图 2 乳液的外观形态

Fig.2 Typical images of 7S, 11S and mixture gel-like emulsions preheated at different temperature

2.3 蛋白种类对乳液表观粘度的影响

如图 3 所示, 在设定的剪切速率范围内 (1~100 s⁻¹), 随着剪切速率的增加, 乳液的粘度均呈下降趋势, 即发生了剪切稀化现象。许多文献也报道了类似的剪切稀化现象, 如 Boutin^[10]等和 Demetriades^[11]等, 这主要是由于油滴的絮凝。

在任何一个剪切速率下, 11S 凝胶样乳液的表观粘度都显著大于 7S 乳液和混合蛋白乳液的表观粘度, 混合蛋白乳液的表观粘度最低, 这说明 11S 对大豆分离蛋白凝胶样乳液形成的贡献更大。关于 11S 凝胶性能优于 7S 的现象在很多文献中都有报道, 如 Tang^[12]等, Nakamura^[13]等。11S 和 7S 乳液表观粘度的差异可能是由 11S 和 7S 乳化性能的差异造成的。加热后 11S 的乳化稳定性小于 7S, 11S 乳液中的油滴不稳定, 油滴之间通过疏水相互作用、氢键、静电相互作用和二硫键相互聚集, 形成凝胶网络, 使体系的表观粘度显著增加; 而加热后 7S 的乳化活性和乳化稳定性很好, 7S 乳液中的油滴很稳定, 不相互聚集, 导致乳液的表观粘度很小。混合蛋白乳液的表观粘度似乎应该

介于 7S 和 11S 乳液之间，其表观粘度最低的现象似乎很难解释。Nakamura^[13]在研究蛋白凝胶时，也发现了类似的现象。German^[14]等指出加热后 11S 的亚基分离，7S 和 11S 的碱性亚基结合形成可溶性的复合物，阻止 11S 碱性亚基的聚集。混合蛋白乳液中的 11S 在 7S 的作用下不能通过疏水相互作用等作用力相互聚集，阻止了凝胶网络的形成，因此混合蛋白乳液的表观粘度很低。

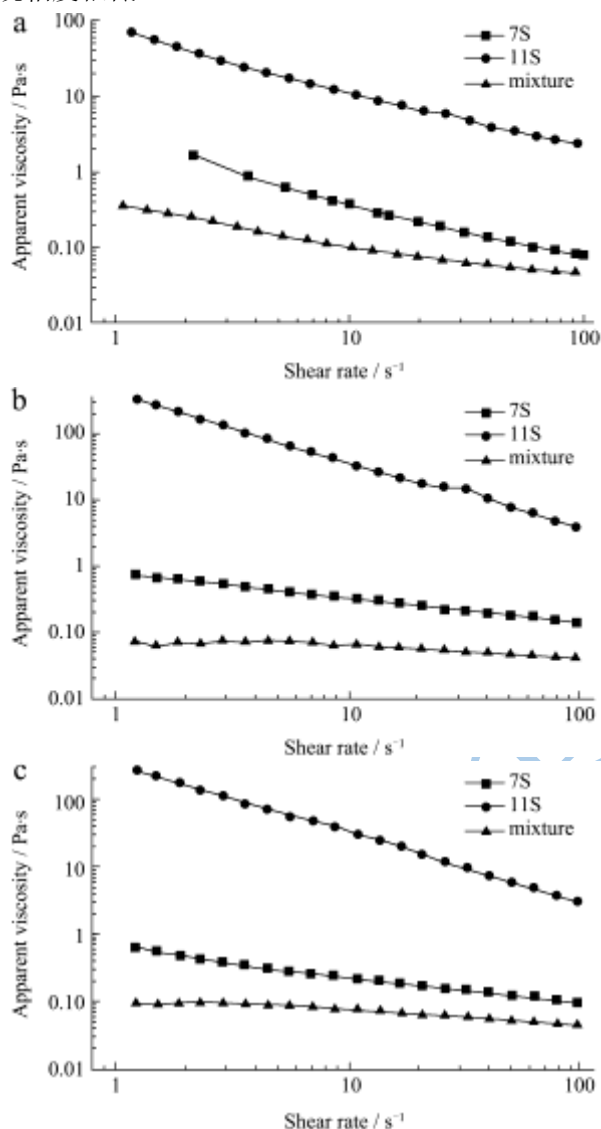


图3 不同预热温度下的乳液的表观粘度

Fig.3 The apparent viscosity of 7S, 11S and mixture gel-like emulsions preheated at different temperature

