

柚皮中柚皮苷乙醇提取工艺研究

周石磊, 王鸿飞^{*}, 杜洁雄
(宁波大学食品科学与工程系, 宁波 315211)

摘要: 该文采用乙醇浸提法从柚皮中提取柚皮苷, 在单因素试验的基础上用正交试验进行工艺参数的优化, 其适合的工艺条件为: 提取温度 60℃, 提取时间 90 min, 提取液乙醇浓度 50%, 液料比 25:1(v/w), 在此工艺条件下进行试验, 柚皮苷提取率为 91.784%。

关键词: 柚皮苷; 柚皮; 提取工艺

中图分类号: TS209; TS255.36

文献标识码: B

文章编号: 1002-6819(2006)07-0184-04

周石磊, 王鸿飞, 杜洁雄. 柚皮中柚皮苷乙醇提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(7): 184-187.

Zhou Shilei, Wang Hongfei, Du Jiexiong. Ethanol extraction technology of naringin from grapefruit peel[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(7): 184-187. (in Chinese with English abstract)

0 引言

柚皮苷(naringin), 全称为柚皮素-7-O-新橙皮糖苷, 又称柚甙、柑橘甙、异橙皮甙, 主要存在于柚(*Citrus grandis*)、葡萄柚(*Citrus paradisi*)和酸橙(*Citrus aurantium*)及其变种的果皮及果实中^[1]。

许多研究表明, 柚皮苷具有多方面的生物活性, 包括抗氧化作用; 对杂环胺类物质等致突变性的抑制作用; 抗癌作用; 对胃溃疡的防治作用; 对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、志贺氏菌、埃氏大肠杆菌及某些真菌的抑制作用; 抗炎作用; 对某些毒物的拮抗作用; 降血脂, 降胆固醇作用; 解痉, 镇痛作用; 改善微循环和软骨组织细胞功能作用; 降低毛细血管通透性和骨关节病变率作用; 促进一些药物在人体内的吸收和代谢的作用等^[1-7]。

在食品工业上, 柚皮苷可作为天然着色剂和风味改良剂。虽然柚皮苷具有苦味, 但用在饮料以及高级糖果中却具有增强风味的作用。柚皮苷又可作为合成高甜度、无毒、低能量的新型甜味剂二氢柚苷查耳酮和新橙皮苷二氢查耳酮的原料。随着中国食品、医药等工业的发展, 柚皮苷的应用必定会越来越广泛^[7-11]。

柚皮苷的提取方法一般有有机溶剂提取法、热水提取法、碱性稀醇或碱性水提取法、系统溶剂提取法、超声波提取法和微波提取法、超滤法等^[6-10]。热水浸提法虽简便易行, 但杂质浸出多, 不利于分离纯化。碱提酸沉法需要严格控制浸提的 pH 值, 碱性过大就会破坏柚皮苷的母核结构及其他有效成分, 不利于资源的综合利用;

酸性过大会形成伴盐, 使析出的柚皮苷又重新溶解, 降低产品的提取率。有机溶剂提取法具有 pH、温度选择范围广、高效、安全性高、能耗低等优点, 颇受生产厂家的青睐。

有机溶剂提取法采用的溶剂为甲醇和乙醇, 相比之下乙醇的安全性更高, 因此本实验以乙醇作为提取溶剂^[10], 从柚皮中提取柚皮苷, 研究柚皮中提取柚皮苷的影响因素, 并采用正交试验进行从柚皮中提取柚皮苷的工艺条件优化, 从而为生产提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

柚皮: 无病虫害的柚皮, 在 45℃ 左右下干燥至水分含量 0.5% 以下, 粉碎后用 20 目的筛网过筛, 待用。

柠檬酸(粉末, 分析纯, 上海试剂四厂昆山分厂), 氢氧化钠(分析纯, 浙江省兰溪市二轻试剂厂), 乙醇(95%, 上海三鹰化学试剂有限公司), 二苷醇(一缩二乙二醇)(化学纯, 国药集团化学试剂有限公司), 柚皮苷标准品购于 sigma 公司。

