

# 大豆蛋白组分与 $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶的流变学研究

王晓园, 杨晓泉, 朱建华

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

**摘要:** 对  $\kappa$ -卡拉胶与大豆蛋白组分 glycinin (11S) 混合体系的凝胶流变学性质进行了研究。结果表明:  $\kappa$ -卡拉胶与 glycinin 形成的蛋白质多糖混合凝胶相对单一浓度的  $\kappa$ -卡拉胶或单一浓度的 glycinin 凝胶而言具有较高的弹性模量; 随着体系中卡拉胶浓度增加, 蛋白质多糖混合凝胶的弹性模量逐渐增加; 不同钠离子强度对体系的凝胶强度影响不同。TPA 测定结果表明, 蛋白质多糖混合凝胶的硬度和弹性值随变性的 glycinin 浓度增加而增大。

**关键词:** glycinin;  $\kappa$ -卡拉胶; 凝胶性质

中图分类号: TS201.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)06-0501-05

## Rheological Properties of Soybean Glycinin/ $\kappa$ -carrageenan Gel

WANG Xiao-yuan, YANG Xiao-quan, ZHU Jian-hua

(College of light industry and food science, South China university of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The rheological properties of glycinin/ $\kappa$ -carrageenan gel were investigated. Results showed that the mixture of glycinin and  $\kappa$ -carrageenan had higher modulus of elasticity than single  $\kappa$ -carrageenan or glycinin. Increasing the concentration of  $\kappa$ -carrageenan improved the modulus of elasticity of glycinin/ $\kappa$ -carrageenan gel. The effect of different Na<sup>+</sup> intensity on the mixed gel was varied. Native and denatured glycinin had different effects on deformation of the glycinin/ $\kappa$ -carrageenan gel, which was of practical significance for the food processors.

**Key words:** glycinin;  $\kappa$ -carrageenan; elastic moduli; gel

大豆蛋白是一种优质的植物蛋白资源, 具有很高的营养价值。凝胶性质是大豆蛋白的重要功能性质之一<sup>[1]</sup>。近年来, 人们对大豆蛋白的凝胶机理及稳定凝胶体分子间的作用力做了研究, 结果发现, 改善大豆功能特性的方法很多, 其中将糖类添加到食品体系中与蛋白质发生作用以改善整个食品体系的功能性质这一方法非常切实可行<sup>[2-4]</sup>, 如卡拉胶与清蛋白的交互作用在冷冻食品中具有潜在的价值, 肉蛋白与卡拉胶表现出协同增效作用<sup>[5]</sup>。目前, 关于  $\kappa$ -卡拉胶与 glycinin (11S) 混合体系形成的蛋白质多糖凝胶性质的研究鲜有报道。本研究以  $\kappa$ -卡拉胶与大豆蛋白组分 glycinin 为研究对象, 研究混合体系的凝胶流变学性质, 以期对食品的开发及工艺改良有一定的指导作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

大豆豆粕粉: 山东新嘉华公司提供;  $\kappa$ -卡拉胶: 海南文昌食品胶体有限公司; HAKKE 流变仪: 德国

收稿日期: 2008-01-24

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 20776050)

作者简介: 王晓园(1984-), 女, 河北衡水, 硕士。研究方向: 植物蛋白

通讯作者: 杨晓泉, 教授

HAKKE 公司; 冷冻离心机: 日本 Hitachi 公司; 质构分析仪: TA2Xri 公司; ECP-3000 三恒电泳仪: 北京市六一仪表厂; TAQ100-DSC 热分析仪: 美国 TA Instruments 公司; pHs-25 数显 pH 计: 上海纤维仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 glycinin (11S) 的制备

