

## 碱溶酸沉法提取大豆蛋白条件的优化

李淑芬<sup>1</sup>, 胡敏<sup>2</sup>

(1. 东北师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130024; 2. 大庆师范学院 生命科学学院, 黑龙江 大庆 163712)

**摘要:**以大豆为材料,采用碱溶酸沉法提取大豆蛋白。分别通过单因素试验和正交试验对固料比、碱溶 pH、酸沉 pH、碱溶温度和碱溶时间进行优化。最终确定最佳工艺为固料比 1:10、酸沉 pH4.5、碱溶 pH9.5、碱溶时间 50 min、碱溶温度 45℃。在此条件下,大豆蛋白的提取得率达 25.88%。

**关键词:**大豆蛋白;碱溶酸沉法;优化

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2014)02-0274-03

## Optimization of Soybean Protein Extraction by Alkali Soluble Acid Sinking Method

LI Shu-fen<sup>1</sup>, HU Min<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 2. College of Life Science, Daqing Normal University, Daqing 163712, China)

**Abstract:** Soybean protein was extracted from soybean seed powder using alkali soluble and acid sinking method. The extracting conditions including the ratio of material to water, alkali-soluble pH, acid precipitation pH, temperature and alkali-soluble time were optimized by single-factor experiment and orthogonal test. Results showed the optimum condition were as follows: the ratio of solid material to water was 1:10, acid precipitation pH was 4.5, alkali-soluble pH was 9.5, alkali-soluble time was 50 min and the alkali solution temperature was 45℃. In this case, the extraction rate of soybean protein reached 25.88%.

**Key words:** Soybean protein; Alkali solution and acid; Optimization

大豆蛋白具有良好的功能特性和高蛋白营养性,被广泛应用于食品行业。在生产过程中有效地提高大豆蛋白的得率,对于减少成本、提高效益十分重要<sup>[1-3]</sup>。

目前,在大豆深加工领域,大豆蛋白的主要提取方法为碱溶酸沉法,相关学者<sup>[4-6]</sup>对大豆蛋白提取工艺中的单因素,例如碱溶 pH、碱溶时间及碱溶温度进行了较全面的探究。由于碱溶酸沉法具有成本低、技术水平要求低等特点,国内外仍然以此作为提取大豆蛋白主要方法。本文采用碱溶酸沉法对大豆蛋白提取的条件进行优化,以获得最佳方案,为提高企业效益、降低企业成本提供系统性的参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

优良大豆品种(大庆市长青集市售);NaOH、HCl、邻苯二甲酸氢钾及硼酸均为分析纯。

#### 1.2 试验仪器

Mettler AE240 电子分析天平(梅特勒·托利多仪器(上海)有限公司),FA-1104 万能粉碎机(常州市博兰特干燥设备有限公司),DHG-9245A 电热恒温鼓风干燥器(江苏江分电分析仪器有限公司),LNK-凯氏定氮快速自动蒸馏器(上海一恒科技有

限公司),HDK-4 恒温定时控制仪(广州市电晟电子科技有限公司),TDZ5-WS 低速多管架自动平衡离心机(上海谊德实业发展有限公司),LNK-872 型多功能快速消化器(郑州长城科工贸有限公司)。

#### 1.3 方法

1.3.1 大豆蛋白提取的单因素试验 选择成熟、干燥、饱满的大豆籽粒,将足量大豆研磨成粉末,将大豆粉进行干燥至恒重。用分析天平称取 1 g 大豆粉置于锥形瓶中,编号,按照一定固料比加入蒸馏水,进行溶解搅拌。用 1.0 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液调节其 pH。将锥形瓶放入适宜温度的摇床中,振荡一定时间。振荡后用离心管将溶液转移到其中进行离心,转速为 4 000 r·min<sup>-1</sup> 时间 10 min,离心完毕,取上清液保存于上步中的锥形瓶中。将离心后的沉淀物重复以上实验,获上清液,分别按编号将 2 次上清液合并。用 1.0 mol·L<sup>-1</sup> HCl 溶液调节上清液至 pH 4.5。然后在 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,离心后弃掉上清液,沉淀物即为提取得到的大豆蛋白粗提物,最后进行干燥。

