

油料蛋白

响应面优化大豆粕合成 N-油酸酰基复合氨基酸工艺研究

程海涛¹, 申献双²

(1. 衡水学院 化工学院, 河北 衡水 053000; 2. 衡水学院 美术学院, 河北 衡水 053000)

摘要:以大豆粕为原料,采用加压酸解的方法制备复合氨基酸液,再与油酸酰氯反应合成 N-油酸酰基复合氨基酸表面活性剂。采用单因素实验研究了复合氨基酸液与油酸酰氯体积比、pH、反应温度、丙酮与复合氨基酸液体积比、反应时间对产物产率的影响,利用响应面法优化工艺条件,并对酰化产物的表面活性性能进行测定。结果表明:大豆粕合成 N-油酸酰基复合氨基酸最优工艺条件为复合氨基酸液与油酸酰氯体积比 2.66:1、pH 10.2、反应温度 31.8℃、丙酮与复合氨基酸液体积比 1.26:1、反应时间 2 h,在最优条件下,产物产率为 92.02%,产物表面活性性能良好。

关键词:大豆粕; N-油酸酰基复合氨基酸; 响应面法

中图分类号: TS229; TQ423

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2018)06-0027-05

Optimization of synthesis of N-oleic acid acyl composite amino acids from soybean meal by response surface methodology

CHENG Haitao¹, SHEN Xianshuang²

(1. Department of Applicative Chemistry, Hengshui University, Hengshui 053000, Hebei, China;

2. Department of Art, Hengshui University, Hengshui 053000, Hebei, China)

Abstract: The soybean meal was hydrolyzed into composite amino acids by acidolysis under pressure, then N-oleic acid acyl composite amino acids was synthesized by oleic acid chloride and composite amino acids. The effects of volume ratio of composite amino acids to oleic acid chloride, pH, reaction temperature, volume ratio of acetone to composite amino acids and reaction time on the product yield were researched by single factor experiment. The conditions were optimized by response surface methodology, and the surface activity of the product was determined. The results showed that the optimal synthesis conditions of N-oleic acid acyl composite amino acids were obtained as follows: volume ratio of composite amino acids to oleic acid chloride 2.66:1, pH 10.2, reaction temperature 31.8℃, volume ratio of acetone to composite amino acids 1.26:1 and reaction time 2 h. Under these conditions, the product yield was 92.02%, and the surface activity of the product was superior.

Key words: soybean meal; N-oleic acid acyl composite amino acid; response surface methodology

大豆粕富含蛋白质,是天然植物蛋白的重要来源,蛋白质含量在 48% 以上^[1-2],大豆蛋白由多种

氨基酸组成,属于全价蛋白,赖氨酸含量最高,可作为复合氨基酸的主要来源^[3]。氨基酸包含多种化学性质活泼的官能团,自身表面活性性能不够完善,通过化学修饰合成的表面活性剂,表面活性优越、降解性能良好、毒性低、环境影响小^[4-6]。

长碳链 N-酰基氨基酸类表面活性剂合成过程中存在水解蛋白质获得氨基酸产率低、工艺复杂、时间长、品质差等缺点,同时酰化工艺优化方法不够全面,多以单因素实验为基础,没有考虑影响因素之间

收稿日期:2017-08-02;修回日期:2017-12-24

基金项目:2018 年衡水学院校级课题(2018LX17);2018 年河北省高等学校科学研究项目(Z2018027)

作者简介:程海涛(1981),男,讲师,硕士,主要从事精细化工产品绿色合成与分析性能研究(E-mail) chenghaitao123456@163.com。

的相互影响作用,优化工艺不够精确造成材料、能量的浪费、酰化产率较低等缺点^[7-9]。以豆粕为原料,经物理加压水解获得复合氨基酸,合成 N-油酸酰基复合氨基酸的研究未见报道。

本文以脱皮大豆粕(蛋白质含量 49%)为原料,采用加压酸解的方法制备复合氨基酸液,再与油酸酰氯反应合成 N-油酸酰基复合氨基酸表面活性剂,以期为大豆粕的用途多元化、高附加值化、产业化提供工艺基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大豆粕、大豆油,市售;油酸酰氯(质量分数 $\geq 99.5\%$); NaOH、硫酸、Ca(OH)₂、石油醚,均为分析纯。