本试验采用 Nagano 法来提取大豆豆粕中的蛋白质<sup>[6]</sup>, 制备出的 11S 蛋白经冷冻干燥备用。

#### 1.2.2 SDS-PAGE 分析

SDS-PAGE 采用 12% 的分离胶和 4% 的浓缩胶制备而成<sup>[7]</sup>。将 60 g/L 的 11S 溶液稀释至 30 倍 ( $V_{11S}$  溶液:  $V_{\text{缓冲液}}=1:29$ )。在 1 mL Laemmli 缓冲液 (25% 丙三醇, 2% SDS, 0.01% 考马斯亮蓝) 中加入 50  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇。电泳前所有样品均加热至 100  $^{\circ}$ C, 保持 10 min, 进样量 10  $\mu$ L, 电流 10~20 mA, 考马斯亮染色, 乙酸脱色。

#### 1.2.3 glycinin 的 DSC 热性质分析

使用 TAQ100-DSC 热分析仪对蛋白质进行热性质分析。取 2.0 mg glycinin 样品放入铝盘, 并加入 10  $\mu$ L 标准缓冲液, 密封。温度扫描范围是 20~120  $^{\circ}$ C, 升温速率是 5  $^{\circ}$ C/min。采用空的密封铝盘作为参照。

在 DSC 分析中蛋白质变性过程的基本参数: 初始温度 ( $T_i$ ), 峰值温度 ( $T_p$ ), 焓变 ( $\Delta H$ )。每个试验重复 3 次。

### 1.2.4 凝胶流变性质的测定方法

凝胶流变测定方法: 本试验采用的仪器是哈克流变仪, 所带配件是平行板, 其间隙设置为 1 mm, 试验时将样品分散液置于平板之间, 除去过量的样品, 在样品裸露部位添加一层薄硅油, 以防止水分的蒸发。在不同的时间、温度、动态振荡频、振幅扫描下, 记录弹性模量 ( $G'$ )。加热至 45 °C 的单一卡拉胶样品或 glycinin/ $\kappa$ -卡拉胶混合样品去除气泡后直接置于流变仪的测量系统并平衡至 45 °C, 进行流变性质测量。平衡后溶液降温至 20 °C 再升温至 95 °C, 采用这一温控程序主要是为了研究混合体系中  $\kappa$ -卡拉胶的融解性质及 glycinin 的胶凝性质, 样品在 95 °C 恒温 30 min, 再降温至 20 °C, 这一过程可以研究变性后的 glycinin 对混合体系凝胶性质的影响。

### 1.2.5 TPA分析凝胶质构的特性

凝胶TPA质构分析: 凝胶厚度采用20 mm, 所用仪器为TA2Xri公司的质构分析仪。测定采用2次压缩模式, 压缩变形为样品高度的30%, 探头使用P/0.5 R, 测定时探头下行速度采用1.0 mm/s, 探头进入凝胶过程检测速度为1.0 mm/s, 检测温度为室温。注: 各测定过程除特别说明外均采用室温, 重复3次的平均值作为测定结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 SDS-PAGE 测定结果

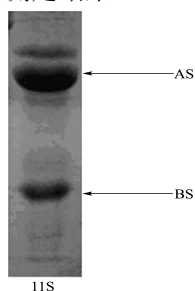


图1 大豆蛋白组分 11S 电泳图谱

Fig.1 SDS-PAGE analysis for soybean glycinin fraction

AS: acidic subunits; BS: basic subunits.

图1为 glycinin 的电泳图谱, 碱性亚基和酸性亚基明显的被分离出来, 且在泳道上不存在  $\beta$ -conglycinin 的三个亚基染色带, 说明此组分的纯度非常高。采用凝胶扫描仪对两组分进行光密度扫描, 结果显示 glycinin 的纯度高达 90% 以上。

### 2.2 DSC 测定结果

DSC 是在程序控制温度下, 测量样品和参比物之间的热量差与温度关系的一种技术。本试验针对制备好的 glycinin 是否变性进行了扫描, 温度扫描范围是 20~120 °C, 升温速率是 5 °C/min。由图2结果可以看出, glycinin 整个扫描范围只有一个吸收峰, 且吸收峰的峰值温度约为 95 °C, 吸收峰的起始温度约为 86 °C。这一测定结果说明试验制备的 glycinin 蛋白样品为未变性的蛋白且样品纯度较高, 与 SDS-PAGE 纯度分析结果相一致。

