

分子蒸馏富集亚麻籽油中 α -亚麻酸的研究

刘金菊¹, 杨震发², 白巧霞¹, 杨顺义^{3,4}

(1. 白银矿冶职业技术学院, 甘肃 白银 730900; 2. 白银市种子管理局, 甘肃 白银 730900; 3. 甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃 兰州 730070; 4. 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 亚麻籽油经甲酯化后, 采用分子蒸馏技术对其中 α -亚麻酸进行分离纯化, 以 α -亚麻酸质量分数和提取率作为衡量纯化效果的指标。经单因素试验确定蒸馏温度、蒸馏压力、进料速度、刮膜转速的操作范围, 并利用响应曲面法 Box-Behnken 试验设计, 确定了亚麻籽油中 α -亚麻酸分离纯化的工艺条件, 即蒸馏温度 90 °C、蒸馏压力 0.8 Pa、进料速度 0.87 mL/min、刮膜转速 287 r/min。在该工艺条件下, 得到 α -亚麻酸含量为 81.15%, 提取率为 78.20%。

关键词: 亚麻籽油; α -亚麻酸; 响应曲面法; 分子蒸馏; 富集

中图分类号: TS222 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)05-0016-06

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2019.05.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2019.05.005)

Enrichment of α -linolenic Acid in Flaxseed Oil by Molecular Distillation

LIU Jinju¹, YANG Zhenfa², BAI Qiaoxia¹, YANG Shunyi^{3,4}

(1. Baiyin Mine and Metallurgy Vocational and Technical College, Baiyin Gansu 730900, China; 2. Baiyin Seed Administration Bureau, Baiyin Gansu 730900, China; 3. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China; 4. Biological Control Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests in Gansu, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: After linseed oil was methylated, the α -linolenic acid was separated and purified by molecular distillation technology. The content of α -linolenic acid and extraction rate were used as indicators to measure the purification effect. The operating range of distillation temperature, distillation pressure, feed rate and scraping speed was determined by single factor experiment. The optimized process conditions for purification of α -linolenic acid were obtained by Box-Behnken experimental design of response surface method: distillation temperature was 90 °C, the distillation pressure was 0.8 Pa, the feed rate was 0.87 mL/min, and the scraping speed was 287 r/min. Under this process condition, the content of α -linolenic acid was 81.15%, and the extraction rate was 78.20%.

Key words: Flaxseed oil; α -linolenic acid; Response surface methodology; Molecular distillation; Enrichment

α -亚麻酸(全顺-9, 12, 15-十二碳三烯酸)属 ω -3 系列不饱和脂肪酸, 为人体必需脂肪酸^[1], 是人体转化合成 EPA(二十碳五烯酸)和 DHA(二十二碳六烯酸)的前体物

收稿日期: 2018-09-17; 修订日期: 2019-04-10

基金项目: 甘肃省高等学校科研项目自筹经费项目(2016B188)。

作者简介: 刘金菊(1988—), 女, 四川南部人, 讲师, 硕士, 研究方向为化学工程与工艺。Email: 839584172@qq.com。

[37] 张 茹, 魏兵强, 陈灵芝, 等. 低温胁迫 响[J]. 甘肃农业科技, 2017(12): 26-30.

对辣椒种子发芽及苗期 6 个生理指标的影

(本文责编: 郑立龙)

