

文章编号:1673-1689(2006)06-0058-05

大豆 11S 球蛋白在空气—水界面上的吸附动力学

周春霞¹, 杨晓泉², 温其标²

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东 湛江 524025; 2. 华南理工大学 食物蛋白研究工程中心, 广东 广州 510640)

摘 要: 采用轴对称滴形分析法研究了大豆 11S 球蛋白在空气—水界面上的吸附动力学, 主要检测了不同浓度和 pH 值条件下表面压力随吸附时间的变化。实验表明, 大豆 11S 球蛋白在空气—水界面上的吸附随初始体相蛋白质质量分数的增加而加快, 受 pH 值的影响尤其明显。当 pH=3.0 时, 11S 球蛋白快速吸附到空气—水界面上; 而当 pH=5.0 时, 吸附明显下降。在吸附的初始阶段, 扩散控制吸附动力学; 而当表面压力较高时, 蛋白质分子在界面上的展开和重排控制吸附动力学。

关键词: 大豆 11S 球蛋白; 空气—水界面; 吸附; 表面压力

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

Adsorption Dynamics of Soy 11S Globulin at the Air-Water Interface

ZHOU Chun-xia¹, YANG Xiao-quan², Wen Qi-biao²

(1. College of Food Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Research and Development Center of Food Proteins, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Axisymmetric drop shape analysis was used to investigate the adsorption dynamics of soy 11S globulin at the air-water interface. Changes of surface pressure with adsorption time were determined at different protein concentration and pH. The results showed that the adsorption of soy 11S globulin at the air-water interface increased with increasing protein concentration in the initial bulk phase, and was sensitive especially to the pH value. Soy 11S globulin was adsorbed rapidly to the air-water interface at pH 3.0, but the adsorption decreased dramatically at pH 5.0. At the initial adsorption period, the adsorption kinetics controlled by diffusion, but at the higher surface pressure, it was controlled by the unfolding and rearrangement of protein at the interface, while controlled the absorption.

Key words: soy glycinin; air-water interface; adsorption; surface pressure

蛋白质因其具有两亲性质而能吸附在气—液、液—液和固—液界面上。蛋白质分子在空气—水界面上的吸附是泡沫体系形成中必不可少的过程, 在食品、化妆品和医药工业中都有着广泛的应

用^[1, 2]。在泡沫形成过程中, 蛋白质必须快速吸附到空气泡表面, 使空气—水界面的张力降低。界面张力降低的程度和速率取决于蛋白质浓度、分子结构及其内部稳定性, 与泡沫体系的形成和稳定密切

收稿日期: 2005-10-15; 修回日期: 2006-03-03.

基金项目: 广东省“十五”攻关农产品加工重大专项(A20301).

作者简介: 周春霞(1979-), 女, 湖南常德人, 讲师, 工学博士.

相关^[1,3]。

大豆 11S 球蛋白是大豆中主要的贮存蛋白质之一。天然状态的 11S 球蛋白紧密的四级结构主要通过二硫键、疏水和静电相互作用而稳定,其显著特征就是分子结构及其功能特性与 pH 值密切相关^[4-6]。为了更好地了解大豆蛋白食品分散体系的特性,系统检测了不同浓度和 pH 值条件下 11S 球蛋白在空气-水界面上的吸附动力学,分析了球蛋白在空气-水模型体系中的吸附动力学。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

低温脱脂豆粕:山东万德福植物蛋白厂提供,蛋白质(干基)质量分数为 50.2%,水分质量分数 4.9%,残油量 0.2%,豆粕经研磨粉碎,过 100 目筛备用。

1.2 实验仪器

pHS-25 型酸度计,上海雷磁仪器厂制造;CR22G 高速冷冻离心机,日本 Hitachi 公司制造;Alpha-4 型冷冻干燥机,德国 Christ 公司制造;B324 型微量凯氏定氮仪,瑞士 Büchi 公司制造;三恒电泳仪,北京六一仪器厂制造;OCA20 型视频光学接触角测量仪,德国 DataPhysics 公司制造;DMA35N 型便携式密度计,奥地利 AntonPaar 公

