

响应面法优化超临界 CO₂ 流体萃取苹果籽油的工艺研究

陈芹芹, 李景明, 胡雪芳, 姜 莎, 石宝霞, 倪元颖*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 利用超临界 CO₂ 萃取技术提取苹果籽油。通过单因素试验选取萃取压力、萃取温度和时间作为 Box-Behnken 设计的变量, 利用响应面法分析得到超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的优化工艺条件。结果表明: 超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的适宜工艺参数为萃取压力 41MPa、萃取温度 56℃、萃取时间 110min、CO₂ 流量 1.8ml/min、物料粉碎度 60 目, 在此条件下, 苹果籽油提取率达到 24.36%。

关键词: 超临界 CO₂ 萃取; 优化; 苹果籽油; 响应面法

Optimization of Supercritical CO₂ Fluid Extraction of Apple Seed Oil Using Response Surface Methodology

CHEN Qin-qin, LI Jing-ming, HU Xue-fang, JIANG Sha, SHI Bao-xia, NI Yuan-ying*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: One-factor-at-a-time (OFAT) experiments were conducted to analyze five factors affecting extraction yield of apple seed oil including grinding granularity of apple seeds, extraction pressure, duration and temperature. Based on the experimental results obtained, the influences of three key factors including extraction pressure, duration and temperature and their interactions on enzyme hydrolysis were evaluated by response surface methodology. The optimal levels for each variable to obtain the highest extraction yield of apple seed oil were as follows: pressure 41 MPa, temperature 56 °C, and duration 110 min. Under such conditions as well as grinding granularity of material 60 mesh and CO₂ flow rate 1.8 ml/min, the extraction yield of apple seed oil reached 24.36%.

Key words: supercritical CO₂ fluid extraction; optimization; apple seeds oil; response surface methodology

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0047-05

我国的苹果资源丰富, 2007 年产量达 2500 万吨。自 1992 年起, 我国的苹果产量已居世界首位, 现在年产量占世界总产量的 40% 以上^[1]。近年来苹果加工业飞速发展, 形成了我国规模宏大的苹果产业化格局。但与此同时, 苹果加工业的崛起又不可避免地产生连年增多的苹果残渣。长期以来, 苹果籽和果渣一起作为废渣抛弃。由于废苹果渣含水量大, 含酸度高, 因此腐败变质特别快, 对环境产生严重的污染, 同时资源遭到严重的浪费^[2]。目前, 苹果籽资源还未引起人们足够的重视, 资源优势并未转化为产品优势和经济优势。国内外对苹果籽及苹果籽油特性的研究刚起步。苹果籽油中油脂含量达 22%~28%, 其中不饱和脂肪酸含量达

90% 左右, 是一种优质的功能油脂, 具有较好的开发利用前景。

超临界流体萃取是近三十年来发展较快的新一代化工分离技术。处于临界点附近的超临界流体对溶质具有极高的溶解能力, 而且温度或压力的微小变化就可极大的改变超临界流体对溶质的溶解度, 从而达到选择性地萃取、分离化合物的目的。因此, 通过变化温度或压力, 超临界流体充当着多种溶剂的角色^[3]。超临界流体萃取已应用于鱼油^[4]、蛋黄油^[5]等动物油脂及茴香、籽粒苋籽、芹菜籽、肉豆蔻、月见草油、小麦胚芽油、沙棘油、南瓜籽油、大蒜油^[6-14]等植物油脂的提取。目前利用超临界萃取苹果籽油仅见杨继红^[15]、葛含静^[16]等

收稿日期: 2008-10-17

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A13)

作者简介: 陈芹芹(1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物提取及功能食品开发。E-mail: lelerylc@yahoo.cn