质。EPA 在体内通过酶促反应生成包括前列腺素在内的多种活性物质, DHA 是构成神经、大脑、视网膜等组织膜磷脂的重要物质^[2]。EPA、DHA 具有开发智力、保护视力、降血压、降血脂^[3], 预防肿瘤^[4]、乳腺癌^[5-6]、动脉粥样硬化^[7]等作用。目前富集 α - 亚麻酸常见方法有尿素包合法^[8-9]、银离子络合法^[10]、低温冻结结晶法^[11]、分子蒸馏法^[12]等。尿素包合法主要利用脂肪酸的不饱和程度和碳链长度分子纯化脂肪酸。由于 α - 亚麻酸为多不饱和脂肪酸, 含 3 个不饱和双键, 碳链具有一定的空间构型, 不易被尿素分子包合, 尿素分子能够与饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸形成较稳定的晶体包合物, 在低温条件下包合物结晶析出。该方法的缺点是提取纯度不高、有机溶剂残留、包合时间长等^[13]。银离子络合法即根据脂肪酸双键数目的不同而达到分离的效果。络合作用的强弱与不饱和键的多少成正比, α - 亚麻酸的 3 个双键可与银离子以配位共价键键合, 形成稳定的亲水络合物, 甲酯化法常作为银离子络合法的前处理法, 其缺点是产品中有银离子残留, 选择性强, 生产量小。冻结结晶法即利用中短链脂肪酸较长链脂肪酸在同一溶剂中溶解度低, 饱和脂肪酸较不饱和脂肪酸在同一溶剂中溶解度低的特性进行不饱和脂肪酸的富集, 其缺点是产品中有溶剂残留, 需回收大量有机溶剂。分子蒸馏技术依据混合物组分中不同分子运动的平均自由程的差异来进行分离^[14], 广泛应用于纯化分离高热敏性、高沸点、高粘度、低挥发度的物质^[15-16], 工序简单, 分离效率高; 其缺点是生产成本较高。根据不同纯化方法有缺点互补的原则, 我们将甲酯化法与多级分子蒸馏相结合, α - 亚麻酸甲酯化后, 蒸馏温度降低至 90 °C 左右, 能耗降低, 也减少了 α - 亚麻酸的氧化分解。试验过程不用溶剂做分离剂, 无溶剂残留, 多级蒸馏提高 α - 亚麻酸的纯度, 研究确定挂模式分

子蒸馏装置提纯 α - 亚麻酸的工艺条件, 为高纯度 α - 亚麻酸工业化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与仪器

亚麻籽油[酸价0.89(KOH)/(mg/g), 水分含量 0.072%, α - 亚麻酸含量 57.11%], 青海福来喜得生物科技股份有限公司 α - 亚麻酸工程研究中心提供。 α - 亚麻酸甲酯标准品(纯度 $\geq 99\%$), 中国食品药品鉴定研究所提供。甲醇、氢氧化钾、无水硫酸钠均为分析纯。正己烷为色谱纯。GC7890B, 安捷伦科技(中国)有限公司; FZL 刮膜式分子蒸馏设备, 天津君歌分子蒸馏设备有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 亚麻籽油甲酯化 称取 50 g 经检验合格的亚麻籽油置于 250 mL 容量瓶中, 加入定量正己烷轻摇使其完全溶解后定容, 加入 0.5 mol/L 的 KOH- 甲醇溶液作催化剂, 常温下反应 30 min, 静置 40 min, 加入蒸馏水振摇、静置分层, 弃去下层液, 冲洗至中性, 再经无水硫酸钠脱水处理, 得 α - 亚麻酸甲酯粗产品。

1.2.2 单因素试验 在冷凝循环水 5 °C, 预热温度 60 °C, 进料时间 30 min 的条件下, 依次研究蒸馏压力(蒸馏温度 85 °C、刮膜转速 200 r/min、进料速度 0.8 mL/min)、蒸馏温度(蒸馏压力 0.8 Pa、刮膜转速 200 r/min、进料速度 0.8 mL/min)、刮膜转速(蒸馏温度 85 °C、蒸馏压力 0.8 Pa、进料速度 0.8 mL/min)、进料速度(蒸馏温度 85 °C、蒸馏压力 0.8 Pa、刮膜转速 200 r/min)4 个因素对 α - 亚麻酸富集效果的影响, 以确定蒸馏工艺参数。

1.2.3 Box-Behnken 设计优化试验 在单因素试验的基础上, 选取蒸馏温度、蒸馏压力、进料速度、刮膜转速 4 个因素, 进行通用旋转组合设计实验。以 α - 亚麻酸含量为指标, 利用 Desigh Expert7.0 软件对数据进行处理分析, 筛选出富集 α - 亚麻酸的分子蒸馏优化工艺条件, 并进行验证。因素水平

设计见表1。

表1 响应曲面因素水平

水平	因素			
	蒸馏温度(A) /°C	蒸馏压力(B) /Pa	进料速度(C) /(mL/min)	刮膜转速(D) /(r/min)
-1	75	0.2	0.6	200
0	85	0.7	0.9	250
1	95	1.2	1.2	300

