

综合利用

植物沥青中角鲨烯的富集及分离提纯研究

肖翔¹,王嘉磊¹,章生¹,高伟芳²

(1. 宁波大红鹰生物工程股份有限公司,浙江宁波315204; 2. 宁波市生产力促进中心,浙江宁波315200)

摘要:研究了植物沥青中角鲨烯的富集及分离提纯工艺。通过冷析离心和分子蒸馏对植物沥青中角鲨烯进行一定量的富集后,考察了溶剂极性、吸附剂用量和吸附时间对提纯后的角鲨烯含量和收率的影响。在单因素实验的基础上,通过正交实验优化提纯工艺条件,得出最佳工艺条件为:采用丙酮与石油醚(体积比30:70)作为溶剂,吸附剂的量分别为硅胶与样品质量比1:1、活性炭与样品质量比3:1。在最佳工艺条件下,角鲨烯的含量和收率分别达到了87.34%和88.69%。

关键词:植物沥青;角鲨烯;离心;分子蒸馏;活性炭;硅胶;吸附

中图分类号:TS229;TQ645 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)05-0127-04

Enrichment, separation and purification of squalene from plant asphaltXIAO Xiang¹, WANG Jialei¹, ZHANG Sheng¹, GAO Weifang²

(1. Ningbo Dahongying Biological Engineering Co., Ltd., Ningbo 315204, Zhejiang, China;

2. Ningbo Productivity Center, Ningbo 315200, Zhejiang, China)

Abstract: The enrichment process, separation and purification process of squalene from plant asphalt were studied. The squalene was enriched in plant asphalt by cold separation centrifugation and molecular distillation, then the effects of solvent polarity, adsorbent dosage and adsorption time on the content and yield of squalene were investigated. Based on single factor experiment, the separation and purification conditions were optimized by orthogonal experiment as follows: with acetone - petroleum ether (volume ratio 30:70) as solvent, mass ratio of silica gel to sample 1:1, mass ratio of acticarbon to sample 3:1. Under the optimal conditions, the content and yield of squalene were 87.34% and 88.69%, respectively.

Key words: plant asphalt; squalene; centrifugation; molecular distillation; acticarbon; silica gel; adsorption

角鲨烯又名鲨烯、三十碳六烯,是一种包含6个双键的不饱和开环三萜类化合物^[1],由于其分子结构决定了角鲨烯是一种极性较小的有机物,同时也使其成为了一种有效的抗氧化活性物质^[2-3],被应用于化妆品领域^[4]。角鲨烯可以抑制肿瘤细胞的生长和致癌物亚硝酸的生成,从而增强对肿瘤的抵抗能力^[5],起到抗肿瘤作用^[6-8]。

最初的角鲨烯主要来源于深海鲨鱼的肝油^[9],而随着国际上对于野生动物的保护以及海洋污染所

带来的影响,使得动物来源的角鲨烯正在逐步减少,取而代之的则是植物、微生物来源的角鲨烯^[10-11],但是与动物来源的角鲨烯相比,其他来源的角鲨烯原料中的成分更加复杂多样,增加了角鲨烯的分离提取难度^[12-13]。

植物沥青属于植物油加工过程中的废料,一般作为废弃物处理,本文所涉及的植物沥青主要来源于大豆脱臭馏出物(DD油)酯化脱酸并提取 V_E 、植物甾醇后的渣油,大豆DD油中角鲨烯含量仅为4%~7%,而随着 V_E 、植物甾醇、游离脂肪酸的分离,角鲨烯被逐渐富集,使得渣油中的角鲨烯含量达到了15%~25%,为角鲨烯的分离提纯提供了有利条件,同时也将进一步提高原料的利用率,减少废弃物的产生。

收稿日期:2017-09-11;修回日期:2018-03-15

基金项目:宁波市工业重大专项(201501ZD-A01090)

