

从大豆磷脂中分离高纯脑磷脂的研究

钟振声, 魏波

(华南理工大学化学科学学院, 广东 广州 510640)

摘要: 研究了用有机溶剂法从大豆磷脂中提取制备高纯度脑磷脂的工艺, 大豆磷脂先用丙酮萃取去除其中的油脂和游离脂肪酸, 然后用无水乙醇溶解去除卵磷脂, 最后用石油醚萃取沉淀物得高纯度的脑磷脂。对石油醚萃取高纯度脑磷脂的工艺进行了探讨, 得到最佳工艺参数为: 料液比为 1:4 (w/V); 萃取次数为 3 次; 萃取温度为 30 °C。在此工艺条件下脑磷脂的得率为 91.9%, 纯度为 93.5%。

关键词: 大豆磷脂; 脑磷脂; 丙酮; 无水乙醇; 石油醚

中图分类号: TS222; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)04-0333-03

Extraction and Purification of Cephalin from Soybean Phospholipid

ZHONG Zhen-sheng, WEI Bo

(College of Chemical Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The extraction and purification of cephalin from the soybean phosphatide were studied in this paper. After washed by acetone to remove greases and free fatty-acids, the soybean phosphatide was treated by ethanol to remove lecithin and then extracted by petroleum ether. For extraction of cephalin with high purity, the best technological parameters were determined as follows: the ratio of solid to liquid ratio of 1:4 (w/V), extract times of 3, and extract temperature of 30 °C. Under those conditions, the yield of cephalin was 91.9% with the purity of 93.5%.

Key words: soybean phospholipid; cephalin; acetone; ethanol; petroleum ether.

磷脂普遍存在于动植物细胞的原生质和生物膜中, 对生物膜的生理活性和肌体正常代谢有重要的调节功能^[1]。大豆磷脂是大豆油生产过程中毛油水化脱胶时的副产物。通常, 大豆磷脂是由卵磷脂 (PC), 脑磷脂 (PE), 肌醇磷脂 (PI) 和磷脂酸等成分组成的混合物, 全球磷脂需求量达 13 万吨以上, 而大豆磷脂占据极其重要地位^[2]。由于脑磷脂 (PE) 是良好的天然活性剂, 具有特有的生物活性和生理功能, 无毒, 无污染, 无刺激, 易生物降解而受到国内外科技界和工业界的高度重视^[3]。

目前, 国内对大豆磷脂的研究主要集中在对卵磷脂 (PC) 的研究方面, 对脑磷脂 (PE) 的研究报道较少, 尤其是直接从大豆磷脂中把脑磷脂与肌醇磷脂 (PI) 分离开并单独提取出来更是鲜有报道。

本文用大豆精制磷脂为原料, 丙酮、乙醇、石油醚等为溶剂, 分离提纯得到高纯度的脑磷脂, 并研究石油醚用量、提取次数、温度对脑磷脂提取率和纯度的影响, 得到最佳工艺条件。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

收稿日期: 2008-01-09

大豆粉末磷脂, 北京美亚斯磷脂有限公司; 丙酮, 无水乙醇, 石油醚等均为分析纯试剂, 天津富宇精细化工有限公司; 脑磷脂标准品 (PE 98%), 美国 Sigma 公司。