1.3 分析方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 DB-FFAP 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度为 250 °C; 柱温的起始温度 180 °C, 10 °C/min 升温至 220 °C, 再以 8 °C/min 升温至 250 °C, 保持 13 min; 检测器温度 270 °C; 进样量 1 μL, 分流比 20 : 1; 载气为氮气、氢气。

1.3.2 α-亚麻酸甲酯的含量和提取率测定

将 α-亚麻酸甲酯标准品与 α-亚麻酸乙酯标准品分别配置成 1 mg/mL 的正己烷溶液, 各取 1 mL 充分混合后取样进行色谱分析。相对质量校正因子按下式得出^[17]。

$$f = \frac{A_s/m_s}{A_r/m_r}$$

式中, f 为相对质量校正因子; A_s 、 A_r 分别为内标物和对照品的峰面积; m_s 、 m_r 分别为加入内标物和对照品的量。

将脂肪酸甲酯粗品和轻组分中样品分别配制成 2 mg/mL 的正己烷溶液, 各取 1 mL 上述溶液与 1 mL 的 α-亚麻酸乙酯内标溶液(1 mg/mL)混合, 取样进气相色谱分析。α-亚麻酸甲酯含量和提取率按下式计算。

$$w = \frac{f \times A(l)}{2 \times A(s)} \times 100\%$$

$$w(i) = \frac{f \times A(i)}{2 \times A(s)} \times 100\%$$

$$Y = \frac{m(l) \times w(i)}{[m(h) + m(l)] \times w} \times 100\%$$

式中, w 为 α-亚麻酸甲酯的含量(总), $w(i)$ 为 α-亚麻酸甲酯的含量, Y 为 α-亚麻酸甲酯提取率, f 为相对质量校正因子, $A(l)$

为粗品峰面积, $A(i)$ 为轻组分样品面积, $A(s)$ 为内标物峰面积; $m(l)$ 为轻组分质量(g); $m(h)$ 为重组分质量(g)。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.2.1 蒸馏温度对 α-亚麻酸甲酯富集效果的影响 图1表明, 由于温度逐渐升高, 轻组分不断溢出, α-亚麻酸甲酯在轻组分中的含量随着温度的升高呈先增大后减小的趋势, 99 °C 时达到最大值。但随着蒸馏温度继续升高, 重组分也会被带出, 从而使轻组分中 α-亚麻酸甲酯的含量降低。α-亚麻酸甲酯的提取率随着温度升高一直呈现上升趋势, 温度越高, 提取率越来越高。试验过程中发现, 当蒸馏温度高于 90 °C 时, 轻组分颜色变暗, 且变暗程度与温度成向关系。综合分析, 蒸馏温度应该控制在 90 ~ 95 °C 较为适宜。

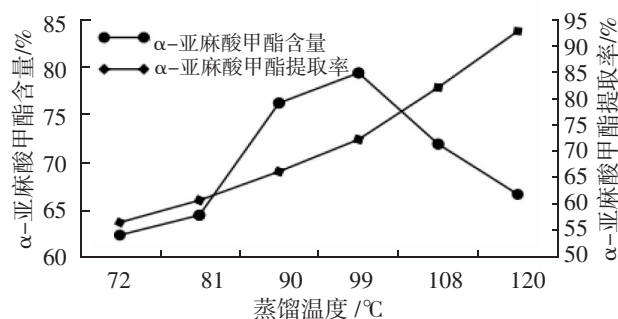


图1 蒸馏温度对纯化效果的影响

2.2.2 蒸馏压力对 α-亚麻酸甲酯富集效果的影响 如图2所示, 随着压力的增大, α-亚麻酸甲酯的含量迅速增大, 后呈缓慢增长趋势, 在 0.8 Pa 时达到最大值。α-亚麻酸甲酯的提取率随着压力的增大持续增大。综合分析, 蒸馏压力应该控制在 0.8 Pa

