

油脂深加工

尿素包合法分离油用牡丹籽油的不饱和脂肪酸工艺优化研究

董秀婷, 杨国恩, 王秋敏, 陈鹏, 张明婉, 刘钺

(中南林业科技大学材料科学与工程学院, 长沙 410004)

摘要:采用正交实验设计对尿素包合法富集牡丹籽油不饱和脂肪酸工艺进行优化。考察了包合反应中尿素与乙醇质量体积比、包合温度、包合时间对产品中 α -亚麻酸含量的影响。结果表明:最佳工艺条件为尿素与95%乙醇质量体积比3:9、包合温度0℃、包合时间15 h, 尿素包合后 α -亚麻酸含量达64.95%。尿素包合法可有效地富集牡丹籽油中的不饱和脂肪酸, 并且可以提高 α -亚麻酸的含量。

关键词:牡丹籽油; 尿素包合法; α -亚麻酸; 气相色谱法

中图分类号:TS225.1; TS201.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2018)08-0039-04

Optimization of urea inclusion process for separation of unsaturated fatty acids from peony seed oil

DONG Xiuting, YANG Guo'en, WANG Qiumin, CHEN Peng, ZHANG Mingwan, LIU Cheng

(College of Materials Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract: Orthogonal experimental design was used to optimize the unsaturated fatty acid enrichment of peony seed oil by urea inclusion method. The effects of urea-ethanol ratio, inclusion temperature and inclusion time on the α -linolenic acid content were investigated. The results showed that the optimal process conditions were obtained as follows: urea-95% ethanol ratio 3:9, inclusion temperature 0℃ and inclusion time 15 h. Under these conditions, the content of α -linolenic acid reached 64.95%. The urea inclusion method could effectively extract unsaturated fatty acids from peony seed oil, and increase the content of α -linolenic acid.

Key words: peony seed oil; urea inclusion; α -linolenic acid; GC

牡丹籽是油用牡丹的成熟种子, 其籽油中不饱和脂肪酸含量达84%, 其中 α -亚麻酸含量为45.4%, 是一种优质的 α -亚麻酸来源^[1-2]。 α -亚麻酸作为人体必需的不饱和脂肪酸, 是 ω -3系列脂肪酸

的母体, 可在人体内形成具有显著生理活性的EPA和DHA, 具有预防心血管疾病、增强免疫力、增长智力和延缓衰老的作用^[3-6]。以牡丹籽油为原料提纯 α -亚麻酸目前没有较多的研究, 工艺尚未成熟。

尿素包合法具有成本低廉、工艺简单、操作温度低等优点, 是一种简单有效的多不饱和脂肪酸富集方法^[7-11]。本文对尿素包合的包合时间、包合温度和尿素与乙醇质量体积比进行了探究, 通过正交实验对工艺条件进行优化, 并用气相色谱测定 α -亚麻酸含量, 旨在为其实现工业化生产提供经济可行的工艺技术。

收稿日期: 2018-02-08; 修回日期: 2018-05-30

基金项目: 2017年度湖南省省级大学生研究性学习和创新性实验计划项目(246)

作者简介: 董秀婷(1996), 女, 在读本科, 专业为林产化工(E-mail) 1621436722@qq.com。

通信作者: 杨国恩, 副教授, 硕士生导师(E-mail) 200203684@sina.com。

1 材料与方法

1.1 实验材料

牡丹籽油(α -亚麻酸含量 45.46%):山东省菏泽谷雨牡丹生物科技有限公司; α -亚麻酸纯品,上海源叶生物科技有限公司;尿素、正己烷、环己烷、冰乙酸、95%乙醇、浓盐酸、碘化钾、一氯化碘、氢氧化钠、氯化钠、无水硫酸钠、重铬酸钾、淀粉等,均为分析纯;硫代硫酸钠标准溶液、蒸馏水,均为实验室自制;甲醇、正己烷,均为色谱纯。

电子恒温水浴锅,数显水浴锅,循环水式真空泵,分析天平,超声清洗机,旋转蒸发仪,低温冷却剂,890A-5975C 气相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 牡丹籽油混合脂肪酸的制备^[12]

称取 30 g 牡丹籽油缓慢加入到 120 mL 4.5% 氢氧化钠 95% 乙醇溶液中,77℃ 水浴搅拌皂化 80 min,静置至室温后加入蒸馏水至溶液澄清。用浓盐酸调溶液 pH 2~3,加入正己烷于分液漏斗中萃取两次,静置,弃水层,蒸馏水水洗有机相至中性,用无水硫酸钠脱水后 60℃ 旋转蒸发去除正己烷,得混合脂肪酸。

