

中华稻蝗脂肪提取方法

郭崇友^{*} 周玉书^{**} 孟祥梅

(沈阳农业大学植物保护学院 沈阳 110161)

A method extracting fats from *Oxya chinensis*. GUO Chong-You^{*}, ZHOU Yu-Shu^{**}, MENG Xiang-Mei (College of Plant Protection, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110161, China)

Abstract The extraction of fats from *Oxya chinensis* (Thunberg) with mixture of acetone and ethanol were preliminarily studied following orthogonal test design. Factors influencing recovery rate of fats acids were discussed. The optimum extraction conditions was revealed: solid/liquid ratio was 4 to 25, ratio of acetone /ethanol was 1 to 1, 8 h extraction time at 85 °C. Under these conditions, the recovery rate of fats was 5.875%.

Key words *Oxya chinensis*, fats, extraction

摘 要 以丙酮和石油醚的混合液为提取液,通过正交试验,对中华稻蝗 *Oxya chinensis* (Thunberg) 成虫体脂肪进行溶剂提取条件的优化研究,并分别讨论了各因素对中华稻蝗成虫体脂肪提取率的影响。结果表明:料液比 4/25、溶剂混比 1/1(丙酮:石油醚)、提取时间 8 h、水浴温度 85℃ 为中华稻蝗脂肪提取的最佳工艺条件,在此条件下,脂肪得率可达 5.875%。

关键词 中华稻蝗, 脂肪酸, 提取

中华稻蝗 *Oxya chinensis* (Thunberg) 广泛分布于我国各稻区及东南亚各国^[1], 该虫田间数量大, 分布广, 是很好的药用、食用昆虫资源^[2]。中华稻蝗脂肪中的油酸、亚油酸和亚麻酸等不饱和脂肪酸的含量高, 而且富含脂溶性维生素 A 和维生素 E^[3], 亚油酸和亚麻酸是人体自身不能合成的必需脂肪酸, 对人体机能具有重要的生理功能和生物效应^[4,5], 因此中华稻蝗脂肪作为功能性油脂进行开发利用极具潜力。近年来, 赵云涛^[3]、何忠^[6]、乔太生^[7]、吴海花^[12] 等都曾经对中华稻蝗蛋白、脂肪、维生素、微量元素等营养成分做了较系统的分析研究, 但在脂肪开发利用方面的研究尚未见报道。要开发利用中华稻蝗脂肪资源, 首先要对其脂肪进行有效分离, 由虫体内提取脂肪。目前提取昆虫油脂多是将昆虫干燥后采用溶剂萃取法^[8], 此外, 还有超临界流体萃取法^[9]。但是超临界流体萃取法受到高压、安全等条件的限制^[10]。溶剂萃取法多使用单一溶剂来提取脂肪, 脂肪得率不高, 为此生产上开始应用混合溶剂来提取动植物脂肪, 脂肪得率和品质都有所提高。本研究旨在探索昆虫脂肪的混合溶剂提取方法, 确定适宜

的提取条件参数, 以便促进中华稻蝗资源的综合开发利用, 并为其进一步规模化生产和广泛应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

(1) 试验虫源: 中华稻蝗成虫, 10 月份采集于沈阳市东陵区汪家乡水稻田。

(2) 试剂: 丙酮, 石油醚 (60 ~ 90 °C), 溴化碘, 碘化钾, 硫代硫酸钠, 可溶性淀粉, 四氯化碳 (以上药品及试剂皆为分析纯)。

(3) 仪器: 电子恒温水浴锅, 电热鼓风干燥箱, 高速万能粉碎机, JA2003 电子天平, 岛津 GC-16A 气相色谱仪, 索氏提取器及蒸馏烧瓶, 碱式滴定管 (50 mL), 碘量瓶 (250 mL), 锥形瓶等。

1.2 实验方法

(1) 样品制备: 将从稻田地采集回来的活体

^{*} E-mail: chongyou0214@yahoo.com.cn

^{**} 通讯作者, E-mail: zhouys@163.com

收稿日期: 2006-06-12, 修回日期: 2006-10-19

中华稻蝗成虫饥饿处理 24 h 后, 用开水烫死, 洗净, 在 60℃电热鼓风干燥箱中烘干, 然后用高速万能粉碎机粉碎, 冷藏备用。

(2)有机溶剂筛选: 石油醚(60~90℃)、丙酮提取脂肪常用的有机溶剂, 本实验采用混合溶剂, 即以石油醚与丙酮不同比例的混合液作为脂肪提取液, 对中华稻蝗的脂肪进行抽提试验。

