

# 大豆乳清废水综合利用研究进展

时玉强<sup>1</sup>,李顺秀<sup>1</sup>,马 军<sup>1</sup>,王洪彩<sup>1</sup>,刘 军<sup>2</sup>,鲁绪强<sup>3</sup>

(1. 山东禹王生态食业有限公司,山东 禹城 251200; 2. 临邑禹王植物蛋白有限公司,山东 临邑 251500;

3. 德州清大禹王能源技术研究院有限公司,山东 临邑 251500)

**摘要:**大豆乳清废水是大豆分离蛋白生产过程中产生的有机废水,也是该工艺过程中产生的最大量的废弃物。研究表明,大豆乳清废水中的多种有机组分具有一定的生物活性和医疗保健功能,具有较高的回收利用价值。介绍了大豆乳清废水的主要组分及含量,并对各组分的功能作用和各组分的分离提取进行了总结与分析,对大豆乳清废水用于新型功能性饮料的开发现状进行总结,并对大豆乳清废水的综合利用进行了展望,为大豆乳清废水的综合利用提供理论和实践的指导。

**关键词:**乳清废水;大豆乳清蛋白;大豆异黄酮;大豆胰蛋白酶抑制剂;大豆低聚糖

中图分类号:TS209;TQ645.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)01-0092-08

## Advance in comprehensive utilization of soybean whey wastewater

SHI Yuqiang<sup>1</sup>, LI Shunxiu<sup>1</sup>, MA Jun<sup>1</sup>, WANG Hongcai<sup>1</sup>, LIU Jun<sup>2</sup>, LU Xuqiang<sup>3</sup>

(1. Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co., Ltd., Yucheng 251200, Shandong, China;

2. Linyi Yuwang Plant Protein Industry Co., Ltd., Linyi 251500, Shandong, China; 3. Dezhou Qingda Yuwang Energy Research Institute Co., Ltd., Linyi 251500, Shandong, China)

**Abstract:** Soybean whey wastewater is the organic wastewater produced during the production of soybean protein isolate, and it is also the largest amount of waste generated during the process. The researches show that many organic components in soybean whey wastewater have biological activity and medical and healthcare functions, and have high recycling value. The contents of the main components in soybean whey wastewater were introduced, the research results of the function and the separation and extraction of each component were summarized, also the development status of novel functional beverage produced by soybean whey wastewater was reviewed, and the comprehensive utilization of soybean whey wastewater was prospected. In order to provide theoretical and practical guidance for the comprehensive utilization of soybean whey wastewater.

**Key words:** whey wastewater; soybean whey protein; soybean isoflavones; soybean trypsin inhibitor; soybean oligosaccharides

大豆乳清废水是大豆分离蛋白生产过程中产生的有机废水,现有工艺每生产 1 t 大豆分离蛋白产生大豆乳清废水 30 ~ 50 m<sup>3</sup><sup>[1]</sup>。大豆乳清废水中含有丰富的大豆低聚糖、大豆乳清蛋白、大豆异黄酮、大豆皂苷等活性成分<sup>[2]</sup>。除了具有食品保健功

能的成分外,大豆乳清废水中还含有生物活性成分如大豆胰蛋白酶抑制剂、细胞色素 C、 $\beta$ -淀粉酶、脂肪氧合酶等<sup>[3-4]</sup>,可用于医疗保健或相关的生物酶处理领域等。

大豆分离蛋白的用量和适用领域逐年增加,不可避免地增加了大豆乳清废水的产生量,这类乳清废水干物质含量低,利用困难,目前主要处理手段为生化处理,经过厌氧发酵后再利用好氧发酵,将其中的有机成分通过微生物分解,达到排放标准后排放到城市污水管网中,造成了大豆资源的浪费,且污染环境。如何有效地提取大豆乳清废水中的功能性因

收稿日期:2019-08-08;修回日期:2020-08-26

基金项目:山东省重点研发计划(医用食品专项计划及重大科技创新工程)资金资助(SF1503302301)

作者简介:时玉强(1982),男,高级工程师,硕士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究工作(E-mail) shiyuqiang@yuwangcn.com。

子,回收水资源,是解决制约大豆分离蛋白发展的重要课题,也是提高大豆资源利用率,实现节能减排,提高大豆附加值的重要内容。本文对大豆乳清废水的组成进行了分析研究,并对大豆乳清废水中各组分的功能、分离提取工艺及应用进行了探讨。

## 1 大豆乳清废水组成及含量

### 1.1 大豆乳清废水及干基组成

大豆乳清废水的主要组成成分是大豆低聚糖、大豆乳清蛋白、无机盐类以及各类微量成分,其中水分含量97.6%,经检测分析得到的大豆乳清废水干基组成见表1。

表1 大豆乳清废水干基组成

项目	含量/(g/100 g)
蛋白质	20.0
脂肪	0.3
灰分	20.2
膳食纤维	1.4
碳水化合物	58.1

注:碳水化合物含量为计算值。

### 1.2 大豆乳清废水中碳水化合物组成

大豆乳清废水中碳水化合物主要成分是大豆低聚糖,经过第三方SGS检测得大豆乳清废水碳水化合物主要成分见表2。

表2 大豆乳清废水中碳水化合物的组成

碳水化合物	含量/%
水苏糖	23.5
棉子糖	30.7
蔗糖	34.6
葡萄糖	4.75
甘露糖	1.85
果糖	4.65

### 1.3 大豆乳清废水中大豆乳清蛋白组成

大豆乳清蛋白主要由2S和7S蛋白组成,其主要成分、相对分子质量和等电点如表3所示。除此之外,近年来从大豆乳清废水中提取得到功能性的2S蛋白组分露那辛<sup>[5]</sup>。

