

文章编号:1673-1689(2009)02-0219-05

工艺条件对酶法改性大豆蛋白膜性能的影响 II

姜燕¹, 唐传核², 温其标²

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广东 广州 510006; 2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

摘要:研究了底物蛋白的浓度、增塑剂的浓度、蛋白溶液预热处理的温度和时间及变性剂(2-巯基乙醇)处理等工艺参数对谷氨酰胺转移酶(TGase)改性大豆分离蛋白(SPI)膜性能的影响。SPI膜制好后裁切成所需要的样品形状,放在相对湿度为50%的环境中平衡48 h,测定抗拉强度(TS)、断裂伸长率(EB)、水分含量(MC)、总可溶性物质(TSM)、表面疏水性(S_0)及透光率等各项指标。随着底物蛋白质量浓度(3~9 g/dL)的增加,TGase改性SPI膜的TS值和EB值明显增加,而接触角和透光率明显下降。随着甘油含量增加,TGase改性SPI膜的TS值和接触角明显降低,透光率略有降低,而EB值和MC值明显增加。随着蛋白溶液预热处理温度(70~90 ℃)和时间(0.5~1.0 h)的增加,SPI膜的TS值明显增加,接触角和透光率稍有增加,TSM值略有下降。变性剂2-巯基乙醇(2-ME)的加入,使TGase改性SPI膜的TS值、接触角明显增加,MC值明显下降,TSM值和透光率变化不大。

关键词: 谷氨酰胺转移酶; 蛋白膜; 改性

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

Effect of Processing Parameters on the Properties of Transglutaminase-Treated Soy Protein Isolate Films II

JIANG Yan¹, TANG Chuan-he², WEN Qi-biao²

(1. College of Light and Chemical Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Effects of processing parameters such as substrate protein concentration, plasticizer concentration, preheating temperature and time of film-forming solution, and 2-mercaptan ethanol (2-ME) on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films (SPI) were studied in this manuscript. Tensile strength (TS), elongation at break (EB), moisture content (MC), total soluble matter (TSM), surface hydrophobicity (S_0) as well as transparency of TGase-treated films and control films were evaluated after conditioning film specimens at 25 ℃ and 50% relative humidity (RH) for 48 h. The TS values and EB values increased with substrate protein concentration increasing, while contact angles and transparency decreased. The TS values and contact angles significantly decreased, transparency slightly decreased with glycerol concentration increasing, while EB values and TS values increased. The TS values significantly increased, contact angles and transparency slightly increased, the TSM values slightly decreased

收稿日期: 2007-09-21

作者简介: 姜燕(1973-), 女, 四川南充人, 工学博士, 讲师, 主要从事食品科学方面的研究。Email: cljy@163.com

with preheating temperature of film-forming solution increasing from 70 °C to 90 °C and preheating time increasing from 0.5 h to 1 h. The addition of 2-mercaptan ethanol (2-ME) significantly increased the TS and contact angle values and decrease the MC values, while had no effect on the TSM values and transparency.

Key words: transglutaminase (TGase), protein film, modification

蛋白质膜在可食膜的开发上吸引了国内外科研工作越来越多的关注。然而,与合成高分子膜相比蛋白质膜的机械强度低、透水性高是限制其工业化生产和实际商业应用的原因。

谷氨酰胺转移酶(TGase)可以催化蛋白质之间产生共价交联反应,形成相对高分子质量的聚合物^[1]。该酶已被证实可以有选择性地改进许多蛋白质的某些特性,如 α_{s1} -酪蛋白、乳清蛋白、大豆分离蛋白或11S球蛋白、卵白蛋白、去酰胺面筋蛋白等。在蛋白质膜改性方面的研究表明 TGase 的交联增加了蛋白质膜的抗拉强度和应变,降低了膜中蛋白的溶解度,显示了它在改善蛋白质膜性能上的潜力。然而,在这项酶改性技术商业化地应用于膜工业之前,仍然有许多的问题需要解决,例如有关工艺参数的探讨。作者在另一篇文章中已经研究酶浓度、成膜溶液的 pH 值、干燥温度等工艺参数对 TGase 改性大豆分离蛋白(SPI)膜性能的影响^[2]。作者在此就主要研究底物蛋白的浓度、增塑剂的浓度、蛋白溶液预处理温度和时间及变性剂(2-巯基乙醇)处理等工艺参数对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