司制造。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆 11S 球蛋白的制备 按 Nagano 等^[7]提出的方法,所得大豆 11S 球蛋白经冷冻干燥后于 4℃ 贮存备用。采用微量凯氏定氮法检测样品的蛋白质质量分数为 95.55%,采用 SDS-PAGE 检测 11S 球蛋白的纯度高于 90%。

1.3.2 表面张力的检测 采用轴对称滴形分析法检测空气-水界面上大豆 11S 球蛋白溶液的表面张力(σ)随吸附时间(t)的变化,检测系统为 OCA20 型视频光学接触角测量系统(准确度为 0.01 mN/m),如图 1 所示。CCD 高速视频测量系统(最大拍摄速度为 50 r/s)定时采集液滴外形图象,然后通过拉普拉斯(Laplace)方程对液滴外形进行分析,计算出 σ (检测系统自动进行):

$$\frac{1}{x} \frac{d}{dx}(x \sin \theta) = \frac{2}{b} - Cz \quad (1)$$

式中: x 和 z 为液滴轮廓平面图上任一点的纵、横坐标; b 为液滴顶点的曲率半径; θ 为任意点的弦切角; $C = \rho g / \sigma$, ρ 是空气和蛋白质溶液的密度差, g 为重力加速度。溶液密度采用 DMA 35N 型便携式密度计(准确度为 0.001 g/cm³)检测。本实验中,蛋白质的表面活性通过表面压力(π)来表示, $\pi = \sigma^0 - \sigma$,为没有添加蛋白质时缓冲液的表面张力。

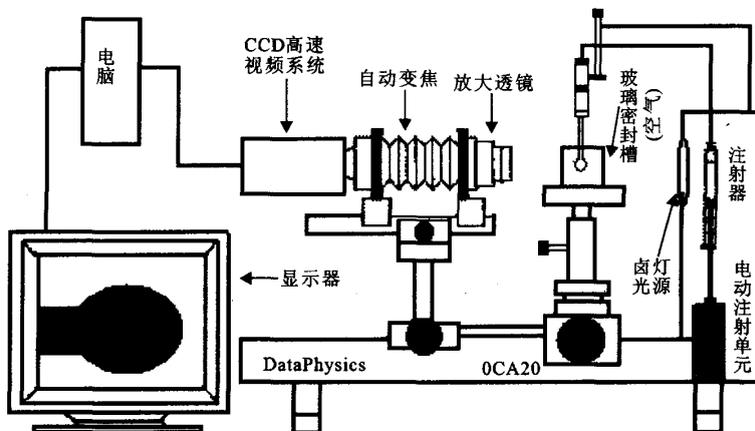


图 1 表面张力检测系统示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the system for the measurements of surface tension

实验时,连接在毛细管上的不锈钢针插入玻璃槽内并将槽密封,新鲜配制的蛋白质溶液由自动进样器进入毛细管而在不锈钢针尖上形成 10 μ L 的液滴(见图 1)。立即开始连续地采集液滴外形图

象,检测随吸附时间(180 min)的变化。对每一个样品,实验重复 3 次以上,其误差为 0.5 mN/m。实验温度控制在(25 \pm 1)℃,蛋白质溶液质量分数为 0.1%~0.001%,pH 为 7.0(NaH₂PO₄-Na₂HPO₄)

