

南极磷虾壳中虾油提取工艺优化

Optimization of oil extraction from antarctic krill shell

徐 洋¹ 姜启兴¹ 刘富俊² 许艳顺¹

XU Yang¹ JIANG Qi-xing¹ LIU Fu-jun² XU Yan-shun¹

李婧茹¹ 张庆香² 夏文水¹

LI Jing-ru¹ ZHANG Qing-xiang² XIA Wen-shui¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 辽宁省大连海洋渔业集团公司, 辽宁 大连 116113)

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;

2. Liaoning Province Dalian Ocean Fishery Group, Dalian, Liaoning 116113, China)

摘要:对比了原料不同干燥方式对虾油酸价和虾青素含量的影响,以及溶剂体系对虾油得率、磷脂得率、虾青素得率的影响。在该基础上,探究原料粉碎程度、提取温度、提取时间和料液比对虾油得率的影响,并通过正交试验优化提取工艺。结果表明:冷冻干燥法提取的虾油酸价最低,虾青素含量最高;采用 95%乙醇提取,虾油、磷脂以及虾青素得率最高;以冷冻干燥、粉碎后过 60 目筛的虾壳为原料,95%乙醇为提取溶剂,正交优化后的最佳提取工艺为:料液比 1:9(g/mL),提取温度 50℃,震荡提取时间 30 min,该条件下虾油得率(12.64±0.02)%。

关键词:南极磷虾壳;提取;虾油;溶剂;干燥

Abstract: The extraction of oil from Antarctic krill shell by organic solvent was studied in this paper. The effect of drying methods on krill oil qualities (Content of astaxanthin and acid value) were studied. In addition, the yield of oil, phospholipids, and astaxanthin were compared while different extractions solvents were used. Oil extracted from raw material processed by Freeze-drying had the highest astaxanthin content and the lowest acid value which made this method the best choice. When 95% ethanol was used, there were the highest yield of krill oil, phospholipid and astaxanthin. With orthogonal experiment, the influence of material particle size, extraction temperature, extraction time, solid/liquid ratio on krill oil yield was studied and optimal technique parameters were as follows: particle size, over 60 mesh; temperature, 50℃; Time, 30 min; solid/liquid ratio, 1:9. The highest oil yield was (12.64±0.02)%.

Keywords: antarctic krill shell; extraction; krill oil; solvent; drying

基金项目:“十二五”国家“863”计划项目(编号:2011AA090801)

作者简介:徐洋,女,江南大学在读硕士研究生。

通讯作者:姜启兴(1977—),男,江南大学副教授,博士。

E-mail: qixingj@163.com

收稿日期:2015-12-03

南极磷虾(*Euphausia superba*),又名大磷虾或南极大磷虾,是地球上数量最大的单种生物资源之一^[1],且具有极高的营养价值,富含蛋白质、脂质、虾青素、甲壳素等营养或功能性物质^[2]。因此,近年来,随着资源问题的日益严峻,各国竞相开展南极磷虾资源的开发利用。随着南极磷虾利用日渐增多,加工产生的副产物也越多^[3]。李姝婧等^[4]发现磷虾加工下脚料中干基蛋白含量达 50%,脂肪含量达 15.15%。若不加以综合利用,不但造成资源浪费,也会导致环境污染。

目前磷虾油是南极磷虾加工产业中附加值最高,市场效益最好的产品之一。研究^[5]发现,磷虾油中富含磷脂结合型多不饱和脂肪酸,特别是 omega-3 系列的 EPA 和 DHA。和其他海洋油脂相比,磷虾油更易为人体吸收,生物利用率更高^[1,6]。此外,磷虾油中还富含虾青素、VE 等脂溶性分子,具有抗氧化、增强免疫活性等作用^[7-9]。

