

109 年第 2 屆大專校院綠色化學創意競賽

成果報告書

學校：國立宜蘭大學

系別：化學工程與材料工程學系

隊名：豆蔻年華

主題名稱：豆渣雙循環再利用產出高值化大豆精華面膜

指導老師：陳華偉 副教授

參賽者：張若玟、范媛淇、曾楷杰

組別：大專組；研究組

隊伍名稱：豆蔻年華

主題：豆渣雙循環再利用產出高值化大豆精華面膜

摘要

豆渣是來自豆漿和豆腐加工製作後的廢棄物，或回收做為動物飼料添加物，因含有高比例的不溶性膳食纖維、胰蛋白酶抑制劑和植酸，這些成分導致豆渣不易被人體利用且容易腐敗，發出惡臭。因此，本研究提取豆渣中抗氧化、類黃酮含量及總酚等成分，萃取製備「大豆萃取護膚精華液」。另外，萃取後的豆渣纖維結合具有生物相容性和可生物降解的材料(聚己內酯 PCL、絲素蛋白 SF、幾丁聚醣 CS)，透過靜電紡織技術製成具親水性、高機械強度、高生物相容性的生物可降解親膚性循環敷材—「奈米大豆纖維」。最後，將大豆萃取護膚精華液導入面膜配方設計，並將奈米大豆纖維電紡成面膜基材，垂直整合兩者特點，極具有潛力高值化產出雙循環特色的大豆精華面膜產品。

壹、動機

2015 年全世界大豆產量約 3.19 億公噸，在西方國家，大豆被當作是油料作物，大豆所壓成的大豆油也是產量最多、且耗用量最大的植物油，約占了整體植物油的三成，1 單位的大豆約可分成 8 成的大豆粉(豆渣)與 2 成的大豆油。壓榨剩下的大豆粉(豆渣)，因為仍然含有高單位的蛋白質，便將其當成是家禽的飼料。此外，豆渣是來自豆漿和豆腐加工製作後的廢棄物，或回收做為動物飼料添加物，因含有高比例的不溶性膳食纖維、胰蛋白酶抑制劑和植酸，這些成分導致豆渣不易被人體利用且容易腐敗，發出惡臭。若是可以將此廢棄物高值化再利用，便可減少食物資源的浪費且能讓原本只能被丟掉的廢棄物轉變成擁有循環能力的產品，也符合綠色化學 12 原則中-再生、物盡、低毒的理念。

而由於靜電紡絲纖維的結構和物理特性與細胞外基質(ECM)類似，可合成或再生天然聚合物的電紡奈米纖維，並且可以促進細胞增殖和廢物轉移。因此，我們利用廢棄物-豆渣，主要的成分為異黃酮(抗氧化性)[1] 和親水性的 OH 基[19]，透過結合聚己內酯、絲素蛋白、幾丁聚醣等具有生物相容性且可生物降解的材料，以靜電紡織技術產生奈米纖維，製成親水性、高機械強度、高生物相容性、抗氧化性的生物可降解親膚性循環敷材。

其中，聚己內酯(PCL)具有良好的機械性能和生物可降解性，被廣泛應用於組織工程和藥物輸送應用的方面[12]，但因 PCL 的低生物活性、低疏水性和易受細菌的降解的特性，使 PCL 未能提供細胞所需要的附著環境。因此，我們添加絲素蛋白(取於蠶繭，良好的生物相容性、生物降解性、機械性能[9]、和無毒性)來提高生物相容性，能夠促進細胞黏附、遷移和增值的配體；幾丁聚醣(生物相容性、生物降解性、親水性、無毒[13])及豆渣中所含有抗氧化性的異黃酮[17]，能有效提升敷材的抗氧化及親水性能。因此，本研究除評估大豆萃取

液之抗氧化能力，亦將探討豆渣靜電紡絲奈米纖維的最佳操作參數，並驗證其親水性、延展性的相關佐證。

貳、目的

本研究目的可分為三部分，第一部分：提取豆漿中抗氧化、類含黃酮量及總酚等成分，萃取製備「大豆萃取護膚精華液」。第二部分：萃取後的豆渣纖維結合具有生物相容性和可生物降解的材料(聚己內酯 PCL、絲素蛋白 SF、幾丁聚醣 CS)，透過靜電紡織技術製成具親水性、高機械強度、高生物相容性的生物可降解親膚性循環敷材—「奈米大豆纖維」。第三部分：將精華液和敷材兩者結合，製成可生物降解的親膚性面膜產品。

將豆渣和從蠶繭中提取的絲素蛋白藉由添加聚己內酯和幾丁聚醣，結合四者的益處，使敷材成為生物可降解和無毒化物的材質，並顯示出良好的組織相容性和機械性能，利用靜電紡織的最佳參數[8]製備不同含量的豆渣，並製成無毒並具有可生物降解的敷材且與細胞具有良好的相容性。並將敷材應用於面膜基材，回收後亦可能透過適當微生物分解程序轉化為肥料，從而循環利用，透過掃描電子顯微鏡(SEM)、傅立葉轉換紅外線光譜儀(FTIR)、拉力測試與接觸角測量，了解其官能基、親疏水性質、表面性質與機械性質。由大豆製成大豆萃取液，探討其 DPPH 清除率、類黃酮含量和總酚含量，並將其加入至生物可降解親膚性敷材中。

