

# 利用响应面法优化杏仁乳状液加热破乳技术

何余堂\*, 解玉梅, 张晓莉, 史国洋, 李诗雨, 刘贺, 马涛

(渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 锦州 121013)

**摘要:** **目的** 对水酶法提取杏仁油过程中形成的乳状液进行加热破乳研究。**方法** 在单因素实验基础上, 通过响应面分析, 研究乳状液浓度、pH 值、加热温度和加热时间对杏仁乳状液破乳率的影响。**结果** 最优破乳工艺参数为: 乳状液浓度 93%, pH 值 4.6, 加热温度 104 °C, 加热时间 18 min。在此条件下, 破乳率可达到 75.12%, 同时杏仁油提取百分率由 54.66% 提高到 61.18%。**结论** 说明加热对杏仁乳状液破乳效果较好, 是一种有效提高杏仁油提取率的方法。

**关键词:** 杏仁; 水酶法; 乳状液; 加热破乳

## Optimization of heating demulsification technology of almond emulsion by response surface method

HE Yu-Tang\*, XIE Yu-Mei, ZHANG Xiao-Li, SHI Guo-Yang, LI Shi-Yu, LIU He, MA Tao

(National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

**ABSTRACT: Objective** To research the heating demulsification of almond emulsion prepared by enzyme-assisted aqueous method. **Methods** Based on single factor tests, Effects of variables including emulsion concentration, pH value, heating temperature and heating time on demulsification percentage was analyzed by response surface method. **Results** The results showed that the optimal parameters of demulsification were emulsion concentration 93%, pH value 4.6, heating temperature 104 °C and 18 min with heating time. Under this condition, the demulsification percentage was reached to 75.12% and the extractive percentage of almond oil was improved from 54.66% to 61.18%. **Conclusion** The demulsification effect of almond emulsion by heating was better. Heating treatment was an efficient way to increase the extractive percentage of almond oil.

**KEY WORDS:** almond; enzyme-assisted aqueous method; emulsion; heating demulsification

## 1 引言

杏仁为蔷薇科李属植物杏或山杏的种子, 分为

甜杏仁(不含或仅含 0.1%的苦杏仁苷)和苦杏仁(约含 4%的苦杏仁苷) 2 类。甜杏仁油色泽淡黄, 气味清香, 是使用广泛的植物油之一<sup>[1]</sup>。传统杏仁油抽提方法主

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术研究项目(L2012399)、国家自然科学基金青年项目(31201385)、辽宁省食品安全重点实验室暨辽宁省高校重大科技平台开放课题(LNSAKF2011014)。

**Fund:** Supported by Science and Technology Research Project of Liaoning Provincial Education Department (L2012399), the National Natural Science Foundation of Youth Project (31201385) and Open Project from Food Safety Key Lab of Liaoning Province & Engineering and Technology Research Center of Food Preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province (LNSAKF2011014).

\*通讯作者: 何余堂, 博士, 教授, 主要研究方向为粮油植物蛋白与食品生物技术。E-mail: heyutang@163.com

\*Corresponding author: HE Yu-Tang, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, China. E-mail: heyutang@163.com

要有压榨法和溶剂浸出法, 这些方法虽然出油率高, 但需进行热处理, 蛋白质易变性, 且饼粕不能有效利用。溶剂浸出后脱溶过程对生产控制要求高, 同时易造成严重污染。水酶法是一种新型提油技术, 主要在机械破碎的基础上, 采用酶(蛋白酶、淀粉酶、果胶酶、维生素酶等)降解植物细胞壁使油脂得以释放, 具有能耗低、设备简单、油脂品质高等特点<sup>[2-4]</sup>。但水酶法提油过程中, 由于蛋白质和磷脂的乳化作用, 会形成大量的乳状液, 严重影响到游离油的分离<sup>[5,6]</sup>。目前, 已有越来越多的研究集中到破乳工艺上<sup>[7-12]</sup>。本实验研究热处理技术对杏仁油乳状液的破乳效果, 采用响应面法对杏仁乳状液加热破乳工艺进行优化, 期望提高杏仁油提取百分率, 从而为水酶法提取杏仁油提供新思路。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

