

DOI: 10.13332/j.1000-1522.20150135

响应面优化高剪切乳化技术辅助提取红松精油的研究

樊梓鸾¹ 袁 彬¹ 王振宇²
(1 东北林业大学林学院 2 哈尔滨工业大学食品学院)

摘要:为优化红松精油的提取工艺,在单因素试验、最陡爬坡试验的基础上,采用响应面方法进行试验设计,以精油提取率为响应值,考察剪切时间、转速、盐质量分数3个因素,优化提取工艺。结果表明:红松松针精油的最佳提取条件为剪切时间5.13 min、转速14 950.65 r/min、盐质量分数3.06%。在优化条件下,红松松针精油提取率为18.2 $\mu\text{L/g}$,与模型预测值非常接近。

关键词:红松松针;精油;提取;响应面优化;高剪切乳化技术

中图分类号:S789.2 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2015)11-0109-06

FAN Zi-luan¹; YUAN Bin¹; WANG Zhen-yu². **Response surface methodology for optimizing high shear emulsifier-assisted extraction of essential oil from pine needles.** *Journal of Beijing Forestry University* (2015)**37**(11) 109-114 [Ch,6 ref.]

1 School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang, 150040, P. R. China;
2 School of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang, 150090, P. R. China.

We used the response surface method to optimize the conditions for steam distillation extraction of essential oil from pine needles assisted by high shear emulsifier technology. Based on the results of single-factor tests and steepest ascent experiment, we used Box-benhkn Design (BBD, Design Expert 7) to design an experiment with three factors (high shear emulsifier rotary speed, shearing time, salt concentration) as variables and essential oil extraction rate as function value for optimizing the extraction conditions. The results showed that the optimal parameters of high shear emulsifier-assisted extraction were: high shear emulsifier rotary speed 14 950.65 r/min, shearing time 5.13 min, and mass fraction of salt 3.06%. Under these conditions, the essential oil extraction rate was 18.2 $\mu\text{L/g}$, exhibiting a good agreement with the predicted values.

Key words pine needle; essential oil; extraction; response surface methodology; high-speed shear dispersing emulsifier

红松 (*Pinus koraiensis*) 为松科 (Pinaceae) 松属的常绿乔木,是国家Ⅱ级重点保护野生植物。分布广,是东北地区的主要的森林树种之一,主要分布在小兴安岭、张广才岭、长白山区及沈阳丹东县以北地区^[1]。红松针叶5针一束,长6~12 cm,深绿色,含有多重精油。红松精油不仅能够抑菌还有抗氧化的功能,同时还具有一些天然色素等成分^[2]。在食品

方面,精油可以制成防腐剂或者制成天然色素添加到食品中。在药学应用方面,精油具有抗肿瘤、抗氧化、降血脂等功效。在生活日用方面,精油可以调配成各式香水、护肤品、美发香波等,在化妆品和洗涤用品方面应用潜力巨大。

高剪切乳化技术是近几年新兴的提取技术,已广泛地应用于生物活性成分的提取^[3]。水蒸气蒸

馏法是一种无污染、低成本的蒸馏提取技术,而且由于精油具有易挥发性,能随水蒸气蒸馏而不被破坏性质,所以红松松针精油的提取适合采用水蒸气蒸馏法。本试验针对红松松针精油提取的主要限制性因素——蒸馏时间长和提取率低,以东北地区的红松松针为原料,根据水蒸气蒸馏的机制,通过单因素试验、最陡爬坡试验以及响应面优化试验,应用 Design-Expert 软件进行数据拟合^[4-5],探索高剪切乳化技术^[6]辅助水蒸气蒸馏法提取红松精油的工艺条件,以期最大限度地将松针精油提取出来,为红松松针精油产业化提取提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

