

# 不同 HLB 值的表面活性剂对核桃仁酶解特性的影响

赵谋明<sup>1</sup>, 徐巨才<sup>1</sup>, 刘雷<sup>1</sup>, 赵容钟<sup>1</sup>, 丁刘刚<sup>2</sup>, 赵月<sup>1</sup>, 努尔麦麦提 乌布力<sup>1</sup>, 苏国万<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665)

**摘要:** 本文主要研究了表面活性剂不同 HLB 值对水酶法提取核桃油和制备抗氧化肽过程中油提取率、酶解清液析出率、乳化层形成率、酶解清液还原力和蛋白回收率的影响, 并通过测定酶解清液的肽分子量分布和乳化层的粒径分布及其组成进一步探讨了其作用机理。研究发现: 随着表面活性剂 HLB 值的逐渐增大, 油提取率逐渐降低, 乳化层形成率及酶解清液中 >5000 u 和 >3000 u 的肽段含量逐渐升高, 而酶解清液析出率和蛋白质回收率则呈现出先减小后增大最后又减小的趋势。与空白相比, 表面活性剂 HLB 值为 1.0 时, 核桃油提取率可提高 5% 左右; 表面活性剂 HLB 值为 13.5 时, 可显著解析界面蛋白和多肽, 增大乳化层中的脂肪球粒径, 显著提高酶解清液中的蛋白回收率, 且不会对核桃肽的抗氧化活性造成显著影响。

**关键词:** 核桃油; 抗氧化肽; 分子量; 粒径分布

文章编号: 1673-9078(2016)07-109-114

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.018

## Effects of the Hydrophile-Lipophile Balance Value of Surfactants on the Characteristics of Enzymatic Hydrolysis in Walnut Kernels

ZHAO Mou-ming<sup>1</sup>, XU Ju-cai<sup>1</sup>, LIU Lei<sup>1</sup>, ZHAO Rong-zhong<sup>1</sup>, DING Liu-gang<sup>2</sup>, ZHAO Yue<sup>1</sup>, Nurmamet OBU<sup>1</sup>, SU Guo-wan<sup>1</sup>

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Infinitus (China) Company Ltd., Guangzhou 510665, China)

**Abstract:** The effects of the hydrophile-lipophile balance (HLB) value of surfactants on the oil extraction rate, enzymatic hydrolysate supernatant yield, emulsified layer formation rate, protein recovery, and protein reducing power of walnut hydrolysates were examined in this research. And the molecular weight distribution of the peptides in the enzymatic hydrolysate, the droplet size distributions in the emulsified layer, and the composition of the emulsified layer were determined to further investigate the underlying mechanisms. The results showed that the oil extraction rate decreased gradually as the HLB value increased. The emulsified layer formation rate and the contents of proteins or peptides with molecular weights higher than 5000 or 3000 Da increased gradually as the HLB value increased. In addition, the yields of enzymatic hydrolysate supernatants and proteins initially tended to decrease, then increased, and finally decreased. Compared with the blank control, the oil extraction rate was increased by five percent at an HLB value of one. When the HLB value was 13.5, the contents of surface proteins and peptides in the emulsified layer decreased significantly, the particle sizes of the fat globules in the emulsified layer increased, and protein recovery in the enzymatic hydrolysate supernatant improved significantly. However, the antioxidant activity of the walnut hydrolysate was not significantly altered.

**Key words:** walnut oil; antioxidative peptides; molecular weight; particle size distribution

核桃 (*Juglans regia* L), 胡桃科植物, 别名胡桃, 全球四大干果之一, 年产量仅次于杏仁, 居世界第二

收稿日期: 2015-05-25

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划) (2013AA102201); 广东省战略性新兴产业核心技术攻关 (2012A080800014; 2012A020800002); 广州市科技计划项目 (2012Y2-00012)

作者简介: 赵谋明 (1964-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事食品生物技术方面的研究

