油脂加工

超声波辅助酶法提取茶叶籽油及其脂肪酸组成分析

徐君飞,谢　慧,刘　兰,覃茂范

(怀化学院 生物与食品工程学院,湖南 怀化 418008)

摘要:以湖南怀化地区茶叶籽为原料,在单因素试验的基础上,通过正交试验优化超声波辅助酶法提取茶叶籽油的工艺条件,并采用气相色谱-质谱联用分析茶叶籽油的脂肪酸组成。结果表明:超声波辅助酶法提取茶叶籽油最佳工艺条件为料液比1:5、植物提取复合酶添加量0.6%、pH 5.8、超声酶解温度55℃、超声酶解时间90 min、超声功率300 W,在此条件下,茶叶籽出油率为(52.61±0.11)%;茶叶籽油中共鉴定出17种脂肪酸,主要含油酸(47.67%)、亚油酸(24.32%)、亚麻酸(4.26%)等不饱和脂肪酸。

关键词:超声波辅助酶法;茶叶籽油;脂肪酸

中图分类号:TS224;TS227　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1003-7969(2018)01-0020-04

Ultrasound-assisted enzymatic extraction and fatty acid composition of tea seed oil

XU Junfei, XIE Hui, LIU Lan, QIN Maofan

(College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua 418008, Hunan, China)

Abstract: With tea seed from huaihua area in hunan province as raw material, based on single factor experiment, the process of ultrasound-assisted enzymatic extraction of oil from tea seeds were optimized by orthogonal experiment, and the fatty acid composition of tea seed oil was analyzed by GC-MS. The results showed that the optimal process conditions of ultrasound-assisted enzymatic extraction of tea seed oil were obtained as follows: ratio of material to liquid 1:5, dosage of enzyme 0.6%, pH 5.8, ultrasonic hydrolysis temperature 55℃, ultrasonic hydrolysis time 90 min and ultrasonic power 300 W. Under the optimal conditions, the yield of tea seed oil was (52.61±0.11%). 17 fatty acids were identified from the extracted tea seed oil by GC-MS, and unsaturated fatty acids, such as oleic acid(47.67%), linoleic acid(24.32%) and linolenic acid(4.26%) were the main fatty acids.

Key words: ultrasound-assisted enzymatic extraction; tea seed oil; fatty acid

茶叶籽油是我国特有的木本油脂,组成以油酸、亚油酸、亚麻酸等不饱和脂肪酸为主,且亚油酸含量为同类木本油脂(如油茶籽油、橄榄油)中最高,为橄榄油的3~6倍,亚麻酸与亚油酸含量比例接近《欧米伽膳食》推荐的1:4营养标准[1]。《中华人民共和国卫生部2009年第18号公告》中正式批准茶叶籽油为新资源食品。茶叶籽油具有调节免疫活性细胞、增强免疫功能、清除自由基、抗氧化、抗衰老、防"三高"等功能。

目前,用于油脂提取的方法主要有压榨法、浸出法[2-3]、水酶法[4]和超声波辅助法[5]等。水酶法具有出油率高、油品质好、色泽浅、环保、安全和廉价等优点,但提取时间一般较长;超声波辅助法具有出油率高、成本低、时间短等优点。因此,本文采用超声波辅助酶法提取茶叶籽油,利用蛋白酶、纤维素酶对蛋白质、纤维素的水解,破坏其与油脂的结合,从而使油脂释放出来,辅以超声波以提高提取效率,最后

收稿日期:2017-04-15;**修回日期:**2017-10-13

作者简介:徐君飞(1981),女,副教授,博士,研究方向为天然产物开发(E-mail) junfei_xu@163.com。

对提取获得的茶叶籽油进行 GC－MS 分析，为茶叶籽油的制备提供技术参考，为湖南怀化地区茶叶籽的合理开发利用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

