

橘皮叶黄素提取及性质研究

耿敬章, 梁引库, 徐皓, 江海, 雷瑜, 卫永华

(陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000)

摘要:以橘皮为试材,采用超声波辅助提取工艺对橘皮中叶黄素进行了研究。结果表明:橘皮叶黄素在可见光范围内的最大吸收峰为 448 nm, $L_9(3^4)$ 正交实验确定了影响叶黄素提取效果的最主要因素是提取温度,并得出橘皮叶黄素提取的最佳工艺条件是丙酮浓度 60%、料液比 1:15 kg·L⁻¹、提取时间 60 min、提取温度 60℃。同时研究光照强度、pH、金属离子、温度、氧化剂和还原剂对叶黄素稳定性的影响。强光、较低 pH、不同金属离子、高温、维生素 C 均对橘皮叶黄素有一定的降解作用。

关键词:橘皮;叶黄素;提取;性质

中图分类号:Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)13-0127-05

柑橘是我国的传统优势农产品,种植面积居世界第一^[1]。柑橘果皮占整果质量的 20%,中国每年产出柑橘皮约达 300 万 t^[2]。柑橘皮是芸香科柑橘属植物橘的果皮,它的主要成分是柠檬烯与类胡萝卜素的混合物,可用作食品着色剂、食品强化营养剂、香味剂等^[3]。同时,柑橘皮中的叶黄素含量较高,是叶黄素提取的理想原料。叶黄素是眼睛中黄斑的主要成分,它能吸收对视网膜有损害作用的蓝光,同时具有抗氧化作用。因此,在老年性黄斑退化病和白内障疾病防治方面具有重要的作用^[4-6]。它还能减轻体内和皮肤退行性老年斑的危险,通过抗氧化作用,降低过氧化脂质的形成;调节血

脂,防止低密度脂蛋白被氧化,从而减轻心脏病的危险^[7-9]。因此提取柑橘皮中的叶黄素,将其作为食品着色剂、营养剂有重要的开发利用价值。该研究采用超声波处理橘皮叶黄素、有机溶剂浸提,确定其最佳提取工艺,为橘皮资源的综合利用提供科学依据。以橘皮叶黄素为原料,研究比较叶黄素在不同光照、pH、金属离子、温度、氧化剂和还原剂作用条件下的稳定性,为叶黄素能够更好的进行工业化开发、应用提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料橘皮来自汉中本地。

试验试剂为丙酮、无水乙醇、95%乙醇、甲醇、乙酸乙酯、柠檬酸、氢氧化钠、硫酸亚铁、氯化钾、氯化镁、硫酸锌、氯化钠、亚硫酸钠、过氧化氢、维生素 C 均为分析纯。

第一作者简介:耿敬章(1980-),男,硕士,副教授,硕士生导师,现主要从事食品质量控制与资源开发利用等研究工作。
E-mail:gengjingzhang@163.com.

基金项目:陕西省教育厅省级重点实验室资助项目(14JS018);陕西省社会发展攻关资助项目(2016SF-354)。

收稿日期:2015-12-23

Determination of Fatty Acid Composition in *P. rockii* Seeds Oil by GC-MS

LIAN Ping, TANG Hong, LI Lili

(College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract: Taking *P. rockii* seeds oil as material, fatty acid was extracted using chemical leaching method, the components of fatty acid were determined and analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that 14 fatty acids were identified. *P. rockii* seeds oil contained the composition such as linolenic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid content accounted for 57.109% of the total fatty acid.

Keywords: *P. rockii*; fatty acids; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

试验仪器为 CLF-06C 粉碎机(中国浙江省温岭市创力药材器械厂制造);AL204 电子天平(梅特勒-托利多(上海)有限公司);AS515OAD 超声清洗器(天津奥特赛思仪器有限公司);AISITE 数显恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);TDL-5C 低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂);UV-2550 紫外可见分光光度计(苏州 shimadzu 公司);pH S-25 数显酸度计(上海仪电科学仪器股份有限公司);玻璃仪器若干。

