

脐橙皮中黄酮类化合物与果胶的 分离和提取研究

蔡定建¹, 谢志鹏¹, 罗六保², 张磊¹
(1. 江西理工大学 化学系, 江西 赣州 341000; 2. 江西应用技术职业学院, 江西 赣州 341000)

摘 要: 黄酮类化合物是具备主要生物活性的天然产物, 果胶是人体 7 大营养素中膳食纤维的主要成分. 实验就黄酮和果胶提取分别作 $L_9(3^4)$ 和 $L_{16}(4^4)$ 正交化实验. 工艺条件表明, 提取黄酮的较佳工艺条件是: 固液比 1: 30, 超声处理时间 55 min, 处理温度 50 ℃, 浸提液浓缩得到粗黄酮. 提取黄酮后的脐橙皮渣中提取果胶的较佳工艺条件是: 70 ℃ 的温度, 提取时间为 55 min, pH = 2.0, 固液提取比为 1: 25.

关键词: 脐橙皮; 正交实验; 黄酮; 果胶
中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-3757(2006)04-0239-04

脐橙是国际上高品味水果之一, 俗有“柑桔之王”的美称. 赣南气候温暖, 雨水充沛, 无霜期长, 昼夜温差大, 具有得天独厚的气候资源优势, 非常适宜脐橙生长, 脐橙果皮中含有丰富的天然黄酮和果胶.

黄酮类化合物不但有重要的营养作用, 而且具有重要的药理活性, 如抗氧化, 抗自由基, 抗癌、防癌以及治疗心脑血管和高血压等疾病的作用. 因此, 对黄酮类化合物的研究与利用颇受人们重视, 其在食品、医药、保健领域的应用具有广阔的前景. 果胶是一种天然高分子多糖化合物, 是人体 7 大营养体系中膳食纤维的主要成分, 同时具有良好的胶凝化和乳化稳定作用. 在食品、医药、日化、及纺织行业已得到广泛的应用.

从脐橙皮中提取果胶和黄酮类物质的研究, 国内外已有大量的文献报道^[1~3]. 但在众多的工艺中, 从脐橙皮中联产黄酮和果胶的提取工艺未见报道. 脐橙皮渣的综合利用, 不仅可以提高原料的综合利用率, 降低生产成本, 而且可以大大提高脐橙皮加工的附加经济价值和经济效益. 本文对脐橙皮中联产天然黄酮类和果胶的提取工艺进行了研究.

1 试剂和仪器

无水乙醇, 盐酸, 氢氧化钠, 亚硝酸钠, 硝酸铝,

氯化钙, 纯度均为 AR.

YXS 型数显恒温水浴锅(山东鄞城永兴仪器厂), 真空干燥箱(上海市实验仪器总厂), Lambda35 型紫外-可见光分光光度计(珀金·埃尔默公司), 真空旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司), 超声波清洗机 KQ-250E(昆山市超声仪器有限公司), 真空泵(单相异步电动机)(临海市精工真空设备厂).

2 正交设计

经黄酮和果胶的初步工艺条件实验研究, 对生物类黄酮提取和果胶提取工艺条件主要影响因素是提取温度、提取时间、固液比、pH 值, 并对其工艺条件进行正交实验条件的设计.

2.1 生物类黄酮提取正交实验设计

生物类黄酮提取正交实验条件的设计见表 1 所示.

表 1 黄酮提取因素水平			
Table 1 Factors and levels of flavonoid in abstraction			
水平	固液比	提取时间/ min	提取温度/ ℃
1	1: 30	55	60
2	1: 20	45	50
3	1: 10	35	40

2.2 果胶提取正交试验设计

果胶提取正交实验条件的设计见表 2 所示。

表 2 果胶提取因素水平

Table 2 Factors and levels of pectin in abstraction

水平	提取温度/℃	提取时间/min	pH 值	固液比
1	40	45	1.5	1:15
2	50	55	2.0	1:20
3	60	65	2.5	1:25
4	70	75	3.0	1:30

3 实验步骤

3.1 工艺流程

胶橙皮中联产天然黄酮类和果胶的提取工艺流程如图 1 所示。

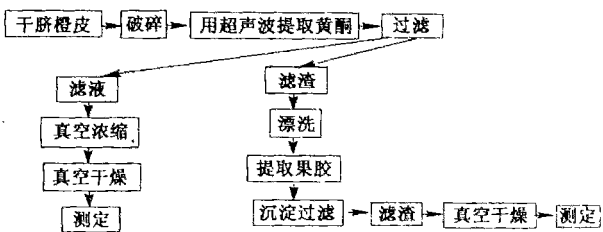


图 1 分离提取流程图

Fig. 1 Process of separation and extraction

3.2 黄酮类化合物的提取和分析^[4,5]

