

植物甾醇提取纯化方法研究进展

王媛媛, 马改琴, 李跃凡, 李琪, 高媛, 于修烛

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 粮油功能化加工陕西省高校工程研究中心, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 为了提高植物甾醇的提取效率和纯度, 对植物甾醇的结构和来源, 提取纯化方法及其辅助技术的原理、种类、特点以及应用等进行归纳分析, 并对今后的研究方向提出了建议。植物甾醇来源广泛, 但传统的植物甾醇提取纯化方法如溶剂萃取法等存在收率低、纯度低以及影响环境等缺点, 具有一定局限性。新型的植物甾醇提取纯化方法如超临界 CO₂ 法等具有操作简单、无毒、产品纯度高优点, 是一种环保高效的提取方法。辅助提取技术如酶、微波、超声波和磁场等能够优化对植物甾醇的提取纯化工艺, 提高提取纯化效率。通过将传统方法进行改良、与新型方法结合、优化工艺参数以及开发新的提取纯化技术等措施, 实现植物甾醇的高效提取纯化。

关键词: 植物甾醇; 结构; 来源; 提取; 纯化

中图分类号: TS229; TQ645

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2024)02-0114-09

Research progress on extraction and purification methods of phytosterols

WANG Yuanyuan, MA Gaiqin, LI Yuefan, LI Qi, GAO Yuan, YU Xiuzhu

(Engineering Research Center of Grain and Oil Functionalized Processing in Universities of Shaanxi Province, College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: In order to improve the extraction efficiency and purity of phytosterols, the structure and source of phytosterols, extraction and purification methods and auxiliary technologies including principle, species, characteristics and applications were summarized and analyzed, and the future research direction was proposed. The phytosterols come from a wide range of sources. Traditional methods of extraction and purification of phytosterols, such as solvent extraction, have some limitations, such as low yield, low purity and environmental impact. The novel extraction and purification methods of phytosterols, such as supercritical CO₂ method, have the advantages of simple operation, non-toxic, high product purity, which is an environmentally friendly and efficient extraction method. Auxiliary extraction technologies such as enzyme, microwave, ultrasonic and magnetic field can optimize the extraction and purification process of phytosterols and improve the extraction and purification efficiency. By improving the traditional methods, combining with new methods, optimizing technological parameters and developing new extraction and purification technology in the future, the efficient extraction and purification of phytosterols could be realized.

Key words: phytosterols; structure; source; extraction; purification

收稿日期: 2022-10-24; 修回日期: 2023-10-02

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2019YFD1002403)

作者简介: 王媛媛(1999), 女, 在读硕士, 研究方向为功能性油脂及安全检测(E-mail) it0118@126.com。

通信作者: 于修烛, 教授, 博士(E-mail) xiuzhu@nwafu.edu.cn。

植物甾醇是一种天然存在于植物细胞膜的三萜类化合物, 是多种激素、维生素 D 及甾族化合物等生物合成的前体物质, 具有降血脂、降胆固醇、治疗心血管疾病、抗癌、抗炎等多种功效^[1]。目前, 对植物甾醇的急性毒性、亚急性毒性、慢性毒性、生殖毒性以及致突变性的研究未显示异常^[2]。植物甾醇已被美国食品药品监督管理局和欧盟委员会认定是

一种安全无害的生物活性物质^[3],已应用于食品、化妆品、医药、工业等领域^[1]。传统的植物甾醇提取纯化方法,如溶剂萃取法存在提取效率低、损失大、污染环境等缺点。为了解决这些问题,加压液体萃取法、高速逆流色谱法、超临界 CO₂法、酶辅助、微波辅助、超声波辅助、磁场辅助等^[4]新型方法和辅助技术不断被投入使用,极大提高了植物甾醇的提取效率和质量。本文就植物甾醇的结构和来源、提取纯化方法及其辅助技术进行总结和分析,以期能为植物甾醇的高效提取和纯化提供参考。

1 植物甾醇的结构和来源

植物甾醇为白色固体,呈片状或粉末状,熔点

较高,不溶于水,溶于有机溶剂^[5]。植物甾醇包括 4-无甲基甾醇、4-单甲基甾醇和 4,4-双甲基甾醇三类^[6],其结构上具有四环类固醇核、3 β -羟基和 5,6-双键,常见的 4-无甲基甾醇之间的化学差异在于 C-17 支链中的碳原子数以及 22 位是否存在双键,植物甾醇在 C-5 上都含有一个双键,共有 28 个或 29 个碳原子^[7]。

植物甾醇广泛存在于植物的根、茎、叶、果实和种子中。油料作物中的植物甾醇含量最高,其中以米糠油、谷物胚芽油等植物油以及塔尔油中的含量最为丰富^[8]。常见的植物甾醇种类包括 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇和菜籽甾醇^[9](见表 1)。

表 1 常见植物甾醇

种类	来源	性质	功能特性	参考文献
β -谷甾醇	各种谷物、坚果等植物种子	无臭、无味,极易溶于氯仿和二硫化碳,微溶于乙醇和丙酮,不溶于水	降胆固醇、抑制肿瘤、抗炎、抗动脉粥样硬化、修复组织、预防肥胖等	[10-11]
豆甾醇	大豆、扁豆、烟草等草本植物	易溶于氯仿、苯、醋酸乙酯等有机溶剂,不溶于水	降胆固醇、抗癌、抗骨关节炎,用作甾体激素合成原料,也可用作维生素 D ₃ 的生产原料等	[12-13]
菜油甾醇	淡竹叶及根茎、油菜种子、烟叶、玉米须等	可溶于甲醇、乙醇等有机溶剂	降胆固醇、抗癌、抗菌和抗氧化	[14-15]
菜籽甾醇	浮游植物、油菜等	微溶于氯仿、甲醇等有机溶剂,水溶性低,难降解	抗癌、抗病毒、抗感染、保护心血管等	[16-17]

