

微波提取沙溪蜜柚皮中总黄酮的工艺

黄 艺¹, 何慧蓉¹, 赵 清¹, 刘 凯¹, 阮尚全^{1,2}

(1. 内江师范学院 化学化工学院, 四川 内江 641100;
2. 四川省高等学校果类废弃物资源化重点实验室, 四川 内江 641100)

摘 要:为探讨微波法提取沙溪蜜柚废弃物中黄酮的提取工艺,以沙溪蜜柚柚皮为原料,考查了微波功率、提取时间、乙醇浓度、料液比对黄酮提取率的影响.通过 $L_9(3^4)$ 正交设计试验优化出最佳提取工艺条件为:微波辐射功率为 250W,辐射时间 2 min,乙醇浓度 70%,料液比 1:70.在最优条件下黄酮的提取率为 0.272%.

关键词:微波;沙溪蜜柚;柚皮;黄酮

中图分类号: S666.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-1785(2013)10-0031-04

沙溪蜜柚是内江市实验示范场培育而出的品种,目前栽植面积已超过 1 000 hm²,年产量超过 6 000 t,柚单果重 1.25~2.5 kg,可食部分 63%~72%,最大达 6~7 kg,果皮厚 0.95 cm 左右,其副产物有果皮、果渣和种子,约占整个果实的重量的三分之一.黄酮类化合物为一类广泛分布于植物中的天然植物成分,为植物细胞代谢多酚类物质,是重要的天然药物成分,具有抗氧化、抗癌、防止心血管疾病、抗炎症、镇痛、抗过敏等生理功能^[1-3].黄酮对金属离子具有一定的选择性吸附,如在模拟胃、肠液条件下均能选择性吸附铅及镉离子,且不影响铁、锌离子的浓度^[4].因而在医药、保健等方面应用广泛^[5].提取方法主要有水浴提取法、超声波提取法、微波提取法、表面活性剂提取法、酶提取法、超临界萃取、双水相提取等^[6-12].微波提取技术主要利用磁控管所产生的超高频震动使物质内分子间相互碰撞,具有使细胞内的液泡膜发生变形或破裂功能,提取时间可从几个小时缩短到一般只需几分钟,同时微波也可提高溶剂活性,能在较温和条件下使目标成分快速溶出,且目标产物基本一致,产品收率和质量均有提

高,是当前国内外天然产物提取的研究热点^[11,13-16].目前,沙溪蜜柚大量的果皮渣主要以丢弃、掩埋的方式处理,既污染环境,又资源浪费,如将其充分利用,可以大大增加其附加值,且目前未见相关研究报道.本文采用微波提取技术及联合正交设计提取了沙溪蜜柚柚皮中的总黄酮,为沙溪蜜柚的综合利用提供了实验依据.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Uwave-1000 微波·紫外·超声波三位一体合成萃取反应仪(上海新仪);T6-新世纪紫外可见分光光度计(北京普析);TD-5 台式低速离心机(四川蜀科);AE240 电子分析天平(梅特勒-托利多);6202 型高速粉碎机(北京锐捷玉诚).芦丁标准品(BR);无水乙醇、NaNO₂、Al(NO₃)₃·(NH₄)₂SO₄、NaOH 均为分析纯,实验用水为蒸馏水.

1.2 材料与方法

实验材料购于内江市资中县沙溪蜜柚原产地,

收稿日期:2013-05-30

基金项目:四川省教育厅自然科学基金资助重点项目(13ZA0004),内江师范学院化学化工学院大学生创新培育项目(HGCX1201),内江师范学院自然科学基金资助重点项目(12NJZ02).

作者简介:黄艺(1990-)女,四川达州人,内江师范学院 2011 级学生.研究方向:天然产物分离分析.

* 通讯作者:阮尚全(1963-),男,四川内江人,内江师范学院高级实验师.研究方向:光谱分析及天然产物分离分析.

蜜柚洗净分离果皮、果肉,柚皮碎至 2~3 cm 块状,烘干,粉碎备用.称取一定量柚皮粉,在一定浓度的乙醇中,以一定微波功率进行处理.提取物高速离心分离,上层清液经行定容作为待测液.精密移取适量提取液,按照“1.4”处理方法处理,于 510 nm 波长处测其吸光度.

1.3 提取工艺流程

柚子→清洗取皮→烘干→粉碎→称量→溶剂浸泡→微波提取→分离→定容→移取显色定容→测定.

