

不同超声波处理方式辅助三相分配法 提取琉璃苣籽油的比较

张喜峰^{1,2}, 陆子茜¹, 王鑫鑫¹, 张青婷¹, 李雪峰¹, 马银山¹

(1. 河西学院 生命科学与工程学院, 甘肃 张掖 734000; 2. 甘肃省河西走廊特色资源利用
重点实验室, 甘肃 张掖 734000)

摘要:采用三相分配法(TPP)提取琉璃苣籽油,以琉璃苣籽油得率为指标,对提取时间、料液比、硫酸铵加量、水相与叔丁醇体积比进行了研究;同时比较了超声波预处理辅助三相分配法(UPTPP)和超声波辅助三相分配法(UTPP)对琉璃苣籽油提取效果的影响。结果表明:采用 TPP,在料液比 1:15、提取时间 20 min、硫酸铵加量 0.35 g/mL、水相与叔丁醇体积比 1:2 时,琉璃苣籽油得率最大,为 31.26%;采用超声波作为过程强化方法,可缩短 TPP 的提取时间,且 UPTPP 优于 UTPP,在超声波预处理时间 160 s、超声功率 100 W、占空比 50% 时,琉璃苣籽油得率为 33.57%,比 TPP 提高了 2.31 个百分点。因此,超声波预处理后采用三相分配法是一种有效的油脂提取方法。

关键词:琉璃苣籽油;三相分配法;超声波预处理

中图分类号:TS221;TQ464

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2021)03-0008-05

Comparison of different ultrasound treatments assisted three phase partitioning for extraction of *Borago officinalis* seed oil

ZHANG Xifeng^{1,2}, LU Ziqian¹, WANG Xinxin¹, ZHANG Qingting¹,
LI Xuefeng¹, MA Yinshan¹

(1. School of Life Science and Engineering, Hexi University, Zhangye 734000, Gansu, China;

2. Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu, Zhangye 734000, Gansu, China)

Abstract: The *Borago officinalis* seed oil was extracted using three phase partitioning (TPP). The effects of various factors including extraction time, solid-liquid ratio, dosage of ammonium sulfate and volume ratio of aqueous phase to *t*-butanol on the yield of *Borago officinalis* seed oil were studied, and these parameters were optimized. Moreover, the effects of ultrasound pretreatment assisted TPP and ultrasound assisted TPP on the extraction of *Borago officinalis* seed oil were compared. The results showed that the optimal conditions of TPP were obtained as follows: solid-liquid ratio 1:15, extraction time 20 min, dosage of ammonium sulfate 0.35 g/mL and volume ratio of aqueous phase to *t*-butanol 1:2. Under these conditions, the yield of *Borago officinalis* seed oil was 31.26%. When ultrasound was used as process intensification method, the extraction time could be shortened, and the ultrasound pretreatment assisted TPP process was better than ultrasound assisted TPP process. Under the conditions of ultrasound pretreatment time 160 s, ultrasound power 100 W and duty cycle 50%, the yield of *Borago officinalis* seed oil was 33.57%, which was 2.31 percentage points higher than that of TPP. So, TPP after ultrasound pretreatment was an effective method for oil extraction.

Key words: *Borago officinalis* seed oil; three phase partitioning; ultrasound pretreatment

收稿日期:2020-05-19;修回日期:2020-10-29

基金项目:甘肃省科技计划资助项目(18JR2JG001);甘肃省教育厅创业教育教学改革研究项目(202018)

作者简介:张喜峰(1982),男,副教授,硕士,研究方向为新型分离技术与开发(E-mail)curiouslyxsds@163.com。

琉璃苣(*Borago officinalis*)为紫草科一年生草本植物,原产于欧洲、北非和小亚细亚,已在我国甘

肃河西走廊等地大量种植和栽培。琉璃苣籽油是 γ -亚麻酸(GLA)最丰富的植物源之一,可作为膳食或食品的补充。GLA可用于治疗多发性硬化症、糖尿病、心脏病、关节炎、湿疹、自身免疫性疾病、癌症和经前综合征等^[1-2]。

