

文章编号 :1009-038X(2003)05-0001-04

# 葡萄糖酸内酯为凝固剂时大豆蛋白的胶凝特性

钟芳, 王璋, 许时婴

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘要:**测定了以葡萄糖酸内酯(GDL)作为凝固剂时不同热处理条件下大豆蛋白主要组分——7 S和 11 S 单独胶凝时的流变学曲线,证实了蛋白质的充分变性是 GDL 引发大豆蛋白胶凝的前提,且已充分热变性的 7 S 和 11 S 组分在单独胶凝时具有大致相当的凝胶强度.通过测定 7 S 和 11 S 组分的物理化学性质,解释了在以 GDL 作为凝固剂时两组分表现出基本相似的胶凝能力,与 7 S 组分较高的疏水性和 11 S 组分较高的巯基含量有关.

**关键词:**大豆蛋白;葡萄糖酸内酯;凝胶特性;凝固剂

中图分类号:Q 502

文献标识码:A

## Gelation Properties of Soy Protein with Glucono- $\delta$ -Lactone(GDL) as Coagulant

ZHONG Fang, WANG Zhang, XU Shi-ying

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Dynamic viscoelastic properties of soy 7 S and 11 S proteins under different preheating conditions were measured when using GDL as coagulant. The results suggested that full heat denaturation was the precondition for coagulation of soy protein by GDL, and the strength of denatured 7 S or 11 S gels induced by GDL were about equal. By comparing the physical-chemical properties of 7 S and 11 S globulins, it could be concluded that the similar gelation capacity exhibited when using GDL as the coagulant was due to the high hydrophobicity of 7 S and high -SH content of 11 S.

**Key words:** soy protein; gelation properties; GDL; coagulant

葡萄糖酸内酯(GDL)是目前最为常见的豆腐凝固剂,它是一种高度水溶易分解的化合物,在高温和碱性条件下可分解为葡萄糖酸.由于大豆蛋白的等电点在 pH 4.5 左右,因而在中性条件下,浆料中的大豆蛋白分子表现为带负电,酸凝固剂在水中释放的质子( $H^+$ )会使得变性大豆蛋白质表面带负电荷的基团减少,蛋白质分子之间的静电斥力减弱,有利于蛋白质分子的凝结.

影响大豆蛋白胶凝性质的主要因素包括热处理条件和大豆的来源,即大豆蛋白的 7 S 和 11 S 比例.很多学者在研究中发现 7 S/11 S 比例会对大豆蛋白凝胶性能产生影响,且大多数认为高的 11 S/7 S 比例有助于得到强的凝胶<sup>[1~3]</sup>,并将这一结果与 11 S 组分高的 -SH 蛋白相联系.然而 Takao 等人的研究却得到相反的结论<sup>[4]</sup>.作者在前期工作中比较了大豆蛋白的热胶凝、酸胶凝和酶促胶凝特性,

收稿日期 2002-07-11; 修回日期 2003-04-07.

基金项目 国家自然科学基金项目(20206011);江苏省自然科学基金项目(BK200269)资助课题.

作者简介 钟芳(1972-),女,河南新乡人,副教授,工学博士.

结果表明相同热处理条件下,不同凝固剂作用于大豆蛋白时,7 S和11 S组分对大豆蛋白凝胶的贡献也表现出不同的规律性<sup>[5]</sup>。然而,关于导致这些差异的原因,目前还未见详细的报道。

为明确以GDL作为凝固剂时适宜的热处理条件以及起主要作用的蛋白质组分,本实验在热处理条件下对GDL诱发的7 S和11 S组分胶凝性质的影响进行研究,并通过对比7 S和11 S组分与胶凝有关的物理化学性质的影响来探讨导致这些结果的可能原因。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

大豆:市售东北大豆;GDL(D-葡萄糖酸- $\delta$ -内酯)常州瀚兴化工有限公司产品;其它试剂均为分析纯。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 大豆蛋白——7 S和11 S的粗分离和部分纯化

1) 脱脂豆粉:整粒大豆筛选→粉碎→石油醚脱脂→脱脂豆粉

2) 7 S和11 S组分的粗分:见文献[6]。

3) 7 S和11 S组分的进一步纯化:见文献[7]。

1.2.2 部分纯化的7 S和11 S的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺电泳(SDS-PAGE)电泳条件、图谱及分析见文献[5]。

