

## 不同 pH 及时间对大豆乳清蛋白溶液色值的影响

时玉强, 马 军, 崔玉涛

(临邑禹王植物蛋白有限公司, 山东 临邑 251500)

**摘要:**以大豆异黄酮和酪蛋白酸钠为参照, 采用 Lab 模型考察不同 pH 及时间下大豆乳清蛋白溶液色值的变化, 分析影响大豆乳清蛋白溶液颜色的因素。结果发现: 随 pH 的升高, 大豆乳清蛋白溶液的亮度下降, 红色和黄色值增加; 中性和碱性条件下, 随着时间的延长, 大豆乳清蛋白溶液的亮度下降, 红色值增加, 而黄色值在中性条件下不变, 在碱性条件下增加。通过对大豆异黄酮溶液和酪蛋白酸钠溶液的色值比较发现, 大豆异黄酮及其在碱性环境下的显色反应是造成大豆乳清蛋白溶液呈现黄色的关键因素, 而羰氨反应是大豆乳清蛋白溶液变红的重要影响因素。因此, 在生产过程中 pH 控制在 7.5 以内, 生产周期尽量缩短, 有利于大豆乳清蛋白溶液黄色和红色的控制。

**关键词:**大豆乳清蛋白; 大豆异黄酮; 显色反应; 羰氨反应

中图分类号: TS214; TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2020)09-0050-04

## Effect of different pH and time on color value of soybean whey protein solution

SHI Yuqiang, MA Jun, CUI Yutao

(Linyi Yuwang Plant Protein Industry Co., Ltd., Linyi 251500, Shandong, China)

**Abstract:** Using soybean isoflavones and sodium caseinate as reference, the Lab model was used to investigate the color change of soybean whey protein solution at different pH and time and to analyze the factors affecting the color of soybean whey protein solution. The results showed that with the increase of pH, the brightness of soybean whey protein solution decreased, and the red and yellow values increased; under neutral and alkaline conditions, with the prolonging of time, the brightness of soybean whey protein solution decreased, and the red value increased, while the yellow value unchanged under neutral condition and increased under alkaline condition. Compared with the color values of soybean isoflavones solution and sodium caseinate solution, it was found that soybean isoflavones and its color reaction under alkaline environment were the key factors that caused the yellowness of soybean whey protein solution, and the Merard reaction was an important factor affecting soybean whey protein solution redness. Therefore, in the production process, the pH could be controlled within 7.5, and the production cycle should be shortened as much as possible to control the yellow and red color of the soybean whey protein solution.

**Key words:** soybean whey protein; soybean isoflavones; color reaction; Merard reaction

大豆乳清蛋白是水提大豆分离蛋白过程中, 将提取液调至 pH 4.5 ~ 4.8 时的酸溶蛋白, 氨基酸组成均衡, 含有多种具有医疗保健作用的活性物质, 如

露那辛、大豆异黄酮、大豆脂肪氧化酶等<sup>[1-3]</sup>, 可广泛应用于食品、保健品及特医食品中。但是大豆乳清蛋白溶于水后呈现为黄红色, 严重影响了大豆乳清蛋白的应用领域和使用量。虽然目前有对大豆乳清蛋白的研究<sup>[4]</sup>, 但未见对大豆乳清蛋白颜色研究与控制的相关报道。

黄酮类物质一般为无色到黄色, 是植物广泛含有的具有苯并呋喃酮的色素物质<sup>[5]</sup>, 在稀碱液环境中, 黄酮类物质发生显色反应显示黄色<sup>[6]</sup>。而还原

收稿日期: 2020-01-09; 修回日期: 2020-06-06

基金项目: 山东省 2018 年重点研发计划(SF1503302301)

作者简介: 时玉强 (1982), 男, 高级工程师, 硕士, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程 (E-mail) shiyuqiang@yuwangcn.com。