按照以上步骤对固料比、酸沉 pH、碱溶 pH、碱溶时间、碱溶温度分别进行试验。

1.3.2 大豆蛋白提取的正交试验 对固料比、碱溶时间、碱溶温度、碱溶 pH 4 进行 4 因素 3 水平正交

收稿日期:2013-09-29

第一作者简介:李淑芬(1988-),女,在读硕士,主要从事学科教学(生物)中学教学。E-mail:shufendajie@163.com。

试验,进而确定大豆蛋白的最佳提取方案。

#### 1.4 数据分析

利用 SPSS 16.0 进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

**2.1.1 固料比** 在碱溶温度 45℃, 碱溶时间 60 min, 酸沉 pH4.5, 碱溶 pH9.5 条件下, 将固料比设为 1:6、1:8、1:10、1:12、1:14 进行提取, 蛋白质得率如图 1 所示。

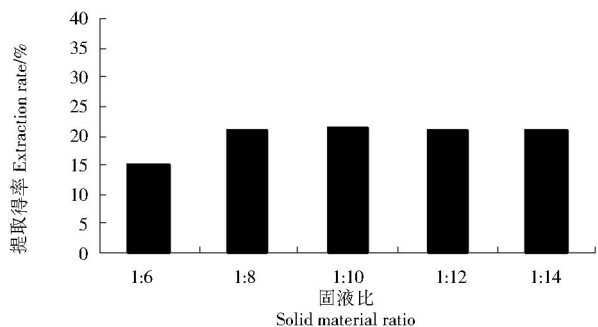


图 1 固料比对蛋白质提取得率的影响

Fig. 1 Effect of solid material ratio on the extraction rate of protein

由图 1 可知, 随着固液比的增加, 蛋白质提取得率也随之增加, 当固料比高于 1:10 后, 蛋白得率基本稳定。加水量过多, 酸沉时大豆蛋白提取溶液中溶解的球蛋白量就会增加, 此时蛋白的损失量也就随之增高, 蛋白质得率反而下降; 加水量过少, 大豆蛋白的溶出率就会大大下降。从经济角度考虑, 最佳固料比为 1:10。

**2.1.2 碱溶 pH** 取碱溶温度 45℃, 碱溶时间 60 min, 酸沉 pH 为 4.5, 固料比为 1:10, 按碱溶 pH 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 进行提取, 蛋白质得率如图 2 所示。

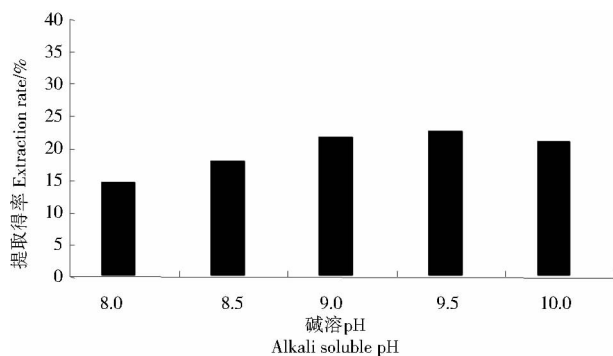


图 2 碱溶 pH 对蛋白质提取得率的影响

Fig. 2 Alkali soluble pH value on extraction yield of protein

由图 2 可见, 随着 pH 的升高, 蛋白质提取得率提高。但 pH 不适合太高, 当 pH 大于 9.5 时, 蛋白

质对水的亲和性增加, 从而一部分非水溶性蛋白转变为水溶性蛋白, 同时, pH 改变了蛋白质分子表面的带电荷状况, 因碱性太强而引起脱羧、脱氨、脱赖反应、肽键断裂, 把氨基酸转变为有毒化合物。在强碱条件下, 大豆蛋白的 7S 和 11S 组分因碱水解引起消旋作用, 且生成具有特异毒性物质而丧失食用价值<sup>[7]</sup>。所以最佳碱溶 pH 为 9.5。

