

三种浸提方法从普通小球藻中 提取油脂的比较研究

张 梦,程露萍,李昌灵,李宇佶,杨海麟*

(江南大学工业生物技术教育部重点实验室,江苏无锡 214122)

摘要:分别采用直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取三种方法从小球藻(*Chlorella vulgaris* C9-JN2010)藻粉中提取油脂。选择了三种方法各自的最适提取剂,研究了提取时间对提取率的影响以及提取方法对小球藻油脂脂肪酸组成的影响。结果表明,三种方法的提取率最高可分别达到84.06%、89.11%和88.66%,所得油脂在脂肪酸组成上无明显差别。超声波辅助提取法的提取效率最高、具有工业放大的前景。小球藻油中亚麻酸、亚油酸等多不饱和脂肪酸含量较高,可作为功能性油脂进行开发。

关键词:油脂浸提,普通小球藻,提取率,脂肪酸组成

Study on comparison of three different extraction methods to extract oil from *Chlorella vulgaris*

ZHANG Meng, CHENG Lu-ping, LI Chang-ling, LI Yu-ji, YANG Hai-lin*

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Leaching method, Soxhlet method and ultrasonic-assisted method were selected to obtain oil from *Chlorella vulgaris* C9-JN2010. Both the effect of extraction time on extraction ratio and the effect of extraction methods on fatty acids composition were studied after the best solvent of each method were selected. The results showed that the extraction ratio of leaching method, Soxhlet extraction method and ultrasonic-assisted extraction method could come up to 84.06%, 89.11% and 88.66%, respectively. And the lipid obtained by those three methods was not significantly different in fatty acids composition. As the most efficiency method, ultrasonic-assisted method was suitable for industrial amplification. The oil from *Chlorella vulgaris* C9-JN2010 had potential to be functional oil because of the high content of unsaturated fatty acid, such as linolenic acid and linoleic acid.

Key words: oil extraction; *Chlorella vulgaris*; extraction ratio; fatty acids composition

中图分类号: TS225.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)08-0245-05

小球藻是一类具有高光合效率、强环境适应能力的富油微藻^[1-3],与螺旋藻、盐藻、栅藻等微藻一起构成了微藻生物技术,具有非常广阔的发展前景^[4]。以小球藻干粉为原料提取可得到小球藻油,小球藻油中富含不饱和脂肪酸(PUFAs)和多种功能性成分^[5-8]。这些不饱和脂肪酸具有非常独特的生理功效,能提高人体免疫机能的调解能力,防止记忆力的减退,同时还能预防和治疗心血管疾病及癌症。因此,小球藻油是一种营养和保健功能俱佳的油料。在众多的油脂提取方法中,压榨法和水酶法的残油率高^[9],常用于含油率较高的原料(如芝麻、花生)中油脂的提取;超临界流体萃取法对设备要求很高,成本

较大;而浸提法对设备要求低、操作简单、提取率较高,且操作温度低,能有效避免活性成分的损失,是目前常用的小球藻油提取方法。浸提法利用能溶解油脂的有机溶剂,通过渗透、湿润、分子扩散和对流扩散等作用将油脂提取出来。常见的浸提法有直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取。本文比较了这三种方法对小球藻油提取率和脂肪酸组成的影响,旨在为小球藻油的提取及综合利用的相关研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小球藻藻株 *Chlorella vulgaris* C9-JN2010 由本实验室从黄海海域海水中分离并经人工选育获得;正己烷、石油醚、乙醚、氢氧化钾、甲醇等分析纯试剂 国药集团化学试剂有限公司。

FA1004型电子天平 上海市天平仪器有限公司; DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱 上海精密

收稿日期:2012-10-09 * 通讯联系人

作者简介:张梦(1986-),男,硕士研究生,研究方向:发酵工程。

基金项目:“863”项目子课题(2012AA021201);高等学校博士学科点专项科研基金(20100093120002)。

实验设备有限公司;索氏提取装置 北京朋利驰科技有限公司;R-25型旋转蒸发仪器 无锡申科仪器厂;YLD-6000型数显恒温水浴锅 金坛市城东科辉仪器厂;JY88-II型超声破碎仪 上海将来实验设备有限公司;变幅杆末端直径6mm;HITACHI冷冻离心机 日本日立公司;LABCONCO冷冻干燥机 美国LABCONCO公司;QUANTA-200型扫描电镜 荷兰FEI公司;TRACE GC2000-TRACE MS气质联用色谱 美国菲尼根公司。

