

文章编号:1673-1689(2005)06-0019-05

大豆蛋白组分 7S 和 11S 的凝胶特性

李玥, 钟芳, 麻建国

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用动态流变仪研究了 Alcalase 碱性蛋白酶在酶凝大豆蛋白 7 S, 11 S 组分和不同配比的 7 S 和 11 S 组分的混合物的过程中温度、酶的添加量对体系流变性质的影响。结果表明: 7 S 和 11 S 的酶凝反应均受温度和加酶量的综合影响, 低温均有利于两者的凝胶; 20~40 °C 下都能得到较高的凝胶强度; 在各个温度下两者也都有一个最适的酶添加量。两者相比较: 温度对 11 S 的影响更为明显, 相同条件下 11 S 所形成的凝胶强度要比 7 S 大。11 S 是使大豆蛋白胶凝的主要组分, 7 S 是影响胶凝的重要组分。

关键词: 7 S; 11 S; Alcalase; 凝胶; 流变特性

中图分类号: Q 51

文献标识码: A

Gelation Properties of 7 S and 11 S of Soybean Protein

LI Yue, ZHONG Fang, MA Jian-guo

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

Abstract: The effects of temperature, the concentration of alcalase on the rheological properties of the gel systems of 7 S, 11 S and their mixture were investigated by a rheometer. The results indicated that the reactions were influenced by both the temperature and the enzyme concentration. The low temperature was beneficial to gels of both 7 S and 11 S. The higher gel strength were formed at 20 °C to 40 °C. Both 7 S and 11 S had their own optimum enzyme adding amount. 11 S was more easily affected by the temperature than 7 S; the gel strength of 11 S was much higher than 7 S at the same conditions. 11 S was the most important fragment for forming the soybean protein gel while 7 S also influenced the gel system.

Key words: 7 S; 11 S; Alcalase; gelation; rheological properties

大豆蛋白质主要以大豆球蛋白为主要成分, 将大豆球蛋白做超离心沉降分析或凝胶法过滤分析, 按照沉降系数区分, 可以获得 2, 7, 11, 15 S 4 种主要成分, 其中以 7 S 和 11 S 成分最多, 占全蛋白的 70% 以上^[1]。很多学者在研究中发现 7S 与 11S 的比例会对大豆蛋白凝胶性能产生影响, 多数认为高

的 11S/7S 比例有助于得到强的凝胶, 然而 Takao 等人的研究却得出相反的结论^[2,3]。这些结论都证明了大豆 7S 和 11S 组分的胶凝性质是有差异的。

在前期的实验中, 本研究小组已筛选出了能使大豆蛋白产生凝胶能力的微生物酶制剂 Alcalase^[4]。因此, 本研究中采用动态流变仪跟踪 Alca-

收稿日期: 2005-03-10; 修回日期: 2005-04-10。

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: 李玥(1979-), 女, 江苏无锡人, 食品科学与工程博士研究生。

lase 碱性蛋白酶作用于 7 S, 11 S 组分和不同配比的 7 S 和 11 S 的混合物及反应过程中体系的粘弹性指标随时间的变化情况, 来确定酶促胶凝过程中起关键作用的大豆蛋白组分, 以及反应过程中温度、酶的添加量、反应的速率对体系流变性质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

脱脂豆粉: 东北产; Alcalase 碱性蛋白酶: 丹麦 Novo 公司产品; 数控低温超级恒温水浴: 上海天平仪器厂制造; AR-1000 流变仪: 英国 TA Instrument 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 大豆分离蛋白质的制备 方法见参考文献[5]。

1.2.2 7 S 和 11 S 的制备 7 S 和 11 S 粗分离工艺是以 11 S 具有在 pH 值 6.4 的条件下冷沉的性质为依据的, 7 S 和 11 S 纯化工艺则以硫酸铵分级沉淀为主要手段[6,7]。

1.2.3 预处理 将喷雾干燥得到的 7 S 和 11 S 溶解于去离子水, 配成蛋白质浓度为 6% 的溶液, 调节 pH 值至 7.0。将溶液置于夹套反应器中, 于 95 °C 保温 30 min, 停止加热后迅速将已经预处理的溶液倒入烧杯, 将烧杯置于冰浴, 冷却至 10 °C 左右, 再置于冰箱中冷藏待用。

