

胡柚皮总黄酮超临界CO₂萃取工艺*

夏其乐 郑美瑜 杨颖 陈剑兵 张俊 陆胜民

(浙江省农业科学院食品科学研究所, 杭州 310021)

【摘要】 为研究超临界 CO₂ 萃取胡柚皮总黄酮的工艺,在夹带剂试验和单因素试验的基础上,采用四因素三水平正交试验设计,以萃取压力、萃取温度、动态萃取时间、CO₂ 流量为考察因素,优选了超临界 CO₂ 萃取胡柚皮总黄酮的最佳工艺。结果表明:该试验无需使用夹带剂,各因素对得率的影响大小依次为:CO₂ 流量、萃取时间、萃取压力、萃取温度。最佳萃取工艺条件为:萃取压力 35 MPa,萃取温度 45℃,静态萃取 40 min 后动态萃取 60 min,CO₂ 流量 3 L/min,此条件下胡柚皮总黄酮的得率可达 1.01 mg/g。

关键词: 胡柚皮 总黄酮 超临界 CO₂萃取

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2011)09-0151-04

Extraction Technology of Changshanhuyou Peel Total Flavonoids by Supercritical Carbon Dioxide Fluid

Xia Qile Zheng Meiyu Yang Ying Chen Jianbing Zhang Jun Lu Shengmin

(Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract

Extraction method of Changshanhuyou peel total flavonoids by supercritical carbon dioxide fluid was studied. On the basis of entrainer test and extraction pressure, extraction temperature, dynamic extraction time, CO₂ flow rate, orthogonal experiment was carried out. The results showed that entrainer was unnecessary and the optimum extraction pressure was 35 MPa, extraction temperature was 45℃, extraction time for dynamic extraction was 60 min after static extraction for 40 min, and the flow rate of CO₂ was 3 L/min. Under above process conditions, the extraction yield of Changshanhuyou peel total flavonoids reached to the maximum of 1.01 mg/g.

Key words Changshanhuyou peel, Total flavonoids, Supercritical carbon dioxide fluid extraction

引言

胡柚(Changshanhuyou)含有较为丰富的黄酮类化合物如橙皮苷、柚皮苷等,其中果皮中黄酮类化合物的含量远高于果汁,这些化合物都有较强的抗氧化功效和降血脂作用^[1~4]。超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction, 简称SFE)是近二十年来发展起来的一项新型分离精制技术,工艺简单,操作方便。目前常用的超临界流体有 CO₂、乙烯、乙烷、丙稀等,最常用的是 CO₂,与其他萃取剂相比,

CO₂ 具有临界温度低(31.6℃)、无毒、无味、不易燃、廉价易得等优点,特别适合于食品工业生物活性物质和热敏性物质的分离提取^[5]。本文研究超临界 CO₂ 萃取胡柚皮总黄酮的工艺,以期为后续的分

1 材料与方法

1.1 材料

胡柚,产自浙江省常山县,果皮热风干燥(55℃)后粉碎,过 40 目筛网;CO₂,纯度 99.995%,

收稿日期:2010-10-15 修回日期:2010-11-05

* 现代农业产业技术体系专项经费资助项目(MATS)和浙江省科技厅公益性项目(2009C32061)

作者简介: 夏其乐,助理研究员,主要从事农产品增值加工与综合利用研究,E-mail: cookxql@yahoo.com.cn

通讯作者: 陆胜民,研究员,博士生导师,主要从事农产品加工与功能特性研究,E-mail: lushengmin@hotmail.com

杭州今工特种气体有限公司;乙醇、正己烷,皆为分析纯试剂。

1.2 主要仪器

Spe-ed 型超临界萃取装置(萃取釜为 100 mL,美国应用分离公司);SDC-6 型低温恒温槽(宁波科芝生化仪器厂);TYW-2 型空气压缩机(苏州同一机械厂);BS 200S-WEI 型精密天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);QE-200 型中药粉碎机(武义县屹立工具有限公司);UV-1800 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

1.3 胡柚皮总黄酮超临界 CO₂萃取流程

精确称量 5.000 g 经过粉碎的干燥胡柚皮,将其置于萃取釜中,并根据试验设计添加一定量的夹带剂,设定萃取温度,温度稳定后通入 CO₂ 气体,并调节到一定压力。待温度、压力稳定后,开始计时进行静态萃取,静态萃取一定时间后即开启出口阀,调节 CO₂ 流量,进行动态萃取,收集萃取物。添加夹带剂试验需将夹带剂在低温条件下蒸发,残留固体即为总黄酮萃取物^[6]。