甜杏仁(辽宁省锦州义县, 含油量 55.10%)。

中性蛋白酶(20 万 U/g, 庞博生物科技有限公司); 碱性蛋白酶(20 万 U/g, 庞博生物科技有限公司); 石油醚(分析纯, 天津市化学试剂三厂); 无水乙醇(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 乙醚(分析纯, 沈阳市新化试剂厂); 氢氧化钠(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 盐酸(分析纯, 沈阳市试剂一厂)。

### 2.2 仪器与设备

DHG-9075A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); JFSD-100-2 型粉碎机(上海嘉定粮油仪器有限公司); PHS-W 型 pH 计(上海般特仪器有限公司); AR224CN 型电子分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司); JY5002 型电子称(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); HH-4 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); L-535R 型台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); L-3 型双层玻璃反应釜(北京世纪森朗实验仪器公司)。

### 2.3 试验方法

#### 2.3.1 工艺流程

乳状液的制备: 甜杏仁→去皮→烘干→粉碎→配料液混匀→调 pH 值→酶解→灭酶→冷却→离心→乳状液。

破乳: 乳状液→加水→调 pH 值→加热振荡→离

心→吸取上层游离油。

#### 2.3.2 具体操作

挑选籽粒饱满的杏仁, 温水浸泡, 脱净仁衣。50~60 °C 烘干后, 粉碎得到杏仁粉。取杏仁粉 100 g, 与水按料液比 1:5 混匀, 调节 pH 值至弱碱性或中性, 加入中性蛋白酶和碱性蛋白酶(添加量为杏仁粉质量的 3%, 比例为 1:1), 55 °C 条件下酶解浸提 2 h。在 85 °C 下进行灭酶 10 min, 使酶解反应终止。冷却后以 4000 r/min 离心 10 min, 酶解液分为游离油、乳状液、乳清液、沉淀 4 层, 用药匙将乳状液取出备用<sup>[13]</sup>。

#### 2.3.3 公式计算

杏仁油提取百分率(%)=游离油质量/(杏仁质量×杏仁含油量)×100%

破乳率(%)=破乳得到的游离油质量/(乳状液质量×乳状液含油量)×100%

乳状液的含油量通过 GB/T 5009.6-2003 酸水解法测得<sup>[14]</sup>。

#### 2.3.4 单因素试验

选取乳状液浓度、pH 值、加热温度、加热时间 4 个因素进行杏仁乳状液破乳单因素试验。单因素水平分别为乳状液浓度(20%、40%、60%、70%、80%、90%、100%)、pH 值(3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、7、8、9)、加热温度(50、60、70、80、90、100 和 110 °C)和加热时间(0、5、10、15、20 和 25 min)条件对杏仁乳状液破乳率的影响。

#### 2.3.5 响应面分析

依据破乳中单因素实验和 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 利用 Design-Expert.V8.0.6.1 软件设计响应面试验, 研究各因素对乳状液破乳率的影响。以乳状液浓度、pH 值、加热温度和加热时间 4 个因子为自变量(分别以  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$  表示), 以杏仁乳状液的破乳率为响应值, 进行 4 因素 3 水平共 27 个实验点的响应面实验设计。实验因素水平设计见表 1。

表 1 响应面因素水平编码表

Table 1 Variables and levels table in response surface method

水平	因素			
	$X_1$ 乳状液浓度(%)	$X_2$ pH 值	$X_3$ 加热温度(°C)	$X_4$ 加热时间(min)
-1	85	4	90	10
0	90	4.5	100	15
1	95	5	110	20

### 2.3.6 数据处理

实验以随机次序进行, 响应值用 Design-Expert.V8.0.6.1 软件分析, 得回归模型、方差分析及响应面图, 并对破乳工艺进行优化。

## 3 结果与分析

### 3.1 含油量的测定

前期研究中, 未破乳时杏仁油提取百分率为 54.66%。由酸水解法测得, 乳状液含油量为 23.36%。

### 3.2 杏仁乳状液破乳单因素实验

#### 3.2.1 乳状液浓度对破乳率的影响

在乳状液 pH 4.5, 加热温度为 90 °C, 加热 20 min 的条件下, 考察乳状液浓度对破乳率的影响。结果见图 1, 随着乳状液浓度的增加, 破乳率增高; 乳状液浓度为 90% 时, 破乳率达到最高值, 为 50.02%; 乳状液浓度继续增加, 破乳率呈下降趋势。这可能是由于乳状液浓度过小时, 破乳效果不易观测, 而加热作用的目的在于加快水油分子的动能, 促进液滴间的相互碰撞, 有利于水油两相分别相聚。随着加热的进行, 乳状液水分蒸发, 水油两相碰撞几率降低, 因此, 浓度过高的乳状液反而不易破乳<sup>[15]</sup>。