近年来,琉璃苣籽油提取常采用索氏提取法^[3]、超临界CO₂流体萃取法^[4]、酶辅助冷榨法^[5]。索氏提取法存在有机溶剂使用量大、提取时间长、提取过程中夹杂部分杂质等问题;超临界CO₂流体萃取法存在设备昂贵、油脂中非挥发性成分提取困难等问题;酶辅助冷榨法获得的油脂中乳化物较难分离,影响了油脂的得率。因此,国内外研究人员正在寻找一种绿色、低廉、提取效果佳的提取方法。

三相分配法(TPP)是一种简单的新型分离技术,将硫酸铵、叔丁醇和动植物细胞匀浆液或酶反应液混合均匀,静置反应一定时间后形成三相,上相为有机相(油脂、色素),中间相为蛋白质或酶富集相,下相主要为含多糖的水相,实现了油脂的提取和分离同步完成。三相分配法具有操作灵活、使用设备简单、有机溶剂可重复使用等优点。目前,三相分配法已应用于麻疯树籽、苜蓿籽、油茶籽中油脂的提取^[6-8]。超声波辅助三相分配法萃取可在较短时间内获得较好的提取率^[9-10]。超声波处理可用于实际提取过程之前的预处理或与提取过程同时进行。刘雷等^[11]将一定量油莎豆粉、水、叔丁醇、硫酸铵混合后超声处理一定时间,实现了油莎豆油及淀粉的有效分离,且此法提高了油脂提取率,降低了提取温度,有效避免了淀粉糊化。

本试验采用三相分配法提取分离琉璃苣籽油,对提取条件进行了优化,并比较了不同超声波处理方式辅助三相分配法提取琉璃苣籽油的效果,以期琉璃苣籽油的提取提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

琉璃苣籽(含油量为30%以上),购自兰州韵源生物科技有限公司,粉碎至380 μm (40目),储存在密闭容器中备用。硫酸铵,叔丁醇,氢氧化钾,石油醚,乙醇,氯化碘,碘化钾,硫代硫酸钠。

Sonifier SLPe 超声波细胞破碎仪, Hzk - fal10 电子天平, Hitachi CR7 - 大容量冷冻离心机。

1.2 试验方法

1.2.1 三相分配法提取琉璃苣籽油

在50 mL圆底玻璃反应器中,将琉璃苣籽粉与蒸馏水按照一定比例混合后,连续搅拌条件下加入一定量的硫酸铵,待完全溶解后,将叔丁醇按照一定

比例缓慢加入混合物中,室温下静置提取一定时间,以8 000 r/min离心10 min,得到三相,将上层有机相收集、过滤,并在40℃的真空蒸发器中蒸发去除叔丁醇溶剂,得到琉璃苣籽油。

1.2.2 不同超声波处理方式辅助三相分配法提取琉璃苣籽油

1.2.2.1 超声波预处理辅助三相分配法(UPTPP)

按照获得的三相分配法最佳条件,将琉璃苣籽粉与水按照一定比例加入50 mL圆底玻璃反应器中,使用40 kHz频率的超声探头,浸入混合物中0.5 cm处,采用一定功率、占空比超声波处理一定时间后,按照1.2.1加入一定量硫酸铵和叔丁醇,涡流振荡混合后,8 000 r/min离心10 min,上层有机相经处理得到琉璃苣籽油。

1.2.2.2 超声波辅助三相分配法(UTPP)

按照获得的三相分配法最佳条件,将琉璃苣籽粉与水按照一定比例加入50 mL圆底玻璃反应器中,加入一定量硫酸铵和叔丁醇,涡流振荡混合后,使用40 kHz频率的超声探头,采用一定功率、占空比超声波处理一定时间后,8 000 r/min离心10 min,上层有机相经处理得到琉璃苣籽油。

1.2.3 玻璃苣籽油酸值、碘值、皂化值、过氧化值的测定

酸值采用冷溶剂指示剂滴定法(GB/T 15689—2008)测定;碘值采用中和滴定法(GB/T 5532—2008)测定;皂化值采用中和滴定法(GB/T 5534—2008)测定;过氧化值采用硫代硫酸钠滴定法(GB/T 5538—2005)测定。

