

正交试验设计优化马粪海胆生殖腺粗脂肪提取工艺研究

王洪英, 马娜娜, 李梦鑫, 孟竹, 尚彦琪, 张海雷, 薛晓宇, 郭承华* (烟台大学生命科学学院, 山东烟台 264005)

摘要 [目的] 以马粪海胆生殖腺为材料, 通过正交设计优选提取粗脂肪的最佳工艺条件。[方法] 采用索氏提取法提取马粪海胆生殖腺粗脂肪, 通过单因素试验和正交试验法优选提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的最佳工艺条件。[结果] 提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的最佳工艺条件为: 提取时间 6 h, 提取温度 70 ℃, 料液比 1:80, 提取次数 2 次。[结论] 在此优化条件下马粪海胆生殖腺的粗脂肪得率为 17.4%。

关键词 马粪海胆; 生殖腺; 粗脂肪; 索氏提取法; 正交实验法

中图分类号 S932.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)27-11064-02

Optimization of Extraction Process of Rude Fat from the Gonad of *Hemicentrous pulcherrimus* by Orthogonal Experiment Design

WANG Hong-ying et al (College of Life Sciences, Yantai University, Yantai, Shandong 264005)

Abstract [Objective] The gonad from *Hemicentrous pulcherrimus* were used as experimental materials. The optimal extraction process of rude fat was obtained by orthogonal experiment design. [Method] The rude fat from the gonad of *H. pulcherrimus* was extracted with Soxhlet extraction method. The optimal extraction process of rude fat was obtained by single-factor experiment and orthogonal experiment design. [Result] The optimal extraction process of rude fat: the ratio of material to water was 1:80, extracting time for 6 hours, extracting 2 times, at the temperature of 70 ℃. [Conclusions] Under the above optimal conditions, the yield of rude fat could reach to 17.4%.

Key words *Hemicentrous pulcherrimus*; Gonad; Rude fat; Soxhlet extraction method; Orthogonal experiment

马粪海胆 (*Hemicentrous pulcherrimus*) 属于棘皮动物门 (Echinodermata)、海胆纲 (Echinoidea), 主要分布于我国黄海、渤海沿岸以及浙江、福建沿海和日本等地区。海胆的身体分为 6 个部分: 体壁 (包括壳、棘、周口膜)、内腔、内含物、生殖腺、亚里士多德提灯和内脏液, 其生殖腺含有丰富的营养物质, 蛋白质含量 12.25%, 总糖含量 5.59%, 脂肪酸成分中花生四烯酸和 EPA 含量较高, Ca、Mg、Fe 等营养元素含量较高^[1]。

马粪海胆生殖腺中所含的营养成分, 使其具有良好的食用、保健开发利用前景。笔者对黄海海域马粪海胆生殖腺粗脂肪的提取工艺进行研究, 考察了影响粗脂肪得率的主要因素, 并采用正交试验法对其进行了优选, 探讨马粪海胆粗脂肪的最大得率的提取条件, 以期为更好地利用其食用及保健价值提供科学的理论依据。

1 材料与方

1.1 材料 马粪海胆, 2013 年 3 月购于烟台环海农贸城。

1.2 仪器 DZF-6020 型真空干燥箱, 购自上海博讯实业有限公司; H2-600 电热恒温水浴锅, 购自龙口市先科仪器公司; 索氏提取器。

1.3 试剂 石油醚 (A. R.), 购自烟台三和化学试剂有限公司等。

1.4 方法

1.4.1 单因素试验。 参照文献 [2] 的方法采用索氏提取法从马粪海胆生殖腺中提取粗脂肪。取新鲜马粪海胆生殖腺捣碎, 置于 105 ℃ 真空干燥箱中 4 h, 取出后研磨成粉再次放入 105 ℃ 真空干燥箱中干燥至恒重, 置于干燥器中备用。准

确称取马粪海胆干粉 2 g, 用干燥滤纸包好后放入索氏提取器中^[3]。称量并记录圆底烧瓶的质量 m_1 , 加入石油醚, 置于恒温水浴锅中进行抽提。抽提一定时间和次数后, 回收石油醚。测量干燥至恒重的圆底烧瓶质量 m_2 。按照以下公式计算粗脂肪得率: 粗脂肪得率 = $(m_2 - m_1) / 2 \times 100\%$ 。

