

# 响应曲面法优化植物油沥青中甾醇的提取工艺\*

卢定强<sup>1</sup>, 吴雅霜<sup>1</sup>, 陈建辉<sup>2</sup>, 段 柳<sup>1</sup>, 凌岫泉<sup>1</sup>

1(南京工业大学制药与生命科学学院, 材料化学工程国家重点实验室, 江苏南京, 210009)

2(浙江医药股份有限公司, 浙江绍兴, 312500)

**摘 要** 以植物油沥青为原料, 采用响应曲面法对影响甾醇提取率的 3 个主要因素即料固比、提取温度、提取时间进行优化, 并建立了甾醇提取率的二次多项回归模型方程。结果表明: 优化的提取工艺条件为料固比(mL : g)10.4 : 1, 提取时间 2.5 h, 提取温度 50℃, 最佳提取率预测值为 77.53%, 与实测值基本一致。该提取工艺简单可行, 适用于工业化生产。

**关键词** 植物油沥青, 甾醇, 响应曲面法, 提取

植物甾醇属于天然活性物质, 广泛分布于自然界中。天然植物甾醇无毒性, 且具有乳化性和稳定性等特点, 在医药、食品、化妆品等行业有广泛的用途<sup>[1]</sup>。植物甾醇作为一种功能性油脂, 已成为油脂工程研究的热点。

植物甾醇主要来源于植物油脂精炼下脚料, 其中以脱臭馏出物为主。甾醇的提取方法很多, 主要包括: (1) 溶剂萃取法<sup>[2,3]</sup>; (2) 络合法<sup>[4,5]</sup>; (3) 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法<sup>[6]</sup>; (4) 分子蒸馏<sup>[7,8]</sup>。其中超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法和分子蒸馏设备复杂、成本高而受到限制, 传统的溶剂萃取法处理过程复杂、溶剂用量大。

植物油沥青是植物油精炼下脚料回收脂肪酸的蒸馏残渣。目前主要作为重油燃烧处理, 造成资源的重大浪费<sup>[9]</sup>。由于植物油下脚料通过蒸馏处理后, 甾醇保留在残渣中, 因此沥青中甾醇浓度最高, 且较脱臭馏出物易得、便宜。目前国外报道较多的是用塔尔油沥青, 而从植物油沥青中提取甾醇的研究却鲜有报道。其中姚成等人<sup>[10]</sup>先将植物油沥青中的游离脂肪酸酯化, 后经皂化、溶剂萃取, 该法步骤繁多、处理较复杂, 不利于工业化生产; 而李晓光等人<sup>[11]</sup>先皂化后用溶剂萃取, 该法简单, 但未对工艺进行优化。本中以植物油沥青为原料, 采用溶剂萃取法, 利用统计软件 statistic 6.0 中响应曲面方法的 Box-Behnken 模式<sup>[12~14]</sup>, 对植物油沥青中甾醇的提取工艺进行研究。该提取工艺简单、溶剂用量小、提取率高, 为甾醇在工业生产上的提取提供了较为可靠的数据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及试剂

鲁南瑞虹 SP-6890 气相色谱仪(山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司), N-2000 双通道色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所), XA-1 固体粉碎机(姜堰市环球仪器厂), 机械搅拌器(金坛市恒丰仪器厂)。

植物油沥青: 江苏建湖永林油脂有限公司提供; 甾醇标混合准品(Sigma, 99%); 胆甾醇内标储备液(国产, 分析级); 丙酮、乙醇、KOH 为分析纯

### 1.2 方法

#### 1.2.1 植物油沥青的预处理

植物油沥青经 80~90℃ 预热融化后, 加入质量分数为 20% 的 KOH 并在此温度下搅拌皂化 3 h, 烘干至含水量低于 2.0% 后粉碎。

#### 1.2.2 甾醇的提取及测定<sup>[15,16]</sup>

准确称取预处理好的沥青皂化物 5.00 g 于三口烧瓶中, 按要求加入一定量的丙酮, 控制一定温度回流提取一定时间后, 抽滤、滤液用丙酮定容至 50 mL 作为待测液。取 0.8 mL 的待测液于 1 mL 离心管中, 加入 0.2 mL 10 mg/mL 胆甾醇内标储备液, 混匀后作为样品。

植物甾醇混合标准品为标品, 以胆甾醇为内标, 采用气相色谱法按照面积归一法测定样品中甾醇的含量。

### 1.3 响应曲面法优化提取工艺

通过单因素实验确定出料固比、提取温度、提取时间对甾醇提取效果的影响。为了选择最优条件采用 Box-Behnken 方法, 对料固比、提取温度、提取时间 3 因素进行优化。以甾醇提取率 Y 为响应值, 设计三因素三水平的响应曲面试验, 试验因素与水平见表

