

大豆分离蛋白接枝氨基封端聚 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸的合成及溶液性质研究*

刘晓亚^{1,2**} 姜 鹏² 周 华² 江金强² 白绘宇² 江 明¹

(聚合物分子工程教育部重点实验室 复旦大学高分子科学系 上海 200433)

(江南大学化学与材料工程学院 无锡 214122)

摘 要 用巯基乙胺为链转移剂,过硫酸铵为引发剂合成了氨基封端的聚 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸 (H_2N -PAMPS).再用 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC)和 *N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS)在室温下催化 H_2N -PAMPS 的端氨基与大豆分离蛋白 (SPI)的羧基反应形成酰胺键,得到接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS.用 ¹H-NMR、傅利叶红外光谱、¹³C-NMR 对 H_2N -PAMPS 和接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 进行结构表征.用 zeta 电位仪、紫外可见光光谱、荧光光谱、动态激光光散射对 SPI 及其接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 的水溶液性质进行了研究.结果表明,与 SPI 相比, SPI-*g*-NH-PAMPS 的溶解性、表面疏水性、乳化性等有所改善,接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体粒径增大,形成独特的核壳结构.

关键词 大豆分离蛋白, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺, 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸, 接枝物

大豆分离蛋白 SPI 是一种可生物降解、可再生、环境友好的天然高分子,其资源丰富且价格低廉^[1].随着资源短缺和环境污染加剧,大豆分离蛋白由于其环境友好性及潜在的应用价值,引起了人们的广泛兴趣^[2].大豆分离蛋白的主要成分是 7S 球蛋白和 11S 球蛋白^[3],具有优良的凝胶性、粘性、起泡性、吸水性、成膜性等等,但由于其有等电点存在,且等电点附近溶解性和表面亲水性较差,乳化性能较差,因而限制了 SPI 的应用,有必要对大豆分离蛋白进行改性.目前常用提高大豆分离蛋白溶解性的常用方法有热处理、变性剂变性、碱处理 ($pH \geq 11$)、接枝亲水性单体等等^[3-6].但是这些改性方法反应条件比较苛刻,如加热、强碱处理等,易使大豆分离蛋白过度变性,破坏大豆分离蛋白的其他功能性,因而需要一种相对温和的方法对大豆分离蛋白进行改性^[3].

碳二亚胺类催化剂 (EDC) 催化反应具有高效、低温、水性等优点,常被用于催化羧酸和伯胺间缩合反应,很适合大分子的温和改性^[7].Hourdet 等用碳二亚胺催化聚丙烯酸的羧基与氨基封端的聚异丙基丙烯酰胺的端氨基进行缩合反应,得到

聚丙烯酸-*g*-聚异丙基丙烯酰胺^[8].碳二亚胺催化接枝反应还可以被用于多肽、纤维素、明胶等大分子的改性^[9-11].Li 等采用 EDC 催化多巴胺接枝大豆蛋白的反应,得到了一种耐水胶黏剂^[12].但有关大豆分离蛋白表面 EDC 催化接枝大分子长链的研究尚鲜见报道.

本文用 EDC 和 NHS 催化大豆分离蛋白上的羧基与 H_2N -PAMPS 长链上的端氨基进行缩合反应,成功合成出接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS.用傅利叶红外光谱,¹H 核磁和 ¹³C 核磁表征了 H_2N -PAMPS 和 SPI-*g*-NH-PAMPS 的结构.聚 AMPS 接枝链含大量的亲水磺酸基团因而荷负电,改变了大豆分离蛋白表面荷电和聚集体形态,从而改善大豆分离蛋白的性能.用 zeta 电位仪、紫外光谱、荧光光谱、动态激光光散射对 SPI 和接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 的水溶液性质进行了表征.结果表明, SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体形态呈一定的核壳结构且粒径较 SPI 增大;接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 等电点消失,在原 SPI 等电点 ($pH = 4.5$)附近的溶解性和乳化性能均有所提高.

