

响应面优化大豆蛋白降粘工艺的研究

杨光, 隋宁, 杨波, 王路清

(上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要:通过试验选取温度、pH 和 BaCl_2 浓度作为 Box - Behnken 设计的变量, 利用响应面法分析得到大豆蛋白降粘的优化条件。结果表明:大豆蛋白降粘的适宜参数为温度 42°C 、pH4.2、 BaCl_2 浓度 1.2%, 在此条件下, 大豆蛋白的粘度可降低至 $29.3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$, 与空白样相比降粘率可达 95.4%。

关键词:大豆蛋白; 粘度; 响应面法

中图分类号: TQ646.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2010)06-1028-05

Optimization for Viscosity Reduction of Soybean Protein Using Response Surface Methodology

YANG Guang, SUI Ning, YANG Bo, WANG Lu-qing

(School of Medical Instrument and Food Engineering, Shanghai University for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Viscosity reduction technology of soybean protein was optimized with response surface methodology. Based on pre-experiments, temperature, pH, concentration of barium chloride were considered as the factors for Box-Behnken design. Results showed that the optimum parameters of soybean viscosity reduction were temperature 42°C , pH4.2 and concentration of barium chloride 1.2%. Under such conditions, the viscosity of soybean protein was $29.3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$. Compared to the control sample, viscosity reduction yield achieved 95.4%.

Key words: Soybean protein; Viscosity; Response surface methodology

大豆蛋白胶粘剂因其可再生性, 环保性越来越受到人们的重视。粘度作为流变学性质的一个重要指标, 它的变化在一定程度上能反映出蛋白质分子物理化学特性和结构的变化。然而大豆蛋白胶粘度较大(粘度为 $4\,000 \sim 4\,500 \text{ mPa} \cdot \text{s}$)^[1], 影响其在木材上的涂布性能, 使得胶粘剂不容易渗透到木材内部, 只能在木材表面产生胶粘作用, 容易产生缺胶现象。影响蛋白质流体粘度性质的因素主要有溶解度、蛋白质浓度、温度、pH 值、盐和剪切速率等^[2]。Kalapathy 等^[3]研究表明, 随着胰蛋白酶酶解时间的延长, 改性蛋白胶粘度持续下降, 当粘度降至一定值, 粘结强度有最大值。冯凌凌等^[4]研究表明, 提高溶液的 pH 值可以使大豆浓缩蛋白粘度升高。离子盐和亚硫酸盐等还原剂可以剪切分子间或分子内的二硫键, 提高蛋白质分子表面疏水性和起泡性, 降低蛋白质的粘度^[5]。响应面分析法 (re-

sponsesurface methodology, RSM) 是一种优化工艺条件的有效方法^[6-7], 可用于确定各因素及其交互作用在工艺过程中对指标(响应值)的影响, 精确地表述因素和响应值之间的关系。

现以 BaCl_2 作为降粘剂, 选择 Box-Behnken 设计和响应面分析方法, 研究温度、pH 和 BaCl_2 浓度 3 因素对大豆蛋白溶液粘度的影响以及它们之间的交互作用, 从而确定 BaCl_2 降低大豆蛋白溶液粘度的工艺参数, 以期降低大豆蛋白胶粘剂粘度。

1 材料与方法

1.1 供试材料

大豆分离蛋白、脱脂豆粕, 上海泓涵化工科技有限公司; BaCl_2 (分析纯)、 NaOH (分析纯)、盐酸 (化学纯), 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器设备

NDJ-1 旋转粘度计, 上海恒平科学仪器有限公司

收稿日期: 2010-09-13

基金项目: 上海市科技攻关重点资助项目 (08521102000); 上海市自然科学基金资助项目 (08ZR1415200)。

第一作者简介: 杨光 (1965-), 男, 博士, 硕士生导师, 研究方向为蛋白质和碳水化合物。E-mail: yangguang@usst.edu.cn。

司;PHS-3TC 数显 pH 计,上海天达仪器有限公司;TM767 II 搅拌器,中山市海盘电器有限公司;DK-S28 恒温水浴锅,上海华连医疗器械有限公司;AB2042N 型分析天平,Mettler-Toledo Group。

