

紫外分光光度法测定陈皮类茶饮料的酶解效果

李循则, 郭乃菲, 江科新, 王雪, 李思洁 (辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

摘要 [目的]使用紫外分光光度法测定陈皮类茶饮料的酶解效果。[方法]全波长扫描,确定陈皮类茶饮料样品的吸收峰,再用紫外分光光度法确定样品 OD 值并换算出 T 值,研究酶解效果。[结果]方法精密度的相对标准偏差为 0.086%,方法稳定性的相对标准偏差为 0.210%,灵敏度比感官评价至少高 125 倍。[结论]用紫外分光光度法研究酶解效果的方法具有较好的精密性、较高的灵敏度和较好的稳定性。

关键词 紫外分光光度法;陈皮;橙皮苷;准确度;精密性

中图分类号 S-03 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)29-0015-03

Enzymes Effect of Dried Tangerine or Orange Peel Tea by Ultraviolet Spectrophotometry

LI Xun-ze, GUO Nai-fei, JIANG Ke-xin et al (College of Pharmacy, Liaoning University of Chinese Medicine, Dalian, Liaoning 116600)

Abstract [Objective] The aim was to determine enzymes effect of dried tangerine or orange peel tea by ultraviolet spectrophotometry. [Method] Full wavelength scanning was used to determine the absorption peak of the dried tangerine or orange peel tea drinks, and then the sample OD value was determined by UV spectrophotometry, and figured out T value. [Result] The relative standard deviation of the stability of the method was 0.086%; the RSD relative standard deviation of the stability of the method was 0.210%, and the sensitivity was higher than sensory evaluation at least 125 times. [Conclusion] Effect of enzyme solution is studied with UV spectrophotometry, and the method has good precision, high sensitivity and good stability.

Key words Ultraviolet spectrophotometry; Dried tangerine or orange peel; Orange peel glucoside; Accuracy; Precision precision

陈皮又称橘皮,为芸香科植物橘及其栽培变种的干燥成熟果皮。其味苦、辛,性温,归肺、脾经,功效为理气健脾、燥湿化痰,主治脘腹胀满、食少吐泻、咳嗽痰多。陈皮类茶饮料常常出现白浊现象^[1-3],虽然不影响其食用价值,但对食品质量造成消费者不可接受的感官效果,因而降低产品合格率与产品价值,甚至造成经济损失,故需研究改进并解决陈皮类茶饮料中出现的白浊现象。常用酶解法去除陈皮类茶饮料的白浊现象^[4-5],但其酶解效果的评价通常使用感官评价的方法^[6-7],由于人眼能力有限,所以方法的灵敏度较低。为有效解决这一问题,笔者使用紫外分光光度法测定了陈皮类茶饮料的酶解效果。

1 材料与方 法

1.1 材料 陈皮购自大连开发区阳光大药房;果胶酶、纤维素酶、橙皮苷酶、胰蛋白酶均由南京奥多福尼生物科技有限公司提供;纯净水为市售。FA1204B 精密电子天平,上海精科天美科学仪器有限公司;HC-2062 高速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;C21-WK2102 电磁炉,广东美的生活电器制造有限公司;UV1500 紫外分光光度仪,AOE 仪器(上海)有限公司;U3010 紫外分光光度仪,日力公司。

1.2 方 法

1.2.1 陈皮处理方法。称取 40 g 陈皮和 1 200 mL 纯净水(分 3 次倒入,每次 400 mL)放入锅中进行蒸煮,煮制 30 min,剩水量为 400 mL,抽滤,冷藏 24 h 备用。

1.2.2 紫外分光光度法测定陈皮水解效果的方法学研究。

1.2.2.1 紫外扫描法测定样品最大吸收峰。用紫外分光光度仪对陈皮样品在 200~500 nm 进行扫描^[8-10],得到样品的最大吸收峰。

1.2.2.2 方法原理。借鉴微生物学上微生物生长曲线中吸光度与微生物浓度的关系^[11-13],OD 值越大悬浮微生物越多,在微生物学上用干重、湿重与 OD 值的关系来制作微生物的生长曲线,干重、湿重的值与 OD 值是成正比,所以干重、湿重值越大说明微生物越多,反映微生物所处的生长状态,由此可以说明 OD 值越大,培养基就越浑浊。

