

超声波辅助提取库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮的工艺研究

乌英¹, 解云², 古娜娜·对山别克¹, 海力茜·陶尔大洪^{1*}

(1. 新疆医科大学药学院药分/分析教研室, 新疆乌鲁木齐 830011; 2. 新疆友谊医院药学部, 新疆乌鲁木齐 830000)

摘要 [目的]研究库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮的最佳提取工艺。[方法]以乙醇为溶剂,采用超声波辅助提取,紫外-可见分光光度法测定库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮的含量,以总黄酮含量为指标,考察提取温度、料液比、醇浓度、提取次数对库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮提出率的影响。对照品溶液和供试品溶液均在371 nm处有最大吸收,回归方程为 $A=0.0551C-0.0075$, $r=0.9998$ ($0\sim 16\ \mu\text{g}/\text{ml}$)。[结果]最终确定香梨果肉中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇浓度75%,提取时间2 h,提取温度40℃,提取次数为1次;果皮中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇浓度85%,提取时间1.0 h,提取温度40℃,提取次数为3次。库尔勒香梨果肉和果皮中平均总黄酮得率分别为1.79和5.12 mg/g。[结论]通过稳定性、精密度和回收率试验检验了该方法的可靠性和重现性。

关键词 库尔勒香梨果肉和果皮;超声提取;总黄酮

中图分类号 S661.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)26-09148-02

Study on Extraction Technology of Total Flavonoid from *Pyrus bretschneideri* Rehd Peel and Pulp by Ultrasonic Assisted Extraction

WU Ying, HAILIXI Taoradahong et al (College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011)

Abstract [Objective] To study the optimum extraction technique for total flavonoids from *Pyrus bretschneideri* Rehd fruit and peel. [Method] Ethanol as a solvent, using ultrasonic assisted extraction, UV-visible spectrophotometry was adopted to extract total flavonoids from fruit and peel of *Pyrus bretschneideri* Rehd. Effects of extraction temperature, solid-liquid ratio, ethanol concentration, extraction times on total flavonoids extraction yield were investigated. The reference solution and the test solution are maximum absorption at 371 nm. The regression equation is $A=0.0551C-0.0075$, $r=0.9998$ ($0\sim 16\ \mu\text{g}/\text{ml}$). [Result] Eventually determine the optimum extraction conditions of total flavonoids in *Pyrus bretschneideri* Rehd pear flesh as follows: 75% ethanol concentration, extraction time 2 hours, extraction temperature 40℃, extraction times for 1 times. The best extraction conditions for total flavonoids in flesh: ethanol concentration 85%, 1.0 hours extraction time, extraction temperature 40℃, extraction times for 3 times. *Pyrus bretschneideri* Rehd in the pulp and peel, the average yield of flavonoid were 1.79 and 5.12 mg/g. [Conclusion] Through the stability, precision and recovery experiment examined the reliability and reproducibility of the method.

Key words *Pyrus bretschneideri* Rehd peel and pulp; Ultrasonic extraction; Total flavonoids

新疆库尔勒香梨(*Pyrus Bretschneideri* Rehd)为蔷薇科梨属中的白梨品种,其种植历史已有1400~2000年^[1-2],在新疆的种植面积广、年产量高,果皮为黄绿色或略带红色,具有细嫩、多汁、甘甜、香味浓郁等特点,同时香梨富含果糖、苹果酸、维生素、矿物质等营养成分。现代药理研究表明,香梨具有抗氧化、抗溃疡、抗炎、镇咳祛痰平喘、抑菌、抗癌等功效^[3]。

目前已分离出的黄酮类化合物总数超过4000个,广泛用于医药领域。黄酮类化合物可降低血管脆性及异常的通透性,可降血脂,降血压,抑制血小板聚集及血栓的形成,有抗肝脏病毒、抗炎抗菌、抗癌防癌、抗氧化及抗衰老等作用^[4]。目前,对库尔勒香梨的研究大多还停留在保鲜加工方面,还未见对库尔勒香梨中黄酮物质的提取、纯化、应用等的研究报道。笔者通过对超声波辅助提取库尔勒香梨中黄酮物质的工艺进行研究,确定提取溶剂与应用的浓度、提取时间等参数,为库尔勒香梨资源的充分开发利用提供依据^[5-6]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。干燥、粉碎的新疆库尔勒香梨的果皮和果肉。

