

文章编号:1673-1689(2008)02-0061-03

野香苏籽油中多价不饱和脂肪酸的提取及纯化工艺

毛绍春¹, 李竹英¹, 李聪²

(1. 玉溪农业职业技术学院 农林系, 云南 玉溪 653100; 2. 云南大学 化学与材料工程学院, 云南 昆明 650091)

摘要: 采用压榨法、溶剂浸提法、分子蒸馏法、超临界法提取了野香苏籽油。应用尿素包合技术对野香籽油中不饱和脂肪酸进行了富集, 通过正交实验($L_9 3^4$)考察了尿素在乙醇中质量浓度、脂肪酸与(尿素+乙醇)的质量比、时间及温度等因素对不饱和脂肪酸提取率的影响。4种提取方法的出油率分别为36.6%, 36.5%, 26.7%, 37.0%, 其主要成分是 α -亚麻酸。实验确定的最佳提取工艺条件为: 尿素质量浓度为1.00 g/mL, 脂肪酸与(尿素+乙醇)的质量比为1:1.8, 回流温度为73~78℃, 时间为40 min。

关键词: 野香苏; 脂肪酸; 提取; 纯化

中图分类号: TS 235.2

文献标识码: A

Study on Extraction and Purification of PUFA from *Elsholtzia rugulosa* Seed Oil

MAO Shao-chun¹, LI Zhu-ying¹, LI Cong²

(1. Department of Agricultural and Forestry, Yuxi Agricultural Vocational Institute, Yuxi 653100, China; 2. College of Chemistry and Material Engineering, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: *Elsholtzia rugulosa* seed oil were extracted by squeezing method, solvent extraction method, molecular distillation method and supercritical extraction. Polyunsaturated fatty acid (PUFA) of *Elsholtzia rugulosa* seed oil were enriched by urea inclusion method. Urea inclusion reaction parameters, such as concentration of urea in ethanol(g/mL), the weight ratio of fatty acids with urea and ethanol, time and temperature, were investigated by orthogonal design test ($L_9 3^4$). The result showed that four kind of extraction method oil extraction ratio respectively was 36.6%, 36.5%, 26.7% and 37.0%. Its principal compositions was α -the linolenic acid. The best extraction technological conditions: concentration of urea in ethanol, fatty acid/(urea + ethanol), temperature and time respectively was 1.00 g/mL, 1:1.8, 73~78℃ and 40 min.

Key words: *Elsholtzia rugulosa*; fatty acid; extraction; purification

野香苏(*Elsholtzia rugulosa* Hemsl), 俗称野拔子, 属唇形科一年生芳香草本植物。常生于海拔1 200~3 500 m的田边、路旁、河岸、山坡、荒地、高

山草甸、林下等地^[1]。云南省许多地区均有分布。滇中、滇北部地区尤为丰富。野香苏枝叶可入药, 治疗伤风感冒、胃炎、痢疾等^[2]。果实中含有大量

收稿日期: 2007-01-10.

基金项目: 云南省省院省校科技合作项目(2001ABAMA02A005).

作者简介: 毛绍春(1963-), 男, 云南玉溪人, 副教授, 主要从事天然产物的开发研究. Email: yxnzymzc@yahoo.com

的不饱和脂肪酸,尤其含有较多的 α -亚麻酸。 α -亚麻酸是人体必需的脂肪酸,可与胆固醇结合,对防治心血管疾病有良好效果。它们也是合成激素物质的前体物,具有重要的生理功能^[3-4]。因此野香苏籽油具有较高的营养价值和药用功效。作者对野香苏籽油的提取进行了比较研究,并首次用尿素包合法对云南野香苏籽油中不饱和脂肪酸的纯化工艺进行研究,以便为野香苏籽油的深加工及规模化生产提供重要的实验依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

6YL-95 型榨油机,河南新象机械有限公司产品;KDL5 型分子蒸馏仪,德国 UIC 公司产品;HA221-50-06 超临界萃取装置,江苏南通华安超临界萃取有限公司产品;石油醚、氢氧化钠、硫酸钠、乙醇、尿素、正己烷等:均为国产分析纯试剂;野香苏籽,采自云南丽江,于 30℃ 烘干保存。

