

枳实中有效成分的综合提取工艺研究

李玉山

(四川农业大学理学院, 四川 雅安 625014)

摘要:以川产枳实为原料,对其中有效成分辛弗林、橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素、果胶、挥发油、枳实黄酮、枳实高蛋白饲料等进行了清洁化同步高效提取分离,得到一条清洁化同步高效提取工艺路线。辛弗林、橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、柠檬苦素、果胶、挥发油、枳实黄酮、枳实高蛋白饲料的得率分别为0.5%、25.2%、3.2%、1.1%、0.1%、15.2%、1.4%、10.8%、62%,质量分数分别为98.4%、96.4%、99.4%、98.8%、99.2%、93%、75%、80%、25.2%。

关键词:枳实;综合提取;高蛋白饲料;工艺

中图分类号:TQ91;Q946

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2010)04-0057-03

Integrated extraction of effective components from *Fructus Aurantii Immaturus*

LI Yu-shan

(School of Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: The extraction procedure of effective components such as synephrine, hesperidin, naringin, neohesperidin, limonin pectin, natural pigment; aetherolea, flavone, with high quality protein feedstuff from *Fructus Aurantii Immaturus* in Sichuan Province of China by clean, synchronous and highly efficient technology is studied, and a route of separation and purification is gotten. The processing results show the yield of synephrine, hesperidin, naringin, neohesperidin, limonin, pectin, aetherolea, flavone, and high quality protein feedstuff can be 0.5%, 25.2%, 3.2%, 1.1%, 0.1%, 15.2%, 1.4%, 10.8%, 62%, respectively. The content of above ones can be 98.4%, 96.4%, 99.4%, 98.8%, 99.2%, 93%, 75%, 80%, 25.2%, respectively.

Key words: *Fructus Aurantii Immaturus*; integrated extraction; highly quality protein feedstuff; technique

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus curantium* L. 及其栽培变种甜橙 *Citrus Sinensis* osbeck 的干燥幼果,具有破气消积、化痰散痞之功效^[1],包含柠檬烯、杨椽酸、芳香醇、酸橙素、苦橙苷、橙皮苷、新橙皮苷、辛弗林、*N*-甲基酪胺、柚皮苷、柠檬芳素及芸香柚皮苷等黄酮^[2]。文献报道都只对总黄酮中的某1种或2种成分的提取,舍弃了其他有价值的黄酮成分,没有达到综合利用的目的。笔者研究了对枳实中有效成分进行全面提取,使枳实资源得到了充分有效的利用,为全面合理开发枳实资源提供了依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

95%乙醇、无水甲醇;氢氧化钙、盐酸、醋酸乙腈、EDTA,均为AR纯;橙皮苷、柚皮苷、辛弗林对照品,中国生物制品检定所;半乳糖醛酸标品,Flura公

司;新橙皮苷、柠檬苦素标品, Sigma 公司。美国 Waters 高效液相色谱仪(HPLC), BUCH 1321 型半自动定氮仪, 732 型紫外分光光度计。

1.2 检测方法

橙皮苷,参照文献[3];柚皮苷,参照文献[4];新橙皮苷,参照文献[5];辛弗林,参照文献[6];柠檬苦素,参照文献[7];果胶,参照文献[8];挥发油按照中国药典附录XD挥发油测定法测定^[9];枳实黄酮,参照文献[4];蛋白饲料按照GB/T 6432—1994饲料中粗蛋白测定方法测定^[10]。

1.3 实验方法

研究对象所含11种成分,其水溶性各不相同,可先水提取将水溶性成分与脂溶性成分分离,在水溶性成分中一些成分不溶于醇,通过醇沉使一些成分又加以分离。水提取后的渣再提取水不溶性成分,提取液以树脂柱将各成分分离,最后的渣以丙酮将柠檬苦素提取出。工艺流程见图1。

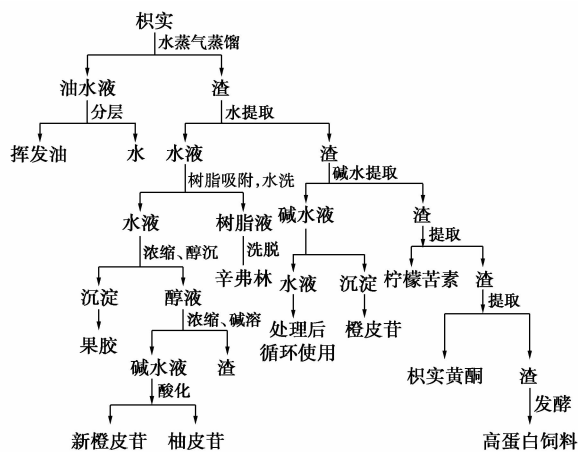


图1 枳实提取的工艺流程

2 结果与讨论

2.1 挥发油的提取

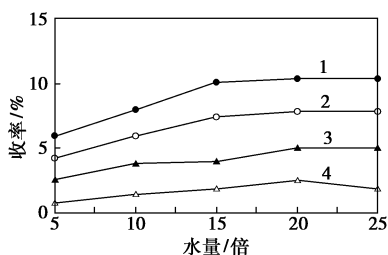
方法1:取2 kg 枳实粗粉,加入蒸馏器中,以水浸泡后,直接加热蒸馏,直到无油馏出,停止蒸馏,冷