* 通讯作者: 倪元颖(1960—), 女, 教授, 硕士, 研究方向为果蔬加工、天然产物提取和功能食品开发。

E-mail: niyuanyu@163.com

有研究报道。

本实验拟以超临界 CO₂ 流体萃取为手段, 选择 Box-Behnken 设计和响应曲面(RSM)分析方法, 研究萃取压力、萃取温度、萃取时间等因素对苹果籽油得率的影响以及他们之间的交互作用, 从而确定超临界萃取苹果籽油的适宜工艺, 以期苹果籽资源的深加工利用提供基础研究。

1 材料与方

1.1 材料、试剂与仪器

富士和秦冠混合苹果籽, 由烟台北方安得利果汁股份有限公司榨汁后的苹果皮渣中分选, 热风干燥后备用, 含水量为 5.86%。

CO₂(纯度>99.999%) 北京氦禾玉有限公司; 正己烷(分析纯) 北京蓝弋化工公司。

ISCO-100DX 超临界萃取设备; Sartorius BP221S 电子天平; W K X 高速粉碎机。

1.2 方法

1.2.1 超临界萃取苹果籽油的工艺流程

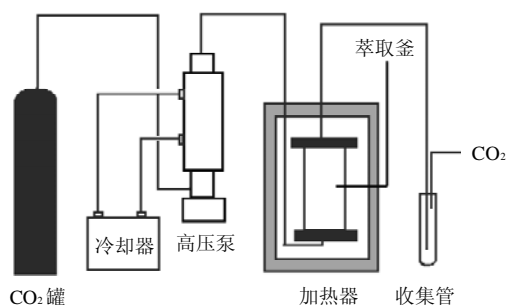


图1 ISCO-100DX 超临界流体萃取设备流程图

Fig.1 ISCO-100DX Supercritical fluids extraction equipment flow chart

萃取设备流程图^[17]见图1。超临界萃取工艺流程如下:

苹果籽→除杂→粉碎→过筛→装料→超临界萃取→减压分离→苹果籽油

1.2.2 超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的适宜提取工艺确定

1.2.2.1 单因素试验

粒度采用 30、40、50、60 目四个水平, 萃取压力采用 25、30、35、40、45MPa 五个水平, 萃取时间采用 30、60、90、120min 四个水平, 萃取温度采用 35、40、45、50、55℃五个水平分别进行单因素试验, CO₂ 流量为 1.8ml/min。

1.2.2.2 多因素试验

在 1.2.2.1 节单因素试验的基础上, 选取萃取压力、萃取时间、萃取温度进行多因素优化试验。参照文献报道^[18-20], 多因素试验采用 Box-Behnken 设计, 利用响

应曲面法进行分析优化。

1.2.2.3 验证实验

对响应曲面分析得到的优化条件进行验证实验, 实验平行三次, 计算苹果籽油的平均萃取得率。

$$\text{超临界萃取苹果籽油得率(\%)} = \frac{(m_e + m_o) - (m_e + m_i)}{m_o} \times 100$$

式中: m_e 为萃取釜的质量(g); m_o 为萃取前苹果籽粉的质量(g); m_i 为超临界萃取后的苹果籽粉质量(g)。

1.2.3 索式提取苹果籽油

根据国标 GB/T 5009.6—1985 方法, 本实验采用的提取溶剂为正己烷^[21-23], 提取温度为 85℃, 索式抽提时间为 8h, 得到的苹果籽油经真空干燥至恒重, 平行提取三次, 计算平均提取得率。

