

## 酶法水相提取大豆油难点的解决方法

钱俊青,何国庆

(浙江大学食品系,杭州 310029)

**摘要:**大豆含油量较低,酶法水相提油困难。为提高得率而加大酶用量,则成本高,无法应用。本研究以水浸提大豆含油蛋白,最适条件下96%大豆油随蛋白进入水提液,少量蛋白酶降解水提液中的大豆蛋白,使部分大豆油释放,再离心分离,释放的部分大豆油被分离出的蛋白吸附,得到高含油量大豆蛋白,通过优化工艺条件,蛋白含油量达40.5%,总油脂分离得率达93.4%。高含油量的大豆蛋白则可按已有的适用于高含油量油料的水提法进行提油,解决了大豆油酶法水提的难点。

**关键词:**水相提取;大豆油;酶

**中图分类号:**S565.1;TS224.4 **文献标识码:**A **文章编号:**0578-1752(2001)02-0192-05

## The Method for Overcoming the Difficulty in Enzymatic Aqueous Extraction Soybean Oil

QAN Jun-qing, HE Guo-qing

(Food Department, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

**Abstract:** Owing to the low oil content of soybean, enzymatic aqueous extraction of soybean oil is difficult. In order to increase yield, large amount of enzyme is added, thus the cost is too high by using the technology of oil extraction. In this paper, the oil containing protein soybean is extracted by water, 96% of soybean oil in aqueous solution with protein at optimum technological conditions. The soybean protein in the aqueous solution is hydrolyzed by using a little protease, then a part of soybean oil is released. The high oil content protein which is absorbed by released oil is separated by centrifugation, the oil content of separated protein is 40.5%, the total oil yield reached 93.4% by optimizing separation technology. The high oil-containing soybean protein is extracted according to original aqueous extraction method which is suited for high oil content oilseed, the difficulty of enzymatic aqueous extraction soybean oil can be solved.

**Key words:** Aqueous extraction; Soybean oil; Enzyme

水相提取植物油虽然得率较传统的压榨法和溶剂浸出法低,但最大的优点是提油后的蛋白变性程度低,十分有利于再加工。因而应用于无毒油料,如花生、大豆,可同时得到油脂和食用蛋白。为提高水提法的得油率,国内外许多学者将酶运用于提取工艺,通过酶解使油料蛋白释放油脂,再破乳化从水相中分得植物油<sup>[1~3]</sup>。但该方法不仅要采用纤维素酶、果胶酶、P-葡聚糖酶等昂贵酶种,而且应用于大豆、胚芽等低含油量油料的提取,得油率较低,要使得油

率达60%以上,则酶的用量必须大于7000单位/g油料<sup>[4,5]</sup>,如此用量的食用级酶,成本较高,应用困难。为降低工艺成本,并提高低含油量油料的提油率,本研究以大豆为样品不使用昂贵酶而以水充分浸提大豆含油蛋白,探索了在水提乳液中进行蛋白部分酶解,使部分油脂释放,再分离分子量较大的蛋白质,这部分蛋白吸附已释放的油脂而成为高含油蛋白,最适宜条件下蛋白含油量达40.5%,高含油蛋白再按Rhee的水分提法提油<sup>[6]</sup>,总得油率可达

收稿日期:2000-05-28

基金项目:浙江省教育厅科技项目(1997第22号)

作者简介:钱俊青(1964-),男,浙江绍兴人,副教授,博士,主要从事农产品深加工研究。Tel:0571-8320387; Fax:0571-8320137; E-mail: beoff@zjut.edu.cn

63%,而食用级蛋白酶的用量仅为150单位/g大豆,有望大规模应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大豆,市售,水分含量为12.27%,油脂含量为17.15%,粗蛋白含量为39.15%。1398中性蛋白酶(食用级),酶活力为12.5万单位/g,无锡市酶制剂厂生产。

### 1.2 实验方法

1.2.1 大豆含油蛋白水提取 大豆粗粉碎,加水调固液比,控制介质pH值,于水浴保温搅拌;水磨至要求细度,1400g离心15min分离固形物,得到提取液。以油提取率考察工艺条件。

