

山桐子油水酶法提取工艺优化及品质分析

Research on extraction of idesia polycarpa oil by aqueous enzymatic method and its nutritional analysis

王玉琴¹ 双全²

WANG Yu-qin¹ SHUANG Quan²

(1. 乌兰察布医学高等专科学校, 内蒙古 乌兰察布 012000; 2. 内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010018)

(1. Ulanqab Medical College, Ulanqab, Inner Mongolia 012000, China;

2. Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

摘要:采用水酶法提取山桐子油并对其工艺进行了优化, 确定水酶法提取山桐子油的最佳工艺条件为: 蒸炒温度 150 °C、蒸炒时间 15 min、酶解温度 50 °C、料液比 1:5 (g/mL)、酶解时间 5 h、pH 6.0、复合酶用量 2.0%, 该条件下山桐子油的提取率可达 93.88%。水酶法提取的山桐子毛油气味清香, 酸值、过氧化值等理化指标均较好, 无须精炼, 只需经过简单的精密过滤即可, 且亚油酸和维生素 E 含量较高。

关键词:山桐子油; 水酶法; 蒸炒; 品质分析

Abstract: In this study, the aqueous enzymatic extraction of idesia polycarpa oil was investigated, and the optimum technological conditions were optimized to provide a feasible basis for industrial production of idesia polycarpa oil. Idesia polycarpa was crushed into 40 mesh sieve and then extracted by centrifugation to obtain idesia polycarpa oil. Taking oil extraction efficiency as an index, the optimum technological conditions for idesia polycarpa oil by aqueous enzymatic method were determined: roast temperature was 150 °C, roast time was 15 min, pH was 6.0, solid-liquid ratio was 1:5 (g/mL), amount of compound enzyme was 2.0%, enzymatic hydrolysis time was 5 h, enzymatic hydrolysis temperature was 50 °C. Under this technological condition, the oil extraction efficiency of aqueous extract was 93.88%. Moreover, the oil extracted by aqueous enzymatic method have a good fragrance. The physical and chemical indexes such as acid value and peroxide value were all good, no needing any refining, but could be obtained through simple and precise filtration, with the high yield of linoleic acid and vitamin E.

Keywords: idesia polycarpa oil; aqueous enzymatic method; roast; quality analysis

山桐子别名水冬瓜、水冬桐、椅树、椅桐、斗霜红, 为大风子科、山桐子属落叶乔木, 分布于中国、日本、朝鲜与俄罗斯远东地区, 在中国主要产于四川盆周山地、重庆、云南、贵州、陕西南部、甘肃南部、湖北、湖南、江西、浙江、福建和台湾地区^[1-2]。

山桐子整果平均含油率为 36.71%, 不饱和脂肪酸含量高达 80%, 其中亚油酸含量高达 68%~71%, 与红花籽油相当, 比芝麻油、山茶油、花生油和橄榄油的含量都高, 且维生素 E 含量高, 是一种优质的木本食用油脂^[3-4]。虽然在山桐子主产区食用山桐子油已有上百年历史, 但是山桐子油工业化生产却鲜有报道, 吴发旺等^[5]曾采用冷榨法制取山桐子油, 饼渣残油高; 旷春桃等^[6]曾采用超临界流体萃取山桐子油, 提取率虽高, 但成本高, 不易投产。水酶法提取的植物油品质高, 对环境污染少, 符合安全、营养、绿色的要求。目前已被应用于菜籽^[7]、玉米胚^[8]、油茶籽^[9]等油料作物的提取, 并取得了良好的效果^[10]。但目前中国尚未有水酶法提取山桐子油的相关文献报道。

本试验拟对水酶法提取山桐子油工艺条件进行优化, 并对提取得到的油脂进行相关指标检测, 以期如山桐子高效生产加工提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

山桐子: 购于四川广元市;

维生素 E 标准品: HPLC ≥ 98%, 上海源叶生物科技有限公司;

水解蛋白酶 Alcalase 2.4L: 2.4 AU/g, 丹麦诺维信公司;

果胶酶 (10 000 U/g)、纤维素酶 (10 000 U/g)、中性蛋白酶 (50 000 U/g): 阿拉丁试剂 (上海) 有限公司;

各种脂肪酸甲酯标准品: 美国 Sigma 公司;

其他试剂均为分析纯;