表3 大豆乳清废水中大豆乳清蛋白组成<sup>[6]</sup>

组分	成分	相对分子质量	等电点
2S蛋白	Kunitz抑制剂	21 500	4.5
	Bowman-Birk抑制剂	7 985	4.2
	细胞色素C	12 000	9.8~10.1
7S蛋白	血球凝集素	120 000*	5.81
	脂肪氧合酶	102 000	5.68
	$\beta$ -淀粉酶	61 700	5.85

注:\*表示由4个相同的相对分子质量为3 000的亚基组成。

### 1.4 大豆乳清废水中大豆异黄酮组成

大豆乳清废水中重要的功能性成分主要是大豆异黄酮,其干基组成见表4。

表4 大豆乳清废水中大豆异黄酮组成

大豆异黄酮	含量/(mg/kg)
大豆苷	228.6
大豆黄苷	79.0
染料木苷	199.6
大豆素	47.8
大豆黄素	10.0
染料木素	24.6

注:表中数据以大豆乳清废水经浓缩、喷雾干燥的大豆乳清粉为基准计算。

### 1.5 大豆乳清废水中抗营养因子组成(见表5)

表5 大豆乳清废水中抗营养因子组成

抗营养因子	含量
次黄嘌呤核苷酸/(mg/100 g)	未检出
腺嘌呤核苷酸/(mg/100 g)	未检出
鸟嘌呤核苷酸/(mg/100 g)	未检出
胰蛋白酶抑制因子/(ng/L)	92.97
胰凝乳蛋白酶抑制因子/(ng/L)	74.36
植物凝集素/(ng/L)	651.3
植酸/(g/100 g)	0.059

从表5可以看出,大豆乳清废水中嘌呤类物质均未检出,这为大豆乳清废水提供给痛风病人作为蛋白质、糖类的营养来源提供了支持。大豆乳清废水中的胰蛋白酶抑制因子和胰凝乳蛋白酶抑制因子具有医药用价值。

## 2 大豆乳清废水中各组分的功能和作用

### 2.1 大豆低聚糖

大豆低聚糖对益生菌具有增殖作用,同时表现出对人体有益的功能,包括降低血脂,提高免疫力,预防心脏病,改善2型糖尿病,控制妊娠期糖尿病并发症等。

Chen等<sup>[7]</sup>通过给高脂血症大鼠喂食大豆低聚糖发现,大豆低聚糖可显著降低大鼠氧化应激反应及体内血脂水平,对治疗心脑血管疾病具有重要作用。Nakata等<sup>[8]</sup>研究认为,大豆中的可发酵多糖对由微生物群从大豆蛋白产生的腐败化合物的形成具有抑制作用。Ma等<sup>[9]</sup>认为给小鼠以4.0 g/kg的剂量灌胃大豆低聚糖,可以改善小鼠肠内有益微生物的数量并增强小鼠的免疫功能。Zhang等<sup>[10]</sup>研究表明,大豆低聚糖显著增加了大鼠心脏中p-JAK2和p-STAT3蛋白的表达。而JAK2/STAT3途径的激活在大豆低聚糖治疗组中显示出重要的保护作用。Fei等<sup>[11]</sup>研究表明,大豆低聚糖能够减轻妊娠

期糖尿病孕妇的氧化应激并减轻胰岛素抵抗,这表明大豆低聚糖可能在控制妊娠期糖尿病并发症中起重要作用。Zhou 等<sup>[12]</sup>研究表明,向断奶的环江迷你仔猪的饮食中添加大豆低聚糖可以增加肠道菌群的多样性,并提高一些可能有益肠道的细菌(如双歧杆菌属、梭杆菌和罗斯氏菌)。大豆低聚糖的补充还增加了肠腔中短链脂肪酸的浓度,并减少了具有致病性的细菌(如大肠杆菌、梭菌和链球菌)的数量和几种蛋白质衍生的分解代谢产物(如异丁酸酯、异戊酸酯和氨)。最终得出,补充大豆低聚糖可以改变断奶的环江迷你仔猪的肠道生态系统,并对肠道具有潜在的有益作用。

## 2.2 大豆乳清蛋白

大豆乳清蛋白的主体是 7S 大豆球蛋白,主要的保健功能包括减肥、降低心血管疾病、提高免疫力、抗癌等<sup>[13-16]</sup>。陈爱梅等<sup>[17]</sup>研究认为,大豆乳清蛋白具有较好的溶解性及起泡性,但泡沫稳定性及乳化性不如大豆分离蛋白。任方林等<sup>[18]</sup>认为,糖基化改性有助于提高大豆乳清蛋白在 pH 4.5 下的乳化特性和热稳定性。韩伟等<sup>[19]</sup>通过对小鼠的喂养研究认为,动物宿主摄入一定比例的大豆乳清粉,将显著影响其肠道菌群和肠内短链脂肪酸代谢,对动物肠道微生物平衡有重要的意义。

## 2.3 $\beta$ -淀粉酶

$\beta$ -淀粉酶,又称淀粉 $\beta$ -1,4-麦芽糖苷酶,是啤酒酿造、饴糖(麦芽糖浆)制造的主要糖化剂<sup>[20]</sup>。 $\beta$ -淀粉酶是一种外切型淀粉酶,其作用于淀粉时从非还原性末端依次切开相隔的 $\alpha$ -1,4键,水解产物全为麦芽糖。而 $\beta$ -淀粉酶水解淀粉水解产物如麦芽糊精、麦芽低聚糖时,水解速度很快,故作为糖化酶使用<sup>[21]</sup>。

