

水酶法与热熔法提取大鲵油的精制工艺 和品质比较研究

辛 茜¹, 陈德经², 陈小华², 贾少杰¹

(1. 陕西理工大学 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001;

2. 陕西理工大学 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723001)

摘要: 研究水酶法和热熔法提取大鲵油的精制工艺及品质差异。采用风味蛋白酶酶解和热熔提取的大鲵油经0.2%质量分数80%的磷酸脱胶, 1.5%质量分数为6.67%氢氧化钠溶液脱酸, 4%复合脱色剂脱色, 料液比1:3质量分数2%的茶多酚-酵母复合液脱腥, 再经115℃、真空度0.08 MPa减压脱臭1 h, 测定两种大鲵油的理化性质和脂肪酸组成。结果表明: 水酶油和热熔油的提取率分别为75.85%、75.54%, 脱色率分别为42.83%、33.61%, 经茶多酚-酵母复合液脱腥后的水酶油腥味低于热熔油, 精制水酶油符合我国水产行业精制鱼油的一级标准, 精制热熔油符合水产行业精制鱼油的二级标准; 水酶油中不饱和脂肪酸含量为76.8%, EPA、DHA含量分别为3.5%、4.2%, 高于热熔油的。水酶法提取大鲵油的品质优于热熔法制备的大鲵油。

关键词: 大鲵油; 水酶法; 热熔法; 精制; 品质; 脂肪酸

中图分类号: TS225; TS254

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2018)12-0026-05

Refining process and quality comparison of Chinese giant salamander oils extracted by aqueous enzymatic method and hot melt method

XIN Xi¹, CHEN Dejing², CHEN Xiaohua², JIA Shaojie¹

(1. School of Biological Science & Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001,

Shaanxi, China; 2. Shaanxi Provincial Bio-Resource Key Laboratory, Shaanxi University of

Technology, Hanzhong 723001, Shaanxi, China)

Abstract: The refining process and quality differences of Chinese giant salamander oils extracted by aqueous enzymatic method and hot melt method were studied. Chinese giant salamander oil was prepared respectively by flavor protease enzymatic method and hot melt method, then degummed by 0.2% of phosphate with mass fraction 80%, deacidified by 1.5% of NaOH with mass fraction 6.67%, bleached by 4% of compound decolorant, deodorized by volume ratio of material to tea polyphenol-yeast complex solution (mass fraction 2%) 1:3, and deodorized for 1 h at 115℃ under vacuum degree 0.08 MPa, and the refined oils were obtained. The physicochemical properties and fatty acid compositions of the two refined Chinese giant salamander oils were determined. The results showed that the extraction rates of aqueous enzyme oil and hot melt oil were 75.85% and 75.54% respectively, and the bleaching rates were 42.83% and 33.61% respectively, and the fishy smell of aqueous enzyme oil deodorized by tea polyphenol-yeast complex solution was lower than that of hot melt oil. The refined aqueous enzyme oil met the first grade standard of refined fish oil in Chinese aquatic industry, and the hot melt oil met the secondary standard of refined fish oil in the aquatic industry. The contents of unsaturated fatty acid, EPA and DHA in the aqueous enzyme oil was 76.8%, 3.5% and 4.2%, respectively,

收稿日期: 2018-03-21; 修回日期: 2018-08-29

基金项目: 陕西教育厅重点科学研究计划(重点实验室17JS021); 陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心(QBXT-Z(Z)-15-3)

作者简介: 辛 茜(1993), 女, 在读硕士, 研究方向为食品生物化学(E-mail)435326856@qq.com。

通信作者: 陈德经, 教授, 硕士(E-mail)cdjsg@126.com。

anol-yeast complex solution was lower than that of hot melt oil. The refined aqueous enzyme oil met the first grade standard of refined fish oil in Chinese aquatic industry, and the hot melt oil met the secondary standard of refined fish oil in the aquatic industry. The contents of unsaturated fatty acid, EPA and DHA in the aqueous enzyme oil was 76.8%, 3.5% and 4.2%, respectively,

which were higher than those of hot melt oil. The quality of Chinese giant salamander oil extracted by aqueous enzymatic method was better than that by hot melt method.