1.4 标准曲线的绘制

精确称取芦丁标准品 10.0 mg 于 50 mL 小烧杯中,加入 60%乙醇溶液,溶解后转入 50mL 容量瓶中,定容备用.分别精密吸取上述溶液 0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 于 25 mL 比色管中,加入 5% NaNO_2 溶液 1.0 mL,放置 6 min.再加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1.0 mL 后放置 6 min;后再加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液 10mL,加入 30%乙醇溶液补充至 25 mL,摇匀后静置 15 min,于 510 nm 波长处测其吸光度,绘制标准曲线.

1.5 黄酮提取率的计算

精确移取微波处理后所得澄清滤液定容于 100ml 容量瓶中,移取 10.00 ml 测液于 25 mL 比色管中,按照“1.4”方法处理及测定,计算黄酮提取率.

$$\text{黄酮提取率}\% = \frac{c \times 25 \times 100 \times 10^{-6}}{10.00 \times m} \times 100\%,$$

式中, c 为标准曲黄酮浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$); m 为样品的重量(g)

1.6 单因素实验

以柚皮粉为 2 g、乙醇浓度为 50%的溶液、原料(g):提取液体积(mL)为 1:20 的料液比、提取时间为 120 s、微波功率为 200W 作基础,在改变其中一个因素,固定其它因素条件下进行单因素试验,考查各因素对黄酮提取率的影响.

1.7 黄酮化合物的鉴定

取提取物适量,文[17-18]方法进行黄酮化合物的鉴定.

2 结果与讨论

2.1 标准曲线回归方程及相关系数

实验测得标准曲线回归方程为

$$y = 0.01134x - 0.00096,$$

复相关系数 $R^2 = 0.9994$,在 8.0~56.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内线性关系良好.

2.2 单因素实验结果

2.2.1 微波功率对黄酮得率的影响

微波的功率为 100、150、200、300 W 时,试验结果如图 1 所示.当微波功率为 100~200 W 时,提取率随微波功率增加而增大,在 200 W 时提取率最大.因为微波对植物细胞壁破碎作用有利于黄酮溶出,微波功率越大对植物细胞壁的破碎度越高,溶解在溶液中的有效成分增大.功率为 200 W 之后提取率有所下降,可能由于功率太大使微波炉内温度较高,造成黄酮分解或被氧化所致.

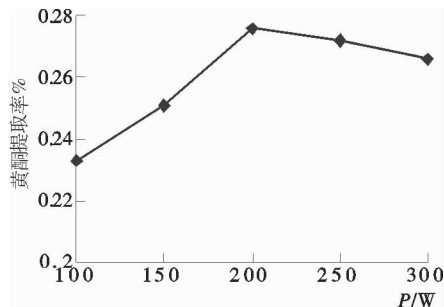


图 1 微波功率对黄酮得率的影响

2.2.2 微波时间对总黄酮得率的影响

在提取时间为 1、1.5、2、2.5、3 min 时,试验结果如图 2 所示.微波时间 120 s 时提取率最大.因为随提取时间增加,微波作用于柚皮更充分,溶出黄酮也增多,提取量加大.但提取时间过长,会导致黄酮氧化,使提取率降低.

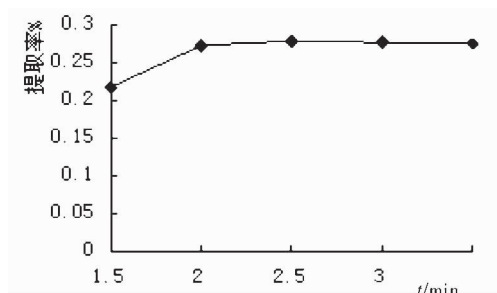


图 2 微波时间对总黄酮得率的影响

2.2.3 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

在乙醇浓度为 40%、50%、60%、70% 时,试验结果如图 3 所示.总黄酮提取率随着乙醇浓度的升高而增加,在乙醇浓度 60% 处达到最高,随后又逐渐降低.因为黄酮是醇溶性物质,乙醇浓度越高,黄酮更加容易扩散到提取剂中来,故提取率会增加,但乙醇的浓度过高,挥发程度加大,杂质溶出量增加,会降低黄酮的提取率.因此,确定乙醇浓度 60%.

