

## 超临界二氧化碳萃取常山胡柚外果皮中天然色素的工艺研究

时海香, 仲山民, 吴峰华

(浙江林学院 农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 为了得到萃取常山胡柚 *Citrus paradisi* 'Changshan Huyou' 天然色素的最佳工艺条件, 为规模化、产业化提取常山胡柚天然色素提供理论依据, 以常山胡柚外果皮为原料, 采用超临界二氧化碳萃取技术对常山胡柚天然色素的提取工艺进行了较为系统的研究, 并对提取中的若干关键因素如萃取时间、萃取压力、夹带剂(体积分数为 95%乙醇)用量和萃取温度等分别进行单因素试验和正交试验, 得到了常山胡柚天然色素提取的最佳工艺条件为: 萃取时间 2 h, 萃取压力 25 MPa, 夹带剂(体积分数为 95%乙醇)用量 300 mL, 萃取温度 35 。提取后将色素液烘干至恒质量, 从而计算其得率, 常山胡柚天然色素的提取率为 3.78%。图 4 表 2 参 15

关键词: 经济林学; 超临界二氧化碳萃取; 常山胡柚; 天然色素; 工艺

中图分类号: S609.9; TS202.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2008)05-0639-05

## Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of natural pigment from *Citrus paradisi* 'Changshan Huyou' cuticle

SHI Hai-xiang, ZHONG Shan-min, WU Feng-hua

(School of Agriculture and Food Science, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: In order to obtain the optimal technical condition on the extraction of *Citrus paradisi* 'Changshan Huyou' and give a theoretic guarantee of extracting it in a large-scale and industrial way, cuticle of 'Changshan Huyou' was studied with the supercritical CO<sub>2</sub> technology. Factors affecting extraction such as time, pressure, 95% ethand dosage and temperature were studied. The results showed that the optimal technical condition of extracting natural pigment from 'Changshan Huyou' cuticle were as follows: extracting time was 2 h; extracting pressure was 25 MPa; 95% ethand dosage was 300 mL; extracting temperature was 35 . After extracting, the liquid pigment was dried to a permanent weight to calculate the extraction rate. The extraction rate was 3.78%. [Ch, 4 fig. 2 tab. 15 ref.]

Key words: cash forestry; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; *Citrus paradisi* 'Changshan Huyou'; natural pigment; craft

天然食用色素不仅安全性好, 而且许多还具有一定的营养价值, 广受消费者欢迎, 因此, 专家对天然色素的研究也日益增多<sup>[1]</sup>。常山胡柚 *Citrus paradisi* 'Changshan Huyou' 果形美观, 果色金黄诱人, 香气浓郁, 风味独特, 品质优良, 是深受广大消费者喜爱的绿色食品, 是浙江省重点开发的名特优产品<sup>[2-5]</sup>。超临界萃取技术是近年来发展起来的新的分离技术<sup>[6-8]</sup>, 超临界二氧化碳流体具有良好的渗透能力和溶解能力, 能够迅速从固体或黏稠的半固体原料中提取有效成分。同时二氧化碳安

收稿日期: 2007-10-12; 修回日期: 2007-12-17

基金项目: 浙江省教育厅资助项目(97128)

作者简介: 时海香, 硕士, 从事林产品加工等研究。E-mail: shx19820629@163.com。通信作者: 仲山民, 教授, 博士, 从事经济林产品加工利用与分析研究。E-mail: zhongsm2002@zjfc.edu.cn

全无毒、廉价易得, 所得的产品容易与溶剂分离, 无溶剂残留问题, 而且超临界二氧化碳流体的萃取温度稍高于常温, 有利于热敏性物质的萃取。整个萃取过程是处于无氧环境中, 使产品中的易氧化成分得以保存。通过改变萃取温度、压力和夹带剂, 就可以选择性地提取所需物质。超临界萃取技术已成为萃取分离的重要技术手段。迄今为止, 国内外未见该技术用于常山胡柚天然色素提取的研究报道。本研究是以常山胡柚外果皮为原料, 通过对超临界二氧化碳提取工艺中的若干关键影响因子分别进行单因素试验和正交试验, 以确定其最佳提取工艺条件, 为规模化、产业化提取常山胡柚天然色素提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与主要设备

材料: 常山胡柚鲜果购于临安市水果市场, 选择个匀、无病虫害和无斑点的鲜果为原料。

主要设备: HA121-50-01型二氧化碳超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取设备有限公司), FE220型中型粉碎(北京中兴伟业仪器有限公司), 旋转蒸发器 R-201(上海申顺生物科技有限公司), DG-9053AD型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司), DZG-6090真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司), 红外线快速水分测定仪 MB45。