1.2 野香苏籽油的提取

1.2.1 压榨法 称取 10 kg 野香苏籽,用 95 型螺旋榨油机压榨,所得籽油称重。

1.2.2 溶剂萃取法 称取 2 kg 野香苏籽,粉碎,石油醚作浸提剂,用索氏提取器回流提取 2 h,回收溶剂,产品称重。

1.2.3 分子蒸馏法 在蒸馏温度为 65℃、蒸馏压力 0.2 kPa、物料流量 1 D/s、刮膜蒸馏转速 370~390 r/min、冷却水温度 4~5℃ 条件下,蒸馏 2 h,所得产品称重。

1.2.4 超临界流体萃取工艺 设定分离 I 的压力 10~15 MPa,温度 75℃。分离 II 的压力 6~8 MPa,温度 45℃,流量 5 kg/h。称 2 kg 粉碎的野香苏籽,装入萃取罐内,超临界 CO₂ 萃取。在 1 h 内,每 20 min 收集提取物,所得产品称重。

1.3 野香苏籽油的脂肪酸成分分析

所得籽油经皂化、甲酯化后采用 HP6890AGC/HP5988MS 仪进行脂肪酸组成测定。GC 操作条件:色谱柱 SE-54;长度 59 m,内径:0.32 mm,分流比 20:1,进样口温度:230℃,温度程序 100 到 250℃,升温速率:4℃/min。MS 操作条件:接口温度 250℃,离子源温度:250℃,进样方式:GC,电子能量 70 eV,倍增电压 1 800 V,扫描质量范围 30~1 000,扫描方式 SCAN。

1.4 混合脂肪酸的制备

称取 100 g 野香苏籽油加入到 400 mL 质量分数 40% 的氢氧化钠-乙醇溶液中,在 80℃ 下皂化回

流 2 h。冷却到室温,加入适量水溶解皂化物,用质量分数 10% HCl 酸化至 pH 2~3,加正己烷萃取,所得正己烷萃取液用水洗至中性,并用无水硫酸钠脱水,抽滤,滤液减压蒸出溶剂,得混合脂肪酸。^[5]

1.5 尿素包含富集多不饱和脂肪酸

尿素中加入无水乙醇,加热回流,待尿素完全溶解后加入上述混合脂肪酸,混匀,水浴回流,室温冷却,于 -10℃ 下放置 24 h,取出后迅速减压抽滤,滤液加入适量正己烷,用质量分数 10% HCl 酸化至 pH 2~3,加入适量水,充分萃取,分离有机相,用正己烷多次萃取水相,合并有机相,水洗至中性,用无水硫酸钠脱水,旋转蒸发,得尿素包合法分离的多不饱和脂肪酸。

尿素包合法主要考虑尿素质量浓度、脂肪酸与(尿素+乙醇)的质量比、水浴回流温度及回流时间等 4 个因子,分别用 A、B、C、D 表示。正交实验因素与水平(L₉3⁴)见表 1。

表 1 正交实验因素与水平表

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal design test

水平	因素			
	尿素质量 浓度 A/(g/mL)	m(脂肪酸): m(尿素+乙醇) B	时间 C/ min	温度 D/ ℃
1	0.50	1:1.5	40	60~65
2	0.75	1:1.8	60	66~72
3	1.00	1:2.0	80	73~78

对经过尿素包含富集后得到的不饱和脂肪酸进行气相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 4 种加工方法出油率比较

4 种加工方法出油率及 α -亚麻酸质量分数测定结果见表 2。

结果可以看出,4 种加工方法的出油率及 α -亚麻酸含量最高的是超临界流体萃取法,分别为 37.0% 和 61.0%,最低的是分子蒸馏法,分别为 26.7% 和 56.5%,其高低的顺序是超临界流体萃取法>压榨法>溶剂萃取法>分子蒸馏法。野香苏籽中含有丰富的 α -亚麻酸。4 种方法中超临界流体萃取法和分子蒸馏法工艺设备投资较大,溶剂萃取法分离溶剂较为困难。综合考虑,压榨法具有工艺简单、出油率高、且能够保持野香苏籽油的原始风味等特点,更重要的是在进行抗氧化实验时发现,通过压榨法生产的野香苏籽油具有一定的抗氧化活性。因此,压榨法是生产野香苏籽油的首选方法。

表 2 4 种加工方法的出油率

Tab. 2 Oil extraction rate of four kinds of processing method

加工方法	出油率/%	α -亚麻酸质量分数/%
压榨法	36.6	60.3
溶剂萃取法	36.5	57.6
分子蒸馏法	26.7	56.5
超临界流体萃取法	37.0	61.0

