

响应面法优化超声波辅助提取沙棘籽油的工艺研究

孟春玲 王建中 王丰俊 徐桂娟

(北京林业大学生物科学与技术学院)

摘要:该文通过单因素试验和RSA响应面分析法优化了超声波辅助提取沙棘籽油的工艺方法,探讨不同提取剂、提取剂用量、提取时间、次数、功率对提取效果的影响。结果表明,超声波提取沙棘籽油的最佳条件为:以石油醚为提取剂,超声波功率为800 W,提取时间17 min,料液比为1:9。该条件下,沙棘籽毛油的提取得率可达到9.27%;沙棘籽油中维生素E含量较传统方法提取的沙棘籽油高25%。

关键词:沙棘籽油;超声波辅助浸提;响应面分析

中图分类号:S793.6;TS201.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-1522(2008)05-0118-05

MENG Chun-ling; WANG Jianzhong; WANG Feng-jun; XU Gui-juan. **Optimization of ultrasound-assisted extraction technique of seabuckthorn seed oil by response surface methodology.** *Journal of Beijing Forestry University* (2008) **30**(5) 118-122 [Ch, 13 ref.] College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

The optimum conditions of ultrasound-assisted extraction for seabuckthorn seed oil were determined by the single-factor experiment and the response surface analysis. The effects of different solvents, amount of extraction, extraction time, repeats and ultrasonic power were explored. The results show that the optimum extraction conditions were that petroleum ether as the best extraction solvent, ultrasonic power 800 W, extraction time 17 minutes and the liquid/solid ratio of 9 to 1. Under these conditions, the extraction rate for the crude seed oil of seabuckthorn reached 9.27%. The proportion of vitamin E by ultrasound-assisted extraction was 25% higher than that by the traditional process.

Key words seabuckthorn seed oil; ultrasound-assisted extraction; response surface analysis

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)为胡颓子科沙棘属,多年生落叶灌木或乔木,含有丰富而复杂的天然活性成分,具有祛痰利肺、养胃健脾、活血祛病的药理疗效,藏医经典巨著《四部医典》、《月王药珍》中早有纪录^[1]。很久以来也一直是欧洲一些国家常用的中药之一^[2],享有很高的声誉。沙棘籽油是沙棘的精华,是甘油脂肪酸酯、多种维生素和生物活性物质的复合体,是一种高营养、高经济价值的天然产物,主要成分为脂肪酸酯,沙棘籽油中不饱和脂肪酸占88%以上^[3],此外尚含有多种脂溶性维生素、胡萝卜素和植物甾醇、磷脂等生物活性物质^[4],亚油酸与亚麻酸比例大约为1:1,这与最新脂质营养学所倡导的最佳脂质摄取平衡比例相吻合^[5]。尽管已有多种天然油脂可以作为功能性油脂用于防治疾病,但像

沙棘油这样既组成合理又功效显著的油脂并不多见,因此,沙棘油制取工艺及营养学、药理学研究倍受关注。

提取沙棘籽油的常用方法有压榨法、溶剂浸提法、超临界萃取法^[6]。压榨法出油率低,且不易将一些非脂溶性活性物质浸出,不适合像沙棘种籽等含油率较低的特种油脂原料。一般溶剂浸提法存在提取时间长、温度高等缺点。超临界流体萃取法设备昂贵,技术严格,且受超临界流体对物质溶解度的局限,对是否能萃取出活性成分存有疑问^[7]。而超声波辅助浸提法则主要利用超声波具有的机械效应、空穴化效应、热效应,以及乳化、扩散、击碎等次级效应,增加细胞壁的通透性,增大介质的穿透力和介质分子的运动速度,促进有效成分的溶出^[8-9],具有操

收稿日期:2007-10-16

<http://www.bjfujournal.cn>, <http://journal.bjfu.edu.cn>

基金项目:国家环境保护总局项目(2006024-2)、北京林业大学自选课题基金项目(06jj054)。

第一作者:孟春玲。主要研究方向:植物资源利用。电话:010-62338221 Email:m'ch-ling@163.com 地址:北京林业大学 1078 信箱。

责任作者:王建中,教授,博士生导师。主要研究方向:植物资源利用。电话:010-62338221 Email:w62338221@163.com 地址:北京林业大学 112 信箱。

