

微生物发酵法消除植物蛋白质中抗营养因子的研究进展

吕晓亚^{1,2}, 贾延勇^{1,2}, 朱启新^{1,2}, 李雅^{1,2}, 白新鹏^{1,2}

(1. 海南大学 食品学院, 海南 海口 570228; 2. 生物活性物质与功能食品开发重点实验室, 海南 海口 570228)

摘要: 抗营养因子(ANF)是植物代谢产生的一些物质, 它能破坏或阻碍营养物质在生物体内的消化利用, 并对动物健康和生长性能产生不良影响。该文在介绍抗营养因子种类(蛋白酶抑制剂类、植物凝集素、多酚类物质、植酸、氰苷)基础上, 概述了微生物发酵法消除豆粕中抗营养因子、菜籽饼中抗营养因子、麻疯树种子饼中抗营养因子和消除其它植物中抗营养因子等的应用。

关键词: 微生物; 发酵; 抗营养因子

中图分类号: S 132 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2014)14-0207-04

微生物发酵是指利用微生物, 在适宜条件下, 将原料经过特定的代谢途径转化为人类所需要的产物的过程, 目前已经广泛应用于医药工业、食品工业、能源工业、化学工业、农业以及环境保护等方面。微生物发酵法与其它物理化学方法相比具有生产所需的原料范围广、微生物为生产主体、生产反应条件温和、易于控制、产物单一、纯度高、投资少、见效快等特点。

抗营养因子(ANF)是植物代谢产生的一些物质, 它能破坏或阻碍营养物质在生物体内的消化利用, 并对动物健康和生长性能产生不良影响。它是植物在进化过程中形成的一些自我保护物质, 可以保持植物株及其种子免受霉菌、细菌、病毒、害虫和鸟类的侵害, 起到平衡植物中营养物质的作用, 已知的抗营养因子主要有蛋白酶抑制剂、植酸、凝集素、棉酚、氰苷等物质。过多食用这些物质会对人体营养素的吸收产生不利影响, 甚至会造成中毒等现象。目前有关抗营养因子的钝化方法主要有物理法^[1-2]、化学法和生物法。

1 抗营养因子的种类

1.1 蛋白酶抑制剂类

蛋白酶抑制剂(Proteinase Inhibitor)是一类能够抑制蛋白质水解酶活性的物质, 能与蛋白酶的活性部位和

变构部位结合, 抑制酶的催化活性或阻止酶原转化为有活性的酶。蛋白酶抑制剂在植物中分布甚广, 在许多农作物如小麦、大麦、玉米、豆类、番茄和马铃薯中均有存在, 多见于种子和块茎内。在植物贮藏器官中, 其含量通常高达总蛋白的 10%。植物叶片受到机械损伤或经化学物质处理, 也会积累大量蛋白酶抑制剂。它一般为 60~120 个氨基酸组成的多肽, 分子量约为 8~25 kD^[3-4]。迄今为止, 自然界共发现四大类蛋白酶抑制剂, 根据作用于酶的活性基团不同及其氨基酸序列的同源性, 可分为丝氨酸蛋白酶抑制剂、半胱氨酸蛋白酶抑制剂、金属蛋白酶抑制剂和酸性蛋白酶抑制剂 4 类^[5]。

1.2 植物凝集素

植物凝集素主要存在于植物的籽实中, 是一种具有凝集红细胞能力的植物蛋白质。它能与细胞膜上的糖类物质结合, 发生凝集反应。虽然植物凝集素是一种蛋白质, 但是对于肠道中的蛋白质水解却有抑制作用。它们的生物学作用体现在破坏小肠的新陈代谢和对小肠绒毛形态上的破坏。

1.3 多酚类物质

多酚类物质是一种天然的抗氧化剂^[6], 具有转移氢原子的能力, 可作为链断裂抗氧化剂; 还能与过渡金属离子发生配位而抑制自由基的形成。多酚类化合物在体内的抗营养性主要表现在 2 个方面: 一是与必需金属元素的配位作用从而影响金属元素的生物有效性^[7]; 二是多酚类对蛋白质及酶的配位沉淀作用, 使得酶的活性丧失, 从而影响多糖类、蛋白质及脂类等成分的吸收, 产生对食品利用率的抑制作用。

1.4 植酸

植酸又称为肌醇六磷酸, 在植物组织中多作为磷的主要储存形式, 具有强大的螯合能力, 通常与钙、锌、镁、

第一作者简介: 吕晓亚(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品贮藏及加工。E-mail: lxy5409@sina.com.