糖和蛋白在一定条件下能够发生羰氨反应,且 pH 的升高会促进羰氨反应的发生<sup>[7]</sup>,除此之外蛋白变旋和水解作用也能产生有色物质<sup>[8]</sup>。大豆乳清蛋白中含有大豆异黄酮,大豆蛋白和包括蔗糖、葡萄糖在内的还原糖<sup>[9]</sup>,存在羰氨反应、大豆异黄酮的显色反应、蛋白变旋及水解等反应的基础。

为弄清大豆乳清蛋白溶于水后产生黄色的机理及原因,本文以大豆异黄酮和与大豆乳清蛋白蛋白组成及碱性条件下的变旋程度近似<sup>[8]</sup>、且不会发生大豆异黄酮显色反应的酪蛋白酸钠(CS)为参照,采用 Lab 模型通过对比不同 pH 及时间对大豆异黄酮溶液、酪蛋白酸钠溶液和大豆乳清蛋白溶液的色值影响,分析影响大豆乳清蛋白颜色的原因,以期控制大豆乳清蛋白加工过程中的颜色变化提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

大豆乳清蛋白(CP 含量 80.0%),山东禹王生态食业有限公司;液体氢氧化钠(30%),滨化化工有限公司;酪蛋白酸钠(99.9%),河北科隆多生物科技有限公司;大豆异黄酮(99.0%),郑州百思特食品添加剂有限公司。

2-16KL 离心机,德国 Sigma 公司;LPG-5 喷雾干燥机,江苏先锋干燥工程有限公司;机器视觉色彩分析系统、Panasonic WV-CP470 摄像头,松下电器(中国)有限公司;Grablink Full XR 图像采集卡,Euresys 有限公司;Matlab 软件。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 不同 pH 对大豆乳清蛋白(WSP)、酪蛋白酸钠(CS)和大豆异黄酮(SI)溶液色值的影响

称取 $(5.00 \pm 0.01)$  g 大豆乳清蛋白、 $(5.00 \pm 0.01)$  g 酪蛋白酸钠和 $(0.20 \pm 0.01)$  g 大豆异黄酮,分别溶解于 $(100.0 \pm 0.1)$  mL 蒸馏水中。使用 10% 的氢氧化钠溶液分别调整 pH 为 6.5、7.5、8.5、9.5、10.5 和 11.5,采用机器视觉色彩分析系统检测色差  $L$ 、 $a$ 、 $b$  值(背景色  $L=63$ ,  $a=0$ ,  $b=1$ )。

#### 1.2.2 不同 pH 下放置时间对大豆乳清蛋白溶液色值的影响

按照 1.2.1 将大豆乳清蛋白、大豆异黄酮、酪蛋白酸钠溶液的 pH 分别调整为 7.0 和 11.5,在 40 °C 水浴中分别放置 1、2、3、4 h,检测色差。检测时背景色  $L=63$ ,  $a=0$ ,  $b=1$ 。通过检测不同 pH 下的 3 种溶液在不同放置时间的色差  $L$ 、 $a$ 、 $b$  值变化,考察时间对不同 pH 下的大豆乳清蛋白颜色变化的影响。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同 pH 对大豆乳清蛋白、大豆异黄酮和酪蛋白酸钠溶液色值的影响

$L$  值表征的是溶液的亮度,由黑到白; $L$  值越大,白色值越大,溶液亮度越大。 $a$  值表征的是溶液的红-绿色差转变; $a$  值越大,溶液红色越深。 $b$  值表征的是溶液的黄-蓝色差转变; $b$  值越大,溶液黄色越深。不同 pH 下大豆乳清蛋白、酪蛋白酸钠和大豆异黄酮溶液的  $L$ 、 $a$ 、 $b$  值变化如图 1 ~ 图 3 所示。

