

李 杰,李富威,顾杨娟,等. 响应面法优化南极磷虾油提取工艺[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):230-232.

响应面法优化南极磷虾油提取工艺

李 杰,李富威,顾杨娟,俞所银,李越华,包建强

(上海海洋大学食品学院,上海 201306)

摘要:研究南极磷虾油有机溶剂提取工艺,探讨不同冻藏温度、提取剂比例、提取时间、干燥温度和料液比对南极磷虾油提取率的影响。在单因素试验基础上,通过响应面法分析确定最佳的提取工艺条件:冻藏温度为 -38.5 ℃、料液比为 1 g : 6.7 mL、干燥温度是 66.8 ℃,此时南极磷虾油提取率为 13.71%。

关键词:响应面法;南极磷虾油;提取工艺

中图分类号: TS254.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0230-03

南极磷虾是生活在南大洋的一种甲壳类浮游动物,其巨大的生物量和潜在的渔业资源日益受到人们的关注^[1]。南极磷虾油中含有丰富的人类所必需的二十碳五烯酸(eicosapentamenoic acid,EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid,DHA)^[2-4],对于心脑血管疾病、炎症反应疾病、恶性肿瘤、痴呆症、糖尿病、视力减退等疾病有较好的预防作用。有学者利用南极磷虾油与甲壳素一起制备微颗粒饵料和鱼类保鲜剂^[5-6],也有学者发现南极磷虾油可以降低脂肪肝、降低血脂和血糖等,对治疗非乙醇性脂肪肝有一定价值^[7]。Tandy 等认为,南极磷虾油可显著改善大鼠的学习记忆能力,且效果优于深海鱼油^[8]。目前,我国对于南极磷虾油的研究尚处于起步阶段,关于不同的冻藏温度和干燥温度对南极磷虾油提取的影响尚未见报道。笔者采用有机溶剂浸提法提取南极磷虾中的脂溶性成分,确定最佳提取工艺条件,旨在为开发利用南极磷虾油提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

南极磷虾由中国“南极海洋生物资源开发利用项目组”于 2011 年 1 月捕捞自南极 FAO 48.1 区;正己烷(AR)、乙酸乙酯(AR)均购自国药集团(上海)试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

EL204 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],H-2050R 高速冷冻离心机(湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司),DHG-52C 旋转蒸发仪(上海青浦沪西仪器厂),SH2-D(Ⅲ)循环水式真空泵(河南省巩义市予华仪器有限公司),DKB-600B 型电热恒温水箱(上海益恒实验仪器有限公司)。

收稿日期:2013-03-12

基金项目:研究生科研基金一般项目(编号:A-2500-11-0079);上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心基金(编号:11DZ2280300);上海海洋大学水产动物遗传育种中心基金(编号:ZF1206)。

作者简介:李 杰(1986—),男,山东莱芜人,硕士研究生,从事食品科学研究。E-mail:18801770725@163.com。

通信作者:包建强,教授,从事食品科学研究。Tel:(021)61900377;E-mail:baojq@shou.edu.cn。

1.3 方 法

1.3.1 虾油提取工艺流程 南极磷虾不同温度冻藏→流水解冻→不同温度鼓风干燥→粉碎→南极磷虾粉末→提取→离心分离→上清液→浓缩→烘干→粗虾油。

南极磷虾解冻后分别在不同温度下经鼓风干燥粉碎得到南极磷虾粉末,此时南极磷虾含水量为 14.6%。

1.3.2 提取率计算

$$\text{提取率} = m_1 / m_2 \times 100\%$$

式中: m_1 为粗虾油重量, m_2 为南极磷虾粉末重量。

1.3.3 响应面设计 在单因素试验基础上,综合考虑冻藏温度、料液比、干燥温度 3 个因素对南极磷虾油提取率的影响(表 1),采用 Box-Behnken 设计方案进行响应曲面研究,建立南极磷虾油提取率的二次多项式数学模型。

表 1 南极磷虾油提取工艺的响应面法试验因素和水平

水平	因素		
	A:冻藏温度 (℃)	B:料液比 (g : mL)	C:干燥温度 (℃)
-1	-50	1 : 8	60
0	-30	1 : 7	70
1	-20	1 : 6	80