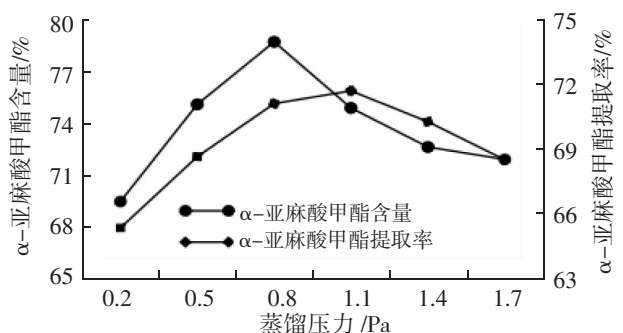


图2 蒸馏压力对纯化效果的影响

比较合适。

2.2.3 进料速度对 α -亚麻酸甲酯富集效果的影响 图 3 表明,轻组分中 α -亚麻酸甲酯的含量和提取率随着进料速度的增加先增大后减小,在 1.1 mg/min 时含量达到最大,提取率相应的最高。这是由加热器传热量与 α -亚麻酸甲酯汽化热之间平衡所决定的,低流量时加热器传热量大于 α -亚麻酸甲酯汽化热,多余热量用于重组分蒸出。在进料速度为 1.1 mL/min 时两者达到平衡,含量处于平衡状态。随着进料速度加大,加热器已不能够提供足够的热量供 α -亚麻酸甲酯挥发,因此质量分数和提取率开始降低。综合来看,1.1 mL/min 为比较适宜的进料速度。

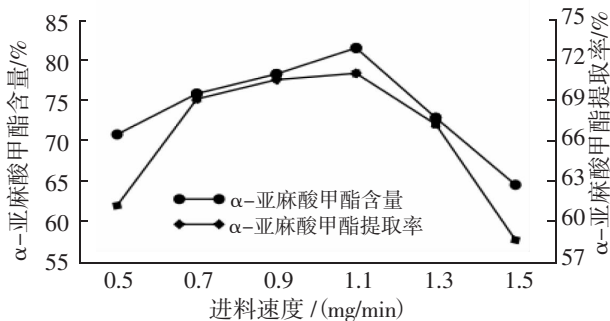


图 3 蒸馏压力对纯化效果的影响

2.2.4 刮膜转速对 α -亚麻酸甲酯富集效果的影响 图 4 表明,轻组分中 α -亚麻酸甲酯的质量分数和提取率均随着刮膜转速的提高先增大后减小,在 280 r/min 时达到最大值。在低转速时,转速提高,引起液膜湍动加强,对流传热速度也随之增大,传热的改善使得更多轻组分逸出。但随着转速进一步提高,热量传递越多,重组分逸出也越多,

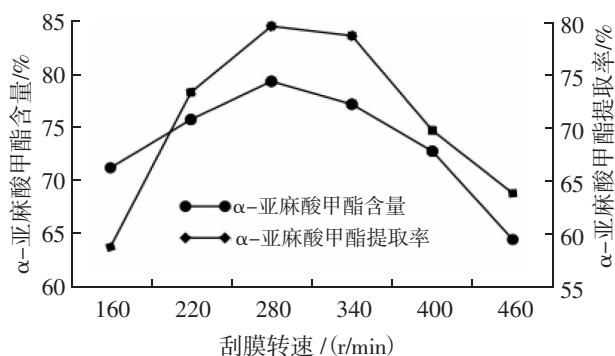


图 4 刮膜转速对纯化效果的影响

加上料液被甩到冷凝管上几率加大,导致质量分数和提取率下降。因此,刮膜转速选择 280 r/min 比较合适。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面回归模型的建立及显著性检验 在单因素试验的前提下,根据 Box-Behnken 试验设计方案进行试验,结果见表 2。

表 2 响应面试验设计与结果

试验 编号	因素				Y /%
	A	B	C	D	
1	0	0	-1	-1	70.33
2	-1	0	-1	0	64.58
3	-1	0	1	0	66.07
4	0	0	1	-1	73.88
5	0	1	1	0	75.79
6	-1	-1	0	0	63.45
7	1	1	0	0	75.16
8	0	0	0	0	79.90
9	1	0	0	1	77.52
10	0	0	0	0	78.96
11	1	-1	0	0	73.96
12	0	1	0	-1	75.16
13	0	1	-1	0	72.04
14	0	-1	0	1	74.31
15	1	0	0	-1	74.58
16	0	0	0	0	79.35
17	0	-1	-1	0	70.46
18	0	-1	0	-1	72.12
19	-1	0	0	1	69.19
20	0	0	0	0	79.67
21	0	0	-1	1	72.98
22	0	0	0	0	80.08
23	1	0	-1	0	73.35
24	0	-1	1	0	73.8
25	0	1	0	1	77.95
26	1	0	1	0	76.02
27	0	0	1	1	75.35
28	-1	0	0	-1	65.58
29	-1	1	0	0	68.43

