

DOI:10.12171/j.1000-1522.20200109

## 不同提取方法对红松籽油提取效果及功能性质的影响

潘晓丽<sup>1</sup> 王凤娟<sup>1</sup> 张娜<sup>2</sup> 郭庆启<sup>1</sup>

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040;

2. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

**摘要:**【目的】立足于溶剂法, 通过对比超声波、微波、光波单独处理较短时间的红松籽油的得率, 以及处理后单独浸提红松籽油得率的增加情况, 明确在红松籽油提取过程中处于主导作用的方法, 同时确认4种提取方法对红松籽油的理化指标、脂肪酸和抗氧化能力的影响。【方法】按照 GB/T 5009.229—2016《食品中酸价的测定》、GB/T 5532—2008《动植物油脂碘值的测定》和 GB/T 5009.227—2016《食品中过氧化值的测定》分别测定4种方法提取的红松籽油的酸值、碘值和过氧化物值, 采用气相色谱-质谱联用法测定红松籽油中脂肪酸的种类和质量分数, 采用分光光度法测定红松籽油对 DPPH· 和 ABTS<sup>+</sup> 的清除能力。【结果】正己烷作为最佳提取溶剂, 当提取温度 25 ℃, 液料比 18 mL/g, 浸提时间 5 h 红松籽油得率为 65.52%。超声波法(300 W, 10 min)、微波法(380 W, 100 s)、光波法(400 W, 11 min)单独处理时的红松籽油得率分别为 67.63%、62.26%、58.25%。上述3种方法处理后再单独使用正己烷浸提, 使总提取时间达到 5 h 后的红松籽油得率分别增加了 2.18%、4.50%、6.10%。4种方法提取的红松籽油符合 GB/T 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》中酸值(≤ 4 mg/g)、过氧化值(≤ 0.25 g/100 g)的限量标准。溶剂法制备出的红松籽油的酸值和过氧化值均最低( $P < 0.05$ )。脂肪酸质量分数由高到低分别是亚油酸(44.54%~46.32%)、油酸(28.29%~28.83%)和皮诺敛酸(13.15%~14.51%)。溶剂法、超声波法、微波法、光波法所提取的红松籽油清除 DPPH· 和 ABTS<sup>+</sup> 的 IC<sub>50</sub> 值分别是 9.41、8.80、9.43、9.61 g/L 和 5.10、5.51、6.10、5.43 g/L。【结论】对超声波法、微波法和光波法单独作用及浸提后得率进行比较, 发现超声波法、微波法和光波法在提取过程中起主导作用。与溶剂法、微波法和光波法相比, 超声波法提取的红松籽油得率高, 不饱和脂肪酸质量分数高, 抗氧化能力强, 能够达到较好的提取效果, 此方法应用于红松籽制油工业中具有一定优势。

**关键词:** 红松籽油; 提取方法; 理化指标; 脂肪酸; 抗氧化

**中图分类号:** TS224.4; S791.247 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2021)01-0127-09

**引文格式:** 潘晓丽, 王凤娟, 张娜, 等. 不同提取方法对红松籽油提取效果及功能性质的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2021, 43(1): 127-135. Pan Xiaoli, Wang Fengjuan, Zhang Na, et al. Effects of different extraction methods on extraction effect and functional properties of Korean pine seed oil [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2021, 43(1): 127-135.

### Effects of different extraction methods on extraction effect and functional properties of Korean pine seed oil

Pan Xiaoli<sup>1</sup> Wang Fengjuan<sup>1</sup> Zhang Na<sup>2</sup> Guo Qingqi<sup>1</sup>

(1. School of Forestry, Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang

Province, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China;

2. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, Heilongjiang, China)

**Abstract:** [Objective] Based on solvent method, by comparing the yields of Korean pine seed oil separately treated by ultrasonic method, microwave method or light wave method, and the soaking yields of Korean pine seed oil after separate method treatment, the dominant method in the extraction process of Korean pine seed oil was identified. At the same time, the effects of four extraction methods on

收稿日期: 2020-04-16 修回日期: 2020-07-07

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(2572018BA09), 中央财政支持地方高校发展专项。

第一作者: 潘晓丽。主要研究方向: 森林食品加工与利用。Email: 24564877018@qq.com 地址: 150040 黑龙江省哈尔滨市东北林业大学林学院。

责任作者: 郭庆启, 博士, 副教授。主要研究方向: 天然产物化学。Email: qingqigu@vip.163.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

physicochemical indexes, fatty acids and antioxidant capacity of Korean pine seed oil were confirmed. [Method] According to the GB/T 5009.229–2016 *Determination of Acid Value in Food*, GB/T 5532–2008 *Determination of Iodine Value of Animal and Vegetable Oils* and GB/T 5009.227–2016 *Determination of Peroxide Value in Food*, the acid value, iodine value and peroxide value of Korean pine seed oil extracted by the four methods were determined. The type and mass fraction of fatty acids in Korean pine seed oil were determined by gas chromatography-mass spectrometry method, and the scavenging abilities of Korean pine seed oil to DPPH· and ABTS<sup>+</sup>· were determined by spectrophotometry. [Result] The optimum extraction solvent was *n*-hexane. When the extraction temperature was 25 °C, the liquid to solid ratio was 18 mL/g, the extraction time was 5 h, the yield of Korean pine seed oil was 65.52%. The yield of Korean pine seed oil was 67.63%, 62.26% and 58.25% by ultrasonic (300 W, 10 min), microwave (380 W, 100 s) and light wave (400 W, 11 min), respectively. After the three methods treated separately and the extraction was carried out with *n*-hexane individually, the yield increased by 2.18%, 4.50% and 6.10%, respectively after the total time reaching 5 h. The Korean pine seed oil extracted by the four methods can meet the limit standard of acid value ( $\leq 4$  mg/g) and peroxide value ( $\leq 0.25$  g/100 g) in GB/T 2716–2018 *National Food Safety Standard Vegetable Oil*. The acid value and peroxide value of Korean pine seed oil prepared by organic solvent method were the lowest ( $P < 0.05$ ). The mass fractions of fatty acid from high to low were linoleic acid (44.54%–46.32%), oleic acid (28.29%–28.83%) and pinocyanic acid (13.15%–14.51%). The DPPH· and ABTS<sup>+</sup>· IC<sub>50</sub> values of Korean pine seed oil extracted by solvent, ultrasonic, microwave and light wave methods were 9.41, 8.80, 9.43, 9.61 g/L and 5.10, 5.51, 6.10, 5.43 g/L, respectively. [Conclusion] The yields of ultrasonic method, microwave method or light wave method separately, and soaking yields after the single treatment were compared. It is found that ultrasonic, microwave and light wave method play a leading role in the extraction process. Compared with the solvent method, microwave method and light wave method, Korean pine seed oil extracted by the ultrasonic method has a higher extraction percentage, a higher mass fraction of unsaturated fatty acid, a stronger antioxidant capacity, and can achieve better extraction effect. This method has some advantages in the Korean pine seed oil extraction industry.

