

有机溶剂法从苦瓜籽假种皮中提取番茄红素的工艺探讨

郭宁平¹, 何婷²

(1. 北海市粮油监督检测站, 广西北海 536000; 2. 北海凯运药业有限公司, 广西北海 536000)

摘要 [目的]通过溶剂法从成熟苦瓜籽假种皮中提取番茄红素,开辟一条新的提取番茄红素的途径,为探索出具有工业化生产的工艺条件提供参考。[方法]苦瓜经人工催熟,收集其假种皮,经发酵、干燥处理,采用有机溶剂提取法,通过正交试验优选出混合溶剂比、溶剂物料比、提取时间和提取次数等参数。[结果]试验得出具有工业放大的工艺参数为:混合溶剂体积比(二氯甲烷:丙酮)为2:1,混合溶剂与物料比为7:1 ml/g,提取时间50 min,提取次数3次;在此工艺条件下,从苦瓜籽假种皮中提取番茄红素的萃取率>95%,油脂中番茄红素含量>8%,溶剂残留<50 μg/g。[结论]苦瓜籽假种皮含有可工业开发的番茄红素,该工艺条件下的溶剂残留量达到国家食品标准要求,该方法从苦瓜籽假种皮中提取番茄红素具有可开发利用的经济价值。

关键词 有机溶剂;苦瓜籽假种皮;番茄红素

中图分类号 S567.21⁺.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)17-05638-04

Investigation on the Technique for the Extraction of Lycopene from Bitter Melon Aril by Organic Solvent

GUO Ning-ping et al (Beihai Supervision and Testing Station of Cereals and Oils, Beihai, Guangxi 536000)

Abstract [Objective] In order to explore industrialization process for lycopene extraction from bitter melon aril and establish a new way of extracting lycopene from tomato skin. Lycopene extraction was carried out via extraction with organic solvent. [Method] The aril was collected from bitter melon by artificial ripening. After fermentation and drying process, lycopene was extracted from aril with mix organic solvent. Extraction conditions were optimized through orthogonal test including mixed solvent ratio, the ratio of solvent and aril material, extraction time and extraction times and so on. [Result] The industrial amplification produce parameters as follows: the volume ratio mixed solvent of methylene chloride to acetone is a 2:1, ratio of mixed solvent to bitter melon aril sample (V/W) is 7:1 ml/g, the extraction time is 50 minutes, extraction times 3 times. Under the conditions, the extraction yield of lycopene from bitter melon aril was higher than 95%, lycopene content in oil resin higher than 8%, the level of solvent residue was lower than 50 μg/g. [Conclusion] The extraction conditions can be used to extract lycopene from bitter melon aril of industrialized production. Solvent residue lycopene meets the requirements of the national food standards. Lycopene extracted from bitter melon aril has economic value of development and utilization.

Key words Organic solvent; Bitter melon aril; Lycopene

番茄红素最早从番茄中提取而得名,因其有11个共轭双键和2个非共轭双键构成高度不饱和的直链烃类化合物^[1]而呈现出的生物化学活性,已成为当今研究与应用开发的热点。研究表明,番茄红素具有猝灭单线态氧、清除过氧化氢的活性作用,其抗氧化能力是β-胡萝卜素的2倍,是维生素E的100倍^[2],是目前发现的最强的抗氧化剂之一。疾病预防研究表明,高含量番茄红素的摄入可降低食道癌、胃癌、前列腺癌和直肠癌等消化道癌的发病危险性^[3]。基于对番茄红素特性、功效的认识,将其作为天然食用色素、营养素已广泛应用于食品、医药及化妆品等行业。

番茄红素是脂溶性物质,广泛存在于成熟的红色植物果实当中,其提取方法有有机溶剂法、酶反应法、微波辐射法、超临界流体法、高速逆流色谱法和微生物发酵法6种方法^[4],也有化学合成法^[5]、基因工程法^[6]的报道,但能进行工业化生产的也只有有机溶剂法、超临界流体法,而且,从生产成本方面考虑,有机溶剂法较适合目前工业化生产。

目前有机溶剂法提取番茄红素多以番茄为原料,从其他植物提取番茄红素的报道不多,黎彧等^[7]、谭新平^[8]等研究了从苦瓜籽假种皮中提取番茄红素的方法,但仅限于实验室研究。笔者采用丙酮与二氯甲烷二元混合溶剂法从苦瓜籽假种皮中提取番茄红素,通过正交试验对混合溶剂比、物料溶剂比、提取时间、提取次数等参数进行优选,结合实际情