1.2 试验方法

柚皮苷提取过程: 剔除腐烂变质、发黑的柚皮, 将柚皮在 45℃ 下干燥至水分含量 0.5%, 粉碎后用 20 目筛网过筛。用电子天平称取 10.0 g 柚皮粉末, 加入一定量的乙醇溶液, 在恒温水浴锅中提取, 维持所需温度到一定时间, 并搅拌。趁热用 300 目筛网过滤, 分离出柚皮残渣, 得柚皮苷提取液, 收集滤液。静置 2 h, 将柚皮苷提取液过滤, 用分光光度法测定提取液的柚皮苷含量, 计算柚皮苷提取率。

1.2.1 单因素试验方法

根据柚皮苷的特性, 分别研究不同液料比、浸提时间、浸提温度、浸提液乙醇浓度对柚皮苷提取率的影响。

1.2.2 柚皮苷提取工艺参数的优化

在单因素试验的基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行正交试验, 优化柚皮苷提取的工艺条件。

收稿日期: 2005-08-15 修订日期: 2005-12-13

作者简介: 周石磊(1981-), 男, 浙江杭州人, 主要从事食品科学方面的研究。宁波 宁波大学食品科学与工程系, 315211。

Email: stone_shilei@hotmail.com

^{*}通讯作者: 王鸿飞(1964-), 男, 陕西咸阳人, 教授, 主要从事食品科学、农产品加工方面研究。宁波 宁波大学食品科学与工程系, 315211。Email: wanghongfei@nbu.edu.cn

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A 提取温度 /°C	B 提取时间 /min	C 乙醇浓度 %	D 液料比
1	40	30	50	15 : 1
2	50	60	60	20 : 1
3	60	90	70	25 : 1

1.2.3 柚皮苷含量的测定

采用戴维斯法^[12-14]。

1) 样品处理: 量取一定量的提取液, 添加0.12 mol/L NaOH 10 mL, 用4 mol/L NaOH 调至pH值12浸泡30 min后, 再用20%柠檬酸调至pH值6, 加水定容至100 mL, 备用。

2) 标准曲线: 将标准柚皮苷在100°C干燥至衡重, 称取20.60 mg, 添加0.1 mol/L的NaOH溶液20 mL使其完全溶解后用柠檬酸调至pH值6, 定容至100 mL, 得柚皮苷标准液, 同时作一试剂空白液作标准稀释用。分别吸取0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL的标准液, 于6支试管中, 分别添加空白液5.0、4.8、4.6、4.4、4.2、4.0 mL, 再各加90%二苊醇5.0 mL和4 mol/L NaOH 0.1 mL, 置于40°C的恒温水浴保温条件下进行显色反应10 min, 然后立即注入1 cm比色皿内, 在420 nm的最大吸收波长处测吸光度。以吸光值对标准样的毫克数作图, 绘制标准曲线, 见图1所示。

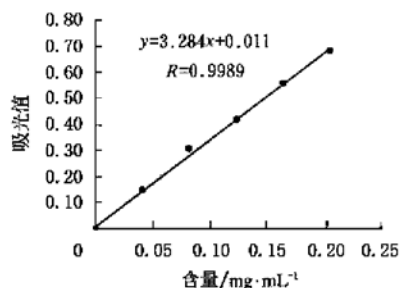


图1 柚皮苷的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of naringin

3) 样液的测定: 准确吸取待测液3 mL 2份, 分别置于2支试管中, 加试剂空白液至5.0 mL, 然后各加90%二苊醇5.0 mL, 摇匀, 加4 mol/L NaOH 0.1 mL, 置于40°C的恒温水浴保温条件下进行显色反应10 min, 然后立即注入1 cm比色皿内, 在420 nm的最大吸收波长处测吸光度, 以加碱管的吸光值减去不加碱管的吸光值, 查标准曲线, 即得到所取样液中柚皮苷含量毫克数。

