

油茶籽仁中油脂的水酶法提取研究

方学智^{1,2}, 王开良¹, 姚小华¹, 王亚萍¹

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 浙江大学生物化学研究所, 浙江 杭州 310029)

关键词: 油茶; 水酶法提取; 油茶籽

中图分类号: S794.4

文献标识码: A

Aqueous Enzymatic Extraction of Oil-tea *Camellia (Camellia oleifera)* Seed Oil

FANG Xue-zhi^{1,2}, WANG Kai-liang¹, YAO Xiao-hua¹, WANG Ya-ping¹

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. Institute of Biochemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310029, Zhejiang, China)

Abstract: An aqueous enzymatic extraction method was used to extract oil from oil-tea camellia seed (*Camellia oleifera*). The factors influencing the yield rate such as enzyme kind, addition methods, concentration of enzyme, enzymatic hydrolysis time and temperature, and ration of solid to liquid were investigated. The results are as following: The acid protease and cellulase have higher oil yield rate than the other treatments, but there is no significant difference between acid protease and cellulase ($P < 0.05$). By directly adding acid protease to seed slurry of oil-tea camellia seed, more oil yield rate can be gotten than those treatments which added acid protease to ground slurry or filtered ground slurry. By single factor experiment, the optimum conditions of enzymolysis are: the concentration of acid protease, 0.1 % (w/w); the enzymolysis temperature and time, 55 °C and 3 h, respectively; and the ratio of solid to liquid, 1:10.

Key word: *Camellia oleifera*; aqueous enzymatic extraction; oil-tea camellia seed

油茶(*Camellia oleifera* Abel.)作为我国特有的木本油料树种,在我国南方地区有广泛的分布^[1]。油茶与油棕(*Elaeis guineensis* Jacq.)、油橄榄(*Olea europaea* L.)、椰子(*Cocos nucifera* L.)并称为世界四大木本油料作物^[2],其果仁含油率高达40%以上,茶油不饱和脂肪酸含量可高达91.5%以上,其中油酸含量可达50%~83%^[1]。总体而言,茶油脂肪酸组成与橄榄油相似,但价格低于橄榄油,作为高档油发展潜力极大。如何有效地提取山茶油并保持其丰富的营养,对茶油的推广具有重要的意义。

目前油茶中油脂的提取主要有压榨法和浸提

法。压榨法是一种古老的油脂制取技术,存在得油率不高、产量较低、副产品难于利用等问题^[3]。有机溶剂浸提法是使用最为广泛的油脂提取技术,具有得油率高、成本低等优点。但因为其应用有机溶剂进行提取,存在安全隐患,另外,有机溶剂中的残留物尤其是芳烃类物质也引起人们对于健康的担忧。同时,浸提释放的有机溶剂对环境不友好,是一个重要的环境污染源。随着人们对环保问题的重视,美国和欧盟对于浸提法使用溶剂的要求越来越高^[4-6],可以预见我国对浸提溶剂的使用要求也将更加严格,使浸提法制取油脂的成本增加。

收稿日期: 2009-03-13

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研专项项目“油茶精深加工与利用关键技术研究”(200704036); 国家林业局“948”项目“油脂酶法制取及副产品高效利用技术引进”(2009-4-56)

作者简介: 方学智(1978—),男,湖南岳阳人,助理研究员,博士生,主要从事油茶加工利用及质量安全控制研究。

水酶法提取油脂是研究较多的油脂制取方式。其利用蛋白酶、纤维素酶破坏细胞骨架,使与蛋白、糖等大分子结合的油脂分离,利用油脂与水相的不相溶性及密度的差异将其分离。水酶法提取油脂具有条件温和、设备简单、对环境友好、油品质量高等优点^[4-5],但同时也存在酶价格高、易乳化等问题。国外对水酶法研究较多,并已在大豆(*Glycine max* (L.) Merr.)、紫草(*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.)、橄榄(*Canavium album* Raeuseh)、可可树(*Theobroma cacao* Linn.)、玉米(*Zea mays* L.)、核桃(*Juglans regia* L.)等物种上开展了大量细致的研究^[7-11]。目前,采用水酶法提取油茶油脂的研究较少,本文通过研究油茶油脂的酶辅助水法提取技术,探讨酶种类、加酶方式、酶解条件对于油脂得率的影响,初步形成的油茶油脂的水酶提取工艺,为油茶水酶法的进一步研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料 油茶籽于2008年4月采自浙江省建德市霞雾农业开发中心,去壳风干后将其粉碎,过20目筛,保存于-4℃冰箱中待用。