国内外南极磷虾油的提取方法主要有:有机溶剂法、酶解辅助提取法、超临界流体萃取等方法^[10-11],与其他方法相比,有机溶剂法具有工艺简单、提取效率高、成本低等优点,仍是工业化最常用的方法。目前提取磷虾油大多以全虾为原料,但是以全虾为原料提取虾油存在以下问题:① 有机溶剂提取难免会存在溶剂残留问题,影响了磷虾蛋白质的利用,且对其他营养成分造成破坏,影响了磷虾资源的充分利用。② 全虾原料蛋白含量高,干燥后质构紧密,有机溶剂难于渗透,提取效率较低,因此有研究^[12]采用原料中添加淀粉后挤压膨化处理,增大原料的松散性和溶剂渗透效果,从而提高磷虾油得率,但这样增加了加工步骤,且增加了淀粉的消耗。因此,本研究拟先对南极磷虾进行采肉处理,回收大部分虾肉蛋白,然后以剩下的虾壳为原料提油,实现资源合理综合利用;同时,采肉后的虾壳干燥后结构疏松,易于有机溶剂渗透,有利于提高提取效率。本研究通过对虾壳原料预

处理工艺、提取工艺的研究与优化以期为南极磷虾油的提取探索出新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南极磷虾(*Euphausiasuperba*):冷冻虾砖,辽宁省大连海洋渔业集团提供(−18℃下保藏),轻微解冻后采肉机采肉4次得虾壳,−18℃下冻藏备用;

95%乙醇、氯仿、甲醇、钼酸钠、正己烷、丙酮、三氟化硼、硫酸联氨:分析纯,国药集团化学试剂公司;

二苯代苦味肼基自由基(DPPH·):分析纯标准品,美国Sigma公司。

1.2 主要仪器设备

鱼肉采肉机:YCR-180型,上海华夏渔业机械仪器工贸公司;

冷冻干燥机:ALPHA 1-2 LD plus型,德国Martin Christ公司;

电热恒温鼓风干燥箱:101-1-BS型,上海跃进医疗器械厂;

真空干燥箱:DZG-6020型,上海森信实验仪器有限公司;

紫外—可见分光光度计:UV1000型,上海天美科学仪器有限公司;

旋转蒸发器:RZ-52AA型,上海亚荣生化仪器厂;

气相色谱仪:GC-2010型,日本岛津公司;

电子天平:JB 5374-91型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

恒温振荡器:THZ-D型,太仓市豪诚实验仪器制造有限公司。

1.3 测定方法

1.3.1 基本成分的测定

- (1)水分测定:按GB 5009.3—2010执行。
- (2)灰分测定:按GB 5009.4—2010执行。
- (3)脂肪测定:Floch法^[13]。
- (4)蛋白质测定:按GB 5009.5—2010执行。

1.3.2 虾青素含量的测定 南极磷虾中类胡萝卜素主要为虾青素,因此虾青素含量以总类胡萝卜素含量计。具体测定方法:称取25g左右湿虾壳置于研钵中,立即倒入50mL冷丙酮,研磨10min后抽滤得滤液。重复上述操作2~3次至提取液基本无色。合并滤液倒入分液漏斗中,石油醚萃取多次至醚层无色,将多次萃取所得醚层25℃下旋蒸至无醚,将旋蒸后残留物用丙酮复溶,于478nm处测定吸光值,若吸光值过大,应稀释后再进行测定。

精确称取100mg左右的虾油于5mL离心管中,用2mL丙酮溶解,3000r/min离心5min后,将上清液转移至25mL的比色管中,重复上述操作,直至离心管中上清液基本无色,合并上清液并定容至25mL,于478nm处测定其吸光值。

$$C=\frac{A\times V\times N}{0.220\times W},$$

(1)

式中:

C——总类胡萝卜素含量,μg/g;

A——478nm处吸光值;

V——丙酮最终定容体积,mL;

N——稀释的倍数;

W——原料的重量,g。

1.3.3 磷脂的测定 按GB/T 5537—2008执行。

1.3.4 酸价的测定 按GB/T 5530—2005执行。

1.3.5 磷虾油得率的计算 按式(2)计算:

$$Y=\frac{m_1}{m_2}\times 100\%,$$

(2)

式中:

Y——虾油得率,%;

m_1 ——虾油质量,g;

m_2 ——虾壳粉质量,g。

1.4 试验方法设计

1.4.1 虾壳干燥方式的影响 分别采用冷冻干燥(真空度110Pa,冷阱温度−56℃,48h)、50℃热风干燥、80℃热风干燥以及真空干燥(0.08MPa,50℃)4种方法对虾壳进行处理,使最终水分含量低于10%。室温下利用无水乙醇浸提4h,料液比1:10(g/mL),浸提液40℃旋蒸后,氯仿甲醇复溶,加入20%体积的0.9%的NaCl溶液,静置分层后,取下层蒸干溶剂后得到虾油,测定虾青素含量和酸价。

1.4.2 浸提溶剂的影响 选用文献中提及到的用于南极磷虾虾油提取的4种溶剂:正己烷^[14]、丙酮—乙醇(体积比为1:1)^[12]、无水乙醇^[15]和95%的乙醇^[16],料液比1:6(g/mL),在室温下搅拌提取3h,分别对比虾油、虾青素和磷脂得率。

1.4.3 单因素试验设计

(1)粉碎程度的影响:固定提取温度50℃,提取时间2h,料液比1:10(g/mL)。分别选用<20,20~40,40~60,60~80,>80目的原料进行提取,考察粉碎程度对磷虾油得率的影响。

(2)提取温度的影响:固定粉碎程度60~80目,提取时间2h,料液比1:10(g/mL),分别提取温度为30,40,50,60,70℃,考察提取温度对磷虾油得率的影响。

(3)提取时间的影响:固定粉碎程度60~80目,提取温度40℃,料液比1:10(g/mL)。分别选择虾油提取时间为20,40,60,120,180min,考察提取时间对磷虾油得率的影响。

(4)提取料液比的影响:固定粉碎程度60~80目,提取温度40℃,提取时间40min,分别选择虾油提取料液比为1:4,1:6,1:8,1:10,1:12(g/mL),考察料液比对磷虾油得率的影响。

1.4.4 正交试验优化设计 对比提取溶剂、原料粉碎目数对虾油得率和性质的相关影响,选择最优的提取溶剂和粉碎目数。以提取温度、提取时间、提取料液比3个因素作单因素

试验,根据单因素结果设计 3 因素 3 水平的正交试验。

2 结果与讨论

2.1 南极磷虾壳主要成分分析

由表 1 可知,虾壳中水分含量较高,达 80.06%。水的存在会影响溶剂在虾壳中的扩散以及与油脂的接触,进而影响提取效率,因此需考虑在提取前对虾壳进行干燥处理。虾壳

表 1 南极磷虾壳主要成分含量

Table 1 Contents of the major components in antarctic krill shell

水分/%	粗脂肪/% (干基)	灰分/% (干基)	蛋白/% (干基)	类胡萝卜素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{虾壳,干基}$)	磷脂含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{虾油}$)
80.06±0.06	16.68±0.34	20.11±0.34	58.37±0.34	279.21±14.67	264.50±0.05

2.2 干燥方法对虾油品质的影响

南极磷虾油富含多不饱和脂肪酸和虾青素,这些成分特别容易因氧化而损失,因此,对原料进行干燥时必须考虑干燥工艺对原料氧化的影响。图 1 展示了干燥方式对虾油中虾青素和酸价的影响。由图 1 可知,4 种方式下虾油虾青素含量排序:冷冻干燥>50℃真空干燥>80℃热风干燥>50℃热风干燥,酸价则与之相反。表明在较低温度的冷冻干燥以及真空干燥能够较好地避免油脂和虾青素的氧化。冷冻干燥法得到的磷虾油虾青素含量最高,酸价最低。因此从磷虾油品质的角度考虑,可以选用冷冻干燥法干燥虾壳。与 80℃相比,50℃热风干燥酸价更高,虾青素损失更多,可能是 50℃下干燥速率相对缓慢,虾青素^[17]长时间受热氧化;且原料未经灭酶处理,50℃下脂肪酶作用生成游离脂肪酸。

