

# 复合表面活性剂辅助水剂法同步制备花生油和蛋白

李万山, 章绍兵, 颜东琼

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

**摘要:**采用复合表面活性剂辅助水剂法提取花生油,以期降低乳化程度,从而提高花生清油提取率。首先研究了吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯(单一或复配使用)对水剂法提取花生清油、总油和蛋白提取率的影响,并分析了表面活性剂对花生蛋白油水界面膜流变性质和 *Zeta* 电位的影响规律,试图初步揭示表面活性剂辅助破乳的机制。结果表明:吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯单独使用时都可以在一定程度上提高水剂法工艺花生清油提取率,而当三者按质量比 1:1:2 复配时(质量浓度为 10 g/L),花生清油提取率最高达到 79.7%,比不添加表面活性剂提取时花生清油提取率几乎增加了 1 倍。然而,小分子表面活性剂对花生总油和蛋白提取率的影响并不显著。研究发现表面活性剂取代界面吸附蛋白质后可使界面膜强度降低,*Zeta* 电位绝对值减小,这很可能是导致乳状液失稳、清油提取率显著增加的主要原因。

**关键词:**花生油;水剂法;复合表面活性剂;清油提取率;蛋白提取率

中图分类号:TS225.12;TS221 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)12-0016-05

## Simultaneous preparation of peanut oil and proteins by compound surfactant - assisted aqueous extraction

LI Wanshan, ZHANG Shaobing, YAN Dongqiong

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The peanut oil was extracted with compound surfactant by aqueous extraction in order to reduce emulsification, thereby increasing the extraction rate of peanut free oil. The effects of Tween 20, sucrose esters and citrate esters (single or combined using) on the extraction rates of peanut free oil, total oil and proteins were investigated. The effects of surfactants on rheological property of peanut protein oil - water interfacial membrane and emulsion *Zeta* potential were analyzed to reveal the mechanisms of surfactant - assisted demulsification. The results showed that when Tween 20, sucrose ester and citrate esters were used alone, they could improve the extraction rate of peanut free oil to a certain extent. When the three surfactants were compounded in a mass ratio of 1:1:2 (mass concentration 10 g/L), the highest extraction rate of peanut free oil reached 79.7%, which was almost double the extraction rate of peanut free oil extracted without surfactant. However, the effects of small molecule surfactants on the extraction rate of peanut total oil and protein, were not significant. It was found that after the surfactant replaced the interfacial adsorbed proteins, the strength of the interfacial membrane and the absolute value of the *Zeta*

potential decreased, which might be the main reason for the demulsification of the emulsion and the significant increase in the extraction rate of free oil.

**Key words:** peanut oil; aqueous extraction; compound surfactant; extraction rate of free oil; extraction rate of protein

收稿日期:2021-02-02;修回日期:2021-08-30

基金项目:国家自然科学基金(31671887)

作者简介:李万山(1993),男,在读硕士,研究方向为食品大分子(E-mail)wanshanli2018@126.com。

通信作者:章绍兵,教授,博士(E-mail)shaobingzhang@126.com。

目前花生油的提取方法主要有压榨法和浸出法。压榨法提油率较低且能耗较大;浸出法提油率高,但环境污染严重,毛油需要进行多步精炼<sup>[1-3]</sup>。而且,这两种提油方法均无法同步制备蛋白。水剂法提取植物油是一种绿色环保的提油工艺,同时可以提取油脂和蛋白,但通常会形成大量具有黏弹性膜的乳状液且不容易破乳,影响清油提取率<sup>[4-5]</sup>。水酶法能够对乳状液进行有效破乳,但酶处理时间较长<sup>[6]</sup>;同时,酶还会使蛋白质发生不同程度的水解,降低蛋白质的某些功能性质,在一定程度上限制了蛋白质的应用<sup>[7-8]</sup>。近年来利用小分子表面活性剂辅助水剂法提取植物油的研究逐渐增多,加入小分子表面活性剂能够降低乳状液黏弹性界面的强度,使乳状液破乳。Kadioglu等<sup>[9]</sup>用阴离子表面活性剂( $C_{12,14} - P_{10} - E_2 - SO_4 Na, 0.4\%$ )提取玉米胚芽油,清油和乳化油总提取率为83%。郭玉宝等<sup>[10]</sup>利用十二烷基硫酸钠(SDS)辅助水相提取花生油,冷冻破乳后花生油总提取率可达到94.62%。Tuntiwattanapun等<sup>[11]</sup>利用SDS水溶液提取芥花籽油,结果表明,SDS浓度为0.02 mol/L时,芥花籽油最高提取率为80%。但是,以上表面活性剂均具有一定的毒性,不宜应用到食品加工中。Zhang等<sup>[12]</sup>利用吐温20(可在食品加工中应用)协同pH改变提取花生油,发现1.2%吐温20、pH为10时,所形成的乳状液非常不稳定,清油提取率最高,为76.1%,这与花生水酶法提油的油脂提取率非常接近。目前,在表面活性剂辅助水剂法提取植物油的研究中,大多采用了单一表面活性剂,而且使用浓度较高,这对于生产成本控制以及降低表面活性剂在其他产品(如蛋白质)中的残留均有不利影响。为此,本文以花生为研究对象,拟选择多种食品级表面活性剂复配代替单一吐温20辅助提油,旨在进一步降低表面活性剂使用浓度,并进一步提高花生清油提取率,同时对表面活性剂辅助水剂法提取油脂的机制作了初步的探讨。研究成果一定程度上提高了花生水剂法提取油脂和蛋白的加工技术,对于提高花生资源利用率具有一定的理论和应用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

