

分类号:

学 号: 20202111040

密 级: 内部三年

单位代码: 10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



南瓜籽油的水酶法提取及其品质评价

学 位 申 请 人	何佳琪
指 导 教 师	刘娅 教授 吴宏 研究员
申 请 学 位 类 别	专业硕士
专 业 名 称	农业硕士
研 究 领 域	食品加工与安全
所 在 学 院	食品学院

中国·新疆·石河子

2022年6月

分类号：
学 号：20202111040

密 级：内部三年
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



南瓜籽油的水酶法提取及其品质评价

学 位 申 请 人	何佳琪
指 导 教 师	刘娅 教授 吴宏 研究员
申 请 学 位 类 别	专业硕士
专 业 名 称	农业硕士
研 究 领 域	食品加工与安全
所 在 学 院	石河子大学食品学院

中国·新疆·石河子

2022 年 6 月

**Aqueous Enzymatic Extraction of Pumpkin Seed Oil and Its
Quality Evaluation**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Agriculture

By

He jia-qi

(Food Processing and Safety)

Dissertation Supervisor: Prof. Liu ya, Prof. Wu hong

June, 2022

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：何佳琪

时间：2022 年 6 月 8 日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：何佳琪

时间：2022 年 6 月 8 日

导师签名：刘娅

时间：2022 年 6 月 8 日

摘要

南瓜籽中油脂含量丰富，是优质的油料资源，从中提取得到的南瓜籽油香味独特，营养价值高，可用于烹饪，还可作为保健食品。新疆的南瓜籽资源丰富，但其加工利用率低，增值有限，且目前南瓜籽油加工技术落后，处于初级阶段。为此，本研究针对目前南瓜籽油制取技术存在的问题，利用绿色、安全的水酶法提取南瓜籽油，确定南瓜籽油的最佳提取条件，分析对比南瓜籽油的品质和挥发性物质，评估南瓜籽油的货架期。主要研究内容和结果如下：

1.水酶法提取南瓜籽油的研究。以裸仁南瓜籽为原料，在 80 °C 下烘烤 30 min，粉碎后过 40 目筛，通过单因素和响应面优化试验，确定了水酶法提取南瓜籽油的最优条件：将南瓜籽粉与水按 1:6 混合，调节 pH 为 6，将中性蛋白酶与纤维素酶 1:1 复配，添加量 2300 U/g，在 50 °C 下酶解 3 h，南瓜籽油的提取率可达 63.61%。

2.超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的研究。在水酶法基础上，辅以超声波技术，通过单因素和响应面优化试验，确定超声辅助水酶法提取南瓜籽油的最优条件：超声处理温度 40 °C、超声功率 300 W、超声处理时间 8 min，南瓜籽油的提油率可达 72.23%，比水酶法提高了 8.62%。

3.南瓜籽油的品质评价。

对水提法、水酶法、超声波辅助水酶法及压榨法四种不同工艺所提南瓜籽油进行品质评价。

(1) 理化指标检测。发现超声波辅助水酶法得到的油脂碘值最高，达 129 g/100g；压榨法制取南瓜籽油的酸价和过氧化值均最高，分别为 1.7mg/g、2.4 mmol/kg。四种方法提取油脂的理化指标均符合国家标准。

(2) 脂肪酸组成检测。发现超声波辅助水酶法所提南瓜籽油的脂肪酸组成与水酶法差别不大，且二者饱和脂肪酸质量分数为 (16.92±0.08) %，主要为棕榈酸和硬脂酸；单不饱和脂肪酸质量分数为 (29.79±0.11) %，主要为油酸；多不饱和脂肪酸质量分数为 (52.80±0.21) %，主要以亚油酸和亚麻酸为主。

(3) 生育酚及植物甾醇的含量的测定。在超声辅助法提取南瓜籽油中的总甾醇含量、 α -生育酚和 γ -生育酚含量最高，分别为 202 mg/100g 和 3.62 mg/100g、75.4 mg/100g，水酶法提取南瓜籽油的 δ -生育酚含量最高，为 1.34 mg/100g。水提法样品组中甾醇和生育酚含量均最低。

(4) 挥发性成分分析，水提法、水酶法、超声波辅助水酶法和压榨法制取的南瓜籽油中共检测出 95 种挥发性物质，主要包括醛类、烃类、酮类和杂环类。不同提取方法得到的南瓜籽油，挥发性物质数量不同，以压榨法最多，达 74 种，对照组和水酶法居中，分别为 65 种和 63 种，超声波辅助水酶法最少，有 60 种。并利用 ROAV 值确定了四种南瓜籽油的主体挥发性成分。

(5) 将超声波辅助水酶法制取的南瓜籽油与市售葵花籽油、花生油、胡麻籽油、红花籽油进行

挥发性成分分析，共检测出 120 种挥发性物质，主要包括醛类、酮类、烃类、醇类、萜烯类等。不同品种植物油，挥发性物质数量不同，胡麻籽油和南瓜籽油最多，均为 60 种，其次为花生油和红花籽油，分别为 58 种和 40 种，葵花籽油最少，仅有 35 种。通过聚类热图分析，发现挥发性物质可作为区分不同种类植物油的判别方式。

4.南瓜籽油的货架期研究。以过氧化值为指标，采用 Arrhenius 方程建立南瓜籽油的货架期模型，得出南瓜籽油在 25 °C条件下密封、避光储藏的货架期预测值为 68 d。添加 0.02%的抗氧化剂 TBHQ，将南瓜籽油的货架期延长至 84 d，说明添加抗氧化剂可以有效延长南瓜籽油的货架期。

关键词：南瓜籽油；水酶法；品质评价；货架期

Abstract

Pumpkin seed is rich in oil and is a high-quality oil resource. The pumpkin seed oil extracted from pumpkin seed has unique flavor and high nutritional value. It can be used for cooking and health food. Xinjiang is rich in pumpkin seed resources, but its processing and utilization rate is low and its value-added is limited. At present, the processing technology of pumpkin seed oil is backward and in the primary stage. Therefore, aiming at the problems existing in the current pumpkin seed oil preparation technology, this study uses the green and safe water enzyme method to extract pumpkin seed oil, determines the best extraction conditions of pumpkin seed oil, analyzes and compares the quality and volatile substances of pumpkin seed oil, and evaluates the shelf life of pumpkin seed oil. The main research contents and results are as follows:

1. Study on water enzymatic extraction of pumpkin seed oil. Using naked kernel pumpkin seed as raw material, it was baked at 80 °C for 30 minutes, crushed and sieved through 40 mesh. Through single factor and response surface optimization test, the optimal conditions for aqueous enzymatic extraction of pumpkin seed oil were determined: pumpkin seed powder was mixed with water at 1:6, pH was adjusted to 6, neutral protease and cellulase were mixed at 1:1, the addition amount was 2300 U/g, and enzymatic hydrolysis at 50 °C for 3 hours, the extraction rate of pumpkin seed oil could reach 63.61%.

2. Study on ultrasonic assisted aqueous enzymatic extraction of pumpkin seed oil. On the basis of aqueous enzymatic method, supplemented by ultrasonic technology, through single factor and response surface optimization test, the optimal conditions for ultrasonic assisted aqueous enzymatic method to extract pumpkin seed oil were determined: ultrasonic treatment temperature 40 °C, ultrasonic power 300 W and ultrasonic treatment time 8 min. the oil extraction rate of pumpkin seed oil was 72.23%, which was 8.62% higher than that of aqueous enzymatic method.

3. Quality evaluation of pumpkin seed oil.

The quality of pumpkin seed oil extracted by water extraction, water enzyme method, ultrasonic assisted water enzyme method and pressing method was evaluated.

(1) The results of physical and chemical indexes showed that the iodine value of oil obtained by ultrasonic assisted hydroenzymatic method was the highest, up to 129 g/100g; The acid value and peroxide value of pumpkin seed oil obtained by pressing method were the highest, which were 1.7mg/g and 2.4 mmol/kg respectively. The physicochemical indexes of oil extracted by the four methods meet the national standards.

(2) The fatty acid composition of pumpkin seed oil extracted by ultrasonic assisted hydroenzymatic method was not different from that of hydroenzymatic method, and the mass fraction of saturated fatty acid

was (16.92 ± 0.08)%, mainly palmitic acid and stearic acid; The mass fraction of monounsaturated fatty acid was (29.79 ± 0.11)%, mainly oleic acid; The mass fraction of polyunsaturated fatty acids was (52.80 ± 0.21)%, mainly linoleic acid and linolenic acid.

(3) Determination of tocopherol and phytosterol. Extraction of pumpkin seed oil by ultrasonic assisted method its total sterol content, α - Tocopherol and γ - Tocopherol content was the highest, 202 mg/100g, 3.62 mg/100g and 75.4 mg/100g, extraction of pumpkin seed oil by aqueous enzymatic method respectively δ - Tocopherol content was the highest, 1.34 mg/100g. The contents of sterol and tocopherol in the water extraction sample group were the lowest.

(4) Analysis of volatile components. A total of 95 volatile substances were detected in pumpkin seed oil prepared by water extraction, water enzyme method, ultrasonic assisted water enzyme method and pressing method, mainly including aldehydes, hydrocarbons, ketones and heterocycles. The amount of volatile substances in pumpkin seed oil obtained by different extraction methods is different. The pressing method is the most, up to 74 species, the control group and water enzyme method are in the middle, 65 species and 63 species respectively, and the ultrasonic assisted water enzyme method is the least, with 60 species. The main volatile components of four pumpkin seed oils were determined by roav value.

(5) The volatile components of pumpkin seed oil prepared by ultrasonic assisted hydroenzymatic method and commercial sunflower seed oil, peanut oil, flax seed oil and safflower seed oil were analyzed. A total of 120 volatile substances were detected, mainly including aldehydes, ketones, hydrocarbons, alcohols and terpenes. Different varieties of vegetable oils have different amounts of volatile substances. Flax seed oil and pumpkin seed oil are the most, with 60 species, followed by peanut oil and safflower seed oil, with 58 and 40 species respectively, and sunflower seed oil is the least, with only 35 species. Through cluster heat map analysis, it is found that volatile substances can be used as a way to distinguish different kinds of vegetable oils.

4. Study on shelf life of pumpkin seed oil. Taking the peroxide value as the index, the shelf-life model of pumpkin seed oil was established by Arrhenius equation. The predicted shelf-life of pumpkin seed oil sealed and stored away from light at 25 °C was 68 days. Adding 0.02% antioxidant TBHQ extended the shelf life of pumpkin seed oil to 84 days, indicating that adding antioxidants can effectively prolong the shelf life of pumpkin seed oil.

Key words: pumpkin seed oil; aqueous enzymatic method; aliphatic acid; volatileness; shelf life

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
第 1 章 文献综述.....	1
1.1 概述.....	1
1.1.1 南瓜籽概述.....	1
1.1.2 南瓜籽油概述.....	1
1.1.3 南瓜籽油的保健功能.....	2
1.1.4 南瓜籽油提取方法的研究现状.....	3
1.1.5 水酶法提油的研究现状.....	4
1.1.6 油脂货架期研究.....	5
1.2 立题的背景和意义.....	6
1.3 本课题研究内容.....	7
1.4 技术路线.....	8
第 2 章 水酶法提取南瓜籽油的研究.....	9
2.1 材料与仪器.....	9
2.1.1 材料与试剂.....	9
2.1.2 仪器与设备.....	10
2.2 试验方法.....	10
2.2.1 南瓜籽的成分分析.....	10
2.2.2 水酶法提取南瓜籽油的工艺流程.....	10
2.2.3 数据分析.....	12
2.3 结果与分析.....	12
2.3.1 南瓜籽的基本成分.....	12
2.3.2 酶制剂种类的筛选.....	13
2.3.3 水酶法提取南瓜籽油的单因素试验结果.....	14
2.3.4 水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验.....	17
2.4 本章小结.....	22
第 3 章 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的研究.....	23
3.1 材料与仪器.....	23
3.1.1 材料与试剂.....	23
3.1.2 仪器与设备.....	23

3.2	试验方法.....	24
3.2.1	超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的工艺流程.....	24
3.2.2	数据分析.....	25
3.3	结果与分析.....	25
3.3.1	超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的单因素试验结果.....	25
3.3.2	超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验.....	27
3.4	本章小结.....	30
第4章	南瓜籽油的品质评价及挥发性成分分析.....	31
4.1	材料与仪器.....	31
4.1.1	材料与试剂.....	31
4.1.2	仪器与设备.....	32
4.2	试验方法.....	32
4.2.1	南瓜籽油样制备.....	32
4.2.2	南瓜籽油理化特性测定.....	32
4.2.3	南瓜籽油脂肪酸组成分析.....	33
4.2.4	南瓜籽油中生育酚的检测.....	33
4.2.5	南瓜籽油中甾醇的检测.....	33
4.2.6	南瓜籽油中挥发性成分的分析.....	33
4.2.7	数据分析.....	34
4.3	试验结果分析.....	34
4.3.1	南瓜籽油的基本理化指标的对比.....	34
4.3.2	南瓜籽油脂肪酸组成的差异.....	35
4.3.3	南瓜籽油的营养成分.....	37
4.3.4	南瓜籽油中挥发性成分的分析对比.....	37
4.3.5	南瓜籽油与市售植物油的挥发性成分分析对比.....	49
4.4	本章小结.....	53
第5章	南瓜籽油的货架期研究.....	54
5.1	材料与仪器.....	54
5.1.1	材料与试剂.....	54
5.1.2	仪器与设备.....	54
5.2	试验方法.....	55
5.2.1	温度对南瓜籽油氧化稳定性的影响.....	55
5.2.2	抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响.....	55
5.2.3	氧化稳定性指标的测定.....	55

5.2.4 南瓜籽油氧化动力学预测模型的建立.....	55
5.2.5 南瓜籽油货架期预测.....	55
5.2.6 数据分析.....	56
5.3 结果与分析.....	56
5.3.1 温度对南瓜籽油氧化稳定性的影响.....	56
5.3.2 抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响.....	57
5.3.3 南瓜籽油的氧化动力学预测模型的建立.....	58
5.3.4 南瓜籽油货架期预测.....	59
5.4 本章小结.....	61
第 6 章 主要结论与展望.....	62
6.1 结论.....	62
6.2 创新点.....	63
6.3 展望.....	63
参考文献.....	64
致谢.....	71
作者简介.....	72

第 1 章 文献综述

1.1 概述

1.1.1 南瓜籽概述

南瓜属于葫芦科 (*Cucurbitaceae*) 南瓜属 (*Cucurbita*)，在世界范围内均有广泛种植，欧洲和南美洲的种植面积均位于亚洲之下，其具有抗逆性强、产量高等特性^[1-3]。南瓜属于根茎类和种子类菜，其花朵、果实和种子中维生素 A、C、E 和膳食纤维含量极高，具有良好的营养、经济、保健和药用价值。其次，南瓜的果皮、果肉、南瓜籽油等相关产品中，含有抗病毒、抗肿瘤等多种功能的活性成分^[4]。

南瓜可分中国南瓜 (*C.moschata*)、美洲南瓜 (*C.pepo*)、印度南瓜 (*C.maxima*)、灰籽南瓜 (*C.mixta*) 和黑籽南瓜 (*C.ficifolia*) 5 大种类^[5]。并且还按食用、药用、籽用、观赏等分为不同用途的南瓜类别^[6]，籽用南瓜是将种子作为主要食用和加工部分。目前，我国籽用南瓜主产地位于黑龙江、内蒙古、新疆、甘肃等省^[7]。

南瓜籽别称南瓜仁、白瓜子，是南瓜的成熟种子，属南瓜产品中的重要部分。南瓜籽作为油料作物拥有种子粒大、脂肪含量高等优势，同时也是我国的传统特产和外贸产品^[8-9]。分析检测表明，我国籽用南瓜籽除了脂肪含量 (37.94%~59.36%) 丰富外，还含有钾、镁、硒、锌、铜、钼和铬等大量的矿物质元素^[10-12]，以及生育酚、类胡萝卜素等生物活性物质^[13]。因此，南瓜籽具有降血压、预防动脉硬化和预防前列腺疾病等功效^[14-15]。

1.1.2 南瓜籽油概述

南瓜籽油呈红色至深棕色、具有独特的滋味，富含多不饱和脂肪酸、维生素、植物甾醇、和生育酚等营养物质^[16-18]。尤其是油酸和亚油酸等不饱和脂肪酸，以及其他多种生物活性成分，不但使南瓜籽油具有较高的营养价值，还能起到降血压、缓解糖尿病，抑制良性前列腺肥大、减少癌症发病率等作用^[19-22]。因此，南瓜籽油是一种营养含量高且具有保健作用的新型食品。

1.1.2.1 脂肪酸组成

气候、品种、工艺为影响南瓜籽油的脂肪酸组成的主要因素。王晓等^[23]从南瓜籽油中鉴定出 12 种脂肪酸成分，对比不同植物油亚油酸含量发现：南瓜籽油(38.60%)>花生油(37.60%)>菜籽油(14.2%)。Stevenson 等^[24]选取艾奥瓦州栽培的南瓜为原料提取油脂，测得

其中总不饱和脂肪酸的含量在 73.19%~80.50%之间, 而不饱和脂肪酸具有提高免疫力、抗衰老、软化血管等功效。由此可见, 南瓜籽油具有很高的营养价值^[25]。

1.1.2.2 其他组成成分

V_E 抗氧化能力较强, 有延缓人体衰老和抑制肿瘤等功效, 同时 V_E 还能作为血管扩张剂和抗凝血剂^[26-27]。研究表明, 人体所需 V_E 约 70%来自于植物油, 而南瓜籽油中 V_E 含量为 106.45~123.22 mg/100g^[28]。

不同的品种和制油工艺, 一定程度上影响南瓜籽油中活性物质的含量^[29]。孔凡等^[30]利用三种不同方法分别制取南瓜籽油, 发现超临界二氧化碳萃取法样品中富含生育酚和角鲨烯, 且含量高于其他两种方法。陈田等人^[31]通过提取裸仁南瓜籽油, 发现其含有 Δ -7 植物甾醇 (10.77%)、 β -谷甾醇 (30.75%); 尤其是角鲨烯含量分别是亚麻籽油、葡萄籽油的 279 倍、80 倍, 高达 5490 μ g/g。

类胡萝卜素是一种可以使油脂呈黄红色的天然色素, 其具有保护视觉、提高免疫力的功效^[32-33]。Procida 等^[34]收集了 12 种产地不同的南瓜籽油, 测得其中玉米黄素含量为 98~114 mg/kg, 叶黄素的含量为 93~121 mg/kg。Parry 等^[35]利用液相色谱法检测出南瓜籽油中类胡萝卜素的组成, 主要包括玉米黄素(28.52 mg/kg)、隐黄素(4.91 mg/kg), β -胡萝卜素(5957.6 μ g/kg)和叶黄素(270.1 μ g/kg)。

1.1.3 南瓜籽油的保健功能

南瓜籽油作为一种新型保健食用油, 具有预防前列腺增生、降血糖、降血压和抗氧化等作用^[36-38]。

1.1.3.1 对男性前列腺疾病的预防和保健作用

有研究表明, 南瓜籽油甾醇能降低前列腺组织中生长因子的 mRNA 表达水平, 增高促凋亡因子的表达量, 起到减小前列腺组织体积的效果, 从而有效降低男性前列腺疾病得率^[39]。Adel 等^[40]首先使用外源激素丙酸睾酮诱导大鼠前列腺增生, 再用南瓜籽油单独喂养 BPH 模型大鼠, 观察病理切片等发现, 南瓜籽油可明显改善增生、减小前列腺增大。

1.1.3.2 对糖尿病的预防和保健作用

南瓜籽油中的不饱和脂肪酸能够使人体内胰岛素水平升高, 进而使血糖降低, 对治疗糖尿病有一定疗效^[41]。另外锌是组成胰岛素分子成分之一, 锌的缺失也会提高糖尿病发生的机率, 而南瓜籽锌元素含量丰富, 适量食用可满足人体日常所需^[42]。

1.1.3.3 对心脑血管疾病的预防和保健作用

南瓜籽油中富含的不饱和脂肪酸，能够降低血清胆固醇和甘油三酯的含量，具有调节胆固醇、预防冠心病、提高记忆力等保健功能^[43]。尤其是，南瓜籽油中还含有角鲨烯和生育酚等生物活性物质，角鲨烯是性能优良的血液输氧剂和生物抗氧化剂，生育酚同样是血管扩张剂和抗凝血剂；共同作用于机体可以增强免疫力，预防和治疗心血管疾病^[44]。

1.1.4 南瓜籽油提取方法的研究现状

目前，南瓜籽油的常见提取方法包括压榨法、有机溶剂萃取法、超声波辅助法、超临界流体萃取法和水酶法等。

1.1.4.1 压榨法

压榨法是传统的榨油方法，热榨、冷榨油料前处理后，使用压榨机依靠机械外力把油料中油脂分离出来。压榨制得的毛油还需经过精炼处理后可以食用，精炼过程会损失南瓜籽油中的营养元素，使其营养价值降低。甄成等^[45]改进了热榨预处理方式为，控制水分在6%以内，将南瓜籽炒至八成熟；此工艺所得南瓜籽油在保证出油率的前提下，还具有南瓜籽油独特的香味。

1.1.4.2 有机溶剂萃取法

有机溶剂萃取法是以有机溶剂为载体将油料中的油脂萃取出来。孔爱明等^[46]利用三种不同溶剂研究南瓜籽油有机溶剂萃取法，在提取条件为54℃、5h情况下，确定最佳提取溶剂为乙醚，提油率达47.29%。该法制得的南瓜籽油各项理化指标均符合国家食用油标准。

1.1.4.3 超声波辅助法

超声波辅助提取技术是将超声波与其他油脂提取方法共同作用于油料，达到提取油脂的目的。其原理是超声波提高了分子运动频率，引起油料细胞分子间强烈振动，产生空化效应，强化油脂提取分离过程中的速率和效果，从而使油脂释放出来^[47]。王小溪等^[48]通过考察了超声频率、功率和时间等单因素对南瓜籽油得率的影响，发现超声频率59kHz、选取石油醚作为提取溶剂、提取时间35min，南瓜籽与有机溶剂以1:6混合、提取温度60℃，提取去壳南瓜籽油得率为39.04%。

1.1.4.4 超临界流体萃取法

CO₂在将要达到临界点时具有高溶解性、高扩散性、高渗透性，超临界CO₂萃取法(SC-CO₂)便是利用这些特性对油脂及其活性物质进行分离提取。是崔淑兰等^[49]利用该法

制取南瓜籽油，确定最佳提取条件为：在萃取温度为35 °C情况下，以35 MPa的压力，萃取120 min，南瓜籽油得率为34.4%，能较好地保持南瓜籽油脂的稳定性。

结合已有文献，南瓜籽油常见的提取工艺及优缺点见表 1-1：

表 1-1 南瓜籽油常见的提取工艺及优缺点

Tab.1-1 Common extraction technology, advantages and disadvantages of pumpkin seed oil

提取方法	优点	缺点
压榨法	基本保留油脂中有效成分，具有天然风味	油脂提取率较低、高温改变油脂性质，破坏油脂中脂肪酸的稳定性，芳香性成分大量挥发
有机溶剂萃取法	提油率高于机械压榨法	提取时间长；可处理样品数量少；污染环境；过程繁琐
超声波法	提取效率高、提取速度快、溶剂消耗少	不能大规模应用
超临界流体萃取法	集提取和分离于一体；无有机溶剂残留；价格低廉；环境友好	成本高

1.1.5 水酶法提油的研究现状

1.1.5.1 水酶法提油原理

水酶法是在水剂法的基础上新近发展起来的一种提油方法。在油料种籽细胞中，油脂通常是以脂多糖和脂蛋白的形式存在，而这些物质被纤维素、半纤维素、木质素和果胶组成的细胞壁包裹^[50]。因此使用机械力根据物料的种类将植物种籽破碎到一定程度，然后加水、酶制剂，并在适宜的酶添加量、酶解温度等条件下酶解一定时间，利用相应酶作用于细胞壁将油脂、碳水化合物和蛋白质等物质，从固体油料作物中缓慢释放出来，再利用非油成分对油和水亲和力的差异以及油水比重不同的特点将油与非油成分离心分离，同时也能避免蛋白质损失^[51]。

1.1.5.2 水酶法提取油脂的研究现状

早在 1975 年，水酶法技术就已经开始崭露头角，Dominguez 等^[52]通过概述酶法提取植物油脂的研究进展，详细阐明了酶解机理，供后续研究进行参考。随后，越来越多的学者开始研究水酶法提取花生油、菜籽油、葵花籽油的工艺条件。

目前，主要用于油脂提取的酶类有果胶酶、纤维素酶、蛋白酶、淀粉酶等。酶制剂种类不同，作用效果也不同，物料的组成结构和工艺特点与酶制剂种类的选取有直接联系。Sajid Latif 等^[53]利用复合多糖酶提取葵花籽油，发现其提油率显著高于使用碱性蛋白酶、中性蛋白酶和纤维素酶的实验组；Lamsal 等^[54]提取大豆油时发现碱性蛋白酶比纤维素酶更能提高油脂提取率；Aparna Sharma 等^[55]表明淀粉酶更适用于提取米糠油，米

糠油在不同酶的作用下,提取率分别为:淀粉酶(78.12%)>蛋白酶(75.89%)>纤维素酶(76.34%)。

孙立斌等^[56]通过响应面优化确定南瓜籽油最佳酶解条件为:加酶量2.0%、酶解温度50℃、酶解时间4.5h、酶解pH7.0,此时南瓜籽油提取率为72.6%。袁德成等^[57]利用水酶法提取紫苏油的最佳工艺参数:最佳酶制剂为碱性蛋白酶,加酶量2.75%、温度56.1℃、时间5.25h、pH9.5,液固比9.97:1(mL/g),紫苏出油率可达到37.65%。由于油料组成体系复杂,使用单一酶酶解程度有限,所以使用复合酶提取油脂的研究也越来越多。Mohammad Balvardi等^[58]采用水酶法制取杏仁油发现,蛋白酶与纤维素酶复配时的提油率远高于单一使用蛋白酶和纤维素酶。陈松^[59]在提取沙棘果油的研究中也发现,复配使用果胶酶和纤维素酶比单一使用两种酶制剂的效果更好。继而有研究发现,按照反应顺序添加酶制剂的提油率更高。李扬等^[60]在前0.75h先使用纤维素复合酶进行反应,后使用Alcalase碱性内切蛋白酶单独反应,大豆出油率为81.04%,说明单独进行有利于分开调节不同酶的酶解温度、pH等,更能够使不同酶达到各自的最佳反应状态。

