

太平洋磷虾油提取工艺优化及与 南极磷虾油品质的比较

孙维维,姜晓明,徐杰,薛勇,李兆杰,薛长湖

(中国海洋大学食品科学与工程学院,山东青岛266003)

摘要:采用有机溶剂浸提法,增加了乙醇复溶步骤,分别对太平洋磷虾粉以及鲜太平洋磷虾进行油脂提取单因素实验和正交实验。以虾粉为原料,用95%乙醇分别提取太平洋磷虾油和南极磷虾油,对虾油中游离脂肪酸、虾青素、磷脂及脂肪酸组成进行分析和比较。结果表明:最佳提取溶剂为95%乙醇;对于鲜虾,提取的最佳工艺条件为提取温度45℃、料液比1:12、提取时间3h,在此条件下油脂得率为12.99%;对于虾粉,提取的最佳工艺条件为提取温度55℃、料液比1:10、提取时间3h,在此条件下油脂得率为20.00%;太平洋磷虾油磷脂含量高于南极磷虾油的,为39.53%;两种虾油虾青素含量接近;太平洋磷虾油游离脂肪酸含量略高于南极磷虾油的,为9.21%;太平洋磷虾油脂肪酸种类较多,两者EPA、DHA总含量接近,南极磷虾油EPA含量较高,太平洋磷虾油DHA含量较高。

关键词:太平洋磷虾;南极磷虾;虾油;提取;品质分析

中图分类号:TS225.24;TS254.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)01-0008-05

Optimization of extraction process of Pacific krill oil and quality comparison with Antarctic krill oil

SUN Weiwei, JIANG Xiaoming, XU Jie, XUE Yong, LI Zhaojie, XUE Changhu
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong, China)

Abstract: The single factor experiment and orthogonal experiment of the oil extraction from Pacific krill shrimp and shrimp powder were carried out by organic solvent extraction method, adding the ethanol recovery step. With shrimp power as raw material, the Pacific krill oil and Antarctic krill oil were extracted by 95% ethanol and the contents of free fatty acid, astaxanthin, phospholipids and fatty acid composition were analyzed and compared. The results showed that the optimal extraction solvent was 95% ethanol. The optimal extraction conditions of oil from shrimp were obtained as follows: extraction temperature 45℃, ratio of material to liquid 1:12 and extraction time 3 h. Under these conditions, the oil yield was 12.99%. The optimal extraction conditions of oil from shrimp powder were obtained as follows: extraction temperature 55℃, ratio of material to liquid 1:10 and extraction time 3 h. Under these conditions, the oil yield was 20.00%. The content of phospholipids in Pacific krill oil (39.53%) was more than that in Antarctic krill oil, and the astaxanthin content was similar to that in Antarctic krill oil. The content of free fatty acid in Pacific krill oil was slightly higher than that in Antarctic krill oil, accounting for 9.21%. The types of fatty acids in Pacific krill oil were more than that in Antarctic krill oil. The total

content of EPA and DHA of the two krill oils was close. In comparison, the EPA content in Antarctic krill oil was higher, and the DHA content in Pacific krill oil was higher.

Key words: Pacific krill; Antarctic krill; krill oil; extraction; quality analysis

收稿日期:2017-04-26;修回日期:2017-09-16

基金项目:山东省科技重大专项(2015ZDZX05003)