### 1.2 方 法

1.2.1 原料预处理 常山胡柚鲜果去蒂后, 用清水清洗, 擦干, 然后把外果皮削成片状, 置于烘箱中, 在 45℃ 温度下干燥约 24 h, 至平均含水量 7.2%左右, 粉碎, 过 80 目(孔径约 0.16 mm)筛, 装瓶备用。

1.2.2 萃取压力对得率的影响 称取 100 g 常山胡柚外果皮粉末, 在萃取温度 35℃, 夹带剂(体积分数为 95%乙醇)200 mL, 萃取时间 3 h, 泵频率 18 Hz 等萃取条件下, 分别取压力 15, 20, 25, 30 和 35 MPa 进行试验, 测定色素得率。

1.2.3 萃取温度对萃取得率的影响 称取 100 g 常山胡柚外果皮粉末, 夹带剂(体积分数为 95%)用量为 200 mL, 萃取时间 3 h, 萃取压力 25 MPa, 分别取温度 35, 40, 45, 50 和 55℃ 进行试验, 测定色素得率。

1.2.4 夹带剂的用量对萃取得率的影响 称取 100 g 常山胡柚外果皮粉末, 萃取时间 3 h, 萃取压力 25 MPa, 萃取温度 45℃, 泵频率 18 Hz, 夹带剂(体积分数为 95%乙醇)用量分别为 20, 30, 40, 50, 60, 100, 200, 300 和 400 mL 进行试验, 测定色素得率。

1.2.5 萃取时间对萃取得率的影响 称取 100 g 常山胡柚外果皮粉末, 夹带剂(体积分数为 95%乙醇)用量 200 mL, 萃取压力为 25 MPa, 萃取温度 45℃, 泵频率 18 Hz, 萃取时间分别为 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 和 3.5 h 进行试验, 测定色素得率。

1.2.6 正交实验方法设计 根据压力、温度、夹带剂用量和萃取时间等 4 个单因素试验结果, 设计了 4 因素 3 水平的正交试验<sup>[9]</sup>, 见表 1。

1.2.7 色素得率的计算 萃取后得到的色素液置于低温真空干燥箱里, 45℃ 下干燥, 得到棕红色膏状物, 干燥至恒质量, 利用分析天平称量, 求其得率。

表 1  $L_9(3^4)$  因素水平设计

Table1 Orthogonal design of  $L_9(3^4)$  factor and level

水平	因素			
	夹带剂/ mL	萃取时间/ h	萃取温度/	萃取压力 / MPa
1	200	2.0	40	30
2	300	2.5	45	20
3	100	3.0	35	25

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取压力对色素萃取效果的影响

由图 1 可以看出, 当压力低于 25 MPa 时, 随着压力增大, 得率提高; 当压力处于 25 ~ 30 MPa 时, 随着压力的增大, 得率降低; 当压力高于 30 MPa 时, 压力越大, 得率有缓慢增长趋势, 但是 35

MPa 时的得率比 30 MPa 时仅高 0.06%。

萃取压力对萃取过程的影响主要有以下 2 个方面: 一是萃取压力对萃取热力学的影响, 主要是通过压力的改变而改变溶剂的密度, 同时亦改变了溶剂对溶质的溶解度; 二是萃取压力对萃取过程动力学的影响, 主要是通过萃取压力的改变而改变溶质在溶剂中的扩散速率, 从而影响萃取过程的传质能力, 因此最优操作压力的选择应综合考虑上述 2 个方面的影响, 同时还应结合萃取设备的使用、压力操作、动力消耗等技术经济问题<sup>[10, 11]</sup>。根据本试验的结果和设备的动力消耗情况, 选取 20, 25 和 30 MPa 等 3 个水平再进行正交试验。

## 2.2 萃取温度对色素萃取效果的影响

由图 2 可以看出, 在试验选择的条件下, 当温度为 35 ~50 时, 色素得率随着温度的升高而提高。这主要是因为: 压力较高时, 超临界二氧化碳的密度也比较高, 随着萃取温度的升高, 虽然其密度也会有所下降, 但是却增强了溶质从溶质基质上的解离速率, 也增强了溶质在固体基质和溶剂中的扩散速率, 从而有利于萃取过程的进行。而当温度为 50 ~55 时, 色素的得率随着温度的升高而降低, 这是因为萃取温度对萃取效果具有双重的影响<sup>[12]</sup>: 一方面温度升高有利于增加溶质的挥发性和提高物料的扩散系数, 有利于色素的萃出; 另一方面, 温度升高又降低了二氧化碳的浓度, 从而导致二氧化碳溶解能力的降低, 不利萃取。此外, 温度升高也可能导致夹带剂的蒸发从而也影响得率, 同时也可能影响色素的稳定性。因此, 萃取温度不宜过高。根据单因素分析, 选定 35, 40 和 45 作为正交试验中的萃取温度。

