

## 水酶法提取菜籽乳化油的工艺研究

章绍兵, 王 璋\*

(江南大学食品科学与安全教育部重点实验室, 无锡 214036)

**摘 要:** 为获得温和的制油工艺, 该文采用了多种细胞壁多糖酶制剂对湿磨菜籽浆进行水相酶解法提油。同时对菜籽内源硫苷酶的湿热灭活条件及硫苷的湿热稳定性进行了研究, 并优化了酶解的工艺条件。结果表明: 沸水处理 5 min 可以有效钝化菜籽内源硫苷酶, 此时硫苷的降解率为 11.28%; 果胶酶、纤维素酶和  $\beta$ -葡聚糖酶经复配(4:1:1)后处理菜籽比单一酶制剂的作用效果好, 复合酶解最适工艺条件为: 固液比 1:5, 加酶量 3%, 酶解时间 5 h, 在此条件下乳化油得率为 92.45%。

**关键词:** 水酶法; 菜籽油; 硫苷酶

**中图分类号:** TS224

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1002-6819(2006)11-0250-04

章绍兵, 王 璋. 水酶法提取菜籽乳化油的工艺研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(11): 250-253.

Zhang Shaobing, Wang Zhang. Aqueous enzymatic extraction of rapeseed emulsified oil[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(11): 250-253. (in Chinese with English abstract)

### 0 引言

油菜不论在中国还是世界范围内都是一种重要的油料作物, 目前中国的油菜种植面积和菜籽产量均居世界之首。菜籽中含有 40%~45% 的油和 20%~25% 的蛋白质。目前工业化生产中应用最为广泛的制油工艺是“预榨-溶剂浸出法”, 由该工艺可得到两种产品: 油和含抗营养因子的粕。虽然油脂得率高, 但使用有机溶剂所带来的环境污染和生产安全问题已受到广泛的关注。例如, 美国环保局提议自 2004 年开始限制溶剂浸出油厂排放正己烷量。另外, 现行工艺过程中的高温处理使菜籽蛋白质品质劣变, 必需氨基酸损失严重<sup>[1]</sup>, 加上粕中含有硫代葡萄糖苷(简称硫苷)、酚类和植酸等抗营养因子, 致使菜籽粕的利用率很低, 大多只作为饲料或肥料使用。因此, 菜籽油浸出替代溶剂的选择已引起科研工作者的重视。

和传统工艺相比, 水剂法无疑是安全而且温和的, 并且可以同时提取油和蛋白质。Sugarman 早在 1956 年, 就尝试了用水代替有机溶剂从花生中同时分离出油和蛋白质<sup>[2]</sup>。后来又有一些学者将该法应用到其它油料作物, 但由于只依靠机械研磨对植物细胞破坏不够彻底, 油得率低。自 20 世纪 70 年代以来, 纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶等细胞壁多糖水解酶和水剂法的结合——水酶法应用到各种含油原料中使油脂得率显著增加<sup>[3]</sup>。

1990 年, Jensen 和 Olsen 沿用浓缩蛋白的生产工艺路线, 在中试工厂应用水酶法提取双低菜籽油和蛋白质。他们选用一种来源自黑曲霉的复合酶, 调节 pH 值为酸性, 保温后离心分离得到油、水解液和固相沉淀, 大部分菜籽中的抗营养因子溶于水而被除去, 低毒浓缩蛋白产品作为饲用<sup>[4]</sup>。2004 年, 刘志强等人对脱皮油菜籽进行水酶法研究, 沿用了分离蛋白的生产路线, 但用膜过滤取代了酸沉法, 得到油和菜籽分离蛋白, 同时去除了部分抗营养因子<sup>[5]</sup>。以上学者为菜籽油和蛋白质的水酶法提取做出了有益的探索, 但目前菜籽水酶法提油工艺仍面临着一些问题: 目前国内学者基本均采用干磨工艺, 这样虽可以一定程度上减轻乳化现象, 但由于菜籽粒小, 细胞壁坚韧, 要想干法研磨到

理想的细度能耗很大, 而且目前工业上这样的超微磨机还难以发现; 另外, 对菜籽内源硫苷酶的灭活效果及硫苷的热稳定性也缺乏研究。本文研究了细胞壁多糖水解酶处理湿磨菜籽浆的酶解工艺, 同时对菜籽内源硫苷酶的湿热灭活条件及硫苷的湿热稳定性进行了探讨, 旨在为后面利用蛋白酶破乳同时回收菜籽肽的研究奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料及主要仪器

