

大豆分离蛋白-瓜尔胶生物材料 混合体系疏水性的研究

隋春霞, 江连洲, 于国萍*
(东北农业大学, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 以大豆分离蛋白为原料, 添加瓜尔胶多糖, 通过共混改性制备生物材料溶液, 探讨了混合体系在不同 pH、不同蛋白、盐和瓜尔胶浓度条件下表面疏水值的变化。结果表明: 瓜尔胶多糖加入到单组分大豆分离蛋白体系后, 会使体系表面疏水值降低; 未加盐时 pH = 8.0 条件下, 体系可溶性蛋白的表面疏水值最大, 加入盐后 pH = 10.0 时混合体系表面疏水值明显大于纯水条件; 且 pH = 10.0 条件下, 当盐浓度小于 0.1 mol/L 时, 体系表面疏水值随盐浓度的增大而增大, 反之减小。此研究为大豆分离蛋白-瓜尔胶生物材料的成膜机理解释奠定了理论基础。

关键词: 大豆分离蛋白, 瓜尔胶, 表面疏水性

Study on hydrophobicity of biomaterial mixture from soy protein isolate-guar gum system

SUI Chun-xia, JIANG Lian-zhou, YU Guo-ping*
(Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The changes of surface hydrophobicity of biomaterial mixture from soy protein isolate-guar gum under the different pH, protein, salt and guar gum concentrations was studied. The results showed: when guar gum was added into one-component soy protein isolate system, surface hydrophobicity value decreased. Soluble protein surface hydrophobicity value was the highest at pH lever of 8.0 without salt. If salt was added at pH lever of 10.0, the value was higher than that under the condition of pure water, the surface hydrophobicity value increased as salt concentration increased if salt concentration was below 0.1 mol/L and at pH lever of 10.0. On the contrary, the value decreased as salt concentration increased. This study laid a theoretical foundation for film-forming mechanism of biomaterial mixture from soy protein isolate-guar gum.

Key words: soy protein isolate; guar gum; surface hydrophobicity

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)07-0109-03

目前随着全球性“白色污染”给人类带来的危害日益彰显, 加之石油资源日趋枯竭, 一些研究者开始致力于开发以天然可再生资源为原料的环境友好材料^[1-3], 这些生物材料最大的优点是“取之自然, 回归自然”, 多数以蛋白类、脂类和多糖类物质为原料, 材料具有很大的实用价值, 可以在医药、食品保藏和包装、生物工程等领域广泛应用^[4-5]。蛋白质和多糖是自然界中重要的天然高分子, 具有很好的生物相容性、可降解性和低毒性, 常用来合成可降解生物材料。本研究以大豆分离蛋白为材料基质, 但从高分子材料的角度看, 大豆蛋白有许多缺陷, 由纯大豆蛋白制备的材料脆度很大, 并且耐水性比较差, 必须经过物理、化学或生物的方法进行改性, 使其具有好的利用价值^[6-8], 目前将蛋白与多糖类物质通过共混改性制备生物材料成为一种主流手段, 其可以充分发

挥原料的优势, 提高合成材料的机械或加工等性能, 采用向大豆分离蛋白体系中加瓜尔胶多糖作为成膜原料。表面疏水性影响分子间的相互作用, 如蛋白质与蛋白质、蛋白质与多糖、蛋白质与脂类等小配位体间的缔合作用或其它大分子间的相互作用。研究蛋白与多糖作用体系的表面疏水性可以解释蛋白与多糖之间的疏水相互作用, 从而为成膜机理问题以及预测生物薄膜的抗水性、机械性能和加工性提供理论依据。本工作拟采用大豆分离蛋白为主要成膜基质, 以甘油为增塑剂, 纯水和无水乙醇为溶剂, 添加瓜尔胶多糖, 通过改变蛋白浓度、pH、瓜尔胶浓度以及盐浓度, 以 ANS 荧光探针法研究不同蛋白-多糖共混材料体系溶液的表面疏水性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大豆分离蛋白 (SPI) 哈高科大豆食品有限责任公司, 经测定组分含量分别为: 水分 5.31%、蛋白质 91.60%、灰分 4.51%; 1-苯胺基萘-8-硝基苯甲酸盐 (ANS) 美国 Sigma 公司; 瓜尔胶 印度进口, 天津华裕经济贸易有限公司; 考马斯亮蓝 G-250 美

