

大豆蛋白-多糖干热制备复合物及其反应机理研究

(II) 功能性质的改善

齐军茹¹, 杨晓泉¹, 廖劲松², 彭志英¹

(1.华南理工大学食物蛋白工程研究中心, 广东 广州 510640;

2.华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631)

摘 要: 对 SAPP 与葡聚糖(DEX)复合物的乳化活性以及乳化稳定性等功能性质进行系统研究。结果表明, 干热反应产物在 pH3.0 以及 pH10.0 时保持好的乳化活性; 并且在高温、高盐条件下乳化活性变化很小。对反应产物进行差示扫描(DSC)分析, 进一步证实蛋白已经与多糖结合反应生成新的化合物, 该产物热稳定性很高, 比原有蛋白的变性温度提高了几乎两倍。

关键词: 大豆酸沉蛋白; 功能性质; Maillard 反应; 葡聚糖

Preparation of Soy Protein-Polysaccharide Conjugates Obtained by Dry-heated Storage and Reaction Mechanism Study

(II) The Improvement of Function Properties of Protein-Polysaccharide Conjugates

QI Jun-ru¹, YANG Xiao-quan¹, LIAO Jin-song², PENG Zhi-ying¹

(1.Food Protein Engineering Research Center, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2.College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: Functional properties of Soybean acid precipitated protein(SAPP)-dextran conjugate were studied systematically. It showed that the excellent emulsifying properties of SAPP-dextran conjugate were maintained evenly at pH3.0 and were further improved at pH 10.0. In addition, the emulsifying properties of SAPP-dextran conjugate were changed slightly by preheating the conjugate at 100°C or with high concentration salt. SAPP-dextran conjugate was analyzed by Differential Scanning Calorimetry (DSC) during dry-heating storage for 5 days. It further proved that new compound obtained by protein was conjugated with polysaccharide. The new product is having high temperature of denaturation, almost 2 times higher than the original SAPP.

Key words: SAPP; function properties; Maillard; dextran

中图分类号: Q513.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0061-04

蛋白-多糖共价复合物作为一个既有乳化能力又有稳定能力的整体存在, 对于环境条件具有较高的适应性, 与以次级力结合的蛋白质-多糖体系相比, 其结合不受热或 pH 值的影响^[8,9]。就乳化性能而言, 这种复合物优于某些小分子乳化剂^[7]; 研究中还发现引入多糖形成共价复合物后, 蛋白质的溶解度、抗氧化、抗菌性以及热稳定性等性能提高。从发展新型食品添加剂、药品和化妆品的观点出发, Maillard 型蛋白质-多糖结

合的各种功能特性的改善应得以报道。

本文将 SAPP 与葡聚糖发生 Maillard 反应后产物的功能性质做了一系列研究讨论, 详细分析了酸碱以及高温条件下的乳化活性, 以探讨与多糖的共价连结对蛋白功能性质改善的机理。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期: 2005-01-17

基金项目: 广东省“十五”攻关农产品加工重大专项(A20301); 广东省自然科学基金博士科研启动基金(05300173)

作者简介: 齐军茹(1977-), 女, 讲师, 博士, 主要从事食品生物技术及蛋白质工程的研究。

大豆低温脱脂豆粕 山东东营蛋白厂；

葡聚糖(60000~90000) Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机(Hermle) 德国；CS501 超级恒温水浴锅 上海浦东跃欣科学仪器厂；7520 型分光光度计 上海分析仪器厂；高速分散均质机 FJ-200 上海标本模型厂；LGJ-10 冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂；pHS-25 酸度计 上海雷磁仪器厂；差示扫描量热仪 DSC-2C 美国 P-E 公司。

1.3 方法

1.3.1 大豆酸沉蛋白(SAPP)的制备

SAPP 的制备根据 Iwabuchi 等^[4]的方法。

1.3.2 SAPP—葡聚糖交联

同前文^[5]。

1.3.3 乳化活性的测定^[6]

乳化活性指数(EAI)按比浊度方法计算。

1.3.3.1 高盐对乳化活性的影响

0.1mol/L 磷酸缓冲液(pH7.0)中含有 0.2mol/L NaCl, 将反应 5d 的样品用上述缓冲液配制成 0.2% 的溶液, 乳化活性测定方法同 1.3.3。

