

# 柚皮黄酮类成分的分离工艺研究

杨洋 余炼 广西大学 530004

唐宇雯 广西南宁市经委 530012

**摘 要** 用甲醇、乙醇分别进行了柚皮黄酮类成分分离的正交实验, 结果表明: 乙醇浓度90%, 固液比1:10, 在90℃条件下提取2h的工艺条件较好。

**关键词** 柚皮 黄酮类 甲醇 乙醇 正交实验

**Abstract** The paper studied the extraction technology of from the pomelo peel with orthogonal test using methanol and alcohol as the solvents. The result showed that the optimum extracting conditions were :ratio of solid to liquid as 1:10, alcohol volume 90% temperature 90℃ and vibrating extraction 2h.

**Key words** Pomelo peel Flavonoid methanol Alcohol Orthogonal test

食品抗氧化剂能防止食物氧化变质, 广泛应用于食品加工中, 但合成抗氧化剂具有副作用, 危害人体的健康。用天然抗氧化剂代替合成抗氧化剂是当前关注的问题。天然食品抗氧化剂主要有植物的多酚化合物、黄酮类化合物(黄酮、黄烷酮、异黄酮等)、肉桂酸衍生物、香豆素和多官能团的有机酸等。本研究主要是从广西富产低廉的柚子皮中提取黄酮类化合物。黄酮类化合物是植物经光合作用产生的一大类化合物, 是以黄酮(2-苯基色原酮)为母核的一类黄色色素, 其中包括黄酮的同分异构体(异黄酮)及其原产物(黄烷酮)其结构见图1。黄酮类化合物广泛分布在植物界中, 在植物的叶子和果实中少部分以游离形式存在, 大部分与糖结合成苷类以糖配基的形式存在。柚皮中主要是5,7,4'-三羟基黄酮, 在7位碳上是新橙皮苷(柚皮苷)。



图1 黄酮类化合物结构式

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和仪器

原料: 柚皮, 由市售

试剂: 芦丁(生化试剂, 上海试剂二厂), 其它试剂为化学纯或分析纯。

仪器: 721型分光光度计、恒温水浴锅等。

### 1.2 方法和试验步骤

黄酮类物质是以2-苯基并吡喃酮为母核的多羟基化合物, 可与糖苷类物质遇碱变成明显黄色, 其机制是黄酮类物质在碱性条件下其苯并吡喃酮的1,2碳之间的C-O键打开成查耳酮型结构所致; 在酸性条件下, 查耳酮又恢复为闭环结构, 黄色消失。根据其性

质, 本研究采用极性有机溶剂从柚皮中提取黄酮类物质。

工艺流程: 柚皮→切片→干燥→粉碎→脱脂→清洗→浸提→抽滤→回收溶剂→干燥→成品

试验步骤: 将柚皮切长 $1 \times 0.5 \times 0.5$ cm的均匀薄片, 然后放入托盘, 在65℃干燥3h, 粉碎机粉碎后, 用石油醚脱脂2h, 脱脂后用清水浸泡并冲洗柚皮至黄色消失备用。以甲醇或乙醇为溶剂, 分别进行正交试验提取, 抽滤后取滤液在旋转式蒸发器蒸发浓缩, 冷冻干燥后得粗黄酮类物质产品。

### 1.3 试验产品测定与计算

制作标准曲线:

准确称取0.0788g芦丁试剂, 用30%乙醇溶解完全移入250ml容量瓶中, 并用30%乙醇定容。取上述芦丁标准液0、1、2、4、6、8、10、12ml, 放入8只容量瓶中, 用30%乙醇补至25ml, 加入1.4ml的 $\text{NaNO}_2$ 溶液(1:20), 摇匀, 放置5min, 加入1.4ml的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (1:10), 摇匀, 放置6min, 再加入10ml 1mol/L NaOH溶液, 混匀, 用30%乙醇溶液定容, 10min后在波长

表1 芦丁标准吸光度-浓度

| Xml 标准液 | 0 | 1      | 2      | 4     | 6     | 8      | 10     | 12     |
|---------|---|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 吸光度     | 0 | 0.005  | 0.03   | 0.15  | 0.166 | 0.228  | 0.472  | 0.335  |
| 浓度(g/L) | 0 | 0.0063 | 0.0126 | 0.025 | 0.037 | 0.0504 | 0.0632 | 0.0756 |