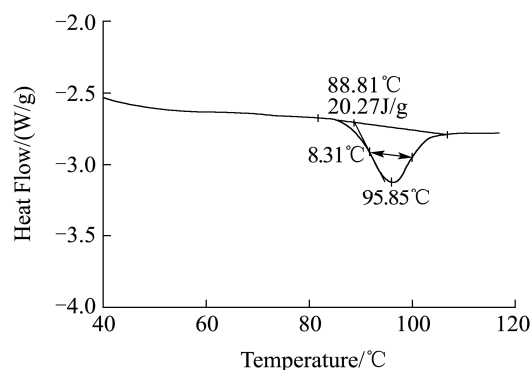
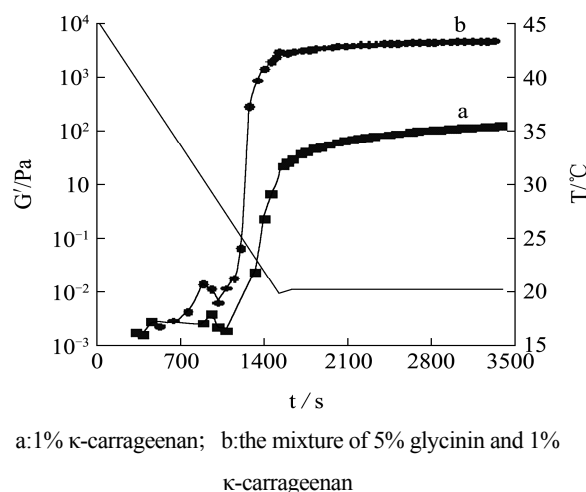


图2 大豆蛋白组分 11S 的 DSC 热性质扫描图

Fig.2 Thermic property of 11S by DSC scanning

### 2.3 glycinin 与 $\kappa$ -卡拉胶混合体系流变性质的测定

本试验用非破坏性流变振荡流变测试了混合凝胶的流变性质。



a: 1%  $\kappa$ -carrageenan; b: the mixture of 5% glycinin and 1%  $\kappa$ -carrageenan

图3 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合体系  $G'$  随温度的变化图

Fig.3 The  $G'$  values of 1%  $\kappa$ -carrageenan and the mixture of 5% glycinin and  $\kappa$ -carrageenan as a function of temperature

试验温度梯度: 45 °C-20 °C, 20 °C 恒温 30 min, 采用 CD 模式, 应变  $\gamma=0.5\%$ , 频率  $\omega=1\text{rad/s}$

图3为混合凝胶与单一卡拉胶的  $G'$ -T 测试曲线, 混合胶的  $G'$  变化趋势与单一卡拉胶凝胶的  $G'$  变化趋势非常相似。整个恒温阶段在  $\kappa$ -卡拉胶加入 glycinin 后, 混合体系的凝胶形远远大于  $\kappa$ -卡拉胶的单独体系,

此过程 glycinin 是以未变性的球状蛋白存在, 结果显示, 蛋白质的存在有利于多糖网络形成, 蛋白的增加对凝胶网络形成有协同增加效应, Ould Eleya 在研究  $\beta$ -乳球蛋白/ $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶时也发现了类似的现象 [8]。