4) 样品中柚皮苷含量计算

$$\text{样品中柚皮苷含量}(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}) = \frac{H \times V_1 \times V_2}{V_3 \times V_4}$$

式中 H ——样液中柚皮苷的含量, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;
 V_1 ——样液体积, mL; V_2 ——稀释后提取液体积, mL;

V_3 ——测定用稀释液体积, mL; V_4 ——提取液体积, mL。

提取率按下式计算

$$G = N \times V \times 100/M$$

式中 G ——柚皮苷提取率, %; N ——每克原料中取的柚皮苷的量, $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; V ——提取液体积, mL; M ——每克原料中柚皮苷的含量, g。经测定, 每克柚皮中含有柚皮苷量为0.0497 g。

2 结果与分析

2.1 液料比对柚皮苷提取率的影响

由图2可知, 液料比太小, 难以保证原料中的柚皮苷全部转移到液相中, 而且乙醇是易挥发物质, 造成物料黏度大, 过滤困难, 提取不完全, 提取率减低; 液料比太大, 提取出来的柚皮苷浓度低, 过滤容易, 但浓缩时间长, 在测定时容易导致偏差, 且乙醇的消耗量大。因此, 提取柚皮苷所用的浸提液量的多少, 直接影响到已经溶解于乙醇的柚皮苷能否全部转移到液相, 同时也影响提取液过滤速度。

当提取液料比小于20:1时, 柚皮苷的提取液中含有量随着液料比的增大而增大; 当提取液料比大于35:1时, 柚皮苷的提取液中含有量随着液料比的减少而减少; 当提取液料比介于20:1~35:1时, 柚皮苷提取率较高。

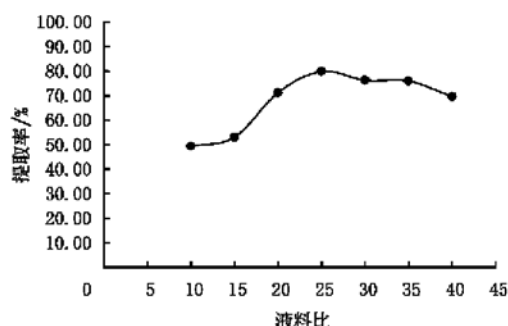


图2 液料比对柚皮苷提取率的影响

Fig. 2 Effects of the ratio of solution to material on the extraction rate

2.2 提取时间对柚皮苷提取率的影响

从图3中可以看出, 提取时间太短, 柚皮中的柚皮苷未能完全溶解出来, 提取不完全; 而且随着提取时间的延长, 提取液中的柚皮苷含量也随着增长, 但时间过长, 就容易造成柚皮中的其他物质在热提取的情况下被提取, 影响对柚皮苷含量测定, 影响品质, 且长时间浸泡可能会造成乙醇和柚皮苷的反应, 降低了提取液中的含量。所以对提取时间的控制也要适量。

当提取时间小于30 min时, 随着时间的延长, 提取液中柚皮苷含量随着时间的延长而增大; 当时间大于30 min时, 柚皮苷的提取率大于80%, 60 min以后时, 柚皮中的柚皮苷的提取已经达到平衡状态。所以提取时间在30~90 min时, 柚皮苷提取率较高。

