

基于 Plackett – Burman 试验设计筛选 大豆分离蛋白膜制备的主要工艺因素

王璐瑶¹, 何淑蹇¹, 冉锐敏¹, 何宾宾¹, 周敏¹, 陈赛艳¹, 王彩霞¹, 冀俊杰²

(1. 四川农业大学 食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 山东技师学院, 济南 250200)

摘要: 筛选出影响大豆分离蛋白膜综合性能的主要工艺因素, 为进一步优化分析提供实践基础与理论指导。采用主成分分析和 Plackett – Burman (PB) 试验对大豆分离蛋白膜的综合性能进行评价, 筛选出影响大豆分离蛋白膜综合性能的主要工艺因素。结果表明: 根据主成分分析和 PB 试验, 对大豆分离蛋白膜综合性能的影响从大到小依次是甘油添加量 > 温度 > pH > 搅拌速度 > 亚硫酸钠添加量, 其中甘油添加量 ($p = 0.0065$)、温度 ($p = 0.0339$) 和 pH ($p = 0.0402$) 为显著影响因素。运用主成分分析法和 PB 试验进行大豆分离蛋白膜制备工艺条件的筛选稳定可行, 是一种经济有效的方法。

关键词: 大豆分离蛋白膜; 主成分分析; Plackett – Burman 试验设计

中图分类号: TS206.4; TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2021)11-0073-05

Screening of main process factors impacting the comprehensive performance of soy protein isolate film using Plackett – Burman design

WANG Luyao¹, HE Shujian¹, RAN Ruimin¹, HE Binbin¹, ZHOU Min¹,
CHEN Saiyan¹, WANG Caixia¹, JI Junjie²

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;

2. Shandong Technician Institute, Jinan 250200, China)

Abstract: The basis of practice and the theoretical guidance to the further optimal analysis of key preparation process factors impacting the comprehensive performance of soy protein isolate (SPI) film was provided through the screening experiment. The principal component analysis and Plackett – Burman design was used to evaluate the comprehensive performance of SPI film, and screen the key factors impacting the comprehensive performance of SPI film. The results showed that according to the results of Plackett – Burman design and principal component analysis, the order from high to low of the effects of five factors on the comprehensive performance of SPI film was glycerol dosage, temperature, pH, stirring speed, sodium sulfite dosage, among which glycerol dosage ($p = 0.0065$), temperature ($p = 0.0339$) and pH ($p = 0.0402$) were significant factors. The key preparation process of SPI film optimized by principal component analysis and Plackett – Burman design was stable and feasible, which was proved to be an economical and effective method.

Key words: soy protein isolate film; principal component analysis; Plackett – Burman design

收稿日期: 2021-01-21; 修回日期: 2021-02-15

基金项目: 四川省科技计划项目(2020YFN0147); 四川省大学生创新训练计划项目

作者简介: 王璐瑶(2001), 女, 在读本科, 包装工程专业 (E-mail) 2488074001@qq.com。

通信作者: 陈赛艳, 讲师 (E-mail) ssdj1102@163.com。

大豆分离蛋白(SPI)具有优良的成膜性能, 常作为成膜基材用来制备食品包装材料。目前国内外关于影响SPI膜性能的工艺条件研究已有相关报道^[1], 但大多采用单因素试验, 这是因为SPI膜在应用中会针对某一性能有更高的要求 and 适用性。魏倩

等^[2]研究了淀粉添加比例、甘油添加比例、成膜液 pH 以及成膜温度对复合膜机械性能的影响。陈秀宇等^[3]通过单因素试验研究了大豆分离蛋白/纤维素/淀粉复合膜的最优成膜工艺条件。但当需要研究的影响因素较多时,单因素试验次数成指数型增加,且各因素间的交互作用往往导致不可靠的结论^[4]。同时,一些因素对复合膜性能影响并不显著,也不是影响复合膜后期应用效果的主要因素,单因素试验会大大浪费试验资源。

