

采用微波辅助法提取葡萄籽中的原花青素

李凤英 崔蕊静 李春华

(河北科技师范学院食品工程系, 昌黎 066600)

摘 要 以葡萄籽为原料,研究了微波对葡萄籽原花青素的浸出和结构的影响。结果表明,以乙醇为介质,微波处理有利于葡萄籽中原花青素的浸出,葡萄籽整粒用料液比(g:mL)1:11的体积分数70%乙醇溶液,微波处理10 s,在50℃水浴浸提30 min,原花青素浸提量为4.109 mg/g,较不用微波处理同等水浴条件浸提量增加1.715 mg/g。通过对微波联合水浴浸提和单纯水浴浸提的原花青素的紫外图谱显示,短时微波处理对原花青素的分子结构没有破坏作用。

关键词 微波 原花青素 浸提量

原花青素是葡萄籽中主要的多酚类物质,是由黄烷-3-醇和黄烷-3,4-二酚的配位缩合或聚合而成的低聚或多聚物^[1,2~4]。在葡萄籽原花青素提取制备中,常采用有机溶剂或沸水浸提。有机溶剂提取较水浸提成本高,产品安全性低,传统的沸水浸提耗时长,温度高,严重影响制品葡萄籽原花青素的组成^[5,6]。

微波作为近年来发展的一门新技术,具有选择性好、加热速度快、控制方便、受热体系温度均匀、节约能量等优点^[7]。已被应用于茶多酚、植物多糖等多种天然产物的浸提过程,有效的提高了得率^[8,9],但微波在葡萄籽中有效成分提取上的研究尚无报道。本研究探讨了微波技术对葡萄籽中原花青素的浸提量和分子结构的影响,为微波在葡萄籽中有效成分浸提方面的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

葡萄籽由华夏葡萄酿酒集团公司提供,产地河北省昌黎。乙醇、甲醇、丙酮、香草醛、浓盐酸等均为国产分析纯试剂,儿茶素为标准样品。

1.2 主要仪器

723 分光光度计(上海分析仪器厂),UV-2201 紫外可见分光光度计(日本岛津公司),WD-900B 格兰氏微波炉(中国顺德格兰氏电器公司),R-201 旋转蒸发浓缩仪(上海申胜生物技术有限公司),恒温鼓风干燥箱(天津市试验设备厂),电子天平(日本岛津公司),恒温水浴锅(常州国华仪器厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 提取工艺

葡萄籽→溶剂浸泡→微波处理→水浴浸提→精密滤纸过滤→分离浸提液→旋转蒸发→减压烘干

1.3.2 操作要点

(1)葡萄籽的预处理:从酿酒皮渣中分离出葡萄籽,用清水洗净,在室内自然晾干,隔氧避光保存。

(2)微波处理提取条件的研究:分别对微波处理的溶剂浓度、料液比、微波处理时间进行单因素试验,在此基础上选择 $L_9(3^4)$ 表进行正交试验,各处理重复3次,进行方差分析。

(3)水浴浸提时间的确定:选择微波最佳条件处理后,在50℃水浴温度下,分别进行不同时间的处理,测定浸提液的原花青素含量,以确定水浴浸提的最佳时间,以不进行微波处理的相同水浴浸提处理做对照,对两者的浸提效果进行比较。

(4)葡萄籽原花青素的紫外扫描:对微波联合水浴和单纯水浴提取的葡萄籽原花青素,分别溶于适量甲醇中,以甲醇作为参比,在190~400 nm进行紫外扫描。确定微波处理对葡萄籽原花青素成分的影响。

1.3.3 原花青素含量的测定

1.3.3.1 标准曲线绘制

准确称取儿茶素(标准样品)100 mg,用蒸馏水溶解,定容至100 mL容量瓶中,在10 mL容量瓶中分别加入质量分数0.1%儿茶素标准样品0、1、2、3、4、5 mL,用蒸馏水定容,依次移取1 mL加入6 mL质量分数4%的香草醛甲醇溶液和3 mL浓HCl,避光反应15 min,于波长500 nm处进行比色测定,以儿茶素标准液调零,读取各管吸光值,并以吸光度为横坐标,儿茶素质量浓度为纵坐标做标准曲线(见图1)。

