

魔芋葡甘聚糖及其与大豆分离蛋白 凝胶化作用的 DSC 研究

龚加顺¹, 彭春秀², 幸治梅³, 刘勤晋³

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

3. 西南农业大学食品科技学院, 重庆 400716)

摘要: 利用 DSC 研究了魔芋葡甘聚糖、大豆分离蛋白及两者的混合物凝胶在升、降温过程中的热效应变化。结果表明, 在升温过程中, 单独的魔芋葡甘聚糖(15%)在水溶液中加入弱碱或强碱性凝固剂后所形成的凝胶均表现出放热效应; 而单独的大豆分离蛋白水溶液(15%)所形成的凝胶没有产生热效应, 但加入 0.1mol/L 的 NaOH 后却产生了明显的放热效应。对于魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白所形成的混合凝胶, 在碱性条件下, 随魔芋葡甘聚糖含量的增加其放热温度升高, 但大豆分离蛋白含量较高的凝胶, 在高于 85℃ 处有较强的放热效应; 而在弱碱(0.1mol/L 的 Na₂CO₃) 条件下, KGM(≥13%) 含量较高的凝胶产生放热效应, 其它凝胶基本没有热效应产生。实验还表明, 所有的凝胶样品在降温过程中基本没有出现吸热和放热峰, 表明所形成的凝胶为热不可逆凝胶。

关键词: 魔芋葡甘聚糖, 大豆分离蛋白, 凝胶作用, 示差扫描量热法(DSC)

Abstract: Differential scanning calorimetry (DSC) was utilized to study the energy change of the gel for konjac glucomannan (KGM), soybean protein isolate (SPI) and the mixtures of KGM and SPI when temperature went up and down. By the DSC, the heating curve for a gel of KGM (15%) alone showed a main exothermic peak, while the SPI gel had no exothermic peak. When the gel system was mixed with 0.1mol/L NaOH, there were exothermic effects as the temperature went up. The exothermic temperature of the gel for the mixtures of KGM and SPI descended with the increasing content of KGM, and when the gel contained higher content of SPI, the exothermic effects was obviously shown in the heating curve. But when the 0.1mol/L Na₂CO₃ was administered to the gel system, the exothermic effects only showed in the heating curve of the gel formed with KGM(≥13%). The results also revealed that all the cooling curves for KGM-SPI gel had no exothermic and endothermic effects, which suggested that the KGM-SPI gel was the thermal un-reversible gel.

Key words: konjac glucomannan; soybean protein isolate; gelation; differential scanning calorimetry

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)03-0049-04

收稿日期: 2004-08-16

作者简介: 龚加顺, 男, 博士, 副教授, 主要从事魔芋食品和食品生物技术等方面的工作。

基金项目: 云南省自然科学基金(2002B0011Q)资助。

蛋白质与多糖在水溶液中的交互作用主要有三种形式, 即共溶(Cosolubility)、相容(compatibility)及不相容(incompatibility)。相容即蛋白质与多糖可在水溶液中发生交互作用, 大分子间通过静电、氢键及共价键进行连接, 形成络合物。已有研究表明, 阴离子多糖与蛋白质的交互以静电作用为主, 而氢键、疏水交互的影响较小; 一些含羧基多糖和中性多糖与 11s 球蛋白能表现出相容性, 相互形成络合物, 并显著的降低 11s 球蛋白的变性温度。蛋白质与多糖络合物被认为是一种新型的胶凝体系^[1,2]。蛋白质与多糖复配凝胶在食品工业中可用作脂肪替代品^[3]、新型乳化剂、可食包装膜的基料和制造仿生食品和重组功能性食品^[4]。马霞等在 SPI 粉中加入黄原胶、卡拉胶等可以明显提高其胶凝性、吸水性和吸油性, 胶凝块的硬度和韧性都有了提高^[5]。Koo(1998)将魔芋粉、SPI 与瘦肉复合后制成了低脂肉糜^[6]。