1.3 试验方法

为了模拟大豆蛋白胶,按照大豆分离蛋白:脱脂豆粕=1:1 的比例,配制 25% 的蛋白溶液,加入一定量的 BaCl₂,用搅拌器搅拌均匀,用 1 mol · L⁻¹ HCL 和 1 mol · L⁻¹ NaOH 调节 pH 值,一定温度下恒温水浴 1 h 后,测定溶液的粘度。

根据 Box-Behnken 试验设计方法^[8-10],在预试验的基础上,采用 3 因素 3 水平的三元二次响应面分析方法,以大豆蛋白溶液的粘度为响应值,通过响应面分析(RSA)进行降粘条件的优化。试验因素水平设计见表 1。

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Factors and levels for RSM			
水平 Levels	因素 Factors		
	X ₁ 温度	X ₂	X ₃ BaCl ₂ 浓度
	Temperature/℃	pH	Concentration of BaCl ₂ /%
-1	30	4.0	0.5
0	40	4.5	1.0
1	50	5.0	1.5

2 结果与分析

2.1 大豆蛋白溶液粘度回归模型的建立及显著性检验

按照 Box-Behnken 试验设计,确定 3 因素 3 水平,共 17 个试验(表 2)。其中,17 个试验中,12 个析因试验(1~12),3 个中心点试验(13~17),中心点重复的目的是估计整个试验的纯试验误差。以大豆蛋白的粘度作为响应值,做响应面试验。利用 Design-Expert 软件对表 2 试验数据进行回归拟合,得到以大豆蛋白粘度为目标函数的二次回归方程;

$$Y = 34.10 - 2.31X_1 + 10.28X_2 - 8.21X_3 + 1.37X_1X_2 + 1.00X_1X_3 - 3.82X_2X_3 + 8.10X_1^2 + 6.67X_2^2 + 8.05X_3^2$$

为检验方程的有效性,对大豆蛋白降粘的数学

模型进行方差分析,结果见表 3。由表 3 可知, $P < 0.01$ 表明回归模型极显著;一次项 X_2, X_3 均极显著($P \leq 0.01$),表明 pH 和 BaCl₂ 浓度对大豆蛋白粘度有极显著影响;二次项 X_2^2 影响显著($P \leq 0.05$)。这表明各种因素对大豆蛋白粘度的影响不是简单的线性关系。失拟项 $P = 0.1811 > 0.05$,表明残差均由随机误差引起, $R^2 = 0.9544$ 表明响应值的变化有 95.44% 来源于所选变量,相关系数 $R = 0.977$,表明实测值与预测值高度相关。因此,回归方程可以较好的描述各因素与相应值之间的真实关系,可以利用该回归方程确定最佳条件。上述结果表明模型能够反映响应值的变化,拟合程度好。

表 2 响应面试验结果

Table 2 Results of response surface method				
序号 No.	X ₁	X ₂	X ₃	粘度 Viscosity/mPa · s
1	-1	-1	0	42.0
2	1	-1	0	35.0
3	-1	1	0	60.0
4	1	1	0	58.5
5	-1	0	-1	65.0
6	1	0	-1	58.0
7	-1	0	1	40.5
8	1	0	1	37.5
9	0	-1	-1	40.0
10	0	1	-1	68.0
11	0	-1	1	37.3
12	0	1	1	50.0
13	0	0	0	32.5
14	0	0	0	31.5
15	0	0	0	32.5
16	0	0	0	39.0
17	0	0	0	35.0

表 3 回归方程方差分析

Table 3 Analysis of variance for developed regression equation for viscosity of soybean protein solution