Key words: Chinese giant salamander oil; aqueous enzymatic method; hot melt method; refining; quality; fatty acid

大鲵(*Andrias davidianus*),俗称“娃娃鱼”,属有尾目,隐鳃鲵科,国家二级重点野生保护动物^[1],从2017年起大鲵列入人工繁育国家重点保护水生野生动物名录(第一批),人工繁殖的子二代大鲵允许加工和利用。大鲵脂肪富含多种不饱和脂肪酸,无胆固醇,具有极高的营养价值^[2-3]。胡代花^[4]和张佳婵等^[5]利用碱性蛋白酶制备大鲵油,经测定,肝脏油脂中有12种脂肪酸,不饱和脂肪酸占66.70%;尾脂油中有16种脂肪酸,不饱和脂肪酸占62.5%,含量相当丰富。

动物油的提取方法有热熔法^[6]、水酶法^[7-8]、超临界萃取法^[9]、超声辅助提取法^[10]和微波辅助提取法^[11]等。超临界萃取法由于设备投资大,生产成本低,难以普及应用;微波、超声波等辅助方法主要用于实验室,工业化生产还具一定难度;热熔法是传统的提取方法,操作工艺简单、耗时短、成本低;水酶法反应条件温和,与传统方法相比,不仅提高了油脂的出油率,而且绿色、环保、无污染,酶解后的溶液还能利用。王苗苗等^[12]采用酶解法在最佳工艺条件下提取大鲵尾部脂肪,提取率高达98.53%,所提的大鲵尾部油达到了我国水产行业粗鱼油的一级标准。

大鲵油腥味较重,腥味的存在大大降低了油脂的营养价值和消费者的感官接受度^[13],使得大鲵油的开发利用陷入瓶颈。改进大鲵油的精制工艺是其开发和利用的关键。目前对大鲵油的脱腥工艺研究较少,罗秦等^[14]通过添加1%磷酸脱胶,1.5%氢氧化钠溶液脱酸,减压蒸馏脱臭对大鲵油进行精制,得到的大鲵油腥味较轻。在其他水产脱腥方面,李前山等^[15]通过比较活性炭吸附、 β -CD包埋、乙醚萃取、微生物发酵4种脱腥方法对贻贝酶解液的脱腥效果,结果表明酵母发酵脱腥效果最佳;徐永霞等^[16]采用茶多酚溶液对带鱼浸泡脱腥,得到了较好的脱腥效果。本试验对水酶法和热熔法提取的大鲵油粗品的精制工艺参数,如脱酸加碱量、复合脱色剂添加量、脱腥剂(茶多酚液、酵母液、茶多酚-酵母复合液)进行了优化,并对水酶油 and 热熔油的品质

进行了比较,旨在促进大鲵深加工产业的快速发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

大鲵脂肪组织,由陕西省资源生物重点实验室提供。

37种脂肪酸甲酯混标、异辛烷,为色谱纯;磷酸、石油醚(沸点30~60℃)、无水乙醇、硫代硫酸钠、氢氧化钠、酚酞、冰乙酸、碘化钾、正己烷、可溶性淀粉、韦氏试剂、环己烷等,均为分析纯;茶多酚(纯度99.8%)、安琪酵母、复合脱色剂(活性炭与活性白土质量比为1:5)、茶多酚-酵母复合液(质量比1:1)、风味蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、复合蛋白酶,均为食品级。

1.1.2 仪器与设备

DFY-1000型小型粉碎机,JA5003型电子天平,电热恒温水浴锅,LC-800型低速离心机,RE52-05型旋转蒸发仪,SHB-III循环水式多用真空泵,GC-2010型气相色谱仪等。

1.2 试验方法

1.2.1 水酶法提取大鲵油

大鲵脂肪组织与水1:1研浆后,分别加入0.5%风味蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶和复合蛋白酶酶解,在各种酶的适宜pH、温度下酶解1h,沸水浴灭酶30min,4000r/min离心10min后取上层油脂挥干水分,测定大鲵油得率。