谷氨酰胺转移酶(TG-B):泰兴市一鸣精细化工有限公司生产;CBZ-l-glutaminyglycine 和 L-Gluamic acid r-monohydroxamate;Sigma 公司产品;大豆分离蛋白(蛋白质量分数 85.2%);山东万得福科技公司产品;甘油为分析级。

1.2 实验方法

1.2.1 TGase 酶活性的测定 见参考文献[3]。

1.2.2 膜的制备 将蛋白质和甘油溶于 0.05 mol/L Tris - HCl(pH 值 8.0)缓冲溶液中,于 70 °C 水浴加热 30 min。待成膜溶液冷却至室温后,加入 TGase(4 U/g SPI),搅拌均匀。脱气后迅速薄摊在内衬有聚乙烯薄膜的玻璃器皿(37 cm × 21 cm)中,然后放在室温(25 °C)下干燥 24 h,揭膜。以不加 TGase 的膜作为对照。

不同条件下制备蛋白质膜具体操作如下:

1) 不同底物蛋白浓度:将不同质量的蛋白质和甘油溶于 0.05 mol/L Tris - HCl (pH 值 8.0)缓冲溶液中,配置成 SPI 质量分数分别是 3%、5%、6%、7%、8% 和 9% 的蛋白溶液。注模前加入 TGase(4 U/g SPI)。其它操作如上段所述。

2) 不同增塑剂浓度:将蛋白质(质量分数 5%)和不同量的甘油(分别是 0、0.2、0.4、0.6 和 0.8% SPI,或者是 0%、20%、30%、40% 和 60%(按蛋白质总量计))溶于 0.05 mol/L Tris - HCl (pH 值 8.0)缓冲溶液中,配置成膜溶液。其它操作如上段所述。

3) 不同预热改性的温度和时间:将蛋白质(质量分数 5%)和甘油(质量分数 2%)溶于 0.05 mol/L Tris - HCl (pH 值 8.0)缓冲溶液中,分别于 70、80 和 90 °C 水浴加热 30 或 60 min。其它操作如上段所述。

4) 变性剂(2-巯基乙醇)改性:将蛋白质和甘油溶于 0.05 mol/L Tris - HCl (pH 值 8.0)缓冲溶液中,然后加入 0.02 mol/L 的 2-巯基乙醇,其它操作如上段所述。以不加 TGase 的膜作为对照。

膜制好后裁切成所需要的样品形状,立即放在相对湿度为 50% 的环境中平衡 48 h 备用。

1.2.3 膜性能指标测定 厚度、机械性能(抗拉强度 TS、和断裂伸长率 EB)、表面疏水性 S_0 、水分含量 MC、总可溶性物质量 TSM 及透光率的测定见参考文献^[3]。

1.2.4 数据分析 采用 Microcal Origin V. 6. 1 software 进行方差分析和显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 底物蛋白质量浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

表 1 显示了底物蛋白浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响。由表 1 可见,随着底物蛋白浓度(3-9 g/dL)的增加,SPI 膜的 TS 值和 EB 值明显增加,而接触角和透光率明显下降。以 SPI 质量分数为 3% 作为对照膜,当 SPI 质量分数由 3% 增至 9% 时,

TS 值和 EB 值分别增加了 24.6%~77.1% 和 134.0%~274.4%;接触角和透光率分别下降了 5.8%~28.5% 和 10.1%~45.1%。与其它因素对膜的影响不同的是,底物蛋白浓度的增加,同时增加了 SPI 膜的抗拉强度和断裂伸长率。这可能是因为在酶/蛋白比值(4 U/g)不变(即交联度不变)的前提下,底物浓度的增加明显增加了膜的厚度,从而增加了膜的机械性能。接触角下降的原因也可能是因为膜厚度增加使空间位阻增大,使一些原来已暴露的疏水基团又重新掩蔽起来的缘故。底物浓度的增加对膜的水分含量和 TSM 值影响不大。