1.1.5.3 水酶法提油的优势与不足

水酶法作为一种新型提油技术,其工艺条件温和,油脂品质好且绿色安全,提油率高^[61]。覃健龙等^[62]比较了冷榨法、溶剂法及水酶法三种不同工艺提取葵花油的各项指标,发现油脂理化品质差别较大,冷榨法的酸价、过氧化值高于水酶法和溶剂法,但脂肪酸组成无显著差别;而溶剂法氧化稳定性优于水酶法和冷榨法。易建华等^[63]得出相同结论:水酶法提取核桃油的抗氧化能力不如溶剂法,但油脂品质优于溶剂法。

目前水酶法提油未能在实际工厂生产中大量应用主要原因为:一是酶制剂价格昂贵、成本高;二是乳状液形成大大影响提油率;三是酶制剂选择性较强,需根据油料实际情况进行摸索。

1.1.6 油脂货架期研究

货架期是指食品在贩卖期间必须确保其理化指标、感官特性在安全范围内。

1.1.6.1 油脂氧化机理

油脂氧化导致的哈败,为油脂储运期间最大的品质劣变。除了受光照、酶、温度等因素的影响,自动氧化最主要的影响因素,但在自动氧化过程中,一般会先发生光敏氧化及金属氧化,产生自由基后才能给自动氧化提供足够的活化能,从而诱发油脂自身在链引发阶段产生自由基发生氧化^[64]。曹文明^[65]等人对脂质氧化的进程做了分析,发现油脂氧化分阶段进行,不同阶段产物不同,前期产物对油脂品质影响不大,而后期产物主要为影响油脂气味的挥发性物质,如:醛、酮、烯、醇等。

1.1.6.2 影响油脂货架期的内部因素

脂肪酸组成、自身所含抗氧化物质及金属离子的种类和含量等这些内部因素都会影响油脂氧化。研究显示，油脂的氧化速率受脂肪酸的双键数目和位置的影响，如：含共轭双键脂肪酸易氧化；顺式脂肪酸抗氧化效果不如反式脂肪酸；亚麻酸的氧化速率比亚油酸和油酸分别高2倍、20倍^[66]。但生育酚、甾醇、角鲨烯等内源性抗氧化剂，能够延缓油脂氧化。

1.1.6.3 影响油脂货架期的外部因素

油脂中氧气的含量是导致油脂氧化的主要原因。Del Nobile M^[67]，Sacchi R^[68]等人探究食品包装材质和顶空对油脂的影响，发现玻璃密封性好、物质传递较少，防止油脂氧化效果最好；而顶空体积越小、含氧量越低越利于油脂储存。

温度对油脂氧化也有较大影响。油脂氧化的机理、反应产物在不同温度下有不同表现。贝雷^[69]发现油脂放置于100℃时会发生自动氧化；油脂氧化反应在100~200℃范围内较为复杂；热聚合反应发生在200~300℃；热氧化反应发生在300℃及以上。

环境的光照强度也是引起油脂光氧化，Manzocco L^[70]等人通过选择0~8000 Lux的光照强度来探究不同光照对油脂货架期的影响，通过测定过氧化值及氧化速率发现，光照强度越高时，光照对油脂氧化的作用越明显。

水分含量与油脂氧化速率成正比，反之，水分含量过低也会提高油脂的氧化速率，因为当水含量低时，金属催化活性大大升高。油脂的存放的稳定条件为控制油脂中水分含量在0.2%左右，最利于油脂的稳定^[71]。

1.1.6.4 油脂货架期快速预测方法

现有的货架期加速实验方法主要包括：Schaal烘箱试验（Schaal Oven Test）；Rancimat法（OSI法）等^[72]。受实验时间的限制，一般在使用以上方法的基础上，再根据实际情况控制贮藏条件来建立货架期模型。

1.2 立题的背景和意义

南瓜籽中油脂含量丰富，是优质的油料资源，从中提取得到的南瓜籽油香味独特，可用于烹饪，并富含生物活性物质，具有抗衰老、预防前列腺和心脑血管疾病等功效^[73]。新疆的南瓜籽资源丰富，但其加工利用率低，增值有限。绿色、安全的水酶法作为南瓜籽制油工艺的一种，尚未能工业化应用。目前，对南瓜籽油品质评价的研究不全面，对其营养成分、挥发性成分及储藏稳定性的研究较少，不利于南瓜籽油的产品开发。因此，本课题旨在优化水酶法提取南瓜籽油的生产工艺，测定南瓜籽油的功能性品质指标，明确不同工

艺、不同品种植物油挥发性成分组成, 确定适宜的储存条件。对于提升新疆南瓜籽资源的高值化利用, 具有重要理论意义和实践参考价值。

1.3 本课题研究内容

(1) 水酶法提取南瓜籽油的研究

以裸仁南瓜籽为原料, 首先采用单一酶及复合酶提取南瓜籽油, 确定适宜南瓜籽油提取的酶制剂。然后分别考察加酶量、酶解温度、pH 值、液料比和酶解时间对提油率的影响, 依据响应面优化试验, 确定水酶法提取南瓜籽油的最佳工艺条件。

(2) 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的研究

在水酶法提取南瓜籽油的基础上, 辅以超声波提取技术, 考察超声处理温度、超声功率和超声处理时间对提油率的影响, 依据响应面优化试验, 确定超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的最佳工艺条件。

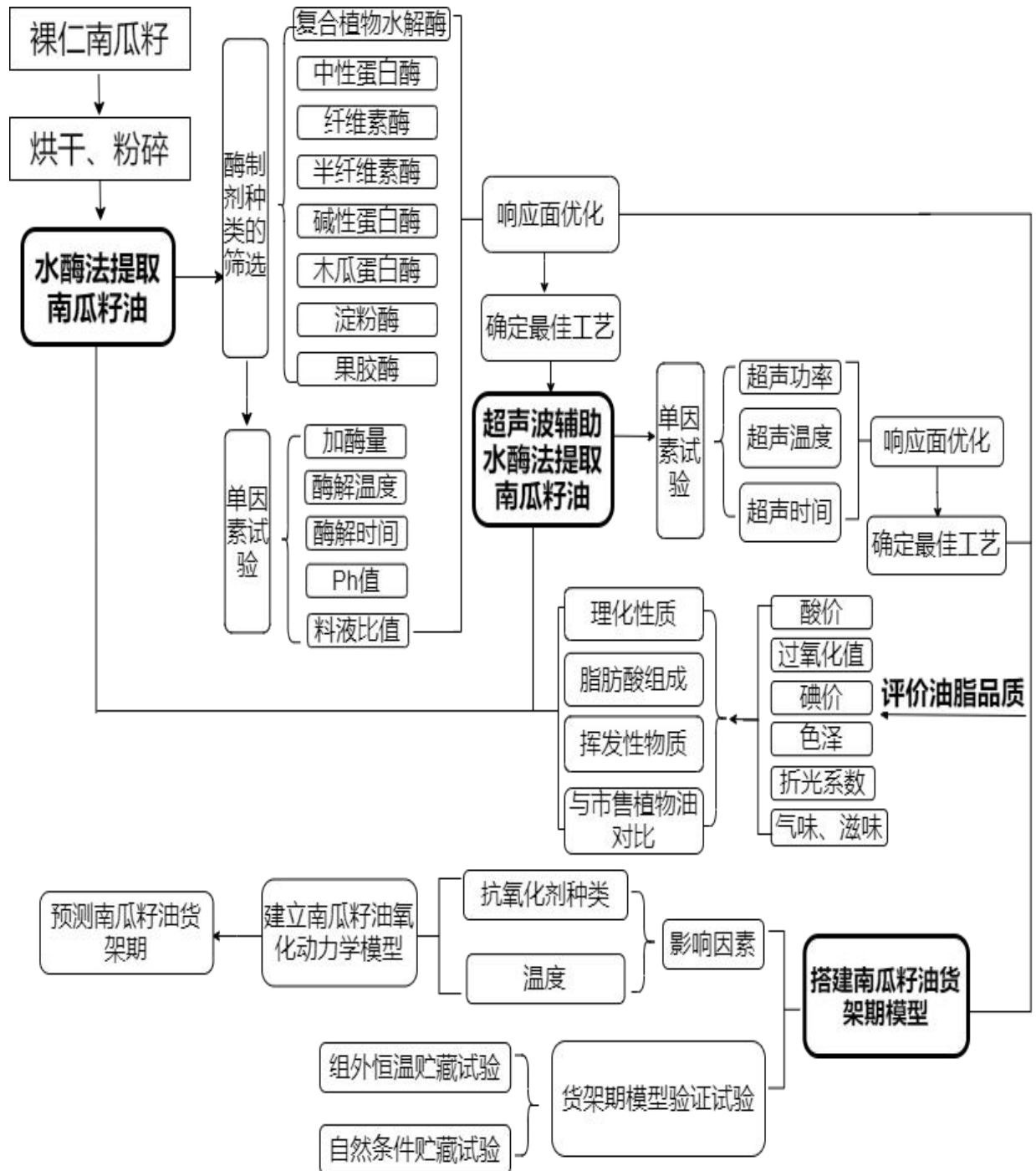
(3) 南瓜籽油的品质评价及挥发性成分分析

针对试验所得南瓜籽粗油, 利用顶空固相微萃取和气相色谱质谱联用技术进行萃取和分离鉴定, 分析油脂的理化指标、脂肪酸含量、营养物质含量和挥发性成分, 比较水提法、水酶法、超声波辅助水酶法和压榨法制备油脂的品质及挥发性成分, 利用相对气味活度值确定四种南瓜籽油的主体挥发性成分, 并与市售葵花籽油、花生油、胡麻籽油、红花籽油挥发性成分进行对比, 明确不同方法提取南瓜籽油和不同植物油主体挥发性成分的异同。

(4) 南瓜籽油货架期模型的构建

通过添加抗氧化剂来评价南瓜籽油的抗氧化性。并以温度为影响因素预测油脂货架期, 构建南瓜籽油氧化动力学模型, 推测南瓜籽油在密封、避光条件下货架期。

1.4 技术路线



第2章 水酶法提取南瓜籽油的研究

目前，市售植物油大多以机械压榨法和溶剂萃取法制的。溶剂萃取法容易造成溶剂残留，影响环境和油脂品质；机械压榨法虽然无溶剂残留，但提油率低。水酶法采用绿色、温和的酶解手段将油脂从植物种子的细胞壁内释放出来，再采用离心等方法分离水和油脂，所获得油脂品质高，色泽浅且副产物少，是一种具有应用前景的提油新技术^[74-75]。为此，本章以裸仁南瓜籽为原料，筛选适宜的酶制剂并确定水酶法提取南瓜籽油的最佳条件，为工业化应用水酶法提取南瓜籽油提供一定的理论依据，旨在更加充分地利用南瓜籽资源。

2.1 材料与仪器

2.1.1 材料与试剂

原料：裸仁南瓜籽（新疆海川三新食品有限公司），试验中所用到试剂见表 2-1。

表 2-1 主要试验试剂

Table 2-1 Main test reagents

名称	生产厂家
纤维素酶 (5×10^4 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
半纤维素酶 (1×10^5 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
碱性蛋白酶 (2×10^5 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
木瓜蛋白酶 (1×10^5 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
中性蛋白酶 (2×10^5 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
淀粉酶 (3.7×10^3 U/g)	北京奥博星生物技术有限责任公司
果胶酶 (6×10^4 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
复合植物水解酶 (6×10^4 FBU/g)	丹麦诺维信生物技术有限公司
磷酸二氢钠	天津市盛奥化学试剂有限公司
磷酸氢二钠	天津市盛奥化学试剂有限公司
柠檬酸	天津市盛奥化学试剂有限公司
柠檬酸钠	天津市盛奥化学试剂有限公司

2.1.2 仪器与设备

试验中用到的主要仪器设备见表 2-2。

表 2-2 仪器设备

Table 2-2 Instrument and equipment

名称	型号	生产厂家
智能型电热恒温鼓风干燥箱	CHN101-3	上海苏进仪器设备厂
电子天平	—	上海英衡电子秤有限公司
粉碎机	FW100	天津市泰斯特仪器有限公司
恒温振荡培养箱	ZD-85	金坛市医疗仪器厂
数显恒温水浴锅	DK-8D	江苏金怡仪器科技有限公司
高速台式离心机	TGL-10B	上海安亭科学仪器厂
pH 计	PHS-2F	上海雷磁科技有限公司

2.2 试验方法

2.2.1 南瓜籽的成分分析

对南瓜籽中的基本营养成分进行测定，检测方法见表 2-3。

表 2-3 南瓜籽基本成分测定

Table 2-3 Determination of basic components of pumpkin seeds

基本成分	检测方法
粗脂肪	GB 5009.6-2016
粗纤维	GB/T 5009.10-2003
粗蛋白质	GB 5009.5-2016
水分	GB 5009.3-2016
灰分	GB 5009.4-2016

2.2.2 水酶法提取南瓜籽油的工艺流程

2.2.2.1 水酶法提取南瓜籽油的工艺流程

南瓜籽→干燥→粉碎、过筛→酶解→灭酶→离心分离→南瓜籽油

2.2.2.2 操作要点

- (1) 干燥：将预处理后的南瓜籽置于烘箱中调节温度 80 °C，时间 30 min。
- (2) 粉碎、过筛：粉碎机粉碎干燥后南瓜籽，过 40 目筛，装瓶后密封、避光保存、备用。
- (3) 酶解：称取南瓜籽粉料 5 g，按所需酶的性质调节适宜的 pH，加入酶制剂在一

定温度下进行酶解，振荡器速度为 200 r/min。

(4) 灭酶：酶解结束后，在水浴锅中以 85 °C 灭酶 10 min。

(5) 离心分离：浆料在 10000 r/min 下离心 10 min，取上层清油，称量计算提油率。

2.2.2.3 南瓜籽提油率的计算

南瓜籽提油率公式计算如下：

$$\text{南瓜籽油提油率} = \frac{m_0}{m_1 \times m_2} \times 100\%$$

式中： m_0 为南瓜籽酶解后所得清油的质量/g；

m_1 为南瓜籽粉的质量/g；

m_2 为南瓜籽粗脂肪含量/%。

2.2.2.4 酶制剂的筛选

设定基础试验条件为：酶解时间 2 h，加酶量 2000 U/g，料液比为 1: 5；分别在所选单一酶的最适 pH 和酶解温度条件下进行试验（复合酶的最适 pH 和酶解温度均设置为 pH7.0，酶解温度 50 °C），将不添加酶制剂，酶解时间 2 h，料液比为 1: 5，pH 为 6，酶解温度 50 °C 的实验组作为对照组（CK）。通过比较南瓜籽提油率确定适宜的酶制剂种类。酶制剂分别选用以下种类：纤维素酶（pH5.0, 50 °C）、半纤维素酶（pH5.0, 50 °C）、碱性蛋白酶（pH10.0, 40 °C）、木瓜蛋白酶（pH6.0, 55 °C）、中性蛋白酶（pH7.0, 50 °C）、淀粉酶（pH6.0, 55 °C）、果胶酶（pH4.0, 50 °C）、复合植物水解酶（pH3.5, 50 °C）、复合酶 I（中性蛋白酶：纤维素酶=1:1）、复合酶 II（中性蛋白酶：果胶酶=1:1）、复合酶 III（碱性蛋白酶：中性蛋白酶=1:1）、复合酶 IV（碱性蛋白酶：纤维素酶=1:1）、复合酶 V（碱性蛋白酶：果胶酶=1:1）、复合酶 VI（中性蛋白酶：纤维素酶：果胶酶=1:1:1）、复合酶 VII（碱性蛋白酶：纤维素酶：果胶酶=1:1:1）。

2.2.2.5 水酶法提取南瓜籽油的单因素试验

固定基础试验条件为：酶制剂使用中性蛋白酶与纤维素酶（1:1）的复合酶、料液比为 1:5、酶解温度 45 °C、加酶量 2000 U/g、pH 值为 7、酶解时间 2 h。在此基础上分别调节设定的各单因素条件，得出适宜的单因素试验结果。

(1) 加酶量的确定

设定好基础试验条件的前提下，分别加入 500、1000、1500、2000、2500、3000、3500 U/g 的酶制剂进行酶解，灭酶后 10000 r/min 离心 10 min 提取油脂，确定适宜的加酶量。

(2) 酶解温度的确定

设定好基础试验条件的前提下，分别在温度为 35 °C、40 °C、45 °C、50 °C、55 °C

的条件下进行酶解，灭酶后 10000 r/min 离心 10 min 提取油脂，确定适宜的酶解温度。

(3) 酶解 pH 值的确定

设定好基础试验条件的前提下，分别在 pH 值为 5、6、7、8、9 的条件下进行酶解，灭酶后 10000 r/min 离心 10 min 提取油脂，确定适宜的 pH 值。

(4) 料液比的确定

设定好基础试验条件的前提下，分别在料液比为 1:5、1:6、1:7、1:8、1:9 的条件下进行酶解，灭酶后 10000 r/min 离心 10 min 提取油脂，确定适宜的料液比值。

(5) 酶解时间的确定

设定好基础试验条件的前提下，分别在反应时间为 1.5、2、2.5、3、3.5 h 的条件下进行酶解，灭酶后 10000 r/min 离心 10 min 提取油脂，确定适宜的酶解时间。

2.2.2.6 响应面法优化南瓜籽油的酶解工艺

根据单因素试验的分析结果，选取加酶量 (A)、pH (B)、酶解温度 (C) 和酶解时间 (D) 设计四因素三水平的响应面试验，以南瓜籽油提取率为指标，优化水酶法提取南瓜籽油的工艺条件。

表 2-4 响应面设计因素水平表

Table.2-4 The factors level table of response surface

因素	水平			
	-1	0	+1	
A	加酶量(U/g)	1000	2000	3000
B	pH	5.0	6.0	7.0
C	酶解温度(°C)	45	50	55
D	酶解时间(h)	2.5	3.0	3.5

2.2.3 数据分析

采用 Origin 9.5 软件和 Design-Expert 8.06 软件处理数据和绘图。

2.3 结果与分析

2.3.1 南瓜籽的基本成分

表 2-5 裸仁南瓜籽中主要成分含量测定结果

Tab.2-5 The results of main composition content in pumpkin seed

成分	粗脂肪	粗蛋白	粗纤维	水分	灰分
含量 (%)	46.15	34.25	9.2	4.39	4.52

由表 2-5 可以看出：试验中所用的裸仁南瓜籽含油率达 46.15%，可见南瓜籽是提取

油脂的良好原料。

2.3.2 酶制剂种类的筛选

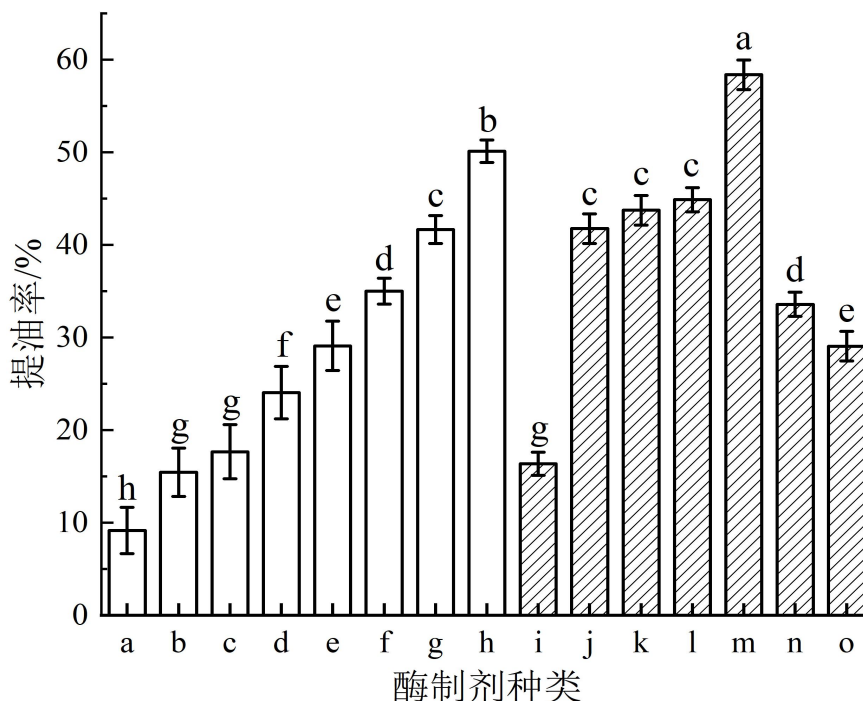


图 2-1 酶种类对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-1 The influence of different enzyme on pumpkin seed oil extraction rate

注：图中不同小写字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)，下同；横坐标中 a-对照组，b-半纤维素酶，c- α 淀粉酶，d-木瓜蛋白酶，e-果胶酶，f-纤维素酶，g-中性蛋白酶，h-碱性蛋白酶，i-碱性蛋白酶:果胶酶=1:1，j-中性蛋白酶:果胶酶=1:1，k-碱性蛋白酶:中性蛋白酶=1:1，l-碱性蛋白酶:纤维素酶=1:1，m-中性蛋白酶:纤维素酶=1:1，n-碱性蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=1:1:1，o-中性蛋白酶:纤维素酶:果胶酶=1:1:1

果胶、纤维素、半纤维素和木质素等多糖类物质通常将油脂与其他大分子物质包裹在植物细胞的细胞壁中^[76]。从图 2-1 可以看出，与不添加酶制剂的对照组相比，添加不同的酶制剂对南瓜籽油提取率均有不同程度的促进作用。单一酶中效果最好的为碱性蛋白酶和中性蛋白酶提取率分别为 50.09%、41.65%。可能是由于南瓜籽中大部分脂质与蛋白质结合形成脂蛋白复合物，蛋白酶能够破坏脂蛋白等复合物使其释放油脂；其次是纤维素酶和果胶酶，提取率分别为 35.00%、29.09%，可能是由于部分油滴被纤维素以及果胶等物质包裹，所以果胶酶以及纤维素酶也对南瓜籽提油率起到了较大的促进作用^[77]。故选用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、果胶酶和纤维素酶进行复合酶的配制。但在本试验中，当碱性蛋白酶与果胶酶、中性蛋白酶、纤维素酶、和纤维素酶及果胶酶复配时，相较于单一使用碱性蛋白酶提取南瓜籽油时，提油率分别下降 42.01%、14.62%、13.49%、24.79%，这是因为碱性蛋白酶的最适酶解条件比较苛刻，且油料在碱性条件下进行酶解容易导致油脂皂化。而中性蛋白酶和纤维素酶复配时的提油率为 58.36%，显著高于其

他实验组。故在后续研究中，选用纤维素酶和中性蛋白酶按照 1：1 的比例进行南瓜籽油的提取。

2.3.3 水酶法提取南瓜籽油的单因素试验结果

2.3.3.1 加酶量对南瓜籽提油率的影响

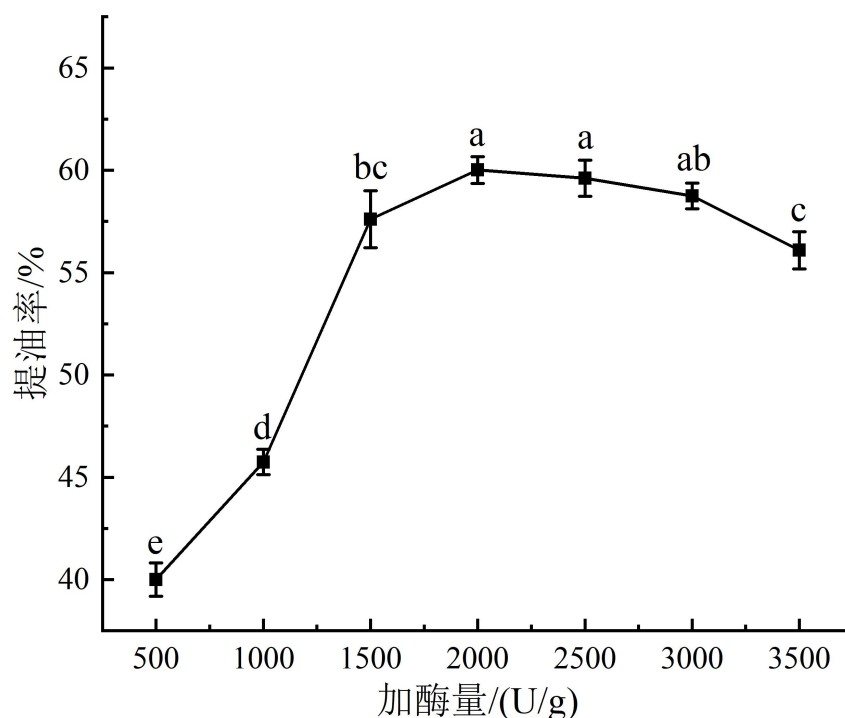


图 2-2 加酶量对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-2 The influence of different enzyme amount on pumpkin seed oil extraction rate

不同加酶量对南瓜籽提油率的影响见图 2-2，由图可以看出加酶量不断增加南瓜籽提油率也随之升高，当加酶量为 2000 U/g 时南瓜籽提油率最高为 60.01%。当加酶量超过 2000 U/g 时，提油率逐渐下降。分析原因可能是：随着加酶量不断增多，对细胞壁降解更完全，促使脂蛋白等复合体暴露，有利于蛋白酶进行酶解，使得油脂提取更完全。但是当底物与酶的反应达到饱和时，多余的酶用量会竞争底物加重乳化现象，降低南瓜籽提油率^[78-79]。因此选择加酶量为 2000 U/g。

2.3.3.2 酶解温度对南瓜籽提油率的影响

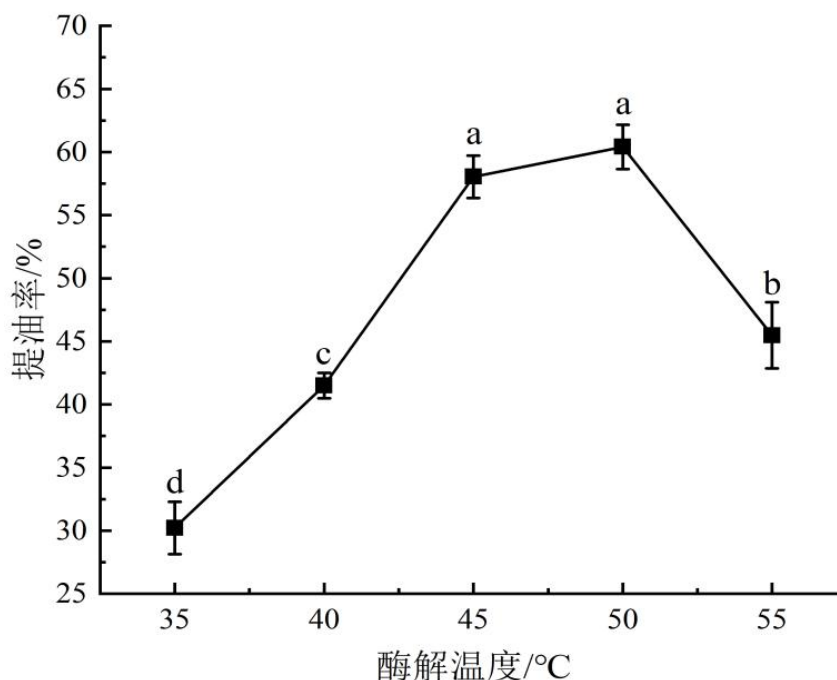


图 2-3 酶解温度对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-3 The influence of different enzyme temperature on pumpkin seed oil extraction rate

