

文章编号:1001-6880(2018)8-1444-05

菠萝蜜种子多酚的超临界 CO₂ 萃取工艺研究

王梦霞,金建忠*,周恩牧,罗霖健

浙江树人大学生物与环境工程学院,杭州 310015

摘要:采用超临界 CO₂ 萃取菠萝蜜种子中的多酚。通过单因素和正交试验考察了萃取压力、CO₂ 流量、萃取温度、乙醇浓度、乙醇用量等因素对超临界 CO₂ 萃取菠萝蜜种子多酚产量的影响。实验结果表明各因素对产量影响的大小顺序为 CO₂ 流量 > 萃取温度 > 乙醇浓度 > 乙醇用量 > 萃取压力;最佳萃取工艺条件为:萃取压力 175 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、萃取温度 50 °C、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1.5 h,在此条件下菠萝蜜种子多酚产量达 0.6254 mg/g。

关键词:超临界 CO₂ 萃取;菠萝蜜种子;多酚;乙醇

中图分类号:TQ351;R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.8.027

Supercritical CO₂ Extraction of Polyphenol from Jackfruit Seed

WANG Meng-xia, JIN Jian-zhong*, ZHOU En-mu, LUO Lin-jian

College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China

Abstract: The supercritical CO₂ extraction of polyphenol from jackfruit seed was optimized by single-factor and orthogonal experiment. Experimental results showed that the successive order of different effect factors on yield of polyphenol was flow rate of CO₂ > extracting temperature > ethanol concentration > ethanol dosage > extracting pressure. The optimal experimental parameters were 30 g · min⁻¹ flow rate of CO₂, 175 bar extracting pressure, 70% ethanol concentration, 5 mL/g ethanol dosage, 50 °C extracting temperature, 30 g/min flow rate of CO₂ and 1.5 h extracting time. The optimum technology of supercritical CO₂ extraction of polyphenol from jackfruit seed was high efficient, yield 0.6254 mg/g.

Key words: supercritical CO₂ extraction; jackfruit seed; polyphenol; ethanol

菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), 是一种桑科乔木, 原产于热带亚洲, 在热带潮湿地区广泛栽培, 中国海南、湛江等地产量较多。菠萝蜜果实硕大, 果肉爽脆、蜜甜, 成熟果芳香浓郁, 香气飘逸, 远近可闻, 肉色橙黄鲜艳, 其中含有丰富的糖、蛋白质、氨基酸、脂肪、有机酸、维生素 C、维生素 B 等^[1]。据统计, 现在我国热带地区已种植 20 万亩左右, 并有数家果肉加工厂。但菠萝蜜果实可食用部分不足 50%, 废弃物多, 所以综合利用非常重要^[2]。菠萝蜜种子呈椭圆形, 富含淀粉, 而且其中还含有脂肪、挥发油、多酚、蛋白和纤维素等, 是有待开发利用的新资源。然而, 在对果肉食用及加工后, 菠萝蜜种子通常被当作废弃物丢弃, 不但浪费资源, 而且处理不当还会对环境造成污染^[3]。目前关于菠萝蜜种子的研究主要集中在对其中淀粉特性及其提取制

备上^[4], 对菠萝蜜种子中多酚的研究较少^[5]。植物多酚又称植物单宁, 其在抗氧化、抗突变、抗肿瘤等很多方面有突出作用和广泛的保健功能, 其中最重要的是其抗氧化功能^[6]。现有植物多酚的提取方法主要有超声波辅助提取法^[7-10]、溶剂提取法^[11-13]、离子沉淀法^[14,15]、微波辅助提取法^[16,17]、生物酶提取法^[18,19]、超临界 CO₂ 提取法^[20,21]等。本文以菠萝蜜种子为研究对象, 采用超临界 CO₂ 萃取技术提取其中的多酚, 通过单因素和正交试验进行提取工艺的优化实验。

1 实验

1.1 材料与试剂

没食子酸, 福林酚试剂, 无水 Na₂CO₃, 95% 乙醇 (均为分析纯); 菠萝蜜种子 (购自广东湛江)。

1.2 仪器与设备

SFE-500M1-2-base 超临界萃取仪 (Waters), Evolution 201 紫外可见分光光度计 (中国 Thermo),

DC-0506 低温恒温槽(浙江优纳特科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 多酚的测定^[22]