500nm处比色测定, 试剂为空白参比, 结果见表1。

浓度计算:

浓度 = (总重量 / 总容积)  $\times$  (X/50)

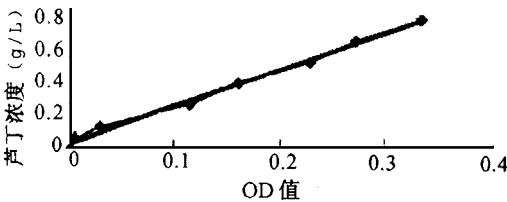
例: 1ml标准液的黄酮浓度

$(0.0788/0.250) \times (1/50) = 0.0063(\text{g/L})$

用以上数据制作标准曲线, 见图2

吸光度测定:

将各试验所得产品用30%乙醇溶解完全移入定量瓶中,加入1.4ml NaNO<sub>2</sub> (1:20) 溶液,摇匀,放置



5min,加入1.4ml Al (NO<sub>3</sub>) (1:10) 溶液,摇匀,放置6min,加入10ml 1mol/L NaOH,摇匀,用30%乙醇溶液定容,放置10min,以标准液的空白液为参比液,用500nm波长比色测定,其吸光度测定结果见表3,由吸光度计算出各溶液中黄酮含量和黄酮得率。

用最小二乘法进行线性回归,由标准曲线得回归方程  $y=2.1524x+0.0308$ , 相关系数  $r=0.9933$ 。  
提取液黄酮浓度  $g/L=2.1524A+0.0308$   
总黄酮得率 (%)  $=y \times 0.05/5 \times 100\%$

2 结果与讨论

在单因素试验的基础上,确定以溶剂浓度、溶剂用量(固液比)、提取时间和提取温度四种因素进行正交试验设计见表2。

2.1 柚皮中黄酮类物质甲醇浸提条件确定

表3的直观分析及极差分析可知:影响提取液黄

酮浓度的因素主次顺序为DACB(见图3)。对黄酮得率

表2 因素水平表

| 水平 | A 溶剂浓度 (%) | B 固液化 | C 提取时间 (h) | D 提取温度 (°C) |
|----|------------|-------|------------|-------------|
| 1  | 30         | 1: 8  | 1          | 50          |
| 2  | 60         | 1: 10 | 2          | 70          |
| 3  | 90         | 1: 12 | 3          | 90          |

所选因素影响大小依次为D>A>C>B,随所选因素水平变动时其指标波动情况见图3。4种因素的最佳组合A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即用10倍原料重的60%甲醇溶液,在70℃条件下,浸提2h,总黄酮浸出率最高。

2.2 柚皮中黄酮类物质乙醇浸提条件确定

由表4的直观分析及极差分析影响提取液黄酮浓度的所选因素主次顺序是BADC。随所选因素水平变动其指标波动情况见图5。

对黄酮得率而言,所选因素主次顺序是BADC。随所选因素水平变动其指标波动情况见图6。最佳工艺条件是A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。但综合考虑降低能耗,节约时间等因素,应选A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>为最佳工艺条件。即乙醇浓度90%,固液比1:10,在70℃条件,振荡提取1h。

