

Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Oil from *Magnolia officinalis* Seeds with Response Surface Methodology

Liying Zhou, Yuhong Zhang*

Key Laboratory of Forest Plant Ecology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang
Email: *pzhangyh@126.com

Received: Apr. 22nd, 2019; accepted: May 10th, 2019; published: May 17th, 2019

Abstract

Magnolia officinalis is a traditional Chinese medicinal material and a national secondary protected plant. In this paper, supercritical CO₂ fluid extraction technique was used to study the effects of extraction pressure, extraction temperature and extraction time on the oil yield of *M. officinalis* seed oil. After single factor test and response surface optimization analysis and verification, the optimum conditions for the supercritical CO₂ fluid extraction *M. officinalis* seed oil were determined: extraction pressure 34 MPa, extraction temperature 41°C, extraction time 130 min. Under these conditions, the seed oil yield of *M. officinalis* was 21.825%. At the same time, the seed oils obtained from *M. officinalis* and *M. officinalis* subsp. *biloba* under the optimal conditions, and the physicochemical properties of the two seed oils were tested: specific gravity 0.862 g/mg and 0.893 g/mg; acid value 53.973 mg/g and 61.306 mg/g; iodine value 100.813 g/100g and 102.226 g/100g; saponification value 186.944 mg KOH/g and 193.463 mg KOH/g; peroxide value 0.030 mmol/kg and 0.140 mmol/kg; moisture and volatiles 0.0701% and 0.0698%. The two seed oils have higher content of unsaturated fatty acids, and the oil is clear and transparent, which has a good application prospect.

Keywords

Magnolia officinalis, Supercritical CO₂ Fluid Extraction, Seeds Oil, Response Surface Methodology, Physicochemical Properties

响应面法优化超临界CO₂流体萃取厚朴种子油

周丽莹, 张玉红*

*通讯作者。

东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨
Email: pzhangyh@126.com

收稿日期: 2019年4月22日; 录用日期: 2019年5月10日; 发布日期: 2019年5月17日

摘要

厚朴是我国传统大宗药材, 也为国家二级保护植物。本文应用超临界CO₂流体萃取技术, 研究了萃取压力、萃取温度及萃取时间3个因素对厚朴种子得油率的影响, 经过单因素试验及响应面优化分析、验证, 确定了超临界CO₂流体萃取厚朴种子油的最佳工艺条件: 萃取压力34 MPa, 萃取温度41℃, 萃取时间130 min, 在此条件下厚朴种子得油率为21.825%。同时, 对厚朴和凹叶厚朴在此最优条件下得到的种子油对其理化性质进行检测, 两种种子油分别是: 比重0.862 g/mg和0.893 g/mg; 酸值53.973 mg/g和61.306 mg/g; 碘值100.813 g/100g和102.226 g/100g; 皂化值186.944 mg KOH/g和193.463 mg KOH/g; 过氧化值0.030 mmol/kg和0.140 mmol/kg; 水分及挥发物0.0701%和0.0698%。两种种子油中不饱和脂肪酸含量较高, 油脂澄清透明, 具有较好的应用前景。

关键词

厚朴, 超临界CO₂萃取, 种子油, 响应面优化, 理化性质

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.)和凹叶厚朴(*M. officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba*)为木兰科(Magnoliaceae)木兰属(*Magnolia*)的植物, 二者的主要区别在于其叶先端是否凹陷, 《Flora of China》则把厚朴和凹叶厚朴进行归并, 统称厚朴(*Houpoëa officinalis*), 组成厚朴属(*Houpoëa*) [1]。作为中国传统大宗中药材, 厚朴的各个部位均可入药, 其中以树皮为主。随着现代药理学研究的深入, 厚朴的药用价值逐渐被各行各业的学者所发现, 厚朴具有抗肿瘤、抗菌、抗溃疡、抗病毒、抗过敏、抗炎镇痛、防龋作用、防止应激性胃功能障碍、抑制血小板聚集、中枢神经系统保护、降血压和肌肉松弛等作用[2] [3] [4]。但由于厚朴树皮的贸易量的增长及需求量的增大, 厚朴的野生资源受到严重破坏, 导致厚朴除树皮外的其他部位的资源浪费。因此对厚朴其他部位的深入研究成为了解决问题的必然方式。厚朴种子具有明目益气的功效, 同时其含油量可达35%, 出油量为25%, 可榨油或制肥皂[5], 因此厚朴种子可作为油料的一种来源。

