

干热处理对大豆分离蛋白乳化与起泡性能的影响

胡坤, 黄景初, 陈秀华

(广东药学院公共卫生学院, 广东 广州 510310)

摘要: 研究了 60 °C、80 °C 和 90 °C 下干热处理对大豆分离蛋白乳化和起泡性能的影响。研究发现, 干热处理 4 d 使大豆分离蛋白的乳化活性增加到最大值, 其乳化稳定性也增加到接近最大值的水平, 长时间的热处理降低大豆分离蛋白的乳化活性; 60 °C 干热处理 1 d 使大豆蛋白的膨胀率增加到最大值 880%, 此后随热处理时间的延长而持续下降。80 °C 和 90 °C 热处理降低了大豆分离蛋白的泡沫稳定性; 干热处理使大豆分离蛋白 7S 亚基各组分和部分 11S 酸性亚基发生共价聚合形成高分子量的聚合物。

关键词: 大豆分离蛋白; 干热处理; 乳化性能; 起泡性能

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)07-0641-05

Effects of Dry-heat Treatment on Emulsifying and Foaming Properties of Soy Protein Isolates

HU Kun, HUANG Jing-chu, CHEN Xiu-hua

(Public Health College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China)

Abstract: Effects of dry-heat treatment on the emulsifying and foaming properties of soy protein isolates at 60 °C, 80 °C, and 90 °C were studied. The results showed that the emulsifying activity of soy protein heated for 4 days increases to the maximum value and then decreased with further increase of the treatment time. The highest stability of the soy protein emulsion was achieved by dry-heat treatment of the soy protein for 4 days. The highest foaming overrun of soy protein (880%) was found by dry heat-treatment at 60 °C for 1 day, but further increasing the heating time resulted in a decrease in the foaming overrun. Besides, dry heat treatment at 80 °C and 90 °C significantly decreases the foaming stability of soy protein. SDS-PAGE analysis showed that dry heat treatment induced the polymerization of 7S subunits and partially 11S acid subunits of the soy protein.

Key words: soy protein isolates; dry heat treatment; emulsifying properties; foaming properties

大豆分离蛋白具有良好的凝胶、乳化和起泡性质, 在食品工业中有广泛的应用。但大豆蛋白为球形分子, 在水中的溶解性较差, 乳化和起泡功能受到限制。在水溶液中对大豆分离蛋白进行适度的热处理可以使蛋白质适度变性, 改善蛋白质的功能性质。然而水溶液状态的热处理存在以下缺陷: 蛋白质浓度较高时易聚集沉淀或形成凝胶, 水相的热处理程度难以控制, 及水相热处理对蛋白质功能性质的改善效果有限等。近年来, 蛋白质的干热改性逐渐引起一些学者的重视^[1], 研究发现蛋白质与多糖在干热条件下反应形成的蛋白质-多糖复合物大大改善了蛋白质的乳化和起泡性质^[2~4], 在干热的条件下加入磷酸盐对卵清蛋白进行磷酸化处理也明显增加了蛋白质的功能特性及对钙离子的

收稿日期: 2008-04-21

基金项目: 广东省农业攻关项目 (2007A020300007-16)

作者简介: 胡坤 (1975-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品蛋白质与胶体科学、食品添加剂研究与开发

络合能力^[5,6]。这类改性方法使用的试剂安全无毒、反应条件温和、对环境无污染, 因而具有广阔的应用前景。本文研究不同温度的干热处理对大豆分离蛋白乳化合起泡性能的影响, 并用 SDS-PAGE 分析干热处理对大豆分离蛋白 7S 和 11S 各组分的影响, 以期揭示热处理改变大豆蛋白功能性质的机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

大豆分离蛋白 (蛋白质含量 89.47%, 换算系数 6.25, 哈尔滨黎明植物蛋白厂) 大豆油 (上海福临门食品有限公司)。

1.1.2 主要试剂

十二烷基硫酸钠 (SDS)、甘氨酸、三羟甲基氨基甲烷 (Tris), 生化试剂, 上海伯奥生物科技有限公司; 甲叉双丙烯酰、丙烯酰胺, 溴酚蓝, 上海源聚生物科

技有限公司；四甲基乙二胺，中国前进化学试剂厂；考马斯亮蓝 G250，生化试剂，英国；巯基乙醇，美国 Amresco 公司；氢氧化钠、盐酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、冰乙酸、二水合乙酸钠、甲醇、过硫酸铵、甘油等均为分析纯。

