

响应面法优化黄浆水超滤工艺及其代谢组学分析

王民申, 李 勇, 冯 进, 李春阳, 侯万伟, Oluwole Oluwatoyin Bolanle, Chuon Mony Roth

Optimization of Ultrafiltration Process of Yellow Serofluid by Response Surface Methodology and Its Metabolomics Analysis

WANG Minshen, LI Yong, FENG Jin, LI Chunyang, HOU Wanwei, OLUWOLE Oluwatoyin Bolanle, and CHUON Mony Roth

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080098>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

响应面法优化超滤提纯梅花鹿角盘多肽工艺

Response surface methodology for optimization of ultrafiltration condition for purification of sika deer antler base peptide

食品工业科技. 2017(14): 223-226

酚类化合物与食品大分子互作代谢研究进展

Advance in interactions of phenolic compounds with food macromolecules on digestion and metabolism

食品工业科技. 2017(14): 321-325

柑橘皮蛋白质提取工艺优化及抗氧化活性研究

Optimization of Extraction Process of Protein from Citrus Peel and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2021, 42(16): 154-162

基于代谢组学分析工夫红茶发酵过程中代谢物的变化

Metabolomics Analysis of Changes in Metabolites During the Fermentation Process of Congou Black Tea

食品工业科技. 2021, 42(21): 8-16

苯硼酸传感材料在糖类物质传感检测中的应用

Application of phenylboronic acid sensing materials in sensing detection of carbohydrates

食品工业科技. 2018, 39(11): 307-313

响应面法优化水酶法提取番木瓜籽蛋白质工艺

Optimization on Aqueous Enzymatic Extraction Process of Protein from the Seeds of *Carica papaya* L. by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2018, 39(23): 175-181



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王民申, 李勇, 冯进, 等. 响应面法优化黄浆水超滤工艺及其代谢组学分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 224-232. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080098

WANG Minshen, LI Yong, FENG Jin, et al. Optimization of Ultrafiltration Process of Yellow Serofluid by Response Surface Methodology and Its Metabolomics Analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(7): 224-232. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080098

· 工艺技术 ·

响应面法优化黄浆水超滤工艺及其 代谢组学分析

王民申^{1,2}, 李 勇³, 冯 进², 李春阳^{1,2,*}, 侯万伟⁴, Oluwole Oluwatoyin Bolanle⁵, Chuon Mony Roth⁶

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150076;

2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014;

3. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏南京 210014;

4. 青海省农林科学院, 青海西宁 810000;

5. 奥肖迪联邦工业研究所食品技术部, 尼日利亚拉各斯 999062;

6. 柬埔寨农业渔业部农产品和食品实验室, 柬埔寨金边 10103)

摘 要: 为了高效分离获得蛋白的同时减轻黄浆水的污染问题, 提高其综合利用率, 本文采用超滤分离技术对黄浆水进行浓缩处理。在单因素实验基础上, 采用响应曲面对黄浆水超滤工艺进行优化, 并对超滤前后的黄浆水进行了蛋白质和总糖含量测定、生化需氧量 (BOD) 和化学需氧量 (COD) 测定以及代谢组学测定。结果表明: 黄浆水超滤浓缩工艺的最佳参数为: pH 为 6.2、操作压力为 0.22 MPa、温度为 31 ℃。按此条件进行黄浆水的超滤操作, 此时的膜通量为 (51.8±1.3) L/m²·h, 蛋白质截留率达到 76.84%, 总糖透过率达到 79.10%, 生化需氧量及化学需氧量去除率为 69.27%、61.03%。通过对浓缩液和透过液进行代谢组学分析, 发现浓缩液和透过液中有 114 种化合物的含量存在显著的差异。研究结果表明超滤可以有效地将黄浆水中的蛋白质和糖类物质进行分离, 同时也对小分子物质具有一定的富集作用, 该研究可以为黄浆水的进一步开发与利用提供一定的参考依据。

关键词: 黄浆水, 超滤, 工艺优化, 代谢组学, 蛋白质, 糖类物质

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)07-0224-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080098



本文网刊:

Optimization of Ultrafiltration Process of Yellow Serofluid by Response Surface Methodology and Its Metabolomics Analysis

WANG Minshen^{1,2}, LI Yong³, FENG Jin², LI Chunyang^{1,2,*}, HOU Wanwei⁴, OLUWOLE Oluwatoyin Bolanle⁵,
CHUON Mony Roth⁶

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. Institute of Agro-product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. Institute of Agricultural Re-sources and Environment, Jiangsu Academy of
Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

4. Qinghai Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Xining 810000, China;

5. Food Technology Department, Oshodi Federal Institute Industrial Research, Lagos 999062, Nigeria;

6. Cambodia Laboratory of Agricultural Products and Foods, Ministry of Agriculture Forestry and
Fisheries of Cambodia, Phnom Penh 10103, Kingdom of Cambodia)

Abstract: Ultrafiltration separation technology was used to concentrate yellow serofluid in order to obtain protein

收稿日期: 2021-08-11

基金项目: 2017 年青海省科技计划项目科技合作专项 (2017-HZ-816)。

作者简介: 王民申 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, E-mail: 719338251@qq.com。

* 通信作者: 李春阳 (1966-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 营养与健康, E-mail: lichunyang968@126.com。

efficiently and reduce the pollution of yellow serofluid and improve its comprehensive utilization. On the basis of single factor experiment, the ultrafiltration process of yellow serofluid was optimized by response surface. The contents of protein and total sugar, biochemical oxygen demand(BOD), chemical oxygen demand(COD) and metabolomics of yellow serofluid before and after ultrafiltration were determined. The results showed that the optimal parameters of ultrafiltration concentration of yellow serofluid were as follows: pH6.2, operating pressure 0.22 MPa, temperature 31 °C. The membrane flux was (51.8 ± 1.3) L/m²·h, the protein interception rate was 76.84%, the total sugar transmittance rate was 79.10%, and the removal rates of BOD and COD were 69.27% and 61.03% respectively. Metabolomics analysis of the concentrated and translucent solutions showed that there were significant differences in the contents of 114 compounds in the concentrated and translucent solutions. The results show that ultrafiltration can effectively separate proteins and sugars from yellow serofluid, and has a certain enrichment effect on small molecules, which provides a certain reference for the further development and utilization of yellow serofluid.

