

不同配比大豆球蛋白降解材料结构与力学性能

郭东权¹, 朱 军¹, 赵惠东¹, 陈复生², 王 允¹, 全彦君¹, 王万里¹, 陈海军¹

(1. 河南省科学院 同位素研究所有限责任公司/河南省辐射加工工程研究中心, 河南 郑州 450015; 2. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450001)

摘要:研究了大豆分离蛋白的主要组分7S和11S球蛋白对其材料力学性能的影响,并采用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳仪(SDS-PAGE)和电子扫描显微镜(SEM)分析表征了大豆蛋白可生物降解材料的组成和微观结构。结果表明:随着球蛋白11S/7S的增大,大豆蛋白材料的拉伸强度先升高后降低,其断裂伸长率先降低后升高,比值为1时,材料的拉伸强度达到最高。综合材料的性能测试与结构表征,大豆蛋白在形成材料时,7S和11S球蛋白之间存在着交联相互作用。

关键词:大豆7S球蛋白;大豆11S球蛋白;可生物降解材料;力学性能

中图分类号:TS206.4

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)05-0831-03

Structure and Mechanical Properties of Soybean Globulin Biodegradable Materials in Different Ratio

GUO Dong-quan¹, ZHU Jun¹, ZHAO Hui-dong¹, CHEN Fu-sheng², WANG Yun¹, QUAN Yan-jun¹, WANG Wan-li¹, CHEN Hai-jun¹

(1. Isotope Institute Co., Ltd., Henan Academy of Sciences/Research Center of Irradiation Processing and Engineering of Henan, Zhengzhou 450015, Henan; 2. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, Henan, China)

Abstract: The effect of different ratios of 11S globulin and 7S globulin on mechanical properties of biodegradable soybean protein materials was determined. The compositions and microstructures of the materials were characterized using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and scanning electron microscopy (SEM) respectively. The results showed that the tensile strength of the material was increased at first and then decreased, and elongation showed the opposite tendency with increasing 11S/7S ratio. When the ratio of 11S globulin and 7S globulin was 1.0, the material had the maximum tensile strength. The microstructure of the material is a reflection of the mechanical properties, the denser and more uniform the microstructure be, the higher mechanical properties of materials be. Based on comprehensive investigation on property testing and structure characterization of materials, when the soybean protein materials were formed, the cross-linking reactions happened between 7S globulin and 11S globulin.

Key words: 7S globulins; 11S globulins; Biodegradable material; Mechanical properties

由于石油资源日趋枯竭及石油基塑料带来的全球性环境污染问题,寻找新的对环境友好塑料原料,发展非石油基聚合物已经迫在眉睫。大豆分离蛋白可生物降解材料是石化塑料的替代材料,可以缓解资源短缺和环境污染问题,促进资源环境可持续发展。

大豆分离蛋白(SPI)是由多种氨基酸组成的球状蛋白质,它的分子式为 $H_2N-C(R_1H)-C(O)-[NH-C(RH)-C(O)]_n-NH-C(R_2H)-C(O)-OH$,沿着蛋白质大分子主链,分布着 $-NH_2$ 、 $-COO^-$ 、 $-CONH^+$ 等亲水基团^[1]。基于大豆蛋白的结构特性,大豆蛋白可广泛应用于制造可生物降解的薄膜、包装材料、塑料、吸水树脂、黏结剂等^[2]。按离心沉降系数(S),SPI可分为2S、7S、11S和15S 4个组分,

其中7S和11S是SPI的主要组分,7S和11S分别占SPI总量的35%和52%左右^[3,4]。因此,大豆7S和11S球蛋白对SPI可生物降解材料的性能产生非常重要的影响。本试验将大豆7S和11S球蛋白以不同比例混合制备可生物降解材料,研究了这2个组分对大豆蛋白材料的力学性能和微观结构的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

大豆分离蛋白(吉林不二蛋白有限公司);环氧氯丙烷(分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);琥珀酸酐(分析纯,天津市光复精细化工研究所);己内酰胺(分析纯,上海诚心化工有限公司);

