

大麦虫油脂超临界二氧化碳萃取 及其气相色谱-质谱分析

陈智毅^{1*}, 刘学铭¹, 杨春英¹, 杨荣玲¹, 王思远¹, 唐秋实¹, 林耀盛¹, 唐选明²

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广州 510610; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所 农业部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193)

摘要: **目的** 研究金针菇菌糠饲养的大麦虫油脂的超临界 CO₂ 萃取工艺及其脂肪酸组成。**方法** 采用超临界 CO₂ 萃取大麦虫油脂, 探讨萃取压力、萃取温度对大麦虫油脂萃取率的影响, 经甲酯化处理后用气相色谱-质谱联用仪分析大麦虫脂肪酸组成。**结果** 影响大麦虫油脂萃取因素的主次顺序依次为萃取压力 > 萃取温度 > 萃取时间, 考虑生产成本, 本实验选取萃取压力 15 MPa、萃取温度 55 °C、萃取时间 1.5 h, 在此条件下, 萃取率为 52.00% ± 1.07%。在大麦虫油中分离鉴定出 11 种脂肪酸, 其中主要为油酸(40.26%)、棕榈酸(29.27%)、亚油酸(16.12%)、硬脂酸(7.38%)等。**结论** 生物转化农业生产废弃物的大麦虫具有较高的食用和药用价值, 可以源源不断地提供食用、饲料用以及可再生能源的油脂资源。

关键词: 超临界二氧化碳萃取; 大麦虫(*Zophobas morio*)油脂; 气相色谱-质谱法

The supercritical carbon dioxide extraction of superworm oils and analysis by gas chromatograph-mass spectrometry

CHEN Zhi-Yi^{1*}, LIU Xue-Ming¹, YANG Chun-Ying¹, YANG Rong-Ling¹,
WANG Si-Yuan¹, TANG Qiu-Shi¹, LIN Yao-Sheng¹, TANG Xuan-Ming²

(1. Sericultural and Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China;
2. Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture,
Institute of Agro-Products Processing Science and Technology CAAS, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: Objective Study on supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction technology and fatty acid composition of superworm (*Zophobas morio*) fed by *Flammulina velutipes* bran. **Methods** The effects of extraction pressure and temperature on the extraction rate of superworm oil which was extracted by supercritical CO₂ were discussed, and the fatty acid composition of superworm oil after methyl esterification was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** The order of superworm oil extraction factors was extraction pressure > temperature > time. Consider the cost of production, this experiment selected the condition of 15 MPa, 55 °C, 1.5 h, under the condition, the extraction rate was 52.00% ± 1.07%. 11 kinds of fatty acids from superworm oil by gas chromatograph-mass spectrometry were identified, mainly oleic acid (40.26%), pal-

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201303080)、广东省科技计划项目(2011A011303002、2012B091100468、2012A020100008)

Fund: Supported by Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201303080) and Guangdong Province Science and Technology Plan Project (2011A011303002, 2012B091100468, 2012A020100008)

*通讯作者: 陈智毅, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为农产品加工。E-mail: fezychen@scut.edu.cn

*Corresponding author: CHEN Zhi-Yi, Associate Professor, Sericultural and Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, No.133, Yihenglu Dongguangzhuang, Tianhe District, Guangzhou 510610, China. E-mail: fezychen@scut.edu.cn

mitic acid (29.27%), linoleic acid (16.12%), and stearic acid (7.38%), etc. **Conclusion** Superworm oil has high edible and medicinal value, which enables waste and agricultural by-products to be turned into superworm by bio-transformation technology, and supplies oil resources of food, feed and renewable energy continuously.

KEY WORDS: supercritical carbon dioxide extraction; superworm(*Zophobas morio*) oil; gas chromatograph-mass spectrometry

