

超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油及其品质分析

王宇晗, 郭天赋, 边昊, 张迪

Extraction of Blackcurrant Seed Oil by Ultrasound-Assisted Aqueous Enzymatic Method and Its Quality Analysis

WANG Yuhang, GUO Tianfu, BIAN Hao, and ZHANG Di

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070032>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

萌发预处理辅助水酶法提取大豆蛋白及油脂

Optimizing germination pretreatment conditions for extraction of soy oil and protein by aqueous enzymatic method

食品工业科技. 2017(04): 202-206 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.04.030>

响应面优化芥末籽油的水酶法提取工艺及其脂肪酸分析

Optimization of Aqueous-enzymatic Extraction Process by Response Surface and Analysis of Fatty Acid of Mustard Seed Oil

食品工业科技. 2019, 40(21): 143-148 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.023>

水酶法提取葵花籽油工艺及机理

Process and Mechanism of Aqueous Enzymatic Extraction of Sunflower Seed Oil

食品工业科技. 2018, 39(24): 151-156,163 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.24.027>

超声波辅助酶法提取骨明胶研究

Study on the extraction of gelatin from bone by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis

食品工业科技. 2017(14): 167-170 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.033>

响应面优化超声波辅助酶法提取油莎豆ACE抑制肽的工艺

Optimization of Ultrasonic-assisted Enzymatic Extraction of ACE Inhibitory Peptides from *Cyperus esculentus* by Response Surface Method

食品工业科技. 2021, 42(14): 182-187 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020100130>

超声波辅助碱液-酶解法对柚皮脱苦效果的研究

Study on effect of debittering shaddock peel by ultrasound-assisted alkaline solution-enzymolysis method

食品工业科技. 2017(13): 206-211 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.13.039>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王宇晗, 郭天赋, 边昊, 等. 超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油及其品质分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 267-274. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070032

WANG Yuhan, GUO Tianfu, BIAN Hao, et al. Extraction of Blackcurrant Seed Oil by Ultrasound-Assisted Aqueous Enzymatic Method and Its Quality Analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 267-274. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070032

· 工艺技术 ·

超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油及其品质分析

王宇晗¹, 郭天赋¹, 边昊², 张迪^{1,3,4,5,*}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088;

2. 安徽工商职业学院, 安徽合肥 230041;

3. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东湛江 524088;

4. 广东省海洋食品工程技术研究中心, 广东湛江 524088;

5. 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东湛江 524088)

摘要: 研究了超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的工艺条件, 并对产品的品质进行分析。利用超声波对黑加仑籽进行前处理, 以油脂提取率为考察指标, 通过单因素实验和响应面法优化酶解条件, 确定最佳工艺条件为: 超声功率 300 W, 超声温度 50 ℃, 超声时间 25 min, 复合酶添加量为 2% (蛋白酶: 纤维素酶: 果胶酶=2:2:1), 酶解初始 pH6.5, 酶解温度 55 ℃, 液料比 5:1 (g/g), 酶解时间 3 h, 在最优条件下黑加仑籽油提取率为 78.34%。通过理化指标对超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的品质进行分析。结果表明, 黑加仑籽油的感官指标、过氧化值和酸价均符合国家食用植物油卫生标准要求; 富含不饱和脂肪酸, 其中多不饱和脂肪酸比例为 67.92%, 油中多酚、 α -生育酚、 γ -生育酚含量分别达到 300.49、19.55、41.67 mg/kg, 是一种具有高营养价值的功能性植物油脂。本研究为黑加仑籽油工业化生产提供理论参考。

关键词: 黑加仑籽, 油脂, 品质分析, 超声波, 水酶法

中图分类号: TS225; TQ644.1 文献标识码: B 文章编号: 1002-0306(2023)06-0267-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070032



本文网刊:

Extraction of Blackcurrant Seed Oil by Ultrasound-Assisted Aqueous Enzymatic Method and Its Quality Analysis

WANG Yuhan¹, GUO Tianfu¹, BIAN Hao², ZHANG Di^{1,3,4,5,*}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Department of Tourism, Anhui Business Vocational College, Hefei 230041, China;

3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang 524088, China;

4. Marine Food Engineering and Technology Research Center of Guangdong Province, Zhanjiang 524088, China;

5. Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The process condition of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) seed oil by microwave-assisted aqueous enzymatic method was studied, and the quality of the product was analyzed. According to extraction rate, the optimum conditions of blackcurrant seed oil by microwave-assisted aqueous enzymatic method were explored by single-factor tests and response surface methodology. The optimum conditions were determined as follows: Ultrasonic power 300 W, ultrasonic temperature 50 ℃, ultrasonic time 25 min, composite enzyme dosage 2% (protease: compound cellulase: pectinase=2:2:1),

收稿日期: 2022-07-04

基金项目: 2018 年度安徽高校人文社会科学研究重点项目 (SK2018A908); 安徽省质量工程项目 (2019DSGZS41)。

作者简介: 王宇晗 (2000-), 女, 本科, 研究方向: 农产品深加工, E-mail: yuhan010306@163.com。

* 通信作者: 张迪 (1991-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品深加工与高值化利用技术, E-mail: zjs1273547063@sina.com。

hydrolysis initial pH6.5, hydrolysis temperature 55 °C, liquid-solid ratio 5:1 (g/g), hydrolysis time 3 h. Under the optimal conditions, the extraction rate of blackcurrant seed oil was 78.34%. The quality of blackcurrant seed oil were analyzed by physicochemical indexes. The results showed that the sensory index, peroxide value and acid value of blackcurrant seed oil reached the national sanitary standard of edible vegetable oil. Blackcurrant seed oil was a kind of functional vegetable oil with high nutritional value, which contained unsaturated fatty acids (poly unsaturated fatty acids accounted for 67.92%). The contents of polyphenols, α -tocopherols, γ -tocopherols reached 300.49, 19.55 and 41.67 mg/kg. This study would provide a theoretical reference for the industrial production of blackcurrant seed oil.