1.2 实验方法

1.2.1 藻粉的获得 先在250mL锥形瓶用SE培养基进行藻种活化,培养温度控制在26~28℃,通入经0.3μm滤膜过滤的空气,光照/黑暗交替培养(12/12h)。4d后将藻种转接到5L的玻璃瓶中,以BG11为培养基进行扩大培养,培养条件与菌种活化的相同。当培养液在680nm处的吸光值达到1.5时,将藻液离心收集得到藻泥,再将藻泥冷冻干燥即得藻粉。

1.2.2 预处理 称取2g左右小球藻粉于60℃烘箱中干燥至恒重(两次重量差小于0.2mg),记录最终重量。将干燥后的小球藻粉放入研钵中,研磨20min后全部收集备用。

1.2.3 选择提取剂 分别用石油醚1(沸程30~60℃)、石油醚2(沸程60~90℃)、正己烷、乙醚和三氯甲烷这五种有机溶剂来提取小球藻粉中的油脂,以考察各方法在不同溶剂下的提取率。在提取时间为2h的前提下,最高提取率对应的溶剂选做该方法的提取剂。

1.2.4 油脂提取方法

1.2.4.1 直接浸出 在常温下(25℃),将预处理后的小球藻粉置于250mL锥形瓶中,加入100mL提取剂提取,期间适当振荡混匀,提取结束后,加入10%氢氧化钾溶液沉淀小球藻细胞,摇匀静止10min后,收集上层有机相于已干燥恒重的圆底烧瓶中,旋转蒸发除去溶剂,称量。

1.2.4.2 索氏提取 将预处理后的小球藻粉转入滤纸筒,再将滤纸筒放入索氏提取器的抽提筒内,提取瓶内加入100mL提取剂,水浴加热,使提取剂不断回流提取(约6次/h),提取结束后,将提取剂转移至已干燥恒重的圆底烧瓶中,旋转蒸发除去溶剂,称量。

1.2.4.3 超声波辅助提取 在常温下将预处理后的小球藻粉置于250mL锥形瓶中,加入100mL提取剂,然后将超声破碎仪的超声探头插入锥形瓶中辅助提取(探头底部距离锥形瓶底部约1cm,超声功率为250W)。其他步骤同直接浸出法。

1.2.5 脂肪酸甲酯制备 取小球藻油约0.1g于20mL试管中,加入0.5mol/L的NaOH甲醇溶液2mL,60℃水浴中加热至油珠完全溶解,冷却后加入25% BF₃甲醇溶液2mL,60℃水浴酯化20min,冷却后加入2mL正己烷,振摇,加入2mL饱和NaCl溶液振摇,离心取上层有机相于一只干燥试管中并加入少量无水硫酸钠以除去微量的水,供分析使用。

1.2.6 GC-MS分析条件 色谱条件:PEG 20M色谱柱(30m×0.32mm×0.5mm),载气为氮气(3.0mL/min),燃烧气为氢气(47mL/min),助燃气为空气(400mL/min)。

起始柱温120℃,保持3min,以10℃/min升温到190℃,再以2℃/min升温到220℃,保持15min。检测器温度为260℃,汽化室温度为250℃,分流比10:1,进样量0.5μL。