2.3 浸提溶剂对提取效果的影响

由图 2 可知,4 种溶剂体系中 95%乙醇的提取效率最好,且相应的对虾青素和磷脂提取率也最高。这可能是带有部分水的乙醇溶液和原料中脂质的极性最为相近,能够将其充分提取出来。正己烷的虾油提取效率最低,主要原因在于

中粗脂肪的含量达 16.68%(干基),总类胡萝卜素含量达到 279.21 $\mu\text{g/g}$ 。以虾壳为原料,采用 Floch 法提取的虾油中磷脂含量达 26.45%。曹文静等^[15]以南极磷虾全虾作为原料提油,发现其粗脂肪含量 17.66%,虾油中磷脂含量 29.13%。由此可知,以南极磷虾加工副产物为原料,回收磷虾油具有很大的可行性和很高的商业价值。

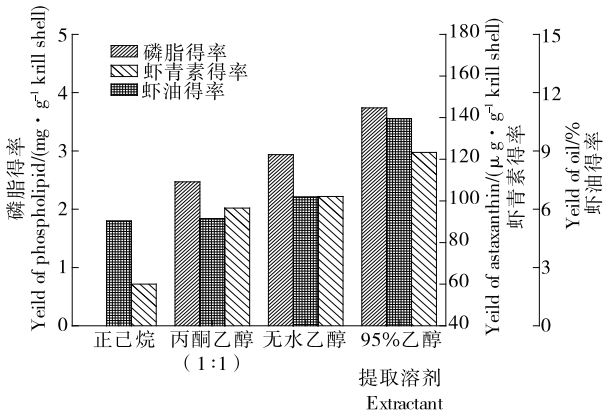


图 2 提取溶剂对虾油得率、磷脂得率和虾青素得率的影响
Figure 2 Effect of extractant on the yield of oil, phospholipid and astaxanthin

正己烷属于非极性溶剂,难以将富含磷脂等极性组分的磷虾油充分提取出来。因此,选择 95%的乙醇作为提取溶剂。

2.4 粉碎程度对虾油得率的影响

由图 3 可知,随着粉碎程度不断增加,虾油的提取效果越好,在 60 目之前,提取率随目数增加而快速上升,而当大于 60 目之后,虾油得率呈缓慢上升趋势。这可能是开始时随着粉碎程度的增大,虾壳与溶剂间的接触面积增大,从而提高了虾油的溶出,而随着粉碎程度的进一步增大,粉体粒度变小,颗粒间的分子引力、静电引力增大,限制了溶剂与粉体的充分接触,从而进一步降低粉体的颗粒大小,提取效果增加不显著。而且颗粒过细会导致液体的粘度增加,从而增加后期过滤(固液)分离的难度。王琦等^[18]在研究火龙果花精油提取工艺中也发现了类似的变化趋势。因此,虾壳的粉碎程度以过 60 目筛为宜。

2.5 提取温度对虾油得率的影响

由图 4 可知,随着提取温度逐渐升高,虾油得率逐渐增大,提取温度达到 40℃之后,得率增加趋于平缓。这可能是温度升高,分子热运动加快,有利于溶剂扩散、渗透与溶解。另一方面温度越高,虾油的活性成分越易氧化,提取溶剂也越易挥发损失。所以综合考虑,选择提取温度为 40℃。

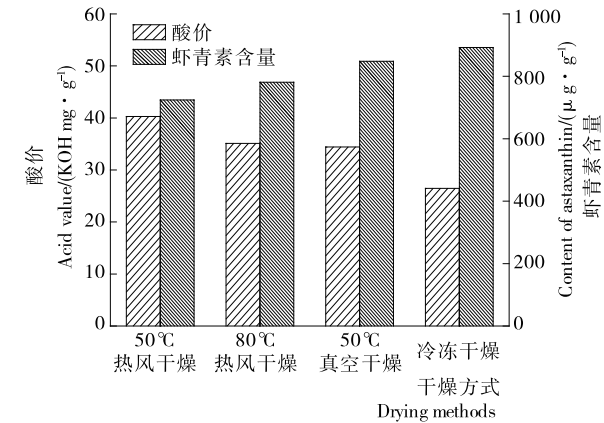


图 1 干燥方式对虾油中虾青素含量和酸价的影响
Figure 1 Effect of drying methods on the krill oil qualities (content of astaxanthin and acid value)

