

水溶性大豆多糖提取工艺对酸性乳稳定性的影响

谭静¹, 常忠义¹, 高红亮¹, 金明飞¹, 鲁心安¹, 张亦澜¹, 崔红亮²

(1. 华东师范大学 生命科学学院, 上海 200241; 2. 平顶山天晶植物蛋白有限责任公司, 河南 平顶山 467200)

摘要: 水溶性大豆多糖可以在酸性条件下低粘度的稳定蛋白质, 表现出优越的稳定性。以酸性乳沉淀率为指标对豆渣中水溶性大豆多糖的提取工艺进行了优化以促进其深入开发。单因素试验表明, pH、温度和提取时间对大豆多糖得率及含量、蛋白含量和酸乳沉淀率有显著影响。在单因素试验基础上设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 结果表明影响大豆多糖中多糖含量、蛋白含量和酸乳沉淀率的各因素的顺序为 pH > 提取温度 > 提取时间; 最佳水平组合为 pH3.5、温度 125℃、时间 90 min。该工艺条件下, 水溶性大豆多糖的多糖含量为 65.05%, 蛋白含量为 3.69%, 酸乳饮料的沉淀率为 0.72%。

关键词: 大豆多糖; 提取条件; 多糖含量; 蛋白含量; 酸乳沉淀率

中图分类号: TS209 文献标识码: A 文章编号: 1000-9841(2013)02-0242-04

Effect of Soluble Soybean Polysaccharides Extraction Process on the Stability of Acid Dairy Beverages

TAN Jing¹, CHANG Zhong-yi¹, GAO Hong-liang¹, JIN Ming-fei¹, LU Xin-an¹, ZHANG Yi-lan¹, CUI Hong-liang²

(1. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 2. Pingdingshan Tianjing Plant Albumen Company Limited, Pingdingshan 467200, China)

Abstract: Soluble soybean polysaccharides (SSPS) can stabilize protein in low pH conditions with low viscosity. The extraction process of SSPS from soybean dregs was optimized. The optimal extraction conditions were determined by the minimal sediment ratio of acid dairy beverages to improve its further development. The results of single factor experiments showed that pH, temperature and time of extraction had significant impacts on the yield, polysaccharides and protein content of SSPS and the sediment ratio of acid dairy beverage. Based on single factor test, the extraction conditions were optimized through $L_9(3^4)$ orthogonal experiment. The results showed that the pH of extraction had the maximal influence on the polysaccharides and protein content of SSPS and the sediment ratio of acid dairy beverage, then was the extraction temperature and extraction time; the optimal extraction conditions were that soybean dregs immersed in the solution with pH3.5 and kept at 125℃ for 90 min. Under the optimal process, the polysaccharides and protein content of SSPS were 66.05% and 3.69% respectively, the sediment ratio decreased to 0.72%.

Key words: Soluble soybean polysaccharides; Extraction conditions; Polysaccharides content; Protein content; Sediment ratio of acid dairy beverages

水溶性大豆多糖 (Soluble soybean polysaccharides, SSPS) 从大豆子叶中提取和精制获得, 它是一种由半乳糖醛酸组成的酸性糖主链和阿拉伯糖基组成的中性糖侧链构成的酸性多糖, 结构类似果胶^[1]。水溶性大豆多糖不仅可以作为纤维强化食物的膳食粗原料^[2], 还具有许多功能特性, 例如作为泡沫稳定剂, 可替代啤酒、可乐中的丙烯乙二醇藻酸盐 (PGA); 作为乳化稳定剂, 可替代阿拉伯胶、变性淀粉等^[3-4]; 在酸性条件下, 低浓度的水溶性大豆多糖具有良好的稳定蛋白颗粒的能力。这些优越功能特性, 使大豆多糖在食品行业中具有广阔的应用前景。常用的酸乳饮料稳定剂有果胶、羧甲基纤维素钠 (CMC) 和阿拉伯胶等, 但是这类水状胶体黏度过高^[5], 而目前低黏度、具有清爽口感、无牙齿粘着感的酸性乳饮料更受欢迎。大豆多糖通过酸性主链与蛋白质的氨基结合

