

李东娜,陆建农,黄润生,等. 索氏抽提法测定蓖麻含油率的条件优化[J]. 江苏农业科学,2020,48(7):236-240.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.07.045

索氏抽提法测定蓖麻含油率的条件优化

李东娜,陆建农,黄润生,林鸿杰,杨 婷,顾帅磊,殷学贵

(广东海洋大学滨海农业学院,广东湛江 524088)

摘要:以淄蓖 5 号为材料,以种仁含油率为评价指标,通过单因素试验和正交试验研究了索氏抽提法中烘干顺序、抽提温度、抽提时间、溶剂种类及料液比等因素对测定结果的影响,对蓖麻含油率测定条件进行了优化。结果表明,先研磨后烘干和石油醚抽提效果较好;最佳提取工艺条件为抽提时间 6 h、抽提温度 50 ℃、料液比 1 g : 40 mL,在此条件下蓖麻含油率达到 58.29%,优化后的工艺条件实现了高效、低成本、低污染、低毒性。

关键词:索氏抽提法;蓖麻;含油率;提取工艺;正交试验

中图分类号: TQ645.8⁺2;TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2020)07-0236-05

蓖麻是油料作物,其主要经济来源是蓖麻油,籽粒含油量为 45% ~ 54%^[1]。蓖麻油中油酸含量达 80% ~ 90%,其成分主要是 12-羟基和顺-9-十八碳-烯酸,化学性质独特^[2]。蓖麻是重要的化工原料,广泛应用于医药制药、航天航空、机械制造、纺织印染、精细化工等领域,共有 700 多种用途^[3-4]。目前,蓖麻种植效益低,育种工作至关重要,而含油率的高低可以作为蓖麻选育的指标之一。含油率可用索氏抽提法进行测定。

索氏抽提法是利用索氏抽提器测定粗脂肪含量的一种方法,可以作为鉴定植物种子及果实品质优劣的指标之一,被广泛应用于油菜籽^[5]、大豆^[6]、芝麻^[7]等植物上。将提取测定含油率的方法相比较,热榨法与冷榨法提取测定含油率的效率较低,且热榨法使用的温度较高,一定程度上会造成不饱和脂肪酸含量的下降,导致最终结果较低;超临界 CO₂ 萃取法设备复杂,造价高;水酶法成本高,因为使用的酶制剂价格太高;而索氏提取法不仅准确性与重现性好,而且快速、方便、设备操作简单、成本低^[8],但其测定时间过长、测定值偏小,还可以进一步进行改进。

目前对蓖麻的研究尚浅,对蓖麻脂肪的提取和

测定的报道也比较少。本试验研究了不同烘干顺序、提取溶剂、料液比、提取时间和提取温度对测定蓖麻粗脂肪含量的影响,探究索氏抽提法提取蓖麻粗脂肪的最佳条件,得到高效、低成本、低污染、低毒性的测定方法,为测定不同蓖麻品种的粗脂肪含量和蓖麻的品种选育等打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

淄蓖 5 号,由广东海洋大学植物分子育种试验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 试验步骤 参考 GB/T 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》,称取若干粒蓖麻籽约 1.500 0 g,去壳,得种仁,研磨种仁并置于滤纸中,烘干至恒质量,抽提后再烘干,计算得到含油率。

1.2.2 单因素试验设计 以淄蓖 5 号为原材料,在保持其他条件不变的条件下,探究烘干顺序(先烘干再研磨、先研磨再烘干、先烘干后研磨再烘干)、抽提时间(4、5、6、7、8 h)、抽提温度(40、45、50、55、60 ℃)、溶剂种类(正己烷、乙酸乙酯、无水乙醇、石油醚)、料液比(1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL、1 g : 35 mL、1 g : 40 mL、1 g : 50 mL)对蓖麻种仁含油率测定的影响,称量抽提前后蓖麻种仁的质量并计算其含油率,重复 3 次取平均值。

