

豆渣中水溶性大豆多糖提取及组分鉴定

范远景, 张 倩, 朱 昂

(合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230069)

摘 要: 大豆多糖是大豆中的有效活性成分之一, 具有抗氧化性、食品稳定性等作用。本实验从大豆豆渣中提取可溶性大豆多糖的主要影响因素进行了正交实验, 对提取物进行薄层层析(TLC)和傅立叶变换红外光谱分析(FTIR)的单糖组分与结构分析。通过对提取温度、保温时间、pH 值、固液比等对大豆多糖的提取影响 4 个因素的正交试验, 结果是最佳提取组合条件为提取温度在 100℃, 保温时间为 3h, 固液比 1:2, pH 值为 5 时为产率最高。并将提取的多糖经过初步纯化后, 经薄层层析分离的纯化制备样品与半乳糖、阿拉伯糖和鼠李糖等部分单糖的组分分析和红外光谱的样品糖结构分析。

关键词: 豆渣; 可溶性大豆多糖; 正交试验; 薄层层析; 傅立叶变换红外光谱

Study on Extraction of Soluble Soybean Polysaccharides

FAN Yuan-jing, ZHANG Qian, ZHU Bing

(Institute of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230069, China)

Abstract: Soluble soybean polysaccharide (SPSS) is one of the effective ingredients in soybeans, and it has various functions, such as antioxidant activity, stabilizing protein particles in acidic solutions, etc. The research mainly emphasizes on the extraction of soybean polysaccharide (ESP), and then analyzes its monosaccharide components. The ESP primarily focuses on the quantities of SSPS under different temperatures, time, pH, as well as conditions of varied firm than liquid, thus finds out the optimum arrangements of the four factors, namely temperature 100 °C, time 3 h, pH5, and firm than 2 liquid. After the elementary purification, the extraction is identified with TLC (Thin Layer Chromatography) and FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) for its monosaccharide constiutions.

Key words soybean dregs, soluble soybean polysaccharide, orthogonal conditions, TLG, FTIR

中图分类号: 0636.1

文献标识码 A

文章编号: 1002-6630(2007)09-0295-04

可溶性大豆多糖(soluble soybean polysaccharide, SSPS)主要组成是阿拉伯半乳聚糖(arabino galactan)、阿拉伯聚糖(arabinan)、酸性聚糖(acidic poly saccharide)等聚糖类, 多糖类结构是以鼠李半乳糖醛酸和高聚半乳糖

酸为主链, 半乳聚糖和阿拉伯糖为侧链结合的近似球状体^[1]。含有鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖、木糖和葡萄糖等多种成分。大豆多糖类由于其分子结构近于球状, 与其它生物多糖相比粘性较低, 并具有分散性、稳定

收稿日期: 2007-07-11

作者简介: 范远景(1958-), 男, 博士, 研究方向为食品营养与安全。

1065-1066.

- [3] RAZINAT, ZUEVA, AMOSOVA, et al. Medicinal plant preparations used as adjuvant therapeutics in experimental oncology[J]. Eksp-Klin-Farmakol, 2000, 63(5): 59-61.
- [4] 陈丽华. 中药大辞典: 上册[M]. 上海: 科学出版社, 1977: 2040-2043.
- [5] 刘志伟. 红景天保健饮料的研制[J]. 食品科技, 2000, 12(3): 47-48.
- [6] 兰昌云, 周崇松. 超声波法提取槐花中黄酮的最佳工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1): 12-16.

- [7] 赵永光, 常立新, 周永国. 超声波法提取侧柏叶中黄酮类化合物的研究[J]. 河北农业学报, 2005, 28(2): 102-105.
- [8] 严希康. 生化分离技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 34-48.
- [9] 陈晓青, 蒋新宇, 刘佳佳. 中草药成分分离分析技术与方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 57-107.
- [10] 杨同舟. 食品工程原理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 294-308, 385-396.
- [11] 张艳荣, 单玉玲, 刘婷婷, 等. 微波萃取技术在姬松茸多糖提取中的应用[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 267-270.