注：a-75℃，b-85℃，c-95℃。

2.4 热处理温度对乳液表观粘度的影响

如图 4a 所示，在剪切速率为 1~10 s⁻¹ 7S 乳液的表观粘度随预热温度的升高而降低，75℃表观粘度最高，85℃次之，95℃最低。Nagano^[15]等在研究 7S 蛋白凝胶时也发现类似的现象。温度升高，7S 的乳化活性增大，乳液中的油滴变得更加稳定，不能相互聚

集，导致乳液的表观粘度逐渐降低。

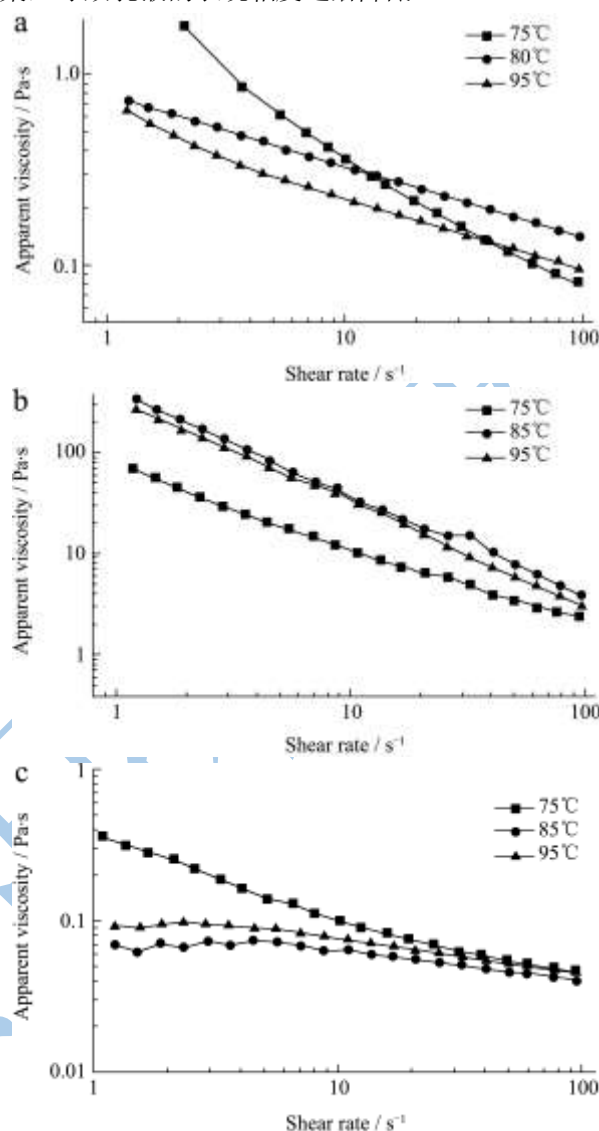


图4 预热温度对乳液表观粘度的影响

Fig.4 The effect of preheating temperature on the apparent viscosity of 7S, 11S and mixture gel-like emulsions

注：a-7S，b-11S，c-mixture。

如图 4b 所示，11S 乳液的表观粘度随预热温度升高呈现先增加后降低的趋势，75℃表观粘度最低，85℃最高，95℃表观粘度与 85℃相比，略有下降。表观粘度最高的预热温度正好对应 11S 的变性温度，说明蛋白适度变性有利于凝胶样乳液的形成。当预热温度继续增加，疏水区域暴露过多，网络结构的有序性下降，致使表观粘度下降。

如图 4c 所示，75℃预热处理的混合蛋白乳液的表观粘度最高，85℃和 95℃预热处理的混合蛋白乳液表观粘度与 75℃相比，略有下降。85℃和 95℃预热处理的乳液表现为牛顿流体，粘度随剪切速率的增加无明显变化。