红松松针 2014 年 6 月采摘于黑龙江省伊春市,冷藏保存。

氯化钠、无水硫酸钠为分析纯,购买于天津市永大化学试剂开发中心。

1.2 主要的仪器与设备

DHG-9240 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;FW100 高速万能粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;ALC-1104 电子天平,北京赛多丽丝仪器系统有限公司;BCD-238 美菱电冰箱,合肥美菱股份有限公司;FA25 高剪切分散乳化机,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;98-1-B 型电子调温电热套,天津市泰斯特仪器;挥发油提取器,北京恒奥德仪器仪表有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 松针精油的提取

将阴干的原料在万能粉碎机中粉碎,取 50 g 粉末(≤0.25 mm),按料液比(质量:体积)加入一定量的氯化钠水溶液,采用高剪切分散乳化机进行辅助提取;再将处理后的混合液放入圆底烧瓶内,连好蒸馏装置,经过一定时间的共水蒸馏,得到精油;用无水硫酸钠吸收精油中的水分,最终得到淡黄色透明的纯净精油。

1.3.2 精油提取率的计算

松针含水率及精油提取率的计算如式(1)~(2):

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

(1)

式中: w 为含水率(%), m_1 为松针恒质量前的质量(g), m_2 为松针恒质量后的质量(g)。

$$\text{精油提取率} = \frac{V}{m(1-w)} \times 100$$

(2)

式中: V 为精油出油量(μL), m 为用于蒸馏的红松

松针的质量(g)。

1.3.3 单因素试验

分别以剪切时间、转速、盐(氯化钠水溶液)质量分数、蒸馏时间为单因素进行高剪切分散乳化技术辅助提取红松精油的单因素试验,考察各单因素对红松精油提取率的影响。每个单因素水平重复 3 次。

1.3.4 最陡爬坡试验

根据单因素试验结果,选择剪切时间、转速、盐质量分数作为爬坡因子,试验设计如表 1。

表 1 最陡爬坡试验设计

Tab. 1 Factors and levels of steepest ascent experiment design

试验号 Test No.	剪切时间 Shearing time/min	转速 Rotary speed/ (r·min ⁻¹)	盐质量分数 Mass fraction of salt/%
1	4	10 000	0
2	5	14 000	2
3	6	18 000	4
4	7	21 000	6

1.3.5 响应面试验

在试验过程中,每个因素都是相互影响的,所以为了全面地考察各个因素对红松松针精油提取率的影响,采用软件 Design Expert 7 应用 Box-Behnken Design(响应面)方法进行试验设计。在最陡爬坡试验基础上,以精油提取率为响应值,设计剪切时间、转速、盐质量分数 3 个因素 3 水平响应面试验。

1.3.6 响应面验证试验

为了验证响应面法优化红松松针精油提取工艺的可靠性,采用优化后的最佳工艺条件进行验证试验,将其与模型预测值进行比较。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 剪切时间对精油提取率的影响

准确称取粉碎过筛原料 50.00 g,料液比 1:8,加入 400 mL 质量分数 2% 的 NaCl 水溶液,分别在高剪切乳化分散机转速为 14 000 r/min 下,剪切 1、2、3、4、5、6、7 min,共水蒸馏 3 h。

由图 1 可知:高剪切乳化分散机剪切时间对精油提取率的影响较大;在 1~5 min 之间,随着剪切时间的增加,精油提取率升高;5 min 之后,精油提取率开始下降。可能由于时间的延长,溶液温度升高,导致精油挥发。因此,最佳剪切时间为 5 min。

2.1.2 转速对精油提取率的影响

准确称取粉碎过筛原料 50.00 g,料液比 1:8,加

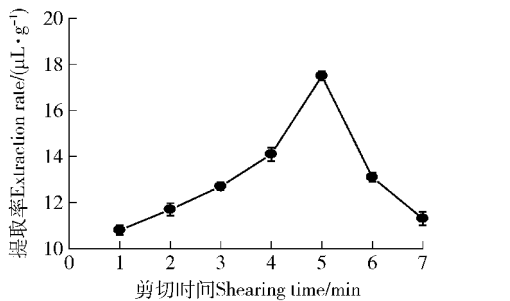


图 1 剪切时间对精油提取率的影响
Fig.1 Effect of shearing time on essential oil extraction rate from pine needles

