

响应面法优化超临界二氧化碳 萃取蓝圆鲹鱼油工艺研究

杨小斌¹,周爱梅²,王爽²,曾荣华¹,罗明琍¹,许文东¹,袁诚¹

(1. 广州白云山汉方现代药业有限公司 中药提取分离过程现代化国家工程研究中心,广州 510240;

2. 华南农业大学 食品学院,广州 510642)

摘要:利用超临界二氧化碳萃取技术提取蓝圆鲹鱼油,采用单因素实验考察萃取温度、萃取压力及萃取时间对蓝圆鲹鱼油得率的影响,并采用响应面优化 Box - Behnken 设计优化萃取工艺。结果表明:最佳萃取工艺条件为萃取温度 49℃、萃取时间 140 min、萃取压力 20 MPa,在此条件下蓝圆鲹鱼油得率为 18.45%,提取率达 88.91%。蓝圆鲹鱼油经气相色谱 - 质谱法(GC - MS)分析鉴定出 17 种脂肪酸,不饱和脂肪酸含量为 55.70%,其中二十碳五烯酸(EPA)与二十二碳六烯酸(DHA)总含量为 16.64%。超临界二氧化碳萃取技术应用于蓝圆鲹鱼油的提取具有一定的理论价值和经济效益。

关键词:蓝圆鲹;鱼油;超临界;响应面;工艺

中图分类号:TS225.2;TS224 文献标识码:A 文章编号:1003 - 7969(2018)04 - 0007 - 05

Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of *Decapterus maruadsi* fish oil by response surface methodology

YANG Xiaobin¹, ZHOU Aimei², WANG Shuang², ZENG Ronghua¹,
LUO Mingli¹, XU Wendong¹, YUAN Cheng¹

(1. National Engineering Research Center for Modernization of Extraction and Separation Process of TCM, Guangzhou Baiyunshan Hanfang Pharmaceutical Limited Company, Guangzhou 510240, China;

2. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The *Decapterus maruadsi* fish oil was extracted by supercritical carbon dioxide extraction technology, and the effects of extraction temperature, extraction pressure and extraction time on the yield of *Decapterus maruadsi* fish oil were investigated by single factor experiment. And the optimization of extraction process was carried out by Box - Behnken design and response surface methodology. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: extraction temperature 49℃, extraction time 140 min and extraction pressure 20 MPa. Under the optimal conditions, the yield of *Decapterus maruadsi* fish oil was 18.45% and the extraction rate was 88.91%. Seventeen kinds of fatty acids

were identified from *Decapterus maruadsi* fish oil by gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS), and the content of unsaturated fatty acids was 55.70%, in which the total content of EPA and DHA was 16.64%. The application of supercritical carbon dioxide extraction technology in *Decapterus maruadsi* fish oil extraction had certain theoretical value and economic benefits.

Key words: *Decapterus maruadsi*; fish oil; supercritical; response surface methodology; process

收稿日期:2017 - 08 - 09;修回日期:2018 - 01 - 15

基金项目:广东省科学技术厅应用型科技研发专项资金项目(2015B020234001);广东省科技计划公益研究与能力建设专项(2015A020209099);广东省药用脂质重点实验室广州市科技计划项目(2016B030302003);产学研协同创新重大专项产学研协同创新联盟专题(201604046022)