1.2.2 热熔法提取大鲵油

称取大鲵脂肪组织,按质量比1:1加水匀浆,加热并挤压至脂肪全部溶解,并进一步挥发水分,过滤油渣后,称重,计算大鲵油得率。

得率 = 提取大鲵油的质量 / 大鲵脂肪组织质量 × 100%

1.2.3 大鲵油的精制工艺

(1)脱胶:将提取的两种粗大鲵油分别装入500mL锥形瓶中,按大鲵油质量的0.2%缓慢加入质量分数80%的磷酸,按油质量的1%加入质量分数10%的盐水,60℃下搅拌加热60min,去离子水洗漆,静置分层分离油样。

(2)脱酸:在脱胶大鲛油中加入一定量质量分数为 6.67% 的氢氧化钠溶液,90℃水浴加热,搅拌 1 h,分离上层油样后用 100℃的去离子水洗去残留皂脚至中性,重复 4 次,分离上层油样。

(3)脱色:在脱酸大鲛油中加入一定量的复合脱色剂,水浴 80℃搅拌 1 h 进行脱色,放置至 40~50℃,真空抽滤。取添加不同比例脱色剂的水酶油、热熔油各 2 mL,加入 8 mL 石油醚混合均匀,以石油醚作背景,在 350 nm 波长处测定吸光值,按下式计算脱色率:

$$\text{脱色率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\%$$

式中: A_0 为脱酸大鲛油的吸光值; A_1 为脱色大鲛油的吸光值。

(4)脱腥:往脱色水酶油和热熔油中分别按油液体积比 1:3 加入质量分数均为 2% 的茶多酚液、酵母液、茶多酚-酵母复合液,充分振荡后静置 2 h,过滤后用去离子水清洗 3 遍。在 100℃的条件下,利用旋转蒸发器对脱色大鲛油旋蒸 30 min,然后放入 115℃、0.08 MPa 的真空干燥箱中,1 h 后取出。采用人工感官评定的方法,由 5 名经过系统培训的感官员组成评价小组,对脱腥的水酶油和热熔油进行打分,采用 0~5 分制评定气味强度,0 分为无,5 分为最强。

1.2.4 大鲛油的理化指标测定

酸值:GB 5009.229—2016;过氧化值:GB 5009.227—2016;碘值:GB/T 5532—2008;水分及挥发物含量:GB 5009.236—2016;不溶性杂质:GB/T

15688—2008;不皂化物:GB/T 5535.1—2008。

1.2.5 大鲛油的脂肪酸分析

甲酯化:参考陈德经等^[3]油脂甲酯化方法。采用 GC-2010 型气相色谱仪 XA-III-09-33。仪器条件:PEG 毛细管柱(0.53 mm×30 m,1 μm),进样量 1 μL,汽化室温度 220℃;柱起始温度 100℃,保持 10 min,以 40℃/min 升至 250℃,保持 10 min;检测器温度 230℃,载气流量 3 mL/min,氢气流量 45 mL/min,空气流量 500 mL/min,分流比 9:1。利用面积归一化法对所得数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 水酶法提取用酶选择及油脂得率

大鲛脂肪组织经风味蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶和复合蛋白酶分别酶解后,测得风味蛋白酶的油得率最高。因此,选用风味蛋白酶进行大鲛油的酶解。在 pH 7.0、酶解温度 53℃条件下,经 1.2.2 方法以 0.5% 风味蛋白酶酶解,大鲛油得率为 75.85%。

2.2 热熔法提取大鲛油

经测定,热熔法大鲛油得率为 75.54%,与水酶法的相似。

2.3 大鲛油的精制

2.3.1 加碱量对大鲛油脱酸效果的影响

分别加入油质量 0%、0.5%、1%、1.5%、2% 的氢氧化钠溶液,对脱胶大鲛油进行脱酸处理。不同加碱量对大鲛油品质的影响见表 1。

表 1 加碱量对大鲛油脱酸的影响

加碱量/%	水酶油			热熔油		
	酸值(KOH)/ (mg/g)	过氧化值/ (mmol/kg)	碘值(I)/ (g/100 g)	酸值(KOH)/ (mg/g)	过氧化值/ (mmol/kg)	碘值(I)/ (g/100 g)
0	1.41	8.54	151	1.53	9.17	144
0.5	1.38	8.33	152	1.42	8.44	145
1.0	0.98	6.56	149	1.18	6.63	143
1.5	0.73	4.33	152	1.05	5.38	145
2.0	0.69	4.58	150	0.83	5.62	141