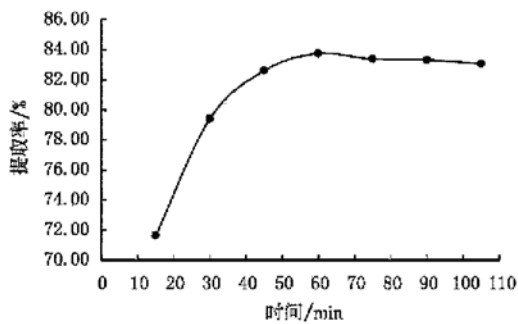


图3 提取时间对柚皮苷提取率的影响

Fig. 3 Effects of time on the extraction rate

2.3 乙醇浓度对柚皮苷提取率的影响

从图4中可以看出,因为柚皮苷是黄酮类物质,则乙醇浓度的大小是直接影响柚皮苷的提取;乙醇的浓度太小,则原料提取不完全,不能把所有的柚皮苷转移到浸提液中;乙醇的浓度太大,则产生很大的渗透压,影响柚皮苷的提取浓度,而且高浓度的乙醇也可能对液相中的柚皮苷起反应,造成误差,影响柚皮苷的浓度,所以乙醇浓度也要适量。

在乙醇浓度为40%~70%范围内,柚皮苷的提取率较高,当乙醇浓度大于70%时,随着乙醇浓度的增加,柚皮苷的提取率反而随之减小。

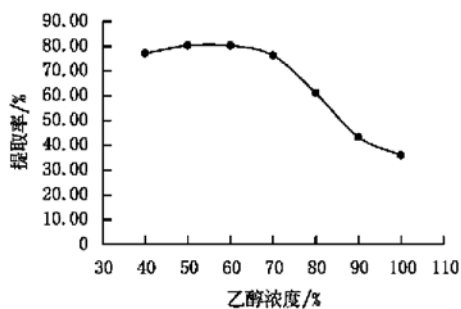


图4 乙醇浓度对柚皮苷提取率的影响

Fig. 4 Effects of the ethanol concentration on the extraction rate

2.4 提取温度对柚皮苷提取率的影响

从图5中可以看出,随着提取温度的升高,有利于柚皮苷的溶解,有利于提取效率的提高。当温度高到一定值时,柚皮苷的提取除了有溶剂效应以外,还有热效

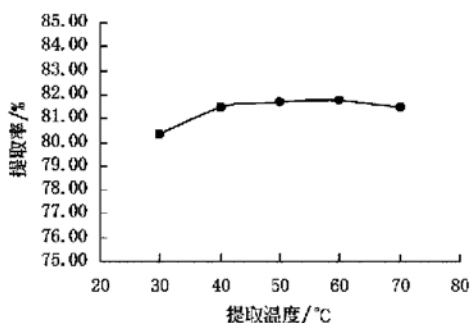


图5 提取温度对柚皮苷提取率的影响

Fig. 5 Effects of temperature on the extraction rate

应的影响,而且随着温度的继续升高,热效应会愈加显著;但当温度超过了乙醇的沸点,乙醇会挥发,影响乙醇浸提效果,这时的柚皮苷的提取主要是热浸提的效果,而不是乙醇提取。

提取温度在30~70°C时,柚皮苷提取率变化不大,当温度超过70°C时,由于热提取和乙醇提取的共同作用,对柚皮苷提取的影响有很多不确定因素,温度超过了乙醇的沸点,导致已不再单纯属于有机溶剂提取的范围,对产物的质量有一定影响。

2.5 柚皮苷提取工艺参数的优化

在单因素试验的基础上,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验。由表2极差 R 分析可知, D 的极差最大,其次分别是 C 、 A 、 B 。由主到次排出因素的顺序为 $DCAB$,说明提取液的液料比是影响柚皮苷的提取的主要因子,在25倍的液料比时,得到最大柚皮苷提取率,由于提取时间长短对柚皮苷的提取影响较小,而长时间的加热浸提又会增加柚皮粉中其他杂质的浸出,不利于以后提取物质的过滤和纯化,而提取温度在较高时,乙醇开始挥发,此时以热提取的效果为主,从而影响产物质量。因此得出最适工艺组合为 $D_3C_1A_3B_3$,即柚皮苷提取的最佳条件为液料比为25:1,提取温度为60°C,浸提液的乙醇浓度为50%,提取时间为90 min。由此最适工艺条件提取柚皮苷,提取率为91.784%

