

汪洪涛,陈 成,李小华,等. 豆渣中水溶性大豆多糖提取工艺的优化[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):290-292.

豆渣中水溶性大豆多糖提取工艺的优化

汪洪涛,陈 成,李小华,石雪萍

(江苏经贸职业技术学院食品系/江苏省食品安全工程技术研究开发中心,江苏南京 210007)

摘要:用碱液对豆渣进行预处理,再在酸性条件下提取水溶性大豆多糖,通过单因素试验和正交试验,以水溶性大豆多糖得率为指标确定最佳提取工艺。结果表明:豆渣碱预处理的最佳工艺参数为液料比 20 mL : 1 g、pH 值 12、温度 60 ℃、处理时间 1 h;水溶性大豆多糖提取最佳条件为提取温度 120 ℃、pH 值 4.5、提取时间 2 h、液料比 20 mL : 1 g,在此条件下提取液中水溶性大豆多糖得率为 36.20%,水溶性大豆多糖的最大分子量为 64 322,提取液中蛋白质的含量为 1.33%。该方法提取水溶性大豆多糖操作简单,可显著提高水溶性大豆多糖的得率,降低提取液中的蛋白质含量,具有一定的实践应用价值。

关键词:豆渣;水溶性大豆多糖;碱预处理;酸法提取

中图分类号: TS214.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0290-03

豆渣是豆腐等豆制品和大豆蛋白制品生产过程中剩下的不溶性残渣,来源丰富。因新鲜豆渣含水量高,营养丰富,如果不能对其合理开发利用,不仅会对企业造成很大的负担,而且还会给社会环境带来巨大的压力。因此,对豆渣进行综合利用与加工,使其营养成分得到开发利用,解决废弃豆渣所造成的环境污染,实现废物的循环利用,已经成为当今研究的热点和趋势。水溶性大豆多糖是一种酸性多糖,结构类似于果胶,存在于豆渣中。水溶性大豆多糖因具有许多优良的特性如抗氧化性、乳化性、高溶解性和稳定的黏性等,在食品中有广泛的应用^[1]。目前国内外从豆渣和豆皮中提取水溶性大豆多糖的报道较多,主要有超声波辅助提取法^[2]、微波辅助提取法^[3]、酸法、碱法和酶法^[1]等,但还没有文献报道过有人用碱对豆渣进行预处理后再用酸法提取水溶性大豆多糖。不同原料、不同条件得到的水溶性大豆多糖的类型不同,具有的功能也不相同。对原料进行碱处理可以去除大部分蛋白质,同时在碱性条件下一些大分子多糖的某些键如酯键会被破坏

而促进多糖的溶解。为了验证此方法对豆渣中水溶性大豆多糖的提取效果,本研究采用正交试验设计法优化得出了碱预处理后再用酸法提取豆渣中水溶性大豆多糖的最佳工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与主要药品

大豆浸泡磨浆后过滤所得的豆渣经清水洗涤沥干后低温烘干,用石油醚脱脂后自然风干备用。所用药品主要有盐酸、石油醚(30~60 ℃)、葡萄糖、氢氧化钠、苯酚、浓硫酸、福林酚试剂、硝酸钠等,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司生产。

1.2 主要仪器与设备

LP115 pH 计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)、FA2104 电子分析天平(上海天平仪器厂)、LDZH-100KBS 高压蒸汽灭菌锅(上海茸研仪器设备有限公司)、DK-98-1A 电热恒温水浴锅(上海洪纪仪器设备有限公司)、722S 分光光度计(上海第三分析仪器厂)、LG10-2.4A 高速离心机(北京医用离心机厂)、真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂)。

1.3 方法

1.3.1 水溶性大豆多糖的基本提取工艺流程 石油醚脱脂

过 18% 以上,烘干时初始温度设定为 40 ℃,水分降至 18% 以下时,温度可设定为 45 ℃^[3]。在实际应用中,机械运行产生的噪声和粉尘还不够环保,还需要进一步改进。

参考文献:

- [1] 王金富. 加快粮食烘干技术应用步伐[EB/OL]. (2013-03-29) [2013-08-05]. http://www.farmer.com.cn/kjpd/njtg/201303/t20130329_825449.htm.
- [2] 杨玉珍,王铁文,杨树双. 不同温度对小麦种子发芽率的影响[J]. 种子通讯,1991(3):16.
- [3] 冯淑艳,孔凡林,逢晓露. 机械烘干对小麦种子发芽率的影响[J]. 现代化农业,2000(6):29.

