

响应面优化浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶工艺研究

王若璠¹, AKHYMETKAN Saltanat¹, 张妍¹, 李琪¹, 黄丹², 于修焯¹

(1. 粮油功能化加工陕西省高校工程研究中心, 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌712100; 2. 渭南石羊长安花粮油有限公司, 陕西渭南714026)

摘要:为了优化浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶工艺,以浓香菜籽原油为原料,以磷脂含量为考察指标,通过单因素试验探究酶添加量、反应时间、反应温度、pH、水添加量以及超声功率对浓香菜籽油脱胶效果的影响。在此基础上,利用响应面法优化浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶工艺。同时,对传统酶法脱胶与超声辅助酶法脱胶的脱胶效果进行了对比。结果表明:浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶最优工艺条件为酶添加量45 mg/kg、反应时间3 h、反应温度55 ℃、pH 5.0、水添加量2.5%、超声功率490 W,在此条件下浓香菜籽油的磷脂含量为0.05 mg/g,脱胶率可达99.4%;超声辅助酶法脱胶效果优于传统酶法脱胶。可见,超声辅助酶法脱胶是一种较为高效的油脂脱胶方法。

关键词:浓香菜籽油;酶法脱胶;超声波;磷脂含量

中图分类号:TS225.1;TS224.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)04-0016-05

Optimization of ultrasonic – assisted enzymatic degumming process of fragrant rapeseed oil by response surface methodology

WANG Ruofan¹, AKHYMETKAN Saltanat¹, ZHANG Yan¹,
LI Qi¹, HUANG Dan², YU Xiuzhu¹

(1. Engineering Research Center of Grain and Oil Functionalized Processing of Universities of Shaanxi Province, College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; 2. Weinan Shiyang Chang'anhua Grain and Oil Co., Ltd., Weinan 714026, Shaanxi, China)

Abstract: In order to optimize the process of ultrasonic – assisted enzymatic degumming of fragrant rapeseed oil, with the fragrant rapeseed crude oil as the raw material and phospholipid content as index, the effects of enzyme dosage, reaction time, reaction temperature, pH, water dosage and ultrasonic power on the degumming effect of fragrant rapeseed oil were investigated by single factor experiment. On this basis, the ultrasonic – assisted enzymatic degumming process of fragrant rapeseed oil was optimized by response surface methodology. At the same time, the degumming effect of the traditional enzyme method was compared with that of the ultrasound – assisted enzyme method. The results showed that the optimal ultrasonic – assisted enzymatic degumming of fragrant rapeseed oil conditions were determined as follows:

收稿日期:2022-03-31;修回日期:2022-12-27

基金项目:陕西省农业协同创新与推广联盟重大科技项目(LMZD202005);陕西省重点产业创新链(群)——农业领域(2020ZDLNY04-05)

作者简介:王若璠(1997),女,在读硕士,研究方向为功能性油脂及安全检测(E-mail)570545462@qq.com。

通信作者:于修焯,教授,博士(E-mail)xiuzhuyu@nwafu.edu.cn。

enzyme dosage 45 mg/kg, reaction time 3 h, reaction temperature 55 ℃, pH 5.0, water dosage 2.5% and ultrasonic power 490 W. Under such conditions, the phospholipid content in fragrant rapeseed oil was 0.05 mg/g and the degumming rate could reach 99.4%, and the degumming effect of ultrasound – assisted enzyme method was better than that of traditional enzyme method. In

conclusion, the ultrasonic-assisted enzymatic degumming is a relatively efficient oil degumming method.