植物甾醇存在形式有游离甾醇、甾醇酯、甾醇糖苷等^[18],其中,植物甾醇酯天然存在于大豆、大米胚芽中,在谷物种子、小麦、黑麦中也存在大量谷甾醇和菜油甾醇的甾醇酯^[19]。植物甾醇酯是一种功能性食品基料,其功能特性与植物甾醇类似,含有植物甾醇酯的植物油涂抹酱作为降胆固醇功能性食品已在全球 20 多个国家销售^[20]。常见的甾醇糖苷包括 β -谷甾醇- β -D-葡萄糖苷、豆甾醇-3 β -葡萄糖苷等,主要存在于植物原油中,部分药材中也

含有植物甾醇糖苷,如墨旱莲^[21]、重楼^[22]等。甾醇糖苷具有重要的生物学功能,包括调节宿主对病原体的防御、脂质代谢和发育等^[23]。

2 植物甾醇的提取、纯化方法

植物甾醇的提取方法包括溶剂萃取法、皂化法、加压液体萃取法、超临界 CO₂法等,纯化方法包括分子蒸馏法、溶剂结晶法、柱层析法、高速逆流色谱法等。表 2 总结了植物甾醇提取、纯化方法的原理、特点以及适用范围。

表 2 植物甾醇提取、纯化方法

种类	方法	原理	特点	适用范围	参考文献
	溶剂萃取法	溶剂回流和虹吸原理	操作简单,成本低;但耗时长,所需有机溶剂多	提取	[24-26]
	分子蒸馏法	物质分子运动的平均自由程差异	可重复进行,适用于热敏性化合物;但步骤多,成本高	提取、纯化	[27-30]
传统方法	皂化法	碱溶液和脱臭馏出物间的皂化反应	操作简单,工艺安全;但原料利用率、产品收率和纯度不高	提取	[31-32]
	溶剂结晶法	物质在有机溶剂中溶解度的差异	操作简单,适合工业生产;但所需有机溶剂较多	纯化	[33-37]
	柱层析法	物质在洗脱液与吸附剂之间分配的差异	成本低,选择性高;但耗时长,需要大量溶剂	提取、纯化	[38-40]

续表 2

种类	方法	原理	特点	适用范围	参考文献
	加压液体萃取法	高压提高溶剂沸点, 高温提高溶剂扩散率	所需时间和有机溶剂少, 自动化程度和提取质量高	提取	[41-44]
新型方法	超临界 CO ₂ 法	超临界流体作为溶剂进行提取	操作简单, 环境友好, 提取效率、质量和稳定性高	提取	[45-46]
	高速逆流色谱法	物质在两种溶剂之间分配的差异	样品无损失, 提取效率高, 溶剂选择性多, 可对样品定量回收	提取、纯化	[47-48]

2.1 提取方法

2.1.1 溶剂萃取法

溶剂萃取法是通过不同有机溶剂或有机溶剂与水的混合物进行提取的方法, 包括浸渍法和索氏提取法。浸渍法通过将样品在溶剂中浸泡进行提取^[24]; 索氏提取法通过溶剂回流和虹吸原理, 用溶剂反复提取样品^[25], Kasim 等^[26]利用索氏提取法从大豆油脱臭馏出物中提取了植物甾醇。溶剂萃取法操作简单、成本低, 但耗时长, 并且在室温下难以提取难溶性化合物, 正己烷、石油醚、二氯甲烷等有机溶剂的使用也会对环境产生不利影响。随着溶剂萃取法的不断改进, 其萃取效率不断提高, 目前已开发出用深共晶溶剂对植物甾醇进行提取的方法, 深共晶溶剂是一种无毒的绿色试剂, 用于提取食用油、牛奶和奶油中的植物甾醇, 提取率高达 90%^[49-50]。

2.1.2 皂化法

皂化法是通过碱溶液与脱臭馏出物进行皂化反应, 将植物甾醇酯转化为脂肪酸盐和游离甾醇, 再用有机溶剂提取游离甾醇^[4]。赵茜茜等^[32]采用皂化法从文冠果种仁油中提取植物甾醇, 皂化后通过结

晶可将粗甾醇的纯度从 14% 提高到 55%。皂化法操作简单, 工艺安全, 但皂化后通常还需经溶剂萃取、结晶等工艺精制植物甾醇, 原料利用率、产品收率和纯度等均不高。

2.1.3 加压液体萃取法

加压液体萃取法是通过施加压力, 使用高于正常沸点的液体作为提取溶剂进行提取的方法, 一般在室温 ~ 200 °C 和 3.5 ~ 20 MPa 的条件下进行提取^[41]。加压液体萃取法能够提高萃取动力, 降低溶剂黏度和表面张力, 增加溶剂的扩散率, 使溶剂更好地渗透到基质中, 从而提高了萃取效率^[4]。

