

鹿油的超临界二氧化碳萃取工艺及分析

刘俊渤¹, 王丽¹, 胡耀辉², 朱玉婷¹, 于寒松²

(1 吉林农业大学 资源与环境学院, 吉林 长春 130118; 2 吉林农业大学 食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118)

摘要:为探讨超临界萃取条件对鹿油萃取率的影响,以鹿肉为原料,通过单因素试验和正交试验考察了萃取压力、萃取温度、萃取时间对鹿油提取率的影响. 研究表明,最佳萃取条件为萃取温度 45 ℃、萃取压力 40 MPa、萃取时间 150 min. 对鹿油理化性质指标和脂肪酸组成的测定结果表明,超临界萃取的鹿油酸价低,含有多种脂肪酸,其中不饱和脂肪酸总含量为 41.94%.

关键词:鹿油; 超临界二氧化碳; GC-MS; 正交试验

中图分类号: TQ645.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2012)04-0580-05

The Process and Analysis of Supercritical Carbon Dioxide Extraction from Deer Oil

LIU Jun-bo¹, WANG Li¹, HU Yao-hui², ZHU Yu-ting¹, YU Han-song²

(1 College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2 College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: An experimental study was conducted to explore the effect of supercritical extraction conditions on the extraction rate of deer oil. Deer venison was used as raw material in this study. The extraction pressure, extraction temperature, and extraction time on the yields were studied by single factor experiments and orthogonal tests. The results showed that the highest extraction rate could be reached at an extraction temperature of 45 ℃, under an extraction pressure of 40 MPa, and the extraction time was 150 min. After the measurement of physical and chemical property indicators of the deer oil and the analysis of the composition of the fatty acid, it was found that the deer oil acquired through supercritical extraction had a good color and low acid value and contained a variety of fatty acids, of which the total unsaturated acids reached 41.94%.

Key words: deer oil; supercritical carbon dioxide; GC-MS; orthogonal experiment

鹿是一种珍贵的、具有药用作用的特种经济动物. 随着我国鹿业市场的拓展和逐步成熟, 每年都有大量鹿油得不到充分利用. 鹿油富含饱和和脂肪酸、不饱和和脂肪酸等多种功能性营养物质, 其作为药物使用早在《唐本草》与《中国医学大辞典》就有记载. 1999年朱秋劲等^[1]对鹿油脂肪酸成分进行了分析. 目前关于鹿油的提取、精炼及深加工技术等方面的相关研究很少, 因此鹿油的研究前景广阔.

目前动物油提取的方法有直接熬制法、蒸煮法、

溶剂法、酶解法、超临界流体萃取法等. 随着人们对绿色产品的不断追求, 超临界流体萃取技术越来越受到研究学者的关注^[2]. 超临界流体尤其是超临界 CO₂ 萃取技术, 具有工艺简单、操作方便、无污染、低温操作及抗氧化灭菌^[3-6]等特点, 它克服了传统提取法易氧化酸败、溶剂残留等问题, 尤其对热敏性及易挥发生物功能性物质具有良好的保护作用, 从而保证了鹿油的品质与功能, 这对鹿油在医药保健品、化妆品、环保^[7-8]、食品^[9]、化工^[10]等领域中的应用有

收稿日期: 2011-12-16

作者简介: 刘俊渤 (1964—), 女, 教授, E-mail: liujb@mail.ccut.edu.cn

基金项目: 吉林省科技支撑计划重点项目 (20090226)

着重要意义。但是超临界 CO₂ 萃取也存在时间长、产率低等问题,因此,本研究以鹿肉为原料,采用正交试验,通过控制萃取温度、压力、时间因素,探讨了超临界 CO₂ 萃取鹿油的最佳工艺,同时对超临界萃取的鹿油进行脂肪酸组成及基本理化性质的分析,旨在为鹿油生产应用提供理论支持,同时也为鹿油开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

梅花鹿肉,由吉林农业大学梅花鹿养殖场提供。

CO₂ ($\varphi > 99.5\%$),长春市氧气厂;乙醇 ($\varphi > 99.7\%$)、乙醚 ($\varphi > 99.5\%$)、碘化钾,国药集团化学试剂有限公司;氢氧化钾、硫代硫酸钠,天津市化学试剂三厂;冰醋酸 ($\varphi > 99.5\%$)、盐酸、硫酸、四氯化碳,北京化工厂。