作简单、浸提温度低、提取率高、提取时间短等优点，目前广泛应用在生物活性成分提取方面，但在提取沙棘籽油的研究中未见报道。本试验采用超声波强化浸提工艺，旨在为沙棘籽油的提取寻找新的有效工艺途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

内蒙古产中国沙棘籽；石油醚(60~90℃)、正己烷、乙酸乙酯均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SHB 循环水多用真空泵，郑州长城科工贸有限公司；W2018 型恒温水浴锅，上海申顺生物科技有限公司；JAC-600 超声波中药处理机，山东济宁超声电器有限公司旋转蒸发器；DF204 电热鼓风干燥箱，北京西城区医疗器械二厂；高速万能粉碎机，天津市泰斯特仪器有限公司；FA10004A 电子天平，精天精密仪器厂。

1.3 试验方法与工艺流程

工艺流程：沙棘籽 → 除杂 → 粉碎 → 过筛 → 称重 → 装料 → 提取 → 抽滤分离 → 真空浓缩 → 沙棘油 → 油脂检测。

试验方法：采用三角瓶浸泡法进行常温浸提和超声波辅助浸提。

提取得率计算：沙棘籽油提取得率 = (提取物质量/样品质量) × 100%。

1.3.1 超声波提取沙棘籽油的单因素试验

影响超声波辅助浸提沙棘籽油提取得率的因素主要有提取温度、超声时间、超声功率、超声频率、料液比、物料细度、提取次数、溶剂等。为避免高温影响油脂及其所含功效成分的活性，结合预试验和前人的相关报道^[10]，将超声提取温度设定为 21℃，频率在 20 kHz，分别以乙酸乙酯、正己烷、石油醚为提取溶剂，物料细度为 10、30、50、70、90 目，超声次数 1、2、3 次，功率为 100、200、400、600、800、1 000 W，超声时间 5、15、25、35、45 min，料液比为 1:2、1:4、1:6、1:8、1:10 分别进行单因素试验。

1.3.2 响应面分析法优化超声波提取沙棘籽油的工艺参数

本试验经单因素试验确定了沙棘籽油的提取时间、超声波功率和料液比为主要影响因素，运用 SAS 8.1 软件程序根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理^[11]，采用三因素三水平的响应面分析法，以沙棘籽油的提取得率为响应值作响应面，对提取条件进行优化(试验因素与水平设计见表 1)。

表 1 响应面分析因素与水平			
TABLE 1 Factors and levels of response surface analysis			
因素	水平		
	-1	0	1
功率/W	400	600	800
料液比/(g·mL ⁻¹)	1:6	1:8	1:10
时间/min	5	15	25

1.3.3 沙棘籽油的成分分析

对常温三角瓶浸泡浸提法和超声辅助浸提法得到的沙棘籽油，分别检测脂肪酸成分^[12]、维生素 E 和类胡萝卜素的含量^[13]。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 溶剂的选择

由表 2 可以看出，常规溶剂浸提时，正己烷的提取得率最好，高出石油醚 1.16%。超声条件下，石油醚与正己烷的提取得率仅有 0.17% 的差别；乙酸乙酯的提取得率最高，但是提取物品质差，杂质多，可能是非脂溶性物质被提取出来了，旋蒸时随着溶剂的减少而不断沉淀。正己烷虽提取效果好，但价格较高，为石油醚的 3 倍。综合分析，确定石油醚为最佳提取溶剂。

表 2 溶剂对沙棘籽油提取得率的影响						
TABLE 2 Effect of extraction solvent on extraction rate of seabuckthorn seed oil						
试剂	提取次数	料液比/(g·mL ⁻¹)	提取得率/%		表观特征	试剂价格/(元·瓶 ⁻¹)
			800 W 超声	6 h 常规		
乙酸乙酯	2	1:8	9.62	7.82	颜色混浊，有沉淀	17.0
正己烷	2	1:8	9.08	8.46	金黄色，清澈	26.6
石油醚	2	1:8	9.25	7.30	黄褐色，清澈	8.2

2.1.2 物料细度的选择

物料细度对提取得率的影响见图 1。在一定超声条件下，样品粉碎得越细，比表面积越大，越有利于渗透溶解和扩散过程，有利于浸出油脂；但粉碎过细，容易成团，反而降低出油率。物料过 70 目时，提取得率达到最大值(13.38%)。考虑到生产实际，物

