

文章编号: 1674-7054(2016)04-0472-05

魔芋葡甘聚糖与丝素肽的溶胶特性

黄建初¹, 谢丙清², 李崇高³, 庞杰², 郭雅妮²

(1. 广州工商学院 物流系, 广州 510850; 2. 福建农林大学 食品科学学院, 福州 350002;

3. 广州城市职业学院 食品系, 广州 510405)

摘要: 采用物理共混的方法制备不同配比的魔芋葡甘聚糖-丝素肽共混溶胶, 通过流变仪分析共混溶胶的流变特性。经过脱胶、溶解、透析等3步骤纯化后进行检验, 最后酶解得到丝素肽, 并通过共混溶胶的粘度测试、振荡测试及动态力学分析等3个方面探索魔芋葡甘聚糖与丝素肽的溶胶特性。结果表明: 该共混溶胶是一种假塑性流体, 具有“剪切变稀”的特征。随着魔芋葡甘聚糖组份比例的增加, 共混溶胶的粘度升高; 当魔芋葡甘聚糖与丝素肽的摩尔质量比为2:1时, 弹性模量与损耗模量的交点处于最低频率处, 该共混体系最稳定。

关键词: 魔芋葡甘聚糖; 丝素肽; 共混溶胶; 流变特性

中图分类号: O 636.1

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2016.04.011

魔芋葡甘聚糖(KGM)为魔芋中重要的功能活性成分, 属于高分子物质, 具有广泛的理化特性, 可以作为缓释剂、凝胶剂、黏合剂等成分使用^[1-2]。KGM的相对分子质量在 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 之间, 结构极其复杂, 亲水性能强而且分子间存在着独特的相互作用。作为凝胶制品时, 存在着热稳定性差、易脱水等问题, 限制了在食品中的应用, 这对于需要加热蒸煮的传统食品来说是一个严峻的考验^[3-4]。蛋白质凝胶化是蛋白质分子或颗粒在各种物理或化学条件下, 蛋白大分子之间相互作用, 逐渐聚合成三维有序的空间网状结构^[5]。丝素肽主要包括丝胶蛋白和丝素蛋白2部分, 分别约占总量的25%和75%^[6]。天然丝素肽可以通过脱胶、溶解及透析等过程处理获取高纯度的丝素蛋白。绝大多数研究表明, 多糖与蛋白质两种生物大分子之间存在热力学不兼容的现象, 因此当两者处在同一体系中, 一般会出现蛋白质热变性聚合和体系分离两种混合体系凝胶变化^[7]。闵维等^[8]认为, 在溶液中, 多糖与蛋白质的相互作用对蛋白质的功能特性有非常大的影响。有研究表明, 多糖与蛋白质因其不同的结构构型, 所以共混凝胶的过程和类型也不尽相同^[9], 最终形成的共混凝胶体系的性能也有较大的差异。因而以多糖和蛋白质共混后形成凝胶作为模型, 研究微结构的形成与其分子质量的关系对开发创新型食品有重要的理论意义和应用价值。KGM与丝素肽共混后体系流变特性产生较大的变化, 而目前国内外对该体系的研究较少, 因此, 笔者以KGM和丝素肽为原材料, 按不同配比在碱性水分散介质中所组成的共混体系为研究对象, 对KGM/丝素肽共混溶胶粘度、体系的凝胶过程及凝胶热稳定性进行考察, 旨在为KGM/丝素肽共混凝胶的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 魔芋葡甘聚糖(KGM, 葡甘聚糖含量为88%, 云南三艾有机魔芋发展有限公司生产); 丝素肽(silk peptide, 自制); 其他试剂皆为分析纯。

收稿日期: 2016-07-03

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2014J01378和2014J01384); 福建省中青年教师教育科研项目(JA15697); 广州市科技计划项目(156300065)

作者简介: 黄建初(1962-), 女, 副教授, 研究方向: 食品科学。E-mail: 459753832@qq.com

通信作者: 庞杰(1965-), 男, 教授, 研究方向: 天然大分子物质结构与活性。E-mail: pang3721941@163.com

1.2 主要仪器与设备 Rheoplus 流变仪(MCR301 ,奥地利安东帕有限公司制造); 数字显示转速电动搅拌机(JB200-S ,上海标本模型厂制造); 数显恒温水浴锅(DC-3020 ,宁波市双嘉仪器有限公司制造)。