性、乳化性和黏着性等特点。食品行业中被用作食物纤维强化剂、持泡剂和食品特性改善剂。此外,大豆多糖还具有调节血糖值和血液脂质、促进肠道有害物质的吸附与排泄、抗癌、促进矿物质吸收利用性等生物学活性,在抗氧化、抗菌、抗病毒及免疫调节等方面也有一定功效。大豆多糖是大豆深加工系列产品开发的重要组成部分之一。

关于可溶性大豆多糖的提取,国内外已有一些报道^[2],对提取条件进行了一些探讨。但是在实际应用众得率不高,工艺比较复杂,成本也较高。工业生产中一般能产生30%~35%的豆渣,这些豆渣由于不能被进一步利用,被工厂作为废弃物扔掉,造成浪费。而这些豆渣的主要成份是子叶部的细胞壁多糖,约含30%的水溶性多糖^[2]。因此本文进行了从豆渣中采取直接的提取可溶性大豆多糖工艺研究,以期能提高豆渣的利用率,降低大豆产品的生产成本。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆将经水浸泡24h的大豆粉碎、沥干,用95%的工业乙醇浸泡24h后,抽滤,取滤渣,沥干,备用。

1.2 方法

1.2.1 可溶性大豆多糖的提取

利用豆渣为实验材料,以温度、保温时间、固液比以及浸提液pH值为大豆水溶性多糖提取实验的影响因素与工艺参数^[3-4],在我们已进行的单因素实验结果的基础上,筛选如表1所示的正交因素与水平。计算,正交设计助手II-v2.3软件。

表1 各因素水平表
Table 1 Levels and factors

水平	因 素			
	A 提取温度(℃)	B 保温时间(h)	C pH 值	D 固液比
1	80	1	5	1:2
2	100	2	6	1:4
3	120	3	7	1:8

1.2.2 可溶性大豆多糖样品的初步纯化

1.2.2.1 糖蛋白中除去蛋白

Sevag法 在提取液中加入三氯甲烷:正丁醇(5:1),剧烈振荡20~30min,离心分离,溶液分为上清液、中间蛋白层及下层有机相,取上清液。

三氯乙酸法 在上清液中滴加5%~10%的三氯乙酸溶液至提取液不再混浊,在5~10℃条件下静置过夜,离心除去沉淀即可。

1.2.2.2 分离与纯化

沉淀 在经过处理所得的上清液中加入95%的乙醇,反应,离心得沉淀。用丙酮、乙醇洗涤沉淀。将沉淀烘干,即得到大豆粗多糖样品。

纯化 处理样品:将提取的大豆粗多糖配制成高浓度溶液,置于透析袋中,扎紧袋口。然后将透析袋置于流水中透析48h。

1.2.3 产品成分测定

总糖含量测定:苯酚-硫酸法,以葡萄糖作标准曲线;还原糖含量测定:DNS法,以葡萄糖作标准曲线;蛋白质含量测定:考马斯亮蓝G-250法,以牛血清白蛋白作标准曲线,进行相关测定。

1.2.4 糖组分及结构的初步鉴定

硅胶板薄层层析:准确称取400mg样品溶于10ml 1mol/L的硫酸中,在100℃的条件下,水解6h,用碳酸钡中和至中性,离心、取上清液。分别准确称取20mg的鼠李糖、半乳糖及阿拉伯糖,分别置于10ml的容量瓶中定容。点样,密闭式上行层析展开。展层液为正丁醇:吡啶:水(8:4:3),展层后喷苯胺在120℃烘烤10min显色。

傅立叶变换红外光谱分析(FTIR):分别取经过干燥的样品与鼠李糖、半乳糖标样1mg,与100~200mg经干燥的溴化钾粉末在红外灯下,于玛瑙研钵研磨后经压片机压片,傅立叶变换红外光谱分析仪在500~4000cm⁻¹扫描,获得鼠李糖、半乳糖,以及样品的红外光谱图。红外光谱仪:NEXUS-870(Nicolet Instrument Corporation, USA)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线测定

根据上述分析方法获得苯酚-硫酸法测定总糖含量的标准曲线、DNS法测定还原糖含量的标准曲线和蛋白质含量标准曲线,并依据标准曲线进行样本各种糖与蛋白含量的检测

2.2 产品成分分析

2.2.1 多糖含量

多糖含量=总糖含量-还原糖含量,由下表2中可以看到,提取物中蛋白质相对于样品质量,以及多糖质量来说含量很少,这说明Sevag-三氯乙酸法联合除蛋白的效果较好。在大豆多糖的单糖组分分析中,蛋白质对结果的影响较小。

2.2.2 正交试验结果计算及分析

根据表2计算所得的总糖、还原糖、多糖及蛋白质含量,对正交试验进行极差分析,如表3所示。本次正交试验目的在于确定提取温度、保温时间、pH、

表2 每组样品中总糖、还原糖、多糖及蛋白质含量

Table 2 Concentration of soluble carbohydrates, reducing sugar, polysaccharide and protein in each sample

