



## 南极磷虾油的分级制备及其品质分析

刘芸杭<sup>1</sup>, 林伟<sup>1</sup>, 胥亚夫<sup>3</sup>, 刘玉欣<sup>1,2</sup>, 周大勇<sup>1,2</sup>, 宋亮<sup>1,2\*</sup>

(1. 大连工业大学食品学院, 辽宁 大连 116034;

2. 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034;

3. 辽渔南极磷虾科技发展有限公司, 辽宁 大连 116000)

**摘要:** 为实现南极磷虾油品质导向的高效制备, 实验以全脂南极磷虾粉为原料, 以豆油或中链甘油三酯作为载体助溶剂, 采用协同超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术制备甘油三酯富集型油脂(一级油); 再以萃取后的南极磷虾粉饼粕为原料, 采用乙醇提取法制备磷脂富集型油脂(二级油)。基于所得磷虾油的脂质组成、磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺的绝对含量为考察指标, 优选了 30% 豆油作为载体助溶剂。结果发现, 与无助溶剂组和乙醇助溶剂组相比, 载体助溶剂(30% 豆油)组的一级油提取率最高(37.68%±0.39%), 其一、二级油的甘油三酯与磷脂可有效分离, 且其多烯指数、致动脉粥样硬化指数和致血栓指数较低, 分别为 0.14±0.00、0.35±0.02、0.41±0.02 和 1.33±0.08、0.62±0.02、0.02±0.00。研究表明, 分级制备的南极磷虾油在磷脂含量上差异显著, 不仅丰富了磷虾油产品种类, 也为后续南极磷虾油提取工艺的选择与制定提供理论指导。

**关键词:** 南极磷虾油; 载体助溶剂; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 分级制备; 品质分析

**中图分类号:** S 984.1

**文献标志码:** A

近年来, 南极磷虾油 (Antarctic krill oil, AKO) 因其独特的结构和功能而日益受到关注<sup>[1]</sup>。南极磷虾油的脂质组成较为复杂, 其甘油三酯含量为 22.1%~38.4%, 其极性酯 (主要为磷脂) 含量高达 56.4%~72.1%<sup>[2]</sup>。南极磷虾油富含磷脂型二十碳五烯酸 (EPA) (23.65%~28.10%) 和二十碳六烯酸 (DHA) (16.71%~21.03%), 而甘油三酯型 EPA (2.83%~3.48%) 和 DHA (1.40%~1.74%) 则含量较少<sup>[3]</sup>。相较于成熟的植物油生产行业, 南极磷虾油的制备技术尚处于研发阶段。目前, 南极磷虾油的主流制备工艺, 大多是以提油得率最大化为目的, 对磷虾油的物质组成关注较少。这种“一锅端”的粗

放提取工艺造成其所提取磷虾油脂质组成的不稳定, 限制了南极磷虾油产品标准化的发展。因此, 亟需开发一种南极磷虾油分级制备技术, 既可丰富磷虾油的产品种类, 制备不同功能特性的磷虾油, 又可根据市场需求调配出目标脂质组成比例的磷虾油, 恒定磷虾油终端产品品质。

溶剂浸提法是南极磷虾油主要的工业化提取方法。采用单一溶剂提取南极磷虾油, 无法有效地提取其全部的脂质成分; 而采用组合溶剂分步提取南极磷虾油, 虽在一定程度上丰富了磷虾油产品的多样性, 但是因其工艺流程的复杂性, 并不适于产业化生产<sup>[4]</sup>。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法与传统

收稿日期: 2021-11-26 修回日期: 2022-01-25

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1406806); 大学生创新创业训练计划 (202110152024)

第一作者: 刘芸杭 (照片), 从事油脂制备研究, E-mail: lyhliyunhang@163.com;

林伟, 从事油脂副产物加工研究, E-mail: lll1565401178@163.com

通信作者: 宋亮, 从事海洋功能脂质开发与应用研究, E-mail: ryo.song@foxmail.com



的有机溶剂提取方法相比,具有绿色、安全、提取条件温和的特点,现已应用于南极磷虾油商业化生产<sup>[5]</sup>。但在超临界 CO<sub>2</sub> 萃取油脂工艺中,夹带剂或助溶剂(通常为乙醇)的使用会增加油脂产品脱溶残的难度,弱化了超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法“无溶剂残留”的优点,同时也对生产车间的安全性提出较高的要求,增加了生产成本。

本实验以全脂南极磷虾粉为原料,以食源性载体助溶剂豆油或中链甘油三酯(medium chain triglycerides, MCT)协同超临界 CO<sub>2</sub> 萃取制备甘油三酯富集型磷虾油(一级油);再将剩余虾粉饼粕经醇提法制备磷脂富集型磷虾油(二级油)。通过检测分析所得一级、二级磷虾油的脂质组成、磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺绝对含量、脂肪酸绝对含量以及计算其多烯指数、致动脉粥样硬化指数和血栓形成指数,研究南极磷虾油分级制备工艺对磷虾油品质变化的影响,以期为高值化南极磷虾油产品的工业化生产提供一定的基础数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

南极磷虾粉为辽渔南极磷虾科技发展有限公司提供;磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(标准品)购自 Avanti 公司;混合脂肪酸甲酯(标准品)购自 Sigma 公司;正己烷、甲醇、三氯甲烷均为色谱纯,购自 Sigma 公司。无水乙醇、无水乙醚、正庚烷、甲酸、无水硫酸钠均为分析纯,购自天津市大茂化学试剂厂。

