

“米糠：一种潜在的食用资源” 特约专栏文章之一

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.05.001

张敏, 许朵霞, 王振华, 等. 水酶法提取米糠油的试验研究[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(5): 1-10.

ZHANG M, XU D X, WANG Z H, et al. Research on the enzyme assisted extraction of rice bran oil[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(5): 1-10.

水酶法提取米糠油的试验研究

张敏, 许朵霞, 王振华, 郝佳, 杨焕月

(北京工商大学北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京工商大学
北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京工商大学 食品与健康学院, 北京 100048)

摘要: 水酶法提取油脂工艺的技术关键是酶解及乳状液破乳。研究水酶法提取米糠油工艺, 结果表明, 膨化米糠粉碎过40目筛, 按1:7.5(w/v)料液比加入超纯水, pH值9.0、57℃添加2%的碱性蛋白酶(Alcalase 2.4 L)酶解150 min, 离心后调节乳状液pH值至7.0, 60℃下搅拌60 min破乳, 此工艺可获得84.1%以上米糠提油率; 水酶法提取米糠毛油的品质特别是生物活性物质的含量, 明显优于传统溶剂法提取米糠毛油; 糖酶无法提高挤压米糠的提油率, 碱性条件更利于米糠油脂提取; 碱性条件及CaCl₂处理, 无助于水酶法提取米糠油乳状液的破乳; 20%~30%乙醇处理, 可提高乳状液的破乳率。研究创制的水酶法提取米糠油工艺, 可促进水酶法制油工艺在植物油脂行业的推广与应用, 实现米糠高值化利用。

关键词: 米糠油; 水酶法提取油脂; 酶解工艺; 破乳技术; 油脂品质

中图分类号: TS224.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)05-0001-10

网络首发时间: 2021-08-24 17:25:33

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20210824.1407.012.html>

Research on the Enzyme Assisted Extraction of Rice Bran Oil

ZHANG Min, XU Duo-xia, WANG Zhen-hua, HAO Jia, YANG Huan-yue

(Beijing Technology & Business University Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology & Business University Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, College of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The key technology in enzymatic extraction of oil in the aqueous system is the enzymatic hydrolysis and demulsification performance. The process of extracting rice bran oil by enzymatic method under aqueous system is studied in this research. The results show that more than 84.10% rice bran oil extraction yield could be obtained under the following procedure and conditions. The extruded rice bran is screened through a 40-mesh sieve and mixed with ultrapure water at a ratio of 1 : 7.5 (w/v), after which 2% (w/w) Alcalase 2.4 L is added to the mixture and the system is continuously incubated for 150 minutes at 57 °C and pH 9.0. After centrifugation, the pH of the emulsion to 7.0 reacting is adjusted further at 60 °C for 60 minutes to obtain

收稿日期: 2021-05-10

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0401100)

Supported by: National Key Research and Development Project (No. 2018YFD0401100)

作者简介: 张敏, 女, 1972年出生, 博士, 教授, 研究方向为粮食、油脂与植物蛋白工程。E-mail: zmin@th.btbu.edu.cn.

the oil by breaking the emulsion. The quality of rice bran oil extracted, especially the content of bioactive substances, is obviously better than that extracted by the traditional solvent method. In addition, carbohydrase could not improve the oil extraction yield, while alkaline conditions are more favorable for rice bran oil extraction. Alkaline conditions and CaCl_2 treatment are not conducive to demulsification, while 20%~30% ethanol treatment could improve the demulsification rate of the emulsion. The technology can promote the applications of aqueous enzymatic method in the vegetable oil manufacture industry, as well as the utilization of rice bran.

Key words: rice bran oil; aqueous enzymatic extraction of oil; enzymatic hydrolysis process; demulsification technology; oil quality

米糠含有稻米中 64%营养及人体所需 90%必需营养素, 可广泛地应用于食品、医药、化工、化妆品等领域, 是一种宝贵的可再生资源^[1]。米糠含有 15%~22%的油脂, 不饱和脂肪酸占比高达 80%, 其中油酸与亚油酸之比约 1 : 1, 是典型的油酸-亚油酸型植物油^[2]。此外, 米糠油中富含谷维素、维生素 E、角鲨烯和植物甾醇等多种生物活性组分^[3-4], 表现出极强的抗氧化作用, 具有抑制肿瘤生长、降低人体胆固醇水平和葡萄糖耐量等生理功能^[5-7]。因此, 米糠油广受消费者的喜爱。

目前, 机械压榨法和溶剂浸出法是工业上常用的植物油提取方法。水酶法是以水代法为基础,

在特定条件下利用生物酶破坏细胞结构, 促使油脂释放的一种油脂提取方法。提取条件温和、绿色安全、可同时分离出油脂和蛋白质等产品, 是水酶法油脂提取的显著优势。国内外水酶法油脂提取, 在大豆、菜籽、油茶籽、花生和芝麻等油料作物中有所应用, 并取得了一定的成果^[8-10]。1996 年 Sengupta 等^[11]首次利用果胶酶和纤维素酶, 结合有机溶剂提取米糠油。Hanmoungjai 等^[12]研究证实, 应用 Alcalase 2.4L 酶制剂可以显著提高米糠油和蛋白质的提取率。杨慧萍等^[13]对水酶法提取米糠油进行了工艺优化, 出油率达到 85.76%。

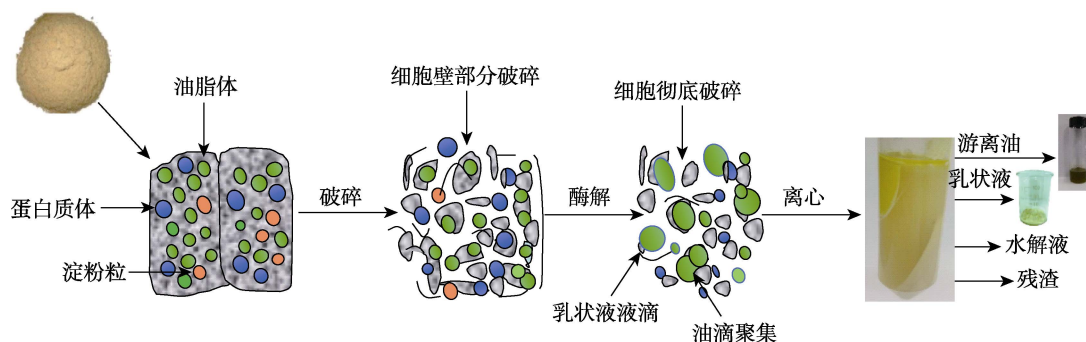


图 1 水酶法提取米糠油示意图^[14]

