

# 不同油相比比例对黑豆分离蛋白乳液凝胶特性的影响

王小庆<sup>1,2</sup>,任健<sup>1,2</sup>

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006;  
2. 农产品加工黑龙江省普通高校重点实验室, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:**对黑豆分离蛋白添加不同油相比比例(大豆油 10%~60%)后制备的乳液表观黏度及由葡萄糖酸内酯(GDL)、CaCl<sub>2</sub>、谷氨酰胺转氨酶诱导的黑豆分离蛋白乳液凝胶特性的变化进行了研究。结果表明:随着油相比比例的增加,油脂与蛋白质之间作用,使蛋白质分子之间连接更加紧密,表观黏度增大;随着油相比比例的增加,由 GDL、CaCl<sub>2</sub>和谷氨酰胺转氨酶诱导的黑豆分离蛋白乳液形成完整的三维结构时间缩短,凝胶强度增大,持水性增大。

**关键词:**黑豆分离蛋白;乳液凝胶;油相比比例;流变特性

中图分类号:TS936.2;TS229 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)01-0103-04

## Influences of oil volume fraction on properties of black bean protein isolate emulsion gel

WANG Xiaoqing<sup>1,2</sup>, REN Jian<sup>1,2</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;  
2. Key Laboratory of Processing Agricultural Products of Heilongjiang Province, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China)

**Abstract:** The black bean protein isolate was added with different volume fractions of oil (10% - 60% of soybean oil) to prepare GDL, CaCl<sub>2</sub> and transglutaminase induced protein emulsion gel. The apparent viscosity of the emulsion and the property changes of the emulsion gel were studied. The results showed that the apparent viscosity of emulsion increased with the increase of oil volume fractions, because protein molecules were closer to each other in the presence of oil and protein. The formation time of complete three dimensional structure of emulsion gel induced by GDL, CaCl<sub>2</sub> and transglutaminase shortened, and gelling strength and water holding capacity increased with the increase of oil volume fractions.

**Key words:** black bean protein isolate; emulsion gel; oil volume fraction; rheological property

黑豆分离蛋白具有来源广泛,氨基酸构成比例合适,溶解性、乳化性及乳化稳定性均较好的优点<sup>[1-2]</sup>。稳定的蛋白质乳液凝胶是一类重要的食品体系,在食品、化工及其他相关领域具有广泛的应用

前景<sup>[3-5]</sup>,其作为脂溶性生物活性物质的包埋、释放载体,已越来越受到学术界和工业界的关注,因此研究黑豆分离蛋白的乳液凝胶具有重要意义。

蛋白质和油脂是黑豆的两种主要成分,同时蛋白质制品作为添加剂已被广泛应用于食品、化妆品<sup>[6]</sup>和医药工业中<sup>[7-9]</sup>,在工业生产中蛋白质和油脂经常作为产品的两种主要成分同时存在。油脂对蛋白质的凝胶性、保水性、乳化性都具有一定的影响。Bhardwaj等<sup>[10]</sup>认为大豆中蛋白质及脂肪的含量对凝胶的品质有较大的影响。李辉尚<sup>[11]</sup>认为豆腐的硬度和弹性随着油脂含量的增加而增大。

收稿日期:2017-06-05

基金项目:国家自然科学基金项目(31271982)

作者简介:王小庆(1991),女,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail)1179304857@qq.com。

通信作者:任健,教授,硕士生导师,博士(E-mail)renjian1970789@sina.com。

本文通过研究添加不同比例大豆油对黑豆分离蛋白乳液的流变特性及不同比例大豆油对由葡萄糖酸内酯(GDL)、CaCl<sub>2</sub>和谷氨酰胺转氨酶诱导的乳液凝胶时间、凝胶强度和凝胶持水性的影响,为开发新型活性物质载体提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

黑豆:辽宁省建平县永兴源粮贸有限责任公司;金龙鱼一级大豆油;葡萄糖酸内酯(GDL):克拉马尔公司;无水氯化钙:天津市科密欧化学试剂有限公司;TG-N型谷氨酰胺转氨酶:泰兴市一鸣生物科技有限公司。

Kinexus pro+型高级旋转流变仪:英国 Malvern 公司;GYB40-10S型高压均质机;JS25型乳化分散机。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 黑豆分离蛋白的制备