1.1.2 主要仪器 RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂产)、K-360 凯氏定氮仪(瑞士Buchi产)、UV-2401 紫外可见分光光度仪(日本岛津公司产)、Mettler-Toled XP 204S 精密天平(瑞士Mettler-Toled公司产)。

1.1.3 主要试剂 酸性蛋白酶、中性蛋白酶、纤维素酶及 α -淀粉酶均购自江苏无锡杰能科公司。

其中 α -淀粉酶为液态,其它均为固体粉末。

1.2 试验方法

1.2.1 指标测定 含水率的测定采用GB/T5009.3-2003^[12]的方法,含油率的测定采用GB/T5009.6-2003^[13]的方法,总蛋白的测定采用GB/T 5009.5-2003^[14]的方法,灰分的测定采用GB/T 5009.4-2003^[15]的方法,淀粉的测定采用GB/T 5009.9-2003^[16]的方法,粗纤维的测定采用GB/T 5009.10-2003^[17]的方法,总糖的测定参考王肇慈编《粮油食品品质分析》^[18]。

1.2.2 水酶法提取工艺 取10g粉碎、过20目筛的风干油茶仁粉,研磨,加入一定量不同pH值的水溶液,于90℃条件下灭酶10min后冷却,加入一定质量分数(w/w)的酶进行酶解,5000 r·min⁻¹离心

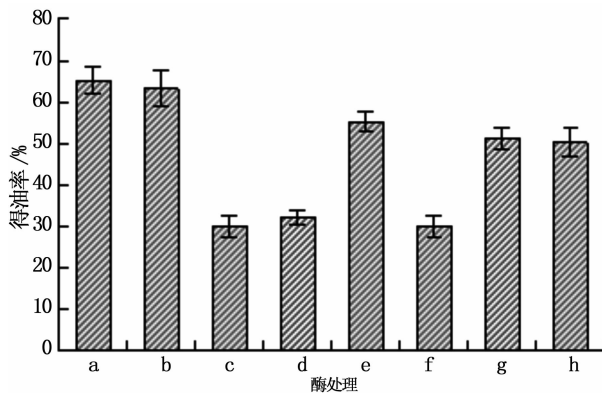
30 min,用1 mL 移液枪小心移取上层清油于已知精确质量的试管后,再10 000 r·min⁻¹离心30 min 破乳,移取上层清油,合并于试管中,称得清油质量。得油率用下式计算:

$$\text{得油率} = \frac{\text{清油质量}}{\text{样品质量} \times (1 - \text{含水量}) \times \text{含油率}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 酶试剂的选择

在各酶最适的pH值条件下,加入1%的酶,在固液比为1:5、50℃条件下酶解2h。结果表明(图1),得油率最高的为酸性蛋白酶,达到67.32%,其次为纤维素酶,达到65.74%,中性蛋白酶得油率最低,仅为28.18%。有研究表明,复合酶得油率较单一酶高,但本试验不能得出相同的结论,这可能与选择酶的种类及油茶品种有关。

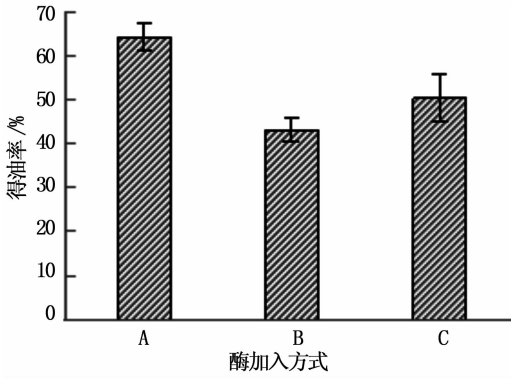


a:酸性蛋白酶;b:纤维素酶;c:中性蛋白酶;
d: α -淀粉酶;e:酸性蛋白酶:纤维素酶=1:1;
f:中性蛋白酶: α -淀粉酶=1:1;
g:中性蛋白酶: α -淀粉酶:纤维素酶=1:1:1;
h:酸性蛋白酶: α -淀粉酶:纤维素酶=1:1:1

