DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2020.05.031

糜子壳油超声辅助提取工艺优化及脂肪酸组成分析

Optimization of ultrasonic-assisted extraction process and analysis of fatty acid composition of *Panicum miliaceum* L. shell oil

苗欣月[1,2] 朱 丹[3] 颜飞翔[1,2]

MIAO Xin-yue[1,2] *ZHU Dan*[3] *YAN Fei-xiang*[1,2]

牛广财[1,2] 魏文毅[1,2] 朱立斌[1,2]

NIU Guang-cai[1,2] *WEI Wen-yi*[1,2] *ZHU Li-bin*[1,2]

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院,黑龙江 大庆 163319;2. 黑龙江省农产品加工工程技术研究中心,黑龙江 大庆 163319;3. 黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院,黑龙江 大庆 163319)

(1. *Food College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang* 163319, *China*; 2. *Agri-Food Processing and Engineering Technology Research Center of Heilongjiang Province, Daqing, Heilongjiang* 163319, *China*; 3. *College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang* 163319, *China*)

摘要:以正己烷为提取溶剂,在超声波功率、液料比、提取时间以及提取温度等单因素试验基础上,通过响应面法优化糜子壳油超声辅助提取的最佳参数。结果表明,最佳工艺条件为超声波功率 400 W,液料比 12∶1 (mL/g),提取温度 70 ℃,提取时间 50 min,该条件下糜子壳油得率可达到 6.95%。经气相色谱(GC)法分析鉴定出 5 种脂肪酸,分别为亚油酸(70.10%)、油酸(20.00%)、棕榈酸(8.79%)、亚麻酸(0.89%)和花生一烯酸(0.21%)。

关键词:糜子油;糜子壳;超声辅助提取;脂肪酸组成

Abstract: The n-hexane was used as extraction solvent, and the ultrasonic-assisted extraction parameters of *Panicum miliaceum* L. shell oil were optimized by response surface methodology based on the single factor experiment of ultrasonic power, liquid-solid ratio, extraction time and extraction temperature. The results showed that the optimum extraction parameters were as follows: the ultrasonic power was 400 W, the liquid-solid ratio was 12∶1 (mL/g), the extraction temperature was 70 ℃, and the extraction time was 50 min, and the yield of *Panicum miliaceum* L. shell oil reached 6.95% under the optimal condition. Five kinds of fatty acids were identified by GC, the main fatty acids of *Panicum miliaceum* L. shell oil were linoleic acid (70.10%), oleic acid (20.00%), palmitic acid (8.79%), linolenic acid (0.89%) and eicosenoic acid (0.21%), respectively.

Keywords: *Panicum miliaceum* L. oil; *Panicum miliaceum* L. shell; ultrasonic-assisted extraction; fatty acid composition

糜子(*Panicum miliaceum* L.)属禾本科黍属,又称黍稷,其籽粒脱皮后称黄米,是北方传统粮食作物之一[1]。糜子壳是糜子籽粒脱皮加工过程中的主要副产物,通常作为饲料或者被丢弃。随着近年来对谷物副产物研究的逐渐增加,糜子壳中有效成分也越来越受到关注。例如,王振等[2]采用超声波辅助法优化了糜子壳中多酚的提取工艺;关正萍等[3]采用超声波振荡法确定了糜子中的 β-胡萝卜素提取工艺;田翔等[4]利用索氏提取法确定了黄米中油的最佳提取工艺条件,即在液料比为 20∶1 (mL/g),提取温度 80 ℃,淋洗时间 30 min时,糜子油得率为 4.51%,采用气相色谱—质谱法分析糜子油脂肪酸为亚油酸(12.371%)、油酸(44.157%)、亚麻酸(1.173%)、棕榈酸(23.948%)和硬脂酸(5.676%)等主要脂肪酸。表明脱去糜子外壳的黄米油中以不饱和脂肪酸为主,属于优质脂肪酸。研究[5-6]表明,不饱和脂肪酸对人体有重要的生