### 1.2 实验方法

**一级油的制备** 称取 150.00 g 南极磷虾粉,分别添加 10%、20% 和 30% (载体助溶剂/南极磷虾粉,质量分数)的载体助溶剂(豆油和 MCT),混合均匀,参考宋泽宇<sup>[6]</sup>的方法,在超临界萃取温度 35 °C、萃取压力 25 MPa、分离压力 9 MPa、分离温度为 50 °C 以及萃取时间为 50 min 的条件下,制备得到甘油一级油。

**二级油的制备** 参考赵泓博<sup>[7]</sup>的方法,将超临界 CO<sub>2</sub> 萃取釜中剩余的虾粉经乙醇浸提,虾粉与无水乙醇 1 : 5 (质量体积比)混合均匀,于 25 °C 条件下磁力搅拌 1 h,于 4 °C 层析柜中静置 24 h;取上清液,于 45 °C 条件下旋转蒸发,于 4 °C、

8 000 r/min 条件下离心 10 min;取上清液,再次置于 45 °C 条件下旋转蒸发,至油脂样品趋于膏状,于室温条件下氮吹除去乙醇,制备得到二级油。

**脂质组成分析** 参考 Yin 等<sup>[8]</sup>的方法,采用棒状薄层色谱-氢火焰离子检测器联用分析法(TLC-FID)检测分析一、二级提取油样品的脂质组成及相对含量。采用 SIC480 II 集成软件(Iatron Inc.)进行数据采集和处理,对所得谱图的不同脂质成分峰进行积分,采用峰面积归一化法得到样品脂质成分的相对含量。

**磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE)定量分析** 参考吕丹丹等<sup>[9]</sup>的方法,采用高效液相色谱串联蒸发光检测器法(HPLC-ELSD),检测各个样品脂质中 PC 和 PE 的绝对含量。根据保留时间来鉴别 PC 和 PE。基于 PC (16 : 0/18 : 1) 和 PE (16 : 0/18 : 1) 标准曲线进行定量分析(mg/g)。

**油脂提取率(oil extraction rate, OER)的计算** 参考胥亚夫等<sup>[10]</sup>的方法,油脂提取率计算公式:

$$OER(\%) = \frac{\text{油脂质量(g)}}{\text{南极磷虾粉质量(g)}} \times 100\%$$

**脂肪酸组成分析** 参照 GB/T 5009.168—2016,采用气相色谱(GC)检测分析一、二级提取油样品中脂肪酸的绝对含量<sup>[11-12]</sup>。基于混合脂肪酸甲酯标准品的保留时间确定脂肪酸组成,并通过测定相应峰面积对所有成分峰面积总和的百分数来计算给脂肪酸的含量,计算公式:

$$Y_i(\%) = \frac{A_i \times F_i}{\sum A_i \times F_i} \times 100\%$$

式中,  $Y_i$  为样品中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比;  $A_i$  为样品中各脂肪酸甲酯的峰面积;  $F_i$  为脂肪酸甲酯  $i$  转化成脂肪酸的系数。

**多烯指数(PI)、致动脉粥样硬化指数(IA)和致血栓指数(IT)的计算** 参考 Lubis 等<sup>[13]</sup>的计算方法,基于脂肪酸组成中的峰面积计算 PI,计算公式:

$$PI = \frac{(C20 : 5 + C22 : 6)}{C16 : 0}$$

参考 Ulbricht 等<sup>[14]</sup>的计算方法,基于脂肪酸相对含量计算 IA 和 IT,计算公式:

$$IA = \frac{C12 : 0 + 4 \times C14 : 0 + C16 : 0}{\sum PUFAs_{n-6} + \sum PUFAs_{n-3} + \sum MUFA_s}$$

$$IT = \frac{C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}}{0.5 \times \sum PUFAs_{n-6} + 3 \times \sum PUFAs_{n-3} + 0.5 \times \sum MUFAs + \frac{\sum PUFAs_{n-3}}{\sum PUFAs_{n-6}}}$$

式中,  $\sum PUFAs_{n-6}$ 、 $\sum PUFAs_{n-3}$ 、 $\sum MUFAs$  分别为 n-6、n-3 系列多不饱和脂肪酸及单不饱和脂肪酸之和。

统计学分析 利用 SPSS 16.0 One-Way ANOVA 方法定量分析数据并进行 Duncan 比较, 结果用平均值±标准误 (mean ± SE) 表示,  $P < 0.05$  具有显著相关性。

## 2 结果

### 2.1 载体助溶剂的优化

载体助溶剂对一级油和二级油脂质组成的影响 脂质组成测定是对油脂中包含的脂质成分的种类及含量的测定。采用豆油和 MCT 分别作为载体助溶剂, 其添加量分别为 10%、20% 和 30%, 协同超临界提取一级油, 再通过乙醇浸提提取二级油。分析结果显示, 一、二级油样品中共检测出 6 种脂质成分, 分别为甘油三酯 (TAG)、极性酯 (PoL)、甘油二酯 (DAG)、甘油一酯 (MAG)、胆固醇 (CHO) 以及游离脂肪酸 (FFA) (表 1)。

其中, 一级油的脂质组成主要成分为 TAG, 其相对含量均大于 93%。随着载体助溶剂添加量

的增加, TAG 的相对含量呈上升趋势, 而 PoL、DAG 及 CHO 的相对含量呈下降趋势, 表明一级油中的 TAG 得到了有效地富集。其中, 30% 豆油组、20%MCT 组和 30%MCT 组的 TAG 相对含量最高, 且无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。二级油的脂质组成主要成分为 PoL, 其相对含量均大于 80%。随着载体助溶剂添加量的增加, PoL 的相对含量呈上升趋势, 而 TAG 含量呈下降趋势, 表明二级油中的 PoL 得到了有效地富集。其中, 30% 豆油组的 PoL 的相对含量最高, 为 87.08%±3.28%。