吸附后, 利用较长的阿拉伯多糖或半乳聚糖中性侧链在酪蛋白表面形成吸附厚层, 产生的空间位阻来阻止蛋白质凝集沉淀, 提高酸性乳饮料的稳定性^[6-7]。当大豆多糖中蛋白含量较高时, 易于形成蛋白质-多糖共聚复合物^[8], 致使酪蛋白与大豆多糖的结合位点减少, 蛋白凝集发生, 稳定性下降。

目前关于大豆多糖的研究多侧重于提高得率, 却忽视了提取过程对大豆多糖功能性的影响。现以大豆多糖中多糖含量、蛋白含量及酸性乳沉淀率为主要指标, 优化大豆多糖提取工艺, 为大豆多糖的深入开发和应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试湿豆渣由河南平顶山天晶植物蛋白有限

收稿日期: 2012-11-13

基金项目: 国家自然科学基金 (81072422)。

第一作者简介: 谭静 (1987-), 女, 在读硕士, 主要从事食品生化研究。E-mail: tanjing0811@yahoo.cn。

通讯作者: 常忠义 (1968-), 男, 副教授, 主要从事微生物和食品生化研究。E-mail: zychang@bio.ecnu.edu.cn。

责任公司提供,其多糖含量 4.2%、蛋白质含量 16.8%、水分含量 85.5%;脱脂乳粉(食品级,新西兰生产)、蔗糖(市售,食品级);盐酸、氢氧化钠、无水乙醇、浓硫酸、苯酚、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、柠檬酸和硼酸均为分析纯。

试验仪器主要有:灭菌锅(上海医用核子仪器厂)、酸度计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)、高速离心机(日立株式会社)、真空恒温干燥箱(天津药典标准仪器厂)、电子天平(上海友声衡器有限公司)、旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)、凯氏定氮仪(浙江托普仪器有限公司)、均质机(上海中鹿均质机有限公司)和恒温磁力搅拌器(上海沪西分析仪器厂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 大豆多糖的提取工艺 用湿豆渣和水按料液比 1:2 混合均匀,用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸调节 pH, 0.4 Mpa 高压蒸汽下高温处理;然后 $4800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液,用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠调节上清液 pH 为 12, 90°C 处理 30 min 后用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸调节 pH 为 5,得到含有水溶性大豆多糖的溶液,然后进一步参照李庄^[9]的方法干燥得到大豆多糖样品。

1.2.2 酸性乳饮料制备 称取 40 g 蔗糖加入到 344 mL (80°C) 的蒸馏水中至完全溶解;然后称取 1.25 g 大豆多糖和 15.15 g 脱脂乳粉,混合均匀后加入到 100 mL (80°C) 的蒸馏水中,溶解后边搅拌边加入到上述蔗糖溶液中,搅拌均匀;冷却至室温后用 10% 的柠檬酸溶液调节 pH 为 3.8;经均质(均质压力 20 MPa)后 90°C 灭菌 10 min^[10-11]。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 大豆多糖得率 得率(%) = 提取大豆多糖的质量(g) / 原料豆渣干基质量(g) $\times 100$

1.3.2 多糖含量测定 采用苯酚硫酸法^[12],标准回归方程为 $y = 0.145x + 0.002$, $R^2 = 0.996$,式中 x 为 490 nm 处吸光度值, y 为浓度。

多糖含量(%) = [测量浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) \times 稀释倍数 \times 提取液体积(mL)] / 原料干重(g) $\times 100$

1.3.3 蛋白含量测定 采用凯氏定氮法^[13]测定大豆多糖中的蛋白含量。

1.3.4 酸性乳饮料沉淀率测定 取乳液 10 mL 于离心管 m_1 中,称取总重 m_2 , $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 10 min 离心后弃去上清液,称重 m_3 。沉淀率(%) = $(m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \times 100$

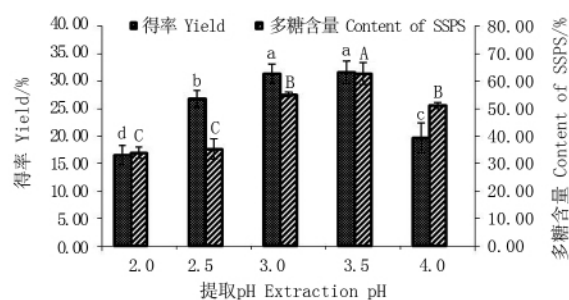
1.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 大豆多糖提取工艺单因素试验