表2 $L_9(3^4)$ 试验方案及结果Table 2 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	48.214
2	1	2	2	2	68.598
3	1	3	3	3	70.145
4	2	1	2	3	79.698
5	2	2	3	1	47.125
6	2	3	1	2	93.554
7	3	1	3	2	77.897
8	3	2	1	3	88.587
9	3	3	2	1	54.544
K_1	186.957	205.809	230.355	150.883	
K_2	220.377	204.310	202.840	230.049	
K_3	221.028	218.243	195.167	238.430	
R	34.071	13.933	35.188	87.547	
Q	A_3	B_3	C_1	D_3	

3 结论

在单因素试验基础上,用 $L_9(3^4)$ 正交试验对柚皮苷提取的工艺参数进行优化,结果表明,采用干柚皮为原料,用乙醇提取柚皮苷,较适宜的操作条件为:提取温度60°C,提取时间90 min,乙醇浓度50%,液料比25:1,在该提取条件下,柚皮苷的提取率为91.784%。

[参考文献]

- [1] 贾冬英,姚开. 水果皮中生理活性成分研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(11): 74-78.

- [2] 方修贵, 黄振东, 林 媚. 柑桔果皮功能性物质及其联产工艺[J]. 食品工业科技, 2002, 23(12): 75- 77.
- [3] 李春美, 杜 靖, 谢笔钧. 柚皮提取物的抑菌作用[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(1): 38- 41.
- [4] 杨 洋. 柚皮黄酮抗氧化机理及其含量的测定[J]. 广西轻工业, 2002, 1: 36- 38.
- [5] 冯宝民, 苑艳光, 裴月湖. 柚的化学与药理研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(3): 228- 232.
- [6] 岳庆磊, 郭效杰, 罗宗铭, 等. 黄酮类化合物抗氧化机理及其在医药中的应用[J]. 广州化工, 2003, 31(2): 10- 12.
- [7] 张德权, 台建祥, 付 勤. 生物类黄酮的研究及应用概况[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(6): 52- 57.
- [8] 杨 洋, 余 炼. 柚皮黄酮类成分的分离工艺研究[J]. 食品科学, 2001, 22(3): 41- 43.
- [9] 李巧玲. 黄酮类化合物提取分离工艺的研究进展[J]. 山西食品工业, 2003, 4: 6- 7.
- [10] 贾冬英, 姚 开, 谭 敏, 等. 柚皮中柚皮苷的乙醇提取工艺研究[J]. 中草药, 2003, 33(9).
- [11] Ping C H, Dorothy J S, Coville P F, et al. Content of CYP3A4 inhibitors, naringin, naringenin and bergapten in grapefruit and grapefruit juice products[J]. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 2000, (74): 379- 385.
- [12] 元晓梅, 刘贵贤, 胡正芝. 比色法测定柑桔饮料及桔皮制剂中总黄酮含量[J]. 食品与发酵工业, 1996, 3: 13- 21.
- [13] Davis W B. Determination of flavanones in citrus fruits [J]. Anal Bichem, 1947, 19(7): 476- 478.
- [14] 王鸿飞, 李和生, 董明敏, 等. 柚皮苷酶对柑橘类果汁脱苦效果的研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 174- 17.

Ethanol extraction technology of naringin from grapefruit peel

Zhou Shilei, Wang Hongfei*, Du Jiexiong

(Department of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The ethanol extraction of naringin from grapefruit peel were carried out. On the basis of single-factor experiments, the orthogonal experiment was used in the optimization of technological parameters. Results show that the optimum conditions are as follows: the ratio of solution to material is 25 : 1(v/w), time is 90 min, temperature is 60°C and ethanol concentration is 50%. By the above conditions, the naringin extraction rate is 91.784%.

Key words: naringin; grapefruit peel; extraction technology