

超临界CO₂萃取沙棘籽油及热敏性物质分析

魏贞伟¹, 邵 弘², 王俊国¹, 王喜权², 胡立志^{2,*}

(1. 吉林工商学院生物工程分院, 吉林 长春 130062; 2. 东北农业大学 国家大豆工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 对超临界CO₂萃取沙棘籽油及热敏性物质进行分析研究。通过正交试验确定最佳工艺条件: 萃取压力25MPa、萃取温度40℃、CO₂流量18kg/h、萃取时间120min、分离压力8MPa, 在此工艺条件下沙棘籽油出油率为52%。高效液相色谱法检测沙棘籽油中 α -VE含量为2.6%, 经超临界CO₂萃取后热敏性物质 α -VE损失3.7%, 胡萝卜素含量为100850 μ g/100g。

关键词: 超临界CO₂; 沙棘籽油; α -VE; 胡萝卜素

Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Seabuckthorn Seed Oil and Analysis of Thermosensitive Substances

WEI Zhen-wei¹, SHAO Hong², WANG Jun-guo¹, WANG Xi-quan², HU Li-zhi^{2,*}

(1. Branch of Biological Engineering, Jilin Business and Technology College, Changchun 130062, China;
2. National Research Center of soybean Engineering and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In the present study, the supercritical carbon dioxide extraction of seabuckthorn seed oil was optimized using an orthogonal array design. Besides, thermosensitive substances in seabuckthorn seed oil were analyzed. The optimum extraction conditions were determined as extraction at 40 °C at an extraction pressure of 25 MPa and a separation pressure of 8 MPa for 120 min with a CO₂ flow rate of 18 kg/h. Under these conditions, the oil yield was 52%. The content of α -VE as a thermosensitive substance in seabuckthorn seed oil was 2.6% as determined by HPLC and supercritical carbon dioxide extraction resulted in a 3.7% α -VE loss when compared with cold pressing. The content of carotene in seed oil obtained by supercritical carbon dioxide extraction was 100850 μ g/100 g.

Key words: supercritical carbon dioxide; seabuckthorn seed oil; α -VE; carotene

中图分类号: TS229

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)24-0097-04

沙棘为胡颓子科酸刺属的灌木, 主要分布在世界上的20多个国家, 其中中国占世界沙棘总面积的99%^[1]。沙棘果中还含有花青素、儿茶素、黄酮、有机酸、甾醇及多种微量元素。特别是沙棘籽油, 它是一种高附加值产物, 富含对人体有利的VE^[2-4](α -VE、 β -VE)、VC、VB、VK₁、 β -胡萝卜素、5-羟色胺、不饱和脂肪酸^[5]、氨基酸、微量元素等100多种生物活性成分及多种天然有机成分。国内外医学研究表明: 沙棘油具有降低高血脂、辅助抗癌、增强免疫能力、健脑益智、改善记忆、滋润营养皮肤等作用^[6-7]。

根据原料不同, 在沙棘果实中可获4种油脂, 其统称为沙棘油。分别为: 沙棘籽中的沙棘籽油; 果汁中借助离心分离获得的果肉油; 榨汁后果渣中的沙棘果渣油及风干沙棘全果的沙棘全果油^[8]。沙棘油的提取方法有压榨法, 操作比较简单, 但出油率及热敏性物质含量较低^[9]; 扩散法, 不需要物料和溶剂的分离, 安全可靠, 但工艺

复杂, 操作时间长; 浸提法, 提取率高, 但存在溶剂残留问题^[10]。

随着现代科学技术的发展, 超临界CO₂萃取作为一项新型分离技术, 具有渗透力强、操作时间短、产品质量高、操作温度接近室温等优点^[11-15], 特别适合热敏性物质的分离纯化。因此, 为获得高出油率且原有生物活性物质最大限度保留的沙棘油, 本实验采用超临界CO₂萃取工艺, 研究萃取压力、温度、时间、CO₂流量、分离压力对出油率的影响, 并对沙棘籽油进行高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)分析, 确定了热敏性物质含量。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

沙棘籽购自黑龙江省阿城县, 实验室实测其油脂含

收稿日期: 2012-05-10

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11551064)

作者简介: 魏贞伟(1968—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工。E-mail: weizhenwei20368@163.com

*通信作者: 胡立志(1956—), 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为油脂加工和利用。E-mail: hlz035d832n@yeah.net