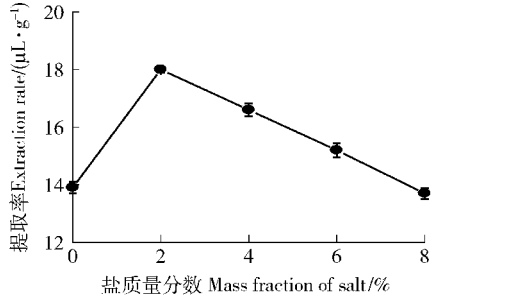


图 3 盐质量分数对精油提取率的影响
Fig.3 Effect of salt concentration on essential oil extraction rate from pine needles

入 400 mL 质量分数 2% 的 NaCl 水溶液,高剪切分散乳化机转速分别为 10 000、14 000、18 000、21 000、24 000 r/min 下,各剪切 5 min,共水蒸馏 3 h。

由图 2 可知:在 14 000 r/min 之前,随着转速的增加,精油的提取率升高;在 14 000 r/min 之后,精油提取率开始下降。可能由于剪切力过大导致溶液温度上升,使得精油挥发。因此,最佳转速为 14 000 r/min。

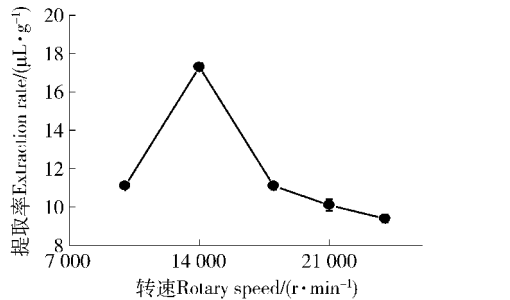


图 2 转速对精油提取率的影响
Fig.2 Effect of high shear emulsifier rotary speed on essential oil extraction rate from pine needles

水蒸馏 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 h。

由图 4 可知:随着蒸馏时间增加,精油提取率升高;蒸馏时间少于 3.0 h 时,提取率的增加速度较快;当蒸馏时间超过 3.0 h 时,提取率的增加不明显;4.0 h 时精油提取率最高可达 1.84%,3.0 h 时精油提取率为 1.80%。因此,考虑到能耗问题,最佳蒸馏时间为 3.0 h。

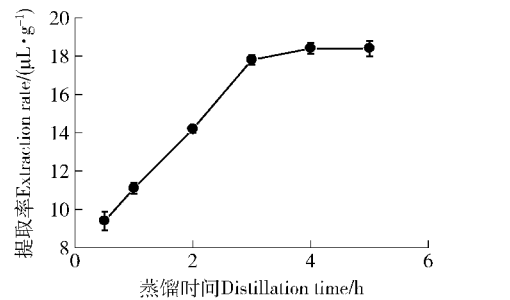


图 4 蒸馏时间对精油提取率的影响
Fig.4 Effect of distillation time on essential oil extraction rate from pine needles

2.1.3 盐质量分数对精油提取率的影响

准确称取粉碎过筛原料 50.00 g,料液比 1:8,加入 400 mL 质量分数 2%、4%、6%、8% 的 NaCl 水溶液,分别在高剪切乳化分散机转速为 14 000 r/min 下,剪切 5 min,共水蒸馏 3 h。

由图 3 可知:加入无机盐氯化钠对于精油的提取有明显的促进作用。可能是由于加入盐之后,精油在水中的溶解度降低,从而使精油的提取率增加。当盐质量分数从 0 增加到 2% 时,红松松针精油的提取率显著增加;当盐质量分数从 2% 到 8% 时,随着盐质量分数的增加,松针精油的提取率呈下降趋势。因此,最佳盐质量分数为 2%。