1.2.3 正交优化试验设计 根据单因素试验的探究结果,索氏抽提法测定蓖麻含油率时,烘干顺序、抽提时间、抽提温度、溶剂种类和料液比对蓖麻含

收稿日期:2019-12-06

基金项目:广东省科技计划(编号:2014A020208116、2016A020208015)。

作者简介:李东娜(1995—),女,广东廉江人,硕士研究生,主要从事蓖麻高产优质栽培研究。E-mail:164168390@qq.com。

通信作者:殷学贵,博士,教授,主要从事蓖麻种质资源与遗传育种研究。E-mail:yinxuegui@126.com。

油率均有不同程度的影响。由单因素试验结果和正交试验原理为基础进行 3 因素 3 水平正交试验 $L_9(3^3)$ (每组 3 个平行), 以确定索氏抽提法测定蓖麻含油率的最佳条件。正交试验设计的因素与水平见表 1。

1.2.4 计算方法 用万分之一天平称量样品的质量, 分别测定种仁质量、种仁研磨及烘干后的质量、抽提及烘干后的质量。含油率计算公式为

蓖麻种仁含油量 = (种仁研磨并烘干后的质量 - 抽提并烘干后的质量) / 种仁质量 × 100%。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 烘干顺序对含油率测定的影响 在抽提温度 50 ℃、抽提时间 5 h、以石油醚为溶剂等相同条

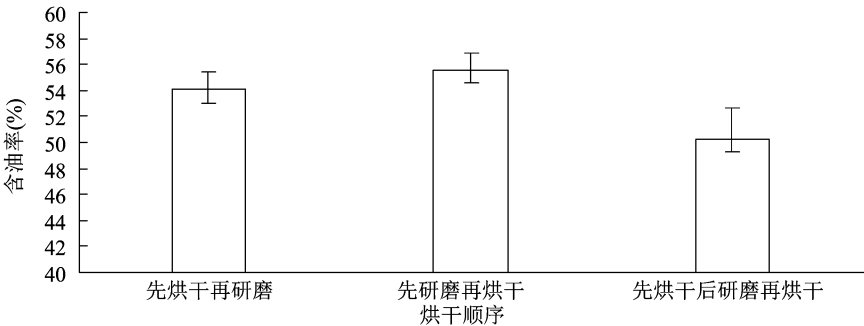


图1 烘干顺序对含油率测定的影响

表 2 烘干顺序对含油率测定影响的变异数分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
组间	44.358	2	22.179	6.922 *
组内(误差)	19.226	6	3.204	
总计	63.584	8		

注: * 表示组间差异显著, ($P < 0.05$), * * 表示组间差异极显著 ($P < 0.01$)。下表同。

2.1.2 抽提时间对含油率测定的影响 在先研磨后烘干、抽提温度 50 ℃、以石油醚为溶剂等相同条件下, 对抽提时间(4、5、6、7、8 h)进行考察。由图 2 和表 3 可知, 当抽提时间为 4 h 时测得的含油率较小, 粗脂肪还没有充分与石油醚反应, 当抽提时间达到 5 h 后, 所测得的含油率趋于平稳, 且各处理平均数差异极显著 ($P < 0.01$), 为了节省能源和时间, 选取 4、5、6 h 作为正交试验的因素值。

2.1.3 抽提温度对含油率测定的影响 在先研磨后烘干、抽提时间 5 h、以石油醚为溶剂等相同条件下, 对抽提温度(40、45、50、55、60 ℃)进行考察。由

表 1 正交试验设计的因素与水平

水平	因素		
	A:料液比 (g : mL)	B:抽提时间 (h)	C:抽提温度 (℃)
1	1 : 30	4	45
2	1 : 35	5	50
3	1 : 40	6	55

件下, 对烘干顺序(先烘干再研磨、先研磨再烘干、先烘干后研磨再烘干)进行考察。由图 1 和表 2 可知, 采取先研磨后烘干的顺序测得的含油率最高, 先烘干再研磨所测得的含油率次之, 而先烘干后研磨再烘干的操作测得的含油率最低, 进行方差分析发现 3 个处理间差异显著 ($P < 0.05$), 所以选择先研磨后烘干的顺序进行试验。