况,确定适合工业化中试生产的工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原材料。苦瓜,广西北生集团海玉农业开发有限责任公司提供。

1.1.2 主要试剂。二氯甲烷、丙酮、三氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚、乙醇及乙醚等,均为分析纯。

1.1.3 主要仪器设备。Rotavapor R-200 旋转蒸发器,HH-SY21-Ni4-C 型电热恒温水浴锅,ZK-82B 型电热型真空干燥箱,发酵罐,板框压滤机,真空冷冻干燥器,粉碎机,岛津 UV-3101PC 紫外分光光度计,岛津 GC-2010 气相色谱仪,DT350 多功能提取罐,WZI350 单效蒸发器(江阴市东新药化设备有限公司)。

1.2 工艺流程 苦瓜→催熟→取假种皮→前处理→压滤→真空冷冻干燥→假种皮粉碎→有机溶剂提取→有机溶剂回收→醇洗→粗制番茄红素油脂。

1.3 试验方法 称取一定量的经真空冷冻干燥粉碎成粒度为20目左右的苦瓜籽假种皮颗粒,经不同溶剂、不同溶剂混合比、不同液料比、不同萃取时间、不同萃取次数对其浸提,测其浸提液吸光度,根据吸光度与浸提液浓度的标准曲线关系,计算番茄红素含量或萃取率,优选单因素参数,通过正交试验分析,确定有机溶剂法从苦瓜籽假种皮中萃取番茄红素的**最佳工艺条件。

1.4 分析方法

1.4.1 标准曲线溶液的配制。准确称取0.01 g 番茄红素晶体,置于1 000 ml 容量瓶,用2% 二氯甲烷乙醚溶液定容,摇

作者简介 郭宁平(1963-),男,湖南耒阳人,讲师,从事农产品加工研究。

收稿日期 2014-05-12

匀,配成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准储备液,然后分别移取 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 ml 该储备液至 50 ml 容量瓶,用 2% 二氯甲烷乙醚溶液定容,配制成浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的待测标准溶液,在波长 503.20 nm 处测其吸光度值,绘制浓度和吸光度值(A)的标准曲线。

1.4.2 计算公式。番茄红素萃取得率计算方法:

$$\eta(\%) = \sum(m_i/M_i) \times 100 \quad (1)$$

$$m_i = X_i V_i / 1\,000$$

$$M_i = M W_i$$

式中, i 为提取次数; X_i 为提取液中番茄红素浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$); V_i 为提取液体积(ml); M 为干假种皮原料中番茄红素的含量(16 mg/g); W_i 为干假种皮原料质量(g); m_i 为提取液番茄红素的质量(mg); M_i 为干假种皮原料中番茄红素的质量(mg)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的确定

2.1.1 最佳吸收波长的确定。用 2% 二氯甲烷乙醚溶液溶解的番茄红素提取物溶液在 400 ~ 600 nm 波长范围测绘吸光度谱图,在测定番茄红素含量时,为避免 β -胡萝卜素干扰^[9],选择如图 1 所示的次吸收峰 2 作为测定波长,实际测定波长为 503.20 nm。

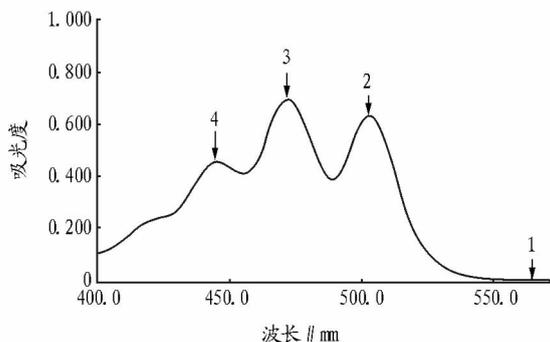


图 1 番茄红素吸收特征光图谱

2.1.2 绘制标准曲线。根据“1.4”分析方法测得不同浓度番茄红素的吸光度值,见表 1。

表 1 不同浓度番茄红素吸光度

浓度// $\mu\text{g}/\text{ml}$	吸光度	浓度// $\mu\text{g}/\text{ml}$	吸光度
0.5	0.156	2.0	0.621
1.0	0.312	2.5	0.781
1.5	0.454		