载体助溶剂对一级油和二级油 PC 和 PE 绝对含量的影响 磷脂是一大类由磷酸与不同取代基团相连的具有生理活性功能的复杂脂质, 而 PC 和 PE 是南极磷虾油中主要的磷脂种类, 因此本实验将 PC 和 PE 绝对含量作为评价二级油磷脂富集效果的指标。采用不同载体助溶剂分级制备得到的二级油, 其 PC 含量具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 其中 30%MCT 组的 PC 含量最高, 为 (379.56±7.18) mg/g, 30% 豆油组的 PC 含量为 (379.02±5.80) mg/g, 与 30%MCT 组无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。30% 豆油组的 PE 含量最高 ( $P < 0.05$ ), 为 (14.71±0.67)

表 1 一级油和二级油的脂质组成分析  
Tab. 1 Lipid composition analysis of first and second grade oil %

		甘油三酯 TAG	游离脂肪酸 FFA	甘油二酯 DAG	胆固醇 CHO	甘油一酯 MAG	极性酯 PoL
一级油 first grade oil							
10%豆油	10% soy bean oil	93.92±0.40 <sup>a</sup>	—	0.75±0.08 <sup>b</sup>	0.96±0.05 <sup>ab</sup>	0.51±0.16 <sup>b</sup>	3.86±0.47 <sup>c</sup>
20%豆油	20% soy bean oil	95.42±0.57 <sup>b</sup>	—	0.69±0.08 <sup>b</sup>	0.88±0.13 <sup>ab</sup>	0.15±0.05 <sup>a</sup>	2.86±0.43 <sup>b</sup>
30%豆油	30% soy bean oil	96.89±0.28 <sup>c</sup>	—	0.49±0.08 <sup>a</sup>	0.67±0.07 <sup>a</sup>	0.30±0.16 <sup>ab</sup>	1.64±0.36 <sup>a</sup>
10%MCT		94.30±0.31 <sup>a</sup>	—	0.79±0.15 <sup>b</sup>	1.37±0.06 <sup>b</sup>	0.35±0.28 <sup>ab</sup>	3.18±0.09 <sup>bc</sup>
20%MCT		96.46±0.49 <sup>c</sup>	—	0.40±0.05 <sup>a</sup>	0.85±0.30 <sup>ab</sup>	0.30±0.10 <sup>ab</sup>	1.99±0.37 <sup>a</sup>
30%MCT		96.94±0.25 <sup>c</sup>	—	0.34±0.08 <sup>a</sup>	0.64±0.21 <sup>a</sup>	0.28±0.16 <sup>ab</sup>	1.80±0.27 <sup>a</sup>
二级油 econd grade oil							
10%豆油	10% soy bean oil	18.68±4.04 <sup>b</sup>	0.11±0.20 <sup>a</sup>	0.48±0.24 <sup>c</sup>	0.13±0.03 <sup>b</sup>	0.46±0.26 <sup>c</sup>	80.14±3.92 <sup>a</sup>
20%豆油	20% soy bean oil	15.23±4.96 <sup>ab</sup>	0.78±0.26 <sup>b</sup>	0.36±0.09 <sup>bc</sup>	0.17±0.09 <sup>c</sup>	0.24±0.14 <sup>a</sup>	83.22±5.37 <sup>ab</sup>
30%豆油	30% soy bean oil	11.72±3.26 <sup>a</sup>	0.59±0.10 <sup>b</sup>	0.17±0.10 <sup>ab</sup>	0.12±0.21 <sup>b</sup>	0.32±0.25 <sup>b</sup>	87.08±3.28 <sup>b</sup>
10%MCT		17.28±2.25 <sup>b</sup>	0.74±0.23 <sup>b</sup>	0.08±0.07 <sup>a</sup>	0.16±0.04 <sup>c</sup>	0.49±0.12 <sup>c</sup>	81.26±2.27 <sup>ab</sup>
20%MCT		15.27±2.96 <sup>ab</sup>	0.52±0.21 <sup>b</sup>	0.04±0.07 <sup>a</sup>	0.03±0.05 <sup>a</sup>	0.39±0.04 <sup>b</sup>	83.75±3.20 <sup>ab</sup>
30%MCT		14.31±1.89 <sup>ab</sup>	0.63±0.17 <sup>b</sup>	0.23±0.01 <sup>ab</sup>	0.06±0.05 <sup>a</sup>	0.37±0.14 <sup>b</sup>	84.40±2.04 <sup>ab</sup>

注: 表格中同列肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); “—”表示未检出; 下同  
Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant differences ( $P < 0.05$ ); “—” indicates not detected; the same below

