

李亚萍. 基于复合酶法提取核桃油工艺条件的优化[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(16): 221-223.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.049

基于复合酶法提取核桃油工艺条件的优化

李亚萍

(安康学院化学化工学院, 陕西安康 725000)

摘要: 研究复合酶提取核桃油的工艺条件。以果胶酶和纤维素酶组成复合酶, 并辅助以超声波来提取核桃油, 经单因素试验和正交试验优化提取条件。研究表明, 果胶酶: 纤维素酶的质量比为 1:1, 酶添加量 1.4%、酶解 pH 值为 6.0, 超声酶解温度 55 ℃、酶解时间 50 min、超声功率 90 W, 核桃提油率可达 54%。

关键词: 核桃油; 复合酶; 超声波; 提取工艺优化; 果胶酶; 纤维素酶

中图分类号: TS255.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)16-0221-03

随着人们生活水平的提高, 有着“树上油库”美誉的核桃越来越被关注。相对于其他油料植物, 核桃中核桃仁的油脂含量较高, 质量占比 65% 左右, 亚油酸、甘油酯、亚麻酸及油酸甘油酯是其主要成分, 含量占油脂总量的 90% 左右。大量的医学和营养学研究发现, 长期食用核桃油不仅可以降低血液中的胆固醇水平, 还可对心血管类的疾病起到一定的预防

作用^[1-3]。提油方法中, 传统的压榨法出油率不高, 残油量较大, 而溶剂浸出法提油的时间较长、同时还存在有机溶剂残留的问题^[4]。本研究以超声波辅助复合酶法提取核桃油, 该方法不仅环保, 提油率高, 而且操作过程简单, 试验条件易于控制, 可为安康核桃油的开发利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂及原料

KH-250DE 数控超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司生产; LC-10ATvp 高效液相色谱仪, 日本岛津生产; MODEL0406-1 低速离心机, 上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂生产; DK-2000-III 电热恒温水浴锅, 天津市

收稿日期: 2019-04-18

基金项目: 陕西省安康市科技局项目(编号: 2017AK01-06)。

作者简介: 李亚萍(1978—), 陕西宝鸡人, 硕士, 讲师, 主要从事天然植物中有效成分的提取分离与检测方面的研究。E-mail: 403800917@qq.com。

的种植建议以江苏邳州的回回苏(醛型)为宜, 重庆和玉林地区的白苏(酮型)次之。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 339.
- [2] 韦保耀, 黄丽, 滕建文. 紫苏属植物的研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 274-277.
- [3] 冯劫, 王薇, 余陈欢. 紫苏叶挥发油化学成分分析及其抗炎机制研究[J]. 海峡药学, 2011, 23(5): 45-48.
- [4] 王健, 薛山, 赵国华. 紫苏不同部位精油成分及体外抗氧化能力的比较研究[J]. 食品科学, 2013, 34(7): 86-91.
- [5] 姚梅悦, 周长征, 陈飞, 等. 白芷、防风、紫苏叶配伍的体外抗病毒追踪[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(6): 782-784.
- [6] Ji W W, Li R P, Li M, et al. Antidepressant-like effect of essential oil of *Perilla frutescens* in a chronic, unpredictable, mild stress-induced depression model mice[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, 12(10): 753-759.
- [7] 刘大川, 王静, 苏望懿, 等. 紫苏植物的开发研究[J]. 中国油脂, 2001, 26(5): 7-9.
- [8] 陈士林. 中国药材产地生态适宜性区划[M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [9] 魏长玲, 郭宝林, 张琛武, 等. 中国紫苏资源调查和紫苏叶挥发油化学型研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(10): 1823-1834.