Plackett - Burman 试验(以下简称“PB 试验”)主要用于在众多因素中筛选出对研究对象有重要影响的因素,相比全因素试验具有经济有效的优势^[5],且因素间的交互作用仅部分与主因素发生混淆^[5]。PB 试验目前多用于对配方成分的筛选中,如筛选影响凤尾鱼油氧化稳定性的主要抗氧化剂组合^[6],筛选肉鸡生长的主要饮食影响因素^[7],而用于 SPI 膜制备及性能影响因素筛选的研究较少。主成分分析法被引入 SPI 膜各项性能指标的权重分析中,用于计算 SPI 膜的综合得分,采用降维的思想简化对 SPI 膜综合性能的评价,并可用于辅助 PB 试验设计进行性能影响因素的筛选。本研究采用主成分分析和 PB 试验对影响 SPI 膜性能的 5 个工艺因素进行筛选,分析各工艺因素对 SPI 膜性能的影响大小,将主成分分析法引入膜的综合性能评价中,弥补了 SPI 膜制备过程中各工艺因素影响大小和综合性能评价的研究缺口,具有一定的创新性,可为 SPI 膜制备及性能研究提供因素选择及试验设计方面的实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆分离蛋白(SPI,食品级,蛋白质含量 > 90%),哈尔滨高科技大豆食品有限公司;无水亚硫酸钠、甘油、氢氧化钠(片状)均为分析纯,成都市科隆化学品有限公司;蒸馏水,实验室自制。

FJ200 - SH 数显恒速高速分散均质机,上海垒固仪器有限公司;SC - 10 便携式色差仪,苏州欣美和仪器有限公司;HD - B609B - S 智能电子拉力试验机,海达国际仪器有限公司;WGW 光电雾度仪,上海仪电物理光学仪器有限公司;ZUS - 4 厚度测试仪,长春月明小型试验机有限责任公司;PHS - 25 酸度计,成都世纪方舟科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 SPI 膜的制备

称取一定量 SPI,与蒸馏水配制成 7% 的 SPI 溶液,加入甘油作增塑剂机械搅拌 20 min。混合均匀后置于水浴锅中加热到一定温度,保温 40 min,冷却

至室温,均质 5 min,在 0.09 MPa 真空环境中脱气 2 h,制得 SPI 乳液。

称取一定量无水亚硫酸钠,充分溶解于蒸馏水中,备用。在上述 SPI 乳液中加入一定量亚硫酸钠溶液^[9],机械搅拌 5 min,用 2 mol/L 的氢氧化钠调节溶液至一定 pH,制得成膜液。取 90 mL 成膜液流延至一定面积的有机玻璃板上,60℃恒温干燥 6~7 h,揭膜。将干燥后的膜放入温度(23±2)℃、相对湿度(55±1)%的恒温恒湿箱中平衡 24 h,备用。

1.2.2 PB 试验设计

根据前期预试验及文献[1,8]确定 SPI 膜的制备工艺条件。根据预试验结果,在甘油添加量 3%、亚硫酸钠添加量 0.10%、温度 75℃、pH 9、搅拌速度 9 000 r/min 条件下,SPI 膜的抗拉伸强度为 1.71 MPa,断裂伸长率为 112.91%,透光率为 87.90%,色差(ΔE)为 25.23,厚度为 101.33 μm ,含水率为 17.71%,吸水率为 61.63%,水溶解度为 30.07%,此时 SPI 膜的性能较好。以此工艺条件作为 PB 试验的设计基础。

利用 Design - Expert 8.0.6 软件设计 PB 试验,对甘油添加量、亚硫酸钠添加量、pH、温度、搅拌速度 5 个影响因素进行评价,筛选出影响 SPI 膜性能的显著因素。每个因素取高、低 2 个水平,共 12 组试验。试验因素水平见表 1,试验设计方案见表 2。

表 1 PB 试验因素水平

水平	甘油添加量/%	亚硫酸钠添加量/%	温度/℃	pH	搅拌速度/(r/min)
-1	2	0.05	70	8	8 500
1	4	0.15	80	10	9 500

表 2 PB 试验设计方案

试验号	甘油添加量	亚硫酸钠添加量	温度	pH	搅拌速度
1	-1	1	1	1	-1
2	-1	1	-1	-1	1
3	-1	-1	1	1	1
4	-1	-1	-1	-1	-1
5	1	1	-1	1	1
6	1	1	1	-1	-1
7	-1	-1	1	-1	1
8	1	-1	-1	1	1
9	1	-1	-1	-1	-1
10	-1	1	-1	1	-1
11	1	1	1	-1	1
12	1	-1	1	1	-1