第一作者: 博士, 教授。

\* 国家重大基础研究项目(2003CB716000), 国家 973 项目(2003CB716004)

收稿日期: 2007-11-23, 改回日期: 2008-01-18

1。

表1 试验因素与水平

因素	编码	水平		
		-1	0	1
料固比 ( $x_1$ ) (mL : g)	$X_1$	4	8	12
温度 $x_2$ /℃	$X_2$	40	50	60
时间 $x_3$ /h	$X_3$	1	2	3

注:  $X_1 = (x_1 - 8)/4$ ;  $X_2 = (x_2 - 50)/10$ ;  $X_3 = (x_3 - 2)/1$ 

## 2 结果及分析

### 2.1 提取溶剂的选择

分别用正己烷、丙酮、乙醇作溶剂对植物油沥青中的甾醇进行提取,结果如图1所示。

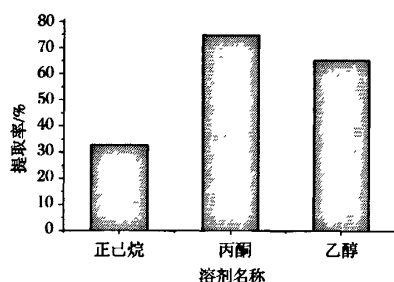


图1 溶剂对甾醇提取率的影响

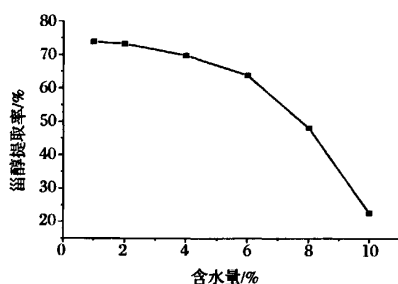


图2 含水量对甾醇提取率的影响

由图1可知,用正己烷作溶剂提取率太低,用丙酮作溶剂提取率最高,虽然乙醇作溶剂提取率也较高,但提取液中杂质较多,因为乙醇对脂肪酸盐的溶解度较丙酮大。

### 2.2 含水量的影响

由图2可知,当皂化物中含水量太高时,溶剂对脂肪酸盐的溶解度太大,而对甾醇的溶解度远远下降,达不到提取效果。随着含水量的降低,提取率增加,当含水量降至2%时,提取率逐渐趋于稳定。因此,预处理时皂化物中的含水量对提取率影响很大,一定要烘干。

### 2.3 响应面分析

根据实验因素与水平的设计(见表1),进行了15

次试验,方案及结果见表2。

表2 试验方案及结果

序号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	提取率 Y /%	
				实验值	预测值
1	-1	-1	0	52.7	52.4
2	1	-1	0	75.2	74.0
3	-1	1	0	51.6	52.8
4	1	1	0	72.9	73.2
5	-1	0	-1	44.7	44.6
6	1	0	-1	64.2	65.0
7	-1	0	1	54.5	53.7
8	1	0	1	75.4	75.5
9	0	-1	-1	63.0	63.4
10	0	1	-1	62.7	61.6
11	0	-1	1	70.6	71.7
12	0	1	1	73.3	72.9
13	0	0	0	73.2	73.1
14	0	0	0	72.6	73.1
15	0	0	0	73.4	73.1

采用软件 Statistic 6.0 对表2数据进行回归分析,得到二次多元回归模型:  $Y = 73.0667 + 10.525X_1 - 8.8333X_1^2 - 0.125X_2 - 1.1333X_2^2 + 4.9X_3 - 4.5333X_3^2 - 0.3X_1X_2 + 0.35X_1X_3 + 0.75X_2X_3$

优化后回归模型:  $Y = 73.0667 + 10.525X_1 - 8.8333X_1^2 - 1.1333X_2^2 + 4.9X_3 - 4.5333X_3^2$

由表3可知,模型F回归=113.492>F0.01(9, 5)=10.16,表明二次多元回归模型极显著;模型的校正决定系数为0.9864,说明该模型能解释98.64%的数据;复相关性系数  $R^2$  为0.9951,说明模型拟合度好,试验误差小。表4中各项方差分析结果表明,一次项  $X_1$ 、 $X_3$  和二次项  $X_1^2$  和  $X_3^2$  是极显著的。本试验各因素显著程度依次为:料固比、提取时间、提取温度。

表3 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1424.896	9	158.322	113.492	<0.0001
误差	6.977	5	1.395		
总和	1431.873	14			