责任作者: 白新鹏(1963-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为粮食及油脂和植物蛋白质工程。E-mail: xinpeng2001@126.com.

基金项目: 国家高技术研究发展“863”计划资助项目(2013AA102203-08)。

收稿日期: 2014-03-25

钾等矿物质结合,形成不溶性盐类化合物,并且植酸易与蛋白质分子的碱性基团结合,使蛋白质沉淀,形成蛋白质-金属-植酸盐3种成分的化合物。因此降低了矿物质与蛋白质的生物有效性。以植物为原料加工的膳食纤维一般含有植酸,这是影响膳食纤维品质的一个重要因素。

1.5 氰苷

生氰糖苷本身无毒,但当植物的组织结构遭到破坏后,植物中其它部位含有的糖苷酶与生氰糖苷接触并发生反应,从而产生HCN,氰离子(CN⁻)可迅速与线粒体中氧化型细胞色素氧化酶的Fe³⁺结合,生成稳定的高铁细胞色素氧化酶,使其失去激活氧分子及传递电子的能力,最终导致细胞中毒性缺氧症^[8-9]。

2 微生物发酵法消除抗营养因子

微生物发酵法主要是利用微生物在发酵过程中产生的酶类对底物的作用,从而使发酵底物中的抗营养因子消除。在发酵过程中产生的水解酶、氧化还原酶和裂合酶等可以使发酵底物中的抗营养因子如蛋白酶抑制因子、多酚类物质、糖苷等物质降解。同时,底物中的植酸被微生物分解,释放出的有机磷物质又可以直接被微生物吸收利用,从而减少了植酸磷的排泄。微生物发酵法除了能降低底物中的抗营养因子外,还能将底物中的其它大分子的营养成分进一步分解为小分子物质,增加营养物质在体外的消化率^[10],既能产生特殊的风味^[11],又能提高营养物质在体内的消化吸收水平。此外,发酵过程中,微生物得到大量增殖,其结果不仅提高了发酵底物的蛋白质水平,而且部分蛋白发酵时转化为菌体蛋白本身也改变了原料蛋白质的营养品质。

2.1 微生物发酵法消除豆粕中抗营养因子

大豆含有丰富的蛋白质,其含量一般在33%~50%,其榨油后的产品-豆粕中的蛋白质含量更是高达45%~55%,大豆蛋白因其供应充足,必需氨基酸含量均衡,含有异黄酮、脂肪酸、矿物质等生物活性物质及营养成分,且水溶性蛋白质含量高,容易被动物吸收和利用等优点而得到大众亲睐。然而,豆粕却有其自身的局限性;豆粕主要是由大分子蛋白质构成,不被机体充分的吸收利用。此外,豆粕中含有多种抗营养因子,特别是其中的胰蛋白酶抑制因子和植酸含量最高,它们不仅降低动物机体对营养物质的利用,也影响其健康。

马文强等^[12]研究了微生物发酵豆粕的营养特性,采用枯草芽孢杆菌、酿酒酵母、乳酸菌复合发酵法对豆粕进行发酵,并对发酵后豆粕的营养特性进行分析。结果表明,与微生物发酵前豆粕的营养成分相比,混合菌发酵后的豆粕中抗原物质和几种抗营养因子完全被分解,去除效果明显。豆粕中的胰蛋白酶抑制剂、脂肪氧化酶、大豆凝血素及大豆抗原蛋白等完全被分解除去,发酵后豆粕中高分子蛋白含量比发酵前下降了75.57%,

中分子蛋白含量较发酵前降低了86.77%,低分子蛋白含量比发酵前提高了2.25倍,粗脂肪、磷、氨基酸的含量也都有增加。此外,微生物发酵使豆粕本身蛋白质发生一定程度的分解,从而获得了一种更优质的蛋白饲料;王婧瑶^[13]则利用紫外诱变育种的方法得到了高蛋白酶解及抗营养因子降解菌株。以30 W紫外灯、照距15 cm照射用稀释梯度为10⁻⁷的菌液涂布后的平板30 s,得到的菌株在有杂菌存在的情况下仍然表现优异,更能适应工厂的粗放式发酵;陈丽娟等^[14]采用产共轭亚油酸(CLA)的植物乳杆菌对豆粕进行发酵,研究高产CLA植物乳杆菌固态发酵豆粕产CLA及其对豆粕中抗营养因子的影响,证实了利用直接接种产CLA的植物乳杆菌发酵豆粕生产功能性豆粕在理论上是可行的,同时又能在一定程度上降低豆粕中的抗营养因子,改善豆粕品质。