根据表 1 浓度与吸光度的对应关系绘制番茄红素标准曲线图,见图 2。用线性回归分析法,得到标准曲线线性回归方程为:

$$y = 3.2051x + 0.0102 \quad (2)$$

式中, x 为吸光度值, y 为番茄红素浓度值($\mu\text{g}/\text{ml}$),回归因子 $R^2 = 0.9994$,在浓度 0.5 ~ 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内与吸光度呈线性关系。

2.2 单因素试验

2.2.1 溶剂选择。称取干假种皮 0.10 g 5 份,按编号分别用

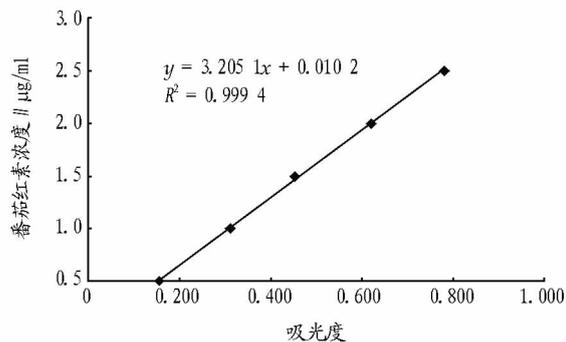


图 2 番茄红素标准曲线

20 ml 的丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚、三氯甲烷溶剂加塞密封,38 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温振荡浸提 2 h,滤液定容至 25 ml,按编号各取 5 ml 溶液挥干,分别用 2% 二氯甲烷乙醚溶液定容于 25 ml 容量瓶,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、波长 503.20 nm 处测番茄红素吸光度值,结果用吸光度柱状图示例(图 3)。

从图 3 中可以看出,在相同条件下不同溶剂提取的番茄红素吸光度值大小顺序为:二氯甲烷 > 三氯甲烷 > 丙酮 > 乙酸乙酯 > 石油醚,理论上二氯甲烷提取效应最佳,考虑到在实际提取过程中原料含有水溶性成分,对单一油溶性二氯甲烷溶剂提取效果会受到影响。图 3 显示,丙酮有较好的提取番茄红素的效果,因其具水溶和油溶特性,以二氯甲烷与丙酮作为混合溶剂,以期协同提高萃取效率。

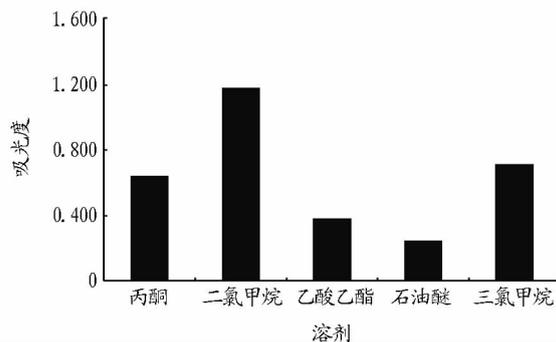


图 3 不同溶剂萃取液的吸光度

2.2.2 丙酮、二氯甲烷溶剂比的选择。称取干的苦瓜籽假种皮 1.00 g 5 份,分别以丙酮与二氯甲烷体积比为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 的混合溶剂 20 ml 在 38 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温振荡 30 min,滤液定容至 50 ml,于室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 、波长 503.20 nm 处测番茄红素吸光度值,结果见图 4。

由图 4 直观地看出,虽然吸光度值与二氯甲烷占比成正比关系,但随着其占比的增大,吸光度的增加趋势逐步变缓,其变化幅度较大的溶剂比范围在 1:1 ~ 1:3,并以此作为优选参考范围。

2.2.3 料液比的选择。称取 2.00 g 干假种皮,以丙酮与二氯甲烷体积比为 1:2 的混合溶剂为提取剂分别按料液比 1:1、1:2、1:4、1:7、1:10 g/ml 的比例,在 38 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温振荡浸提 1 h,滤液挥干,分别用 2% 二氯甲烷乙醚溶液定容于 50 ml 容量瓶,于室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 、波长 503.20 nm 处测番茄红素吸光度值并计算出对应的番茄红素含量,与原料中番茄红素含量比较,

