

生姜皮总黄酮的提取工艺研究

许庆陵¹, 周勇强², 战宇², 曾庆祝²

(1. 广州大学分析测试中心, 广东广州 510006) (2. 广州大学化学化工学院, 广东广州 510006)

摘要: 以生姜加工的废弃物生姜皮为原料, 提取生姜皮中总黄酮。采用乙醇浸提法, 以总黄酮得率为提取指标, 通过单因素实验和正交试验研究生姜皮总黄酮的最佳提取工艺。结果表明: 生姜皮中总黄酮的最佳提取工艺为乙醇浓度 75%、浸提时间 5.5 h、浸提温度 60 ℃、料液比 1:45, 此条件下总黄酮得率 0.61%。

关键词: 生姜皮; 黄酮; 提取

文章编号: 1673-9078(2012)8-998-1001

Research on Extraction Technology of Flavonoid from Ginger Peel

XU Qing-ling¹, ZHOU Yong-qiang², ZHAN Yu², ZENG Qing-zhu²

(1. Analysis and Test Center, Guangzhou University, 510006, Guangzhou 510006, China)

(2. School of Chemistry & Chemical Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The extraction technology of ginger flavonoid from ginger peel with alcohol soaking was studied in this paper. The optimal extraction technological conditions of ginger flavonoid were obtained by single factor and orthogonal experiments. The results showed that the optimal extraction conditions of ginger flavones were alcohol concentration 75%, temperature 60 ℃, ratio of materials to solvent 1:45 and extracting times 5.5 h, under which the yield of ginger flavonoid reached 0.61%.

Key words: ginger peel; ginger flavonoid; extraction

姜属多年生草本植物, 为姜科植物姜的根茎, 距今有二千多年的栽培历史。作为一种历史悠久的香辛调味料, 广泛用在食品加工和食物烹调中, 同时也是一种传统的中药材, 是一种传统药食两用的植物。中国是生姜主要出产国之一, 年出口量(主要是去皮后的粗加工产品)占世界总出口量的40%^[1]。生姜营养丰富, 目前, 研究已确认含姜油酮、姜酚、黄酮类等化学成分达200余种^[2]。有关生姜功能因子功效研究越来越广泛, 具有抗氧化、降血脂、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、抑菌、驱虫、护肤美容等多方面的生物活性^[3,4]。根据这些生物活性, 国内外已逐步开发适用于不同人群的多种调味品、保健食品、药品、化妆品和绿色农药等^[5,6]; 对生姜的研究尤其是针对生姜药品和保健品的开发将具有很大的潜力与空间。

生姜中含有大量的黄酮类化合物^[7]。黄酮类化合物(Flavonoids), 是具有色酮环与苯环为基本结构的一类化合物的总称, 包括黄酮类、黄酮醇类、异黄酮类、黄烷酮类等, 其中黄酮醇是重要的一类。主要具有抗

氧化、抗衰老、调节毛细血管的脆性与渗透、癌预防及对老年病的防治等功效。在功能性食品中, 应用前景广阔。

生姜皮为姜根茎洗净、竹刀刮取的外层栓皮, 晒干后呈卷缩不整齐的碎片, 灰黄色, 有细皱纹, 有的具线状的环节痕迹, 内表面常具黄色油点, 有特殊香气, 味辣。生姜皮味辛, 性凉; 归脾、肺经; 具有行水消肿的功能。主治水肿初起, 小便不利^[2]。但有关生姜皮活性物质的提取及研究还未曾见报道。目前, 我国大部分工厂对生姜加工后的生姜皮作为废弃物直接倒掉, 造成资源浪费, 同时给环境也带来负面影响。因此, 从废弃的生姜皮中提取有效成分, 充分开发生姜皮的用途, 变废为宝, 提高生姜的附加值, 优化自然资源, 无论从经济效益还是社会效益来看, 都具有长远的意义。本实验对生姜皮中总黄酮提取工艺进行研究, 以期对生姜加工废弃物的综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与试剂