**Key words:** Korean pine seed oil; extraction method; physicochemical index; fatty acid; antioxidant

红松籽是野生红松(*Pinus koraiensis*)的种子,具有极高的药用价值<sup>[1]</sup>。据《本草纲目》评价:“红松籽,味甘、小温、无毒。主治骨带风、头眩、去死肌、散水气、润肺、治燥结咳嗽,治虚秘,久服轻身延年不老。”红松籽油是用红松果实制取的油脂,属木本植物油,其中含有大量的不饱和脂肪酸和维生素<sup>[2]</sup>。现代研究表明红松籽油具有抗氧化、抗炎、调节血脂、控制食欲和体重等功能<sup>[3]</sup>。

目前油脂工业制油的主要工艺包括物理压榨法、溶剂浸提法、超临界、亚临界流体萃取法和水酶法等<sup>[4]</sup>,上述几种方法制备油脂的优缺点及对油脂提取效果的影响已有较多的研究报道<sup>[5-7]</sup>。超声波、微波和光波都是通过外场作用传递能量使细胞壁破碎,配合相关溶剂,将被萃取的目标物质从基体或体系中分离的有效方法<sup>[8-9]</sup>。超声波利用空化效应使大分子脂肪断裂,油脂分子和溶剂的碰撞概率及相互作用增强,物料在溶剂中扩散,油脂溶出并提高提取率<sup>[10]</sup>。微波辐射时,利用高频电磁波穿透萃取介质,到达物质内部系统,物质吸收微波能,细胞内部压力

大于细胞壁膨胀承受能力,细胞破碎,在一定条件下被萃取介质捕获溶解,油脂从细胞中流出,达到提取效果<sup>[11]</sup>。光波法通过聚集光辐射,把产生的热能与卤素管本身通电后输入功率产生热能集中起来,由于渗透压不同,油料中的油脂分子通过热运动,溶解在溶剂中,油脂渗出<sup>[12]</sup>。这3种方法较比传统方法具有萃取时间短,提取率高,无污染等优点<sup>[13]</sup>。

目前对于超声波、微波和光波方法在有效成分提取方面已有较多的研究报道,但对于同一种目标物质,3种方法的提取效果和功能性质的比较则鲜有报道。因此本研究立足于溶剂法,并以其为对照,分别考察超声波处理、微波处理、光波处理对红松籽油提取效果的影响,详细考察单独的某一种方法处理较短时间时红松籽油的得率,以及处理后单独溶剂浸提相同总时间后红松籽油得率的增加情况,并进一步测定和分析不同提取方法制备出的红松籽油的相关理化指标和功能性质,对比3种方法对目标物质营养和相关功能性质的影响,以期对油脂的工业化生产提供技术指导。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

红松籽产自黑龙江省伊春市。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(≥98%), 购于 Sigma 公司。2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸二铵盐(2,2'-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate, ABTS)(≥98%), 购于 Sigma 公司。所用化学试剂均为分析纯。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 原料预处理

将红松种籽剥去外壳及种皮后在 60 ℃ 烘干至恒质量, 粉碎过 80 目筛, 红松籽粉置于密封袋, 4 ℃ 条件下保存备用。采用 GB5009.3—2016《食品中水分的测定》测定其水分含量为 6.52%, 采用 GB5009.6—2016《食品中脂肪的测定》测定其粗脂肪含量为 68.76 g/100 g。

#### 1.2.2 红松籽油理化指标测定方法

采用 GB/T 5009.229—2016《食品中酸价的测定》测定酸值; 采用 GB/T 5532—2008《动植物油脂碘值的测定》测定碘值; 采用 GB/T 5009.227—2016《食品中过氧化值的测定》测定过氧化值。

#### 1.2.3 红松籽油脂肪酸组成测定

取样品油样 6 滴置于 10 mL 具塞试管中, 加入 0.5 mol/L KOH-甲醇溶液 2 mL 于 65 ℃ 水浴中皂化 20 min, 加入 2 mL BF<sub>3</sub>-乙醚溶液(体积比 1:1), 65 ℃ 水浴中甲酯化 5 min, 取出冷水冷却, 加入 2 mL 石油醚, 振摇, 吸取上层样液。

采用 7890-5973N 型气质联用仪(美国 Agilent 公司)进行色谱和质谱分析。采用 DB-5MS 石英毛细柱色谱柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm); 柱升温程序设定为初温 60 ℃, 以 10 ℃/min 升至 270 ℃, 保留 5 min, 再以 8 ℃/min 升至 300 ℃, 保留 8 min, 进样口温度 270 ℃, 色谱-质谱接口温度 260 ℃, 载气使用氦气, 载气流量设定为 1.0 mL/min, 分流比条件为 80:1(体积比)。质谱分析时, 用于电子冲击的电离能量 70 eV, 质荷比 *m/z* 范围 50 ~ 550。气质分析结果与数据库检索比对, 确定各峰代表的物质, 采用峰面积归一化法进行红松籽油脂肪酸的相对定量。