作者简介:孙维维(1994),女,硕士研究生,研究方向为食品化学与营养支持(E-mail)vivisun0101@outlook.com。

通信作者:薛长湖,教授,博士(E-mail)xuech@ouc.edu.cn。

太平洋磷虾隶属于节肢动物门、甲壳纲,广泛分布于北太平洋和与其相邻的沿海水域,是北太平洋中重要和主导的甲壳类动物之一^[1]。太平洋磷虾富含优质蛋白质、脂质及其他活性物质,其中蛋白质含量 13.20%,灰分含量 79.65%,几丁质含量约 4%,干燥后虾青素含量约 0.01%。我国对太平洋磷虾的捕捞量逐年增多,目前对太平洋磷虾的利用主要是做虾粉饲料或高盐分的虾酱^[2-3]。近几年来,从磷虾中提取虾油保健品在国内外发展比较迅速,在食品行业的地位也越来越高。太平洋磷虾油中有丰富的多不饱和脂肪酸,其中的 EPA 和 DHA 有降低血脂、健脑、抗癌等多项生理功能,具有很好的生物利用度和氧化稳定性^[4-6]。此外,太平洋磷虾油含有较高含量的虾青素,具有极强的抗氧化能力,能够减缓 EPA 和 DHA 的氧化,因此虾油本身比鱼油具有更高的抗氧化性^[7]。

虾油常见的提取方法有有机溶剂浸提法、水剂法、机械压榨法、超临界流体萃取法等。其中机械压榨法比较简单,但油脂得率较低,容易造成资源浪费;水剂法适合高含油油料提取油脂,并不适合水产品提取油脂;超临界流体萃取法是一种比较先进的提取油脂方法,适合提取天然活性物质但是其成本高并不适合工业化生产^[8-11]。所以,目前工业生产中较为常用的仍为有机溶剂浸提法,多用乙醇、丙酮、异丙醇、正己烷等有机溶剂提取油脂,操作简单,成本较低。

本实验采用有机溶剂浸提法,增加了复溶步骤进一步纯化虾油,优化了太平洋磷虾油的提取工艺,将南极磷虾油、太平洋磷虾油中相关品质指标进行对比,旨在为虾油加工企业的原料选择,太平洋磷虾的高值化利用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

太平洋磷虾,捕获于黄海海域。南极磷虾,中国水产有限公司提供。冻虾储存在 -20°C 。

十七酸甲酯,标准品,国药集团化学试剂有限公司;95%乙醇,食用级;盐酸、氯化锌、氢氧化钾、浓硫酸、钼酸钠、硫酸联氨、硫酸二氢钾、丙酮、氯仿、正庚烷、铜试剂、正己烷、异丙醇、丙酮均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

HH-4 电热恒温水浴锅;MS-H-S10 磁力搅拌器;真空干燥箱;精密电子天平;循环水式真空泵;九阳打浆机;BS210S 型电子分析天平;RE52CS 型旋转蒸发器;721 型分光光度计;新型金属浴;6980N

型气相色谱仪,美国 Agilent 公司;SCIOLOGEX MX-S 旋涡混匀仪。

1.2 实验方法

1.2.1 太平洋磷虾油提取工艺

将一部分冻虾解冻沥干,用打浆机打碎后作为鲜虾原料以备用。另一部分解冻后的虾放入真空干燥箱内, 70°C 干燥 1 h 后再将温度调为 60°C 干燥 2 h,然后将温度调为 50°C 干燥 2 h,干燥结束后将虾粉碎成虾粉,作为虾粉原料以备用。分别称取各原料 5 g 进行实验。

分别选择鲜虾和虾粉为原料,选取提取溶剂,按照一定的料液比在一定温度下浸提一定时间后抽滤,提取液抽滤后转移到旋转蒸发器中旋蒸,将粗虾油按照料液比 1:4 加入无水乙醇进行复溶,离心去除杂质后再进行旋蒸收集虾油,计算油脂得率。油脂得率按照提取虾油质量与原料的质量比计算。每组实验重复 3 次,求平均值。

1.2.2 南极磷虾油与太平洋磷虾油品质指标测定

根据 GB/T 14489.3—1993 测定游离脂肪酸含量;根据 GB/T 31520—2015 测定虾青素含量;根据 GB/T 5537—2008 钼蓝比色法测定磷脂含量。