根据表 2 的数据,对自变量 A、B、C、D 进行回归分析,由 Design-Expert7.0 拟合出二次多项式方程为: $Y=79.59 + 4.44A + 1.37B + 1.43C + 1.30D - 0.95AB + 0.30AC - 0.17AD + 0.10BC + 0.15BD - 0.30CD - 5.98A^2 - 2.89B^2 - 3.88C^2 - 2.10D^2$

由表 3 的方差分析结果看出,方程中的

因素 A 、 B 、 C 、 D 、 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对亚麻籽油中 α -亚麻酸含量影响极显著 ($P < 0.01$)； AC 、 AD 、 BC 、 BD 、 CD 对 α -亚麻酸含量影响不显著； AB 对 α -亚麻酸含量影响显著。根据二次多项式回归方程的一次项系数大小，可以判断出对提取亚麻籽油 α -亚麻酸影响最大的因素是蒸馏温度。复相关系数 $R^2 = 0.9883$ ，说明响应值的变化有 98.83% 来源于所选变量，且模型 P 值远小于 0.01，表示模型方程极显著，失拟性在 0.05 水平上不显著 ($P = 0.1381 > 0.05$)，故模型的选取是适合的。 R_{Adj}^2 为 0.9767，说明建立模型能够解决 97.67% 的响应值变化，能较好的描述分子蒸馏提取 α -亚麻酸工艺条件的变化规律。

2.3.2 模型的验证性 利用 Design-Expert 7.0 软件对模型进行最优化预测，得到最优化工艺组合 A 为 90.98 °C、 B 为 0.79 Pa、 C 为 0.87 mL/min、 D 为 287.13 r/min，此时可得

到最大响应值为 81.00%。为了检验此方法的可靠性，同时考虑操作的便利性，将 α -亚麻酸提取最佳条件修正为蒸馏温度 A 为 90 °C、蒸馏压力 B 为 0.8 Pa、进料速度 C 为 0.87 mL/min、刮膜转速 D 为 287 r/min。按修正后的条件进行 3 次平行实验，得到 α -亚麻酸的含量为 81.15%，与理论值相差 0.15%；提取率 3 次平行试验平均值为 78.2%。此结果与模型的预测值相近，说明建立的模型能较好地反映实际的纯化过程。虽然优化后的工艺明显提高 α -亚麻酸的纯度，但要工业化生产还需做大量中试试验，同时也需要改进。

3 结论与讨论

将 α -亚麻酸甲酯化后从甘油三酯中分离出来，然后采用分子蒸馏技术进一步纯化，通过 Box-Behnken 试验设计筛选出分子蒸馏纯化 α -亚麻酸的最佳工艺条件为蒸馏温度 90 °C、蒸馏压力 0.8 Pa、进料速度

表 3 回归模型的 ANOVA 分析^①

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P	显著性
模型	604.31	14	43.17	84.74	<0.01	**
A	236.65	1	236.65	464.57	<0.01	**
B	22.50	1	22.50	44.16	<0.01	**
C	24.57	1	24.57	48.23	<0.01	**
D	20.41	1	20.41	40.07	<0.01	**
AB	3.57	1	3.57	7.01	<0.05	*
AC	0.35	1	0.35	0.68	>0.05	
AD	0.11	1	0.11	0.22	>0.05	
BC	0.04	1	0.04	0.08	>0.05	
BD	0.09	1	0.09	0.18	>0.05	
CD	0.35	1	0.35	0.68	>0.05	
A^2	231.88	1	231.88	455.19	<0.01	**
B^2	54.04	1	54.04	106.09	<0.01	**
C^2	97.85	1	97.85	192.08	<0.01	**
D^2	28.51	1	28.51	55.96	<0.01	**
残差	7.13	14	0.51			
失拟项	6.33	10	0.63	3.18	0.1381	
纯误差	0.80	4	0.20			
总和	611.40	28				
R^2	0.9883					
R_{Adj}^2	0.9767					