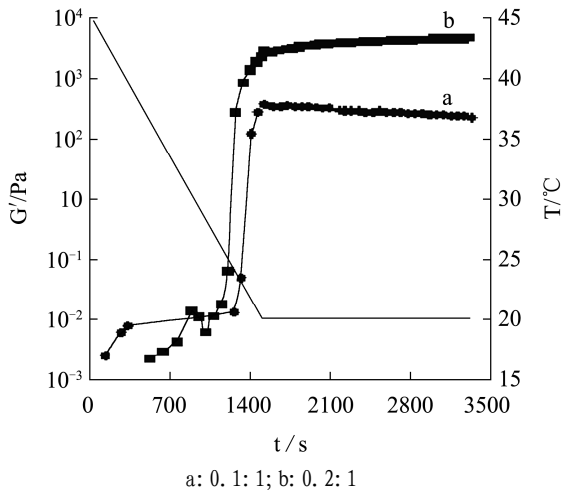


图4 不同比例 glycinin 和  $\kappa$ -卡拉胶混合体系 G'随温度的变化图

Fig.4 The G' values of the mixtures of glycinin and  $\kappa$ -carrageenan as a function of temperate

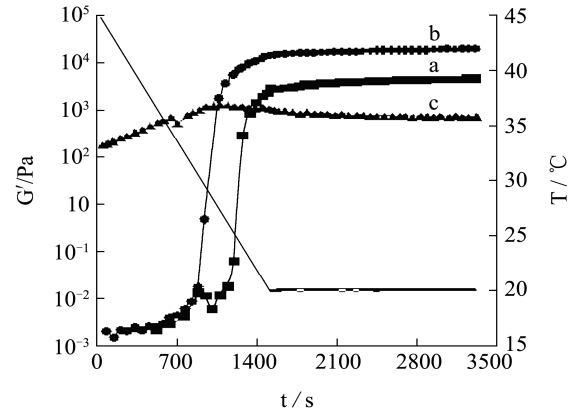
试验温度梯度: 45 °C~20 °C, 20 °C恒温 30 min; 采用 CD 模式, 应变  $\gamma=0.5\%$ , 频率  $\omega=1\text{rad/s}$ 。

图4是卡拉胶与 glycinin 两种不同混合体系(质量比分别为 0.1:1 和 0.2:1)的 G'随温度的变化曲线, 由图可知, 在 45 °C到 30 °C的降温过程中, 两种不同比例的混合体系均以液体的形式存在。这个过程中以粘性模量为主, 当温度继续降低时, 两种不同比例的混合体系逐渐形成凝胶, 由图4可以观察到随着混合体系中卡拉胶比例的增加, 凝胶性增强。这是因为降温过程 glycinin 主要以天然结构存在, 且自身不能形成凝胶网络结构, 此过程的凝胶牢固程度主要取决于卡拉胶的浓度。

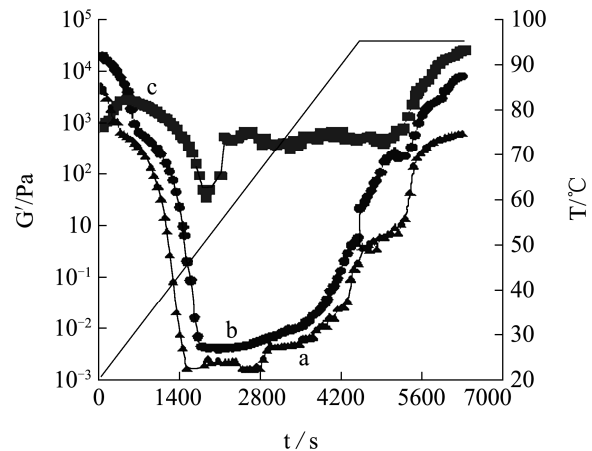
2.4 不同 NaCl 浓度对 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合体系 G'的影响

按 1.2.4 方法测定不同 NaCl 浓度对 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合体系 G'的影响, 结果见图5。