魔芋葡甘聚糖 (Konjac glucomannan, KGM) 为魔芋的有效成分, 它是一种非离子型水溶性高分子多糖。它是由 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。天然的 KGM 分子是由放射状排列的胶束组成^[7]。虽然多糖与蛋白质的相互作用研究已有许多报道^[7], 但对 KGM 与大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)的相互作用的研究报道极少。

由于大多数物质随着温度的变化, 热容将变化, 结构也将变化, 在这些变化发生时将会伴随着能量的变化, 因此可用热分析技术对其进行研究。DSC (Differential Scanning Calorimetry) 在分子方面的应用已十分广泛, 可用于研究聚合物的相转变, 研究聚合、交联、氧化、分解等反应以及测定反应温度或反应温区、反应热、反应动力学参数等。其图谱可直接反映出温度变化过程中样品的物理和化学变化过程, 如结晶、氧化、分解等。通过 DSC 图谱的分析, 可知样品组成成分之间是否发生弱或强的相互作用情况^[8,9]。

本文主要利用 DSC 热分析技术研究温度对魔芋葡甘聚糖与大豆分离蛋白在形成凝胶过程中的相互作用的影响,为开发新型魔芋-蛋白质食品奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

魔芋葡甘聚糖 含 KGM 85%,成都协力魔芋种植加工园有限公司提供;大豆分离蛋白 含蛋白质 90%,黑龙江三江食品公司提供;其它化学试剂 均为分析纯。

DSC2004 型差示扫描量热分析测定仪 (Differential Scanning Calorimetry, DSC) 德国 NETZCH 公司; HH-8 数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 控制样品总浓度为 15%,将各种配比的样品混合均匀后,迅速用溶剂溶解,静置 3h 后取样上机测试。

1.2.2 KGM-SPI 共混凝胶差示扫描量热分析测定 差示扫描量热法是在程序控温下测量输入样品和参比物的功率差与温度关系的一类技术。根据测量方式的不同,DSC 可分为两类:一类是“功率补偿型”,另一类是“热流型”。“热流型”的原理与 DTA 热分析的原理是相同的,即在程序控温下测量试样与参比物之间的温差与温度关系的一类技术。在试验过程中,若试样受热产生熔融、脱水、分解或相转变时,将出现吸热效应,试样温度的上升将滞后于参比物,试样和参比物间产生温差,在热谱图上出现“低谷”。如试样发生结晶、氧化等现象时,将产生放热效应,试样的温度高于参比物,在曲线上则出现“高峰”^[10]。测试条件:温度测试范围为 0~100℃;温度升降变化速度:5.0℃/min。

2 结果与讨论

2.1 KGM、SPI 及其混合物在水溶液中形成凝胶的 DSC 扫描分析

差示扫描量热法是一种热分析技术,其基本原理是在程序升温或降温的过程中连续地测定物质发生物态转化过程中的热效应,根据所获得的 DSC 曲线来确定和研究物质发生相转化的起始和终止温度、吸热和放热的热效应以及整个过程中的物态变化规律。

以水为溶剂,配制总浓度为 15% 的 KGM、SPI 及二者的混合物共 5 个样品,测定了 5 个在升温 and 降温过程中的性质变化。这里的性质包括质量变化、转变与相变、热焓与比热的变化、结晶、熔融、吸附、尺寸改变、机械性质以及光、声、电、磁学性质等。

从图 1 可以看出,随着温度的升高,单独的 KGM、KGM 与 SPI 之比为 6.5:1 和 2:1 时,分别在温度 27.5℃、27℃ 和 28.6℃ 有一个明显的放热峰,随着