$$\text{索式提取苹果籽油的得率(\%)} = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

式中: m_1 为索式提取的苹果籽油的质量; m_0 为苹果籽粉的质量。

2 结果与分析

2.1 超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的适宜提取工艺

2.1.1 单因素试验

2.1.1.1 粒度对苹果籽油得率的影响

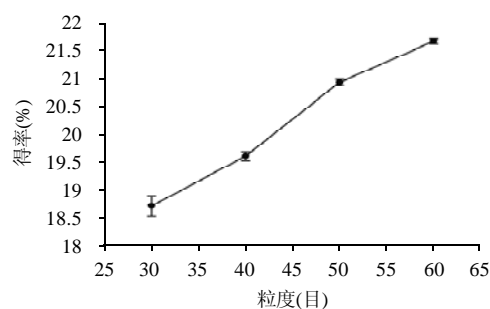


图2 粒度对苹果籽油得率的影响

Fig.2 Effects of grinding granularity on yield of apple seed oil

如图2所示, 苹果籽油的得率随着粒度的目数的增加而升高。从理论上讲, 原料粒度越小, 萃取速度越快。粒度越小, 物料与超临界 CO₂ 接触的比表面积就越大, 利于 CO₂ 向物料内部迁移, 从而增强了传质效果, 利于萃取。但粒度过小会增加表面流动阻力, 甚至产生沟流现象, 反而不利于萃取^[24]。在实际的生产操作过程中, 由于苹果籽油含油量较高, 随着粉碎的目数增加, 粉碎难度也随之增加, 对原料的处理破碎度较难高于 60 目。从工业生产的实际情况以及经济性

的角度考虑, 结合试验结果选用 60 目粉碎度为宜。

2.1.1.2 萃取压力对苹果籽油得率的影响

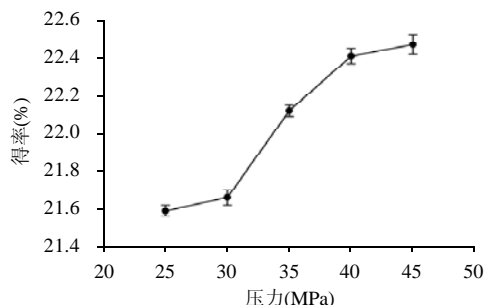


图3 萃取压力对苹果籽油得率的影响

Fig.3 Effects of extraction pressure on yield of apple seed oil

如图3所示, 苹果籽油得率随着压力的增加而升高。萃取压力是影响超临界CO₂密度的重要参数。温度一定时, 随着萃取压力增加, 超临界CO₂的密度增加, 从而使CO₂的溶解能力增加; 但压力达到40MPa时, 继续增加压力, CO₂的溶解度增加缓慢; 从经济角度来看, 高压会增加设备投资和操作费用; 从安全角度看, 高压设备存在一定的安全隐患。所以萃取压力并非越高越好。且40、45MPa之间差异不显著。综合考虑, 萃取压力选取40MPa为宜。

2.1.1.3 萃取时间对苹果籽油得率的影响

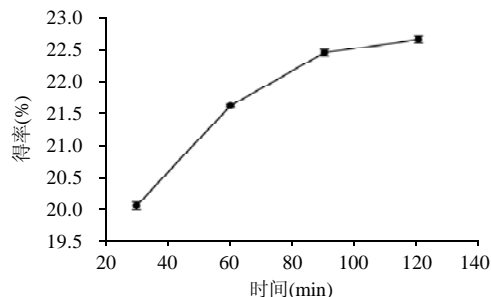


图4 萃取时间对苹果籽油得率的影响

Fig.4 Effects of extraction duration on yield of apple seeds oil

由图4可知, 萃取率随着萃取时间的延长而增加, 当时间大于90min时, 萃取率的增加明显缓慢。由多重比较可知, 90、120min之间差异不显著, 萃取时间选取90min为宜。

2.1.1.4 萃取温度对苹果籽油得率的影响

萃取温度对萃取率的影响比较复杂。在压力较低时, 萃取率随着温度的上升而降低; 在高压区域时, 萃取率随着温度的升高而升高^[25]。实验中压力选在40MPa, 从图5中的变化趋势可知, 萃取率随着萃取温度的增加而增加, 但随着温度的提高萃取率增加的速率

