

以超臨界二氧化碳萃取蜂王乳中癸烯酸成分之研究

余哲仁 曾慶瀛 王璧娟

國立嘉義農專食品工業科

摘要：本研究之目的在於萃取與分離蜂王乳中癸烯酸(10-hydroxy- δ -decenoic acid;10-HDA)成分。超臨界二氧化碳(supercritical carbon dioxide; SC-CO₂)是一種較其它溶劑(如水、乙醇、己烷、乙醚、丙酮)安全、無毒、不易燃，而且萃取物與超臨界二氧化碳很容易利用降壓方式將其分離。癸烯酸是一種抗癌、抗氧化和抗菌之物質，食用後有強烈辛辣味，使得蜂王乳不易為消費者接受。為提高產品接受性與價值性，此研究以超臨界二氧化碳為溶劑，萃取與分離蜂王乳中癸烯酸成分做為醫學用品，與去除不悅味道後之去癸烯酸蜂王乳產品做為食品、飲料與健康食品等用途。實驗操作選擇溫度40°C，壓力10、20、30MPa與添加或不添加10%乙醇/蜂王乳(體積/重量比)當為輔溶劑等條件，求得最適溶解度(g癸烯酸/g CO₂)、分配係數(氣相與液相之溶解度比)與選擇性(癸烯酸與蜂王乳之分配係數比)。由實驗之最佳結果，採用溫度40°C、壓力25MPa、添加10%乙醇之條件下，於連續式超臨界二氧化碳萃取系統進行實驗後，顯示此條件下可去除蜂王乳中之90%癸烯酸成分。

關鍵字：超臨界二氧化碳、蜂王乳、癸烯酸

前 言

蜂王乳是一受歡迎之健康食品，其主要含有64.0至69.9%水分，9.5至14.1%粗蛋白，3.1至9.7%碳水化合物和6.6至7.4%粗脂肪⁽¹⁻²⁾。並且其含有微量成分，如維生素，礦物質和癸烯酸⁽³⁾。尤其是，癸烯酸是一種抗癌物質⁽⁴⁻⁵⁾。超臨界二氧化碳是一種理想溶劑，對於食品上之應用是一種無毒，不燃且便宜的一種溶劑，且對於油脂和脂肪酸有很高的選擇性⁽⁶⁻⁸⁾，因此超臨界二氧化碳是一種合適做為從蜂王乳中萃取癸烯酸之溶劑。

本研究利用超臨界二氧化碳當為溶劑之好處，設計實驗從蜂王乳中萃取癸烯酸成分。此實驗包括：(1)癸烯酸在超臨界二氧化碳中之相平衡；(2)癸烯酸在超臨界二氧化碳和超臨界二氧化碳加上乙醇中之分佈係數及選擇性；(3)在連續萃取方式下癸烯酸之萃取。

材料與方法

1. 實驗材料

液態二氧化碳(99.99%)從美國Airco公司進口，蜂王乳購自台南縣農民市場。

2. 相平衡之實驗

癸烯酸之相平衡乃是利用高壓靜置循環方式獲得。如圖一所示，樣品以磁鐵式泵浦輸送經過可視槽(體積100ml)後，通過氣相和液相使其二相達到平衡，將樣品分別收集於分離槽中。

二種實驗(1)10-HDA在SC-CO₂之相平衡；(2)10-HDA在SC-CO₂+ethanol下平衡，分別操作於10-30MPa/40°C等條件。為避免油脂氧化及蛋白質變性，本研究使用溫度僅選擇40°C。