Key words: blackcurrant seed; oil; quality analysis; ultrasound; aqueous enzymatic method

黑加仑(*Ribes nigrum* L.), 又名黑穗醋栗、黑豆等, 在我国东北三省、新疆北部等地区广泛种植^[1]。黑加仑酸甜可口, 营养价值高, 富含花青素、原花青素、维生素 C、多糖和氨基酸等, 深受人们的喜爱^[2-3]。黑加仑通常加工为蜜饯、果干和果汁, 其中榨汁会产生大量皮渣, 而皮渣中果籽含量约占果重 5%~8%^[4]。国内黑加仑加工企业每年产生皮渣废料中黑加仑籽约有 160 吨, 这些废弃物一般被丢弃或作为肥料, 造成了严重的资源浪费^[4-5]。研究发现, 黑加仑籽油富含亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸, 以及多酚、角鲨烯、甾醇、生育酚等多种活性成分, 具有降血脂、抗疲劳、抗衰老、调节免疫、预防冠心病和动脉粥样硬化等类心血管疾病等保健功能, 已广泛应用于保健食品、化妆品和医药行业^[6-8]。因此, 黑加仑籽油的活性成分含量是评价其品质的重要指标之一。近年来, 针对黑加仑籽油的深入开发和综合利用日益引起广泛关注, 相关基础研究较少。另外, 如何充分利用黑加仑加工副产物, 是目前国内黑加仑加工企业亟需解决的问题。

目前, 提取油脂的方法主要有压榨法、溶剂浸出法、超临界 CO₂ 萃取法等^[9]。压榨法自动化程度较高, 但出油率低, 油品色泽较差, 毛油品质一般, 还需进一步加工。溶剂浸出法提油率高, 操作简单, 被广泛应用于油料加工企业, 但存在溶剂残留的问题^[9-11]。超临界 CO₂ 萃取法是近几年来发展较为迅速的一种技术, 利用超临界 CO₂ 的特殊溶解作用提取油脂, 具有提取效率高、绿色安全的优点, 但其设备昂贵、成本高, 目前还难以推广^[12]。水酶法通过机械力和酶解作用破坏油料组织的细胞壁, 从而增大油料与酶的接触面积, 提高油脂得率, 其操作简便、反应条件温和、油脂品质好^[11-12]。但水酶法产生的机械剪切力不足以完全破坏油料细胞壁, 从而导致油料出油率和蛋白回收率不高。超声波辅助水酶法是通过酶解手段来破坏油料组织的细胞壁, 增大油料与酶的接触面积, 同时通过超声波的机械作用可以进一步提高油料的酶解速率, 促进物料中有效成分的溶出, 最终达到油脂高效分离的目的^[13]。超声波辅助水酶法具有成本低、操作简单、条件温和、提取效率高等优点, 已被广泛应用于蚕蛹油^[14]、樟树籽油^[15]、核桃油^[16]等的提取。超声波辅助水酶法在油料产业发展中有广阔的应用前景, 而目前采用该方法提取黑加仑籽油鲜有

报道。

本文以油脂提取率为指标, 通过单因素实验和响应面分析法优化超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的最佳工艺, 并通过理化指标对其品质进行分析, 以为黑加仑籽综合开发利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑加仑籽 由广东省中山市百怡饮料有限公司提供, 水分含量 13.24%, 粗脂肪含量 16.76%, 蛋白含量 8.89%; 商品油(黑加仑籽冷榨油) 澳大利亚进口; 维生素 E (HPLC ≥ 98%)、37 种脂肪酸甲酯混标 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; 纤维素酶(10000 U/g)、果胶酶(10000 U/g) 阿拉丁试剂(上海)有限公司; 角鲨烯、 α -生育酚、 γ -生育酚、甾醇、 β -胡萝卜素标准品 美国 Sigma 公司; 其他试剂均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

2500Y 型中药高速粉碎机 永康市沃美户外用品有限公司; SB-5200 型超声波清洗器 上海新芝生物技术研究有限公司; RW20 型高速均质机 广州艾卡仪器设备有限公司; Cary 4000 型紫外分光光度计、7890 B 型气相色谱仪 美国安捷伦公司; PB-10 型酸度计 德国 Sartorius 公司; HH-6 型数显恒温水浴锅 苏州威尔实验用品有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的工艺流程 技术路线: 黑加仑籽→清洗烘干→粉碎→加水→超声处理→调节 pH→加酶→酶解→灭酶→冷却离心→油水分离→除水→油脂

参考张伟光等^[9]的方法, 稍作改动。将黑加仑籽清洗后置于 50 °C 烘箱烘干, 粉碎后过 40 目筛网。取 40.0 g 黑加仑籽粉末置于三角烧瓶中, 加入一定比例的水, 然后超声处理(超声功率 300 W, 超声温度 50 °C, 超声时间 25 min)。根据前期预实验, 确定复合酶比例(蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=2:2:1), 将溶液取出并调节 pH, 添加 2%(以黑加仑粉末质量为计)复合酶制剂, 置于恒温水浴锅搅拌反应, 反应结束后于 90 °C 灭酶 10 min, 然后于 5000 r/min 的条件下离心 20 min, 收集上层油脂。沉淀物加入 10 mL 蒸馏水, 于同样条件下离心, 收集上层油脂, 重复三次。将 4 次取得的上层油脂合并称重, 计算黑加仑

籽油提取率。计算公式如下:

$$\text{黑加仑籽油提取率(\%)} = \frac{\text{提取得到油脂质量}}{\text{脂肪总量}} \times 100$$

1.2.2 单因素实验 取超声处理后的样品继续进行酶解反应,黑加仑籽油酶解工艺的固定条件为:酶解初始 pH6.0,酶解温度 50 ℃,酶解时间 3 h,液料比 5:1 g/g。固定其他条件不变,改变其中某个因素条件分别分析对黑加仑籽油提取率的影响。设置各因素的梯度分别为:酶解时间 1、2、3、4、5、6、7 h;酶解初始 pH3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0;酶解温度 35、40、45、50、55、60、65 ℃,液料比 3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1 (g/g)。每个实验设置 3 个重复。

