

# 水酶法从菜籽中提取油及水解蛋白的研究

章绍兵, 王 璋<sup>\*</sup>

(江南大学食品科学与安全教育部重点实验室, 无锡 214036)

**摘 要:** 为了同时从菜籽中提取清油和水解蛋白, 依次使用复合细胞壁多糖酶和碱性蛋白酶(Alcalase 2.4 L)水解湿磨菜籽浆, 并利用大孔吸附树脂纯化水解蛋白液。结果表明: 经过酶解(复合细胞壁多糖酶: 浓度 3% (v/w), pH 5.0, 48℃, 5 h; Alcalase 2.4 L: 浓度 1.5% (v/w), 初始 pH 9.0, 60℃, 3 h)、洗渣和破乳后总菜籽清油提取率为 88%~90%, 总水解蛋白提取率为 93%~95%。和溶剂萃取油相比, 水酶法提取油的酸价偏高, 颜色略深, 但过氧化值低, 两者皂化价, 碘价和脂肪酸组成均接近。菜籽水解蛋白分子量小于 1500 的组分约占 96%, 其中小于 600 的约占 87%。经过大孔吸附树脂纯化后, 菜籽肽中糖和灰分含量显著降低, 硫苷和植酸均未检出。

**关键词:** 水酶法; 油菜籽; 菜籽油; 菜籽水解蛋白; 油品质; 大孔吸附树脂

中图分类号: TS224

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)9-0213-07

章绍兵, 王 璋. 水酶法从菜籽中提取油及水解蛋白的研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 213-219.

Zhang Shaobing, Wang Zhang. Aqueous enzymatic extraction technology of oil and protein hydrolysates from rapeseed[J].

Transactions of the CSAE, 2007, 23(9): 213-219. (in Chinese with English abstract)

## 0 引 言

油菜是一种重要的油料作物, 就其全世界的产量而言, 仅次于大豆、棕榈和棉籽<sup>[1]</sup>。中国的油菜种植面积和产量均居世界之首。油菜籽含有 40%~45% 的油脂和 20%~25% 的蛋白质, 不仅是主要的油料作物, 也是巨大的植物蛋白资源。传统的制油工艺都是以取油为主要目的, 得到的菜籽粕由于含有抗营养因子及工艺过程中的高温处理等因素, 利用率很低。菜籽蛋白质具有平衡性强的氨基酸组成模式, 是一种可与酪蛋白媲美的优质蛋白质。在食用蛋白资源日益紧张的今天, 开发利用菜籽蛋白, 对于丰富食用蛋白种类及提高菜籽产品附加值具有重要意义。

水酶法作为一种新兴的制油工艺正日益受到关注和重视。和传统工艺相比, 它条件温和(一般操作温度低于 60℃), 工艺路线简单(无需脱溶, 可直接利用三相离心分离油水渣), 而且可以同时提取油和蛋白质。目前, 国内外学者对菜籽进行水酶法提油研究时通常采用两种工艺路线: 一是仿效浓缩蛋白生产的工艺路线<sup>[2]</sup>; 二是沿用分离蛋白的生产路线<sup>[3]</sup>。前者提油和脱毒同步进行, 通过调节 pH 值或热变性作用使蛋白质固相沉淀,

大部分菜籽中的抗营养因子溶于水被除去, 但得到的蛋白产品纯度低, 只限于作为饲料。后者得到的蛋白产品纯度较高, 但抗营养因子和菜籽蛋白共存于水相中, 需要合适的方法进行脱毒。不论是哪种工艺路线, 对于菜籽这种蛋白质含量较高的油料作物而言, 由于细胞内油小体被蛋白膜包裹<sup>[4]</sup>, 且在研磨过程中(特别是湿磨)磷脂和蛋白易造成乳化<sup>[5]</sup>, 水酶法得到的主要是乳化油<sup>[6]</sup>, 单纯依靠高速离心等物理方法很难破乳得到清油, 这就给水酶法提油技术的工业化应用带来了困难。而相关研究表明, 利用蛋白酶高度水解蛋白质后可以释放被其乳化的油脂<sup>[7]</sup>。并且, 酶水解菜籽蛋白后可以拓宽其应用范围, 如等电点可溶蛋白可以应用于酸性饮料中, 菜籽肽具有多种生物活性等<sup>[8-10]</sup>。由于工业化生产得到的菜籽粕含有较多抗营养因子及溶解度差等原因不宜作为酶解对象, 所以学者们主要是以实验室自制的菜籽分离蛋白或浓缩蛋白为原料进行了酶解工艺的研究, 这无疑距菜籽肽的工业化生产应用还有一定的困难。本文在使用复合细胞壁多糖酶降解湿磨菜籽浆的基础上, 再利用碱性蛋白酶 Alcalase 2.4 L 进一步水解含油蛋白乳液, 旨在破乳获得菜籽清油和水解蛋白。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验原料

