

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.01.011

金灿, 李克虎, Harold Corke¹, 等. 响应面法优化糜子油提取率[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 84-90.

JIN C, LI K H, HAROLD C, et al. Optimization of soxhlet extraction of proso millet oil by response surface methodology[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 84-90.

响应面法优化糜子油提取率

金 灿¹, 李克虎³, Harold Corke¹, 降彦苗²✉

(1. 上海交通大学 农业与生物学院 食品科学与工程系, 上海 200240;

2. 河北省农林科学院 谷子研究所, 河北 石家庄 050035;

3. 贵州大学 生命科学学院 生物技术系, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为建立快速可行的实验室糜子籽粒油提取方法, 以石油醚为溶剂, 基于索氏提取法, 在单因素实验的基础上, 进一步通过响应面分析确定糜子油的最佳提取条件。结果表明: 各单因素对糜子油的提取率均有显著影响, 且影响为温度>液料比>时间; 当石油醚和糜子籽粒粉的液料比 V/M 为 20 mL/g, 提取温度 80 °C, 提取时间 30 min, 糜子油得率为 3.01%。

关键词: 糜子油; 石油醚; 提取工艺; 响应面法

中图分类号: TS224.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)01-0084-07

Optimization of Soxhlet Extraction of Proso Millet Oil by Response Surface Methodology

JIN Can¹, LI Ke-hu³, Harold Corke¹, JIANG Yan-miao²✉

(1. Shanghai Jiao Tong University, Department of Food Science and Technology, Shanghai 200240, China;

2. Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Institute of Millet Crops, Shijiazhuang, Hebei 050035, China;

3. Guizhou University, College of Life Sciences, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: In order to establish a fast and feasible extraction method of proso millet oil in laboratory, the current study determined the optimal Soxhlet extraction conditions by response surface test analysis, used petroleum ether as solvent. The results showed that all the three factors had significant effects on the extraction yield, and extraction temperature had the largest effect, followed by the ration and the extraction time. The optimum extraction conditions were as follows: the ratio of petroleum ether to millet powder was 20 (mL/g), the extraction temperature was 80 °C, and the extraction time was 30 min. This experiment is of great significance for the later studies on proso millet oil.

Key words: proso millet oil; extraction process; response surface method

糜子 (*Panicum miliaceum* L.) 俗称大黄米, 属于禾本科植物, 被认为是人类历史上最早驯化

的谷物之一^[1]。其籽粒富含淀粉、蛋白质、氨基酸、维生素和矿物质, 多酚和纤维素也含量丰富^[2-3]。有研究表明糜子油主要含亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸和亚麻酸^[4], Shen 等的研究也表明, 糜子油脂肪酸组成主要以不饱和脂肪酸为主^[5]。膳食中摄入不饱和脂肪酸可以有效降低患心血管疾病的风险^[6]。随着国民生活水平的不断提高, 人们越来越重视日常食用油的营养价值和

收稿日期: 2020-10-16

基金项目: 河北省农业科技创新工程 (4-04-05)

Supported by: Agricultural Science and Technology Innovation Project of Hebei Province (No. 4-04-05)

作者简介: 金灿, 女, 1997 年出生, 在读研究生, 研究方向为糜子油脂品质分析。E-mail: jincan1997@sjtu.edu.cn.

通讯作者: 降彦苗, 女, 1985 年出生, 副研究员, 研究方向为糜子种质资源与遗传育种。E-mail: jiangyanm12@163.com.