却,分层,收集油层将油相脱胶,脱色后得到淡黄色挥发油 29 g。

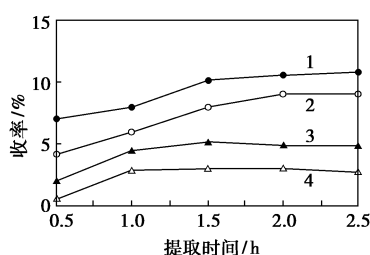
方法2:将枳实粗粉置于有孔隔层板网上,加热底部的水产生蒸汽,挥发油随水蒸气蒸馏出。挥发油是一类具有芳香气味的油状液体,主要有萜类化合物、芳香族化合物、脂肪族化合物组成,常呈无色或淡黄色液体,不溶于水,可随水蒸气而蒸馏出。

2.2 果胶的提取

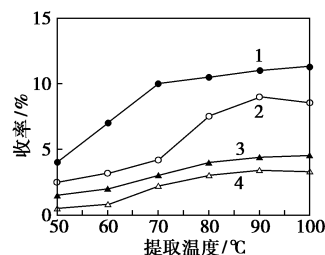
提取挥发油后的渣以热水提取,果胶、辛弗林、柚皮苷、新橙皮苷溶于热水而被提取出。考察了水的用量、提取时间、提取温度对4种成分提取得率的影响,结果见图2。可知20倍量(V/m)的水在90℃下提取1.5 h,4种成分可最大限度地被提取出。水液调pH=2后以732型阳离子交换树脂吸附,用水洗脱出不被树脂吸附的果胶、柚皮苷、新橙皮苷,而辛弗林成盐后形成阳离子被树脂吸附从而达到分离,水洗脱液浓缩,醇沉,将柚皮苷、新橙皮苷溶于醇液而沉淀出果胶。



(a) 用水量



(b) 提取时间



(c) 提取温度

1—果胶;2—柚皮苷;3—辛弗林;4—新橙皮苷

图2 提取因素对收率的影响

果胶分离中主要考察浓缩液的密度、醇的浓度及醇的用量。分别取50 g 枳实渣以正交试验进行考察,可知最佳工艺:水液质量浓度1.6 g/mL,醇沉质量分数80%,乙醇用量20倍(V/m)。粗果胶以水热溶后加入5%活性炭在80℃下保温30 min,趁热过滤,滤液浓缩至干,真空干燥粉碎得白色胶粉,称重7.6 g,测得含量为93%(质量分数,下同)。

2.3 柚皮苷的提取

2.2中的醇液中含有柚皮苷和新橙皮苷,醇液浓缩回收乙醇得浸膏,利用柚皮苷和新橙皮苷在不同酸度下的溶解性差异将2者分离。将50 g 枳实渣的醇浸膏以澄清石灰水溶解、过滤,滤液以梯度酸沉淀将其分离,鞣质类成分与钙离子螯合。主要考察了石灰水的碱度、用量及剩余残渣的量。残渣的量不变说明浸膏中能被碱水溶出的成分已全部溶出,因此以残渣的量研究石灰水溶解的最佳工艺,结

果见表1。以pH=14的澄清石灰水8倍量(V/m)溶解可很好地溶解有效成分而去除杂质。得到的淡黄色结晶物过滤,固形物以热乙醇溶解后,加入少量活性炭在60℃保温30 min,趁热过滤,滤液澄清透明,减压浓缩至小体积,结晶,得类白色结晶2.6 g,测其含量为98.6%。

表1 澄清石灰水用量对水解程度的影响

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH	10	12	14	10	12	14	10	12	14
用量(V/m)	5	5	5	8	8	8	10	10	10
残渣量/%	54.6	40.2	26.1	47.3	35.5	21.7	44.8	31.6	21.5

2.4 新橙皮苷提取

将2.3中的沉淀出柚皮苷的液体再次调酸碱度,析出黄色新橙皮苷,结晶物以乙醇溶解,加入少量活性炭,在60℃下保温30 min后趁热过滤,滤液

浓压缩至适当体积,静置析出类白色结晶 0.53 g,含量 99.4%。新橙皮苷为白色针状晶体(由稀乙醇或稀醋酸结晶),熔点 236~237℃,加 2% 盐酸或硫酸水解产生桔皮素。新橙皮苷也属于黄酮类化合物,在橙皮苷的提取中也随之提出,但与柚皮苷性质相似,调酸后游离但无沉淀析出,可能是因为含量较低缘故。