1.2.3 响应面试验设计 在单因素实验的基础上,选择对黑加仑籽油提取率影响较大的酶解初始 pH、酶解温度、液料比三个因素,按照 Box-Bohnken 设计法每个因素取三个水平,以(-1, 0, 1)编码进行实验,以黑加仑籽油提取率为响应值建立二次响应面数学模型,寻找最佳的工艺条件。共有 17 个试验,其中 12 个为析因点,5 个为零点以估计误差。每个试验重复 3 次,试验结果为测定结果的平均值±标准偏差,因素与水平见表 1。

表 1 响应面因素与水平设计

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A酶解初始pH	4.0	6.0	8.0
B酶解温度(℃)	45	55	65
C液料比(g/g)	4:1	5:1	6:1

1.2.4 超声波辅助水酶法和水酶法油脂提取率的比较 超声波辅助水酶法参考张伟光等^[9]的方法:取 40.0 g 黑加仑籽粉末置于三角烧瓶中,按液料比 5:1 (g/g)加入蒸馏水,然后超声处理(超声功率 300 W,超声温度 50 ℃,超声时间 25 min)。取出调节 pH 至 6.5,加入 2%(以黑加仑粉末质量为计)的复合酶制剂(蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=2:2:1),55 ℃ 恒温搅拌反应 3 h。反应结束后于 90 ℃ 灭酶 10 min,然后于 5000 r/min 的条件下离心 20 min,收集上层油脂。沉淀物加入 10 mL 蒸馏水,于同样条件下离心,收集上层油脂,重复三次。将 4 次取得的上层油脂合并称重,计算黑加仑籽油提取率。

水酶法参考姜国芳等^[15]的方法:取 40.0 g 黑加仑籽粉末置于三角烧瓶中,按液料比 5:1(g/g)加入蒸馏水,调节 pH 至 6.5,加入 2%(以黑加仑粉末质量为计)的复合酶制剂(蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=2:2:1),55 ℃ 恒温搅拌反应 3 h。反应结束后于 90 ℃ 灭酶 10 min,然后于 5000 r/min 的条件下离心 20 min,收集上层油脂。沉淀物加入 10 mL 蒸馏水,于同样条件下离心,收集上层油脂,重复三次。

将 4 次取得的上层油脂合并称重,计算黑加仑籽油提取率。

1.2.5 黑加仑籽油理化特性分析 酸值测定参考 GB 5009.229-2016;过氧化值测定参考 GB 5009.227-2016;碘值测定参考 GB/T 5532-2008;皂化值测定参考 GB/T 5534-2008;透明度、气味、滋味测定参考 GB/T 5525-2008;相对密度测定参考 GB/T 5518-2008;折光指数参照 GB/T 5527-2010;不溶性杂质测定参考 GB/T 15688-2008。

1.2.6 黑加仑籽油中脂肪酸组成及含量的测定

1.2.6.1 脂肪酸测定 参考杨水艳等^[17]的方法。色谱条件:HP-5MS(30 m×0.25 μm)毛细管柱;升温程序:柱子初始温度 100 ℃,保持 1 min;以 5 ℃/min 升至 200 ℃,保持 2 min;再以 3 ℃/min 升至 280 ℃,保持 3 min;载气为高纯氮;进样量为 1 μL。质谱条件:电离方式为电子轰击离子源(EI 源);电子能量 70 eV;传输线温度 280 ℃;离子源温度 230 ℃;四极杆温度 150 ℃;溶剂延迟 2.6 min;全扫描模式(SCAN),扫描范围 50~1000 u。

1.2.6.2 反式脂肪酸测定 参考杜宇等^[18]的方法。黑加仑籽油采用三氟化硼甲酯化,酯皂化后,释出的脂肪酸在三氟化硼存在下进行酯化,萃取得到脂肪酸甲酯采用 1.2.6.1 的方法进行气相色谱分析。

1.2.7 黑加仑籽油中活性成分的测定 角鲨烯含量测定参考徐梦媛等^[19]的方法;生育酚含量测定参考杜宇等^[18]的方法;多酚含量测定参考 Laoretani 等^[20]的方法; β -胡萝卜素含量测定参考张水滔等^[21]的方法。

1.3 数据处理

实验结果用平均值±标准偏差表示(n=3),使用 Origin 8.0 和 SPSS 22.0 软件进行作图 and 数据分析。

2 结果与分析

2.1 超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油单因素实验

由图 1a 可知,在酶解时间为 0~3 h 时,黑加仑籽油提取率迅速升高,在此阶段,由于复合酶的水解作用,黑加仑籽的细胞壁慢慢降解,使得酶与底物之间充分反应,油脂释放也相应增加^[22]。酶解时间在 3 h 时黑加仑籽油提取率取得最大值,为 79.56%。当酶解时间大于 3 h,黑加仑籽油提取率变化趋于平缓,没有显著性差异($P>0.05$)。研究表明,酶解时间越长,酶解就越充分,底物也不断地减少,但时间过长,空气与油的接触时间也变长,油脂质量下降^[9]。因此,酶解时间选择 3 h 较为合适。

由图 1b 可知,在酶解初始 pH 为 3.0~6.0 范围内,黑加仑籽油提取率迅速增加,于 pH6.0 时取得最大值,为 75.82%,显著($P<0.05$)高于其他 pH 条件。在酶解初始 pH 为 6.0~9.0 范围内,黑加仑籽油的提取率开始下降,这表明复合酶的酶活逐渐降低。酶的活性受环境 pH 的影响极为显著,通常只有在一定的 pH 范围内才表现它的活性,而低于或高于最适