1.2.3 7 S和11 S组分变性温度的测定 采用差示扫描量热仪测定7 S和11 S的变性温度,扫描速率为5 °C/min,扫描范围为30~100 °C。

1.2.4 7 S和11 S组分氨基酸组成分析 将分离得到的7 S和11 S样品分别置于水解管中,加入6 mol/L的HCl溶液,真空封口,在110 °C下水解24 h,冷却后定容、过滤、蒸干,再加入0.02 mol/L的HCl溶液在真空中放置30 min,上氨基酸自动分析仪测定除色氨酸外的其它氨基酸含量。

1.2.5 7 S和11 S蛋白质的预处理 取冷冻干燥得到的7 S和11 S样品,溶于水中配置成8 g/dL的溶液,调节pH值为7.0,在90 °C水浴中保温30 min。

1.2.6 预处理对7 S和11 S样品-SH含量的影响 取0.2 mL未经处理的或已经预处理的8 g/dL的7 S和11 S溶液,加入含1.8 mL磷酸缓冲液(0.18 mol/L,pH 8.0,含0.004 mol/L EDTA)的试管中,加入20  $\mu$ L Ellman's试剂(4 mg/mL DNTB溶于Tris-Gly缓冲液中)混匀后在25 °C保温,自加入Ellman's试剂起开始计时至15 min时测其在412 nm的吸光度<sup>[8]</sup>。以-SH的摩尔吸光系数为

13 700计算蛋白质的-SH含量。

1.2.7 预处理对7 S和11 S样品胶凝性质的影响 取1 mL未经处理和已经热处理的7 S和11 S溶液(为8 g/dL),加入0.5 mL新鲜配制的1 g/dL的葡萄糖酸内酯(GDL)溶液,搅拌均匀后迅速将混合样品加至样品平台上,随即降下流变测定夹具并开始测量。测定时参数设定为:40 mm平行板(使用油封和溶剂盖);样品间隙:1 000  $\mu$ m;振荡扫描程序(1)升温扫描:40~85 °C,20 °C/min;(2)降温扫描:85~50 °C,4 °C/min;振荡扫描参数:角频率12.5 rad/s;应力:1.0 Pa。

## 2 结果与讨论

### 2.1 热处理温度对大豆蛋白7 S和11 S组分胶凝性质的影响

大豆蛋白的热变性是其发生热胶凝的前提,一些学者在研究大豆蛋白的热胶凝时发现,相同的热处理条件会对大豆蛋白的两个主要组分7 S和11 S产生不同的影响。Takao Nagano等人在研究中发现,75~80 °C的热处理可使7 S组分的凝胶性能显著增强,而对11 S组分凝胶性能影响不显著<sup>[4]</sup>,分析可能是7 S和11 S组分变性温度不同的缘故。那么,在由GDL引发大豆蛋白胶凝时,热处理强度对7 S和11 S组分的胶凝性质的影响如何呢?从图1-2可以看出,采用GDL作为凝固剂时,70 °C、80 °C和90 °C预处理的7 S样品胶凝时其G'值基本相等(也就是说形成的凝胶强度相当),且均高于未经预处理的7 S样品,而70 °C和80 °C预处理的11 S样品却具有与未经预处理的11 S样品大致相同的G'值,90 °C预处理样品的G'值则明显高于前者。也就是说,只有90 °C的预处理才足以使11 S组分发挥其胶凝能力。这一实验结果证实了在采用GDL作为凝固剂时,蛋白质的变性也是胶凝的前提。因为从图3-4可以看出,本实验纯化出的7 S和11 S组分其变性温度分别为66 °C和83 °C。

### 2.2 影响7 S和11 S胶凝性质的其它物理化学因素

比较图1-2中90 °C预处理7 S和11 S样品的胶凝曲线可以发现,两者具有大致相同的G'值。也就是说,在充分变性的前提下,胶凝时7 S和11 S形成的凝胶具有相似的凝胶强度,这与多数学者报道的结果有差异,虽然Kaoru等人的研究也得到过类似的结论<sup>[9]</sup>。为解释上述现象,有必要对除热处理温度外的其它影响7 S和11 S组分胶凝性质的物理化学因素进行比较,以期从中找到答案。