Spe-ed Sfe-2/4 超临界 CO₂ 萃取仪,美国 Applied Separations; DZF-6020 真空干燥箱,上海-恒科学仪器有限公司; KQ5200DE 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; GC-MS 气相色谱-质谱联用仪 (5975), Agilent 公司。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理 将新鲜的鹿肉清洗除杂、冷冻粉碎,在相对真空度 0.09 MPa、温度 90 °C 条件下干燥 2 min 后降温至 40 ~ 50 °C 下干燥,使鹿肉含水量分数为 0.06% ~ 0.08%,干燥后在 40 kHz、40 °C 下超声 20 min,备用。

1.2.2 工艺流程与操作流程 鹿肉→除杂粉碎→干燥脱水→超声→装料→萃取→鹿油。

称取 15.00 g 预处理后的鹿肉原料装入反应釜,加盖拧紧,装入反应器中,升温、加压,调 CO₂ 流量至 400 mL/min,萃取一定时间后收集鹿油。鹿油萃取率计算公式: 鹿油萃取率 = 鹿油质量/鹿肉质量 × 100%。

1.2.3 单因素试验 萃取压力的优化:称取 15.00 g 预处理后的鹿肉原料,以鹿油萃取率为评价指标,萃取温度 40 °C、萃取时间 90 min,萃取压力分别为 15、20、25、30、35、40 和 45 MPa,采用超临界 CO₂ 萃取鹿油,研究萃取压力对鹿油萃取率的影响。

萃取温度的优化:称取 15.00 g 预处理后的鹿肉原料,以鹿油萃取率为评价指标,萃取时间 90 min,萃取压力 35 MPa,萃取温度分别为 30、35、40、45、50、55 和 60 °C,采用超临界 CO₂ 萃取鹿油,研究萃取温度对鹿油萃取率的影响。

萃取时间的优化:称取 15.00 g 预处理后的鹿肉

原料,以鹿油萃取率为评价指标,萃取温度 40 °C,萃取压力 35 MPa,萃取时间分别为 30、60、90、120、150、180 和 210 min,采用超临界 CO₂ 萃取鹿油,研究萃取时间对鹿油萃取率的影响。

1.2.4 正交试验 影响超临界 CO₂ 萃取的因素很多^[11-15],其中,萃取压力 ($p_{\text{萃取}}$)、萃取温度 ($\theta_{\text{萃取}}$) 和萃取时间 ($t_{\text{萃取}}$) 是影响超临界流体萃取率的重要因素。在单因素试验基础上筛选出萃取压力、萃取温度、萃取时间的影响水平,进行 L₉ (3⁴) 试验设计(表 1),以萃取率为指标,进行正交试验。进料量 15.00 g,CO₂ 流量 400 mL/min。

表 1 L₉ (3⁴) 正交试验因素水平表

Tab. 1 L₉ (3⁴) Orthogonal experiment factors and levels

水平	萃取温度 (A)/°C	萃取压力 (B)/MPa	萃取时间 (C)/min
1	40	30	120
2	45	35	150
3	50	40	180

1.2.5 鹿油理化指标测定^[16] 肉眼观察色泽;参考 GB/T 5532—85 测定碘价;参考 GB/T 5534—85 测定皂化值;参照 GB/T 5530—85 测定酸价。

1.2.6 鹿油脂肪酸成分分析 将最优萃取条件下得到的鹿油样品采用 GC-MS 气相色谱-质谱联用仪进行脂肪酸成分分析。气相色谱-质谱条件:玻璃毛细管柱(60.00 mm × 0.25 mm × 0.25 μm);程序升温条件:起始温度 100 °C,然后以 10 °C/min 的速度升至 230 °C,恒温 40 min;进样口温度:250 °C;载气:高纯氦气,流速为 1 mL/min,分流体积比 10:1;接口温度:250 °C;电离方式:EI;电子能量:70 eV,离子温度 230 °C,四极杆温度 150 °C;调谐方式:标准调谐;质量扫描方式:SCAN;溶剂延迟:3 min;扫描质量范围:10 ~ 550 amu;电子倍增器电压:1.635 V。