加压液体萃取法通常以乙醇或异丙醇为溶剂对植物甾醇进行提取, 常用于提取 β -谷甾醇。De Oliveira 等^[42]研究发现, 采用加压液体萃取法以乙醇或异丙醇为溶剂提取巴巴苏杏仁油中 β -谷甾醇, 提取液中目标物的浓度高于传统方法提取的, De Mello 等^[51]研究发现, 加压液体萃取法提取的萝卜籽油中植物甾醇含量比超声波辅助的高 30%。与传统的溶剂萃取法相比, 加压液体萃取法所需的时间和有机溶剂用量少, 提取率高^[43-44]。常见加压液体萃取法提取植物甾醇的应用如表 3 所示。

表 3 常见加压液体萃取法提取植物甾醇的应用

原料	条件	溶剂	分析方法	植物甾醇种类	植物甾醇含量/(mg/100 g)	参考文献
巴巴苏杏仁	温度 60 °C、压力 10.34 MPa	乙醇、异丙醇	GC-MS	β -谷甾醇	25.94	[42]
巴西坚果仁	温度 86 °C、压力 10.35 MPa、时间 9 min	乙醇、异丙醇	HPLC	β -谷甾醇	40.32	[52]
油橄榄种子	温度 100 °C、压力 10.3 MPa、时间 10 min	乙酸乙酯	GC-MS	β -谷甾醇	365	[53]
萝卜籽	温度 135 °C、压力 5 MPa、时间 10 min	乙醇	GC-MS	总植物甾醇	444.20	[51]
海甘蓝籽	温度 140 °C、压力 10 MPa、时间 135 min	碳酸二甲酯	GC-MS	总植物甾醇	272.50	[43]
海甘蓝籽	温度 180 °C、压力 10 MPa、时间 30 min	乙酸甲酯	GC	总植物甾醇	501.87	[44]

注: 植物甾醇含量为提取物的。下同

2.1.4 超临界 CO₂ 法

超临界流体是一种处于临界温度和临界压力以上的流体, 通常表现出液体和气体之间的物理化学性质, 并且由于其具有低黏度、高密度和高扩散率等

特征, 因此其具有较强的穿透力, 更有利于传质^[45]。CO₂ 是最常用的超临界流体, 其临界温度和临界压力较低, 具有安全、廉价、可回收^[4] 的优点。然而, CO₂ 的低极性限制了其应用范围, 为了克服这个问

题,可在提取过程中使用极性助溶剂,如乙醇、甲醇、水、乙酸以及甲酸等,以增加其溶解度,提高提取率^[45]。使用超临界 CO₂法提取植物甾醇,通常采用乙醇作为助溶剂。Asl 等^[46]采用 95% CO₂和 5% 乙

醇(质量分数)作为混合超临界流体提取菜籽油脱臭馏出物中的植物甾醇,可提高植物甾醇的回收率。常见超临界 CO₂法提取植物甾醇的应用如表 4 所示。

表 4 常见超临界 CO₂法提取植物甾醇的应用

原料	条件	分析方法	植物甾醇种类	植物甾醇含量/(mg/100 g)	参考文献
甘蔗渣	温度 40℃、压力 40 MPa、时间 3.5 h、流速 6 mL/min	GC-MS	总植物甾醇	30.0	[54]
黄瓜籽	温度 33℃、压力 20 MPa、时间 3 h、流速 11 g/min	GC-MS	β -谷甾醇 豆甾醇	30.4* 12.1*	[55]
南瓜籽、皮混合物	温度 333 K、压力 20 MPa、时间 3 h、流速 3 mL/min	GC-MS	总植物甾醇	1 240.9 ~ 1 858.8	[56]
黑豆副产物	温度 40℃、压力 10 MPa、流速 2 g/min	GC-MS	β -谷甾醇 豆甾醇	2.27 2.37	[57]
翅果油树籽	温度 50℃、压力 30 MPa、时间 150 min、流速 40 g/min	GC-FID	总植物甾醇	364.34	[58]
番石榴籽	温度 52℃、压力 35.7 MPa、时间 150 min、流速 30 g/min	GC-MS	β -谷甾醇	1 048.90	[59]
浆果渣	温度 60℃/50℃、压力 50 MPa/35 MPa、时间 810 min、流速 2 L/min	UPLC	β -谷甾醇	359.5 ~ 514.5	[60]
核桃	温度 45℃、压力 20 MPa、时间 4 h、流速 2 L/min	GC-MS	β -谷甾醇	117.00	[61]
蓝藻	温度 50℃、压力 26.63 MPa、时间 2 h、流速 4 L/min	GC-MS	总植物甾醇	2 414.40	[62]

注: * 为种子中

2.2 纯化方法

2.2.1 分子蒸馏法

分子蒸馏法是一种利用短程蒸发器进行真空蒸馏的方法^[27]。分子蒸馏过程是在低温和高真空条

件下进行的,因此没有热降解的风险,还可以避免样品发生氧化,适用于高相对分子质量和热敏性材料的分离和纯化^[30]。常见分子蒸馏法提取纯化植物甾醇的应用见表 5。

表 5 常见分子蒸馏法提取纯化植物甾醇的应用

原料	条件	溶剂	检测方法	植物甾醇种类	植物甾醇含量/(mg/g)	植物甾醇收率/%	参考文献
大豆油脱臭馏出物	流速 100 mL/h、温度 100℃、压力 0.1 Pa、刮膜转速 380 r/min	甲醇	HPLC	β -谷甾醇	32.83		[29]
菜籽油和大豆油脱臭馏出物		乙醇	HPLC	总植物甾醇		95	[29]