黑豆→去皮、粉碎过筛(100目)→石油醚浸提→离心→沉淀低温干燥→脱脂黑豆粕→碱溶解(pH 8.5)→离心→上清液→酸沉(pH 4.5)→离心→沉淀→水洗、中和→冷冻干燥→黑豆分离蛋白。

#### 1.2.2 黑豆分离蛋白乳液的制备

配制 60 g/L 的黑豆分离蛋白分散液,室温条件下搅拌 2 h,充分溶胀后,次日将黑豆分离蛋白溶液于 85℃ 加热 5 min,然后冷却到室温,逐滴加入 10%、20%、30%、40%、50%、60% 大豆油,经乳化分散机(10 000 g)处理 3 min,得粗乳液。将粗乳液在 40 MPa 条件下循环高压均质处理 3 次,4℃ 储存备用。

#### 1.2.3 黑豆分离蛋白乳液表观黏度的测定

将乳液样品分别置于 PU60 mm 的平板之间,间距 1 mm,剪切速率 0.1~100 s<sup>-1</sup>,25℃ 下保温 5 min,测定黑豆分离蛋白乳液表观黏度的变化。

#### 1.2.4 乳液凝胶的制备

取不同油相比例的乳液分别加入 20% GDL、8 mmol/L CaCl<sub>2</sub>溶液、20 U/g 谷氨酰胺转氨酶溶液,室温搅拌 1 min,用于流变性能分析。

#### 1.2.5 流变性能测定

用马尔文流变仪测定乳液凝胶性能。将乳液样品分别置于 PU60 mm 的平板之间,两板间距为 1 mm,记录弹性模量( $G'$ )与时间( $t$ )的函数。应变 1%,频率 1 Hz,测试时间 120 min,添加 GDL、CaCl<sub>2</sub>溶液和谷氨酰胺转氨酶溶液的乳液扫描温度分别为 25、35、37℃。在时间测定结束后,立即进行频率测定,频率 0.1~100 Hz,应变 0.5%,温度 25℃。

#### 1.2.6 持水性测定

取 10 mL 烧杯( $m_1$ ),然后取 4 mL 乳液分别置于烧杯中,按 1.2.4 分别添加诱导剂混匀,称重( $m_2$ ),然后用保鲜膜密封,置水浴中反应 30 min(温度分别为 75、75、37℃),取出冷却至室温,在 4 300 r/min 下离心 30 min,倒置在滤纸条上控水 10 min,再次称重( $m_3$ ),凝胶持水性定义为离心后凝胶所含水的质量( $m_3 - m_1$ )占离心前样品所含的总水分质量( $m_2 - m_1$ )的百分比。每组实验平行 3 次。

## 2 结果与讨论

### 2.1 油相对比例对乳液表观黏度的影响(见图 1)

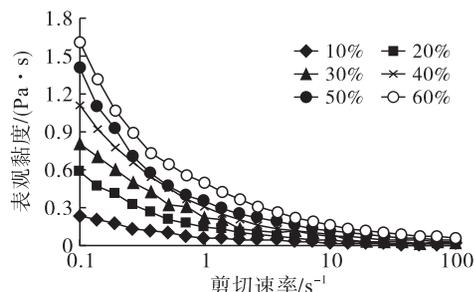


图 1 油相对比例对乳液表观黏度的影响

从图 1 可以看出,在剪切速率 0.1~100 s<sup>-1</sup> 的范围内黑豆分离蛋白乳液的表观黏度随剪切速率的增大而下降,即发生了剪切稀释现象。添加了油脂的黑豆分离蛋白乳液,由于油脂分子和蛋白质分子之间作用,增强了蛋白质分子之间的相互作用,使得蛋白质分子之间的连接更加紧密,制成乳液后其黏度逐渐增大。

