

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.03.031

糖基化反应对大豆7s球蛋白凝胶流变性质的影响^{*}

迟玉杰 姜 剑 赵 薇

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 利用葡萄糖对大豆7s球蛋白进行湿法糖基化处理,制备出大豆7s球蛋白3种糖基化产物。通过旋转流变仪、质构仪和扫描电镜对大豆7s球蛋白及其3种糖基化产物凝胶的流变性、质构性及微观结构进行分析,研究糖基化反应对大豆7s球蛋白热致凝胶性的影响。结果显示:糖基化反应提高了大豆7s球蛋白的热稳定性,提前了大豆7s球蛋白的凝胶点,增加了大豆7s球蛋白凝胶的粘弹性,说明糖链的接入促进了大豆7s球蛋白凝胶网络的形成。

关键词: 大豆7s球蛋白 凝胶 流变 糖基化

中图分类号: TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2013)03-0167-07

Effect of Glycosylation Reaction on Gel Rheological Properties for Soybean 7s Globulin

Chi Yujie Jiang Jian Zhao Wei

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Glucose was used as an agent to modify soybean 7s globulin, in order to prepare for three glycation products of soybean 7s globulin. Rotary rheometer, texture analyzer and scanning electron microscope were used to analyze rheology, texture and microstructure of soybean 7s globulin and its glycosylation product gel, in order to study the effect of glycosylation reaction on 7s globulin gel. Research results showed that glycosylation reaction could improve the thermal stability of soybean 7s globulin and move up the soybean 7s globulin gel point. The viscoelasticity of the soybean 7s globulin gel was increased. The sugar chains could promote the formation of the soybean 7s globulin gel network.

Key words: Soybean 7s globulin Gel Rheology Glycosylation

引言

流变学是研究物质在外力的作用下发生流动和形变的一门学科,研究对象主要包括固体、液体和粘弹性体^[1]。近年来,国外研制的动态旋转流变仪在研究凝胶这类粘弹性体系上表现出巨大的优越性。它通过在小振幅振荡中施加交变应力,并通过材料对此应力的反馈得出一些特征指标,如储能模量 G' (又称弹性模量),耗能模量 G'' (又称粘性模量)等,在它们的变化过程中反映出材料的粘弹特性,该方法适用于液态和半固态材料,可通过测量参数的反馈来监测蛋白质凝胶的形成过程^[2]。Winter H H^[3]

等研究表明对于一般的凝胶体系,在凝胶形成过程中 G' 和 G'' 相互平行,且 $G' > G''$ 。

大豆蛋白因具有凝胶性、乳化性、起泡性等独特的功能性质,其作为食品辅料被广泛应用到各类食品中^[4]。大豆分离蛋白的主要成分是7s蛋白和11s蛋白,二者约占大豆分离蛋白含量的37%和31%。7s蛋白和11s蛋白在一定浓度下均可形成热致凝胶,Shimada等发现7s凝胶形成所需的蛋白质量分数要低于11s,7s蛋白质量分数在7.5%时即可形成弱凝胶^[5]。糖基化改性具有提高蛋白质凝胶性、乳化性、起泡性等功能^[6-8]。糖-蛋白复合体系的凝胶行为一直是科学界研究的热点,目前国内外对多糖-

收稿日期: 2012-03-06 修回日期: 2012-04-21

* 黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD200902)

作者简介: 迟玉杰,教授,博士,主要从事食品化学及农产品加工研究,E-mail: yjchi@126.com

大豆蛋白复合体系的凝胶流变学研究已有相关报道^[9-12],然而对单糖-大豆蛋白复合体系凝胶流变行为的研究却很少见。刘春研究发现,7s 主要影响大豆蛋白凝胶的弹性,11s 主要影响大豆蛋白凝胶的硬度^[13]。范森等研究表明利用葡萄糖对大豆蛋白进行糖基化改性明显提高了大豆蛋白凝胶强度^[6]。因而对葡萄糖-大豆 7s 球蛋白糖基化产物凝胶流变行为进行研究,可为高粘弹性大豆蛋白凝胶工业化生产提供一定理论指导。

传统糖基化主要分为干热法和湿热法,湿热法具有反应速度快、反应时间短、反应剧烈等特点,适合单糖、二糖的糖基化反应^[14]。本文采用湿热法以 3 种不同浓度的葡萄糖分别对大豆 7s 球蛋白进行糖基化改性,通过流变仪和质构仪对大豆 7s 球蛋白及 3 种糖基化产物凝胶的流变性和质构性进行研究,揭示糖基化对大豆 7s 球蛋白凝胶行为的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