1.4 总黄酮的测定方法

准确称取芦丁 0.021 g,用 30% 乙醇溶解后定容至 100 mL 备用。取 7 支具塞试管,分别加入 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 芦丁标液,加入 5% NaNO₂溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min 后加入 10% Al(NO₃)₃溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min 加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL,再加入 30% 乙醇,使总体积为 10 mL。摇匀,10 min 后于波长 510 nm 处测定吸光度,制作标准曲线^[7],如图 1 所示。样品黄酮萃取物用 30% 乙醇稀释一定倍数,取 1.0 mL 于 10 mL 具塞试管中,以下操作同标准曲线制作,测定其在波长 510 nm 处吸光度。

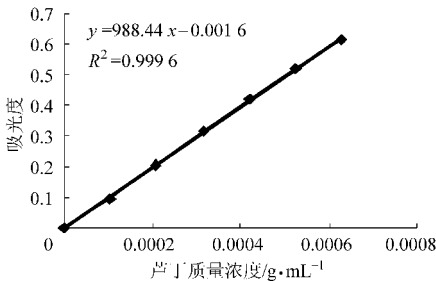


图 1 芦丁标准曲线
Fig. 1 Standard curve of Rutin

1.5 试验方法

影响总黄酮得率的因素可能有夹带剂种类、萃取压力、萃取温度、CO₂ 流量、动态和静态萃取时间等。本文首先筛选合适的夹带剂,再通过静态、动态萃取的对比和结合,确定最佳的动静态萃取方式,在此基础上选择动态萃取时间、萃取压力、萃取温度、

CO₂ 流量作为影响因素,进行单因素试验和 L₉(3⁴) 正交试验,正交因素水平见表 1,每组试验 3 次重复,结果取平均值 ± 相对标准偏差。

表 1 正交试验因素水平

Tab. 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素			
	动态萃取 时间 A/min	萃取压力 B/MPa	萃取温度 C/℃	CO ₂ 流量 D/L·min ⁻¹
1	50	25	40	2
2	60	30	45	3
3	70	35	50	4

1.6 计算方法

总黄酮得率及萃取物总黄酮的质量分数计算公式为

$$Y = \frac{m}{M} \times 100\% \quad C = \frac{m}{m_0} \times 100\%$$

式中 Y——总黄酮得率,mg/g
m——萃取物中总黄酮质量,mg
M——胡柚皮质量,g
C——萃取物总黄酮质量分数,%
m₀——萃取物质量,mg

2 结果和分析

2.1 夹带剂试验

添加夹带剂的试验条件如下:萃取温度 45℃,静态萃取 40 min 后动态萃取 60 min,动态萃取时 CO₂ 流量为 2 L/min,萃取压力为 30 MPa,乙醇和正己烷的添加量都为 0.2 mL/g(夹带剂体积与干燥胡柚皮质量的比值),试验结果如表 2 所示。

表 2 夹带剂对萃取结果的影响

Tab. 2 Effect of entrainer on yield

夹带剂种类	萃取物质量 /mg	总黄酮得率 /mg·g ⁻¹	萃取物总黄酮 质量分数/%
无	45.50 ± 3.5	0.85 ± 0.07	9.34 ± 0.84
乙醇	56.72 ± 4.1	0.92 ± 0.06	8.11 ± 0.67
正己烷	51.30 ± 3.9	0.87 ± 0.07	8.48 ± 0.65

从表 2 可知,相对于不使用夹带剂,以正己烷作为夹带剂的胡柚皮总黄酮得率没有明显增加,以乙醇作为夹带剂的总黄酮得率提高了 8.24%,原因主要是黄酮类物质较易溶解于乙醇等有机溶剂中。从萃取所得总黄酮的纯度来看,添加乙醇作为夹带剂得到的萃取物的总黄酮质量分数较不添加夹带剂有更加明显的降低,从 9.34% 降至 8.11%,无夹带剂提取物的总黄酮质量分数比添加乙醇作为夹带剂所得的提取物高出 15.2%。其原因是因为乙醇不仅

有利于总黄酮的溶出,同时也会加速色素、多糖等成分的溶出,不利于总黄酮的进一步纯化,综合得率和纯度考虑,因此该试验不选用夹带剂,单独使用 CO₂ 进行萃取即可。

2.2 动静态萃取方式

图2为不同静动态萃取时间对得率的影响,其他条件为萃取温度 45℃,动态萃取时 CO₂ 流量为 2 L/min,萃取压力为 30 MPa。从图2可以看出,在同一静态萃取时间下,胡柚皮总黄酮的得率随着动态萃取时间延长而上升,但是上升的速度随着时间的延长逐步减慢。3个静态萃取时间的得率之间有着一定的差别,静态萃取 20 min 后再进行动态萃取,在各个时间段的动态得率均低于另外两个水平。静态萃取 40 min 和 60 min 的主要差别在于刚开始动态萃取的时候后者的得率略高于前者,但是随着时间的延长至动态萃取 60 min 后,两者的得率几乎没有差别,因此选择静态萃取 40 min 后再动态萃取一定时间较为合适。