质谱条件:电离方式EI,电子能量70eV,离子源温度200℃,质谱扫描范围50~800a.m.u(质谱质量单位)。

1.2.7 提取率测定

$$\text{提取率}(\%) = \frac{m_0}{m \cdot w_1} \times 100$$

式中, m_0 —提取所得藻油的质量; m —小球藻粉质量; w_1 —小球藻的含油率。

小球藻含油率的测定采用GB/T 5009.6-2003中的酸水解法^[10],测得小球藻含油率为35.2%。

2 结果与讨论

2.1 提取剂的选择

由图1可知,直接浸出法和超声波辅助提取法的最佳提取剂为石油醚2(沸程60~90℃),索氏提取法的最佳提取剂为正己烷。

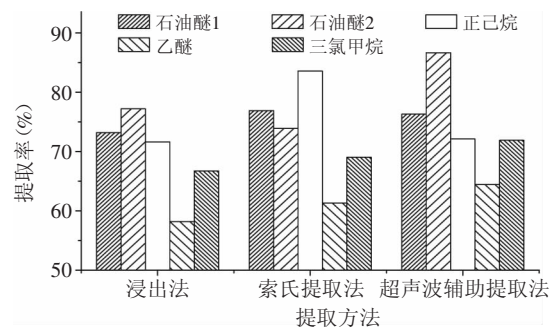


图1 不同提取剂对提取率的影响

Fig.1 Effect of extractant on the extraction ratio

2.2 提取时间对提取率的影响

提取时间是影响提取率的非常重要的因素。提取时间过短则提取不充分,造成原料浪费;提取时间过长则提取效率低,造成时间浪费。因此,选取合理的提取时间,既可以保证提取率又能保证提取效率。

选用最佳提取剂进行提取,3次平行实验取平均值后得到三种浸提方法的提取时间与提取率之间的关系(见图2)。由图2可知,提取20min时,直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取的提取率分别为55.42%、51.52%和68.41%;提取240min时,三者的提取率分别达到了84.06%、89.11%和88.66%。直接浸出的提取率随时间变化较平稳,200min后提取率随时间变化不大。索氏提取的提取率随时间的变化最为明显,特别是40min内,提取率随时间变化非常剧烈,这可能是由于索氏提取时,样品包在滤纸筒中不能进行搅拌,需要反复回流几次后方能被提取剂完全浸透。超声波辅助提取的提取率先随时间快速增长,60min以后变化不大。

若不考虑提取时间,仅从最终的提取效果来看,索氏提取和超声波辅助提取比较接近,分别能提取总油脂的89.11%和88.66%,高于直接浸出法的

84.06%。若考虑提取时间,则超声波辅助提取的提取效率明显要高于其他两种方法。超声波辅助提取的提取率达到80%时只需约50min,比索氏提取快1倍,比直接浸出快3.5倍。超声波辅助提取的最佳提取时间为60min,直接浸出和索氏提取的最佳提取时间都是200min,后两者比前者多2.3倍。

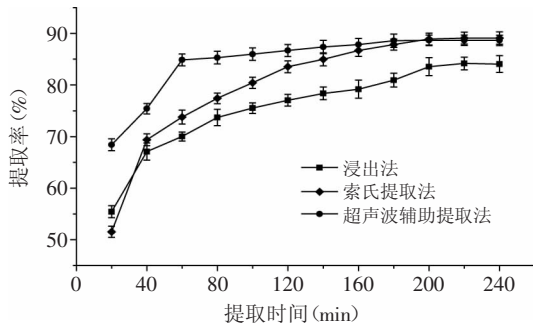


图2 提取时间对提取率的影响

Fig.2 Effect of the extraction time on the extraction ratio

2.3 不同提取工艺提取效果电镜图

提取前物料为干燥的藻粉。在藻泥干燥为藻粉的过程中,藻细胞在表面张力的作用下聚集成球状,干燥结束后就形成了细胞团。如图3所示,细胞团直径5~50μm,大小不一。因此,对于直接浸出和索氏提取来说,要快速而充分地提取藻细胞中的油脂,就需要进行细胞破碎步骤,以分散细胞团中的细胞、破坏细胞壁,使油脂能够快速进入溶剂。对于超声辅助提取法来说,因为超声波的热学机理、空化作用和机械机制能够分散细胞团,加速油脂进入溶剂^[1],所以破壁对提取效率的影响不大。但为了保证结果的准确性,本研究中的三种提取方法所用的小球藻粉都进行了细胞破碎。

