

胡柚皮中类黄酮素提取及残渣综合利用工艺研究

曾惠明¹, 徐天有^{1*}, 石玲丽², 吕亮¹, 李建光¹

(1. 衢州学院化学与材料工程学院, 浙江衢州 324000; 2. 浙江省衢州市开化县环保局, 浙江开化 324300)

摘要 采用单因素法对比乙醇浸提、微波提取、超声波提取以及组合工艺提取类黄酮素的效果, 优化其工艺参数。然后, 再将提取残渣分别进行碱化、醇化预处理, 进行柠檬酸和季铵盐接枝改性, 以 Cu^{2+} 和 F^- 作为模型离子, 进行静态吸附和动力学试验。结果表明, 三元组合工艺类黄酮素提取率在同等其他条件下比二元法提高了 13.9%。优化后的提取条件如下: 70% (V/V) 乙醇溶液(浸提比 1:10)浸泡下, 依次于 40 kHz 200 W 超声振荡 9 min, 400 W 微波加热 8 min, 80 °C 加热回流 3 h, 可获得 3.17 mg/g 提取率。25 °C 柠檬酸残渣改性吸附剂对 Cu^{2+} 的吸附等温线符合 Langmuir 模型 $G = G_0 c / (A + c)$, $G_0 = 0.99 \text{ mg/g}$, $A = 5.95 \text{ mg/g}$ 。季铵盐残渣改性吸附剂对 F^- 的吸附等温线符合 Freundlich 模型 $G = ac^b$, $a = 0.0066$, $b = 3.55$ 。吸附动力学研究表明, 阳离子的吸附饱和时间为 10 min, 阴离子的吸附饱和时间为 5 min。这表明从胡柚皮中提取类黄酮素后, 其残渣经化学改性后成为离子吸附剂在技术上具有可行性。

关键词 胡柚皮; 类黄酮素提取; 接枝改性; 离子吸附性能

中图分类号 X712 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)14-0185-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.14.055



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Technology of Extracting Flavonoids from Huyou Pomelo Peel and Comprehensive Utilization of Residues

ZENG Hui-ming¹, XU Tian-you¹, SHI Ling-li² et al (1. College of Chemical and Material Engineering, Quzhou University, Quzhou, Zhejiang 324000; 2. Kaihua Environmental Protection Bureau in Zhejiang Province, Quzhou, Zhejiang 324300)

Abstract The single factor experiment was used to compare the effects of extracting flavonoid by ethanol extraction, microwave extraction, ultrasonic extraction and combination extraction process, and the process parameters were optimized. The extraction residue was alkalinized and pre-treated by isopropanol, and the citric acid and quaternary ammonium were chosen as grafting and modifying reagent, and Cu^{2+} and F^- were used as model ions to carry out static adsorption and kinetic experiments. The results showed that the extraction rate of flavonoid by the ternary combination extraction process was 13.9% higher than that by the binary method in the same other conditions. The optimized extraction conditions were as follows: 70% (V/V) ethanol solution (leaching ratio of 1:10), soaked in 40 kHz, 200 W ultrasonic vibration for 9 min, 400 W microwave heating for 8 min, and heating reflux at 80 °C for 3 h, the extraction rate of flavonoids was 3.17 mg/g. The adsorption isotherm of the adsorbent modified by citric acid to 25 °C Cu^{2+} solution accorded with the Langmuir model $G = G_0 c / (A + c)$, $G_0 = 0.99 \text{ mg/g}$, $A = 5.95 \text{ mg/g}$. The adsorption isotherm of adsorbent modified by quaternary ammonium to F^- accorded with Freundlich model $G = ac^b$, $a = 0.0066$, $b = 3.55$. Adsorption kinetics studies showed that the adsorption saturation time of the cation was 10 min and that of the anion was 5 min. These showed that the residue after extracting flavonoids from Huyou pomelo peel was chemically modified to become an ion sorbent, which was technically feasible.