收稿日期:2012-05-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20676026)。

第一作者简介:郭东权(1980-),男,硕士,助理研究员,研究方向为食品资源开发与利用。E-mail: dongquanguo@yahoo.com.cn。

通讯作者:陈复生(1963-),男,博士,教授,从事食品资源开发与利用研究。E-mail: fushengc@yahoo.com.cn。

甘油(分析纯,天津四通化学化工厂)。

1.2 主要仪器

GL-20C 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);LGJ-18 型冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂);QLB-D 400×400×2 型平板硫化机(上海轻工股份有限公司);CMT 0104 电子万能实验机(深圳市新三思计量技术有限公司);紫外凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司);AMRAY1901FE 扫描电子显微镜(SEM,美国 AMRAY 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 大豆 7S 和 11S 球蛋白的制备 大豆 7S 和 11S 球蛋白的制备参照 Nagano 法^[5]:大豆分离蛋白在 $0.03 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5)中浸泡 1 h,然后以 $7560 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心分离 30 min,弃去残渣,上清液加入 NaHSO_3 至 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 调节 pH 值至 6.4,4℃ 下贮存过夜,4℃ 下 $6425 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,得沉淀为 11S 球蛋白粗提物,所得上清液再调 pH 值至 4.8,4℃ 下 $6425 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,得沉淀为 7S 球蛋白粗提物,冷冻干燥。

1.3.2 大豆 7S 和 11S 球蛋白的纯度分析 大豆 7S 和 11S 球蛋白的纯度测定采用 SDS-PAGE 凝胶电泳^[6]。分离胶浓度 12.5%,浓缩胶浓度 3%,凝胶厚度 1 mm,2 mg 蛋白溶于 1 mL 样品处理液(pH 6.8)中,沸水浴煮沸 5 min,等量上样,加样体积为 15 μL 。电泳后的用凝胶成像系统拍照得到蛋白各组分的电泳图。

1.3.3 样品的制备 称取一定量的 1.3.1 中制备的 7S 和 11S 蛋白及 11S/7S 为 0.5、1.0、1.5、2.0、4.0(根据 7S 和 11S 纯度换算后的实际比值)的混合蛋白倒入三口烧瓶中,加入 3 倍质量的环氧氯丙烷,室温下机械搅拌使蛋白分散均匀后,加入 9%(相对蛋白的质量百分数,下同)三乙醇胺,然后分多次加入总量 30% 的琥珀酸酐,反应 1 h 后抽滤,自然晾干。取经过改性的混合蛋白 10 g 加入水(15%)、己内酰胺(7%)、甘油(15%)混合,快速搅拌至蓬松状,用 PE 塑料袋密封 48 h 后,放入平板硫化机中在 120℃、20 MPa 下加热加压 15 min 后取出,冷却至室温制样并对样品进行性能的测试和表征。

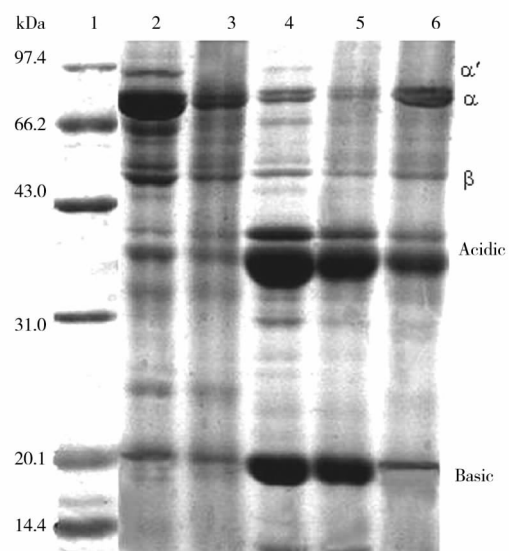
1.3.4 力学性能测定 按照 GB/T 1040-92 进行测定。

1.3.5 材料的微观结构 将 1.3.1 中制得的材料试样经液氮冷冻后立即折断,真空干燥并在截面上喷金后由扫描电子显微镜观察其结构。加速电压为 20 kV,图像记录在照片上^[1]。

