

芝麻油脱臭馏出物中甾醇的两种提取工艺优化

Optimization on two kinds of extraction process for sterol in sesame oil deodorizer distillate

马素换¹ 汪学德¹ 李梦华²

MA Su-huan¹ WANG Xue-de¹ LI Meng-hua²

(河南工业大学粮油食品学院, 河南 郑州 450001)

(School of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450001, China)

摘要:旨在探索芝麻油脱臭馏出物中植物甾醇的两种提取方法,在单因素试验基础上采用正交试验优化得到溶剂法提取最佳工艺条件为:皂化时间 3.5 h,皂化温度 80 °C,加碱量 8.5 mL/0.5 g,使用此优化工艺参数,测得甾醇总含量为 8.42%;超临界 CO₂ 法提取最佳工艺条件为:CO₂ 流量 20 L/h,萃取时间 3 h,萃取压力 25 MPa,萃取温度 50 °C,该条件下甾醇提取率可达 73.25%。两种方法从得率上和操作上来比较,超临界 CO₂ 萃取法优于溶剂法。

关键词:甾醇;芝麻油;脱臭馏出物;溶剂法;超临界二氧化碳萃取

Abstract: Explored the sesame oil deodorization distillate of two extraction methods of phytosterols. On the basis of single factor experiment with orthogonal experiment optimization for the solvent to extract for optimum process conditions were as followed, saponification time 3.5 h, saponification temperature 80 °C, alkaline quantity 8.5 mL/0.5 g, and the total sterol content is 8.42%; Supercritical method to extract the best conditions were as followed; CO₂ flow 20 L/h, 3 h extraction time, extraction pressure 25 MPa, extraction temperature 50 °C, and the sterol extraction rate is 73.25%. Compared two methods of supercritical CO₂ extraction method, the superior is better than the solvent method.

Keywords: sterol; sesame oil; deodorization distillate; solvent method; supercritical carbon dioxide extraction

植物甾醇是一种重要的生理活性物质,对人的生理作用非常有益,它是植物油中一种重要的不皂化物。脱臭馏出物中含 10%~30% 的不皂化物,其中 40% 左右为甾醇^[1-3],因此多从脱臭馏出物中提取甾醇。常规的化学提取方法虽设

备简单,但耗费溶剂量大,生产废料多,能量消耗大;新型超临界流体萃取法,环保干净,提取率高,但很多分子结构比较接近的物质会同时被萃取出来,造成产品纯度低^[4-7]。本研究拟针对以上两种方法缺点,以芝麻油脱臭馏出物为原料,参照前人^[8,9]研究的结果,在单因素试验的基础上,采用正交方法分别对溶剂法和超临界 CO₂ 法两种方法进行了工艺优化,使其更能广泛应用于生产上和实验室研究中,也以期为芝麻油脱臭馏出物的开发利用以及植物甾醇的生产加工提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器设备

超临界 CO₂ 设备: Helix-7409 型,美国应用分离公司;

气相色谱-质谱联用仪: 7890A-5975C 型,美国 Agilent 公司;

分析天平: AL204 型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;

可见分光光度计: 722N 型,上海精科公司;

循环水式多用真空泵: SHZ-D III 型,巩义予华有限责任公司;

旋转蒸发器: RE-52A 型,上海亚荣生化仪器厂;

恒温干燥箱: XMTD-8222 型,上海精宏设备有限公司;

恒温水浴锅: XMTE-8112 型,北京市永光明医疗厂。

1.1.2 试剂

氢氧化钾、石油醚: 分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司;

无水乙醇: 分析纯,天津市瑞金特化学品有限公司;

正己烷: 分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

谷甾醇: 纯度 > 75%, Aladdin-阿拉丁试剂(上海)有限公司;

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31271884); 国家重点攻关项目(编号: CARS-15-1-10); 公益性行业(农业)科研专项项目(编号: 201303072-2)

作者简介: 马素换(1989—), 女, 河南工业大学在读研究生。
E-mail: jiayounuli1988@sina.com

通讯作者: 汪学德

收稿日期: 2014-09-26

1.2 溶剂法提取单因素试验

(1) 皂化时间对甾醇提取率的影响:在皂化温度 85 °C, 加碱量 7.5 mL/0.5 g, 皂化时间 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.5 h 下考察皂化时间对甾醇提取率的影响。