2.2.2 溶剂结晶法

溶剂结晶法一般采用非极性溶剂对植物甾醇进行富集,然后进一步重结晶纯化^[5]。溶剂结晶法操作简单,适合工业化生产,但所需有机溶剂较多。在采用溶剂结晶法时,要根据溶剂的性质选用合适的温度,如植物甾醇在较高温度下更易溶于正己烷,因此选用正己烷作为溶剂时应在低温下结晶纯化^[33]。以正己烷和乙酸乙酯作为溶剂时,采用降温结晶的

方法可得到纯度高达 98.3% 的植物甾醇^[34]。甘欢华等^[35]采用石油醚作为洗涤溶剂,95% 乙醇作为精制溶剂,对大豆油脱臭馏出物中的植物甾醇进行提取、纯化,所得植物甾醇纯度可达 98.7%。冯文欢等^[37]采用溶剂结晶法富集植物甾醇中的豆甾醇,利用超声波辅助在极性溶剂中对豆甾醇进一步重结晶精制,最终将豆甾醇的纯度提高至 99.36%。常见溶剂结晶法纯化植物甾醇的应用如表 6 所示。

表6 常见溶剂结晶法纯化植物甾醇的应用

原料	条件	溶剂	检测方法	植物甾醇种类	植物甾醇收率/%	植物甾醇纯度/%	参考文献
混合植物甾醇	结晶温度 5℃、时间 4 h、料液比 1:15	正己烷、乙酸乙酯	GC	总植物甾醇	83.21	98.3	[34]
大豆油脱臭馏出物预处理后的粗甾醇	温度 30℃、时间 4 h、料液比 1:10	石油醚、95% 乙醇	GC	总植物甾醇	86.5	98.7	[35]
玉米丝	结晶温度 8℃、时间 12 h、料液比 1:1	甲醇	GC	总植物甾醇		92.76	[36]
植物甾醇	温度 25℃、时间 3 h、料液比 1:70	丙酮	GC-MS	豆甾醇		99.36	[37]

2.2.3 柱层析法

柱层析法是利用甾醇在洗脱液与吸附剂之间分配的差异,达到分离纯化目的的方法。柱层析法成本低,选择性高,但耗时长,并且需要大量溶剂。常用柱层析技术包括大孔树脂吸附、硅胶色谱和凝胶过滤色谱^[27]。徐艳阳等^[38]采用大孔吸附树脂对桑白皮甾醇进行柱层析,得到的植物甾醇纯度可达 50.48%。目前,已经开发出以氧化石墨烯作为固相吸附剂纯化植物甾醇的方法,采用合成

磁性氧化石墨烯从菜籽油脱臭馏出物中富集 β -谷甾醇,其收率可达 86%^[39]。将氧化石墨烯基复合单片作为 β -谷甾醇的新型吸附剂,富集葵花籽油、芝麻油、花生油和花生饼中的植物甾醇,其植物甾醇平均收率为 91.70%^[40]。开发新型吸附剂材料对植物甾醇的提取纯化有着重要作用,但是对于吸附剂的稳定性以及可重复利用性问题仍有待深入研究。常见柱层析法纯化植物甾醇的应用如表 7 所示。

表7 常见柱层析法纯化植物甾醇的应用

原料	条件	溶剂	检测方法	植物甾醇种类	植物甾醇收率/%	植物甾醇纯度/%	参考文献
桑白皮	D-900 大孔吸附树脂、流速 0.25 mL/min	乙醇、氯仿	GC-MS	总植物甾醇		50.48	[38]
植物油	温度 30℃、流速 1.0 mL/min	甲醇	HPLC	β -谷甾醇	91.70		[40]

2.2.4 高速逆流色谱法

高速逆流色谱法是一种基于物质在两相之间分配的差异对物质进行分离纯化的技术^[47]。采用微波辅助高速逆流色谱法从食用海藻中制备植物甾醇,产品纯度可达 97% 以上^[48]。合适的溶剂体系对分离纯化效果有重要影响,提取纯化植物甾醇常

用的溶剂体系有正己烷-甲醇-硝酸银水溶液、正己烷-乙腈-甲醇等。高速逆流色谱法消除了样品在固体载体基质柱上的不可逆吸附损失,提取效率高,溶剂种类多,能够对样品进行定量回收^[48]。常见高速逆流色谱法纯化植物甾醇的应用如表 8 所示。

表8 常见高速逆流色谱法纯化植物甾醇的应用

原料	条件	溶剂	分析方法	植物甾醇种类	植物甾醇纯度/%	参考文献
植物油	转速(1 010 ± 10) r/min、流动相流速 0.9 mL/min	正己烷-甲醇-硝酸银水溶液	GC/EI-MS	菜油甾醇 菜籽甾醇	99 99	[63]
食用海藻	转速 800 r/min、流动相流速 2.0 mL/min	正己烷-乙腈-甲醇	HPLC	总植物甾醇	96.29	[64]

3 植物甾醇提取纯化辅助技术

在对植物甾醇提取纯化的过程中,采用辅助技术能够减少操作步骤,降低人为干预对提取纯化效果的影响,进一步优化提取过程。常见辅助技术包括酶辅助、微波辅助、超声波辅助和磁场辅助等。