2.2.4 料液比对提取率的影响

在料液比分别为 1:20、1:30、1:40、1:50、

1 : 60、1 : 70、1 : 80 时,试验结果如图 4. 随着液料比的增加,由于黄酮的醇溶性好,增加溶剂的用量有利于黄酮向提取液中扩散,致黄酮提取率增加,在乙醇为 1 : 70 时出现一个峰值,随后提取率下降. 因为液固比过高,乙醇与皮粉接触降低,影响了黄酮的渗出,致使黄酮溶出减少,降低提取率,且加大溶剂用量,提取率无明显增大,同时会增加提取成本.

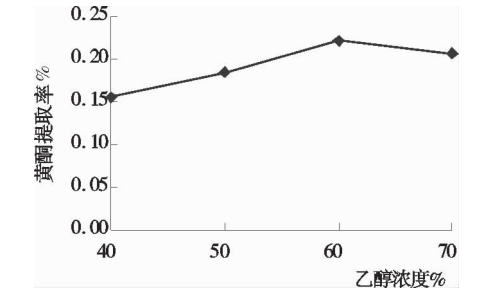


图 3 乙醇浓度对总黄酮得率的影响

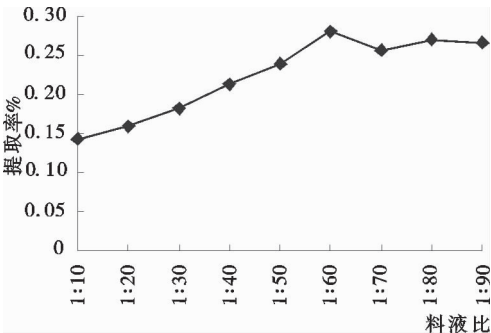


图 4 料液比对总黄酮得率的影响

2.3 黄酮类化合物的鉴定结果

取提取物适量,分别加入 FeCl₃ 溶液、Na₂CO₃ 溶液、浓硫酸,实验结果见表 1.

表 1 提取液的定性鉴定结果

检验试剂	FeCl ₃	Na ₂ CO ₃	H ₂ SO ₄ (浓)
颜色	墨绿色	黄色	橙红色

由此说明黄酮类化合物存在.

2.4 正交试验

以提取时间、料液比、微波功率和微波处理时间作为研究因素进行正交设计,采用 L₉(3⁴)正交表进行试验. 正交表的各因素水平见表 2,试验结果见表 3.

表 2 L₉(3⁴)正交试验因素水平

因素水平	A	B	C	D
1	50	1 : 50	150	90
2	60	1 : 60	200	120
3	70	1 : 70	250	150

注 A 为乙醇浓度/%, B 为料液比/(g/mL), C 为提取

功率/W, D 为提取时间/s,下同

表 3 L₉(3⁴)正交试验结果分析

编号	A	B	C	D	总黄酮得率(%)
1	1	1	1	1	0.172
2	1	2	2	2	0.198
3	1	3	3	3	0.217
4	2	1	2	3	0.213
5	2	2	3	1	0.231
6	2	3	1	2	0.237
7	3	1	3	2	0.261
8	3	2	1	3	0.262
9	3	3	2	1	0.250
$\overline{X_1}$	0.196	0.215	0.224	0.218	
$\overline{X_2}$	0.227	0.23	0.22	0.232	
$\overline{X_3}$	0.258	0.235	0.236	0.231	
极差	0.062	0.02	0.016	0.014	

可以看出:提取时间、微波功率、料液比及乙醇浓度等因素对柚果皮中总黄酮提取率都有影响. 最佳提取条件为 A₃B₃C₃D₂,即乙醇浓度为 70%、料液比为 1 : 70. 微波功率 250W 时、提取时间为 120 s. 其影响的主次顺序为:乙醇浓度>料液比>微波功率>提取时间. 在最优条件下进行 4 次平行验证实验,实验的提取率分别为 0.276%、0.268%、0.270%、0.275%,平均提取率为 0.272%. 由此说明方法稳定性好,实验可行.

3 结论

实验采用单因素联合正交试验设计微波法提取了沙溪蜜柚丢弃的果皮中的黄酮,结果表明:提取时间、微波功率、料液比及乙醇浓度等因素对柚果皮中总黄酮提取率都有影响. 最佳提取条件为:微波功率 250W,乙醇浓度 70%、提取时间 120s、料液比 1:70. 该实验方法简单可行、耗时短,在最佳条件黄酮的提取率为 0.272%. 微波方法作为一种提取天然产物活性成分分离提取的新技术,具有条件温和、耗时短、快速的特点. 此法为充分利用沙溪蜜柚资源,减少环境的污染,提高沙溪蜜柚的附加值提供了一个可行的途径.

