

绿豆种子蛋白质乳化特性的研究

樊明涛¹ 郭蔼光² 蔡静¹ 姜莉¹

(1 西北农业大学食品科学系, 2 基础科学系, 陕西杨陵 712100)

摘 要 经过对绿豆种子蛋白质乳化能力及乳浊液 5 种因素对乳化活性影响的研究, 结果表明: 蛋白质的乳化能力随着蛋白质浓度的增加而增加, 当浓度增加到一定值时, 乳化能力达到最大值, 之后蛋白质浓度再增加, 乳化能力下降。形成乳浊液的 5 种因素对乳浊液的乳化活性都有非常显著的影响。

关键词 绿豆 蛋白质, 乳化能力, 乳化活性, 影响因素

中图分类号 Q946.1 TS201.21

绿豆营养价值高, 含有丰富的蛋白质、氨基酸、淀粉、各种矿物质及维生素, 且具有一定的疗效保健功能^[1]。由于近年来食品工业对绿豆食品开发研究的重视以及种子蛋白质在加工品质中的重要性^[2], 本研究以绿豆 1381 为材料, 对其蛋白质的乳化性质进行了探讨, 以期能为豆乳类产品开发利用提供理论依据。

乳化性质是蛋白质的重要功能性质之一, 它主要包括乳化能力 (Emulsifying capacity, 简称 EC)、乳化活性 (Emulsifying Activity, 简称 EA), 以此判断蛋白质的表面性质。

1 材料与方法

1.1 材料

市售玉米油, 磷酸盐缓冲液, 绿豆种子购自陕西省农科院特作所, 高速搅拌机 (型号: PT3000 Brinkman Instruments, Inc, Westbury, NY)。

1.2 方法

1.2.1 绿豆种子蛋白质的提取 参考文献[3]方法进行。

1.2.2 蛋白质乳化能力的测定 根据 S L Turgeon 的方法进行测定^[4]。蛋白质用磷酸盐缓冲液配成一定浓度并取一定体积, 在恒速搅拌下, 连续滴入纯玉米油, 并同时测定乳浊液的电导值变化。当电导值突然下降时, 即为乳浊液相转变点, 停止加油, 记录所加入油的体积。同时进行空白试验。以下式计算蛋白质乳化能力:

$$EC = (O_1 - O_2) / p$$

式中: O_1 为一定体积蛋白质溶液到达相转变点时加入玉米油的体积; O_2 为等体积缓冲液相转变点时加入玉米油的体积; p 为蛋白质溶液所含蛋白质的 mg 数。

1.2.3 蛋白质乳浊液乳化活性的测定 乳浊液乳化活性的测定参考文献[5]方法进行。标准乳浊液由等体积的蛋白质溶液和玉米油在 8 000 r/min 速度下搅拌 2 min 形成。影响乳化活性的因素如下: 蛋白质浓度 0.1%~2%; 油相体积份数 0.2~0.7; pH2~10; 搅拌

速度 2 000~12 000 r/min; 搅拌时间 10 s~5 min. 乳浊液根据要求形成后, 立即取 1 mL, 用 0.1% SDS 稀释 500 倍, 并以 0.1% SDS 为空白, 在 500 nm 1 cm 光路下测定稀释液的吸光度, 作为乳浊液的乳化活性 EA.

2 结果与分析

2.1 绿豆种子蛋白质的乳化能力

绿豆种子蛋白质浓度, 缓冲液 pH 和乳化能力的关系见表 1 和表 2.

表 1 绿豆种子蛋白质浓度和乳化能力的关系 (pH=8.0)

蛋白质浓度 (%)	乳化能力 (g 油/mg 蛋白质)		
	总蛋白	球蛋白	清蛋白
0.1	1.55±0.04	1.50±0.05	1.46±0.07
0.2	1.58±0.03	1.54±0.07	1.50±0.09
0.3	1.62±0.07	1.57±0.01	1.56±0.05
0.4	1.66±0.06	1.63±0.08	1.62±0.05
0.5	1.67±0.07	1.66±0.04	1.61±0.03
0.6	1.64±0.07	1.68±0.02	1.57±0.09
0.8	1.52±0.08	1.62±0.02	1.52±0.01
1.0	1.40±0.11	1.52±0.07	1.46±0.01
1.2	1.38±0.05	1.47±0.05	1.44±0.01
1.4	1.35±0.02	1.47±0.03	1.41±0.06
1.6	1.34±0.08	1.38±0.05	1.39±0.02
1.8	1.32±0.01	1.35±0.04	1.37±0.09
2.0	1.30±0.01	1.32±0.01	1.36±0.07

表 2 缓冲液 pH 和绿豆种子蛋白质乳化能力的关系 (蛋白质浓度 0.5%)