Key words: yellow serofluid; ultrafiltration; process optimization; metabolomics analysis; proteins; carbohydrates

我国每年要消耗大量的豆腐、腐竹、千张等豆制品。而在豆制品生产加工过程中会排放大量的废水,这种废水称为黄浆水^[1]。研究表明,黄浆水中富含多种营养物质,如优质蛋白质、低聚糖、多种矿物质以及多种维生素等^[2-4]。同时,黄浆水还具有多种工业用途,例如:用来提高酿酒酵母 S-腺苷甲硫氨酸产量^[5]、合成荧光碳量子^[6]、通过在黄浆水中固定化球形红杆菌来制备氢气^[7]等。黄浆水的不当排放会导致水体中的生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)及化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)严重超标,引发水体富营养化、藻类疯长、水体发臭等环境问题^[8-9]。因此,可以对黄浆水进行有效的处理与利用以增加豆制品加工企业的收入,同时缓解环境污染。

目前,处理黄浆水的常用方式主要有絮凝、二次加工、发酵处理等。絮凝、二次加工及发酵处理均存在操作复杂、处理时间长等缺点。而超滤作为一种新型的处理方式,具有操作简单、处理时间短以及处理效率高等优点,已被广泛应用于黄浆水的回收再利用。超滤技术又称膜分离技术,是一项新型的食品加工及污水处理技术,溶液在一定的温度和压力条件下,通过高分子材料制成具有微孔的薄膜,在此过程中溶液中的物质根据分子量的不同得到分离^[10-11]。目前,超滤技术已经广泛地应用于果汁浓缩、天然产物的提取以及污水处理等方面^[12-13]。

超滤分离技术对黄浆水进行浓缩处理,可以使黄浆水中蛋白质和小分子物质分离,同时降低其 BOD 和 COD。目前超滤处理黄浆水超滤膜易阻塞、效率低,且关于超滤产物的研究较少。为了提高超滤效率,提高膜通量,本实验采用响应面法优化了超滤浓缩黄浆水的工艺参数,从而得到一种快速高效处理黄浆水的方法。将超滤得到的产物进行代谢组学分析,在探究小分子物质分布规律的同时也可黄浆水后续的研究奠定基础,本研究对黄浆水的资源回收再利用及构建豆制品行业的清洁生产体系提供了一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄浆水 南京市鸿味豆制品厂;盐酸 分析纯,

南京化学试剂股份有限公司;壳聚糖(生物试剂,脱乙酰度 80~95,粘度 50~800 mPa·s)、氢氧化钠(分析纯)、海藻酸钠(化学纯) 国药集团化学试剂有限公司;试验用水 为去离子水;除说明外其他试剂均为分析纯。

GY-1H 超滤设备 安徽星奇达膜科技有限公司;TM-100 管式膜(100 kDa) 安徽星奇达膜科技有限公司;PHS-3C pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司;LC-QTOF-MS 为高效液相色谱(安捷伦 1260)串联飞行时间质谱(AB SCIEX QTOF 5600+) 安捷伦。

1.2 实验方法

1.2.1 超滤浓缩工艺 黄浆水的超滤工艺如图 1 所示。进样前先对黄浆水进行絮凝前处理,壳聚糖添加量为 0.54 mg/mL,海藻酸钠添加量为 0.24 mg/mL, pH 调节为 4.4,温度为 47 °C,搅拌时间为 20 min,搅拌速度为 120 r/min,搅拌后 4000 r/min 离心 10 min,将絮凝后的黄浆水上清液收集,随后调节黄浆水的 pH,将处理后的黄浆水加入到储液罐中,打开进料泵,使黄浆水进入膜室(预实验中管式膜 100 kDa 的效果好于相同条件下管式膜 10、50、150 kDa 的效果,因此,本研究采用截留分子量为 100 kDa 的管式膜进行超滤),调节压力,控制温度,黄浆水经过滤膜后,分子量小于膜截留分子量的物质透过滤膜形成透

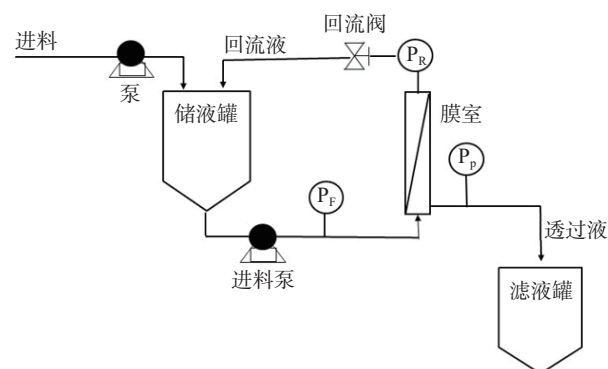


图 1 超滤浓缩工艺图

Fig.1 Ultrafiltration concentration process diagram

注: P_F 为进料压力表; P_R 为回流压力表; P_P 为透过压力表。

过液进入滤液罐,分子量大于膜截留分子量的物质则流过滤膜以浓缩液的形式回流至储液罐,经过一段时间的超滤操作后,得到大量的透过液(filtrate)和少量的浓缩液(concentrated liquid)。

1.2.2 膜通量的测定 超滤设备的膜通量通常以平均膜通量计算^[14],平均膜通量公式按照公式(1)计算:

$$J_w = \frac{V}{S \cdot t} \quad \text{式 (1)}$$

其中, J_w 为膜通量, $L/m^2 \cdot h$; V 为透过液的体积, L ; t 为超滤时间, h ; S 为膜面积, m^2 , 膜面积为 $0.15 m^2$ 。

1.2.3 单因素实验 按照 1.2.1 中的超滤工艺,超滤处理黄浆水,每次浓缩倍数为 6 倍(初始 30 L 黄浆水,当透过液达到 25 L 时即浓缩 6 倍),每次实验后使用 1% NaOH 溶液清洗机器至恢复初始膜通量。设计单因素实验,设定实验的基本条件为: pH4.0、操作温度 30 ℃、操作压力为 0.20 MPa。设定 pH3.0、4.0、5.0、6.0、7.0,操作压力 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 MPa 以及操作温度 25、30、35、40、45 ℃,分别考察 pH、操作温度及操作压力对平均膜通量的影响。