SPI 含量的进一步增加,如 KGM:SPI=1:2 或全部为 SPI 时,DSC 曲线上均未表现出明显的吸热峰或放热峰,说明加热对 SPI 水溶液的物态性质影响不大,但对 KGM 溶液有明显的影响,图中产生的放热峰与 KGM 有密切的关系。产生放热峰可能与样品出现“冷结晶现象”有关,而产生冷结晶的原因主要依赖于 KGM 自身特性和其浓度。现已研究证实,KGM 分子存在晶型结构,而且分子间可借助氢键作用而部分结晶化,并以此作为结节点而形成网状结构体^[11]。Dave et al (1998) 发现,当 KGM 水溶液浓度超过 7% 时有液晶 (liquid crystalline) 行为,凝胶形成液晶之后,动力学粘度并没有减弱^[6]。而 Hirai 报道,当 KGM 浓度大于 8% 时,碱并不是形成凝胶所必需的^[11],因为 KGM 分子间由于氢键等分子间作用力,使分子聚集,并在分子间形成一定的节点或网状结构。如果这些节点聚集过多则将形成不溶于水的“晶体”,通常称为凝胶。由于高浓度 KGM 可使分子之间的接触点增多,分子之间更易聚集,在大量氢键作用下形成了“冷结晶现象”,从而显示出放热效应,这与李斌等人 (2002) 的研究结果是一致的。他们研究认为,凝胶之前的 KGM 为无定形粉末,但在碱性条件下 KGM 凝胶后产生了明显的结晶区^[12]。

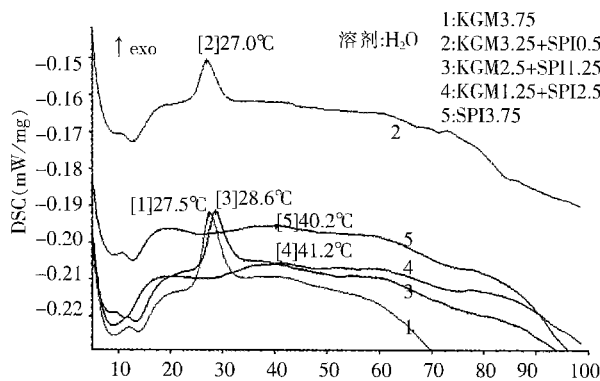


图 1 KGM、SPI 及其混合物凝胶在升温过程中对应的 DSC 热谱图

图 2 为试验样品在降温过程中的 DSC 曲线,从

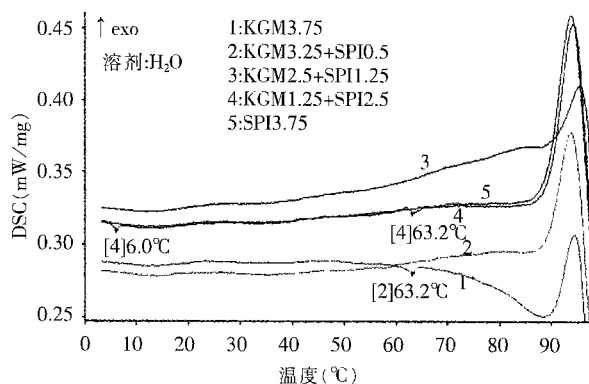


图 2 KGM、SPI 及其混合物凝胶在降温过程中对应的 DSC 热谱图

图中可以看出,在降温过程中,样品没有明显的热效应。单独的 KGM 在 63.2°C 时有一个小的吸热峰, KGM:SPI 为 1:2 时,则在 63.2°C 和 6°C 处有 2 个小的吸热峰,其它样品均没有吸热峰和放热峰,说明所形成的凝胶为热不可逆凝胶。一般热可逆凝胶体系在功率补偿型 DSC 扫描中总是能够观察到升温曲线有一个吸热峰,降温曲线有二个放热峰出现^[8]。

图中在 95°C 左右时,所有样品均表现出明显的类似放热峰的突起,这是由于仪器突然降温,而仪器调整温度没那么快,降温速度不等造成的。

2.2 KGM、SPI 及其混合物在弱碱性溶液中形成凝胶的 DSC 扫描分析

以 0.1mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液为溶剂,配制总浓度为 15% 的 KGM 及其与 SPI 混合物共 4 个样品,然后分别测定了 4 个样品在升温 and 降温过程中的 DSC 曲线变化,结果见图 3、图 4。