最佳波长的选择:准确吸取 40 μg/mL 没食子酸标准溶液 5.00 mL 于 25 mL 具塞比色管中,依次加入 8.75 mL 的 20% 福林酚试剂、5.00 mL 7.5% 的碳酸钠溶液,加水定容,放置 40 min 后以样品空白为参比溶液,扫描测定得吸收曲线(图 1)。如图所示,760 nm 处有最大吸收峰,故选择 760 nm 为最佳测定波长。

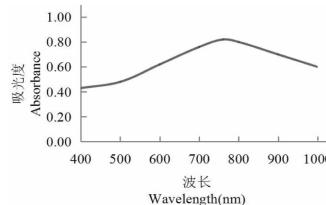


图 1 吸收曲线

Fig. 1 Absorption curves

准确吸取 40 μg/mL 没食子酸标准溶液 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 于 6 支 25 mL 具塞比色管中,依次加入 8.75 mL 的 20% 福林酚试剂、5.00 mL 7.5% 的碳酸钠溶液,加水定容,放置 40 min 后以样品空白为参比溶液,在 760 nm 波长处测其吸光度。以浓度(C)为横坐标,以吸光度(A)为纵坐标绘制标准曲线,回归方程: $A = 0.021 + 0.100C$, $R = 0.999$ 。

将超临界 CO₂ 萃取所得的多酚提取液置于 100 mL 容量瓶,用水定容,移取上述样品溶液 2.50 mL 于 25 mL 具塞比色管,按标准曲线测定方法测定其吸光度,由没食子酸标准溶液的线性回归方程计算出比色管中菠萝蜜种子多酚提取液的浓度 C,并计算菠萝蜜种子中多酚的产量,见方程(1)。

$$\text{多酚产量} (\text{mg/g}) = \frac{C \times 25 \times 100}{2.5 \times 1000 \times 5} \quad (1)$$

1.3.2 超临界 CO₂ 萃取方法

将干燥的菠萝蜜种子粉碎并过 30 目筛。称取 5.000 g 菠萝蜜种子粉末,用定性滤纸和纱布包裹置于萃取釜,设定萃取压力、乙醇浓度、乙醇用量、CO₂ 流量、萃取时间,当萃取釜温度、压力达到设定值,循环萃取一定时间后出料。固定分离压力为 10 bar,温度 30 °C。

2 结果与分析

2.1 菠萝蜜种子多酚的超临界 CO₂ 萃取单因素实验

2.1.1 萃取压力的影响

固定乙醇浓度 80%、乙醇用量 6 mL/g、萃取温度 50 °C、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1 h,控制萃取压力分别在 100、150、200、250 bar 下进行萃取,结果见图 2。随着萃取压力增大,萃取效果呈现上升趋势,150 bar 后基本趋于平稳,在 200 bar 下萃取效果最佳,多酚产量为 0.160 2 mg/g。

2.1.2 夹带剂乙醇浓度的影响

固定萃取压力 200 bar、乙醇用量 6 mL/g、萃取温度 50 °C、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1 h,改变乙醇浓度(体积分数)分别用 60%、65%、70%、75%、80%、90% 进行萃取,结果见图 3。随着乙醇浓度的增加,萃取效果快速上升,到 70% 时,提取效果最佳,多酚产量为 0.2894 mg/g。超过 70%,效果显著下降。

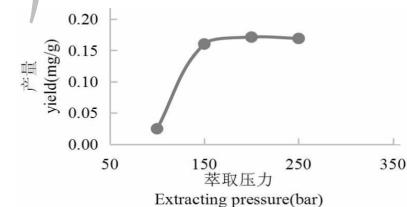


图 2 萃取压力对菠萝蜜种子多酚提取量的影响

Fig. 2 Effects of extracting pressure on yield of polyphenol

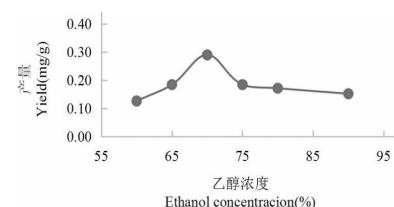


图 3 乙醇浓度对菠萝蜜种子多酚提取量的影响

Fig. 3 Effects of ethanol concentration on yield of polyphenol

2.1.3 夹带剂乙醇用量的影响

固定萃取压力 200 bar、乙醇浓度 70%、萃取温度 50 °C、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1 h,控制乙醇用量分别在 4、5、6、7、8 mL/g 下萃取,结果见图 4。随着乙醇用量的增加多酚产量先增加,在 5 mL/g 时萃取效果最佳,多酚产量为 0.506 2 mg/g,之后整体呈下降趋势。

