

响应面法优化大豆萌动工艺的研究

柴玉华¹, 谢凤英², 潘明喆², 徐 宁², 孙丽娜²

(1. 东北农业大学 工程学院; 2. 东北农业大学 食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为获得大豆萌动的最适工艺参数,以时间、温度、湿度为试验因子,以氨基酸态氮增加量为响应值,在单因素试验的基础上,根据中心组合设计原理采用三因素三水平的响应面分析法进行试验。结果表明:3个因素对氨基酸态氮增加量的影响大小依次为时间>湿度>温度。通过典型性分析得出大豆萌动的最佳工艺条件为:时间13 h、温度30℃、湿度65%。在此条件下,氨基酸态氮增加量的预测值为0.8868%,验证试验氨基酸态氮增加量为0.8898%。

关键词:大豆;萌动;氨基酸态氮;响应面法

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2011)06-1001-04

Optimization for Germination of Soybean using Response Surface Methodology

CHAI Yu-hua¹, XIE Feng-ying², PAN Ming-zhe², XU Ning², SUN Li-na²

(1. Engineering College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030; 2. Food College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: The optimal condition of soybean germination was studied by the central composite rotatable design with three variables including germination time, temperature and relative humidity. The increasing content of amino acid nitrogen was the evaluation index. The results indicated that the effect order of three factors on the increasing content of amino acid nitrogen was as follows: germination time, relative humidity, temperature. The canonical analysis revealed that the optimal conditions of germination was 13 h, 30℃ and 65% relative humidity. Under optimal conditions, the predicted increasing content of amino acid nitrogen was 0.8868%, whereas, the verification experimental result was 0.8898%.

Key words: Soybean; Germination; Amino acid nitrogen; Response surface methodology

近年来,豆类被广泛开发利用,豆类食品深受人们青睐^[1]。大豆是人们最常选择的蛋白质资源,其氨基酸组成较为全面,含有人体全部所必需的8种氨基酸,属于优质蛋白。氨基酸含量是评价蛋白质质量的重要指标,人们摄入大豆以后,经过分解,重新组合成人体的蛋白质时,其真正利用率不到60%,原因在于大豆蛋白中蛋氨酸的缺乏。因此,选择适宜的处理方式对大豆种子进行处理,提高其蛋白质消化率具有重要的实践指导意义。Sannia等^[2]的研究表明,大豆萌发期间由于种子发芽时种子内部代谢调控的要求,物质的存贮和运输变化活跃,蛋白质和氨基酸含量变化较大,大豆的营养价值会有所提高。

现选择 Box-Behnken 设计和响应面分析方法^[3,4],研究时间、温度和湿度对氨基酸态氮含量的影响以及它们之间的交互作用,从而确定大豆萌动的工艺参数,以期为大豆萌动发酵食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

大豆品种东农42由东北农业大学大豆研究所提供;氢氧化钠、甲醛等试剂均为分析纯。

1.2 仪器设备

JA1003 电子天平,上海天平仪器厂;PRX-450D 智能人工气候箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;DRP-9162 电热恒温培养箱,上海森信实验仪器有限公司;ZD-2 型自动电位滴定仪,上海伟业仪器厂;L-8800 型氨基酸分析仪,日立公司。

1.3 样品处理

挑选饱满、无霉变,豆粒完整的大豆种子,清洗,加入自来水(为大豆重量6倍),于室温条件下浸泡12 h后取出,在相应的条件下置于智能人工气候箱中萌动,萌动后于100℃蒸煮10 min灭酶活,粉碎,备用。