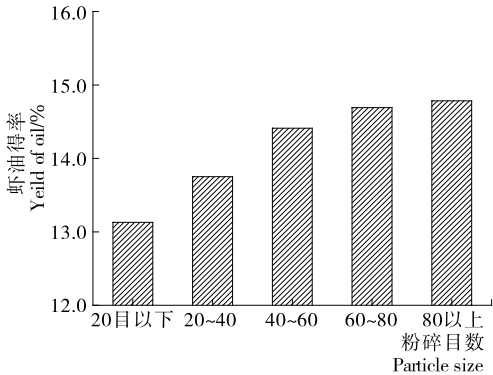


图 3 加工副产物粉碎程度对虾油得率的影响
Figure 3 Effect of particle size on the yield of oil

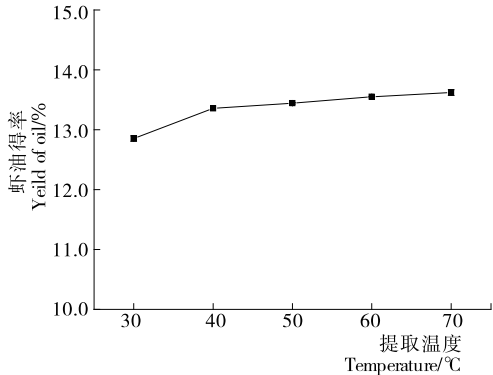


图 4 提取温度对虾油得率的影响

Figure 4 Effect of extraction temperature on the yield of oil

2.6 提取时间对虾油得率的影响

由图 5 可知,随着提取时间增长,虾油得率逐渐增大。当提取时间超过 40 min 之后,虾油的提取得率趋于不变,这可能是随着提取时间延长,虾壳粉与溶剂间的虾油浓度差越来越小,传质速度减缓,最终达到平衡。朱圣芳等^[19]在研究油莎豆油的工艺研究中有相同的结果。因此为了节约提取时间,同时为了防止虾油长时间提取过程中发生氧化^[20],选择虾油提取时间为 40 min。

2.7 料液比对虾油得率的影响

由图 6 可知,随提取溶剂的增多,虾油得率也逐渐升高。原因在于溶剂与原料间的浓度差越大,越有利于目标物的溶出,其提取效率也就越高。但是当溶剂量达到 10 mL/g 虾壳

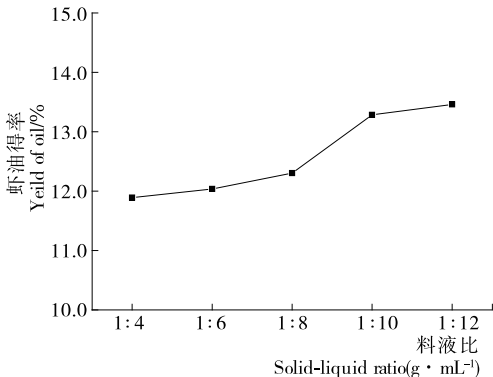


图 5 提取时间对虾油得率的影响

Figure 5 Effect of extraction time on the yield of oil

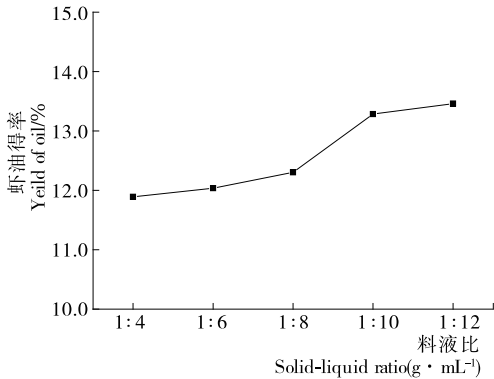


图 6 料液比对虾油得率的影响

Figure 6 Effect of solid/liquid ratio on the yeild of oil

粉之后,得率的增长趋势变缓。谢莹^[21]在研究稻米油工艺优化的试验中也得到了同样的结果,随着料液比的增加稻米油的得率增加,当达到 5 mL/g 以后增加缓慢。因此考虑到节省溶剂成本,选择料液比 1 : 10(g/mL)。