### 2.2 油相对比例对 GDL、CaCl<sub>2</sub> 和谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶时间的影响(见图 2~图 4)

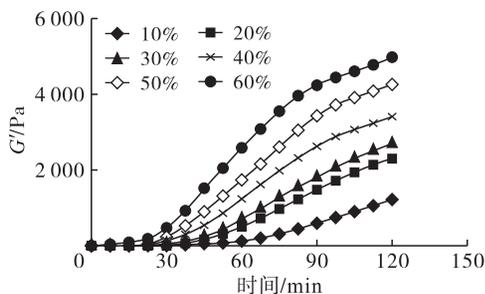


图 2 油相对比例对 GDL 诱导乳液凝胶时间的影响

从图 2 可以看出,根据时间扫描过程中,时间达到凝胶化时间前弹性模量( $G'$ )基本不变,而后弹性模量( $G'$ )开始增加,两条线的延长线的交点对应的的时间即为凝胶时间这一理论<sup>[12]</sup>,油相比例为 60% 的凝胶时间最短,其次是 50%、40%、30%、20%、10%,其凝胶时间分别为 20、28、38、42、48、61 min。添加不同比例的油相制备的黑豆分离蛋白乳液,在 GDL 诱导条件下,可以使蛋白乳

液的凝胶时间缩短。随着时间的延长,乳液凝胶的弹性模量逐渐增强,且随着油相比比例的增加其弹性模量也逐渐增强。

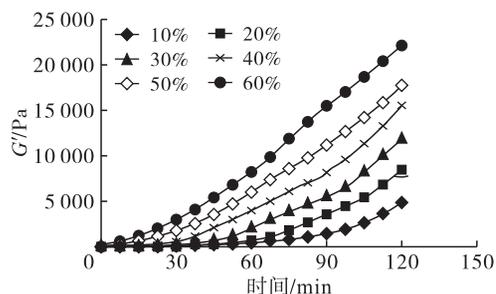


图3 油相比比例对  $\text{CaCl}_2$  诱导乳液凝胶时间的影响

从图3可以看出,根据凝胶时间理论<sup>[12]</sup>,由  $\text{CaCl}_2$  诱导的黑豆分离蛋白乳液凝胶在油相比比例为60%的凝胶时间最短,其次是50%、40%、30%、20%、10%,其凝胶时间分别为19、28、36、44、54、82 min。结果表明,添加不同比例的油相制备的黑豆分离蛋白乳液,在  $\text{CaCl}_2$  诱导条件下,可以使蛋白乳液的凝胶时间缩短。随着扫描时间的延长,乳液凝胶的弹性模量逐渐增强,且随着油相比比例的增加其弹性模量也逐渐增强。蛋白质相对分子质量、大小、水合作用、摩擦比、分子形状是影响蛋白质溶液黏度的重要因子,添加了油脂的大豆蛋白溶液,由于油脂分子和蛋白质分子之间作用,增强了蛋白质分子之间的相互作用,当加入  $\text{Ca}^{2+}$  后,增加了蛋白质的聚集,从而使蛋白质溶液的黏度增加,使得蛋白质分子之间的连接更加紧密,制成乳液凝胶后的蛋白质结构也较为致密,其黏度和弹性逐渐增大,与肖剑等<sup>[13]</sup>报道的结果一致。

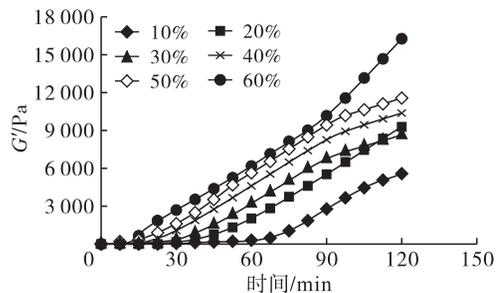


图4 油相比比例对谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶时间的影响

从图4可以看出,油相比比例的乳液凝胶  $G'$  均随着时间的延长逐渐增大,根据凝胶时间理论<sup>[12]</sup>,由谷氨酰胺转氨酶诱导的黑豆分离蛋白乳液凝胶在油相比比例为60%的凝胶时间最短,其次是油相比比例50%、40%、30%、20%、10%,其凝胶时间分别为14、21、25、35、46、70 min。由谷氨酰胺转氨酶诱导的黑豆分离蛋白乳液随着油相比比例的增加其凝胶时间依次缩短。在蛋白凝胶阶段,蛋白质充分展开并