复相关系数=0.9951,校正决定系数=0.9864

根据回归方程得到不同因子的响应曲面图,结果见图3~图5。从响应曲面图上可以看出,各参数对甾醇提取率的影响。如图3,当提取时间一定时,提取率随着液固比的增加显著增加,当料固比达10左右时,趋于平衡;随着温度的增加提取率先增加,当温度达50℃左右达最大值,而后略有下降。可能随着

温度的提高一些杂质的溶出量也增加且部分溶剂挥发。图 4,当提取温度一定时,提取率随着时间的延长增加,约 2.5 h 后增加缓慢,说明浓度差趋于平衡;图 5,当料固比一定时,提取率随着温度的增加先增加后下降,当温度 50℃左右,提取率达最高。随着时间的延长,提取率逐渐增加,约 2.5 h 后达到平衡。

表 4 回归方程系数显著性检验

系数项	系数估计值	自由度	标准误差	t 值	P 值
截距	73.066 7	1	0.682 0	107.137 4	0.000 000
$X_1$	10.525 0	1	0.417 6	25.201 6	0.000 002
$X_1X_1$	-8.833 3	1	0.614 7	-14.369 3	0.000 029
$X_2$	-0.125 0	1	0.417 6	-0.299 3	0.776 748
$X_2X_2$	-1.133 3	1	0.614 7	-1.843 6	0.124 569
$X_3$	4.900 0	1	0.417 6	11.732 8	0.000 079
$X_3X_3$	-4.533 3	1	0.614 7	-7.374 4	0.000 721
$X_1X_2$	-0.300 0	1	0.590 6	-0.507 9	0.633 103
$X_1X_3$	0.350 0	1	0.590 6	0.592 6	0.579 234
$X_2X_3$	0.750 0	1	0.590 6	1.269 8	0.260 026

为进一步确认甾醇提取各个因素的最优点,由 matlab 求回归方程,得最佳值:  $X_1 = 0.595\ 6$ ;  $X_2 = -0.001\ 2$ ;  $X_3 = 0.540\ 8$ 。代入变换公式即得,最佳提取条件为:料液比 10.4 : 1,提取温度 50℃,提取时间 2.5 h,提取率预测值 77.53%。在此条件下作验证试验,所得甾醇提取率达 76.7%,相对误差为 1.03%,说明该模型是适合有效的。

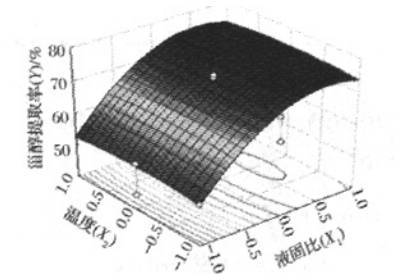


图 3  $Y = f(X_1, X_2)$  的响应曲面图

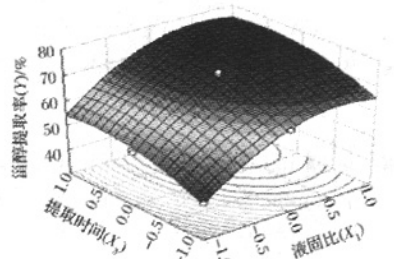


图 4  $Y = f(X_1, X_3)$  的响应曲面图

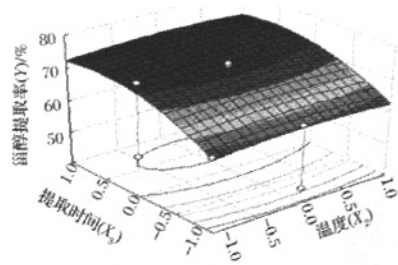


图 5  $Y = f(X_2, X_3)$  的响应曲面图

### 3 结 论

本研究以植物油沥青为原料,采用溶剂萃取法,利用软件 statistic 6.0,通过 RSM 建立了甾醇提取率的二次多项回归模型方程,同时利用模型的响应曲面对影响提取率的各因素进行分析,结果表明:

(1) 各因素对甾醇提取率的影响的显著性顺序为:料固比、提取时间、提取温度。

(2) 甾醇提取率的二次多项回归模型方程:  $Y = 73.066\ 7 + 10.525X_1 - 8.833\ 3X_1^2 - 1.133\ 3X_2^2 + 4.9X_3 - 4.533\ 3X_3^2$ , 最佳提取工艺条件为料固比 10.4,提取时间 2.5 h,提取温度 50℃,最佳提取率预测值为 77.5%与实测值基本一致。