2 结果与分析

2.1 单因素试验对南极磷虾油提取率的影响

2.1.1 提取剂比例对南极磷虾油提取率的影响 在冻藏温度 -50 ℃、干燥温度 60 ℃、料液比 1 g : 70 mL、提取时间 70 min 条件下,正己烷与乙酸乙酯体积比分别为 4 : 6、5 : 5、6 : 4、7 : 3、8 : 2 进行单因素试验,结果如图 1 所示。由图 1 可知,随着正己烷比例的提高,提取率先升后降,当正己烷 : 乙酸乙酯的体积比为 7 : 3 时,提取率最高。这个比值下提取剂的极性可能和南极磷虾粗虾油的极性最接近。正己烷作为非极性溶剂有利于游离态脂类的浸出,乙酸乙酯作为极性溶剂可以破坏脂类与其他分子的结合,随着极性溶剂量的减少,其作用力下降,游离出来的脂类减少,这可能是比值大于 7 : 3 时提取率降低的原因,所以 7 : 3 为最佳混合比。

2.1.2 料液比对南极磷虾油提取率的影响 在冻藏温度 -50 ℃、干燥温度为 90 ℃、提取剂比例:正己烷 + 乙酸乙酯混合比为 7 : 3、提取时间为 70 min 条件下,选择料液比分别

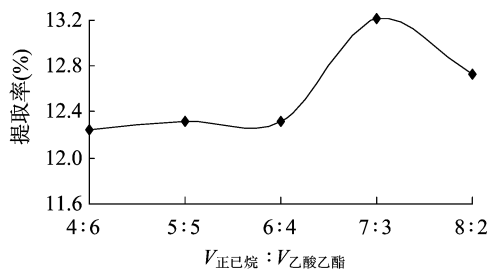


图1 提取剂比例对南极磷虾油提取率的影响

为 1 g : 4 mL、1 g : 5 mL、1 g : 6 mL、1 g : 7 mL、1 g : 8 mL 进行单因素试验,结果如图 2 所示。由图 2 可知,随着料液比的减小,南极磷虾油的提取率逐渐增大,但当料液比达到 1 g : 6 mL 后提取率升高速率变慢,当料液比小于 1 : 7 时,南极磷虾油提取率呈下降趋势,这可能是由于提取剂比例过大,在旋转蒸发阶段损失的虾油较多造成的。因此,宜选择 1 g : 7 mL 为最佳料液比。

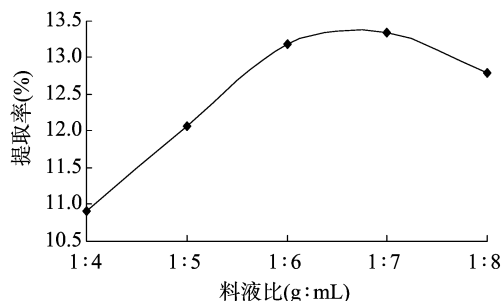


图2 料液比对南极磷虾油提取率的影响

2.1.3 冻藏温度对南极磷虾油提取率的影响 在干燥温度为 90 ℃、提取剂正己烷与乙酸乙酯体积比为 7 g : 3 mL、料液比为 1 : 7,提取时间为 70 min 条件下,选择冻藏温度为 -18、-20、-25、-30、-50 ℃,进行单因素试验,结果如图 3 所示。由图 3 可知,随着冻藏温度逐渐降低,南极磷虾油的提取率逐渐上升,在 -18 ~ -25 ℃冻藏区间,曲线较为平缓,当冻藏温度达到 -30 ℃之后,曲线上升明显,说明冻藏温度对虾油提取影响较大,温度越低虾油提取率越高。

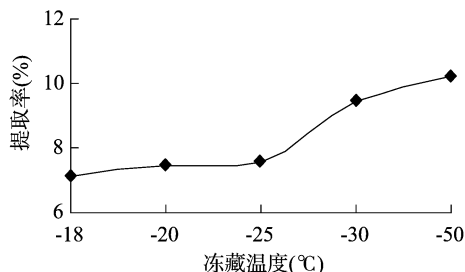


图3 冻藏温度对南极磷虾油提取率的影响

2.1.4 干燥温度对南极磷虾油提取率的影响 在冻藏温度为 -50 ℃、提取剂正己烷与乙酸乙酯体积比为 7 : 3、料液比为 1 g : 7 mL,提取时间为 50 min 条件下,选择干燥温度为 50、60、70、80、90 ℃,进行单因素试验,结果如图 4 所示。由图 4 可知,随着干燥温度的增加,南极磷虾油提取率呈先上升后下降趋势,当干燥温度为 60 ℃时,提取率最高,当干燥温度低于 60 ℃时,需要干燥的时间较长,损失虾油;当干燥温度大