Key words: fragrant rapeseed oil; enzymatic degumming; ultrasound; phospholipid content

浓香菜籽油香味浓郁,最大限度保留了油菜籽中的维生素、酚类、甾醇等活性物质,营养成分丰富,深受消费者喜爱^[1]。在浓香菜籽油的精炼中,为保证其品质,需要通过脱胶除去以磷脂为主的胶体杂质^[2]。常见的脱胶方法有水化脱胶、酸法脱胶等,这些脱胶方法由于各自的局限性,会对浓香菜籽油风味及品质产生较大影响^[3]。酶法脱胶不仅处理温度低、脱胶效果好,还具有良好的经济环保性能^[4-5]。此外,相关研究表明,适宜的超声处理能够与酶反应产生协同作用,促进底物与酶之间有效结合,增强酶的活性,从而提高油脂精炼效率^[6-8]。然而关于超声对浓香菜籽油酶法脱胶的强化效果却鲜有报道。因此,本研究以浓香菜籽原油为原料,在单因素试验的基础上,采用响应面法对浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶工艺进行优化,并通过对比超声辅助酶法脱胶与传统酶法脱胶进行比较研究,分析超声辅助对浓香菜籽油酶法脱胶效果的影响,以期对浓香菜籽油的脱胶提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

油菜籽,购自陕西省汉中市农贸市场;磷脂酶 A₁ (PLA₁),诺维信(中国)生物技术有限公司;氢氧化钠、柠檬酸,均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

MS-5 炒籽机,常州迈斯机械有限公司;ZYJ-420 榨油机,东莞市房太电器有限公司;XHF-D 高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司;JJ-1 精密增力电动搅拌器,常州国华电器有限公司;pH 计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;KQ-700DE 数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;KSW 马弗炉,北京科伟永兴仪器有限公司;UV-1200 紫外可见分光光度计,上海美析仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 浓香菜籽原油制取

选取新鲜、颗粒饱满、无霉变和破籽粒的油菜籽,在 150~160℃ 下炒制 30 min,经榨油机压榨制得浓香菜籽原油。

1.2.2 浓香菜籽油脱胶

1.2.2.1 传统酶法脱胶

称取 100 g 浓香菜籽原油,加入 0.2 mL 体积分

数 45% 柠檬酸溶液,在 70℃、500 r/min 条件下搅拌 20 min,冷却后加入质量分数 16% 的 NaOH 溶液调节 pH,加入一定量的去离子水和磷脂酶 A₁,均质 1 min 后,在设定温度下继续搅拌反应一定时间,反应结束后于 95℃ 水浴加热灭酶 10 min,以 10 000 r/min 离心 10 min,收集上层油层,即得脱胶浓香菜籽油。

1.2.2.2 超声辅助酶法脱胶

超声辅助酶法脱胶区别于传统酶法脱胶的是在加入磷脂酶 A₁ 均质后,将整个反应体系迅速转移至超声波清洗器中,在设定的反应时间、反应温度、超声功率下结合机械搅拌继续反应,反应结束后,同样进行灭酶和离心处理,收集上层油层,即得脱胶浓香菜籽油。

1.2.3 磷脂含量测定及理化性质分析

磷脂含量测定,参照 GB/T 5537—2008;酸值测定,参照 GB 5009.229—2016;过氧化值测定,参照 GB 5009.227—2016。

2 结果与分析

2.1 酶法脱胶单因素试验

2.1.1 酶添加量对脱胶效果的影响

在 pH 5.0、水添加量 2%、反应时间 3 h、反应温度 55℃ 条件下,调整酶添加量分别为 20、30、40、50、60 mg/kg,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究酶添加量对不同酶法脱胶效果(超声辅助酶法脱胶的超声功率为 490 W)的影响,结果见图 1。

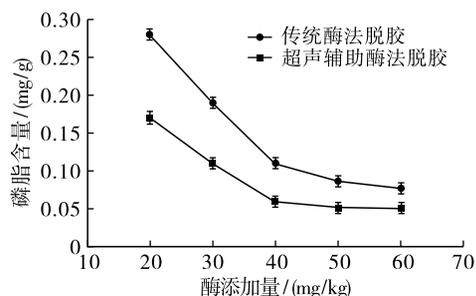


图 1 酶添加量对不同酶法脱胶效果的影响

由图 1 可知:当酶添加量由 20 mg/kg 增加至 50 mg/kg 时,随着酶添加量的增多,酶与底物作用越充分,磷脂含量下降越快;当酶添加量为 50 mg/kg 时,超声辅助酶法脱胶油的磷脂含量为 0.052 mg/g,明显低于传统酶法脱胶油的磷脂含量(0.086 mg/g),可见超声波可明显增强磷脂酶 A₁ 的催化活性,在添