生姜皮-生姜酱加工废弃物, 来自广州万城冷冻食品有限公司; 芦丁标准品(中国医药集团上海化学试剂公司); AR级的无水乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧

收稿日期: 2012-04-21

基金项目: 广州市科技计划项目(12G12011620)

作者简介: 许庆陵(1965-), 女, 高级实验师, 研究方向: 食品生物化学工程技术

通讯作者: 曾庆祝

化钠。

1.1.2 仪器设备

752 型紫外可见分光光度计, 上海天美科学仪器有限公司; 真空旋转蒸发仪 Hei-VAP, 德国 Heidolph; 真空干燥箱(HZF-100), 上海森信实验仪器有限公司; WK-400B 型高速药物粉碎机, 山东青州市精诚机械有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料预处理

将姜皮洗净、晾干、去除霉烂部分, 放入 $60\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空烘箱中干燥至恒重(为了使干燥均匀, 使生姜中的水份易于蒸发, 干燥生姜皮层的厚度大约在1~2 cm), 粉碎机粉碎、过40目筛, 得到的姜皮粉密封、避光、常温保存待用。

1.2.2 生姜皮中总黄酮提取方法

1.2.2.1 提取工艺

姜皮粉→浸提→抽滤→旋转蒸发→真空干燥→含黄酮的浸提物

按不同溶剂浓度、溶剂量(料液比)、提取温度、提取时间进行单因素实验及正交试验, 以总黄酮得率为指标, 确定提取生姜皮中总黄酮的最佳工艺条件。

1.2.2.2 提取方法

称取生姜皮粉于 250 mL 碘量瓶中, 加入不同体积乙醇, 摇匀, 置于恒温水浴振荡器中浸提一定时间。

1.2.2.3 浓缩、干燥

将得到的提取液抽滤, 滤液置于真空旋转蒸发仪浓缩; 再将浓缩物真空干燥至恒重。

1.3 浸提物得率测定

$$\text{浸提物得率}(\%) = \frac{\text{浸提滤液浓缩干燥后质量}(\text{mg})}{\text{生姜皮粉质量}(\text{mg})} \times 100\%$$

1.4 总黄酮含量及得率测定

芦丁属于黄酮类物质, 采用硝酸铝比色法^[8]。黄酮与铝离子在碱性及亚硝酸存在条件下形成稳定黄色的黄酮铝络合物。黄色的深浅与黄酮含量呈一定的比例关系, 以芦丁(标准样)作标准, 于510 nm波长^[9]处比色, 定量测定生姜皮总黄酮含量。加入的亚硝酸钠起还原剂作用, 防止黄酮类化合物受氧化而损失。

1.4.1 芦丁标准溶液的配制

准确称取标准品芦丁20.0 mg, 置于10 mL的具塞刻度试管中, 加入60%的乙醇溶液6 mL, 微热使其溶解, 再用60%的乙醇定容至刻度, 摇匀, 得浓度为2 mg/mL的芦丁标准贮备液; 精确移取贮备液1.0 mL于10 mL具塞刻度试管中, 60%的乙醇定容至刻度, 摇匀, 得浓度为0.2 mg/mL的标准使用液。

1.4.2 芦丁标准曲线的绘制

精密移取标准使用液0、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL、2.0 mL、2.4 mL, 分别置于编号0, 1, 2, 3, 4, 5, 6号的10 mL具塞刻度试管中, 各加入5% NaNO₂溶液0.4 mL, 摇匀, 静置5 min; 各10% Al(NO₃)₃溶液0.4 mL, 摇匀, 静置5 min; 各5% NaOH溶液4 mL, 用60%乙醇定容至10 mL, 摇匀, 静置10 min。0号管为参比液, 在510 nm处进行比色。以吸光度A为纵坐标, 芦丁浓度为横坐标, 绘制芦丁标准曲线(图1), 得回归方程 $y=8.2224x+0.0014$ ($R^2=0.9965$), 在0.008~0.048 mg/mL范围内线性良好。