1.2.3 SPI膜性能指标的测定

1.2.3.1 厚度

选取膜的对角和中心点,采用ZUS-4型厚度测试仪测定膜的厚度(t),测量5次后取平均值。

1.2.3.2 机械性能

按照GB/T 1040.3—2006的方法测试膜的抗拉伸强度(S_T)和断裂伸长率(B_E)。

1.2.3.3 色度

按照GB/T 7921—2008的方法用SC-10便携式色差仪进行颜色测试,记录 L^* 、 a^* 、 b^* 值,并计算色差(ΔE),其中 $L_0 = 97.41$, $a_0 = -0.07$, $b_0 = -0.02$ 。

1.2.3.4 透明度

膜的透明度用透光率(T)表示。按照GB/T 2410—2008的方法用WGW光电雾度仪测定膜的透光率。

1.2.3.5 含水率

根据Kurek等^[10]的方法测定膜的含水率(C_M)。将膜样裁成20 mm × 20 mm大小,称重(m_1),放入105℃烘箱中烘至恒重,取出后称重(m_2)。含水率用公式(1)计算。

$$C_M = \frac{m_1 - m_2}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.3.6 水溶解度

将膜样裁成20 mm × 20 mm大小,在105℃下烘至恒重,称重(m_1),将样品置于30 mL蒸馏水中,并置于恒温振荡机(100 r/min)中摇动24 h,去除蒸馏水,将未溶解的样品在105℃下烘干至恒重(m_2)。水溶解度(S_W)用公式(2)计算。

$$S_W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.3.7 吸水率

膜的吸水率(A_W)测试在前人^[11]方法上略有调整。将膜样裁成20 mm × 20 mm大小,干燥至恒重(m_1),置于40 mL蒸馏水中常温浸泡24 h,取出,用滤纸吸干表面水分,称重(m_2)。用公式(3)计算膜的吸水率。

$$A_W = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.4 综合指标的评定

采用主成分分析法(PCA)分析数据^[12],根据主成分贡献率按公式(4)和(5)计算SPI膜性能指标的综合得分(S)。

$$F_i = a_{1i}Z_{X1} + a_{2i}Z_{X2} + a_{3i}Z_{X3} + \dots + a_{8i}Z_{X8} \quad (4)$$

$$S = \sum_{i=1}^n \lambda_i F_i \quad (5)$$

式中: a_{1i} , a_{2i} , \dots , a_{8i} ($i = 1, \dots, m$)为相关系数矩阵的特征值对应的特征向量; Z_{X1} , Z_{X2} , \dots , Z_{X8} 为原始试验指标经过 Z 标准化处理的值; F_i 为所选主成分的权重; λ_i 为对应主成分的贡献率。

1.2.5 数据统计与分析

采用SPSS 26.0和Design-Expert 8.0.6软件对试验数据进行处理,结果分析采用方差分析法(ANOVA),并将数据标准化。

2 结果与分析

2.1 主成分分析

为了得到性能良好且制备工艺简单的SPI膜,本研究采用主成分分析法和PB试验设计相结合确定SPI膜性能指标的综合得分,并选取抗拉伸强度、断裂伸长率、透光率、色差、厚度、含水率、吸水率和水溶解度8个性能指标作为SPI膜综合性能的单一性能因素。由于每张膜的膜液体积和膜面积(有机玻璃板的面积)是固定的,故膜的厚度由膜液中干物质(SPI、甘油和亚硫酸钠)含量影响和决定。本文选取相关性较高的8个性能指标作为研究对象,具有一定的科学性。选取PB试验数据进行主成分分析及适用性检验,确定SPI膜各性能指标的权重, PB试验结果见表3。利用SPSS 26.0软件对表3的试验数据进行标准化处理,得到新的数据,采用KMO检验法和Bartlett球度检验法进行因素分析的适用性检验,结果如表4所示。由表4可知:KMO值为0.618,说明指标间存在一定的相关性;Bartlett球度检验结果为56.127,显著性数值为0.001,小于0.05,说明各个指标是相关的。上述结果表明该数据适合用主成分分析法分析。

表3 PB试验结果

试验号	抗拉 伸强度/MPa	断裂 伸长率/%	透光率/%	色差	厚度/ μm	含水率/%	吸水率/%	水溶解度/ %
1	2.25	184.32	88.20	39.56	177.000	33.01	183.59	34.01
2	2.81	68.29	88.20	25.77	139.000	26.94	92.41	25.31
3	1.72	166.94	87.88	37.47	150.800	20.59	124.81	31.42
4	2.97	95.20	87.88	26.08	151.800	24.34	74.83	26.47