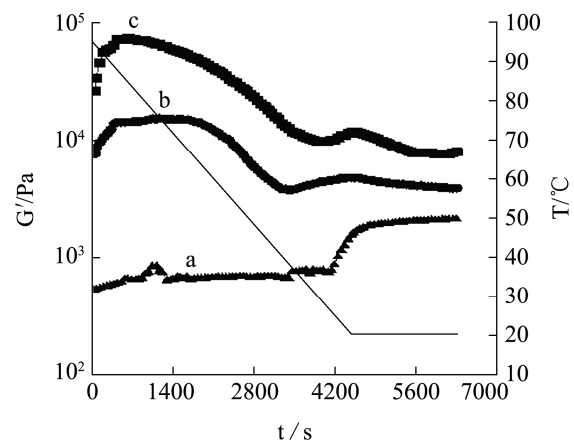
从图5(A)知 1%  $\kappa$ -卡拉胶与 5% glycinin 混合体系中加入 NaCl 后, 随着钠离子浓度的增加, 体系的 G'值逐渐增大, 说明加入盐后混合体系形成较好的凝胶网络结构。随着温度进一步降低, 加盐后形成的网络结构弱于未加盐的混合体系, 这可能是由降温后 NaCl 的溶解度降低, 不利于球状蛋白在多糖体系中的分布, 形成了较为粗糙的网络结构, 这一结果导致恒温过程凝胶 G'值小于未加盐样的 G'值。



A. 空白; 温度梯度: 45 °C~20 °C, 20 °C恒温 30min



B. 加入 0.05 mol/L NaCl; 温度梯度: 20 °C~95 °C, 95 °C恒温 30 min



C. 加入 0.1 mol/L NaCl; 温度梯度: 95 °C~20 °C, 20 °C恒温 3 min

图5 不同NaCl 浓度对 5% glycinin 和 1%  $\kappa$ -卡拉胶混合体系 G'的影响

Fig.5 Effect of NaCl concentration on the G value of 'the mixture of 5% glycinin and 1%  $\kappa$ -carrageenan.

从图5(B)知, 1%  $\kappa$ -卡拉胶与 5% glycinin 混合体系随着盐离子浓度的增大, 体系的弹性模量 G'逐渐增大, 说明混合体系加入盐后形成较好的凝胶网络结构。随着温度的增加, 体系的弹性模量呈现先降低后

升高的趋势。在 45 °C 之前,体系的凝胶结构主要是由卡拉胶的螺旋结构维持,随着温度的升高,卡拉胶逐渐溶解,蛋白质与卡拉胶多糖混合体系产生相分离,凝胶结构强度变弱<sup>[9]</sup>。但随着温度的继续升高,体系的凝胶结构主要由 glycinin 主导,蛋白质的凝胶强度随着温度的升高而增强,同时 NaCl 的溶解度随温度的升高而增大,有利于形成蛋白包含多糖的脆性凝胶结构,弹性模量逐渐升高。

从图 5 (C) 知,降温过程中,加入 NaCl 后的 1%  $\kappa$ -卡拉胶与 5% glycinin 混合体系的 G' 值大于未加盐的 G' 值,降温过程样品 G' 的变化趋势呈逐渐降低状态,未加盐样品 G' 的变化趋势呈逐渐增加状态。恒温过程中加盐与未加盐样品的 G' 值趋于一致。这一现象可能是由于盐离子的加入对蛋白质多糖两相体系的作用及相分离过程具有不同的作用造成的。混合体系的相分离过程同时伴随体系流变性质的变化<sup>[10]</sup>,钠离子的加入使  $\kappa$ -卡拉胶形成强度高、脆性强的凝胶,降温开始阶段凝胶的结构主要是由变性后的 glycinin 主导,此过程因为钠离子的加入使卡拉胶形成脆性大、数量多的螺旋结构,有

