

超临界CO₂萃取北五味子木脂素工艺参数的优化*

崔敬爱, 陈晓平**

吉林农业大学食品科学与工程学院, 长春 130118

摘要: 采用超临界CO₂萃取法对北五味子木脂素进行提取, 优选最佳工艺参数。结果表明: 萃取工艺参数为原料粒度0.18~0.25 mm, 投料量每罐300 g, 萃取压力30 MPa, 萃取温度45 °C, 萃取时间120 min, CO₂流量15 L/h。此条件下, 北五味子木脂素的萃取得率达1.024 %。

关键词: 超临界CO₂萃取; 北五味子木脂素; 工艺参数

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-5684(2011)

DOI:

网络出版地址:

Study on Extraction Technology of Lignans in *Schisandra chinensis* baill by Supercritical CO₂

CUI Jing-ai · CHEN Xiao-ping

College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: The technology parameters of extracting schisandra lignose with supercritical CO₂ extraction were studied. The results showed as follows: The optimal conditions of extraction are as follows: 0.18~0.25 mm as the diameter of raw material, 300 g/pot as inventory rating, 30 MPa as extracting pressure, 45 °C as extracting temperature, 120 min as extracting time, 15 L/h as CO₂ flow rate. The extraction rate of lignans from Schinensis by using supercritical CO₂ extraction is 1.024 %.

Key words: supercritical CO₂ extraction; schisandra lignose; technology parameter

北五味子具有极高的药用和营养价值, 是一种新型的“药食同源”功能性保健食品^[1-2]。五味子主要有效成分为木脂素类化合物, 包括五味子素(Schisandrin)、五味子醇(Schisadrol)、去氧五味子素(Deoxyschisandrin)、 γ -五味子素(γ -Schisandrin)及伪- γ -五味子素(Pseudo- γ -Schisandrin)、五味子酯甲(Schisantherin A)、五味子酯乙、丙、丁、戊(Schisantherin B、C、D、E)及五味子醇甲和醇乙等多种成分, 具有抗菌、抗氧化、抗衰老、保肝护心、抑制中枢神经等多种功效^[3-9]。

目前提取五味子素的方法主要是有机溶剂萃取法, 与之相比, 超临界CO₂萃取法的萃取率高, 无有机溶剂残留, 而且大大简化工艺。含量测定结果显示, 萃取物得率愈高, 总木脂素的萃取率愈高。

本研究对北五味子木脂素超临界CO₂萃取的工艺参数进行优选, 旨在能最大程度的提高总木脂素的萃取量, 满足纯天然食品开发的要求。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器设备

1.1.1 材料 北五味子(吉林省永利药业股份有限公司, 产地为长白山地区), 五味子乙素标准品(优级纯, 中国药品生物制品检定所), 其他试剂(分析纯)。

1.1.2 主要仪器设备 电热鼓风干燥箱(CS1012)重庆试验设备厂; 751分光光度计 北京普析通用; 电子天平(ABI04)瑞士; 超临界萃取装置(HA121-50-06)南通市华安超临界萃取有限公司(1L/50MPa)。

1.2 方法

* 基金项目: 吉林省重点科技攻关项目(20050212-6)

作者简介: 崔敬爱, 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品生化与功能食品。

收稿日期: 2011-08-29

网络出版时间:

**通讯作者

1.2.1. 标准曲线的制备 精密称取20 mg五味子乙素标准品,用甲醇溶解,摇匀,定容于100 mL容量瓶中,浓度为0.2 mg/mL五味子总木脂素标准品溶液,作为贮备液备用。

分别精密量取上述溶液0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 mL于试管中,水浴加热挥发溶剂后,分别加入10%变色酸溶液0.5mL、浓硫酸3.5mL,加塞,摇匀后于沸水浴中加热30min后,马上取出,冷却后,分别加入2.0mL蒸馏水稀释,摇匀,冷却后,以0号试管为对照,用751分光光度计,在575nm处测定吸收度。以五味子乙素量为横坐标,吸光度为纵坐标做标准曲线^[10]。

1.2.2 木脂素含量测定 精确称取0.1 g提取物,用甲醇溶解,摇匀,定容于10 mL容量瓶中,吸取0.2 mL定容液,水浴加热挥发溶剂后,采用标准曲线测定方法测定。