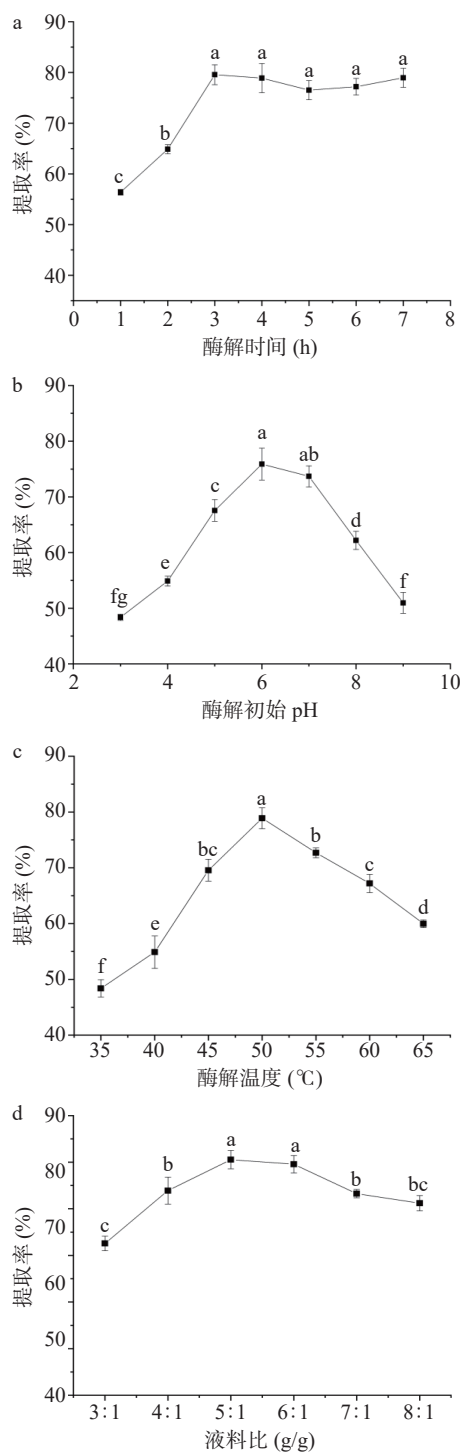


图1 酶解时间、酶解初始 pH、酶解温度和液料比对黑加仑籽油提取率的影响

Fig.1 Effects of hydrolysis time, hydrolysis initial pH, hydrolysis temperature and liquid-solid ratio on the extraction rate of blackcurrant seed oil

注: 不同字母表示样品间存在显著性差异($P<0.05$); 图3同。

pH 时, 酶的活性会逐渐降低, 影响油脂的溶出率^[13]。因此, 酶解初始 pH 选择 6.0 较为合适。

由图 1c 可知, 在酶解温度 35~50 °C 范围内, 黑加仑籽油提取率随温度的升高而升高, 在 50 °C 时达到最高, 为 78.89%, 显著($P<0.05$)高于其他温度条件; 而高于 50 °C, 油脂提取率迅速降低。据文献报道, 酶在最适的温度下有最高的酶解效率, 而增加或

降低温度均影响酶活力^[19]。从油脂提取率的整体变化趋势来看, 酶解温度选取 50 °C 为宜, 此温度下有利于油脂的溶出。

由图 1d 可知, 随着液料比的升高, 黑加仑籽油提取率随之升高, 液料比为 5:1(g/g)时提取率达到最大值, 为 80.53%; 继续提高液料比, 提取率开始缓慢下降, 这可能是由于在一定范围内, 随着液料比的增加, 溶液的含水量提高, 反应过程中流动性变好, 增加了酶与物料的接触面积, 油脂能更好地释放; 但液料比太高, 会使底物分散程度也变大, 酶的浓度降低, 从而影响了酶解的反应速率^[12]。因此, 液料比选择 5:1(g/g)较为合适。

2.2 响应面试验优化

以单因素实验的结果为基础, 通过响应面模型对酶解条件作进一步优化。根据 Box-Behnken 的设计原理, 设计 17 组试验组合, 其设计方案及结果见表 2。利用 Design Expert 8.0.5 软件进行二次多元回归分析, 对表 2 的数据进行方差分析并去掉不显著项得到模型的二次多项回归方程为: $y=79.51+2.57A+2.59B-2.16AC-9.08A^2-833B^2-2.99C^2$ 。

表 2 响应面设计方案及结果
Table 2 Design and result of response surface analysis

实验号	因素			提取率(%)
	A	B	C	
1	0	0	0	79.34±0.87
2	-1	-1	0	56.77±1.57
3	0	-1	1	66.31±0.53
4	1	1	0	68.91±0.45
5	-1	1	0	61.88±1.10
6	0	0	0	80.03±0.38
7	1	0	1	67.64±0.16
8	1	0	-1	71.96±0.33
9	0	1	-1	68.93±0.68
10	-1	0	1	67.21±0.78
11	1	-1	0	60.82±0.52
12	0	1	1	71.24±0.59
13	0	0	0	78.86±0.37
14	0	0	0	80.69±0.46
15	-1	0	-1	62.91±0.12
16	0	-1	-1	66.29±0.27
17	0	0	0	78.61±0.39

由表 3 可知, 模型 $P<0.0001$, 而失拟项不显著 ($P=0.2221>0.05$), 因素一次项(A、B)、二次项(A^2 、 B^2 、 C^2)和交互项 AC 是极显著的($P<0.01$), 而一次项 C 和交互项 AB、BC 是不显著的($P>0.05$)。同时, 软件分析的校正决定系数 R^2_{Adj} 的值为 99.09%, 表明模型拟合程度好, 实验误差小, 可用于对超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油工艺进行分析和预测。

2.2.1 响应曲面图分析 响应曲面图能更直观地显示各因素的交互作用, 分析酶解温度、酶解初始 pH、液料比的交互作用对黑加仑籽油提取率的影响如图 2 所示。由图 2a 可知, 随着酶解温度和酶解初始 pH 的升高, 黑加仑籽油提取率先增高后降低, 变化趋