收稿日期: 2011-02-24 * 通讯联系人

作者简介: 隋春霞 (1979-), 女, 研究生, 讲师, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程。

基金项目: 国家基金面上项目 (31071493)。

国 AMRESO 公司, Solarbio 试剂; 其余试剂 均为国产分析纯。

HITACHI 650-60 荧光分光光度计 日本岛津公司; pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; JJ-1 型定时电动搅拌器 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂; 水浴锅 余姚市东方电工仪器厂; 离心机 北京医药离心机厂。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆分离蛋白液的制备 以一定量的大豆分离蛋白分散在 100mL 溶剂(纯水:无水乙醇 = 4:1)中,加入甘油 1.5g,室温下用电动搅拌器搅拌至均质。置于 4℃ 冰箱中过夜,备用。

1.2.2 不同 pH 和盐浓度大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系(IG)溶液的制备 取 1.2.1 中制备的大豆分离蛋白液(3% w/v) 100mL,加入 0.15g 瓜尔胶,35℃ 水浴预热,在电动搅拌下,用 0.1mol/L HCl 或 0.1mol/L NaOH 溶液调节所需 pH3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0, (80 ± 1)℃ 水浴加热 30min,冷却。7200r/min 4℃ 离心 10min,取上清液测可溶性蛋白浓度(考马斯亮蓝法)。

取 1.2.1 中制备的大豆分离蛋白液(3% w/v) 100mL,加入 0.15g 瓜尔胶,35℃ 水浴预热,0.1mol/L NaOH 溶液调节 pH = 10.0,加 NaCl 使其浓度分别为:0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.15、0.20、0.25mol/L, (80 ± 1)℃ 水浴加热 30min,冷却。测可溶性蛋白浓度,以不调 pH 的平行实验作为对照。

1.2.3 不同大豆分离蛋白和瓜尔胶浓度 IG 混合体系溶液的制备 在 100mL 溶剂(纯水:无水乙醇 = 4:1)中分别加入大豆分离蛋白粉 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0g,再加入 0.15g 瓜尔胶。

取 1.2.1 中制备的大豆分离蛋白液(3% w/v) 100mL,分别加入 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5g 瓜尔胶。

以上两种条件下体系在 35℃ 水浴预热,在电动搅拌下,用 0.1mol/L NaOH 溶液调节体系 pH 为 8.0, (80 ± 1)℃ 水浴加热 30min,冷却。测可溶性蛋白浓度(方法同 1.2.2)。

1.2.4 大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系(IG)表面疏水性的测定 采用 1-苯胺基萘-8-硝基苯甲酸盐(ANS)作为荧光探针,将样品溶于 0.01mol/L、pH7.0 的磷酸缓冲液中,采用“9、5、5、5”阶梯稀释法配成浓度 1g/L 左右的分散体系,取不同浓度样品的溶液 10mL,分别加入 50μL 浓度为 80mmol/L 的 ANS 溶液,振荡,避光静置 15min,然后在激发波长 λ_{ex} = 390nm,发射波长 λ_{em} = 470nm 条件下测定样品的荧光强度 FI,以荧光强度对蛋白质浓度作图,初始段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性指数 S_0 。

1.2.5 统计分析 每次实验重复 3 次。所用数据均为 3 次的平均值,误差项为标准差;数据标注字母不同者为差异显著 ($P < 0.05$)。数据均使用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 pH 对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

图 1 为不同 pH 条件下,大豆分离蛋白(SPI)体系和大豆分离蛋白-瓜尔胶(IG)体系可溶性蛋白表

面疏水值 S_0 的测定结果。如图 1 所示,相对 SPI 单一组分,加入多糖瓜尔胶后,体系整体 S_0 降低,表明瓜尔胶加入后参与体系或形成新的化合物,阻碍了蛋白与 ANS 探针的结合,从而显示表面疏水值的降低^[9]。或者是蛋白未与瓜尔胶连接,而变得更加亲水^[10],当然这也不排除由于多糖的参与,诱导蛋白与蛋白之间经疏水相互作用发生聚集的现象^[11]。碱性区域,蛋白带负电,由于蛋白自身静电相互排斥而使蛋白结构不稳定,活性基团暴露,使蛋白与 ANS 探针的作用强于蛋白与蛋白的结合,因此疏水值要明显偏高。酸性区域(pH4~5)体系表面疏水值很低,这可能和等电点时蛋白溶解度低,有效浓度低有关。