1.2.3 南极磷虾油与太平洋磷虾油脂肪酸组成测定

磷虾油脂肪酸组成分析,根据楼乔明等^[12]的方法,稍作修改。

甲酯化:分别取 50 μL 南极磷虾油和太平洋磷虾油,加入 2.5 mL 1 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液,于 $60\sim 70^{\circ}\text{C}$ 水浴 2~3 min 后,加入 3 mL 10% 硫酸-甲醇溶液后于 $60\sim 70^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min,反应结束后冷却,加入 1 mL 正己烷旋涡振荡,静置分层,取上层溶液,氮气吹干后加入 1 500 μL 正己烷复溶。

气相色谱条件:HP-INNOWax 石英毛细管柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm),载气为高纯氮气,采用恒流尾吹模式,进样口温度 240°C ,检测器温度 300°C ,柱温以 $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 由 170°C 上升到 210°C ,然后在 210°C 下保持 20 min,整个分析过程为 40 min。利用内标物(十七酸甲酯)判断各峰对应的脂肪酸,结合峰面积归一化法计算其相对含量。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 不同提取溶剂对油脂得率的影响

选择提取溶剂分别为正己烷、95%乙醇、丙酮、异丙醇,在料液比 1:10、提取温度 55°C 、提取时间 3 h 条件下提取虾油,计算油脂得率。结果如图 1 所示。

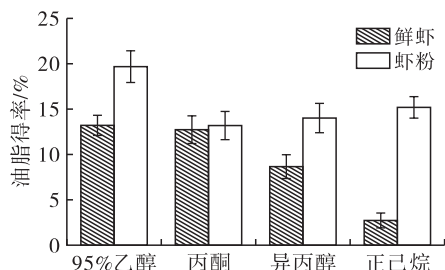


图1 不同提取溶剂对鲜虾及虾粉油脂得率的影响

由图1可知,以鲜虾作为原料,95%乙醇为提取溶剂时油脂得率最高。丙酮提取的虾油油脂得率与之相差不大。虾油中磷脂等极性成分含量较高,正己烷极性较低,故油脂溶解较少,油脂得率最低。相比较于丙酮,95%乙醇毒性较小,价格便宜,故选用95%乙醇作为最佳提取溶剂。以虾粉为原料,95%乙醇提取的油脂得率最高。综合考虑油脂得率、毒性以及经济性,确定最佳提取溶剂为95%乙醇。

2.1.2 不同提取温度对油脂得率的影响

选择提取温度分别为45、50、55、60℃,95%乙醇为提取溶剂,在料液比1:10、提取时间3h条件下提取虾油,计算油脂得率,结果如图2所示。

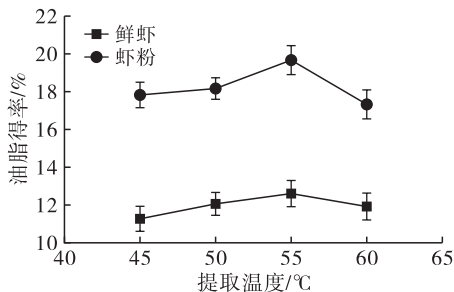


图2 不同提取温度对鲜虾及虾粉油脂得率的影响

由图2可知,当提取温度低于55℃时,随着提取温度的升高,油脂得率呈现逐渐升高的趋势;提取温度高于55℃之后油脂得率逐渐降低。适当提高提取温度可加快分子运动,使油脂得率升高,55℃之后油脂得率反而下降,这与张海涛等^[13]提取木瓜籽油、韩丹丹^[14]提取亚麻籽油提取温度对油脂得率影响趋势一致。这是由于提取温度的升高,导致料液间气化层的形成,阻碍了油脂分子的扩散^[15],而且提取温度越高能耗越高,故选择45、50、55、60℃作正交优化以确定最佳提取温度。