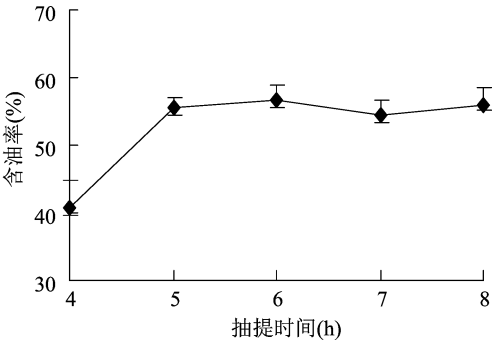


图2 抽提时间对含油率测定的影响

图 3 和表 4 可知, 抽提温度在 45 ~ 60 ℃ 时含油率呈现出先增后减的趋势, 在 50 ℃ 时含油率最高, 在 55 ~ 60 ℃ 呈下降趋势, 且各处理平均值间差异极显著。因此选择 45、50、55 ℃ 作为正交试验的因素值。

2.1.4 不同溶剂对含油率测定的影响 在先研磨后烘干、抽提时间 5 h 和抽提温度 50 ℃ 条件下, 探究不同提取溶剂(正己烷、乙酸乙酯、无水乙醇、石油醚)对蓖麻含油率测定的影响。由图 4 和表 5 可

表 3 抽提时间对含油率测定影响的变异系数

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
组间	551.800	4	137.950	19.948 **
组内	69.155	10	6.915	
总计	620.955	14		

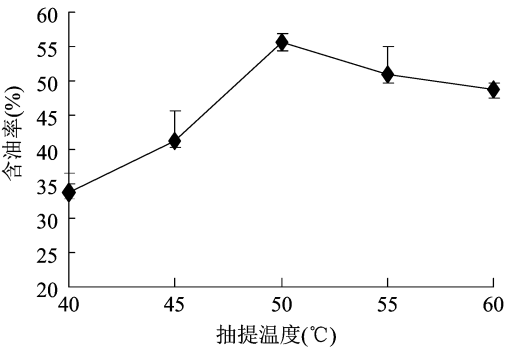


图3 抽提温度对含油率测定的影响

表 4 抽提温度对含油率测定影响的变异系数

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
组间	885.871	4	221.468	23.564 **
组内	93.988	10	9.399	
总计	979.859	14		

知,以石油醚作为溶剂所测得的含油率远大于其他 3 种溶剂,且各处理平均值间差异极显著,所以选择石油醚作为索氏抽提测定蓖麻含油率的溶剂。

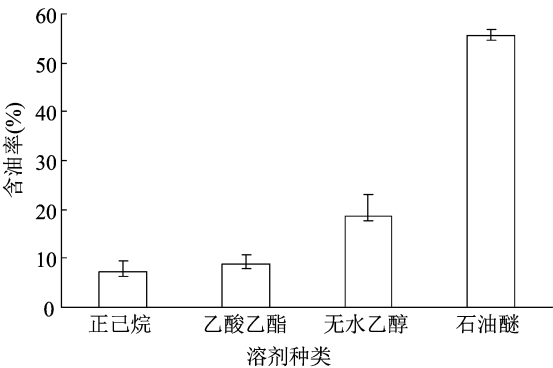


图4 不同溶剂对含油率测定的影响

表 5 不同溶剂对含油率测定影响的变异系数

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
组间	4 569.551	3	1 523.184	225.438 **
组内	54.052	8	6.757	
总计	4 623.603	11		

2.1.5 不同料液比对含油率测定的影响 以先研磨后烘干为顺序、以石油醚为溶剂、抽提时间 5 h 和抽提温度 50 ℃ 条件下,对不同料液比(1 g : 20 mL、1 g : 25 mL、1 g : 30 mL、1 g : 35 mL、1 g : 40 mL、