1 实验部分

1.1 主要试剂

大豆分离蛋白(SPI),蛋白质含量大于 90%,南通光合生物科技有限公司;1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和 *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)纯度均为 99%,上海延长生化科技发展有限公司;2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(AMPS),纯度 98%,山东临邑威思化学有限公司;过硫酸铵(APS),分析纯,爱建德固赛引发剂有限公司;巯基乙胺(AET)和 1-苯胺基萘-8-磺酸(ANS),纯度均为 99%,北京百灵威化学有限公司。

1.2 氨基封端聚 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(H₂N-PAMPS)的合成

取 50 mmol 的单体 2-丙烯酰胺基-2-甲基丙磺酸(AMPS)溶于 10 mL 去离子水中搅拌并通氮气,15 min 后加入 3 mmol 巯基乙胺和 1 mmol 过硫酸铵,再通氮气 15 min,然后密封瓶口,转入 60℃ 油浴中,反应 8 h 后取出用 80 mL 丙酮沉淀,然后用 5 mL 去离子水溶解,反复 3 次,最后在 30℃ 烘箱中干燥至恒重^[10-12]。

1.3 大豆分离蛋白接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 的合成

以合成接枝率 GP% = 74.45% 的 SPI-g-NH-PAMPS 为例,具体的 EDC 催化 SPI 接枝反应过程是分别用 5, 30, 3, 2 mL 的 pH ≈ 8.5 的缓冲溶液溶解 0.5 g H₂N-PAMPS、0.5 g SPI、0.02 g EDC、0.006 g NHS,搅拌使其充分溶解并用一定浓度的氢氧化钠溶液调节溶液的 pH 值 = 9,然后将各溶液先后加入 100 mL 单口瓶中,搅拌,30℃ 下反应 24 h。反应后溶液产物用 400 mL 丙酮沉淀、水溶,重复水溶/丙酮沉析的纯化过程 3 次,最后在 30℃ 烘箱中干燥至恒重,得到大豆分离蛋白接枝物 SPI-g-NH-PAMPS^[9-12]。

1.4 大豆分离蛋白接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 接枝率的测定

按照文献 [13~15] 方法测定大豆分离蛋白接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 的接枝率(GP%)。反应液用 400 mL 丙酮沉淀、水溶,重复水溶/丙酮沉析的纯化过程 3 次,然后用乙醇抽提 24 h,在 30℃ 烘箱中干燥至恒重,用如下公式分别计算接枝率(GP%)和接枝效率(GE%)^[13-15]:

$$GP(\%) = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

$$GE(\%) = \frac{W_1 - W_0}{W_2} \times 100 \quad (2)$$

式中 W_0 、 W_1 和 W_2 分别代表 SPI、SPI-g-NH-PAMPS 和 H₂N-PAMPS 的质量。

1.5 H₂N-PAMPS 分子量测定

将 H₂N-PAMPS 溶于色谱级 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中,浓度 1.0×10^{-3} g/mL,充分搅拌,用微孔过滤膜过滤后备用。用 HP-1100 型凝胶渗透色谱(GPC)测定分子量,以 DMF 为流动相,以聚乙二醇 PEG 为标准样,温度 35℃,流动速度为 0.6 mL/min,测定 H₂N-PAMPS 的数均分子量 M_n 和重均分子量 M_w 。

1.6 接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 性能表征

H₂N-PAMPS 的氢谱用瑞士 Bruker MSL300 型核磁共振仪表征,溶剂为 D₂O。对大豆分离蛋白、接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 进行红外表征, KBr 研磨压片,加拿大 ABB 公司 FT/IR 2000-104 型傅里叶变换红外光谱仪。用日本电子公司 JNM-MY60FT 型核磁共振谱仪表征大豆分离蛋白、SPI-g-NH-PAMPS 的固体 ¹³C-NMR。用英国 Malvern 公司 Zeta-sizer 2000 型 zeta 电位仪进行溶液 zeta 电位表征^[16]。用德国 ALV 公司 ALV 5000E 型激光散射仪^[17]、Hitachi 7000A 透射电子显微镜(TEM)表征接枝前后 SPI 的大小及形态。

1.7 溶解性的测定

用去离子水分别溶解 SPI 和 SPI-g-NH-PAMPS 样品,浓度 2×10^{-3} g/mL,用 1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 调节溶液的 pH 值,振荡 20 min 后,在 280 nm 波长下的吸光度(A_{tot});将蛋白质溶液离心 15 min (1×10^4 r/min)后,测上清液在 280 nm 处的吸光值(A_{280})。蛋白质的溶解性表示为上清液蛋白浓度占相对应的总蛋白浓度的百分比($A_{280}/A_{tot} \times 100\%$)^[16,17]。

1.8 表面疏水性的测定

用 0.01 mol/L, pH 8.0 的磷酸缓冲液将 SPI 和 SPI-g-NH-PAMPS 分别配成浓度 2.5×10^{-4} g/mL 的水溶液。取样品 4 mL,加入 100 μL 的 1-苯胺基萘-8-磺酸(ANS)溶液(采用 0.01 mol/L, pH 8.0 的磷酸缓冲液配制成 8 mmol/L 的溶液)。用日本岛津公司 RF5301PC 型荧光分光光度计,在 390 nm 的激发波长和 488 nm 的发射波长下测定样品的荧光强度,以荧光强度对蛋白质浓度做出曲线,曲线初始阶段的斜率即为蛋白质分子的表面疏水性

指数 S_0 [18,19].