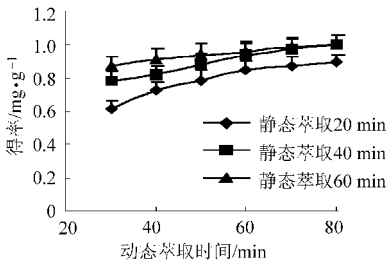


图2 静态萃取时间对得率的影响

Fig.2 Effect of static extraction time on yield

2.3 单因素试验

萃取压力单因素试验如下:萃取温度 45℃,静态萃取 40 min 后动态萃取 60 min,动态萃取时 CO₂ 流量为 2 L/min,结果如图3所示。从图3可知,本试验中其他条件不变的情况下,随着萃取釜内反应压力的增加,总黄酮得率逐渐增加,但是当压力超过 30 MPa 后再增加压力,得率未能明显增加,原因在于高压下 CO₂ 密度较大,可压缩性小,再增加压力很难大幅度地提高物质的溶解度,故对总黄酮的得率变缓^[8],因此较好的萃取压力是 30 ~ 35 MPa。

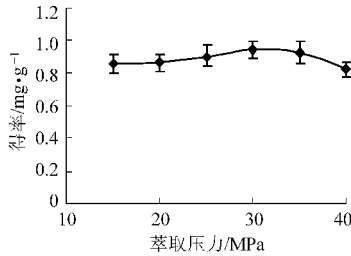


图3 萃取压力对得率的影响

Fig.3 Effect of extraction pressure on yield

萃取温度单因素试验如下:萃取压力 30 MPa,静态

萃取 40 min 后动态萃取 60 min,动态萃取时 CO₂ 流量为 2 L/min,结果如图4所示。从图4可知,当萃取温度低于 45℃时,总黄酮的得率随着温度的升高而提高,随后出现相反的现象,因此较好的萃取温度是 45 ~ 50℃,并非温度越高越好。分析原因,一方面温度增加,分子的扩散系数增大,超临界 CO₂ 流体的黏度下降,使传质系数增加,有利于萃取;另一方面随着温度增加,超临界 CO₂ 流体的密度减小,成分的溶解度下降,不利于萃取^[9]。

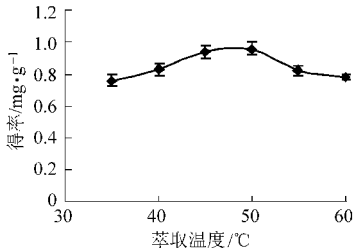


图4 萃取温度对得率的影响

Fig.4 Effect of extraction temperature on yield

在萃取压力 30 MPa,萃取温度 45℃,静态萃取 60 min 再动态萃取 50 min 的条件下,选择不同的 CO₂ 流量进行单因素试验,结果如图5所示。由图可见,CO₂ 流量以 4 L/min 时得率最高,流量过小或过大都会降低得率。流量对得率的影响分两方面,一方面由于流量增加,超临界 CO₂ 通过料层的速度加快,传质系数增大,从而提高了传质速率;另一方面,CO₂ 流量的增加使超临界溶剂在萃取柱内停留时间相应减小,出口处流体不易达到饱和,不利于提高萃取效率,如果压力过高,还会导致萃取物被吹入测定流量的软管中而造成损失和得率降低^[10],因此最佳的 CO₂ 流量是 2 ~ 4 L/min。

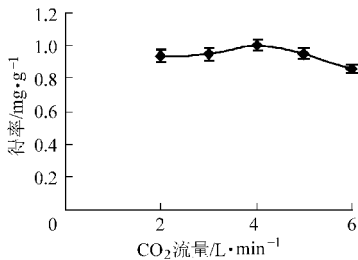


图5 CO₂ 流量对得率的影响

Fig.5 Effect of CO₂ flow rate on yield

2.4 正交试验

由表3、表4分析结果可知,萃取时间和 CO₂ 流量对萃取结果影响显著($p < 0.05$),4个因素按影响程度从大到小依次为 CO₂ 流量、萃取时间、萃取压力、萃取温度,最佳的萃取工艺为 A₂B₃C₂D₂,即萃取压力 35 MPa,萃取温度 45℃,静态萃取 40 min 后动态萃取 60 min,CO₂ 流量 3 L/min,胡柚皮总黄酮的得率最高,经检验达 1.01 mg/g。

