

# 高压脉冲电场对大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化效果

李迎秋<sup>1,2</sup>, 陈正行 (1. 江南大学食品学院, 江苏无锡214036; 2. 山东轻工业学院, 山东济南250100)

**摘要** 研究了高压脉冲电场对大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化效果。结果表明:随着脉冲强度和脉冲处理时间的延长,大豆胰蛋白酶抑制剂活性下降,但效果不太显著。当脉冲电场和加热联合使用时,可以明显地钝化大豆胰蛋白酶抑制剂的活性,尤其是先脉冲处理后加热钝化效果更为显著。

**关键词** 高压脉冲电场;大豆胰蛋白酶抑制剂;加热;钝化

中图分类号 Q946.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)15-3800-02

## Effect of High Intensity Pulsed Electric Field on Inactivation of Soybean Trypsin Inhibitor

LI Ying-qiu et al (School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214036)

**Abstract** Effect of high intensity pulsed electric field (PEF) on inactivation of soybean trypsin inhibitors (STI) was studied in this paper. The result showed that the activity of soybean trypsin inhibitors was decreased with the increment of the pulsed electric field intensity and the prolongation of treatment time with a less obvious effect. When the combination of pulsed electric field and heating treatment, soybean trypsin inhibitors were obviously inactivated, especially for pulsed electric field treatment before heating treatment.

**Key words** High intensity pulsed electric field; Soybean trypsin inhibitors; Heating; Inactivation

大豆是我国重要的油料作物,它富含脂肪和蛋白质。其中大豆蛋白的氨基酸配比合理,生物价及蛋白净利用率接近动物蛋白,是公认理想的食用蛋白资源并且广泛应用于食品工业。但大豆中含有一些抗营养因子如大豆胰蛋白酶抑制剂、植物凝聚素、植酸等。其中大豆胰蛋白酶抑制剂是一种重要的抗营养因子,其抗营养作用主要表现在抑制胰蛋白酶的活性,从而限制了人体对大豆蛋白的吸收利用以及造成胰腺增生和肿大,进而影响人体的生长发育。大豆胰蛋白酶抑制剂具有高度耐热的特性,短时间的加热不能使其完全钝化失活,长时间加热虽然能使其大部分失活,但常常导致其中必需氨基酸尤其是赖氨酸的损失和物化性质的改变,从而影响大豆制品的营养价值<sup>[1,2]</sup>。高压脉冲电场是一种非热食品加工和保藏方法。它是以高电压(0~50 kV)、短脉冲(0~2000 μs)和温和的温度条件处理液态或半固态食品。高压脉冲电场能杀死致病、致腐微生物和钝化酶类,有利于食品的保藏。与传统的热杀菌相比,由于脉冲处理时间短,热能损失和由于热引起的食品成分的变化较小,因而能最大限度地保存食品原有的风味、口感和营养价值<sup>[3-5]</sup>。笔者以豆奶为原料,与传统的加热方法相结合,初步探讨了高压脉冲电场对大豆胰蛋白酶抑制剂钝化的效果,为高压脉冲电场技术在大豆制品加工中的应用提供理论参考。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料和试剂** Tris-CaCl<sub>2</sub> 缓冲溶液:称取三羟甲基氨基甲烷 Tris (hydroxymethyl) methylamine 6.05 g 和 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 2.94 g 溶解于去离子水中。用1 mol/L HCl 调pH 值到8.2,然后定容到1 L。

**BNPNA 溶液的配制:**称取苯甲酰-DL-精氨酸-p-硝基酰替苯胺盐酸盐 Benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride, Sigma 公司生产) 40 ng 充分溶解于1 ml 二甲基亚砷(dimethyl sulphoxide),然后用上述预热到37℃的 Tris-CaCl<sub>2</sub> 缓冲溶液定容到100 ml,此试剂被使用时应保持在37℃,并且要当天