1.3 蚕丝蛋白提取纯化

1.3.1 脱胶 准确称取 100 g 的蚕蛹 按照 $m_{\text{蚕蛹}} : m_{\text{蒸馏水}} = 1 : 40$ 的比例, 置于 0.5% 无水碳酸钠沸液中, 水浴提取 5 h, 然后用蒸馏水洗涤 3 次, 接着置于 75 °C 恒温干燥箱中干燥 12 h。

1.3.2 脱胶程度检测 将 2 g 胭脂红溶于 20 mL 体积分数为 25% 的氨水中, 加入 40 mL H_2O , 搅拌均匀之后再加 30 mL 饱和苦味酸溶液, 加去离子水至 200 mL, 利用 HCL 溶液调 pH 至 8.5 ± 0.2 。将脱胶后的蚕丝完全浸没于约 2 mL 苦味酸胭脂红溶液中, 沸水加热 8 min 后取出脱胶蚕丝, 再用水冲洗后观察蚕丝颜色, 蚕丝呈现黄色表明丝胶脱尽, 蚕丝呈现红色表明丝胶未脱尽^[13]。

1.3.3 溶解 将脱完胶的蚕丝放入 $9.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溴化铝水溶液中, 置于 60 °C 水浴至完全溶解。溶解液置于 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心机内离心 10 min, 离心结束后除去悬浮杂质。

1.3.1.4 透析 将离心完的蚕丝蛋白溶解液装入透析袋中, 蒸馏水透析 3~5 d, 用硝酸银溶液检验透析袋外溶液不产生沉淀为止, 取出透析后蚕丝素蛋白溶液置 4 °C 冰箱中保存备用^[10-11]。

1.4 丝素肽的制备和纯化 取 10 g 丝素蛋白放入 500 mL 的三颈烧瓶, 置于恒温磁力搅拌器中加热至 50 °C, 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液调节 pH 至 9, 然后加入一定量的碱性蛋白酶, 开始酶解反应。酶解后灭酶, 冷却后离心取上清液冻存。将混合液装入透析袋(分段截留, 分子质量范围区间为 0.5~10 KDa), 再冷冻干燥获得丝素肽。对丝素肽进行一级结构测量, 获得高度重复性片段为 (GAGAGS)_n (G 为甘氨酸, A 为丙氨酸, S 为丝氨酸)。

1.5 KGM 与丝素肽共混溶胶的制备 按照 KGM : 丝素肽 = 1 : 0.1 : 2.2 : 1.0 : 1 的摩尔质量比制备共混溶胶, 在搅拌的情况下将定量的丝素肽溶于去离子水中, 完全溶解后, 加入将定量的 KGM 粉末, 在 45 °C 水浴条件下, 以 $450 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 搅拌 1 h, 制备得到共混溶胶(浓度为 1.2%)^[12]。

1.6 KGM 与丝素肽共混溶胶性能分析 采用 PP50 平板探头, 平板间距为 1 mm, 进行以下测定:

(1) 粘度测定: 剪切速率为 $0 \sim 10 \cdot \text{s}^{-1}$, 测量温度为 $(25 \pm 0.2) \text{ } ^\circ\text{C}$;

(2) 振荡测试: 应变为 1%, 测量温度 (25 ± 0.2) , 扫描频率范围 0.01~10 Hz;

(3) 动态力学分析: 将样品加到流变仪样品台上, 并用硅油密封, 盖上盖板, 防止水分蒸发。测试条件为: 应变 1%, 频率 1.0 Hz, 测量温度为: 升温 30~80 °C, 速率 $5 \text{ } ^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