表2 二级油的PC和PE含量

组别 groups	磷脂酰胆碱 PC	磷脂酰乙醇胺 PE
10%豆油 10% soy bean oil	363.32±8.86 <sup>a</sup>	14.35±0.18 <sup>c</sup>
20%豆油 20% soy bean oil	376.64±10.04 <sup>ab</sup>	12.51±0.48 <sup>a</sup>
30%豆油 30%soy bean oil	379.02±5.80 <sup>b</sup>	14.71±0.67 <sup>c</sup>
10%MCT	375.71±5.97 <sup>ab</sup>	12.83±0.69 <sup>a</sup>
20%MCT	369.84±10.87 <sup>a</sup>	13.44±0.71 <sup>b</sup>
30%MCT	379.56±7.18 <sup>b</sup>	13.25±0.35 <sup>b</sup>

mg/g。因此,本实验优选30%豆油作为载体助溶剂,考察其对分级制备磷虾油品质的影响。

## 2.2 载体助溶剂对分级制备南极磷虾油品质的影响

采用30%豆油作为载体助溶剂,并以不使用载体助溶剂(对照组)和以使用20%(体积质量百分比)无水乙醇作为助溶剂(乙醇组)制备得到的南极磷虾油作为对照,通过比较4个实验组一级油和二级油的油脂提取率、脂质组成、PC和PE绝对含量、脂肪酸组成,以及PI、IT和IA值,评价载体助溶剂(30%豆油)对分级制备南极磷虾油所得到一级油和二级油品质的影响。

**油脂提取率** 一级油和二级油提取率结果显示,相对于对照组一级油8.91%±0.15%的提取率和乙醇组一级油9.74%±0.17%的提取率,30%豆油组一级油的提取率显著提高( $P<0.05$ ),为37.68%±0.39%,表明30%豆油作为载体助溶剂可有效地萃取南极磷虾油中的甘油三酯型磷虾油。

各组别的二级油提取率无显著性差异( $P>0.05$ )(表3)。

表3 一级油和二级油的提取率

组别 groups	一级油 first grade oil	二级油 second grade oil
对照组 control group	8.91±0.15 <sup>a</sup>	10.16±0.49 <sup>a</sup>
乙醇组 ethanol group	9.74±0.17 <sup>b</sup>	9.66±0.46 <sup>a</sup>
30%豆油 30% soy bean oil	37.68±0.39 <sup>c</sup>	9.61±0.24 <sup>a</sup>

**脂质组成** 为进一步评价载体助溶剂对一级油和二级油脂质组成的影响,将对照组、乙醇组和30%豆油组的脂质组成数据进行层次聚类分析,并采用MetaboAnalyst 5.0进热图绘制。热图可以直观地看出一级油和二级油的脂质组成含量变化,其聚类分析结果以颜色渐变的条带展示,颜色由蓝色到红色,代表相对含量由低到高。分析表明,一级油和二级油的脂质组成呈现出一定的聚类性特征,其中一级油中含有相对含量较高的TAG、DAG和CHO,且30%豆油组的TAG相对含量最高( $P<0.05$ ),对照组和乙醇组的DAG和CHO相对含量最高( $P<0.05$ )。而二级油中含有相对含量较高的MAG、FFA和PoL( $P<0.05$ ),但对对照组、乙醇组和30%豆油组的PoL相对含量差异不显著( $P>0.05$ )(图1)。

**脂肪酸组成** 对照组、乙醇组和30%豆油组的一级油脂肪酸分析分别检测出24种、23种和18种脂肪酸,其中30%豆油组的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)低于对照组和

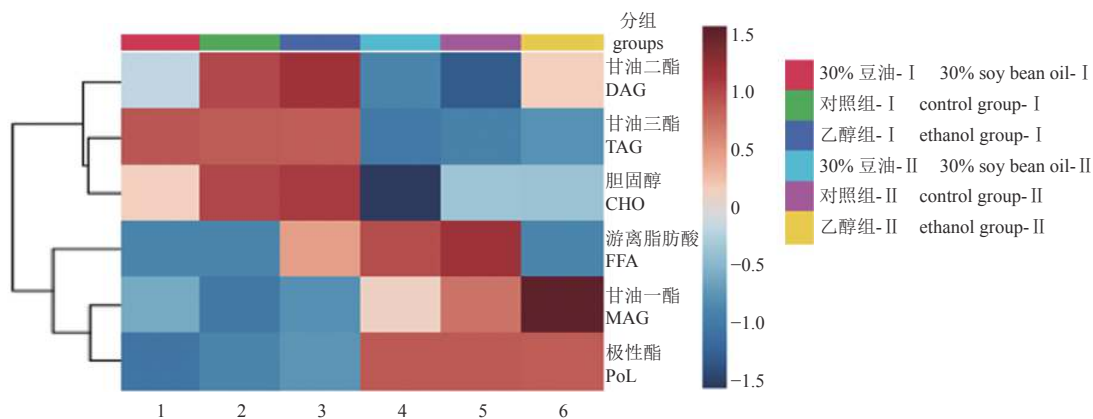


图1 一级油和二级油的脂质组成热图分析

1. 30%豆油-I, 2. 对照组-I, 3. 乙醇组-I, 4. 30%豆油-II, 5. 对照组-II, 6. 乙醇组-II

Fig. 1 Heatmap of lipid composition of first and second grade oil

1. 30% soybean oil-I, 2. control group-I, 3. ethanol-I, 4. 30% soybean oil-II, 5. control group-II, 6. ethanol-II

乙醇组 ( $P<0.05$ ) (表 4)。3 个实验组的二级油脂脂肪酸分析均检测出 13 种脂肪酸, 30% 豆油组的 DHA、MUFAs 和 PUFAs 均高于对照组和乙醇组

( $P<0.05$ ); EPA 显著高于乙醇组 ( $P<0.05$ ) (表 5)。结果表明, 载体助溶剂协同超临界萃取法, 可有效富集二级磷虾油中磷脂型不饱和脂肪酸。

