

豆渣水溶性大豆多糖提取工艺研究

熊 杰,杨玥熹,华欲飞

(江南大学 食品学院,食品科学与技术国家重点实验室,江苏 无锡 214122)

摘 要:以豆渣为原料,采用有机酸水溶液提取 SSPS。通过对提取 pH、有机酸种类、提取温度和提取时间的单因素试验,得到最佳的工艺条件:酒石酸水溶液作为提取介质,温度 110℃,提取时间 1.5 h,pH3.8。该工艺的蛋白质溶出率仅为 2.18%,产品分子量由三部分组成,其中 5.424×10^5 为主要部分。水溶性大豆多糖得率达到 27.65%。
关键词:水溶性大豆多糖;提取;酒石酸
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2009)06-1119-04

Extraction Technology of Soluble Soybean Polysaccharides from Bean Dregs

XIONG Jie,YANG Yue-xi,HUA Yu-fei

(School of Food Science and Technology,State Key Laboratory of Food Science and Technology,Jiangnan University,Wuxi 214122,Jiangsu,China)

Abstract:The soluble soybean polysaccharide(SSPS)is a water-soluble polysaccharide extracted from the cotyledon of soybeans. It is a widely used natural functional ingredient with high biological activity. Extracting SSPS is one approach of the comprehensive utilization of bean dregs,a major by product from soybean processing. The SSPS was extracted in organic acid solution from bean dregs. After a series of single factor experiments,including the extraction pH,the kind of organic acid,the extraction temperature and time,the best process parameters were determined:extraction pH was 3.8,extraction media was tartaric acid aqueous solution,extraction temperature was 110℃,and extraction time was 1.5 h. Under that condition,the dissolution rate of protein was only 2.18%;the molecular weight of product,which consists of three parts,reached 5.424×10^5 ;and the yield of SSPS could reach 27.65%.
Key words:Soluble Soybean Polysaccharides;Extraction;Tartaric acid

水溶性大豆多糖是从大豆中提取的高分子碳水化合物,它是含有 18% 半乳糖醛酸的酸性多糖,分子质量为 5 000 ~ 1 000 000 u,并且和果胶的结构相似^[1]。它具有多种生物活性,如抗氧化性和免疫活性,对预防糖尿病、心脑血管病、胆结石、肝炎等疾病有良好的效果^[2-3]。作为一种优良的食品添加剂,水溶性大豆多糖具有分散性,稳定性,乳化性和黏着性等多种功能^[4-5],在食品行业中有很广阔的应用前景。

关于水溶性大豆多糖的提取,国内外从 20 世纪 70 年代开始均有报道,主要包括酸法、碱法和酶法等^[6],但普遍存在工艺比较复杂,产品蛋白质含量高,得率不高等问题。有机酸水溶液具有螯合性和缓冲性^[7],适宜作为水溶性大豆多糖的提取介质。以降低蛋白质的溶出率为出发点,采用有机酸水溶

液提取水溶性大豆多糖,并优化了提取条件,得到一种提取水溶性大豆多糖的新工艺。

1 材料与方法

1.1 供试材料

材料:豆渣。所用试剂有氢氧化钠、盐酸、浓硫酸、苯酚、石油醚(30℃ ~ 60℃)、葡萄糖、无水乙醇、柠檬酸、酒石酸等,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司生产。

仪器:LGJ-18 型冷冻干燥机,UV-2100 分光光度计,Waters 600 高效液相色谱仪,HPX-9162MBE 数显电热培养箱,申顺科技 R-501 旋转蒸发器,320-S 型 pH 计,三足离心机 SS450,HH-S 型电热恒温水浴锅,SD-1500 喷雾干燥器,高压灭菌锅等。

收稿日期:2009-06-26
第一作者简介:熊杰(1988-),男,学士,现从事豆渣的深加工及产品开 发的研究。E-mail:xj_1287@163.com。
通讯作者:华欲飞,教授。E-mail:yfhua@sytu.edu.cn。