1 g : 50 mL)进行考察。由图 5 和表 6 可知,当料液比达到 1 g : 35 mL 后,得到的含油率相差不大,趋于平缓,而 1 g : (20 ~ 35) mL 则处于上升趋势。溶剂越多含油率越高,且各处理平均值间差异极显著。但从经济角度考虑,料液比为 1 g : 35 mL 时最适宜,因此,选用 1 g : 30 mL、1 g : 35 mL 和 1 g : 40 mL 作为正交试验的因素值^[9]。

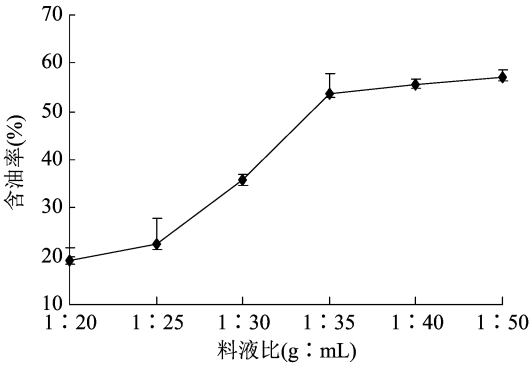


图5 不同料液比对含油率测定的影响

表 6 不同料液比对含油率测定影响的变异系数

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
组间	4 365.742	5	873.148	42.483 **
组内	246.635	12	20.553	
总计	4 612.378	17		

2.2 索氏法提取蓖麻油正交试验结果

根据单因素试验结果,选取料液比、提取时间和提取温度 3 个因素,并各取 3 个水平,进行正交试验。

通过极差分析可知,各因素对蓖麻含油率提取率的影响主次顺序为抽提时间(B) > 料液比(A) > 抽提温度(C),最优组合为 A₃B₃C₂,即料液比 1 g : 40 mL、抽提时间 6 h、抽提温度 50 ℃ (表 7)。在此条件下蓖麻含油率达到 58.29%。对正交试验进行方差分析,结果表明,在该试验条件下,不同抽提温度、抽提时间及料液比对蓖麻的含油率均无显著差异(表 8)。

3 结论与讨论

用索氏抽提法测定蓖麻含油率,通过单因素试验得到其烘干顺序是先研磨后烘干、抽提试剂为石油醚;正交试验得到的最优提取条件为抽提时间 6 h、抽提温度 50 ℃、料液比 1 g : 40 mL,在此条件下蓖麻种仁含油率达到 58.29%,符合最佳条件组合的结果。

表 7 正交试验设计与结果直观分析

试验号	A:料液比 (g : mL)	B:抽提时间 (h)	C:抽提温度 (℃)	含油率 (%)
1	1(1 : 30)	1(4)	1(45)	38.12
2	1(1 : 30)	2(5)	2(50)	48.82
3	1(1 : 30)	3(6)	3(55)	47.58
4	2(1 : 35)	1(4)	2(50)	38.71
5	2(1 : 35)	2(5)	3(55)	47.56
6	2(1 : 35)	3(6)	1(45)	47.12
7	3(1 : 40)	1(4)	3(55)	45.23
8	3(1 : 40)	2(5)	1(45)	45.85
9	3(1 : 40)	3(6)	2(50)	55.23
K_1	134.52	122.06	131.09	
K_2	133.39	142.23	142.76	
K_3	146.31	149.93	140.37	
k_1	44.84	40.39	43.70	
k_2	44.46	47.41	47.59	
k_3	48.77	49.98	46.79	
极差 R	4.31	9.59	3.89	
最优水平	A_3	B_3	C_2	