Key words Huyou pomelo peel; Flavonoid extraction; Graft modification; Ion adsorption property

浙江省衢州常山地区柑橘、胡柚种植面积巨大, 占乡村居民收入的比例较高。在食用或罐头、饮料加工过程中, 外皮往往作为废弃物被处理, 造成固体废弃物大量增加, 甚至导致环境污染。柑橘或胡柚皮中含有丰富的类黄酮素和纤维素, 若实现资源化利用, 具有巨大的经济效益和环境效益。

目前, 橘皮中类黄酮素的提取工艺包括热回流法^[1]、微波辅助法^[2-5]、超声波辅助法^[6-8]等, 试验效果良好, 并获得各种优化工艺参数。同时, 植物细胞壁含有丰富的纤维素, 天然高分子纤维素具有巨大的比表面积和羟基, 易生化降解, 其作为吸附剂具有天然优势, 近年来对天然纤维素改性的应用研究也较多^[9-12], 发现将其改性后对水中的荷电颗粒或离子具有静电吸附力, 因而成为絮凝剂或吸附剂等具有特殊功能的水处理材料。

由于提取和改性 2 个工艺步骤较多, 操作繁琐, 使天然纤维素的经济价值受到一定影响。笔者利用多种提取方法组合提取胡柚皮中的类黄酮素, 优化工艺参数, 再将洗净后

的残渣碱化和醇化, 进一步改性反应。有机结合提取和改性工艺, 获得一种对离子具有吸附性能的胡柚皮纤维素吸附剂。

1 材料与方法

1.1 材料及其预处理 将新鲜的胡柚皮晒干, 用压碎机压成粉末, 过 100 目筛, 得到胡柚皮粉, 备用。

1.2 试剂与设备 试剂有异丙醇(AR)、98%乙醇(AR)、柠檬酸(AR)、3-氯-2-羟丙基三甲基氯化铵(AR)、2,3-环氧丙基三甲基氯化铵(AR)、亚硝酸钠(AR)、硝酸铝(AR)等; 主要设备有超声清洗机(PS-60A)、微波炉[美的 PJ17F-F(Q)]、pH 酸度计(PHS-3C)等。

1.3 试验方法 以胡柚皮粉为原料, 分别利用乙醇加热浸提法、微波浸提法和超声浸提法提取类黄酮素。通过单因素试验, 以提取率为控制指标, 分别优化乙醇浸提法中的浸提液浓度、浸提时间等工艺参数, 再以优化参数进行微波浸提辅助法和超声浸提辅助法组合工艺提取试验, 优化微波时间、超声时间等参数。然后, 以优化参数进行超声-浸提、微波-浸提、微波-超声和超声-微波-浸提三元组合工艺进行提取试验, 考察组合工艺的协同效应。最后, 以提取后的胡柚皮渣纤维素为原料, 进行碱化、醇化预处理。在 2 份预处理胡柚皮渣中分别加入柠檬酸和 2,3-环氧丙基三甲基氯化铵进

基金项目 浙江省科技厅公益性项目(2017C33229); 国家自然科学基金项目(21476127, U1607119)。

作者简介 曾惠明(1981—), 男, 浙江遂昌人, 副教授, 博士, 从事环保新材料及工业废水处理研究。* 通信作者, 副教授, 硕士, 从事工业废水处理研究。

收稿日期 2019-01-02

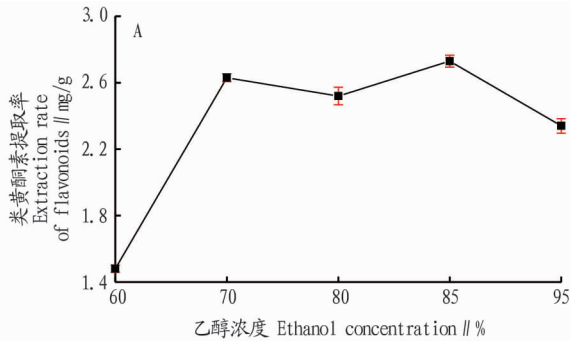
行接枝改性反应,清洗后分别进行对重金属 Cu^{2+} 和阴离子 F^- 的恒温静态吸附性能,并考察其吸附动力学行为。