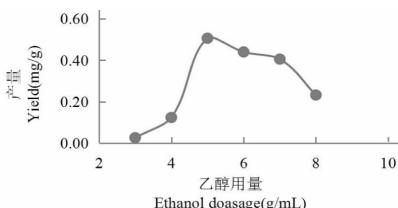


图4 乙醇用量对菠萝蜜种子多酚提取量的影响

Fig. 4 Effects of ethanol dosage on yield of polyphenol

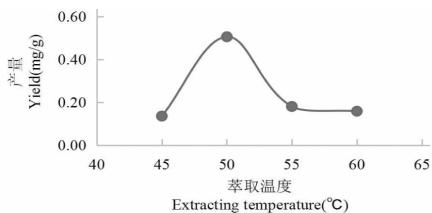


图5 萃取温度对菠萝蜜种子多酚提取量的影响

Fig. 5 Effects of extracting temperature on yield of polyphenol

2.1.4 萃取温度的影响

固定萃取压力 200 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1 h, 控制萃取温度分别在 45、50、55、60 ℃ 下萃取, 结果见图 5。发现温度对菠萝蜜种子多酚的提取效果影响很大, 在 50 ℃ 达到最佳效果, 菠萝蜜种子多酚产量为 0.506 2 mg/g。

2.1.5 CO₂ 流量的影响

固定萃取压力 200 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、萃取温度 50 ℃、萃取时间 1 h, 控制 CO₂ 流量分别在 25、30、35、40 g/min 下萃取, 结果见图

6。随着 CO₂ 流量的上升, 提取效果呈上升趋势, 在 30 g/min 达到最佳效果, 多酚产量为 0.506 2 mg/g, 之后效果下降。

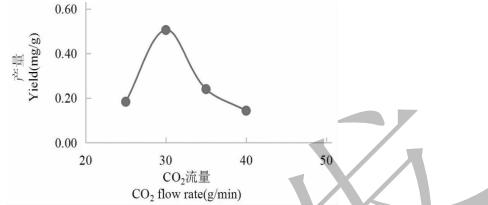
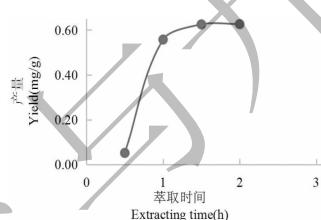
图6 CO₂ 流量对菠萝蜜种子多酚提取量的影响Fig. 6 Effects of CO₂ flow rate on yield of polyphenol

图7 萃取时间对菠萝蜜种子多酚提取量的影响

Fig. 7 Effects of extracting time on yield of polyphenol

2.2 超临界 CO₂ 萃取菠萝蜜种子多酚的正交试验

为了全面考察超临界 CO₂ 萃取菠萝蜜种子多酚各因素的影响, 在单因素实验的基础上我们设计了正交试验。考察萃取压力、乙醇浓度、乙醇用量、萃取温度和 CO₂ 流量五因素对菠萝蜜种子多酚产量的影响, 套用 L₁₈(3⁷) 正交表, 考察因素、水平点及正交试验结果见表 1。

表1 正交试验结果及分析

Table 1 Results of orthogonal test and analysis

序号 No.	A 萃取压力 Extracting pressure (bar)	B 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	C 乙醇用量 Ethanol dosage (mL/g)	D 萃取温度 Extracting temperature (℃)	E CO ₂ 流量 Flow rate (g/min)	产量 Yield (mg/g)
1	175	65	4	45	25	0.1490
2	175	70	5	50	30	0.5364
3	175	75	6	55	35	0.1246
4	200	65	4	50	30	0.3704
5	200	70	5	55	35	0.1556
6	200	75	6	45	25	0.2586
7	225	65	5	45	35	0.1912
8	225	70	6	50	25	0.2768
9	225	75	4	55	30	0.1930