## 2.4 大豆胰蛋白酶抑制剂

大豆中胰蛋白酶抑制剂有 7~10 种,其中研究较多的为 Kunitz 型胰蛋白酶抑制剂(KTI)和 Bowman-Birk 型胰蛋白酶抑制剂(BBI)<sup>[22]</sup>。胰蛋白酶抑制剂参与调节体内许多重要的生命活动过程,具有抗炎、抗凝、抗感染、抗肿瘤、降血糖等生理活性,目前已广泛应用于治疗急性胰腺炎、肿瘤、脑血管疾病和控制血糖、外科手术等<sup>[23]</sup>。大豆胰蛋白酶抑制剂与其他临床上广泛应用的胰蛋白酶抑制剂具有相似的性质。

张少娟等<sup>[24]</sup>研究了大豆胰蛋白酶抑制剂对宫颈癌细胞(Hela)体外增殖的影响,发现随着其浓度的增加和时间的延长,大豆胰蛋白酶抑制剂对细胞增殖的抑制率明显增大;在光镜下可以看到细胞

凋亡的特征形态。Sadeghalvad 等<sup>[25]</sup>研究认为,BBI-P 染料木黄酮结合物和单独使用 BBI 的治疗相比,使用 BBI-染料木黄酮结合物治疗大大降低了血清肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 和干扰素(IFN)- $\gamma$ 的水平,脾细胞中 TNF- $\alpha$ 和 IFN- $\gamma$ 的表达显著下调,同时提高了抵抗脂多糖致死性内毒素血症的宿主存活率。

Kobayashi 等<sup>[26]</sup>研究了以从大豆胰蛋白酶抑制剂中纯化的 KTI 和 BBI 为膳食补充剂对小鼠 Lewis 肺癌 3LL 细胞实验性和自发性肺转移的改善作用,同时通过小鼠的体内自发转移、皮下注射和腹腔注射模型研究了人类卵巢癌 HRA 细胞的腹膜弥散转移模型。结果表明,与转移过程中的外渗相比,饮食中补充 KTI 可以更有效地调节参与肿瘤细胞进入血管循环(内渗)的机制。对于患有腹膜弥散转移或有腹膜弥散转移风险的卵巢癌患者,KTI 治疗也可能有益。KTI 通过抑制 MAP 激酶和 PI3 激酶的磷酸化而大大降低了部分肿瘤负担,从而导致 uPA 表达的抑制。

综上所述,大豆胰蛋白酶抑制剂在对癌症病情的控制和治疗上具有积极意义,对癌症新药的开发提供了有力的支持和借鉴。

## 2.5 露那辛

露那辛在抗癌、抗炎和降低胆固醇水平方面具有积极意义<sup>[5]</sup>。Indiano-Romacho 等<sup>[27]</sup>研究证实,与露那辛的 N 末端和中央区域相对应的肽可抑制血管紧张素转化酶,并清除过氧化物和 ABTS 自由基。胃肠道消化过程中释放的片段对叔丁基过氧化氢和过氧化氢攻击的巨噬细胞 RAW264.7 的细胞活力和氧化状态具有有效的保护作用,这些肽还能够减少促炎性脂多糖诱导的巨噬细胞中一氧化氮的产生。

## 2.6 大豆异黄酮

研究表明,大豆异黄酮具有一定的生理功效,包括抗氧化、延缓衰老、抗癌抑癌等<sup>[28]</sup>。大豆异黄酮在人体雌激素含量偏低时会释放出弱性的雌激素,在人体雌激素水平较高时大豆异黄酮仍然能够释放出弱性的雌激素,但此时大豆异黄酮的弱性雌激素活性不强反而会降低人体内的雌激素水平,大豆异黄酮能够对人体内的雌激素起到双向的调节作用<sup>[29]</sup>。Li 等<sup>[30]</sup>研究了大豆异黄酮的神经保护功效及在 ATR 诱导的 DAergic 神经毒性大鼠模型中的相关分子机制。结果表明,大豆异黄酮减弱了黑质中 ATR 诱导的氧化应激,其可以通过依赖 mTOR 的信号通路诱导自噬来预防 ATR 介导的 DAergic 神经元

变性。Yu等<sup>[31]</sup>研究了大豆异黄酮对成骨细胞分化和增殖的影响,证实大豆异黄酮可显著降低成骨细胞中RANKL水平和增加OPG水平,能够实现Wnt/ $\beta$ -连环蛋白途径的激活,这为大豆异黄酮用于骨质疏松治疗提供了可行性。Zhou等<sup>[32]</sup>认为含大豆异黄酮的饲料可以增强鱼的免疫能力并增强其对哈氏弧菌感染的抵抗力,特别是在鱼类中补充40 mg/kg大豆异黄酮,8周鱼的生长明显,非特异性免疫反应、肝抗氧化能力和HSP70基因表达显著改善。Messina<sup>[33]</sup>研究认为与某些啮齿动物研究的结果相反,大豆异黄酮补充剂和富含异黄酮的大豆均不会影响总睾酮激素或游离睾酮激素的水平。同样,从9项已确定的临床研究中基本上没有证据表明,大豆异黄酮的暴露会影响男性的雌激素水平。临床证据还表明,大豆异黄酮对精子或精液参数没有影响。另外,Masilamani等<sup>[34]</sup>研究认为,饮食中的大豆异黄酮可以抑制变态反应的致敏,并在体内防止花生过敏,膳食补充大豆异黄酮可能是防止对食物过敏反应发展的新策略。