在单因素试验中,探究烘干顺序对蓖麻含油率的影响时得出,采取先研磨后烘干的顺序测得的含油率最高;先烘干再研磨所测得的含油率较低的原因可能是未研磨的种仁反应面积较小,其中大部分水分未能蒸发,水分削弱了对脂肪的萃取;先烘干后研磨再烘干的操作所对应的含油率最低,其原因可能是时间过久,脂肪发生氧化。对抽提时间进行探究时,得到当抽提时间大于 5 h 后,所测得的含油率趋于平稳,其原因可能是随着提取时间的延长,蓖麻种仁中的油脂逐渐被溶剂溶解析出,在 5 h 后蓖麻脂肪几乎被完全提取^[10]。对抽提温度进行探究时,在 40 ~ 45 ℃ 时所测得的含油率较低,其原因可能是温度较低,反应慢,回流速度缓慢,使得萃取出的脂肪量较少;50 ℃ 前含油率处于上升状态,原因是温度的升高加快了分子间的热运动,进而加快溶质的扩散和溶剂的渗透^[11];55 ~ 60 ℃ 时含油率逐渐降低的原因是温度太高,石油醚挥发太快,冷凝不充分,导致测得的含油率下降。探究不同提取溶剂对蓖麻含油率测定的影响时,得出以石油醚作

表 8 正交试验结果的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	F 临界值	显著性
修正模型	197.565	6	32.927	3.739	5.140	0.226
截距	19 064.245	1	19 064.245	2 164.732 **	5.140	0.000
A:料液比	34.134	2	17.067	1.161	5.140	0.340
B:抽提时间	122.220	2	61.110	4.158	5.140	0.113
C:抽提温度	13.552	2	6.776	0.461	5.140	0.410
误差	17.613	2	8.807			
总变异	19 279.424	9				

注:修正模型的 $R^2=0.918$,调整 $R^2=0.673$ 。

为溶剂所测得的含油率远大于其他 3 种溶剂,其原因可能是蓖麻种仁脂肪在不同的溶剂中的溶解度不同,在 50 ℃ 下没有到达另外 3 种溶剂的沸点,所以测得的含油率比石油醚为溶剂时低。对不同料液比进行探究时,得出料液比达到 1 g : 35 mL 后,得到的含油率趋于平缓,而 1 g : (20 ~ 35) mL 时则处于上升的趋势。其原因可能是料液比在 1 g : (20 ~ 35) mL 时,溶剂较少,能溶解的脂肪较少,且在反应过程中,反应体系中的石油醚挥发较快,因此只能萃取出少量脂肪,得到的含油率较低;而随着溶剂的增多,蓖麻种仁中的脂肪能趋于被完全抽提出来,所以含油率趋于平缓。

蓖麻含油率的影响因素较多。李靖霞认为,蓖

麻生育期越短,含油率则越低;同株上不同部位果穗种子的含油率也有所不同;百粒质量大的含油率高,反之含油率就低;收获期对蓖麻含油率也有很大影响,收获过早或过晚,酸价含量高,从而降低种子的含油率;种植密度大小也会影响蓖麻含油率^[12]。李金琴等认为,容重对籽粒含油量的直接途径系数最大^[1]。代梦媛等认为,种子籽粒大、种皮颜色浅的蓖麻种子含油率较高^[13]。黄凤兰等认为,蓖麻籽越长,粗脂肪含量越低,蓖麻油酸含量越高;体积越大,粗脂肪和蓖麻油酸含量越低;容重和百粒质量越高,粗脂肪和蓖麻油酸含量越高^[14]。

回流速度对索氏抽提测定粗脂肪含量有一定的影响,由于地区和季节的差异,冷凝水的温度和

流速影响回流速度,所以试验过程中也要考虑这个误差因素,在之后的研究当中可考虑这一因素的探究。试验过程中,关于溶剂种类的探究,还可以提高温度再对含油率进行探究,同时还可以对丙酮、乙醚进行探究。王静等在索氏法提取和测定油茶籽油的条件下优化探究中得到,用丙酮和石油醚作为溶剂测定含油率时含油率较高^[10],但丙酮和无水乙醚毒性较大,极易挥发且低浓度可致人昏迷,不适合作为试验试剂长期使用^[15]。此外,还可以采用超声波提取法、微波提取法、水酶法、压榨法、超临界 CO₂ 萃取法等对蓖麻含油率进行测定和比较,其中罗明亮利用水酶法提取蓖麻油,研究发现,蓖麻研碎后,阻碍脂肪从细胞中释放的主要原因是脂肪与蛋白质之间存在亲和力,适当对细胞中的蛋白质进行破坏有利于脂肪的提取,用酶将纤维素和蛋白质适当水解,总油提取率最高可达 86.93%^[16]。黄凤兰等同样采用索氏抽提法测定蓖麻粗脂肪含量,以通蓖 5 号蓖麻种子作为材料,通过单因素试验对索氏提取法中的油脂称重、滤纸包浸泡、滤纸包包法 3 个方面进行优化,采用优化后的方案提取的蓖麻粗脂肪杂质少、油脂澄清、获得率高^[17]。而本研究增加了烘干顺序、抽提试剂、料液比、抽提温度和抽提时间的探究,且对料液比、抽提时间、抽提温度进行了正交试验探究。黄凤兰等认为浸泡过夜能够使反应更加充分且含油率提取更好,可进一步探究浸泡时间对蓖麻含油率测定的影响^[17]。