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of the regression equation

来源	自由度df	平方和	均方	F值	P	显著性
模型	9	870.48	96.72	85.14	<0.0001	**
A	1	52.82	52.82	46.49	0.0002	**
B	1	53.75	53.75	47.31	0.0002	**
C	1	0.68	0.68	0.60	0.463	
AB	1	2.21	2.21	1.94	0.2062	
AC	1	18.58	18.58	16.36	0.0049	**
BC	1	1.35	1.35	1.19	0.3121	
A ²	1	347.39	347.39	305.79	<0.0001	**
B ²	1	291.97	291.97	257.00	<0.0001	**
C ²	1	37.65	37.65	33.14	0.0007	**
残差	7	7.95	1.14			
失拟项	3	5.01	1.67	2.27	0.2221	
纯误差	4	2.94	0.73			
总和	16	878.43				

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$)。

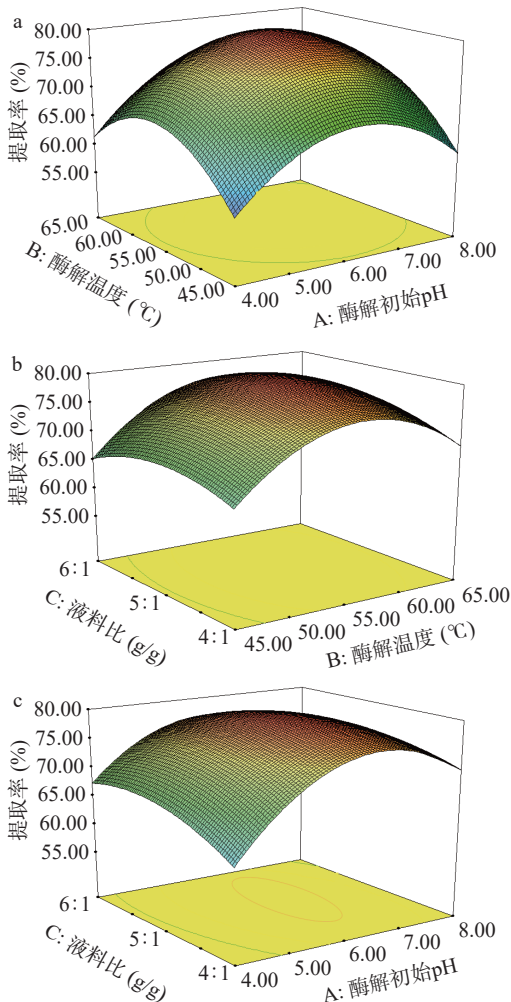


图 2 酶解初始 pH、酶解温度和液料比交互作用的响应曲面图

Fig.2 Response surface diagram for the interaction effect between hydrolysis initial pH, hydrolysis temperature and liquid-solid ratio

势呈弧形。而曲面投影的等值线中未出现封闭的圆圈,这说明酶解初始 pH 和酶解温度对黑加仑籽油提取率的影响不显著。图 2b 显示在测定范围内,随着

液料比的升高,黑加仑籽油提取率先缓慢升高,然后变化趋于平缓,这说明液料比和酶解温度的交互作用对提取率的影响不显著。图 2c 显示随着液料比和酶解初始 pH 的升高,提取率先增高后降低,曲面呈凸形,同时观察到等投影等值线形成封闭的圆圈,提取率在因素变化范围内存在极大值,这说明酶解初始 pH 和液料比的交互作用对黑加仑籽油提取率有显著性影响。综上,响应曲面图与方差分析的结果相一致。

2.2.2 超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油工艺最优方案与验证试验 为了得到最佳工艺方案,对所得回归方程取一阶偏导数,解方程组后可得: A=6.29, B=54.62, C=5.01, 即为酶解初始 pH6.29, 酶解温度 54.62 ℃, 液料比 5.01:1(g/g), 在此条件下黑加仑籽油提取率达 79.91%。考虑到实际操作条件,确定最佳条件为: 酶解初始 pH6.5, 酶解温度 55 ℃, 液料比 5:1(g/g), 酶解时间 3 h。为检验预测模型的可靠性,在最优条件下进行三次验证性实验,实际测得的黑加仑籽油提取率为 $78.34\%\pm1.89\%$ ($P<0.05$), 这与理论预测值基本一致,说明响应面模型可以较准确预测超声波辅助水酶法制备黑加仑籽油的提取率。

2.3 超声波辅助水酶法与水酶法油脂提取率的比较

由图 3 可知,利用水酶法提取黑加仑籽油,其油脂提取率为 62.27%, 而超声辅助水酶法的油脂提取率显著($P<0.05$)高于水酶法,为 78.34%, 这说明超声波辅助能显著提升水酶法的油脂提取率。目前,有研究人员采用溶剂萃取法^[23]、酶法^[24]、超声波法^[25]、超临界 CO₂ 法^[26] 提取黑加仑籽油,其油脂提取率分别为 13.65%、11.43%、15.93%、90.78%。超声波辅助水酶法要优于溶剂萃取法、酶法和超声波法,虽然其提取率低于超临界 CO₂ 法,但该方法具有成本低、操作简单、条件温和等优点,便于工业推广。

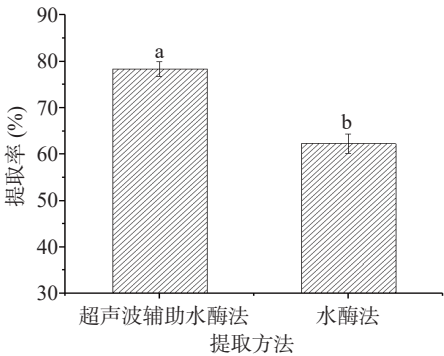


图 3 超声波辅助水酶法和水酶法油脂提取率的比较

Fig.3 Comparison of oil extraction rate by ultrasound-assisted aqueous enzymatic method and aqueous enzymatic method