1.3 鹿油样品分析

准确称取鹿油样品 0.100 0 ~ 0.200 0 g,加异辛烷溶解定容至 10.0 mL,混匀,用微量注射器吸取 50 μL 于 10 mL 刻度试管中,加入 0.4 mol/L KOH-甲醇溶液 2.0 mL,置涡流混合器 2 min,室温放置 10 min。再加入异辛烷 1.95 mL,再置旋涡混合器 2 min,加 80 g/L NaCl 溶液至 10 mL 刻度,以 2 000 r/min 离心 10 min,吸出上清液(异辛烷层)于 2 mL 小试管中,在上述 GC/MS 分析条件下,进样 1 μL,以峰保留时间及谱库检索定性,与相应标准峰面积比较定量。

2 结果与分析

2.1 超临界萃取条件单因素试验

2.1.1 萃取压力对鹿油萃取率的影响 由图 1a 可

知,随着萃取压力升高,鹿油提取率也随着逐步增大.当萃取压力从 15 MPa 升到 35 MPa 时,鹿油提取率增大显著;当萃取压力超过 35 MPa 后,鹿油萃取率的增加变得缓慢,但仍呈现持续增加的状态.压力对萃取率的影响比较显著,压力增大可增加 CO_2 的密度,使分子间平均自由程减小,有利于扩散与渗透,进而提高了超临界 CO_2 对鹿油的萃取率.但当压力增大到一定程度后,由于压力改变对溶质的溶解度影响很小,因此萃取率无明显提高,且从能源、经济等综合因素考虑,鹿油萃取压力以 30~40 MPa 为宜.

2.1.2 萃取温度对鹿油萃取率的影响 由图 1b 可知,在萃取压力 35 MPa,萃取时间 90 min 条件下,随着温度的升高,鹿油萃取率增大明显,当萃取温度超过 40 °C 后,其萃取率增大缓慢,而当温度超过 50 °C 后,鹿油萃取率反而出现下降趋势.这是因为温度对鹿油提取率的影响十分复杂,在一定的压力下,升高温度,可降低超临界 CO_2 流体的运动黏度,提高系统

中流体分子的热运动速率,增大分子的扩散能力,从而使溶质的溶解度增加,有利于鹿油的浸出.但升高温度的同时,超临界 CO_2 的密度降低,不利于溶质在流体中溶解,反而使鹿油萃取率降低,并且温度过高,仪器设备的使用寿命也会受到影响,综合因素考虑,鹿油萃取温度以 40~50 °C 为宜.

2.1.3 萃取时间对鹿油萃取率的影响 萃取时间对超临界 CO_2 萃取鹿油有显著影响.超临界萃取属于扩散过程,需要一定时间才能萃取充分.萃取初期,由于溶剂的扩散速率缓慢,萃取率较低,随着时间的延长,溶剂扩散能力增强,萃取率增大.从图 1c 可知,在萃取温度 40 °C、萃取压力 35 MPa 条件下,萃取时间越长鹿油萃取率越高.在 30~120 min 时间内,鹿油萃取率随着萃取时间的增加而显著提高,但 120 min 后,随着萃取时间的增加鹿油萃取率基本趋于平缓,因此鹿油萃取时间以 120~180 min 为宜.

