

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取桃叶中柚皮素的工艺研究

陈雪峰, 刘 迪, 李 欣

(陕西科技大学 陕西 咸阳 712081)

**摘 要:** 研究萃取温度、萃取压力、萃取时间和夹带剂添加量对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取桃叶中柚皮素的影响。通过试验, 确定最佳工艺为: 萃取温度 60℃, 萃取压力 30MPa, 萃取时间 6h, 料液比为 1:2.0 (桃叶与 95% 乙醇的质量比)。

**关键词:** 超临界 CO<sub>2</sub>; 桃叶; 柚皮素

Study on Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction Process of Nagringenin from Peach Leaf

CHEN Xue-feng, LIU Di, LI Xin

(Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 712081, China)

**Abstract:** The effects of extraction temperature, extraction pressure, extraction time and the dosage of modifier on the extraction of nagringenin from peach leaf by supercritical CO<sub>2</sub> extraction technology have been studied in this article. By the experiment, the optimization conditions have been confirmed as: extraction temperature 60℃, extraction pressure 30MPa, extraction time 6h and the ratio of peach leaf mass and ethanol mass 1:2.0 (the modifier is 95% ethanol).

**Key words:** supercritical CO<sub>2</sub>; peach leaf; nagringenin

收稿日期: 2005-11-16

基金项目: 广东佛山市科技局攻关项目(04080011); 陕西省教育厅科学研究专项(06JK341);

陕西科技大学B类科研创新团队资助项目(sust-B04)

作者简介: 陈雪峰(1964-), 男, 教授, 在读博士生, 研究方向为食品新材料制备。

- antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts[J]. Food Research International, 2003, 36: 117-122.
- [2] YAMAKOSHI J, SAITO M, KATAOKA S, et al. Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds[J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40: 599-607.
- [3] 韩菊, 魏福祥, 翟丽萍, 等. 葡萄籽中低聚原花青素的性能研究[J]. 食品科学, 2003, 24(2): 36-38.
- [4] GOUIN S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends[J]. Trends in food science & technology, 2004, 15: 330-347.
- [5] HOGAN S A, MCNAMEE B F, RIORDAN E D O', et al. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends[J]. International Dairy Journal, 2001, 11: 137-144.
- [6] NOLAN J K, MINE Y. Microencapsulation for the gastric passage and controlled intestinal release of immunoglobulin Y[J]. Journal of Immunological Methods, 2005, 296: 199-209.
- [7] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. J Agric Food Chem, 1978, 26(3): 716-723.
- [8] HIROTSUKA M, TANIGUCHI H, NARITA H, et al. Functionality and digestibility of a highly phosphorylated soybean protein[J]. Agric Biol Chem, 1984, 48(1): 93-100.
- [9] 胡坤, 赵谋明, 林伟锋, 等. 甲基纤维素对大豆分离蛋白乳液稳定性影响的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 35-40.
- [10] VISWANATHAN N B, THOMAS P A, PANDIT J K, et al. Preparation of non-porous microspheres with high entrapment efficiency of proteins by a (water-in-oil)-in-oil emulsion technique[J]. Journal of Controlled Release, 1999, 58: 9-20.
- [11] 王叔淳. 食品卫生检验技术手册(第三版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 12.
- [12] FERREIDON S, HXIAO-qiong. Encapsulation of food ingredients[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1993, 33(6): 501-507.
- [13] 肖仔君. 双歧杆菌微型包囊关键技术及其制剂产业化[D]. 华南理工大学硕士学位论文, 2004.
- [14] 朱俊晨, 廖广进. 大豆蛋白和鱼油双层微囊化SOD优化条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(11): 23-27.
- [15] RAHMAN N A, MATHIOWITZ E. Localization of bovine serum albumin in double-walled microspheres[J]. Journal of Controlled Release, 2004, 94: 163-175.
- [16] 王忠合, 朱俊晨, 陈惠音. 微胶囊技术的新进展[J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 165-168.
- [17] MENG F T, MA G H, LIU Y D, et al. Microencapsulation of bovine hemoglobin with high bio-activity and high entrapment efficiency using a W/O/W double emulsion technique[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2004, 33: 177-178.
- [18] 朱迅涛, 许时婴. 以大豆蛋白制备微胶囊化鱼油的研究(1)——微胶囊化鱼油的壁材选择[J]. 中国油脂, 1998, 23(5): 31-34.