(3)脂肪提取方法: 本实验采用索氏提取法^[11]提取中华稻蝗脂肪。

(4)单因素试验: ①测定溶剂混比对中华稻蝗脂肪提取的影响。分别称取 10 g 中华稻蝗虫粉, 用脱脂滤纸包好, 放入索氏提取器的抽提管中, 在料液比(m/V)为 2:25, 水浴温度为 80℃, 抽提 4 h 的条件下, 设定有机溶剂混比(丙酮/石油醚)为 0/10, 1/9, 1/4, 3/7, 2/3, 1/1, 3/2 的不同混合液及 100%丙酮等 8 个处理, 采用索氏提取法进行试验, 每个处理重复 3 次, 绘制脂肪得率曲线图, 比较脂肪得率。

脂肪得率(%)= 抽提出的脂肪重量(g)/处理前虫粉重量(g)×100。

②测定抽提时间对中华稻蝗脂肪提取的影响。分别称取 10 g 中华稻蝗虫粉, 用脱脂滤纸包好, 放入索氏提取器的抽提管中, 在溶剂混比(丙酮/石油醚)为 1/4, 料液比(m/V)为 2:25, 水浴温度为 80℃的条件下, 设定 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 h 等 8 个不同提取时间, 采用索氏提取法进行试验, 每个处理重复 3 次, 绘制脂肪得率曲线图, 比较脂肪得率。

(5)正交试验: 在单因素试验的基础上, 按照 L₁₆(4⁵)正交表进行正交试验, 对溶剂混比、抽提时间、投料量和水浴温度 4 个影响因素进行中华稻蝗脂肪抽提工艺条件的优化。正交试验各因素水平见表 1。

(6)脂肪碘值的测定: 碘值的测定方法: 准确称取 0.3 g 中华稻蝗脂肪, 置于 2 个 250 mL 碘瓶中, 加入 10 mL 四氯化碳, 使油溶解。加入 25 mL 溴化碘溶液, 塞好瓶塞, 在 20~30℃暗处放置 30 min, 并不时轻轻摇动。放置 30 min 后, 用新配制的 10%碘化钾 10 mL 和蒸馏水 50 mL

将瓶塞和瓶颈上的液体冲洗入瓶中, 混匀。用 0.1 mol/L 硫代硫酸钠溶液迅速滴定至浅黄色, 加入 1%淀粉溶液 1 mL, 继续滴定至蓝色消失为止, 即达到滴定终点。另备 2 份空白对照, 除不加脂肪样品外, 操作同上。

表 1 正交试验因素水平表

水平	溶剂混比 A (V/V)	抽提时间 B (h)	料液比 C (m/V)	水浴温度 D (℃)
1	1:1	2	1:25	70
2	2:3	4	2:25	75
3	3:7	6	3:25	80
4	1:4	8	4:25	85

碘值计算公式: 碘值=(A-B)T×100/C。
式中: A: 滴定空白用去的硫代硫酸钠溶液的平均毫升数; B: 滴定碘化后样品用去的硫代硫酸钠溶液的平均毫升数; C: 脂肪样品的重量; T: 0.1 mol/L 硫代硫酸钠溶液相当的碘的克数。

(7)脂肪中脂肪酸含量的测定: 本试验利用气相色谱仪测定中华稻蝗脂肪中脂肪酸的含量, 测定方法如下:

精确称取中华稻蝗脂肪 1.0 g, 置于 10 mL 试管中, 加入 0.5 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL, 通入氮气, 在 60℃水浴中皂化约 20 min, 待油珠溶解后放冷, 加入 15%三氟化硼乙醚溶液 2 mL, 通入氮气, 于 60℃水浴中酯化约 10 min, 放冷, 精确加入 2 mL 正己烷, 震荡, 加入饱和氯化钠 2 mL, 震荡后静置 30 min, 分层后取上层液作色谱实验用。

色谱条件为日本岛津 GC-16A 气相色谱仪, 固定相为 5% DEGS, 担体为 Chromosorb WAW DMCS 80-100 目, 载体为氮气, 流速 120 mL/min, 检测器 FID, 柱温 190℃, 检测器温度 240℃, 汽化至 230℃, 进样量 0.5 μL。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

(1)有机溶剂混比对脂肪提取的影响: 从图 1 中可以看出, 在溶剂混比 1/4 至 1/1 之间, 脂肪得率较高, 脂肪得率为 5.253%~5.611%, 并且高于单纯用丙酮提取的得率 5.126%; 单纯

以石油醚作溶剂的脂肪得率最低, 只有 4.074%。证明将 2 种有机溶剂按照一定比例混合, 来提取脂肪, 不但可以缩短提取时间, 而且可以提高脂肪得率。提取中华稻蝗脂肪的有机溶剂混比(丙酮/石油醚)以 1/4~1/1 之间较为合适。

