

温度控制对微波萃取叶黄素酯的影响

张 同, 赵 婷, 惠伯棣*
(北京联合大学应用文理学院, 北京 100191)

摘 要: 探索温度控制对微波辅助萃取叶黄素酯萃取率的影响。首先测定不同输出功率对萃取溶剂升温的影响, 然后以万寿菊干花颗粒为样品, 探讨升温功率、萃取时间和萃取温度对萃取率的影响, 并比较相同温度条件下微波萃取与溶剂法的萃取率。结果表明: 分子中含有 O—H 键的溶剂升温较快; 升温功率的变化对萃取率的影响有限。萃取时间的延长可导致萃取率下降; 在 1600W、20min 和分别为 50、50、40℃条件下, 正己烷、乙酸乙酯和四氢呋喃萃取率分别为 83%~95.23%、81.44%~96.59% 和 91.72%~94.40%。在相同温度条件下, 微波萃取可有效地提高叶黄素酯的萃取率。

关键词: 叶黄素酯; 微波萃取; 温度; 萃取率

Effect of Temperature Control on Microwave-Assisted Extraction of Lutein Ester

ZHANG Tong, ZHAO Ting, HUI Bo-di*
(College of Applied Arts and Science, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: Our present work aimed to investigate the effect temperature control on microwave-assisted extraction of lutein esters. The effect of different levels of microwave power on the time required to heat three different solvents from 10 °C to 50 °C was explored. Meanwhile, the extraction rate of lutein esters from dried marigold flower powder was investigated with respect to microwave power, extraction time and extraction temperature. In addition, a comparative investigation into the extraction of lutein esters was conducted using one of three different extraction solvents with and without the assistance of microwave treatment at the same temperature. The results obtained showed that solvent media molecules composed of O—H bond revealed rapid warm-up. However, heating power had limited impact on extraction rate of lutein esters. Prolonged extraction time could result in decreased extraction rate. Under the optimal extraction conditions of 1600 W, 20 min and 50, 50 °C and 40 °C, the extraction rates of lutein esters with hexane, ethyl acetate or hydrocarbon furan as the extraction solvent were 83%—95.23%, 81.44%—96.59% and 91.72%—94.40%, respectively. At the same temperature, microwave-assisted extraction greatly improved the extraction rate of lutein esters when compared with solvent extraction alone.

Key words: lutein ester; microwave; temperature; extraction rate

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)08-0029-04

类胡萝卜素(carotenoid)可以分为含氧(xanthophyll)和不含氧(hydrocarbon)两大类。叶黄素(lutein)属于含氧类胡萝卜素^[1], 系统命名为 3,3'-二羟基- β , α -胡萝卜素(3,3'-dihydroxy- β , α -carotene), 化学式为 $C_{40}H_{56}O_2$, 相对分子质量 568.88, 能溶于大多数有机试剂。研究表明, 叶黄素在人体内可发挥多种重要功能, 其具有清除自由基、阻止脂质过氧化^[2]、预防老年性黄斑衰退、减低蓝光对视网膜的损伤^[3-4]、调节人体免疫力^[5]等功能。叶黄素广泛存在于自然界的高等植物中。万寿菊(*Tagetes erecta* Linn)是菊科(Compositae)万寿菊属(*Tagetes* Linn)植

物, 原产于中美洲, 其花含有丰富的类胡萝卜素, 主要为叶黄素、玉米黄素(zeaxanthin)、 β -胡萝卜素(β -carotene)等。其中叶黄素在万寿菊花中的含量可超过 0.2%(以鲜质量计)^[6]。万寿菊花中的叶黄素主要存在形式为全反式异构体的酯。其可在人体内水解为自由态的单体(free lutein)^[7]。万寿菊花瓣是目前生产自由态叶黄素的主要原料。

目前的萃取方法有亚临界流体萃取法和有机溶剂萃取法等。目前我国制备叶黄素酯的产业主要采用的是有机试剂萃取法, 这种方法已被采用多年, 其产率和产

收稿日期: 2011-03-22

基金项目: 2010 年北京联合大学“创新人才建设计划”项目

作者简介: 张同(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物活性物质制备及生理功能。E-mail: 123king@163.com