**2.1.3 碱溶时间** 取碱溶温度 45℃, 酸沉 pH 为 4.5, 碱溶 pH9.5, 固料比为 1:10, 按碱溶时间为 30, 40, 50, 60, 70 min 进行提取, 蛋白质得率如图 3 所示。

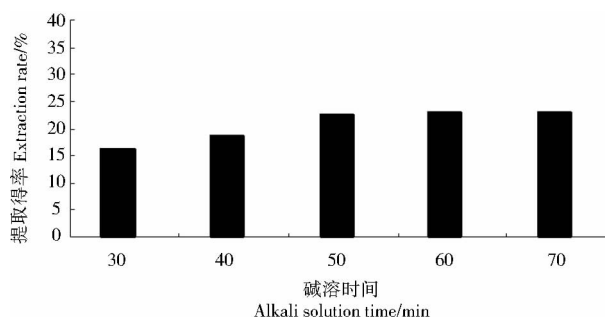


图 3 碱溶时间对蛋白质提取得率的影响

Fig. 3 Alkali solution time on extraction yield of protein

由图 3 可知, 在一定条件下, 浸提时间越长, 蛋白质溶出率越高, 提取得率越高。当浸提时间超过 50 min 时, 蛋白质提取得率受浸提时间的延长的影响很小, 此时, 蛋白质的溶出率不是很明显, 提取率变化不大。故碱溶时间不宜超过 50 min。

**2.1.4 碱溶温度** 取酸沉 pH 为 4.5, 碱溶 pH9.5, 碱溶时间 60 min, 固料比为 1:10, 碱溶温度为 35, 40, 45, 50, 55℃ 进行提取, 蛋白质得率如图 4 所示。

由图 4 可知, 大豆蛋白的溶解度受温度的高低的影响较大。通常情况下, 温度高于 55℃ 时蛋白质开始变性, 影响产品的功能性, 而且黏度增加, 分离困难, 浸提消耗能量也增加, 因此其他因素相同最佳碱溶温度为 45℃。

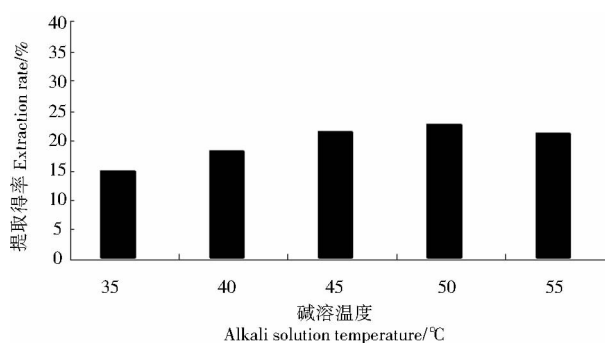


图 4 碱溶温度对蛋白质提取得率的影响

Fig. 4 Alkali solution temperature on protein extraction

2.1.5 酸沉 pH 取碱溶温度 45℃,碱溶 pH9.5,碱溶时间 60 min,固料比为 1:10,酸沉 pH3.5,4.0,4.5,5.0,5.5 进行提取,蛋白质得率如图 5 所示。

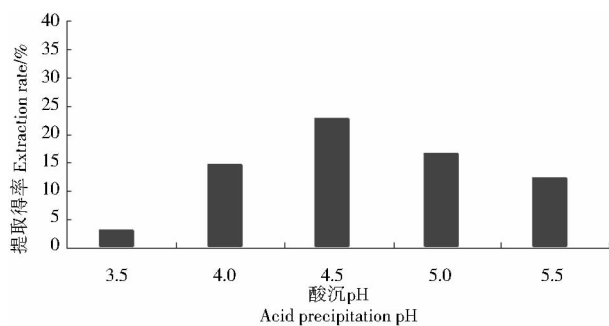


图 5 酸沉 pH 对蛋白质提取得率的影响

Fig.5 Acid precipitation pH on extraction yield of protein

由图 5 可知,随着酸沉 pH 的增加,大豆蛋白质得率先增加后降低,并在 pH4.5 时最高。所以最佳酸沉 pH 为 4.5。

## 2.2 正交试验

根据单因素试验结果,对影响大豆蛋白质提取得率的固液比、碱溶温度、碱溶 pH、碱溶时间进行 4 因素 3 水平正交试验(表 1),由表 2 可以看出,影响大豆蛋白提取率的因素由大到小的次序依次为碱溶时间、固液比、碱溶 pH、碱溶温度;大豆蛋白提取的最佳工艺条件为  $A_2B_2C_3D_2$ ,即固料比 1:10、碱溶温度 45℃、碱溶 pH9.5、碱溶时间 50 min、酸沉 pH4.5。在此情况下,测得大豆蛋白提取得率最高为 25.88% 时,大豆蛋白提取率可达 79.29%。