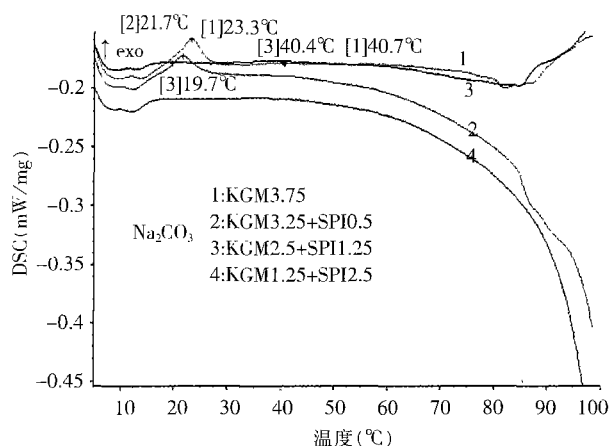


图 3 KGM、SPI 及其混合物凝胶在升温过程中对应的 DSC 热谱图

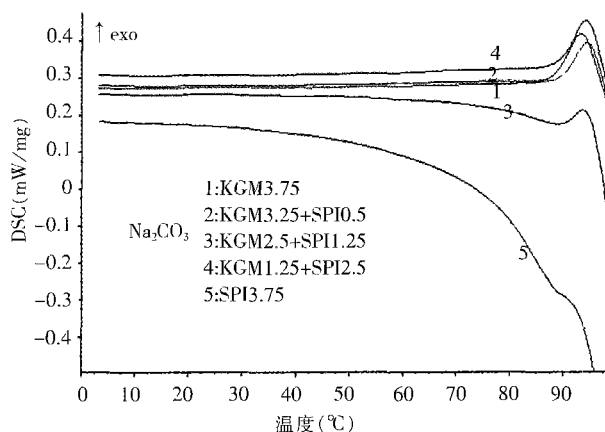


图 4 KGM、SPI 及其混合物凝胶在降温过程中对应的 DSC 热谱图

从图 3 中可以看出,单独的 KGM (15%) 在 23.3°C 处有一放热峰,13% KGM+2%SPI 的混合样品则在 21.7°C 处有一放热峰,其余样品 10%KGM+5%SPI 和 5%KGM+10%SPI 在升温过程中基本没有热效

应产生,产生放热效应的样品主要为 KGM 含量较高 ($\geq 13\%$) 的样品。与水溶液中的放热温度相比,在弱碱性条件下向低温方向偏移。同时也说明 Na₂CO₃ 对 KGM 及其与 SPI 混合物凝胶的物性有一定的影响。Na₂CO₃ 为弱碱性盐,它的加入可使 KGM 形成凝胶网络结构。但由于 Na⁺ 离子发生强烈的水化作用而削弱了体系中 KGM 与水分子之间的氢键作用,致使 KGM 分子之间因氢键作用更易形成聚集体,从而产生结晶区,并在升温过程中于低温区产生放热现象。另外,图 4 的降温曲线表现出和前面图 2 一样的结果。但从图 5 可以看出,在升温过程中 Na₂CO₃ 对 SPI 凝胶的影响比较大,分别在 54.3°C 和 66.9°C 时表现出明显的吸热峰。