1.2 原料预处理

大豆渣中加入一定量的水,过胶体磨后离心,再加水后过胶体磨、离心,然后加水均质,喷雾干燥得到豆渣粉。

1.3 水溶性大豆多糖提取工艺的流程

豆渣粉中加水搅匀,用有机酸调节其 pH,然后进行热处理,离心(过滤),将得到的上清液浓缩,离心除去沉淀,调节清液的 pH,进行冷冻干燥得到水溶性大豆多糖的粗品。

1.4 水溶性大豆多糖提取工艺条件的确定

根据水溶性大豆多糖的理化性质,结合有机酸的综特点,对各种影响因素进行分析,筛选出影响较大的几个因素:提取 pH,有机酸的种类,提取温度和提取时间,以蛋白质的溶出率和 SSPS 得率为指标进行单因素试验,选择最佳的工艺条件。

1.4.1 pH、有机酸种类对 SSPS 得率的影响 分别取 20 g 原料豆渣粉,加 400 mL 去离子水。单个样品分别用柠檬酸的水溶液调节 pH 至 2.5、3.0、3.5、3.7、4.0、4.5;单个样品分别用酒石酸的水溶液调节 pH 至 2.5、3.0、3.5、3.8、4.0、4.15、4.5。在 110℃ 温度下保温 1 h,过滤得滤液,取样测蛋白质和多糖含量。将滤液浓缩,离心除去沉淀,得 SSPS 提取液。

1.4.2 提取温度对 SSPS 得率的影响 分别取 20 g 原料豆渣粉,加 400 mL 去离子水。用 1.4.1 中所确定的有机酸的水溶液调节 pH 至 1.4.1 中所确定的 pH。单个样品分别在 60℃、80℃、100℃、110℃、120℃ 温度下保温 1 h,经过滤,浓缩,离心除去沉淀后得 SSPS 提取液,取样测蛋白质和多糖含量。

1.4.3 提取时间对 SSPS 得率的影响 分别取 20 g 原料豆渣粉,加 400 mL 去离子水。用 1.4.1 所确定的有机酸的水溶液调节 pH 至 1.4.1 中所确定的 pH。在 1.4.2 中所确定的温度下,单个样品分别保温 0.5、0.75、1.0、1.25、1.5、2.0 h 经过滤,浓缩,离心除去沉淀后得 SSPS 提取液,取样测蛋白质和多糖含量。

1.5 水溶性大豆多糖的检测

1.5.1 蛋白质含量的测定 用考马斯亮蓝法,标准回归方程为 $y = 0.0066x + 0.0145$, $R^2 = 0.9971$,式中 x 表示蛋白质的浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), y 为 595 nm 处的吸光度值。

1.5.2 多糖含量的测定 用苯酚-硫酸法,标准回归方程为 $y = 0.0152x - 0.0377$, $R^2 = 0.9955$,式中 x 表示多糖的浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), y 为 490 nm 处的吸光度值。

1.5.3 多糖分子量的测定 用 Waters 600 高效液相色谱仪(配 2410 示差折光检测器和 Empower 工作站)测定;色谱柱:Ultrasphere 250 + Ultrasphere 2 000,300 mm × 7.8 mm;流动相:0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NaNO_3 ;流速:0.9 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温:45℃。

1.6 计算公式

SSPS 得率 = SSPS 提取液中多糖质量/提取原料质量 × 100%

蛋白溶出率 = SSPS 提取液中蛋白质质量/提取原料中蛋白质质量 × 100%

2 结果与分析

2.1 豆渣原料的成分

豆渣原料中不溶性膳食纤维中含量高达 57.80% (表 1),其中的纤维素、半纤维素多糖的糖苷键对酸的稳定性差,在适当的条件下,进行酸水解可以降低糖苷键断裂的活化能,加快其水解速度,产生新的还原性末端,使聚合度下降,使其由不溶性成分转变为可溶。但酸水解对 SSPS 得率提高的影响有限,常辅以其它物理手段共同作用。

表 1 豆渣原料的成分

Table1 Composition of Okara/%					
蛋白质	脂肪	灰分	不溶性膳食纤维	水溶性大豆多糖	水分
Protein	Fat	Ash	Insoluble dietary fiber	SSPS	Water
15.67	5.65	3.04	57.80	14.80	8.04

