

生物工程

中性蛋白酶提取植脂末油脂工艺的研究

凌德娣^{1,3}, 周亚楠^{1,3}, 黄昕烟^{2,3}, 张白曦^{2,3}

(1. 无锡超科食品有限公司, 江苏 无锡 214192; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122;

3. 无锡超科食品有限公司-江南大学联合研究所, 江苏 无锡 214192)

摘要:利用中性蛋白酶将植脂末破乳并对其酶解条件和油脂提取条件进行优化。结果表明:最佳工艺条件为25℃、pH 7.0、中性蛋白酶加酶量6 000 U/g、酶解时间10 min、油脂提取体系为氯仿-甲醇-水(体积比2:2:1);在最佳条件下,离心后植脂末提油率可达95.36%。中性蛋白酶能够高效破乳从而大幅提高植脂末的提油率。

关键词:植脂末;中性蛋白酶;油脂提取

中图分类号:Q814;TS224

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)08-0119-03

Extraction of oil from non-dairy creamer by neutral protease

LING Dedi^{1,3}, ZHOU Yanan^{1,3}, HUANG Xintian^{2,3}, ZHANG Baixi^{2,3}

(1. Wuxi Super Food Technology Co., Ltd., Wuxi 214192, Jiangsu, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 3. Joint Research Institute of Wuxi Super Food - Jiangnan University, Wuxi 214192, Jiangsu, China)

Abstract: The neutral protease was used to demulsify the non-dairy creamer and the enzymolysis conditions and oil extraction conditions were optimized. The results showed that the optimal process conditions were obtained as follows: 25℃, pH 7.0, neutral protease dosage 6 000 U/g, enzymolysis time 10 min, oil extraction system chloroform-methanol-water (volume ratio 2:2:1). Under these conditions, the oil extraction rate was up to 95.36% after centrifugation. The neutral protease could efficiently demulsify and greatly increase the oil extraction rate of non-dairy creamer.

Key words: non-dairy creamer; neutral protease; oil extraction

植脂末,又称奶精、粉末油脂,是指利用微胶囊技术将油脂用壁材包埋后形成的粉末状产品,既保存了油脂的特性,又能弥补油脂的不足^[1]。植脂末的出现大大拓宽了油脂在食品工业中的应用范围^[2]。

植脂末品质的评价,最重要的一个部分就是检测植脂末中油脂的理化特性,包括酸值、碘值、过氧化值等指标。因此,将植脂末中的油脂高效提取出来是非常关键的一步。植脂末是一种微胶囊,利用外部成膜材料将油脂包覆形成微小粒子^[3-4]。在加工过程中会加入不同的乳化剂从而

提高油脂的稳定性^[5]。因此,破乳是提高油脂提取率非常关键的一步,破乳越彻底,油脂提取率越高。常用的破乳方法有离心^[6]、超声波处理^[7]、加热^[8]、冷冻^[9]、加入盐^[10]或加入有机溶剂^[11]等。实践中发现,一些含有酪蛋白的植脂末产品在其内部油脂提取过程中难以破乳,无法进行下一步的指标检测,因此如何从这类产品中高效提取油脂是研究的重点。

中性蛋白酶是一种由枯草芽孢杆菌经发酵培养提取的蛋白酶,在食品、药品、纺织工业中应用广泛^[12]。中性蛋白酶适应性强,在pH 5.5~8.5、温度10~60℃范围内均有活性,非常适合在常温、中性环境中进行酶解反应^[13]。本研究创新性地提出一种提取植脂末油脂的新方法,利用中性蛋白酶将植脂末破乳,并研究不同的提油条件对油脂提取率的影响。

收稿日期:2017-12-04;修回日期:2018-05-26

作者简介:凌德娣(1985),女,工程师,研究方向为油脂深加工(E-mail)linda.ling@superfi.com.cn。

通信作者:张白曦,副教授(E-mail)zbx@jiangnan.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 实验材料

植脂末(油脂含量 50%, 酪蛋白含量 4.8%), 由无锡超科食品有限公司提供; 中性蛋白酶 Neutrase(酶活性约为 1.50×10^5 U/g), 由 Amanon enzyme(日本)提供。三氯乙酸、盐酸、福林酚试剂、酪蛋白等, 均为分析纯。

DK-S11 型恒温水浴锅, FE-20 型 pH 计, ND-100-2 型氮吹仪, 常温离心机。

1.2 实验方法

1.2.1 中性蛋白酶酶活测定

中性蛋白酶的酶活性测定方法采用福林酚法进行测定。

1.2.2 植脂末中油脂破乳及提取

称取 1 g 植脂末于烧杯中, 加入 1.6 mL 水溶解, 并调节 pH 至 7.0, 加入一定量中性蛋白酶并在 25 °C 的水浴中保温一段时间, 转入 20 mL 提脂瓶。加入 3 mL 氯仿-甲醇(体积比 1:2)混合溶剂, 混匀后加入 1 mL 氯仿, 振荡均匀, 加入一定量水, 静置至有明显分层(约 18 h), 取下层, 转移至干净的离心管(预先称重), 氮气吹干(0.5 MPa, 约 15 min)并再次称重, 此时离心管中即为植脂末中提取出的油脂。