通讯作者: 苏国万 (1981-), 男, 讲师, 主要从事食品生物技术、食品风味化学方面的研究

位, 与此同时, 我国核桃的年产量仅次于美国, 为世界第二大核桃生产国。核桃仁中富含蛋白质、油脂、维生素和矿物质等各类营养物质, 其油脂含量高达 60% 以上, 居木本油料之首, 且核桃油中含有大量的油酸、亚油酸、亚麻酸等不饱和脂肪酸。此外, 核桃仁中的蛋白质含量接近 20%, 氨基酸组成种数高达 18 种, 其中包括 8 种人体必需氨基酸, 尤其谷氨酸和精氨酸的含量很高, 因此, 核桃的营养价值和经济价值极高, 在国内外更是享有“益智果”、“长寿果”和“树上油库”的美誉<sup>[1]</sup>。然而由于我国食品加工技术较为落

后,目前国内核桃主要被用于生食及榨油。鉴于成本考虑,我国目前大量采用高温压榨法取油,该法不仅导致核桃油氧化严重,降低了核桃油的品质,而且产生大量的副产物-核桃粕,且压榨过程中核桃蛋白严重变性,再利用难度加大,现今核桃粕主要被当作饲料出售,蛋白资源被严重浪费<sup>[2]</sup>。

水酶法是近年来新兴的一种提油工艺,它主要通过酶解手段破坏植物细胞壁及细胞内的蛋白质,充分释放油脂,再以水为溶剂,使得亲水性的物质进入水相,最后采用物理手段进行油水分离<sup>[3]</sup>。与传统工艺相比,水酶法所得油脂品质极高,色泽较浅,简单精炼后即可作为高级食用油,且脱脂后的饼粕蛋白质变性程度低,可利用性好<sup>[4]</sup>。Latif 等人<sup>[5]</sup>采用水酶法同时制备芝麻油及蛋白质,发现 Alcalase 2.4L 蛋白酶的应用效果极好并证实了这一方案的可行性。然而由于核桃蛋白乳化性较好,在水酶法提油过程中容易与油脂形成大量的乳状液(W/O),严重影响游离油脂和蛋白质的分离制备,为此本文在前人的基础上创新性地采用水酶法同时制备核桃油及核桃肽,并通过添加表面活性剂对酶解体系中的乳状液进行辅助破乳,以提高游离油及抗氧化肽的得率,为水酶法提取核桃油和制备抗氧化肽的进一步研究和实际生产提供一定的理论依据及技术指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

核桃仁,市售;胰酶,杭州三叶生物化工厂;蔗糖酯 S170 (HLB 值为 1)、蔗糖酯 S1670 (HLB 值为 16),日本三菱化学株式会社;三氯乙酸(Trichloroacetic Acid, TCA)、氢氧化钠、盐酸、浓硫酸、硫酸钾、硒粉等化学试剂均为分析纯;去离子水,实验室自制。

KND-103F 型蛋白质测定仪、SZC-C 脂肪测定仪,上海纤检仪器有限公司;SHA-C 水浴恒温振荡器,江苏省金坛市农仪器厂;DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱,上海申贤恒温设备厂;RW20 Digital 数显型顶置式搅拌器,德国 IKA 集团;AL204 电子分析天平,瑞士 METTLER TOLEDO 公司;GL-21M 高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;雷磁 PHC-3E 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;Mastersizer 2000 粒度分布仪,英国 Malvern Instruments Ltd;Olympus-CX41 显微镜,日本 Olympus 光学工业株式会社;高效液相色谱,美国 Waters 科技有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 工艺流程

取核桃仁按照 1:3 的比例加水打浆混匀,调 pH 至 7.0,加入胰酶(添加量 1%, g/g 蛋白),在 55 °C 条件下恒温搅拌酶解 18 h,取出灭酶并冷却,加入 0.6% (g/g 乳状液) 的表面活性剂,55 °C 下恒温搅拌 30 min,冷却后在 25 °C 下以 8000 r/min 离心 20 min,乳状液分为 4 层:游离油、乳化层(半固态)、酶解清液、渣(沉淀物)。

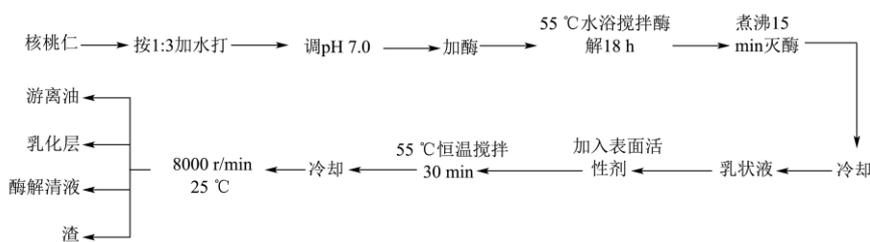


图 1 水酶法提取核桃油和制备抗氧化肽的基本工艺

Fig.1 Basic process of aqueous enzymatic extraction of walnut oil and antioxidative peptides