1.4 测定方法

水分含量测定:GB/T5009.3-2003;游离氨基酸含量测定:甲醛滴定法^[5,6];可溶性蛋白质含量的测

收稿日期:2011-08-22

基金项目:哈尔滨市科技攻关计划资助项目(2009AA6BN032)。

第一作者简介:柴玉华(1965-),女,教授,博士生导师,主要从事模式识别与智能控制方向的研究。E-mail: yhcchai@163.com。

定:双缩脲法。

1.5 数据分析

应用 Mintab15.0 软件处理数据。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 萌动时间对氨基酸态氮含量的影响 取浸泡 12 h 后的豆种,分别在室温下放置 3.0、6.0、9.0、12.0、15.0 h 后,测定其氨基酸态氮含量,并以 0 时刻为空白,计算氨基酸态氮的增加量。由图 1 可以看出,随着萌动时间的延长氨基酸态氮含量逐渐增加,到 12 h 之后氨基态氮含量变化不大。原因在于种子在萌发过程中,蛋白酶活性的强弱直接决定氨基酸态氮的含量,在萌动前期主要为种子发育过程中产生的肽酶在起作用,而后期种子萌发过程中产生的肽酶也参与到该生理活动中,致使氨基酸态氮含量有所减小^[7-8]。

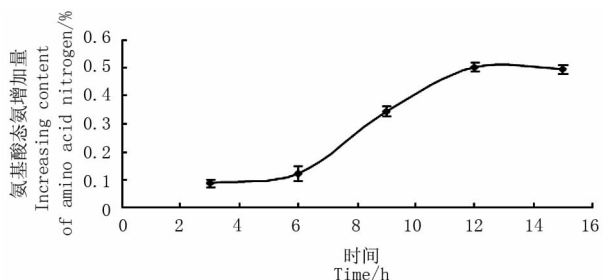


图 1 萌动时间对氨基酸态氮含量的影响

Fig.1 Effects of germinating time on the content of amino acid nitrogen

2.1.2 萌动温度对氨基酸态氮含量的影响 取浸泡 12 h 后的豆种,分别在温度为 20、25、30、35、40℃ 条件下放置 12 h 后,测定其氨基酸态氮的含量,并以 0 时刻为空白,计算氨基酸态氮的增加量。由图 2 可知,随着萌动温度的升高氨基酸态氮含量逐渐增加,当温度到达 30℃ 之后氨基态氮含量减小并出现异味。其原因可能是由于内肽酶的活性受温度调节,温度过高时抑制了酶的活性^[9]。

2.1.3 萌动湿度对氨基酸态氮含量的影响 取浸泡 12 h 后的豆种,分别于湿度为 30%、50%、60%、70%、90% 条件下放置 12 h 后,测定其氨基酸态氮的含量,并以 0 时刻为空白,计算氨基酸态氮的增加量。由图 3 可知,随着萌动湿度的增大氨基酸态氮含量逐渐增加,当湿度到达 70% 之后氨基态氮含量减小。其原因为种子贮藏物质在酶的作用下转化成小分子物质,这些物质一方面为胚生长提供养分,另一方面又能改变细胞的渗透势,促进胚根的伸长和突破种皮。而这 2 种作用均受到环境湿度的影响^[10]。