目前, 对植物种子油的提取方法主要由溶剂浸提法、超声波萃取法、冷榨法、热榨法、超临界CO₂流体萃取法等构成[6] [7] [8] [9]。超临界CO₂流体萃取技术(Supercritical Fluid Extraction, SFE)作为一种独特、高效、清洁的新型提取、分离手段, 在当代医药、化工、食品及环境等领域发挥了重要作用, 而且被列为中药高效提取分离新技术, 是一种绿色环保, 应用前景良好, 可取代传统化学方法的首选提取分离技术[10] [11] [12] [13]。

本实验探讨了萃取压力、萃取温度和萃取时间对超临界CO₂流体萃取厚朴种子油的影响, 并采用响

应面分析法对实验的参数进行优化, 同时对厚朴和凹叶厚朴种子油的理化性质进行测定, 为两种厚朴种子油的开发与利用提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

厚朴种子和凹叶厚朴种子, 分别产自于四川省和安徽省。对种子进行筛选, 除去发霉变质的种子及杂质。

CO₂ 气体, 哈尔滨市北极气体有限公司; 95%乙醇溶液, 天津市科密欧化学试剂有限公司。H121-50-01 型超临界萃取装置, 江苏省南通市华安超临界萃取有限公司; 101-3AB 型电热鼓风干燥箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; WND-200A 型高速中药粉碎机, 浙江省兰溪市伟能达电器有限公司; BSA124S-CW 型电子分析天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

2.2. 试验方法

2.2.1. 种子油的超临界 CO₂ 流体萃取工艺流程

厚朴种子 60℃ 烘干 24 h → 粉碎、过筛(20 目) → 60℃ 烘干 24 h → 称取 100 g 厚朴种子粉、装料 → 超临界 CO₂ 流体萃取 → 收集、称量厚朴种子油 → 按公式计算得油率。

厚朴种子得油率(%) = 收集得到的厚朴种子油质量 m (g)/厚朴种子粉的质量 M (g) × 100

2.2.2. 单因素试验

将 CO₂ 流速设为 15~20 kg/h, 选取压力、温度和时间作为对厚朴种子得油率的主要影响因素, 进行单因素试验, 每组试验重复 3 次。在萃取温度 40℃, 萃取时间 120 min 条件下, 萃取压力分别设定为 15、20、25、30、35 MPa, 进行萃取压力对厚朴种子得油率影响的单因素试验; 在萃取压力 30 MPa, 萃取时间 120 min 条件下, 萃取温度分别设定为 35℃、40℃、45℃、50℃、55℃, 进行萃取温度对厚朴种子得油率影响的单因素试验; 在萃取压力 30 MPa, 萃取温度 40℃ 条件下, 萃取时间分别设定为 30、60、90、120、150、180 min, 进行萃取时间对厚朴种子得油率影响的单因素试验。

2.2.3. 响应面优化试验

根据单因素试验结果, 选取萃取压力(A), 萃取温度(B), 萃取时间(C)最优水平, 根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 以厚朴种子得油率为响应值, 采用响应面分析法, 优化厚朴种子油 CO₂ 流体萃取工艺的参数。

2.2.4. 种子油理化性质测定

在最优萃取工艺条件下, 测定超临界 CO₂ 流体萃取出的厚朴种子油及凹叶厚朴种子油的理化性质。相对密度测定: GB/T 5518-2008 粮食、油料相对密度的测定; 酸值测定: GB/T 5530-2005 动植物油脂酸值和酸度测定; 碘值测定: GB/T 5532-2008 动植物油脂碘值的测定; 皂化值测定: GB/T 5534-2008 动植物油脂皂化值的测定; 过氧化值: GB/T 5538-2005 动植物油脂过氧化值测定; 水分及挥发物测定: GB/T 5528-2008 植物油脂水分及挥发物含量测定法; 透明度测定: GB/T 5525-2008 植物油脂透明度、气味、滋味鉴定法。