利于形成蛋白包含多糖的脆性凝胶结构,随温度降低,相分离现象逐渐严重,弹性模量 G' 逐渐降低,至 20 °C 恒温阶段逐渐趋于平缓。

恒温过程凝胶结构主要由卡拉胶的螺旋结构维持,但因 glycinin 三级结构已经遭到破坏,内部疏水区域的暴露,球状结构在一定程度上被展开呈线性并填充于卡拉胶凝胶网络结构,这一结构对卡拉胶的脆性有较强的缓解作用<sup>[11]</sup>。未加盐的 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合体系在降温阶段的网络结构主要由变性后的 glycinin 维持 31 °C 之前体系中的卡拉胶主要以溶液状态存在,所表现出来的 G' 变化趋势与单一 glycinin 凝胶的变化趋势相似,单一 glycinin 凝胶降温过程 G' 也呈逐渐增加趋势。从 31 °C 继续降温至恒温阶段凝胶性质主要由卡拉胶表现出来,最终形成较好的三维网络结构, G' 几乎不再变化。试验结果表明钠离子对混合胶的凝胶性质产生较大的影响,使蛋白质与卡拉胶多糖混合胶在降温起始阶段的 G' 值增加,有利于网络结构的形成,钠离子对恒温阶段的 G' 值影响不大。

## 2.5 凝胶质构分析

表 1  $\kappa$ -卡拉胶与 glycinin/ $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶的 TPA 分析

Table 1 TPA analysis of  $\kappa$ -carrageenan gel and soybean glycinin/ $\kappa$ -carrageenan gel

Sample	Hardness/g		Springiness(-)		Cohesiveness(-)		Gumminess/g	
	NG*	DG*	NG	DG	NG	DG	NG	DG
G(0%)+ $\kappa$ -car* (0.75%)	53.8±2.3 <sup>c</sup>	53.8±2.3 <sup>D</sup>	0.82±0.05 <sup>b</sup>	0.82±0.05 <sup>B</sup>	0.41±0.02 <sup>a</sup>	0.41±0.02 <sup>D</sup>	21.9±0.86 <sup>b</sup>	21.9±0.86 <sup>D</sup>
G(5%)+ $\kappa$ -car (0.75%)	73.8±2.1 <sup>a</sup>	82.9±2.6 <sup>C</sup>	0.99±0.01 <sup>a</sup>	0.96±0.03 <sup>A</sup>	0.38±0.01 <sup>b</sup>	0.44±0.03 <sup>C</sup>	28.3±0.27 <sup>a</sup>	36.8±0.64 <sup>C</sup>
G(7.5%)+ $\kappa$ -car(0.75%)	63.9±1.2 <sup>b</sup>	113.8±3.7 <sup>B</sup>	0.94±0.04 <sup>a</sup>	0.97±0.06 <sup>A</sup>	0.33±0.02 <sup>c</sup>	0.58±0.04 <sup>B</sup>	21.4±0.43 <sup>b</sup>	66.5±1.50 <sup>B</sup>
G(10%)+ $\kappa$ -car (0.75%)	54.9±1.3 <sup>c</sup>	139.5±4.2 <sup>A</sup>	0.96±0.01 <sup>a</sup>	1.01±0.04 <sup>A</sup>	0.30±0.03 <sup>d</sup>	0.70±0.03 <sup>A</sup>	16.7±0.25 <sup>c</sup>	97.3±2.18 <sup>A</sup>

注:各测定过程除特别说明外,均采用室温下,重复3次的平均值作为测定结果;且单一样品测定的3个凝胶破裂强度值和质构性能参数值的平均标准偏差RSD值小于0.05%。

\*G: glycinin; NG: 天然 glycinin; DG: 变性 glycinin;  $\kappa$ -car:  $\kappa$ -卡拉胶。

a、b、c、d、A、B、C、D 代表显著性差异 ( $p < 0.05$ )

表 1 是单一  $\kappa$ -卡拉胶(0.75%)及  $\kappa$ -卡拉胶(0.75%)与 glycinin (5%、7.5%、10%) 混合凝胶的 TPA 分析结果。随着未变性的 glycinin 浓度的增加,混合体系的硬度、粘性、黏度有很大的降低;随着变性的 glycinin 浓度的增加,混合体系的硬度、粘性、黏度有很大的提高。而混合体系的弹性,不随未变性或变性的 glycinin 浓度的变化发生变化。未变性的蛋白质多糖混合凝胶的硬度大于单独的  $\kappa$ -卡拉胶 ( $p < 0.05$ )。glycinin (10%) 与  $\kappa$ -卡拉胶 (0.75%) 混合凝胶的硬度和单独  $\kappa$ -卡拉胶硬度差别不大。在 45 °C~20 °C, 20 °C 恒温 30 min 过程中,未变性的 glycinin 的存在,有效的提高了  $\kappa$ -卡拉胶的硬度。变性的 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶