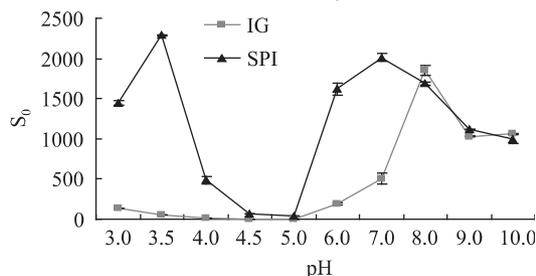


图 1 pH 对大豆分离蛋白和大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

2.2 盐浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

图 2 为两种条件下,分别测得的 IG 体系对应不同 NaCl 浓度时的 S_0 。如图 2 所示, pH = 10.0 时 IG 混合体系 S_0 明显大于纯水条件,并且纯水条件下,体系 S_0 基本没有发生变化,随盐浓度的增大, S_0 总体呈减小的趋势,但变化不明显。

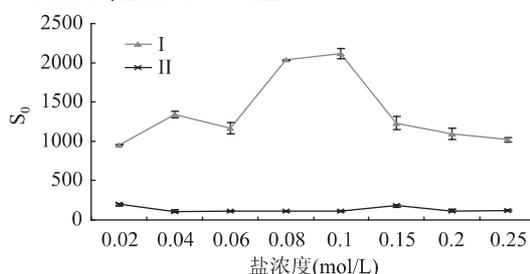


图 2 盐浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

注: I 表示 IG 体系在 pH = 10.0 条件下测得的不同盐浓度对应的表面疏水值; II 表示未加酸碱调 pH 条件下 IG 在不同盐浓度时对应的表面疏水值。

相比较图 1 中未加盐 IG 体系 pH = 10.0 时 $S_0 = 1066.85$,当盐浓度处于 0.04~0.2mol/L 范围时,体系 S_0 均大于 1066.85,说明 NaCl 在碱性条件下对体系起了非常关键的作用,当盐加入到体系后,瓜尔胶、pH 和 NaCl 三个条件发生了交互作用。

盐浓度小于 0.1mol/L 时, pH = 10.0 体系 S_0 随盐浓度的增大总体呈增大的趋势,反之大于 0.1mol/L 时,随盐浓度的增大 S_0 逐渐减小。有关 NaCl 对蛋白结构的影响一直存在争议,有文献报道,NaCl 可使蛋白的变性焓降低,而蛋白变性可导致疏水基团暴露,使疏水值增大^[14]。大于 0.1mol/L 时随盐浓度的增大 S_0 减小,可能是因为溶液的离子强度发生变化,在高离子强度时,蛋白与多糖的作用发生变化。

2.3 蛋白浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

图3是由不同大豆分离蛋白浓度时IG体系 S_0 的变化。由图3可见,随着蛋白浓度增大,体系 S_0 整体降低。这可能是由于随着蛋白浓度增加,蛋白相邻非极性残基发生了疏水性相互作用^[12],同时伴随多肽链的展开^[13]。

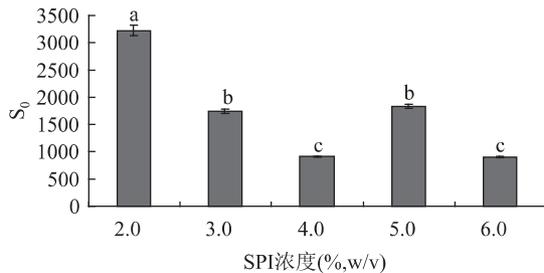


图3 蛋白浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

2.4 瓜尔胶浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

图4是随着向SPI单组分体系中加入不同量的瓜尔胶多糖体系 S_0 的变化。由图4可知,当浓度处于0.1%~0.5% (w/v)时,随着瓜尔胶的加入,体系 S_0 相比不加瓜尔胶是减小的,这与2.1的结论一致,但是随着瓜尔胶浓度的增大,体系 S_0 变化不显著。原因是瓜尔胶是一种中性多糖,二者之间不能通过静电相互作用形成难溶性化合物,而体系表面疏水值减少,表明二者还是发生了某种作用,可能是通过疏水或氢键发生了变化,只是这种变化受瓜尔胶浓度的影响不显著。