2.2 野香苏籽油中脂肪酸成分分析

经气相色谱分析,野香苏籽油中不饱和脂肪酸成分及质量分数分析结果见表 3。

表 3 野香苏籽油中脂肪酸的组成及质量分数

Tab. 3 Components and relative contents of fatty acid of *Elsholtzia rugulosa* oil

组成	质量 分数/%	组成	质量 分数/%
棕榈酸 C16:0	6.11	硬脂酸 C18:0	2.54
油酸 C18:1	11.09	亚油酸 C18:2	19.20
亚麻酸 C18:3	60.29	二十碳酸 C20:1	0.33

野香苏籽油中主要含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸等脂肪酸,其中不饱和脂肪酸质量分数高达 90.58%,在不饱和脂肪酸中,尤以 α -亚麻酸质量分数最高,达 60.29%。

2.3 不饱和脂肪酸的纯化的正交试验统计

从表 4 和表 5 可以看出,尿素质量浓度、脂肪酸与尿素+乙醇的质量比对不饱和脂肪酸的纯化有显著影响,而时间和温度的影响则不显著。尿素质量浓度、脂肪酸与尿素+乙醇的质量比、温度及时间对不饱和脂肪酸纯化的影响程度为:脂肪酸与尿素+乙醇的质量比>尿素/乙醇质量浓度>温度>时间,即 $B>A>C>D$ 。最佳纯化条件为: $A_3B_2C_1D_3$,即当尿素质量浓度为 1.00 g/mL、脂肪酸与(尿素+乙醇)的质量比为 1:1.8、时间为 40 min、回流温度为 73~78℃时,不饱和脂肪酸质量最高达 96.50%,其中 α -亚麻酸质量达 68.84%,显然通过尿素包含富集多不饱和脂肪酸后,可以得到高质量

参考文献(References):

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物地图[M]. 北京:科学出版社,1974.

[2] 云南植物研究所. 云南植物志[M]. 北京:科学出版社,1977.

[3] Erik B S. The detection of n-3 fatty acids on plasma lipids and lipoproteins and other cardiovascular risk factors in patients with hyperlipidemia[J]. *Atherosclerosis*,1993,103:107.

[4] 邱磊,姜远英. 多不饱和脂肪酸和药理研究进展[J]. *药学实践杂志*,1996,14(2):77.

QIU Lei, JIANG Yuan-ying. Study progress on pharmacologic action of polyunsaturated fatty acids[J]. *Journal of Pharmaceutical Practice*,1996,14(2):77-80. (in Chinese)

[5] 李明,张连富,李冀新,等. 尿素包含法纯化红花籽油工艺研究[J]. *粮油食品科技*,2005,(5):33-34.

LI Ming, ZHANG Lian-fu, LI Ji-xin. Purification of linoleic acid from safflower oil with urea adduction fractionation[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*,2005,(5):33-34. (in Chinese)

分数的 α -亚麻酸。

表 4 正交实验结果

Tab. 4 Result of orthogonal test

试验号	因素				提取 率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	18.35
2	1	2	2	2	61.93
3	1	3	3	3	75.52
4	2	1	2	3	51.79
5	2	2	3	1	95.82
6	2	3	1	2	89.16
7	3	1	3	2	65.97
8	3	2	1	3	96.50
9	3	3	2	1	88.77
K_1	51.93	45.37	68.00	67.64	—
K_2	78.92	84.75	67.50	72.35	—
K_3	83.75	84.48	79.10	74.60	—
R_3	31.81	39.38	11.60	6.96	—

表 5 方差分析

Tab. 5 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
A	1 763.78	2.00	881.89	23.31*	$F_{0.05}(2,2)=19$
B	3 080.87	2.00	1 540.43	40.71*	$F_{0.01}(2,2)=99$
C	258.04	2.00	129.02	3.41	
D	75.68	2.00	37.84		

3 结 语

从上述实验结果看出,4 种工艺技术中,压榨法虽然出油率不是最高,但与超临界提取法极为接近,压榨法最大的优势是成本低,工艺简单,最大限度的保留了野香苏籽油的化学成分,粗油中的有效成分从实验中可以看出,抗氧化能力比精炼油要高得多,故压榨法是加工野香苏籽油的最优方法。

野香苏籽油含较多的不饱和脂肪酸,其中 α -亚麻酸含量最高。通过尿素包含富集多不饱和脂肪酸后,可以得到更高纯度的不饱和脂肪酸和 α -亚麻酸。