

# 动态法提取可溶性大豆多糖的纯化 及其性能分析

樊继源,张彩猛,孔祥珍,李兴飞,陈业明,华欲飞

(江南大学食品学院,江苏无锡214122)

**摘要:**旨在为可溶性大豆多糖(SSPS)的纯化工艺改进和豆渣资源综合利用提供参考,采用动态法从干豆渣中提取得到SSPS粗品后,通过酶解、活性炭吸附以及醇沉等步骤进行纯化,优化了纯化工艺,并考察了纯化对SSPS的基本成分、理化指标、挥发性成分、结构和性能的影响。结果表明,最适酶解条件为木瓜蛋白酶添加量1.0%、酶解pH 6、酶解温度60℃、酶解时间2 h;活性炭吸附最适条件为活性炭添加量1.0%、吸附pH 5、吸附温度65℃、吸附时间30 min;纯化处理后SSPS的蛋白质及灰分含量分别从3.60%、5.13%下降至2.19%、4.73%;纯化SSPS的透明度提高了71.94%,黏度降低,挥发性成分的数量减少了18种,而分子量未发生显著性变化;纯化SSPS与市售SSPS在分子结构方面相似,但是结晶度存在一些差异;纯化SSPS的起泡性和乳化性分别达到213.70%和0.76,泡沫稳定性和乳化稳定性均优于市售SSPS和阿拉伯胶的。综上,经动态法提取的SSPS纯化后产品性能均有不同程度改善。

**关键词:**可溶性大豆多糖;纯化;基本成分;理化指标;功能特性

中图分类号:TS229;TS209

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2024)04-0118-09

## Purification and product properties of soluble soybean polysaccharide extracted by dynamic method

FAN Jiyuan, ZHANG Caimeng, KONG Xiangzhen, LI Xingfei,  
CHEN Yeming, HUA Yufei

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

**Abstract:** In order to provide reference for the improvement of purification process of soluble soybean polysaccharide (SSPS) and the comprehensive utilization of soybean dregs, the SSPS crude products were obtained from dried soybean dregs by dynamic extraction and purified by enzymatic hydrolysis, activated carbon adsorption and alcohol precipitation. The purification process was optimized and the effects of purification on the basic component, physicochemical property, volatile components, structure and properties of SSPS were investigated. The results showed that the optimal conditions for enzymatic hydrolysis were 1.0% papain addition and 2 h enzymatic hydrolysis at pH 6 and 60 °C; the optimal conditions for activated carbon adsorption were 1.0% activated carbon addition and adsorption for 30 min at pH 5 and 65 °C. After purification, the protein and ash contents of SSPS decreased from 3.60% and 5.13% to 2.19% and 4.73%, respectively. The transparency of the purified SSPS increased by 71.94%, the viscosity decreased, the number of volatile components decreased by 18, while the molecular mass

did not change significantly. The molecular structure of purified SSPS was similar to that of commercial SSPS, but there were some differences in crystallinity. The foaming and emulsifying properties of purified SSPS reached 213.70% and 0.76, respectively, and the foam stability and

收稿日期:2023-02-13;修回日期:2023-12-03

基金项目:国家自然科学基金(32272243);山东省重点研发计划(2022CXGC010603)

作者简介:樊继源(1997),男,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail) fanjy1211@163.com。

通信作者:华欲飞,教授(E-mail) yfhua@jiangnan.edu.cn。

emulsifying stability were better than those of commercial SSPS and acacia. In summary, the property of SSPS crude products extracted by dynamic method was improved after purification.

**Key words:** soluble soybean polysaccharide; purification; basic component; physicochemical property; functional property

可溶性大豆多糖(SSPS)是一类来源于大豆子叶的细胞壁多糖<sup>[1]</sup>,具有高水溶性及低黏度,是一种带负电荷的酸性多糖<sup>[2]</sup>。SSPS由阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、海藻糖、木糖以及半乳糖醛酸构成,其分子是由聚鼠李糖半乳糖醛酸(RG)和聚半乳糖醛酸(GN)组合成的主链,以及由阿拉伯糖基、半乳糖基构成的中性糖侧链组成,具有球状外形<sup>[3]</sup>。不同研究报道的SSPS分子质量差别很大,变动范围为5~1 000 kDa<sup>[4]</sup>。

SSPS通常以水作为提取媒介,结合化学、物理或生物方法提高其提取率。化学法主要是利用酸、碱或盐提高SSPS的溶解性;物理法是通过微波、超声波或机械剪切等强化提取;生物法通过酶解或发酵促使纤维素、半纤维素降解成可溶性多糖。Yamaguchi等<sup>[5]</sup>以六偏磷酸盐溶液为萃取剂,从豆渣中提取SSPS,SSPS得率达16.24%;陈红等<sup>[6]</sup>采用超声波辅助提取SSPS,最佳条件下SSPS得率达到8.82%;宋慧等<sup>[7]</sup>采用酸性蛋白酶和纤维素酶双酶法制备SSPS,在最佳条件下SSPS得率达到9.28%。不同的提取方法在影响SSPS提取率的同时,也会影响SSPS的物化特性,从而影响其功能特性。

采用上述方法提取的SSPS粗品中含有许多杂质,主要包括无机盐、低分子糖、色素、蛋白质及木质素等<sup>[8]</sup>,其中色素影响SSPS色泽,而蛋白质则对SSPS的透明度、酸溶性以及生理功效等影响较大。对SSPS进行纯化处理,将会明显提升SSPS的产品性能<sup>[9]</sup>。赵如霞<sup>[10]</sup>采用超滤法对SSPS进行纯化,得到的SSPS有较好的酸性乳饮料稳定能力和乳化性能;张学兵<sup>[11]</sup>采用纤维柱层析法对SSPS进行纯化,得到的SSPS具有较低的黏度,良好的耐热性、抗盐性和广泛的pH耐受性。上述方法虽然有较好的纯化效果,但操作烦琐复杂、成本高,无法应用于大规模SSPS生产。因此,急须寻找操作简单、成本低、适用于工业化生产SSPS的纯化方法。