量为13.3%，含水10.5%；冷榨沙棘籽油 东北农业大学食品学院自制，实验室实测其中 α -VE含量为2.7%。

CO₂(纯度≥99.9%) 哈尔滨黎明气体有限公司；其余试剂均为化学纯。

1.2 仪器与设备

Ha121-50-01 3L×2超临界CO₂萃取设备 江苏华安科研仪器有限公司；LC-6A高效液相色谱仪 日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 试验设计

将沙棘籽压榨后离心分离去除大量水分，再通过添加高温豆粕调整轻相液的水分，将其装入超临界CO₂萃取设备中，调节萃取压力和温度，进行超临界萃取试验，试验结束后通过减压方式将CO₂与油料分离，液态CO₂又变成气态被收集起来循环使用。再利用HPLC对沙棘籽油热敏性物质进行分析测定，以测定产品质量标准中主要指标 α -VE和胡萝卜素含量表征其热敏性成分损失情况。

1.3.2 沙棘籽油理化指标的测定

酸价测定：GB 5530—1985《植物油脂检验酸价测定法》；碘价测定：GB/T5532—1995《植物油碘价测定》；皂化值测定：GB/T 5534—1995《动植物油脂皂化值的测定》；水分及挥发物的测定：105℃烘箱法，GB/T 5528—1995《植物油脂水分及挥发物含量测定法》；不皂化物含量测定：GB/T 5535.2—2008《动植物油脂不皂化物测定》；相对密度测定：GB 5526—85《植物油脂比重测定》。

1.3.3 沙棘籽油出油率、胡萝卜素的测定

出油率/%=(制取的油脂质量/沙棘籽中油脂质量)×100

α -VE含量测定：HPLC测定。测定条件：色谱柱：Kromasil 100-5Si11硅胶柱(250mm×4.6mm, 5 μ m)；柱温：30℃；流动相：正己烷:异丙醇=98:2(V/V)；流速：1.0mL/min；紫外检测器波长：298nm；进样量：20 μ L。

超临界CO₂萃取后 α -VE损失率/%=

$$1 - \frac{\text{SFE}-\text{CO}_2\text{萃取后}\alpha\text{-VE质量}}{\text{冷榨沙棘籽油}\alpha\text{-VE质量}} \times 100$$

$$\text{胡萝卜素测定}^{[16]}: X = m_1 \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{100}{m}$$

式中：X为试样中胡萝卜素的含量/(μ g/100g)； m_1 为标准曲线上查得的胡萝卜素质量/ μ g； V_1 为点样体积/mL； V_2 为试样提取液浓缩后的定容体积/mL； m 为试样质量/g。

1.3.4 正交试验设计

在单因素试验基础上，选择适宜的因素和水平进行正交试验设计，选择CO₂流量、分离压力、萃取时间、温度和萃取压力5个因素，以出油率为指标，选用L₁₆(4⁵)正交表进行正交试验，确定最佳反应条件，因素水平表见表1。

表1 超临界CO₂萃取沙棘籽油正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels for orthogonal array design

水平	A CO ₂ 流量/(kg/h)	B分离压力/MPa	C萃取时间/min	D温度/℃	E萃取压力/MPa
1	14	6	60	30	15
2	16	8	90	35	20
3	18	10	120	40	25
4	20	12	150	45	30

2 结果与分析

2.1 超临界CO₂萃取单因素试验

2.1.1 萃取压力对出油率的影响

选择CO₂流量18kg/h、分离压力10MPa、萃取时间120min、CO₂临界温度31.26℃，前期试验证明，在温度调为30℃时出油率规律与临界温度时差异并不明显，故本试验以30℃为基线，考察不同温度条件下萃取压力对出油率的影响，如图1所示。

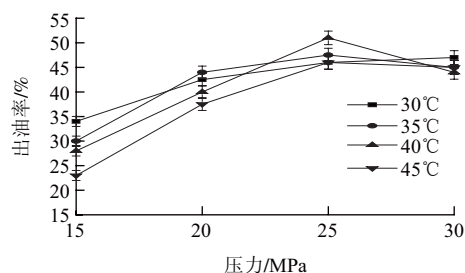


图1 不同温度下萃取压力对出油率的影响

Fig.1 Effect of extraction pressure on oil yield

如图1所示，在温度为30℃的条件下，随着萃取压力的升高，出油率呈现增加趋势；但在高于30℃的条件下，随着萃取压力的升高，出油率呈现先增加后降低的趋势，在25MPa时出油率最高。这主要是因为超临界流体的溶解能力一般随密度增加而增加，而压力对超临界流体密度影响很大，随着压力的增加，超临界CO₂流体的密度增加，溶质溶解度相应增大，出油率随即提高。此外，由于温度与压力具有耦合作用，较高的温度会促使密度下降，反而不利于萃取。因此选择最适萃取压力为25MPa。

