

水酶法提取核桃油研究进展

邓健康^{1,2,3}, 赵慧博², 耿明雪^{1,4}, 齐兵², 宋智勇⁵, 王笛²,
王雅宁², 夏君霞^{2,3*}

(1. 河北省果蔬发酵技术创新中心, 衡水 053000; 2. 河北养元智汇饮品股份有限公司, 衡水 053000;
3. 河北省核桃营养功能与加工技术重点实验室, 衡水 053000; 4. 河北省湿地生态与保护重点实验室,
衡水 053000; 5. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 核桃油富含不饱和脂肪酸和多种脂肪伴随物, 对人体健康十分有益。由于核桃油的营养价值高, 如何实现核桃油的高效提取和适度加工越来越受到学者的关注。传统提取核桃油的方法存在蛋白质大量浪费、出油率不高和生物活性物质利用不充分等问题, 因此推进新型绿色的核桃油提取方法显得极为重要。水酶法 (aqueous enzymatic extraction, AEE) 是一种新兴的植物油提取技术, 通过充分破碎油料, 在生物酶的辅助作用下破乳, 实现植物油分离, 具有出油率高和环境友好等优点。本文综述了核桃油主要营养成分与脂肪伴随物、核桃油的水酶法提取的关键工艺(预处理方法、酶解过程和破乳等)及存在的问题。同时, 本文提出了如何实现核桃油水酶法出油率的提高、核桃油品质提高和实现工业化生产的建议, 为水酶法提取核桃油实现工业化生产提供理论和技术支撑。

关键词: 核桃油; 营养; 脂肪伴随物; 水酶法

Research progress of aqueous enzymatic extraction of walnut oil

DENG Jian-Kang^{1,2,3}, ZHAO Hui-Bo², GENG Ming-Xue^{1,4}, QI Bing²,
SONG Zhi-Yong⁵, WANG Di², WANG Ya-Ning², XIA Jun-Xia^{2,3*}

(1. Hebei Technology Innovation Center for Fruits and Vegetables Fermentation, Hengshui 053000, China;
2. Hebei Yangyuan Zhihui Beverage Co., Ltd., Hengshui 053000, China; 3. Hebei Key Laboratory of
Walnut Nutritional Function and Processing Technology, Hengshui 053000, China; 4. Hebei Key Laboratory of Wetland
Ecology and Conservation, Hengshui 053000, China; 5. College of Food Science & Technology,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Walnut oil is rich in unsaturated fatty acids and a variety of fat concomitant, which is highly beneficial to human health. Due to the high nutritional value of walnut oil, how to achieve efficient extraction and moderate processing of walnut oil has received increasing attention from scholars. Traditional methods of extracting walnut oil have problems such as a large amount of protein wasting, low oil yield and insufficient utilization of bioactive substances. Therefore it is extremely important to promote new green methods of extracting walnut oil. Aqueous enzymatic extraction (AEE) is an emerging vegetable oil extraction technology that involves fully crushing the oil feedstock and breaking down the emulsion with the help of enzymes, resulting in the separation of oil, it has the

基金项目: 河北省产业创新创业团队项目(215A7102D)、河北省高层次人才资助项目(B2022003050)、衡水学院校级科研项目(2023ZRZ02)

Fund: Supported by the Hebei Industrial Innovation and Entrepreneurship Team Project (215A7102D), the Hebei High-Level Talent Support Project (B2022003050), and the Scientific Research Project of Hengshui University (2023ZRZ02)

***通信作者:** 夏君霞, 正高级工程师, 主要研究方向为食品科学与工程。E-mail: yangyuanshengjibu@hbyangyuan.com

***Corresponding author:** XIA Jun-Xia, Professor, Hebei Yangyuan Zhihui Beverage Co., Ltd., New Zone 6 Road Fuyang 4 Road, North District of Hebei Hengshui Economic Development Zone 053000, China. E-mail: yangyuanshengjibu@hbyangyuan.com

advantages of high oil yield and friendly to the environment. This article reviewed the main nutrition and fat accompaniments in walnut oil, the key processes involved in the aqueous enzymatic method for walnut oil extraction, including pre-treatment methods, enzymatic hydrolysis, and demulsification techniques, as well as the underlying issues. Furthermore, this paper provided some suggestions on how to improve the oil yield and quality of walnut oil, and proposed recommendations for achieving industrial-scale production, so as to provide theoretical and technical support for the industrial production of walnut oil extracted by AEE.

KEY WORDS: walnut oil; nutrition; accompaniments of fats; aqueous enzymatic extraction

0 引言

核桃(*Juglans regia* L.)系胡桃科核桃属多年生落叶乔木,在世界各地都有广泛的分布。中国核桃种植面积和产量均居世界前列^[1]。核桃是脂肪、蛋白质、膳食纤维、多酚和甾醇等物质的丰富来源^[2]。研究表明,食用核桃有助于降低多种患病风险,例如癌症、肠道失调、心血管和神经退行性疾病^[3]。核桃仁中脂肪含量与核桃品种、地理位置、成熟阶段和生长条件等相关,一般在 52%~75%之间,其中,不饱和脂肪酸占比在 90%以上^[4-5]。核桃油作为核桃的深加工产品,具有良好的应用前景,除直接食用外,在食品行业中主要用作调味剂,同时也应用于化妆品等行业。核桃油富含不饱和脂肪酸和多种脂肪伴随物,如何实现核桃油的高效提取和适度加工,以满足消费者对植物油不断提高的安全和健康需求,以及提高加工副产物-核桃蛋白的综合利用价值,是目前核桃油加工业亟需解决的问题。