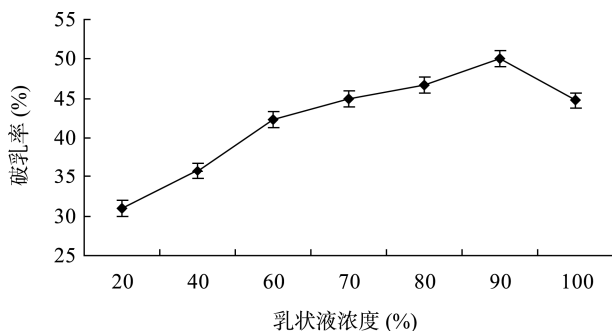


图 1 乳状液浓度对破乳率的影响

Fig. 1 Effect of emulsion concentration on demulsification rate

#### 3.2.2 乳状液 pH 值对破乳率的影响

在乳状液浓度为 90%, 加热温度 90 °C, 加热 20 min 条件下, 考察 pH 值对破乳率的影响。结果见图 2, 随着 pH 值增加, 破乳率呈上升趋势; pH 值达到 4.5 时, 破乳率最高, 为 61.46%; pH 值进一步升高, 破乳率开始下降。

#### 3.2.3 加热温度对破乳率的影响

乳状液浓度为 90%, pH 4.5, 加热 20 min 条件下,

考察加热温度对破乳率的影响。实验结果见图 3, 随着加热温度的增加, 破乳率呈上升趋势; 温度接近 100 °C 的过程中, 破乳率增长缓慢; 100 °C 时破乳率为 64.42%; 温度继续升高, 耗能增加, 且破乳效果提升不明显, 因此, 确定加热温度为 100 °C。

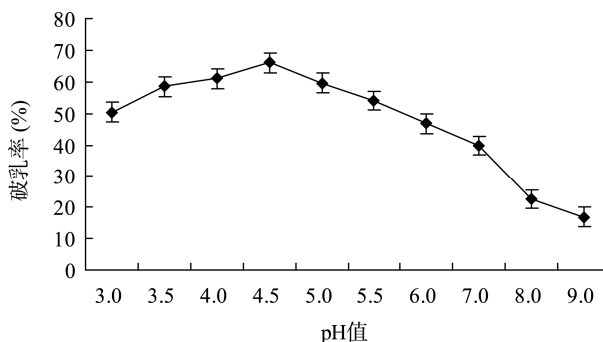


图 2 pH 值对破乳率的影响

Fig. 2 Effect of pH value on demulsification rate

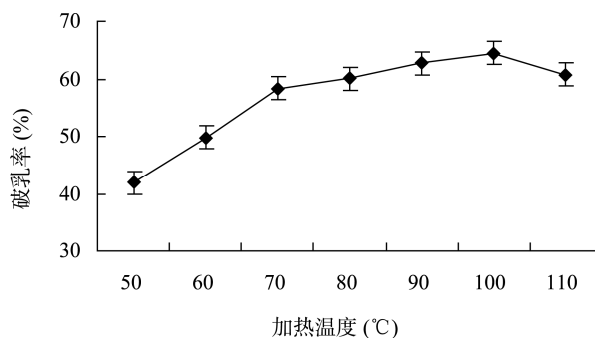


图 3 加热破乳中加热温度对破乳率的影响

Fig. 3 Effect of temperature on demulsification rate

#### 3.2.4 加热时间对破乳率的影响

乳状液浓度为 90%, pH 4.5, 加热温度为 90 °C, 考察加热时间对破乳率的影响。实验结果见图 4, 随着加热时间的增加, 破乳率呈上升趋势; 加热时间超过 15 min, 破乳率升高较小。可能是由于加热时间过长, 实验样品水分蒸发, 使乳状液已分离出的游离油与乳状液中的蛋白质再度结合, 影响破乳效果。因此, 确定加热时间为 15 min, 此时破乳率为 59.56%。