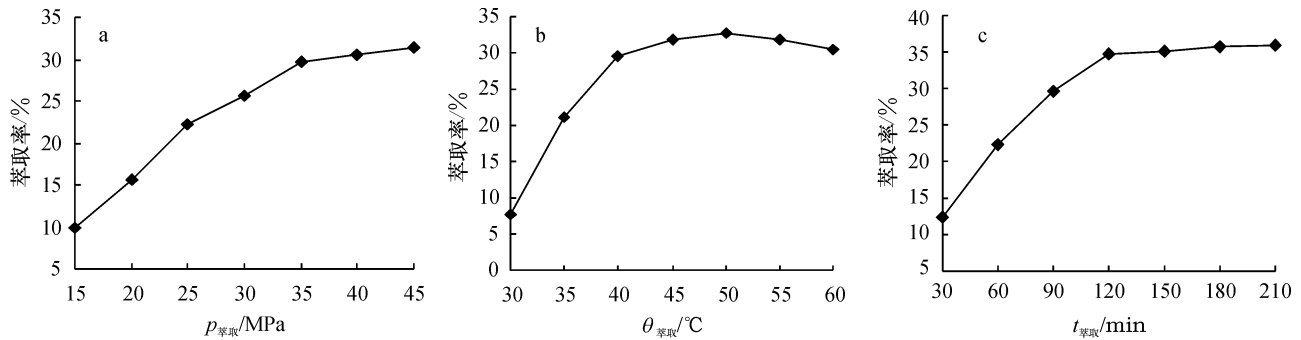


图 1 萃取条件对鹿油得率的影响

Fig. 1 Effects of extraction conditions on the yield of deer oil

2.2 正交试验结果

在单因素试验的基础上,采用三因素三水平的正交设计方案,在 9 种不同工艺条件下萃取鹿油,分别测定其萃取率,结果见表 2. 表 2 的极差分析结果表明,超临界萃取 3 个因素对鹿油萃取率的影响顺序为:萃取温度 > 萃取压力 > 萃取时间,鹿油的最佳萃取方案为 $A_2B_3C_2$,即最佳萃取工艺条件组合为萃取温度 45 °C,萃取压力 40 MPa,萃取时间 150 min.

2.3 最佳萃取条件验证

在上述最佳条件下(萃取温度 45 °C、萃取压力 40 MPa、萃取时间 150 min)进行 3 次重复试验,其鹿油萃取率分别为 32.22%、32.28% 和 32.25%,由萃取率可看出,最佳萃取工艺条件具有较好的重复性,鹿油萃取率较高,说明该工艺条件是合理的、可靠的.

表 2 正交试验结果

Tab. 2 Orthogonal experiment results

试验编号	$\theta_{\text{萃取}}$ (A)	$p_{\text{萃取}}$ (B)	$t_{\text{萃取}}$ (C)	萃取率/%
1 号	1	1	1	25.12
2 号	1	2	2	27.91
3 号	1	3	3	27.23
4 号	2	1	2	29.46
5 号	2	2	3	30.81
6 号	2	3	1	32.14
7 号	3	1	3	28.92
8 号	3	2	1	30.41
9 号	3	3	2	32.24
K_1	80.26	83.50	87.67	
K_2	92.41	89.13	89.61	
K_3	91.57	91.61	86.96	
k_1	26.75	27.83	29.22	
k_2	30.80	29.71	29.87	
k_3	30.52	30.53	28.98	
R	4.05	2.70	0.88	

2.4 鹿油理化指标分析

对在萃取温度 45 °C、萃取压力 40 MPa、萃取时间 150 min 条件下萃取所得鹿油进行理化性质分析,结果表明,超临界萃取的鹿油呈纯白色固体絮状,质量浓度为 0.907 g/mL,碘值为 37.55,酸价为 1.08 mg/g,皂化值为 178.5 mmol/g,碘值、酸价和皂化值都是检测油脂品质的基本理化指标,碘值是衡量鹿油不饱和和酸含量的指标,酸值是衡量鹿油游离脂肪酸含量的指标,皂化值则是衡量鹿油脂肪酸相对分子质量大小的指标.超临界萃取的鹿油酸价为 1.08 mg/g,说明超临界 CO₂ 萃取的鹿油游离脂肪酸较少,酸败程度较低,具有良好的应用前景.

2.5 鹿油脂肪酸组成含量检测分析

将超临界 CO₂ 最佳萃取工艺条件下所得鹿油直接甲酯化,得鹿油脂肪酸甲酯色谱图(图2).采用面

积归一法计算其质量分数,结果见表3.由表3可知,鹿油含有多种饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸,不饱和脂肪酸质量分数达到 41.94%,其中油酸(十八碳烯酸)和亚油酸(十八碳二烯酸)质量分数相对较高,油酸具有极佳的渗透性,不仅能够降低胆固醇、防止大脑衰弱,同时能够保护皮肤,防止皮肤损伤和衰老,保持皮肤光滑细腻,也可作润滑剂,减少制品变形,增加表面光洁度,在化妆品和塑料行业中广泛应用;亚油酸具有滋润护肤的作用,还具有抗癌作用,同时能够提高人体免疫力,减少人体脂肪沉积,有良好的减肥功效.饱和脂肪酸中以棕榈酸(十六烷酸)和硬脂酸(十八烷酸)含量最高,棕榈酸是制作肥皂的良好原料之一,硬脂酸和棕榈酸都可以用来做乳化剂,使得到的膏体稳定洁白.因此,鹿油将在医药保健品、化妆品等行业中具有广阔的应用前景.

