

大豆分离蛋白膜最佳成膜条件研究

罗丽娟, 熊捷

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘要: 本论文采用湿法工艺制备可食性大豆分离蛋白膜(SPI膜), 通过 $L_9(3^4)$ 正交实验, 考察了SPI浓度, 甘油浓度, pH和温度四个因素对SPI膜性能的影响。结果显示, 在SPI浓度为5.0% (m/m), 甘油浓度为2.0% (m/m), pH为10, 温度为90℃时得到的膜综合性能最佳。

关键词: 大豆分离蛋白; 膜; 成膜条件

中图分类号: TQ932; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)12-0033-05

Optimization of the Film-forming Conditions of SPI Film

LUO Li-juan, XIONG Jian

(College of Light Industry and Food Science, South China Univ. of Tech., Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this paper, soy protein isolate edible films were prepared via a wet process. By $L_9(3^4)$ orthogonal experiments, the effects of the concentrations of SPI and glycerol, pH and temperature on the properties of SPI films were studied. Results showed that the optimal SPI concentration, glycerol concentration, pH value and temperature were 5.0% (w/w), 2.0% (w/w), 10 and 90℃, respectively.

Key words: soy protein isolate; film; film-forming condition

大豆分离蛋白(SPI)是一种经碱溶酸沉法提取的高营养物质, 蛋白质含量达92%以上。由于SPI优良的成膜性能、阻氧和阻油特性和较高的营养价值^[1], 在可食性薄膜的开发备受关注。已有学者尝试通过各种物理、化学、酶法和共混方法来改善蛋白膜的性能^[2-9]。

本文采用湿法制膜工艺, 以山东万得福科技公司生产的SPI为原料, 通过对SPI膜性能影响较大的因素: SPI浓度, 甘油浓度, pH值和温度进行 $L_9(3^4)$ 正交实验, 在膜性能中选择抗拉强度(TS)、断裂伸长率(EB)、透光率(Tp)和水蒸气透过系数(WVP)为评价指标来考察以上四因素对膜性能的影响, 筛选出最佳SPI膜制备工艺条件。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与仪器

SPI(蛋白质含量90.51%): 山东万得福科技公司; 甘油、氢氧化钠、无水氯化钙, 以上均为分析纯。

质构分析仪(TA-XT2i, 英国S.M.S公司); 分光

收稿日期: 2007-09-03

基金项目: 国家自然科学基金(20436020)和(50573025)和广东省“十五”攻关农产品加工重大专项(A20301)

作者简介: 罗丽娟(1981-), 女, 在读硕士

通讯作者: 熊捷, 博士, 副教授

光度仪(22PC, 上海棱光科技); 精密电子天平(JA2003上海精科); 循环水式真空泵(SHZ-D, 巩义英峪予华); 电热恒温水浴锅(HHS型, 上海博讯实业); 磁力搅拌器(广州市富城仪器厂); 精密酸度计(pHs-2C型; 上海雷磁); 螺旋测微器(江西工具厂)。

有机玻璃盒, 聚苯乙烯, 自制20.0 cm×20.0 cm×1.0 cm。

1.2 实验方法

1.2.1 膜的制备

将一定浓度的SPI和甘油溶于蒸馏水中, 磁力搅拌20 min, 使用1 mol/L的NaOH调节到一定pH后于一定温度水浴中加热30 min。SPI浓度(m/m)、甘油浓度(m/m)、pH值和温度的三个不同水平见表1。

表1 正交实验因素水平表

水平	因素			
	SPI浓度/%	甘油浓度/%	pH	温度/℃
①	4.0	1.5	8	70
②	5.0	2.0	9	80
③	6.0	2.5	10	90

成膜溶液冷却至室温后, 经100目滤布过滤并在真空度为0.1 MPa下脱气10 min。取45.0 mL成膜溶液倒膜于水平放置的20.0 cm×20.0 cm×1.0 cm有机玻璃盒中, 在温度为50℃的恒温红外烘箱中干燥18~20 h后揭膜。将膜裁切成所需要的样品形状, 立即放入