#### 1.2.2 混合表面活性剂 HLB 值的计算

一般认为非离子型表面活性剂的 HLB 值具有加和性,因此当两种或两种以上的非离子型表面活性剂混合使用时可根据其组成的质量分数计算混合表面活性剂的 HLB 值<sup>[6]</sup>。本文通过改变非离子型表面活性剂蔗糖酯 S170 和蔗糖酯 S1670 之间的配比,使得复配体系的 HLB 值分别为 1.0、3.5、6.0、8.5、11.0、13.5、16.0,并做空白对照。

#### 1.2.3 油提取率、酶解清液析出率、乳化层形成率的计算

乳状液经高速离心后分为 4 层,分别取游离油、乳化层(半固态)、酶解清液称重,并采用索氏抽提法(参照 GB/T5009.6-2003)测定打浆核桃仁中的油脂含量,计算油提取率、酶解清液析出率、乳化层形成率如下:

$$\text{油提取率} = \frac{\text{游离油质量}}{\text{浆料总质量} \times \text{浆料中油脂含量}} \times 100\%$$

$$\text{酶解清液析出率} = \frac{\text{酶解清液质量}}{\text{浆料总质量}} \times 100\%$$

$$\text{乳化层形成率} = \frac{\text{乳化层质量}}{\text{浆料总质量}} \times 100\%$$

### 1.2.4 酶解清液还原力的测定

将酶解清液统一稀释至蛋白浓度为 0.4 mg/mL, 并配制 0.2 mol/L (pH=6.6) 的磷酸缓冲盐溶液, 取 2 mL 样品稀释液加入 2 mL 磷酸缓冲溶液, 再加入 2 mL 1% (m/V) 的铁氰化钾溶液, 50 °C 保温反应 20 min, 然后加入 2 mL 10% (m/V) 的 TCA, 在 8000 r/min 的条件下离心 10 min, 取离心后的上清液 2 mL 加入 2 mL 水, 混匀后加入 0.4 mL 0.1% (m/V) 的氯化铁进行显色反应, 10 min 后测定反应液在 700 nm 下的吸光值, 吸光值越大, 说明氧化还原反应进行的程度越大, 进一步说明样品的抗氧化活性越强, 注意每加一种液体均需使用涡旋仪混匀, 实验中使用去离子水代替样液作为空白。

### 1.2.5 蛋白回收率的测定

使用凯氏定氮法 (参照 GB 5009.5-2010) 分别测定酶解清液及原料中的蛋白质含量, 计算蛋白回收率如下:

$$\text{蛋白回收率} = \frac{\text{酶解液质量} \times \text{酶解液蛋白含量}}{\text{原料质量} \times \text{原料中蛋白含量}} \times 100\%$$

### 1.2.6 乳化层粒径分布情况的测定

取乳化层样品按照 1:3 的比例加入相应酶解清液混匀, 再在 4000 r/min 条件下离心 10 min, 弃去沉淀层, 将中层酶解清液和上层乳化层重新混匀, 此过程重复 3 次以洗去乳化层中悬浮的沉淀物, 取最后一次离心的上层乳化层, 按 1:1000 用去离子水稀释测定粒径分布情况。参数设定如下: 分析模式: 通用; 进样器名: Hydro 2000MU (A); 颗粒折射率: 1.530; 颗粒吸收率: 0.001; 分散剂名称: 水; 分散剂折射率: 1.330。

### 1.2.7 酶解清液肽分子量分布情况的测定

将酶解清液稀释至蛋白浓度为 1 mg/mL, 使用 Waters 600 高效液相色谱测定酶解清液中肽分子量分布情况, 凝胶柱型号为: TSk gel G2000 SWXL (502R) 分析柱, 洗脱液为磷酸缓冲液 (0.04 mol/L), 流速设定 1 mL/min, 检测波长 214 nm。标准肽样品分别为: Glutathione (307 Da), Vitamin B12 (1855 Da), Aprotinin (6512 Da), Cytochrome C (12384 Da), Oralbumin (43000 Da), Conalbumin (75000 Da), 相对分子质量的对数值与洗脱液体积拟合直线方程为  $y = -0.1547x + 5.6431$  ( $R^2 = 0.9957$ ), 其中  $y$  为标准肽分子量的对数,  $x$  为洗脱体积。