由表 1 可知,不同的加碱量对大鲛油的酸值和过氧化值有明显影响,但对碘值无明显影响。在加碱量为 1.5% 时,水酶油的酸值(KOH)和过氧化值分别为 0.73 mg/g 和 4.33 mmol/kg,热熔油的酸值(KOH)和过氧化值分别为 1.05 mg/g 和 5.38 mmol/kg。当加碱量增至 2.0% 时,过氧化值增大,而酸值降低,但差异不大。因此,大鲛油脱酸过程中适宜加碱量为 1.5%。

2.3.2 复合脱色剂添加量对大鲛油脱色效果的影响

分别加入油质量 0%、1%、2%、3% 和 4% 的复合脱色剂,对脱酸大鲛油进行脱色。不同复合脱色剂添加量对大鲛油脱色的影响见表 2。

由表 2 可知,随着复合脱色剂添加量增大,脱色率增大,在复合脱色剂添加量为 4% 时,脱色效果最好,此时水酶油的脱色率为 42.83%,外观浅黄色、

透明;热熔油的脱色率为 33.61%,外观橙红色、透明。因此,大鲛油脱色时加 4% 的复合脱色剂比较合适,复合脱色剂对水酶油的脱色程度高于热熔油。

表 2 复合脱色剂添加量对大鲛油脱色的影响

复合脱色剂 添加量/%	水酶油		热熔油	
	脱色 率/%	外观	脱色 率/%	外观
0	-	深黄色、浑浊	-	深红棕色、浑浊
1	3.08	深黄色、浑浊	1.16	红棕色、浑浊
2	20.52	浅黄色、微浑	10.38	红棕色、微浑
3	32.93	浅黄色、透明	25.72	橙红色、微浑
4	42.83	浅黄色、透明	33.61	橙红色、透明

2.3.3 不同脱腥剂对大鲛油脱腥效果的影响

编号为 A、B、C、D、E 的 5 位感官人员采取嗅闻的方式,对加入不同脱腥剂的脱色水酶油和热熔油进行打分,所得结果见表 3。

由表 3 可知,茶多酚液、酵母液、茶多酚-酵母

复合液 3 种脱腥剂对脱色水酶油和热熔油的腥味均有不同程度的去除作用。茶多酚-酵母复合液对大鲛油的脱腥效果最好,其次是酵母液、茶多酚液组。因此,选择 2% 的茶多酚-酵母复合液进行脱腥。

表 3 不同脱腥剂对大鲛油脱腥的结果

组别	水酶油得分						热熔油得分					
	A	B	C	D	E	平均值	A	B	C	D	E	平均值
对照组	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
茶多酚液组	3	3	4	4	4	3.6	4	5	4	5	4	4.4
酵母液组	3	4	3	3	2	3	3	4	4	3	3	3.4
茶多酚-酵母复合液组	2	1	3	2	3	2.2	3	4	3	3	2	3

2.4 大鲛油的理化性质

水酶法和热熔法所制的大鲛毛油经精制后与水产行业精制鱼油标准(SC/T 3502—2016)各项理化指标的比较结果见表 4。

表 4 大鲛油理化性质和水产行业精制鱼油标准(SC/T 3502—2016)指标

项目	水酶油	热熔油	水产行业精制鱼油标准(SC/T 3502—2016)指标	
			一级	二级
外观	浅黄色,清澈透明,无沉淀物	橙红色,清澈透明,无沉淀物	浅黄色或橙红色,清澈透明,无沉淀物	
气味	微腥,无酸败味	微腥,无酸败味	具有鱼油的特有的微腥味,无鱼油酸败味	
水分及挥发物/%	0.07	0.18	≤0.1	≤0.2
酸值(KOH)/(mg/g)	0.72	1.01	≤1.0	≤3.0
过氧化值/(mmol/kg)	4.30	5.53	≤5.0	≤10.0
碘值(I)/(g/100 g)	151	145	≥140	≥140
不溶性杂质/%	0.03	0.06	≤0.1	≤0.1
不皂化物/(g/kg)	0.88	1.62	≤1.5	≤3.0

