文章编号:1673-1689(2006)01-0015-06

超声处理对大豆分离蛋白热致凝胶功能性质的影响

朱建华[1]， 杨晓泉[2]， 熊 犍[2]

(1. 韶关学院 英东生物工程学院，广东 韶关 512005；2. 华南理工大学 食品与生物工程学院，广州 五山 510640)

摘 要：研究了大豆分离蛋白(SPI)热致凝胶形成条件和超声对大豆分离蛋白凝胶性质的影响。实验结果表明：离子强度为 0.6 mol/L，pH 值 8.0，采用 10 g/dL SPI 质量浓度为 SPI 最佳热致凝胶形成条件。延长超声处理时间和增加功率显著提高凝胶破裂强度，与对照样相比经 25 kHz，400 W 超声处理 10 min，凝胶破裂强度由 32.0 g 增加到 41.0 g；超声处理对 SPI 凝胶质构分析性质(TPA 性质)有显著影响，延长超声处理时间和增加功率可升高凝胶的硬度值、弹性值和回弹性值，但均对 SPI 凝胶的脆性有降低作用。

关键词：超声波；大豆分离蛋白热致凝胶；凝胶破裂强度；TPA 性质

中图分类号：Q 55 **文献标识码**：A

The Effect of Ultrasonic Treatment on the Functional Properties of Thermal Induced Soybean Protein Isolated Gel

ZHU Jian-hua[1]， YANG Xiao-quan[2]， XIONG jian[2]

(1. Department of Food Science，Yingdong Biology Engineering Institute，Shaoguan University，Shaoguan 512005，China；2. Food Science and Biology Engineering，South China University of Technology，Guangzhou 510641，China)

Abstract：The parameters for forming thermal induced soybean protein isolated gel and the effect of ultrasonic treatment on the gel properties were studied. The results showed that the optimal parameters for forming thermal induced SPI gel were at 0.6 mol/L ion strength and pH 8.0 for 10 g/dL (w/v) SPI. The results also showed that the ultrasonic treatment could obviously increase the gel rupture value and affect texture profile analysis properties of thermal induced soybean protein isolated gel. With ultrasonic treatment at 400 W and 25 kHz for 10 min the rupture value of thermal induced SPI gel was 41.0 g，compared with 32.0 g of the non-ultrasonic treatment case. With the increase in the time and power of ultrasonic treatment，the gel properties such as hardness value，springness value and resilience value increased while the fractureability value decreased.

Key words：ultrasonic；thermal induced soybean protein isolated gel，gel rupture value；texture profile analysis properties

收稿日期：2005-03-15； **修回日期**：2005-03-26.

基金项目：国家“十五”攻关项目(2001BA501A021)；广东省“十五”攻关项目(A20301).

作者简介：朱建华(1978-)，男，江西吉安人，助教，工学硕士.

万方数据

大豆蛋白具有包括水化性,分散性,溶解性,乳化性,起泡性,凝胶性,流变性能等广泛的功能性质,大豆蛋白的开发及利用,一直是国内外科研部门和企业界关注的热点之一。其开发和利用目的主要通过两条途径来实现,一是开发出具有优良特性的蛋白质新品种,另一方面是通过改善现有大豆蛋白的功能特性,从而达到拓宽其在食品工业中的应用。

凝胶性质属于大豆蛋白重要的功能性质之一,大豆蛋白的凝胶形成方式主要有以下4种:热致凝胶;热-Ca^{2+}共致凝胶,如豆腐;碱致凝胶和碱-乙醇共致凝胶[1]。国内外已有文献报道过大豆蛋白凝胶的形成机理,包括大豆7S和11S的凝胶形成机理[2]。已有科研人员将高频超声应用于工业体系中的液体乳化过程[3]。梁汉华等[4]的研究表明,超声处理大豆浆体及豆渣可有效提高蛋白质和固形物的萃取率。研究人员就超声处理对大豆蛋白性质的影响作用曾作过一些研究,Wang等[5]的研究表明超声处理蛋白质溶液可明显提高其亲水性和溶解性,其作用包括分解蛋白质分子、乳化蛋白质悬浮液以及使蛋白质发生聚合等。但关于超声处理对大豆蛋白凝胶性质影响国内外还未见有文献报道过,因此探讨超声处理对大豆蛋白凝胶性质的影响有重要实际意义,实验结果将有助于将超声波技术应用到大豆蛋白凝胶性质的改性领域。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料与仪器