2.2 响应面法优化大豆萌动的工艺条件

2.2.1 响应面分析方案及结果 按照 Box-Behnken

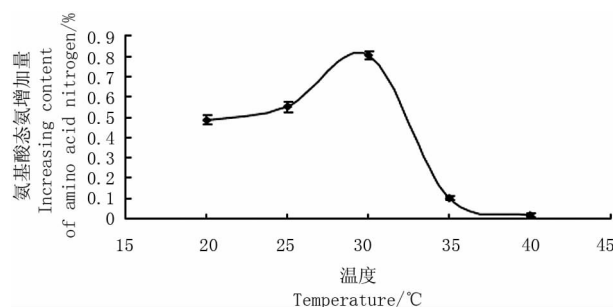


图 2 萌动温度对氨基酸态氮含量的影响

Fig.2 Effects of germinating temperature on the content of amino acid nitrogen

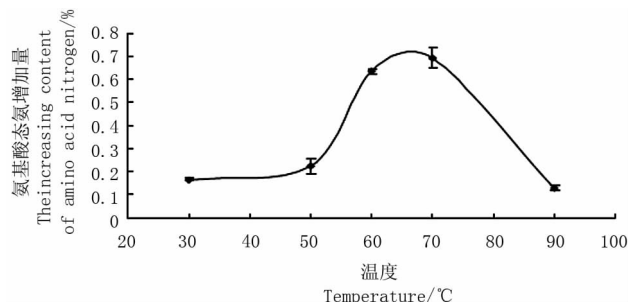


图 3 萌动湿度对氨基酸态氮含量的影响

Fig.3 Effects of relative humidity on the content of amino acid nitrogen

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Analytical factors and levels for RSA

试验因素 Factor	水平与编码 level and code		
	-1	0	1
时间 Time(X_1)/h	10	12	14
温度 Temperature(X_2)/℃	25	30	35
湿度 Humidity(X_3)/%	60	65	70

表 2 响应面分析方案及试验结果

Table 2 Program and experimental results of RSA

序号 No	X_1 时间 Time/h	X_2 温度 Temperature/℃	X_3 湿度 Relative humidity/%	Y 氨基酸态氮的增加量 Increasing content of amino acid nitrogen/%
1	1	0	10	0.8138
2	0	0	0	0.8493
3	0	1	-1	0.7420
4	-1	1	1	0.5980
5	0	1	1	0.7638
6	0	-10	1	0.7160
7	-1	0	-1	0.5893
8	1	-1	0	0.8338
9	0	0	0	0.8421
10	-1	0	1	0.5258
11	-1	-1	0	0.5470
12	0	-1	-1	0.6918
13	0	-1	0	0.8457
14	1	0	-1	0.8238
15	1	1	0	0.6548

试验设计,采用响应面法建立一个模型来优化大豆萌动的工艺条件。试验设计见表 1,响应值见表 2。

用 Mintab15.0 软件对表 2 数据进行二次多元回归拟合,得到氨基酸态氮的增加量 Y 对 X_1 、 X_2 、 X_3

的二次多项回归方程:

$$Y = 0.845713 + 0.125637X_1 + 0.013625X_2 - 0.003437X_3 - 0.096394 X_1^2 - 0.056169X_2^2 - 0.061144X_3^2 - 0.022750X_1X_2 + 0.013375 X_1X_2 - 0.000600 X_2X_3$$

通过 Matlab15.0 软件对上述方程进行求解,得到大豆萌动的最佳条件为:时间为 13.3131 h,温度为 29.9495℃,湿度为 65.2525%,氨基酸态氮增加量的理论值为 0.8868%。

由表 3 可知,方程一次项中 X_1 极显著因素, X_2 与 X_3 均为显著因素,方程二次项均为极显著因素, X_1 与 X_2 交互作用显著,其余交互项均不显著。

表 3 回归系数显著性分析
Table 3 Analysis of significance for regression coefficient

变异来源 Source of variation	系数 Coefficient	标准差 Std	T 值 T value	P 值 P value	显著性 Significance
Model	0.845713	0.014038	60.244	0.000	**
X_1	0.125637	0.008597	14.615	0.000	**
X_2	0.013625	0.008597	1.585	0.044	*
X_3	-0.003437	0.008597	-0.400	0.016	*
X_1X_1	-0.096394	0.012654	-7.618	0.001	**
X_2X_2	-0.056169	0.012654	-4.439	0.007	**
X_3X_3	-0.061144	0.012654	-4.832	0.005	**
X_1X_2	-0.022750	0.012157	-1.871	0.020	*
X_1X_3	-0.013375	0.012157	1.100	0.321	—
X_2X_3	-0.000600	0.012157	-0.049	0.963	—