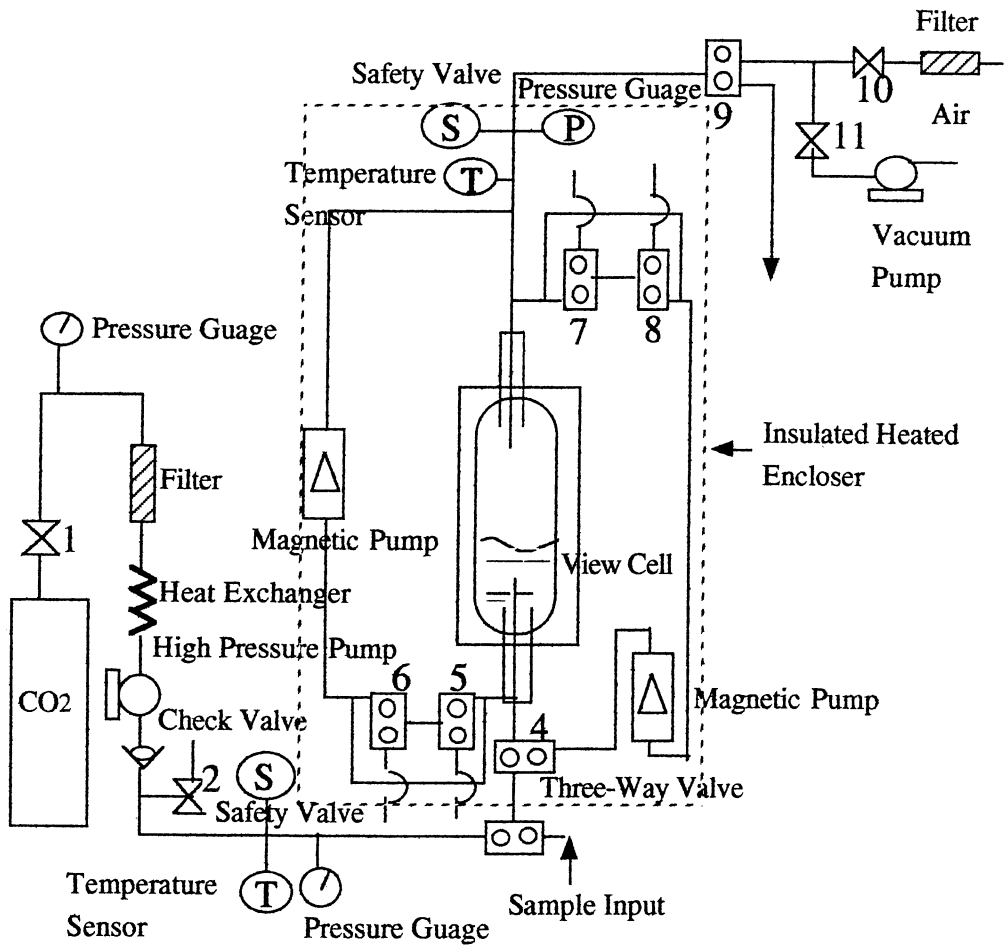
3. 連續式萃取系統

一連續超臨界流體系統用於萃取與分離蜂王乳中癸烯酸如圖二所示。蜂王乳或蜂王乳加上乙醇

等樣品被送進萃取槽中，操作條件40°C，25MPa下進行萃取實驗。被萃取萘烯酸於分離槽中以5MPa，60°C條件下被分離。無或低萘烯酸之蜂王乳被留在萃取槽中。

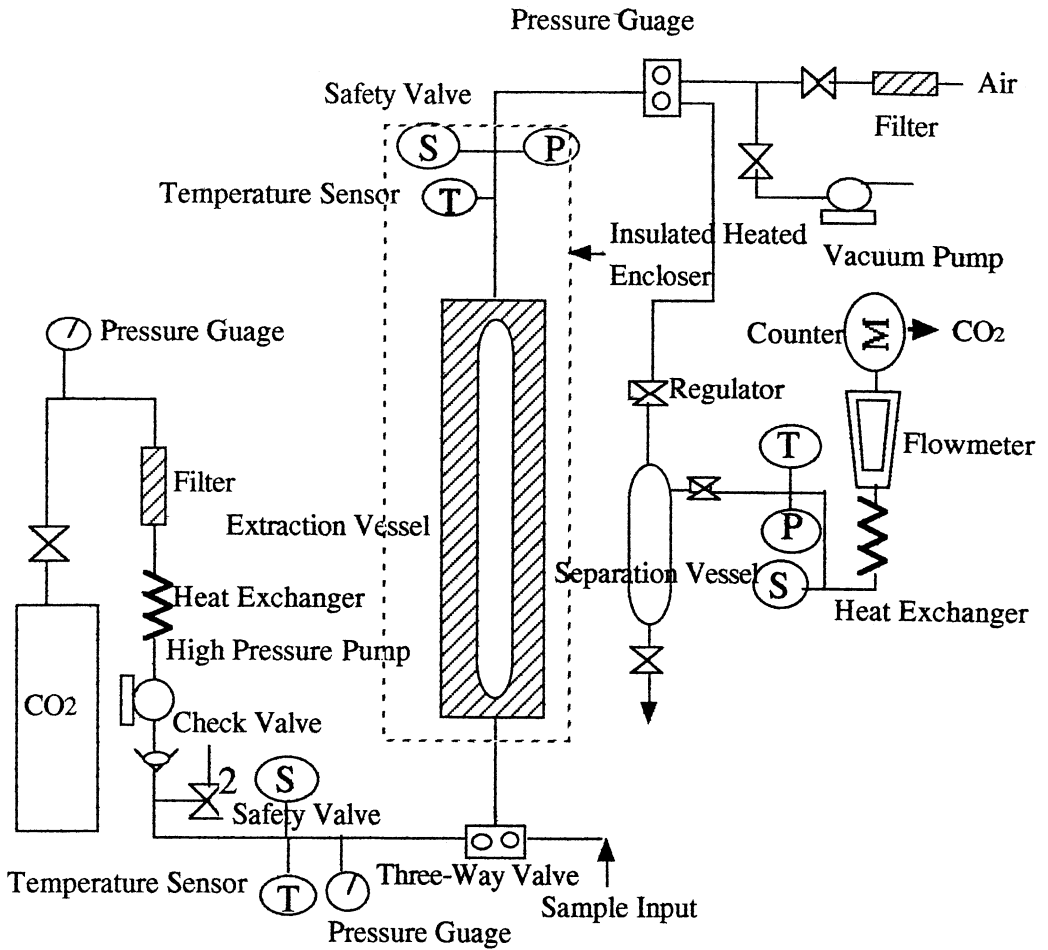
4.分析方法

萘烯酸依Chu⁽⁵⁾之方法分析，以氣相色層分析儀配合火焰離子偵測器，將1:100 split ratio之樣品注入儀器中，以He氣當移動氣體，流速1.5 ml/min。萘烯酸在固定相SE-30之長30m，0.25mm管徑毛細管中分析，分析條件為：初溫150°C以4°C/min速率昇溫至200°C。以n-heptadecanoic acid當為內標準品。圖型波峰以HP3395積分器計算之。實驗為二重覆且誤差不超過5%。



圖一：流體相與液體相平衡設備圖

Figure 1. Schematic diagram of fluid-liquid equilibrium apparatus.



圖二：連續式萃取系統設備圖

Figure 2. Schematic diagram of a continuous dynamic extraction system.

結果與討論

1. 萘烯酸在超臨界二氧化碳下之相平衡

設計從蜂王乳中分離萘烯酸之實驗，基礎數據—相平衡是需要的。實驗數據以Pang-Robinson 方程式^(8,9)預測回歸：

$$P = \frac{RT}{v - b} - \frac{a}{v(v+b) + b(v-b)} \tag{1}$$

$$a = \frac{0.45724R^2T_c^2}{P_c} \left[1 + m \left(1 - \sqrt{\frac{T}{T_c}} \right) \right]^2 \tag{2}$$

$$m = 0.37464 + 1.54226 \omega - 0.26992 \omega^2 \tag{3}$$

$$b = \frac{0.07780RTc}{Pc} \tag{4}$$

P 代表氣體壓力，R 氣體常數，T 是溫度，V 是體積，a, m, 和 b 是方程式常數。萘烯酸之物理常數列於表一，

表一：二氧化碳與萘烯酸之物理性質

Table 1: Physical properties of CO₂ and 10-hydroxy- δ -decenoic acid (10-HDA).