质量安全,对食用油多样化的需求明显提高,市场上已经涌现出山茶油、红花籽油、核桃油等多种多样的食用油产品^[7]。当前糜子产品结构单一,为了提升糜子的产品附加值,糜子油在食品及非食品工业中的应用值得探索。

目前,对糜子油的提取工艺研究不多。响应面法(Response Surface Methodology)是以数学科学为原理,利用统计方法,对所研究响应值进行优化,响应值的结果受多个变量影响。响应面法在许多研究领域都有非常广泛的应用,涵盖生物学、医学、生态学、食品学、工程学等多个领域^[8]。响应面法在食品领域中的应用主要有两个方面:确定食品中各组分的相互作用已经确定各成分的比例、确定最优反应。本实验旨在采用响应面法,以糜子油提取率为指标,明确液料比、提取温度及提取时间对糜子油得率的影响,确定实验室索氏提取糜子油的最佳工艺条件。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

糜子:宁夏固原;石油醚(分析纯):上海麦克林生化科技有限公司;磨谷机(JLG-II A):中储粮成都储藏研究院有限公司;高速粉碎机(HC-700Y):永康市天祺盛世工贸有限公司;脂肪测定仪(SZC-101):上海纤检仪器有限公司;电热鼓风干燥箱(DHG-9030A):上海精宏实验设备有限公司;电子天平(LE204E/02):梅特勒-托利多仪器上海有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 糜子油提取方法

将糜子籽粒用磨谷机脱去外壳,烘干至恒重后,用高速粉碎机将糜子籽粒打成粉末状备用。用滤纸准确称取 2 g(精确到 0.001 g)糜子粉,包裹后放入滤纸筒。将样品放入脂肪测定仪并打开循环冷凝水,样品杯中加入一定比例的石油醚,在脂肪测定仪上经过浸泡 30 min、淋洗 30 min、回收 15 min、蒸干 10 min 后取出浸提杯,于 130 ℃ 下烘干 40 min。然后,取出样品杯进行称重,计算糜子油的得率。重复三次实验,计算得率的平均值。

$$\text{得率}(\%) = \frac{M_1 - M_0}{M} \times 100\%$$

式中: M_1 为提取后样品杯与油的质量(g); M_0 为提取前空的样品杯的质量(g); M 为样品糜子粉末的质量(g)。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 液料比对石油醚提取糜子油得率的影响 设置提取温度 75 ℃,提取时间 20 min,研究液料比(V/M)分别为 5、10、15、20、25、30 mL/g 时,对糜子油得率的影响。

索氏提取法:用滤纸准确称取 2 g(精确到 0.001 g)糜子粉,包裹后放入滤纸筒,放入脂肪测定仪并打开循环冷凝水,每个样品杯中加入一定比例的石油醚,打开脂肪提取仪进行四个阶段的温度和时间设置:(1)浸泡:55 ℃,30 min;(2)淋洗:75 ℃,20 min;(3)回收:95 ℃,15 min;(4)蒸干:110 ℃,10 min。在液料比(V/M)分别为 5、10、15、20、25、30 mL/g 的条件下进行 6 个不同提取条件的提取实验。然后,取出样品杯进行称重,计算糜子油的得率。每个提取条件下重复三次实验,记录得率的平均值。

1.2.2.2 提取时间对石油醚提取糜子油得率的影响 当提取温度为 80 ℃,液料比(V/M)为 20 mL/g 时,研究提取时间分别为 10、15、20、25、30、35、40 min 时,糜子油得率的变化。

操作步骤和实验条件同 1.2.2.1,在第二步的提取(淋洗)时间分别为 10、15、20、25、30、35、40 min 的条件下进行 7 个不同提取条件的提取实验。每个提取条件下重复三次实验,计算得率的平均值。

1.2.2.3 提取温度对石油醚提取糜子油得率的影响 当提取时间为 30 min,液料比(V/M)为 20 mL/g 时,在提取温度分别为 65、70、75、80、85、90 ℃ 时,研究其对糜子油得率的影响。

操作步骤和实验条件同 1.2.2.1,在第二步,将提取温度分别设置为 65、70、75、80、85、90 ℃,进行 6 个不同提取条件的实验。每个提取条件下重复三次实验,计算得率的平均值。

1.2.3 响应面实验设计

在对单因素实验的结果进行分析的基础上,运用 Design Expert 10 软件设计响应面,对液料

比、提取时间、提取温度这 3 个因素分别选定 3 个水平,按中心组合设计寻找最佳提取工艺条件。液料比、提取时间、提取温度的主要水平编码表如表 1 和表 2 所示。