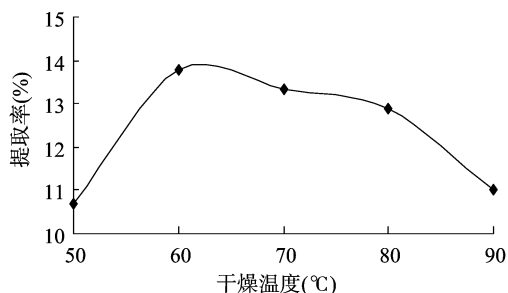


图4 干燥温度对南极磷虾油提取率的影响

于 60 ℃ 时,破坏了虾油的极性,导致虾油提取率下降。说明 60 ℃ 是最佳的干燥温度。

2.1.5 提取时间对南极磷虾油提取率的影响 控制冻藏温度为 -50 ℃、提取剂正己烷与乙酸乙酯体积比为 7 g : 3 mL、料液比为 1 : 7、干燥温度 80 ℃,选择提取时间分别为 30、50、70、90、110 min,进行单因素试验,结果如图 5 所示。随着提取时间增加,南极磷虾油的提取率呈上升趋势,当提取时间达到 70 min 时,随着时间的延长,虾油提取率变化不明显,说明 70 min 为最佳提取时间。

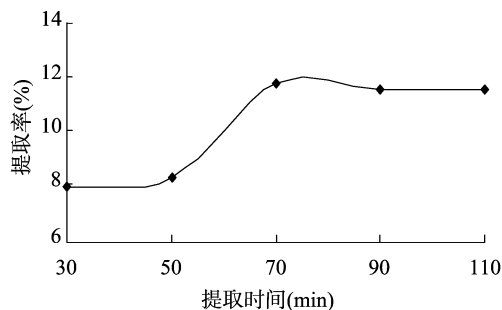


图5 提取时间对南极磷虾油提取率的影响

2.2 响应曲面优化试验

2.2.1 模型的建立及显著性检验 通过单因素试验,控制提取剂正己烷与乙酸乙酯体积比为 7 : 3,固定提取时间为 70 min。利用 Design Expert 7.0 程序进行处理分析(表 2、表 3)。利用 Design Expert 7.0 软件对数据进行二次多元回归,拟合南极磷虾油提取工艺方程: $Y = 13.734 - 0.39625A + 0.0775B + 0.14625C + 0.045AB + 0.1125AC - 0.24BC - 0.68325A^2 - 0.25575B^2 - 0.49325C^2$ 。

回归方程中各变量的显著性程度由 F 来判断, P 越小,则相应变量的显著性越高,二次回归模型的 F 为 2.830, $P < 0.05$,说明该模型显著;失拟项 $P > 0.05$,表明失拟不显著。利用 SAS 软件进行分析,计算得出南极磷虾油提取率最高时的条件:冻藏温度为 -38.5 ℃、料液比为 1 g : 6.7 mL、干燥温度为 66.8 ℃,最大得率为 13.76%。

2.2.2 响应面分析 利用 Design Expert 7.0 软件对数据进行二次多元回归拟合,所得到的二次回归方程的响应曲面见图 6。由图 6 可知,响应面曲线呈现先增高后降低趋势,各个响应面等高线都为椭圆形,说明冻藏温度和干燥温度,干燥温度和料液比,料液比和冻藏温度两两之间交互作用明显,都对南极磷虾的提取率有影响。

2.3 模型验证

对模型进行验证,选择冻藏温度 -38.5 ℃、料液比

表 2 南极磷虾油提取工艺的响应面分析试验结果

试验号	A	B	C	南极磷虾油提取率 Y (%)
1	0	-1	-1	11.92
2	1	1	0	12.23
3	-1	1	0	12.96
4	1	0	1	12.11
5	0	-1	1	13.34
6	0	0	0	13.75
7	-1	0	1	12.65
8	-1	0	-1	13.23
9	-1	-1	0	13.45
10	0	0	0	13.81
11	0	1	-1	13.11
12	0	0	0	13.76
13	0	1	1	13.57
14	1	0	-1	12.24
15	1	-1	0	12.54
16	0	0	0	13.68
17	0	0	0	13.67