1.2.2 不饱和脂肪酸的提取和富集

称取 30 g 尿素,加入一定比例 95% 乙醇溶液于 500 mL 三口烧瓶,置于 75℃ 的恒温水浴中磁力搅拌并加热回流,至溶液澄清。加入 10 g 已在 60℃ 水浴中预热过的牡丹籽油混合脂肪酸,继续搅拌至混合溶液呈透明的淡黄色后,冷却至室温;置于设定温度的冰箱中一定时间,使尿素包合物结晶沉淀;迅速抽滤,滤饼回收尿素;用 10% 的 HCl 溶液酸化滤液至 pH 2~3,将溶液移至分液漏斗中。用正己烷萃取水相 2~3 次,弃去水层,合并有机相,有机相以 5% NaCl 水溶液水洗至中性,加入少量无水硫酸钠脱水;抽滤,旋转蒸发回收溶剂,得到富集的不饱和脂肪酸。

1.2.3 碘值的测定

碘值的测定参照 GB/T 5532—2008。

1.2.4 脂肪酸组成测定

甲酯化方法^[13]:称量待测样品 1.000 0 g 置于带塞子的锥形瓶中,加入 10 mL $H_2SO_4 - CH_3OH$ (1:10) 溶液,70℃ 超声振荡 1 h,用正己烷萃取 2 次,合并萃取液,蒸馏水洗涤多次,无水硫酸钠干燥,取上清液备用,用于 GC 分析。

气相色谱条件^[14]:色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m × 320 μm × 0.25 μm);载气为高

纯氮气;柱升温程序,初始温度 60℃,保留 2 min,以 5℃/min 的速率升至 200℃,保留 2 min,再以 0.3℃/min 的速率升至 210℃,保留 2 min,以 20℃/min 的速率升至 250℃,保留 2 min;进样口温度 250℃;进样量 1 μL ;分流比 30:1;柱流量 5 mL/min;GC 接口温度 250℃。

1.2.5 数据处理

每个实验重复 3 次,结果表示为“平均值 ± 标准偏差($x \pm SD$)”。采用 Excel 2007 统计分析软件进行基础数据整理、分析与作图,运用 SPSS 19.0 对结果进行统计分析,显著水平取 $p < 0.05$ (差异显著)。

2 结果与分析

2.1 尿素包合法单因素实验

2.1.1 尿素与乙醇质量体积比对包合反应的影响

牡丹籽油分别在尿素与乙醇质量体积比为 3:6、3:7、3:8、3:9、3:10、3:11、3:12 的实验条件下进行包合,包合时间 9 h,包合温度 -10℃,对不饱和脂肪酸进行碘值测定,结果见图 1。

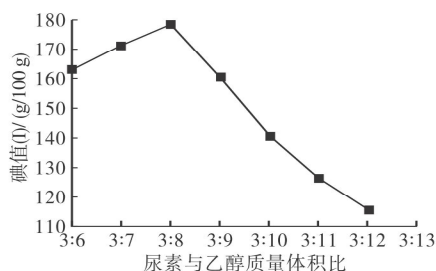


图1 尿素与乙醇质量体积比对碘值的影响

由图 1 可知,在尿素与乙醇质量体积比为 3:6~3:8 的实验条件下,乙醇用量增加,碘值增大。当尿素与乙醇质量体积比大于 3:8 时,碘值开始降低。这是由于当乙醇用量较少时,尿素不能完全溶解,增加溶液的黏稠度,包合脂肪酸不完全;但当乙醇用量过多,尿素浓度降低,致使包合反应向反方向进行^[3]。由此得出,当尿素与乙醇质量体积比为 3:8 时,包合效果良好,碘值(I)为 178.2 g/100 g。

2.1.2 包合时间对包合反应的影响

牡丹籽油在尿素与乙醇质量体积比 3:8、包合温度 -10℃ 的条件下进行包合,包合时间分别为 3、6、9、12、15、18、21 h,对不饱和脂肪酸进行碘值测定,结果见图 2。

由图 2 可知,在包合时间为 18 h 时,碘值达到最高值。这是因为随着包合时间的延长,反应逐渐达到平衡,牡丹籽油混合脂肪酸中饱和脂肪酸和部分单不饱和脂肪酸逐渐被包合,碘值逐渐增大,在

18 h时,尿素包合结晶产物充分形成,因此碘值变化逐渐趋于平缓。所以包合时间为18 h,包合效果最佳,此时碘值(I)为189.3 g/100 g。

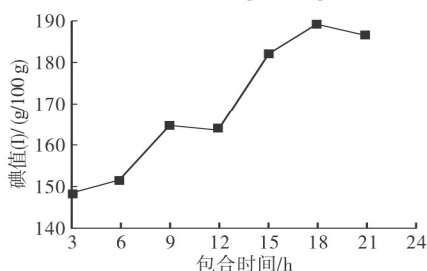


图2 包合时间对碘值的影响

2.1.3 包合温度对包合反应的影响

牡丹籽油在尿素与乙醇质量体积比3:8、包合时间18 h的条件下进行包合,包合温度分别为-30、-20、-10、0、10、20、30℃,对不饱和脂肪酸进行碘值测定,结果见图3。

