

# 大豆分离蛋白在成膜后的营养特性变化

欧仕益 暨南大学食品科学与工程系 广州 510632

郭乾初 香港理工大学应用生物与化学科技系

**摘要** 采用胃蛋白酶和 2, 4, 6-三硝基苯磺酸分别测定大豆分离蛋白膜的消化率和赖氨酸有效性。结果表明, 蛋白质的消化率和赖氨酸有效性随成膜溶液的 pH 升高而下降, 并因一些增加蛋白质交联的物质如单宁、阿魏酸和过氧化氢的添加而降低。蛋白膜的机械特性与膜蛋白消化率和赖氨酸有效性存在一定负相关, 即机械性能较强的膜, 其消化率和赖氨酸有效性较低。不过, 玉米淀粉似乎是个例外, 它在改善膜机械特性的同时, 也保持了大豆蛋白膜的营养。由于大豆分离蛋白制备成膜后, 其消化率和赖氨酸有效性下降, 因此将大豆蛋白膜称为生物可降解膜似乎比称作可食性膜更科学。

**关键词** 大豆分离蛋白 膜 营养

**Abstract** Pepsin and 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid were used to test in vitro the soy protein isolate digestibility and the content of reactive lysine of film proteins respectively. The results showed that in vitro protein digestibility and content of reactive lysine of film proteins decreased with increase in pH of film forming solution and addition of cross-linking agents such as tannin, ferulic acid and hydrogen peroxide, also with increase of mechanical properties of films. However, cornstarch seemed an exclusive, which increased the mechanical properties of films but almost kept unchanged in vitro protein digestibility and the content of reactive lysine of film proteins. It can be concluded that the nutritional value of soy protein isolate decreased after it was used to prepare film. Thus, it appeared that it was more reasonable to make films prepared from soy protein isolate as biodegradable films rather than as edible films.

**Key words** Soy protein isolate Film Nutrition

食品工业中的包装膜可分为化学合成膜和可食性(生物降解)包装膜。现代工业在合成膜的生产上已经取得飞速发展, 这类膜在食品工业中也得到了广泛应用。随着人们环保意识的增加, 人工合成膜的应用受到挑战, 加上它利用的是非再生资源, 故目前世界上对开发可食性包装膜发生了浓厚兴趣, 近年来这方面

的研究在不断增加。因为后者利用的原料是可再生资源, 能被生物降解, 不污染环境。

可食性包装膜指包装于食品表面而成为食品的一部分, 且与食品一同被食用的膜或涂层<sup>[1]</sup>。它可由蛋白质、多糖、脂肪或三者组合制备<sup>[2]</sup>。三类物质中, 以蛋白膜的应用前景最好。原因有三, 首先, 采用蛋

## 3 讨论

本实验结果说明, 芦荟提取液对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有明显的抑制生长作用, 热稳定性强。芦荟提取物之所以具有较强的抑菌作用, 是因为芦荟大黄素和大黄酚等有抑菌和泻下作用。芦荟中香豆酸对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等均有不同程度的抑制作用, 还有降血脂作用<sup>[4]</sup>。

芦荟现已被广泛的应用于医药、美容、保健食品及工农业领域, 并且它的种植、加工及其应用方面也

取得了很大进展, 具有高科技含量的芦荟产品将会为我国应用了上千年的传统中药芦荟注入新的生命。

## 参考文献

- 1 周家琪等. 花卉学. 中国林业出版社, 602~603.
- 2 中国药典. 一部, 1990.
- 3 万金志等. 芦荟的化学成分及其研究. 中草药, 1999, 30(2): 151~153.
- 4 邱薇等. 芦荟的药用及其对皮肤创伤的治疗研究. 中草药, 2001, 32(3): 282~283.