1.4 检测方法 ①黄酮素含量的测定采用分光光度法^[13-14],根据芦丁曲线计算类黄酮素的含量;②溶液中铜离子的测定参照 DLT 502.14—2006《火力发电厂水汽分析方法》;③氟离子的测定参照 WS/T 88—2012,利用氟离子电极进行测定。

2 结果与分析

2.1 胡柚皮中类黄酮素提取工艺

2.1.1 乙醇加热回流浸提。在体积浓度(V/V)为60%~95%范围内配制5种乙醇溶液,设定浸提比为10:1(即每个样品包含1g胡柚皮粉和10g乙醇溶液),在温度为80℃恒温水浴锅中采用冷凝管回流装置浸提4h,测定平衡溶液中的类



黄酮素的含量,结果如图1所示。以优选85%(V/V)的乙醇浸提,保持其他条件不变,探讨浸提时间与提取率的关系,结果如图1B所示。

从图1A可以看出,类黄酮素的提取率先随乙醇浓度的升高而上升,当乙醇浓度大于70%以后变化趋于平缓,当乙醇浓度高于85%后类黄酮素的提取率有所下降,当乙醇溶液浓度为85%时其提取率最高(2.73 mg/g)。这说明极性较小的乙醇比水更容易溶解胡柚皮中的类黄酮素,从而将其分离出来。当乙醇浓度超过一定限度后,乙醇溶液的沸点降低,不利于类黄酮素的溶解和提取。从图1B可以看出,当浸提时间为3h,类黄酮素提取率最高(3.08 mg/g),此后趋于平稳,表明该条件下溶解已经达到平衡。

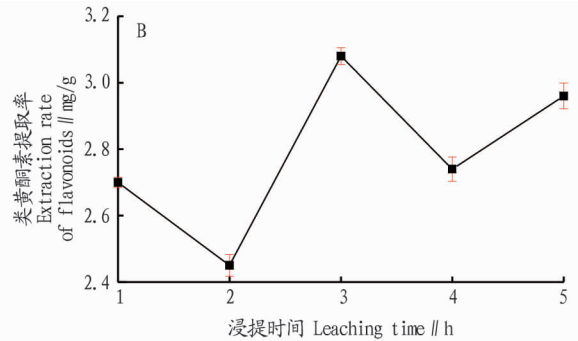


图1 乙醇浓度(A)和浸提时间(B)对类黄酮素提取率的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration and leaching time on the extraction rate of flavonoids

2.1.2 超声辅助浸提和微波辅助浸提。分别取30份1g过100目筛后的胡柚皮粉末及10g80%的乙醇溶液置于30个碘量瓶,分成2组,初始为常温,分别用40kHz,200W超声振荡和400W微波加热,作用时间分别为2、4、6、8和10min,3个重复。离心分离出上清液,测定类黄酮素浓度,结果如图2所示。

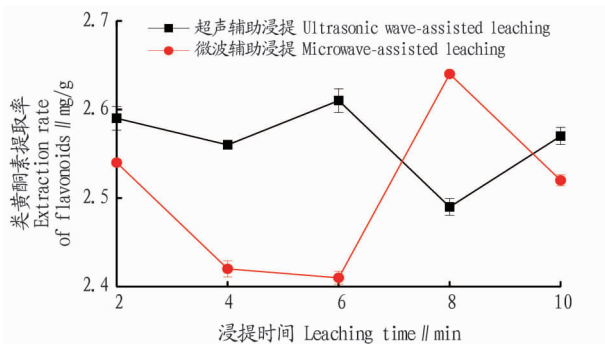


图2 超声和微波辅助浸提时间对类黄酮素提取率的影响

Fig.2 Effects of ultrasonic wave-assisted leaching time and microwave-assisted leaching time on the extraction rate of flavonoids