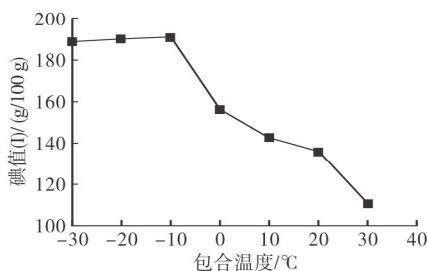


图3 包合温度对碘值的影响

由图3可知,随着包合温度的降低,碘值逐渐增大。这是因为尿素包合反应是放热反应,随着温度的降低,包合反应向正方向进行,使牡丹籽油混合脂肪酸中饱和脂肪酸和部分单不饱和脂肪酸逐渐被尿素包合^[4]。所以,包合温度为-10℃,包合效果良好,此时碘值(I)为191.1 g/100 g。

2.2 正交优化实验

利用正交设计助手II 3.1软件,在单因素实验的基础上设计正交实验,选用 $L_9(3^4)$ 正交表,以 α -亚麻酸含量为考察指标,对包合时间、包合温度和尿素与乙醇质量体积比采用正交实验进行工艺条件优化,以确定尿素包合法提纯牡丹籽油 α -亚麻酸的适宜工艺条件。正交实验因素水平见表1,正交实验结果及分析见表2,方差分析见表3。

表1 正交实验因素水平

水平	A 尿素与乙醇 质量体积比	B 包合 时间/h	C 包合 温度/℃
1	3:7	15	0
2	3:8	18	-10
3	3:9	21	-20

表2 正交实验结果及分析

实验号	A	B	C	α -亚麻酸含量/%
1	1	1	1	63.99
2	1	2	2	60.15
3	1	3	3	60.59
4	2	1	2	62.45
5	2	2	3	62.06
6	2	3	1	63.61
7	3	1	3	64.87
8	3	2	1	64.28
9	3	3	2	61.15
k_1	61.577	63.770	63.960	
k_2	62.707	62.163	61.250	
k_3	63.433	61.783	62.507	
R	1.856	1.987	2.710	

表3 方差分析

方差来源	偏差平方和	自由度	F	显著性
A	5.252	2	0.899	
B	6.673	2	1.142	
C	11.035	2	1.888	显著
误差	23.38	2		

由表2、表3得出,各因素对 α -亚麻酸含量影响的主次关系为:包合温度>包合时间>尿素与乙醇质量体积比,尿素包合最佳工艺组合为 $A_3B_1C_1$,即尿素与乙醇质量体积比3:9、包合时间15 h、包合温度0℃,此条件下 α -亚麻酸的含量最高。

2.3 验证实验

在尿素与乙醇质量体积比3:9、包合时间15 h、包合温度0℃条件下进行4次验证实验,结果见表4。

表4 验证实验

指标	实验1	实验2	实验3	实验4
α -亚麻酸含量/%	64.93	64.93	64.96	64.98

由表4可知,最佳工艺条件下的 α -亚麻酸含量平均值为64.95%,高于正交实验中最好7号条件下的 α -亚麻酸含量64.87%,说明正交实验优选出的条件是合适的。

3 结论

正交实验得出,在尿素与乙醇质量体积比3:9、包合时间15 h、包合温度0℃的条件下, α -亚麻酸含量达到64.95%。牡丹籽油经过皂化水解,尿素包合处理后,去掉了牡丹籽油脂肪酸中的硬脂酸、棕榈酸等饱和脂肪酸,得到的不饱和脂肪酸含量有明显的提高,其中 α -亚麻酸含量由45.46%提升到64.95%,实现了较大程度的分离和纯化,在工艺生

(下转第46页)