不同酶解温度对南瓜籽提油率的影响如图 2-3 所示，酶解温度过高或过低都不利于油脂的提取，一定范围内温度与酶解速率呈正比，但当温度超过该酶最适酶解温度时，会使酶失活。从图 2-3 可以得出，随温度升高酶解反应的速率增大，当酶解温度为 50 °C 时，南瓜籽油提取率最高为 60.41%。这是由于随温度升高，酶活力升高，作用于南瓜籽物料，加快油脂析出速度^[80]。而高于 50 °C 时，不属于该酶最适反应温度范围内，影响酶活力，降低酶解反应速率，从而降低南瓜籽提油率。可见，提取南瓜籽油的最适酶解温度为 50 °C。

2.3.3.3 酶解 pH 对南瓜籽提油率的影响

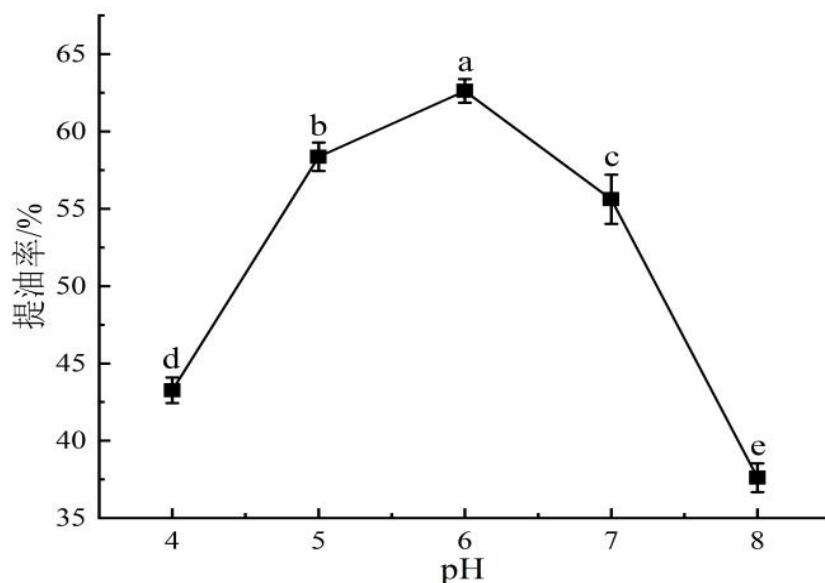


图 2-4 酶解 pH 对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-4 The influence of pH on pumpkin seed oil extraction rate

不同酶解 pH 对南瓜籽提油率的影响如图 2-4 所示, 当 pH 值增至 6 时, 油脂的提取率最高, 为 62.62%。这可能是因为不断接近酶制剂的最适 pH 时, 酶活力会升高, 加快了酶解反应速度^[81]。而当 pH>6 时, 提油率降低, 分析原因可能是超过了复合酶的最适 pH, 同时导致溶液乳化, 降低油脂提取率。可见, 水酶法提取南瓜籽油的最适 pH 值为 6。

2.3.3.4 料液比对南瓜籽提油率的影响

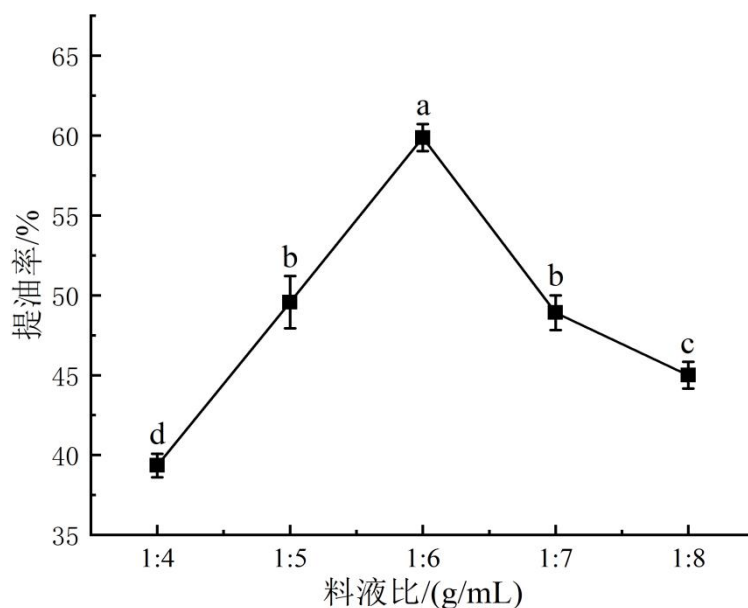


图 2-5 料液比对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-5 The influence of different solid-liquid rate on pumpkin seed oil extraction rate

不同料液比对南瓜籽提油率的影响如图 2-5 所示, 过高或过低的料液比都不利于南瓜籽油的提取, 这是由于溶剂的量较少时, 酶解液流动性较差, 阻碍酶与底物的充分接触, 酶解反应不彻底; 溶剂量过高时, 酶与底物分子的碰撞机率降低, 不利于油脂分子充分析出酶解反应的效率也随之降低^[83-84]。从试验结果可得, 当料液比从 1:4 g/mL 增加到 1:6 g/mL 时, 提油率从 39.35% 提高到 59.87%, 当溶液量继续增加, 提油率反而开始下降。表明, 溶液在适宜的料液比下流动性较好, 酶解反应更全面, 增加提油率。因此, 水酶法提取南瓜籽油的料液比以 1:6 g/mL 为宜。

2.3.3.5 酶解时间对南瓜籽提油率的影响

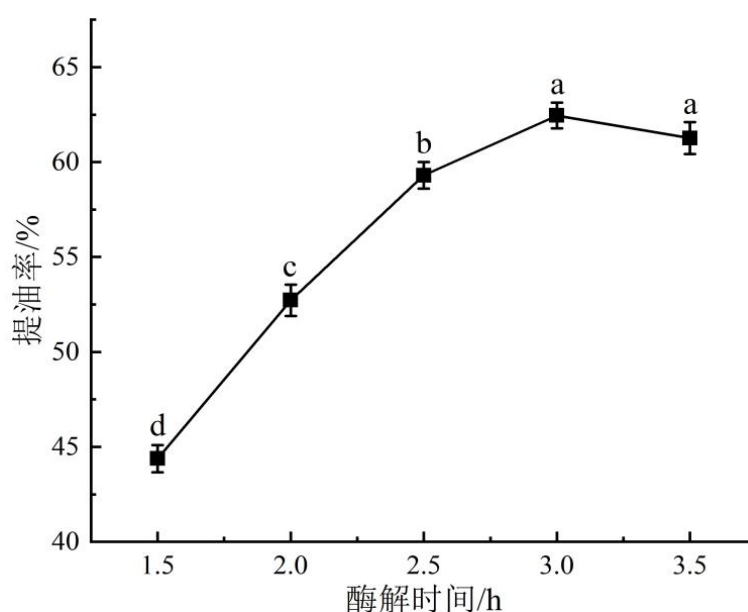


图 2-6 酶解时间对南瓜籽提油率的影响

Fig 2-6 The influence of enzymolysis time on pumpkin seed oil extraction rate

不同酶解时间对南瓜籽提油率的影响如图 2-6 所示。一般来说酶解时间越长, 反应越完全, 油脂得率越高; 但反应时间过长乳状液也越多, 油脂析出越难。本试验中, 随着酶解时间的延长南瓜籽油的提油率也在不断增加, 酶解时间为 3 h 时, 南瓜籽油提取率最高为 62.45%, 当酶解时间的继续延长至 3.5 h 时, 提取率开始下降, 这可能是由于底物的量和酶的总量有限, 持续延长时间不会增加提取效率还可能会加重油脂发生乳化现象, 且酶解时间过长, 易使油脂发生氧化导致油脂品质下降^[85]。因此, 水酶法提取南瓜籽油的酶解时间以 3 h 为宜。

2.3.4 水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验

2.3.4.1 水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验结果与分析

根据单因素试验结果, 选取加酶量 (A)、pH (B)、酶解温度 (C) 和酶解时间 (D)

四个因素，以南瓜籽油提取率为指标，设计四因素三水平的响应面分析试验，共 29 个处理组，其中包括 5 个零点试验和 24 个析因试验，每个处理重复三次，结果见表 2-6。

表 2-6 水酶法提取南瓜籽油工艺响应面优化试验设计及结果

Tab.2-6 Experimental design and results of response surface of enzymatic extraction of pumpkin seed oil

实验号	A:加酶量	B:pH	C:酶解温度	D:反应时间	提油率%
1	1000	5.0	50	3.0	46.22
2	3000	5.0	50	3.0	54.87
3	1000	7.0	50	3.0	44.92
4	3000	7.0	50	3.0	50.35
5	2000	6.0	45	2.5	56.96
6	2000	6.0	55	2.5	50.29
7	2000	6.0	45	3.5	53.75
8	2000	6.0	55	3.5	55.72
9	1000	6.0	50	2.5	51.44
10	3000	6.0	50	2.5	53.08
11	1000	6.0	50	3.5	50.11
12	3000	6.0	50	3.5	59.80
13	2000	5.0	45	3.0	48.48
14	2000	7.0	45	3.0	49.68
15	2000	5.0	55	3.0	48.57
16	2000	7.0	55	3.0	46.66
17	1000	6.0	45	3.0	45.36
18	3000	6.0	45	3.0	51.68
19	1000	6.0	55	3.0	43.92
20	3000	6.0	55	3.0	52.27
21	2000	5.0	50	2.5	56.09
22	2000	7.0	50	2.5	52.39
23	2000	5.0	50	3.5	54.35
24	2000	7.0	50	3.5	53.56
25	2000	6.0	50	3.0	64.04
26	2000	6.0	50	3.0	62.61
27	2000	6.0	50	3.0	62.47
28	2000	6.0	50	3.0	63.89
29	2000	6.0	50	3.0	64.04

2.3.4.2 建立回归模型及方差分析

对表2-6所得实验数据进行多元回归拟合分析，得到提油率与加酶量（A）、酶解温度（B）、料液比（C）和酶解时间（D）之间的二次回归方程为：

$$\begin{aligned} \text{提油率}(\%) = & 63.41 + 3.34A - 0.92B - 0.71C + 0.59D - 0.81AB + 0.51AC \\ & + 2.01AD - 0.78BC + 0.73BD + 2.16CD - 7.47A^2 - 7.21B^2 - 7.56C^2 - 2.03D^2 \end{aligned}$$

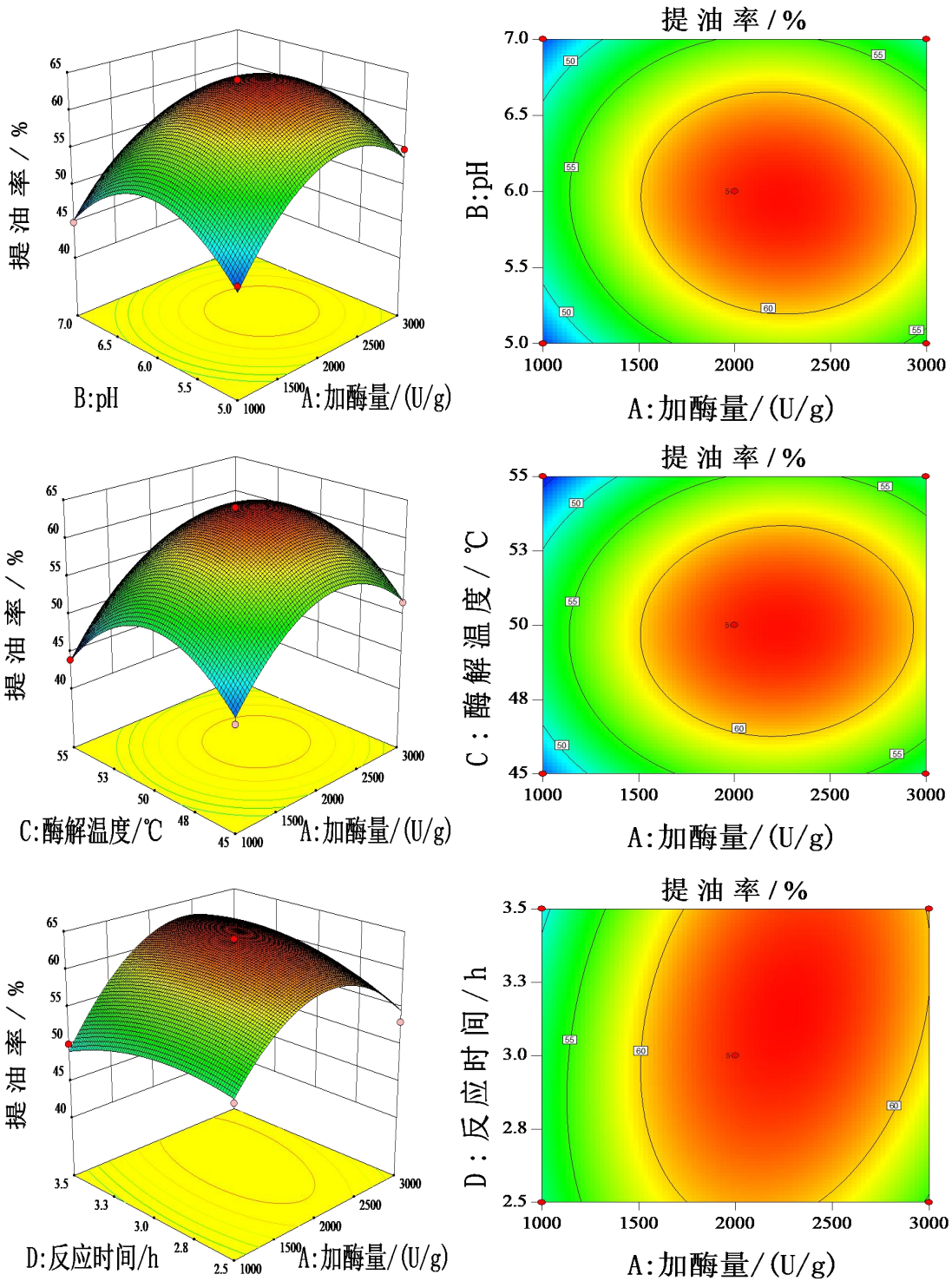
表2-7 响应面回归方差分析表
Tab.2-7 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	981.01	14	70.07	62.32	< 0.0001	**
A-加酶量	133.87	1	133.87	119.07	< 0.0001	**
B-pH	10.12	1	10.12	9.00	0.0095	*
C-酶解温度	5.99	1	5.99	5.33	0.0367	*
D-酶解时间	4.13	1	4.13	3.67	0.0759	*
AB	2.59	1	2.59	2.31	0.1512	
AC	1.03	1	1.03	0.92	0.3547	
AD	16.20	1	16.20	14.41	0.0020	
BC	2.42	1	2.42	2.15	0.1646	
BD	2.12	1	2.12	1.88	0.1916	
CD	18.66	1	18.66	16.60	0.0011	
A ²	362.36	1	362.36	322.29	< 0.0001	**
B ²	337.12	1	337.12	299.84	< 0.0001	**
C ²	370.64	1	370.64	329.66	< 0.0001	**
D ²	26.84	1	26.84	23.87	0.0002	*
残差	15.74	14	1.12			
失拟项	13.19	10	1.32	2.07	0.2517	
纯误差	2.55	4	0.64			
合计	996.75	28			R ² =0.9842	

注：*为差异显著（ $P < 0.05$ ）；**为差异极显著（ $P < 0.0001$ ）

对该模型进行方差分析，结果见表2-7，该试验模型 $p < 0.0001$ ，模型极显著，建立该模型具备统计学意义。失拟项 $p = 0.2517 > 0.05$ ，失拟项不显著，试验误差较小，说明在条件范围内各因素间有较强的交互作用。 $R^2 = 0.9842$ ， $R^2_{adj} = 0.9684$ ，模型拟合度较好，能较好地反应各因素对南瓜籽提油率的影响。结合F值和显著性水平可知，各因素对南瓜籽提油率的影响次序为：A（加酶量）>B（pH）>C（酶解温度）>D（酶解时间）；模型的二次项A²、B²、C²对提油率影响极显著，D²和交互项AD、CD对提油率影响显著。

2.3.4.3 南瓜籽油提取工艺响应面分析与优化



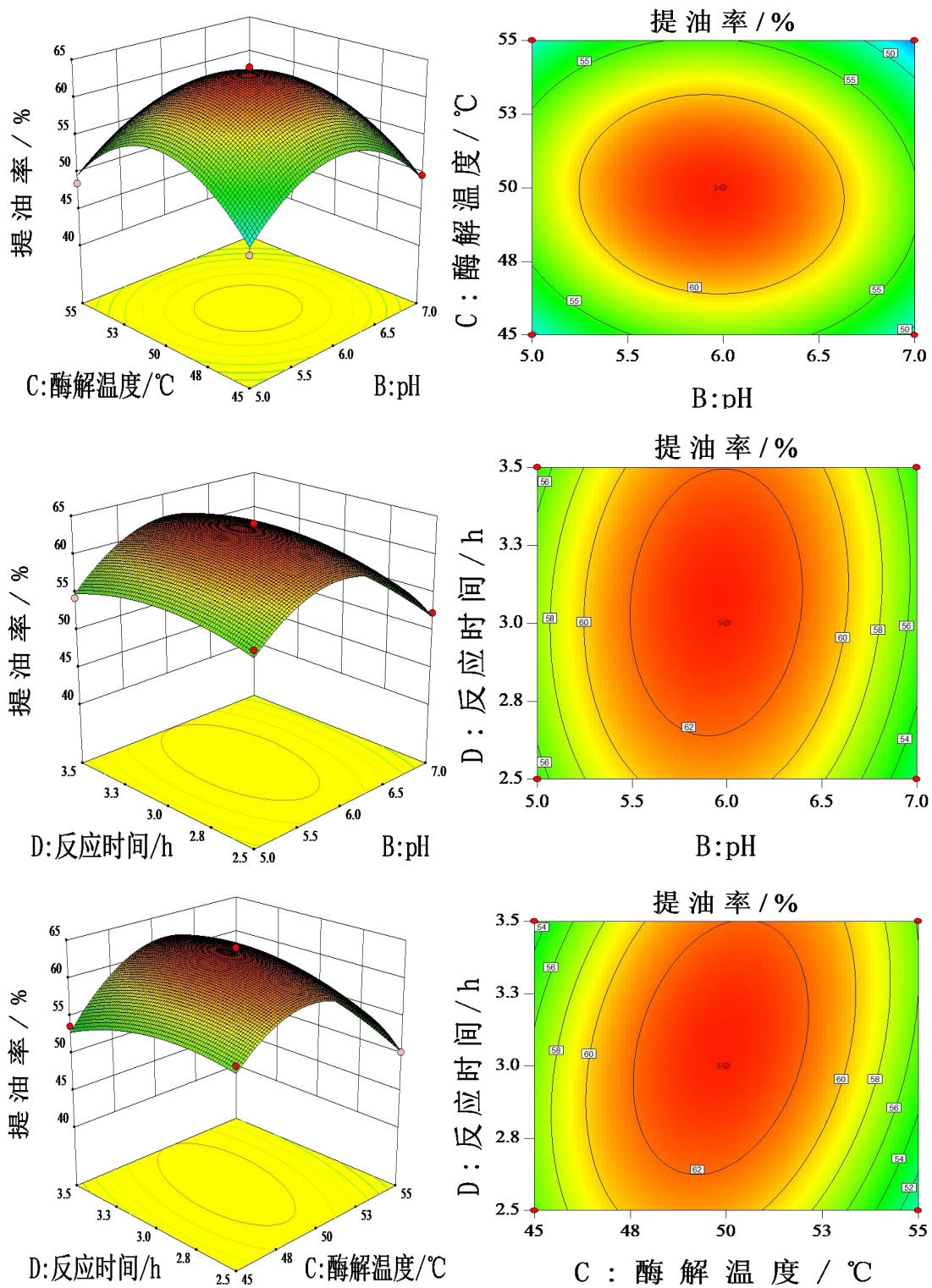


图2-7 各因素之间对南瓜籽提油率影响的响应面优化结果图

Fig. 2-7 Response surface optimization of the effects of factors on pumpkin seed oil

图 2-7 是通过二次回归模型拟合的各因素之间交互作用的响应面分析图。各图均开口向下，凸形曲面，交互项 CD、AD 等高线呈椭圆形，曲面陡峭；表明对响应值影响 ($p < 0.01$) 极显著。比较交互项对南瓜籽提油率影响次序排列为： $CD > AD > AB > BC$

>BD>AC。

2.3.4.4 水酶法提取南瓜籽油最佳条件的确定及验证试验

根据 Box-Behnken 模型响应面优化的结果,得到水酶法提取南瓜籽油最优工艺条件为:加酶量2263 U/g、pH值5.9、酶解温度50 °C、酶解时间3.1 h,此时的理论提油率为63.96%。结合实际情况,将各因素调整为加酶量2300 U/g、pH值6、酶解温度50 °C、酶解时间3 h,在此条件下进行了三次平行试验,平均提油率为63.61%,与理论值相差0.35%,说明该模型与实际拟合效果较好,适用于水酶法提取南瓜籽油。

2.4 本章小结

(1)水酶法提取南瓜籽油最适的酶制剂种类为中性蛋白酶和纤维素酶(酶活比为1:1)构成的复合酶。

(2)水酶法提取南瓜籽油的最优条件为:料液比1:6,加酶量2300 U/g、pH值6、酶解温度50 °C、酶解时间3 h,此时的南瓜籽油提取率为63.61%。

第3章 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的研究

虽然水酶法提取南瓜籽油效果较好,但若辅以超声波处理技术,则可进一步提高油脂提取效率。因为超声波具有空化作用,有助于油脂更好的释放到溶剂中。而且超声波还具有许多次级效应,如:加热、扩散、击碎等,有助于加速南瓜籽油扩散速度,从而提高油脂得率^[87-88]。

本章在水酶法提取南瓜籽油的基础上,探究超声波辅助技术提取南瓜籽油的最佳工艺条件,在提高提油率的基础上,最大限度的保留南瓜籽油中生育酚、植物甾醇等生物活性成分的南瓜籽油,为南瓜籽油生物活性物质的进一步研究和南瓜籽油的质量评价提供实验依据。

3.1 材料与仪器

3.1.1 材料与试剂

原料:裸仁南瓜籽(新疆海川三新食品有限公司);

表 3-1 主要试验试剂

Table 3-1 Main test reagents

名称	生产厂家
纤维素酶 (5×10^4 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
中性蛋白酶 (1×10^5 U/g)	北京博奥拓达科技有限公司
磷酸二氢钠	天津市盛奥化学试剂有限公司
磷酸氢二钠	天津市盛奥化学试剂有限公司

3.1.2 仪器与设备

表 3-2 仪器设备

Table 3-2 Instrument and equipment

名称	型号	生产厂家
智能型电热恒温鼓风干燥箱	CHN101-3	上海苏进仪器设备厂
电子天平	—	上海英衡电子秤有限公司
数控超声波清洗器	KQ-300DE	昆山市超声仪器有限公司
高速万能粉碎机	FW100	天津市泰斯特仪器有限公司
气浴恒温振荡器	ZD-85	金坛市医疗仪器厂
数显恒温水浴锅	DK-8D	江苏金怡仪器科技有限公司
高速台式离心机	TGL-10B	上海安亭科学仪器厂
冷冻冰柜	BC/BD-191H	新飞电器有限公司
pH 计	PHS-2F	上海雷磁科技有限公司

3.2 试验方法

3.2.1 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的工艺流程

3.2.1.1 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的工艺流程

南瓜籽→干燥→粉碎、过筛→调节 pH 值及料液比→超声处理→酶解→灭酶→离心分离→南瓜籽油

3.2.1.2 操作要点

(1) 调节 pH 值及料液比：称取 5 g 南瓜籽粉（过 40 目筛）放入锥形瓶中，添加 6 倍体积的水，调节 pH 为 6。

(2) 超声处理：调节不同的超声功率、超声温度和超声时间进行处理后，冷却至室温，加入 2300 U/g 的复合酶（纤维素酶和中性蛋白酶酶活比为 1:1），进行酶解反应。

3.2.1.3 南瓜籽油提油率的计算

$$\text{南瓜籽油提油率} = \frac{m_0}{m_1 \times m_2} \times 100\%$$

式中： m_0 为南瓜籽超声辅助酶解后所得清油的质量/g；

m_1 为南瓜籽粉的质量/g；

m_2 为南瓜籽粗脂肪含量/%。

3.2.1.4 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的单因素试验

(1) 超声温度的确定

固定超声时间 6 min、超声功率 200 W，分别设置超声温度为 30 °C、35 °C、40 °C、45 °C、50 °C，确定适宜的超声处理温度。

(2) 超声功率的确定

固定超声处理温度 40 °C、超声时间 6 min，分别设置超声功率为 100 W、200 W、300 W、400 W、500 W，确定适宜的超声功率。

(3) 超声时间的确定

固定超声处理温度 40 °C、超声功率 200 W，分别设置超声时间为 2 min、4 min、6 min、8 min、10 min，确定适宜的超声处理时间。

3.2.1.5 响应面优化超声波辅助南瓜籽油酶法提取工艺

根据单因素试验的分析结果，选取超声功率 (A)、超声温度 (B) 和超声时间 (C) 设计三因素三水平的响应面分析试验，以南瓜籽油提取率为指标，优化水酶法提取南瓜籽油的工艺条件。

