

超声波/微波协同提取豆渣蛋白质的研究

相玉琳¹,相玉秀²,王立鹏¹,焦玉荣¹

(1.榆林学院化学与化工学院,陕西榆林 719000;

2.齐齐哈尔大学化学与化学工程学院,黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要:为了提高豆渣蛋白质的提取率,对豆渣进行了超声波/微波协同提取实验。考察了超声波功率、超声波时间、微波功率、微波时间、液固比及pH对蛋白质提取率的影响。在单因素实验的基础上,对工艺条件进行了响应曲面实验优化。结果表明,超声波/微波协同提取豆渣蛋白质是一种切实可行的办法,最佳工艺条件是:超声时间30min、微波时间5min、液固比 10.30:1、pH9.5,微波功率440W,超声功率400W,在该条件下豆渣蛋白质的提取率可达94.14%,此时实测提取率为93.43%,与预测值高度拟合,所得的蛋白质分子量介于 $13.427 \times 10^3 \sim 338.96 \times 10^3$ u,质地均匀,感官品质好。

关键词:蛋白质,超声波/微波协同提取,豆渣

Study on ultrasonic/microwave synergistic extraction of protein from soybean dreg

XIANG Yu-lin¹, XIANG Yu-xiu², WANG Li-peng¹, JIAO Yu-rong¹

(1.Yulin University of Chemistry and Chemical Engineering, Yulin 719000, China;

2.Qiqihar University Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar 161006, China)

Abstract: In order to increase extraction yield of soybean dreg protein, the synergistic extraction experiment of soybean dreg by ultrasonic/microwave was executed. The effects of ultrasonic power, ultrasonic time, microwave power, microwave time, solvent-to-material ratio and pH on protein extraction yield were discussed. On the basis of single-factor experiments, the process conditions were optimized using orthogonal test. The results showed that the synergistic extraction by ultrasonic/microwave was a feasible method for the extraction of soybean dreg protein. The best process conditions were as follows: ultrasonic time 30min, microwave time 5min, solvent-to-material ratio 10.30:1, pH9.5, microwave 440W and ultrasonic 400W. In this process conditions, the extraction yield of dreg protein could reach about 94.14%. And the actual value of the extraction yield was 93.43% and was in good agreement with the predicted value. The obtained protein molecular weight was between $13.427 \times 10^3 \sim 338.96 \times 10^3$ u. The protein exhibited homogeneous texture, good sensory quality.

Key words: protein; ultrasonic/microwave synergistic extraction; soybean dreg

中图分类号:TS210.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2015)14-0266-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.14.046

我国是大豆消费大国,平均每年大豆消费量超过0.55亿吨^[1]。其中约0.39亿吨用于榨油,剩下的多半用于加工传统豆制品—豆腐、豆乳、豆皮等,而豆渣(多以湿豆渣的形式存在)则是这些豆制品的副产物,目前我国每年约产生0.2亿吨的湿豆渣^[2]。这些湿豆渣通常只是简单的用于动物饲料,其中含有的蛋白质、多糖、膳食纤维、异黄酮等营养物质^[3-6]并未得到有效的利用,若采用先进的科学技术将这些有益成分提取出来,必将具有较高的经济效益和环境效益。

超声波技术因其高效节能、绿色环保、不破坏目标物结构等优点^[7-9],常作为蛋白质及其他天然产物等提取的首选方法^[10-11];而微波技术因其显著的热效

应、电效应、磁效应及化学效应等特点,经常应用于天然产物提取中。目前有研究将二者联合作用提取苦瓜皂苷、桦褐孔菌多糖、玉米蛋白粉黄色素等,均取得了较好的效果^[12-14]。然而采用超声波、微波联合作用提取豆渣蛋白质的研究还未见报道。鉴于此,本研究以豆渣蛋白质的提取率为目标,考察超声波功率、超声处理时间、液固比、微波功率、微波处理时间及pH对目标值的影响。并应用响应面法对超声波/微波协同提取豆渣蛋白质的工艺条件进行优化,主要目的是研究超声波/微波联合应用于豆渣蛋白质提取工艺的可行性及优越性,并且研究出最佳的提取工艺条件。为豆渣的资源化利用提供理论依据。