缓冲液)、5.0(HAc-NaAc 缓冲液)和 3.0(甘氨酸-HCl 缓冲液),离子强度恒定为 0.05 mol/L。

2 结果与讨论

2.1 空气-水界面上大豆 11S 球蛋白溶液的表面压力随时间的变化

图 2 所示为不同质量分数和 pH 值条件下大豆 11S 球蛋白溶液的表面压力(π)随吸附时间的变化。

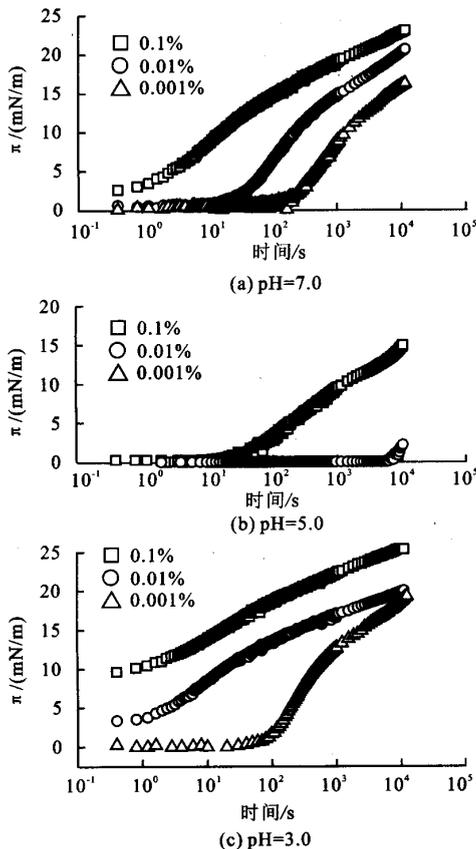


图 2 空气-水界面上大豆 11S 球蛋白溶液的表面压力随吸附时间的变化

Fig. 2 Changes in surface pressure of soy 11S globulin solutions at the air-water interface with different adsorption time

可知:(1)随着吸附时间的延长, π 增加,表明蛋白质分子逐渐吸附到空气-水界面上。大体上可以分为 3 个阶段,诱导期之后, π 迅速增加,达到一定程度后 π 增加缓慢,表明逐渐达到吸附平衡。(2)随着体相蛋白质质量分数的增加, π 随时间增加的速率明显加快,即蛋白质质量分数较高时,溶液的表面活性较高。(3) π 随时间变化的速率受 pH 值的影响极其明显,且在体相蛋白质质量分数较低时尤为明显。当 pH=3.0 时, π 随吸附时间的增加较 pH 值等于 7.0 时要快(见图 2a 和图 2c);然而,

当 pH=5.0 时, π 随时间的变化明显减慢(见图 2b)。

从动力学的角度分析,蛋白质吸附在空气-水界面上使 π 增加需经历 3 个主要步骤^[8]:首先蛋白质分子必须从体相扩散到界面附近(通过扩散或对流作用),形成界面层。当体相蛋白质质量分数较低时,蛋白质分子需要时间扩散到界面上,因此 $\pi-t$ 曲线出现诱导期;紧接着大部分的蛋白质分子在界面上展开,亲水基团暴露到水相,疏水基团暴露到空气相,导致 π 迅速增加;最后,被吸附的蛋白质分子以更加紧密的结构在界面上重新排列,相邻蛋白质分子间产生相互作用。在此过程中,蛋白质分子在界面上继续吸附和展开,甚至可能有多分子层形成,因而 π 进一步增大。

2.2 大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的扩散

在吸附的初始阶段(π 值较低),改进的 Ward 和 Tordai 方程^[9]可用于描述 π 随 t 的变化:

$$\pi(t) = 2C_0KT \left(\frac{Dt}{3.14} \right)^{1/2} \quad (2)$$

式中: C_0 为初始体相蛋白质溶液质量分数, K 为波兹曼常数, T 为绝对温度, D 为扩散系数。若蛋白质分子在界面上吸附受扩散作用所控制,则 $\pi-t^{1/2}$ 曲线呈线性,其斜率即可用于表示扩散速率的快慢。

