

陈皮总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究

芮子涵, 刘露露, 周海嫫*

滁州学院材料与化学工程学院, 安徽 滁州

Email: 87biner@163.com

收稿日期: 2021年7月6日; 录用日期: 2021年7月29日; 发布日期: 2021年8月16日

摘要

目的: 探究陈皮中的黄酮类化合物并对其进行提取研究其抗氧化活性。方法: 采用溶剂提取法对陈皮中的黄酮类化合物进行提取; 进行单因素对照实验, 考察乙醇浓度、提取时间、提取温度这三个变量, 用控制变量的方法, 每个变量设置五个平行实验, 结合紫外分光光度计, 根据检测结果, 最终选择合适的试验方案。结果: 此实验中, 在一定条件下, 1g陈皮中提取出31.3%的总黄酮化合物, 羟自由基清除率最高为61%, 其抗氧化能力通过羟自由基的清除率实验得以证实。结论: 在一定程度上, 陈皮提取液的浓度越高, 羟自由基的清除率也相应提高。

关键词

陈皮, 黄酮类化合物, 抗氧化

Study on the Extraction Process and Antioxidant Activity of Total Flavonoids from Tangerine Peel

Zihan Rui, Lulu Liu, Haipin Zhou*

School of Materials and Chemical Engineering, Chuzhou University, Chuzhou Anhui

Email: 87biner@163.com

Received: Jul. 6th, 2021; accepted: Jul. 29th, 2021; published: Aug. 16th, 2021

Abstract

Objective: The objective is to explore the flavonoids in tangerine peel and extract them to study

*通讯作者。

their antioxidant activity. Method: Solvent extraction method was used to extract flavonoids from tangerine peel; a single-factor control experiment was conducted to investigate the three variables of ethanol concentration, extraction time, and extraction temperature. Using the method of controlling variables, each variable was set to five parallels. In the experiment, combined with the UV spectrophotometer, according to the test results, we finally select the appropriate test program. **Result:** In this experiment, under certain conditions, 31.3% of flavones were extracted from 1 g tangerine peel, and the scavenging rate of hydroxyl radicals was 61%. Its antioxidant capacity was confirmed by the scavenging rate experiment of hydroxyl radicals. **Conclusion:** To a certain extent, the higher the concentration of tangerine peel extract is, the higher the scavenging rate of hydroxyl radicals is.

Keywords

Tangerine Peel, Flavonoids, Antioxidant

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

陈皮是常见且易得的中药材之一，又被叫做橘皮，在我国很多地方都有种植，陈皮都以香味浓郁，光泽艳丽，外皮光滑，药材大为最佳[1]。陈皮中主要含有橘皮素、新橙皮苷、橙皮苷和川陈皮素等等这些黄酮类化合物。陈皮具有调中开胃、降血糖[2]、理气降逆的功能，主治腹胀、呕吐、咳嗽痰多等，经研究，现已知陈皮对消化系统、心血管系统[3]、呼吸系统、泌尿系统等有一定的药理作用[4]。多数从陈皮中提取出的黄酮类化合物具备较强的抗氧化能力，现已有不少文献证明黄酮的抗氧化能力[5] [6]，在此基础上，将陈皮中的黄酮类化合物提取出来，再通过各种深加工，可以用来生产天然的食品类抗氧化剂，抗衰老药物或者保健品等。目前对陈皮的研究，主要集中于挥发油、黄酮类和对陈皮多糖的提取工艺，本文采用溶剂提取法对陈皮中的黄酮类化合物进行提取，最后得出陈皮总黄酮提取的最佳工艺和羟自由基的清除率随陈皮提取液浓度变化的规律[7]。

2. 仪器与材料

SZCL-2 型数显智能控温磁力搅拌器，DHG-9070 型电热恒温箱，HLD-20002 型电子天平，Cary 100 scan 型紫外-可见分光光度计，亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等试剂均为国产分析纯。实验所用陈皮出自广东新会——中国陈皮之乡，芦丁标准品由安徽酷尔生物工程有限公司提供。

3. 方法与结果

3.1. 单因素对照实验

以陈皮中黄酮类化合物的提取率为指标，分乙醇浓度(mol/L)、提取时间(min)、提取温度(°C)三组，分别考察这三组对黄酮类化合物提取率的影响(见图 1，图 2 和图 3)。

3.1.1. 乙醇浓度

取 5 个烧瓶，分别精密称取 1 g 陈皮粉末放置于 5 个烧瓶中，接着用 100 mL 浓度为 50%、60%、70%、

80%、90%的乙醇溶液将烧瓶里的陈皮粉末充分混合，放入温度为 80℃ 的电热套中搅拌加热 2 小时，之后停止加热，将其冷却到室温抽滤，取滤液备用。取 5 次滤液体积为 1 mL 放入 5 个 25 mL 容量瓶中，加入 5% 的亚硝酸钠溶液 1 mL 摇匀，后加入 10% 的硝酸铝溶液 1 mL 摇匀，再加入 4% 的氢氧化钠溶液 10 mL 摇匀静置，最后用去离子水定容至刻度，充分混合后放置数分钟。以空白容量瓶为对照，将其在 510 nm 紫外光下处测定其吸光值。