2.3. 数据分析

单因素试验采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析处理, 响应面优化试验采用 Design-Expert V8.0.6 进行数据分析处理。

3. 结果与分析

3.1. 种子油超临界 CO₂ 流体萃取的单因素试验

3.1.1. 萃取压力对种子得油率的影响

由图 1 可知, 厚朴种子得油率随萃取压力的升高而增大, 萃取压力在 15~30 MPa 范围内时, 得油率增幅较大, 而在 30~35 MPa 范围内时, 得油率增幅趋于平缓。这主要是由于 30 MPa 以后, 物料中所剩的油脂减少, CO₂ 密度逐渐稳定, 致使该萃取压力条件下得油率增幅不明显[14]。由于萃取压力过高会损耗设备, 基于对设备的保护及资源的节约, 因此选择 30 MPa 为最优萃取压力。

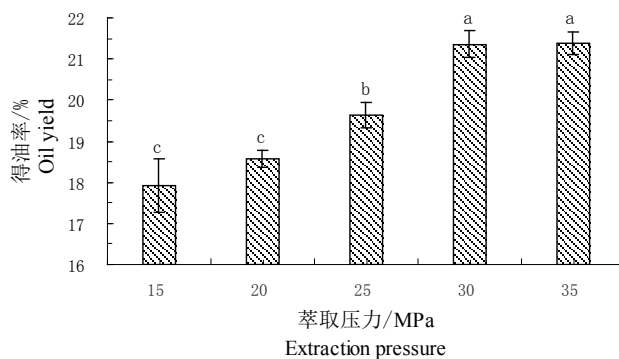


Figure 1. Effect of extraction pressure on oil yield of *M. officinalis* seeds (the same lowercase letters indicate that the difference is not significant, $p > 0.05$, and different lowercase letters indicate significant differences, $p < 0.05$)

图 1. 萃取压力对厚朴种子得油率的影响(相同小写字母表示差异不显著, $p > 0.05$, 不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$)

3.1.2. 萃取温度对种子油得率的影响

由图 2 可知, 厚朴种子得油率随温度的增大呈现先增后减的趋势, 在 40℃ 时达到最大值。这说明温度的升高可使 CO₂ 的溶解能力增强, 但当温度升高到一定临界值时, 又会使其溶解能力的降低, 导致得油率下降, 影响对油脂的萃取, 因此选择 40℃ 为最优萃取温度。

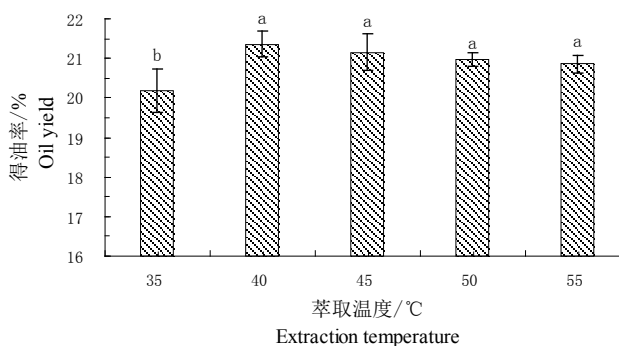


Figure 2. Effect of extraction temperature on oil yield of *M. officinalis* seeds (the same lowercase letters indicate that the difference is not significant, $p > 0.05$, and different lowercase letters indicate significant differences, $p < 0.05$)

图 2. 萃取温度对厚朴种子得油率的影响(相同小写字母表示差异不显著, $p > 0.05$, 不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$)