大豆分离蛋白(SPI):哈尔滨黎明蛋白厂提供,SPI组分含量测定方法为食品分析常规方法[6],测定得蛋白质质量分数为90.8%,水分质量分数5.97%,灰分质量分数2.83%,脂肪质量分数0.90%。仪器:25kHz频率NP-B—40-300型超声仪,新栋力超声设备有限公司提供;TPA质构分析仪,美国TA-Xri公司产;FJ-200型高速分散均质机,上海标本模型厂产。

1.2 实验方法

1.2.1 超声处理 所有SPI样品用相应pH值和离子强度的Na_2HPO_4-NaH_2PO_4缓冲液配制[7],将用缓冲液配制好的SPI溶液样品用高速分散均质机于1 000 r/min条件下分散10 min。取一组未经超声处理对照样直接用于热致凝胶体的制备。超声处理样的处理过程如下:将探头浸入SPI样品液面以下2 cm并位于液面中间,同时将乘放样品的烧杯置于冰水浴中,选定超声处理时间和功率,按实验条件处理完毕后将其用于热致凝胶体的制备。

1.2.2 凝胶体的制备 将超声处理后的SPI样品移入100 mL圆柱型铝盒中,然后置于水浴锅中升温至90 ℃恒温加热处理45 min,然后移出冷却室温,再将样品置于冰箱中4 ℃冷藏12 h。将未经超声处理SPI对照样用高速分散均质机于1 000 r/min条件下作用10 min后直接移至100 mL圆柱型铝盒中,后续操作同超声处理样热致凝胶的制备。

1.2.3 凝胶质构特性的测定 凝胶破裂强度的测定:采用穿刺模式,探头使用P/0.25ss,检测时探头下行速度为1.0 mm/s,凝胶破裂强度值对应曲线最高力峰值,单位以g标识。凝胶TPA质构分析:凝胶厚度采用20 mm,测定用仪器为TA-Xri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/0.5R,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2.50%。[8]

2 实验结果

2.1 未经超声处理SPI热致凝胶形成条件研究

大豆分离蛋白热致凝胶性质主要受SPI浓度、离子强度和pH值参数的影响,大豆7S和11S球蛋白的凝胶性质存在较大差异。

2.1.1 离子强度的影响 离子强度影响SPI凝胶性质主要是基于离子强度的不同影响到大豆分离蛋白表面疏水性和所带负电荷多寡的不同,进而影响到大豆分离蛋白亚基解离程度的不同。

本实验研究了5.0,7.5,10.0,12.5,15.0 g/dL SPI 5种质量浓度在不同离子强度条件下热致凝胶情况,由表1实验结果可知:SPI质量浓度为5.0 g/dL时,在整个实验用离子强度范围内不能形成凝胶,当质量浓度增加为7.5 g/dL时,低离子强度条件下仍未形成凝胶,离子强度为0.4 mol/L时凝胶结构形成但强度较弱,析水现象突出。进一步增加离子强度到0.6 mol/L时,凝胶网络结构形成,析水现象减弱。离子强度超过0.8,1.0 mol/L时,实验条件下形成的凝胶结构有弱化的趋势,析水现象消失。SPI质量浓度采用10.0,12.5,15.0 g/dL时,随SPI浓度增加凝胶形成条件趋向于在较低离子强度时就能形成,最佳凝胶形成条件为0.6 mol/L离子强度,此条件下形成的凝胶结构完整且无析

万方数据

水现象。

2.1.2　pH 值的影响　本实验研究了 pH 值为 2.0,4.0,6.0,8.0 和 10.0 条件下凝胶形成性质的变化情况。由表 2 实验结果表明:相同大豆分离蛋白质量浓度条件下,酸性条件 pH 值 2.0,4.0 条件下均不能形成凝胶,pH 值 6.0 条件下能形成凝胶但析水现象突出。碱性 pH 值范围内除 5.0 g/dL 条件下未能形成凝胶外,7.5,10.0,12.5 和 15.0 g/dL 4 种不同 SPI 质量浓度条件下均形成凝胶,且形成的凝胶析水现象很弱。pH 值 8.0 条件下形成的凝胶结构最完整且无析水现象,所以选 pH 值 8.0 为热致凝胶形成的最佳 pH 条件。大豆 11S 和 7S 球蛋白的等电点 4.64 和 6.4,酸性条件范围内大豆分离蛋白的亚基更易聚集而发生酸沉现象,酸性条件下不利于 SPI 热致凝胶的形成。