2.1.2 萃取温度对出油率的影响

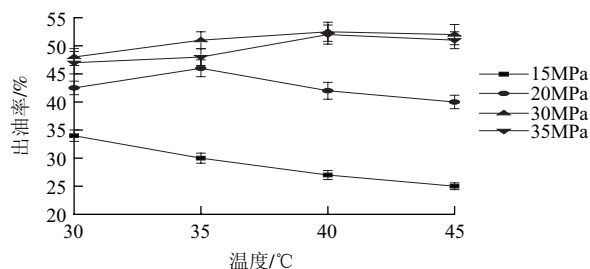


图2 不同萃取压力下温度对出油率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on oil yield

选择CO₂流量18kg/h、分离压力10MPa、萃取时间120min,考察不同萃取压力条件下温度对出油率的影响,如图2所示。

如图2所示,当萃取压力为15MPa时,随着温度的升高,出油率呈现下降趋势;当萃取压力为20MPa时,随着温度的升高,出油率先升高后下降,在35℃时出油率最高;当萃取压力高于20MPa时,随着温度的升高,出油率同样先升高后下降,但40℃时出油率最高。这是因为温度对超临界CO₂萃取中溶质的溶解度具有两方面的影响,首先温度升高容易引起CO₂密度下降,从而影响溶解度,导致出油率降低;其次温度升高,物质的蒸汽压变大,溶解度变大,萃取率随即提高。因此选择最适萃取温度为40℃。

2.1.3 CO₂流量对出油率的影响

选择分离压力10MPa、萃取时间120min、萃取压力25MPa、萃取温度40℃,考察不同CO₂流量对出油率的影响,如图3所示。

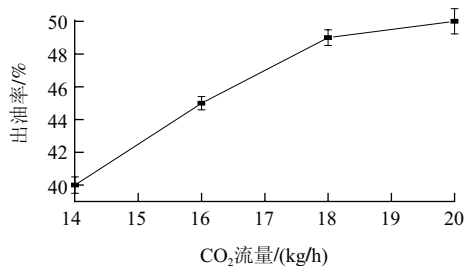


图3 CO₂流量对出油率的影响

Fig.3 Effect of CO₂ flow rate on oil yield

如图3所示,出油率随CO₂流量的增加而增加,但在14~18kg/h流量内出油率增加的比较明显;超过18kg/h流量后出油率增加缓慢。这是因为CO₂流量对超临界CO₂流体萃取能力具有双重性,随着CO₂流量的增加,一方面,缩短了CO₂与沙棘籽的接触时间,影响了出油率,另一方面,随着CO₂流量的增加,也相应的增加了传质推动力和传递系数,从而有利于沙棘的萃取。因此选择最适CO₂流量为18kg/h。

2.1.4 萃取时间对出油率的影响

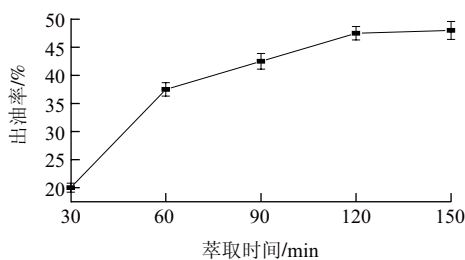


图4 萃取时间对出油率的影响

Fig.4 Effect of extraction time on oil yield

选择CO₂流量18kg/h、分离压力10MPa、萃取压力

25MPa、萃取温度40℃,考察不同萃取时间对出油率的影响,如图4所示。

如图4所示,在0~120min范围内随着时间的增加出油率逐渐升高,超过120min后出油率增加缓慢,这可能是因为120min以后沙棘油基本被萃取完全,萃取时间过长,不利于经济效益,且色素及杂质易被萃取出来,导致沙棘油颜色加深。因此选择最适萃取时间为120min。