3.1.3. 萃取时间对种子油得率的影响

由图 3 可知, 随时间的延长, 厚朴种子得油率逐渐升高, 当萃取时间达到 120 min 后, 得油率的增幅趋于平缓。由于考虑的成本和效率, 因此选择 120 min 为最优的萃取时间。

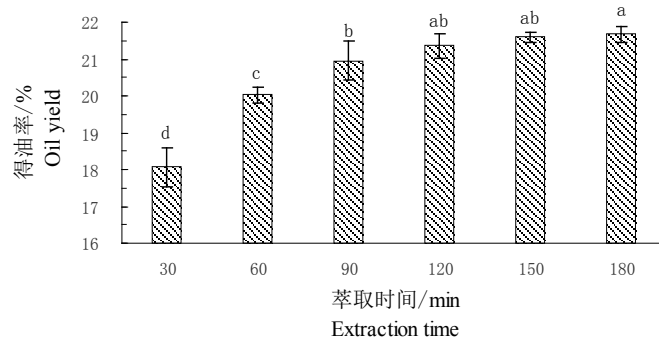


Figure 3. Effect of extraction time on oil yield of *M. officinalis* seeds (the same lowercase letters indicate that the difference is not significant, $p > 0.05$, and different lowercase letters indicate significant differences, $p < 0.05$)

图 3. 萃取时间对厚朴种子得油率的影响(相同小写字母表示差异不显著, $p > 0.05$, 不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$)

3.2. 响应面优化超临界 CO₂ 流体萃取厚朴种子油工艺

3.2.1. Box-Behnken 试验设计方案及结果

在单因素实验最优条件的基础上, 考察萃取压力(A), 萃取温度(B), 萃取时间(C)这 3 个因素, 以厚朴种子得油率为响应值, 根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理, 设计 3 因素 3 水平的实验方案, 试验设计方案见表 1, 结果见表 2。

Table 1. Factor level of Box-Behnken experimental design

表 1. Box-Behnken 试验设计因素水平

编码值	压力 A/MPa	温度 B/°C	时间 C/min
1	35	45	130
0	30	40	120
-1	25	35	110

Table 2. Experimental design and result of Box-Behnken

表 2. Box-Behnken 试验设计及结果

试验号	A	B	C	得油率/%
1	-1	0	-1	19.117
2	0	1	-1	20.553
3	-1	-1	0	18.112
4	0	1	1	21.183
5	0	-1	-1	20.168
6	-1	0	1	19.851
7	0	0	0	21.352
8	1	1	0	21.371
9	-1	1	0	20.196
10	0	0	0	21.468
11	0	0	0	20.895
12	0	0	0	20.993
13	1	0	-1	21.368
14	1	-1	0	20.788
15	0	0	0	21.345
16	0	-1	1	20.632
17	1	0	1	21.844

3.2.2. 模型的建立及显著性检验

使用 Design-Expert V8.0.6 软件, 对结果中数据进行多元回归拟合, 得到厚朴种子得油率(Y)对萃取压力、萃取温度、萃取时间 3 个考察因素的二次多项回归方程。

$$Y = 21.2106 + 1.0119A + 0.4504B + 0.2880C - 0.3753AB - 0.0645AC + 0.0415BC - 0.5914A^2 - 0.5024B^2 - 0.0742C^2$$

经过回归统计分析, 试验结果如表 3。其中, 模型的 p 值为 0.0006 (<0.01), 表示有统计学意义; 失拟项模型失拟项 $p = 0.2431$ (>0.05), 表示无统计学意义。由于失拟项表示模型预测值与实际值不拟合的概率[15], 说明此回归方程拟合度好, 所选模型合适。各影响因素的影响程度由强至弱为萃取压力、萃取温度、萃取时间。