3.1 酶辅助

酶辅助提取是以酶为催化剂通过化学反应,释

放其中的成分^[65],从而提高提取效率的辅助提取技术。酶具有高度的特异性,能够保留生物活性化合物的效力,更有效地释放和提取所需物质^[66]。酶的类型对植物甾醇的提取效果具有重要影响。Maniet 等^[67]利用脂肪酶催化脂肪酸酯化生成脂肪酸甲酯,分离得到高纯度植物甾醇。Panpipat 等^[29]研究发现,脂肪酶 435 和脂肪酶 NS-40044TLL 是菜籽油

和大豆油脱臭馏出物中甘油酯和甾醇酯醇解最有效的生物催化剂,超过95%的植物甾醇为游离态甾醇,可以通过溶剂萃取或分子蒸馏回收。酶辅助提取技术主要的影响因素还包括酶的浓度、水与底物的比例、pH、样品的粒度等^[65]。由于酶辅助技术成本较高、对底物要求高,使其在工业推广上受到限制,因此在需要高度选择性或对底物反应条件有要求的情况下,可以采用酶辅助提取技术。

3.2 微波辅助

微波辅助提取能在不改变分子结构的情况下,通过离子的迁移和偶极子的旋转来诱导分子运动,使水分加热蒸发,高蒸气压使基质的细胞壁破裂,将细胞中的物质释放到溶剂中^[68],从而提高提取效率。徐伟等^[69]采用微波辅助法从酸浆籽中提取富含植物甾醇的油脂,再通过皂化、萃取得到植物甾醇,植物甾醇得率为1.771 mg/g。微波具有独特的加热特性,能够对介电材料有选择地快速加热,且成本低,时间短,提取率高,在植物活性成分的提取中引起了广泛的关注,然而高微波功率和过长的时间会导致热敏性生物活性化合物的损失,此外,使用电磁辐射还存在一些技术和安全限制,需要深入优化操作条件^[70]。

3.3 超声波辅助

超声波辅助提取是利用超声波将固体和液体颗粒进行振动和加速,降低分子间作用力,导致分子结构的破坏,这一过程称为空化,当高功率超声波在样品基质中传播时,基质中的压力发生变化,形成空化气泡,气泡不断增长直至破裂,气泡的破裂促进细胞壁破裂,增加溶剂的渗透,提取物扩散到溶剂中,增加传热和传质,从而提高提取效率^[68]。陈刚等^[71]采用超声波辅助提取牡丹果皮中的植物甾醇,结果表明,与对照组相比,超声处理能够显著提高植物甾醇得率。超声波辅助能降低萃取温度,加快能量转移,并对相关成分进行选择性地萃取,有利于提取热敏性化合物,且溶剂种类可选择性多。

3.4 磁场辅助

磁场辅助提取是将传统的结晶过程置于磁场环境中,借助磁场对分子和原子的聚集状态、迁移速度和方向产生影响。磁场能提高结晶速率和晶体纯度,从而提高提取纯化效率。王莉莉等^[72]采用大孔树脂对红松籽油甾醇进行初步纯化,再利用磁场辅助溶剂结晶法对其进行二次纯化,将植物甾醇纯度提高至83.12%。Rouskova等^[73]以大豆油脱臭馏出物为原料,先通过预处理提取出粗甾醇,再采用溶剂结晶法与磁场协同作用,得到了纯度为98.43%、回收率为91.61%的精制植物甾醇。磁场辅助技术可以提高结晶效率,减少有机溶剂的使用量,高效且环保。

4 总结和展望

植物甾醇来源广泛,具有很高的应用价值。传统的植物甾醇提取纯化方法如溶剂萃取法、分子蒸馏法等存在收率低、纯度低以及影响环境等缺点。新型的植物甾醇提取纯化方法,如超临界CO₂法,操作简单、无毒、产品纯度高,是一种环保高效的提取方法,具有十分广阔的应用前景,已被广泛用于从植物基质中提取生物活性化合物;辅助提取纯化技术如酶、微波、超声波和磁场等技术,能够优化植物甾醇的提取纯化工艺。

为高效提取纯化植物甾醇,可采取如下措施:将传统方法进行改良,如采用高压流体法进行提取,冷皂化法代替传统皂化法,降温结晶纯化,还可选择新的溶剂和吸附剂,如氧化石墨烯等,以提高提取效率;将传统方法与新型方法相结合,以及通过辅助技术处理样品,如磁性诱导结晶技术、微波辅助高速逆流色谱法;采用超临界CO₂法提取时,优化工艺流程和提取参数,选择合适的助溶剂以及比例,进一步提高提取效率;不断开发新型提取纯化技术,选择绿色无毒的新型环保溶剂等。

参考文献:

- [1] FERNANDES P, CABRAL J M S. Phytosterols: Applications and recovery methods [J]. *Bioresour Technol*, 2007, 98(12): 2335-2350.
- [2] MATSUOKA R. Property of phytosterols and development of its containing mayonnaise - type dressing [J/OL]. *Foods*, 2022, 11(8): 1141 [2022-10-24]. <https://doi.org/10.3390/foods11081141>.
- [3] HE W, LI L, HUANG Q, et al. Highly efficient synthesis of phytosterol linolenate in the presence of Bronsted acidic ionic liquid [J]. *Food Chem*, 2018, 263: 1-7.
- [4] UDDIN M S, FERDOSH S, AKANDA J H, et al. Techniques for the extraction of phytosterols and their benefits in human health: A review [J]. *Sep Sci Technol*, 2018, 53(14): 2206-2223.
- [5] 张志旭, 昌超, 刘东波. 天然植物甾醇的来源、功效及提取研究进展 [J]. *食品与机械*, 2014, 30(5): 288-293, 298.
- [6] MOREAU R A, NYSTROM L, WHITAKER B D, et al. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses [J]. *Progress Lipid Res*, 2018, 70: 35-61.
- [7] SHAHZAD N, KHAN W, SHADAB M D, et al. Phytosterols as a natural anticancer agent: Current status and future perspective [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 786-794.
- [8] MIRAS-MORENO B, BELEN SABATER-JARA A, PEDRENO M A, et al. Bioactivity of phytosterols and their