表 3 正交试验安排与结果

Tab.3 Results of orthogonal experiments					
试验 序号	A	B	C	D	得率 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	0.563
2	1	2	2	2	0.793
3	1	3	3	3	0.752
4	2	1	2	3	0.854
5	2	2	3	1	0.756
6	2	3	1	2	0.965
7	3	1	3	2	0.867
8	3	2	1	3	0.856
9	3	3	2	1	0.786
K ₁	0.703	0.761	0.795	0.702	
K ₂	0.858	0.802	0.811	0.875	
K ₃	0.836	0.834	0.792	0.821	
R	0.155	0.073	0.019	0.173	

表 4 正交试验方差分析

Tab.4 Variance analysis of orthogonal experiments					
方差 来源	偏差 平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性 ($\alpha=0.05$)
A	0.043	2	43.000	19.000	*
B	0.008	2	8.000	19.000	
C	0.001	2	1.000	19.000	
D	0.047	2	47.000	19.000	*
误差	0	2			

* 差异显著性($p<0.05$)。

3 结论

- (1)综合得率和纯度考虑,超临界 CO₂ 萃取胡柚皮总黄酮无需使用夹带剂。
- (2)最佳的萃取条件是萃取压力 35 MPa,萃取温度 45℃,静态萃取 40 min 后动态萃取 60 min,CO₂ 流量 3 L/min,胡柚皮总黄酮的得率可达1.01 mg/g。

参 考 文 献

1 邢建荣,夏其乐,程绍南,等. 胡柚汁脱苦工艺的研究[J]. 中国食品学报,2009,9(4):130~136.
Xing Jianrong, Xia Qile, Cheng Shaonan, et al. Study on the technology of de-bitterlizing for Huyou juice [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(4):130~136. (in Chinese)

2 仲山民. 常山胡柚砂囊罐头的加工工艺研究[J]. 食品科技,2004(8):32~33.

3 仲山民,田荆林,林海萍,等. 常山胡柚脯的加工技术[J]. 经济林研究,2000,18(3):49~50.
Zhong Shanmin, Tian Jingxiang, Lin Haiping, et al. Study on technology for canned food of Changshan-huyou [J]. Economic Forest Researches, 2000, 18(3):49~50. (in Chinese)

4 赵雪梅,叶兴乾,席屿芳,等. 胡柚皮有效成分的分离鉴定及其药理活性[J]. 果树学报,2006,23(3):458~461.
Zhao Xuemei, Ye Xingqian, Xi Yufang, et al. Isolation and identification of effective constituents from the peels of Citrus paradisi cv. Changshan-huyou and their pharmacological activities [J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(3):458~461. (in Chinese)

5 易军鹏,朱文学,马海乐,等. 牡丹籽油超临界二氧化碳萃取工艺[J]. 农业机械学报,2009,40(12):144~150.
Yi Junpeng, Zhu Wenxue, Ma Haile, et al. Supercritical carbon dioxide extraction of Paeonia suffruticosa Andr. seed oil [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(12):144~150. (in Chinese)

6 徐丽萍. 红蜜南瓜中叶黄素的超临界 CO₂ 流体萃取分离方法研究[J]. 中国食品学报,2007,7(3):94~97.
Xu Liping. Studies on the isolation method of lutein from cucurbit moschata duch by supercritical carbon dioxide fluid extraction [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2007, 7(3):94~97. (in Chinese)

7 陈健初,夏其乐,潘向荣,等. 杨梅果汁的抗氧化特性研究[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2004,30(6):657~661.
Chen Jianchu, Xia Qile, Pan Xiangrong, et al. Study on the antioxidant activity of Yangmei juice [J]. Journal of Zhejiang University: Agric. & Life Sci., 2004, 30(6):657~661. (in Chinese)

8 张莹,陈小强. 超临界 CO₂ 萃取红松种仁油的工艺及其脂肪酸成分分析[J]. 农业工程学报,2007,23(12):269~272.
Zhang Ying, Chen Xiaoqiang. Technology for supercritical CO₂ extraction of Korean pine nut oil and analysis of the fatty acids [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2007, 23(12):269~272. (in Chinese)

9 李湘洲,张炎强. 超临界 CO₂ 静态结合萃取姜黄油的工艺[J]. 北京理工大学学报,2007,27(4):366~369.
Li Xiangzhou, Zhang Yanqiang. Static and dynamic extraction of turmeric oleoresin by supercritical CO₂ fluid [J]. Transactions of Beijing Institute of Technology, 2007, 27(4):366~369. (in Chinese)

10 马清香,徐响,高彦祥. 超临界 CO₂ 萃取万寿菊中叶黄素的研究[J]. 农业工程学报,2007,23(8):257~260.