续表 3

试验号	抗拉 伸强度/MPa	断裂 伸长度/%	透光率/%	色差	厚度/ μm	含水率/%	吸水率/%	水溶解度/ %
5	0.37	139.37	85.85	33.94	222.400	34.89	124.19	30.75
6	0.76	218.76	85.85	39.11	163.600	36.85	68.05	31.91
7	1.84	154.94	85.85	26.65	135.000	23.79	132.76	30.87
8	0.75	255.69	85.85	43.24	265.000	43.78	141.22	29.71
9	0.70	123.49	86.72	29.79	187.200	34.29	63.28	24.57
10	3.05	112.84	85.32	29.06	143.600	28.46	175.59	26.81
11	0.54	179.65	86.72	40.51	217.400	36.03	152.35	34.25
12	0.81	206.11	85.32	39.44	197.000	38.17	91.46	32.90

表 4 KMO 检验和 Bartlett 球度检验

项目	结果
KMO 检验	0.618
Bartlett 球度检验	
近似卡方	56.127
自由度	28
显著性	0.001

根据因素分析结果,对 5 个不同工艺条件下 SPI 膜的 8 个性能指标构成的 5×8 的矩阵进行主成分分析,得出主成分特征值与累积方差贡献率,结果见表 5。由表 5 可知,前 3 个主成分对应的特征值

表 6 前 3 个主成分的特征向量值

主成分	抗拉伸强度	断裂伸长度	透光率	色差	厚度	含水率	吸水率	水溶解度
1	-0.386	0.427	-0.236	0.429	0.396	0.400	0.097	0.318
2	0.310	0.120	0.294	0.219	-0.163	-0.265	0.658	0.474
3	-0.170	0.064	0.797	0.251	0.041	-0.067	-0.492	0.144

根据表 5、表 6 中的相关数据可以分别求得评价 SPI 膜性能指标的前 3 个主成分权重 (F_1 、 F_2 、 F_3),分别为:

$$F_1 = -0.386S_T + 0.427B_E - 0.236T + 0.429\Delta E + 0.396t + 0.400C_M + 0.097A_W + 0.318S_W$$

$$F_2 = 0.310S_T + 0.120B_E + 0.294T + 0.219\Delta E - 0.163t - 0.265C_M + 0.658A_W + 0.474S_W$$

$$F_3 = -0.170S_T + 0.064B_E + 0.797T + 0.251\Delta E + 0.041t - 0.067C_M - 0.492A_W + 0.144S_W$$

SPI 膜的综合性能得分为:

$$S = (55.680/84.453)F_1 + (18.399/84.453)F_2 + (10.374/84.453)F_3 = 0.659F_1 + 0.218F_2 + 0.123F_3$$

2.2 PB 试验

结合 2.1 主成分分析结果,得到不同 PB 试验号下 SPI 膜性能指标的综合得分,结果见表 7。PB 试验的方差分析如表 8 所示。

大于 0.8,累积方差贡献率为 84.453%,超过了 80%,故前 3 个主成分基本能代表全部指标的信息^[13]。因此,选用前 3 个主成分进行性能指标的评价是可行的。前 3 个主成分的特征向量值如表 6 所示。

表 5 主成分的特征值及贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	4.454	55.680	55.680
2	1.472	18.399	74.079
3	0.830	10.374	84.453
4	0.669	8.359	92.812

表 7 SPI 膜性能指标的综合得分

试验号	综合得分	试验号	综合得分
1	0.978	7	-0.853
2	-2.172	8	2.128
3	-0.114	9	-0.886
4	-1.981	10	-1.272
5	0.547	11	1.576
6	0.850	12	1.199

由表 8 可知,模型达到显著水平 ($p=0.0218$),说明该回归模型在被研究的整个回归区域拟合很好^[13]。决定系数 $R^2=0.8409$,表明 84.09% 的试验数据的变异性可用此回归模型来解释。由 p 值得出影响 SPI 膜性能的显著因素分别是甘油添加量 ($p=0.0065$)、温度 ($p=0.0339$) 和 pH ($p=0.0402$),其他 2 个因素影响均不显著,因此可以选择这 3 个显著影响因素作为 SPI 膜的试验因素,研究它们对 SPI 膜综合性能的影响,为进一步的优化

