

CO₂超临界萃取技术 提取被孢霉菌丝体油脂的研究

孙爱东 尹卓容 蔡同一 景奉水 郝鲁江 葛毅强
(中国农业大学)

提 要 采用被孢霉菌丝体作为实验材料, 比较系统地研究了在超临界状态下, 预处理条件(水分含量、粉碎方法、粉碎度)、萃取条件(萃取温度与压力)、分离条件(分离温度与压力)对油脂萃取率的影响; 分析了操作条件对油脂质量特别是 γ -亚麻酸(GLA)的影响; 确定了最佳工艺路线, 为批量生产提供了依据。

关键词 被孢霉菌丝体 CO₂ 超临界流体 萃取

Study on the *Mortierella Mycelium* Oil Extraction by Supercritical CO₂ Fluid Technology

Sun Ai-dong Yin Zhuo-rong Cai Tong-yi Jing Feng-shui Hao Lu-jiang Ge Yi-qiang
(China Agricultural University, Beijing)

Abstract *Mortierella mycelium* was taken as experimental material of extraction condition. In addition to the analysis of the effects of extraction condition on the quality of oil, especially, γ -Linolenic acid (GLA), this paper systematically studied the influences of pre-processing condition (moisture content, grind method, grind degree), extraction condition (temperature, pressure) and separation condition (temperature, pressure) on the extraction rate. The optimal technique way was determined and the bases for batch process were provided.

Key words *Mortierella mycelium* CO₂ Supercritical fluid Extraction

1 引 言

γ -亚麻酸(γ -Linolenic Acid, 简称GLA), 又称维生素F, 作为人体的一种必需脂肪酸而受到越来越多的重视。研究表明, 它是人体合成前列腺素的前驱物质, GLA在人体内容易被吸收, 对调节血液中类脂物质、抗血栓、减少胆固醇、动脉粥样硬化有显著效果, 还可以治疗多种硬化症、肥胖病、糖尿病等, 在实验室还发现这种不饱和脂肪酸有生物活化抑制癌细胞生长作用^[1]。目前, GLA主要来源于月见草、玻璃苣、黑加仑等, 但由于受气候、产地等条件的影响, 油脂含量很不稳定, 生产性差, 不能满足社会的需求。利用微

收稿日期: 1997-04-04

孙爱东, 讲师, 博士研究生, 北京市海淀区圆明园西路 中国农业大学(西校区)食品学院, 100094

生物发酵 GLA 生产则是人们探索出的新方法, 常用的发酵菌株为被孢霉属、小克银汉菌属、曲霉属的某些菌株。本文采用超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction, 简称 SFE) 技术提取被孢霉菌丝体中的油脂, 与传统的溶剂法提取油脂相比, 具有工艺简单、操作方便的特点, 所得油脂产量高, 质量好, 无溶剂残留, 无需精炼工序。

2 材料与方法

2.1 实验材料

被孢霉菌丝体: 由山东省商业厅科学研究所提供; CO₂气: 山东酒精总厂出品 (纯度 99%)。

2.2 实验仪器

CO₂超临界萃取器: 21——山东轻工业学院制造; 日本岛津 GC-9A 型气相色谱仪, C-R3A 数据处理机。检测器 (FD); 色谱柱: 2 m × 3 mm 玻璃柱内装 15% DEGS 固定相, 柱温 190 ; 汽化室、检测室温度: 300 ; 载气: 高纯 Ar; 灵敏度: 10² × 2³; 进样量: 0.5 μL。

2.3 研究方法

2.3.1 预处理条件的确定

1) 水分对油脂萃取率的影响: 萃取器中分别装入等量水分含量不同的原料在相同的操作条件下, 进行超临界流体萃取, 确定原料的最佳烘干度。

2) 粉碎度对油脂萃取率的影响: 将烘干程度相同的等量原料, 分别经对辊式粉碎机粉碎, 然后经振动筛筛分得到粉碎度不同的处理原料, 在同样操作条件下, 进行超临界流体萃取, 确定最佳粉碎度。

2.3.2 萃取参数的确定

1) 萃取压力对油脂萃取率的影响: 水分含量相同、粉碎度相同的等量原料分别取不同的萃取压力 (其他操作参数相同), 进行超临界流体萃取, 确定最佳萃取压力。

2) 萃取温度对油脂萃取率的影响: 水分含量、粉碎度相同的等量原料分别取不同的萃取温度 (其他操作参数相同), 进行超临界流体萃取, 确定最佳萃取温度。

2.3.3 分离条件的确定

通过控制不同的分离温度与压力, 观察不同时间下, 萃取率与油脂品质的变化, 从而确定最佳分离温度与压力。

2.4 油脂的超临界流体萃取工艺

被孢霉菌丝体 真空干燥 粉碎 过筛 称重 装萃取柱, 密闭 超临界萃取设备各部分控制合适的温度、压力 在超临界状态下萃取^{降压}由分离柱获得所需要的油脂。

2.5 测定与分析方法

1) 原料水分的测定——常压干燥法; 2) 原料油脂的测定——索氏抽提法; 3) 用 GC 法测定甘油酯中的脂肪酸组分——KOH 甲酯化法; 4) 油脂的物理常数测定 (方法略); 5) 数据处理采用非线性回归分析方法^[2]。