1.2.4 响应面优化试验设计 在单因素实验结果的基础上采用 Box-Behnken 的组合设计三因素三水平的响应面优化试验。各因素及水平的编码表见表 1。

表 1 响应面试验因素水平设计
Table 1 Factors and levels of response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
A pH	5.0	6.0	7.0
B 操作压力(MPa)	0.15	0.20	0.25
C 温度(℃)	25	30	35

1.2.5 蛋白质含量及总糖含量的测定 蛋白质含量测定参照 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》,蛋白质截留率参照公式(2)计算;总糖含量测定采用苯酚-硫酸法进行^[15],绘制得葡萄糖标准曲线为 $Y=4.65x-0.0016$ (其中 Y 为吸光度, A ; x 为葡萄糖浓度, g/L), $R^2=0.9995$ 。总糖透过率参照公式(3)计算:

$$\text{蛋白质截留率}(\%) = \frac{P_1 \times V_1}{P_0 \times V_0} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

其中, P_0 为黄浆水原液的蛋白质浓度, g/L ; P_1 为浓缩液中的蛋白质浓度, g/L ; V_0 为黄浆水原料液体积, L ; V_1 为浓缩液体积, L 。

$$\text{总糖透过率}(\%) = \frac{C_1 \times V_2}{C_0 \times V_0} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

其中, C_0 为黄浆水原液的总糖浓度, g/L ; C_1 为透过液的总糖浓度, g/L ; V_0 为黄浆水原料液体积, L ; V_2 为透过液体积, L 。

1.2.6 生化需氧量(BOD)和化学需氧量(COD)的测

定 BOD 的测定参照 HJ 505-2009《水质 五日生化需氧量(BOD₅)的测定 稀释与接种法》;COD 的测定参照 HJ 828-2017《水质 化学需氧量的测定 重铬酸盐法》。

1.2.7 黄浆水代谢组学测定 采用 LC-QTOF-MS 分析黄浆水中的化学组成^[16]。将黄浆水经过超滤处理后得到浓缩液和透过液,将浓缩液和透过液进行 LC-QTOF-MS。LC-QTOF-MS 的色谱柱条件为 XSelect HSS T3(4.6 mm×150.0 mm, 3.5 μm),正电离模式流动相为 0.1% 甲酸/水(A)和乙腈(B),负电离模式流动相为 0.005 mol/L 乙酸铵(A)和乙腈(B)。流动相梯度洗脱程序为: 0~3.00 min, 10% B; 3.00~21.00 min, 10%~95% B; 21.00~28.00 min, 95% B; 28.00~28.10 min, 95%~10% B; 28.10~34.00 min, 10% B。

LC-QTOF-MS 的质谱条件为选择 QTOF-MS 全扫描模式和信息相关分析(IDA),质量扫描范围为 m/z 50~1000,正、负电离模式的源电压分别为 5500 V 和 4500 V,帘气、雾化器(gas1)和加热气体(gas2)的流动压力分别为 25、50 和 50 psi。碰撞能量(CE)分别为 30 和 -30 V。利用 MS-DIAL 软件对 LC-QTOF-MS 数据进行分析,通过分析保留时间、质量精度和同位素比值以及与公共数据库(包括 MassBank、LipidBlast、GNPS、MetaboBASE)进行 MS/MS 相似性匹配来进行化合物鉴定。

1.3 数据处理

单因素实验数据分析及显著性检验采用 Origin 9.6 软件进行分析,响应面优化实验采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行设计及结果与方差分析,显著水平 $P<0.05$ 。所有试验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 pH 对膜通量的影响 由图 2 可知,在黄浆水的 pH 为 6 时,膜通量达到最大,此时膜通量为 $48.3 L/m^2 \cdot h$ 。由于黄浆水中蛋白质的等电点为 4.5,当 pH 升高时,蛋白质的溶解度增加,从而会减少膜的堵塞现象,提高膜通量。当溶液的 pH 低于 4.5 时,黄浆水中蛋白质带正电荷,此时所带电荷数较少,分子

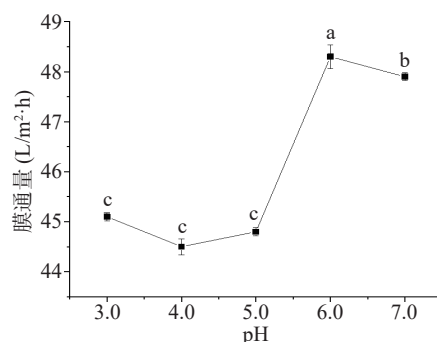


图 2 pH 对膜通量的影响

Fig.2 Effect of pH on infiltration flux

注: 不同字母表示差异显著($P<0.05$); 图 3~图 4 同。

间的斥力较弱, 容易受到环境影响从而析出, 导致膜的堵塞, 从而使膜通量降低, 当黄浆水的 pH 为 4 时, 受等电点的影响最大, 此时膜通量最小, 当溶液 pH 逐渐减小至 3 时, 蛋白质分子所带正电荷数量增多, 分子间斥力增大从而相对稳定, 减少了膜的堵塞^[17-19]。

2.1.2 操作压力对膜通量的影响 由图 3 可知, 膜通量随着操作压力的增加呈现上升趋势, 当操作压力为 0.2 MPa 时, 此时膜通量达到最高, 为 51.6 L/m²·h, 随着操作压力的继续升高, 膜通量呈现下降的趋势。这是因为, 在 0.10~0.20 MPa 压力之间, 随着超滤压力的增加, 膜分离过程中的推动力也随之增加, 从而提高了膜通量^[20]。操作压力过高时, 超滤过程中的起始膜通量较高, 但是随着超滤时间的延长, 膜通量逐渐降低, 主要原因是长时间工作下大分子物质在膜表面聚集形成凝胶层, 阻塞膜孔, 导致平均膜通量较低。随着操作压力和时间的增加, 凝胶层的厚度也逐渐增加, 从而使膜通量降低^[21-22]。