2.2 增塑剂对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

增塑剂的使用在制备蛋白质可食膜时是必须的。它可以通过减少聚合物相邻链间的分子内相互作用而降低膜的脆性及易碎性,增加膜基质间的空隙,赋予膜一定的柔韧性^[4-5]。增塑剂的组成、大小和形状会影响它打断蛋白质多肽链间的氢键的

能力以及蛋白质体系吸附水分的能力。从而影响到蛋白质膜的各项性能。

表 2 显示了增塑剂的含量对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响。由表 2 可见,随着甘油含量的增加(0%~80%,以蛋白质量为基准),SPI 膜的各项性能发生了显著的改变;SPI 膜的 TS 值和接触角明显降低,透光率略有降低,而 EB 值和 MC 值明显增加。与未加甘油的对照膜相比,甘油的加入使 TS 值和接触角分别降低了 6.8%~31.6% 和 11.8%~30.4%;EB 值和 MC 值分别增加了 31.5%~156.8% 和 35.8~93.9%。这是因为甘油可以打断蛋白质多肽链间的氢键的能力从而影响蛋白质体系吸附水分的能力,甘油含量越高,蛋白质膜吸附水分的能力越强,平衡水分含量也越高。水分的增加使蛋白膜的网络由紧密变为比较松散,因而增加了柔韧性而降低了抗拉强度和透光率。水分的增加同时使疏水基团通过疏水相互作用力而重新隐藏到分子内部,因而表面疏水性也随之降低。

表 1 底物蛋白质量浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

Tab. 1 Effect of the concentration of substrate protein on the properties of TGase-modified SPI films

SPI 质量分数/%	厚度/mm	抗拉强度/MPa	断裂伸长率/%	水分质量分数/%	可溶性物质总质量分数/%	透光率/%	接触角/°
3	0.067±0.003	3.01±0.24	53.2±8.4	20.5±0.4	28.2±0.7	76.2±2.7	55.6±3.7
5	0.088±0.002	3.75±0.30	124.5±11.8	21.3±0.2	31.3±0.4	71.8±0.9	50.0±5.7
6	0.100±0.002	4.11±0.15	148.8±8.8	21.1±1.9	31.3±0.9	68.5±3.0	43.5±6.6
7	0.122±0.002	4.54±0.13	161.8±9.0	21.2±0.1	30.9±0.2	64.6±1.0	41.0±4.8
8	0.135±0.003	4.93±0.28	172.9±10.8	21.5±1.2	29.6±1.1	63.6±3.0	34.1±4.8
9	0.140±0.002	5.33±0.21	199.2±16.1	21.4±0.6	28.7±0.9	54.5±1.7	30.5±5.2

注:每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

表 2 甘油的含量对 TGase 改性 SPI 对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

Tab. 2 Effect of glycerol content on the properties of MTGase-modified SPI films

SPI 质量分数/%	厚度/mm	抗拉强度/MPa	断裂伸长率/%	水分质量分数/%	可溶性物质总质量分数/%	透光率/%	接触角/°
0	0.086±0.004	4.40±0.21	58.5±8.8	14.8±0.5	31.6±1.8	75.3±3.3	60.1±3.1
20	0.087±0.003	4.10±0.19	76.9±9.4	20.1±1.2	31.3±0.6	74.9±3.4	53.0±3.8
40	0.088±0.002	3.75±0.30	124.5±11.8	21.3±0.2	31.3±0.4	71.8±0.9	50.0±5.7
60	0.090±0.002	3.30±0.16	139.9±7.7	23.9±1.1	30.9±1.3	72.5±4.4	43.5±4.1
80	0.093±0.003	3.01±0.17	150.2±5.6	28.7±0.9	30.7±1.9	68.3±3.2	41.8±5.2