“中双 10 号”双低脱皮油菜籽(甘蓝型, 中国农业科学院油料所); 纤维素酶 AE80,  $\beta$ -葡聚糖酶 NCB-100, 木聚糖酶 NCB-X50(尤特生生化有限公司); 果胶酶 Pectinex Ultra SP-L(诺维信公司)。

砂盘淀粉磨(MS40B 型, 宁波粮食机械厂), 真空干燥箱(DZG-6050 型, 上海森信实验仪器有限公司), 离心机(LXJ-II 型, 上海医用分析仪器厂), 超级恒温器(501 型, 上海实验总厂), 强力电动搅拌机(JB300-D 型, 上海标本模型厂), 紫外可见分光光度计(UV-2102c 型, 尤尼柯(上海)仪器有限公司)。

#### 1.2 试验方法

##### 1.2.1 菜籽主要成分测定

水分测定: 105℃烘箱法, 参照 GB/T 5009.3-2003;

粗蛋白测定: 凯氏定氮法, 参照 GB/T 5009.5-2003;

粗脂肪测定: 索氏抽提法, 参照 GB/T 5009.6-2003;

灰分测定: 马弗炉灰化法, 参照 GB/T 5009.4-2003;

粗纤维素测定: 酸性洗涤法<sup>[6]</sup>;

硫苷的测定: wetter 法<sup>[7]</sup>。

##### 1.2.2 硫苷酶酶活测定<sup>[1]</sup>

待测样品室温脱脂, 通风橱中 12 h 脱溶, 测定水分。准确称取 100 mg 样品, 加入 1 mL 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(pH 7)和 2.5 mL 二氯甲烷, 30℃振荡酶解 2 h, 用硫脲紫外法测定酶解生成的异硫氰酸酯的毫克数。规定在此反应条件下, 1 g 样品所释放 1  $\mu$ mol 异硫氰酸酯为 1 个硫苷酶酶活单位(U)。

##### 1.2.3 水酶法提油工艺路线

脱皮菜籽→沸水灭酶→湿磨→细胞壁多糖水解酶酶解→调 pH9,

浸提 1 h→离心(3000 r/min, 20 min)→  
┌→乳化油  
└→水解液  
└→渣真空干燥, 测残油

收稿日期: 2006-01-16 修订日期: 2006-06-02

作者简介: 章绍兵(1975-), 男, 博士生, 研究方向为生物技术在食品工业中的应用。无锡 江南大学青山湾校区 541 信箱, 214036。

Email: shaobingzhang@126.com

\*通讯作者: 王 璋(1941-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事食品生物技术方面的教学与研究。无锡 江南大学食品学院, 214036。

Email: syxu@sytu.edu.cn

### 1.2.4 细胞壁多糖水解酶的筛选与复合

酶的筛选: 每种酶按 2.5% (w/v) 加到菜籽浆中, 在最适 pH 值和温度下保温 4 h, 缓慢搅拌。

酶的复合: 选取作用效果较好的酶按一定比例进行复合, 加酶总量为 2.5% (w/v), 在 pH 5, 48℃ 的条件下保温 4 h, 缓慢搅拌。以上试验均重复一次。

### 1.2.5 乳化油得率的计算

$$\text{乳化油得率}(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100$$

表 1 脱皮油菜籽的主要组成成分

Table 1 Composition of dehulled rapeseed

	水分/%	粗蛋白/%	粗脂肪/%	粗纤维/%	灰分/%	硫苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 无油干基
脱皮菜籽	6.31±0.11	24.85±1.12	46.99±1.41	3.01±0.28	3.86±0.20	3.78±0.36

注: 实验结果以两次实验结果的平均值和标准偏差表示。

### 2.2 菜籽内源硫苷酶的湿热灭活

在水酶法提油过程中, 菜籽内源硫苷酶的灭活是至关重要的一步。因为, 内源硫苷酶的存在会水解水溶性的硫苷, 生成的脂溶性降解产物(异硫氢酸酯、硫氢酸酯和恶唑烷硫酮)会扩散到油相中, 使油的含硫量增加, 品质降低。因此, 最好是以完整状态保留硫苷在后期加以脱除。现有研究表明, 硫苷酶在干热环境中不易失活, 在湿热环境中容易失活<sup>[9]</sup>。而且与干热处理相比, 湿热处理对油的品质影响小<sup>[10]</sup>。