Table 3. Statistical analysis of regression results

表 3. 回归统计分析结果

来源	系数	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
模型		13.81603	9	1.535115	16.61384	0.0006	**
A		8.191128	1	8.191128	88.64879	<0.0001	**
B		1.622701	1	1.622701	17.56174	0.0041	**
C		0.663552	1	0.663552	7.181316	0.0315	*
AB		0.56325	1	0.56325	6.095797	0.0429	*
AC		0.016641	1	0.016641	0.180098	0.6840	
BC		0.006889	1	0.006889	0.074556	0.7927	
A^2		1.472773	1	1.472773	15.93914	0.0052	**
B^2		1.062867	1	1.062867	11.50292	0.0116	*
C^2		0.023166	1	0.023166	0.250715	0.6319	
残差		0.646798	7	0.0924			
失拟项		0.395533	3	0.131844	2.098889	0.2431	不显著
净误差		0.251265	4	0.062816			
总离差		14.46283	16				

注: **代表差异有统计学意义($p < 0.01$); *代表差异有统计学意义($p < 0.05$)。

经过分析可得到变异系数值(CV), 其反映了模型的可信度, 变异系数值越低, 可信度越高, 反之则可信度越低。该模型中变异系数值为 1.47%, 较低, 说明模型的可信度较高。而回归决定系数 R^2 为 0.9553, 说明 95.53%的厚朴种子得油率的变化源于这 3 个因素, $R_{Adj}^2 = 0.8978$, 说明 89.78%厚朴种子得油率可由该模型解释, Adeq Precision 的值很高(为 15.017), 说明此模型可用于预测。综上所述, 可依据此模型准确可靠的分析和预测超临界 CO_2 流体萃取厚朴种子油的得油率[16]。

由表 3 可知, A 、 B 、 C 、 AB 、 A^2 、 B^2 都具有统计学意义($p < 0.05$), 说明对厚朴种子得油率有显著影响, 影响程度为 $A > B > A^2 > B^2 > C > AB$ 。同时, 对回归方程去除无统计学意义因素得:

$$Y = 21.2106 + 1.0119A + 0.4504B + 0.2880C - 0.3753AB - 0.5914A^2 - 0.5024B^2$$

3.2.3. 响应面交互作用分析、优化及结果验证

利用 Design-Expert V8.0.6.1 软件对各因素间的交互作用进行响应面分析, 并绘制 3D 响应面曲面图及等高线图。从而得到各因素间产生明显交互作用的响应面图如图 4(a)~图 6(a)所示, 等高线图如图 4(b)~图 6(b)所示。

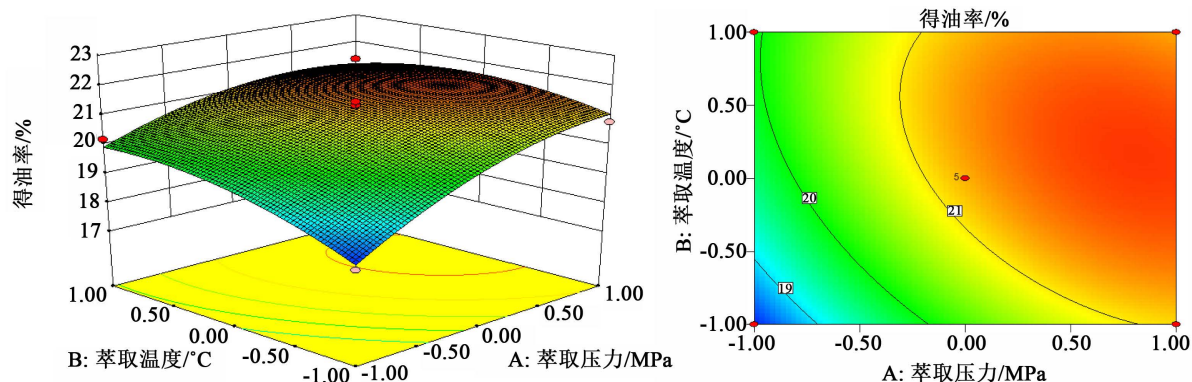


Figure 4. The effect of interaction between extraction pressure and extraction temperature on oil yield

