

# 橙皮苷改性技术研究进展\*

盛雪飞, 沈妍, 吴丹, 陈健初

(浙江大学生工食品学院, 浙江 杭州, 310029)

**摘要** 橙皮苷是重要的黄酮类化合物之一, 可抗氧化, 防癌, 抗病毒, 抗细菌, 还具有保护心血管的作用, 但是由于其水溶性较差, 使其应用受到限制。文中介绍国内外橙皮苷改性的几种方法, 包括酶处理、高温下酸催化橙皮苷水解、橙皮苷甲基化、磺化和金属离子络合等。

**关键词** 橙皮苷, 衍生物, 改性, 功能

黄酮类化合物是一类重要的天然有机化合物, 是植物在长期自然选择过程中产生的一些次级代谢产物, 是许多中草药的有效成分, 目前已有 6 000 多种黄酮被鉴定<sup>[1]</sup>。橙皮苷(hesperidin)是柑橘 60 种黄酮类化合物中重要的一种, 主要分布在柑橘类植物中, 常存在于甜橙, 酸橙, 柠檬, 宽皮橘, 葡萄柚及柑橘等芸香科植物的树叶, 树皮及花中<sup>[2]</sup>。

橙皮苷是一种二氢黄酮, 橙皮苷在 7 位为  $\beta$ -芦丁糖苷, 又称为柑橘素-7-O-新橙皮糖苷(橙皮苷结构图如图一所示)。橙皮苷熔点 245~254℃, 分子式  $C_{28}H_{32}O_{15}$ , 相对分子质量 610.5。呈弱酸性, 难溶于水, 几乎不溶于丙酮、苯、三氯甲烷, 微溶于甲醇、热冰醋酸, 可溶于甲酰胺、二甲酰胺, 易溶于稀碱溶液。天然无毒, 据报道<sup>[3]</sup>橙皮苷可抗氧化, 可完全抑制脂质过氧化物的形成, 对羟自由基有明显的清除作用。具有抗癌, 抗病毒, 抗细菌作用, 对食品的常见的污染菌有广谱抑菌作用, 还具有强化毛细血管, 预防毛细血管出血的作用。是高血压和动脉硬化所致的血管疾病有效的治疗剂和预防剂<sup>[4]</sup>。临床上还采用橙皮苷, 复方橙皮苷胶囊, 用于治疗或预防急性支气管炎。

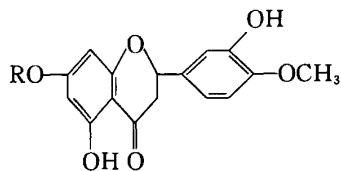


图1 橙皮苷结构图(其中 R=鼠李葡萄糖基)

目前, 橙皮苷在医药、食品及日用化工有一定应用。但是由于其水溶性和脂溶性较差, 影响橙皮苷在

体内的代谢吸收, 有必要对其结构进行修饰。国内外在橙皮苷化学改性方面有一定的研究, 通过橙皮苷的改性, 其水溶性, 吸收性, 以及其药物疗效都有一些改善。本文综述几种常用的橙皮苷生物和化学改性方法, 为橙皮苷有效开发利用提供参考。

## 1 橙皮苷改性方法

### 1.1 酶处理

#### 1.1.1 糖转移酶处理橙皮苷

日本林原生物化学研究所 1990 年代开始研究橙皮苷的利用方法, 通过用糖转移酶处理橙皮苷, 使其溶解性增强, 更广泛应用于食品加工<sup>[5]</sup>。其中糖转移酶为环麦芽糊精葡聚糖转移酶, 此酶通过在橙皮苷芦丁糖中葡萄糖 4 位上添加 1 个葡萄糖来进行结构修饰。

日本汤本·隆等人<sup>[5]</sup>通过在橙皮苷中加入 0.1~1 mol/L 的 NaOH 或 KOH, 加入糊精, 控制 pH, 环麦芽糊精葡聚糖转移酶作用后, 加热使之失活, 过滤, 精制, 干燥。得到  $\alpha$ -G 橙皮苷 H 产品, 这是一种混合物。酶处理橙皮苷为淡黄褐色粉末, 水溶液有轻微的柑橘香气和微弱苦味。酶处理橙皮苷( $\alpha$ -G 橙皮苷)构造式如图 2 所示。