1.2 主要仪器

721-100 型分光光度计（上海第三分析仪器厂）；pHs-3C 型实验室 pH 计（上海智光仪器仪表有限公司）；JB-2 型恒温磁力搅拌器（上海雷磁新泾仪器有限公司）；DYY-6C 型电泳仪（北京市六一仪器厂）；DYCZ-28C 型电泳槽（北京市六一仪器厂）；FJ-200 高速分散均质机（上海标本模型厂）；空气泵（浙江森森实业有限公司）；LZB-4 流量计（浙江余姚自动化仪表厂）。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆分离蛋白的干热处理

大豆分离蛋白置于密闭的磨口玻璃容器中，分别于 60 °C、80 °C 和 90 °C 的恒温箱中干热处理 0、1、2、4、7、10 d，然后取出于干燥器中保存备用。

1.3.2 乳化活性的测定^[7]

取 1.3.1 制备的大豆蛋白样品，以 0.3% (m/V) 的浓度分散于 pH 7.0 磷酸盐 (0.05 mol/L) 缓冲液中，水化 30 min，然后加入大豆油使最终的油相体积分数为 20% (V/V)，用分散均质机以固定转速高速剪切均质 1 min。立即从乳浊液的底部吸取 100 μL 乳浊液，迅速分散于 10.0 mL 0.1% 的十二烷基硫酸钠溶液中，于 500 nm 波长下测定该稀释液的吸光度 A_0 。研究表明吸光度 A_0 正比于乳浊液液滴的界面面积， A_0 越大，则蛋白质的乳化活性也高。

1.3.3 乳化稳定性的测定^[7]

从 1.3.2 制备的乳浊液的底部以 t 时间间隔 (t 分别为 30、60 min) 取 100 μL 乳浊液，迅速分散于 10.0 mL 0.1% 的十二烷基硫酸钠溶液中，于 500 nm 波长下测定 t 时刻的吸光度 A_t 。乳化稳定性计算公式：

$$ES_t = \frac{A_t}{A_0} \times 100\%$$

1.3.4 起泡能力和泡沫稳定性的测定^[8]

取 1.3.1 制备的大豆蛋白样品，以 0.3% (m/V) 的浓度配制 100 mL 分散液，置于 4 °C 冰箱中水化过夜，回复至室温后，转移至 1000 mL 量筒中，将空气分散器浸入蛋白质分散液，记录此时液面的体积 V_0 ，用空气泵以 0.05 m³/h 的流量向蛋白质分散液中泵入空气鼓泡 1 min，记录泡沫达到的体积 V (即泡沫顶层达到的量筒的体积)，并记录泡沫形成 5 min 时顶层达

到量筒的体积 $V_{5\text{min}}$ ，用以下公式计算大豆分离蛋白的起泡能力 (以膨胀率 *Overrun* 表示) 和稳定性 (foam stability, *FS*):

$$\text{Overrun} = \frac{V - V_0}{V_0} \times 100\%$$

$$FS = \frac{V_{5\text{min}} - V_0}{V - V_0} \times 100\%$$

1.3.5 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)

样品制备：称取一定量样品，用去离子水配制成 6 mg/mL 的分散液，以 1:1 的比例加入样品缓冲液 (其中含有 20% SDS, 5% 巯基乙醇) 混匀，于沸水浴中热处理 5 min，冷却后备用。

电泳：分离胶浓度为 10%，浓缩胶浓度为 4%，(含 0.1% SDS) 电极缓冲液为 Tris-Gly 系统 (含 1% SDS, pH 8.3)。用微量注射器加入样品 20 μL (样品浓度为 6 μg/μL)。分两阶段进行电泳，首先，浓缩胶稳流 10 mA，样品进入分离胶后，稳流 30 mA。

染色：考马斯亮蓝 G250 染色，染色 30 min，用脱色液进行脱色。

2 结果与分析

2.1 干热处理对大豆蛋白乳化性能的影响

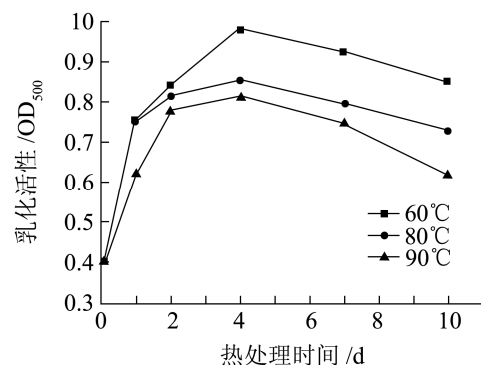


图 1 干热处理对大豆分离蛋白乳化活性的影响

Fig.1 Effect of dry-heat treatment on the emulsifying property of soy protein isolates