### 1.2.8 乳化层水分和油脂含量的测定

取乳化层分别使用直接烘干法和索氏抽提法 (参

照 GB5009.3-2010 及 GB/T5009.6-2003) 测定乳化层的水分含量以及油脂含量, 并分别计算乳化层中的水分含量占浆料水分总量和油脂含量占浆料油脂总量的百分率如下:

$$\text{乳化层持水率} = \frac{\text{乳化层总重} \times \text{水分含量}}{\text{浆料总质量} \times \text{浆料的水分含量}} \times 100\%$$

$$\text{乳化层持油率} = \frac{\text{乳化层总质量} \times \text{乳化层油脂含量}}{\text{浆料总质量} \times \text{浆料中油脂含量}} \times 100\%$$

### 1.2.9 数据分析

每个数据均为三次测定的平均值, 实验数据处理和分析采用 Excel 2013、SPSS 19.0 及 origin 9.0, 结果采用均值±标准偏差形式, 不同样品间的差异采用单因素方差分析进行比较, 以  $p < 0.05$  为有显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 表面活性剂 HLB 值对油提取率、酶解清液析出率和乳化层形成率的影响

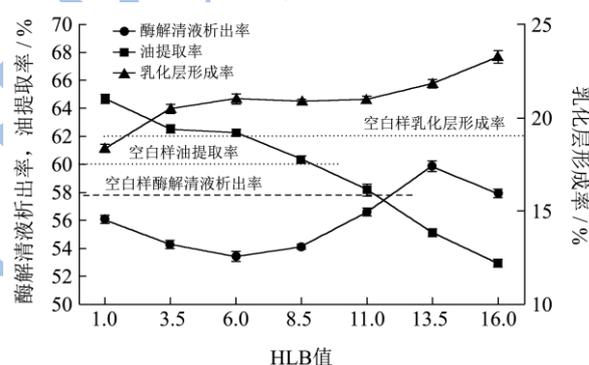


图2 表面活性剂 HLB 值对油提取率、酶解清液析出率和乳化层形成率的影响

Fig.2 Effects of the HLB value of surfactants on the oil extraction rate, enzymatic hydrolysate supernatant yield, and emulsified layer formation rate

表面活性剂 HLB 值对油提取率、酶解清液析出率和乳化层形成率的影响如图 2 所示。由图可知, 随着 HLB 值的逐渐增大, 油提取率逐渐降低, 乳化层形成率逐渐升高; 而酶解清液析出率则呈现出先降低后升高, 最后在 HLB 值超过 13.5 后又降低的趋势, 这可能与表面活性剂在乳液中的不同作用有关。随着表面活性剂 HLB 值的增大, 其亲水性逐渐增强, 乳化现象加剧, 乳化层形成率逐渐升高, 而由于乳化层形成过程中需要一定量的分散相, 因而油提取率随着乳化层形成率的升高而逐渐降低; 酶解清液析出率所呈现的变化趋势较为复杂, 具体原因将在下文展开讨论。此外, 从图中还可看出, 当 HLB 值为 1.0 时, 其

油提取率比空白样高出 5% 左右, 且乳化层形成率也明显低于空白样品, 这可能是因为表面活性 HLB 值极低, 强烈倾向于稳定 W/O 型乳状液, 在搅拌和离心过程中造成局部转相的瞬间, 油水由于受到重力或离心力的差异而得以迅速分离, 因而其油提取率得以显著提高, 这一过程与油包水型的原油乳状液破乳过程类似<sup>[7]</sup>。这说明表面活性剂的 HLB 值对核桃酶解体系中的破乳效果有显著影响, HLB 值极低的表面活性剂可显著提高油提取率。

