

文章编号: 1673-1689(2010)04-0558-04

南果梨黄酮液稳定性研究

刘延吉, 蔡茜, 刘澍

(沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以南果梨总黄酮含量、沉淀率及透光率为指标考察其水溶液的稳定性, 结果表明:以透光率为主要澄清指标, 通过澄清试验得出最佳澄清剂配方为:明胶 25 g/dL、单宁 5 g/dL;以沉淀率为主要指标, 通过 $L_9(3^4)$ 正交实验得出稳定剂最佳配方为:EDTA 二钠 0.075 mg/mL、抗坏血酸 0.05 mg/mL、柠檬酸钠 0.05 mg/mL、聚合磷酸钠 0.1 mg/mL;以黄酮质量浓度为指标, 得出最佳保存条件为室温避光保存;最佳灭菌条件为 90 °C 灭菌 20 min.

关键词: 南果梨; 黄酮; 稳定性; 澄清

中图分类号: Q 58

文献标识码: A

Stability of Flavonoid Solution from Nanguo Pear

LIU Yan-ji, CAI Qian, LIU Shu

(College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: This study choose the total flavonoids content, sedimentation rate and transmission rate of Nanguo pear as index to evaluate the stability of aqueous solution. The optimum dose formula for aqueous solution was gelatin 25 g/dL, tannin 5 g/dL with the transmission rate as the main indicators. The optimum stabilizer formula was achieved through the $L_9(3^4)$ orthogonal experiments: EDTA disodium 0.075 mg/mL, ascorbic acid 0.05 mg/mL, sodium citrate 0.05 mg/mL, sodium polymer 0.1 mg/mL with precipitation rate as the main targets. However, with flavonoids as the main indicator, the optimum storage conditions at room temperature away from light preservation; optimal sterilization conditions for 90 °C sterilization 20 min.

Key words: Nanguo pear, flavonoids, stability, clarify

南果梨属于蔷薇科梨亚科梨属中的秋子梨, 主产于辽宁鞍山、海城、辽阳一带, 为自然杂交实生苗, 有 100 多年的栽培历史, 为秋子梨中最优良的品种, 也是辽宁特产水果。果实以色泽鲜艳, 果肉爽口多汁, 以风味香浓而驰名于国内外, 可与香梨、贡梨、水晶梨媲美^[1]。该果含有 18 种氨基酸、9 种微量元素、4 种维生素、多种脂肪酸、多糖、黄酮和芳

香类物质对人体具有较高的营养和滋补作用^[2]。在黄酮类化合物中, 儿茶素和水飞蓟宾具有强保肝作用, 已在临床上用做肝炎、肝硬化的治疗药物。淫羊藿黄酮、黄芪素、黄芪苷能抑制肝组织脂质过氧化、提高小鼠肝脏 SOD 活性, 减少肝组织脂褐素形成, 对肝脏有保护作用。田基黄总黄酮有改善肝功能的作用。黄芩苷对阿霉素引起的肝脂质过氧

收稿日期: 2009-07-06

作者简介: 刘延吉(1959-), 男, 辽宁沈阳人, 工学博士, 副教授, 主要从事植物次生代谢及细胞信号转导研究。

Email: yanjilin@yahoo.com.cn

化有保护作用。甘草黄酮可保护乙醇所致肝细胞超微结构的损伤等。南果梨总黄酮在水溶液中的稳定性直接影响其作用及保质期长短。由于南果梨仅产于中国,关于南果梨的各种性质的研究,国外未见报道,国内有关南果梨的丰产栽培技术,果树生长特性,优良品种选择,及果实采摘后贮藏、保鲜和加工等方面的报道较多^[3],而有关南果梨化学成分的研究较少。对南果梨总黄酮水溶液在不同状态下的稳定性研究及南果梨在解酒方面的作用尚未见报道。本文主要研究南果梨果肉中与解酒相关的黄酮类化合物的稳定性,以南果梨总黄酮含量、沉淀率及透光率为考察指标,分别考察澄清剂、稳定剂、灭菌条件、光照、温度、时间对南果梨总黄酮水溶液稳定性的影响,研究保持南果梨总黄酮水溶液稳定性的各种最佳条件因素。此研究填补国内外本领域研究的空白,有利于充分挖掘南果梨的商业价值,同时为南果梨解酒保健饮料的开发提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

南果梨:购于辽宁省沈阳市东陵区水果批发市场,成熟度较好;抗坏血酸、柠檬酸钠、聚合磷酸钠、EDTA-Na₂、偏重亚硫酸钠、无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、明胶(食品级)、单宁(化学纯)等:均符合食品添加剂标准和国家食品卫生标准。