表 1　离子强度对未超声处理 SPI 热致凝胶形成条件影响

Tab.1　The effect of the concentration of NaCl on the conditions of unsonicated SPI gel forming

大豆分离蛋白质量浓度/(g/dL)	离子强度/(mol/L)											
	0.0		0.2		0.4		0.6		0.8		1.0	
	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象
5.0	不形成		不形成		不形成		不形成		不形成		不形成	
7.5	不形成		不形成		+	+++	+++	−	++	−	++	−
10.0	不形成		+	+++	+	++	+++	−	++	−	++	−
12.5	+	+++	+	+++	+	++	+++	−	++	−	++	−
15.0	+	+++	+	+++	+	++	+++	−	++	−	++	−

注:“+”表示凝胶结构完整程度和析水现象的严重程度;“−”表示无析水现象。

表 2　pH 值对未超声处理 SPI 热致凝胶形成条件影响

Tab.2　The effect of pH on the conditions of unsonicated SPI gel forming

大豆分离蛋白质量浓度/(g/dL)	pH 值									
	2.0		4.0		6.0		8.0		10.0	
	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象	凝胶形成	析水现象
5.0	不形成		不形成		不形成		不形成		不形成	
7.5	不形成		不形成		++	+++	+++	−	++	−
10.0	不形成		不形成		+	++	+++	−	++	−
12.5	+	++++	+	+++	+	++	+++	−	++	−
15.0	+	++++	+	+++	+	+++	+++	−	++	−

注:“+”表示凝胶结构完整程度和析水现象的严重程度;“−”表示无析水现象。

2.2　超声处理对凝胶破裂强度的影响

凝胶破裂强度是 SPI 热致凝胶的重要性质之一,凝胶破裂强度的大小是反映凝胶网络结构牢固程度高低的重要参数。实验所采用的 SPI 质量浓度均为 10.0 g/dL,离子强度条件为 0.6 mol/L 和 pH 值 8.0。

2.2.1　超声处理时间对凝胶破裂强度的影响　超声处理时间对 SPI 的溶解性影响非常显著[5]。SPI 溶解性影响到热致凝胶性质,改变超声处理时间势必对 SPI 凝胶破裂强度产生影响作用。

超声处理条件为采用 400 W,25 kHz 超声仪,体系离子强度为 0.6 mol/L,pH 值为 8.0 条件下改变超声处理时间分析凝胶破裂强度曲线。由图 1 可知不同超声处理时间所得凝胶破裂曲线存在显著差别,与对照 0 min 相比,超声处理 10 min 后,凝胶破裂强度由约 32.0 g 增加到约 41.0 g,超声处理时间增加到 20 min 后,凝胶破裂强度进一步上升到 48.0 g。

2.2.2　超声处理功率对凝胶破裂强度的影响　表征一超声场场能大小的主要参数是超声处理功率。固定超声仪使用频率、超声处理时间和溶液体系各参数,随超声处理功率的增加,超声场场能增加,声能转化为机械能,热能和化学能程度增加,从而产生更强烈的崩溃,搅拌和空穴作用。后者各作用影响到热致凝胶的性质,如凝胶破裂强度值。

超声仪频率为 25 kHz、超声处理时间为 20

万方数据

min，体系离子强度为0.6 mol/L，pH值为8.0条件下测定的凝胶破裂强度曲线如图2。由图可知，未经超声处理条件下凝胶强度峰值明显低于经200 W，400 W超声后的破裂强度峰值。随超声功率增加凝胶破裂强度增加的原因可能是声化学作用加强，影响到SPI溶液体系的微观结构和7S和11S的解离程度。