將此敷材應用於面膜基材(台灣每年生產 5 億片以上的面膜，總產值超過 50 億以上)，未來回收後亦可透過適當微生物分解程序，使其循環再利用(如圖一)。



圖一、生物可降解親膚性循環敷材循環圖

參、設備及器材

- 一、 水平式靜電紡絲機(FES-COS,鴻隼,台灣)
- 二、 掃描式電子顯微鏡(SEM; TS 5136MM, TESCAN, Czech Republic)
- 三、 傅立葉轉換紅外線光譜儀(FTIR; Spectrum100, Perkin Elmer, USA)
- 四、 接觸角量測儀(Contact Angle; FTA125, First Ten Angstroms, USA)
- 五、 薄膜拉力機(GS-1550 PC,新葢檢測儀器有限公司,台灣)
- 六、 高速冷凍離心機(High-speed refrigerated centrifuge;HERMLE Z 326K, 達灣生化科技股份有限公司)
- 七、 紫外線/可見光光譜儀(UV/Visible Spectrometer; INESA, 上海儀電分析儀器有限公司)
- 八、 冷凍乾燥機(Freeze Drying Systems), 珂化有限公司, KINGMECH FD-4.5-12P
- 九、 高速粉碎機(Pulverizing Machine), 榮聰精密科技有限公司, RT-12

肆、過程及方法

一、絲素蛋白的製備

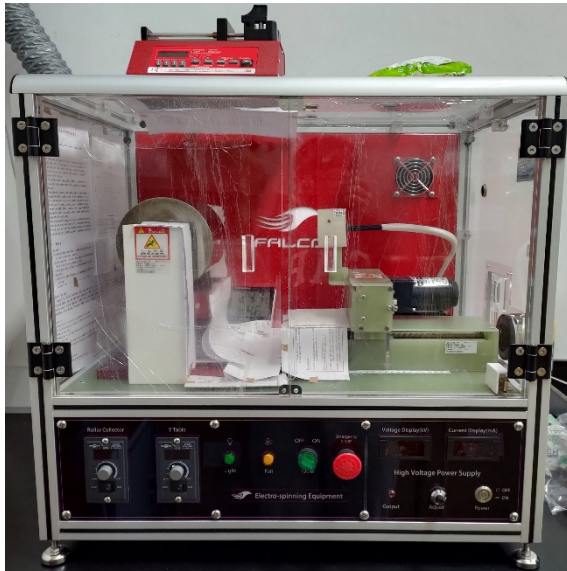
根據 Jonathan 等人描述的方法稍作修改[14]。將蠶繭在 0.02M NaCO₃ 水溶液中煮沸 1 小時後，取出蠶絲團塊於蒸餾水中沖洗 30 分鐘，去除殘留的 NaCO₃ 水溶液，再將蠶絲團塊以去離子水潤洗 30 分鐘，去除絲膠後，將絲素蛋白在 80°C 下乾燥。取已脫膠並乾燥後的絲素蛋白溶解在 100°C 下 50% 的 CaCl₂ 水溶液，經過濾後，使用透析薄膜透析 (MWCO=12,000~14,000) 對絲素蛋白溶液以每 12 小時更換一次去離子水透析 3 天來消除小分子雜質和 CaCl₂，透析後將絲素蛋白溶液以冷凍乾燥機進行凍乾，後將絲素蛋白打碎磨成粉儲存於防潮箱內。

二、靜電紡絲溶液配置

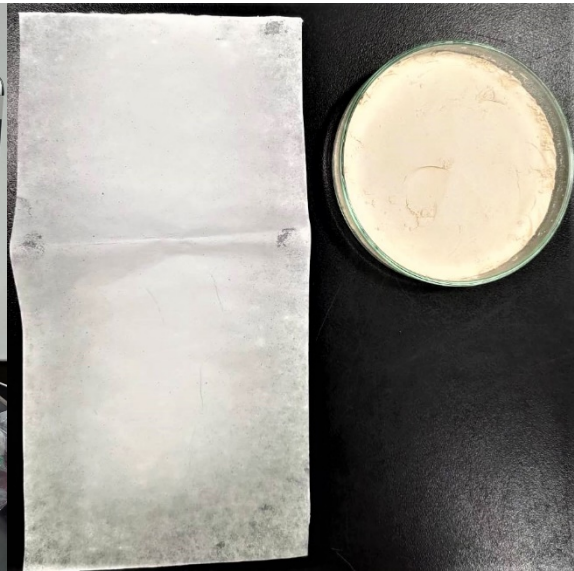
首先將絲素蛋白和幾丁聚醣分別以 3.5%(w/v) 及 0.5%(w/v) 溶於 5ml 的甲酸中，再加入 1%(w/v) 的聚環氧乙烷當作增稠劑，在室溫下攪拌 30 分鐘，最後再將 7%(w/v) 的聚幾內酯添加至溶液中。

三、靜電紡絲

以水平式靜電紡絲機(FES-COS,鴻隼,台灣)進行紡絲，首先將均勻溶液倒入 10ml 塑膠注射器中，再將該注射器連接到 21gauge 的不銹鋼平頭針上，針頭尖端與收集板間的距離為 15 公分，在不銹鋼平頭針上加上 25kV 的電壓，在靜電紡絲過程中推進速率固定在 0.25 ml/hr，以平板收集器收集纖維，為了避免溶液沉澱，在紡絲進行 3 小時後，換取第二罐溶液，重複以上步驟，整個實驗共進行 6 小時電紡，並在溫度 24.5~27.5°C 和濕度 45%~50% 環境下操作。



圖二、水平式靜電紡絲機



圖三、大豆奈米纖維薄膜及豆渣

四、大豆萃取液的製備

將大豆磨碎成粉末狀加入去離子水加熱至 100°C 後放入超音波震盪器，將溶液震盪 1 小時。結束後將液體與沉澱物分離，將液體放入 15 mL 離心管，放入離心機並設定條件，轉速: 900 rpm，溫度: 25°C，離心 30 分鐘。上層液即為大豆萃取液[20]。