① $P > 0.05$ ，说明模型或考察因素无显著影响； $P < 0.05$ ，* 说明模型或考察因素有显著影响； $P < 0.01$ ，** 说明模型或考察因素有影响极显著。

0.87 mL/min、刮膜转速 287 r/min。在此工艺条件下,得到 α -亚麻酸质量分数为 81.15%,提取率为 78.20%。

陈乐清等^[12]利用分子蒸馏技术纯化亚麻籽 α -亚麻酸,分析了蒸馏温度、刮膜转速、预热温度、进料速度 4 个因素对纯化结果的影响,并利用响应曲面法的 Box-Behnken 实验设计,得到提纯 α -亚麻酸的优化工艺条件,在该工艺条件下, α -亚麻酸质量分数从 53.36%提高至 80.27%,提取率为 76.20%。张运晖^[18]采用四级分子蒸馏技术,将原料中的 α -亚麻酸由原来的 67.5%提纯至 82.3%。本试验首次将蒸馏压力作为考察因素进行试验,所得最佳工艺条件均为考虑接近工业化生产的基础上得到,对工业生产具有一定的指导价值。

参考文献:

- [1] 吴素萍. 亚麻籽中 α -亚麻酸的健功能及提取技[J]. 中国酿造, 2010(2): 7-11.
- [2] LUCAS, JAMES M. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, 3rd edition [J]. Journal of Quality Technology, 2010, 42(2): 166-172.
- [3] K. VIJAIMOHAN, MALLIKA JAINU, K E SABITHA, et al. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats[J]. Life Sciences, 2006, 79(5): 448-454.
- [4] CHANDRADHAR DWIVEDI, KARTHIKA NATARAJAN, DUANE P. Matthees. Chemopreventive effects of dietary flaxseed oil on colon tumor development[J]. Nutrition and Cancer, 2005, 51 (1): 52-58.
- [5] WANG LINDA, CHEN JIANMIN, THOMPSON LILIAN U. The inhibitory effect of flaxseed on the growth and metastasis of estrogen receptor negative human breast cancer xenografts attributed to both its lignan and oil components [J]. International Journal of Cancer, 2005, 116(5): 168-175.
- [6] JIANMIN CHEN, LINDA WANG, LILIAN U THOMPSON. Flaxseed and its components reduce metastasis after surgical excision of solid human breast tumor in nude mice[J]. Cancer Letters, 2005, 234(2): 168-175.
- [7] 韩 浩. α -亚麻酸植物甾醇酯对动脉粥样硬化的保护作用及其机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2015.
- [8] 陈 洁. 油脂化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 190-196.
- [9] 官宇嘉, 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, 30(4): 500-505.
- [10] 靳 革, 孙 凯, 崔新宇, 等. 银离子络合法提取核桃油中不饱和脂肪酸[J]. 光谱实验室, 2012, 29(4): 2286-2290.
- [11] 王晓玲, 杨 青, 刘高强, 等. 低温结晶法富集马尾松毛虫幼虫中的多不饱和脂肪酸[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(9): 70-74.
- [12] 陈乐清, 林 文, 丁朝中, 等. 分子蒸馏纯化亚麻籽油中 α -亚麻酸的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4): 216-219.
- [13] 景战军. 紫苏籽 α -亚麻酸提取技术[J]. 甘肃农业科技, 2011(3): 51-52.
- [14] WEILIANG WU, CHAO WANG, JIANXIAN ZHENG. Optimization of deacidification of low-calorie cocoa butter by molecular distillation[J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 46(2): 12-17.
- [15] YANG LI, SONG-LIN XU. DSMC simulation of vapor flow in molecular distillation [J]. Vacuum, 2014, 110: 40-46.
- [16] 张运晖, 赵 瑛, 罗俊杰. 超临界 CO₂ 萃取与分子蒸馏技术的研究综述[J]. 甘肃农业科技, 2013(5): 44-46.
- [17] SHANTHA N C, NAPOLITANO G E. Review: Gas chromatography of fatty acids[J]. Journal of Chromatography. 1992. 624: 37-51.
- [18] 张运晖. SFE-CO₂ 与分子蒸馏技术分离纯化亚麻籽油中的 α -亚麻酸[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.

(本文责编: 陈 伟)