### 3.3 响应面法对破乳工艺的分析优化

以杏仁乳状液的破乳率为响应值, 根据表 2 的结果, 通过 Design-Expert.V8.0.6.1 分析, 获得回归方程为:  $Y=58.17+4.41X_1+5.47X_2+5.38X_3+3.98X_4+1.55X_1X_2+$

$4.12X_1X_3+2.68X_1X_4+2.82X_2X_3+2.37X_2X_4+2.71X_3X_4-5.52X_1^2-1.31X_2^2-1.18X_3^2-1.51X_4^2$ 。方差分析结果见表 3。

交互显著项对破乳率影响的响应面图见图 5。

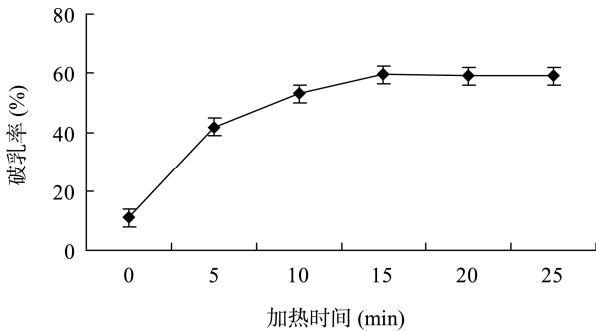


图 4 加热时间对破乳率的影响

Fig. 4 Effect of heating time on demulsification rate

表 2 Box-Behnken 实验设计与结果

Table 2 Design and experimental results of Box-Behnken

实验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	Y 破乳率(%)
1	0	0	0	0	58.82
2	0	0	1	-1	54.46
3	0	1	0	-1	55.81
4	0	1	-1	0	51.21
5	-1	0	0	1	47.31
6	0	-1	-1	0	47.03
7	1	0	1	0	67.22
8	0	0	-1	-1	48.79
9	0	-1	0	1	51.37
10	1	-1	0	0	49.74
11	0	0	0	0	56.57
12	0	1	0	1	67.88
13	0	0	1	1	69.42
14	0	-1	1	0	51.45
15	-1	0	0	-1	45.68
16	0	0	-1	1	52.92
17	-1	-1	0	0	43.52
18	1	1	0	0	64.09
19	-1	0	-1	0	45.18
20	0	0	0	0	59.13
21	-1	0	1	0	48.09
22	1	0	0	-1	46.54
23	1	0	-1	0	47.83
24	-1	1	0	0	51.66
25	0	-1	0	-1	48.79
26	0	1	1	0	66.89
27	1	0	0	1	58.9

表 3 二次模型方差分析

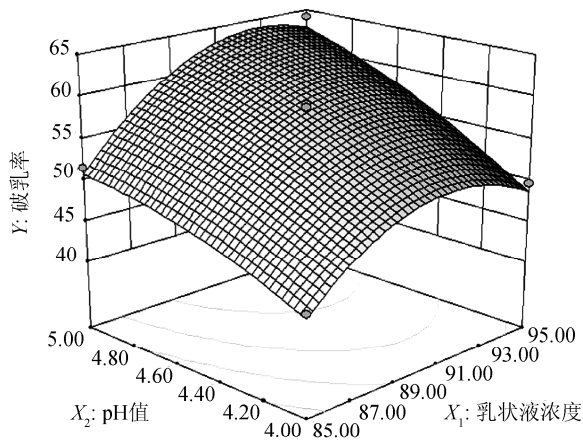
Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1485.47	14	106.11	25.29	<0.0001	**
$X_1$	233.02	1	233.02	55.55	<0.0001	**
$X_2$	359.05	1	359.05	85.59	<0.0001	**
$X_3$	347.44	1	347.44	82.82	<0.0001	**
$X_4$	189.85	1	189.85	45.25	<0.0001	**
$X_1X_2$	9.64	1	9.64	2.30	0.1554	
$X_1X_3$	67.90	1	67.90	16.18	0.0017	**
$X_1X_4$	28.78	1	28.78	6.86	0.0224	*
$X_2X_3$	31.70	1	31.70	7.56	0.0176	*
$X_2X_4$	22.52	1	22.52	5.37	0.0390	*
$X_3X_4$	29.32	1	29.32	6.99	0.0214	*
$X_1^2$	162.75	1	162.75	38.80	<0.0001	**
$X_2^2$	9.21	1	9.21	2.20	0.1642	
$X_3^2$	7.46	1	7.46	1.78	0.2070	
$X_4^2$	12.17	1	12.17	2.90	0.1143	
残差	50.34	12	4.20			
失拟误差	46.44	10	4.64	2.38	0.3321	
纯误差	3.90	2	1.95			
总和	1535.82	26				
			$R^2=96.72\%$	$R^2_{Pred}=82.01\%$		

