

油脂营养

尿素包合法富集文冠果油中神经酸的研究

郭莹莹¹,刘玉兰¹,梁绍全¹,李高英²,沈延民²

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 河北润升农业科技有限公司, 河北 邯郸 057451)

摘要:以文冠果籽为原料,低温压榨制取文冠果油,对文冠果油脂肪酸组成进行分析;采用尿素包合法对文冠果油中的神经酸进行富集,以神经酸含量和回收率为考察指标,通过单因素实验和正交实验优化工艺条件。结果表明:文冠果油中含量在1%以上的脂肪酸共有8种,主要脂肪酸为油酸(27.76%)和亚油酸(44.87%),神经酸含量为2.59%;最佳尿素包含富集文冠果油中神经酸工艺条件为尿脂比1:1、料液比1:10、包含温度10℃、包含时间8h,在此条件下神经酸回收率为74.01%,油脂中神经酸含量为9.49%,较未包含前提高约3倍,比稀缺的元宝枫籽油中神经酸含量(约5%)高出近1倍,是一种典型的功能性油脂。

关键词:文冠果油;神经酸;尿素包含;富集技术;气相色谱法

中图分类号:TS225.1;TQ645.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)07-0119-05

Enrichment of nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil by urea inclusion fractionation

GUO Yingying¹, LIU Yulan¹, LIANG Shaoquan¹, LI Gaoying², SHEN Yanmin²

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 2. Hebei Runsheng Agricultural Science and Technology Co., Ltd., Handan 057451, Hebei, China)

Abstract: Using *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. seed as raw material, the *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil was produced by low-temperature pressing. The fatty acid composition of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil was detected and the nervonic acid in *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil was enriched by urea inclusion fractionation. With content and recovery of nervonic acid as the indexes, the enrichment conditions were optimized by single factor experiment and orthogonal experiment. The results showed that there were eight kinds of fatty acids with content above 1% in *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil. The primary fatty acids were oleic acid (27.76%) and linoleic acid (44.87%), and the rare nervonic acid content was 2.59%. The optimal enrichment conditions were determined as follows: ratio of urea to fatty acids 1:1, ratio of material to liquid 1:10, inclusion temperature 10℃ and inclusion time 8 h. Under the optimal conditions, the recovery of nervonic acid was 74.01% and the content of nervonic acid reached 9.49%, which increased about three times than that before inclusion and about one time higher than that in the rare *Acer truncatum* seed oil (about 5%), which was a typical functional oil.

Key words: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. oil; nervonic acid; urea inclusion fractionation; enrichment technology; gas chromatography (GC)

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.)是我国特

有的珍稀木本油料,有“北方油茶”之称^[1]。文冠果籽仁经低温压榨制取的食用油中不饱和脂肪酸含量高达94%,除含有丰富的油酸和亚油酸外,还含有一种稀有的脂肪酸——神经酸(1.4%~2.6%)^[2]。神经酸是一种长链单饱和脂肪酸,化学名为顺-15-二十四碳一烯酸^[3]。因神经酸与人类脑健康

收稿日期:2017-09-24

作者简介:郭莹莹(1992),女,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail) guoyy92424@163.com。

通信作者:刘玉兰,教授,硕士生导师(E-mail) liuy17446@163.com。

密切相关,是一种非常有意义的功能性成分和药品原料^[4],为此也赋予了文冠果油优良的食用价值和特别的功能性。近年来文冠果种植面积和产量逐年提高,资源日渐丰富,但文冠果油相对于同为稀缺神经酸资源的元宝枫籽油,神经酸含量较低(元宝枫籽油中神经酸含量约5%)^[5-6]。尿素包合法是利用尿素低温结晶过程可以将直链饱和脂肪酸或者单不饱和脂肪酸包合在其笼状六棱晶体中从而实现脂肪酸分离的方法^[7-8]。本文以低温压榨制取的文冠果油为原料,对利用尿素包合法富集文冠果油中神经酸的工艺条件和效果进行了研究,以期对富含神经酸的文冠果油的开发提供支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