收稿日期:2013-07-23

基金项目:江苏经贸职业技术学院重点课题(编号:JMZ2201237)。

作者简介:汪洪涛(1973—),男,安徽安庆人,硕士,讲师,从事食品营养与生物技术研究。Tel:(025) 84685629; E-mail: wht0102@163.com。

不开机烘干,提高热风炉使用效率。入仓和出仓尽量利用重力作用,少用动力机械。掌握机械性能,有利降低种子烘干成本。

3 结论与讨论

小麦种子烘干研究试验和数据统计仅对现有设备,对其他烘干设备本研究数据仅供参考。机械烘干设备主要是一次性投资大,运作成本并不高,具有方便快捷、节省晒场、减少人力、减少损耗、不受天气影响等优点,是我国种业发展投资方向。

正确掌握小麦种子烘干技术,有助于提高机械生产效率,节能增收,丰产稳收,确保种子质量安全。如果小麦含水量超

后的豆渣粉加碱液进行保温预处理后,进行抽滤,向滤渣中加水 and 酸调节 pH 值进行保温提取,然后进行固液分离,将滤液进行浓缩后,用乙醇沉淀多糖,然后进行真空干燥即得水溶性大豆多糖粗品。

1.3.2 水溶性大豆多糖提取工艺条件的确定 将脱脂后的豆渣粉在预先优化好的碱处理工艺条件(液料比 20 mL:1 g、pH 值 12、温度 60 ℃、反应时间 1 h)下进行预处理,再在基本提取工艺条件(提取液料比 20 mL:1 g、提取液 pH 值 5、提取时间 1.5 h、反应温度 100 ℃)下首先采用单因素试验考察比较重要的因素提取温度和提取液 pH 值对水溶性大豆多糖得率的影响,确定各因素的最佳水平,然后选用各因素的 3 水平进行正交试验确定水溶性大豆多糖的最佳提取工艺。

1.3.3 水溶性大豆多糖含量的测定 用苯酚-硫酸比色法^[4]测定提取液中水溶性大豆多糖的含量,以葡萄糖为标准品进行标准曲线的制作,得标准曲线的回归方程为 $y = 0.0057x - 0.1762$, $r^2 = 0.9985$,式中 x 代表多糖的浓度(mg/L), y 代表 490 nm 处的吸光度。按下式计算水溶性大豆多糖的得率:水溶性大豆多糖得率 = (多糖的重量/样品的重量) × 100%。

1.3.4 提取溶液中蛋白质含量的测定 采用福林酚法^[5]测定提取溶液中的蛋白质含量,以酪蛋白为标准品进行标准曲线的制作,得标准曲线的回归方程为 $y = 0.0015x + 0.1002$, $r^2 = 0.9964$,式中 x 代表蛋白质的浓度(mg/L), y 代表 650 nm 处的吸光度。

1.3.5 多糖分子量分布的测定 用 Waters 600 高效液相色谱仪(配 2410 示差折光检测器和 M32 工作站)测定多糖分子量。色谱柱, Ultrahydrogel™ Linear, 300 mm × 7.8 mm, 2 根柱子;流动相, 0.1 mol/L 硝酸钠;流速, 0.9 mL/min;柱温, 45 ℃;进样量, 10 μL。

1.3.5.1 标准曲线的制定 选择已知分子量(M)的标准品为标样,以流动相为溶剂配成浓度为 2 mg/mL 的溶液,在上述色谱条件下进样,测出每个标样的相对保留时间,并以相对保留时间为横坐标、以 $\lg M$ 为纵坐标绘制标准曲线。

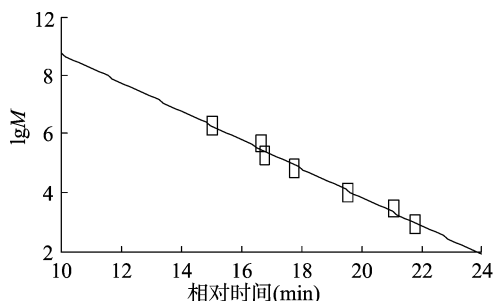


图1 HPLC法测定多糖分子量的标准曲线

1.3.5.2 分子量校正曲线所用标准品 主要包括 DextranT-2000(分子量为 2 000 000)、DextranT-580(分子量为 580 000)、DextranT-190(分子量为 188 000)、DextranT-70(分子量为 70 000)、DextranT-10(分子量为 10 000)、DextranT-3(分子量为 2 900)、Maltopentaose(分子量为 828)。