Fig.1 Principle of extracting rice bran oil by aqueous enzymatic method^[14]

水酶法油脂提取一般可分为 4 个阶段: 破碎、酶解、离心和破乳 (如图 1 所示)。为提高出油率, 通常应用加热、微波、超声波、挤压膨化、酶法和蒸汽闪爆等^[15-17]方式对原料进行预处理, 破坏细胞结构。糖酶和蛋白酶则是水酶法油脂提取常用的酶制剂, 糖酶主要包括纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、淀粉酶和葡聚糖酶等^[8,18]。选择合适的酶制剂及酶解工艺, 是水酶法油脂提取工业化应用的基础。此外, 在油脂提取过程中, 磷

脂、蛋白质和细胞碎片与油脂形成稳定的乳状液, 导致油脂的提取率较低。受油料成分和性质的影响, 不同油料形成的乳状液性质差异显著^[19]。有效地破坏乳状液的稳定性, 提高出油率及产品品质的破乳工艺, 是目前国内外水酶法油脂提取的技术瓶颈。本文开展水酶法提取米糠油的酶制剂筛选、酶解工艺及破乳工艺研究, 创新米糠油水酶法提取的高效绿色节能制油技术, 促进水酶法制油工艺在植物油行业的推广与应用, 实现米

糠高值化利用,具有现实的理论价值和实践意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

经挤压膨化保鲜的米糠(水分含量 7.43%、脂肪含量 18.45%、蛋白质含量 12.69%):黑龙江省桦川县付士米业有限公司; Celluclast 1.5 L 纤维素酶(酶活力 700 EGU/mL), Pectinex Ultra SP-L 果胶酶(酶活力 26 000 PG/mL), Viscozyme L 糖酶复合酶(酶活力 100 FBG/g), Alcalase 2.4 L 碱性蛋白酶(酶活力 2.4 AU/g):丹麦诺维信公司; Hemicellulase 半纤维素酶(酶活力 0.3~3.0 unit/mg):美国 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 水酶法提取米糠油工艺及提油率测定

挤压米糠粉碎过 40 目筛,取 100 g 米糠粉,按 1:6 (w/v) 加入超纯水,90 °C 处理 5 min 后,在一定的温度和 pH 值条件下,添加 2% 酶制剂 400 r/min 搅拌酶解 120 min。经 10 000 r/min 离心 20 min 后得到游离油,按式(1)计算米糠提油率。

$$Y(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: Y——提油率, %;

m_1 ——游离油的质量, g;

m_0 ——米糠原料的含油量, g。

1.2.2 酶制剂的筛选

固定反应条件(料液比 1:6、加酶量 2%、酶解时间 120 min、搅拌速度 400 r/min),考察 Celluclast 1.5 L、Hemicellulase、Pectinex Ultra SP-L、Viscozyme L、Alcalase 2.4 L 等 4 种糖酶和 1 种蛋白酶在酶解适宜条件下(50 °C、pH 5.0; 50 °C、pH 5.0; 50 °C、pH 5.0; 45 °C、pH 3.4; 60 °C、pH 9.0),米糠提油率的变化。设置不添加酶制剂的反应为对照组。

考察糖酶与蛋白酶复配对米糠提油率的影响。米糠混合液与 1% 糖酶作用 60 min,再与 1% Alcalase 2.4 L 作用 60 min,其他处理与单一酶制剂处理相同。以添加单一蛋白酶 Alcalase 2.4 L 为对照组。

1.2.3 酶解工艺的优化

在单因素试验、Packett-Burman (PB) 试验

基础上,以蛋白酶 Alcalase 2.4 L 为酶制剂,从料液比、酶解时间、酶解温度、加酶量、pH 值、搅拌速度等对提油率具有影响的因素中,筛选出料液比(A)、酶解时间(B)、酶解温度(C)3 个因素为自变量,米糠提油率(Y)为响应值,在加酶量 2%,pH 值 9.0,搅拌速度 300 r/min 条件下设计三因素三水平的 Box-Behnken 响应面分析试验。试验因素及水平如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 试验因素及水平表

水平	料液比 A	酶解时间/min B	酶解温度/°C C
-1	1:7.0	120	55
0	1:7.5	142	57
1	1:8.0	164	59

1.2.4 乳状液的制备与成分检测

取 100 g 过 40 目筛的膨化米糠粉,按 1:7.5 (w/v) 料液比加入超纯水,90 °C 处理 5 min 后冷却至室温。添加 2% 的 Alcalase 2.4 L 酶制剂,在 pH 值 9.0、57 °C 条件下 300 r/min 酶解 150 min。反应结束后,离心收集乳状液层。

参照罗紫-哥特里(Rose-Gottlieb)法^[20]测定乳状液中油脂的含量,蛋白质及水分的测定采用国标方法。

1.2.5 破乳工艺的优化

以室温 300 r/min 搅拌 60 min 为基础,不同时间(15、30、45、60、75、90 min);不同温度(20、30、40、50、60 °C),确定乳状液破乳工艺的基本条件。在优化的破乳条件下(60 °C 下搅拌 60 min),以未经处理的乳状液为对照组,分别在不同 pH 值(2、3、4.5、5、7、9)、不同 CaCl₂ 溶液浓度(0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mol/L)、不同乙醇溶液浓度(10%、20%、30%、40%、50%)下进行破乳操作。搅拌结束后,离心收集游离油层,按式(2)计算乳状液的破乳率。

$$\text{破乳率}(\%) = \frac{\text{游离油质量}(\text{g})}{\text{乳状液质量}(\text{g}) \times \text{乳状液的含油率}(\text{g/g})} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.6 粒径及表观状态的测定

