

大豆毛油磷脂组成对磷脂酶 A1 深度脱胶的影响

俞 乐, 黄健花, 王兴国, 金青哲

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:为确保后续精炼的顺利进行,大豆毛油需先进行脱胶处理将含磷量降至 10 mg/kg 以下。就磷脂酶 A1 (PLA1, Lecitase Ultra[®]) 对 22 种不同来源大豆毛油的深度脱胶效果进行了研究。结果表明:大豆毛油的磷脂组成对 PLA1 深度脱胶效果存在一定影响;PA 占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量呈极显著正相关($p < 0.01$),PC 占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量呈显著负相关($p < 0.05$),PA 与 PC 的比例与 PLA1 深度脱胶油含磷量呈极显著正相关($p < 0.01$);PA 含量较高、PC 含量较低的大豆毛油 PLA1 深度脱胶效果相对较差;但大多数情况下,PLA1 深度脱胶能够使大豆毛油的含磷量降至 10 mg/kg 以下,满足后续精炼要求。

关键词:大豆毛油;磷脂组成;磷脂酶 A1;脱胶

中图分类号:TS225.1;TS224.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)12-0018-04

Influence of phospholipids composition in crude soybean oil on phospholipase A1 deep degumming

YU Le, HUANG Jianhua, WANG Xingguo, JIN Qingzhe

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

Abstract: In order to ensure a smooth operation for following refining, the phosphorus content in crude soybean oil should be reduced below 10 mg/kg by degumming. The deep degumming effect of 22 kinds of crude soybean oils from different origins with phospholipase A1 (PLA1) was studied. The results showed that the phospholipids composition in crude soybean oil had influences on the effect of PLA1 deep degumming. The phosphatidic acid (PA) ratio had a remarkable and positive correlation with phosphorus content in PLA1 deep degummed oil ($p < 0.01$). The phosphatidylcholine (PC) ratio had a negative correlation with phosphorus content in PLA1 deep degummed oil ($p < 0.05$). The ratio of PA to PC had a remarkable and positive correlation with phosphorus content in PLA1 deep degummed oil ($p < 0.01$). The degumming effect of the crude soybean oil with higher content of PA and lower content of PC was relatively poor. However, the phosphorus contents in PLA1 deep degummed oil were ordinarily below 10 mg/kg to satisfy the requirements of following refining.

Key words: crude soybean oil; phospholipids composition; phospholipase A1; degumming

以大豆为原料制取的大豆毛油中一般含有 1.1% ~ 3.5% 的磷脂^[1]。磷脂的存在对多道油脂精炼工序造成不良影响,进行后续精炼工序前,大豆毛油必须先经过脱胶,将含磷量降至 10 mg/kg 以下。

与传统脱胶方法相比,酶法脱胶具有反应条件温和、酸碱消耗少、油脂得率高等优点^[2]。磷脂酶 A 是目前酶法脱胶中使用较多的磷脂酶之一^[3]。磷脂酶 A1 (PLA1) 是一种作用于磷脂 Sn-1 位的羧酸酯水解酶,水解生成溶血磷脂,副产物为游离脂肪酸。PLA1 能有效地水解植物毛油中的 4 种主要磷脂——磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰肌醇 (PI) 和磷脂酸 (PA)^[4]。目前,使用最为广泛的商品化 PLA1 是 A/S Novozymes 开发的 Lecitase Novo[®] 和 Lecitase Ultra[®]。现有研究表明,添加适

收稿日期:2018-03-27;修回日期:2018-08-23

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(2016YFD0401405-01)

作者简介:俞 乐(1990),女,在读博士,研究方向为油脂工程技术(E-mail)lyhappyfish@126.com。

通信作者:金青哲,教授,博士生导师(E-mail)jqzwuxi@163.com。

量柠檬酸结合去除金属离子的深度脱胶条件下,采用 PLA1 对多种植物毛油进行脱胶,脱胶油含磷量通常能降至 10 mg/kg 以下^[5-6]。但由于磷脂酶只能在水油界面与磷脂发生作用^[7],不同磷脂单体因结构不同,水化速率有所差异^[8],毛油的磷脂组成可能对 PLA1 脱胶效果造成一定影响。