1.2.3 原料粒度对五味子木脂素萃取得率的影响 将自然干燥的五味子果实粉碎后过0.150, 0.180, 0.250, 0.425, 0.850 mm筛,置于60℃真空干燥24 h,

测其含水量为3.01%,进行超临界萃取。萃取条件:压力25 MPa,温度35℃,CO₂流量16 L/H,萃取时间120 min,投料量120 g。根据木脂素提取得率,确定最佳原料粒度。

1.2.4 CO₂流量对五味子木脂素萃取得率的影响 粒度相同的等量原料,在其他操作参数相同的条件下,分别用5, 10, 15, 20 L/h的CO₂流量,进行超临界CO₂萃取,确定最佳CO₂流量。

1.2.5 投料量的影响 分别选用200, 300, 400 g的原料,其他操作参数相同,进行超临界CO₂萃取,确定最佳投料量。

1.2.6 在最优条件下进行超临界CO₂萃取 在最优条件下进行超临界CO₂萃取,得出超临界CO₂萃取五味子木脂素的萃取得率。五味子总木脂素萃取得率=萃取物中木脂素量/样品量×100%。

1.2.7 温度、压力、时间对五味子木脂素萃取得率的影响 采用正交试验设计法,对萃取压力、萃取温度、萃取时间进行3因素3水平L₉(3³)正交试验。正交试验设计如表1所示。

表1 L₉(3³) 因素水平表
Table 1. L₉(3³) factors and levels

水平 Level	因素 Factor		
	A 压力/MPa	B 温度/℃	C 时间/min
	Presser	Temperature	Time
1	25	30	60
2	30	35	90
3	35	45	120

2 结果与分析

2.1 北五味子总木脂素标准曲线的绘制

绘制北五味子总木脂素标准曲线,结果见图1。

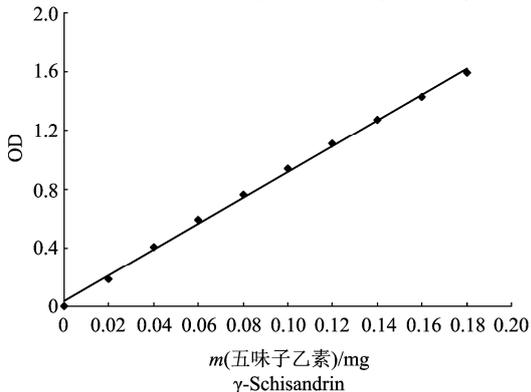


图1 标准曲线

Fig.1. Standard curve

以五味子乙素量为横坐标X,吸光度为纵坐标Y,进行线性回归,得回归方程为:Y=8.8224X+0.036, R²=0.9979。

式中:Y为吸光度,X为五味子萃取物总木脂素量

(mg)。

2.2 北五味子木脂素提取工艺参数的优选

2.2.1 原料粒度对五味子木脂素萃取得率的影响

不同原料粒度对萃取得率的影响结果见图2。

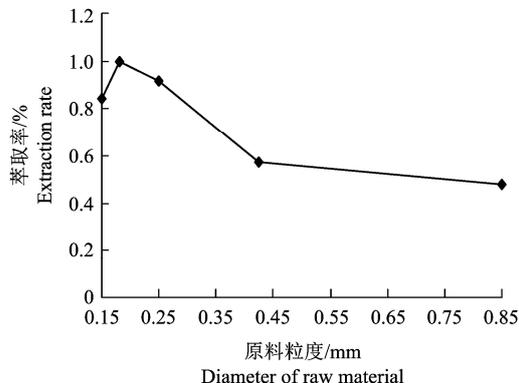


图2 原料粒度对五味子总木脂素萃取得率的影响

Fig.2. Effect of material grind degrees on extraction rate of lignans from Schinensis