2.2 微生物发酵法消除菜籽饼中抗营养因子

菜籽饼在我国产量大,价格较低,且蛋白质含量在30%以上,是一种潜力很大的蛋白质饲料资源。但是,菜籽饼含有硫葡萄糖甙、单宁等抗营养因子,使得菜籽饼的应用受到很大限制。刘林等^[15]针对这一原因对冷榨提油后菜籽饼粕的微生物发酵进行研究,得出以8%为总接种量,接种比例白地霉:产朊假丝酵母:植物乳杆菌=2:1:2条件下,菜籽饼的营养价值最高,相对未发酵的菜籽饼,硫甙降解率为74.85%,体外消化率提高59.93%,植酸和单宁降解率分别为43.14%和14.50%。付敏等^[16]同样利用混菌固态发酵对菜籽饼营养价值及抗营养因子含量的影响中,采用枯草芽孢杆菌、黑曲霉、白地霉3个菌种对菜籽饼进行固态发酵,接种比例为3:1:1,接种量为16%,料水比1:1,发酵4 d,发酵产物中小肽含量提高了385.19%,游离氨基酸含量提高了300.00%,硫甙含量降幅达到93.53%,噁唑烷硫酮全部被降解。由此可见,这3种菌的混合对菜籽饼营养价值及抗营养因子的作用明显优于刘林所采用的3种混菌的发酵方法,使得发酵后油菜籽饼的营养价值得到大大提高。

2.3 微生物发酵法消除麻疯树种子饼中抗营养因子

麻疯树种子饼是麻疯树种子榨油产生的一个副产品。蛋白质含量为19%~27%,但其含有的佛波醇酯和抗营养因子,如胰蛋白酶抑制剂、肌醇六磷酸、外源凝集素和皂素等,从而影响了麻疯树种子饼在动物饲料中的应用。Mohankumar等^[17]的研究显示,采用杂色曲霉CJS-98固态发酵法能有效降低麻疯树种饼中植酸、胰蛋白酶抑制剂和外源凝集素等抗营养物质。Thanyarat等^[18]也用微生物发酵法消除了这些影响因素,并对比了枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌的固态和液态发酵,得出地衣芽孢杆菌液体深层发酵法能有效降低麻疯树种子饼的毒性和抗营养因子。发酵后佛波醇酯、肌醇六磷酸

和胰蛋白酶抑制剂分别减少了 62%、42% 和 75%，而凝集素却不能被降解掉。

2.4 微生物发酵法消除其它植物中抗营养因子

竹笋中含有丰富的营养成分和大量的优质纤维，但也含有一定量的植酸和草酸等抗营养因子，从而影响竹笋中蛋白质和矿物质在人体中的消化吸收，在食品加工过程中如能将这些抗营养因子除去或钝化，将显著提高竹笋中营养成分的功效。李安平等^[19]对乳酸菌发酵法制备的竹笋膳食纤维中草酸和植酸含量变化进行比较，结果表明，乳酸菌在发酵过程中能显著降低膳食纤维中的草酸和植酸含量，降低能力从高到低依次是植物乳杆菌 Lact. 1、Lact. 2 混合菌种、植物乳杆菌 Lact. 1、植物乳杆菌 Lact. 2、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌。

张梅申等^[20]利用酵母和乳酸菌单一菌株和混合菌株对珍珠稗粉进行发酵，认为多种类型的纯培养发酵，都能显著降低珍珠稗中多酚的含量，啤酒酵母较差，而用发酵乳酸菌多酚含量最低。混合发酵以糖化酵母和发酵乳酸菌最好，其适宜组合的多酚含量降低不多。通过纯培养发酵可减少抗营养因子植酸和多酚类物质的浓度，提高珍珠稗中蛋白质的消化率和矿物质的生物效价。

Carlo 等^[21]利用植物乳杆菌 LB1 和乳杆菌 *rossiae* LB5 对小麦胚芽进行发酵，结果表明，与原料小麦胚芽相比，发酵后的小麦胚芽中游离氨基酸浓度增加了 50%，谷氨酸含量由于 γ -氨基丁酸的转化而明显降低，抗营养因子棉子糖含量减少，蛋白质体外消化率、总酚含量、植酸酶以及抗氧化活性均明显增加。