表 4 一级油的脂肪酸组成  
Tab. 4 Fatty acid compositions of first grade oil

脂肪酸/% fatty acid	对照组 control group	乙醇组 ethanol group	30%豆油 30% soy bean oil
辛酸 caprylic acid (C8:0)	—	—	—
癸酸 decanoic acid (C10:0)	—	—	—
肉豆蔻酸 myristic acid (C14:0)	16.57±0.02 <sup>b</sup>	16.76±0.03 <sup>b</sup>	3.63±0.16 <sup>a</sup>
十四碳烯酸 tetradecenoic acid (C14:1)	0.16±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>	—
十五碳烷酸 pentadecanoic acid (C15:0)	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.23±0.00 <sup>a</sup>	—
十五碳烯酸 pentadecenoic acid (C15:1)	0.57±0.03 <sup>b</sup>	0.56±0.06 <sup>b</sup>	0.14±0.02 <sup>a</sup>
棕榈酸 palmitic acid (C16:0)	21.90±0.13 <sup>b</sup>	22.22±0.43 <sup>b</sup>	12.96±0.62 <sup>a</sup>
棕榈油酸 palmitoleic acid (C16:1)	10.60±0.03 <sup>b</sup>	10.74±0.08 <sup>b</sup>	2.38±0.11 <sup>a</sup>
十七碳烷酸 heptadecanoic acid (C17:0)	3.09±0.06 <sup>b</sup>	2.95±0.22 <sup>b</sup>	0.66±0.10 <sup>a</sup>
十七碳烯酸 heptadecenoic acid (C17:1)	0.97±0.01 <sup>b</sup>	0.99±0.01 <sup>b</sup>	0.22±0.02 <sup>a</sup>
硬脂酸 stearic acid (C18:0)	1.98±0.05 <sup>a</sup>	2.13±0.13 <sup>a</sup>	3.48±0.18 <sup>b</sup>
反油酸 anti-oleic acid (C18:1 n-9t)	16.51±0.07 <sup>a</sup>	16.76±0.22 <sup>a</sup>	21.49±0.95 <sup>b</sup>
油酸 oleic acid (C18:1 n-9c)	7.77±0.04 <sup>b</sup>	7.82±0.14 <sup>b</sup>	2.99±0.11 <sup>a</sup>
反亚油酸 trans linoleic acid (C18:2 n-6t)	0.83±0.02 <sup>a</sup>	0.87±0.06 <sup>a</sup>	—
亚油酸 linoleic acid (C18:2 n-6c)	1.36±0.03 <sup>a</sup>	1.56±0.06 <sup>a</sup>	35.99±1.52 <sup>b</sup>
二十碳烷酸 eicosanoic acid (C20:0)	0.26±0.04 <sup>a</sup>	—	0.41±0.01 <sup>b</sup>
g-亚麻酸 g-linolenic acid (C18:3 n-3)	0.24±0.01 <sup>b</sup>	0.25±0.00 <sup>b</sup>	0.10±0.02 <sup>a</sup>
二十碳烯酸 eicosenoic acid (C20:1)	1.75±0.02 <sup>a</sup>	1.97±0.05 <sup>a</sup>	4.33±0.15 <sup>b</sup>
α-亚麻酸 α-linolenic acid (C18:3 n-3)	0.52±0.01 <sup>a</sup>	0.55±0.00 <sup>a</sup>	—
二十一烷酸 n-heneicosanoic acid (C21:0)	1.53±0.02 <sup>b</sup>	1.65±0.11 <sup>b</sup>	0.35±0.02 <sup>a</sup>
芥酸 erucic acid (C22:1n-9)	0.55±0.00 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>c</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>
二十碳三烯酸 carbonium (C20:3 n-3)	0.17±0.00 <sup>a</sup>	0.19±0.01 <sup>a</sup>	—
花生四烯酸 arachidonic acid (C20:4 n-6)	0.24±0.02 <sup>a</sup>	0.27±0.00 <sup>a</sup>	—
二十碳五烯酸 eicosapentaenoic acid (C20:5, EPA)	6.15±0.21 <sup>b</sup>	6.65±0.13 <sup>c</sup>	1.42±0.08 <sup>a</sup>
神经酸 nervonic acid (C24:1)	4.18±0.04 <sup>a</sup>	2.08±0.77 <sup>a</sup>	8.83±4.08 <sup>a</sup>
二十二碳六烯酸 docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA)	1.86±0.08 <sup>b</sup>	2.05±0.05 <sup>c</sup>	0.47±0.03 <sup>a</sup>
饱和脂肪酸% saturated fatty acid (SFAs)	45.55±0.26 <sup>b</sup>	45.95±0.65 <sup>b</sup>	21.50±1.06 <sup>a</sup>
单不饱和脂肪酸% monounsaturated fatty acid (MUFAs)	43.07±0.10 <sup>a</sup>	41.66±0.48 <sup>a</sup>	40.53±2.72 <sup>a</sup>
多不饱和脂肪酸% polyunsaturated fatty acid (PUFAs)	11.38±0.37 <sup>a</sup>	12.39±0.17 <sup>a</sup>	37.98±1.66 <sup>b</sup>

多烯指数、致动脉粥样硬化指数和致血栓指数 对照组、乙醇组和 30% 豆油组一、二级油的 PI、IA 和 IT 值结果显示, 一、二级油中 30% 豆油组的 PI 均显著低于对照组和乙醇组 ( $P<0.05$ ), 表明 30% 豆油组一、二级油的氧化稳定性更好。一级油中 30% 豆油组的 IA 显著低于对照组和乙醇组 ( $P<0.05$ ), 表明 30% 豆油组一级油食用安全性更好。各实验组别的二级油 IT 显著