花生(小白沙)(蛋白质含量23.72%,粗脂肪含量47.61%,水分含量5.56%),市售;吐温20,化学纯;SE-15蔗糖酯,食品级;柠檬酸酯,化学纯;浓硫酸、硫酸钾、硫酸铜、石油醚,均为分析纯。

水浴恒温振荡器;DT5-4B型低速台式离心机;摇摆式粉碎机;KDN1凯氏定氮仪;SZC-101脂

肪测定仪;HAAKE MARS III流变仪,德国Thermo Scientific公司;Zetasizer NanoZS90激光粒度仪,英国Malvern Instruments Ltd。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 表面活性剂辅助水剂法制备花生油和花生蛋白

参考娄丽丽等<sup>[13]</sup>的方法略有改动。将花生粉碎,称取20 g花生粉于250 mL离心杯中,按质量体积比1:4加入表面活性剂溶液,用0.1 mol/L NaOH溶液将体系pH调为10,振荡40 min(50℃,150 r/min),离心(4 000 r/min,15 min)后分层,由上至下依次为清油、乳状液、水相和湿渣。

移取清油和乳状液于50 mL离心管,离心(4 000 r/min,5 min)后取清油称重并计算清油提取率。花生清油提取率=花生清油质量/花生中油脂质量×100%。

收集水相调pH至10.5,静置0.5 h,调pH至4.5静置0.5 h后离心(4 000 r/min,15 min),取沉淀水洗2次,冷冻干燥后得到花生蛋白,保存备用。

取湿渣于60℃热风干燥6 h,称取干渣质量。分别取2 g左右干渣测定含油量和蛋白质含量。

#### 1.2.2 花生总油提取率和花生蛋白提取率的计算

花生总油提取率=(花生中油脂质量-花生干渣质量×花生渣含油量)/花生中油脂质量×100%;花生蛋白提取率=(花生中蛋白质质量-花生干渣质量×花生渣蛋白质含量)/花生中蛋白质质量×100%。其中,花生原料和渣中蛋白质含量测定参照GB 5009.5—2016凯氏定氮法,含油量的测定参照GB 5009.6—2016索氏抽提法。

#### 1.2.3 乳液界面剪切流变性质的测定

参考李伟伟<sup>[14]</sup>的方法测定油水界面剪切流变性质。称取0.5 g花生蛋白(1.2.1制得),溶于50 mL 0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(pH 8.0)中,40℃条件下搅拌2 h,得到0.01 g/mL的蛋白溶液。取20 mL蛋白溶液倒入Du Noüy环配备的塑料器皿中,将Du Noüy环缓慢下降至与溶液表面刚好接触。然后沿着塑料器皿一侧缓慢注入10 mL大豆油。采用流变仪在25℃下进行界面剪切流变学测量,动态时间扫描使用应变幅度( $\gamma$ )2%(在线性区域),频率0.1 Hz,扫描时间7 200 s。在扫描时间为3 600 s时,用针管吸取0.1 mL吐温20在不碰触Du Noüy环下分多处缓慢加入花生蛋白溶液中。