1 引言

大麦虫(*Zophobas morio*)俗称超级面包虫,属于节肢动物门、昆虫纲、鞘翅目、拟步甲虫科昆虫。大麦虫的幼虫含蛋白质约 51%, 脂肪 29%, 并含有多种糖类、氨基酸、维生素、激素、酶及矿物质磷、铁、钾、钠、钙等,与蚕蛹、家蝇、蟋蟀、黄粉虫幼虫、蜡虫幼虫等相比,大麦虫在蛋白质、蛋氨酸、重量与能量的含量均居首位,且微量元素的含量高、种类多,是一种不可多得的蛋白和油脂源昆虫^[1-3]。大麦虫作为昆虫养殖新秀,是高级宠物饲料的良好来源。大麦虫食性杂,甚至可取食塑料制品^[4]。目前,对大麦虫的研究多是探讨养殖技术,对用菌糠饲养大麦虫^[5]及其油脂超临界 CO₂(supercritical carbon dioxide, SC-CO₂)萃取技术的研究却鲜有报道^[6-7]。超临界 CO₂萃取技术越来越广泛地应用于医药、食品、化工、能源等领域,与传统提取方法相比,超临界 CO₂萃取技术具有萃取速度快、避免热敏成分的受热变质、无溶剂残留等优点^[8-12]。本研究采用 SC-CO₂萃取技术,对大麦虫油脂进行萃取,为 SC-CO₂萃取技术在油脂提取中的进一步应用提供支持;而采用气相色谱-质谱法(gas chromatograph-mass spectrometry, GC-MS)对大麦虫油脂的成分进行检测分析,可为大麦虫的进一步开发应用提供一定的理论依据。

2 材料与方 法

2.1 材料与仪器

鲜活大麦虫由广东省东莞市南方珍稀昆虫繁育研究中心提供,用金针菇菌糠饲养^[5]。CO₂气体(纯度 > 99.5%),由广州龙奥气体设备有限公司提供。

HL-1L/50MPa-HB 型超临界萃取装置(杭州华黎泵业有限公司); S2C-C 型脂肪检测仪(上海世平实验设备有限公司); 6890N-5973B 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); JM1000Max1000 电子天平(余姚纪铭称重校验设备有限公司); BS-124S 电子分析

天平(Sartorius 公司); 202-3 电热恒温干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司); DG160 粉碎机(上海圣欣科学仪器有限公司); GHRH-20 型高温热泵干燥系统(广东省农业机械研究所)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

鲜活的大麦虫用自来水洗净,去杂质,用开水热烫,之后装托盘,用热泵干燥机在 35 °C 烘至水分在 5%左右,粉碎,置于干燥器中储存。

2.2.2 超临界 CO₂ 萃取大麦虫油脂工艺流程

大麦虫 热烫灭活 干燥 粉碎 过筛 称重 装料入萃取釜,密闭 控制合适的温度、压力等实验条件 超临界 CO₂ 流体萃取 减压分离 离心去杂质 大麦虫油

大麦虫油脂萃取率的计算:

油脂萃取率(%)=(萃取出油脂的质量/装料量)×100%

2.2.3 萃取实验设计^[13, 14]

超临界 CO₂ 萃取大麦虫油过程中,既要考虑大麦虫油得率,又要考虑萃取速率、能耗等因素,影响大麦虫油得率的因素有压力、温度、时间等。实验选择萃取压力(A)、萃取温度(B)、萃取时间(C)三个因素,以萃取率为指标,进行单因素实验,为确定最佳的萃取工艺参数,根据单因素实验结果以及 L₉(3³)的正交表确定正交实验各因素的水平数,进行三因素三水平进行正交实验,见表 1,共完成 9 组实验,每组实验 3 次重复。

2.2.4 油脂成分分析方法^[15]

大麦虫油脂的甲酯化处理: 样品甲酯化处理: 将 0.5 g 大麦虫油脂放入一具塞试管中,加入 5 mL 0.5

表 1 因素水平表

Table 1 Factor level charts

水平	A 萃取压力/MPa	B 萃取温度/°C	C 萃取时间/h
1	20	55	2
2	15	45	1.5
3	10	35	1

mol/L 氢氧化钾的甲醇溶液, 静置 30 min; 向混合物中加入 5 mL 正己烷, 再静置 2 min, 上清液贮存于试剂瓶中(-20 °C), 待气相色谱分析。

色谱条件: 美国安捷伦公司 Agilent 6890N 气相色谱仪; 色谱柱: DB-WAX 石英毛细管柱(30 m×320 μm×0.25 μm); 进样口温度: 250 °C; FID 检测器温度: 250 °C; 升温程序: 初始温度 80 °C, 以 10 °C/min 升至 200 °C, 2 °C/min 升温到 230 °C, 保留 1 min; 分流比: 20:1; 载气及流量: He 气, 20 mL/min。

质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 275 °C; 离子源温度 200 °C; 母离子 m/z :285; 激活电压 1.5 V; 质量扫描范围 m/z 30~450。检测谱库为 Nist05a。