低于一级组 ( $P<0.05$ ), 表明经分级制备得到的磷脂富集磷虾油 (二级油) 食用安全性高于甘油三酯富集磷虾油 (一级油) (表 6, 表 7)。

### 3 讨论

南极磷虾油的提取工艺在国内外已有较多研究, 提取方法也因其原料 (磷虾粉和冻虾) 而有所不同。目前, 南极磷虾油提取方法主要是有机溶

表 5 二级油的脂肪酸组成  
Tab. 5 Fatty acid compositions of second grade oil %

脂肪酸/% fatty acid	对照组 control group	乙醇组 ethanol group	30%豆油 30% soy bean oil
肉豆蔻酸 myristic acid (C14:0)	2.71±0.01 <sup>a</sup>	2.66±0.11 <sup>a</sup>	2.59±0.03 <sup>a</sup>
棕榈酸 palmitic acid (C16:0)	28.60±0.96 <sup>a</sup>	28.81±0.08 <sup>a</sup>	28.65±0.75 <sup>a</sup>
棕榈油酸 palmitoleic acid (C16:1)	1.97±0.02 <sup>a</sup>	1.91±0.03 <sup>a</sup>	1.93±0.01 <sup>a</sup>
硬脂酸 stearic acid (C18:0)	1.34±0.14 <sup>a</sup>	1.47±0.09 <sup>a</sup>	1.40±0.03 <sup>a</sup>
反油酸 anti-oleic acid (C18:1 n-9t)	6.99±0.30 <sup>b</sup>	6.30±0.34 <sup>b</sup>	5.55±0.12 <sup>a</sup>
油酸 oleic acid (C18:1 n-9c)	6.98±0.31 <sup>a</sup>	7.16±0.04 <sup>a</sup>	6.31±0.34 <sup>a</sup>
反亚油酸 trans linoleic acid (C18:2 n-6t)	1.74±0.00 <sup>a</sup>	2.20±0.65 <sup>b</sup>	2.30±0.08 <sup>b</sup>
二十碳烯酸 eicosenoic acid (C20:1)	1.56±0.04 <sup>a</sup>	1.59±0.06 <sup>a</sup>	1.54±0.19 <sup>a</sup>
二十一烷酸 n-heneicosanoic acid (C21:0)	1.34±0.07 <sup>a</sup>	1.27±0.03 <sup>a</sup>	1.21±0.05 <sup>a</sup>
芥酸 erucic acid (C22:1 n-9)	2.70±0.58 <sup>a</sup>	2.25±0.01 <sup>a</sup>	2.38±0.14 <sup>a</sup>
二十碳五烯 eicosapentaenoic acid (C20:5, EPA)	31.05±0.79 <sup>ab</sup>	30.51±0.61 <sup>a</sup>	31.49±1.26 <sup>b</sup>
神经酸 nervonic acid (C24:1)	1.26±0.29 <sup>b</sup>	1.06±0.02 <sup>a</sup>	1.41±0.53 <sup>b</sup>
二十二碳六烯酸 docosahexaenoic acid (C22:6 n-3, DHA)	12.76±0.07 <sup>a</sup>	12.81±0.23 <sup>a</sup>	13.24±0.51 <sup>b</sup>
饱和脂肪酸% saturated fatty acid (SFAs)	33.99±1.05 <sup>a</sup>	34.21±0.12 <sup>a</sup>	35.05±0.67 <sup>b</sup>
单不饱和脂肪酸% monounsaturated fatty acid (MUFAs)	20.46±0.20 <sup>a</sup>	20.27±0.32 <sup>a</sup>	21.32±0.79 <sup>b</sup>
多不饱和脂肪酸% polyunsaturated fatty acid (PUFAs)	45.55±0.85 <sup>a</sup>	45.52±0.19 <sup>a</sup>	47.85±1.39 <sup>b</sup>

表 6 一级油的多烯指数、致动脉粥样硬化指数和致血栓指数

Tab. 6 Polyene index (PI), index of atherogenicity (IA) and index of thrombogenicity (IT) of first grade oil

指标 indexes	对照组 control group	乙醇组 ethanol group	30%豆油组 30% soy bean oil
多烯指数 PI	0.36±0.02 <sup>b</sup>	0.39±0.02 <sup>b</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>
致动脉粥样硬化指数 IA	1.62±0.01 <sup>b</sup>	1.65±0.03 <sup>b</sup>	0.35±0.02 <sup>a</sup>
致血栓指数 IT	0.11±0.00 <sup>a</sup>	0.11±0.00 <sup>a</sup>	0.41±0.02 <sup>b</sup>

表 7 二级油的多烯指数、致动脉粥样硬化指数和致血栓指数

Tab. 7 Polyene index (PI), index of atherogenicity (IA) and index of thrombogenicity (IT) of second grade oil

指标 indexes	对照 control group	乙醇组 ethanol group	30%豆油 30% soy bean oil
多烯指数 PI	1.52±0.08 <sup>b</sup>	1.49±0.02 <sup>b</sup>	1.33±0.08 <sup>a</sup>
致动脉粥样硬化指数 IA	0.60±0.02 <sup>a</sup>	0.60±0.01 <sup>a</sup>	0.62±0.02 <sup>a</sup>
致血栓指数 IT	0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>a</sup>

剂提取法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法和亚临界萃取法等。超临界流体萃取技术是一项比较先进的利用超临界流体分离天然有效成分的技术。工业上超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术已应用到南极磷虾油的制备。已有文献报道<sup>[15]</sup>，直接用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取极性比较强