经破乳处理后的样品用超纯水稀释 10 倍,充分混匀后,应用 Microtrac S3500 激光粒度分析仪进行粒径分析,设定油滴的折光指数(RI)为 1.47,

分散剂的 RI 为 1.333。

采用激光共聚焦显微镜 (CLSM) 对破乳前、后乳状液的微观结构进行观察。取 2 mL 待测样品, 分别加入 10 μ L 的 0.01% 尼罗蓝 A (激发波长 637 nm) 和 0.1% 尼罗红 (激发波长 488 nm) [21], 充分摇匀, 制片后立即进行观察。

1.2.7 米糠油品质的测定

按照参数优化后的水酶法提取米糠油的工艺, 制备水酶法提取米糠毛油。

使用有机溶剂在索氏抽提器中提取米糠油, 经减压蒸发及氮吹去除残留溶剂, 获得传统有机溶剂法提取米糠毛油。

参考 AOCS Official Method 方法测定油脂的酸价、碘值、皂化值、过氧化值、色泽等指标。蜡和磷脂含量的测定参照 Pandey 等 [22] 的方法。采用高效液相色谱法测定维生素 E 含量, 气相色谱法测定甾醇和角烯鲨含量 [23-24]。谷维素含量采用 LS/T 6121.1—2017 的方法测定 [25]。

1.3 数据分析

所有样品进行三次平行试验, 试验结果表示为平均值 \pm 标准偏差 (SD), 采用 Origin 8.5 软件和 Design-Expert 8.0.6 软件处理数据和绘图, SPSS 17.0 软件进行显著性分析, 其中不同字母 (a、b、c) 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 酶制剂的筛选

受稻米品种、产地、加工方式等影响, 米糠的化学组分含量一般波动较大。本研究的试验原料来源于制米车间, 品质相对纯净。

5 种单一酶制剂对米糠提油率的影响见图 2。由图 2 可知, 酶制剂处理的提油率为 28.59%~50.37%, 无酶空白对照组, 提油率为 21.30%~40.12%, 碱性条件更有利于油脂提取。碱性蛋白酶 Alcalase 2.4L 处理组的提油率最高, 为 50.37%; 对照 3 (pH 值 9.0) 的提油率, 显著高于糖酶处理组的提油率。

Alcalase 2.4 L 提取米糠油的高效结果与 Hanmoungjai 等 [26] 的结果一致。蛋白酶作用可破坏细胞的蛋白网络和包围脂质体的蛋白膜, 增加蛋白的溶解性, 从而释放出更多的油脂 [27-28]。碱

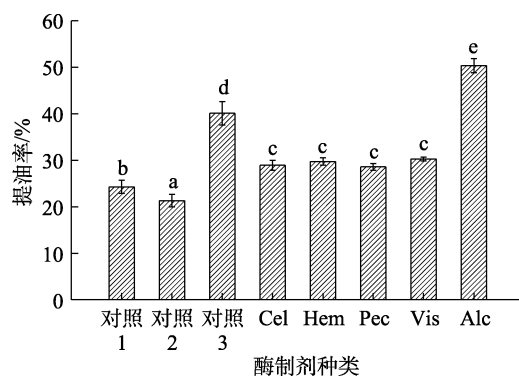


图 2 单一酶制剂对提油率的影响

Fig.2 Effect of single enzyme on the extraction yield of rice bran oil

注: 对照 1: pH=3.4; 对照 2: pH=5.0; 对照 3: pH=9.0; Cel: Celluclast 1.5 L; Hem: Hemicellulase; Pec: Pectinex Ultra SP-L; Vis: Viscozyme L; Alc: Alcalase 2.4 L.
Note: Control 1: pH=3.4; Control 2: pH=5.0; Control 3: pH=9.0; Cel: Celluclast 1.5 L; Hem: Hemicellulase; Pec: Pectinex Ultra SP-L; Vis: Viscozyme L; Alc: Alcalase 2.4 L.

性条件更有利于米糠油脂的提取, 应该与蛋白质在碱性条件下的溶解度增加及游离脂肪酸的皂化作用, 提高了油脂体在高 pH 和低表面张力下的分离效率有关 [29]。

糖酶与蛋白酶 (Alcalase 2.4L) 复配对米糠提油率的影响如图 3 所示。图 3 结果表明, 糖酶和蛋白酶的复配不能提高米糠提油率。这些糖酶主要是水解纤维素、半纤维素、果胶等细胞壁的成分, 破坏植物细胞结构的完整性, 有利于油脂的聚集 [8,18]。由于本研究中选用的米糠原料经过挤

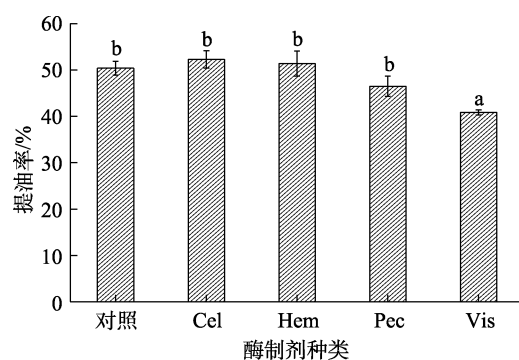


图 3 酶制剂复配对提油率的影响

Fig.3 Effect of composite enzyme on the extraction yield of rice bran oil

注: 对照, 单一 Alcalase 2.4 L; 其余分别为 Celluclast 1.5 L 与 Alcalase 2.4 L 复配、Hemicellulase 与 Alcalase 2.4 L 复配、Pectinex Ultra SP-L 与 Alcalase 2.4 L 复配、Viscozyme L 与 Alcalase 2.4 L 复配。
Note: Control: Alcalase 2.4 L; Cel: Celluclast 1.5 L combined with Alcalase 2.4 L; Hem: Hemicellulase combined with Alcalase 2.4 L; Pec: Pectinex Ultra SP-L combined with Alcalase 2.4 L; Vis: Viscozyme L combined with Alcalase 2.4 L.