## 2.2 表面活性剂 HLB 值对蛋白回收率和还原力的影响

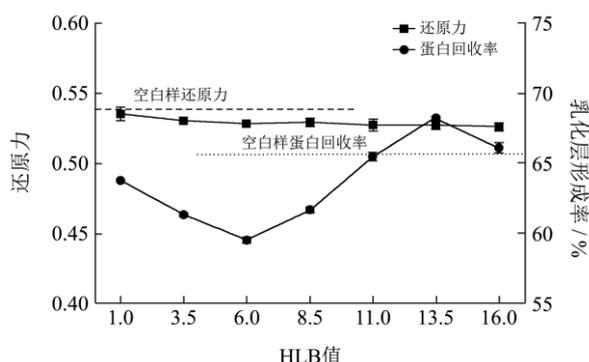


图3 表面活性剂 HLB 值对蛋白回收率和还原力的影响

Fig.3 Effects of the HLB value of surfactants on protein recovery and reducing power

取酶解清液测定其蛋白回收率及还原力, 结果如图 3 所示。由图可知, 表面活性剂对蛋白回收率有着显著影响, 随着 HLB 值的逐渐增大, 蛋白回收率呈现出先降低后升高最后再降低的趋势, 分别在 HLB 值为 6.0 和 13.5 时达到最小值 59.5% 和最大值 68.2%, 这一趋势与图 2 中酶解清液回收率的变化趋势基本一致, 这主要是乳化层中的蛋白溶液释放所致。当 HLB 值为 13.5 时, 蛋白回收率较空白样增加 10% 左右, 这对工业化生产意义重大, 可显著提高其产品附加值。此外, 表面活性剂 HLB 值的增加对酶解清液(核桃肽)的还原力影响不显著, 这说明外加表面活性剂不会引起酶解清液抗氧化活性的显著变化。

## 2.3 表面活性剂 HLB 值对乳化层粒径分布情况的影响

乳化层粒径分布情况测定结果分别如图 4 所示。由图 4 可知, 乳化层脂肪球粒径的分布主要呈 4 峰分布, 其最频值分别出现在 10 μm~20 μm (峰 I)、40 μm~60 μm (峰 II)、100 μm~150 μm (峰 III) 以及 400 μm

~500 μm (峰 IV)。从图 4 中可知, HLB 值从 1.0 逐渐增大至 13.5, 峰 I 的体积分数先增大后减小, 粒径的最频值先右移后左移; 峰 II 的体积分数则先减小后增大, 最频值先左移后右移; 尽管 HLB 值为 11 时峰 III 的体积分数较其在 HLB 值为 13.5 时要大, 但峰 III 的体积分数整体仍呈现出先减小后增大的趋势。这可能是因为当 HLB 值从 1.0 增大至 6.0 时, 表面活性剂的亲水性逐渐增强, 反相作用逐渐减弱, 在表面活性剂和界面蛋白及多肽的多重稳定作用下, 脂肪球的界面稳定性大大增强, 使其在搅拌和离心过程中发生碰撞时破裂的几率减小。当 HLB 值在 6.0~13.5 之间, 随着 HLB 值的继续增大, 表面活性剂的亲水性继续增强, 其解析蛋白和多肽的能力逐渐增强, 原来吸附在油水界面的核桃蛋白和多肽逐渐被小分子表面活性剂所解析, 破坏了原来稳定的脂肪球界面, 增大了脂肪球在搅拌和离心过程中发生破裂和聚合的几率<sup>[8]</sup>, 因此, 在图 4 中表现为峰 I 所占体积分数逐渐减小, 而峰 II 所占体积分数逐渐增大, 与此同时峰 I 的粒径最频值逐渐左移, 而峰 II 的粒径最频值逐渐右移。而当 HLB 值为 16.0 时, 表面活性剂亲水性非常强, 乳化现象异常剧烈, 而脂肪球在搅拌和离心过程中容易发生破裂或聚合的几率也在增大, 最终使得峰 I、II、III 的体积分数均较 HLB 为 13.5 时略大, 而峰 IV 的体积分数则较 HLB 为 13.5 时小。此外, 从图 4 中还可看出, 与空白相比, 添加 HLB 为 1.0 的表面活性剂可使得峰 II 的体积分数增大, 峰 I 的体积分数减小, 这是因为表面活性剂 HLB 值非常低, 具有强烈的反相作用倾向, 在局部反向作用发生的瞬间, 小粒径脂肪球聚结在一起形成了大粒径脂肪球。