中图分类号:TS224.4

文献标识码:A

文章编号:1002-6630(2007)01-0106-04

桃叶为蔷薇科植物桃(*Prunus. persica*(L)Batsch)的叶子,根据中草药化学分析,桃叶主要含糖甙( $C_{22}H_{24}O_{11}$ )、柚皮素(naringenin)、奎宁酸(quinic acid)、番茄烃(lycopene)、鞣质和扁桃叶酸酰胺以及少量腈甙<sup>[1]</sup>。

桃叶中的柚皮素属于黄酮类物质,它是柚皮甙的甙元,但是有关桃叶中柚皮素提取研究的文献并不多,国外这方面的研究几乎为空白<sup>[2]</sup>,国内研究也不多见。

本文将超临界 $CO_2$ 萃取技术应用于桃叶柚皮素的提取,以期获得品质优良的柚皮素提取物产品。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、仪器与设备

#### 1.1.1 材料

桃叶 乾县果园;柚皮素标准品(纯度98%) 陕西惠科植物有限公司; $CO_2$ 气体(纯度99.5%) 咸阳秦虹气体公司;薄层层析硅胶;CMC;95%乙醇、无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯、三氯化铝、氯仿(均为分析纯)。

#### 1.1.2 仪器与设备

超临界萃取装置(型号HA1 20-40-01) 江苏南通华安超临界萃取公司;倾斜式高速万能粉碎机(型号FW-400A) 北京中兴伟业仪器有限公司;紫外-可见分光光度计(型号UV-754) 上海精密科学仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 不同预处理方法的比较

采用晒干和烘干两种方法对桃叶进行干燥预处理。通过试验发现晒干的桃叶比烘干的桃叶萃取效果好,所以本文采用晒干的桃叶进行萃取试验研究。

#### 1.2.2 萃取流程

桃叶 干燥 粉碎 过筛 混合 萃取 粗提物  
准确称取50g桃叶粉,加入一定量的95%乙醇,搅拌均匀后加入到萃取釜中在不同的萃取条件下进行萃取。萃取产物用少量95%乙醇溶解后过滤,再用95%乙醇定容至250ml,作为待测液。

#### 1.2.3 萃取条件

本文主要研究萃取温度、萃取压力、萃取时间和料液比(桃叶与95%乙醇的质量比)对柚皮素萃取结果的影响。运用 $L_9(3^4)$ 正交试验表设计试验,各因素水平见表1。试验中 $CO_2$ 流速控制在20kg/h左右,分离压力为10MPa,分离温度为25。

#### 1.2.4 桃叶萃取物中柚皮素测定方法的建立

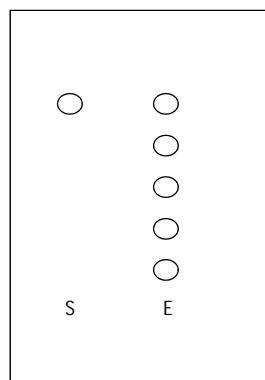
柚皮素属于黄酮类化合物,一般黄酮类化合物采

表1 正交试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels table of orthogonal test

水平	因素			
	A 萃取温度(°C)	B 萃取压力(MPa)	C 萃取时间(h)	D 料液比(W/W)
1	40	25	2	1:2.0
2	50	30	4	1:2.5
3	60	35	6	1:3.0