蛋白质在空气-水界面上的初始吸附是发泡过程中最重要的步骤,通常认为与蛋白质的发泡能力密切相关^[10]。为了研究大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上初始吸附过程的动力学,对不同质量分数和 pH 值条件下的 $\pi-t$ 曲线进行了分析(见图 3),其特征参数及其线性回归系数见表 1。由图 3 可知,在吸附的初始阶段(约为 $\pi < 10$ mN/m), $\pi-t^{1/2}$ 呈直线,因此,大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的初始吸附过程受扩散控制。

并且初始体相蛋白质质量分数和 pH 值对扩散动力学的影响极为明显。由表 1 可知:(1)随着体相蛋白质质量分数的增加,诱导时间缩短, $\pi-t^{1/2}$ 直线部分的斜率增大,扩散控制吸附动力学的时间缩短。可以理解为,扩散受浓度梯度所驱动,当体相蛋白质质量分数较低时,蛋白质分子需要一定的时间从体相扩散到界面附近形成界面层。(2) $\pi-t^{1/2}$ 直线部分的斜率在 pH=3.0 时最大,而在 pH=5.0 时最小,且在体相质量分数较低(0.01% 和 0.001%)时尤为明显。实际上,当 pH=5.0 且体相蛋白质质量分数低于 0.1% 时,在空气-水界面形成后 180 min 内,扩散控制蛋白质的吸附,这主要与不同 pH 值条件下蛋白质结构的变化有关。一方

面,根据经典的渗透理论^[9],扩散系数与相对分子质量的立方根成反比,因此。当 pH=5.0(接近 11S 球蛋白的等电点)时聚合作用^[5]可能降低大豆球蛋白分子向界面的扩散;相反,当 pH=3.0 时,大豆球蛋白解离成较小的亚基^[6],因而扩散速率也就相应地增加。另一方面,扩散系数也取决于蛋白质分子表面的化学特性,尤其是表面疏水性。pH=3.0 时大豆 11S 球蛋白的表面疏水性较 pH=7.0 时要高^[6],因此蛋白质分子的疏水部分更容易暴露到空气相。

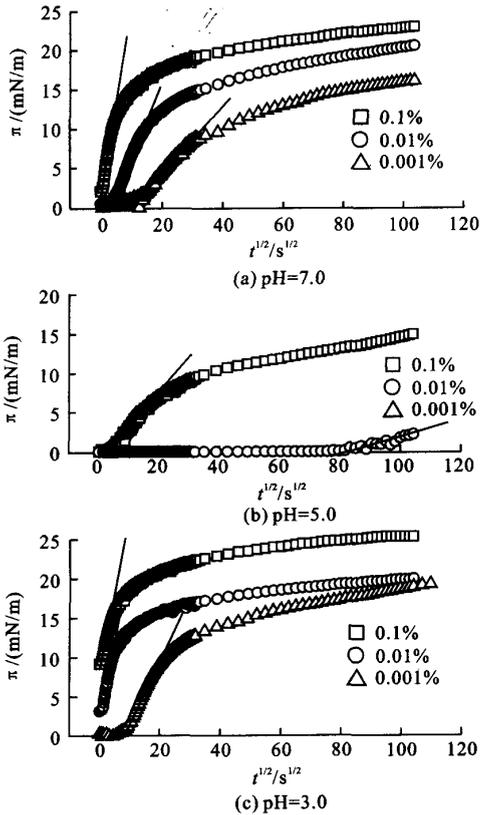


图 3 大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的扩散动力学

Fig. 3 Diffusion kinetics of soy 11S globulin at the air-water interface

2.3 大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的展开和重排

当表面压力较高时, $\pi-t^{1/2}$ 曲线完全偏离直线,蛋白质分子在界面上的展开和重排决定吸附速率^[10]。蛋白质分子在界面上展开和重排的动力学可采用第一速率方程来分析^[10-11]:

$$\ln \frac{\pi_{180} - \pi_t}{\pi_{180} - \pi_0} = -k_1 t \quad (3)$$

式中: π_{180} 、 π_0 和 π_t 分别表示吸附 180 min、0 min 和

任意时间 t 时的表面压力, k_1 为第一速率常数。方程通常产生两个或多个线性区域,第一阶段的斜率是对应于分子展开(渗透)的第一速率常数(k_1),第二阶段的斜率对应于分子重排的第一速率常数(k_2)。以下将会从动力学的角度具体分析体相质量分数和 pH 值对扩散和展开速率的影响。