3 结果与分析

3.1 单因素实验

3.1.1 压力对萃取率的影响

图 1 为温度 55 °C 时, 不同萃取压力大麦虫粉油脂萃取率的影响。由图 1 可知, 在一定温度条件下, 增大压力可以提高大麦虫油的萃取率, 15 MPa 时的萃取率与 20 MPa 时的萃取率差异不显著, 考虑成本和安全因素, 本实验采用 15 MPa 作为最佳萃取压力。同时也看到, 萃取时间 1 h, 1.5 h, 2 h 的萃取率差异不显著。

3.1.2 温度对萃取率的影响

图 2 为萃取压力 20 MPa 时, 不同萃取温度对大麦虫粉油脂萃取率的影响。由图 2 可知, 在一定温度条件下, 增加温度可以提高大麦虫油脂的萃取率, 最佳萃取温度为 55 °C。同时也看到, 萃取时间 1 h, 1.5 h, 2 h 的萃取率差异不显著。

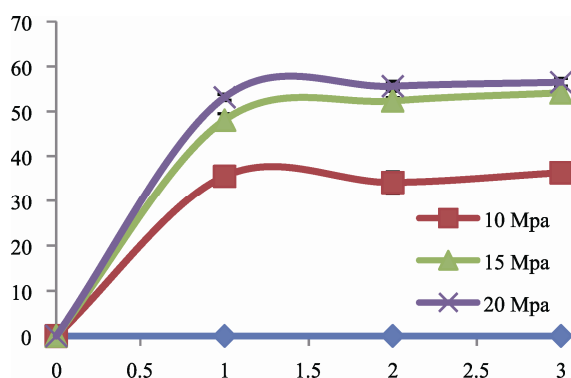


图 1 萃取压力对大麦虫油萃取率的影响

Fig. 1 Effects of extraction pressure on superworm oil extraction rate

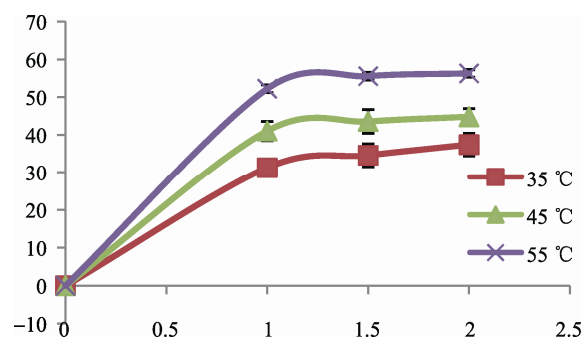


图 2 萃取温度对萃取率的影响

Fig. 2 Effects of temperature on extraction rate

3.1.3 时间对萃取率的影响

萃取时间也是影响萃取率的重要因素, 由图 1 和图 2 可知, 在萃取压力和萃取温度不变的情况下, 萃取时间在 1 h, 1.5 h, 2 h, 萃取率上升不明显, 而延长时间会缩短萃取设备的使用寿命, 增加电耗。

3.2 大麦虫油脂超临界 CO₂ 萃取最佳工艺条件的确定

由表 2 的极差分析可知, 萃取压力、温度和时间

表 2 正交实验结果及分析

Table 2 The results of orthogonal experiment and analysis

实验号	A 萃取压力 /MPa	B 萃取温度 /°C	C 萃取时间 /h	萃取率 %
1	20(1)	55(1)	2.0(1)	56.52
2	20(1)	45(2)	1.5(2)	42.96
3	20(1)	35(3)	1.0(3)	31.93
4	15(2)	55(1)	1.5(2)	52.00
5	15(2)	45(2)	1.0(3)	23.69
6	15(2)	35(3)	2.0(1)	37.88
7	10(3)	55(1)	1.0(3)	34.43
8	10(3)	45(2)	2.0(1)	21.95
9	10(3)	35(3)	1.5(2)	12.95
K1	131.41	142.95	116.35	
K2	113.57	88.60	107.91	
K3	69.33	82.76	90.05	
k ₁	43.80	47.65	38.78	
k ₂	37.86	29.53	35.97	
k ₃	23.11	27.59	30.02	
R	20.69	20.06	8.76	
最佳组合	20	55	2	

