

酶法辅助提取杏仁种皮黄酮的研究

李育峰, 忻龙祚

(河北北方学院农林科技学院, 河北张家口 075000)

摘要: 采用酶法辅助提取杏仁种皮黄酮。通过单因素试验和正交试验确定了最佳工艺条件为果胶酶浓度 0.6%、酶解时间 90 min、乙醇浓度 80%、料液比 1:40 (g/mL)、提取温度 50 °C、提取时间 30 min, 此工艺条件下杏仁种皮黄酮的提取率可达 24.5 mg/g。

关键词: 杏仁种皮; 黄酮; 酶法

Study on the extraction of flavonoids from almond skin by enzymatic method

LI Yu-feng, XIN Long-zuo

(College of Agriculture and Forestry, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

Abstract: Flavonoids were extracted from almond skin by enzymatic method. Through single factor and orthogonal experiment, the optimum technological conditions were determined as follows: pectinase concentration of 0.6%, enzyme reaction time of 90 min, ethanol concentration of 80%, ratio of material to liquid of 1:40 (g/mL), extraction temperature of 50 °C and extraction time of 30 min. Under the conditions, the extraction rate of flavonoids from almond skin was 24.5 mg/g.

Key words: almond skin; flavonoid; enzymatic method

中图分类号: TS229

文献标识码: A

文章编号: 1008-9578(2017)01-0036-03

黄酮属于多酚类, 具有抗氧化、抗菌、抗病毒、防癌、抗癌及预防心血管疾病等多种功效^[1]。

杏仁种皮是杏仁加工过程中的副产物, 除少数作为饲料外, 大多被废弃^[2]。目前关于杏仁种皮黄酮的提取方法主要有微波辅助和超声波辅助提取^[3-4]。何余堂等^[5]采用酶法超声波辅助提取膳食纤维, 贺小贤等^[6]采用酶法提取维生素 E, 但还未见采用酶法辅助提取杏仁种皮黄酮的相关报道。

果胶主要存在于细胞间隙和细胞壁中, 利用果胶酶分解果胶, 可以分离细胞、破坏细胞壁, 促进有效物质在细胞外的释放。

本试验主要探讨杏仁种皮黄酮的酶法辅助最优提取工艺, 以为杏仁产品的深加工提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

杏仁种皮: 取自涿鹿果仁食品公司, 清洗沥水, 晾干, 粉碎。

芦丁标准品、果胶酶(酶活力 50 000 U/g)、其他试剂均为分析纯。

JA1003N 电子天平: 上海精密科学仪器有限公司; HHS 数显恒温水浴锅: 金坛市医疗仪器厂; KDC-1044 低速离心机: 科大创新股份有限公司中佳分公司; PHS-25PH 计: 上海仪电科学仪器股份有限公司; 755B 紫外可见分光光度计: 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 标准曲线绘制

精密称取经过 120 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 2.0 mg, 加 80% 乙醇溶解, 定容至 10 mL 容量瓶中, 摇匀, 制成 0.2 mg/mL 的对照品溶液; 分别取该溶液 0.0、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL, 放置 6 min, 加 10% 硝酸铝 0.4 mL, 放置 6 min, 加 4% 氢氧化钠 4 mL, 加水至刻度, 摇匀, 放置 15 min, 在波长 510 nm 处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 样品浓度为横坐标绘制标准曲线^[7], 如图 1 所示, 标准曲线回归方程 $y=5.136x+0.0182$, $R=0.9965$, 在 0.04~0.80 mg/mL 范围内呈良好的线性关系。

1.3 提取工艺及样品测定

量取 100 mL 蒸馏水, 调节水温和 pH 至果胶酶的

收稿日期: 2015-08-06

基金项目: 张家口市科技攻关项目(12110040c-2)

作者简介: 李育峰(1977—), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为农副产品贮藏与加工研究。

最适反应条件(pH 3.5、温度 50 ℃),加入 1 g 杏仁种皮粉和若干果胶酶,酶解一段时间,过滤得滤液;滤渣中加入乙醇浸提一定时间,定容,离心得滤液;合并 2 次滤液。精确吸取杏仁种皮黄酮提取液 1.0 mL,置于 10 mL 比色管中,按 1.2 所述方法测定吸光度,算出提取液总黄酮含量。分析果胶酶浓度、酶解时间、乙醇浓度、料液比、提取温度及提取时间对杏仁种皮黄酮提取率的影响。