另称取 1 g 植脂末于烧杯中, 加入 1.6 mL 水溶解, 并调节 pH 至 7.0, 转入 20 mL 提脂瓶。加入 3 mL 氯仿-甲醇(体积比 1:2)混合溶剂, 混匀后加入 1 mL 氯仿, 振荡均匀, 加入 0.25 mL 水, 静置至有明显分层(约 18 h), 取下层, 氮气吹干(0.5 MPa, 约 15 min)提取油脂。作为本实验对照组。

提油率的计算公式: 提油率 = 油脂净重/植脂末中油脂的质量 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

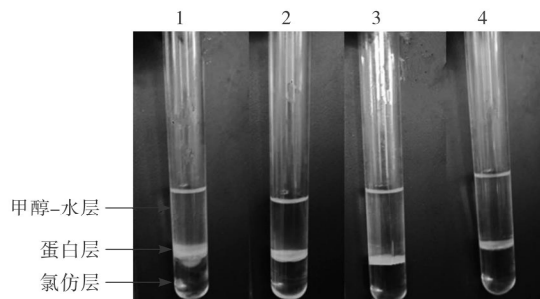
2.1 酶处理对植脂末提油率的影响

福林酚法测定本实验所用中性蛋白酶的酶活为 1.69×10^5 U/g。

在加酶量 4 000 U/g、酶解时间 90 min、提取溶剂为氯仿-甲醇-水(体积比 8:8:1)、静置分层的条件下, 研究酶处理对植脂末提油率的影响, 结果如图 1、图 2 所示。

从图 1 可以看出, 对照组与酶处理组均分为 3 层, 上层为甲醇-水层, 下层为氯仿层, 而中间白色絮状层为蛋白质。但是, 两组的分层情况略有差异: 对照组分层不明显, 且下层非常浑浊, 中间蛋白质层较厚较疏松; 而经过酶处理后的实验组分层明显, 蛋白层厚度较小, 下层的体积较大。从图 2 可以看出, 酶处理组的提油率为 74.66%, 而对照组的提油率

为 52.70%。说明中性蛋白酶可以有效地将植脂末微胶囊壁材中的酪蛋白水解, 从而制造微胶囊表面的孔隙, 使油脂更容易被提取。证明采用蛋白酶处理植脂末是行之有效的方法。



注: 1. 对照组; 2. 酶处理组; 3. 酶处理后调节提取体系组; 4. 酶处理、调节提取体系后离心组。下同。

图 1 不同的处理方法对植脂末中分离提取效果示意图

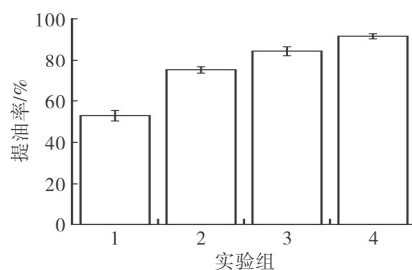


图 2 不同的处理方法对植脂末中油脂提取效果的影响

2.2 油脂提取体系比例对植脂末提油率的影响

Bligh 等^[14]研究表明, 在油脂提取过程中, 体系中氯仿、甲醇、水体积比为 2:2:1 时, 油脂提取效果最好。因此, 本实验在加酶量 4 000 U/g、酶解时间 90 min、静置分层的条件下, 调节油脂提取体系为氯仿-甲醇-水(体积比 2:2:1), 研究提取溶剂体积比对植脂末提油率的影响, 结果见图 1 和图 2。

从图 1、图 2 可以看出, 与对照组和酶处理组相比, 实验组 3 蛋白层进一步减小, 提油率为 84.10%。说明油脂提取体系的比例对油脂的再分配起着重要作用, 当各相比例合适时, 油脂会被最大限度提取出来。

2.3 离心对植脂末提油率的影响

在静置的情况下, 分层较为缓慢, 大大影响了油脂提取的效率。为了加快油脂在两相间的分配, 提高提油速度, 将静置分层改为离心分层。在加酶量 4 000 U/g、酶解时间 90 min、提取体系为氯仿-甲醇-水(体积比 2:2:1)的条件下, 研究离心(1 581 g, 3 min, 下同)对植脂末提油率的影响, 结果见图 1 和图 2。

从图 1、图 2 可以看出, 实验组 4 与之前的实验

结果相比,离心不仅将分层时间由原先的 18 h 缩短至 3 min,而且蛋白层变得密实且厚度减小,离心的效果明显优于静置的 1、2、3 组。同时,该组的提油率达到最高水平,为 91.31%。而之前的研究表明,离心可以加快破乳速度,属于物理法破乳^[12]。推测提油率的进一步提高与其破乳的功能密切相关。