- [10] 魏长玲, 郭宝林. 紫苏叶挥发油的不同化学型及研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(15): 2937-2944.
- [11] 魏长玲, 张琛武, 郭宝林, 等. 紫苏叶挥发油化学型和组分影响因素探究 I——不同生长发育期[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(4): 712-718.
- [12] 张辰露, 梁宗锁, 吴三桥, 等. 不同方法提取紫苏叶挥发油成分 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2016, 39(2): 337-341.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 2204.
- [14] 邱琴, 凌建亚, 张莉, 等. 不同方法提取的白苏叶挥发油的气质联用成分分析[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(1): 114-119.
- [15] 刘飞, 戴建辉, 张润芝, 等. 云南产紫苏茎和果实挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(8): 4518-4520, 4587.
- [16] 林硕, 邵平, 马新, 等. 紫苏挥发油化学成分 GC/MS 分析及抑菌评价研究[J]. 核农学报, 2009, 23(3): 477-481.
- [17] Nitta M, Kobayashi H, Ohnishi Kameyama M, et al. Essential oil variation of cultivated and wild *Perilla* analyzed by GC/MS[J]. Biochem Syst Ecol, 2006, 34(1): 25-37.
- [18] Zhang X, Wu W, Zhang Y L, et al. Essential oil variations in different *Perilla* L. accessions: chemotaxonomic implications[J]. Plant Systematics and Evolution, 2009, 281(1/2/3/4): 1-10.
- [19] Yuba A, Honda G, Koezuka Y, et al. Genetic analysis of essential oil variants in *Perilla frutescens*[J]. Biochemical Genetics, 1995, 33(9/10): 341-348.

泰斯特仪器有限公司生产。所用试剂均为分析纯。果胶酶、纤维素酶食品级,上海如吉科技发展有限公司生产。核桃采自陕西省安康地区的山地核桃。

1.2 核桃油的提取过程

筛选安康地区优质核桃仁,在温水中浸泡 12 h 后去掉内种皮,烘干后粉碎,称质量。按质量比 1 : 6 将核桃仁和水混合得到混合液^[5],分别加入果胶酶、纤维素酶、复合酶(质量比为 1 : 1),搅拌均匀后,固定超声功率 90 W,并设置一定的酶解 pH 值(以氢氧化钠调节)、超声酶解温度、酶解时间,在超声波清洗器中超声酶解。然后取出试液煮沸 10 min,混合液上离心机分离,获得游离油和乳状液,乳状液再经萃取分离得到游离油。合并上述游离油即为粗油,再经恒质量干燥即可获得核桃油产品。具体过程见图 1。

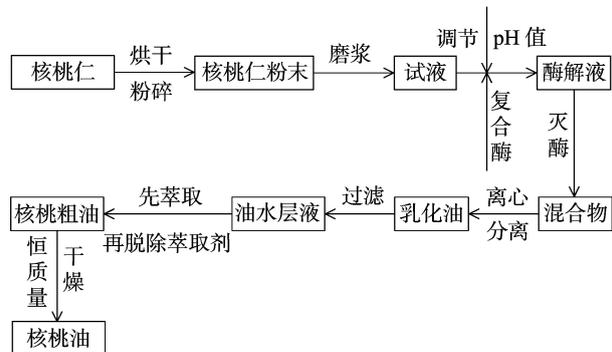


图1 核桃油提取过程

2 结果与分析

2.1 不同因素对核桃油提取率的影响

2.1.1 单一酶与复合酶对核桃油提油率的影响 准确称取 10 g 核桃仁粉末 3 份,按 1 : 6(料液质量比)制成混合液,分别用果胶酶、纤维素酶及复合酶(质量比 1 : 1)酶解^[6],加酶 1.4%(酶量占混合液的质量比值),调节 pH 值 = 6.0。设置超声功率 90 W,超声酶解温度 50 ℃,超声酶解时间 30 min。进行酶解,酶解完成后将混合液煮沸灭酶 10 min,离心 4 000 r/min,20 min,比较观察不同酶对提油效果的影响。从图 2 可以看出,复合酶比单一酶更利于提油率的提高,可能是纤维素酶与果胶酶之间存在着协同作用,联合使用能提高出油率,所以采用复合酶进行酶解提油。

2.1.2 酶用量对核桃油提取率的影响 准确称取 10 g 核桃仁粉末 6 份,按 1 : 6(料液质量比)制成混合液,用复合酶进行酶解,依次加入 0.8%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6%、1.8% 的复合酶(酶量占混合液的质量比值),其他操作条件同