由表 4 可知,多元回归关系显著(相关系数 $R^2=98.41\%$),失拟项 $P=0.063$ 不显著,方程拟合充分,回归方程高度显著。

表 4 回归方程检验结果
Table 4 Test result of significance for regression coefficient

项目 Source	自由度 df	平方和 Sum of squares	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
回归项 Total model	9	0.183208	0.020356	34.43	0.001
一次项 Linear	3	0.127858	0.042619	72.09	0.000
二次项 Quadratic	3	0.052562	0.017521	29.64	0.001
交互项 Corss product	3	0.002787	0.000929	1.57	—
残差 Residual	5	0.002956	0.000591	—	—
失拟项 Lack of fit	3	0.002930	0.000977	75.36	0.063
纯误差 Pure error	2	0.000026	0.000013	—	—
总变异 Cor total	14	0.186164	—	—	—
R^2	—	—	—	—	98.41%

2.2.2 RSM 分析各因素对氨基态氮增加量的影响
因素 为了形象地描述各个因素对响应值的影响,将建立的回归模型中的任一因素固定在零水平,得到另外 2 个因素的交互影响结果,二次回归方程的响应面及其等高线如图 4~6 所示。

从图中可以直观地反映各因素对响应值的影响,找出最佳工艺参数以及各参数之间的相互作用,从响应面的最高点和等高线可以看出在所选的范围存在极值,响应面的最高点同时也是等高线中的最小椭圆的中心点。在温度与湿度的交互作用等高线中,沿与温度、湿度轴向等高线变化相同,说明温度、湿度对响应值峰值的影响相同;在湿度

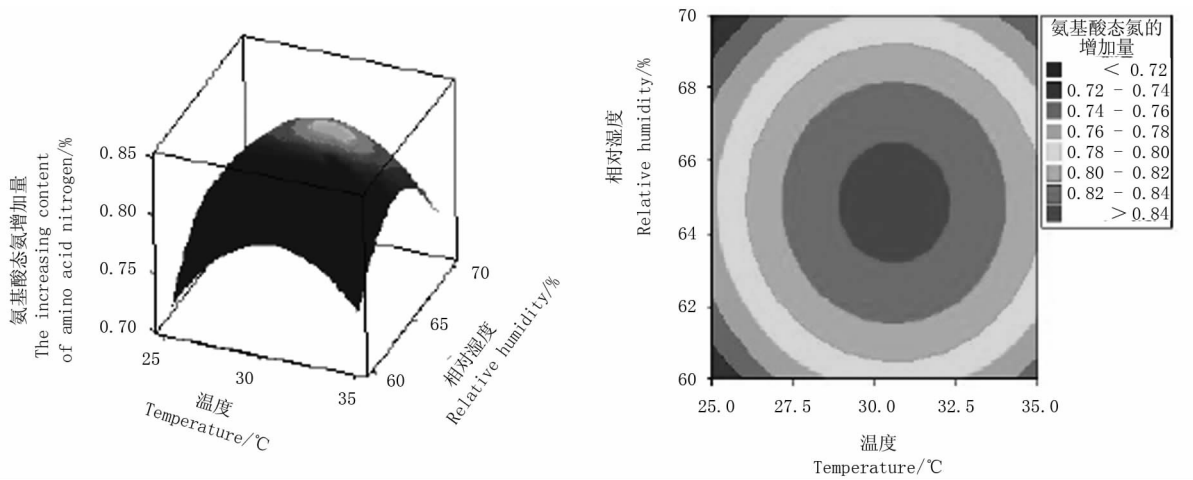


图 4 氨基酸态氮与温度、湿度的曲面图和等高线图
Fig.4 Response surface diagrams and contour line maps for amino acid nitrogen,temperature and relative humidity