作者简介:杨小斌(1992),男,硕士研究生,研究方向为食品化学与营养(E-mail) yangxb@byshf.com。

通信作者:周爱梅,教授,博士(E-mail) zhouam@scau.edu.com。

蓝圆鲹 (*Decapterus maruadsi*) 又称巴浪鱼、黄鲷、池鱼、刺巴鱼、池仔, 为鲈形目鲹科圆鲹属的一种。蓝圆鲹的生命周期短, 生长速度快, 广泛分布于太平洋和印度洋, 在我国主要分布在海南省东北部近海、海陵岛、珠江口、粤东碣石湾外近海、福建沿海和台湾浅滩南部^[1]。全世界蓝圆鲹年捕捞量超过 500 万 t, 其产量居世界所有单一捕捞种类的第三位, 在我国的产量达到 60 多万 t, 且常年均可捕捞, 是我国主要经济鱼类之一^[2]。蓝圆鲹肉质松软、肌肉色素及脂肪含量高, 而且蓝圆鲹的捕捞期主要集中在夏季, 鱼体离水后极易发生腐败氧化变质, 极大地限制了其加工利用^[3]。蓝圆鲹鱼油富含多不饱和脂肪酸, 特别是二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA), 具有多种生理功效^[4-5]。目前对蓝圆鲹脂质的研究很少, 缺乏综合利用。传统的低值鱼加工成鱼油的过程, 存在有效功能性成分损失较多, 鱼油品质差、溶剂残留等问题^[6]。因此, 选择安全、节能、绿色环保且高效的萃取技术应用于鱼油的生产, 获得高品质的鱼油极为重要。超临界流体萃取技术在油脂提取方面, 弥补了传统方法产率低、油脂易氧化酸败、溶剂残留等缺点^[7-8]。

本研究以蓝圆鲹为原料, 在单因素实验基础上采用响应面优化超临界二氧化碳萃取蓝圆鲹鱼油工艺, 同时对所得鱼油的脂肪酸组成进行分析, 旨在为超临界二氧化碳萃取技术提取高品质鱼油的生产应用提供理论基础和依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

蓝圆鲹, 购于广州天河区长湫生鲜市场, 烘干后粉碎, 低温贮藏、备用, 原料含油量为 (20.75 ± 0.56)%。乙醇等试剂均为市售分析纯。

BJ-400A 型中草药万能粉碎机; 7890 A-5975 C 型气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; LSC 智能水分测定仪; 101C-2 型电热鼓风干燥箱; FD-1DF 型真空冷冻干燥机。

1.2 实验方法

1.2.1 蓝圆鲹鱼油的萃取工艺

将一定粒度的原料装入萃取釜中, 对萃取釜、分离釜 I 和分离釜 II 分别加热, 并启动冷机制冷。当萃取釜、分离釜和冷机储罐温度都达到实验要求时, 从二氧化碳气瓶出来的二氧化碳经冷机储罐冷凝后, 通过高压泵打入萃取釜和两个分离釜。当萃取釜和分离釜的压力都达到实验设定值时, 开始循环萃取。一定时间后, 从分离釜 I 和分离釜 II 放料称重, 计算鱼油得率。

$$\text{鱼油得率} = \frac{\text{萃取所得鱼油质量}}{\text{原料质量}} \times 100\%$$

1.2.2 蓝圆鲹鱼油脂肪酸组成分析

1.2.2.1 脂肪酸甲酯化

称取 60 mg 油样置于具塞试管中, 用移液枪移取 4 mL 异辛烷溶解试样。加入 200 μL 氢氧化钾-甲醇溶液, 盖上玻璃塞涡旋振摇 30 s, 后静置至澄清。向溶液中加入约 1 g 硫酸氢钠, 猛烈振摇, 中和氢氧化钾。待盐沉淀后, 将含有甲酯的上层溶液倒入 4 mL 玻璃瓶中, 得到的异辛烷溶液中甲酯含量约为 15 mg/mL。过 0.22 μm 膜注入气相色谱-质谱仪中分析^[9]。

1.2.2.2 GC-MS 条件

GC 条件: HP-INNO-WAX 毛细管柱 (30 m × 0.32 mm × 0.5 μm); 载气为氦气, 柱流量 1.0 mL/min, 分流比 50:1, 进样量 1.0 μL; 升温条件为初始温度 100 °C, 保持 5 min, 然后以 10 °C/min 上升到 200 °C, 保持 10 min, 最后以 5 °C/min 上升到 280 °C, 保持 5 min。

MS 条件: EI 电离源, 电离能量 70 eV; 四极杆温度 150 °C, 进样口温度 230 °C, 离子源温度 280 °C; 质量扫描范围 (*m/z*) 50 ~ 550。

1.2.3 数据分析

实验中所有数据均为至少两次测定的平均值, 并计算标准偏差, 利用 Origin8.5 作图, 响应面优化采用 Design-Expert 8.0.6 分析处理。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 萃取温度对鱼油得率的影响

准确称取一定量的原料, 装进超临界二氧化碳流体萃取釜中, 固定萃取压力 19 MPa、萃取时间 120 min 条件下, 考察不同萃取温度对鱼油得率的影响。结果见图 1。