文冠果,采集自河北邯郸邱县。

无水乙醇、95%乙醇、石油醚(沸程30~60℃)、丙酮、盐酸、三氟化硼-乙醚、氢氧化钠、无水硫酸钠,均为分析纯;正己烷(色谱纯),美国VBS公司;甲醇(色谱纯);神经酸标准品(纯度≥99%),美国Sigma公司。

6YZ-180型全自动液压榨油机,郑州八方机械设备有限公司;7890 B型Agilent气相色谱仪,美国Agilent公司;RE 52-86A旋转蒸发仪;HH-4型数显搅拌水浴锅。

1.2 实验方法

1.2.1 文冠果油的制取

文冠果经剥壳取仁,仁经破碎进液压榨油机室温条件压榨(压力10~55 MPa)得到文冠果油。

1.2.2 文冠果油中神经酸的富集^[9-10]

混合脂肪酸的制备:取50 g油样于500 mL烧瓶中,加入0.5 mol/L NaOH-乙醇溶液400 mL,缓慢升温至80℃,水浴中搅拌1 h得皂化物。静置至室温,加适量蒸馏水洗涤至溶液呈澄清透明。加入20%盐酸调节pH为2~3,转入分液漏斗,加入石油醚,充分搅拌,静置分层,保留石油醚层,分出的水层再加石油醚萃取2次,合并石油醚相。将石油醚层水洗至中性,去除水层,石油醚层加入适量无水硫酸钠脱水,45℃旋蒸,回收石油醚,得脂肪酸混合液,称重,并于-30℃储存备用。

$$\text{混合脂肪酸得率} = \frac{\text{混合脂肪酸质量}}{\text{文冠果油样质量}} \times 100\%$$

尿素包合:分别称取脂肪酸混合液4 g,按不同的尿素-混合脂肪酸质量比(以下简称尿脂比),称取一定量的尿素置于250 mL平底烧瓶中,按一定混合脂肪酸-无水乙醇的质量体积比(以下简称料液

比),在其中加入一定比例的无水乙醇,装好回流装置,缓慢搅拌升温至80℃,待尿素全部溶解后,加入已预热称量的4 g脂肪酸混合液,反应混合物于80℃加热回流并磁力搅拌至澄清透明溶液后,室温冷却,后在预先设定的温度下进行包合反应。一定时间后取出,迅速减压抽滤,滤液真空浓缩回收乙醇,尿素结晶物加适量蒸馏水于45℃水浴溶解,用20%盐酸调节pH为2~3,转移到分液漏斗中,加石油醚萃取3次,合并石油醚层,水洗至中性,加入适量无水硫酸钠脱水,滤液45℃旋蒸回收溶剂,得富集产物,称重。

1.2.3 文冠果油神经酸含量的测定^[11-13]

油样的前处理方法及气相色谱分析方法分别参照GB/T 17376—2008及GB/T 17377—2008。

标准曲线的绘制:准确称取0.091 4 g神经酸标准品于棕色试剂瓶,用1 mL移液枪准确添加22.85 mL甲醇,溶解摇匀,得4 mg/mL的神经酸标准溶液。分别准确移取0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL神经酸标准溶液,进行甲酯化处理,0.45 μm有机滤膜过滤后再进行气相色谱检测。以神经酸质量*m*为横坐标,峰面积*A*为纵坐标进行线性回归分析,绘制神经酸标准曲线。

神经酸含量 = 标线计算的神经酸质量/称样质量 × 100%

神经酸回收率 = 包合物质量 × 包合物中神经酸含量 / (文冠果油混合脂肪酸质量 × 其中神经酸含量) × 100%

2 结果与分析

2.1 文冠果油的脂肪酸组成分析

气相色谱分析得到神经酸标准品甲酯的保留时间为26.258 min;神经酸标准曲线的回归方程为 $A = 57.788 m + 7.488 8$,相关系数 $R^2 = 0.999 8$,表明建立的神经酸含量的标准曲线线性关系良好,有效峰面积区间为0~1 848。

