

基于提高 α -亚麻酸得率的高速剪切辅助水酶法提取紫苏籽油的工艺优化

芮文君, 孙世琨, 傅 雷, 孙 琰, 刘 煜

(甘肃省食品检验研究院, 兰州 730030)

摘要:旨在为紫苏籽油的生产提供技术指导,采用高速剪切辅助水酶法提取紫苏籽油。以 α -亚麻酸得率为响应值,以固液比、剪切速率、剪切时间、酶处理温度、酶处理时间为自变量,利用单因素试验结合响应面法优化紫苏籽油提取工艺。结果表明,高速剪切辅助水酶法提取紫苏籽油的最佳工艺条件为固液比 1:4、剪切速率 12 100 r/min、剪切时间 4.2 min、酶处理温度 40 °C、酶处理时间 3 h,在最佳工艺条件下 α -亚麻酸得率为 38.2%。综上,采用高速剪切辅助水酶法可有效提取紫苏籽油,且 α -亚麻酸得率较高。

关键词:紫苏籽油; α -亚麻酸; 高速剪切; 水酶法; 响应面法

中图分类号:TS224.4;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)05-0011-05

Optimization of extraction process for high α -linolenic acid perilla seed oil using high speed shear assisted aqueous enzymatic method

RUI Wenjun, SUN Shikun, FU Lei, SUN Yan, LIU Yu

(Gansu Food Inspection Research Institute, Lanzhou 730030, China)

Abstract: In order to provide technical guidance for the production of perilla seed oil, high speed shear assisted aqueous enzymatic method was used to extract perilla seed oil. With α -linolenic acid yield as response value, solid-liquid ratio, shear rate, shear time, enzyme treatment temperature and enzyme treatment time as independent variables, the extraction process of perilla seed oil was optimized by single factor experiment and response surface experiment. The results showed that the optimum conditions for extracting perilla seed oil by high speed shear assisted aqueous enzymatic method were as follows: solid-liquid ratio 1:4, shear rate 12 100 r/min, shear time 4.2 min, enzyme treatment temperature 40 °C, and enzyme treatment time 3 h. Under the optimum conditions, the yield of α -linolenic acid was 38.2%. In conclusion, the high speed shear assisted aqueous enzymatic method can effectively extract perilla seed oil, and the yield of α -linolenic acid is higher.

Key words: perilla seed oil; α -linolenic acid; high speed shearing; aqueous enzymatic method; response surface experiment

紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.]为唇形科紫苏属草本植物,原产于亚洲地区^[1-2],在我国已有

2 000 多年的栽培历史,具有生长快速、培育简单,适应性强等特点^[3]。紫苏是我国原卫生部颁布的首批药食同源植物之一^[4],具有丰富的药用和食用价值。紫苏叶富含挥发油、黄酮、花青素、多酚等多种营养成分^[5-6],被广泛应用于传统草药医学,具有抗氧化、抗过敏、抗肿瘤、抗菌等药理作用^[7-8],另外其具有独特的香气和味道,常被作为香料用于食品调味^[9-10]。紫苏籽油中富含多种不饱和脂肪酸,其

收稿日期:2024-01-17;修回日期:2024-12-02

基金项目:甘肃省市场监督管理局科技计划项目(SSCJG-SP-202110)

作者简介:芮文君(1986),女,工程师,硕士,研究方向为食品检验检测(E-mail)740709234@qq.com。

通信作者:刘 煜,高级工程师(E-mail)513803037@qq.com。

中 α -亚麻酸含量高达50%~67%,是世界上 α -亚麻酸含量最高的植物资源^[10-11]。 α -亚麻酸属于 Ω -3脂肪酸,是人体必需脂肪酸,具有抗炎和抗氧化活性,在维护心血管健康、调节免疫系统、支持神经系统功能等方面发挥重要作用^[12-13]。