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值(Prob > F)
Source	Sum of squares	df	Mean square	F value	P value
Model	2319.49	9	257.72	16.27	0.0007 *
X_1	42.78	1	42.78	2.70	0.1443
X_2	844.61	1	844.61	53.32	0.0002 **
X_3	539.56	1	539.56	34.07	0.0006 *
X_1X_2	7.56	1	7.56	0.48	0.5118
X_1X_3	4.00	1	4.00	0.25	0.6307
X_2X_3	58.52	1	58.52	3.69	0.0960
X_1^2	276.25	1	276.25	17.44	0.0042 **
X_2^2	187.60	1	187.60	11.84	0.0108 *
X_3^2	272.85	1	272.85	17.23	0.0043 **
残差	110.87	7	15.84		
Residual					
失拟项	74.17	3	24.72	2.69	0.1811
Lack of fit					
净误差	36.70	4	9.18		
Pure error					
总离差	2430.36	16			
Cor total					

* $P < 0.05$, 表示显著; ** $P < 0.01$, 表示极显著。
* Means, $P < 0.05$, significant; ** Means, $P < 0.01$, extremely significant.

2.2 RSM 分析各因素对大豆蛋白溶液粘度的影响

在 ANOVA 结果基础上,利用 Design Expert7.0 绘制各因素对粘度的等高线图和响应面,结果见图 1~3。等高线的形状可以反映出交互效应的强弱大小,圆形表示两交互作用不显著,椭圆形表示二者交互作用显著^[11]。

图 1 显示了 BaCl₂ 浓度取中心水平时,温度和 pH 对大豆蛋白粘度的交互作用。从等高线图接近圆形可知交互作用不显著,pH 影响显著。大豆蛋白粘度随 pH 的减小呈下降趋势,在高温和高 pH 区粘度升高。大豆蛋白溶解度易受 pH、特别是等电点的影响^[12],大豆蛋白的等电点在 pH4.5 左右,蛋白大量析出,降低了溶解度,进而使溶液粘度降低。在 pH 较低时,温度的影响显著,大豆蛋白粘度随温度的升高表现为先下降后升高。温度较低时,大豆蛋白粘度随温度的升高而降低。原因是在高分子

溶液中,当温度升高时,水分子的热运动加快,使高分子的溶剂化作用减弱,自由溶剂增加,液体的流动性增大,另一方面,温度升高可能会破坏高分子间形成的内部结构,故粘度降低。温度过高时,大豆蛋白易形成凝胶,从而导致粘度升高^[13]。

图 2 显示了 pH 取中心水平时,温度和 BaCl₂ 浓度对大豆蛋白粘度的交互作用。从等高线图可知交互作用不显著,BaCl₂ 浓度影响显著。在试验范围内随着氯化钡浓度的增加大豆蛋白粘度基本呈下降的趋势。原因可能是 Ba²⁺ 是重金属离子,使蛋白质变性,从而导致粘度下降。

图 3 显示了温度取中心水平时,BaCl₂ 浓度和 pH 对大豆蛋白粘度的交互作用。从等高线图可知,交互作用不显著。在试验水平范围内,大豆蛋白粘度随 BaCl₂ 浓度的升高和 pH 的降低呈下降的趋势。

