

詹秀环,王子云,王 静. 柑橘粗提液对亚硝酸盐的清除作用[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):304-306.

柑橘粗提液对亚硝酸盐的清除作用

詹秀环,王子云,王 静

(周口师范学院化学化工学院,河南周口 466001)

摘要:采用对氨基苯磺酸-盐酸萘乙二胺的分光光度法测定了陈皮提取液以及橘子汁对亚硝酸盐的清除率,研究不同条件下提取的陈皮提取液、橘子汁在不同反应条件下对亚硝酸盐的清除率。结果表明,提取陈皮的最优化条件是用 65% 的乙醇在 60 ℃ 水浴下提取 1 h;获得的陈皮提取液在反应温度 60 ℃、pH 值为 2 时,反应时间 20 min 对亚硝酸盐的清除率最大;而橘子汁在反应温度 20 ℃、pH 值为 1.9 时反应时间 10 min 对亚硝酸盐的清除率最大。

关键词:亚硝酸盐;陈皮提取液;橘子汁;清除率

中图分类号: TS201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0304-03

亚硝酸盐是肉类制品中常用的发色剂,还具有一定的抗氧化作用^[1]。我国对亚硝酸盐的添加量有严格的规定,规定肉制品中的亚硝酸含量 ≤ 30 mg/kg^[2]。亚硝酸盐除了自身是毒性很强的物质外,它能与多种氨基化合物(主要来自于蛋白质分解产物)反应产生强致癌亚硝胺,迄今为止,已发现的亚硝胺有 300 多种,其中 90% 以上的亚硝胺化合物对动物有致突变致畸及致癌作用^[3-4]。食物以及食物在代谢过程中存在大量的亚硝酸盐,亚硝酸盐和胺类在胃液条件下更易合成亚硝胺^[5]。一些蔬菜水果中富含多种抗氧化成分,通过直接与亚硝酸盐发生氧化还原反应,阻断亚硝胺的合成,已报道某些植物或其制品具有清除亚硝酸盐和阻断亚硝胺合成的能力,主要是因为其中含有天然抗氧化物如维生素 C、维生素 E、还原糖、多酚类、黄酮类等^[6],柑橘中富含维生素 C,黄酮类

化合物等抗氧化和抗硝化成分^[7],具有抗肿瘤,抗氧化的作用^[8-9]。许多果蔬被证明具有清除亚硝酸盐的作用^[10-13],因此,研究果蔬清除亚硝酸盐作用,对食品安全具有重要意义。本研究探讨柑橘粗提液清除食品中亚硝酸盐的最佳条件,分析不同条件下陈皮提取液及橘子汁对亚硝酸盐的清除率。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柑橘(市售);对氨基苯磺酸(天津市福晨化学试剂厂产品);盐酸(36.46%,开封开化有限公司产品);盐酸萘乙二胺(天津市福晨化学试剂厂产品);亚硝酸钠(焦作市化工厂产品);乙醇(天津凯通化学试剂有限公司产品),试剂均为分析纯。

S-PC22 型可见分光光度计(上海陵光技术有限公司生产),恒温水浴箱(江苏省金坛市医疗仪器厂生产),气流烘干机(巩义市英峪高科仪器厂生产),小型粉碎机(山东九阳小家电有限公司生产),SC-04 型低速离心机(河南兄弟设备仪器有限公司生产),AL-204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司生产),PHS-3C 型酸度计(上海大普仪器有限公

收稿日期:201-12-24

作者简介:詹秀环(1964—),女,河南商水人,硕士,副教授,主要从事食品污染物有关研究工作。Tel:(0394)8178237;E-mail:zhanxiuhuan@126.com。