* 通信作者: 惠伯棣(1959—), 男, 教授, 博士, 研究方向为类胡萝卜素生物化学。E-mail: bodi_hui@ygi.edu.cn

品质相当稳定。其常用的萃取溶媒为低级烷烃等^[8]。在使用有机溶剂萃取时可利用微波来提高萃取率,但实际应用并不多。

大部分关于微波辅助萃取叶黄素的研究报告只阐述了微波功率、萃取时间等因素对萃取率的影响^[9-11]。近些年来,有些研究报告中开始提到了在优化微波辅助萃取工艺时温度因素的影响^[12-13]。过去大部分研究中所使用的微波萃取设备是通过调节功率来控制萃取温度,但这些设备不能精确控制过程中的温度。因此,当体系吸收大量微波能量后,萃取溶媒极易过热,造成沸腾。这也使得萃取时间较短,大多在20s以内。本研究所使用的微波萃取设备可以在密闭条件下控制升温功率和时间,设备上配备有较灵敏的温度和压力传感系统,可实现温度和压力同步实时监测。因此,可以较准确地控制萃取过程中的温度。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

万寿菊干花颗粒(含水量为13%,总类胡萝卜素含量为13.21mg/g,其中96.76%为叶黄素酯^[14]) 山东诸城莲春色素有限公司。

正己烷、乙酸乙酯和四氢呋喃均为AR级。

MARSX型微波萃取设备 美国CEM公司; Multispec-1501型紫外-可见分光光度计 日本Shimadzu公司。

本研究所用微波萃取设备在给样品控温时分为升温 and 恒温两个阶段,控温方式有两种:①使用设定功率升温,当样品达到设定温度时,功率输出停止。当样品温度下降时,负反馈调节功率输出,使用功率与升温功率相同;②升温时使用较高功率,当样品达到设定温度时,功率输出停止。当样品温度下降时,负反馈调节功率输出,使用较低功率。本研究采用第2种控温方式,原因是:在恒温阶段,采用这种方式可显著增加微波功率输出的时间,使微波破坏细胞壁的作用增强,从而获得较高的萃取率。

1.2 方法

1.2.1 万寿菊干花颗粒的粉碎

取一定量的万寿菊干花颗粒,用干粉粉碎机粉碎(咖啡磨亦可),将其粉碎,粉碎颗粒过40目标标准筛,收集过筛组分准备萃取。

1.2.2 微波功率对萃取溶媒温度的影响

在密闭反应罐中装入10mL萃取溶媒,分别用400、800、1600W功率的微波对其持续加热,使溶剂由10℃升温到50℃,记录每种溶剂的升温时间。在本实验中选择3种溶剂作为萃取溶媒,分别为正己烷、乙酸乙酯和四氢呋喃。

1.2.3 升温功率对萃取率的影响

在密闭反应罐中装入10mL萃取溶媒和0.2g已粉碎好的万寿菊花粉,分别用400、800、1600W功率的微波对其持续加热,使萃取温度由10℃升温到50℃后恒温萃取10min。在恒温过程中,同步实时监测萃取罐中溶媒的温度和压力,使系统能及时负反馈调节微波功率的输出,防止溶媒过热现象的发生。萃取完成,以萃取剂为空白迅速测定吸光度,计算、比较各升温功率下的萃取率,确定最适升温功率。

1.2.4 萃取时间对萃取率的影响

在密闭反应罐中装入10mL萃取溶媒和0.2g已粉碎好的万寿菊花,用1.2.3节所得的最佳微波加热萃取功率从10℃升至40℃。之后,用功率为400W的微波功率负反馈调节,分别恒温萃取10、20、30min。萃取完成后测定各萃取液中总类胡萝卜素的吸光度,计算、比较各萃取时间下的萃取率,确定最适的萃取时间。

1.2.5 萃取温度对萃取率的影响

在密闭反应罐中装入10mL萃取剂和0.2g已粉碎好的万寿菊花,用1.2.3节所得的最佳微波加热萃取功率微波加热,使萃取体系从10℃分别升至30、40、50℃。之后,用功率为400W的微波负反馈调节,恒温萃取一段时间(1.2.4节所得的最佳时间),其中正己烷恒温萃取20min、乙酸乙酯和四氢呋喃恒温萃取10min。萃取完成后测定各萃取液中总类胡萝卜素的吸光度,计算、比较各设定温度条件下的萃取率,确定最适萃取温度。

