

# 超声波辅助提取橘皮酚酸的工艺研究

汤春甫<sup>1</sup>, 单杨<sup>2,3</sup>, 李高阳<sup>2,3</sup>, 刘伟<sup>2,3</sup>

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128;

2. 湖南省农产品加工研究所, 湖南长沙 410125;

3. 国家柑橘加工技术研发分中心, 湖南长沙 410125)

**摘要:**研究了超声波辅助提取橘皮酚酸工艺,以苯甲酸类酚酸的提取量为依据,考察溶剂种类及浓度、液固比、温度、超声时间和次数6个因素对提取效果的影响;结合正交实验设计确定了橘皮酚酸的最佳提取工艺条件为:70%乙醇溶液、液固比20:1、温度50℃、超声20min、提取3次,提取量为52.8μg/g。

**关键词:**酚酸,橘皮,超声波

## Study on ultrasonic-assisted extraction process of phenolic acids from orange peel

TANG Chun-fu<sup>1</sup>, SHAN Yang<sup>2,3</sup>, LI Gao-yang<sup>2,3</sup>, LIU Wen<sup>2,3</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Hunan Agricultural Product Processing Institute, Changsha 410125, China;

3. National Citrus Processing Technology Research and Development Center, Changsha 410125, China)

**Abstract:** The technology of ultrasonic-assisted extracting benzoic acids from orange peel was studied. The effects on extraction amount of phenolic acids, such as solvent types and concentration, liquid/solid ratio, temperature, ultrasonic time and times were discussed. The orthogonal experiment was employed to obtain the optimum technological conditions of 70% ethanol concentration as solvent, liquid/solid ratio 20:1, temperature 50℃, ultrasonic time 20min, extract 3 times. The yield of phenolic acids was 52.8μg/g.

**Key words:** phenolic acids; orange peel; ultrasonic

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2010)08-0223-03

酚酸类化合物(phenolic acids)是含有酚羟基和羧基的一类代谢产物成分,自然界植物中发现的酚酸类化合物的主要骨架类型有以下两类:C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>型,基本骨架是苯甲酸,如原儿茶酸、没食子酸;C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>型,如咖啡酸、阿魏酸、芥子酸等<sup>[1]</sup>。研究表明,酚酸类化合物不仅具有抗氧化、抗自由基、抑制低密度脂蛋白的氧化以及预防心血管疾病的作用,而且还具有抗癌、抗炎症和抗血小板凝聚等功能<sup>[2]</sup>。橘皮中含有丰富的生物活性物质,主要包括酚酸和黄酮类化合物等天然抗氧化物质。目前国内对橘皮中功效成分的提取研究主要集中在黄酮类化合物、果胶等方面,对酚酸的提取工艺还未有报道。本实验应用超声波技术,对橘皮酚酸的提取工艺进行了研究,为超声波辅助提取酚酸的工业化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

收稿日期:2009-09-18

作者简介:汤春甫(1986-),男,在读硕士,主要从事农产品加工和综合利用研究。

基金项目:湖南省科技计划项目(2009NK3154)。

椪柑 购于湖南省农科院农贸市场内,取出果皮,在50℃鼓风烘箱中烘48h后,磨碎过40目筛,密封保存于-18℃冰箱备用;没食子酸(gallic acid)、原儿茶酸(protochalcic acid)、对羟基苯甲酸(p-hydroxybenzoic acid)、香草酸(vanillic acid)标准品购自Sigma公司;甲醇 色谱级;其余试剂均为分析纯。

KQ5200E型超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司,工作频率为40kHz,功率为200W;LC-10AT液相色谱仪 日本岛津;AL204型电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司;RE52-86A旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;SPD-10Avp紫外-可见检测器。

### 1.2 提取工艺

橘皮→干燥→粉碎→过筛→超声波辅助提取→过滤→浓缩→定容→定量分析

### 1.3 酚酸含量的测定方法

1.3.1 HPLC法 色谱条件如下:岛津色谱柱C<sub>18</sub>柱(5μm,150mm×4.6mm);流动相为4%乙酸水溶液:甲醇=90:10;流速为1mL/min;柱温为40℃;每次进样量为20μL;紫外检测波长为260nm。

1.3.2 工作曲线回归方程的建立 准确配制

100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的四种酚酸混合标准品,按照要求稀释到1、5、10、20、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的5个不同浓度。用HPLC测定得到浓度与峰面积之间的回归曲线如表1。