作者简介:肖翔(1984),男,工程师,硕士,主要从事天然活性成分分离提纯方面的研究工作(E-mail)xiao.legend@163.com。

本研究尝试以通过酯化反应^[14]、冷析结晶、离子交换树脂吸附取得主要产品脂肪酸酯、植物甾醇和 V_E ^[15]后的植物沥青为原料,基于角鲨烯的弱极性分子结构与极性吸附剂硅胶和非极性吸附剂活性炭之间的吸附特性,以期达到有效分离角鲨烯与其他杂质的目的。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

植物沥青来源于宁波大红鹰生物工程股份有限公司,其中角鲨烯含量 15% ~ 25%, V_E 含量 2% ~ 4%,植物甾醇含量 10% ~ 20%,无酸值。

活性炭由上海金湖活性炭有限公司提供,硅胶由青岛海浪硅胶干燥剂有限公司提供;石油醚(沸程 60 ~ 90 °C)、丙酮,均为分析纯;正己烷为色谱纯。

1.1.2 仪器与设备

Agilent 7890A 气相色谱仪,RE52CS-1 旋转蒸发器,HDM 型数显恒温磁力搅拌电热套,B-260 恒温水浴锅,DC-2006 低温恒温槽,TDZ5-WS 离心机,电子天平。

1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理

取一定量的植物沥青于 4 °C 冷析后离心分离析出物(主要为植物甾醇及少量植物蜡),上清液在 10 ~ 30 Pa 的真空条件下进行分子蒸馏,收取 220 ~ 250 °C 区间的馏出液,其中的角鲨烯含量能够达到 35% ~ 50%。

1.2.2 角鲨烯提纯

在蒸馏后的 220 ~ 250 °C 馏分中加入石油醚或石油醚-丙酮混合溶液,室温搅拌至全溶备用,称取一定量活性炭加入至上述溶液中,室温搅拌吸附 10 ~ 60 min 后过滤得到滤液 A;同时准备一个按一定比例加有 100 ~ 200 目硅胶的漏斗,将滤液 A 进行抽滤得到滤液 B,滤液 B 减压蒸馏脱除溶剂后即得角鲨烯产品。

1.2.3 角鲨烯含量测定

采用 Agilent 7890A(氢火焰离子化检测器)气相色谱仪测定角鲨烯含量。色谱条件:DB-1 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm);检测器温度 320 °C;进样口温度 300 °C;载气为氮气;进样量 1.0 μL。

2 结果与讨论

2.1 吸附纯化植物沥青中角鲨烯的单因素实验

2.1.1 溶剂极性对角鲨烯含量及收率的影响

经过预处理的物料分别用石油醚、石油醚-丙酮混合溶剂溶解进行活性炭吸附,考察了在硅胶与

样品质量比 1:1、活性炭与样品质量比 2:1、吸附时间 10 min 时,考察不同极性环境对活性炭吸附提升角鲨烯含量及收率的影响,结果如图 1、图 2 所示。

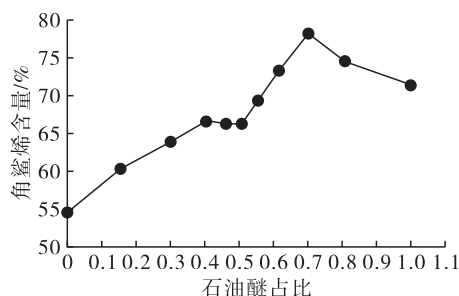


图 1 溶剂极性对角鲨烯含量的影响

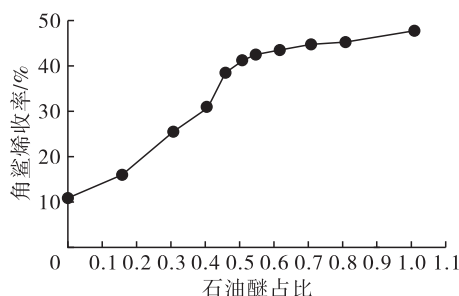


图 2 溶剂极性对角鲨烯收率的影响

由图 1 可以看出,随着溶剂体系极性的减弱,角鲨烯含量呈上升趋势,当丙酮与石油醚体积比达到 30:70 时出现峰值,而继续减小极性,角鲨烯含量略微下降。由图 2 可以看出,随着溶剂体系极性的减小,角鲨烯收率逐渐提高,当体系呈非极性时,角鲨烯收率达到最高值。