表 1 单因素实验因素水平表

Table 1 Factors and levels in one-factor experiments

水平	液料比/(mL/g)	时间/min	温度/°C
1	5	10	65
2	10	15	70
3	15	20	75
4	20	25	80
5	25	30	85
6	30	35	90
7		40	

表 2 响应面实验因素水平表

Table 2 Factors and levels in response surface test

因素	水平		
A 液料比	-1	0	1
B 时间	-1	0	1
C 温度	-1	0	1

1.3 数据处理

单因素实验结果用 Microsoft Office Excel 2016 对其进行分析,利用 Design Expert 10 软件对工艺参数的组合进行优化,利用响应面分析法 (RSM) 得到回归模型和工艺参数。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果与分析

2.1.1 提取液料比对糜子油得率的影响

以石油醚为提取溶剂,当提取温度为 75 °C,提取时间为 20 min 时,研究液料比 (V/M) 分别为 5、10、15、20、25、30 mL/g 时,对糜子油的得率的影响。结果如图 1 所示。

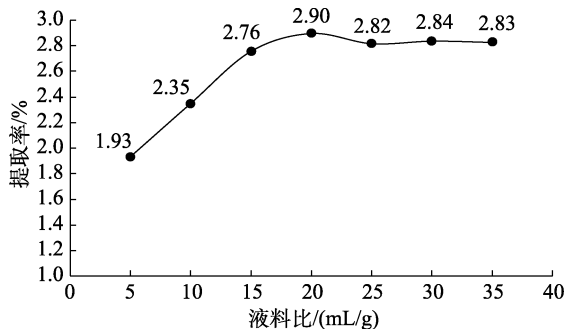


图 1 液料比对糜子油的得率影响

Fig.1 Effect of liquid material ratio on yield of proso millet oil

由图 1 可知,在液料比为 5~20 的范围内,糜子油的得率与液料比呈正相关性,糜子油得率随液料比的增大而增加。当液料比为 20 时,糜子油的得率达到最大值 2.90%。当液料比大于 20 后,得率会随液料比的增加而逐渐减小至平缓。

原因可能是在一定液料比的范围内,溶剂量的增加提高了原料糜子粉与溶剂间的浓度差,促进了提取溶剂石油醚与原料糜子粉的接触,因此糜子油的得率有所提高,但此时再继续增加溶剂的用量,会导致溶剂挥发速度加快^[9],使糜子油的得率下降甚至趋于平缓,而且溶剂用量的加大还会增加物质成本。综合考虑,最适液料比 (V/M) 范围选取为 15、20、25 mL/g,进而继续对糜子油的得率进行响应面分析,以确定最佳的液料比。

2.1.2 提取时间对糜子油得率的影响

以石油醚为提取溶剂,当提取温度为 80 °C,液料比 (V/M) 为 20 mL/g 时,研究提取时间分别为 10、15、20、25、30、35、40 min 时,对糜子油得率的影响。结果如图 2 所示。

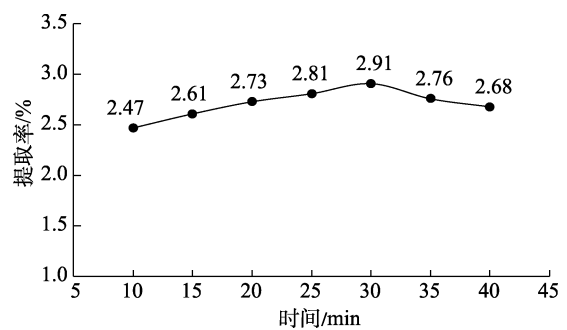


图 2 提取时间对糜子油的得率影响

Fig.2 Effect of extraction time on the yield of proso millet oil

结果表明,在 10~30 min 内,糜子油的得率与提取时间呈正相关,随着提取时间的延长,糜子油的得率不断增加。在 30 min 时,糜子油的得率为最大值 2.91%。而当时间大于 30 min 之后,随着时间的增加,糜子油的得率开始减小。