文冠果油的脂肪酸组成测定结果见表1。

表1 文冠果油的主要脂肪酸组成

脂肪酸	保留时间/min	含量/%
棕榈酸	14.768	5.62
硬脂酸	16.871	2.04
油酸	17.470	27.76
亚油酸	18.426	44.87
亚麻酸	19.534	1.10
二十碳一烯酸	19.768	6.49
芥酸	22.603	8.41
神经酸	26.184	2.59

注:含量不足1%的脂肪酸共计1.12%。

由表1可知,文冠果油中主要脂肪酸有8种,含量最高的为油酸和亚油酸,分别为27.76%和44.87%,神经酸含量为2.59%。

由文冠果油制取的混合脂肪酸,计算其得率为92.40%,神经酸含量为2.62%,在此基础上进行尿素包合实验以提纯其中的神经酸。

2.2 尿素包合法富集神经酸的单因素实验

2.2.1 尿脂比对富集效果的影响

尿素分子对不同脂肪酸包合的难易程度不同,不饱和度越高,越难被包合,这是因为尿素分子在结晶过程中与饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸形成较稳定的晶体包合物析出,而多不饱和脂肪酸由于双键较多,碳链弯曲,具有一定的空间构型,不易被尿素包合^[7,14]。控制尿素的用量对包合的选择性有很大影响,因此优先进行考察研究。

选取料液比1:10、包合温度10℃、包合时间12h,考察不同尿脂比对富集效果的影响,结果如图1所示。

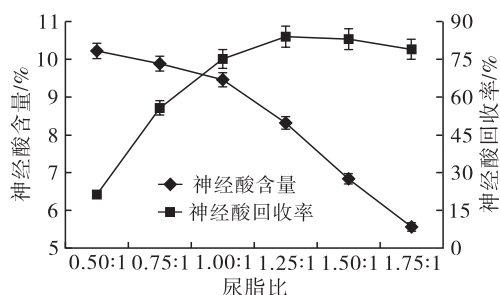


图1 尿脂比对神经酸富集效果的影响

由图1可知,随着尿脂比的增大,神经酸含量呈下降趋势,神经酸回收率呈现急速增加,当尿脂比大于1:1后,神经酸含量显著降低,回收率呈缓慢变化的趋势。这是因为在低尿脂比条件下,形成的包合物少,并且尿素优先包合饱和脂肪酸,神经酸无法得到有效地包合,导致神经酸回收率极低。但尿脂比达到一定程度后,神经酸分子已被大量包合,再增加尿素的使用量,大量的油酸也开始被包合,从而使得包合物中神经酸含量反而降低。综合考虑,选择尿脂比1:1为宜。

2.2.2 料液比对富集效果的影响

选取尿脂比1:1、包合温度10℃、包合时间12h,考察不同料液比对富集效果的影响,结果如图2所示。

由图2可知,料液比在1:6~1:10,包合物中神经酸含量与回收率均逐渐增加,在料液比为1:10时神经酸回收率达到最大值78.20%(神经酸含量为9.52%),之后随料液比的增加神经酸回收率呈明

显下降趋势,神经酸含量增加缓慢。这可能是因为当尿素用量一定时,无水乙醇用量过低,尿素与脂肪酸均无法充分溶解于体系中,包合体系黏度较大,不能形成有效的包合,导致神经酸含量及回收率均偏低^[15],但随着无水乙醇用量不断增加,尿素在体系中浓度不断降低,反应体系推动力减小,包合效果变差,使得神经酸回收率降低^[9]。考虑溶剂回收成本,选择料液比1:10为宜。