#### 1.2.4 乳液电位测定

在不添加表面活性剂的条件下按1.2.1方法,用纯水提取花生油,离心收集乳状液层,取10 g乳

状液,按质量体积比 1:4 分别加入去离子水,5、10、15 g/L 的复合表面活性剂溶液(吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯按质量比 1:1:2 进行复配),常温下振荡 30 min。用去离子水稀释 20 倍后制成待测样品。参照李慧娜等<sup>[15]</sup>的方法采用激光粒度仪测定 Zeta 电位,并略有改动。测定条件:1 cm 聚苯乙烯池,一对 0.45 cm<sup>2</sup>铂电极,间距 0.4 cm;测定温度 25 °C,平衡时间 2 min。

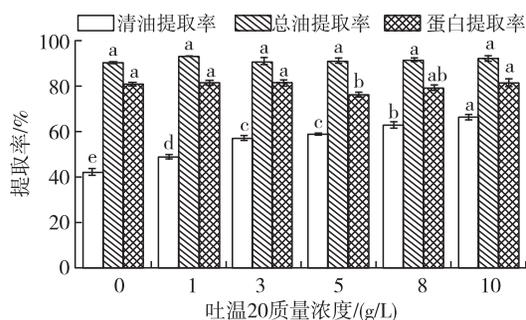
### 1.2.5 数据统计与分析

试验结果以两次以上实验的平均值表示,并使用 SPSS23 软件进行数据分析, $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单一表面活性剂对水剂法制备花生油和蛋白提取率的影响

已有研究表明,小分子表面活性剂因能和大分子蛋白质竞争油水界面,从而导致由蛋白质稳定的乳状液破乳<sup>[16]</sup>。为防止脂溶性表面活性剂部分溶于油脂中,本研究选取了吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯 3 种水溶性小分子表面活性剂作为单一表面活性剂,按 1.2.1 方法制备花生油和蛋白,计算各表面活性剂下的清油、总油和蛋白提取率,结果见图 1~图 3。



注:同一指标相同字母代表无显著性差异,不同字母代表显著性差异。下同

图 1 吐温 20 质量浓度对花生油和蛋白提取率的影响

由图 1 可知:在不添加表面活性剂提取花生油时,清油提取率为 42.5%;随着吐温 20 质量浓度不断升高,清油提取率显著增加,在 10 g/L 时花生清油提取率为 66.8%。这与 Zhang 等<sup>[12]</sup>的研究结果相似,原因可能是体系中加入吐温 20 后,吐温 20 能够与蛋白质竞争吸附到界面上形成不稳定的乳状液,通过低速离心后会发破乳。在不添加表面活性剂提取时,花生总油(清油和乳化油之和)提取率为 90.6%,蛋白提取率为 81.3%,而添加吐温 20 后总油提取率和蛋白提取率整体没有发生显著性变化。这说明吐温 20 虽然能够减少乳状液形成,但对于降低渣中油脂和蛋白质的残留并无效果。

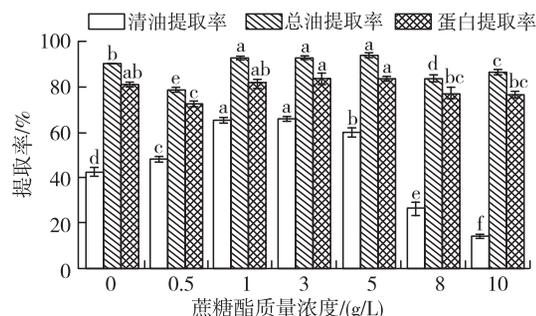


图 2 蔗糖酯质量浓度对花生油和蛋白提取率的影响

由图 2 可知:蔗糖酯质量浓度为 1 g/L,花生清油提取率最高,达到 65.6%;蔗糖酯质量浓度超过 3 g/L 后清油提取率显著降低,原因可能是取代界面蛋白质的蔗糖酯已经达到足量,过多的蔗糖酯可能会与油发生乳化作用,从而降低了清油提取率。与吐温 20 类似,蔗糖酯对总油和蛋白提取率影响也较小。