WRS-1B 数字熔点仪;100LK 高剪切混合乳化机;DT-102 全自动界面张力仪。

1.2 实验方法

1.2.1 复合氨基酸液的制备

取除杂的大豆粕,粉碎过筛(100目),取 20 g 加入质量分数为 20% 的硫酸 200 g,在 110 °C、0.10 MPa 下水解 20 min,利用氢氧化钙中和、离心、过滤得到复合氨基酸液^[10]。

1.2.2 N-油酸酰基复合氨基酸的合成

将复合氨基酸液与一定量的丙酮加入三口烧瓶中,保持一定温度和搅拌速度,将一定量油酸酰氯缓慢滴加到三口瓶中,缓慢滴加质量分数为 20% 的 NaOH 溶液,调节反应体系的 pH。反应结束后,产物用 6.0 mol/L 盐酸调 pH 为 1~2,立即析出浅肉色沉淀^[7]。粗产品经过滤、水和石油醚充分洗涤后,在 65 °C 下干燥 24 h 后得到目标产物。

1.2.3 产率的计算

以体系油酸酰基酰化修饰前后游离氨基氮变化量占油酸酰基酰化修饰前体系游离氨基氮含量的百分比为产物产率。体系游离氨基氮含量测定采用甲醛滴定分析方法进行^[11-12]。

1.2.4 产物表面活性测定

表面张力:利用 DT-102 型全自动界面张力仪测定。参照文献[13-14]测定乳化性能。参照文献[15]测定起泡性能。参照文献[16-17]测定润湿性能。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 复合氨基酸液与油酸酰氯体积比对产率的影响

固定反应时间 2 h、丙酮与复合氨基酸液体积比 1.5:1、反应温度 35 °C、pH 11,考察复合氨基酸液与油酸酰氯体积比对产物产率的影响,结果见图 1。

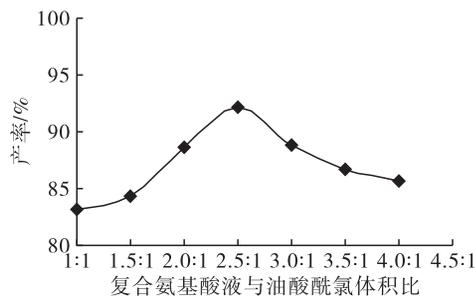


图 1 复合氨基酸液与油酸酰氯体积比对产率的影响

由图 1 可以看出,随着复合氨基酸液与油酸酰氯体积比增大,产率先增大后降低,在 2.5:1 时产率达到最大值。因此,选择复合氨基酸液与油酸酰氯体积比 1.5:1~3.5:1 进行优化实验。

2.1.2 pH 对产率的影响

固定复合氨基酸液与油酸酰氯体积比为 2.5:1、反应时间 2 h、丙酮与复合氨基酸液体积比 1.5:1、反应温度 35 °C,考察 pH 对产物产率的影响,结果见图 2。

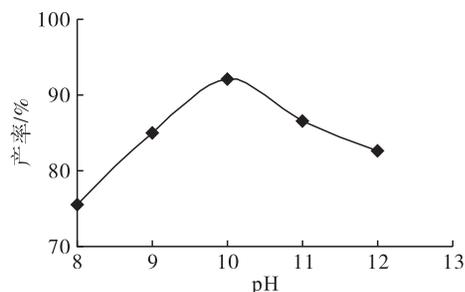


图 2 pH 对产率的影响

由图 2 可以看出, pH 在 8~10 范围内,产率逐渐提高,在 pH 10 达到最大值, pH 再增加产率逐步降低。因此,选择 pH 9~11 进行优化实验。