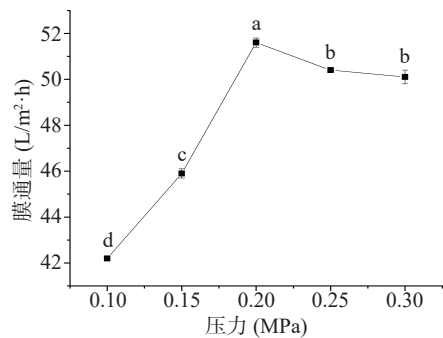


图 3 操作压力对膜通量的影响
Fig.3 Effect of operation pressure on infiltration flux

2.1.3 温度对膜通量的影响 由图 4 可知, 膜通量随着温度的升高呈上升趋势, 当温度升高至 30 ℃ 时, 膜通量为 49.6 L/m²·h。随着温度的继续升高, 膜通量仍呈现上升趋势但是上升的趋势逐渐变缓。这可能是因为随着温度的升高, 物料的流变性增大, 溶液黏度降低, 从而导致膜通量增加。当温度超过 40 ℃ 时, 温度升高, 黄浆水的黏度降低, 膜通量持续增加, 但是吸附在膜表面的淀粉和蛋白质等物质累积发生糊化或凝胶化, 从而使膜通量下降^[23]。同时, 温度过

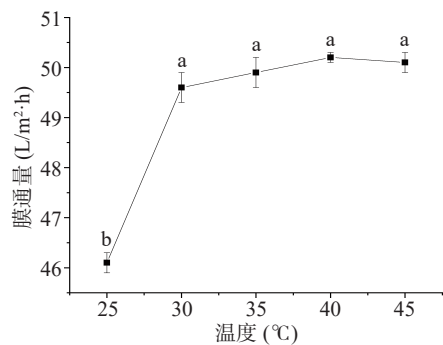


图 4 温度对膜通量的影响
Fig.4 Effect of temperature on infiltration flux

高也会影响膜本身的工作性能^[18,20]。

2.2 响应面分析

2.2.1 响应面试验设计及结果 在单因素实验的基础上, 以膜通量为考察指标, 考察黄浆水的 pH、操作压力及温度及其相互作用对膜通量的影响。采用 Design-Expert 8.0.6 软件中的 Box-Behnken 试验设计原理对黄浆水超滤工艺进行优化。响应面试验结果见表 2。

表 2 响应面试验设计及结果 Table 2 RSM design and test results				
试验号	A pH	B 操作压力	C 温度	Y 膜通量(L/m ² ·h)
1	0	1	-1	40.6
2	0	-1	-1	40.1
3	0	0	0	51.4
4	0	1	1	46.5
5	-1	0	-1	40.7
6	-1	-1	0	38.9
7	1	1	0	46.6
8	-1	1	0	44.2
9	1	-1	0	42.3
10	0	-1	1	41.1
11	0	0	0	49.1
12	0	0	0	50.2
13	0	0	0	51.4
14	-1	0	1	39.3
15	1	0	-1	39.9
16	0	0	0	51.7
17	1	0	1	45.6

2.2.2 回归方程拟合及方差分析 对黄浆水超滤工艺的膜通量优化试验结果进行回归方程拟合及方差分析, 结果见表 3。对三个因素进行回归拟合后得到回归方程: $Y=50.76+1.41A+1.94B+1.40C-0.25AB+1.78AC+1.22BC-4.23A^2-3.53B^2-5.15C^2$ 。此回归方程的 $R^2=0.9793$, $R_{adj}^2=0.9527$, 同时该模型的 P 值 <0.0001 , 为极显著; 失拟项 P 值 >0.05 为不显著, 这表明该模型具有良好的拟合度, 响应面优化实验模型

表 3 回归模型及方差分析 Table 3 Analysis of variance of regression equation						
方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	347.49	9	38.61	36.82	<0.0001	**
A-pH	15.96	1	15.96	15.22	0.0059	**
B-操作压力	30.03	1	30.03	28.64	0.0011	**
C-温度	15.68	1	15.68	14.95	0.0062	**
AB	0.25	1	0.25	0.24	0.6403	
AC	12.60	1	12.60	12.02	0.0104	*
BC	6.00	1	6.00	5.72	0.0480	*
A ²	75.34	1	75.34	71.85	<0.0001	**
B ²	52.47	1	52.47	50.04	0.0002	**
C ²	111.89	1	111.89	106.71	<0.0001	**
残差	7.34	7	1.05			
失拟项	2.57	3	0.86	0.72	0.5913	
纯误差	4.77	4	1.19			
总和	354.82	16				

注: * $P<0.05$ 为显著; ** $P<0.01$ 为极显著。

能够正确的反应和因素与响应值之间的关系。由回归模型及方差分析可知,各因素对响应值影响的显著性排序为 $B>A>C$,同时 pH(A)、操作压力(B)、温度(C)及各因素的二次项对响应值均具有极显著影响($P<0.01$),pH 和温度的交互作用以及操作压力与温度的交互作用对响应值具有显著影响($P<0.05$),而 pH 与操作压力的交互作用对响应值无显著影响($P>0.05$)。

各因素之间的交互作用对响应值影响的等高线图及 3D 图如图 5 所示。两因素交互作用的等高线图呈椭圆形且 3D 图越陡峭,表明这两因素交互作用对响应值的影响越显著。由图 5 可知,虽然操作压力(B)与 pH(A)的交互作用的 3D 图比较陡峭,但是其等高线图呈现为圆形,表明操作压力(B)与 pH(A)的交互作用对膜通量的影响不显著;同时 pH(A)与温度(C)、操作压力(B)与温度(C)的交互作用的等高线不仅呈现椭圆的形状,同时 3D 图也呈现出陡峭的趋势,表明 pH(A)与温度(C)、操作压力

(B)与温度(C)的交互作用对膜通量具有显著的影响,这与模型的方差分析结果一致。

2.2.3 验证实验 在响应面优化试验的基础上,经过 Design-Expert 8.0.6 模型预测极值点,预测结果显示黄浆水超滤工艺的最佳操作条件为: pH 为 6.2、操作压力为 0.22 MPa、温度为 31.03 °C,在此条件下,预测的膜通量为 51.3 L/m²·h。根据实际操作条件,设计验证实验。验证实验的操作条件设定为: pH 为 6.2、操作压力为 0.22 MPa、温度为 31 °C。按此条件进行黄浆水的超滤操作重复实验 3 次,此时的膜通量为(51.8±1.3)L/m²·h,验证实验的结果与预测值的误差较小,表明该模型拟合度较好,能有效地预测和优化黄浆水的超滤工艺。