收稿日期:2014-10-13

作者简介:相玉琳(1982-),女,博士,讲师,主要从事三废资源化利用方面的研究。

基金项目:陕西省教育厅自然科学专项(2013JK0880);榆林学院高层次人才科研基金资助项目(12GK04)。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

大豆豆渣 采样于榆林李记老字号豆腐坊;无水硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、甲基红、溴甲酚绿、无水乙醇、氢氧化钠 均为分析纯。

MH250电子调温电热套 黄骅市渤海电器厂; PHS-25 pH计、FA2204B型电子天平 上海精密科学仪器有限公司; TL80-2型医用离心机 姜堰市天力医疗有限公司; DZF-6020A型真空干燥箱 北京中兴伟业仪器有限公司; KQ5200DE型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; GX-02型多功能粉碎机 上海高翔食品机械厂; 80目80吋筛 浙江省上虞市大亨桥化验仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的准备 豆渣样品选自天津市某豆制品加工厂。干豆渣主要成分含量见表1。

表1 干豆渣主要成分^[15](%)

灰分	蛋白质	脂质	纤维素	糖类
1.2~1.7	16~32	5.2~8.7	56~65	2.9~3.2

1.2.2 工艺流程及方法 60℃恒温烘干,过80目筛,称取烘干后过筛的豆渣蛋白粉约10g,按预先设定比例加入95%乙醇,于室温(20±2)℃,在一定功率下进行超声波处理一定时间,然后放入微波炉中微波提取,反应结束后冷却至室温,台式离心机进行液固分离,得到蛋白质上清液以及残渣。检测蛋白质含量,根据式(1)计算豆渣蛋白质提取率。

$$Y(\%) = \frac{m_1 \times c_1}{m_0 \times c_0} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: c_0 —原豆渣蛋白质含量(%); c_1 —滤液中蛋白质含量(%); m_0 —原豆渣总质量(g); m_1 —滤液质量(g); Y —蛋白质提取率(%)。

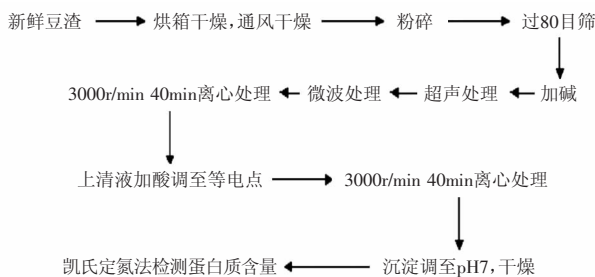


图1 豆渣蛋白质提取流程

Fig.1 Extraction process of soybean dreg protein

1.2.3 分析与检测 蛋白质含量采用半微量凯氏定氮法测定(GB/T 5009.5-2003);蛋白质分子量采用SDS-PAGE(聚酰胺凝胶电泳法)测定。

1.2.4 单因素实验 分别考察超声波功率(200~500W,间隔50W)、超声处理时间(10~40min,间隔5min)、液固比(6:1~12:1)、微波功率(200~680W,间隔80W)、微波处理时间(1~7min,间隔1min)及pH(7~10,间隔

0.5)对豆渣蛋白质提取率的影响。

1.2.5 Box-Behnken实验设计 在单因素实验的基础上,采用Design-Expert软件设计响应曲面实验(见表2),选取超声时间、微波时间、液固比及pH为实验因素,豆渣蛋白质提取率为响应值。对豆渣蛋白质提取工艺条件进行优化。

表2 因素水平表

Table 2 The table of factors and levels

水平	因素			
	A pH	B 超声时间 (min)	C 微波时间 (min)	D 液固比 (%)
-1	8.5	25	4	9:1
0	9	30	5	10:1
1	9.5	35	6	11:1

