

文章编号 :1009-038X(2000)01-0046-05

# 蛋白质分子聚集状态对大豆蛋白溶胀性能的影响\*

华欲飞, 孟祥勇, 黄剑旭

(无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036)

**摘要** 通过分子间作用力和分子聚集状态研究了大豆分离蛋白(SPI)和 大豆浓缩蛋白(SPC)的功能与性质。SPI 1、SPI 2 和 SPI 3 以及 SPC 1 和 SPC 2 的溶出活化能分别为 15.63、24.20、17.31、16.13 和 4.31 kJ/mol。SPI 2 在蛋白质分子之间形成二硫键, SPC 2 在蛋白质分子间通过二硫键结合成为聚集体, 而聚集体之间以很弱的范德瓦尔斯力结合, SPI 1、SPI 3 和 SPC 1 具有较高的粘度且在模拟肉制品中的性能较好。结构分析表明, 蛋白质分子形成聚集体, 但聚集体之间通过疏水键和氢键结合。导致大豆蛋白产品的分子间作用力和分子聚集状态不同的主要原因是加热以及闪蒸过程中工艺条件的不同。

**关键词** 蛋白质; 大豆; 大豆蛋白; 聚集; 凝胶; 功能性质

中图分类号: S565.1 文献标识码: A

## Effect of Molecule Aggregation on the Swelling Ability of Soy Protein Preparations

HUA Yu-fei, MENG Xiang-yong, HUANG Jian-xu

(School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

**Abstract** : The swelling ability of soy protein isolates (SPI) and concentrates (SPC) was studied as a function of protein interaction and molecule aggregation. The activating energy of dissolving protein in water, which give a measure of the molecular interaction, was determined by Arrhenius plotting of dissolving rate vs  $1/T$  and the values are 15.63, 24.20, 17.31, 16.13, and 4.31 kJ/mol for SPI 1, SPI 2, SPI 3, SPC 1 and SPC 2 respectively. SPI2 and SPC2 have lower viscosity when hydrated than SPI 1, SPI 3 and SPC 1. It is found that, for a good swelling ability, protein aggregates which are formed via disulfide cross-linking of molecules, should interact each other by hydrophobic force which is strong enough to avoid being broken down on hydrating but will not be so large to hinder the swelling of protein network.

**Key words** : protein ; soy ; protein ; soybean ; aggregation ; gelation ; functional property

蛋白质作为食品的一个重要组分,具有改善食品原料的加工性能、延长加工食品的贮藏时间等功能。换言之,存在一类称之为功能性质的物理化学

性质,它们与营养性质无关,然而却支配着蛋白质在食品的加工、储藏、消费过程中的行为。蛋白质功能性质是环境条件和蛋白质结构的函数,后者不仅

\* 收稿日期:1999-03-18;修订日期:1999-12-10.

作者简介:华欲飞(1962年3月生),男,江苏无锡人,工学博士,副教授。

包括蛋白质的分子结构(一、二、三、四级结构),而且还包括蛋白质超分子结构以及聚合物物理结构(高弹态或玻璃态)<sup>[1,2]</sup>。所谓超分子结构指的是蛋白质分子之间的相互作用和分子聚集状态,对于蛋白质的功能性质以及组织化机理方面具有非常重要的作用。当大豆蛋白应用于乳化型碎肉制品时,用户对产品的要求是多种多样的,包括乳化、持水、粘度、凝胶等,但实际上复水后大豆蛋白的溶胀性能是上述功能性质的前提,而蛋白质结构对溶胀性能有重要影响。作者对进口和国产的分离蛋白及浓缩蛋白的蛋白质分子间相互作用和分子聚集状态进行了研究,从蛋白质分子和超分子结构的水平上揭示大豆蛋白溶胀性能差异的原因,为大豆蛋白生产厂家的具体实践提供一定的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

大豆分离蛋白 SPI 1、SPI 3,大豆浓缩蛋白 SPC 1 为进口产品, SPI 2 和 SPC 2 为国产产品。样品水分和蛋白质质量分数见表 1。

表 1 样品水分和蛋白质质量分数

Tab.1 Protein and moisture content of samples

大豆蛋白	水分质量分数/%	蛋白质质量分数/%
SPI 1	8.34	94.99
SPI 2	5.10	90.03
SPI 3	8.21	93.71
SPC 1	11.54	73.58
SPC 2	9.57	69.25