1.3.3.2 原花青素浸提量的计算

$$W = YV / m(1 - 5.7\%)$$

式中:W,原花青素浸提量(mg/g);Y,儿茶素

第一作者:硕士,副教授。

收稿时间:2004-09-02,改回时间:2004-11-22

的质量浓度(mg/mL); V ,浸提液体积(mL); m ,葡萄籽质量(g) 5.7% ,为葡萄籽水分含量。

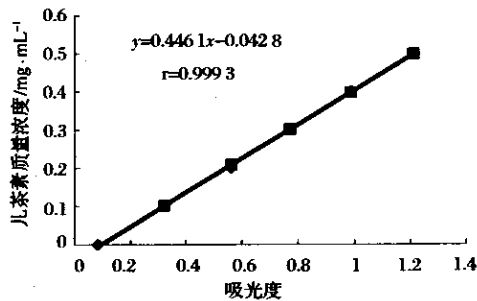


图1 儿茶素的标准曲线

2 结果与分析

2.1 微波辅助浸提条件的选择

2.1.1 乙醇体积分数的确定

称取 2 g(准确至 0.000 1 g)葡萄籽,按 1:7 (g:mL)的料液比分别加入体积分数 0%、10%、30%、50%、70%、90%的乙醇溶液,微波功率 180 W,处理 35 s 后,在 50℃水浴浸提 30 min,趁热过滤浸提液,定容至 25mL,测定原花青素含量,每一处理重复 3 次,结果如表 1 所示。

表 1 乙醇浓度对葡萄籽原花青素浸提量的影响

乙醇体积 分数/%	原花青素浸提量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	差异显著性	
		0.05	0.01
70	2.058	a	A
30	0.727	b	B
90	0.621	c	C
50	0.521	d	D
10	0.390	e	E
0	0.094	f	F

从表 1 可见,在微波处理条件下,不同体积分数的乙醇浸提效果优于纯水溶剂,并以 70%的乙醇浸提原花青素量最高,为 2.058 mg/g 。这是因为乙醇对原花青素的溶解度比水大,在浸泡过程中,乙醇等有机溶剂对细胞的破坏作用也比水强,在微波场中这种差异更加明显。经 LSR 检验,各处理间差异达极显著水平。因此确定乙醇最佳体积分数为 70%。

2.1.2 不同料液比的确定

称取 2 g(准确至 0.000 1 g)葡萄籽,按 1:3、1:5、1:7、1:9、1:11、1:13、1:15、1:17 的料液比(g:mL)加入体积分数 70%的乙醇,其他条件同 2.1.1,结果见表 2 所示。

表 2 料液比对葡萄籽原花青素浸提量的影响

料液比 (g:mL)	原花青素浸提量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	差异显著性	
		0.05	0.01
1:11	3.304	a	A
1:13	3.356	a	A
1:9	2.522	b	B
1:5	2.176	c	B
1:7	2.066	d	B
1:15	1.752	e	C
1:17	1.355	f	D
1:3	0.984	g	E

表 2 结果表明,随料液比的增大,原花青素浸提量逐渐增大,但到一定程度时,浸提量有所下降。这可能是大量溶剂吸收了微波导致提取温度降低的缘故。经 LSR 差异显著性测验,料液比为 1:11 和 1:13 之间差异不显著,但和其他处理之间差异显著,因此,微波法最适料液比为 1:11。

2.1.3 浸提时间的确定

称取 2 g(准确至 0.000 1 g)葡萄籽,按 1:11 的料液比加入 70%的乙醇,在微波功率 180 W 分别处理 0、10、20、30、40、50 s,其他条件同 2.1.2,结果见表 3 所示。

表 3 微波处理时间对葡萄资源花青素浸提量的影响

微波处理时间 /s	原花青素浸提量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	差异显著性	
		0.05	0.01
10	3.432	a	A
20	2.765	b	B
40	2.324	c	B
30	2.298	c	B
0	2.221	c	B

从表 3 可知,微波处理加速了葡萄籽原花青素的浸提,但随着时间的延长,浸提量反而下降,这可能是随着微波处理时间的延长,使料液温度增高,低聚原花青素会发生破坏。经 LSR 检验,微波处理 10 s 和其他处理之间差异显著。确定微波处理时间为 10 s。

2.1.4 正交试验

在单因素试验的基础上,对微波处理条件进行了 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验处理及结果见表 4、表 5、表 6。

表 4 微波浸提葡萄籽原花青素因素及水平

水平	因素		
	(A)乙醇体积 分数/%	(B)料液比 (g:mL)	(C)微波 时间/s
1	70	1:11	10
2	60	1:9	5
3	50	1:13	15