- production in plant *in vitro* cultures [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(38): 7049–7058.
- [9] GAN C F, LIU Q, ZHANG Y, et al. A novel phytosterols delivery system based on sodium caseinate – pectin soluble complexes: Improving stability and bioaccessibility [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2022, 124: 107295 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107295>.
- [10] SHARMA N, TAN M R A, AN S S A. Phytosterols: Potential metabolic modulators in neurodegenerative diseases [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12255 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.3390/ijms222212255>.
- [11] HUANG J, XU M, FANG Y J, et al. Association between phytosterol intake and colorectal cancer risk: A case – control study [J]. *Br J Nutr*, 2017, 117(6): 839–850.
- [12] BAE H, SONG G, LIM W. Stigmasterol causes ovarian cancer cell apoptosis by inducing endoplasmic reticulum and mitochondrial dysfunction [J/OL]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(6): 488 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060488>.
- [13] PRATIWI R, NANTASENAMAT C, RUANKHAM W, et al. Mechanisms and neuroprotective activities of stigmasterol against oxidative stress – induced neuronal cell death via sirtuin family [J/OL]. *Front Nutr*, 2021, 8: 648995 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.648995>.
- [14] BAE H, PARK S, YANG C, et al. Disruption of endoplasmic reticulum and ROS production in human ovarian cancer by campesterol [J/OL]. *Antioxidants*, 2021, 10(3): 379 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.3390/antiox10030379>.
- [15] JOJIMA T, SAKURAI S, WAKAMATSU S, et al. Empagliflozin increases plasma levels of campesterol, a marker of cholesterol absorption, in patients with type 2 diabetes; Association with a slight increase in high – density lipoprotein cholesterol [J]. *Int J Cardiol*, 2021, 331: 243–248.
- [16] HASSAN S T S. Brassicasterol with dual anti – infective properties against HSV – 1 and mycobacterium tuberculosis, and cardiovascular protective effect: Nonclinical *in vitro* and *in silico* assessments [J/OL]. *Biomedicines*, 2020, 8(5): 132 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050132>.
- [17] YU P F, LOU D, QI L F, et al. The novel antiviral properties of brassicasterol against human adenovirus [J]. *Future Virol*, 2021, 16(9): 591–600.
- [18] FERRER A, ALTABELLA T, ARRO M, et al. Emerging roles for conjugated sterols in plants [J]. *Progress Lipid Res*, 2017, 67: 27–37.
- [19] 陆柏益, 杨佳佳, 熊丽娜. 甾醇阿魏酸酯的功能、制备及检测方法研究进展 [J]. *现代食品科技*, 2013, 29(12): 3063–3069.
- [20] FENG S, WANG L, SHAO P, et al. A review on chemical and physical modifications of phytosterols and their influence on bioavailability and safety [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(20): 5638–5657.
- [21] 叶国华, 薛俊娟, 蓝林欣. 墨旱莲中 1 个新的甾醇糖苷类化合物 [J]. *中草药*, 2019, 50(20): 4867–4872.
- [22] 张宇晨, 宋延平, 王昌利, 等. 陝重楼甾体皂苷类单体豆甾醇 – 3 – O – β – D – 吡喃葡萄糖苷对 SMMC – 7721 细胞增殖的影响 [J]. *中国现代中药*, 2015, 17(2): 122–124.
- [23] SHIMAMURA M. Immunological functions of steryl glycosides [J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2012, 60(5): 351–359.
- [24] CHUO S C, NASIR H M, MOHD – SETAPAR S H, et al. A glimpse into the extraction methods of active compounds from plants [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2022, 52(4): 667–696.
- [25] LUQUE DE CASTRO M D, PRIEGO – CAPOTE F. Soxhlet extraction: Past and present panacea [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(16): 2383–2389.
- [26] KASIM N S, GUNAWAN S, YULIANA M, et al. A simple two – step method for simultaneous isolation of tocopherols and free phytosterols from soybean oil deodorizer distillate with high purity and recovery [J]. *Sep Sci Technol*, 2010, 45(16): 2437–2446.
- [27] SANTOS M B, SILLERO L, GATTO D A, et al. Bioactive molecules in wood extractives: Methods of extraction and separation, a review [J/OL]. *Ind Crop Prod*, 2022, 186: 115231 [2022 – 10 – 24]. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115231>.
- [28] LV W, WU C, LIN S, et al. Integrated utilization strategy for soybean oil deodorizer distillate: Synergically synthesizing biodiesel and recovering bioactive compounds by a combined enzymatic process and molecular distillation [J]. *ACS Omega*, 2021, 6(13): 9141–9152.
- [29] PANPIPAT W, XU X B, GUO Z. Towards a commercially potential process: Enzymatic recovery of phytosterols from plant oil deodoriser distillates mixture [J]. *Process Biochem*, 2012, 47(8): 1256–1262.
- [30] LIU D, SHI J, POSADA L R, et al. Separating tocotrienols from palm oil by molecular distillation [J]. *Food Rev Int*, 2008, 24(4): 376–391.
- [31] 刘书好, 孙悦蛟, 张惠. 络合法提取麻疯树种子油中的植物甾醇 [J]. *光谱实验室*, 2010, 27(6): 2477–2480.
- [32] 赵茜茜, 刘俊义, 王珂, 等. 文冠果种仁油中总甾醇的皂化法提取及组成分析 [J]. *天然产物研究与开发*,

