

柚皮中柚皮苷的乙醇提取工艺研究

贾冬英,姚开,谭敏,张铭让*

(皮革化学与工程教育部重点实验室 四川大学轻工与食品工程学院,四川 成都 610065)

摘要:目的 探讨柚皮中柚皮苷的乙醇提取最佳工艺条件。方法 运用正交试验法考察乙醇浓度、提取温度、提取时间和乙醇用量对提取率的影响,采用两步结晶法对提取物中的柚皮苷进行精制。结果 柚皮中柚皮苷的乙醇提取最佳工艺条件为 25倍原料重的 70%乙醇、60℃条件下保温浸提 1 h;两步结晶法所得柚皮苷精制品的纯度为 90.0%。结论 采用本实验所确定的提取及精制方法可使柚皮中柚皮苷得到有效提取和分离。

关键词:柚皮;柚皮苷;乙醇提取;正交试验

中图分类号: R284.02; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2002)09-0801-02

Ethanol extract processing of narigin from pummelo pericarp

JIA Dong-ying, YAO Kai, TAN Min, ZHANG Ming-rang

(College of Light Industry & Food Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Key words pummelo pericarp; narigin; ethanol extract; orthogonal test

柚皮苷主要存在于柚子、葡萄柚、酸橙及其变种的果皮中,如柚子中 50% 以上的柚皮苷分布于果皮内^[1]。柚皮苷具有多种生物活性,如抗氧化、抗突变、抗肿瘤、抑菌、改善微循环、降低毛细血管的脆性等,在医药、食品及化妆品等领域具有广泛的应用。柚皮苷的提取方法主要有热水浸提法、碱提酸沉法和有机溶剂提取法^[1~3],尚未见有关柚皮苷乙醇提取工艺的报道。本研究以柚子的中果皮为原料,采用正交试验法对柚皮苷的乙醇提取工艺进行了研究,希望为柚皮苷的工业化生产提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料:剥除鲜柚皮的黄色外果皮,将得到的白色海绵状中果皮洗净,60℃烘干后粉碎至 16~18 目。柚皮苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,所用试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 仪器: Dionex 4500i 型高效液相色谱仪(美国戴安公司); 7520 型分光光度计(上海分析仪器厂); ZFQ85A 旋转蒸发器(上海医械专机厂)。

2 方法

2.1 标准曲线建立^[3,4]: 分别取浓度为 0.16 mg/mL 柚皮苷对照品溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL 于 10 mL 比色管中,依次加入 90% 一缩二乙二醇 5 mL 和 4 mol/L NaOH 溶液 0.1 mL,加蒸馏水至刻度,摇匀,40℃水浴保温 10 min,冷却后于 420 nm 处测定反应液的吸光度。采用最小二乘法拟

合得标准曲线方程: $Y = 0.00132x + 0.0312X$, $r = 0.9999$,其线性范围为 0~0.0192 mg/mL。

2.2 柚皮苷提取正交试验:选择乙醇浓度、提取温度、提取时间和乙醇用量作为考察因素,以提取率作为评价指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验(表 1, 2),柚皮粉中加入一定量不同浓度的乙醇溶液,恒温搅拌浸提一定时间后过滤,滤液定容至 50 mL,从中吸取 0.1 mL,按对照品反应液的配制方法进行显色反应,测其吸光度,计算提取率。

2.3 提取率计算:根据测得的试样吸光值(A)和标准曲线方程,求得试样浓度(C),提取率(%) = $(0.005C/W) \times 100$,式中: C 试样中柚皮苷浓度($\mu\text{g/mL}$); W 柚皮粉质量(g)。

2.4 提取物精制:称取 150 g 柚皮粉,按正交试验优化方案重复 3 次,过滤后真空浓缩至原体积的 1/3,冷却后于 4℃~6℃静置 8~10 h,离心(3 000 r/min) 10 min 后得黄色沉淀物。沉淀物中加入约 1.5 倍体积的 70% 乙醇,于 60℃水浴中重新溶解,过滤后于 4℃~6℃放置 8~10 h,离心(3 000 r/min) 10 min,得淡黄色结晶物。加少量蒸馏水于此结晶物中,70℃溶解,冷却后于 4℃~6℃放置 8~10 h 进行重结晶,过滤后得白色结晶。60℃干燥,得柚皮苷精制品。

2.5 精制品纯度测定:准确称取干燥至恒重的柚皮苷精制品,用甲醇溶解、定容,采用 HPLC 法测其纯

* 收稿日期: 2001-12-17

作者简介:贾冬英(1964-),女,湖北人,副教授,博士研究生,主要从事药食两用食物资源的开发研究。Tel: (028) 5404298

* 通讯作者

度。色谱条件: Alltima ODS C₁₈硅胶柱 (6.0 mm×250 mm, 5μm), 进样量为 20μL, 流动相为乙腈-磷酸-水 (40∶0.5∶60), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 283 nm