3.1.2. 提取时间

取 5 个烧瓶，分别精密称取 1 g 陈皮粉末置于 5 个烧瓶中，接着用 100 mL 浓度为 75% 的乙醇将其充分混合，放入温度为 80℃ 的电热套中分别加热 30 min、60 min、90 min、120 min、150 min，加热完毕取出烧瓶，冷却至室温并进行抽滤，取出滤液备用。取 5 次滤液体积 1 mL 至 5 个 25 mL 的容量瓶中，加入 5% 的亚硝酸钠溶液 1 mL，再加入 10% 的硝酸铝溶液 1 mL，最后加入 4% 的氢氧化钠溶液 10 mL 摇匀静置，最后用去离子水定容至刻度，充分混合后放置数分钟。以零管空白容量瓶作为对照，使其在 510 nm 处测定紫外吸光度。

3.1.3. 提取温度

取 5 个烧瓶，分别精密称取 1 g 陈皮粉末置于 5 个烧瓶中，用 100 mL 浓度为 75% 的乙醇溶液将其充分混合，分别放入温度为 50℃、60℃、70℃、80℃、90℃ 的电热套中加热两个小时，之后取出，在室温下冷却并进行抽滤，取出滤液备用。取 5 次滤液体积 1 mL 至 5 个 25 mL 烧瓶中，加入 5% 的亚硝酸钠溶液 1 mL 摇匀，再加入 10% 的硝酸铝溶液 1 mL 摇匀，最后加入 4% 的氢氧化钠溶液 10 mL 摇匀静置，最后用去离子水定容至刻度，充分混合后放置数分钟。以空白容量瓶作为对照，使其在 510 nm 紫外光下处测定吸光值。

3.2. 分析因素

单因素对照试验

在其他因素保持不变的情况下，选取乙醇浓度作为变量，经紫外测定后结果显示，在乙醇浓度从 50% 增加到 90% 的时候，紫外吸光度处于增加的趋势，在乙醇浓度 70% 的时候，紫外吸光度最高为 0.090976，乙醇浓度高于 70% 的时候，紫外吸光度又出现下降的趋势(见表 1、图 1)。如此说明，在本实验中，乙醇浓度为 70% 的时候，陈皮中黄酮类化合物的提取率最高。

在其他因素不变的情况下，选取提取时间作为变量，经紫外测定后的结果显示，在 120 分钟的时候，紫外吸光度最高为 0.113064。处于 120 分钟以前，紫外吸光度处于增加的趋势，高于 120 分钟，紫外吸光度处于下降的趋势(见表 2、图 2)。如此则说明，本实验中提取 2 小时，陈皮中黄酮类化合物的提取率最高。

在其他因素不变的情况下，选取提取温度作为变量，经紫外测定后的结果显示，在 80℃ 时，紫外吸光度最高为 0.094192。在 80℃ 之前处于增加的趋势，80℃ 之后为下降的趋势(见表 3、图 3)。因此，在本实验中，提取温度为 80℃ 的时候，陈皮的提取率最高。

Table 1. Relationship between ethanol concentration and extraction rate

表 1. 乙醇浓度和提取率的关系数据表

乙醇浓度	50	60	70	80	90
吸光度	0.067976	0.076491	0.090976	0.088643	0.060842
提取率(%)	22.3	25.2	30.2	29.4	19.8

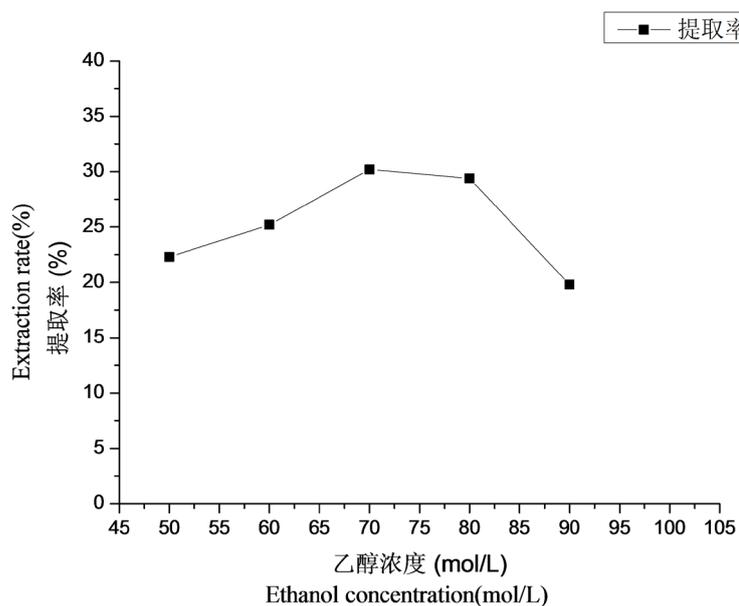


Figure 1. Relationship between ethanol concentration and extraction rate
图 1. 乙醇浓度和提取率的关系

