

改性水解明胶的理化性质分析

——热力学和流变学性质

安广杰¹, 王 璋²

(1. 郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南 郑州 40002 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 本实验对改性水解明胶的流变学性质、热力学性质进行了研究。结果表明, 相对于水解明胶而言, 改性水解明胶的变性温度范围较窄, 焓变升高。改性水解明胶溶液的黏度随浓度的升高而升高, 但是改性水解明胶在质量浓度为 30% 时还具有较好的流动性。温度对改性水解明胶溶液黏度的影响很大, 黏度与温度的关系符合 Arrhenius 模型 $\lg \eta = \lg A + E_a/2.303RT$ 。在剪切速率较低的范围内, 溶液呈现一种剪切变稀的假塑性流体状态。在剪切速率高于 $30 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ 时, 呈现牛顿流体的状态。

关键词: 改性水解明胶; 理化性质; 流变学性质; 热力学性质

Analysis of Physicochemical Properties of Denaturalized Hydrolyzed Gelatin ——Rheology Properties and Thermodynamics Properties

AN Guang-jie¹, WANG Zhang²

(1. School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China
2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Rheology properties and thermodynamics properties of the denaturalized hydrolyzed gelatin were studied in this paper. Results showed that the denaturalizing temperature range of denaturalized hydrolyzed gelatin became narrower and

收稿日期: 2007-06-12

作者简介: 安广杰(1974-), 女, 博士, 研究方向为农产品贮藏与加工。

表 2 树头发提取物与苯甲酸钠、山梨酸钾抑菌性能的比较
(以 MIC 表示)

Table 2 Comparison of antimicrobial activity among *pterula umbrinella* Bres. extract, sodium benzoate and sodium sorbate
(based on MIC)

供试菌种	树头发提取物	苯甲酸钠	山梨酸钾
大肠杆菌	0.5	0.4	0.5
枯草芽孢杆菌	0.5	0.4	0.4
金黄色葡萄球菌	1.0	0.5	0.4
啤酒酵母	3.0	0.8	0.7
赤酵母	3.0	0.9	0.6
黑曲霉	2.5	0.7	0.6
桔青霉	2.5	0.6	0.5

别置于 80、100℃ 水浴和 121℃ 温热条件下, 热处理 15min, 冷却后测最低抑菌浓度(MIC), 测得对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、啤酒酵母、赤酵母、黑曲霉和桔青霉的最低抑菌浓度分别为 0.5%、0.5%、1.0%、3.0%、3.0%、2.5%、2.5%, 实验结

果表明, 高温对树头发提取物的抑菌能力无明显影响。

3 讨 论

有关树头发提取物对细菌、酵母菌和霉菌的抑制作用研究, 在国内外尚未见报道。我们做了这方面的研究工作, 结果显示树头发提取物对供试的细菌、酵母菌、霉菌有抑制作用, 其中对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的抑制作用较为显著, 对供试酵母和霉菌的抑制作用相对较弱。与目前常用的食品防腐剂苯甲酸钠、山梨酸钾相比, 树头发提取物对供试的细菌抑制能力较强, 树头发在天然食品防腐剂和药用等方面具有一定的开发价值。

参考文献:

- [1] 《全国中草药汇编》汇编组. 全国中草药汇编: 下册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 420.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典: 下册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1986: 1536.

enthalpy variety was higher than that of hydrolyzed gelatin. Viscosity of denaturalized hydrolyzed gelatin solution became higher with higher concentration, but solution had good fluidity even if the concentration was 30%. Temperature had significant effect on the viscosity, and the relativity accorded with Arrhenius model: $\lg \eta = \lg A + E_a/2.303RT$. Denaturalized hydrolyzed gelatin solution appeared to be a shear thinner liquid state when the shear rate was at lower range, but when the shear rate was above 30 Pa·s, it became Newton liquid.