1.2.6 数据处理 应用SAS 9.2、Origin和Design-Expert软件进行数据处理。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 超声功率的影响 图2显示固液比10:1,pH9,微波功率360W,超声时间20min,微波时间4min时,超声波功率对豆渣蛋白质提取率的影响。在200~400W内,蛋白质提取率随超声波功率增加而增加,当超声波功率超过400W后,蛋白质提取率有所下降。这主要是由于在较高的超声波功率下,声空化作用产生的强烈声冲流及伴随产生的化学效应将部分溶出的蛋白质分子降解,致使蛋白质提取率降低。利用SAS 9.2软件分析,超声功率对豆渣蛋白质提取率的影响不显著($p>0.05$)。

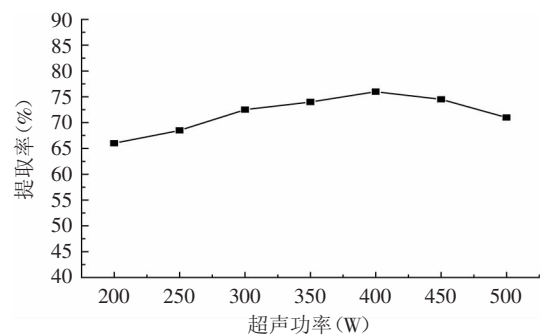


图2 超声功率对蛋白质提取率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power on protein extraction yield

2.1.2 超声时间的影响 当固液比10:1,pH9,微波功率360W,超声功率300W,微波时间4min时,超声波作用时间对豆渣蛋白质提取率的影响见图3。

在10~30min内,豆渣蛋白质提取率随着时间的延长不断的增加,当作用时间为30min时,提取率最高(87.39%),随后,提取率开始下降。由于豆渣蛋白质的提取率主要取决于两个过程:首先,豆渣中的蛋白质在溶剂的作用下溶出;其次,在外力的作用下,溶液中的蛋白质分子发生降解,致使提取率下降。两个过程的抗衡决定着蛋白质的提取率。在初期,溶液中蛋白

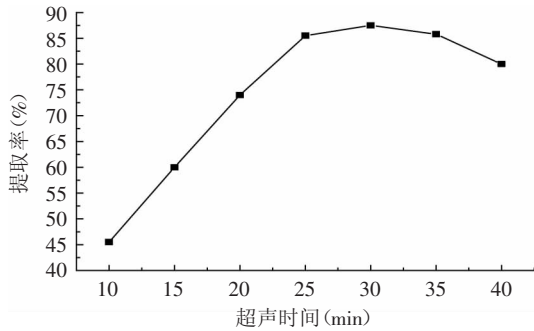


图3 超声波作用时间对蛋白质提取率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic process time on protein extraction

质量少,声空化产生的各种效应主要作用于豆渣,使大量蛋白质溶出;随着时间的延长,豆渣中的蛋白质含量下降,溶液中的蛋白质量增加,这时,声空化效应对蛋白质降解作用占主导地位,致使蛋白质提取率下降。利用SAS 9.2软件分析,在10~30min内,超声波作用时间对豆渣蛋白质提取率的影响显著($p < 0.05$)。

2.1.3 微波功率的影响 图4可知,当固液比10:1, pH9, 超声时间20min, 超声功率300W, 微波时间4min时,微波功率对豆渣蛋白质提取率的影响与超声波功率的较相似。微波功率设定为440W较好。利用SAS 9.2软件分析,微波功率对豆渣蛋白质提取率的影响不显著($p > 0.05$)。