2.3 超滤对黄浆水的蛋白质含量及总糖含量的影响

蛋白质和糖类是黄浆水中主要的组成成分^[24]。在响应面最佳优化条件下进行超滤,对浓缩液和透过液的蛋白质及总糖含量的测定结果见表 4。通过公式(2)、(3)计算可知蛋白质截留率达到 76.84%,总

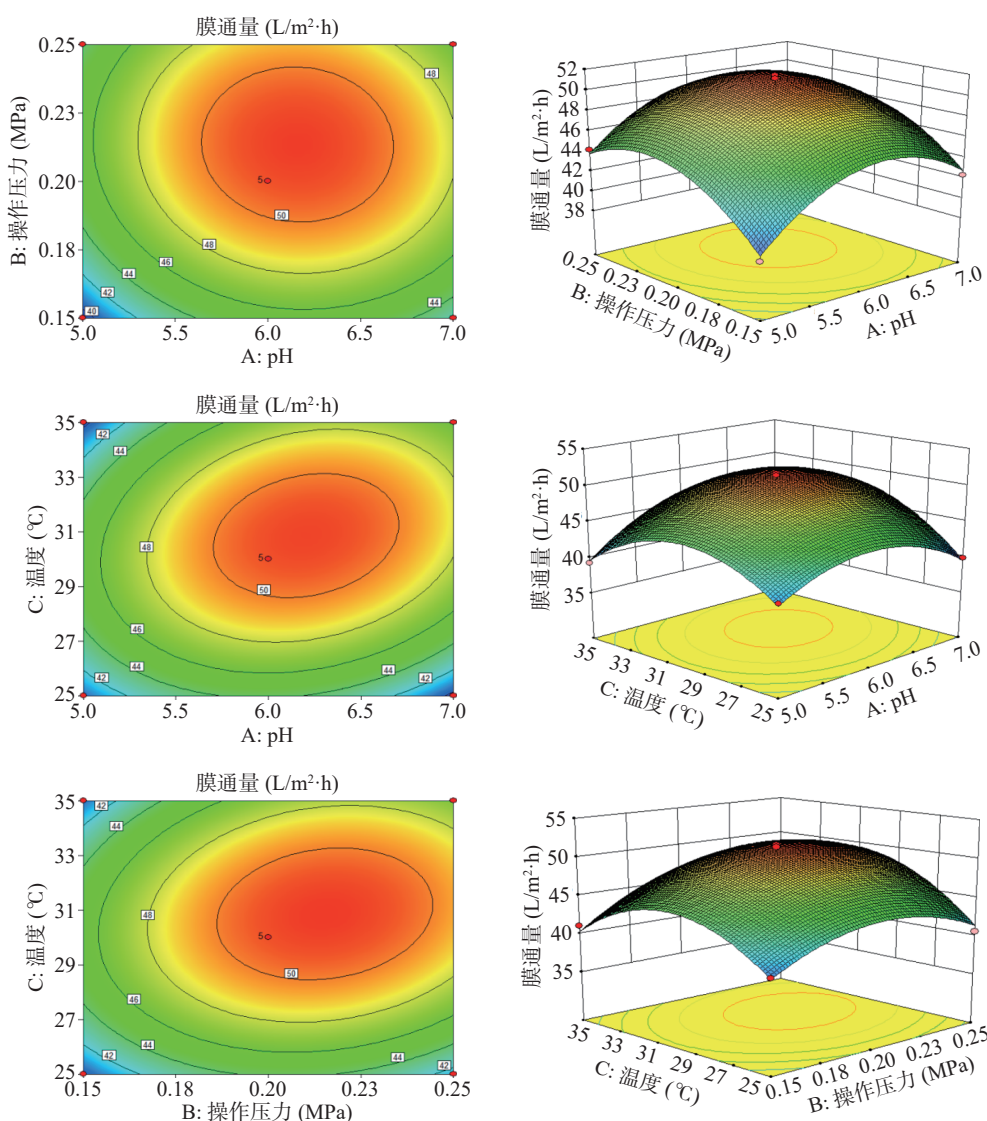


图 5 两因素的交互作用对膜通量影响的响应面图

Fig.5 Response surface plots of variable parameters on infiltration flux

糖透过率达到 79.10%, 通过计算可知超滤对浓缩蛋白质和透过糖类效果显著($P<0.05$)。超滤时, 由于蛋白质分子量较大, 因此大部分保留在浓缩液中, 同时由于部分蛋白质吸附在膜表面的孔洞中, 因此在超滤时会损耗一小部分蛋白。而由于黄浆水中的糖类主要为小分子糖类, 因此这些小分子糖类物质可以通过超滤膜而进入透过液中。浓缩液经冷冻干燥后得到蛋白粉, 蛋白质纯度为(65.67%±0.44%), 蛋白纯度较高。超滤能较地将黄浆水中的蛋白质与糖类进行有效分离, 将不同组分富集起来, 对于得到的透过液的进一步处理还有待于研究, 高效的分离回收黄浆水中的蛋白质及糖类对于黄浆水的回收再利用具有重要的意义。

表 4 蛋白质含量和总糖含量的变化
Table 4 Changes in protein and total sugar contents

指标	黄浆水	黄浆水透过液	黄浆水浓缩液
蛋白质(g/L)	5.75±0.25 ^b	1.27±0.11 ^c	26.51±0.30 ^a
总糖(g/L)	16.74±0.19 ^a	15.89±0.13 ^b	15.73±0.30 ^b

注: 结果以“平均值±标准差”表示; 同行不同字母表示显著差异, $P<0.05$; 表5同。

2.4 超滤对黄浆水的 BOD 及 COD 的影响

超滤浓缩后黄浆水主要以透过液形式存在, 浓缩 6 倍时透过液占比黄浆水原液 83%。在响应面最佳优化条件下进行超滤, 对比超滤前后的黄浆水与透过液的 BOD 及 COD, 结果见表 5。最佳超滤工艺处理后 BOD 的浓度从(4217±57)mg/L 下降到(1296±41)mg/L, BOD 的去除率达到 69.27%。超滤前后 COD 的浓度别为(10923±47)mg/L 和(4257±61)mg/L, COD 的去除率为 61.03%。结果表明超滤对降低黄浆水的 BOD 及 COD 具有显著的作用($P<0.05$), 由于超滤把大部分蛋白质等大分子有机物截留在浓缩液中, 使得透过液中有有机物减少, 从而导致 BOD 及 COD 降低。豆制品企业采用超滤浓缩黄浆水可以提高其附加值, 同时降低对环境的污染。