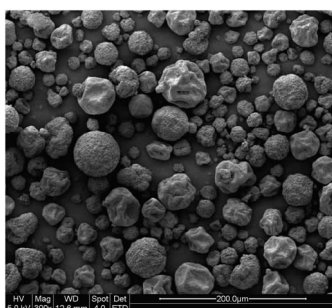


图3 预处理前藻粉的扫描电镜图像(300×)

Fig.3 The graphic of scanning electron microscope obtaining from *Chlorella vulgaris* powder before pretreatment (300×)

由图4(a)可知,破碎后的小球藻粉的细胞团被分散,大部分细胞也破成碎片。将破碎后的藻粉分别用直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取三种浸提方法进行提取,提取后,藻体中的油脂溶解在有机溶剂中,去除掉溶剂后,细胞碎片发生了聚集,形成了小的细胞碎片团。由图4(b、c、d)可知,直接浸出和超声波辅助提取后形成的细胞碎片团比索氏提取后形成的碎片团要大,这可能是由于直接浸出和超声波辅助

提取都加入了氢氧化钾水溶液来沉淀细胞,水的引入使细胞碎片更容易聚集在一起,而索氏提取法一直在有机溶剂中进行,没有水的引入。尽管三种方法得到的藻粕都有不同程度的聚集,但是这种聚集都发生在提取过程之后,对提取率几乎没有影响。

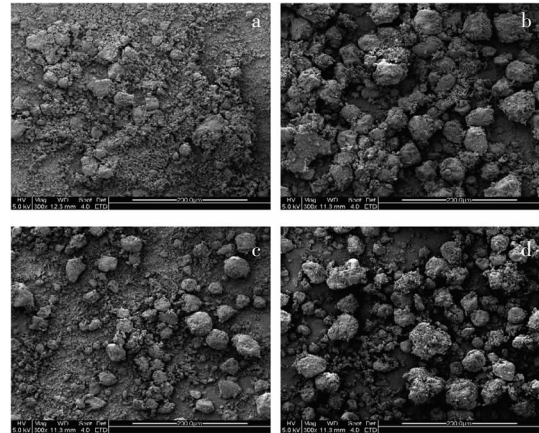


图4 提取前后扫描电镜效果图(300×)

Fig.4 The graphics of scanning electron microscope before and after extraction (300×)

注:a:破碎后的小球藻粉;b:直接浸出法;c:索氏提取法;d:超声波辅助提取法。

2.4 不同提取工艺所得小球藻油组成分析

将三种浸提方法所获得的小球藻油进行GC-MS分析,得到总离子流图(见图5),用归一化法计算各组分的相对百分含量。经数据库检索并与标准谱图对照,分析确认了其中12种组份。3次平行实验取平均值后的结果列于表1。

表1 不同浸提方法所得小球藻油的脂肪酸的组成

Table 1 Fatty acid composition of the *Chlorella vulgaris* oil from different extraction methods

脂肪酸种类	占总脂肪酸的比例(%)		
	浸出法	索氏提取法	超声波辅助提取法
C12:0	0.67±0.03 ^b	0.52±0.02 ^a	0.49±0.03 ^a
C14:0	0.74±0.04 ^a	0.69±0.03 ^a	0.71±0.03 ^a
C15:0	0.56±0.02 ^a	0.51±0.04 ^a	0.54±0.04 ^a
C16:0	13.72±0.29 ^a	14.71±0.17 ^a	14.27±0.043 ^a
C17:0	1.25±0.33 ^a	1.22±0.025 ^a	1.33±0.22 ^a
C18:0	4.65±0.05 ^a	4.53±0.05 ^a	4.69±0.03 ^a
C16:1	7.56±0.13 ^a	7.60±0.21 ^a	8.02±0.18 ^b
C18:1	6.77±0.09 ^b	6.11±0.13 ^a	6.75±0.21 ^b
C16:2	9.64±0.18 ^a	9.74±0.13 ^a	9.44±0.24 ^a
C18:2	20.61±0.33 ^a	20.35±0.47 ^a	21.07±0.42 ^a
C16:3	10.98±0.31 ^a	11.23±0.29 ^a	10.79±0.14 ^a
C18:3	22.85±0.35 ^a	22.79±0.42 ^a	21.89±0.33 ^a