压膨化保鲜处理, 细胞结构已被破坏, 因此出现了糖酶对米糠油脂的释放和提取影响不显著的结果。糖酶复合酶与蛋白酶复配使用 (Vis 处理组), 出现了提油率降低的现象。这应该是聚集的油脂更多地进入了水酶体系的乳化液中, 从而降低了游离油脂的含量造成的。

2.2 酶解工艺的参数优化

Box-Behnken 试验设计及结果见表 2。对表 2 数据进行回归拟合, 得到回归方程: $Y=64.99+3.12A+0.84B+1.30C+1.33AB-1.63AC+0.67BC-2.03A^2-2.81B^2-4.57C^2$ 。

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果
 Table 2 The design and corresponding results of Box-Behnken experimental

序号	A	B	C	Y/%
1	0	0	0	65.08
2	-1	-1	0	57.62
3	-1	0	1	58.23
4	0	0	0	65.61
5	-1	1	0	56.21
6	1	0	-1	61.81
7	0	-1	-1	55.84
8	0	0	0	65.26
9	1	-1	0	61.43
10	1	1	0	65.33
11	-1	0	-1	52.55
12	0	0	0	64.54
13	0	0	0	64.47
14	0	1	-1	56.59
15	0	-1	1	57.28
16	0	1	1	60.73
17	1	0	1	60.96

对模型进行方差分析, 结果如表 3 所示。由表 3 可知, 因素 A、B、C 的影响均极显著, 交互项 AB、AC 极显著, BC 显著。

利用数据分析软件拟合水酶法提取米糠油的最优条件: 料液比 1 : 7.94, 酶解时间 149.86 min, 酶解温度 57.02 °C, 理论提油率为 66.52%。考虑到实际生产操作和成本问题, 对参数进行修正: 料液比 1 : 7.5, 酶解时间 150 min, 酶解温度 57 °C。进行验证试验, 得到米糠提油率为 66.24%±0.78%, 与预测值基本一致。

2.3 破乳工艺的研究

水酶法制油后获得的乳状液主要成分含量如

表 4 所示, 蛋白质约占 2.1%, 蛋白的存在对乳状液的形成和稳定起着主要作用^[30]; 油脂约占 50.6%, 即乳状液中一半以上的物质是油脂。可见, 对乳状液的破乳技术开展研究, 对提高水酶法提取米糠油提油率, 具有重要意义。

表 3 Box-Behnken 试验方差分析
 Table 3 Analysis of variance for Box-Behnken experimental design

来源	偏差平方和	自由度	均方差	F-值	P-值	显著性
模型	268.88	9	29.88	140.87	<0.000 1	**
A	77.63	1	77.63	366.02	<0.000 1	**
B	5.59	1	5.59	26.38	0.001 3	**
C	13.55	1	13.55	63.87	<0.000 1	**
AB	7.05	1	7.05	33.24	0.000 7	**
AC	10.66	1	10.66	50.27	0.000 2	**
BC	1.82	1	1.82	8.59	0.022 0	*
A ²	17.41	1	17.41	82.10	<0.000 1	**
B ²	33.27	1	33.27	156.88	<0.000 1	**
C ²	87.97	1	87.97	414.82	<0.000 1	**
残差	1.48	7	0.21			
失拟项	0.55	3	0.18	0.78	0.565 2	不显著
净误差	0.94	4	0.23			
总和	270.37	16				

注: **表示 $P < 0.01$, 极显著; *表示 $P < 0.05$, 显著。

Note: ** indicates $P < 0.01$, extremely significant; * indicates $P < 0.05$, significant.

表 4 乳状液的主要成分含量
 Table 4 Main compositions of the emulsion %

成分	油脂	蛋白质	水分
含量	50.56±0.36	2.10±0.04	41.79±1.12

2.3.1 破乳条件的优化

破乳时间对米糠乳状液破乳率的影响见图 4。由图 4 可知, 随着破乳时间延长, 破乳率逐渐提高; 当破乳时间超过 60 min 后, 破乳时间增加对破乳率不会产生显著影响。这种破乳率随时间变化的规律与 Jung 等^[31]的研究结果一致。

破乳温度对破乳率影响的试验结果见图 5。水酶法油脂提取的酶解温度通常不超过 60 °C^[19], 为节约能耗, 设定 60 °C 为最高破乳温度。由图 5 可知, 加热处理可有效提高乳状液破乳率, 60 °C 处理的破乳率可达 71.23%。温度升高, 可以使乳状液中粒子的布朗运动加快, 减小乳状液的粘度, 加剧油滴的聚结, 降低乳状液稳定性^[32]。

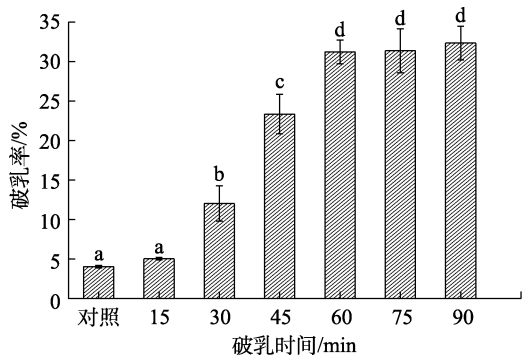


图 4 破乳时间对破乳率的影响

Fig.4 Effect of demulsification time on the demulsification rate

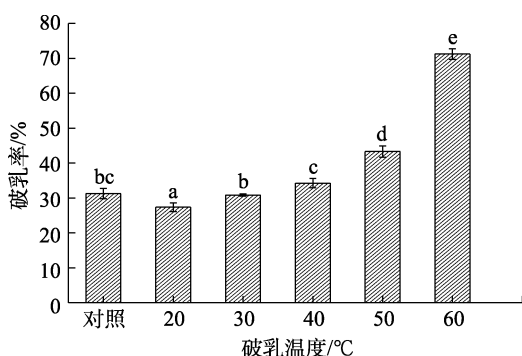


图 5 破乳温度对破乳率的影响

Fig.5 Effect of demulsification temperature on the demulsification rate

2.3.2 破乳方法的选择

经蛋白酶处理后的乳状液，初始 pH 值为 8.3~8.6。调节体系 pH 值对破乳率影响的试验结果见图 6。由图 6 可见，酸性条件下，随 pH 值的升高，乳状液的破乳率逐渐增加，pH 值为 7 时，破乳率达 93.15%；碱性条件下，破乳率与对照组差异不显著，均显著低于酸性处理。