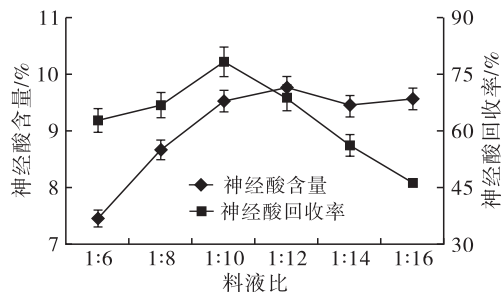


图2 料液比对神经酸富集效果的影响

2.2.3 包合温度对富集效果的影响

选取尿脂比1:1、料液比1:10、包合时间12h,考察包合温度对富集效果的影响,结果如图3所示。

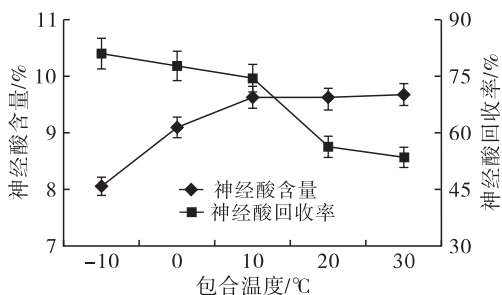


图3 包合温度对神经酸富集效果的影响

由图3可知,神经酸含量先随包合温度升高先升高后呈平缓趋势,而神经酸回收率在低温条件下较高,超过10℃后急剧下降。由于尿素包合反应是一个放热过程,温度降低,利于包合反应的进行,但与此同时过低的温度晶体结晶速率过快,与溶剂一起结晶致使体系黏度增大,晶体表面易夹带溶剂中不易包合的脂肪酸分子,不易分离,过低的温度也可能促使尿素分子包合过多油酸,导致神经酸的纯度下降;温度升高不利于包合反应的进行与晶体的形成,神经酸无法得到有效的包合,但包合反应对脂肪酸的选择性提高^[9,16],这也是包合温度超过10℃后在神经酸回收率急剧降低的情况下依旧有较高的神经酸含量的原因。综合考虑,选择包合温度10℃为宜。

2.2.4 包合时间对富集效果的影响

选取尿脂比1:1、料液比1:10、包合温度10℃,考察包合时间对富集效果的影响,结果如图4所示。

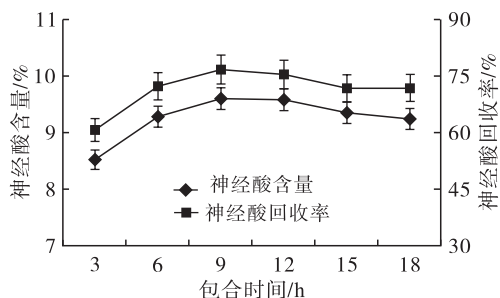


图4 包合时间对神经酸富集效果的影响

由图4可知,随着包合时间的延长,神经酸含量和回收率整体变化不明显,大致呈先升高后降低的规律,包合时间为9 h时最高,神经酸含量为9.61%,神经酸回收率为76.89%。这是因为尿素包合反应是一个包合与解包合的平衡过程,刚好达到平衡即为最佳包合时间。达到平衡后,包合体系可能被破坏,包合的神经酸重新回到液相中,造成尿素包合相中神经酸含量降低^[14],或者有少量尿素以晶体析出,未参与包合反应,降低包合效果^[16]。因此,选择包合时间9 h为宜。

2.3 尿素包合法富集神经酸的正交实验优化

根据单因素实验结果,采用 $L_9(3^4)$ 正交表,以神经酸含量和神经酸回收率为考察指标,尿脂比、料液比、包合温度、包合时间为因素进行正交实验。正交实验因素水平见表2,正交实验结果与分析见表3,方差分析见表4和表5。

表2 正交实验因素水平

水平	A 尿脂比	B 料液比	C 包合温度/℃	D 包合时间/h
1	0.8:1	1:10	0	8
2	1.0:1	1:11	10	9
3	1.2:1	1:12	20	10