2.1.1 pH 在提取温度为 120°C 、高压蒸汽加热 90 min 条件下,测定了不同 pH 对大豆多糖的得率、多糖含量和蛋白质含量以及酸性乳沉淀率影响。由图 1 可知,随着 pH 升高,大豆多糖得率先增高后降低,在 pH 为 3.0 和 3.5 时,得率分别为 31.30% 和 31.58%,显著高于其他处理,但二者之间差异不显著;多糖含量也随 pH 升高先升高后降低, pH 3.5 时达到最高(62.82%),显著于其他处理($P < 0.05$)。



同一指标不同字母代表差异显著($P < 0.05$),下同。

Different letters of the same index represent significant difference ($P < 0.05$), the same below.

图 1 不同 pH 对大豆多糖得率和含量的影响

Fig. 1 Effect of pH on the yield and content of SSPS

由图 2 可知,大豆多糖的蛋白质含量和酸性乳沉淀率随 pH 升高而降低,当 pH 为 3.0、3.5、4.0 时,多糖的蛋白质含量和酸性乳沉淀率间无显著差异。结合图 1 综合考虑大豆多糖得率和含量,产品功能特性以及生产成本等,选取 pH 3.5 作为最适 pH。

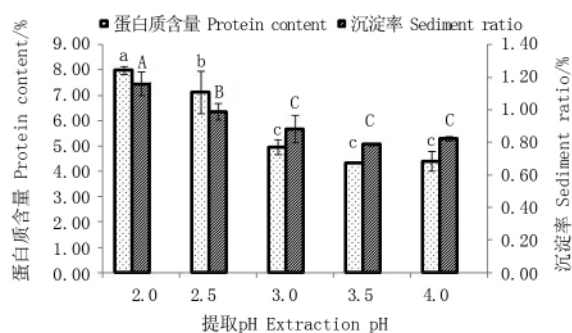


图 2 不同 pH 对大豆多糖的蛋白质含量和酸性乳沉淀率影响

Fig. 2 Effect of pH on the protein content of SSPS and sediment ratio of beverage

2.1.2 温度 在提取 pH 为 3.5、高压蒸汽加热 90 min 条件下,测定了不同提取温度对大豆多糖的得率、多糖含量和蛋白质含量以及酸性乳沉淀率的影响。由图 3 可以看出,提取温度在 125°C 时大豆多糖得率最高(27.78%),与 120°C 时得率(27.77%)差

异不显著,但二者显著高于其他提取温度的得率;多糖含量随提取温度的升高先升高后降低,在120℃达到峰值(62.22%),不同提取温度间多糖含量差异显著。

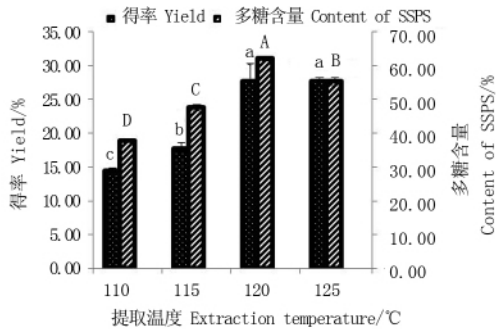


图3 不同提取温度对大豆多糖得率和含量影响
Fig.3 Effect of extraction temperature on the yield and content of SSPS

从图4可知,随着温度升高大豆多糖的蛋白质含量和酸乳沉淀率呈先降低后增高的趋势,且二者呈正相关,均在120℃达到最低点,此时蛋白质含量为3.63%,沉淀率为0.78%,显著低于其他温度处理;结合图3可知提取温度不宜过高或过低,过低造成提取不完全,过高导致糖键和肽键断裂,使多糖含量降低,大豆多糖的蛋白质含量增高,产品稳定性下降,因此优选120℃作为大豆多糖提取温度。

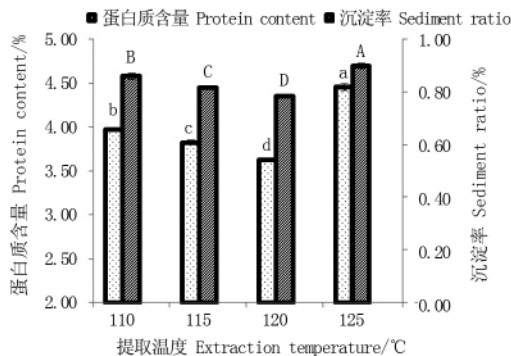


图4 不同提取温度对大豆多糖的蛋白质含量和酸乳沉淀率影响

Fig.4 Effect of extraction temperature on the protein content of SSPS and sediment ratio of beverage