1.2.6 微波辅助萃取法与溶剂萃取法的比较

在试管中装入10mL萃取剂和0.2g已粉碎好的万寿菊花粉,用试管塞封口。在试管塞上加装45cm长的玻璃管作为空气冷凝管,以防止萃取溶媒的挥发。将试管置于恒温水浴中,在1.2.5节所得最适萃取温度和1.2.4节所得最适萃取时间条件下进行恒温萃取。测定萃取液中总类胡萝卜素的吸光度,计算、比较萃取率,并将结果与1.2.5节所得结果比较。

1.2.7 萃取溶媒中叶黄素酯含量的测定和萃取率的计算

萃取完成后,以萃取溶媒为空白,测定萃取液在450nm波长处的吸光度。因为万寿菊干花颗粒所含的类胡萝卜素中绝大部分为叶黄素酯,占总类胡萝卜素的96.76%,所以,本研究使用萃取液中总类胡萝卜素的吸光度作为叶黄素酯的吸光度计算。根据朗伯-比尔定律,按式(1)计算其中叶黄素酯的浓度,之后再用品式(2)计算叶黄素酯的萃取率。

$$x = \frac{A \times y}{A_{1\%}^{1\text{cm}} \times 100} \quad (1)$$

式中: x 为样品中所含的叶黄素类化合物质量/g; y 为样品溶液的体积/mL; A 为样品在波长450nm处的吸

光度; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ 为吸光系数(在 1cm 光程长的比色杯中 1g/100mL 质量浓度溶质的理论吸光度值), 此处为 2200。

$$\text{叶黄素酯萃取率} = \frac{\text{萃取液中叶黄素酯质量}}{\text{样品中叶黄素酯质量}} \quad (2)$$

2 结果与分析

2.1 微波功率对萃取溶媒温度的影响

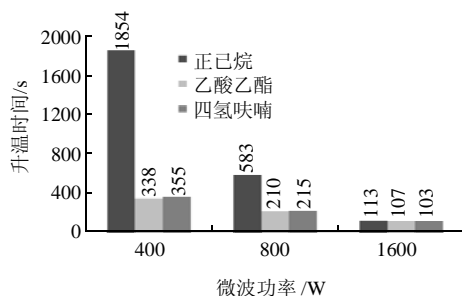


图1 微波功率对萃取溶媒温度的影响

Fig.1 Effect of microwave power on the time required to heat three solvents from 10 °C to 50 °C

正己烷、乙酸乙酯和四氢呋喃这 3 种溶剂的介电常数分别为 1.58、6.02 和 7.58。从图 1 可以看出, 随着微波功率的增加, 3 种溶剂的升温时间迅速缩短。介电常数越高的物质对微波能量的损耗因子也就越大是物质对微波吸收的基本规律, 本实验所得结果基本符合这个规律。但在 400W 和 800W 微波作用下, 乙酸乙酯的升温时间要比四氢呋喃的略短, 其原因应该是因为四氢呋喃的黏度较低、热对流较快、散热速度较快造成的。从分子结构上来看, 具有 O—H 键分子结构的溶剂比只具有 C—H 键分子结构的溶剂升温显著要快。

2.2 升温功率对萃取率的影响

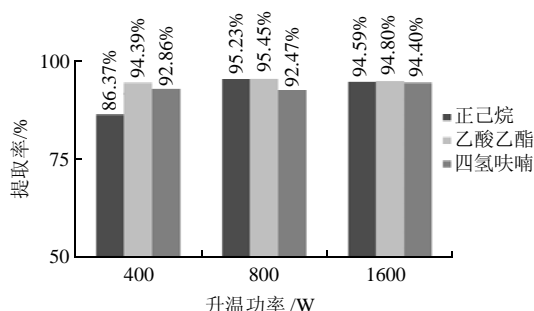


图2 升温功率对萃取率的影响

Fig.2 Effect of microwave power on extraction rate of lutein esters

由图 2 可见, 除了升温功率为 400W 时, 以正己烷为萃取剂的萃取率较低, 其他条件的试验都取得了较好的萃取率。

当升温功率为 400W 时, 正己烷吸收微波能量较

少, 升温时间长。在这种情况下, 虽然微波对细胞壁的破坏作用时间也较长, 但与其他两种溶媒相比萃取率较低。由此可见, 这个功率对吸收微波能量较少溶媒中萃取物的细胞壁的破坏作用有限。

当微波功率为 800W 时, 正己烷、四氢呋喃和乙酸乙酯 3 种萃取剂都获得了较好的萃取率。但图 2 显示正己烷的升温时间明显长于其他两种溶剂。这意味着在正己烷作为萃取溶媒的样品中微波作用于细胞壁的时间比其他两种溶剂的样品要长。