我们在前期研究中发现,在高温下采用动态循环处理能明显提高豆渣原料中SSPS的提取率。本文将采用酶解、活性炭吸附以及醇沉这3种适用于工业化生产的纯化方法对由上述方法(动态法)获

得的SSPS粗品进行纯化处理,优化纯化工艺及探究其对SSPS基本成分、理化指标、挥发性成分的影响,并比较纯化后的SSPS与市售SSPS产品在结构、功能特性方面的差异,以期为SSPS的纯化工艺改进及豆渣资源的高效利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

干豆渣(蛋白质、脂肪、水分含量分别为13.02%、0.95%、5.24%),山东嘉华股份有限公司;可溶性大豆多糖,浙江一诺生物科技有限公司;木瓜蛋白酶(100 U/mg)、一级大豆油、阿拉伯胶、抗坏血酸,购自市场;葡萄糖、乙醇、苯酚、磷酸、水杨酸、2,2-联苯基-1-苦基胍基、粉末活性炭等均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

可溶性大豆多糖动态循环提取装置,本实验室自制;DHG-9070A电热鼓风干燥箱,济南鑫露生物技术有限公司;DZKS-W-4电热恒温水浴锅,北京光明医疗仪器厂;AB104-N电子分析天平、FE28K pH计,梅特勒-托利多仪器有限公司;721N紫外可见分光光度计,乐沃达仪器有限公司;Himac CR21G II型冷冻离心机,日本Hitachi公司;N-1100-D型旋转蒸发仪,巩义瑞德仪器设备有限公司;HR-500高速剪切乳化机,中仪伟创实验仪器有限公司;Waters 1525高效液相色谱仪,美国Waters有限公司;TENSOR 27傅里叶变换红外光谱仪,德国布鲁克AXS有限公司;PHASER X-射线衍射仪,德国Stoe公司;气相色谱-质谱联用仪。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 SSPS动态法提取

称取一定量干豆渣,按固液比1:35加入去离子水,搅拌均匀,用质量分数25%的磷酸溶液调节料液pH至4.5,将料液转移至自制的可溶性大豆多糖动态循环提取装置中的压力式不锈钢保温罐(容积15 L)后将罐密闭,通过不锈钢离心泵(流量0.5 m<sup>3</sup>/h,扬程30 m)使料液在保温罐和不锈钢盘管换热器(换热面积0.25 m<sup>2</sup>,加热介质为水蒸气)之间循环,打开换热器蒸汽阀门加热至110℃,随后

调节蒸汽阀门开度保持温度恒定。在此温度下每 15 min 启动离心泵循环 120 s。如此保温 90 min 后,切换三通阀,将热物料打入板框过滤器(过滤面积 0.25 m<sup>2</sup>)去除粗渣得到粗滤液。粗滤液在 7 500 r/min 下离心 20 min 除去细渣,用 3.0 mol/L NaOH 溶液中和上清液至 pH 7.0,在真空下将溶液浓缩至原体积的 1/4,随后冷冻干燥得到 SSPS 粗品。

### 1.2.2 SSPS 的纯化

取一定量 SSPS 粗品,用去离子水配制成质量分数为 4% 的溶液,将溶液调至一定 pH 后,加入一定比例的木瓜蛋白酶(以溶液中蛋白质含量计),在设定温度下酶解一定时间,随后沸水浴 5 min 灭酶(酶解纯化工艺);然后将溶液调至一定 pH,加入一定量活性炭(以溶液中 SSPS 含量计),在一定温度下吸附一定时间,以硅藻土作为过滤助剂抽滤除去活性炭(吸附纯化工艺);向滤液中加入无水乙醇至乙醇体积分数为 70%,4℃ 下沉淀 12 h,于 4 000 r/min 离心 15 min,将沉淀物用无水乙醇洗涤两次,抽滤去除乙醇,冷冻干燥得到纯化 SSPS(醇沉纯化工艺)。

### 1.2.3 SSPS 基本成分测定

SSPS 含量,以葡萄糖为标品,采用苯酚-硫酸法<sup>[12]</sup>测定;蛋白质含量,按照 GB 5009.5—2016 中凯氏定氮法测定;灰分含量,按照 GB 5009.4—2016 进行测定;水分含量,按照 GB 5009.3—2016 中直接干燥法测定。

### 1.2.4 理化指标测定

#### 1.2.4.1 SSPS 透明度及黏度的测定

参照 LS/T 3301—2005 测定样品透明度。

参考何喜珍<sup>[13]</sup>的方法测定样品黏度,并稍作修改。将样品配制成不同质量分数的水溶液(1%、2%、3%、5%、10%),控制温度(25 ± 0.1)℃,采用乌氏黏度计(毛细管直径 1.0 ~ 1.1 mm)测定样品溶液黏度,至少重复测定 3 次,且 3 次测定结果的极差不超过 0.2 Pa · s。

#### 1.2.4.2 SSPS 分子质量的测定

采用高效凝胶过滤色谱法(HPGFC)<sup>[14]</sup>测定 SSPS 分子质量。称取 50 mg 样品于 10 mL 容量瓶中,用流动相溶解、定容,过 220 nm 滤膜,向高效液相色谱仪中注入 100 ~ 180 μL 样品进行分析。HPGFC 测定条件:Ultrahydrogel™ Linear 色谱柱(300 mm × 7.8 mm);流动相为 0.1 mol/L 硝酸钠溶液,流速 0.5 mL/min;柱温 40℃。根据分子质量校正曲线计算 SSPS 分子质量。

### 1.2.5 挥发性成分的测定

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法

(HS-SPME-GC-MS)测定 SSPS 的挥发性成分<sup>[15]</sup>。

顶空固相微萃取条件:取 10 mL 20 mg/mL 的样品溶液于顶空瓶中,密封后在 60℃ 下水浴平衡 7 min,将 SPME 萃取头插入顶空瓶中吸附 30 min,手动进样,在气相色谱仪进样口 260℃ 下解吸 7 min,进行 GC-MS 分析。

GC 条件:石英毛细管色谱柱(300 mm × 7.8 mm);进样口温度 260℃;传输线温度 250℃;载气为氦气,流速 1 mL/min;分流比 10:1;升温程序为初始温度 60℃,保持 3 min,以 10℃/min 速率升至 230℃,保持 2 min。

