

油菜蜂花粉油亚临界萃取 及其HPLC分析

江贇博¹ 张高扬² 韩玲^{1,*}

(1.甘肃农业大学食品科学与工程学院,甘肃兰州 730070;
2.天水西联蜂业有限责任公司,甘肃天水 741000)

摘要:采用亚临界萃取油菜蜂花粉油,探讨了萃取温度、萃取压力和萃取时间对提取率的影响,并通过正交实验确定了最佳工艺条件。结果表明:在萃取压力 0.9MPa,萃取温度 30℃,萃取时间 3h 下,效果最佳,测得提取率为 73.667%。经 HPLC 分析,共鉴定出 16 种脂肪酸和 2 种维生素,测定其相对含量:不饱和脂肪酸占 63.83%,亚麻酸等 n-3 系列不饱和脂肪酸为 24%,亚油酸、花生四烯酸等 n-6 系列不饱和脂肪酸的含量为 20.87%,维生素 A 53mg/100g,维生素 E 780mg/100g。

关键词:亚临界萃取,油菜蜂花粉,高效液相色谱

Study on the sub-critical fluid extraction of rape bee pollen oil and its HPLC analysis

JIANG Yun-bo¹, ZHANG Gao-yang², HAN Ling^{1,*}

(1.College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2.Tianshui Western Union Bee Co., Ltd., Tianshui 741000, China)

Abstract: The extraction of fatty oils from rape bee pollen with sub-critical fluid extraction technology was studied. The effects of extraction pressure, extraction temperature and extraction time were discussed. The optimal condition of this method was extraction pressure 0.9MPa, extraction temperature 30℃ and extraction time 3h, the highest extraction rate reached 73.667%. With a HPLC analysis, 16 fatty acids and 2 vitamins were identified and their relative contents were determined by normalization method of area. The analyzed results exhibited that polyunsaturated acids accounted for 63.83%, n-3 polyunsaturated fatty acids for 24%, n-6 polyunsaturated fatty acids for 20.87%, Vitamin A for 53mg/100g and Vitamin E for 780mg/100g.

Key words: sub-critical fluid extraction; rape bee pollen; HPLC

中图分类号:TS225.1⁺9

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2011)11-0328-04

亚临界流体萃取(SFE, sub-critical fluid extraction),利用亚临界流体(在温度高于其沸点但低于临界温度,且压力低于其临界压力的条件下,以流体形式存在的物质)作为萃取剂,在密闭、无氧、低压的压力容器内,通过萃取物料与萃取剂在浸泡过程中的分子扩散过程,使固体物料中的脂溶性成分转移到液态的萃取剂中,再通过减压蒸发过程将萃取剂与目的产物分离,最终得到目的产物的一种新型萃取与分离技术^[1];相对于超临界而言,其具有提取压力低、生产能力高及成本低的特点;而相对于传统溶剂提取而言,具有提取时间短,提取温度低,

萃取物清洁、不变性,生产过程绿色环保的特点。油菜蜂花粉(Rape Bee Pollen)是工蜂利用自身的特殊构造从油菜花的花药内采集的花粉粒,经过蜜蜂向其混入花蜜和唾液,加工成不规则的椭球形,由蜜蜂后肢上的花粉筐携带回蜂巢的团状物^[2]。由于其营养丰富全面,而且配比平衡,被誉为“微型营养库”^[3]。油菜蜂花粉中脂肪类化合物丰富,约占 8.34%^[4],而且饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸比例合理,具有很高的开发利用价值和可观的经济前景。油菜蜂花粉的研究主要集中于营养成分的分析,而对油菜蜂花粉油的研究不多,且主要集中在石油醚萃取和超临界 CO₂ 萃取。本实验利用亚临界萃取技术萃取油菜蜂花粉油,并对其进行 HPLC 分析。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

油菜蜂花粉 由天水西联蜂业有限责任公司提

收稿日期:2011-01-04 * 通讯联系人

作者简介:江贇博(1985-)男,硕士研究生,研究方向:动物性食品加工及贮藏保鲜。

基金项目:乡镇企业技术创新专项(1006NCXE017);甘肃省科技厅甘肃省星火计划项目。

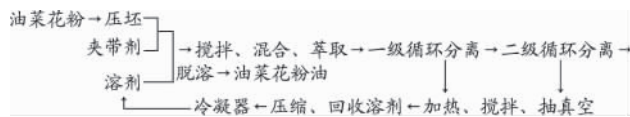
供 经高压气流破壁处理后备用; 亚临界流体萃取剂 HFC-134A(1,1,1,2-四氟乙烷) 甘肃天工生物科技有限公司; 石油醚 天津化学试剂有限公司。