1.2 试验方法

1.2.1 工艺流程

橘皮—粉碎—超声波处理—提取—离心过滤—叶黄素产品—性质研究。

1.2.2 橘皮预处理 将橘皮烘干后在 CLF-06C 粉碎机中粉碎,根据参考文献[9]用粉碎后颗粒度为 80 目的柑橘皮粉末,置于不同有机提取溶剂中用 AS515OAD 超声清洗器在 50 kHz 350 W 下超声 15 min^[10]。

1.2.3 橘皮叶黄素提取工艺试验 1)最佳提取剂的选择:分别称取 80 目橘皮粉末 1 g 于 5 支试管中,再依次加入等量(20 mL)丙酮、无水乙醇、95%乙醇、甲醇、乙酸乙酯。设定有机溶液浓度为 100%、提取温度 60 ℃、料液比 1:20 kg·L⁻¹、提取时间 15 min,置于 50 kHz 350 W 超声波下助提 15 min 后,放入 60 ℃ 恒温水浴锅中有机溶剂浸提 15 min 后置于室温,冷却后离心(3 000 r·min⁻¹)5 min^[10],在 300~600 nm 之间进行全波长扫描,找到最大吸收波长,确定最佳提取溶剂。2)单因素试验对橘皮叶黄素提取效果的影响:①不同浓度提取剂对橘皮叶黄素提取效果的影响:称取 5 份 1 g 预处理过的橘皮粉末于 5 支试管中,分别用浓度为 20%、40%、60%、80%、100% 的最佳提取溶剂提取,设定提取温度为 60 ℃,料液比 1:20 kg·L⁻¹,提取时间 15 min,以吸光度值为指标,研究不同浓度对橘皮叶黄素提取效果的影响。②料液比对橘皮叶黄素提取效果的影响:称取 6 份 1 g 预处理过的橘皮粉末于 6 支试管中,在最佳提取溶剂和单因素试验确定的最佳浓度下,料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35 kg·L⁻¹,设定提取温度为 60 ℃,提取时间 15 min,以吸光度值为指标,研究不同料液比对橘皮叶黄素提取效果的影响。③提取温度对橘皮叶黄素提取效果的影响:称取 5 份 1 g 预处理过的橘皮粉末于 5 支试管中,在最佳提取溶剂和单因素试验确定的最佳浓度、料液比下,提取温度分别为 20、30、40、50、60 ℃,设定提取时间为 15 min,以吸光度值为指标,研究不同提取温度对橘皮叶黄素提取效果的影响。④提取时间对橘皮叶黄素提取效果的影响:称取 6 份 1 g 预处理过的橘皮粉末于 6 支试管中,在最佳提取溶剂和单因素试验确定的最佳浓度、料液比、提取温度

下,提取时间分别为 15、30、45、60、75、90 min,以吸光度值为指标,研究不同提取时间对橘皮叶黄素提取效果的影响。3)正交实验:在单因素试验的基础上,进行正交实验,考察各工艺参数之间的相互交叉影响,以确定橘皮叶黄素的最好提取工艺,正交实验因素与水平见表 1。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 Factor and level of orthogonal test

水平 Level	A 浓度 Concentration /%	B 料液比 Solid-to-liquid ratio /(kg·L ⁻¹)	C 温度 Temperature /℃	D 时间 Time /min
1	60	1:5	40	30
2	80	1:10	50	45
3	100	1:15	60	60

