

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油及其成分分析

周鸣谦, 刘云鹤, 林春梅

(淮海工学院食品科学与工程学院, 江苏 连云港 222005)

**摘要:** 目的: 以黑莓籽为原料, 用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取黑莓籽油, 并测定其成分。方法: 采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取方法提取黑莓籽油, 通过正交试验对影响提取过程的参数进行优化, 确定黑莓籽油提取的最佳工艺条件, 并用气相色谱-质谱法分析黑莓籽油的脂肪酸组成。结果: 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取黑莓籽油的最佳工艺条件为萃取温度 35℃、萃取压力 30MPa、分离压力 12MPa、分离温度 55℃, 此条件下黑莓籽油的得率达 16.10%, 其脂肪酸组成为软脂酸 5.38%、硬脂酸 3.53%、油酸 13.70%、亚油酸 60.48%、亚麻酸 11.16%, 总不饱和脂肪酸含量 85.34%。

**关键词:** 超临界 CO<sub>2</sub>; 萃取; 黑莓籽油; 气相色谱-质谱; 脂肪酸

## Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Fatty Acid Composition Analysis of Blackberry Seed Oil

ZHOU Ming-qian, LIU Yun-he, LIN Chun-mei

(College of Food Science and Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

**Abstract:** Objective: To extract blackberry seed oil from blackberry seeds with supercritical carbon dioxide and determine its fatty acid composition. Methods: Operating parameters that influence the extraction of blackberry seed oil were optimized using an orthogonal array design. The fatty acid composition of blackberry seed oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Results: The optimal extraction conditions were extraction temperature of 35 °C, extraction pressure of 12 MPa, separation pressure of 12 MPa and separation temperature of 55 °C. Under these conditions, the yield of blackberry seed oil was up to 16.10%. The major fatty acids were palmitic acid (5.38%), stearic acid (3.53%), oleic acid (13.70%), linoleic acid (60.48%), gamma-linolenic acid (11.16%) and total unsaturated fatty acid (85.34%).

**Key words:** supercritical carbon dioxide; extraction; blackberry seed oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); fatty acid

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)08-0039-04

黑莓又名美国塔斯洲黑树莓、美国赫尔黑莓, 是蔷薇科悬钩子属的浆果类多年生亚灌木, 其结果早、收益快, 果实风味佳, 含有镁、锰、钙、锌等矿物质及糖类、有机酸、蛋白质、维生素等, 营养价值高。此外, 黑莓中还富含黄酮、花青素、VC 等抗氧化成分, 对 ROO·、O<sub>2</sub><sup>-</sup>·、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、·OH 等有较强的清除能力。因此, 黑莓具有较高的医疗保健作用, 是近年来发展较为迅速, 集营养、保健于一身的一代新兴水果<sup>[1-2]</sup>。

黑莓籽是黑莓果酒、黑莓汁等加工产品的副产物, 黑莓籽油中不饱和脂肪酸的含量较高, 有极高的营养价值。提取黑莓籽油的方法有溶剂浸提法, 超声波辅助

溶剂萃取法<sup>[3-4]</sup>等。溶剂法工艺复杂, 得到的产品中溶剂残留难以控制, 萃取纯度不高。近年来, 发展出一种新型萃取分离技术, 即超临界流体萃取法。这种方法具有操作方便、能耗低、无污染、纯度高、无溶剂残留等特点, 且萃取过程在常温下 CO<sub>2</sub> 惰性介质中进行, 能保持产物的纯天然特性, 在许多领域有实际应用<sup>[5-9]</sup>。目前, 在超临界 CO<sub>2</sub> 植物油脂提取领域, 国内外已经有提取棕榈籽油<sup>[10]</sup>、芹菜籽油<sup>[11]</sup>、大豆油<sup>[12]</sup>、沙棘油<sup>[13]</sup>、八角茴香油<sup>[14]</sup>、月见草油<sup>[15]</sup>、葡萄籽油<sup>[16]</sup>、猕猴桃籽油<sup>[17]</sup>等的研究报道<sup>[18-19]</sup>。本研究以黑莓果酒加工副产品黑莓籽为原料, 采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取黑莓籽油, 考察萃取温度、萃取压力、分离温度以及分