续表 1(Continued Tab. 1)

序号 No.	A 萃取压力 Extracting pressure (bar)	B 乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	C 乙醇用量 Ethanol dosage (mL/g)	D 萃取温度 Extracting temperature (℃)	E CO ₂ 流量 Flow rate (g/min)	产量 Yielded (mg/g)
10	175	65	6	55	30	0.2246
11	175	70	4	45	35	0.1770
12	175	75	5	50	25	0.353
13	200	65	5	55	25	0.1030
14	200	70	6	45	30	0.4712
15	200	75	4	50	35	0.1312
16	225	65	6	50	35	0.2280
17	225	70	4	55	25	0.1348
18	225	75	5	45	30	0.2472
k_1	0.261	0.211	0.193	0.249	0.213	
k_2	0.248	0.292	0.264	0.316	0.340	
k_3	0.212	0.218	0.264	0.156	0.168	
R	0.049	0.081	0.071	0.160	0.172	

表 1 数据表明菠萝蜜种子多酚的超临界 CO₂ 萃取各因素对多酚产量影响程度的大小顺序为: CO₂ 流量 > 萃取温度 > 乙醇浓度 > 乙醇用量 > 萃取压力。最佳萃取条件为 A₁B₂C₂D₂E₂, 即萃取压力

175 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、萃取釜温度 50 ℃、CO₂ 流量 30 g/min。

表 2 方差分析的结果与表 1 的直观分析结果一致,且发现各萃取条件对多酚产量的影响都不显著。

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源 Source	偏差平方和 Sum of square of deviation S_j	自由度 Degree of freedom f_j	均方差 Mean square error S_j/f_j	F 值 F	显著性 Sig.
A	0.008	2	0.004	1.333	
B	0.024	2	0.012	4.000	
C	0.021	2	0.011	3.500	
D	0.078	2	0.039	13.000	
E	0.096	2	0.048	16.000	
误差 Error	0.01	2			

$F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.3 重复性实验

在正交实验所得的最佳萃取条件下重复萃取菠萝蜜种子 3 次,多酚的产量分别为 0.552 6、0.559 2、0.560 4 mg/g,此提取条件与正交试验任意组对比,大于所有萃取率,验证了所确定条件为最佳工艺条件。

2.4 萃取时间的影响

在正交实验所得的最佳条件下,进行菠萝蜜种子多酚的超临界 CO₂ 萃取时间实验。固定萃取压力 175 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、温度

50 ℃、CO₂ 流量 30 g/min,控制萃取时间分在 0.5、1、1.5、2 h 下萃取,结果见图 7。随着萃取时间增加,产量上升,1.5 h 产量达 0.625 4 mg/g,其后再延长时间产量基本不变。

3 结论

本文采用超临界 CO₂ 技术萃取了菠萝蜜种子中的多酚,通过单因素和正交试验考察了萃取压力、CO₂ 流量、萃取温度、乙醇浓度、乙醇用量等因素对

超临界 CO₂ 萃取菠萝蜜种子多酚产量的影响。实验结果表明各因素对产量影响的大小顺序为 CO₂ 流量 > 萃取温度 > 乙醇浓度 > 乙醇用量 > 萃取压力；最佳萃取工艺条件为：萃取压力 175 bar、乙醇浓度 70%、乙醇用量 5 mL/g、萃取温度 50 ℃、CO₂ 流量 30 g/min、萃取时间 1.5 h，在此条件下菠萝蜜种子多酚产量达 0.625 4 mg/g。