用 $NaNO_2-Al(NO_3)_3-NaOH$ <sup>[3]</sup>比色法进行测定,但是本文所得到的萃取物中叶绿素含量较高,对该比色法干扰十分明显。另外此比色法主要用于总黄酮的测定,桃叶成分复杂,并不是只含有柚皮素这一种黄酮类物质,所以该法并不适用于桃叶萃取物中对柚皮素的定量分析。本文通过试验,建立了一种测定萃取物中柚皮素的方法。

首先,本文采用薄层层析法(TLC)对萃取物进行定性分析(见图1),薄层条件如文献[4]所述。试验发现,在365nm紫外灯下,在相同位移处萃取物与柚皮素标准品均显黄绿色荧光,证明了萃取物中有柚皮素存在。然后对柚皮素标准品溶液和萃取液在200~800nm之间进行多次扫描,结果见图2、3。由图可知二者在325nm处均有吸收峰,故可采用紫外分光光度法测定萃取液中柚皮素的含量,并确定定量测定柚皮素的吸收波长为325nm。



S 柚皮素标准品;E 萃取物。

图1 超临界萃取物的薄层色谱示意图

Fig.1 TLC for extraction of SFE

#### 1.2.5 标准曲线的绘制

准确称取0.005g柚皮素标准品,用95%乙醇溶解定容至50ml。分别精密吸取该溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0ml于9个10ml容量瓶中,用95%乙醇定容至刻度,然后在325nm下以95%乙醇为参比测定各标准稀释液的吸光度,其结果见表

表2 标准曲线数据  
Table 2 Data of standard curve

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
吸光度值	0.011	0.147	0.275	0.392	0.506	0.631	0.731	0.856	0.969	1.067

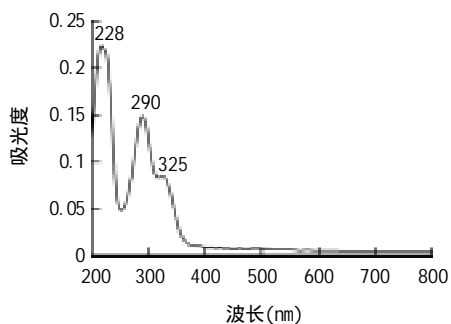


图2 柚皮素标准品扫描图谱  
Fig.2 Scanning graph of naringenin standard

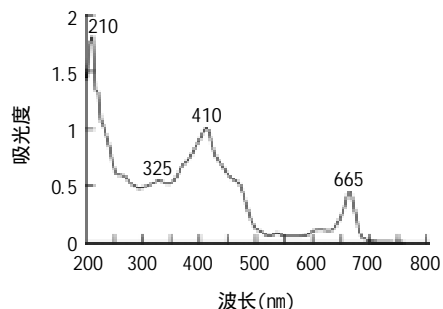


图3 超临界萃取物扫描图谱  
Fig.3 Scanning graph of extraction of SFE

2. 线性回归后, 得柚皮素浓度与吸光度的标准曲线方程:

$$A = 0.0117 C + 0.032$$

式中: A 为吸光度; C 为浓度( $\mu\text{g/ml}$ )。

该方程的线性相关系数  $r=0.9994$ , 满足线性要求。

#### 1.2.6 桃叶柚皮素含量的测定

取 0.1ml 1.2.2 中的待测液, 用 95% 的乙醇定容至 25ml, 按照 1.2.4 中所述方法测定稀释液中柚皮素的浓度, 然后按下式计算柚皮素得率:

$$\text{柚皮素得率}(\%) = \frac{\text{提取物中柚皮素质量}}{\text{原料质量}} \times 100$$

## 2 结果与分析

试验结果及极差分析如表 3 所示, 各因素影响作用见图 5。

由极差分析可以看出, 各因素对柚皮素得率影响的主次顺序为:  $A > C > B > D$ , 即萃取温度 > 萃取时间 > 萃取压力 > 料液比。最佳萃取条件为  $A_3B_2C_3D_1$ , 即