1.2 仪器

JB 50-D 型电动搅拌机, ZK-82A 真空干燥箱, TDL80-2B 型离心机, Agilent1100 高效液相色谱仪。

1.3 实验设计、原理与amp;操作

1.3.1 实验设计 (见图1)。

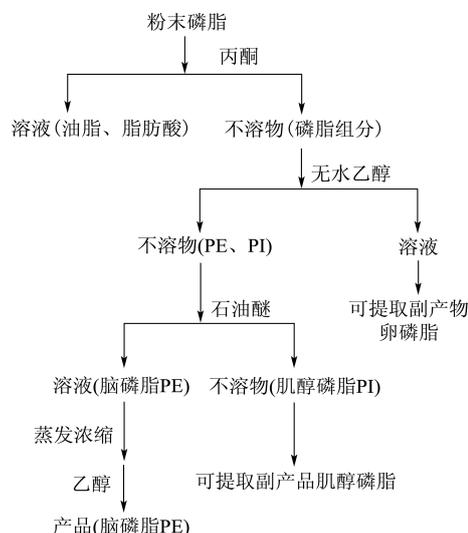


图1 提取脑磷脂的工艺流程简图

Fig.1 Technological process of extraction of cephalin

1.3.2 实验原理与操作

1.3.2.1 丙酮萃洗

粉末磷脂用丙酮反复萃洗大豆磷脂, 其中的油脂和游离脂肪酸会溶解在丙酮之中, 而磷脂却不溶解, 经过多次萃洗之后可进一步精制磷脂。

准确称取一定量大豆粉末磷脂, 置于三口烧瓶中, 加入一定比例丙酮溶液, 开动搅拌器, 控制温度在所需的范围内, 萃取时间达到要求后停止搅拌, 产品进行抽滤, 得粉末状精制磷脂 (PE 含量 35%)。

1.3.2.2 无水乙醇沉淀

经丙酮萃洗后的精制磷脂, 主要由卵磷脂、脑磷脂和肌醇磷脂三大部分组成。由于卵磷脂在脂肪醇中的溶解度比脑磷脂和肌醇磷脂高, 可以通过脂肪醇的多次萃洗使卵磷脂富集于醇溶剂中, 而脑磷脂和肌醇磷脂则留在滤饼中。

准确称取一定量大豆精制磷脂, 置于三口烧瓶中, 加入一定比例无水乙醇, 开动搅拌器, 控制在所需萃取温度下, 约 0.5 h 后停止加热, 分出棕黄色液体^[4]。反复萃取一定次数, 合并萃取液于蒸馏瓶中, 减压蒸馏得棕黄色蜡状卵磷脂。将醇不溶物过滤干燥, 即得脑磷脂和肌醇磷脂混合物 (PE 含量 60%)。

1.3.2.3 石油醚萃取

经醇萃洗之后的滤饼中主要是脑磷脂和肌醇磷脂。其中脑磷脂在醚中的溶解度较大, 而肌醇磷脂较难溶于醚, 经过醚的多次萃洗之后, 脑磷脂便富集于醚中, 达到分离脑磷脂的目的。

将醇不溶物准确称取一定量放入三角瓶中, 按一定比例加入石油醚, 在所需温度下反复萃取一定次数, 合并萃取液, 减压蒸馏, 浓缩至大约 25 mL, 转移到烧杯中, 按比例加入乙醇将所得沉淀分离出来, 过滤, 真空干燥得淡黄色粉状脑磷脂。

1.4 分析检测

根据文献^[5-6], 原料、中间产物及所有脑磷脂产品经 Agilent1100 高效液相色谱仪进行分析及测定。

1.4.1 色谱条件

色谱柱: Zormax NH₂ (0.46×25 mm); 流动相: 正己烷-异丙醇-H₃PO₄-H₂O (45: 48: 0.15: 7.5, V/V), 混匀后脱气; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30 °C; 柱压: 12×10⁵ pa; 检测波长: 206 nm; 进样量: 10 μL。