MS 条件:电子轰击源(EI),分辨率 2 500,扫描范围(*m/z*)50 ~ 650,扫描频次 4.45 次/s。

### 1.2.6 SSPS 结构表征分析

称取 1 mg 样品于 650 ~ 4 000 cm<sup>-1</sup>下进行傅里叶红外光谱(FT-IR)扫描,测定 FT-IR 谱图。取适量样品,用玛瑙研钵研磨均匀后放入凹槽,采用 X-射线衍射仪进行分析。

### 1.2.7 SSPS 功能特性分析

#### 1.2.7.1 乳化性及乳化稳定性

参考 Nakamura 等<sup>[16]</sup>的方法(比浊法)测定样品乳化性及乳化稳定性,并稍作修改。将样品缓慢加入到 0.02 g/100 mL 柠檬酸钠缓冲液中溶解,得到 SSPS 质量浓度为 1.0 g/100 mL 的溶液,按 0.02 g/100 mL 加入叠氮化钠作为抗菌剂,再按 6.0 g/100 mL 加入大豆油,在 14 000 r/min 速度下剪切均质 2 min,形成乳液。取 1 mL 乳液与 99 mL 柠檬酸钠缓冲液混合均匀,在 500 nm 下测定吸光度,以样品吸光度大小代表样品乳化性的高低。将乳液于 4℃ 贮藏 24 h 后,取 1 mL 乳液与 99 mL 柠檬酸钠缓冲液混合,在 500 nm 下测定吸光度,乳化稳定性(*I*)计算公式如式(1)所示。将 4℃ 贮藏 24 h 的乳液除去乳析层后,吸取等量的样品于载玻片上,盖上盖玻片后于光学显微镜下观察液滴分布情况,对比样品液滴粒径。

$$I = A_1/A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中:*A*<sub>0</sub>为乳液形成时的吸光度;*A*<sub>1</sub>为乳液贮藏 24 h 后的吸光度。

#### 1.2.7.2 起泡性及泡沫稳定性

参考 Huang 等<sup>[17]</sup>的方法测定样品起泡性及泡沫稳定性,并稍作修改。配制质量分数 2% 的样品溶液,匀浆机搅拌 1 min 后记录总体积。起泡性(*F*)计算公式如式(2)所示。

$$F = (V_1 - V_0) / V_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中： $V_0$ 为溶液初始体积，mL； $V_1$ 为搅拌起泡后总体积，mL。

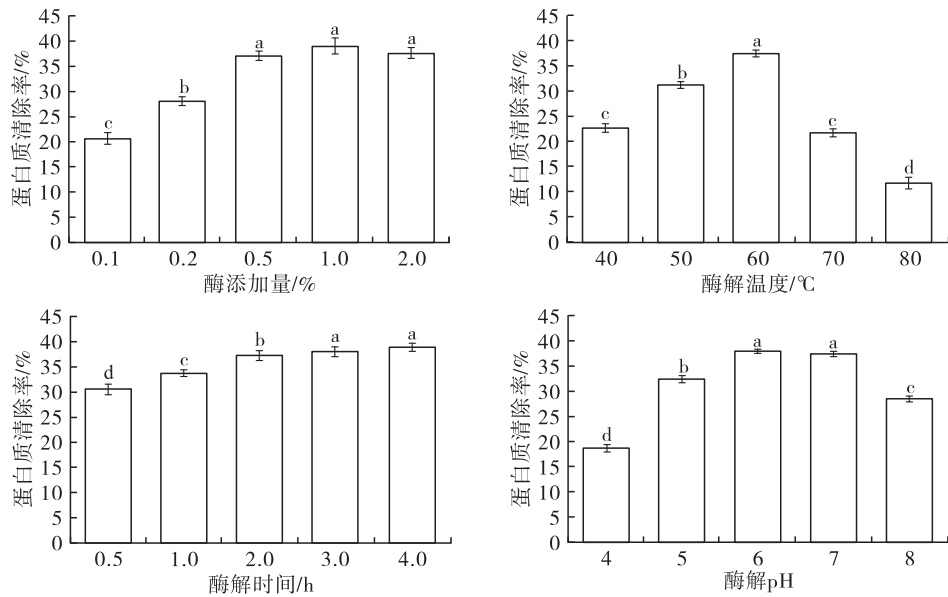
记录搅拌起泡后 1、2、3、5、10 min 时析出液体体积，泡沫稳定性(S)计算公式如式(3)所示。

$$S = (V_1 - V_t) / V_1 \times 100\% \quad (3)$$

式中： $V_t$ 为一定时间内析出液体体积，mL。

### 1.2.8 数据处理和分析

每组实验均重复 3 次，采用 SPSS 26 进行数据分析，结果用“平均值 ± 标准差”表示，采用



注：基础条件为酶添加量 1.0%、酶解温度 60℃、酶解时间 2 h、酶解 pH 6，单因素实验时其他因素条件不变。不同字母表示具有显著差异( $p < 0.05$ )，下同

图 1 酶解纯化四因素对 SSPS 蛋白质清除率的影响

由图 1 可知：随着酶添加量的增加，蛋白质清除率呈现上升趋势，在酶添加量 1.0% 时蛋白质清除率最高，达到 39.10%，继续增加酶添加量时，由于酶本身作为一种蛋白质杂质使得纯化后的 SSPS 中的蛋白质含量增加，不利于进一步降低蛋白质含量，因此选择最适酶添加量为 1.0%；随着酶解温度的上升，蛋白质清除率先升高后降低，在 60℃ 时蛋白质清除率(37.47%)最高，因此选择 60℃ 作为最适酶解温度；随酶解时间延长，蛋白质清除率逐渐升高，在酶解 2 h 后，随着酶解时间的延长，蛋白质清除率增加并不明显，接近酶解平衡，从经济角度出发，选择 2 h 作为最适酶解时间；在 pH 4~6 时，随着酶解 pH 的上升，蛋白质清除率逐渐增加，在 pH 6 时达到最大，随后开始下降，因此选择 pH 6 为最适酶解 pH。

综上，最适酶解纯化条件为酶添加量 1.0%、酶

Duncan 进行显著性分析，并通过 Origin 2023 进行绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 SSPS 纯化工艺单因素实验