“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(湖南尤特尔生化有限公司); 果胶酶 Pectinex Ultra SP-L、Alcalase 2.4 L(诺维信公司)。

收稿日期: 2006-10-14 修订日期: 2007-05-20

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 江南大学蠡湖校区 69-604 信箱, 214122。

Email: shaobingzhang@126.com

<sup>\*</sup>通讯作者: 王 璋(1941-), 男, 教授, 主要从事食品生物技术方面的教学和科研工作。无锡 江南大学食品科学与安全教育部重点实验室, 214036

## 1.2 测定方法

蛋白质含量的测定: 凯氏定氮法, 参照 GB/T 5009. 5- 2003; 油脂含量的测定: 索氏抽提法, 参照 GB/T 5009. 6- 2003; 总糖含量测定<sup>[11]</sup>: 苯酚硫酸法; 蛋白质水解度的测定<sup>[12]</sup>: 茚三酮显色法; 油脂各项理化指标的测定: 包括色泽(罗维朋比色法), 酸价, 过氧化值, 皂化价和碘价按文献[13]; 硫苷的测定: wetter 法<sup>[14]</sup>; 植酸的测定:  $\text{FeCl}_3$  沉淀法<sup>[15]</sup>。

脂肪酸组成的测定条件如下(GC/MS 联用分析):

GC 条件: PEG-20M 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 载气为 He, 流量 0.8 mL/min, 分流比 1:50, 进样口温度 260℃, 程序升温时以 180℃ 保持 1.5 min, 然后以 3℃/min 升至 230℃(10 min)。MS 条件: 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子源温度 200℃, 检测器电压 350 V, 质量扫描范围 33~450 amu。

水解蛋白的相对分子质量测定条件如下(HP-SEC):

仪器: Waters 600 高效液相色谱仪(配 2487 紫外检测器和 M32 工作站); 色谱柱: TSKgel2000 SWXL 300 mm × 7.8 mm; 流动相: 乙腈/水/三氟乙酸, 45/55/0.1(V/V); 检测: UV220 nm; 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 30℃。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 水酶法提取菜籽油及水解蛋白的工艺路线

工艺流程如图 1 所示。具体操作方法:

沸水灭酶: 料水比 1:5(w/v), 水煮沸后投入脱皮菜籽, 保持沸腾 5 min;

湿磨: 物料冷却后, 置于砂盘淀粉磨中碾磨 2 min;

复合多糖酶水解: 调菜籽浆(含菜籽干物质 100 g) pH 5.0, 将果胶酶、纤维素酶和 β-葡聚糖酶复配(4:1:1)后按 3%(v/w) 加入, 48℃ 条件下保温 5 h;

碱提: 调 pH 10.0, 60℃ 下提取 1 h;

蛋白酶水解: 调初始 pH 9.0, 温度 60℃, 加入一定量的蛋白酶保温一定时间, 慢速搅拌;

升温灭酶: 85℃, 保温 10 min;

冷却: 冷却至约 60℃;

离心: 3000 r/min, 20 min。离心后用吸管吸出上层清油, 将少量不易吸出的清油和乳状液一起转入小离心管中, 再次离心, 合并两次得到的清油, 转入一恒重的小烧杯, 80℃ 下烘 1 h, 计算清油质量;