2.8 正交试验

正交试验因素水平见表 2,正交试验结果直观分析表见表 3,由表 3 可知,3 个因素对虾油得率的影响顺序为温度>料液比>时间。方差分析(表 4)表明温度对提取率影响具有显著性(P<0.05),因此选择最优水平 A₃;而料液比、时间在选用的水平范围内对提取率的影响不显著(P>0.05),可以选用范围内的任一水平,因此从节约提取试剂,减少生产周期,提高生产效率的角度考虑,可选 B₁、C₁。综上选择的优化提取方案为 A₃B₁C₁,即提取温度 50 ℃,提取时间 30 min,

表 2 L₉(3⁴)因素水平表

Table 2 L₉(3⁴) orthogonal table

水平	A 温度/℃	B 时间/min	C 料液比(g · mL ⁻¹)
1	30	30	1 : 9
2	40	40	1 : 10
3	50	50	1 : 11

表 3 正交试验直观分析表

Table 3 Orthogonal intuitive analysis table

试验号	A	B	C	空列	虾油得率/%
1	1	1	1	1	9.86±0.12
2	1	2	2	2	10.11±0.10
3	1	3	3	3	11.24±0.16
4	2	1	2	3	12.49±0.05
5	2	2	3	1	12.75±0.10
6	2	3	1	2	12.03±0.15
7	3	1	3	2	12.63±0.12
8	3	2	1	3	12.77±0.09
9	3	3	2	1	12.88±0.10
k ₁	10.403	11.660	11.553	11.830	
k ₂	12.423	11.877	11.827	11.590	
k ₃	12.760	12.050	12.207	12.167	
R	2.357	0.390	0.654	0.577	

表 4 正交试验结果方差分析表[†]

Table 4 Variance analysis of orthogonal experimental results

因素	平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	9.748	2	19.380	19.00	*
时间	0.229	2	0.455	19.00	—
料液比	0.646	2	1.284	19.00	—
误差	0.500	2			

[†] *. 在 0.05 水平上存在显著差异;—. 不存在显著差异。

料液比 1 : 9(g/mL)。该方案不在 9 个正交方案中,进行验证实验,得到虾油提取率为 $(12.64 \pm 0.02)\%$,得率与 9 个正交试验中的最高得率 $(12.88 \pm 0.10)\%$ 以及最优 A₃B₃C₃方案下的得率 $(13.15 \pm 0.07)\%$ 相近,表明该提取工艺是可行的。有研究^[22]发现,采用乙醇提取南极磷虾全虾中虾油,一次提取得率为 11.61%。本研究提油得率达 12.64%,优于采用全虾为原料的提取效果,在此基础上可进行多次逆流提取试验,可进一步提高虾油得率。

3 结论

在对比选择干燥方法(冷冻干燥)、提取溶剂(95%乙醇)、粉碎程度(60 目以上)的基础上,通过正交试验优化确定其最佳提取条件为:提取温度 50 ℃,提取时间 30 min,料液比 1 : 9(g/mL)。在此方案下,虾油的得率达到 12.64%左右。本研究优化了以南极磷虾加工副产物为原料的虾油提取工艺,有助于南极磷虾产业中虾壳的大规模回收利用。由于原料虾砖保藏、解冻脱肉^[23]等操作步骤的限制,导致提取得到的虾油酸价相对较高。此外,乙醇与水互溶,一些水溶性杂质也被提取出来,导致粗虾油中杂质较多,需通过进一步的精炼处理和工艺改进来解决。

参考文献

[1] Kwantes J M, Grundmann O. A brief review of krill oil history, research, and the commercial market[J]. Journal of Dietary Supplements, 2015, 12(1): 23-35.