综上所述,大豆异黄酮具有双向控制雌激素,缓解神经元损伤,预防和治疗骨质疏松,提高免疫力,防止食物过敏等作用,并且不会影响男性的雌激素水平,可广泛应用。

## 2.7 脂肪氧合酶

脂肪氧合酶(LOX)能专一性催化具有顺,顺-4-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸形成具有共轭双键的氢过氧化物衍生物,此衍生物能将蛋白质分子中的巯基氧化为二硫键,以诱导蛋白质聚合为大分子蛋白质,因此将LOX作为改良剂应用到面条加工中可起到强化面筋,提高吸水率和弹性的效果<sup>[35]</sup>。姜闪等<sup>[4]</sup>以大豆乳清废水中提取的脂肪氧合酶为食品改良剂应用到面条加工中,研究其添加量对面条蒸煮特性、质构特性及感官品质的影响。结果表明:脂肪氧合酶添加量在0.2%~1.0%范围内,面条的吸水率呈上升趋势,而干物质损失率、弹性、硬度等品质特性呈V型变化。当脂肪氧合酶添加量为0.6%时,面条最佳蒸煮时间、断条率及干物质损失率达到最小值,而面条的硬度、弹性及咀嚼性分别增至7 861.318 g、0.903和3 719.072,且脂肪氧合酶添加量对面条黏着性的影响呈先减后增的趋势,当其添加量为0.6%时,面条的黏着性降至-102.62 g·s,根据面条感官测评结果可知脂肪氧合酶可有效改善面条的黏弹性、色泽及表现状态等感官品质。

大豆脂肪氧合酶除了能够诱导蛋白质聚合,提高蛋白制品的咀嚼特性外,对于含油脂的产品具有

催化产生多种风味物质的作用,因此应用时应注意控制和选择。

## 3 大豆乳清废水中功能性成分的分离提取

### 3.1 大豆低聚糖

Wang等<sup>[36]</sup>研究采用吸附树脂去除大豆低聚糖中的色素杂质工艺,结果表明,在吸附24 h后,大孔树脂DM-130去除了最终产品中70%以上的有色杂质,温度对吸附有重要影响,树脂质量与低聚糖溶液体积的最佳比例约为0.13:1。Wang等<sup>[37]</sup>采用常规电渗析对大豆低聚糖进行脱盐,研究操作参数对大豆低聚糖提取物脱盐效率及保留率的影响。结果表明,在20 V工作电压和60 L/h流量的条件下,可以实现大豆低聚糖的高脱盐效率和保留率,可将总离子质量浓度从5.022 mg/mL降至约0.26 mg/mL,并且80%的大豆低聚糖保留在稀隔室中。

大豆低聚糖生产主要通过膜过滤、超滤脱去大豆乳清蛋白,纳滤脱盐脱水,再通过树脂脱色、脱臭,实现了工业化生产。目前存在的最大问题是大豆低聚糖开发应用价值不高。

### 3.2 大豆乳清蛋白

陈爱梅等<sup>[38]</sup>研究了膜法分离大豆乳清蛋白的工艺,认为采用截留相对分子质量10 000的膜超滤,在超滤压力0.2 MPa、超滤温度40~50℃、超滤pH 7.5条件下,蛋白质的截留率达90%以上,总糖透过率为80%以上。孙婕等<sup>[39]</sup>通过正交实验得到絮凝剂壳聚糖分离大豆乳清蛋白的最佳工艺条件为壳聚糖用量0.4 g/L、处理时间45 min、处理温度15℃、废水pH 7.5,在此条件下大豆乳清蛋白得率为41.48%。Li等<sup>[40]</sup>研究了沉淀法去除大豆乳清蛋白的工艺,起泡在大豆乳清蛋白的沉淀中起着至关重要的作用,尤其是脂肪氧合酶、 $\beta$ -淀粉酶和凝集素的沉淀,而升高温度则增强了起泡引起的沉淀。在泡沫柱长度700 mm、温度60.0℃、气体分配器孔径(120±20)  $\mu$ m的条件下,表观空气流量为2.55 mm/s,保留时间为5.0 h,大豆乳清蛋白去除率为(88.4±3.9)%。徐朝辉等<sup>[41]</sup>采用超滤膜技术回收大豆乳清废水中的乳清蛋白,再用纳滤膜脱盐、浓缩低聚糖,滤液过反渗透膜即可达到回用或排放要求。韩春然等<sup>[42]</sup>以大豆乳清废水为研究对象,以蛋白质含量为指标,通过单因素实验和正交实验研究了微生物转谷氨酰胺酶催化大豆乳清蛋白聚合的条件,并对处理前后的大豆乳清废水中的蛋白质进行了分析。结果表明,微生物转谷氨酰胺酶对大豆乳清废水作用的最佳条件为添加酶活为1 U/mL的酶6 mL、反应时间1 h、反应温度35℃、pH 7。微生物转