通信作者:王子云,硕士,教授。E-mail:zksywy@163.com。

3 结论

灰树花残渣富含糖类、纤维,含有 17 种氨基酸,其中 7 种必需氨基酸含量占总氨基酸的 39.6%;灰树花残渣的必需氨基酸含量/总氨基酸含量(E/T)为 39.6%,E/N 为 91.6%,与世界卫生组织(WHO)和联合国粮农组织(FAO)提出的 E/T 为 40%、E/N 为 91.6%的要求基本一致。可见灰树花残渣中营养物质丰富,值得进一步深入研究。

参考文献:

- [1]Chen G T, Ma X M, Liu S T, et al. Isolation, purification and antioxidant activities of polysaccharides from *Grifola frondosa*[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(1):61-66.
- [2]Yang L Q, Qu H Y, Mao G H, et al. Optimization of subcritical water extraction of polysaccharides from *Grifola frondosa* using response surface methodology[J]. Pharmacognosy Magazine, 2013, 34(9):120-129.

- [3]Tsao Y W, Kuan Y C, Wang J L, et al. Characterization of a novel maitake(*Grifola frondosa*) protein that activates natural killer and dendritic cells and enhances antitumor immunity in mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(41):9828-9838.
- [4]虞凤慧,徐泽平,杨传伦,等.灰树花蛋白聚糖的提取、分离及氨基酸组成分析[J].生物技术,2011,21(6):80-84.
- [5]李怡彬,沈恒胜,汤葆莎,等.灰树花与白灰树花子实体蛋白质营养价值评价[J].中国农学通报,2010,26(22):71-76.
- [6]吕国英,张作法,潘慧娟,等.食用菌膳食纤维研究进展[J].浙江农业学报,2011,23(2):421-426.
- [7]Fan Y N, Wu X Y, Zhang M, et al. Physical characteristics and antioxidant effect of polysaccharides extracted by boiling water and enzymolysis from *Grifola frondosa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 48(5):798-803.
- [8]Ling-Sing S S, Naidu M, David P, et al. Potentiation of neurotogenic activity of medicinal mushrooms in rat pheochromocytoma cells[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2013, 13(1):157.

司生产)。

1.2 方法

1.2.1 陈皮的处理方法 柑橘皮在烘箱中烘干至无油,粉碎,称取 5 g 陈皮置于 100 mL 一定体积分数的乙醇中,置于一定温度的恒温水浴箱中提取一段时间,过滤,将滤液转移入 100 mL 容量瓶,定容。

1.2.2 橘肉的处理方法 取橘子 1 个,剥皮,在榨汁机中榨取,得到胶状的橘子汁,离心,过滤,得到橙黄色油状滤液,转移入 100 mL 容量瓶,定容。

1.2.3 清除率的计算 准确量取 2 μg/mL 的亚硝酸钠标准溶液 2.5 mL 2 份,分别放置于 25 mL 比色管中,其中一份加入陈皮提取液或者橘子汁,一份作为空白对照。摇匀,反应一段时间,然后,每份加入 2 mL 0.4% 的对氨基苯磺酸,摇匀,放置 4 min 后,加入 1 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺显色,用蒸馏水稀释至 25 mL,放置 15 min,于 1 cm 吸收池中测定其吸光度,空白的为 D ,加入陈皮提取液的为 D_1 ,加入橘子汁的为 D_2 。每次测定时都要做空白对照,清除率计算公式:陈皮提取液清除率 = $(D - D_1) / D \times 100\%$; 橘子汁清除率 = $(D - D_2) / D \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长的确定

量取 1.8 mL 10 μg/mL 亚硝酸钠标准溶液置于 100 mL 容量瓶中,另一份不加亚硝酸钠溶液作为空白对照,在 2 个容量瓶中先后依次加入对氨基苯磺酸,盐酸萘乙二胺显色。测得最大吸收波长为 542 nm。

