

说明书

一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法

5 技术领域

本发明属于植物素萃取技术领域，具体地说，涉及一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法。

背景技术

10 微藻是一类在陆地、海洋分布广泛、光合利用度高的植物，种类繁多，地球上大约存在 3 万多种不同门类的微藻。微藻资源丰富，有的可以异养，大部分则进行光合自养，可进行大规模培养。

微藻这种单细胞生物具有非凡的光合能力，将太阳能转化为化学能在体内以油脂的形式储存，和普通的植物油相比，含有更多的不饱和脂肪酸，是制备 DHA、EPA 等功能性油脂的理想原料，也可作为生物柴油的原料。微藻生长周期短、繁殖能力快、自身合成油脂能力强，微藻油的年产量可达 49.4-197.7m/hm。不仅如此，光合自养过程可以有效固定温室气体 CO₂，不占用耕地，具有显著的环境效益，受到业内界人士的关注。

20 干燥后的微藻类似普通的油料作物，但是也有它的特殊性，微藻的厚壁孢子具有坚韧的细胞壁，阻碍细胞内生物质的提取，故在提取微藻总脂之前，需对微藻细胞进行破壁处理。虽然普通植物油的提取方法也适用于微藻总脂的提取，但是由于微藻的特殊性决定了简单的植物油提取工艺达不到理想的效果，需要根据物料特性重新调整工艺路线，选择
25 不同的溶剂和工艺参数，确定适合微藻总脂提取的技术。

发明内容

有鉴于此，本发明针对缺少工业化微藻总脂提取方法的问题，提供了一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，该方法采用混合溶剂多次逆流萃取工

艺、真空多效蒸发、醇液精馏、物料真空干燥，提高了微藻总脂的提取率、保持微藻总脂的营养成分、减少微藻蛋白的变性，具有广泛的推广价值。

为了解决上述技术问题，本发明公开了一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，包括以下步骤：

5 步骤 1、将微藻颗粒和混合溶剂送入浸出器中进行逆流萃取，得到混合溶液和含溶微藻颗粒；

10 步骤 2、对混合溶液进行过滤，然后在混合溶液中加入水，进行沉淀分离，温度不超过混合溶液的温度，待混合溶液分层后，将上层非极性相分到混合油罐中；将下层醇相混合液分到醇混合液罐中，两个罐中的物料单独处理；

步骤 3、将混合油罐中的混合油进行真空多效蒸发，制备得到微藻总脂，蒸发出的溶剂经过冷凝器冷凝回收后循环使用；

步骤 4、醇相混合液泵入到精馏系统进行处理；精馏出的溶剂进行冷凝回收，废液进行排放；

15 步骤 5、将步骤 1 制备得到的含溶微藻颗粒在真空干燥器中进行脱溶，制备得到微藻蛋白粕；真空干燥器的溶剂蒸汽体先经过一效蒸发器换热再通过冷凝器冷却后循环使用。

20 可选地，所述步骤 1 中的微藻颗粒的水分小于 8%，温度小于 60℃，微藻颗粒和混合溶剂的料液比（g/ml）为 1:1~1:150；混合溶剂为体积比为 15:1-2: 1 的正己烷和乙醇。

可选地，所述步骤 1 中的逆流萃取温度 20℃~80℃，逆流萃取 1~5 次，时间 2~6h。

可选地，所述步骤 2 中的水占混合溶液体积总量的 3%-8%，水的温度不超过混合溶液的温度，沉淀分离时间在 40 分钟以上。

25 可选地，所述步骤 3 中的真空多效蒸发的一效进油温度 60℃，出油温度 65℃-70℃，热源采用真空干燥器的二次蒸汽，溶剂蒸汽温度 75℃-80℃；二效进油温度 65℃-70℃，出油温度 105℃-110℃，溶剂蒸汽温度 110℃-115℃，热源采用蒸汽，一、二效真空度-0.03--0.08 MPa，三效出油 100℃