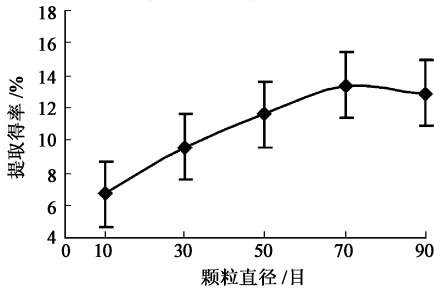


图 1 物料细度对提取得率的影响

FIGURE 1 Effect of particle size on extraction rate

料细度定为 50 目(11.58%)。

2.1.3 超声次数的选择

由图 2 可以看出,其他条件不变,在 800 W 超声条件下,对物料提取两次得率达到 9.16%,提取 3 次仅提高到 9.17%,因此确定提取次数为 2 次。

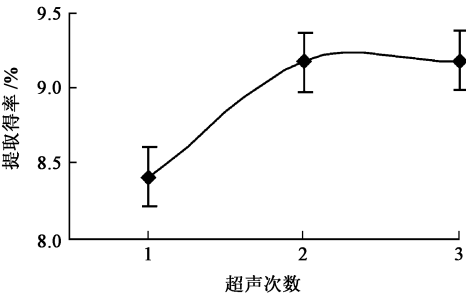


图 2 超声次数对提取得率的影响

FIGURE 2 Effect of extraction times on extraction rate

2.1.4 超声功率对提取得率的影响

由图 3 可以看出,其他条件不变,随着超声功率的增大,沙棘籽的出油率增加。说明超声功率越大,空化和机械作用越强烈,分子扩散速度越大,油脂渗出越快。800 W 达到最佳,功率再增加对提取得率提高作用不大。结果表明,600~800 W 为最佳超声波提取功率。

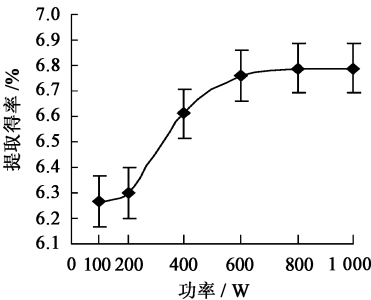


图 3 超声功率对沙棘籽油提取得率的影响

FIGURE 3 Effect of ultrasonic power on extraction rate of seabuckthorn seed oil

2.1.5 超声波处理时间对沙棘籽油提取得率的影响

由图 4 可以看出,超声时间越长,超声波对物料作用得越充分,沙棘籽油提取得率越高。当达到一定时间后,溶液体系渗透压达到平衡,提取得率趋于

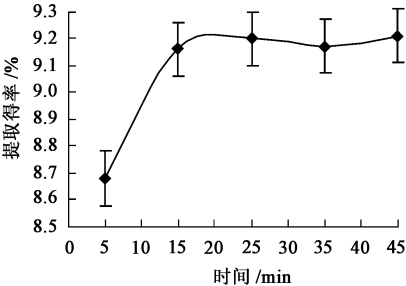


图 4 超声时间对沙棘籽油提取得率的影响

FIGURE 4 Effect of ultrasonic extraction time on extraction rate of seabuckthorn seed oil

平稳。从图 4 中还可看出,超声波在 20~25 min 之间就可以对沙棘籽油进行充分提取(得率达到 9.16%),表明超声强化提取具有省时的作用。

2.1.6 料液比对沙棘籽油提取得率的影响

一定物料的前提下,溶剂用量越大,沙棘籽与溶剂的接触面浓度差越大,渗透压越大,油脂越容易浸出;当达到一定值以后,由于物料中油脂含量逐渐减少,越来越难以溶出,提取得率趋于稳定。图 5 表明料液比在 1:8 时得率可达 9.16%,此后趋于稳定。