亚临界萃取装置 甘肃天工生物科技有限公司; 5056 型高效液相色谱仪 美国 Varian 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 亚临界萃取技术萃取油菜蜂花粉油

1.2.1.1 工艺流程



1.2.1.2 工艺过程 原料处理: 油菜破壁花粉经压坯压机压坯, 称量后放入萃取釜。

萃取: 将亚临界流体萃取剂在温度 $< 35^{\circ}\text{C}$, 压力 $< 0.8\text{MPa}$ 的状态下压缩为液态, 注入萃取釜中与花粉坯搅拌混合; 保持萃取溶剂与花粉坯的体积比大于 2:1, 控制溶剂温度低于 35°C 、系统压力 0.6 ~ 1.1MPa、萃取时间为 30min, 过滤分离固液相, 将液相混合溶液输送进入暂存釜罐, 完成一次浸泡提取。

解析: 待多次浸泡提取后, 暂存釜的混合溶液经高压隔膜泵输送注入一级解析釜; 在 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5 \text{Pa}$ 的压力范围, 始终保持混合溶液温度高于其沸点, 经喷射器在解析釜喷射扩散后解析蒸发, 完成溶剂与溶质的初步分离。

真空脱溶: 一级解析并初步分离的混合溶液经隔膜泵输送注入二级解析釜, 在 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^{-2} \text{Pa}$ 真空度, 温度为 $10 \sim 50^{\circ}\text{C}$ 的状态下, 溶剂进一步解析蒸发, 完成溶剂与溶质的完全分离。平压至 0.1MPa, 关闭阀门, 放出油菜花粉油。

溶剂回收: 解析蒸发呈气态的溶剂, 经真空泵组抽提、压缩机组压缩后进入缓冲罐; 解析蒸发呈气态的溶剂蒸汽在高压区和低压区的压差作用下进入列管式主冷凝器进行热交换, 循环水带走压缩产生的热能, 气态溶剂转化为饱和液体后返回溶剂储罐。解析釜中的溶剂分阶段压缩、冷却、回收溶媒。

1.2.1.3 提取率的计算 油菜蜂花粉油的提取率与出油率的计算公式。如下所示:

$$\text{提取率}(\%) = \frac{\text{萃取出的花粉油的质量}}{\text{油菜蜂花粉总油脂含量}} \times 100\%$$

$$\text{出油率}(\%) = \frac{\text{萃取出的花粉油的质量}}{\text{油菜蜂花粉的质量}} \times 100\%$$

1.2.2 传统溶剂法 采用索氏抽提法回流 12h, 提取油菜蜂花粉油。与亚临界萃取相比较。

1.2.3 HPLC 分析 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil C_{18} ($5\mu\text{m} \ 4.6\text{mm} \times 250\text{mm}$) 柱温 30°C ; 二级管阵列检测器: 波长 215nm; 流动相: pH3.0, 0.3 甲醇 + 0.05mol/L 磷酸二氢钠缓冲溶液; 流速: 1mL/min; 进料量: 20 μL 。

分析方法: 精确移取各种脂肪酸的标准液配制不同浓度的混标液, 用混标液进行标准曲线、线性范围、相关系数和检出限的确定。根据保留时间和二级管阵列检测器所得紫外吸收谱图与标准谱图对比, 对各种脂肪酸极性定性分析, 用峰面积按外标法定量分析含量。

2 结果与讨论

2.1 亚临界萃取技术萃取油菜蜂花粉油

2.1.1 萃取压力对提取率的影响 在萃取温度 28°C 选择萃取压力为 0.6、0.7、0.8、0.9、1.0MPa 五个水平, 进行萃取 3h, 研究不同萃取压力对提取率的影响, 结果如图 1 所示。