作者简介: 王玉琴, 女, 乌兰察布医学高等专科学校讲师, 硕士。

通信作者: 双全 (1964—), 男, 内蒙古农业大学教授, 博士。

E-mail: shuangquan688@126.com

收稿日期: 2018-08-02

水为蒸馏水；

精密数显恒温水浴锅:J-HH-4A型,冠森生物科技(上海)有限公司;

实验室搅拌机:RW20型,艾卡(广州)仪器设备有限公司;

小型粉碎机:FW-100型,天津市泰斯特仪器有限公司;

pH计:DELTA 320型,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;

分析天平:Practum224-1CN型,岛津(上海)实验器材有限公司;

离心机:L-550型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;

高效液相色谱仪:E2695型,美国沃特世科技有限公司;

气相色谱仪:7890B型,美国安捷伦科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 山桐子及山桐子油相关指标检测方法

(1) 山桐子水分测定:按 GB 5009.3—2016 的第一法执行。

(2) 粗脂肪测定:按 GB 5009.6—2016 执行。

(3) 蛋白质测定:按 GB 5009.5—2016 执行。

(4) 淀粉测定:按 GB 5009.9—2016 执行。

(5) 山桐子油水分测定:按 GB 5009.236—2016 执行。

(6) 酸价测定:按 GB 5009.229—2016 执行。

(7) 过氧化值测定:按 GB 5009.227—2016 执行。

(8) 色泽测定:按 GB/T 22460—2008 执行。

(9) 维生素 E 测定:按 GB 5009.82—2016 执行。

1.2.2 脂肪酸组成分析

(1) 样品制备:按 GB 5009.168—2016 执行。

(2) 气相色谱条件:气相色谱柱为 DB-wax 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),FID 检测器,采用程序升温,初始温度 180 ℃,保持 0.5 min,以 5 ℃/min 升至 200 ℃,然后以 15 ℃/min 升至 240 ℃,保持时间 5 min;再以 2 ℃/min 升至 242 ℃,保持 2 min。

1.2.3 山桐子油水酶法提取工艺 将山桐子在适当温度下进行蒸炒,然后准确称取粉碎过 40 目筛的山桐子粉 200.0 g,加 1 000.0 g 的热水(约 90 ℃)在 90 ℃水浴下糊化 40 min。淀粉糊化后,调节 pH 值和温度,参考文献[11]加入复合酶(水解蛋白酶 Alcalase 2.4L:果胶酶:纤维素酶质量比 1:1:1)酶解后灭酶活,调节 pH=7.00 加入 0.4% 中性蛋白酶酶解破乳 1 h。提取后在 5 000 r/min 离心 20 min,吸取上层清油。提取率按式(1)计算:

$$X = \frac{m}{M} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

X——提取率,%;

m——提取得到的油脂重量,g;

M——原料含油重量,g。

1.2.4 单因素试验

(1) 蒸炒温度:以蒸炒时间 15 min,料液比 1:4 (g/mL),酶解温度 40 ℃,酶解时间 4 h,复合酶用量 1.5% 和

pH 6.0 作为基本条件。考察不同蒸炒温度(90,110,130,150,170,190 ℃)对山桐子油提取率的影响。

(2) 蒸炒时间:以蒸炒温度 130 ℃,料液比 1:4 (g/mL),酶解温度 40 ℃,酶解时间 4 h,复合酶用量 1.5% 和 pH 6.0 作为基本条件。考察不同蒸炒时间(5,10,15,20,25 min)对山桐子油提取率的影响。

(3) 料液比:以蒸炒温度 130 ℃,蒸炒时间 15 min,酶解温度 40 ℃,酶解时间 4 h,复合酶用量 1.5% 和 pH 6.0 作为基本条件。考察不同料液比[1:3,1:4,1:5,1:6,1:7,1:8 (g/mL)]对山桐子油提取率的影响。

(4) 酶解温度:以蒸炒温度 130 ℃,蒸炒时间 15 min,料液比 1:4 (g/mL),酶解时间 4 h,复合酶用量 1.5% 和 pH 6.0 作为基本条件。考察不同酶解温度(30,40,50,60,70 ℃)对山桐子油提取率的影响。

(5) 酶用量:以蒸炒温度 130 ℃,蒸炒时间 15 min,料液比 1:4 (g/mL),酶解温度 40 ℃,酶解时间 4 h 和 pH 6.0 作为基本条件。考察不同酶用量(0.5%,1.0%,1.5%,2.0%,2.5%)对山桐子油提取率的影响。