-105℃，真空度-0.05--0.1MPa，毛油挥发物小于 0.01%。

可选地，所述步骤 4 中的精馏塔顶温度 65-75℃，精馏温度 75-100℃，，精馏时间为 20~60min，溶剂纯度大于 95%。

可选地，所述步骤 5 中的真空干燥温度 80-90℃，真空干燥时间
5 35-45min，真空干燥的真空度-50kpa~-150kpa。

与现有技术相比，本发明可以获得包括以下技术效果：

1) 本发明采用混合溶剂逆流萃取，提高了油脂的提取率，可以达到 37%~48%，效率高。

2) 本发明采用真空多效蒸发工艺，在高真空下，氧气含量极低，油脂
10 氧化机会很小，充分保住了油脂中的营养成分，真空条件下，溶剂的沸点降低，可以利用物料烘干的二次蒸汽，节省能源，整个系统在真空下进行，密封性好，溶剂的消耗降低，生产成本降低。

3) 本发明采用混合液间歇精馏工艺，成品纯度高、废液溶剂残留低、效果更好，精馏纯度可达到 80%~99.8%。

15 4) 本发明采用真空干燥工艺脱除含溶微藻颗粒中溶剂，加热温度低，减少了微藻蛋白的变性，有利于蛋白的利用，脱溶效果好。

当然，实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有技术效果。

20 附图说明

此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本发明的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 是本发明微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法的工艺流程图。

25

具体实施方式

以下将配合实施例来详细说明本发明的实施方式，藉此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题并达成技术功效的实现过程能充分理解并据以实施。

本发明公开了一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，如图 1 所示，包括以下步骤：

步骤 1、通过喂料器将微藻颗粒输送到浸出器中，微藻颗粒的水分小于 8%，温度小于 60℃，同时加入混合溶剂，其中，混合溶剂为体积比为 15:

5 1-2: 1 的乙醇和正己烷，按照料液比 (g/ml) 为 1:1~1:150；萃取温度 20℃~80℃，逆流萃取 1~5 次，时间 2~6h，得到混合溶液和含溶微藻颗粒；

其中，采用乙醇和正己烷组成的混合溶剂，提高了油脂的提取率，与现并且控制了萃取时间，微藻油中 DHA 和不饱和酸高，萃取时间久油脂容易氧化；而现有的酶法提取，效果不稳定，和酶制剂的稳定性有很大关系，而且成本高。

步骤 2、对混合溶液进行过滤，混合溶液进入沉淀罐进行沉淀分离，在混合溶液中加入水，水占混合溶液的体积含量的 3%-8%，水的温度不超过混合溶液的温度，沉淀 40 分钟以上，待混合溶液分层后，将上层非极性相分到混合油罐中；将下层醇相分到醇混合液罐中，两个罐中的物料单独处理；

15 步骤 3、将混合油罐中的混合油进行真空多效蒸发，一效进油 60℃，出油温度 65℃-70℃，热源采用真空干燥器的二次蒸汽，溶剂蒸汽温度 75℃-80℃；二效进油温度 65℃-70℃，出油温度 105℃-110℃，溶剂蒸汽温度 110℃-115℃，热源采用蒸汽，一、二效真空度-0.03--0.08 MPa，三效出油 100℃-105℃，真空度-0.05--0.1MPa，毛油挥发物小于 0.01%，制备得到微藻总脂。

20 其中，蒸发出的溶剂经过冷凝器冷凝回收后循环使用，这样充分利用二次蒸汽，在真空条件下浓缩，既节省了能源又保证了油脂的品质，确保油脂中的营养物质。这样使得溶剂残留降低，其中，乙醇的溶剂残留量为 5~170ppm，正己烷的溶剂残留量为 2~150ppm。

步骤 4、醇相混合液泵入到精馏系统进行处理，精馏塔顶温度 65-75℃，25 精馏温度 75-100℃，精馏时间为 20~60min；精馏出的溶剂进行冷凝回收，

废液进行排放。

其中，采用上述的工艺能够提高精馏的纯度，使精馏纯度高达80~99.8%。

步骤5、将步骤1制备得到的含溶微藻颗粒在真空干燥器中进行脱溶，
5 烘干温度80-90℃，烘干时间35-45分钟，真空度-50kpa~-150kpa；真空干燥器的溶剂蒸汽体先经过一效蒸发器换热再通过冷凝器冷却后循环使用；脱溶后的微藻蛋白粕入库。

其中，采用真空干燥得到的微藻蛋白粕，蛋白含量高，并能够减少微藻蛋白粕的变性，提高氮溶解指数。

10 实施例1

一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，包括以下步骤：

步骤1、通过喂料器将小球藻颗粒输送到浸出器中，微藻颗粒的水分小于8%，温度小于60℃，同时加入混合溶剂，其中，混合溶剂为体积比为6:1的乙醇和正己烷，按照料液比（g/ml）为1:12；萃取温度超过55℃，逆流
15 萃取三次，时间4小时，得到混合溶液和含溶微藻颗粒；