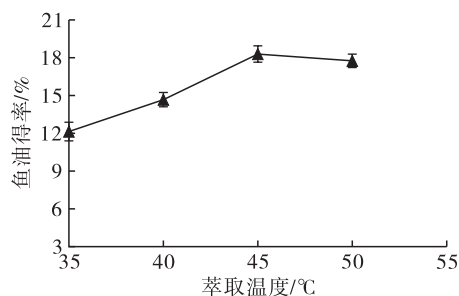


图 1 萃取温度对蓝圆鲹鱼油得率的影响

由图 1 可知, 在 35 ~ 45 °C 范围内, 随着萃取温度的升高, 鱼油得率增加显著 ($P < 0.05$)。这是由于升高温度会使溶质的溶出增强, 蒸气压升高, 扩散系数增大, 分子热运动加快, 分子间缔合的机会增

加,从而加快传质,有利于萃取^[10];当萃取温度高于45℃之后,鱼油得率随着萃取温度的升高而下降,这可能是二氧化碳密度降低所造成的溶解能力下降,同时杂质的溶解度相应增大,鱼油颜色变深、澄清度下降,说明温度升高后可能有更多的有色物质和水被萃取出来了,有可能造成某些成分的变性、分解或失效^[11]。因此,选择最佳萃取温度为45℃。

2.1.2 萃取压力对鱼油得率的影响

准确称取一定量的原料,装进超临界二氧化碳流体萃取釜中,固定萃取温度45℃、萃取时间120 min条件下,考察不同萃取压力对鱼油得率的影响。结果见图2。

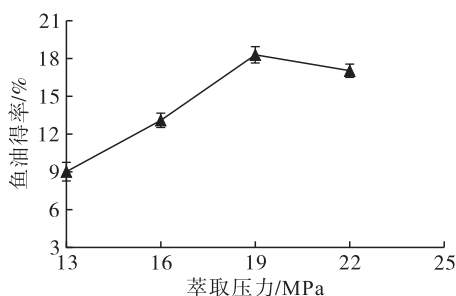


图2 萃取压力对蓝圆鲑鱼油得率的影响

由图2可知,在13~19 MPa范围内,随着萃取压力的升高,鱼油得率增加,这是因为在萃取温度、二氧化碳流量恒定时,萃取压力增大,超临界二氧化碳流体的密度随之增加,分子运动加剧,使之更加接近油脂内部分子间的作用能,提高了待分离组分的蒸气压和物料的扩散系数,使溶解能力提高,鱼油得率提高^[10,12]。当萃取压力超过19 MPa时,鱼油得率开始降低。因此,选择最佳萃取压力为19 MPa。

2.1.3 萃取时间对鱼油得率的影响

准确称取一定量的原料,装进超临界二氧化碳流体萃取釜中,固定萃取压力19 MPa、萃取温度45℃条件下,考察不同萃取时间对鱼油得率的影响。结果见图3。

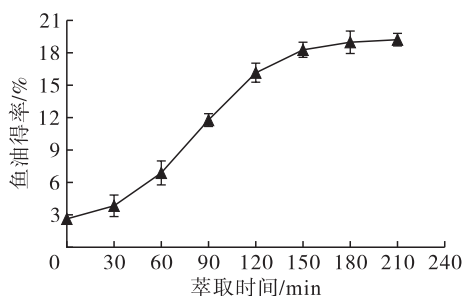


图3 萃取时间对蓝圆鲑鱼油得率的影响

由图3可知,在120 min内,随着萃取时间延长,鱼油得率增加显著($P < 0.05$);萃取120 min后,

鱼油得率增加幅度减少。因为萃取开始阶段主要萃取的有效成分在物料的表层,因而内扩散阻力较小。因此,开始阶段鱼油萃取速率相对较快。随着萃取过程的深入,内扩散阻力逐渐增大,有效成分的含量降低,因此鱼油得率随着萃取时间的延长增加幅度减少^[13]。而且150 min后继续萃取,随着萃取时间的延长,鱼油色泽加深,不利于鱼油品质^[12]。因此,为降低成本,提高设备效率,综合考虑选择最佳萃取时间为150 min。