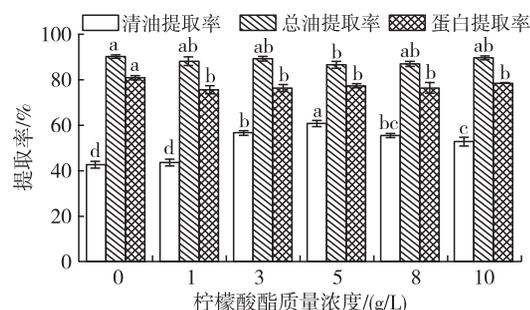


图 3 柠檬酸酯质量浓度对花生油和蛋白提取率的影响

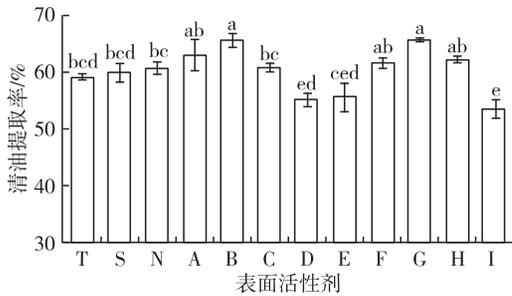
由图 3 可知,随着柠檬酸酯质量浓度的增加,清油提取率先升高后降低,在 5 g/L 时清油提取率最高,为 60.8%。添加柠檬酸酯对总油提取率无显著影响,然而却在一定程度上降低了花生蛋白提取率。

由以上结果可知,3 种单一表面活性剂对花生清油提取率的影响存在较大差异,其中在获得相同清油提取率所需的蔗糖酯质量浓度最低,但其清油提取率仍然不够理想。

### 2.2 表面活性剂复配对水剂法制备花生清油提取率的影响

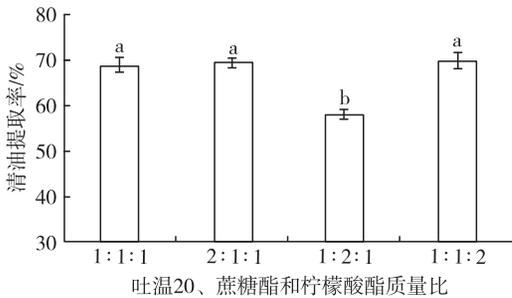
由 2.1 研究可知,3 种表面活性剂对花生清油提取率的影响最大,而对花生总油和蛋白提取率的影响较小,因此在表面活性剂复配研究中以花生清油提取率为考察指标,研究表面活性剂复配对水剂法制备花生清油提取率的影响,结果见图 4~图 5。由图 4 可知,不同表面活性剂两两复配时清油提取率有差异。与表面活性剂单独使用(5 g/L)相比,当吐温 20 和柠檬酸酯以质量比 1:1 复配、吐温 20 和蔗糖酯以质量比 1:1 复配时花生清油提取率显著增加,提取率达到 66.3%。由图 5 可知,当吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯以质量比 1:1:2 复配时,清油提取

率最大,为69.6%。对比图4、图5发现,3种表面活性剂复配较单一和两两复配的清油提取率高。原因可能是体系中表面活性剂阻碍了相邻蛋白质之间的相互作用,而且表面活性剂种类越多这种阻碍作用越强,导致蛋白质界面膜的机械强度降低,离心时乳状液容易发生破乳;而且表面活性剂种类越多,乳状液液滴的聚结稳定性越好<sup>[17]</sup>。



注:T.吐温20;S.蔗糖酯;N.柠檬酸酯;A.T-S(1:1);B.T-N(1:1);C.S-N(1:1);D.T-S(1:2);E.T-N(1:2);F.S-N(1:2);G.T-S(2:1);H.T-N(2:1);I.S-N(2:1);表面活性剂总质量浓度为5 g/L。