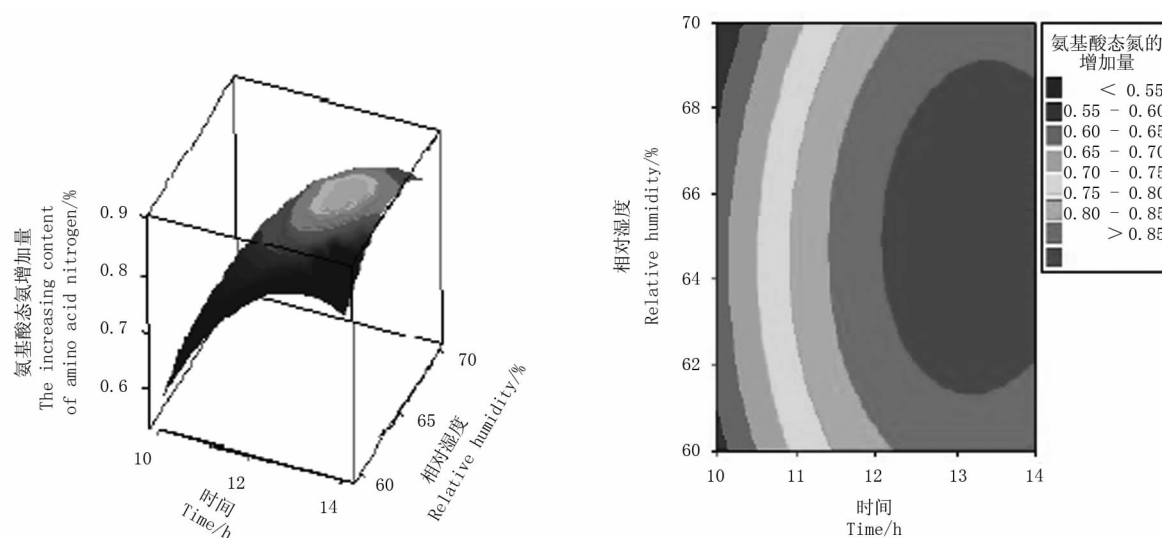


图5 氨基酸态氮与湿度、时间的曲面图和等高线图

Fig. 5 Response surface diagrams and contour line maps for amino acid nitrogen, relative humidity and time

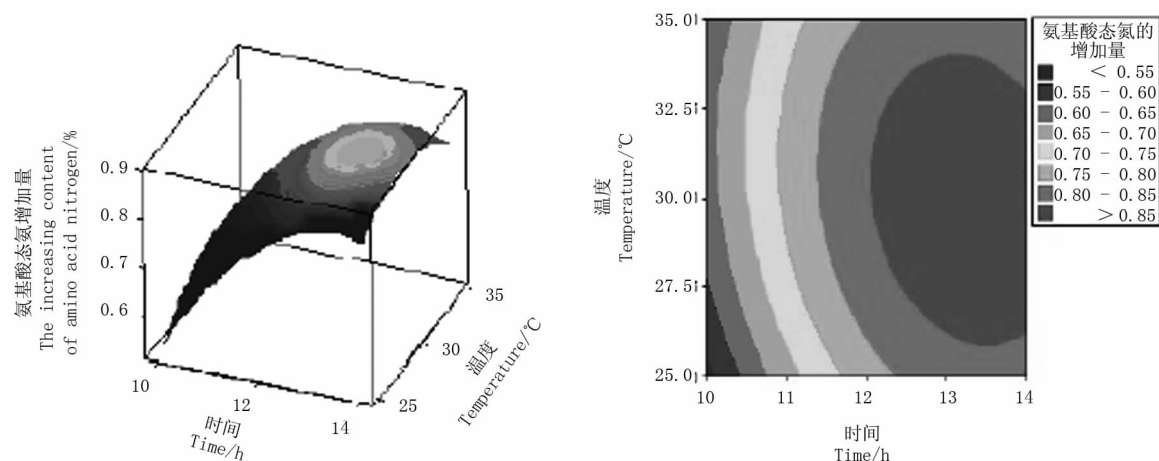


图6 氨基酸态氮与温度、时间的曲面图和等高线图

Fig. 6 Response surface diagrams and contour line maps for amino acid nitrogen, temperature and time