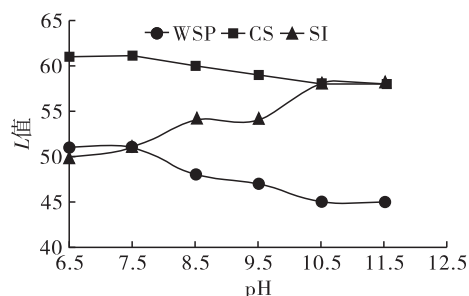


图 1 不同 pH 下 WSP、CS 和 SI 溶液的  $L$  值变化

由图 1 可以看出, pH 小于 7.5 时,大豆乳清蛋白溶液  $L$  值较高,亮度较高, pH 大于 7.5 时,随着 pH 的增加  $L$  值迅速降低, pH 由 7.5 增加到 8.5 时,  $L$  值降低程度最大,由 51 降到 47,并且在 pH 11.5 时降到 45。从视觉感官上看,大豆乳清蛋白溶液不透明,随 pH 的增加颜色明显变黄,分析认为大豆乳清蛋白溶液的变黄吸收了较多的光,导致亮度下降。随着 pH 的增加,酪蛋白酸钠溶液的  $L$  值呈下降趋势,但是下降趋势不明显,视觉感官上看,酪蛋白酸钠溶液为透明状,随 pH 的增加颜色有轻微的变化,但无明显的颜色特征,在 pH 超过 10.5 时,可见颜色变黄,  $L$  值由 61 降到 59。随着 pH 的增加,大豆异黄酮溶液的  $L$  值呈增加趋势, pH 在 7.5 ~ 8.5 和 9.5 ~ 10.5 时随 pH 的增加,亮度增加明显,从视觉感官上看,在 pH 9.5 以下时溶液呈白色不透明状,随着 pH 升高透明度增强。

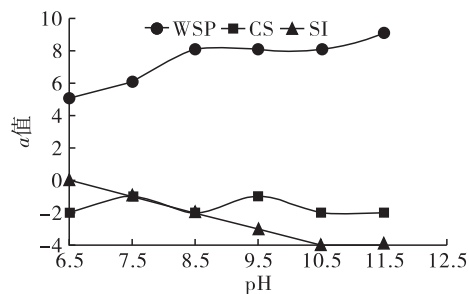


图 2 不同 pH 下 WSP、CS 和 SI 溶液的  $a$  值变化

由图 2 可以看出:随着 pH 的增大,酪蛋白酸钠溶液的  $a$  值几乎无变化,数值差异在系统误差范围

内;大豆异黄酮溶液的  $a$  值呈下降趋势,颜色向绿色发展, pH 超过 10.5 时基本稳定;大豆乳清蛋白溶液  $a$  值呈上升趋势,红色值提高,在 pH 7.5~8.5 时,  $a$  值增加较大,由 6 增加到 8。从以上变化可看出,大豆异黄酮和酪蛋白酸钠对  $a$  值的增加无贡献。笔者认为大豆乳清蛋白溶液红色加深是由其中的还原糖与蛋白发生羰氨反应造成的。

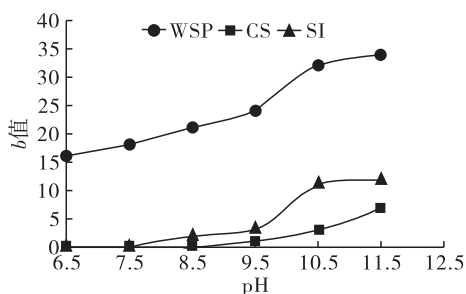


图3 不同 pH 下 WSP、CS 和 SI 溶液的  $b$  值变化

由图3可以看出:随 pH 的增加,大豆异黄酮溶液  $b$  值增加,其中 pH 在 7.5~8.5 和 9.5~10.5 时随 pH 增加大豆异黄酮溶液  $b$  值增加明显,与其亮度变化( $L$  值)趋势一致;酪蛋白酸钠溶液的  $b$  值随 pH 增加变化较小,在 pH 超过 9.5 后有较小的上升趋势,应与蛋白变旋和水解产生小分子肽有关;随着 pH 的增加,大豆乳清蛋白溶液的  $b$  值升高,在 pH 超过 10.5 时趋于稳定。从视觉感官上看,大豆乳清蛋白溶液不透明,随 pH 的增加颜色变黄。