在陈皮类茶饮料中,经常会出现白浊现象,一般使用酶解方法解决白浊现象,用感官评价的方法进行判定,产品的透明度越好说明酶解效果越好。感官评价上的澄清效果即为紫外分光光度法的 OD 值,所以借鉴微生物学研究中干重、湿重与 OD 值的关系来说明微生物生长情况的原理,应用到研究橙皮苷的酶解效果上是可行的。若 OD 值越大说明沉淀越多,酶解效果越差。为了结果表达的更直观,采用以下公式: $A = -\log T$,式中, A 为 OD 值; T 为透光率(%)。

1.2.2.3 方法的建立。以果胶酶为例,研究果胶酶的酶解时间、酶用量、酶解温度与干重和湿重关系。

(1)酶解温度。采用“1.2.1”方法处理陈皮,抽滤,pH 5.0,酶用量为陈皮用量的 3.0%,分别置于 35、40、45、50、55、60℃ 恒温水浴锅中酶解 45 min,煮沸 20 min 灭酶,然后抽滤。在 310 nm 波长处测定 OD 值,离心弃去上清液,放入恒温干燥箱,干燥 5 h 后测定湿重,然后继续干燥直至水分完全蒸干,测量干重。

(2)酶用量。将酶用量分别设定为陈皮用量的 0、0.50%、0.75%、1.50%、3.00%、4.50%、6.00%,55℃ 水浴,其他条件同“1.2.2.3”(1)。

(3)酶解时间。将酶解时间设定为 10、20、30、45、60、90 min,酶用量为陈皮用量的 3.0%,55℃ 水浴,其他条件同“1.2.2.3”(1)。

1.2.2.4 方法的灵敏度考察。在不同酶解温度条件下对“1.2.1”处理后的陈皮样品进行感官评价。感官评分见表 1。

作者简介 李循则(1995—),女,辽宁沈阳人,本科生,专业:食品质量与安全。

收稿日期 2017-07-14

表1 感官评分
Table 1 The scale of the senses

| 项目 Project | 评分标准 Standard for evaluation | 评分 Score |
|--|---------------------------------|-------------|
| 透明度 Transparency (满分5分) (Full score 5) | 样品澄清、透明,无沉淀与悬浊物 | 5.0 |
| | 样品澄清,有微量悬浊物 | 4.5 |
| | 样品澄清,有少量悬浊物 | 4.0 |
| | 样品澄清,有大量悬浊物 | 3.5 |
| | 样品澄清,有大量悬浊物和微量沉淀 | 3.0 |
| | 样品澄清,有大量悬浊物和微量沉淀 | 2.5 |
| | 样品有轻微浑浊感,有大量悬浊物和大量沉淀 | 2.0 |
| | 样品有些浑浊,有大量悬浊物和大量沉淀 | 1.5 |
| | 样品十分浑浊,有大量悬浊物和大量沉淀 | 1.0 |

以“1.2.2.3”反应条件处理样品,对样品进行稀释,稀释倍数为125倍,采用紫外分光光度计,在310 nm波长处测定样品的OD值,并换算成 T 值。

1.2.2.5 方法的稳定性考察。以“1.2.2.3”反应条件处理样品,灭酶后1 h测定一次样品OD值,并换算成 T 值,求相对标准偏差。

1.2.2.6 方法的精密度考察。以“1.2.2.3”反应条件处理样品,采用所建立的紫外检测方法进行精密度测定,计算出相对标准偏差($n=6$)^[14-16]。

2 结果与分析

2.1 紫外扫描法测定样品最大吸收峰 由图1可知,在280 nm左右波长处有1个吸收峰,但该峰为蛋白质的常见特征吸收峰,不能作为陈皮样品的吸收峰,而在310 nm波长处出现一组吸收峰,为陈皮样品的吸收峰,所以陈皮样品的OD值为310 nm。