3 结果

3.1 柚皮苷乙醇提取条件的确定: 选用 4 因素 3 水平的 L₉ (3⁴) 正交表进行正交试验 (表 1), 考察了乙醇浓度、提取温度、提取时间和乙醇用量对柚皮苷提取率的影响, 结果见表 2 和 3

表 1 正交试验因素水平表

水平	因 素			
	A 提取温度 (°C)	B 提取时间 (h)	C 乙醇浓度 (%)	乙醇用量 (倍)
1	50	1	60	15
2	60	2	70	20
3	70	3	80	25

表 2 正交试验设计及结果分析

试验号	A	B	C	D	柚皮苷提取率 (%)	小计
1	1	1	1	1	1.79	1.93
2	1	2	2	2	2.53	2.57
3	1	3	3	3	2.78	2.83
4	2	1	2	3	3.37	3.38
5	2	2	3	1	2.36	2.48
6	2	3	1	2	2.64	2.75
7	3	1	3	2	2.57	2.64
8	3	2	1	3	2.68	2.68
9	3	3	2	1	2.42	2.43
I	14.43	15.68	14.47	13.41		
II	16.98	15.30	16.70	15.70		
III	15.42	15.85	15.66	17.72		
R	2.55	0.55	2.23	4.31		

表 3 正交试验方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	0.550 9	2	0.275 5	88.87	<0.01
B	0.026 4	2	0.013 2	4.26	
C	0.415 0	2	0.207 5	66.94	<0.01
D	1.550 0	2	0.775 0	250.00	<0.01
误差	0.027 7	9	0.003 1		

注: F_{0.05} (2, 9) = 4.26 F_{0.01} (2, 9) = 8.82

由表 2 的极差值 R 和表 3 的方差分析结果可以看出, 4 种因素对柚皮苷提取率的影响程度依次为 D> A> C> B 由于提取时间长短对柚皮苷的提取率影响不明显, 且长时间加热浸提又会增加柚皮粉中其他杂质的浸出, 不利于提取物的过滤及纯化, 故提取时间确定为 1 h 4 种因素的优化组合为 A₂B₁C₂D₃, 即 25 倍原料重的 70% 乙醇 60℃ 条件下浸提 1 h, 柚皮苷的提取率最高。

3.2 柚皮苷精制品纯度测定: 由图 1 可以看出, 二者的色谱峰形及保留时间基本相同, 根据面积外标法测得柚皮苷精制品的纯度为 90.01%。结果表明本实验所采用的两步结晶法能使得取物中的柚皮苷得到有效分离 同时可以看出, 由于其他同系物的存在, 单纯采用两步重结晶法难以得到纯度更高的柚皮苷精制品 因此, 要想实现提取物中柚皮苷与其他同系物的完全分离, 还需采用其他方法, 这有待于进一步研究。

4 讨论

4.1 柚皮苷的提取方法有热水浸提法、碱提酸沉法和有机溶剂提取法 热水浸提法虽简便易行, 但杂质浸出多, 不利于分离纯化。碱提酸沉法需严格控制浸提液的 pH 值, 碱性过大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, 降低产品的收率^[5]。有机溶剂提取法采用的溶剂为甲醇或乙醇, 相比之下乙醇的安全性更高, 因此本研究以乙醇作为提取溶剂。

4.2 通过正交试验建立了柚皮中柚皮苷乙醇提取的最佳工艺条件, 按此优化条件进行提取, 并采用两步结晶法对提取物进行精制, 可得到纯度达 90.01% 的柚皮苷精制品。该提取及精制方法不仅可使柚皮苷得到有效提取和分离, 为其工业化生产提供参考, 而且对柚皮中的其他活性成分无破坏作用, 其残渣还可用于果胶或纤维素等生理活性成分的制备, 或直接作为人类膳食纤维来源应用于食品加工, 因而更有利于资源的综合利用。

参考文献:

[1] Ei-Nawawi. S A. Extraction of citrus glucosides [J]. Carbo-hydr Polymer, 1995, 27: 1-4.
[2] 脱苦科研组. 柑桔苦味成分的分离和提纯方法研究 [J]. 浙江工学院学报, 1987(2): 27-33.
[3] 成风沅, 陈湘西. 精制柚苷的鉴定及柚皮中柚苷含量的测定 [J]. 食品与发酵工业, 1982(2): 1-9.
[4] 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.
[5] 王宪楷. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.