从图2可以看出,超声辅助浸提对黄酮素提取的作用并不明显,在85%乙醇浓度条件下,当超声时间为9min时,类黄酮素的提取率为2.61 mg/g。与加热回流浸提相比,类黄酮素的提取率降低15.2%,说明超声波空化作用对胡柚皮中类黄酮素的释放具有一定的辅助作用,但作用有限。微波辅助浸提效果与超声波辅助浸提类似。在85%乙醇浓度条件

下,当超声时间为8min时,类黄酮素的提取率为2.64 mg/g,但仍比加热回流低14.3%。这说明微波虽然兼具加热和振荡作用,但作用时间较短,对坚固细胞壁内细胞液释放的辅助作用较为有限。微波和超声波辅助因为作用时间短,节能,操作简单,亦能起到一定促进浸提作用,因此具有实际应用潜力。

2.1.3 工艺组合对比。在上述基础上,进行了4个组合工艺对比,提取液均为85%(V/V)乙醇,浸提比为10:1,试验条件如下:A为400W微波作用8min后加热回流浸提3h;B为超声9min后进行80℃加热回流3h;C为超声作用9min后400W微波作用8min;D为超声9min、微波8min和加热浸提3h三元组合。从图3可以看出,二元组合工艺提取效率较低,与单一工艺差异很小,而三元组合工艺类黄酮素提取率可提高约15.7%。超声对加热回流几乎没有明显的辅助作用,对微波浸提的作用也很微弱。微波具有一定的辅助作用。这说明分子热运动的增强有利于胡柚皮细胞质中类黄酮素的释放,若再辅以机械振荡,可以获得较好的效果^[15]。

2.2 提取残渣纤维素接枝改性

2.2.1 改性残渣纤维素的吸附性能。胡柚皮残渣纤维素改性步骤如下:先取10g提取类黄酮素后的胡柚皮残渣(干重),用20%异丙醇洗3次,再用纯水洗至无色,加入0.1 mol/L的NaOH溶液100 mL,搅拌1h,纯水洗至中性。预处理后的样品均分为2份,在1份样品中加入100 mL浓度为0.6 mol/L的柠檬酸溶液,80℃下搅拌2h,抽滤,水洗至接近中性,并在50℃干燥箱中烘干12h,获得柠檬酸接枝改性

的阳离子吸附剂。将另一份预处理后的残渣纤维素置于装有冷凝装置的三口烧瓶中,加入 100 mL 异丙醇,混合均匀,温度升至 45 ℃,搅拌下滴加醚化试剂——2,3-环氧丙基三甲基氯化铵,反应 3 h,用浓盐酸滴定至中性,抽滤后获得产物,将产物用 80%(V/V)的异丙醇洗涤 3 遍,80 ℃ 下烘干至恒重,获得阴离子吸附剂。

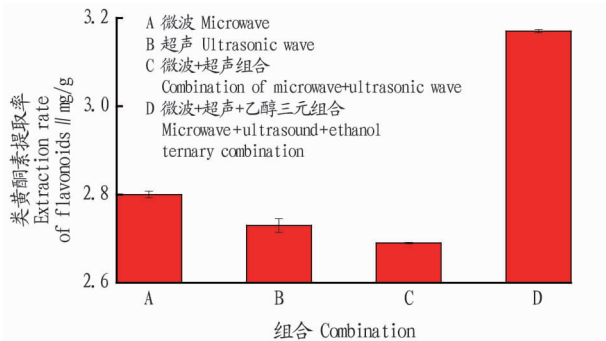


图3 4种组合工艺类黄酮素提取率的对比

Fig.3 Comparison of extraction rate of flavonoids among four kinds of combination processes

将 0.7 g 阴离子型改性纤维素吸附剂分成 5 份,进行铜离子的静态吸附(吸附时间 3 h)。吸附溶液为 pH 为 5.5~6.0,浓度为 2、4、6、8、10 mmol/L 硫酸铜溶液,保持 25 ℃ 恒温,离心取上清液,检测剩余 Cu^{2+} 浓度。采用相同方法测定阳离子型改性纤维素对氟离子的吸附能力。吸附等温线如图 4 所示。