迅速吸附到油滴表面,随着油相比比例的增加,在相同含量的诱导剂条件下,结合成紧密的三维网络结构的时间缩短,从而缩短凝胶时间。随着油相比比例的增加,更多的油滴紧密排列在凝胶网络中,且蛋白质吸附在油水界面过程中,其结构和形态发生展开或重排,有利于酶在不同油滴之间的共价交联作用。凝胶网络更容易形成,且油滴对三维网络结构的建立具有重要贡献。此外,谷氨酰胺转氨酶诱导凝胶的  $G'$  随油相比比例的增加而增加,油相有增强蛋白质网络结构的作用,故蛋白质的弹性模量增加。相似的结果也在大豆分离蛋白凝胶及豆乳凝胶过程中被报道。凝胶机械模量和强度的逐渐增加,取决于蛋白质分子间的共价交联作用。

### 2.3 油相比比例对 GDL、 $\text{CaCl}_2$ 和谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶强度的影响

频率扫描反映了油相比比例对由 GDL、 $\text{CaCl}_2$ 、谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶的机械强度的影响。为了进一步表明油相比比例在乳液凝胶中的作用,在时间扫描结束后,立即对2 h后形成的凝胶进行频率扫描,如图5所示。

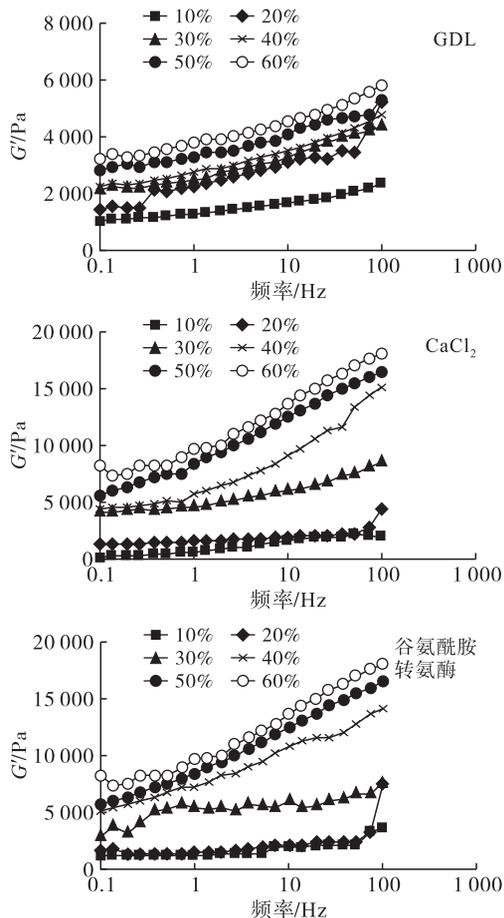


图5 油相比比例对不同诱导剂诱导乳液凝胶强度的影响

从图5可以看出,在0.1~100 Hz 范围内,乳液凝胶的  $G'$  均依赖于频率变化明显,这说明被蛋白质

包裹的油滴充当了“活性填充物”并加强了凝胶网络结构,高油相时更多分散的油滴被包埋或整合进凝胶网络,使凝胶强度更高,“活性填充物”的作用更加明显<sup>[14]</sup>。在低油相比例(10%~30%)下, $G'$ 随频率变化不明显,而在高油相比例(40%~60%)下,随着油相比例的增加, $G'$ 明显增大。原因可能是由于高油相比例条件下,蛋白质含量相对较少,大规模的油滴之间通过静电排斥以及合并等作用,促进了凝胶网络的重排,并参与网络结构的组成,而低油相比例条件下,蛋白质含量相对较高,吸附在油滴表面的蛋白质聚集和交联不断强化,将油滴牢牢锁在凝胶网络中,分散的油滴无法为凝胶体系提供整合动力。高油相时更多分散的油滴被包埋或整合进凝胶网络,使凝胶强度更高<sup>[15]</sup>。综合比较由谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶的强度较 GDL 和  $\text{CaCl}_2$  诱导乳液凝胶的强度增加的多,原因是随着油相比例的增加谷氨酰胺转氨酶与蛋白质之间的共价交联作用增强,凝胶的机械强度增大。