本文就 PLA1 (Lecitase Ultra[®]) 对 22 种不同来源大豆毛油的深度脱胶效果进行了研究,探讨磷脂组成对 PLA1 深度脱胶效果的影响,以期在实际生产过程中脱胶方法的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

22 种大豆毛油由益海嘉里集团提供;氘代氯仿、99.5% 一水合氢氧化铯,由 Aldrich Chemical Company 提供; PLA1 (Lecitase Ultra[®]) 由诺维信(中国)生物技术有限公司提供;其他试剂均为分析纯。

Bruker Ascend 400 型超导核磁共振波谱仪,瑞士布鲁克拜厄斯宾有限公司;Heraeus Multifuge X3 台式通风型离心机,赛默飞世尔科技;Carousel 6 Plus 型平行反应器,英国 Radleys 公司;IKA T25 型高速剪切机,德国 IKA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆毛油中的磷脂组成测定^[9]

称取 80~90 mg 油样(精确到 1 mg),加入 5 μ L 磷酸三甲酯(TPP)氯仿稀释液(体积比 1:50)为内标。依次加入氘代氯仿,甲醇,pH 为 8.5、浓度为 0.2 mol/L 乙二胺四乙酸-铯(EDTA-Cs)各 600 μ L,混匀后加入核磁共振管。

分析条件:³¹P NMR 工作频率 600 MHz;检测探头为 PABBO NMR;温度 25 $^{\circ}$ C;脉冲宽度 11.2 μ s;脉冲延迟时间 2 s;扫描次数 16;³¹P NMR 的谱宽 64 102 Hz;采样点数 65 536。

采用内标法定量计算毛油中磷脂各组分的含量

以及各磷脂组分在毛油的总磷脂中的占比。

1.2.2 PLA1 深度脱胶

准确称取 30 g 油样,预热至 55 $^{\circ}$ C。参考诺维信提供的最适脱胶条件,添加 42.6 μ L 50% 的一水合柠檬酸溶液结合去除金属离子进行深度脱胶,10 000 r/min 剪切 1.5 min。然后在 55 $^{\circ}$ C、400 r/min 条件下反应 30 min。

加入 37.5 μ L 16% 的氢氧化钠溶液,再加入 PLA1,PLA1 的添加量为 50 mg/kg。最后补加去离子水,使水的添加量至油样的 2.5%,10 000 r/min 剪切 1.5 min。剪切完成后,体系在 55 $^{\circ}$ C、400 r/min 条件下反应 4 h。反应结束后,升温至 85 $^{\circ}$ C,维持 10 min。随后样品迅速以 10 000 g 离心 10 min,取上层油层检测含磷量。

1.2.3 含磷量测定

参照国标 GB/T 5537—2008 测定含磷量。

1.2.4 数据处理

采用 Mintab16.2.3 进行显著相关性、显著差异性分析,相关性分析采用 Person 分析($p < 0.05$),差异性分析采用 ANOVA 分析($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 22 种大豆毛油的磷脂组成及含量

大豆毛油中的磷脂组成受大豆品种、生长环境、制油工艺和储运条件等多种因素的影响。本实验中涉及到的 22 种毛油,使用了来自 4 个不同国家的大豆,由益海嘉里下属位于全国不同地区的 8 家工厂提供。

根据水化能力的差异,植物毛油中的磷脂可分为水化磷脂和非水化磷脂,非水化磷脂主要由 PA 的钙镁盐组成^[10]。非水化磷脂的脱除是毛油脱胶的难点所在,非水化磷脂即使经过 16 次水洗也无法被完全去除^[11]。表 1 为 4 个不同国家大豆制取毛油的磷脂含量以及磷脂组成。