1.2.4 统计分析

所有试验结果取平均值,使用Microsoft Excel的方差分析(ANOVA)评估统计显著性。

2 结果与讨论

2.1 三相分配法提取琉璃苣籽油单因素试验

2.1.1 提取时间对琉璃苣籽油提取效果的影响

按照1.2.1的方法,在料液比1:15、硫酸铵加量0.3 g/mL、水相与叔丁醇体积比1:1条件下,研究提取时间对琉璃苣籽油提取效果的影响,结果见图1。

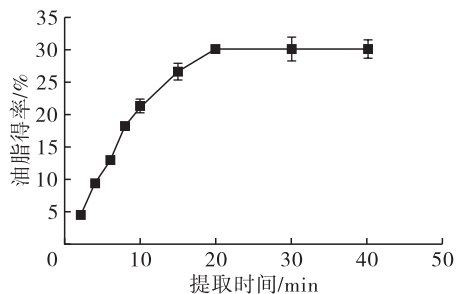


图1 提取时间对琉璃苣籽油提取效果的影响

从图 1 可知,琉璃苣籽油得率随着提取时间的延长逐渐增加,当提取时间在 20 min 时琉璃苣籽油得率最大,为 30.25%,此后随着提取时间的延长琉璃苣籽油得率趋于稳定。因此,三相分配法提取琉璃苣籽油的最佳提取时间为 20 min。

2.1.2 料液比对琉璃苣籽油提取效果的影响

按照 1.2.1 的方法,在硫酸铵加量 0.3 g/mL、水相与叔丁醇体积比 1:1、提取时间 20 min 条件下,研究料液比对琉璃苣籽油提取效果的影响,结果见图 2。

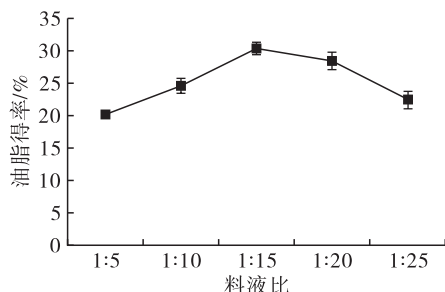


图 2 料液比对琉璃苣籽油提取效果的影响

从图 2 可知,随着料液比的增加,琉璃苣籽油得率不断增加,当料液比为 1:15 时琉璃苣籽油得率最大,为 30.45%,继续增加料液比,琉璃苣籽油得率开始下降。当料液较低时,溶液会变得黏稠,影响传质效果,从而影响琉璃苣籽油的提取,得率较低;但较高的料液比制备的悬浊液黏度较低,会阻碍叔丁醇加入后对油脂的提取效果。因此,三相分配法提取琉璃苣籽油的最佳料液比为 1:15。

2.1.3 硫酸铵加量对琉璃苣籽油提取效果的影响

按照 1.2.1 的方法,在料液比 1:15、水相与叔丁醇体积比 1:1、提取时间 20 min 条件下,研究硫酸铵加量对琉璃苣籽油提取效果的影响,结果见图 3。

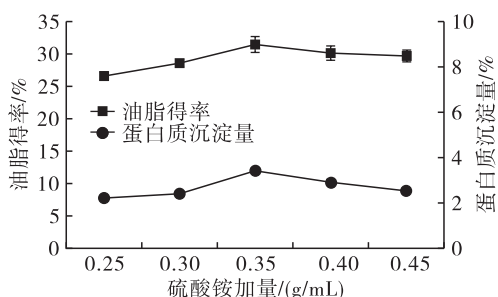


图 3 硫酸铵加量对琉璃苣籽油提取效果的影响

向悬浮液中添加盐会由于渗透冲击而增加细胞渗透性^[10]。最初,盐的缓慢加入会导致盐溶,从而增加蛋白质在溶液中的溶解度,随着盐浓度的进一步增加,由于盐析作用,蛋白质开始沉淀。这是由于硫酸铵中的 NH_4^+ 和 SO_4^{2-} 在接近或超过饱和浓度时与蛋白质形成最高稳定的结构^[12]。这种现象分离了位于细胞不同部位的蛋白质,增加了细胞的孔