白质制备的膜透气性很低。研究表明,当湿度较低时,大豆蛋白膜对  $O_2$  的透性比低密度 PE 膜、甲基纤维素膜、淀粉和果胶膜分别低 500, 260, 540 和 670 倍<sup>[3]</sup>。其次,蛋白膜的机械特性优于多糖和脂肪膜,因为蛋白质结构特殊(由 20 种氨基酸组成),可以产生特殊的食品功能特性,特别是分子之间的交联作用较为强烈<sup>[4]</sup>。第三,它可提高食品的营养价值<sup>[4]</sup>。

不过,与人工合成膜相比,蛋白膜的机械强度仍不令人满意,且对水蒸汽的透性较高,在高湿度条件下更是如此<sup>[5]</sup>。目前往往采用一些增加蛋白质交联的措施以改善其机械强度,如添加单宁、棉子酚、甲醛、戊二醛、谷氨酰胺转移酶、阿魏酸和一些氧化剂,或采用超声波和辐射处理等<sup>[6-12]</sup>。

由于蛋白质成膜依赖于蛋白质中氨基酸间的交联,加上成膜需在碱性(一般 pH8~11)和较高温度(85℃)下进行,必定会造成一些氨基酸的破坏从而影响蛋白质的营养特性。但是,目前人们往往只强调蛋白膜的可食性和营养特性,而未见对蛋白膜进行营养特性评价的报道。本研究在这方面做了一些初步研究,其目的是敦促人们采用比较温和的方法制备可食性包装膜,同时对所谓可食性蛋白膜有全面认识。

## 1 材料与方法

### 1.1 大豆分离蛋白膜的制备

成膜所用的大豆分离蛋白(SPI)由华南理工大学食品系吴晖老师提供,蛋白质含量 93%(干重)。甘油、阿魏酸购自 Sigma 公司,玉米淀粉市售。

膜的制备按我们的方法进行,成膜液的基本组成为每 100ml 去离子水 5 g SPI 和 3 g 甘油,设置以下处理。不同 pH 处理:用 0.1mol/L 的 NaOH 和盐酸将成膜溶液的 pH 分别调节到 7.0, 8.0, 8.5, 9.0, 10.0;不同添加物处理:单宁、阿魏酸、玉米淀粉的添加量分别为 0.05、0.1 和 3 g/100ml 去离子水,过氧化氢添加量为 200mg/L 去离子水,用 0.1mol/L 的 NaOH 和盐酸将成膜液的 pH 调节到 8.5。在制备玉米淀粉-SPI 膜时,为便于成膜(本实验中,未加阿魏酸不能成功制备出淀粉-蛋白复合膜),还添加了 0.05 g/100ml 去离子水的阿魏酸。

配制好各成膜溶液后,在 85℃ 的水浴中搅拌反应 30min,冷却至室温,将溶液倒至投影胶片上,铺开,以 5℃ 左右的倾斜度流延,在室温下放置 1h 后移入

40℃ 烘箱干燥 24 h。揭膜,将膜放入干燥器中保存。

### 1.2 赖氨酸有效性的测定

将 Kwok 等<sup>[13]</sup>的方法稍作改进测定 SPI 和各膜的赖氨酸有效性。具体方法如下:称取 0.5 g 烘干材料,加入到 50ml 0.1% 的琼脂溶液中,在匀浆器(VIRTIS 公司)中高速匀浆 5min。取 1.0ml 样品溶液,分别加入 1.0ml 1mol/L 的碳酸氢钠和 1% 的 2, 4, 6-三硝基苯磺酸溶液,40℃ 水浴中反应 75min,加入 3.0ml 11mol/L 的盐酸,100℃ 反应 2h,冷却,用丁醚萃取,蒸干丁醚,水相离心后在 415nm 下测定其 DO 值。同时,按下列方法设置空白对照以确定溶液的混浊度:取 1.0ml 样品溶液,分别加入 1.0ml 1mol/L 碳酸氢钠、3.0ml 11mol/L 的盐酸和 1% 的 2, 4, 6-三硝基苯磺酸溶液,其余各操作步骤同上。以赖氨酸作标准曲线。

### 1.3 蛋白膜消化率的确定

按 Elkhailil 等<sup>[14]</sup>的方法测定蛋白膜的消化率。2 g 烘干样品,匀浆,定容至 20ml。取 1.0ml,加入 14ml 胃蛋白酶含量为 1mg/ml 的 0.1mol/L 的盐酸溶液,37℃ 下反应 2h,加入 15ml 10% 的三氯醋酸终止反应,过滤,滤液采用凯氏定氮法测定含氮量,按下式计算消化率:蛋白质消化率=(滤液中的氮-胃蛋白酶的氮)/样品中的氮