#### 2.4 油相比例对 GDL、 $\text{CaCl}_2$ 和谷氨酰胺转氨酶诱导乳液凝胶持水性的影响(见图 6)

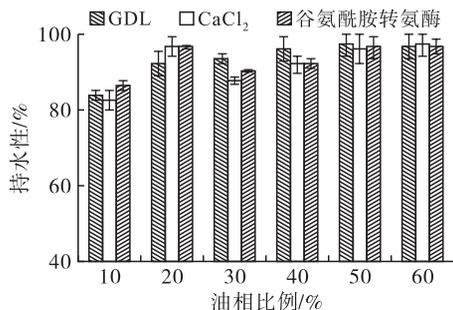


图 6 油相比例对不同诱导剂诱导乳液凝胶持水性的影响

从图 6 可以看出,添加不同比例油相后,由 GDL、 $\text{CaCl}_2$ 、谷氨酰胺转氨酶诱导黑豆分离蛋白乳液凝胶的持水性分别从 84.08% 升高至 96.80%、82.99% 升高至 97.16% 和 86.55% 升高至 96.64%。这与凝胶网络紧密的结构及凝胶强度密不可分。随着油相比例的增加,更多的油滴紧密排列在凝胶网络中,且蛋白质吸附在油水界面过程中,其结构和形态发生展开或重排,从而使蛋白质溶液的黏度增加,使得蛋白质分子之间的连接更加紧密,有利于 GDL、 $\text{Ca}^{2+}$ 、谷氨酰胺转氨酶诱导蛋白质之间的相互作用,制成乳液凝胶后的蛋白质结构也较为致密,因此持水性增大。

### 3 结论

随着油相比例的增加,油脂与蛋白质之间作用,

使蛋白质分子之间连接更加紧密,表现黏度增大;随着油相比例的增加,由 GDL、 $\text{CaCl}_2$  和谷氨酰胺转氨酶诱导的黑豆分离蛋白乳液形成完整的三维结构时间缩短,凝胶强度增大,持水性增大。

#### 参考文献:

- [1] 刘恩岐. 黑豆蛋白酶解产物的生物活性研究与结构表征[D]. 陕西 杨凌:西北农林科技大学, 2013.
- [2] 王晶, 马文君, 陈勇, 等. 超声辅助提取黑豆蛋白及其功能性质的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21):86-90.
- [3] 周凯琳, 陶莎, 薛文通. 黑豆蛋白及其抗氧化肽研究进展[J]. 食品工业, 2015(5):204-207.
- [4] 李杨, 刘宝华, 姜楠, 等. 超声处理对黑豆蛋白凝胶性能的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(1):161-169.
- [5] 王小庆, 任健. 不同预热处理温度对黑豆分离蛋白乳液凝胶性质的影响[J]. 中国油脂, 2016, 41(8):28-30.
- [6] DICKINSON E. Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface rheology [J]. Colloid Surfaces B Biointerf, 1999, 15:161-176.
- [7] KIRAT EL K, CHAUVET J P, ROUX B, et al. *Streptomyces chromofuscus* phospholipase D interaction with lipidic activators at the air-water interface[J]. Biochem Biophys Acta, 2004, 1661:144-153.
- [8] GALLEGOS C, FRANCO J M. Rheology of food, cosmetics and pharmaceuticals[J]. Curr Opin Colloid Interf Sci, 1999(4):288-293.
- [9] HAILING P J. Protein-stabilized foams and emulsions [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1981, 13:155-203.
- [10] BHARDWAJ H L, HAMAMA A A, RANGAPPA A M, et al. Effects of soybean genotype and growing location on oil and fatty acids in tofu [J]. Plant Foods Human, 2004, 58:197-205.
- [11] 李辉尚. 不同大豆品种的北豆腐加工适应性研究[D]. 北京:中国农业大学, 2005.
- [12] RENKEMA J M S, HNABBEN J H M, VAN VLIET T. Gel formation by  $\beta$ -conglycinin and glycinin and their mixture[J]. Food Hydrocoll, 2001, 15:407-414.
- [13] 肖剑, 沈红梅, 田少君, 等. 油脂含量对 SPI 豆腐得率和品质的影响[J]. 粮油加工, 2007, 12:109-112.
- [14] DICKINSON E, CHEN J. Heat-set whey protein emulsion gels: role of active and inactive filler particles[J]. J Dispers Sci Technol, 1999, 20:197-213.
- [15] DEMETRADES K, MCCLEMENTS D J. Influence of pH and heating on physicochemical properties of whey protein stabilized emulsions containing a nonionic surfactant[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(10):3936-3942.