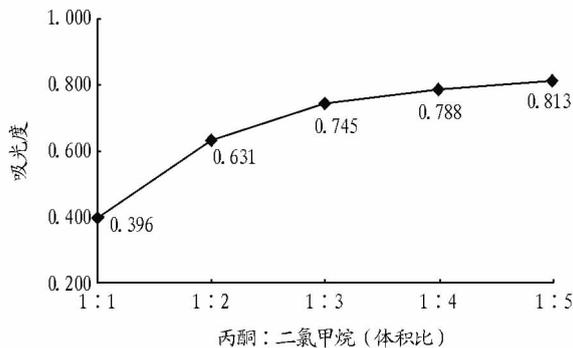


图4 混合溶剂比对番茄红素萃取的影响

按公式(1)算出各料液比得出的萃取率,其料液比与萃取率的关系结果见图5。

从图5可以看出,在料液比差距不太大情况下,如1:1、1:2 g/ml,萃取得率变化不大,得率较低;在料液比1:4 g/ml时,萃取得率发生突变,随提取溶剂量的增大萃取率也得到提高。这是因为提取溶剂量增大时被萃取物由于浓度扩散势因素作用,促使萃取效率增加,且料液比在1:4 g/ml左右是萃取率变化的突变点。因此,选取料液比在1:4~1:10 g/ml作为优选参考范围。

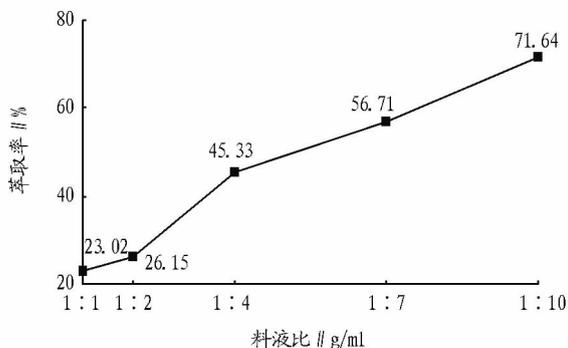


图5 料液比对番茄红素萃取的影响

2.2.4 提取时间的选择。称取2.00 g干假种皮4份,按料液比1:4 g/ml,丙酮:二氯甲烷体积比为1:2,在38℃下恒温振荡依次浸提20、50、80、110 min,滤液于室温25℃、波长503.20 nm处测番茄红素吸光度值,结果见图6。

由图6可知,萃取时间在50 min以后,吸光度变化逐渐变缓,选择50~110 min范围作为萃取时间优选参考范围。

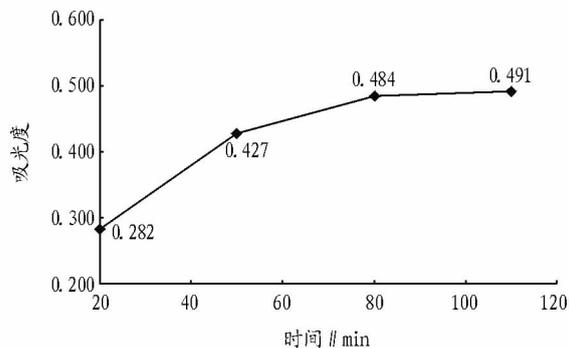


图6 萃取时间对番茄红素萃取的影响

2.2.5 提取次数的选择。称取2.00 g干假种皮4份,按料

液比1:4 g/ml、丙酮:二氯甲烷体积比1:2的混合液作为萃取剂,以38℃下恒温振荡1 h为完成一次萃取,按编号进行1、2、3、4次萃取,并将各份萃取滤液合并后挥干,用2%二氯甲烷乙醚溶液定容于50 ml容量瓶,于室温25℃、波长503.20 nm处测番茄红素吸光度值,按公式(2)计算出对应的番茄红素含量,与原料中番茄红素含量比较,按公式(1)算出不同萃取次数对应的萃取率,结果见图7。

由图7可看出,提取次数越高,萃取得率越高,但耗费的时间和溶剂量就越大,从生产效率和成本控制等因素考虑,以提取次数为1~3次作为优选参考范围为宜。

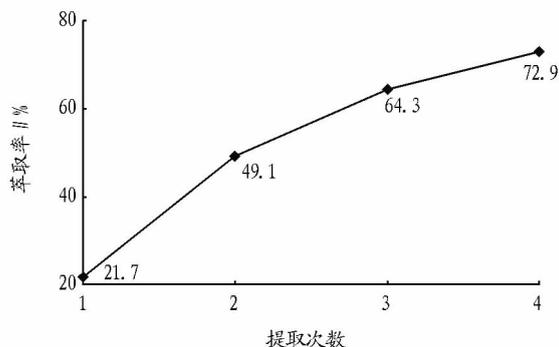


图7 萃取次数对番茄红素萃取的影响

2.3 正交试验优选工艺参数分析 由单因素试验得出的各参数优化范围,选取混合溶剂比、物料溶剂比、提取时间和提取次数4因素按3水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,试验因素水平设计见表2,试验结果见表3。