紫苏籽油的提取方法和工艺选择取决于产品的用途、市场需求以及生产规模,其传统提取方法包括压榨法和溶剂提取法等,而现代提取方法则包括微波辅助提取、超临界萃取和水酶法等^[14],其中水酶法通过酶解作用分解紫苏籽的细胞壁或油脂复合物,使油脂更易于释放。相较于传统的压榨法,水酶法能有效提高油脂的提取效率,相较于传统的溶剂提取法,水酶法可避免溶剂残留。

为提高 α -亚麻酸的提取效率,为紫苏籽油的生产提供指导,本研究以紫苏籽油中 α -亚麻酸得率为考察指标,采用高速剪切辅助水酶法提取紫苏籽油,利用单因素试验结合响应面试验对紫苏籽油的提取工艺进行了优化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

紫苏籽,购于甘肃省庆阳市正宁县宫河镇; α -亚麻酸标准品,东莞市乔科化学有限公司;碱性蛋白酶(100 000 U/g),湖北福润德食品原料有限责任公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

XPR 204 万分之一天平,梅特勒-托利多公司;IKA Multi Drive 型多功能破碎机、T25 型高速剪切机,德国 IKA 公司;R-300 型旋转蒸发器,瑞士 Buchi 公司;HH-G6 型数显恒温水浴锅,常州普天仪器制造有限公司;ST16R 型离心机,Thermo Fisher 公司;DP300 型真空干燥箱,日本 Yamato 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 紫苏籽油制备

紫苏籽经清洗、晾干、粉碎,得到紫苏籽粉。称取 10.0 g 紫苏籽粉,按一定固液比加水,使用高速剪切机在一定速率下剪切一定时间,调节体系 pH 至 9.5,添加 1.5% (以紫苏籽粉质量计) 的碱性蛋白酶,在一定水浴温度下酶解一定时间,再经-18℃冷冻 24 h 后解冻至室温破乳,在 4 000 r/min 下离心 20 min 后得到紫苏籽油。

1.2.2 α -亚麻酸含量测定

根据 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》测定紫苏籽油的 α -亚麻酸含量。

样品处理:称取 60.0 mg 样品至 10 mL 离心管

中,加入 4 mL 异辛烷充分溶解,振摇 30 s 后静置至澄清,再加入 1.0 g NaHSO₄,振摇至充分混匀,静置分层后,取上清液用 0.45 μ m 有机滤膜过滤,待气相色谱分析。

气相色谱条件:Agilent HP-88 色谱柱(100 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.20 μ m),载气为 N₂,燃烧气为氢气和空气;检测器温度 280℃,进样口温度 270℃;升温程序为柱温 100℃,保持 10 min,以 10℃/min 升至 180℃,以 1℃/min 升至 200℃,保持 20 min,以 4℃/min 升至 230℃;运行时间 70.5 min;进样量 1 μ L。

标准曲线的绘制:对不同质量浓度梯度的 α -亚麻酸标准品溶液进行气相色谱分析,以 α -亚麻酸质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得到标准曲线方程为 $Y = 79\,723X - 8\,002.3$, $R^2 = 0.999\,6$ 。

样品测定:样品处理后进行气相色谱分析,将峰面积代入标准曲线方程,计算出样品中 α -亚麻酸含量。

1.2.3 α -亚麻酸得率的计算

α -亚麻酸得率(w)按式(1)计算。

$$w = \frac{m \times c}{m_0 \times (1 - a)} \times 100\% \quad (1)$$

式中:m 为紫苏籽油质量; m_0 为紫苏籽粉质量;a 为紫苏籽粉的水分含量;c 为紫苏籽油中 α -亚麻酸含量。

1.2.4 数据处理

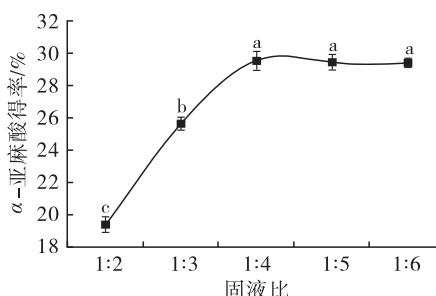
采用 Origin 9.0 软件绘图,使用 Design-Expert 10.0.7 软件拟合响应面试验模型。