目前,核桃油的提取方法有压榨法、超临界流体萃取法和有机溶剂提取法等传统提取技术。传统方法通常存在能耗高、蛋白质变性导致副产物可利用度下降、多酚和纤维素等生物活性物质的浪费等问题^[6]。水酶法是一种新型的油脂提取技术,是在传统的水代法的基础上发展而来的。通过水和特异性酶的综合作用,降解油料的细胞壁,使油脂得以释放。水酶法在较为温和的条件下进行,具有低能耗和易操作等特点。经过不断改进,水酶法提油技术

已经取得了长足进步。但水酶法提取核桃油在破乳和三相连续分离等工艺上仍然存在一定问题。本文综述了核桃油营养及脂肪伴随物、水酶法提取核桃油的原理、工艺流程和破乳技术等,以期水酶法提取核桃油的科学研究提供基础,为水酶法提取核桃油实现工业化提供帮助。

1 核桃油营养及脂肪伴随物

核桃油的良好功能特性与其组成成分是分不开的。核桃油的主要成分是脂肪酸,富含单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)—油酸和多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)—亚油酸和亚麻酸。如表 1 所示,核桃油中亚油酸相对含量在 49.8%~73.8%之间,油酸的相对含量介于 12.4%~32.5%之间, α -亚麻酸相对含量在 0.9%~15.5%之间,核桃油中不饱和脂肪酸含量最高可达 90%左右,高不饱和脂肪酸含量与核桃的健康特性直接相关^[3,16]。核桃油的脂肪酸含量在很大程度上受到核桃品种、产地、成熟度和制备工艺等因素的影响^[4]。不同核桃品种之间的油酸和亚麻酸含量存在显著差异,可用于鉴别核桃品种的标志物^[17]。制备工艺对核桃油的脂肪酸含量也有一定的影响,例如,未经过烘烤处理后制备的核桃油中不饱和脂肪酸的含量要高于经过烘烤处理^[9]。

此外,不同制备工艺(如水酶法、溶剂浸提法、压榨法和超临界萃取法)也会对核桃油中的脂肪酸种类和组成比例产生影响^[12-13]。王亚萍等^[12]的研究表明,相较于溶剂浸

表 1 不同工艺核桃油脂肪酸含量(%)

Table 1 Relative fatty acid content of walnut oils obtained by different extraction methods (%)

提取方式	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1
压榨 ^[7]	5.0~6.4	2.1~3.0	13.8~25.7	57.9~67.9	6.7~8.5	0.08~0.1	0.15~0.3
压榨 ^[8]	3.1~8.3	1.0~3.5	12.6~26.0	51.2~69.0	7.0~15.0	—	0.1~0.5
冷榨 ^[9]	6.3~6.5	2.8~3.0	16.6~19.3	62.7~65.3	8.2~8.7	—	0.1~0.2
冷榨 ^[10]	6.0	2.4	14.5	61.5	15.1	0.08	0.2
溶剂提取 ^[11]	6.0~6.5	2.7~2.9	15.6~17.1	63.5~64.7	9.7~10.8	0.1~0.1	0.1~0.2
水酶法、溶剂浸提、压榨 ^[12]	5.7~6.5	2.4~2.7	15.1~19.2	70.9~73.8	0.9~1.7	0.12~0.13	0.29~0.32
压榨、溶剂提取、超临界萃取 ^[13]	6.5~6.7	2.9~3.2	12.4~18.7	62.9~68.9	8.3~8.7	—	0.2~0.24
水酶法 ^[14]	5.4~5.5	2.2~2.2	32.4~32.5	49.8~49.9	9.3~9.4	0.2	—
水酶法 ^[15]	5.7	1.1	21	68.4	2.3	0.2	0.3

注:—表示文献中未提及,下同。

提法和压榨法, 采用水酶法制备的核桃油中油酸和 α -亚麻酸相对含量更高。同时, 该制备工艺还可以使得核桃油的过氧化值和酸价显著降低, 从而更有利于保持核桃油的品质。核桃油单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸, 尤其是亚油酸和亚麻酸含量因核桃品种、产地、成熟度和制备工艺等因素而有所不同。制备工艺对核桃油的脂肪酸组成比例和品质也有一定影响, 采用水酶法制备的核桃油更有利于保持其良好的品质。

核桃油不仅含有丰富的不饱和脂肪酸, 还含有多种具有生物活性的脂肪伴随物, 如生育酚、甾醇、多酚和角鲨烯等。其中, γ -生育酚和总酚对核桃油的氧化稳定性影响较大。生育酚包括 α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚和 δ -生育酚等, 具有抗癌和抗炎症等多种作用; 核桃油中甾醇主要包括谷甾醇、菜油甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、 $\Delta 5, 24$ -豆甾二烯醇、 $\Delta 5$ -燕麦甾烯醇, 甾醇结构与胆固醇相似, 具有降低胆固醇含量和免疫调节等多种生理功能^[9], 多酚主要包括单宁、鞣花酸及其衍生物等, 在预防神经退行性疾病和糖尿病方面也发挥着重要作用^[18]。研究表明, 角鲨烯是一种生物活性成分, 具有预防心血管疾病、增强人体免疫力等功能。然而, 核桃油中角鲨烯的含量差异较大, 范围从 6.4 mg/kg 到 320 mg/kg 不等^[19]。