硫苷酶和硫苷分布在菜籽细胞中的不同区域, 细胞一旦破碎, 硫苷酶和硫苷就可能相互接触发生水解反应<sup>[9]</sup>, 因此, 最好是对完整的菜籽进行灭酶。本研究将菜籽置于沸水中灭酶后再进行碾磨。由图 1 可以看出, 硫苷酶在沸水处理 1 min 后活力就丧失近半, 而 5 min 后几乎全部失活。这说明沸水处理可以有效迅速钝化硫苷酶。

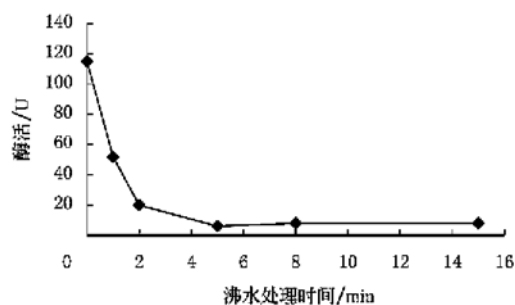


图 1 沸水处理时间对硫苷酶酶活的影响

Fig. 1 Effect of boiling time on myrosinase activity

### 2.3 热处理对硫苷的影响

菜籽中的硫苷不但会发生酶水解反应, 有一些硫苷组分(特别是吡咯硫苷)的热稳定性较差, 高温下还会发生非酶降解。传统工艺中硫苷的降解比较严重<sup>[1]</sup>, 导致毛油中含硫量高。

水酶法的条件温和, 热处理灭酶的时间也短。由图 2 可以看出, 菜籽中的硫苷在沸水处理 1 min 后就有少量损失, 但随后含量变化并不大, 5 min 时降解率为 11.28%, 处理时间增加到 8 min 时, 硫苷的降解率仍没有增加, 而沸水处理 15 min 后硫苷的降解则比较严重, 降解率为 18.47%。因此, 采取 5 min 沸水处理菜籽既能有效灭酶又能保留绝大多数硫苷的完整性。

### 2.4 细胞壁多糖水解酶的筛选及复配

菜籽油以油小体的形式存在于菜籽细胞内, 很多研究已证明酶解可以有效瓦解细胞壁, 促使细胞内物质溶出。根据菜籽的细胞壁多糖近似组成: 果胶 39%、阿拉伯半乳糖 8%、木聚糖

式中  $A$ ——样品含油量, g;  $B$ ——渣中残油, g。

## 2 结果与分析

### 2.1 脱皮菜籽成分分析

菜籽种皮中含有 30% 以上的粗纤维, 且绝大部分的芥子碱和色素以及部分植酸和单宁等抗营养物质也存在于种皮中<sup>[8]</sup>, 所以种皮是影响菜籽油颜色及限制进一步开发菜籽食用蛋白的主要因素。因此, 本研究采用脱皮菜籽作为实验原料, 经测定主要成分见表 1。

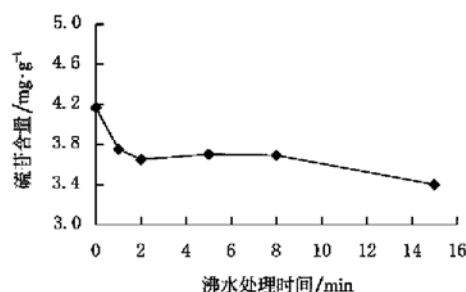


图 2 沸水处理时间对硫苷含量的影响

Fig. 2 Effect of boiling time on the content of glucosinolates

糖 29% 和纤维素 22%<sup>[11]</sup>, 本研究初步选用了 4 种商品酶制剂: 果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶和  $\beta$ -葡聚糖酶, 分别考察了它们对菜籽的单独作用效果和复合作用效果。

表 2 不同酶制剂对乳化油得率的影响

Table 2 Effect of different enzyme varieties on emulsified oil yield

酶	乳化油得率/%
无酶	47.82±0.98
果胶酶	85.86±1.12
纤维素酶	69.25±1.40
$\beta$ -葡聚糖酶	64.04±1.54
木聚糖酶	46.55±1.62
果胶酶+纤维素酶(2:1)	88.89±1.32
果胶酶+纤维素酶(1:1)	88.54±0.95
果胶酶+纤维素酶(1:2)	87.01±1.42
果胶酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(2:1)	89.28±1.18
果胶酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(1:1)	87.22±0.95
果胶酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(1:2)	80.75±1.26
纤维素酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(1:1)	75.12±1.25
果胶酶+纤维素酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(1:1:1)	83.85±1.18
果胶酶+纤维素酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(3:2:1)	89.74±1.05
果胶酶+纤维素酶+ $\beta$ -葡聚糖酶(4:1:1)	91.64±0.96