配制使用。

**标准胰蛋白酶溶液:**称取胰蛋白酶(Trypsin, Sigma 公司生产) 40 ng 溶解于1 mmol/L 的盐酸溶液中,并定容到2 L。此胰蛋白酶溶液在4℃可保存2周;在分析时2 ml 溶液(40 μg)在除去试剂空白后的吸光度应该是0.410±0.01。

**豆奶的制备:**大豆(山东农科院提供)按1:15比例加水,在室温25℃浸泡24 h,然后打浆,用200目的尼龙筛过滤2次弃去滤渣,即得鲜豆奶,固形物含量为5%。

**1.2 主要仪器设备** pH-2 精密酸度计(上海雷磁仪器厂); 90-4 恒温磁力搅拌器(上海沪西分析仪器厂); 722 光栅分光光度计(无锡科达智能仪器厂); 高压脉冲电场设备: CSU-4L PEF System(美国俄亥俄州大学生产),电压范围0~15 kV; 脉冲宽度1~8 μs; 连续处理室,流速范围48~120 ml/min; 脉冲周期0.001~0.009 s; 双极脉冲; 波型为方波。

## 1.3 方 法

**1.3.1 高压脉冲参数设计和样品处理。**当脉冲宽度为2 μs,流速为90 ml/min,脉冲频率f=400 Hz 时,不同的场强:0.20、25.30、35、40 kV/cm。当脉冲宽度为2 μs,脉冲强度E=35 kV/cm,脉冲频率f=400 Hz 时不同的脉冲处理时间:0、172.5、345、517.5、690、862.5、1036 μs。将鲜豆奶在设定的脉冲参数下进行脉冲处理。

**1.3.2 大豆胰蛋白酶抑制剂活性的测定方法<sup>[6]</sup>。**5 ml 豆奶加入45 ml 0.01 mol 的NaOH 溶液中,用磁力搅拌器提取1 h,然后再将提取液稀释8倍。将下列溶液加入各管中:a管(溶剂空白)蒸馏水1 ml;b管(标准液)胰蛋白酶液1 ml,水1 ml;c管(样品空白)稀释样品1 ml;d管(样品)稀释样品1 ml,胰蛋白酶液1 ml(c、d一般有多支管)混匀后置37℃预热10 min,然后在每一试管中加入预先保温37℃的BNPNA 溶液2.5 ml,混匀后置37℃准确保温反应10 min 后,各管立即加入0.5 ml 30%的醋酸溶液中止反应。a管和c管各补加胰蛋白酶液1 ml。离心后取各管上清液分别于波长410 nm 测定其吸光度。样品设3个重复,结果取其平均值。

样品抑制百分数 =  $[(A_b - A_a) - (A_d - A_c)] / (A_b - A_a) \times 100\%$

样品大豆胰蛋白酶抑制剂活性百分数 =  $[(A_b - A_a) -$

基金项目 国家自然科学基金资助项目(20436020)。

作者简介 李迎秋(1972-),女,山东菏泽人,博士,讲师,从事粮食、油脂和植物蛋白工程研究。

收稿日期 2006-05-16

$$\frac{(A_d - A_c)]_{\text{处理样品}}}{(A_b - A_a) - (A_d - A_c)]_{\text{对照}} \times 100\%$$

$A_a$ 、 $A_b$ 、 $A_c$ 、 $A_d$  为各试管在410 nm 波长吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 高压脉冲电场对大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化效果

大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化程度往往作为大豆食品安全性的评价指标。图1、2 是豆奶经脉冲处理后SII 的残留活性。从图中可以看出,随着脉冲处理时间的延长和脉冲强度的增大,残存的大豆胰蛋白酶抑制剂的活性有所降低,但降低幅度不大。在其他脉冲条件恒定不变,脉冲处理时间为567  $\mu\text{s}$  或脉冲强度为42 kV/cm 时,高压脉冲电场对大豆胰蛋白酶抑制剂钝化了15% 或12.5%。由此可知单独的脉冲电场处理并不能彻底钝化大豆胰蛋白酶抑制剂活性。因此该实验把脉冲电场和加热联合处理比较其钝化效果。