### 1.2 方 法

大豆蛋白溶解度,凝胶层析,表面疏水性测定方法参照文献[3]。模拟肉制品应用试验参照文献[4]。大豆蛋白质量:水质量:肥肉质量 = 1:4:4。

## 2 实验结果

各种大豆蛋白的粘度与质量浓度的关系见图 1。大豆分离蛋白(SPI 1~3)的粘度有一个明显的突变,其中 SPI 1 和 SPI 3 在质量浓度为 12~14 g/dL 即开始突变, 20 g/dL 时已经形成凝胶。SPI 2 在 16 g/dL 左右才发生粘度突变,在 20 g/dL 时不形成凝胶,为糊状物。大豆浓缩蛋白同样具有较大的粘度,但粘度变化比较平缓,没有明显的突变。SPC 1 在 20 g/dL 时能形成一种强度较低的凝胶,同样质量浓度的 SPC 2 不形成凝胶。

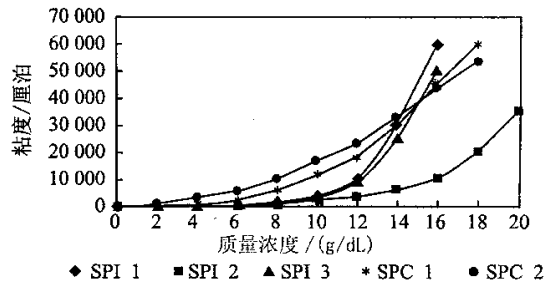


图 1 大豆蛋白质质量浓度与粘度的关系

Fig.1 Relationship between viscosity and soy protein concentration

图 2 显示了大豆蛋白在不同温度下水中溶解度随时间的变化,可以看出,温度升高,时间延长,蛋白质溶解度也相应增加。图 2 中曲线在各点的斜率为蛋白质的溶解速率,溶解速率随时间的延长而降低,特别是在开始的 20 min 内,溶解速率迅速降低(见图 3)。

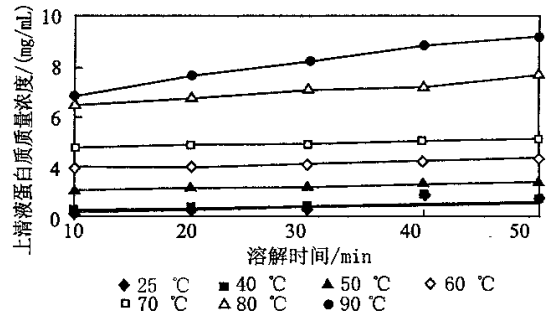


图 2 温度对不同时间 SPI 1 溶解度的影响

Fig.2 Effect of temperature on the solubility of SPI 1 at different time

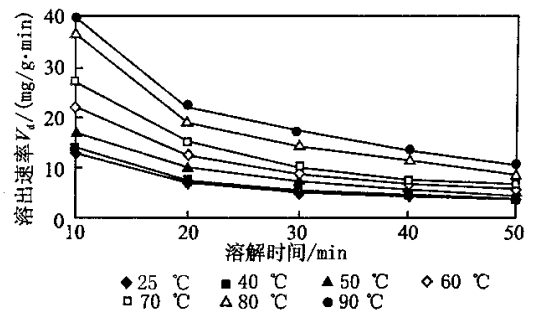


图 3 温度对不同时间 SPI 1 溶出速率的影响

Fig.3 Effect of temperature on the dissolving rate of SPI 1 at different time

以溶解初速率(10 min 时的溶解速率)的对数  $lgV_{10}$  对温度的倒数  $1/T$  作图,数据基本在一直线上,说明蛋白质溶解速率与温度的关系符合 Arrhenious 方程。由此可以计算出 SPI 1 的溶出活化能为 3.74 kJ/mol,同样的方法可以计算出 SPI 2、SPI 3、

SPC 1 和 SPC 2 的溶出活化能分别为 24.20、17.31、16.13 和 4.31 kJ/mol.

大豆蛋白样品分别用 0.1 mol/L、pH 值为 7 的磷酸缓冲液、2% SDS 溶液、2% SDS + 0.5% 巯基乙醇 (ME) 溶液溶解后, 溶出物用 Sepharose 6B 进行凝胶分离 (图 4).