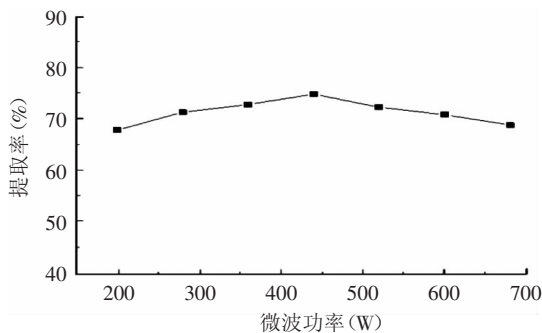


图4 微波功率对蛋白质提取率的影响

Fig.4 Effect of microwave power on protein extraction yield

2.1.4 微波时间的影响 图5表示固液比10:1, pH9, 微波功率360W, 超声功率300W, 超声时间20min时,微波作用时间对豆渣蛋白质提取率的影响情况。作用时间从1min延长至5min时,随时间的增加,蛋白质提取率增加,当作用时间大于5min时,提取率开始下降。利用SAS 9.2软件分析,在1~4min内,微波作用时间对豆渣蛋白质提取率的影响显著($p < 0.05$)。

2.1.5 液固比的影响 图6出示超声时间20min, pH9, 微波功率360W, 超声功率300W, 微波时间4min时,液固比对提取率的影响。在研究范围6:1~12:1范围内,萃取液量少时,豆渣蛋白质提取率小,随着萃取液量的增加,提取率增加,但当液固比超过10:1(V:W)后,提取率增加不再显著,考虑经济效益,液固比选为10:1。利用SAS 9.2软件分析,液固比对豆渣蛋白质提取率的影响显著($p < 0.05$)。

2.1.6 pH的影响 由图7可见,当超声时间20min,固

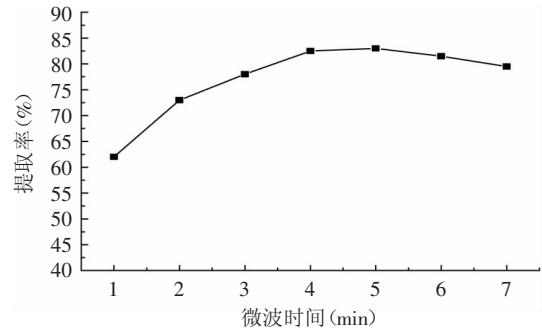


图5 微波作用时间对蛋白质提取率的影响

Fig.5 Effect of microwave process time on protein extraction yield

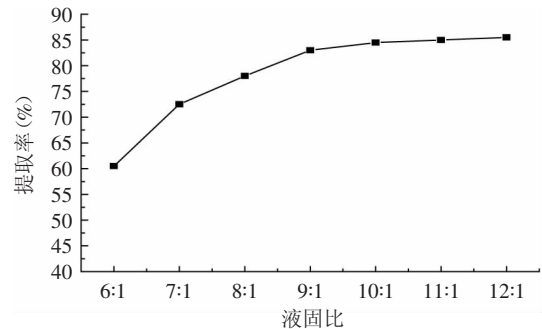


图6 液固比对蛋白质提取率的影响

Fig.6 Effect of solvent-to-material ratio on protein extraction

液比10:1,微波功率360W,超声功率300W,微波时间4min时,在pH7~9的范围内,豆渣蛋白质提取率随pH增加而增加;随着pH的继续增加,蛋白质提取率有所下降。利用SAS 9.2软件分析,在pH7~9的范围内,pH对豆渣蛋白质提取率的影响显著($p < 0.05$)。

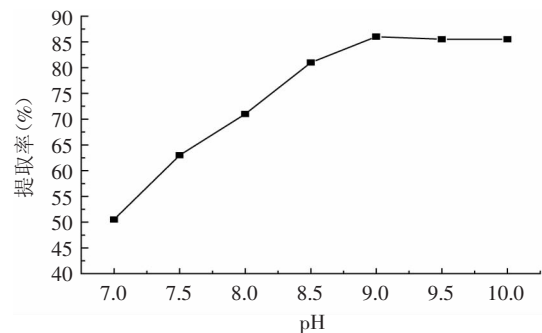


图7 pH对蛋白质提取率的影响

Fig.7 Effect of pH on protein extraction yield

2.2 响应面实验

2.2.1 实验结果与分析 在单因素实验的基础上,固定微波功率440W,超声波功率400W,应用Box-Behnken实验设计,选择pH、固液比、超声时间和微波时间为实验可控变量,每个因素取三水平进行响应面分析(见表3)。