2 结果与分析

2.1 提取温度对水溶性大豆多糖得率及水溶性大豆多糖最

大分子量的影响

取 10 g 脱脂后的豆渣粉在条件为 60 ℃、液料比 20 mL:1 g、pH 值 12 条件下碱处理 1 h,然后向抽滤后的不溶性残渣中加 20 倍的水,用盐酸调节 pH 值至 5,提取时间均为 1.5 h,提取温度分别为 80、90、100、110、120 ℃,试验结果见图 2。由图 2 可以看出,水溶性大豆多糖得率随温度的升高而增加,特别是温度从 100 ℃ 上升到 110 ℃ 时,水溶性大豆多糖得率急剧上升,可能是因为温度高于 100 ℃ 时的提取是在一定压力下实现的,整个提取过程中体系急剧沸腾,物料和溶剂充分接触,但由于试验条件的限制,本试验没有在 120 ℃ 更高温度下进行研究。另外,有文献报道水溶性大豆多糖能稳定酸性乳饮料(主要是其中的大分子量多糖组分)的作用^[6],因此在进行单因素试验时也测定了在 100、110、120 ℃ 下得率较高的提取液中多糖最大分子量的情况。

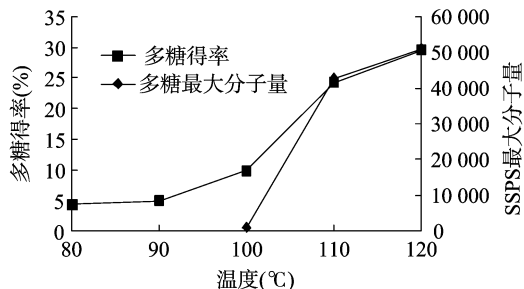


图2 提取温度对水溶性大豆多糖得率及多糖最大分子量的影响

由图 2 还可知,水溶性大豆多糖最大分子量在 100 ~ 110 ℃ 之间的增加趋势较明显,由 1 006 上升至 42 715;而在 110 ~ 120 ℃ 之间的增加趋势不明显,仅增长 20%。这是因为当温度大于 100 ℃ 时,其反应是在高温蒸煮的剧烈条件下进行的,大分子的多糖溶解度变大;温度低于 100 ℃ 时,反应条件温和,大分子多糖溶解度变小。

2.2 提取液 pH 值对水溶性大豆多糖得率及水溶性大豆多糖最大分子量的影响

取 10 g 脱脂后的豆渣粉在条件为 60 ℃、液料比 20 mL:1 g、pH 值 12 的条件下碱处理 1 h,然后向抽滤后的不溶性残渣中加 20 倍的水,提取时间为 1.5 h,提取温度为 100 ℃,提取液 pH 值分别为 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0,试验结果见图 3。由图 3 可知,水溶性大豆多糖得率随 pH 值的升高而降低,在 pH 值为 5 之前降低趋势较明显,以后就趋于平缓。这主要是因为试验酸度范围内,酸度越高,物料水解反应越强烈,导致不溶性多糖结构发生变化和糖苷键断裂溶出许多小分子多糖。为了进一步验证此结果,测定水溶性大豆多糖最大分子量,结果见图 3。

由图 3 还可知,水溶性大豆多糖最大分子量随 pH 值的升高而升高,在 pH 值为 4.5 ~ 6 之间上升较明显,由 20 724 上升至 66 983;在 pH 值为 6、7 时,提取的多糖最大分子量接近。这是因为多糖在酸性条件下会降解,酸度越高,则多糖降解程度越高,从而导致分子量下降。同时,为了了解 pH 值对提取液中蛋白质含量的影响,测定了提取液中蛋白质的含量,结果见图 4。

由图 4 可以看出,在 pH 值为 5 左右时,提取液中蛋白质含量最低,为 1.42%,这是因为原料进行碱预处理后大部分

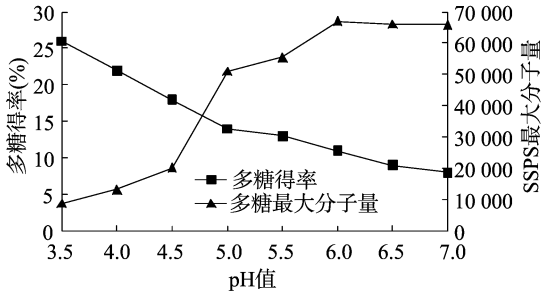


图3 提取液 pH 值对水溶性大豆多糖得率及水溶性大豆多糖最大分子量的影响

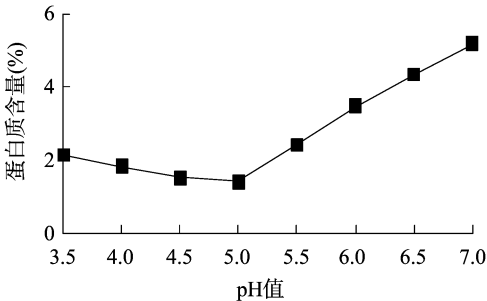


图4 不同提取液pH值对蛋白质含量的影响

蛋白质被去除,同时大豆蛋白质的等电点在 4.0~5.0^[5],在等电点处蛋白质的溶解度最低而使蛋白质被沉淀析出,因此提取液中蛋白质含量很低,这样也减少了产品中蛋白质含量,简化了产品的后续纯化工艺。