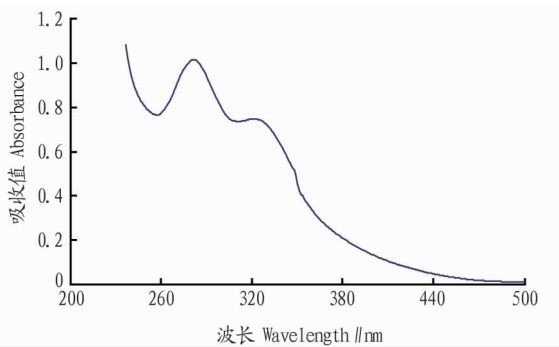


图1 陈皮样品的紫外分光光度法扫描结果

Fig. 1 UV spectrophotometric map for dried tangerine or orange peel samples

2.2 紫外分光光度法测定陈皮水解效果的方法学研究

2.2.1 方法的建立。

2.2.1.1 酶解温度。由图2可知, T 值随酶解温度的升高先增大后减小,随着温度的升高,当温度超过50℃时酶逐渐失活,酶解效果也随之下降,故 T 值也随之下降,离心干燥后的干重、湿重也随之增大。

2.2.1.2 酶用量。由图3可知, T 值随酶用量的升高先增大后减小,随着酶用量的增加,样品溶液达到饱和而析出变成沉淀,影响酶解效果,使得酶解效果降低,故 T 值也会随之下降,离心干燥后的干重、湿重也会随之增大。

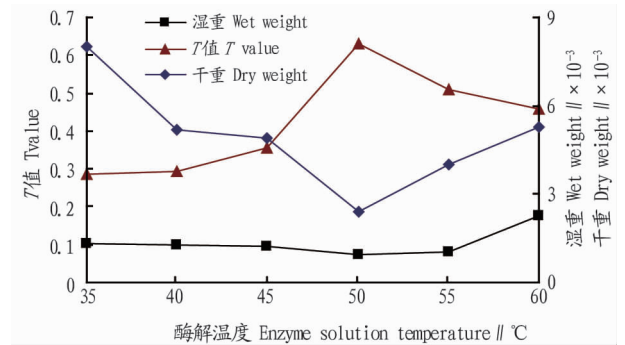


图2 T 值、干重、湿重与酶解温度的关系

Fig. 2 The relationship between T value, wet weight, dry weight and enzyme solution temperature

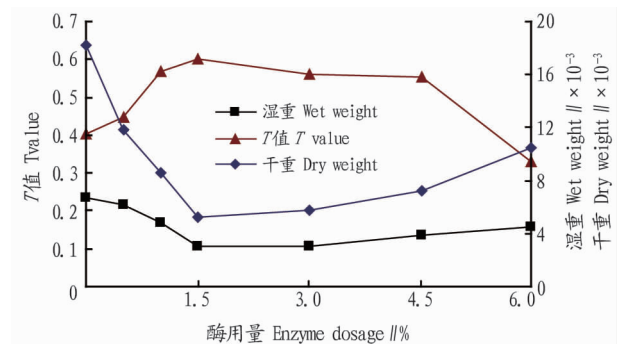


图3 T 值、干重、湿重与酶用量的关系

Fig. 3 The relationship between T value, dry weight, wet weight and dosage of enzyme

2.2.1.3 酶解时间。由图4可知, T 值随酶解时间的升高先增大后减小,酶解时间超过20 min后,可能由于样品中的杂质析出,导致酶解效果降低,故 T 值也随之下降,离心干燥后的干重、湿重也会随之增大。