逐渐减慢。由于50℃与55℃之间差异不显著, 萃取温度选50℃为宜。

2.1.2 多因素试验

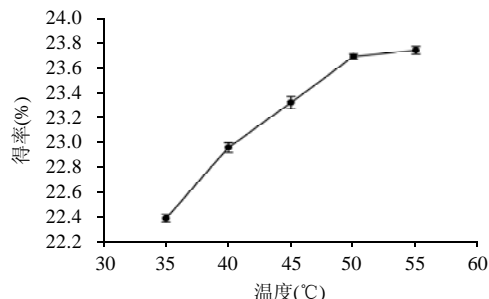


图5 萃取温度对苹果籽油得率的影响

Fig.5 Effect of extraction temperature on yield of apple seeds oil

多因素试验设计采用Box-Behnken设计, 试验方案及结果见表1。

表1 Box-Behnken试验方案及结果

Table 1 Process variables and levels in the three-variable and three-level response surface central composition design arrangement as well as the results

试验号	x ₁ (MPa)	x ₂ (°C)	x ₃ (min)	X ₁	X ₂	X ₃	得率(%)
1	35	40	90	-1	-1	0	21.28
2	35	60	90	-1	1	0	23.56
3	45	40	90	1	-1	0	22.43
4	45	60	90	1	1	0	24.04
5	35	50	60	-1	0	-1	22.15
6	35	50	120	-1	0	1	23.15
7	45	50	60	1	0	-1	22.70
8	45	50	120	1	0	1	23.90
9	40	40	60	0	-1	-1	21.82
10	40	40	120	0	-1	1	23.00
11	40	60	60	0	1	-1	23.18
12	40	60	120	0	1	1	24.06
13	40	50	90	0	0	0	23.28
14	40	50	90	0	0	0	23.31
15	40	50	90	0	0	0	23.48

注: X₁、X₂、X₃分别为压力x₁、温度x₂、时间x₃的编码值。实验是随机进行的。X₁=(x₁-45)/5, X₂=(x₂-50)/10, X₃=(x₃-90)/30。

实验方案的15个试验点中包括12个析因点(1~12)及3个中心点(13~15), 中心点重复的目的是估计整个试验的纯试验误差^[26]。以苹果籽油的得率Y作为响应面分析的响应值。对应Y建立如下的拟合方程:

$$Y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_{11}X_1^2 + A_{12}X_1X_2 + A_{13}X_1X_3 + A_{22}X_2^2 + A_{23}X_2X_3 + A_{33}X_3^2$$

式中: Y为响应值; A₀为截距项; A₁、A₂、A₃为一次项系数; A₁₁、A₂₂、A₃₃是平方项系数; A₁₂、A₁₃、A₂₃为交互项系数。方程的准确性通过多元回归系数R²及修正的多元回归系数(R²_{adj})检验。统计软件是采用国际上认可的SAS统计分析软件。回归方程系数的

显著性分析见表2。

表2 二次多项式回归方程系数的显著性分析

Table 2 Significance analysis for coefficients of a full second-order polynomial equation obtained based on the data shown in table 1

系数	估计值	概率值	显著性
A'_0	-16.941250	0.1865	
A'_1	1.121417	0.008789	**
A'_2	0.479958	0.000288	**
A'_3	0.036333	0.001773	**
A'_{11}	-0.011383	0.07928	
A'_{12}	-0.00335	0.235925	
A'_{13}	0.000333	0.704312	
A'_{22}	-0.002446	0.117485	
A'_{23}	-0.000250	0.572839	
A'_{33}	-0.000108	0.487093	

注：表2中系数均为实际值方程系数。

得到二次多项式方程如下：

$$Y = -16.941250 + 1.121417x_1 + 0.479958x_2 + 0.036333x_3^2 - 0.011383x_1^2 - 0.00335x_1x_2 + 0.000333x_1x_3 - 0.002446x_2^2 - 0.000250x_2x_3 - 0.000108x_3^2, \text{ 其中二次多项式的 } R^2 = 96.662\%, R^2_{\text{Adj}} = 90.653\%。$$