原料粒度对超临界流体萃取的影响是极为重要的。一般来说,原料的颗粒愈小,溶质从原料向超临界流体传输的路径愈短,与超临界流体接触的表面积

愈大，萃取进行的愈快愈完全^[11]。但粒度过小时，过细的粉碎容易造成萃取器出口的过滤网堵塞，产生巨大的压差而破坏设备。

从图2可见，总木脂素的萃取得率在物料粒度为0.18 mm时最高，为1.00%，而粒度过粗或过细均不利于超临界CO₂萃取。当物料粒度从0.850 mm降到0.18 mm时，总木脂素萃取得率从0.43%升高到1.00%。但当物料粒度再进一步降低，即降到100目时，总木脂素萃取得率降低了0.10%。这是因为五味子破碎后细胞壁被进一步破坏，使五味子油微滴更容易逸出，大大增加了原料的堆积密度，致使五味子油微滴难以穿过料层而进入溶剂主体。也就是说虽然增大了传质面积，同时也接减小了传质系数，且后者更甚，最终降低了传质速率。而且，物料过细还会堵塞管路，影响正常的萃取。因此，物料不易过细，这样既可提高五味子总木脂素萃取得率，又可有效地避免了CO₂“短路”现象(即CO₂只沿阻力小的路线穿过料层，形成许多针孔，产生萃取显著不均匀的现象)^[11]。尽管粒度在0.18 mm时五味子总木脂素萃取得率最高，但不易粉碎过筛，故本试验以粒度0.18~0.25 mm为宜，而且得率也较高。

2.2.2 CO₂流量对五味子木脂素萃取得率的影响

CO₂流量五味子木脂素萃取得率的影响结果见图3。

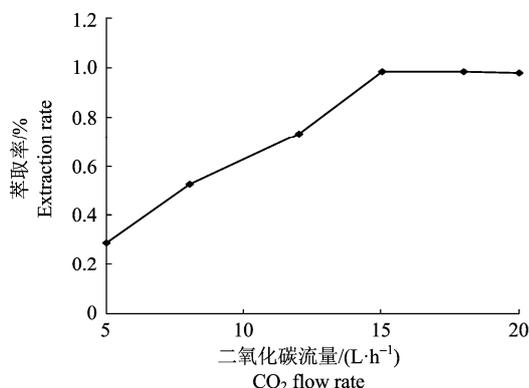


图3 CO₂流量对五味子木脂素萃取得率的影响

Fig.3. Effect of CO₂ flow rate on extraction rate of lignans from Schinensis

CO₂流量的变化对超临界二氧化碳萃取过程的影响比较复杂。当加大CO₂流量时会产生有利和不利两方面的影响。有利方面^[12]：①增加了溶剂对原料的萃取次数，可缩短萃取时间；②流速提高，可以更好地

“翻动”被萃取的原料，使萃取器中各点的原料都得到均匀的萃取；③强化萃取过程的传质效果，迅速地将被溶解的溶质从原料表面带走，缩短萃取时间。不利方面：由于萃取器内的CO₂流速加快，CO₂停留时间变短，与被萃取物接触时间减少，CO₂流体中溶质含量降低，产品提取率受到影响，导致CO₂耗量增加，提高生产成本。

在萃取压力、温度、时间、原料粒度及投料量相同的条件下，从CO₂流量与五味子木脂素萃取得率之间的关系，可以看到当流量从5 L/h上升到15 L/h时，五味子木脂素萃取得率有所提高，但流量>15 L/h时，五味子木脂素萃取得率提高缓慢。所以15 L/h为CO₂的最佳流量。

2.2.3 投料量对五味子木脂素萃取得率的影响

投料量对五味子木脂素萃取得率的影响结果见图4。

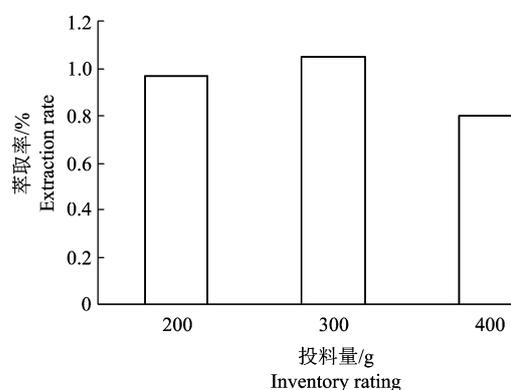


图4 投料量对五味子木脂素萃取得率的影响

Fig.4. Effect of inventory rating on extraction rate of lignans from Schinensis

投料量减少，流体与固体颗粒接触面积增大，有利于传质。随着投料量增多，床层阻力增大，CO₂流动不均匀，易形成沟流、返混影响传质，故单位时间萃取得率越低，萃取完全时所耗时间越多，因此不宜装料太多，但通常为了充分利用高压空间，减少能源的浪费，可选择较大的投料量。