洗渣: 最佳酶解工艺条件下得到的湿渣加原料 1 倍质量的水, 调 pH 11.0, 60℃, 保温 1 h 后离心(3000 r/min, 20 min)。

清油提取率(%) =  $\frac{\text{清油质量}}{\text{原料含油质量}} \times 100$

水解蛋白提取率(%) =

$$\frac{\text{水解(洗)液中蛋白质质量}}{\text{原料中蛋白质质量} + \text{酶中蛋白质质量}} \times 100$$

洗渣乳化油提取率(%) =

$$\frac{\text{渣中含油质量} - \text{水洗后残渣中含油质量}}{\text{渣中含油质量}} \times 100$$

脱皮菜籽 → 沸水灭酶 → 湿磨 → 复合多糖酶水解 → 碱提 → 蛋白酶水解

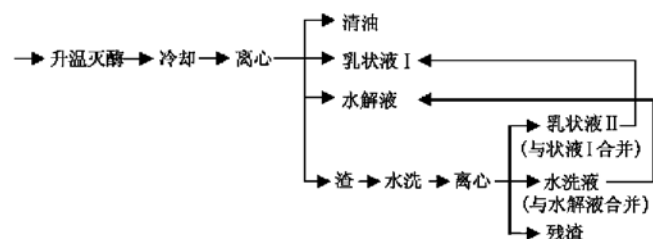


图 1 水酶法从菜籽中提取油及水解蛋白的工艺流程

Fig. 1 Flow chart for aqueous enzymatic extraction of oil and protein hydrolysates from rapeseed

### 1.3.2 乳状液的破乳研究

破乳分为两步进行: 首先, 将乳状液放置 1 d 后, 在不同速度下离心 20 min, 吸取上层清油, 弃去水相; 离心后得到的残余乳状液在 -18℃ 下冷冻 20 h 后, 40℃ 水浴中解冻 2 h<sup>[16]</sup>, 离心后(10000 r/min, 20 min)吸取清油。

$$\text{破乳率( \% )} = \frac{85\% \text{乙醇洗脱液中含蛋白量}}{\text{样品中含蛋白量}} \times 100$$

### 1.3.3 溶剂萃取油的制备

脱皮菜籽用中药粉碎机粉碎后, 进行索氏抽提(40℃, 6 h, 溶剂为低沸点石油醚), 然后将抽提液真空浓缩(35℃)至无溶剂蒸出, 最后用氮气吹干残余溶剂, 萃取油保存待用。

### 1.3.4 大孔吸附树脂纯化菜籽蛋白水解液

用 DA201-C 大孔吸附树脂装满 2.6 cm × 30 cm 玻璃层析柱, 调节水解液 pH 值, 室温条件下, 使水解液(固形物浓度约为 100 mg/mL)以 1.5 mL/min 的流速流经层析柱, 控制上样量为 50 mL。上样结束后, 先用蒸馏水(调节 pH 值和上样水解液相同)洗脱, 当水洗脱体积为 1000 mL 时, 改用 85% 乙醇洗脱, 洗脱体积为 1000 mL。流速不变, 紫外检测器监控(220 nm), 隔一定时间取样测总糖浓度。收集蛋白质洗脱峰, 测定蛋白质质量。

动态吸附率(%) =

$$\frac{\text{样品中含蛋白量} - \text{水洗脱液中含蛋白量}}{\text{样品中含蛋白量}} \times 100$$

蛋白回收率(%) =

$$\frac{85\% \text{乙醇洗脱液中含蛋白量}}{\text{样品中含蛋白量}} \times 100$$

## 2 结果与分析

笔者前期研究表明<sup>[6]</sup>,菜籽浆经复合细胞壁多糖酶水解后可以释放出90%以上的油,但这些油均以乳化状态存在,造成这种现象的原因是湿磨过程中菜籽中的蛋白质和磷脂易引起乳化,另外菜籽细胞中油小体表面也被一层蛋白膜所包裹,使得油小体不易聚集。因此,希望引入蛋白酶水解蛋白以破乳获取清油。首先尝试了将酸性蛋白酶和细胞壁多糖酶同时加入,结果发现仍无清油析出,可能是因为酸性条件下,蛋白质所带的净负电荷少,界面膜中蛋白质分子间的排斥作用较小,蛋白质分子不易脱吸,因此膜具有一定的粘弹性和强度<sup>[17]</sup>,乳状层稳定,使得蛋白酶的水解作用减弱。所以,在菜籽细胞壁经多糖酶水解后,将体系升温,并将pH值调至碱性保温一段时间。碱提目的有两个:一是降低乳状层的稳定性,以利于蛋白酶的作用;二是高pH值更有利于菜籽蛋白质的提取<sup>[18]</sup>。