(6) pH:以蒸炒温度 130 ℃,蒸炒时间 15 min,料液比 1:4 (g/mL),酶解温度 40 ℃,酶解时间 4 h 和复合酶用量 1.5% 作为基本条件。考察不同 pH(4.5,5.0,5.5,6.0,6.5,7.0)对山桐子油提取率的影响。

(7) 酶解时间:以蒸炒温度 130 ℃,蒸炒时间 15 min,料液比 1:4 (g/mL),酶解温度 40 ℃, pH 6.0 和复合酶用量 1.5% 作为基本条件。考察不同酶解时间(1,2,3,4,5,6 h)对山桐子油提取率的影响。

1.2.5 正交试验 以蒸炒温度、蒸炒时间、酶解温度、料液比、酶解时间、pH 值、复合酶用量为影响因素,采用七因素三水平正交试验进行优化^[12]。

1.3 数据处理

利用正交设计助手 II 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 山桐子主要成分分析

山桐子主要成分测定结果见表 1。

由表 1 可知,山桐子脂肪含量(37.27±1.55)%,蛋白质含量(9.78±0.74)%,水分含量(9.88±0.68)%,淀粉含量(10.13±0.88)%。山桐子脂肪含量和淀粉含量稍低于油茶籽仁;蛋白质含量与油茶籽仁相当^[13]。

2.2 单因素试验

2.2.1 蒸炒温度的确定 蒸炒温度对山桐子油提取率的影响如图 1 所示。

由图 1 可知,随着蒸炒温度的升高,提取率先呈上升趋势,但是当温度超过 150℃ 时提取率急剧下降。原因可能是

表 1 山桐子主要成分

Table 1 The main components of idesia (n=6) %

脂肪	蛋白质	水分	淀粉
37.27±1.55	9.78±0.74	9.88±0.68	10.13±0.88

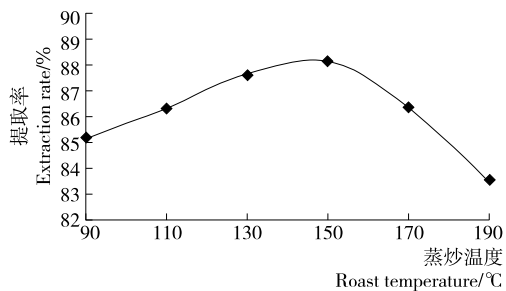


图 1 蒸炒温度对水酶法提取率的影响

Figure 1 Effect of roast temperature on the oil extraction efficiency by queous enzymatic method

蒸炒破坏了山桐子细胞壁,促进油脂从细胞中溶解出来;但当温度继续升高时,山桐子中的蛋白质、淀粉等物质高度变性,反而阻止了油脂的溶出^[13-14]。结合山桐子油提取率和品质因素,选定山桐子蒸炒温度为 130~150 °C。

2.2.2 蒸炒时间的确定 蒸炒时间对山桐子油提取率的影响如图 2 所示。

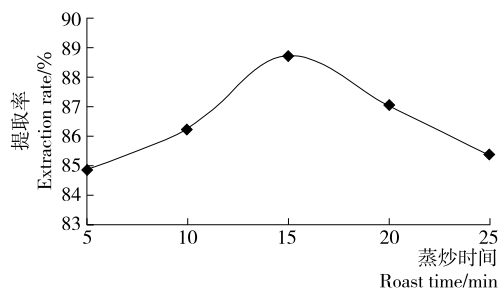


图 2 蒸炒时间对水酶法提取率的影响

Figure 2 Effect of roast time on the oil extraction efficiency by queous enzymatic method

由图 2 可知,随着蒸炒时间的延长,提取率先呈上升趋势,但是当蒸炒时间超过 15 min 时提取率急剧下降。原因可能是蒸炒破坏了山桐子细胞壁,促进油脂从细胞中溶解出来,但蒸炒过度,会使山桐子中的蛋白质、淀粉等物质高度变性,反而阻止了油脂的溶出^[14-15]。结合山桐子油提取效率和品质因素,选定山桐子蒸炒时间为 15 min。