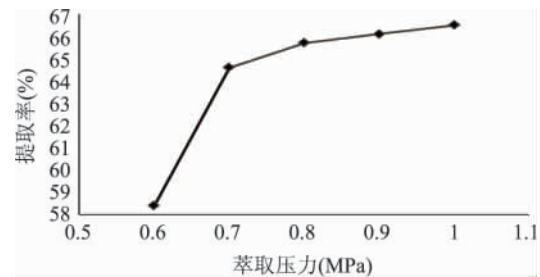


图 1 萃取压力对提取率的影响

结果表明, 在恒定的温度条件下, 随着压力的升高, 油菜蜂花粉油在亚临界溶剂中的溶解度不断提高, 提取率上升。这是由于压力的提高, 增大了亚临界溶剂的密度, 其溶解能力也随之增大^[5]。但随着压力的继续增大, 这种提高趋于平缓。如图 1 所示, 在萃取压力 0.6MPa 提高到 0.7MPa 时, 提取率显著增加, 但进一步提高压力, 提取率变化不大。可见 0.8MPa 是最佳的萃取压力, 仅仅是超临界压力的 1/35。

2.1.2 萃取温度对提取率的影响 分别设置 24、26、28、30、32、34 $^{\circ}\text{C}$ 六个萃取温度梯度, 在萃取压力 0.8MPa 进行萃取 3h, 研究不同萃取温度对提取率的影响, 结果如图 2 所示。

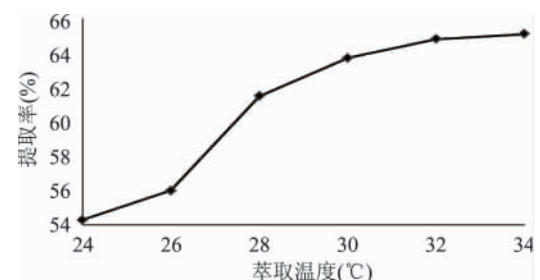


图 2 萃取温度对提取率的影响

由图 2 可知, 随着萃取温度的升高, 提取率逐渐提高。而当温度高于 30°C 时, 提取率增加的比较平缓。在亚临界萃取过程中, 随着温度升高, 萃取剂扩散系数和传质系数都会增大, 有利于透过物料表层进入深层, 加速待取成分的溶解, 有利于萃取^[6]。但是, 提高温度一方面会加快萃取剂的汽化, 增加体系的压力; 另一方面, 温度过高, 不利于油脂抗氧化。这样不仅提高了生产成本, 而且增大了体系的危险性。结合这两方面的考虑, 将油菜蜂花粉油的萃取温度定为 28°C 。

2.1.3 萃取时间与提取率的关系 在萃取温度 28°C , 萃取压力 0.8MPa 的条件下, 选择萃取时间为 1、2、3、4、5h 五个水平, 进行萃取, 研究不同萃取时间对提取率的影响, 结果如图 3 所示。

萃取时间是影响油菜蜂花粉油提取率的另一个重要因素。由图 3 可见, 花粉油的提取率随提取时

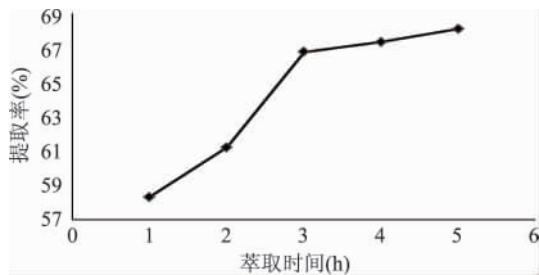


图3 萃取时间对提取率的影响

间的延长而提高,但是,3h后再延长时间,提取率进一步提高的程度比较小。这是由于提取时间的进一步延长,花粉油在萃取釜内溶解度趋于饱和,提取率变化平缓,这说明萃取时间并不是越长越好^[7]。出于能耗和生产成本的考虑,将3h确定为最佳萃取时间。

2.1.4 亚临界萃取工艺优化 根据以上单因素实验结果,结合设备条件和工业化可行性,进行工艺优化实验,采用 $L_9(3^3)$ 正交实验,研究萃取压力、萃取温度和萃取时间对花粉油提取率的影响。因素水平选取见表1,正交实验结果如表2以及方差分析表3所示。

表1 亚临界萃取正交实验设计表

水平	因素		
	A 萃取压力 (MPa)	B 萃取温度 (°C)	C 萃取时间 (h)
1	0.7	28	3
2	0.8	30	4
3	0.9	32	5

表2 亚临界萃取工艺条件正交实验结果

实验号	A	B	C	空列	提取率(%)
1	1	1	1	1	53.4
2	1	2	2	2	54.2
3	1	3	3	3	56.3
4	2	1	2	3	59.7
5	2	2	3	1	64.4
6	2	3	1	2	65.7
7	3	1	3	2	66.4
8	3	2	1	3	73.7
9	3	3	2	1	72.1
K_1	163.9	179.5	192.8	189.9	
K_2	189.8	192.5	186.0	186.3	
K_3	212.2	194.1	187.1	189.7	
k_1	54.6	59.8	64.3	63.3	
k_2	63.3	64.2	62.0	62.1	
k_3	70.7	64.7	62.4	63.2	
R	16.1	4.9	2.3	(Re) 1.2	