(2) 皂化温度对甾醇提取率的影响:在皂化时间 3.5 h, 加碱量 7.5 mL/0.5 g, 皂化温度 65, 70, 75, 85, 90, 95 °C 下考察皂化温度对甾醇提取率的影响。

(3) 加碱量对甾醇提取率的影响:在皂化时间 3.5 h, 皂化温度 85 °C, 加碱量 5.0, 6.5, 7.5, 8.5, 10.0 mL/0.5 g 下考察加碱量对甾醇提取率的影响。

单因素试验采用以下试验操作进行,以植物甾醇质量浓度为考察指标,每次试验做 3 次平行试验,结果取平均值。

试验操作:准确称取 0.5 g 脱臭馏出物于锥形瓶中,加入一定量 2 mol/L KOH—无水乙醇溶液,剧烈振荡。在一定的温度下进行水浴皂化,皂化时间到达后加入 5 mL 蒸馏水,使其停止皂化,取出锥形瓶,冷却至室温,加入 5 mL 正己烷,进行萃取,避免剧烈摇晃而致使乳化,用同样量正己烷同样步骤萃取 3 次。

合并 3 次萃取液,加蒸馏水水洗至中性,加入一定的无水硫酸钠,放置一段时间除残留水分,将萃取液倒入圆底烧瓶中,旋蒸除去溶剂^[10-12]。用少量无水乙醇复溶,转移到 100 mL 容量瓶中,定容。

用移液枪取出 2 mL 于玻璃试管中,再各加入 2 mL 无水乙醇和 2 mL 显色剂,在涡旋混合器上涡旋 30 s,静置,显色 15 min 后测吸光度。吸光度测定借鉴参考文献[9]。

1.3 超临界 CO₂ 法提取

1.3.1 工艺流程

芝麻油脱臭馏出物→称量上样→超临界 CO₂ 动静态结合萃取→馏出物萃取率分析

1.3.2 植物甾醇萃取率计算 按式(1)进行。

$$\text{萃取率} = \frac{\text{萃取前重量} - \text{萃取后重量}}{\text{样品重量}} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.3 萃取法单因素试验设计 在 CO₂ 流量为 20 L/h, 萃取压力为 25 MPa, 萃取温度为 50 °C, 萃取时间为 2.5 h 的基础上从 CO₂ 流量、萃取压力、萃取温度和萃取时间 4 个因素去考查对甾醇提取率的影响^[8], 各因素水平见表 1。

表 1 SCF—CO₂ 萃取试验因素水平表

Table 1 SCF—CO₂ extraction experiment factors level table

因素水平	A CO ₂ 流量/(L·h ⁻¹)	B 萃取压力/MPa	C 萃取温度/°C	D 萃取时间/h
1	15	15	40	1.5
2	20	20	45	2.0
3	25	25	50	2.5
4	30	30	55	3.0
5	35	35	60	3.5

1.3.4 气质色谱分析条件

(1) 色谱条件:HP-5 毛细管色谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm);进样口温度 280 °C;不分流;流速 1.2 mL/min;升温程序:90 °C 保持 1 min,以 30 °C/min 的速率升温至 270 °C,保持 1 min,以 3 °C/min 的速率升温至 300 °C,保持 12 min;进样量 1 μL。

(2) MS 条件:传输线温度 250 °C,离子源温度 220 °C,离子化模式为 EI,电子能量 70 eV,分子离子碎片扫描范围(m/z)50~650。

2 结果与分析

2.1 溶剂法提取甾醇条件的选择

2.1.1 皂化时间对甾醇提取的影响 由图 1 可知,随皂化时间的延长甾醇得率提高,当皂化时间为 3.5 h 时甾醇得率最高,为 7.11%,但是皂化时间过长得率又会降低,因为皂化时间过长时会发生其他化学反应,溶出的物质与萃取剂渐渐结合,一方面影响甾醇的纯度,另一方面使最终结果偏低。而皂化时间过短时,皂化会不完全,甾醇不能从脱臭馏出物中完全脱离出来,并且游离脂肪酸、甘油酯等能溶解于正己烷使样品量偏高,从而使总甾醇含量较低。

