

从葡萄皮中提取多酚物质

李凤英 崔蕊静 李春华

(河北科学技术师范学院食品工程系, 昌黎, 066600)

摘 要 葡萄皮为葡萄加工的下脚料, 含有一定量的酚类物质, 对其提取利用具有很高的经济价值。文中通过单因素试验和正交试验, 确定了葡萄皮多酚提取的最佳条件: 粉碎过 40 目的葡萄皮, 用体积分数 50% 的乙醇溶液, 按 1 g:9 mL 的料液比在 90℃ 回流浸提 20 min, 在此条件下浸提 2 次, 葡萄皮多酚浸提率为 94.88%。

关键词 葡萄皮, 多酚类物质, 提取

酚类化合物广泛存在于植物食品中, 由于其羟基取代的高反应性和吞噬自由基的能力而有很好的抗氧化活性^[1]。国内外研究表明, 在众多的植物多酚中, 以葡萄多酚抗氧化清除自由基的能力最强, 其抗氧化能力为 VE 的 50 倍, Vc 的 20 倍^[2]。此外, 葡萄多酚还具有预防高血压、抗动脉硬化、抗血栓、抗胃溃疡、抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗突变的生物活性及皮肤保健及美容等功能^[3-5]。因此, 葡萄多酚在医药、保健品、食品和化妆品领域都具有广阔的应用前景。

葡萄多酚是一种植物多酚类活性物质, 主要存在于葡萄籽与葡萄皮中, 有资料表明, 红葡萄的果皮中, 多酚含量可达 25%~50%, 种籽中则可达 50%~70%^[6]。目前对葡萄籽多酚的提取和应用国内外已进行了大量的研究, 而葡萄皮作为一种重要的多酚资源还未见研究利用的报道, 本文以酿酒后分离的葡萄皮为原料, 对其多酚类物质的提取条件进行了研究, 以便为葡萄皮的开发利用提供新的价值。

1 材料和方法

1.1 原料与试剂

葡萄皮为实验室酿制干红葡萄酒所分离出的下脚料。甲醇、乙醇、 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 FeSO_4 、酒石酸钾钠、没食子酸等均为国产分析纯试剂。

1.2 主要仪器

723 分光光度计(上海分析仪器厂), 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

原料预处理→溶剂浸泡→回流浸提→精密滤纸过滤→分离过滤液→旋转蒸发去除溶剂→烘干

1.3.2 操作要点

(1)原料的预处理: 酿酒后分离的葡萄皮自然晾干, 粉碎过 40 目筛, 避光保存。

(2)浸提溶剂的选择: 称取葡萄皮粉末 1 g(准确至 0.000 1 g), 分别加入蒸馏水、乙醇、甲醇、体积分数 50% 乙醇、体积分数 50% 甲醇中, 在 70℃ 水浴浸提 1 h, 趁热过滤, 滤液定容至 25 mL,

吸取 1 mL 显色测定吸光度, 平行测定 3 次, 计算总酚含量。

(3)浸提单因素试验: 对可能影响葡萄皮多酚得率的几个因素(浸提剂浓度、料液比、浸提时间、浸提温度和浸提次数)分别作单因素试验, 测定提取液的吸光度, 平行测定 3 次, 计算总酚含量。

(4)最佳浸提条件的选择: 以乙醇体积分数、料液比、浸提时间、浸提温度为因素, 选择 $L_9(3^4)$ 正交表进行四因素三水平试验, 各处理重复 3 次, 并进行方差分析。

1.3.3 总酚含量的测定

1.3.3.1 样品吸光度的测定

准确吸取 1 mL 试液, 转移至 25 mL 容量瓶中, 加蒸馏水 4 mL 和酒石酸亚铁溶液 5 mL, 充分混合, 再加 pH 7.5 的缓冲溶液至刻度, 用 10 mm 比色杯, 在波长 540 nm 处, 以试剂空白溶液作参比, 测吸光度 A 。