干热处理明显增加了大豆分离蛋白的乳化活性 (图 1)。在实验的热处理温度下干热处理 24 h，大豆分离蛋白的乳化活性急剧增加，在热处理 4 d 时达到最大值，此后大豆蛋白的乳化活性逐渐下降。不同热处理温度对乳化活性的影响差别明显，同一处理时间的大豆分离蛋白乳化活性随干热处理温度的增加而下降，如在热处理 4 d 时，60 °C 热处理的蛋白质乳化活性为 0.98，80 °C 时为 0.86，而 90 °C 时则为 0.82。长时间的热处理降低了大豆分离蛋白的乳化活性，此现象在较高热处理温度时更为明显，如 60 °C 热处理 10 d

的大豆蛋白乳化活性降为 0.85, 而 90 °C 则降为 0.62。

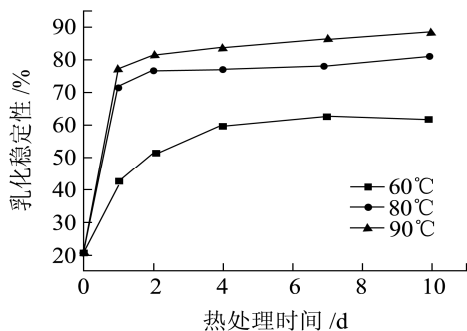


图 2 干热处理对大豆分离蛋白乳化稳定性的影响

Fig.2 Effect of dry-heat treatment time on the stability of soy protein isolates emulsion (standing for 30 min after the emulsion forming, ES_{30})

注: 乳浊液制备后 30 min 时的乳化稳定性 ES_{30} 。

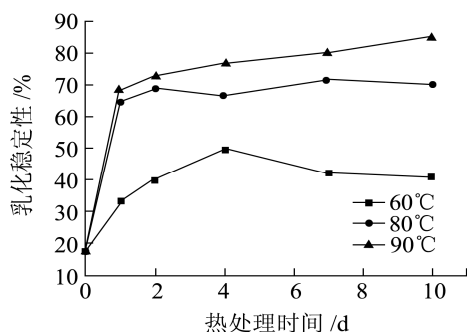


图 3 干热处理对大豆分离蛋白乳化稳定性的影响

Fig.3 Effect of dry-heat treatment time on the stability of soy protein isolates emulsion (standing for 60 min after the emulsion forming, ES_{60})

干热处理对大豆分离蛋白乳化稳定性的影响见图 2 和 3。由图 2 看出, 80 °C 和 90 °C 干热处理 24 h 使大豆分离蛋白的乳化稳定性 (ES_{30}) 急剧增加, 此后随着热处理时间的延长, 蛋白质的乳化稳定性缓慢增加, 在第 10 d 时达到最大值。而 60 °C 干热处理的大豆分离蛋白乳化稳定性在热处理 4 d 时接近最大值, 在第 10 d 时反而有下降的趋势。干热处理温度对大豆蛋白乳化稳定性的影响与乳化活性相反, 同一热处理时间的蛋白质乳化稳定性随热处理温度的增加而增加。这表明, 较高温度的干热处理有利于大豆蛋白的乳化稳定性, 且热处理时间越长乳化稳定性越高, 这可从乳浊液制备后 60 min 时的稳定性差异得到进一步证实 (图 3): 60 °C 时, 乳浊液的稳定性在第 4 d 达到最大值, 此后随着热处理时间的延长而下降, 相反 90 °C 时则随着热处理时间的增加持续增加。90 °C 热处理 10 d 的大豆分离蛋白制备的乳浊液 60 min 时的稳定性仍高达 85.3%, 而 60 °C 时则下降到 40.7%。

2.2 干热处理对大豆蛋白起泡性能的影响

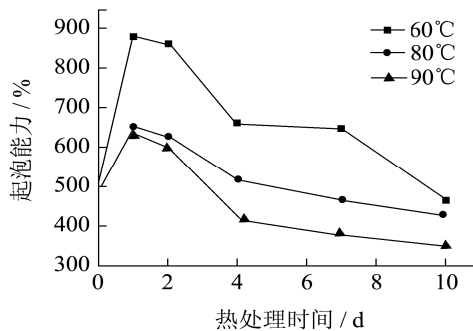


图 4 干热处理对大豆分离蛋白起泡能力的影响

Fig.4 Effect of dry-heat treatment time on the foaming property of soy protein isolates