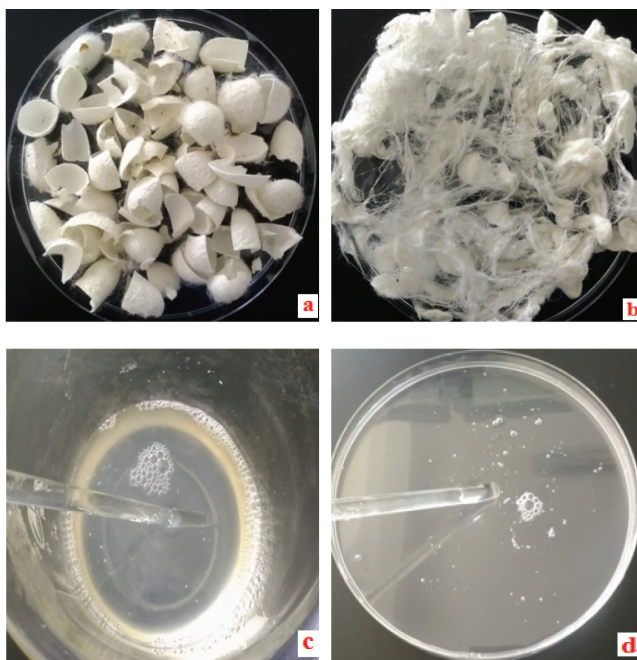


图1 丝素肽的提取纯化
a:蚕蛹;b:脱胶;c:溶解;d:透析纯化

Fig.1 Extraction and purification of silk fibroin peptide (SP)
a:silkworm cocoons; b:degumming; c:dissolution; d:dialysis for purification

2 结果与分析

2.1 蚕丝蛋白提取纯化 从图 1 可知, 提取纯化后的蚕丝蛋白溶液较稀, 但是其粘性好, 与魔芋葡甘聚糖共混后可能会导致共混溶胶的粘度降低。

2.2 共混溶胶剪切速率对粘度的影响 KGM 与丝素肽(Silk fibroin peptide, 简称 SP) 共混复配, 在溶于水时都会形成具有一定粘度的溶胶, 图 2 分别是不同配置比例的 KGM/ silk peptide 共混复合溶胶剪切速率与粘度的关系图。

根据理想混合溶液添加规则, 共混体系的溶液的理论粘度值可根据下式计算: $\ln \eta_c = \Phi_1 \ln \eta_1 + (1 - \Phi_1) \ln \eta_2$ 。其中 Φ_n 和 η_n ($n = 1, 2$) 分别表示相应组分的比例及其单一溶液的粘度值^[14]。从图 2 中可知, 相同浓度下, 不同

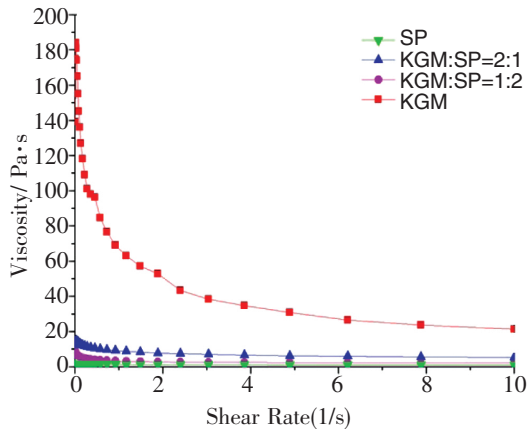


图 2 共混体系溶胶剪切速率与粘度的关系
Fig.2 The relationship between shear rate and viscosity of the KGM/SP blend sol

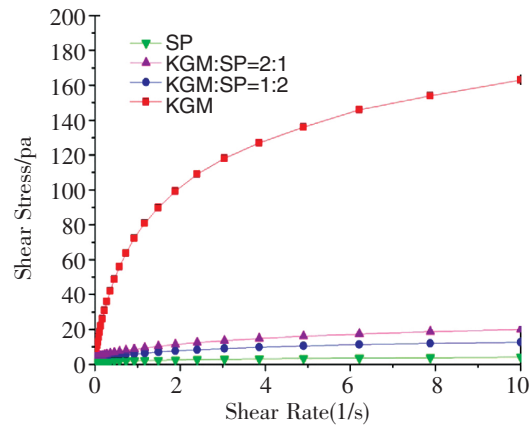


图 3 共混体系溶胶剪切速率与应力的关系
Fig.3 The relationship between the shear rate and shear stress of the KGM/SP blend sol