图1 不同酶处理对得油率的影响

2.2 不同酶加入方式对得油率的影响

取3份样品,固液比为1:5,pH值4.5,90℃条件下灭酶10min后冷却,分别以3种方式加入1%的酸性蛋白酶,50℃条件下酶解2h。处理重复3次。结果表明(图2),直接加酶的得油率较研磨后加酶及研磨过滤后加酶处理的得油率分别提高53%和36%,差异显著($P < 0.05$)。这可能是因为油茶籽仁中含有较多茶皂素,研磨易导致茶皂素起泡和乳化,不利于酶解进行,降低得油率。



A: 直接加入; B: 研磨后加入; C: 研磨过滤后加入

图2 酶加入方式对得油率的影响

2.3 酶解条件优化

2.3.1 固液比 样品中加入1%的酸性蛋白酶,pH值4.5,以不同固液比于55℃条件下水解3h。研究表明(图3),随着固液比增加,得油率表现为迅速增加,当固液比为1:10时,得油率最高,达到82.17%。而后随着固液比进一步增加,得油率增加不明显。

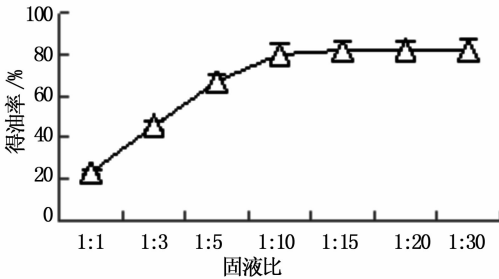


图3 不同固液比对得油率的影响

2.3.2 酶液浓度 样品中分别加入不同量的酸性蛋白酶,pH值4.5,固液比为1:10,于50℃条件下水解2h。结果表明(图4),随着加入酶量的增加,得油率迅速增加,当酶量达到0.1%时,得油率达80.13%,当酶量达到1.0%时得油率最高,达83.15%,但与加入0.1%酶量得油率没有显著差异($P > 0.05$)。随着酶浓度的进一步增加,得油率增加不明显,这与酶作用底物消耗有关。考虑到成本因素,选择0.1%为合适的酶加入量。

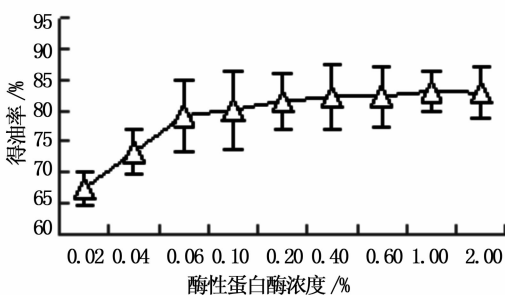


图4 酸性蛋白酶浓度对得油率的影响

2.3.3 酶解温度 样品中分别加入0.1%的酸性蛋白酶,pH值4.5,固液比为1:10,不同温度条件下水解2h。结果表明(图5)。随着处理温度升高,得油率增加,55℃时得油率达到81.75%。但随着温度继续增加,得油率开始下降。这可能是因为55℃为酸性蛋白较适温度,高或过低的温度均影响到酸性蛋白酶活性。

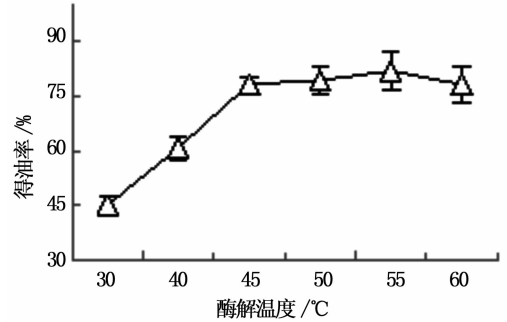


图5 酶解温度对得油率的影响

2.3.4 酶解时间 样品中分别加入0.1%的酸性蛋白酶,pH值4.5,固液比为1:10,55℃条件下水解不同时间。研究表明(图6),随着处理时间的增加,得油率上升,当酶解3h后,得油率达到82.46%。而后随着酶解时间的继续增加,得油率没有显著增加($P > 0.05$)。