当微波功率为 1600W 时, 叶黄素酯的萃取率略有下降。这是由于其分子的键能接受过多的微波辐射能而引起分子的降解所致。但图 2 显示 3 种溶剂的升温时间基本一致。这表明在 3 种萃取溶媒的样品中微波作用于细胞壁的时间一样。因此, 在以下的试验中, 选定 1600W 作为升温功率, 以求结果的可比性。

2.3 萃取时间对萃取率的影响

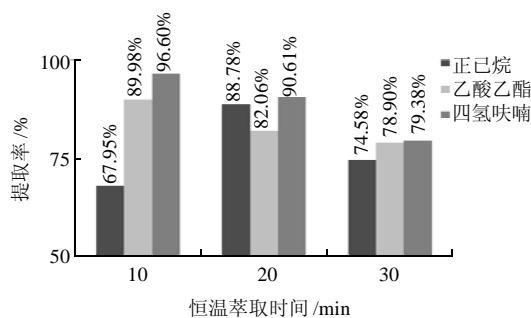


图3 萃取时间对萃取率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on extraction rate of lutein esters

由图 3 可见, 使用正己烷为萃取剂时, 最佳萃取时间是 20min, 而使用乙酸乙酯和四氢呋喃为萃取剂时, 最佳萃取时间为 10min。其原因是正己烷对微波的损耗因子较小, 吸收微波量较少, 无论是破坏细胞壁作用还是升温作用均未达到最佳效果。因此, 在 10min 时仍有很多叶黄素酯未被萃取出来。而 20min 时, 大部分叶黄素酯被萃取出来。之后, 延长时间的微波辐射致使叶黄素酯开始降解。

乙酸乙酯和四氢呋喃对微波的损耗因子较大, 吸收微波量较多, 因此 10min 时就有大量的叶黄素酯被萃取出来, 而随着萃取时间的延长, 微波辐射使叶黄素酯降解。因此, 在下面的试验中, 正己烷样品的萃取时间使用 20min, 乙酸乙酯和四氢呋喃样品的萃取时间为 10min。

2.4 萃取温度对萃取率的影响

由图 4 可见, 使用正己烷和乙酸乙酯为萃取剂时, 随温度升高萃取率也逐渐升高, 在 50℃ 得到最高萃取率。当体系温度从 30℃ 上升到 50℃ 时, 二者的萃取率增幅均超过 10%, 较为显著。使用四氢呋喃为萃取剂时, 在 40℃ 时萃取率最高, 而在 50℃ 时萃取率有所下

降。其原因是随着温度升高,萃取剂吸收更多的微波,微波的破坏细胞壁作用和升温作用都随之加大,因此萃取率也随之提高,而四氢呋喃在温度过高时因吸收大量微波使少部分叶黄素酯降解。

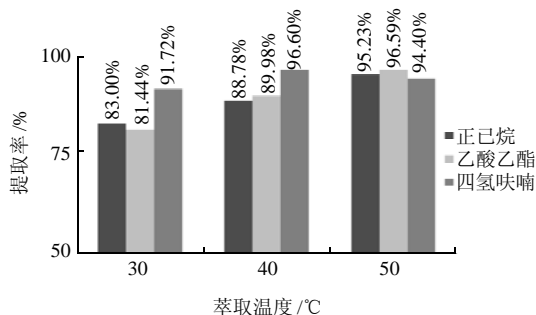


图4 萃取温度对萃取率的影响

Fig.4 Effect of extraction temperature on extraction rate of lutein esters

2.5 微波辅助萃取法与溶剂萃取法的比较

上述微波辅助萃取实验的结果表明,3种不同的萃取溶媒在一定升温功率、萃取时间和温度条件下均可获得较理想的回收率。在1.2.6节,设置相同的萃取时间和温度,不使用微波能量介入,进行萃取,以证明在相同时间和温度条件下微波能量介入的影响。

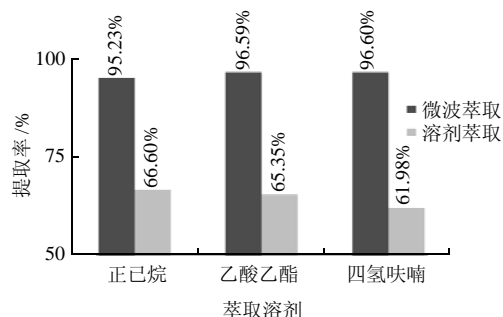


图5 微波萃取与溶剂萃取的比较

Fig.5 Comparison of extraction rates of lutein esters obtained by microwave-assisted extraction and solvent extraction