1.2.4 叶黄素稳定性研究 通过正交实验,考察各工艺参数之间的相互交叉影响,确定各因素下橘皮叶黄素的最好提取工艺。用最好提取工艺条件下获得的橘皮叶黄素有机溶液作叶黄素稳定性研究的试验材料。1)光照对叶黄素稳定性的影响:取等量(20 mL)橘皮叶黄素有机溶液,分别放置在室外阳光直射、室内自然光、避光^[11]的地方,2 h 后稀释 20 倍,测定吸光度值。2) pH 对叶黄素稳定性的影响:等量(20 mL)橘皮叶黄素有机溶液,用柠檬酸、氢氧化钠调节 pH 在 3~11 范围,置于室内避光处 1 h 后稀释 20 倍,测定吸光度值。3)不同金属离子对叶黄素稳定性的影响:取等量(20 mL)橘皮叶黄素有机溶液,加入常见的离子 Fe³⁺(硫酸铁)、K⁺(氯化钾)、Mg²⁺(氯化镁)、Zn²⁺(硫酸锌)、Na⁺(氯化钠),质量浓度为 0.5 g·L⁻¹。置于室内避光处 1 h 后稀释 5 倍,测定吸光度值并观察溶液状态。4)温度对叶黄素稳定性的影响:取等量(20 mL)橘皮叶黄素有机溶液,分别放置在一 18、6、20(室温)、40、60 ℃ 的条件下,1.5 h 后稀释 5 倍,测定吸光度值。5)氧化剂、还原剂对叶黄素稳定性的影响:配制含有 H₂O₂ 的橘皮叶黄素有机溶液,体积分数分别为 0.3%、0.6%、0.9% 和 1.2%,置于室内避光处 1 h 后稀释 20 倍,测定吸光度值。分别配制含有 NaHSO₃ 和维生素 C 的橘皮叶黄素有机溶液,质量浓度分别为 0.6、1.2、2.4、4.8 g·L⁻¹,置于室内避光处 1 h 后稀释 20 倍,测定吸光度值。

2 结果与分析

2.1 橘皮叶黄素提取工艺

2.1.1 最佳提取剂的选择 不同的 5 种有机试剂(丙酮、无水乙醇、95%乙醇、甲醇、乙酸乙酯)进行橘皮叶黄素的提取,用紫外分光光度计在 300~600 nm 之间进行全波长扫描,找到最大吸收波长,结果显示叶黄素的最好吸收波长为 448 nm。用紫外分光光度计测定其在特定波长 448 nm 下的吸光度值,以吸光度值大小为依据,

确定最佳提取溶剂。检测结果由表 2 可以看出,丙酮作为有机溶剂提取橘皮叶黄素效果最佳。

表 2 波长 448 nm 下不同溶剂
叶黄素的吸光度值

Table 2 Absorbance value of different solvents
lutein at wavelength 448 nm

溶剂 Solvent	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
丙酮 Aceton	5.0	0.642 95
无水乙醇 Anhydrous ethanol	2.0	0.337 27
95%乙醇 95% ethanol	2.0	0.589 00
甲醇 Methanol	2.5	0.314 19
乙酸乙酯 Ethyl acetate	5.0	0.330 96

2.1.2 不同浓度提取剂对橘皮叶黄素提取效果的影响 不同浓度的丙酮作提取溶剂时,所得的叶黄素提取率不同。从表 3 可以看出,丙酮浓度在 20%~80%时,随着丙酮浓度的提高,其吸光度值也随着增加,即叶黄素的提取率增加,但当丙酮浓度达到 100%时吸光度值反而减少。用 80%的丙酮作有机溶剂提取橘皮叶黄素,叶黄素提取效果最佳。

表 3 不同浓度下叶黄素的吸光度值

Table 3 Absorbance value of lutein at different concentrations

浓度 Concentration/%	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
20	0.0	0.349 53
40	2.5	0.732 57
60	2.5	0.754 85
80	16.5	0.495 93
100	5.0	0.650 94

2.1.3 料液比对橘皮叶黄素提取效果的影响 从表 4 可以看出,在丙酮浓度为 80%时,随着料液比的增加,其吸光度值随之减少,即叶黄素提取率减少。在料液比为 1:10 kg·L⁻¹时,叶黄素提取效果最佳。

表 4 不同料液比下叶黄素的吸光度值

Table 4 Absorbance value of lutein in different
ratios of feed to liquid

料液比 Solid-to-liquid ratio/(kg·L ⁻¹)	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
1:10	20	0.687 61
1:15	20	0.635 86
1:20	20	0.598 82
1:25	15	0.595 90
1:30	15	0.422 42
1:35	10	0.400 91

2.1.4 提取温度对橘皮叶黄素提取效果的影响 从表 5 可以看出,随着提取温度的升高其吸光度值也随之增加,即叶黄素提取率增加。由此可以得出,在提取温度为 60℃时,叶黄素提取效果最佳。