Key words denaturalized hydrolyzed gelatin; physicochemical property; rheology property; thermodynamics property

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0068-05

一般蛋白质的物理化学性质包括溶解性、吸水以及持水性能、黏度、凝胶、凝聚—黏附性、黏弹性、乳化性、起泡性和热力学性质等。现代食品化学的研究证明, 改性可显著提高蛋白质的功能性质, 目前对蛋白质及多肽改性方面的研究一般包括物理改性、化学改性、酶法改性和基因工程改性等, 随着研究的进一步深入, 复合改性也越来越引起人们的重视。其中, 类蛋白反应作为一种改性的方式也日益被重视。许多国家的研究小组都开始向通过类蛋白反应改善蛋白质的功能性质方向努力^[1-2]。直到现在, 人们一直试图利用多种蛋白水解物来试图提高蛋白质的功能性质、营养价值以及风味等品质, 但在大规模工业化生产上一直还未实现突破。

类蛋白反应通常被认为是酶水解反应的逆反应, 但类蛋白反应的条件一般为高底物浓度, 合成反应的 pH 值一般也与水解反应相差较远, 所以在一定的反应条件下, 水解与合成反应的速度并不相等, 并且由于在类蛋白合成反应中形成了新的作用力, 引起了改性水解明胶与蛋白质或多肽化学组成及空间结构上的差异, 从而也导致了改性水解明胶理化性质的变化^[3]。例如, 类蛋白物根据浓度的不同可以形成触变凝胶或触变黏溶液, 并且具有较宽的 pH 值稳定范围和温度范围(至少在 0~70℃)。类蛋白反应为生产高营养性、低热量的增稠剂和胶凝剂及其在新食品中的应用提供了一条可行的途径, 此途径可以降低过敏反应, 因为众所周知, 蛋白水解物与天然蛋白质相比有较低的致敏性。这些物理性质在食品行业具有重要的用途, 了解类蛋白物的理化性质是将其应用于食品及其它行业的理论基础。

本研究改性水解明胶的流变学性质、热力学性质, 以期改性水解明胶的应用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

水解明胶和 DL-蛋氨酸月桂酯 实验室自制; 乙醇、月桂醇和丙酮等均为分析纯; 木瓜蛋白酶(800000U/g) 台湾 Trump 化学试剂公司。

1.2 仪器与设备

超级恒温水浴锅 上海市实验仪器厂; LG-3 型多用冰冻干燥机 宁波市生化仪器厂; 90-2 型定时恒温磁力搅拌器 上海沪西分析仪器厂; 722 型光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂; Jand & Kunkel Ultraturrax T25 型高速分散器 IKAR-Labortechnik 公司; PYRIS-1 差示扫描量热仪(DSC) 英国 Perkin Elmer 公司; AR1000 流变仪 英国 TA 公司; 320-S pH 计 梅特勒-托利多公司; HH-2 数显电热恒温水浴锅 江苏金坛市荣华仪器制造有限公司; 旋转蒸发仪 河南巩义市机械厂; XW-80A 漩涡混合器 上海医科大学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 热力学性质分析

差示扫描量热法^[4]。称取 10mg 左右烘干的待测样品, 并且密封于专用样品盒中, 采用 PYRIS-1 型 DSC, 在扫描温度为 40~200℃的范围, 升温速率为 10℃/min 的条件下, 测定变性峰的峰温度和变性焓。用专门软件进行数据记录和处理得到 DSC 曲线, 峰值点对应的温度为变性温度, 曲线形成的峰所包括的面积为蛋白质变性所吸收的热量。

1.3.2 改性水解明胶流变性的变化

采用 AR1000 流变仪法测定改性水解明胶的黏度, 选用直径为 40mm 的平行板系统, 平行板的间距为 1mm。

1.3.2.1 黏度随温度的变化

将配好的质量浓度为 40% 的改性水解明胶溶液加入到 AR1000 流变仪的不锈钢平行板系统并从 20℃开始以 10℃/min 的速度升温至 60℃, 在剪切速率为 100s⁻¹ 的条