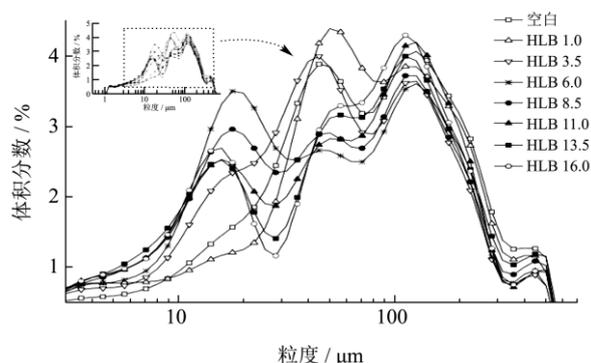


图4 表面活性剂 HLB 值对乳化层粒径分布情况的影响

Fig.4 Effects of the HLB value of surfactants on droplet size distributions in the emulsified layer

## 2.4 表面活性剂 HLB 值对酶解清液肽分子量分布情况的影响

取乳状液离心后的酶解清液进行肽分子量分布测定,结果如表 1 所示。随着 HLB 值的变化,不同肽段所占的含量也随之发生改变,但在表中没有呈现出明显的趋势。由于核桃蛋白的分子量主要集中在 3540 u~81760 u<sup>[9]</sup>,本实验分别计算>5000 u 和>3000 u 的肽段含量及总量,以表征其界面蛋白和大分子多肽的变化情况(见图 5)。

从图 5 中可看出,随着 HLB 的逐渐增加,>5000 u 和>3000 u 的肽段含量整体呈现出上升趋势,这可能是当 HLB 值从 1.0 逐渐增加到 6.0 时,表面活性剂的亲水性明显增强(强亲水性蔗糖酯 S1670 比例增大),脂肪球表面所吸附的两亲性蛋白或多肽更容易被解析,而未被解析的蛋白质和多肽与吸附的表面活性剂共同作用于脂肪球,使其稳定性大大增强,乳化层中的脂肪球粒径逐渐减小;而当 HLB 值从 6.0 增加至 13.5 时,蔗糖酯 S1670 所占比例进一步增大,大量的界面蛋白或多肽被解析(使得酶解清液中>5000 u 和>3000 u 的肽段含量迅速升高),吸附上的小分子表面活性剂难以较好的阻止脂肪球在搅拌和离心过程中

发生破裂,因此乳化层中脂肪球的粒径逐渐增大<sup>[10]</sup>;当 HLB 值为 16.0 时,由于表面活性剂的亲水性非常强,使得体系在搅拌和离心过程中乳化剧烈,脂肪球的总表面积急剧增大,减小了界面蛋白和多肽解析的几率,同时又会使得被解析的蛋白和多肽重新吸附到脂肪球界面,最终导致酶解清液中>5000 u 和>3000 u 的肽段含量较 HLB 值为 13.5 时略微下降,且其粒径也表现出略微减小的趋势,这与图 4 中的粒径变化情况相一致。此外,从图 5 中还可看出,与空白相比,当添加 HLB 值为 1.0 的表面活性剂时,酶解清液中>5000 u 和>3000 u 的肽段含量明显升高,这主要是因为该表面活性剂的加入会降低脂肪球比面积,从而大大降低了界面蛋白或多肽的吸附。图 5 中>5000 u 和>3000 u 的肽段总量的变化趋势与酶解清液析出率的变化趋势基本一致,其肽段总量主要由肽段含量以及酶解清液析出率决定,图中空白样品>5000 u 和>3000 u 的肽段总量最小,这进一步说明了添加表面活性剂对破乳效果具有显著改善作用。

表 1 表面活性剂 HLB 值对酶解清液肽分子量分布情况的影响

Table 1 Effects of the HLB value of surfactants on the molecular weight distributions of enzymatic hydrolysate supernatants

样品	空白	HLB 1.0	HLB 3.5	HLB 6.0	HLB 8.5	HLB 11.0	HLB 13.5	HLB 16.0
>10000/%	10.84	13.27	12.54	13.01	12.86	13.51	13.84	14.35
5000~10000/%	16.56	17.50	18.32	17.94	18.17	18.73	19.19	18.77
3000~5000/%	15.61	14.65	17.06	17.13	17.23	17.09	17.45	17.06
1000~3000/%	23.80	22.25	24.42	23.39	23.22	23.40	23.09	22.44
<1000/%	33.20	32.32	27.67	28.52	28.53	27.27	26.43	27.38