分析提供因素选择方面的指导。3个显著影响因素的偏回归系数及显著性检验结果见表9。

表8 PB试验方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	18.68	5	3.74	6.34	0.021 8	*
甘油添加量	9.77	1	9.77	16.59	0.006 5	**
亚硫酸钠添加量	0.09	1	0.09	0.15	0.715 9	
温度	4.41	1	4.41	7.48	0.033 9	*
pH	4.00	1	4.00	6.80	0.040 2	*
搅拌速度	0.41	1	0.41	0.70	0.435 1	
残差	3.53	6	0.59			
总变异	22.21	11				

注: *表示差异显著($p < 0.05$); **表示差异极显著($p < 0.01$)。

表9 偏回归系数及显著性检验

项目	偏回归系数	标准误差	F	p
截距	6.031	0.821	3.74	0.021 8
甘油添加量	2.741	0.821	9.77	0.006 5
温度	-1.056	0.821	4.41	0.033 9
pH	3.210	0.821	4.00	0.040 2

由表9中显著因素的偏回归系数可知:在PB试验设计中,甘油添加量和pH与SPI膜综合性能呈正相关,即甘油添加量增加和pH升高,SPI膜综合得分提高;温度与SPI膜综合性能呈负相关,即温度升高,SPI膜综合得分降低。

3 结论

采用主成分分析法从抗拉伸强度、断裂伸长率、厚度、透光率、色差、含水率、吸水率和水溶解度8个指标中降维处理出3个主成分,累积方差贡献率达到84.453%,超过了80%,并得出各主成分对大豆分离蛋白膜性能的影响权重。进一步利用Plackett-Burman试验设计筛选出影响大豆分离蛋白膜综合性能的关键工艺因素是甘油添加量($p = 0.006 5$)、温度($p = 0.033 9$)和pH($p = 0.040 2$)。实践证明,用Plackett-Burman试验设计进行大豆分离蛋白膜制备工艺条件筛选,是一种经济有效的试验设计方法,试验结果对大豆分离蛋白膜制备工艺的进一步优化具有指导意义。

参考文献:

[1] 汪洲,徐淑艳,孙巧歌,等.大豆分离蛋白膜制备及改性研究的现状和应用[J].包装工程,2020,41(11):119-126.

[2] 魏倩,王莺颖,阎欣,等.制备条件对大豆分离蛋白-淀粉复合膜机械性能的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版),2019,40(1):20-25.

[3] 陈秀宇,林谦,林惠杰.大豆分离蛋白/纤维素/淀粉复合可食性膜的制备及性能研究[J].吉林化工学院学报,2017,34(11):12-17.

[4] 陈志杰,韩永斌,沈昌,等. Plackett-Burman 设计在灵芝生长及产胞外多糖主要影响因子筛选中的应用[J].食品科学,2005,26(12):115-118.

[5] LOUKAS Y L. A Plackett-Burman screening design directs the efficient formulation of multicomponent DRV liposomes[J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2001, 26: 255-263.

[6] WEN Y Q, XUE C H, XU L L, et al. Application of Plackett-Burman design in screening of natural antioxidants suitable for anchovy oil[J/OL]. Antioxidants, 2019, 8(12):627[2021-01-21]. https://doi.org/10.3390/antiox8120627.

[7] MOSS M F, CHRYSTAL P V, DERSJANFLI Y, et al. The ranked importance of dietary factors influencing the performance of broiler chickens offered phytase-supplemented diets by the Plackett-Burman screening design[J]. Brit Poultry Sci, 2019, 60(4):439-448.

[8] 赵扬,甄超英,王静.微波改性对大豆分离蛋白膜特性的影响研究[J].河北工业科技,2016,33(2):139-145.

[9] 董增,孙朋朋,王海潮,等.可食性大豆分离蛋白膜制备与性质[J].食品与机械,2016(9):187-191.

[10] KUREK M, GALUS S, DEBEAUFORT F. Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and wheyprotein[J]. Food Packaging Shelf, 2014, 1(1):56-67.

[11] FARAHAZKY A, MAHDIDADFAR S M, SHAHHAZI M. Physical and mechanical properties of gelatin-claynanocomposite[J]. J Food Eng, 2014, 122: 78-83.

[12] 肖猛,丁捷,赵雪梅,等.基于响应面和主成分分析的速冻微波青裸鱼面品质改良[J].江苏农业学报,2018,34(6):1370-1377.

[13] 武松,潘发明.SPSS统计分析大全[M].北京:清华大学出版社,2014:334-339.