注: 实验结果以两次实验结果的平均值和标准偏差表示。

由表 2 可以看出, 在酶制剂的单独比较中, 果胶酶的作用最为显著, 纤维素酶和  $\beta$ -葡聚糖酶次之, 而木聚糖酶没有效果。本文使用的果胶酶制剂主要含聚半乳糖醛酸酶(PG)活力, 这种酶能将聚半乳糖醛酸中和游离羧基相邻的糖苷键水解<sup>[12]</sup>, 使菜籽细胞壁的主要组成果胶大分子有效降解, 促使细胞破裂。另外,

由于其还含有部分纤维素酶和半纤维素酶活力,所以由这种单一的果胶酶制剂就可以获得较高的油得率。两种半纤维素酶相比较, $\beta$ -葡聚糖酶作用效果较明显而木聚糖酶没有效果,这可能和菜籽细胞壁木葡聚糖的链结构有关。因此,舍弃使用木聚糖酶。

果胶酶和其它酶适当复配后(补充了其纤维素酶和 $\beta$ -葡聚糖酶活力),它们的协同作用使细胞更容易分离破碎,促进油脂的释放,这也和许多学者的研究结果相符<sup>[13,14]</sup>。果胶酶、纤维素酶和 $\beta$ -葡聚糖酶经复配(4:1:1)后处理菜籽浆能达到最佳作用效果。

## 2.5 酶解反应工艺参数的确定

采用最佳的复配方案(4:1:1)进行酶解反应,通过预备试验确定了酶解反应的 pH 值为 5,温度为 48℃。

### 2.5.1 固液比对乳化油得率的影响

在其他条件固定的情况下(加酶量为 2.5%;酶解时间为 4 h),研究了固液比对乳化油得率的影响。由图 3 可知,加水量过多或过少都不利于酶解反应的进行,从而影响乳化油的得率,当固液比为 1:5 时酶解效果最好,乳化油的得率最高。

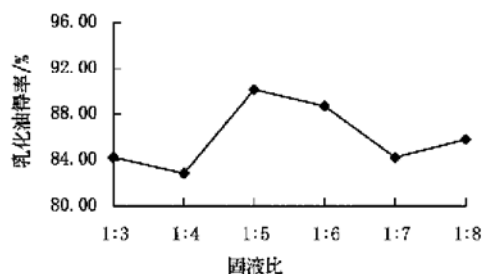


图 3 固液比对乳化油得率的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of solid to liquid on emulsified oil yield

### 2.5.2 酶浓度对乳化油得率的影响

选定固液比为 1:5,在酶解时间为 4 h 的情况下,研究了酶浓度对乳化油得率的影响。由图 4 可知,乳化油的得率随着酶浓度的增加而增加。加酶量很少时(0.2%)就可获得较高的油得率,说明酶的作用效果很明显。当加酶量超过 2.5% 后,油得率增长趋于缓慢,结合生产成本考虑选定酶浓度为 3%。

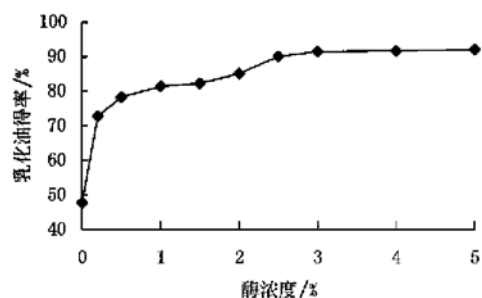


图 4 酶浓度对乳化油得率的影响

Fig. 4 Effect of enzyme concentration on emulsified oil yield

### 2.5.3 酶解时间对乳化油得率的影响

选定固液比为 1:5,加酶量为 3%,改变酶解时间,考察乳化油得率的变化情况。由图 5 可以看出,反应时间少于 3 h 以前,乳化油得率随酶解时间延长几乎呈线性增加,而后增加趋缓。酶解时间增加,产品受微生物污染的机会也随之增加。因此,选定酶解反应时间为 5 h。