低温脱脂豆粕,哈高科大豆食品有限公司提供;葡萄糖,天津市天理化学试剂有限公司;其他化学试剂均为国产分析纯。

Bohlin Gemini 2 型旋转流变仪,英国 Malvern 公司;PE Pyris 6 型差示扫描量热仪,美国 Perkin Elmer 公司;TA - XTplus 2 型质构仪,Stable Micro System Ltd.;飞鸽 TGL - 16aR 型高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;DGG - 9023A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司;FDU - 1100 型冷冻干燥机,日本 Tokyo Rikakikai 公司;DYY - III - 6B 型稳压稳流电泳仪,江苏南达生物技术开发公司;TU - 1810 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;S - 3400N HITACHI 型电子扫描电镜,日本日立公司。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆 7s 球蛋白分离纯化

采用 Nagano 法^[15]提取低温脱脂豆粕中的大豆 7s 蛋白,制备出的 7s 蛋白冷冻干燥备用。

1.2.2 SDS - PAGE 电泳

采用十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS - PAGE) 法对 1.2.1 节提取的大豆 7s 蛋白组分进行分析,浓缩胶和分离胶的质量分数分别为 3.0% 和 12.5%,通过 bandscan 软件对电泳凝胶图像进行分析。

1.2.3 大豆 7s 蛋白糖基化产物的制备

1.2.1 节制备的大豆 7s 蛋白粉分别与不同量的葡萄糖混合,使得葡萄糖质量分数(占 7s 蛋白质

量)分别为 0.5%、1% 和 5%^[6]。混合后加一定比例的去离子水溶解至均匀,各样品置于鼓风干燥箱中于一定温度下反应 60 min(各烧杯用保鲜膜封口防止反应时水分蒸发),反应结束后待各样品恢复至室温置于冷冻干燥机中冻干成糖基化蛋白粉,3 种糖基化蛋白粉分别表示为 G05、G10、G50。

1.2.4 大豆 7s 蛋白糖基化产物 DSC 扫描

分别取 5.00 mg 大豆 7s、G05、G10、G50 蛋白粉样品放入铝盘中,并将样品平铺于铝盘底部,加入 10 μ L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 值 7.6, 0.2 mol/L),密封。温度扫描范围 20 ~ 120 $^{\circ}$ C,升温速率 5 $^{\circ}$ C/min。采用空的密封铝盘作为参照。在 DSC 分析中蛋白质变性过程的基本参数包括:变性温度 T_m ,焓变 ΔH 。每个试验重复 3 次^[16]。

1.2.5 大豆 7s 糖基化产物接枝度测定

采用 OPA 法对蛋白中糖基化程度进行测定^[17]。取 OPA 试剂 4 mL 置于试管中,注入 200 μ L 糖基化蛋白样品液 (10 mg/mL),混匀后于 35 $^{\circ}$ C 反应 2 min,以 OPA 试剂中加入 200 μ L 水为空白,在波长 340 nm 下测定其吸光度。糖基化产物接枝度计算公式为

$$D_c = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\%$$

式中 A_t —— t 时刻样品的吸光度

A_0 ——未反应样品的吸光度

1.2.6 待测溶液的准备

分别将大豆 7s 蛋白粉、G05、G10 和 G50 蛋白粉分散于 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.6) 中,蛋白质量分数(以 7s 蛋白计)为 12%,充分搅拌 3 h 并在 4 $^{\circ}$ C 下静止 12 h 确保蛋白充分水化,此分散液用于凝胶流变性质的测定,使用前室温下搅拌 60 min 后上样。

1.2.7 凝胶流变性质的测定方法

采用 Bohlin Gemini 2 型旋转流变仪进行测定,所用配件为 60 mm 平行板,间距 0.5 mm,测定时将待测样品置于上样平板间,小心吸去过量样品,在样品裸露部分滴加一层薄硅油以防止加热过程中水分的蒸发,上样后于平行板上部滴加少量水,盖紧保温套。采用动态震荡模式,平衡溶液温度 30 s 后自 25 $^{\circ}$ C 升温至 90 $^{\circ}$ C,恒温 30 min 后,降温至 25 $^{\circ}$ C,整个过程升降温速率设为 2 $^{\circ}$ C/min,保持频率 0.1 Hz,固定形变 0.01。记录此过程待测样品的弹性模量 G' 及粘性模量 G'' 随时间变化的趋势,然后依次对样品进行频率扫描(扫描范围:频率 0.1 ~ 10 Hz)、振幅扫描(扫描范围:应变 0.01 ~ 100),同时记录弹性模量 G' 及粘性模量 G'' 随频率和应变的变化趋势^[18]。

