

微拟球藻油脂提取动力学研究

陈国忠, 陈 晨, 陆 瑞, 闫雪纯, 孙东红, 邹 宁

(鲁东大学 生命科学学院, 山东 烟台 264025)

摘要: 对不同条件下微拟球藻油脂提取过程进行了动力学分析, 以动力学方程 $C = C_e \times (1 - \exp^{-kt})$ 进行数据拟合, 研究了溶剂、料液比、提取温度、振荡和超声波处理对提油率的影响。结果表明: 该过程符合 Fick 第二定律, 该方程能够较为准确地模拟微拟球藻的油脂提取过程, 总提油率 C_e 和传质系数 k 随着提取条件不同而表现出差异; 以石油醚为溶剂, 在料液比 1:5、提取温度 50 °C、超声波辅助条件下, 微拟球藻的提油率达到 24.68%, 比对照组(静置处理)提高了 1.44 倍, 最大有效扩散率 D_{eff} 达到 $1.1586 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ 。

关键词: 微拟球藻; 超声波; 油脂提取; 动力学方程

中图分类号: TS225.6; TQ644 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)04-0110-05

Kinetics of oil extraction from *Nannochloropsis oculata*

CHEN Guozhong, CHEN Chen, LU Rui, YAN Xuechun,
SUN Donghong, ZOU Ning

(School of Life Sciences, Ludong University, Yantai 264025, Shandong, China)

Abstract: Kinetic studies were carried out to investigate the oil extraction from *Nannochloropsis oculata*, and the equation $C = C_e \times (1 - \exp^{-kt})$ was used for data fitting. The effects of solvent, ratio of material to liquid, extraction temperature, oscillation and ultrasonic treatment on the oil extraction rate were studied. The results showed that the kinetic model conformed to the Fick's second law, and the equation could accurately simulate the oil extraction process. The total oil extraction rate C_e and the mass transfer coefficient k changed under different extraction conditions. The optimal extraction conditions were obtained as follows: with petroleum ether as solvent, ratio of material to liquid 1:5, extraction temperature 50 °C, with ultrasonic treatment. Under these conditions, the oil extraction rate of *Nannochloropsis oculata* was 24.68%, 1.44 times higher than the control group (static treatment), and the effective diffusion rate D_{eff} reached $1.1586 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$.

Key words: *Nannochloropsis oculata*; ultrasound; oil extraction; kinetic equation

微拟球藻 (*Nannochloropsis* sp.) 广泛分布于世界各个海域, 具有重要的生态学和经济学价值, 已被作为优良饵料大量应用于水产养殖, 也是目前公认的最有希望用于工业化的高产油海水藻^[1]。微拟球藻生物量高、生长速率快, 油脂富含 EPA (二十碳五烯酸), 可达总脂肪酸含量的 40%, 且几乎不含

DHA (二十二碳六烯酸), 有利于 EPA 的分离纯化, 具有工业化生产高品质 EPA 的潜力^[2-6]。由于微拟球藻细胞体积小, 直径仅为 2~3 μm, 细胞壁厚, 导致油脂提取过程中效率低、时间长、能耗高, 制约了工业化生产的发展。王雪青等^[7]采用超声波法破碎 17 种微藻细胞, 经过 12 min 的超声波处理, 所有实验藻种的破碎率均在 90% 以上。刘圣臣等^[8]研究发现小球藻经反复冻融 4 次与超声波破壁 24 min, 二者的提油率相当。动力学研究是揭示油脂提取过程中传质规律的有效方法^[9-11], 有助于优化提取条件进而提高油脂得率和提取速率。Balasu-

收稿日期: 2017-06-29; 修回日期: 2017-12-25

基金项目: 微藻燃油关键技术研发与中试 (FTY-2014-01)