表 1 4 个不同国家大豆制取毛油的磷脂含量以及磷脂组成

产地	样品数	磷脂含量/(mg/100 g)	磷脂组成占比/%			
			PA	PE	PI	PC
巴西	10	1 741.68 \pm 389.25 ^a	30.52 \pm 5.44 ^a	25.99 \pm 9.45 ^a	20.74 \pm 3.77 ^a	22.75 \pm 5.25 ^b
美国	4	1 750.50 \pm 335.09 ^a	17.36 \pm 5.78 ^b	23.50 \pm 2.65 ^a	21.32 \pm 4.39 ^a	37.82 \pm 9.76 ^a
中国	4	2 016.89 \pm 244.41 ^a	23.46 \pm 3.12 ^{ab}	25.54 \pm 5.84 ^a	17.91 \pm 4.92 ^a	33.09 \pm 10.46 ^{ab}
阿根廷	2	1 769.61 \pm 488.91 ^a	18.22 \pm 3.12 ^b	29.07 \pm 5.06 ^a	19.02 \pm 1.81 ^a	33.69 \pm 6.37 ^{ab}
混合	2	1 538.98 \pm 182.84 ^a	26.41 \pm 2.57 ^{ab}	34.02 \pm 1.66 ^a	18.66 \pm 5.92 ^a	20.90 \pm 1.70 ^b

注:同列间上标为不同字母的均值间具有显著性差异($p < 0.05$)。

由表 1 可知,4 个不同国家大豆制取的毛油的磷脂含量没有显著差异,但 PA 和 PC 在磷脂中的占比存在一定差异。与其他样品相比,使用巴西大豆

制取的毛油,PA 在总磷脂中的占比偏高而 PC 在总磷脂中的占比偏低。使用美国和阿根廷大豆制取的毛油,PA 在总磷脂中的占比偏低。使用美国大豆制

取的毛油 PC 在总磷脂中的占比高于其他样品。非水化磷脂主要由 PA 的钙镁盐组成, PA 含量较高的毛油,非水化磷脂含量也可能较高。因此,使用巴西大豆制取的毛油,非水化磷脂的含量可能高于其他产地大豆制取的毛油。

本实验涉及的 22 个样品中,有 4 个样品使用了中国大豆为制取原料。其中的 2 个样品分别使用了同一批次的正常、变质两类大豆为原料。正常大豆制取的毛油磷脂含量为 1 721.63 mg/100 g, PA 占比为 22.67%; 变质大豆制取的毛油磷脂含量为 2 237.14 mg/100 g, PA 占比为 28.00%。变质大豆制取毛油的磷脂含量和 PA 占比均明显高于正常大豆制取的毛油,这可能是因为大豆在变质过程中,组织结构被破坏,内含磷脂酶水解其他磷脂单体,使得磷脂含量和 PA 占比升高。

2.2 大豆毛油磷脂组成对 PLA1 深度脱胶的影响

对 22 种大豆毛油进行 PLA1 深度脱胶,结果发现大多数情况下 PLA1 深度脱胶的脱胶效果良好。22 个油样中,有 18 个油样经 PLA1 深度脱胶后,含磷量降至 10 mg/kg 以下,其中 14 个样品含磷量降至 5 mg/kg 以下。4 个含磷量大于 10 mg/kg 的油样中,有 3 个样品使用了来自巴西的大豆为原料,另一个样品的原料为来自中国的变质大豆。

2.2.1 磷脂单体占比及 PA 含量对 PLA1 深度脱胶的影响

磷脂酶只能在水油界面与磷脂发生反应。不同磷脂单体的结构不同,水化絮凝成胶束的速度以及临界胶束浓度有所差异,因而凝聚到水油界面的难易程度也有区别。毛油中 4 种主要磷脂的水化速率,从高到低依次为 PC、PI、PE、PA^[8]。水化速率较高的磷脂临界胶束浓度较低,水化速率较低的磷脂临界胶束浓度较高^[12]。毛油的磷脂组成不同,可能对 PLA1 深度脱胶效果造成一定影响。不同磷脂单体的占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量的相关系数见表 2。

表 2 不同磷脂单体的占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量的相关系数

PA	PE	PI	PC
0.585**	0.175	0.078	-0.511*

注:** 在 0.01 水平(双边检验)极显著相关,* 在 0.05 水平(双边检验)显著相关。下同。

由表 2 可知,大豆毛油磷脂中 PA 和 PC 的占比对 PLA1 深度脱胶效果存在一定影响。PA 的占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量呈极显著正相关关系,相关系数为 0.585($p < 0.01$)。水化速率较慢、临界胶束浓度较高的 PA 占比越高,脱胶油含磷量越高,