1.2.8 凝胶的制备

取1.2.3节制备的3种糖基化产物和未改性的7s蛋白粉分别与一定量的蒸馏水混匀成质量分数10%的蛋白液,置于离心管中,2 500 r/min离心5 min。用保鲜膜封口,90℃水浴30 min。取出后置于冷水中冷却,4℃静置12 h待测。取出后待样品恢复室温用于凝胶质构性质的测定^[19]。

1.2.9 凝胶的质构测定

采用TA-XTplus 2型质构仪进行凝胶质构的测定。采用P0.5柱形探头,设置探头最小感知力为5 g,穿刺前探头运行速度、穿刺过程中的运行速度和穿刺后返回过程中的运行速度均为5.0 mm/s,穿刺距离为24 mm,间隔时间为1 s,检测温度为(25 ± 2)℃。凝胶强度用硬度即探头下压过程中的最大感知力(单位g)表示^[20],同时记录凝胶的弹性指标。

1.2.10 凝胶扫描电镜观测

对凝胶进行扫描电镜分析之前,首先要制备扫描电镜观察的试样,其制备方法如下:

(1) 取材:将大豆分离蛋白凝胶样品用双面刀片切成2 mm × 5 mm的小条。

(2) 固定:加入质量分数2.5%、pH值7.2的戊二醛溶液固定,并置于4℃冰箱固定1.5 h。

(3) 冲洗:用0.1 mol pH值7.2磷酸缓冲液(PBS)冲洗3次,每次冲洗10 min。

(4) 脱水:分别用质量分数为50%、70%、80%、90%的乙醇溶液对样品进行脱水,每次10~15 min,100%的乙醇脱水两次,每次10~15 min。

(5) 置换:用100%乙醇和叔丁醇混合的溶液(100%乙醇与叔丁醇质量比为1),及纯叔丁醇各浸泡样品一次,每次15 min。

(6) 用FDU-1100型冷冻干燥机对样品进行干燥,大约4 h。

(7) 粘样:将样品观察面向上,用导电胶带粘在扫描电镜样品台上。

(8) 镀膜:用E-1010(HITACHI)型离子溅射镀膜仪在样品表面上镀一层15 nm厚的金属膜(金或铂膜)。

按照上述步骤处理好的样品进行扫描电镜观察,电镜加速电压5 kV,观测并拍摄样品的微观结构^[21]。

2 结果与讨论

2.1 大豆7s蛋白SDS-PAGE电泳分析

图1为大豆7s蛋白SDS-PAGE电泳分析,图中大豆7s蛋白3个亚基(α' 、 α 、 β)分离较明显,且

泳带上不存在大豆11s蛋白的2个亚基染色带(AS,BS),表明所提取的大豆7s球蛋白组分纯度较高。通过bandscan软件对图像进行分析,得出此7s蛋白组分纯度高达89.1%。图1c代表标准分子量蛋白,从上到下9条条带分子量分别是200、116、97、66、45、31、22、14和7 ku。

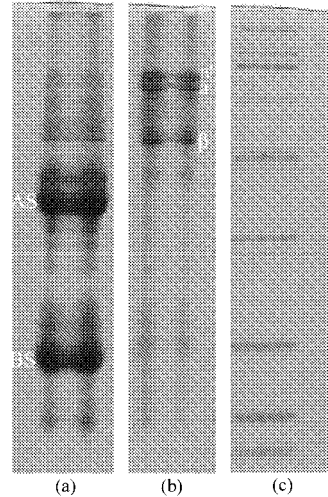


图1 大豆11s蛋白和大豆7s球蛋白样品电泳图
Fig.1 Electrophoresis picture of soybean 7s globulin and soybean 11s globulin

(a) 11s蛋白 (b) 7s蛋白 (c) 标准分子量蛋白

2.2 DSC 测定结果

表1为大豆7s蛋白及3种糖基化产物(G05、G10、G50)在磷酸盐缓冲液(pH值7.6,0.2 mol/L)中的变性温度和焓变,所有样品平行测3次取平均值。测定结果表明提取的大豆7s蛋白样品未变性且样品纯度较高,与之前SDS-PAGE电泳试验分析结果相吻合。从表1中还可以看出糖基化处理一定程度上改变了蛋白样品变性温度,使其变性温度和焓变都发生了不同程度的上升,从而在整体上提高了蛋白的热稳定性。与未糖基化样品相比,糖基化处理的样品变性温度最高上升至75.50℃,上升了4.40℃。说明糖基化反应提高了大豆7s蛋白的热稳定性,与于滨等^[22]研究结论相吻合。

表1 大豆7s和3种糖基化产物的变性温度焓变

Tab.1 DSC characteristics of soybean 7s globulin and three kinds of glycosyl products

