

文章编号 :1007 - 649X(2001)02 - 0054 - 03

反胶束溶液同时萃取油和蛋白质的工艺研究

赵俊廷

(郑州工程学院化学化工系 ,河南 郑州 450052)

摘 要 :对 AOT/异辛烷体系同时萃取大豆中的油和蛋白质进行了研究.实验结果表明:蛋白质的萃取率受萃取时间、水溶液的 pH 值、盐浓度、AOT 浓度的影响,与传统制油工艺比较,油的萃取效果基本不变.正交实验分析表明,前萃的最佳条件为萃取时间 90 min,盐浓度 0.1 mol/L, pH 值 5.0, AOT 浓度 6 g/50 ml 异辛烷.

关键词 :反胶束;植物油料;油脂;蛋白质

中图分类号 :TQ 423.92; TS 224.4 **文献标识码 :**A

反胶束溶液是表面活性剂溶解于非极性溶剂中形成的一种集聚体,其可以增溶水和极性溶剂,在反胶束内形成极性内核,增溶水后的反胶束的内核具有溶解蛋白质的能力^[1].反胶束的极性核具有生物环境,在反胶束内的蛋白质不易变性.80 年代中期,Wells 等^[2]首先在反胶束溶液萃取酶这一领域进行了研究,之后,美国的 Goklen 和 Hattori^[3]开始用反胶束溶液萃取蛋白质等生物大分子.90 年代初,我国的翁连进^[4]和刘洪来^[5]等在反胶束溶液萃取蛋白质的动力学和热力学方面也进行了研究,但尚没有在反胶束溶液同时萃取植物油料中的油和蛋白质方面的报道.利用反胶束溶液萃取植物油料时,其中的蛋白质进入反胶束的极性核内,而油脂则进入有机溶剂中,从而实现同时萃取油料中的蛋白质和油脂.反胶束中的蛋白质可用水反萃出来,然后将溶剂中的表面活性剂分离掉,溶剂和油脂的混合液利用蒸发操作蒸掉溶剂,从而得到油.蛋白质的萃取率不仅受反胶束体系的含水量 w_0 和水的 pH 值的影响,而且还受传质性能的影响.

1 实验材料和方法

1.1 实验材料

实验原料:大豆(市售).

1.2 主要药品和试剂

(1) AOT,上海嘉定徐行化工厂,未经提纯.

(2) 异辛烷、氯化钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氢氧化钠、盐酸、硼酸、无水乙醚、双氧水、浓硫酸、硫酸钾.所用水为去离子水.

1.3 主要仪器设备

索氏抽提器、离心机、RDN - 01 型蛋白质测定仪、THI - 8L 型气浴恒温振荡器、真空泵、ZFA - 旋转薄膜蒸发器、层析柱 ($\Phi 15 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$).

1.4 实验方法

(1) 原料(大豆)中油脂、蛋白质和水分含量分别用 GB 5497 - 85, GB 5511 - 85, GB 5497 - 85 方法测定.

(2) 称量 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 g 的 AOT 分别溶于 50 ml 的异辛烷中,加入具有一定盐浓度和 pH 值的磷酸缓冲液至饱和.在上述溶液之中分别加入约 2.0 g 的豆粉.将其置于震荡器中震荡(震荡速度 300 r/min),在 400 r/min 的转速下离心 10 min.取其上层溶液进行分析,考察时间、盐浓度、AOT 浓度和 pH 值对蛋白质萃取结果的影响.

(3) 反胶束溶液中蛋白质含量按 GB 5511 - 85 方法测定.蛋白质萃取率 S 按下式计算:

$$\frac{\text{反胶束溶液中的蛋白质量}}{\text{大豆中的蛋白质含量}} \times 100\%$$

(4) 将上述萃取溶液用 1.0 mol/L 的 KCl, pH 值为 7.0 的水溶液反萃.反萃后的反胶束溶液经离心机离心分离(4000 r/min)后,上层溶剂相用柱层析的方法将溶剂相的表面活性剂分离,得到的混合油在薄膜蒸发器内真空蒸发除去溶剂,然后

收稿日期:2001 - 01 - 01;修订日期:2001 - 03 - 10

基金项目:河南省科技攻关项目(971070103)

作者简介:赵俊廷(1965 -)男,河南省孟津县人,郑州工程学院讲师,硕士,主要从事化工分离工程方面的研究.