图 4. 萃取压力与萃取温度的交互作用对得油率的影响

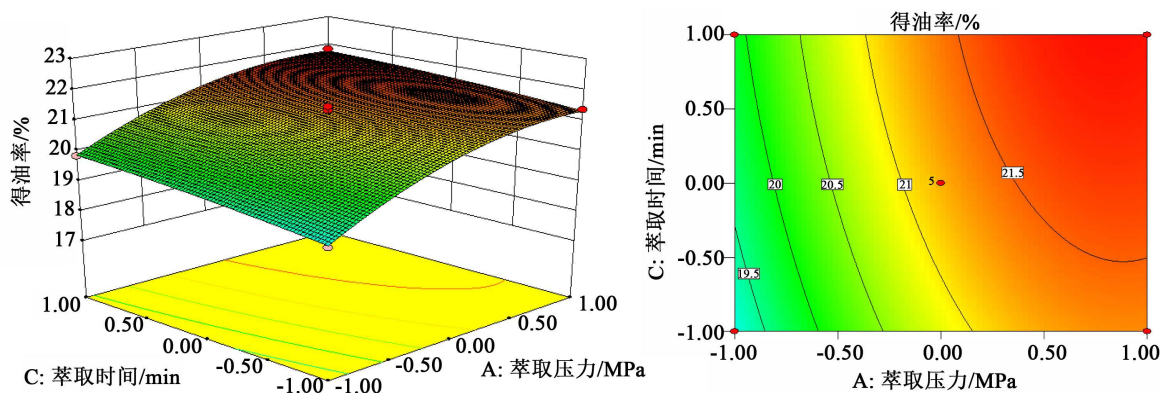


Figure 5. The effect of interaction between extraction pressure and extraction time on oil yield

图 5. 萃取压力与萃取时间的交互作用对得油率的影响

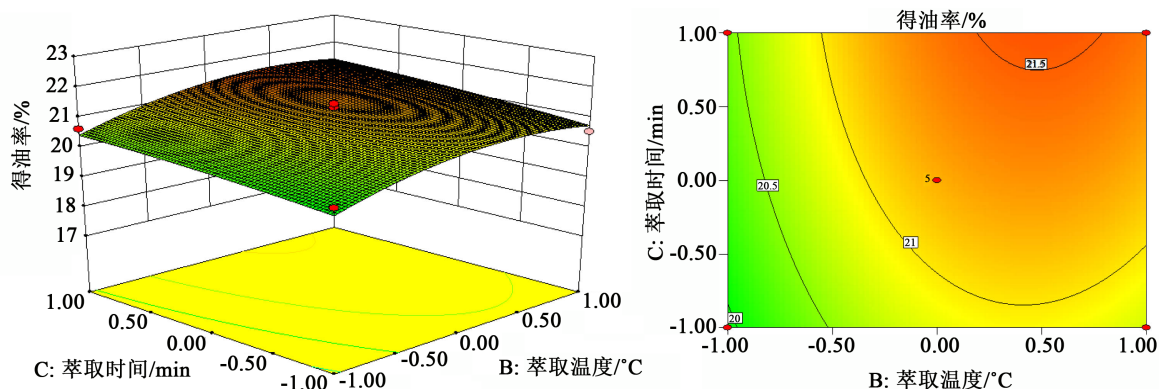


Figure 6. The effect of interaction between extraction temperature and extraction time on oil yield

图 6. 萃取温度与萃取时间的交互作用对得油率的影响

由图 4 可知, 随萃取压力与萃取温度间的交互作用显著。如图 4 所示, 当萃取压力在低水平时, 萃取温度的响应面抛物线所对应的最高点也位于较低水平, 而随着萃取压力的增加, 萃取温度的响应面抛物线所对应的最高点也逐渐向高水平方向移动。因此, 厚朴种子得油率在萃取压力较大, 萃取温度较高时较高。由图 5 可知, 萃取压力与萃取时间间的交互作用不显著, 得油率主要有萃取压力所决定。如图 5 所示, 得油率随萃取压力的增加而逐渐升高, 当萃取压力最大, 萃取时间在较低水平也可以得