#### 2.1.1 酶解纯化最佳工艺条件的确定

按 1.2.2 方法，采用酶解和醇沉工艺制备纯化 SSPS，对酶解纯化工艺进行单因素实验，分别考察酶添加量、酶解温度、酶解时间及酶解 pH 对 SSPS 粗品中蛋白质清除率的影响，结果如图 1 所示。

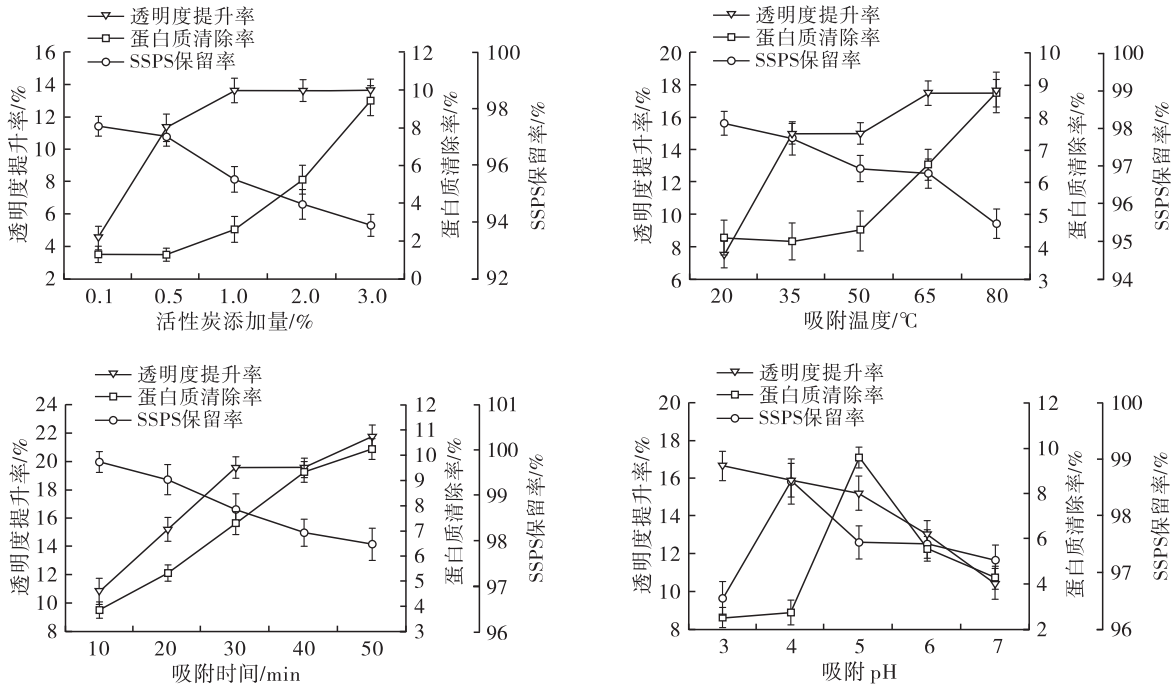
解 pH 6、酶解温度 60℃、酶解时间 2 h。

#### 2.1.2 活性炭吸附纯化最佳工艺条件的确定

按 1.2.2 方法，采用活性炭吸附和醇沉工艺制备纯化 SSPS，对活性炭吸附纯化工艺进行单因素实验，考察活性炭添加量、吸附温度、吸附时间及吸附 pH 对 SSPS 透明度提升率、蛋白质清除率和 SSPS 保留率的影响，结果如图 2 所示。

由图 2 可知：随着活性炭添加量的增加、吸附温度的升高和吸附时间的延长，透明度提升率和蛋白质清除率均有不同程度的上升，SSPS 保留率有所降低；随着吸附 pH 的增加，透明度提升率呈现下降趋势，在 pH 5 时蛋白质清除率最高，在 pH 4 时 SSPS 保留率最高。

综上，确定活性炭吸附纯化的最适条件为活性炭添加量 1.0%、吸附 pH 5、吸附温度 65℃、吸附时间 30 min。



注:基础条件为活性炭添加量 1.0%、吸附 pH 5、吸附温度 65 °C、吸附时间 30 min,单因素实验时其他因素条件不变

图 2 活性炭吸附纯化四因素对吸附效果的影响

2.2 纯化处理对 SSPS 基本成分及理化指标的影响

在 2.1 确定的最适酶解和活性炭吸附纯化工艺条件下,按照 1.2.2 方法制备纯化 SSPS,考察纯化处理对 SSPS 基本成分及理化指标的影响。

2.2.1 基本成分

纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 中的基本成分如表 1 所示。

表 1 纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 的基本成分 %

样品	SSPS	蛋白质	灰分	水分
纯化 SSPS	82.60 ± 0.59 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.04 <sup>b</sup>	4.73 ± 0.26 <sup>b</sup>	6.98 ± 0.13 <sup>a</sup>
SSPS 粗品	74.84 ± 0.49 <sup>b</sup>	3.60 ± 0.09 <sup>a</sup>	5.13 ± 0.17 <sup>a</sup>	7.16 ± 0.18 <sup>a</sup>
市售 SSPS	81.79 ± 0.33 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.05 <sup>b</sup>	5.45 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.61 ± 0.20 <sup>b</sup>

注:同列不同字母表示具有显著性差异( $p < 0.05$ )。下同

由表 1 可知,纯化 SSPS 与市售 SSPS 的蛋白质、SSPS 含量无显著性差异( $p > 0.05$ )。SSPS 粗品的 SSPS、蛋白质含量与市售 SSPS 有显著差异。与 SPSS 粗品相比,纯化 SSPS 的 SSPS 含量明显提高,这是因为木瓜蛋白酶将游离蛋白质和与多糖结合的