缓冲液 pH	乳化能力 (g 油/mg 蛋白质)		
	总蛋白	球蛋白	清蛋白
2	1.59±0.07	1.40±0.08	1.52±0.06
4	1.50±0.02	1.29±0.10	1.41±0.04
6	1.64±0.09	1.36±0.05	1.61±0.07
8	1.67±0.07	1.66±0.04	1.61±0.03
10	1.67±0.03	1.57±0.03	1.62±0.05

从表 1 看出, 蛋白质浓度和其乳化能力之间呈倒“V”型关系, 即在蛋白质浓度低时, 乳化能力随着蛋白质浓度的增加而提高, 当蛋白质浓度达到一定值时 (总蛋白质 0.5%, 球蛋白 0.6%, 清蛋白 0.4%), 乳化能力达最大值, 之后, 蛋白质浓度再增加时, 乳化能力反而下降。乳化能力可被认为是蛋白质在油水界面吸附及阻止油滴相互亲和的能力, 蛋白质形成乳浊液的这种现象和乳浊液膜形成机理及蛋白质表面性质有关。绿豆种子蛋白质中, 总蛋白的乳化能力分别比清蛋白和球蛋白的乳化能力强, 这是由蛋白质的表面性质所决定的。总蛋白含有清蛋白 (亲水性强) 和球蛋白 (亲油性强), 两者组合成比较理想的亲水亲油平衡值 (Hydrophilic-Hydrophobic-Balance, HLB), 因而总蛋白的乳化能力较高。

从表 2 可知, 蛋白质乳化能力的大小与缓冲液的 pH 关系很大。绿豆种子蛋白质在 pH4 时, 乳化能力均下降, 其中球蛋白的乳化能力下降幅度最大, 这主要和蛋白质的等电

点有关。

2.2 绿豆种子蛋白质乳浊液的乳化活性

2.2.1 蛋白质浓度对乳浊液乳化活性的影响 绿豆种子蛋白质乳浊液的乳化活性先随着蛋白质浓度的增加而增加,在蛋白质浓度达到 0.8% 时,乳化活性达到最大值,之后蛋白质浓度再增加,乳化活性下降,这一结果与 P Vincent 等人所做的结果相似^[6]。这可能与蛋白质溶解度有关。

2.2.2 缓冲液 pH 值对乳浊液乳化活性的影响 缓冲液 pH 对蛋白质乳浊液的乳化活性也有一定的影响。当 pH 在 2~8 范围时,总蛋白、清蛋白乳浊液乳化活性比较稳定,似乎和 pH 值关系不大;pH10 时,总蛋白、清蛋白乳浊液的乳化活性有较大幅度的下降;球蛋白在 pH2.0 时,乳化活性较低,而 pH4~10 时,乳化活性有较大幅度的增加,且比较平稳。

2.2.3 油相体积份数对乳化活性的影响 乳浊液中油相体积份数($\frac{V_{\text{油}}}{V_{\text{油}}+U_{\text{蛋白质溶液}}}$)对乳浊液的乳化活性有非常显著的影响(表 3)。乳浊液的乳化活性随着油相体积份数从 0.2 增加到 0.7 时,乳浊液的乳化活性增加将近 200%。油相体积份数超过 0.75 时不能形成乳浊液。利用单波长光测定乳浊液的吸光度,以估计油滴粒子的大小,进而推算乳浊液的界面面积。根据光的散射原理,乳浊液的浊度和界面面积之间有正相关关系,增加油相体积份数,必然增加乳浊液的界面面积,因而吸光度增大。实际测定时,制备好的乳浊液在测定浊度之前要稀释许多倍,以便所测浊度是每个油滴粒子吸光的加和,避免由于光的多次散射引起的误差。

2.2.4 搅拌速度和时间对乳化活性的影响 蛋白质乳浊液的乳化活性与搅拌速度和时间有密切的关系(表 3)。随着搅拌速度的增加,搅拌时间的延长,蛋白质乳浊液的乳化活性不断增加。搅拌速度从 2 000 r/min 增加到 12 000 r/min 时,乳化活性值增加约 260%,且和蛋白质种类关系不大。增加搅拌速度主要是将给乳浊液输入更多的能量,促使乳浊液中油滴颗粒变小,乳浊液的界面面积增加,因而乳化活性增大,短时间内增加搅拌时间也将促使更多的油滴粒子变小,增加了乳浊液的界面面积。搅拌时间到一定值后,油滴粒子已达到最小,即使再增加搅拌时间,乳浊液的界面面积也不会增加,因而乳化活性基本稳定。表 3 说明,对绿豆种子蛋白质形成均匀的乳浊液,在 8 000 r/min 下至少搅拌 2 min 以上。