这可能是因为在一定时间范围内,随着时间的延长,油料分子与溶剂分子的接触会更加充分完全,有利于油脂的充分提取,因此得率随着时间的延长而增加。在一定时间之后接触达到平衡,此时再随着时间的延长,原料分解,导致杂质溶出,从而降低糜子油的得率,甚至还会增加时间成本^[10]。综合考虑,提取温度选取 25、30、35 min

这三个水平, 继续对糜子油的得率进行响应面分析, 以确定最佳提取时间。

2.1.3 提取温度对糜子油得率的影响

以石油醚为提取溶剂, 当提取时间为 30 min, 液料比 (V/M) 为 20 mL/g 时, 研究提取温度分别为 65、70、75、80、85、90 °C 时, 对糜子油得率的影响。结果如图 3 所示。

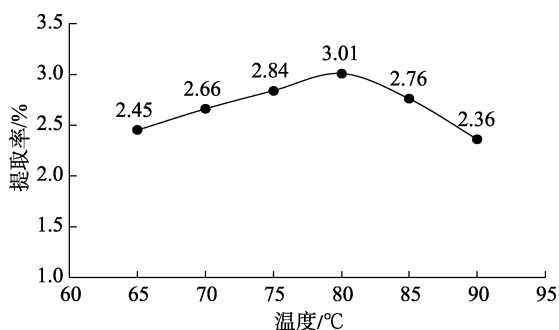


图 3 提取温度对糜子油的得率影响
Fig.3 Effect of extraction temperature on yield of proso millet oil

由图 3 可知, 在 65~80 °C 范围内, 糜子油的得率与提取温度呈正相关性, 得率随提取温度升高而增加。当提取温度为 80 °C 时, 糜子油的得率达到最大值 3.01%。当提取温度大于 80 °C 后, 其得率随提取温度的升高而减小。

原因可能是在适当的温度条件下, 分子热运动随温度增加而剧烈, 促进物料与溶剂分子间的相对运动, 从而有利于油脂的浸出扩散。但当温度过高接近溶剂沸点时, 溶剂汽化量增加, 挥发性物质增多, 压力增加, 从而阻碍了油脂浸出^[11]。综合考虑, 提取温度选取 75、80、85 °C 三个水平, 继续对糜子油得率进行响应面分析, 以确定最佳提取温度。

2.2 石油醚提取糜子油工艺优化响应面实验

2.2.1 响应面实验模型拟合

为了获得索氏提取法提取糜子油的最佳工艺条件, 采用正交设计法, 以得率为响应值, 研究不同因素之间的综合效应, 根据单因素实验结果, 对液料比 (mL/g)、提取时间 (min)、提取温度 (°C) 进行 3 因素 3 水平实验设计。

以单因素实验结果为依据, 以液料比 (A)、提取时间 (B)、提取温度 (C)、三个因素为自变量, 以糜子油得率 (Y) 为响应值, 通过 Design-

Expert 10 软件对糜子油提取工艺的参数进行 Box-Behnken 实验设计。实验因素和水平的设计如表 3 所示。

表 3 响应面实验因素组合表
Table 3 Combination of experimental factors in response surface test

因素	水平		
	-1	0	1
A	15	20	25
B	25	30	35
C	75	80	85

2.2.2 响应面实验结果显著性分析

响应面分析方案及实验结果如表 4 所示; 回归模型和方差分析结果如表 5 所示。

表 4 响应面实验结果表
Table 4 Results of response surface test

实验号	A	B	C	Y
1	-1	-1	0	2.02
2	1	-1	0	2.41
3	-1	1	0	2.30
4	1	1	0	2.22
5	-1	0	-1	2.20
6	1	0	-1	2.21
7	-1	0	1	2.30
8	1	0	1	2.43
9	0	-1	-1	2.11
10	0	1	-1	2.31
11	0	-1	1	2.41
12	0	1	1	2.52
13	0	0	0	2.98
14	0	0	0	3.03
15	0	0	0	3.02
16	0	0	0	2.99
17	0	0	0	2.96