样品	变性温度 $T_m/^\circ\text{C}$	焓变 $\Delta H/\text{mW}$
大豆7s	71.10	21.6303
G05	71.55	23.6980
G10	73.95	24.6491
G50	75.50	25.2824

2.3 葡萄糖添加量对大豆7s蛋白凝胶流变性质影响
使用小振幅动态振荡测试模式,测试中包含两

个独立的参数: G' 代表材料的固体属性, G'' 代表材料的液体属性,在凝胶网络结构形成过程中,可同时反映出材料的弹性性质和粘性性质^[23]。

从图2中可以看出,温度扫描开始时,大豆7s球蛋白 G' 和 G'' 均很低(小于1 Pa), $G'' > G'$ 是由于大豆7s球蛋白还没有成胶,弹性模量 G' 小于粘性模量 G'' ,体系以液态为主。从25℃升温到90℃过程中, G' 和 G'' 始终很小,说明体系并未形成凝胶,但具有一定的弱凝胶性。随着温度的线性升高,当大豆7s蛋白升温至90℃后不久(2371 s), G' 和 G'' 突然呈现

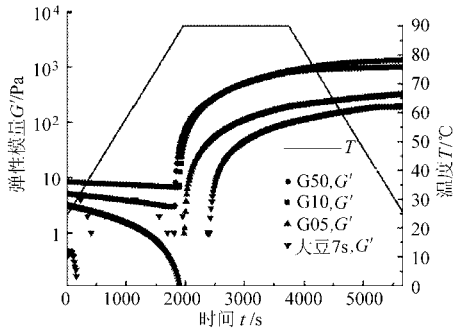
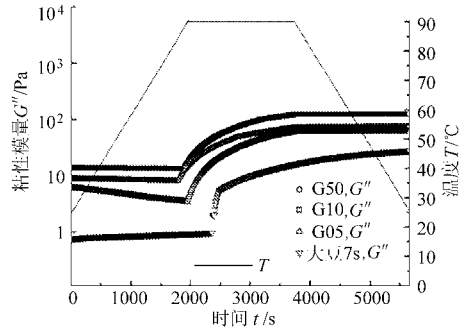


图2 大豆7s和3种糖基化产物的 G' 和 G'' 随凝胶加热时间的变化

Fig. 2 Dependence of storage G' , loss G'' moduli and temperature on time for soybean 7s globulin and three kinds of glycosyl products

由图2可知,3种糖基化产物G05、G10和G50在温控初始阶段的弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 值均略高于大豆7s蛋白,说明体系中葡萄糖分子的接入,提高了大豆7s蛋白溶液的粘弹特性。3种糖基化产物在升温至90℃的过程中,弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 开始均略微下降,而后又急剧上升,说明在升温初始阶段,3种糖基化蛋白体系中葡萄糖分子的共价与非共价接入,使得体系本身就具有一定的网络结构,呈现出一定的弱凝胶性。随着糖基化蛋白体系的进一步加热,温度即将升至90℃时,3种糖基化产物弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 突然升高, $G' > G''$ 时继而出现凝胶点。当温度达到90℃恒温阶段,3种糖基化产物的 G' 和 G'' 值比未糖基化的大豆7s蛋白大幅增加,这主要可能是由于糖基化反应使得蛋白质分子量有所增加,引入了葡萄糖分子使得分子间氢键的形成机会大大增加,随着温度的升高,蛋白质空间结构变得伸展,疏水作用得到增强;同时由于热处理使得蛋白质分子处于融球态,此状态下,蛋白质分子结构同样有部分伸展,部分疏水基团暴露,分子间相互作用得到加强。图中还可看出体系降温后3种糖基化产物的 G' 和 G'' 均相互平行且趋于稳定,G50和G10的 G' 和 G'' 值明显高于G05和大豆7s,G10模量大于G50,G05接近于大豆7s,最终 G' 、 G'' 变化趋势与质构测试结果相一致。这说明葡萄糖含量的增加对糖基化蛋白质的弹性模量 G' 和粘性

跳跃增加,且在2457 s、90℃时 $G' > G''$,开始出现凝胶点,此时体系由液态属性转变为固态属性,这是由于蛋白质加热过程中变性不久形成了初步的网络结构所致^[24]。90℃恒温加热阶段,大豆7s蛋白弹性模量 G' 大幅增加,说明90℃持续加热使得大豆7s蛋白充分变性,此阶段球状蛋白结构充分展开促进了凝胶网络的进一步形成。在90℃到25℃降温阶段,大豆7s蛋白 G' 和 G'' 平缓增加且趋于平行,说明体系已形成了较稳定的凝胶网络结构。