件下测定升温过程中的黏度变化。

1.3.2.2 不同质量浓度的黏度变化

在 25℃ 条件下, 用测定浓度为 5%、10%、20%、30% 和 40% 改性水解明胶水溶液的表观黏度。

1.3.2.3 不同剪切速率下的黏度变化

在 20℃ 的条件下, 将配好的质量浓度为 20% 的改性水解明胶溶液加入到 AR1000 流变仪的不锈钢平行板系统中, 将剪切速率从 0~800 s⁻¹ 测定黏度变化。

1.3.2.4 改性水解明胶的制备

参考 Yamashita 等的一步法进行^[5]。称取一定量的水解明胶加入至一定 pH 的缓冲溶液中, 充分溶解, 然后加入蛋氨酸酯, 再加入木瓜蛋白酶和适量的 L-半胱氨酸进行反应。以蛋氨酸月桂酯作为改性剂时须加入 20% 丙酮碳酸盐缓冲溶液, 其他条件同上。测定不同时间对反应进程的影响时, 分别在相应反应时间取样, 用最终 80% 乙醇浓度沉淀样品并洗涤, 沉淀产物经干燥获得干品。

2 结果与分析

2.1 改性水解明胶与水解明胶的热力学性质

当试样在加热过程中由于热效应与参比物之间出现温度差时, 通过差热放大电路和差动热量补偿放大器, 使流入补偿电热丝的电流发生变化。当试样吸热时, 补偿放大使试样一边的电流增大; 当试样放热时, 补偿放大则使参比物一边的电流增大, 直至两边热量平衡, 始终保持 $\Delta T=0$ 。所以实际记录的是试样和参比物下面两只电热补偿的热功率之差, 随时间 t 的变化。如果升温速率恒定, 记录的也就是热功率之差随温度 T 的变化。峰的位置、形状和峰的数目与物质的性质有关。故可

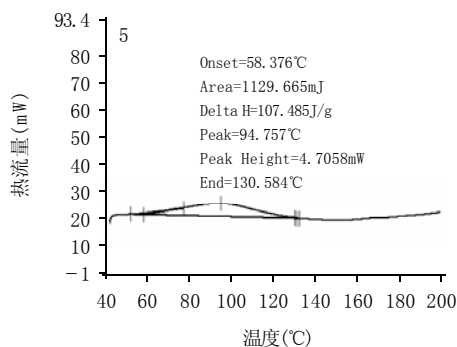


图1 改性水解明胶的差示扫描量热图谱

Fig.1 DSC graph of denaturalized hydrolyzed gelatin

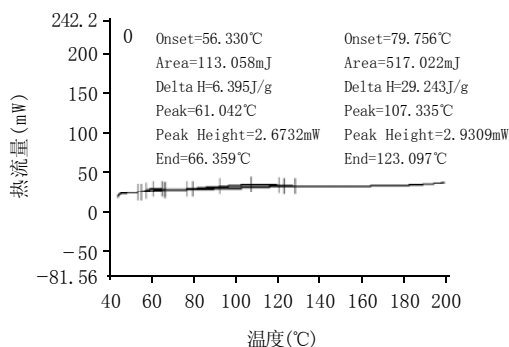


图2 水解明胶的差示扫描量热图谱

Fig.2 DSC graph of hydrolyzed gelatin

以定性的来鉴定物质, 而峰面积的大小与反应的热焓有关, 即 $\Delta H=KS$ 。式中, K 为仪器常数, 与温度无关, S 为峰的面积^[4,6]。

由图 2 可知, 水解明胶的变性温度在一个较宽的范围, 共有两个较小的变性峰出现, 分别位于 55.330~66.359、79.756~123.097℃ 温度范围, 同时二者的焓变都比较小, 分别为 6.395、29.243J/g。说明水解明胶的组成较为复杂, 并且在分子内部和分子之间无较强的作用力存在, 没有了如胶原蛋白一样的空间结构, 以一种已完全变性的多肽形式存在。