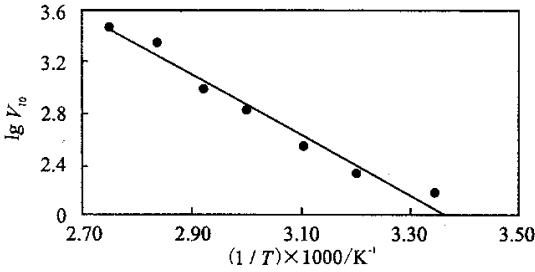


图 4 溶解初速率的对数对  $1/T$  作图

Fig. 4 Arrhenius plot of initial dissolving rate of SPI 1 and temperature

从洗脱曲线可以发现, 蛋白质溶出物按质量大小可以分成两部分, 其中质量较大的部分洗脱体积在 15~25 管, 质量较小的部分洗脱体积为 40~50

管. 由于质量较大的部分在空体积处出现, 相对分子质量约 200 万, 因此这部分溶出物是大豆蛋白分子的聚集体 (简称为组分 A); 另一方面, 所有非共价键和二硫键都将在 SDS + 巯基乙醇溶液中断裂, 形成单肽链, 因此, 在 40~50 管出现的组分应当是大豆蛋白分子的亚基 (简称为组分 S).

根据图 5, 大豆蛋白样品溶出物质量分布有 3 种模式: 第一种包括 SPI 1、SPI 3、和 SPC 1, 其特征是在缓冲液中基本上没有组分 A, 组分 S 的峰很小; 在 SDS 溶液中有较大的组分 A 和组分 S 峰. SPI 2 属于第二种, 它在缓冲液中分布与第一种相似, 但是在 SDS 溶液中只有一个较大的组分 S 峰, 组分 A 的峰仍然很小. SPC 2 为第三种, 其特征是在缓冲液即出现一个很大的组分 A 和一个较大组分 S 峰, 在 SDS 溶液中组分 A 的峰高降低、峰宽增加, 组分 S 大小的基本不变. 图 6 显示不同大豆蛋白样品的表面疏水性, 其中 SPI 1、SPI 2、SPI 3、SPC 1 和 SPC 2 的表面疏水性较小, 由图可见 SPI 2 的表面疏水性比其它蛋白质的大得多.

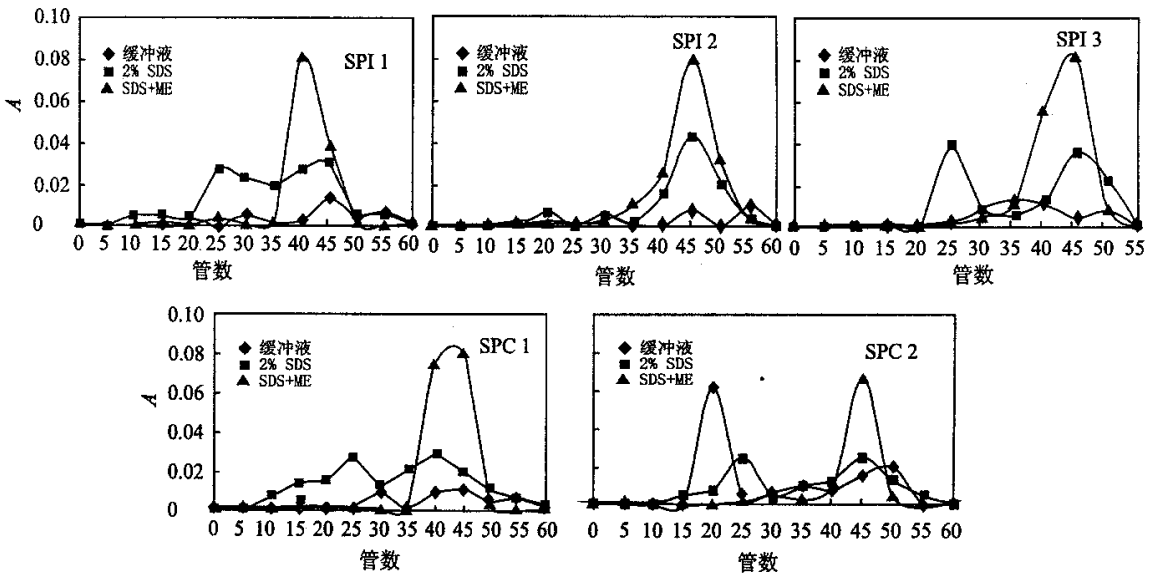


图 5 各种大豆蛋白样品分别在 0.1 mol/L 磷酸缓冲液、20% SDS 溶液、2% SDS + 0.5% 巯基乙醇溶液中蛋白质溶出物的凝胶层析谱图

Fig. 5 Elution curve of soluble protein of soy protein samples dissolved in phosphate buffer (0.1 mol/L, pH 7) 2% SDS solution and 2% SDS + 0.5%  $\beta$ -ME solution respectively