五、抗氧化能力測試

(一)類黃酮含量測定

將大豆萃取液 0.5ml + 1.5ml 去離子水、0.1ml Al(NO₃)₃ + 0.1 ml CH₃COOK(1M)均勻混和靜置 40 分鐘，放入分光光度計中測定(波長:450 nm)，計算槲黃素(quercetin)的標準曲線。

(二)DPPH 測定

取 0.03g 的 DPPH 溶在 100ml 的酒精中，即完成 DPPH 的配製。取 2ml 的 DPPH 加 1ml 的酒精，即為空白對照組(AC)。取 1ml 樣品溶液加 2ml 的酒精，即為背景空白值(AB)。取 1ml 樣品溶液加 2ml DPPH，即為待測液(AS)。使用分光光度計在波長 517 nm 進行測定。

$$\text{DPPH 清除率(\%)} = \frac{AC - (AS - AB)}{AC} \times 100\%$$

(三)總酚含量測定

將大豆萃取液 0.2ml+1ml Folin-Ciocalteu's reagent + 0.8ml Na₂CO₃ 均勻混合靜置 30 分鐘，放入分光光度計中測定(波長：750nm)，計算沒食子酸(Gallic acid)的標準曲線。

六、面膜的製備

(I)配方 A

1. 溫泉水: 66.67 克、玻尿酸: 1 克、聚丙烯酸樹脂 940: 19 克

(II)配方 B

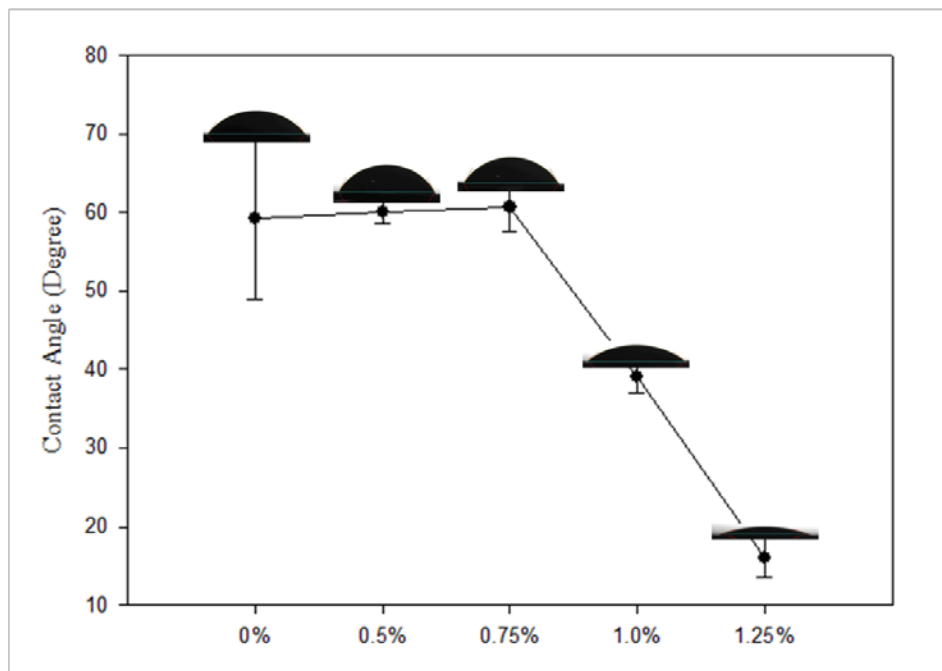
2. 丙三醇: 3 克、1,3-丁二醇: 3 克、吡咯烷銅羧酸鈉(PCA-Na): 3 克、乳酸: 0.2 克、蘆薈萃取液: 2 克、乙二胺四乙酸二鈉鹽(EDTA-2Na): 0.1 克

(III)方法

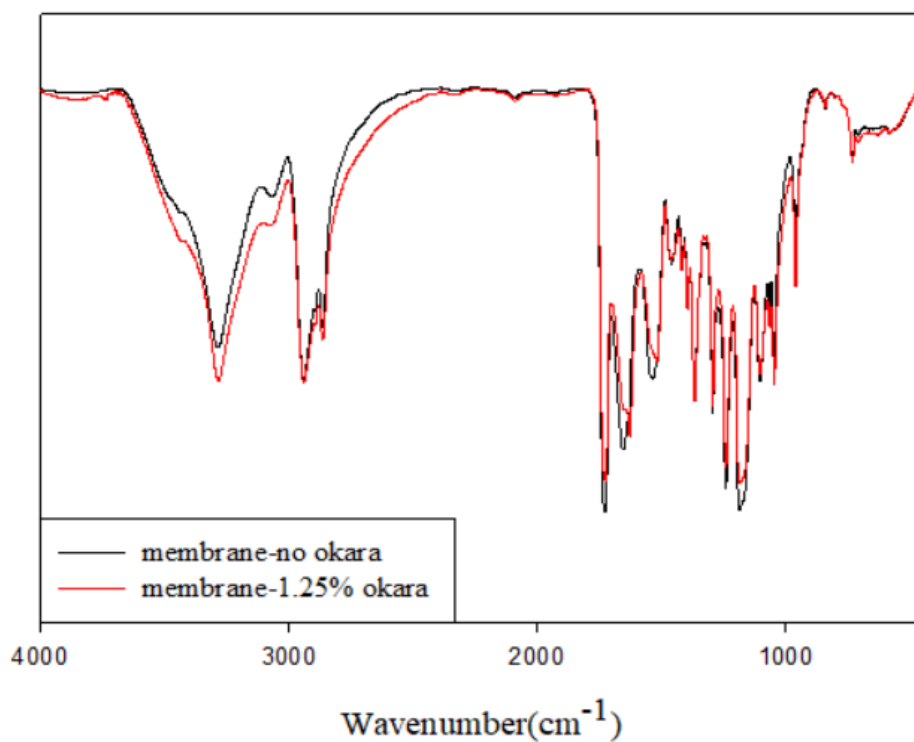
將配方 A 秤入燒杯中，攪拌至全溶。將配方 B 秤入另一個燒杯中，攪拌至全溶。將配方 B 緩緩倒入配方 A 中，再加入 5% 大豆萃取精華液攪拌至混合均勻。將面膜紙摺好並放入