1.4.2 样品预处理

空白样: 溶解液正己烷:异丙醇=1:1(V/V)。

样品液: 精确称取一定量样品, 用体积比例为 1:1

的正己烷-异丙醇混合液超声溶解, 并定容于 10 mL 容量瓶中。

标准液: 精确称取一定量标准品 PE, 按样品液配制方法配制。

1.4.3 分析方法

取已处理好的试样溶液, 在与标准溶液测定相同的色谱条件下进行分析, 测定保留时间和峰面积, 以外标法定量。

1.5 溶剂萃取过程中PE的提取率计算

PE 得率(%)=(萃取量×纯度÷原料中 PE 的质量)×100%

2 结果与讨论

本部分只研究工艺的第三阶段, 即用石油醚从乙醇不溶物中萃取脑磷脂。

2.1 萃取溶剂用量对实验结果的影响

在温度 30 °C, 萃取次数为 3 次的条件下考查料液比对萃取结果的影响, 具体结果见表 1。

表 1 萃取剂用量对结果的影响

Table 1 The effect of solvent usage on the extraction results

实验号	原料/g	醚/mL	萃取次数	乙醇量/mL×次数	脑磷脂		
					萃取量/g	纯度/%	得率/%
1	10.0	30	3	15×2	5.6	92.2	86.0
2	10.0	40	3	15×2	5.9	93.5	91.9
3	10.0	50	3	15×2	6.0	92.3	93.3
4	10.0	60	3	15×2	6.1	91.6	93.1

由表 1 可以看出, 随着溶剂用量的加大, 脑磷脂的产量及得率有所增大, 但并不是溶剂用量越大越好, 因为在溶剂量增大的同时, 溶于其中的肌醇磷脂的量也增加, 因而使所得脑磷脂纯度随着溶剂用量的增大而下降。同时, 从经济技术角度考虑, 萃取剂用量越大, 溶剂回收工作量越大, 能耗越高, 并且降低了产品纯度, 因此, 增加溶剂用量既无必要也不合算。考虑到工艺成本, 选择料液比为 1:4 (m/V) 进行萃取。

2.2 萃取次数对实验结果的影响

在实验温度 30 °C, 料液比为 1:4 (m/V) 的条件下考查萃取次数对结果的影响, 具体结果见表 2。

表 2 萃取次数对结果的影响

Table 2 The effect of extraction number of times on the extraction results

实验号	原料/g	醚/mL	萃取次数	乙醇量/mL×次数	脑磷脂		
					萃取量/g	纯度/%	得率/%
5	10.0	40	2	15×2	5.3	92.5	81.7
6	10.0	40	3	15×2	5.7	93.1	88.4

7	10.0	40	4	15×2	5.9	91.7	90.2
8	10.0	40	5	15×2	6.0	90.8	90.8

由表 2 看出,随着萃取次数的加大,脑磷脂得率有所增大,但增长趋势放缓,反而所得脑磷脂纯度随着萃取次数的增多而有减小趋势。原因是随着萃取次数的增加,溶于石油醚中的肌醇磷脂等其他组分的量也随着增加,使纯度下降。又因萃取次数增多,醚的消耗量也跟着增大,综合考虑,选择萃取次数为 3 次。

2.3 萃取温度对实验结果的影响

在料液比为 1:4 (m/V)、萃取次数为 3 次的条件下考查温度对萃取效果的影响,结果见表 3。

表 3 实验温度对结果的影响

Table 3 The effect of extraction temperature on the extraction results

实验号	原料/g	醚量/mL×次数	乙醇量/mL×次数	温度/℃	脑磷脂		
					萃取量/g	纯度/%	得率/%
9	10.0	40×3	15×2	30	5.9	91.9	90.4
10	10.0	40×3	15×2	40	6.1	92.4	93.9
11	10.0	40×3	15×2	50	6.1	92.6	94.1
12	10.0	40×3	15×2	60	6.2	91.7	93.2

由表 3 可以看出,随着萃取次数的加大,脑磷脂得率有所增大,并在 50 ℃时达到最大值,但脑磷脂的产量及纯度的增长变化不大,又因为萃取温度的升高,使能耗也跟着增大,考虑到本研究主要以磷脂纯度作为参考指标,为减少能耗,选择萃取温度为 30 ℃。