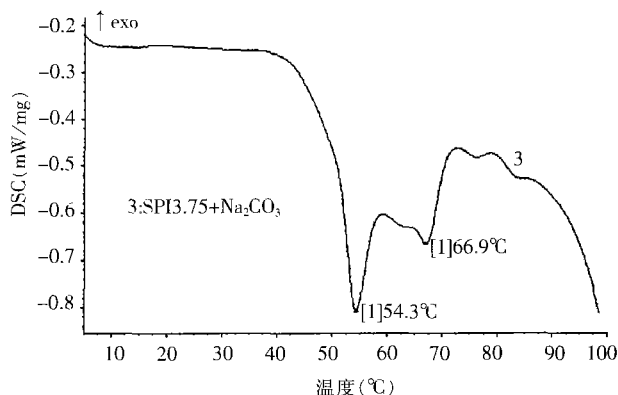


图 5 SPI 在弱碱性条件下对应的 DSC 升温热谱图

盐类对蛋白凝胶的影响主要是静电影响。盐的表面电荷影响了蛋白质分子或对分子间的吸引和排斥平衡有作用。如果 pH 远离蛋白质的等电点和体系的离子强度较低时,由于蛋白质分子间的排斥力作用导致线性聚集形成凝胶束^[13]。如果 pH 接近等电点附近或离子强度足够大时,由于电荷的影响蛋白质迅速聚集,形成球形聚集体,最终形成持水胶体颗粒。根据这一理论,Na₂CO₃ 的加入主要改变了介质的 pH 和影响 SPI 的电荷分布,导致蛋白质迅速聚集形成持水胶体颗粒,又由于温度的升高而脱水产生吸热效应。

2.3 KGM、SPI 及其混合物在强碱性溶液中形成凝胶的 DSC 扫描分析

以 0.1mol/L 的 NaOH 溶液为溶剂,配制总浓度为 15% 的 KGM、SPI 及二者的混合物共 5 个样品,然后分别测定了 5 个样品在升温 and 降温过程中样品的 DSC 曲线变化,结果见图 6、图 7。图 6 为升温过程中的变化。由图可知,在碱性条件下,单独的 KGM、SPI 及其混合物凝胶在升温过程中均产生了放热效应。按样品 15% KGM、13% KGM+2% SPI、10% KGM+5% SPI、5% KGM+10% SPI、15% SPI 顺序,其放热温度依次为 43.4°C、25.1°C、20.5°C、19.8°C 和 83.5°C、85.6°C。含有 KGM 的样品,随 KGM 含量的减少其放热温度

逐渐降低。这与低温阶段分子链段从冻结状态开始解冻,并表现为比热容、线膨胀系数和自由体积等都有一个突变有关。KGM 含量越低,样品中游离水分或溶剂等小分子化合物的活动就越强,就越有利于高聚物分子链的松弛,使测定的温度值偏低。而 SPI 含量越高的样品,如 5%KGM+10%SPI 和 15%SPI,则在高温 83.5℃与 85.6℃时表现出较强放热效应。这与 SPI 的高级结构再次发生不可逆变性或部分伸展肽链随后相互之间发生强烈的相互作用有关。图 7 为样品在升温后的降温过程所表现出的 DSC 曲线变化,与图 2 一样,显示所形成凝胶为热不可逆凝胶。