表 1 正交试验的水平及因素

Table 1 Levels and factors of orthogonal test

水平 Levels	因素 Factors			
	A	B	C	D
	固液比 Solid material ratio	碱溶温度 Alkali solution temperature/℃	碱溶 pH Alkali-soluble pH	碱溶时间 Alkali-soluble time/min
1	1 : 8	40	8.5	40
2	1 : 10	45	9.0	50
3	1 : 12	50	9.5	60

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

序号 No.	固液比 Solid material ratio	碱溶温度 Alkali solution temperature/℃	碱溶 pH Alkali-soluble pH	碱溶时间 Alkali-soluble time /min	蛋白质得率 The extraction rate of soy protein/%
1	1	1	1	1	17.27
2	1	2	2	2	24.63
3	1	3	3	3	22.78
4	2	1	2	3	22.79
5	2	2	3	1	25.64
6	2	3	1	2	24.74
7	3	1	3	2	23.81
8	3	2	1	3	20.25
9	3	3	2	1	17.93
均值 1 Average 1	21.560	21.290	20.753	20.280	
均值 2 Average 2	24.390	23.507	21.783	24.393	
均值 3 Average 3	20.663	21.817	24.077	21.940	
极差 Range	3.727	2.217	3.324	4.113	

## 3 结 论

试验考察了利用碱溶酸沉法提取大豆蛋白最佳工艺,最佳工艺为固料比 1:10、碱溶温度 45℃、碱

溶 pH9.5、碱溶时间 50 min、酸沉 pH4.5。根据最佳工艺对大豆蛋白进行提取,大豆蛋白提取得率可达到 25.88%。

(下转第 280 页)

表 5 不同干燥温度对膜性能的影响

Table 5 Response of film's function to different temperature

温度 Temperature /℃	水溶率 WSR /%	透光率 LT /%	抗拉强度 TS /MPa	伸长率 ER /%	水蒸气转移速率 WVTR /g·cm·cm <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup> ·Pa <sup>-1</sup>	过氧化值 POV /Meq·kg <sup>-1</sup>
40	36.3 ± 3.8	35.4 ± 2.7	3.8 ± 0.3	111.7 ± 3.2	8.1 ± 1.4	35.5 ± 1.7
60	34.6 ± 4.1	63.7 ± 4.6	4.6 ± 0.2	126.3 ± 3.4	8.2 ± 3.4	36.6 ± 1.2
80	36.5 ± 3.8	63.4 ± 5.0	5.2 ± 0.3	94.7 ± 2.1	8.5 ± 2.1	37.0 ± 2.1

### 3 结 论

以木聚糖和大豆分离蛋白为基料制备可食性复合膜,通过比较膜的性能,得到最佳制备工艺为:木聚糖和大豆分离蛋白比例为 8:2 (W/W),甘油为增塑剂,用量为 5%,成膜液 pH9,膜液干燥温度为 60℃。