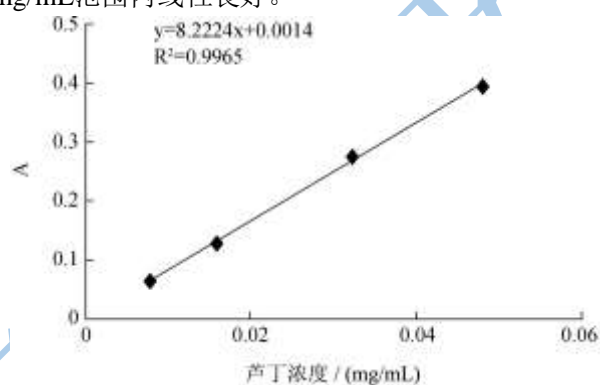


图1 芦丁标准曲线

Fig.1 Calibration curve of rutin

1.4.3 生姜皮中总黄酮含量测定

称取浸提物粉末20.0 mg, 用60%的乙醇溶解并定容至10 mL, 取1 mL于10 mL比色管中, 按制作标准曲线操作方法处理后, 于510 nm处进行比色测定。利用上述回归方程可计算测试液总黄酮含量C(mg/mL)。

$$Y=C \times \text{定容体积} \times \text{稀释倍数} = C \times 10 \times 10 = 100 \times C(\text{mg})$$

$$\text{样品中总黄酮得率}(\%) = \frac{Y \times (X \div 20)}{M} \times 100\%$$

式中, M-生姜皮粉重量, mg; X-浸提物重量, mg; Y-20mg浸提物中总黄酮含量, mg。

2 结果与讨论

2.1 生姜皮总黄酮提取工艺单因素实验

选取溶剂浓度、提取温度、料液比和提取时间 4 个影响提取效果的因素进行单因素实验, 以总黄酮得率为指标, 探讨不同影响因素对总黄酮得率的影响。

2.1.1 溶剂浓度对提取得率的影响

称 6 份相同量生姜粉, 分别以 40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇浓度作溶剂, 按料液比为 1:10 混匀, 在温度 50 °C 恒温水浴振荡器中浸提时间 6 h。结果见图 2。

由图 2, 随着乙醇浓度的增大, 提取物得率和总黄酮得率均呈先增后减的趋势, 乙醇浓度在 60~80% 之间, 总黄酮得率在乙醇浓度 70% 时为最高。

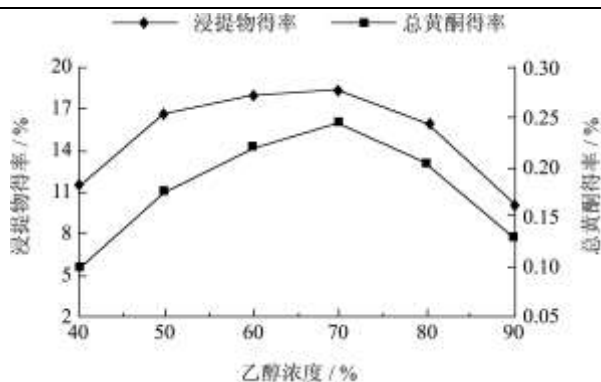


图2 乙醇浓度对提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol conceateating on extraction yield of flavonoid

2.1.2 提取温度对浸提物得率和总黄酮得率的影响

称 6 份相同量生姜粉, 分别以料液比为 1:10 加入 70%乙醇, 混匀, 在 30、40、50、60、70、80 °C 下, 恒温水浴震荡器中浸提时间 6 h。结果见图 3。