2 结果与分析

2.1 紫苏籽油提取的单因素试验

2.1.1 固液比对 α -亚麻酸得率的影响

在剪切速率 8 000 r/min、剪切时间 1 min、酶处理温度 30℃、酶处理时间 1 h 条件下,考察固液比对 α -亚麻酸得率的影响,结果见图 1。



注:不同小写字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图1 固液比对 α -亚麻酸得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on the yield of α -linolenic acid

由图 1 可知:随着固液比的降低, α -亚麻酸得率逐渐增加,在固液比 1:4 时 α -亚麻酸得率达到最大,为 29.5%;继续降低固液比, α -亚麻酸得率变化不大。其原因可能是当固液比较高时,由于反应体系浓度较大,降低了流动性,使得酶与底物接触概率变小,降低了 α -亚麻酸得率;当固液比达到一定值后,体系流动性变好,酶与底物充分接触,紫苏籽油充分溶出, α -亚麻酸得率达到最大。因此,选择最佳固液比为 1:4。

2.1.2 剪切速率对 α -亚麻酸得率的影响

在固液比 1:4、剪切时间 1 min、酶处理温度 30℃、酶处理时间 1 h 条件下,考察剪切速率对 α -亚麻酸得率的影响,结果见图 2。

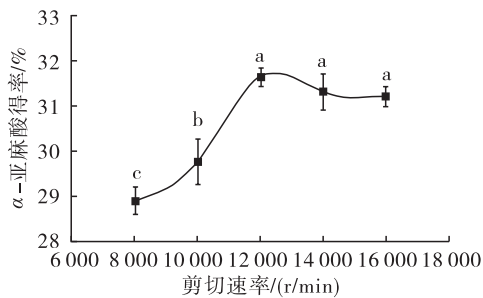


图 2 剪切速率对 α -亚麻酸得率的影响
Fig. 2 Effect of shear rate on the yield of α -linolenic acid

由图 2 可知:剪切速率在 8 000 ~ 12 000 r/min 范围内, α -亚麻酸得率与剪切速率呈正相关,当剪切速率为 12 000 r/min 时 α -亚麻酸得率达到最大;当剪切速率高于 12 000 r/min 后, α -亚麻酸得率趋于稳定。其原因可能是剪切速率为 12 000 r/min 时,紫苏籽得到充分破碎,紫苏籽油完全溶出,出油率不再随剪切速率增加而显著变化,从而导致 α -亚麻酸得率稳定。因此,选择最佳剪切速率为 12 000 r/min。

2.1.3 剪切时间对 α -亚麻酸得率的影响

在固液比 1:4、剪切速率 12 000 r/min、酶处理温度 30℃、酶处理时间 1 h 条件下,考察剪切时间对 α -亚麻酸得率的影响,结果见图 3。

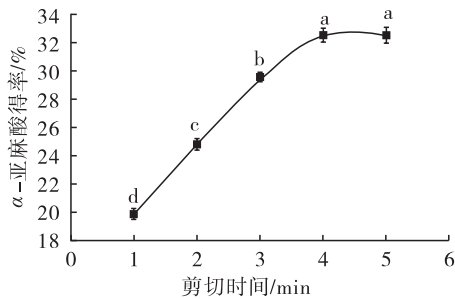


图 3 剪切时间对 α -亚麻酸得率的影响
Fig. 3 Effect of shear time on the yield of α -linolenic acid

由图 3 可知:当剪切时间为 1 ~ 4 min 时, α -亚麻酸得率随剪切时间的延长而显著增高,在剪切时

间 4 min 时 α -亚麻酸得率达到最大,为 32.5%,继续延长剪切时间, α -亚麻酸得率变化不大。其主要原因可能是随着剪切时间的延长,紫苏籽被逐渐破碎,油脂溶出增加导致 α -亚麻酸得率增加;当剪切时间达到 4 min 时,紫苏籽基本被完全破碎,油脂完全溶出, α -亚麻酸得率达到最大。因此,选择最佳剪切时间为 4 min。