3 小结

微生物发酵法不仅能消除底物中的抗营养因子，还会改善适口性，增加蛋白质含量，并且在发酵过程中产生的各种消化酶、氨基酸、维生素等也大大提高了底物的营养价值。但目前为止，微生物发酵法消除抗营养因子得到的产物大多应用于动物或水产品的喂养中，很少应用于食品中，还有待于进一步研究。

参考文献

[1] Shawrang P, Sadeghi A A, Behgar M, et al. Study of chemical compositions, anti-nutritional contents and digestibility of electron beam irradiated sorghum grains[J]. Food Chemistry, 2011, 125: 376-379.
[2] Ngozi A, Emenam U. Effects of soaking and boiling, and autoclaving on anti-nutritional factors content of *Mucuna flagellipes*[J]. Toxicology Letters, 2009, 189: 230.

[3] 曲晓华, 浦冠勤. 蛋白酶抑制剂的研究与应用[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2003(1): 19-22.
[4] 马建平, 牟志美. 植物蛋白酶抑制剂的研究进展[J]. 中国蚕业, 2006, 27(3): 4-8.
[5] Chong A S C, Hashim R, Chow Y L, et al. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) [J]. Aquaculture, 2002, 203: 321-333.
[6] Rodriguez V M J, Tomassini S L R, Manca de N M C, et al. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions[J]. Food Control, 2010, 21(5): 779-785.
[7] Sreenivasulu B, Jagadees J V. Hydrogen-bonded copper(II) and nickel (II) complexes and coordination polymeric structures containing reduced Schiff base ligands[J]. Inorganica Chimica Acta, 2009, 362(8): 2735-2743.
[8] 刘小琴, 郭志勇, 张若辰, 等. 微生物发酵脱除橡胶籽粕中氰苷的初步研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(24): 12941-12942, 12953.
[9] 郭志勇, 刘小琴, 王铜, 等. 海南橡胶籽主要成分及氰化物变迁分析[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 359-362.
[10] Yudi P, Sri A, Zulman E. Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on *in-vitro* protein and starch digestibilities of sorghum flour[J]. Food Bioscience, 2013(2): 46-52.
[11] Yann E M, Martinus J R N, Evert-Jan B, et al. Enhancing the digestibility of cowpea (*Vigna unguiculata*) by traditional processing and fermentation[J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 54: 186-193.
[12] 马文强, 冯杰, 刘欣. 微生物发酵豆粕营养特性研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(1): 121-124.
[13] 王婧瑶. 高蛋白酶解及抗营养因子降解菌株的诱变育种[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
[14] 陈丽娟, 郑裴, 徐玉霞, 等. 益生菌发酵豆粕产 CLA 及豆粕中抗营养因子降解的研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(6): 19-21.
[15] 刘林, 郭艳, 邱树毅, 等. 微生物固态发酵法提升冷榨菜籽饼粕营养价值研究(I-菌种的选择与复配)[J]. 食品科技, 2011, 36(8): 16-19.
[16] 付敏, 何军, 余冰, 等. 混菌固态发酵对菜籽饼营养价值及抗营养因子含量的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(7): 1579-1586.
[17] Mohankumar B V, Sharath B S, Somashekar D. Solid-state fermentation of *Jatropha* seed cake for optimization of lipase, protease and detoxification of anti-nutrients in *Jatropha* seed cake using *Aspergillus versicolor* CJS-98[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2013(2): 1-7.
[18] Thanyarat P, Worapot S. Detoxification and anti-nutrients reduction of *Jatropha curcas* seed cake by *Bacillus* fermentation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2013, 115(2): 168-172.
[19] 李安平, 谢碧霞, 田玉峰, 等. 发酵对竹笋膳食纤维抗营养因子及吸附能力的影响[J]. 食品科技, 2010, 35(7): 96-99.
[20] 张梅申, 熊晓辉, 沈爱光. 发酵对珍珠稗中抗营养因子的影响[J]. 农牧产品开发, 1996(11): 33-34.
[21] Carlo G R, Luana N, Rossana C, et al. Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ[J]. Food Chemistry, 2010, 119: 1079-1089.