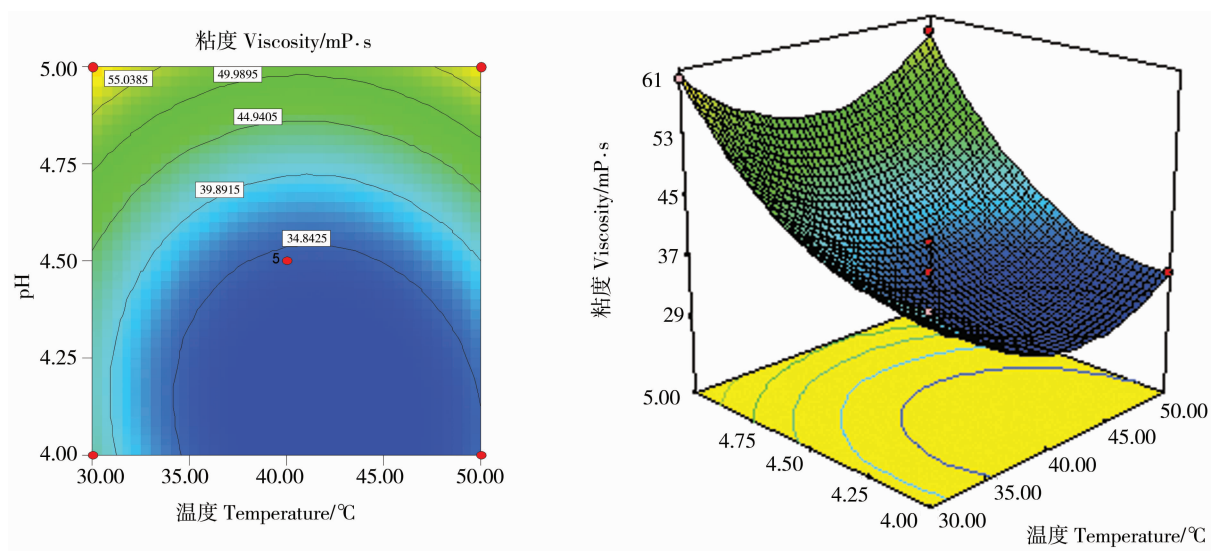
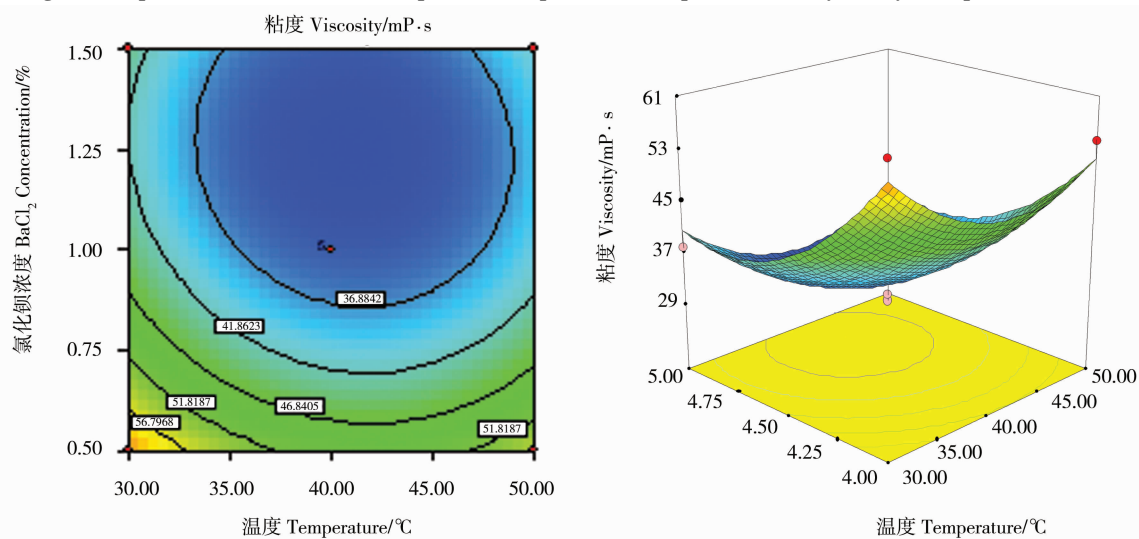
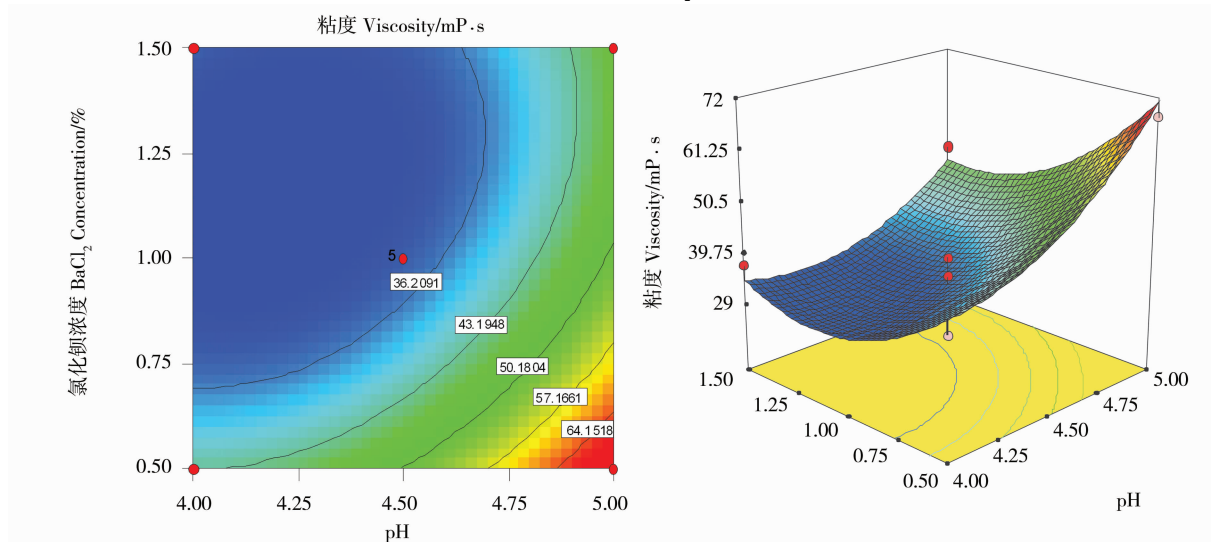