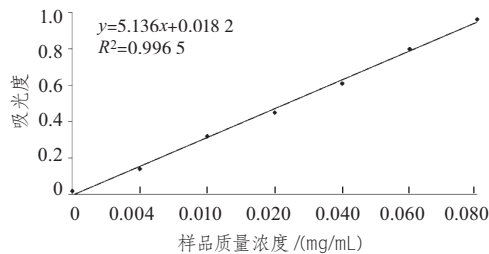


图1 芦丁标准曲线

1.4 黄酮提取率的计算

$$w = \frac{m}{M} \times 100\%$$

式中: w 为黄酮提取率, %; m 为提取液中黄酮质量, g; M 为杏仁种皮质量, g。

2 结果与分析

2.1 果胶酶浓度对提取率的影响

在反应温度 50 ℃、pH 3.5、酶解时间 90 min、提取时间 30 min 的条件下,考察果胶酶浓度对提取率的影响。

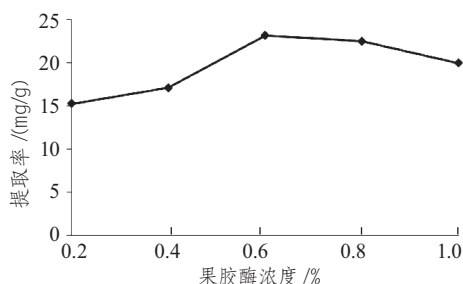


图2 果胶酶浓度对提取率的影响

由图 2 可知,在一定范围内提取率随着酶浓度的增加而增大,当酶浓度为 0.6% 时,提取率最大,继续增加酶浓度提取率略有降低。这是因为酶浓度太低时,底物果胶和酶的接触机会减少,酶浓度增加到某一程度时,降低了底物的有效浓度,提取率减小,因此酶的最佳浓度为 0.6%。

2.2 酶解时间对提取率的影响

在反应温度 50 ℃、pH 3.5、果胶酶浓度 0.6%、提取时间 30 min 的条件下,考察酶解时间对提取率的影响。

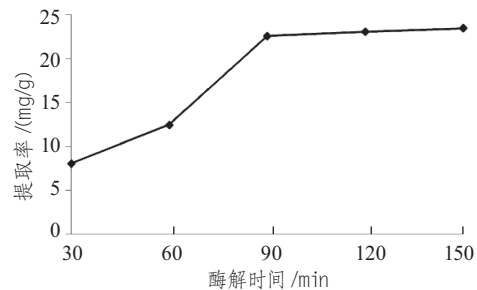


图3 酶解时间对提取率的影响

由图 3 可知,在一定范围内,提取率随着酶解时间的增加显著增大,之后提取率随着酶解时间的增加变化不明显。综合考虑,选择酶解时间为 90 min。

2.3 乙醇浓度对提取率的影响

浸提滤渣中的黄酮,在提取温度 50 ℃、提取时间 30 min、料液比 1:30 (g/mL) 的条件下,考察乙醇浓度对提取率的影响。

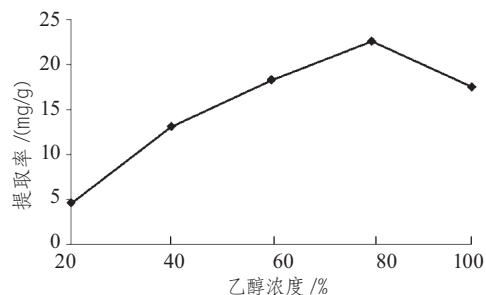


图4 乙醇浓度对提取率的影响

由图 4 可知,在一定范围内提取率随着乙醇浓度的增加而增大,当乙醇浓度为 80% 时,提取率最大,继续增加乙醇浓度提取率降低。这是由于乙醇浓度不同时极性不同,80% 乙醇的极性和黄酮的极性最接近,更有利于黄酮的溶解。

2.4 料液比对提取率的影响

浸提滤渣中的黄酮,在提取温度 50 ℃、提取时间 30 min、乙醇浓度 80% 的条件下,考察料液比对提取率的影响。

由图 5 可知,在一定范围内,提取率随着料液比的减小显著增大,料液比为 1:30 (g/mL) 时提取率较大,之后增加不明显。这是由于料液比减小时,溶剂中黄酮浓度减小,有利于细胞内的黄酮向胞外转移和扩散。