表 5 微波浸提葡萄籽原花青素正交试验结果

试验号	A/%	B/(g·mL)	C/s	原花青素含量
				/mg·g ⁻¹
1	1	1	1	3.847
2	1	2	2	3.135
3	1	3	3	4.155
4	2	1	2	1.670
5	2	2	3	1.434
6	2	3	1	1.620
7	3	1	3	0.655
8	3	2	1	0.547
9	3	3	2	0.608
K ₁	11.135	6.172	6.013	
K ₂	4.724	5.115	5.412	
K ₃	1.810	6.381	6.243	
R	9.325	1.266	0.831	

表 6 微波浸提原花青素方差分析表¹⁾

变异来源	SS	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
A	45.522 6	2	22.761 3	557.468 9 ^{**}	2.59	3.89
B	0.920 6	2	0.463 2	11.343 9 ^{**}		
C	0.367 7	2	0.183 9	4.503 3 ^{**}		
误差	0.735 0	18	0.040 8			

1) ** 代表在 0.01% 水平上显著, * 代表在 0.05% 水平上显著(下同)。

通过正交试验和方差分析可知,各因素影响主次为 A>B>C,即乙醇体积分数影响最大,其次为料液比和微波处理时间,各因素影响都达极显著水平。在此基础上,进一步对各因素的不同水平进行 LSR 测验,结果见表 7、表 8、表 9。

表 7 不同乙醇体积分数水平差异性测验

乙醇体积分数	平均综合指标 K _i	K _i - K ₃	K _i - K ₂
A ₁	3.712	3.109 ^{**}	0.972 ^{**}
A ₂	1.575	2.137 ^{**}	
A ₃	0.603		

表 8 料液比不同水平差异性测验

料液比	平均综合指标 K _i	K _i - K ₃	K _i - K ₂
B ₃	2.127	0.422 ^{**}	0.352 ^{**}
B ₁	2.057	0.07	
B ₂	1.705		

表 9 微波处理时间不同水平差异性测验

微波时间	平均综合指标 K _i	K _i - K ₃	K _i - K ₂
C ₃	2.081	0.277 [*]	0.2 [*]
C ₁	2.004	0.077	
C ₂	1.804		

由 LSR 测验结果,乙醇体积分数 3 个水平间差异达到了极显著水平,料液比 B₃ 和 B₂ 之间以及 B₁ 和 B₂ 之间差异都达到了极显著,但 B₃ 和 B₁ 之间差异不显著,微波时间 C₃、C₂ 水平间,C₁、C₂ 水平之间差异达显著,C₃ 和 C₁ 间差异不显著。因此,微波辅助浸提葡萄籽原花色素的最佳提取条件为:70%乙醇溶液,按 1:11 的料液比,微波处理 10 s。

2.2 水浴浸提时间的确定

在最佳微波处理条件下,对 50℃ 水浴不同时间浸提效果进行了试验,以不进行微波处理同等水浴浸提时间做对照,结果见表 10。

从表 10 可知,微波处理加快了葡萄籽中原花青素的浸提速度,并随着水浴浸提时间的延长,原花青素浸提量也随着增加,35 min 达到最大浸提量,为 4.231 mg/g。而不进行微波处理直接在 50℃ 水浴浸提 35 min,葡萄籽原花青素浸提量为 2.346 mg/g,微波处理浸提量比不微波处理增加 1.885 mg/g。经 LSR 检验,微波后水浴浸提时间以 30 min 为宜,30 min 以下,各处理之间差异显著,超过 30 min 处理之间没有差异,对照(直接水浴浸提)也表现同样趋势。

表 10 微波联合水浴浸提时间的确定¹⁾

处理 1 时间/min	原花青素浸提量 /mg·g ⁻¹	差异显著性		时间/min	原花青素浸提量 /mg·g ⁻¹	差异显著性	
		0.05	0.01			0.05	0.01
35	4.231	a	A	30	2.394	a	A
30	4.109	a	A	40	2.359	a	A
40	3.415	b	B	35	2.346	a	A
25	2.616	c	C	25	1.261	b	B
20	2.609	c	C	20	0.911	c	C
15	1.402	d	D	15	0.362	d	D
10	0.630	e	E	10	0.203	e	E

1) 处理 1,微波处理后在 50℃ 水浴浸提;处理 2,不微波处理直接在 50℃ 水浴浸提。

2.3 葡萄籽多酚紫外扫描

对微波辅助浸提和直接 50℃ 水浴浸提的乙醇浸提液,经旋转蒸发仪蒸发浓缩脱除乙醇,浓缩液经醋酸乙酯萃取和氯仿脱脂,低温烘干,再用甲醇溶解,以甲醇作为参比,在 190~400 nm 进行紫外扫描。