### 1.4 蛋白膜机械特性的测定

按 Jangchud<sup>[15]</sup>的方法,采用 TA500 型质构仪测定各膜的抗拉强度(TS)和断裂伸长率(E)。测定前先将膜在 50% 的相对湿度下平衡 48h,每种膜测定 5 个样,每样品大小为 2.0 × 12cm,计算时膜的厚度为每样品 5 个点的平均值。

除特别说明外,所有测定都为 3 个重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同成膜方法对 SPI 消化率的影响

从表 1 可以看出,除淀粉外,其它各成膜方法都降低 SPI 的消化率。pH 从 7.0 增加到 10.0,膜蛋白的消化率从 71.1% 下降到 61.9%,但在 pH7~8.5 范围内,蛋白质的消化率没有显著差异。高 pH 下引起蛋白质消化率下降的原因是多方面的。一是蛋白质中的氨基酸发生变旋作用,由 L-型转变成 D-型,从而难以为胃蛋白酶作用<sup>[16]</sup>;二是使蛋白质中氨基酸发生交联,特别是在形成脱氢丙氨酸(DHA)后,DHA 可与赖氨酸、半胱氨酸、组氨酸等发生交联,形成无营养甚至是有害的物质<sup>[16]</sup>。

表 1 大豆分离蛋白在成膜后的蛋白质消化率和赖氨酸有效性变化

处理	蛋白质离体消化率 (%)	有效赖氨酸 (mg/g 蛋白质)
SPI	86.4±0.8 <sup>c</sup>	38.27±0.15 <sup>a</sup>
SPI 膜 (pH=7.0)	71.1±1.4 <sup>d</sup>	31.82±0.36 <sup>c</sup>
SPI 膜 (pH=8.0)	69.8±1.8 <sup>d</sup>	22.35±0.12 <sup>d</sup>
SPI 膜 (pH=8.5)	71.6±1.5 <sup>d</sup>	20.67±0.26 <sup>cd</sup>
SPI 膜 (pH=9.0)	67.2±0.6 <sup>c</sup>	16.48±0.18 <sup>b</sup>
SPI 膜 (pH=10.0)	61.9±1.8 <sup>b</sup>	10.84±0.28 <sup>a</sup>
SPI+玉米淀粉	85.4±1.5 <sup>c</sup>	35.58±0.42 <sup>f</sup>
SPI+阿魏酸	60.6±1.3 <sup>b</sup>	16.78±0.13 <sup>b</sup>
SPI+单宁	65.1±2.1 <sup>c</sup>	18.75±0.23 <sup>c</sup>
SPI+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	55.8±1.0 <sup>a</sup>	18.93±0.17 <sup>c</sup>

表中数据为3个测定值的平均数,并在5%水平上进行了多重比较。

阿魏酸和单宁进一步降低了SPI的消化率。我们推测,这主要是因为阿魏酸和单宁与蛋白质中某些氨基酸发生了交联,因为这些酚类物质及其氧化态-醌可与蛋白质中的一些亲核氨基酸残基如赖氨酸、半胱氨酸发生反应<sup>[16, 17]</sup>。由于这些反应往往是不可逆的<sup>[16]</sup>,故阿魏酸和单宁的添加会影响蛋白质的消化率。

由于过氧化氢很容易将蛋白质中的半胱氨酸、甲硫氨酸、色氨酸和酪氨酸氧化<sup>[16]</sup>,所以过氧化氢的处理使SPI的消化率下降了35%以上(根据表1的计算结果)。