1.2.4 Alcalase-SPI 体系动态流变曲线的测定 取已经热处理的 7 S 或 11 S 样品加入新鲜配制的不同浓度的 Alcalase 酶溶液, 配制成蛋白浓度为 5.3% 的溶液, 搅拌均匀后迅速加到平台上, 随即降下流变测定夹具并开始测量, 测定时参数: 夹具: 40 mm 平行板(使用油封和溶剂盖); 样品间隙: 1 000 μm ; 加样量: 0.6 mL; 温度: 分别在 20, 40, 60 °C 下恒温; 振荡扫描参数: 角频率 12.5 r/s, 应力 1.0 Pa。

2 结果与讨论

2.1 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线

经预处理的大豆蛋白构象初步展开, 易于被蛋白酶作用, 在 Alcalase 作用下蛋白质分子构象进一步改变, 变性的蛋白质分子逐渐联结, 形成凝胶网络结构。我们可以通过测定一个粘弹性体系的粘弹性随时间的变化情况来反应样品的胶凝过程以及所形成的凝胶的性质。

2.1.1 不同 Alcalase 酶添加量下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线 小幅震荡实验是测定物体粘弹性的方法, 其评价指标为 G' , G'' 和 δ , 其中 G'

代表弹性部分, G'' 代表粘性部分, δ 为损耗角, 其正切 $\text{tg } \delta = G''/G'$ 表征了体系的粘弹特性, $\text{tg } \delta$ 越大则粘性成分占优势, 体系表现为流体的特征; 越小则弹性成分占优势, 体系表现为固体的特征。

图 1~3 所示分别为在 20, 40, 60 °C 时, 不同蛋白酶添加量下 7 S-Alcalase 体系储能模量 G' 随时间的变化情况, 到时间 t' 时 G' 达到最大值, 此时的流变学参数 G'_{max} , δ 的值见表 1。

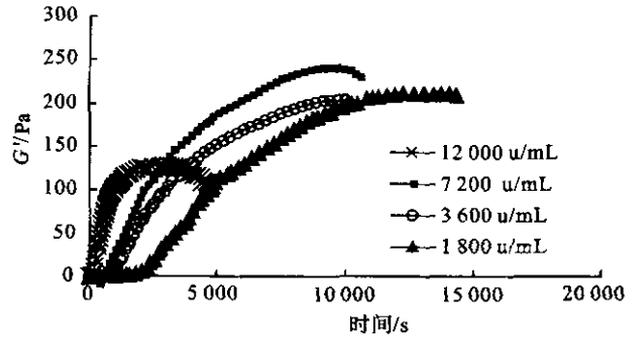


图 1 20 °C 不同 Alcalase 酶添加量下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线

Fig. 1 Dynamic viscoelastic profile of 7 S-Alcalase at 20 °C

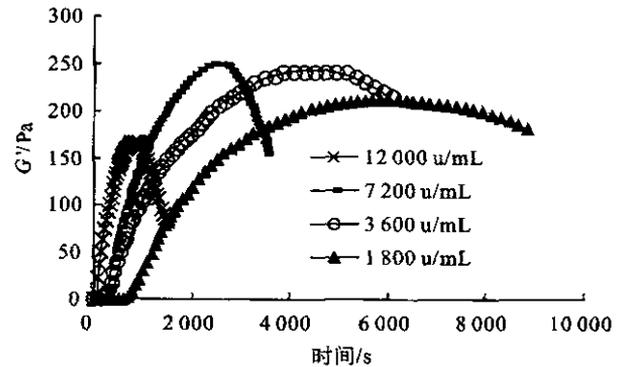


图 2 40 °C 不同 Alcalase 酶添加量下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线