基金项目:黑龙江省优势特色学科资助项目(编号:黑教联〔2018〕4 号);黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(编号:YJSCX-Y56);黑龙江八一农垦大学"三横三纵"平台支持计划项目(编号:PTJH201904)

作者简介:苗欣月,女,黑龙江八一农垦大学在读硕士研究生。

通信作者:牛广财(1971—),男,黑龙江八一农垦大学教授,博士。E-mail: gcniu@126.com

收稿日期:2020-03-15

理功能,能调节人体脂质代谢和交感神经、治疗和预防心血管疾病、抗癌、抗炎、营养脑细胞、降血脂等。

目前尚未见有关糜子壳中的油脂提取及其脂肪酸组成的研究报道。试验拟采用超声波辅助法提取糜子壳中的油脂,采用响应面法优化糜子壳中油脂的提取工艺,并通过气相色谱(GC)法分析糜子壳油的脂肪酸组成,以期为糜子壳油的开发利用提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

1.1.1　材料与试剂

糜子壳粉:黑龙江省肇源县产龙黍23品种,砻米后的副产物;

正己烷:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

37种脂肪酸甲酯混合标准品:美国Sigma Aldrich公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2　主要仪器设备

超声波清洗器:KH-500DE型,昆山禾创超声仪器有限公司;

真空泵:SHZ-DⅢ型,攻义市予华仪器有限责任公司;

旋转蒸发仪:RE-2000B型,上海亚荣生化仪器厂;

电热鼓风干燥箱:101-2AB型,天津市泰斯特仪器有限公司;

电子天平:EX324型,奥豪斯仪器(上海)有限公司;

多功能粉碎机:GY-FS-02型,江西赣云食品机械有限公司;

气相色谱仪:7890A型,美国Agilent公司。

1.2　方法

1.2.1　原料预处理　将糜子壳粉经高速粉碎机粉碎成60目粉末,密封罐保存,备用。

1.2.2　糜子壳油超声波辅助提取的操作要点　准确称取一定量糜子壳粉末于锥形瓶中,按一定比例加入正己烷溶剂,置于超声波清洗器中,在设定的料液比、超声波功率、提取时间、提取温度下进行糜子壳中油的提取。超声波萃取结束后,将所得提取液用布氏漏斗进行超滤,收取滤液,然后利用旋转蒸发仪浓缩并回收溶剂。将浓缩后的油样置于干燥箱中,60 ℃下干燥挥干残留溶剂,得到糜子壳油,称量并计算糜子壳油的得率。其得率按式(1)计算:

$$Y=\frac{m_1-m_0}{m}\times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y——得率,%;

m_1——恒重后旋蒸瓶和糜子壳油的质量,g;

m_0——旋蒸瓶的质量,g;

m——糜子壳粉末的质量,g。

1.2.3　单因素试验设计

(1) 超声波功率对糜子壳油得率的影响:固定液料比8∶1(mL/g),提取温度50 ℃,提取时间20 min,考察超声波功率(200,250,300,350,400,450 W)对糜子壳油得率的影响。

(2) 液料比对糜子壳油得率的影响:固定超声波功率200 W,提取温度50 ℃,提取时间20 min,考察液料比[8∶1,10∶1,12∶1,14∶1,16∶1 (mL/g)]对糜子壳油得率的影响。

(3) 提取温度对糜子壳油得率的影响:固定超声波功率200 W,液料比8∶1(mL/g),提取时间20 min,考察提取温度(40,50,60,70,80 ℃)对糜子壳油得率的影响。

(4) 提取时间对糜子壳油得率的影响:固定超声波功率200 W,液料比8∶1(mL/g),提取温度50 ℃,考察提取时间(20,30,40,50,60 min)对糜子壳油得率的影响。

1.2.4　响应面优化试验　在单因素试验的基础上,选取超声波功率、液料比、提取温度、提取时间4个因素为考察对象,以糜子壳油得率为响应值,采用Box-Behnken设计,对糜子壳油的提取工艺进行优化试验。