表 5 BOD 及 COD 的变化
Table 5 Changes of BOD and COD

指标	黄浆水	黄浆水透过液
BOD(mg/L)	4217±57 ^a	1296±41 ^b
COD(mg/L)	10923±47 ^a	4257±61 ^b

2.5 代谢组学分析

对浓缩液和透过液进行 LC-QTOF-MS 鉴定其中的小分子化合物, 采用主成分分析法(PCA)和层次聚类分析(热图)对 LC-QTOF-MS 数据进行判别分析^[25-27]。如图 6 所示, 在 PCA 得分图中浓缩液和透过液出现明显的离散型, 表明浓缩液和透过液在化学组成方面存在显著的差异。在图 7 中, LC-QTOF-MS 分析鉴定出在浓缩液和透过液中 114 种化合物具有显著性差异($P<0.05$)。其中 9-羟基-10, 12-十八二烯酸、去氢大豆皂甙 I、1-油酰磷脂酰乙醇胺、

大豆皂苷 Ba、黄嘌呤核苷、溶血磷脂酰胆碱、L-蛋氨酸、鸟苷、山柰素-4'-甲醚、柴胡皂苷 C 等种物质在浓缩液中相对含量明显高于透过液。核黄素、2-羟基戊酸、4-香豆酸、香豆素、甲氨蝶呤、生物素-7-O-葡萄糖苷、异秦皮定、芥子酸、矢车菊素-3-O-半乳糖苷、异牧荆素等另 57 种物质在透过液中的相对含量显著高于浓缩液。在进行超滤时, 小分子化合物极易通过超滤膜进入透过液, 由于蛋白质等大分子物质聚集在膜表面形成浓差极化现象, 在膜表面形成凝胶层, 膜的阻塞现象逐渐增加, 小分子化合物过膜变得困难, 鉴定出的 50% 的化合物在浓缩液中的相对含量大于透过液的相对含量。鉴定出的物质中富含多种小分子营养物质, 大豆皂苷可以减少机体胆固醇, 增强免疫力, 抵抗癌细胞以及降血糖血脂等功效^[28]。刺芒柄花素有助于癌症的治疗和预防, 还具有抗氧化、抗炎等生物活性^[29-30]。香豆素具有抗菌、抗病毒、解热、抗氧化、抗炎、抗癌等多种药理活性^[31-32]。通过超滤对黄浆水中小分子进行富集, 有利于黄浆水中小分子活性物质的进一步利用, 为进一步有效利用黄浆水, 提高黄浆水的附加值提供一定的参考。

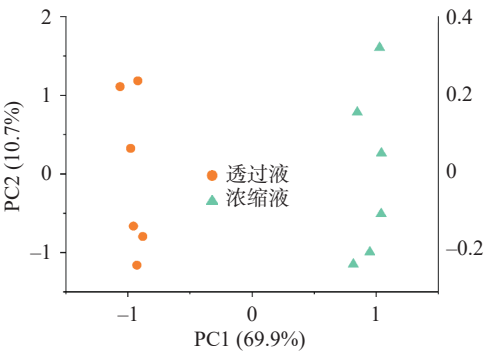


图 6 浓缩液和透过液主成分分析得分图
Fig.6 PCA of concentrated liquid and filtrate

3 结论

本文在单因素实验基础上, 利用响应面进一步确定黄浆水超滤分离工艺的最佳工艺条件, 确定了最佳工艺参数: pH 为 6.2、操作压力为 0.22 MPa、温度为 31 ℃。按此条件进行黄浆水的超滤操作, 此时的平均膜通量为(51.8±1.3)L/m²·h, 膜的工作效率及其处理效率高, 可应用于工业化生产, 降低黄浆水对环境的污染, 同时超滤可以有效的对黄浆水中的有效成分进行分离和富集, 得到的浓缩液与透过液, 其中蛋白质的截留率达到 76.84%, 总糖的透过率达到 79.10%, 浓缩液冷冻干燥后蛋白质纯度为(65.67%±0.44%), 此时 BOD 及 COD 显著降低($P<0.05$), 去除率分别为 69.27%、61.03%。经过超滤后的黄浆水得到的浓缩液与透过液基于 LC-QTOF-MS 方法分析, 鉴定出其中的 114 种化合物的相对含量明显不同。代谢组学实验结果表明黄浆水的超滤过程, 不仅使蛋白质及糖类等大分子物质分离, 同时对黄浆水的一些具有生物活性功能的小分子物质起到了一定的富集作用,