到较高的得油率。由图 6 可知, 萃取温度与萃取时间之间的交互作用不显著, 得油率主要由萃取温度所决定。如图 6 所示, 得油率随萃取温度的升高呈现先升高后下降的趋势, 当萃取温度在较高值而未达到最高值时, 萃取时间在较低水平也可以得到较高的得油率。同时, 由图 4~6 所示, 由于萃取压力的响应面曲线较陡, 等高线随萃取压力的变化而迅速变化, 而萃取温度和萃取时间的响应面曲面较为平缓, 等高线随其数值上的变化幅度较小[17]。因此, 萃取压力对厚朴种子得油率的影响最显著, 其他因素次之。

通过对试验结果的分析计算得出厚朴种子理论得油率的最佳萃取工艺条件: 萃取压力为 33.66 MPa, 萃取温度为 41.08℃, 萃取时间为 130 min, 在此条件下回归方程预测出的厚朴种子得油率的理论值为 21.825%。考虑到试验的实际操作性, 对最佳萃取工艺条件的参数进行修正后可得: 萃取压力为 34 MPa, 萃取温度为 41℃, 萃取时间为 130 min。

在修正后的最佳萃取工艺条件下进行 3 次重复的验证试验, 可得厚朴种子得油率的实际平均值为 21.741%, 与理论预测值 21.825% 相差 0.084%, 差异不显著($p > 0.05$), 说明回归方程与实际操作结果的拟合度良好, 采用响应面法分析与优化所得的最优萃取工艺条件准确可靠, 具有实际应用价值。

3.3. 厚朴及凹叶厚朴种子油的理化性质

利用上述最优萃取工艺条件, 对厚朴和凹叶厚朴两种植物种子进行种子油萃取, 所获得的两种厚朴种子油均为透明的、浅棕红色液体, 无杂质, 均有独特香气。分别为两种厚朴种子油的相对密度、酸值、碘值、皂化值、过氧化值、水分及挥发物等理化性质进行测定, 每个指标的测定重复 3 次, 结果如表 4 所示。

Table 4. Physicochemical properties of different kinds of Magnolia seeds oil

表 4. 不同种厚朴种子油的理化性质

名称	比重 (g/mg)	酸值 (mg/g)	碘值 (g/100g)	皂化值 (mg KOH/g)	过氧化值 (mmol/kg)	水分及挥发物 (%)	透明度
厚朴	0.862	53.973	100.813	186.944	0.030	0.0701	透明
凹叶厚朴	0.893	61.306	102.226	193.463	0.140	0.0698	透明

酸值可以代表油样中游离态的脂肪酸含量, 二者呈现正相关性。同时, 也是判定样品优劣的决定性指标, 其数值越小则品质越好[18]。从表 4 得知, 两种种厚朴种子油的酸值均较高, 且凹叶厚朴种子油高于厚朴, 说明两种厚朴种子油所含的游离脂肪酸也都较高, 但凹叶厚朴种子油较厚朴种子油更易发生酸败现象。碘值代表样品油的不饱和程度, 碘值越大, 油的不饱和程度越高。从表 4 中可以看出, 两种厚朴种子油的碘值都大于 100 g/100g, 小于 130 g/100g, 均属于半干性油, 油的成分主要以油酸及亚油酸为主, 且凹叶厚朴种子油的不饱和程度高厚朴种子油。

皂化值可用于确定油样是否可被用于肥皂的制作, 是制皂业生产的重要依据。同时, 也与脂肪酸的分子量呈负相关性。两种厚朴种子油的皂化值均较高(表 4), 相比较后凹叶厚朴种子油略高于厚朴种子油, 说明两种厚朴种子均可用于制皂工业, 且凹叶厚朴种子的皂化能力较强。

油脂的过氧化值越低, 说明其被氧化程度越低, 酸败程度越小。如表 4 所示, 厚朴及凹叶厚朴种子油的过氧化值分别为 0.030 mmol/kg 和 0.140 mmol/kg, 都小于 24 mmol/kg。因此厚朴及凹叶厚朴种子油的被氧化程度低, 酸败程度低, 且凹叶厚朴较高于厚朴, 这两种种子油均符合食用植物油卫生标准对油脂过氧化值的要求[19][20]。同时, 两种厚朴种子油中的水分及挥发物含量少, 且均为透明油脂。