2.2 水溶性大豆多糖提取工艺条件的确定

2.2.1 提取 pH 和有机酸种类对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响 在用有机酸调节 pH 的过程中,发现豆渣水溶液的粘稠度有明显的变化,这与 SSPS 的溶解和蛋白质的沉淀有很大的关系。考虑到蛋白质的带点性质和产品中盐含量的因素,因此在 pH2.5 至 4.5 范围内进行研究,结果如图 1 所示。

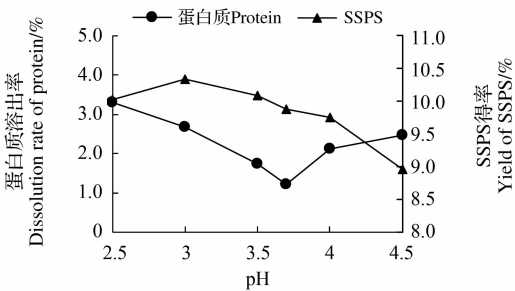


图 1 柠檬酸调节 pH 对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响
Fig.1 Effect of pH adjusted by Citric acid on yield of SSPS and the dissolution rate of protein

由图 1 可知,用柠檬酸调节 pH 时,得到的 SSPS 提取液的蛋白质溶出率在 pH3.7 时达到最小,SSPS 得率随 pH 的增大,呈现出先增大后减小的趋势。

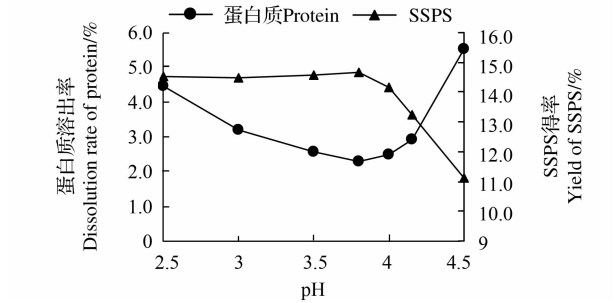


图2 酒石酸调节 pH 对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响
Fig. 2 Effect of pH adjusted by Tartaric acid on yield of SSPS and the dissolution rate of protein

由图 2 可知,用酒石酸调节 pH 时,SSPS 提取液的蛋白质溶出率在 pH3.8 时达到最小,随 pH 的增大,SSPS 得率呈现出先增大后减小的趋势。

豆渣中蛋白质的等电点为 3.5~4.5,它在偏离等电点环境中发生解离,使其本身带电荷,蛋白质分子间互相排斥,分散性好,溶解性较好,而且偏离等电点环境对蛋白质分子的次级键特别是氢键具有破坏作用,使蛋白质分子表面具有相同的电荷,从而对蛋白质分子有增溶作用,这种增溶作用随着 pH 偏离等电点程度的增大而增大^[8]。在不同的酸性环境下,有机酸解离程度不同,其螯合能力也不同^[9],对糖的提取的促进作用也不同。通过对蛋白质的溶出率和 SSPS 得率的综合考虑,用柠檬酸提取时,选择最佳 pH3.7;用酒石酸提取时,最佳 pH3.8。

由以上的结果可知,在 2 种有机酸各自的最佳 pH 下,蛋白质的溶出率都很低;用酒石酸调节时,SSPS 得率为 14.67%,用柠檬酸调节时,SSPS 得率为 9.88%。前者得率明显高于后者,以产品得率为主要评价指标,因此选择酒石酸为较优的提取介质。

2.2.2 提取温度对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响

从图 3 可以看出,温度改变后蛋白质的溶出率整体在一个很低的水平;温度升高,SSPS 得率增大,温度低于 80℃,难以提出水溶性大豆多糖;当达到 110℃ 时,SSPS 得率明显增大,且超过原料中的水溶性大豆多糖含量,说明有部分不溶性多糖在此条件下转化为可溶。温度继续升高,SSPS 得率反而会降低。高温会使蛋白质变性,导致其溶解度急剧下降^[10],在浓缩过程中聚集现象明显,并有可能发生