2.2 响应面优化实验

2.2.1 实验设计及结果

在单因素实验的基础上,根据Box-Behnken中心组合设计原理,选择萃取温度(A)、萃取压力(B)、萃取时间(C)为自变量,以鱼油得率(Y)为响应值,采用Design-Expert 8.0.6软件设计三因素三水平的响应面分析实验,共17个实验点,其中12个为分析因子,5个为中心实验用以估计误差。响应面实验因素水平见表1,响应面实验设计及结果见表2,方差与显著性分析见表3。

表1 响应面实验因素水平

水平	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 萃取时间/min
-1	40	16	120
0	45	19	150
1	50	22	180

表2 响应面实验设计及结果

实验号	A	B	C	鱼油得率/%
1	-1	1	0	15.79 ± 0.25
2	0	1	1	17.91 ± 0.41
3	1	0	-1	17.24 ± 0.22
4	0	0	0	17.82 ± 0.37
5	1	-1	0	14.86 ± 0.48
6	0	-1	1	14.59 ± 0.17
7	-1	0	-1	14.12 ± 0.39
8	0	0	0	18.53 ± 0.51
9	-1	-1	0	12.62 ± 0.44
10	0	1	-1	16.32 ± 0.27
11	-1	0	1	16.37 ± 0.18
12	0	0	0	17.82 ± 0.36
13	1	1	0	17.91 ± 0.21
14	0	0	0	18.17 ± 0.40
15	1	0	1	17.65 ± 0.35
16	0	-1	-1	12.44 ± 0.58
17	0	0	0	18.12 ± 0.33

采用Design-Expert 8.0.6软件对表2中17个实验点的响应值进行多元回归拟合得到鱼油得率与萃取温度、萃取压力和萃取时间的二次多项回归方

程模型: $Y = -203.134 + 3.898A + 8.962B + 0.482C - 2.0 \times 10^{-3}AB - 3.06 \times 10^{-3}AC + 1.55 \times 10^{-3}BC - 0.035A^2 - 0.213B^2 - 9.594 \times 10^{-3}C^2$ 。

表3 方差与显著性分析

来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	62.06	9	6.90	78.77	<0.000 1
A	9.59	1	9.59	92.57	0.000 2
B	22.51	1	22.51	217.25	<0.000 1
C	5.12	1	5.12	49.41	0.000 9
AB	3.60E-003	1	3.60E-003	0.04	0.859 5
AC	0.85	1	0.85	8.17	0.035 5
BC	0.08	1	0.08	0.76	0.424 2
A ²	3.15	1	3.15	30.43	0.002 7
B ²	14.10	1	14.10	136.07	<0.000 1
C ²	3.02	1	3.02	29.13	0.002 9
残差	0.61	7	0.09		
失拟项	0.27	3	0.09	1.02	0.471 1
纯误差	0.25	2	0.13		
总和	56.82	14			

注: $P < 0.05$ 影响显著; $P < 0.01$ 影响极显著。

由表3可知,蓝圆鲈鱼油得率整体模型的 $P < 0.01$,因此模型因子具有极显著性意义。该模型的失拟项 $P > 0.05$,无显著性差异,说明模型可靠,能够很好地推测实验结果,可以用该回归方程模型来解释设计方案。在模型中A、B、C、A²、B²和C²是极显著性因子项($P < 0.01$);AC为显著性因子项($P < 0.05$);而AB、BC均无显著性差异($P > 0.05$),说明各因素对响应值不是简单的线性关系,而是呈二次关系。

2.2.2 验证实验

通过 Design - Expert 8.0.6 软件求解方程,系统预测得出蓝圆鲈鱼油超临界二氧化碳萃取的最佳工艺条件为:萃取温度 49.04℃,萃取时间 140.67 min,萃取压力 20.22 MPa。在最佳条件下,模型预测得到鱼油得率为 18.60%。考虑到实际操作因素,将上述优化条件修正为:萃取温度 49℃,萃取时间 140 min,萃取压力 20 MPa。在优化条件下蓝圆鲈鱼油得率为 18.45%,提取率达 88.91%。蓝圆鲈鱼油得率的实际值与理论预测值未发现显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 蓝圆鲈鱼油脂肪酸组成(见表4)