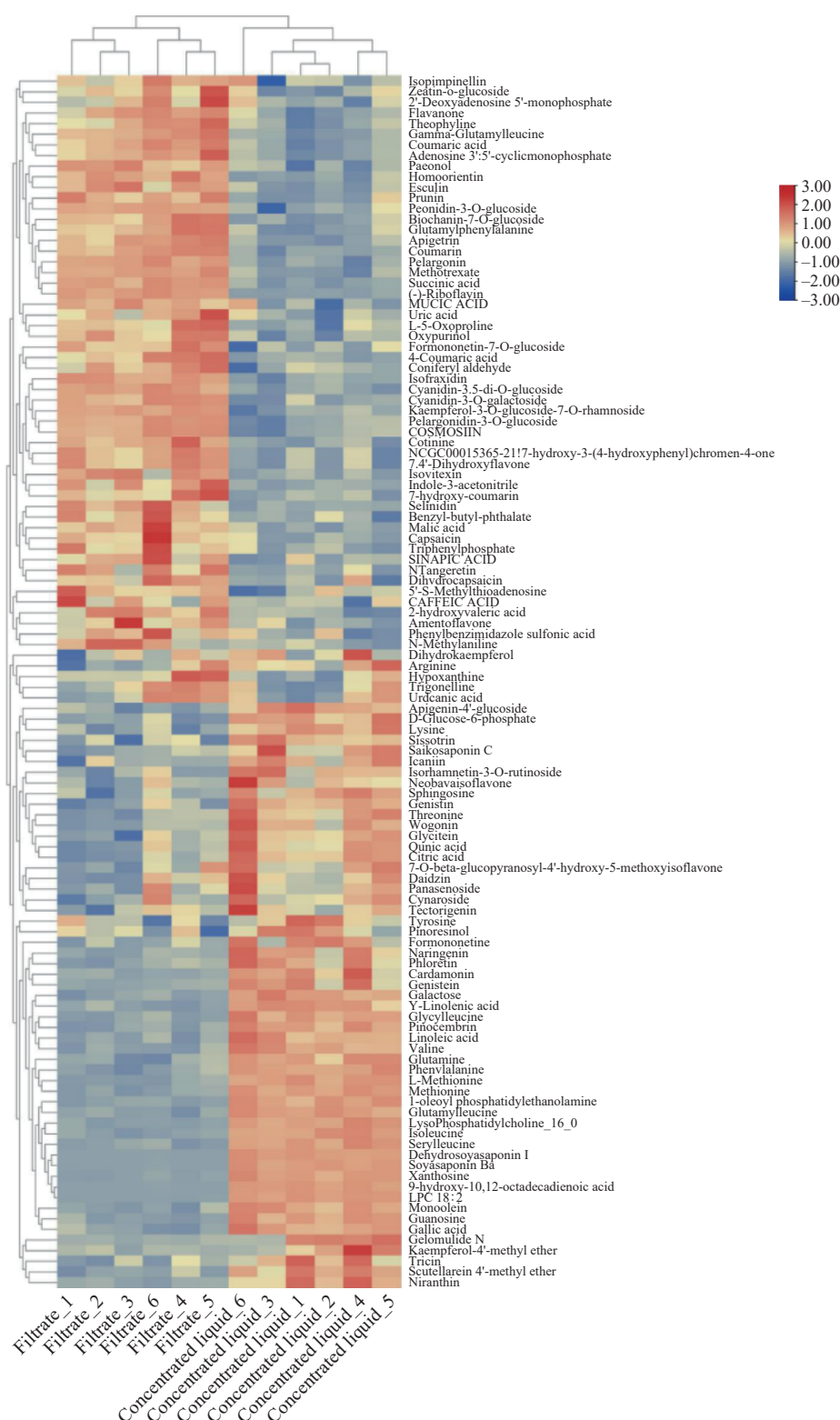


图7 浓缩液和透过液层次聚类分析

Fig.7 Heat map of concentrated liquid and filtrate

注: 图中 Filtrate 1~6 为透过液, Concentrated liquid 1~6 为浓缩液。

为黄浆水中活性小分子物质的回收利用提供了一定的参考。本研究对黄浆水的超滤工艺进行了探索, 研究结果为黄浆水的回收产业化和实际应用提供了科学依据和良好的技术理论。

参考文献

[1] 李云捷, 周哲, 刘志, 等. 大豆黄浆水综合利用研究进展[J].

科技与创新, 2016, 53(5): 9-10. [LI Y J, ZHOU Z, LIU Z, et al. Research progress on comprehensive utilization of soybean yellow pulp water[J]. Science and Technology & Innovation, 2016, 53(5): 9-10.]

[2] 王秋霜, 应铁进. 大豆制品生产废水综合开发研究进展[J]. 食品科学, 2007, 33(9): 594-599. [WANG Q S, YING T J. Re-