鋁袋。將約 20 mL 面膜精華液倒入鋁袋中並將鋁袋封裝。

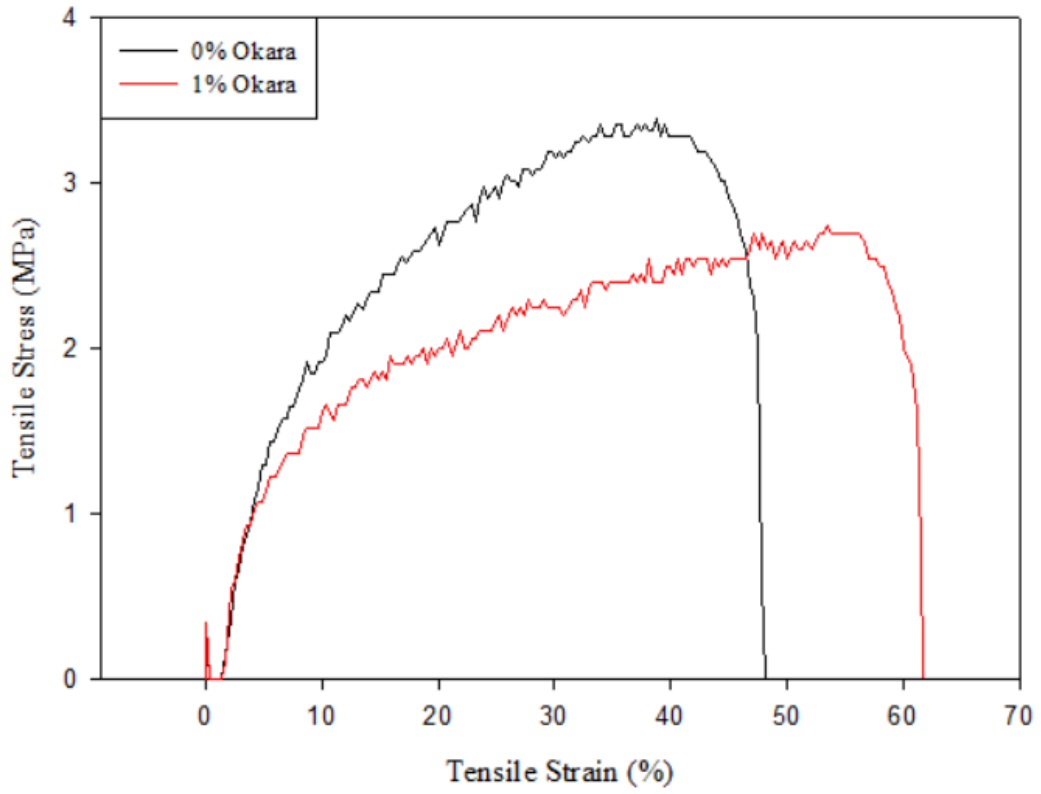
伍、結果



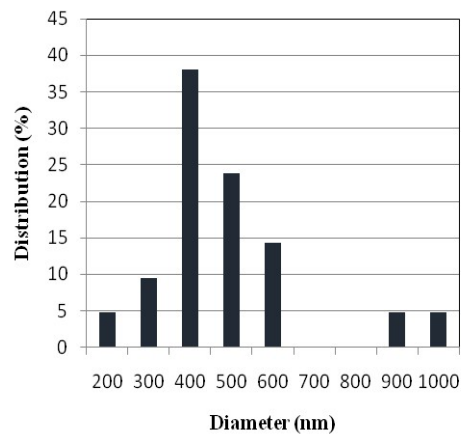
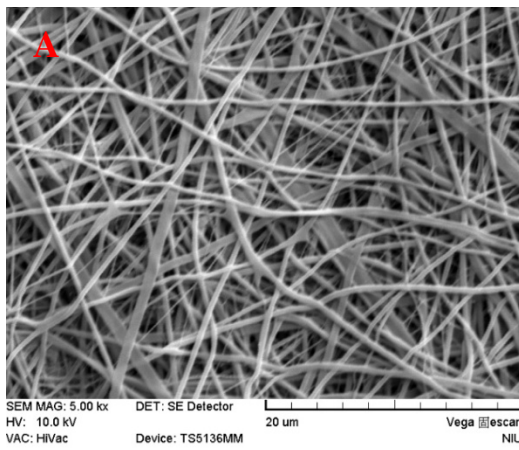
圖四、不同豆渣含量上水接觸角的變化形狀