由表2可知，截距项的影响不显著，去掉截距项以优化模型。优化后的模型的回归系数的显著性分析见表3，优化后的二次多项式方程的模型的方差分析结果见表4。

优化后的多元二次多项式为：

$$Y = 0.51416x_1 + 0.33189x_2 + 0.01014x_3 - 0.00527x_1^2 - 0.00164x_1x_2 + 0.000675x_1x_3 - 0.00175x_2^2 - 0.00143x_2x_3 - 0.000687x_3^2, \text{ 其中二次多项式的 } R^2 = 99.994\%, R^2_{\text{Adj}} = 99.978\%。$$

优化后模型的 R^2 比优化前明显提高；压力、温度、时间及压力和温度的交互作用对萃取率的影响都达到了极显著的水平。

表3 修正的二次多项式的回归系数的显著性分析

Table 3 Significance analysis for coefficients of the adjusted second-order polynomial equation

系数	估计值	概率值	显著性
A'_1	0.51416	<0.0001	**
A'_2	0.33189	<0.0001	**
A'_3	0.01014	<0.0001	**
A'_{12}	-0.00164	<0.0001	**
A'_{13}	0.000675	0.7016	
A'_{23}	-0.00143	0.3825	
A'_{11}	-0.00527	0.0888	
A'_{22}	-0.00175	0.2417	
A'_{33}	-0.000687	0.6763	

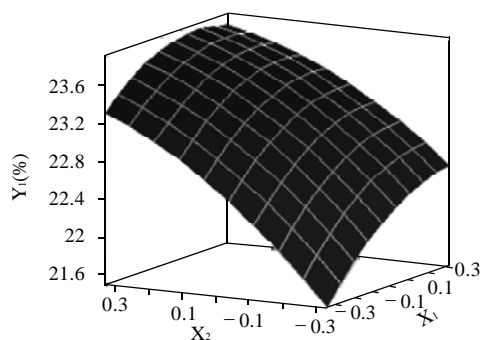
利用RSM图可以更直观的看出最佳点及参数间的交互作用。从图5~7中可以看出萃取压力、温度、时间对萃取率的影响很显著，且压力和温度的交互作用明显。由统计软件及RSM的立体图得到苹果籽油得率的

极值出现在压力41MPa，温度56℃，时间110min附近。

表4 方差分析表

Table 4 Analysis of variance for the adjusted second-order polynomial equation

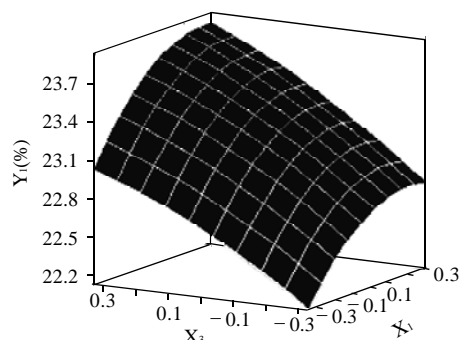
来源	自由度	离差平方和	均方	F值	概率
模型	9	7959.462461	884.384718	11679.2	<0.0001
误差	6	0.454339	0.075723		
总模型	15	7959.916800			



萃取时间为90min。

图5 萃取压力和萃取温度的响应面图

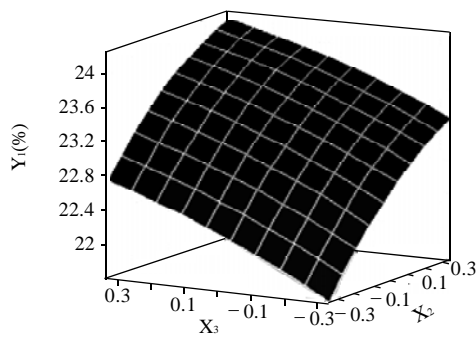
Fig.5 Response surface plot showing the effects of pressure, temperature and their interaction on yield of apple seeds oil (duration = 90 min)