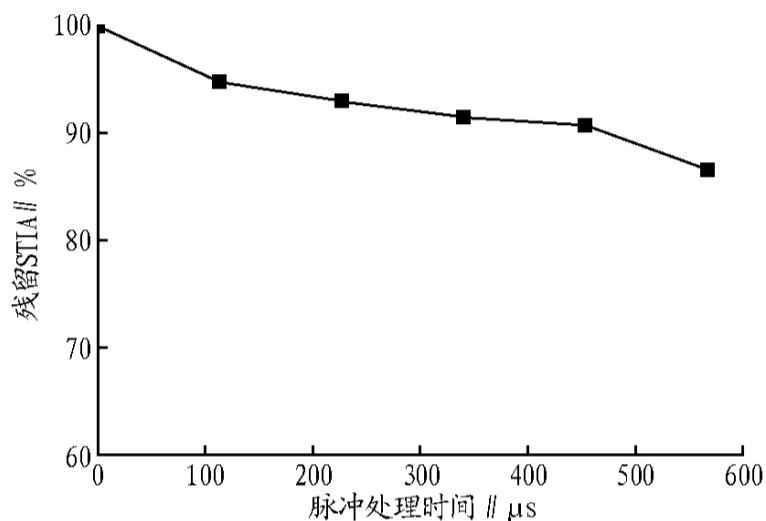


图1 脉冲处理时间对SII 的钝化

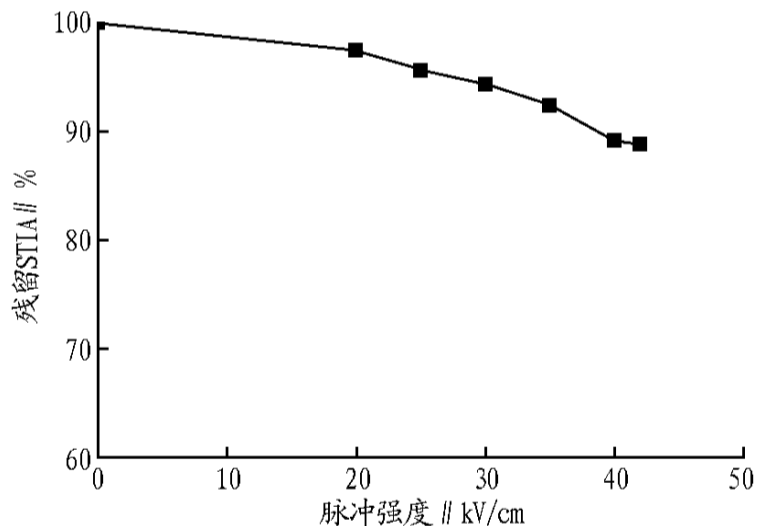


图2 脉冲强度对SII 的钝化

### 2.2 先加热后脉冲电场处理对大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化效果

图3、4 反映的是豆奶95  $^{\circ}\text{C}$  加热10 min 后再经高压脉冲电场处理的大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化程度。从图中可以看出,随着脉冲处理时间的延长或脉冲强度的增大,大