步骤2、对混合溶液进行过滤，混合溶液进入沉淀罐进行沉淀分离，在混合溶液中加入5%的水，水的温度不超过混合溶液的温度，沉淀40分钟以上，待混合溶液分层后，将上层非极性相分到混合油罐中；将下层醇相分到醇混合液罐中，两个罐中的物料单独处理；

20 步骤3、将混合油罐中的混合油进行真空多效蒸发，一效进油60℃，出油温度68℃，热源采用真空干燥器的二次蒸汽，溶剂蒸汽温度78℃；二效进油温度68℃，出油温度108℃，溶剂蒸汽温度112℃，热源采用蒸汽，一、二效真空度-0.05 MPa，三效出油102℃，真空度-0.08MPa，毛油挥发物小于0.01%，制备得到微藻总脂；蒸发出的溶剂经过冷凝器冷凝回收后循环使用，
25 这样充分利用二次蒸汽，在真空条件下浓缩，既节省了能源又保证了油脂的

品质，确保油脂中的营养物质。

步骤 4、醇相混合液泵入到精馏系统进行处理，精馏塔顶温度 70℃，精馏温度 80℃，精馏时间：45min，溶剂纯度大于 95%；精馏出的溶剂进行冷凝回收，废液进行排放。

- 5 步骤 5、将步骤 1 制备得到的含溶微藻颗粒在真空干燥器中进行脱溶，烘干温度 80℃，烘干时间 50 分钟，真空度-0.055Mpa；真空干燥器的溶剂蒸汽体先经过一效蒸发器换热再通过冷凝器冷却后循环使用；脱溶后的微藻蛋白粕入库。

实施例 2

- 10 一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，包括以下步骤：

步骤 1、通过喂料器将小球藻颗粒输送到浸出器中，微藻颗粒的水分小于 8%，温度小于 60℃，同时加入混合溶剂，其中，混合溶剂为体积比为 15:1 的乙醇和正己烷，按照料液比（g/ml）为 1:150；萃取温度 20℃，逆流萃取 5 次，时间 2h，得到混合溶液和含溶微藻颗粒；

- 15 步骤 2、对混合溶液进行过滤，混合溶液进入沉淀罐进行沉淀分离，在混合溶液中加入水，水占混合溶液的体积分量的 8%，水的温度不超过混合溶液的温度，沉淀 40 分钟以上，待混合溶液分层后，将上层非极性相分到混合油罐中；将下层醇相分到醇混合液罐中，两个罐中的物料单独处理；

- 20 步骤 3、将混合油罐中的混合油进行真空多效蒸发，一效进油 60℃，出油温度 65℃，热源采用真空干燥器的二次蒸汽，溶剂蒸汽温度 80℃；二效进油温度 65℃，出油温度 110℃，溶剂蒸汽温度 110℃，热源采用蒸汽，一、二效真空度-0.08 MPa，三效出油 100℃，真空度-0.1MPa，毛油挥发物小于 0.01%，制备得到微藻总脂；蒸发出的溶剂经过冷凝器冷凝回收后循环使用，这样充分利用二次蒸汽，在真空条件下浓缩，既节省了能源又保证了油脂的
- 25 品质，确保油脂中的营养物质。

步骤 4、醇相混合液泵入到精馏系统进行处理，精馏塔顶温度 65℃，精馏温度 100℃，精馏时间为 20min，溶剂纯度大于 95%；精馏出的溶剂进行冷凝回收，废液进行排放。

- 步骤 5、将步骤 1 制备得到的含溶微藻颗粒在真空干燥器中进行脱溶，
5 烘干温度 80℃，烘干时间 45 分钟，真空度-0.05Mpa；真空干燥器的溶剂蒸汽体先经过一效蒸发器换热再通过冷凝器冷却后循环使用；脱溶后的微藻蛋白粕入库。

实施例 3

一种微藻总脂和微藻蛋白粕的提取方法，包括以下步骤：

- 10 步骤 1、通过喂料器将小球藻颗粒输送到浸出器中，微藻颗粒的水分小于 8%，温度小于 60℃，同时加入混合溶剂，其中，混合溶剂为体积比为 2:1 的乙醇和正己烷，按照料液比（g/ml）为 1:1；萃取温度 80℃，逆流萃取 1 次，时间 6h，得到混合溶液和含溶微藻颗粒；