4. 结论

利用响应面法优化超临界 CO₂ 流体萃取技术, 得到了超临界 CO₂ 流体萃取厚朴种子油的最佳工艺条件: 萃取压力为 34 MPa, 萃取温度为 41℃, 萃取时间为 130 min, 在此条件下厚朴种子得油率为 21.825%, 且实际操作结果与理论回归方程预测值基本一致。三种因素均对厚朴种子得油率有显著影响。在最优参数条件下, 超临界 CO₂ 流体萃取所得到的厚朴及凹叶厚朴种子油不饱和脂肪酸含量较高, 油脂澄清透明, 具有较好的应用前景。

参考文献

- [1] 雷斌, 杨志玲, 段红平, 杨旭. 药用植物厚朴种子研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(10): 4324-4326.
- [2] 张永太, 吴皓. 厚朴药理学研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(5): 96-99.
- [3] 陈笈, 王伯初. 厚朴的药理研究进展[J]. 重庆大学学报, 2005, 28(9): 136-139.
- [4] 熊璇, 于晓英, 魏湘萍, 等. 厚朴资源综合应用研究进展[J]. 林业调查规划, 2009, 34(4): 88-92.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 119.
- [6] Xhaxhiu, K. and Wenclawiak, B. (2015) Comparison of Supercritical CO₂ and Ultrasonic Extraction of Orange Peel Essential Oil from Albanian Moro Cultivars. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **18**, 289-299. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1010603>
- [7] Tsuchiya, Y., Sako, T., Okajima, I. and Yamamoto, A. (2015) Improved Jatropha Oil Separation by Entrainer-Aided Supercritical CO₂ Extraction. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **48**, 16-21.
- [8] Santos, P., Aguiar, A.C., Barbero, G.F., Rezende, C.A. and Martínez, J. (2015) Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Capsaicinoids from Malagueta Pepper (*Capsicum frutescens* L.) Assisted by Ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, **22**, 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.05.001>
- [9] Saito-Shida, S., Nemoto, S. and Matsuda, R. (2014) Multiresidue Analysis of Pesticides in Vegetables and Fruits by Supercritical Fluid Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Hygiene and Safety Science*, **55**, 142-151.
- [10] 赵丹, 尹洁. 超临界流体萃取技术及其应用简介[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(15): 4772-4780.
- [11] 刘娜. 超临界流体萃取技术在中药提取中的应用[J]. 广州化工, 2017, 45(24): 31-33.
- [12] Marr, R. and Gamse, T. (2000) Use of Supercritical Fluids for Different Processes Including New Developments—A Review. *Chemical Engineering and Processing*, **39**, 19-28. [https://doi.org/10.1016/S0255-2701\(99\)00070-7](https://doi.org/10.1016/S0255-2701(99)00070-7)
- [13] Werner, H. and Hautha, L. (2001) Advances with Supercritical Fluids. *Chemosphere*, **43**, 123-135. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00332-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00332-5)
- [14] 袁美兰, 温辉梁, 傅升. 超临界流体萃取在油脂工业中的应用现状[J]. 西部粮油科技, 2003, 28(6): 24-27.
- [15] 蔡兴东. 乙醇夹带剂在超临界萃取中草药活性成分中的应用[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(6): 1245-1248.
- [16] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 180-204.
- [17] 张春华, 包斌, 陈山乔, 等. 响应面优化超临界 CO₂ 萃取罗非鱼头油的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(2): 293-302.
- [18] 李桂华. 油料油脂检验与分子[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [19] 食用植物油卫生标准: GB/T 2716-2005[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [20] 孙谦, 胡中海, 孙志高, 等. 响应面法优化超临界 CO₂ 流体萃取红橘种子油[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2016, 41(2): 46-52.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2168-5665，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：br@hanspub.org