Compounds	Tb(K)	Tc(K)	Pc(atm)	ω
carbon dioxide		304.2	72.80	0.225
10-HDA	545.2	721.4	20.92	0.755

Tc 代表臨界溫度，Pc 代表臨界壓力， ω 是acentric 常數。三個值皆由預測值求得⁽¹⁰⁾。而Tb 沸點是由發表數據提供⁽¹⁰⁾。實驗數據以 Panagiotopoulos 和 Reid 之混合規則⁽¹¹⁾以 k_{ij} 和 k_{ji} 予以迴歸，

$$a_m = \sum_i \sum_j x_i x_j \sqrt{a_i a_j} (1 - k_{ij} + (k_{ij} - k_{ji}) x_i) \tag{5}$$

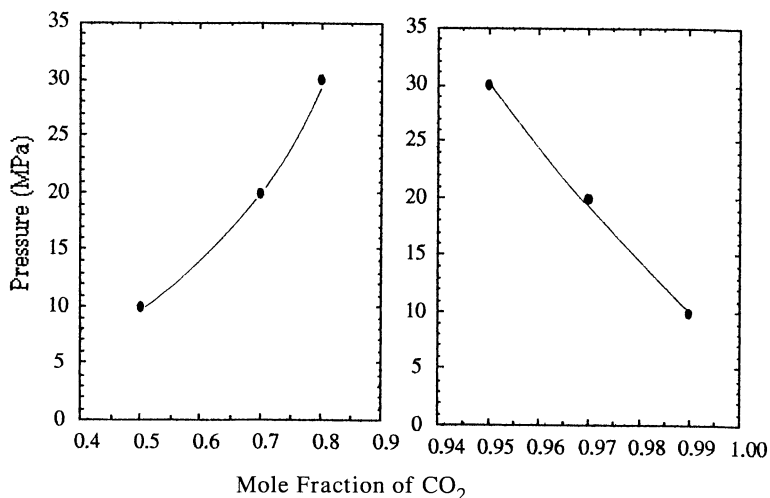
and

$$b_m = \sum_i x_i b_i \tag{6}$$

am 和 bm 分別為方程式二常數， x_i 為氣相和液相中之 i 成分之 mole 分數。 k_{ij} 和 k_{ji} 之值是由最小平方(AAD)和予以估算，

$$AAD = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |d_i| \tag{7}$$

預測值符合迴歸值如圖三所示，分別為0.046和0.103。

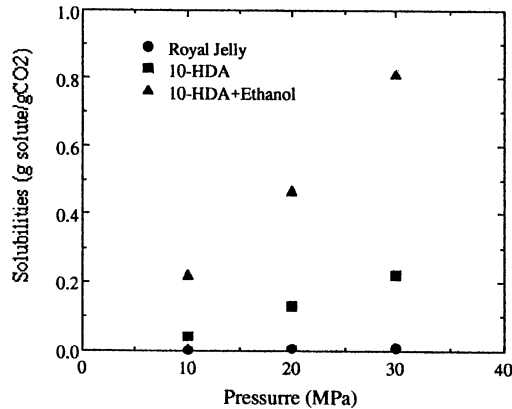


圖三：超臨界二氧化碳與萘烯酸之流體相與液體相平衡數據

Figure 3. Measured and calculated fluid-liquid equilibrium data for the SC-CO₂ + 10-HDA system (● : this work at 40°C; - : Peng-Robinson equation rule at 40°C)

2. 葵烯酸在SC-CO₂和SC-CO₂+ethanol中之溶解度

如圖四所示，葵烯酸和蜂王乳之溶解度隨壓力增加而增加，乃由於葵烯酸比蜂王乳較具揮發性高因而溶解度較高。因蜂王乳黏度高(25°C時約3500-4000cps)單獨使用SC-CO₂ 溶劑較難萃取葵烯酸。乙醇是一種好的輔溶劑，因其亦是無毒且安全之溶劑，SC-CO₂+ethanol曾被認為是一種適合萃取脂肪酸、脂肪酸酯之溶劑⁽⁵⁻⁷⁾。在圖4中亦顯示SC-CO₂+10%ethanol 溶劑下，葵烯酸之溶解度隨壓力增加而增加且高於SC-CO₂ 溶劑系統。