2.1.3 反应温度对产率的影响

固定复合氨基酸液与油酸酰氯体积比 2.5:1、反应时间 2 h、丙酮与复合氨基酸液体积比 1.5:1、pH 10,考察反应温度对产物产率的影响,结果见图 3。

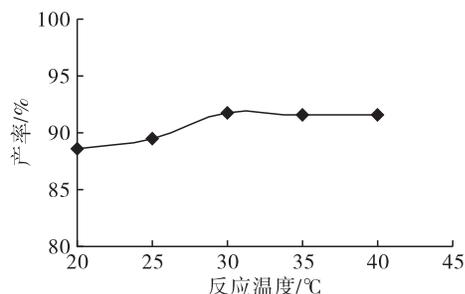


图 3 反应温度对产率的影响

由图 3 可以看出,反应温度对于产物产率影响不明显,尤其是反应温度超过 30 °C 后产率变化趋势更加缓慢,30 °C 时产率最大。因此,选择反应温度

20~40℃进行优化实验。

2.1.4 反应时间对产率的影响

固定复合氨基酸液与油酸酰氯体积比为2.5:1、pH 10、反应温度30℃、丙酮与复合氨基酸液体积比1.5:1,考察反应时间对产物产率的影响,结果见图4。

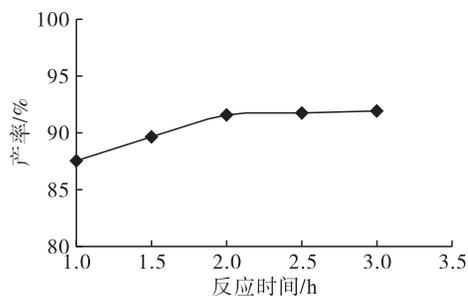


图4 反应时间对产率的影响

由图4可以看出,在反应时间1~2 h范围内,产率逐渐增大,随着反应时间继续延长,产率没有明显的变化。因此,选择反应时间为2 h。

2.1.5 丙酮与复合氨基酸液体积比对产率的影响

固定复合氨基酸液与油酸酰氯体积比2.5:1、pH 10、反应温度30℃、反应时间2 h,考察丙酮与复合氨基酸液体积比对产物产率的影响,结果见图5。

由图5可以看出,随着丙酮与复合氨基酸液体积比的增加,产率逐步增加,丙酮的加入有利于产物产量的增加,当体积比达到1:1,产率随着丙酮与复合氨基酸液体积比继续增加不再有明显的提高。因

此,选择丙酮与复合氨基酸液体积比0.5:1~1.5:1进行优化实验。

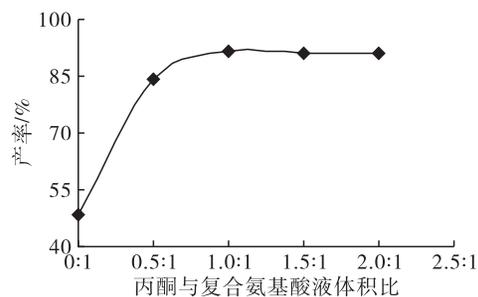


图5 丙酮与复合氨基酸液体积比对产率的影响

2.2 响应面优化实验

2.2.1 响应面实验设计及结果

以单因素实验为基础,固定反应时间为2 h,以N-油酸酰基复合氨基酸产率(Y)为响应值,复合氨基酸液与油酸酰氯体积比(X_1)、pH(X_2)、反应温度(X_3)、丙酮与复合氨基酸液体积比(X_4)为因素,根据Box-Behnken的实验设计原理,通过SAS软件对实验数据进行回归分析,确定最佳工艺条件。响应面实验因素水平见表1,响应面实验方案及结果见表2,方差分析见表3。

表1 响应面实验因素水平

水平	X_1	X_2	$X_3/^\circ\text{C}$	X_4
-1	1.5:1	9	20	0.5:1
0	2.5:1	10	30	1.0:1
1	3.5:1	11	40	1.5:1