谷氨酰胺酶对大分子组分的聚合作用表现得较为明显。

大豆乳清蛋白的回收主要集中在膜法的应用上,包括膜的选择、膜通量的保持、蛋白质聚集的实现,通过蛋白质的沉淀、聚集提高膜的使用效率和寿命。

### 3.3 $\beta$ -淀粉酶

陈超琴等<sup>[43]</sup>通过超滤技术对大豆乳清废水中的 $\beta$ -淀粉酶进行浓缩回收,结果表明:选用MWCO3ku的膜,在跨膜压差0.2 MPa、温度(25 ± 3)℃、pH 7的操作条件下,膜通量由初始的44 L/(m<sup>2</sup>·h)衰减至23 L/(m<sup>2</sup>·h),平均通量达到35 L/(m<sup>2</sup>·h); $\beta$ -淀粉酶的酶活力可达到101 U/mL,料液的浓缩倍数为10倍,酶活浓缩倍数约为9倍,总酶活的回收率为92%,浓缩液较高的 $\beta$ -淀粉酶活力为下一阶段的分离纯化奠定了基础,为大豆深加工废水综合利用提供了依据。关艳艳等<sup>[44]</sup>分别用超滤和乙醇沉淀法分离大豆乳清废水中的 $\beta$ -淀粉酶,并确定其最佳条件。选用截留相对分子质量为20 000 u的超滤膜,在跨膜压差为0.25 MPa下,2级超滤9倍,然后先加入冰无水乙醇至乙醇体积分数为30%沉淀以除去杂质,再加入冰无水乙醇使乙醇体积分数为70%沉淀 $\beta$ -淀粉酶。沉淀用50 mmol/L、pH 6.0醋酸钠缓冲液复溶,复溶体积为超滤后体积的1/10,最后得到的 $\beta$ -淀粉酶酶液单位酶活为118 600 U/mL,酶活得率为77.54%。应用超滤和乙醇沉淀相结合的方法,使得从大豆乳清废水中大规模地生产 $\beta$ -淀粉酶成为可能。

信成夫等<sup>[45]</sup>通过加入助滤剂和复合沉淀剂、钙盐,采用超滤膜处理,制得 $\beta$ -淀粉酶;采用电渗析法降电导,酵母菌发酵,超滤,采用模拟移动床进行色谱分离,得到大豆低聚糖组分和果糖组分;实现了同时制备 $\beta$ -淀粉酶和大豆低聚糖。

$\beta$ -淀粉酶是大豆乳清废水中具有较强活性的酶类,目前已经实现膜法回收的工业化生产,但是回收能力和效率较低,有待于进一步改善。大豆乳清来源的 $\beta$ -淀粉酶是纯植物来源,相对于生物发酵来源产品,其安全性和市场认可度更高,特别是对于严格的素食主义者来说,大豆乳清来源的 $\beta$ -淀粉酶生产的相关产品更容易接受。

### 3.4 大豆胰蛋白酶抑制剂

谷春梅等<sup>[46]</sup>实现了以脱脂豆粉为原料,经pH 7.6磷酸溶液抽提、65℃热变性、硫酸铵分步沉淀等提取技术制备粗提液,之后再经过DEAE-52离子交换、亲和层析和葡聚糖凝胶过滤等纯化技术研究

大豆胰蛋白酶抑制因子的分离纯化方法,为大豆乳清蛋白中提取大豆胰蛋白酶抑制因子提供了技术借鉴。程芬芬等<sup>[47]</sup>采用硫酸钠盐析法从大豆乳清废水中选择性回收大豆胰蛋白酶抑制剂。结果表明,优化的大豆胰蛋白酶抑制剂提取条件为乳清溶液固形物含量13%、pH 4、加盐量9 g/100 mL,此条件下的大豆胰蛋白酶抑制剂得率为20.54%,SDS-PAGE图谱显示其主要成分为KTI。

利用层析、盐析以及离子交换等技术能够实现大豆胰蛋白酶抑制剂的提取与纯化,如何实现工业化转化将是下一步研究工作的重要课题。

### 3.5 露那辛

Cavazos等<sup>[48]</sup>将脱脂的大豆粉悬浮在水中,并将悬浮液上样至预先平衡的二乙氨基乙基柱中,大多数露那辛从柱上被0.2~0.4 mol/L NaCl洗脱,并使用超速离心和超滤技术纯化,为从大豆乳清中提取露那辛提供了可能。Krishnan等<sup>[49]</sup>开发了一种提取露那辛的方法,该方法包括用30%乙醇提取大豆粉,然后通过钙优先沉淀露那辛和蛋白酶抑制剂。钙沉淀蛋白质部分,称为露那辛蛋白酶抑制剂浓缩物(LPIC),包含3种丰富的蛋白质,相对分子质量分别为21、14 kDa和5 kDa。该方法可以从100 g大豆粉中生产3.2 g LPIC,整个分离过程可以在2 h内完成。

从大豆乳清废水中提取露那辛的工艺方案尚未见报道,但上述方案为大豆乳清废水中提取露那辛提供了理论和实践的借鉴。

### 3.6 大豆异黄酮

Lante等<sup>[50]</sup>建立了从大豆种子中提取异黄酮的方法。将大豆粉与水按质量体积比1:5混合,在40℃下通过垂直搅拌器混合6 min,于12 000 r/min离心,冻干得到大豆异黄酮。

Cho等<sup>[51]</sup>研究了用乙醇溶液提取大豆芽子叶中的异黄酮,并进一步浓缩以获得高浓度异黄酮的产物,该方法的异黄酮保留率为63%。Nakada等<sup>[52]</sup>研究认为乙醇的加入促进了超临界相中二氧化碳分子簇的形成,增强了糖苷异黄酮的溶解度。超临界二氧化碳和乙醇二元系统在提取糖苷异黄酮方面有较强的交互作用。Lummaetee等<sup>[53]</sup>研究了以超临界二氧化碳萃取过程中使用甲醇溶液作为助溶剂提取豆渣中的大豆异黄酮的方法,认为在二氧化碳流量5.88 kg/h、粒径0.68 mm、温度323.15 K、压力59.45 MPa、萃取时间283 min的条件下提取效果最佳。Tran等<sup>[54]</sup>认为使用80%乙醇从大豆中提取异黄酮的最佳条件为提取温度72.5℃、提取时间

67.5 min、溶剂体积与大豆质量比 26.5:1,该提取条件下异黄酮含量为 1 932.44  $\mu\text{g/g}$ 。Morales - De 等<sup>[55]</sup>证实超声波处理的水合大豆可以获得较高的异黄酮含量。