### 2.2 不同成膜方法对SPI赖氨酸有效性的影响

SPI制成蛋白膜后,赖氨酸的有效性都有不同程度的下降(表1)。但是,pH、阿魏酸、单宁和过氧化氢对赖氨酸有效性的影响和对消化率的影响略微不同。随着pH升高,赖氨酸的有效性显著下降(表1)。pH从7.0升高到10.0时,SPI中能与2,4,6-三硝基苯磺酸反应的赖氨酸量下降了65.9%。值得注意的是,pH哪怕发生0.5的变化,赖氨酸的有效性也会显著下降(表1)。在相同pH(8.5)下,阿魏酸、单宁和过氧化氢使赖氨酸的有效性进一步下降,但下降的幅度不是很大。对这些现象的可能解释是,随着pH的升高,产生的DHA增加,而赖氨酸是最易与DHA发生反应的氨基酸,加上它还能与天冬氨酸、谷氨酸反应,故pH升高对赖氨酸的有效性影响很大。如前所述,赖氨酸还能与阿魏酸、单宁及其氧化物反应,所以在相同pH下添加这两种物质使赖氨酸的有效性进一步降低,而过氧化氢对赖氨酸无直接氧化作用,因此它对赖氨酸有效性的降低程度不比阿魏酸和单宁大。

表 2 成膜条件对大豆分离蛋白膜机械特性的影响

处理	TS 值(MPa)	E 值(%)
SPI 膜 (pH=7.0)	未形成完整膜	未形成完整膜
SPI 膜 (pH=8.0)	1.03±0.13 <sup>a</sup>	174.8±0.38 <sup>a</sup>
SPI 膜 (pH=8.5)	3.52±0.08 <sup>b</sup>	157.6±3.5 <sup>d</sup>
SPI 膜 (pH=9.0)	3.72±0.25 <sup>b</sup>	152.6±5.6 <sup>cd</sup>
SPI 膜 (pH=10.0)	3.65±0.34 <sup>b</sup>	155.8±7.5 <sup>d</sup>
SPI+玉米淀粉	4.78±0.65 <sup>d</sup>	146.0±9.9 <sup>c</sup>
SPI+阿魏酸	4.26±0.15 <sup>c</sup>	134.2±2.5 <sup>bc</sup>
SPI+单宁	4.68±0.45 <sup>d</sup>	124.8±8.5 <sup>b</sup>
SPI+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3.62±0.86 <sup>b</sup>	128.7±6.8 <sup>c</sup>

TS, 抗拉强度; E, 断裂伸长率。表中数据为5个测定值的平均数,并在5%的水平上进行多重比较。

### 2.3 膜的机械性能与膜的消化率和赖氨酸有效性的关系

膜的机械特性一般采用抗拉强度(TS)和断裂伸长率(E)来衡量,前者表示膜的抗拉伸和撕裂能力,TS越大,膜的抗拉伸能力和抗撕裂能力越强;后者表示膜的弹性,E值越大,弹性越强。目前在制备可食性包装膜的研究中,追求的是尽可能提高膜的TS值,而E值维持在较合理的范围。

由表2可以看出,随着成膜溶液pH的提高,膜的抗拉强度增加,而E值下降,添加淀粉、单宁和阿魏酸后,进一步增加了TS,降低了E值。过氧化氢虽降低了膜的E值,但对TS值的提高几乎无效果。比较表1和表2的结果,似乎存在这样的负相关性,即膜的机械性能(较高的TS和较低的E值)越好,膜蛋白的消化率和赖氨酸的有效性就越低。不过,也有例外,一是过氧化氢,它大大降低膜蛋白的消化率和赖氨酸的有效性,但对膜的机械性能没有大的改善。二是玉米淀粉,在成膜溶液中添加玉米淀粉后,与SPI原粉相比,膜蛋白的消化率和赖氨酸的有效性几乎没发生改变,且大大高于同pH下(8.5)采用纯SPI

制作的膜(表1)。我们在几次实验中都发现玉米淀粉具有防止膜中SPI蛋白的消化率和赖氨酸有效性降低的能力,但对其确切机制尚不清楚。不过,玉米淀粉的添加既可维持膜蛋白较高的消化率和赖氨酸生物有效性,又可改善膜的机械性能,则给我们以提示,在制备可食性SPI蛋白膜时,完全可以找到合适的添加物,达到制备真正可食性包装膜的目的。