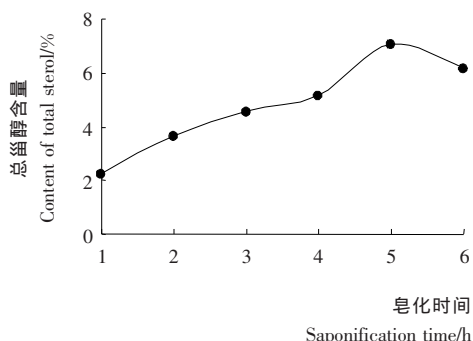


图 1 皂化时间对总甾醇含量的影响

Figure 1 Saponification time on the influence of total sterol content

2.1.2 皂化温度对甾醇提取的影响 由图 2 可知,随皂化温度的升高甾醇得率增加,从 65 °C 到 75 °C 变化幅度较小,75 °C 到 85 °C 变化幅度较大,当温度达到 85 °C 时得到的甾醇最多,温度继续升高时甾醇含量降低,且降低速度较快,幅度较大,皂化温度的影响和皂化时间的影响相似。这可能是由于温度较低时物质活性低,不能皂化完全,皂化后溶液颜色加深,呈深褐色,萃取时溶剂的颜色也很深,为黄褐色,杂质进入甾醇中使结果偏低;温度过高时又可能使甾醇发生氧化,总甾醇含量减少。

2.1.3 碱液量对甾醇提取的影响 由图 3 可知,随加碱量的增加总甾醇量增多,加碱量为 5.0, 6.5 mL/0.5 g 时差别不大,加碱量从 6.5 mL/0.5 g 到 8.5 mL/0.5 g 时甾醇得率增高较快,加碱量为 10 mL/0.5 g 比加碱量为 8.5 mL/0.5 g 得到的甾醇还要少一些,这是因为加碱量过少时不能使脱臭

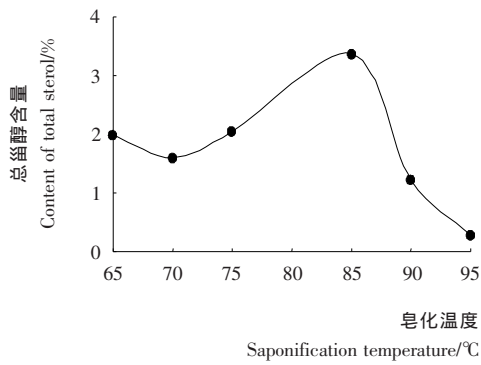


图 2 皂化温度对总甾醇含量的影响

Figure 2 Saponification temperature on the influence of total sterol content

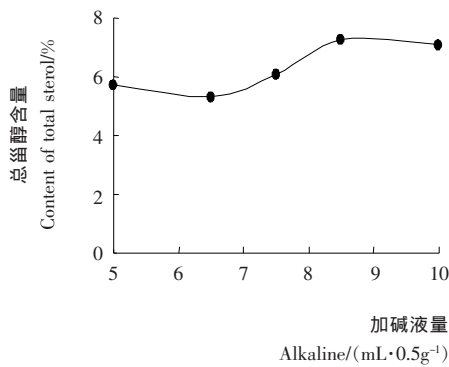


图 3 加碱液量对总甾醇含量的影响

Figure 3 Alkaline effects on total sterol content

馏出物中的甾醇完全脱离出来,甾醇得率较低,若加碱量太高,甾醇损失也较多。为避免试剂的浪费和提高产率,应将料液比定为 8.5 mL/0.5 g。

2.2 溶剂法正交试验优化结果

在单因素试验基础上,对皂化时间、皂化温度、碱液量进行三因素三水平正交试验设计,设计与结果见表 2。

由表 3 可知,各因素对甾醇提取率影响的先后顺序:A>C>B,最优组合为 A₂B₂C₂,而 9 组试验最佳结果是 8.58%,其组合为 A₂B₁C₂总甾醇含量能达到 8.58%,提取率为 27.16%,对组合 A₂B₂C₂进行验证其总甾醇含量能达到 8.63%,提取率为 27.32%,考虑到降低热量消耗,同时提取结果又相对比较好,所以提取甾醇的最佳条件为组合 A₂B₁C₂:皂化时间 3.5 h,皂化温度 80 °C,加碱量 8.5 mL。