表 3-3 响应面设计因素水平表
Table.3-3 The factors level table of response surface

因素	水平		
	-1	0	+1
A 超声功率 (W)	200	300	400
B 超声温度 (°C)	35	40	45
C 超声时间 (min)	6	8	10

3.2.2 数据分析

采用 Origin 9.5 软件和 Design-Expert 8.06 软件处理数据和绘图。

3.3 结果与分析

3.3.1 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的单因素试验结果

3.3.1.1 超声功率对南瓜籽提油率的影响

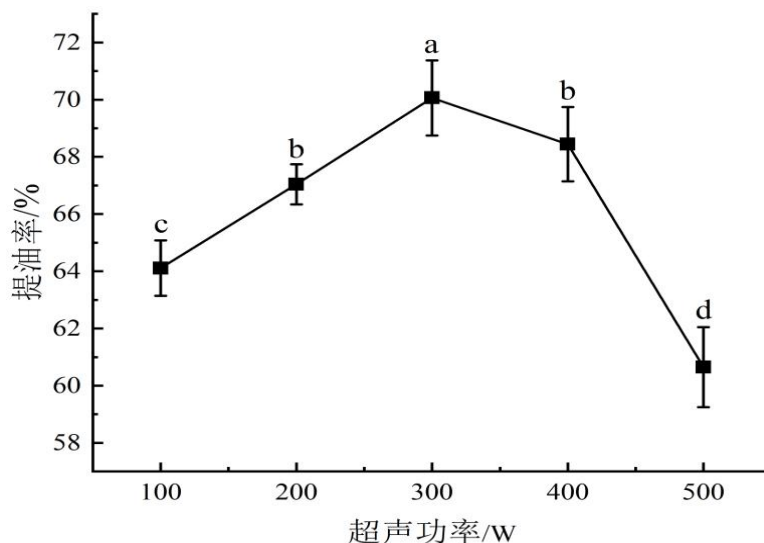


图 3-1 超声功率对南瓜籽提油率的影响

Fig 3-1 Effect of ultrasonic power on oil extraction rate of pumpkin seed oil

不同超声功率对南瓜籽提油率的影响,结果见图 3-1,在超声功率为 100~300 W 时,提油率逐渐上升。这可能是因为超声波会使溶液产生大量泡沫,而泡沫破碎后产生局部瞬间压力,一定程度上能对细胞壁起到破坏作用,因此提高南瓜籽出油率^[88]。当超声功率达到 300 W 时,南瓜籽油得率最高,为 70.06%。可能是由于超声可以增强细胞的空化作用并通过机械振动促进油脂扩散,提高南瓜籽油得率^[89-90]。随着超声功率持续增加到 400 W 时,提取率明显下降。这可能因为较强的超声波会导致溶液乳化,油脂溶出困难^[91]。因此,确定超声功率为 300 W。

3.3.1.2 超声温度对南瓜籽提油率的影响

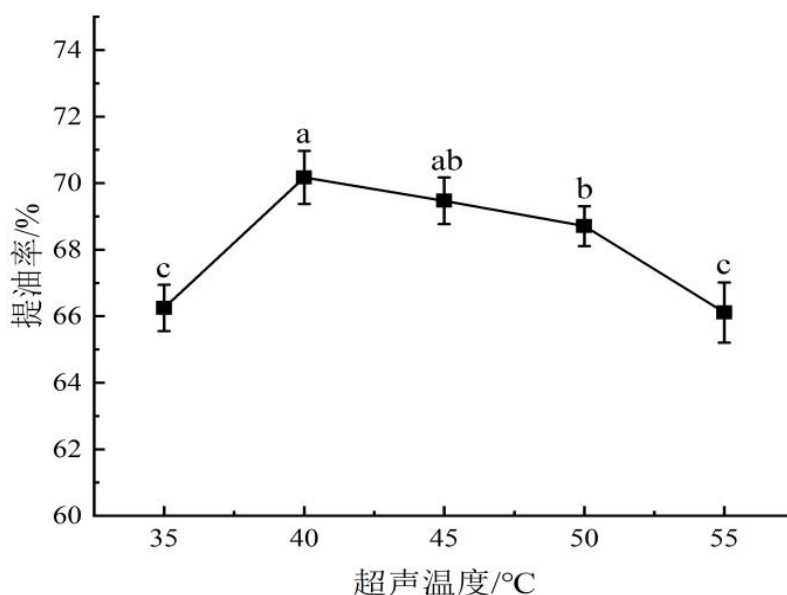


图 3-2 超声温度对南瓜籽提油率的影响

Fig 3-2 Effect of ultrasonic temperature on oil extraction rate of pumpkin seed oil

不同超声温度对南瓜籽提油率的影响如图 3-2 所示, 超声温度从 35℃升至 40℃时, 提油率从 66.25%增加到 70.17%。可能是因为超声温度升高有助于改善传质, 促进后续酶解反应的进行。当温度升高至 40℃后, 南瓜籽油得率开始下降。温度过高而产生的蒸汽会缓冲气泡破裂时产生的压力, 削弱空化效应^[92]。因此随着温度升高, 提油率逐渐下降。所以, 超声温度以 40℃为宜。

3.3.1.3 超声时间对南瓜籽提油率的影响

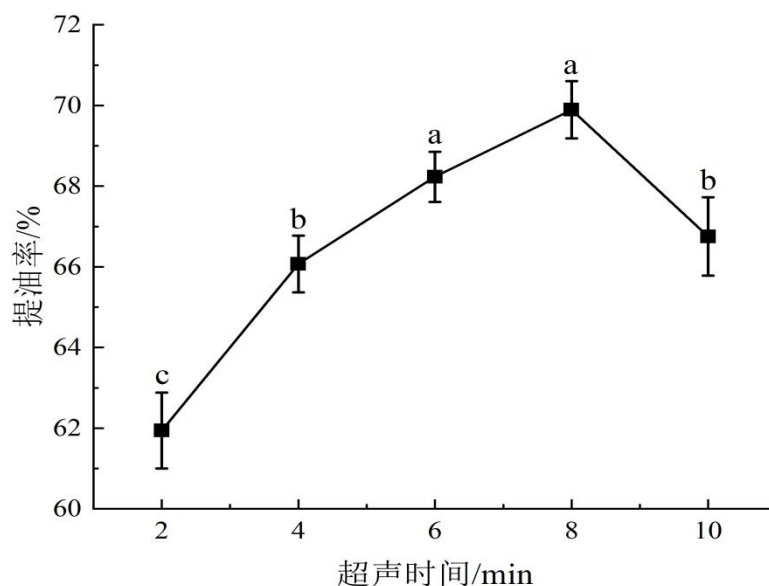


图 3-3 超声时间对南瓜籽提油率的影响

Fig 3-3 Effect of ultrasonic time on oil extraction rate of pumpkin seed oil

不同超声时间对南瓜籽提油率的影响如图 3-3 所示, 超声时间越长南瓜籽油得率越高, 当超声时间在 8 min 时达到最高值, 为 69.89%; 当超声时间超过 8 min 时, 南瓜籽油得率开始下降。这是由于随着超声时间的延长, 超声波从南瓜籽外部向内部扩散的距离逐渐变短, 超声效果变差, 导致提油率下降^[93]。因此, 当达到一定超声处理时间后, 南瓜籽油得率反而开始下降。故选择超声处理时间为 8 min。

3.3.2 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验

3.3.2.1 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验结果与分析

根据单因素试验的分析结果, 选取超声功率 (A)、超声温度 (B) 和超声时间 (C) 三个因素, 南瓜籽提油率为指标, 设计三因素三水平的响应面分析试验, 结果见表 3-4。

表 3-4 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的响应面优化试验设计及结果

Tab.3-4 Experimental design and results of response surface of ultrasonic assisted water enzymatic extraction of pumpkin seed oil

实验号	A:超声功率 (W)	B:超声温度 (°C)	C:超声时间 (min)	提油率%
1	200	35	8	66.62
2	400	35	8	62.52
3	200	45	8	63.25
4	400	45	8	63.79
5	200	40	6	67.25
6	400	40	6	64.72
7	200	40	10	65.40
8	400	40	10	64.21
9	300	35	6	62.40
10	300	45	6	68.87
11	300	35	10	67.86
12	300	45	10	62.36
13	300	40	8	72.74
14	300	40	8	72.31
15	300	40	8	72.14
16	300	40	8	71.82
17	300	40	8	72.15

3.3.2.2 回归模型建立及方差分析

采用 Design-Expert 8.06 软件对表3-4所得实验数据进行多元回归拟合分析,得到提油率与超声功率 (A)、超声温度 (B) 和超声时间 (C) 之间的二次回归方程为:

$$\text{提油率 (\%)} = 72.23 - 0.91A - 0.14B - 0.43C + 1.16AB + 0.33AC - 2.99BC - 4.08A^2 - 4.10B^2 - 2.75C^2$$

表3-5 响应面回归方差分析表

Tab.3-5 Results of variance analysis

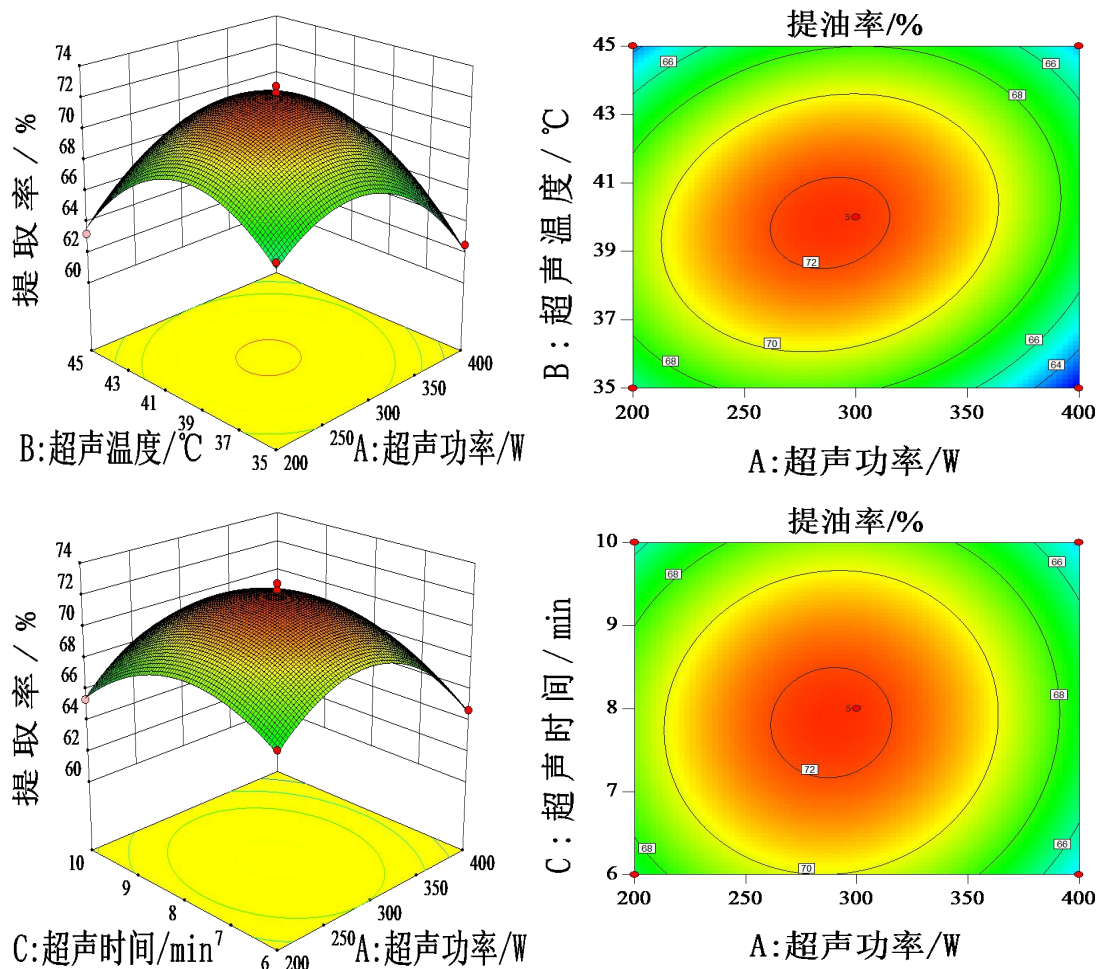
方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	242.47	9	26.94	102.22	< 0.0001	**
A-超声功率	6.62	1	6.62	25.14	0.0015	**
B-超声温度	0.16	1	0.16	0.61	0.4619	
C-超声时间	1.45	1	1.45	5.51	0.0512	*
AB	5.38	1	5.38	20.42	0.0027	**
AC	0.45	1	0.45	1.70	0.2331	
BC	35.82	1	35.82	135.91	< 0.0001	**
A ²	70.17	1	70.17	266.23	< 0.0001	**
B ²	70.94	1	70.94	269.17	< 0.0001	**
C ²	31.95	1	31.95	121.23	< 0.0001	**
残差	1.84	7	0.26			

失拟项	1.40	3	0.47	4.14	0.1016
纯误差	0.45	4	0.11		
合计	244.31	16		$R^2=0.9924$	

注：*为差异显著 ($P<0.05$)；**为差异极显著 ($P<0.0001$)

对该模型进行方差分析，结果见表3-5，该试验模型 $p<0.0001$ ，模型极显著，建立该模型具备统计学意义；失拟项 $p=0.1016>0.05$ ，失拟项不显著，试验误差较小，说明在条件范围内各因素间有较强的交互作用。 $R^2=0.9924$ ， $R^2_{adj}=0.9827$ ，模型拟合度较好，能较好地反应各因素对超声波辅助提取南瓜籽油得率的影响。结合F值和显著性水平可知，各因素对南瓜籽油提取得率的影响次序为：A（超声功率）>C（超声时间）>B（超声温度）；模型的二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 和交互项AB、BC对提取率影响极显著，交互项AC对提取率影响显著。

3.3.2.3 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油工艺响应面分析与优化



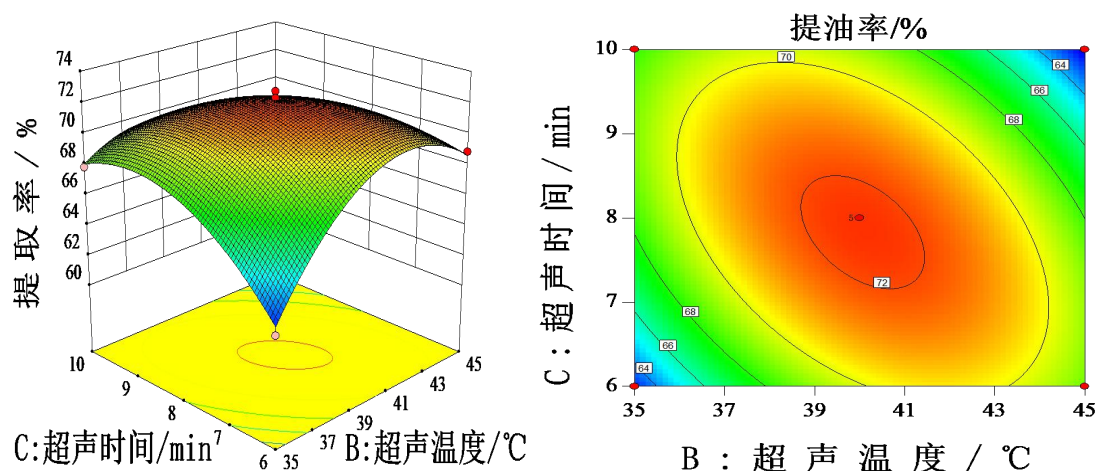


图3-4 各因素之间对南瓜籽提油率影响的响应面优化结果图

Fig. 3-4 Response surface optimization of the effects of factors on pumpkin seed oil

图3-4响应面结果的图形是响应值出油率对各因素所形成的三维空间的曲面图，各图均开口向下，凸形曲面，交互项AB、BC等高线呈椭圆形，曲面陡峭；表明对响应值影响（ $p < 0.01$ ）极显著。比较交互项对南瓜籽油提取得率影响次序排列为： $BC > AB > AC$ 。

3.3.2.4 南瓜籽油最佳条件的确定及验证试验

根据Box-Behnken模型响应面优化的结果，得到超声辅助法提取南瓜籽油的最优工艺条件为：超声功率为288.44 W、超声温度39.99 °C、超声时间7.84 min，该条件下的理论提油率为72.30%。根据实际情况，调整超声功率为300 W，超声温度40 °C，超声时间调整为8 min，进行三次验证实验，油脂提取率的平均值为72.23%，与理论值基本一致，说明利用响应面分析法得到的超声辅助法提取南瓜籽油的条件具有一定的实用价值。

3.4 本章小结

(1)超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的最佳条件为，超声功率 300 W、超声温度 40 °C，超声时间 8 min，此时南瓜籽油得率为 72.23%。

(2)通过比较水酶法与超声波辅助水酶法南瓜籽油提取率可知，超声波辅助水酶法的提油率比水酶法（63.61%）高 8.62%。

第4章 南瓜籽油的品质评价及挥发性成分分析

植物油是包括脂肪酸和甘油在内的天然高分子化合物，其理化指标和营养组成直接决定油脂的品质和消费者的可接受性^[94]。气味是能反映油脂品质变化的一项重要感官指标，植物油中含有的挥发性物质呈现油脂的风味，而大多数易挥发物质的主要为不饱和脂肪酸，它是植物油气味的重要前体物质，能够在油脂的挥发性组成上体现出来^[95]。

本章针对试验所得南瓜籽粗油，利用顶空固相微萃取和气相色谱质谱联用技术对其进行萃取和分离鉴定，分析测定油脂的理化指标、脂肪酸含量、营养成分和挥发性成分，比较水提法、水酶法、超声波辅助水酶法和压榨法制备油脂的品质及挥发性成分，利用相对气味活度值确定四种南瓜籽油的主体挥发性成分，并与市售葵花籽油、花生油、胡麻籽油、红花籽油挥发性成分进行对比，明确不同方法、和不同品种植物油主体挥发性成分的异同，以期为南瓜籽油品质控制提供良好的理论依据。

4.1 材料与仪器

4.1.1 材料与试剂

原料：裸仁南瓜籽（新疆海川三新食品有限公司）；压榨法南瓜籽油（海川三新食品有限公司），新鲜葵花籽油（益海嘉里食品有限公司）、花生油（山东鲁花集团有限公司）、胡麻籽油（新疆德海汇昌油脂有限责任公司）、红花籽油（新疆德海汇昌油脂有限责任公司）均购于新疆石河子友好超市。

表 4-1 主要试验试剂

Table 4-1 Main reagents

名称	生产厂家
氢氧化钾	天津永晟精细化工有限公司
无水乙醇	天津永晟精细化工有限公司
α -生育酚 分析标准品 (HPLC \geq 98%)	上海安谱实验科技股份有限公司
γ -生育酚 分析标准品 (HPLC \geq 96%)	上海安谱实验科技股份有限公司
δ -生育酚 分析标准品 (HPLC \geq 90%)	上海安谱实验科技股份有限公司
正己烷	天津市科密欧化学试剂有限公司
石油醚	天津市科密欧化学试剂有限公司

4.1.2 仪器与设备

表 4-2 仪器设备
Table 4-2 Instrument and equipmen

名称	型号	生产厂家
智能型电热恒温鼓风干燥箱	CHN101-3	上海苏进仪器设备厂
电子天平	—	上海英衡电子秤有限公司
全二维气相-高通量高分辨质谱 联用仪	Pegasus GC-HRT 4D+	美国力可公司
固相微萃取装置、纤维萃取头	(50/30um)CAR/PDMS/DVB	美国色谱科公司
恒温振荡培养箱	ZD-85	金坛市医疗仪器厂
数显恒温水浴锅	DK-8D	江苏金怡仪器科技有限公司
高速台式离心机	TGL-10B	上海安亭科学仪器厂
pH 计	PHS-2F	上海雷磁科技有限公司

4.2 试验方法

4.2.1 南瓜籽油样制备

水提法：将南瓜籽仁于 80 °C 条件下，烘烤 30 min。取适量南瓜籽粉碎后过 40 目筛，将过筛后的南瓜籽粉，置于 pH 为 6、料液比为 1：5、50 °C 的条件下浸提 2 h，于 10000 r/min 离心 10 min，取上层清油作为对照组南瓜籽油样品。

水酶法：同第二章确定的最优工艺。

超声波辅助水酶法：同三章确定的最优工艺。

压榨法：将工厂压榨得到的南瓜籽毛油，于 10000 r/min 离心 10 min，取上层清油得到压榨南瓜籽油样品。

4.2.2 南瓜籽油理化特性测定

根据国家标准对油脂的要求，对提取的油脂进行理化特性检测，具体方法见表 4-3。

表 4-3 南瓜籽油理化特性测定

Table 4-3 Determination of physicochemical properties of pumpkin seed oil

理化指标	检测方法
透明度 (20°C、24h)、气味、滋味	GB 2716-2018
酸值/(mg/g)	GB 5009.229-2016
过氧化值/(mmol/kg)	GB 5009.227-2016
碘值	GB/T 5532-2008
折光系数	GB/T 5527-2010
色泽	GB/T 22460-2008

4.2.3 南瓜籽油脂肪酸组成分析

按照 GB 5009.168-2016《食品中脂肪酸的测定》中要求进行,采用气相色谱法分析南瓜籽油脂肪酸组成及相对含量。

4.2.4 南瓜籽油中生育酚的检测

参考 GB 5009.82-2016《食品中维生素 A、D、E 的测定》中第一法,利用反相高效液相色谱测定南瓜籽油中生育酚组成和生育酚总量。

4.2.5 南瓜籽油中甾醇的检测

按照 GB/T 25223-2010《动植物油脂甾醇组成和甾醇总量的测定》中的方法进行,采用气相色谱测定南瓜籽油中甾醇组成和甾醇总量。

4.2.6 南瓜籽油中挥发性成分的分析

采用顶空固相微萃取气相色谱-质谱联用(HS-SPME/GC-MS)技术对南瓜籽油的挥发性成分进行分析。

4.2.6.1 HS-SPME/GC-MS 分析条件

(1) HS-SPME 条件:取 5.0 g 油脂样品置于 20 mL 顶空瓶中,将老化后的 50/30 μm CAR/PDMS/DVB 萃取头插入样品瓶顶空部分,于 60 °C 吸附 30 min,吸附后的萃取头取出插入气相色谱进样口,于 250 °C 解吸 3 min,同时启动仪器采集数据。

(2) 色谱仪器条件见下表 4-4。

表 4-4 色谱仪参数
Table 4-4 Chromatograph parameters

色谱条件	参数
色谱柱	DB-WAX (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
升温程序	40 °C (3 min) 13 °C/min; 230°C (6 min) 38 °C/min
载气	高纯氦气 (He), 纯度≥99.999%
流速	1 mL/min
进样口温度	250 °C
分流进样	不分流进样

(3) 质谱仪条件见下表 4-5:

表 4-5 质谱仪参数
Table 4-5 Mass spectrometer parameters

质谱条件	参数
离子源温度	200 °C
电离方式	EI
灯丝发射电流	1 mA
电子能量	70 eV
接口温度	250 °C

4.2.7 数据分析

ROAV 计算: 通过计算 ROAV^[90], 确定挥发性物质对样品风味的贡献。一般认为 ROAV>1 的挥发性物质是样品中的关键风味物质, 其余各组分的 ROAV 按下式计算

$$ROAV = \frac{C}{T} \times \frac{T_{\max}}{C_{\max}} \times 100$$

式中: C 为各组分的相对含量/%;

T 为各组分的感觉阈值/ (mg/kg);

C_{max} 为对整体风味贡献最大的化合物的相对含量/%;

T_{max} 为对整体风味贡献最大的化合物的感觉阈值/ (mg/kg)。

使用 Excel 2010、MetaboAnalyst5.0、TB tools 软件处理数据和绘图。

4.3 试验结果分析

4.3.1 南瓜籽油的基本理化指标的对比

表 4-6 南瓜籽油的基本质量指标
Table 4-6 Basic quality indexes of pumpkin seed oil

指标	H1	H2	H3	H4
色泽	红=1.6, 黄=15.4, 蓝=0.2	红=2.5, 黄=22.4, 蓝=0.7	红=5.1, 黄 =35.4, 蓝=0.7	红=9, 黄=12.0, 蓝=0.3
酸值/(mg/g)	1.23	1.40	1.55	1.70
过氧化值/(mmol/kg)	1.10	1.30	0.99	2.40
碘值/(g/100g)	108	110	126	106
折光系数	1.4720	1.4720	1.4715	1.4734
气味、滋味	具有南瓜籽固有 的气味和滋味、 无异味	具有南瓜籽固有 的气味和滋味、 无异味	具有南瓜籽固有 的气味和滋味、 无异味	具有南瓜籽固 有的气味和滋 味、无异味
透明度	透明、澄清	透明、澄清	透明、澄清	透明、澄清

注: H1-水提法; H2-水酶法; H3-超声波辅助水酶法; H4-压榨法, 下同。

由表 4-6 可知, 南瓜籽油呈红色至深红棕色, 澄清、透明, 无异味, 富有南瓜籽油固有的气味、滋味。南瓜籽油酸价为 1.23~1.70 mg/g, 过氧化值为 1.10~2.40 mmol/kg, 碘值为 106~126 g/100g; 四种不同工艺提取南瓜籽油样品均符合 LS/T 3250-2017《南瓜籽油》中的规定。

油脂中游离脂肪酸的含量可以通过酸值反映, 压榨法所制得南瓜籽油的酸价最高 (1.70mg/g), 酸价最低为水提法 (1.23 mg/g), 水酶法和超声波辅助法所得南瓜籽油酸价分别为 1.40 mg/g、1.55mg/g, 高于水提法; 这可能是因为, 原料在超声波处理后会 导致油脂中游离脂肪酸增加, 也有可能是水酶法和超声辅助水酶法制得的南瓜籽油中含 较多的酚类物质, 导致酸价偏高, 刘玉梅等人^[95]测得裸仁南瓜籽油酸价在 0.89 mg/g 以 上, 与本试验基本相符。

过氧化值能说明油脂酸败程度, 四种工艺对南瓜籽油的过氧化值有影响, 水提法过 氧化值为 1.10 mmol/kg、水酶法过氧化值为 1.3 mmol/kg、超声辅助法过氧化值为 0.99 mmol/kg、压榨法过氧化值为 2.40 mmol/kg, 偏高。但均符合国标要求。

碘值反映了油脂的不饱和程度, 结果显示超声辅助法 (126 g/100 g) >水酶法 (110 g/100 g) >对照组 (108 g/100 g) >压榨法 (106 g/100 g)。这说明超声法制取的南瓜 籽油不饱和程度大。杨学芳等人^[92]测定了 10 个不同产地的南瓜籽油的碘值, 为 108.4 ~116.2 g/100 g, 与本文结果基本一致。

4.3.2 南瓜籽油脂肪酸组成的差异

表 4-7 南瓜籽油的脂肪酸组成及含量
Table 4-7 Fatty acid composition and content of pumpkin seed oil