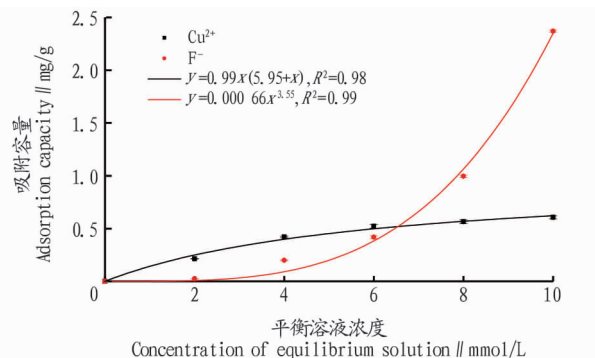


图4 改性胡柚皮残渣纤维素对模型离子的吸附等温线

Fig.4 Adsorption isotherm for the modified Huyou pomelo peel residue cellulose to model ions

从图 4 可以看出,改性工艺在胡柚皮残渣纤维素表面分别成功接枝上柠檬酸活性基团和季铵盐活性基团,改性制备的阳离子吸附剂对 Cu^{2+} 的吸附容量随着铜离子的浓度增加而增加,当 Cu^{2+} 浓度在 9 mmol/L 以上时,吸附容量变化平缓。通过非线性拟合得到该吸附类型符合 Langmuir 吸附模型,模型公式 $G = G_0c / (A + c)$, $G_0 = 0.99$ mg/g, $A = 5.95$ mg/g,偏差 $R^2 = 0.98$ 。这说明阳离子在柠檬酸改性纤维素表面单层吸附,具有一个吸附容量最大值(0.99 mg/g)。季铵盐改性纤维素对 F^{-} 的吸附容量随着 NaF 溶液浓度的升高而升高。对变化趋势的非线性拟合得到该吸附类型属于 Freundlich 等温吸附模型,模型公式 $G = ac^b$, $a = 0.00066$, $b = 3.55$,偏差 $R^2 = 0.99$,说明 F^{-} 在改性纤维素表面多层吸附,植物纤维素表面

除了改性后电荷吸附点外,还存在物理吸附位点,导致溶液浓度升高时吸附容量快速提升。

2.2.2 改性纤维素的吸附动力学性能。为研究 2 种改性胡柚皮残渣纤维素的吸附动力学,以 10 mmol/L 的 NaF 和 CuSO_4 溶液分别作为阴离子和阳离子吸附剂的平衡溶液,固定其他条件,吸附容量随时间的变化结果如图 5 所示。从图 5 可看出,在浓度 10 mmol/L 的 CuSO_4 溶液中,5 min 后吸附剂的吸附容量减少 50%,10 min 后已经完成全部吸附过程,吸附容量为 0.6 mg/g。这说明吸附行为较为快速, Cu^{2+} 扩散进入纤维素表面的阻力较小,吸附活性位点位于纤维素表面, F^{-} 在阴离子吸附剂表面的吸附速率更快,5 min 后基本在吸附平衡,此后吸附容量维持不变,在 0.47 mg/g 左右。

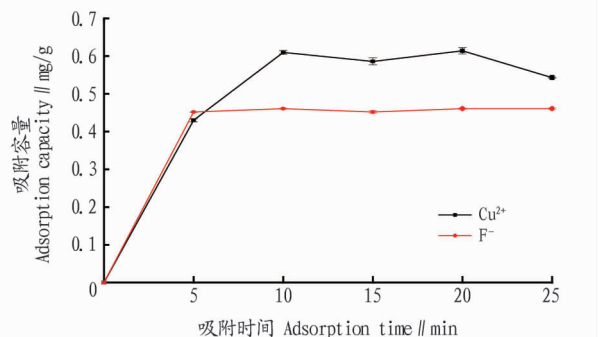


图5 2种改性纤维素的吸附动力学比较

Fig.5 The comparison of adsorption kinetics properties between two kinds of modified cellulose