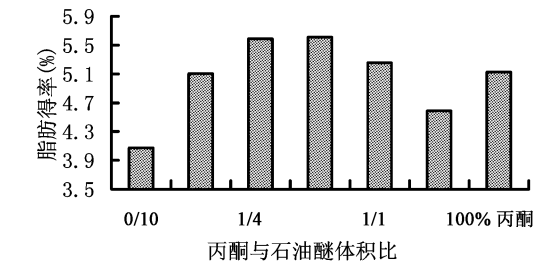


图 1 溶剂混比对脂肪得率的影响

(2)抽提时间对脂肪提取的影响: 从图 2 中可以看出, 在 1~8 h 范围内, 随着提取时间的延长, 中华稻蝗脂肪的得率明显提高, 但超过 8 h 之后, 脂肪得率的提高幅度甚微, 所以, 从节约能源和时间的角度考虑, 适宜的提取时间为 8 h。

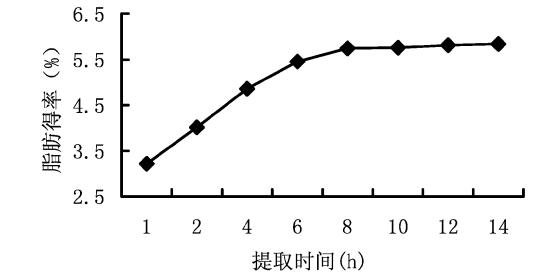


图 2 提取时间对脂肪得率的影响

2.2 正交试验分析优化脂肪抽提工艺条件

根据正交设计表 1, 共进行 16 组试验, 2 次重复, 试验数据及其计算分析结果如下:

如表 2 中极差分析结果所示, 各因素的极值大小关系是: $R_B > R_C > R_D > R_A$ 。表明: 中华稻蝗脂肪得率受提取时间和料液比的水平变化影响较大, 而丙酮与石油醚体积比和水浴温度的水平变化对脂肪得率影响不大。由此可知, 影响脂肪得率各因素的主次顺序为: 提取时间 > 料液比 > 水浴温度 > 丙酮与石油醚体积比。

表 2 正交试验结果计算表

试验号	溶剂混比 A (V/V)	提取时间 B(h)	料液比 C(m/V)	水浴温度 D(℃)	脂肪得率(%)		
					重复 I	重复 II	T _i
1	1	1	1	1	4.78	5.14	9.92
2	1	2	2	2	5.13	5.44	10.57
3	1	3	3	3	5.45	5.22	10.67
4	1	4	4	4	5.69	5.79	11.48
5	2	1	2	3	5.08	4.42	9.50
6	2	2	1	4	5.50	5.40	10.9
7	2	3	4	1	5.45	5.55	11.0
8	2	4	3	2	5.12	5.19	10.31
9	3	1	3	4	4.83	4.80	9.63
10	3	2	4	3	5.64	5.11	10.75
11	3	3	1	2	5.30	5.36	10.66
12	3	4	2	1	5.50	5.48	10.98
13	4	1	4	2	5.49	5.45	10.94
14	4	2	3	1	5.21	5.06	10.27
15	4	3	2	4	5.47	5.68	11.15
16	4	4	1	3	5.34	5.32	10.66
T ₁	42.64	39.99	42.14	42.17			
T ₂	41.71	42.49	42.2	42.48			
T ₃	42.02	43.48	40.88	41.58			
T ₄	43.02	43.43	44.17	43.16			
X ₁	5.33	5.00	5.27	5.27			
X ₂	5.21	5.31	5.28	5.31			
X ₃	5.25	5.44	5.11	5.20			
X ₄	5.38	5.43	5.52	5.40			
R	0.163	8.0	4.36	3.0	4.11	3.0	1.97

注: T_i: 每组试验 2 次重复结果之和; T(T₁, T₂, T₃, T₄) 各因素在不同水平下 8 个试验结果之和; R: 极值。

表 3 脂肪得率方差分析表

变异来源	SS	df	MS	F
A	0.131	3	0.044	1.511
B	1.004	3	0.335	11.54**
C	0.692	3	0.231	7.96**
D	0.162	3	0.054	1.865
误差	0.542	19	0.029	
总变异	2.532	31		

注: 临界值 $F_{0.01}(3, 19)=5.01$, $F_{0.05}(3, 19)=3.13$ 。

从表 3 中的脂肪得率方差分析结果可知, 提取时间和料液比对脂肪提取的影响是极显著的, 而丙酮与石油醚体积比和水浴温度为非显著因素。这说明提取时间和料液比是影响中华稻蝗脂肪提取的主要因素。

从直观分析图 3 中可以看出, 中华稻蝗脂肪得率最高的提取条件为 A4B3C4D4, 即丙酮与石油醚体积比 1/4、提取时间 6 h、料液比 4/25、水浴温度 85℃。