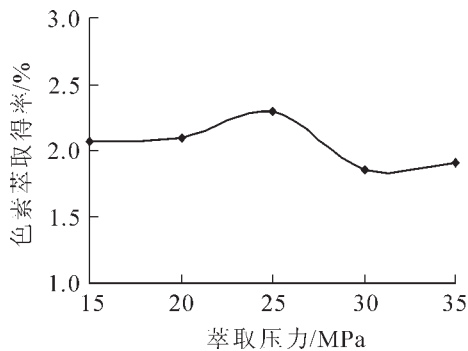


图 1 萃取压力对得率的影响

Figure 1 Effect of pressure on extraction rate

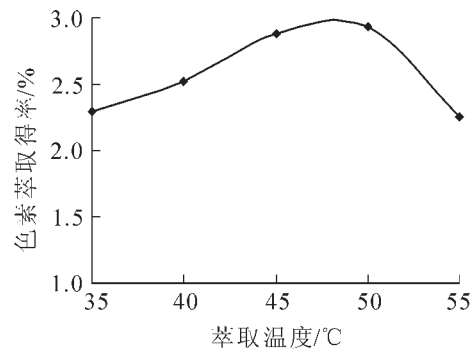


图 2 萃取温度对得率的影响

Figure 2 Effect of temperature on extraction rate

## 2.3 夹带剂的用量对色素萃取效果的影响

通过试验得出, 不加夹带剂萃取 3 h 后几乎得不到色素, 所以需加入夹带剂。乙醇由于具有无毒无害等优点, 所以是最常用的夹带剂。由图 3 可以看出, 夹带剂用量的增大, 有利于常山胡柚天然色素的溶出, 色素的萃取率升高。但是, 当夹带剂达到一定用量后, 色素的得率基本上维持在一定数值。根据此单因素试验, 夹带剂用量高于 100 mL 时, 色素得率的增长趋于缓和, 因此, 笔者以 100, 200 和 300 mL 作为正交试验中夹带剂用量的选定值。

## 2.4 萃取时间对色素萃取效果的影响

时间对萃取过程有一定影响, 传质速率的大小能直接在萃取时间的长短上得到体现, 但是当溶质在溶剂与基质间的传递接近动态平衡时, 时间对萃取过程的影响变得平缓。刚达到平衡点的时间是萃取所需的最少时间, 也是最优时间<sup>[13-15]</sup>。本试验是在  $18 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$  二氧化碳的条件下进行的, 结果如图 4。从图 4 可看出, 萃取时间由 1.5 ~2.0 h 时, 得率升高较快, 在 2 h 以后, 提取率维持在一定的数值, 即溶质在溶剂与基质间的传递接近动态平衡, 这与前面的理论分析基本吻合, 所以, 根据此单因素试验, 以 2.0, 2.5 和 3.0 h 作为正交试验中萃取时间的选定值。

## 2.5 正交试验

试验结果及极差分析如表 2。由极差分析的 K 值可以看出, 在正交试验中夹带剂的量和萃取压力对得率的影响的变化趋势和单因素中是一致的, 而萃取时间和萃取温度对得率的影响的变化趋势与单

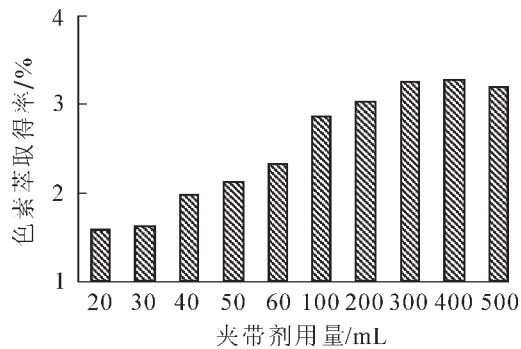


图3 夹带剂 95%乙醇对得率的影响

Figure 3 Effect of entrainer 95% ethanol on extraction rate

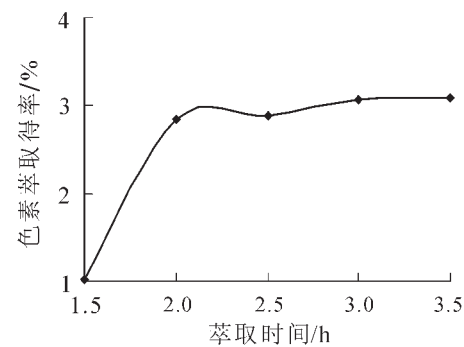


图4 萃取时间对得率的影响

Figure 4 Effect of time on extraction rate

因素试验中不一致,这可能受因素的交互作用影响;同时由极差分析中R值可知,对影响二氧化碳流体萃取常山胡柚天然色素的因素的主次作用为:萃取时间>萃取压力>夹带剂用量>萃取温度,超临界二氧化碳萃取常山胡柚天然色素的最佳工艺条件为:萃取时间2h,萃取压力25MPa,夹带剂(体积分数为95%乙醇)用量为300mL,萃取温度35。