如图 4, 较短时间的干热处理明显增加了大豆分离蛋白的起泡能力。在实验的温度范围内, 干热处理 1 d 使大豆分离蛋白的起泡膨胀率由未经热处理时的 490% 增加到最大值, 且 60 °C 热处理的大豆蛋白起泡膨胀率最高 (880%), 此后随热处理时间的延长持续下降, 在热处理第 10 d 时, 60 °C、80 °C 和 90 °C 热处理的大豆蛋白起泡膨胀率分别降为 470%、430% 和 350%。在整个热处理时间内, 60 °C 时的大豆蛋白起泡膨胀率最高, 而 90 °C 时最低, 表明较高温度的热处理对大豆蛋白起泡能力有负面的影响。

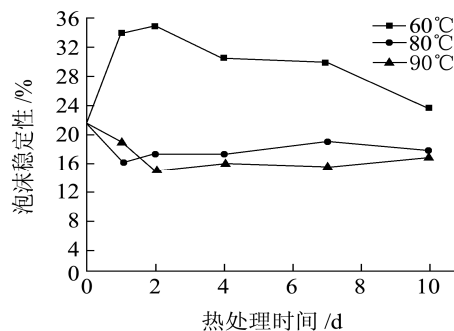


图 5 干热处理对大豆分离蛋白泡沫稳定性的影响

Fig.5 Effect of dry-heat treatment time on the foaming stability of soy protein isolates (standing for 5 min after the foam forming)

注: 泡沫形成后 5 min 时的 FS。

如图 5, 干热处理温度对大豆分离蛋白泡沫稳定性的影响呈现不同的模式: 在 60 °C 时, 干热处理 2 d 使大豆分离蛋白的泡沫稳定性由对照时的 21.3% 增加到最大值 34.9%, 超过 2 d 的热处理使蛋白质的泡沫稳定性逐渐下降, 在热处理第 10 d 时降为接近对照时的水平; 而干热处理温度为 80 °C 和 90 °C 时, 1~2 d 的热处理即导致大豆蛋白的泡沫稳定性降至最低值, 此后蛋白质的泡沫稳定性始终处于最低值的水平。

2.3 凝胶电泳分析

热处理改变了大豆分离蛋白 7S 和 11S 各亚基的

相对含量。由图 6a 看出, 60 °C 热处理 1 d 的大豆分离蛋白 7S α' 、 α 和 β 谱带颜色明显变浅, 11S 酸性亚基的谱带颜色也稍微变浅, 而 11S 碱性亚基的谱带颜色基本不变 (图 6a 第 1 道), 在浓缩胶和分离胶的交界处形成分子量较高的聚合物, 表明 60 °C 干热处理 24 h 使大豆分离蛋白 7S 亚基各组分和部分 11S 酸性亚基发生了聚合反应形成高分子量的聚合物。随着热处理时间的延长, 大豆蛋白 7S 各亚基的谱带颜色进一步变浅, 11S 酸性亚基的谱带颜色也明显减弱, 而 11S 碱性亚基没发生明显的变化 (图 6a 第 3、4、5 道), 说明长时间的热处理使更多的 7S 各亚基和 11S 酸性亚基发生了聚合反应。

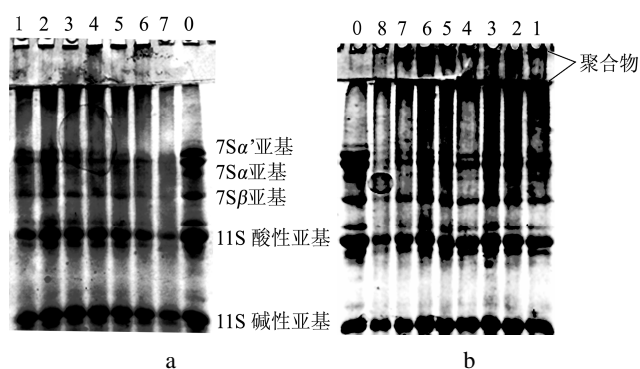


图 6 不同热温度和时间大豆分离蛋白的 SDS-PAGE 图谱

Fig.6 SDS-PAGE of the soy protein isolates by dry-heat treatment

图 a: 0-热处理 0 d; 1-60 °C, 1 d; 2-60 °C, 2 d; 3-60 °C, 4 d; 4-60 °C, 7 d; 5-60 °C, 10 d; 6-80 °C, 1 d; 7-80 °C, 2 d.