采用Design Expert软件对实验数据进行回归拟合,得到豆渣蛋白质提取率(Y)对pH(A)、超声时间(B)、微波时间(C)和液固比(D)的二次多元回归方程:

表3 泡沫性能响应面实验设计及结果

Table 3 Experiment design and results for response surface analysis of foaming properties

实验号	A	B	C	D	Y 提取率(%)
1	0	1	0	1	91.50
2	1	0	1	0	93.63
3	0	0	0	0	87.60
4	0	0	0	0	84.27
5	-1	-1	0	0	54.22
6	1	0	0	1	90.59
7	0	0	-1	-1	48.26
8	0	0	1	1	89.47
9	-1	0	0	-1	53.24
10	-1	0	-1	0	47.29
11	1	0	-1	0	71.12
12	0	1	1	0	91.70
13	0	0	1	-1	65.85
14	0	-1	0	1	71.96
15	-1	0	0	1	76.05
16	0	-1	1	0	79.23
17	0	0	-1	1	73.68
18	0	-1	0	-1	56.06
19	1	-1	0	0	85.07
20	0	1	0	-1	59.51
21	-1	0	1	0	77.69
22	0	0	0	0	83.34
23	0	0	0	0	84.91
24	0	-1	-1	0	58.96
25	-1	1	0	0	82.68
26	0	1	-1	0	69.51
27	1	0	0	-1	69.17
28	0	0	0	0	84.35
29	1	1	0	0	90.39

$$Y=84.89+9.07A+6.65B+10.73C+11.76D-5.78AB-1.97AC-0.35AD+0.48BC+4.02BD+-0.45CD-3.84A^2-3.88B^2-6.93C^2-9.56D^2$$

式(2)

回归模型方差分析结果见表4。对豆渣蛋白质提取率,模型 $p<0.0001$,表明回归模型极显著,失拟项 $p=0.08>0.05$,不显著,说明模型是合适的, $R^2=0.9775$,模型拟合度良好, $R^2_{Adj}=0.9551$,表明模型较好地反映pH(A)、超声时间(B)、微波时间(C)和液固比(D)与豆渣蛋白质提取率(Y)的关系,总变异中有4.04%不能用该模型解释,可以用该模型来分析和预测豆渣蛋白质提取率。此外,所有一次项、二次项和交互项AB对蛋白质提取率的影响差异极显著,方程交互项BD差异显著,剩余项差异不显著。

2.2.2 交互作用分析 响应曲面等高线的形状可确定交互作用的强弱,椭圆形表明两因素交互作用显著,而圆形则相反^[6]。响应曲面见图8。由图8(a)可知,pH和超声时间的交互作用影响极显著。豆渣蛋白质提取率随pH和超声时间的增大而升高,但随超声时间的延长,物系温度也升高,温度过高将影响豆渣蛋

表4 回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis for the established regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	p值
模型	5563.73	14	397.41	43.53	<0.0001
A	986.45	1	986.45	108.05	<0.0001
B	530.54	1	530.54	58.11	<0.0001
C	1381.38	1	1381.38	151.31	<0.0001
D	1660.51	1	1660.51	181.89	<0.0001
AB	133.86	1	133.86	14.66	0.0018
AC	15.56	1	15.56	1.70	0.2127
AD	0.48	1	0.48	0.053	0.8214
BC	0.92	1	0.92	0.10	0.7554
BD	64.72	1	64.72	7.09	0.0186
CD	0.81	1	0.81	0.089	0.7702
A ²	95.60	1	95.60	10.47	0.0060
B ²	97.79	1	97.79	10.71	0.0056
C ²	311.77	1	311.77	34.15	<0.0001
D ²	593.33	1	593.33	64.99	<0.0001
残差	127.81	14	9.13		
失拟项	117.39	10	11.74	4.50	0.08
误差	10.42	4	2.61		
总变异	5691.54	28			