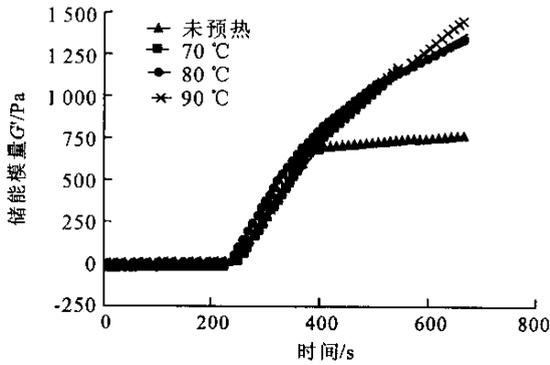


图 1 不同温度预热处理 7 S 样品的胶凝曲线

Fig.1 Gelation profiles of 7 S by GDL after variously preheated

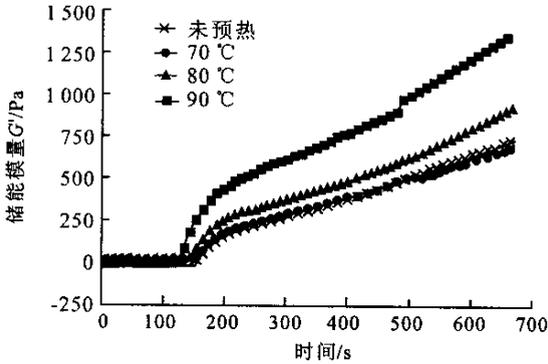


图 2 不同温度预热处理 11 S 样品的胶凝曲线

Fig.2 Gelation profiles of 11 S by GDL after variously preheated

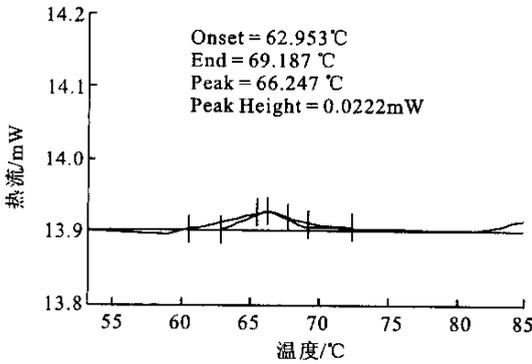


图 3 7 S 组分的热分析图谱

Fig.3 Thermal analysis profile of 7 S

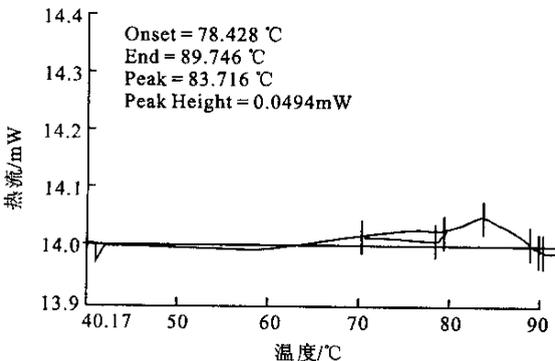


图 4 11 S 组分的热分析图谱

Fig.4 Thermal analysis profile of 11 S

1) 7 S 和 11 S 组分的平均疏水性 :疏水相互作用是参与蛋白质胶凝的主要次级键 ,当蛋白质充分变性展开后 ,蛋白质的表面疏水性应与其氨基酸组成有关 ,氨基酸的平均疏水性就决定了蛋白质形成疏水相互作用能力的大小 .应该说 ,平均疏水性越高 ,蛋白质通过疏水相互作用而交联的能力越强 .实验测定了 7 S 和 11 S 组分的氨基酸组成(见表 1) ,并根据氨基酸组成计算出了 7 S 和 11 S 球蛋白的平均疏水性指数<sup>[10]</sup> .经计算 ,得到 7 S 和 11 S 组分的平均疏水性分别为 4.55 3.99 kJ/mol 残基 .

表 1 7 S 和 11 S 组分的氨基酸组成

Tab.1 Amino acid constitution of 7 S and 11 S

氨基酸的种类	摩尔分数/%	
	7 S	11 S
天门冬氨酸	12.04	11.80
苏氨酸	2.37	3.95
丝氨酸	6.27	6.56
谷氨酸	21.82	19.08
甘氨酸	4.95	11.07
丙氨酸	4.76	5.08
半胱氨酸	-	1.20
缬氨酸	4.43	4.96
蛋氨酸	0.56	0.82
异亮氨酸	4.94	3.78
亮氨酸	8.70	7.26
酪氨酸	2.47	2.46
苯丙氨酸	5.61	3.99
赖氨酸	6.20	4.24
组氨酸	1.74	1.60
精氨酸	7.11	5.74
脯氨酸	6.01	6.42

由两组分的平均疏水性数值可知 ,7 S 组分具有高于 11 S 组分的疏水性 ,因而对于充分变性的样品 ,在速凝过程中 7 S 组分应能形成更强的疏水相互作用 .两组分在疏水性上的差异可能导致 7 S 形成更强的凝胶 .