表3 方差分析表

因素	偏差平方	自由度	均方	F	Sig.
A	389.496	2	194.748	142.730	0.007
B	42.249	2	21.124	15.482	0.061
C	8.882	2	4.441	3.255	0.235
Corrected Total	443.356	8			

注: R Squared = 0.994(Adjusted R Squared = 0.975)。

正交实验结果显示, a, R_A, R_B, R_C 均 $> R_e$ 值,说明三种因素都不同程度影响着提取效果,结果是可

靠的。b.从 $R_A > R_B > R_C$ 可知,萃取压力是决定提取率的主要因素,其次是萃取温度,萃取时间影响较小。方差分析进一步表明,萃取压力对提取率影响极显著(Sig < 0.05)。c.从各因素水平对膨化度的影响看,在萃取压力中, $K_{A3} > K_{A2} > K_{A1}$,说明压力越大,提取率越高,但在单因素实验中,压力在1.0MPa时的提取率与0.9MPa时无明显差异,故本研究选用的萃取压力为0.9MPa;在萃取温度中, $K_{B3} > K_{B2} > K_{B1}$,表明提取率与温度成正比,但 K_{B3} 与 K_{B2} 基本相等,即30°C与32°C时的提取率基本相同。d.综合各因子的影响,本研究最终确定最佳提取参数组合为 $A_3B_2C_1$,即萃取压力0.9MPa,萃取温度30°C,萃取时间3h。

2.1.5 验证实验 按照上面所得出的油菜蜂花粉油提取的最佳工艺条件,分别进行3组验证实验,其提取率分别为73.5%、73.6%和73.9%,平均值为73.667%,符合正交实验的结果。

2.2 亚临界萃取油菜蜂花粉油与传统溶剂法萃取的比较

亚临界萃取油菜蜂花粉油与传统溶剂法萃取的比较,如表4所示。

表4 亚临界萃取油菜蜂花粉油与传统溶剂法萃取的比较

项目	亚临界萃取	传统溶剂法
萃取溶剂	HFC-134a	石油醚
萃取时间(h)	3	12
出油率(%)	4.77	6.47
萃取温度(°C)	≤ 30	70~75
萃取物色泽	橘红色	黄色

亚临界萃取类似于传统溶剂萃取,与传统溶剂萃取工艺相比,出油率低于传统溶剂法,但在同等提取率指标下,可缩短提取时间200%左右,溶媒存在于闭路系统而使其损耗和排放污染均显著低于溶剂萃取,由于萃取温度低,并避免了传统溶剂依靠较高温实现脱除和回收的高耗能工序,因而综合能耗可降低40%左右,而且保证了制品的生物活性。绝大多数有机溶剂易燃易爆,而“HFC-134a”却无此危险。此外,“HFC-134a”亚临界萃余物不受溶剂污染,原有的水溶性成分以及蛋白等物质不变性,仍可用做饲料或继续提取剩余的极性成分^[8]。

2.3 油菜蜂花粉脂肪油 HPLC 分析

由表5可见,花粉油中饱和脂肪酸为33.31%,单不饱和脂肪酸10.40%,多不饱和脂肪酸53.43%,不饱和脂肪酸占63.83%,几乎占总脂肪的2/3,亚麻酸等n-3系列不饱和脂肪酸为24%,亚油酸、花生四烯酸等n-6系列不饱和脂肪酸的含量为20.87%。还含有780mg/100g的维生素E和53mg/100g的维生素A。

我国DRIS推荐,膳食脂肪中SFA(饱和脂肪酸):MUFA(单不饱和脂肪酸):PUFA(多不饱和脂肪酸)之间比例宜为1:1:1,n-6:n-3宜为4:1^[9]。由于植物油工业和畜牧业发展,普通膳食中饱和脂肪酸占比过高(高于不饱和脂肪酸2~3倍),n-6占比过高(高于n-3系列10~20倍),人类膳食脂肪结构恶化,与心血管疾病、癌症、免疫应答下降、肥胖等慢性