萃取温度为 60、萃取压力为 30MPa、萃取时间为 6h、料液比为 1:2.0。

结果显示, 温度对萃取结果影响最大。温度升高, 流体的传质速度增大, 利于传质; 温度升高, 被萃取物质的挥发性增大, 利于成分的溶出。从温度 K 值可以看出, 温度由 40 增加到 50 时, 柚皮素得率有较大幅度提高。而当温度由 50 增加到 60, 得率增加的幅度就没有前者大。这是由于温度的增大的同时,  $\text{CO}_2$  流体密度也随之减小了, 这对萃取产生了一个负面的影响。温度增加的幅度越大, 这种负面影响的作用也越明显。

萃取时间对萃取结果的影响也较大。萃取时间达到 6h 时, 萃取结果达到最大。萃取压力对萃取结果的影响次于萃取时间的影响。压力的增大, 超临界  $\text{CO}_2$  流体的密度增大, 有利于成分的溶出; 压力增大, 超临界  $\text{CO}_2$  流体的扩散系数也随之减小, 不利于成分的溶出。压力 K 值表明, 当压力由 25MPa 增加到 30MPa 时, 萃取结果明显增大。但当压力由 30MPa 增加到 35MPa 时, 萃取结果却下降了, 这是由于此时扩散系数降低的负面影响起到了比较大作用。

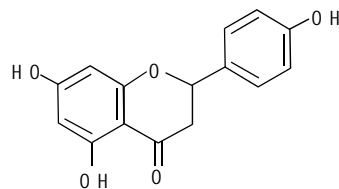


图4 柚皮素分子结构图  
Fig.4 Molecule structure of naringenin

料液比对萃取结果的影响最小。柚皮素属于中性化合物, 分子结构如图 4 所示。对于极性物质用超临界  $\text{CO}_2$  进行萃取时需要加入夹带剂来改变流体的极性<sup>[5]</sup>。本文也通过试验得出, 不加夹带剂几乎不能将柚皮素萃取出来。乙醇由于具有无毒无害等优点, 所以是最常用的夹带剂。本试验选用 95% 乙醇为夹带剂可以实现桃叶中柚皮素的萃取。但是乙醇的添加量越大, 萃取结果反而越小。这是由于随着乙醇用量增大, 超临界  $\text{CO}_2$  流体的极性也随之增大, 这样使得极性较柚皮素大的物质更易溶出, 从而使柚皮素的得率下降。

由于最优组合在正交试验中未出现过, 所以需要在此条件下进行验证试验。在此最优条件下, 通过三次重复试验发现, 柚皮素平均得率可以达到 2.18%。采用

表3 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计及极差分析结果  
Table 3 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test and analysis result

试验号	因素				结果 柚皮素得率(%)
	A	B	C	D	
1	1(40)	1(25)	1(2)	1(1:2.0)	0.24
2	1(40)	2(30)	2(4)	2(1:2.5)	0.45
3	1(40)	3(35)	3(6)	3(1:3.0)	0.67
4	2(50)	1(25)	2(4)	3(1:3.0)	0.81
5	2(50)	2(30)	3(6)	1(1:2.0)	1.91
6	2(50)	3(35)	1(2)	2(1:2.5)	1.44
7	3(60)	1(25)	3(6)	2(1:2.5)	1.74
8	3(60)	2(30)	1(2)	3(1:3.0)	1.69
9	3(60)	3(35)	2(4)	1(1:2.0)	1.67
K <sub>1j</sub>	1.36	2.79	3.37	3.82	T=10.62
K <sub>2j</sub>	4.16	4.04	2.93	3.63	
K <sub>3j</sub>	5.10	3.78	4.32	3.17	
R	3.74	1.26	1.39	0.6	