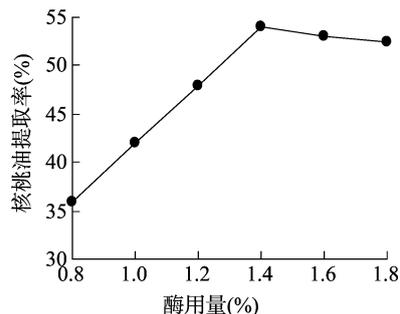


图3 酶用量对核桃油提取率的影响

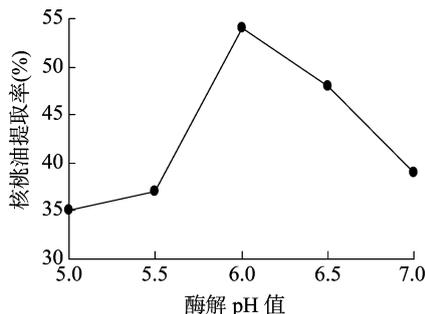


图4 酶解 pH 值对核桃油提取率的影响

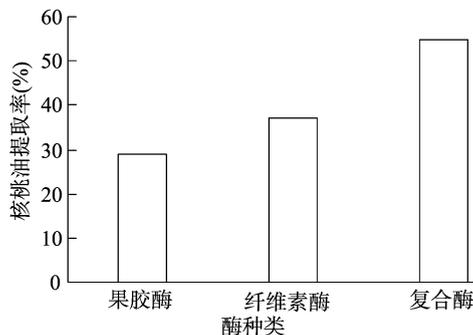


图2 单一酶与复合酶对核桃油提取率的影响

“2.1.1”节,比较不同酶用量对核桃油提取率的影响。从图 3 可以看出,酶用量 < 1.4% 时,核桃油的提取率随着酶用量大幅提高,当酶用量达 1.4% 时,提油率达到了最大值,之后酶用量再增加,核桃油的提取率反而有下降的趋势,可能是酶的浓度偏大,酶解活性反而下降,因此酶用量宜控制在 1.4%。

2.1.3 酶解 pH 值对核桃油提取率的影响 准确称取 10 g 核桃仁粉末 5 份,工艺参数与“2.1.1”节部分相同,分别调节酶解 pH 值为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0,比较酶解 pH 值对提油效果的影响。从图 4 可以看出,当 pH 值 < 6.0 时,随着 pH 值的增加,核桃油提取率呈增加趋势,但 pH 值在 5.0 ~ 5.5 之间变化不明显,5.5 ~ 6.0 之间,提油率提高明显,pH 值 = 6.0 时,提取率最大;pH 值超过 6.0 时,提取率开始下降,可能是酶的活性开始下降了。因此 pH 值宜控制在 6.0。

2.1.4 超声酶解温度对核桃油提取率的影响 准确称取 10 g 核桃仁粉末 5 份,工艺参数与“2.1.1”节部分相同,分别在 40、45、50、55、60 ℃ 温度条件下进行酶解,比较酶解温度对提油效果的影响。从图 5 可以看出,在酶解温度为 40 ~ 55 ℃ 时,提取率随着酶解温度的升高而增加,当温度为 55 ℃ 时,提取率最大。酶解温度高于 55 ℃ 后,提取率反而下降,因为此时已经超过了酶解的最佳温度,酶的活性开始下降。因此,55 ℃ 是最佳的超声酶解温度。

2.1.5 酶解时间对核桃油提取率的影响 准确称取 10 g 核桃仁粉末 6 份,工艺参数与“2.1.1”节部分相同,进行酶解的时间分别为 20、30、40、50、60、70 min,比较酶解时间对提油效果的影响。从图 6 可以看出,核桃油的提取率随着酶解时间的增加先增加后减少,当超声酶解时间为 50 min 时,酶与底物进行了最充分的反应,出油率相对最多,提取率也达到了最大值,超过 50 min 后,提取率开始下降,可能是时间过长,核桃呈乳化状态,不利于离心分离。因此,超声酶解时间宜控制在 50 min。