- 15 步骤 2、对混合溶液进行过滤，混合溶液进入沉淀罐进行沉淀分离，在混合溶液中加入水，水占混合溶液的体积分量的 3%，水的温度不超过混合溶液的温度，沉淀 40 分钟以上，待混合溶液分层后，将上层非极性相分到混合油罐中；将下层醇相分到醇混合液罐中，两个罐中的物料单独处理；

- 20 步骤 3、将混合油罐中的混合油进行真空多效蒸发，一效进油 60℃，出油温度 70℃，热源采用真空干燥器的二次蒸汽，溶剂蒸汽温度 75℃；二效进油温度 70℃，出油温度 105℃，溶剂蒸汽温度 115℃，热源采用蒸汽，一、二效真空度-0.03 MPa，三效出油 105℃，真空度-0.05MPa，毛油挥发物小于 0.01%，制备得到微藻总脂；蒸发出的溶剂经过冷凝器冷凝回收后循环使用，这样充分利用二次蒸汽，在真空条件下浓缩，既节省了能源又保证了油脂的品质，确保油脂中的营养物质。

- 25 步骤 4、醇相混合液泵入到精馏系统进行处理，精馏塔顶温度 65-75℃，

精馏温度 75℃，精馏时间为 60min，溶剂纯度大于 95%；精馏出的溶剂进行冷凝回收，废液进行排放。

步骤 5、将步骤 1 制备得到的含溶微藻颗粒在真空干燥器中进行脱溶，烘干温度 90℃，烘干时间 35 分钟，真空度-0.15Mpa；真空干燥器的溶剂蒸汽体先经过一效蒸发器换热再通过冷凝器冷却后循环使用；脱溶后的微藻蛋白粕入库。

对比例 1

采用文献（刘圣臣，邹宁，孙杰等. 小球藻中海藻油的提取工艺研究[J]. 食品科学，2009，30 （08），120-123）中的海藻油的提取方法。

10 对比例 2

采用硫酸铵盐析法提取微藻蛋白粕，将藻粉过 100 目筛，称取 5.0g 藻粉，按照料液比 1: 10 加入 PH=5.1 的磷酸盐缓冲液浸提 30min，过滤后，以 4000r/min 离心 15min，取上清液并加入硫酸铵粉末至饱和度为 62%，放置过夜，以 4000r/min 离心 30min，取下层固体，即为得微藻蛋白粕总氮含量是 42%，氮溶解指数是 51%。

实施例 1-3 以及对比例 1-2 的实验结果见表 1。

表 1 实施例 1-3 以及对比例 1-2 的实验结果

组别	油脂提取率（%）	精馏纯度（%）	总氮含量（%）	氮溶解指数（%）
实施例 1	48%	99.8%	50%	70%
实施例 2	44%	96.5%	48%	69.6%
实施例 3	37%	80%	43%	67%
对比例 1	24.28%	-	-	-
对比例 2	-	-	42.0%	51%

其中，油脂的提取率（即出油率）参照文献（刘圣臣，邹宁，孙杰等. 小

球藻中海藻油的提取工艺研究[J].食品科学, 2009, 30 (08), 120-123) 中的海藻油。

$$X = ((V1 - V2) * N * 0.014) / (m * (10 / 100)) * F * 100\%$$

X: 样品中蛋白质的百分含量, g;

5 V1: 样品消耗硫酸或盐酸标准液的体积, ml;

V2: 试剂空白消耗硫酸或盐酸标准溶液的体积, ml;

N: 硫酸或盐酸标准溶液的当量浓度;

0.014: 1N 硫酸或盐酸标准溶液 1ml 相当于氮克数;

m: 样品的质量 (体积), g (ml);

10 F: 氮换算为蛋白质的系数。氮溶解指数为,

$$NSI = N1 / N2 \times 100\%$$

N1—样品水溶性蛋白百分率;

N2—样品粗蛋白百分率。

15 上述说明示出并描述了发明的若干优选实施例, 但如前所述, 应当理解发明并非局限于本文所披露的形式, 不应看作是对其他实施例的排除, 而可用于各种其他组合、修改和环境, 并能够在本文所述发明构想范围内, 通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离发明的精神和范围, 则都应在发明所附权利要求的保护范围内。