由图 2 和图 3 可知,微波联合水浴提取的原花青素和单纯水浴提取的原花青素的紫外图谱基本一致,都在 280 nm 处出现儿茶素物质的特征吸收。说明短时微波处理对原花青素的结构没有破坏作用。

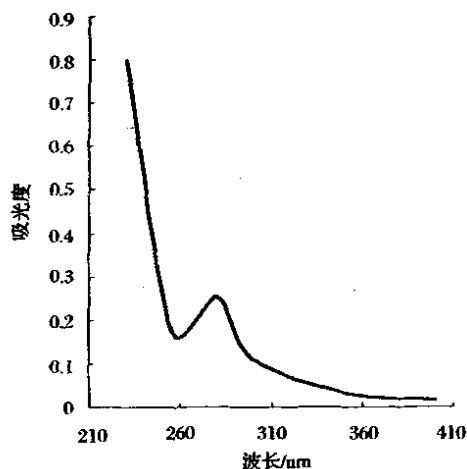


图2 微波提取葡萄籽紫外光谱图

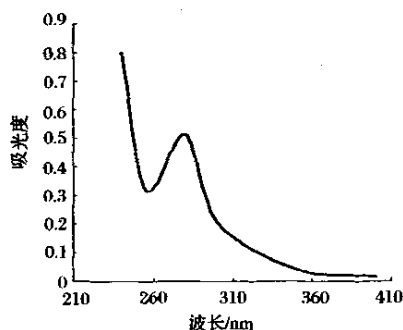


图3 常规提取葡萄籽多酚紫外光谱图

3 结 论

(1)微波技术应用于葡萄籽原花青素的浸提能显著增加浸提量,其最佳工艺为:以体积分数70%的乙醇,按1g:11mL的料液比,在微波功率180W处理10

s后,再50℃水浴浸提30min,原花青素浸提量为4.109 mg/g,而单纯50℃水浴浸提30min原花青素浸提量为2.394 mg/g,微波处理增加原花青素浸提量1.715 mg/g。由此可见,微波辅助浸提不仅加快了原花青素的浸提速度,而且显著增加原花青素浸提量,优于常规乙醇水浴浸提。

(2)紫外图谱分析证实,短时微波处理对原花青素的结构无破坏性影响。

参 考 文 献

- 1 赵文军,吴雪萍,王旭.葡萄籽中低聚原花青素提取条件研究[J].食品科学,2004,25(2):117~120
- 2 Ricardodasilva J M, Darmon N, Fernandez Y et al. Oxygen free radical of different procyanidins from grape seed[J]. J. Agric Food Chem, 1991, 39: 1549~1552
- 3 Saito M, Hosoyama H, Ariga T et al. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins[J]. Agric Food Chem, 1998, 46: 1460~1464
- 4 崔介君,孙陪龙,马新.原花青素的研究进展[J].食品科技,2003,28(2):92~95
- 5 汪兴平,周志,莫开菊等.微波对茶多酚浸出及其结构和组成的影响研究[J].农业工程学报,2000,16(3):110~114
- 6 严明潮,徐向群,单夏锋.提取条件对茶多酚制品儿茶素组成的影响[J].茶叶科学,1996,16(2):155~156
- 7 张代佳,刘传斌,修志龙等.微波技术在植物细胞内有效提取中的应用[J].中草药,2000,31(9):5~6
- 8 周志,汪兴平,张家年等.微波在茶多酚提取技术上的应用研究[J].湖北民族学院学报,2001,19(2):8~10
- 9 张虎,李凯.微波辅助浸提香菇多糖[J].大连民族学院学报,2000,2(3):21~24
- 10 姚开,何强,吕远平等.葡萄籽提取物中原花青素含量的测定[J].食品与发酵工业,2002,28(3):17~19

Microwave – assisted Extraction of Procyanidin by from Grape Seed

Li Fengying Cui Ruijing Li Chunhua

(Department of Food Engineering, Hebei Normal University of Science & Technology, Changli, 066600, China)

ABSTRACT The influence of microwave on the extraction of Procyanidin from grape seed was studied. With ethanol and water being used as the solvent, microwave treatment could improve the extraction of Procyanidin when grape seed(1g) were extracted with 11ml of 70% ethanol at 50℃ water bath for 30 min after 10 second microwave processing. Grape seed procyanidin extracted in this condition reached 4.109 mg/g, which is 1.715 mg/g higher than that obtained in common practice extraction. UV spectrum scanning of grape procyanidin extracted under microwave – assisted conditions as compared with the Procyanidin extracted in routine water bath showed that short time microwave processing had no breakage function to the molecular structure of procyanidin.

Key words microwave processing, grape seed, procyanidin, extraction,