核桃油提取方式会对核桃营养物质和伴随物产生不同程度的影响。经比较水酶法、溶剂浸提法和压榨法 3 种提取方式, 发现水酶法提取的薄壳山核桃油脂有较高的核桃脂肪伴随物含量^[12]。如表 2, GAO 等^[13]采用己烷提取法获得了更高的出油率, 并发现亚临界丁烷提取的核桃油中生育酚(371.08 mg/kg)和植物固醇(1206.30 mg/kg)的含量, 以及热榨核桃油中角鲨烯含量(14.19 mg/kg)均超过了其他

提取方式。GONZÁLEZ-GÓMEZ 等^[21]对比了水酶法与己烷萃取法对核桃油品质的影响, 经过响应面优化的水酶法制备的核桃油总酚含量(74.2 mg GAE/kg)高于己烷萃取法(68.4 mg GAE/kg)。另外, 总生育酚含量也呈现同样的趋势(685.5 mg/kg > 269.1 mg/kg)。以上研究发现强调了选择适当的核桃油提取方式的重要性。

2 水酶法提取核桃油

在水代法的基础上, 逐渐改进的水酶法受到充分重视, 水酶法具有绿色安全、低碳环保、出油率高等优点。据报道, 我国首条水酶法提取油茶籽油的生产线 2013 年在湖南湘潭正式投产, 日处理 30 t 油茶籽, 运用水酶法提取油茶籽油的得油率稳定在 93% 以上^[22]。

2.1 水酶法提取原理

水酶法需首先将油料充分研磨, 破坏油料的细胞壁网络, 然后用水浸泡使油料充分吸水膨胀, 通过特异性酶使细胞壁裂解或破坏乳化体系, 基于油与水的密度不同且不相溶将其进行分离。水酶法除了能破坏细胞壁外, 还能有效分解分子复合物如脂蛋白和脂多糖, 释放出其他方法不易提取的脂肪^[23]。由于酶是可生物降解的、无毒的, 且具有催化反应的高特异性, 并且可以在温和的条件下工作^[24], 故水酶法提取效率与酶的类型和浓度、温度、pH、植物基质、反应时间等密切相关。

2.2 水酶法工艺过程

2.2.1 预处理方法

预处理直接影响着水酶法提取核桃油的提取率和风味品质^[25]。对核桃进行预处理的方法主要包括去除内种

表 2 不同提取方法所制备核桃油脂脂肪伴随物含量(mg/kg)
Table 2 Content of accompaniments of fats in walnut oils obtained by different extraction methods (mg/kg)

脂肪伴随物	压榨 ^[7]	压榨 ^[8]	冷榨 ^[9]	水酶法、溶剂浸提、压榨 ^[12]	压榨、溶剂提取、超临界萃取 ^[13]	溶剂提取、压榨 ^[20]
多酚	9.6~64.6	1.1~20.4	28.3~44.8	10.3~14.2	28~45.4	26.3~98.1
总生育酚	394.7~490.3	—	439.2~508.7	—	303.2~388	295.7~578
α -生育酚	36.9~144.2	19.3~136.7	30.3~60.6	0.4~1.1	43.1~115.9	30.1~46.7
β -生育酚	0.5~1.2	—	15.2~18.9	—	12.1~31.2	19.7~27.5
γ -生育酚	222.1~345.4	139~603.7	319.0~348.9	10~21	99.6~207.2	159.5~366.3
δ -生育酚	20.7~88.5	131.8~659.4	93.9~99.6	—	57.5~105.5	80.5~142.3
角鲨烯	2.9~5.2	24.2~131.5	3.2~6.0	184.9~1.2	.4~14.2	5.1~7.7
总甾醇	644.6~1211.4	—	1740.9~2048.1	—	1062~1282.5	891.8~1185.9
菜油甾醇	35.1~144.2	18.5~142.4	51.1~64.8	—	42.6~64.8	29.1~75.4
β -谷甾醇	529.7~944.7	453.7~1340.8	1139.8~1444.7	360.5~1428	830.1~946.2	694.4~892
$\Delta 5, 24$ -豆甾二烯醇	—	4.5~28.2	73.0~118.9	—	—	—
$\Delta 5$ -燕麦甾烯醇	62.6~141.4	16.4~139.0	192.41~223.73	—	44.9~154.4	41.2~154.4