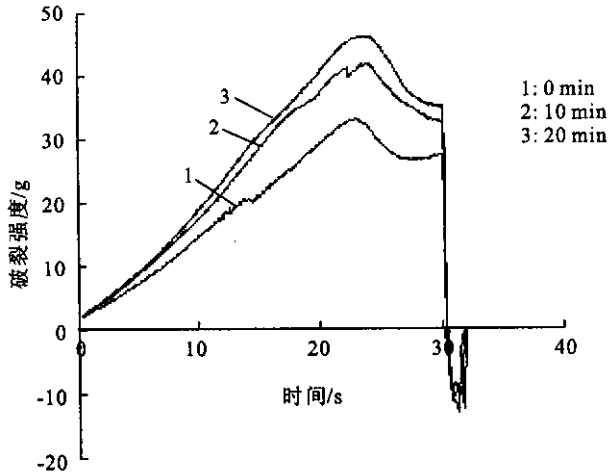

图1 超声处理时间对SPI凝胶破裂强度的影响

Fig. 1 The effect of ultrasonic time on the rupture strength of SPI gel

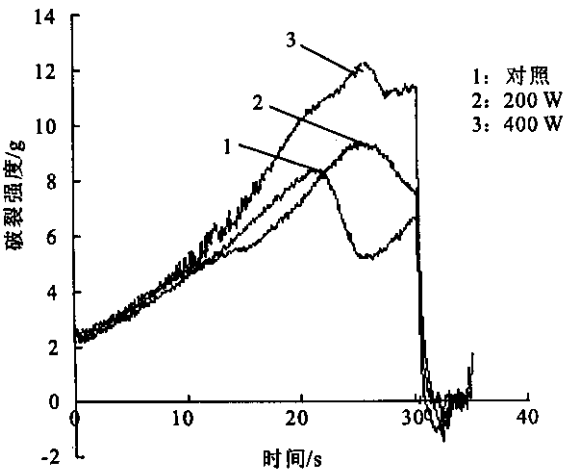

图2 超声处理功率对SPI凝胶破裂强度的影响

Fig. 2 The effect of ultrasonic power on the rupture strength of SPI gel

2.3 超声处理对凝胶TPA性质的影响

凝胶TPA性质即凝胶质构曲线分析结果所反映的特征参数，包括凝胶的硬度、脆性、附聚性、弹性、内聚性、耐咀性、胶粘性和回弹性总共八个特征性质参数。此八大性质系统全面反映一凝胶体的结构及力学性质。

2.3.1 超声处理时间对凝胶TPA性质的影响

超声处理时间对凝胶破裂强度的影响非常明显。因延长超声处理时间对SPI可以起到增溶作用，改变超声处理时间将影响到所得凝胶的TPA性质。本实验采用25 kHz，400 W探头式超声仪研究了不同超声处理时间对pH 8.0，离子强度0.6 mol/L条件下10.0 g/dL SPI热致凝胶TPA性质的变化情况。

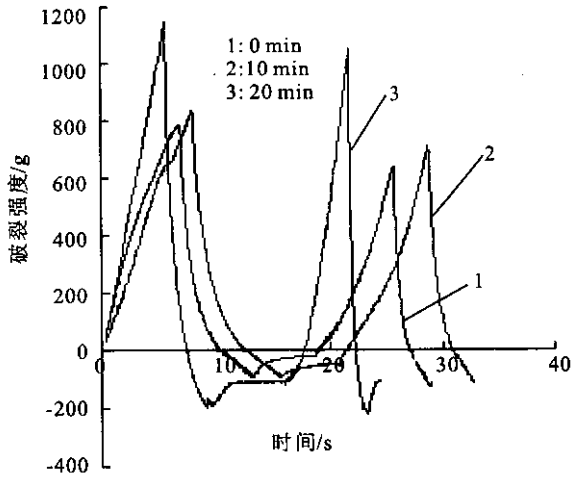

图3 超声处理时间对10 g/dLSPI凝胶质构TPA性质的影响

Fig. 3 The effect of the ultrasonicating time on the texture characteristics of 10 g/dLSPI gel

图3为超声处理时间对10.0 g/dL SPI热致凝胶影响的TPA性质图，表3分为对应测定的凝胶质构参数。实验过程采用二次压缩模式测量，所以TPA曲线会出现两次峰值。由图3可知超声处理10 min和20 min后凝胶TPA曲线上的两次峰值均高于未经超声处理样的对应峰值，且峰值随超声处理时间延长呈升高趋势。实验结果表明，超声处理10 min，20 min后10.0 g/dL SPI热致凝胶的硬度值由对照组的98.791 g增加到106.231 g和115.401 g。表3结果表明延长超声处理时间可升高凝胶的硬度值、弹性值和回弹性值。但延长超声处理时间对SPI凝胶的脆性有降低作用，10.0 g/dLSPI热致凝胶经超声处理10 min，20 min后分别脆性值分别由对照组的115.590 g降低到5.356 g和97.007 g。脆性值降低的原因可以归结于超声处理增加了SPI溶液的揉性，形成富有弹性的凝胶网络结构。这可通过超声处理可以增加凝胶强度弹性值以及回弹性质这一结果加以解释。