Fig. 2 Dynamic viscoelastic profile of 7 S-Alcalase at 40 °C

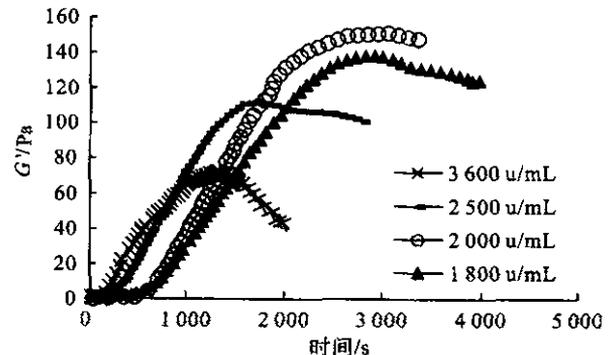


图 3 60 °C 不同 Alcalase 酶添加量下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线

Fig. 3 Dynamic viscoelastic profile of 7 S-Alcalase at 60 °C

表 1 达到 G'_{\max} 时 7 S-Alcalase 体系的凝胶特性Tab. 1 The gel properties of 7 S-Alcalase at G'_{\max}

温度/ °C	Alcalase 浓度/ (U/mL)	时间 t/s	G'_{\max} / Pa	δ /degrees
20	12 000	2 802	126.9	12.53
	7 200	9 841	240.6	9.978
	3 600	9961.8	205.8	9.904
	1 800	12 902	211.9	10.31
40	12 000	836.1	166.4	8.501
	7 200	2 483	249.7	7.304
	3 600	4 480	242.8	7.456
	1 800	5 819	211.6	8.215
60	3 600	1 303	74.86	9.959
	2 500	1 722	111.1	8.242
	2 000	2 797	151.1	7.682
	1 800	2 924	137.8	7.59

从图 1 我们可以看到:在 20 °C,随着 Alcalase 酶活力的降低 G'_{\max} 先增大后减小,在酶活为 7 200 U/mL 时有最大 G'_{\max} :240.6 Pa,因此 7 200 U/mL 为 20 °C 时的最适酶添加量.同时还可以看到酶浓度越大反应过程中 G' 上升得越快,即到达 G'_{\max} 所用时间越短,但之后 G' 下降得也越快.尤其在酶活为 1 2000 U/mL 时, G'_{\max} 只有 126.9 Pa,并且反应速度很快, G' 迅速上升又迅速下降.其原因可能是酶的活力过大,大豆蛋白被过度水解成短肽而无法形成凝胶网络结构,只有水解适中才能使蛋白质分子变性展开后又逐渐联结,形成凝胶网络结构.从图 2 可以看到,在 40 °C 时也有与 20 °C 时类似的情况,其最适酶活力是 7 200 U/mL,其 G'_{\max} 为 249.7 Pa,加酶量高于或低于 7 200 U/mL 都不能得到最大的 G'_{\max} ,其原因可能是:加酶量低时,酶活低,反应速率过慢,导致最终的水解程度太小,大豆蛋白还未达到形成凝胶的最佳展开程度,只有增大酶的添加量才能进一步增大形成凝胶的强度;而加酶量高时,反应速率快,水解度很快升高,在大豆蛋白还没形成凝胶网络结构之前就已经被过度水解成短肽,从而无法形成凝胶.从图 3 可以看到在 60 °C 的最适酶活力已经下降到了 2 000 U/mL,其 G'_{\max} 也降低到 151.1 Pa,因此,在高温下是不利于 7 S 的凝胶的,只有降低加酶量才那能 7 S 凝胶,但凝胶强度明显降低了.比较图 1、图 2 和图 3 可得出这样的结论:在 20 °C 和 40 °C 下,即较低温度下有利

于 7S 形成凝胶网络结构,所需的最适酶活力添加量为 7 200 U/mL.当温度升高到 60 °C 后,就不利于 7 S 的胶凝.

2.1.2 不同温度相同酶添加量下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线 图 4 对比了不同温度相同酶活条件下 7 S-Alcalase 体系的动态流变曲线,以进一步讨论温度对酶凝反应的影响.