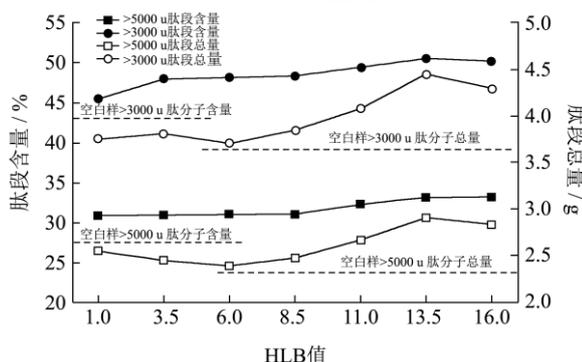


图 5 表面活性剂 HLB 值对酶解清液肽分子量分布情况的影响

Fig.5 Effects of the HLB value of surfactants on molecular weight distributions of enzymatic hydrolysate supernatants

## 2.5 表面活性剂 HLB 值对乳化层组成的影响

通过测定乳化层的水分含量和油脂含量,计算乳化层中的持水率和持油率以表征其对提油率及酶解清液析出率所造成的损失,结果如图 6 所示。由图可知,

随着 HLB 值的逐渐增大,乳化层油脂含量先降低后升高,持油率不断升高,而乳化层中的水分含量及持水率则呈现出先升高后降低最后又升高的趋势。分析原因这主要与乳化层中脂肪球的粒径变化有关:由于乳状液在离心过程中,不同粒径脂肪球的上浮速度存在差异,造成脂肪球之间发生碰撞和挤压,而未破裂的脂肪球被严重挤压并发生变形,使得彼此之间紧密贴合,因此乳化层中的水分含量主要取决于脂肪球比表面积的大小。

结合图 4 可知,随着 HLB 值从 1.0 逐渐增大至 6.0,乳化层中脂肪球的粒径逐渐减小,脂肪球比面积逐渐增大,因而水分含量逐渐升高,而随着 HLB 值逐渐从 6.0 增大至 13.5,乳化层中脂肪球的粒径逐渐增大,脂肪球比表面积逐渐减小,因而水分含量逐渐降低。当 HLB 值为 16.0 时,由于其粒径突然减小,使得脂肪球比表面积增大,因而造成其水分含量较 HLB 值为 13.5 时略大。由于乳化层中未被降解的纤

纤维素等多糖类物质含量极低,因此油脂含量的变化趋势与水分含量基本相反。乳化层持油率主要受乳化层形成率及油脂含量的影响,在二者的综合影响下,持油率随着 HLB 值的增大而逐渐升高,本结果与图 1 中油提取率的变化趋势基本一致。而乳化层持水率主要与乳化层水分含量和乳化层形成率相关,在 HLB 值为 1.0-11.0 以及 16.0 时,其变化趋势基本与图 1 中酶解清液析出率的变化趋势一致,但在 HLB 值为 13.5 时,其持水率增大,而酶解清液析出率仍呈升高的趋势,这可能与乳化层中所悬浮的未被酶解的纤维素等多糖类持水性极强的物质有关<sup>[11]</sup>,当乳化层中这些物质的含量较高时,极易造成乳化层形成率迅速增加,进一步使得乳化层持水率增大,而对酶解清液的析出率影响较小,使得酶解清液析出率随着脂肪球粒径的增大而继续升高。从图中还可看出 HLB 值为 1.0 时,其水分含量较空白样品高,但油脂含量、持水率以及持油率均低于空白样,这与图 1 中油提取率及酶解清液析出率的变化一致,这进一步说明了 HLB 值为 1.0 时对于改善破乳效果提高油提取率有着重要意义,而 HLB 值为 13.5 时对于提高酶解清液中的蛋白回收率有着显著作用。

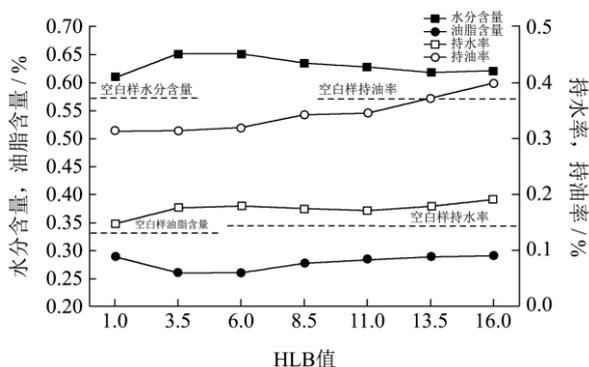


图 6 表面活性剂 HLB 值对乳化层组成的影响

Fig.6 Effects of the HLB value of surfactants on the formation of the emulsified layer

