

超临界 CO₂ 萃取红车轴草异黄酮的工艺研究

金汝城¹, 赵国磊², 贾超², 谢伟雪² (1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 730050; 2. 兰州理工大学石油化工学院, 甘肃 730050)

摘要: 目的 采用超临界 CO₂ 萃取技术对红车轴草异黄酮成分进行萃取。通过单因素试验对影响异黄酮提取率的工艺因素进行了探讨, 得出最佳的超临界萃取工艺条件为: 原料粒度 40 目, 无水乙醇做夹带剂, 相对于原料用量为 1 mL·g⁻¹, 萃取温度 40 °C, 压力 25 MPa, CO₂ 流量 6 mL·min⁻¹, 静态萃取 60 min, 动态萃取 15 min。

作者简介: 金汝城, 男, 博士, 教授 Tel: (0931) 2976703 E-mail: jinnucheng@lut.cn

Study on Extraction of Isflavones from *Trifolium pratense* by Supercritical CO₂

JIN Ru-cheng^{1*}, ZHAO Guo-lei², JIA Chao², XIE Wei-xue² (1. College of life science and engineering, Lanzhou university of technology; 2. College of Petrochemical Technology, Lanzhou university of technology, Lanzhou 730050;)

ABSTRACT: OBJECTIVE Extraction technology of isflavones in *Trifolium pratense* was studied by employ methods of supercritical CO₂ extraction (SFE). Effects on extraction rate of isflavones were investigated by single factor experiment. The optimum extraction conditions for *Trifolium pratense* isflavones were established as follows: the granule size material at 40 mu, ethanol absolute as modifier, ratio of modifier to material 1 mL·g⁻¹, extraction temperature 40 °C, extraction pressure 25 Mpa, CO₂ flow rate of 1 mL·min⁻¹, static extraction time 60 min, dynamic extraction time 15 min.

KEY WORDS: supercritical CO₂ extraction; *Trifolium pratense*; isoflavone

红车轴草 (*Trifolium pratense* L.) 为豆科蝶形花亚科车轴草属植物,又名红三叶、红花苜蓿、红苜蓿、红荷兰翘翘、金花菜、三叶草等。全草含有鹰嘴豆芽素 A (biochanin A)、刺芒柄花素 (formononetin)、大豆苷元 (daidzein) 和染料木素 (genistein) 等异黄酮成分,是少数几种含“植物雌激素”的植物之一。大量的药理学研究表明,红车轴草异黄酮具有植物雌激素样作用和抗癌等多种生物学功能,对于改善更年期妇女的骨质疏松症、预防乳腺癌、心血管系统等疾病也越来越多的应用于临床,使之成为人们关注的热点^[1-4]。超临界 CO₂ 萃取具有温度低、耗时短、对环境无污染等优点。而有关超临界 CO₂ 萃取红车轴草异黄酮的研究未见报道。本实验以甘肃岷县红车轴草为原料,就超临界 CO₂ 萃取红车轴草异黄酮的工艺进行了探讨,为红车轴草异黄酮的开发利用提供理论依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

红车轴草,产于甘肃岷县;刺芒柄花素(批号:111703-200501),中国药品生物制品检定所;CO₂(纯度大于99%),购自兰州中科西联化工物资站,超临界 CO₂ 萃取仪 (Speed SFE),购自美国应用分离公司 (Applied Separations, USA);UV-9200紫外可见分光光度计,北京瑞利分析仪器公司;其它试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取 称取 40 目的红车轴草粉 10 g,加入适量的夹带剂,拌均,装于 50 mL 的萃取釜中,按试验条件设定萃取温度和压力。待温度和压力均达到设定条件平衡后,开始静态萃取一定时间,再调节 CO₂ 的流量,进行动态萃取,收集提取物。