表2 响应面实验方案及结果

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	Y/%	实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	Y/%
1	-1	-1	0	0	79.02	15	0	1	-1	0	88.38
2	-1	1	0	0	87.61	16	0	1	1	0	84.10
3	1	-1	0	0	86.80	17	-1	0	-1	0	81.17
4	1	1	0	0	87.04	18	-1	0	1	0	83.89
5	0	0	-1	-1	85.28	19	1	0	-1	0	86.06
6	0	0	-1	1	85.82	20	1	0	1	0	87.81
7	0	0	1	-1	86.83	21	0	-1	0	-1	82.15
8	0	0	1	1	89.93	22	0	-1	0	1	88.02
9	-1	0	0	-1	82.72	23	0	1	0	-1	90.34
10	-1	0	0	1	89.57	24	0	1	0	1	88.35
11	1	0	0	-1	89.78	25	0	0	0	0	91.95
12	1	0	0	1	89.94	26	0	0	0	0	91.95
13	0	-1	-1	0	78.09	27	0	0	0	0	91.96
14	0	-1	1	0	87.03						

通过拟合回归处理数据得到拟合函数模型:

$$Y = 92.0533 + 1.9542X_1 + 2.0592X_2 + 1.2325X_3 + 1.2108X_4 - 3.1725X_1^2 - 2.0875X_1X_2 - 0.2425$$

$$X_1X_3 - 1.6725X_1X_4 - 3.7325X_2^2 - 3.305X_2X_3 - 1.965X_2X_4 - 4.05X_3^2 + 0.6400X_3X_4 - 1.0075X_4^2$$

表3 方差分析

变量	自由度	平方和	均方	F 值	Pr > F	变量	自由度	平方和	均方	F 值	Pr > F
X_1	1	45.83	45.83	191.821	<0.000 1	X_2X_3	1	43.69	43.69	182.892	<0.000 1
X_2	1	50.88	50.88	212.988	<0.000 1	X_2X_4	1	15.44	15.44	64.651	<0.000 1
X_3	1	18.23	18.23	76.304	<0.000 1	X_3^2	1	87.48	87.48	366.185	<0.000 1
X_4	1	17.59	17.59	73.645	<0.000 1	X_3X_4	1	1.64	1.64	6.858	0.022 4
X_1^2	1	53.68	53.68	224.695	<0.000 1	X_4^2	1	5.41	5.41	22.661	0.000 5
X_1X_2	1	17.43	17.43	72.963	<0.000 1	模型	14	362.67	25.90	108.436	<0.000 1
X_1X_3	1	0.24	0.24	0.985	0.340 6	失拟项	10	2.87	0.29	8.600	0.100 0
X_1X_4	1	11.19	11.19	46.836	<0.000 1	误差	12	2.87	0.24		
X_2^2	1	74.30	74.30	311.021	<0.000 1	总和	26	365.54			

由表3可知,函数模型 $R^2 = 99.27\%$,模型极显著,失拟项不显著,说明模型计算值和实验值拟合度高,模型确定的方程预测产率最大值是可信的。4个影响因素影响程度为 $X_2 > X_1 > X_3 > X_4$,影响因素之间的交互作用 X_1X_3 、 X_3X_4 影响不显著,其余项影响极显著。

2.2.2 验证实验

对经过响应面优化得到的数学回归方程求极大值,得到 X_1 为 2.66:1、 X_2 为 10.2、 X_3 为 31.8、 X_4 为 1.26:1,产率最大值为 92.01%。根据响应面优化结果和综合因素影响得到大豆粕合成 N-油酸酰基复合氨基酸最优工艺为:复合氨基酸液与油酸酰氯体积比 2.66:1、pH 10.2、反应温度 31.8℃、丙酮与

复合氨基酸液体积比 1.26:1、反应时间 2 h。在最优条件下进行 3 次验证实验,产率分别为 92.01%、92.02%、92.03%,平均值为 92.02%,与数学模型求极值得到数值吻合,同时证明得到的数学回归拟合模型可信度很高。

2.3 产物的表面活性性能

在最优条件下,以大豆粕为原料合成的 N-油酸酰基复合氨基酸产物表面活性性能如表4所示,同时与阴离子表面活性剂月桂酸钾、十二烷基硫酸钠表面活性进行了比较。由表4可知,所得酰化产物表面活性性能优越,并且在一些方面超过月桂酸钾、十二烷基硫酸钠。