1.2.5　糜子壳油的脂肪酸组成分析

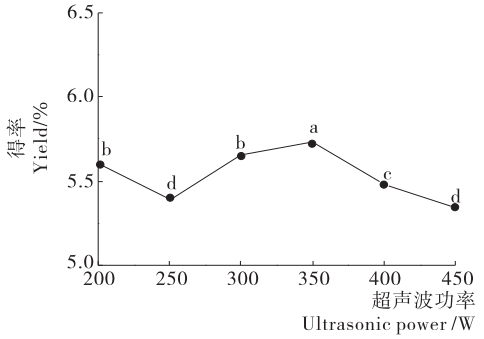
(1) 甲酯化:参照GB 5009.168—2016方法,称取0.1 g糜子壳油置于100 mL平底烧瓶中,加入2%氢氧化钠甲醇溶液8 mL,80 ℃水浴回流至油滴消失。从回流冷凝器上端加入7 mL 15%三氟化硼甲醇溶液,并继续回流2 min,迅速冷却至室温。然后准确加入10 mL正庚烷,振摇2 min。加入饱和氯化钠水溶液后静置分层。吸取上层正庚烷提取溶液约5 mL于试管中,加入4 g左右无水硫酸钠,振摇1 min,静置5 min,取上层溶液到进样瓶中待测定。

(2) GC分析条件:色谱柱为CNW CD-2560(100 m×0.25 mm,0.20 μm);FID检测器;检测器温度260 ℃;进样口温度250 ℃;进样量1 μL;载气流速0.5 mL/min;分流比10∶1;升温程序为130 ℃保持5 min,再以4 ℃/min的速率升温至240 ℃并保持30 min[7]。

2　结果与分析

2.1　单因素试验

2.1.1　超声波功率对糜子壳油得率的影响　由图1可知,当超声波功率>250 W时,糜子壳油的得率随超声波功率的增大呈先上升后下降的趋势,当超声波功率为350 W时糜子壳油的得率较高,为5.68%。当超声波功率继续增大到一定值时,会产生大量无用气泡,不利于超声波在液体内的传播,导致糜子壳油的得率下降[8]。同时,



字母不同表示差异显著(P<0.05)

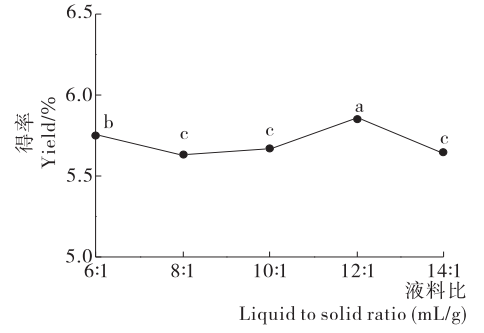
图 1　超声波功率对糜子壳油得率的影响

Figure 1　Effect of ultrasonic power on the yield of *Panicum miliaceum* L. shell oil

超声波功率增大,会导致局部温度过高,使油脂挥发。因此,超声波提取糜子壳油的最适超声波功率为 350 W。

2.1.2　液料比对糜子壳油得率的影响　由图 2 可知,当液料比为 8∶1～12∶1 (mL/g)时,糜子壳油的得率逐渐上升并达到 5.82%,可能是因为随着提取溶剂的增加,糜子壳与正己烷溶剂的接触面积增大,扩散速度提高,从而使糜子壳油得率增加[9];但溶剂量继续增大时,糜子壳油得率逐渐减小,说明继续增大液料比已不能提高糜子壳油的得率。因此,超声波提取糜子壳油的最适液料比为 12∶1 (mL/g)。