模量 G'' 产生了明显提高的作用,同时宏观表现为凝胶弹性及硬度的增加。

从图中可以看出,在开始的加热升温过程中,弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 都在缓慢的变化,并且 G' 值要略小于 G'' 。这说明最初阶段体系是以粘性为主,但随着温度的不断升高, G' 和 G'' 值均在迅速增加。在突变区域出现了 G' 大于 G'' (凝胶点)的情况,这表明样品溶液已经开始从以液体性质为主的溶胶状态转变为以固体性质为主的凝胶状态,且弹性值要大于粘性值。在加热后期, G' 和 G'' 都趋于平缓,这表明凝胶网络结构已经充分形成并稳定,凝胶的粘弹性值已不再有明显变化。当聚集的蛋白质从粘性的流体转变为弹性的凝胶,在流变学中的转变点被定义为凝胶点,相对应的温度被称为凝胶温度。而事实上 G' 和 G'' 的交叉点就被定义为凝胶温度 T_g ^[25]。根据图2可以分析出不同的糖基化产物开始突变的温度及凝胶温度。

从表2可以看出,糖基化使得大豆7s蛋白的突变温度和凝胶温度有所降低,即糖基化促进了大豆7s蛋白凝胶的形成。未经处理的样品(大豆7s)的突变温度和凝胶温度都为90℃,而经糖基化处理的样品G10、G50的突变温度和凝胶温度较大豆7s均有所下降:G10和G50较大豆7s蛋白相差1~5℃;而G05较大豆7s蛋白变化不大。造成以上现象的主要原因可能是由于糖链的接入使得大豆7s蛋白

分子量增加,扩大了大豆7s蛋白在体系中占有的体积,进而提高了大豆7s蛋白表观有效凝胶形成浓度,使得大豆7s蛋白的凝胶点有所提前,从而促进了凝胶网络结构的形成。

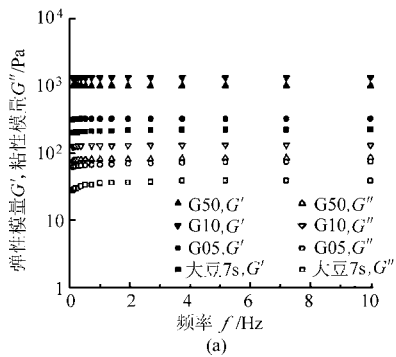
表2 大豆7s和3种糖基化产物的凝胶温度

Tab.2 Gelling temperature of soybean 7s globulin and three kinds of glycosyl products

样品	突变温度/℃	凝胶温度/℃
大豆7s	90.0	90.0
G05	89.4	90.0
G10	85.0	86.2
G50	88.0	88.9

2.4 凝胶的频率扫描和振幅扫描

小振幅动态测试中频率扫描是指在恒定形变下材料随频率的响应,即测量材料对高频或低频的响



应,记录了材料的弹性模量 G' 和粘性模量 G'' 随频率 f 的变化。本研究中测试的材料为凝胶,属于三维网络结构,故整个频率范围内所测的凝胶都应具有高弹性的材料。即 G' 大于 G'' 且恒定。图3a为大豆7s和3种糖基化产物降温至25℃后的频率扫描图。从图中可以看出,在整个频率范围内(0.1~10 Hz),大豆7s和3种糖基化产物的 G' 和 G'' 均随频率的升高变化不大,且 G' 和 G'' 相互平行,表明整个频率范围内 G' 和 G'' 受频率的影响均较小,说明所测样品均已形成典型的凝胶网络结构。3种糖基化产物的 G' 和 G'' 变化趋势与温控后期表现出一致,且3种糖基化产物形成凝胶的 G' 和 G'' 最终值均高于大豆7s形成的凝胶,这进一步表明葡萄糖的添加提高了大豆7s蛋白形成凝胶的粘弹特性。

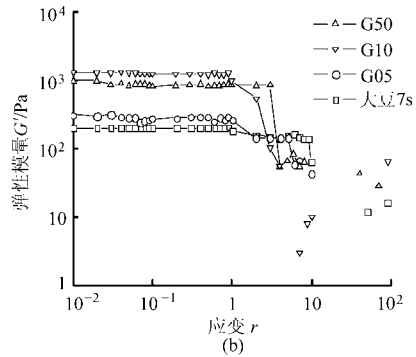


图3 凝胶的频率扫描、振幅扫描结果

Fig.3 Frequency and amplitude for soybean 7s globulin and three kinds of glycosyl products