收稿日期: 2011-04-21

基金项目: 江苏省产学研联合创新资金计划项目(BY2010127); 连云港市农业攻关计划项目(CN0905)

作者简介: 周鸣谦(1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为农产品精深加工。E-mail: linlin0174@sina.com

离压力对黑莓籽油得率的影响,优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取黑莓籽油的工艺参数,并采用气质联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法分析黑莓籽油的脂肪酸组成<sup>[20]</sup>,其结果对提高黑莓的综合利用价值,促进黑莓产业的健康发展有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

黑莓籽:连云港市润豪黑莓酒业有限公司生产所得黑莓皮渣中分离得到;CO<sub>2</sub>(纯度>99.0%) 连云港特殊气体有限公司;氢氧化钾、无水乙醚、氯仿、无水硫酸钠均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

HA 221-50-06型超临界萃取装置 南通市华安超临界萃取设备有限公司;BS323S 电子分析天平 赛多利斯科学仪器北京有限公司;XFB-400 小型粉碎机 长沙市雨花区中诚制药机械厂;ZFD-5040 电热鼓风干燥箱 上海绿宇精密仪器制造有限公司;6890N/5973i 气相色谱-质谱仪 美国 Agilent 科技有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 黑莓籽预处理

将黑莓酒过程中产生大量的皮渣进行分离清洗,得到黑莓籽,置电热鼓风干燥箱中 50℃ 烘干,粉碎,过 40 目筛,备用。

#### 1.3.2 超临界萃取工艺流程

黑莓籽→粉碎过筛→称量→装料→超临界 CO<sub>2</sub> 萃取→减压分离→黑莓籽油

#### 1.3.3 单因素试验

在萃取温度 35℃、分离压力 14MPa、分离温度 60℃、CO<sub>2</sub> 流量 10L/h、装料量 200g、萃取时间 50min、萃取压力 30MPa 条件下,考察单因素对黑莓籽油得率的影响。

单因素水平设置:萃取压力:20、25、30、35、40MPa;萃取温度:30、35、40、45、50℃;分离温度:45、50、55、60、65℃;分离压力:8、10、12、14、16MPa。

#### 1.3.4 正交试验

根据单因素试验结果,结合文献资料报道<sup>[15,17,20]</sup>,以及设备条件与工业化生产的可操作性,进行工艺优化试验。选择萃取温度(A)、萃取压力(B)、分离温度(C)、分离压力(D)为变量,进行四因素三水平正交试验(表 1),每次装料 200g,萃取流量 10L/h、萃取时间 50min,以得率为评价指标,评价各号试验的萃取效果。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal tests

水平	因素			
	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 分离温度/℃	D 分离压力/MPa
1	35	25	50	10
2	40	30	55	12
3	45	35	60	14

#### 1.3.5 黑莓籽油脂脂肪酸 GC-MS 分析

样品处理:参考文献[21]对黑莓籽油进行皂化;再进行 2-氨基-2-甲基丙醇(2-amion-2-methy-1-propanol, AMP)衍生化;皂化后的黑莓籽油加入 0.5mL AMP,于 170℃ 下加热衍生化 1h,冷却后水洗去杂,加入 3mL 氯仿振荡 1min,再加入 5mL 水,放置分层后取氯仿层于 10mL 具塞试管中,加入无水硫酸钠,充氮气保存于冰箱备用。上述操作保证避光并尽可能在氮气保护下进行。

色谱条件:色谱柱:122-7032DB-WAX 柱(30m × 0.25mm, 0.25 μm);升温程序:180℃ 保持 3min,以 3.0℃/min 升至 230℃ 保持 15.0min;载气(He)流速 0.8mL/min,压力 2.4kPa,进样量 10 μL;分流比 10:1。

质谱条件:电子轰击(electron impact, EI)离子源;电子能量 70eV;接口温度 250℃;离子源温度 200℃;扫描质量范围  $m/z$  99~634,扫描速率 120 次/min;全扫描方式;四极杆质量分析器。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 萃取压力对萃取的影响