作者简介: 陈国忠 (1980), 男, 讲师, 博士, 研究方向为海洋微生物资源开发与利用 (E-mail) guozhongch@126.com。

通信作者: 邹 宁, 教授, 博士 (E-mail) ningzou76@126.com。

bramanian 等^[12]设计并优化了一个连续微波系统,通过动力学研究优化了从斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)提取油脂的工艺条件,提高了产油量和提取率。本文针对微拟球藻的形态结构特点,对不同条件下微拟球藻油脂提取过程进行动力学分析,揭示微拟球藻油脂提取过程的传质规律,为其工业化生产提供基础数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

微拟球藻(*Nannochloropsis oculata*)藻粉由鲁东大学生命科学学院藻类研究所培养并提供,经冷冻干燥处理备用。石油醚(沸程 60~90℃,分析纯),其他试剂均为分析纯。

HZQ-Q 全温振荡培养箱,HH-6 数显恒温水浴锅,THZ-C-1 台式冷冻恒温振荡器,DH07-9423A 电热恒温鼓风干燥箱,78HW-1 恒温磁力搅拌器,FA1004 电子分析天平,KQ-500DB 数控超声波破碎仪。

1.2 实验方法

1.2.1 微拟球藻油脂提取

称取 5 g(准确至 ±0.001 g)微拟球藻藻粉,置于锥形瓶中,按照一定的料液比加入溶剂,在不同温度条件下提取一段时间,抽滤,将脱脂藻粉置于烘箱中,60℃干燥至恒重,置于干燥器中冷却至室温,称重,计算提油率。

1.2.2 振荡对提取的影响

按照 1:5 的料液比加入藻粉和石油醚,分别静置、180 r/min 振荡、50℃提取,每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,直至恒重。

1.2.3 超声波对提取的影响

按照 1:5 的料液比加入藻粉和石油醚,冰浴下置于超声波粉碎机处理,功率选择 400 W,模式选择间歇方式,即超声 3 s、间歇 3 s,每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,直至恒重。对照组按照 1:5 的料液比加入藻粉和石油醚,50℃静置提取,每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,直至恒重。

1.2.4 油脂提取过程的动力学研究

1.2.4.1 提取机制

微拟球藻油脂的提取过程是油脂从固相向液相转移的传质过程,由于微拟球藻细胞壁较厚,其提取机制比较复杂。但一般来说,微拟球藻油脂提取过程的物理化学模式可设想分 3 步完成:①溶剂向微拟球藻细胞内部的渗透以及油脂的溶解;②油脂依靠溶质的溶剂化效应等从微拟球藻内部向其表面的扩散;③油脂从微拟球藻表面向溶剂主体的扩散。

其中步骤①为渗透和溶解过程,②为内扩散,③为外扩散,根据相关研究报道,油脂的内扩散是整个提取过程的限速步骤^[10]。

1.2.4.2 动力学方程

为了便于分析计算,假设:①处理后的微拟球藻为圆球形;②油脂的扩散方向是沿着颗粒内部的径向进行的;③提取开始时和取样间隔内,微拟球藻细胞内各成分均匀分布的,油脂的扩散系数不变;④微拟球藻表面的传质阻力忽略不计。在此基础上,根据 Fick 扩散第二定律,推导出提取过程动力学方程用来描述油脂提取机理:

$$C = C_e \times (1 - \exp^{-kt}) \quad (1)$$

式中: C 为在时间 t 时的提油率,%; C_e 为当时间趋于无穷大时的总提油率,%; k 为传质系数, min^{-1} ; t 为处理时间,min。 C_e 值越大,表示提取量越大;传质系数 k 表示提取速率的快慢, k 值越大速率越高。曲线拟合是根据最小二乘法原理拟合出一条偏差平方和 R^2 最小的曲线, R^2 值代表拟合曲线的复相关系数,用来检验拟合方程是否符合变量间的规律及拟合曲线的精确度, R^2 值越接近 1,说明实测数据点越靠近拟合曲线,趋势线越可靠,表明拟合曲线能够很好地模拟实验数据点的变化趋势。