#### 1.2.4 红松籽油提取单因素试验

准确称取烘干至恒质量的红松籽样品 4 份, 每份 5.00 g, 25 ℃ 条件下, 按一定液料比在有机溶剂中浸提一段时间后, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液在 45 ℃ 下真空浓缩至恒质量, 以红松籽油得率为指标, 确定溶剂法提取的最佳工艺条件。

以溶剂法确定的浸提溶剂和液料比条件为基

础, 分别进行超声波法、微波法和光波法提取红松籽油的提取功率及提取时间的研究。

$$Y = \frac{m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: *Y* 为红松籽油得率(%); *m*<sub>1</sub> 为初始红松籽质量(g); *m*<sub>2</sub> 为恒质量后红松籽油质量(g)。

#### 1.2.5 不同提取方法对红松籽油得率影响的研究

以溶剂法确定的浸提溶剂和液料比条件为基础, 通过单因素实验确定超声波、微波和光波最佳提取条件对红松籽单独处理后, 对比红松籽油得率, 并对单一方法处理后的红松籽继续浸提, 使总时间达 5 h 后测定后续的红松籽油得率, 进行第二阶段单独浸提红松籽油得率和提取比例的计算。

$$T = \frac{m_2}{m_3} \times 100\% \quad (2)$$

式中: *T* 为提取比例(%); *m*<sub>2</sub> 为单一方法处理较短时间时红松籽油质量(g); *m*<sub>3</sub> 为单一方法处理后的红松籽继续浸提, 使总时间达 5 h 后红松籽油的总质量(g)。

#### 1.2.6 红松籽油抗氧化能力测定

以无水乙醇为溶剂, 采用分光光度法测定 4 种提取方法制备出的红松籽油对 DPPH· 和 ABTS<sup>+</sup> 的清除能力<sup>[4]</sup>, 使用 SPSS 软件(IBM SPSS Statistics 24.0), 通过回归分析计算自由基结合率为 50% 时所对应的红松籽油的质量浓度, 即为 IC<sub>50</sub> 值。

##### 1.2.6.1 红松籽油对 DPPH· 清除能力的测定

将 DPPH 配制成 1 × 10<sup>-4</sup> mol/L 的乙醇溶液, 在试管中依次加入 4 mL DPPH 溶液和 1 mL 样品, 摇匀后于室温下避光放置 30 min, 在 517 nm 波长处测定吸光度, 记为 *A*; 空白组加入 4 mL DPPH 溶液和 1 mL 无水乙醇, 记为 *A*<sub>1</sub>; 对照组加入 4 mL 无水乙醇和 1 mL 不同质量浓度红松籽油溶液, 记为 *A*<sub>0</sub>。红松籽油质量浓度设置 6 个梯度: 0.04、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 g/mL。每个质量浓度平行测定 3 次, 取其平均值。按下式计算清除率:

$$C = \left(1 - \frac{A - A_0}{A_1}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中: *C* 为红松籽油对自由基的清除率(%); *A* 为不同质量浓度红松籽油溶液与自由基混合溶液的吸光度; *A*<sub>0</sub> 为不同质量浓度红松籽油溶液与无水乙醇混合溶液的吸光度; *A*<sub>1</sub> 为无水乙醇与自由基混合溶液的吸光度。

##### 1.2.6.2 红松籽油对 ABTS<sup>+</sup> 清除能力的测定

取 10 mL 的 7 mmol/L 的 ABTS 溶液和 176 μL 的 140 mmol/L 过硫酸钾混合成储备液, 混匀后在室温下避光反应 12 ~ 16 h, 然后用无水乙醇将其稀释至在 734 nm 波长处的吸光度为 0.70 ± 0.02 的工作

液。在试管中依次加入 4 mL ABTS<sup>+</sup>和 1 mL 不同质量浓度红松籽油溶液, 摇匀后于室温下避光放置 30 min; 在 734 nm 波长处测定吸光度, 记为  $A$ ; 空白组加入 4 mL ABTS 溶液和 1 mL 无水乙醇, 记为  $A_1$ ; 对照组加入 4 mL 无水乙醇和 1 mL 不同质量浓度红松籽油溶液, 记为  $A_0$ 。红松籽油质量浓度设置 6 个梯度: 0.03、0.05、0.07、0.09、0.11、0.13 g/mL。摇匀后, 室温下避光反应 20 min, 在 734 nm 波长处测定吸光度, 每个质量浓度做 3 个平行, 按照式(3)进行自由基清除率的计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 红松油脂提取工艺的研究

#### 2.1.1 浸提溶剂的筛选

当液料比 10 mL/g, 浸提时间 3 h 时, 不同溶剂浸提红松籽油单因素实验结果如表 1 所示。表 1 可知: 选取的 4 种提取溶剂所得红松籽油的得率由高到低依次为正己烷 > 石油醚 > 乙酸乙酯 > 无水乙醇, 不同溶剂浸提红松籽油得率具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。朱雪梅等<sup>[15]</sup>、杨明非等<sup>[16]</sup>在进行红松籽油脂肪酸的相关研究时, 均使用正己烷进行红松籽油的提取, 正己烷是 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中允许使用的工业用加工助剂, 其沸点低、挥发性强, 易与浸提物质相分离, 因此选择正己烷作为浸提溶剂进行后续研究。

#### 2.1.2 正己烷提取红松籽油的液料比条件优化

以正己烷为浸提溶剂, 浸提时间 3 h 时, 不同液料比浸提红松籽油单因素实验结果如表 2 所示。由表 2 可知: 随着液料比的增加, 红松籽油得率呈先增加后趋于稳定的变化趋势。液料比由 6 变化到 18

时, 体系渗透压增大, 增加传质推动力, 红松籽油得率由 55.31% 显著增加到 60.50% ( $P < 0.05$ ), 继续增加液料比至 26 mL/g 时, 红松籽油分子大部分已经溶出, 红松籽油得率无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。胡滨等<sup>[17]</sup>采用微波辅助有机溶剂提取松籽油, 发现当液料比达到一定比例后, 继续增加提取溶剂用量, 出油率增加趋势饱和, 认为当溶剂用量增大到一定程度后, 松籽中的油脂大部分已被提取出来, 渗透压的改变对松籽油的提取不再起较大作用。