2.1.4 酶处理温度对 α -亚麻酸得率的影响

在固液比 1:4、剪切速率 12 000 r/min、剪切时间 4 min、酶处理时间 1 h 条件下,考察酶处理温度对 α -亚麻酸得率的影响,结果见图 4。

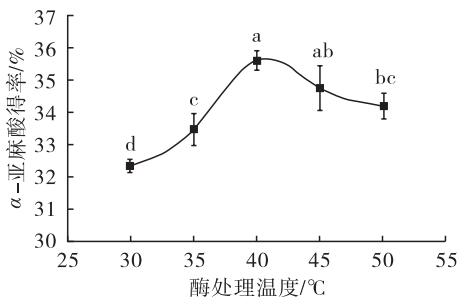


图 4 酶处理温度对 α -亚麻酸得率的影响
Fig. 4 Effect of enzyme treatment temperature on the yield of α -linolenic acid

由图 4 可知:在 30 ~ 40℃ 范围内,酶处理温度与 α -亚麻酸得率呈正相关,在酶处理温度 40℃ 时 α -亚麻酸得率达到最大,为 35.6%;继续升高酶处理温度, α -亚麻酸得率下降。其主要原因可能是碱性蛋白酶最适温度在 40℃ 左右,较低的温度抑制了酶的活性,导致 α -亚麻酸得率较低;但酶处理温度超过最适温度后,碱性蛋白酶会出现变性、失活的现象,从而影响了 α -亚麻酸得率。因此,选择最佳酶处理温度为 40℃。

2.1.5 酶处理时间对 α -亚麻酸得率的影响

在固液比 1:4、剪切速率 12 000 r/min、剪切时间 4 min、酶处理温度 40℃ 条件下,考察酶处理时间对 α -亚麻酸得率的影响,结果见图 5。

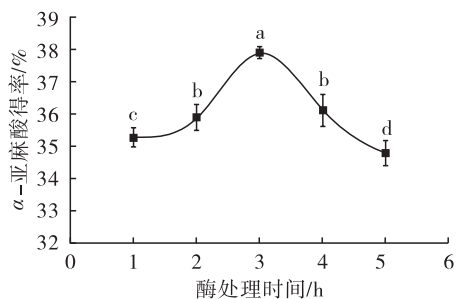


图 5 酶处理时间对 α -亚麻酸得率的影响
Fig. 5 Effect of enzyme treatment time on the yield of α -linolenic acid

由图 5 可知:在 1~3 h 范围内,酶处理时间与 α -亚麻酸得率呈正相关,在酶处理时间 3 h 时 α -亚麻酸得率最高,为 37.9%;但当酶处理时间超过 3 h 后, α -亚麻酸得率有所下降。其主要原因可能为随着酶与底物作用时间的延长,紫苏籽被逐渐破碎, α -亚麻酸得率也逐渐提高;随着酶处理时间继续延长,溶出的紫苏籽油增多进而包裹底物,底物反应不完全,从而降低了 α -亚麻酸得率。因此,选择最佳酶处理时间为 3 h。

2.2 紫苏籽油提取的响应面试验

2.2.1 响应面试验设计结果及分析

在单因素试验的基础上,固定酶处理温度为 40℃,酶处理时间为 3 h,以固液比(A)、剪切速率(B)、剪切时间(C)3 个因素为自变量,以 α -亚麻酸得率(Y)为响应值,运用 Design-Expert 10.0.7 软件中 Box-Behnken 试验设计三因素三水平响应面试验,每组试验重复 3 次。Box-Behnken 试验因素与水平见表 1,Box-Behnken 试验设计及结果见表 2。

表 1 Box-Behnken 试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of the Box-Behnken experiment

水平	A 固液比	B 剪切速率/(r/min)	C 剪切时间/min
-1	1:3.5	11 000	3.5
0	1:4.0	12 000	4.0
1	1:4.5	13 000	4.5