2.1.4 蒸馏时间对精油提取率的影响

准确称取粉碎过筛原料 50.00 g,料液比 1:8,加入 400 mL 质量分数 2% 的 NaCl 水溶液,分别在高剪切乳化分散机转速为 14 000 r/min 下,剪切 5 min,共

2.2 最陡爬坡试验

响应面拟合方程的局限在于只有在考察的紧接领域才能充分近似真实情形,如果选择其他区域拟合方程可能会与近似的函数方程毫无相似之处,最后做出的结果几乎无意义。所以,本研究先做个最陡爬坡试验,以试验值变化的梯度方向为爬坡方向,根据各因素效应值的大小确定变化步长,快速、经济地逼近最佳值区域,为建立有效的响应面拟合方程打基础。试验 1~4 的精油提取率分别为 9.4、17.5、9.5、8.4 μL/g。表明试验 2 为最优的中心点,即剪切时间 5 min、转速 14 000 r/min、盐质量分数 2%。

2.3 响应面优化试验结果

在最陡爬坡试验结果的基础上,根据 Box-Behnken 试验原理,设计剪切时间(A)、转速(B)、盐质量分数(C)的 3 因素 3 水平响应面试验,其因素水平及试验结果见表 2。

表 2 响应面试验设计及结果

Tab. 2 Box-Behnken experimental design and results

序号 No.	A/min	$B/(\text{r}\cdot\text{min}^{-1})$	$C/\%$	提取率 Extraction rate/ $(\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1})$	序号 No.	A/min	$B/(\text{r}\cdot\text{min}^{-1})$	$C/\%$	提取率 Extraction rate/ $(\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1})$
1	3	10 000	2	11.5	10	5	21 000	6	8.4
2	3	21 000	2	9.9	11	5	10 000	0	8.8
3	7	10 000	2	13.0	12	5	10 000	6	9.2
4	7	21 000	2	9.1	13	5	14 000	2	17.5
5	3	14 000	0	9.6	14	5	14 000	2	18.0
6	7	14 000	0	10.3	15	5	14 000	2	17.1
7	3	14 000	6	10.0	16	5	14 000	2	17.9
8	7	14 000	6	11.3	17	5	14 000	2	18.0
9	5	21 000	0	8.6					

注: A 为剪切时间, B 为转速, C 为盐质量分数。Notes: A means shearing time, B means rotary speed, C means mass fraction of salt.

分析表 2 的数据后,得出的回归模型为:

$$y = 18.47 + 0.29A - 0.81B + 0.20C - 0.59AB + 0.17AC - 3.120 \times 10^{-3}BC - 2.64A^2 - 4.28B^2 - 5.43C^2$$

式中: y 为松针精油提取率。

使用响应曲面法分析软件对试验结果进行方差分析,结果见表 3。

由表 3 可知:失拟项 P 值 $0.056\ 9 > 0.05$,差异不显著,说明模型对试验拟合的情况好,试验误差小;变异系数为 5.73,说明试验可靠;相关系数 $R^2 = 0.985\ 1$,较正决定系数 $R^2_{\text{adj}} = 0.966\ 0$,说明模型能解

释 96.60% 响应值的变化。该模型的拟合度较好,说明其精密度极好。因此,可用该回归模型代替试验值对试验结果进行分析与检测。

各因素对红松松针精油提取率的影响是有差异的。模型的不同处理参数之间差异显著,说明用响应面回归模型描述各因素和响应值间的关系时,各个变量之间呈现一定的线性关系,即该试验方法可靠。机器的转速 P 值小于 0.05 呈显著;剪切时间、转速、盐质量分数的二次项的差异极显著。各因素对红松松针精油提取率的影响不是简单的线性关系,需要进一步通过计算得到。通过 F 值还能看