Advances in Anti-nutritional Factors in Plant Proteins Eliminate Microbial Fermentation

LV Xiao-ya^{1,2}, JIA Yan-yong^{1,2}, ZHU Qi-xin^{1,2}, LI Ya^{1,2}, BAI Xin-peng^{1,2}

(1. Food College, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Key Laboratory of Matter and Biological Activity of Functional Food Development, Haikou, Hainan 570228)

橘皮中天然功能因子的研究进展

岳 贤 田

(南京化工职业技术学院 化工系, 江苏 南京 210048)

摘 要:橘皮中天然功能因子有很多,这些功能因子在食品、医药、化妆品行业有广泛的应用,该文对国内外有关橘皮功能因子的研究进行了综述,主要阐述了橘皮精油、橘皮多糖、橘皮果胶、橘皮多酚、橘皮色素、橘皮酚酸、橘皮黄酮的功效和提取分析方法,以期未来科研工作者可能将从功能因子的成分分析和机理方面进行研究提供参考。

关键词:橘皮;天然;功能因子;进展

中图分类号:TS 202.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0210-03

柑橘在世界水果产量中居于首位,我国是柑橘的重要产地之一,栽培面积世界第一,产量居世界第二。柑橘为芸香科柑橘属植物,橘皮在中药中称之为陈皮,在我国柑橘主要以鲜食为主,但是果皮大部分直接丢弃,不仅浪费资源,而且污染环境。研究表明,柑橘皮中含有很多天然的功能因子,具有抗氧化、降血压、抑菌、祛痰、平喘、助消化等作用^[1-2],橘皮还可以作为底物来生产生物酶^[3],还可以用以制成薄膜或制备活性炭来处理废水和吸附废水中的重金属离子^[4-7],因此,对柑橘皮中的天然功能因子进行研究,不仅可以变废为宝,实现柑橘皮的综合利用,提高其附加值,减少环境污染,也可为广大科技工作者开展科学研究提供一定的科学依据。

1 橘皮精油

橘皮精油是从橘皮中通过水蒸气蒸馏法、挤压法、冷浸法或溶剂提取法提炼萃取出来的芳香性挥发性物质,精油具有防止传染病,对抗细菌、病毒、霉菌,可防止局部组织发炎,促进细胞新陈代谢,调节分泌组织,促进营养物质的交换具有较大的作用。橘皮精油中柠檬烯对果蝇类生物具有熏蒸、趋避作用,在短时间内能够导

致其死亡,但是张仁芳等^[8]研究却发现没有明显触杀效果;王文渊等^[9]采用分子蒸馏技术对橘皮精油中的柠檬烯进行了提取分析研究发现,其纯度可达99%,柠檬烯的得率可以达到86.54%,工艺操作稳定可靠,便于控制,环保和易于实现工业化。

橘皮精油主要存在于橘皮外果皮的油胞层,主要有高级萜烯类和含氧物质如高级醇类及一些饱和烷烃类组成^[10]。赵艳凝等^[11]对橘皮精油的传统提取工艺与绿色提取法进行了对比研究,探讨了影响提取效果的各种因素,以及橘皮油在一些行业中的应用现状,绿色提取法无毒无污染,可以循环利用溶剂。Lin等^[12]采用超临界萃取技术提取橘皮精油并用色谱对其有效成分进行了分析,抑菌试验证明橘皮精油具有杀菌作用,研究结果表明,提取的橙皮油能有效地抑制副溶血弧菌,鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌,但不是金黄色葡萄球菌。Farhat等^[13]采用微波辅助提取技术对橘皮中精油进行了提取,并优化了工艺条件,与传统的水蒸气蒸馏提取相比,得率明显提高。

2 橘皮果胶

果胶是以(1,4)键键合的多半乳糖醛酸为基本结构的物质,对防治高血压、糖尿病、高血脂等疾病具有良好的功效,在食品加工中可以作为粘稠剂,稳定溶液中的悬浮油性乳酸,乳制品中加入果胶,可以起到稳定和保鲜作用,另外果胶还是重金属的解毒剂和防御剂。

作者简介:岳贤田(1980-),男,博士研究生,讲师,研究方向为绿色化工。E-mail:yuefeiyxt@aliyun.com.

收稿日期:2014-03-13

Abstract: Anti-nutritional factors (ANF) are some of the substances of plant metabolism, it can destroy or hinder nutrient digestion *in vivo* use, and adversely affect animal health and growth performance. The anti-nutritional factors could be divided into protease inhibitors, lectins, polyphenols, phytic acid, cyanogenic glycosides and other types were described in this paper, based on an overview of the microbial fermentation elimination of anti-nutritional factors in soybean meal, rapeseed anti-nutritional factors, *Jatropha curcas* seed cake in the elimination of anti-nutritional factors and other plants, such as the application of anti-nutritional factors.

Key words: microbe; fermentation; anti-nutritional factors