1.9 乳化性表征

分别在 3 mL SPI 和 SPI-*g*-NH-PAMPS 溶液中加入 3 mL 甲苯,在 5000 r/min 下均质搅拌 2 min. 静置,用 DM-BA450 型 (Motic 中国有限公司)光学显微镜观察乳液滴,测定乳化层高度以研究乳化性能 [20].

2 结果与讨论

2.1 H_2N -PAMPS 的表征

本文采用引发剂、链转移剂、单体摩尔比为 1:3:50,即适当增加 AET 的投料量,以确保聚 AMPS 链被氨基封端. H_2N -PAMPS 的分子量通过 GPC 表征 $M_n = 10300$, $M_w = 11500$.

图 1 为 H_2N -PAMPS 的氢核磁谱图.在化学位移 $\delta = 3.28$ 和 $\delta = 3.14$ 处的两个小峰 (a, $H_2N-CH_2-CH_2S-$) 和 (b, $H_2N-CH_2-CH_2S-$) 归属于由巯基乙胺引入的两个亚甲基上的氢吸收峰,在 $\delta = 1.41$ 处的强单峰 (c, $-NH-C-(CH_3)_2-CH_2$) 为 AMPS 的两个甲基上的氢吸收峰,在 $\delta = 2.08$ 处的单峰 (d, $H_2N-CH_2CH_2S-CH_2-CH-$) 归属于与硫原子直接相连的亚甲基上的氢吸收峰,酰胺基上的氢 ($O=C-NH-$) 与溶剂 D_2O 发生质子交换而不出峰,而在 $\delta = 3.34$ 处的峰 (f) 为与磺酸基相连的两个亚甲基上的氢 ($-CH_2-SO_3H$) 的吸收峰和水峰的叠加峰,由图 1 中可知合成了 H_2N -PAMPS.

2.2 SPI-*g*-NH-PAMPS 的表征

大豆分离蛋白上的谷氨酸 ($HOOC-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$) 单元和天门冬氨酸 ($HOOC-CH_2-CH(NH_2)-COOH$) 单元都含有自由羧基,两者约占总的氨基酸单元的 35%,这些自由羧基是 EDC 催化接枝反应的目标基团 [11,12]. 大豆分离蛋

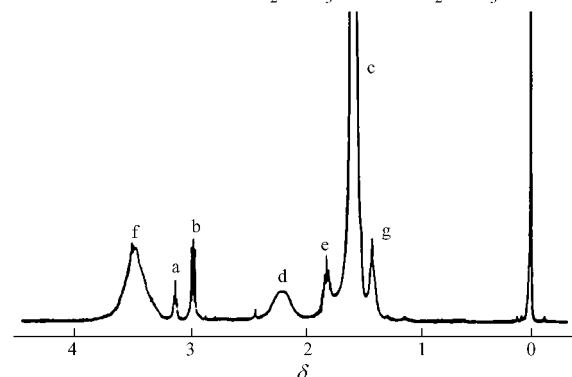
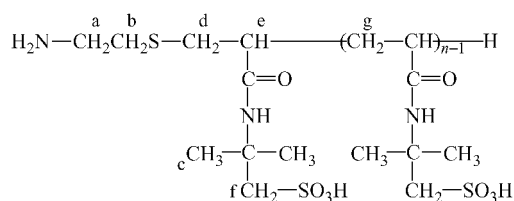
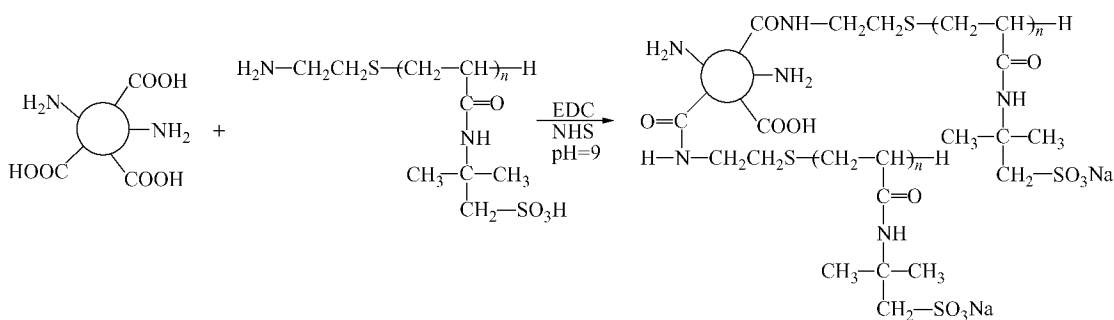


Fig. 1 1H -NMR spectrum of H_2N -PAMPS

白接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 的合成路线如示意图 1 所示,利用 EDC 和 NHS 在室温下催化 H_2N -PAMPS 的端氨基与 SPI 的自由羧基反应形成酰胺键,在 SPI 表面引入亲水性 PAMPS 长链,得到接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS.