1.1.1　原料与试剂

茶叶籽，购于湖南省怀化市通道侗族自治县。

植物提取复合酶 HYX－63（以木聚糖酶、葡聚糖酶和纤维素酶为主要组分，兼有果胶酶和蛋白酶，简称复合酶），购于湖南鸿鹰祥生物工程股份有限公司。

1.1.2　仪器与设备

AUY120 型电子天平；Eppendorf 5804R 高速冷冻离心机；JY99－ⅡDN 超声波细胞破碎仪；GZX－9070MBE 电热鼓风干燥箱；7890－5975C 型气相色谱－质谱联用仪，美国安捷伦。

1.2　试验方法

1.2.1　茶叶籽仁粉的制备

茶叶籽干燥脱壳得仁，粉碎，过 20～40 目筛，得茶叶籽仁粉。

1.2.2　超声波辅助酶法提取茶叶籽油[6-8]

向茶叶籽仁粉中加适量去离子水，打磨成浆液，50 ℃浸泡 2 h，100 ℃水浴灭酶 5 min，冷却至室温，用磷酸缓冲液调至相应 pH，添加一定量复合酶，在一定温度下，于超声功率 300 W 超声酶解一段时间，5 000 r/min 离心 20 min，取上层清油；中间乳状液加热破乳后，5 000 r/min 离心 20 min，取上层油相；将两次油相合并，干燥至恒重，称重，计算出油率。每组试验条件做 3 次平行，结果取平均值。出油率＝茶叶籽油质量/茶叶籽仁粉质量×100%。

1.2.3　茶叶籽油的脂肪酸组成分析

茶叶籽油甲酯化参考 GB/T 17376—2008《动植物油脂 脂肪酸甲酯制备》。

气相色谱条件：DB－WAX 毛细管柱（30 m×0.25 mm ×0. 25 μm）；载气为高纯氦气，流速 1 mL/min；升温程序为 50 ℃保持 1 min，以 5 ℃/min 升至 240 ℃，保持 5 min；分流比 80∶1，进样量 1.0 μL。

质谱条件：接口温度 280 ℃；EI 离子源；电离能量 70 eV；离子源温度 230 ℃；四极杆温度 150 ℃；辅热温度 250 ℃；传输线温度 280 ℃；全扫描模式，质量扫描范围（m/z）35～455。

2　结果与分析

2.1　单因素试验

2.1.1　料液比对出油率的影响

在复合酶添加量 0.3%、pH 5.0、超声酶解温度 45 ℃、超声酶解时间 90 min 的条件下，考察料液比对出油率的影响，结果见图 1。

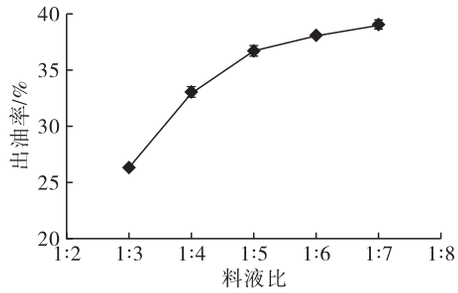

图 1　料液比对出油率的影响

由图 1 可知，茶叶籽出油率随料液比增加而增加，料液比由 1∶3 增加到 1∶5 时，出油率增加较快，之后增加较慢。这可能是因为料液比越大，越有利于油脂分子的扩散，但料液比过大，混合油浓度降低，能耗大。因此，宜选取料液比 1∶5 进行后续试验。