脱胶效果越差。PC 的占比与 PLA1 深度脱胶油含磷量呈显著负相关关系,相关系数为 -0.511 ($p < 0.05$)。水化速率较快、临界胶束浓度较低的 PC 占比越高,脱胶油含磷量越低,脱胶效果越好。

非水化磷脂主要由 PA 的钙镁盐组成,因此 PA 在毛油中的绝对含量也可能对 PLA1 深度脱胶效果造成影响。大豆毛油中 PA 含量与 PLA1 深度脱胶油含磷量的关系见图 1。

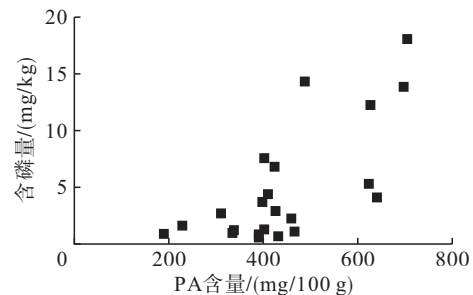


图 1 大豆毛油中 PA 含量与 PLA1 深度脱胶油含磷量的关系

对图 1 中 PA 含量与深度脱胶油含磷量进行相关性分析,发现大豆毛油中 PA 含量与经 PLA1 深度脱胶后的脱胶油含磷量间存在极显著正相关关系,相关系数为 0.710 ($p < 0.01$)。PA 含量越高,PLA1 深度脱胶油含磷量越高,因而毛油中 PA 含量较高可能不利于脱胶进行。

2.2.2 磷脂比例对 PLA1 深度脱胶的影响

Kanamoto 等^[12]通过实验发现,临界胶束浓度较低磷脂的存在能够促使临界胶束浓度较高磷脂的临界胶束浓度降低,使其更易凝聚至水油界面。因此,大豆毛油的磷脂比例也可能对 PLA1 深度脱胶效果造成一定影响。PA 与其他磷脂组分的比例与 PLA1 深度脱胶油含磷量的相关系数见表 3。

表 3 PA 与其他磷脂组分的比例与 PLA1 深度脱胶油含磷量的相关系数

PA/PC	PA/PE	PA/PI	PA/(PC + PI)	PA/(PC + PI + PE)
0.728**	0.389	0.426*	0.664**	0.577**

由表 3 可知,PA 与其他磷脂组分组成比例对 PLA1 深度脱胶油含磷量存在一定影响。其中 PA 与 PC 的比例与 PLA1 深度脱胶油含磷量间具有相关系数最高的极显著正相关性($p < 0.01$),PA/PI 的影响次之,PA 与 PE 的比例与 PLA1 深度脱胶油含磷量间不存在显著关联。这可能是由于临界胶束浓度最低的 PC 能够最大程度地降低 PA 的临界胶束浓度,使得 PA 更容易凝聚到水油界面与酶发生反应。PI 效果次之,PE 几乎没有效果。

3 结论

研究大豆毛油磷脂组成对磷脂酶 A1 深度脱胶

的影响。结果表明,PA占比与PLA1深度脱胶油含磷量呈极显著正相关($p < 0.01$),PC占比与PLA1深度脱胶油含磷量呈显著负相关($p < 0.05$),PA与PC的比例与PLA1深度脱胶油含磷量呈极显著正相关($p < 0.01$)。大多数情况下,PLA1深度脱胶能够使得大豆毛油的含磷量降至10 mg/kg,甚至5 mg/kg以下,满足后续精炼工艺的要求。但对于部分PA含量较高或是PA在毛油磷脂中占比较高的毛油,经PLA1深度脱胶后,仍需进行进一步处理才能使含磷量降至10 mg/kg的精炼要求。

参考文献:

- [1] 蒋晓菲. 磷脂对食用油品质的影响及酶法脱胶技术的研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2015.
- [2] DAYTON C L G, STALLER K P, BERKSHIRE T L. Process for improving enzymatic degumming of vegetable oils and reducing fouling of downstream processing equipment: US 7713727[P]. 2010-05-11.
- [3] DAYTON C L G, GALHARDO F. Enzymatic degumming utilizing a mixture of PLA and PLC phospholipases: US 8956853[P]. 2015-02-17.
- [4] BOJSEN K, SVENDSEN A, FUGLSANG C C, et al. Lipolytic enzyme variants: US8679774 [P]. 2014-03-25.
- [5] JIANG X F, CHANG M, JIN Q Z, et al. Application of

phospholipase A1 and phospholipase C in the degumming process of different kinds of crude oils[J]. Process Biochem, 2015, 50(3): 432-437.