三个因素对大麦虫油脂萃取的影响大小顺序为 $A > B > C$, 即萃取压力 $>$ 萃取温度 $>$ 萃取时间。最高萃取率的工艺组合为 $A_1B_1C_1$, 即萃取压力 20 MPa、萃取温度 55 °C、萃取时间 2 h, 此时萃取率为 56.52%。实验过程中发现在 2 h 之内, 随着时间的延长, 出油率增加, 在 2 h 时达到最大, 超过 2 h 后, 出油率变化不大。经综合考虑生产需要, 推荐生产最佳工艺组合为 $A_2B_1C_2$, 即萃取压力 15 MPa、萃取温度 55 °C、萃取时间 1.5 h, 依据此方案进行实验, 重复三次, 萃取率为 $52.00\% \pm 1.07\%$ 。

3.3 大麦虫油脂气质联用分析图谱

对上述萃取的大麦虫油在萃取温度为 55 °C, 萃取压力为 20 MPa, 萃取时间分别为 1 h、1.5 h、2 h 条件下进行 GC-MS 分析, 结果见图 3。图 3 中的萃取时间分别为 1 h、1.5 h、2 h, 三个不同时间萃取的

大麦虫油 GC-MS 色谱图差异不显著, 即在本实验萃取时间范围内, 采用本实验最高的萃取温度、最高的萃取压力, 对大麦虫脂肪酸组成分析影响不显著。说明本实验条件对脂肪酸组成没有影响。

3.4 大麦虫油脂中主要化学成分 GC-MS 分析结果

对大麦虫油脂中的脂肪酸甲酯化后 GC-MS 分析, 检索谱库 Nist05a 以及配合资料检索, 参考谱库的匹配率, 确认了 11 种脂肪酸甲酯成分, 按峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量如表 3 所示, 其中油酸 40.26%、棕榈酸 29.27%、亚油酸 16.12%、硬脂酸 7.38%。