2.2 亚硝酸钠标准曲线的绘制

量取 10 μg/mL 亚硝酸钠标准溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、1.8 mL 分别置于 5 个 100 mL 容量瓶中,各加水 60 mL,然后分别加入 8 mL 对氨基苯磺酸溶液,摇匀,静置 4 min 后,再分别加入 4 mL 盐酸萘乙二胺,加水稀释至 100 mL 刻度处,摇匀,放置 15 min,用 1 cm 吸收池,以试剂空白为参照,于 542 nm 处测定各试液的吸光度,以亚硝酸盐浓度为横坐标,相应的吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,其线性回归方程为 $D = 1.454 0C - 0.012 9 (r = 0.999 8)$ 。

2.3 陈皮提取液及橘子汁对亚硝酸盐清除作用的最优化条件

2.3.1 反应时间对亚硝酸盐清除率的影响 分别取 5 份陈皮提取液和橘子汁 2 mL 加入 25 mL 比色管中,加入 2.5 mL 2 μg/mL 的亚硝酸钠标准溶液,分别反应不同时间后,再依次加入对氨基苯磺酸,盐酸萘乙二胺显色,最后测定陈皮提取液、橘子汁对亚硝酸盐的清除率。由表 1 可知:陈皮提取液在反应时间为 20 min 时清除率最大,橘子汁反应时间在 10 min 时对亚硝酸盐的清除率最大,随着反应时间的延长,清除率反而下降,致清除率下降的原因可能是由于陈皮提取液、橘子汁中的还原性成分长时间暴露在空气中被氧气氧化,失去清除能力所致^[14]。

2.3.2 反应温度对亚硝酸盐清除率的影响 25 mL 比色管中分别加入 2.5 mL 2 μg/mL 的亚硝酸钠标准溶液和 2 mL 陈皮提取液或橘子汁,在不同的温度水浴中反应 10 min 后,依次加入对氨基苯磺酸,盐酸萘乙二胺显色,测定陈皮提取液、

表 1 反应时间对柑橘粗提液清除亚硝酸钠的影响

柑橘粗提液	反应时间 (min)	吸光度	清除率 (%)
陈皮提取液	5	0.190	30.77
	10	0.188	31.50
	15	0.205	25.18
	20	0.185	32.60
	30	0.206	24.81
橘子汁	5	0.189	30.67
	10	0.155	43.50
	15	0.171	37.66
	20	0.192	29.83
	30	0.207	24.61

橘子汁对亚硝酸盐的清除率。由表 2 可知:反应温度在 60 ℃ 时,陈皮提取液对亚硝酸盐的清除率最大,随着反应温度增加,清除率下降。这可能是由于起作用的黄酮类化合物在较高温度下分解所致^[15]。反应温度在 20 ℃ 时,橘子汁对亚硝酸盐的清除最大,这是因为橘子汁富含维生素 C,维生素 C 是强还原剂,极易氧化,遭到破坏,温度升高,维生素 C 遭到破坏,橘子汁对亚硝酸盐的清除率下降。

表 2 反应温度对柑橘粗提液清除亚硝酸钠的影响

柑橘粗提液	反应温度 (℃)	吸光度	清除率 (%)
陈皮提取液	20	0.178	35.20
	40	0.166	39.46
	60	0.148	45.92
	80	0.204	25.61
	100	0.247	9.76
橘子汁	20	0.161	41.32
	40	0.169	38.43
	60	0.204	25.64
	80	0.231	15.37
	100	0.250	8.70

2.3.3 pH 值对亚硝酸盐清除率的影响 25 mL 比色管中,分别加入 2.5 mL 2 μg/mL 亚硝酸钠标准溶液和 2 mL 陈皮提取液或橘子汁,用 1 mol/L 盐酸和 0.01 mol/L 氢氧化钠调节溶液的 pH 值,在 60 ℃ 水浴中反应 20 min 后,依次加入对氨基苯磺酸,盐酸萘乙二胺显色,最后测定陈皮提取液、橘子汁对亚硝酸盐的清除率。由表 3 可知:随着反应溶液 pH 值的升高,陈皮提取液对亚硝酸盐清除率显著下降,和陈皮提取液一样,随着 pH 值的升高,橘子汁对亚硝酸盐的清除率显著降低,这可能是由于在 pH 值较高时,亚硝酸盐不易被还原。