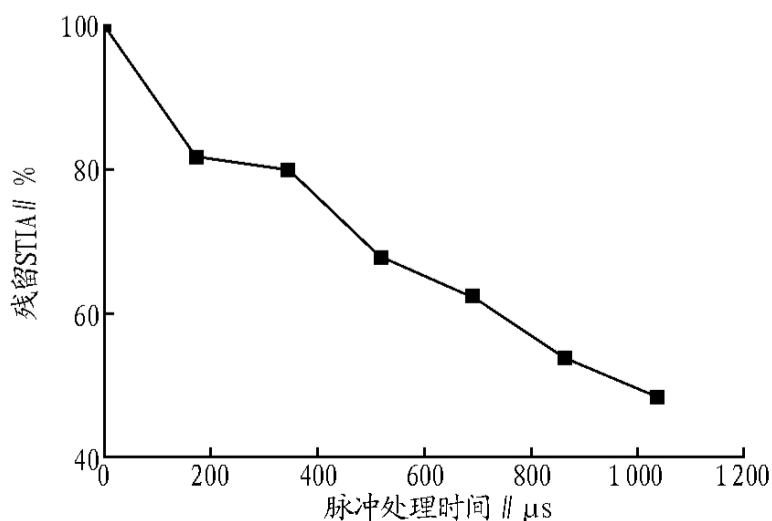


图3 加热后脉冲处理时间对SII 的钝化

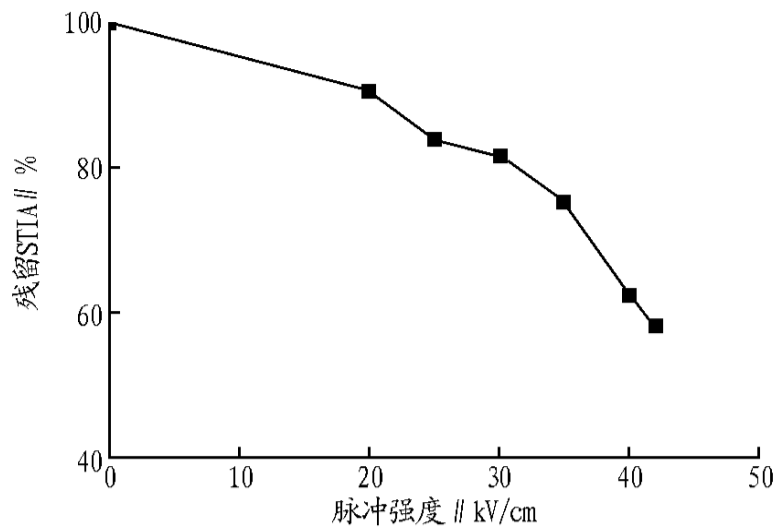


图4 加热后脉冲强度对SII 的钝化

豆胰蛋白酶抑制剂的钝化程度明显增加,残存的大豆胰蛋白酶抑制剂活性显著降低。当其他条件恒定,脉冲处理时间为1 036  $\mu\text{s}$  时,大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化了52%;而当脉冲强度为42 kV/cm 时,大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化了42%。因此可知脉冲处理时间对大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化程度大于脉冲强度。

### 2.3 先脉冲电场处理后加热对大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化效果

图5、6 是先脉冲处理再经95  $^{\circ}\text{C}$  加热10 min 测定的残留的大豆胰蛋白酶抑制剂活性结果。结果表明,随着脉冲处理时间的延长和脉冲强度的增大,大豆胰蛋白酶抑制剂的钝化程度明显增加,当脉冲处理时间延长到1 036  $\mu\text{s}$  时,大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化了74%;而当脉冲强度为42 kV/cm 时,大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化了57%。这进一步说明脉冲处理时间对大豆胰蛋白酶抑制剂活性钝化程度大于脉冲强度。从图3、4、5、6 可以看出,先脉冲处理后加热的钝化效果大于先加热后脉冲处理的钝化效果,原因是脉冲处理使大