3 结果与分析

3.1 被孢霉菌丝体含水量对萃取率的影响

由图1可知,随着菌丝体含水量的升高,萃取率逐渐降低,含水量与萃取率呈反相关关系,特别是当水分大于5%时,表现尤为明显,样3比样1水分增加3.4%,但萃取率却降低了17.5%;样4比样1水分增加12.3%,但萃取率却降低了56.2%。由此可见,控制菌丝体水分是提高萃取率的有效方法之一。

3.2 菌丝体破壁方法的选择

真菌菌丝体由于细胞壁是由多糖组成,其次还含有少量的蛋白质和脂类,故真菌的强度与聚合物的网状结构有关。另外,它还有几丁质或纤维素的纤维状结构,所以强度有所提高。因为真菌强度主要取决于构成壁的聚合物以及它们相互交联或与其他壁组分交联的强度。为了破碎细胞,必须克服的主要阻力是网状结构的共价键^[3]。

针对实际的操作条件,我们选用机械法与冻融法进行实验。两种方法的操作流程如下:

机械法:

湿样 食品加工机捣碎 真空干燥 对辊式粉碎机碾磨 振筛机过筛

冻融法:

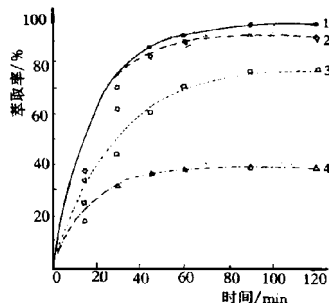
湿样 食品加工机捣碎
- 18 冷冻1h 40 融解1h 真空干燥 对辊
交替存放 10 h

式粉碎机碾磨 振筛机过筛

通过实验得到机械法萃取率为91.4%,而冻融法为89.0%,机械法比冻融法萃取率高,且操作简便,在粉碎的同时起到截断菌体的作用,而冻融法费时,耗电量大,且破壁效果不明显,故对被孢霉菌丝体的破壁处理采用机械法。

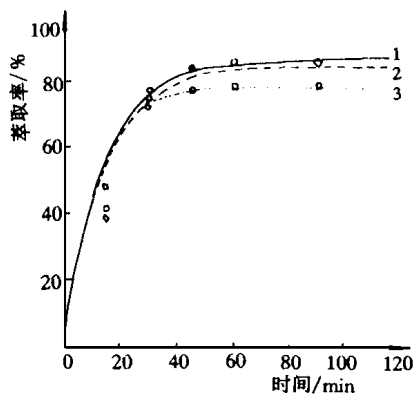
3.3 粉碎度对被孢霉菌丝体油脂萃取率的影响

由图2可以看出,随着粉碎度的提高,萃取率也迅速提高。如曲线1、曲线2粉碎度高,萃取率高。曲线3虽然粉碎度低,但在初始25 min内萃取速度与曲线1和2不差上下。这主要是因为开始阶段CO₂携带物体能力强,随着CO₂中溶解的物质增多,携带能力降低。粉碎度高的成分,CO₂较易渗入溶解其中的油脂,因而弥补了携带能力降低的缺陷,这也是粉碎度低的曲线3在25 min后萃取率降低的原因。



1. 水分3.2% $y = 96.20 - \exp(-0.0517x + 4.57)$ $r = 0.997$
 2. 水分4.7% $y = 92.13 - \exp(-0.0557x + 4.52)$ $r = 0.980$
 3. 水分6.6% $y = 79.82 - \exp(-0.0345x + 4.37)$ $r = 0.990$
 4. 水分15.5% $y = 39.84 - \exp(-0.0577x + 3.69)$ $r = 0.998$

图1 不同含水条件下,被孢霉菌丝体的萃取率与时间的关系



1. 细样 $y = 87.13 - \exp(-0.0722x + 4.47)$ $r = 0.997$
 2. 中样 $y = 86.07 - \exp(-0.0694x + 4.45)$ $r = 0.999$
 3. 粗样 $y = 79.33 - \exp(-0.0865x + 4.37)$ $r = 0.999$

图2 不同粉碎度条件下,被孢霉菌丝体的萃取率与时间的关系

* 细样为过26目、70目筛的筛分; 中样为过26目筛的筛分; 粗样为未过26目、70目筛的筛分。

3.4 萃取压力对被孢霉菌丝体油脂萃取率的影响

由表1可见, 压力越高, 萃取速度越快, 萃取率越高。虽然压力升高到35 M Pa, 萃取率又提高了5.7%, 但考虑到压力容器的巨大设备投资, 选择30 M Pa 做为萃取压力为宜。