2.1.2　复合酶添加量对出油率的影响

在料液比 1∶5、pH 5.0、超声酶解温度 45 ℃、超声酶解时间 90 min 的条件下，考察复合酶添加量对出油率的影响，结果见图 2。

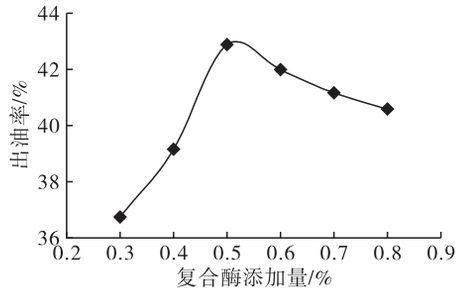

图 2　复合酶添加量对出油率的影响

由图 2 可知，随着复合酶添加量的增加，出油率先增加后减小，当复合酶添加量为 0.5% 时，出油率最大，达 42.89%；继续增大复合酶添加量，出油率呈下降趋势。这可能是因为适当增加复合酶添加量，提高了复合酶浓度，增加了底物与复合酶的接触概率，促进了酶促反应的发生，故出油率增加，但当溶液中复合酶的浓度超过一定范围时，酶促体系发生深度水解，进而易使油脂发生乳化现象，增加油脂分离难度，并降低出油率[9]。故宜选取复合酶添加量 0.5% 进行后续试验。

2.1.3　pH 对出油率的影响

在料液比 1∶5、复合酶添加量 0.5%、超声酶解温度 45 ℃、超声酶解时间 90 min 的条件下，考察 pH 对出油率的影响，结果见图 3。

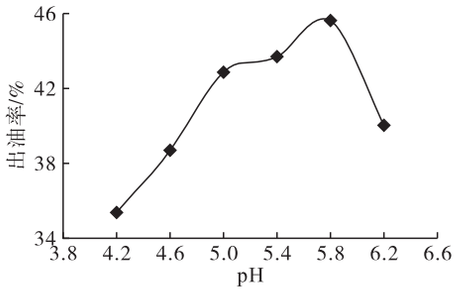

图 3　pH 对出油率的影响

由图 3 可知,随着 pH 升高,出油率先增加后减小,当 pH 为 5.8 时,出油率最大,为 45.67%;继续增大 pH,出油率呈下降趋势。这可能是因为 pH 升高,能有效提高脂蛋白的水合能力,增加溶解度,促进水解反应进行,同时 pH 升高,也可有效降低水解体系的乳化稳定性,释放油脂,进而提高出油率[10],但当 pH 超过复合酶的最适作用 pH 时,酶促反应速率下降,致使出油率急剧下降。故宜选取 pH 5.8 进行后续试验。

2.1.4　超声酶解温度对出油率的影响

在料液比 1∶5、复合酶添加量 0.5%、pH 5.8、超声酶解时间 90 min 的条件下,考察超声酶解温度对出油率的影响,结果见图 4。

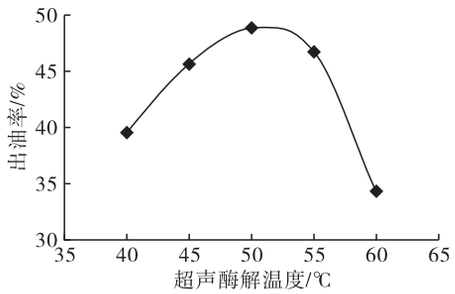

图 4　超声酶解温度对出油率的影响

由图 4 可知,在超声酶解温度低于 50 ℃时,出油率随着超声酶解温度的升高而增加,50 ℃达到最高,之后随着超声酶解温度升高,出油率呈下降趋势。这可能是因为温度升高,能增强分子间的热运动,使油脂的黏度下降,从而使整个体系的传质阻力降低,扩散速度提高,同时适当升高温度,有利于提高复合酶活性,进而提高出油率;但是温度继续升高,超过复合酶的最适作用温度时,酶促反应速率下降,出油率急剧下降,且超声酶解温度升高还易造成油脂氧化[11]。故宜选取超声酶解温度 50 ℃进行后续试验。