蛋白质分解成小分子的肽段,并通过醇沉使之与多糖分离,使 SSPS 含量提高了约 10%,达到 82.60%,亦高于市售 SSPS 的 SSPS 含量;与 SSPS 粗品相比,纯化 SSPS 的蛋白质含量降低了约 40%,与市售 SSPS 的蛋白质含量相当;纯化 SSPS 的灰分含量最低(4.73%),相比于 SSPS 粗品有显著性改善;而在水分含量上,由于采用相同的干燥方式,纯化前后 SSPS 的水分含量并没有显著变化。纯化 SSPS 的 SSPS、蛋白质、灰分含量及水分含量均达到 LS/T 3301—2005 中不小于 70% (中低黏度型)、不大于 8%、不大于 10% 及不大于 7% 的要求。

2.2.2 理化指标

2.2.2.1 透明度与黏度

透明度与黏度是衡量 SSPS 样品品质的重要指标,根据 LS/T 3301—2005 要求,SSPS 的透明度不小于 40%。纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 的透明度和黏度如图 3 所示。

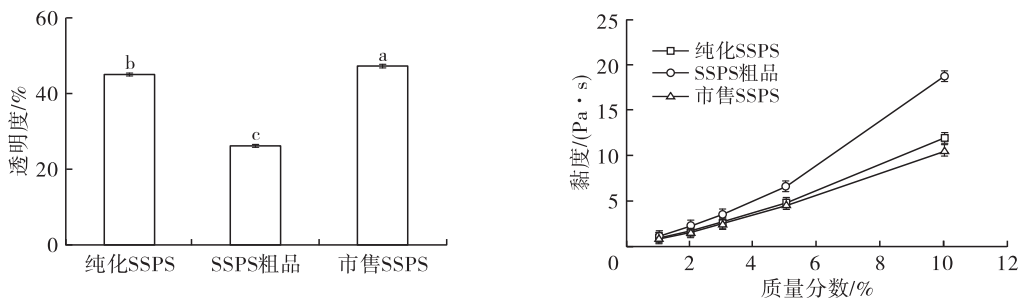


图 3 纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 的透明度及黏度

研究表明,影响 SSPS 透明度的主要原因是存在于 SSPS 中的一些不溶性悬浮物,这些悬浮物的主要成分是大豆蛋白与植酸形成的难溶性络合物<sup>[18]</sup>。由图 3 可知,纯化 SSPS 的透明度达到了 45.00%,相比于 SSPS 粗品,其透明度提升了 71.94%,与市售 SSPS 透明度接近。这是因为通过蛋白酶的酶解作用,部分蛋白质水解成可溶性的成分,使 SSPS 的透明度有所改善;同时活性炭对色素的吸附也使得 SSPS 透明度有所上升。由图 3 还可知,经过纯化处理后 SSPS 的黏度也有显著改善,当 SSPS 溶液质量分数较低 (<3%)时,纯化对 SSPS 溶液黏度的影响不明显,纯化 SSPS、SSPS 粗品与市售 SSPS 溶液的黏度较接近,均处于较低黏度水平。但是当 SSPS 溶液质量分数逐步增大(3%~10%)时,纯化 SSPS 溶液的黏度显著低于 SSPS 粗品的,与市售 SSPS 接近,这使得纯化 SSPS 具有高浓度低黏度的特征,当把 SSPS 作为食品特性改善剂添加到食品中,对食品黏度的影响较小,同时 SSPS 透明度较好,不会影响产品外观及色泽。

#### 2.2.2.2 分子质量

纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 的分子质量分布情况如图 4 所示。

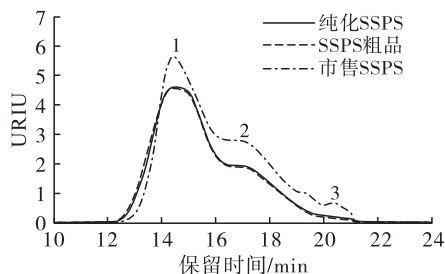


图 4 纯化前后 SSPS 及市售 SSPS 的分子质量分布

由图 4 可知,纯化对 SSPS 的分子质量分布影响较小。纯化前后 SSPS 的洗脱曲线都有两个峰,保留时间分别为 14.7 min 和 16.9 min 左右,峰 1 组分对应的分子质量为 668~605 kDa,峰 2 组分分子质量在 55 kDa 左右。市售 SSPS 的分子质量分布更宽,除了存在峰 1、峰 2 组分外,还有保留时间为 20.4 min 左右的峰 3 组分,即还存在分子质量更小的寡糖成分。相比于市售 SSPS,纯化 SSPS 由于经过 70% 乙醇沉淀,所含低分子质量组分更少。纯化 SSPS、SSPS 粗品、市售 SSPS 的平均分子质量分别为 597.8、606.1、410.7 kDa。根据 LS/T 3301—2005 中所规定的分子质量范围,纯化 SSPS 分子质量在 400~600 kDa 之间,属于 B 型 SSPS 范畴。

#### 2.3 纯化处理对 SSPS 挥发性成分的影响

纯化前后 SSPS 的挥发性成分变化情况如表 2 所示。由表 2 可知:SSPS 粗品共含有 37 种挥发性成分,总含量为 11.46 mg/kg;纯化 SSPS 共含有 19 种挥发性成分,总含量为 5.60 mg/kg。醛类由纯化

前的 12 种减少到纯化后的 6 种,其中,含量最高的壬醛在纯化后含量降低了 45.74%;醇类由纯化前的 4 种减少到 2 种;酮类由纯化前的 9 种减少到 6 种;酯类纯化前的由 10 种减少到 3 种。这可能是因为活性炭吸附了 SSPS 中色素成分的同时,也吸附了醇、醛、酸、酮、酯类等有机化合物<sup>[19]</sup>。