(a) 频率扫描 (b) 振幅扫描

动态测试中振幅扫描是指给测试样品施加由小到大的拉力,通过对拉力的控制调节,最终达到将测试样品破坏的目的,以分析评价测试样品抗破坏的能力。图3b为大豆7s和3种糖基化产物降温至25℃后的振幅扫描图。由于测试样品均为温控后高弹性的凝胶,故只考虑样品弹性模量 G' 随应变的变化。从图3b中可以看出,糖基化并不能有效提高大豆7s蛋白凝胶的抗破坏能力。

2.5 凝胶的质构分析

疏水相互作用和二硫键是维持大豆蛋白凝胶结构的主要作用力。单糖与大豆蛋白发生糖基化反应时,单糖可以通过共价键结合到蛋白质分子上^[6]。从表3可以看出,随着葡萄糖添加量的升高,接枝度呈先上升后下降趋势,当糖质量分数1%时接枝度最高,达到18.69%,而5%时接枝度有所下降,这可能是由于体系中过多的糖存在阻碍美拉德反应的进行。表3中还可看出随着凝胶体系中葡萄糖含量的升高,3种糖基化蛋白凝胶硬度和弹性均有所提高,这说明葡萄糖糖链的共价接入增加了蛋白质肽链的

疏水基团含量,从而使形成凝胶时的疏水相互作用力得到增强,提高了大豆蛋白的凝胶性能,即糖基化反应使大豆7s蛋白凝胶结构更为坚固,而凝胶硬度和弹性在糖添加量1%时达到最高,说明体系中过量的糖分子存在不利于所形成的凝胶具有高硬度和弹性。此结论与凝胶流变学研究结果相一致,总体表明糖基化反应促进了大豆7s蛋白凝胶的形成。大豆7s蛋白和3种糖基化产物形成的凝胶硬度和弹性数值均不高,主要原因可能是蛋白浓度不高。

表3 大豆7s和3种糖基化产物的凝胶性比较

Tab.3 Gelling of soybean 7s globulin and three kinds of glycosyl products

样品	接枝度/%	凝胶硬度/g	凝胶弹性
大豆7s	0	74.34 ± 0.01	0.93 ± 0.01
G05	8.56	89.05 ± 0.01	0.93 ± 0.02
G10	18.69	135.55 ± 0.02	0.97 ± 0.01
G50	13.12	98.63 ± 0.01	0.95 ± 0.01

2.6 凝胶的电镜分析

由图4可看出在1000倍电镜观测下,未糖基

化的大豆 7s 球蛋白凝胶呈多孔、疏松不规则的网状结构。而经过糖基化改性处理的大豆 7s 球蛋白 G05、G10、G50 其凝胶微观结构均发生不同程度的变化。随着葡萄糖含量的增加,凝胶微观结构越发紧密,网状空隙变小,细胶束的聚集增加,形成纤细状的凝胶。说明凝胶网络结构随着糖基化改性变得规则、致密,从宏观上体现为凝胶硬度和持水性的提高。与 G05、G50 相比当葡萄糖添加量 1%

时,糖基化程度最高,蛋白凝胶微观结构最致密,孔隙最小,具有良好的凝胶特性,这与之前的流变性质、质构性质分析结果相一致。这主要是糖基化蛋白结构发生了变化,导致在凝胶网络形成过程中表面巯基含量、氢键、疏水相互作用和静电相互作用等各种作用力发生改变,整体上提高了形成三维网状结构的作用力,从而产生了致密坚硬的凝胶网络结构^[21]。