内装饱和 $Mg(NO_3)_2$ 溶液, 相对湿度为 50% 的干燥器中平衡 48 h 备用^[10]。

1.2.2 膜的性能测试

膜厚测定、拉伸强度测定 (TS)、断裂伸长 (EB)、透光率测定 (TP)、水蒸气透过系数 (WVP), 见文献^[10]。

1.2.3 数据分析

采用 SPSS 10.0 软件进行方差分析和均值显著性差异分析 (采用邓肯氏新复极差法测验显著性水平 p 为 0.05 时的均值显著性差异)。

2 结果与讨论

2.1 以 TS 为评价指标的正交实验分析

表 2 以 TS 为评价指标的正交实验表及数据分析

实验号	A	B	C	D	TS/MPa
1	①	①	①	①	-
2	①	②	②	②	1.12±0.12 a
3	①	③	③	③	1.02±0.13 a
4	②	①	②	③	3.41±0.60 d
5	②	②	③	①	2.77±0.16 c
6	②	③	①	②	1.26±0.16 a
7	③	①	③	②	4.63±0.29 e
8	③	②	①	③	3.63±0.43 d
9	③	③	②	①	2.27±0.19 b
K_1	1.07	4.02	2.45	2.52	极差分析
K_2	2.48	2.51	2.27	2.34	$R_B > R_A > R_C > R_D$
K_3	3.51	1.52	2.81	2.69	最佳水平组合为:
R	2.44	2.50	0.54	0.35	$A_3B_1C_3D_3$

* 1 号样品无法完整揭膜

* 不同字母 a、b、c、d、e 表示不同样品 TS 均值具有显著性差异 ($p \leq 0.05$)。

从表 2 得出: 在所选择的四个因素中, 对 SPI 膜 TS 影响的显著程度为: 甘油浓度 > SPI 浓度 > pH > 温度, SPI 膜 TS 最好的工艺参数是: SPI 浓度 6.0%、甘油浓度 1.5%、pH 10、温度 90 °C。

SPI 溶液浓度低于 4.0% 时, 不易成膜; 浓度高于 6.0% 时, 蛋白质溶液中有未溶解颗粒, 影响均匀的膜网络结构的形成; 实验中发现 SPI 浓度高于 7.0% 时, 温度超过 65 °C 时, 易形成凝胶。

SPI 膜内部网络结构的趋于完整和增强, 宏观上表现为膜的 TS 增大。这要求 SPI 溶液中的单个分子链得到充分的伸展, 在浓度升高时分子链之间才能有利于形成网络结构。

2.2 以 EB 为评价指标的正交实验分析

EB 值大小表明了膜的延展性能。以 EB 为评价指标的正交实验结果及分析见表 3。由表 3 知, 四个因素中对 SPI 膜 EB 影响的显著程度为: 温度 > 甘油浓度 > pH > SPI 浓度, 得到最佳 EB 的条件是: SPI 浓度 5.0%、甘油含量 2.0%、pH 8、温度 70 °C。

经过热处理后, 蛋白分子结构由紧密变得松散, 原先的球状分子结构变为线性分子结构, 更多线性的蛋白分子链重新排列, 分子定向程度提高, 断裂伸长率增加, 因此温度对 EB 的影响最大。

增塑剂的含量对 SPI 膜的 EB 值也有很大影响。随着增塑剂含量的增加, EB 值显著提高。这主要是增塑剂的加入减少了蛋白分子之间的相互作用, 软化了膜的刚性结构, 使膜内部的网络结构变得疏松, 增加了链的流动性, 使 EB 值增加。

表 3 以 EB 为评价指标的正交实验表及数据分析

实验号	A	B	C	D	EB %
1	①	①	①	①	—
2	①	②	②	②	13.09±1.56 a
3	①	③	③	③	123.04±2.64 c
4	②	①	②	③	11.22±1.33 a
5	②	②	③	①	177.55±15.05 d
6	②	③	①	②	93.21±8.65 b
7	③	①	③	②	10.96±1.97 a
8	③	②	①	③	133.32±30.47 c
9	③	③	②	①	124.05±2.16 c
K_1	68.07	11.09	113.27	150.80	极差分析
K_2	93.99	107.99	49.45	39.09	$R_D > R_B > R_C > R_A$
K_3	89.44	113.43	103.85	89.19	最佳水平组合为:
R	25.92	102.34	63.82	111.71	$A_2B_3C_1D_1$