2.2.3 料液比的确定 料液比对山桐子油提取率的影响如图 3 所示。

由图 3 可知,当料液比处于 1:3~1:5 (g/mL) 时,提

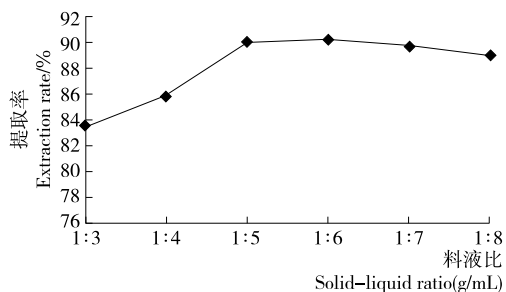


图 3 料液比对水酶法提取率的影响

Figure 3 Effect of solid-liquid ratio on the oil extraction efficiency by queous enzymatic method

取率随着溶剂增加而增大;但料液比达到 1:5 (g/mL) 后,提取率反而有所下降。溶剂过少时,油脂不能被更多地挤压出来,且所得的浆渣黏度大,离心时内部的分散油滴不易游离至表面,出油效率低。溶剂过多,多余的水分易与部分油脂、浆渣混在一起,从而产生乳化作用而不易分离,与此同时,生成的浆渣稀薄,表面张力小,黏度低,浆渣与油脂不容易分离^[16]。因此选择料液比为 1:5 (g/mL) 为宜。

2.2.4 酶解温度的确定 酶解温度对山桐子油提取率的影响如图 4 所示。

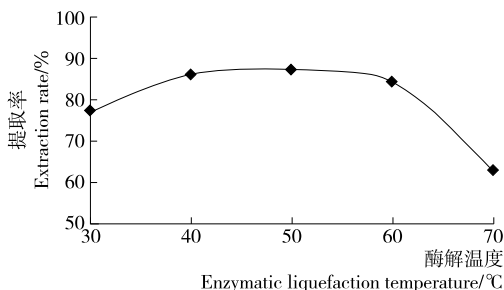


图 4 酶解温度对水酶法提取率的影响

Figure 4 Effect of enzymatic liquefaction temperature on the oil extraction efficiency by queous enzymatic method

由图 4 可知,当温度低于 40 °C 时,提取率随温度升高而增加;温度超过 50 °C 以后,由于酶活力降低或失活,导致山桐子油难以释放,提取率降低。为防止体系不乳化而有利于后期油脂分离,因此,酶解温度选择 40~50 °C。

2.2.5 酶用量的确定 酶用量对山桐子油提取率的影响如图 5 所示。

由图 5 可见,随复合酶用量的增加山桐子提取率逐渐提高,到 1.5% 后提取率提高趋缓,随着酶用量的增加,提取率提高不明显。考虑到工业生产的经济成本,选择复合酶用量 1.5% 为宜。

2.2.6 pH 的确定 pH 对山桐子提取率的影响如图 6 所示。

由图 6 可见,在 pH 5.5~6.5 时有较高的提取率,超过 pH 7.0 或较低的 pH 值提油率降低,是由于水解蛋白酶 Alcalase2.4L、果胶酶和纤维素酶在此 pH 范围内有较高的酶活力,在较高或较低的 pH 下酶活力降低或失活。因此,选择

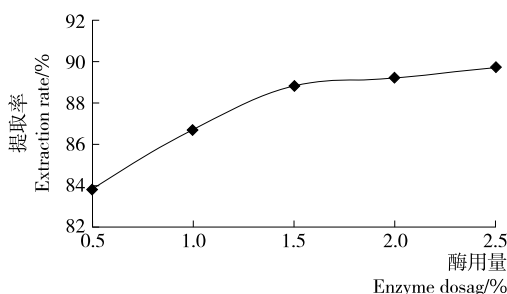


图 5 酶用量对水酶法提取率的影响

Figure 5 Effect of enzyme dosage on the oil extraction efficiency by queous enzymatic method

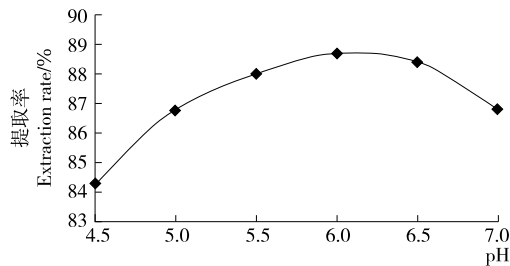


图6 pH对水酶法提取率的影响

Figure 6 Effect of pH on the oil extraction efficiency by aqueous enzymatic method