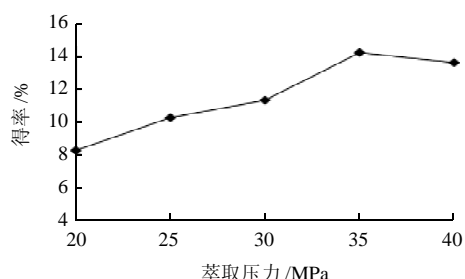


图 1 萃取压力对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油的影响  
Fig.1 Effect of extraction pressure on the yield of blackberry seed oil

萃取压力是影响黑莓籽油萃取效率的重要因素,在萃取压力为 20~35MPa 范围内,随着萃取压力的升高,得率增加,但当萃取压力达到 40MPa 时得率有所下降,以 35MPa 萃取收率最高,萃取 50min 的得率达 14.2%,

而 20MPa 得率最低, 仅 8.5%(图 1)。一般萃取压力越高, 超临界 CO<sub>2</sub> 的密度增加越多, 黑莓籽油溶解度提高越大, 但萃取压力过高会加大设备的损耗, 不利于设备的操作和维护。为此, 黑莓籽油萃取压力以 35MPa 为宜。

### 2.1.2 萃取温度对萃取的影响

萃取温度对物质在 CO<sub>2</sub> 流体中的溶解能力具有较大的影响。结果表明, 在萃取温度为 30~50℃ 范围内, 萃取温度对得率及油脂质量具有明显影响。萃取温度 30℃ 时, 得到的油脂浑浊; 35℃ 的得率最高, 油脂清亮; 而萃取温度为 50℃ 的得率低, 油脂浑浊(图 2)。因此, 其适宜的萃取温度范围为 35~45℃。

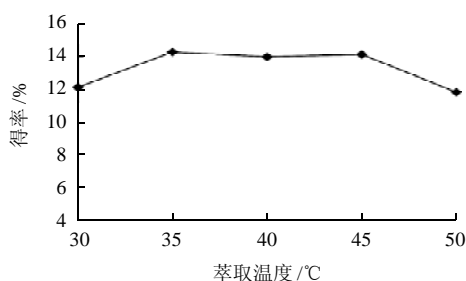


图2 萃取温度对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油的影响  
Fig. 2 Effect of extraction temperature on the yield of blackberry seed oil

### 2.1.3 分离温度对萃取的影响

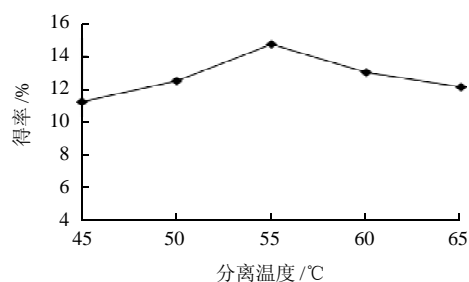


图3 分离温度对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油的影响  
Fig. 3 Effect of separation temperature on the yield of blackberry seed oil

在分离温度 45~55℃ 范围内, 黑莓籽油的得率随着分离温度的升高而增加, 在分离温度 55~65℃ 范围内, 黑莓籽油的得率随着分离温度的升高而减小, 其中以 55℃ 分离温度的黑莓籽油得率最高, 达 14.7%, 其次为 60℃ (13.0%), 且两者萃取的油脂清亮(图 3), 其余条件下萃取的油脂浑浊。由于较低压力状态下, 温度对 CO<sub>2</sub> 密

度影响非常显著, 温度升高导致 CO<sub>2</sub> 的密度减小, 溶解能力下降, 从而有利于油脂析出。因而, 分离温度不仅影响油脂的得率, 而且影响油脂外观质量, 其适宜的分离温度范围为 50~60℃。

### 2.1.4 分离压力对萃取的影响

如图 4 所示, 在 10~14MPa 压力之间, 分离压力对黑莓籽油的得率影响不大, 当分离压力超过 14MPa 后, 黑莓籽油的得率降低。由此可知, 在一定的范围内, 分离压力越低, 越有利于产物完全析出, 但低压时 CO<sub>2</sub> 中的水分会同油脂一起分离析出, 从而影响油脂质量。因此认为, 黑莓籽油适宜的分离压力为 10MPa。