### 2.1 蛋白质水解度对清油提取率的影响

蛋白质被水解后其乳化能力将有所改变<sup>[19]</sup>,改变的情况与水解程度有直接关系。如图2所示,当水解度低于10%时,体系无清油释放,而乳化油提取率与未水解相比有轻微提高,这说明低水解度蛋白质经有限水解后,疏水集团部分暴露导致乳化能力反而略有提高。当水解度超过10%时,乳化油急剧减少,同时有清油析出,且清油提取率随着水解度的增加而增加。这种现象表明蛋白质经高度水解后,分子显著变小,某些极小的分子不足以提供双亲集团,因而从油水界面上脱吸,导致原先被其乳化的油脂释放。所以,为了获得清油,必须高度水解蛋白质。

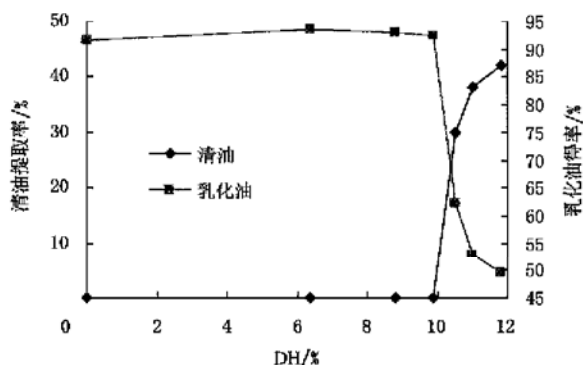


图2 水解度对清油和乳化油提取率的影响

Fig. 2 Effects of degree of protein hydrolysis on the extraction rates of free oil and emulsified oil

### 2.2 Alcalase2.4 L 加酶量对清油及水解蛋白提取率的影响

由图3可以看出,加酶量对清油和水解蛋白提取率

影响显著。在低加酶量范围( $< 0.5\%$ ),清油和水解蛋白提取率随着酶量的增加几乎呈线性增加;超过 $0.5\%$ 时,增长速度减慢;加酶量为 $1.5\%$ 时,清油和水解蛋白提取率达到或接近最大,分别为 $74.5\%$ 和 $77.2\%$ 。水酶法提油工艺中酶的价格是必须考虑的一个经济因素,应该在获得满意的清油和蛋白质提取率的前提下,尽量选择较少的加酶量,因此,最终选择Alcalase2.4 L的加酶量为 $1.5\%$ 。

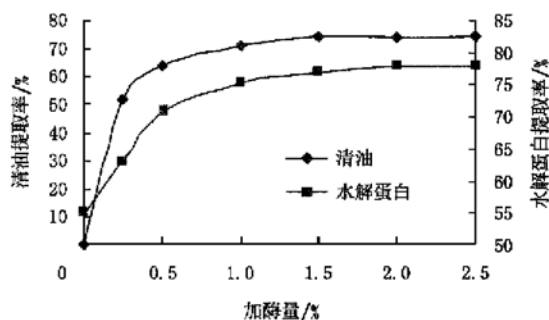


图3 加酶量对清油和水解蛋白提取率的影响  
(酶解时间:120 min)

Fig. 3 Effects of enzyme concentration on the extraction rates of free oil and protein hydrolysates  
(enzyme hydrolysis time is 120 min)

### 2.3 Alcalase2.4 L 酶解时间对清油和水解蛋白提取率及水解度的影响

从图4和图5可知,酶解的前30 min,清油和水解蛋白提取率及水解度的增加非常迅速,在30 min后才趋于平缓;在90 min左右时,清油提取率即达到最大( $74.9\%$ )而后不再增加,此时蛋白质的水解度为 $18.4\%$ ;水解蛋白提取率和水解度在酶解90 min后随时间延长仍有显著增加,直到180 min左右时,两者达到或接近最高(分别为 $82.1\%$ 和 $21.2\%$ )。这种现象符

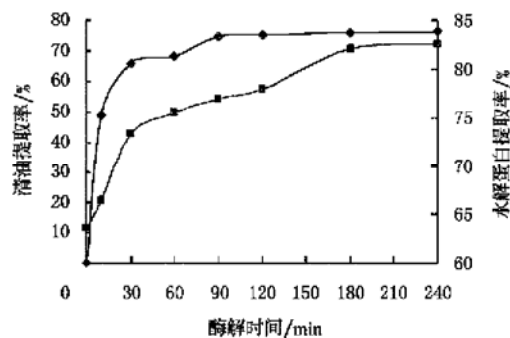


图4 酶解时间对清油和水解蛋白提取率的影响  
(加酶量:1.5%)