表 3 方差分析表

Tab. 3 ANOVA of regression analysis

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	F 值 F -value	P 值 P -value	显著性 Significance
模型 Model	228.40	9	25.38	51.54	<0.000 1	**
A	0.60	1	0.60	1.21	0.308 0	
B	5.03	1	5.03	10.22	0.015 1	*
C	0.31	1	0.31	0.63	0.454 9	
AB	1.44	1	1.44	2.92	0.131 0	
AC	0.12	1	0.12	0.24	0.638 1	
BC	0.00	1	0.00	0.00	0.992 8	
A^2	29.24	1	29.24	59.37	0.000 1	**
B^2	63.73	1	63.73	129.43	<0.000 1	**
C^2	92.77	1	92.77	188.40	<0.000 1	**
残差 Residual	3.45	7	0.49			
失拟项 Lack of fit	2.83	3	0.94	6.08	0.056 9	不显著 Not significant
纯误差 Pure error	0.62	4	0.15			
总差 Total	231.84	16				
变异系数 CV/%	5.73					

注:**为差异极显著,*为差异显著。Notes: ** means highly significant, * means significant.

出,试验中各因素对红松松针精油提取率的影响大小顺序为:转速>剪切时间>盐质量分数。

根据回归模型及方差分析绘出双因子效应分析图 5~7。

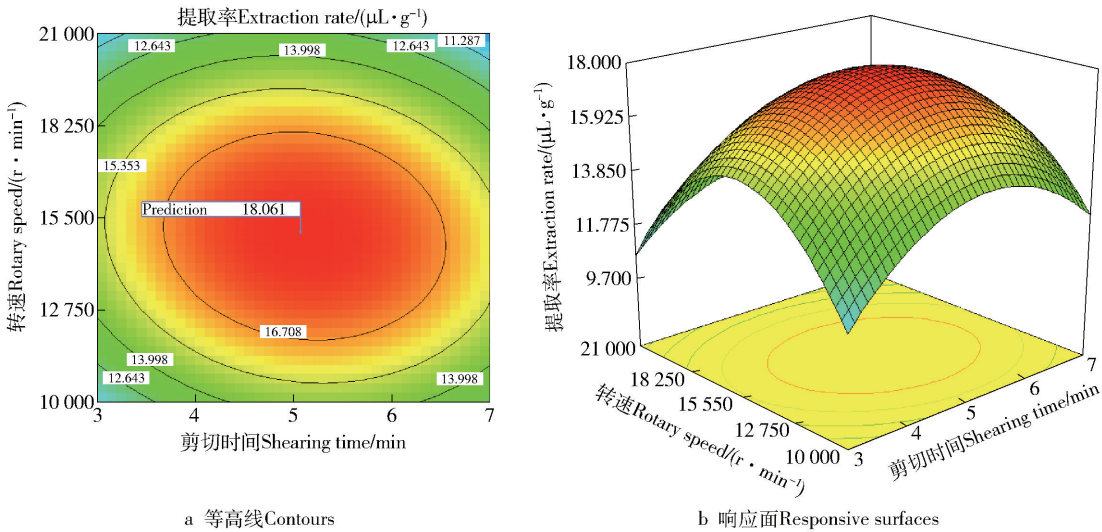


图 5 剪切时间、转速对精油提取率的交互作用
Fig. 5 Correlative effects of high shear emulsifier rotary speed and shearing time on essential oil extraction rate