与时间交互作用等高线中,等高线密度沿时间轴方向略大于湿度轴方向,说明湿度和时间的交互作用中,时间对响应值峰值的影响大于湿度;在温度与时间交互作用等高线中,等高线密度沿时间轴方向略大于温度轴方向,说明温度和时间的交互作用中,时间对响应值峰值的影响大于温度。

2.2.3 大豆萌动最佳条件的确定和试验验证 通过 Minitab15.0 软件对大豆萌动最佳条件进行优化,考虑到实际操作的便利,将最佳工艺参数修正为:时间 13 h,温度 30℃,湿度 65%。在此条件下进行试验,氨基酸态氮的增加量为 0.8898%,可溶性蛋白质的增加量为 1.77%。

3 结 论

大豆萌动期间,时间、温度和湿度 3 个试验因子对氨基酸态氮增加量的影响大小依次为时间 > 湿度 > 温度。通过三因素三水平的响应面法进行

试验,确定大豆萌动的最佳工艺条件为:时间 13 h、温度 30℃、湿度 65%。在此条件下,氨基酸态氮增加量的预测值为 0.8868%,验证试验氨基酸态氮增加量为 0.8898%。

参考文献

- [1] Bourquin L D, Titgemeyer E C, Fahey G C. Fermentation of various dietary fiber sources by human fecal bacteria [J]. Nutrition Research, 1996, 16 (7): 1119-1131.
- [2] Sanni A I, Ibadapo O T. Physicochemical characteristics of weaning food formulated from different blends of cereal and soybean [J]. European Food Research and Technology, 1999, 208 (3): 221-224.
- [3] 杨文雄, 高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用 [J]. 中国食品添加剂, 2005 (2): 68-71. (Yang W X, Gao Y X. Response surface methodology & its application in food industry [J]. China Food Additives, 2005 (2): 68-71.)

(下转第 1010 页)

- Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 1693-1699.
- [5] Toda K, Chiba K, Ono T. Effect of components extracted from Okara on the physicochemical properties of soymilk and tofu texture [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(2): C108-C113.
 - [6] Riha W E, Izzo H V, Zhang J. Nonenzymatic deamidation of food proteins[J]. Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1996, 36(3): 225-255.
 - [7] Suh H J, Whang J H, Suh D B, et al. Preparation of Angiotensin I converting enzyme inhibitory from corn gluten [J]. Process Biochemistry, 2003, 38: 1239-1244.
 - [8] Chan W M, Ma C Y. Acid modification of proteins from soymilk residue (Okara) [J]. Food Research International, 1999, 32: 119-127.
 - [9] 包小兰. 大豆肽与钙结合形成可溶性复合物的机制及其稳定性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2007. (Bao X L. The forming mechanism and stability of the soluble complexes during calcium binding by soybean peptides [D]. Beijing: China Agricultural University, 2007.)
 - [10] Lorenzo C, Alessandra B, Maria T R E, et al. Microwave heating of different commercial categories of olive oil; Part II. Effect on thermal properties [J]. Food Chemistry, 2009, 115(4): 1381-1388.
 - [11] 周楠迪, 陈坚, 郑美英, 等. 谷氨酰胺转氨酶的功能性质及其在食品中的应用方法 [J]. 中国食品添加剂, 2000(1): 54-59. (Zhou N D, Chen J, Zheng M Y. Functional properties and application in food industry of transglutaminase [J]. China food additives, 2000(1): 54-59.)
 - [12] Kato A, Tanaka A, Matsudomi N, et al. Deamidation of food proteins by protease in alkaline pH [J]. Journal of Agriculture Food Chemistry, 1987, 35: 224-227.
 - [13] 易翠平, 姚惠源. 酸法脱酰胺对大米蛋白分子间作用力和二级结构的影响 [J]. 中国粮油学报, 2007, 22(3): 1-5. (Yi C P, Yao H Y. Intermolecular forces and secondary structure of acid-deamidated rice protein [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2007, 22(3): 1-5.)
 - [14] Malaki N A, Tosh S, Poysa V, et al. Physicochemical characterization of soymilk after step-wise centrifugation [J]. Food Research International, 2008, 41(3): 286-294.
 - [15] Akio O, Masaru M. Decrease in the gel strength of tofu caused by enzyme reaction during soybean grinding and its control [J]. Bio-science, Biotechnology & Biochemistry, 1993, 57(4): 542-545.
 - [16] 吕艳春. 豆乳风味平衡体系变化规律的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2010. (Lv Y C. Study on the equilibrium change of beany flavors and non-beany flavors in soymilk [D]. Beijing: China Agricultural University, 2010.)
 - [17] Kobayashi A, Tsuda Y, Hirata N, et al. Aroma constituents of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] milk lacking lipoxygenase isozymes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(9): 2449-2452.
 - [18] Guo S T, Ono T, Mikami M. Interaction between protein and lipid in soybean milk at elevated temperature [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1997, 45: 4601-4605.
 - [19] Ren C G, Tang L, Zhang M, et al. Interactions between whey soybean protein (WSP) and beta-conglycinin (7S) during the formation of protein particles at elevated temperatures [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 936-941.
 - [20] 任晨刚. 豆乳中蛋白粒子的结构特征及其修饰技术研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2009. (Ren C G. Structural characterization and modification technology of protein particles in soy milk [D]. Beijing: China Agricultural University, 2009.)
 - [21] Li D, Zhao X H. Deamidation of soybean proteins with glutaminase to improve their rheological properties [J]. Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 7: 918-921.
 - [22] 黄伟. 微波辐射-酶耦合催化 (MIECC) 效应的研究--微波辐射对反应机制、动力学和区域选择性的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2005. (Huang W. Investigation on microwave irradiation-enzyme coupling catalysis-effect of microwave irradiation on reaction mechanism [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2005.)