### 参 考 文 献

- 1 吴时敏. 功能性油脂[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2002. 190~193
- 2 Philip L Robinson, Thomas J Cuff, Julian E Parker. Isolation and purification of sterols from neutrals fraction of tall oil pitch crystallization [P]. US, 6057462. 2000-05-02
- 3 Eero K Lamminkari, Lasse A Koskenniska. Process for the recover of  $\beta$ -sitosterol [P]. US,4 153 622. 1979-05-08
- 4 Alfred Struve. Process for isolating sterols from fat processing residues [P]. US, 4148810. 1979-04-10
- 5 Richard R Crawford, William P Blum, David C Naramore. Process for separating 3-hydroxy steroids from fat mixtures such as lipids [P]. US, 4425275. 1984-01-10
- 6 牟德华, 李 艳, 赵玉华, 等. 超临界  $\text{CO}_2$  萃取技术提取植物甾醇的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(1): 118~121
- 7 Miguel Angel Fuenzalida Diaz, Alejandro Markovits Rojas, Endre Markovits Schersl, et al. Process for obtaining unsaponifiable compounds from black-liquor soaps, tall oil and their by-products [P]. US, 6297353. 2001-10-02
- 8 Christian Fizet. Process for tocopherols and sterols from natural sources [P]. US, 5487817. 1996-01-30
- 9 王晓辉, 司 南, 叶爱英, 等. 植物油脚的综合利用[J]. 现代化工, 2006, 26(11): 21~24.

- 10 姚 成, 叶爱英, 徐永林, 等. 一种从植物油沥青中提取植物甾醇的方法[P]. CN, 1807444. 2006-07-26
- 11 李晓光, 王三永, 李春荣, 等. 植物油沥青或塔尔油沥青中提取植物甾醇的方法[P]. CN, 1301704. 2001-07-04
- 12 蒙哥马利著 D C. 汪仁官, 陈荣昭译. 实验设计与分析(第三版)[M]. 北京: 中国统计出版社, 1998. 591~640
- 13 姜绍通, 邵 平, 潘丽军. 菜籽油脱臭馏出物中甾醇分离的甲酯化过程优化研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(2): 164~167
- 14 王 军, 王 敏, 于智峰, 等. 基于响应曲面法的苦荞麸皮总黄酮提取工艺优化[J]. 农业机械学报, 2007, 38(7): 205~208
- 15 Cunha S S, Fernandes J O, Oliveira M B. Quantification of free and esterified sterols in Portuguese olive oils by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1128(1~2): 220~227
- 16 陈茂彬, 吴谋成. 混合植物甾醇标样的精制及其在分析中的应用[J]. 食品科学, 2004, 25(07): 125~128

## Optimization of Extraction of Sterols in Plant Pitch by Response Surface Methodology

Lu Dingqiang<sup>1</sup>, Wu Yashuang<sup>1</sup>, Chen Jianhui<sup>2</sup>,  
Duan Liu<sup>1</sup>, Ling Xiuquan<sup>1</sup>

1(State Key Laboratory of Materials-Oriented Chemical Engineering, College of Life Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)  
2(Zhejiang Medicine Co. Ltd., Shaoxing 312500, China)

**ABSTRACT** Study was made on extracting sterol from plant oil pitch. Response surface methodology was applied to investigate the effects of the ratios of solution to solid, extraction temperature and time on the extraction yield of sterols. And a mathematical regression model for extraction of sterols was presented. Results showed that the optimal extraction parameters were :the ratio of solution to solid 10.4 : 1, 2.5h, at 50℃. Under those conditions, the predicted extraction yield of sterols was 77.53%, which was very close to real value. This extraction process was simple and feasible with high extraction yield which met the industrial requirements.

**Key words** plant oil pitch, sterols, response surface methodology, extraction

(上接第 152 页)

## The Application of Ohmic Heating Technology on the Processing of Ping Skin Gelatin

Yang Mingduo, Zhang Chunmei, Li Gang

(Chinese Style Fast Food and Development Center of Har Bin Commerce University of  
Postdoctoral Programme, Harbin 150076, China)

**ABSTRACT** The ohmic heating technology can make the heating equally, faster, easy controlling and high efficiency. The processing of pig skin gelatin by this method was simple and easy to operate. The different dosage of salt and voltage's influence on heating speed and conductivity of the pigskin peptone gelatin juice was studied. The physical property as well as microscopic structure of the skin peptone gelatin made by circular telegram heating and traditional process was compared. The result indicated that, as the salt density or the voltage increase, the heating speed increased. Meanwhile, the conductivity of pigskin peptone gelatin juice increased along with the salt content, and decreases along with the voltage increase; Compared with the traditional process, its elasticity, toughness, smooth degree and water retention property and the intensity were improved; Based on the experimental data, a model which served as the foundation of the ohmic heating of the pigskin gelatin was established.

**Key words** ohmic heating, the pigskin gelatin, data process