1.2.2 酶法富集油脂并分离高含油蛋白 大豆含油蛋白水提液调pH值,固液比,加中性蛋白酶,控制酶解时间,调pH使酶失活,离心15min分离得高含油蛋白,以蛋白含油量占原料总含油量的高低来确定工艺条件。

1.2.3 分析方法 水分测定用重量法<sup>[7]</sup>;油脂含量测定用折光法<sup>[8]</sup>,索氏提取法<sup>[7]</sup>;粗蛋白测定用凯氏定氮法<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 大豆含油蛋白水提取工艺的确定

按试验方法,大豆粗碎至20目以上,浸泡水磨

提取后,测离心分离得到的固形物含油量,以计提取率。首先试验了介质pH值及电解质含量对提取率的影响。结果如表1、表2所示。

表1 介质pH值对水提取的影响<sup>1)</sup>

pH值	pH value	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0
提取率(%)	Extraction rate	88.4	90.7	92.0	93.1	95.3	95.3

<sup>1)</sup> 1:6固液比,水磨至100目,60℃提取4h

Solid to liquid ratio 1:6, solid ground to 100 mesh, temperature 60℃ for 4 hours

表2 水中电解质对提取的影响<sup>1)</sup>

	NaCl 浓度			CaCl <sub>2</sub> 浓度		
	Consistence(w/v)			Consistence(w/v)		
	0.0	5.0	10.0	0.0	2.5	5.0
提取率(%)	95.3	93.1	91.5	95.3	87.2	89.4
Extraction rate						

<sup>1)</sup> 1:6固液比,水磨至100目,pH为11,60℃提取4h

Solid to liquid 1:6, solid ground to 100 mesh, pH11, 60℃ for 4 hours

由表1、表2可知,介质pH值偏碱有利于提取,而水中加入电解质则不利于提取。

在上述试验的基础上,选定介质pH值,固液比,水磨细度,提取温度及时间为影响因素,开展含油蛋白水提取工艺L<sub>16</sub>(4<sup>3</sup>)正交试验,考虑到较大固

表3 含油蛋白水提取工艺正交试验<sup>1)</sup>

Table 3 Technological orthogonal test of extraction containing oil protein by water

试验号	水磨目数(A)	温度(℃)(B)	时间(h)(C)	pH值(D)	固液比(E)	提取率(%)
Test No.	Grinding degree/mesh	Temperature	Time	pH Value	Solid to liquid ratio	Extraction rate
1	60	45	3	10	1:7	93.8
2	100	65	1	10	1:6	94.0
3	80	65	3	11	1:8	94.6
4	120	45	1	11	1:5	97.1
5	60	55	1	12	1:8	88.6
6	100	35	3	12	1:5	94.7
7	80	35	1	9	1:7	91.3
8	120	55	3	9	1:6	94.1
9	60	35	4	11	1:6	89.4
10	100	55	2	11	1:7	91.8
11	80	55	4	10	1:5	91.6
12	120	35	2	10	1:8	95.5
13	60	65	2	9	1:5	89.6
14	100	45	4	9	1:8	90.9
15	80	45	2	12	1:6	91.1
16	120	65	4	12	1:7	88.1
R <sub>1</sub>	90.4	92.7	92.8	91.5	93.3	
R <sub>2</sub>	92.1	93.3	92.0	93.7	92.1	
R <sub>3</sub>	93.9	91.5	94.3	93.2	91.2	
R <sub>4</sub>	93.7	91.6	90.0	90.6	92.4	
R	3.3	1.7	4.3	3.1	2.1	

<sup>1)</sup> 主次因素 C→A→D→E→B Order of factors C→A→D→E→B

表 4 含油蛋白水提取工艺正交试验方差分析

Table 4 Analysis of variance components of aqueous extracting oil-contained protein test