SPI、SPI-*g*-NH-PAMPS 的傅立叶红外谱图如图 2 所示,与 SPI 相比,大豆分离蛋白接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 在 1211 、 1040 cm^{-1} 处出现了较强的新吸收峰,可以分别归属于 $S=O$ 伸缩振动、 $S-O$ 的伸缩振动,而 $S=O$ 、 $S-O$ 来自于接枝链 H_2N -PAMPS 上的磺酸基团,因此可以初步判断 H_2N -PAMPS 已接枝到大豆分离蛋白上.

图 3 为 SPI 和 SPI-*g*-NH-PAMPS 的 ^{13}C -NMR 谱图.与 SPI 相比, SPI-*g*-NH-PAMPS 的 ^{13}C -NMR 谱图上 $\delta = 32$ 左右的新峰可归属于 PAMPS 中两个甲基中伯 C 原子 (f, h) 的吸收峰, $\delta = 42$ 为与磺酸基团相连的仲 C 原子 (i) 的吸收峰. $\delta = 53$ 左右的强吸收峰可归属于 AMPS 单元中与氨基相连的季



Scheme 1 The synthesis routes of SPI-*g*-NH-PAMPS

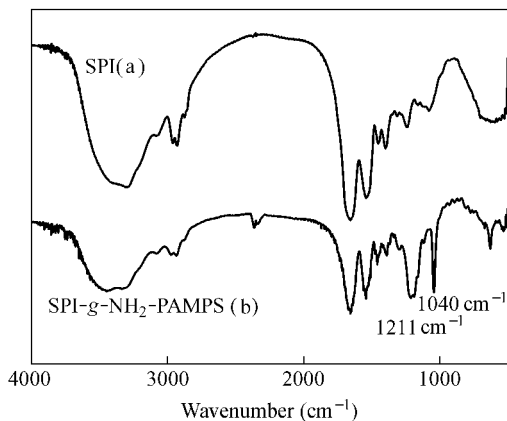


Fig. 2 FTIR spectra of the SPI (a) and SPI-g-NH-PAMPS (b) (GP% = 74.45%)

C (g), 与羰基相连的叔 C (d) 和仲 C (c), $\delta = 178$ 为 PAMPS 单元中与氨基相连的羰基 C (e) 的化学位移. 因此由 ^{13}C -NMR 核磁谱图证实 H_2N -PAMPS 已经接枝到 SPI 上, 得到了目标产物 SPI-g-NH-PAMPS.

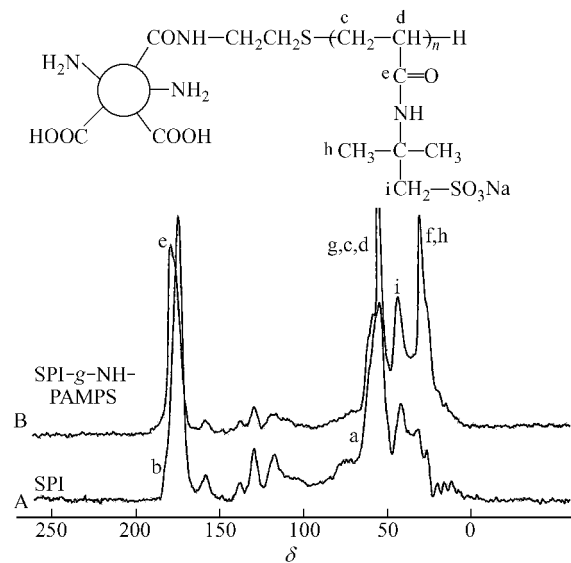


Fig. 3 ^{13}C -NMR spectra of the SPI (A) and SPI-g-NH-PAMPS (B) (GP% = 74.45%)