萃取温度为50℃。

图6 萃取压力和萃取时间的响应面图

Fig.6 Response surface plot showing the effects of pressure and duration on yield of apple seeds oil (temperature = 50 °C)



萃取压力为40MPa。

图7 萃取温度和萃取时间的响应面图

Fig.7 Response surface plot showing the effects of temperature and duration on yield of apple seeds oil (pressure = 40 MPa)

2.1.3 验证实验

表5 验证实验条件和结果

Table 5 Actual and predicted yield of apple seed oil under optimized extraction conditions

优化条件	编码水平	实际值
萃取压力	0.261	41MPa
萃取温度	0.681	56℃
萃取时间	0.684	110min
苹果籽油得率(%)	24.12(预测值)	24.36 ± 0.05(实际值)

按实验优化条件进行验证实验(表5)得到的苹果籽油平均得率为24.36%，接近且略高于由SAS软件分析得到的预测值24.12%。由此证明实验模式合理，实验结果理想。

2.2 超临界萃取法与索式提取法相比

采用超临界萃取和索式提取苹果籽油的提取条件、得率及色泽的比较如表6所示。用超临界萃取苹果籽油的得率可达24.36%，接近索式提取法的得率24.76%，说明超临界萃取的提取率较高。

表6 超临界萃取法和索式提取法的比较

Table 6 Comparison of extraction of apple seed oil by supercritical CO₂ fluid extraction and Soxhlet extraction method

提取方式	超临界萃取	索式提取
提取溶剂	超临界 CO ₂	正己烷
提取温度(℃)	56	85
提取时间(min)	110	480
颜色	浅且透明	深且有轻微浑浊
苹果籽油得率(%)	24.36	24.76

3 结论与讨论

将萃取压力、萃取温度和萃取时间作为 Box-Behnken 设计的变量，通过响应面分析的结果表明：萃取压力、萃取温度、萃取时间对苹果籽油得率的影响均达到了极显著的水平；且萃取压力和萃取温度有明显的交互作用($p < 0.0001$)。超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的最佳工艺为：萃取压力 41MPa，萃取温度 56℃，萃取时间 110min。超临界 CO₂ 萃取苹果籽油的优化数学模型是： $Y = 0.51416x_1 + 0.33189x_2 + 0.01014x_3 - 0.00527x_1^2 - 0.00164x_1x_2 + 0.000675x_1x_3 - 0.00175x_2^2 - 0.00143x_2x_3 - 0.00687x_3^2$ ，此模型在实验范围内可以准确测定苹果籽油的得率。

超临界萃取得到的苹果籽油具有无溶剂残留、无污染、省去了常规分离的去除溶剂的步骤、提取时间短、操作工艺简单、萃取剂无毒且易回收、所得油脂色泽浅、品质高等优点^[27]。尽管高压设备比常规的分离设备价格更贵一些，但生产操作的能耗低，在最佳的超临界萃取工艺及足够的萃取釜体积的条件下，超临界萃取和常规分离设备的总体消耗相差不大^[9]。因此，利用超临界流体萃取技术提取苹果籽油的工艺是完全可行的，有望在实际生产中替代传统的有机溶剂萃取。