序号	样品质量 (g)	检测浓度			样品含量计算值	
		总糖浓度(mg/ml)	还原糖浓度(mg/ml)	蛋白质浓度(mg/ml)	蛋白质含量(mg/g样品湿重)	多糖得率(mg/g样品湿重)
1	1.2243	0.0276	0.0023	70.000	1.17	20.26
2	1.5220	0.0084	0.0010	53.333	0.89	5.91
3	1.6746	0.0158	0.0009	50.000	0.84	11.88
4	2.1923	0.0254	0.0028	50.000	0.83	18.11
5	0.4598	0.0289	0.0014	50.000	1.81	21.75
6	2.2509	0.0398	0.0019	66.667	1.11	30.34
7	1.2147	0.0288	0.0018	46.667	0.77	21.57
8	4.5924	0.0258	0.0018	66.667	1.11	19.23
9	1.4164	0.0301	0.0048	33.333	0.56	20.19

固液比这四个主要影响因素的因素主次顺序及最佳提取条件,且为四因素、三水平的正交试验,选用 $L_9(3^4)$ 的正交表,故采取极差法对试验结果进行分析。

表3 正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test

序号	因素				多糖得率 (mg/g样品湿重)
	A 提取温度 (℃)	B 保温时间 (h)	C pH 值	D 固液比 (体积)	
1	80	1	5	1:2	20.26
2	80	2	6	1:4	5.91
3	80	3	7	1:8	11.88
4	100	1	6	1:8	18.11
5	100	2	7	1:2	21.75
6	100	3	5	1:4	30.34
7	120	1	7	1:4	21.57
8	120	2	5	1:8	19.23
9	120	3	6	1:2	20.19
k ₁	12.683	19.980	23.277	20.733	
k ₂	23.400	15.630	14.737	19.273	
k ₃	20.330	20.803	18.400	16.407	
偏差平方和	182.243	46.364	110.133	29.069	
自由度	2	2	2	2	
F 比	1.985	0.504	1.196	0.316	
误差			368.31		
因素主次顺序			A C B D		
最优方案			A ₂ C ₁ B ₃ D ₁		

结果表明,提取温度是主要的影响因素,其次是pH值和保温时间,由表3知最优提取条件为 $A_2C_1B_3D_1$ 即提取温度为100℃,pH值,为5保温3h,固液比为1:2。对此结果进行验证,通过改变因素组合的方法与正交试验最佳工艺组合进行结果对比,相同重量样品在 $A_2C_1B_3D_1$ 条件下多糖得率为1.477g,在 $A_3C_3B_1D_2$ 条件下大豆多糖得率为0.883g。

2.3 单糖组分分析及结构

2.3.1 硅胶板薄层层析

大豆多糖的主链主要由 α -1,4-半乳糖醛酸galacturonic

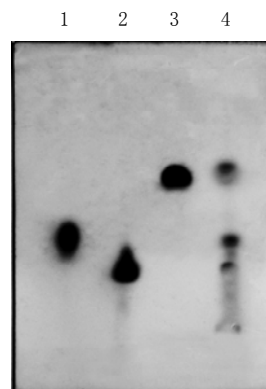
acid主链组成,有时主链中插入 α -1,2鼠李糖残基^[6]。其中鼠李糖含量为2.5%,半乳糖含量为43.6%,位于侧链的阿拉伯糖含量为22.5%,因此针对大豆多糖主链和主要侧链的糖组分进行组分分析。硅胶板薄层层析图1如下:从右至左点样顺序为:样品水解液,鼠李糖,半乳糖,阿拉伯糖。

根据各斑点的迁移率可以看到:斑点1为半乳糖,斑点2为阿拉伯糖,斑点3为鼠李糖。因此可以初步确定在样品中大豆多糖糖组分含有半乳糖、鼠李糖以及阿拉伯糖。大豆多糖还含有其它单糖组分,本次试验通过单糖标样仅鉴定了大豆多糖主链和含量较高的侧链单糖组分。

2.3.2 傅立叶变换红外光谱(FTIR)

根据大豆多糖提取物的红外光谱可得:3300~3200 cm^{-1} 和1700~650 cm^{-1} 都有吸收峰。3372 cm^{-1} 处的吸收峰是由于-OH振动产生的,在1625 cm^{-1} 处的吸收峰则表明在提取物中可能有羰基(C=O)的存在,1074 cm^{-1} 处的吸收峰则表明醚键(-C-O-C-)的存在^[5]。

