

大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖凝胶化作用的动态粘弹性研究

龚加顺¹, 幸治梅², 彭春秀³, 刘勤晋²

(1.云南农业大学食品科技学院, 云南 昆明 650201; 2.西南农业大学食品科学学院, 重庆 400716; 3.昆明理工大学现代农业工程学院, 云南 昆明 650200)

摘 要: 利用动态流变仪研究了胶凝时间、温度、频率及应变等因素对大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖相互作用的动态粘弹性影响。实验结果表明: 在高浓度下大豆分离蛋白与魔芋葡甘聚糖所形成的凝胶大都呈现出储存模量 $G' > \text{损耗模量 } G''$, 表明凝胶动态模量中弹性的贡献已超过了粘性, 溶液发生了凝胶化, 并形成了三维交联的网络结构。碱性凝固剂的加入提高了凝胶的粘弹性。当频率在一定范围内变化时, 未加碱样品其凝胶粘弹性在低频区可用频率依赖性来表征, 而在高频区, 加碱和未加碱样品其凝胶粘弹性不随频率变化而变化, 都保持 $G' > G''$ 。

关键词: 魔芋葡甘聚糖; 大豆分离蛋白; 动态粘弹性; 凝胶作用

Dynamic Viscoelastic Studies on Gelation of Soybean Protein Isolate and Its Mixtures with Konjac Glucomannan

GONG Jia-shun¹, XING Zhi-mei², PENG Chun-xiu³, LIU Qin-jin²

(1.College of Food Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2.College of Food Science, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China; 3.College of Modern Agricultural Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650200, China)

Abstract : Interaction between konjac glucomannan (KGM) and soybean protein isolate (SPI) has been studied by means of dynamic viscoelastic measurements. The factors such as gelling time, temperature, frequency and strain were revealed in this study. The storage modulus G' was larger than the loss modulus G'' for the gel mixtures of KGM and SPI at high concentration. It showed that the association of molecular chains and sol-gel transition was occurred and a three dimensional network was formed between KGM and SPI. An alkaline coagulant treatment for mixtures of KGM and SPI improved the viscoelastic properties of the gel. The frequency dependence of G' and G'' for mixtures of KGM and SPI without alkaline at lower frequencies range from 10^{-2} to 10^1 rad/s were observed, but at higher frequencies the frequency dependence of G' and G'' for mixtures of KGM and SPI with or without alkaline were not confirmed in this study.

Key words: Konjac glucomannan; soybean protein isolate; dynamic viscoelastic; gelation

中图分类号: TS214.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)10-0025-05

魔芋葡甘聚糖 (Konjac glucomannan, KGM) 是一种非离子型水溶性高分子多糖, 由 D- 葡萄糖和 D- 甘露糖按 1:1.6 的分子比例, 以 β -(1-4)糖苷键聚合而成。Maekaji (1974) 提出, 碱处理的魔芋葡甘聚糖被脱去乙酰基后可引起分子链的交联, 在氢键作用下形成了三维^[1]。Williams

等(2000)在 NMR 和流变学测定的基础上, 认为添加碱凝固剂导致 KGM 脱乙酰化, 同时降低高分子链的溶解性, KGM 分子链开始在热力学驱动下凝集, 形成网络结构而最终成为凝胶^[2]。传统的魔芋食品正是利用了这一原理在强碱性条件 ($\text{pH} > 10.5$) 下形成凝胶, 再造型而

收稿日期: 2004-07-09

基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2002B0011Q)

作者简介: 龚加顺(1971-), 男, 副教授, 博士, 主要从事魔芋研究与开发、食品生物技术等工作。

成。但这类产品碱味重、腥味浓、适口性差、赋味困难、营养不足。因此,寻求魔芋食品新的加工方法具有重要意义。

大豆分离蛋白(Soybean Isolate Protein, SPI)具有良好的胶凝性、持水性、溶解性、乳化性、粘弹性、组织化特性、营养性等性质,已广泛应用于肉制品、冷饮食品、烘焙食品以及低脂肪、素食肉制品和仿生肉制品中等^[3]。Koo(1998)将魔芋粉、SPI与瘦肉复合后制成了低脂肉糜^[4]。目前关于多糖与蛋白质的相互作用研究已有许多报道^[5],但对KGM与SPI的相互作用的研究报道极少,它们之间的作用机理尚不清楚。丁金龙等(2001)从协同增稠和溶胶显微结构变化的角度,研究了在低浓度下(1%)KGM与SPI的作用情况,结果表明,KGM对低浓度的SPI的乳化性能具有显著改善作用^[6]。但在仿生食品加工中蛋白质的浓度远远高于1%^[7]。因此,深入研究KGM与SPI的相互作用,特别是高浓度下的作用,可为魔芋-蛋白食品与大豆蛋白食品的开发以及复配物的应用奠定基础。

动态粘弹性(Dynamic viscoelastic)研究已作为一种重要的手段在多糖、蛋白质及多糖与蛋白质之间的作用机理研究方面发挥重要作用^[8~11]。本研究的目的在于利用动态流变仪研究KGM与SPI相互作用形成凝胶过程中的动态粘弹性变化,包括凝胶的耗能模量(G'')和储能模量(G')以及二者的比值 $\tan \delta$ 的变化,以此来反应凝胶的弹性和粘性的变化规律,揭示高浓度下大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖相互作用形成凝胶的动态过程,探讨胶凝时间、温度、频率、应变等因素对凝胶形成的影响,为生产新型魔芋-大豆蛋白仿生食品提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

魔芋葡甘聚糖(含KGM 85%) 成都协力魔芋种植加工园有限公司;大豆分离蛋白(Soybean Protein Isolate, SPI, 含蛋白质 90%) 黑龙江三江食品公司;其他化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器设备

RFSII 型动态粘弹谱测定仪(Rheometrics Fluids Spectrometer, RFS) 美国 Rheometric Scientific 公司。FA/JA 上皿电子天平 上海分析仪器厂;PHS-3B 精密 pH 计 上海雷磁仪器厂;HH-8 数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 KGM-SPI 共混凝胶的制备

控制样品总浓度为 15%,分别称取所需原料于烧杯中混匀,将溶剂快速倒入样品中,迅速搅拌,直到粉末都完全溶解,得到溶解均匀的凝胶;将溶解后的样品

静置 3h 后上机测试。由于本实验样品总浓度较高,加碱的样品在静置 3h 后需要切片测试,所切片层厚度在 1.5~2mm。KGM/SPI 的比例为 1:2(有关浓度变化将另文报道)。