2.3 SPI-g-NH-PAMPS 的水溶液性质

2.3.1 接枝率 (GP%) 对 SPI-g-NH-PAMPS 表面疏水性的影响 1-苯氨基萘-8-磺酸 (ANS) 作为荧光探针分子, 常用于蛋白质分子疏水区域的研究^[9], ANS 荧光探针一般结合在蛋白质的疏水区和极性介质之间的界面上, 处于该状态的 ANS 能发出较强的荧光, 即表面疏水指数 S_0 较大. 蛋白质的表面疏水性影响分子间的相互作用, 因而对蛋白质功能有较大影响^[21]. 图 4 为接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 的表面疏水性随接枝率 GP (%) 的变

化趋势, 从图 4 可看出, 随着接枝率 (GP%) 的增加, SPI-g-NH-PAMPS 的表面疏水性指数 S_0 急剧降低. 当 SPI 接枝上含磺酸基 (SO_3^-) 的亲水性 H_2N -PAMPS 长链后, SPI 表面主要被亲水性的 PAMPS 分子链占据, PAMPS 链向水相伸展, 因而表面疏水性指数 S_0 降低, 即表面亲水性增加. 当接枝率增大至 65.5% 后, 表面疏水性指数 S_0 变化趋于稳定, 本文选择了 GP% = 74.45% 的接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 来研究其溶液性质.

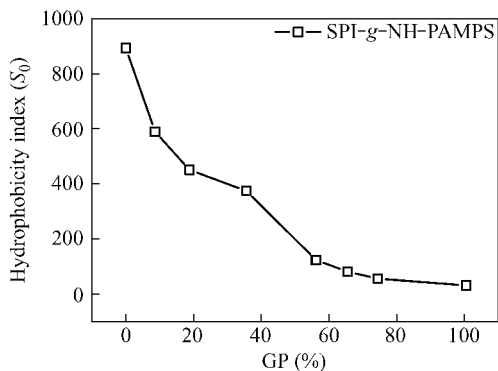


Fig. 4 The effect of GP (%) of graft copolymers on hydrophobicity at pH = 7 in aqueous solution ($c = 2.0 \times 10^{-4}$ g/mL)

2.3.2 pH 值对 SPI, SPI-g-NH-PAMPS 水溶液 zeta 电位的影响 当 zeta 电位值为 0 时对应的 pH 值为大豆分离蛋白的等电点, 此时 SPI 溶解性最小, 乳化性能最差. 图 5 为不同 pH 值下 SPI 和 SPI-g-NH-PAMPS zeta 电位的变化, 如图 5 所示, SPI 的等电点在 pH = 4.5 左右, 而对于接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 而言, zeta 电位在所测 pH 范围内均为负值, 即不存在等电点. 这是因为接枝的 H_2N -PAMPS 长链含有很多的 SO_3^- , 因而使 zeta 电位变得更负.

2.3.3 pH 值对 SPI, SPI-g-NH-PAMPS 溶解性的影响 SPI 的水溶性在等电点时最低, 约为 10% 左右, 容易进一步聚集而产生沉淀, 等电点以外不论趋酸性或碱性, 溶解性都有上升. 如图 6 所示, SPI 和 SPI-g-NH-PAMPS 都呈现出 V 型的溶解曲线. 与 SPI 相比, 接枝物 SPI-g-NH-PAMPS 的溶解性最低点向酸性方向偏移, 在 pH 为 4 ~ 5 范围内 SPI-g-NH-PAMPS 的溶解性较 SPI 有提高, 尤其在 SPI 的等电点 (pH = 4.5) 附近溶解性约为 40%. 这是由于在 SPI 上引入了含有磺酸基团的强亲水 H_2N -PAMPS 链, 使得 SPI-g-NH-PAMPS 的溶解性

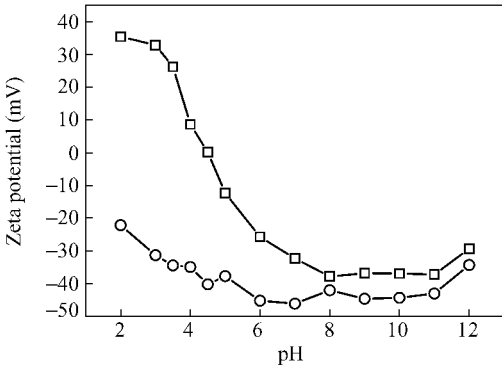


Fig. 5 The effect of pH on zeta potential of SPI (□) and SPI-*g*-NH-PAMPS (○) in aqueous solution
 $c = 2.0 \times 10^{-4}$ g/mL, GP% = 74.45%