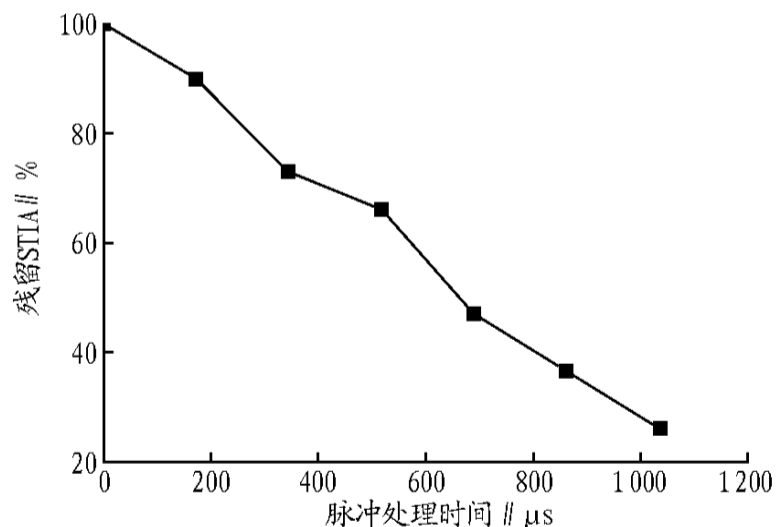


图5 脉冲处理时间对SII 的钝化(后加热)

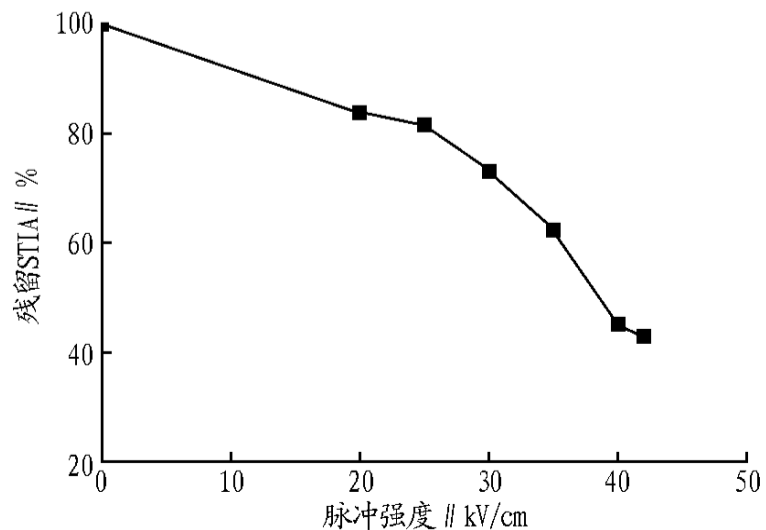


图6 脉冲强度对SII 的钝化(后加热)

(上接第3801页)

豆胰蛋白酶抑制剂分子发生了极化,极化的分子更易于加热失活。

### 3 结论

脉冲电场可以钝化大豆胰蛋白酶抑制剂的活性,但钝化效果不太明显。当脉冲电场和加热联合使用时,可以大幅度地钝化大豆胰蛋白酶抑制剂的活性,而适度的加热既消除豆腥味又可以最大限度地保存豆奶的营养价值。这在生产实践中是切实可行的。

### 参考文献

[1] FRIEDMAN M, BRANDON DL. Nutritional and health benefits of soy proteins

[J]. *J Agric Food Chemistry*, 2001, 49(3): 1069-1086.

[2] VOLLMAN J, GRAUSGRUBER H, WAGENRISIL H, et al. Trypsin inhibitor activity of soybean as affected by genotype and fertilization [J]. *J Sci Food & Agric*, 2003, 83(15): 1581-1586.

[3] QIN B, ZHANG Q, BARBOSA CANOVAS G V, et al. Pulsed electric fields treatment chamber design for liquid food pasteurization using a finite element method [J]. *Transactions of the ASAE*, 1995, 38(2): 557-565.

[4] WOUTERS P C, ALVAREZ J, RASOJ. Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing [J]. *Trends in Food Sci & Technol*, 2001, 12: 112-121.

[5] JEYAMKONDANS, JAYAS DS, HOLLEY R A. Pulsed electric field processing of foods: a review [J]. *J of Food Protection*, 1999, 62: 1088-1096.

[6] CLIFFORDS, WMV M. The Determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs [J]. *J Sci Food & Agric*, 1980, 31: 341-350.