表5 油菜蜂花粉脂肪酸与脂溶性维生素组成及含量

序号	名称	分子式	相对分子量	含量(%)
	饱和脂肪酸			33.31
1	月桂酸(C _{12:0})	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.30
2	肉豆蔻酸(C _{14:0})	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	2.58
3	棕榈酸(C _{16:0})	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	11.01
4	硬脂酸(C _{18:0})	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	1.83
5	花生酸(C _{20:0})	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	0.50
6	山萘酸(C _{22:0})	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	2.74
7	煤焦油酸(C _{24:0})	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	13.10
8	二十六碳烷酸(C _{26:0})	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396	1.25
	单不饱和脂肪酸			10.40
9	油酸(C _{18:1})	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	10.40
	多不饱和脂肪酸			53.43
10	棕榈二烯酸(C _{16:2})	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	252	1.13
11	棕榈四烯酸(C _{16:4})	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	248	1.93
12	亚油酸(C _{18:2})	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	282	20.17
13	亚麻酸(C _{18:3})	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	280	24.00
14	花生四烯酸(C _{20:4})	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304	0.70
15	煤焦油二烯酸(C _{24:2})	C ₂₄ H ₄₄ O ₂	364	2.70
16	煤焦油四烯酸(C _{24:4})	C ₂₄ H ₄₀ O ₂	360	2.80
	总计			97.14
	脂溶性维生素			
	维生素E			780mg/100g
	维生素A			53mg/100g
	总计			833mg/100g

病增加有密切关系。

花粉脂肪萃取物中PUFA、n-3系列和维生素A、维生素E较高,是人体自身不能合成的、不可缺少的营养成分。大量资料表明,花粉脂肪酸和维生素A、维生素E,对维持机体免疫平衡、清除自由基、延缓机体衰老、促进心血管健康、抑制癌症、保护大脑和视网膜有重要作用。并且亚临界-超临界萃取得到的花粉油没有有机溶剂残留,食用安全可靠。

3 结论

利用亚临界萃取法提取油菜蜂花粉油的最佳工艺为:萃取温度30℃,萃取压力0.8MPa,萃取时间3h。在此工艺下的提取率为73.667%。

亚临界萃取的花粉油为橘红色油状液,不饱和脂肪酸占63.83%,亚麻酸等n-3系列不饱和脂肪酸为24%,亚油酸、花生四烯酸等n-6系列不饱和脂肪酸的含量为20.87%。维生素A 53mg/100g,维生素E 780mg/100g。花粉油含丰富的多不饱和脂肪酸特别是n-3系列,脂肪酸营养结构优越,保健价值高。

亚临界萃取类似于传统溶剂萃取,与传统溶剂萃取工艺相比,具有提取时间短、提取温度低、萃余物清洁、不变性、生产过程绿色环保的特点;与超临界萃取工艺相比,具有提取压力低、系统安全性高、生产能力大、设备投资少的特点。作为一种高新分

离提取技术,在功能油脂提取中有着广泛的应用前景,值得进一步探讨。

参考文献

[1]韩延欣,柴守环,王智民.亚临界流体萃取溶剂及萃取方法[P].中国专利:CN200960414.2007-10-17.
 [2]闫继红.蜂产品深加工与配方技术[M].北京:中国农业科学技术出版社.2005:241.
 [3]叶振生.蜂产品深加工技术[M].北京:中国轻工业出版社.2003:164-165.
 [4]高艳华,耿越,李延娜,等.8种蜜源植物花粉中脂肪酸组成的分析[J].陕西科技大学学报.2003(3):40-42.
 [5]黄宝玺.玉米ω-6多不饱和脂肪酸提取及应用的研究[D].吉林农业大学.2007.
 [6]Sugano AM, Hirata F. Polyunsaturated fatty acids in food chain in Europe [J]. Am J Clin Nutr. 2000; 71:189.
 [7]朱刚,赵启政,赵煜,等.亚临界萃取技术在提取花椒籽油中的应用研究[J].粮油食品科技.2010,18(4):24-26.
 [8]L Phelps, N G Smart, C M Wai. Past present, and possible future applications of supercritical fluid extraction technology [J]. Chem Educ. 1996, 73:1163-1168.
 [9]余群力,孙远明.食品营养学[M].北京:中国农业大学出版社.2002.

全国中文核心期刊
轻工行业优秀期刊