加等量酶的情况下,超声处理可以有效地将磷脂含量降低到较低水平;继续增加酶添加量,此时酶与底物的结合接近饱和^[9],脱胶效果变化不明显。

2.1.2 反应时间对脱胶效果的影响

在 pH 5.0、水添加量 2%、酶添加量 40 mg/kg、反应温度 55 °C 条件下,调整反应时间分别为 1、2、3、4、5 h,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究反应时间对不同酶法脱胶效果(超声辅助酶法脱胶的超声功率为 490 W)的影响,结果见图 2。

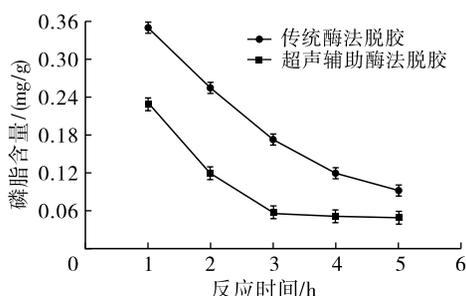


图 2 反应时间对不同酶法脱胶效果的影响

由图 2 可知,与传统酶法脱胶相比,在超声辅助的条件下,磷脂含量下降速率明显较快。在反应时间 3 h 时,超声辅助酶法脱胶油磷脂含量下降至 0.056 mg/g,而传统酶法脱胶油下降至 0.173 mg/g,相差约 2 倍。由此可见,超声辅助能显著加快酶解速度,从而缩短反应时间。这主要归因于超声波与液体介质之间相互作用产生的空化效应。脱胶反应发生在水油界面之间^[10],这意味着其反应速度随着界面面积的增加而加快,而超声波的空化效应能够增加反应体系的界面面积,有助于反应体系更加均匀分散,使得酶与底物迅速结合,反应速度加快^[11-13]。

2.1.3 反应温度对脱胶效果的影响

在 pH 5.0、水添加量 2%、酶添加量 40 mg/kg、反应时间 5 h 条件下,调整反应温度分别为 40、45、50、55、60、65 °C,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究反应温度对不同酶法脱胶效果(超声辅助酶法脱胶的超声功率为 490 W)的影响,结果见图 3。

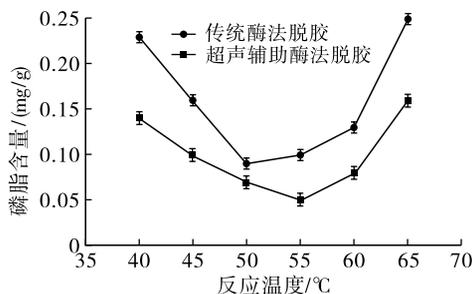


图 3 反应温度对不同酶法脱胶效果的影响

由图 3 可知:当反应温度过低时,酶活性较低,与底物结合不充分,磷脂去除量少;随着反应温度的升高,磷脂酶 A₁ 越接近最适反应温度,脱胶效果越好;反应温度过高会使酶变性失活,磷脂含量又开始上升。在超声辅助的条件下,在反应温度为 55 °C 时磷脂含量最低;在传统酶法脱胶条件下,在反应温度为 50 °C 时磷脂含量最低。相关研究表明,酶与底物在反应体系中会结合形成络合物,在超声波的作用下,底物对酶在某种程度起到支撑和保护作用,使得酶活力和热稳定性都有一定程度的提高^[14]。

2.1.4 pH 对脱胶效果的影响

在水添加量 2%、酶添加量 40 mg/kg、反应时间 3 h、反应温度 55 °C 条件下,调整 pH 分别为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究 pH 对不同酶法脱胶效果(超声辅助酶法脱胶的超声功率为 490 W)的影响,结果见图 4。