参考文献:

[1] 罗锋,王咏梅,舒尊哲,等. 甘草黄酮的提取及影响活性因素研究 [J]. 四川师范大学学报:自然科学版,2006,29(5):613-615.

[2] 焦士蓉,黄承钰. 柑橘属类黄酮生物活性的研究进展 [J]. 西华大学学报:自然科学版,2008,27(1):32-36.

[3] 文良娟,刘昊,王维. 不同品种芒果总黄酮的抗氧化活性 [J].

- 食品科学, 2011, 32(19): 79-82.
- [4] 王晓波, 车海萍, 陈海珍, 等. 榴莲壳内果皮胶多糖和黄酮对重金属吸附作用的研究 [J]. 食品工业科, 2011, 32(12): 129-131, 135.
- [5] 张来, 杨碧昌, 刘宁. 植物黄酮类化合物在医药上的应用 [J]. 安顺学院学报, 2010, 12(2): 84-88.
- [6] 阮尚全, 王志鹏, 黄雀红, 等. 双水相-超声波提取榴莲果皮总黄酮的工艺研究 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1722-1725.
- [7] 李宇亮, 关卫省, 石旭东, 等. 基于微波破壁处理的超声提取桑叶中黄酮的工艺研究 [J]. 2009, 38(8): 1090-1092.
- [8] 胡楠, 方波, 陈晶晶, 等. 表面活性剂强化微波提取花生壳黄酮的工艺研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(3): 200-203.
- [9] 徐清萍, 安广杰, 常法玲. 酶法提取怀菊花总黄酮工艺研究 [J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2010, 25(5): 31-34.
- [10] 张胜帮, 赵玲玲. 黄酮类化合物的提取纯化研究进展 [J]. 温州大学学报: 自然科学版, 2007, 28(5): 25-29.
- [11] 余晓晖, 赵磊, 侯嘉, 等. 不同提取方法对淫羊藿中总黄酮提取率的比较 [J]. 中成药, 2011, 33(7): 1257-1259.
- [12] 何熹, 韩宁. CO₂ 超临界萃取法提取玫瑰类黄酮及其保健功能研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26): 12699-12700.
- [13] 王娟, 沈平姨, 沈永嘉. 微波辅助萃取葛根和刺五加微观机制的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(1): 31-33.
- [14] 傅荣杰, 冯怡. 微波萃取技术在天然产物提取中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 804-807.
- [15] 孟甜, 李玉锋, 黄智龙. 微波辅助提取大花红景天中总黄酮的工艺研究 [J]. 西华大学学报: 自然科学版, 2010, 29(5): 91-94.
- [16] 杨芙莲, 何琳. 不同方法提取甜荞麦麸皮总黄酮研究 [J]. 粮食与油脂, 2008(8): 42-44.
- [17] 李琪, 廖颖, 张宏, 等. 枇杷花中黄酮的分离鉴别研究 [J]. 食品与发酵科技, 2011, 47(1): 86-88.
- [18] 李敏, 吴茜, 张景林, 等. 桑叶黄酮提取分离方法研究 [J]. 应用化工, 2010, 39(6): 790-795.

Extraction of Flavonoids from Shaxi Pomelo Peel by Microwave Technology

HUANG Yi¹, HE Hui-rong¹, ZHAO Qing¹, LIU Kai¹, RUAN Shang-quan^{1,2}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Neijiang Normal University, Neijiang, Sichuan 641100, China;
2. College Key Laboratory of Fruit Waste Treatment and Resource Recycling of the Sichuan Province, Neijiang, Sichuan 641100, China)

Abstract: In order to extract flavonoids from Shaxi pomelo peel by the microwave method, Shaxi pomelo peel was taken as raw material, microwave power, the extraction time, ethanol concentration, ratio of material to liquid on the extraction rate of flavonoids were subjected to research. The optimal conditions for the extraction of flavonoids through L₉(3⁴) orthogonal experimental design are as follows: microwave power 250W, radiation time 2min, ethanol concentration 70%, ratio of solid to liquid 1:70. The extraction rate of flavonoids under the optimal conditions was 0.272%.

Key words: microwave; Shaxi pomelo peel; flavonoids

(责任编辑: 胡 蓉)