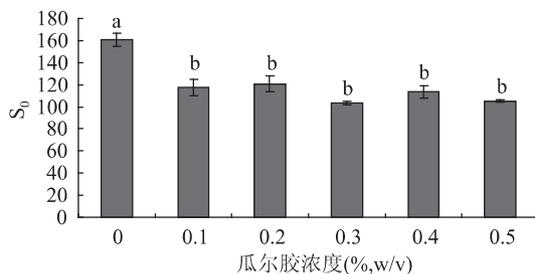


图4 瓜尔胶浓度对大豆分离蛋白-瓜尔胶混合体系表面疏水性的影响

3 结论

3.1 向SPI生物材料混合体系中加入中性瓜尔胶多糖,会使体系可溶性蛋白 S_0 降低,表明大豆分离蛋白与中性多糖瓜尔胶之间发生了某种相互作用,可能是疏水相互作用,可能是氢键,也可能是在瓜尔胶的诱导下蛋白与蛋白之间的作用,但这种作用受瓜尔胶多糖浓度的影响不显著。

3.2 pH对IG生物材料混合体系 S_0 的影响在酸性和中性区域不显著,碱性区域比较明显,尤其在pH=8.0时,体系可溶性蛋白的 S_0 最大。

3.3 NaCl加入到IG生物材料混合体系中,会使体系 S_0 变化变得复杂。pH=10.0时IG混合体系 S_0 明显大于纯水条件,表明当盐加入到体系后,盐对IG体系的表面疏水性存在一定的影响;并且pH=10.0

时,IG体系 S_0 以盐浓度为0.1mol/L为分界,出现了不同的变化趋势,当盐浓度小于0.1mol/L时,随着NaCl浓度的增大 S_0 是增大的,反之,当盐浓度大于0.1mol/L时,随着NaCl浓度的增大 S_0 是降低的。

参考文献

- [1] Bastioli C. Biodegradability of polymers [M] // Smithers Rapra Technology, Handbook of Biodegradable Polymers, Shropshire, UK 2005: 1-32.
- [2] Belgacem M N, Gandini A. Materials from vegetable oils: major sources, properties and application. 2008 // Monomers, Polymers and Composites from Swain S N, Rao K K, Nayak P L, Biodegradable polymers: IV. Spectral, Renewable Resources. Elsevier, Amsterdam, Holland 2005: 39-66.
- [3] Yu L. Natural polymers blends and composites [M] // Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources. Elsevier, Oxford, UK 2009: 17-162.
- [4] Guerrero P, Retegi A, Gabilondo N, et al. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 100: 145-151.
- [5] Gabriela A Denavi, Miriam Perez-Mateos, Mara C Anon. Structural and functional properties of soy protein isolate and Cod gelatin blend films [J]. Food Hydrocolloids 2009 23: 2094-2101.
- [6] Gennadios A. Protein-based films and coatings [M] // Protein-based Films and Coatings, CRC Press, Florida, USA, 2002: 123-138.
- [7] Kumar R, Lui D, Zhang L. Advances in proteinous biomaterials [J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2008 2(1): 1-24.
- [8] Rudnik E. Compostable polymer materials [M] // denitions, structures and Methods of preparation. In: Compostable Polymer Materials Elsevier, Amsterdam, Holland 2008: 10-36.
- [9] Galazka V B, Smith D, Dickinson E, et al. Effect of high pressure on protein-polysaccharide complexes // E Dickinson, J M Rodriguez (Eds). Food emulsions and foams, interfaces, interactions, and stability Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1999: 106-116.
- [10] Molina Ortiz S E, Puppo M C, Wagner J R. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems [J]. Food Hydrocolloids 2004, 18: 1045-1053.
- [11] Tolstoguzov V. Some thermodynamic considerations in food formulation [J]. Food Hydrocolloids 2003, 17: 1-23.
- [12] Samant S K, Singhal R S, Kulkarni P R, et al. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations [J]. International Journal of Food Science and Technology, 1993, 28: 547-562.
- [13] Paulson A T, Tung M A. Thermally induced gelation of succinylated canola protein isolate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1989, 37: 316-326.
- [14] Arntfield S D, Murray E D, Ismond M A H. Influence of salts on the microstructural and rheological properties of heat-induced protein networks from ovalbumin and vicilin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38: 1335-1343.