2.5 辛弗林的提取

2.2 中的以 732 型强酸性阳离子树脂吸附辛弗林,以氨水洗脱,薄层色谱(TLC)检查,直至无辛弗林洗出时为止,将含辛弗林的成分浓缩、结晶、重结晶,得白色晶物 0.25 g,含量 98.4%。辛弗林属麻黄碱类,易溶于酸水中,因此在果胶的提取中与果胶同时提出,由于分子结构中存在酚羟基和氨基,具有两性,可与碱成盐,而游离的辛弗林不溶于水,易溶于有机溶剂,成盐后则易溶于水而难溶于有机溶剂,在离子交换树脂层析时易发生消旋。在辛弗林的提取中也可以分离出鲸鱼胺生物碱。

2.6 橙皮苷的提取

枳实水提后的渣干燥后分别取 50 g 以饱和石灰水提取,过滤提取液,以 10% 盐酸调至酸性后沉淀,过滤沉淀物,水洗至中性再将沉淀物溶于氢氧化钙液中,加热、保温、调酸性、搅拌、保温、降温至室温、过滤,滤饼以水洗至中性,烘干得橙皮苷。以 T 型关联度分析法考察了碱水的 pH、酸化 pH、沉淀温度、沉淀时间等因素的影响,结果显示影响得率的最大因素为石灰水的碱度,影响含量的最大因素为沉淀时的温度,得到最佳工艺为:饱和澄清石灰水提取,提取液调 pH=4,60℃ 下沉淀 2.0 h。在此工艺下橙皮苷得率 25.2%,含量(质量分数)96.4%。

2.7 柠檬苦素的提取

以碱液提取橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷后的渣晾干,以等量(V/m)丙酮在 60℃ 下回流提取 2 次,滤液合并浓缩再以二氯甲烷萃取 3 次,合并二氯甲烷液,浓缩、析晶,将晶状物热溶于丙酮,加入少量活性炭,保温 30 min,趁热过滤,滤液浓缩并静置结晶,得白色结晶物 0.5 g,含量(质量分数)为 98.8%。

2.8 枳实黄酮的提取

2.7 中的渣含有枳实黄酮,以乙醇提取,提取液回收乙醇后喷雾干燥。以均匀设计法考察了乙醇浓度、乙醇用量、提取温度、提取时间对枳实黄酮得率的影响,结果表明乙醇浓度、提取温度、乙醇用量对

提取影响均很大,考虑到实际操作,可将最优条件定为乙醇体积分数为 80%,料液比 15:1(V/m),提取温度 70℃,提取时间 1.5 h,该工艺下枳实黄酮得率 10.8%。

2.9 枳实高蛋白饲料

2.8 中的枳实渣可制备高蛋白饲料,枳实渣含有丰富的碳水化合物、维生素、矿物质、氨基酸,但蛋白质含量不高,经发酵后可产出高蛋白饲料。具体做法如下:提取黄酮后的枳实渣调 pH=6.0~7.0,将枳实渣灭菌后按 1.2% 的质量分数接入黑曲霉 II 号 and 产阮假丝酵母 I 号混合菌,温度 40℃ 下发酵,用塑料薄膜密封发酵器皿,枳实渣表面长满菌丝后出料,70~80℃ 下烘干、粉碎、包装,收率达 62%,检测粗蛋白含量(质量分数)为 25.2%。

3 结语

笔者对枳实中有效成分进行了同步高效提取,使枳实资源得到了综合利用。重点对枳实中的果胶、橙皮苷、柚皮苷、枳实黄酮的提取纯化做了深入研究,此工艺已应用于工业生产,而其他微量成分的提取也为工业生产提供了一定依据。

参考文献

- [1] 中国药典委员会. 中国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2005:172.
- [2] 张永勇,倪丽,范春林,等. 枳实中一个新的酚苷类成分[J]. 中草药,2006,37(9):1295-1296.
- [3] 赵虹桥,文赤夫. 湘西碰柑果皮中橙皮苷的提取与纯化[J]. 现代食品科技,2008,24(8):812-815.
- [4] 陈永刚,林励,魏燕华,等. 超声波提取法与索氏提取法提取橘红柚皮苷的比较研究[J]. 中药新药与临床研究,2008,19(4):309-311.
- [5] 许永兴,瞿海斌,程翼宇. 从枳壳中分离纯化新橙皮苷对照品[J]. 中草药,2005,36(4):525-527.
- [6] 朱正义. 一阶导数光谱法测定四川杂枳实中辛弗林含量[J]. 药物分析杂志,1987,7(2):100-106.
- [7] 刘亮,戚向阳,董绪燕,等. 高效液相色谱法测定柑橘中的柠檬苦素类似物[J]. 食品与发酵工业,2007,33(4):130-133.
- [8] 吴玉萍,杨光宇,王东丹. 高效液相色谱法测定烟草中的果胶含量[J]. 光谱实验室,2004,2(1):183-185.
- [9] 中国药典委员会. 中国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2005:附录 57.
- [10] 国家技术监督局. GB/T 6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,1994. ■