表 2 纯化前后 SSPS 的挥发性成分

成分	保留时间/s	含量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
		SSPS 粗品	纯化 SSPS
壬醛	668.39	2 794.42	1 516.31
癸醛	755.07	2 185.14	1 400.53
甲基丙烯醛	758.59	647.35	-
十二醛	911.24	448.52	205.66
反-2-壬烯醛	783.73	223.97	-
辛醛	574.23	140.57	116.37
十一醛	383.24	136.86	111.24
2-辛烯醛	699.00	128.13	-
2-十一烯醛	940.16	110.13	101.29
甲氧基乙醛二乙缩醛	591.26	84.85	-
己醛	369.73	84.66	-
2,2-二甲基己醛	542.48	84.20	-
雪松醇	1 176.30	189.51	104.73
2-丁基-1-辛醇	793.88	131.93	121.62
2-(1-甲基乙基)己醇	806.82	110.12	-
正十三烷-1-醇	626.91	87.66	-
3-十三酮	955.40	391.29	344.48
2-十三酮	977.94	225.01	141.95
5-(羟甲基)二氢咪喃-2(3H)-酮	716.68	212.40	-
2-十二烷酮	906.70	158.30	120.12
苯乙酮	870.09	129.65	130.12
1,1-二(异丁基)丙酮	862.63	128.97	-
1-癸烯-3-酮	862.30	126.12	-
3-十一酮	806.46	110.12	101.96
2-十一酮	831.26	109.50	81.77
碳酸壬基乙烯酯	835.57	547.60	292.08
原膜散酯	1 356.16	232.02	128.06
2-羟基-2-甲基丙酸羟甲酯	718.43	215.41	-
脯氨酸乙酯	708.83	196.63	-
己酸己酯	840.07	174.20	-
1,2-苯二甲酸双(2-甲基丙基)酯	1 399.32	117.23	-
2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	1 020.97	116.73	-
乙酸-2-咪喃甲醇酯	788.88	103.83	-
癸酸乙酯	859.94	95.08	135.07
苯甲酸 2-乙基己酯	1 201.90	73.70	-
2,4-二叔丁基苯酚	1 267.79	312.39	283.83
2-戊基咪喃	516.20	92.80	158.91

注: - 表示未检出或含量极少

## 2.4 纯化 SPSS 和市售 SPSS 的结构对比分析

### 2.4.1 FT-IR 分析

纯化 SSPS 与市售 SSPS 在  $650 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$  区间的 FT-IR 谱图如图 5 所示。

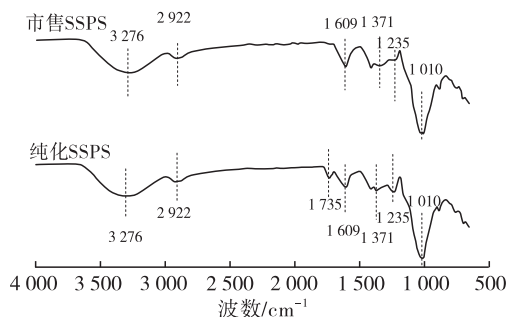


图 5 纯化 SSPS 和市售 SSPS 的 FT-IR 谱图

如图 5 所示,两种 SSPS 均呈现多糖类特征吸收峰,其中: $3\,300\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰是 O—H 的拉伸振动吸收峰<sup>[20]</sup>; $2\,922\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰是 C—H 的吸收峰,是糖的特征吸收峰<sup>[21]</sup>; $1\,735\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰表明纯化 SSPS 相比于市售 SSPS 含有更多的糖醛基团<sup>[22]</sup>; $1\,609\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰来源于游离 COO—中的 C=O 伸缩振动<sup>[23]</sup>; $1\,371\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰显示纯化 SSPS 含有更多的磷酸基团; $1\,235\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰为 O—H 弯曲振动,表明纯化 SSPS 含有更多的一COOH结构;此外,在  $1\,010\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰表明存在 C—O—H 侧基和 C—O—C 糖苷键振动<sup>[24]</sup>。两种 SSPS 除部分特征官能团外无明显差异。

### 2.4.2 X-射线衍射分析

纯化 SSPS 和市售 SSPS 的 X-射线衍射分析结果如图 6 所示。由图 6 可知,两种 SSPS 的 X-射线衍射图形状相似,但纯化 SSPS 在  $20^\circ$ 左右的衍射峰强度弱于市售 SSPS 的衍射峰,且峰形较宽,说明纯化

SSPS 的结晶度弱于市售 SSPS 的结晶度<sup>[25]</sup>。这可能与纯化 SSPS 的分子质量较大,导致结晶度降低有关。

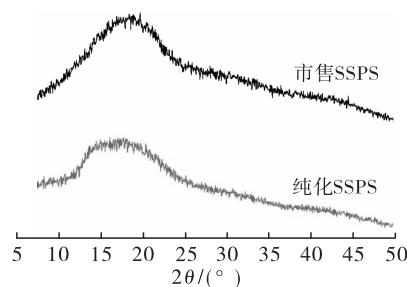


图 6 纯化 SSPS 和市售 SSPS 的 X-射线衍射图

## 2.5 纯化 SPSS 和市售 SPSS 功能特性的对比分析

### 2.5.1 乳化性及乳化稳定性

阿拉伯胶与 SSPS 都具有“高浓低黏”的性质,在较高的浓度下仍然具有流动性,并且可以吸附在油水界面,具有一定的乳化能力。测定纯化 SSPS 的乳化性及乳化稳定性,并与市售 SSPS 以及阿拉伯胶进行对比,结果如表 3 所示。

表 3 纯化 SSPS、市售 SSPS 及阿拉伯胶的乳化性及乳化稳定性

项目	纯化 SSPS	市售 SSPS	阿拉伯胶
乳化性	$0.76 \pm 0.01^b$	$0.79 \pm 0.01^a$	$0.54 \pm 0.01^c$
乳化稳定性/%	$79.43 \pm 0.80^a$	$48.63 \pm 0.42^c$	$50.83 \pm 0.68^b$

注:同行不同字母表示差异显著( $p < 0.05$ )

由表 3 可知,纯化 SSPS 的乳化性低于市售 SSPS 的,但数值非常接近,二者均高于阿拉伯胶的。在乳化稳定性方面,纯化 SSPS 的远高于市售 SSPS 和阿拉伯胶的。