皮、烘烤、研磨和酸浸等^[26]。预处理可在一定程度上破坏阻碍油释放的细胞结构,防止形成油水乳状液,可以提高油脂产量。去除内种皮可以降低核桃产品涩味,但碱液去除核桃内种皮会显著地降低了核桃清油提取率,这可能是由于碱液可与核桃仁中的脂肪酸发生皂化反应。核桃仁去除内种皮等前处理过程会一定程度破坏细胞壁结构、降低纤维素含量,而细胞壁的结构强度会影响破碎条件和破碎后颗粒大小。目前,如何实现核桃连续破碎以满足水酶法的需要,是核桃油水酶法制备的瓶颈之一。本团队对比了核桃仁的不同破碎方式,发现无水胶体磨和三辊研磨结合可以实现核桃连续破碎,得到的核桃油品质优良;且通过干法研磨核桃仁,在降低物料粒径的同时,可大大降低乳化率^[27]。然而,原料初始含水量会提高破碎后的乳化程度,因此采用烘烤降低原料原始水分可以提高出油率,并且可以提升油的风味^[28]。适度烘烤可降低温度对核桃蛋白等营养物质的影响,有助于核桃油感官品质的提升,并实现核桃蛋白等副产物的高值化利用。因此,在选择预处理方法时,应将适度烘烤作为重要考虑因素^[29]。酸浸也是水酶法或水代法的常用的原料预处理方法之一,酸浸预处理可以一定程度破坏油料细胞结构。经过酸浸预处理可以降低乳状液渣相中油脂含量,显著提高清油得率^[30]。

核桃油的提取率受到预处理方法的直接影响。因此,在核桃油制备中,应根据原料特性,选择和优化适当的预处理方法,以提高出油率和品质。

2.2.2 酶解过程

目前,对于水酶法的研究多集中在酶解过程中的酶种类、酶用量、pH、酶解温度、酶解时间和料液比等^[31]因素对出油率的影响。常用的酶有纤维素酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶、半纤维素酶、果胶酶、蛋白酶、 α -淀粉酶等^[29,32]。纤维素和半纤维素组成的不溶性微细纤维构成植物细胞壁的主要结构,还包括由果胶多糖组成的非纤维素聚合物相^[33]。除此以外,蛋白质和磷脂也是阻碍油脂溶出的重要因素。为提高油脂溶出速度,需要同时破坏以上多种乳状液的稳定因素,基于酶作用的特异性,往往需要多种酶复配使用。近年来国内外对水酶法制备核

桃油的酶解过程进行了细致地研究(表 3)。其中,采用木瓜蛋白酶和碱性蛋白酶 2709 酶解,出油率更高,这可能是因为核桃中的脂蛋白受到蛋白酶的水解作用,使得油脂更容易从复合体中释放出来。然而,如果添加的酶量过多,酶达到过饱和状态,一些酶分子无法与蛋白质结合,反而增加了酶的浓度,进而影响提油率^[37]。研究者还探讨了水酶法中其他复合酶的效果。例如,在 GONZÁLEZ-GÓMEZ 等^[21]通过响应面法优化了水酶法提取核桃油的工艺,使用复合酶“ViscozymeL”的添加量为 1.25%,在 pH 4 和 41.8°C 下酶解 88 min,出油率达到 75%。赵慧博等^[27]选用碱性蛋白酶和风味蛋白酶提取核桃油,总添加量为核桃仁干重的 0.2%、酶解时间 2 h,在显著降低酶添加量的情况下,提高了出油率。另外,适当提高酶解温度,可以一定程度上促进酶解体系的传质效果,进一步提高酶解效率^[38-39]。水酶法中酶的选择应当综合考虑原料特性和酶解条件等因素。

2.2.3 破乳技术

在破碎过程和加水后的混合过程中,通常会产生油包水或水包油的乳状液。在乳状液中,蛋白质可以形成不易被离心破坏的黏弹性膜,从而影响游离油提取效率。因此,如何高效破乳是水酶法工业化生产的瓶颈之一。目前常见的破乳方法包括:酶法、冻融和调整 pH 等方法^[40]。生物酶可分解乳状液中的天然表面活性剂(原料中的蛋白质、磷脂和碳水化合物),将其转变为小分子(肽、单糖或双糖等),从而置换乳状液微滴,达到破乳的目的。冻融法也是常用的破乳技术之一,通过冷冻解冻循环,破坏乳状液稳定性,冻融法破乳率高,但破乳所需时间较长。另外,还可通过调节 pH 改变乳状液胶体的电荷性质,破坏其稳定性以达到破乳的目的,该方法具有成本低、操作简单等优点,需要注意的是,未来的研究应注意使用天然酸碱物质,以实现乳液中其他成分的综合利用。

为了提高破乳效率,研究者们报道了更多新型破乳方法,例如 GENG 等^[14]采用表面活性剂和盐辅助水代法破乳,并通过单因素实验获得最佳萃取参数为萃取时间 60 min、萃取温度 85°C、氯化钠溶液浓度 1.2 mol/L、液料比 5:1 (*V:m*)、Span 20 添加量 1.7 g/100 g,核桃油的出油率高达 91.2%。

表 3 国内外水酶法提取核桃油条件对比
Table 3 Comparison of different extraction conditions of AEE walnut oil