图 1 温度和 pH 对大豆蛋白质溶液粘度的影响

Fig. 1 Response surface and contour plots of temperature and pH on viscosity of soybean protein solution

图 2 温度和 BaCl₂ 浓度对大豆蛋白质溶液粘度的影响Fig. 2 Response surface and contour plots of temperature and BaCl₂ concentration on viscosity of soybean protein solution图 3 pH 和 BaCl₂ 浓度对大豆蛋白质溶液粘度的影响Fig. 3 Response surface and contour plots of pH and BaCl₂ concentration on viscosity of soybean protein solution

2.3 大豆蛋白最佳降粘条件的确定和试验验证

在选取的各因素范围内,根据回归模型通过 Design Expert 7.0 软件分析得出, BaCl_2 最佳降粘条件为 BaCl_2 浓度 1.17%、温度 41.81°C 、 $\text{pH}4.15$ 。粘度预测值为 $28.96 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 。考虑到实际操作的便利,确定大豆蛋白溶液的 BaCl_2 降粘条件为 BaCl_2 浓度 1.2%、温度 42°C 、 $\text{pH}4.2$ 。为了证实预测的结果,用试验中得到的最佳条件重复试验 3 次,平均蛋白粘度为 $29.3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$,与预测值基本一致,相对误差为 1.17%。表明该方程与实际情况拟合很好,充分验证了所建模型的正确性,表明响应曲面法适用于对大豆蛋白的 BaCl_2 降粘工艺进行回归分析和参数优化。

3 结论

利用试验设计软件 Design Expert,采用响应曲面法建立了大豆蛋白降粘条件的二次多项式数学模型,对各因素对响应值的影响进行了分析。结果表明,模型拟合程度高,试验误差小。优化得到的最佳降粘条件为温度 42°C 、 $\text{pH}4.2$ 、 BaCl_2 浓度 1.2%,在此条件下大豆蛋白粘度可降低至 $29.3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$,与空白样相比降粘率为 95.4%。