表 2 溶剂法正交 L₉(3³)试验因素水平

Table 2 Solvent method of L₉(3³) orthogonal test factors

水平	A 时间/h	B 温度/°C	C 加碱量/mL
1	3.0	80	7.5
2	3.5	85	8.5
3	4.0	90	9.5

表 3 溶剂法正交 L₉(3³)试验结果与分析

Table 3 Results of solvent method of L₉(3³) orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	甾醇总含量/%
1	1	1	1	1	2.95
2	1	2	2	2	3.87
3	1	3	3	3	1.45
4	2	1	2	3	8.58
5	2	2	3	1	7.58
6	2	3	1	2	4.54
7	3	1	3	2	2.71
8	3	2	1	3	5.18
9	3	3	2	1	5.01

k ₁	2.76	4.75	4.22	5.18	
k ₂	6.9	5.54	5.82	3.71	
k ₃	4.3	3.67	3.91	5.07	
极差 R	4.14	1.88	1.91	1.47	

时间越长、温度越高、碱液量越多,但甾醇得率不一定越好,因为这些条件的提高可能会使原料发生变化,部分杂质溶解在萃取剂中被萃取出来,使甾醇的纯度降低,同时降低了总甾醇含量。

2.3 超临界 CO₂法提取甾醇条件选择

2.3.1 萃取压力对甾醇提取的影响 由图 4 可知,随着萃取压力的不断升高,甾醇提取率先增高后降低,在萃取压力为 25 MPa 时,甾醇提取率最高,然后随着压力的增加,提取率反而下降,故选取萃取压力 25 MPa。

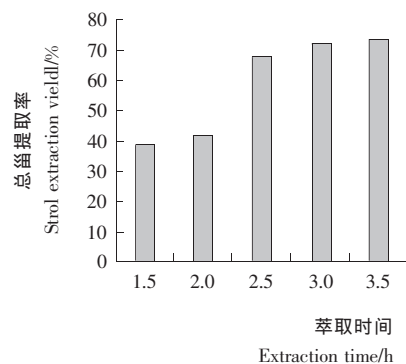


图 4 萃取压力对甾醇提取率的影响

Figure 4 Extraction pressure impact on sterol extraction

2.3.2 萃取时间对甾醇提取的影响 由图 5 可知,在萃取压力、温度和 CO₂流量一定的条件下,随着萃取时间的延长甾醇萃取率有明显增高的趋势,超过 3 h,提取率开始下降。

2.3.3 CO₂流量对甾醇提取的影响 由图 6 可知,随着

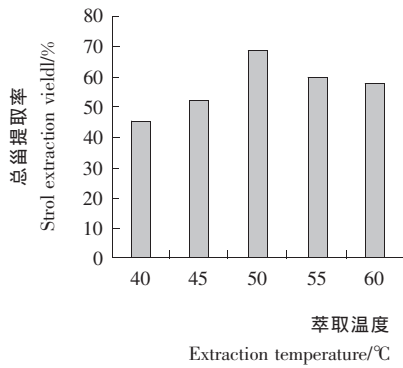


图 5 萃取时间对甾醇提取率的影响

Figure 5 Extraction time impact on sterol extraction yield

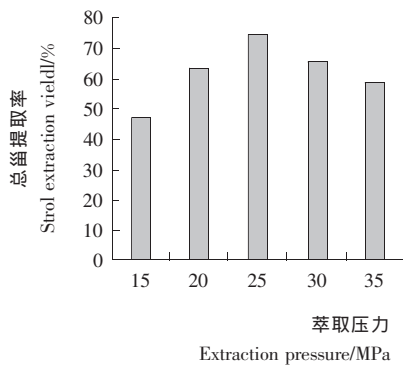


图 6 CO₂ 流量对甾醇提取的影响

Figure 6 CO₂ flow impact on sterol extraction

CO₂ 流量的变化,甾醇萃取随之有明显的变化,流量大于 20 L/h 时,随着 CO₂ 流量的增加呈下降趋势,CO₂ 流量大时流速大,会有部分物料随着 CO₂ 带出,从而导致物料中甾醇的部分损失,所以 CO₂ 的流量不能过大。

2.3.4 萃取温度对甾醇提取的影响 由图 7 可知,在相同压力下,随着温度的不断升高,CO₂ 溶解能力先升高后降低,萃取温度为 50 °C 时,甾醇提取率达最大值。温度继续升高,CO₂ 溶解能力反而变小。