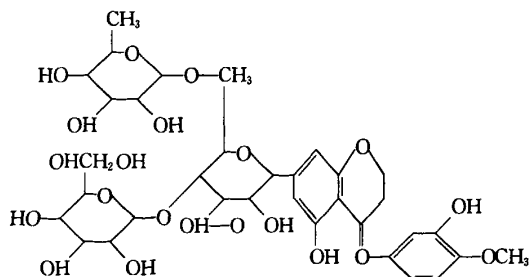


图2 酶处理橙皮苷结构图

通过糖转移酶处理橙皮苷, 其水溶性, 热稳定性都有极大的提高, 还有许多功能优于未处理的橙皮

第一作者: 硕士研究生(陈健初副教授为通讯作者)。

\*“十一五”国家科技支撑项目(No. 2006BAD27B06)

收稿日期: 2008-06-12, 改回日期: 2008-08-04

苷。据资料显示<sup>[5]</sup>,酶处理橙皮苷的水中溶解度经试验可达到 0.25 g/g。沸水中 pH 3.0~8.0 时 90 min 内基本稳定。另外,酶处理橙皮苷可以防止对光不稳定色素的退色,因为其紫外线 B 域吸收光谱高。高甜度甜味剂和它配合使用,可使甜味的口感变得优美柔和。酶处理橙皮苷还具有温浴作用,有改善末梢血液循环的功能。对寒腿症患者有疗效,还有抗变应作用等,其降血压保护心血管的作用都由于橙皮苷<sup>[6]</sup>。

这种通过糖转移酶处理橙皮苷的方法,可以使橙皮苷更好的应用于食品药品领域,便于其商品化。酶处理橙皮苷有许多更加优越的性质和生理功能。但是处理后得到的是一种混合物,还没有建立很好的分离方法。

### 1.1.2 橙皮苷酶处理橙皮苷

橙皮苷酶是一种催化橙皮苷分子中 7-鼠李糖苷键水解,生成鼠李糖和橙皮素-7-葡萄糖苷的水解酶,继续催化反应生成橙皮素和葡萄糖。它实际上也是一种鼠李糖苷酶<sup>[7]</sup>,橙皮苷酶的生产菌为黑曲霉等,橙皮苷酶的最适 pH 为 3.5,最适温度为 60℃ (pH 3.0~8.5 稳定)<sup>[8]</sup>,在橘子罐头杀菌条件下(水温 80~82℃,10 min)还有相当多活力,糖汁中稳定。

曹小燕等人<sup>[9]</sup>研制了固定化橙皮苷酶反应器,用固定化橙皮苷酶制备橙皮素单糖苷,最后可得纯度为 95% 的橙皮素单糖苷。操作方法主要为:(1)培养基准备,斜面种子培养基采用查氏培养基。其次,发酵和粗酶液提取,发酵条件 36℃,180r/min 摇床培养 5 d,提取酶液冷藏待用。(2)制备固定化酶<sup>[10]</sup>,酶液与质量分数 0.2% 戊二醛溶液体积比为 15:1,加入质量分数 2% 的海藻酸钠溶液中(按先后顺序加),酶液与海藻酸钠体积比为 1:3.3,再加质量分数 0.2% 的单宁酸和质量分数 0.2% 的聚乙烯醇(PVA),加热混匀,针筒制粒滴入约质量分数 2% 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液中,4℃ 静置 6 h,滤出小球,用质量分数 0.02% 的戊二醛溶液浸泡,4℃ 静置 3 h,再次滤出小球用蒸馏水洗数次,滤纸吸干,4℃ 保存备用。(3)在酶反应器中进行反应。

通过橙皮苷酶作用后提高橙皮苷溶解性。橙皮苷酶在防止罐头白色混浊的产生时应用较多,制作罐头中按照物料量的 0.03%~0.05% 添加。通过橙皮苷酶制备橙皮素单糖苷时,如果用游离酶催化反应,回收困难,成本较高。若先将酶固定化则选择性好,纯度较高,可以提高转化效率。

### 1.2 高温下酸催化橙皮苷水解

文献报道<sup>[11]</sup>,可以通过稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 作为催化剂水解橙皮苷,反应在 120℃ 以上开始加速,橙皮苷在 140℃ 的部分水解用于制备橙皮素-7-新橙皮糖苷,然后通过丙酮或低度乙醇简单分离橙皮素和橙皮素-7-新橙皮糖苷。