表 1 大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的扩散动力学参数

Tab. 1 Diffusion kinetics parameters of soy 11S globulin at the air-water interface

pH	初始体相蛋白质质量分数/%	$\pi-t^{1/2}$ 的斜率/ ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1/2}$) (LR)	t^D/s	t^I/s
7.0	0.1	2.390 (0.996)	11	0
	0.01	0.965 (0.997)	171	11
	0.001	0.434 (0.994)	747	135
5.0	0.1	0.514 (0.991)	200	18
	0.01	0.0962 (0.963)	>10 800	6 900
3.0	0.1	1.912 (0.996)	7.2	0
	0.001	0.755 (0.995)	400	35

注: LR 为线性回归系数, t^D 为扩散控制吸附动力学的时, t^I 为诱导时间。

泡沫的稳定性很大程度上取决于蛋白质分子在空气-水界面上的长期吸附动力学^[10]。为了研究扩散作用之后,大豆 11S 球蛋白在空气-水界面上的吸附动力学,对不同质量分数和 pH 值条件下的 $\ln[(\pi_{180} - \pi_t)/(\pi_{180} - \pi_0)]-t$ 曲线进行了分析(见图 4),其特征参数及其相应的线性回归系数见表 2。由图 4 可知,本实验中所有的 $\ln[(\pi_{180} - \pi_t)/(\pi_{180} - \pi_0)]-t$ 曲线均产生两个线性区域,分别对应于 11S 球蛋白在界面上展开(k_1)和重排(k_2)的第一速率常数。这就表明,球蛋白分子扩散到界面后的吸附过程至少经历了两个不同的过程。

由表 2 可知,当 pH=7.0 和 pH=3.0 时, k_1 和 k_2 均随体相蛋白质质量分数的增加而增大,即蛋白质质量分数较高时,大豆 11S 球蛋白更易在界面上展开和重排。然而,当 pH=5.0 时, k_1 和 k_2 的值明显减小,且当体相蛋白质质量分数小于 0.1% 时,在实验时间范围内,11S 球蛋白并不吸附到界面上。因此,从实用的角度分析,当 pH=5.0 且蛋白质质量分数低于 0.1% 时,大豆 11S 球蛋白溶液不能发泡。这些结果主要与不同 pH 值条件下分子弹性和结构变化的难易程度不同有关。从动力学的角度

分析,完全变性和解离的大豆球蛋白(pH=3.0)与天然结构的大豆球蛋白(pH=7.0)相比,分子弹性较大^[6],因而更容易在界面上展开和重排;相比之下,当pH=5.0时,要破坏原有蛋白质分子的聚合结构^[5],因而在界面上展开是比较困难的。