圖四：蜂王乳、葵烯酸和葵烯酸+10%乙醇於40°C下在超臨界二氧化碳中之溶解度

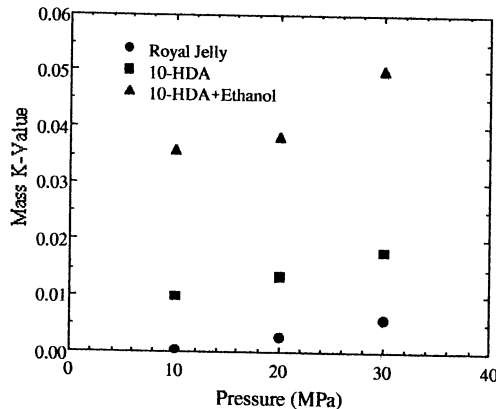
Figure 4. Solubilities of royal jelly, 10-HDA and 10-HDA+10% ethanol in SC-CO₂ at 40°C

3. 葵烯酸在SC-CO₂及SC-CO₂+ethanol溶劑中之分佈係數和選擇性

葵烯酸之萃取與分離條件受分佈係數和選擇性所影響，分佈係數(K)定義為氣和液相之濃度分布，表示為：

$$K_i = \frac{C_{iv}}{C_{iL}} \quad (8)$$

C_{iv}和C_{iL}分別為氣相和液相中，溶質i之濃度。葵烯酸和蜂王乳在SC-CO₂及SC-CO₂+ethanol中分佈係數顯示於圖五中，二者之分佈係數隨壓力之增加而增加，因10-HDA揮發性較高，因此其分佈係數較蜂王乳高。



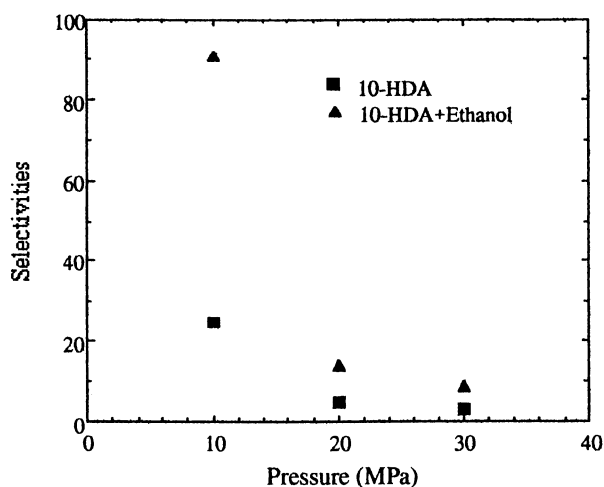
圖五：蜂王乳、葵烯酸和葵烯酸+10%乙醇於40°C下在超臨界二氧化碳中之質量分配係數

Figure 5. Mass distribution coefficients of royal jelly, 10-HDA and 10-HDA+10% ethanol in SC-CO₂ at 40°C.

選擇性是一分離效率之指標，可由此值判別找尋出最適操作壓力和溫度等條件。選擇性定義為：

$$\beta_{10-HDA/royal\ jelly} = \frac{K_{10-HDA}}{K_{royal\ jelly}} \quad (9)$$

K_{10-HDA}和K_{royal jelly}分別定癸烯酸和蜂王乳之分佈係數。10-HDA分別在SC-CO₂與SC-CO₂+ethanol溶劑中之選擇性如圖六所示。選擇性隨壓力增加而降低。此乃因蜂王乳之分佈係數在壓力30MPa下獲得較10、20MPa者來得高，因而10-HDA之選擇性在SC-CO₂及SC-CO₂+ethanol中隨壓力增加而降低。



圖六：癸烯酸和癸烯酸+10%乙醇與蜂王乳於40°C下在超臨界二氧化碳中之選擇性

Figure 6. Selectivities of 10-HDA and 10-HDA+10% ethanol to royal jelly in SC-CO₂ at 40°C.