上述技术为从大豆乳清废水、大豆乳清粉中提取大豆异黄酮提供技术支持,为大豆乳清废水中的大豆异黄酮回收利用提供了可行的研究方向。

### 3.7 脂肪氧合酶

丁文武等<sup>[56]</sup>采用聚乙二醇(PEG)/硫酸铵 $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ 双水相体系对大豆中脂肪氧合酶进行分离萃取研究。通过综合考察酶分配系数、相比和回收率,探讨了 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、PEG2000、NaCl 质量分数以及 pH 对脂肪氧合酶萃取的影响,并通过正交实验得到最佳工艺条件为 NaCl 质量分数 1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  质量分数 17%、PEG2000 质量分数 13%、pH 5.2,可获得酶的分配系数最高可达 9.710,萃取率为 87.6%。

王辉等<sup>[57]</sup>以大豆为原料,经硫酸铵沉淀、葡聚糖凝胶柱 G200 分离沉淀,得到 2 种脂肪氧合酶 LOX-1、LOX-2,并对这两种同工酶的部分特性进行研究。结果发现:LOX-1 提取时最适 pH 为 7.0,在 pH 9.0 时无活性;而 LOX-2 提取时最适 pH 为 9.0,在 pH 7.0 时也表现出较强活性;提取时最适温度均为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。热稳定性结果表明,LOX-1 和 LOX-2 在 40 $^{\circ}\text{C}$  时活性稳定,加热温度高于 50 $^{\circ}\text{C}$  时,二者活性急剧下降。

目前对大豆脂肪氧合酶的分离提取的研究对象主要是大豆,而大豆中的脂肪氧合酶的含量较低,对大豆的资源最大化利用劣势明显,不适合大规模的工业化生产,大豆乳清废水蛋白主要成分是 2S 和 7S 蛋白,其中的脂肪氧合酶含量相对高,具有一定的开发意义。

## 4 大豆乳清废水用于功能性饮料的开发现状

Tu 等<sup>[58]</sup>研究了将大豆乳清转化为新型功能性饮料的可行性,在发酵过程中监测化学组成和生物活性的变化。研究表明,发酵导致大豆乳清 pH 降低和总可滴定酸含量增加。通过 DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力、三价铁还原抗氧化能力和还原能力评估,发酵大豆乳清的抗氧化能力显著增强,且其对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和大肠杆菌有抑制作用。此外,发酵产生了新的香气活性挥发物,尤其是酯和高级醛,为大豆乳清赋予了水果风味,并改善了其感官品质,具有一定的市场开发价值。Chua 等<sup>[59]</sup>评估了 5 种市售的非酿酒酵母发酵制备大豆乳清饮料的差异。结果发现,不同的酵

母显示出不同的  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性、异黄酮苷含量,豆腐乳清中的内源性挥发性化合物(主要是短链醛)已降低至痕量水平,但不同酵母以不同水平产生了不同的挥发性化合物,可导致饮料不同的香气。

李雪等<sup>[60]</sup>以大豆乳清废水为原料,开发大豆乳清多肽饮料。大豆乳清废水经热处理(95 $^{\circ}\text{C}$ 、15 min)后用胃蛋白酶水解(加酶量 8 000 U/g,温度 37 $^{\circ}\text{C}$ ,时间 2 h),灭酶、过滤后的上清液中加入 0.1% 柠檬酸、6.0% 蔗糖和 0.015% 柠檬味香精调配,杀菌后制得成品大豆乳清多肽饮料。

用大豆乳清废水开发液体饮料产品,充分利用了大豆乳清废水中的大豆低聚糖益生元作用,大豆异黄酮、露那辛的抗癌等生物活性,大豆胰蛋白酶抑制剂的医疗保健作用等,同时培养益生菌,充分发挥大豆乳清废水中各组分的价值,是大豆乳清废水较好的开发方式。

## 5 展望

目前国内年产大豆分离蛋白 50 万~60 万 t,大豆乳清废水量高达 2 000 万~3 000 万 t,其中干物质达 3 万~4 万 t,造成了大量的大豆资源浪费和水资源浪费,加重了环境保护的难度,成为大豆蛋白产业亟待解决的瓶颈问题。随着全球对大豆资源、大豆乳清废水资源化的研究,将大豆乳清废水中的大豆低聚糖、大豆乳清蛋白、大豆异黄酮、 $\beta$ -淀粉酶、脂肪氧合酶等有益成分回收利用成为可能。具有生物活性的大豆  $\beta$ -淀粉酶,脂肪氧合酶等可发挥其天然生物酶的催化作用,大豆  $\beta$ -淀粉酶应用于麦芽糖及相关领域中,而脂肪氧合酶可用于蛋白类制品的聚合改进中,进而改善产品的品质;大豆异黄酮和大豆胰蛋白酶抑制剂可着重于医疗保健产品的开发与应用;大豆低聚糖、大豆乳清蛋白用于食品保健行业,具有较大的可行性和市场潜力。与此同时,其中的水资源如何合理利用,也是大豆乳清废水综合利用面临的重要课题。

### 参考文献:

- [1] 时玉强,艾淞卉,鲁绪强,等. MVR 技术在大豆乳清废水处理中的应用研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(3): 152-155, 160.
- [2] CHUA J Y, LIU S Q. Soy whey: more than just water from tofu and soy protein isolate industry[J]. Trends Food Sci Technol, 2019, 91:24-32.
- [3] SORAGENTINI D A, WAGNER J R. Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins [J]. Food Res Int, 2002, 35(8):721-729.