方差来源 Source of variance	离差平方和 Sum of dispersion	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	显著性 Significance
A	808	3	69	**
B	46.1	3	3.9	*
C	75.4	3	6.4	*
E	27.9	3	2.4	
D 误差 Error	11.7	3		

$$F_{0.1}(3,3)=5.39, F_{0.05}(3,3)=9.28$$

液比,较高细度与温度均增加能耗,故在满足提取的前提下,水平设定适度偏小。试验结果如表 3 所示。

由表 3 可知,在正交试验设定范围内,提取时间以 3h 最理想,水磨细度在 100 目以上为佳,介质 pH 值应控制为 10,固液比与提取温度可确定为 1:5 与 45℃。由表 4 方差分析可知,水磨细度为高度显著因素,必须控制在 100 目以上,水提时间与温度为显著因素,而固液比与介质 pH 值不显著。根据上述选定的工艺条件,大豆水磨至 100 目以上,以 1:5 固液比,调 pH 为 10,在 45℃ 时浸提 3h,每次 500g 大豆试验,3 次平均提取率为 96.1%。

## 2.2 酶法富集油脂的工艺确定

无论是传统的水提法还是当前研究的酶解水提法,均适合于高含油量的油料,对低含油量的油料不仅提取率较低,而且提取成本偏高。按文献方法从大豆含油蛋白水提液中分提油脂,需用大量的酶将蛋白降解为水溶的短肽而释放出油,要使提油率大于 60%,需酶解二次,总用酶量在 7000 单位/g 大豆以上,而降解的大豆蛋白乳化性更好<sup>[9]</sup>,使破乳化提

油更困难。然而,蛋白质的酶解是按 one-by-one 模式进行的<sup>[10]</sup>,当其部分降解释放出油分子后,离心分离肽链较长的蛋白质,则这部分蛋白质还将吸附刚释放的油分子,从而得到高含油蛋白。蛋白含油量较高,且部分油脂是吸附状的,又去除了短链的蛋白质,大大减轻了乳化,对后道提油十分有利,而且酶用量也明显减少,可较好解决酶法水相提取大豆油的难点。首先试验了酶用量对油脂富集效果的影响,试验结果如表 5 所示。

表 5 酶用量对富集油脂的影响<sup>1)</sup>

Table 5 Amount of enzyme influence on the oil enrichment

酶用量/底物量(%) (w/w')	0.05	0.08	0.10	0.12	0.20
Enzyme corn./Substrate corn.					
分离蛋白含油率(%)	27.5	29.1	32.0	33.4	33.3
Protein oil containing rate					

<sup>1)</sup> 含油蛋白水提液调 pH7.0, 32℃ 酶解 1h, 调 pH 至 5.0 使酶失活, 1400g 离心分离  
pH7.0, 32℃, enzymatic hydrolysis 1 h, pH5.0 centrifuged at 1400g

由表 5 可知,酶法富集油脂与酶解释放油脂有较大的区别,对于酶法富集,酶用量不必较大。根据中性蛋白酶最宜反应条件,固定介质 pH 值为 7.0,对反应温度,时间,固液比及酶用量作 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验,根据表 5 的结果,适当减少酶量,延长酶促反应时间,固液比在水提时 1:5 的基础上进一步探索,酶解结束调介质 pH 为 5.0 使酶失活,考察 1400g 离心所得蛋白的含油率及油的总富集率,以油的总富集率为试验响应指标。正交试验结果如表 6 所示。