### 2.6 色素的初步鉴定

据紫外可见光谱及特殊显色反应,即HCl-Mg粉反应,FeCl<sub>3</sub>显色反应,中性醋酸铅沉淀反应,可初步推断常山胡柚天然色素为黄酮类色素。

## 3 结论

研究表明,用超临界二氧化碳流体萃取常山胡柚天然色素的方法是可行的。通过试验,得到了

超临界二氧化碳流体萃取常山胡柚天然色素的最佳工艺条件是:萃取时间2h,萃取压力25MPa,夹带剂(体积分数为95%乙醇)用量为300mL,萃取温度35。

本研究结果对于芸香科Rutaceae果实色素的超临界二氧化碳流体萃取也有很好的指导意义。

### 参考文献:

- [1] 尹起范,魏科霞,杨艳玲,等.从紫色甘蔗皮中提取天然色素的研究[J].淮阴师范学院学报:自然科学版,2003,2(3):220-222.
- [2] 张华,李景琳.对食用天然色素研究与开发的思考[J].辽宁农业科学,1998(6):27-30.
- [3] 郭清泉,陈焕钦.功能性食用天然色素[J].中国食品添加剂,2003(1):49-52.
- [4] 仲山民.常山胡柚可持续发展问题探讨[J].经济林研究,2000,18(4):59-60.
- [5] 亦辉.全果压榨常山胡柚浓缩汁的加工[J].食品研究与开发,2004,25(6):88-89.

表2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验结果及极差分析表Table 2 Result of the L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal experiment and chart of range analysis

项目	夹带剂/mL	萃取时间/h	萃取温度/	萃取压力/MPa	得率/%
1	200	2.0	40	30	2.86
2	200	2.5	45	20	2.71
3	200	3.0	35	25	1.91
4	300	2.0	45	25	3.28
5	300	2.5	35	30	2.80
6	300	3.0	40	20	1.78
7	100	2.0	35	20	2.79
8	100	2.5	40	25	3.20
9	100	3.0	45	30	1.55
K <sub>1</sub>	7.48	8.93	7.84	7.21	T = 22.88
K <sub>2</sub>	7.86	8.71	7.54	7.28	T = 2.54
K <sub>3</sub>	7.54	5.24	7.50	8.39	
K <sub>1</sub>	2.49	2.98	2.61	2.40	
K <sub>2</sub>	2.62	2.90	2.51	2.43	
K <sub>3</sub>	2.51	1.75	2.50	2.80	
R	0.13	1.23	0.11	0.40	

- [6] 邵伟, 唐明, 熊泽. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取红曲色素的研究[J]. 中国酿造, 2005 (7): 22 - 24.
- [7] TAYLOR L T. Supercritical Fluid Extraction[M]. New York: John Willy and Sons INC, 1996: 14 - 17.
- [8] 李秋红, 罗莉萍, 叶文峰, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取杜仲叶总黄酮的研究[J]. 食品科学, 2006, 27 (12): 553 - 555.
- [9] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 330 - 360.
- [10] MONTERO G A, SMITH C B, HENDRIX W A, et al. Supercritical fluid technology in textile processing: an overview [J]. Ind Eng Chem Res, 2003, 39 (12): 4 806 - 4 812.
- [11] 高彦祥, 马清香. 天然色素超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26 (增刊): 149 - 155.
- [12] 张震华, 闫红, 葛毅强, 等. 超临界流体萃取葡萄皮精油的最佳工艺研究[J]. 食品科学, 2005, 26 (3): 94 - 97.
- [13] 胡淼. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取青蒿素及其纯化工艺研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [14] KOHLER M, HAERDI W, CHRISTEN P, et al. Extraction of artemisinin and artemisinic acid from *Artemisia annua* L. using supercritical carbon dioxide[J]. J Chromatogr A, 1997, 785: 353 - 360.
- [15] 邱洪涛. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取白花前胡丙素的研究[D]. 天津: 河北工业大学, 2005.



## 浙江林学院考察团一行应邀赴波兰考察

2008年5月24-28日, 浙江林学院常务副校长周国模、特聘教授曹志洪、环境科技学院环境科学与工程学科负责人张妙仙等一行3人应邀访问了波兰卢布林工业大学。

访问期间, 周国模介绍了学校基本情况, 曹志洪教授作了关于农村生活污水处理的学术报告。双方就学生交流、项目合作、教师短期交流和讲学等方面进行了洽谈, 并签署了校际合作备忘录, 访问获得了圆满成功。

考察团一行重点参观了卢布林工业大学环境工程学院, 同时还访问了位于卢布林市的国际农业物理研究所。

陈斌