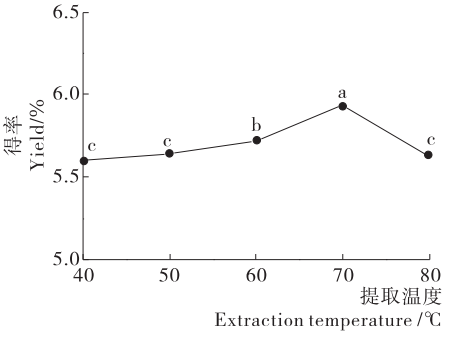
2.1.3　提取温度对糜子壳油得率的影响　由图 3 可知,当温度由 40 ℃上升到 70 ℃时,得率呈上升趋势,最高点的提取率为 5.94%。这可能是因为随着温度的升高,分子的热运动加快,使油脂的扩散作用增强,提高了糜子壳油的得率[10]。随着提取温度的继续上升,得率反而下降,可能是由于提取温度逐渐接近于萃取溶剂正己烷的沸点,使部分正己烷挥发,减少了与样品的接触,不利于糜子壳油的提取[11]。因此,超声波提取糜子壳油的最适温度为 70 ℃。



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 2　液料比对糜子壳油得率的影响

Figure 2　Effect of Liquid to solid ratio on the yield of *Panicum miliaceum* L. shell oil

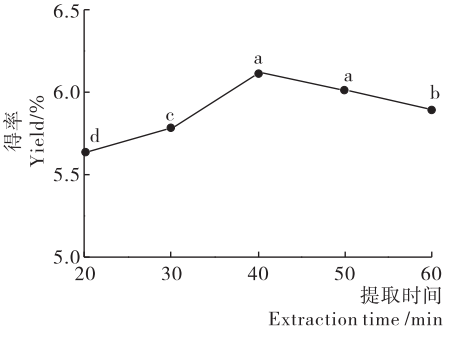


字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 3　提取温度对糜子壳油得率的影响

Figure 3　Effect of extraction temperature on the yield of *Panicum miliaceum* L. shell oil

2.1.4　提取时间对糜子壳油得率的影响　由图 4 可知,糜子壳油的得率随提取时间的延长呈先上升后下降的趋势。当提取时间为 40 min 时得率最大,达 6.10%,然后又缓慢下降。这可能是由于超声波处理时间越长,糜子壳粉末中油脂溶入溶剂中的量越多,从而增加了油脂得率。随着超声波提取时间的继续延长,可能使提取溶剂挥发,导致糜子壳油的得率减小[12]。因此,超声波提取糜子壳油的最适提取时间为 40 min。



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 4　提取时间对糜子壳油得率的影响

Figure 4　Effect of extraction time on the yield of *Panicum miliaceum* L. shell oil

2.2　响应面优化试验

根据单因素试验结果,确定超声波功率、液料比、提取温度和提取时间的取值水平见表1。对糜子壳油的提

表 1　响应面试验因素水平表

Table 1　Factors and levels of response surface experiment

水平	A 超声波功率/W	B 液料比 (mL/g)	C 提取温度/℃	D 提取时间/min
−1	300	10∶1	50	40
0	350	12∶1	60	50
1	400	14∶1	70	60

取工艺进行 Box-Behnken 试验,试验设计及结果见表 2,回归模型方差分析见表 3。

根据 Design-Expert 8.0.6 数据分析软件,对响应面试验结果进行回归拟合,得到回归拟合方程为:

$$Y=6.82-0.023A-4.167E-003B+0.086C+0.027D+0.022AB+0.11AC+0.035AD+0.020BC+0.01BD+0.12CD-0.26A^2-0.28B^2+0.092C^2-0.31D^2。\quad(2)$$

由表 3 可知,该回归模型影响极显著(P<0.000 1),失拟项 P=0.822 5>0.05 不显著。回归系数 R^2 为 0.992 9,表明模型相关度好;其校正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.985 8,说明该模型能解释 98.58%效应值的变化。因此,该模型能用于糜子壳油的超声波提取工艺优化。模型中一次项 A、C、D 影响显著,并且对糜子壳油得率的影响次序为 C>D>A;二次项中 A^2、B^2、C^2、D^2 影响极显著;交互项中 AD 影响显著(P<0.05);AC、CD 影响极显著(P<0.000 1)。