2.4 超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的品质分析

2.4.1 黑加仑籽油的主要理化指标 黑加仑籽油的主要理化指标如表 4 所示。超声波辅助水酶法提取的黑加仑籽油色泽明亮,澄清透明,其滋味独特,具有

表 4 黑加仑籽油的主要理化指标

Table 4 Main physicochemical index of blackcurrant seed oil

理化指标	商品油	黑加仑籽油	国标
色泽	浅黄绿色	浅黄绿色	具有产品应有的色泽
状态	澄清、透明	澄清、透明	具有产品应有的状态,无正常视力可见的外来异物
滋味和气味	具有清甜的香味,无异味	具有清甜的香味,无异味	具有产品应有的滋味和气温,无焦臭、酸败及其他异味
酸值(mg KOH/g)	0.76±0.07 ^b	0.87±0.08 ^a	≤4.0
过氧化值(mmol/kg)	0.19±0.05 ^a	0.15±0.03 ^a	≤0.25
碘值(g I ₂ /100 g)	198.97±2.58 ^a	196.51±3.31 ^a	—
皂化值(mg KOH/g)	192.48±4.15 ^a	188.67±5.02 ^a	—
相对密度	0.95±0.08 ^a	0.94±0.05 ^a	—
折光指数(n _D ⁴⁰)	1.48±0.25 ^{ab}	1.61±0.33 ^a	—
不溶性杂质(%)	≤0.05	≤0.05	—

注:同行不同小写字母表示样品间存在显著性差异($P<0.05$);表5~表7同。

清甜的香味,且无不良异味。依据《GB 2716-2018 食品安全国家标准 植物油》,黑加仑籽油感官指标、过氧化值和酸价均符合国家食用植物油卫生标准要求。从整体来看,黑加仑籽油的酸值、过氧化值、碘值、皂化值、相对密度和不溶性杂质,所得结果与商品油较为接近,两者无显著性差异($P>0.05$)。折光指数是油脂的重要物理参数之一,可以作为鉴定其纯度的重要特性参数。黑加仑籽油的折光指数为 1.61,略高于商品油(1.48),原因可能是黑加仑籽油未经过精炼,油中存在少量杂质造成的。张雅娜等^[27]分析了不同工艺制备芝麻油的品质差异,油脂中水分、杂质及挥发物质会导致其在加工储存过程中酸败。因此,超声波辅助水酶法提取的黑加仑籽油整体理化指标与商品油接近,但油中含有少量杂质,需要进一步精炼。

2.4.2 黑加仑籽油中脂肪酸组成 由表 5、表 6 可知,黑加仑籽油中的不饱和脂肪酸(UFA)主要有亚油酸、亚麻酸和油酸,饱和脂肪酸主要为棕榈酸、硬脂酸以及少量的豆蔻酸、花生酸,不饱和脂肪酸的比例高达 95.51%,与商品油不饱和脂肪酸比例 96.05%相比无显著差异($P>0.05$),其中多不饱和脂肪酸(PUFA)比例为 67.92%。据报道, ω -3 脂肪酸是构成人体组织细胞的主要成分,同时具有促进脂肪代谢、调节免疫、降血脂、降血压等重要作用,有“植物脑黄金”之称^[28-29]。黑加仑籽油富含 ω -3 系列亚麻酸,含量为 33.38%,其摄入人体后在酶的作用下转变成二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),能促进儿童的大脑和身体的健康发育,因此具有良好的生理保健功能。现代医学认为人体摄入过多的反式脂肪酸(TFA)和饱和脂肪(SFA),容易引起血液中胆固醇水平升高,进而引发心脏病、高血压等疾病^[30],而黑加仑籽油中 SFA 和 TFA 含量较低,分别为 6.69%和 2.56%。从整体来看,超声波辅助水酶法提取的黑加仑籽油脂肪酸的组成和含量与商品油基本一致,其

中亚油酸含量略低于商品油(39.89%),反式油酸含量略高于商品油(0.48%)。因此,黑加仑籽油是一种具有高营养价值的植物油脂。

表 5 黑加仑籽油脂肪酸组成及相对含量(%)

Table 5 Fatty acid composition and relative content of blackcurrant seed oil (%)

脂肪酸	商品油	黑加仑籽油
豆蔻酸C14:0	0.17±0.02 ^b	0.22±0.01 ^a
棕榈酸C16:0	4.24±0.25 ^a	4.57±0.53 ^a
棕榈一烯酸C16:1	0.25±0.01 ^b	0.29±0.03 ^a
硬脂酸C18:0	0.86±0.18 ^b	1.85±0.38 ^a
油酸C18:1	16.89±1.08 ^a	17.51±1.21 ^a
亚油酸C18:2	39.89±1.14 ^a	34.54±1.89 ^b
亚麻酸C18:3	31.55±1.01 ^{ab}	33.38±2.03 ^a
花生酸C20:0	0.08±0.01 ^a	0.05±0.01 ^b
花生一烯酸C20:1	2.12±0.03 ^b	3.09±0.07 ^a
不饱和脂肪酸比例(%)	96.05±1.78 ^a	95.51±2.13 ^a

表 6 黑加仑籽油反式脂肪酸含量(%)

Table 6 Trans-fatty acid content in blackcurrant seed oil (%)

反式脂肪酸	商品油	黑加仑籽油
反式油酸	0.48±0.03 ^b	1.56±0.01 ^a
反式亚油酸	0.33±0.02 ^b	0.47±0.01 ^a
反式亚麻酸	0.64±0.06 ^a	0.53±0.04 ^b
总量	1.45±0.11 ^b	2.56±0.18 ^a

2.4.3 黑加仑籽油的活性成分 生育酚、多酚、角鲨烯等活性成分是衡量油脂功能特性的重要参考指标之一。由表 7 可知,黑加仑籽油中 α -生育酚、 γ -生育酚和角鲨烯的含量与商品油基本一致,无显著性差异($P>0.05$)。 β -胡萝卜素对人体有重要的生理功能,不仅是机体维生素 A 的重要来源,同时可以提高人体免疫力,预防、延缓和治疗某些疾病^[21]。黑加仑籽油中 β -胡萝卜素含量为 1.79 mg/kg,低于商品油,这可能是由于提取方法不同而导致含量有所差别。多酚具有抗氧化、抗衰老、增强免疫力、抗肿瘤等生理功能,对人体的健康有显著的促进作用^[27]。黑加仑籽油中多酚含量为 300.49 mg/kg,显著($P<0.05$)高于商品油。原因可能是多酚属于极性物质,与商品油所使用的冷榨工艺相比,超声波辅助水酶法以水为介质,通过机械和酶解作用破坏油料的细胞壁,更能促进多酚类物质充分溶出。综上,超声波辅助水酶法提取的黑