表 3 南极磷虾油提取工艺的回归方程的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值
模型	5.349 205	9	0.594 356	2.830 662	0.042 0
A	1.256 113	1	1.256 113	5.982 322	0.044 4
B	0.048 05	1	0.048 05	0.228 841	0.647 0
C	0.171 113	1	0.171 113	0.814 935	0.396 7
AB	0.008 100	1	0.008 100	0.038 577	0.849 9
AC	0.050 625	1	0.050 625	0.241 105	0.638 4
BC	0.230 400	1	0.230 400	1.097 296	0.329 7
A ²	1.965 602	1	1.965 602	9.361 317	0.018 3
B ²	0.275 402	1	0.275 402	1.311 623	0.289 7
C ²	1.024 402	1	1.024 402	4.878 787	0.062 9
残基	1.469 795	7	0.209 971		
缺失项	1.456 075	3	0.485 358	141.503 9	0.100 2
纯误差	0.013 72	4	0.003 43		
总误差	6.819	16			

1 g : 6.7 mL、干燥温度是 66.8 ℃,该条件下 3 次验证试验得到的南极磷虾粗虾油得率分别为 13.67%、13.72%、13.75%,平均值为 13.71%,偏差不大,证明该结果合理可靠。

3 结论

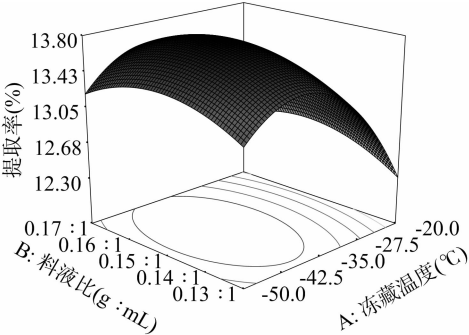
本研究表明,响应面法能够有效地优化南极磷虾中虾油的浸提条件,南极磷虾粗虾油得率最高的提取条件是冻藏温度为 -38.5 ℃、料液比为 1 g : 6.7 mL、干燥温度是 66.8 ℃。该条件下得到的南极磷虾粗虾油的得率为 13.71%。

参考文献:

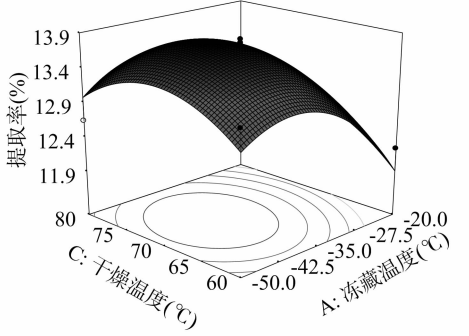
[1] 陈雪忠,徐兆礼,黄洪亮. 南极磷虾资源利用现状与中国的开发策略分析[J]. 中国水产科学,2009,16(3):451-458.

[2] Gigliotti J C,Davenport M P,Beamer S K,et al. Extraction and characterisation of lipids from Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Food Chemistry,2011,125(3):1028-1036.

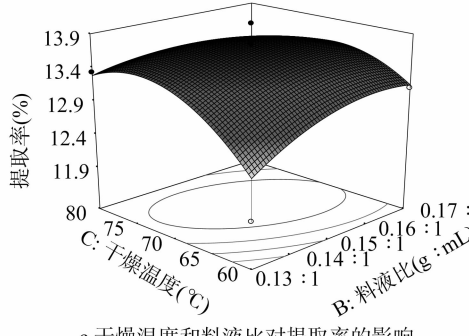
[3] Phleger C F , Nelson M M , Mooney B D , et al . Interannual and between species comparison of the lipids , fatty acids and sterols of



a.料液比和冻藏温度对提取率的影响



b.干燥温度和冻藏温度对提取率的影响



c.干燥温度和料液比对提取率的影响

图6 两两因素交互作用对南极磷虾油提取率影响

Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology,2002,131(4):733-747.

[4] Bottino N R. Lipid composition of two species of Antarctic krill: *Euphausia superba* and *E. crystallorophias* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology B: Comparative Biochemistry,1975,50(3):479-484.

[5] Bustos R,Romo L,Yez K, et al. Oxidative stability of carotenoid pigments and polyunsaturated fatty acids in microparticulate diets containing krill oil for nutrition of Marine fish larvae[J]. Journal of Food Engineering,2003,56:289-293.

[6] Duan J Y,Jiang Y,Cherian G,et al. Effect of combined chitosan - krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold - stored lingcod (*Ophiodon elongates*) filets[J]. Food Chemistry,2010,122(4):1035-1042.

[7] 施佳慧,吕桂善,徐同成,等. 磷虾油的脂肪酸成分及其降血脂功能研究[J]. 营养学报,2008,30(1):115-116.

[8] Tandy S,Chung R W,Wat E,et al. Dietary krill oil supplementation reduces hepatic steatosis, glycemia, and hypercholesterolemia in high - fat - fed mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2009,57(19):9339-9345.