1.3.3.2 不同 pH 条件下乳化活性的测定

样品分别用 0.1mol/L 柠檬酸缓冲液(pH3.0); 磷酸缓冲液(pH7.0); 碳酸盐缓冲液(pH10.0)配制成 0.2% 的溶液, 乳化活性测定方法同 1.3.3。

1.3.3.3 高温对乳化活性的影响

将 0.2% 样品溶解液(0.1mol/L 磷酸缓冲液 pH7.0)在 100℃ 保温 5min, 后测定乳化活性, 乳化活性测定方法同 1.3.3。

1.3.4 乳化稳定性的测定^[7]

将乳化活性(EA)测定中制备的样品在 25℃ 静置 24h, 测定 EAI; 然后于 80℃ 加热 30min, 水浴降温至 25℃ 后, 再测其 EAI。乳化稳定性指数以下式表示:

$$\Delta \text{EAI}(\%) = \frac{\text{EAI}(25^\circ\text{C}) - \text{EAI}(80^\circ\text{C})}{\text{EAI}(25^\circ\text{C})} \times 100$$

1.3.5 溶解性的测定^[8]

不同 pH 缓冲液配制成 0.2% 的样品液, 溶解稳定后, 8000 × g 离心 20min, 上清液中蛋白质含量与原蛋白含量的比值即为溶解度指标。

1.3.6 热性质分析

样品配制成 20% 悬浮液, 氮气的速率为 40ml/min, 铂(T=156.6℃)作为温度校正标准, 参比池为空白铝盒。样品重量约为 8.0~10.0mg, 扫描速率为 10.00deg/min, 扫描温度范围为室温~160℃。

2 结果与讨论

2.1 功能性质

2.1.1 高盐条件下复合物乳化活性的变化

图 1 所示, 当缓冲液中含有 0.2mol/L NaCl 时, 其复合物的乳化活性并没有因为高盐的存在而受影响。高盐、酸性条件及高温在工业生产中是经常面临的工艺条件, 由此看出, SAPP—多糖反应物在食品工业中有着巨大的应用潜力。

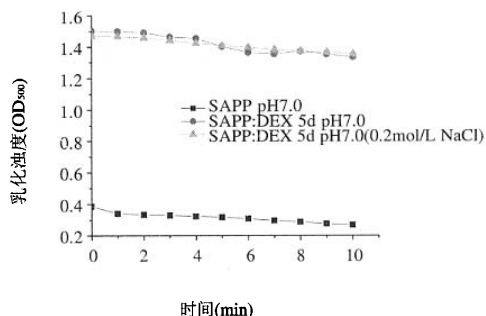


图 1 高盐对乳化活性的影响

Fig.1 Effects of high concentration salt on the emulsifying properties of SAPP-Dextran conjugate

2.1.2 pH 对乳化活性的影响

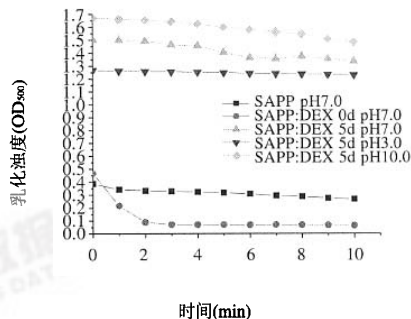


图 2 pH 对乳化活性的影响

Fig.2 Effects of various pH on the emulsifying properties of SAPP-Dextran conjugate

由图所示, 该复合物在酸性条件下乳化活性相当稳定, 在强碱性条件下, 复合物的乳化性能和稳定性更加优越, 这可能是由于碱性条件下更有利于蛋白质吸附在分散粒子的表面并让其亲水链伸入水相, 形成在胶粒表面的吸附膜以降低其表面张力, 而复合物中的多糖则围绕着胶粒的空间保护层以阻止胶粒的聚集而使乳化稳定。

2.1.3 高温对乳化活性的影响

图 3 显示反应 5d 后的样品在 100℃ 保温 3min 后其乳化活性改变很小, 且没有发现不可溶物的产生。蛋白质分子上共价结合的多糖链长超过一定的范围时, 长链多

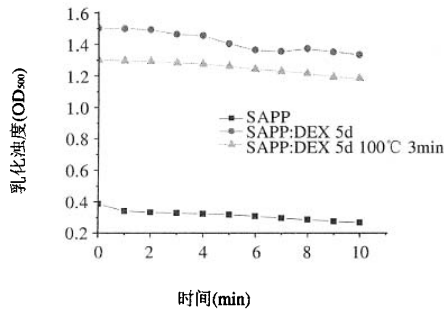


图3 高温对乳化活性的影响

Fig.3 Effects of heating of sample on the emulsifying properties of SAPP-Dextran conjugate