脂肪酸组成类别	质量分数/%			
	H1	H2	H3	H4
豆蔻酸	ND	0.01	0.02	0.01
棕榈酸	11.80	10.80	10.90	12.40
饱和脂肪酸	5.70	5.44	5.55	5.48
花生酸	0.40	0.41	0.38	0.39
山嵛酸	0.11	0.18	0.14	0.14
总计	18.01	16.84	16.99	18.42
棕榈一烯酸	0.12	0.11	0.12	0.11
油酸	28.90	29.40	29.60	29.90
不饱和脂肪	51.90	52.40	52.80	50.20
酸	0.20	0.19	0.21	0.45
花生一烯酸	0.11	0.13	0.14	0.11
芥酸	0.04	0.04	0.04	ND
总计	81.27	82.27	82.91	80.77

注：ND 表示未检出

脂肪酸组成是评价南瓜籽油营养价值的重要指标。4种提取工艺制备的南瓜籽油脂肪酸组成及含量见表4-7，南瓜籽油主要由11种脂肪酸组成，含量从高到低依次为亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸、亚麻酸、花生一烯酸、棕榈一烯酸、芥酸、豆蔻酸；其中，饱和脂肪酸含量16.84~18.42%、单不饱和脂肪酸含量29.17~30.12%、多不饱和脂肪酸含量为50.65~53.01%。南瓜籽油中主要含不饱和脂肪酸，具有调节血脂、增强免疫、保护视力等作用^[93]。本试验南瓜籽油中不饱和脂肪酸以油酸和亚油酸两种脂肪酸为主，约占总脂肪酸组成的80.77~82.91%。亚油酸属于 ω -6多不饱和脂肪酸，对软化心脑血管，降脂降压，促进新陈代谢，调节内分泌等有重要作用^[96-98]。本实验中，超声波辅助水酶法提取南瓜籽油亚油酸含量为52.80%，与水酶法提取的南瓜籽油亚油酸含量相差不大，相较于水提法和压榨法，亚油酸含量分别提高了0.90%和2.60%。其余不饱和脂肪酸如棕榈一烯酸、亚麻酸、花生一烯酸、芥酸等含量均低于1%。南瓜籽油饱和脂肪酸中的棕榈酸和硬脂酸约占总脂肪酸的20%，其中压榨法制取的南瓜籽油棕榈酸含量最高为12.40%。

南瓜籽油脂肪酸组成基本符合LS/T 3250-2017《南瓜籽油》中的规定，超声波辅助

水酶法与水酶法提取的南瓜籽油相比，脂肪酸组成差别不大，二者饱和脂肪酸含量为 $(16.92 \pm 0.08)\%$ 、单不饱和脂肪酸含量为 $(29.79 \pm 0.11)\%$ 、多不饱和脂肪酸含量为 $(52.80 \pm 0.21)\%$ ，与FAO/WHO推荐的油脂中脂肪酸最佳比例较为接近^[99]。可见南瓜籽油确实可以作为一款高品质油脂进行食用。

4.3.3 南瓜籽油的营养成分

表 4-8 南瓜籽油的营养成分
Table 4-8 Nutritional components of pumpkin seed oil

化学成分	含量/(mg/100 g)			
	H1	H2	H3	H4
植物甾醇	184	190	202	194
α -生育酚	2.32	3.35	3.62	3.06
γ -生育酚	36.60	75.40	76.20	62.20
δ -生育酚	0.66	1.34	1.27	1.04

生育酚、植物甾醇是植物油中重要的生物活性成分。由表 4-8 可以看出，甾醇含量受到不同制油工艺的影响，超声波辅助水酶法得到的南瓜籽油的植物甾醇含量为 202 mg/100 g。与对照组（184 mg/100 g）、水酶法（190 mg/100 g）、压榨法（194 mg/100 g）相比，超声辅助水酶法对于甾醇具有更高的提取效率，这说明超声处理有利于甾醇等活性成分随油脂的溶出。

由表 4-8 可知：南瓜籽油中生育酚组成主要为 α 、 γ 两种生育酚，其中 γ -生育酚含量最高为 36.60%~76.20%，这与曹子伦等^[100]结论一致。超声波辅助水酶法南瓜籽油的 γ -生育酚含量高达 76.20 mg/100 g，相比对照组提高了 39.60%，比压榨法提高了 14.0%。上述结果说明超声辅助水酶法更有利于提取南瓜籽油中生物活性物质。

4.3.4 南瓜籽油中挥发性成分的分析对比

香气成分的分析、鉴定成为近年来研究的热点。本试验通过顶空气相色谱-质谱对不同工艺南瓜籽油挥发性物质进行测定，结果如图 4-1。

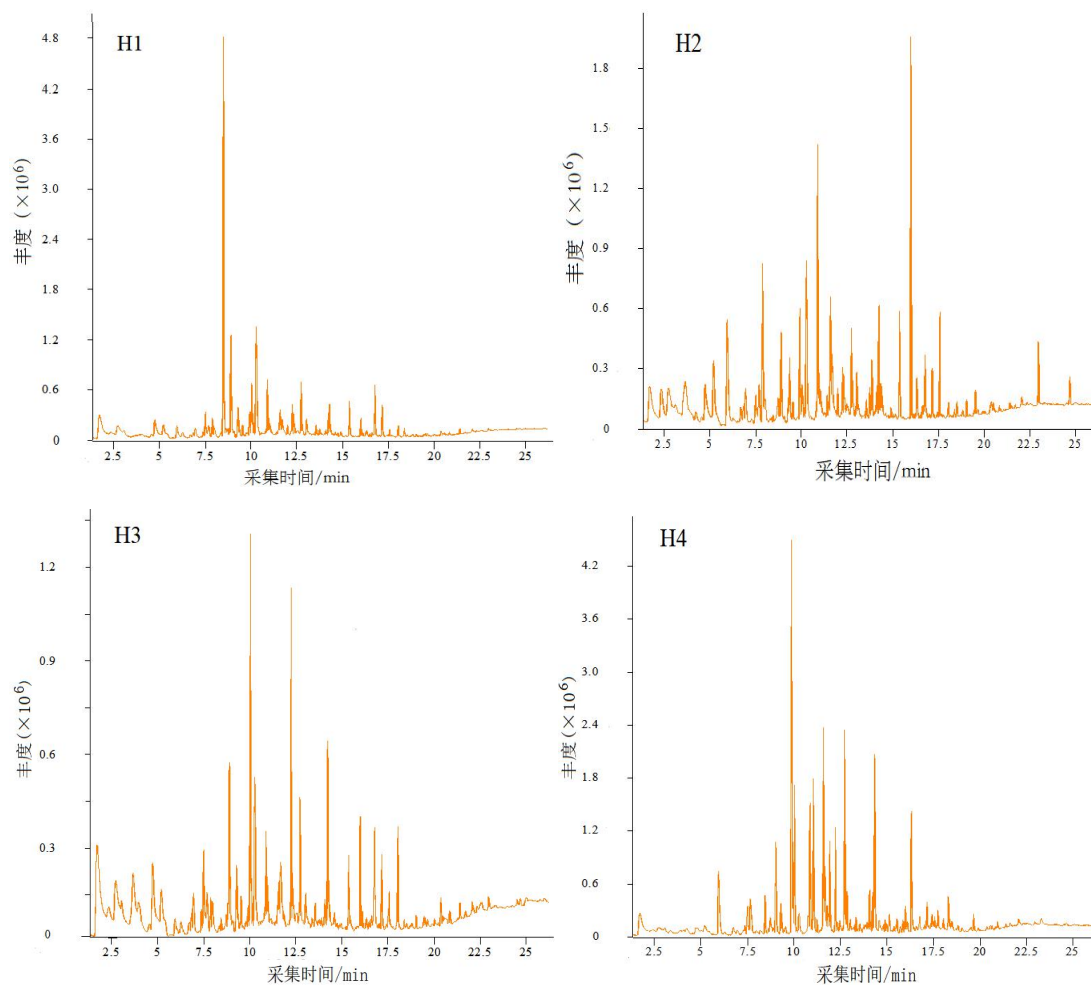


图 4-1 不同工艺制备南瓜籽油总离子流图

Fig.4-1 Total ion current chromatograms of volatile substances in pumpkin oil prepared by different processes

不同工艺南瓜籽油中共检测到 95 种挥发性物质，包括 10 种酯类、10 种醇类、12 种酸类、10 种酮类、6 种萜烯类、5 种酚类、12 种烃类、18 种醛类、12 种杂环类物质。以压榨法最多，达 74 种，对照组和水酶法居中，分别为 65 种和 63 种，超声波辅助水酶法最少，有 60 种。部分挥发性物质只在压榨样品中检测到，包括苯甲酸乙酯、2-蒎烯、十四烷、戊醛、2,3-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-甲基吡嗪、2-正戊基呋喃、苯并噻唑、吡啶等，但是这些物质含量较低，且阈值较高，因此对整体风味贡献不大。根据峰面积归一法得到各成分的相对含量，不同工艺的南瓜籽油挥发性成分组成及相对含量见图 4-2、表 4-9。

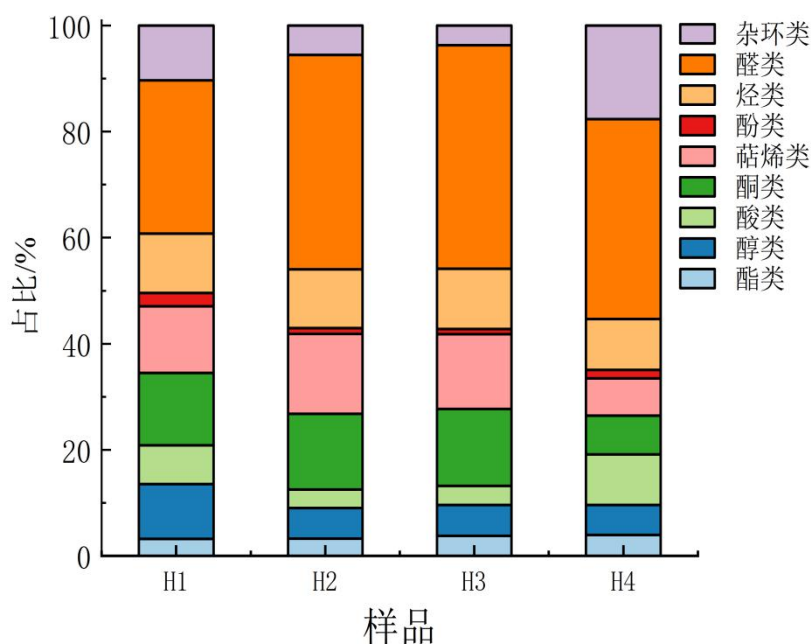


图 4-2 不同工艺制备南瓜籽油挥发性物质占比

Fig.4-2 Proportions of volatile substances in pumpkin oil prepared by different processes

如图 4-2 所示，南瓜籽油样品中醛类物质占比最高，为 23.87~42.19%，其次为酮类（7.33~14.52%）、萜烯类（7.02~15.10%）、醇类（5.75~10.33%）、烃类（9.55~11.35%）、杂环类（3.68~17.64%），酸类、酚类、酯类物质的含量占比较低，其中杂环类物质在压榨法样品中占比较高，但在水酶法和超声辅助法样品中占比较少，超声波辅助水酶法样品中的醛类物质占比最高，酚类物质占比最低。

表 4-9 南瓜籽油的挥发性香气成分
Table 4-9 Volatile flavour compounds of pumpkin seed oil by HS-SPME-GC/MS

编号	化合物	CAS 号	保留指数 RI	挥发性物质含量/%				气味描述
				H1	H2	H3	H4	
酯类								
a1	γ -丁内酯	96-48-0	1644.5	/	0.456	0.438	0.537	脂肪、奶油香
a2	苯甲酸甲酯	93-58-3	1632.7	/	0.061	0.062	/	花香、果香
a3	二氢猕猴桃内酯	15356-74-8	2371.4	0.211	0.39	0.644	0.172	麝香
a4	乙酸苯乙酯	103-45-7	1823.5	0.477	/	/	0.236	焦糖香
a5	乙酸己酯	142-92-7	1273	0.102	/	0.102	0.333	花香、果香
a6	正己酸乙酯	123-66-0	1234.3	0.876	0.54	0.549	0.506	苹果、梨果香
a7	γ -己内酯	695-06-7	1715.4	0.403	0.487	0.336	/	水果香
a8	苯甲酸乙酯	93-89-0	1675.6	/	/	/	0.187	香豆素、焦糖香
a9	丙位辛内酯	104-50-7	1930.2	/	0.168	/	0.187	花香、果香
a10	庚酸乙酯	106-30-9	1334.1	1.123	1.156	1.604	1.749	果香、面包香
	酯类总量			3.192	3.258	3.735	3.907	
醇类								
b1	1-壬醇	143-08-8	1661.8	1.874	1.327	1.592	/	花香、果香
b2	1-辛醇	111-87-5	1558.7	/	0.672	0.628	/	油脂香
b3	苯乙醇	60-12-8	1922.8	0.594	/	/	0.106	玫瑰香
b4	苯甲醇	100-51-6	1885	0.506	/	/	0.688	花香
b5	庚醇	111-70-6	1455.4	1.751	1.361	1.132	1.037	油脂、辛辣香
b6	正己醇	111-27-3	1352.8	1.748	1.204	1.356	1.141	青草香
b7	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	1447.3	1.667	1.089	1.14	1.451	蘑菇香

编号	化合物	CAS 号	保留指数 RI	挥发性物质含量/%				气味描述
				H1	H2	H3	H4	
b8	反式-2-辛烯-1-醇	18409-17-1	1615.6	1.176	/	/	/	/
b9	仲辛醇	123-96-6	1416.5	/	0.098	/	/	油脂香
b10	1-戊醇	71-41-0	1250.2	1.01	/	/	1.275	水果香
	醇类总量			10.326	5.751	5.848	5.698	
				酸类				
c1	苯甲酸	65-85-0	2448.8	/	0.538	0.701	0.431	膏香、苦味
c2	丁酸	107-92-6	1627.2	0.337	/	/	0.242	刺激性气味
c3	癸酸	334-48-5	2267.8	0.396	0.434	0.423	/	脂肪、腐臭味
C4	山梨酸	110-44-1	2151.3	0.121	0.049	/	/	果香、菠萝香
C5	辛酸	124-07-2	2055.7	0.338	0.65	/	0.424	刺激性气味
C6	2-甲基丁酸	116-53-0	1667.4	1.149	1.25	1.27	1.055	果香、奶酪香
C7	乙酸	64-19-7	1452.4	1.779	/	/	1.148	醋香气、酸味
C8	庚酸	111-14-8	1949	0.543	0.28	0.712	/	脂肪、奶酪香
C9	己酸	142-62-1	1842.6	1.768	/	/	3.55	腐臭奶酪香
c10	壬酸	112-05-0	2161.7	0.228	0.234	0.327	1.107	特殊气味
c11	正戊酸	109-52-4	1735.5	/	0.078	0.18	0.843	奶酪、酸奶
c12	丙酸	79-09-4	1537.9	0.658	/	/	0.71	酸香
	酸类总量			7.317	3.513	3.613	9.51	
				酮类				
d1	1-辛烯-3-酮	4312-99-6	1255.3	3.268	3.934	3.481	2.134	蘑菇香
d2	2,2,6-三甲基环己酮	2408-37-9	1317.9	/	0.116	0.236	0.086	烟草香
d3	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮	1125-21-9	1701.5	1.166	1.177	1.253	0.62	柑橘、柠檬香
d4	甲基庚烯酮	110-93-0	1339.4	1.734	1.874	1.817	/	水果香、清香
d5	仲辛酮	111-13-7	1285.7	2.732	2.913	3.571	2.456	苹果香

编号	化合物	CAS号	保留指数RI	挥发性物质含量/%				气味描述
				H1	H2	H3	H4	
d6	2-庚酮	110-43-0	1182.8	/	/	/	2.034	乳脂香
d7	3-辛烯-2-酮	1669-44-9	1410.2	0.403	/	0.62	/	蘑菇香
d8	3-辛酮	106-68-3	1255.6	1.144	1.014	0.184	/	薰衣草香
d9	α -紫罗酮	127-41-3	1857.8	2.128	2.122	2.241	/	木香、花香
d10	β -紫罗酮	79-77-6	1947.4	1.095	1.101	1.112	/	果香、紫罗兰香
	酮类总量			13.67	14.251	14.515	7.33	
				萜烯类				
e1	α -水芹烯	99-83-2	1019.8	3.564	3.654	4.175	1.132	黑胡椒香
e2	苯乙烯	100-42-5	1260.4	3.474	3.474	4.371	1.254	树脂、花香
e3	右旋萜二烯	5989-27-5	1196.3	3.835	5.553	6.973	3.114	新鲜橙子香
e4	2-蒎烯	80-56-8	1164	/	/	/	0.094	松树味
e5	3-葑烯	13466-78-9	1019.1	1.69	2.404	2.524	1.429	/
e6	茴香烯	4180-23-8	1837.6	/	0.013	0.224	/	茴香、甜味
	萜烯类总量			12.563	15.098	14.092	7.023	
				酚类				
f1	苯酚	108-95-2	2008.9	0.966	0.719	0.799	0.479	酚酸气味
f2	间甲酚	108-39-4	2085.4	/	0.142	/	0.115	酚酸气味
f3	4-乙基-2-甲氧基苯酚	2785-89-9	2037.3	0.962	/	/	0.303	臭味和燃烧味
f4	4-乙基苯酚	123-07-9	2177.7	0.555	/	/	0.613	烟熏
f5	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	2305.3	/	0.194	0.181	0.108	/
	酚类总量			2.483	1.055	0.98	1.618	
				烃类				
g1	十二烷	112-40-3	1201.7	0.445	0.418	0.451	0.288	/
g2	十六烷	544-76-3	1400.8	1.261	/	/	1.221	/

编号	化合物	CAS号	保留指数RI	挥发性物质含量/%				气味描述
				H1	H2	H3	H4	
g3	十五烷	629-62-9	1500.7	1.086	1.196	1.193	0.132	/
g4	十三烷	629-50-5	1301.1	0.695	/	/	0.866	
g5	十一烷	1120-21-4	1100.9	0.217	/	/	0.205	/
g6	十四烷	629-59-4	1102.2	/	/	/	0.064	/
g7	萘	91-20-3	1756.8	2.465	2.457	2.545	/	樟脑香气
g8	甘菊蓝	275-51-4	1756.5	1.073	1.463	1.189	2.101	/
g9	苯	71-43-2	943.7	/	/	/	0.623	/
g10	甲苯	108-88-3	1041	1.954	2.339	2.459	1.719	/
g11	邻二甲苯	95-47-6	1185.2	2.041	2.028	2.079	2.333	/
g12	间二甲苯	1454-85-9	1141.8	/	1.173	1.434	/	/
	烃类总量			11.237	11.074	11.35	9.552	
				醛类				
h1	(E)-2-庚烯醛	18829-55-5	1327.4	0.524	0.699	0.731	0.601	肉香
h2	4-乙基苯甲醛	4748-78-1	1720.4	/	0.35	0.34	/	/
h3	5-羟甲基糠醛	67-47-0	2510.5	0.363	0.364	0.451	/	/
h4	苯甲醛	100-52-7	1534.8	3.716	4.545	5.19	9.16	苦杏仁气味
h5	己醛	66-25-1	1083.1	12.789	19.45	19.789	11.87	油脂、青草香
h6	壬醛	124-19-6	1395	4.358	6.111	6.1	5.03	花香、果香
h7	肉桂醛	104-55-2	1881.5	3.177	3.186	3.195	5.172	肉桂香味
h8	正辛醛	124-13-0	1289.9	1.753	1.831	2.246	1.594	水果香味
h9	反式肉桂醛	14371-10-9	1847.6	0.662	0.546	/	0.793	肉桂香味
h10	糠醛	98-01-1	1473.1	0.198	0.152	0.082	/	苦杏仁的香味
h11	柠檬醛	5392-40-5	1171.8	/	/	0.003	0.139	柠檬香味
h12	异戊醛	590-86-3	982.9	1.135	1.021	1.524	0.893	果香

编号	化合物	CAS号	保留指数RI	挥发性物质含量/%				气味描述
				H1	H2	H3	H4	
h13	2-苯基巴豆醛	4411-89-6	1943.7	0.198	1.11	1.126	1.187	花香、蜜糖
h14	2-壬烯醛	2463-53-8	1540.7	/	0.291	0.35	0.246	脂肪和肉类香
h15	反-2-辛烯醛	2548-87-0	1434	/	0.423	0.514	/	脂肪和肉类香
h16	5-甲基呋喃醛	620-02-0	1583.7	/	0.254	0.274	0.181	甜香、焦糖香
h17	肉豆蔻醛	124-25-4	1500.7	/	0.16	0.27	0.66	桃子似香气
h18	戊醛	110-62-3	982.8	/	/	/	0.194	面包、巧克力香
	醛类总量			28.873	40.493	42.185	37.72	
				杂环类				
i1	2,3,5,6-四甲基吡嗪	1124-11-4	1477.3	1.18	0.53	0.77	0.11	脂肪和肉类香
i2	2,3,5-三甲基吡嗪	14667-55-1	1406.8	2.209	/	/	2.008	咖啡、坚果香
i3	2,3-二甲基吡嗪	5910-89-4	1350.5	/	/	/	0.287	可可果味
i4	2,6-二甲基吡嗪	108-50-9	1324.8	/	/	/	1.639	炒花生味
i5	2-甲基吡嗪	109-08-0	1269.3	/	/	/	0.665	坚果、烤香、霉香
i6	2-乙基-5-甲基吡嗪	13360-64-0	1393.5	4.78	/	/	2.231	栗香气
i7	吡嗪	290-37-9	1215.6	3.671	/	/	3.32	脂肪和肉类香气
i8	2-正戊基呋喃	3777-69-3	1232.3	/	/	/	1.832	果香、青香
i9	2-乙酰基呋喃	1192-62-7	1513.5	1.06	3.957	1.822	0.71	坚果、焦糖香
i10	吡啶	110-86-1	1185.5	1.11	1.02	1.09	4.59	鱼样香气、胺味
i11	苯并噻唑	95-16-9	1973.8	/	/	/	0.11	坚果香气
i12	吡啶	120-72-9	2459.5	/	/	/	0.14	茉莉花香
	杂环类总量			10.339	5.507	3.682	17.642	

注：“/”表示未检出

由表 4-9 可知, 醛类物质中, 己醛在四种不同工艺制取的南瓜籽油样品中含量均最高(11.87~19.79%), 其次为壬醛(4.36~6.11%); 在压榨法中苯甲醛含量较高为 9.16%, 其次为肉桂醛(5.17%)。醛类物质是通过脂质分子中的烷氧基自由基裂解形成的有机化合物, 具有清香、果香、脂肪香等香气特征^[101]。其含量较高且阈值较低, 是南瓜籽油的主要香气物质。

酮类物质中 1-辛烯-3-酮(2.13~3.93%)、仲辛酮(2.73~3.57%)、 α -紫罗酮(2.12~2.24%)、甲基庚烯酮(1.82%~1.87%)和 β -紫罗酮(1.10~1.11%)为南瓜籽油样品中主要挥发性物质。而 α -紫罗酮、甲基庚烯酮和 β -紫罗酮仅在对照组、水酶法和超声辅助水酶法样品中检出。2-庚酮只在压榨组样品中存在且含量较高为 2.03%。如 1-辛烯-3-酮、甲基庚烯酮等属于不饱和酮类物质, 其阈值相对较低, 对南瓜籽油风味有较大贡献作用。

萜烯类也是南瓜籽油中含量较多的一类物质, 且多为单萜烯类化合物。本试验中超声辅助法样品中右旋萜二烯含量最高为 6.97%, 其次为苯乙烯(4.37%)、 α -水芹烯(4.18%); 水酶法样品中的萜烯类物质与其基本一致, 比较对照组和压榨法样品, 茴香烯仅在水酶法和超声辅助法样品中存在, 但含量较少。

烃类物质中, 对照组、超声波辅助法和水酶法样品中含量最高的为萘(2.46~2.55%), 其次为甲苯(2.34~2.46%)、邻二甲苯(2.03~2.08%); 压榨法制取的南瓜籽油中含量最高的是邻二甲苯(2.33%), 其次为甘菊蓝(2.10%); 而对照组中饱和烃类较多为十六烷(1.26%)、十三烷(0.70%)、十一烷(0.22%)。烃类物质在所有样品中均有检出, 包括饱和烃和不饱和烃, 不饱和烃阈值较低, 对风味贡献作用较大^[102]。

南瓜籽油杂环类物质中相对含量最高的物质是 2-乙酰基呋喃, 为 0.71~3.96%, 一般不饱和脂肪酸氧化产生, 表现为坚果、焦糖味^[103]。但其含量较低, 对南瓜籽油风味贡献不大。

酸类和酚类物质主要在压榨法样品中检出, 己酸在压榨南瓜籽油中含量为 3.55%, 在对照组中为 1.77%、在水酶法样品组中仅为 0.28%。酚类物质在压榨南瓜籽油中总共检出 5 种, 总量为 1.62%; 在对照组和水酶法样品组中各有 3 种, 而在超声辅助法中仅检出 2 种, 且总量为 0.98%。

4.3.4.1 不同工艺南瓜籽油关键香气成分分析

南瓜籽油的总体风味是由其挥发性成分的含量及感觉阈值共同决定的。只有部分相对含量高、阈值低的化合物对南瓜籽油总体风味起到显著贡献, 但南瓜籽油中挥发性物质种类较多, 仅通过相对含量进行判断工作量较大, 并且不够全面和准确。因此为进一步分析出南瓜籽油的关键风味物质, 通过计算 ROAV 值进行分析^[104-105]。

表 4-10 不同工艺制备南瓜籽油挥发性物质的 ROAV

Table 4-10 ROAV values of volatile substances in pumpkin oil prepared by different processes