1.3.3.2 标准曲线的制作

准确称取没食子酸标准样品 0.5 g, 加蒸馏水溶解并移入 100 mL 容量瓶中定容, 在 6 只 100 mL 容量瓶中分别加入 5.0 g/L 没食子酸标准样品 0、1、2、3、5、10 mL, 加入蒸馏水定容至 100 mL, 各吸取 1 mL, 同 1.3.5.1 方法测定, 绘制标准曲线(见图 1)。

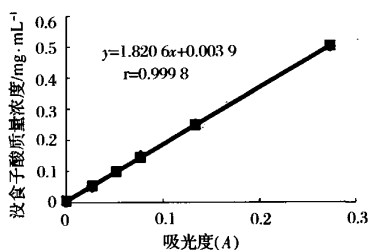


图 1 没食子酸标准曲线

1.3.3.3 结果计算

葡萄皮总酚含量, $w = CV/m$

式中: w , 多酚含量(mg/g); C , 葡萄皮多酚质量浓度(mg/mL); V , 提取液的体积(mL); m , 葡萄皮质量(g)。

2 结果与分析

2.1 浸提溶剂的选择

从图 2 可以看出, 利用不同的溶剂从葡萄皮中提取葡萄

第一作者: 硕士, 副教授。

收稿时间: 2004-09-02, 改回时间: 2004-11-22

酚,其浸提量有较大的差异,其中以体积分数 50% 乙醇浸提量为最高,其次为体积分数 50% 甲醇,而甲醇、体积分数 95% 乙醇和水浸提量较低。经 LSR 检验,各处理间差异都达极显著水平。因此选择乙醇作为最佳浸提溶剂。

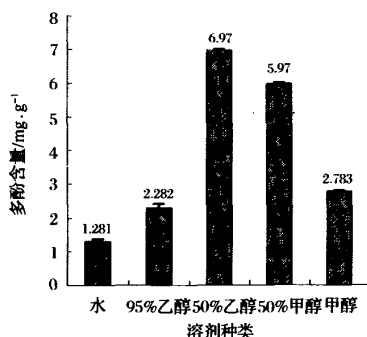


图2 不同溶剂对葡萄皮多酚浸提效果的影响

2.2 单因素的影响

2.2.1 乙醇体积分数的影响

称取 1g(准确至 0.000 1 g)葡萄皮粉末,分别加入到 0%、20%、40%、60%、80%、100% 的乙醇溶液中,在 70℃ 水浴避光浸提 1h,趁热过滤,滤液定容至 25 mL,吸取 1 mL,显色测定吸光度,计算总酚含量,结果如图 3 所示。

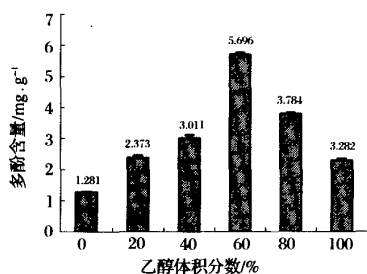


图3 乙醇体积分数对葡萄皮多酚浸提量的影响

从图 3 可见,随着乙醇体积分数的提高,葡萄皮多酚浸提量显著增加,但乙醇体积分数超过 60% 以后,随着体积分数增加,多酚含量下降。经 LSR 差异显著性分析,除 20% 乙醇与 100% 乙醇之间差异不显著以外,各处理间差异达显著水平,初步确定乙醇体积分数为 60%。