* 1 号样品无法完整揭膜

* 不同字母 a、b、c、d 表示不同样品 EB 均值具有显著性差异 ($p \leq 0.05$)。

2.3 以 TP 为评价指标的正交实验分析

以 TP 为评价指标的正交实验结果及分析见表 4。四个因素中对 SPI 膜透光率影响的显著程度为: 温度 > pH > SPI 浓度 > 甘油浓度, SPI 膜透光率最大的条件是: SPI 含量 6.0%、甘油含量 1.0%、pH 10、温度 70 °C。

温度和 pH 值对 SPI 的溶解起到重要作用, 因此它们对 SPI 膜的透光率有显著影响。适当的热处理可以使蛋白质分子的结构改变, 分子内部的巯基和疏水性基团等暴露在分子外面, 有利于加强分子内或分子间的相互作用。温度升高, 蛋白分子的活动能力增加, 蛋白分子间的相互摩擦力增大, 从而破坏了蛋白质分子的某些次级键, 提高了溶解性。但热处理温度过高,

蛋白质分子由于过度变性产生聚沉, 反而不利于网络结构的形成。

表 4 以透光率为评价指数的正交实验表及数据分析

实验号	A	B	C	D	透光率/%
1	①	①	①	①	-
2	①	②	②	②	78.0±2.6 a
3	①	③	③	③	89.1±2.0 b
4	②	①	②	③	89.2±0.5 b
5	②	②	③	①	92.6±2.2 c
6	②	③	①	②	79.6±2.5 a
7	③	①	③	②	87.3±1.2 b
8	③	②	①	③	89.0±1.6 b
9	③	③	②	①	89.9±0.7 b
K ₁	83.55	88.25	84.30	91.25	极差分析
K ₂	87.13	86.53	85.70	81.63	R _D > R _C > R _A > R _B
K ₃	88.73	86.20	89.67	89.10	最佳水平组合为:
R	5.18	2.05	5.37	9.62	A ₃ B ₁ C ₃ D ₁

* 1 号样品无法完整揭膜

* 不同字母 a、b、c 表示不同样品透光率均值具有显著性差异 ($p \leq 0.05$)。

pH 值对 SPI 的溶解和膜的形成具有重要作用。大豆蛋白中的氨基酸残基含有带正电荷的-NH₂⁺和带负电荷的-COOH⁻, 在不同的 pH 条件下会显示出不同极性的表面电荷, 而蛋白质的表面电荷对其溶解性影响很大。碱性条件下, 随着 pH 的升高 SPI 溶解性逐渐增大, 外观上表现为膜的透光率增加。研究发现, SPI 溶液的 pH 值在 1~3 和 6~12 之间能成膜, 在等电点附近由于蛋白质沉淀而无法成膜。碱性条件下膜的性能优于酸性条件下膜的性能。在 pH 值为 11 和 12 的条件下, 膜的机械强度会降低, 可能是负离子之间较强的静电排斥作用阻碍了蛋白质间的交联, 但是膜的 EB 由于分子间相互作用减弱, 链的流动性增强而增大。

2.4 以 WVP 为评价指标的正交实验分析

膜的 WVP 值越小, 阻湿性能越好。阻湿性能决定了包装材料能否达到预期的包装效果。表 5 显示了以 WVP 为评价指标的正交实验结果及分析。

由表 5 可知, 对 SPI 膜 WVP 影响的显著程度为: SPI 浓度 > 温度 > pH > 甘油浓度, SPI 膜有最佳阻湿性能的条件是: A₁B₁C₃D₃, 即 SPI 含量 4.0%、甘油含量 1.0%、pH 10、温度 90 °C。

蛋白质浓度对 SPI 膜的 WVP 值影响最大。成膜材料本身的性质决定了膜的阻水性能。蛋白质本身为亲水性大分子, 含有较多羟基等亲水性基团, 水分较容易与 SPI 分子结合。提高蛋白质浓度, SPI 膜中的