2.1.5 不同分离压力对出油率的影响

选择CO₂流量18kg/h、萃取时间120min、萃取压力25MPa、萃取温度40℃,考察不同分离压力对出油率的影响,如图5所示。

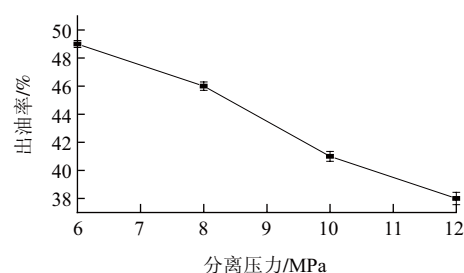


图5 分离压力对出油率的影响

Fig.5 Effect of separation pressure on oil yield

如图5所示,随着分离压力的升高出油率明显下降,这是因为相对萃取压力(25MPa)而言,压力降低后,CO₂流体密度也随之下降,溶解度降低,导致出油率降低。萃取结束后需要采用降压的方法将沙棘籽油与CO₂分离,但并非分离压力越低越好,压力降低后沙棘中的水分和游离酸含量会增加。因此根据图5,暂选最适分离压力为8MPa。

2.2 正交试验

表2 超临界CO₂萃取沙棘籽油正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal array design and results

试验号	A CO ₂ 流量	B分离压力	C萃取时间	D温度	E萃取压力	出油率/%
1	1	1	1	1	1	45
2	1	2	2	2	2	48
3	1	3	3	3	3	53
4	1	4	4	4	4	44
5	2	1	2	3	4	48
6	2	2	1	4	3	49
7	2	3	4	1	2	45
8	2	4	3	2	1	44
9	3	1	3	4	2	51
10	3	2	4	3	1	49
11	3	3	1	2	4	49
12	3	4	2	1	3	47
13	4	1	4	2	3	48
14	4	2	3	1	4	47
15	4	3	2	4	1	44
16	4	4	1	3	2	50
k ₁	47.5	48.0	48.2	46.0	45.5	
k ₂	46.5	48.2	46.7	47.2	48.5	
k ₃	49.0	47.7	48.7	50.0	49.2	
k ₄	47.2	46.3	46.5	47.0	47.0	
R	2.50	1.9	2.2	4.0	3.7	

在单因素试验基础上,选择适宜的因素和水平进行正交试验设计,选择CO₂流量、分离压力、萃取时间、温度和萃取压力5个因素,以出油率为指标,选用L₁₆(4⁵)正交表进行正交试验,确定最佳反应条件,正交试验结果见表2。

由正交试验结果可看出,各因素对出油率的影响主次顺序为:温度>萃取压力>CO₂流量>萃取时间>分离压力,由正交试验得出最佳试验条件为A₃B₂C₃D₃E₃,即CO₂流量选择为18kg/h、分离压力8MPa、萃取时间120min、温度40℃、萃取压力为25MPa。

2.2 沙棘油理化指标

表3 沙棘油的各项理化指标

Table 3 Physical and chemical parameters of seabuckthorn seed oil

检测项目	酸价/ (mgKOH/g油)	碘价/ (g/100g)	水分及 挥发物/%	密度 (20℃)	不皂化物 含量/%	皂化值/ (mg KOH/g)
超临界CO ₂ 萃取沙棘籽油	3.34	181.5	0.21	0.9452	2.42	188

2.3 沙棘籽油中热敏性物质的分析测定

2.3.1 沙棘籽油中 α -VE含量测定

采用HPLC测定 α -VE含量,色谱条件:色谱柱:shim-pack clc-ODS, 150mm×4mm;柱温:40℃;流动相:甲醇;流速:1mL/min;检测器波长:290nm;进样量20 μ L,色谱图见图6。