由于活性炭属于非极性吸附剂,当溶剂体系的极性越强,其对溶质的吸附力越强,反之则越弱;因此,结合图 1、图 2 说明随着溶剂体系极性逐渐降低,样品中弱极性的角鲨烯逐渐无法被活性炭有效吸附,而非极性的杂质则依旧被吸附,从而使角鲨烯的含量和收率不断提高,当溶剂体系呈非极性时,一部分的杂质也被洗脱,从而导致角鲨烯的含量由 78.0% 下降至 71.06%。因此,少量丙酮的存在使得溶剂具有一定极性时,角鲨烯的分离度能够达到较高水平。

2.1.2 活性炭用量对角鲨烯含量及收率的影响

在丙酮与石油醚体积比 30:70、吸附时间 10 min 时,考察添加不同比例的活性炭对角鲨烯含量及收率的影响,结果如图 3、图 4 所示。

由图 4 可以看出,活性炭对于弱极性的角鲨烯具有较高的吸附力,逐渐降低活性炭用量能够有效提高产物的收率,但考虑到图 3 中角鲨烯含量的变化趋势,以及尽可能减少生产中固废的产生,因此,活性炭与样品质量比控制在 2:1 时能够使角鲨烯的

含量和收率达到较高值,分别为 65.29% 和 89.44%, 同时又能减小固废比例,降低环保压力。

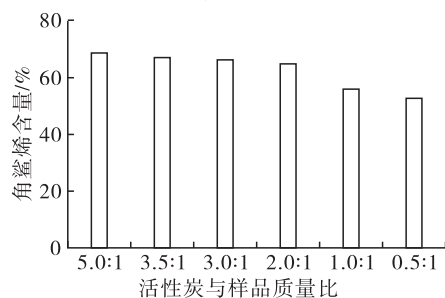


图3 活性炭用量对角鲨烯含量的影响

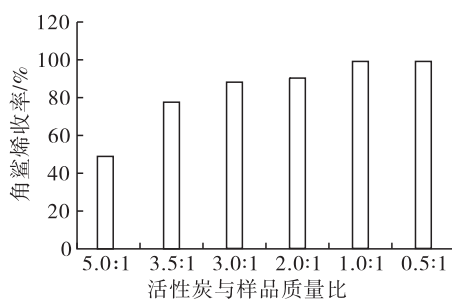


图4 活性炭用量对角鲨烯收率的影响

2.1.3 吸附时间对角鲨烯含量及收率的影响

在丙酮与石油醚体积比为 30:70、活性炭与样品质量比 2:1 时,考察不同吸附时间对角鲨烯含量以及收率的影响,结果如图 5 所示。

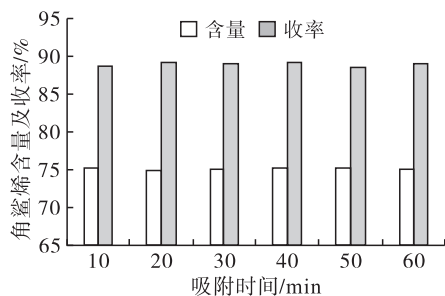


图5 吸附时间对角鲨烯含量及收率的影响

由图 5 可以看出,吸附时间对角鲨烯含量及收率的影响不大。因此,非连续生产中,缩短单批次处理时间能够有效提高生产效率。

2.1.4 硅胶用量对角鲨烯含量及收率的影响

将活性炭吸附后的物料溶液脱除溶剂并用石油醚溶解后通过硅胶滤层,考察了不同硅胶用量对角鲨烯含量和收率的影响,结果如图 6、图 7 所示。

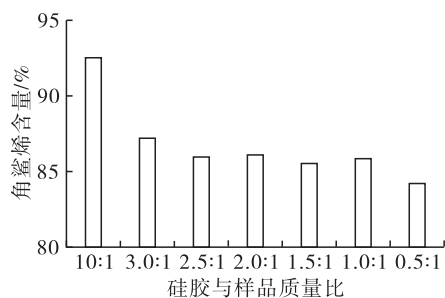


图6 硅胶用量对角鲨烯含量的影响

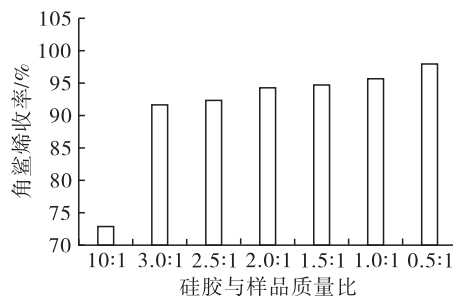


图7 硅胶用量对角鲨烯收率的影响

活性炭吸附能够有效吸附植物沥青中的非极性化合物,从而提高角鲨烯的含量,而原料中的极性化合物则通过极性吸附剂硅胶进行吸附分离。由图 6、图 7 可以看出,经过硅胶过滤吸附后的样品中角鲨烯的含量最高达到 92.54%,但是收率较低,仅为 73.33%,同时大量的硅胶同样会有固废量大的问题,因此考虑硅胶与样品质量比 1:1 较为合适,既能得到较好的角鲨烯含量和收率,又能减少固废的产生。