$4^\circ\text{C}$  贮藏 24 h 后,纯化 SSPS、市售 SSPS 以及阿拉伯胶乳液的液滴分布如图 7 所示。

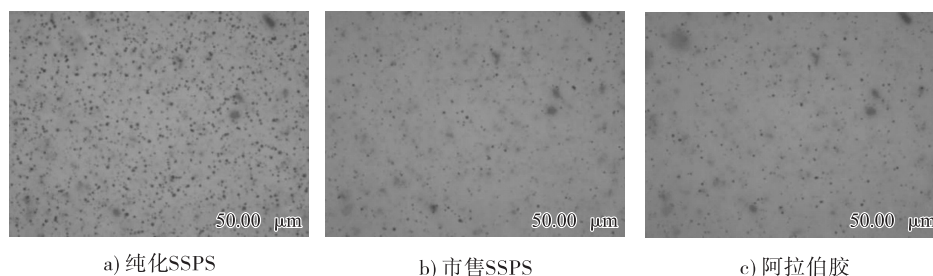


图 7  $4^\circ\text{C}$  贮藏 24 h 后纯化 SSPS、市售 SSPS、阿拉伯胶乳液的液滴分布

由图 7 可知,乳液经过 24 h 的贮藏后,纯化 SSPS 乳液中油滴平均粒径明显小于市售 SSPS 和阿拉伯胶的,说明纯化 SSPS 乳液最稳定,与采用比浊法得出的乳液稳定性结论相一致。研究表明,虽然低分子质量的多糖表现出比高分子质量的多糖更好的乳化性,但是多糖的乳化稳定性随着分子质量的升高而提高<sup>[26]</sup>。Shao 等<sup>[27]</sup>研究也表明较高的分子

质量使多糖具有更强的稳定乳液能力,同时多糖链吸附到界面上时,与多糖结合的蛋白质部分会被解开以暴露埋藏的疏水氨基酸,然后这些蛋白质在油相中重新排列,在水相中与多糖部分一起形成黏弹性膜,从而具有出色的乳化性能<sup>[28]</sup>。因此,含有部分蛋白质及分子质量较大的纯化 SSPS 在保有较好乳化性的同时,也有较好的乳化稳定性。

### 2.5.2 起泡性及泡沫稳定性

纯化 SSPS、市售 SSPS 及阿拉伯胶的起泡性及

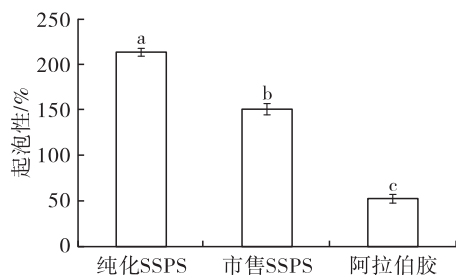


图8 纯化 SSPS、市售 SSPS 及阿拉伯胶的起泡性及泡沫稳定性

由图8可知,纯化 SSPS 具有最高的起泡性,达到 213.70%,明显高于市售 SSPS,远高于阿拉伯胶。3种多糖在泡沫稳定性方面的大小顺序为纯化 SSPS > 市售 SSPS > 阿拉伯胶。形成泡沫 10 min 后,纯化 SSPS 的泡沫稳定性依然超过 82%,而阿拉伯胶的泡沫稳定性仅为 64%。研究表明,分子质量对大豆多糖的起泡性具有重要的作用<sup>[29]</sup>,由于纯化 SSPS 的分子质量较大,因此具有更高的起泡性。陈洋等<sup>[30]</sup>研究表明,表面黏度直接决定液膜的排液速度,从而在一定程度上影响泡沫的稳定性,表面黏度越大,排液速度越小,泡沫越稳定。在相同浓度下,纯化 SSPS 溶液的黏度更高,所形成的液膜的表面黏度更大,因此其泡沫更稳定,这也与 2.2.2.1 中的黏度实验结果相吻合。

### 3 结论

动态法提取的 SSPS 粗品经过木瓜蛋白酶水解、活性炭吸附以及醇沉等步骤纯化后,SSPS 在基本成分及理化指标上均有不同程度的改善,SSPS 的功能特性得到提升。纯化后的 SSPS 在起泡性、泡沫稳定性、乳化稳定性方面均优于市售 SSPS。本研究为 SSPS 生产工艺的进一步改善提供了理论依据。

#### 参考文献:

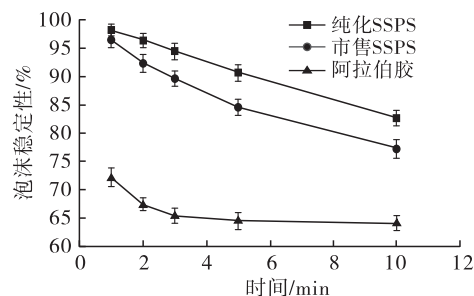
[1] JIA X, CHEN M, WAN J B, et al. Review on the extraction, characterization and application of soybean polysaccharide [J]. RSC Adv, 2015, 5(90): 73525 - 73534.

[2] FURUTA H, TOBE J, KIWATA R, et al. Rheological properties of a heat - reversible gel of water - soluble soybean polysaccharide extracted under acidic conditions [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(12): 2075 - 2081.

[3] NAKAMURA A, FURUTA H, MAEDA H, et al. Analysis of structural components and molecular construction of soybean soluble polysaccharides by stepwise enzymatic degradation [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65(10): 2249 - 2258.

[4] MAEDA H, NAKAMURA A. Soluble soybean polysaccharide [M]//Handbook of Hydrocolloids. Amsterdam: Elsevier, 2021:

泡沫稳定性如图8所示。



463 - 480.

[5] YAMAGUCHI F, OTA Y, HATANAKA C. Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean okara and enzymatic analysis of their structures [J]. Carbohydr Polym, 1996, 30(4): 265 - 273.

[6] 陈红, 张波, 刘秀奇, 等. 超声波辅助提取水溶性大豆多糖及纯化工艺 [J]. 食品科学, 2011, 32(6): 139 - 142.

[7] 宋慧, 苗敬芝, 董玉玮. 双酶法提取大豆多糖及其抗氧化性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2011(5): 89 - 93.

[8] 方积年, 丁侃. 天然药物——多糖的主要生物活性及分离纯化方法 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 338 - 347.

[9] NAKAMURA A, FURUTA H, KATO M, et al. Effect of soybean soluble polysaccharides on the stability of milk protein under acidic conditions [J]. Food Hydrocolloid, 2003, 17(3): 333 - 343.

[10] 赵如霞. 酯化水溶性大豆多糖的分级分离及其性能研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2019.

[11] 张学兵. 水溶性大豆多糖的提取及其在酸性乳饮料中的应用研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2009.