相对于水解明胶而言, 改性水解明胶的变性温度范围较窄, 为 58.376~130.584℃, 其焓变也比较大为 107.485J/g。经过类蛋白反应法改性的水解明胶的热稳定性增加了, 说明改性水解明胶不仅仅是氢键结合, 还有键能更高的其它键的结合, 因为在改性水解明胶中可能存在着范德华引力、疏水相互作用、氢键、离子键和共价键, 范德华引力是很微弱的, 氢键的键能为 18.83kJ/mol, 离子键的键能要强得多, 达到 41.84~54.39kJ/mol, 而共价键的键能更高, 达到 292.88~351.46kJ/mol, 因键能越高, 热焓越大。

表1 差示扫描量热数据

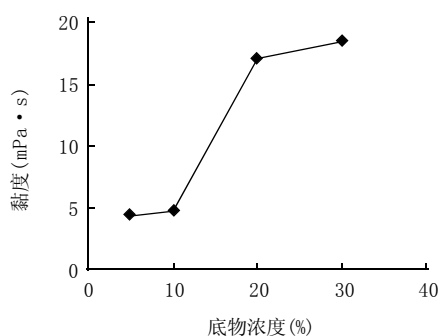
Table 1 Data of DSC

样品	变性温度(℃)		变性热(J/g)	
	峰1	峰2	峰1	峰2
水解明胶	61.042	107.335	6.395	29.243
改性水解明胶	94.757	—	107.485	—

2.2 改性水解明胶的流变学性质

2.2.1 不同浓度条件下的黏度变化

在 25℃ 条件下, 质量浓度分别为 5%、10%、20%、30% 的类蛋白溶液的黏度变化见图 3。从图 3 中可以看



温度为 25℃；剪切速率为 100s^{-1} 。

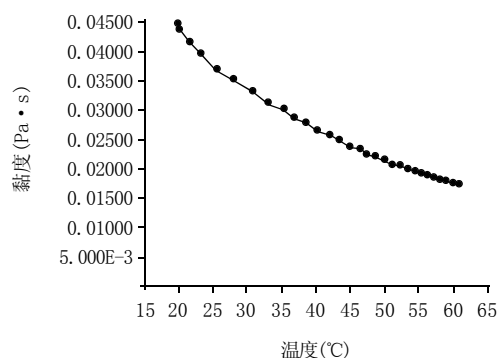
图3 底物浓度对改性水解明胶溶液黏度的影响

Fig.3 Effects of concentration on viscosity of denaturalized hydrolyzed gelatin solution

出, 改性水解明胶的浓度从 5% 增加到 10% 时, 溶液的黏度变化不大; 当改性水解明胶的浓度从 10% 增加到 30% 时, 溶液的黏度明显增大, 30% 时溶液的黏度比 10% 时增加了 $14\text{mPa}\cdot\text{s}$, 当底物浓度从 20% 增加至 30% 时, 黏度变化不大, 即使这样改性水解明胶在质量浓度为 30% 时还具有较好的流动性。因为在粒子浓度较小的分散体系中, 粒子之间彼此相互独立, 互不影响, 分散体系没有固定的结构, 随着粒子浓度的增加, 粒子之间的距离变小, 粒子之间的相互吸引力作用占主导地位, 这时粒子间彼此集结形成松散的三维网状结构, 所以在一定的剪切速率下, 高浓度的溶液一般表现出较高的黏度。天然的胶原蛋白结构紧密不溶于水, 当胶原蛋白被轻度水解后, 其结构被破坏形成黏度较大的明胶, 当明胶被进一步水解后, 其分子降解, 体积变小, 黏度下降。对于由水解明胶改性而成的改性水解明胶, 其平均相对分子质量有所增大, 但其黏度仍然较低, 这在一定程度上也有利于改性水解明胶的应用。