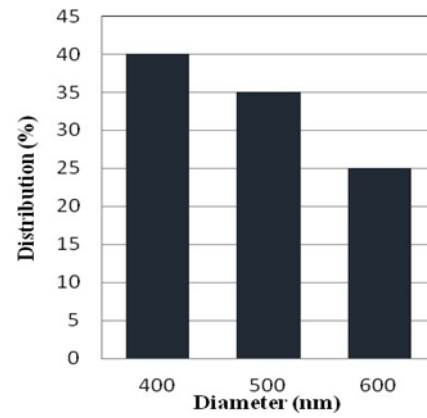
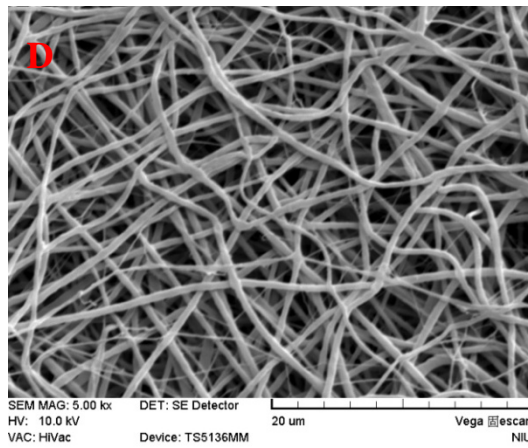
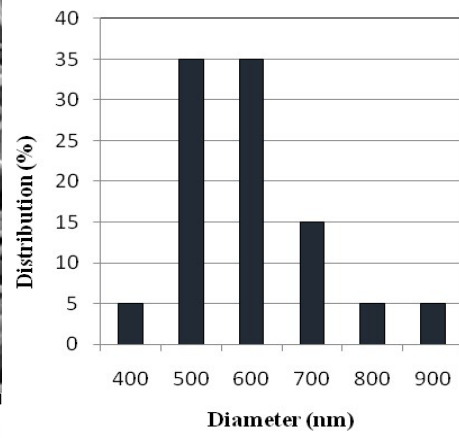
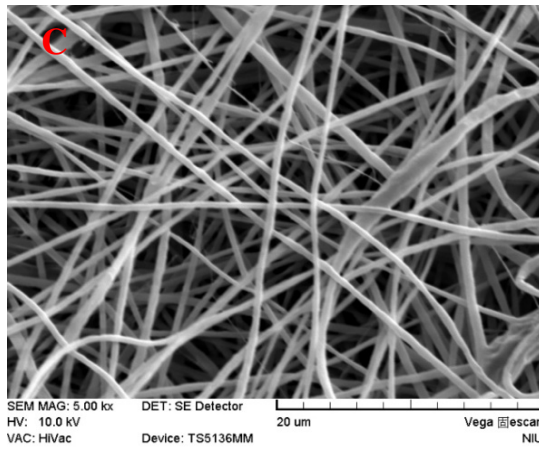
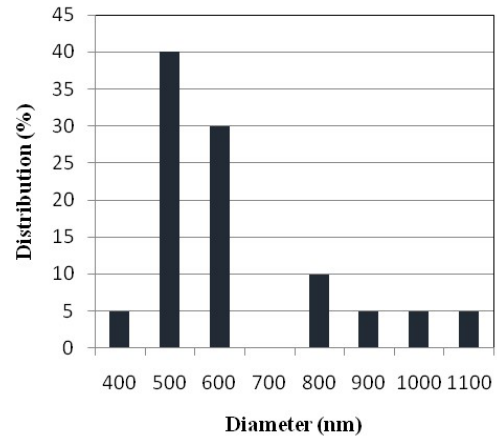
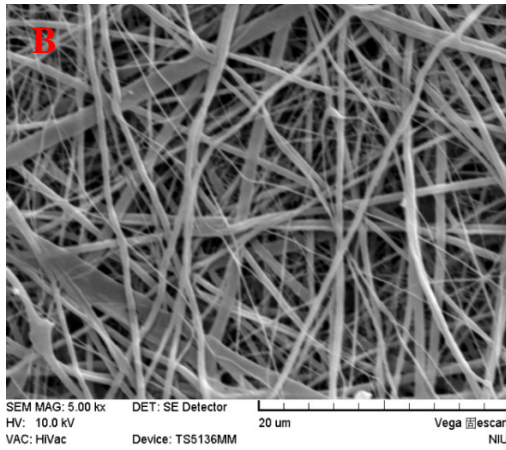