2.3.2 超声处理功率对凝胶TPA性质的影响

由图4质构曲线及对应表4质构参数分析表明：与对照样相比，经400 W超声处理20 min后10.0 g/dL SPI凝胶的硬度值、弹性值和回弹性值分别由98.832 g，0.697 g，0.208 g增加到117.356 g，

万方数据

0.988 g,0.320 g。随超声处理功率的增加脆性值呈降低趋势,SPI 溶液的揉性得以加强,形成弹性凝胶网络结构。超声处理功率增加后可起到增强凝胶硬度值、弹性值和回弹性值,同时降低了热致凝胶的脆性值。

表 3　超声处理时间对 10 g/dL 大豆分离蛋白凝胶质构参数的影响*

Tab. 3　The effect of the sonication time on the texture profile parameters of sonicated 10 g/dL SPI gel

时间/min	硬度	脆性	附聚性	弹性	内聚性	胶粘性	耐咀性	回弹性
0	98.791	115.590	1 182.192	0.700	0.542	53.536	37.495	0.203
10	106.231	99.006	333.561	0.920	0.504	58.055	55.331	0.228
20	115.401	97.007	456.788	0.953	0.550	58.537	53.845	0.314

注:* 各单一样品质构参数 3 个平行测定值的平均标准偏差 RSD%<2.50%。

表 4　超声处理功率对 10 g/dL 大豆分离蛋白凝胶质构参数的影响*

Tab. 4　The effect of the sonication power on the texture profile parameters of sonicated 10 g/dL SPI gel

超声功率/W	硬度	脆性	附聚性	弹性	内聚性	胶粘性	耐咀性	回弹性
0	98.832	116.631	1 187.540	0.697	0.539	53.478	37.563	0.208
200	107.234	102.135	378.247	0.874	0.498	57.768	56.350	0.259
400	117.356	96.992	453.864	0.988	0.561	58.612	53.875	0.320

注:* 各单一样品质构参数 3 个平行测定值的平均标准偏差 RSD%<2.50%。

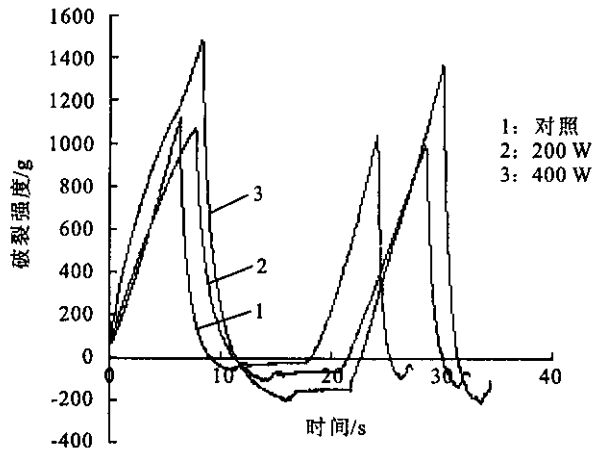

图 4　超声处理功率对 10 g/dL SPI 凝胶质构 TPA 性质的影响

Fig. 4　The effect of the sonication power on the texture characteristics of 10 g/dL SPI gel