将鼠李糖、半乳糖的红外光谱图与可溶性大豆多糖提取物的红外光谱图进行比较可以发现,三者都在3300~



1. 鼠李糖; 2. 半乳糖; 3. 阿拉伯糖; 4. 样品水解液。

图1 大豆多糖提取样品水解液与标样硅胶板薄层层析图

Fig.1 Thin layer chromatography of soybean polysaccharide

酶法制备河蚌功能性产品

王素雅, 刘长鹏, 吴 珊, 刘 敏

(南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏省粮油品质控制及深加工技术重点实验室, 江苏 南京

210003)

摘 要: 本实验测定了河蚌的基本营养成分, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验研究了 pH 值、反应温度、酶添加量与反应时间对 Flavourzyme 水解河蚌肉糜的影响, 并测定了水解物的抗氧化能力。结果表明, 其酶解工艺选择为: pH 值 7.0、水解温度 50℃、酶添加量分别为 0.05%, 反应时间 120min。河蚌水解物的总抗氧化能力和抑制羟自由基能力分别为 4.02 单位/ml 水解液和 129.23U/ml 水解液。

关键词: Flavourzyme; 河蚌; 水解物; 抗氧化活性

Preparation of Mussel Functional Product by Enzyme

WANG Su-ya, LIU Chang-peng, WU Shan, LIU Min

(Key Laboratory of Grain and Oils Quality Control and Deep-utilizing Technology of Jiangsu Province, College of Food Science and Technology, Nanjing University of Finances and Economics, Nanjing 210003, China)

Abstract: The basic nourishment compositions of mussel were determined in the paper. pH, temperature, addition of

收稿日期: 2007-07-16

基金项目: 南京财经大学科研基金项目(B0550)

作者简介: 王素雅(1969-), 女, 副教授, 博士, 研究方向食品生物技术。

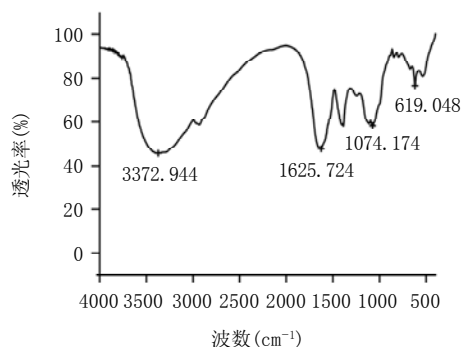


图2 大豆多糖提取物红外光谱图

Fig.2 Fourier transform infrared spectroscopy of extract of soybean polysaccharide

3200cm^{-1} 和 $1700\sim 650\text{cm}^{-1}$ 都有吸收峰, 通过与半乳糖和鼠李糖的红外光谱图比较可以看出大豆多糖提取物中都有醚键($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$)、羰基($\text{C}=\text{O}$)等官能团的存在, 因此可以初步确定上述实验条件提取的可溶性大豆多糖中含有鼠李糖和半乳糖等单糖组分^[7]。

3 讨 论

大豆是一种药食两用的植物, 有一定的营养保健作用, 且种植分布广, 对大豆综合利用和开发有广阔的

前景。豆渣提取多糖, 温度、料液比、提取时间 pH 值是影响较为显著的四个因素, 其中以浸提温度和保温时间丙在弱酸性条件效果最好。提取物经硅胶薄层层析和傅立叶变换红外光谱分析, 初步和认定大豆多糖产物, 获得的大豆水溶性多糖可以作为进行多糖生物学活性实验材料。

参考文献:

- [1] 张晓华, 任晨刚, 郭顺堂. 可溶性大豆多糖的提取工艺及其应用研究[J]. 大豆科学, 2006(1): 28-30.
- [2] 周秀琴. 水溶性大豆多糖的开发和应用[J]. 食品与开发, 1992, 27(9): 27-28.
- [3] 赵国志, 刘喜亮, 刘智锋. 水溶性大豆多糖类开发与应用[J]. 粮油与食品, 2006, 16(8): 15-17.
- [4] NAKAMURA A, FURUTA H, MAEDA H, et al. Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2002, 66: 1301-1313.
- [5] NAKAMURA A, FURUTA H, MAEDA H, et al. Analysis of the molecular construction of xylogalacturonan isolated from soluble soybean polysaccharides[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2002, 66(5): 1155-1158.
- [6] 孙德文, 詹勇, 许梓荣. 非淀粉多糖在动物营养上的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2002(2): 26-29.
- [7] 夏朝红, 戴奇, 房韦, 等. 几种多糖的红外光谱研究[J]. 武汉理工大学学报, 2007, 29(1): 45-47.