基金项目 新疆少数民族科技骨干人才特殊培养基金项目(200723-105)。

作者简介 乌英(1988-),女,新疆乌苏人,硕士研究生,研究方向:天然药物提取分离鉴定。*通讯作者,维吾尔族,教授,硕士生导师,从事天然药物化学成分活性研究。

收稿日期 2014-07-07

1.1.2 仪器。UV9100D型紫外可见分光光度计,北京莱伯泰科仪器有限公司;BS224型电子分析天平,德国赛多利斯公司;SK5200HP超声清洗器,上海科导超声仪器有限公司;RE-52A旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器。

1.1.3 试剂。芦丁对照品(批号:100080-200707),中国药品生物制品检定所;乙醇(95%),天津市富宇精细化工有限公司,分析纯;5%亚硝酸钠溶液、10%硝酸铝溶液、4%氢氧化钠溶液,均采用分析纯,现配现用;试验用水为蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 香梨黄酮标准曲线的制备。黄酮的标准品为芦丁,分别精密吸取芦丁对照品溶液(0.08 mg/ml)0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml于25 ml容量瓶中,加入5%亚硝酸钠溶液1.0 ml,摇匀,放置6 min,加入10%硝酸铝溶液1.0 ml,摇匀,放置6 min,加入4%氢氧化钠溶液10.0 ml,再加入75%乙醇至刻度,摇匀,放置15 min,以不加对照品溶液的相应溶液为空白对照,在371 nm波长处测定吸光度,以对照品溶液浓度(C)为横坐标,吸光度(A)为纵坐标,得校准曲线 $A=0.0551C-0.0075$, $r=0.9998$,线性范围在 $0\sim 16\ \mu\text{g}/\text{ml}$,表明线性关系良好。

1.2.2 超声波辅助提取总黄酮。精密称取1.0 g干燥的库尔勒香梨果肉和果皮适当粉碎于锥形瓶中,以总黄酮含量为评价指标,分别考察不同提取温度、不同含乙醇量、不同提取次数、不同提取时间在超声波条件下对萃取库尔勒香梨中总黄酮的影响。根据单因素试验结果,选取主要影响因素及合适的水平进行正交试验,确定香梨果肉和果皮中黄酮提取的

最佳条件工艺条件。

1.2.3 测定液的制备。准确移取香梨果肉供试品溶液 5.0 ml、香梨果皮供试品溶液 3.0 ml,于 25 ml 容量瓶中,加入 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 ml,摇匀,放置 6 min,加入 10% 硝酸铝溶液 1.0 ml,摇匀,放置 6 min,加 4% 氢氧化钠溶液 10.0 ml,再加入 60% 乙醇至刻度,摇匀,放置 15 min,得测定液备用。

1.2.4 最大吸收波长的选择。准确移取对照品溶液和供试品溶液,按“1.2.1 标准曲线的制备”方法平行显色,以试剂作为空白对照,在波长 200~700 nm 范围内进行连续波长扫描。结果表明,对照品溶液及供试液均在 371 nm 处有最大吸收,故选择 371 nm 处为测定波长。

1.2.5 样品含量的测定。根据单因素试验结果取最佳提取条件,提取 9 份供试品溶液,按“1.2.1”项下依法测定各个溶液的吸光度,并根据回归曲线方程计算总黄酮的浓度,推算出库尔勒香梨果肉和果肉中总黄酮的含量。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对提取效果的影响。精密称取干燥香梨果皮及果实各 1.000 0 g,置于 250 ml 锥形瓶中,按提取时间为 1 h,温度 60 ℃,提取次数为 1 次,乙醇浓度为 40%、50%、65%、75%、85%、95%,进行超声辅助萃取,然后浓缩定容至 50 ml 容量瓶中,按“1.2.3”项下加入试剂显色,最后定容至刻度,在 371 nm 处测定吸收度,计算总黄酮含量。试验得出,香梨果肉中总黄酮的含量随着乙醇浓度的增加而有所提高,但当乙醇浓度 > 75% 时,增加幅度很小。香梨果皮中总黄酮的含量当乙醇浓度 > 85% 时,增加幅度较小,所以确定了 3 个最佳料液比来进行香梨黄酮提取的正交试验。