1.3.2 KGM-SPI 共混凝胶的质地特性测定

物质的粘弹性经常用小应变或应力的振荡剪切而非稳态剪切进行测试。材料的动态粘弹性测量是对材料施加一个连续的正弦应力或应变,然后记录材料的响应。 δ 是应力波与应变波间的相位差, G^* 是复合模量,由相位差和复合模量就能计算出动态弹性模量 G' (储能模量),是表征材料的弹性特征, $G' = G^* \cos \delta$;而粘性损耗模量 G'' (耗能模量)是代表材料的粘性特征, $G'' = G^* \sin \delta$;相位差 δ 的大小表征材料是类似固体特征行为还是液体特征行为, $\tan \delta = G'' / G'$ 。如果 δ 等于 0,材料突出固体弹性行为; δ 等于 90° 材料表现出液体粘性行为;而 δ 介于 $0 \sim 90^\circ$ 之间,则既有粘性成分,又有弹性成分,材料表现出粘弹性性质,一般的材料都具有粘弹性^[12]。

本实验采用 RFSII 型动态粘弹谱仪(应变控制型流变仪)测定了 15% SPI 水溶液和碱性水溶液以及总浓度为 15% 的 KGM-SPI(1:2)混合物在水溶液和碱性条件下的储存模量 G' 和损耗模量 G'' 随凝胶时间、温度、角频率及应变的变化,夹具为直径 25mm 的平板,板间距为 1.5~2mm,传感器测量扭矩范围:0.004~100mg.cm。测定条件:温度 $10 \sim 60^\circ\text{C}$;频率 $10^{-1} \sim 10^2 \text{ rad/s}$;每测试一个样品之前须进行一次应变(strain)扫描,以确保测试结果的准确性;每个样品的应变(strain)值的确定是有 10°C 和 60°C 两温度条件下扫描出的应变(strain)曲线比较,取都在两条曲线的线形范围内的一个值;在测 $10 \sim 60^\circ\text{C}$ 温度变化对 G' 和 G'' 影响时,升温速度 1°C/min 。

2 结果与讨论

2.1 大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物凝胶动态粘弹性随时间的变化

蛋白质和多糖共存时,在理化条件如温度、pH、离子强度等适宜时,大分子上的部分基团可以相互连接,从而赋予聚合物一些独特的性质,增强其乳化性、凝胶性等(Ruqaie et al, 1997)。多糖的存在还能降低蛋白质的胶凝临界浓度,如淀粉通常用来改善蛋白质特别是肌肉蛋白的凝胶性能。因此,蛋白质-多糖络合物被认为是一种新型的胶凝体系(Turgeon et al, 2001; Anderson et al, 2002)。大豆 7S 球蛋白在溶液浓度高于 7.5% 可形成透明凝胶,但大豆分离蛋白在浓度小于 9% 时,即使添加盐类也不能形成凝胶(Mleko et al, 2000)。动态流变仪是一种新的检测凝胶物性的工具,它通过测定凝胶体的耗能模量(G'')和储能模量(G')以及二者的比

值 $\tan \delta$ 来反应凝胶体的弹性和粘性的变化。 G' 对应着凝胶体的刚性和强度, G'' 对应凝胶体的粘度和流动, $\tan \delta$ 则可反映凝胶体中弹性组分的含量。我们测定了总浓度为 15% 的大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物凝胶动态粘弹特性随时间的变化, 结果见图 1、2。