[12] JI H Y, DAI K Y, LIU C, et al. The ethanol - extracted polysaccharide from *Cynanchum paniculatum*: Optimization, structure, antioxidant and antitumor effects [J/OL]. Ind Crops Prod, 2022, 175: 114243 [2023 - 12 - 03]. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114243>.

[13] 何喜珍. 不同分子量大豆多糖的制备、表征和抗氧化研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2016.

[14] 钦传光, 黄开勋, 徐辉碧. 凝胶过滤色谱法测定泥鳅多糖的组成及分子量 [J]. 分析化学, 2002, 30(4): 411 - 413.

[15] 郭向阳. 6种食用芳香植物挥发性成分的 GC - MS/GC - O 分析 [J]. 农业工程学报, 2019, 35(18): 299 - 307.

[16] NAKAMURA A, TAKAHASHI T, YOSHIDA R, et al. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide [J]. Food Hydrocolloid, 2004, 18(5): 795 - 803.

[17] HUANG Q, MAM, CAI Z M, et al. Effect of S - configuration transformation on the microstructure of ovalbumin [J]. Spectrosc Spect Anal, 2011, 31(12): 3319 - 3322.



- [18] 高红亮, 谭静, 常忠义, 等. 一种提高大豆多糖水溶液透明度的方法: CN201310061306.3[P]. 2013-05-29.
- [19] GECA M, WIŚNIEWSKA M, NOWICKI P. Biochars and activated carbons as adsorbents of inorganic and organic compounds from multicomponent systems: A review[J/OL]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2022, 305: 102687 [2023-02-13]. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102687>.
- [20] REN Y Y, ZHU Z Y, SUN H Q, et al. Structural characterization and inhibition on  $\alpha$ -glucosidase activity of acidic polysaccharide from *Annona squamosa* [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 1-12.
- [21] WANG S, LI G, ZHANG X, et al. Structural characterization and antioxidant activity of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides [J/OL]. *Carbohydr Polym*, 2022, 291(1): 119524 [2023-12-03]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119524>.
- [22] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M, ARUOMA O I. The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals [J]. *Anal Biochem*, 1987, 165(1): 215-219.
- [23] HU Z, ZHOU H, ZHAO J, et al. Microwave-assisted extraction, characterization and immunomodulatory activity on RAW264.7 cells of polysaccharides from *Trichosanthes kirilowii* Maxim seeds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164(1): 2861-2872.
- [24] YANG X, HUANG M, QIN C, et al. Structural characterization and evaluation of the antioxidant activities of polysaccharides extracted from Qingzhuan brick tea [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 101: 768-775.
- [25] 韩明会, 刘彦涛, 朱妙馨, 等. 不同温度下分级水提罗望子多糖的结构与性质 [J]. *林业工程学报*, 2018, 3(5): 71-77.
- [26] LI X, XIA W. Effects of concentration, degree of deacetylation and molecular weight on emulsifying properties of chitosan [J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 48(5): 768-772.
- [27] SHAO P, FENG J, SUN P, et al. Recent advances in improving stability of food emulsion by plant polysaccharides [J/OL]. *Food Res Int*, 2020, 137: 109376 [2023-02-13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109376>.
- [28] JIN Q, LI X, CAI Z, et al. A comparison of corn fiber gum, hydrophobically modified starch, gum arabic and soybean soluble polysaccharide: Interfacial dynamics, viscoelastic response at oil/water interfaces and emulsion stabilization mechanisms [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 70: 329-344.
- [29] 张权, 陈洁, 曾茂茂, 等. 制造过程对可溶性大豆多糖结构和产物起泡性的影响 [J]. *食品与机械*, 2020, 36(7): 33-38.
- [30] 陈洋, 张行荣, 尚衍波, 等. 起泡剂性能测试方法及影响泡沫稳定性的因素 [J]. *中国矿业*, 2014, 23(S2): 230-234.
- 
- (上接第 102 页)
- [37] JIA B, XIE X, WU M, et al. Understanding the functions of endogenous DOF transcript factor in *Chlamydomonas reinhardtii* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2019, 12: 67 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1403-1>.
- [38] DUEKP D, FANKHAUSER C. bHLH class transcription factors take centre stage in phytochrome signalling [J]. *Trends Plant Sci*, 2005, 10(2): 51-54.
- [39] TOLEDO-ORTIZ G, HUQ E, QUAILP H. The *Arabidopsis* basic/helix-loop-helix transcription factor family [J]. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1749-1770.
- [40] KANGN K, JEON S, KWON S, et al. Effects of overexpression of a bHLH transcription factor on biomass and lipid production in *Nannochloropsis salina* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2015, 8: 200 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0386-9>.
- [41] LI L, ZHANG G, WANG Q. De novo transcriptomic analysis of *Chlorella sorokiniana* reveals differential genes expression in photosynthetic carbon fixation and lipid production [J/OL]. *BMC Microbiol*, 2016, 16(1): 223 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0839-8>.
- [42] 李玉兰, 孙勤富, 王幼平. 植物油脂合成的转录调控研究进展 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14(9): 2509-2518.
- [43] LIU X, ZHANG D, ZHANG J, et al. Overexpression of the transcription factor *AtLEC1* significantly improved the lipid content of *Chlorella ellipsoidea* [J/OL]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 626162 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.626162>.
- [44] LIU Y, HUO X, YU S, et al. Quantitative proteomic analysis to understand the role of *Arabidopsis thaliana* LEAFY COTYLEDON 2 in promoting lipid accumulation in *Chlorella sorokiniana* by upregulating photosynthetic proteins and G3PDH [J]. *J Appl Phycol*, 2022, 34(6): 3035-3046.
- [45] SHANG C, BI G, YUAN Z, et al. Discovery of genes for production of biofuels through transcriptome sequencing of *Dunaliella parva* [J]. *Algal Res*, 2016, 13: 318-326.
- [46] SHANG C, PANGB, YU H, et al. Identification of targets of transcription factor WRINKLED1-like related to lipid biosynthesis from marine microalga *Dunaliella parva* [J/OL]. *Front Mar Sci*, 2022, 8: 807493 [2022-11-09]. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.807493>.