了蛋白-多糖的共聚集现象,造成多糖的损失。在一定温度范围内升高温度,会促进多糖溶到提取液中,但过高的温度也会增加生产的成本,因此选择 110℃。此外,SSPS 提取液经浓缩离心除去沉淀后,蛋白质含量大大降低。

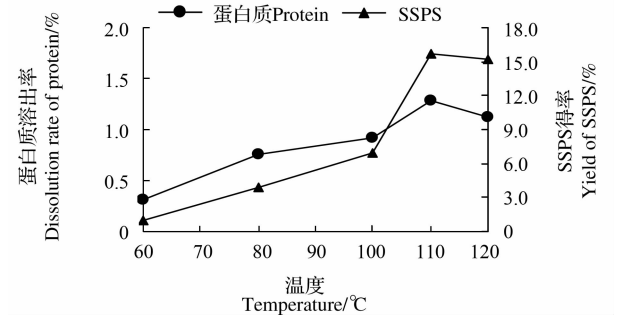


图3 提取温度对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响
Fig. 3 Effect of extraction temperature on yield of SSPS and the dissolution rate of protein

2.2.3 提取时间对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响

从图 4 可以看出,随着提取时间的延长,蛋白质的溶出率先增大后趋向稳定。当提取时间为 0.5~1.5 h,SSPS 得率随时间的增长快速增加,当提取时间超过 1.5 h 时,SSPS 得率缓慢增加。提取时间不足,原料颗粒内部的多糖没有充足的时间溶解及扩散^[11],导致 SSPS 得率偏低。时间过长,对多糖的分子破坏程度较大,使其功能性质受到影响,整个工艺能耗也会增多。综合考虑,选择时间为 1.5 h。

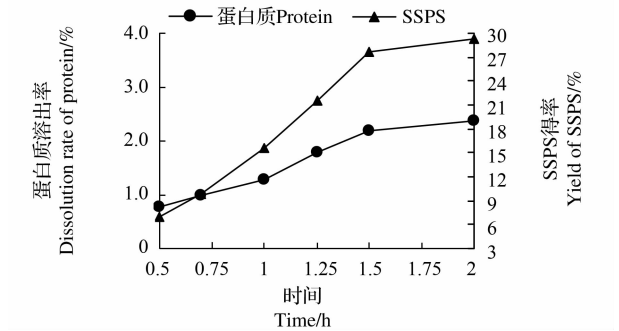


图4 提取时间对 SSPS 得率和蛋白质溶出率的影响
Fig. 4 Effect of extraction time on yield of SSPS and the dissolution rate of protein

2.3 水溶性多糖的分子量

用酒石酸调节至 pH3.8,在 110℃ 下,提取 1.5 h,将得到的 SSPS 提取液通过高效凝胶过滤色谱法,测得分子量如图 5 所示。

水溶性大豆多糖是一种酸性多糖,结构类似于果胶,含有同型多糖和异型多糖,分子量范围在

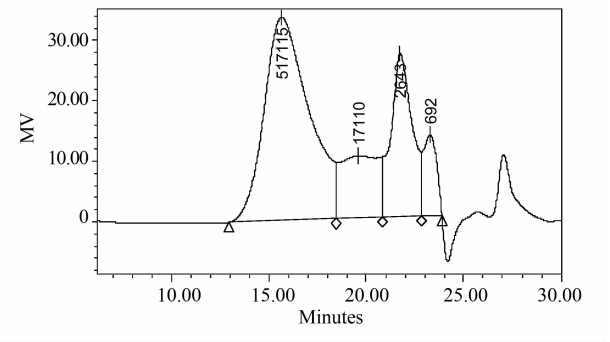


图 5 水溶性大豆多糖分子量分布图

Fig. 5 Molecular weight of SSPS

5000 ~ 1 000 000 之间,其 3 种主要组分的分子量分别是 550 000、25 000、5 000^[6]。从图 5 可以看出,该工艺得到的水溶性大豆多糖的分子量峰值在 517 155 左右,经软件统计主峰所对应重均分子量为 5.6×10^5 , 占总质量的 60%, 符合水溶性多糖的分子量范围。

3 结论

用有机酸提取水溶性大豆多糖的最佳条件为: 酒石酸水溶液作为提取介质, 提取温度 110℃, 提取时间 1.5 h, pH3.8。在该条件下提取水溶性大豆多糖, 有效地将部分不溶性多糖转化为可溶性多糖, 较大幅度提高了 SSPS 得率, 并且明显降低蛋白质的溶出率, 可以省掉多糖脱蛋白的过程, 简化了水溶性大豆多糖加工的流程, 分子量分布符合国家标准。

参考文献

[1] Bron P A, Marco M, Hoffer S M. Genetic characterization of the bile salt response in lactobacillus planetarium and analysis of responsive promoters in vitro and in situ in the gastrointestinal tract [J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186: 7829-7835.