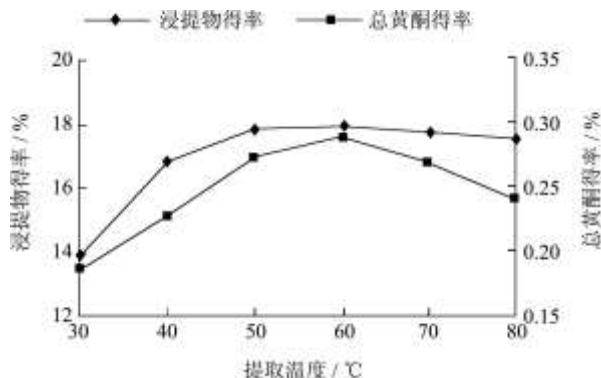


图3 提取温度对提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction yield of flavonoid

由图3可知, 随着温度的增加, 提取物得率和总黄酮得率都先增后减, 总黄酮得率在 60 °C 达到最高, 60 °C 后明显下降, 可能是提取温度过高对提取液中黄酮类化合物造成降解破坏。

2.1.3 料液比对浸提物得率和总黄酮得率的影响

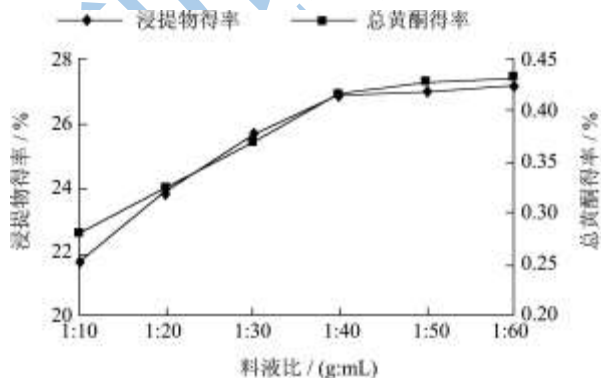


图4 料液比对提取率的影响

Fig.4 Effect of solid-liquid ratio on extraction yield of flavonoid

称 6 份相同量生姜粉, 分别按 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60 料液比加入 70%乙醇, 混匀, 在温度 60 °C 恒温水浴震荡器中浸提时间 6 h。结果见图 4。

由图 4 可知, 一定量的生姜皮粉, 提取物得率及总黄酮得率均随着料液比的增大而升高; 当料液比超过 1:40 之后, 得率几乎不再增加。因此, 料液比 1:40 左右为宜。

2.1.4 提取时间对浸提物得率和总黄酮得率的影响

称 6 份相同量生姜粉, 分别以料液比为 1:40 加入 70%乙醇, 混匀, 在 60 °C 恒温水浴震荡器中按 1 h、3 h、5 h、7 h、9 h、11 h 浸提时间提取。结果见图 5。

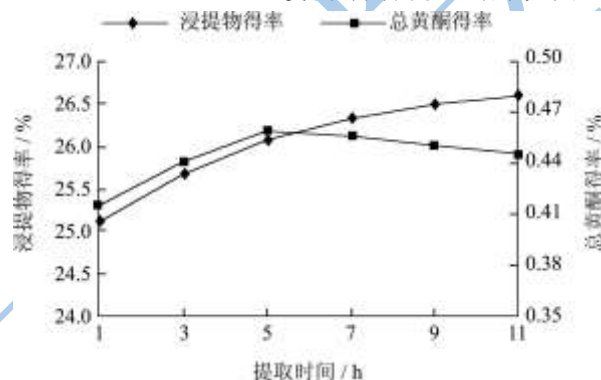


图5 提取时间对提取率的影响

Fig.5 Effect of extraction time on extraction yield of flavonoid

由图 5 可以看出, 随浸提时间延长, 提取物得率不断增大, 但总黄酮的得率在 5 h 后缓慢降低, 所以提取时间 5 h 左右适宜。

2.2 提取工艺的优化

为进一步确定生姜皮提取物的最佳工艺条件, 在上述单因素试验的基础上, 综合各因素之间的交互作用, 以溶剂浓度、提取温度、料液比和提取时间为主要因素, 以总黄酮得率为指标, 采用 L₉ (3⁴) 正交设计实验确定总黄酮最佳提取工艺条件。各因素及水平排列见表 1, 试验方案及结果分析见表 2。