2.1.5 提取时间对橘皮叶黄素提取效果的影响 从表 6 可以看出,提取时间为 15~45 min 时,随着提取时间的增加,其吸光度值也随着增加,即叶黄素的提取率增加。但当提取时间达到 45 min 以后,随着提取时间的增加吸光度值反而减少。在提取时间为 45 min 时,叶黄素提取效果最佳。

表 5 不同温度下叶黄素的吸光度值

Table 5 Absorbance value of lutein at different temperatures

温度 Temperature/℃	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
20	0	0.611 95
30	5	0.394 37
40	5	0.435 55
50	5	0.444 00
60	20	0.595 06

表 6 不同提取时间下叶黄素的吸光度值

Table 6 Absorbance value of lutein from
different extraction time

时间 Time/min	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
15	20	0.573 06
30	25	0.701 08
45	30	0.716 59
60	25	0.333 94
75	5	0.504 79
90	15	0.508 76

2.1.6 正交实验结果 从表 7 可以看出,各因素影响提取率的主次顺序为 C>B>D>A,即温度>料液比>时间>浓度。在考虑各工艺参数相互交叉影响的情况下,橘皮叶黄素提取的最佳工艺条件为丙酮作提取剂,提取温度 60℃,料液比 1:15 kg·L⁻¹,提取时间 60 min,丙酮的浓度 60%,此时提取效果最佳。

表 7 L₉(3⁴)橘皮叶黄素提取正交实验

Table 7 L₉(3⁴) orthogonal test results of lutein
extraction from orange peel

编号 No.	水平 Level				稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	0	0.584 34
2	1	2	2	2	0	0.349 59
3	1	3	3	3	20	0.708 13
4	2	1	2	3	5	0.385 30
5	2	2	3	1	5	0.741 18
6	2	3	1	2	7	0.326 77
7	3	1	3	2	10	0.554 92
8	3	2	1	3	2	0.612 49
9	3	3	2	1	5	0.392 29
K ₁	15.096 5	8.060 0	4.096 7	6.251 7		
K ₂	7.919 7	5.280 5	4.237 5	8.186 2		
K ₃	8.735 6	18.411 4	23.417 7	17.314 1		
R	7.176 8	13.130 9	19.321 0	11.062 4		

2.2 叶黄素稳定性的研究

2.2.1 光照对叶黄素稳定性的影响 由图 1 可知,光照对叶黄素的稳定性影响很大,太阳光对其有明显的破坏作用,而放置在避光处影响较小,这与其它类胡萝卜素的光稳定性研究结果一致^[12]。因此含有叶黄素的食物、功能食品或药品在储存和运输过程中要避免阳光照射。

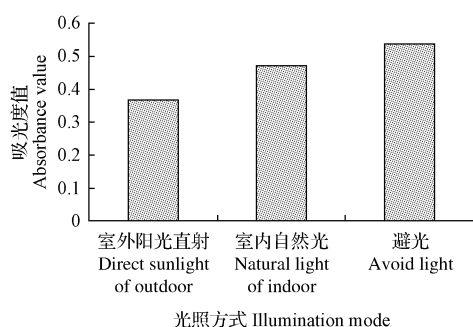


图 1 光照对叶黄素稳定性的影响

Fig. 1 The effect of light on the stability of lutein

2.2.2 pH 对叶黄素稳定性的影响 配制 pH 3~11 的叶黄素丙酮水溶液放置 1 h 后的吸光值见图 2。原液(橘皮叶黄素丙酮水溶液)在相同条件下吸光度值为 0.699 85 nm,对比图 2 得出,在强酸性(pH 3)的环境下,叶黄素吸光值下降较大,在碱性范围内吸光值略有变化。结果说明强酸性条件对叶黄素的稳定性影响较大。这与李大婧等^[13]关于叶黄素稳定性研究结果一致。因此叶黄素的工业化加工过程应避免在强酸性环境下进行。