2.1.3 不同料液比对油脂得率的影响

选择料液比分别为1:8、1:10、1:12、1:14,95%乙醇为提取溶剂,在提取温度55℃、提取时间3h条件下提取虾油,计算油脂得率,结果如图3所示。

由图3可知,随着料液比的增加,油脂得率呈现逐渐升高的趋势,料液比为1:10后,油脂得率趋于稳定。根据传质平衡的原理,在一定范围内,提取溶

剂越多,溶解于其中的油脂越多,油脂得率越高。但过量的溶剂会增加成本,也会增加后期溶剂回收的能耗,故选择料液比1:8、1:10、1:12、1:14作正交优化以确定最佳料液比。

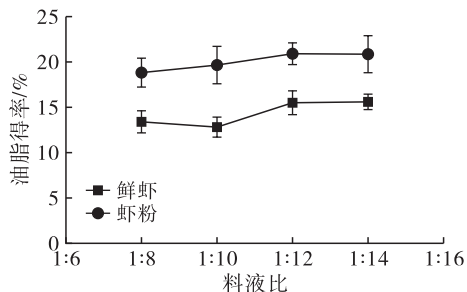


图3 不同料液比对鲜虾及虾粉油脂得率的影响

2.1.4 不同提取时间对油脂得率的影响

选择提取时间分别为3、4、5、6h,95%乙醇为提取溶剂,在料液比1:10、提取温度55℃条件下提取虾油,计算油脂得率,结果如图4所示。

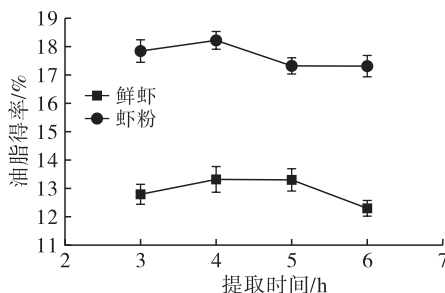


图4 不同提取时间对鲜虾及虾粉油脂得率的影响

由图4可知,随着提取时间的延长,油脂得率逐渐升高,4h时达到最高。随着提取时间的延长,太平洋磷虾原料与提取溶剂中的油浓度差不断缩小,一定时间后,二者中的油浓度基本相同,此时扩散基本达到平衡^[16]。之后随着提取时间的继续延长油脂得率反而下降。考虑长时间的提取过程可能会对太平洋磷虾得率产生影响,所以选择3、4、5、6h作正交优化以确定最佳提取时间。

2.2 正交实验

分别以鲜虾和虾粉为原料,95%乙醇为提取溶剂,以提取温度、提取时间、料液比为因素,油脂得率为考察指标进行正交实验。正交实验因素水平见表1,鲜虾正交实验设计及结果见表2,虾粉正交实验设计及结果见表3。

表1 正交实验因素水平

水平	A 提取温度/℃	B 提取时间/h	C 料液比
1	45	3	1:8
2	50	4	1:10
3	55	5	1:12
4	60	6	1:14

表2 鲜虾正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	油脂得率/%
1	1	1	1	8.024
2	1	2	2	10.404
3	1	3	3	11.560
4	1	4	4	7.072
5	2	1	2	6.188
6	2	2	1	5.712
7	2	3	4	4.896
8	2	4	3	6.528
9	3	1	3	7.888
10	3	2	4	5.440
11	3	3	1	4.420
12	3	4	2	4.420
13	4	1	4	5.780
14	4	2	3	6.120
15	4	3	2	5.168
16	4	4	1	3.808
k_1	9.265	6.970	5.491	
k_2	5.831	6.919	6.545	
k_3	5.542	6.511	8.024	
k_4	5.219	5.457	5.797	
R	4.046	1.513	2.533	

由表2可知,3个因素影响顺序为:提取温度>料液比>提取时间,最终确定的最佳工艺条件是 $A_1B_1C_3$,即提取温度45℃、提取时间3h、料液比1:12,在此条件下油脂得率为12.99%。