随着 pH 的增加,大豆乳清蛋白和异黄酮溶液的黄色值( $b$  值)增加,且黄色值升高的趋势相同,相关系数( $R^2$ )为 0.97,相关性较高;大豆乳清蛋白和酪蛋白酸钠溶液的黄色变化相关系数( $R^2$ )为 0.8,有一定的相关性。说明大豆乳清蛋白溶液黄色值随 pH 升高而增加,是 pH 对大豆异黄酮和酪蛋白酸钠同时作用的结果,且大豆异黄酮的影响更大。

综合大豆乳清蛋白溶液  $a$ 、 $b$  值随 pH 的变化,得出大豆乳清蛋白中大豆异黄酮异构化以及羰氨反应的控制为颜色控制的重点, pH 宜控制在 7.5 以内。

## 2.2 不同 pH 下大豆乳清蛋白、大豆异黄酮和酪蛋白酸钠溶液色值随时间的变化

大豆乳清蛋白含有丰富的还原糖和蛋白质,生产环境为 40℃,易发生羰氨反应,同时在碱性环境下大豆异黄酮存在显色反应产生颜色的变化等。图4~图6为中性和碱性条件下,大豆异黄酮、酪蛋白酸钠和酪蛋白酸钠溶液水浴 4 h 内的色泽  $L$ 、 $a$ 、 $b$  值变化。

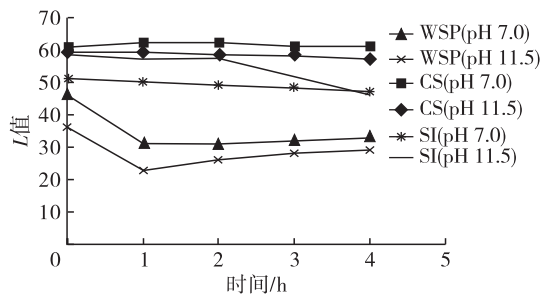


图4 中性和碱性条件下,SI、CS 和 WSP 溶液  $L$  值随时间的变化

由图4可以看出,酪蛋白酸钠溶液在中性和碱性条件下, $L$  值随时间变化均不明显,肉眼可见为透明液体,与背景色  $L$  值相差不大。大豆异黄酮溶液在中性条件下颜色一直较暗,底部出现白色沉淀,在水溶液中呈现悬浮状;碱性条件下,大豆异黄酮溶液为澄清透明状,2 h 前  $L$  值变化不大,2 h 后随时间延长  $L$  值降低,颜色加深。中性和碱性条件下,大豆乳清蛋白溶液水浴 1 h  $L$  值迅速下降,中性条件下  $L$  值由 46 降到 31,碱性条件下由 36 降到 23。分析原因,开始溶解时蛋白水合溶解度不高,蛋白呈悬浮液状态,随着时间的延长,水合充分向蛋白液溶胶方向转变,导致  $L$  值迅速下降。1~4 h 之间,大豆乳清蛋白溶液  $L$  值略有上升,中性条件下上升 2 个值,碱性条件下上升 6 个值。