2.2.2 料液比的影响

按 1:3、1:5、1:7、1:9、1:11、1:13、1:15(g:mL) 料液比加入体积分数 60% 乙醇,其他条件同 2.2.1,结果见图 4。

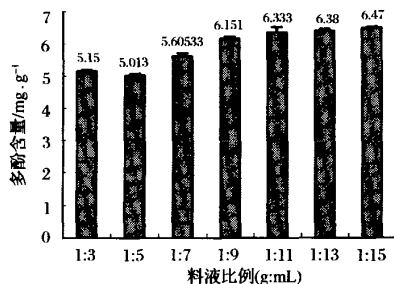


图4 不同料液比对葡萄皮多酚浸提量的影响

随着料液比的增大,葡萄皮多酚浸提量增加,但料液比超过 1 g:9 mL 时,再增加料液比,浸提量增加不大,通过 SLR 新复极差检验,料液比(g:mL)在 1:7 和 1:9 之间有显著差异,料液比超过 1:9 以后,各处理之间没有显著差异。因此,料液比确定为 1:9。

2.2.3 浸提时间的影响

称取 1g(准确至 0.000 1 g)葡萄皮粉末,按 1:9 的料液比,分别于 70℃,60% 乙醇溶液中浸提 10、20、30、40、50、60 min,结果见图 5。

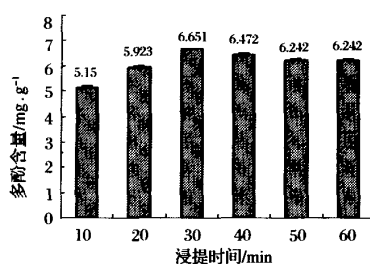


图5 不同时间对葡萄皮多酚浸提量的影响

在其他条件一定的情况下,30 min 内随着浸提时间的增加,葡萄皮多酚浸提量逐渐增加,30 min 以后浸提量稍有下降。浸提时间确定为 30 min。

2.2.4 浸提温度的影响

称取 1g(精确至 0.0001)葡萄皮粉末,按 1:11 的料液比,在温度分别为 20、30、40、50、60、70、80、90、100℃ 的水浴中用 60% 的乙醇回流提取 30 min,结果见图 6。

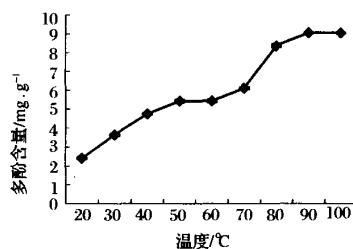


图6 不同温度对葡萄皮多酚浸提量的影响

由图 6 可见,温度对葡萄皮多酚的浸提量有较大影响,在低于 50℃ 时,葡萄皮多酚浸提量随温度升高增加较快,50℃ 与 60℃ 差异很小,70℃ 以后随着温度增加,浸提量迅速增加。经 SLR 检验,浸提温度除 50℃ 与 60℃,90℃ 与 100℃ 差异不显著外,其余各处理差异显著。确定浸提温度为 90℃。

2.2.5 浸提次数的影响

称取 1g(准确至 0.000 1 g)葡萄皮粉末,在 90℃ 水浴用 60% 的乙醇溶液分别浸提一次、两次、三次、四次、五次,每次回流提取 30 min,结果见图 7。

由图 7 看出,随着浸提次数的增加,葡萄皮多酚浸提量逐渐减少,从节约溶剂和能源考虑,以浸提两次比较适宜,浸提率达 81.78%。

2.3 最佳浸提条件的选择

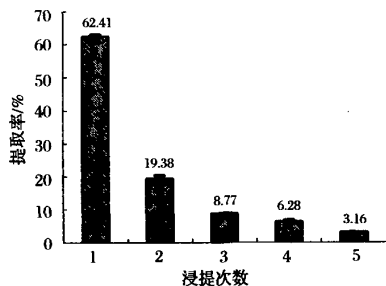


图 7 浸提次数对葡萄皮多酚提取率的影响

表 1 葡萄皮多酚浸提考察因素及水平

因素	水平		
	1	2	3
(A)乙醇体积分数/%	50	60	70
(B)温度/℃	80	90	70
(C)时间/min	30	20	40
(D)料液比(g:mL)	1:7	1:9	1:11