在萃取压力、温度、时间、原料粒度及CO₂流量相同的条件下，选择投料量为每罐300 g最佳。

2.2.4 压力、温度、时间对五味子木脂素萃取得率的影响

正交试验分析结果见表2，压力、温度、时间对五味子木脂素萃取得率的影响图5。

表 2 L₉ (3³) 正交试验结果分析表

Table 2. L₉(3³) The analysis of orthogonal test results

试验号 Test number	因素 Factor			木脂素萃取得率/% Extraction rate of lignans from Schinensis
	A	B	C	
1	1	1	1	0.462

2	1	2	2	0.663
3	1	3	3	0.756
4	2	1	2	0.789
5	2	2	3	0.930
6	2	3	1	0.976
7	3	1	3	0.808
8	3	2	1	0.819
9	3	3	2	0.837
<hr/>				
K_1'	1.881	2.059	2.257	
K_2'	2.695	2.412	2.289	
K_3'	2.464	2.569	2.494	
R_1'	0.627	0.686	0.752	
R_2'	0.898	0.804	0.763	
R_3'	0.821	0.856	0.831	
R_j'	0.271	0.170	0.079	

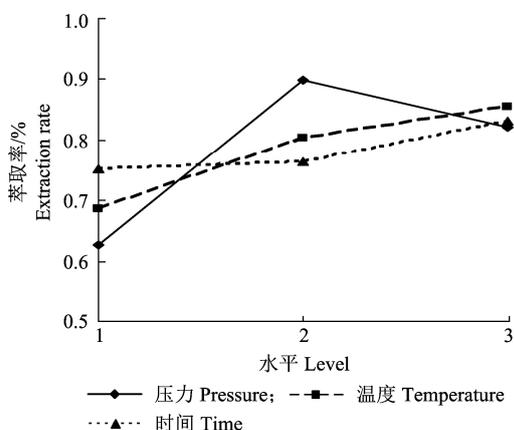


图5 压力、温度、时间对五味子木脂素萃取得率的影响
Fig.5.Effect of pressure, temperature and time on extraction rate of lignans

极差分析结果显示，试验中各因素影响大小顺序，总木脂素萃取得率为压力(A)>温度(B)>时间(C)，结合因素水平确定的最佳水平组合，总木脂素萃取得率为A₂B₃C₃。

通过数据处理软件SPSS11.5进行方差分析，结果见表3。

表3 方差分析
Table 3. Variance analysis

方差来源 Source	离差平方和 Type III Sum of Squares	自由度 df	均方差 Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.184(a)	6	.031	9.769	.096
Intercept	5.460	1	5.460	1743.237	.001
A	.127	2	.063	20.247	.047
B	.044	2	.022	7.084	.124
C	.012	2	.006	1.976	.336
Error	.006	2	.003		
Total	5.650	9			
Corrected Total	.190	8			

注：F_{0.1}(2, 2) = 9; F_{0.05}(2, 2) = 19, a R Squared = .967 (Adjusted R Squared = .868)

从显著性检验知，压力对试验结果有显著影响，时间对试验结果影响最小。因此，综合极差及方差分析结果，确定最佳萃取工艺条件为A₂B₃C₃，即压力为30 MPa，温度为45 °C，萃取时间为120 min。

压力是超临界CO₂萃取过程最重要的参数之一。萃取温度一定时，压力增加，流体的密度增大，在临界压力附近，压力的微小变化会引起密度的急剧改变

而密度的增加将引起溶解度的提高。CO₂超临界萃取对于不同的物质，其萃取压力有很大的不同^[13]。例如，对于碳氢化合物和酯等弱极性物质，萃取可在较低压力下进行，一般压力为7~10 MPa；对于含有-OH，-COOH基这类强极性基因的物质以及苯环直接与-OH，-COOH基团相连的物质，萃取压力要求高一些，而对于强极性的配糖体以及氨基酸类物质，萃取压力

一般要求>50 MPa才能萃取出来。鉴于五味子中的木脂素类成分属于联苯环辛烯型，这类木脂素的结构中既有联苯的结构，又有联苯与侧链环结结构，具有较大的分子量，萃取时需要相对较高的压力。因此，结合试验结果选择萃取压力为30 MPa。