Fox 等人<sup>[12]</sup>主要通过 3 个步骤:(1)140℃ 下质量分数 0.05% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 处理。先将橙皮苷用去离子水溶解,加入预先加热到 140℃ 的质量分数 0.05% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 反应 1h,放入冰水浴终止反应。(2)鼠李糖,葡萄糖等通过离子交换方法分离,橙皮素,橙皮素-7-新橙皮糖苷可以通过薄层层析法分离(用质量分数 15% AcOH 水溶液作为溶剂),也可以根据在丙酮溶液中的溶解性简单溶解纯化(其中,橙皮素-7-葡萄糖苷于 60%~80% 的丙酮溶液中,于室温下溶解 2%,于 50℃ 下溶解 5%。橙皮苷在 25~50℃ 时在质量分数 60%~80% 丙酮溶液中溶解性极差,小于 0.1%。橙皮素在 80% 丙酮中溶解性良好,于室温和 50℃ 时分别形成 19% 和 24% 溶液)。(3)HPLC 法定量。

此方法虽然可以得到水溶性较好的橙皮素单葡萄糖苷,橙皮素单糖苷是一种甜味剂的前体,具有较强的抗感冒病毒等活性,还可用于生产染料。但是需要高温高压,选择性较差,产物的后续分离有些繁琐,同时排出大量废液,给环境造成污染。

### 1.3 橙皮苷的甲基化

用硫酸二甲酯做甲基化试剂<sup>[13]</sup>,橙皮苷 3'位被甲基化,用正丁醇萃取甲基橙皮苷溶液,经过蒸馏,得到 3-甲基橙皮苷(结构图如图 3 所示)。

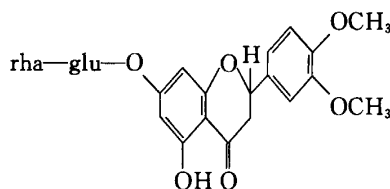


图 3 3-甲基橙皮苷结构图

杨爱玲等人<sup>[14]</sup>按  $m$  (橙皮苷):  $m$  (水):  $m$  (NaOH) = 1:140:13 的比例,将 NaOH 溶于水,加入橙皮苷,搅拌溶液成深棕色(时间约 0.5~1 h),加入质量为橙皮苷 3 倍的硫酸二甲酯,约 20~25 min 加完,10~25℃ 反应 6 h 后,pH=6.0~7.0,加 10 份正丁醇,50~55℃ 萃取 6 h,上层萃取液加 0.1 份活性炭脱色,过滤,滤液用 3~4 份水分别洗 2 次,各静置 10~12 h,分层,减压蒸馏(压力 8.8~9.5 kPa)。浓缩物用乙醇于 60℃ 溶解,放置结晶,过滤后 60~70℃ 烘干。

甲基橙皮苷溶于水,较其他几种产品更容易被人体吸收。具有与橙皮苷同样的药理作用、能加强毛细血管抵抗力,使毛细血管渗透正常和防止动脉硬化等。甲基橙皮苷对导致皮肤变色的酪氨酸酶还有抵制作用,故可制成药用化妆品、营养化妆品及治疗黑斑、雀斑等皮肤病的药物<sup>[15]</sup>。《日本食品卫生法规》还把甲基橙皮苷作为强化食品的添加剂。作为药物的甲基橙皮苷是多种类似衍生物的混合物,按浙江省卫生厅制订的标准产品,按干燥品计算 3-甲基橙皮苷计不得少于 94%。

此方法改性彻底,得到甲基橙皮苷,水溶性吸收性都有提高,还增加了特有的药理作用。但有实验显示<sup>[16]</sup>,甲基橙皮苷的对·OH 的清除作用小于橙皮苷。