圖五、有無添加豆渣之 FTIR 光譜圖

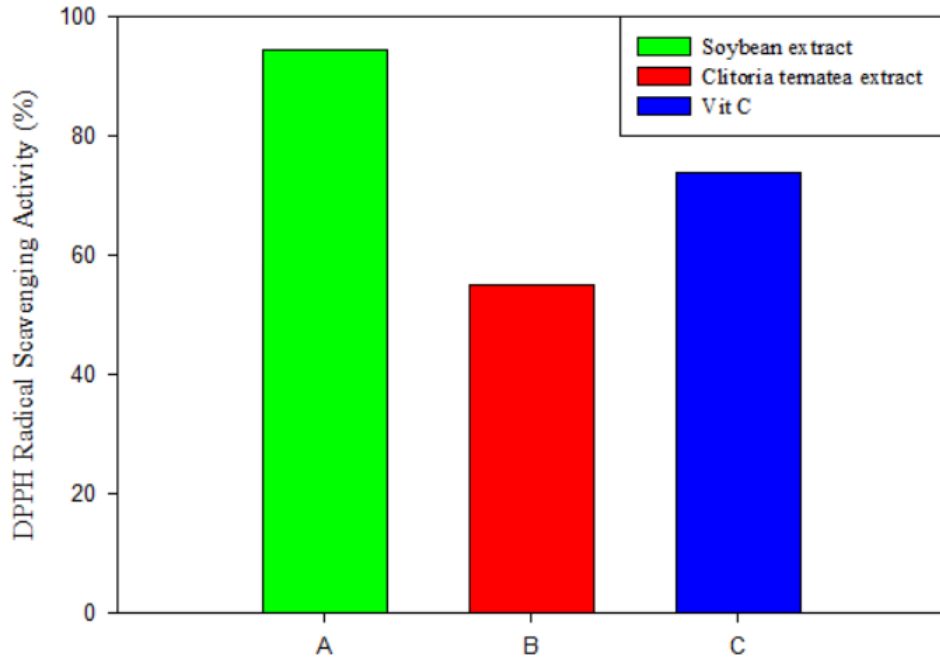


圖六、不同豆渣添加量之應力應變圖

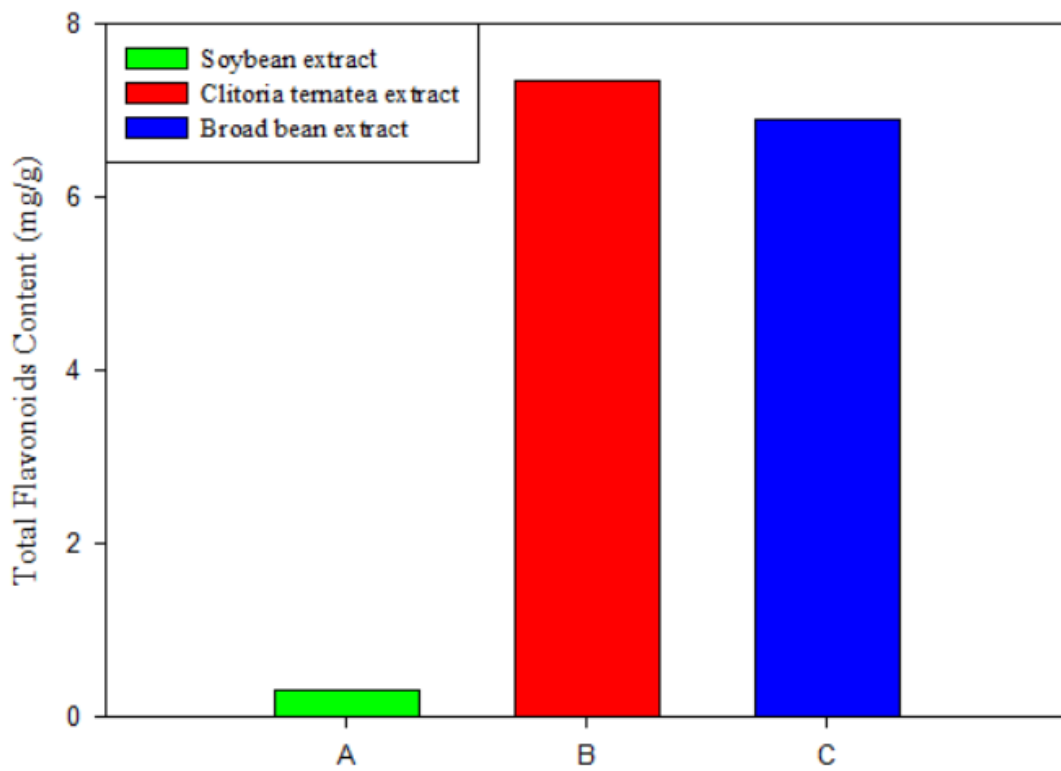




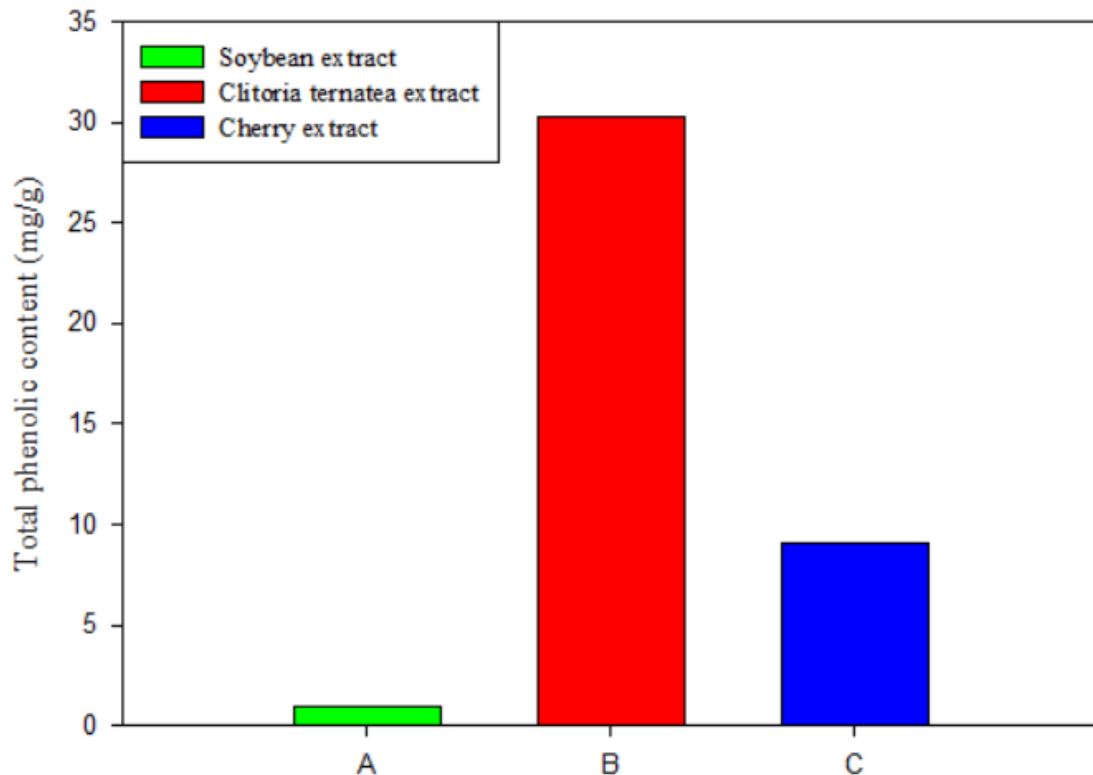
圖七、在不同豆渣含量下之 SEM 圖：(A)0.5% (B)0.75% (C)1.0% (D)1.25% 之豆渣含量