$R^2=0.9775$ $R^2_{Adj}=0.9551$ $CV=4.04\%$

注: $p<0.05$,差异显著; $p<0.01$,差异极显著。

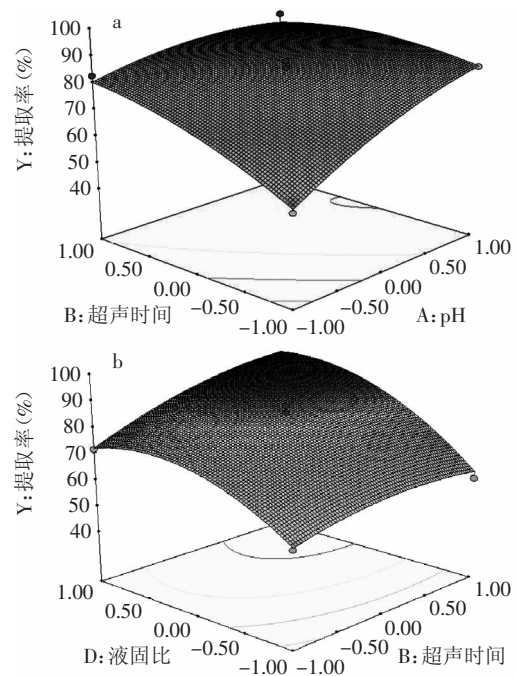


图8 因素交互作用对蛋白质提取率影响的响应曲面
Fig.8 Response surface plots showing the effects of interactions of the factors on protein extraction yield

白质的感官品质,宜选择超声时间为30min为优化条件;由图8b可知,液固比和超声时间的交互作用影响显著,豆渣蛋白质提取率随超声时间的延长而升高;当液固比低于10.30:1时,蛋白质提取率随液固比的增加而增加,当液固比高于10.30:1时,蛋白质提取率

随液固比的升高出现轻微降低。

2.2.3 验证实验 由于超声/微波处理时间较长,蛋白质分子部分将会发生降解,因此,超声时间不超过30min,微波时间不超过5min。应用软件Design-Expert求解方程,当预测值最大时,四个因素最佳值为:pH 9.5、超声时间30min、微波时间5min、液固比10.28:1,预测提取率为94.1464%。由于实验设备精度所限,液固比10.28:1较难达到,将其修正为10.30:1,其他因素不变,得预测提取率为94.1363%,同时进行验证实验,结果显示蛋白质提取率可达93.43%,与预测值接近,验证了该回归模型能较好的反应豆渣蛋白质提取的最佳条件。

2.2.4 豆渣蛋白质SDS-PAGE分析 图9为应用Gel-Pro analyzer分析所得豆渣蛋白质光密度图。提取的豆渣蛋白质分子量在 $13.427 \times 10^3 \sim 338.96 \times 10^3$ u之间。蛋白液质地均匀,感官品质较好。