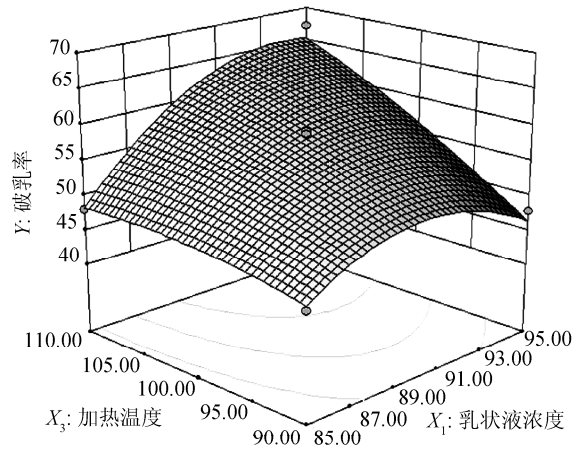
注: \* 显著( $P<0.05$ ); \*\* 极显著( $P<0.01$ )。

由表 3, 该模型一次项  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ , 交互项  $X_1X_3$  和二次项  $X_1^2$  的影响极显著( $P < 0.01$ ), 交互项  $X_1X_4$ 、 $X_2X_3$ 、 $X_2X_4$ 、 $X_3X_4$  影响显著( $P < 0.05$ ), 其他项不显著。由 F 值得出, 因子贡献率大小为:  $X_2 > X_3 > X_1 > X_4$ , 即 pH 值 > 加热温度 > 乳状液浓度 > 加热时间。该回归模型极显著, 失拟误差不显著, 说明该模型与实验数据拟合良好, 自变量与响应值之间线性关系显著, 试验误差小, 可用此模型分析优化杏仁乳状液破乳率<sup>[16]</sup>。由图 5b 和图 5c 可知, 因素交互作用响应面图曲面坡度陡峭, 表明处理条件变化时, 响应值敏感。由图 5d、图 5e 和图 5f 可知, 响应曲面坡度比较平缓, 表明响应值随处理条件变化不灵敏<sup>[17]</sup>。

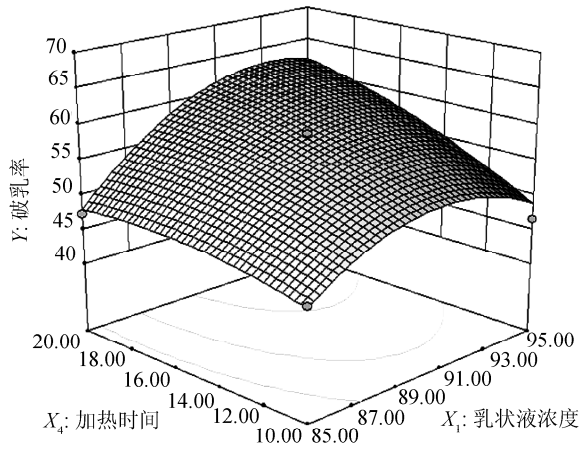
利用响应面优化回归模型, 结果表明, 当乳状液浓度 92.72%, pH 4.6, 加热温度 103.7 °C, 加热时间 17.54 min 时, 最优值为 74.60%。为实验操作便利,