图4 2种表面活性剂复配对水剂法花生清油提取率的影响



注:表面活性剂总质量浓度为5 g/L。

图5 3种表面活性剂复配对水剂法花生清油提取率的影响

在吐温20、蔗糖酯、柠檬酸酯以质量比1:1:2复配时,进一步研究了复合表面活性剂质量浓度对清油提取率的影响,结果见图6。

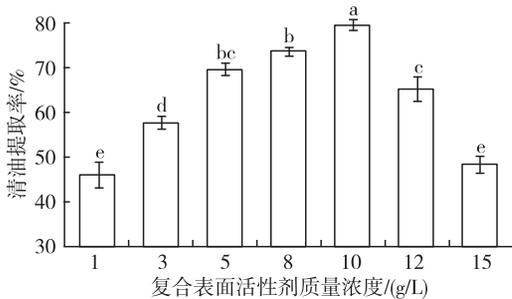


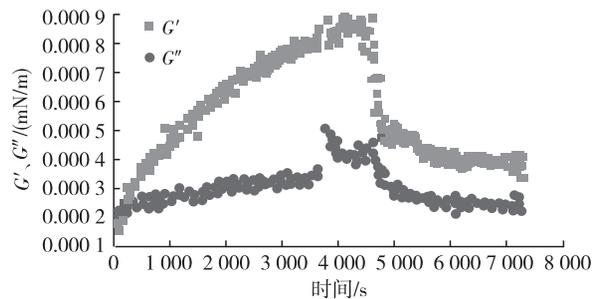
图6 复合表面活性剂质量浓度对水剂法花生清油提取率的影响

由图6可知,随着复合表面活性剂质量浓度的增加,清油提取率先升高后降低,在复合表面活性剂质量浓度为10 g/L时清油提取率最高,达到79.7%。如果将花生粉用量从20 g扩大到200 g(可减少因为油脂粘附在容器上导致的提取率损失),清油提取率

增加至(82.7 ± 0.9)%。因此,水剂法提油工艺中使用复合表面活性剂具有更大的应用潜力。

### 2.3 表面活性剂辅助水剂法制备花生油的机制

大量研究表明,添加小分子表面活性剂可以完全或部分取代乳液界面上吸附的蛋白质,使乳液界面层的机械强度下降<sup>[18-19]</sup>。虽然表面活性剂辅助水剂法提油的效果已得到证实,但目前对其机理的阐述主要是推测,缺少试验支持。界面流变学用于表征油水界面膜的黏弹性,按1.2.3方法通过时间扫描以记录花生蛋白油水界面膜储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ )随时间的变化,结果见图7。



注:吐温20在扫描时间到3600 s时加入。

图7 吐温20对花生蛋白油水界面膜流变特性的影响

由图7可知,花生蛋白的 $G'$ 和 $G''$ 均随时间延长显著增加,而且 $G'$ 和 $G''$ 存在交叉, $G'$ 随时间推移高于 $G''$ ,表明吸附的界面蛋白质随着时间延长,能够逐渐形成具有黏弹特性的网络结构<sup>[20]</sup>,且机械性能越来越高。然而,加入吐温20后,花生蛋白的 $G'$ 和 $G''$ 停止了增长,并且出现急剧下降,这充分表明吐温20能够将界面吸附的蛋白质取代下来,形成了以吐温20为主的流动性强的界面膜,导致界面膜强度降低,乳状液稳定性下降。另一方面,液滴的电位也可能是影响乳液稳定性的关键因素。一般来说,电位绝对值越高,乳液油滴之间的静电排斥力越大,乳液越稳定<sup>[21]</sup>。按1.2.4方法测定不同质量浓度复合表面活性剂对花生蛋白乳状液Zeta电位的影响,结果见图8。

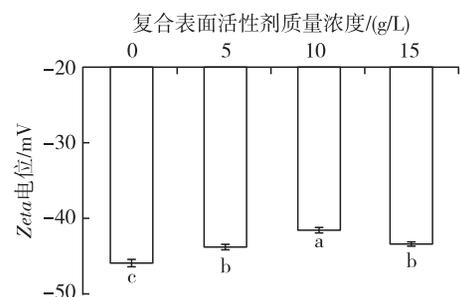


图8 不同质量浓度复合表面活性剂对乳状液Zeta电位的影响

由图8可看出,纯水提油所获得的蛋白乳状液

*Zeta* 电位绝对值最大,而加入表面活性剂后乳状液的 *Zeta* 电位绝对值降低(这很可能与界面蛋白质被取代有关),表明体系中加入表面活性剂使乳状液液滴静电斥力减小,从而导致乳状液稳定性变差。而且,当复合表面活性剂质量浓度为 10 g/L 时,乳状液 *Zeta* 电位绝对值最低,预示乳状液最不稳定,这与在该质量浓度下花生清油提取率最高的结果相符。因此,在水剂法提油过程中加入表面活性剂,可降低油滴蛋白质界面膜的机械性能,并且减弱液滴相互之间的静电排斥作用,从而达到破乳的目的。

### 3 结 论

水剂法提取花生油过程中形成的乳状液具有黏弹性的界面膜,使乳状液不容易破乳,导致清油提取率下降。吐温 20、蔗糖酯和柠檬酸酯单独使用都可以一定程度上提高水剂法工艺清油提取率,而对蛋白提取率没有显著影响;当三者按质量比 1:1:2 复配时(质量浓度为 10 g/L),花生清油提取率最高,为 79.7%,扩大原料使用量后清油提取率达到 82.7%。小分子表面活性剂取代界面吸附蛋白质后可导致界面膜强度降低,*Zeta* 电位绝对值减小,从而使乳状液失稳,清油提取率增加。