2.1.2 提取时间对提取效果的影响。精密称取干燥香梨果皮及果实 1.000 0 g,置于 250 ml 锥形瓶中,按料液比 1:20 g/ml 加入 75% 乙醇,温度 60 ℃,提取次数为 1 次,分别按提取时间 30、60、90、120、180 min 进行回流,然后浓缩定容至 50 ml 容量瓶中,按“1.2.3”项下加入试剂显色,最后定容至刻度,在 371 nm 处测定吸收度,计算总黄酮含量。根据得到的香梨黄酮含量可得知,香梨果肉中总黄酮随时间的增长提取量越高,超声时间 120 min 后变化较小;香梨果皮中总黄酮提取量则在超声时间 90 min 内可以得到较高水平。

2.1.3 提取温度对提取效果的影响。精密称取干燥香梨果皮及果实 1.000 0 g,置于 250 ml 锥形瓶中,按料液比 1:20 g/ml 加入 75% 乙醇,提取次数为 1 次,分别按提取温度 20、40、60、80、100 ℃ 进行回流,然后浓缩定容至 50 ml 容量瓶中,按“1.2.3”项下加入试剂显色,最后定容至刻度,在 371 nm 处测定吸收度,计算总黄酮含量。试验得出,香梨果肉和果皮中总黄酮提取量在 40 ℃ 时含量最高。

2.1.4 提取次数对提取效果的影响。精密称取干燥香梨果皮及果实 1.000 0 g,置于 250 ml 锥形瓶中,按料液比 1:20 g/ml 加入 75% 乙醇,提取温度 60 ℃,提取时间 1 h,分别按提取次数为 1、2、3、4、5 次进行回流,然后浓缩定容至 50 ml 容量瓶中,按“1.2.3”项下加入试剂显色,最后定容至刻度,在

371 nm 处测定吸收度,计算总黄酮含量。由试验可知,总黄酮提取量随着超声次数的增加而提高,但超声次数为 3 次时,总黄酮的提取量最高。

根据单因素试验结果确定了库尔勒香梨果肉及果皮进行正交试验的最佳因素水平,见表 1、2。

表 1 香梨果肉正交试验因素水平

水平	因素			
	乙醇浓度 (A)//%	提取温度 (B)//℃	提取次数 (C)//次	提取时间 (D)//min
1	50	40	1	60
2	65	60	2	90
3	75	80	3	120

表 2 香梨果皮正交试验因素水平设计

水平	因素			
	乙醇浓度 (A)//%	提取温度 (B)//℃	提取次数 (C)//次	提取时间 (D)//min
1	65	20	1	30
2	75	40	2	60
3	85	60	3	90

2.2 正交试验结果 由表 3 可知,各因素水平对香梨中果肉总黄酮的影响顺序为乙醇浓度(A) > 提取时间(D) > 提取次数(C) > 温度(B),即 $A_3D_3C_1B_1$ 。结合方差分析,可知 A、B、C、D 因素的 P 均小于 0.05,有显著差异,果肉中各因素对试验的影响大小为: $A > D > C > B$,该结果与直观分析的结果一致,所选条件成立:即乙醇浓度 75%,提取时间 2 h,提取温度 40 ℃,提取次数为 1 次。