注:a、b表示统计学上的显著性差异。

由图5和表1可知,直接浸出、索氏提取、超声波辅助提取所提取的小球藻油的主要脂肪酸都是亚麻酸(C18:3)、亚油酸(C18:2)、棕榈酸(C16:0),这三种

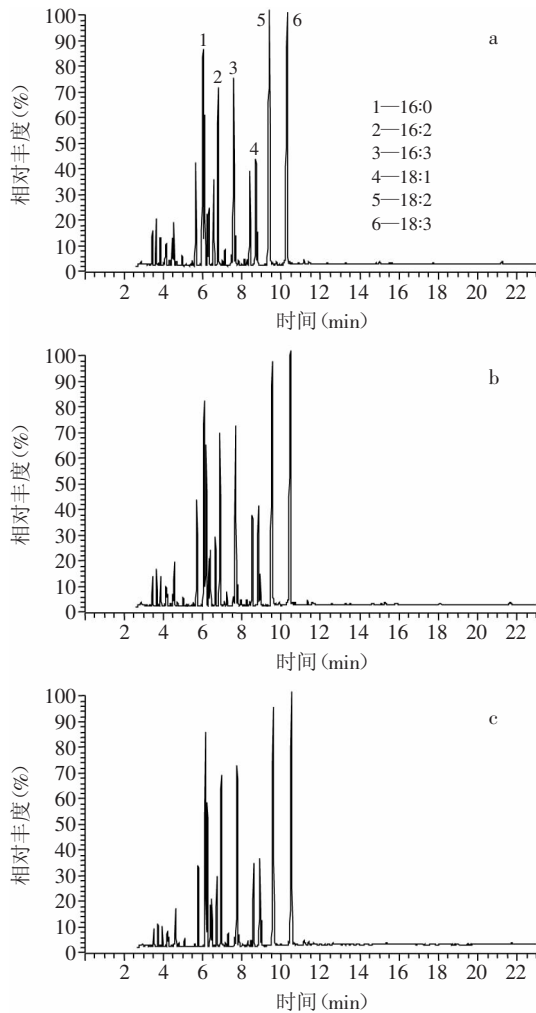


图5 小球藻油总离子流图

Fig.5 Total ion current charts of *Chlorella vulgaris* oil

注:a:浸出法;b:索氏提取法;c:超声辅助提取法。

脂肪酸总量占总脂肪酸的一半以上。直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取所得小球藻油的饱和脂肪酸含量分别为:21.60%、22.17%、22.03%,不饱和脂肪酸含量分别为:79.40%、77.83%、77.97%。可见,不同方法所得的小球藻油在脂肪酸组成上没有明显的差别。

以*Chlorella vulgaris* C9-JN2010藻粉为原料浸提所得的小球藻油(取三种方法所得结果的平均值)和其他常见植物油的脂肪酸组成比例见表2。由表2可

表2 小球藻油与其他常见食用油脂脂肪酸组成比例

Table 2 Fatty acids composition proportion of the *Chlorella vulgaris* oil and other common edible oils

种类	含量(%)			比例 m(S):m(M):m(P)
	饱和脂肪酸(S)	单不饱和脂肪酸(M)	多不饱和脂肪酸(P)	
小球藻油*	21.93	14.27	63.79	1:0.65:2.91
大豆油	20.20	43.50	36.30	1:2.16:1.80
菜籽油	15.90	24.00	59.10	1:1.51:3.72
棉籽油	24.30	27.00	44.60	1:1.11:1.84
花生油	18.50	40.86	38.30	1:2.21:2.07
玉米油	14.50	27.70	57.00	1:1.91:3.93

注:*指三种浸提方法所得结果的平均值,其他数据均来源于文献[12]。

知,小球藻油的不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸含量的78.06%,其中单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸分别占总脂肪酸的14.27%和63.79%。