用 Design-expert 得到了二次多元回归拟合方程: $Y=3.00+0.056A+0.050B+0.10C-0.12AB+0.030AC-0.023BC-0.41A^2-0.35B^2-0.31C^2$

对此模型方程进行方差分析, 从表 5 的方差分析结果中可以看出回归模型呈极显著 ($P < 0.01$), 失拟项无显著性 ($P > 0.05$), 回归方程的相关系数 $R^2=0.9913$, 校正后的相关系数 $R_{adj}^2=0.9801$ 。意味着方程中的自变量与因变量的线性关系显著, 该方程可用于石油醚索氏提取糜子油的提取工艺优化。

表 5 回归模型方差分析
Table 5 Analysis of variance in regression model

方差模型	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.988 129	9	0.220 903	88.386 52	<0.000 1	**
A-液料比	0.025 313	1	0.025 313	10.127 89	0.015 4	*
B-时间	0.02	1	0.02	8.002 286	0.025 4	*
C-温度	0.086 113	1	0.086 113	34.454 84	0.000 6	**
AB	0.055 225	1	0.055 225	22.096 31	0.002 2	**
AC	0.003 6	1	0.003 6	1.440 412	0.269 1	
BC	0.002 025	1	0.002 025	0.810 231	0.398 0	
A ²	0.692 338	1	0.692 338	277.014 3	<0.000 1	**
B ²	0.524 669	1	0.524 669	209.927 8	<0.000 1	**
C ²	0.392 969	1	0.392 969	157.232 7	<0.000 1	**
残差	0.017 495	7	0.002 499			
失拟项	0.014 175	3	0.004 725	5.692 771	0.063 1	
纯误差	0.003 32	4	0.000 83			
总离差	2.005 624	16				

注：*为差异显著 (P<0.05)；**为差异极显著 (P<0.01)。

各实验因素对糜子油提取率的影响为：C>A>B，一次项中 A 的偏回归系数显著 (P<0.05)，说明液料比对糜子油的提取率有显著性影响，B 的偏回归系数显著 (P<0.05)，说明提取时间对糜子油的提取率有显著影响，而 C 的偏回归系数极显著 (P<0.01)，说明提取温度对糜子油的提取率有极显著影响。交互项 AB 对提取率影响极显著 (P<0.01)，AC、BC 对提取率的影响不显著 (P>0.05)。二次项中的 A²、B² 和 C² 对提取率的影响均为极显著 (P<0.01)。

2.3 响应面和等高线图分析

2.3.1 提取时间和液料比的交互作用

在提取温度为 80 °C 下，三维面较陡，等高线呈椭圆形。表明提取时间和液料比的交互作用显著，用石油醚提取糜子油的得率受到二者的共同影响。其中液料比坡度比提取时间的三维面稍微陡一些，说明液料比对糜子油的得率有显著性影响。当提取时间在 27~31 min 之间，液料比在 19~23 mL/g 之间时，糜子油的得率达到最大值，随着提取时间和液料比的变化，糜子油的得率会下降。