由表 6 方差分析可知,反应体系中的固形物浓

表 6 酶法富集油脂正交试验

Table 6 Orthogonal test of enzymatic oil enrichment

试验号 Test No.	固液比(A) Solid to liquid	温度(°C)(B) Temperature	酶量/底物量(%) (C) Enzyme/substrate	时间(min)(D) Time	分离得固形物干重 <sup>1)</sup> (g) Weight of dry solid by centrifuge	含油率(%) Oil contain rate	总富集率(%) Oil rate enrichment
1	1:6	30	0.12	30	38.0	33.4	73.8
2	1:6	35	0.08	60	38.5	29.8	66.7
3	1:6	40	0.04	90	38.9	25.6	57.9
4	1:7	30	0.08	90	38.2	36.4	80.8
5	1:7	35	0.04	30	38.4	37.1	82.8
6	1:7	40	0.12	60	38.3	35.7	79.5
7	1:8	30	0.04	60	38.2	31.4	69.7
8	1:8	35	0.12	90	38.5	37.0	82.8
9	1:8	40	0.08	30	37.7	36.2	79.4
R <sub>1</sub>	66.1	74.8	78.7	78.7			
R <sub>2</sub>	81.0	77.4	75.6	72.0			
R <sub>3</sub>	77.3	72.3	70.1	73.8			
R	14.9	5.1	8.6	6.7			

<sup>1)</sup> 每 100g 大豆粉分离所得固形物干重。因素主次: A→C→D→B Dry solid separation from 100g soybean. Order of factors A→C→D→B

表 7 酶法富集油脂正交试验方差分析

Table 7 Analysis of variance components of orthogonal test of enzymatic oil enrichment

方差来源 Source of variance	离差平方和 Sum of dispersion	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	显著性 Significance
A	331	2	6.1	*
C	83.9	2	1.6	
D	87.1	2	1.6	
B 误差 Error	54.0	2		

$$F_{0.1}(2,2)=9.0, F_{0.05}(2,2)=19.0$$

度对酶法富集油脂影响最大,以 1:7 固液比为佳,此时固形物浓度为 10.8%。酶用量 0.12%(w/w')为好,但用量 0.08%时,富集率仅差 3%左右,考虑生产成本。可适度减少酶用量。酶解温度应控制为 35℃,时间 30min 左右。由表 7 方差分析可知,试验范围内体系的固液比为显著因素,其余三项不显著。在上述确定的工艺条件下,即 pH7.0,1:7 固液比,0.12%酶用量,35℃酶解 30min,1400g 离心分离高

含油蛋白,油的总富集率为 85.1%。

富集部分大豆油分离得高含油蛋白是一较复杂的油脂传递过程,除已试验的工艺条件外,大豆初粉碎度将影响浸泡程度,从而影响水提时油脂在乳液中的分布,最终影响富集过程油脂的传递。酶解介质 pH 值对蛋白降解直接相关,因而也同样关系到油脂的释放与富集。而酶解结束,分离高含油蛋白时的介质 pH,也就是使酶远离最适状况而失活所控制的介质 pH,以及离心分离的转速,则与富集效果密切相关。为此,从初粉碎的大豆开始,关联水提与富集两道工艺,选择上述因素开展  $L_9(3^4)$  正交试验,以高含油蛋白总富集率为考察指标,结果如表 8 所示。

由表 8 和表 9 的方差分析可知,大豆初粉碎目数对水提及富集分离油脂影响呈高度显著性,以 40~60 目为最佳,酶解时的 pH 值为显著因素,故酶法富集时,酶解介质 pH 值应控制在 7.5,酶失活并离心分离的 pH 值在试验范围内影响很小,不显著,确定为 5.0,离心转速在 780g 以上对油脂富集影响不

表 8 水提与酶法富集工艺关联正交试验<sup>1)</sup>

Table 8 Relative orthogonal test of technology of extraction by water and enzymatic oil enrichment

试验号 Test No.	初碎目数(A) Crush mesh	酶解 pH(B) pH of enzymatic hydrolysis	酶失活 pH(C) pH of enzymatic denaturation	离心转速(g)(D) Centrifugation rate	油总富集率(%) Total oil enrichment rate
1	80~60	6.5	3.4	780	53.4
2	80~60	7.0	4.2	1200	64.4
3	80~60	7.5	5.0	1680	67.9
4	60~40	6.5	4.2	1680	82.0
5	60~40	7.0	5.0	780	91.1
6	60~40	7.5	3.4	1200	93.5
7	40~20	6.5	5.0	1200	70.2
8	40~20	7.0	3.4	1680	80.9
9	40~20	7.5	4.2	780	80.8
R <sub>1</sub>	61.9	68.5	75.9	75.1	
R <sub>2</sub>	88.9	78.8	75.7	76.0	
R <sub>3</sub>	77.3	80.7	76.4	76.9	
R	27.0	12.2	0.8	1.8	