由表3、表4可知,用尿素包合法富集文冠果油中的神经酸时,影响神经酸含量的因素主次顺序为 $A > C > B > D$,即尿脂比 > 包合温度 > 料液比 > 包合时间,其中尿脂比和包合温度对神经酸含量具有显著性影响。以神经酸含量为考察指标时,尿素包合法的最佳条件为 $A_1B_1C_2D_3$,即尿脂比0.8:1、料液比1:10、包合温度10℃、包合时间10 h。在最佳条件下进行验证实验,神经酸含量可达9.62%,回收率为64.01%。

由表3、表5可知,影响神经酸回收率的因素主次顺序为 $A > C > B > D$,即尿脂比 > 包合温度 > 料液比 > 包合时间,其中尿脂比和包合温度对神经酸回收率具有显著影响。以神经酸回收率为考察指标时,尿素包合法的最佳工艺条件为 $A_3B_1C_1D_3$,即尿脂比1.2:1、料液比1:10、包合温度0℃、包合时间

10 h。在最佳条件下进行验证实验,神经酸含量可达8.27%,回收率为85.56%。

表3 正交实验结果与分析

实验号	A	B	C	D	含量/%	回收率/%
1	1	1	1	1	9.44	60.64
2	1	2	2	2	9.45	46.65
3	1	3	3	3	9.24	43.02
4	2	1	2	3	9.02	69.98
5	2	2	3	1	8.50	58.20
6	2	3	1	2	8.88	73.23
7	3	1	3	2	7.89	77.33
8	3	2	1	3	8.06	88.45
9	3	3	2	1	8.19	78.83
含量						
k_1	9.38	8.78	8.79	8.71		
k_2	8.80	8.67	8.89	8.74		
k_3	8.05	8.77	8.54	8.77		
R	1.33	0.11	0.35	0.06		
回收率						
k_1	50.10	69.32	74.11	65.89		
k_2	67.14	64.43	65.15	65.74		
k_3	81.54	65.03	59.52	67.15		
R	31.44	4.89	14.59	1.41		

表4 神经酸含量方差分析

因素	离差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	2.682	2	447.000	19.000	*
B	0.022	2	3.667	19.000	
C	0.192	2	32.000	19.000	*
D	0.006	2	1.000	19.000	
误差	0.010	2			

表5 神经酸回收率方差分析

因素	离差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	1492.020	2	389.969	19.000	*
B	43.342	2	11.328	19.000	
C	325.253	2	85.011	19.000	*
D	3.826	2	1.000	19.000	
误差	3.83	2			

由正交实验可知,尿脂比和包合温度对神经酸含量及回收率均呈显著性影响,分析两组验证实验结果,回收率差异较明显,考虑到包合反应中尿素是包合的主体分子,针对过低的回收率,应适当提高尿脂比,保持低温结晶。此外,在优化实验中,料液比和包合时间对神经酸含量及回收率则均无显著性影响,综合考虑包合物中神经酸含量及回收率,以及包合溶剂消耗与时间因素,最终确定尿素包合法富集

文冠果油中神经酸的最佳条件为 $A_2B_1C_2D_1$, 即尿脂比 1:1、料液比 1:10、包合温度 10℃、包合时间 8 h。在优化条件下进行实验, 所得包合物中神经酸含量为 9.49%, 回收率为 74.01%。

2.4 尿素包合物脂肪酸组成分析

在最优包合条件下, 气相色谱检测尿素包合物的脂肪酸组成, 结果见表 6。

表 6 尿素包合物脂肪酸组成

脂肪酸	保留时间/min	含量/%
棕榈酸	14.781	16.74
硬脂酸	16.836	8.15
油酸	17.441	24.85
亚油酸	18.339	6.07
二十碳一烯酸	19.755	8.79
山嵛酸	21.831	2.19
芥酸	22.637	20.50
二十四碳烷酸	25.153	1.54
神经酸	26.174	9.49