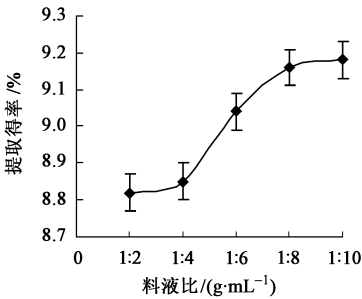


图 5 料液比对提取得率的影响

FIGURE 5 Effect of ratio of material to solvent on extraction rate

2.2 响应面分析法优化沙棘籽油的提取工艺

2.2.1 响应面分析方案及结果

以超声功率(X_1)、料液比(X_2)、超声时间(X_3)为自变量,沙棘籽油的提取得率 Y 为响应值,试验方案及结果见表 3,响应面见图 6~8。由图 6~8 可以看出,超声功率对沙棘籽油提取得率的影响较小,料液比影响最大。

表 3 响应面分析方案及试验结果

TABLE 3 Program and experimental results of response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	$Y/\%$	试验号	X_1	X_2	X_3	$Y/\%$
1	-1	-1	0	8.79	9	-1	0	-1	8.89
2	-1	1	0	9.16	10	1	0	-1	9.07
3	1	-1	0	8.84	11	-1	0	1	9.19
4	1	1	0	9.29	12	1	0	1	9.34
5	0	-1	-1	8.52	13	0	0	0	9.13
6	0	-1	1	8.76	14	0	0	0	9.03
7	0	1	-1	9.03	15	0	0	0	9.18
8	0	1	1	9.06					

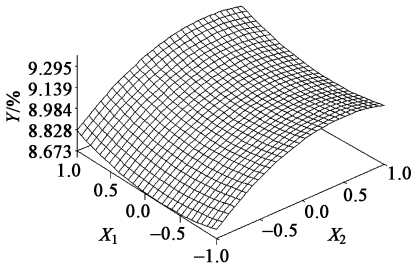


图 6 $Y=f(X_1, X_2)$ 的响应面图

FIGURE 6 Responsive surfaces of $Y=f(X_1, X_2)$

2.2.2 方差分析结果

对试验结果回归拟合后所得的模拟方程为: Y

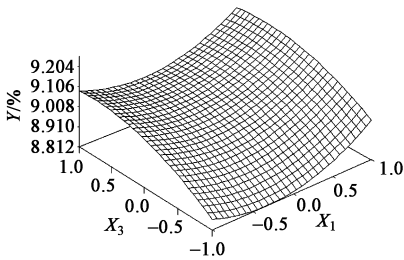


图 7 $Y=f(X_1, X_3)$ 的响应面图

FIGURE 7 Responsive surfaces of $Y=f(X_1, X_3)$

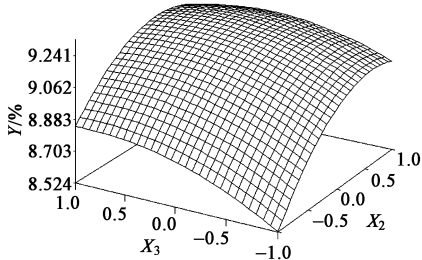


图 8 $Y=f(X_2, X_3)$ 的响应面图

FIGURE 8 Responsive surfaces of $Y=f(X_2, X_3)$

$=9.113+0.064X_1+0.204X_2+0.105X_3+0.093X_1^2+0.084X_3^2$,模型的可靠性可通过方差分析及相关系数来考察(见表 4)。

$-0.020X_2X_1-0.187X_2^2-0.008X_3X_1-0.053X_2X_3-$

表 4 方差分析表
TABLE 4 Analysis of variance

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	$Pr>F$	显著性
X_1	1	0.032 512	0.032 512	6.315 151	0.053 631	
X_2	1	0.332 112	0.332 112	64.508 740	0.000 484	**
X_3	1	0.088 200	0.088 200	17.131 760	0.009 005	**
$X_1\times X_1$	1	0.032 164	0.032 164	6.247 479	0.054 524	
$X_1\times X_2$	1	0.001 600	0.001 600	0.310 780	0.601 237	
$X_1\times X_3$	1	0.000 225	0.000 225	0.043 703	0.842 656	
$X_2\times X_2$	1	0.128 656	0.128 656	24.989 910	0.004 108	**
$X_2\times X_3$	1	0.011 003	0.011 025	2.141 470	0.203 234	
$X_3\times X_3$	1	0.026 156	0.026 156	5.080 559	0.073 904	
总回归	9	0.659 832	0.073 315	14.240 460	0.004 628	**
总残差	5	0.025 742	0.005 148			
总离差	14	0.685 573				
失拟差	3	0.014 075	0.004 692	0.804 286	0.595 687	