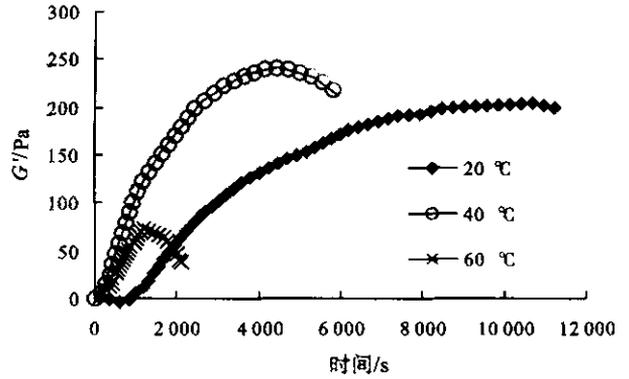


图 4 不同温度相同 Alcalase 酶活下 7S-Alcalase 体系的动态流变曲线(Alcalase 浓度:3 600 U/mL)

Fig. 4 Dynamic viscoelastic profile of 7S-Alcalase at different temperature(Alcalase:3 600 U/mL)

从图 4 可以看到从 20 °C 到 60 °C,达到 G'_{\max} 所需的时间越来越短,并且温度越高达到最高点后 G' 下降的越快.可见温度对 7 S 的酶凝反应速率有影响,温度越高反应速率越大.综上,7 S 的酶凝反应受温度和加酶量的综合影响,较高的温度不利于 7 S 的胶凝,并且每个温度下都有一个最适的加酶量.

2.2 11 S-Alcalase 体系的动态流变曲线

2.2.1 不同 Alcalase 酶添加量下 11 S-Alcalase 体系的动态流变曲线 图 5~7 所示分别为在 20,40,60 °C 时,不同蛋白酶活力下 11 S-Alcalase 体系储能模量 G' 随时间的变化情况. G' 达到最大值时的流变学参数 G'_{\max} 、 δ 的值见表 2.