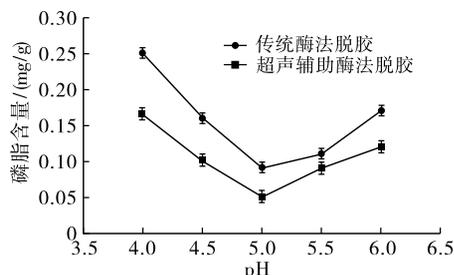


图 4 pH 对不同酶法脱胶效果的影响

由图 4 可知,随着 pH 的不断升高,脱胶效果呈先上升后下降的趋势,这与磷脂酶 A₁ 的活性随着 pH 的增加不断发生改变有关。传统酶法脱胶与超声辅助酶法脱胶均在 pH 为 5.0 时磷脂含量最低,说明超声处理对磷脂酶 A₁ 脱胶时的最适 pH 影响不大,这与 Jiang 等^[15]的研究结果一致。

2.1.5 水添加量对脱胶效果的影响

在 pH 5.0、酶添加量 40 mg/kg、反应时间 3 h、反应温度 55 °C 条件下,调整水添加量分别为 1%、2%、3%、4%、5%,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究水添加量对不同酶法脱胶效果(超声辅助酶法脱胶的超声功率为 490 W)的影响,结果见图 5。

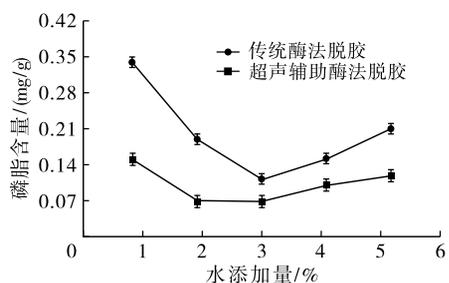


图 5 水添加量对不同酶法脱胶效果的影响

由图5可知:随着水添加量的增加,磷脂含量先呈下降趋势,这是由于油脂中的磷脂等胶体吸收水分而发生膨胀、凝聚最终沉淀^[16];传统酶法脱胶油在水添加量达到3%时,磷脂含量最低,而超声辅助酶法脱胶油的磷脂含量在水添加量为2%和3%时相差较小;继续增加水添加量,磷脂含量升高,这是因为一方面水添加量过多,会促进胶体和油体发生乳化,使得胶体离心分离变得困难^[17-18],另一方面过量的水也会使反应体系的pH发生变化而偏离磷脂酶A₁的最适范围,降低其活性。

2.1.6 超声功率对脱胶效果的影响

在pH 5.0、水添加量2%、酶添加量40 mg/kg、反应时间3 h、反应温度55℃条件下,调整超声功率分别为280、350、420、490、560、630 W,对浓香菜籽原油进行脱胶处理,研究超声功率对超声辅助酶法脱胶效果的影响,结果见图6。

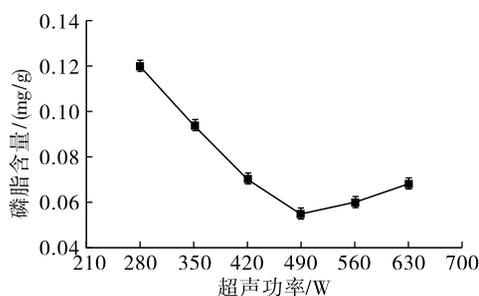


图6 超声功率对超声辅助酶法脱胶效果的影响

由图6可知,随着超声功率的增加,磷脂含量呈先下降后上升的趋势,在超声功率为490 W时磷脂含量最低,为0.055 mg/g。当超声功率在490~630 W范围时,磷脂含量又开始升高,说明超声功率过高会破坏酶的活性,导致脱胶效果不佳。

2.2 超声辅助酶法脱胶响应面优化试验

根据单因素试验结果,在反应时间3 h、反应温度55℃、pH 5.0条件下,选择响应变量酶添加量(A)、水添加量(B)、超声功率(C)和响应值磷脂含量(Y)进行三因素三水平响应面试验,以确定浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶的最优工艺参数。响应面试验因素水平及编码见表1。响应面试验设计与结果见表2。