表4 产物表面活性性能对比

样品	表面张力/ (mN/m)	乳化性能		起泡性能		润湿性能/s
		乳化性/%	乳化稳定性/%	起泡性/%	泡沫稳定性/%	
N-油酸酰基复合氨基酸产物	26.8	97.6	96.1	91.2	91.1	50
月桂酸钾	27.5	97.5	90	92	90	52
十二烷基硫酸钠	26.8	98	92	90	87	51

3 结论

研究大豆粕合成 N-油酸酰基复合氨基酸。通过响应面法得到最优工艺条件为:复合氨基酸液与油酸酰氯体积比 2.66:1、pH 10.2、反应温度 31.8℃、丙酮与复合氨基酸液体积比 1.26:1、反应时间 2 h。在最优条件下,产率为 92.02%。与阴离子表面活性剂月桂酸钾、十二烷基硫酸钠表面活性进行了比较,所得产物表面活性性能优越。

参考文献:

- [1] 王威,孙世军,赵巧义. 固态发酵大豆粕工艺研究现状及其工业应用[J]. 粮食与油脂,2013,26(6):14-16.
- [2] 温雪琴,刘岫,黄骏,等. 大豆粕碱性蛋白酶水解肽及 ACE 抑制活性的研究[J]. 食品研究与开发,2014,35

(9):9-12,86.

- [3] 黄利华,张业辉,黎海彬. 酶法制备不同水解度高温豆粕水解产物的理化特性研究[J]. 现代食品科技,2014,30(6):196-201.
- [4] 黄国平,孙春风,陈慧卿,等. 大豆分离蛋白提取与性能改善工艺研究进展[J]. 食品工业科技,2012,33(17):398-404.
- [5] 陆丹丹,叶志文. 一种 N-酰基氨基酸表面活性剂的合成研究[J]. 日用化学工业,2013,43(1):34-37.
- [6] 陈波水,张楠,方建华,等. 脂肪酰基氨基酸对矿物润滑油生物降解性的影响研究[J]. 环境工程学报,2009,3(6):1140-1142.

(下转第 45 页)

下,初始过氧化值为 3.42 mmol/kg 的葵花籽油,在 $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ 烘箱中 18 d,过氧化值的生长未超过 5 mmol/kg 的国家标准限值,只有初始过氧化值为 4.51 mmol/kg 的葵花籽油在储存期内超过了国家标准限值。这说明在无氧状态下,单纯的高温对油品过氧化值的影响不显著。与图 3 对比,同样高温环境,油品过氧化值的变化在有氧状态下比在无氧状态下明显得多,也就是说在高温和氧气的共同作用下油品会加速氧化。

3 结论

(1)影响包装葵花籽油保质期内质量稳定的主要因素为初始过氧化值、残氧量和温度。葵花籽油初始过氧化值虽然是油脂生产企业严加控制的质量指标,但相对国家标准限值 5 mmol/kg 范围较大,为确保包装葵花籽油在 18 个月保质期内的产品质量指标符合国家标准,建议油脂企业将灌装前的葵花籽油初始过氧化值控制在 2.5 mmol/kg 以下。

(2)包装葵花籽油中的残氧量是影响其在保质期内质量稳定的不可忽略的因素,相比在最大残氧量的情况下,无氧状态下(残氧量 $<0.5\%$)葵花籽油氧化的速度要平缓得多。因此,可通过压盖前的氮气吹扫,尽可能降低包装葵花籽油瓶内顶空部分的残氧量,残氧量越低,油品在储存期间质量越稳定。

(3)在无氧状态下,单一温度对葵花籽油过氧化值的影响不显著。包装葵花籽油处于相对密封的状态,只要严格控制初始过氧化值和瓶内残氧量,可保证包装葵花籽油在 18 个月保质期内质量稳定。

参考文献:

- [1] 赵华锋,谢愈明,朱霖,等. 生熟葵花籽油中脂肪酸组成的 GC-MS 分析[J]. 粮油加工,2008(1):68-70.
- [2] 罗伟强. 气相色谱法测定葵花籽油的脂肪酸[J]. 食品工

(上接第 30 页)