酶的种类	酶用量/%	时间	料液比	温度/°C	pH	出油率/%
蛋白酶 ^[12]	2.5	2.0 h	1:4	55	8.0	68.44
中性蛋白酶 ^[34]	1.5	1.5 h	1:6	50	—	55.83
木瓜蛋白酶 ^[15]	0.17	2.5 h	—	54.43	6.34	81.32
果胶酶+纤维素酶 ^[35]	1.4	50 min	—	55	6.0	54
碱性蛋白酶 2709 ^[36]	—	1 h	1:3	60	9.0	95.06
ViscozymeL ^[21]	1.25	88 min	—	41.8	4.0	75

值得一提的是, Span 20 在使乳液失稳和提高出油率方面效果明显, 添加表面活性剂 Span 20 进行破乳可以显著提高出油率, 这可能是因为 Span 20 可以有效地取代油酸酯的位置以使乳液稳定性降低。尽管添加表面活性剂或者盐能够提高破乳率, 但添加物的去除和对核桃蛋白利用的影响, 仍然存在挑战。另外, 添加 CaCl_2 ^[32] 或 CaCl_2 -微波辅助法^[41] 均可以显著提高破乳效果。LIU 等^[41] 发现采用盐-微波辅助水酶法提取花生油与加热、冻融等方法破乳得到的花生油脂肪酸的组成和性质并没有明显差异, 并且氧化性能优于其他常规加热方式得到的花生油, 并发现不同无机盐的加入均可降低乳状液的稳定性, 其中 CaCl_2 破乳率最高。该研究提供了一种新的辅助酶解方法, 有助于提高酶解制备植物油的效率和品质。CHEN 等^[42] 提出了糖辅助水代法, 得出在 1 mol/L 的糖溶液、液料比 4:1 (*V:m*)、温度 85°C、萃取时间 60 min、Span 20 添加量 1.9 g/100 g 和 pH 6.0 的条件下, 核桃油的产率最高达 90.74%, 而且此条件下核桃蛋白性质无明显变化, 表明所得蛋白可以回收利用, 但是目前仅在实验室规模上实现。综上, 尽管在实验室规模上已经有效实施了一些破乳方法, 但是还需要进一步研究低成本、快速的破乳技术, 以便达到工业化生产的要求。结合不同的破乳方法可以增加效果的稳定性和提高破乳效率。通过研究不同方法的组合和顺序, 可以找到更适用于不同样品的综合破乳方案。

2.2.4 辅助方法

目前, 水酶法的辅助方法主要有微波辅助萃取和超声辅助萃取等^[13]。其中, 超声辅助萃取和微波辅助萃取展现出了良好的前景。超声波通过强烈的空化作用和扰动效应, 产生空化泡和液相的快速坍塌, 从而产生局部高温和高压的条件, 加速分子的运动频率、速度和溶剂穿透力, 从而提高出油率^[43]。微波辅助萃取利用微波电磁辐射对样品产生非均匀性加热, 导致样品内部快速升温 and 压力变化。这种加热方式可以打破细胞壁和细胞膜结构, 释放油脂成分, 并促进溶剂与目标成分之间的质量传递。微波辐射还可以通过介电加热作用提高样品的温度, 加速油脂的析出过程。超声辅助萃取和微波辅助萃取都具有高渗透性、强化传质和细胞破裂的优点, 而且超声辅助萃取可以提高提取效率和脂质质量, 对油脂组成、抗氧化、稳定性和抗菌性能均有积极的影响^[44]。GHASEMI 等^[45] 通过响应面法优化纤维素酶浓度和酶解时间, 采用优化的超声波辅助酶法提取核桃油, 与正己烷萃取法比较, 核桃油的氧化稳定性指数更高, 总生育酚含量也更高。另外, 与索氏提取法对比, 微波-超声辅助技术既可以提高出油率, 又可以提高植物油质量, 通过电子显微镜观察发现, 微波超声会引起结构的破坏从而促使油析出^[46]。虽然超声和微波等新兴技术可以提高提取率和油脂质量, 但仍面临着稳定性和连续性的挑战。

3 水酶法提取核桃油存在的问题

3.1 专一酶制剂问题

目前, 水酶法提油过程中仍面临酶用量大和成本较高、缺乏专用酶的问题, 这限制了该技术的发展和产业化。乳状液通常由蛋白质、脂肪和纤维素等多种物质复合而成。不同酶对油料乳状液的作用不同, 如磷脂酶处理使乳状液中的降低磷脂酰胆碱含量, 提高磷脂酸含量; 蛋白酶处理可引起界面蛋白的分子量和乳状液的黏度显著降低。针对不同乳状液组成和结构, 通常需要选取两种或以上酶进行复配^[47], 通过优化酶的组合, 提高出油率和油脂质量。另外, 通过了解乳状液的微观结构和组分, 可以深入了解不同酶的作用机制, 从而优化水酶法的提取过程, 有助于寻找更专一的酶, 提高水酶法的效率和特异性^[48]。

综上, 在深入研究油料的特性、乳状液的结构和酶的作用机制的基础上, 选择、改进和开发专用酶, 优化复合酶组成和比例等, 有望提高酶的效率和稳定性, 降低酶的成本, 推动水酶法技术的产业化进程。