由表4可知,蓝圆鲈鱼油主要含有 C14 ~ C22 脂肪酸 17 种。蓝圆鲈鱼油中有 5 种饱和脂肪酸含量为 44.30%,其中十六烷酸(C16:0)含量最高,占 28.39%;不饱和脂肪酸 12 种,含量 55.70%,其中 5 种单不饱和脂肪酸含量占 33.19%,含量最高的是

油酸(C18:1)为 20.41%;多不饱和脂肪酸含量占 22.51%,主要是 EPA(C20:5)和 DHA(C22:6),含量分别为 5.78%和 10.86%,说明蓝圆鲈鱼油的脂肪酸组成比较齐全,营养价值较高。

表4 蓝圆鲈鱼油脂肪酸组成及相对含量

脂肪酸	相对含量/%
十四烷酸	5.01 ± 0.70
14-甲基十五烷酸	0.97 ± 0.01
9-十六碳烯酸	9.71 ± 0.23
十六烷酸	28.39 ± 0.81
7-甲基十六碳烯酸	1.09 ± 0.18
十七烷酸	1.31 ± 0.15
十八碳四烯酸	1.43 ± 0.06
9,12-十八碳二烯酸	0.90 ± 0.01
(Z)-9-十八碳烯酸	20.41 ± 0.67
十八烷酸	8.62 ± 0.35
5,8,11,14-二十碳四烯酸	0.95 ± 0.11
5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	5.78 ± 0.48
9,12,15-十八碳三烯酸	0.72 ± 0.03
11-二十碳烯酸	1.28 ± 0.35
二十二碳六烯酸	10.86 ± 0.47
7,10,13,16,19-二十二碳五烯酸	1.87 ± 0.08
18-甲基十九烯酸	0.70 ± 0.23

3 结论

在单因素实验基础上,通过 Design - Expert 8.0.6 软件,采用 Box - Behnken 实验设计法对超临界二氧化碳萃取蓝圆鲈鱼油工艺进行设计并优化。结果表明:萃取温度、萃取压力和萃取时间极显著影响鱼油得率($P < 0.01$),萃取温度和萃取时间的交互作用显著,但萃取压力与萃取温度、萃取时间的交互作用不显著;回归模型确定的最佳工艺条件为萃取温度 49℃、萃取时间 140 min、萃取压力 20 MPa,在此条件下蓝圆鲈鱼油得率为 18.45%,提取率达 88.91%。蓝圆鲈鱼油的得率实际值与理论预测值未发现显著性差异($P > 0.05$);超临界二氧化碳萃取的蓝圆鲈鱼油共检测到 17 种脂肪酸,不饱和脂肪酸含量为 55.70%,其中 DHA 和 EPA 总含量为 16.64%。

参考文献:

- [1] 蒋日进,徐汉祥,金海卫,等.东海蓝圆鲈的摄食习性[J].水产学报,2012(2):216-227.
- [2] 农业部渔业渔政管理局.中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2015.
- [3] JIANG H, TONG T, SSUN J, et al. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate[J]. Food Chem, 2014,154(7):158-163.

(下转第15页)