[10] 刘艳芝, 赵桂兰. 大豆幼胚子叶诱导胚胎发生[J]. 吉林农业科学, 1999, 24(6): 16-18. (Liu Y Z, Zhao G L. Plant regeneration in embryo vitro from primary leaf nodes of soybean[J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 1999, 24(6): 16-18.)

[11] 白淑霞, 刘立秋, 陈文龙. 植物人工种子高质量体细胞胚胎发生的研究[J]. 河北农业大学学报, 1998, 21(1): 50-52. (Bai S X, Liu L Q, Chen W L. Review on high quality somatic embryogenesis in artificial seed of plant[J]. Journal of Hebei Agricultural

[2] Champ M, Guillon F. Structural and physical properties of dietary fibers, and consequences of processing on human physiology [J]. Food Research International, 2000, 33: 233-245.

[3] Schneeman B O. Dietary fiber and gastrointestinal function [J]. Nutritional Research, 1998, 18: 625-632.

[4] Furuta H, Takahashi T, Tobe J, et al. Extraction of water-soluble soybean polysaccharides under acidic conditions [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1998, 62(12): 2300-2305.

[5] Nakamura A, Takahashi T, Yoshida R, et al. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18: 795-803.

[6] 谭永辉, 王文生, 秦玉, 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): 150-152. (Tan Y F, Wang W S, Qing Y, et al. Extraction and application of soluble soybean polysaccharides from bean curd waste [J]. Soybean Science, 2008, 27(1): 150-152.)

[7] 王晓滨, 段洪东, 秦大伟. 螯合剂合成新方法及其在化学化工中的应用 [J]. 山东轻工业学院学报, 2007, 21(3): 57-58. (Wang X B, Duan H D, Qing D W. New synthetical methods of chelating agent and application in chemistry and chemistry industry [J]. Journal of Shandong Institute of Light Industry, 2007, 21(3): 57-58.)

[8] 郑亚军, 陈华, 李艳, 等. 椰子分离蛋白质提取工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(1): 226-227. (Zheng Y J, Chen H, Li Y, et al. Study on extraction technology of coconut protein isolated [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(1): 226-227.)

[9] 宋永胜, 段洪东. 螯合剂及其在食品中的应用 [J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(2): 147-148. (Song Y S, Duan H D. Chelating agent and application in food [J]. Guangzhou Food Science and Technology, 2004, 20(2): 147-148.)

[10] 田其英, 华欲飞. 大豆蛋白溶解性研究 [J]. 粮食与油脂, 2006(6): 6-7. (Tian Q Y, Hua Y F. Study on the solubility of soybean Protein [J]. Cereals and Oils, 2006(6): 6-7.)

[11] 杨大伟, 钟菊英. 黄花草粗卵磷脂提取工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 20(1): 205-206. (Yang D W, Zhong J Y. Study on extraction technology of crude lecithin from daylily [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 20(1): 205-206.)

(上接第 1114 页)

University, 1998, 21(1): 50-52.)

[12] 郭子彪, 盖钧镒. 内源激素 IAA、ABA 对大豆萌发子叶胚性愈伤组织诱导及其分化的调控 [J]. 大豆科学, 1997, 16(3): 194-198. (Guo Z B, Gai J Y. Embryogenic callus inducing and differentiating regulated by eudogenous IAA and ABA [J]. Soybean Science, 1997, 16(3): 194-198.)

[13] Finer J J, Nagasawa A. Development of an embryogenic suspension culture of soybean [Glycine max (L.) Merrill] [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1988, 1(5): 125-136.