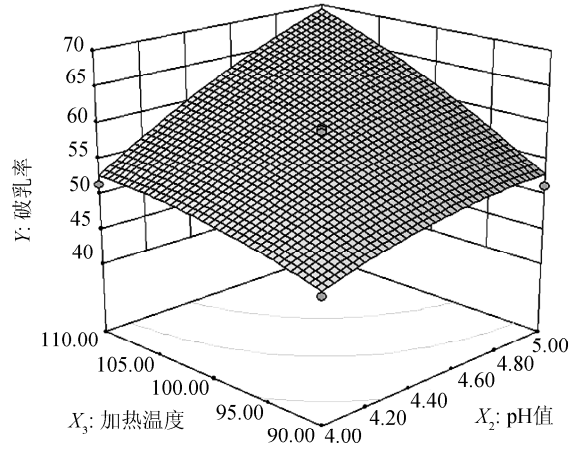
a. 乳状液浓度与pH值交互作用



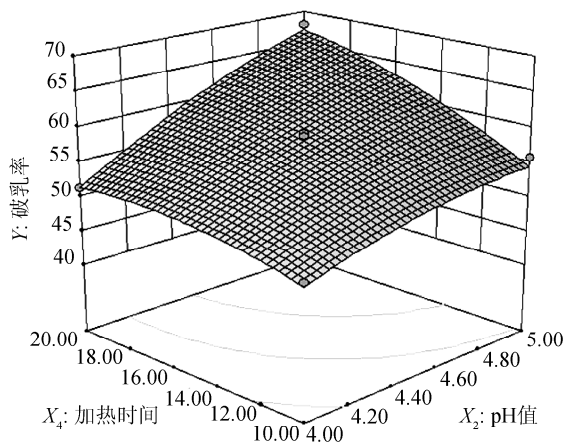
b. 乳状液浓度与加热温度交互作用



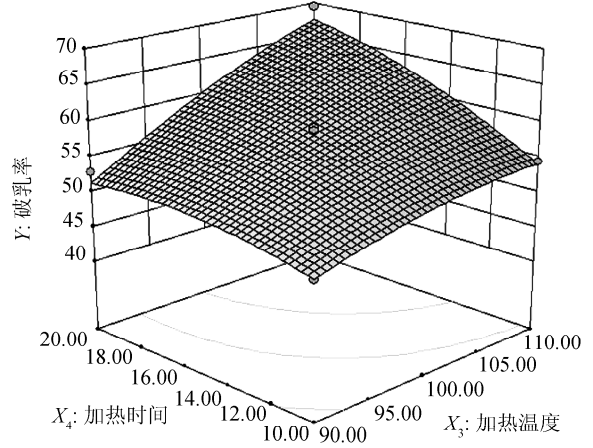
c. 乳状液浓度与加热时间交互作用



d. pH值与加热温度交互作用



e. pH值与加热时间交互作用



f. 加热温度与加热时间交互作用

图 5 交互显著项对乳状液破乳率影响的响应面图

Fig. 5 Response surface of the effect of interactive significant items on demulsification rate

将优化得到的工艺条件中乳状液浓度修正为 93%，加热温度 104 °C，加热时间 18 min 时，其他条件不变。在此修正条件下，进行 3 次重复实验，得破乳率的平均值为 75.12%，与理论值基本相当，经 *t* 检验分析， $t=2.66$ ， $t_{0.05(2)}=4.303$ ， $P>0.05$ ，无显著差异。

破乳后从乳状液得到的游离油，加上之前酶法获得的游离油，杏仁油提取百分率可达到 61.18%。

## 4 结 论

水酶法提取杏仁油的过程中，形成乳状液降低了杏仁油提取率。经试验测得此乳状液的含油量为 23.36%，对乳状液进行有效地破乳成为提高杏仁油提取百分率的关键。

采用热处理方法对水酶法提取杏仁油中产生的乳状液进行破乳研究，应用响应面优化分析方法对回归模型进行分析，得最优工艺条件为：乳状液浓度 93%，pH 值 4.6，加热温度 104 °C，加热时间 18 min。在此条件下，破乳率可达到 75.12%，杏仁油提取百分率由 54.66% 提高到 61.18%，因此，这种方法可以有效提高杏仁油提取百分率。