- search progress on wastewater utilization in soybean processing[J]. *Food Science*, 2007, 334(9): 594–599.]
- [3] 王胜男, 王冰冶, 曲丹妮, 等. 黄浆水中功能性成分研究及利用现状[J]. 渤海大学学报(自然科学版), 2021, 42(1): 22–28. [WANG S N, WANG B Z, QU D N, et al. Research and utilization status of functional components in soy whey[J]. *Journal of Bohai University(Natural Science Edition)*, 2021, 42(1): 22–28.]
- [4] 张焕煊, 徐雅芑, 李婷婷, 等. 豆制品黄浆水综合利用研究现状及发展趋势[J]. 农产品加工, 2021, 520(2): 79–83, 86. [ZHANG H H, XU Y W, LI T T, et al. Research status and development trend of comprehensive utilization of soybean yellow pulp water[J]. *Farm Products Processing*, 2021, 520(2): 79–83, 86.]
- [5] LI G L, LI H, TAN Y Y, et al. Improved S-adenosyl-L-methionine production in *saccharomyces cerevisiae* using tofu yellow serofluid[J]. *Journal of Biotechnology*, 2020: 100–106.]
- [6] ZHANG J, WANG H, XIAO Y M, et al. A simple approach for synthesizing of fluorescent carbon quantum dots from tofu wastewater[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2017, 12(1): 611–611.]
- [7] ZHU H G, SUZUKI T, TSYGANKOV A A, et al. Hydrogen production from tofu wastewater by *Rhodobacter sphaeroides* immobilized in agar gels[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 1999, 24(4): 305–310.]
- [8] 陈斌, 杨明熹, 李自成, 等. 豆干黄浆水发酵条件优化及其作为酸浆豆腐凝固剂的应用研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(9): 157–163. [CHEN B, YANG Y X, LI Z C, et al. Fermentation optimization of yellow serofluid produced from manufactory of compressed tofu and its application as coagulate for tofu production[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(9): 157–163.]
- [9] 王珊珊, 孙晓琦, 马玉洁, 等. 响应面法优化黄浆水发酵液制备工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(4): 45–51. [WANG S S, SUN X Q, MA Y J, et al. Optimization of preparation of fermented tofu whey by response surface methodology and their antioxidant activity[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(4): 45–51.]
- [10] 赵丽颖, 符群. 膜分离技术在大豆乳清废水回收中应用[J]. 粮食与油脂, 2002(9): 48–49. [ZHAO L Y, FU Q. Application of membrane separation technology in soybean whey wastewater recovery[J]. *Cereals & Oils*, 2002(9): 48–49.]
- [11] 陈婷. 基于超滤膜分离技术回收乳清蛋白工艺研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2011. [CHEN T. Study of reclamation of whey protein based on technology of ultrafiltration membrane separation[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2011.]
- [12] 宋凯强, 刘鹏莉, 郑振佳, 等. 大蒜降压肽的制备及超滤分离[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 73–80. [SONG K Q, LIU P L, ZHENG Z J, et al. Preparation and ultrafiltration separation of garlic antihypertensive peptide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(19): 73–80.]
- [13] 刘娜, 彭黔荣, 杨敏, 等. 膜分离技术在食品废水处理和生产中的应用[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(3): 114–118. [LIU N, PENG Q R, YANG M, et al. The application of membrane separation technology in food wastewater treatment and production[J]. *Food Research and Development*, 2014, 35(3): 114–118.]
- [14] 马丽苹. 银条多糖分离纯化、抗肿瘤和免疫调节活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012. [MA L P. Study on isolation, purification, antitumor and immunomodulatory activities of polysaccharides from silver stripe[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.]
- [15] ROBYT F J, BEMIS S. Use of the autoanalyzer for determining the blue value of the amylose-iodine complex and total carbohydrate by phenol-sulfuric acid[J]. *Analytical Biochemistry*, 1967, 19(1): 56–60.]
- [16] 刘启月, 李勇, 陈小龙, 等. 基于代谢组学分析桃胶中酚类化合物含量及抗氧化活性[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(3): 746–753. [LIU Q Y, LI Y, CHEN X L, et al. Analysis on phenolics contents and antioxidant activity in peach gum based on metabolomics[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 37(3): 746–753.]
- [17] 冯晓, 任南琪, 陈兆波. 超滤膜分离工艺处理大豆乳清蛋白废水的效能[J]. 化工学报, 2009, 60(6): 1477–1486. [FENG X, REN N Q, CHEN Z B. Performance of ultrafiltration membrane technology in treatment of soy whey wastewater[J]. *CIESC Journal*, 2009, 60(6): 1477–1486.]
- [18] 陈寿鹏. 超滤分离大豆乳清蛋白的研究[J]. 食品科学, 1994(8): 3–7. [CHEN S P. Study on separation of soybean whey protein by ultrafiltration[J]. *Food Science*, 1994(8): 3–7.]
- [19] 张鸿发, 陈寿鹏, 杨四国, 等. 超滤浓缩大豆乳清蛋白[J]. 食品研究与开发, 2001(3): 3–4. [ZHANG H F, CHEN S P, YANG S G, et al. Ultrafiltration concentration of soybean whey protein[J]. *Food Research and Development*, 2001(3): 3–4.]
- [20] 冯颖, 于磊, 孟宪军, 等. 响应面法优化超滤提纯无梗五加果多糖工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 67–71. [FENG Y, YU L, MENG X J, et al. Optimization of ultrafiltration purification of polysaccharides from *Acanthopanax sessiliflorus* by response surface methodology[J]. *Food Science*, 2013, 34(2): 67–71.]
- [21] 田旭, 刘丽莎, 彭义交, 等. 膜技术集成对黄浆水乳清蛋白的高效分离[J]. 食品科技, 2018, 43(1): 81–87. [TIAN X, LIU L S, PENG Y J, et al. Efficient separation of soybean whey protein by membrane separation technology[J]. *Food Science and Technology*, 2018, 43(1): 81–87.]
- [22] 王周利, 伍小红, 岳田利, 等. 苹果酒超滤澄清工艺的响应面法优化[J]. 农业机械学报, 2014, 45(1): 209–213, 221. [WANG Z L, WU X H, YUE T L, et al. Application of ultra-filtration technology in cider clarification[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2014, 45(1): 209–213, 221.]
- [23] 王博, 斯聪聪, 程国才. 响应面优化超滤膜分离灵芝多糖工艺[J]. 食品工业, 2015, 36(12): 1–4. [WANG B, SI C C, CHENG G C. Response surface optimization on separation technology of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* by ultrafiltration membrane[J]. *The Food Industry*, 2015, 36(12): 1–4.]
- [24] 郑玉玺. 大豆黄浆水回收利用研究进展[J]. 广州城市职业学院学报, 2015, 9(2): 58–61. [ZHENG Y X. Research and progress on recycling of soybean yellow slurry water[J]. *Journal of Guangzhou City Polytechnic*, 2015, 9(2): 58–61.]
- [25] 田翔, 薄涛, 康瑜, 等. 基于 GC-MS 评估不同预处理对小米代谢物提取的影响[J/OL]. 中国粮油学报: 1–15. <http://kns.cnki.net/>

- kcms/detail/11.2864.TS.20210714.1051.006.html. [TIAN X, BO T, KANG Y, et al. Effects of pretreatment methods on extraction of millet metabolites based on GC-MS analysis[J/OL]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1–15. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20210714.1051.006.html>.]
- [26] ALONSO-SALCES R M, CARLOS H, ALEJANDRO B, et al. Technological classification of Basque cider apple cultivars according to their polyphenolic profiles by pattern recognition analysis[J]. J Agric Food Chem, 2004(26): 8006–8016.
- [27] 宋江峰, 李大婧, 刘春泉, 等. 甜糯玉米软罐头主要挥发性物质主成分分析和聚类分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2122–2131. [SONG J F, LI D J, LIU C Q, et al. Principal components analysis and cluster analysis of flavor compositions in waxy corn soft can[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(10): 2122–2131.]
- [28] ELLINGTON A A, BERHOW M A, SINGLETARY A K W. Inhibition of AKT signaling and enhanced ERK1/2 activity are involved in induction of macroautophagy by triterpenoid b-group soyasaponins in colon cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(2): 298–306.
- [29] JULIANA M D, ESPITIA P, REJANE A B. Formononetin: Biological effects and uses-A review[J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129975–129975.
- [30] WU J J. Formononetin relieves the facilitating effect of lncRNA AFAP1-AS1-miR-195/miR-545 axis on progression and chemo-resistance of triple-negative breast cancer [J]. Aging, 2021, 13(undefined).
- [31] ZHAO R S, BORA Y, SUMI O, et al. Aqueous extracts of hulled barley containing coumaric acid and ferulic acid inhibit adipogenesis *in vitro* and obesity *in vivo*[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 208–218.
- [32] PRAHADEESH N, SITHAMBARESAN M, MATHIVENTHAN U. A study on hydrogen peroxide scavenging activity and ferric reducing ability of simple coumarins[J]. Emerging Science Journal, 2018, 2(6): 417–417.