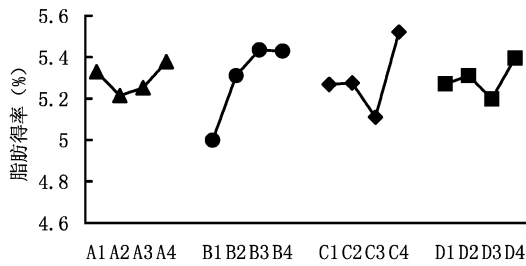


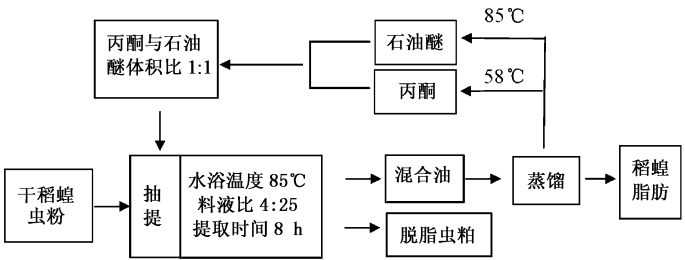
图3 正交试验直观分析图

A. 丙酮与石油醚体积比 B 提取时间
C. 料液比 D. 水浴温度

2.3 验证试验

按照从正交试验表中选出脂肪得率最高的组合条件 A1B4C4D4, 与所筛选的工艺条件 A4B3C4D4, 分别对中华稻蝗进行脂肪提取试验,3 次重复,进行正交试验的验证试验。结果表明: 组合 A1B4C4D4 的平均脂肪得率为 5.875%, 高于组合 A4B3C4D4 的平均脂肪得率 5.488%, 所以最佳工艺条件为 A1B4C4D4, 即丙酮与石油醚体积比 1/1、提取时间 8 h、料液比 4/25、水浴温度 85℃。

根据脂肪提取条件优化结果, 得出中华稻蝗脂肪提取工艺流程如下:



2.4 脂肪中脂肪酸含量及碘值的测定

对中华稻蝗脂肪碘值测定结果表明: 其碘值为 116。利用气相色谱仪测得脂肪中主要脂肪酸的含量如表 4 所示:

表4 中华稻蝗粗脂肪中主要脂肪酸含量

脂肪酸名称	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
含量(g/kg)	52.130	79.860	155.510	138.640	278.770

2.5 结论

(1)利用混合溶剂(丙酮+石油醚)提取中华稻蝗脂肪, 其脂肪得率高于单用丙酮或石油醚作溶剂的脂肪得率, 而且能够缩短抽提时间。

(2)在影响中华稻蝗脂肪提取的 4 个因素中, 提取时间和料液比对脂肪得率的影响最为显著, 是影响脂肪提取的主要因素。因此, 根据具体情况, 适当延长抽提时间或加大抽提液体积, 是可以提高脂肪得率的。

(3)利用正交试验对中华稻蝗脂肪提取条件进行筛选得知: 最佳工艺条件为料液比 4/25、溶剂混比 1/1、时间 8 h、水浴温度 85℃。在该条件下脂肪得率为 5.875%。

(4)中华稻蝗脂肪的碘值为 116, 远远高于人类日常食用的猪油(40~70)、羊油(32~50)和牛油(31~46.5)^[19], 可见中华稻蝗脂肪是高碘值的动物脂肪; 该脂肪中不饱和脂肪酸含量很高, 其中, 人体必需脂肪酸(亚油酸和亚麻酸)的含量为 417.410 g/kg, 因此, 中华稻蝗是富含人体必需脂肪酸的动物营养源, 极具开发利用前景。

参 考 文 献

1 仵均祥. 农业昆虫学. 北京: 中国农业出版社, 2002
2 葛春华. 实用商品资源昆虫. 北京: 中国农业出版社, 1995.
3 赵涛. 贵州大学学报, 2002 21(2): 115~120.
4 Yehuda S., Rabinovtzt S., Carasso R. L. Neurobiol. Aging., 2002, 23: 843~853
5 Dasl U. N., Fams M. D. Nutrition., 2002, 18: 178~188
6 何忠, 席瑞华, 李炳文. 昆虫知识, 1991, 28(6): 363~365.
7 乔太生, 唐华澄, 刘景. 昆虫知识, 1992, 29(2): 113~117.
8 吴时敏. 功能性油脂. 北京: 中国轻工业出版社, 2001
9 高晓旭. 研究与探讨, 2005 26(12): 70~72.
10 倪培德. 油脂加工技术. 北京: 化学工业出版社, 2003
11 卢艳花. 中药有效成分提取分离技术. 北京: 化学工业出版社, 2005.
12 吴海花, 杨美玲, 郭亚平, 马恩波. 昆虫知识, 2006 43(3): 336~339.