表3 虾粉正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	油脂得率/%
1	1	1	1	13.073
2	1	2	2	14.126
3	1	3	3	16.583
4	1	4	4	16.115
5	2	1	2	17.870
6	2	2	1	14.126
7	2	3	4	15.764
8	2	4	3	16.817
9	3	1	3	19.976
10	3	2	4	20.795
11	3	3	1	14.243
12	3	4	2	17.051
13	4	1	4	14.945
14	4	2	3	14.243
15	4	3	2	16.232
16	4	4	1	10.499
k_1	14.974	16.466	12.985	
k_2	16.144	15.823	16.320	
k_3	18.016	15.706	16.905	
k_4	13.980	15.121	16.905	
R	4.036	1.345	3.920	

由表3可知,3个因素影响顺序为:提取温度>料液比>提取时间,由单因素实验可知料液比1:10、1:12、1:14时,油脂得率相差不大,最终确定的最佳工艺条件是 $A_3B_1C_2$,即提取温度55℃、提取时间3h、料液比1:10,在此条件下油脂得率为20.00%。综合比较,从虾粉中提取虾油比从鲜虾中提取虾油油脂得率高,在工业生产中耗费的溶剂少,成本低,故后续在最佳条件下将从南极磷虾粉和太平洋磷虾粉中提取的虾油进行品质比较。

2.3 南极磷虾油与太平洋磷虾油品质指标比较(见表4)

表4 南极磷虾油与太平洋磷虾油品质指标比较

虾油	含量/%		
	磷脂	虾青素	游离脂肪酸
南极磷虾油	24.85 ± 0.33	0.070 ± 0.01	4.27 ± 0.05
太平洋磷虾油	39.53 ± 0.43	0.072 ± 0.02	9.21 ± 0.03

由表4可知,南极磷虾油中虾青素含量与太平洋磷虾油中虾青素含量接近,太平洋磷虾油中磷脂含量高于同条件下提取的南极磷虾油中磷脂含量,为39.53%,相对来说营养价值更高,但是其游离脂肪酸含量高于南极磷虾油中的。由此表明,南极磷虾油与太平洋磷虾油脂质组成有一定差异,需进一步研究。

2.4 南极磷虾油与太平洋磷虾油脂肪酸组成比较(见表5)

表5 太平洋磷虾油和南极磷虾油

脂肪酸	脂肪酸组成及含量		%
	太平洋磷虾油	南极磷虾油	
十二碳酸	-	0.17	
肉豆蔻酸	7.49	9.56	
十四碳一烯酸	0.48	0.40	
十五碳酸	1.55	-	
十五碳一烯酸	0.34	-	
十六碳酸	23.13	30.44	
棕榈油酸	5.72	-	
十七碳酸	4.30	3.36	
十七碳一烯酸	1.20	1.16	
硬脂酸	2.33	1.49	
油酸(n-9)	16.88	20.55	
亚油酸(n-6)	2.78	1.67	
亚麻酸(n-3)	3.43	2.05	
花生酸	4.59	4.43	
花生一烯酸	1.53	1.50	
花生四烯酸	1.06	-	
二十一碳酸	-	0.24	
EPA	10.45	14.18	
DHA	12.74	8.80	

注:-表示未检出。

由表 5 可知,太平洋磷虾油脂脂肪酸种类较多,其中十五碳酸、十五碳一烯酸、棕榈油酸以及花生四烯酸在南极磷虾油中未检出,与前面磷脂含量测定结果相对应,推测太平洋磷虾油中的磷脂成分含有较多的花生四烯酸、棕榈油酸及十五碳一烯酸等脂肪酸。相比较而言,太平洋磷虾油中 DHA 含量较多,而南极磷虾油中十六碳酸、油酸和 EPA 含量较多。两者的 EPA、DHA 总量相差不大。