3.5 萃取温度对菌丝体油脂萃取率的影响

由表1知, 当温度高于35℃时, 随着萃取温度的升高, 萃取率降低。萃取温度以选择35℃为宜。

表1 不同萃取压力和温度下的萃取率

%

样 品		不同时间的萃取率					
		15 m in	30 m in	45 m in	60 m in	90 m in	120 m in
压力/M Pa	1 (30)	41.2	77.5	83.9	85.8	87.0	-
	2 (35)	49.6	78.3	88.9	91.5	92.7	-
温度/℃	1 (35)	41.2	77.5	83.9	85.8	87.0	89.4
	2 (40)	22.5	58.0	67.9	70.4	72.7	77.1

3.6 萃取时间对萃取率及油品质量的影响

由以上实验可见, 在适宜的操作参数下进行超临界萃取, 前45 m in 曲线陡度较大, 萃取速度快, 当45 m in 以后, 曲线变得平缓, 萃取60 m in, 萃取率可达85%以上, 再延长时间意义不大。

3.7 分离压力对菌丝体油脂质量的影响

由于菌丝体本身含有大量水分, 即使经真空干燥处理, 由于菌丝体易结块, 很难将其中的水分提取干净, 因而萃取的油脂中就含有大量的水, 为了获得不含水的较纯净的高质量的菌丝体油脂, 控制合适的分离温度和压力就显得尤为重要。表2是等量物料在分离温度45℃, 不同分离压力下的出油状况。由表2可知, 当分离压力为11 M Pa、12 M Pa 时, 油水可以分开, 使得1# 分离器油质澄清, 而在10 M Pa 下, 油水混溶, 1# 分离柱水没有完全分离出去。以11 M Pa 做为分离压力为宜。

表2 不同分离压力下, 1#、2# 分离器的萃取率和性状

样品	分离压力 /M Pa	1# 分离器		2# 分离器	
		萃取比例/%	性状	萃取比例/%	性状
1	10	82.3	淡黄, 浑浊	16.7	灰白色水
2	11	62.7	淡黄, 清	37.3	黄, 浑浊
3	12	61.0	淡黄, 清	39.0	灰黄, 浑浊

3.8 用 GC 测定菌丝体油脂的脂肪酸含量

由表3知, 35 M Pa 压力下萃取的 GLA 含量要高于30 M Pa 压力。经过冷却处理, 使部分饱和脂肪酸结晶分离, 可提高组分中不饱和脂肪酸的含量, GLA 含量也有一定程度增加。

表3 不同萃取处理的菌丝体油脂脂肪酸组分的分析

处理	萃取的脂肪酸组分/%					
	软脂酸	棕榈油酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	γ- 亚麻酸
	16·0	16·1	18·0	18·1	18·2	18·3 (%)
30 M Pa	16 55	2 64	1 48	55 84	18 14	5 34
35 M Pa	13 99	2 05	1 36	57 36	19 11	6 14
35 M Pa*	12 81	1 63	1 33	58 58	19 39	6 27
溶剂法	13 46	1 93	1 56	58 31	18 79	5 94

* 为经过冷冻处理, 去除部分饱和脂肪酸的油脂。

3 9 菌丝体油脂物理常数的测定

表4是采用 SFE 法、溶剂法提取菌丝体油脂的物理常数的比较。从所测数值看, 同一材料采用不同的方法进行处理, 物理常数均有差别, 尤其是过氧化值差别更大。SFE 法所萃取的菌丝体油脂符合鲁/W YB 42- 88 标准(无国家标准)。未经脱酸脱胶等处理的溶剂法萃取的各类油脂的过氧化值均不符合药典标准。

表4 菌丝体油脂的物理常数

处理	比重 (g/mL, 20)	折光指数 (20)	酸价 (以 KOH 计)	皂化价	过氧化值
SFE 法	0 9277	1 4676	2 3	185 5	1 0
溶剂法	0 9176	1 4683	2 6	188 2	5 5

4 结 论

1) 用超临界 CO₂ 萃取菌丝体油脂的方法在工艺上是可行的。水分含量、粉碎方法、粉碎度、压力、温度是影响油脂萃取率的重要因素。

2) 从实验结果确定的最佳工艺条件为: 水分含量 < 5 %; 粉碎方法: 机械碾磨法; 粉碎度: 过 26 目筛的筛分 > 70 %; 萃取压力: 30 M Pa; 萃取温度: 35 ; 分离压力: 11 M Pa; 分离温度: 45 ; 萃取时间: 90 m in; 萃取率: 92 7 %; GLA 含量: 6 14 %。

参 考 文 献

- 1 李必华 滨海拓荒植物 济南: 山东科技出版社, 1994 102~ 121
- 2 韦博成 近代非线性回归分析 南京: 东南大学出版社, 1989 2~ 15
- 3 俞俊棠, 唐孝宣 生物工艺学 (上册). 上海: 华东化工学院出版社, 1991 323~ 350