1.2.2 红车轴草异黄酮的含量测定 采用三波长紫外分光光度法测定异黄酮含量^[5],以刺芒柄花素为标准品,得异黄酮浓度与吸光度的关系为: ΔA = 0.0736C,其中 C 为异黄酮浓度,单位 μg·mL⁻¹, r = 0.9997。异黄酮的提取率按下式计算:

$$\text{提取率}(\%) = \frac{\text{异黄酮含量}}{\text{原料重量}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 夹带剂的选取

试验中考察了无水乙醇、70%乙醇、甲醇、乙酸乙酯和丙酮五种试剂对红车轴草异黄酮萃取效果的影响,夹带剂用量为 1 mL·g⁻¹(相对于原料),萃取温度 40 °C,压力 25 MPa,CO₂ 流量 6 mL·min⁻¹,静态萃取 30 min 后,再动态萃取 30 min,结果见图 1。

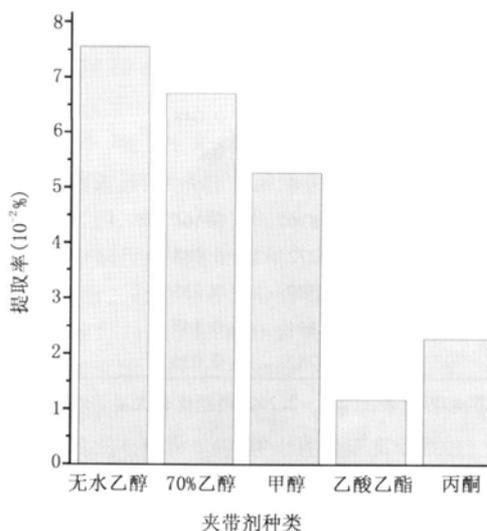


图 1 夹带剂种类对异黄酮提取率的影响

Fig 1 Effect of different kind of modifier to extraction rate of isflavones

超临界 CO₂ 流体的极性在正己烷和氯仿之间,而异黄酮类成分一般极性较大,单纯的超临界 CO₂ 流体不能将其萃取出来,因此需要加入适量的夹带剂,以改变萃取效果。由图 1 可以看出,选用无水乙醇作为夹带剂,异黄酮的提取率相对较高。

2.2 夹带剂用量的确定

试验分别以无水乙醇和 70%乙醇为夹带剂,用量分别为

0.5, 1, 1.5, 2 mL·g⁻¹, 萃取温度 40 °C, 压力 25 MPa, CO₂流量 6 mL·m⁻¹, 静态萃取 30 min 后, 再动态萃取 30 min 结果见图 2。

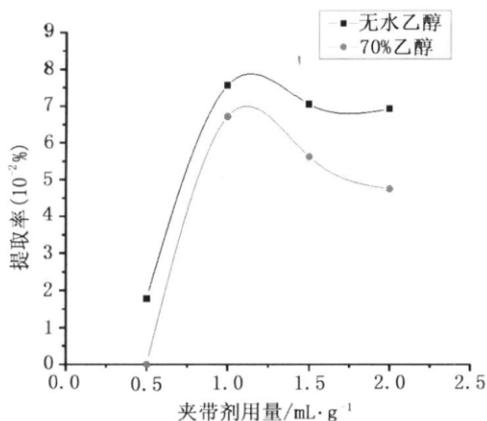


图 2 夹带剂用量对异黄酮提取率的影响

Fig 2 Effect of amount of modifier to extraction rate of isflavones

由图 2 可以看出, 夹带剂的用量对异黄酮的提取率影响较大, 当夹带剂用量为 1 mL·g⁻¹ 时, 异黄酮的萃取效果最好, 但过高的夹带剂用量反而会导致异黄酮的提取率降低, 原因是过高的夹带剂将使萃取状态在一种非临界状态下进行, 流体的传质阻力增大, 达不到理想的萃取效果。

2.3 萃取压力的影响

试验以无水乙醇为夹带剂, 用量为 1 mL·g⁻¹, 萃取压力分别为 15, 20, 25, 30 MPa, 萃取温度 40 °C, CO₂流量 6 mL·m⁻¹, 静态萃取 30 min 后, 再动态萃取 30 min 结果见图 3。