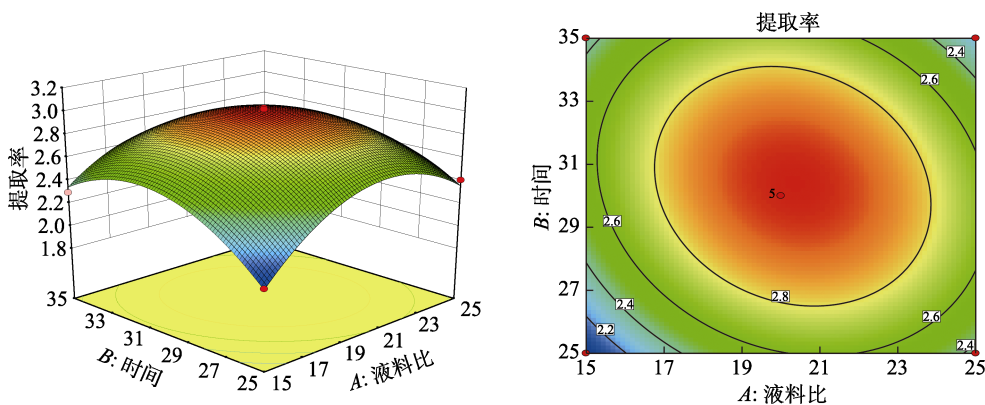


图 4 因素 A、因素 B 响应面分析图及等高线分布图

Fig.4 Factor A, B response surface analysis map and contour map

2.3.2 提取温度和液料比的交互作用

在提取时间在 30 min 时，三维面较陡，说明糜子油的得率受到二者的共同影响。等高线呈圆形，说明提取温度和液料比的交互作用不明显。其

中提取温度和液料比都对糜子油的得率有显著影响。当提取温度在 79~83 °C 范围内，液料比在 19~23 mL/g 范围内，糜子油的得率达到最大值，随着提取温度和液料比的变化，糜子油得率会下降。

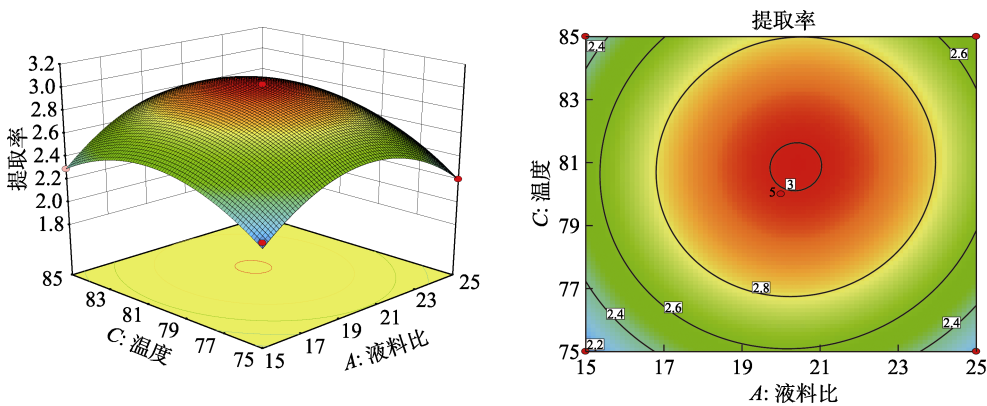


图 5 因素 A、因素 C 响应面分析图及等高线分布图

Fig.5 Factor A, C response surface analysis map and contour map

2.3.3 提取温度和提取时间的交互作用

在提取的液料比为 20 mL/g 的条件下，三维面较陡，等高线呈圆形。表明提取温度和提取时间的交互作用不显著，但其中提取温度和提取时

间都对糜子油的得率有显著影响。当提取时间在 29~33 min 之间，提取温度在 79~83 °C 之间时，糜子油的得率达到最大值，随着提取温度和提取时间的变化，糜子油得率会下降。