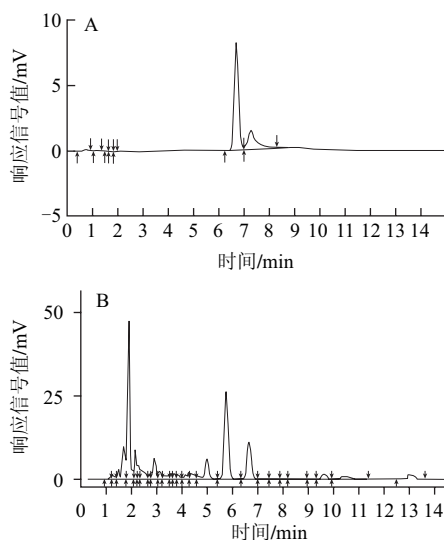


图6 α -VE标样(A)和沙棘籽油 α -VE(B)的色谱图

Fig.6 Chromatogram of α -VE standard and α -VE in seabuckthorn seed oil

由图6可知,在6~7min之间出现的峰为 α -VE,采用面积归一法进行计算,得棘籽油中 α -VE含量为2.6%。

2.3.2 沙棘籽油中胡萝卜素的测定

胡萝卜素是沙棘油中重要的生物活性物质,但对热较为敏感,在高温下受热分解成一部分不可挥发的色素。经检验分析,采用超临界萃取法制得的沙棘籽油

胡萝卜素含量高于溶剂浸出法2倍以上,得到的生物活性物质含量较丰富。

表2 胡萝卜素含量测定结果

Table 2 Effect of different extraction methods on carotene content in seabuckthorn seed oil

序号	1	2	3	$\bar{x}$
胡萝卜素含量/ (μ g/100g)	100915	100825	100810	100850
超临界萃取	50565	50235	50145	50315
溶剂浸出				

3 结论

3.1 本实验对超临界CO₂萃取沙棘籽油及热敏性物质进行分析研究,通过单因素试验及正交试验确定最佳工艺条件:萃取压力25MPa、萃取温度40℃、CO₂流量18kg/h、萃取时间120min、分离压力8MPa,在此工艺条件下沙棘籽油出油率为52%。

3.2 经超临界CO₂萃取的沙棘籽油,其热敏性物质 α -VE含量为2.6%,冷榨沙棘籽油 α -VE含量为2.7%,则经过超临界CO₂萃取后热敏性物质损失3.7%;胡萝卜素含量为100850 μ g/100g,比溶剂浸出法高2倍以上。

参考文献:

- [1] 孙万里. 新型沙棘果醋的保健成分研究[J]. 中国调味品, 2012, 37(4): 78-81.
- [2] 焦岩, 王振宇. 响应面法优化纤维素酶辅助提取大果沙棘果渣总黄酮工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(1): 85-91.
- [3] 张颖, 张立木, 秦树存. 等. 泰山沙棘果提取物调血脂作用研究[J]. 中国药房, 2011, 22(7): 586-588.
- [4] 张颖, 张立木, 高永峰, 等. 泰山沙棘果成分含量测定及降血糖与免疫增强作用[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(19): 1604-1607.
- [5] 李繁. 沙棘的研究进展[J]. 沙棘, 2009, 22(3): 37-39.
- [6] 贺晓光, 李海峰, 王松磊. SFE-CO₂技术提取沙棘油的工艺研究[J]. 四川食品与发酵, 2008, 44(6): 32-35.
- [7] 聂斌英. 沙棘油的综合利用研究及发展前景[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(5): 190-192.
- [8] 张凤桦, 索有瑞, 王洪伦, 等. 毛细管气相色谱内标法测定沙棘油中的脂肪酸[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(1): 198-202.
- [9] 聂斌英. 沙棘油及其微胶囊制品过氧化值的测定与比较[J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 144-146.
- [10] 闫克玉, 杜紫娟. 正交试验法优化沙棘籽油的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(4): 31-34.
- [11] BROWN Z K, FRYER P J, NORTON I T, et al. Drying of agar gels using supercritical carbon dioxide [J]. J of Supercritical Fluids, 2010, 54(1): 89-95.
- [12] YAZDIZADEH M, ESLAMIMANESH A, ESMAILZADEH F, et al. Thermodynamic modeling of solubilities of various solid compounds in supercritical carbon dioxide: effects of equations of state and mixing rules [J]. J of Supercritical Fluids, 2011, 55(3): 861-875.
- [13] DONG Xinyan, SU Baogen, XING Huabin, et al. Cosolvent effects on the diffusions of 1,3-dichlorobenzene, L-carvone, geraniol and 3-fluorophenol in supercritical carbon dioxide[J]. J of Supercritical Fluids, 2011, 58(2): 216-225.
- [14] YU Binxing, KONG Xiangkai, WEI Lingzhi, et al. Treatment of discarded oil in supercritical carbon dioxide for preparation of carbon microspheres[J]. J Mater Cycles Waste Manag, 2011, 13(4): 298-304.
- [15] SCHWARZ C E, KNOETZE J H. Phase equilibrium measurements of long chain acids in supercritical carbon dioxide[J]. J of Supercritical Fluids, 2012, 66: 36-48.
- [16] 李桂华. 油料油脂检验与分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 179-181.