表1 响应面试验因素水平及编码

水平	A 酶添加量/(mg/kg)	B 水添加量/%	C 超声功率/W
-1	35	1.5	350
0	45	2.5	490
1	55	3.5	630

表2 响应面试验设计与结果

试验号	A	B	C	磷脂含量/(mg/g)
1	-1	0	1	0.073 6
2	0	-1	-1	0.065 6
3	0	0	0	0.049 8
4	1	0	1	0.045 9
5	1	1	0	0.048 9
6	1	0	-1	0.052 1
7	-1	-1	0	0.068 5
8	0	0	0	0.055 8
9	-1	0	-1	0.072 3
10	0	0	0	0.050 3
11	-1	1	0	0.071 8
12	0	1	1	0.067 0
13	0	-1	1	0.065 9
14	0	1	-1	0.062 6
15	0	0	0	0.049 3
16	0	0	0	0.049 8
17	1	-1	0	0.055 7

对表2数据进行分析,得到回归方程: $Y=0.051-0.016A-1.013\times 10^{-3}B-2.5\times 10^{-5}C-5.681\times 10^{-3}AB-2.812\times 10^{-3}AC+1.538\times 10^{-3}BC+6.666\times 10^{-3}A^2+0.016B^2+7.013\times 10^{-3}C^2$ 。对回归方程进行方差分析,结果见表3。

表3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	1.43×10^{-3}	9	1.59×10^{-4}	18.66	0.000 4**
A	8.74×10^{-4}	1	8.74×10^{-4}	102.36	<0.000 1**
B	3.65×10^{-6}	1	3.65×10^{-6}	0.43	0.534 3
C	5.00×10^{-9}	1	5.00×10^{-9}	5.86×10^{-4}	0.981 4
AB	2.55×10^{-5}	1	2.55×10^{-5}	2.99	0.127 5
AC	1.41×10^{-5}	1	1.41×10^{-5}	1.65	0.240 1
BC	4.20×10^{-6}	1	4.20×10^{-6}	0.49	0.505 5
A ²	3.70×10^{-5}	1	3.70×10^{-5}	4.33	0.076 0
B ²	2.22×10^{-4}	1	2.22×10^{-4}	26.02	0.001 4**
C ²	2.07×10^{-4}	1	2.07×10^{-4}	24.26	0.001 7**
残差	5.98×10^{-5}	7	8.54×10^{-6}		
失拟项	3.04×10^{-5}	3	1.02×10^{-5}	1.39	0.368 6
净误差	2.93×10^{-5}	4	7.33×10^{-6}		
总离差	1.49×10^{-3}	16			

注:**表示 $p<0.01$,差异极显著

由表3可知,回归模型极显著($p<0.01$),失拟项不显著($p>0.05$),说明超声辅助酶法脱胶试验模型具有统计学意义。该模型 R^2 为0.960 0, R^2_{Adj} 为0.908 6,表明该模型拟合度好,可预测浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶工艺的实际情况。模型中A、B²、C²对磷脂含量的影响极显著。在试验所选取的各

因素中,对浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶效果影响程度顺序为酶添加量 > 水添加量 > 超声功率。

由响应面软件分析得到浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶的最优工艺参数为酶添加量 45 mg/kg、水添加量 2.5%、超声功率 490 W。结合单因素试验确定的最优条件,即反应时间 3 h、反应温度 55 °C、pH 5.0 进行验证试验,浓香菜籽油磷脂含量为 0.05 mg/g,脱胶率可达 99.4%。

2.3 不同酶法脱胶对浓香菜籽油脱胶效果比较

按照最优工艺参数,分别采用传统酶法和超声辅助酶法对浓香菜籽油进行脱胶处理,分析脱胶油的理化指标及磷脂含量,结果见表 4。

表 4 浓香菜籽油理化指标及磷脂含量

指标	原油	脱胶油	
		传统酶法脱胶	超声辅助酶法脱胶
酸值(KOH)/(mg/g)	1.87 ± 0.06 ^a	1.93 ± 0.04 ^a	2.75 ± 0.04 ^b
过氧化值/(mmol/kg)	3.38 ± 0.02 ^a	4.26 ± 0.02 ^b	4.93 ± 0.05 ^c
磷脂含量/(mg/g)	8.41 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.03 ^b	0.05 ± 0.01 ^c