Fig. 4 Effects of enzyme hydrolysis time on the extraction rates of free oil and protein hydrolysates (enzyme concentration is 1.5%)

合酶解过程的一般规律,即酶解反应初期体现为过量底物存在下的零级反应期,产物得率上升很快,随着时间延长,酶解反应速度逐渐变小直至为零,原因有底物浓度下降产物浓度增加,产物抑制以及酶变性失活等。本研究目的是最大程度地同时回收菜籽清油和水解蛋白,因此选择 180 min 为蛋白酶的酶解时间。

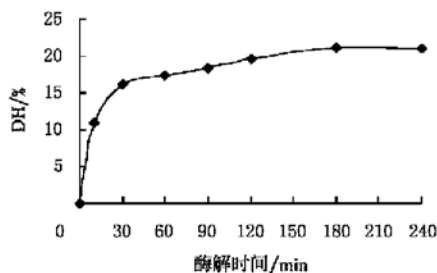


图 5 酶解时间对水解度的影响

Fig. 5 Effect of enzyme hydrolysis time on degree of protein hydrolysis

至此,细胞壁多糖酶水解-碱提-蛋白酶水解三个阶段的工艺参数均已确定,在优化的工艺条件下进行三次扩大试验(8 倍),结果清油提取率范围为 78%~80%,水解蛋白提取率范围为 80%~83%。与小试相比(100 g 原料),扩大试验中清油提取率提高了 3%~5%,这应归功于扩大试验使工艺过程中油的损失(如沾在反应器和离心杯的壁上)对油实际提取率的影响减小。离心后得到的湿渣含油约占原料含油量的 12%,含蛋白约占原料含蛋白量的 16%。渣的上层含较多的残油和蛋白质而下层主要是细胞碎片和未脱尽的黑色菜籽皮壳。经过一次洗渣后(在优化的工艺条件下),可回收乳化油约 10%,水解蛋白约 13%。因此,将水解液和水洗液合并后,总水解蛋白提取率为 93%~95%。将酶解工艺和洗渣过程得到的乳化油合并后,总乳化油提取率约为 14%,为了获得更高的清油提取率,必须将这部分乳状液破乳。

## 2.4 乳状液的破乳

在实际酶反应中并非所有的蛋白质按相同的方式同时发生降解,其反应机制可用 one-by-one 模式来解

释,即蛋白质分子一个接一个发生降解,而且降解后的短肽由于肽键的暴露更易为酶作用,使反应体系中总有较小的肽和较大分子的蛋白质<sup>[20]</sup>,而这部分蛋白质依然有一定的乳化能力,所以菜籽浆酶解离心后仍发现有较薄的乳状层(搅拌速度快会增加乳状层的厚度)存在于油层和水层之间。但此乳状液(包括洗渣回收的乳状液)和未经蛋白酶水解得到的乳状液相比,因蛋白质分子减小其稳定性已明显降低,因此可尝试通过高速离心破乳获得清油。乳状液本身是热力学不稳定体系,因此乳状液放置一天后再离心将有利于破乳。图 6 表明,随着离心速度的增加,破乳率也随之增加。当离心速度为 10000 r/min 时,破乳率最高为 55.6%。将此时剩余乳状液再进行冷冻-解冻破乳,破乳率为 45.2%,所以两次破乳后总破乳率约为 75%,可以获得约 10% 的清油,总清油提取率可达到 88%~90%。

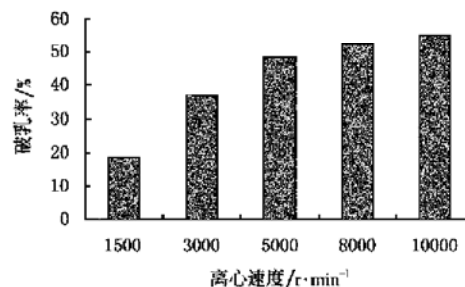


图 6 离心速度对破乳率的影响

Fig. 6 Effect of centrifugation speed on demulsification

## 2.5 油的品质

实验室两种提取方式获得的油的主要理化指标比较见表 1。和溶剂萃取油相比,水酶法提取油的酸价偏高,这可能是由于在沸水加热初期,没有立即失活的菜籽内源脂肪酶作用油脂所致。由于菜籽油容易氧化,所以过氧化值的测定应在提取结束后立即进行。由表 1 可知,水酶法提取油的过氧化值要明显低于溶剂萃取油的,这很可能与水酶法工艺中同时产生的菜籽肽具有一定抗氧化性有关。另外,水酶法提取油的色泽略深,两种油的皂化价和碘价非常接近。