pH 6.0左右为宜。

2.2.7 酶解时间的确定 酶解时间对山桐子油提取率的影响如图7所示。

由图7可知,随着时间的延长,提取率逐渐增加,但超过4 h时增加趋缓;酶解时间超过5 h后,提取率几乎不再增加。综合考虑各方面因素,酶解提取时间以4 h为宜。

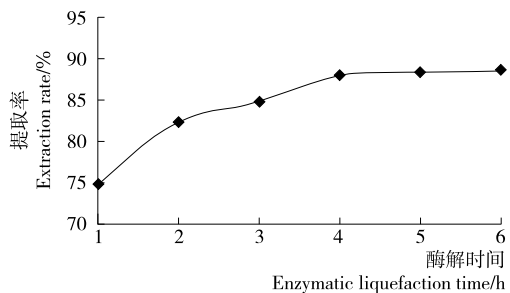


图7 酶解时间对水酶法提取率的影响

Figure 7 Effect of enzymatic liquefaction time on the oil extraction efficiency by aqueous enzymatic method

2.3 正交试验

以蒸炒温度、蒸炒时间、酶解温度、料液比、酶解时间、pH值、复合酶用量为影响因素,采用 $L_{18}(3^7)$ 正交表进行优化设计,正交试验因素水平表见表2,试验方案与结果见表3。

表2 正交试验因素水平表

Table 2 The orthogonal factor level table

水平	A 蒸炒温度/°C	B 蒸炒时间/min	C 酶解温度/°C	D 料液比(g/mL)	E 酶解时间/h	F pH	G 酶用量/%
1	130	10	40	1:4	3	5.5	1.0
2	150	15	50	1:5	4	6.0	1.5
3	170	20	60	1:6	5	6.5	2.0

表3 正交设计试验方案与结果

Table 3 The experimental scheme of orthogonal design and results

试验号	A	B	C	D	E	F	G	提取率/%
1	1	1	1	1	1	1	1	78.54
2	1	2	2	2	2	2	2	91.94
3	1	3	3	3	3	3	3	89.86
4	2	1	1	2	2	3	3	89.11
5	2	2	2	3	3	1	1	90.62
6	2	3	3	1	1	2	2	83.26
7	3	1	2	1	3	2	3	87.69
8	3	2	3	2	1	3	1	84.36
9	3	3	1	3	2	1	2	88.77
10	1	1	3	3	2	2	1	85.87
11	1	2	1	1	3	3	2	88.48
12	1	3	2	2	1	1	3	87.32
13	2	1	2	3	1	3	2	86.16
14	2	2	3	1	2	1	3	84.57
15	2	3	1	2	3	2	1	90.21
16	3	1	3	2	3	1	2	88.14
17	3	2	1	3	1	2	3	88.97
18	3	3	2	1	2	3	1	83.69
k_1	87.00	85.92	87.35	84.37	84.77	86.33	85.55	
k_2	87.32	88.16	87.90	88.51	87.32	87.99	87.79	
k_3	86.94	87.19	86.01	88.38	89.17	86.94	87.92	
R	0.38	2.24	1.89	4.14	4.40	1.66	2.37	

从表 3 得出,以提取率为响应指标,各因素影响程度依次为酶解时间>料液比>复合酶用量>蒸炒时间>酶解温度>pH>蒸炒温度,微波处理最佳工艺条件为蒸炒温度 150 ℃、蒸炒时间 15 min、酶解温度 50 ℃、料液比 1:5 (g/mL)、酶解时间 5 h、pH 6.0、复合酶用量 2.0%。经 6 次平行实验验证,该条件下水酶法提取山桐子油的提取率可达 (93.88±1.22)%。

2.4 山桐子油理化指标及主要营养成分

对最佳工艺条件提取得到的山桐子油进行理化指标检测,结果见表 4,主要脂肪酸组成见表 5。

由表 4 可知,水酶法提取的山桐子油除了透明度以外气味、滋味,色泽,酸值,过氧化值,水分及挥发物,苯并[a]芘等理化指标均符合 GB 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》标准的规定,只要经过简单的精密过滤即可食用。

表 4 水酶法提取山桐子油理化指标

Table 4 Determination of physical and chemical indexes of idesia polycarpa oil by aqueous enzymatic extraction