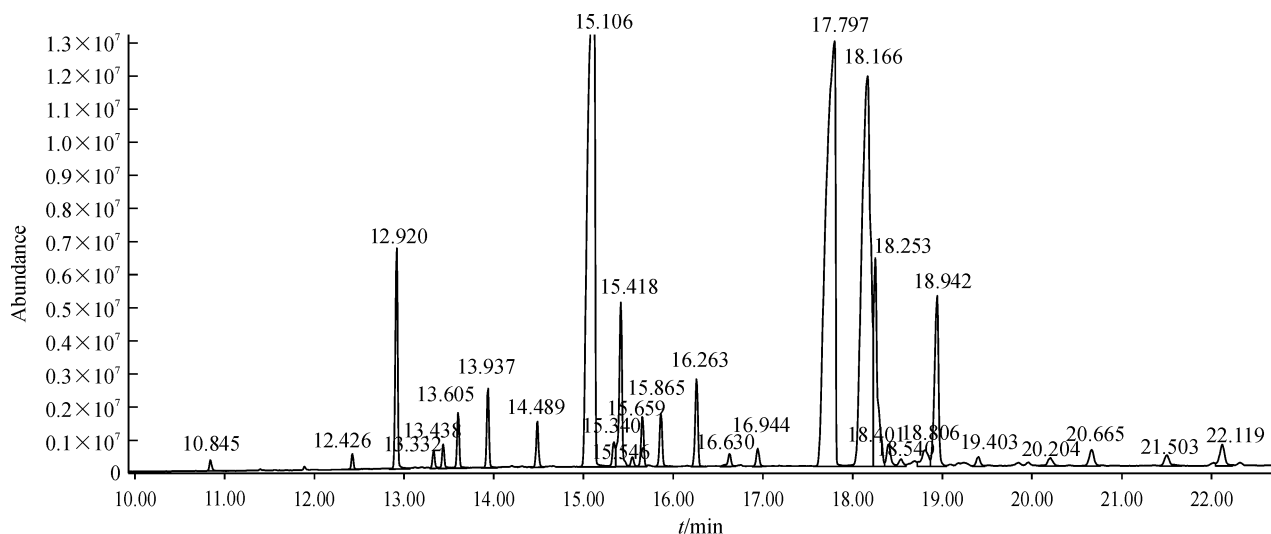


图2 鹿油脂肪酸甲酯色谱图

Fig.2 Fatty acid methyl esters chromatogram of deer oil

表3 鹿油中各脂肪酸成分与含量

Tab.3 Chemical compositions and contents of fatty acids in deer oil

脂肪酸	w/%	脂肪酸	w/%	脂肪酸	w/%
十一烷酸	0.187	十六碳烯酸	3.832	十八烷酸	26.286
十三烷酸	0.248	十六烷酸	25.879	十九烷酸	0.246
十四碳烯酸	3.427	十八碳烯酸	23.882	二十烷酸	0.381
十四烷酸	2.256	十八碳二烯酸	10.489	不饱和脂肪酸	41.943
十五烷酸	1.915	十八碳三烯酸	0.313	饱和脂肪酸	57.398

3 结论

通过单因素试验与正交试验,确定了超临界 CO₂ 萃取鹿油的最佳工艺条件为萃取温度 45 °C、萃取压力 40 MPa、萃取时间 150 min. 萃取的鹿油为纯

白色,无杂质,富含多种饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸,其碘值为 37.55,酸价为 1.08 mg/g,皂化值为 178.5 mmol/g. 本研究不仅为超临界 CO₂ 萃取技术在动物油脂提取中的进一步应用提供了可靠依据,也为鹿油的深层次开发奠定了基础.