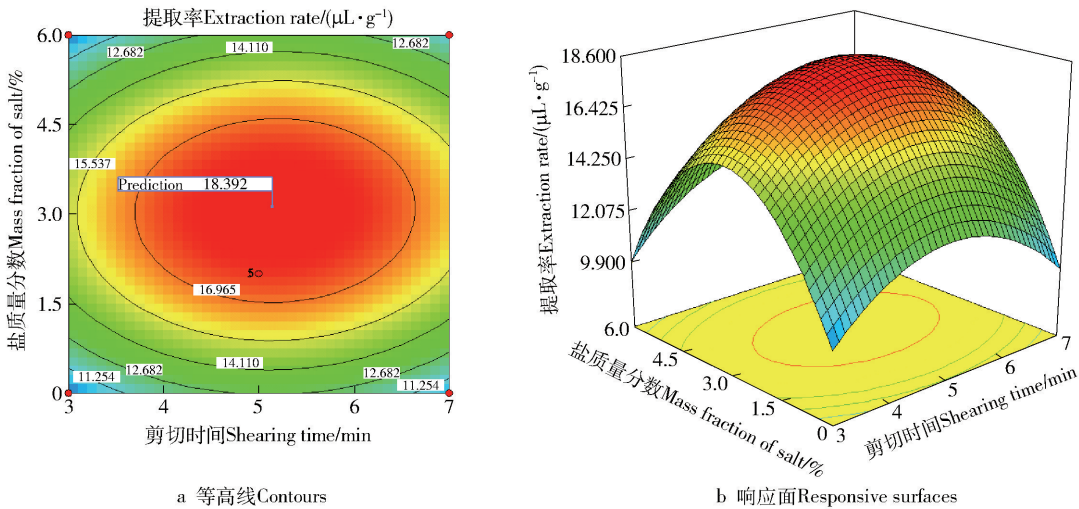


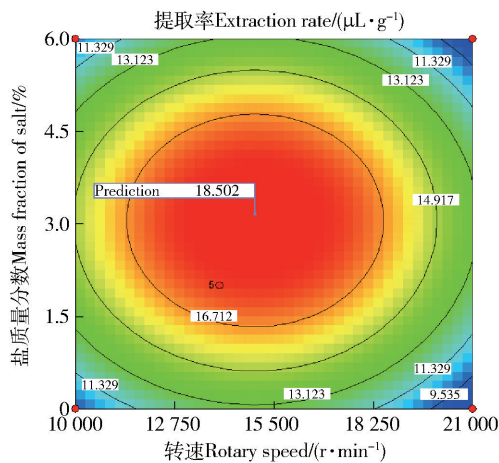
图 6 剪切时间、盐质量分数对精油提取率的交互作用
Fig. 6 Correlative effects of shearing time and salt concentration on essential oil extraction rate

响应曲面图中曲面的陡峭程度可以表明变量对红松精油提取率的影响程度,曲面较陡表明影响较大,反之则较小;而等高线图反映了因素间交互作用的强弱大小,椭圆形表示交互作用显著,圆形表示交互作用不显著^[8]。由图 5~7 可知:任何 2 个交互因素的响应面都存在最高点,转速和剪切时间的交互作用、剪切时间和盐质量分数的交互作用、转速和盐质量分数的交互作用对精油提取率的影响极显著(等高线图为椭圆形)。由三维立体图可以看出,两两因素之间的影响均呈基本抛物线型,说明有一个最大值,其中转速对提取率的影响要大于剪切时间的影响,剪切时间和转速对提取率的影响要大于盐质量分数。

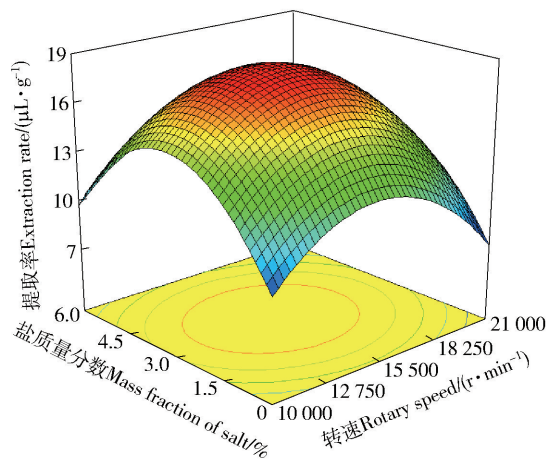
由回归模型得出响应面试验的最优提取条件为:剪切时间为 5.13 min、转速 14 950.65 r/min,盐浓度为 3.06%。此条件下计算得到的红松松针精油提取率为 18.5 $\mu\text{L}/\text{g}$ 。