通过正交试验和方差分析结果表明,影响葡萄皮多酚类物质浸提量的因素主次顺序为:B>A>C>D,即浸提温度对葡萄皮多酚浸提效果影响最大,其次为乙醇浓度和浸提时间,料液比影响较小。综合考虑,葡萄皮多酚的最佳提取条件为:浸提温度 90℃,50%乙醇按 1g:9 mL 的料液比浸提 20 min,浸

表 2 葡萄皮多酚浸提正交试验结果

试验号	A	B	C	D	多酚含量 /mg·g ⁻¹
1	1(50)	1(80)	1(30)	1(1:7)	7.881
2	1(50)	2(90)	2(20)	2(1:9)	10.930
3	1(50)	3(70)	3(40)	3(1:11)	7.107
4	2(60)	1(80)	2(20)	3(1:11)	7.289
5	2(60)	2(90)	3(40)	1(1:7)	8.700
6	2(60)	3(70)	1(30)	2(1:9)	5.832
7	3(70)	1(80)	3(40)	2(1:9)	6.561
8	3(70)	2(90)	1(30)	3(1:11)	7.380
9	3(70)	3(70)	2(20)	1(1:7)	4.922
K ₁	8.639	7.244	7.03	7.168	
K ₂	7.274	9.003	7.714	7.774	
K ₃	6.288	5.954	7.456	7.259	
R	2.351	3.049	0.684	0.606	

提量为 10.93 mg/g(葡萄皮多酚总量为 14.59 mg/g),葡萄皮多酚浸提率为 74.88%,在此条件下浸提两次,葡萄皮多酚浸提率为 94.88%。

表 3 葡萄皮多酚浸提方差分析表

变异来源	SS	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
A	24.686	2	12.343	42.213**	2.85	4.50
B	106.089	2	53.045	181.411**		
C	2.340	2	1.170	4.001*		
D	1.373	2	0.687	2.348		
误差	3.509	12	0.292			

3 结 论

酿酒后分离的葡萄皮中仍含有大量的多酚类物质,其含量远高于葡萄籽,对其进行提取利用具有很高的经济价值。

葡萄皮多酚浸提的最佳工艺条件是:采用 50%的乙醇溶液,按 1:9 的料液比在 90℃回流浸提 20 min,在此条件下浸提两次,葡萄皮多酚浸提率为 94.88%。

参 考 文 献

1 郭新竹,宁正祥.天然酚类化合物及其保健作用[J].食品工业,2002,3:28~29

2 吕丽爽,曹栋.脱脂葡萄籽中的低聚原花青素的提取[J].无锡轻工大学学报,2001,20(2):208~210

3 许申鸿,杭湖.葡萄籽和葡萄皮清除自由基作用的研究[J].食品科学,1999,(12):28~30

4 凌智群,张晓辉.原花青素的药理学研究进展[J].中国药理学通报,2002,18(1):9~12

5 钟进义,王传现.葡多酚对人体抗氧化能力的影响[J].中国公共卫生,2002,18(4):404~405

6 吴 丹,陈健初.葡多酚的应用研究进展[J].食品科技,2003(5):57~59

7 熊皓平,杨伟丽,张友胜等.显齿蛇葡萄多酚含量测定方法的比较研究[J].湖南农业大学学报,2001,27(5):381~383

8 刘魁英.食品研究与数据分析[M].北京:中国轻工出版社,1998

欧盟将加强食品风险预警管理

近日,为了降低食品生产和销售过程中的各种风险,并且加强食品追溯性管理的实施,欧盟要求:自 2005 年起,对于任何出现在食品生产和销售过程中的安全问题,食品生产企业都被强制要求及时向相关行政执 法部门进行通报。此项新规定已经通过审议并且被正式写入欧盟法规(EC /178 /2002,2002 年 1 月颁布)之中。此规定自 2005 年 1 月起生效。

新规定指出:对于任何食品及饲料产品因食品安全问题被撤出市场的行为,其生产企业都需要向当地相关行政执 法部门进行通报,以此来加强相关部门对食品风险预警系统的管理。