2.3.4 提取陈皮所用溶剂浓度对陈皮提取液清除亚硝酸盐的影响 称取 5 份 5 g 已粉碎的陈皮,分别加入 100 mL 不同浓度的乙醇,在 80 ℃ 水浴中提取 2 h 后,过滤,将滤液转移入 100 mL 容量瓶,定容,获得不同浓度溶剂提取的陈皮提取液。陈皮中黄酮类易溶于有机溶剂^[15]。由表 4 可知,低浓度的乙醇由于含水量较高,提取效果不好。65% 的乙醇对陈皮中的黄酮类化合物提取效果最好,提取液对亚硝酸盐的清除率高。乙醇浓度的进一步提高使得乙醇溶液易挥发,溶剂体积减少,浸提不充分,提取效果不理想,提取液对亚硝酸盐的清除率低。

表 3 pH 值对柑橘粗提液清除亚硝酸钠的影响

柑橘粗提液	pH 值	吸光度	清除率 (%)
陈皮提取液	2.0	0.152	44.32
	3.2	0.158	42.12
	4.8	0.245	10.15
	8.7	0.246	9.76
	13.0	0.249	8.65
橘子汁	1.9	0.144	47.40
	2.8	0.163	40.43
	3.8	0.174	36.28
	6.8	0.157	31.42
	10.4	0.227	16.78

表 4 不同浓度乙醇提取的陈皮提取液对亚硝酸盐的清除率

乙醇浓度 (%)	吸光度	清除率 (%)
35	0.209	23.45
45	0.201	26.78
55	0.188	31.40
65	0.174	36.54
80	0.210	23.21

2.3.5 提取陈皮所用温度对陈皮提取液清除亚硝酸盐的影响 称取 5 份 5 g 已粉碎的陈皮,分别加入 100 mL 65% 的乙醇,在不同温度的水浴中浸提 2 h,获得不同温度提取的陈皮提取液。由表 5 可知:提取温度在 60 ℃ 时提取的陈皮提取液对亚硝酸盐清除率最大,温度越高清除率反而下降,是由于乙醇易挥发,在较高温度中提取会导致溶剂体积减少,提取效果反而不好,同时,高温还可能导致黄酮类化合物分解^[16]。

表 5 不同提取温度陈皮提取液对亚硝酸盐的清除率

提取温度 (℃)	吸光度	清除率 (%)
20	0.207	24.30
40	0.184	32.46
60	0.181	33.57
80	0.189	30.61
100	0.254	6.78

2.3.6 提取陈皮所用时间对陈皮提取液亚硝酸盐清除的影响 称取 5 份 5 g 已粉碎陈皮,分别加入 100 mL 65% 乙醇,在 60 ℃ 的水浴下分别提取不同时间,获得不同提取时间提取的陈皮提取液。由表 6 可知,不同提取时间提取的陈皮提取液对亚硝酸盐的清除率差异不大。提取 4 h 时,由于提取时间较长,乙醇挥发比较多,所以提取效果不好,提取液对亚硝酸盐的清除率低;提取 5 h 时,乙醇已完全挥发。所以提取时间以 1 h 即可。

表 6 不同提取时间陈皮提取液对亚硝酸钠的清除率

提取时间 (h)	吸光度	清除率 (%)
1	0.180	34.23
2	0.176	35.36
3	0.175	35.76
4	0.202	25.92
5	—	—