表 7 黑加仑籽油中活性成分含量(mg/kg)

Table 7 Active ingredient content in blackcurrant seed oil (mg/kg)

活性成分(mg/kg)	商品油	黑加仑籽油
α -生育酚	18.68±0.17 ^{ab}	19.55±0.35 ^a
γ -生育酚	43.89±0.89 ^a	41.67±1.03 ^{ab}
角鲨烯	26.65±1.48 ^a	25.27±2.07 ^a
多酚	255.56±3.57 ^b	300.49±2.86 ^a
β -胡萝卜素	5.08±0.02 ^a	1.79±0.08 ^b

加仑籽油是一种优质、具有广阔开发前景的功能性植物油脂。

3 结论

本文通过单因素实验和响应面分析相结合的方法,优化超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油的制备工艺,确定最佳条件为:超声功率 300 W,超声温度 50 ℃,超声时间 25 min,复合酶添加量为 2%(蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=2:2:1),酶解初始 pH6.5,酶解温度 55 ℃,液料比 5:1(g/g),酶解时间 3 h,在此条件下黑加仑籽油提取率为 78.34%,比水酶法的油脂提取率高出 16.07%。该工艺制备的黑加仑籽油色泽明亮,澄清透明,酸值和过氧化值较低,符合国家食用植物油卫生标准;富含不饱和脂肪酸,其中 PUFA 比例为 67.92%,且富含多酚、 α -生育酚、 γ -生育酚等多种活性成分,是一种具有高营养价值的功能性植物油脂。本文所采用超声波辅助水酶法提取黑加仑籽油,其工艺具有条件温和、成本低、操作简单可控等优点,为黑加仑籽油大规模工业化的生产加工提供理论参考。

参考文献

- [1] 赵玉红,贾琳娜,赵铁楠,等.黑加仑果汁中花色苷的贮藏稳定性[J].食品科学,2014,35(20):301-307. [ZHAO Y H, JIA L N, ZHAO T N, et al. Storage stability of anthocyanins in blackcurrant juice[J]. Food Science, 2014, 35(20): 301-307.]
- [2] SCHMID T C, GEWEKE I, STRUCK S, et al. Blackcurrant pomace from juice processing as partial flour substitute in savoury crackers: Dough characteristics and product properties[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 53(1): 237-245.
- [3] 徐莉莉,刘静.黑加仑葛根饮料的研制及其抗疲劳作用研究[J].食品研究与开发,2017,38(22):132-137. [XU L L, LIU J. Research of *Ribes nigrum* and *Pueraria* drinks and its anti-fatigue function[J]. Food Research and Development, 2017, 38(22): 132-137.]
- [4] 徐鑫,何佳易,刘国艳,等.黑加仑籽油的抗氧化活性研究[J].中国油脂,2013,38(9):48-51. [XU X, HE J Y, LIU G Y, et al. Antioxidant activity of black currant seed oil[J]. China Oils and Fats, 2013, 38(9): 48-51.]
- [5] 柴军红,何婷婷,金志民,等.黑加仑果渣提取物抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2018,39(1):16-20. [CHAI J H, HE T T, JIN Z M, et al. Study on antioxidant activity of blackcurrant marc extract[J]. Food Research and Development, 2018, 39(1): 16-20.]
- [6] 冯春特,焦淑清,刘鑫,等.果胶酶酶解提取黑加仑果渣中花色素的工艺研究[J].黑龙江医药科学,2015,38(5):21-23. [FENG C T, JIAO S Q, LIU X, et al. The study on extraction process of anthocyanin of blackcurrant pomace by pectin enzymolysis[J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 2015, 38(5): 21-23.]
- [7] MARSOL-VALL A, LAAKSONEN O, YANG B. Effects of processing and storage conditions on volatile composition and odor characteristics of blackcurrant (*Ribes nigrum*) juices[J]. Food Chemistry, 2019, 293: 151-160.
- [8] ZHANG J, SUN L, DONG Y, et al. Chemical compositions and α -glucosidase inhibitory effects of anthocyanidins from blueberry, blackcurrant and blue honeysuckle fruits[J]. Food Chemistry, 2019, 299: 125102.
- [9] 张伟光,邱凯,赵国君.超声辅助水酶法提取冬瓜籽油的工艺研究[J].中国油脂,2017,42(11):12-15. [ZHANG W G, DI K, ZHAO G J. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of *Benincasa hispida* Cogn. seed oil[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(11): 12-15.]
- [10] 仇梓冰,刘法显,付磊,等.超声波辅助水酶法提取米糠油的工艺研究[J].食品工业科技,2016,37(9):250-255. [QIU Z B, LIU F X, FU L, et al. Research of technology of extraction oil from rice bran with ultrasonic assisted aqueous enzymatic[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(9): 250-255.]
- [11] 宋媛媛,杨瑞金,张文斌,等.牡丹籽油乙醇辅助水酶法提取工艺优化及品质分析[J].食品与机械,2018,34(4):180-185. [SONG Y Y, YANG R J, ZHANG W B, et al. Optimization of ethanol-assisted aqueous enzymatic extraction and quality analysis of peony seed oil[J]. Food & Machinery, 2018, 34(4): 180-185.]
- [12] 刘蒙佳,周强,黄玲玲.超声波辅助水酶法提取黑芝麻油脂的研究[J].保鲜与加工,2019,19(1):103-109. [LIU M J, ZHOU Q, HUANG L L. Study on extraction of oil from black sesame by microwave-assisted aqueous enzymatic method[J]. Storage and Process, 2019, 19(1): 103-109.]
- [13] 叶茂,邓毛程,严立逊,等.超声波辅助水酶法提取柚子籽油及其抗氧化性研究[J].中国油脂,2019,44(4):16-18,22. [YE M, DENG M C, YAN L X, et al. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of pomelo seed oil and its antioxidant activity[J]. China Oils and Fats, 2019, 44(4): 16-18,22.]
- [14] 贾俊强,吴琼英,杜金娟,等.超声波辅助水酶法提取蚕蛹油工艺优化及脂肪酸组成分析[J].食品科学,2014,35(16):52-57. [JIA J Q, WU Q Y, DU J J, et al. Optimization of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction and fatty acid composition of silkworm pupae oil[J]. Food Science, 2014, 35(16): 52-57.]
- [15] 姜国芳,占俊峰,谢宗波,等.超声波辅助水酶法提取樟树籽油的工艺研究[J].食品科技,2015,40(3):255-258. [JIANG G F, ZHAN J F, XIE Z B, et al. Study on extraction of oil from camphor tree seed by microwave-assisted aqueous enzymatic method[J]. Food Science and Technology, 2015, 40(3): 255-258.]
- [16] 王翔宇,罗珍岑,李健,等.超声波辅助溶剂浸出法提取巴塘核桃油工艺优化及脂肪酸组分分析[J].食品工业科技,2018,39(11):173-176. [WANG X Y, LUO Z C, LI J, et al. Optimization of the oil extraction process of ultrasound assisted solvent leaching method applied for Batang walnuts and analysis of its fatty oil compositions[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(11): 173-176.]
- [17] 杨水艳,邵志凌,聂绪恒.10种云南植物油脂脂肪酸组成比较分析与评价[J].中国油脂,2018,43(1):144-146. [YANG S Y, SHAO Z L, NIE X H. Comparison and evaluation of fatty acid composition of ten plant oils in Yunnan[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(1): 144-146.]
- [18] 杜宇,张文斌,杨瑞金,等.乙醇水提法提取葡萄籽油及其品质分析[J].中国油脂,2019,44(5):14-18,48. [DU Y, ZHANG W B, YANG R J, et al. Extraction of grape seed oil by aqueous ethanol method and its quality[J]. China Oils and Fats, 2019, 44(5):