### 3 讨论

由于蛋白质溶解时必须破坏蛋白质之间的相互作用, 因此溶出活化能反映了蛋白质在一定温度下内部作用力的强弱, 活化能越高蛋白质之间的作用越强. 从实验数据可知, SPI 2 的作用力最弱, SPC

2 的作用力最强, 其他蛋白质作用力强度则居于以上两者之间. 蛋白质溶胀时单位质量蛋白质所吸收的水分 (溶胀度) 与蛋白质—蛋白质相互作用的强弱有关. 如果蛋白质之间的作用力很弱, 则溶胀过程将一直进行下去, 最终可能导致蛋白质溶解, 即所谓的无限溶胀; 反之, 若蛋白质之间的作用力强,

则蛋白质的溶胀将被抑制,溶胀度降低.根据蛋白质之间的作用力推断,SPI 2 的溶胀度小于 SPI 1, SPI 3, SPI 4 以及 SPC 1, SPC 2 的溶胀度最大.

将大豆蛋白在不同溶液中溶解,再用凝胶层析测定溶出物的质量分布情况,能够分析蛋白质的分子聚集状态以及相互作用的方式.该方法的基本原理是:pH 值为 7 的磷酸缓冲溶液、2% SDS 溶液、2% SDS + 0.5% ME,分别能够破坏范德瓦尔斯力、疏水键(包括范德瓦尔斯力和氢键)、二硫键(包括以上 3 种作用力).从凝胶层析得到的溶出物质量分布情况来看,大豆蛋白样品的分子聚集状态可分成 3 类.第一类的特征是蛋白分子通过二硫键形成聚集体,聚集体之间再通过疏水键结合,包括 SPI 1、SPI 3、SPI 4、以及 SPC 1,依据是在 2% SDS + 0.5% ME 溶液中组分 A 消失,pH 7 磷酸缓冲液中组分 A 很小,但在 SDS 溶液中出现较大的组分 A 峰.SPI 2 在 3 种溶液中的组分 A 峰都很小,属于第二类,特征是不存在聚集体,微观的蛋白质分子与宏观的蛋白质颗粒之间不存在超分子结构.蛋白分子间作用力包括二硫键.SPC 2 属于第三类,蛋白质通过二硫键形成聚集体,但是聚集体之间的作用力很弱(范德瓦尔斯力).

根据高分子物理理论,高分子溶胀体积比  $Q$  与平均相对分子质量  $\overline{M}_c$  呈正相关关系<sup>[6]</sup>,蛋白质分子通过二硫键形成分子聚集体,相对分子质量增加,因此有利于溶胀.

从图 6 可见,SPI 2 表面疏水性最大,其余蛋白质的表面疏水性较小.这是因为 SPI 2 没有形成聚集体,分子的疏水表面暴露在外,而其他蛋白质则形成了聚集体,部分疏水表面位于聚集体内部,因而表面疏水性较小.这说明,虽然聚集体内分子主要通过二硫键结合,但是疏水键也在其中起重要作用.

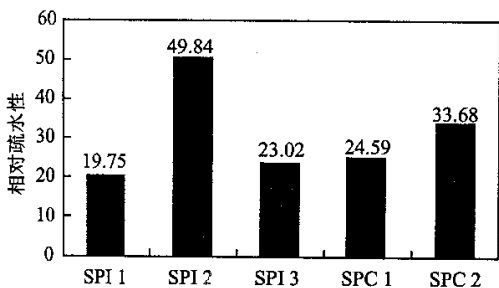


图 6 大豆蛋白样品的表面疏水性

Fig. 6 Surface hydrophobicity of soy protein samples.