本实验取 10 g 干脐橙皮,用清水清洗,再切成 3~5 mm 大小颗粒,以一定比例的固液比进行超声波处理提取黄酮,黄酮提取液进行真空浓缩干燥得粗黄酮。芦丁黄酮标准储备液(0.224 mg/mL):准确称取 0.0224 g 芦丁标准品,置于 100 mL 的容量瓶中,加乙醇(95%)使其溶解稀释至刻度,备用。准确称取所得的粗黄酮 0.8550 g 置于 100 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇溶解,并定容至刻度,备用。

从脐橙皮超声波法提取贮备液中移取试液 4 mL,置于 25 mL 的容量瓶中,加入 50 g/L 的 NaNO₂ 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加入 100 g/L 的 Al(NO₃)₃ 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加入 40 g/L 的 NaOH 溶液 10 mL。然后用 95% 乙醇稀释至刻度,摇匀,放置 15 min,以 NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaOH 的 95% 乙醇溶液为参比液,在 400~800 nm 范围内扫描,得到其吸收光谱,最大吸收波长为 510

nm。移取上述芦丁黄酮标准贮备液 4 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加入 50 g/L 的 NaNO₂ 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加入 100 g/L 的 Al(NO₃)₃ 溶液 1 mL,放置 6 min,加入 40 g/L 的 NaOH 溶液 10 mL。然后用 95% 乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,放置 15 min,以 NaNO₂、Al(NO₃)₃、NaOH 的 95% 乙醇溶液为参比液,在 400~800 nm 范围内扫描,得到其吸收光谱,最大吸收波长为 510 nm。由以上实验可知,超声波法提取脐橙皮中黄酮可用芦丁作标准品,测定波长为 510 nm。

3.3 果胶的提取和分析

果胶具有一定的水溶性,不溶于乙醇及其他有机溶剂。目前果胶提取的方法主要是酸水解乙醇沉析和金属盐沉淀法。本文采用酸水解乙醇沉析法,依据原果胶在稀酸及加热下水解成可溶性果胶的理论,即用盐酸溶液浸泡脐橙皮,使之水解,过滤,滤液蒸发浓缩,用乙醇进行沉淀,最后离心分离、烘干,即得产品。

提取黄酮后的脐橙皮渣加入 4~5 倍蒸馏水,并用稀盐酸溶液调整其 pH 值。然后在恒温水浴锅中加热到 90℃ 左右,溶液呈微沸状态,保持 50~60 min,并且不断搅拌,直至水解完毕为止。将水解完全的脐橙皮及溶液倒入布袋内压榨除去大部分残渣,再将液体转入布氏漏斗,用真空泵进行抽滤,进一步除去残渣。滤液用烧杯装好,放于 80℃ 恒温水浴锅中蒸发浓缩至半,除去大量水分,取出冷却至室温。在上述浓缩液中加入 95% 的乙醇并使乙醇的含量达到一半,同时搅拌静置 10 min 左右,让果胶沉淀完全。然后用真空泵进行抽滤,沉淀用一倍量的 75% 乙醇洗涤 1~2 次,快速离心分离,可得淡黄色的果胶。将果胶放入干燥箱,调温至 55℃ 左右烘干,即得果胶成品。

取一定量提取液,其量相当于能生成果胶酸钙的 25 mg。将提取液放入 1000 mL 烧杯中,中和后,加水至 300 mL,加入 0.1 mol/L 氢氧化钠 100 mL,充分搅拌,放置过夜以皂化之(能脱去甲氧基,使生成果胶酸钠),加入 1 mol/L 醋酸溶液 50 mL。5 min 后,加入 0.1 mol/L 氯化钙 25 mL,然后,一边滴加 2 mol/L 氯化钙溶液 25 mL,一边充分搅拌。放置 1 h 后,加热煮沸 5 min,趁热以直径 15 cm 的滤纸过滤,用热水洗涤至不含有氯化物。然后,用热水把滤纸上的沉淀无损的洗入原先的烧杯中。加热煮沸数分钟,用已知重量的玻璃砂芯漏斗过滤,在

105 ℃烘 1.5 h 后称重,再放入烘箱继续干燥至恒重为止.

果胶酸钙(%) =
$$\frac{(W_1 - W_2) \times V}{V_1 \times G} \times 100$$

式中: W_1 果胶酸钙重和玻璃砂芯漏斗重(g),
 W_2 玻璃砂芯漏斗重(g), V_1 用去提取液毫升数, V 提取液总容积数(mL), G 样品重量(g).

果胶纯度采用果胶酸钙法测定. 当样品中存在果胶酶时,为了钝化酶的活性,可以加入热的 95% 乙醇,使样品的乙醇最终浓度调整到 70% 以上,然后煮沸 1.5 h,过滤后,以 95% 乙醇洗涤多次,再以乙醚处理. 这样,可除去全部糖类、脂类及色素,乙醚则挥发除去.

4 结果

4.1 黄酮提取结果

由表 3 可知,固液比的提高有利于黄酮的提取,由于固液比升高尤其是在大量水的浸提下,脐橙皮与水大量接触,黄酮组分的扩散,渗透,溶解等速度

描,最大吸收波长为 510 nm. 由此可以认定所制得的产品中含有黄酮类物质.