配置比例的 KGM /SP 共混溶胶都随着剪切速率的增加其共混溶胶的粘度逐渐降低,共混溶胶显示了“剪切变稀”的现象,这表明该共混溶胶是一种假塑性流体。

虽然 KGM/SP 溶液共混后显示了剪切变稀,但是,从图 2 中可以看出,共混后其粘度发生了明显的变化,纯 KGM 的粘度要高于配比为 1 : 2 和 2 : 1 的共混溶胶以及纯丝素肽,这是由于 KGM 溶于水后,分子成伸展的螺旋状结构,以分子链上的 O(6) 和 O(2) 为结点,与水分子或 KGM 分子链间形成大量分子间和分子内氢键,导致整个体系形成氢键网络结构,从而表现出高粘性^[15]。

2.3 共混溶胶剪切速率对剪切应力的影响 图 3 是不同配置比例的 KGM/SP 共混复合溶胶剪切速率与剪切应力的关系图。液体与固体的重要区别之一是液体具有流动性,就是说,加很小的力就能使液体发生变形,而且只要力作用的时间相当长,很小的力就能使液体发生很大的变形^[16]。从图 3 可知,共混后,剪切应力明显下降,在比例为 1 : 0 (即纯 KGM) 时,初始体系的剪切应力高,随着丝素肽组份比例的增加,其剪切应力明显下降。图 2、3 均表明了 KGM/SP 共混溶胶具备假塑性流体特征。

2.4 共混溶胶的振荡测试结果 弹性模量是表征材料力学强度的一个重要参数。由于相位差的存在,动态模量是一个复数 $G = G' + i G''$, G' 是弹性响应的系数,称为储能模量; G''/ω 为黏性响应的系数,故称为损耗模量。 G' 和 G'' 合称动态模量^[17]。从图 4 可知,共混溶胶分别具有典型的高分子稀溶液与浓溶液的曲线特征, G' 和 G'' 交叉点在低频区。随着葡甘聚糖组份比例的增加,共混溶胶的 G' 和 G'' 交叉点往低频处移动,共混溶胶体系较稳定,表明二者分子链的缠结度逐渐减小,这说明葡甘聚糖组份比例的增加,有利于共混溶胶凝胶。

从表 1 可知,随着 KGM 组份比例的增加, G' 与 G'' 交点对应的频率逐渐往低频区域移动,从而形成稳定的共混体系,这说明 KGM 的加入使得共混体系在较低频率下即表现出弹性行为。

表 1 不同配比的 KGM/silk peptide 共混复合体系 $G' - G''$ 交点对应的频率

Tab.1 The frequency of the intersection of the storage modulus G' and the loss modulus G'' of the KGM/SP blends at different ratios

样品 Sample	发生频率 Occurrence frequency / Hz
KGM	0.259
KGM : SP = 2 : 1	0.489
KGM : SP = 1 : 2	0.672
SP	1.491

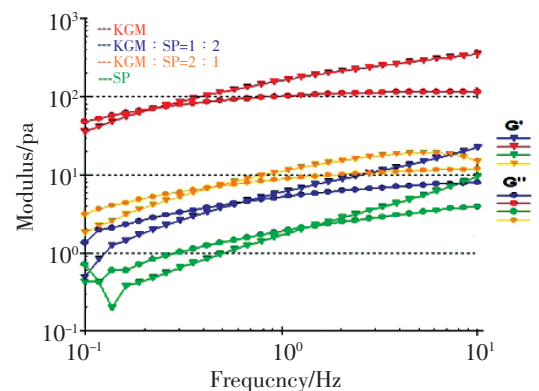


图 4 共混溶胶对频率的依赖性

Fig.4 Dependence of the KGM/SP blend sol on frequency

2.5 共混溶胶的动态力学分析 G' 实质为弹性模量, 表述材料存储弹性变形能量的能力。储能模量表征的是材料变形后回弹的指标。复数模量的实数部分, 表示黏弹性材料在形变过程中由于弹性形变而储存的能量。 G'' 复数模量的虚数部分。它描述材料产生形变时能量散失(转变)为热的现象, 是能量损失的量度, 为一阻尼衰减项。在黏弹性材料的力学性能测量中是一个重要参数^[18-19]。损耗模量愈小, 表明材料的阻尼损耗因数也小, 材料就愈接近理想弹性材料。模量中应力与变形异步的组元; 表征材料耗散变形能量的能力, 体现了材料的粘性本质。损耗模量又称粘性模量, 是指材料在发生形变时, 由于粘性形变(不可逆)而损耗的能量大小, 反映材料粘性大小。