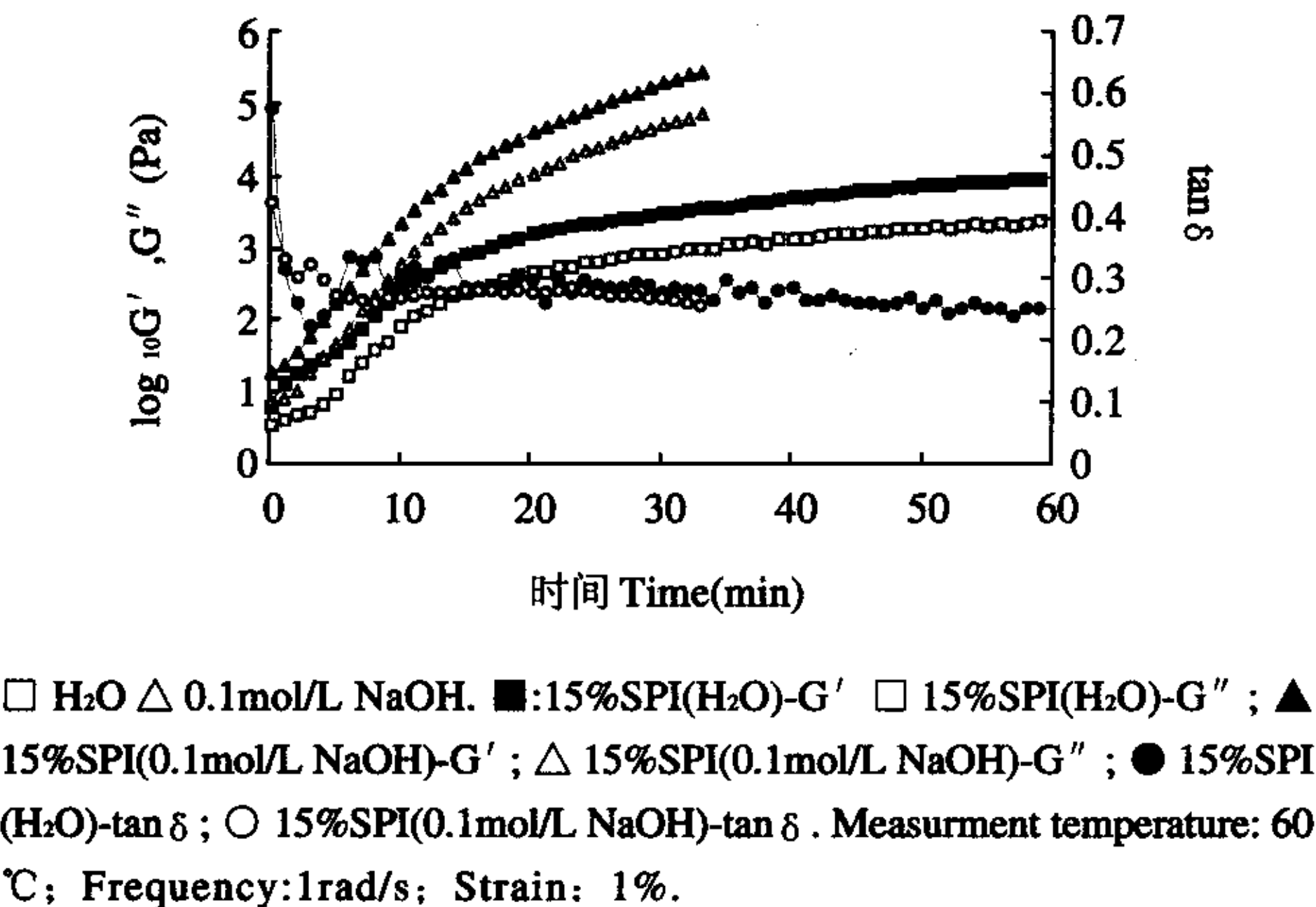


图1 大豆蛋白凝胶时间进程
Fig.1 Time dependence of G' , G'' and $\tan \delta$ for dispersions of soybean protein isolate with various treatments

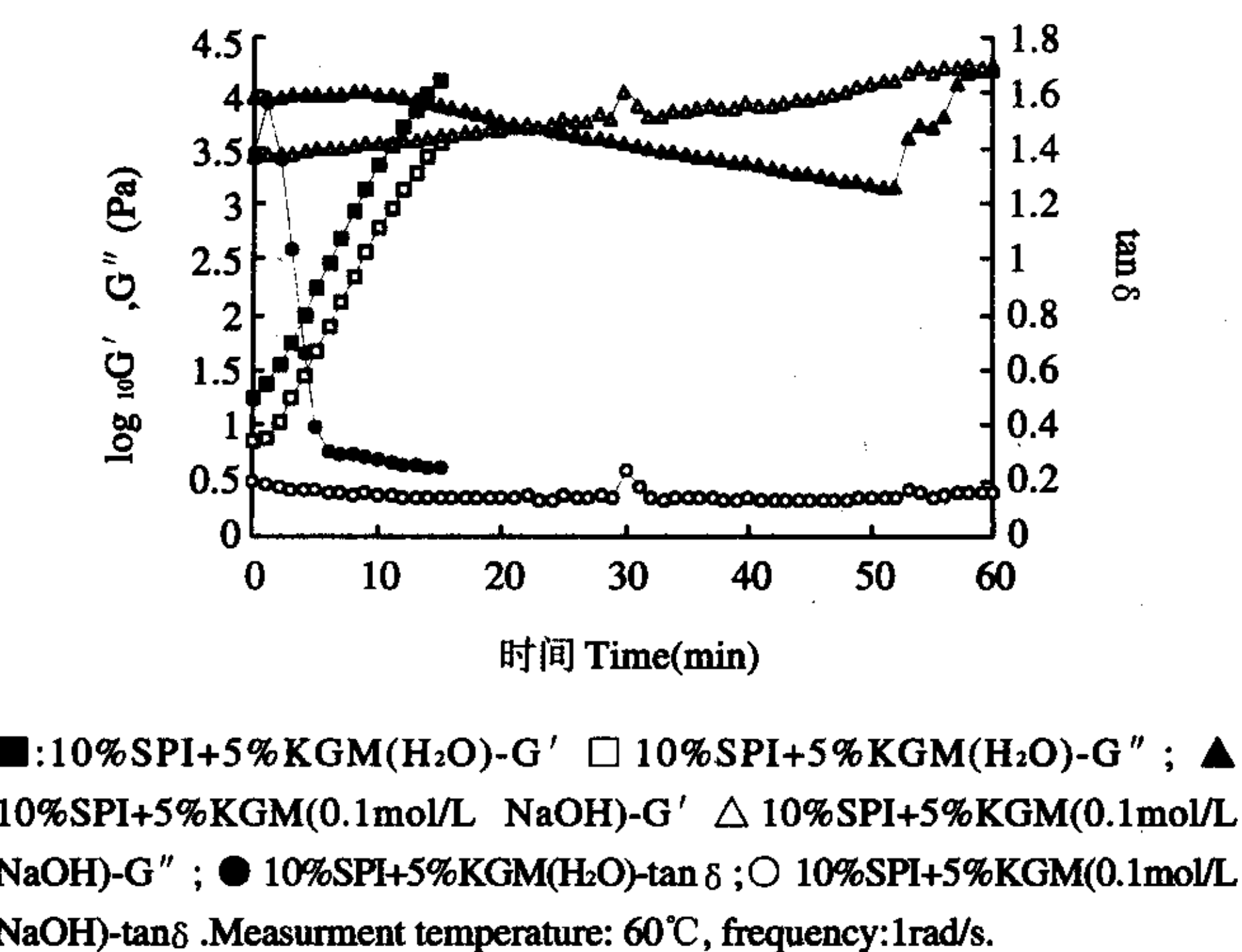


图2 魔芋葡甘聚糖与大豆蛋白混合物凝胶时间进程
Fig.2 Time dependence of G' , G'' and $\tan \delta$ for mixtures of soybean protein isolate and Konjac glucomannan with various treatments

由图 1 中可以看出, 随凝胶时间的延长, 大豆分离蛋白凝胶体的弹性和粘性都增强, 表现在凝胶的耗能模量(G'')和储能模量(G')均增大, 而且 $G' > G''$, 二者的比值 $\tan \delta$ 值也随凝胶时间的延长而减小。说明凝胶体的刚性和强度都增强, 流动性大大减弱。图中也反映出, 加入 0.1mol/L NaOH 以后凝胶体的 G' 、 G'' 均高于未加 NaOH 凝固剂的凝胶体, 并且凝胶时间大大缩短。另从图 2 可知, SPI 与 KGM 混合物水溶液由于 KGM 浓度较高而快速形成凝胶, $\tan \delta$ 值急速下降, 凝胶体

的耗能模量(G'')和储能模量(G')均随胶凝时间延长而增大, 所形成的凝胶体弹性均高于纯大豆分离蛋白。当加入 0.1mol/L NaOH 后, SPI 与 KGM 混合物凝胶迅速形成, 凝胶粘弹性进一步增强, 且凝胶的动态粘弹性随时间变化较小。