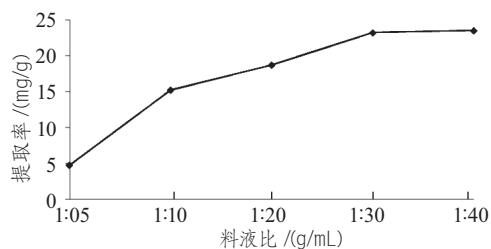


图5 料液比对提取率的影响

2.5 提取温度对提取率的影响

浸提滤渣中的黄酮,在料液比 1:30 (g/mL)、提取时间 30 min、乙醇浓度 80% 的条件下,考察提取温度对提取率的影响。

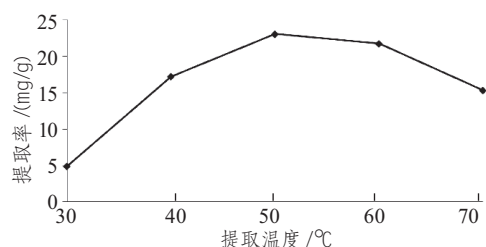


图6 提取温度对提取率的影响

由图6可知,提取温度为 50 °C 时,提取率最高。低温不利于黄酮在溶剂中的溶解和扩散,提取率低;高温会破坏黄酮的结构,因此提取率降低。

2.6 提取时间对提取率的影响

浸提滤渣中的黄酮,在料液比 1:30 (g/mL)、提取温度 50 °C、乙醇浓度 80% 的条件下,考察提取时间对提取率的影响。

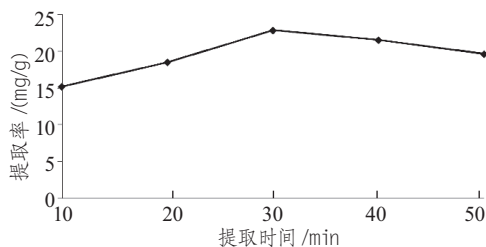


图7 提取时间对提取率的影响

由图7可知,当提取时间为 30 min 时,提取率最高。提取时间太短,影响黄酮在溶剂中的溶解和扩散,提取率较低;当提取时间从 30 min 增大到 50 min 时,长时间的高温会使黄酮部分分解,提取率降低。

2.7 正交试验

表1 正交试验表

试验编号	考察因素				黄酮提取率 / (mg/g)
	乙醇浓度 A/%	料液比 B/(g/mL)	提取温度 C/°C	提取时间 D/min	
1	1(70)	1(1:20)	1(40)	1(20)	13.6
2	1	2(1:30)	3(60)	2(30)	20.5
3	1	3(1:40)	2(50)	3(40)	21.6
4	2(80)	1	2	3	22.8
5	2	2	3	1	20.3
6	2	3	1	2	18.3
7	3(90)	1	3	2	17.2
8	3	2	1	3	15.5
9	3	3	2	1	17.8
K ₁	18.6	17.9	15.8	17.2	
K ₂	20.5	18.8	20.7	24.4	
K ₃	16.8	19.2	19.3	20.0	
R	3.7	1.3	4.9	7.2	

由正交试验结果分析可知,各因素对杏仁种皮黄酮提取率的影响顺序是 $D > C > A > B$,即提取时间 > 提取温度 > 乙醇浓度 > 料液比,最佳工艺为 $A_2B_3C_2D_2$,即乙醇浓度为 80%,料液比为 1:40 (g/mL),提取温度为 50 °C,提取时间为 30 min。经过验证试验,此工艺条件下杏仁种皮黄酮的提取率可达 24.5 mg/g,高于正交表中的所有值。

3 结论

通过单因素和正交试验确定酶法提取杏仁种皮黄酮的最优条件为果胶酶浓度 0.6%、酶解时间 90 min、乙醇浓度 80%、料液比 1:40 (g/mL)、提取温度 50 °C、提取时间 30 min,此工艺条件下杏仁种皮黄酮的提取率可达 24.5 mg/g。

[参考文献]

- [1] 李楠,刘元,候滨滨,等. 黄酮类化合物的功能特性[J]. 食品研究与开发,2005,26(6): 139-141.
- [2] 郭文娟. 杏仁种皮中多酚类物质的提取研究[J]. 食品工程,2011(3): 43-46.
- [3] 文连军,张清安,张志琪. 响应曲面法优化杏仁皮总黄酮的微波提取工艺研究[J]. 南方农业学报,2011,42(1): 74-78.
- [4] 马雪玲,张敏蓉. 超声波辅助提取杏仁皮黄酮的研究[J]. 农产品加工(学刊),2013(4): 43-44.
- [5] 何余堂,高虹妮,解玉梅,等. 超声波协同酶法制备杏仁皮中水溶性膳食纤维及理化研究[J]. 食品工业科技,2013,34(1): 229-237.
- [6] 贺小贤,刘昌蒙. 杏仁皮渣中维生素E的酶法辅助萃取工艺研究[J]. 陕西科技大学学报,2012,30(5): 73-76.
- [7] 张自萍,黄文波. 枸杞总黄酮和多糖的超声提取及含量测定[J]. 农业科学研究,2006,27(1): 22-24.