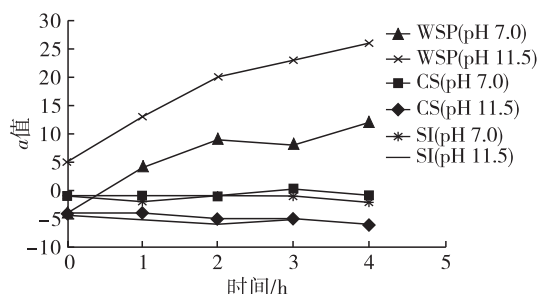


图5 中性和碱性条件下,SI、CS 和 WSP 溶液  $a$  值随时间的变化

由图5可以看出,中性和碱性条件下,随时间延长大豆异黄酮和酪蛋白酸钠溶液  $a$  值几乎不变。中性条件下,大豆乳清蛋白溶液  $a$  值在最初的 1 h 增加较快,增加了 8 个值,1~2 h 时增加了 4 个值,2~3 h 几乎无变化,比较平稳,3~4 h 增加速度有所增加。碱性条件下,随着时间的延长大豆乳清蛋白溶液  $a$  值呈现一直增加的态势,前期增加速度较快,后期变慢,且一直高于中性条件下 9 个值以上,且差异随时间延长呈增加趋势。分析认为,随着时间的延长大豆乳清蛋白溶液颜色变红的主要原因是羰氨反应,中性条件下初始羰氨反应较慢,起始红色值远低于碱性环境,碱性环境更利于羰氨反应的进行和长时间维持。

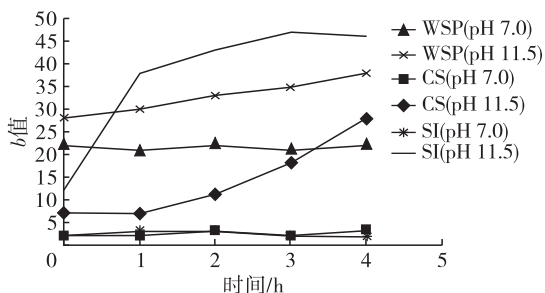


图6 中性和碱性条件下,SI、CS 和 WSP 溶液  $b$  值随时间的变化

由图6可以看出,随着时间的延长,中性条件下大豆异黄酮、酪蛋白酸钠溶液和大豆乳清蛋白溶液  $b$  值几乎不变化,说明中性条件下3种溶液的黄色变化较小。碱性条件下,随着时间的延长大豆异黄酮、酪蛋白酸钠溶液和大豆乳清蛋白溶液的  $b$  值都呈现增加的趋势,其中大豆异黄酮溶液在1 h内,  $b$  值升高最快,之后呈平稳状态,增加较小,大豆乳清蛋白溶液  $b$  值一直呈现出较稳定的增势,酪蛋白酸钠溶液  $b$  值前期增加较慢,后期增加较快。分析原因:主要是大豆异黄酮在碱性条件下发生显色反应转变较快,很快就达到了平稳期;蛋白更易在碱性条件下变旋和水解,因此酪蛋白酸钠溶液在碱性条件下颜色增加更快;而大豆乳清蛋白溶液的初始  $b$  值高,主要是其含有的大豆异黄酮在碱性条件下的显色反应造成的,之后大豆乳清蛋白溶液  $b$  值增加介于大豆异黄酮溶液和酪蛋白酸钠溶液之间,说明大豆乳清蛋白溶液的黄色变化受大豆异黄酮和蛋白双重作用的影响。

### 3 结论

实验证明大豆异黄酮及其在碱性环境下的显色反应是造成大豆乳清蛋白呈现黄色的关键因素,而

羰氨反应是乳清蛋白溶液变红的重要影响因素。因此,如何经济高效地处理大豆异黄酮,避免羰氨反应是控制大豆乳清蛋白颜色的关键。实验证明,通过低 pH 控制能够有效避免大豆异黄酮的显色反应,同时低 pH 能够降低羰氨反应速度,降低蛋白的变旋和水解概率,保证大豆乳清蛋白中的大豆异黄酮不发生构象转变,避免蛋白变旋和水解产生的颜色变化,有效控制大豆乳清蛋白溶液的黄色。缩短加工时间是控制颜色变红和变黄的重要控制点。除此之外,大豆异黄酮的脱除及保护和羰氨反应的抑制将是大豆乳清蛋白颜色控制的研究方向。