2.2.2 温度对改性水解明胶的黏度的影响

改性水解明胶溶液的黏度随温度的变化规律如图 4 所示。由图可知, 在 20~60℃ 的温度范围内, 溶液的黏度随温度的上升而呈明显的下降趋势, 从 20℃ 时的 $44.74\text{mPa}\cdot\text{s}$ 下降至 60℃ 时的 $17.36\text{mPa}\cdot\text{s}$ 。可见温度对改性水解明胶溶液黏度的影响很大。这是由于随着温度的升高, 改性水解明胶分子的布朗运动也加剧, 分子的流动阻力减小, 所以使溶液的黏度下降。流体的流动活化能的大小反映了高聚物流动所需克服的能量, 一般分子链愈刚性, 或分子间相互作用力愈大, 则流动所需的活化能愈高, 这类高聚物的黏度对温度有较大的敏感性。由图 5 可知, 改性水解明胶溶液的黏度与温



类蛋白溶液浓度为 40%；剪切速率为 100s^{-1} 。

图4 温度对改性水解明胶黏度的影响

Fig.4 Effects of temperature on viscosity of denaturalized hydrolyzed gelatin solution

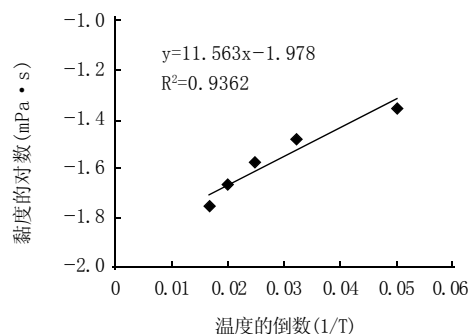


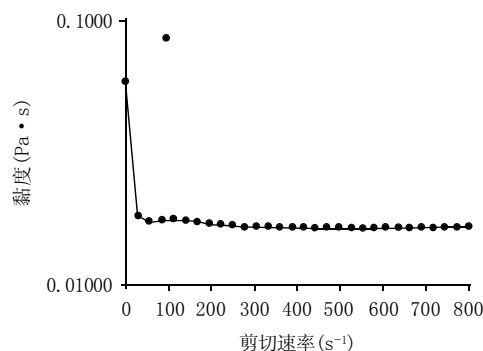
图5 改性水解明胶溶液黏度与温度的关系

Fig.5 Relationship of temperature and viscosity of denaturalized hydrolyzed gelatin solution

度的关系符合 Arrhenius 模型 $\lg \eta = \lg A + E_a/2.303RT$, 可用 $\lg \eta = -1.8978 + 11.5631/T$ 来表示, 由斜率可求出其活化能为 0.22kJ/mol 。

2.2.3 黏度随剪切速率的变化

在 25℃ 的条件下, 20% 的改性水解明胶溶液的黏度随剪切速率的变化如图 6 所示。由图 6 可知, 在剪切速



类蛋白溶液浓度为 40%；温度为 25℃。

图6 不同剪切速率下的改性水解明胶溶液的黏度

Fig.6 Viscosity of denaturalized hydrolyzed gelatin solution at different shear rate

率为 $0\sim 30\text{s}^{-1}$ 范围内, 溶液黏度随剪切速率的增加而下降(从 $60\text{mPa}\cdot\text{s}$ 下降到 $18\text{mPa}\cdot\text{s}$), 说明在此范围内溶液呈现一种剪切变稀的假塑性流体状态。其原因在于具有一定空间结构的改性水解明胶分子链在较大的剪切应力作用下, 发生了沿着受力方向的取向作用, 减小了流层间的作用力, 而使溶液黏度明显下降。在剪切速率为 $30\sim 440\text{mPa}\cdot\text{s}$ 的范围内, 溶液的黏度仅略有下降, 随着剪切速率的进一步提高, 溶液的黏度基本维持在 $16\text{mPa}\cdot\text{s}$ 左右, 呈现牛顿流体的状态。我们知道, 体系的流变性质反应了分散体系结构发生变形的信息。当剪切速率很小时, 剪切应力小, 网状结构不能被破坏, 在流变曲线上表现为分散体系具有较大的黏度。增大剪切速率后, 机械外力使体系的空间结构变形且流动, 体系的黏度降低, 即剪切变稀。再增大剪切速率后, 机械作用使体系的网状结构破坏成单个粒子, 流变曲线又呈现出牛顿流体的性质。