1.2.4.3 有效扩散率的计算

根据 Franco^[13]、Kashyap^[14]等方法,可以用下列方程式计算扩散率:

$$E = 1 - \frac{C}{C_0} = be^{-at} \quad (2)$$

$$\text{两边取自然对数,得:} \ln E = \ln b - at \quad (3)$$

$$a = \frac{\pi^2}{r^2} D_{\text{eff}} \times 60 \quad (4)$$

式中: E 为物料残油率,%; C 为在时间 t 时的提油率,%; C_0 为物料的总含油量,%; b 为常数; a 为提取速率常数, min^{-1} ; t 为处理时间,min; r 为扩散路径的距离长度,m; D_{eff} 为有效扩散系数即扩散率, m^2/s 。通过实验得到 C 、 C_0 的值,根据公式(2)计算得到 E 值,以 $\ln E$ 为纵坐标, t 为横坐标,作图并进行线性拟合,得到回归方程(3),即得截距 $\ln b$ 和斜率 a 的值,将 a 值代入公式(4),根据圆周率 $\pi \approx 3.14$ 、微拟球藻平均粒径 $r \approx 2.38 \mu\text{m}$ 计算得到有效扩散率 D_{eff} 的值。

2 结果与分析

2.1 溶剂对提取的影响

在提取温度 50℃、料液比 1:5 的条件下,分别加入石油醚、95%乙醇、混合溶剂($V(\text{石油醚}):V(95\% \text{乙醇}) = 1:1$),每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,

直至恒重,考察溶剂对微拟球藻提油率的影响,将动力学方程(1)与实验数据进行拟合,得到动力学曲线如图1所示。

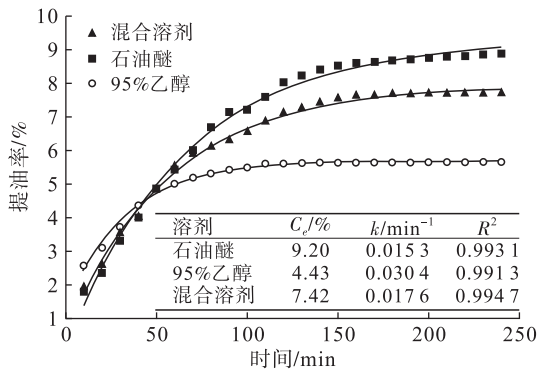


图1 不同溶剂提取微拟球藻油脂的动力学曲线

由图1及动力学方程(1)中的相关指标可知,相关系数 $R^2 \geq 0.9913$, 拟合度较高,表明该模型能够较为准确地模拟不同溶剂提取微拟球藻油脂的过程。总提油率 C_e 和传质系数 k 值的大小与溶剂种类有关,以石油醚作为溶剂时总提油率最高,95%乙醇溶剂的传质系数最大。这是因为油脂与石油醚的极性更为接近,溶解度高,总提油率高,但石油醚的渗透扩散能力较弱,因此其传质系数 k 值较小。相比之下95%乙醇的极性较强,在通过微拟球藻细胞壁时,其透过性显著高于石油醚,传质系数 k 值较大,但油脂残留量较多,最终的总提油率较低。混合溶剂的总提油率介于石油醚和95%乙醇之间。总体来说,提取微拟球藻油脂选择石油醚作为溶剂效果较好。

2.2 料液比对提取的影响

以石油醚作为溶剂,在提取温度 50℃ 的条件下,分别按照料液比 1:4、1:5 加入石油醚,每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,直至恒重,考察料液比对微拟球藻提油率的影响,将动力学方程(1)与实验数据进行拟合,得到动力学曲线如图2所示。