注: 含量不足 1% 的脂肪酸共计 1.68%。

对比表 1、表 6 可知, 神经酸含量由 2.59% 大幅增加至 9.49%; 饱和脂肪酸(棕榈酸、硬脂酸、山嵛酸)及长碳链单不饱和脂肪酸(二十碳一烯酸、芥酸、神经酸)等易于被包合的脂肪酸都被富集于包合物中, 含量均有不同幅度地升高; 而油酸、亚油酸、亚麻酸则很少被尿素包合, 含量降低, 其中以亚油酸的降幅最大, 降低了 38.80 个百分点。由于文冠果油中的脂肪酸主要为油酸和亚油酸, 包合物中不可避免地夹带了部分油酸与少量亚油酸。

3 结论

利用尿素包合法对文冠果油中神经酸进行富集, 在尿脂比 1:1、料液比 1:10、包合温度 10℃、包合时间 8 h 的优化工艺条件下, 文冠果油中的神经酸含量从 2.59% 升高到了 9.49%, 神经酸含量提高了约 3 倍, 比富含神经酸的稀缺的元宝枫籽油的神经酸含量(5%左右)高出近 1 倍, 且回收率也较高, 可达到 74.01%。实验结果为富含神经酸文冠果油的开发和工艺路线制定提供了可靠的支持。

参考文献:

- [1] 孙录, 胡文忠, 刘程惠, 等. 文冠果主要功效成分研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(8): 396-399.
- [2] 刘海琪. 木本油料优良树种——文冠果[J]. 特种经济动植物, 2013(2): 30-31.
- [3] 龚蜜, 王亚南, 王素娟, 等. 神经酸的研究进展[J]. 中国蜂业, 2011, 62(Z3): 50-53.
- [4] 王性炎, 王姝清. 神经酸研究现状及应用前景[J]. 中国油脂, 2010, 35(3): 1-5.
- [5] 王性炎, 王姝清. 新资源食品——元宝枫籽油[J]. 中国油脂, 2011, 36(9): 56-59.
- [6] WANG X, FAN S, WANG S, et al. A new resource of nervonic acid from purpleblow maple (*Acer truncatm*) seed oil[J]. Forest Prod J, 2006, 56(11): 147-150.
- [7] 樊莉, 张亚刚, 马莉, 等. 尿素包合法及其在多价不饱和脂肪酸分离纯化中的应用[J]. 兵团教育学院学报, 2002, 12(3): 35-38.
- [8] 曾哲灵, 徐春涛, 熊涛. 尿素包合法分离纯化葵花籽油中亚油酸[J]. 南昌大学学报(理科版), 2007, 31(3): 287-289.
- [9] 吴明一. 尿素包合法纯化不饱和脂肪酸的研究[D]. 天津: 天津大学, 2007.
- [10] WU M, DING H, WANG S, et al. Optimizing conditions for the purification of linoleic acid from sunflower oil by urea complex fractionation[J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85(7): 677-684.
- [11] 罗爱勤, 王小妹, 刘春芳, 等. 蒜头果油中神经酸的含量测定[J]. 中国当代医药, 2014, 21(14): 14-16.
- [12] 邵志凌. 气相色谱法测定元宝枫油中神经酸含量的研究[J]. 粮油加工(电子版), 2014(5): 27-28, 31.
- [13] 郝旭亚, 李伟光, 刘雄民, 等. 气相色谱外标法测定神经酸[J]. 应用化工, 2011, 40(3): 545-546, 549.
- [14] 胡伟, 李湘洲, 吴志平, 等. 响应面法优化尿素包合油茶籽油中油酸工艺研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(1): 17-21.
- [15] 马宇霞, 董娟. 尿素包合法纯化葡萄籽油中亚油酸的研究[J]. 中国油脂, 2013, 38(7): 53-55.
- [16] 安腾奇, 成取林, 余成山, 等. 溶剂结晶和尿素包合法提高油酸纯度的研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(9): 64-68.