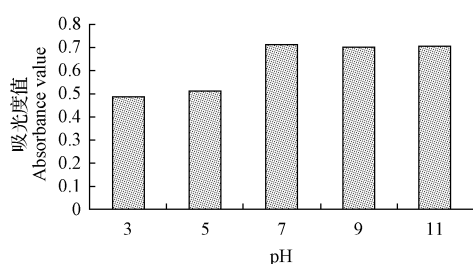


图 2 pH 对叶黄素稳定性的影响

Fig. 2 The effect of pH on the stability of lutein

2.2.3 不同金属离子对叶黄素稳定性的影响 由表 8 可以看出,不同金属离子对叶黄素的稳定性均有一定程度的影响。 Fe^{3+} 对叶黄素影响较大, Na^+ 、 K^+ 对叶黄素稳定性影响较小。金安定等^[14]的研究表明, Fe^{3+} 最外层电子排布未达到饱和状态,故氧化性较强,导致叶黄素损失较多;而 Na^+ 和 K^+ 最外层皆达到饱和状态,氧化性相对较弱,故对叶黄素的稳定性影响较小。

表 8 金属离子对叶黄素稳定性的影响

Table 8 The effect of metal ions on the stability of lutein

金属离子 Metal ion	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
Fe^{3+}	5	0.351 60
K^+	5	0.467 70
Mg^{2+}	5	0.391 86
Zn^{2+}	5	0.396 39
Na^+	5	0.475 24
原液 CK	5	0.488 65

2.2.4 温度对叶黄素稳定性的影响 从表 9 可以看出,随着温度的升高其吸光度值随之减小,即高温对叶黄素有一定的降解作用。其机理为,叶黄素中有不饱和键,高温下促进叶黄素发生氧化反应,致使叶黄素含量的减少^[15]。因此叶黄素应避免在高温下长时间加热。

表 9 温度对叶黄素稳定性的影响

Table 9 The effect of temperature on the stability of lutein

温度 Temperature/°C	稀释倍数 Dilution multiple	吸光度值 Absorbance value
-18	5	0.318 19
6	5	0.310 04
20	5	0.304 87
40	5	0.304 17
60	5	0.300 53

2.2.5 氧化剂、还原剂对叶黄素稳定性的影响 配制含有体积分数为 0.3%、0.6%、0.9% 和 1.2% 氧化剂(H_2O_2)的叶黄素丙酮水溶液,放置 1 h 后的吸光值见图 3。分别配置含有质量浓度为 0.6、1.2、2.4、4.8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 还原剂(NaHSO_3 和维生素 C)的叶黄素丙酮水溶液,放置 1 h 后的吸光值见图 4。原液(橘皮叶黄素丙酮水溶液)在相同条件下吸光度值为 0.584 85 nm。由图 3、4 可以看出,有氧化剂存在时,叶黄素发生微降解,但降解不大,可认为叶黄素具有抗氧化作用; NaHSO_3 对叶黄素稳定无影响,同时 NaHSO_3 易与氧发生反应从而减少叶黄素的氧化;维生素 C 与叶黄素共存时可加速叶黄素的降解。这与李大婧等^[13]关于叶黄素稳定性研究结果相一致。