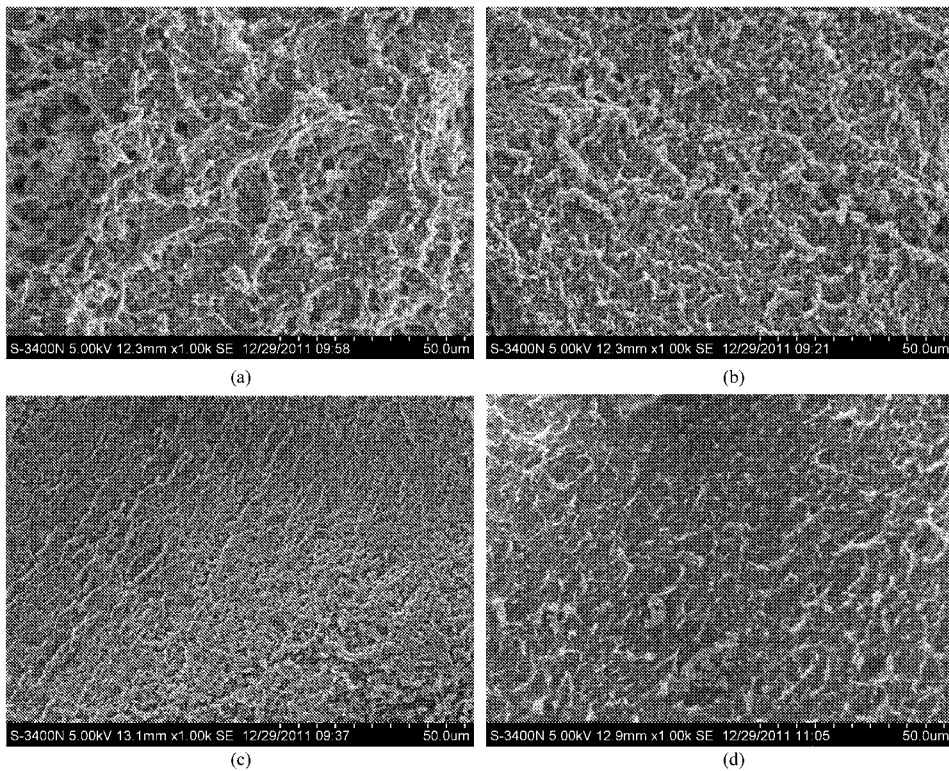


图 4 样品的微观结构图

Fig. 4 Microstructure of samples

(a) 大豆 7s (b) G05 (c) G10 (d) G50

3 结论

(1) 利用葡萄糖对大豆 7s 球蛋白进行糖基化处理,3 种糖基化产物 G05、G10 和 G50 较未经糖基化处理的大豆 7s 球蛋白的变性温度和焓变均有所提高,且提高程度由大到小依次为 G50、G10、G05,说明糖基化反应提高了大豆 7s 球蛋白的热稳定性。

(2) 采用旋转流变仪和质构仪对大豆 7s 球蛋白及其糖基化产物的凝胶性进行分析得出:经糖基化预处理的大豆 7s 球蛋白凝胶的弹性模量 G' 、粘性

模量 G'' 及凝胶强度较未经糖基化处理的大豆 7s 球蛋白均有所提高,即凝胶粘弹性(宏观表现为凝胶硬度)数值由大到小依次为 G10、G50、G05、大豆 7s,说明糖基化反应提高了大豆 7s 球蛋白凝胶的粘弹性和硬度;体系中糖含量的增加使得大豆 7s 球蛋白凝胶点(凝胶温度)有所提前,说明糖基化反应促进大豆 7s 球蛋白凝胶网络结构的形成。

(3) 扫描电镜结果显示经糖基化改性的大豆 7s 球蛋白,其凝胶结构变得规则、致密。说明糖基化反应改善了凝胶三维网络结构。

参 考 文 献

- 王丽. 大豆分离蛋白热凝胶的形成及其流变学特性的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2010.
Wang Li. Studies on the formation of hot gel from soybean protein isolate and rheological characteristics[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010. (in Chinese)
- Schooneveld-Bergmans M E F, Dignum M J W, Grabber J H, et al. Studies on the oxidative cross-linking of feruloylated arabinoxylans from wheat flour and wheat bran[J]. Carbohydrate Polymers, 1999, 38(4): 309 ~ 317.