参考文献:

- [1] 朱秋劲,李俐,国兴民,等. 梅花鹿鹿油脂肪酸组分的气相色谱分析[J]. 山地农业生物学报,1999,18(5):337-339.
- [2] SOVOVA H, ZAREVUCKA M, VACEK M, et al. Solubility of two vegetable oils in supercritical CO₂ [J]. Journal of Supercritical Fluids,2001(20):15-28.
- [3] 赵垦田,孙俊,李德海. 超临界 CO₂ 流体萃取技术在植物资源开发中的应用[J]. 特产研究,2006(3):61-64.
- [4] 张君萍,侯喜林,董海艳,等. 沙葱籽油的超临界 CO₂ 萃取及成分分析[J]. 食品科学,2001,32(6):53-56.
- [5] XU Juan, CHEN Shu-bing, HU Qiu-hui. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.) [J]. Food Chemistry,2005,91(1):79-83.
- [6] CHUANG Ping-hsien, LEE Chi-wei, CHOU Jia-ying, et al. Anti-ungal activity of crude extracts and essential oil of moringa oleifera lam [J]. Bioresource Technology,2007,98(1):232-236.
- [7] ROBINSON W E J. L-Chicoric acid, an inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) integrase, improves on the *in vitro* anti-HIV-1 effect of Zidovudine plus a protease inhibitor (AG1350) [J]. Antiviral Res, 1998, 39: 101-111.
- [8] 陶小工,梅成效,王挺. 超临界流体技术在环境保护中的应用研究[J]. 化工矿物与加工,2003(4):33-37.
- [9] MUNOZ M, GUEVARA L, PALOP A, et al. Determination of the effect of plant essential oils obtained by supercritical fluid extraction on the growth and viability of *Listeria monocytogenes* in broth and food systems using flow cytometry [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42: 220-227.
- [10] 尹献忠,石国强,胡军,等. 超临界流体新技术在烟用香精工业中的应用展望[J]. 烟草科技,2003(11):27-31.
- [11] 王静,郝小松,孙林涛,等. 蚕蛹鹿油的超临界二氧化碳萃取工艺及分析[J]. 食品科学,2009,30(22):112-115.
- [12] 张建立,李延升. 超临界 CO₂ 萃取柑橘精油的工艺研究[J]. 广州化工,2011,39(10):85-87.
- [13] 杨柳,陶宁萍. 超临界 CO₂ 萃取大蒜中蒜素工艺参数的优化[J]. 食品科学,2009,30(16):137-141.
- [14] 胡锡波,熊耀康. 超临界二氧化碳萃取杨梅核仁油的工艺研究[J]. 中国医药导报,2010(36):1-3.
- [15] PAPANICHAEL I, LOULI V, MAGOULAS K. Supercritical fluid extraction of celery seed oil [J]. Journal of Supercritical Fluids,2000,18(3):213-226.
- [16] 马涛. 粮油食品检验 [M]. 北京:化学工业出版社,2008:233-235.

【责任编辑 周志红】

欢迎订阅 2013 年《华南农业大学学报》

《华南农业大学学报》是华南农业大学主办的综合性农业科学学术刊物。本刊主要报道农业各学科的科研学术论文、研究简报、综述等,设有农学·园艺·土壤肥料、植物保护、生物学、林业科学、动物科学与兽医学、农业工程与食品科学、综述、简报等栏目。本刊附英文目次和英文摘要。读者对象主要是农业院校师生、农业科研人员和有关部门的专业干部。

本刊为《中国科学引文数据库》、《中国科技论文统计源(中国科技核心期刊)》及《中国学术期刊综合评价数据库》等固定刊源,并排列在中国科学引文数据库被引频次最高的中国科技期刊 500 名以内。被《中文核心期刊要目总览》遴选为综合性农业科学核心期刊、植物保护类核心期刊。为美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《CABI》、英国《动物学记录》、《中国生物学文摘》及国内农业类文摘期刊等多家国内外著名文摘固定刊源。

国内外公开发行,季刊,A4幅面。定价 10.00 元,全年 40.00 元。自办发行,参加全国非邮发报刊联合征订发行,非邮发代号:6573。

订阅办法:订阅款邮汇至:300381 天津市卫津南路李七庄邮局 9801 信箱,全国非邮发报刊联合征订服务部。

《华南农业大学学报》编辑部