[2] Jiang Qi-xing, Li Shu-jing, Xu Yan-shun, et al. Nutrient compositions and properties of Antarctic krill (*Euphausia superba*) muscle and processing by-products[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, (2014-08-22) [2016-05-24]. <http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2013.809621>.

[3] Babu C M, Chakrabarti R, Surya Sambasivarao K R. Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(2): 227-235.

[4] 李姝婧,夏文水. 南极磷虾加工下脚料营养成分分析及蛋白质回收研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 11-15.

[5] Lee R F, Hagen W, Kattner G. Lipid storage in marine zooplankton[J]. Marine Ecology Progress Series, 2006, 307(1): 273-306.

[6] Araujo P, Han Zhu, Breivik J F, et al. Determination and structural elucidation of triacylglycerols in krill oil by chromatographic techniques[J]. Lipids, 2014, 49(2): 163-172.

[7] Senphan T, Benjakul S, Kishimura H. Characteristics and antioxidant activity of carotenoprotein from shells of Pacific white shrimp extracted using hepatopancreas proteases[J]. Food Bioscience, 2014(5): 54-63.

[8] Sila A, Kamoun Z, Ghliissi Z, et al. Ability of natural astaxanthin from shrimp by-products to attenuate liver oxidative stress in diabetic rats[J]. Pharmacological Reports, 2015, 67(2): 310-316.

[9] Krinsky N I, Johnson E J. Carotenoid actions and their relation to health and disease[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2005, 26(6): 459-516.

[10] 徐晓斌,李俊玲,阳杨,等. 南极磷虾油酶解法提取工艺研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(5): 5-8.

[11] Ali-Nehari A, Kim S B, Lee Y B, et al. Characterization of oil including astaxanthin extracted from krill (*Euphausia superba*) using supercritical carbon dioxide and organic solvent as comparative method[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2011, 29(3): 329-336.

[12] Yin Fa-wen, Liu Xiao-yang, Fan Xin-ru, et al. Extrusion of Antarctic krill (*Euphausia superba*) meal and its effect on oil extraction[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 50(3): 633-639.

[13] 王彩霞. 鲑鱼脑的营养评价及生理活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014: 21-25.

[14] Gigliotti J C, Davenport M P, Beamer S K, et al. Extraction and characterisation of lipids from Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Food Chemistry, 2011, 125(3): 1 028-1 036.

[15] 曹文静,惠欢庆,沈俊涛,等. 混合溶剂提取南极磷虾油的工艺研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(12): 6-9.

[16] 孙甜甜. 高品质南极磷虾油工业化生产技术研究[D]. 大连: 中国海洋大学, 2013: 25-29.

[17] 孙来娣,高华,刘坤,等. 南极磷虾粉中虾青素的提取[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(3): 196-201.

[18] 王琦,高慧颖,郑亚凤,等. 响应面法优化有机溶剂提取火龙果花精油工艺的研究[J]. 福建农业学报, 2014, 29(1): 72-77.

[19] 朱圣芳,田丽萍,薛琳,等. 溶剂法提取油莎豆油的工艺研究[J]. 食品科技, 2012(4): 155-158.

[20] 翁新楚,董新伟. EPA 和 DHA 的生理功能及其氧化稳定性[J]. 生物工程进展, 1994, 14(6): 56-60.

[21] 谢莹,林亲录,吴伟. 溶剂浸提高谷维素稻米油工艺优化[J]. 农业机械, 2012(10): 36-39.

[22] 郭休玉,何兰,曹俊,等. 南极磷虾油提取方法比较及主要营养成分分析[J]. 水产科技情报, 2013, 40(5): 254-257.

[23] 迟海,李学英,杨宪时,等. 解冻方式和条件对南极磷虾品质的影响[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 94-97.