2) 7 S 和 11 S 组分的 -SH 含量 :多数学者在得出 11 S 具有比 7 S 更强的胶凝能力的结论时 ,都将这一现象解释为 11 S 组分具有较高的 -SH 含量 ,有助于形成分子内或分子间的二硫键<sup>[4]</sup> .仅从 7 S 组分和 11 S 组分本身的 -SH 含量来说 ,11 S 的 -SH 含量远远高于 7 S 组分 ,每个 7 S 球蛋白分子

含有4个胱氨酸残基而每个11S球蛋白分子含有44个胱氨酸残基。热处理时,氨基酸侧链上的-SH会彼此交联形成-S-S-键共价交联,因此,对于大豆蛋白的热胶凝来讲,情况可能的确如此。但在研究经预处理的蛋白样品胶凝性质时,加热过程中的-S-S-交联可能会产生负面的影响。加热过程中由二硫交联形成的聚合物有可能因为在水中的溶解度下降而沉淀;此外-SH还可能与其它氨基酸残基的侧链发生反应而在胶凝时失去交联的能力。所有这些都可能会减弱11S-SH含量高的优势。Akio等人在研究打浆温度对豆腐凝胶强度的影响时也提出了类似的观点<sup>[11]</sup>。他们认为,开始胶凝前蛋白-SH含量的损失会造成蛋白质胶凝能力的下降。不同预处理条件下得到的7S和11S样品中游离-SH含量见图5、6。

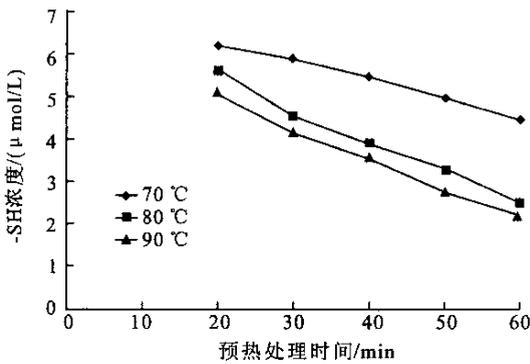


图5 预处理条件对7S组分-SH含量的影响

Fig.5 Effect of preheating condition on the change of -SH content of 7S

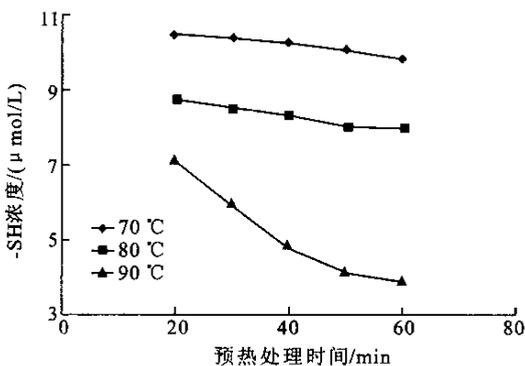


图6 预处理条件对11S组分-SH含量的影响

Fig.6 Effect of preheating condition on the change of -SH content of 11S

本实验分离得到的未经预处理的11S组分和7S组分的-SH含量分别为每克蛋白质24.2 μmol和7.2 μmol。从图中数据可以看出,对7S组分而

言,在选定的热处理温度下,-SH含量随受热时间的延长而持续下降;但对11S组分来说,在70°C预处理20 min就会使11S组分的-SH含量由24.2 μmol/g显著下降至10.55 μmol/g,继续延长热处理时间,-SH含量没有进一步的明显下降。80°C预处理时其-SH含量的变化趋势与70°C预处理时相似。当预处理温度达到90°C时,11S组分-SH含量除了在前20 min有显著下降外(从24.2 μmol/g下降至7.12 μmol/g),随加热时间延长还会继续下降。总的来说,在经过相同强度的预处理后,11S组分样品的-SH含量虽仍高于7S组分,但两者的比值明显低于未经预处理的样品。对经90°C热处理的样品来说,两者的差别已降至2 μmol/g。因而仅从形成二硫交联的角度来分析,经预处理的11S组分胶凝时所形成的凝胶应具有较高的强度,但二者形成-S-S-交联能力的差别显然不如高浓度大豆蛋白直接热胶凝时显著。

3) 胶凝过程中7S和11S的静电相互作用:由于胶凝曲线是在以GDL为凝固剂的情况下测定的,也就是说在胶凝过程中体系中的GDL会不断地分解为葡萄糖酸使pH值下降。经测定,按照实验设定的升、降温程序,当温度降至60°C时体系的pH值已降至5.5左右。7S的等电点为pH 4.4,而11S的等电点pH为5.8左右<sup>[8]</sup>,因此在pH值5.5时11S分子之间存在较强的静电相互作用,而7S组分的静电相互作用较弱。