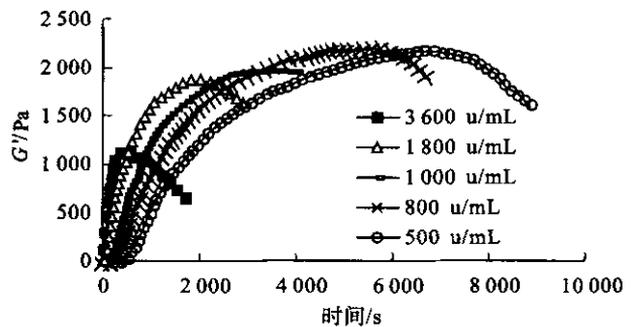


图 5 20 °C 不同 Alcalase 酶添加量下 11S-Alcalase 体系的动态流变曲线

Fig. 5 Dynamic viscoelastic profile of 11S-Alcalase at 20 °C

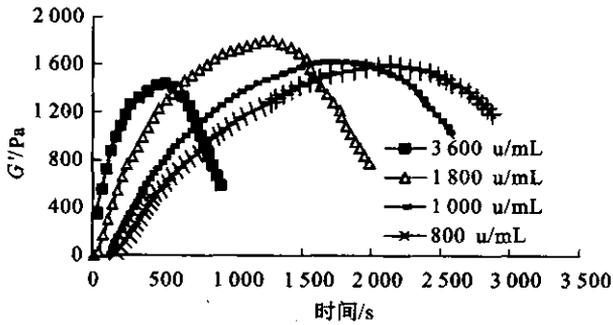


图6 40 °C不同Alcalase酶添加量下11S-Alcalase体系的动态流变曲线

Fig. 6 Dynamic viscoelastic profile of 11S-Alcalase at 40 °C

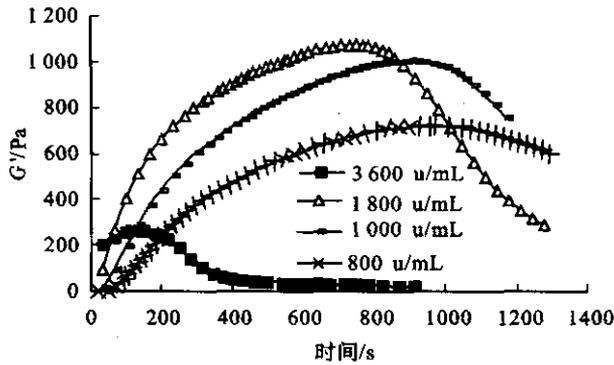


图7 60 °C不同Alcalase酶添加量下11S-Alcalase体系的动态流变曲线

Fig. 7 Dynamic viscoelastic profile of 11S-Alcalase at 60 °C

表2 达到 G'_{max} 时11S-Alcalase体系的凝胶特性

Tab. 2 The gel properties of 11S-Alcalase at G'_{max}

温度/ °C	Alcalase 浓度/ (U/mL)	时间 t/s	$G'_{max}/$ Pa	$\delta/$ degrees
20	3 600	516.2	1 173	12.57
	1 800	2 046	1 870	10.83
	1 000	3 486	1 964	9.718
	800	5 428	2 203	10.28
	500	6 841	2 182	10.17
40	3 600	484.2	1 443	11.05
	1 800	1 229	1 785	10.29
	1 000	1 772	1 632	10.05
	800	2 097	1 602	9.975
60	3 600	141.3	259.2	10.36
	1 800	739	1 074	8.684
	1 000	880.2	1 004	8.344
	800	977.6	717.1	8.29

从图5我们可以看到:在20 °C,随着Alcalase酶浓度的降低, G'_{max} 也一直在增大,到酶活为800

U/mL时有最大 G'_{max} :2 203 Pa,继续降低酶浓度至500 U/mL, G'_{max} 稍有下降至2 182 Pa.因此,在20 °C,较低的酶浓度更有利于11S的凝胶,800 U/mL为20 °C时的最适酶添加量.从图6可以看到,在40 °C也有一个最适酶添加量为1 800 U/mL,其 G'_{max} 为1 785 Pa.从图7可以看到60 °C时的最适酶添加量也为1 800 U/mL,但 G'_{max} 已经降低到1 074 Pa.因此,高温明显不利于11S的凝胶.

2.2.2 不同温度相同酶添加量下11S-Alcalase体系的动态流变曲线 图8对比了不同温度相同条件下11S-Alcalase体系的动态流变曲线,以进一步讨论温度对酶凝反应的影响.

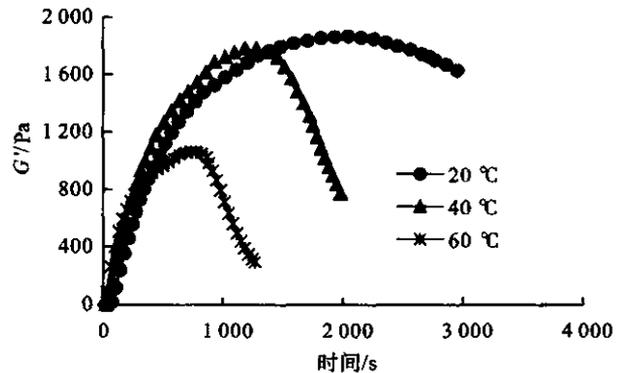


图8 不同温度相同Alcalase酶活下11S-Alcalase体系的动态流变曲线(Alcalase浓度:1 800 U/mL)

Fig. 8 Dynamic viscoelastic profile of 11S-Alcalase at different temperature(Alcalase:1 800 U/mL)

从图8可以看出:11S的 G'_{max} 明显比7S大,并且与7S不同的是温度越低11S所达到的 G'_{max} 越大,因此低温有利于11S形成凝胶网络结构.而从20 °C到60 °C,反应的初始速率相差不大,但达到 G'_{max} 所需的时间越来越短,并且温度越高达到最高点后 G' 下降的越快.因此,温度对11S的酶凝反应速率也有影响.综上,11S的酶凝反应也受温度和加酶量的综合影响,其中温度的影响较明显.

2.3 不同比例的7S和11S的混合溶液的动态流变曲线

为了进一步确定酶促胶凝过程中起关键作用的大豆蛋白组分,我们对比了不同比例的7S和11S的混合溶液的动态流变曲线,见图9,达到最大值时的流变学参数 G'_{max} 、 δ 的值见表3.