2.2 温度对大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物凝胶动态粘弹性的影响

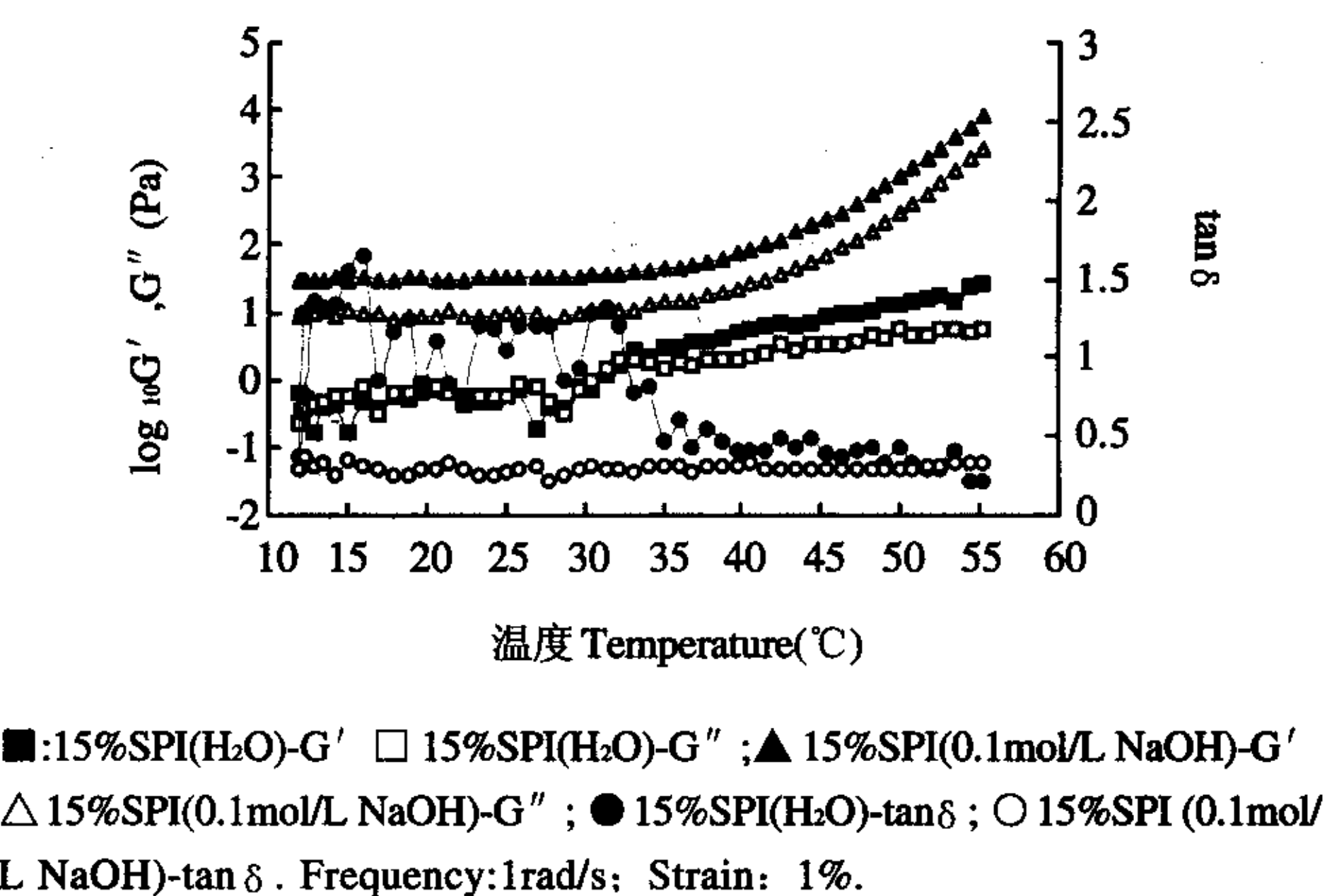


图3 温度对大豆蛋白凝胶粘弹性影响
Fig.3 Effect of temperature on the G' , G'' and $\tan \delta$ for dispersions of soybean protein isolate with various treatments