表1 4种组分的回归方程

化合物	标准曲线	线性范围 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	相关系数
没食子酸	$y = 0.3644 \times 10^{-4}x - 0.3724$	0.041~2.362	0.9993
原儿茶酸	$y = 0.2401 \times 10^{-4}x - 0.0144$	0.045~2.357	0.9992
对羟基苯甲酸	$y = 0.1632 \times 10^{-4}x - 0.2209$	0.043~2.298	0.9984
香草酸	$y = 0.2430 \times 10^{-4}x + 0.2577$	0.064~2.374	0.9990

注:y为HPLC所测得峰面积,x为标准品的浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素实验

2.1.1 溶剂类型 称取1g橘皮粉5份,分别用甲醇、乙醇、丙酮、氯仿和正己烷在液固比为15:1,温度为50 $^{\circ}\text{C}$ ,超声时间20min,提取3次的条件下考察提取量。由图1可知,对提取量的影响顺序:甲醇>乙醇>氯仿>丙酮>正己烷。考虑毒性和成本,选择乙醇作为提取溶剂。

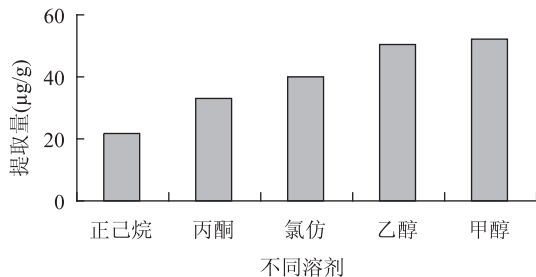


图1 不同溶剂对提取量的影响

2.1.2 溶剂浓度 称取1g橘皮粉5份,分别用50%、60%、70%、80%、90%的乙醇溶液在液固比为15:1,温度为50 $^{\circ}\text{C}$ ,超声时间20min,提取3次的条件下考察提取量。由图2可知,乙醇浓度越低,提取效果越差,且提取液中杂质较多,蛋白质、糖类和多酚类等水溶性物质大量溶出,提取液粘度较大,过滤、浓缩困难,因此,70%乙醇提取效果最佳。

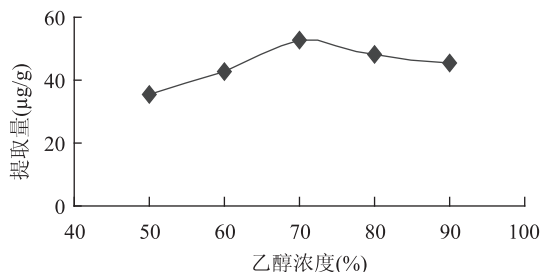


图2 乙醇浓度对提取量的影响

2.1.3 液固比 称取1g橘皮粉5份,以70%乙醇溶液为提取溶剂,温度50 $^{\circ}\text{C}$ ,超声时间20min,提取3次,分别用液固比(mL/g)为5:1、10:1、15:1、20:1、25:1的条件下考察提取量。由图3可知,提取量随着液固比的增加而增加,在液固比为15:1时的提取量为52.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,其它条件不变,当液固比增加至20:1时,提取量为52.8 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,可见提取量增加不明显,从节约成本考虑,故选15:1时最佳。

2.1.4 温度 称取1g橘皮粉5份,以70%乙醇溶液

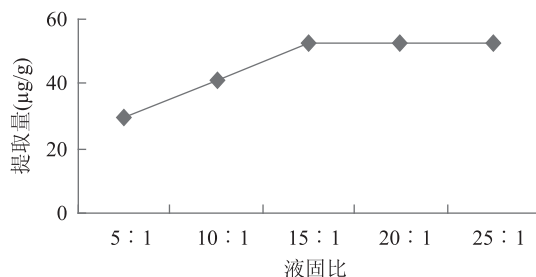


图3 液固比对提取量的影响

为提取溶剂,液固比为15:1,超声时间20min,提取3次,温度为30、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下考察提取量。由图4可知,温度太高,提取量反而降低,且杂质也增多,因此温度50 $^{\circ}\text{C}$ 最佳。