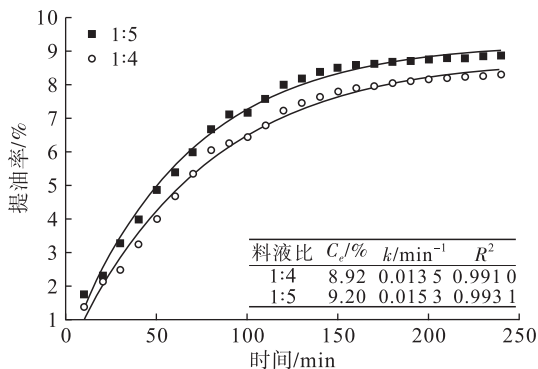


图2 不同料液比下微拟球藻油脂提取的动力学曲线

由图2及动力学方程(1)中的相关指标可知, $R^2 \geq 0.9910$, 拟合度较高,料液比 1:5 时的总提油

率 C_e 和传质系数 k 值都大于料液比 1:4 时的值,表明增加溶剂用量在一定程度上能够提高提油率和传质速率。通常,溶剂用量越大,提取物质的得率也越大,但当溶剂用量增加到一定值后,提油率达到最大,基本不再随着料液比的增加而发生变化,此时如果继续增加溶剂用量,不仅浪费溶剂,增加成本,而且造成单位体积提取溶剂中油脂浓度的降低,给后续蒸发浓缩工段带来困难。因此,综合考虑选用料液比 1:5。

2.3 提取温度对提取的影响

以石油醚为溶剂,在料液比 1:5 的条件下,加入藻粉和石油醚,分别在 30、40、50℃ 下提取,每隔 10 min 抽滤、烘干、称重,直至恒重,考察提取温度对微拟球藻提油率的影响,将动力学方程(1)与实验数据进行拟合,得到动力学曲线如图3所示。

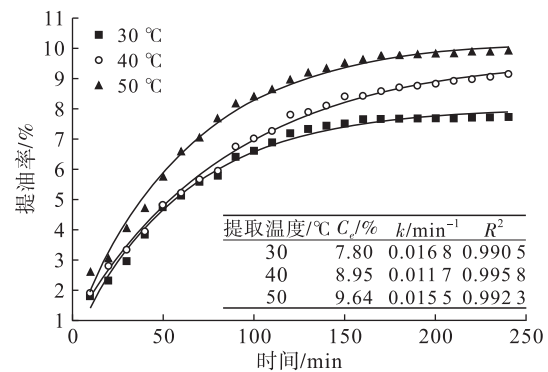


图3 不同提取温度下微拟球藻油脂提取的动力学曲线

由图3及动力学方程(1)中的相关指标可知,相关系数 $R^2 \geq 0.9905$, 拟合度较高。总提油率 C_e 随着提取温度升高而增大,表明更高的提取温度有利于提高总提油率。传质系数 k 变化不大,表明3个提取温度条件下的提油速率并无显著差异。工业化生产中通常采用较低温度提取油脂,避免油脂氧化,而微拟球藻油脂中富含 EPA 等多不饱和脂肪酸,提取过程中应尽可能采用较低温度并隔绝空气。综合考虑选用 50℃ 作为提取温度。

2.4 辅助处理方法对提取的影响

以石油醚为溶剂,在料液比 1:5、提取温度 50℃ 的条件下,考察振荡和超声波辅助处理对微拟球藻提油率的影响,将动力学方程(1)与实验数据进行拟合,得到动力学曲线如图4所示。

由图4及动力学方程(1)中的相关指标可知,相关系数 $R^2 \geq 0.9900$, 拟合度较高。振荡处理条件下,总提油率 C_e 和传质系数 k 值都显著高于静置对照组,表明振荡既能提高总提油率又能加快提油速率。静置提取过程中,物料与溶剂界面发生质量交换,溶剂中油脂浓度局部升高,与物料之间的浓度梯