糖的位阻效应就会阻止受热展开的蛋白分子聚集,从而使得复合物在高温下保持较好的乳化性能。这点对于蛋白质在食品工业中应用非常有效,食品原料在加工过程中一般要经过巴氏灭菌,高温处理对于食品工业生产非常普遍,所以蛋白与多糖的相互交联在各种功能蛋白食品应用中有非常广阔的前景。

2.2 不同 pH 条件下乳化稳定性的变化

表1 蛋白-葡聚糖复合物乳化稳定性(ΔEAI%)
Table 1 Emulsion stability of SAPP-Dextran conjugates

	pH					
	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0
APP	20.25	12.11	10.24	18.31	16.19	14.58
APP:DEX 混合物	21.68	14.25	8.69	16.32	15.29	13.97
干热 1d	10.64	6.17	6.09	10.54	9.26	8.01
干热 3d	5.74	4.62	4.25	5.96	6.19	5.98
干热 5d	3.21	3.35	3.11	3.29	3.07	3.15

乳化稳定性表征乳化体系维持两相稳定存在的能力。由表1所示,SAPP以及SAPP与葡聚糖1:1混合物的ΔEAI%随着pH值不同有很明显的变化;一般情况下,SAPP处于等电点时几乎不溶,因此不能形成足够的界面来稳定油滴,不利于乳化特性的发挥,在pH4.0处原本EA很低的SAPP,经实验条件下存放后,其EA变化幅度很小,表现为ΔEAI%数值低。干热反应后,不同pH条件下的ΔEAI%比较相近,反应3d后的ΔEAI%数值在4.25~6.19之间变化,反应5d后的ΔEAI%数值则在3.0左右,说明共价键连结的大分子的出现使其稳定性在不同pH条件下均几乎不受影响。

2.3 SAPP-葡聚糖反应物溶解性的变化

由图4可知,SAPP在pH4~6时几乎完全不溶解,经过Maillard反应后其溶解性能得到非常明显的改善,复合物在pH2~12的范围内始终保持了良好的溶解度,随着反应时间的延长,SAPP-葡聚糖复合物的溶解度逐渐增加,这种性质是蛋白与多糖的复配型混合物所不具备的。可见通过反应形成的共价复合物中由于多糖链

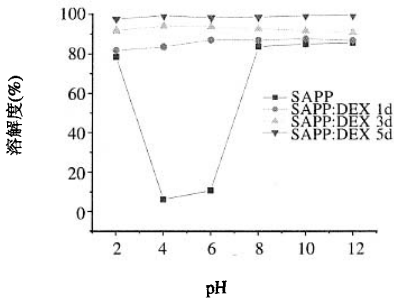
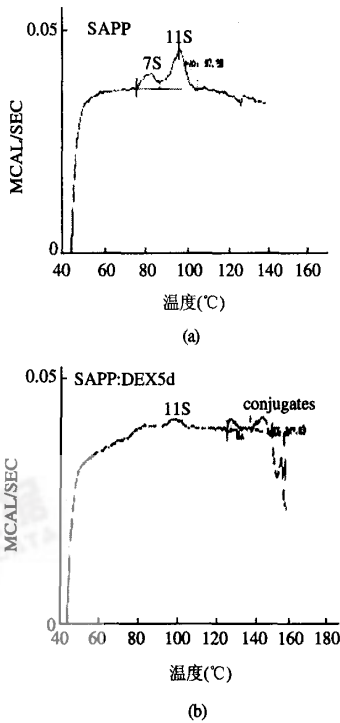


图4 反应不同时间蛋白溶解性的变化

Fig.4 Solubility of SAPP-Dextran conjugates during different days

的引入,多羟基的亲水性使得整个分子的溶解性能显著提高。

2.4 热性质分析



(a).SAPP与葡聚糖1:1混合物;(b).SAPP与葡聚糖1:1干热反应5d。

图5 反应前后SAPP与葡聚糖的DSC图谱
Fig.5 DSC profile of SAPP and dextran

图5中显示SAPP的DSC曲线可以看出明显的2个峰,第1峰是7S球蛋白变性峰,第2峰是11S球蛋白变性峰。7S和11S球蛋白的变性温度分别为83.34℃和97.29℃。吸收热量不同是因为11S球蛋白与7S球蛋白的分子结构不同。SAPP与葡聚糖干热反应5d产物与SAPP的DSC曲线有明显的区别,首先反应后7S球蛋白