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2 Box-Behnken experimental design and results

试验号	A	B	C	$Y/\%$
1	1	0	-1	28.6
2	-1	0	1	30.7
3	0	0	0	37.7
4	1	-1	0	29.5
5	-1	1	0	29.7
6	0	0	0	37.6
7	-1	-1	0	28.7
8	0	1	-1	29.3
9	0	1	1	31.9
10	0	0	0	37.4
11	-1	0	-1	27.5
12	0	-1	-1	28.2
13	1	0	1	30.4
14	0	-1	1	30.5
15	0	0	0	37.4
16	1	1	0	30.8
17	0	0	0	37.4

运用 Design-Expert 10.0.7 软件中的 Box-Behnken 试验设计,对表 2 中的数据进行回归分析,得 α -亚麻酸得率(Y)与固液比(A)、剪切速率(B)、剪切时间(C)这 3 个因素的二次多项回归方程: $Y=37.62+0.34A+0.60B+1.24C+0.08AB-0.35AC+0.08BC-4.31A^2-3.64B^2-4.01C^2$ 。为验证紫苏籽油制备工艺回归模型方程的可靠性,对其进行方差分析,结果见表 3。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	238.32	9	26.48	884.78	<0.000 1	**
A	0.96	1	0.96	31.97	0.000 8	**
B	0.18	1	0.18	6.01	0.044 0	*
C	75.00	1	75.00	409.35	<0.000 1	**
AB	0.02	1	0.02	0.75	0.414 6	
AC	0.49	1	0.49	16.37	0.004 9	**
BC	0.02	1	0.02	0.75	0.414 6	
A^2	77.13	1	77.13	2 577.14	<0.000 1	**
B^2	54.72	1	54.72	1 828.36	<0.000 1	**
C^2	66.70	1	66.70	2 228.52	<0.000 1	**
残差	0.21	7	0.03			
失拟项	0.16	3	0.05	4.04	0.105 5	
误差	0.05	4	0.01			
总和	238.53	16				

注:*表示影响显著($p<0.05$);**表示影响极显著($p<0.01$)

Note:* $p<0.05$; ** $p<0.01$

由表 3 可知:模型的 p 值小于 0.000 1,极显著;失拟项不显著($p=0.105 5$),说明模型拟合程度较好;信噪比为 76.76,大于 4,说明该模型可靠性较高,抗干扰能力较强;变异系数为 0.54%,表明模型精密度和准确度均较高;模型决定系数(R^2)为 0.999 1,调整决定系数(R^2_{Adj})为 0.998 0,表明该响应面试验模型的拟合度良好,误差较小。一次项 A 、 C ,交互项 AC ,以及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对 α -亚麻酸得率影响极显著($p<0.01$),一次项 B 对 α -亚麻酸得率影响显著($p<0.05$),其余项影响均不显著($p>0.05$)。各因素对 α -亚麻酸得率的影响大小依次为 C (剪切时间) $>A$ (固液比) $>B$ (剪切速率)。

2.2.2 验证试验

通过 Design-Expert 10.0.7 软件对模型进行最优值分析,得到紫苏籽油提取的最佳工艺条件为固液比 1:4.07、剪切速率 12 085 r/min、剪切时间 4.18 min,在此条件下 α -亚麻酸得率预测值为 38.6%。考虑到实际操作情况,将紫苏籽油提取工艺条件调

整为固液比 1:4、剪切速率 12 100 r/min、剪切时间 4.2 min,在此工艺条件下进行 3 次验证试验,得到 α -亚麻酸得率平均值为 38.2%,与模型预测值偏差很小。由此可知,通过响应面试验模型优化紫苏籽油提取工艺结果准确可靠,对实际试验、生产有很强的预测指导作用。

3 结 论

本研究以 α -亚麻酸得率为考察指标,通过单因素试验结合响应面试验优化得到了高速剪切辅助水酶法提取紫苏籽油的最佳工艺条件为固液比 1:4、剪切速率 12 100 r/min、剪切时间 4.2 min、酶处理温度 40℃、酶处理时间 3 h。在最佳条件下, α -亚麻酸得率为 38.2%。本研究可为紫苏深加工、紫苏籽油生产企业生产提供技术指导,具有一定的实际应用价值。

参考文献:

[1] 王菲. 不同产区紫苏种芽营养物质含量及其油脂的性质研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2020.