4. 連續式萃取系統

依照上式相平衡之資訊及分佈係數和選擇性等資料，設計以連續式萃取方式在25MPa壓力，溫度40°C下，以SC-CO₂或SC-CO₂+ethanol為溶劑從蜂王乳中萃取癸烯酸。實驗結果顯示，在SC-CO₂+ethanol溶劑下可從蜂王乳中萃取90%癸烯酸。

結 論

癸烯酸之溶解度和分佈係數較蜂王乳高，且隨壓力之增加而增加，依相平衡、分佈係數和選擇性等結果，得到最適之操作條件，以連續式萃取方式，在SC-CO₂+ethanol溶劑下，可萃取90%癸烯酸。

參考文獻

1. Takenaka, T. 1982. Chemical compositions of royal jelly. *Honeybee Science*. 3: 69-74.
2. Tseng, C.-Y., Yu, Z.-R. and Li, C.-F. 1994. Preparation of royal jelly powders and property characterization of products during storage. *J. Chinese Agricultural Chem. Soc.* 32: 113-124.
3. Baker, S. A., Foster, A. B., Lamb, C. D. and Hodgson, N. 1959. Identification of 10-hydroxy- δ -2-

- decenoic acid in royal jelly. *Nature* 183: 996-997.
4. Blum, M. S., Novak, A. F. and Taber, S. 1959. 10-hydroxy- δ -2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science* 130: 452-453.
 5. Chu, L. K., Lin, T. M. E. and Ho, K. K. 1992. Growth inhibition of *Ascosphaera Apis* by royal jelly and 10-hydroxy- δ -2-decenoic acid. *Bull. Inst. Zool.* 31: 73-79.
 6. Yu, Z.-R., Rizvi, S. S. H. and Zollweg, J. A. 1992. Fluid-liquid equilibria of anhydrous milk fat with supercritical carbon dioxide. *J. Supercritical Fluids* 5:123-129.
 7. Yu, Z.-R., Rizvi, S. S. H. and Zollweg, J. A. 1992. Phase equilibria of oleic acid, methyl oleate, and anhydrous milk fat in supercritical carbon dioxide. *J. Supercritical Fluids* 5:114-122.
 8. Yu, Z.-R., Singh, B., Rizvi, S. S. H. and Zollweg, J. A. 1994. Solubilities of fatty acids, fatty acid esters, triglycerides, and fats and oils in supercritical carbon dioxide. *J. Supercritical Fluids* 7:51-59.
 9. Peng, D. Y. and Robinson, D. B. 1976. New two-content equation of state. *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 15:59.
 10. Reid, R. C., Prausnitz, J. M. and Poling, B. E. 1987. *The properties of gases and liquids*. 4th ed. McGraw-Hill, New York.
 11. Panagiotopoulos, A. Z. and Reid, R. C. 1986. New mixing rules for cubic equations of state for highly polar, asymmetric systems. In "Equations of state: theory and application" K. C. Chao and R. Robinson, Jr.(Ed.), p571. ACS symposium 300, American Chemical Society, Washington, D.C.

Extraction and Separation of 10-hydroxy- δ -decenoic acid from Royal Jelly by Supercritical Carbon Dioxide

Zer-Ran Yu, Chin-Yin Tseng and Be-Jen Wang
Department of Food Industry,
National Chia-Yi Institute of Agriculture,
Taiwan, R.O.C.

Abstract

The objective of this study was to extract and separate 10-hydroxy- δ -decenoic acid (10-HDA) from royal jelly. A static and a continuous extraction methods using the solvent of supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) or ethanol + SC-CO₂ were designed to reach the objective and to measure the solubility of 10-HDA in SC-CO₂ or in ethanol + SC-CO₂. The extraction were performed at 40°C and at pressures 10, 20, and 30 MPa. Results showed distribution coefficient of 10-HDA increased with pressure. Two products, 10-HDA and non- or low 10-HDA content of royal jelly products, were obtained at 25 MPa and 40°C in the ethanol + SC-CO₂ continuous extraction system.

Key words: Supercritical carbon dioxide, Royal jelly, 10-hydroxy- δ -decenoic acid