2.5 凝胶样乳液的流变性能

如图 5a 所示, 在所测量的频率范围内, 11S 凝胶样乳液的 G' 都是大于 G'' 的, 这表明所有的这些乳液均呈现出弹性凝胶性质。而且随着频率的增加, G' 和 G'' 都是上升的。在同一频率下, 85 °C 预热的 11S 乳液的 G' 和 G'' 最高, 75 °C 预热的最低, 95 °C 预热的位于两者之间, 这与表观粘度的数据一致。7S 和混合蛋白乳液由于流动性太好而不太适合做振荡测量, 而且乳液的 G'' 总是大于 G' (数据未列出)。

$\tan \delta$ (G''/G') 表示损耗的能量值与储存的能量值的比值, 可以区别一个凝胶是弹性为主的还是粘性为主。从图 5b 可以看出, 11S 凝胶样乳液的 $\tan \delta$ 基本上不随频率的增加而改变, 即不依赖于 ω 的变化而变化。 $\tan \delta$ 的数值在 0.1 左右, 表明本实验所得到的凝胶样乳液具有弹性为主的强的凝胶性能。

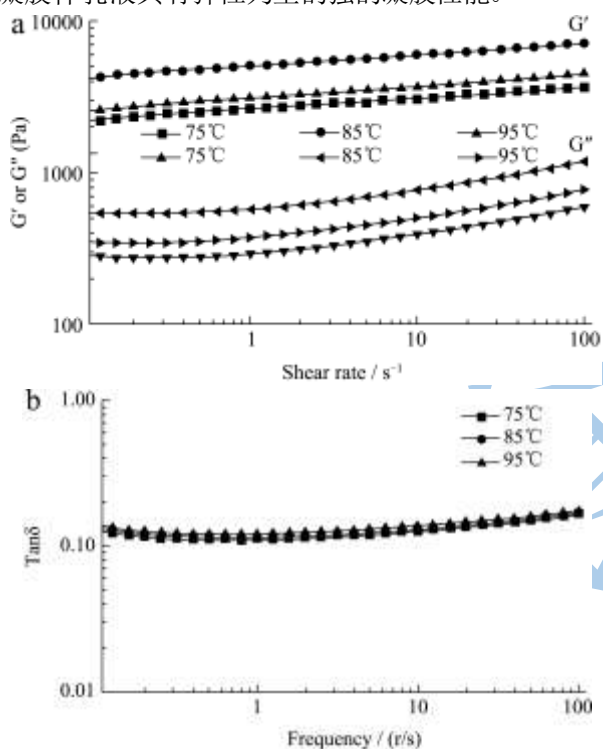


图 5 不同预热温度下的 11S 凝胶样乳液的 G' 、 G'' 和 $\tan \delta$
Fig.5 The viscoelastic properties of 11S gel-like emulsions preheated at different temperature

2.6 CLSM

如图 6 所示, 7S、11S 和混合蛋白乳液的微观结构有较大差异。11S 乳液的凝胶结构中有缕状凝胶结块, 这大大提升了凝胶的强度。不同预热温度下的 11S 乳液的凝胶结构也有一定的差异: 75 °C 预热的 11S 乳液的凝胶结构中有较大孔隙, 85 °C 预热的 11S 乳液的结构变得更加致密, 而当预热温度增加到 95 °C 时, 11S 乳液中的凝胶结块变小, 这很好的解释了 11S 凝胶样乳液的强度随预热温度先增加后降低的趋势。7S 和混

合蛋白乳液的结构比较均匀, 无凝胶结块, 油滴分布均匀, 清晰可辨, 这说明 7S 和混合蛋白乳液中的胶体相互作用比较弱。不同预热温度下的 7S 和混合蛋白乳液的结构无明显差异。总体而言, 乳液的微观结构与流变数据有着良好的一致性。