[2] 沈奇,商志伟,杨森,等. 紫苏属植物的研究进展及发展潜力[J]. 贵州农业科学,2017,45(9):93-102.

[3] 胡彦. 中国紫苏属植物种源评价及紫苏多倍体育种的初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2010.

[4] 温春秀,刘灵娣,胡彦,等. 紫苏属植物药用成分含量比较[J]. 河北农业科学,2012,16(9):64-67.

[5] 王馨平,聂黎行,康帅,等. 紫苏叶的化学成分、药理活性和质量控制研究进展[J]. 中国药事,2023,37(10):1193-1212.

[6] 任志清. 紫苏茎叶多酚类物质提取及生物活性研究[D]. 太原:中北大学,2021.

[7] 郑喻丰,王梦媛,柳越,等. 紫苏叶中生物活性成分药理作用研究进展[J]. 农产品加工,2023(22):76-79,85.

[8] 张良琦,李文姣,肖美凤. 紫苏不同部位活性成分比较及其药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2023,48(24):6551-6571.

[9] 周潇,李康银,李佳,等. 紫苏提取物的挥发性成分及抑菌活性研究[J]. 安徽农学通报,2023,29(9):38-44.

[10] 古建兰,任久强,韦雪娇,等. 紫苏不同器官活性成分分布及功能性分析研究进展[J]. 北方农业学报,2021,49(5):118-126.

[11] 余顺波,陈长艳,张品,等. 11 种食用植物油的脂肪酸组成及主要营养成分含量[J]. 贵州农业科学,2022,50(7):113-120.

[12] 胡彦,丁友芳,温春秀,等. 紫苏属植物种子含油率及其脂肪酸组成[J]. 食品科学,2010,31(14):165-169.

[13] 郭旭,田荣荣,张东. 紫苏油的提取工艺和药理功能研究进展[J]. 粮油食品科技,2021,29(5):120-130.

[14] 刘本同,温贺,秦玉川,等. 制油工艺对紫苏油品质的影响研究[J]. 中国粮油学报,2022,37(4):128-134.

(上接第 4 页)

3.3 2024 年全球及有关国家(地区)食用油人均消费情况

根据“世界实时统计数据”公布的截至 2024 年全球人口数量为 81.619 7 亿,和中华粮网提供的 2024 年全球食用油消费总量为 22 388 万 t 为依据,可以计算出 2024 年全球食用油人均年消费量为 27.4 kg,其中美国人均年消费量为 60.4 kg、俄罗斯人均年消费量为 27.3 kg、印度人均年消费量为 17.6 kg(见表 11)。总的来看,2024 年全球食用油人均年消费量以及包括中国、美国、印度、俄罗斯等在内的所有国家(地区)的食用油人均年消费量均有不同程度的增长。其中,中国的食用油人均年消费量增加了 0.2 kg,相对其他国家(地区)增加较少。

表 11 2024 年全球及有关国家(地区)食用油人均年消费量
Table 11 Per capita edible oil consumption of global and selected countries/regions in 2024

国别	人口数 (万人)	食用油消费 量/万 t	人均年消费 量/kg
全球	816 197	22 388	27.4
中国	140 828	4 129	29.3
印度	145 094	2 559	17.6
欧盟	45 100	2 410	53.4
美国	34 542	2 085	60.4
印度尼西亚	28 348	2 644	93.3
巴西	21 199	1 165	55.0
巴基斯坦	25 126	461	18.3
尼日利亚	23 267	288	12.4
孟加拉国	17 356	330	19.0
俄罗斯	14 482	395	27.3
墨西哥	13 086	311	23.8