表2 正交设计因数水平

水平	因素			
	丙酮:二氯甲烷 (A)	物料溶剂比 (B) // g/ml	提取时间 (C) // min	提取次数 (D) // 次
1	1:1	1:4	50	1
2	1:2	1:7	80	2
3	1:3	1:10	110	3

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	因素				萃取得率 (η) // %
	丙酮:二氯甲烷 (A)	物料溶剂比 (B) // g/ml	提取时间 (C) // min	提取次数 (D) // 次	
1	1:1	1:4	50	1	20.2
2	1:1	1:7	80	2	68.6
3	1:1	1:10	110	3	70.7
4	1:2	1:4	80	3	76.8
5	1:2	1:7	110	1	45.8
6	1:2	1:10	50	2	92.6
7	1:3	1:4	110	2	61.0
8	1:3	1:7	50	3	96.8
9	1:3	1:10	80	1	70.3
K_1	159.5	158.0	209.6	136.3	
K_2	215.2	211.2	215.7	222.2	
K_3	228.1	233.6	177.5	244.3	
R	22.8	25.2	12.7	36.0	

从表3正交试验结果看,最佳的工艺组合为 $A_3B_3C_2D_3$,即丙酮与二氯甲烷体积比为1:3、物料溶剂比为1:10 g/ml、提

取时间为 80 min、提取次数为 3 次。

由 R 值的大小可知,影响萃取率的主次关系依次为 $D > B > A > C$,萃取次数是主导因素;由于时间是非显著影响因素,且其第 1 与第 2 水平 K 值相差不大,工业化生产时可取第 1 水平时间 50 min,以缩短生产周期;同理,丙酮与二氯甲烷体积比、物料溶剂比其 R 值与提取次数的 R 值比较相差较大,也是非显著影响因素,其各自的第 2、第 3 水平 K 值亦相差不大,故均取第 2 水平因素参数,即丙酮与二氯甲烷体积比为 1:2、物料溶剂比为 1:7 g/ml 作为工业生产采用的工艺参数,其经分析调整的工艺组合为 $A_2B_2C_1D_3$ 。

2.4 验证试验 按调整的工艺组合 $A_2B_2C_1D_3$,即丙酮与二氯甲烷体积比为 1:2、物料溶剂比为 1:7 g/ml、提取时间 50 min、提取次数 3 次进行试验,所得的萃取得率为 96.1%,表明经正交试验、根据主次集合因素分析调整的工艺组合还是可行的。

2.5 中试放大试验 称取粒径 20 目左右的苦瓜籽假种皮粉 30 kg,按验证试验的工艺组合进行中试生产,得到的油脂中番茄红素含量达 18%,萃取得率 93.0%,溶剂残留二氯甲烷未检出、丙酮为 15 $\mu\text{g/g}$ 。

3 结论与讨论

番茄红素在有机溶剂中的溶解度与温度具有正相关关系^[10],温度升高,提取效果随之提高,但温度升高超过 40 $^{\circ}\text{C}$ 时,异构化趋势明显增大^[11],在兼顾考虑提取效率、稳定性、物料传递的易控制、降低生产能耗的前提下,选择萃取温度为 38 $^{\circ}\text{C}$ 。

该研究的工艺流程中原料的干燥方式采用真空冷冻干

燥,而非广泛使用的真空干燥;经检测比较,真空冷冻干燥的原料中番茄红素含量是真空干燥的 2 倍以上,这可能是因为真空干燥过程中番茄红素被流动空气中的氧气氧化所致。

综合以上所论,从萃取率和萃取物含量看,成熟苦瓜籽假种皮是良好的番茄红素原料来源,具有工业生产开发价值,其适合规模化生产的溶剂法萃取工艺参数为丙酮与二氯甲烷体积比为 1:2、物料溶剂比为 1:7 g/ml、提取时间为 50 min、提取次数为 3 次。