### 参考文献:

- [1] KONOPKA I, ROSZKOWSKA B, CZAPLICKI S, et al. Optimization of pumpkin oil recovery by using aqueous enzymatic extraction and comparison of the quality of the obtained oil with the quality of cold - pressed oil[J]. Food Technol Biotech,2016,54(4):413-420.
- [2] LI Y, SUI X, QI B, et al. Optimization of ethanol - ultrasound - assisted destabilization of a cream recovered from enzymatic extraction of soybean oil[J]. J Am Oil Chem Soc,2019,91(1):159-168.
- [3] BUSTO M, VERAC R. Deacidification of vegetable oil by extraction with solvent recovery[J]. Adsorption,2019,25(7):1397-1407.
- [4] 冯红霞,常云鹤,马立志,等.水代法制备核桃油过程中冷冻解冻破乳工艺的优化[J].食品工业,2020,41(1):105-108.
- [5] ZHANG S B, LIU X J, LU Q Y, et al. Enzymatic demulsification of the oil - rich emulsion obtained by aqueous extraction of peanut seeds[J]. J Am Oil Chem Soc,2013,90(8):1261-1270.
- [6] YUSOFF M M, GORDON M H, NIRANJAN K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion demulsifying methods:a review[J]. Trends Food Sci Tech,2015,41(1):60-82.
- [7] LIU C,HAO L H,CHEN F S,et al. Study on extraction of peanut protein and oil bodies by aqueous enzymatic extraction and characterization of protein[J]. J Chem,2020(7):1-11.
- [8] MENG S, TAN Y Q, CHANG S, et al. Peanut allergen reduction and functional property improvement by means of enzymatic hydrolysis and transglutaminase crosslinking[J]. Food Chem,2019,302:125-186.
- [9] KADIOGLU S I, PHAN T T, SABATINI D A. Surfactant - based oil extraction of corn germ[J]. J Am Oil Chem Soc,2011,88(6):863-869.
- [10] 郭玉宝,李双芳,赵恒海,等.表面活性剂辅助水相萃取花生油工艺[J].中国油脂,2016,41(4):5-9.
- [11] TUNTIWIWATTANAPUN N, TONGCUMPOU C, HAAGENSON D, et al. Development and scale - up of aqueous surfactant - assisted extraction of canola oil for use as biodiesel feedstock[J]. J Am Oil Chem Soc,2013,90(7):1089-1099.
- [12] ZHANG S B, WANG T. Destabilization of emulsion formed during aqueous extraction of peanut oil:synergistic effect of Tween 20 and pH[J]. J Am Oil Chem Soc,2016,93:1-11.
- [13] 姜丽丽,章绍兵.吐温辅助水剂法同步制备芝麻油和芝麻蛋白的研究[J].中国油脂,2018,43(12):5-8,21.
- [14] 李伟伟.高乳化性大豆蛋白的制备及其界面流变性质的研究[D].江苏无锡:江南大学,2017.
- [15] 李慧娜,田少君,章绍兵.大豆分离蛋白和浓缩蛋白乳液体体系稳定性的比较[J].河南工业大学学报(自然科学版),2017,38(4):6-13.
- [16] 姜丽丽,章绍兵,王小花.吐温与蛋白质相互作用的研究进展[J].粮食与油脂,2018,31(3):6-8.
- [17] DICKINSON E, RITZOULIS C. Creaming and rheology of oil - in - water emulsions containing sodium dodecyl sulfate and sodium caseinate[J]. J Colloid Interface Sci,2000,224(1):148-154.
- [18] KERSTENS S, MURRAY B S, DICKINSON E. Microstructure of  $\beta$  - lactoglobulin - stabilized emulsions containing non - ionic surfactant and excess free protein: influence of heating[J]. J Colloid Interface Sci,2006(1):332-341.
- [19] WILDE P, MACKIE A, HUSBAND F, et al. Proteins and emulsifiers at liquid interfaces[J]. Adv Colloid Interface Sci,2004,108(10):63-71.
- [20] DAN A, GOCHEV G, KRÄGEL J, et al. Interfacial rheology of mixed layers of food proteins and surfactants[J]. Curr Opin Colloid In,2013,18(4):302-310.
- [21] BOTTCHER S, DRUSCH S. Saponins self - assembly and behavior at aqueous interfaces[J]. Adv Colloid Interface Sci,2017,243:105-113.