2.3 正交试验优化提取工艺

通过参考文献和初步的单因素试验确定了影响多糖得率最重要的 3 个因素是提取温度、提取液 pH 值和提取时间。提取前的碱处理条件为:液料比 20 mL:1 g、pH 值 12、温度 60 ℃ 和反应时间 1 h。以多糖得率为指标,结合水溶性大豆多糖的最大分子量,试验设 3 因素 3 水平,采用 $L_9(3^3)$,各因素水平见表 1。

表 1 水溶性大豆多糖提取工艺的 $L_9(3^3)$ 正交试验因素与水平

水平	A:提取温度 (℃)	B:提取液 pH 值	C:提取时间 (h)
1	100	4.5	1.0
2	110	5.0	1.5
3	120	5.5	2.0

从表 2 可以看出,极差 A>极差 B>极差 C,极差越大说明该因素对试验指标的影响越大,由此可见提取温度对多糖得率的影响最显著,最佳工艺条件为 $A_3B_1C_3$,这个条件正好是 7 号试验的条件,得率是 36.20%,也是多糖得率最高的一组试验。测得此时提取液中水溶性大豆多糖的最大分子量为 64 322,提取液中蛋白质的含量为 1.33%。所以,最佳工艺条件为:提取温度 120 ℃,提取液 pH 值为 4.5,提取时间 2 h。

由表 3 可知,只有因素 A 高度显著,而因素 B 和因素 C 不显著。最后根据方差分析选取的最佳工艺条件与极差分析的结果相同。

3 结论

单因素试验结果表明,随提取温度升高,豆渣中水溶性大

表 2 水溶性大豆多糖提取工艺的 $L_9(3^3)$ 正交试验结果

编号	A:提取 温度	B:提取液 pH 值	C:提取 时间	水溶性大豆 多糖得率(%)
1	1	1	1	8.43
2	1	2	2	9.05
3	1	3	3	8.87
4	2	1	2	26.83
5	2	2	3	24.48
6	2	3	1	21.48
7	3	1	3	36.20
8	3	2	1	29.18
9	3	3	2	24.52
k_1	8.78	23.82	19.70	
k_2	24.26	20.90	20.13	
k_3	29.97	18.29	23.18	
R	21.19	5.53	3.48	

表 3 水溶性大豆多糖提取工艺的 $L_9(3^3)$ 正交试验方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F
提取温度	720.89	2	360.45	49.29**
提取液 pH 值	62.06	2	31.03	4.24
提取时间	7.04	2	3.52	0.48
误差	14.62	2	7.31	
总变异	804.62	8		

注: $F_{2,0.1}=9, F_{2,0.05}=19$ 。

豆多糖得率和最大分子量升高;随提取液 pH 值的增大,水溶性大豆多糖得率降低,其最大分子量变大。

豆渣碱预处理的最佳工艺参数为液料比 20 mL:1 g、pH 值 12、温度 60 ℃、处理时间 1 h,水溶性大豆多糖提取最佳条件为提取温度 120 ℃,提取液 pH 值 4.5,提取时间 2 h、液料比 20 mL:1 g,此时水溶性大豆多糖得率为 36.20%,其最大分子量为 64 322,提取液中蛋白质的含量为 1.33%。因篇幅的限制,豆渣预处理工艺参数的优化过程、提取时间和液料比对水溶性大豆多糖得率的影响试验结果未在文中体现出来。水溶性大豆多糖的性质及在酸性乳制品中的应用有待于进一步的研究。

参考文献:

[1] 谭文辉,王文生,秦玉昌,等. 豆渣中水溶性大豆多糖的提取与应用[J]. 大豆科学,2008,27(1):150-153.
[2] 王卫香,刘颖,王玲. 超声波辅助萃取豆渣中可溶性大豆多糖工艺[J]. 中国酿造,2012,31(4):88-92.
[3] 张岚,李婷婷,刘颖,等. 微波辅助萃取豆渣水溶性大豆多糖工艺[J]. 安徽农业科学,2011,39(31):19568-19570.
[4] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2 版. 杭州:浙江大学出版社,1999.
[5] 李建武. 生物化学试验原理与方法[M]. 北京:北京大学出版社,1997.
[6] Akhtar M, Dickinson E, Mazoyer J, et al. Emulsion stabilization properties of depolymerized pectin[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(3): 249-256.