的活性分子的效果不好。对于极性物质的萃取，通常方法是加入乙醇等夹带剂，极性物质的溶解度在超临界 CO<sub>2</sub> 萃取中有所增加，进而再对其进行萃取<sup>[16]</sup>。磷脂是南极磷虾油的重要脂质组成，是一种极性很强的分子物质，其在超临界流体中的增溶作用有一定的局限性。Johnston 等<sup>[17]</sup>提出加入表面活性剂和水，在超临界 CO<sub>2</sub> 萃取中形成使极性物质能溶于其中的反相微乳，提供了极性物质萃取的新方法。但此种工艺在实际应用中的便捷性较差，多数情况下一些不溶物和杂质在溶解之后还需要被滤除，这就使得其工序变得复杂，既消耗时间又消耗人力，大大增加了使用的成本，造成很多不便利的因素。因此，食用油作为载体助溶剂的开发和应用，就具有一定的实际操作性。

已有文献报道<sup>[18]</sup>，大豆油协同超临界 CO<sub>2</sub> 萃取对迷迭香进行选择性的强化萃取分离，既可较好充当产物载体改善萃取产物的理化性能和使用性能，又能提高载体助溶剂的性能以增加萃取效率，降低生产过程成本和产品成本。鉴于此，本实验选取了大豆油和 MCT 作为载体助溶剂协同超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术制备南极磷虾油，探究其改善南极磷虾粉在萃取体系中的分散均匀程度进而提升脂质萃取效率的可行性。

本实验是在固定的超临界萃取温度和压力以

及 CO<sub>2</sub> 流量条件下展开, 发现超临界 CO<sub>2</sub> 流体中载体助溶剂添加量的增加使得南极磷虾油脂质萃取效率升高。这是由于 CO<sub>2</sub> 是非极性分子, 载体助溶剂增加使得超临界 CO<sub>2</sub> 的极性增强, 南极磷虾油在超临界流体中的分散度随着极性的增强而增大, 其脂质萃取效率有较大提升<sup>[19]</sup>。南极磷虾油脂质分子和蛋白分子之间的作用力被超临界流体破坏是另一个原因, 脂质分子从蛋白分子中脱离出来的难度降低, 脂质萃取效率进而也被提高了。此外本实验还发现, 载体助溶剂组的一、二级油多烯指数 (PI)、致动脉粥样硬化指数 (IA) 和致血栓指数 (IT) 相比于对照实验组均有不同程度的下降。这是由于载体助溶剂组的一、二级油脂肪酸更有效地分离。推测其原因是载体助溶剂在超临界 CO<sub>2</sub> 萃取过程中的溶解作用<sup>[19]</sup>, 即超临界 CO<sub>2</sub> 流体在载体助溶剂作用下, 萃取物料 (南极磷虾粉) 实现了分子水平的分散, 其在超临界 CO<sub>2</sub> 萃取介质中均匀分布, 保证了南极磷虾油脂质的有效分离。

#### 4 结论

本研究以 30% 豆油作为载体助溶剂协同超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术及乙醇浸提法, 有效地分级制备了甘油三酯富集型 (一级油) 和磷脂富集型 (二级油) 南极磷虾油。与对照组相比, 其一级油提取率高, 且 TAG 相对含量大于 96%; 其二级油 EPA、DHA 和 PUFAs 绝对含量高, 且 PoL 相对含量大于 87%; 其一、二级油的 PI、IT 和 IA 值均较低, 提取油食用品质较好。因此, 本实验将南极磷虾油进行分级提取, 得到组成有所差异的分级南极磷虾油, 对于探讨制备高品质磷虾油、丰富磷虾油产品种类均具有重要意义。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

#### 参考文献 (References):

- [1] Xie D, Gong M Y, Wei W, *et al.* Antarctic krill (*Euphausia superba*) oil: a comprehensive review of chemical composition, extraction technologies, health benefits, and current applications[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2019, 18(2): 514-534.
- [2] Phleger C F, Nelson M M, Mooney B D, *et al.* Interannual and between species comparison of the lipids, fatty acids and sterols of Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 131(4): 733-747.
- [3] Xie D, Jin J, Sun J, *et al.* Comparison of solvents for extraction of krill oil from krill meal: lipid yield, phospholipids content, fatty acids composition and minor components[J]. *Food Chemistry*, 2017, 233: 434-441.
- [4] 郭休玉, 何兰, 曹俊, 等. 南极磷虾油提取方法比较及主要营养成分分析[J]. *水产科技情报*, 2013, 40(5): 254-257.
- [5] Guo X Y, He L, Cao J, *et al.* Comparison of extraction methods and analysis of its main nutritional components from Antarctic krill oil[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2013, 40(5): 254-257 (in Chinese).
- [6] Ali-Nehari A, Chun B S. Characterization of purified phospholipids from krill (*Euphausia superba*) residues deoiled by supercritical carbon dioxide[J]. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2012, 29(7): 918-924.
- [7] 宋泽宇. 南极磷虾油绿色提取工艺研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2014.
- [8] Song Z Y. Study on the green extraction technology of oils from Antarctic krill (*Euphausia superba*) [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2014 (in Chinese).
- [9] 赵泓博. 南极磷虾油分级制备及其品质分析 [D]. 大连: 大连工业大学, 2019.
- [10] Zhao H B. Fractionation preparation and quality analysis of Antarctic krill oil [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2019 (in Chinese).
- [11] Yin F W, Liu X Y, Fan X R, *et al.* Extrusion of Antarctic krill (*Euphausia superba*) meal and its effect on oil extraction[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2015, 50(3): 633-639.
- [12] 吕丹丹, 赵琪, 曹天明, 等. 盐渍和干制工艺中小黄花鱼脂质的变化[J]. *大连工业大学学报*, 2020, 39(3): 157-162.
- [13] Lv D D, Zhao Q, Cao T M, *et al.* Changes of lipids of small yellow croaker in salting and drying process[J]. *Journal of Dalian Polytechnic University*, 2020, 39(3): 157-162 (in Chinese).
- [14] 胥亚夫, 韩雨哲, 赵月. 富含磷脂的南极磷虾油提取工艺研究[J]. *渔业研究*, 2020, 42(1): 63-69.