4 讨论

本实验采用超临界 CO_2 萃取大麦虫油脂, 在萃

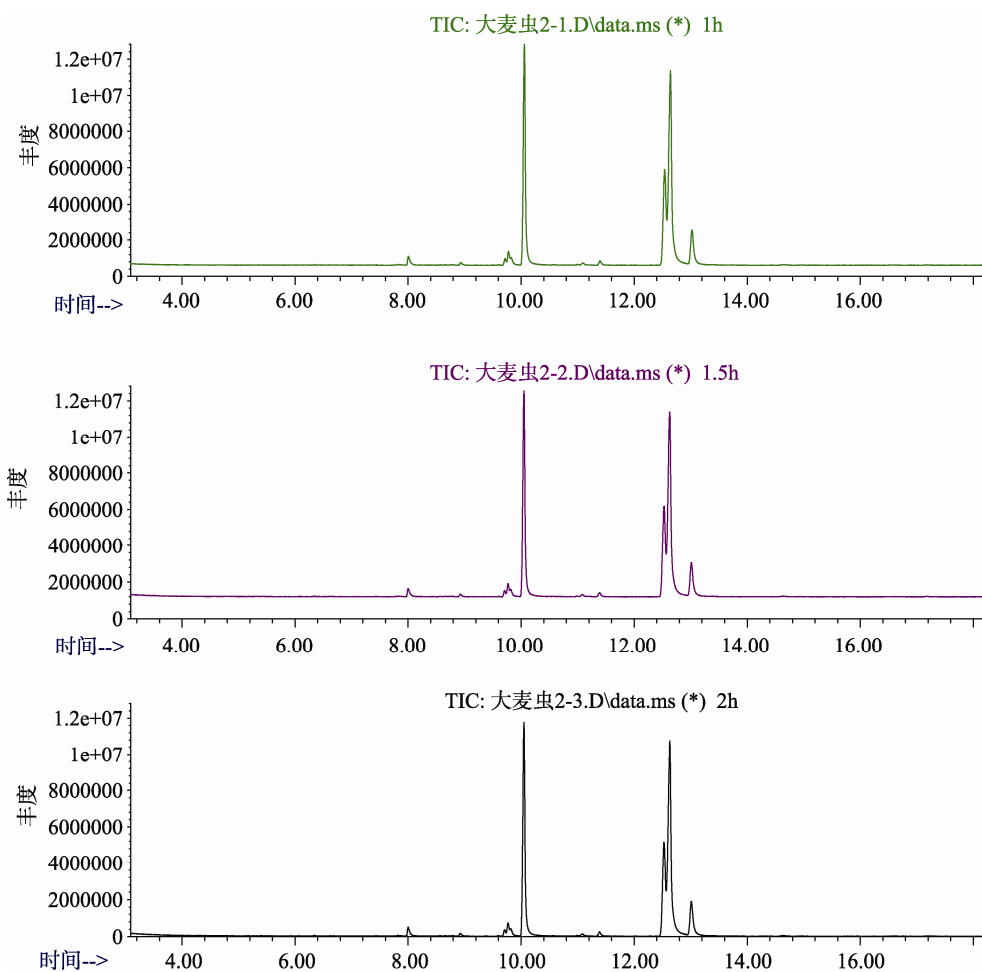






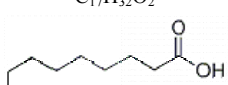

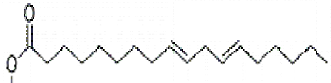

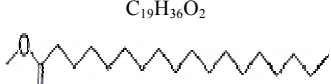


图 3 大麦虫油不同萃取时间的 GCMS 图谱

Fig. 3 GC-MS Chromatogram of superworm oil with different extraction time

表3 大麦虫油脂脂肪酸组成
Table 3 Superworm fatty acid composition

序号	化合物中英文名称	分子式及结构式	相对分子量	相对含量(%)	匹配度
1	methyl tetradecanoate 甲基十四烷酸盐	 C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	1.41	98
2	tetradecanoic acid, 12-methyl-, methyl ester 12-甲基豆蔻酸甲酯	 C ₁₆ H ₃₂ O ₂	270	0.50	92
3	pentadecanoic acid, methyl ester 十五烷酸甲酯	 C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.39	98
4	hexadecanoic acid, methyl ester 棕榈酸甲酯	 C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	29.27	92
5	9,12-hexadecadienoic acid, methyl ester 十六碳-9,12-二烯酸甲酯	 C ₁₆ H ₃₀ O ₂	266	0.69	99
6	9-hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- 十六碳-9-烯酸甲酯	 C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	2.82	99
7	hexadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester 14-甲基棕榈酸甲酯	 C ₁₇ H ₃₄ O ₂	284	0.11	96
8	heptadecanoic acid, methyl ester 十七烷酸甲酯	 C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.73	99
9	9,12-octadecadienoic acid, methyl ester 十八碳-9,12-二烯酸甲酯(亚油酸甲酯)	 C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	16.12	99
10	9-octadecenoic acid (Z)-, methyl ester 油酸甲酯	 C ₁₉ H ₃₆ O ₂	297	40.26	99
11	octadecanoic acid, methyl ester 十八酸甲酯(硬脂酸甲酯)	 C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	7.38	98

取压力 20 MPa、萃取温度 55 °C、萃取时间 2.0 h 条件下萃取率最高, 达 56.52%, 比用索氏提取法萃取率 48.99% 要高 15.37%^[6]。但考虑在生产上较低的压

力有利于设备使用安全与维护, 以及较短的时间有利于提高设备的使用效率, 增加萃取压力、萃取时间的成本与原料的成本的平衡, 萃取后副产物的综合

利用等因素, 萃取率并非判断最佳工艺的唯一参数。经综合考虑, 本实验最佳工艺选取 $A_2B_1C_2$, 即萃取压力 15 MPa、萃取温度 55 °C、萃取时间 1.5 h, 在此条件下, 萃取率为 $52.00\% \pm 1.07\%$ 。用此法萃取的大麦虫油脂为深黄色, 澄清半透明, 无杂质, 具有特殊气味, 说明超临界 CO_2 大麦虫油脂的方法高效而且优质。