化合物英文名称	化合物名称	阈值 /(mg/kg)	ROAV			
			H1	H2	H3	H4
Ethyl caproate	正己酸乙酯	0.0050	8.25	5.85	5.27	6.93
Ethyl heptanoate	庚酸乙酯	0.0019	10.69	11.56	14.35	21.17
1-Nonanol	1-壬醇	0.0455	0.48	0.95	1.07	/
1-Octanol	1-辛醇	0.1258	/	0.31	0.24	/
n-Heptanol	庚醇	0.0054	7.64	12.80	13.01	4.42
Hexyl alcohol	正己醇	0.0056	38.04	40.39	40.55	8.79
1-Octen-3-ol	1-辛烯-3-醇	0.0015	55.15	55.56	58.26	22.25
Hexanoic acid	己酸	0.89	0.12	0.01	0.02	0.16
1-Octen-3-one	1-辛烯-3-酮	0.00003	48.40	74.66	91.91	45.48
Methylheptenone	甲基庚烯酮	0.068	0.53	0.52	0.52	
2-Octanone	仲辛酮	0.0502	0.56	1.10	1.09	0.67
2-Heptanone	2-庚酮	0.14	/	/	/	0.37
p-Mentha-1,5-diene	α -水芹烯	0.04	/	1.74	2.06	/
Styrol	苯乙烯	0.065	1.51	2.18	1.93	/
d-Limonene	右旋萜二烯	0.034	3.13	3.10	2.83	/
Naphthalene	萘	0.006	5.37	7.78	7.49	/
Toluene	甲苯	0.527	0.19	0.24	0.24	0.08
1,2-Xylene	邻二甲苯	0.4502	0.11	0.13	0.15	0.11
Benzaldehyde	苯甲醛	0.7509	0.11	0.08	0.12	0.28
Hexanal	己醛	0.005	100.27	100.51	100.00	100.60
1-Nonanal	壬醛	0.0011	66.55	71.00	70.82	63.36
Isovaleraldehyde	异戊醛	0.0011	16.70	17.63	23.55	18.67
Trimethyl-pyrazine	2,3,5-三甲基吡嗪	0.3501	0.07	/	/	0.39
	2,6-二甲基吡嗪	0.718	/	/	/	0.61
2,6-Dimethyl pyrazine	2-乙基-5-甲基吡嗪	0.016	3.67	/	/	8.96
	2-正戊基呋喃	0.0058	/	/	/	7.26

注：“/”表示未检出

根据文献查阅得到的感觉阈值计算出南瓜籽油挥发性物质构成中 ROAV 大于 0.1 的挥发性物质^[106]，结果如表 4-10 所示，其中己醛是南瓜籽油中风味贡献最大的物质。在水酶法和超声辅助法样品组中，己醛、1-辛烯-3-酮、壬醛、1-辛烯-3-醇、正己醇、异戊醛是关键香气成分；在压榨法样品组中，己醛、壬醛、1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇、庚酸乙酯、2-乙基-5-甲基吡嗪是关键香气成分；对照组中关键香气成分为己醛、壬醛、1-辛

烯-3-醇、1-辛烯-3-酮和正己醇，其余物质对南瓜籽油的风味起修饰作用。

4.3.4.2 不同工艺南瓜籽油 PCA 得分图

PCA 是采取降维的方法，找出对样品贡献最大和最主要的因子，利用 PCA 空间分布图可以在最大程度上体现因子间的差异性^[107]。对表 4-6 中不同提取工艺的挥发性物质进行 PCA 分析，结果如图 4-1 所示。共提取到 2 个 PC，PC1(58.1%) 和 PC2(31.19%)，累计方差贡献率为 89.29%（大于 85%），可以较好反映原始数据的绝大部分信息，完全符合 PCA 要求。

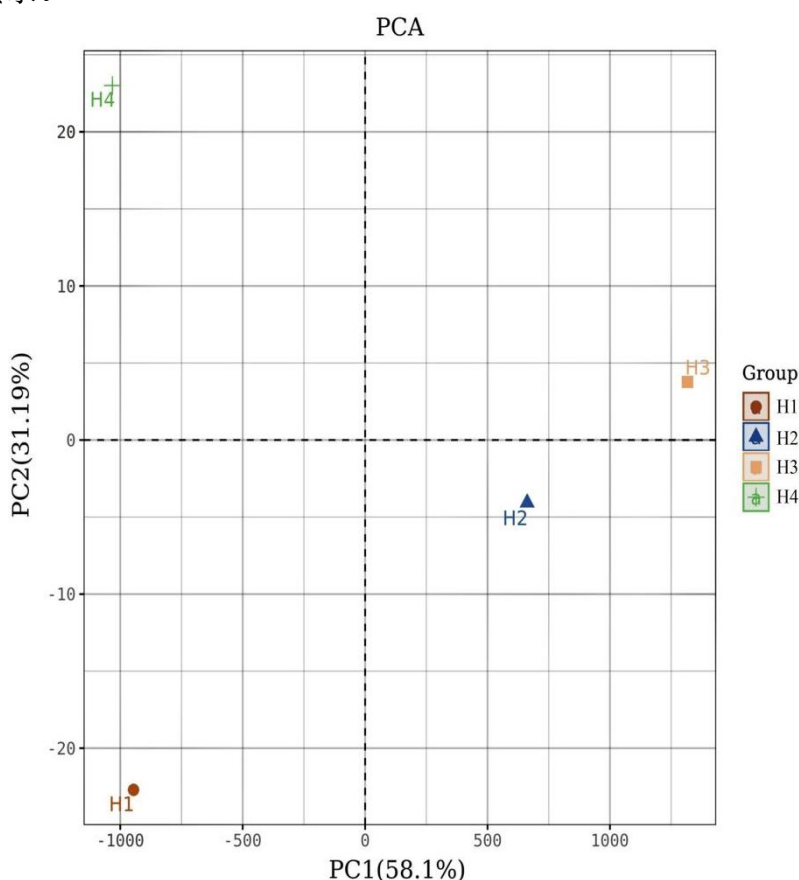


图 4-3 不同工艺南瓜籽油 PCA 得分图

Fig.4.3 PCA score chart of different processes pumpkin seed oil

由图 4-3 可知，PCA 得分图能有限区分不同工艺南瓜籽油样品。超声波辅助水酶法提取南瓜籽油与水酶法提取南瓜籽油距离较近，这一结果说明其挥发性成分比较接近。两种提取工艺与对照组和压榨法提取南瓜籽油相距较远，且对照组与 PC1、PC2 显示出较强的负相关，因此，PCA 得分图的结果表明，可以通过挥发性物质将不同工艺所得南瓜籽油区分开。

4.3.4.3 不同工艺南瓜籽油热图分析

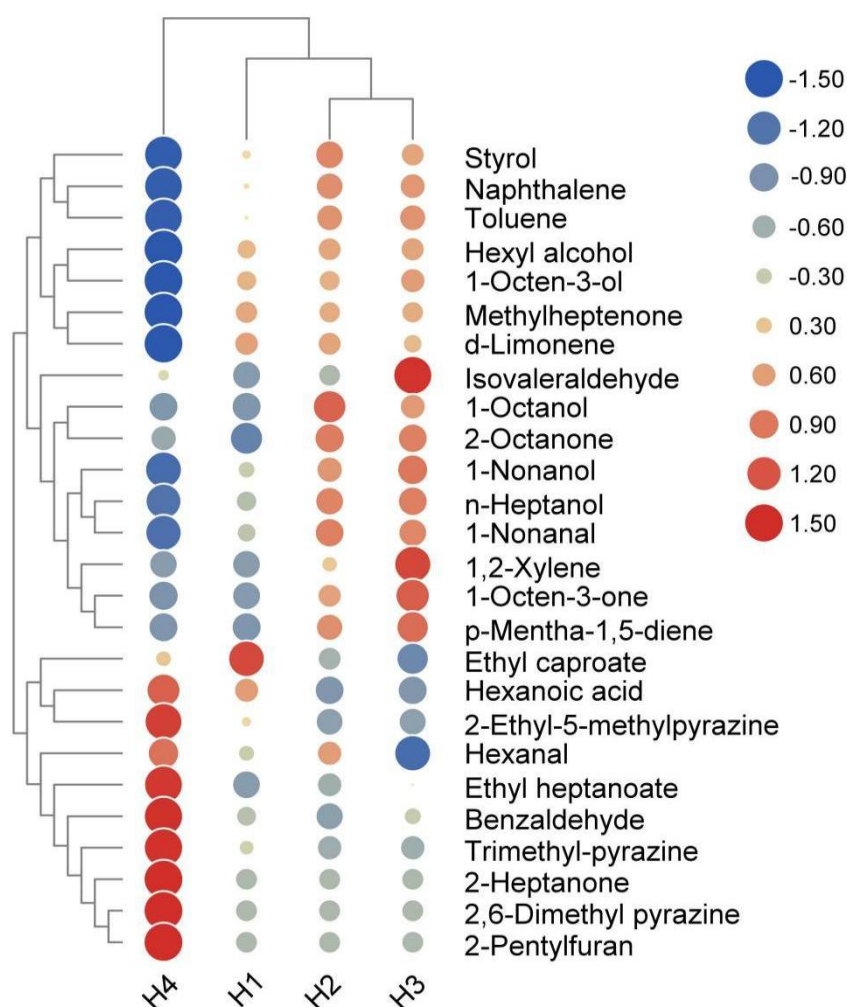


图 4-4 不同工艺南瓜籽油挥发性物质聚类热图

Fig.4.4 Clustering heat map of volatile substances in pumpkin oil prepared by different processes

从图 4-4 可以看出，每种挥发性物质的颜色深浅不同、圆点面积不同，颜色越深、圆点面积越大表示该种物质风味贡献越大，颜色越浅圆点面积越小则贡献程度越小，最深色为不同样品间特有成分^[108]。颜色差别较大的为超声辅助法与压榨所得样品，说明两类样品挥发性香气物质差异性显著。热类聚图可将南瓜籽油的提取工艺分为两大类，使其特征性物质可视化。一类是水酶法和超声辅助水酶法所得样品、另一类是压榨法所得样品。对于异戊醛、1-辛醇、仲辛酮、1-壬醇、庚醇、壬醛、己醛、1-辛烯-3-酮、 α -水芹烯等挥发性物质来说，超声辅助法所得样品的含量均高于压榨所得样品。对于正己酸乙酯、己酸、2-乙基-5-甲基吡嗪、邻二甲苯、庚酸乙酯、苯甲醛、2,3,5-三甲基吡嗪、2-庚酮、2,6-二甲基吡嗪、2-正戊基呋喃等挥发性物质，超声辅助法所得样品的含量均小于压榨所得样品。对照组所得样品与水酶法和超声辅助水酶法所得样品挥发性物质含量差异不明显。因此可通过以上化合物的种类对南瓜籽油的制备工艺进行区分。

4.3.5 南瓜籽油与市售植物油的挥发性成分分析对比

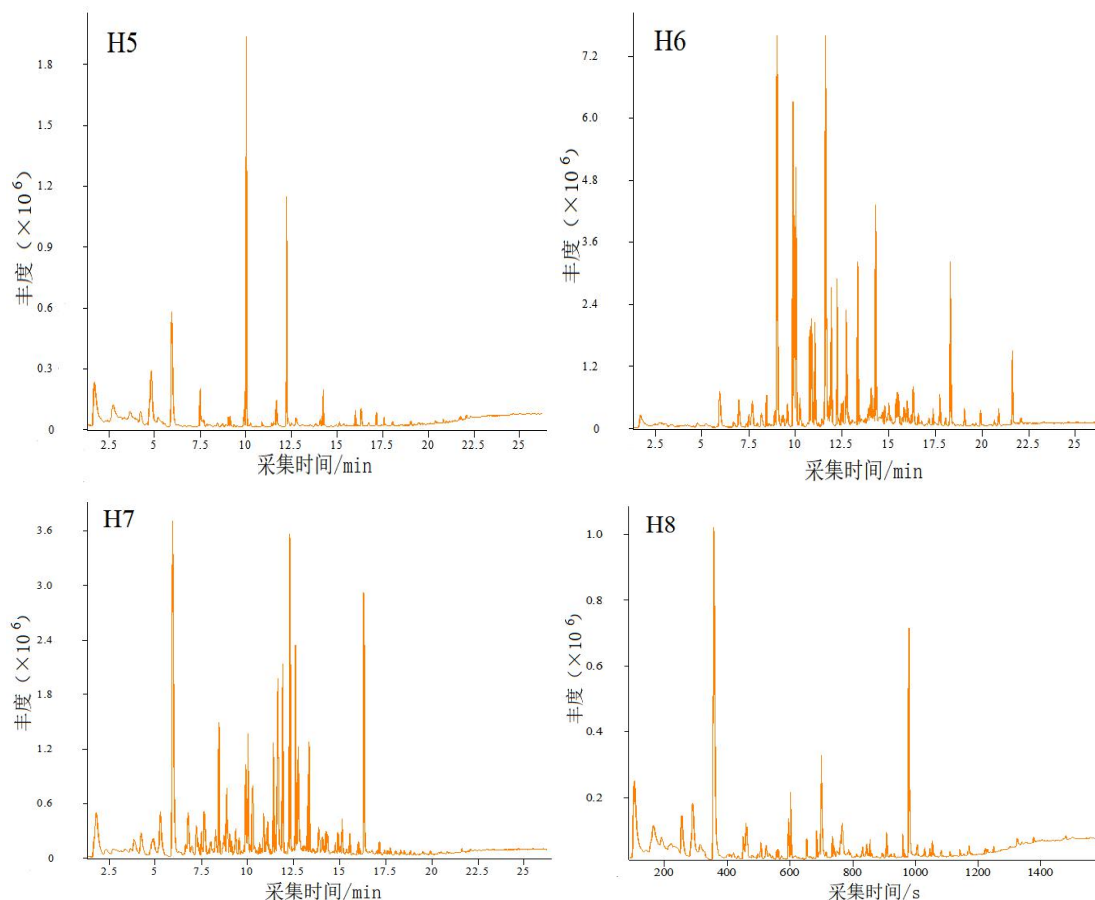


图 4-5 不同植物油总离子流图

Fig.4-5 Total ion current chromatograms of volatile substances in different plants oil

注：H5-葵花籽油；H6-花生油；H7-胡麻籽油；H8-红花籽油，下同。

不同植物油中共检测到 120 种挥发性物质，包括 10 种酯类、14 种醇类、11 种酸类、14 种酮类、9 种萜烯类、6 种酚类、14 种烃类、25 种醛类、16 种杂环类物质。不同品种植物油，挥发性物质种类不同，以胡麻籽油和南瓜籽油最多，均为 60 种，其次为花生油和红花籽油，分别为 58 种和 40 种，葵花籽油最少，仅有 35 种。与超声辅助法所得南瓜籽油对比发现，花生油、胡麻籽油与南瓜籽油在醇类物质组成上类似，主要为 1-辛醇、苯乙醇、苯甲醇、庚醇；4 种油与南瓜籽油在酸类物质组成上基本一致，主要为辛酸、乙酸、庚酸、己酸、壬酸、正戊酸、丙酸；苯甲醛、己醛、壬醛、正辛醛这几种醛类物质在各个样品油中均可检测出；而南瓜籽油在酯类、酮类、酚类、萜烯类、烃类、杂环类挥发性成分组成上与其他 4 种油有较大差异。根据峰面积归一法得到各成分的相对含量，并通过阈值计算得出不同植物油的 ROAV 值，见表 4-11。

表 4-11 不同植物油挥发性物质的 ROAV
Table 4-11 ROAV values of volatile substances in different pumpkin oil

化合物英文名称	化合物名称	阈值 / (mg/kg)	ROAV 值				
			H3	H5	H6	H7	H8
Ethyl caproate	正己酸乙酯	0.005	5.27	/	/	/	/
Ethyl heptanoate	庚酸乙酯	0.0019	14.35	/	/	/	/
1-Nonanol	1-壬醇	0.0455	1.07	/	/	/	/
1-Octanol	1-辛醇	0.1258	0.24	/	/	/	/
n-Heptanol	庚醇	0.56423	13.01	/	2.91	2.59	/
Hexyl alcohol	正己醇	0.0054	40.55	/	/	/	/
1-Octen-3-ol	1-辛烯-3-醇	0.0056	58.26	/	/	/	/
trans-2-Octen-1-ol	反式-2-辛烯-1-醇	0.0015	0.16	/	/	/	/
1-Pentanol	1-戊醇	0.02	/	0.10	/	0.24	0.15
Heptanoic acid	庚酸	0.1502	/	1.94	/	1.66	1.00
Hexanoic acid	己酸	0.89	/	0.05	0.05	0.22	0.21
Methylheptenone	甲基庚烯酮	0.025	0.52	/	/	/	/
2-Octanone	仲辛酮	0.068	1.09	/	/	/	/
2-Heptanone	2-庚酮	0.0502	/	/	/	0.28	0.23
1-Penten-3-one	1-戊烯-3-酮	0.14	/	/	/	2.08	
p-Mentha-1,5-diene	α -水芹烯	0.065	2.06	/	/	/	/
Styrol	苯乙烯	0.0106	1.93	0.15	0.25	/	0.16
d-Limonene	右旋萜二烯	0.000007	2.83	/	/	/	/
alpha-Pinene	2-蒎烯	0.023	/	/	/	/	3.62
Toluene	甲苯	0.0016	0.24	0.15	0.03	/	0.13
Naphthalene	萘	0.006	7.49	/	/	/	/
1,2-Xylene	邻二甲苯	0.01202	0.15	/	/	/	/
Benzaldehyde	苯甲醛	0.04	0.12	0.03	0.15	0.03	0.02
Hexanal	己醛	0.065	100.00	102.25	101.56	102.55	100.25
1-Nonanal	壬醛	0.034	70.82	9.63	21.05	27.52	11.73
5-Methyl furfural	5-甲基呋喃醛	0.041	/	/	0.11	0.06	/
Pentanal	戊醛	0.77	/	/	/	4.44	7.47
Heptanal	庚醛	0.015	/	6.94	/	10.77	11.08
Butanal	丁醛	0.0012	/	/	/	/	9.64
trans-2-Hexenal	反式-2-己烯醛	0.2	/	/	/	0.31	/
Trimethyl-pyrazine	2,3,5-三甲基吡嗪 2-乙基-5-甲基吡	0.006	/	/	0.26	0.04	/
2-Ethyl-5-methylpyrazine	嗪	0.527	/	/	7.20	/	/
2,5-Dimethylpyrazine	2,5-二甲基吡嗪	0.45023	/	/	0.17	0.01	/
2-Pentylfuran	2-正戊基呋喃	0.00501	/	2.05	5.38	18.94	2.88

注：“/”表示未检出

结果如表 4-11 所示，4 种植物油的醛类物质基本与南瓜籽油挥发性物质组成一致。其中己醛、壬醛、庚醛为葵花籽油中风味贡献最大的物质，壬醛、2-乙基-5-甲基吡嗪、

2-正戊基呋喃为花生油中风味贡献最大的物质，壬醛、2-正戊基呋喃、庚醛为胡麻籽油中风味贡献最大的物质，壬醛、庚醛、丁醛、戊醛为红花籽油中风味贡献最大的物质。

4.3.5.1 不同植物油 PCA 得分图

表 4-8 中不同植物油的挥发性物质进行 PCA，如图 4-6 所示。共提取到 2 个 PC，PC1(51.26%) 和 PC2(20.97%)，累计方差贡献率为 72.16%，可以较好反映原始数据的绝大部分信息，完全符合 PCA 要求。

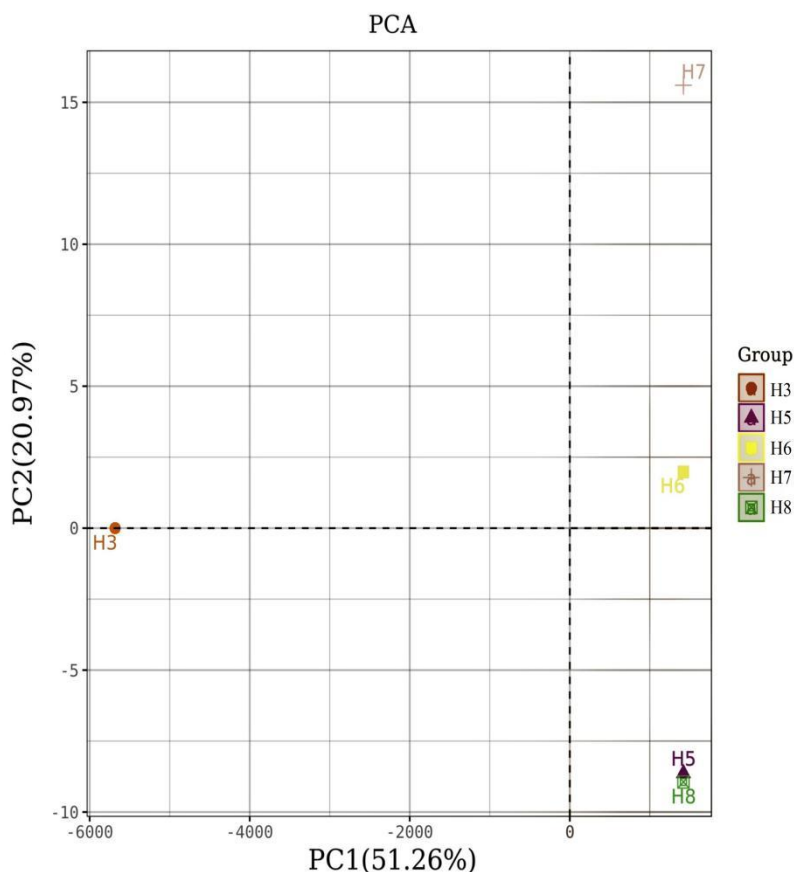


图 4-6 不同植物油 PCA 得分图

Fig.4.6 PCA score chart of different plants oil

由图 4-6 可知，PCA 得分图能有效区分不同植物油样品。南瓜籽油与其他 4 种植物油相距较远，这一结果说明不同种植物油的挥发性成分相差较大。仅葵花籽油与红花籽油距离较近，两种植物油挥发性物质组成相似。因此，PCA 得分图的结果表明可以通过挥发性物质将不同品种植物油区分开。

4.3.5.2 不同植物油热图分析

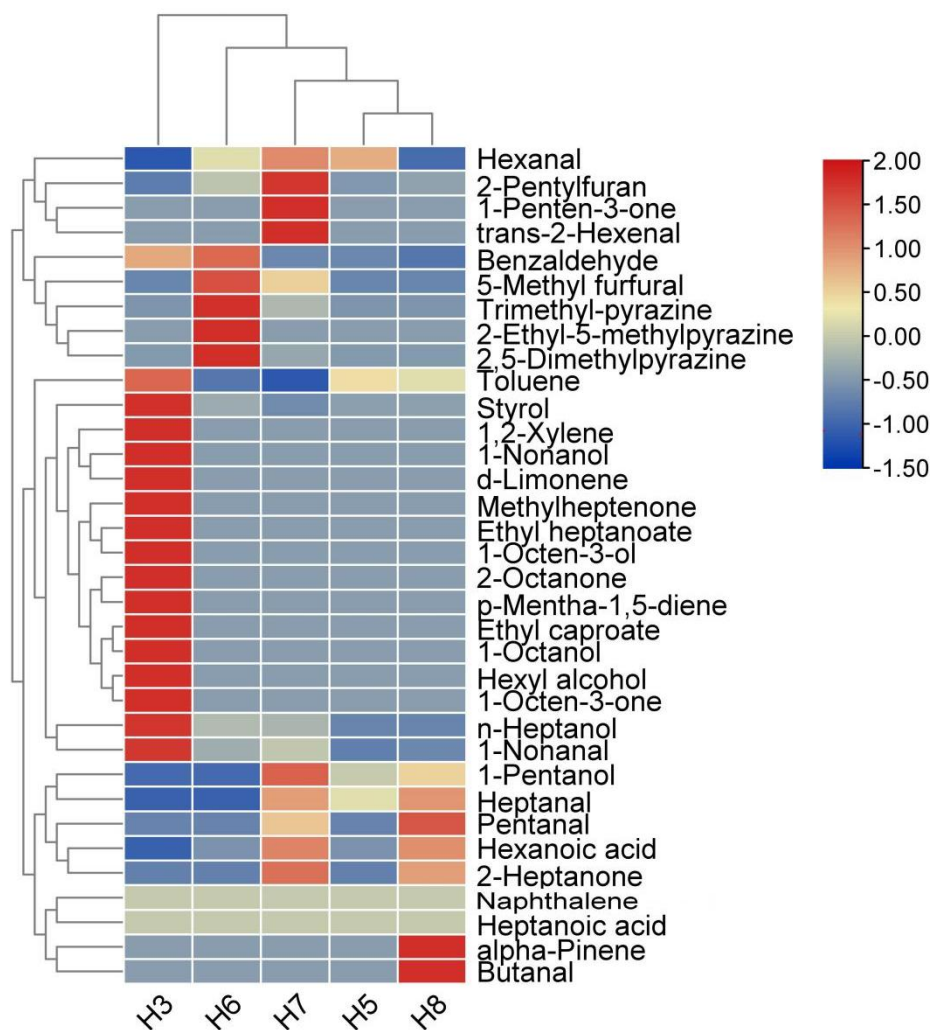


图 4-7 不同植物油挥发性物质聚类热图

Fig.4.7 Clustering heat map of volatile substances in different oil

从图 4-7 可以看出, 南瓜籽油与葵花籽油、花生油、胡麻籽油、红花籽油色差较大, 说明 4 类样品挥发性香气物质差异性明显。样品热类聚类结果显示, 首先葵花籽油和红花籽油先聚合为一类, 接着与胡麻籽油聚合, 再与花生油聚合, 最后与南瓜籽油聚合在一起。苯甲醛、5-甲基呋喃醛、2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-5-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪等这些物质在花生油中气味贡献较大, 呈坚果、烤花生、焦糖、栗香等气味, 主要对花生油整体的气味有一定的影响。己醛、2-正戊基呋喃、1-戊烯-3-酮、反式-2-己烯醛等这些物质在胡麻籽油中气味贡献较大, 主要为青草、香辛料、果香等气味。庚醛、戊醛、己酸、2-庚酮和反式-2-辛烯-1-醇等这些物质在葵花籽油和红花籽油中气味贡献较大, 主要为乳脂、面包、咖啡香。其中 2-蒎烯、丁醛对红花籽气味贡献最大, 为青香、松树香。而南瓜籽油中挥发性物质主要呈果香、花香、胡椒、蘑菇和油脂香。因此南瓜籽油和其他 4 种植物油相互间差异较大, 是一种风味独特的食用油。

4.4 本章小结

(1) 不同提取工艺的南瓜籽油理化指标检测结果表明, 油脂的色泽、滋味、气味、透明度、折光系数、酸价、过氧化值、碘值均符合 LS/T 3250-2017《南瓜籽油》中的规定。超声波辅助水酶法得到的油脂碘值最高, 达 129 g/100g; 压榨法制取南瓜籽油的酸价和过氧化值均最高, 分别为 1.7mg/g、2.4 mmol/kg。