由图5可见,在相同萃取时间和温度下微波辅助萃取叶黄素酯的萃取率显著高于溶剂萃取的,增幅均在30%左右。这说明在2450MHz的微波作用下,细胞结构的破坏对提高萃取率有显著作用。

3 讨论与结论

3.1 本研究的目的是微波辅助萃取叶黄素酯时萃取温度的影响,因此,在设计上没有将升温温度、萃取时间和温度等因素置于平行的地位而采用多因素正交试验设计,而是将萃取温度的探索实验置于核心地位,其他各项试验的目的均是为比较不同温度下的萃取率而设计

的。在最后一部分,进行了微波辅助萃取和溶剂萃取效果的比较,其目的是证实细胞结构破坏对提高萃取率的影响,从而可以更加客观评价萃取温度控制所起的作用。

3.2 通过对比2.4节与2.5节结果可以看出,2450MHz频率的微波使萃取率增加的重要原因为^[15],细胞内部水分吸收的微波能使细胞内部温度将迅速上升,压力亦随之上升,细胞结构随之破裂,内容物扩散进萃取溶媒中。

3.3 2.4节结果表明:萃取时间的延长导致了萃取率的下降,而下降的原因只能是叶黄素酯降解,由此可以证明叶黄素酯分子也吸收了2450MHz的微波能量。

3.4 正己烷、乙酸乙酯和四氢呋喃这3种试剂在2450MHz的微波条件下可以被有效地加热。用这3种试剂作为萃取溶媒,在30~50℃范围内利用微波辅助提取叶黄素酯,随着萃取温度升高萃取率也随之提高,其中正己烷和乙酸乙酯的萃取率可提高10%以上。综合食品安全性等各种因素考虑,乙酸乙酯可以被考虑作为微波辅助萃取叶黄素酯的溶媒。

参考文献:

- [1] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学与生物化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 267-269.
- [2] 惠伯棣, 张凌霄, 张艳. 叶黄素的体外抗氧化功能[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 253-256.
- [3] SCHUPP C, OLANO-MARTIN E, GERTH C, et al. Lutein, zeaxanthin, macular pigment and visual function in adult cystic fibrosis patients[J]. Am J Clin Nutr, 2004, 79(6): 1045-1052.
- [4] STAHL W. Macular carotenoids: lutein and zeaxanthin[J]. Dev Ophthalmol, 2005, 38: 70-88.
- [5] PARK J S, CHEW B P, WONG T S. Dietary lutein absorption from marigold extract is rapid in BALB/c mice[J]. Nutr, 1998, 128(10): 1802-1806.
- [6] BRITTON G. In carotenoids[M]. Boston and Berlin: Birkhauser Basel, 1995: 97-106.
- [7] 张艳, 惠伯棣, 张凌霄. 叶黄素酯在体内的相对生物利用度评价[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 461-465.
- [8] 惠伯棣, 李京, 裴凌鹏. 我国食品工业中类胡萝卜素的生产与应用[J]. 中国食品添加剂, 2006(3): 130-135.
- [9] 李建颖, 邓宇. 微波提取叶黄素方法的研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(8): 121-124.
- [10] 李建颖, 石军, 邓宇. 微波辐射植物源叶黄素提取的应用研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(1): 72-74.
- [11] 李卫, 杨中林, 高彦祥, 等. 叶黄素酯的微波辅助提取及对油脂的抗氧化[J]. 食品科技, 2008, 33(9): 180-183.
- [12] 范建凤, 郝宇飞. 微波-表面活性剂协同提取万寿菊叶黄素工艺研究[J]. 现代化工, 2008, 28(2): 398-402.
- [13] 杨云裳, 许建国, 张应鹏, 等. 响应曲面法优化微波辅助提取叶黄素酯[J]. 兰州理工大学学报, 2010, 36(4): 66-71.
- [14] 惠伯棣, 唐粉, 裴凌鹏, 等. 万寿菊干花中叶黄素的实验室制备[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 157-160.
- [15] 郭维图, 孙福平. 微波提取的基本特性与微波连续提取装置[J]. 机电信息, 2010(8): 28-31; 34.