4.2 果胶提取结果

由表 4 可得出 4 个因素对果胶提取的影响为:温度的提高有利于果胶的提取,提取时间在 1h 左右其提取率可达到较大值,再延长提取时间对其提取效果改变不大; pH 值是影响果胶提取较重要的因素,很明显, pH 值越低的情况下,其提取率越高,但

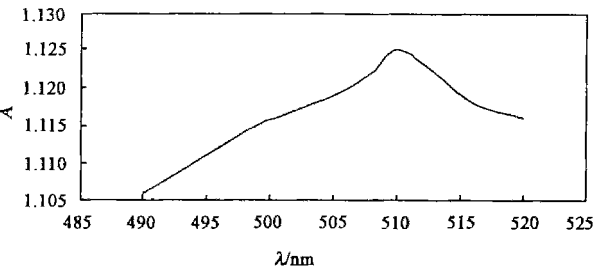


图 2 黄酮的紫外可见吸收光谱

Fig.2 UV-VIS spectra of flavonoid

表 4 果胶提取的正交试验结果

Table 4 The results of pectin in abstraction

试验号	A	B	C	D	得率(粗黄酮干重 g/ 干脐橙皮 10 g)
1	1	1	1	1	0.43
2	1	2	2	2	0.57
3	1	3	3	3	0.52
4	1	4	4	4	0.43
5	2	1	2	3	0.62
6	2	2	1	4	0.73
7	2	3	3	1	0.58
8	2	4	4	2	0.48
9	3	1	3	4	0.63
10	3	2	4	3	0.50
11	3	3	1	1	0.64
12	3	4	2	2	0.78
13	4	1	4	2	0.55
14	4	2	3	1	0.74
15	4	3	1	3	0.86
16	4	4	2	4	0.85
K ₁	0.49	0.56	0.64	0.60	
K ₂	0.60	0.63	0.71	0.60	
K ₃	0.64	0.65	0.62	0.63	
K ₄	0.76	0.63	0.49	0.66	
R	0.27	0.09	0.22	0.06	

加快. 提取时间在 35~ 55 min 之间及提取温度在 40~ 60 ℃之间时二者对于固液比的因素影响要小. 得出的较佳提取工艺条件是 A₁B₁C₂. 即提取温度 50 ℃,提取时间 55 min,固液比 1: 30. 在此条件下脐橙皮中提取的黄酮得率较高. 10 g 脐橙皮中提取的黄酮干重 4.22 g.

从图 2 中可以看出,在 400~ 800 nm 范围内扫

由于果胶的特性 pH 值不能过低,保持在 pH= 2 左

右较好; 固液比只要将提取剂控制在基本上能够溶解所要提取的果胶时, 就能够满足实验的要求, 提取剂过多会影响后面所要进行的浓缩. 由极差 R 可看出, 果胶的主次因素是 $A > C > B > D$. 本次正交实验所得出的较佳提取工艺组合是 $A_4B_2C_2D_3$, 即 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度、提取时间为 55 min 、 $\text{pH } 2.0$, 固液提取比为 $1: 25$. 酸性条件下, 10 g 干脐橙皮可得到果胶 0.90 g , 纯度为 89.31% .

本试验所提取的果胶为黄白色的固体, 外观色泽都较好.

参考文献:

[1] 乌凤歧, 陈仙. 提取黄酮类化合物的可行性研究[J].

辽宁工程技术大学学报, 2003, 22(2): 275-277.

[2] 杨大川. 从柑桔皮中提取果胶[J]. 食品科学, 1993, 11: 34-39.

[3] 孙润仓, 刘建明. 西瓜皮中果胶提取工艺试验[J]. 食品科学, 1988, (1): 31-33.

[4] 罗兰, 袁忠林. 银杏黄酮类化合物提取分离和分析方法研究进展[J]. 莱阳农学院学报, 2003, 20(4): 258-260.

[5] 侯冬岩, 回瑞华, 杨梅, 等. 金银花中总黄酮的光谱分析及抗氧化性能测定[J]. 分析试验室, 2004, 23(11): 53.

Separation and Abstraction of Flavonoid and Pectin from Orange Peel

CAI Ding-jian¹, XIE Zhē-peng¹, LUO Liū-bao², ZHANG Lei¹

(1. Chemistry School of Jiangxi University of Science and Technology, Ganzhou, 341000, China;
2. JiangXi College of Applied Technology, Ganzhou, 341000, China)

Abstract: Objective: making $L_9(3^4)$ and $L_{16}(4^4)$ orthogonal experiments for separation and abstraction of flavonoid and pectin from orange peel. Results: the better craft conditions for withdrawing the flavanone are solid/fluid ratio $1: 30$, supersonic process time 55 mins , processing temperature $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. The better craft conditions for withdrawing the pectin are temperature $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, time 55 mins , solid/fluid ratio $1: 25$, $\text{pH } 2.0$.

Key words: orange peel; orthogonal test; flavonoids; pectin

Classifying number: 0657.3