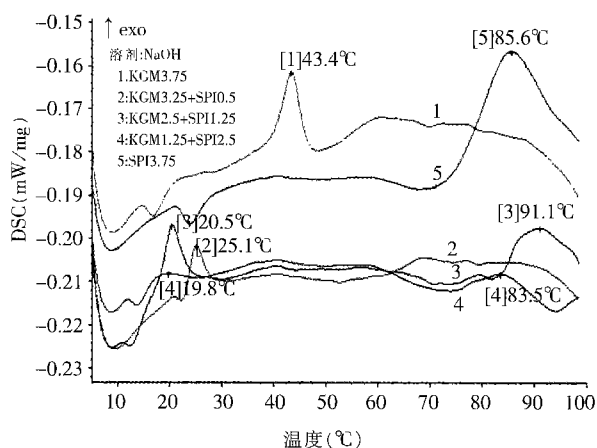


图 6 KGM、SPI 及其混合物凝胶在升温过程中对应的 DSC 热谱图

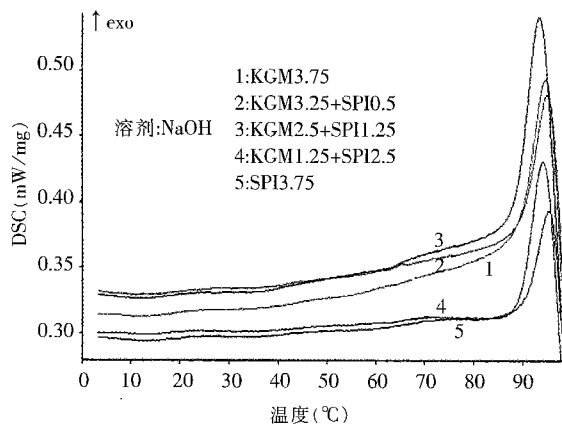


图 7 KGM、SPI 及其混合物凝胶在降温过程中对应的 DSC 热谱图

3 结论

3.1 15%的 KGM 在水溶液中或加入弱碱或强碱性凝固剂后所形成的凝胶,随加热温度的升高均表现出放热效应,而这种放热效应与样品在低温形成“冷结晶现象”密切相关,这也说明在高浓度下 KGM 能形成凝胶。而 15%的 SPI 水溶液所形成的凝胶在升温过程中没有热效应产生,但加入强碱后产生了放热效应,说明强碱的加入有利于 SPI 凝胶的形成。

3.2 在 KGM/SPI 共混凝胶形成过程中,KGM 与 SPI 分子之间存在着放热反应过程,并且该过程不可逆,生成了热不可逆凝胶。

3.3 对于 KGM/SPI 共混体系,在升温过程中,随着 SPI 浓度的增加,放热温度逐渐下降。升温过程中出现的放热峰与 KGM 浓度密切相关,并且与所处介质的碱性强弱有较大关系。

参考文献:

- [1] Yoshimura M,Nishinari K. Dynamic viscoelastic study on the gelation of konjac glucomannan with different molecular weights[J]. Food Hydrocolloids,1999,13:227~233.
- [2] 陈昀,赵谋明,等.蛋白质与多糖交互作用研究进展[J].食品科学,2001,22(4):90~93.
- [3] Nishinari K, Williams P A, Phillips G O. Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac glucomannan[J]. Food Hydrocoll, 1992,6:199~222.
- [4] Case EL, Fuente BTDL, Cuq JL. Effect of SDS on casein micelles, SDS-induced mild gel formation[J]. Food Sci, 2001,66(1):38~42.
- [5] 马霞,关风霞.提高国产大豆分离蛋白应用性能的研究[J].江苏食品与发酵,2001(3):34~35.
- [6] Vipul Dave,Mihir Sheth,Stephen P McCarthy, et al. Liquid crystalline, rheological and thermal properties of konjac glucomannan[J]. Polymer,1998,39(5):1139~1148.
- [7] Nishinari U K, Zhang H,Ikeda S. Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science,2000(5):195~201.
- [8] Williams P A, Clegg S M, Langdon M J, Nishinari K, Piculell, L. Investigation of the gelation mechanism in κ -carrageenan/konjac mannan mixtures using differential scanning calorimetry and electron spin resonance spectroscopy [J].Macromolecules,1993,26:5441~5446.
- [9] Boye JI,Alli I,Ismail AA.Use of different scanning calorimetry and infrared spectroscopy in the study of thermal and structural stability of α -lactalbumin[J]. Agric Food Chem, 1997,45:1116~1125.
- [10] 殷敬华,莫志深.现代高分子物理学[M].北京:科学出版社,2001.
- [11] 冲增哲著,古明选译.魔芋科学[M].成都:四川大学出版社,1990.102~107.
- [12] 李斌.魔芋葡甘聚糖凝胶机理研究[J].中国农业科学,2002,35(11):1411~1415.
- [13] Aymard P,Nicopla T,Durand D,et al. Static and dynamic scattering of lactoglobulin aggregates formed after haet-induced denaturation at pH 2[J]. Macromolecules, 1999, 32:2542~2552.