

低 PC 含量大豆粉末磷脂脱糖工艺研究

史苏佳,曹 栋,王 强

(江南大学 理学院,江苏 无锡 214122)

摘 要:以低 PC 含量大豆粉末磷脂为原料,在单因素实验基础上利用正交实验对磷脂脱糖工艺进行优化。研究表明,最佳工艺条件为:温度为 30 ℃、时间为 70 min、V(正己烷):V(乙醇)为 1:2、乙醇体积分数为 50%、萃取次数为 2 次,此时脱糖率为 89.7%,粗糖中糖的含量为 89.2%。利用高效液相色谱法对提取的糖种类进行鉴定,结果表明这些糖为水苏糖、蔗糖、棉籽糖,其含量分别为 71.1%、17.3%、6.6%。

关键词:大豆粉末磷脂;脱糖;水苏糖;低聚糖

中图分类号:TS 210.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2016)02-0035-04

Study on desugarization of powered soybean phospholipid with low PC content

SHI Su-jia, CAO Dong, WANG Qiang

(College of Science, Jiangnan University, Wuxi Jiangsu 214122)

Abstract: Using powered soybean phospholipid with low PC content as raw material, the process of desugarization was optimized by the orthogonal experiment based on the single factor experiment. The results showed that the desugaring rate arrived 89.7% and the content of sugars in the extractive raw sugar was 89.2% when the optimum parameters were chosen as follows: temperature 30 ℃, extractive time 70 min, volume ratio of hexane to ethanol 1:2, volume fraction of ethanol 50% and extraction for twice. The kinds of the removed carbohydrates and its content were determined by high performance liquid chromatography, which were stachyose, sucrose and raffinose, with contents of 71.1%, 17.3%, 6.6%, respectively.

Key words: powered soybean phospholipid; desugarization; stachyose; oligosaccharide

大豆粉末磷脂是经丙酮脱油后的一种商业磷脂,作为一种商业磷脂在食品工业、医药工业、化妆品工业等领域有着较广泛的应用。大豆粉末磷脂主要含有卵磷脂(PC)、脑磷脂(PE)、肌醇磷脂(PI)、鞘磷脂、糖脂、游离糖等。大豆磷脂的来源及生产工艺的不同,导致其主要所得磷脂产品成分及糖类物质含量也各不相同。通常情况下,经丙酮脱油的粉末磷脂,含有 5%~8% 的糖类物质^[1],再经醇洗提取卵磷脂后,粉末磷脂中糖含量会进一步提高^[2]。磷脂中的糖分为结构糖和游离糖^[3],结构糖主要是一些糖脂,游离糖主要是水苏糖、蔗糖、棉籽糖等低聚糖^[4],从大豆粉末磷脂中脱糖,不仅可以扩大磷脂的应用,而且为磷脂组分的进一步分离纯

化提供便利,同时得到的低聚糖可以运用到保健等领域。目前,国内对大豆磷脂脱糖方面的研究鲜有报道,只见宋伟报道了以大豆浓缩磷脂为原料,通过丙酮脱油制备得到粉末磷脂,进一步进行脱糖研究^[5],发现这一工艺中大豆粉末磷脂中 PC 含量一般在 20%~30%^[6]。国外由于涉及专利问题也未见相关报道。本研究使用低 PC 含量的大豆粉末磷脂为原料,采用双溶剂萃取技术对大豆粉末磷脂的糖类物质进行分离,优化工艺条件,同时鉴定糖类物质。研究表明该方法能有效脱除低 PC 含量磷脂的糖。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大豆粉末磷脂(PC 含量 4.7%):江苏曼氏生物科技有限公司;正己烷、乙醇等常用试剂:均为分析

收稿日期:2015-10-12

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD33B05)

作者简介:史苏佳,1961年出生,女,高级工程师。

纯, 国药集团化学试剂有限公司; 水苏糖、棉籽糖、蔗糖: 标准品, 美国 Sigma 公司。

旋转蒸发仪 RE-52A: 上海亚荣生化仪器厂; 电子天平: 上海精密科学仪器厂; 高效液相色谱仪: 美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆磷脂脱糖工艺流程