表 1 溶剂萃取油和水酶法提取油的理化特性

Table 1 Physico-chemical characteristics of solvent-extracted and enzyme-extracted oils

	酸价	色泽		皂化价	碘价	过氧化值
	/mgKOH · g <sup>-1</sup> 油	黄	红	/mgKOH · g <sup>-1</sup> 油	/gI · (100 g) <sup>-1</sup> 油	/meq · kg <sup>-1</sup> 油
溶剂萃取油	2.9 ± 0.3a	35	5.5 ± 0.3a	193.7 ± 2.4a	101.4 ± 3.0a	1.1 ± 0.4a
水酶法提取油	5.4 ± 0.1b	35	6.2 ± 0.3b	192.5 ± 2.8a	101.5 ± 4.1a	0.3 ± 0.1b

注:每列中数据上标字母相同表示两者差异不显著( $p > 0.05$ ),字母不同表示差异显著( $p < 0.05$ )。

由表2可知,两种提取方式获得的油的脂肪酸组成接近(水酶法的油酸含量略高),总不饱和脂肪酸含量占90%左右,和常规菜籽油的高芥酸含量(40%~50%)相比,中双10号菜籽油的芥酸含量已降至1%左右,其脂肪酸组成与加拿大生产的卡诺拉(Canola)油十分接近。卡诺拉油在营养特性方面被认为比高芥酸菜籽油有很大改善,在美国被公认的安全法规所接受,其特征是低含量的饱和脂肪酸(棕榈酸低于4%)和相对高含量的油酸(60%)与 $\alpha$ -亚麻酸(10%),并且在亚麻酸和亚油酸含量方面有着良好的平衡(即18:3/18:2为1:2)。不饱和脂肪酸可以有效地降低总血浆和低密度脂蛋白(LDL)胆固醇<sup>[21]</sup>。

表2 溶剂萃取油和水酶法提取油的脂肪酸组成  
Table 2 Fatty acid composition of solvent-extracted and enzyme-extracted oils

脂肪酸	溶剂萃取油	水酶法提取油
棕榈酸(C <sub>16:0</sub> )	4.88	3.79
硬脂酸(C <sub>18:0</sub> )	1.90	1.42
油酸(C <sub>18:1</sub> )	63.14	67.33
亚油酸(C <sub>18:2</sub> )	16.05	15.27
二十碳一烯酸(C <sub>20:1</sub> )	1.48	1.20
亚麻酸(C <sub>18:3</sub> )	7.88	6.08
芥酸(C <sub>22:1</sub> )	1.02	0.83

## 2.6 水解蛋白液的大孔吸附树脂纯化

水酶法工艺的最大优势是提取油脂同时能够回收可观的菜籽水解蛋白。经过高压液相排阻色谱测定,水解蛋白分子量小于1500的组分约占96%,其中小于600的约占87%,由此可推测水解蛋白主要由2~3肽组成。由于工艺中引入了细胞壁多糖酶,以及使用酸碱调节体系pH值,使水解蛋白液中含有大量的糖类、盐类,另外还有部分抗营养因子溶于其中。所以,必须采取适当的手段纯化水解蛋白液。近年来,大孔吸附树脂DA201-C已被应用于纯化小肽类产品,效果良好<sup>[16,22]</sup>。其基本原理是:上样后先用蒸馏水洗脱,水解液中的小肽具有一定的疏水性,易被树脂吸附,而糖类、盐类及一些抗营养因子因吸附能力差易被水洗脱下来;然后再用一定浓度的乙醇溶液(破坏疏水作用)将已吸附的小肽洗脱下来。

使用大孔树脂需要注意的一个关键问题是水洗阶段肽的流失。试验发现,使用不同pH值的蒸馏水洗脱,肽的流失情况差别很大。如表3所示,pH值为4时,动态吸附率和蛋白回收率均最大,得到的菜籽肽中的蛋白质含量也最高。分析认为,水洗pH值在蛋白质等电点附近时,体系中肽分子所带净电荷少,分子间的排斥作用较小,所以不易被水洗脱,但同时发现此时肽分子可