圖八、不同萃取物的 DPPH 自由基清除率比較[20] [23]



圖九、不同萃取物的類黃酮含量比較[23] [26]



圖十、不同萃取物的總酚含量比較[23] [27]

陸、討論

一、接觸角

親水和中等親水結構與疏水結構相比，親水和中等親水結構較易讓細胞附著，使細胞生長更好[18]，因此支架表面潤濕性會影響細胞黏附、增值和遷移。

從圖四可發現未添加豆渣的接觸角為 $59.27 \pm 10.23^\circ$ 屬於親水性結構，豆渣添加量 0.5%，接觸角為 $60.1 \pm 1.48^\circ$ ，也同屬於親水性結構，但因豆渣添加量較少，使其變化量不明顯。豆渣添加量為 1.0% 之接觸角為 $39.09 \pm 2.03^\circ$ ，可以發現豆渣添加量越多，角度明顯變小，由此可知其更為親水。豆渣添加量為 1.25% 之接觸角為 $16.03 \pm 2.57^\circ$ ，已非常接近超親水性。主要造成親水的原因是豆渣含有較多的羥基，使其具有較好的吸水性而造成親水性增加。

二、結構分析

材料的結構和性質之有著密切的關係，可以從圖五中發現無添加豆渣的溶劑中，聚己內酯在 2942cm^{-1} 是因為非對稱的 CH_2 拉伸、在 2866cm^{-1} 是因為對稱的 CH_2 拉伸、在 1726cm^{-1} 是因為說羰基拉伸、在 1294cm^{-1} 是因為 C-O 和 C-C 伸縮、在 1241cm^{-1} 是因為不對稱的 C-O-C 拉伸[4]，幾丁聚醣在 1651cm^{-1} 的特性波峰是因為 N-H、在 1104cm^{-1} 是因為 C-O-C[5]，絲素蛋白在 1240cm^{-1} 是因為醯胺I、在 1521cm^{-1} 是因為醯胺II、在 1656cm^{-1} 是因為醯胺III[6]。添加豆渣後的 OH 基特徵峰會比沒添加時明顯，但由於添加的豆渣含量過小，因此較難判斷。由圖三可得知因為豆渣和可生物降解的材料都是生物質，特徵官能基相似，導致判斷起

來更為困難。

三、機械性質

由圖六可知添加豆渣後造成機械強度變差、延展性變好。主要原因為添加豆渣會使靜電紡絲機噴灑出的泰勒錐越穩定導致其纖維直徑分布較集中，而造成機械拉伸期間的應力集中，因此造成機械強度下降、延展性上升[7]。

四、奈米纖維的型態和直徑分佈

從圖七發現到靜電紡絲奈米纖維均顯示為隨機取向的奈米纖維並具有無珠狀物的光滑的表面，在主纖維之間有奈米纖維的存在，其形成原因是幾丁聚醣所產生的陽離子增加電荷密度[16]，導致額外的二次噴射分裂，因此形成奈米纖維，這與文獻報導一致[2][3]。由圖五中的 A 圖到 D 圖可得知添加的豆渣含量越多會使靜電紡絲機噴灑出的泰勒錐[15]越穩定導致其纖維直徑分布越集中，集中於 400 至 600 nm 間。

五、抗氧化能力測試

(一) DPPH 自由基清除測試廣泛用於測試萃取物的抗氧化能力。DPPH 是一種自由基化合物，是一種穩定的有機基團，當抗氧化劑與 DPPH 相互作用，將電子與氫原子轉移 DPPH，從而中和其自由基特徵[23]。由圖八可得知大豆萃取液的 DPPH 清除率為 94.41%，大於蝶豆花萃取物和維他命 C(濃度: 0.0088 mg/ml)，具有相當高的自由基清除活性[21][22]。

(二)類黃酮化合物作為最多樣化和廣泛分布的天然化合物之一，是最重要的天然酚類物質。類黃酮化合物具有預防心血管疾病的作用，可以減少心血管危險因素[24]。由圖九可知大豆萃取液的類黃酮含量為 0.3092 mg/g。

(三)多酚類化合物具有抗氧化活性和清除自由基的能力。不同類型植物的總酚含量不同，每種植物萃取物含有較低的總黃酮由於植物中存在非黃酮類酚類物質，因此總酚含量高於類黃酮含量[25]。由圖十可知大豆萃取液的總酚含量為 0.9977 mg/g。

柒、結論

本研究分為三部分，第一部分：提取豆渣中抗氧化、黃酮含量及總酚等成分，萃取製備「大豆萃取護膚精華液」。第二部分：萃取後的豆渣纖維結合具有生物相容性和可生物降解的材料(聚己內酯 PCL、絲素蛋白 SF、幾丁聚醣 CS)，透過靜電紡織技術製成具親水性、高機械強度、高生物相容性的生物可降解親膚性循環敷材—「奈米大豆纖維」。第三部分：將精華液和敷材兩者結合，製成可生物降解的親膚性面膜產品。

使用最佳操作參數製備的奈米大豆纖維，纖維直徑較小並具有良好的延伸性，透過表面官能分析可以得知此方法不會破壞到材料本身的特性。由 SEM 圖發現豆渣含量越多其纖維直徑分布越集中，介於 400 - 600nm 之間。由應力應變圖可得知添加豆渣會使機械強度下降且延展性上升，可使其更貼合於臉部肌膚。可以從接觸角發現，豆渣含量越多，會使其結構更加親水，親水性佳則可使敷材更容易吸收精華液。另外，在抗氧化能力測試中，得知大豆萃取液擁有良好的抗氧化能力，具有減少皮膚自由基的功效進而延緩肌膚老化。