- sahehaenoic acid biosynthesis via fatty acyl elongase and $\Delta 4$ -desaturase and its modulation by dietary lipid level and fatty acid composition in a marine vertebrate[J]. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Mol Cell Biol Lipids*, 2015 (5):588-597.
- [7] 张红燕,李晔,袁贝,等.金枪鱼油冬化前后脂肪酸含量和主体风味的解析[J].*核农学报*,2017,31(2):314-324.
- [8] 孙文菊,武瑞霞,陈杨扬,等.尿素包合法富集鱼油中EPA和DHA的研究[J].*食品工业*,2016,37(10):37-40.
- [9] 王亚男,徐茂琴,季晓敏,等.分子蒸馏富集金枪鱼油 ω -3脂肪酸的研究[J].*中国食品学报*,2014,14(7):52-58.
- [10] 董志俭,王庆军,邵飞先,等.明胶/桃胶复合凝聚凝胶化鱼油微胶囊的氧化稳定性研究[J].*中国食品学报*,2014,14(7):66-72.
- [11] HEROLD P M, KINSELLA J E. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease; a comparison of findings from animal and human feeding trials [J]. *Am J Clin Nutr*, 1986, 43(2):566-598.
- [12] WILLIAM C E. Importance of n -3 fatty acids in health and disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71:171S-175S.
- [13] 闵征桥,高盼,何东平,等.尿素包合法富集鱼油中EPA和DHA的工艺研究[J].*粮油食品科技*,2013,21(6):25-29.
- [14] 翟元春,张润光,封斌奎,等.尿素包合分离核桃油中亚油酸工艺优化[J].*食品工业科技*,2015,36(10):311-319.
- [15] HAO L P, CAO X J, HUR B K. Separation of single component of EPA and DHA from fish oil using silver ion modified molecular sieve 13X under supercritical condition [J]. *J Ind Eng Chem*, 2008, 14(5): 639-643.
- [16] SOLEIMANIAN Y, SAHARI M A, BARZEGAR M. Influence of processing parameters on physicochemical properties of fractionated fish oil at low temperature crystallization[J]. *Nutr Food Sci*, 2015(1):2-19.
- [17] MONTA S F, CATCHPOLE O J, TALLON S, et al. Semi-preparative supercritical chromatography scale plant for polyunsaturated fatty acids purification[J]. *J Supercr Fluids*, 2013, 79: 46-54.
- [18] 张楠,林文,戴琳,等.超临界萃取制备亚麻籽油并用尿素包合提纯亚麻酸的工艺研究[J].*中国粮油学报*,2016,31(2):39-42.
- [19] 张海祥,方婷婷,潘文娟,等.响应曲面法优化尿素包合富集蚕蛹油 α -亚麻酸的工艺[J].*食品科学*,2011,32(4):74-77.

(上接第41页)

产上具有一定的参考价值。尿素包合法提纯牡丹籽油过程中尿素可以回收,回收率约60%,生产成本低,且操作方法简单高效,有利于扩大规模用于工业化生产,具有广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] 戚军超,周海梅,马锦琦,等.牡丹籽油化学成分GC-MS分析[J].*粮食与油脂*,2005,8(11):23-24.
- [2] 姚茂君,李静.牡丹籽油亚临界流体萃取工艺优化[J].*食品科学*,2014,35(14):53-57.
- [3] 张海满,刘福祯,戴玲妹.尿素包合法纯化 α -亚麻酸工艺研究(II)— α -亚麻酸纯化过程正交实验研究[J].*中国油脂*,2001,26(3):53-54.
- [4] 张海满,刘福祯,戴玲妹.尿素包合法纯化 α -亚麻酸工艺研究(I)— α -亚麻酸纯化过程单因素实验研究[J].*中国油脂*,2001,26(2):41-44.
- [5] 毛善巧,李西俊.牡丹籽油的研究进展及油用牡丹综合利用价值分析[J].*中国油脂*,2017,42(5):123-126.
- [6] 罗国平,梁宇柱,闫梦茹,等.超声波辅助提取牡丹籽油的工艺优化研究[J].*中国油脂*,2017,42(5):1-4.
- [7] 吕秋楠,史高峰,陈学福,等.尿素包合法纯化蚕蛹油中 α -亚麻酸工艺研究[J].*中国油脂*,2009,34(8):32-35.
- [8] 宫宇嘉,王鑫,徐丽萍.尿素包合法纯化 α -亚麻酸方法的研究[J].*哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*,2014(4):500-505.
- [9] 张海祥,方婷婷,潘文娟,等.响应曲面法优化尿素包合富集蚕蛹油 α -亚麻酸的工艺[J].*食品科学*,2011,32(4):74-77.
- [10] 程安玮,孙金月,王维婷,等.牡丹籽油的研究进展[J].*食品科学技术学报*,2016,34(3):79-84.
- [11] 张海满,刘福祯. α -亚麻酸的功能、资源及生产方法[J].*中国油脂*,2000,25(6):192-194.
- [12] 吴丽雅,黄群,余佶,等.杜仲籽油混合脂肪酸制备工艺优化及脂肪酸组成分析[J].*食品工业科技*,2013,34(14):287-291.
- [13] 李莉莉,唐红,魏晋梅,等.紫斑牡丹籽油提取工艺的优化及脂肪酸组成的研究[J].*食品工业科技*,2015,36(24):230-234,238.
- [14] 高婷婷,王亚芸,任建武.GC-MS法分析牡丹籽油的成分及其防晒效果的评定[J].*食品科技*,2013(6):296-299.