- 2015, 27(10): 1737–1742.
- [33] GORE A J, BHAGWAT S S. Separation of tocol (tocopherol & tocotrienol) and phytosterols from palm fatty acid distillate by saponification and purification by low temperature solvent crystallization [J]. *J Food Sci Technol – Mysore*, 2022, 59(8): 2962–2971.
- [34] 彭超, 何本桥. 溶剂结晶法分离纯化植物甾醇 [J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(1): 43–45.
- [35] 甘欢华, 李华, 刘钟栋, 等. 大豆油脱臭馏出物中高含量植物甾醇的提取工艺 [J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(7): 44–48.
- [36] ZHANG H, CAO X, LIU Y, et al. Rapid recovery of high content phytosterols from corn silk [J/OL]. *Chem Cent J*, 2017, 11: 108 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0277-1>.
- [37] 冯文欢, 吴正章, 张鹏等. 超声辅助分步结晶法制备高纯度豆甾醇的工艺研究 [J]. *中国油脂*, 2019, 44(10): 129–135.
- [38] 徐艳阳, 蔡森森, 张凡, 等. 桑白皮甾醇的萃取和纯化工艺研究 [J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(5): 29–34.
- [39] JAFARIAN – ASL P, NIAZMAND R, JAHANI M. Solid – phase extraction of phytosterols from rapeseed oil deodorizer distillates with magnetic graphene oxide nanocomposite [J]. *J Exp Nanosci*, 2020, 15(1): 307–321.
- [40] CUI B J, GUO B, WANG H M, et al. Graphene oxide – based composite monolith as new sorbent for the on – line solid phase extraction and high performance liquid chromatography determination of *beta* – sitosterol in food samples [J]. *Talanta*, 2018, 186: 200–205.
- [41] MUSTAFA A, TURNER C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction; A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 703(1): 8–18.
- [42] DE OLIVEIRA N A, DOS SANTOS GARCIA A B, MAZALLI M R, et al. Babassu almonds oil extracted with alternative pressurized green solvents, its triacylglycerol prediction and *beta* – sitosterol composition [J/OL]. *J Food Process Eng*, 2019, 42(5): 13139 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13139>.
- [43] TRENTINI C P, FERREIRA DE MELLO B T, CABRAL V F, et al. Crambe seed oil; Extraction and reaction with dimethyl carbonate under pressurized conditions [J/OL]. *J Supercrit Fluids*, 2020, 159: 104780 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104780>.
- [44] DE MELLO B T F, IWASSA I J, CUCO R P, et al. Methyl acetate as solvent in pressurized liquid extraction of crambe seed oil [J]. *J Supercrit Fluids*, 2019, 145: 66–73.
- [45] UWINEZA P A, WASKIEWICZ A. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials [J/OL]. *Molecules*, 2020, 25(17): 3847 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>.
- [46] ASL P J, NIAZMAND R, JAHANI M. Theoretical and experimental assessment of supercritical CO₂ in the extraction of phytosterols from rapeseed oil deodorizer distillates [J/OL]. *J Food Eng*, 2020, 269: 109748 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109748>.
- [47] DIKSHIT S, BUBNA S, GUPTA A, et al. Advances in various techniques for isolation and purification of sterols [J]. *J Food Sci Technol – Mysore*, 2020, 57(7): 2393–2403.
- [48] XIAO X, YUAN Z, LI G. Preparation of phytosterols and phytol from edible marine algae by microwave – assisted extraction and high – speed counter – current chromatography [J]. *Sep Purif Technol*, 2013, 104: 284–289.
- [49] NEMATI M, TUZEN M, ALTUNAY N, et al. Development of sodium hydroxide – induced homogenous liquid – liquid extraction – effervescent assisted dispersive liquid – liquid microextraction based on deep eutectic solvents: Application in the extraction of phytosterols from cow cream samples [J/OL]. *J Food Compos Anal*, 2022, 106: 4291 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104291>.
- [50] MOGADDAM M R A, FARAJZADEH M A, DAMIRCHI S A, et al. Dispersive solid phase extraction combined with solidification of floating organic drop – liquid – liquid microextraction using in situ formation of deep eutectic solvent for extraction of phytosterols from edible oil samples [J/OL]. *J Chromatogr A*, 2020, 1630: 461523 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461523>.
- [51] DE MELLO B T F, STEVANATO N, CARDOZO FILHO L, et al. Pressurized liquid extraction of radish seed oil using ethanol as solvent; Effect of pretreatment on seeds and process variables [J/OL]. *J Supercrit Fluids*, 2021, 176: 105307 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105307>.
- [52] CORNELIO – SANTIAGO H P, MAZALLI M R, RODRIGUES C E C, et al. Extraction of Brazil nut kernel oil using green solvents: Effects of the process variables in the oil yield and composition [J/OL]. *J Food Process Eng*, 2019, 42(7): 13271 [2022–10–24]. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13271>.
- [53] VASQUEZ – VILLANUEVA R, PLAZA M, CONCEPCION GARCIA M, et al. Recovery and determination of cholesterol – lowering compounds from *Olea europaea* seeds employing pressurized liquid extraction and gas chromatography – mass spectrometry [J/OL]. *Microchem*