3 分析测试

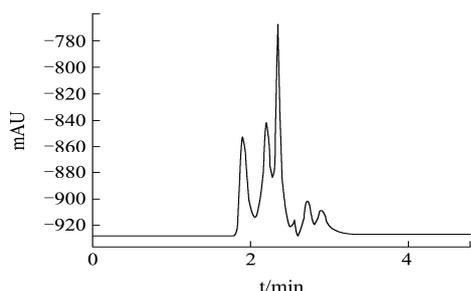


图 2 空白样品高效液相色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of control sample

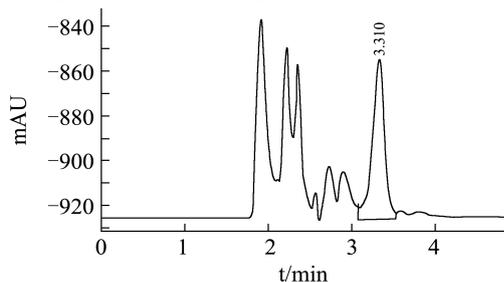


图 3 脑磷脂标准品高效液相色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of cephalin standard sample

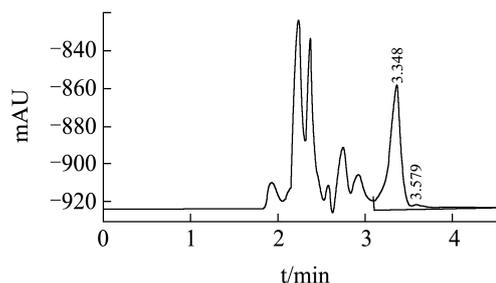


图 4 脑磷脂产品高效液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of cephalin extracted sample

比较图 2、图 3 和图 4 可知,脑磷脂的色谱峰出现在 3.31 min 左右,与文献^[5-6]相符,可确认所得产品为脑磷脂。在 3.00 min 以前出现的峰为溶剂带入的杂质峰,对我们确认和分析图谱不产生影响。

4 结论

(1) 有机溶剂法从大豆磷脂中提取制备高纯度脑磷脂的工艺可分三个步骤进行:(一)大豆磷脂先用丙酮反复萃洗溶解去除其中的油脂和游离脂肪酸,得到由卵磷脂、脑磷脂和肌醇磷脂三大部分组成的精制磷脂。(二)利用卵磷脂在脂肪醇中的溶解度比脑磷脂和肌醇磷脂高的特点,用乙醇多次萃洗精制磷脂使卵磷脂富集于乙醇溶剂中从而去除卵磷脂。(三)利用脑磷脂在醚中的溶解度较大而肌醇磷脂较难溶于醚的特点,用石油醚多次萃洗使脑磷脂富集于石油醚中,达到分离脑磷脂的目的。

(2) 石油醚法从大豆精制磷脂中提取高纯度脑磷脂的优化工艺条件为:料液比=1:4 (w/V);萃取次数为 3 次;萃取温度为 30 ℃。在此工艺条件下脑磷脂的纯度为 93.5%,得率达到 91.9%。

参考文献

- [1] 关润伶,邹静,朱红.大豆卵磷脂的分离纯化研究进展[J].中国食品添加剂,2005,14: 45-47
- [2] 李杰,王丽,于长青.大豆磷脂的研究现状及展望[J].黑龙江八一农垦大学学报. 2005, (2):81-84
- [3] 卢行芳.天然磷脂产品的加工及应用[M]. 北京:化学工业出版社. 2004. 2
- [4] 吕维忠,钟振声.天然表面活性剂卵磷脂的提取[J].广州化工,2000,28(2): 1-3
- [5] 董晓涓,冯学伟,李桂贞.高效液相法测定大豆磷脂中的磷脂酰胆碱[J].华东理工大学学报,2000, 26(3):315-317
- [6] 刘静,宋航,付超,等.卵磷脂中PE及不同种类PC的高效液相色谱分析[J].化学研究与应用, 2005, 17(1):134- 136.