#### 1.4 橙皮苷的磺化

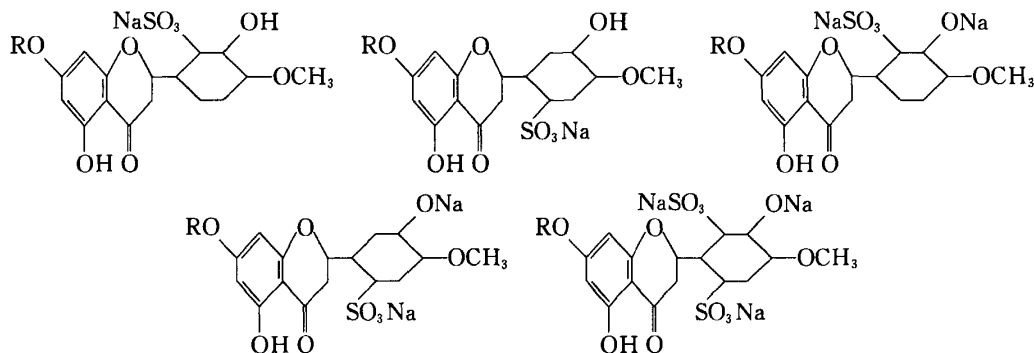


图4 橙皮苷磺酸钠推测结构图(其中R=鼠李葡萄糖基)

陈平等用此方法制得橙皮苷磺化产物为5种橙皮苷磺酸钠的混合物,通过磺化反应,提高了其水溶性,但对磺化橙皮苷的其他功能未作评价。

#### 1.5 橙皮苷化学改性的其他方法

橙皮苷的化学改性还体现在同金属离子螯合后产生新活性,或使原有活性提高。铜离子,铈离子,铝离子,铁离子都可以作为螯合剂使用<sup>[19]</sup>。在V<sub>C</sub>缺乏豚鼠实验中<sup>[20]</sup>,橙皮苷络合物比橙皮苷更能刺激V<sub>C</sub>缺乏豚鼠的生长,更能提高豚鼠肾上腺、脾及白细胞中V<sub>C</sub>的含量。橙皮苷络合物还有抗炎性水肿作用和使小白鼠在胃胃肠平滑肌推进运动加强的效果。但是螯合后的药物最好通过注射的方式使用,因为配合物易在消化道被解离。

## 2 结 语

文中介绍的几种橙皮苷改性方法,均使橙皮苷的理化性质和功能特性得到了改善,但各种方法也均存

Pusz 等人<sup>[17]</sup>对槲皮素、桑色素、白杨素的磺化产物研究发现给黄酮类化合物分子结构上引入磺酸基提高了它们的水溶性。橙皮苷与浓硫酸的磺化反应机理为黄酮类化合物的芳环亲电取代反应,橙皮苷碳骨架B芳环上的OH可使B环活化,故可发生磺化反应。

陈平等<sup>[18]</sup>按以下方法得到磺化橙皮苷:称取1g橙皮苷,快速搅拌时加入6mL浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,常温120r/min搅拌反应2h,立即倒入30mL饱和NaCl溶液中,析出沉淀,静置2h,过滤。用饱和HCl溶液洗沉淀至中性,将沉淀溶于10mL蒸馏水中,过滤,沉淀于40℃真空干燥48h,得固体粉末。称量并测定溶解度,得溶解度2.78。据橙皮苷磺酸的IR和MS分析结果,推测橙皮苷磺化后结构式如图4所示。

在一定的问有待进一步研究解决。通过糖转移酶处理橙皮苷的方法,使橙皮苷的理化性质和生理功能更加优越,但是处理后得到的是一种混合物,目前还没有建立很好的分离方法。橙皮苷酶催化水解和高温下酸催化水解得到是同一种物质橙皮素单糖苷,是一种甜味剂的前体,具有较强的抗感冒病毒等活性,但采用游离橙皮苷酶制备橙皮素单糖苷时,酶的回收困难,成本较高,若先将酶固定化,则可以提高转化效率。用酸催化水解法制备橙皮素单糖苷,虽然成本较低,但纯化分离较为复杂,且易污染环境。橙皮苷甲基化操作容易,甲基化后得到甲基橙皮苷,水溶性吸收性都有提高,具有与橙皮苷同样的药理作用,还增加了改善肤色等功效,可作为营养增补剂,但是抗氧化能力却有所减弱。橙皮苷磺化的方法制得橙皮苷磺化产物为五种橙皮苷磺酸钠的混合物,通过磺化反应,提高了其水溶性,但对磺化橙皮苷的其他功能未作评价,有待于进一步研究。