- J, 2020, 156: 104812 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104812>.
- [54] VICTORIA ALVAREZ - HENAO M, CARDONA L, HINCAPIE S, et al. Supercritical fluid extraction of phytosterols from sugarcane bagasse; Evaluation of extraction parameters [J/OL]. *J Supercrit Fluids*, 2022, 179: 105427 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105427>.
- [55] EKINCI M S, GURU M. Extraction of phytosterols from melon (*Cucumis melo*) seeds by supercritical CO₂ as a clean technology [J]. *Green Process Synth*, 2019, 8 (1): 677 - 682.
- [56] CUCO R P, CARDOZO - FILHO L, DA SILVA C. Simultaneous extraction of seed oil and active compounds from peel of pumpkin (*Cucurbita maxima*) using pressurized carbon dioxide as solvent [J]. *J Supercrit Fluids*, 2019, 143: 8 - 15.
- [57] MARTINEZ - AVILA M, RODRIGUEZ - RODRIGUEZ J, GUTIERREZ URIBE J A, et al. Selective supercritical fluid extraction of non - polar phytochemicals from black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by - products [J/OL]. *J Supercrit Fluids*, 2022, 189: 105730 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105730>.
- [58] WANG C, DUAN Z, FAN L, et al. Supercritical CO₂ fluid extraction of *Elaeagnus mollis* Diels seed oil and its antioxidant ability [J/OL]. *Molecules*, 2019, 24 (5): 911 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.3390/molecules24050911>.
- [59] NARVAEZ C, INAMPUES M, HURTADO A, et al. The phenolic compounds, tocopherols, and phytosterols in the edible oil of guava (*Psidium guava*) seeds obtained by supercritical CO₂ extraction [J/OL]. *J Food Compos Anal*, 2020, 89: 103467 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103467>.
- [60] DIENAITE L, BARANAUSKIENE R, VENSKUTONIS P R. Lipophilic extracts isolated from European cranberry bush (*Viburnum opulus*) and sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berry pomace by supercritical CO₂ - Promising bioactive ingredients for foods and nutraceuticals [J/OL]. *Food Chem*, 2021, 348: 129047 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129047>.
- [61] DE ZORDI N, CORTESI A, KIKIC I, et al. The Supercritical carbon dioxide extraction of *omega* - 3, *omega* - 6 lipids and *beta* - sitosterol from Italian walnuts: A central composite design approach [J]. *J Supercrit Fluids*, 2017, 127: 223 - 228.
- [62] FAGUNDES M B, ALVAREZ - RIVERA G, MENDIOLA J A, et al. Phytosterol - rich compressed fluids extracts from *Phormidium autumnale* cyanobacteria with neuroprotective potential [J/OL]. *Algal Res*, 2021, 55: 2264 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102264>.
- [63] SCHROEDER M, VETTER W. Investigation of unsaponifiable matter of plant oils and isolation of eight phytosterols by means of high - speed counter - current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1237: 96 - 105.
- [64] XIA M, LIU C, GAO L, et al. One - step preparative separation of phytosterols from edible brown seaweed sargassum horneri by high - speed countercurrent chromatography [J/OL]. *Mar Drugs*, 2019, 17 (12): 691 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.3390/md17120691>.
- [65] NADAR S S, RAO P, RATHOD V K. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review [J]. *Food Res Int*, 2018, 108: 309 - 330.
- [66] MENA - GARCIA A, RUIZ - MATOTE A I, SORIA A C, et al. Green techniques for extraction of bioactive carbohydrates [J/OL]. *Trac - Trends Anal Chem*, 2019, 119: 115612 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.023>.
- [67] MANIET G, JACQUET N, RICHEL A. Recovery of sterols from vegetable oil distillate by enzymatic and non - enzymatic processes [J]. *Cr Chim*, 2019, 22 (4): 347 - 353.
- [68] ZIA S, KHAN M R, SHABBIR M A, et al. An inclusive overview of advanced thermal and nonthermal extraction techniques for bioactive compounds in food and food - related matrices [J]. *Food Rev Int*, 2022, 38 (6): 1166 - 1196.
- [69] 徐伟, 杜娇, 葛阳阳. 微波辅助提取酸浆籽植物甾醇及细胞微观形态观察 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38 (6): 281 - 287.
- [70] ALVI T, ASIF Z, KHAN M K I. Clean label extraction of bioactive compounds from food waste through microwave - assisted extraction technique: A review [J/OL]. *Food Biosci*, 2022, 46: 101580 [2022 - 10 - 24]. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101580>.
- [71] 陈刚, 杨玉珍, 尚茹杰, 等. 超声辅助提取牡丹果皮中甾醇的工艺优化 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39 (3): 201 - 204.
- [72] 王莉莉, 包怡红, 赵庆佳, 等. 大孔树脂 - 磁场辅助溶剂结晶联合纯化红松籽油甾醇的研究 [J]. *中国粮油学报*, 2022, 37 (8): 222 - 230.
- [73] ROUSKOVA M, HEYBERGER A, TRISKA J, et al. Extraction of phytosterols from tall oil soap using selected organic solvents [J]. *Chem Pap*, 2011, 65 (6): 805 - 812.