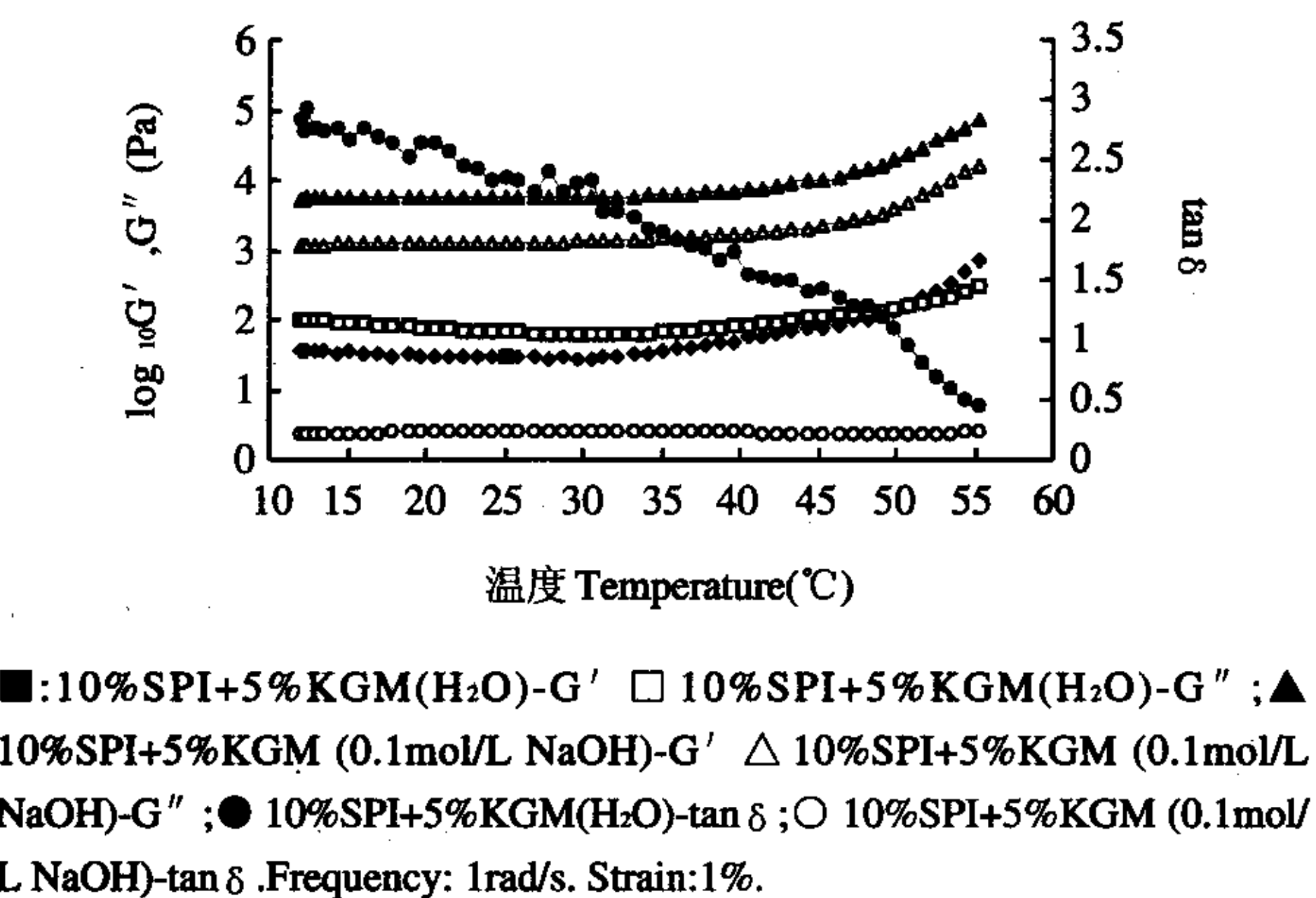


图4 温度对魔芋葡甘聚糖与大豆蛋白混合物凝胶粘弹性的影响
Fig.4 Effect of temperature on the G' , G'' and $\tan \delta$ for mixtures of SPI and KGM with various treatments

蛋白质凝胶形成的基本过程是蛋白质溶液在热、溶剂或碱处理条件下, 蛋白质的高级结构发生不可逆变性或部分伸展, 部分伸展肽链随后相互之间发生作用, 定向生成在三维空间上有序的蛋白质网状。图 3 和图 4 分别为温度对大豆分离蛋白及魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白混合物凝胶动态粘弹性的影响。由图 3 可知, 单独 SPI 在低温下测出的 G' 、 G'' 点很乱, 没有规律, $\tan \delta$ 值也不连续, 表明此时形成的凝胶比较脆弱; 随温度的升高, 凝胶粘弹性有所增强。但加入 0.1mol/L NaOH 碱

性凝固剂后, SPI 凝胶的动态模量(G' 、 G'')均大幅度增加, 且 $G' > G''$ 。说明 NaOH 的加入提高了凝胶的刚性和强度, 且随温度的升高, 动态模量均增强。

另从图 4 可以看出, 当 SPI 与 KGM 以 2:1 的比例混合后, 不论是在水溶液, 还是在碱性条件下所形成的凝胶粘弹性均随温度的升高而增强。在水溶液中, SPI 与 KGM 混合物凝胶的耗能模量(G'')在 50℃ 以下均高于储能模量(G'), 表现出粘性贡献强于弹性的特征。当温度升高到 50℃ 以上时, $G' > G''$, 表明凝胶的弹性进一步增加。这与 $\tan\delta$ 值的不断下降的变化趋势是一致的。在加入碱性凝固剂后, SPI 与 KGM 混合物凝胶的动态模量(G' 、 G'')均大幅度增加, 且 $G' > G''$, 这与 NaOH 的加入密切相关。图中的 $\tan\delta$ 值随温度的升高变化不大, 说明加入碱性凝固剂后已经形成了稳定凝胶。

2.3 频率对大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物凝胶动态粘弹性的影响

凝胶具有的粘弹性, 除了用储能模量(G')和耗能模量(G'')来表示外, 还用二者对剪切振动频率 ω 的依赖性来表征。一般在稀溶液($C < C^*$)中, 大分子不发生缠结, 在很宽的频率范围内 G'' 都远大于 G' , 且 G' 和 G'' 均具有明显的频率依赖性。当溶液能形成稳定的分子链缔合区(交链区), 形成较强的凝胶结构时, 则存在 $G' \gg G''$, 且二者均不依赖于频率^[13]。我们测定了 SPI 及其 SPI 与 KGM 混合物水溶液和碱性溶液在角频率 ω 为 0~100 rad/s 范围的储能模量(G')和耗能模量(G''), 结果见图 5 和图 6。图中显示, 在所有的频率下都有 $\tan\delta < 1$, 反映粘弹性的凝胶高分子之间交联的网络结构较强, 弹性固体性质突出; 并且随着频率的增加, G' 都大于 G'' , 表明凝胶形成稳定的分子链缔合区(交链区), 有较强的凝胶结构, 不随频率的变化而变化。在低频区范围中, 未加碱样品的 G'' 、 G' 都是频率的增函数, 并且由 $\tan\delta$ 降低的现象可以得出 G''/G' 减小, 即 G' 增加幅度比 G'' 大, 因为凝胶内分子与分子之间形成了牢固的网络结合, 具有较强的凝胶弹性。低频的振动不足以破坏分子链与分子链之间的结合, 对凝胶网络影响较小。所以在高频区, 加碱和未加碱的样品其 G' 和 G'' 出现了明显的平台(plateau), 其比值不受频率影响, 该现象被认为是聚合物分子的缠绕形成网络结构的过程, 此结果与 Shinsaku Kobayashi 等(2002)研究相吻合的^[14]。