图 b: 0-热处理 0 d; 1-80 °C, 4 d; 2-80 °C, 7 d; 3-80 °C, 10 d; 4-90 °C, 1 d; 5-90 °C, 2 d; 6-90 °C, 4 d; 7-90 °C, 7 d; 8-90 °C, 10 d.

当热处理温度为 80 °C 时, 热处理 1 d 即使大豆分离蛋白 7S 各亚基几乎完全发生聚合反应 (图 6a 第 6 道), 11S 酸性亚基也明显减少。同时在热处理第 2 d 时 (图 6a 第 7 道), 11S 碱性亚基的谱带颜色也明显变浅, 说明升高热处理温度使少量的 11S 碱性亚基也参与聚合反应。随着热处理时间的延长, 更多的 11S 酸性亚基参与蛋白质的聚合反应, 在浓缩胶的顶部形成更多高分子量的蛋白质聚合物 (图 6b 第 1、2、3 道)。当热处理温度增加到 90 °C 时, 11S 酸性亚基的谱带颜色进一步变浅, 同时 11S 碱性亚基的谱带颜色也明显变浅, 表明此时 11S 碱性亚基也参与蛋白质的聚合反应 (图 6b 第 4、5、6 道), 尤其是热处理 10 d 时, 几乎所有的 11S 酸性亚基和大部分碱性亚基都参与蛋白质的聚合反应 (图 6b 第 8 道)。

2.4 干热处理对大豆蛋白功能性质影响的机制分析

大豆蛋白的乳化活性在热处理 4 d 时达到最大值 (图 1), 而且 60 °C 热处理的大豆蛋白乳化活性明显高于 80 °C 和 90 °C 的样品, 但其乳化稳定性却低于后者 (图 2、3)。由图 6 的电泳图谱发现, 热处理 4 d 使 7S 各亚基几乎全部发生了聚合反应, 形成分子量较大的聚合物, 而经 80 °C 和 90 °C 热处理的大豆蛋白在浓缩胶的顶部出现分子量更高的聚合物。这说明 60 °C 热处理形成的聚合物具有良好的乳化性能, 能快速扩散到油/水界面, 增加了蛋白质的乳化活性。随着热处理温度的增加和时间的延长, 11S 酸性亚基也参与聚合反应, 形成分子量更高的聚合物, 导致蛋白质扩散到油/水界面的速度下降, 乳化活性也逐渐下降, 但已吸附到油/水界面上的高分子聚合物增加了界面的粘度和机械性能, 从而大大增加了蛋白质的乳化稳定性。

60 °C 干热处理 1~2 d 使 7S 各亚基发生聚合反应, 形成的聚合物提高了蛋白质的起泡性能 (图 4、5)。随着热处理时间和温度的增加, 11S 酸性亚基也参与聚合反应, 形成分子量更高的聚合物。由于空气的粘度低, 与蛋白质疏水基团的相互作用较弱, 高分子量的蛋白质聚合物扩散到气/水界面及在界面的吸附能力也较低, 从而降低了蛋白质的起泡性能。

3 结论

通过研究发现, 60 °C 干热处理 4 d 使大豆分离蛋白的乳化活性增加 1 倍以上, 其乳化稳定性也明显增加。在实验的温度范围内, 大豆分离蛋白的乳化活性随干热处理温度和时间的增加而下降, 其乳化稳定性则随温度的升高而增加, 90 °C 热处理 10 d 的大豆分离蛋白制备的乳浊液 60 min 时的稳定性仍高达 85.3%, 而 60 °C 时则下降到 40.7%; 干热处理 1 d 使大豆蛋白的起泡能力增加到最大值, 此后蛋白质的起泡能力持续下降。蛋白质的泡沫稳定性以 60 °C 热处理 2 d 的样品最高, 随着时间的延长, 泡沫稳定性逐渐下降, 80 °C 和 90 °C 热处理降低了大豆分离蛋白的泡沫稳定性; 干热处理使大豆分离蛋白 7S 各亚基及部分 11S 酸性和碱性亚基聚合形成高分子量的聚合物, 从而影响大豆蛋白的功能性质。

参考文献

(下转第 654 页)