表1 正交试验L₉ (3⁴) 因素水平表

Table 1 Factors and levels of the orthogonal test L₉(3⁴)

水平	因素			
	A (溶剂浓度 / %)	B (提取温度 / °C)	C [料液比 / (g:mL)]	D (提取时间 / h)
1	65	55	1:35	4.5
2	70	60	1:40	5.0
3	75	65	1:45	5.5

由表 2 可知: 影响生姜皮总黄酮得率的主次因素顺序为 A>D>B>C, 即乙醇浓度>提取时间>提取温度>料液比, 最优组合为 A₃D₃B₂C₃。在正交实验中第 8 组组合方案 A₃D₃B₂C₁ 得到的生姜皮总黄酮最高, 得率为 0.592%, 与极差分析最优水平组合 A₃D₃B₂C₃

不符, 分别对 A₃D₃B₂C₃ 和 A₃D₃B₂C₁ 进行验证试验, 得生姜皮总黄酮得率分别为 0.61% 和 0.59%, 所以最终确定最优组合为 A₃D₃B₂C₃, 即浸提法提取生姜皮总黄酮的最佳工艺条件: 乙醇浓度 75%、浸提时间 5.5 h、浸提温度 60 °C、料液比 1:45。

表2 正交试验方案及结果

Table 2 Results of the orthogonal design for ginger peel

extraction					
实验号	A	B	C	D	总黄酮得率/%
1	1	1	1	1	0.43
2	1	2	2	2	0.47
3	1	3	3	3	0.47
4	2	1	2	3	0.51
5	2	2	3	1	0.50
6	2	3	1	2	0.49
7	3	1	3	2	0.59
8	3	2	1	3	0.59
9	3	3	2	1	0.50
k ₁	0.456	0.509	0.503	0.477	
k ₂	0.498	0.52	0.496	0.515	
k ₃	0.56	0.484	0.516	0.523	
R	0.104	0.036	0.02	0.046	
因素主次	A>D>B>C				
优方案	A ₃ D ₃ B ₂ C ₃				

3 结论

通过单因素和正交试验探究了浸提法提取生姜皮总黄酮的影响因素及最佳工艺条件。实验结果表明, 溶剂浓度是影响生姜皮浸提物提取的主要因素, 提取生姜皮总黄酮的最佳工艺条件为: 乙醇浓度 75%、浸提温度 60 °C、料液比 1:45, 此条件下得率 0.61%。

参考文献

- [1] 孙宏春,王文亮,李海雷,等.生姜在食品加工中的开发现状及发展前景[J].中国食物与营养,2008,1:34-36
- [2] 匡芮,匡轩,朱海涛.生姜的功能因子与医疗保健作用[J].中国食物与营养,2007,2:52-53
- [3] 朱茂田.生姜功能因子的分离和纯化[D].成都:西华大学,2006
- [4] Akhani S P, Vishwakarma S L, Goyal R K. Anti-diabetic activity of Zingiber officinale in streptozotocin-induced type diabetic rats [J]. J. Pharm Pharmacol, 2004, 56(1): 101-105
- [5] 刘庆海.配制法和发酵法制作姜酒的工艺比较[J].现代食品科技,2006,22(1):82-83
- [6] 董文明,唐卿雁,袁唯.生姜红糖饮料的加工工艺研究[J].现代食品科技,2006,23(2):57-58
- [7] 莫开菊,程超,黄鹏.生姜黄酮提取纯化及结构的初步鉴定[J].食品科学,2005,26(9): 229-233
- [8] 于洁,陈耀容,王世祥.生姜黄酮的提取及性能研究[J].食品科学,2009,108(30):108-112
- [9] 昊坤.营养与食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2004