(上接第 1004 页)

- [4] 郭树琴, 吴胜举, 李岱. 响应面法优化超声提取绿茶多酚工艺 [J]. 生物加工过程, 2009, 7(1): 39-43. (Guo S Q, Wu S J, Li D. Optimization of ultrasonic extraction of tea polyphenols from green tea by response surface methodology [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2009, 7(1): 39-43.)
- [5] 张水华. 食品分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 98-102. (Zhang S H. Food Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2009: 98-102.)
- [6] 张敏, 高秀丽, 鲍鹏. 大豆与豆粕中游离氨基酸总量测定 [J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(5): 418-419, 423. (Zhang M, Gao X L, Bao P. The Determination of total amounts of free amino acids in fermented and un-fermented soybean [J]. Journal of Guiyang Medical College, 2006, 31(5): 418-419, 423.)
- [7] 杨铭铎, 陈健, 张晓宇, 等. 大豆发芽工艺条件的优化 [J]. 食品科学, 2010, 31(20): 97-100. (Yang M D, Chen J, Zhang X Y, et al. Optimization of germination conditions for soybean [J]. Food Science, 2010, 31(20): 97-100.)
- [8] 张永清, 顾振新, 张颖, 等. 豆芽生产中大豆浸泡条件与吸水率和发芽率的关系研究 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28(11): 26-29. (Zhang Y Q, Gu Z X, Zhang Y, et al. Study on sucked water rate and sprout rate associated with soaking condition in soybean sprouts production [J]. Food Research and Development, 2007, 28(11): 26-29.)
- [9] 李新华, 刘星波. 大豆发芽过程中酶的含量变化及营养变化研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 140-151. (Li X H, Liu X B. Study on changes of enzyme and nutrition during the processing of soybean germination [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(10): 140-151.)
- [10] 王莘, 王艳梅, 闵卫红, 等. 大豆萌发期功能性营养成分测定与分析 [J]. 中国粮油学报, 2003, 18(4): 30-32. (Wang X, Wang Y M, Min W H. Analysis and determination of functional nutrition composition in soybean during sprouting period [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2003, 18(4): 30-32.)