2.4 应变对大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物凝胶动态粘弹性的影响

从图 7 的大豆分离蛋白的应变扫描曲线可看出, 应变对其凝胶的粘弹性影响较大。应变较低或较高都引起凝胶的动态模量(G' 和 G'')下降。但从图 8 可知, 在

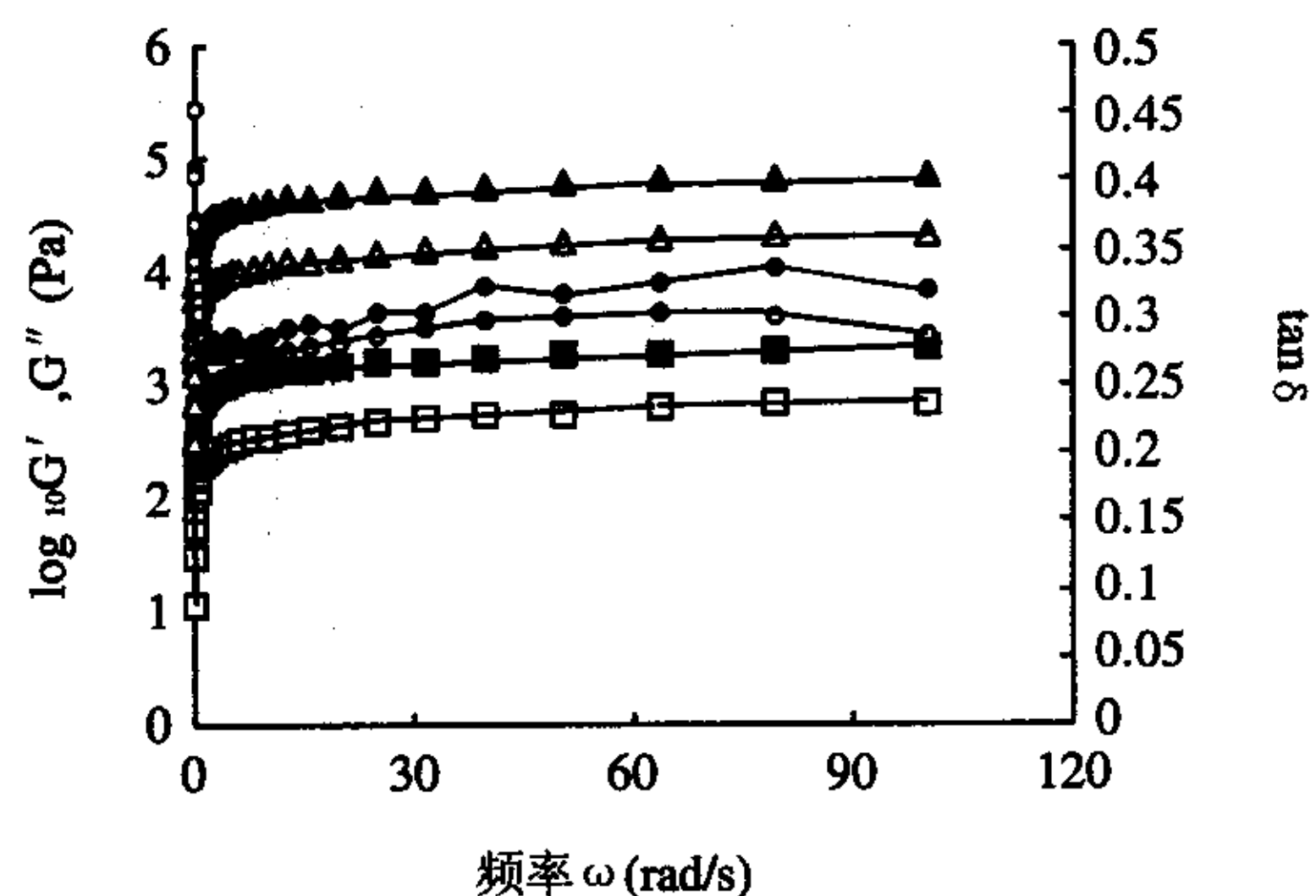


图5 频率对大豆蛋白凝胶粘弹性影响
Fig.5 Effect of frequencies on the G' , G'' and $\tan\delta$ for dispersions of soybean protein isolate with various treatments

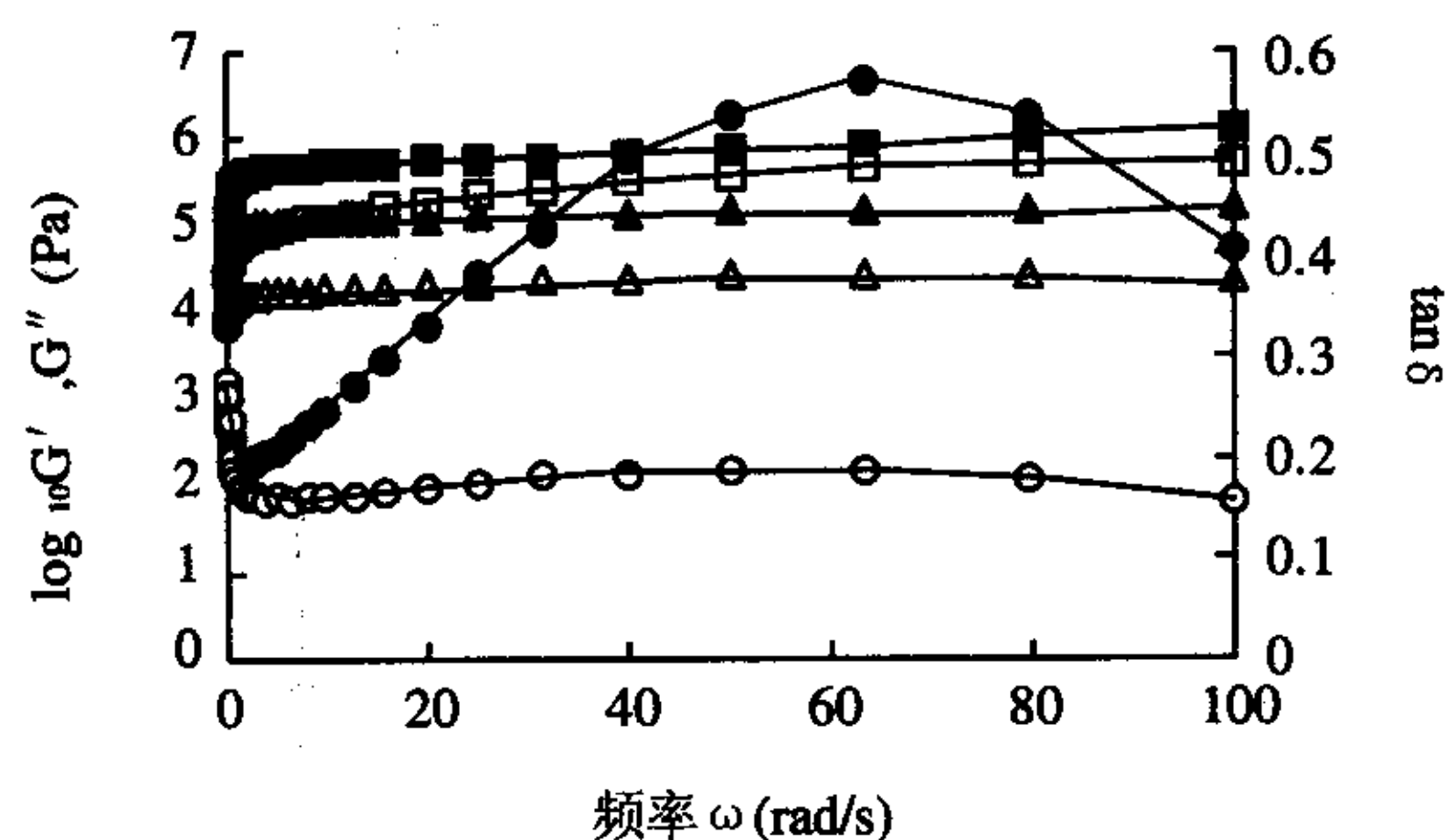


图6 频率对魔芋葡甘聚糖与大豆蛋白混合物凝胶特性的影响
Fig.6 Effect of frequencies on the G' , G'' and $\tan\delta$ for mixtures of SPI and KGM with various treatments