TU-1800 紫外可见分光光度计;抽滤机;组织粉碎机;不锈钢水浴锅;高速冷冻离心机;电子天平等。

1.2 方法

1.2.1 南果梨总黄酮的提取与测定 取南果梨干品粗粉 100 g,根据作者已有经验的沸水提取筛选出的最优水平组合进行提取(即采用 90 °C 温度、加水量(固液比)10 倍、每次 1 h、提取 1 次),然后将提取液过滤,即得到南果梨总黄酮液^[4-5]。测定方法参见参考文献[6]。

1.2.2 南果梨黄酮液沉淀率及透光率的测定 黄酮液沉淀率的测定^[7]:在离心管中准确加入黄酮液 10 mL,以 5 000 r/min 离心 20 min,弃上层溶液,准确称取沉淀物(湿剂)重量,按下列公式计算沉淀率,作为南果梨黄酮液稳定性的评判指标。沉淀率(%) = 沉淀物重量(g) / 离心黄酮液质量(g) × 100%

黄酮液透光率的测定:在 TU-1800 紫外可见分光光度计上,以蒸馏水为空白对照,在 595 nm 处测

定其透光率 T595(%),测定公式为: $T = 10^{2.0D}$

1.2.3 澄清实验 明胶单宁澄清试验:分别将明胶和单宁用 40 °C 的水溶解成 1% 的溶液,在 30 °C 进行滴加,添加量一般为明胶 20 g/dL 黄酮液和单宁 10 g/dL 黄酮液。取 6 份南果梨黄酮液,加入单宁溶液并搅拌均匀,再慢慢加入明胶溶液,搅匀后再 8~12 °C 下静置 6~8 h,经离心机离心沉降分离,取上清液测定透光率、总黄酮含量及沉淀率。

1.2.4 复合稳定剂配比实验 以单因素实验选择稳定剂的品种和水平取值,采用 0.2% 的相同用量,对抗坏血酸、柠檬酸钠、聚合磷酸钠、EDTA-Na₂、偏重亚硫酸钠、无水亚硫酸钠、亚硫酸氢钠等单一稳定剂的稳定效果进行单因素实验。在相同处理条件下,测定沉淀率、透光率及总黄酮含量,评判稳定效果。最终确定以 EDTA-Na₂、多聚磷酸钠、柠檬酸钠及抗坏血酸作为南果梨黄酮液的稳定剂,总用量控制在 0.4% 以下,然后进行正交实验 L₉(3⁴),以沉淀率为评价指标,优化复合稳定剂配比。

1.2.5 保存条件 采用单因素试验,测定在不同光照强度、保存温度、保存时间的情况下对南果梨总黄酮液稳定性的影响,以南果梨总黄酮量为评价指标,以此选着最佳的保存条件。

1.2.6 杀菌温度和时间 通过单因素实验,在 70、80、90、100 °C 温度下,分别考察不同杀菌时间南果梨黄酮液稳定性的变化,确定适宜的杀菌温度和时间。

2 结果与分析

2.1 澄清剂对南果梨总黄酮液稳定性的影响

透光率和沉淀率都是评判溶液稳定性的重要指标。对于南果梨黄酮液而言,在不影响总黄酮含量的前提下,透光率越大,即澄清度越高,同时沉淀率越低,稳定性就最好。

表 1 澄清剂对南果梨总黄酮液稳定性的影响

Tab. 1 Effect of clarifier on the stability of Nanguo Pear flavonoid solution

序号	单宁 (g/dL)	明胶/ (g/dL)	透光 率/%	总黄酮质量 浓度/(μg/mL)	沉淀 率/%
1	5	15	86.12	12.83	0.282
2	5	20	88.71	13.21	0.276
3	5	25	90.15	13.67	0.197
4	10	15	86.54	13.45	0.306
5	10	20	87.77	13.72	0.253
6	10	25	87.34	13.11	0.249
空白	0	0	80.23	16.34	0.303

对表1实验结果进行直观分析,明胶单宁澄清法对南果梨黄酮液的稳定性有一定的影响,且对总黄酮含量影响不大,未经处理的黄酮液透光率为80.23%,而在明胶单宁添加量分别为25 g/dL和5 g/dL之后,透光率提高到90.15%,说明明胶单宁以此比例添加,可以取得最佳澄清效果。