注：* 代表 0.05 水平显著，**代表 0.01 水平显著。

从方差分析结果可知,模型在 $P\leqslant 0.01$ 时水平显著,因变量与所有自变量之间的线性关系显著($R^2=0.962\ 5$),方程的 $F>F_{0.01}(9,5)=14.24$,说明该模型能够很好的描述试验结果。从表 4 中可以看出, X_2 、 X_3 、 $X_2\times X_2$ 项为极显著影响因素;交互项影响不显著,说明各因素之间交互效应不大。通过对 Y 的回归系数的检验可知,各因素对沙棘籽油提取得率影响的大小顺序为 $X_2>X_3>X_1$ 。从典型分析表(表 5)中可以看出,3 个因素的特征值有正有负,表明该模型稳定点为一鞍点,非极值,因此不能直接从此二次响应面上找出最佳工艺参数,需要进行岭脊分析,结果见表 6。从表 6 中可以看出,最大响应值时的编码半径为 1.0,此时 $X_1=0.92$, $X_2=0.33(1:8.67)$, $X_3=0.19$ 。由此可以确定超声波提取沙棘籽油的最佳工艺参数为:室温 21°C 为超声起始温度,超声频率 $20\ \text{kHz}$,提取 2 次,样品过 50 目筛,提取时间 $16.9\ \text{min}$,功率 $784\ \text{W}$,料液比 $1:8.67$ 。在此条件下,提取得率的理论值可达到 9.32% 。为了验证 RSA 的可靠性,根据实际情况,采用最优条件对沙棘籽油的提取进行验证试验,提取时间为 17

min ,料液比为 $1:9$,功率 $800\ \text{W}$,经过 3 次平行试验,实际提取得率的平均值为 9.27% ,与理论预测值接近,证明该回归模型具可靠性。

表 5 典型分析表
TABLE 5 Canonical analysis

特征值	X_1	X_2	X_3
0.093 81	0.998 92	0.038 11	-0.026 67
-0.078 04	0.034 79	-0.231 73	0.972 16
-0.193 27	-0.030 87	0.972 03	0.232 81

表 6 岭脊分析
TABLE 6 Ridge analysis

编码半径	响应值	标准误差	X_1	X_2	X_3
0.0	9.113 33	0.041 426	0.000 00	0.000 00	0.000 00
0.1	9.135 57	0.041 298	0.034 45	0.082 53	0.044 75
0.2	9.155 08	0.040 925	0.090 11	0.155 20	0.088 27
0.3	9.172 81	0.040 344	0.172 50	0.211 52	0.124 52
0.4	9.190 01	0.039 626	0.274 44	0.249 75	0.149 37
0.5	9.207 72	0.038 897	0.383 69	0.275 04	0.164 73
0.6	9.226 55	0.038 352	0.493 87	0.292 83	0.174 18
0.7	9.246 79	0.038 240	0.603 10	0.306 34	0.180 09
0.8	9.268 63	0.038 845	0.711 03	0.317 25	0.183 80
0.9	9.292 14	0.040 446	0.817 79	0.326 49	0.186 06
1.0	9.317 40	0.043 260	0.923 55	0.334 60	0.187 33

2.3 沙棘籽油的主要成分对比

由表 7 可以看出,超声波辅助浸提所得沙棘籽油的脂肪酸成分及类胡萝卜素与传统相比没有显著差异,而维生素 E(V_E)的含量比传统方法提取的沙

棘籽油高 25%,主要原因可能是超声波提取破坏细胞壁的作用,促使存在于细胞壁上的 V_E 更容易渗透溶解到提取溶液中。

表 7 不同沙棘籽油成分对比
TABLE 7 Component comparison of different seabuckthorn seed oil

处理	V _E / (mg·kg ⁻¹)	类胡萝卜素/ (mg·kg ⁻¹)	主要脂肪酸组成/%							
			C _{14:0}	C _{15:0}	C _{16:0}	C _{18:0} +C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	C _{22:0}
超声	4 005.6	55.3	0.01	0.02	6.85	27.20	41.46	24.33	0.11	0.02
常规	3 216.0	52.4	微量	微量	6.04	26.00	43.67	24.23	0.33	微量