万方数据

在分析天平上称重.油脂得率按下式计算：

$$\frac{\text{溶剂相中油的质量}}{\text{萃取所用大豆中油的质量}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 反胶束的萃取(前萃)的单因素分析

2.1.1 萃取时间的影响

表 1 表明:前萃蛋白质的萃取率随着时间的增加而提高,但萃取时间达 1 h 后,增加缓慢.随着萃取过程的进行,蛋白含量逐渐减少,蛋白质向原料表面迁移的速率亦减少,而反胶束的极性核内的蛋白质浓度逐渐增加,这将导致蛋白质的传质速率下降.当萃取 1 h 后,其传质推动力已很小,萃取时间的增加对蛋白质萃取的影响已很小.

油的萃取率随着萃取时间的增加而逐渐增加,当萃取时间达到 60 min 后,油的萃取率增加很小,这符合萃取动力学的一般规律,即随着油脂不断从油料中被萃取出来,油脂从油料中向溶剂中传递的传质推动力逐渐减小,直至固液两相逐渐接近平衡.

表 1 萃取时间对萃取率的影响

Table 1 Effect of extraction time on the ratio of extraction		
萃取时间/min	蛋白质萃取率/%	油的萃取率/%
15	37.18	31.3
30	45.35	67.8
60	47.09	85.4
120	49.77	86.1

说明:萃取条件:KCl 浓度为 0.1 mol/L,pH 为 8.3,AOT 浓度为 6 g/50 ml 异辛烷.

2.1.2 AOT 浓度的影响

由表 2 可知,随着 AOT 浓度增加,蛋白质萃取率逐渐增加,但增加的程度不明显.原因可能为:非极性溶液中,反胶束的聚集数随表面活性剂浓度的增加而增加;另一方面,表面活性剂浓度的增加会使整体的极性增加,从而导致偶极子间的作用减弱,所以表面活性剂浓度变化对聚集数的影响取决于二者作用的平衡.AOT 浓度达到 2 g/50 ml 时,其传质速率主要取决于蛋白质从颗粒内部向颗粒表面迁移的速度控制.AOT 浓度的增加对油脂的萃取结果影响不显著.

2.1.3 盐浓度的影响

由表 3 可知,KCl 浓度对蛋白质的萃取率有一定影响,且蛋白质的萃取率有个最大值.当 KCl 浓度 < 0.2 mol/L 时,蛋白质的萃取率随盐浓度的增加而增加,当 KCl 浓度 > 0.2 mol/L 时,随着盐

浓度的增加,蛋白质的萃取率逐渐减小.一方面,随着 KCl 浓度的增加,表面活性离子头之间互斥性减弱,使 w_0 值逐渐减小,导致蛋白质萃取率下降;另一方面,盐浓度的增加将导致反胶束与蛋白质之间的静电吸引力增加,从而有利于蛋白质的萃取.

表 2 AOT 浓度对萃取率的影响

Table 2 Effect of concentration of AOT on the ratio of extraction

AOT 浓度/(g/50 ml 异辛烷)	蛋白质萃取率/%	油的萃取率/%
2	45.24	84.7
4	49.2	85.1
6	49.95	83.8
8	51.46	82.5

说明:测定条件:萃取时间为 60 min,pH = 7.9,KCl 浓度为 0.1 mol/L;反萃条件:KCl 浓度为 1.0 mol/L,pH = 7.0,反萃时间为 60 min.

表 3 KCl 的浓度对产品萃取率的影响

Table 3 Effect of concentration of KCl on the ratio of extraction

KCl 浓度/(mol/L)	蛋白质萃取率/%	油的萃取率/%
0.10	37.25	84.7
0.20	41.93	83.1
0.30	41.40	50.2
0.50	38.66	少许
0.75	35.45	少许

说明:萃取条件:萃取时间为 60 min,AOT 浓度为 8 g/50 ml 异辛烷,pH 值为 7.0.

随着氯化钾浓度的增加,油的萃取率显著下降,当氯化钾浓度达到 0.5 mol/L 时,所得油量非常少.实验中发现,盐浓度的增加造成油脂和表面活性剂的分离非常困难,因为随着盐浓度的增加,盐与水的作用逐渐强于蛋白质和水的作用,导致 AOT/异辛烷体系反胶束形成复杂聚集体.

2.1.4 缓冲溶液的 pH 值的影响

pH 值对萃取率的影响见表 4.

表 4 pH 值对萃取率的影响

Table 4 Effect of pH on the ratio of extraction

pH 值	蛋白质萃取率/%
4.1	37.13
5.2	43.67
6.1	43.38
7.0	45.10
8.0	47.30

说明:萃取条件:KCl 浓度为 0.1 mol/L,AOT 浓度为 6 g/50 ml 异辛烷,萃取时间为 60 min.