2.1.5　超声酶解时间对出油率的影响

在料液比 1∶5、复合酶添加量 0.5%、pH 5.8、超声酶解温度 50 ℃条件下,考察超声酶解时间对出油率的影响,结果见图 5。

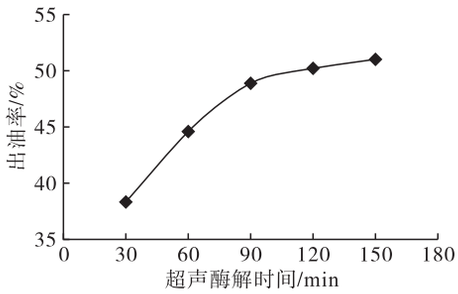

图 5　超声酶解时间对出油率的影响

由图 5 可知,随着超声酶解时间的延长,出油率逐渐增加,当超声酶解时间超过 120 min 以后,出油率的变化趋于平缓,继续延长超声酶解时间对出油率没有显著影响,且随着超声酶解时间的进一步延长,茶叶籽油易发生氧化作用,致使茶叶籽油过氧化值增加、颜色加深,影响茶叶籽油品质[12]。故宜选取超声酶解时间 120 min 进行后续试验。

2.2　正交试验优化

在单因素试验基础上,固定料液比为 1∶5,以复合酶添加量、pH、超声酶解温度、超声酶解时间为自变量,以出油率为评价指标,进行 $L_9(3^4)$ 正交优化试验。正交试验设计及结果见表 1,正交试验方差分析见表 2。

表 1　正交试验设计及结果

试验号	A 复合酶添加量	B pH	C 超声酶解温度	D 超声酶解时间	出油率/%
1	1(0.4%)	1(5.4)	1(45 ℃)	1(90 min)	36.87
2	1	2(5.8)	2(50 ℃)	2(120 min)	39.73
3	1	3(6.2)	3(55 ℃)	3(150 min)	43.58
4	2(0.5%)	1	2	3	41.06
5	2	2	3	1	49.28
6	2	3	1	2	43.71
7	3(0.6%)	1	3	2	52.16
8	3	2	1	3	49.00
9	3	3	2	1	49.83
k_1	40.06	43.36	43.19	45.33	
k_2	44.68	46.00	43.54	45.20	
k_3	50.33	45.71	48.34	44.55	
R	10.27	2.64	5.15	0.78	

表 2　正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	158.73	2	151.03	19.00	*
B	12.55	2	11.94	19.00	
C	49.65	2	47.24	19.00	*
D	1.05	2	1.00	19.00	
误差	1.05	2			

注:$F_{0.05}(2,2)=19.00$,* 表示 $P<0.05$。

由表 1 可知,各因素对出油率影响的大小顺序为:复合酶添加量 > 超声酶解温度 > pH > 超声酶解时间。由表 2 可知,复合酶添加量和超声酶解温度对出油率有显著影响,pH 和超声酶解时间对出油率影响不显著。综上,超声波辅助酶法提取茶叶籽油的最佳工艺为 $A_3B_2C_3D_1$,即料液比 1∶5、复合酶添加量 0.6%、pH 5.8、超声酶解温度 55 ℃、超声酶解时间 90 min、超声功率 300 W,在此条件下进行验证试验,得到出油率为(52.61 ±0.11)%。

2.3　茶叶籽油的脂肪酸组成

茶叶籽油经甲酯化处理,采用 GC - MS 对其脂肪酸组成进行分析,通过标准品对照和数据库检索对其脂肪酸组成进行定性分析,并按峰面积归一化法进行定量分析,结果见表 3。

表 3　茶叶籽油的脂肪酸组成

保留时间/min	脂肪酸(以甲酯计)	含量/%
17.568	肉豆蔻酸	0.05
19.277	十五烷酸	0.02
21.096	棕榈酸	16.33
21.898	棕榈油酸	0.17
22.669	十七烷酸	0.19
23.633	十七碳烯酸	0.09
24.451	硬脂酸	4.27
25.431	油酸	47.67
26.663	亚油酸	24.32
27.344	花生酸	0.15
28.052	亚麻酸	4.26
28.188	二十碳烯酸	1.37
30.123	山嵛酸	0.08
30.946	芥酸	0.09
31.407	二十三烷酸	0.06
32.822	二十四烷酸	0.13
33.818	二十四碳烯酸	0.15