3 结论

柚皮中黄酮类物质提取采用乙醇溶剂比甲醇溶剂效果好,总黄酮浸出率最高。综合考虑提取的最佳工

表3 以甲醇为溶剂进行正交试验的结果及分析

| 试验序号        | A 甲醇浓度 (%) | B 固液化 | C 提取时间 (h) | D 提取温度 (°C) | 吸光度 (A)        | 提取液浓度 (g/L) | 黄酮得率 (%) |
|-------------|------------|-------|------------|-------------|----------------|-------------|----------|
| 1           | A1         | B1    | C1         | D1          | 0.167          | 0.390       | 0.39     |
| 2           | A1         | B2    | C2         | D2          | 0.295          | 0.666       | 0.67     |
| 3           | A1         | B3    | C3         | D3          | 0.117          | 0.283       | 0.28     |
| 4           | A2         | B1    | C2         | D3          | 0.225          | 0.515       | 0.52     |
| 5           | A2         | B2    | C3         | D1          | 0.138          | 0.328       | 0.33     |
| 6           | A2         | B3    | C1         | D2          | 0.235          | 0.537       | 0.54     |
| 7           | A3         | B1    | C3         | D2          | 0.130          | 0.311       | 0.31     |
| 8           | A3         | B2    | C1         | D3          | 0.168          | 0.392       | 0.39     |
| 9           | A3         | B3    | C2         | D1          | 0.078          | 0.199       | 0.20     |
| 提取液浓度 (g/L) | K1 1.339   | 1.216 | 1.319      | 0.914       | 因素主次顺序 D(AC)→B |             |          |
|             | K2 1.380   | 1.386 | 1.380      | 1.514       |                |             |          |
|             | K3 0.902   | 1.019 | 0.922      | 1.19        |                |             |          |
|             | R1 0.446   | 0.405 | 0.440      | 0.306       |                |             |          |
|             | R2 0.460   | 0.462 | 0.460      | 0.505       |                |             |          |
|             | R3 0.301   | 0.340 | 0.307      | 0.397       |                |             |          |
|             | R 0.159    | 0.122 | 0.153      | 0.199       |                |             |          |
| 黄酮得率 (%)    | K1 1.34    | 1.22  | 1.32       | 0.92        | 因素主次顺序 D(AC)→B |             |          |
|             | K2 1.39    | 1.36  | 1.39       | 1.52        |                |             |          |
|             | K3 0.90    | 1.02  | 0.92       | 1.19        |                |             |          |
|             | R1 0.45    | 0.41  | 0.44       | 0.31        |                |             |          |
|             | R2 0.46    | 0.45  | 0.46       | 0.51        |                |             |          |
|             | R3 0.30    | 0.34  | 0.31       | 0.40        |                |             |          |
|             | R 0.16     | 0.11  | 0.15       | 0.20        |                |             |          |