14-18,48.]

[19] 徐梦媛, 郑睿行, 祝华明, 等. 浙江红花山茶油的原料性状及品质分析[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(3): 81-86, 92. [XU M Y, ZHENG R X, ZHU H M, et al. Analysis of raw material property and oil quality of Zhejiang safflower camellia oil[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(3): 81-86, 92.]

[20] LAORETANI D S, FISCHER C D, IRIBARREN O A. Selection among alternative processes for the disposal of soapstock[J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2017, 101: 177-183.

[21] 张水滔, 徐娟, 高明, 等. 滇牡丹籽油的脂肪酸组成及不同天然抗氧化剂对其货架期的影响[J]. 中国油脂, 2018, 43(3): 124-126. [ZHANG S T, XU J, GAO M, et al. Fatty acid composition of peony seed oil and its shelf life affected by different natural antioxidants[J]. *China Oils and Fats*, 2018, 43(3): 124-126.]

[22] 王玉琴, 双全. 山桐子油水酶法提取工艺优化及品质分析[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 162-166. [WANG Y Q, SHUANG Q. Research on extraction of *Idesia polycarpa* oil by aqueous enzymatic method and its nutritional analysis[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(11): 162-166.]

[23] 叶茂, 邓毛程, 李静. 超声波辅助水酶法提取木棉籽油的工艺优化及性质研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(5): 63-67. [YE M, DENG M C, LI J. Optimization of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of kapok seed oil and study on its properties[J]. *Cereals & Oils*, 2021, 34(5): 63-67.]

[24] 谭超, 李俊杰, 赵福明. 油瓜种仁油提取工艺及理化成分分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(2): 11-13. [TAN C, LI J J, ZHAO F M. Extraction process and analysis of physicochemical composition of kernel oil from *Hodgsonia macrocarpa* (BL.) Cogn[J]. *China Oils and Fats*, 2017, 42(2): 11-13.]

[25] 徐彤砚, 张茹, 杨欣星, 等. 水酶法提取北太平洋鲑鱼肝脏油脂及其脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 213-217.

[XU T Y, ZHANG R, YANG X X, et al. Aqueous enzymatic extraction of liver oil from *Ommastrephes bartramian* and its fatty acid composition analysis[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(9): 213-217.]

[26] 刘松奇, 戴得蓉, 段丽丽. 水酶法提取百香果籽油工艺优化及其抗氧化性研究[J]. 四川旅游学院学报, 2020, 13(3): 26-31.

[LIU S Q, JI D R, DUAN L L. On the optimization of extraction technology and antioxidant activity of seed oil from passion fruit by aqueous enzymatic method[J]. *Journal of Sichuan Tourism University*, 2020, 13(3): 26-31.]

[27] 张雅娜, 王辰, 刘丽美, 等. 芝麻油提取方法研究进展[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(10): 42-46. [ZHANG Y N, WANG C, LIU L M, et al. Research advancement in extraction methods of sesame oil[J]. *Food and Nutrition in China*, 2017, 23(10): 42-46.]

[28] 徐鑫, 刘国艳, 王静, 等. 酶法提取黑加仑籽油[J]. 中国油脂, 2007, 32(12): 21-23. [XU X, LIU G Y, WANG J, et al. Enzymatic of black currant seed oil[J]. *China Oils and Fats*, 2007, 32(12): 21-23.]

[29] 刘怀凤, 徐晓丹. 超声波提取黑加仑籽油的实验研究[J]. 黑龙江科技信息, 2011(7): 24. [LIU H F, XU X D. Experimental study on ultrasonic extraction of blackcurrant seed oil[J]. *Heilongjiang Science and Technology Information*, 2011(7): 24.]

[30] PLESKA O, SOVOVA H, SAJFRTOYA M. Regioselective enzymatic hydrolysis of blackcurrant seed oil in supercritical CO₂ [J]. *Journal of CO₂ Utilization*, 2021(52): 101692.