本文所述的提取方法,从100g晒干桃叶中可得6g粗提物,其中柚皮素含量为2.18g,纯度为36.33%。柚皮素作为黄酮类化合物的一种,目前未见有关其提取的研究报道,而目前对黄酮类物质提取研究较多的是银杏叶中黄酮类化合物的提取。有资料报道<sup>[6]</sup>,采用乙醇提取法可以从银杏叶中得到总黄酮含量为14%~18%的粗提物,再经过D101大孔吸附树脂纯化后可以使总黄酮纯度提高到24%~29%。而采用本文所述方法,未经过纯化的粗提取中柚皮素纯度就已经达到了35%以上,可见粗提物中柚皮素的含量相对较高,可以作为提取物粗

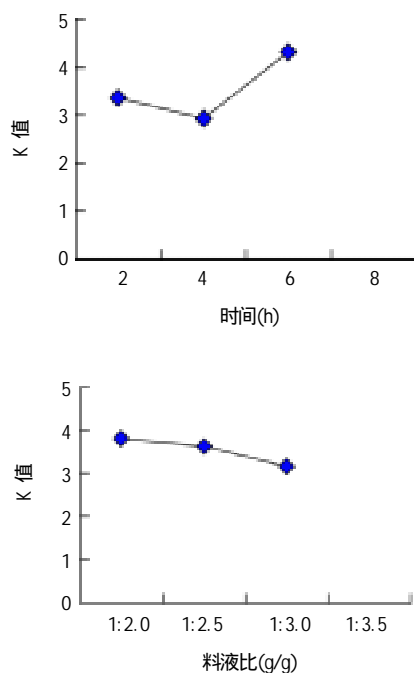
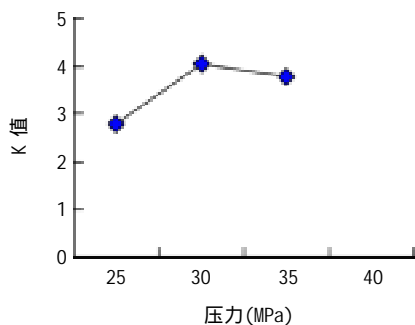
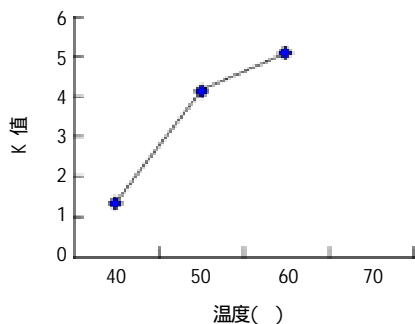


图5 试验因素与K值趋势图

Fig.5 Relations between test factors and K value

品进行使用。

### 3 结论

3.1 采用超临界CO<sub>2</sub>萃取技术可以实现桃叶中柚皮素的提取。超临界CO<sub>2</sub>萃取柚皮素最佳工艺条件为:萃取温度60℃,萃取压力30MPa,萃取时间6h,料液比1:2.0(桃叶与95%乙醇的质量比)。在此条件下,柚皮素得率可以达到2.18%。

3.2 由于萃取物中含有大量的叶绿素,产品外观颜色为绿色,柚皮素本身的颜色为淡黄色,为提高产品品质,今后有必要进一步开展柚皮素的纯化研究。

### 参考文献:

- [1] 强只鹏, 时吉萍, 谢光. 桃叶药用临床研究及其开发前景[J]. 甘肃中医学院学报, 1994, 11(3): 47.
- [2] 孙国华. 积极开发树叶制药大有可为[J]. 中国中医药信息杂志, 1995, 2(7): 46, 33.
- [3] 梁平, 赖凤英, 金鑫. 利用大孔吸附树脂提取食用仙人掌黄酮[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(3): 133-135.
- [4] 何夏秋, 贺建华, 马燕琼, 等. 用薄层法鉴别与测定千金救心胶囊中柚皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(4): 10-12.
- [5] 余华, 李萍. 提携剂在中草药超临界CO<sub>2</sub>萃取中的应用[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(5): 331-333.
- [6] 苗敬芝, 李勇. 银杏类黄酮(GBE)的检测与提纯工艺研究[J]. 食品科技, 2000(3): 39-40.