(2) 南瓜籽油由 11 种脂肪酸组成, 含量从高到低依次为亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸、亚麻酸、花生一烯酸、棕榈一烯酸、芥酸、豆蔻酸。水酶法制取南瓜籽油和超声辅助法制取南瓜籽油的脂肪酸差异不大, 其中饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸质量分数分别为 $(16.92\pm 0.08\%)$ %、 (29.79 ± 0.11) %、 (52.80 ± 0.21) %。

(3) 在超声辅助南瓜籽油中 α -生育酚、 γ -生育酚和总甾醇含量最高, 分别为 3.62 mg/100g、75.4 mg/100g 和 202 mg/100g, 水酶法提取南瓜籽油的 δ -生育酚含量最高, 为 1.34 mg/100g。

(4) 从不同提取工艺南瓜籽油中共检测到 95 种挥发性物质, 包括 10 种酯类、10 种醇类、12 种酸类、10 种酮类、6 种萜烯类、5 种酚类、12 种烃类、18 种醛类、12 种杂环类物质。以压榨法最多, 达 74 种, 对照组和水酶法居中, 分别为 65 种和 63 种, 超声波辅助水酶法最少, 有 60 种。部分挥发性物质只在压榨样品中检测到, 包括苯甲酸乙酯、2-蒎烯、十四烷、戊醛、2,3-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-甲基吡嗪、2-正戊基呋喃、苯并噻唑、吡啶等。通过挥发性成分的聚类热图分析, 发现不同工艺制备的样品之间色差较大, 表明挥发性物质可作为区分不同工艺制备南瓜籽油的判别方式。

(5) 5 种不同植物油中共检测到 120 种挥发性物质, 包括 10 种酯类、14 种醇类、11 种酸类、14 种酮类、9 种萜烯类、6 种酚类、14 种烃类、25 种醛类、16 种杂环类物质。不同品种植物油, 挥发性物质种类不同, 以胡麻籽油和南瓜籽油最多, 均为 60 种, 其次为花生油和红花籽油, 分别为 58 种和 40 种, 葵花籽油最少, 仅有 35 种。与超声辅助法所得南瓜籽油对比发现, 花生油、胡麻籽油与南瓜籽油在醇类物质组成上类似, 主要为 1-辛醇、苯乙醇、苯甲醇、庚醇; 4 种油与南瓜籽油在酸类物质组成上基本一致, 主要为辛酸、乙酸、庚酸、己酸、壬酸、正戊酸、丙酸; 苯甲醛、己醛、壬醛、正辛醛这几种醛类物质在各个样品油中均可检测出; 而南瓜籽油在酯类、酮类、酚类、萜烯类、烃类、杂环类挥发性成分组成上与其他 4 种油有较大差异。通过挥发性成分聚类热图分析, 发现不同植物油之间色差较大, 表明挥发性物质可作为区分不同植物油的判别方式。

第5章 南瓜籽油的货架期研究

目前,对于南瓜籽油的提取工艺研究较多,而对其氧化稳定性和货架期研究较少。南瓜籽油本身抗氧化能力较强,抗氧化剂的添加更有利于提高其贮藏稳定性、从而延长货架期^[109]。因此,本章以南瓜籽油为原料,分别在南瓜籽油中添加 L-抗坏血酸棕榈酸酯(L-ascorbyl palmitate, L-AP)、维生素 E(vitamin E, V_E)、叔丁基对苯二酚(tert-butyl hydroquinone, TBHQ)和丁基羟基茴香醚(butyl hydroxyanisole, BHA)4种抗氧化剂,利用 Schaal 烘箱法,研究温度以及4种抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响,将过氧化值作为建立动力学模型和货架期模型的主要指标,为储藏南瓜籽油提供理论依据。

5.1 材料与仪器

5.1.1 材料与试剂

原料:南瓜籽油来自于本试验提取;

表 5-1 主要试验试剂
Table 5-1 Main test reagents

名称	生产厂家
L-抗坏血酸棕榈酸酯(98%)	罗恩试剂
维生素 E(97%)	罗恩试剂
叔丁基对苯二酚(98%)	罗恩试剂
丁基羟基茴香醚(98%)	罗恩试剂
冰乙酸	天津市鑫铂特化工有限公司
三氯甲烷	天津市鑫铂特化工有限公司
碘化钾	天津市北辰方正试剂厂
硫代硫酸钠标准滴定溶液	广州和为医药科技有限公司
可溶性淀粉	天津市北联精细化学品开发有限公司

5.1.2 仪器与设备

表 5-2 仪器设备
Table 5-2 Instrument and equipment

名称	型号	生产厂家
智能型电热恒温鼓风干燥箱	CHN101-3	上海苏进仪器设备厂
电子天平	—	上海英衡电子秤有限公司
数控超声波清洗器	KQ-300DE	昆山市超声仪器有限公司

5.2 试验方法

5.2.1 温度对南瓜籽油氧化稳定性的影响

将超声波辅助水酶法提取的南瓜籽油置于无色透明玻璃瓶中，分别密封储藏于 25、40、50、60 °C 恒温箱中(无光照)，每隔 5 d 测定记录南瓜籽油的 POV，为期 35 d。其中每个条件做 3 个平行实验，以此明确温度变化对南瓜籽油氧化稳定性的影响。

5.2.2 抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响

不同抗氧化剂油样的制备，在符合国标 GB 2760-2014 《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》中规定最大使用量的基础上，分别在南瓜籽油样中添加质量分数 0.02% TBHQ、0.02% L-AP、0.02% V_E、0.02% BHA。充分搅拌混合均匀，以不添加抗氧化剂的样品作为对照。将制备好的油样分别于 25、40、50、60 °C 的烘箱中避光密封保存，每隔 5 d 测定记录南瓜籽油的 POV，为期 35 d。其中每个条件做 3 个平行，以此考察不同抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响。

5.2.3 氧化稳定性指标的测定

油脂的氧化稳定性，以 POV 为检测指标，参照 GB 5009.227-2016 进行测定。

5.2.4 南瓜籽油氧化动力学预测模型的建立

根据化学反应动力学原理，将 5.1.1、5.1.2 中不同处理的样品组随储藏时间变化得到的 POV 进行拟合，确定最适反应动力学模型，并结合 Arrhenius 方程建立南瓜籽油过氧化值的氧化动力学模型。

5.2.5 南瓜籽油货架期预测

GB 2716-2018 《食品安全国家标准植物油》中规定过氧化值的最高允许限量为 9.85 mmol/kg，以此为标准利用 5.2.4 建立的氧化动力学模型预测在 25 °C、40 °C、50 °C、60 °C

储藏的南瓜籽油的货架期。

5.2.6 数据分析

使用 Excel 2010 软件对数据进行统计分析,使用 Origin 9.5 软件进行图表绘制及数据拟合。

5.3 结果与分析

5.3.1 温度对南瓜籽油氧化稳定性的影响

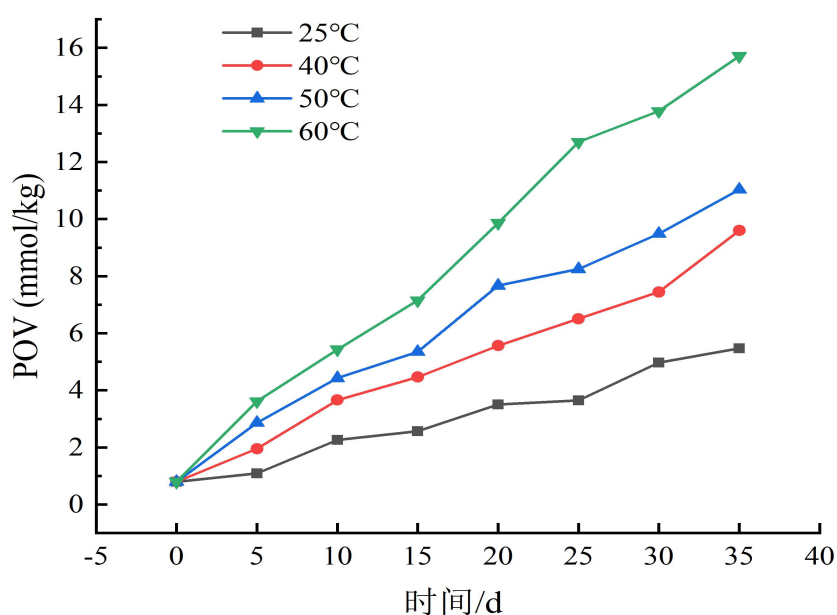


图 5-1 温度对南瓜籽油氧化稳定性的影响

Fig 5-1 The influence of different enzyme amounts on pumpkin seed oil extraction rate

由图 5-1 可知,4 个温度条件下,南瓜籽油的 POV 均随贮藏时间的延长而升高,60°C 的 POV 增值曲线最陡,这可能是由于本试验所制的南瓜籽油不饱和脂肪酸含量在 80% 以上,温度升高会加速脂肪酸氧化反应,从而加速油脂的氧化酸败过程^[110]。20 d 时,60 °C 条件下放置的南瓜籽油 POV 超过了国标限量 9.85 mmol/kg;而在 25 °C 放置的样品组,POV 增值最慢,曲线较为平稳。在贮藏 35 d 后,25 °C 条件下的南瓜籽油 POV 为 5.47 mmol/kg,仍在国标允许范围内。从 25~60 °C 的 POV 增值变化曲线越来越陡,这是因为南瓜籽油受热,引发不饱和脂肪酸自动氧化,导致 POV 升高^[111]。因此说明低温有利于南瓜籽油的贮存。

5.3.2 抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响

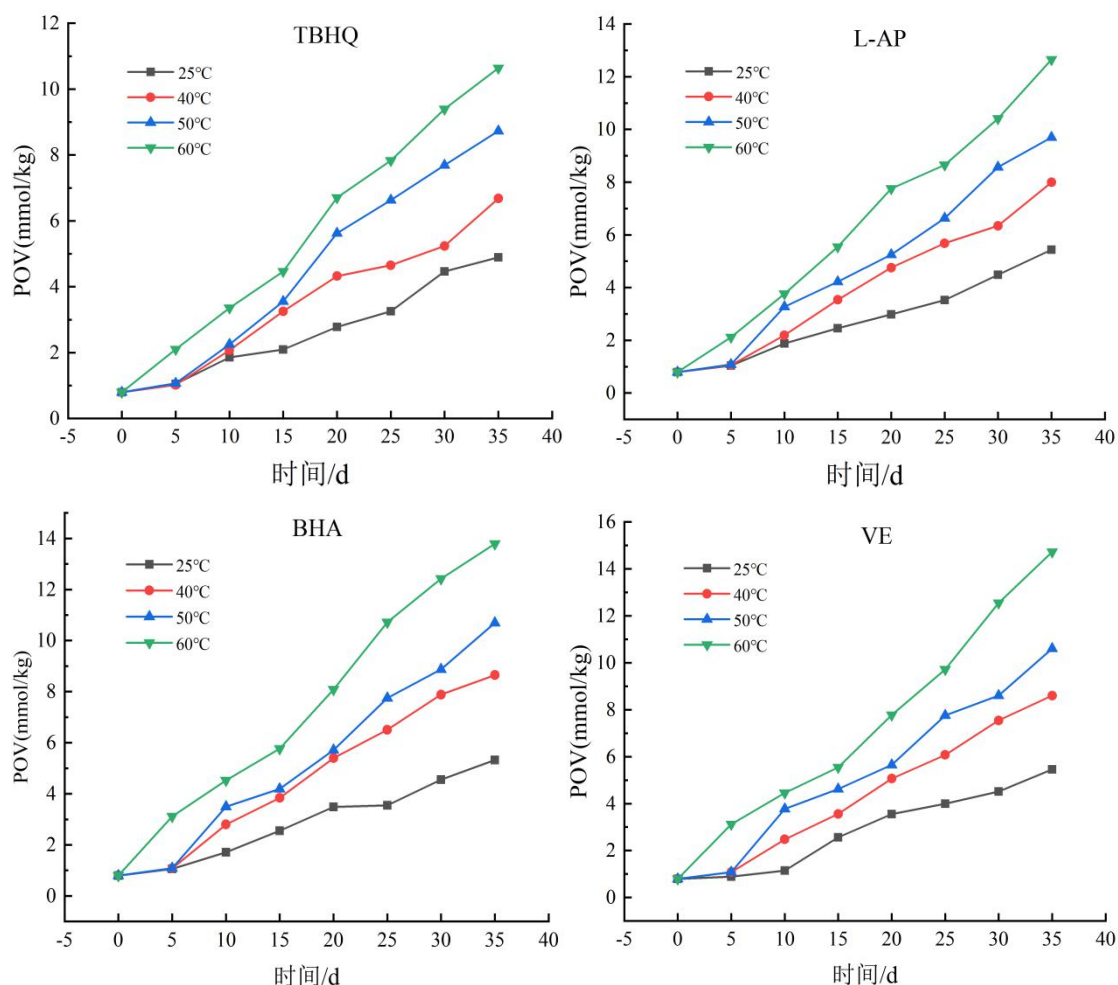


图 5-2 抗氧化剂对南瓜籽油氧化稳定性的影响

Fig 5-2 The influence of different enzyme amounts on pumpkin seed oil extraction rate

由图 5-2 可知：在为期 35 d 的加速氧化实验过程中，添加不同抗氧化剂南瓜籽油的 POV 均随着储藏时间的延长而增大，其中不添加抗氧化剂的对照组 POV 增值曲线最陡，而添加 TBHQ 的样品组 POV 上升最缓慢，这是由于 TBHQ 含有两个酚羟基，具有很强的抗氧化活性，能防止油脂在室温下的氧化^[112]，第 25 d、60 °C 时，添加了 TBHQ 的 POV(7.83 mmol/kg) 比不添加抗氧化剂的对照组 POV(12.70 mmol/kg) 下降了 4.87 mmol/kg，明显提高南瓜籽油的氧化稳定性，表明 TBHQ 能较好的抑制南瓜籽油氧化酸败，对于延长南瓜籽货架期起积极作用；在 25 d、60 °C 时，添加了 L-AP 的过氧化值为 8.66 mmol/kg，比对照组降低了 4.04 mmol/kg，这是因为 L-AP 能够清除氧，并且能够还原过氧化氢为含羟基化合物等，从而使得南瓜籽油样体系更稳定^[113]。L-AP 抗氧化稳定性弱于 TBHQ；添加了 BHA 油样的 POV 在 35 d 内均小于对照样品，但在 30 d、60 °C 时其 POV 超过了添加 V_E 的样品，这可能是由于 BHA 具有时效性，储藏时间越长，其抗氧化性越差^[114]。说明在南瓜籽油中添加 BHA 有抗氧化效果，但应注意其时效性。对

比四种抗氧化剂, V_E 的 POV 增长幅度最快, 这可能是因为南瓜籽油富含 V_E , 额外添加, 导致 V_E 过量反而会降低南瓜籽油的抗氧化效果^[115]。在 25 d、60 °C时空白组 POV 为 12.70mmol/kg, 而添加 V_E 组的 POV 为 10.72mmol/kg, 说明 V_E 能够抑制南瓜籽油的氧化酸败, 但应注意用量。

5.3.3 南瓜籽油的氧化动力学预测模型的建立

不同储藏温度条件下南瓜籽油 POV 与时间的变化关系可采用零级反应动力学方程(式(1))或一级反应动力学方程(式(2))进行拟合, 得到回归方程和回归系数, 如表 5-3。

$$C=C_0+kt \quad (1)$$

$$C=C_0e^{kt} \quad (2)$$

式中: C 为储藏时间 t 时南瓜籽油的 POV, mmol/kg;

C_0 为南瓜籽油的初始 POV, mmol/kg;

k 为反应速率常数, mmol/(kg·d);

t 为时间, d。

表 5-3 南瓜籽油过氧化值回归方程

Table 5-3 Instrument and equipment

样品	温度/°C	零级反应		一级反应	
		回归方程	回归系数 (R^2)	回归方程	回归系数 (R^2)
CK	25	$y = 0.1306x + 0.796$	0.9774	$y = 0.796e^{0.0628x}$	0.8934
	40	$y = 0.2386x + 0.796$	0.9870	$y = 0.796e^{0.0832x}$	0.7271
	50	$y = 0.3022x + 0.796$	0.9806	$y = 0.796e^{0.0921x}$	0.5756
	60	$y = 0.4419x + 0.796$	0.9914	$y = 0.796e^{0.1055x}$	0.5740
TBHQ	25	$y = 0.1102x + 0.796$	0.9654	$y = 0.796e^{0.0571x}$	0.9546
	40	$y = 0.1591x + 0.796$	0.9747	$y = 0.796e^{0.0688x}$	0.8989
	50	$y = 0.2240x + 0.796$	0.9706	$y = 0.796e^{0.0795x}$	0.9188
	60	$y = 0.2811x + 0.796$	0.9945	$y = 0.796e^{0.0885x}$	0.7840
L-AP	25	$y = 0.1206x + 0.796$	0.9739	$y = 0.796e^{0.0599x}$	0.9470
	40	$y = 0.1932x + 0.796$	0.9774	$y = 0.796e^{0.0748x}$	0.9149
	50	$y = 0.2450x + 0.796$	0.9797	$y = 0.796e^{0.0829x}$	0.8729
	60	$y = 0.3276x + 0.796$	0.9942	$y = 0.796e^{0.0939x}$	0.7675
BHA	25	$y = 0.1258x + 0.796$	0.9442	$y = 0.796e^{0.0604x}$	0.9295
	40	$y = 0.2151x + 0.796$	0.9793	$y = 0.796e^{0.0783x}$	0.9160
	50	$y = 0.2679x + 0.796$	0.9792	$y = 0.796e^{0.0862x}$	0.8432
	60	$y = 0.3778x + 0.796$	0.9854	$y = 0.796e^{0.0989x}$	0.6866

V_E	25	$y = 0.1230x + 0.796$	0.9766	$y = 0.796e^{0.0607x}$	0.9349
	40	$y = 0.2255x + 0.796$	0.9836	$y = 0.796e^{0.0802x}$	0.8859
	50	$y = 0.2686x + 0.796$	0.9777	$y = 0.796e^{0.0859x}$	0.8746
	60	$y = 0.3774x + 0.796$	0.9926	$y = 0.796e^{0.0993x}$	0.6587

由表 5-3 可知, 零级反应动力学方程的 R^2 均 >0.95 , 而一级反应动力学方程的 R^2 均 <0.95 , 故南瓜籽油的氧化反应为零级反应。

5.3.4 南瓜籽油货架期预测

Arrhenius 公式是表示化学反应速率常数(k)与温度(T)之间关系的经验公式。温度对油脂氧化的影响可以用公式(3)进行评价。

$$k=A_0e^{-E_a/RT} \quad (3)$$

式中: k 为反应速率常数, $\text{mmol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$;

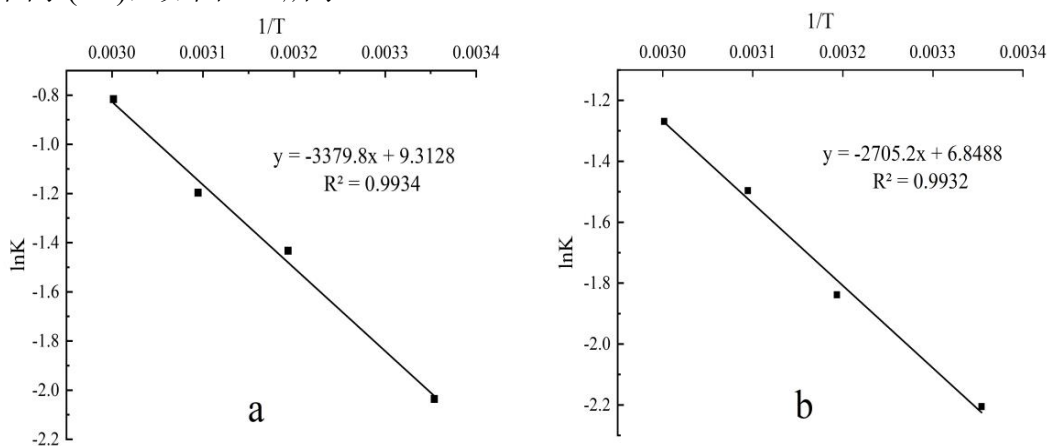
E_a 为表观活化能, J/mol ;

R 为摩尔气体常数, 为 $8.3145 \text{ J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$;

T 为热力学温度, K ;

A_0 为指前因子, $\text{mmol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。

通常情况下, 可用 $\ln k$ 对 $1/T$ 进行线性拟合, 根据斜率和截距分别得到活化能(E_a)和指前因子(A_0), 如图 5-3 所示。



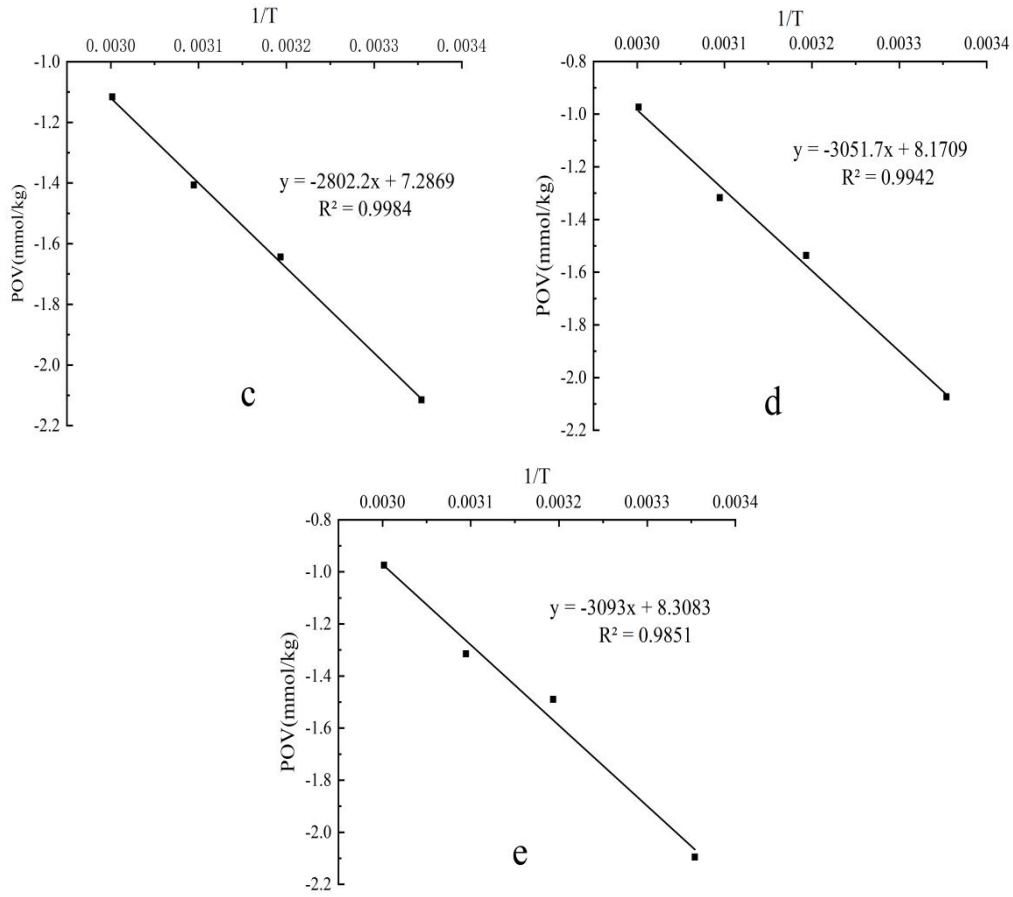


图 5-3 南瓜籽油过氧化值变化的 Arrhenius 曲线

Fig.5-3 Arrhenius curve of changes in peroxide value of refined pumpkin seed oil

注： a-CK, b-TBHQ, c-L-AP, d-BHA, e-VE。

由图 5-3 得到 E_a/R 和 $\ln A_0$, 且 R^2 均大于 0.98, 说明 $\ln k$ 与 $1/T$ 具有良好的相关性。带入公式 (1) 和 (3) 可得到氧化反应动力学模型和货架期模型。

表 5-4 南瓜籽油的氧化动力学模型及货架期模型

Table 5-4 Oxidation kinetics model and shelf life model of refined pumpkin seed oil

组别	氧化反应动力学模型	货架期模型
CK	$k=11078.93e^{(-3379.8/T)}$	$C=C_0+11078.93e^{(-3379.8/T)}t$
TBHQ	$k=942.749e^{(-2705.2/T)}$	$C=C_0+942.749e^{(-2705.2/T)}t$
L-AP	$k=1461.03e^{(-2802.2/T)}$	$C=C_0+1461.03e^{(-2802.2/T)}t$
BHA	$k=3536.53e^{(-3051.7/T)}$	$C=C_0+3536.53e^{(-3051.7/T)}t$
VE	$k=4057.41e^{(-3093.0/T)}$	$C=C_0+4057.41e^{(-3093.0/T)}t$

注： C_0 为南瓜籽油的初始 POV, 为 0.796 mmol/kg。

根据 GB 2716-2018 《食品安全国家标准植物油》，以 POV 值为 9.85 mmol/kg 作为南瓜籽油货架期终点, 利用表 5-4 可计算出南瓜籽油在不同储藏温度下货架期的理论值。

表 5-5 不同温度下南瓜籽油的货架期及实际储藏期

Table 5-5 Shelf life and actual storage life of refined pumpkin seed oil at different temperatures

样品	温度/°C	货架期模型预测值 (d)	油脂货架期实测 (d)
CK	25	69	75
	40	40	42
	50	28	32
	60	21	24
TBHQ	25	84	90
	40	54	57
	50	42	46
	60	32	34
L-AP	25	75	84
	40	48	52
	50	36	39
	60	28	30
BHA	25	71	76
	40	44	47
	50	32	35
	60	24	26
V _E	25	71	74
	40	43	46
	50	32	35
	60	24	28

如表 5-5 所示, 随着储藏温度的增高, 南瓜籽油的货架期缩短, 添加抗氧化剂的油样货架期均比对照组时间长。其中在 25 °C 下, 添加 0.02% TBHQ 的南瓜籽油货架期预测值最长, 为 84 d, 实测为 90 d。而对照组南瓜籽油的货架期预测值为 68 d, 实测为 75 d, 添加 0.02% TBHQ 可将其延长 15 d 左右。

5.4 本章小结

(1) 研究了南瓜籽油在不同温度、不同抗氧化剂条件下 POV 变化情况, 并进行货架期预测, 结果表明 TBHQ、V_E、BHA、L-AP 均能增强南瓜籽油的抗氧化效果, 其中 TBHQ 的抗氧化效果最明显。