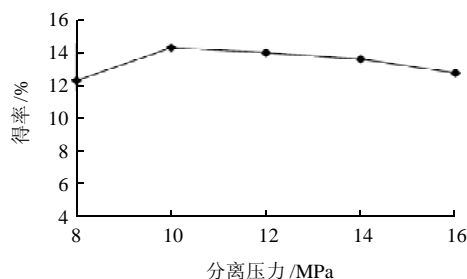


图4 分离压力对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油的影响  
Fig. 4 Effect of separation pressure on the yield of blackberry seed oil

## 2.2 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油的正交试验

根据单因素的试验结果, 选取 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行正交试验, 结果见表 2。

表2 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取黑莓籽油正交试验设计及结果

Table 2 Results of orthogonal tests

试验号	因素				得率 /%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	14.4
2	1	2	2	2	14.9
3	1	3	3	3	14.8
4	2	1	2	3	12.8
5	2	2	3	1	15.4
6	2	3	1	2	10.1
7	3	1	3	2	10.9
8	3	2	1	3	12.2
9	3	3	2	1	15.9
k <sub>1</sub>	14.7	12.7	12.2	15.2	T=121.4
k <sub>2</sub>	12.8	14.2	14.5	12.0	
k <sub>3</sub>	13.0	13.6	13.7	13.2	
R	1.9	1.5	2.3	3.2	

正交试验数据的分析使用直观分析法, 表 2 结果说明, 各因素对黑莓籽油提取的影响程度依次为 D > C > A > B, 即分离压力、分离温度、萃取温度、萃取压

力。综合各因素的  $k$  值和直接比较,  $A_1B_2C_2D_1$  为最佳工艺条件, 即萃取温度  $35^\circ\text{C}$ 、萃取压力  $30\text{MPa}$ 、分离温度  $55^\circ\text{C}$ 、分离压力  $10\text{MPa}$ 。由于  $A_1B_2C_2D_1$  组合在试验中未出现, 故进行验证实验, 此条件下黑莓籽油的得率为  $16.1\%$ 。

### 2.3 黑莓籽油脂肪酸组成及含量分析

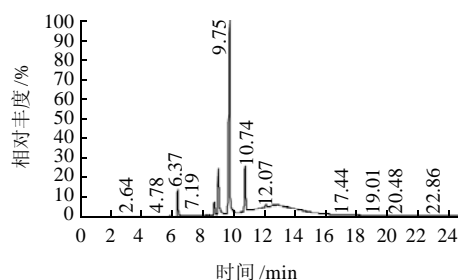


图5 黑莓籽油脂肪酸的气相色谱-质谱联用图谱

Fig.5 GC-MS chromatogram of blackberry seeds oil

表3 黑莓籽油中脂肪酸成分及相对含量

Table 3 Fatty acid composition and contents of blackberry seeds oil

保留时间/min	化合物名称	相对含量/%
6.36	软脂酸( $\text{C}_{16:0}$ )	5.38
8.75	硬脂酸( $\text{C}_{18:0}$ )	3.53
9.01	油酸( $\text{C}_{18:1\ n9(\Delta\ 9)}$ )	13.70
9.75	亚油酸( $\text{C}_{18:2\ n6(\Delta\ 9,12)}$ )	60.48
10.74	亚麻酸( $\text{C}_{18:3\ n3(\Delta\ 9,12,15)}$ )	11.16
12.51	未定出	5.75

由图5和表3可知, 超临界  $\text{CO}_2$  萃取黑莓籽油主要含有5种脂肪酸成分, 含量分别为软脂酸  $5.38\%$ 、硬脂酸  $3.53\%$ 、油酸  $13.70\%$ 、亚油酸  $60.48\%$ 、亚麻酸  $11.16\%$ , 还有一种成分未确定。其中亚油酸含量最高, 其次是亚麻酸, 总不饱和脂肪酸含量为  $85.34\%$ 。

## 3 结 论

3.1 影响超临界  $\text{CO}_2$  萃取黑莓籽油的因素有萃取温度、萃取压力、提取压力、提取温度。

3.2 4个因素对于黑莓籽油得率的影响大小分离压力 > 分离温度 > 萃取温度 > 萃取压力。

3.3 通过正交试验, 确定最佳的工艺条件为萃取压力  $30\text{MPa}$ 、萃取温度  $35^\circ\text{C}$ 、分离温度  $55^\circ\text{C}$ 、分离压力  $10\text{MPa}$ , 此条件下黑莓籽油的得率为  $16.1\%$ 。