2.2 吸附纯化植物沥青中角鲨烯的正交实验优化

在单因素实验的基础上,将影响角鲨烯含量和收率的 3 个因素:溶剂极性、活性炭用量、硅胶用量,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验设计,其因素水平见表 1,正交实验结果见表 2。

表1 因素水平

水平	A 丙酮与石油醚体积比	B 硅胶与样品质量比	C 活性炭与样品质量比
1	30:70	1.5:1	3:1
2	15:85	1.0:1	2:1
3	0:100	0.5:1	1:1

表2 正交实验结果

实验号	A	B	C	角鲨烯含量/%	角鲨烯收率/%
1	1	1	1	89.26	84.97
2	1	2	2	82.48	86.51
3	1	3	3	78.27	91.19
4	2	1	3	80.19	87.29
5	2	2	1	82.93	84.55
6	2	3	2	76.66	85.45
7	3	1	2	78.91	87.20
8	3	2	3	73.79	89.38
9	3	3	1	81.65	83.73

角鲨烯含量

k_1 83.34 82.79 84.61

k_2 79.93 79.73 79.35

k_3 78.12 78.86 77.42

R 5.22 3.93 7.19

角鲨烯收率

k_1 87.56 86.49 84.42

k_2 85.76 86.81 86.39

k_3 86.77 86.79 89.29

R 1.80 0.32 4.87

由表2可以看出,各因素对角鲨烯含量和收率的影响大小均为:活性炭用量 > 溶剂极性 > 硅胶用量。获得最佳角鲨烯含量的各因素组合为 $A_1B_1C_1$, 在此条件下角鲨烯含量达到 89.26%, 收率达到 84.97%; 而最佳角鲨烯收率的各因素组合则为 $A_1B_2C_3$, 在此条件下角鲨烯含量达到 80.12%, 收率 92.59%。

在保证产品角鲨烯含量的前提下尽可能提高其收率,最佳工艺条件应为 $A_1B_1C_1$, 即丙酮与石油醚体积比 30:70、硅胶与样品质量比 1.5:1、活性炭与样品质量比 3:1,但是考虑到硅胶用量是 3 个因素中影响最小的,可以适当降低一个水平以使得含量略微降低来获得收率的提高,即选择工艺条件 $A_1B_2C_1$: 丙酮与石油醚体积比 30:70、硅胶与样品质量比 1:1、活性炭与样品质量比 3:1,在此条件下角鲨烯含量达到 87.34%, 收率达到 88.69%。