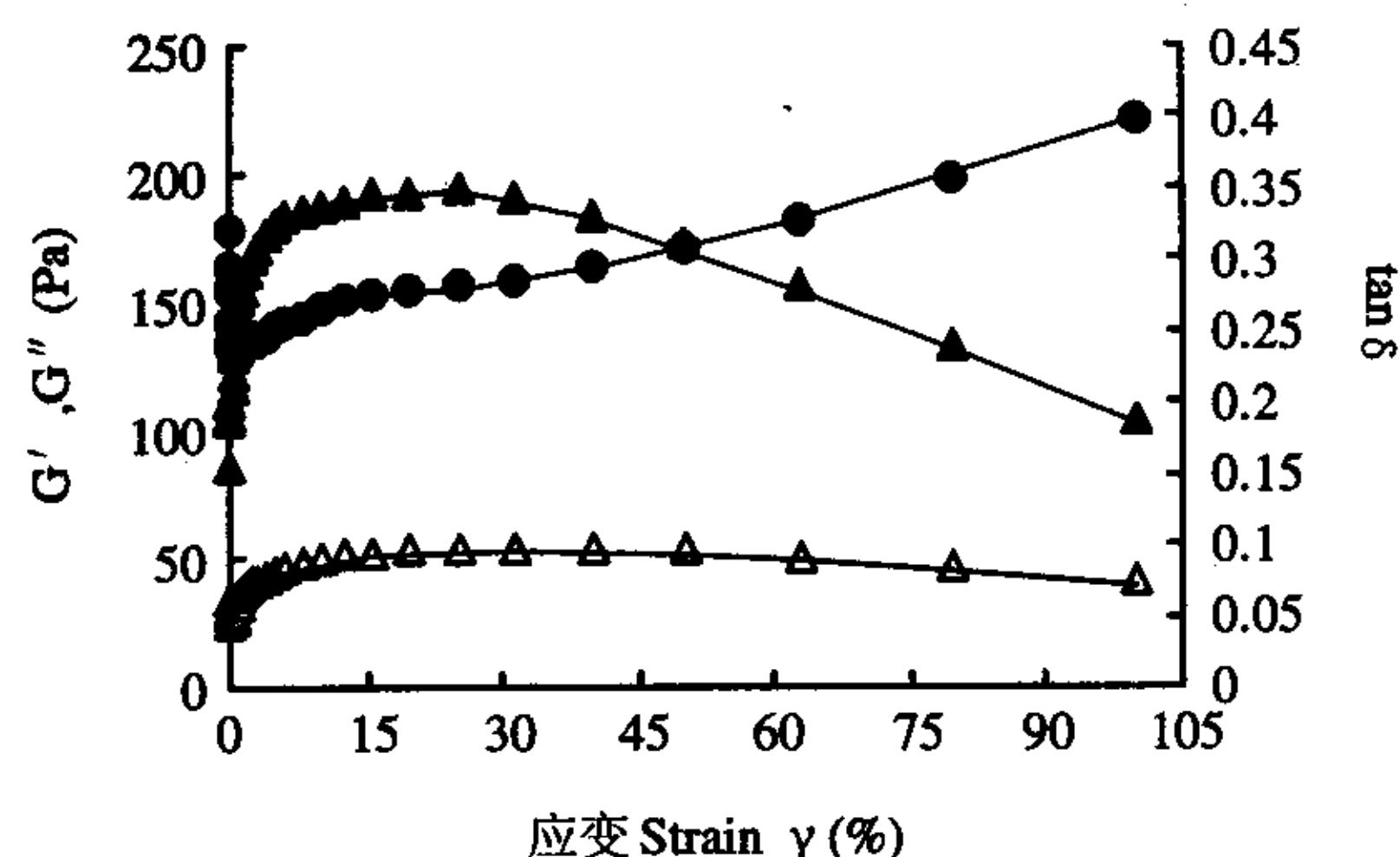
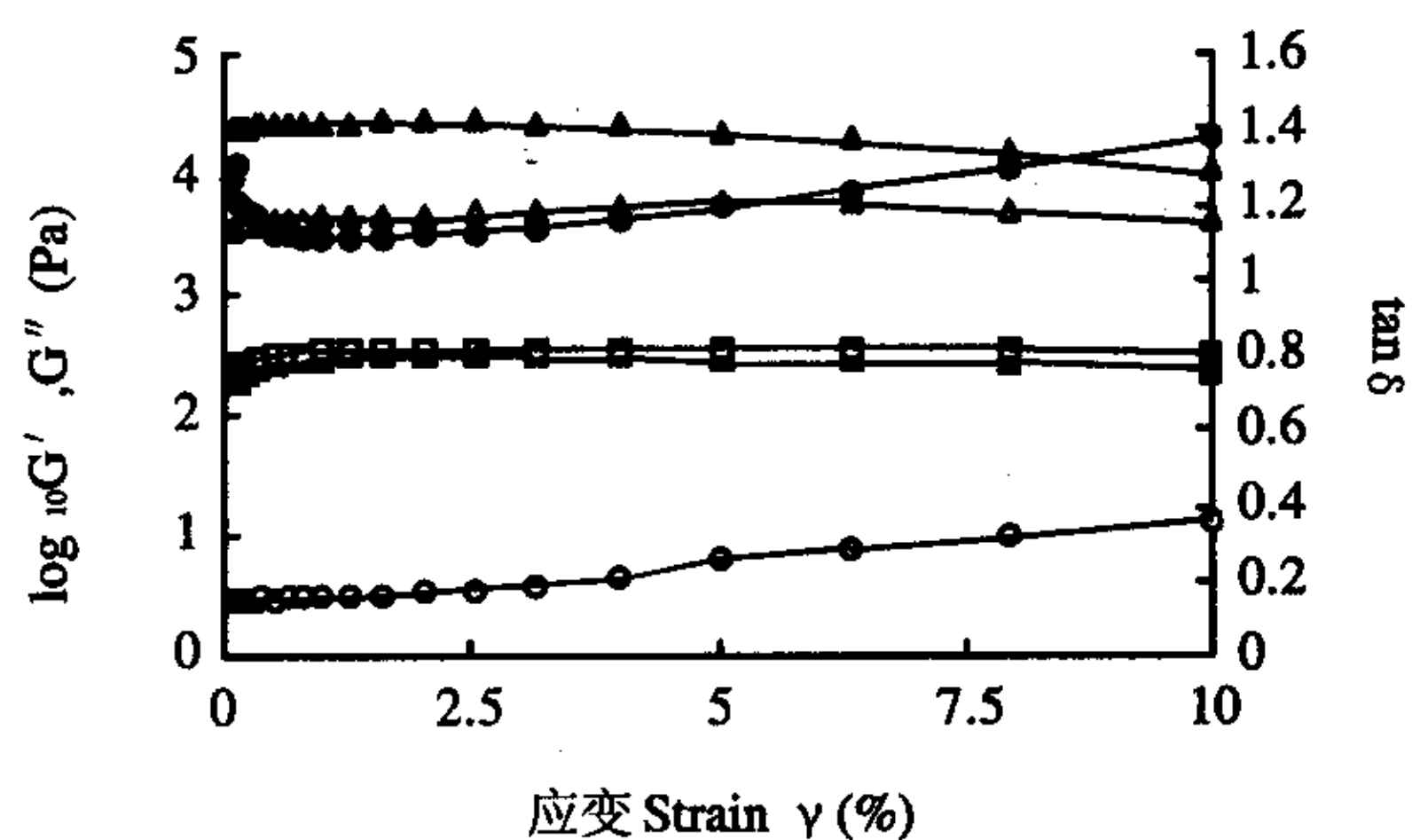