- [6] GOFFERJÉ G, MOTULEWICZ J, STÄBLER A, et al. Enzymatic degumming of crude jatropha oil: evaluation of impact factors on the removal of phospholipids[J]. J Am Oil Chem Soc, 2014, 91(12): 2135-2141.
- [7] DIJKSTRA A J. Enzymatic degumming[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2010, 112(11): 1178-1189.
- [8] GUPTA A K. Micellar structures and their implication in the chemistry and technology of fats and other lipids[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 1988, 90(7): 251-256.
- [9] 俞乐, 丛芳, 王兴国, 等. 不同来源大豆毛油磷脂组成的核磁检测及磷脂酸含量比较[J]. 中国油脂, 2017, 42(1): 130-133.
- [10] 胡学烟, 汪勇. 油脂中的非水化磷脂成因及去除方法的探讨[J]. 中国油脂, 2001, 26(1): 29-31.
- [11] HVOLBY A. Removal of nonhydratable phospholipids from soybean oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 1971, 48(9): 503-509.
- [12] KANAMOTO R, WADA Y, MIYAJIMA G, et al. Phospholipid-phospholipid interaction in soybean oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 1981, 58(12): 1050-1053.

(上接第8页)

3 结论

在水剂法提油过程中,pH是影响芝麻油和芝麻蛋白提取率的最主要因素;吐温类表面活性剂对芝麻油提取率都有显著影响,但对芝麻蛋白提取率影响不显著。吐温20辅助水剂法提取芝麻油和芝麻蛋白的最佳工艺条件为pH 11、料液比1:6、浸提时间30 min、浸提温度50℃、吐温20添加量1%,在此工艺条件下进行验证实验,芝麻油的提取率为(60.97 ± 2.43)%,芝麻蛋白的提取率为(63.53 ± 1.79)%。吐温20可以显著提高芝麻油提取率。

参考文献:

- [1] 刘玉兰, 汪学德, 马传国, 等. 油脂制取与加工工艺学[M]. 2版. 北京:科学出版社, 2009.
- [2] 沈旭丽. 芝麻的营养成分及保健价值[J]. 中国食物与营养, 2006(7): 51-52.
- [3] 李挣明, 王兰君. 植物蛋白生产工艺与配方[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1998.
- [4] 谷克仁, 梁少华. 植物油料综合利用[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2001.
- [5] 胡小静, 郑大川, 黄凤勤. 高温压榨对花生蛋白功能性质的影响[J]. 文山学院学报, 2010, 23(3): 132-134.
- [6] 庄殿忠. 浸出法制油[J]. 新疆农垦科技, 1984(2): 62.

- [7] 章绍兵, 吕燕红, 胡玥, 等. 水剂法提取花生油中的破乳研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(5): 1-5.
- [8] 迟晓星, 赵东星. 水酶法提取葵花籽油的研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(2): 71-73.
- [9] 郭兴凤, 陈定刚, 孙金全, 等. 水酶法提油技术概述[J]. 粮油加工, 2007(5): 70-72.
- [10] HAGENMAIER R D. Aqueous processing of full fat sunflowerseeds: yields of oil and protein[J]. J Am Oil Chem Soc, 1974, 51(10): 470-471.
- [11] 曹洪玉, 张莹莹, 唐乾, 等. 不同类型表面活性剂与蛋白质作用研究进展[J]. 大连大学学报, 2013, 35(6): 63-64.
- [12] ZHANG S B, WANG T. Destabilization of emulsion formed during aqueous extraction of peanut oil: synergistic effect of Tween 20 and pH[J]. J Am Oil Chem Soc, 2016, 93(11): 1551-1561.
- [13] 肖信锦, 陈艾霞, 李阳洋, 等. 水剂法同步提取米糠蛋白与油脂的工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(4): 58-61.
- [14] WILDE P, MACKIE A, HUSBAND F, et al. Proteins and emulsifiers at liquid interface[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2004, 108(10): 63-71.