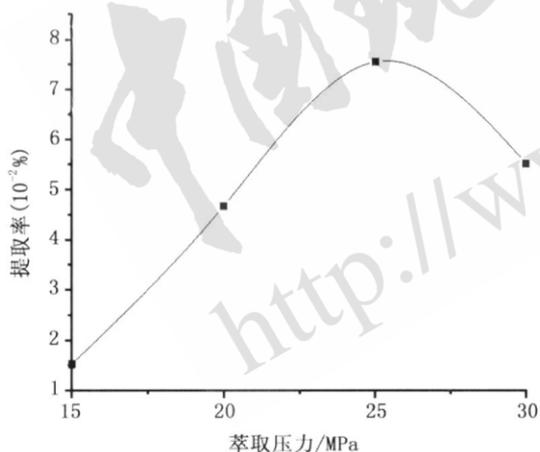


图 3 萃取压力对异黄酮提取率的影响

Fig 3 Effect of extraction pressure to extraction rate of isflavones

由图 3 可以看出, 随着萃取压力的升高, 异黄酮的提取率也随之上升, 当压力达到 25 MPa 时, 提取率达到最高, 继续升压, 异黄酮的提取率开始下降。原因是在一定温度下, 压力增加, 超临界流体的密度增加, 溶质在流体中的溶解度增大; 同时压力增加还减少了分子间的传质距离, 增加了溶剂与溶质间的传质效率。但压力增加, 扩散系数减小, 阻碍传

质; 同时压力过高对设备要求较高。

2.4 萃取温度的影响

试验以无水乙醇为夹带剂, 用量为 1 mL·g⁻¹, 萃取压力 20 MPa, 萃取温度分别为 35 °C, 40 °C, 45 °C, CO₂流量 6 mL·m⁻¹, 静态萃取 30 min 后, 再动态萃取 30 min 结果见图 4。

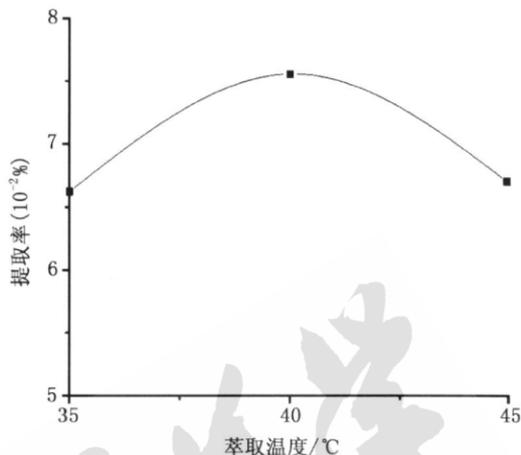


图 4 萃取温度对异黄酮提取率的影响

Fig 4 Effect of extraction temperature to extraction rate of isflavones

由图 4 可以看出, 萃取温度为 40 °C 时, 异黄酮的提取率最高, 温度过低或过高萃取效果均不理想。原因是一定压力下, 温度升高, 超临界流体的密度降低, 使得溶质在流体中的溶解度下降, 不利于萃取, 但是温度是溶质挥发度的函数, 提高温度可指数级的提高溶质的蒸汽压, 从而增加溶质的溶解度, 有利于萃取。

2.5 萃取时间的影响

试验以无水乙醇为夹带剂, 用量为 1 mL·g⁻¹, 萃取压力 20 MPa, 萃取温度 40 °C, CO₂流量 6 mL·m⁻¹, 静态萃取时间分别为 30, 60, 90 min, 动态萃取每 15 min 接收一次, 结果见图 5。