#### 2.1.3 正己烷提取红松籽油的浸提时间条件优化

以正己烷为浸提溶剂, 液料比 18 mL/g 时, 不同浸提时间下红松籽油单因素实验结果如表 3 所示。由表 3 可知: 当浸泡时间由 1 h 延长至 5 h 时, 红松籽油得率由 47.57% 显著增加到 65.52% ( $P < 0.05$ ), 继续浸提至 11 h, 红松籽油得率无显著变化 ( $P > 0.05$ )。当红松籽在一定时间内扩散完全时, 继续增加提取时间, 红松籽油得率无显著影响。刘萼华等<sup>[18]</sup>等利用浸出法提取菜籽饼油时发现, 随浸泡时间不断增加, 油脂得率呈上升趋势, 超过最佳提取时间, 油脂得率不再显著变化。

综上, 常温 25 °C 下, 溶剂法提取红松籽油的最佳工艺条件为: 浸提溶剂为正己烷, 液料比为 18 mL/g, 浸提时间为 5 h。此工艺条件下红松籽油得率为 65.52%。

### 2.2 提取方法对红松油脂得率的影响

在油脂工业中, 溶剂法是一种传统的提取方法, 但提取时间较长, 提取效率低, 通常采用一些辅助提取方法, 如超声波辅助法、微波辅助法和高速均质-微波辅助法, 使萃取物料中有效成分快速溶出, 提高油脂的提取效率。以正己烷为浸提溶剂, 液料比 18 mL/g 为基础, 超声波处理 10 min, 微波处理 60 s,

表 1 不同溶剂浸提的红松籽油得率

Tab. 1 Effects of different solvents on yield of Korean pine seed oil

提取溶剂 Extraction solvent	乙酸乙酯 Ethyl acetate	石油醚 Petroleum ether	正己烷 <i>n</i> -hexane	无水乙醇 Anhydrous ethanol
油脂得率 Oil yield/%	50.65 <sup>b</sup>	52.75 <sup>c</sup>	56.68 <sup>d</sup>	15.46 <sup>a</sup>

注: 小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。Notes: different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). The same below.

表 2 液料比对红松籽油得率的影响

Tab. 2 Effects of liquid to solid ratio on yield of Korean pine seed oil

液料比 Liquid to solid ratio/(mL·g <sup>-1</sup> )	6	10	14	18	22	26
油脂得率 Oil yield/%	55.31 <sup>a</sup>	57.14 <sup>b</sup>	58.83 <sup>c</sup>	60.50 <sup>d</sup>	60.67 <sup>d</sup>	60.71 <sup>d</sup>

表 3 提取时间对红松籽油得率的影响

Tab. 3 Effects of extraction time on yield of Korean pine seed oil

提取时间 Extraction time/h	1	3	5	7	9	11
油脂得率 Oil yield/%	47.57 <sup>a</sup>	60.51 <sup>b</sup>	65.52 <sup>c</sup>	65.68 <sup>c</sup>	65.78 <sup>c</sup>	65.85 <sup>c</sup>

光波处理 11 min 时, 分别作用不同功率, 研究功率变化对红松籽油得率的影响, 结果如表 4 所示。超声波功率 300 W, 微波功率 380 W, 光波功率 400 W 分别作用不同时间, 研究提取时间变化对红松籽油得率的影响, 结果如表 5 所示。

当超声波、微波和光波单独浸提时, 超声波法在功率 300 W 超声时间 10 min 时油脂提取效果最好, 得率为 67.63%(表 4); 微波法在功率 380 W、提取时间 100 s 时红松籽油提取效果最好, 得率为 62.26%(表 5); 光波法在功率 400 W、提取时间 11 min 时红松籽油提取效果最好, 得率为 58.25%(表 5)。李林强等<sup>[19]</sup> 利用超声波发生器提取的松籽油得率为 59.8%。李清光<sup>[20]</sup> 利用超临界 CO<sub>2</sub> 技术提取红松籽油时出油率最高达 55.61%。刘静波等<sup>[21]</sup> 通过机械液压冷榨法提取红松籽油得率为 60.30%。在最佳功率和最佳提取时间条件下, 超声波法、微波法和光波法提取的红松籽油得率均具有显著性差异( $P < 0.05$ )。同其他提取方法相比, 超声波法提取时间较短, 提取效率高。

### 2.3 不同提取方法对红松籽油脂得率对比

正己烷溶剂法(5 h)、超声波法(300 W, 10 min)、微波法(380 W, 100 s)、光波法(400 W, 11 min)分别处理红松籽时红松籽油得率如表 6 所示。对处理后的红松籽继续浸提至 5 h, 红松籽油得率增加情况如表 7 所示。

4 种方法提取红松籽油的得率高低为: 超声波 > 溶剂法 > 微波 > 光波。各方法所提红松籽油得率均存在显著性差异( $P < 0.05$ )。将超声波、微波、光波单独处理后的红松籽继续浸泡, 红松籽油得率分别为 2.18%、4.50%、6.10%, 各方法之间差异显著( $P < 0.05$ )。超声波、微波和光波法单独作用提取比例分别为 96.88%、93.26%、90.52%。对比超声波法、微波法和光波法再次浸提前后得率可知, 超声波法、微波法和光波法在提取红松籽油过程中起到了主导作用。朱红叶<sup>[22]</sup> 使用溶剂法、超声波辅助法和微波辅助法提取黑莓(*Rubus spp.*)籽油, 通过单因素和正交试验优化提取工艺, 比较 3 种方法提取油脂得率时发现: 超声波辅助法 > 微波辅助法 > 溶剂法, 超声波辅助法