加热处理是大豆蛋白制取工艺中的重要步骤,通过加热,大豆蛋白分子产生复杂的解离聚集反应:



在这个过程中,天然蛋白( $P_N$ )接热成为变性蛋白( $P_D$ ),后者通过二硫键形成聚集体 $[P_D]_n$ ,聚集体之间再通过氢键和疏水键形成凝胶.形成凝胶后的蛋白质再喷雾干燥可以得到溶胀性高的产品,从蛋白质聚集状态和相互作用方式来看,第一类蛋白在加热和冷却(闪蒸)阶段的工艺条件符合形成可逆凝胶的要求,第二类蛋白(SPI 2)可能由于 pH 值较低,或盐浓度较大,变性蛋白分子之间通过二硫键形成不可逆凝聚体而没有形成凝胶,第三类蛋白(SPC 2)形成了聚集体,但是由于工艺条件不合适(如温度、pH 值过高),聚集体之间没有进一步相互结合形成凝胶.

分子聚集状态不同,导致大豆蛋白的流变性质产生很大的差异.形成如图 1 所示不同的粘度曲线,SPI 1、SPI 3 和 SPC 1 在水中充分溶胀而不溶解,形成了巨大的、充分伸展的蛋白质分子链,随着浓度增加,分子链之间作用的几率呈指数方式增加.与之相反,SPI 2 不能充分溶胀,蛋白质粒子较小,因此在很高浓度时粘度才开始突变.由于大豆浓缩蛋白含有纤维成分,其流变性质与大豆分离蛋白不同.但从图 1 可以看出,蛋白质分子聚集状态仍然有明显的影晌,SPC 1 存在粘度突变,但 SPC 2 则基本没有粘度突变.在肉制品模拟实验中,将大豆蛋白、水、肥膘肉按质量比为 1:4:4 的比例混合斩拌并蒸煮.结构表明,第一类聚集状态的蛋白质具有较高的乳化能力和乳化稳定性以及良好的组织结构.值得注意的是,SPC 2 在乳化能力及乳化稳定性方面优于 SPI 2,与第一类蛋白非常接近,可能是由于蛋白质分子形成聚集体之后,改善了亲水-亲油平衡,界面活性得到提高,见表 2.

表 2 各种大豆蛋白的模拟肉制品试验结果

大豆蛋白	乳化能力	组织结构	乳化稳定性/%
SPI 1	+++	+++	99.6
SPI 2	++	++	96.56
SPI 3	+++	+++	100
SPC 1	+++	++	99.7
SPC 2	+++	+	99.25

注:乳化能力:+++ 斩拌后在斩拌机上没有脂肪粘附  
++ 斩拌后在斩拌机上有少量脂肪粘附  
+ 斩拌后在斩拌机上有较多脂肪粘附  
组织结构:+++ 结构紧密,++ 较紧密,+ 较松散

(下转第 75 页)

## 4 结 论

大豆蛋白产品表现出不同的功能性质,溶胀性能是关键,而分子间作用力和蛋白质聚集状态的差

异是原因之一.从溶胀性能角度看,理想的大豆蛋白应该是分子间作用力中等大小、分子通过二硫键形成聚集体、聚集体之间通过疏水键和氢键相互结合.大豆蛋白制备过程的温度、pH 值、盐浓度等因素将影响蛋白质作用力和聚集状态.

## 参考文献

- [ 1 ] HERMANSSON A M. Microstructure of Protein Gels Related to Functionality , in Protein Structure-Function Relationships in Food[ M]. Yada R Y , Jackman R L eds. London : Blackie Academic & Professional Press. 1994. 22~24
- [ 2 ] LOUISE , HARRY L , JOHN W. Finley , Protein Water Interactions : Water as a Plasticizer of Gluten and Other Protein Polymers[ A]. In Dixon R , Finley John W eds. Protein Quality and the Effects of Processing[ C]. New York and Basel Philips : Marcel Dekker INC ,1988. 9~24
- [ 3 ] 华欲飞 ,谷文英 ,沈蓓英. 醇法大豆浓缩蛋白物理改性机理[ J]. 无锡轻工大学学报 ,1995 ,14 325~330
- [ 4 ] 华欲飞 ,顾玉兴. 功能性大豆浓缩蛋白的性能及应用[ J]. 中国油脂 ,1997 ,22( 1 ) 22~24
- [ 5 ] 邹新禧编著. 超强吸水剂[ M]. 北京 : 化学工业出版社 ,1991.