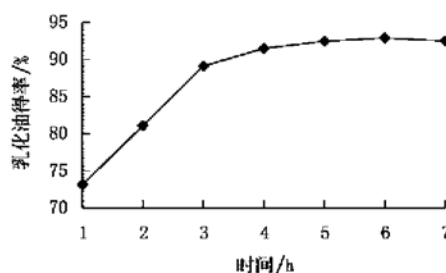


图 5 酶解时间对乳化油得率的影响

Fig. 5 Effect of hydrolysis time on emulsified oil yield

## 3 结 论

- 1) 沸水处理菜籽 5 min 可以有效钝化内源硫苷酶,并能够保留绝大多数硫苷的完整性;
- 2) 果胶酶对菜籽细胞的破壁效果非常显著,与纤维素酶及 $\beta$ -葡聚糖酶通过 4:1:1 复配后能更有效地促使菜籽细胞壁崩溃,释放油脂;
- 3) 确定了复合酶解工艺的最佳条件为:固液比 1:5,加酶量 3%,酶解时间 5 h,在此条件下乳化油得率为 92.45%。

### [参 考 文 献]

- [1] 钱 和,雕鸿荪,沈培英. 现行油菜籽加工过程中各种成分的变化[J]. 无锡轻工大学学报,1995,14(2): 129-135.
- [2] Sugarman N. Process for simultaneously extracting oil and protein from oleaginous materials[P]. U. S. Patent, 2762820, 1956.
- [3] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction[J]. Enzyme Microb Technol, 1996, 19: 402-420.
- [4] Fereidoon Shahidi. Canola and rapeseed: production, chemistry, nutrition and processing technology [M]. New York: Van Nostrand Reinhold, 1990.
- [5] 刘志强,贺建华,曾云龙,等. 酶及处理参数对水酶法提取菜籽油和蛋白质的影响[J]. 中国农业科学,2004,37(4): 592-596.
- [6] 大连轻工业学院等八大院校编. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994.
- [7] Wetter L G, Youngs C G. A thiourea-UV assay for total glucosinolate content in rapeseed meal[J]. J Am Oil Chem Soc, 1976, 53: 162-164.
- [8] 李诗龙. 油菜籽的物理特性浅析[J]. 中国油脂,2005,30(2): 17-20.
- [9] 任国谱. 硫代葡萄糖苷葡萄糖水解酶[J]. 郑州粮食学院学报,1991,(4): 97-104.
- [10] Eapen K E, Tape N W, Sims R P A. New process for the production of better-quality rapeseed oil and meal. I. Effect of heat treatments on enzyme destruction and color of rapeseed oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 1968, 45: 194-196.
- [11] Dominguez H, Nunez M J, Lema J M. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review[J]. Food Chemistry, 1994, 49: 271-286.
- [12] 伯奇 G G 主编. 郑寿亭,郑士民,高培基,等译. 酶与食品加工[M]. 北京:轻工业出版社,1991.
- [13] Bocevska M, Karlovic D, Turkulov J, et al. Quality of corn germ oil obtained by aqueous enzymatic extraction[J]. J Am Oil Chem Soc, 1993, 70: 1273-1277.
- [14] Che Man Y B, Suhardiyono, Asbi A B, et al. Aqueous enzymatic extraction of coconut oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 1996, 73: 683-686.

## Aqueous enzymatic extraction of rapeseed emulsified oil

Zhang Shaobing, Wang Zhang<sup>\*</sup>

(*Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China*)

**Abstract:** To develop a mild oil processing technology, aqueous enzymatic extraction of rapeseed emulsified oil was carried out by using several commercial cell-wall polysaccharides degrading enzymes on wet-milled rapeseed slurry. The wet-heat inactivation of endo-myrosinases in intact rapeseeds, stability of glucosinolates during heat treatment and the optimal conditions for enzymatic hydrolysis were investigated. Results indicate that boiling intact rapeseed for 5 minutes can inactivate myrosinases effectively and 11.28% of glucosinolates is degraded due to heating at the same time; the formula of pectinase, cellulase and  $\beta$ -glucanase(4 : 1 : 1) shows better effect than that of the single enzyme on rapeseed; the optimum conditions for enzymatic hydrolysis are as follows: the ratio of solid to liquid 1 : 5, enzyme/rapeseed 3% (v/w) and hydrolysis time 5 h. Under these conditions, the yield of rapeseed emulsified oil is 92.45%.

**Key words:** aqueous enzymatic extraction; rapeseed oil; myrosinase