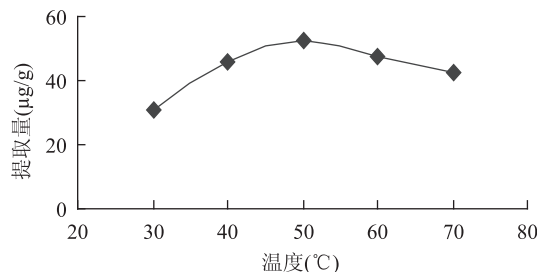


图4 温度对提取量的影响

2.1.5 超声时间 称取1g橘皮粉5份,以70%乙醇溶液为提取溶剂,液固比15:1,温度50 $^{\circ}\text{C}$ ,提取3次,超声时间为10、15、20、25、30min的条件下考察提取量。由图5可知,随着时间的延长,酚酸的提取量先增加后减少,其原因可能是长时间的超声波空化作用对于酚酸结构有一定的破坏。因此,超声时间为20min最佳。

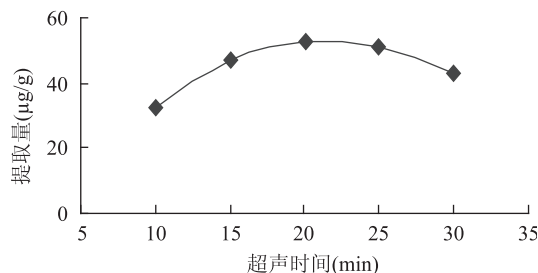


图5 超声时间对提取量的影响

2.1.6 提取次数 称取1g橘皮粉5份,以70%乙醇溶液为提取溶剂,液固比15:1,温度50 $^{\circ}\text{C}$ ,超声时间20min,提取次数为1、2、3、4、5次的条件下考察提取量。由图6可知,酚酸应多次提取,提取3次为最佳。

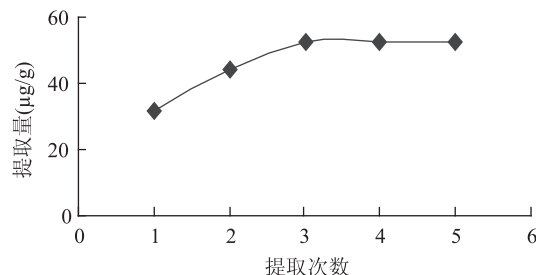


图6 提取次数对提取量的影响

### 2.2 正交实验

在单因素实验的基础上,选取对提取量影响较

(下转第229页)

3.3 利用响应面分析方法对胰蛋白酶水解酪蛋白制备酪蛋白磷酸肽工艺进行优化,可获得最优的工艺参数,能有效减少工艺操作的盲目性,从而为进一步的实验研究奠定基础。

### 参考文献

- [1] KJ Cross, NL Huq, JE Palamara, et al. Physicochemical Characterization of Casein Phosphopeptide - Amorphous Calcium Phosphate Nanocomplexes [J]. J Biol Chem, 2005, 280: 15362-15369.
- [2] Netto, Flavia M, Galeazzi, et al. Production and Characterization of Enzymatic Hydrolysate from Soy Protein Isolate [J]. Lebensm-wiss.u-technol, 1998, 31: 624-631.
- [3] 吴建中, 赵谋明. 食品中的生物活性多肽[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(11): 46-50.
- [4] 于江虹. 乳源生物活性肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2003, 24(10): 165-166.
- [5] Hu M, McClements D J, Decker E A. Lipid Oxidation in Corn Oil - in - water Emulsions Stabilized by Casein, Whey Protein Isolate and Soy Protein Isolate [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51

(6): 1696-1700.