表 3 库尔勒香梨果皮中总黄酮提取正交试验结果 $L_9(3^4)$

试验号	因素				总黄酮含量//mg/g	
	乙醇浓度(A)	温度(B)	提取次数(C)	提取时间(D)	果肉	果皮
1	1	1	1	1	1.616 2	4.324 0
2	1	2	2	2	1.663 4	5.381 9
3	1	3	3	3	1.741 8	5.093 0
4	2	1	2	3	1.865 3	5.251 0
5	2	2	3	1	1.535 0	5.474 1
6	2	3	1	2	1.834 9	4.331 0
7	3	1	3	2	2.086 0	6.061 0
8	3	2	1	3	2.088 0	4.802 6
9	3	3	2	1	1.721 0	5.388 7
\bar{K}_1 果肉	1.673 8	1.855 8	1.846 4	1.624 1		
\bar{K}_2 果肉	1.745 1	1.762 1	1.749 9	1.861 4		
\bar{K}_3 果肉	1.965 0	1.765 9	1.787 6	1.898 4		
\bar{R}_1 果肉	0.291 2	0.093 7	0.096 5	0.274 3		
\bar{K}_1 果皮	4.933 0	5.212 0	4.485 9	5.062 3		
\bar{K}_2 果皮	5.018 7	5.219 5	5.340 5	5.258 0		
\bar{K}_3 果皮	5.417 4	4.930 6	5.542 7	5.048 9		
\bar{R}_2 果皮	0.484 4	0.288 9	1.056 8	0.209 1		

各因素水平对香梨中果皮中总黄酮的影响顺序为提取次数(C) > 乙醇浓度(A) > 温度(B) > 提取时间(D),即 $C_3A_3B_2D_2$ 。结合方差分析,可知 A、B、C、D 因素的 P 均小于

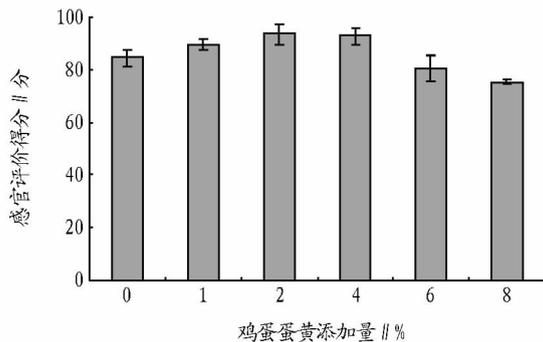


图4 鸡蛋蛋黄添加量对面条感官品质的影响

由图4可以看出,随着鸡蛋蛋黄添加量的增加,面条感官品质先升高后降低,鸡蛋蛋黄添加量为2%时,面条感官评价得分最高,继续增加鸡蛋蛋黄添加量,面条适口性、韧性和光滑性等方面都有所提高,但面条颜色和食味降低。鸡蛋蛋黄添加量超过6%,随着添加量的增加,面条的蛋腥味不断增强,颜色不断加深,整体感官评价得分大幅度下降。

3 结论

鸡蛋蛋黄中含有丰富的蛋白质和脂质,同时含有微量元素、维生素和色素等物质。面条加工的过程中添加鸡蛋蛋黄可以有效增加面条中营养物质的含量,同时添加适当比例蛋黄可以有效改善面条的品质。添加适当比例的鸡蛋蛋黄能够降低面条的弯曲断条率和干物质失落率,增加面条的吸水

率。鸡蛋蛋黄与食盐复合添加能提高面条感官品质,对面条的适口性、韧性、粘性、光滑性等方面有比较明显的改良作用。试验得出,鸡蛋蛋黄添加量为2%,食盐添加量为2%,面条感官评价为93.4分。

参考文献

- [1] 熊丝丝,龚千锋,宁希鲜,等. 鸡蛋蛋黄的研究进展[J]. 赣南医学院学报,2014,34(2):313-320.
- [2] 李慧东,严佩峰. 畜产品加工技术[M]. 北京:化学工业出版社,2008.
- [3] LI CHAN E C Y, KIM H O. Structure and chemical composition of eggs [M]//MINE Y. Egg Bioscience and Biotechnology. NJ: Wiley, Hoboken, 2008:1-95.
- [4] 安艳霞,李水莲,王亚平,等. 小麦麸皮的功能成分及加工利用现状[J]. 食品工业,2011(2):41-43.
- [5] 中华人民共和国国家统计局. 2012年全国粮食生产再获丰收[R]. 2012.
- [6] 刘占德,安成立,张改生,等. 猕猴桃等添加物改良面条加工品质及强化营养品质研究[J]. 中国食品学报,2012,12(1):83-90.
- [7] 林江涛,郝学飞,卞科. 在我国开展面粉营养强化应注意的几个问题[J]. 粮食与饲料工业,2006(1):13-15.
- [8] TRAYNHAM T L, CARRIQUIRY A L. Evaluation of water-holding capacity for wheat-soy flour blends[J]. J Amer Oil Chem Soc, 2007, 84:151-155.
- [9] 刘延奇,杨留枝,陶颜娟,等. 氧化淀粉对面条品质的影响研究[J]. 食品工业科技,2006,27(11):65-68.
- [10] 赵殷勤,吴霜,谢良,等. 鸡蛋蛋白对面条品质的影响研究[J]. 粮油食品科技,2013,21(6):51-53.
- [11] 杜巍,魏益民,张国权,等. 小麦品质与面条品质关系的研究[J]. 西北农林科技大学学报,2001,29(3):24-28.
- [12] 林琳. 小麦麸皮的营养成分及其开发利用[J]. 农业科技与装备,2010,189(3):41-44.