3.2 水酶法提取技术单一问题

尽管水酶法具有许多优点, 但出油率偏低和加工时间长依然是其主要瓶颈, 由于单一提取技术通常存在一些缺陷, 因此多种技术的结合是未来发展的方向^[46]。现阶段水酶法可由超声波、微波、超临界流体和高压辅助提取。超声波产生的机械振荡和搅拌作用可以有效地弥补微波加热不均匀的缺点, 而微波产生的热效应也可以弥补超声波加热不足的缺点。此外, 微波和超声波的结合可有效地破坏细胞壁, 有效地解决水酶法中油脂回收率低和处理时间长的缺点^[49]。超临界流体萃取技术和高压辅助提取也已应用于水酶法中。超临界流体提取利用超临界流体(如二氧化碳)的高溶解能力和扩散性, 与植物中的油脂迅速混合和扩散, 快速溶解油脂成分, 从而提高提取效率, 同时保持油脂的功能和营养特性^[50]。高压辅助提取通常用于细胞破碎或从天然基质中提取生物活性物质。高压可以增加细胞渗透性, 加速组分扩散。此外, 油脂提取效率与高压引起的蛋白质变性程度密切相关。一定压力范围可以促进蛋白质结构破坏和酶切位点暴露, 提高酶促水解效率并促进脂质释放, 从而提高提取效率^[51]。综合多种技术的结合应用, 有望实现提高水酶法的出油率和品质, 从而满足工业生产的需求。这些技术的发展和應用將推動水酶法在植物油提取領域的進一步改進和創新。

3.3 水酶法工业化生产问题

水酶法在油料提取过程中出现的油、水、渣难以高效分离的问题一直限制着水酶法的工业化进程。现阶段水酶法的水、油、渣的三相分离一般还是采用无法连续进行的、低效率的小型沉降式离心机, 如何使水酶法的三相连续分

离关系到推进水酶法提取核桃油的大规模生产的发展。除此以外,连续有水破碎会导致产生顽固乳状液,给二次破碎带来了挑战,因此开发低水分含量的连续破碎技术,减少乳化效应,对扩展水酶法实际应用范围大有裨益。

4 结束语

核桃油含有丰富的营养物质和生物活性物质,然而传统的核桃油提取方法的出油率不高,蛋白质和生物活性物质损失严重。水酶法作为新型的核桃油提取技术具有环境友好、低碳环保等优点,本文重点阐述了水酶法提取核桃油的水酶法关键工艺及在酶制剂、提取技术、工业化生产等方面存在的问题。在水酶法提取核桃油的研究中有许多问题亟待解决,主要体现在以下几个方面:(1)水酶法提取核桃油的专一酶,尤其是国产酶制剂尚待突破;(2)水酶法存在技术单一的问题,复合技术是值得攻克的方向;(3)减少破碎过程中的乳化效应和如何实现三相连续分离。总之,对水酶法提取核桃油的研究还需要更进一步,尤其是加强基础研究以实现水酶法提取核桃油的关键技术的突破。