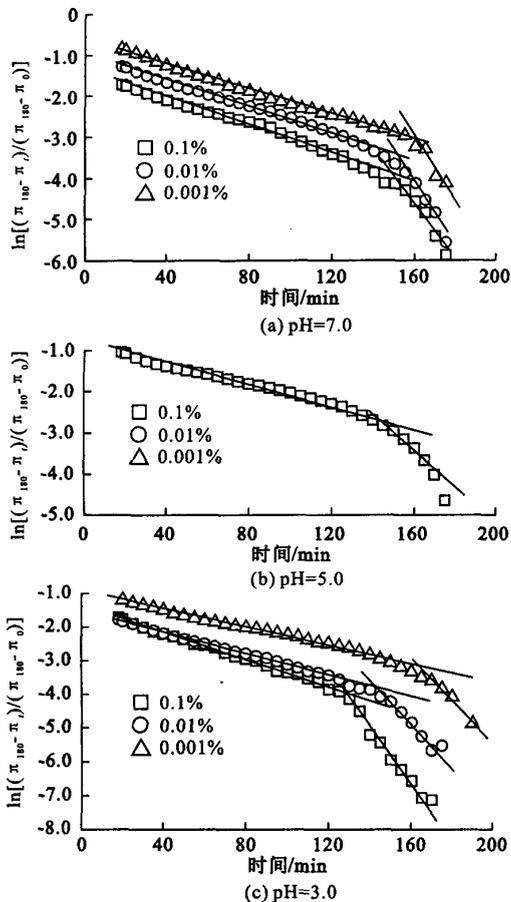


图4 大豆11S球蛋白在空气-水界面上的展开和重排动力学

Fig. 4 Unfolding and rearrangement kinetics of soy 11S globulin at the air-water interface

参考文献:

- [1] Halling P J. Protein-stabilized foams and emulsions [J]. *Critical Review Food Science Nutrition*, 1981, 13: 155-203.
- [2] El Kirat K, Chauvet J P, Roux B, et al. Streptomyces chromofuscus phospholipase D interaction with lipidic activators at the air water interface[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2004, 1661: 144-153.
- [3] Pereira L G C, Theodoly O, Blanch H W, et al. Dilatational rheology of BSA conformers at the air/water interface[J]. *Langmuir*, 2003, 19: 2349-2356.
- [4] Lakemond C M M, de Jongh H H J, Hessing M, et al. Soy glycinin: influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48: 1985-1990.
- [5] Molina S, Carrera C, Rodriguez Nino Ma, et al. Structural characterization and surface activity of spread and adsorbed soy globulin films at equilibrium [J]. *Colloids and Surf B*, 2003, 32: 57-67.

表2 大豆11S球蛋白在空气-水界面上的展开和重排动力学参数

Tab. 2 Unfolding and rearrangement kinetics parameters of soy 11S globulin at the air-water interface

pH	初始体相蛋白质质量分数/%	$k_1 \times 10^3 / \text{min}^{-1}$ (LR)	$k_2 \times 10^3 / \text{min}^{-1}$ (LR)
7.0	0.1	17.3 (0.985)	70.7 (0.957)
	0.001	11.2 (0.982)	10.2 (0.997)
5.0	0.1	11.7 (0.996)	52.7 (0.992)
	0.001	—	—
3.0	0.1	19.9 (0.996)	74.4 (0.991)
	0.001	12.8 (0.982)	46.3 (0.981)

注:LR—线性回归系数。

3 结论

采用轴对称滴形分析法检测了初始体相蛋白质质量分数和pH值对空气-水界面上大豆11S球蛋白吸附动力学的影响。在吸附的初始阶段(约为 $\pi < 10$ mN/m),扩散控制吸附动力学;而当表面压力较高时,蛋白质分子在界面上的展开和重排控制吸附动力学。吸附速率随初始体相蛋白质质量分数的增加而增大,受pH值的影响尤为明显。当pH=3.0时,蛋白质在空气-水界面上的吸附较pH=7.0时要快;而当pH=5.0时,吸附明显下降,且存在明显的诱导期。当pH=5.0且体相蛋白质质量分数低于0.1%时,在180 min内,11S球蛋白分子并不吸附到空气-水界面上,因而不能发泡。

参考文献:

- [1] 谌国莲,孙远明,黄晓钰,等. 中国凉粉草资源的研究与利用[J]. 农牧产品开发, 2000, 7(5): 6-8.
- [2] 黄健豪,赵为康. 利乐无菌纸盒包装凉粉的研制[J]. 广州食品工业科技, 1998, 14(3): 42-44.
- [3] Lapasin R, Prici S. Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Application[M]. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1995: 250-494.
- [4] Mitchell J R. Rheology of polysaccharides solutions and gels[M]. Boston: Butterworth, 1979: 51-91.
- [5] Ross-Murphy S B. Biophysical Methods in Food Research[M]. UK: Blackwell Scientific Publications, 1984: 138-199.
- [6] Lai L S, Tung J, Lin P S. Solution properties of hsian-tsaio (*Mesona procumbens* hemsl) leaf gum[J]. **Food Hydrocolloids**, 2000, 14: 287-294.
- [7] Lai Lih-Shiuh, Chiang Hsin-Fang. Rheology of decolorized hsian-tsaio leaf gum in the dilute domain[J]. **Food Hydrocolloids**, 2002, 16: 427-440.
- [8] Morris E R, Cutler A N, Ross-Murphy S B, et al. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharides solution[J]. **Carbohydrate Polymer**, 1981, 1(1): 5-21.
- [9] Ellis H S, Ring S G. A study of some factors influencing amylose gelation[J]. **Carbohydrate Polymer**, 1985, 5(5): 201-213.
- [10] Shatwell K P, Sutherland I W, Ross-Murphy S B. Influence of acetyl and pyruvate substituents on the solution properties of xanthan polysaccharide[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1990, 12(2): 71-78.
- [11] Doubier J L, Launay B. Rheology of galactomannan solutions; comparative study of guar gum and locust bean gum[J]. **Journal of Texture Study**, 1981, 12(2): 151-172.
- [12] Seale R, Morris E R, Rees D A. Interactions of alginates with univalent cations[J]. **Carbohydrate Research**, 1982, 110: 101-112.
- [13] Pereira M C, Wyn-Jones E, Morris E R. Characterization of interchain association in polysaccharide solutions by ultrasonic relaxation and velocity[J]. **Carbohydrate Polymer**, 1982, 2(2): 103-113.
- [14] Axelos M A V, Thibault J F. Structure of citrus pectins and viscometric study of their solution properties[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1989, 11: 186-191.
- [15] Gravanis G, Milas M, Clark-Sturman A J. Rheological behavior of a succinolycan polysaccharide in dilute and semi-dilute solution[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 1990, 12: 201-206.
- [16] Robinson G, Ross-Murphy S B, Morris E R. Viscosity-molecular weight relationships, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan[J]. **Carbohydrate Research**, 1982, 107: 17-32.
- [17] Cleland R L, Wang J L. Ionic polysaccharides. III. Dilute solution properties of hyaluronic acid fractions [J]. **Biopolymers**, 1970, 9(7): 799-810.

(责任编辑:秦和平,杨萌)

(上接第62页)

- [6] Martin A H, Bos M A, van Vliet T. Interfacial rheological properties and conformational aspects of soy glycinin at the air/water interface [J]. **Food Hydrocolloids**, 2002, 16: 63-71.
- [7] Nagano T, Hirotsuka M, Mori H. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybeans[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1992, 40: 941-948.
- [8] MacRitchie F. Protein adsorption/desorption at fluid interfaces[J]. **Colloids Surfaces**, 1989, 41: 25-31.
- [9] Ward A F H, Tordai L. Time dependence of boundary tensions of solutions. I. The role of diffusion in time effects[J]. **Journal of Chemistry and Physics**, 1946, 14: 453-461.
- [10] Rodriguez Patino J M, Carrera C, Molina S, et al. Adsorption of soy globulin films at the air water interface[J]. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, 2004, 43: 1681-1689.
- [11] Rodriguez Patino J M, Rodriguez Nino Ma, Carrera C. Adsorption of whey protein isolate at the oil-water interface as a function of processing conditions: a rheokinetic study[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1999, 47: 2241-2248.

(责任编辑:秦和平,杨萌)