將大豆萃取護膚精華液導入面膜配方設計，並將奈米大豆纖維電紡成面膜基材，垂直整合兩者特點，極具有潛力高值化產出雙循環特色的大豆精華面膜產品。

捌、參考文獻及其他

- [1] Lena Jankowiak et al. "Isoflavone extraction from okara using water as extractant" *Food Chemistry*, Vol. 160, 1 October 2014, Pages 371-378
- [2] L. Van der Schueren, I. Steyaert, B. De Schoenmaker, and K. De Clerck, "Polycaprolactone/chitosan blend nanofibres electrospun from an acetic acid/formic acid solvent system," *Carbohydrate Polymers*, vol. 88, no. 4, pp. 1221-1226, 2012/05/16/ 2012.
- [3] 楊健和, "以共價鍵結法固定脂肪分解酵素於蠶絲蛋白奈米纖維薄膜之研究," 長庚大學, 2006.
- [4] L. Li et al., "Electrospun poly (ϵ -caprolactone)/silk fibroin core-sheath nanofibers and their potential applications in tissue engineering and drug release," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 49, no. 2, pp. 223-232, 2011/08/01/ 2011.
- [5] K. T. Shalumon, K. H. Anulekha, C. M. Girish, R. Prasanth, S. V. Nair, and R. Jayakumar, "Single step electrospinning of chitosan/poly(caprolactone) nanofibers using formic acid/acetone solvent mixture," *Carbohydrate Polymers*, vol. 80, no. 2, pp. 413-419, 2010/04/12/ 2010.
- [6] J. Zhou, C. Cao, and X. Ma, "A novel three-dimensional tubular scaffold prepared from silk fibroin by electrospinning," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 45, no. 5, pp. 504-510, 2009/12/01/ 2009.
- [7] S.-F. Chou and K. A. Woodrow, "Relationships between mechanical properties and drug release from electrospun fibers of PCL and PLGA blends," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 65, pp. 724-733, 2017/01/01/ 2017.
- [8] Min-Feng Lin, " Optimization of Skin-Friendly Dressing for Deformation Resistance Using Taguchi Design," 2019.
- [9] G. H. Altman et al., "Silk-based biomaterials," vol. 24, no. 3, pp. 401-416, 2003.
- [10] C. Godavitarne, A. Robertson, J. Peters, and B. Rogers, "Biodegradable materials," *Orthopaedics and Trauma*, vol. 31, no. 5, pp. 316-320, 2017.
- [11] M. J. B. Vert, "Aliphatic polyesters: great degradable polymers that cannot do everything," vol. 6, no. 2, pp. 538-546, 2005.
- [12] L. Van der Schueren, B. De Schoenmaker, Ö. I. Kalaoglu, and K. De Clerck, "An alternative solvent system for the steady state electrospinning of polycaprolactone," *European Polymer Journal*, vol. 47, no. 6, pp. 1256-1263, 2011.
- [13] 董崇民, 李志剛, 鄭廖平, and 陳慶鐘, "幾丁聚醣複合薄膜的製備與抗菌測試," in 2003 幾丁質幾丁聚醣研討會與年會大會手冊論文集= Proceedings of 2003 Taiwan Chitin Chitosan Symposium & Agenda of Society Annual Meeting, 2003, pp. 172-175.
- [14] J. Ayutsede, M. Gandhi, S. Sukigara, M. Micklus, H.-E. Chen, and F. Ko, "Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning. Part 3: characterization of electrospun nonwoven

- mat," *Polymer*, vol. 46, no. 5, pp. 1625-1634, 2005/02/14/ 2005.
- [15] G. I. J. P. o. t. R. S. o. L. S. A. M. Taylor and P. Sciences, "Disintegration of water drops in an electric field," vol. 280, no. 1382, pp. 383-397, 1964.
- [16] X. Geng, O.-H. Kwon, and J. Jang, "Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution," *Biomaterials*, vol. 26, no. 27, pp. 5427-5432, 2005.
- [17] 施韋慈, "大豆豆渣、豆漿泡沫之機能成分分析、其複合錠劑製備及釋放評估," 中興大學, 2017.
- [18] J. Hankiewicz and E. J. C. c. a. Swierczek, "Lysozyme in human body fluids," vol. 57, no. 3, pp. 205-209, 1974.
- [19] 陳蔓甄, " Study on solid-state cultivation conditions for mannanase and xylanase production by *Aureobasidium pullulans* NCH-218 using soybean okara as a major substrate and the probiotic effect," 中興大學, 2014.
- [20] 彭楚鈞, " Study on the whitening and antioxidative activities of Daidzein," 弘光科技大學, 2016.
- [21] 張袁瑗、易光輝, "以清除 DPPH 自由基檢測精油成份中十四種醛類與醇類之抗氧化力研究," 弘光科技大學, 2007.
- [22] Grażyna Szymczak et al. "Evaluation of isoflavone content and antioxidant activity of selected soy taxa" *Journal of Food Composition and Analysis* vol.57, April 2017, Pages 40-48
- [23] Yu-Wei Chang, "The Study of Liposome Encapsulated *Clitoria Ternatea* Extract," 2019.
- [24] P. V . A. Babu and D . Liu, "Chapter 18- Flavonoids and Cardiovascular Health," in *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*, R. R. Watson, Ed. San Diego : Acedemic Press, 2009, pp. 371-392.
- [25] P. Maisuthisakul, M. Suttajit, and R. Pongsawatmanit, "Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants," *Food Chemistry*, vol. 100, no. 4, pp. 1409-1418, 2007.
- [26] Ren-You Gan et al. "Pigmented edible bean coats as natural sources of polyphenols with antioxidant and antibacterial effects" *LWT* vol.73, November 2016, Pages 168-177
- [27] 洪淑玲, "深色蔬果抗氧化之探討," 朝陽科技大學, 2013.