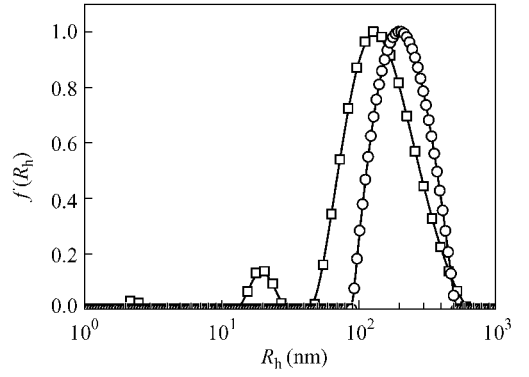


Fig. 7 The hydrodynamic radii (R_h) distribution of SPI aggregate (□) and SPI-*g*-NH-PAMPS aggregate (○) at pH = 7 in aqueous solution
 $c = 2.0 \times 10^{-4}$ g/mL, GP% = 74.45%

提高.

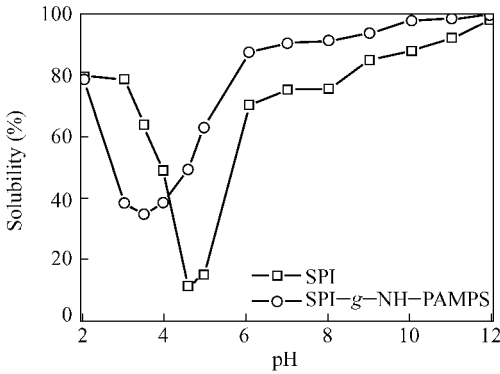


Fig. 6 The effect of pH on solubility of SPI (□) and SPI-*g*-NH-PAMPS (○) in aqueous solution
 $c = 2.0 \times 10^{-3}$ g/mL, GP% = 74.45%

2.4 SPI、SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体的研究

2.4.1 SPI、SPI-*g*-NH-PAMPS 水溶液的动态激光光散射 (DLS) 研究

如图 7 所示, pH = 7 时, SPI-*g*-NH-PAMPS 的平均流体学半径 (200 nm) 比 SPI 大 (140 nm), SPI 粒径分布呈现多分散性, 而 SPI-*g*-NH-PAMPS 粒径分布较为均一. 在大豆球蛋白上接枝了含磺酸基 (SO_3^-) 的 H_2N -PAMPS 长链后, 接枝链上磺酸基团 (SO_3^-) 之间的相互排斥使得 SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体的外壳变得松散, 聚集体的平均流体学半径增大.

2.4.2 SPI、SPI-*g*-NH-PAMPS 的透射电镜 (TEM) 研究

如图 8 所示, SPI 呈现出球形的聚集结构, 粒径主要分布于 180 nm; 而 SPI-*g*-NH-PAMPS 则呈一定的核-壳结构, 粒径约 220 nm. 亲水性的 H_2N -PAMPS 长链, 环绕在大豆球蛋白的表面, 形成大豆球蛋白表面的亲水壳层, 构成核-壳结构.

SPI-*g*-NH-PAMPS 的核-壳结构形态, 使其具有亲水药物或基因负载功能.

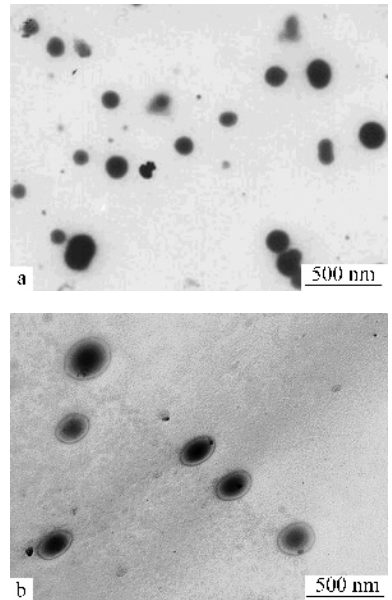


Fig. 8 TEM of SPI (a) and SPI-*g*-NH-PAMPS (b) aggregates
 pH = 7, $c = 2.0 \times 10^{-4}$ g/mL, GP% = 74.45%

2.5 SPI-*g*-NH-PAMPS 乳化性能的初步研究

大豆分离蛋白的乳化能力受 pH 值、浓度以及电离强度的影响, 一般在碱性条件乳化性能最好, 而在酸性条件下乳化性能较差, 尤其是等电点处乳化性能最差 [20, 22].

图 9 为 pH 值对 SPI, SPI-*g*-NH-PAMPS 乳化稳定性 (用乳化层高度来表达) 的影响. 结果表明, SPI 乳化层高度在等电点处最小, 即乳化效最差; 而 SPI-*g*-NH-PAMPS 在原等电点处乳化层高度较

大,可见与 SPI 相比, SPI-*g*-NH-PAMPS 的乳化稳定性更好.亲水性 H₂N-PAMPS 长链上大量的磺酸基团 (SO₃⁻)使 SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体较 SPI 带有更多的负电荷,可以分配更多的电荷到乳状液液滴的油水界面上,因而可以改善乳化稳定性^[20,22].