参考文献

- LIU M, LI C, CAO C, *et al.* Walnut fruit processing equipment: Academic insights and perspectives [J]. *Food Eng Rev*, 2021, 13(4): 822–857.
- GONÇALVES B, PINTO T, AIRES A, *et al.* Composition of nuts and their potential health benefits—An overview [J]. *Foods*, 2023, 12(5): 942.
- HAMA J R, FITZSIMMONS-THOSS V. Determination of unsaturated fatty acids composition in walnut (*Juglans regia* L.) oil using NMR spectroscopy [J]. *Food Anal Method*, 2022, 15(5): 1226–1236.
- RÉBUFA C, ARTAUD J, DRÉAU Y. Walnut (*Juglans regia* L.) oil chemical composition depending on variety, locality, extraction process and storage conditions: A comprehensive review [J]. *J Food Compos Anal*, 2022, 110: 104534.
- GOODARZI H, HASSANI D, POURHOSSEINI L, *et al.* Total lipid and fatty acids components of some Persian walnut (*Juglans regia*) cultivars [J]. *Sci Hortic*, 2023, 321: 112252.
- MWAURAH PW, KUMAR S, KUMAR N, *et al.* Novel oil extraction technologies: Process conditions, quality parameters, and optimization [J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2019, 19(1): 3–20.
- GAO P, LIU R, JIN Q, *et al.* Comparative study of chemical compositions and antioxidant capacities of oils obtained from two species of walnut: *Juglans regia* and *Juglans sigillata* [J]. *Food Chem*, 2019, 279: 279–287.
- GAO P, JIN J, LIU R, *et al.* Chemical compositions of walnut (*Juglans regia* L.) oils from different cultivated regions in China [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2018, 95(7): 825–834.
- GAO P, CAO Y, LIU R, *et al.* Phytochemical content, minor-constituent compositions, and antioxidant capacity of screw-pressed walnut oil obtained from roasted kernels [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2019, 121(1): 1800292.
- RABADÁN A, ÁLVAREZ-ORTÍ M, PARDO JE, *et al.* Storage stability and composition changes of three cold-pressed nut oils under refrigeration and room temperature conditions [J]. *Food Chem*, 2018, 259: 31–35.
- UZUNOVA G. Chemical composition of walnut oil from fruits on different years old branches [J]. *Bulg J Agril Sci*, 2015, 3(21): 494–497.
- 王亚萍, 姚小华, 常君, 等. 水酶法提取薄壳山核桃油脂工艺优化及油脂营养品质分析[J]. *中国油脂*, 2021, 47(5): 1–11.
- WANG YP, YAO XH, CHANG J, *et al.* Optimization of aqueous enzymatic extraction process of pecan oil and its quality analysis [J]. *China Oils Fats*, 2021, 47(5): 1–11.
- GAO P, LIU R, JIN Q, *et al.* Effects of processing methods on the chemical composition and antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.) oil [J]. *LWT*, 2021, 135: 109958.
- GENG Q, CHEN J, GUO R, *et al.* Salt-assisted aqueous extraction combined with Span 20 allow the obtaining of a high-quality and yield walnut oil [J]. *LWT*, 2020, 121: 108956.
- 钱浩杰, 邵海燕, 穆宏磊, 等. 水酶法提取山核桃油脂工艺研究[J]. *核农学报*, 2017, 31(7): 1365–1373.
- QIAN HJ, GAO HY, MU HL, *et al.* Study on the extraction technology of walnut oil by aqueous enzymatic method [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2017, 31(7): 1365–1373.
- LIU C, NI HY, CHANG YH, *et al.* Effects of ultrasonic-microwave assisted extraction with green solvent on the chemical constituents, antioxidant, and hypolipidemic activities of Manchurian walnut oil [J]. *J Food Process Preserv*, 2022, 46(7): e16603.
- CITTADINI MC, MARTÍN D, GALLO S, *et al.* Evaluation of hazelnut and walnut oil chemical traits from conventional cultivars and native genetic resources in a non-traditional crop environment from Argentina [J]. *Eur Food Res Technol*, 2020, 246(4): 833–843.
- 高盼. 我国核桃油的组成特征及其抗氧化和降胆固醇功效评估[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- GAO P. Chemical composition, antioxidant capacity and cholesterol-lowering effect of walnut oil in China [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- 徐雄, 周训会, 陈芳, 等. 植物油角鲨烯含量及其影响因素[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(13): 4328–4334.
- XU X, ZHOU X H, CHEN F, *et al.* Content and influencing factors of squalene in vegetable oil [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(13): 4328–4334.
- GAO P, LIU R, JIN Q, *et al.* Comparison of solvents for extraction of walnut oils: Lipid yield, lipid compositions, minor-component content, and antioxidant capacity [J]. *LWT*, 2019, 110: 346–352.
- GONZÁLEZ-GÓMEZ D, AYUSO YUSTE MC, BLANCO ROQUE C, *et al.* Optimization of enzyme-assisted aqueous method for the extraction of oil from walnuts using response surface methodology [J]. *J Food Process Preserv*, 2019, 43(11): e14218.
- 李晴, 陆胜民, 王阳光, 等. 冷榨法和酶法提取对山核桃油活性成分的影响[J]. *中国油脂*, 2022, 47(2): 23–27.
- LI Q, LU SM, WANG YG, *et al.* Effect of cold pressing and aqueous enzymatic extraction methods on the active ingredients of *Carya cathayensis* oil [J]. *China Oils Fats*, 2022, 47(2): 23–27.
- AQUINO DS, RODERS C, VESSONI AM, *et al.* Assessment of obtaining sunflower oil from enzymatic aqueous extraction using protease enzymes [J]. *Grasas Aceites*, 2022, 73(1): e452.
- FERREIRA IJB, ALEXANDRE EMC, SARAIVA JA, *et al.* Green emerging extraction technologies to obtain high-quality vegetable oils from nuts: A review [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2022, 76: 102931.
- KASEKE T, OPARA UL, FAWOLE OA. Novel seeds pretreatment techniques: Effect on oil quality and antioxidant properties: A review [J]. *J Food Sci Technol*, 2021, 58(12): 4451–4464.
- GAO P, DING Y, CHEN Z, *et al.* Characteristics and antioxidant activity of walnut oil using various pretreatment and processing technologies [J].