参考文献

- [1] 顾翼东. 化学词典[M]. 上海:上海辞书出版社,1989:895.
- [2] 孙庆杰,丁霄霖. 番茄红素的保健作用与开发[J]. 食品与发酵工业,1997,23(4):72-75.
- [3] GUNASEKERA R S,SEWGOBIND K,DESAI S, et al. Lycopene and lutein inhibit proliferation in rat prostate carcinoma cells[J]. Nutr Cancer,2007,58(2):171-177.
- [4] 姚佳,蒲彪. 番茄红素提取工艺及检测方法的研究进展[J]. 食品与发酵科技,2010,46(3):18-21.
- [5] WEGNER C,JOHN MICHAEL. Process for the preparation of phosphonium salts;EP,1130024[P]. 2001-09-05.
- [6] 张建成,周文静,邓秀新. 超表达草生欧文氏菌 crtB 基因促进转基因番茄类胡萝卜素合成的研究[J]. 园艺学报,2010,37(3):390-396.
- [7] 黎或,黄小凤,李中林. 利用苦瓜子衣废料制备食用色素的研究[J]. 林产化工通讯,2003,37(2):3-7.
- [8] 谭新平. 苦瓜果实中假种皮的天然色素;中国,CN1230574A[P]. 1999-10-06.
- [9] 张连富,丁霄霖. 番茄红素简便测定方法的建立[J]. 食品与发酵工业,2001,27(3):51-55.
- [10] 李伟,孙新虎,丁霄霖,等. 番茄红素溶解度的测定[J]. 食品与发酵工业,2002,28(8):54-56.
- [11] 成坚,曾庆孝,何宇峰. 番茄红素的稳定性研究[J]. 仲恺农业技术学院学报,2001,14(2):14-19.
- [12] 董农业科学,2010,38(33):18698-18700.
- [10] 张高斌,郭建茂,吴元芝,等. 万荣麦田土壤湿度变化及其对产量的影响[J]. 陕西气象,2011(6):1-4.
- [11] 张高斌,郭建茂,宁建东,等. 万荣县冬小麦产量与气象条件的关系研究[J]. 山西农业科学,2013(1):78-81.
- [12] 曲靖. 调和权重法在作物产量预报中的应用[J]. 陕西农业科学,2011(5):109-110.
- [13] 高苹,张佩,谢小萍,等. 基于海温和环流特征量的江苏省小麦适播期预测[J]. 气象,2012,38(12):1572-1578.
- [14] 章基嘉,葛玲. 中长期天气预报基础[M]. 北京:气象出版社,1983:108-174.
- [15] 刘梅,高苹,王静苒,等. 江苏夏季逐月高温日数与西太平洋还文昌相关分析及预测模型建立[J]. 气象,2011,37(12):1553-1559.
- [16] 汪靖,吕江津. 天津地区雨季降水异常年大气环流特征分析[J]. 气象,2011,37(8):950-955.
- [17] 邓伟涛,孙照渤,曾刚,等. 中国东部夏季降水型的年代际变化及其与北太平洋海温的关系[J]. 大气科学,2009,33(4):835-846.
- [18] 钱维宏,朱江,王永光,等. 江淮梅雨和迟到太平洋区域海温变化的关系[J]. 科学通报,2009,54(1):79-84.

(上接第 5586 页)

参考文献

- [1] 张明伟,邓辉,李贵才,等. 模型模拟华北地区气候变化对冬小麦产量的影响[J]. 中国农业资源区划,2011,32(4):45-49.
- [2] 周清波. 国内外农情遥感现状与发展趋势[J]. 中国农业资源与区划,2004,2(5):9-14.
- [3] 庄立伟,王馥棠,王石立. 我国粮食产量综合预测系统[J]. 气象,1998,24(5):19-22.
- [4] 王树林,太华杰. 中国粮食总产量结构分析与丰歉评估[J]. 气象,1998,2(12):7-12.
- [5] 张荣霞,安丽华,汪学峰. 聊城市冬小麦产量的气候条件分析[J]. 山东气象,2004,24(S1):18-19.
- [6] 王馥棠,李郁竹,王石立. 农业气象产量模拟与模型引论[M]. 北京:科学出版社,1990.
- [7] 庄立伟,王馥棠,王石立. 农业气象产量预测业务系统的研制[J]. 应用气象学报,1996,7(3):194-199.
- [8] 赵四强. 欧亚大气环流和北太平洋海温与我国粮食产量[J]. 农业气象,1983(3):1-5.
- [9] 张利华,张永强,仲维建,等. 徐州地区小麦产量预报模型研究[J]. 安