由表 4 可知,蛋白质的萃取率随 pH 值的升高

而增加,且在蛋白质的等电点处亦有相对较高的萃取率.原因是:中性盐的存在,有利于大豆蛋白在水中的溶解^[6],反胶束的极性核内的水和表面活性剂的极性基团的相互作用,导致水的 pH 值比体相水中的 pH 值高.

2.2 前萃最佳条件的确定

2.2.1 正交实验

根据前述分析,选取萃取时间(A)、AOT 浓度(B)、KCl 浓度(C)和增溶水的 pH 值(D)进行正交实验.结果见表 5.

表 5 正交试验表 $L_9(3^4)$

Table 5 Table of orthogonal experiments $L_9(3^4)$					
试验号	A	B	C	D	蛋白质萃取率/%
1	1(30)	1(4)	1(0.05)	1(5.5)	38.58
2	1	2	2	2	36.07
3	1	3	3	3	38.93
4	2(60)	1	2(0.1)	3	41.80
5	2	2(6)	3	1	44.92
6	2	3	1	2(6.4)	39.41
7	3(90)	1	3(0.2)	2	40.64
8	3	2	1	3(7.7)	45.66
9	3	3(8)	2	1	47.15
K_1	113.58	121.02	123.65	130.65	—
K_2	126.13	126.65	125.02	116.12	—
K_3	133.45	125.49	124.49	126.39	—
k_1	37.86	40.43	41.22	43.55	—
k_2	42.04	42.22	41.67	38.71	—
k_3	44.48	41.83	41.50	42.13	—
R	6.62	1.88	0.45	4.84	—

由表 5 可知:①影响蛋白质萃取率的主次顺序为 $A>D>B>C$.②最佳工艺条件为 $A_3B_2C_2D_1$,即萃取时间为 90 min;AOT 浓度为 6 g/50 ml 异辛

烷;KCl 浓度为 0.1 mol/L;pH 值为 5.5.③若希望再进一步提高收率,可增加萃取次数.

2.2.2 验证实验

以 $A_3B_2C_2D_1$ 作验证实验,蛋白质的萃取率为 51.4%,油的萃取率为 85.9%.

3 结论

①用 AOT/异辛烷反胶束溶液萃取大豆中的蛋白质是可行的.在油脂被溶剂萃取的同时,蛋白质进入反胶束的极性核内.②蛋白质萃取率受萃取时间、AOT 浓度、盐浓度和水的 pH 值的影响.影响因素的主次顺序: $A>D>B>C$.③正交实验结果表明,蛋白质前萃的最佳条件为:萃取时间为 90 min;AOT 浓度为 6 g/50 ml 异辛烷;KCl 浓度为 0.1 mol/L;增溶水的 pH 值为 5.5.

参考文献:

[1] LUISI P L,GIOMINI M,PLENI P, et al. Reverse micelles as hosts for proteins and small molecules[J]. Biochimica et Biophysica Acta,1998,947:209-246.

[2] GIOVENCO S. Purification of intracellular enzymes from whole bacterial cell using reversed micelles[J]. Enzyme Microb Technol,1987,9:470-473.

[3] GOKLEN K E,HATTON T A. Protein extraction using reverse micelles[J]. Biotech Progr,1985,1(1):69-74.

[4] 翁连进,金浩,宋兴福,等.反胶团萃取赖氨酸的分配系数[J].华东理工大学学报,1998,12(3):650-654.

[5] 刘洪来,许建和,英徐根,等.蛋白质在逆胶束中增溶的分子热力学模型[J].华东化工学院学报,1993(10):660-667.

[6] 王尔惠.大豆蛋白质生产新技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999.

Study on the Use of Reverse Micele for the Simultaneous Extraction Oil and Protein

ZHAO Jun - ting

(Department of Chemistry & Chemical Engineering Zhengzhou Institute of Technology Zhengzhou 450052 ,China)

Abstract :The process of AOT/isooctane reverse micelles system for the simultaneous extraction of oil and protein from soybean are studied. The results indicate that the amount of proteins extracted depends on extraction time , the concentration of salt and pH of water , the concentration of AOT in the solution. Compared with the usual method , the extraction of oil has little difference. The results of the orthogonal experiments show that the operation condition of forward extraction is that extraction time :90 min ,the concentration of salt :0.1 mol/l ,pH of water 5.5 ,the concentration of AOT 6 g(50ml isooctane).

Key words :reverse micelle ; vegetable oil ; oil ; protein