混合凝胶 TPA 特性(硬度、粘性、黏度、弹性)均大于未变性的 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶。表明蛋白质在变性后,球状结构在一定程度上展开,变性的蛋白有效地增加了  $\kappa$ -卡拉胶的凝胶结构。

粘性反映了破坏凝胶内部结构的难易程度。变性的 glycinin- $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶的粘性大于单独的  $\kappa$ -卡拉胶以及未变性的 glycinin- $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶。可作如下解释:第一,蛋白质的球状结构阻碍了多糖内部网络结构的连续性。未变性的蛋白是以球状分子结构存在的,不能与以网络结构存在的  $\kappa$ -卡拉胶形成协同作用,混合凝胶不能形成较好的内部结构。第二,当球蛋白变性时,球状结构在一定程度上展开,有助于

多糖网络结构的形成,促进混合凝胶结构的稳定。试验结果还显示出未变性的 glycinin (7.5%) - $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶的黏度相对单一的  $\kappa$ -卡拉胶无显著变化。

### 3 结论

通过对大豆蛋白组分 glycinin 与  $\kappa$ -卡拉胶混合凝胶流变学性质的研究可知:  $\kappa$ -卡拉胶与 glycinin 混合体系形成的蛋白质多糖混合凝胶相对单一  $\kappa$ -卡拉胶或单一 glycinin 凝胶而言具有较高弹性模量值,说明 glycinin 和  $\kappa$ -卡拉胶对复合体系凝胶具有协同增效作用。增加体系中的卡拉胶浓度,对凝胶的弹性模量值有增大作用。氯化钠的加入提高了降温过程和升温过程混合体系的起始 G'值,且随钠离子浓度的增加,对混合体系的凝胶强度有增强作用。混合凝胶的硬度和弹性值随变性的 glycinin 浓度增加而增大。

### 参考文献

- [1] 王月翼,钱方,等.大豆蛋白生产与应用[M].北京:中国轻工业出版社,2004
- [2] 郭煌林.蛋白质与多糖类之交互作用在食品系统上的应用[J].食品科学,1994,26(10):26-27
- [3] 孙哲浩.蛋白质与多糖在水相介质中交互作用机理的研究[D].华南理工大学博士论文.2001,7-17
- [4] Renkema, J. M. S., C. M. M. Lakemond, et al. The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *Journal of Biotechnology*. 2000,(3):223-230
- [5] Renkema, J. M. S. and T. van Vliet. Heat-induced gel formation by soy proteins at neutral pH[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002,(6):1569-1573
- [6] Nagano T., Hirotsuka M., Mori H., Kohyama K., & Nishinait K. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992,40(6): 941-944
- [7] Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. *Nature*, 1970, 227:680-685
- [8] Ould Eleya, M. M., & Turgeon, S. L. The effects of pH on the rheology of k-carrageenan and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels[J]. *Food Hydrocolloids*, 2000,14(3): 245-251
- [9] Hermansson, A. M. Hermansson, A.M. Ericksson, E & Jondansson, E.. Effects of potassium, sodium, and calcium on the microstructure and rheological behavior of kappa-carrageenan gel. *Carbohydrate polymers*,1991, 16(3), 297-320
- [10] Hermansson, A. M. Rheological and microstructural evidence for transient states during gelation of kappa-carrageenan in the presence of potassium[J]. *Carbohydrate Polymers*.1989(10): 163-181
- [11] Tolstoguzov, V.B. Functional properties of food proteins and role protein-polysaccharide interaction[J]. *Food Hydrocolloids*, 1991(4): 429-468