3 结论

(1)单一的乙醇加热回流浸提,最优工艺参数如下:乙醇浓度为 85%,浸提比为 10:1,浸提时间为 4 h,此时提取量最大,为 2.73 mg/g;超声辅助浸提时,超声作用时间为 9 min,乙醇浓度为 85%,提取效率为 2.61 mg/g;微波辅助浸提时,功率为 400 W,微波作用时间为 8 min,乙醇浓度为 85%,提取效率为 2.64 mg/g;经对比发现,热回流浸提效果最佳,微波和超声辅助虽然浸提率较低,但作用时间短,能耗较低。三元组合工艺具有较大优势,提取率为 3.17 mg/g,可将提取率提高 15.7%。

(2)纤维素改性中,阴离子改性和阳离子改性对铜离子和氟离子均具有吸附作用,吸附行为分别符合 Langmuir 吸附模型和 Freundlich 等温吸附模型。吸附动力学表明,2 种吸附剂在 5~10 min 即可完成吸附过程。

参考文献

- [1] 高愿军,王晶晶,周婧琦,等.秋葵中总黄酮提取工艺探讨[J].食品科技,2016,41(3):213-217.
- [2] 袁茹楠,胡浩斌,韩舜禹,等.响应面法优化超声-微波提取甘草渣总黄酮工艺[J].中成药,2017,39(3):504-508.
- [3] 曾碧涛,王天霞,杨鸿均.微波辅助提取一支箭总黄酮的工艺研究[J].中国酿造,2016,35(2):123-126.
- [4] YEDHU KRISHNAN R,RAJAN K S.Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*; Study of kinetics and thermodynamics [J].Separation & purification technology,2016,157:169-178.
- [5] PINELA J,PRIETO M A,CARVALHO M A,et al.Microwave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato:A nutraceutical-oriented optimization study[J].Separation & purification technology,2016,164:114-124.

2.3 消解动态特征 农药在大田环境下的降解是一个复杂的过程,通常采用一级动力学方程描述其降解规律,以半衰期 $t_{1/2}$ 表示农药在植物体中的消解程度。以施药后的时间 (t) 为横坐标、残留量为纵坐标绘制指数曲线。消解动力学方程、半衰期见表 2。吡唑醚菌酯在植株中的原始沉积量为 8.53~9.74 mg/kg,施药后 7 d 消解率达 50%,14 d 时达 85%,30 d 时达 95% 以上,半衰期为 4.1~5.0 d。两地消解速率相差不大,安徽地区原始沉积量稍高于山东地区。

表 2 吡唑醚菌酯在植株中的消解动力学方程及其相关参数

Table 2 Digestion kinetic equations and related parameters of pyraclostrobin in plants

试验地点 Test site	消解动态方程 Digestion kinetic equations	相关系数 Correlation coefficient (r)	半衰期 Half-life ($t_{1/2}$) d
山东 Shandong	$C_t = 11.392e^{-0.167 9t}$	-0.99	4.1
安徽 Anhui	$C_t = 8.905 9e^{-0.135 5t}$	-0.99	5.0

2.4 最终残留试验结果 最终残留量的检测对于农药在花生上使用的安全性评估以及制定最大残留限量值 (MRL) 有着重要的意义。按照试验设计,高低 2 个施药剂量,施药 4 次和 5 次,分别收获的花生仁、花生壳、植株中吡唑醚菌酯的残留量为未检出 (<0.01 mg/kg)。

3 结论

该研究采用室外大田试验,在 2 个不同的气候区分别进行试验,吡唑醚菌酯在花生植株中的消解行为基本符合一级动力学模型。结果表明,消解行为地域差异不大,吡唑醚菌

酯在植株中的半衰期为 4.1~5.0 d。吡唑醚菌酯在山东、安徽两地试验的花生中半衰期均为 15 d 以内,属易降解农药。地域消解差异不大,施药 14 d 后,消解率均达到 85% 以上。