3 结论与讨论

本试验利用超声波辅助提取沙棘籽油得到的优化数学模型为 $Y = 9.113 + 0.064X_1 + 0.204X_2 + 0.105X_3 + 0.093X_1^2 + 0.020X_2X_1 - 0.187X_2^2 - 0.008X_3X_1 - 0.053X_2X_3 - 0.084X_3^2$, 模型在试验范围内可靠。应用响应面分析法得到的最佳工艺条件为:提取时间 16.9 min, 功率 784 W, 料液比 1:8.67。在上述优化条件下,理论上就有 9.32%的提取得率,而常温条件下浸提 6 h 提取得率仅为 7.30%。说明超声波辅助提取沙棘籽油不仅大大缩短了提取时间,而且提高了有效成分的提取得率,节约了物料和溶剂,提高了经济效益。超声提取不需要加温,有利于保护特种油脂中的热敏性活性成分;另外,整个过程是个物理过程,不仅不影响主要生物活性成分的生理活性,而且增加其在提取油脂中的含量。因此,超声波法用于特种油脂的提取,是一种极具应用前景的方法。

参 考 文 献

[1] JIA Y, LIU W, WANG H P. The progress of the research on the development of the sea buckthorn at home and abroad[J]. *Sci/ Tech Information Development & Economy*, 2005, 15(14): 127-128.

[2] JOHANSSON A, LAAKSO P, KALLIO H. Characterization of seed oil of wild, edible Finnish berries [J]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A*, 1997, 204: 300-307.

[3] 黄铨, 于倬德. 沙棘研究[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 533-549.

HUANG Q, YU Z D. *Research on Hippophae rhamnoides L.* [M]. Beijing: Science Press, 2006: 533-549.

[4] YANG B R, KALLIO H. Composition and physiological effects of sea buckthorn lipids [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2002, 13: 160-167.

[5] DU X M. Physiological functions of seed oil of *Hippophae rhamnoides* L. [J]. *Food Style* 21, 2003, 7(7): 86-89.

[6] 颜英. 超临界萃取沙棘油的研究[J]. 精细石油化工, 2003(3): 39-42.

YAN Y. Study on buckthorn oil extraction with supercritical CO₂ [J]. *Specialty Petrochemicals*, 2003(3): 39-42.

[7] 忻耀年, 张彦文. 沙棘籽油的制备方法及选择[J]. 沙棘, 1995, 8(3): 29-31.

XIN Y N, ZHANG Y W. Preparation method and choice of sea buckthorn seed oil [J]. *Hippophae*, 1995, 8(3): 29-31.

[8] 徐怀德. 天然产物提取工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 51-52.

XU H D. *Extracting technology from natural material* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2006: 51-52.

[9] SINISTERRA J V. Application of ultrasound to biotechnology: An overview [J]. *Ultrasonic*, 1992, 30(3): 180-185.

[10] 史晓东, 吴彩娥. 超声波提取葡萄籽油工艺的研究[J]. 食品科技, 2007, 14(2): 17-20.

SHI X D, WU C E. Study on ultrasonic extraction of grape seed oil [J]. *Food Technology*, 2007, 14(2): 17-20.

[11] WU C F J, HAMADA M. 试验设计与分析及参数优化[M]. 张润楚, 郑海涛, 兰燕, 等, 译. 北京: 中国统计出版, 2000: 341-382.

WU C F J, HAMADA M. *Experiments planning, analysis, and parameter design optimization* [M]. ZHANG R C, ZHENG H T, LAN Y, et al, tran. Beijing: China Statistics Press, 2000: 341-382.

[12] 贺亮, 殷宁, 陈华君. 苦楝籽油脂肪酸成分分析[J]. 中国油脂, 2004, 29(11): 63-64.

HE L, YIN N, CHEN H J. Fatty acid composition analysis of the seed oil of *Melia azedarach* L. [J]. *China Oils and Fats*, 2004, 29(11): 63-64.

[13] 李永海, 李敏. 沙棘油脂概论[M]. 西安: 西北大学出版社, 1997: 106-126.

LI Y H, LI M. *Introduction to seabuckthorn oil* [M]. Xi'an: Northwest University Press, 1997: 106-126.

(责任编辑 董晓燕)