表 3 不同因素对绿豆种子蛋白质乳化活性的影响*

蛋白质 浓度 (%)	EA			pH	EA			油相体 积份数	EA			搅拌 时间 (min)	EA			搅拌 速度 (×1 000 r/min)	EA		
	T	G	A		T	G	A		T	G	A		T	G	A		T	G	A
0.2	0.34	0.33	0.33	2	0.52	0.38	0.46	0.2	0.41	0.37	0.39	10s	0.25	0.23	0.24	2	0.31	0.29	0.29
0.4	0.50	0.49	0.49	4	0.49	0.56	0.52	0.3	0.45	0.44	0.44	30s	0.31	0.31	0.33	4	0.33	0.35	0.32
0.6	0.61	0.58	0.60	6	0.51	0.60	0.53	0.4	0.46	0.50	0.46	1	0.41	0.43	0.41	6	0.37	0.42	0.40
0.8	0.72	0.71	0.74	8	0.53	0.56	0.54	0.5	0.54	0.54	0.53	2	0.53	0.55	0.54	8	0.54	0.55	0.55
1.0	0.72	0.71	0.73	10	0.28	0.56	0.30	0.6	0.67	0.65	0.65	4	0.59	0.57	0.58	10	0.69	0.68	0.71
1.2	0.71	0.68	0.66					0.7	0.71	0.67	0.69	5	0.60	0.57	0.56	12	0.80	0.79	0.77
1.4	0.61	0.64	0.60																

* 表中标准条件为:蛋白质浓度 0.5%, pH=8, 油相体积份数 0.5; 搅拌时间 2 min; 搅拌速度 3 000 r/min; EA 代表乳化活性; T 代表总蛋白(Total protein); G 代表球蛋白(Globulin); A 代表清蛋白(Albumin)。

3 讨 论

1) 蛋白质的乳化特性是蛋白质的重要功能性质之一,不同性质的蛋白质应具有不同的乳化特性。但事实上,性质差异很大的蛋白质表现了非常相似的乳化特性,主要是因为溶液体系中蛋白质的乳化性质决定于蛋白质分子的亲水亲油平衡值(HLB),而不是依赖于蛋白质分子的表面疏水性;同时在溶液体系中蛋白质分子间还要发生许多反应,例如静电相互作用、疏水相互作用,使蛋白质的性质不能完全表现出来,导致不同性质的蛋白质表现了相似的乳化特性。绿豆种子 3 种蛋白质尽管性质不同,本试验中表现了非常相似的乳化特性。其他作者^[7]研究性质差异很大的酪蛋白和清蛋白分离物,发现它们也具有非常相似的乳化性质,说明根据蛋白质分子结构预测蛋白质功能性质仍非常困难。

2) 目前测定蛋白质乳浊液乳化活性均是采用 Pearce 和 Kinsella 的浊度法或其改进法,以估计油滴粒子的大小,预测乳浊液的稳定性。原始方法中规定,乳浊液形成后,稀释 1 000~5 000 倍再进行吸光度测定,但太浪费试剂,有一些研究者^[7]对其方法进行了改进,稀释 250 倍,取得了可靠的结果,大大节约了试剂。

3) 关于蛋白质浓度对乳浊液乳化活性的影响,目前有两种结果,一种为随着蛋白质浓度的增加,乳化活性一直上升^[7],没有下降趋势。另一种是先随着蛋白质浓度的增加,乳化活性增加,当浓度达到某一值时,乳化活性达最大值,之后蛋白质浓度再增加时,乳化活性反而下降,这很可能与蛋白质的溶解度有关,不溶解的蛋白质分子乳化能力差,造成乳化活性降低。即使对第一种情况,如若再增加蛋白质浓度,乳化活性应有一拐点处,因此,研究蛋白质乳化特性时,蛋白质浓度是否存在一个最佳线性范围,有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 龙静宜. 食用豆类作物. 北京: 科学出版社, 1989
- 2 樊明涛, 艾启俊. 食品蛋白质泡沫及其研究概论. 北京农学院学报, 1995, 21(1): 134~139
- 3 Tomooka T. Center of genetic diversity and dissemination pathways mungbean deduced from seed protein electrophoresis. Theor Appl Genet, 1992, 83: 289~293
- 4 Turgeon S L. Emulsifying properties of whey peptides fractions as a function of pH and ionic strength. J Food Sci, 1992, 57(3): 601~604
- 5 Kevin N, John E K. Emulsifying properties of proteins. Evaluation of a turbidimetric technique. J Agric Food Chem, 1978, 26(3): 716~722
- 6 P Vincent Mnteiro, Prakash. Functional properties of homogenous protein fractions from peanut. J Agric Food Chem, 1994, 42: 274~278
- 7 Shih-young Lee. Structural and functional properties of caseinate and whey protein isolates as affected by temperature and pH. J Food Sci, 1992, 57(5): 1210~1213