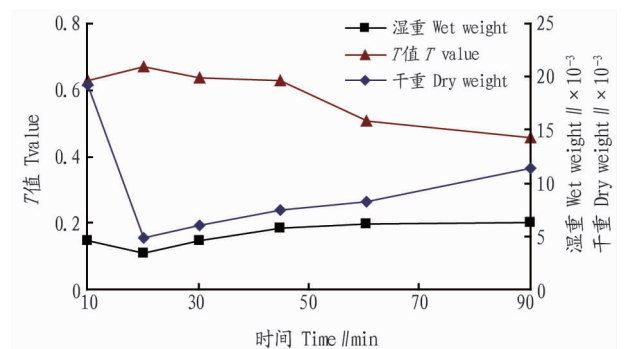


图4 T 值、干重、湿重与酶解时间的关系

Fig. 4 The relationship between T value, dry weight, wet weight and digestion time

2.2.2 方法的灵敏度。由图5可知,感官评价的分数随温度的上升呈先上升后下降的趋势,在50℃感官评价的分数最高为4.5。将不同酶解温度下的样品稀释125倍后,用紫外分光光度法测定。 T 值随温度的上升先上升后下降,在50℃时 T 值最大。2条曲线趋势相近,说明紫外分光光度法的灵敏度比感官评价法的灵敏度至少高出125倍。

对酶解温度为55℃的样品进行成倍稀释,进行感官评价和 T 值测定,结果见表2,与上述结论一致。

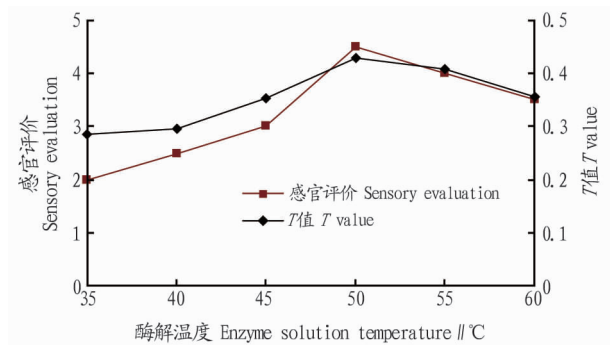


图5 感官评价、 T 值与酶解温度的关系

Fig. 5 The relationship between sensory evaluation, T value and enzyme solution temperature

表2 感官评价与 T 值

Table 2 The sensory evaluation and T value

| 稀释倍数 Diluted multiples | 感官评价 Sensory evaluation | T 值 T value |
|---------------------------|----------------------------|--------------------|
| 0 (无稀释) No dilution | 4.5 | >3 |
| 5 | — | >3 |
| 10 | — | >3 |
| 50 | — | >3 |
| 125 | — | 0.430 1 |

注:—表示液体稀释倍数过大,无法进行感官评价; >3 表示液体浓度过大,无法进行紫外测定

Note: “—” indicated that diluted multiples were larger, so the sensory evaluation couldn't be carried out; >3 indicated that the concentration of liquid was too large, so the ultraviolet spectrophotometry couldn't be carried out

2.2.3 方法的稳定性。50 °C 酶解条件下的相对标准偏差 ($n=6$) 为 0.061 4%, 说明试验重复性良好。

2.2.4 方法的精密度。6 次平行试验的相对标准偏差为 0.043%, 说明试验精密度良好。

3 结论与讨论

目前对陈皮酶解程度的研究大多是研究橙皮苷的提取率。而该研究的创新性是借鉴微生物学上微生物生长曲线中吸光度与微生物浓度的关系,通过紫外分光光度法研究 T

值与酶解效果的关系。对该方法进行方法学研究,得出该方法有一定的可行性,方法的重复性好、精密度高。目前,采用紫外分光光度法测定酶解效果的研究鲜见报道,大多研究采用的是感官评价^[6-7]或提取率^[17]进行酶解效果评价,但是感官评价本身存在很大的误差,容易影响判断结果,采用提取率研究的方法成本较高、操作复杂,而紫外分光光度法操作简便且精确度高,弥补了上述 2 种试验方法的不足。