- Xu Y F, Han Y Z, Zhao Y. Study on extraction technology of Antarctic krill oil rich in phospholipid[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2020, 42(1): 63-69 (in Chinese).
- [11] Czerniak A, Kubiak P, Białas W, *et al.* Improvement of oxidative stability of menhaden fish oil by microencapsulation within biocapsules formed of yeast cells[J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 167: 2-11.
- [12] Shen Y, Lu T, Liu X Y, *et al.* Improving the oxidative stability and lengthening the shelf life of DHA algae oil with composite antioxidants[J]. *Food Chemistry*, 2020, 313: 126139.
- [13] Lubis Z, Buckle K A. Rancidity and lipid oxidation of dried - salted sardines[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 1990, 25(3): 295-303.
- [14] Ulbricht T L V, Southgate D A T. Coronary heart disease: seven dietary factors[J]. *The Lancet*, 1991, 338(8773): 985-992.
- [15] Ruckenstein E, Shulgin I. Entrainer effect in supercritical mixtures[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2001, 180(1-2): 345-359.
- [16] Jiménez-Carmona M M, Luque de Castro M D. Reverse-micelle formation: a strategy for enhancing CO<sub>2</sub>-supercritical fluid extraction of polar analytes[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 358(1): 1-4.
- [17] Johnston K P, Harrison K L, Clarke M J, *et al.* Water-in-carbon dioxide microemulsions: an environment for hydrophiles including proteins[J]. *Science*, 1996, 271(5249): 624-626.
- [18] 刘杰, 曾健青, 李卫民, 等. 载体助溶剂协同超临界二氧化碳萃取迷迭香抗氧化活性成分的研究[J]. *北方药学*, 2012, 9(5): 47-48.
- Liu J, Zeng J Q, Li W M, *et al.* Study on the extraction of the antioxidant components in rosemary using supercritical CO<sub>2</sub> fluid combined with a cosolvent carrier[J]. *Journal of North Pharmacy*, 2012, 9(5): 47-48 (in Chinese).
- [19] 曾健青, 陈墨, 左雄军, 等. 高效速溶稳定的液体迷迭香抗氧化剂的研究[J]. *食品科技*, 2011, 36(4): 223-227.
- Zeng J Q, Chen Z, Zuo X J, *et al.* The high performance rapid oil-soluble and stable liquid rosemary antioxidant[J]. *Food Science and Technology*, 2011, 36(4): 223-227 (in Chinese).



## Fractional preparation of Antarctic krill oil and its quality analysis

LIU Yunhang<sup>1</sup>, LIN Wei<sup>1</sup>, XU Yafu<sup>3</sup>, LIU Yuxin<sup>1,2</sup>, ZHOU Dayong<sup>1,2</sup>, SONG Liang<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, China;

3. Liaoyu Antarctic Krill Technology Development Co., Ltd., Dalian 116000, China)

**Abstract:** Antarctic krill oil (AKO) refers to the lipid extracted from *Euphausia superba*. Recently, it has attracted great concerns from academia and industry due to its unique composition. However, the lack of standards, complex composition and differences in processing methods can easily lead to unstable quality of AKO products, which would further limit the in-depth research on its functional properties and restrict the development of the AKO industry. Thus, the fractional preparation of AKO and its quality analysis were conducted in this study. Firstly, the whole *E. superba* meal was used as the raw material, and soybean oil or medium chain triglycerides was used as the co-solvent carrier in conjunction with supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology to prepare triglyceride-enriched oil (first grade oil). And then, the extracted *E. superba* meal was subjected to alcohol extraction to prepare a phospholipid-enriched oil (second grade oil). Considering the lipid composition, and content of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine as the inspection indicators, 30% soybean oil was selected as the co-solvent carrier in conjunction with supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology to prepare AKO. The results showed that, compared with the non-cosolvent group and the ethanol cosolvent group, the co-solvent carrier (30% soybean oil) group had the highest extraction rate of primary oil, suggesting the phospholipids of the first and second grade oils were effectively separated, and its polyene index, atherosclerosis index and thrombosis index were relatively low. The phospholipid content of AKO prepared by fractionation in the present study was significantly different, which not only enriched the types of AKO products, but also provided theoretical guidance for the selection and formulation of subsequent AKO extraction technology. It is suggested that the research of AKO in the future should focus on the influence of typical processes on the composition, structure and functional properties of AKO and their related mechanisms, which would be helpful to achieve precise regulation and efficient production of AKO with target functionalities.

**Key words:** Antarctic krill oil; co-solvent carrier; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; fractional preparation; quality analysis

**Corresponding author:** SONG Liang. E-mail: ryo.song@foxmail.com

**Funding projects:** National Key Research and Development Program of China (2018YFC1406806); Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (202110152024)