随着人口老龄化及心脑血管系统疾病人数的上升,以及人们对健康关注程度的加深,橙皮苷及其衍生物作为功能食品成分的前景广阔。改性后的橙皮苷衍生物水溶性、生物活性更好,作为功能成分使用时添加更容易,具有很好的应用价值。

### 参 考 文 献

- Shindo K, Kagiya Y, Nakamura R, et al. Enzymatic synthesis of novel antioxidant flavonoids by *Escherichia coli* cells expressing modified metabolic genes involved in biphenyl catabolism[J]. *J Mol Catal B: Enzym*, 2003, 23 (1):9
- 江纪武,肖庆祥. 植物药有效成分手册[M]. 北京:人民卫生出版社,1986:561~562
- 张冬松,高慧媛,吴立军. 橙皮苷的药理活性研究进展[J]. *中国现代中药*, 2006, 8(7):25~27
- Mizote, Akiko, Akita. The suppressive effect of glucosyl hesperidin on the elevation of plasma triglyceride induced by high-fat and high-fructose diet in syrian hamsters[J]. *New Technologies & Medicine*, 2006, 7(2):198~204
- Miyake T, Yumoto T. Enzyme-treated hesperidin, process for producing the same and method of using enzyme-treated hesperidin(P). Japan, EP825196. 1998-02-25
- Yamamoto, Masaki, Suzuki, et al. Short-term effects of glucosyl hesperidin and hesperetin on blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats[J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2008, 54(1), 95~98
- 李和平. 酶在水果加工中的利用[J]. *郑州牧专学报*, 1995, 15(1):50~51
- 谭兴和,甘霖,李大志,等. 酶在果品加工中的应用与其固定化[J]. *保鲜与加工*, 2003, 3(6):10~12
- 曹小燕. 固定化酶水解橙皮苷制备橙皮素单糖苷的研究[C]. 第三届全国化学工程与生物化工年会论文摘要集(下), 2006
- 王宏,仇农学. 果胶酶的固定化[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(2):70~72
- Karel G, John A, Manthey, Randall G, et al. Acid-catalyzed hydrolysis of hesperidin at elevated temperatures[J]. *Carbohydrate Research* 328. 2000:141~146
- Fox D W, Savage W L, Wender S H. Hydrolysis of Some Flavonoid Rhamnoglycosides to Flavonoid Glucosides[J]. *J Am Chem Soc*, 75 (1953):2 504~2 505
- Water-soluble methylhesperidins(P). Japan, GB 858784. 1961-01-18
- 杨爱玲. 橙皮苷及其系列产品的提取工艺[J]. *精细化工*, 2002, 19(5):259~261
- Hasunuma, Kyotaro, Hanaoka, et al. Cosmetic compositions containing alkyl hesperidins (P). Japan, JP 2000026269. 2000-01-25
- 秦德安,苏丹,王晓玲. 橙皮苷对羟自由基的清除作用[J]. *中国药理学杂志*, 1996, 31(7):396~398
- 刘谦光,张尊听,薛东. 大豆苷元碘化物的合成,晶体结构及活性研究[J]. *高等学校化学学报*, 2003, 5(24): 820~825
- 陈平,樊瑞胜,聂芊. 水溶性橙皮苷的合成及结构表征[J]. *食品科学*, 2007(28):143~146
- 朱思明,于淑娟,杨连生. 功能性橙皮苷的提取与化学改性研究进展. *中国食品添加剂*, 2005, No. 4:1~4
- Baker R A. Potential dietary benefits of citrus pectin and fiber[J]. *Food Technology*, 1994, 48(11):133~136, 138~139

## The review on the Advance in Modification of Hesperidin

Sheng Xuefei, Shen Yan, Wu Dan, Chen Jianchu

(School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**ABSTRACT** Hesperidin, an important kind of flavonoids, has many pharmacological effects, such as anti-oxidation, anti-cancer, anti-viral, anti-bacterial. It can also prevent cardiovascular disease. But its application were limited because of its poor water-soluble ability. Several methods for modification of the hesperidin were introduced. These methods include Enzyme treatment of hesperidin, High temperature acid-catalyzed hydrolysis of hesperidin, hesperidin methylation, hesperidin sulfonation, and hesperidin complexation with metal ions.

**Key words** hesperidin, derivatives, modification, function