表 4 提取功率对红松籽油得率的影响

Tab. 4 Effects of extraction power on yield of Korean pine seed oil

超声波法 Ultrasonic method		微波法 Microwave method		光波法 Light wave method	
功率 Power/W	得率 Yield/%	功率 Power/W	得率 Yield/%	功率 Power/W	得率 Yield/%
200	63.45 <sup>d</sup>	340	45.44 <sup>a</sup>	250	44.04 <sup>a</sup>
250	65.68 <sup>e</sup>	360	49.21 <sup>b</sup>	300	49.76 <sup>b</sup>
300	67.63 <sup>f</sup>	380	54.35 <sup>e</sup>	350	51.60 <sup>c</sup>
350	62.35 <sup>c</sup>	400	51.93 <sup>d</sup>	400	58.25 <sup>e</sup>
400	60.45 <sup>b</sup>	420	50.41 <sup>c</sup>	450	56.74 <sup>d</sup>
450	56.07 <sup>a</sup>	440	49.53 <sup>b</sup>	500	55.28 <sup>c</sup>

表 5 提取时间对红松籽油得率的影响

Tab. 5 Effects of extraction time on yield of Korean pine seed oil

超声波法 Ultrasonic method		微波法 Microwave method		光波法 Light wave method	
时间 Time/min	得率 Yield/%	时间 Time/s	得率 Yield/%	时间 Time/min	得率 Yield/%
5	65.78 <sup>c</sup>	60	54.35 <sup>a</sup>	3	45.65 <sup>a</sup>
10	67.63 <sup>f</sup>	70	54.84 <sup>a</sup>	5	47.20 <sup>b</sup>
15	64.31 <sup>d</sup>	80	55.95 <sup>b</sup>	7	52.09 <sup>c</sup>
20	62.99 <sup>c</sup>	90	57.62 <sup>c</sup>	9	52.94 <sup>c</sup>
25	61.61 <sup>b</sup>	100	62.26 <sup>d</sup>	11	58.25 <sup>d</sup>
30	57.73 <sup>a</sup>	110	61.16 <sup>d</sup>	13	51.49 <sup>c</sup>

表 6 4 种方法提取红松籽油得率

Tab. 6 Yield of Korean pine seed oil extracted by four methods

溶剂法 Solvent method	超声波法 Ultrasonic method	微波法 Microwave method	光波法 Light wave method
65.52 <sup>c</sup>	67.63 <sup>d</sup>	62.26 <sup>b</sup>	58.25 <sup>a</sup>

表7 3种方法处理后浸提红松籽油得率与单独作用提取比例

Tab. 7 Yield of Korean pine seed oil extracted by three methods and extracting percentage of separate action %

超声波法 Ultrasonic method		微波法 Microwave method		光波法 Light wave method	
处理后浸提得率 Yield for soaking after treatment	单独作用提取比例 Extraction percentage by separate action	处理后浸提得率 Yield for soaking after treatment	单独作用提取比例 Extraction percentage by separate action	处理后浸提得率 Yield for soaking after treatment	单独作用提取比例 Extraction percentage by separate action
2.18 <sup>A</sup>	96.88 <sup>a</sup>	4.50 <sup>B</sup>	93.26 <sup>b</sup>	6.10 <sup>C</sup>	90.52 <sup>c</sup>

注:大写字母不同表示处理后浸提得率差异显著( $P < 0.05$ ),小写字母不同表示单独作用提取比例差异显著( $P < 0.05$ )。Notes: different capital letters indicate that there are significant differences in yield for soaking after treatment ( $P < 0.05$ ), and different lowercase letters indicate that there are significant differences in extraction percentage by separate action ( $P < 0.05$ ).

和微波辅助法较溶剂法缩短了提取时间,同时提高了提取效率。辛晓晨<sup>[23]</sup>采用超声波微波协同提取槟榔(*Areca catechu*)籽油,发现超声波单独作用油脂时提取率为12.56%,超声波-微波协同提取油脂时提取率较超声波单独提取时只提高了1.73%,表明超声波单独处理时已将大部分油脂提出,超声波在提取过程中起主导作用,与本文研究结果一致。

## 2.4 红松籽油的理化指标及脂肪酸组成

### 2.4.1 红松籽油的理化指标

对溶剂法、超声波法、微波法和光波法最优条件下单独作用时所提取的红松籽油理化指标进行测定(表8)。由表8可知:不同方法提取的红松籽油酸值、碘值和过氧化值差异显著( $P < 0.05$ )。酸值、过氧化值和碘值分别是判断油脂酸败、氢过氧化物含量、不饱和程度的指标。溶剂法提取的红松籽油酸价最低,光波法提取的红松籽油酸价最高,此时油脂过氧化物值也较高,可能是光波作用时温度升高,可氧化生成不稳定的氢过氧化物和过氧化物后又分解成为酮、醛、醇等物质,由于温度在一定范围内与过氧化值呈正比,红松籽油氧化向生成氢过氧化物方向进行,此时红松籽油的稳定性和营养价值均下降<sup>[24-26]</sup>。溶剂法所提红松籽油过氧化值最低,是由于溶剂法浸提过程中,红松籽油中一些抗氧化物质未受到破坏,对油脂影响程度小。张思桐等<sup>[27]</sup>采用索氏提取法提取红松籽油并研究了不同品种红松籽油碘值,发现碘值在88.13~127.22 g/100 g,红松籽油碘值越大,其不饱和程度越高,本研究中超声波法所提红松籽油碘值最大(150.44 g/100 g)。4种方法提取红松籽油酸值均小于4 mg/g,过氧化值均小于

0.25 g/100 g,均满足GB/T 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》的限量标准。