表 2　Box-Behnken 试验设计及结果

Table 2　Design and results of Box-Behnken experiment

试验号	A	B	C	D	得率/%	试验号	A	B	C	D	得率/%
1	0	−1	1	0	6.74	16	−1	1	0	0	6.30
2	0	1	0	1	6.27	17	0	0	0	0	6.83
3	0	0	0	0	6.77	18	0	0	1	1	6.84
4	0	0	−1	1	6.43	19	0	1	0	0	6.29
5	1	0	0	−1	6.20	20	0	−1	−1	0	6.58
6	−1	0	0	−1	6.27	21	0	1	1	0	6.75
7	0	0	0	0	6.85	22	1	0	1	0	6.79
8	0	1	−1	0	6.51	23	0	1	0	−1	6.20
9	−1	0	0	1	6.26	24	0	0	−1	−1	6.62
10	1	0	−1	0	6.43	25	−1	−1	0	0	6.34
11	0	−1	0	1	6.25	26	1	0	0	1	6.33
12	0	−1	0	−1	6.22	27	0	−1	0	0	6.24
13	0	0	0	0	6.86	28	−1	0	1	0	6.66
14	0	0	1	−1	6.55	29	−1	0	−1	0	6.73
15	0	0	0	0	6.81						

经 Design-Expert 8.0.6 软件分析后,得到超声波提取糜子壳油的最佳工艺条件为超声波 395.01 W,液料比为 12.14∶1 (mL/g),提取温度 70.00 ℃,提取时间为 52.93 min,经软件分析,此条件下糜子壳油得率的理论值为 6.90%。考虑到实际操作的便利性,将结果调整为:超声波功率 400 W,液料比 12∶1 (mL/g),提取温度 70 ℃,提取时间 50 min,在此条件下进行 3 次重复实验得到糜子壳油的平均得率为 6.95%。

2.3　糜子壳油脂肪酸组成分析

由表 4 可知,超声波辅助提取的糜子壳油中检测出 5 种脂肪酸,为亚油酸、油酸、棕榈酸、亚麻酸和花生一烯酸,其含量分别为 70.10%,20.00%,8.79%,0.89%,0.21%。该方法制得的糜子壳油脂中的脂肪酸组成以不饱和脂肪酸为主,其含量占总脂肪酸的 91.21%,其中油酸和亚油酸最多,二者占该油脂中不饱和脂肪酸含量的 98.78%。因此,糜子壳油是一种富含不饱和脂肪酸的优质食用油。不饱和脂肪酸具有调节血脂、治疗干眼症、改善老年痴呆、降血压等作用[13−15]。田翔等[4]利用索氏提取法得到的脱去糜子外壳的黄米中油的脂肪酸组成为亚油酸(12.371%)、油酸(44.157%)、亚麻酸(1.173%)、棕榈酸(23.948%)和硬脂酸(5.676%)。试验中未检测到硬脂酸,但检出了花生一烯酸,可能与原料部位、品种或者产地等因素有关。试验结果表明,糜子壳油具有较高的营养价值和保健功效,具有良好的应用前景,可以进一步开发利用。

表 4　糜子壳油脂肪酸组成及相对含量

Table 4　Fatty acid composition and relative content of *Panicum miliaceum* L. shell oil

脂肪酸种类	含量/%
亚油酸	70.10
油酸	20.00
棕榈酸	8.79
亚麻酸	0.89
花生一烯酸	0.21

表 3　回归模型方差分析†

Table 3　Analysis of variance for regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	P 值	显著性
模型	1.630	14	0.120	140.14	＜0.000 1	＊＊
A	6.533E－003	1	6.533E－003	7.84	0.014 2	＊
B	2.083E－004	1	2.083E－004	0.25	0.624 8	
C	0.088	1	0.088	106.14	＜0.000 1	＊＊
D	8.533E－003	1	8.533E－003	10.24	0.006 4	＊＊
AB	2.025E－003	1	2.025E－003	2.43	0.141 3	
AC	0.046	1	0.046	55.49	＜0.000 1	＊＊
AD	4.900E－003	1	4.900E－003	5.88	0.029 4	＊
BC	1.600E－003	1	1.600E－003	1.92	0.187 4	
BD	4.000E－004	1	4.000E－004	0.48	0.499 7	
CD	0.058	1	0.058	69.15	＜0.000 1	＊＊
A^2	0.430	1	0.430	514.33	＜0.000 1	＊＊
B^2	0.490	1	0.490	592.12	＜0.000 1	＊＊
C^2	0.055	1	0.055	65.55	＜0.000 1	＊＊
D^2	0.610	1	0.610	733.93	＜0.000 1	＊＊
残差	0.012	14	8.330E－004			
失拟项	6.542E－003	10	6.542E－004	0.51	0.822 5	
纯误差	5.120E－003	4	1.280E－003			
总和	1.650	28				