2.4 加酶量对植脂末提油率的影响

为了进一步优化蛋白酶的效果,分别按 2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 U/g 加入中性蛋白酶并于 25 °C 下反应 90 min,提取体系为氯仿-甲醇-水(体积比 2:2:1)、离心分层后取下层氮气吹干并计算提油率,研究加酶量对植脂末提油率的影响,结果如图 3 所示。

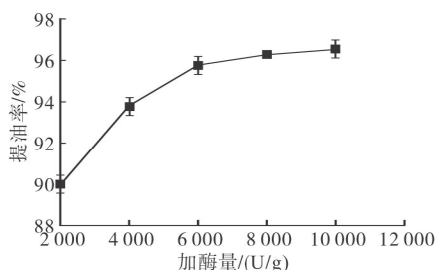


图 3 中性蛋白酶加酶量对提油率的影响

从图 3 可以看出,当加酶量在 2 000~6 000 U/g 的范围内,随着加酶量的提高,提油率明显提高,当加酶量为 6 000 U/g 时,提油率达到 95.75%。而当加酶量继续增加至 10 000 U/g 时,提油率增加缓慢,最高为 96.70%,证明油脂的提取量已达最大值。从经济角度考虑,最佳加酶量为 6 000 U/g。

2.5 酶解时间对植脂末提油率的影响

在提取溶剂为氯仿-甲醇-水(体积比 2:2:1)和加酶量 6 000 U/g 的条件下,在 pH 7.0、25 °C 分别酶解 1、10、30、60、90 min 破乳,之后采用离心分层提取植脂末中的油脂,研究酶解时间对植脂末提油率的影响,结果如图 4 所示。

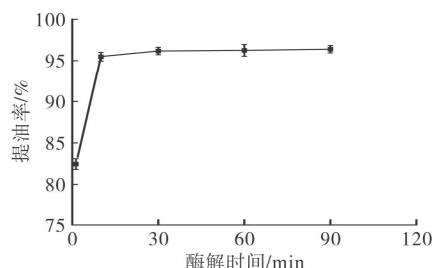


图 4 酶解时间对提油率的影响

从图 4 可以看出,酶解破乳 1 min,提油率仅为 82.40%;当酶解时间延长至 10 min 时,提油率大幅提升至 95.36%;而随着酶解时间的继续延长,提油

率几乎没有变化,证明在 10 min 时,植脂末中的油脂已被最大限度提取出来。因此,最佳酶解时间为 10 min。

3 结论

利用中性蛋白酶提取植脂末中油脂的最优工艺条件为:25 °C、pH 7.0 环境下,中性蛋白酶加酶量为 6 000 U/g,酶解时间 10 min,油脂提取体系为氯仿-甲醇-水(体积比 2:2:1)。在最佳条件下,离心后植脂末提油率为 95.36%。

参考文献:

- [1] 杨晓慧. 喷雾干燥制备非全氢化植物油咖啡伴侣粉末油脂的研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2013.
- [2] 孙艳辉, 张宜凤, 梁军. 粉末油脂的开发及其在食品工业中的应用[J]. 农业机械, 2012(9): 38-40.
- [3] 徐振波, 梁军, 陈丽丽, 等. 微胶囊化粉末油脂的研究与应用进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(5): 392-395.
- [4] 吴克刚, 余纲哲, 柴向华. 油脂喷雾干燥微胶囊化的研究[J]. 食品科学, 1998, 19(1): 34-37.
- [5] 吴嘉根, 沈蓓英, 朱海俊. 粉末油脂的研制[J]. 中国油脂, 1993, 18(3): 19-21.
- [6] CHABRAND R M, GLATZ C E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour [J]. Enzyme Microb Technol, 2009, 45(1): 28-35.
- [7] 王文睿, 江连洲, 郑环宇, 等. 大豆乳状液的微波破乳工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 11-14.
- [8] 王瑛瑶, 王璋, 罗磊. 水酶法提花生油中乳状液性质及破乳方法[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12): 259-263.
- [9] BOEKEL M J S V, WALSTRA P. Stability of oil-in-water emulsions with crystals in the disperse phase [J]. Colloids Surf, 1981, 3(2): 109-118.
- [10] ZHU B W, QIN L, ZHOU D Y, et al. Extraction of lipid from sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad by enzyme-assisted aqueous and supercritical carbon dioxide methods [J]. Eur Food Res Technol, 2010, 230(5): 737-743.
- [11] 李桂英, 袁永俊. 水酶法提取菜籽油中破乳的研究 [J]. 食品科技, 2006, 31(3): 101-103.
- [12] 刘颖, 张彬彬, 孙冰玉, 等. 枯草芽孢杆菌高产中性蛋白酶发酵条件的优化 [J]. 食品科学, 2014, 35(13): 166-170.
- [13] 赵丛, 张敏, 王建玲, 等. 枯草芽孢杆菌 ZC-7 中性蛋白酶的分离纯化及酶学性质研究 [J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(10): 28-33.
- [14] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37(8): 911.