由表 3 可知,从茶叶籽油中共分析鉴定出 17 种脂肪酸,主要为棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸,与曾秋梅[13]的研究报道一致。油酸属单不饱和脂肪酸,是高脂血症患者降低血脂水平和预防心血管疾病的推荐脂肪酸之一,可降低血清总胆固醇、血压、有害的低密度脂蛋白胆固醇,并保持有利的高密度脂蛋白胆固醇不降低;亚油酸是人体必需脂肪酸,具有抗氧化、抗癌、抑制人体内胆固醇合成等功效[14];亚麻酸是人体健康必需却又普遍缺乏、急需补充的一种必需营养素,具有增强免疫力、保护视力、降血脂、降血压、降血糖、抑制癌症的发生和转移、预防心肌梗塞和脑梗塞、减缓人体衰老等功效[15];棕榈酸也具有降低血清中胆固醇含量的功能。湖南怀化地区的茶叶籽油中油酸含量达 47.67%、棕榈酸含量达 16.33%、亚油酸含量达 24.32%、亚麻酸含量达 4.26%,表明该茶叶籽油具有很高的利用价值。

3　结　论

(1)超声波辅助酶法提取茶叶籽油的最佳工艺条件为料液比 1∶5、复合酶添加量 0.6%、pH 5.8、超声酶解温度 55 ℃、超声酶解时间 90 min、超声功率 300 W,在此条件下,茶叶籽出油率为(52.61 ±0.11)%。

(2)超声波辅助酶法提取茶叶籽油经 GC - MS 分析鉴定出 17 种脂肪酸,主要为油酸(47.67%)、亚油酸(24.32%)、亚麻酸(4.26%)、棕榈酸(16.33%)、硬脂酸(4.27%)。湖南怀化地区的茶叶籽油是一种理想的营养保健油。

参考文献:

[1] SIMOPOULOS A P, ROBINSON J. 欧米伽膳食[M]. 上海:上海科学普及出版社, 2002.

[2] 崔秀明, 汪之和, 施文正. 南极磷虾粗虾油提取工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(24):126 - 129.

[3] 周如金, 赵顺珠, 黄晓梅, 等. 虾头油提取工艺研究[J]. 中国油脂, 2008, 33(5): 77 - 80.

[4] 周长平, 孙军涛, 王洪新, 等. 酶解法提取南极磷虾虾油的研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(3): 68 - 72.

[5] 冯红霞, 江连洲, 李杨, 等. 超声波辅助酶法提取油茶籽油的影响因素研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(6): 272 - 276.

[6] 高娟, 楼乔明, 杨文鸽, 等. 超声辅助提取鱿鱼肝脏油脂及其脂肪酸组成分析[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(2):53 - 56,61.

[7] 刘文倩, 王燕, 邓放明, 等. 超声辅助酶法提取虾黄油脂及其脂肪酸组成分析[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 102 - 107.

[8] 胡滨, 陈一资, 苏赵. 超声波和微波辅助水酶法提取葡萄籽油的工艺研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(12): 12 - 17.

[9] 夏瑶瑶, 张志军, 贺东亮, 等. 紫苏籽油水酶法提取中的酶配比研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(1):19 - 21.

[10] 徐彤砚, 张茹, 杨欣星, 等. 水酶法提取北太平洋鱿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.

[11] 张海龙,申明杰, 张维, 等. 南瓜籽油亚临界流体萃取工艺及成分研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(11):17 - 20.

[12] 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 - 14.

[13] 曾秋梅. 山茶属三组植物油脂组成分析及其图像标记开发[D]. 福建 厦门:华侨大学, 2016.

[14] 唐纯翼, 向建军, 廖博儒. 檀梨种仁油脂提取及其脂肪酸组成的气相色谱分析[J]. 中国林副特产, 2015(2):10 - 12.

[15] 冯梦雪. 超高效液相色谱串联多级质谱法分离及鉴定油茶籽中的化学成分[D]. 北京:北京化工大学, 2015.