- Foods, 2022, 11(12): 1698.
- [27] 赵慧博, 邓健康, 路敏, 等. 水酶法提取核桃油过程中不同破碎方式对核桃油品质的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(2): 272–279.
ZHAO HB, DENG JK, LU M, *et al.* Effects of different comminution methods used during aqueous enzymatic extraction on the quality of walnut oil [J]. Mod Food Sci Technol, 2023, 39(2): 272–279.
- [28] BI S, NIU X, YANG F, *et al.* Roasting pretreatment of walnut (*Juglans regia* L.) kernels: Improvement of the oil flavor profile and correlation with the chemical composition [J]. Food Funct, 2022, 13(21): 10956–10969.
- [29] 王宇凡, 张文斌, 徐琳娜. 酸浸超声预处理辅助水酶法提取火麻籽油[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 169–175.
WANG YF, ZHANG WB, XU LN. Technology for aqueous extraction of hempseed oil by ultrasound-assisted acid immersion pretreatment [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(23): 169–175.
- [30] 程倩, 初柏君, 杨潇, 等. 水酶法提取葵花籽仁油工艺的优化及对油脂品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(17): 6969–6974.
CHEN Q, CHU BJ, YANG X, *et al.* Optimization of aqueous enzymatic extraction process of sunflower seeds oil and the effect on its quality [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(17): 6969–6974.
- [31] 张佳蒙, 刘千千, 王东梅, 等. 氯化钙破乳辅助水酶法提取江永香柚籽油工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(3): 1–12.
ZAHNG JM, LIU QQ, WANG DM, *et al.* Technology of aqueous enzymatic extraction for Jiangyong pomelo seed oil with calcium chloride demulsification [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2022, 37(3): 1–12.
- [32] 盖晴晴. 水酶法提取牡丹籽油工艺改进及水相蛋白特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
GAI QQ. Process improvement on aqueous enzymatic extraction of peony seed oil and investigation on protein properties [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [33] BROXTERMAN SE, SCHOLS HA. Interactions between pectin and cellulose in primary plant cell walls [J]. Carbohydr Polym, 2018, 192: 263–272.
- [34] 陈翠芹, 蔡玉琳, 段爽, 等. 水酶法提取核桃油工艺研究及卫生指标检测[J]. 食品工程, 2017, (2): 22–25.
CHEN CQ, CAI YL, DUAN S, *et al.* Study on extraction of walnut oil by enzymatic hydrolysis and detection of health indicators [J]. Food Eng, 2017, (2): 22–25.
- [35] 李亚萍. 基于复合酶法提取核桃油工艺条件的优化[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(16): 221–223.
LI YP. Optimization of process conditions for extracting walnut oil based on compound enzymatic method [J]. Jiangsu Agric Sci, 2019, 47(16): 221–223.
- [36] 孙敬敬. 核桃仁的脱酚及其水酶法加工研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
SUN JJ. Dephenolization and enzyme assisted aqueous extraction of walnut [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [37] 张丽, 李雅雯, 侯旭杰. 响应面法优化水酶法提取核桃油工艺及其细胞形态研究[J]. 食品工业, 2015, 36(2): 88–93.
ZAHNG L, LI YW, HOU XJ. Optimization on aqueous enzymatic extraction condition of walnut oil by response surface methodology [J]. Food Ind, 2015, 36(2): 88–93.
- [38] WANG D, YUAN Y, XIE T, *et al.* Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) oil: Optimization and quality evaluation [J]. Ind Crop Prod, 2023, 191: 116021.
- [39] LIU C, HAO L, CHEN F, *et al.* Study on extraction of peanut protein and oil bodies by aqueous enzymatic extraction and characterization of protein [J]. J Chem, 2020, 2020: 1–11.
- [40] SORITA GD, FAVARO SP, AMBROSI A, *et al.* Aqueous extraction processing: An innovative and sustainable approach for recovery of unconventional oils [J]. Trends Food Sci Technol, 2023, 133: 99–113.
- [41] LIU W, XIAO B, YANG G, *et al.* Rapid salt-assisted microwave demulsification of oil-rich emulsion obtained by aqueous enzymatic extraction of peanut seeds [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2020, 122(2): 1900120.
- [42] CHEN J, YU X, GENG Q, *et al.* Combination of Span 20 and pH-assisted walnut oil extraction during aqueous extraction process [J]. LWT, 2018, 91: 477–483.
- [43] THILAKARATHNA RCN, SIOW LF, TANG T, *et al.* A review on application of ultrasound and ultrasound assisted technology for seed oil extraction [J]. J Food Sci Technol, 2022, 66: 1222–1236.
- [44] DENG Y, WANG W, ZHAO S, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of lipids as food components: Mechanism, solvent, feedstock, quality evaluation and coupled technologies-A review [J]. Trends Food Sci Technol, 2022, 122: 83–96.
- [45] GHASEMI YZ, TAGHIAN DS. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction of walnut kernel oil using response surface methodology [J]. J Food Process Eng, 2018, 41(5): e12696.
- [46] HU B, LI Y, SONG J, *et al.* Oil extraction from tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) using the combination of microwave-ultrasonic assisted aqueous enzymatic method-design, optimization and quality evaluation [J]. J Chromatogr A, 2020, 1627: 461380.
- [47] NIU R, ZHOU L, CHEN F, *et al.* Effect of enzyme on the demulsification of emulsion during aqueous enzymatic extraction and the corresponding mechanism [J]. Cere Chem, 2021, 98(3): 594–603.
- [48] YUSOFF M, GORDON MH, NIRANJAN K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review [J]. Trends Food Sci Technol, 2015, 41(1): 60–82.
- [49] XU L, HE W, LU M, *et al.* Enzyme-assisted ultrasonic-microwave synergistic extraction and UPLC-QTOF-MS analysis of flavonoids from Chinese water chestnut peels [J]. Ind Crop Prod, 2018, 117: 179–186.
- [50] MASOODI L, GULL A, MASOODI FA, *et al.* An overview on traditional vs. green technology of extraction methods for producing high quality walnut oil [J]. Agron, 2022, 12(10): 2258.
- [51] ZHANG Y, SUN Q, LIU S, *et al.* Extraction of fish oil from fish heads using ultra-high pressure pre-treatment prior to enzymatic hydrolysis [J]. Innov Food Sci Emerg, 2021, 70: 102670.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



邓健康, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品科学与工程。
E-mail: dengjk1989@163.com



夏君霞, 正高级工程师, 主要研究方向为食品科学与工程。
E-mail: yangyuanshengjibu@hbyangyuan.com