隙率和通透性,有助于改善由浓度梯度引起的传质效果和油脂制备速率。盐的加入实现了水相、有机相和细胞壁中蛋白质盐析沉淀相的形成。另外,脂蛋白存在于油脂中,也会被盐沉淀,从而提高油脂的得率。由图 3 可知,当硫酸铵加量逐渐增加时,琉璃苣籽油得率和蛋白质沉淀量呈现逐渐增加的趋势,当硫酸铵加量为 0.35 g/mL 时,琉璃苣籽油得率达到最大,随着硫酸铵加量的继续增加,琉璃苣籽油得率基本保持不变,而蛋白质的沉淀量呈下降趋势。因此,三相分配法提取琉璃苣籽油的最佳硫酸铵加量为 0.35 g/mL。

2.1.4 水相与叔丁醇体积比对琉璃苣籽油提取效果的影响

按照 1.2.1 的方法,在料液比 1:15、硫酸铵加量 0.35 g/mL、提取时间 20 min 条件下,研究水相与叔丁醇体积比对琉璃苣籽油提取效果的影响,结果见图 4。

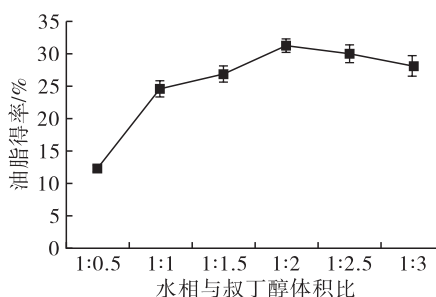


图 4 水相与叔丁醇体积比对琉璃苣籽油提取效果的影响

从图 4 可知:当水相与叔丁醇体积比较小时,对琉璃苣籽油的提取有限;随着水相与叔丁醇体积比的逐渐增加,琉璃苣籽油得率逐渐增加,当水相与叔丁醇体积比为 1:2 时,琉璃苣籽油得率达到最大,为 31.26%。因此,三相分配法提取琉璃苣籽油的最佳水相与叔丁醇体积比为 1:2。

2.2 不同超声波处理方式对三相分配法提取琉璃苣籽油的影响

2.2.1 超声时间对琉璃苣籽油提取效果的影响

固定超声功率 100 W 和占空比 50%,比较了 UTPP 和 UPTPP 两种超声处理方式下,超声时间对琉璃苣籽油提取效果的影响,结果见图 5。

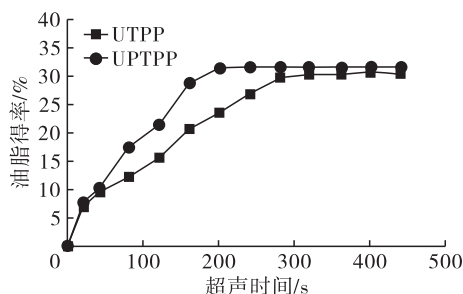


图 5 超声时间对三相分配法提取琉璃苣籽油的影响

由图5可知:在UPTPP处理方式下,琉璃苣籽油初始得率随着超声时间的延长增加较快,但继续延长超声时间,琉璃苣籽油得率增速减缓,这是由提取开始时细胞快速破裂和高浓度梯度导致的结果;采用UTPP提取琉璃苣籽油时,虽与UPTPP提取油脂的趋势相似,但琉璃苣籽油初始得率较低,UTPP的提取效果不如UPTPP。UPTPP的最佳超声时间约为160 s,而UTPP的最佳超声时间约为260 s。结果表明,采用超声波预处理是非常有效的一种方式。采用UPTPP提取油脂时,超声波作用于水与原料,而采用UTPP提取油脂时,超声波作用于水、盐、叔丁醇和原料的多相系统,有两个阶段的传质过程,一个是从原料到水相,另一个是从水相到叔丁醇相。另外,UPTPP超声作用的悬浊液体积比UTPP的少,其可导致悬浊液细胞分裂,从而获得较高的油脂得率。因此,在本研究中采用UPTPP可使超声时间缩短至160 s。