度减小,油脂扩散的推动力降低,提油速率减慢。振荡使得溶剂中的油脂浓度迅速达到均一状态,降低了物料与溶剂界面的溶质浓度,始终维持较高的浓度差和较大的推动力,提高了提油速率,同时也在一定程度上促进了更多油脂溶出,总提油率增加。超声波处理条件下,传质系数 k 值与静置对照组相比没有显著差别,而总提油率 C_e 从 10.11% 提高到 24.68%,提高了 1.44 倍,因为超声波处理使得大量微拟球藻细胞壁破裂^[15-16],贮藏于细胞内部的油脂被释放出来。相比之下,超声波辅助溶剂提取法能够从微拟球藻中得到更高的总提油率。

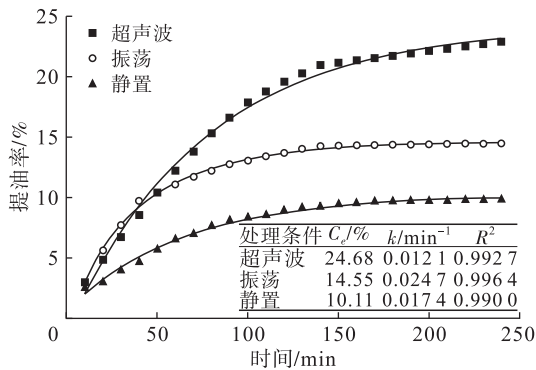


图4 振荡和超声波辅助处理条件下微拟球藻油脂提取的动力学曲线

2.5 有效扩散率的计算

为了便于研究,通常假设在油脂提取的一段时间内扩散速率为恒定值,不随着油溶液浓度的变化而变化,从而引入方程(3)来计算油脂提取过程的有效扩散率。通过线性拟合,得到图5,通过对图5线性回归计算得到不同提取条件下的有效扩散率,见表1。

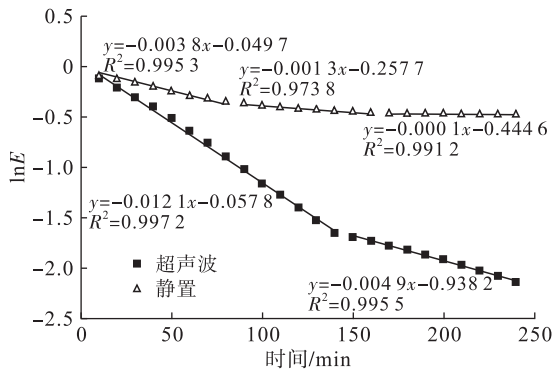


图5 $\ln E = \ln b - at$ 的线性拟合图

由表1可以看出,超声波辅助提取条件下的提油过程大致分为2个阶段,10~140 min有效扩散率最大, D_{eff} 值为 $1.1586 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$,150~240 min有效扩散率显著降低。对照组静置提油过程大致可分为3个阶段,有效扩散率随着时间延长呈现降低趋势,且显著低于超声波实验组。该结果表明微拟

球藻油脂提取过程是复杂的,证实了 So 等^[17]报道的提取过程分为2~3个阶段的结论。超声波处理显著提高了有效扩散率,促进了微拟球藻的油脂提取过程,随着技术进步和成本降低,超声波辅助提取具有良好的应用前景。

表1 $\ln E = \ln b - at$ 的拟合动力学数据

处理条件	处理时间/min	$a = \frac{\pi^2}{r^2} D_{eff} \times 60$	$D_{eff}/(\text{m}^2/\text{s})$	R^2
超声波	10~140	0.0121	1.1586×10^{-16}	0.9972
	150~240	0.0049	0.4692×10^{-16}	0.9955
静置	10~80	0.0038	0.3639×10^{-16}	0.9953
	90~160	0.0013	0.1245×10^{-16}	0.9738
	170~240	0.0001	0.0096×10^{-16}	0.9912