联合国粮农组织和世界卫生组织推荐的膳食总脂肪供能为30%,其中饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸供能分别为10%,即三者比例为1:1:1。中国营养学会的《中国居民膳食营养素参考摄入量DRIs》推荐值也与此相同。由表2可见,以*Chlorella vulgaris* C9-JN2010藻粉为原料浸提所得的小球藻油的饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸比例为1:0.65:2.91,多不饱和脂肪酸比例明显高于前两者。因此,小球藻油可考虑作为补充多不饱和脂肪酸的营养功能油脂进行开发利用。

3 结论

3.1 直接浸出、索氏提取和超声波辅助提取的最佳提取剂分别为石油醚2(沸程60~90℃)、正己烷、石油醚2(沸程60~90℃);最佳提取时间分别为200、200、60min;提取率可分别达到84.06%、89.11%、88.66%。三种方法所得的小球藻油在脂肪酸组成上相差不大,但各方法的提取效率相差明显。超声波辅助提取法是三种方法中提取效率最高的方法,综合考察提取率和提取效率,该方法最具有工业应用前景。

3.2 以*Chlorella vulgaris* C9-JN2010藻粉为原料浸提获得的小球藻油不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸的78.06%,其中多不饱和脂肪酸占总脂肪酸的63.79%,亚麻酸和亚油酸含量较高,可以作为营养功能油脂进行开发。

参考文献

- [1] Ryckebosch E, Muylaert K, Foubert I. Optimization of an analytical procedure for extraction of lipids from microalgae[J]. J Am Oil Chem Soc, 2012, 89: 189-198.
- [2] Li Q, Du W, Liu D. Perspectives of microbial oils for biodiesel production[J]. Appl Microbiol Biot, 2008, 80: 749-756.
- [3] Liu Z, Wang G, Zhou B. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*[J]. Bioresource Technol, 2008, 99: 4717-4722.
- [4] 陈颖,李文彬,孙勇如. 小球藻生物技术研究应用现状及展望[J]. 生物工程进展, 1998, 18(6): 12-16.
- [5] Ötleş S, Pire R. Fatty acid composition of *Chlorella* and

(下转第252页)

物加工过程中感官质量的改变将对食品的总体品质特性产生影响^[24]。通过表2可以看出,在相同加热功率条件下,除490W加热40s外,随着微波加热时间的延长,牛肉串多汁性、嫩度和滋味呈下降趋势。多汁性的最大值出现在700W 40s处。嫩度的最大值出现在350W加热30s和40s处。滋味的最大值出现在350W加热40s和490W加热60s。色泽的数值变化呈现波动性,这可能与a*值的变化相关。色泽的最大值出现在700W加热60s。在120s处350W与490W的总体可接受性有显著差异($p < 0.05$)。总体可接受性的最大值出现在490W 40s和350W 120s。除120s外,在相同微波加热时间下的不同微波加热功率的总体可接受性差异不显著($p > 0.05$)。

3 结论

本实验选用牛肉串作为载体,研究了不同微波加热时间和功率对预油炸牛肉串食用品质的变化情况。结果表明,在最优微波处理条件下(700W加热40s、490W加热40s和490W加热60s)肉串的出品率较高,剪切力适中,色泽更优、油炸滋味浓郁,总体可接受性增强。对于其他风味肉制品的研究与开发,会有越来越多的肉制品加入到微波方便食品中。随着生产技术的改进、品种的增加、质量的提高,未来微波方便食品的市场将会不断扩大。

参考文献

- [1] 武晗,刘怀伟. 中国传统肉制品发展新思路[J]. 肉类研究, 2007(1):25-27.
- [2] 盛国华. 国内外微波食品概况及发展趋势[J]. 冷饮与速冻食品工业, 1999(1):40-43.
- [3] 高福成,陈卫. 微波食品[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1999:5.
- [4] Caponio F, Pasqualone A, Gomes T. Changes in the fatty acid composition of vegetable oils in model doughs submitted to conventional or microwave heating[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2003, 38(4):481-486.
- [5] Cossignani L, Simonetti M, Neri A, et al. Changes in olive oil composition due to microwave heating[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1998, 75(8):931-937.
- [6] Albi T, Lanzón A, Guinda A, et al. Microwave and conventional heating effects on thermoxidative degradation of edible fats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(10):3795-3798.
- [7] Decareau R V. Microwave foods new product development