### 2.4.2 不同方法对红松籽油脂肪酸的组成和质量分数的影响

不同方法提取的红松籽油脂肪酸分析如表9所示。4种方法提取的红松籽油不饱和脂肪酸种类相同,但质量分数存在差异,质量分数最高为超声波法(89.23%),其次是有机溶剂法(88.82%),而后为光波法(88.68%),微波法(87.87%)处理后质量分数最低。4种方法提取的红松籽油脂肪酸主要包括亚油酸(44.54%~46.32%),油酸(28.29%~28.83%)和皮诺敛酸(13.15%~14.51%)。不饱和脂肪酸占总脂肪酸的一半以上,这种天然的抗氧化物质对于抑制油脂氧化具有重要作用,亚油酸质量分数与朱雪梅等<sup>[28]</sup>研究松籽油脂肪酸组成及分布特征分析中的亚油酸质量分数相近(46.29%),同时在红松籽油中还检测到了少量的C<sub>20:0</sub>(花生酸)和C<sub>20:1</sub>(花生一烯酸)。

## 2.5 红松籽油抗氧化活性评价

### 2.5.1 不同方法提取红松籽油对DPPH·的清除作用

由图1可以看出:4种方法提取的红松籽油对DPPH·具有一定的清除作用,清除率与油质量浓度呈正相关性。溶剂法、超声波法、微波法和光波法提取的红松籽油质量浓度达到0.30 g/mL时清除率最大分别为89.23%、93.16%、85.57%、92.48%。SPSS软件计算其DPPH·清除能力的IC<sub>50</sub>分别为9.41、8.80、9.43、9.61 g/L。比较4种方法提取的红松籽油对DPPH·清除效果可知,超声波提取的红松籽油对DPPH·清除率最高,可能是由于超声时作用细胞时,对红松籽油分子的抗氧化结构破坏小<sup>[29-30]</sup>。微波提取的红松

表8 不同提取方法制备红松籽油的理化性质

Tab. 8 Physical and chemical properties of Korean pine seed oil prepared by different extraction methods

提取方法 Extraction method	酸值 Acid value/(mg·g <sup>-1</sup> )	碘值 Iodine value/(g·100 g <sup>-1</sup> )	过氧化值 Peroxide value/(g·100 g <sup>-1</sup> )
溶剂法 Solvent method	0.89 <sup>a</sup>	145.65 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>
超声波法 Ultrasonic method	0.93 <sup>a</sup>	150.44 <sup>d</sup>	0.21 <sup>b</sup>
微波法 Microwave method	0.95 <sup>b</sup>	147.77 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b</sup>
光波法 Light wave method	0.97 <sup>c</sup>	148.06 <sup>c</sup>	0.24 <sup>c</sup>

表 9 4 种提取方法对红松籽油脂肪酸组成和质量分数的影响

Tab. 9 Effects of extraction methods on composition and mass fraction of fatty acids in Korean pine seed oil

脂肪酸种类 Type of fatty acid	质量分数 Mass fraction/%			
	溶剂法 Solvent method	超声波法 Ultrasonic method	微波法 Microwave method	光波法 Light wave method
棕榈酸 Palmitic acid (C <sub>16:0</sub> )	4.90 <sup>d</sup>	3.68 <sup>b</sup>	3.56 <sup>a</sup>	3.91 <sup>c</sup>
硬脂酸 Stearic acid (C <sub>18:0</sub> )	3.61 <sup>d</sup>	2.41 <sup>a</sup>	2.55 <sup>c</sup>	2.49 <sup>b</sup>
油酸 Oleic acid (C <sub>18:1</sub> )	28.30 <sup>a</sup>	28.83 <sup>c</sup>	28.29 <sup>a</sup>	28.55 <sup>b</sup>
亚油酸 Linoleic acid (9c,12c-C <sub>18:2</sub> )	46.32 <sup>d</sup>	44.87 <sup>c</sup>	44.54 <sup>a</sup>	44.78 <sup>b</sup>
皮诺敛酸 Pinolenic acid (5c,9c,12c-C <sub>18:3</sub> )	13.15 <sup>a</sup>	14.51 <sup>d</sup>	13.83 <sup>b</sup>	14.17 <sup>c</sup>
花生酸 Arachidic acid (C <sub>20:0</sub> )	0.74 <sup>c</sup>	0.69 <sup>b</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.68 <sup>b</sup>
花生一烯酸 Cis-11-eicosenoic acid (C <sub>20:1</sub> )	1.05 <sup>a</sup>	1.02 <sup>a</sup>	1.21 <sup>b</sup>	1.18 <sup>b</sup>
不饱和脂肪酸 Unsaturated fatty acid	88.82	89.23	87.87	88.68

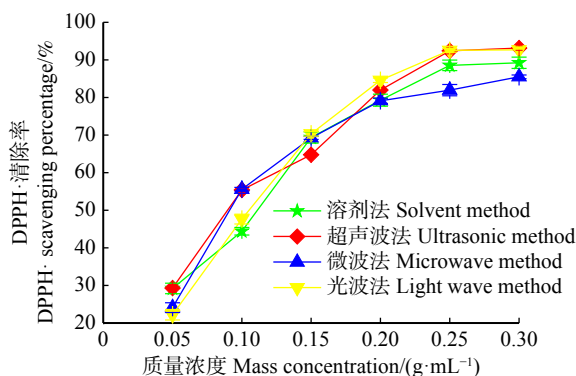


图 1 不同方法提取红松籽油对 DPPH· 的清除效果

Fig. 1 Effects of extraction methods on DPPH· scavenging activity of Korean pine seed oil

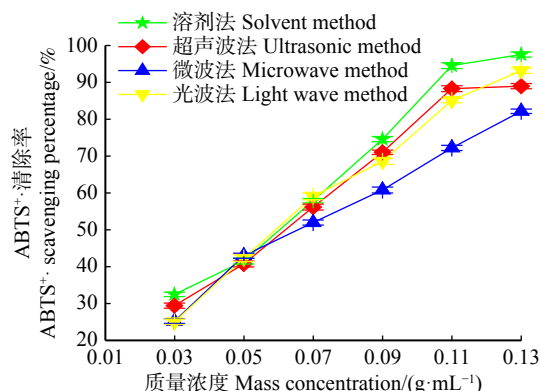


图 2 不同方法提取红松籽油对 ABTS· 的清除效果

Fig. 2 Effects of extraction methods on ABTS· scavenging activity of Korean pine seed oil