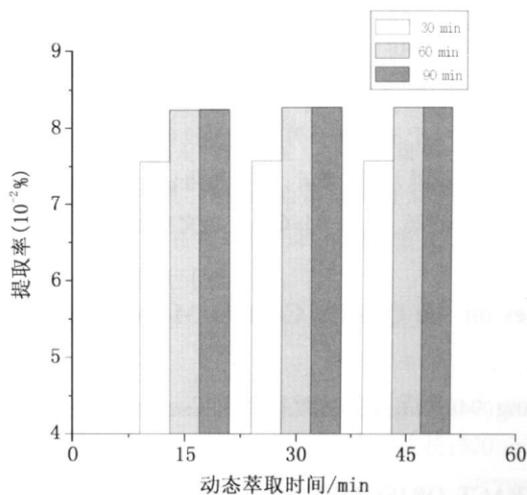


图 5 萃取时间对异黄酮提取率的影响

Fig 5 Effect of extraction time to extraction rate of isflavones

由图 5 可以看出,静态萃取 60 min,动态萃取 15 min,异黄酮的提取率基本上达到最大,再继续延长时,异黄酮的提取率变化不大,反而造成气体的浪费,增加生产成本。

2.6 CO₂流量的影响

试验以无水乙醇为夹带剂,用量为 1 mL·g⁻¹,萃取压力 20 MPa,萃取温度 40 ℃,CO₂流量分别 5,6,7,8 mL·min⁻¹,静态萃取 60 min,动态萃取 15 min,结果见图 6。

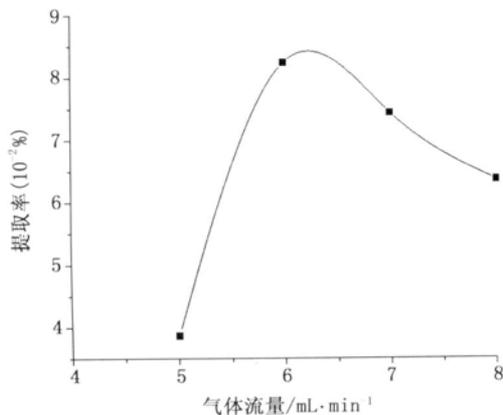


图 6 CO₂流量对异黄酮提取率的影响

Fig 6 Effect of CO₂ flow rate to extraction rate of isoflavones

由图 6 可以看出,CO₂流量为 6 mL·min⁻¹时,异黄酮的提取率最高。流量过慢或过快萃取效果均不理想。原因是加大流量则增加了溶剂对原料的萃取次数,使得萃取釜中原料能得到均匀充分的萃取;但是流量过快,将导致溶剂与溶

质的接触时间减少,CO₂流体对异黄酮的溶解度下降,并且流量过快,CO₂气体的消耗也会随之增加。

3 结论

通过单因素试验确定了超临界 CO₂萃取红车轴草异黄酮的最佳工艺条件为:原料粒度 40 目,无水乙醇为夹带剂,相对于原料用量 1 mL·g⁻¹,萃取温度 40 ℃,压力 25 MPa,CO₂流量 6 mL·min⁻¹,静态萃取 60 min,动态萃取 15 min。

参考文献

- [1] ZENG H Y, ZHOU P H, HOU T Z. Advances in studies on chemical constituents of *Trifolium pratense* [J]. Chin Tradit Herb Drugs. 2001, 32 (2): 189-191.
- [2] VAN DE WEIJER P H, BARENTSEN R. Isoflavones from Red Clover (Promensil) Significantly Reduce Menopausal Hot Flash Symptoms Compared with Placebo [J]. Maturitas, 2002, 42(3): 187-193.
- [3] LIU J, BURDETTE J E, XU H, et al. Evaluation of Estrogenic Activity of Plant Extracts for the Potential Treatment of Menopausal Symptoms [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(5): 2472-2479.
- [4] KYUNG, HAN M D, et al. Benefits of Soy Isoflavone, The therapeutic Regimen on Menopausal Symptoms [J]. Am College Obstet Gynecol, 2002, 99(3): 389-394.
- [5] CHEN H Q, JIN Z Y, . Study on determination of *Trifolium pratense* isoflavones by three -wavelength UV spectrophotometry [J]. Food Sci, 2005, 26(5): 194-197.

收稿日期: 2007-09-28