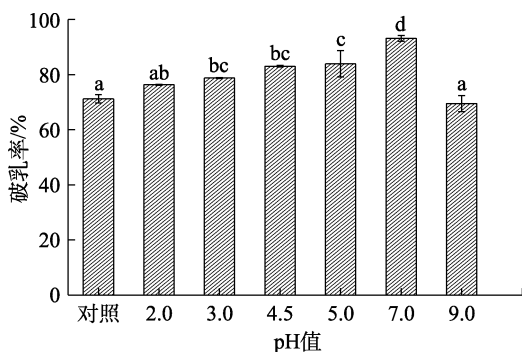


图 6 pH 值对破乳率的影响

Fig.6 Effect of pH value on the demulsification rate

有研究表明，调节水酶法提取大豆油的乳状液 pH 值 3~4.5 时，乳状液可以实现完全破乳，这

是由于乳状液的 pH 值接近大豆蛋白的等电点 (pH=4.5), 蛋白质发生聚集, 促使油滴析出^[33-34]。朱敏敏^[35]在水酶法提取番茄籽油破乳工艺研究中发现, 当乳状液 pH 值为 11 时, 番茄籽的出油率最高。

由此可见, 调节 pH 值破坏水酶法油脂提取乳状液的稳定性, 对于不同油料研究结果存在明显差异。这应该与油料组成与特性、粉碎方式及酶制剂等差异直接相关^[36]。

CaCl₂ 浓度对破乳率影响的试验结果见图 7。

图 7 结果表明, 添加 CaCl₂ 溶液没有提高米糠乳状液的破乳率, 反而呈现随 CaCl₂ 浓度增加, 破乳率减小的变化趋势。

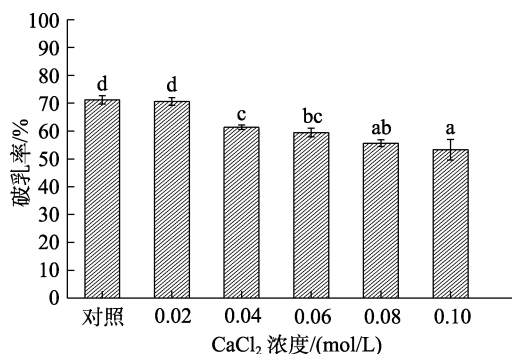


图 7 CaCl₂ 浓度对破乳率的影响

Fig.7 Effect of CaCl₂ concentration on the demulsification rate

乳状液界面蛋白质存在双电层, 可发生静电排斥作用, 使乳状液保持稳定, 油滴无法聚集。当加入 CaCl₂ 溶液, 解离的 Ca²⁺ 可以中和蛋白所带负电荷, 破坏蛋白质的双电层结构, 促使油滴间聚集, 导致破乳^[33]。本研究结果与前人的研究结果不一致。原因可能是, Ca²⁺ 虽可促使蛋白质分子间发生交联, 但蛋白质交联截留了大量油脂, 导致破乳率降低^[37]; 同时也说明, 破乳方法对不同油料乳状液的破乳效果不尽相同。

添加乙醇对破乳作用的影响试验结果见图 8。如图 8 所示, 随着乙醇浓度的增加, 破乳率呈先升高后降低的变化趋势。乙醇浓度为 20%~30% 时, 破乳效果最好, 破乳率达 78.3%。

乙醇属于水溶性破乳剂, 破乳机理在于乙醇的亲水基团对构成界面膜的蛋白质亲水端具有吸附力, 从而破坏界面膜的稳定性, 使乳状液失稳, 同时乙醇能够使乳状液中起乳化作用的蛋白质变

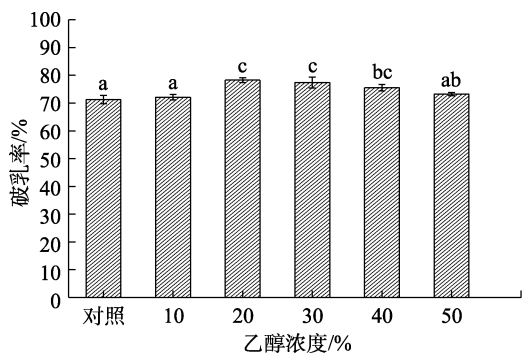


图 8 乙醇浓度对破乳率的影响
Fig.8 Effect of ethanol concentration on the demulsification rate

性, 实现乳状液破乳、释放油脂的作用^[38]。当乙醇浓度超过 30% 时, 破乳率降低, 这可能与乙醇处理使油水两相界面张力差异逐渐增大, 导致破乳率变小有关^[39]。

综上所述, 通过考察三种破乳方法对提油率的影响, 确定调节 pH 值处理乳状液为水酶法提取米糠油的破乳工艺。

2.3.3 pH 值对乳状液的影响

乳状液的粒径大小及分布, 可以直观地反映破乳效果。pH 值对乳状液粒径分布影响的试验结果见图 9。对照组 (未调节 pH, 乳状液在 60 °C 下破乳处理 60 min) 的粒径呈双峰分布, 主要集中在 1~10 μm 和 10~100 μm 范围内, 且 1~10 μm 油滴占比 86.5%±0.67%。这说明, 对照组乳状液中油滴较小且分布不均匀。随着 pH 升高, 乳状液中小油滴聚集、粒径增大, 破坏了乳状液的稳定性, 粒径呈单峰分布。