3 结论

通过对不同条件下微拟球藻油脂提取过程的动力学研究,以动力学方程 $C = C_e \times (1 - \exp^{-kt})$ 进行数据拟合,比较分析了溶剂、料液比、提取温度、振荡和超声波处理对提油率的影响。结果表明采用石油醚为溶剂,增加料液比、提高提取温度、超声波处理都能够提高总提油率 C_e ,而对油脂提取的传质系数 k 影响不大。油脂提取的优化条件为以石油醚为溶剂、料液比1:5、提取温度50℃、超声波处理,在此条件下微拟球藻的提油率达到24.68%,比对照组(静置处理)提高了1.44倍。通过方程 $\ln E = \ln b - at$ 的线性拟合计算分析,超声波辅助溶剂提取条件下的有效扩散率 D_{eff} 达到 $1.1586 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$,显著高于静置处理,促进了微拟球藻的油脂提取过程。研究表明微拟球藻油脂提取动力学数学模型的构建有助于海洋微藻油脂的产业化开发利用。

参考文献:

- [1] MITRA M, PATIDAR S K, GEORGE B, et al. A euryhaline *Nannochloropsis gaditana* with potential for nutraceutical (EPA) and biodiesel production [J]. Algal Res, 2015, 8: 161-167.
- [2] ZOU N, RICHMOND A. Effect of light-path length in outdoor flat plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis* sp. [J]. J Biotechnol, 1999, 70 (1): 351-356.
- [3] ZOU N, ZHANG C, COHEN Z, et al. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) [J]. Eur J Phycol, 2000, 35(2): 127-133.
- [4] ZOU N, RICHMOND A. Light-path length and population density in photoacclimation of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) [J]. J Appl Phycol, 2000, 12(3/5): 349-354.

(下转第124页)

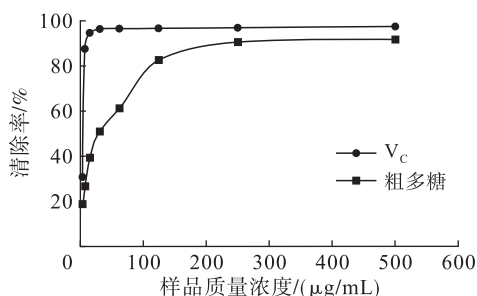


图 10 对 DPPH 自由基清除能力

3 结论

在单因素试验基础上,采用 PB 设计结合响应面法优化牡丹籽饼中多糖的提取工艺。最终确定提取工艺条件为:加酶量 0.45%,酶解时间 60 min,酶解温度 45℃,pH4.5,液料比 19:1,超声温度 40℃,超声时间 19 min,超声功率 300 W,粒度 60 目。在该条件下,牡丹籽饼中多糖提取量为 196.87 mg/g。牡丹籽饼中粗多糖具有一定 DPPH 自由基清除能力,其 IC_{50} 值为 31.19 $\mu\text{g/mL}$ 。研究结果为牡丹籽饼中多糖的开发利用和工业化生产提供试验依据。

参考文献:

[1] 朱献标,翟文婷,董秀勋,等. 牡丹籽油化学成分及功能研究进展[J]. 中国油脂,2014,39(1):88-90.
 [2] 程安玮,孙金月,王维婷,等. 牡丹籽油的研究进展[J]. 食品科学技术学报,2016,34(3):79-84.
 [3] 毛善巧,李西俊. 牡丹籽油的研究进展及油用牡丹资源综合利用价值分析[J]. 中国油脂,2017,42(5):123-126.