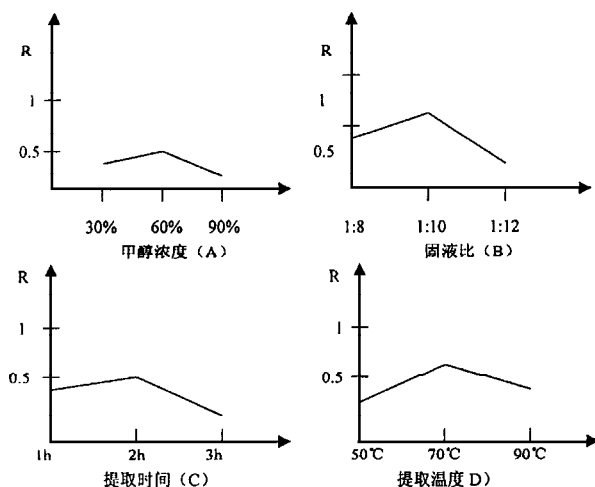


图3 黄酮得率与因素关系图

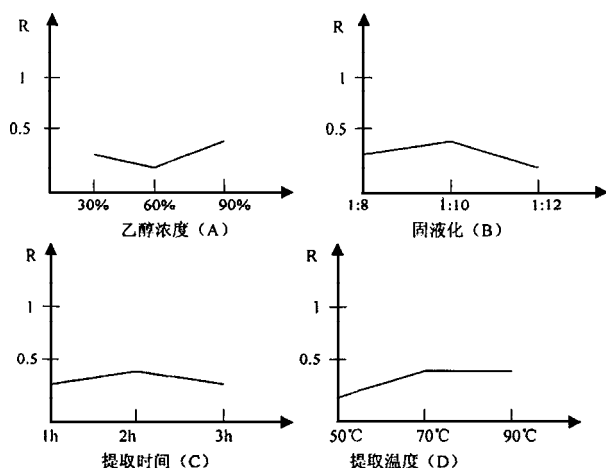


图4 乙醇提取液黄酮浓度与因素水平关系图

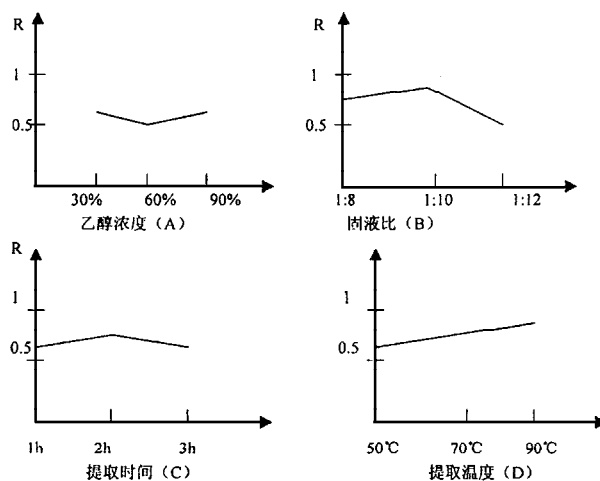


图5 黄酮得率与因素水平关系图

艺条件是用10倍原料重90%的乙醇溶液,在70℃条件下,振荡提取1h。经旋转蒸发浓缩,真空干燥得黄色膏状粗黄酮提取物。

## 参考文献

- 1 天津轻工业学院.无锡轻工业学院合编.食品生物化学.中国轻工业出版社,1981.
- 2 万素英,赵亚军,李琳等编著.食品抗氧化剂.中国轻工业出版社,1998.
- 3 胡敏,姜发堂,张生华等.三种测定银杏叶提取物中总黄酮的方法比较.食品与发酵工业,1997,23(4):40~43.
- 4 陈运中,苦荞麦黄酮含量的测定.食品科学,1998,19(3):54~55.
- 5 贾冬英,乔玉兰,谭敏等.用正交法探讨苦荞麦茎及籽壳中总黄酮(芦丁)的乙醇提取工艺.食品科学,1997,18(5):22~4.
- 6 廖亮.银杏叶总黄酮提取方法研究.食品科学,1994,(8):33~35.

表4 以乙醇为溶剂进行正交试验的结果与分析

| 试验序号        | A 甲醇浓度 (%) | B 固液比 | C 提取时间 (h) | D 提取温度 (°C) | 吸光度 (A) | 提取液浓度 (g/L)                      | 黄酮得率 (%) |
|-------------|------------|-------|------------|-------------|---------|----------------------------------|----------|
| 1           | A1         | B1    | C1         | D1          | 0.086   | 0.216                            | 0.43     |
| 2           | A1         | B2    | C2         | D2          | 0.185   | 0.429                            | 0.86     |
| 3           | A1         | B3    | C3         | D3          | 0.086   | 0.216                            | 0.43     |
| 4           | A2         | B1    | C2         | D3          | 0.109   | 0.265                            | 0.53     |
| 5           | A2         | B2    | C3         | D1          | 0.135   | 0.321                            | 0.64     |
| 6           | A2         | B3    | C1         | D2          | 0.063   | 0.166                            | 0.33     |
| 7           | A3         | B1    | C3         | D2          | 0.155   | 0.364                            | 0.73     |
| 8           | A3         | B2    | C1         | D3          | 0.230   | 0.526                            | 1.05     |
| 9           | A3         | B3    | C2         | D1          | 0.101   | 0.248                            | 0.50     |
| 提取液浓度 (g/L) | K1         | 0.861 | 0.845      | 0.908       | 0.785   | 因素主次顺序<br>D $\xrightarrow{AC}$ B |          |
|             | K2         | 0.752 | 1.276      | 0.942       | 0.959   |                                  |          |
|             | K3         | 1.138 | 0.630      | 0.901       | 1.007   |                                  |          |
|             | R1         | 0.287 | 0.282      | 0.303       | 0.262   |                                  |          |
|             | R2         | 0.251 | 0.425      | 0.314       | 0.320   |                                  |          |
|             | R3         | 0.379 | 0.210      | 0.300       | 0.336   |                                  |          |
|             | R          | 0.128 | 0.215      | 0.014       | 0.074   |                                  |          |
| 黄酮得率 (%)    | K1         | 1.72  | 1.69       | 1.81        | 1.57    | 因素主次顺序<br>D $\xrightarrow{AC}$ B |          |
|             | K2         | 1.50  | 2.55       | 1.89        | 1.92    |                                  |          |
|             | K3         | 1.28  | 1.26       | 1.80        | 2.01    |                                  |          |
|             | R1         | 0.57  | 0.56       | 0.60        | 0.52    |                                  |          |
|             | R2         | 0.50  | 0.85       | 0.63        | 0.64    |                                  |          |
|             | R3         | 0.76  | 0.42       | 0.60        | 0.67    |                                  |          |
|             | R          | 0.26  | 0.43       | 0.03        | 0.15    |                                  |          |