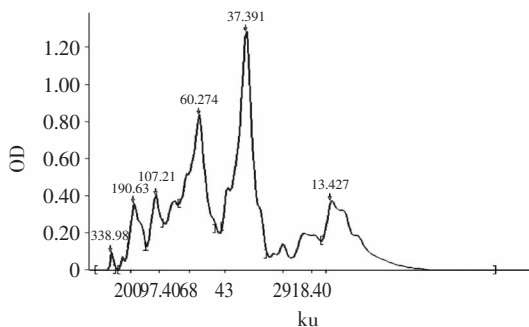


图9 豆渣蛋白质光密度分析

Fig.9 Soybean dreg protein light intensity analysis

3 结论

实验结果表明超声波/微波协同提取豆渣蛋白质具有较强的可行性。在豆渣蛋白质的提取过程中,由于在豆制品生产中其中的蛋白质已被应用常规方法提取过,继续应用常规方法提取收效甚微。超声波作为一种物理能量形式,可使介质粒子振动,这种振动在亚微观范围内引起超声空化现象,导致固液体系中液体介质质点运动增加、固体(生物体)内部结构变化,强化了微孔扩散;在此基础上,微波以其显著地热效应、电磁效应等,进一步加速生物体的微孔扩散,强化了豆渣蛋白质的溶出速度,使提取率非常显著。通过响应面实验得最佳工艺条件:pH9.5、超声时间30min,微波时间5min,液固比10.30:1,微波功率440W,超声功率400W,蛋白质提取率预测值为94.14%。在最佳条件下进行实验验证,测得实际蛋白质提取率93.43%,与预测值吻合较好,表明所得回归方程可靠。经过对产品性状分析,所得的蛋白质质地

均匀,感官品质良好。

参考文献

- [1] 郭顺堂. 中国大豆食品产业发展的现状及技术创新 [J]. 大豆科技, 2010(6):1-3,31.
- [2] 张振山, 叶素萍, 李泉, 等. 豆渣的处理与加工利用[J]. 食品科学, 2004, 25(10):400-406.
- [3] 孔捷, 赵功玲. 用酶解豆渣作蛋糕原料的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(7):3232-3233.
- [4] Akihiro Nakamura, Taro Takahashi, Ryuji Yoshida, et al. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18:795-803.
- [5] WEICKERT M O, PFEIFFER A F. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes[J]. J Nutr, 2008, 138(3):439-442.
- [6] Luthria D L, Biswas R, Natarajan S. Comparison of extraction solvents and techniques used for the assay of isoflavones from soybean[J]. Food Chemistry, 2007, 105:325-333.
- [7] YIN X, HAN P F, LU X P, et al. A review on the dewaterability of bio-sludge and ultrasound pretreatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2004, 11:337-348.
- [8] PANYUE ZHANG, GUANGMING ZHANG, WEI WANG. Ultrasonic treatment of biological sludge: Floc disintegration, cell lysis and inactivation[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(1), 207-210.
- [9] 周定伟. 声空化场强化沸腾传热机理[J]. 化工学报, 2002, 5:538-541.
- [10] 马秀婷, 肖志刚, 孙旭, 等. 超声波辅助提取豆渣蛋白工艺优化[J]. 食品与机械, 2013, 29(1):108-112.
- [11] Tian Y T, Xu Z B, Zheng B D. Optimization of ultrasonic assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L) seed oil [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1):202-208.
- [12] 王琪, 张名位, 孙远明, 等. 苦瓜皂苷的超声-微波协同提取工艺优化[J]. 广东农业科学, 2009(6):120-126.
- [13] Chen Y Y, Gu X H, Huan S Q, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of Polysaccharides from nonotus obliquus and evaluation of its antitumor activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46:429-435.
- [14] 张守文, 韩英. 玉米蛋白粉中黄色素超声微波提取工艺的优化[J]. 中国食品添加剂, 2014(1):95-101.
- [15] O Toole D K. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production a review [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(2):363-371.
- [16] 吴雨静, 杜先锋. 响应面法优化米渣发泡蛋白制备工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(9):96-101.

(上接第265页)

- [16] Hitchman T. Purifine® PLC: industrial application in oil degumming and refining [J]. Oil Mill Gazetteer, 2009, 115(3):2-4.
- [17] 毛涛, 李维琳, 喻子牛, 等. 磷脂酶A₂用于菜籽油脱胶[J]. 中国油脂, 2007, 32(11):20-22.
- [18] 徐向宏, 何明珠. 实验设计与Design-Expert、SPSS应用[M].

北京:科学出版社, 2010, 7

- [19] GB/T 1536-2004. 菜籽油[S].
- [20] De Maria L, Vind J, Oxenbøll K M, et al. Phospholipases and their industrial applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 74(2):290-300.