亲水基团含量增加, 水分吸附及在膜内部结构中迁移的速率加快, WVP 值升高。作为增塑剂的甘油也含有较多羟基基团, 较强的吸水性也促进了水蒸气在 SPI 膜中的迁移。SPI 和甘油的浓度提高, 虽然制得的膜厚度略有增加, 可以提高膜的阻隔能力, 但是本身的亲水性还是影响 WVP 值的关键因素。

表 5 以 WVP 为评价指标的正交实验表及数据分析

实验号	A	B	C	D	WVP (g·mm/d·m ² ·kPa)
1	①	①	①	①	-
2	①	②	②	②	13.00±1.25 a
3	①	③	③	③	11.80±0.72 a
4	②	①	②	③	12.35±0.66 a
5	②	②	③	①	16.01±0.96 b
6	②	③	①	②	18.86±0.02 b
7	③	①	③	②	16.92±0.20 b
8	③	②	①	③	19.63±1.20 c
9	③	③	②	①	22.50±3.0 c
K ₁	12.40	14.63	19.25	19.26	极差分析
K ₂	15.74	16.22	15.95	16.26	R _A > R _D > R _C > R _B
K ₃	19.68	17.72	14.91	14.60	最佳水平组合为:
R	7.24	3.08	4.34	4.66	A ₁ B ₁ C ₃ D ₃

* 1 号样品无法完整揭膜

* 不同字母 a、b、c 表示不同样品 WVP 均值具有显著性差异 ($p \leq 0.05$)。

2.5 膜性能综合评价

采用加权法对 SPI 膜的综合性能进行评价, 满分为 100 分。各项性能分值为: TS, 30 分; EB, 30 分; 透光率, 10 分; WVP, 30 分。评分标准如下:

2.5.1 TS (30 分)

- (1)、TS ≥ 5 MPa, 分值 30 分
- (2)、4 MPa ≤ TS < 5 MPa, 24 分 ≤ 分值 < 30 分
- (3)、3 MPa ≤ TS < 4 MPa, 18 分 ≤ 分值 < 24 分
- (4)、2 MPa ≤ TS < 3 MPa, 12 分 ≤ 分值 < 18 分
- (5)、1 MPa ≤ TS < 2 MPa, 6 分 ≤ 分值 < 12 分
- (6)、0 MPa ≤ TS < 1 MPa, 0 分 ≤ 分值 < 6 分

2.5.2 EB (30 分)

- (1)、EB ≥ 150%, 分值 30 分
- (2)、120% ≤ EB < 150%, 24 分 ≤ 分值 < 30 分
- (3)、90% ≤ EB < 120%, 18 分 ≤ 分值 < 24 分
- (4)、60% ≤ EB < 90%, 12 分 ≤ 分值 < 18 分
- (5)、30% ≤ EB < 60%, 6 分 ≤ 分值 < 12 分
- (6)、0% ≤ EB < 30%, 0 分 ≤ 分值 < 6 分

2.5.3 TP (10 分)

- (1)、TP≥90%，分值 10 分
- (2)、85%≤TP<90%，8 分≤分值<10 分
- (3)、80%≤TP<85%，6 分≤分值<8 分
- (4)、75%≤TP<80%，4 分≤分值<6 分
- (5)、70%≤TP<75%，2 分≤分值<4 分
- (6)、65%≤TP<70%，0 分≤分值<2 分

2.5.4 WVP (30 分)

- (1)、WVP≤12 g·mm/d·m²·kPa，分值 30 分
- (2)、 12 g·mm/d·m²·kPa < WVP≤14 g·mm/d·m²·kPa，25 分≤分值<30 分
- (3)、 14 g·mm/d·m²·kPa < WVP≤16 g·mm/d·m²·kPa，20 分≤分值<25 分
- (4)、 16 g·mm/d·m²·kPa < WVP≤18 g·mm/d·m²·kPa，15 分≤分值<20 分
- (5)、 18g·mm/d·m²·kPa < WVP≤20 g·mm/d·m²·kPa，10 分≤分值<15 分
- (6)、 20 g·mm/d·m²·kPa < WVP≤22 g·mm/d·m²·kPa，5 分≤分值<10 分
- (7)、 22 g·mm/d·m²·kPa < WVP≤24 g·mm/d·m²·kPa，0 分≤分值<5 分