## 参考文献

- [1] 杨晓宇, 陈锦屏. 杏仁的营养保健功能及其在食品工业中的应用[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 629–631.  
Yang XY, Chen JP. Nutritional and healthy function of apricot kernel and its application in food industry [J]. Food Sci, 2005, 26(9): 629–631.
- [2] 杜彦山, 张连富. 水酶法提油工艺初步研究[J]. 粮食与油脂, 2005, (6): 10–12.  
Du YS, Zhang LF. Preliminary study on aqueous enzymatic extraction processes for oil extraction [J]. J Cereals Oils, 2005, (6): 10–12.
- [3] 李杨, 江连洲, 杨柳. 水酶法制取植物油的国内外发展动态[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 383–387.  
Li Y, Jiang LZ, Yang L. Current status and development tendency of aqueous enzymatic plant oil extraction in home and abroad [J]. Sci Technol Food Ind, 2009, 30(6): 383–387.
- [4] Campbell KA, Glatz CE. Mechanisms of aqueous extraction of soybean oil [J]. Agric Food Chem, 2009, 57(22): 10904–10912.
- [5] 刘向军, 陆启玉, 章绍兵. 水酶法提油过程中产生乳状液的破乳方法研究进展[J]. 中国油脂, 2013, 38(4): 5–8.  
Liu XJ, Lu QY, Zhang SB. Advance in demulsification method of the emulsion formed during enzyme-assisted aqueous extraction of oil [J]. China Oils Fats, 2013, 38(4): 5–8.
- [6] Wu J, Johnson LA, Jung S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes [J]. Bioresource Technol, 2009, 100: 527–533.
- [7] Lamsal BP, Johnson LA. Separating oil from aqueous extraction fractions of soybean [J]. Am Oil Chem Soc, 2007, 84(8): 785–792.
- [8] Chabrand RM, Glatz CE. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour [J]. Enzyme Microbial Technol, 2009, 45: 28–35.
- [9] 吴桐, 康健, 张丽霞, 等. 水酶法提沙棘果油破乳方法的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 281–283.  
Wu T, Kang J, Zhang LX, *et al.* Research of the demulsification method of the emulsion formed in aqueous enzymatic extraction of oil from seabuckthorn [J]. Sci Technol Food Ind, 2011, 32(12): 281–283.
- [10] 何秋实. 响应面优化无机盐破乳工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(24): 304–306.  
He QS. Response surface optimization of inorganic salts demulsification process [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(24): 304–306.
- [11] 齐宝坤, 江连洲, 李杨, 等. 响应面优化大豆乳状液冷冻微波解冻破乳工艺研究[J]. 中国油脂, 2013, 8(1): 8–11.  
Qi BK, Jiang LZ, Li Y, *et al.* Optimization of demulsification of soybean emulsion with Freeze-microwave thaw by response surface methodology [J]. China Oils Fats, 2013, 8(1): 8–11.
- [12] 刘彬球, 陈朝银, 葛锋, 等. 普洱茶籽乳状液的冷冻微波解冻破乳工艺优化[J]. 中国油脂, 2013, 38(1): 12–15.  
Liu BQ, Chen CY, Ge F, *et al.* Optimization of demulsification of puer tea seed emulsion by Freeze-microwave thaw treatment [J]. China Oils Fats, 2013, 38(1): 12–15.
- [13] 何余堂, 王笠, 刘贺, 等. 响应面法优化甜杏仁油提取工艺[J]. 食品工业科技, 2012, (1): 217–222.  
He YT, Wang L, Liu H, *et al.* Optimization with response surface method on sweet almond oil extraction [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, (1): 217–222.
- [14] 侯曼玲. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.  
Hou ML. Food analysis [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- [15] 王文睿, 江连洲, 郑环宇, 等. 热处理对大豆乳状液破乳工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 285–287.  
Wang WR, Jiang LZ, Zheng HY, *et al.* Study of heat treatment on demulsification technology of soybean emulsion [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(4): 285–287.

- [16] 张雅娜, 李杨, 江连洲, 等. 紫苏乳状液酶解破乳工艺的研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(4): 201–206.

Zhang YN, Li Y, Jiang LZ, *et al.* Research of hydrolysis de-emulsification of emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction processing of perilla frutescens [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(4): 201–206.

- [17] 吴瑛, 王秀芳, 袁守亮. 响应面分析昆仑雪菊水溶性黄酮类化合物的提取工艺 [J]. 食品科学, 2013, 34(6): 129–133.

Wu Y, Wang XF, Yuan SL. Process optimization by response surface methodology for the extraction of water soluble flavono-

ids from *Coreopsis tinctoria* flowers [J]. *Food Sci*, 2013, 34(6): 129–133.

(责任编辑: 金延秋)

### 作者简介



何余堂, 博士, 教授, 主要研究方向为粮油植物蛋白与食品生物技术。  
E-mail: heyutang@163.com