大豆磷脂脱糖工艺流程见图 1。

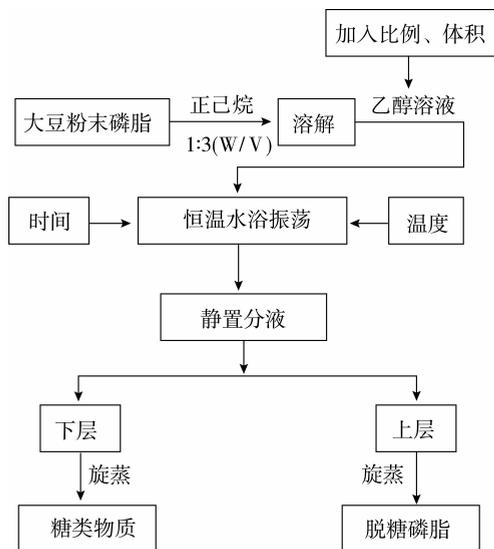


图 1 大豆磷脂脱糖工艺流程

操作要点: 静置分液时间为 4 h, 如果萃取两次第二次分液静置时间为 8 h; 减压旋蒸的温度 50 ℃、压力 0.1 Mpa (旋转蒸发仪 RE-52A)、时间 2 h。

1.2.2 苯酚硫酸法测总糖含量

参考文献资料^[7]。

1.2.3 计算方法

大豆磷脂中糖的脱除率 Y:

$$Y = \frac{\text{所得粗糖质量(g)} \times \text{糖含量}}{\text{粉末磷脂原料(g)} \times \text{糖含量}} \times 100\%$$

1.2.4 单因素实验

选取温度、乙醇体积分数、时间、V(正己烷):V(乙醇)、萃取次数 5 个指标进行单因素实验。

1.2.5 正交实验

选取温度、乙醇体积分数、V(正己烷):V(乙醇)、时间 4 个因素进行 L₉(3⁴) 正交实验, 运用 SPSS 软件对正交实验结果进行分析。正交实验因素水平设置见表 1。

表 1 正交实验因素水平

水平	A 温度 /℃	B 乙醇体积分数/%	C 时间/min	D V _{正己烷} :V _{乙醇} / (mL/mL)
1	20	45	30	1:1.5
2	25	50	50	1:2
3	30	55	70	1:2.5

1.2.6 糖类物质的分析

将所得的粗糖物质按料液比 1:3 (g:mL) 加入正己烷溶解、过滤, 分离出粗糖中的磷脂, 得到进一步纯化的糖, 再经脱溶得到白色粉末状的糖类物质。将所得的糖加去离子水溶解, 配制浓度为 4.0 mg/mL, 经 0.45 μm 膜过滤, 采用 HPLC 外标法为糖类物质进行定性和定量分析。

色谱条件: Waters 600 高效液相色谱仪, 2414 示差折光检测器, 色谱柱: Waters Sugar-Pak1 (300 mm × 7.8 mm), 流动相: 水, 流速: 0.4 mL/min, 柱温: 85 ℃。

2 结果与分析

2.1 大豆粉末磷脂的总糖

采用苯酚硫酸法测得大豆粉末磷脂原样总糖含量为 14.90%。

2.2 单因素结果分析

2.2.1 V(正己烷):V(乙醇)对脱糖率的影响

在乙醇浓度 50%、温度 25 ℃、时间 30 min、萃取 1 次时, 考察 V(正己烷):V(乙醇)对脱糖率的影响, 结果见图 2。由图 2 可见, 脱糖率随着 V(正己烷):V(乙醇)从 1:1 到 1:2 迅速增加, 到 1:2.5 后趋于平缓。这是因为 V(正己烷):V(乙醇)从 1:1 到 1:2 的过程中, 水量随乙醇体积的增加而增加, 有利于糖的脱除, 比例从 1:2.5 到 1:3 的过程中脱糖率趋于平缓, 是由于水量再增加, 正己烷相中水趋

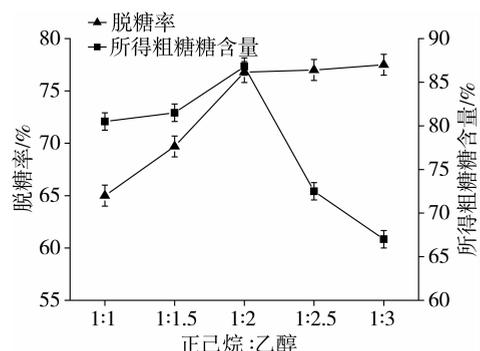


图 2 V(正己烷):V(乙醇)对脱糖率的影响

于饱和。同时,粗糖中糖的含量在 V(正己烷):V(乙醇)为 1:2 时达到最大,从 1:2 到 1:3 的过程中迅速下降。综合考虑,选择 V(正己烷):V(乙醇) 1:2 为最佳脱糖溶剂比例。

2.2.2 乙醇体积分数对脱糖率的影响

在 V(正己烷):V(乙醇)为 1:2、脱糖温度 25 ℃、时间 30 min、萃取 1 次时,考察乙醇体积分数(以水为溶剂)对脱糖率的影响,结果见图 3。由图 3 可见,脱糖率和粗糖中糖的含量在乙醇体积分数为 50% 时最大,选择 50% 乙醇溶液作为最佳的脱糖浓度。