参考文献

- Li RZ(黎瑞珍), Liu YZ(刘阳宗). Determination and analysis of the content of organic acids, fat and total flavonoids in Hainan jackfruit peel [J]. *J Qiongzhou Univ* (琼州学院学报), 2013, 20(5): 47-49.
- Lyu FJ(吕飞杰), Tei JX(台建祥), Yin DJ(尹道娟), et al. Comprehensive utilization and development of jackfruit by-product [J]. *China Tropical Agric* (中国热带农业), 2015, (62): 9-12.
- Lin LJ(林丽静), Zhang WH(张文华), Jing W(静玮), et al. Physical properties and volatile compositions of jackfruit seeds under different processing methods [J]. *Modern Food Sci Tech* (现代食品科技), 2013, 29: 2474-2479.
- Chu Z(初众), Wei L(魏来), Liu MQ(陆敏泉). Progress in the research on the characteristics of the seed starch of jackfruit [J]. *Food Nutr China* (中国食物与营养), 2008, 6: 20-22.
- Wang JJ(王佳珺), Guo XH(郭璇华). An analysis of polyphenol in jackfruit's trash [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2015, 33(6): 36-39.
- Li ZZ(李志洲), Chen JZ(陈均志). Study on anti-oxidation of jujube polysaccharide [J]. *Sci Tech Food Indu* (食品工业科技), 2007, 28: 115-117.
- Jia R(贾荣), Ji H(季红). Study on extracting polyphenols from *vitisamurensis* seeds through ultrasound-assisted method using ethanol [J]. *J Jilin Univ Med* (吉林大学学报: 医学版), 2017, 1: 190-195.
- Lin CY(林枞雨), Ma YQ(马永强), Wang X(王鑫), et al. Comparison of polyphenols of sweet corn cob extracted by different methods [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2016, 24: 58-63.
- Jiang L(姜黎), Liu Y(刘娅). The ultrasonic assistant extraction of polyphenols in grape skin [J]. *China Food Additives* (中国食品添加剂), 2016, 11: 107-115.
- Zhang Y(张渝), Liu HM(刘海梅), Xia HR(夏宏蕊), et al. Ultrasonic extraction and anti-inflammation activity of salvianolic acid a from the treated roots of *Salvia miltiorrhiza* var. *alba* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 2000-2005.
- Yao YZ(姚永志), Zuo JJ(左锦静), Wang ZH(王子涵). Extraction of peanut skin polyphenols with ethanol [J]. *China Oil Fats* (中国油脂), 2007, 32(3): 51-53.
- Li Z(李墨), Li HQ(李宏强), Chen GG(陈国光), et al. Effects of different types solvent on extraction and antioxidant activity of grape phenolics [J]. *Food Indu* (食品工业), 2016, 12: 122-127.
- Pan JH(潘军辉), Wang WY(王维亚), Xie YT(谢雨婷), et al. Response surface methodology for optimization of tea polyphenol extraction process from agilawoodleaves [J]. *J Nanchang Univ: Nat Sci* (南昌大学学报: 理科版), 2016, 40: 161-165.
- Ouyang YZ(欧阳玉祝), Li XF(李雪峰), Yao YH(姚懿桓). Separation of total polyphenols from akebia trifoliolate peel by calcium precipitation method [J]. *Food Sci* (食品科学), 2014, 35(16): 76-79.
- Yi LH(易灵红). Extraction of polyphenols in green tea by ion precipitation. *Tech Develop Chem Indu* (化工技术与开发), 2013, 42(3): 18-20.
- Dong Q(董琦), Gao S(高珊), Cao LK(曹龙奎). Research of microwave assisted extraction technology for polyphenol from *inonotusobliquus* [J]. *Farm Prod Proc* (农产品加工), 2015, (6): 22-25.
- Huang ZJ(黄祉健), Ruan YF(阮玉凤), Luo BF(罗宝芳), et al. Study on microwave-assisted extraction and the antibacterial activity of phenolics from mango core [J]. *Sci Tech Food Indu* (食品工业科技), 2014, 35: 295-298.
- Zeng S(曾帅), Zhou DQ(周德庆), Liu N(刘楠). Optimization of enzyme-assisted extraction process of polyphenols from *sargassumfusiforme* by orthogonal experimental method [J]. *J Southern Agric* (南方农业学报), 2016, 47: 1564-1569.
- Xu J(徐婕), Tang R(汤韧), Ji SC(吉树臣), et al. Research of the extraction processing of tea polyphenols [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2016, 37(5): 86-91.
- Shi LL(石莉莉), Luo JY(罗金岳). Supercritical CO₂ extraction of polyphenol from the husk of earthnut [J]. *Biomass Chem Eng* (生物质化学工程), 2006, 40(5): 21-24.
- Wei FX(魏福祥), Qu EC(曲恩超). Research of supercritical CO₂ extraction apple polyphenol from apple pomace [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2006, 27(7): 60-63.
- Shi B(石碧), Di Y(狄莹). Plant polyphenols (植物多酚) [M]. Beijing: Science Press, 2000: 102.