1.4.2 正交试验。 在单因素试验的基础上, 采用正交设计试验表 $L_9(3^4)^{[4-5]}$, 以提取时间、提取温度、料液比和提取次数为试验因素, 以粗脂肪的得率为指标进行正交设计试验 (表 1), 对马粪海胆粗脂肪的提取工艺进行优化。

表 1 马粪海胆生殖腺粗脂肪最佳提取工艺的正交试验设计

水平	A 提取	B 提取	C 料液比	D 提取
	时间//h	温度//℃	W/V	次数
1	4	50	1:60	2
2	6	60	1:70	3
3	8	70	1:80	4

2 结果与分析

2.1 单因素对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响

2.1.1 提取时间对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响。 从图 1 可以看出, 2~6 h 马粪海胆生殖腺的粗脂肪得率随着提取时间的增加而提高, 6 h 以后粗脂肪得率的增加幅度变小。考虑到粗脂肪得率与提取成本, 确定最佳提取时间为 6 h。

2.1.2 提取温度对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响。 从图 2 可以看出, 在 40~60 ℃ 范围内粗脂肪得率随着温度的升高而逐渐升高, 当温度超过 60 ℃ 后粗脂肪得率略有下降。因此, 确定最佳提取温度为 60 ℃。

2.1.3 料液比对粗脂肪得率的影响。 由于石油醚中粗脂肪的溶解度有限, 提取过程中料液比对粗脂肪的得率也会有一定影响。选择 1:50~1:80 的料液比, 同时固定提取温度为 60 ℃, 提取时间为 2 h, 提取 1 次, 考察料液比对粗脂肪得率的影响。从图 3 可以看出, 马粪海胆生殖腺粗脂肪得率随着

基金项目 山东省自然科学基金 (ZR2013DM002); 烟台大学大学生科技创新基金立项资助项目 (121708)。

作者简介 王洪英 (1991-), 女, 山东济南人, 本科生, 专业: 生物科学。
* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事海洋生物活性物质研究, E-mail: gch@ytu.edu.cn。

收稿日期 2013-08-18

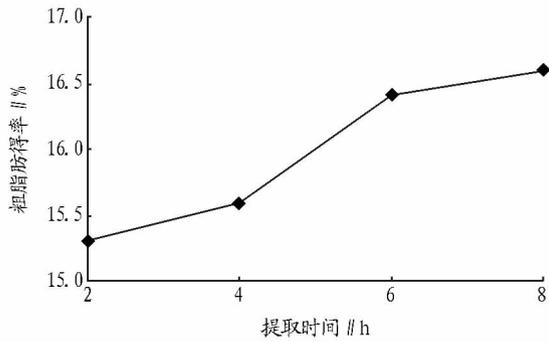


图1 提取时间对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响

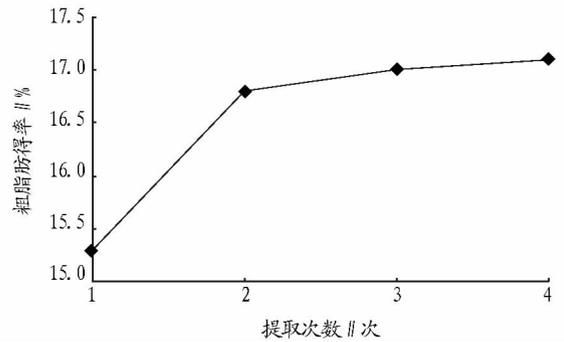


图4 提取次数对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响

件为 $A_2B_3C_3D_1$, 即提取时间 6 h, 提取温度 $70\text{ }^\circ\text{C}$, 料液比 1:80, 提取次数 2 次。取 3 份样品在最佳工艺条件下提取粗脂肪, 测得粗脂肪的平均得率 17.4%。

表2 提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的正交试验结果

试验号	A	B	C	D	粗脂肪得率//%
1	4	50.0	1:80	2	15.7
2	4	60	1:70	3	15.8
3	4	70	1:60	4	16.3
4	6	50	1:70	4	16.1
5	6	60	1:60	2	17.2
6	6	70	1:80	3	16.7
7	8	50	1:60	3	16.4
8	8	60	1:80	4	16.4
9	8	70	1:70	2	16.6
K_1	47.8	48.2	48.8	49.5	
K_2	50.0	49.4	48.5	48.9	
K_3	49.4	49.6	49.9	48.8	
R	0.8	0.4	0.4	0.2	