表 6 SPI 膜综合性能评价及正交试验分析

实验号	A	B	C	D	综合评分
1	①	①	①	①	0
2	①	②	②	②	42.04
3	①	③	③	③	70.37
4	②	①	②	③	61.52
5	②	②	③	①	76.62
6	②	③	①	②	44.89
7	③	①	③	②	56.59
8	③	②	①	③	68.96
9	③	③	②	①	52.14
K ₁	56.21	59.06	56.93	64.38	极差分析
K ₂	61.01	62.54	51.90	47.84	R _D >R _C >R _B >R _A
K ₃	59.23	55.80	67.86	66.95	最佳水平组为:
R	4.80	6.74	15.96	19.11	A ₂ B ₂ C ₃ D ₃

表 6 显示了通过加权法对膜的综合性能评分及正交实验分析结果。由表可知，最佳的处理条件为 A₂B₂C₃D₃，即 SPI 浓度为 5.0% (m/m)，甘油浓度为 2.0% (m/m)，pH 值为 10，水浴温度为 90 °C。

在此条件下重复实验三次，测得 SPI 膜的透光率平均值为 87.8%，TS 平均值为 3.19 MPa，EB 平均值为 165.49%，WVP 平均值为 17.512 g·mm/m²·kPa.d。加权法对膜的综合性能评分为 74.48，证明该制膜工艺参数合理可行。

3 结论

在本实验条件下，得到以下结论：

(1) 对 SPI 膜 TS 影响的显著程度大小为：甘油浓度 > SPI 浓度 > pH > 温度。在 SPI 浓度为 6.0% (m/m)，甘油浓度为 1.5% (m/m)，pH 值为 10，温度为 90 °C 时得到的膜 TS 最大。

(2) 对 SPI 膜 EB 影响的显著程度大小为：温度 > 甘油浓度 > pH > SPI 浓度。在 SPI 浓度为 5.0% (m/m)，甘油浓度为 2.0% (m/m)，pH 值为 8，温度为 70 °C 时得到的膜 EB 最好。

(3) 对 SPI 膜 TP 影响的显著程度大小为：温度 > pH > SPI 浓度 > 甘油浓度，SPI 膜透光率最大的条件是：SPI 浓度 6.0% (m/m)，甘油浓度 1.0% (m/m)，pH 10，温度 70 °C。

(4) 对 SPI 膜 WVP 影响的显著程度大小为：SPI 浓度 > 温度 > pH > 甘油浓度，SPI 膜有最佳阻湿性能的条件是：SPI 浓度 4.0% (m/m)、甘油浓度 1.0% (m/m)、pH 10、温度 90 °C。

(5) 综合分析，在 SPI 浓度为 5.0% (m/m)，甘油浓度为 2.0% (m/m)，pH 值为 10，温度为 90 °C 时得到的膜综合性能最佳。在最佳工艺条件下测得 SPI 膜的透光率为 87.8%，TS 为 3.19 MPa，EB 为 165.49%，WVP 为 17.51 g·mm/d·m²·kPa。

参考文献

- [1] S.N.Swain,S.M.Biswal,P.K.Nanda,and Padma L Nayak. Bio degradable Soy-Based Plastics: Opportunities and Challenge s[J]. Journal of Polymers and the Environment,2004,12:35-41
- [2] Ki Myong Kim, Curtis L.Weller, Milford A.Hanna and Ar istippos Gennadios. Heat Curing of Soy Protein Films at Selected Temperatures and Pressures[J].Leben sm.-Wiss.u.- Technol,2002,35:140-145
- [3] Myongsuk Lee,Sehee Lee, Kyung Bin Song.Effect of γ-irradiation on the physicochemical properties of soy protein isolate films[J]. Radiation Physics and Chemist ry,2005,72: 35-40
- [4] Tang C. H. ,Jiang Y. , Wen Q.B.,et al. Effect of transglutamin ase treatmentt of the properties of cast films of soy protein isolates [J]. Journal of Biotechnology,2005,120:296-307
- [5] Fernandez L. , Marta C. M .Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-ba- sed films[J]. Eur Food Res Technol.2006:196-204

(下转第 39 页)