2.2.2 超声功率和占空比对琉璃苣籽油提取效果的影响

考虑到传感器的腐蚀和由此产生的过量热量,在使用过程中,并不建议连续使用超声波,超声波的脉冲模式常常采用占空比来表示。另外,超声功率与其振幅成正比,因此功率的增大,增加了空化效应和机械剪切的超声波的振幅。长时间通电也会增加热量和剪切力,这可能会打开或分解细胞和油体。油体的解体可能使细胞中蛋白质暴露在水相,利于氢键的形成。在超声波预处理过程中,盐和叔丁醇的少量悬浊液暴露在超声波下,可能会增加蛋白质与水相形成氢键的可行性。对UPTPP和UTPP在超声时间300 s下的超声功率和占空比的不同组合进行了研究,结果分别见图6、图7。

由图6可知:除超声功率150 W外,随着超声功率和占空比的增加,整体上琉璃苣籽油得率逐渐增加;当超声功率为100W、占空比为50%时,琉璃苣籽油得率最大,为33.98%。

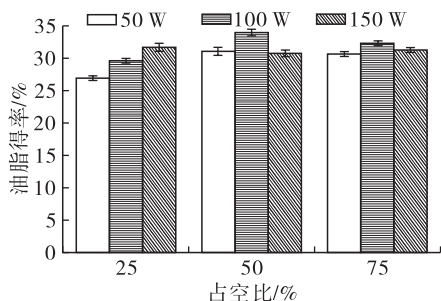


图6 超声功率和占空比对UPTPP提取琉璃苣籽油的影响

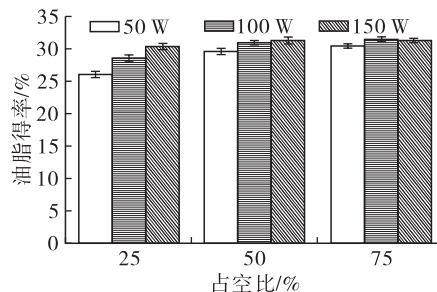


图7 超声功率和占空比对UTPP提取琉璃苣籽油的影响

由图7可知:除超声功率150 W外,随超声功率和占空比的增加,整体上琉璃苣籽油得率增加。超声功率100 W和占空比75%是UTPP的最佳参数,此时琉璃苣籽油得率为31.52%。

2.3 琉璃苣籽油不同提取方法的比较(见表1)

表1 TPP、UPTPP及UTPP提取琉璃苣籽油的效果比较

项目	TPP	UPTPP	UTPP
提取时间/s	1 200	160	260
占空比/%		50	75
超声功率/W		100	100
油脂得率/%	31.26	33.57	31.39
物理状态	淡黄色 透明油状	淡黄色 透明油状	淡黄色 透明油状
酸值(KOH)/(mg/g)	3.12	3.06	3.11
碘值(I)/(g/100 g)	156	149	151
皂化值(KOH)/(mg/g)	186	194	202
过氧化值/(g/100 g)	1.8	2.0	2.3

由表1可知:与UTPP相比,UPTPP提取时间较短;TPP提取时间为20 min,油脂得率为31.26%;UPTPP在160 s内可以得到33.57%的油脂得率。3种方法提取的油脂理化指标如物理状态、酸值、碘值等差异不显著。综合考虑,可采用UPTPP提取琉璃苣籽油。

3 结论

采用TPP从琉璃苣籽中提取油脂,在硫酸铵加量0.35 g/mL、料液比1:15、提取时间20 min和水相与叔丁醇体积比1:2条件下,琉璃苣籽油得率为31.26%;超声波作为预处理比同时作用能更有效强化TPP的提取效果。采用超声波预处理,可将琉璃苣籽油提取时间从20 min缩短到160 s,琉璃苣籽油得率达到33.57%。因此,超声波预处理结合TPP是一种有效提取琉璃苣籽油的方法。

参考文献:

- [1] BANDONIENE D, VENSKUTONIS P R, GRUZIENE D, et al. Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2002, 104(5): 286-292.