3　讨　论

大豆蛋白凝胶性质与表面电荷、蛋白质构型变化、以及亚基的聚集程度及二硫键键链作用强弱密切相关。热致凝胶的形成原理一般认为是:热处理作用使蛋白质的构象发生变化,然后蛋白质变性作用发生,伴随变性作用的发生,蛋白质分子逐渐展开,溶液粘度上升,最后聚集形成较为致密的网络结构,蛋白质网络结构稳定性主要依赖二硫键、氢键和疏水作用维持。凝胶结构形成的宏观表现为持水性显著增加,能将溶液中所含水完全包裹于凝胶网络结构之中。高强度超声波能形成高能量声场,因此可利用声场对溶液形成的声空化作用对溶液进行超声作用,随超声处理功率的增加,超声场场能增加,声能转化为机械能,热能和化学能程度增加,从而产生更强烈的崩溃,搅拌和空化作用。这种复合效应使超声处理对盐溶和盐析效应均有协同作用。这种协同作用影响到热致凝胶的结构,结构的改变进而引起了大豆分离蛋白热致凝胶破裂强度值和 TPA 性质的变化。超声处理对盐溶和盐析效应均有协同作用。经超声处理后大豆蛋白易于解离成亚基并发生溶胀,使溶胶向凝胶转变易于完成。因此超声处理能加剧凝胶的硬度与蛋白质构型变化,以及解离成亚基,亚基的聚集程度。

另外大豆蛋白中 7S 的二硫交联作用比 11S 球蛋白的二硫交联作用弱,7S 球蛋白稳定性不如 11S 球蛋白,空间结构比较易受外界条件影响。Wang[9,10]等的研究表明超声处理可使大豆 7S 球蛋白产生非共价聚合作用,超声空化作用先使球蛋白解离后聚合,经历了先解离后聚合过程,并使 7S 球蛋白聚合生成可溶性聚集物。本研究凝胶性质的改善也说明在重新聚合生成可溶性聚集物过程形成较为致密的网络结构。

超声波作用是对大豆蛋白改性的一种新型方法。文中只探讨了超声处理对大豆分离蛋白质热致凝胶性质的影响。大豆蛋白功能特性的改变是

万方数据

由分子结构的变化引起的。超声波引起大豆蛋白质其他功能性质的影响和超声改性机理还有待更深一步的研究,以便使其更好地应用于大豆蛋白的改性及深加工生产。

参考文献:

[1] Saio K, Muralidhara D. Food use of soybean 7S and 11S: Extraction and functional properties of their fractions[J]. **Food Sci Technol**, 1997,38(5):1139－1142.

[2] Hultin HO, Sckhdev Manku, Plilip G. Chemical, physical, and functional properties of soy proteins modified by a nonenzymatic system [J]. **Agric Food Chem**, 1997,45(8):310－320.

[3] Behrend O, Ax K, Schubert H. Influence of continuous phase viscosity on emulsification by ultrasound[J]. **Ultrasonic Sonochemistry**, 2000,7(2):77－85.

[4] 梁汉华,杨汝德,郭乾初. 超声处理大豆浆体对提高蛋白质和固形物萃取率的作用[J]. 食品工业科技,1998 ,19(5) :4－8.

[5] Wang L C. Ultrasonic extraction of a heat-labile 7S protein fraction from autoclaved,defatted soybean flakes[J]. **Food Sci**,1984,49:551－554.

[6] 大连轻工学院,华南理工大学,郑州轻工业学院. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997. 73－224.

[7] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京:科学出版社,2000. 5.

[8] 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]. 广州:华南理工大学,2001.

[9] Wang L C. Soybean protein agglomeration: Promotion by ultrasonic treatment[J]. **Agric Food Chem**, 1981, 29(1): 177－180.

[10] Wang L C, Wolf W. Soybean protein aggregation by sonication: Ultracentrifugal analysis[J]. **Food Sci**, 1983, 48: 1260－1264.

(责任编辑:杨 萌)

(上接第 9 页)

[5] Kushi R T, Monti R, Contiero J. Production, purification and characterization of an extracellular inulinase from Kluyveromyces marxianus var. bulgaricus[J]. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2000, 25:63－69.

[6] Kato K, Araki T, Kitamura T. Purification and properties of a thermostable inulinase (β-D-fructan fructohydrolase) from *Bacillus stearothermophilus* KP1289[J]. **Starch**, 1999, 51:253－258.

[7] Nakamura T, Shitara A, Matsuda S. Production, purification and properties of an endoinulinase of Penicillium sp. TN-88 that liberates inulotriose[J]. **J Ferment Bioeng**, 1997, 84:313－318.

[8] Ettalibi, M. and Jacques, B. C. Purification, properties and comparison of invertase, exoinulinases and endoinulinases of *Aspergillus ficuum*[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 1987, 26:13－20.

(责任编辑:杨 萌)

万方数据