<sup>1)</sup> 水磨至 120 目,调 1:7 固液比,0.12%(w/w')酶用量,35℃酶解 30min,因素主次: A→B→D→C

Grinding to 120 mesh, solid to liquid ratio 1:7, enzyme amount 0.12%(w/w'), 35℃ for 30min. Order of factors A→B→D→C

表 9 水提与酶法富集工艺关联正交试验方差分析

Table 9 Analysis of variance components of relative orthogonal test of extraction by water and enzymatic oil enrichment

方差来源 Source of variance	离差平方和 Sum of dispersion	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	显著性 Significance
A	1116	2	43.7	**
B	228	2	8.9	*
C	29.6	2	1.2	
D 误差 Error	25.5	2		

$$F_{0.1}(2,2)=9.0, F_{0.05}(2,2)=19.0$$

大,确定为 1400g。

在试验选定的各项工艺条件下,即大豆初粉碎至 40~60 目,以 1:5 固液比,在 pH 为 10,45℃水中浸泡 3h,水磨至 100 目以上,调固液比至 1:7,介质 pH 至 7.5,以 0.12%(酶量/底物量)的酶在 35℃水解 0.5h,将介质 pH 调至 5.0,于 1400g 离心 15min。每次 500g 大豆,试验 3 次,分离得蛋白含量平均为 40.5%,油总富集率平均为 93.4%。

将高含油大豆蛋白按文献<sup>[6]</sup>Rhee 报道的水分提法在 1:1.5(w/w')水中分散,加热至 60℃,调

pH 值至 4.2, 趁热离心, 上清液于室温下机械高速剪切破乳化, 2800g 离心可得油相, 真空脱去水分。油脂从高含油蛋白出发的提取率为 67.6%。从大豆出发计, 油脂总提取率为 63.1%。而提油后的大豆蛋白仍可作为食品原料。

#### References:

- [1] Kwaku T D, Yoshiyuki O. Enzyme-assisted aqueous extraction of shea fat: a rural approach [J]. AOCS, 1995, 72(2): 251-255.
- [2] Che Man Y B, Suhardiyono, Asbi A B, et al. Aqueous enzymatic extraction of coconut oil [J]. AOCS, 1996, 73(6): 683-686.
- [3] Sengupta R, Bhattacharyya D K. Enzymatic extraction of mustard seed and rice bran [J]. AOCS, 1996, 73(6): 687-692.
- [4] Wang Z, Xu S Y, Lin L, et al. Study on the enzymatic process of simultaneously preparing soy oil and soy protein hydrolysate from full fat soybean [J]. J. Wuxi Institute of Light Industry, 1994, 13 (3): 179-190. (in Chinese)
- 王 璋, 许时婴, 林 岚, 等. 酶法从全脂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): 179-190.
- [5] Alder-Nissen, Jens Lorenz. Preparation of Polypeptides from Soy Protein [M]. U. S. Patent 4100024, 1978.
- [6] Rhee K C. Simultaneous recovery of protein and oil from raw peanuts in an aqueous system. [J]. Food Sci. 1972, 37: 90-93.
- [7] WLII (Wuxi Light Industry Institute), Food Analysis [M]. Beijing: Light Industry Publishing House, 1986: 35-47. (in Chinese)  
无锡轻工业学院编. 食品分析 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1986: 35-47.
- [8] AOAC. Official Methods of Analysis [M]. 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D C. 1990.
- [9] Shu Z. The improvement of enzymatic hydrolysis on the emulsion ability of SPI [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 1992, 7(3): 39-43. (in Chinese)  
舒 展. 应用酶促水解改进大豆分离蛋白的乳化性 [J]. 中国粮油学报, 1992, 7(3): 39-43.
- [10] Alder N J. Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility [J]. Agric. Food Chem. 1976, 24: 1090-1094.