3 小结

通过采用索氏提取法提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的单一因素试验和 $L_9(3^4)$ 正交设计试验, 初步筛选出提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的最佳工艺条件为: 提取时间 6 h, 提取温度 $70\text{ }^\circ\text{C}$, 料液比 1:80, 提取次数 2 次。在此条件下的粗脂肪得率为 17.4%。马粪海胆生殖腺粗脂肪含量丰富, 该研究结果可为更好地利用其食用及保健价值提供科学的理论依据。

参考文献

- [1] 牛宗亮, 王荣镇, 董新伟, 等. 马粪海胆生殖腺营养成分的含量测定[J]. 中国海洋药物杂志, 2009, 28(6): 26-30.
- [2] 韦芳三, 李纯厚, 戴明, 等. 索氏提取法测定海洋微藻粗脂肪含量及其优化方法的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(4): 619-623.
- [3] 王均良, 李胜. 索氏脂肪提取器测定粗脂肪时应注意的问题[J]. 畜牧兽医杂志, 2012, 21(1): 80-82.
- [4] 毛永强. 正交设计优选褐蘑菇粗多糖提取工艺[J]. 江西农业学报, 2008, 20(5): 98-99.
- [5] 闫杰, 宋光泉, 梁键文, 等. 从酿造酱渣中提取粗脂肪的研究[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2007, 20(1): 58-61.
- [6] 何凤芹, 李拥军, 林庆昶, 等. 国家标准法和快速溶剂萃取(ASE)法对饲料中粗脂肪含量的测定效果比较[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 33(3): 58-59.

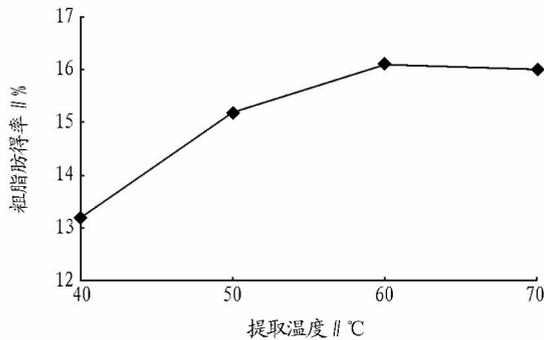


图2 提取温度对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响

料液比的增加而呈上升的趋势。

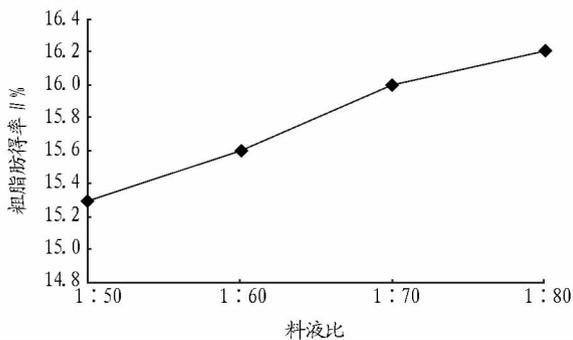


图3 料液比对马粪海胆生殖腺粗脂肪得率的影响

2.1.4 提取次数对粗脂肪得率的影响。从图4可以看出, 随着提取次数的增加, 马粪海胆生殖腺粗脂肪得率逐渐增加; 但是提取2次以后再增加提取次数, 粗脂肪得率趋于平缓。因此, 确定最佳提取次数为2次。这样既能保证一定的得率, 又能减少提取成本。

2.2 正交设计试验结果 从表2可以看出, 4个因素中A因素(提取时间)的极差最大, B因素(提取温度)、C因素(料液比)次之, 而D因素(提取次数)最小。因此, 影响马粪海胆生殖腺粗脂肪得率因素的大小顺序为 $A > B = C > D$, 即提取时间 > 提取温度 = 料液比 > 提取次数。

由表2可知, 提取马粪海胆生殖腺粗脂肪的最佳工艺条