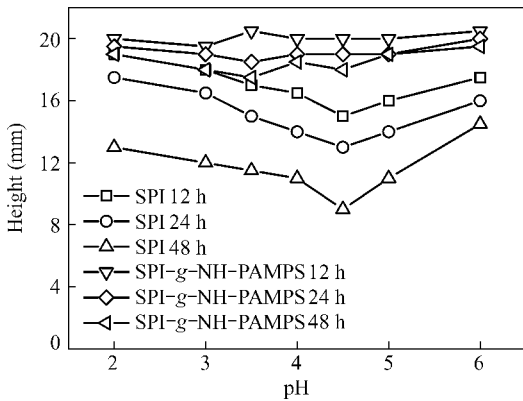


Fig. 9 The emulsifying stability index of SPI, SPI-*g*-NH-PAMPS (GP% = 74.45%) aqueous solutions with different pH values

Toluene as oil phase, $c = 3 \text{ mg/mL}$, GP% = 74.45%

采用光学显微镜初步研究了 SPI-*g*-NH-PAMPS 溶液的乳化性能.如图 10 所示,以甲苯作为油相的乳状液液滴呈现出比较均匀的球形结构,液滴平均粒径约为 35 μm .

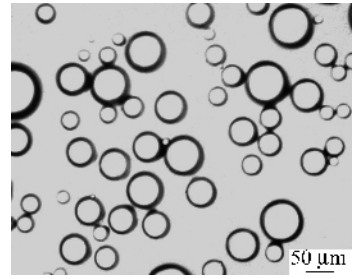


Fig. 10 Emulsion droplets characterized by the optical microscope

Toluene as oil phase and SPI-*g*-NH-PAMPS as emulsifier, zoom in 400 times, $c = 3 \text{ mg/mL}$, pH = 7, GP% = 74.45%

3 结论

用 EDC/NHS 催化 H₂N-PAMPS 的端氨基与大豆分离蛋白上的自由羧基发生缩合反应,将亲水 H₂N-PAMPS 长链接枝到大豆分离蛋白 SPI 上.与 SPI 相比,接枝物 SPI-*g*-NH-PAMPS 的表面电荷更负,表面疏水性降低而亲水性增强. SPI-*g*-NH-PAMPS 聚集体呈独特的核-壳结构,接枝物聚集体的平均粒径从 180 nm 增加到 220 nm 左右. EDC 催化接枝反应,条件温和,可以避免 SPI 的过度变性,提高了 SPI 在水中的溶解性和乳化性,而且在较宽的 pH 范围内有较好的溶解性和乳化性,尤其在等电点附近溶解性提高了 40%.

REFERENCES

- Cao N, Fua Y H, He J H. Food Hydrocolloid, 2007, 21: 1153 ~ 1162
- Mauri A N, Añón M C. J Sci Food Agric, 2006, 86: 1064 ~ 1072
- John E K. J Am Oil Chem Soc, 1979, 56: 242 ~ 258
- Zhang Chunhong (张春红), Guo Yong (郭永), Tang Ning (唐宁), Liu Changjiang (刘长江). Food Science and Technology (食品科技), 2004, (1): 30 ~ 32
- Yang C, Song X Q, Sun C, Chen M Q, Xu Y L, Liu X Y. J Appl Polym Sci, 2006, 102 (4): 4023 ~ 4029
- Guan J J, Qiu A Y, Liu X Y, Hua Y F, Ma Y H. Food Chem, 2006, 97: 577 ~ 585
- Parka S N, Leeb H J, Leeb K H, Suh H. Biomaterials, 2003, 24: 1631 ~ 1641
- Durand A, Hourdet D. Polymer, 1999, 40: 4941 ~ 4951
- Shu Jie (舒婕), Li Jiange (李建齐), Xu Min (徐敏), Luo Shufang (罗淑芳), Liu Shunying (刘顺英), Yu Jiahui (余家会), Cong Rong (丛蓉), Du Bing (杜冰). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2008, (2): 116 ~ 122
- Bokias G, Mylonas Y, Bumbu G G, Vasile C. Macromolecules, 2001, 34: 4958 ~ 4964
- Dong C M, Wu X Y, Cavesb J, Releb S S, Thomasb B S, Chaikofb E L. Biomaterials, 2005, 26: 4041 ~ 4049
- Li K C, Liu Y. Macromol Rapid Commun, 2002, 23: 739 ~ 742
- Joshi J M, Sinha V K. Polymer, 2006, 47: 2198 ~ 2204
- Singh V, Tiwari A, Tripathi D N, Sanghi R. Polymer, 2006, 47: 254 ~ 260
- Athawale V D, Lele V. Carbohydr Polym, 1998, 35: 21 ~ 27