3 结论

试验结果表明,柑橘对亚硝酸盐有很强的清除作用,柑橘不同部位均表现出较强的清除能力。日常生活中,橘皮经晾晒烘干即得陈皮,陈皮含油量减少,但是黄酮类化合物则相对增加,陈皮的用途非常广泛,用于烹调,菜肴调味配料,泡茶,另外,它还是一种重要的中药材。陈皮中富含类黄酮,类胡萝卜素,香豆素,单萜等营养物质。提取陈皮中化学物质时,应该控制温度在 60 ℃ 左右,温度过低浸提缓慢,温度过高,橘皮中的营养物质遭到破坏。提取时间 1 h 即可,提取乙醇的浓度在 65% 为宜,橘皮提取液与亚硝酸盐最优反应条件要求并不十分严格,反应时间在 20 min,反应温度以 60 ℃,反应的 pH 值在 2.0 时,陈皮提取液对亚硝酸盐的清除率达到最大。正常的人体内胃液的温度 37 ℃ 和 pH 值为 3^[14],所以陈皮对人体大有益处。橘子汁对亚硝酸盐的清除作用也十分显著,反应时间在 10 min,反应温度在 20 ℃,pH 值为 1.9 时,橘子汁对亚硝酸盐清除率最大。食用过程中需注意,橘子汁易被空气氧化,所以不宜长期放置,应随制随喝,否则对亚硝酸盐的清除效果不明显。

参考文献:

[1]甄攀,史国茹,周杏灿.肉制品中减少亚硝酸盐添加量的方法及存在的问题[J].食品工业科技,2011,32(8):418-422.

[2]张洁,于颖,徐桂花.降低肉制品中亚硝酸盐残留量的方法及研究进展[J].肉类工业,2010(2):49-52.

[3]马佃珍,张健斌,孟培培.食品中亚硝胺类化合物的危害及控制研究进展[J].保鲜与加工,2012,12(2):1-4,45.

[4]甄攀,史国茹,周杏灿,等.吴茱萸提取物清除亚硝酸盐的作用[J].河北北方学院学报:自然科学版,2009,25(6):14-17.

[5]张镜源,廖惠珍,朱萍萍.模拟胃液条件下探讨绿茶对亚硝酸盐的消除规律[J].中国公共卫生学报,1998,17(1):24-26.

[6]梁英岳,傅亮,孙颖莺,等.模拟胃液条件下红豆多肽清除亚硝酸盐及阻断亚硝胺合成的研究[J].食品与发酵工业,2010,36(4):40-44.

[7]吴桂苹,苏学素,焦必宁,等.柑橘活性成分检测技术研究进展[J].食品与发酵工业,2006,32(9):116-121.

[8]王光风,王小晨,肖磷,等.柑橘黄酮川陈皮素的抗肿瘤作用研究[J].中草药,2007,38(11):1694-1697.

[9]单杨,李高阳,李忠海.柑橘皮中多甲氧基黄酮的体外抗氧化活性研究[J].食品科学,2007,28(8):100-103.

[10]冯丽丹,李捷,艾对元.几种常见果蔬对亚硝酸盐清除能力的研究[J].甘肃农业大学学报,2011,46(2):139-142.

[11]冯翠萍,洪建华,张弋凡.果汁对亚硝酸盐清除作用的研究[J].山西农业大学学报:自然科学版,2009,29(3):261-264.

[12]李丽,李蕴成,高春燕.白木瓜对亚硝酸盐清除作用的研究[J].食品科技,2009,34(10):174-176.

[13]郝敏敏,梁海燕,汪建国,等.茶叶浸提液对肉制品中亚硝酸盐的清除效应[J].食品研究与开发,2012,33(5):196-201.

[14]王莹.有机茶山海棠叶主要活性成分测定及模拟胃酸条件下清除亚硝酸盐的效果[J].食品科学,2011,32(17):105-108.

[15]张赞彬,李彩侠,吴亚卿.黄酮类化合物的研究进展[J].食品与机械,2005,21(5):77-80.

[16]曹纬国,刘志勤,邵云,等.黄酮类化合物药理作用的研究进展[J].西北植物学报,2003,23(12):2241-2247.