### 参考文献:

- [1] 张倩瑶,华欲飞. 大豆糖蜜提取物中异黄酮和皂苷的分离纯化[J]. 中国油脂,2013,38(9):68-70.
- [2] 孙晓燕,张志国. 大豆活性肽露那辛的研究进展[J]. 粮食与油脂,2015,28(12):4-7.
- [3] 姜闪,张志国. 大豆乳清废水提取脂肪氧合酶对面条加工特性的影响[J]. 食品科学,2019,40(14):48-53.
- [4] 任方林,杨玥熹,陈业明,等. 大豆乳清蛋白及其糖基化产物体外模拟胃肠消化特性研究[J]. 中国油脂,2016,41(9):18-23.
- [5] 刘国庆,朱翠萍. 大孔树脂对大豆乳清废水中异黄酮的吸附特性研究[J]. 离子交换与吸附,2003,19(3):229-234.
- [6] 杨俊杰,吕平. 天然药物化学[M]. 北京:化学工业出版社,2018:116-118.
- [7] 吴惠玲,王志强,韩春,等. 影响美拉德反应的几种因素研究[J]. 现代食品科技,2010,26(5):441-444.
- [8] 张英君,陈有亮,董雅芳. 碱处理引起蛋白质的变旋和赖丙复合物的生成[J]. 肉类工业,2001(2):30-35.
- [9] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [10] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [11] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [12] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [13] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [14] 李倩倩,王艳,罗旭,等. 大豆低聚糖及其降血脂作用研究进展[J]. 核农学报,2017(9):1788-1793.
- [15] 殷国英,刘思超,廖灵灵. 植物油中黄曲霉毒素  $B_1$  的污染状况调查分析[J]. 预防医学情报杂志,2017,33(6):593-596.
- [16] 周子焱,邢家深,应璐,等. 食用植物油中黄曲霉毒素  $B_1$  调查分析[J]. 中国油脂,2017,42(12):66-69.
- [17] 何建忠,郭秀蓉,吴胜. 459份花生油中黄曲霉毒素  $B_1$  检测结果分析[J]. 应用预防医学,2007,13(2):127.
- [18] 骆建祥,张式金. 1990—1992年惠安县花生油黄曲霉毒素  $B_1$  的监测[J]. 中国卫生监督杂志,1995,2(3):49-50.
- [19] 何景,杨丹. 北京市地区小包装食用油中真菌毒素污染状况调查[J]. 中国油脂,2019,44(6):79-82.
- [20] 宋博才. 部分市售花生油品质的检测[J]. 农产品加工,2016(4):35-36,39.
- [21] 陈涛. 福建省2016年市售花生油黄曲霉毒素污染监测[J]. 海峡预防医学杂志,2017,23(5):75-77.
- [22] 刘辉,张燕,熊波,等. 食用油中黄曲霉毒素  $B_1$  的污染调查[J]. 广东化工,2015,42(4):29-30.
- [23] 田洪芸,王爱竹,冯炜,等. 市售土榨花生油黄曲霉毒素监测结果及监管建议[J]. 安徽农业科学,2016,44(11):101-102.
- [24] 卢宇芳,陈杰,刘银品. 2015年广西部分城市餐饮环节食用植物油中黄曲霉毒素  $B_1$  检测结果分析[J]. 应用预防医学,2018,24(4):307-308.
- [25] 林强,方黎剑,陈伟,等. 个体榨油作坊花生油产品黄曲霉毒素  $B_1$  污染情况分析[J]. 华南预防医学,2004,30(5):38.
- [26] OLIVEIRA C A, ROSMANINHO J, ROSIM R. Aflatoxin  $M_1$  and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in Sao Paulo, Brazil [J]. Food Addit Contam, 2006, 23:196-201.

(上接第37页)