3 结论

植物沥青中的角鲨烯通过离心和分子蒸馏被富集到 35% ~ 50% 后,采用活性炭和硅胶进行吸附纯化,通过单因素实验表明吸附时间对活性炭提纯角鲨烯没有影响,从工业化角度考虑,可采用尽可能短的时间达到最大的生产能力;正交实验则体现了其他因素对角鲨烯的含量和收率的影响大小:活性炭用量 > 溶剂极性 > 硅胶用量,且根据优化分析结果,最佳的工艺条件为:采用丙酮与石油醚(体积比 30:70)作为溶剂,吸附剂的量分别为硅胶与样品质量比 1:1、活性炭与样品质量比 3:1。在最佳工艺条件下,角鲨烯的含量和收率分别达到了 87.34% 和 88.69%。

参考文献:

- [1] 陈学兵,史宣明,赵抒娜,等. 植物油中提取角鲨烯的研究进展[J]. 中国油脂,2013,38(11):72-74.
[2] 赵振东,孙震. 生物活性物质角鲨烯的资源及其应用研

- 究进展[J]. 林产化学与工业,2004,24(3):107-112.
[3] AMAROWICZ R. Squalene: a natural antioxidant[J]. Eur J Lipid Sci Technol,2009,111(5):411-412.
[4] 张少民,张晓冰,于淞. 角鲨烯的生物意义及其应用[J]. 黑龙江医学,1999(6):18.
[5] OHKUMA T, OTAGIRI K, TANAKA S, et al. Intensification of host's immunity by squalene in sarcoma 180 bearing ICR mice [J]. J Pharmacobio - Dyn, 1983, 6(2): 148 - 151.
[6] RSENTHAL M L. Inhibiting nitrosamine formation: US 4189465[P]. 1980-02-19.
[7] IKEKAWA T, UMEJI M, MANABE T, et al. Studies on antitumor activity of squalene and its related compounds[J]. Yakufuku Zasshi, 1986, 106(7): 578 - 582.
[8] 张豁中,苏兴仁,宋修俭. 鲸鲨鱼肝油乳的抗肿瘤作用的研究[J]. 中国海洋药物,1998,17(4):3.
[9] DEPREZ P P, VOLKMAN J K, DAVENPORT S R. Squalene content and neutral lipid composition of livers from deep sea sharks caught in Tasmanian waters [J]. Aust J Mar Fresh Water Res, 1990, 41(3): 375 - 387.
[10] 毛多斌,贾春晓,孙晓丽,等. 几种功能性植物油中角鲨烯和维生素 E 分析[J]. 中国粮油学报,2007,22(2): 79 - 82.
[11] 肖友国. 植物油脂中生物活性成分的研究与展望[J]. 粮食与食品工业,2006,13(4):1-5.
[12] 官波,郑文成. 功能性脂质——角鲨烯提取纯化及其应用[J]. 粮油食品科技,2010,18(4):27-30.
[13] 吴时敏. 角鲨烯开发利用[J]. 粮食与油脂,2001(1):36.
[14] BONDIOLI P, LANZANI A, FEDELI E, et al. Isolation and purification of squalene from olive oil residues: EP 054199A1[P]. 1992-10-01.
[15] GUNAWAN S, KASIM N S, JU Y H. Separation and purification of squalene from soybean oil deodorizer distillate [J]. Sep Purif Technol,2008,60(2):128-135.

告

读

者

为更好地服务于广大读者,《中国油脂》杂志社常年办理《中国油脂》逾期补订和过刊订阅业务;常年办理油脂专业书籍邮购业务,书目、代号、价格请查阅近期《中国油脂》杂志社专业书籍征订广告。

订阅、邮购地址:西安市劳动路 118 号,《中国油脂》杂志社读者服务部
邮编:710082 电话:029-88653162 联系人:潘亚萍