参考文献

- [1] 刘艳萍,张洋,章昕,等.豆胶染色杨木胶合板的工艺及性能[J].林业科技开发,2009,23(4):95-97. (Liu Y P, Zhang Y, Zhang X, et al. Study of the manufacturing process and properties of dyed poplar plywood with soybean adhesive[J]. China Forestry Science and Technology, 2009, 23(4): 95-97.)
- [2] 罗永康,潘道东,沈彗星,等.蛋白质浓度、 pH 、离子强度对鲢鱼肌原纤维蛋白粘度的影响[J].食品与发酵工业,2004,30(7):52-54. (Luo Y K, Pan D D, Shen H X, et al. Effects of protein content, pH , ionic strength on the viscosity of silver carp myofibrillar protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2004, 30(7): 52-54.)
- [3] Kalapathy U, Hettiarachchy N S, Myers D. Modification of soy proteins and their adhesive properties on woods [J]. JAOCS, 1995, 72: 507-510.
- [4] 冯凌凌,熊捷.大豆浓缩蛋白粘度与动态粘弹性研究[J].食品与发酵工业,2007,33(12):36-39. (Feng LL, Xiong J. The study on viscosity and dynamic modulus of soy protein concentrate [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(12): 36-39.)
- [5] 王业东,卞科.一种新兴的绿色胶粘剂—浅谈改性植物蛋白基本木材胶粘剂[J].化学与粘合,2003(4):179-181. (Wang Y D, Bian K. A new type of environmentally protective adhesives based on modified plant proteins for wood[J]. Chemistry and Adhesion, 2003(4): 179-181.)
- [6] LI Q H, Caili F. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein [J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 701-706.
- [7] 茆诗松,王静龙,史定华,等.统计手册[M].北京:科学出版社,2003:78-86. (Mao S S, Wang J L, S D H, et al. Statistics Handbook [M]. Beijing: Science Press, 2003: 78-86.)
- [8] 熊子文,罗丽萍,张丽丽.响应面法优化野艾蒿总黄酮的超声波提取工艺[J].食品科学,2010,31(8):38-42. (Xiong Z W, Luo L P, Zhang L L. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total flavonoids from *Artemisia lavandulaefolia* using response surface methodology [J]. Food Science, 2010, 31(8): 38-42.)
- [9] 陈芹芹,李淑燕,杨阳,等.响应面法优化超声波辅助提取苹果籽油的工艺研究[J].中国粮油学报,2010,25(5):52-55. (Chen Q Q, Li S Y, Yang Y, et al. Optimizing ultrasonic-assisted extraction of apple seed oil with response surface methodology [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010, 25(5): 52-55.)
- [10] 杨玲,王振宇.响应面法优化蓝靛果抗氧化成分提取的工艺研究[J].林产化学与工业,2010,30(1):67-72. (Yang L, Wang Z Y. Optimization of the processing parameters for extraction of antioxidants from blackberry using response surface methodology [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(1): 67-72.)
- [11] 王允祥,吕凤霞,陆兆新.杯伞发酵培养基的响应曲面法优化研究[J].南京农业大学学报,2004,27(3):89-94. (Wang Y X, Lv F X, Lu Z X. Optimization of cultivation medium *Clitocybe* sp. AS 5.112 for the extracellular polysaccharide production and mycelial growth by response surface methodology [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2004, 27(3): 89-94.)
- [12] Malhotra A, Coupland J N. The effect of surfactants on the solubility, zeta, potential, and viscosity of soy protein isolates [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18: 101-108.
- [13] 连喜军,鲁晓翔,韩澄,等.大豆分离蛋白浓度和温度对凝胶形成的影响[J].粮油食品科技,2007,15(3):45-47. (Lian X J, Lu X X, Han C, et al. The effect of concentrations and temperature on gelatin formation of soybean separative protein [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2007, 15(3): 45-47.)