Table 2. Relationship between extraction time and extraction rate
表 2. 提取时间和提取率的关系数据表

时间	30	60	90	120	150
吸光度	0.089778	0.098484	0.102504	0.113064	0.107328
提取率(%)	29.8	32.8	34.2	37.5	35.9

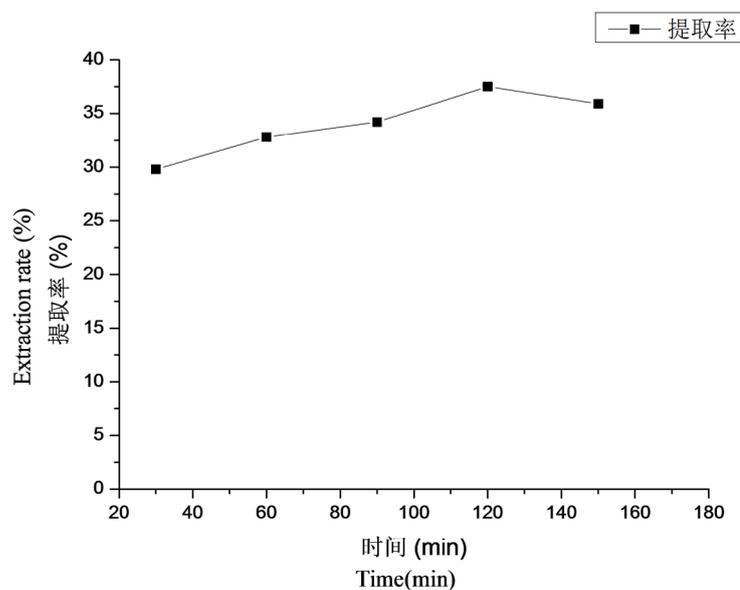
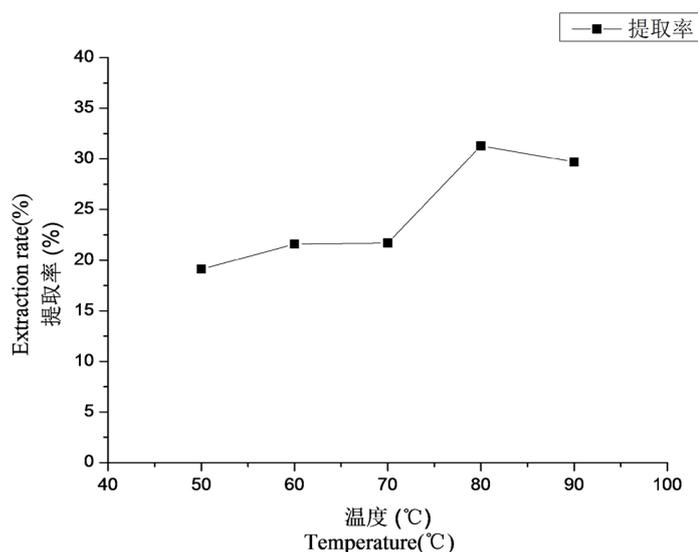


Figure 2. Relationship between extraction time and extraction rate
图 2. 提取时间和提取率的关系

Table 3. Relationship between extraction temperature and absorbance**表 3.** 提取温度和吸光度的关系

温度	50	60	70	80	90
吸光度	0.058536	0.065853	0.066174	0.094192	0.089311
提取率(%)	19.1	21.6	21.7	31.3	29.7

**Figure 3.** Relationship between extraction temperature and absorbance**图 3.** 提取温度和吸光度的关系

因此在现有的实验条件下, 筛选出陈皮中总黄酮的最佳提取条件为乙醇浓度 70%、温度 80°C、加热搅拌 2 小时, 提取率分别为 30.2%、37.5%、31.3%, 在此条件下提取陈皮中的黄酮类化合物, 并在 510 nm 波长下测得其紫外吸光度。