项目	单位	测定结果	GB 2716—2018
气味、滋味	—	气味清香、无异味	具有产品应有的气味和滋味,无脚臭、酸败及其他异味
色泽(25.4 mm)	—	Y30±3,R1.5±0.1	具有产品应有的色泽
酸值	mg KOH/g	1.50±0.11	≤3.0
过氧化值	g/100 g	0.054±0.005	≤0.25
水分及挥发物	%	0.13±0.01	≤0.20
苯并[a]芘	μg/kg	1.22±0.21	≤10
维生素 E	mg/kg	227.8±4.2	—

表 5 主要脂肪酸组成

Table 5 Main fatty acid composition (n=6)

棕榈酸	硬脂酸	棕榈一烯酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
14.37±0.32	1.86±0.15	6.08±0.36	5.76±0.26	68.94±0.87	0.89±0.09

由表 4、5 可知,山桐子油不饱和脂肪酸含量高达 82%,不仅富含亚油酸,其维生素 E 的含量也高达 227.8 mg/kg,是一种优质的木本食用油脂。

3 结论

水酶法提取山桐子油的最佳工艺条件为:蒸炒温度 150 ℃,蒸炒时间 15 min,酶解温度 50 ℃,料液比 1:5 (g/mL),酶解时间 5 h,pH 6.0,复合酶(水解蛋白酶 Alcalase 2.4L:果胶酶:纤维素酶质量比 1:1:1)用量 2.0%。该条件下水酶法提取山桐子油的提油率可达 (93.88±1.22)%。

水酶法提取的山桐子毛油气味清香,酸值、过氧化值等理化指标均较好,无须精炼,只要经过简单的精密过滤即可食用。水酶法提取的山桐子脂肪酸组成中亚麻酸含量可达 (68.94±0.87)%,且维生素 E 含量较高。

本研究证实水酶法从山桐子中提取山桐子油实现工艺生产是可行的,为山桐子油的提取提供方向;但未就山桐子不同来源以及生物酶种类和比例的筛选进行研究,后期需要进一步深入研究。

参考文献

[1] 黄心敏,仇兆倩,王俊杰,等.山桐子油的研究进展[J].粮食与油脂,2017,30(4):11-13.
 [2] 刘芙蓉,罗建勋,杨马进.山桐子的地理分布及其潜在适宜栽培区划[J].林业科学研究,2017,30(6):1 028-1 033.
 [3] 包杰,陈凤香.不同产地山桐子果含油率和脂肪酸组成分析[J].粮食与油脂,2016,29(5):35-36.

[4] 莫开林,张正香,罗小龙,等.山桐子油的开发利用[J].粮油食品科技,2009,17(6):23-25.
 [5] 吴发旺,刘春雷.响应面优化冷榨法制取山桐子油工艺的研究[J].食品工业科技,2012,33(11):278-282.
 [6] 旷春桃,吴斌,唐宏伟,等.山桐子油的超临界 CO₂萃取工艺优化及脂肪酸组成分析[J].食品与机械,2016,32(11):154-157,228.
 [7] 章绍兵,王璋.水酶法从菜籽中提取油及水解蛋白的研究[J].农业工程学报,2007,23(9):13-219.
 [8] 李珺,段作营,尤新,等.水酶法提取玉米胚芽油的研究[J].中国油脂,2002,27(3):15-18.
 [9] 刘瑞兴,张智敏,吴苏喜,等.水酶法提取油茶籽油的工艺优化及其营养成分分析[J].中国粮油学报,2012,27(12):54-61.
 [10] 李杨,江连洲,杨柳.水酶法制取植物油的国内外发展动态[J].食品工业科技,2009(6):383-387.
 [11] 李云雁,胡传荣.试验设计与数据处理[M].北京:化学工业出版社,2017:153-181.
 [12] 关炳峰,吕凯波,李向力,等.水酶法从红花籽中提取油脂与水解蛋白的工艺优化[J].食品工业科技,2018,39(11):126-131.
 [13] 罗晓岚,朱文鑫.油茶籽油加工和油茶资源综合利用[J].中国油脂,2010,35(9):13-17.
 [14] 乐继江.蛋白质变性与出油率之间关系的探讨[J].中国油脂,1992(S1):63-66.
 [15] 李殿宝.料坯蒸炒的作用及其对制油工艺的意义[J].沈阳师范大学学报:自然科学版,2013,31(2):210-213.
 [16] 史双枝,杨艳斌,刘忆冬,等.水剂法同时提取核桃仁油脂及蛋白质研究[J].食品与发酵工业,2009,35(5):191-193,198.