(上接第 113 页)

[5] 杜晓凤,邹宁,孙东红. 微绿球藻油脂提取方法的优化[J]. 中国油脂,2012,37(5):10-12.
 [6] 杜晓凤,邹宁,孙东红,等. 微绿球藻富集油脂的培养条件优化[J]. 中国油脂,2012,37(12):66-69.
 [7] 王雪青,苗惠,翟燕. 微藻细胞破碎方法的研究[J]. 天津科技大学学报,2007,22(1):21-25.
 [8] 刘圣臣,邹宁,吴电云,等. 小球藻海藻油提取中不同破壁方法的研究[J]. 中国食品添加剂,2009(5):100-102.
 [9] CHEN G, CHEN H. Enhancement of oil extraction from sumac fruit using steam-explosion pretreatment[J]. J Am Oil Chem Soc,2011,88(1):151-156.
 [10] HALIM R, GLADMAN B, DANQUAH M K, et al. Oil extraction from microalgae for biodiesel production[J]. Bioresour Technol,2011,102:178-185.
 [11] SUGANYA T, RENGANATHAN S. Optimization and kinetic studies on algal oil extraction from marine macroalgae *Ulva lactuca* [J]. Bioresour Technol, 2012, 107: 319-326.

[4] 王顺利,任秀霞,薛璟祺,等. 牡丹籽油成分、功效及加工工艺的研究进展[J]. 中国粮油学报,2016,31(3):139-146.
 [5] 吴静义,曹丹亮,刘永刚,等. 牡丹籽饼的化学成分研究[J]. 中医药学报,2014,42(1):9-11.
 [6] 尚庆辉,解玉怀,张桂国,等. 植物多糖的免疫调节作用及其机制研究进展[J]. 动物营养学报,2015,27(1):49-58.
 [7] 刘正君. 植物多糖生物活性概述[J]. 海峡药学,2014,26(5):13-15.
 [8] 张淑杰,康玉凡. 天然活性多糖研究进展[J]. 食品工业科技,2017(2):379-389.
 [9] 李小宁,于欢,龚千锋,等. 柴胡总多糖提取工艺优化及其不同炮制品中总多糖的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(14):27-30.
 [10] 薛菁,吴晓彤,王颖超,等. 超声波辅助提取口蘑菌丝体多糖工艺优化[J]. 食品与机械,2016,32(1):172-174.
 [11] 钟玲,尹蓉莉,张仲林. 超声提取技术在中药提取中的研究进展[J]. 西南军医,2007,9(6):84-87.
 [12] 李静,姚茂君,李俊,等. 响应面法优化牡丹籽油的水酶法提取工艺[J]. 中国油脂,2014,39(10):14-18.
 [13] 蒋征,王红,吴启南. PB 试验结合 BBD 响应面优化浮萍多糖的提取工艺研究[J]. 中药材,2015,38(6):1283-1286.
 [14] 陈程,罗国平,闫梦茹,等. 超声波-大孔树脂联用提取富集追风七总黄酮及其清除自由基活性研究[J]. 食品与机械,2016,32(12):156-160.

[12] BALASUBRAMANIAN S, ALLEN J D, KANITKAR A, et al. Oil extraction from *Scenedesmus obliquus* using a continuous microwave system - design, optimization, and quality characterization [J]. Bioresour Technol, 2011, 102: 3396-3403.
 [13] FRANCO D, PINELO M, SINEIRO J, et al. Processing of *Rosa rubiginosa*: extraction of oil and antioxidant substances[J]. Bioresour Technol, 2007, 98: 3506-3512.
 [14] KASHYAP M C, AGRAWAL Y C, GHOSH P K, et al. Oil extraction rates of enzymatically hydrolyzed soybeans[J]. J Food Eng, 2007, 81(3): 611-617.
 [15] 章莹颖,邓春芳,崔岩,等. 不同方法对微藻细胞破碎及油脂提取效果的影响[J]. 中国油脂,2016,41(3):61-65.
 [16] STRUCKAS A, VASILJEV P, BAREIKIS R, et al. Ultrasonic zeppelin - shape transducer for algae oil extraction [J]. Sensor Actuat A Phys, 2017, 263: 754-761.
 [17] SO G C, MACDONALD D G. Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed) [J]. Can J Chem Eng, 1986, 64(1):80-86.