参考文献：

- [1] 叶兴乾. 果品蔬菜加工工艺学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 232.
- [2] 李锡钧. 苹果皮渣的综合利用[J]. 包装与食品机械, 2001, 19(3): 32.
- [3] 赵亚平, 胡成一, 万国存. 超临界 CO₂ 流体萃取的原理及应用[J]. 贵州化工, 1994(2): 2-7.
- [4] HIERRO M T G, SANTA-MARIA G. Supercritical fluid extraction of vegetable and animal fats with CO₂—A mini review[J]. Food Chemistry, 1992, 45: 189-192.
- [5] 吴卫泽, 崔欣欣, 武练增. 超临界二氧化碳萃取蛋黄油的研究[J]. 日用化学工业, 1999(2): 13-16.
- [6] SIMANDI B, DEAK A, RONYAI E, et al. Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of fennel oil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(4): 1635-1640.
- [7] BRUNI R, GUERRINI A, SCALIARAPID S, et al. Techniques for the extraction of vitamin E isomers from *Amaranthus caudatus* seeds: ultrasonic and supercritical fluid extraction[J]. Phytochemical Analysis, 2002, 13: 257-261.
- [8] PAPAMICHAIL I, LOULI V, MAGOULAS K. Supercritical fluid extraction of celery seed oil[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2000, 18: 213-226.
- [9] MACHMUDAH S, SULASWATTY A, SASAKI M, et al. Supercritical CO₂ extraction of nutmeg oil: Experiments and modeling[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2006, 39: 30-39.
- [10] 孙爱东, 尹卓容, 蔡同一, 等. CO₂ 超临界萃取技术提取月苋草油的工艺研究[J]. 中国油脂, 1998, 23(5): 40-42.
- [11] 刘崇义, 钟民, 沈忠耀. 超临界二氧化碳提取小麦胚芽油的工艺研究[J]. 食品科学, 1994(3): 14-17.
- [12] 李娟, 周晨. 超临界二氧化碳萃取沙棘籽油的化学成分分析[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(1): 19-20.
- [13] 李全宏, 倪元颖, 闫红, 等. 超临界 CO₂ 流体萃取南瓜籽油的质量研究[J]. 食品科学, 2002, 23(5): 74-78.
- [14] 梁兵, 田景洲, 修国华, 等. 用超临界 CO₂ 流体萃取大蒜油的研究[J]. 辽宁化工, 2001, 30(4): 142-143.
- [15] 杨继红, 李元瑞, 刘拉平. 苹果籽油的超临界萃取试验研究[J]. 粮食加工与食品机械, 2006(7): 47-50.
- [16] 葛含静. 苹果籽油提取、理化性质测定以及脂肪酸分析研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2006.
- [17] 葛毅强, 孙爱东, 倪元颖, 等. 麦胚中天然维生素 E 的 SFE-CO₂ 最佳提取工艺的研究[J]. 中国油脂, 2001, 26(5): 52-56.
- [18] OZKAL S G, YENER M E, BAYINDIRLI L. Response surfaces of apricot kernel oil yield in supercritical carbon dioxide[J]. Food Science and Technology, 2005, 38: 611-616.
- [19] SONSUZER S, SAHIN S, YILMAZ L. Optimization of supercritical CO₂ extraction of *Thymbra spicata* oil[J]. Journal of Supercritical Fluid, 2004, 30: 189-199.
- [20] 孔倩, 王了, 张凡华, 等. 南瓜渣中木葡聚糖的提取工艺优化[J]. 食品工业科技, 2007, 28(5): 132-135.
- [21] YIB J Z, WANG A Q, WWEI W, et al. Analysis of the operation conditions for supercritical fluid extraction of seed oil[J]. Separation and Purification Technology, 2005, 43: 163-167.
- [22] OZKAL S G, SALGN U, YENER M E. Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 69: 217-223.
- [23] BHATTACHARJEE P, SINGHAL R S, TIWARI S R. Supercritical carbon dioxide extraction of cottonseed oil[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79: 892-898.
- [24] 杨继红, 李元瑞, 蒋晶. 苹果籽油的超临界 CO₂ 萃取及其脂肪酸含量分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 195-199.
- [25] SALGIN U. Extraction of jojoba seed oil using supercritical CO₂+ ethanol mixture in green and high-tech separation process[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2007, 39: 330-337.
- [26] 蒙哥马利 D C. 实验设计与分析[M]. 汪仁宫, 陈荣昭, 译. 3版. 北京: 中国统计出版社, 1998: 621-622.
- [27] 袁美兰, 温辉梁, 傅升. 超临界流体萃取在油脂工业中的应用现状[J]. 西部粮油科技, 2003(6): 24-27.