2.2 复合稳定剂对南果梨总黄酮液稳定性的影响

在天然植物提取液特别是注射液、口服液的生产中,常常加入抗氧化剂及金属络合剂等附加剂以防止和延缓有效成分的氧化分解^[8],而这些附加剂的加入既要保护提取液中的天然活性成分不受氧化分解,又要不影响提取液的稳定性、澄清度和活性作用。

表2 正交试验因素水平表

Tab.2 Orthogonal test factor level table

水平	因素			
	A EDTA-Na ₂ / (mg/mL)	B 多聚 磷酸钠/ (mg/mL)	C 柠檬 酸钠/ (mg/mL)	D 抗坏 血酸/ (mg/mL)
1	0.05	0.05	0.05	0.05
2	0.075	0.075	0.075	0.075
3	0.1	0.1	0.1	0.1

表3 正交试验结果

Tab.3 Orthogonal test results

实验号	A	B	C	D	沉淀率/%
1	1	1	1	1	0.105
2	1	2	2	2	0.180
3	1	3	3	3	0.181
4	2	1	2	3	0.163
5	2	2	3	1	0.132
6	2	3	1	2	0.117
7	3	1	3	2	0.196
8	3	2	1	3	0.104
9	3	3	2	1	0.116
k ₁	0.155	0.155	0.109	0.118	
k ₂	0.137	0.139	0.153	0.164	
k ₃	0.139	0.138	0.170	0.139	
极差 R	0.018	0.017	0.061	0.046	
优水平	A ₂	B ₃	C ₁	D ₁	

对表3实验结果进行直观分析,从极差R值大小可知,各因素对实验结果影响的主次序为C>D>A>B。对南果梨黄酮液稳定性而言,沉淀率愈

小,稳定性愈高,可得出复合稳定剂的最优水平组合为A₂B₃C₁D₁,即EDTA-Na₂ 0.075 mg/mL,多聚磷酸钠 0.075 mg/mL,柠檬酸钠 0.05 mg/mL,抗坏血酸 0.05 mg/mL。在此优化水平条件下,进行3次平行实验验证,其沉淀率平均值为0.102%,说明A₂B₃C₁D₁为最优水平组合。

2.3 南果梨黄酮液最佳保存条件

2.3.1 光照对南果梨总黄酮稳定性的影响 黄酮类化合物是广泛存在于植物中的一类黄色色素,因分子中含有碱性氧原子能与酸结合成盐,又称黄酮素,而色素受光照影响较大。

表5 光照对南果梨总黄酮液稳定性的影响

Tab.5 Effect of light on the stability of Nanguo Pear flavonoid solution

光照强度	总黄酮质量浓度/(μg/mL)				
	无光照	无光/ 60 d	室内光/ 30 d	强光/ 5 d	强光/ 10 d
1	18.47	18.41	18.25	17.88	17.35
2	19.61	19.56	19.37	19.02	18.26
3	18.94	18.89	18.72	18.17	17.27
平均值	19.01	18.95	18.78	18.36	17.63

表5结果表明,在无光照条件下存放2个月,南果梨黄酮液总黄酮含量平均下降0.32%;室内光存放一个月,总黄酮含量平均下降1.21%;强光下存放5 d到10 d,总黄酮含量平均下降3.42%~7.26%。说明强光对总黄酮的稳定性影响较大。

2.3.2 温度对南果梨总黄酮稳定性影响 测定不同温度下南果梨黄酮液总黄酮含量,找出最佳的保存温度。

表6结果表明,灭菌后在20~25℃存放3个月,总黄酮含量平均下降0.37%;在37~40℃存放3个月,总黄酮含量平均下降0.53%;在2~4℃存放3个月,总黄酮含量平均下降0.74%;说明南果梨总黄酮液的最佳存放温度为20~25℃。

2.4 杀菌温度和时间的确定

杀菌温度和时间是影响南果梨总黄酮液稳定性的重要因素,杀菌温度越高,时间越长,对南果梨黄酮液的稳定性影响越大。因此,在保证产品质量的前提下,杀菌温度越低、时间越短为好。