- fatty acid and distribution of sn-2 fatty acid in colostrum human milk [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2010, 31(5): 81-83.
- [4] 袁向华, 李琳, 李冰, 等. 婴儿配方奶粉中的油脂配料 [J]. *中国乳品工业*, 2009, 37(1): 50-53.
- [5] 梁峥, 胡雪芳, 赵航, 等. 分子蒸馏纯化姜精油工艺的响应面法优化 [J]. *食品科学*, 2010, 31(20): 67-71.
- [6] 杨颖, 施迎春. 分子蒸馏精制对葡萄柚精油理化性质及赋香性能的影响 [J]. *中国食品学报*, 2013, 13(3): 208-213.
- [7] 刘雷, 陈星, 吴琼, 等. 分子蒸馏法提取南瓜籽油脚中 V_E [J]. *食品科学*, 2012, 33(12): 24-27.
- [8] 乔国平, 王兴国. 分子蒸馏技术及其在油脂工业中应用 [J]. *粮食与油脂*, 2002(5): 25-27.
- [9] LIU N, WANG Y, ZHAO Q, et al. Production of palm oil-based diacylglycerol using Lecitase Ultra-catalyzed glycerolysis and molecular distillation [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2014, 23(2): 365-371.
- [10] XIONG Y, ZHAO Z, ZHU L, et al. Removal of three kinds of phthalates from sweet orange oil by molecular distillation [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2013, 53(2): 487-491.
- [11] FREGOLENTE L V, FREGOLENTE P B L, CHICUTA A M, et al. Effect of operating conditions on the concentration of monoglycerides using molecular distillation [J]. *Chem Eng Res Design*, 2007, 85(11): 1524-1528.
- [12] ZHENG P, XU Y, WANG W, et al. Production of diacylglycerol - mixture of regioisomers with high purity by two-step enzymatic reactions combined with molecular distillation [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2014, 91(2): 251-259.
- [13] FREGOLENTE P B L, PINTO G M F, WOLF - MACIEL M R, et al. Monoglyceride and diglyceride production through lipase-catalyzed glycerolysis and molecular distillation [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 160(7): 1879-1887.
- [14] 操丽丽, 姜绍通, 寿佳菲, 等. 两步酶法合成 MLM 型结构脂质中醇解反应研究 [J]. *食品科学*, 2012, 33(20): 65-68.
- [15] 覃小丽. 人乳脂替代品的制备及质量评价的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [16] 胡伟, 李湘洲, 吴志平. 分子蒸馏法分离油茶籽油油酸乙酯工艺研究 [J]. *中国油脂*, 2011, 36(8): 49-52.
- [17] ZOU X Q, JIN Q Z, GUO Z, et al. Preparation of human milk fat substitutes from basa catfish oil: combination of enzymatic acidolysis and modeled blending [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 118(11): 1702-1711.
- [18] 熊志琴. 母乳脂替代品的酶法制备及性质研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.
- [19] 姜绍通, 牛春详, 庞敏, 等. 稻米油分子蒸馏脱酸工艺优化 [J]. *食品科学*, 2012, 33(18): 1-5.
- [20] LI D M, WANG W F, LI X H, et al. Preparation of highly pure *n*-3 PUFA-enriched triacylglycerols by two-step enzymatic reactions combined with molecular distillation [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2016, 94(2): 1-9.
-
- (上接第 10 页)
- [4] 陈晓婷, 吴靖娜, 路海霞, 等. 蓝圆鲹肌肉中营养成分分析与评价 [J]. *渔业现代化*, 2016(1): 56-61.
- [5] 谢燕, 章超桦, 刘书成, 等. 南海 8 种低值小杂鱼脂肪含量和脂肪酸组成分析 [J]. *南方水产*, 2007(3): 47-52.
- [6] 罗世华. 大宗低值海产品蛋白提取工艺及海鲜精产品的研发 [J]. *食品安全导刊*, 2016(15): 117-118.
- [7] SAHENA F, ZAIDUL I S M, JINAP S, et al. Extraction of fish oil from the skin of Indian mackerel using supercritical fluids [J]. *J Food Eng*, 2010, 99(1): 63-69.
- [8] RUBIO - RODRÍGUEZ N, DE DIEGO S M, BELTRÁN S, et al. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: a comparison with other extraction methods [J]. *J Food Eng*, 2012, 109(2): 238-248.
- [9] 杨小斌, 周爱梅, 王爽, 等. 低温连续相变萃取蓝圆鲹鱼油及其脂肪酸组成分析 [J]. *食品工业科技*, 2016(23): 291-297.
- [10] 郑亚军, 陈华, 李艳, 等. 超临界流体萃取技术及其在油脂加工中的应用 [J]. *现代农业科技*, 2008(1): 227-229.
- [11] 王亚男, 季晓敏, 黄健, 等. CO₂ 超临界萃取技术对金枪鱼油挥发性成分的分析 [J]. *中国粮油学报*, 2015, 30(6): 74-78.
- [12] 许艳萍, 梁鹏, 陈丽娇, 等. 超临界萃取鱼卵鱼油及其脂肪酸组成的研究 [J]. *食品科技*, 2015(10): 270-274.
- [13] HAO S X, HUI H, LI L H, et al. Extraction of fish oil from the muscle of sturgeon using supercritical fluids [J]. *Adv Mater Res*, 2013, 656-657: 1975-1981.