2.4 响应面验证试验

为了验证响应面法优化红松松针精油提取工艺的可靠性,采用优化以后的最佳工艺条件进行验证试验。由于高剪切乳化分散机的档位限制,所以最后实际操作验证参数调整为剪切时间 5.13 min、转速 14 000 r/min、盐质量分数 3.06%。在此条件下,红松松针精油提取率为 18.2 $\mu\text{L}/\text{g}$,与模型预测值的误差为 1.723%。



a 等高线Contours



b 响应面Response surfaces

图7 转速、盐质量分数对精油提取率的交互作用

Fig.7 Correlative effects of high shear emulsifier rotary speed and salt concentration on essential oil extraction rate

3 结论与讨论

松针中的精油是松针香气的主要来源,松针挥发油化学组成非常复杂,挥发油许多成分是有待开发利用的可再生资源。本研究对红松松针精油提取工艺进行了优化。通过单因素试验确定红松精油提取的最适条件为:转速 14 000 r/min、料液比1:8、盐质量分数 2%、剪切时间 5 min、蒸馏时间 3 h。以单因素试验为基础进行最陡爬坡试验,再在最陡爬坡试验的基础上进行响应面优化试验,最后响应面优化试验得到的红松松针精油提取的最优条件为:剪切时间 5.13 min、转速 14 950.65 r/min、盐质量分数 3.06%,此时预测的红松松针精油提取率为 18.5 $\mu\text{L/g}$ 。验证试验证实,精油的提取率为 18.2 $\mu\text{L/g}$,与模型预测值的误差为 1.723%。采用高剪切乳化机进行辅助提取红松精油,可以有效提高精油提取率,为红松精油的进一步开发利用提供技术支撑。

参考文献

- [1] 刘冉,王振宇,崔杰,等. 前体物质和诱导子对红松松多酚合成的影响[J]. 北京林业大学学报,2013, 35(5):22-27.
LIU R, WANG Z Y, CUI J, et al. Effects of precursors and elicitors on the synthesis polyphenols of *Pinus koraiensis*[J]. Journal of Beijing Forestry University,2013,35(5):22-27.
- [2] 吕静,贾凌云,袁久志,等. 红松松针化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2011, 28(1):21-24.

LÜ J, JIA L Y, YUAN J Z, et al. Isolation and identification of the chemical constituents from pine needle of *Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc. [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2011, 28(1):21-24.

- [3] 樊梓鸾,林秀芳,王丽,等. 响应面法优化高剪切分散乳化提取悬钩子多酚[J]. 食品与生物技术学报,2014,33(4):355-360.

FAN Z L, LIN X F, WANG L, et al. High-speed shear treatment for extraction of polyphenol from raspberries via response surface optimization[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2014,33(4):355-360.

- [4] 焦岩,王振宇. 响应面法优化纤维素酶辅助提取大果沙棘果渣总黄酮工艺研究[J]. 林产化学与工业,2010, 30(1):85-91.

JIAO Y, WANG Z Y. Optimization of technology using response surface analysis for extracting flavonoids from seabuckthorn residue assisted by cellulase [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(1):85-91.

- [5] TIAN S Q, WANG Z Y, FAN Z L, et al. Optimization of CO₂ laser-based pretreatment of corn stover using response surface methodology [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(22):10493-10497.

- [6] FAN Z L, WANG Z Y, LIU J R. Cold-field fruit extracts exert different antioxidant and antiproliferative activities in vitro [J]. Food Chem,2011, 129(2):402-407.

(责任编辑 李文军
责任编辑 许 凤)