本试验探究索氏抽提法提取蓖麻油的最佳工艺条件旨在节省时间、节省能源消耗、减少检测工作量、节约试剂、减少试剂损失和环境污染等^[18],提高抽提的效率,更高效地得出更好的含油率数据,为蓖麻的育种工作提供参考,为蓖麻的开发和利用提供理论和实践基础,有利于进一步探索蓖麻的含油率提取和测定。

参考文献:

- [1] 李金琴,朱国立,吴国林,等. 蓖麻种子含油量与主要数量性状的相关及通径分析[J]. 中国油料作物学报,2004,26(2):44-47.
- [2] Severino L S, Auld D L, Baldanzi M, et al. A review on the challenges for increased production of castor[J]. Agronomy Journal, 2012,104(4):853-880.
- [3] Sujatha M, Reddy T P, Mahasi M J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. [J]. Biotechnology Advances,2008,26(5):424-435.
- [4] Anjani K. Castor genetic resources: a primary gene pool for exploitation[J]. Industrial Crops and Products,2012,35(1):1-14.
- [5] 张品,朱文秀,张宁洁,等. 脂肪自动测定仪法与国标法测定油菜籽含油量的比较研究[J]. 安徽农学通报,2011,17(1):38-39.
- [6] 吴礼娥. 两种大豆中粗脂肪测定方法的对比[J]. 农业科技与信息,2018(2):46-47.
- [7] 魏利斌,苗红梅,李春,等. 芝麻籽粒脂肪含量核磁共振无损快速测定方法的建立[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):386-388.
- [8] 刘雪芳,郝利平,常月梅. 索氏抽提法提取核桃油工艺的优化[J]. 山西农业科学,2017,45(1):34-36.
- [9] 张丽. 核桃油脂提取及其稳定性的研究[D]. 石河子:石河子大学,2010.
- [10] 王静,张盟雨,张应中,等. 索氏法提取和测定油茶籽油的条件下优化[J]. 食品工业科技,2017,38(21):42-51.
- [11] Mokrani A, Madani K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit [J]. Separation and Purification Technology,2016,162:68-76.
- [12] 李靖霞. 蓖麻含油率影响因素分析[J]. 内蒙古农业科技,1995(3):21-22.
- [13] 代梦媛,崔长胜,高梅,等. 蓖麻种子含油量及脂肪酸成分与种子表型相关性分析[J]. 西南农业学报,2019,32(1):55-62.
- [14] 黄凤兰,包春光,赵永,等. 不同大小蓖麻籽中脂肪酸组分的测定与分析[J]. 中国粮油学报,2017,32(1):53-58.
- [15] 杨柳,陈曦,宋威. 不同抽提试剂对油茶籽含油率测定的影响[J]. 湖北林业科技,2014,43(1):21-23.
- [16] 罗明亮. 水酶法提取蓖麻油工艺研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2014.
- [17] 黄凤兰,徐福玲,邱靖,等. 索氏提取法测定蓖麻种子粗脂肪含量的技术优化[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2013,28(2):183-185.
- [18] 赵会芳,张习金,张永康,等. 索氏抽提法测量花生脂肪含量的改进[J]. 江苏农业科学,2017,45(10):154-163.