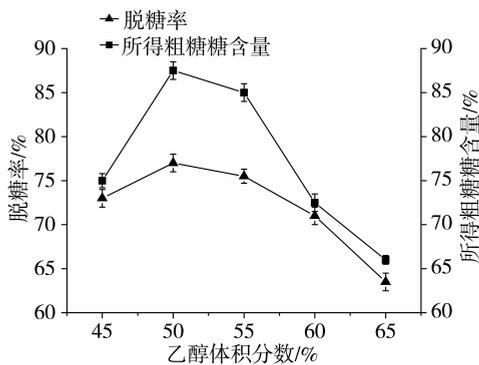


图 3 乙醇体积分数对脱糖率的影响

2.2.3 时间对脱糖效果的影响

在 V(正己烷):V(乙醇)为 1:2 时,萃取 1 次,乙醇浓度 50%,温度为 25 ℃,考察时间对脱糖率的影响,结果见图 4。由图 4 可见,脱糖率随着时间的增加而增加,但到达 50 min 后趋于平缓。这说明体系中的糖需要一定的时间在两相中充分混合,然后在两相中选择。粗糖中糖含量随时间呈先增大后减小,原因是糖需要一定时间摇晃、振荡才能均匀分散在两相中,但随着时间的增加少部分磷脂与水过分接触从而发生乳化,最终静置后进入乙醇相中。因此,选择脱糖时间为 50 min。

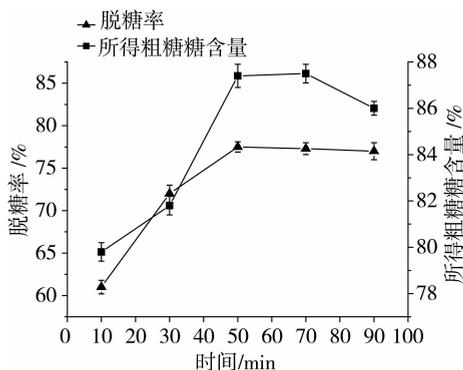


图 4 时间对脱糖率的影响

2.2.4 温度对脱糖率的影响

在 V(正己烷):V(乙醇)为 1:2、时间 50 min、萃取 1 次、乙醇浓度 50% 下,改变萃取温度,考察温度对脱糖率的影响,结果见图 5。由图 5 可见,脱糖温度为 30 ℃ 时,脱糖率和粗糖中糖含量达到最高。温度进一步提高,脱糖率反而下降,而粗糖中糖的含量也在下降,这可能是由于一方面较高温下磷脂易氧化,另一方面可能是在较高温下,乙醇在正己烷相中的溶解度增加,从而导致脱糖率下降。

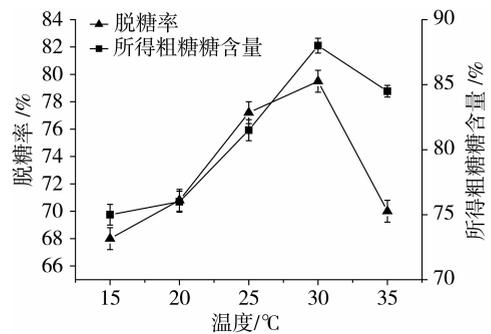


图 5 温度对脱糖率的影响

2.2.5 萃取次数对脱糖率的影响

在 V(正己烷):V(乙醇)为 1:2 时、时间 50 min、乙醇浓度 50%、温度为 30 ℃ 时,考察萃取次数对脱糖率的影响,结果表明萃取 2 次的脱糖率比萃取 1 次的脱糖率高出 1.1 倍左右,萃取 3 次时脱糖率变化不大,选择萃取为 2 次。

2.3 大豆粉末磷脂脱糖最佳工艺的确定

在单因素实验基础上,选取温度、乙醇体积分数、V(正己烷):V(乙醇)、时间四个因素,每个因素三个水平设计 L₉(3⁴) 正交实验,以脱糖率作为分析指标,正交实验结果见表 2。由表 2 可见,因素的主

表 2 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	脱糖率/%
1	1	1	1	1	72.02
2	1	2	2	2	80.02
3	1	3	3	3	81.05
4	2	1	2	3	85.56
5	2	2	3	1	83.01
6	2	3	1	2	82.98
7	3	1	3	2	88.97
8	3	2	1	3	85.32
9	3	3	2	1	84.25
K ₁	77.697	82.183	80.107	79.760	
K ₂	83.650	82.783	83.277	83.990	
K ₃	86.180	82.760	84.343	83.977	
R	8.483	0.600	4.236	4.230	

次顺序:温度 > 时间 > 溶剂比例 > 乙醇体积分数, 最优条件为 $A_3C_3D_2B_2$, 即温度 30 ℃, 乙醇体积分数为 50%, 时间为 70 min, V(正己烷):V(乙醇)为 1:2。