- 3 Winter H H, Chambon F. Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point [J]. *Journal of Rheology*, 1986, 30(2): 367 ~ 382.
- 4 黄友如,华欲飞,裴爱泳. 大豆分离蛋白功能性质及其影响因素[J]. *粮食与油脂*, 2003, 21(5): 12 ~ 14.
Huang R Y, Hua Y F, Qiu A Y. Functional properties of soy protein isolate and affecting factors [J]. *Cereals & Oils*, 2003, 21(5): 12 ~ 14. (in Chinese)
- 5 Shimada K, Matsushita S. Gel formation of soybean 7S and 11S proteins [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1980, 44(30): 637 ~ 641.
- 6 范淼,迟玉杰,姜剑,等. 基于 Box-Behnken 模型优化大豆分离蛋白共价反应的工艺[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(6): 60 ~ 64.
Fan Miao, Chi Yujie, Jiang Jian, et al. The optimization of soy protein isolate covalent modification technology base on Box-Behnken model [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2011, 37(6): 60 ~ 64. (in Chinese)
- 7 于滨,迟玉杰,基于 Box-Behnken 模型的卵清蛋白糖基化制备技术[J]. *农业机械学报*, 2009, 40(11): 138 ~ 143.
Yu Bin, Chi Yujie. Optimization of the preparation of glycated egg white protein by Box-Behnken model [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2009, 40(11): 138 ~ 143. (in Chinese)
- 8 聂好,王晓丹,赵长新. 大麦泡沫蛋白与单糖的接枝改性研究[J]. *食品科技*, 2011, 36(3): 62 ~ 69.
Nie Y, Wang X D, Zhao C X. Modification of barley foam-active protein by graft with monosaccharide [J]. *Food Science and Technology*, 2011, 36(3): 62 ~ 69. (in Chinese)
- 9 Zhu J H, Yang X Q, Ahmad I, et al. Rheological properties of κ -carrageenan and soybean glycinin mixed gels [J]. *Food Research International*, 2008, 41(3): 219 ~ 228.
- 10 许彩虹,于淑娟,杨晓泉. 糖基化对大豆 7s 球蛋白凝胶流变性质的影响(II) [J]. *现代食品科技*, 2010, 26(12): 1 293 ~ 1 296.
Xu C H, Yu S J, Yang X Q. Effect of glycosylation on the gel properties of soybean 7s globulin (II) [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2010, 26(12): 1 293 ~ 1 296. (in Chinese)
- 11 Hua Y F, Cui S W, Wang Q. Gelling property of soy protein-gum mixtures [J]. *Food Hydrocolloids*, 2003, 17(6): 889 ~ 894.
- 12 Braga A L M, Azevedo A, Marques M J, et al. Interactions between soy protein isolated and xanthan in heat-induced gels; the effect of salt addition [J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20(8): 1 178 ~ 1 189.
- 13 刘春. 大豆种子贮藏蛋白亚基特异种质的筛选、鉴定及其遗传稳定性与功能性研究[D]. 南京:南京农业大学, 2006.
Liu Chun. Screening and identification of variations of soybean seed storage protein subunits and their genetics stability and functional properties [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- 14 许彩虹. 大豆球蛋白糖基化接枝改性及其热聚集行为的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2010.
Xu Caihong. Research on the glycosylation and thermal aggregation of soybean globulin-polysaccharide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010. (in Chinese)
- 15 Nagano T, Hirotsuka M, Mori H, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7s globulin from soybeans [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(6): 941 ~ 944.
- 16 Huang W N, Sun X Z. Adhesive properties of soy proteins modified by urea and guanidine hydrochloride [J]. *JAACS*, 2000, 77(1): 101 ~ 104.
- 17 Nielsen P M, Petersen D, Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis [J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(5): 642 ~ 646.
- 18 Kim K H, Renkema J M S. Rheological properties of soybean protein isolate gels containing emulsion droplets [J]. *Food Hydrocolloids*, 2001, 15(3): 295 ~ 302.
- 19 Jing H, Kitts D D. Chemical and biochemical properties of asen-sugar Maillard reaction products [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 40(7): 1 007 ~ 1 015.
- 20 刘燕,裴爱泳. 大豆蛋白与多糖的接枝改性[J]. *中国油脂*, 2006, 31(1): 39 ~ 41.
Liu Y, Qiu A Y. Modification of soy protein by graft with polysaccharide [J]. *China Oils and Fats*, 2006, 31(1): 39 ~ 41. (in Chinese)
- 21 Zhao Xiaoyan, Chen Jun, Zhu Qingjun, et al. Surface characterization of 7s and 11S globulin powders from soy protein examined by X-ray photoelectron spectroscopy and scanning electron microscopy [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, 86(2): 260 ~ 266.
- 22 于滨,迟玉杰. 糖基化改善蛋清蛋白功能性的研究[J]. *中国家禽*, 2009, 31(7): 15 ~ 18.
Yu B, Chi Y J. Functional improvement of dried egg white glycosylation [J]. *China Poultry*, 2009, 31(7): 15 ~ 18. (in Chinese)
- 23 董朝霞,林海钦,李明远,等. 光散射技术在研究高分子溶液和凝胶方面的应用[J]. *高分子通报*, 2001(5): 25 ~ 33.
Dong Z X, Lin H Q, Li M Y, et al. The application of light scattering on the study of macromolecular solutions and gels [J]. *Polymer Bulletin*, 2001(5): 25 ~ 33. (in Chinese)
- 24 陈欣,周春霞,洪鹏志,等. 糖基化改性对罗非鱼肌肉原纤维蛋白功能特性的影响[J]. *现代食品科技*, 2010, 26(8): 793 ~ 796.
Chen X, Zhou C X, Hong P Z, et al. Effect of glycosylation on functional properties of myofibrillar protein [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2010, 26(8): 793 ~ 796. (in Chinese)
- 25 Sittikijyothina W, Sampaio P, Goncalves M P. Heat-induced gelation of β -lactoglobulin at varying pH: effect of tara gum on the rheological and structural properties of the gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2007, 21(7): 1 046 ~ 1 055.