2.1.3 提取时间 在提取pH为3.5、120℃高压蒸汽加热条件下,测定了不同提取时间对大豆多糖的得率、多糖含量和蛋白含量以及酸性乳沉淀率的影响。由图5可知,大豆多糖得率和含量均随提取时间的延长先升高后降低,在90min时达到峰值。

由图6可知,大豆多糖的蛋白含量和酸乳沉淀率随着时间延长先降低后增高;最适反应时间为90min,此时大豆多糖的蛋白含量和酸乳沉淀率最低,分别为3.85%和0.82%,显著优于其他反应时间处理。因此优选提取时间为90min。

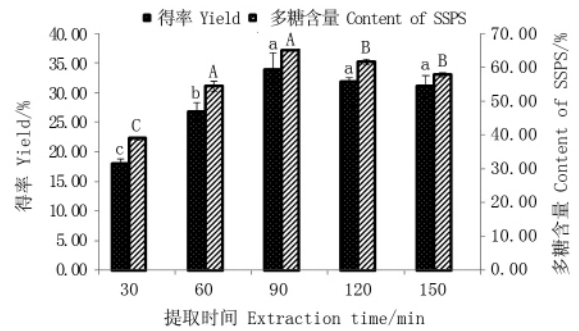


图5 不同提取时间对得率和多糖含量影响
Fig.5 Effect of extraction time on the yield and content of SSPS

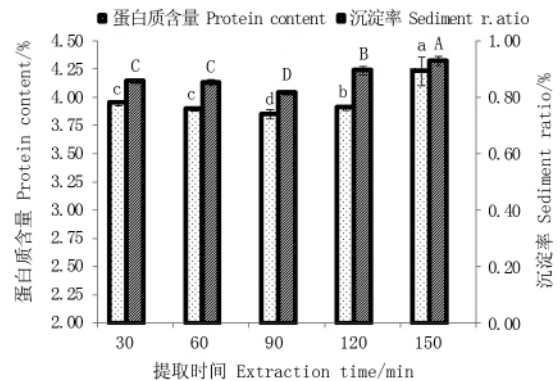


图6 不同提取时间对大豆多糖的蛋白含量和酸乳沉淀率影响

Fig.6 Effect of extraction time on the protein content of SSPS and sediment ratio of beverage

2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,对提取pH、提取温度和提取时间采用L₉(3⁴)进行正交试验(表1),对提取大豆多糖的提取工艺参数进行优化。结果及极差分析见表2。

表1 L₉(3⁴)正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of L₉(3⁴)

水平 Level	因素 Factors		
	(A) pH	(B) 温度 Temperature / °C	(C) 时间 Time / min
	1	3.0	115
2	3.5	120	90
3	4.0	125	120

由正交试验结果得出,影响大豆多糖中的蛋白含量、多糖含量和酸乳沉淀率的各因素的重要性排序为提取pH > 提取温度 > 提取时间,同时得出A₂B₃C₂为最佳工艺条件,即pH3.5、温度为125℃、时间为90min。按照最优组合工艺条件提取的大豆多糖含量为65.05%,蛋白含量为3.69%,酸乳沉淀率为0.72%。

表 2 大豆多糖提取的正交试验结果

Table 2 Results of SSPS extraction orthogonal design

编号 No.	因素 Factors			蛋白含量 Protein content/%	多糖含量 SSPS content/%	沉淀率 Sediment ratio/%
	(A) pH	(B) 温度 Temperature/°C	(C) 时间 Time/min			
1	3	115	60	5.22	33.84	0.96
2	3	120	90	5.15	56.02	0.88
3	3	125	120	5.35	64.80	0.83
4	3.5	115	90	3.66	58.96	0.81
5	3.5	120	120	3.47	55.59	0.77
6	3.5	125	60	3.47	62.84	0.70
7	4	115	120	4.82	41.17	0.91
8	4	120	60	3.87	32.60	0.89
9	4	125	90	3.63	51.75	0.81
蛋白含量 X ₁	5.240	4.567	4.187			
X ₂	3.533	4.163	4.147			
X ₃	4.107	4.150	4.547			
R	1.707	0.417	0.400			
多糖含量 X ₁	51.553	44.657	43.093			
X ₂	59.130	48.070	55.577			
X ₃	41.840	59.797	53.853			
R	17.290	15.140	12.484			
沉淀率 X ₁	0.890	0.893	0.850			
X ₂	0.760	0.847	0.833			
X ₃	0.870	0.780	0.837			
R	0.130	0.113	0.017			