- [7] 葛虹,张之强,王军,等. N-脂酰氨基酸型表面活性剂的研究进展[J]. 日用化学工业,2006,35(2):94-98.
- [8] 武丽丽. 氨基酸型双子表面活性剂的合成与性能研究进展[J]. 日用化学工业,2015,45(6):342-346.
- [9] 冯光柱,谢文磊. 由菜籽粕合成 N-油酸酰基复合氨基酸表面活性剂[J]. 中国粮油学报,1998,13(3):31-32.
- [10] 程海涛,申献双. 大豆粕加压酸解工艺及其产物表面活性的研究[J]. 日用化学工业,2016,46(4):216-218.
- [11] 郭兴凤. 蛋白质水解度的测定[J]. 中国油脂,2000,25(6):176-177.
- [12] 陈钧辉. 生物化学实验[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2003.
- [13] 王雪,郭兴凤. 蛋白质乳化性研究进展[J]. 粮食加工,

业科技,2003,24(6):79-80.

- [3] 王瑞元. 中国的优质食用油源——葵花籽油[J]. 中国油脂,2017,42(3):1-3.
- [4] 吕艳春,程慧蓉. 食用植物油储存品质变化趋势分析[J]. 粮食与油脂,2009(11):36-38.
- [5] 郑海丽,刘树彬,于宏伟,等. 食用植物油的抗氧化研究进展[J]. 煤炭与化工,2013,36(4):31-33.
- [6] 唐文婷,蒲传奋. 葵花籽油的氧化稳定性研究[J]. 粮油食品科技,2011,19(6):19-22.
- [7] 彭小虎,杨光. 氮气在油脂储藏方面的应用[J]. 中国油脂,2007,32(6):67-68.
- [8] 范婧,向传万,姜元荣. 氧气含量对花生油氧化的影响[J]. 食品与生物技术学报,2010,29(6):825-828.
- [9] 柴向华,吴克刚,翟柱成,等. 排空包装对油脂的抗氧化作用[J]. 食品与机械,2011,27(2):119-121.
- [10] 董华,朱飞堂,高健,等. 充氮对包装大豆油储存期品质及外观的影响研究[J]. 现代农业科技,2014(24):276-278.
- [11] 李敏利,熊巍林,包李林,等. 食用植物油充氮定量检测技术的研究[J]. 中国油脂,2017,42(6):152-154.
- [12] 韩军岐,张有林,陈雷. 葵花籽油的超声波提取及抗氧化研究[J]. 食品工业科技,2005,26(1):52-54.
- [13] 黄克,崔春,赵谋明,等. Rancimat 法与 Schaal 烘箱法测定花生油和花生酱氧化稳定性的对比[J]. 食品与发酵工业,2011,37(10):145-147.
- [14] 潘娜,屈文娇,君睿红,等. 不同品种葵花籽油氧化稳定性研究[J]. 中国油脂,2014,39(12):42-45.
- [15] 吴群,李晓龙,李兴伟. 氮气在食用油小包装灌装车间的应用[J]. 粮食与食品工业,2016,23(4):23-26.
- [16] 赵中元,丁治中,王颖彦,等. 不同氧分压对油脂氧化速率的影响[J]. 粮食储藏,1986(6):49-53.
- [17] 徐芳,卢立新. 油脂氧化机理及含油脂食品抗氧化包装研究进展[J]. 包装工程,2008,29(6):23-25.

2017,42(1):39-43.

- [14] 刘粼. 酶法有限水解对大豆分离蛋白乳化性能的影响[J]. 中国粮油学报,2000,15(1):26-29.
- [15] 胡超,黄丽华,李文哲. 大豆球蛋白 11S/7S 比值对大豆蛋白功能性的影响[J]. 中国粮油学报,2004,19(2):40-42.
- [16] 朱伯铨,管红梅,刘文超. 以表面活性剂改善水对鳞片石墨的润湿性研究[J]. 武汉冶金科技大学学报(自然科学版),1999,22(3):242-244.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 表面活性剂润湿力的测定浸没法:GB/T 11983—2008 [S]. 北京:中国标准出版社,2008.