- [4] 姜闪, 张志国. 大豆乳清废水中的脂肪氧合酶对面条加工特性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(14):48-53.
- [5] 张中义, 邵文科, 闫溢哲, 等. 露那辛功能肽的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(5):5-8.
- [6] 陈爱梅, 江连洲. 大豆乳清蛋白的主要成分概述[J]. 食品研究与开发, 2005(4):180-182.
- [7] CHEN H, LIU L J, ZHU J J, et al. Effect of soybean oligosaccharides on blood lipid, glucose levels and antioxidant enzymes activity in high fat rats [J]. Food Chem, 2010, 119(4):1633-1636.
- [8] NAKATA T, KYOUI D, TAKAHASHI H, et al. Inhibitory effects of soybean oligosaccharides and water-soluble soybean fibre on formation of putrefactive compounds from soy protein by gut microbiota [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 97:173-180.
- [9] MA Y, WU X, GIOVANNI V, et al. Effects of soybean oligosaccharides on intestinal microbial communities and immune modulation in mice [J]. Saudi J Biol Sci, 2016, 24(1):114-121.
- [10] ZHANG M, CAI S L, MA J W. Evaluation of cardio-protective effect of soybean oligosaccharides [J]. Gene, 2015, 555(2):329-334.
- [11] FEI B, LING L, HUA C, et al. Effects of soybean oligosaccharides on antioxidant enzyme activities and insulin resistance in pregnant women with gestational diabetes mellitus [J]. Food Chem, 2014, 158:429-432.
- [12] ZHOU X L, KONG X F, LIAN G Q, et al. Dietary supplementation with soybean oligosaccharides increases short-chain fatty acids but decreases protein-derived catabolites in the intestinal luminal content of weaned Huanjiang mini-piglets [J]. Nutr Res, 2014, 34(9):780-788.
- [13] 于庆丰, 闫子鹏. 大豆蛋白产品的营养与应用[J]. 粮食与食品工业, 2015, 22(6):72-75, 78.
- [14] 孙明明, 王萍, 李智媛, 等. 大豆活性成分研究进展[J]. 大豆科学, 2018, 37(6):975-983.
- [15] 张欣然. 大豆蛋白可降低前列腺癌的患病风险[J]. 中国食品学报, 2007(6):149.
- [16] 杜振亚, 陈复生. 大豆蛋白保健功能研究进展[J]. 食品与机械, 2014(6):252-255.
- [17] 陈爱梅, 江连洲, 欧阳占亮. 大豆乳清蛋白功能特性的研究[J]. 中国油脂, 2006, 31(2):26-28.
- [18] 任方林, 杨明熹, 陈业明, 等. 大豆乳清蛋白及其糖基化产物体外模拟胃肠消化特性研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(9):18-23.
- [19] 韩伟, 庄绪会, 张云鹏, 等. 大豆乳清粉对小鼠肠道菌群及其产生短链脂肪酸的影响[J]. 大豆科学, 2019, 38(1):112-118.
- [20] 周春海. 大豆 $\beta$ -淀粉酶和大麦 $\beta$ -淀粉酶糖化特性的比较[J]. 现代食品科技, 2011, 27(12):1454-1456.
- [21] 刘亚伟. 淀粉基食品添加剂[M]. 北京:化学工业出版社, 2008:151.
- [22] BODE W, HUBER R. Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases [J]. Eur J Biochem, 1992, 204:43-61.
- [23] 詹欢, 郭瑞华. 大豆胰蛋白酶抑制剂及其临床应用[J]. 科技信息, 2011(7):407, 426.
- [24] 张少娟, 薛晓鸥, 刘同祥, 等. 大豆胰蛋白酶抑制剂对人宫颈癌 Hela 细胞增殖的影响[J]. 辽宁医学院学报, 2008(2):106-109.
- [25] SADEGHALVAD M, HAMID-REZA M M, KARAJI A G, et al. In vivo anti-inflammatory efficacy of the combined Bowman-Birk trypsin inhibitor and genistein isoflavone, two biological compounds from soybean [J/OL]. J Biochem Mole Toxicol, 2019, 33(12) [2019-08-08]. <https://doi.org/10.1002/jbt.22406>.
- [26] KOBAYASHI H, FUKUDA Y, YOSHIDA R, et al. Suppressing effects of dietary supplementation of soybean trypsin inhibitor on spontaneous, experimental and peritoneal disseminated metastasis in mouse model [J]. Int J Cancer, 2004, 112(3):519-524.
- [27] INDIANO-ROMACHO P, FERNÁNDEZ-TOMÉ S, HERNÁNDEZ-LEDESMA B. Multifunctionality of lunasin and peptides released during its simulated gastrointestinal digestion [J/OL]. Food Res Int, 2019, 125 [2019-08-08]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108513>.
- [28] 石群, 李波. 大豆异黄酮研究进展及前景展望[J]. 大豆科技, 2018(5):41-43.
- [29] 王继峰. 大豆异黄酮的保健功效及高异黄酮大豆的遗传育种研究[J]. 黑龙江科学, 2019, 10(14):42-43.
- [30] LI P, LI X T, YAO L Y, et al. Soybean isoflavones prevent atrazine-induced neurodegenerative damage by inducing autophagy [J/OL]. Ecotox Environ Safe, 2020, 190 [2019-08-08]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110065>.
- [31] YU F, LIU Z H, TONG Z H, et al. Soybean isoflavone treatment induces osteoblast differentiation and proliferation by regulating analysis of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway [J]. Gene, 2015, 573(2):273-277.
- [32] ZHOU C, LIN H, GE X, et al. The effects of dietary soybean isoflavones on growth, innate immune responses, hepatic antioxidant abilities and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 43(1):158-166.
- [33] MESSINA M. Soybean isoflavone exposure does not have