3 结 论

高压蒸汽条件下提取优越稳定性水溶性大豆多糖的优化条件是: pH3.5 提取温度 125℃, 提取时间 90 min。按此条件得到的水溶性大豆多糖中的多糖含量为 65.05%, 蛋白含量为 3.69%, 同时又具有优越的稳定性, 酸乳沉淀率为 0.72%。

参考文献

- [1] Nakamura A, Furuta H, Nagamatsu Y, et al. Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnolacturonan[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2002, 66: 1301-1313.
- [2] Takahashi T, Maeda H, Aoyama T, et al. Physiological effects of water-soluble soybean fiber in rats[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 1999, 13: 267-274.
- [3] Nakamura A, Takahashi T, Yoshida R, et al. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharides[J]. *Food Hydrocolloids* 2004, 18(5): 795-803.
- [4] 谭永辉, 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. (Tan Y H, Wang W S, Qing Y C, et al. Extraction and application of soluble soybean polysaccharides from bean curd waste[J]. *Soybean Science* 2008, 27(1): 150-152.)
- [5] 袁海燕, 常忠义, 高红亮, 等. 大豆多糖与常见稳定剂复配在酸乳饮料中的应用[J]. *大豆科学* 2008, 27(2): 347-350. (Yuan H Y, Chang Z Y, Gao H L, et al. Application of soybean soluble polysaccharide mixed with other stabilizer in the acidified milk beverage[J]. *Soybean Science* 2008, 27(2): 347-350.)

- [6] Nakamura A, Furuta H, Katob M, et al. Effect of soybean soluble polysaccharides on the stability of milk protein under acidic conditions[J]. *Food Hydrocolloids* 2002, 1: 333-343.
- [7] 孟岳成, 洪伦波. 酸性含乳饮料中蛋白质稳定性的研究进展[J]. *中国乳品工业* 2006, 34(11): 33-35. (Meng Y C, Hong L B. Evolvement of stability of protein in milk drinks[J]. *China Dairy Industry* 2006, 34(11): 33-35.)
- [8] 熊杰, 杨玥喜, 华欲飞. 豆渣水溶性大豆多糖提取工艺研究[J]. *大豆科学* 2009, 28(6): 1119-1122. (Xiong J, Yang Y X, Hua Y F. Extraction technology of soluble soybean polysaccharides from bean dregs[J]. *Soybean Science* 2009, 28(6): 1119-1122.)
- [9] 李庄. 大豆水溶性多糖的提取与应用研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2005: 20-30. (Li Z. Extraction of water-soluble soybean polysaccharides and its applications[D]. Shanghai: East China Normal University 2005: 20-30.)
- [10] 孙敏, 陈玮, 高红亮, 等. 大豆多糖的提取及其对酸性饮料的稳定作用[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)* 2007, 35(1): 106-109. (Sun M, Chen W, Gao H L, et al. Extraction of water-soluble soybean polysaccharides and its application in acid dairy beverages[J]. *Journal of Northwest A & F University* 2007, 35(1): 106-109.)
- [11] 邵丹丹, 华欲飞, 孔祥珍. 大豆多糖在调配型酸性乳饮料中的应用[J]. *食品工业科技* 2012, 33(12): 325-332. (Shao D D, Hua Y F, Kong X Z. Application of soluble soybean polysaccharide on the stabilization of acidified milk beverage[J]. *Science and Technology of Food Industry* 2012, 33(12): 325-332.)
- [12] 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. (Zhang W J. *Biochemical research technology of glyco-compound* [M]. 2nd ed. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1999.)
- [13] GB/T 5009.5-2010 食品中蛋白质的检测[S]. (GB/T 5009.5-2010 Detection of protein in food[S].)