从图9可以看出在相同的条件下11S形成凝胶的强度明显高于7S.因此,11S应该是大豆蛋白形成凝胶网络结构的主要组分.当11S/7S=1/2时,其曲线几乎与7S重合,而当11S/7S=2时,其 G'_{max} 为908.1 Pa,还不到相同条件下11S所形成的 G'_{max} (2 051 Pa)的1/2.因此,对于大豆蛋白的

胶凝7S的影响要比11S大,7S是大豆蛋白形成凝胶网络结构的重要组分.从5.3%11S+0.8%7S的曲线我们可以看到11S混合了少量的7S后,其 G'_{max} 比单纯的11S要稍高,因此7S和11S在一起是有协同作用的,但其作用结果并不是单纯的两者的加和.另外,我们可以看到11S形成凝胶的速度相当快,而7S则很缓慢,这与两者的最适加酶量有关,从前面的结论我们可以知道,在相同温度下,11S的最适加酶量要比7S小很多.因此,在30℃,1800U/mL的酶活力已经超过了11S的最适加酶力量,使11S很快就形成凝胶,但该活力量还没有达到7S的最适加酶活力量,因此使7S的凝胶反应很慢.

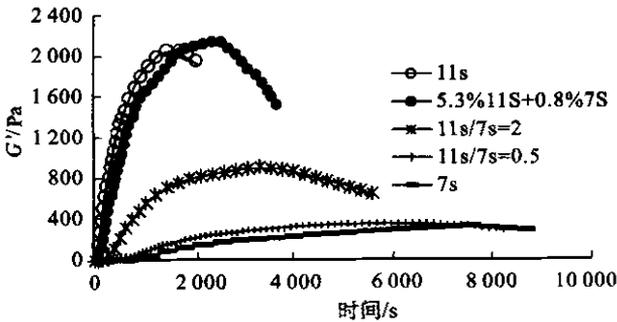


图9 不同比例的7S和11S的混合溶液的动态流变曲线(除5.3%11S+0.8%7S外其余总蛋白浓度均为5.3%、Alcalase浓度:1800U/mL、温度:30℃)

Fig. 9 Dynamic viscoelastic profile of the mixture of 7S and 11S

参考文献:

- [1] 杨淑媛,田元兰,丁纯孝.新编大豆食品[M].北京:中国商业出版社,1989.
- [2] Fuke Y, Masakatsu S, Mitsuoka H. Nature of stem bromelain treatments on the aggregation and gelation of soybean proteins[J]. *J Food Sci*, 1985, 50:1283.
- [3] Takao Nagano, Youichi Fukuda, Takeshi Akasaka. Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of -conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolates[J]. *Agric Food Chem*, 1996,44:3484.
- [4] 钟芳,王璋,许时婴.大豆蛋白的酶促速凝[J].无锡轻工大学学报,2002,21(6):559-563.
- [5] 钟芳,王璋,许时婴.大豆蛋白速凝特性研究—I 热处理条件对大豆蛋白速凝特性的影响[J].中国粮油学报,2001,16(4):47-50.
- [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 β -conglycinin in soybean proteins by immunological methods[J]. *J Agric Food Chem*, 1987,35:200-205.

(责任编辑:杨萌)

表3 达到 G'_{max} 时各体系的凝胶特性

Tab. 3 The gel properties of the system at G'_{max}

蛋白体系	t/s	$G'_{max}/(Pa)$
11S	1 583	2 051
5.3%11S+0.8%7S	2 330	2 118
11S/7S=2	3 576	908.1
11S/7S=0.5	6 470	352.8
7S	7 722	319.9

3 结论

7S的酶凝反应受温度和加酶活力量的综合影响,两者都影响反应速率和形成的凝胶强度.较低的温度,即20~40℃是有利于7S形成凝胶网络结构的,最适酶添加活力量为7200U/mL,当温度升高到60℃后,则不利于7S的胶凝.11S的酶凝反应也受温度和加酶量的综合影响,其中温度对11S的影响比7S更明显,低温更有利于11S形成凝胶网络结构.20℃时,11S达到最大 G'_{max} 所需的酶添加活力量为800U/mL.相同条件下11S所形成的凝胶强度要比7S大得多,11S是使大豆蛋白胶凝的主要组分;而7S也是影响大豆蛋白胶凝的重要组分.