### 3 结论

3.1 表面活性剂 HLB 值对水酶法提取核桃油和制备抗氧化肽过程中的破乳效果有着显著影响。随着表面活性剂 HLB 值的逐渐增大,油提取率逐渐降低,乳化层形成率及酶解清液中 >5000 u 和 >3000 u 肽段含量逐渐升高,而酶解清液析出率和蛋白质回收率则呈现出先减小后增大最后又减小的趋势。乳化层中的水分含量与油脂含量的变化趋势相反,随着 HLB 值的增大分别呈现出先增大后减小和先减小后增大的趋势,分别在 HLB 值为 6.0 时达到最大值和最小值。

3.2 与空白相比,当表面活性剂 HLB 值为 1.0 时,核

桃油提取率可提高 5% 左右;当表面活性剂 HLB 值为 13.5 时,表面活性剂可显著解析界面蛋白和多肽,增大乳化层中的脂肪球粒径,显著提高酶解清液中的蛋白回收率,且不会对核桃肽的抗氧化活性造成显著影响。本文研究结果对水酶法提取核桃油和制备抗氧化肽的进一步研究和实际生产有着重要的理论意义和实际意义。

### 参考文献

- [1] Rosengarten Jr Frederic. The book of edible nuts[M]. New York: Courier Corporation, 2004
- [2] 王丰俊,王建中,周鸿升,等.核桃产品开发技术进展[J].河北林果研究,2009,3:301-304  
WANG Feng-jun, WANG Jian-zhong, ZHOU Hong-sheng, et al. Progress on process technology of walnut [J]. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 2009, 3: 301-304
- [3] Li Ji, Zu Yuan-Gang, Luo Meng, et al. Aqueous enzymatic process assisted by microwave extraction of oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) seed kernels and its quality evaluation [J]. Food Chemistry, 2013, 138(4): 2152-2158
- [4] 易建华,朱振宝.水酶法和溶剂法提取核桃油理化性质比较[J].食品科学,2007,12:143-145  
YI Jian-hua, ZHU Zhen-bao. Physico-chemical properties of walnut oil extracted with solvent and aqueous enzymatic methods [J]. Food Science, 2007, 12: 143-145
- [5] Latif Sajid, Anwar Farooq. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction [J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 679-684
- [6] 赵强忠.搅打稀奶油的搅打性能和品质的变化规律及其机理研究[D].华南理工大学,2006  
ZHAO Qiang-zhong. Change and mechanism of whipping properties and qualities of whipped cream [D]. South China University of Technology, 2006
- [7] 肖中华.原油乳状液破乳机理及影响因素研究[J].石油天然气学报,2008,4:165-168  
XIAO Zhong-hua. Mechanism and influencing factors about demulsification of crude oil emulsion [J]. Journal of Oil and Gas Technology, 2008, 4:165-168
- [8] ZHAO Qiang-zhong, LIU Dao-lin, LONG Zhao, et al. Effect of sucrose ester concentration on the interfacial characteristics and physical properties of sodium caseinate-stabilized oil-in-water emulsions [J]. Food Chemistry, 2014,151:506-513

- [9] 毛晓英.核桃蛋白质的结构表征及其制品的改性研究[D]. 江南大学,2012  
MAO Xiao-ying. Studies on the structure characterization and products' modification of walnut protein [D]. Jiangnan University, 2012
- [10] ZHAO Qiang-zhong, LONG Zhao, KONG Jing, et al. Sodium caseinate/flaxseed gum interactions at oil-water interface: effect on protein adsorption and functions in oil-in-water emulsion [J]. Food Hydrocoloids, 2015, 43: 137-145
- [11] Yang Jun, Xiao Anhong, Wang Chunwei. Novel development and characterisation of dietary fibre from yellow soybean hulls [J]. Food Chemistry, 2014, 161:367-375

现代食品科技