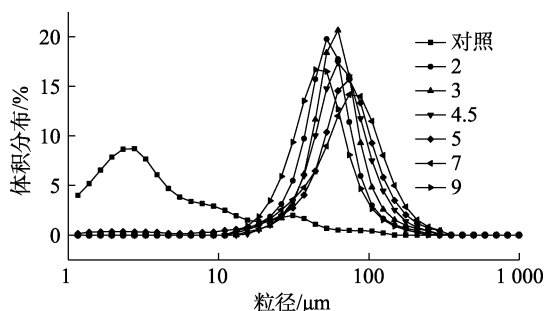


图 9 pH 值对乳状液粒径分布的影响
Fig.9 Effect of pH value on particle size distribution of the emulsion

pH 值对乳状液平均粒径的影响见图 10。图 10 平均粒径大小的数据图可以更直观地比较各样品形态。未经处理的对照组, 平均粒径最小, 乳

化液稳定性好; 酸性条件下, 随 pH 值升高平均粒径不断增大, pH 值 7 时, 平均粒径达到最大。结合图 4 研究结果可知, 乳状液的平均粒径与破乳率呈正相关。碱性条件下, 乳状液的平均粒径显著小于酸性处理的样品, 乳状液稳定性较好。粒径分布结果同样表明, 碱性条件不利于水酶法提取米糠油乳状液的破乳。

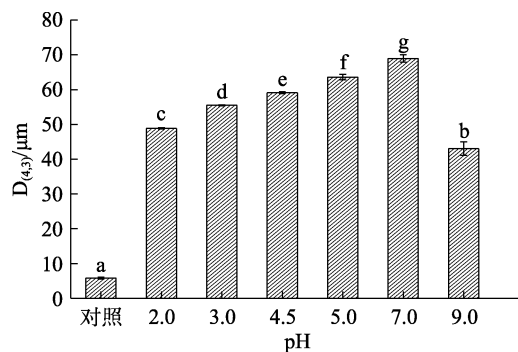


图 10 pH 值对乳状液平均粒径的影响
Fig.10 Effect of pH value on mean particle size of the emulsion

乳状液经尼罗红和尼罗蓝 A 染色后, 通过 CLSM 观察到的微观结构及样品表现形态示意图见图 11。a 图和 b 图可清晰看到乳状液中呈绿色油相和红色蛋白相的分布情况。a 图初始乳状液的小油滴分布均匀, 同时表面被一层蛋白界面膜包裹。当调节 pH 值 7 进行破乳处理后 (b 图),

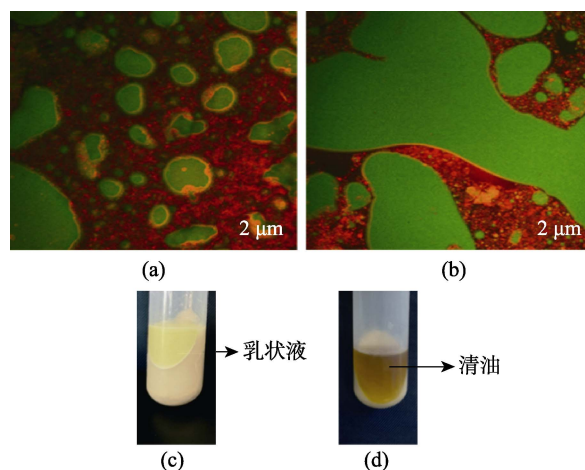


图 11 破乳前后乳状液微观结构及表现状态
Fig.11 Microstructure and photographs of emulsion before and after demulsification

(a) 初始乳状液微观结构; (b) 破乳处理后的乳状液微观结构; (c) 初始乳状液的表现状态; (d) 破乳处理离心后的表现状态
(a)microstructure of primary emulsion; (b)microstructure of emulsion at pH 7; (c) photograph of primary emulsion; (d) photograph of emulsion at pH 7 after centrifugation

油滴表面的蛋白膜被破坏,小油滴聚集为大油滴,粒径明显增大。c 图为酶解后离心去除游离油的乳状液样品表现形态,d 图可清楚地看到乳状液经过破乳离心后获得游离油的状态。

通过以上研究,确定水酶法提取米糠油最适工艺为,膨化米糠粉碎过 40 目筛,按 1 : 7.5 (w/v) 料液比加入超纯水,90 °C 处理 5 min 后冷却至 57 °C,添加 2% 的 Alcalase 2.4 L 蛋白酶,在 pH 值 9.0 条件下 300 r/min 酶解 150 min,1 000 r/min 离心 20 min 后收集游离油层和乳状液层。调节乳状液 pH 值 7.0,60 °C 下 300 r/min 搅拌 60 min 破乳后,再次离心收集游离油层。此工艺获得米糠提油率可以达到 84.1% 以上。

2.3.4 米糠毛油的品质

未经精练处理的水酶法与传统有机溶剂法提取米糠毛油的理化指标见表 5 所示。由表 5 可以看出,水酶法提取的米糠毛油酸值略低,但二者差异不显著;过氧化值较低,碘值、皂化值较高,油色较浅。蜡质和磷脂含量,水酶法提取的米糠毛油明显较低;生物活性物质(维生素 E、甾醇、角鲨烯和谷维素等)含量,则显著高于有机溶剂法提取的米糠毛油。

表 5 水酶法与有机溶剂法提取米糠毛油的品质指标

Table 5 Physicochemical properties of rice bran oil obtained by aqueous enzymatic extraction and solvent extraction