- [6] Ashida K. Effect of dietary Casein phosphopeptides and calcium levels on eggshell quality and bone status in laying hens [J]. Animal Science Tech, 1996, 67(11): 967-974.
- [7] 赵一明, 王璋, 许时婴, 等. Alcalase 水解酪蛋白制备磷酸肽和非磷肽的研究 [J]. 食品工业科技, 2007, 28(12): 100-103.
- [8] 牟光庆, 曹冬梅, 张丽萍. 酪蛋白磷酸肽 (CPP) 理化特性的研究 [J]. 食品工业科技, 2003, 24(10): 125-127.
- [9] 汤亚杰, 吴思方. 酪蛋白磷酸肽的研究进展 [J]. 食品科学, 1998, 19(5): 3-6.
- [10] 薛正莲. 生物活性肽-酪蛋白磷酸肽 (CPP) 的研究 [J]. 山西食品工业, 2000(4): 2-4.
- [11] 赵江, 刘鹏, 宋庆明, 等. 胰酶固定化条件的优化与应用 [J]. 中国酿造, 2008, 178(1): 22-25.
- [12] 王俊, 黄文, 乔宇. 酪蛋白磷酸肽的制备及其性质 [J]. 安徽农业科学, 2005(2): 291-293.
- [13] Tsuchita H, Suzuki T, Kuwata T. The effect of casein phosphopeptides on calcium absorption from calcium - fortified milk in growing rats [J]. Br J Nutr, 2001, 85: 5-10.

(上接第 224 页)

大的因素:乙醇浓度、液固比、温度、超声时间。为优化提取条件,采用正交法设计实验,选用四因素三水平正交实验表  $L_9(3^4)$  以确定橘皮酚酸的最佳提取条件。

表 2 正交实验因素水平表

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 液固比 (mL/g)	C 温度 (°C)	D 超声时间 (min)
1	60	10:1	40	15
2	70	15:1	50	20
3	80	20:1	60	25

根据表 3 的数据及结果,可判断出影响橘皮酚酸的提取量因素的顺序为  $D > C > B > A$ ,即超声时间

表 3 正交实验结果与分析

实验号	A	B	C	D	提取量 ( $\mu\text{g/g}$ )
1	1	1	1	1	37.2
2	1	2	2	2	51.8
3	1	3	3	3	46.2
4	2	1	2	3	50.5
5	2	2	3	1	39.4
6	2	3	1	2	52.4
7	3	1	3	2	44.7
8	3	2	1	3	48.3
9	3	3	2	1	42.5
$K_1$	135.2	132.4	137.9	119.1	
$K_2$	142.3	139.5	144.8	148.9	
$K_3$	135.5	141.1	130.3	145	
$k_1$	45.1	44.1	46	39.7	
$k_2$	47.4	46.5	48.3	49.6	
$k_3$	45.2	47	43.4	48.3	
R	2.3	2.9	4.9	9.9	

> 温度 > 液固比 > 乙醇浓度。直观分析可知,最佳提取工艺为  $A_2B_3C_2D_2$ ,即 70% 乙醇,液固比 20:1,温度 50°C,超声 20min,提取 3 次。对此条件重复做验证实验 3 次,橘皮酚酸的提取量为 52.8  $\mu\text{g/g}$ 。

### 3 结论

3.1 用超声波来提取橘皮中酚酸物质,耗时短,提取率较高,相比于其它的传统工艺具有一定的优势。

3.2 超声波辅助提取橘皮酚酸的最佳工艺条件为:超声功率为 200W、乙醇浓度 70%、液固比 20:1、温度 50°C、超声时间 20min、提取 3 次,提取量为 52.8  $\mu\text{g/g}$ 。

### 参考文献

- [1] 王晓霞,汪敬武. 酚酸类化合物的测定方法研究 [J]. 江西化工, 2003(3): 24-30.
- [2] 李永库,李晓静,欧小辉. 果汁中 9 种酚酸类化合物的 RP-HPLC-PAD 分析 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(7): 135-138.
- [3] Bocco A, Cuvelier M E, Richard H, et al. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 2123-2129.
- [4] 徐贵华,胡玉霞,叶兴乾,等. 椴柑、温州蜜桔果皮中酚类物质组成及抗氧化能力研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(11): 171-175.
- [5] 马亚琴,陈健初,江萍,等. 超声辅助提取椴蜜柚皮中酚酸的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(7): 159-163.
- [6] 倪学文,吴谋成. 从银杏外种皮中提取银杏酚酸的工艺条件研究 [J]. 食品科学, 2003, 24(3): 64-67.
- [7] 廖春燕,朱海东. 超声波法提取橘皮中黄酮物质的研究 [J]. 四川食品与发酵, 2007, 43(3): 31-34.