2 结果与讨论

2.1 SDS-PAGE 凝胶电泳分析

大豆 11S 球蛋白、大豆 11S 球蛋白材料、大豆 7S 球蛋白、大豆 7S 球蛋白材料和标准蛋白组成亚基的 SDS-PAGE 图谱如图 1 所示。利用 BandsScan 软件对图谱进行分析确定大豆 7S 球蛋白的纯度为 75.5%,11S 球蛋白的纯度为 90.2%。经改性、增塑处理后单一的 7S 和 11S 球蛋白材料与对应的 7S 和 11S 蛋白的电泳谱带基本没有变化,而 7S 和 11S 混合(1:1)材料的 α' 亚基消失, β 亚基和 11S 碱性亚基的含量明显减少。



1:标准蛋白;2:7S 球蛋白;3:7S 球蛋白材料;4:11S 球蛋白;5:11S 球蛋白材料;6:11S 和 7S 混合(1:1)蛋白材料

1. Standard protein;2. 7S soybean globulin;3. 7S soybean globulin material;4. 11S soybean globulin;5. 11S soybean globulin material;6. Mixture(7S:11S=1:1) material

图 1 大豆 7S 和 11S 球蛋白及其材料的 SDS-PAGE 图谱

Fig. 1 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) patterns of separated 7S and 11S soybean globulins and their materials

2.2 大豆球蛋白 11S/7S 对材料力学性能的影响

由图 2 可知,随着 11S 球蛋白含量的增加,材料的拉伸强度先升高后降低,当 11S/7S = 1 时,材料的拉伸强度升至最大值 13.81 MPa;材料的断裂伸长率先降低后升高,当 11S/7S = 1.5 时,材料的断裂伸长率降至最小值 276.3%。这是热压成型过程中 7S 蛋白分子和 11S 蛋白分子之间发生交联作用的结果,随着 11S 球蛋白含量的增大,导致材料的拉伸强度增大。这一结论在 SDS-PAGE 凝胶电泳分析中得到印证,由于 7S 和 11S 球蛋白分子之间的交

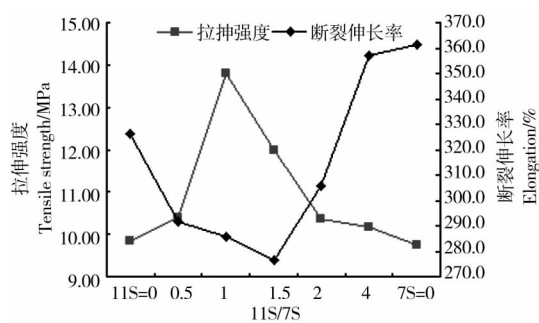


图2 不同配比大豆 7S 和 11A 球蛋白材料的力学性能

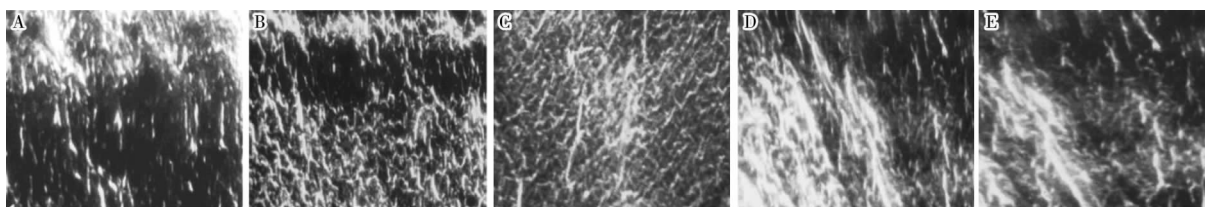
Fig. 2 Mechanical properties of materials made from 7S and 11S globulins and their mixture with different ratios