3.3. 抗氧化能力实验

羟自由基清除率实验

羟自由基具备较强的抗氧化能力[8]。根据提取液的浓度, 配制出 1 mg/mL、1.5 mg/mL、2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL 的黄酮提取液, 分别放入 5 个试管中, 在每个试管中加入 1 mL 硫酸亚铁溶液摇匀并放置 5 分钟, 再加入水杨酸乙醇溶液 1 mL 摇匀并放置 5 分钟, 最后加入过氧化氢溶液 1 mL, 摇匀并放置 5 分钟。另取一试管, 其他溶剂不变, 将黄酮提取液换为蒸馏水, 同样定容至刻度线, 作为零管空白对照。将这些试管在 37°C 的水浴箱中恒温加热 30 min, 使其充分反应, 之后在 510 nm 波长处测定其紫外吸光值。将所得的结果代入公式计算得出陈皮中总黄酮的羟自由基清除率。清除率 = $(A_1 - A_2)/A_1 \times 100\%$ 。根据实验数据可得出结论, 陈皮中总黄酮具有清除羟自由基的功能, 并且从(表 4、图 4)可以看到在一定程度上, 陈皮提取液的浓度越高, 其紫外吸光度就越大, 相应的羟自由基的清除率就越高。在此实验中, 当陈皮提取液浓度为 3 mg/mL 时, 羟自由基的清除率最高达到 61%。

Table 4. Data table of hydroxyl free radical scavenging rate of total flavonoids of Tangerine peel**表 4.** 陈皮总黄酮的羟自由基清除率数据表

浓度(mg/mL)	1	1.5	2	2.5	3
清除率(%)	18	21	46	58	61

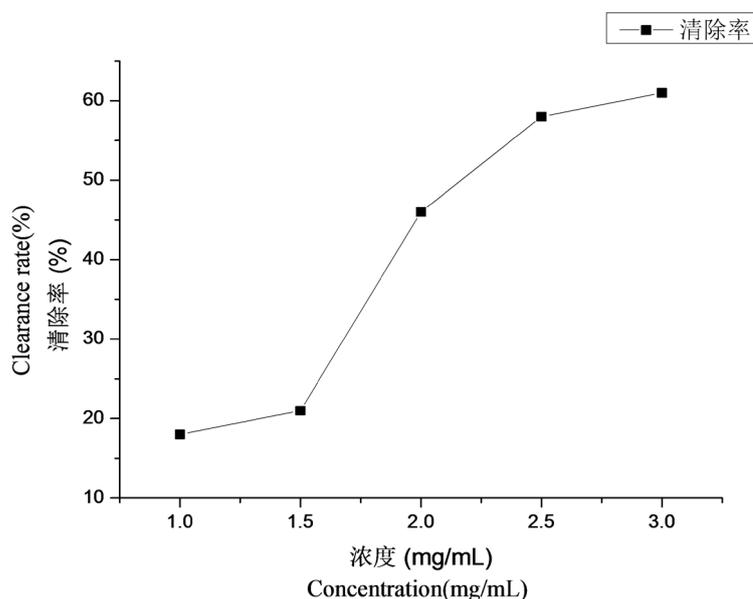


Figure 4. Hydroxyl radical scavenging rate of total flavonoids from of Tangerine peel

图 4. 陈皮总黄酮的羟自由基清除率

4. 结论

该实验证明乙醇浸取法提取陈皮中的黄酮类化合物的最佳工艺条件为:乙醇浓度 70%,温度为 80℃,加热搅拌 2 小时,最终得到陈皮提取液浓度为 3 mg/mL 时,陈皮中总黄酮的羟自由基清除率最高,为 61%。乙醇作为溶剂提取,可能由于操作的误差造成提取不完全,提取率较低,耗时时间长等缺点[9],但是其所需要的设备简单,操作方便且安全,该方法在研究上也有理论指导意义。

基金项目

安徽省大学生创新创业训练计划项目 2019CXXL077。

参考文献

- [1] 李时珍. 本草纲目[M]. 2012 版. 北京: 中国言实出版社, 2012.
- [2] 孙亚丽, 吕邵娃, 吴佳霖, 等. 白虎汤中多糖的提取工艺优化及其降血糖活性研究[J]. 中南药学, 2018, 16(4): 495-499.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2010 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [4] 张艳艳, 卢艳花. 陈皮黄酮川陈皮素的分离纯化及抗炎止血作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(6): 1238-1239.
- [5] 吴昊, 宗志敏, 张赣道. 响应面法优化陈皮黄酮提取工艺的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(28): 13985-13987, 14036.
- [6] 韩鹏虎, 董树国, 刘佳铭, 等. 均匀设计优化超声波辅助索氏提取陈皮的总黄酮及抗氧化性研究[J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(2): 101-104.
- [7] 李伟伟, 张国伟. 陈皮黄酮类成分研究进展[J]. 中国医学创新, 2014, 11(24): 154-156.
- [8] 张海丽. 陈皮提取物的抗氧化活性研究[J]. 黑龙江医药, 2014, 27(2): 306-309.
- [9] 逢显娟, 李杰, 段冷欣, 等. 陈皮中橙皮苷的溶剂热法提取工艺及检测方法的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 267-270, 276.