对表7进行分析,灭菌温度和时间对总黄酮含量影响不大,从沉淀率及透光率来看,在90℃灭菌20 min时沉淀率较低,透光率最大,此时黄酮液最稳定。

表6 温度对南果梨总黄酮液稳定性影响

Tab. 6 Effect of temperature on the stability of Nanguo Pear flavonoid solution

存放温度	20~ 25 °C存放/d					37~ 40 °C存放/d					2~ 4 °C存放/d				
	0	15	30	60	90	0	15	30	60	90	0	15	30	60	90
	总黄酮质量浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$)					总黄酮质量浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$)					总黄酮质量浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$)				
1	18.47	18.47	18.46	18.44	18.40	18.47	18.46	18.44	18.42	18.38	18.47	18.47	18.46	18.43	18.34
2	19.61	19.61	19.60	19.58	19.55	19.61	19.60	19.58	19.54	19.52	19.61	19.61	19.59	19.55	19.47
3	18.94	18.94	18.93	18.91	18.87	18.94	18.93	18.90	18.87	18.83	18.94	18.94	18.93	18.89	18.81
平均值	19.01				18.94	19.01				18.91	19.01				18.87

表7 不同杀菌温度和时间对南果梨总黄酮液的影响

Tab. 7 Effect of sterilization temperature and time on the stability of Nanguo Pear flavonoid solution

稳定性指标	杀菌温度/°C	70			80			90			100		
	杀菌时间/min	20	30	40	20	30	40	20	30	40	20	30	40
总黄酮质量分数/($\mu\text{g}/\text{mL}$)		20.08	20.08	20.08	20.08	20.08	20.07	20.08	20.07	20.07	20.07	20.07	20.06
沉淀率%		0.108	0.107	0.105	0.105	0.102	0.101	0.099	0.099	0.098	0.099	0.098	0.098
透光率%		88.67	89.41	90.06	89.22	90.87	91.74	92.27	90.01	87.48	89.93	86.41	84.73

3 结 语

采用明胶单宁作为澄清剂,添加量分别为:明胶 25 g/dL,单宁 5 g/dL,可以取得最佳澄清效果。采用 EDTA-Na₂、多聚磷酸钠、柠檬酸钠及抗坏血酸作为复合稳定剂,添加量分别为 EDTA 二钠

0.075 mg/mL,多聚磷酸钠 0.075 mg/mL,柠檬酸钠 0.05 mg/mL,抗坏血酸 0.05 mg/mL,可以取得较理想的稳定效果。强光对总黄酮含量影响较大,应该在室温下避光保存。在保证产品质量的前提下,灭菌温度越低、时间越短越好,结果表明,在 90 °C 灭菌 20 min 黄酮液达到最稳定效果。

参考文献(References):

- [1] 李树玲. 我国的梨品种资源概况[J]. 中国果树, 1993, (1): 37- 39.
LI Shu-ling. Our pears species survey[J]. *China Fruits*, 1993, (1): 37- 39. (in Chinese)
- [2] 罗显华, 郁建生. 野菊花总黄酮水溶液稳定性研究[J]. 食品科学, 2007, (8): 152- 156.
LUO Xian-hua, YU Jian-sheng. Study on the solvents extracting the total alkaloids from uncaria macrophylla wall and the purity of rhynchophylline[J]. *Food Science*, 2007, (8): 152- 156. (in Chinese)
- [3] 赵侠, 席海军. 南果梨贮藏保鲜技术[J]. 保鲜与加工, 2003, (3): 26.
ZHAO Xia, XI Hai-jun. Technology of storing and fresh-keeping of nanguo pear[J]. *Storage and Process*, 2003, (3): 26. (in Chinese)
- [4] 毛莉娟. 苦丁茶中黄酮的提取工艺[J]. 食品科技, 2002, (11): 18- 19.
MAO Li-juan, et al. Extraction process of flavonoids from folium Ilicis latifoliae[J]. *Food Science and Technology*, 2002, (11): 18- 19. (in Chinese)
- [5] 艾伦西. 番茄、洋葱和芹菜中黄酮化合物的质量分析[J]. 农业食品化工, 1997, 45: 590- 595.
Alan C. Qualitative analysis of the flavonoids content of commercial tomatoes onions, lettuce, and celery[J]. *Agric Food Chem*, 1997, 45: 590- 595. (in Chinese)
- [6] 丁利君, 苏桂良. 微波辅助提取蜈蚣草黄酮及其抗氧化[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(5): 623- 626.
DING Li-jun, SU Gui-liang. Extraction of flavonoids from ladder brake with microwave and its antioxidative activity[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 28(5): 623- 626. (in Chinese)
- [7] 麻成金, 黄群, 阳乐, 等. 沙田柚果汁饮料生产工艺及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(1): 137- 139.
MA Cheng-jin, HUANG Qun, YANG Le, et al. The produce technology of shatian pomelo juice and its stability research [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 28(1): 137- 139. (in Chinese)
- [8] 曹春林, 施顺清. 中药药剂学[M]. 上海科学技术出版社, 1989: 396.

(责任编辑: 杨萌)