收获期采集的花生仁、花生壳中均未检出药剂残留,表明药剂符合农药残留安全标准要求。该研究结果可以为花生中吡唑醚菌酯 MRL 值的制定提供参考。

参考文献

- [1] 李军,鲁飞,贾国连.250 g/L 吡唑醚菌酯悬浮剂防治花生叶斑病效果研究[J].现代农业科技,2016(6):126,128.
- [2] 李瑞娟,于建奎,宋国春,等.60%吡唑·代森联水分散剂中吡唑醚菌酯在葡萄和土壤中的残留分析[J].环境化学,2010,29(4):619-622.
- [3] 石凯威,郑尊涛,马成,等.吡唑醚菌酯在苹果和土壤中的消解及安全性评价[J].农药,2015,54(1):45-47,57.
- [4] 闫晓阳,徐金丽,徐光军,等.高效液相色谱-串联质谱法检测吡唑醚菌酯在烟叶和土壤中的残留及消解动态[J].农药学报,2013,15(5):528-533.
- [5] FARHA W, RAHMAN M M, ABD EL-ATY A M, et al. A combination of solid-phase extraction and dispersive solid-phase extraction effectively reduces the matrix interference in liquid chromatography-ultraviolet detection during pyraclostrobin analysis in perilla leaves [J]. Biomed Chromatogr, 2015, 29(12):1932-1936.
- [6] 王燕,王春伟,高洁,等.高效液相色谱-串联质谱法研究吡唑醚菌酯在人参根、茎、叶和土壤中的残留动态及最终残留量[J].华南农业大学学报,2014,35(3):69-73.
- [7] DE SOUZA C F, DA CUNHA A L M C, AUCÉLIO R Q. Determination of picoxystrobin and pyraclostrobin by MEKC with on-line analyte concentration [J]. Chromatographia, 2009, 70(9):1461-1466.
- [8] 王岩,姚威风,梁爽,等.甘蓝和土壤中吡唑醚菌酯·烯酰吗啉残留分析[J].农药,2011,50(1):46-47,57.
- [9] 吴迪,莘婧,潘洪吉,等.凝胶渗透色谱-固相萃取-高效液相色谱法测定花生中的吡唑醚菌酯残留[J].农药学报,2012,14(6):681-684.
- [10] 刘光学,乔雄梧,陶传江,等.农药残留试验准则:NY/T 788—2004[M].北京:中国农业出版社,2004.
- [11] 农业部农药检定所.农药登记残留田间试验标准操作规程[M].北京:中国标准出版社,2007.
- [12] 的金属铜离子吸附性能[J].纺织学报,2016,37(4):1-6.
- [11] KANG H L, LIU R G, HUANG Y. Graft modification of cellulose: Methods, properties and applications [J]. Polymer, 2015, 70: A1-A16.
- [12] BELGACEM M N, SALON-BROCHIER M C, KROUIT M, et al. Recent advances in surface chemical modification of cellulose fibres [J]. Journal of adhesion science & technology, 2011, 25(6/7):661-684.
- [13] 秦秀凤.柑橘皮中黄酮类化合物提取和纯化方法研究[D].雅安:四川农业大学,2011.
- [14] 张开畅,王涛,陈艺群,等.不同颜色茄子果实的若干营养成分分析[J].亚热带农业研究,2016,12(1):45-49.
- [15] 李志锐,乐粉鹏,王娟,等.超声微波协同萃取柚皮总黄酮及其抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2018,39(5):60-63.

(上接第 187 页)

- [6] 张冬冬,徐迪,洪伟.超声提取柑橘皮中总黄酮的研究[J].农产品加工,2017(5):1-3.
- [7] 王金柱,刘春霞,刘凤云.响应面优化超声波辅助酶法提取橘皮黄酮的研究[J].食品研究与开发,2016,37(4):56-59.
- [8] YEDHU KRISHNAN R, CHANDRAN M N, VADIVEL V, et al. Insights on the influence of microwave irradiation on the extraction of flavonoids from *Terminalia chebula* [J]. Separation & purification technology, 2016, 170: 224-233.
- [9] 王福涛.蔗渣纤维素疏水改性及纤维素基水凝胶的制备及应用[D].南宁:广西大学,2017.
- [10] 万和军,马明波,唐志荣,等.羧基化改性静电纺天然棕色棉纤维素膜