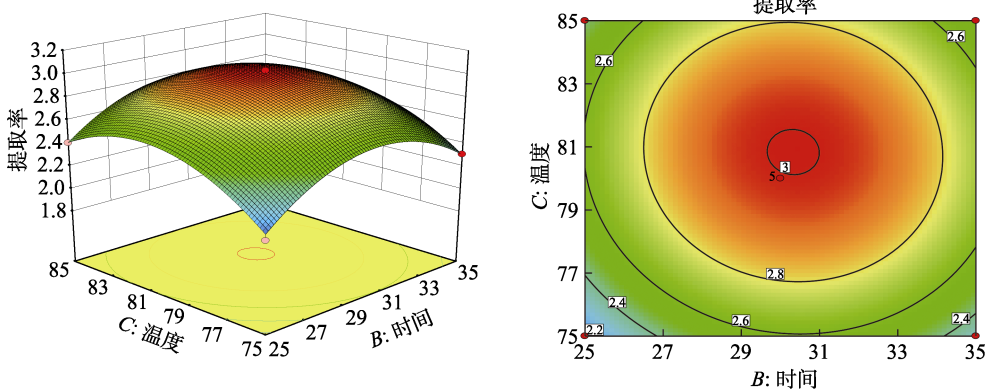


图 6 因素 B、因素 C 响应面分析图及等高线分布图

Fig.6 Factor B, C response surface analysis map and contour map

3 结论

用 Design-Expert 对数据进行预测以确定糜子油索氏提取工艺条件的最佳参数。结果表明：液料比为 20.34 mL/g、提取时间为 30.27 min、提取温度为 80.86 °C 时，在此提取条件下糜子油的预测最高得率为 3.008%。为了实验的方便和可操作性，对此模型进行修正为：液料比为 20 mL/g、提取时间为 30 min、提取温度为 80 °C。在修正后的提取条件下，糜子油的得率为 3.01%，与预测结果接近，证明该模型可以用于索氏提取法提取糜子油并验证其得率的相关实验。

参考文献：

[1] LU H, ZHANG J, LIU K, et al. Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to

10, 000 years ago[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106: 7367-7372.
 [2] 杜春微, 高梦哈, 刘庆, 等. 黄米品质特性研究[J]. 食品工业, 2018, 39(2): 83-87.
 DU C W, GAO M H, LIU Q, et al. Quality characteristics of proso millet[J]. The Food Industry, 2018, 39(2): 83-87.
 [3] ISSOUFOU A, MAHAMADOU E G, GUO W L. Millets: nutritional composition, some health benefits and processing – A Review[J]. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2013, 25(7): 501-508.
 [4] AGARWALA S, CHAUHNA E S. The nutritional composition, various processing and health benefits of proso millet: A Review[J]. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2019, 12(8): 4013-4017.
 [5] SHEN R L, MA Y L, JIANG L B, et al. Chemical composition, antioxidant, and antiproliferative activities of nine Chinese proso millet varieties[J]. Food and Agricultural Immunology, 2018, 29, 625-637.

- [6] 陈雪, 梁克红, 王靖, 等. 膳食中多不饱和脂肪酸对心血管疾病防治研究进展[J]. 中国油脂, 2020, 45(10): 87-94.
CHEN X, LIANG K H, WANG J, et al. Progress in prevention and treatment of cardiovascular diseases by dietary polyunsaturated fatty acids[J]. China Oils Fats, 2020, 45(10): 87-94.
- [7] 石帅, 张大红, 骆耀峰. 上海市食用油消费调查及消费者需求偏好研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(10): 1-5.
SHI S, ZHANG D H, LUO Y F. Consumption surveys and consumer demand preference for edible oil in Shanghai[J]. China Oils and Fats, 2010, 35(10): 1-5.
- [8] 王永菲, 王成国. 响应面法的理论与应用[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2005, 14(3): 236-240.
WANG Y F, WANG C G. The application of response surface methodology[J]. Journal of the CUN (Natural Sciences Edition), 2005, 14(3): 236-240.
- [9] 刘旭辉, 莫奕玲, 覃勇荣. 蚕蛹蛋白及蚕蛹油提取工艺条件的改进[J]. 食品科技, 2009, 34(12): 113-117+121.
LIU X H, MO Y L, QIN Y R. Study on the optimization of extraction technological conditions of silkworm pupa protein and oil[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(12): 113-117+121.
- [10] 罗玲, 周斌星, 郭威, 等. 普洱茶茶多糖的提取工艺的响应面分析研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(30): 263-266.
LUO L, ZHOU B X, GUO W, et al. Research on the extraction technology of Puerh tea polysaccharide by response surface analysis[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(30): 263-266.
- [11] 权美平. 浸提法提取杏仁油工艺参数优化[J]. 中国调味品, 2014, 39(1): 1-3.
QUAN M P. Optimizing the extraction parameters of bitter almond oil[J]. China Condiment, 2014, 39(1): 1-3. 完
- 备注: 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。