3 结 论

本实验通过对改性水解明胶的流变学性质、热力学性质的研究得出以下结论。

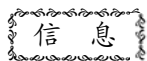
3.1 相对于水解明胶而言, 改性水解明胶的变性温度范围较窄, 为 $58.376\sim 130.584^{\circ}\text{C}$, 其焓变也升高为 107.485J/g 。说明经过类蛋白反应法改性的水解明胶的稳

定性增加了, 这是因为改性水解明胶不仅仅是氢键结合, 还有键能更高的其它键的结合。

3.2 改性水解明胶溶液的黏度随浓度的升高而升高, 即使这样, 改性水解明胶在质量浓度为 30% 时还具有较好的流动性。温度对改性水解明胶溶液黏度的影响很大。另外, 改性水解明胶溶液的黏度与温度的关系符合 Arrhenius 模型 $\lg \eta = \lg A + E_a/2.303RT$, 可用 $\lg \eta = -1.8978 + 11.5631/T$ 来表示, 由斜率可求出其活化能为 0.22kJ/mol 。在剪切速率为 $0\sim 30\text{s}^{-1}$ 范围内, 溶液黏度随剪切速率的增加而下降, 说明在此范围内溶液呈现一种剪切变稀的假塑性流体状态。在剪切速率为 $30\sim 440\text{mPa}\cdot\text{s}$ 的范围内, 溶液的黏度仅略有下降, 随着剪切速率的进一步提高, 溶液的黏度基本不变, 呈现牛顿流体的状态。

参考文献:

- [1] GREENBAUM H M, FRUTON J S. Purification and properties of beef spleen cathepsin[J]. B J Biol Chem, 1957, 226: 173.
- [2] FUJII S, FRUTON J S. Transamidation reactions catalyzed by cathepsins [J]. J Biol Chem, 1958, 230: 1-5.
- [3] 安广杰, 王璋. 类蛋白法改性水解明胶的机理研究[J]. 食品与生物技术, 2006, 25(1): 26-29.
- [4] 蔡正千. 热分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993: 197-200.
- [5] 安广杰, 王璋. 类蛋白反应改性水解明胶的条件研究[J]. 食品与发酵工业, 2005(3): 87-90.
- [6] 黄海. DSC在食品中的运用[J]. 食品与机械, 2002, 88(2): 6-9.



科学家发明用脂肪杀死肿瘤细胞的方法

来自斯洛伐克的科学家最近从人类脂肪中分离出了间质干细胞, 并且将它们加工成“自杀基因”, 以寻找并破坏肿瘤细胞。这是一种全新的基因疗法, 可以攻击那些躲避现有诊断和治疗技术的小型肿瘤, 结果发表在 7 月 1 日的《Cancer Research》上。

斯洛伐克科学院的 Cestmir Altaner 是项目负责人, 他说: “每个人都有多余的脂肪, 它们可以成为治疗肿瘤的资源。” 间质干细胞通过替代受损细胞来修复组织和器官。它们同样可以和正常细胞、癌细胞一起组成肿瘤。科学家认为, 干细胞能发现肿瘤并移动到肿瘤细胞处, 因此它们可被用来进行治疗。这些干细胞还具有一定的可塑性, 通过给定的环境而转变为特定细胞。

分离出干细胞后, 科学家找到了比传统化疗试剂 5-FU 毒性小的治疗肠癌方法。他们在实验室培养了间质干细胞, 然后用逆转录酶将胞嘧啶脱氨基因插入细胞。这一基因能将毒性较小的 5-FC 在干细胞内转化为 5-FU, 然后化疗就可以对肿瘤产生效力。

在失去免疫能力的植入了人类肠癌的老鼠中, 科学家首先注入了加工后的间质干细胞, 然后是 5-FC。结果发现对肿瘤生长的抑制达到了 68.5%, 并且没有老鼠表现出毒副作用。间质干细胞能从多处得到提取, 包括骨髓, 但是其产量不如从脂肪组织获取。这些从其它组织中获取间质干细胞的方法要比从患者骨髓中获取简单。