指标	水酶法	溶剂法
酸值/(mg KOH/g)	7.97±0.58 ^a	8.29±0.60 ^a
碘值/(g I ₂ /100 g)	106.31±0.44 ^a	102.22±0.56 ^b
皂化值/(mg KOH/g)	184.87±0.09 ^a	178.66±1.67 ^b
过氧化值/(mmol/kg)	8.15±0.44 ^b	8.80±0.00 ^a
蜡含量/%	0.46±0.03 ^b	4.65±0.08 ^a
磷脂含量/%	ND	1.18±0.04
维生素 E/(mg/kg)	1 004.42±17.94 ^a	839.15±19.78 ^b
甾醇/(mg/100 g)	7 749.44±23.45 ^a	6 956.34±59.97 ^b
角鲨烯/(mg/kg)	2 962.56±6.02 ^a	2 479.56±103.53 ^b
谷维素/%	2.43±0.06 ^a	2.31±0.02 ^b
L-值	22.83±0.16 ^b	26.58±0.02 ^a
a-值	0.49±0.03 ^b	3.31±0.01 ^a
b-值	7.72±0.47 ^b	14.09±0.16 ^a

可见,水酶法提取的米糠毛油具有较好的品质,其开发利用前景十分广阔。

3 结论

本研究开展了水酶法提取米糠油的工艺研

究。通过酶制剂的筛选,确定 Alcalase 2.4 L 蛋白酶为水酶法提取米糠油的酶制剂;糖酶无法提高挤压米糠原料的提油率;碱性条件更有利于米糠油脂的提取。通过优化酶解工艺参数,在 1 : 7.5 料液比、2% 加酶量、57 °C、pH 值 9.0、300 r/min 搅拌酶解 150 min 条件下,可获得 66.2% 的米糠提油率。通过乳状液的破乳条件和破乳方法研究,确定水酶法提取米糠油乳状液的最佳破乳工艺:调节乳状液 pH 值至 7.0,60 °C 条件下 300 r/min 搅拌 60 min,破乳率可达 93.15%;碱性条件及 CaCl₂ 处理,无助于水酶法提取米糠油乳状液的破乳;20%~30% 乙醇处理,可提高乳状液的破乳率。

应用本研究创制的水酶法提取米糠油工艺,可获得 84.1% 以上提油率的米糠毛油,毛油品质特别是生物活性物质的含量,明显优于传统溶剂法提取米糠毛油。

参考文献:

- [1] 张金建. 米糠功能成分梯度提取及理化特性、抗氧化性研究[D]. 杭州: 浙江科技学院, 2017.
ZHANG J. Study on the extraction, physical-chemical characteristics and antioxidant activity of active ingredients from rice bran[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Science and Technology, 2017.
- [2] 刘大川, 李从军. 米糠油的营养特性及精炼新工艺[J]. 中国油脂, 2014, 39(2): 13-16.
LIU D, LI C. Nutrition characteristics and noval refining process of rice bran oil[J]. China Oils and Fats, 2014, 39(2): 13-16.
- [3] 肖竹钱, 赵优萍, 范煜, 等. 不同制备方法对米糠油品质影响及米糠蛋白的氨基酸组成分析[J]. 中国油脂, 2018, 43(11): 39-44.
XIAO Q, ZHAO Y, FAN Y, et al. Effect of different preparation methods on quality of rice bran oil and amino acid composition of rice bran protein[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(11): 39-44.
- [4] KHOEI M, CHEKIN F. The ultrasound-assisted aqueous extraction of rice bran oil[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 503-507.
- [5] DEVARAJAN S, CHATTERJEE B, URATA H, et al. A blend of sesame and rice bran oils lowers hyperglycemia and improves the lipids[J]. The American Journal of Medicine, 2016, 129(7): 731-739.
- [6] 姚梅桑. 米糠油的制备及其抗氧化活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
YAO M. Preparation of rice bran oil and studies of its *in vitro* antioxidant activity[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2008.
- [7] 蒋维维, 易金娥, 谭柱良. γ -谷维素的生物活性研究进展[J].