3.4 超临界  $\text{CO}_2$  萃取黑莓籽油主要含有5种脂肪酸成分, 含量分别为软脂酸  $5.38\%$ 、硬脂酸  $3.53\%$ 、油酸  $13.70\%$ 、亚油酸  $60.48\%$ 、亚麻酸  $11.16\%$ , 还有一种成分未确定。其中亚油酸含量最高, 其次是亚麻酸, 总不饱和脂肪酸含量为  $85.34\%$ 。

### 参考文献:

- [1] 王玉霞, 张超. 黑莓的开发与利用[J]. 西南园艺, 2002, 30(3): 6.
- [2] 李维林, 孙醉君, 郑海燕. 黑莓鲜果及其加工品的营养成分[J]. 天然成分研究与开发, 1997, 10(1): 55-57.
- [3] 朱红叶, 马永昆, 魏本喜. 超声辅助提取黑莓籽油及其脂肪酸成分分析[J]. 中国油脂, 2010, 35(6): 5-8.
- [4] van HOED V, de CLERCQ N, ECHIM C, et al. Berry seeds: a source of specialty oils with high content of bioactives and nutritional value[J]. Journal of Food Lipids, 2009, 16(1): 33-49.
- [5] 张镜澄. 超临界流体萃取[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 97-103.
- [6] 赵垦田, 孙俊, 李德海. 超临界  $\text{CO}_2$  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.
- [7] 成诗明, 张树海, 张景林. 超临界流体技术应用研究[J]. 安徽化工, 2003(1): 30-33.
- [8] RAVNETOS M, DUARTE S, ALARCON R. Application and possibilities of supercritical  $\text{CO}_2$  extraction in food processing industry: an overview[J]. Food Science and Technology International, 2002, 8(5): 269-284.
- [9] 银建中, 刘欣, 丁信伟. 超临界流体技术研究进展[J]. 江苏化工, 2002, 30(2): 26-29.
- [10] 朱莉, 罗士数, 张海德, 等. 棕榈籽油的超临界  $\text{CO}_2$  萃取及其成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 151-154.
- [11] 曾健青, 张镜澄, 郭振德. 超临界  $\text{CO}_2$  萃取芹菜籽油研究[J]. 化学工程, 1997, 25(6): 40-43.
- [12] 原华山, 银建中, 丁信伟. 超临界  $\text{CO}_2$  萃取大豆油的实验研究[J]. 化学工业与工程技术, 2002, 23(1): 3-5.
- [13] 银建中, 孙献文, 李志义, 等. 超临界流体萃取沙棘油实验研究[J]. 化学工程, 2002(4): 13-15:38.
- [14] 曹健青, 张镜澄. 液态及超临界  $\text{CO}_2$  萃取八角茴香油的研究[J]. 广州化学, 1997(2): 30-33.
- [15] FAVATI F. Supercritical carbon dioxide extraction of evening primrose oil [J]. JAOCS, 1991, 68(6): 422-427.
- [16] SOVOVA H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical  $\text{CO}_2$ -II. extraction of grape oil[J]. Chemical Engineering Science, 1994, 49(3): 415-420.
- [17] 杨柏崇, 李元瑞. 猕猴桃籽油的超临界二氧化碳萃取研究[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 104-108.
- [18] 银建中, 孙献文, 李志义, 等. 超临界  $\text{CO}_2$  流体萃取植物油的实验研究[J]. 现代化工, 2001, 21(10): 26-35.
- [19] 刘丹, 王洪军, 才淑霞, 等. 超临界二氧化碳在萃取植物油脂中的应用[J]. 黑龙江科技信息, 2009(1): 5-6.
- [20] 张海德, 黄玉林, 韩林. 棕榈油的分离及 GC-MS 分析[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 298-300.
- [21] 李京民, 王静萍. 植物油脂中脂肪酸的分离与鉴定方法[J]. 中国油脂, 1994, 19(2): 32-37.