本实验检测出大麦虫油脂中主要脂肪酸包括油酸(40.26%)、棕榈酸(29.27%)、亚油酸(16.12%)、硬脂酸(7.38%), 与冯金华等^[6]报道的结果基本一致, 考虑到谱库检索存在一定的偏差, 本实验参考相关的文献及与谱库的匹配率, 最终选取匹配率均在 92% 以上的 11 种成分。实验结果可见, 大麦虫不饱和脂肪酸和必需脂肪酸的含量都较高, 具有很高的营养价值。我国每年约产生食用菌菌糠 3 千多万吨, 这些菌糠大多未能高效利用, 而菌糠可用于饲养大麦虫, 本文提供了一种从来自生物转化废弃物的大麦虫中获取食用和饲料用油资源的方法, 具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 陈智毅, 叶柱良. 大麦虫养殖效益分析[J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 01: 78–80, 105.
Chen ZY, Ye ZL. Benefit analysis of breeding of *Zophobas morio* [J]. Anim Husb Feed Sci, 2013, 01: 78–80, 105.
- [2] Finke MD. Gut loading to enhance the nutrient content of insects as food for reptiles: A mathematical approach [J]. Zoo Bio, 2003, 22(2): 147–162.
- [3] Finke MD. Complete nutrient composition of commercially raised vertebrates used as food for insectivores [J]. Zoo Bio, 2002, 21(3): 269–285.
- [4] 苗少娟, 张雅林. 大麦虫 *Zophobas morio* 对塑料的取食和降解作用研究[J]. 环境昆虫学报, 2010, 04: 435–444.
Miao SJ, Zhang YL. Feeding and degradation effect on the plastic of *Zophobas morio* [J]. J Environ Entomol, 2010, 04: 435–444.
- [5] 陈智毅, 叶运寿, 叶柱良, 等. 一种金针菇菌糠饲料及其生产方法和应用[P]. 广东: CN103053858A, 2013-04-24.
Chen ZY, Ye YS, Ye ZL, et al. A kind of the production method and its application of waste after *flammulina velutipes* cultivation as feed [P]. Guangdong: CN103053858A, 2013-04-24.
- [6] 冯金华, 邢荣娥. 大麦虫幼虫脂肪油中的脂肪酸组成分析[J]. 中国食物与营养, 2010, 09: 17–19.
Feng JH, Xing RE. Study on the fatty acid compositions of superworm (*Zophobas morio* L.) larva oil [J]. Food Nutr China, 2010, 09: 17–19.
- [7] 陈雯婷, 刘海利, 姚励功, 等. 大麦虫不同虫态甲醇粗提物化学成分的分析 and 比较[J]. 昆虫学报, 2012, 55(3): 357–360.
Chen WT, Liu HL, Yao LG, et al. Assay and comparison of chemical constituents of crude methanol extracts from different developmental stages of darkling beetle *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. Acta Entomol Sin, 2012, 55(3): 357–360.
- [8] 万红焱, 顾丽莉, 刘文婷, 等. 超临界流体萃取技术的发展现状[J]. 化工科技, 2013, 06: 56–59.
Wan HY, Gu LL, Liu WT, et al. Development present situation of supercritical fluid extraction technology [J]. Chem Sci Technol, 2013, 06: 56–59.
- [9] 王晶晶, 孙海娟, 冯叙桥. 超临界流体萃取技术在农产品加工业中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 02: 560–566.
Wang JJ, Sun HJ, Feng XQ. Application progress of the use of supercritical fluid extraction technology in agricultural produces [J]. J Food Saf Qual, 2014, 02: 560–566.
- [10] 孙亚伟. 夹带剂在超临界 CO_2 萃取中药有效成分中的应用[J]. 药学研究, 2014, 01: 39–41.
Sun YW. Application of entrainer in the supercritical CO_2 extraction on effective components of traditional Chinese medicine [J]. J Pharm Res, 2014, 01: 39–41.
- [11] 苗榕宸. 油脂加工技术研究进展[J]. 食品工程, 2014, 01: 1–3, 9.
Miao RC. Research progress in edible oil processing technology [J]. Food Eng, 2014, 01: 1–3, 9.
- [12] 陈必春, 毛多斌, 郭鹏, 等. 超临界萃取技术在食品工业中的应用[J]. 食品工程, 2008, 6(2): 6–7.
Chen BC, Mao DB, Guo P, et al. Supercritical extraction technology in food industry [J]. Food Eng, 2008, 6(2): 6–7.
- [13] 高保栓, 王宁, 黄丽华, 等. 正交实验优选丁香挥发油提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2004, 11: 734–735.
Gao BS, Wang N, Huang LH, et al. Optimization of extracting technology for volatile oil from *floscaryophylli* by orthogonal test [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2004, 15(11): 734.
- [14] 张春华, 严云良. 医药数理统计[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
Zhang CH, Yan YL. Medical statistics [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [15] 陈智毅, 刘学铭, 吴娱明, 等. GC-MS 法分析蚕蛾油与蚕蛹油的脂肪酸组成[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 182–184.
Chen ZY, Liu XM, Wu YM, et al. GC-MS analysis of fatty acid composition of silkworm male moths and pupa [J]. Food Sci, 2010, 31(12): 182–184.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



陈智毅, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为农产品加工。
E-mail: fezychen@scut.edu.cn