综合以上关于预处理对7S和11S组分在胶凝时形成疏水相互作用和二硫交联及静电相互作用能力的讨论,可以得到这样的结果:经充分预处理变性展开的7S球蛋白在胶凝时有可能形成更多的疏水相互作用,11S组分则有可能形成较多的二硫交联,但其优势远不及在热胶凝时显著;同时在体系所处的酸碱环境中,11S组分之间还存在较强的静电相互作用。多因素的共存有可能导致胶凝时由充分预处理的7S组分和11S组分分别形成的凝胶具有大致相同的弹性模量。

### 3 结论

采用GDL作为凝固剂时,大豆蛋白的热变性仍是其产生胶凝的前提,充分预处理的纯化7S和11S组分,在单独胶凝过程中表现出相近的形成凝胶的能力,分析可能与7S组分较高的平均疏水性和11S较高的-SH含量有关。

(下转第10页)

(3):102-106.

- [3] 王璋. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1990.
- [4] 石彦国,任莉. 大豆制品工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1993.
- [5] 催东善. 大豆脱腥蛋白粉、大豆组织蛋白脱腥的研究[J]. 食品研究与开发,1999,20(4):24-25.
- [6] Walter F Wilkens, Fang M Lin. Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles[J]. **Agriculture and Food Chemistry**, 1970, 18(3):333-336.
- [7] Thomas H Schultz, Robert A Flath, Richard Mon T, et al. Isolation of volatile components from a model system[J]. **Agriculture and Food Chemistry**, 1977, 25(3):446-449.
- [8] Oliver A L Hsieh, Huang A S, Stephen S Chang. Isolation and identification of objectionable volatile flavor compounds in defatted soybean flour[J]. **J Food Sci**, 1981, 47:16-18.
- [9] 何方奕,孙玉芳,黄爱今,等. 鸽子粪挥发性成分的毛细管气相色谱分析[J]. 色谱,1997,15(1):39-42.
- [10] 何香,许时婴. 蒸煮鸡肉的挥发性香气成分[J]. 无锡轻工大学学报,2001,20(5):497-499.

(责任编辑 杨勇)

(上接第4页)

## 参考文献:

- [1] Ji M P, Cai T D, Chang K C. Tofu yield and textural properties from three soybean cultivars as affected by ratio of 7 S and 11 S proteins[J]. **J Food Sci**, 1999, 64:763-767.
- [2] Kang L J, Matsumura Y, Mori T. Characterization of texture and mechanical properties of heated-induced soy protein gel[J]. **JAOCs**, 1991, 68:339-345.
- [3] Saio K, Watanabe T. Difference in functional properties of 7 S and 11 S soybean proteins[J]. **J Texture Study**, 1978, 9:135-157.
- [4] Nagano T, Fukuda Y, Akasaka T. Dynamic viscoelastic study on the gelation of  $\beta$ -conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolates[J]. **J Agric Food Chem**, 1996, 44:3484-3488.
- [5] 钟芳,王璋,许时婴. 凝固剂种类对大豆蛋白两主要组分——7 S和11 S胶凝能力的影响[J]. 无锡轻工大学学报,2003,22(3):12-17.
- [6] Thanh V H, Shibasaki K. Major protein of soybean seeds. A straightforward fractionation and their characterization[J]. **J Agric Food Chem**, 1976, 24:1117-1121.
- [7] Iwabuchi S, Yamauchi F. Determination of glycinin and  $\beta$ -conglycinin in soybean proteins by immunological methods[J]. **J Agric Food Chem**, 1987, 35:200-205.
- [8] Kyoko S, Masahiro K. Food processing characteristics of soybean proteins part II: effect of sulfhydryl groups on physical properties of Tofu-gel[J]. **Agric Biol Chem**, 1971, 35:890-898.
- [9] Kaoru K, Katsuyoshi N. Rheological studies on the gelation process of soybean 7 S and 11 S protein in the presence of GDI[J]. **J Agric Food Chem**, 1993, 41:8-12.
- [10] 王璋. 食品酶学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997.
- [11] Akio O, Masaru M. Decrease in the gel strength of Tofu caused by an enzyme reaction during soybean grinding and its control[J]. **Biosci Biotech Biochem**, 1993, 57:542-545.

(责任编辑 杨勇)