- [14] 穆华荣. 食品分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [15] 胡森, 齐宝坤, 谢凤英, 等. pH对水酶法大豆乳状液稳定性影响的机理研究[J]. 中国油脂, 2019, 44(3): 30-35.
- [16] LI P, GASMAILA M A A, LIU J, et al. Characterization and demulsification of cream emulsion from aqueous extraction of peanut [J]. J Food Eng, 2016, 185: 62-71.
- [17] 邓博心. 预烘烤对花生水酶法制油油脂释放行为及品质的影响[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2018.
- [18] JUNG S, MAURER D, JOHNSON L A. Factors affecting emulsion stability and quality of oil recovered from enzyme - assisted aqueous extraction of soybeans [J]. Bioresour Technol, 2009, 100(21): 5340-5347.
- [19] 杨瑞金, 倪双双, 张文斌, 等. 水媒法提取食用油技术研究进展[J]. 农业工程学报, 2016, 32(9): 308-314.
- [20] 王瑛瑶. 水酶法从花生中提取油与水解蛋白的研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2005.
- [21] 刘媛媛. 水媒法提取葵花籽油与蛋白质[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2016.
- [22] WU J, JOHNSON L A, JUNG S. Demulsification of oil - rich emulsion from enzyme - assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes [J]. Bioresour Technol, 2009, 100(2): 527-533.
- [23] 朱敏敏. 水酶法提取番茄籽油及其破乳工艺的研究[D]. 新疆 石河子: 石河子大学, 2017.
- [24] CHABRAND R M, GLATZ C E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme - assisted aqueous extraction of oil from soybean flour [J]. Enzyme Microb Technol, 2009, 45(1): 28-35.
- [25] ARFAT Y A, BENJAKUL S. Impact of zinc salts on heat - induced aggregation of natural actomyosin from yellow stripe trevally [J]. Food Chem, 2012, 135(4): 2721-2727.
- [26] 王丽媛. 水酶法制取鳄梨油研究及副产物的开发利用[D]. 南宁: 广西大学, 2018.
- [27] 刘琪. 酶辅助醇法同步提取大豆油脂和蛋白的关键技术及机理研究[C]//中国食品科学技术学会论文集. 上海: 中国食品科学技术学会, 2011.
- [28] 田凌宇. 低温碱提水代法逆流提取油菜籽油和蛋白质[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2019.
- [29] 张根生, 杨慧铎, 岳晓霞, 等. 水酶法提取南瓜籽油过程中乳状液酶法联合化学法破乳工艺研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(10): 139-144.
- [30] 李鹏飞. 水酶法提取花生油及蛋白质[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2017.

(上接第11页)

- [2] RIOCELESTINO M D, FONT R, DE HAROBAILON A, et al. Distribution of fatty acids in edible organs and seed fractions of borage (*Borago officinalis* L.) [J]. J Sci Food Agric, 2008, 88(2): 248-255.
- [3] 李童, 束成杰, 尹永祺, 等. 响应面法优化琉璃苣籽油提取工艺及其脂肪酸成分的测定[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 914-920.
- [4] 任飞, 韩发, 石丽娜, 等. 超临界 CO₂ 流体萃取琉璃苣籽油及其脂肪酸分析[J]. 中国油脂, 2010, 35(8): 20-23.
- [5] SOTO C, CONCHA J, ZUNIGA M E, et al. Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic - aided cold pressing process [J]. Process Biochem, 2008, 43(6): 696-699.
- [6] SHAH S, SHARMA A, GUPTA M N, et al. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning [J]. Ind Crop Prod, 2004, 20(3): 275-279.
- [7] DUTTA R, SARKAR U, MUKHERJEE A. Process optimization for the extraction of oil from *Crotalaria juncea* using three phase partitioning [J]. Ind Crops Prod, 2015, 71: 89-96.
- [8] 张卫国, 卢春花. 三相分配法从茶籽中提取油脂的研究[J]. 食品工业, 2011(3): 86-88.
- [9] LI Z B, LI Y, ZHANG X, et al. Lipid extraction from non - broken and high water content microalgae *Chlorella* spp. by three - phase partitioning [J]. Algal Res, 2015, 10: 218-223.
- [10] VIDHATE G S, SINGHAL R S. Extraction of cocoa butter alternative from kokum (*Garcinia indica*) kernel by three phase partitioning [J]. J Food Eng, 2013, 117(4): 464-466.
- [11] 刘雷, 陈星, 邹险峰, 等. 超声波辅助三相分离技术提取油莎豆油及淀粉的工艺研究[J]. 农业机械, 2012(9): 36-38.
- [12] DENNISON C, LOVRIEN R. Three phase partitioning: concentration and purification of proteins [J]. Protein Expr Purif, 1997, 11(2): 149-161.