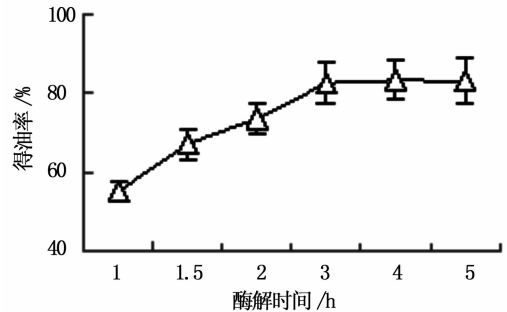


图6 酶解时间对得油率的影响

3 小结与讨论

本研究表明,对于油茶籽仁的水酶法提取,纤维素酶和酸性蛋白酶的效果较好,而中性蛋白酶和 α -淀粉酶作用不佳。这可能与油茶籽仁物质组成相关,纤维素酶主要破坏细胞壁,有利于油脂液滴溢出,而酸性蛋白酶破坏油脂与蛋白质结构,促使油脂分子游离。研究发现,几种复合酶的作用效果不如单酶,这可能与酶的配比有关,具体原因有待进一步研究。

比较酶的不同加入方式,研磨后加酶及研磨过

滤后再加酶处理的得油率均不如直接加酶的处理,这可能是因为油茶籽仁中含有较多茶皂素,茶皂素是一种水溶性的发泡剂和乳化剂,研磨促使溶液起泡乳化,使酶与底物难以结合,同时乳化也使清油得率降低。

通过单因素试验表明,酸性蛋白酶辅助进行油茶籽仁油脂提取的较优条件为:酶加入量为0.1% (w/w),酶解温度为55℃,酶解时间为3h,固液比为1:6,得油率可达82.17%。

参考文献:

- [1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 2版. 北京:中国林业出版社,2008
- [2] 王丽霞,庞杰,陆蒸. 茶油的加工和利用[J]. 粮油食品科技, 2004,12(3):33-36
- [3] 鲁曾,董海洲,潘燕. 酶法提油技术研究进展[J]. 粮食与油脂,2006(6):37-39
- [4] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1996,19(6):402-420
- [5] Dominguez H, Núñez M J, Lema J M. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds; a review [J]. Food Chemistry,1994,49(3):271-286
- [6] 谭春兰,袁永俊. 水酶法在植物油脂提取中的应用[J]. 食品研究与开发,2006,27(7):128-130
- [7] Zhang Shao Bing, Wang Zhang, Xu Shi Ying. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysis [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2007,84(1):97-105
- [8] Concha J, Soto C, Chamy R, *et al.* Enzymatic pretreatment on rosehip oil extraction: hydrolysis and pressing conditions [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2004,81(6):549-552
- [9] 易建华,朱振宝,荣紫禄. 水酶法提取核桃工艺的研究——酶解和离心参数的确定[J]. 中国油脂,2007,32(4):20-22
- [10] 钱志娟,王璋,许时婴,等. 玉米胚芽水酶法提油及蛋白质的回收[J]. 无锡轻工大学学报,2004,23(5):58-60
- [11] Kashyap M C, Agrawal Y C, Ghosh P K, *et al.* Oil extraction rates of enzymatically hydrolyzed soybeans [J]. Journal of Food Engineering, 2007,81(3):611-617
- [12] GB/T5009.3-2003 食品中水分的测定[S]
- [13] GB/T5009.6-2003 食品中脂肪的测定[S]
- [14] GB/T 5009.5-2003 食品中蛋白质的测定[S]
- [15] GB/T 5009.4-2003 食品中灰分的测定[S]
- [16] GB/T 5009.9-2003 食品中淀粉的测定[S]
- [17] GB/T 5009.10-2003 植物性食品中粗纤维的测定[S]
- [18] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 2版. 北京:中国轻工业出版社,2000:437-439