- 食品与发酵工业, 2015, 41(6): 253-258.
- JIANG W, YI J, TAN Z. Research progress on biological activities of γ -oryzanol and its mechanism[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(6): 253-258.
- [8] 李杨, 江连洲, 魏东旭, 等. 水酶法制取大豆油和蛋白关键技术及机理研究[A]. 中国食品科学技术学会第七届年会论文摘要集[C]. 中国北京: 2010: 2.
- LI Y, JIANG L, WEI D, et al. Key technology and mechanism of soybean oil and protein extracted by enzyme assistant aqueous [A]. The 7th Annual Meeting of the Chinese Association of Food Science and Technology[C]. Beijing: 2010: 2.
- [9] 李鹏飞. 水酶法提取花生油及蛋白质[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- LI P. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from peanut[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [10] SUBRAHMANYAN V, BHATIA D S, KALBAG S S, et al. Integrated processing of peanut for the separation of major constituents[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1959, 36(2): 66-70.
- [11] SENGUPTA R, BHATTACHARYYA D K. Enzymatic extraction of mustard seed and rice bran[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1996, 73(6): 687-692.
- [12] HANMOUNGJAI P, PYLE D L, NIRANJAN K. Enzyme-assisted water-extraction of oil and protein from rice bran[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2002, 77(7): 771-776.
- [13] 杨慧萍, 王素雅, 宋伟, 等. 水酶法提取米糠油的研究[J]. 食品科学, 2004, (8): 106-109.
- YANG H, WANG S, SONG W, et al. Study on extracting rice bran oil from rice bran by aqueous enzymatic method[J]. Food Science, 2004, (8): 106-109.
- [14] 郝佳. 水酶法提取稻米油工艺及品质研究[D]. 北京: 北京工商大学, 2020.
- HAO J. Study on extraction technology and quality of rice bran oil by aqueous enzymatic method[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2020.
- [15] 李杨, 张雅娜, 齐宝坤, 等. 水酶法提油工艺的预处理方法研究进展[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(12): 24-28.
- LI Y, ZHANG Y, QI B, et al. Research advancement in pretreatment methods of enzyme-assisted aqueous extraction of oil[J]. Food and Nutrition in China, 2013, 19(12): 24-28.
- [16] 周麟依, 肖志刚, 于金平, 等. 挤压膨化辅助水酶法提取米糠油工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(7): 68-72.
- ZHOU L, XIAO Z, YU J, et al. Extrusion-assisted aqueous enzymatic extraction process of rice bran oil[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29(7): 68-72.
- [17] 魏明, 赵世光, 钱森和. 超声辅助水酶法提取米糠油的研究[J]. 中国油脂, 2014, 39(10): 6-9.
- WEI M, ZHAO S, QIAN S. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of rice bran oil[J]. China Oils and Fats, 2014, 39(10): 6-9.
- [18] 郝佳, 许丹霞, 王振华, 等. 水酶法提取稻米油形成乳状液的破乳技术研究[J]. 中国油脂, 2021, 46(3): 12-17.
- HAO J, XU D, WANG Z, et al. Demulsification of the emulsion formed during aqueous enzymatic extraction of rice bran oil[J]. China Oils and Fats, 2021, 46(3): 12-17.
- [19] 杨瑞金, 倪双双, 张文斌, 等. 水媒法提取食用油技术研究进展[J]. 农业工程学报, 2016, 32(9): 308-314.
- YANG R, NI S, ZHANG W, et al. Summarization on vegetable oil extraction technology by aqueous medium method[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 32(9): 308-314.
- [20] 穆华荣. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- MU H. Food analysis[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- [21] LI P, GASMALLA M A A, LIU J, et al. Characterization and demulsification of cream emulsion from aqueous extraction of peanut[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 185: 62-71.
- [22] PANDEY R, SHRIVASTAVA S L. Comparative evaluation of rice bran oil obtained with two-step microwave assisted extraction and conventional solvent extraction[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 218: 106-114.
- [23] NYAM K L, TAN C P, CHE MAN Y B, et al. Physicochemical properties of kalahari melon seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(4): 694-701.
- [24] 朱琳, 薛雅琳, 刘晓辉, 等. 气相色谱内标法测定植物油中角鲨烯含量[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(12): 117-120.
- ZHU L, XUE Y, LIU X, et al. Determination of squalene in vegetable oils by gas chromatography with an internal standard [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(12): 117-120.
- [25] 粮油检验植物油中谷维素含量的测定分光光度法: LS/T 6121.1—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- Inspection of grain and oils Determination of oryzanol content in vegetable oils Spectrometric method: LS/T 6121.1—2017[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [26] HANMOUNGJAI P, PYLE D L, NIRANJAN K. Enzyme-assisted water-extraction of oil and protein from rice bran[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2002, 77(7): 771-776.
- [27] JIAO J, LI Z, GAI Q, et al. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2014, 147: 17-24.
- [28] LATIF S, ANWAR F. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction[J]. Food Chemistry, 2011, 125 (2): 679-684.
- [29] AMARASINGHE B M W P, KUMARASIRI M P M, GANGODAVILAGE N C. Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil[J]. Food and Bioproducts Processing, 2009, 87(2): 108-114.
- [30] 邓博心. 预烘烤对花生水酶法制油油脂释放行为及品质的影

- 响[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- DENG B. Effects of pre-roasting on the release behavior and quality of peanut oil during the enzymatic aqueous extraction process[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [31] JUNG S, MAURER D, JOHNSON L A. Factors affecting emulsion stability and quality of oil recovered from enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(21): 5340-5347.
- [32] 刘媛媛. 水媒法提取葵花籽油与蛋白质[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- LIU Y. Aqueous medium extraction of sunflower seed oil and protein[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [33] 吴海波, 江连洲. CaCl_2 和 pH 值对水酶法提取大豆油形成乳状液破乳效果影响[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(23): 299-306.
- WU H, JIANG L. Effect of CaCl_2 and pH value on demulsification of emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction processing of soybean oil[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 34(23): 299-306.
- [34] WU J, JOHNSON L A, JUNG S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (2): 527-533.
- [35] 朱敏敏. 水酶法提取番茄籽油及其破乳工艺的研究[D]. 石河子市: 石河子大学, 2017.
- ZHU. Study on extraction of tomato seed oil by aqueous enzymatic method and demulsification[D]. Shihezi City: Shihezi University, 2017.
- [36] CHABRAND R M, GLATZ C E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2009, 45(1): 28-35.
- [37] ARFAT Y A, BENJAKUL S. Impact of zinc salts on heat-induced aggregation of natural actomyosin from yellow stripe trevally[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(4): 2721-2727.
- [38] 王丽媛. 水酶法制取鳄梨油研究及副产物的开发利用[D]. 南宁: 广西大学, 2018.
- WANG L. Studies on aqueous enzymatic extraction of avocado oil and its byproducts[D]. Nanning: Guangxi University, 2018.
- [39] 田凌宇. 低温碱提水代法逆流提取油菜籽油和蛋白质[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- TIAN L. Countercurrent of low-temperature-and-alkali-assisted aqueous extraction processing of oil and protein from rapeseed [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019. ㊞
- 备注: 本文的彩色图表详见本期 PC9, 也可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。

· 公益宣传 ·

《粮食加工》2022 年征订启事

《粮食加工》杂志创刊于 1976 年, 1992 年为中文核心期刊, 被《中国知网》、超星等数据库长年收录, 并以其学术性与实用性结合、内容详实、信息量丰富、发行面广、印刷精美, 在全国粮食行业具有很大的影响力。刊物主要栏目有粮食经济论坛、小麦加工、稻米加工、玉米及小杂粮加工、粮食加工设备、粮食深加工、食品研究与开发、粮食物流与仓储及粮情检测分析等。

《粮食加工》为国内外公开发行人, 双月刊(逢双月 1 日出版), 8 元/期, 全年定价: 48 元。国际标准 A4 开本, 全国各地邮局均可订阅。CN61-1422/TS, 邮发代号: 52-202, 海外发行代号: BM2990。请直接搜索、添加粮食加工微信公众号。

地 址: 西安莲湖区劳动路 138 号《粮食加工》杂志社
电 话: 029-88648175 传 真: 029-88631191
邮 编: 710082
E-mail: xibu98@sina.com lsjg2004@126.com
微信公众号: 粮食加工 杂志
网 址: [Http://www.lsjg.cn](http://www.lsjg.cn)