能有部分不溶,会在柱顶部形成少量絮状沉淀。另外,在pH值较低时,植酸的溶解度高<sup>[23]</sup>,易被水洗脱。因此,上样前将水解液和洗脱用蒸馏水的pH值调至4。图7表明,水只能洗脱除去水解液中大部分的糖类,还有部分糖和肽一起被85%乙醇洗脱下来。由此可以推测菜籽肽中很有可能含有糖肽,曾晓波的研究中也提到这一点<sup>[8]</sup>,这需要在菜籽肽得到进一步纯化后方能确认。

表3 pH值对大孔吸附树脂纯化水解蛋白液效果的影响  
Table 3 Effects of pH value on the purification of protein hydrolysates by macroporous adsorption resin

水洗脱 pH值	动态吸附率 /%	蛋白回收率 /%	菜籽肽(干基)/%	
			蛋白质	总糖
3	63.3±2.1	58.5±1.8	66.19±1.12	6.34±0.34
4	88.4±1.8	66.7±0.8	73.51±0.72	8.72±0.74
5	88.0±2.1	63.1±1.6	73.46±1.35	9.24±0.48
6	67.9±4.1	50.5±1.0	67.98±0.94	9.40±0.71
7	71.8±2.5	41.1±2.1	61.58±1.89	9.21±0.30

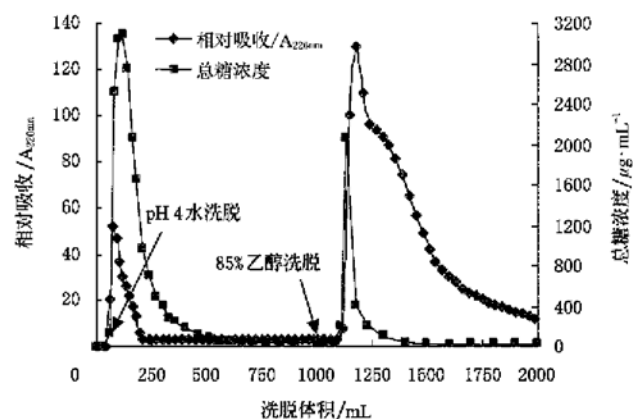


图7 糖和肽的大孔吸附树脂洗脱图谱

Fig. 7 Elution profile of sugar and peptide by macroporous adsorption resin

由表4可知,和原料(含硫苷3.78 mg/g,含植酸3.66%,均以无油干基计)相比,酶解工艺得到的菜籽蛋白水解物中抗营养成分硫苷和植酸的含量已大幅降低。经过大孔树脂处理后,菜籽肽中糖和灰分含量显著降低,蛋白质含量则显著提高,硫苷和植酸均未检出。

表4 大孔吸附树脂处理前后蛋白水解物的组成

Table 4 Typical composition of protein hydrolysates before and after treatment by macroporous adsorption resin

	蛋白质 /%	总糖 /%	灰分 /%	硫苷 /mg·g <sup>-1</sup>	植酸 /%
菜籽蛋白水解物	47.04±0.62	19.75±2.33	9.17±0.38	0.21±0.04	0.40±0.06
菜籽肽(经过树脂处理)	73.51±1.43	8.72±0.74	1.02±0.10	—	—

### 3 结 论

1) 经过复合细胞壁多糖酶(浓度 3% (v/w), pH 5.0, 48℃, 5 h) 和 Alcalase 2.4 L (浓度 1.5% (v/w), 初始 pH 9.0, 60℃, 3 h) 酶解菜籽浆、洗渣和破乳后, 总菜籽清油提取率为 88%~90%, 总水解蛋白提取率为 93%~95%;

2) 和溶剂萃取油相比, 水酶法提取油的酸价偏高, 颜色略深, 但过氧化值低, 两者皂化价, 碘价和脂肪酸组成均接近;

3) 菜籽水解蛋白中分子量小于 1500 的组分约占 96%, 其中小于 600 的约占 81%。通过大孔吸附树脂纯化可以显著提高菜籽肽中蛋白质含量, 脱去硫苷和植酸。