图7 应力对大豆蛋白凝胶粘弹性的影响
Fig.7 Effect of strain (γ) on the G' , G'' and $\tan\delta$ for dispersions of soybean protein isolate

相当宽的应变 γ 范围, 魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白凝



■:10%SPI+5%KGM(H₂O)-G' ;□ 10%SPI+5%KGM(H₂O)-G'' ;▲ 10%SPI+5%KGM (0.1mol/L NaOH)-G' △ 10%SPI+5%KGM (0.1mol/L NaOH)-G'' ;● 10%SPI+5%KGM(H₂O)-tan δ ;○ 10%SPI+5%KGM (0.1mol/L NaOH)-tan δ . Temperature:60℃; Frequency:10¹ rad/s.

图8 应力对魔芋葡甘聚糖与大豆蛋白混合物凝胶粘弹性的影响
Fig.8 Effect of strain (γ) on the G' , G'' and $\tan \delta$ for mixtures of SPI and KGM with various treatments

胶的动态模量基本不随应力变化,说明其线性粘弹性范围很宽。

3 结 论

在大豆分离蛋白及其与魔芋葡甘聚糖混合物形成凝胶的过程中,随凝胶时间的延长和温度的升高,凝胶体的刚性和强度都增强,流动性大大减弱,表现出典型的弹性凝胶特性;加入0.1mol/L NaOH以后可提高凝胶的固体弹性性质;当频率在一定范围内变化时,未加碱样品其凝胶粘弹性在低频区可用频率依赖性来表征,而在高频区,加碱和未加碱样品其凝胶粘弹性不随频率变化而变化,都保持 G' 大于 G'' 。在相当宽的应变 γ 范围,魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白凝胶的动态模量基本不随应力变化,说明其线性粘弹性范围很宽。

参考文献:

- [1] Maekaji K. The mechanism of gelation of konjacmannan[J]. Agric Biol Chem, 1974, 38: 315-321.
- [2] Williams A K, Foster T J, Martin D R, et al. A molecular description of the gelation mechanism of konjac mannan[J]. Biomacromol, 2000, 1(3): 440-450.
- [3] 莫重文. 质构化蛋白及仿肉食品研制[J]. 郑州工程学院学报, 2001, (3): 9-13.
- [4] Koo B C. Evaluation of konjac blends soy protein isolation and lean muscle as fat replacements in low — fat meat batters[J]. Dissertation Abstract, 1998, 58(7): 3385.
- [5] Nishinari U K, Zhang H, Ikeda S. Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 200, (5): 195-201.
- [6] 丁金龙, 孙远明. 魔芋胶与大豆分离蛋白相互作用研究[C]. 中国魔芋制品业发展研讨会论文集(科技论文), 2001. 28-33.
- [7] 陈复生, 李里特, 等. 大豆 7s 球蛋白凝胶光学性质的研究[J]. 中国粮油学报, 2001, 16(2): 40-45.
- [8] Katsuyoshi N, Emako M, Tomohisa T, et al. Rheological and DSC studies on the interaction between gellan gum and konjac glucomannan[J]. Carbohydrate Polymers, 1996, 30: 193-207.
- [9] Nishinari K. Rheological, DSC study of sol-gel transition in aqueous dispersions of industrially important polymers and colloids[J]. Colloid Polym Sci, 1997, 275: 1093-1107.
- [10] Yoshimura M, Nishinari K. Dynamic viscoelastic study on the gelation of konjac glucomannan with different molecular weights[J]. Food Hydrocolloids, 1999, 13: 227-233.
- [11] Anderson A D E, Daubert C R, Farkas B E. Rheological characterization of skim milk stabilized with carrageenan at high temperatures[J]. J Food Sci, 2002, 67(2): 649-652.
- [12] 杨仁党, 陈克复. 甘蔗渣碱法制浆废液多聚物的动态粘弹特性[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2003, 31(4): 93-96.
- [13] 丛峰松, 张洪斌, 张惟杰, 等. 天然大分子食品水溶胶的增稠性、粘弹性和协同作用[J]. 食品科学, 2003, 25(1): 195-199.
- [14] Shinsaku Kobayashi, Shigetomo Tsujihata. Preparation and rheological characterization of carboxymethyl konjac glucomannan[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16: 289-294.

美国《CHEMICAL ABSTRACTS》收录期刊