†　＊P＜0.05，差异显著；＊＊P＜0.01，差异极显著。

3　结论

采用超声波辅助提取糜子壳中的油脂，通过单因素试验和响应面优化试验，得出糜子壳油的最佳提取工艺条件为超声波功率 400 W，液料比 12∶1（mL/g），提取温度 70 ℃，提取时间 50 min，此条件下的糜子壳油得率为 6.95%。糜子壳油脂肪酸组成分析表明：糜子壳油中的脂肪酸以不饱和脂肪酸为主，其中，亚油酸、油酸、亚麻酸和花生一烯酸的含量分别为 70.10%，20.00%，0.89%，0.21%，说明糜子壳油有望成为一种新型的营养健康食用油。后续将进一步研究该油脂的品质及其稳定性。

参考文献

[1] 程炳文，孙玉琴，杨军学，等. 糜子产业发展现状调研报告[J]. 宁夏农林科技，2019，60(9)：13-15，48.

[2] 王振，褚敏哲，薛雅荣，等. 糜子皮中多酚抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发，2016，37(19)：5-8.

[3] 关正萍，王倩，关正. 糜子中 β-胡萝卜素提取工艺及稳定性研究[J]. 现代食品，2018，4(4)：124-130.

[4] 田翔，乔治军. 响应面法优化提取糜子油[J]. 中国农学通报，2016，32(28)：183-188.

[5] 周晶晶，李家速，王奇金. Omega-3 多不饱和脂肪酸对脂肪代谢调节作用研究进展[J]. 第二军医大学学报，2019，40(1)：76-81.

[6] YANG Zhi-hong，AMAR M，SOROKIN A V，et al. Supplementation with saury oil，a fish oil high in omega-11 monounsaturated fatty acids，improves plasma lipids in healthy subjects[J]. Journal of Clinical Lipidology，2020，14(1)：53-65.

[7] 蒋新龙，蒋益花. 黄芪籽油超声波辅助提取及脂肪酸组成分析[J]. 中国粮油学报，2019，34(11)：51-56.

[8] 常陆林，豆康宁. 响应面优化超声波辅助提取葫芦巴籽油脂工艺研究[J]. 粮食与油脂，2016，29(5)：54-57.

[9] 孙明哲. 牡丹籽油超声波辅助浸提工艺优化及其脂肪酸组成[J]. 食品与机械，2014，30(4)：182-185.

[10] 周俊梅，张海龙，雷水娟，等. 超声波辅助提取冬瓜籽油工艺及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂，2017，42(9)：20-23.

[11] 李美萍，李彩林，张生万，等. 响应面法优化辣木籽油超声辅助提取工艺及其脂肪酸组成[J]. 中国油脂，2019，44(6)：14-18.

[12] 王芳梅，谷盼盼，张鑫，等. 超声波辅助提取新疆打瓜籽油脂的工艺研究[J]. 中国粮油学报，2018，33(8)：52-56，63.

[13] GROUP A M S. *n*-3 Fatty acid supplementation for the treatment of dry eye disease[J]. The New England Journal of Medicine，2018，378(18)：1 681-1 690.

[14] YANAI H. Effects of *n*-3 polyunsaturated fatty acids on dementia[J]. Journal of Clinical Medicine Research，2017，9(1)：1-9.

[15] LI Duo，WAHLQVIST M L，SINCLAIR A J. Advances in *n*-3 polyunsaturated fatty acid nutrition[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition，2019，28(1)：1-5.