注:同行不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$

由表 4 可知,与原油相比,在传统酶法脱胶与超声辅助酶法脱胶条件下,浓香菜籽油的过氧化值及酸值均有所升高,这可能一方面是由于在脱胶过程中,油脂暴露在空气中时间过长,导致原油有一定程度的氧化,另一方面磷脂在磷脂酶的作用下,生成游离脂肪酸,导致酸值升高。此外,相比于传统酶法脱胶,超声辅助酶法脱胶油磷脂含量更低,说明超声辅助在浓香菜籽油酶法脱胶过程中可提高脱胶效率。

3 结论

通过单因素试验和响应面试验确定浓香菜籽油超声辅助酶法脱胶的最优工艺参数为 pH 5.0、酶添加量 45 mg/kg、水添加量 2.5%、反应时间 3 h、反应温度 55 °C、超声功率 490 W,在此工艺条件下浓香菜籽油磷脂含量为 0.05 mg/g,脱胶率可达 99.4%。超声辅助酶法脱胶的脱胶效果优于传统酶法脱胶的,在油脂精炼中具有很大的应用潜力。

参考文献:

[1] 毛晓慧. 炒籽过程中浓香菜籽油产香机制的研究[D].

陕西 杨凌:西北农林科技大学,2020.

- [2] 李世磊,程倩,黄昭先,等. 酶法脱胶在大豆油脱胶中的应用[J]. 中国油脂,2021,46(10):1-5.
- [3] 蒋晓菲. 磷脂对食用油品质的影响及酶法脱胶技术的研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2015.
- [4] 杨博,王宏建. 经济环保的酶法脱胶技术[J]. 中国油脂,2004,29(3):21-23.
- [5] 许皎皎,孙乐,王强,等. 植物油酶法脱胶技术的研究进展[J]. 粮食与食品工业,2021,28(4):14-17.
- [6] 万楚筠,黄凤洪,李文林,等. 超声波对磷脂酶 A₁ 脱除油中非水化磷脂的影响[J]. 中国油脂,2007,32(2):33-36.
- [7] 叶展,罗质,何东平,等. 超声波技术在油脂适度精炼中的应用研究进展[J]. 食品工业,2015,36(7):231-236.
- [8] 陈秋冰,熊双丽,李安林,等. 超声波辅助浓香菜籽油水化脱胶工艺优化[J]. 中国油脂,2021,46(2):5-10.
- [9] 邵双双,贺亮,韦朝阳,等. 响应面优化黄色蚕茧超声辅助酶法脱胶工艺[J]. 中国林副特产,2015(4):1-6.
- [10] 徐赢华,王国敬,李春,等. 酶法脱胶在植物油脂精炼中的应用进展[J]. 农业工程学报,2015,31(23):269-276.
- [11] MASON T J, PANIWNKYK L, LORIMER J P. The uses of ultrasound in food technology [J]. Ultrason Sonochem, 1996, 3(3):253-260.
- [12] MORE N S, GOGATE P R. Ultrasound assisted enzymatic degumming of crude soybean oil[J]. Ultrason Sonochem, 2018, 42:805-813.
- [13] JIANG X F, MING C, WANG X S, et al. The effect of ultrasound on enzymatic degumming process of rapeseed oil by the use of phospholipase A₁ [J]. Ultrason Sonochem, 2014, 21(1):142-148.
- [14] 林勤保,高大维. 超声波对酶反应的影响[J]. 声学技术,1997(1):27-29.
- [15] JIANG X F, MING C, WANG X S, et al. A comparative study of phospholipase A₁ and phospholipase C on soybean oil degumming[J]. J Am Oil Chem Soc, 2014, 91(12):2125-2134.
- [16] 汪增乾,包李林,熊巍林,等. 四级浓香菜籽油酶法脱胶工艺条件优化[J]. 中国油脂,2019,44(7):28-31.
- [17] 孙静瑶,曹家乐,迟岩,等. 响应面优化沙棘果油超声辅助酶法脱胶工艺[J]. 食品研究与开发,2021,42(23):111-117.
- [18] 代春华,蔡兆海,圣明明,等. 超声辅助菜籽毛油脱胶工艺研究[J]. 中国粮油学报,2020,35(5):93-96.