(2) 南瓜籽油的氧化反应遵循零级化学反应, 依此推断超神波辅助水酶法得到的南瓜籽油在 25°C, 40°C, 50°C, 60°C 贮藏时预测期分别为 68 d、40 d、28 d 和 21 d。添加质量分数为 0.02% 的 TBHQ, 可使南瓜籽油的预测货架期分别延长 15 d、14 d、13 d、11 d。

第6章 主要结论与展望

6.1 结论

(1) 适于水酶法提取南瓜籽油的酶为中性蛋白酶和纤维素酶组成的复合酶, 水酶法提油的最优工艺条件为: 料液比 1:6, 加酶量 2300 U/g, pH 值 6, 酶解温度 50 °C, 酶解时间 3 h, 此时的南瓜籽油提取率为 63.61%, 说明南瓜籽油可以采用水酶法进行提取。

(2) 超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的最佳工艺条件为, 超声功率 300 W、超声温度 40 °C, 超声时间 8 min, 此时南瓜籽油得率为 72.23%, 较单纯的水酶法提油率提高了 8.62%。

(3) 不同提取工艺的南瓜籽油理化指标检测结果表明, 油脂的色泽、滋味、气味、透明度、折光系数、酸价、过氧化值、碘值均符合 LS/T 3250-2017《南瓜籽油》中的规定。超声波辅助水酶法得到的油脂碘值最高, 达 129 g/100g; 压榨法制取南瓜籽油的酸价和过氧化值均最高, 分别为 1.7mg/g、2.4 mmol/kg。

南瓜籽油中的脂肪酸主要有 11 种, 含量从高到低依次为亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸、花生酸、亚麻酸、花生一烯酸、棕榈一烯酸、芥酸、豆蔻酸。超声波辅助水酶法所提取南瓜籽油的脂肪酸组成与水酶法无明显差别, 二者饱和脂肪酸质量分数为 (16.92±0.08)%, 主要为棕榈酸和硬脂酸; 单不饱和脂肪酸质量分数为 (29.79±0.11)%, 主要为油酸; 多不饱和脂肪酸质量分数为 (52.80±0.21)%, 主要以亚油酸、亚麻酸为主。

在超声辅助南瓜籽油中 α -生育酚、 γ -生育酚和总甾醇含量最高, 分别为 3.62 mg/100g、75.4 mg/100g 和 202 mg/100g, 水酶法提取南瓜籽油的 δ -生育酚含量最高, 为 1.34 mg/100g; 水提法样品组中甾醇和生育酚含量均最低。

(4) 不同工艺南瓜籽油中共检测到 95 种挥发性物质, 包括 10 种酯类、10 种醇类、12 种酸类、10 种酮类、6 种萜烯类、5 种酚类、12 种烃类、18 种醛类、12 种杂环类物质。其中水提法测得 65 种挥发性物质, 水酶法 63 种挥发性物质, 超声辅助水酶法 60 种挥发性物质, 压榨法 74 种挥发性物质。从不同植物油中共检测到 120 种挥发性物质, 包括 10 种酯类、14 种醇类、11 种酸类、14 种酮类、9 种萜烯类、6 种酚类、14 种烃类、25 种醛类、16 种杂环类物质。其中葵花籽油中测得 35 种挥发性物质, 花生油中测得 58 种挥发性物质, 胡麻籽油中测得 60 种挥发性物质, 红花籽油中测得 40 种挥发性物质。

(5) 抗氧化剂 TBHQ、V_E、BHA、L-AP 均能在一定程度上延缓南瓜籽油的氧化, 其中 TBHQ 对南瓜籽油的抗氧化效果最明显。南瓜籽油的氧化反应遵循零级化学反应规律, 推断出南瓜籽油在 25 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C 贮藏时预测期分别为 68 d、40 d、28 d 和

21 d。添加质量分数为 0.02% 的 TBHQ, 可使南瓜籽油的预测货架期分别延长 15 d、14 d、13 d、11 d。

6.2 创新点

采用超声波辅助水酶法对裸仁南瓜籽油进行提取, 并对不同提取方法得到的南瓜籽油挥发性成分进行了系统研究。

6.3 展望

(1) 在今后的研究中会深入研究超声过程中细胞微观结构的变化以及酶解机理, 完善超声波辅助水酶法提取南瓜籽油的工艺。

(2) 超声过程中形成较多乳状液, 造成油脂分离困难, 后续将会针对乳状液的性质及形成机理进行研究。

(3) 由于南瓜籽油挥发性成分种类繁多、形成过程复杂, 因此, 今后继续针对南瓜籽油特征香气来源进行探究。

参考文献

- [1]唐蔚.南瓜籽抗氧化肽的制备及化妆品中的应用[J].中国油脂,2016,41(02):20-24.
- [2]王璐. 南瓜籽不同干燥方式及工艺对南瓜籽油功能性品质的影响[D].北京: 中国农业大学,2017.
- [3] Rezig L, Chibani F, Chouaibi Met al. Pumpkin(*Cucurbita maxima*)Seed Proteins: Sequential Extraction Processing and Fraction Characterization[J].*Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 61(32):7715-7721.
- [4]中国预防医学科学院.食物成分表(全国分省值)[M].北京:人民卫生出版社,1992.
- [5]屈淑平,刘超,葛宇,等.籽用南瓜种质资源形态学多样性分析[J].东北农业大学学报,2013,44(10):67-75.
- [6]齐权.水酶法提取南瓜籽油的研究[J].安徽农业科学,2012,40(12):7410-7413.
- [7]Atuonwu AC, Akobundu E N T. Nutritional and sensory quality of cookies supplemented with defatted pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed flour[J]. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2010, 9(7):672-677.
- [8]Radočajof, Dimićeb, Vujasinović V B. Optimization of the texture of fat-based spread containing hull-less pumpkin (*Cucurbita pe po L .*) seed press - cake [J]. *Acta Periodica Technologica*, 2011, 288(42): 131-143.
- [9]Montesano D, Blasi F, Simonetti MS, et al. Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima L. (var. Berrettina) Pumpkin*[J]. *Foods*, 2018, 7(3):30.
- [10]黄文城,OLGA Padilla-Zakour,叶大鹏,等.热处理方式对裸仁南瓜籽理化性质及出油率的影响[J].粮食与油脂,2020,33(04):67-70.
- [11]左春山,刘大勇,徐启杰,等.植物甾醇的结构与功能的研究进展[J].河南科技,2013,(17):211-213.
- [12]陈志康,浦天仇,李德莹,等.南瓜子氨酸对犬绦虫病的治疗作用[J].中国药理学报,1980,1(2):124.
- [13]杨晓惠,韦云路,李菲,等.南瓜活性成分及其深加工食品研究进展[J].粮食与油脂,2021,34(7):4-7.
- [14]Suphakarn V S, Yarnnon C, Ngunboonsri P. The effect of pumpkin seeds on oxalcrystalluria and urinary compositions of children in hyperendemic area[J]. *The American journal of clinical nutrition*, 1987, 20(3):299-299.
- [15]李传欣,程敬松,吴琼,等.响应面优化水酶法提取人参子油工艺[J].粮食与油脂,2020,33(09):73-76.
- [16]陈则华,冯孔龙,刘飞,等.低温压榨火麻仁油的工艺与品质研究[J].广东农业科学,2018,45(10):106-111+2.

- [17]范媛,王玉,李振岚,等.冷榨法制取南瓜籽油的研究[J].粮油加工,2010,(11):27-29.
- [18]张根生,杨慧铎,岳晓霞,等.水酶法提取南瓜籽油过程中乳状液酶法联合化学法破乳工艺研究[J].食品与机械,2018,34(10):139-144+178.
- [19]陈春艳.白果分离蛋白、清蛋白和球蛋白功能特性的热稳定性[J].食品与发酵工业,2014,40(08):51-56.
- [20]胡炜东,邹寅.响应面分析优化酶法提取南瓜籽油的工艺研究[J].食品工业科技,2013,34(03):277-280.
- [21]徐雅琴,庞丽萍,齐会娟,等.南瓜籽植物甾醇的抗氧化性及抑菌性研究[J].农产品加工,2012,(05):14-16+26.
- [22]刘畅,周家春.植物多酚抗氧化性研究[J].粮食与油脂,2011,(02):43-46.
- [23]王晓,程传格,马小来,等.南瓜籽油脂肪酸的 GC-MS 分析[J].食品科学,2002, 023(003):115-116.
- [24]Stevenson D G, Eller F J, Wang L, et al. Oil and tocopherol content and composition of pumpkinseed oil in 12 cultivars[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(10):4005-4013.
- [25]杨学芳,张继光,吴万富,等.南瓜籽油中角鲨烯含量及特征指标比较[J].食品与发酵工业,2021,47(5):217-223.
- [26]王启明,张继刚,郭仕平,等.藜麦营养功能与开发利用进展[J].食品工业科技,2019,40(17):340-346+354.
- [27]Veronezi C M, Jorge N. Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds for use in food[J]. *Journal of Food Science*, 2012, 77(4-6):653-657.
- [28]Murkovic M, Hillebrand A, Winkler J, et al. Variability of vitamin E content in pumpkin seeds[J]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1996, 202(4): 275-278.
- [29]Nyam KL, Tan C P, Lai O M, et al. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils[J]. *Food Science and Technology*, 2009, 42(8): 1396-1403.
- [30]孔凡. 南瓜籽油制取工艺及氧化稳定性的研究[D].武汉:武汉轻工大学,2021.
- [31]陈田,戴思慧,沈鹏原,等.裸仁南瓜籽油活性成分分析及抗氧化能力评价[J].食品与机械,2018,34(10):152-157.
- [32]李元翔. 杜氏盐藻类胡萝卜素代谢对光强和光质变化的响应机制[D].青岛:中国科学院大学(中国科学院海洋研究所),2019.
- [33]孙玉敬,乔丽萍,钟烈洲,等.类胡萝卜素生物活性的研究进展[J].中国食品学报, 2012, 12(1):160-166.
- [34]Procida G, Stancher B, Cateni F, et al. Chemical composition and functional characterization of commercial pumpkin seed oil[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(5):1035-1041.
- [35]Parry J, Hao Z, Luther M, et al. Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2007, 84(6):613-613.

- [36]Siger A, Nogala-kalucka M, Lampart-szczapa E. The content and antioxidant activity of p henolic compounds in cold-pressed plant oils[J]. *Journal of Food Lipids*,2008, 15(2):137-149.
- [37]Andjelkovic M, Van Camp J, Trawka A, et al. Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2010, 112(2): 208-217.
- [38]Domenico Montesano, Francesca Blasi, Maria Stella Simonetti, et al. Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima* L. (var. Berrettina) Pumpkin[J]. *Foods*, 2018, 7(3):15-21.
- [39]陈田. 南瓜籽油中植物甾醇分离及对抗前列腺增生的功能研究[D].长沙: 湖南农业大学,2019.
- [40]OthmanÂ Ahmed Adel, SalehÂ Muntaha Fawzi, SalehÂ Taif Mahdi. The Anti Inflammatory Effect of Pumpkin Seeds Oil in Treatment of Gingivitis; Clinical Study[J]. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 2019, 10(10):2241.
- [41]Ramak, Mahboubi. The beneficial effects of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil for health condition of men[J]. *Food Reviews International*, 2019, 35(2):71-85.
- [42]乔永月. 南瓜籽油对运动员运动耐力及糖代谢能力的影响[J]. *中国油脂*,2020,45(06):102-105.
- [43]Shimaa. Abou-Zeid, Huda AbuBakr, et al. Ameliorative effect of pumpkin seed oil against emamectin induced toxicity in mice[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 98:32-36.
- [44]王丽波,徐雅琴,杨欣,等.南瓜籽油的水酶法提取工艺及产品的理化性质[J].*农业工程学报*,2011,27(10): 383-387.
- [45]甄成,李燕杰,陈洪涛,等.改进热榨工艺对南瓜籽油品质及稳定性的影响[J].*中国油脂*,2009,34(2):14-16.
- [46]孔爱明,范三红,杨艳玉,等.南瓜籽油溶剂法提取工艺及脂肪酸成分的研究[J].*保鲜与加工*,2009,9(1):40-43.
- [47]朱英莲.南瓜籽油提取工艺优化及油脂氧化稳定性研究[J].*粮食与油脂*,2015,(1):24-26.
- [48]王小溪,陈贵林.超声波法提取南瓜籽油的工艺条件优化研究[J].*食品科学*,2009,30(8):60-63.
- [49]崔淑兰,王振宇,李丽,等.超临界 CO₂ 萃取南瓜籽油[J].*科技视界*,2016(05):270-271.
- [50]林伟国,吴冲冲,宗明生,等.水酶法提取微藻油脂的研究[J].*生物化工*,2019,5(02):1-6.
- [51]李杨,齐宝坤,隋晓楠,等.水酶法提取大豆油乙醇冷浴破乳工艺及油脂聚集状态的研究[J].*中国粮油学报*,2016,31(12):79-83+89.
- [52]Dominguez H, Schramm T K. Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruit and oil seeds:A review[J]. *Food Chemistry*, 1994, 49:271-286.
- [53]Latif, Sajid, Anwar. Effect of Aqueous Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality[J]. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2009, 86(4):393-400.
- [54]Lamsal B P, Murphy P A, Johnson L A. Flaking and Extrusion as Mechanical Treatments

- for Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Oil from Soybeans[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2006, 83(11):973-979.
- [55]Aparna Sharma, S. K. Khare, M. N. Gupta. Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Rice Bran Oil[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2001, 78(9):949-951.
- [56]孙立斌,解桂东,刘欣,等.酶解冷榨法制取南瓜籽油的工艺研究[J].*中国油脂*,2015,40(09):22-26.
- [57]袁德成,王菲,崔新爽,等.水酶法提取紫苏籽油脂工艺[J].*植物研究*, 2019, 39(4):619-626.
- [58]Mohammad Balvardi, Karamatollah Rezaei, Jose A Mendiola. Optimization of the Aqueous Enzymatic Extraction of Oil from Iranian Wild Almond[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2015, 92(7):985-992.
- [59]陈松. 水酶法制取沙棘果油及其精制的研究[D]. 无锡市:江南大学,2010.
- [60]李杨,江连洲,王中江,等.混料设计优化复合酶水解水酶法提取大豆油工艺[J].*大豆科技*,2019(S1):66-70.
- [61]周妍宇. 拉曼和红外光谱评估坚果油脂氧化的研究[D].无锡: 江南大学,2020.
- [62]覃建龙,李杨,齐宝坤,等.三种不同方法提取葵花油的性质比较[J].*食品工业科技*,2016,37(05):120-125.
- [63]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.
- [64]葛双双.余甘子核仁油不饱和脂肪酸富集及其油脂氧化稳定性研究[D].北京:中国林业科学研究院,2017.
- [65]曹文明.三酰甘油氧化聚合物的检测、评价及应用[D].江苏:江南大学,2013.
- [66]程恒光,郭春景,董全喜.高油酸葵花籽油与油茶籽油脂肪酸组成、营养成分及氧化稳定性比较[J].*中国油脂*,2021,46(12):123-126.
- [67]Del Nobile M, Bove S, La Notte E, et al. Influence of packaging geometry and material properties on the oxidation kinetic of bottled virgin olive oil[J]. *Journal of Food Engineering*, 2003, 57(2):189-197.
- [68]Sacchi R, Savarese M, Del Regno A, et al. Shelf life of vegetable oils bottled in different scavenging polyethyleneterephthalate (PET) containers[J]. *Packaging Technology and Science*, 2008, 21(5): 269-277.
- [69]贝雷.油脂化学与工艺学[M].北京:轻工业出版社,1989.
- [70]Manzocco L, Panozzo A, Calligaris S. Accelerated Shelf Life Testing (ASLT) of Oils by Light and Temperature Exploitation[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2012, 89(4):577-583.
- [71]秦绍昆,张学娣,陆峰,等.地下储油与地上储油对油脂品质的影响[J].*中国油脂*,2022,47(02):143-147.
- [72]朱振宝,刘梦颖,易建华.2种方法测定核桃油脂氧化稳定性相关性[J].*中国粮油学*

报,2016,31(04):85-88.

[73]包怡红, 郭阳. 响应面试验优化超声波辅助水酶法提取松籽油工艺及其氧化稳定性[J]. 食品科学, 2016,37(22): 60-68.

[74]杨潇, 初柏君, 惠菊, 等. 水酶法制取玉米胚芽油和葵花籽油的研究现状[J]. 粮食与食品工业, 2019, 26(02):1-5+10

[75]Cheng Ming-Hsun, Rosentrater K. A., Jasreen S., et al. Economic feasibility of soybean oil production by enzyme-assisted aqueous extraction processing[J]. Food and Bioprocess Technology, 2019, 12: 539-550.

[76]袁源见, 罗光明, 杨晓娟, 等. 梔子油化学成分提取工艺及功效的研究进展[J]. 中国油脂, 2017, 42(06): 20-24.

[77]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(02): 88-93.

[78]李晓, 李春阳, 曾晓雄, 等. 响应面试验优化红花籽油水酶法提取工艺[J]. 食品科学, 2017,38(22):231-238.

[79]王强, 王存, 王睿, 等. 微波辅助水酶法提取番茄籽油工艺优化及理化特性研究[J]. 中国粮油学报, 2015,30(10):43-48.

[80]Polmann G, Badia V, Frena M, et al. Enzyme-assisted aqueous extraction combined with experimental designs allow the obtaining of a high-quality and yield pecan nut oil[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 113:1-7.

[81]刘旷. 大扁杏仁水酶法提油及水解蛋白性质研究[D]. 西安:陕西科技大学,2014.

[82]周玥, 郭华, 向娇. 复合酶对水酶法提取油茶籽油的影响[J]. 食品科技, 2016, 41(2): 211-215.

[83]黄亚芳, 李罗明, 李俊杰, 等. 水酶法提取杨梅核仁油的工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 65-70.

[84]祖亭月, 何美莹, 张连富. 水酶法提取橡胶籽油的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2013,28(2): 37-42.

[85]HOU Y, KEXIN M, YANG M, et al. Composition, characteristics and antioxidant activities of fruit oils from *Idesia polycarpa* using homogenate-circulating ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 138(34):235-237.

[86]Hemwimol S, Pavasant P, Shotipruk A. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2006, 13(6):543-548.

[87]唐佳伟, 李超, 郑义, 等. 超声波协同微波提取牛蒡籽油的工艺研究[J]. 食品科学, 2009,30(22):104-107.

[88]吕程龙, 朱春阳, 王栋, 等. 超声波辅助提取油莎豆淀粉工艺优化及其理化特性[J/OL]. 食品工业科技:1-18[2022-04-11]. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021110302.

[89]吴非, 李钊, 周琪, 等. 超声波辅助水酶法提取米胚油及其成分分析[J]. 食品科学, 2020,41(24):233-241.

- [90]LI H, WEISS J, PORDESIMO L. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans[J]. Food Research International, 2004, 37(7):731-738
- [91]刘璇璇,武莹敏,朱振宝,等.水酶法联产核桃油和核桃多肽工艺优化及油脂脂肪酸分析[J/OL].食品工业科技:1-11[2022-04-11]. DOI:10. 13386/j. issn1002-0306. 2021120102.
- [92]DELGADO M, LUQUE C. A review on enzyme and ultrasound:A controversial but fruitful relationship[J]. Analytic Chimica Acta, 2015, 889:1-21.
- [93]凌闽,李琳何,范方舒,等.用于水酶法提油的油菜籽挤压预处理参数优化[J/OL].中国粮油学报:1-13[2022-04-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11. 2864. TS. 20211011. 1411. 002.html>.
- [94]陈卓.新疆红花籽油特征挥发性香气分析在品控中的应用[D].石河子:石河子大学, 2018.
- [95]刘玉梅,高智明,王健,等.裸仁南瓜籽及南瓜籽油的营养成分研究[J].食品工业科技,2010,31(6):313-316.
- [96]陈静茹,赵瑾凯,王晨,等.食用油营养研究进展与健康声称管理现状[J/OL].食品工业科技:1-13[2022-04-11]. DOI:10. 13386/j. issn1002-0306. 2021110368.
- [97]毛程鑫,李桂华,李普选,等.牡丹籽油的脂肪酸组成及理化特性分析[J].现代食品科技,2014,30(04):142-146.
- [98]陈国艳,刘付英,郭颖,等.青刺果及其油的理化性质和其油的脂肪酸组成研究[J].粮食与油脂,2020,33(01):69-71.
- [99]WHO. Interim Summary of Conclusions&dietary Recommendations on Total Fat&Fatty Acids[C]//The Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats&Fatty Acids in Human Nutrition.Geneva:2008:1-14.
- [100]曹子伦,雷芬芬,郑竟成,等.不同产地南瓜籽油组成及氧化稳定性的差异[J/OL].食品科学:1-16[2022-04-11]. <http://kns. cnki. net/kcms/detail/11. 2206. TS. 20211202. 1747. 012.html>
- [101]文志勇,孙宝国,梁梦兰,等.脂质氧化产生香味物质[J].中国油脂,2004,(09):41-44.
- [102]唐春红,陈旭华,张春晖,等.不同卤制方法对鸡腿肉中挥发性风味化合物的影响[J].食品科学,2014,35(14):123-129.
- [103]李翠翠,侯利霞,汪学德,等.炒籽温度及初始水分含量对葵花籽酱挥发性风味成分的影响[J].食品科学,2020,41(14):278-285.
- [104]刘登勇,周光宏,徐幸莲.确定食品关键风味化合物的一种新方法:“ROAV”法[J].食品科学,2008,(07):370-374.
- [105]王勇.HS-SPME-GC-MS 结合 ROAV 法对市售核桃油香气成分的研究[J].粮食与油脂,2020,33(06):63-66.
- [106]VAN GEMERT L J. Odour thresholds[M].The Netherlands:Oliemans Punter&Partners BV, 2011.
- [107]MELUCCI D, BENDINI A, TESINI F, et al. Rapid direct analysis to discriminate

geographic origin of extra virgin olive oils by flash gas chromatography electronic nose and chemometrics[J]. *Food Chemistry*, 2016, 204(8):263-273.

[108]JAMI E, ISRAEL A, KOTSER A, et al. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(6):1069-1079.

[109]常馨月, 陈程莉, 龚娣, 等. 天然抗氧化剂抑制油脂氧化的研究进展[J]. *中国油脂*, 2020, 45(4):46-50.

[110]王莹, 曾祥辉, 黄大川, 等. 迷迭香复配抗氧化剂对食品的影响及应用研究进展[J]. *中国调味品*, 2020, 45(10):181-185.

[111]龙婷, 林树真, 林树红, 等. 基于不同贮藏温度下油茶籽油氧化模型的建立[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(5):105-109.

[112]Xu X L, Bi Y L, Wang H Y, et al. Transformation of TBHQ in lard and soybean oils during room temperature storage[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019, 121(18):1-8.

[113]Oleg I Shadyro, Anna A Sosnovskaya, Irina P Edimecheva. Flaxseed oil stabilization using natural and synthetic antioxidants[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2017, 119(10):1-11.

[114]邓金良, 刘玉兰, 肖天真. 不同抗氧化剂对花生油和大豆油氧化稳定性及预测货架期的影响[J]. *中国油脂*, 2019, 44(8):35-40.

[115]刘普, 张丽娜, 张江磊, 等. 几种天然抗氧化剂对牡丹籽油氧化稳定性的影响[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(7):54-61.

致谢

感谢我的指导老师刘娅教授，本论文从选题、方案制定、试验过程到论文撰写都是在刘老师的悉心指导下完成的。在平时的科研交流中，刘老师的温柔教导，让我觉得十分亲切，每次同老师交流完，都让我受益匪浅，感觉满脑子都是知识。多亏了刘老师的督促与监督，让我不断学习进步，秉持严谨的态度对待科研。在此，向刘老师表示由衷的感谢，感谢刘老师两年来对我的培养，在生活上对我的关怀。

感谢新疆农垦科学院农产品加工所的吴宏老师，吴老师对于我的整个试验过程都时时关注，提出修改意见，每当我在试验过程中有新的思路时，吴老师都极力满足我的试验需求，支持、帮助我解决试验困难。有吴老师的保驾护航我的试验才能顺利进行，在此向吴老师表示由衷的感谢。同时也要感谢吴老师帮我开拓科研视野，从实践应用等方面提升我的科研能力。

感谢新疆农垦科学院的刘战霞师姐在我做试验期间对我无微不至的照顾，我的大事小事都有师姐帮我操心解决。

感谢新疆农垦科学院李斌斌师哥，让我学习到很多实用知识，为我的大论文增添点睛之笔，拯救我平平无奇的论文于水火之中。

感谢新疆农垦科学院张锦强师哥，完美胜任后勤兵这个角色，工欲善其事必先利其器，多亏了他的帮助，才能保证我的毕业论文顺利进行。

感谢研究生同学许娜、许丽颖，我在学校的很多事情都是他们帮助我处理解决，感谢他们的陪伴使我的研究生生活多姿多彩。

感谢我的家人在我试验工作量大的时候对我的支持和鼓励，为我能顺利完成学业提供精神和物质上的帮助。

最后感谢从开题到中期检查再到预答辩和最终答辩各环节对我论文提出宝贵意见的各位专家、老师！

作者简介

何佳琪，女，生于 1998 年 3 月，籍贯江苏徐州。2020 年考入石河子大学食品学院，攻读食品加工与安全专业，师从刘娅教授，从事果蔬产品加工研究方向。

硕士期间主要参与的研究项目

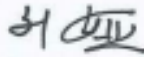
参与了新疆生产建设兵团重点领域科技攻关项目《南瓜籽深加工及副产物高效利用技术研究与应用》（2019AB027）的研究

获奖情况：

2020 年石河子大学研究生三等奖学金

2021 年石河子大学研究生二等奖学金

导师评阅表

研究生姓名	何佳琪	学制	两年
专业	食品加工与安全	研究方向	农产品加工
<p>学术评语:</p> <p>论文“南瓜籽油的水酶法提取及其品质评价”，该选题来源于当地的植物资源，以新疆南瓜籽为研究对象，旨在提取其中的油脂并对南瓜籽油进行品质评价。该生比较了水酶法提取南瓜籽油和超声辅助水酶法提取南瓜籽油的工艺，并对南瓜籽油的品质评价及挥发性成分进行分析，并构建了南瓜籽油货架期模型，相关研究对于提升新疆南瓜籽资源的高值化利用，具有重要理论意义和实践参考价值。</p> <p>论文引用大量国内外文献较全面的反映了该领域的研究动态和前沿知识，具有良好的文献综述能力，基本掌握了相关领域的基础理论、专业知识。其论文选题正确，研究方案设计合理，结构完整，工作量饱满，论据充足，论点正确。论文写作流畅，条理清晰，符合科技论文写作规范。</p> <p style="text-align: right;">指导教师签字:  2022年6月8日</p>			