参考文献

- [1] 白伟. 桔皮苷对糖水桔子罐头工艺品质的影响[J]. 青海大学学报, 2011, 29(5): 36-38.
- [2] 宋雪华. 糖水桔子罐头白油现象的成因及其防止办法[J]. 广西轻工业, 2006(5): 43-44.
- [3] 王建成, 褚岳高. 原汁桔子罐头的研制[J]. 食品开发与研究, 2004, 25(5): 47-49.
- [4] 张建军, 孙冬梅, 曾晓会, 等. 二陈汤配方颗粒除杂工艺研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(7): 47-49.
- [5] 胡海娥, 张金桃, 肖南, 等. 复合酶辅助水浸提九制陈皮的工艺研究[J]. 农产品加工, 2015(12): 28-31, 35.
- [6] 毕蕾. 鸡骨架生物脱骨技术浅探[J]. 肉类工业, 2016(8): 7-9.
- [7] 罗伟, 段振华, 刘小兵. 蛤贝煮汁酶解液美拉德反应条件优化及其产物氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 40-44.
- [8] 游元元, 李晨, 张丹, 等. 不同品种川陈皮中黄酮类物质的含量比较[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 212-216.
- [9] XIAO Y J, JIANG Z Z, YAO J C, et al. Investigation of picroside II's impacts on the P450 activities using a cocktail method[J]. Chinese J Nat Med, 2008, 6(4): 292-297.
- [10] 赵榆林, 杨亚玲, 林文添, 等. 分光光度法测定桔皮中橙皮苷含量[J]. 光谱实验室, 2003, 20(3): 353-355.
- [11] 唐远江, 雷帮星, 康冀川, 等. 缺陷假单胞菌 HD13 发酵过程中生物量和抗菌活性的变化[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(4): 92-95.
- [12] 高琳, 高聚林, 阚干朝鲁, 等. 玉米秸秆低温降解菌系的生长特性及其降解效果的研究[J]. 内蒙古农业科技, 2015, 43(5): 7-9, 13.
- [13] 李学贵, 袁生. 微生物转化过程中利用 OD 值实时监测细菌生物量变化的研究[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2003, 26(4): 90-93.
- [14] 杨冬爱, 陈琳琳. 治疗药物监测的方法学研究进展[J]. 中国医药科学, 2016, 6(8): 38-40, 113.
- [15] 刘静, 刘秀朋. 埃索美拉唑钠中间体清洁验证残留限度检查方法学研究[J]. 北方药学, 2016, 13(8): 1-2.
- [16] 陈志刚, 山光强, 谭玉琴, 等. 紫外分光光度法测定槲皮素含量方法的建立[J]. 动物医学进展, 2016, 37(1): 122-124.
- [17] 宁娜, 韩建军, 薛东芳, 等. 酶解辅助提取陈皮中橙皮苷的工艺优化[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(3): 24-29.

(上接第 2 页)

- [5] DEHGHAN G, KHOSHKAM Z. Tin (II)-quercetin complex; Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity [J]. Food chemistry, 2012, 131(2): 422-426.
- [6] RAVICHANDRAN R, RAJENDRAN M, DEVAPIRIAM D. Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method[J]. Food chemistry, 2014, 146(3): 472-478.
- [7] 郭星, 蔡正洪, 唐静. 丁香酸金属铜配合物的合成·表征及其抗内毒素作用研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(1): 6-7.
- [8] SARRIA A L F, VILELA A F L, FRUGERI B M, et al. Copper(II) and zinc (II) complexes with flavanone derivatives; Identification of potential cho-

linesterase inhibitors by on-flow assays[J]. Journal of inorganic biochemistry, 2016, 164: 141-149.

- [9] LI X C, LIN J, GAO Y X, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma Cimicifugae*[J]. Chemistry central journal, 2012, 6(1): 140.
- [10] TU L Y, PI J, JIN H, et al. Synthesis, characterization and anticancer activity of kaempferol-zinc(II) complex[J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2016, 26: 2730-2734.
- [11] BUDZISZ E, KEPPLER B K, GIESTER G, et al. Synthesis, crystal structure and biological characterization of a novel palladium(II) complex with a coumarin-derived ligand[J]. European J Inorg Chem, 2004, 22: 4412-4419.