萃取温度是超临界CO₂萃取的另一个重要参数，温度对超临界流体溶解能力的影响有两方面。一方面，在一定压力下，升高温度，CO₂分子间距增大，分子间作用力减小，密度降低，其溶解能力相应下降；另一方面，温度升高致使溶质热运动加快蒸汽压升高，对传质过程有促进的作用，使萃取得率提高^[14]。因此，升温对萃取物得率的影响，决定于升温所降低的CO₂密度与增加的扩散系数两种竞争效应相持的结果。根据试验结果，对于五味子木脂素类成分我们选择萃取温度为45℃。

萃取时间对二氧化碳超临界萃取也有较大的影响^[15]，当其它萃取条件固定时，萃取时间越长最终的萃取得率越高。但萃取时间过长会相应增加生产成本。因此，根据试验结果选择萃取时间为120 min。

2.2.5 在最佳条件下进行超临界CO₂萃取 通过前面的研究，我们得出了超临界二氧化碳萃取五味子木脂素成分的最佳工艺参数：原料粒度为0.18~0.25 mm，投料量为300 g/罐，萃取压力为30 MPa，萃取温度为45℃，萃取时间为120min，CO₂流量15L/h。

在最佳条件下重复3次进行超临界CO₂萃取，五味子木脂素萃取率分别为1.061%，0.997%，1.013%，平均值1.024%。

五味子的提取成分与提取溶液的极性相关，脂溶性成分随着极性减小而增加，水溶性成分随着极性增加而增加。CO₂对五味子脂溶性成分提取率较高，而大多木脂素具有亲脂性或强亲脂性，CO₂在超临界状态下，极性相当于正己烷和石油醚，具有很强穿透能力和选择性，所以提取五味子成分纯度高，木脂素成分含量较高。但提取物中有哪些木脂素成分，其含量如何有待于进一步研究。

3 结论

超临界CO₂萃取北五味子木脂素的最佳萃取工艺参数：原料粒度为0.18~0.25 mm，投料量为300 g/罐，萃取压力为30 MPa，萃取温度为45℃，萃取时间为120 min，CO₂流量15 L/h。北五味子总木脂素的萃取得率可达1.024%。

参考文献：

- [1]国家药典委员会编.中华人民共和国药典[M].北京化学工业出版社:2000:48,197
- [2]杨晓铃,李爱民.五味子研究概况[J].时珍国医国药,1999,10(4):300-301.
- [3]王慕邹.常用中草药高效液相色谱分析[M].北京科学出版社:1999,55
- [4]李伟,易翔.五味子素类抑制HIV活性的三维定量构效关系研究[J].化学学报,2002,60(7):1311-1317
- [5]李安金,耿加利.五味子药理作用研究概况[J].中华综合临床医学杂志,2004,6(4):117-119
- [6]应国清,俞志明,单剑峰,等.北五味子有效组分的研究进展[J].河南中医,2005,25(6):84-87
- [7]陈业高,秦国伟.五味子科植物木脂素成分生物活性研究进展[J].中药材,2001,24(1):62-65
- [8]俞培忠,王丽平.木脂素研究的新进展[J].国外医药:植物药分册.1991,6(1):4-8
- [9]宋万志,童玉懿.五味子属植物木脂素类资源的研究[J].天然产物研究与开发,1990,2(4):51-58
- [10]Peng,JY,Fan,GR,Qu,LP,*et al.* Application of preparative high-speed counter-current chromatography for isolation and separation of etschizandrin and gomisin A from Schisandra chinensis[J]. Journal of Chromatography, 2005, 1082 (2): 203-207
- [11]Sass-Kiss.Study on the pilot-scale extraction of onion oleoresin using supercritical CO₂[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,1998,76(3):320-326
- [12] Sass-Kiss.Study on the pilot-scale extraction of onion oleoresin using supercritical CO₂[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,1998,76(3):320-326
- [13]张镜澄.超临界流体萃取[M].北京化学工业出版社:2000.
- [14]梁文学.超临界流体应用及进展[J].山西食品工业,2001,(1):7-9
- [15]崔洪友,王涛,关艳芬,等.用超临界CO₂络合萃取法脱除中成药中的重金属[J].清华大学学报:自然科学版,2001,41(12):25-27.