(上接第9149页)

0.05,有显著差异,果皮中各因素对试验的影响大小为:C>A>B>D,该结果与直观分析的结果一致,所选条件成立:乙醇浓度85%,提取时间1.0h,提取温度40℃,提取次数为3次。

2.3 提取工艺验证

2.3.1 重现性试验。精密称取3份干燥的库尔勒香梨果肉和果皮,每份1.0g,按最佳工艺提取,按“1.2.3”项下显色处理后于371nm波长处测定吸光度,求得果肉的RSD=0.02%(n=6),果皮的RSD=0.3%,表明所选工艺合理可行。

2.3.2 精密度试验。精密称取6份干燥的库尔勒香梨果肉和果皮,每份1.0g,按最佳工艺提取,按“1.2.3”项下显色处理后于371nm波长处测定吸光度。求得果肉RSD=0.8%(n=6),果皮的RSD=0.45%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 加样回收率试验。精密称取1.0g 6份库尔勒香梨果肉和果皮至250ml锥形瓶中,经提取显色处理浓缩后放置50ml容量瓶,按低、中、高浓度分别加入芦丁对照品1ml(80μg),2ml(160μg),3ml(240μg),稀释至刻度。于371nm波长处测定吸光度。结果表明,果肉平均回收率为100.12%,RSD=1.3%(n=6),果皮平均回收率为98.5%,RSD=0.8%(n=6)。

2.3.4 稳定性试验。取供试品2ml至25ml容量瓶中按“1.2.3”项下显色处理,分别于0、5、10、15、20、25、30min测

定吸光度,表明其显色后30min中基本稳定,求得果肉RSD值为0.3%(n=6),果皮RSD值=0.5%(n=6),表明稳定性良好。

3 讨论

该试验采用超声波辅助提取库尔勒香梨中的总黄酮,考察了超声波对库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮提取效果的影响。结果表明,超声波对库尔勒香梨果肉和果皮中总黄酮的提取过程影响明显,且通过单因素和正交试验确定了影响库尔勒香梨果肉中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇浓度75%,提取时间2h,提取温度40℃,提取次数为1次。果皮中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇浓度85%,提取时间1h,提取温度40℃,提取次数为3次。库尔勒香梨果肉和果皮中平均总黄酮得率分别为1.79和5.12mg/g,该研究为开发和利用香梨有效部位提供了理论依据。

参考文献

- [1] 高启明,侯江涛,李疆. 库尔勒香梨生产现状与研究进展[J]. 中国农学通报,2005,21(2):233-236.
- [2] 赵小亮,白红进,汪河滨,等. 杜梨果实多糖提取方法及含量测定的研究[J]. 西北农业学报,2007,16(4):279-281.
- [3] 张靖,张俊英,高文远. 梨属药用植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药,2012,43(10):2077-2082.
- [4] 帕丽达·阿布利孜,海力茜·陶尔大洪,古娜娜·对山别克. 正交设计优选维药恰玛古总黄酮的提取工艺[J]. 光谱实验室,2013,30(2):684-688.
- [5] 拜年,郭卉,海力茜·陶尔大洪,等. 苯酚-硫酸法测定恰麻古儿中多糖的含量[J]. 新疆医科大学学报,2010,33(11):1310-1311.
- [6] 海力茜·陶尔大洪,巴吐尔·买买提明,帕丽达. 天山岩黄芩根中总黄酮超声提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(7):1695-1696.