### 3 讨论

采用蛋白质制备可食性包装膜的研究,在国外已相当流行,目前用于制备可食性包装膜的蛋白质几乎涉及到所有的农业蛋白资源,如玉米、小麦面筋、大豆、花生、棉籽、牛奶、胶原、角蛋白、蛋清、肌原纤维等的蛋白质<sup>[3]</sup>。如前所述,为了增加蛋白膜的机械强度和降低其透水性,在制备蛋白膜时,人们在寻找各种交联剂和采用某些增加交联的方法。但在宣传这种膜时,又往往强调其可食性和营养特性。

蛋白膜制备工艺大都以水或乙醇的水溶液作溶剂,在加热和碱性条件进行的。加热温度一般为85~90℃,pH 8.5左右,有的甚至高达11.0~13.0<sup>[10,19-20]</sup>,这么剧烈的成膜条件对蛋白质的营养特性必定带来不利影响。遗憾的是目前还未见有关于蛋白质在成膜后营养特性变化的报道。而在这类膜投入生产之前,了解其营养特性和安全性显得十分必要。本文在这方面做了初步研究。结果表明,高pH和交联剂的处理都会影响膜蛋白的营养特性。由此看来,与其把这类膜称为可食性膜,还不如称为生物可降解膜更为合理。

### 参 考 文 献

- 1 Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. Critical reviews in Food Science. 1998, 38(4): 2999
- 2 Mathlothi, M (Ed). Food Packaging and Preservation. Blackie Academic and Professional. London, 1994. 159.
- 3 Cuq B, Gontard N, Guilbert S. Cereal Chem. 1998, 75(1): 1
- 4 Cuq B, Aymard C, Cuq JL et al. J. Food Sci. 1995, 60(6): 1369
- 5 Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. J Food Sci. 1993, 59(1): 206
- 6 Marquie C, Aymard C, Cuq JL et al. J. Agric Food Chem. 1995, 43(10): 2762
- 7 Takahashi K, Nakata Y, Someya K et al. Biosci. Biotechnol. Biochem. 1999, 63(10): 2144
- 8 郭乾初, 欧仕益. 阿魏酸在大豆蛋白膜中的应用. 食品工业科技, 2002 (1):
- 9 Morel MH, Bonicel J, Micard V et al. J. Agric Food Chem. 2000, 48(1): 186
- 10 Park SK, Rhee CO, Bae DH et al. J Agric Food Chem. 2001, 49(8): 2308
- 11 Banerjee R, Chen H, Wu J. J Food Sci. 1996, 61(3): 824
- 12 Sabato S F, Ouattara B, Yu H et al. J Agric Food Chem. 2001, 49(5): 1397
- 13 Kwok KC, Shiu YW, Yeung CH et al. J Sci Food Agric. 1998, 77(2): 473
- 14 El Khalil EAJ, Tinay AHE, Mohamed BE et al. Food Chem. 2001, 72(1): 29
- 15 Jangchud A, Chinnan MS. J Food Sci. 1999, 64(1): 153
- 16 Fennema OR (ed). Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc. 1996. 405~408.
- 17 O'Connell JE, Fox PF. Int Dairy J. 1999, 9(2): 523
- 18 Rangavajhyala N, Ghorpade V, Hanna M. J Agric Food Chem. 1997, 45(11): 4204
- 19 Gennagios A, Brandenburg AH, Weller CL et al. J Agric Food Chem. 1993, 41(11): 1835
- 20 Rhim JW, Gennadios A, Handa A et al. J Agric Food Chem. 2000, 48(10): 4937

## 欢迎订购合订本

中国食品杂志社出版的《中国食品》、《食品科学》、《食品文摘》2001年合订本,尚有部分库存。广大读者如欲订购请速汇款,合订本定价每套120元。另加邮寄包装挂号费20%。汇款地址:北京市东城区东四礼士胡同161号,邮编:100010,中国食品杂志社读者服务部收,联系人:李向芳、张建国。联系电话:010-65122457,65122464。款到即刻发货。电子汇款订户请务必写明收件人姓名,地址,邮编并在汇款单附言栏内写明购买的刊名。