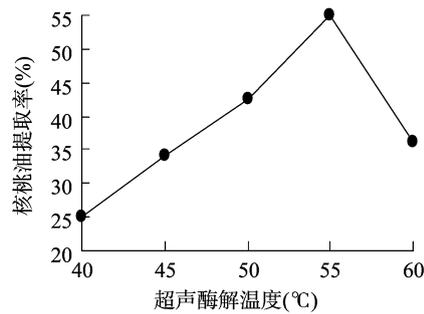


图5 超声酶解温度对核桃油提取率的影响

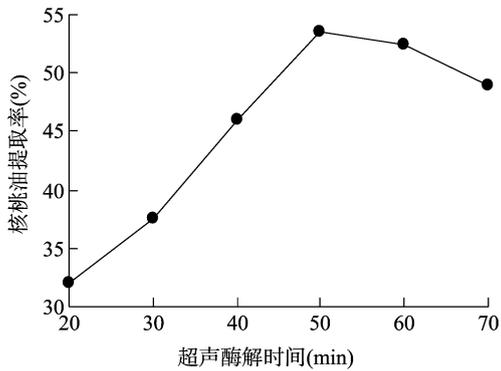


图6 酶解时间对核桃油提取率的影响

2.2 复合酶提取核桃油的正交试验

以核桃油的提取率为试验指标,根据单因素试验结果,以酶加量、酶解 pH 值、超声酶解温度、超声酶解时间为影响因素,进行 $L_9(3^4)$ 的正交试验设计,因素水平见表 1,试验结果见表 2。

表 1 提取核桃油影响因素水平

水平	因素			
	A:酶加量 (%)	B:酶解 pH 值	C:超声酶解温度(°C)	D:超声酶解时间(min)
1	1.2	5.5	50	40
2	1.4	6.0	55	50
3	1.6	6.5	60	60

表 2 提取核桃油正交试验

试验号	A:酶加量	B:酶解 pH 值	C:超声酶解温度	D:超声酶解时间	核桃油提取率 (%)
1	1	1	1	1	42.56
2	1	2	2	2	45.78
3	1	3	3	3	43.32
4	2	1	2	3	48.67
5	2	2	3	1	52.45
6	2	3	1	2	49.36
7	3	1	3	2	44.21
8	3	2	1	3	42.50
9	3	3	2	1	46.89
K_1	131.66	135.44	134.42	141.90	
K_2	150.48	140.73	141.34	139.35	
K_3	133.60	139.57	139.98	134.49	
k_1	43.89	45.15	44.81	47.30	
k_2	50.16	46.91	47.11	46.45	
k_3	44.53	46.52	46.66	44.83	
R	6.27	1.76	2.30	2.47	

从表 2 数据分析可知,影响核桃油提取率的因素大小为 $A > D > C > B$,即酶加量对核桃油提取率的影响最大,其次是超声酶解时间和超声酶解温度,酶解 pH 值对核桃油的提取率影响最小。4 个因素的最佳工艺为 $A_2B_2C_2D_1$,即酶加量 1.4%、酶解 pH 值为 6.0、超声酶解温度 55 °C、超声酶解时间 50 min。

因此,核桃油产率计算值为 $w = m/m_s \times 100\% = 0.5438 / 10 \times 100\% = 54\%$ 。

式中: w 为核桃油提取率,%; m_s 为核桃仁的质量,g; m 为提取的核桃油的质量,g。

3 结论

超声波辅助酶法将水酶法与超声波技术结合起来,酶使核桃仁的组织细胞破裂得更有效,更充分,提高了出油率,又辅助以超声波的强烈振动、空化及搅拌等协同作用,有效地提高了核桃油的提取率。若按下述工艺条件运行,果胶酶:纤维素酶质量比为 1:1、酶添加量 1.4%、超声酶解 pH 值为

6.0、超声酶解温度 55 °C、酶解时间 50 min、超声功率 90 W,核桃提油率可高达 54%。

参考文献:

- [1]张韶忠. 核桃油现代食用消费的新趋势[J]. 农产品加工,2008(7):34-35.
- [2]翁新楚,董新伟,任国普. EPA 和 DHA 的生理功能及其氧化稳定性[J]. 生物工程进展,1994,14(6):56-60.
- [3]Phillipson B E, Rothrock D W, Connor W E, et al. Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia [J]. New England Journal of Medicine,1985,312(19):1210-1216.
- [4]姜荣庆. 复合酶提取山核桃油及副产物综合利用的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2011.
- [5]李天兰. 水酶法提取核桃油及多不饱和脂肪酸富集研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2013.
- [6]易建华,朱振宝,赵芳. 酶的选择对水酶法提取核桃油的影响[J]. 中国油脂,2007,32(2):27-29.