3 结 论

通过单因素实验和正交实验确定鲜虾和虾粉的最佳提取溶剂均为 95% 乙醇。对于鲜虾,提取虾油的最佳工艺条件为提取温度 45℃、料液比 1:12、提取时间 3 h,在此条件下油脂得率为 12.99%。对于虾粉,提取虾油的最佳工艺条件为提取温度 55℃、料液比 1:10、提取时间 3 h,在此条件下油脂得率为 20.00%。由鲜虾与虾粉的油脂提取结果表明,虾粉相较于鲜虾,水分含量的减少可节约提取溶剂用量,并提高油脂得率。因此,用虾粉作为虾油的提取原料时成本更低,提取效果更好。太平洋磷虾油与南极磷虾油脂肪酸组成分析结果表明:太平洋磷虾油脂肪酸种类较多,两者 EPA、DHA 总量接近,南极磷虾油 EPA 含量较高,太平洋磷虾油 DHA 含量较高,证明两者营养价值均较高。脂质组成分析结果得到太平洋磷虾油磷脂含量高于同等条件下提取的南极磷虾油磷脂含量,但太平洋磷虾油游离脂肪酸含量略高于南极磷虾油的,证明太平洋磷虾与南极磷虾体内脂质组成在一定程度上存在差异。本实验的虾油提取工艺流程简单易操作,由于乙醇可以回收使用所以成本较低,为工业化生产太平洋磷虾油提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 吕晴. 太平洋磷虾磷脂提取纯化及酶法制备富含 $n-3$ 多不饱和脂肪酸磷脂的研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学, 2014.
- [2] 王学军, 连岩, 刘瑶. 太平洋磷虾虾酱、虾油、虾味素的制取工艺[J]. 渔业现代化, 2005(3):37-38.
- [3] TREMBLAY N, WERNER T, HUENERLAGE K, et al. Euphausiid respiration model revamped: latitudinal and seasonal shaping effects on krill respiration rates [J]. *Ecol Model*, 2014, 291:233-241.
- [4] 欧阳华. 太平洋磷虾的营养和诱食性研究[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2014.
- [5] 张思瑾. 太平洋磷虾磷脂提取及磷脂酰胆碱的分离纯化研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学, 2015.
- [6] MARZO V D, GRINARI M, CARTA G, et al. Dietary krill oil increases docosahexaenoic acid and reduces 2-arachidonoylglycerol but not N-acylethanolamine levels in the brain of obese Zucker rats [J]. *Int Dairy J*, 2010, 20(4):231-235.
- [7] 刘坤, 王兰, 薛长湖, 等. 太平洋磷虾油的亚临界 R134a 萃取工艺及脂肪酸成分分析[J]. 食品科学, 2013, 34(14):96-99.
- [8] 孙甜甜. 高品质南极磷虾油工业化生产技术研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学, 2013.
- [9] 刘坤. 湿基南极磷虾中磷虾油的超临界 CO₂ 萃取工艺研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学, 2014.
- [10] GIGLIOTTI J C, DAVENPORT M P, BEAMER S K, et al. Extraction and characterisation of lipids from Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. *Food Chem*, 2011, 125(3):1028-1036.
- [11] YAMAGUCHI K, MURAKAMI M, NAKANO H, et al. Supercritical carbon dioxide extraction of oils from Antarctic krill [J]. *J Agric Food Chem*, 1986, 34(5):904-907.
- [12] 楼乔明, 王玉明, 杨文鸽, 等. 南极磷虾粉脂质及脂肪酸组成分析[J]. 水产学报, 2012, 36(8):1256-1262.
- [13] 张海涛, 张海容, 徐撒撒. 提取因素对木瓜籽油提取率的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2):1026-1027.
- [14] 韩丹丹. 亚麻籽油提取工艺及 α -亚麻酸纯化技术的研究[D]. 长春:吉林农业大学, 2014.
- [15] 赵传凯. 南极磷虾油脂提取、分析及其对小鼠酒精性脂肪肝模型作用研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学, 2012.
- [16] 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.