从图5可知, 单一溶胶 KGM 在加热初期, 损耗模量 G'' 始终小于储能模量 G' , 因此显示微凝胶现象^[20]。加入了丝素肽的 KGM, 其损耗模量 G'' 始终和储能模量 G' 发生了明显的变化, 尤其是在温度发生变化时。由图5可知, 伴随着丝素肽含量的增多, 损耗模量和储能模量不再有交点。随着温度的升高, 丝素肽的性质会发生变化, 尤其是高温时容易发生蛋白质变性, 分子链的高级结构被破坏, 因此导致了链和链间的作用及缠结发生变化, 影响了凝胶性能。

3 讨论

笔者以魔芋葡甘聚糖和丝素肽为研究对象, 采用流变仪分析魔芋葡甘聚糖与丝素肽共混溶胶的特性。研究表明, 不同配置比例的共混溶胶的粘度均会随着剪切速率的增加而降低, 说明魔芋葡甘聚糖和丝素肽共混溶胶具备假塑性流体特征。随着葡甘聚糖组份比例的增加, 共混溶胶的 G' 和 G'' 交叉点往低频处移动, 共混溶胶体系较稳定, 说明当魔芋葡甘聚糖与丝素肽的摩尔质量比为 2 : 1 时, 共混溶胶的稳定性最高。在整个温度扫描范围中, 纯丝素肽的损耗模量始终高于弹性模量, 说明纯丝素肽不能形成凝胶, 但是随着魔芋葡甘聚糖组份比例的增加, 共混溶胶的弹性模量高于损耗模量, 共混体系的稳定性越来越高, 有利于凝胶, 表明魔芋葡甘聚糖能够提高蛋白质共混体系的稳定性。

参考文献:

- [1] Brenner T, Wang Zheng, Achayuthakan P, et al. Rheology and synergy of κ -carrageenan/locust bean gum/konjac glucomannan gels [J]. Carbohydrate Polymers 2013 98 (1): 754-60.
- [2] Fanbing M, Yexing L, Tiangang S, et al. Physicochemical properties of *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson starch and its blend with konjac glucomannan [J]. Starch-Stärke, 2015 67: 9-10.
- [3] 孙中琦, 王雅立, 赵菲, 等. 魔芋葡甘聚糖凝胶结构研究进展 [J]. 中国食品添加剂 2014(4): 163-170.
- [4] Baomiao D, Yanchun X, Honglu X, et al. Preparation and characterization of Xanthan-Modified konjac gel [J]. J. Texture Stud, 2015 46(2): 87-93.
- [5] Qiang L, Yongli H, Mingzhong L, et al. Silk fibroin electrogelation mechanisms [J]. Acta Biomaterialia, 2011 7 (6): 2394-2400.
- [6] Tian M, Lewis R V. Tubuliform silk protein: A protein with unique molecular characteristics and mechanical properties in the spider silk fibroin family [J]. Applied Physics A 2006 82 (2): 265-273.
- [7] Haiping Z, Mingying Y, Sijia M, et al. Preparation and characterization of a novel spongy hydrogel from aqueous Bombyx mori sericin [J]. Polymers 2013 8(1): 1295-1299.
- [8] 闵维, 杨晓泉. 不同分子量葡聚糖与大豆 7S 蛋白混合凝胶的流变学性质 [J]. 食品科学 2010 31(1): 43-47.
- [9] 潘红阳. 基于大豆蛋白多糖相容性变化研究共混成膜体系热力学性质与凝胶性变化机理 [D]. 无锡: 江南大学 2015.
- [10] Marta R, Mariana A D M, Marisa M B, et al. The role of dialysis and freezing on structural conformation, thermal properties and morphology of silk fibroin hydrogels [J]. Biomatter 2014 4(1): e28536.
- [11] Wang F, Cao T, Zhang Y. Effect of silk protein surfactant on silk degumming and its properties [J]. Materials Science and