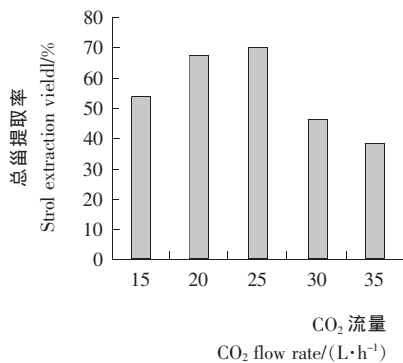


图 7 萃取温度对甾醇提取率影响

Figure 7 Extraction temperature on sterol extraction yield

2.4 超临界萃取法正交试验结果与分析

超临界 CO₂ 萃取法正交因素水平和结果见表 4、5。

表 4 超临界 CO₂ 萃取正交 L₉ (3⁴)

试验因素水平

Table 4 The L₉ (3⁴) orthogonal experiment test factors for supercritical CO₂ extraction

水平	A 压力 / MPa	B 时间 / h	C CO ₂ 流量 / (L·h ⁻¹)	D 萃取温度 / °C
1	20	2.5	15	45
2	25	3.0	20	50
3	30	3.5	25	55

表 5 超过临界 CO₂ 萃取正交 L₉ (3⁴)

试验结果与分析

Table 5 The L₉ (3⁴) orthogonal experiment results for supercritical CO₂ extraction

试验号	A	B	C	D	甾醇提取率 / %
1	1	1	1	1	49.71
2	1	2	2	2	53.28
3	1	3	3	3	69.46
4	2	1	2	3	72.69
5	2	2	3	1	65.35
6	2	3	1	2	58.04
7	3	1	3	2	70.41
8	3	2	1	3	64.85
9	3	3	2	1	50.06

k ₁	57.48	64.27	57.53	55.04	
k ₂	65.36	61.16	58.68	60.58	
k ₃	61.77	59.19	68.41	69.00	
极差 R	7.88	5.08	10.87	13.96	

由表 5 可知,各因素甾醇的提取率影响的主次顺序为: D > C > A > B,最佳水平组合为 A₂B₁C₃D₃,对其进行验证并与组合 A₂B₁C₂D₃ 进行比较,结果为甾醇提取率分别为 73.25% 和 72.69%,故超临界 CO₂ 最佳提取条件为:压力 25 MPa,时间为 2.5 h,CO₂ 流量为 25 L/h,温度为 55 °C。

2.5 芝麻油脱臭馏出物中甾醇的组成测定

色谱分析结果见图 8,3 个主峰依次为菜油甾醇、豆甾醇、谷甾醇。菜油甾醇前面那个小峰为菜籽甾醇,采用面积归一化方法,测定了各甾醇组分的质量分数,结果为菜油甾醇、豆甾醇、谷甾醇、菜籽甾醇含量分别为 19.32%,19.16%,42.40%,1.40%,甾醇纯度为 82.28%。

3 结论

从芝麻油脱臭馏出物中提取植物甾醇其溶剂法的优化工艺条件为:皂化时间 3.5 h,皂化温度 80 °C,加碱量 8.5 mL/0.5 g;超临界 CO₂ 萃取法优化工艺条件为:压力 25 MPa,时间 2.5 h,CO₂ 流量 25 L/h,温度 55 °C,此条件下产品的纯度为 82.28%。

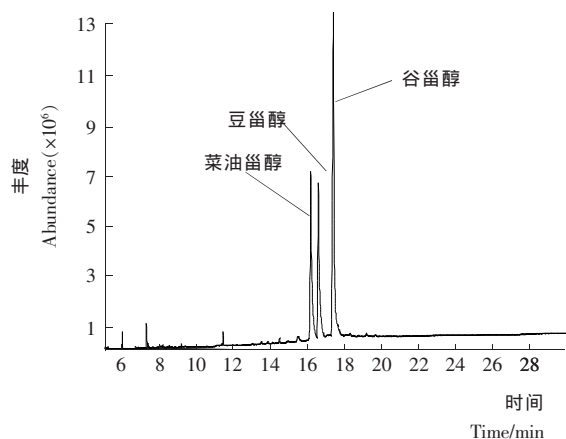


图 8 甾醇气质色谱

Figure 8 GC-MS pattern of standardized phytosterol

溶剂法每个操作过程会一定程度造成甾醇含量的损失,从试验结果也验证了溶剂法提取效果不如超临界 CO₂ 萃取法,但 SCF-CO₂ 法应用成本比溶剂法高,能否降低使用成本将直接影响其在工业生产中的广泛应用,未来将会尝试用夹带剂对超临界萃取过程进行强化,进一步缩短萃取时间,降低操作压力,降低其应用成本。

参考文献

1 裴爱泳,吴时敏. 脱臭馏出物中植物甾醇的回收[J]. 中国油脂,

1997,22(3):49~50.