籽油对 DPPH·清除率最低为 85.57%，微波处理时红松籽吸收部分微波能量，红松籽油分子抗氧化结构可能被破坏，从而降低了红松籽油的自由基清除能力<sup>[31]</sup>。

### 2.5.2 不同方法提取红松籽油对 ABTS<sup>+</sup> 的清除作用

从图 2 可以看到：当红松籽油质量浓度在 0.03 ~ 0.13 g/mL 时，ABTS<sup>+</sup>清除率由 32.5% 至 97.57% 趋于稳定。溶剂法、超声波法、微波法、光波法提取的红松籽油质量浓度达到 0.13 g/mL 时清除率最大，分别为 97.57%、88.98%、82.18%、93.17%，其 ABTS<sup>+</sup>清除能力的 IC<sub>50</sub> 值分别为 5.10、5.51、6.10、5.43 g/L。比较 4 种方法所提取的红松籽油对 ABTS<sup>+</sup> 的清除效果可知，溶剂法提取的红松籽油自由基清除效果最显著，该方法无超声波的剪切作用，也无光波和微波的加热及辐射作用，对红松籽油分子结构破坏程度较小。微波提取的红松籽油自由基清除效果最差，可能是由于微波辐射破坏红松籽油分子，对自由基的清除作用减弱。不同方法提取的红松籽油的清除 ABTS<sup>+</sup> 能力存在差异，这可能是由于不同提取方法对红松籽油分子内抗氧化成分产生影响。比较葛

双双<sup>[32]</sup> 研究余甘子 (*Phyllanthus emblica*) 核仁油时发现该油脂对 ABTS<sup>+</sup>清除作用的 IC<sub>50</sub> 为 9.84 g/L，红松籽油对 ABTS<sup>+</sup>清除作用的 IC<sub>50</sub> 值最大为 6.10 g/L，因此红松籽油具有良好的清除 ABTS<sup>+</sup> 作用。

## 3 结 论

以红松籽油的得率为指标，确定了溶剂法、超声波法、微波法和光波法提取的最佳工艺条件。通过对比超声波法、微波法和光波法结合溶剂处理前后得率的变化情况，发现 3 种方法作用较短的时间就可以将大部分的红松籽油溶解出来，最佳条件下其得率顺序为：超声波法(67.63%) > 微波法(62.26%) > 光波法(58.25%)。

4 种方法提取的红松籽油的酸值、和过氧化值均符合 GB/T 2716—2018《食品安全国家标准 植物油》的限量标准。脂肪酸质量分数排在前三位的依次是亚油酸(44.54% ~ 46.32%)、油酸(28.29% ~ 28.83%)和皮诺敛酸(13.15% ~ 14.51%)。比较 4 种方法提取出的红松籽油的自由基清除能力可知：超声波法提取

红松籽油的 DPPH·清除能力最强,清除率为 93.16%。溶剂法提取红松籽油的 ABTS<sup>+</sup>·清除能力最强,清除率为 97.57%。微波和光波都为电磁波,提高得率的同时由于其热效应,可能会对热敏性目标物质的功能性质具有潜在的破坏作用;超声波属机械波,不仅可以快速提高得率,且较其他 3 种方法提取的红松籽油中不饱和脂肪酸含量高,抗氧化能力强,因此更适合实际的工业化生产,但 3 种处理方法对于其他营养物和功能性质的影响还有待进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] 李哲敏. 松子仁的营养保健功能[J]. 农牧产品开发, 2001(7): 23-24.  
Li Z M. Nutrition and health function of pine nut kernel[J]. Development of Agricultural and Pastoral Products, 2001(7): 23-24.
- [2] 胡小泓, 贺祥柯, 郭小燕, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 对整粒松仁萃取的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(3): 62-64.  
Hu X H, He X K, Guo X Y, et al. Extraction of whole pine kernel by supercritical CO<sub>2</sub>[J]. China Oils and Fats, 2004, 29(3): 62-64.
- [3] Kayin X, Elizabeth A M, Philip C. A review of the potential health benefits of pine nut oil and its characteristic fatty acid pinolenic acid[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 23(3): 464-473.
- [4] 仇记红, 侯利霞. 松子油加工工艺及脂肪酸组成研究进展[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(12): 10-12.  
Qiu J H, Hou L X. Research progress on processing technology and fatty acid composition of pine seed oil[J]. Cereals & Oils, 2018, 31(12): 10-12.
- [5] Hossein M, Seyed M S, Fatemeh E, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Moringa peregrina* oil with response surface methodology and comparison with Soxhlet method[J]. Industrial Crops & Products, 2019, 131(1): 106-116.
- [6] 谷令彪. 亚临界萃取葫芦巴籽油及其籽粕的开发利用研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.  
Gu L B. Development and utilization of fenugreek seed oil and seed meal extracted from subcriticality[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2017.
- [7] 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.  
Luo M L. Study on extraction of castor oil by water enzyme[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2014.
- [8] 李超, 王乃馨, 郑义, 等. 响应曲面法优化超声波协同微波提取苘麻籽油的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(7): 48-52.  
Li C, Wang N X, Zheng Y, et al. Study on optimization of ultrasonic assisted microwave extraction of abutilon seed oil by response surface method[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2011, 26(7): 48-52.
- [9] Jeevan K S P, Banerjee R. Enhanced lipid extraction from oleaginous yeast biomass using ultrasound assisted extraction: a greener and scalable process[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018, 52(8): 25-32.
- [10] Pablo J, Fabian B, Piotr S, et al. Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38(2): 104-114.
- [11] 孙毅, 张峻松, 罗海涛, 等. 响应面法优化微波辅助提取香茅精油工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(17): 190-193.  
Sun Y, Zhang J S, Luo H T, et al. Optimization of microwave assisted extraction of citronella essential oil by response surface method[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 47(17): 190-193.
- [12] Cardoso W B. Localization of optical pulses in guided wave structures with only fourth order dispersion[J]. Physics Letters A, 2019, 383(28): 125898-125902.
- [13] 谭蓉, 彭增华, 何明奕, 等. 利用微波-光波组合技术干燥黄姜的试验研究[J]. 食品科技, 2008, 33(6): 75-78.  
Tan R, Peng Z H, He M Y, et al. Experimental study on drying ginger by microwave-light wave combination technology[J]. Food Science and Technology, 2008, 33(6): 75-78.
- [14] 郑亚蕾, 刘叶, 隋银强, 等. 4 个葡萄品种葡萄籽冷榨油的性质与体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 27-32.  
Zheng Y L, Liu Y, Sui Y Q, et al. Properties and antioxidant activity of grape seed cold-pressed oil from four grape varieties[J]. Food Science, 2016, 37(3): 27-32.
- [15] 朱雪梅, 阮霞, 胡蒋宁, 等. 松籽油脂脂肪酸组成及分布特征分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(10): 65-68.  
Zhu X M, Ruan X, Hu J N, et al. Analysis of fatty acid composition and distribution characteristics of pine seed oil[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(10): 65-68.
- [16] 杨明非, 苏雯, 王海英. 尿素包含法富集红松子油脂脂肪酸成分分析[J]. 东北林业大学, 2017, 45(11): 111-113.  
Yang M F, Su W, Wang H Y. Analysis of fatty acid composition in Korean pine nut oil enriched with urea[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2017, 45(11): 111-113.
- [17] 胡滨, 陈一资, 杨勇, 等. 响应面法优化微波辅助提取松籽油的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(1): 52-59.  
Hu B, Chen Y Z, Yang Y, et al. Optimization of microwave assisted extraction of pine seed oil by response surface method[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(1): 52-59.
- [18] 刘萼华, 王朝章, 朱如虎, 等. 菜籽浸出各阶段浸出油量、油质变化[J]. 粮食与油脂, 2001(8): 39-40.  
Liu E H, Wang Z Z, Zhu R H, et al. Changes of oil quantity and oil quality in rapeseed leaching at each stage[J]. Cereals & Oils, 2001(8): 39-40.
- [19] 李林强, 李建科, 刘迎利. 超声波处理提取华山松籽油的工艺研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(5): 115-117.  
Li L Q, Li J K, Liu Y L. Extraction of pine seed oil from Huashan Mountain by ultrasonic treatment[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2003, 31(5): 115-117.
- [20] 李清光. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取红松籽油的工艺研究[D]. 大连: 大连工业