- 16 Vanapalli S ,Coupland J N. Food Hydrocolloids 2000 ,14 315 ~ 317
- 17 Zhou Hua (周华) ,Jiang Peng (姜鹏) ,Yang Cheng (杨成) ,Jiang Jinqiang (江金强) ,Bai Huiyu (白绘宇) ,Chen Mingqing (陈明清) ,Liu Xiaoya (刘晓亚) . Acta Polymerica Sinica (高分子学报) ,2008 ,(5) :424 ~ 42
- 18 Gorinstein S ,Delgado-Licon E ,Pawelzik E ,Permady H H ,Weisz M ,Trakhtenberg S. J Agric Food Chem 2001 ,49 5595 ~ 5601
- 19 Kamyshny A ,Magdassi S ,Relkint P. J Colloid Interf Sci ,1999 ,218 300 ~ 308
- 20 Binks B P ,Murakami R ,Armes S P ,Fujii S ,Schmid A. Langmuir 2007 ,23 8691 ~ 8694
- 21 Damodaran S J. Agric Food Chem ,1988 ,36 262 ~ 269
- 22 Dickinson E ,Rolfe S E ,Dalgleish D G. Food Hydrocolloids ,1988 ,265 397 ~ 405

SYNTHESIS AND AQUEOUS SOLUTION PROPERTIES OF GRAFT COPOLYMERS BASED ON SOY PROTEIN ISOLATE WITH AMINO-TERMINATED POLY (2-ACRYLANMIDO-2-METHYL PROPANE SULFONIC ACID)

LIU Xiaoya , JIANG Peng , ZHOU Hua , JIANG Jinqiang , BAI Huiyu , JIANG Ming

† . Key Laboratory for Molecular Engineering of Polymers , Ministry of Education ;

Department of Macromolecular Science , Fudan University , Shanghai 200433)

‡ School of Chemical and Material Engineering , Jiangnan University , Wuxi 214122)

Abstract Graft copolymers (SPI-*g*-NH-PAMPS) were prepared by a graft reaction between the free carboxylic acid groups of soy protein isolate (SPI) and the amino groups of poly (2-acrylanmido-2-methyl propane sulfonic acid) (H₂N-PAMPS) using 1- (3- (dimethylamino)propyl)-3-ethyl-carbodiimide hydrochloride/*N*-hydroxysuccinimide as the condensing agents in a buffer solution. H₂N-PAMPS and SPI-*g*-NH-PAMPS were fully characterized by ¹H-NMR ,FTIR and ¹³C-NMR spectroscopies. The aqueous solution properties of SPI and SPI-*g*-NH-PAMPS were studied by zeta potentiometer ,UV-Visible spectroscopy ,fluorescence spectrometer ,dynamic laser light scattering (DLS). The charge of SPI-*g*-NH-PAMPS measured by zeta potentiometer was negative within the whole pH range studied ,which was due to the ionization of sulfonic groups of grafted chains. UV-Visible spectroscopy measurements demonstrated that the solubility of SPI was improved after the graft reaction ,especially around the isoelectric point of SPI where it was increased by about 40% ,because of the grafted hydrophilic H₂N-PAMPS chains. Fluorescence probing studies with 1-anilino-naphthalene-8-sulfonic acid (ANS) in aqueous solution revealed that the surface hydrophobicity of SPI-*g*-NH-PAMPS was much weaker than that of SPI. The average hydrodynamic radius (< R_h >) of SPI aggregates measured by dynamic laser light scattering (DLS) was increased from about 140 nm to about 200 nm. TEM studies indicated that SPI-*g*-NH-PAMPS aggregates presented a unique core-shell structure because hydrophilic PAMPS long chains surrounded on the surface of SPI globulins ,and formed more hydrophilic shell ,and the average size of SPI-*g*-NH-PAMPS aggregates was also bigger than that of SPI aggregates. The graft reaction using EDC provides a new method to modify SPI and expands the application fields of SPI.

Keywords Soy protein isolate , 1- (3- (Dimethylamino)propyl)-3-ethyl-carbodiimide hydrochloride , 2-Acrylanmido-2-methyl propane sulfonic acid , Graft copolymer