2 钟建华,徐方正. 植物甾醇的理化性质、生理功能及应用[J]. 江苏食品与发酵, 2005(1):22~24.

3 白群安. 植物甾醇的研究进展[J]. 饲料博览·技术版,2009(6):9~11.

4 赵国志,刘喜亮,刘智锋. 植物甾醇及其产品开发利用(上)[J]. 粮食与油脂,2006(2):3~6.

5 陈刘杨,刘玉兰,张晓丽. 米糠油脱臭馏出物中甾醇的分析检测[J]. 中国油脂,2010,35(4):57~62.

6 杨振强,谢文磊,李海涛,等. 植物甾醇的开发及应用研究进展[J]. 油脂工程,2006(1):503~506.

7 梁艳,张英,吴晓琴. 植物甾醇的提取分离和分析检测方法研究进展[J]. 中国粮油学报,2006,21(3):1~7.

8 史学伟,程卫东,肖婧,等. 新疆棉籽油脱臭馏出物中甾醇的超临界 CO₂ 萃取工艺研究[J]. 石河子大学学报,2010,28(5):606~609.

9 刘蕾,陈星,李晓丽,等. 分光光度法测定大豆总甾醇含量的研究[J]. 中国油脂,2005,30(4):45~47.

10 刘存存,方学智,李宝才,等. 茶油脱臭馏出物中甾醇精制的研究[J]. 食品工业科技,2012(2):250~254.

11 李万林. 植物甾醇的研究进展概述[J]. 饮料工业,2013,16(11):48~51.

12 鲍忠定,许荣年,张颂红. 毛细管气相色谱法测定油中植物甾醇和胆固醇[J]. 分析化学,2002,30(12):1490~1493.

信息窗

中美将在食品安全等领域加强合作

在 12 月 18 日结束的第 25 届中美商贸联委会全体会议成果丰硕,中美就一系列问题达成共识。涉及民生方面,中美同意加强在食品安全领域的合作,互派食品安全检查员。

中国商务部部长助理张向晨在商贸联委会全体会议结束后的记者会上说,中美两国欢迎本国和外国投资者对基础设施领域进行商业投资,将扩大在服务贸易领域的合作。中美同意扩大在气候和清洁能源方面的合作。2015 年 4 月份,美国商务部长普里茨克和能源部长莫尼兹将率美国商业代表团访华,推进双方在这一领域的合作。

同时,中美将继续在《联合国反腐败公约》等多边框架下,加强反腐败和反贿赂的交流与合作。

作为会议成果的一部分,美方承诺促进和便利高技术产品对中国民用用户和民用用途出口。对于中方提出的深水油气勘探设备等民用高技术贸易个案,美方将积极考虑向其中部分产品发放许可证。美方将不会基于国别,对律师事务所或律师执业资格申请人进行歧视。中美双方同意将在 2014 年至 2015 年度出口季节实现双向苹果贸易。

中方表示将加快推进药品医疗器械审评审批制度改革,在符合对产品质量、有效评价要求的基础上,尽量减少不必要的临床试验,提高审评速度;重申在反垄断执法过程中平等对待各类市场主体,外国法律顾问可以旁听当事人和反垄断执法机构的会议。中方将进一步扩大服务业对外开放;在商贸联委会农业工作组框架下与美方开展农业创新战略对话;修改完善政府采购本国货物管理相关暂行办法。

美国商务部长普里茨克在商贸联委会结束后回答记者提问时说,本次中美商贸联委会会议取得了几十项成果。普里茨克对中美就竞争和反垄断达成的共识尤其满意。

普里茨克说,本次会议中美双方在许多领域取得了一定进展。虽然还有问题没有解决,还有挑战需要应对,但是中美双方一直就此保持接触,合作和交流,这正是两国关系成熟的体现。

(来源:www.cifst.org.cn)