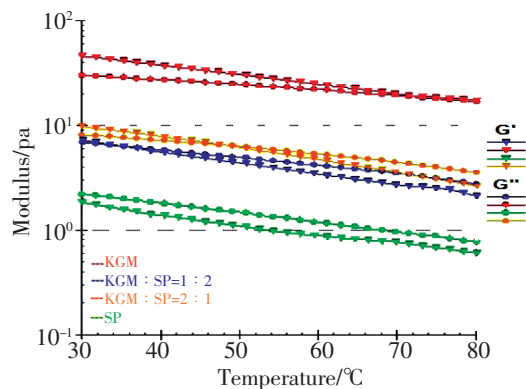


图5 升温过程中 KGM 的 G' 和 G'' 对温度的依赖性
Fig.5 Dependence of the G' and G'' of the KGM in the heating process on temperature

- Engineering: C 2015 55: 131 – 136.
- [12] Lixia W , Yaoping J , Youhui L , et al. Rheological properties and formation mechanism of DC electric fields induced konjac glucomannan-tungsten gels. Carbohydrate Polymers [J]. Biofibres and Biocomposites , 2016 , 142: 293 – 299.
- [13] 陶俊逸 邵骏骅 张海萍 等. 蚕丝蛋白制备方法的研究 [J]. 蚕桑通报 2012 43(3) : 18 – 21.
- [14] Rabani A , Pinfield V J , Challis R E. Rate of shear of an ultrasonic oscillating rod viscosity probe [J]. Ultrasonics , 2016 , 65: 18 – 22.
- [15] Cicchese , Steve. Inline Viscosity Measurements [J]. Chemical Engineering , 2013 , 120 (5) : 34 – 38.
- [16] 龙晓燕. 天然大分子魔芋葡甘聚糖的凝聚态基础研究 [D]. 绵阳: 中国工程物理研究院 2013.
- [17] Karl-andreas E , Sunanda D , Benjamin S , et al. Solid liquid phase diagrams of binary fatty acid mixtures-palmitic/stearic with oleic/linoleic/linolenic acid mixture [J]. Thermochimica Acta 2016 630: 50 – 63.
- [18] Akira M , Amil L , Behrouz A , et al. Kaplan. Silk fibroin solution properties related to assembly and structure. [J]. Macromol Biosci , 2008 , 8(11) : 1006 – 1018.
- [19] 洪杰 刘宝龙 张大义 等. 具有形状记忆效应的新型智能阻尼材料及其热弹性力学性能研究 [J]. 物理学报 2012 61 (16) : 466 – 474.
- [20] 廖望. 温敏性微凝胶形成水凝胶的动力学、分形结构和性能改进 [D]. 天津: 南开大学 2013.

Properties of the Konjac Glucomannan and Silk Fibroin Peptide Blend Sol

HUANG Jianchu¹ , XIE Bingqing² , LI Chonggao³ , PANG Jie² , GUO Yani²

(1. Department of Logistics , Guangzhou College of Technology and Business , Guangzhou 510850; 2. College of Food Science , Fujian Agricultural and Forestry University , Fuzhou , Fujian 350002 , China; 3. Department of Food , Guangzhou City Polytechnic College , Guangzhou , Guangdong 510405 , China)

Abstract: Konjac glucomannan/silk fibroin peptide blend sols were prepared at different ratios by using physical blending method , and their rheological properties were analyzed by using the rheometer. Silk fibroin peptide was extracted and purified from the silkworm cocoon after degumming , dissolution and dialysis and then prepared after enzymolysis. The silk fibroin peptide was used to blend with konjac glucomannan (KGM) at different ratios to prepare KGM/silk fibroin peptide (SP) sols , and the properties of the KGM/SP blend sols were then determined through viscosity test , shock test and dynamic analysis. The blend sols were a pseudo plastic fluid with shear thinning behavior. The viscosity of the blend sols increased with the proportion of the konjac glucomannan in the blend sols. The KGM/SP blend sols prepared at the volume ratio of 2 : 1 had the lowest frequency at the intersection of the elastic modulus and the loss modulus and was hence the most stable.

Keywords: konjac glucomannan; silk fibroin peptide; blend sol , rheological properties