- [M]. Trumbull: Food and Nutrition Press, 1992:165-187.
- [8] 陈卫,范大明,赵建新,等. 冷冻及微波复热条件对预油炸面施食品脆性的影响[J]. 食品工业科技, 2008(9):94-97.
- [9] 王丽云,范大明,庞珂,等. 颗粒状态对米饭微波复热过程温度分布的影响[J]. 食品工业科技, 2012(21):53-56, 61.
- [10] 陈军,潘治利,艾志录. 微波复热对馒头品质的影响[J]. 农产品加工·学刊, 2011(9):54-57.
- [11] 郭辽朴,李红军,杜杰,等. 微波杀菌技术在肉制品中的应用[J]. 肉类研究, 2008(5):76-79.
- [12] 孙卫青,李平,马佩珍. 微波杀菌延长羊肉火腿货架期的研究[J]. 肉类研究, 2006(11):22-25.
- [13] 芮汉明,蒋宇飞. 微波处理对白切鸡肌肉质构的影响[J]. 食品工业科技, 2008(3):138-140.
- [14] 徐恩峰,孔保华. 微波食品的研究与开发[J]. 肉类工业, 2003(5):25-29.
- [15] 张金铎,孔保华. 可微波鸡米花预混粉层配料的研究[J]. 食品工业科技, 2011(10):302-304, 307.
- [16] Liu S X, Xia X F, Kong B H, et al. Influence of pre-fried time and temperature on the quality of microwave beef kebabs[J]. Advanced Materials Research, 2012, 554-556:1081-1085.
- [17] Pedro C M, Vanessa K R, Paola A G. Kinetics of crust color changes during deep-fat frying of impregnated french fries[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 54(3):249-255.
- [18] Sheard P R, Tali A. Injection of salt, tripolyphosphate and bicarbonate marinade solutions to improve the yield and tenderness of cooked pork loin[J]. Meat Science, 2004, 68(2):305-311.
- [19] Harry T L. Chapter 4—olfactory psychophysics, in tasting and smelling[M]. San Diego: Academic Press, 1997:125-174.
- [20] Bergara-Almeida S, Aparecida M, da Silva A P. Hedonic scale with reference: performance in obtaining predictive models[J]. Food Quality and Preference, 2002, 13(1):57-64.
- [21] Sheridan P S, Shilton N C. Analysis of yield while cooking beefburger patties using far infrared radiation[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 51(1):3-11.
- [22] Krokida M, Maroulis Z. Chapter 7—quality changes during drying of food materials, in drying technology in agriculture and food science[M]. Delhi: Oxford IBH, 2001:1-44.
- [23] Eagerman B A. Orange juice color measurement using general purpose tristimulus colorimeters[J]. Journal of Food Science, 1978, 3(2):428-430.
- [24] Vadivambal R, Jayas D S. Changes in quality of microwave-treated agricultural products—a review[J]. Biosystems Engineering, 2007, 98(1):1-16.

(上接第248页)

- [5] *Spirulina* microalgae species[J]. J AOAC Int, 2001, 84:1708-1714.
- [6] 愈建江,李荷芳,周汉秋. 10种海洋微藻总脂、中性脂和极性脂的脂肪酸组成[J]. 水生生物学报, 1999, 23(5):481-487.
- [7] 韩春然,马永强,孙冰玉. 海水小球藻生产叶黄素的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(6):187-189.
- [8] 李荷芳,周汉秋. 海洋微藻脂肪酸组成的比较研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(1):34-40.

- [9] 倪培德,江志炜. 高油分油料水酶法预处理制油新技术[J]. 中国油脂, 2002, 27(6):5-8.
- [10] GB/T 5009.6-2003. 食品中脂肪酸的测定[S].
- [11] Li H, Pordesimo L, Weiss J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans[J]. Food Res Int, 2004, 37:731-738.
- [12] 吴璐婷,秦礼康,金毅,等. 超临界CO₂及夹带剂萃取顶坛花椒籽油工艺优化[J]. 中国油脂, 2011, 36(4):16-19.