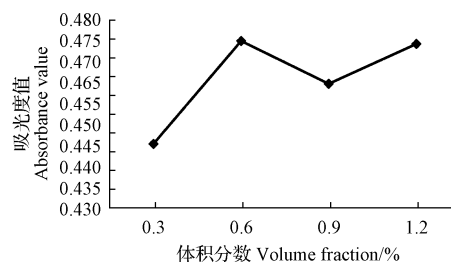


图 3 氧化剂对叶黄素稳定性的影响

Fig. 3 The effect of oxidants on the stability of lutein

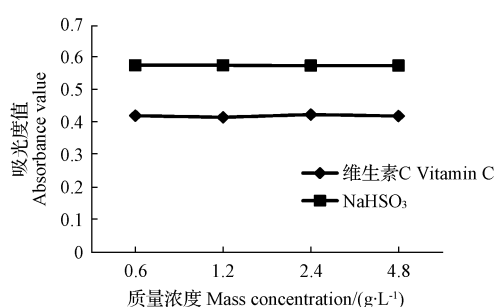


图4 还原剂对叶黄素稳定性的影响

Fig. 4 The effect of reducing agent on stability of lutein

3 结论

该试验针对橘皮叶黄素提取及性质进行研究,通过单因素试验和正交实验,得到各因素对橘皮叶黄素提取的影响:温度>料液比>时间>浓度。最佳提取工条件为丙酮作提取剂/提取温度 60℃,料液比 1:15 kg·L⁻¹,提取时间 60 min,丙酮浓度 60%,此时提取效果最佳。通过试验对叶黄素的稳定性研究表明:光照对叶黄素的稳定性影响较大,它对叶黄素有较强的破坏作用,而避光保存影响较小;强酸性条件对叶黄素有一定的破坏作用,而在中性、碱性条件下叶黄素较稳定;Fe³⁺ 对其破坏作用较强,而 Na⁺、K⁺ 对其基本无影响;高温对叶黄素有一定的破坏作用,随着温度的升高叶黄素降解速度加快;氧化剂 H₂O₂ 对其有轻微的破坏作用,还原剂 NaHSO₃ 对叶黄素影响不大,维生素 C 对其破坏作用大。

参考文献

- [1] 刘蕤,何秋星. 柑桔果皮的深加工与综合利用[J]. 韶关学院学报(自然科学版),2002,23(6):79-83.
- [2] 李建敏. 桔皮色素、果胶和橙皮苷的连续提取及精制的研究[D]. 南昌:南昌大学,2007.
- [3] 臧玉红. 柑橘皮的综合利用[J]. 食品与发酵工业,2005(7):145-146.
- [4] 陈志行,王建平,黄创兴. 叶黄素的提取和稳定性研究II[J]. 食品科学,2005(9):266-270.
- [5] PHILIP T, BERRY J W. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers[J]. Journal of Food Science,1975,40:1089-1090.
- [6] 李大婧,刘志凌,刘春泉. 叶黄素酯和叶黄素抗氧化作用比较[J]. 中国食品学报,2008(5):28-32.
- [7] CHEW B P, PARK J S. Carotenoid action on the immune response[J]. Nutrition,2004,134(1):257-261.
- [8] 李大婧,刘春泉,白云峰,等. 叶黄素、玉米黄质研究进展-叶黄素、玉米黄质的结构、性质和生物学功能[J]. 核农学报,2006(1):64-67,43.
- [9] 李大婧,刘春泉,王振宇. 超声波法提取万寿菊中叶黄素的工艺条件优化[J]. 江苏农业学报,2005(4):374-377.
- [10] 耿敬章,白雪. 超声波辅助提取橘皮色素的工艺优化[J]. 中国食品添加剂,2010(6):67-71.
- [11] 杨晓萍,郭大勇. 水溶性茶绿色素的提取及性质研究[J]. 林产化学与工业,2003(3):69-72.
- [12] 李大婧,杨同舟. 玉米黄色素稳定性的研究[J]. 食品与机械,2001(1):31-32.
- [13] 李大婧,方桂珍,刘春泉,等. 叶黄素酯和叶黄素稳定性的研究[J]. 林产化学与工业,2007(1):112-116.
- [14] 金安定,刘淑薇,吴勇. 高等无机化学[M]. 南京:南京师范大学出版社,1999.
- [15] 牛桂玲,朱海滨. 万寿菊叶黄素的提取及稳定性研究[J]. 承德石油高等专科学校学报,2005(4):15-18.

Study on the Extraction and Quality of Orange Peel Lutein

GENG Jingzhang, LIANG Yinku, XU Hao, JIANG Hai, LEI Yu, WEI Yonghua

(College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000)

Abstract: Taking orange peel as test material, the extraction and quality of lutein from orange peel was studied. The results showed that the maximum wavelength of the lutein from orange peel was 448 nm; the results of L₉(3⁴) orthogonal test showed that the most important factor was the extraction temperature, the optimum condition of the lutein from orange peel was determined as the acetone concentration 60%, the solid-liquid ratio 1:15 kg·L⁻¹, the extraction time 60 minutes, the extraction temperature 60℃. The high-light, low pH value, different metal ion, high temperature, vitamin C had more effect on the degradation of lutein from orange peel.

Keywords: orange peel; lutein; extraction; quality