- 大学, 2008.
- Liu Q G. Study on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of Korean pine seed oil[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2008.
- [21] 刘静波, 程婉露, 姚志新, 等. 长白山红松籽油的提取及脂肪酸成分分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(6): 239-244.
- Liu J B, Cheng W L, Yao Z X, et al. Extraction and fatty acid composition analysis of the seed oil of Korean pine from Changbai Mountain[J]. Food Industry and Technology, 2014, 35(6): 239-244.
- [22] 朱红叶. 黑莓籽油的超声波提取及其体外抗氧化作用研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2010.
- Zhu H Y. Ultrasonic extraction of blackberry seed oil and its antioxidant effect in vitro[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2010.
- [23] 辛晓晨. 超声-微波协同萃取槟榔籽油及其性质研究[D]. 海口: 海南大学, 2012.
- Xin X C. Ultrasonic-microwave collaborative extraction of betel nut seed oil and its properties[D]. Haikou: Hainan University, 2012.
- [24] Kavi B S C, Roshni T, Kamal K S, et al. Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: time to replace traditional distillation[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 92(8): 12-21.
- [25] 彭游, 叶志刚, 邓泽元. 沙棘黄酮光波干法辅助提取及其机理研究[J]. 食品科技, 2011, 36(4): 197-200.
- Peng Y, Ye Z G, Deng Z Y. Assisted extraction and mechanism of flavonoids from sea-buckthorn by light wave dry method[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(4): 197-200.
- [26] 孟春玲, 王建中, 王丰俊, 等. 响应面法优化超声波辅助提取沙棘籽油的工艺研究[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(5): 118-122.
- Meng C L, Wang J Z, Wang F J, et al. Study on ultrasonic assisted extraction of seabuckthorn seed oil by response surface method[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2008, 30(5): 118-122.
- [27] 张思桐, 杨凯, 赵玉红. 不同品系红松籽油脂肪酸分析及其抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(3): 231-241.
- Zhang S T, Yang K, Zhao Y H. Fatty acid analysis and antioxidant activity of different strains of red pine seed oil[J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(3): 231-241.
- [28] 朱雪梅, 阮霞, 胡蒋宁, 等. 松籽油脂肪酸组成及分布特征分析[J]. 食品工业科技, 2012, 10(33): 65-68.
- Zhu X M, Ruan X, Hu J N, et al. Analysis of fatty acid composition and distribution characteristics of pine seed oil[J]. Food Industry Science and Technology, 2012, 10(33): 65-68.
- [29] Dubok C, Geum-Sook L, Yu L P, et al. Characterization, stability, and antioxidant activity of Salicornia herbacea seed oil[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2014, 31(12): 2221-2228.
- [30] 樊梓鸾, 张艳东, 张华, 等. 红松松针精油抗氧化和抑菌活性研究[J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(8): 98-103.
- Fan Z L, Zhang Y D, Zhang H, et al. Study on antioxidant and antimicrobial activity of pine needle essential oil[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2017, 39(8): 98-103.
- [31] Anand R, Vinoth T. Effect of high-frequency microwave irradiation on *Aegle marmelos* Correa oil extraction: kinetic and thermodynamic study[J]. Energy Procedia, 2019, 158(1): 1046-1051.
- [32] 葛双双. 余甘子核仁油不饱和脂肪酸富集及其油脂氧化稳定性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2017.
- Ge S S. Study on unsaturated fatty acid enrichment and lipid oxidation stability of kernel oil of yuganzi[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2017.

(责任编辑 赵勃 吴娟  
责任编辑委 许凤)