联相互作用,使得 11S/7S = 1 时材料的 α' 亚基消失、 β 亚基和 11S 碱性亚基的含量明显减少,而单一的 7S 和 11S 球蛋白材料与对应的 7S 和 11S 球蛋白相比其电泳谱带基本没有变化。因此,当 11S/7S = 1 时,材料的拉伸强度达到最大,随着 11S 球蛋白含量的继续增大,二者之间交联反应增多,分子间的相互作用加强,从而使得材料的拉伸强度提高。二者比值大于 1 或小于 1 时,11S 蛋白与 7S 蛋白不能充分发生交联反应,使材料的拉伸强度都小于比值为 1 时材料的拉伸强度。材料断裂伸长率的变化趋

势与拉伸强度变化趋势是相反的。这是因为蛋白质分子间的相互作用较强时,分子间的流动性较差,材料的韧性和延展性较差,使得材料的断裂伸长率较小,所以材料的断裂伸长率呈先减小后增大的趋势。

2.2 微观结构研究

图 3 为大豆分离蛋白的主要组分 7S 和 11S 球蛋白材料断面的 SEM 照片,如图所示,经改性增塑后的材料的断面都呈网状结构,结构的致密性随着 11S 蛋白含量的增加先升高后降低,图 A、B、D、E 结构的松散,断面凹凸不平;当球蛋白 11S/7S = 1 时,材料断面网状结构最致密,断面光滑、均一(图 C)。这也是因为在热压作用下,7S 和 11S 球蛋白分子之间存在交联反应,随着 11S 球蛋白含量的增大,二者之间交联作用增强,导致更大的分子聚集,伴有分子量的增加,分子间的排列更加紧密、有序,使其混合制成的材料的网状结构得到加强。当球蛋白 11S/7S = 1 时,二者之间的交联反应最充分,比值越趋于 1,二者之间的交联反应越充分,使得材料的微观结构出现图中的现象。正是由于当球蛋白 11S/7S = 1 时,材料断面致密、光滑、均一的网状结构使得材料表现出良好的力学性能。



A: 7S; B: 11S/7S = 0.5; C: 11S/7S = 1.0; D: 11S/7S = 2.0; E: 11S

图3 混合蛋白(7S 和 11S)材料放大 2000 倍 SEM 图

Fig. 3 Scanning electron microscopy (SEM) images of the fractured surface of materials made from 7S globulin, 11S globulin and their mixtures

3 结 论

随着球蛋白 11S/7S 的增大,大豆蛋白材料的拉伸强度先升高后降低,而断裂伸长率呈相反的变化趋势,比例为 1:1 时,材料的拉伸强度达到最高。材料的微观结构是材料力学性能的反映,微观结构越致密、越均一材料的力学性能越高。综合材料的性能测试与结构表征,大豆蛋白在形成材料时,7S 和 11S 球蛋白之间存在着交联相互作用。

参考文献

[1] 郭东权. 酰化大豆分离蛋白可生物降解材料的制备及其特性研究[D]. 郑州:河南工业大学,2008:1-4. (Guo D Q. Study of preparation and properties on biodegradable material of succinylat-

ed soy protein isolate [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2008: 1-4.)

[2] Tian H F, Liu D G, Zhang L N. Structure and properties of soy protein films plasticized with hydroxyamine [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2009, 111 (2): 549-1556.

[3] Anonymous. Plastic durables; environmental impact [J]. Plastics Engineering, 1994, 50 (34): 58-64.

[4] 周瑞宝, 周兵. 大豆 7S 和 11S 球蛋白的结构和功能性质 [J]. 中国粮油学报, 1998, 13 (6): 39-42. (Zhou R B, Zhou B. The structure and functional properties of soybean 7S and 11S globulin proteins [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1998, 13 (6): 39-42.)

[5] Takao N, Motohiko H, Hiroyuki M, et al. Dynamic viscoelastic study on the gelation of 7S globulin from soybean [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 48: 941-944.

[6] Laemmli U K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage [J]. Nature, 1970, 227: 680-683.