由表 4 可知,水酶油水分及挥发物为 0.07%,不溶性杂质为 0.03%,酸值(KOH)为 0.72 mg/g,不皂化物为 0.88 g/kg,过氧化值为 4.30 mmol/kg,均符合水产行业精制鱼油一级标准。热熔油水分及挥发物为 0.18%,不溶性杂质为 0.06%,酸值(KOH)为 1.01 mg/g,不皂化物为 1.62 g/kg,过氧化值为 5.53 mmol/kg,均符合水产行业精制鱼油二级标准。

2.5 大鲛油的脂肪酸组成(见表 5)

由表 5 可知,两种方法提取的大鲛油均检测出 10 种已知脂肪酸,4 种未知脂肪酸类。水酶油的 10 种已知脂肪酸中饱和脂肪酸占 19.4%,其中,棕榈酸含量最高,为 15.2%;不饱和脂肪酸占 76.8%,其中单不饱和脂肪酸占 47.6%,主要为油酸(32.6%),多不饱和脂肪酸占 29.2%,主要为亚油酸(14.7%);EPA、DHA 含量分别为 3.5%、4.2%。热熔油的 10 种已知脂肪酸中饱和脂肪酸占 24.8%,

其中,棕榈酸含量最高为 17.5%;不饱和脂肪酸占 70.9%,其中单不饱和脂肪酸占 45.1%,主要为油酸(34.8%);多不饱和脂肪酸占 25.8%,主要为亚油酸(15.3%);EPA、DHA 含量分别为 2.4%、3.2%。综上可看出,水酶法对大鲛油中不饱和脂肪酸的保留率高于热熔法。

表 5 水酶油和热熔油的脂肪酸组成及含量 %

脂肪酸	水酶油	热熔油
豆蔻酸(C14:0)	2.4	4.3
棕榈酸(C16:0)	15.2	17.5
棕榈油酸(C16:1)	13.7	9.2
硬脂酸(C18:0)	1.8	3.0
油酸(C18:1)	32.6	34.8
亚油酸(C18:2)	14.7	15.3
亚麻酸(C18:3)	6.8	4.9
花生一烯酸(C20:1)	1.3	1.1
未知酸	1.4	1.5

续表 5

脂肪酸	%	
	水酶油	热熔油
未知酸	1.0	1.1
二十碳五烯酸(C20:5)	3.5	2.4
未知酸	0.3	0.5
未知酸	1.1	1.2
二十二碳六烯酸(C22:6)	4.2	3.2

3 结 论

(1) 采用风味蛋白酶酶解大鲢油和热熔法提取大鲢油的精制工艺为:0.2% 磷酸脱胶,加入 1.5% 质量分数为 6.67% 氢氧化钠溶液脱酸,4% 复合脱色剂脱色,2% 茶多酚-酵母复合液脱腥。水酶油浅黄色、腥味淡;热熔油橙红色、微腥。

(2) 水酶法提取大鲢油的品质优于热熔法制备的大鲢油。水酶油的水分及挥发物(0.07%)、不溶性杂质(0.03%)、酸值(KOH)(0.72 mg/g)、不皂化物(0.88 g/kg)、过氧化值(4.30 mmol/kg)符合我国水产行业精制鱼油的一级标准;热熔油的水分及挥发物(0.18%)、不溶性杂质(0.06%)、酸值(KOH)(1.01 mg/g)、不皂化物(1.62 g/kg)、过氧化值(5.53 mmol/kg)符合我国水产行业精制鱼油的二级标准。水酶法对不饱和脂肪酸保留高于热熔法。水酶油中不饱和脂肪酸含量 76.8%,EPA、DHA 总量为 7.7%;热熔油中不饱和脂肪酸含量 70.9%,EPA、DHA 总量为 5.6%。

参考文献:

- [1] 雒林通,万红玲,兰小平,等. 中国大鲢资源现状及保护遗传学研究进展[J]. 广东农业科学,2011,38(17):100-103.
- [2] 耿敬章,李新生,党娅,等. 中国大鲢营养成分和功能因子研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,2013,35(2):9-12.
- [3] 陈德经,陈曦,方斌,等. 大鲢不同部位的抑菌效果研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(23):14109-14110.