2.4 最佳组合的验证

以 10 g 大豆粉末磷脂为原料, 加入 30 mL 正己烷溶解, 在最佳工艺条件下实验, 得到 1.46 g 粗糖, 粗糖中糖的含量为 89.2%, 脱糖率为 89.7%。该结果高于正交实验表中的所有数据。由于磷脂中的糖类物质分为结构糖和游离糖, 结构糖易存在于正己烷相中, 在该工艺条件下难以将其脱除, 从游离糖的角度来看, 脱糖效果好。

2.5 糖类物质的分析

采用 HPLC 法, 以大豆低聚糖标准品保留时间为定性依据, 并采用外标法对所得糖类物质进行定量分析, 结果见表 3, 并与一般大豆低聚糖组成^[8]进行了对比。由表 3 可见, 一般大豆低聚糖和磷脂脱糖所得糖在蔗糖和水苏糖含量上存在较大的差异, 尤其是水苏糖, 磷脂脱糖所得糖中水苏糖含量是蔗糖含量的 4 倍多。主要原因是, 本实验原料为经乙醇分提 PC 后的粉末磷脂, 分提过程中蔗糖更易存在于含有 PC 乙醇溶液中去^[9], 而水苏糖、棉籽糖几乎不存在于乙醇相中, 故经乙醇分提过 PC 的粉末磷脂里蔗糖含量比水苏糖少很多, 再经双体系萃取后最终水苏糖含量是蔗糖的 4 倍多。水苏糖能显著促进双歧杆菌增殖, 因此又被誉为“超强双歧因子”, 成为近年来保健食品市场上比较受欢迎的一种功能原料。而在本工艺条件下得到的水苏糖含量高达 71.1%, 白色粉末状, 无需脱色、脱盐等工艺, 操作简单、产品品质高, 现在市场上 60% 含量的水苏糖价格为 200 元/kg 左右, 市场需求空间大, 这为高品质大豆低聚糖的提取提供一个思路, 同时为大豆磷脂精细化加工提供了一个新的方向。

表 3 一般大豆低聚糖和磷脂脱糖所得糖组成

来源	状态	蔗糖 /%	棉籽糖 /%	水苏糖 /%	水分 /%
一般大豆低聚糖	颗粒	44	7	23	3
磷脂脱糖所得糖	白色粉末	17.3	6.6	71.1	3.6

3 结论

本实验确定了低 PC 含量大豆粉末磷脂脱糖的最佳工艺参数。以脱糖率考察指标, 研究脱糖温度、时间、V(正己烷):V(乙醇)、乙醇体积分数、萃取次数对磷脂脱糖的影响, 得出最佳的脱糖条件: 温度为 30 ℃、时间为 70 min、V(正己烷):V(乙醇)为 1:2、乙醇体积分数为 50%、萃取次数为 2 次。在此工艺条件下, 脱糖率为 89.7%, 粗糖中糖的含量为 89.2%。结合宋伟^[5]的研究发现, 大豆粉末磷脂中 PC 的含量对大豆粉末磷脂的脱糖效果影响不大, 但会影响工艺参数。通过 HPLC 发现所得糖为大豆低聚糖: 水苏糖、蔗糖、棉籽糖, 含量分别为 71.1%、17.3%、6.6%。通过本工艺不仅可以获得高品质脱糖磷脂, 而且还得到高品质的大豆低聚糖, 这为磷脂精细化加工提供了新的发展方向。

参考文献:

- [1] Scholfied C R. Components of soybean lecithin[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1981, 58(10): 889-892.
- [2] Lezerovich A. Determination of colored Substances in soybean lecithin[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1985, 62(5): 883-887.
- [3] 李桂华, 王成涛. 大豆磷脂中糖脂含量的测定[J]. 河南工业大学学报, 2010, 34(4): 5-8.
- [4] 蔡琨, 苏东海. 大豆低聚糖生理功能研究进展[J]. 中国食物与营养, 2012, 12(2): 56-61.
- [5] 宋伟, 谷克仁, 李永端, 等. 大豆磷脂脱糖试验[J]. 中国油脂, 2008, 33(8): 63-66.
- [6] 曹栋, 裘爱泳, 王兴国. 磷脂结构、性质、功能及研究现状(1)[J]. 粮食与油脂, 2004(4): 3-6.
- [7] 廖春龙, 邱奇琦, 印遇龙. 薄层色谱-苯酚-硫酸法分析大豆低聚糖中棉籽糖含量[J]. 食品科学, 2010, 16(31): 200-203.
- [8] 李晓东. 功能性大豆食品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 12: 26-27.
- [9] Scholfied C R. Components of "soybean Lecithin"[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1948, 25(10): 368-372. 