### 参考文献

- [1] 陈荔红,郑宝东. 多糖类可食性膜的研究进展[J]. 农产品加工,2008(11):35-38. (Cheng L H,Zheng B D. The research progress of polysaccharide edible film[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing,2008(11):35-38.)
- [2] 宗时. 利用酪蛋白制可食性包装膜[J]. 中国包装工业,2007(1):14-15. (Zong S. To manufacture edible packaging film by using casein[J]. China Packaging Industry,2007(1):14-15.)
- [3] 梁锦丽. 可食性膜在果蔬保鲜中的应用[J]. 农村新技术,2010(22):24-26. (Liang J L. The application of edible membrane in fresh fruits and vegetables[J]. New Rural Technology,2010(22):24-26.)
- [4] 林松毅. 可食性保鲜膜应用现状分析[J]. 吉林工程技术师范学院学报,2004,20(6):52-54. (Lin S Y. The analysis of situation of edible film application[J]. Journal of Jilin Teachers Institute of Engineering and Technology,2004,20(6):52-54.)
- [5] 刘琳. 可食性抗菌膜在肉类食品保鲜中的应用[J]. 肉类研究,2007(12):44-47. (Liu L. Application of edible antimicrobial film in meat preservation[J]. Meat Research,2007(12):44-47.)
- [6] 师雯. 可食性膜在包装中的应用[J]. 中国包装工业,2006(4):42-44. (Shi W. The application of edible membrane in packaging[J]. China Packaging Industry,2006(4):42-44.)
- [7] 安晓琼,李梦琴,张剑,等. 食性膜改性研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(21):6583-6584. (An X Q,Li M Q,Zhang J,et al. The modication research of the edible membrane[J]. Anhui Agricultural Science,2007,35(21):6583-6584.)
- [8] 张赞彬,江娟. 可食膜的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2010,191-198. (Zhang Y B,Jiang J. The process of edible film research[J]. China's Food Additives,2011(1):191-198.)
- [9] 朱选,许时婴,王璋. 可食用膜的通透性及其应用[J]. 食品与发酵工业,1997,23(3):50-55. (Zhu X,Xu S Y,Wang Z. The permeability and its application of edible membrane[J]. Food and Fermentation Industries,1997,23(3):50-55.)
- [10] 陈雪,邹锁柱,曾荣妹. 用普鲁兰酶改进淀粉膜质量的研究[J]. 食品工业科技,2002,23(10):20-22. (Chen X,Zou S Z,Zeng R M. The research of improving quality of starch film with pullulan enzymes[J]. Science and Technology of Food Industry,2002,23(10):20-22.)
- [11] Abdellatif M,Jingyuan X. Effect of ionic strength and pH on the thermal and rheological properties of soyprotein-amylopectin blend[J]. Food Chemistry,2003,83(2):227-236.

(上接第 276 页)

### 参考文献

- [1] 朱峰. 生产中影响大豆蛋白分离得率因素的分析[J]. 粮食加工,2007,32(6):52. (Zhu F. Analysis of soybean protein isolated yield factors in production[J]. Food Processing,2007,32(6):52.)
- [2] 张海生. 浅析我国大豆产业现状及发展对策[J]. 农产品加工·创新版,2012(1):51. (Zhang H S. Soybean industry status and development strategies of Chinese[J]. The Processing of Agricultural Products·New Edition,2012(1):51.)
- [3] 郭心义. 我国大豆蛋白生产现状及前景展望[J]. 粮油加工与食品机械,2004(3):13. (Guo X Y. The current status and Prospect of soybean production in China[J]. Food and Machinery,2004(3):13.)
- [4] 王晓强,李桂菊,解晓燕,等. 大豆蛋白质提取工艺中碱溶 pH 值的简单效应分析[J]. 现代农业科技,2010(22):349-350. (Wang X Q,Li G J,Xie X Y,et al. The analysis of simple effect in extraction process of alkali soluble pH value of soybean protein[J]. Modern Agricultural Science and Technology,2010(22):349-350.)
- [5] 刘顺湖,李桂菊,王晓强,等. 大豆蛋白质提取工艺中酸沉 PH 值的简单效应分析[J]. 济宁学院学报,2010,31(6):50-52. (Liu S H,Li G J,Wang X Q,et al. Soybean protein extraction in the process of analysis of simple effects of acid precipitation pH[J]. Journal of Jining University,2010,31(6):50-52.)
- [6] 李桂菊,王晓强,何启刚,等. 碱溶时间对大豆蛋白提取率和得率的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(4):2292-2293. (Li G J,Wang X Q,He Q G,et al. Effects of rate and yield of soybean protein extraction of alkali soluble time[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2011,39(4):2292-2293.)
- [7] 邵佩兰,徐明. 提取大豆分离蛋白的工艺研究[J]. 粮油加工与食品机械,2005(9):47-51. (Shao P L,Xu M. Study on the extraction technology of soybean protein isolate[J]. Food and Machinery,2005(9):47-51.)