(上接第 25 页)

- [15] 卢训,赵霖. 反式脂肪酸的危害及台湾快餐业烹调用油反式脂肪酸含量调查[J]. 中国食品学报,2010,10(4):33-37.
- [16] 赵芙蓉. 葡萄籽油的提取、精制及应用研究[D]. 乌鲁木齐:新疆大学,2013.
- [17] 李桂华,王向云,任国卫,等. 不同精炼脱酸方法对葡萄籽油中反式脂肪酸的影响研究[J]. 现代食品科技,2014,34(1):120-125.
- [18] 赵卫星,姜红波,温普红. 原子吸收分光光度法测定野蜂蜜中微量金属元素含量[J]. 化学与生物工程,2011,

- [4] 胡代花. 微碱条件生物酶法提取大鲢肝脏油脂及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2017,42(4):113-117.
- [5] 张佳婵,薛玲,王昌涛. 大鲢尾部鱼油的酶法提取工艺[J]. 食品科学技术学报,2013,31(3):25-29.
- [6] DEEPIKA D, VEGNESHWARAN V R, JULIA P, et al. Investigation on oil extraction methods and its influence on omega-3 content from cultured salmon[J]. Food Process Technol, 2014, 5(12):401-414.
- [7] OLIVEIRA D A S B, LICODIEDOFF S, FURIGO A, et al. Enzymatic extraction of oil from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products: a comparison with other extraction methods[J]. Int J Food Sci Technol, 2017, 52(3):699-705.
- [8] 王苗苗. 大鲢肌肉营养成分分析与尾脂油制备技术研究[D]. 湖南 张家界:吉首大学,2015.
- [9] IVANOV K, BUMBERGA D. Extraction of fish oil using green extraction methods: a short review[J]. Energy Procedia, 2017, 128:477-483.
- [10] 胡代花. 超声辅助提取大鲢肝脏油脂及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2017,42(6):12-15.
- [11] CHIMSOOK T, WANNALANGKA W. Effect of microwave pretreatment on extraction yield and quality of catfish oil in northern Thailand[J]. MATEC Web Confer, 2015, 35(4):1-5.
- [12] 王苗苗,罗庆华,王海磊,等. 酶解法提取大鲢尾部油的工艺研究[J]. 中国油脂,2015,40(4):6-10.
- [13] 李文佳. 水酶法淡水鱼油提取及鱼油腥味成分分析研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2014.
- [14] 罗秦,孙强,叶欣,等. 粗大鲢油的精制及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2014,39(7):5-8.
- [15] 李前山,苏媛媛. 贻贝酶解液用酵母发酵法脱腥效果最佳[J]. 监督与选择,2008(6):60-62.
- [16] 徐永霞,姜程程,刘滢,等. 带鱼脱腥工艺及脱腥前后的理化性质[J]. 食品与发酵工业,2013,39(12):68-72.

28(2):86-88.

- [19] 徐金瑞,邓翌凤,列丽坤. 几种抗氧化剂协同作用对葵花籽油稳定性的影响[J]. 中国油脂,2009,34(8):40-42.
- [20] WANG Y D, GONG Z W, ZHAO Z B, et al. Microbial lipid production from pectin-derived carbohydrates by oleaginous yeasts[J]. Process Biochem, 2015, 50(7):1097-1102.
- [21] 牛翠娇,史玉琴,宋涛,等. 气相色谱-质谱法测定食品中的反式脂肪酸[J]. 安徽农业科学,2011,39(6):3649-3651.