Enzymatic Hydrolysis of Caseins by Two Different Proteases and Their Effect on Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates

SINDAYIKENGERA Séverin, XIA Wen-shui*

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

Abstract: Sodium caseinate (88.03% protein based on dry weight) was hydrolyzed by Alcalase 2.4L and Protamex to 5%, 10%, 15% and 20% degree of hydrolysis (DH) respectively. Sodium caseinate and its hydrolysates were analyzed, compared and used for measuring some functional properties. All hydrolysates were different from intact sodium caseinate in protein, moisture, and ash content. Free amino groups increased through the course of hydrolysis and the increase was related to DH. From HPLC data, the produced peptides had smaller molecular sizes and their average molecular weight (M_w) was below 8103Da. M_w decreased as the DH increased while all the resulting peptides after 15% DH showed 20% DH showed M_w below 5043 Da for both alcalase 2.4L and protamex. Protein solubility increased with increasing DH and all hydrolysates were from 84.8%~98% soluble between pH4.0~5.0 at 10%~20% DH. This result indicated solubility improvement of sodium caseinate at its isoelectric pH. All hydrolysates showed poor emulsifying and foaming properties comparatively to the unmodified sodium caseinate even if they formed high initial foam levels (59.03 ± 0.15 ml to 43.12 ± 0.67 ml). The global amino acid compositions did not differ significantly between the different hydrolysates and they were very close among sodium caseinate and its hydrolysates.

Key words: sodium caseinate; enzymatic hydrolysis; functional properties; Alcalase 2.4L; Protamex

收稿日期: 2005-03-31

* 通讯作者

作者简介: Sindayikengera Séverin(1963-), 男, 博士研究生, 研究方向为功能性食品。国籍: 布隆迪。

峰消失, 11S 球蛋白峰也几乎消失; 出现了新的变性峰, 其变性温度高达是 147.86°C 。11S 与 7S 球蛋白峰的消失以及新峰的出现说明蛋白组份已经与糖基结合反应成为新的化合物, 与原有蛋白相比, 该新反应物显示了非常高的变性温度。另外变性温度 T_d 和焓值的增加, 表明改性后蛋白质的结构并没有受到很大的破坏, 基本上保持了蛋白质的大分子构象。

3 结 论

SAPP 与葡聚糖干热反应生成糖蛋白复合物, 溶解性、乳化性和热稳定性表现优越, 随着研究的深入, 蛋白-多糖共价复合物的功能性质会不断被发现, 使这类大分子最终真正成为广泛运用于工业的、商品化的食品添加剂。

参考文献:

- [1] Dickinson E, McClements D J. Advances in food colloids[J]. Blackie Academic & Professional, 1996, 91-99.
- [2] Dickinson E. Emulsion stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharides complexes, in food polysaccharides and their applications (ed)[M]. New York: A M Stephen Marcel Dekker, 501-516.
- [3] Matsudomi N, Inoue Y, et al. Emulsion Stabilization by maillard-type covalent complex of plasma protein with galactomannan[J]. J Food Sci, 1995, 60(2): 265-268,283.
- [4] Setsuko Iwabuchi, Fumio Yamauchi. Determination of glycinin and β -conglycinin in soybean proteins by immunological methods[J]. J Agric Food Chem, 1987, 35(2): 200-205.
- [5] 齐军茹, 杨晓泉, 彭志英, 等. 蛋白-多糖干热制备复合物及其反应机理研究(I) Maillard 反应制备蛋白-多糖共价复合物[J]. 食品科学, 2006, 27(1): 65-68.
- [6] Akio Kato, Kazuaki Minaki, Kunihiko Kobayashi. Improvement of emulsifying properties of egg white proteins by the attachment of polysaccharide through Maillard reaction in a dry stat[J]. J Agric Food Chem, 1993, 41(4): 540-543.
- [7] Chobert J M, Catherine B H, Nicolas M G. Solubility and emulsifying properties of casein and whey proteins modified enzymatically by trypsin [J]. J Agric Food Chem, 1988, 36(5): 883-892.
- [8] Aoki H, Taneyame O, Inami M. Emulsifying properties soy protein: characteristics of 7S and 11S proteins[J]. J Food Sci, 1980, 45: 534-538.