注:每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

2.3 蛋白溶液预热改性温度和时间对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

表 3 显示了蛋白溶液预热处理温度和时间对

TGase 改性 SPI 膜性能的影响。由表 3 可见,随着预热处理温度(70~90 °C)和时间(0.5~1.0 h)的增加,SPI 膜的 TS 值明显增加,接触角和透光率稍

有增加, TSM 值略有下降。以蛋白溶液在 70 ℃ 预热处理 30 min 制备的 SPI 膜作为对照膜, 随着温度由 70 ℃ 增加到 90 ℃, 时间由 0.5 h 增加到 1.0 h, SPI 膜的 TS 值增加了 6.4%~31.2%; 接触角和透光率分别增加了 1.0%~15.0% 和 1.2%~7.2%; 90 ℃ 预热处理 1 h 可以使 TSM 值下降 8.3%。注模法制备蛋白膜与制备蛋白凝胶一样(因为蛋白膜是由蛋白凝胶脱水干燥而来), 通常需要先加热蛋白质溶液, 使溶胶状态的蛋白质首先通过变性转变成“预凝胶”状态。这一步导致蛋白质的展开和必需数量的功能基团的暴露, 主要是氢键基团和疏水性基团。当温度降低时, 热动能的降低有助于各种分子上暴露的功能基团之间形成稳定的非共价键, 对于 TGase 改性膜还包括谷氨酰胺-赖氨酸共价键的形成。预热改性温度和时间的增加使这一步变性更加充分, 暴露出更多的功能基团, 增加了构建膜的网络结构所需要的键连接, 因而膜的机械性能

得到明显改善, 表面疏水性也有所提高, 同时膜也变得更加透明(热变性使膜的溶解性提高)。

2.4 变性剂(2-巯基乙醇)改性 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

表 4 显示了变性剂 2-巯基乙醇(2-ME)改性对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响。由表 4 可见, 2-ME 的加入, 使 TGase 改性 SPI 膜的 TS 值、接触角明显增加, MC 值明显下降, TSM 值和透光率变化不大。以未加 2-ME 的 TGase 改性膜作为对照膜, 2-ME 的加入使 SPI 膜的 TS 值和接触角分别增加了 12.3% 和 11.6%; MC 值下降 8.3%。2-巯基乙醇是一种强变性剂, 能够打开蛋白中存在的二硫键, 如同提高预热改性温度和时间一样, 使蛋白变性更加充分, 暴露出更多的功能基团, 增加了构建膜的网络结构所需要的键连接, 因而膜的机械性能得到明显改善, 表面疏水性也有所提高, 同时随着疏水基团暴露的增多水分含量也有所下降。

表 3 蛋白溶液预热改性的温度和时间对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

Tab. 3 Effect of the temperature and time of preheating treatment on the properties of TGase-modified SPI films

温度/ ℃	时间/ h	厚度/mm	抗拉 强度/MPa	断裂 伸长率/%	水分 质量分数/%	可溶性物质 总质量分数/%	透光率/%	接触角/°
70	0.5	0.088±0.002	3.75±0.30	124.5±11.8	21.3±0.2	31.3±0.4	71.8±0.9	50.0±5.7
	1.0	0.091±0.004	3.99±0.27	115.2±9.9	21.7±0.6	31.2±0.7	72.5±0.5	50.6±3.4
80	0.5	0.088±0.002	4.01±0.15	126.7±9.3	20.6±1.1	30.2±0.4	79.3±2.3	52.1±4.7
	1.0	0.089±0.003	4.43±0.23	116.0±12.1	22.5±0.3	30.9±0.2	79.7±0.8	53.0±4.8
90	0.5	0.091±0.001	4.70±0.19	128.1±17.4	21.0±0.4	29.1±0.5	82.4±2.1	53.5±4.3
	1.0	0.090±0.002	4.92±0.25	117.7±13.2	21.8±2.0	28.7±0.7	82.6±3.2	53.6±4.6