- feminizing effects on men; a critical examination of the clinical evidence[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(7):2095 – 2104.
- [34] MASILAMANI M, WEI J, BHATT S, et al. Soybean isoflavones regulate dendritic cell function and suppress allergic sensitization to peanut [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(6):1242 – 1250.
- [35] 张晓双, 张瑜, 雷一名. 酶在面制品中的应用[J]. *现代面粉工业*, 2014, 28(3):28 – 31.
- [36] WANG Q, YING T, JAHANGIR M M, et al. Study on removal of coloured impurity in soybean oligosaccharides extracted from sweet slurry by adsorption resins [J]. *J Food Eng*, 2012, 111(2):386 – 393.
- [37] WANG Q, YING T, JIANG T, et al. Demineralization of soybean oligosaccharides extract from sweet slurry by conventional electrodialysis [J]. *J Food Eng*, 2009, 95(3):410 – 415.
- [38] 陈爱梅, 江连洲. 膜分离大豆乳清蛋白的研究[J]. *粮油加工与食品机械*, 2005(10):79 – 82.
- [39] 孙婕, 尹国友, 吕灵娟, 等. 大豆乳清蛋白提取工艺的研究[J]. *食品研究与开发*, 2014(9):43 – 46.
- [40] LI R, JI X T, ZHOU Y S, et al. Precipitation of proteins from soybean whey wastewater by successive foaming and defoaming [J]. *Chem Eng Process*, 2018, 128:124 – 131.
- [41] 徐朝辉, 万端极, 崔朝亮, 等. 膜技术在处理大豆乳清废水中的应用[J]. *中国油脂*, 2007, 32(1):68 – 70.
- [42] 韩春然, 李可, 王强, 等. 利用微生物转谷氨酰胺酶回收大豆乳清废水[C]//中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会学术年会暨华南地区农产品加工产学研研讨会论文集. 广州:中国农业工程学会, 2010.
- [43] 陈超琴, 赵黎明, 蒋丽华, 等. 大豆乳清中 $\beta$ -淀粉酶的超滤提取技术研究[J]. *食品工业科技*, 2012(23):206 – 209.
- [44] 关艳艳, 牛延宁, 贾彩凤, 等. 大豆乳清废水中 $\beta$ -淀粉酶工业生产工艺的研究[J]. *食品科技*, 2016(6):293 – 297.
- [45] 信成夫, 景文利, 于丽, 等. 同时制备 $\beta$ -淀粉酶和大豆低聚糖的方法: CN201410054913. 1 [P]. 2015 – 08 – 26.
- [46] 谷春梅, 韩玲玲, 曲洪生, 等. 大豆胰蛋白酶抑制因子的分离纯化[J]. *大豆科学*, 2013, 32(1):89 – 92.
- [47] 程芬芬, 刘春, 杨晓泉. 大豆胰蛋白酶抑制剂的制备及性质[J]. *食品科学*, 2017(3):55 – 62.
- [48] CAVAZOS A, MORALES E, DIA V P, et al. Analysis of lunasin in commercial and pilot plant produced soybean products and an improved method of lunasin purification [J]. *J Food Sci*, 2012, 77(5):539 – 545.
- [49] KRISHNAN H B, WANG T T. An effective and simple procedure to isolate abundant quantities of biologically active chemopreventive lunasin protease inhibitor concentrate (LPIC) from soybean [J]. *Food Chem*, 2015, 177:120 – 126.
- [50] LANTE A, BARION G, ZANNONI S, et al. An ecofriendly procedure to extract isoflavones from soybean seeds [J]. *J Cleaner Product*, 2018, 170:1102 – 1110.
- [51] CHO S Y, LEE Y N, PARK H J. Optimization of ethanol extraction and further purification of isoflavones from soybean sprout cotyledon [J]. *Food Chem*, 2009, 117(2):312 – 317.
- [52] NAKADA M, IMAI M, SUZUKI I. Impact of ethanol addition on the solubility of various soybean isoflavones in supercritical carbon dioxide and the effect of glycoside chain in isoflavones [J]. *J Food Eng*, 2009, 95(4):564 – 571.
- [53] LUMMAETEE K, KU H M, WONGRAT W, et al. Optimization of supercritical fluid extraction of isoflavone from soybean meal [J]. *Cann J Chem Eng*, 2017, 95(6):1141 – 1149.
- [54] TRAN T N T, CHEW K W, BUI X V, et al. Optimization of isoflavones extraction from soybeans using full factorial design [J]. *J Food Process Pres*, 2019, 43(9) [2019 – 08 – 08]. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14078>.
- [55] MORALES – DE L P M, MARTÍN – BELLOSO O, WELTI – CHANES J. High – power ultrasound as pre – treatment in different stages of soymilk manufacturing process to increase the isoflavone content [J]. *Ultrason Sonochem*, 2018, 49:154 – 160.
- [56] 丁文武, 丛林娜, 孟丽, 等. 聚乙二醇/硫酸铵双水相体系萃取大豆脂肪氧合酶的研究[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(11):210 – 213.
- [57] 王辉, 周培根. 大豆脂肪氧合酶的提取纯化及其特性研究[J]. *食品科学*, 2008(9):396 – 398.
- [58] TU C, TANG S, AZI F, et al. Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage [J]. *J Funct Foods*, 2019, 52:81 – 89.
- [59] CHUA J Y, LU Y, LIU S Q. Evaluation of five commercial non – *Saccharomyces* yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage [J]. *Food Microbiol*, 2018, 76:533 – 542.
- [60] 李雪, 赵晨晨, 钱方, 等. 大豆乳清多肽饮品的开发[J]. *大连工业大学学报*, 2017, 36(1):10 – 13.