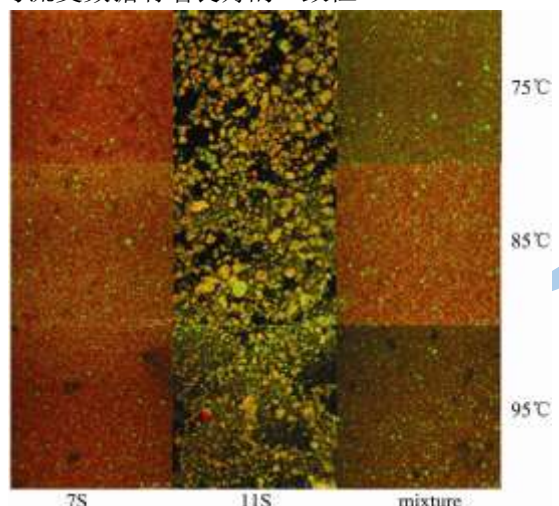


图 6 凝胶样乳液的激光共聚焦图

Fig.6 CLSM of 7S, 11S and mixture gel-like emulsions preheated at different temperature

3 结论

7S、11S 和混合蛋白形成的凝胶样乳液不同, 11S 对大豆分离蛋白凝胶样乳液形成的贡献比 7S 大。在相同的预热温度下, 大豆 11S 形成的凝胶样乳液的强度显著大于 7S 乳液, 混合物形成的凝胶样乳液的强度最弱, 几乎表现为牛顿流体。凝胶样乳液的性质与预热温度有关, 不同蛋白的最适预热温度不同。11S 凝胶样乳液的凝胶结构中有大的缕状凝胶结块, 油滴被蛋白紧密包裹; 7S 和混合蛋白凝胶样乳液的结构比较均匀, 未出现大的凝胶结块, 油滴均匀分布, 清晰可辨。

参考文献

[1] Dickinson E, Yamamoto Y. Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(6): 1371-1377
 [2] Dickinson E. Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization [J]. Trends in food science & technology, 1997, 8(10): 334-339
 [3] Manoi K, Rizvi S S H. Emulsification mechanisms and characterizations of cold, gel-like emulsions produced from texturized whey protein concentrate [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(7): 1837-1847

- [4] Tang C H, Liu F. Cold, Gel-like soy protein emulsions by microfluidization: Emulsion characteristics, rheological and microstructural properties, and Gelling mechanism [J]. Food Hydrocolloids, 2012
- [5] 杨淼,唐传核.微生物转谷氨酰胺酶对大豆分离蛋白乳液凝胶性能的影响[J].现代食品科技,2012,28(1):5-8
- [6] 李欣荣,唐传核.热处理对大豆分离蛋白稳定乳液包埋特性的影响[J].现代食品科技,2012,28(5):494-498
- [7] 王显生,麻浩,向世鹏,等.SDS-PAGE 分离胶浓度条件下大豆贮藏蛋白亚基的分辨效果[J].中国油料作物学报,2004, 26(2):75-80
- [8] 胡超,黄丽华,李文哲.大豆球蛋白 11S/7S 比值对大豆蛋白功能性的影响[J].中国粮油学报,2004,19(1):40-42
- [9] 陈振家,郝利平.大豆 7S 伴大豆球蛋白和 11S 球蛋白亚基分析[J].山西农业大学学报,2009,29(2):111-114
- [10] Boutin C, Hélène J Girouxb, Paul Paquin, et al. Characterization and acid-induced gelation of butter oil emulsions produced from heated whey protein dispersions [J]. International Dairy Journal, 2007, 17(6): 696-703
- [11] Demetriades K, Coupland J, McClements D. Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl [J]. Journal of food science, 1997, 62(2): 342-347
- [12] Tang C H, Wu H, Chen Z, et al. Formation and properties of glycinin-rich and β -conglycinin-rich soy protein isolate gels induced by microbial transglutaminase [J]. Food Research International, 2006, 39(1): 87-97
- [13] Nakamura T, Utsumi S, Mori T. Interactions During Heat-induced Gelation in a Mixed System of Soybean 7 S and 11 S Globulins (Food & Nutrition) [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1986, 50(10): 2429-2435
- [14] German B, Damodaran S, Kinsella J E. Thermal dissociation and association behavior of soy proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982, 30(5): 807-811
- [15] Nagano Takao, Hirotsuka Motohiko, Mori Hiroyuki, 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