注: 每一个数值都是多次重复(3-10)的平均值加上标准偏差。

表 4 变性剂(2-巯基乙醇)改性对 TGase 改性 SPI 膜性能的影响

Tab. 4 Effect of 2-mercaptan ethanol treatment (2-ME) on the properties of TGase-modified SPI films

酶	厚度/mm	抗拉 强度/MPa	断裂 伸长率/%	水分 质量分数/%	可溶性物质 总质量分数/%	透光率/%	接触角/°
一酶	0.082±0.004	3.12±0.25	167.1±22.8	23.5±0.4	39.7±1.8	81.7±1.8	30.4±4.6
酶(对照)	0.088±0.002	3.75±0.30	124.5±11.8	21.3±0.2	31.3±0.4	71.8±0.9	50.0±5.7
酶+2-ME	0.089±0.001	4.21±0.19	120.2±10.5	19.4±0.5	30.3±0.8	70.6±1.8	55.8±5.5

注: 每一个数值都是多次重复(3~10)的平均值加上标准偏差。

3 结 语

1) 底物蛋白浓度对 TGase 改性 SPI 膜性能有显著影响。随着底物蛋白浓度(3~9 g/dL)的增加, SPI 膜的 TS 值和 EB 值明显增加, 而接触角和

透光率明显下降。

2) 增塑剂含量对 TGase 改性 SPI 膜性能有很大影响。随着甘油含量增加, TGase 改性 SPI 膜的 TS 值和接触角明显降低, 透光率略有降低, 而 EB 值和 MC 值明显增加。

3) 蛋白溶液预热处理温度和时间对 TGase 改

性SPI膜性能有显著影响。随着预热处理温度(70~90℃)和时间(0.5~1.0h)的增加,SPI膜的TS值明显增加,接触角和透光率稍有增加,TSM值略有下降。

4) 变性剂 2-巯基乙醇(2-ME)处理对 TGase 改性 SPI 膜性能有显著影响。2-ME 的加入,使 TGase 改性 SPI 膜的 TS 值、接触角明显增加,MC 值明显下降,TSM 值和透光率变化不大。

参考文献(References):

- [1] Cuq B, Aymard C, Cuq J L. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins; Formulation and functional properties[J]. *J Food Sci*, 1995, 60: 1369-1374.
- [2] 姜燕,唐传核,温其标,等. 工艺条件对酶法改性大豆蛋白膜性能的影响 I [J]. *食品与生物技术学报*, 2009,28(1):63-67.
JIANG Yan, TANG Chuan-he, WEN Qi-bao, et al. Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films I [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009,28(1):63-67. (in Chinese)
- [3] 姜燕,唐传核,温其标,等. 谷氨酰胺转移酶对大豆分离蛋白成膜性能的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(4): 24-28.
JIANG Yan, TANG Chuan-he, WEN Qi-bao, et al. Effects of transglutaminase on properties of soy protein isolates cast films[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(4): 24-28. (in Chinese)
- [4] Motoki M, Aso H, Seguro K. and Nio, N. α_1 -casein film prepared using transglutaminase[J]. *Agric Biol Chem*, 1987, 51: 993-996.
- [5] Larré C, Desserme C, Barbot J, et al. Properties of deamidated gluten films enzymatically cross-linked[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 5444-5449.

(责任编辑:杨萌)

您的包装能否确保产品的质量安全?

肉眼看得见的问题 您来解决
肉眼看不到的问题 Labthink来解决



Labthink

点丁睛, 点世界!

历经生产、运输、仓储、上架销售等各个环节, 如果包装存在任何质量隐患, 都可能导致产品出现霉变、潮解、破损、保质期缩短等严重问题。Labthink兰光——包装检测国际知名品牌, 为您提供全方位包装质量与安全解决方案。

济南兰光机电技术有限公司
咨询热线: 0531-8963155
E-mail: labthink@labthink.cn
WWW.LABTHINK.CN