#### [参 考 文 献]

- [1] FAO/WHO/UNU. Agricultural bulletin board on data collection, dissemination and quality of statistics [R]. Geneva, World Health Organization, 2002.
- [2] Jensen S K, Olsen H S, Sorensen H. Aqueous enzymatic processing of rapeseed for production of high quality products [A]. Canola and rapeseed: production, chemistry, nutrition and processing technology [M]. Shahidi F, Van Nostrand Reinhold, New York, 1990: 331–344.
- [3] 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.
- [4] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction [J]. Enzyme Microb Technol, 1996, 19: 402–420.
- [5] Dominguez H, Nunez M J, Lema J M. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: A Review [J]. Food Chem, 1994, 49: 271–286.
- [6] 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.
- [7] Olsen H A S. Method of producing soy protein hydrolysate from fat-containing soy material, and soy protein Hydrolysate [P]. U.S. Patent: 4324805, 1981.
- [8] 曾晓波. 菜籽浓缩蛋白的制取及菜籽肽生物活性的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2002.
- [9] Yust M M, Pedroche J, Megias C, et al. Rapeseed protein hydrolysates: a source of HIV protease peptide inhibitors [J]. Food Chem, 2004, 87: 387–392.
- [10] Vioque J, Vioque R S, Clemente A, et al. Production and characterization of an extensive rapeseed protein hydrolysate [J]. J Am Oil Chem Soc, 1999, 76: 819–823.
- [11] Dubois M K A Gilles, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Anal Chem, 1956, 28: 350–356.
- [12] Doi E, Shibata D, Matoba T. Modified colorimetric ninhydrin method for peptidase assay [J]. Anal Biochem, 1981, 118: 173–184.
- [13] 王肇慈. 粮油食品品质分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [14] 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.
- [15] 王永真, 崔淑文, 吴秀琴, 等. 饲料和谷物中植酸磷测定方法研究 [J]. 中国饲料, 1991, (6): 28–31.
- [16] 王瑛瑶. 水酶法从花生中提取油与水解蛋白的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [17] 管军军, 裘爱泳, 周瑞宝. pH 值对大豆蛋白稳定油/水乳状液的影响及其破坏动力学 [J]. 粮油加工与食品机械, 2003, (7): 43–45.
- [18] Xu L, Diosady L L. The production of chinese rapeseed protein isolates by membrane processing [J]. J Am Oil Chem Soc, 1994, 71: 935–939.
- [19] Smith D M, Brekke C J. Functional properties of enzymatically modified beef heart protein [J]. J Food Sci, 1984, 49: 1525–1528.
- [20] 王 璋, 许时婴, 林 岚, 等. 酶法从全酯大豆中同时制备大豆油和大豆水解蛋白工艺的研究 [J]. 无锡轻工业学院学报, 1994, 13(3): 179–191.
- [21] Hui Y H. 徐生庚, 裘爱泳 (译). 贝雷: 油脂化学与工艺学 (第 5 版, 第 2 卷) [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [22] 程云辉, 王 璋, 许时婴. 大孔吸附树脂对麦胚肽的吸附特性研究 [J]. 食品与机械, 2005, 21(6): 7–12.
- [23] 郭兴凤, 周瑞宝, 汤 坚, 等. 菜籽蛋白的制备 [J]. 郑州工程学院学报, 2001, 22(1): 60–62.

## Aqueous enzymatic extraction technology of oil and protein hydrolysates from rapeseed

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

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

**Abstract:** To obtain rapeseed free oil and protein hydrolysates simultaneously, wet-milled rapeseed slurry was treated with complex cell-wall polysaccharides degrading enzymes and Alcalase 2.4 L sequentially. Results show that the total extraction rates of free oil and protein hydrolysates are 88% ~ 90% and 93% ~ 95%, respectively, after combination of optimized enzyme hydrolysis (complex cell-wall polysaccharides degrading enzymes: enzyme concentration 3% (v/w), pH 5.0, 48°C, 5 h; Alcalase 2.4 L: enzyme concentration 1.5% (v/w), initial pH 9.0, 60°C, 3 h), washing and demulsification steps. Compared with solvent-extracted oil, the content of free fatty acid of enzyme-extracted oil is higher while the peroxide value is lower. The color of enzyme-extracted oil is slightly darker than that of solvent-extracted oil. The iodine value, saponification value and fatty acid composition between them are similar. Protein hydrolysates are composed of about 96% of peptides less than 1500 Da, of which about 87% are less than 600 Da. Protein hydrolysates are purified by macroporous adsorption resin. The sugar and ash contents of protein hydrolysates are significantly reduced and no glucosinolates and phytic acid are detected after purification.

**Key words:** aqueous enzymatic extraction; rapeseed; rapeseed oil; rapeseed protein hydrolysates; oil quality; macroporous adsorption resin