

从葡萄籽中提取原花青素的工艺研究

李瑞丽¹, 马润宇²

(1. 郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

(2. 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029)

摘要: 本文在乙醇回流浸提法的基础上, 考察超声辅助乙醇回流浸提法、微波辅助乙醇浸提法和乙醇回流浸提法这三种方法对原花青素提取率的影响。结果表明, 微波辅助乙醇回流浸提法有利于提高原花青素的提取率, 其最佳工艺条件下的葡萄籽原花青素的提取率为 1.847%, 纯度为 43.95%, 提取率和纯度比超声辅助乙醇回流浸提法提高了 22.2% 和 14.0%, 比单纯用乙醇回流浸提法提高了 69.8% 和 12.1%。

关键词: 葡萄籽; 原花青素; 提取; 超声波; 微波辅助

中图分类号: TS202.3; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2008)01-0061-03

Study of Extraction of Procyanidins from Grape Seeds

LI Rui-li¹, MA Run-yu²

(1. School of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Technology, Zhengzhou 450002, China)

(2. College of Life Science & Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Extraction of Procyanidins from grape was studied with three methods, including ultrasonic wave assisted extraction, microwave-assisted ethanol reflux extraction and ethanol reflux extraction. The results indicated that, among the three methods for procyanidins extraction, microwave-assisted ethanol reflux extraction was the most suitable one. Under the optimized microwave-assisted extraction conditions, the extraction rate and purity of propitious were 1.847% and 43.95%, respectively, which were 22.2% and 14.0% respectively higher than those by ultrasonic wave assisted extraction, and 69.8% and 12.1% respectively higher than those by ethanol reflux extraction.

Key words: grape seeds; procyanidins; extraction; ultrasonic wave; microwave assistance

原花青素 (procyanidins, PC) 是植物中广泛存在的一大类多酚化合物的总称, 属于缩合鞣质或黄烷醇类。具有抗氧化、抗突变、抗癌细胞等多种药理活性, 能扩张血管和保持血管弹性、提高毛细管的抗力、增加肝供血、提高肾排泄能力、增加造血细胞活动、减少骨质疏松症、保护皮肤、减少肾结石等^[1-7]。

我国葡萄资源丰富, 大量鲜葡萄被用于酿酒及其它行业。葡萄籽是葡萄酒厂的大宗下脚料, 占整粒葡萄的 5%~7%, 每年产生约 $5 \times 10^7 \sim 7 \times 10^7$ kg 的葡萄籽^[6], 若能将其变废为宝, 将会为葡萄行业带来巨大的经济效益。近年来, 利用超声波、微波从天然产物中提取有效成分的研究越来越多, 本文在乙醇回流浸提法的基础上, 考察超声辅助乙醇回流浸提法 (下称超声辅助法)、微波辅助乙醇浸提法 (下称微波辅助法) 和乙醇回流浸提法这三种方法对原花青素提取率的影响, 为葡萄籽的综合开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料

葡萄籽粉: 青岛海隆达生化科技有限公司提供; 葡萄籽: 新疆; 儿茶素对照品 (质量分数 > 95%), 天津尖峰天然产物研究开发有限公司; 其余试剂均为分析纯; 水为去离子水。

1.2 主要仪器

UV-2550 紫外分光光度计; JY92-2D 型超声波细胞粉碎机; PJ21F-B 微波炉; TDL-5 离心机; 精密电子天平; JJ-500 型电子天平; 电热恒温水浴锅; 旋转蒸发器; SHB-III 循环水式多用真空泵; 小型真空干燥箱。

1.3 实验方法

1.3.1 提取方法

1.3.1.1 乙醇回流浸提法

称取一定质量的脱脂葡萄籽干燥粉末, 加入一定剂量和体积分数的乙醇溶液, 在 50 °C 的恒温水浴中回流浸提 30 min, 离心, 取上清液, 水洗下层浑浊 2~3

收稿日期: 2007-9-27

作者简介: 李瑞丽 (1978-), 女, 硕士, 研究方向: 天然产物的提取纯化

次, 合并清液, 过滤, 减压蒸馏浓缩。

1.3.1.2 超声波辅助法

称取一定质量的脱脂葡萄籽干燥粉末, 加入一定剂量和体积分数的乙醇溶液, 在室温下用超声波在 120 W 功率下处理 10 min^[9], 以下步骤同 1.3.1.1 相同。

1.3.1.3 微波辅助浸提法

方法与 1.3.1.2 相同。

1.3.2 分析方法^[8]

精确称取 5.0 mg 的儿茶素(对照品), 用去离子水溶解并定容至 25.0 mL, 用移液管取儿茶素溶液 1.0 mL、2.5 mL、4.0 mL、5.5 mL、7.0 mL, 分别用去离子水定容至 10.0 mL。再精密称量香草醛 40.0 g, 用甲醇溶解并定容至 1.0 L。取儿茶素溶液 1.0 mL, 依次加入香草醛-甲醇溶液 6.0 mL、浓盐酸 3.0 mL, 混合均匀后在水浴锅中恒温(20 ℃)避光反应 15.0 h。以 V(香草醛-甲醇溶液):V(浓盐酸):V(甲醇)=3.0:1.5:0.5 的混合溶液作为空白对照, 在 500 nm 处测吸光度。得标准曲线的回归方程为:

$$A=0.0017C-0.041, r=0.9990$$

式中: A 为吸光度; C 为原花青素质量浓度, μg/mL; r 为相关性因数。

2 结果与讨论

2.1 乙醇回流浸提法

以青岛海隆达生化科技有限公司提供的葡萄籽粉末为原料, 以我们前期所做的单因素实验为基础, 选取乙醇体积分数、料液比、温度及提取时间作为考察因素, 以提取率为衡量指标, 采用正交表 L₉(3⁴)进行正交实验, 因素水平选取如表 1, 结果如表 2。

表 1 实验因素水平 L₉(3⁴)表

水平	A(乙醇体积分数/%)	B(提取温度/℃)	C(料液比 g/mL)	D(提取时间/min)
1	60%	40	1:6	40
2	70%	50	1:8	30
3	80%	60	1:7	50

由表 2 可知, 各因素对原花青素提取效果的影响大小顺序为: 提取温度(B) > 料液比(C) > 提取时间(D) > 乙醇体积分数(A), 其最优方案为: A₂B₂C₃D₂。即: 乙醇回流浸提法的最佳工艺条件为: 乙醇体积分数为 70%, 提取温度为 50 ℃, 料液比为 1:7 (g/mL), 单次提取时间为 30 min, 提取次数为 3 次。由于此方案并不在表 2 的实验之中, 故有必要做验证实验, 结果见表 3。

表 2 正交实验结果

试验号	A	B	C	D	原花青素提取率/%
1	1	1	1	1	2.39
2	1	2	2	2	2.62
3	1	3	3	3	2.56
4	2	1	2	3	2.45
5	2	2	3	1	2.64
6	2	3	1	2	2.57
7	3	1	3	2	2.49
8	3	2	1	3	2.41
9	3	3	2	1	2.53
K ₁	7.57	7.33	7.37	7.56	
K ₂	7.66	7.67	7.60	7.68	
K ₃	7.43	7.66	7.69	7.42	
k ₁	2.523	2.443	2.457	2.52	
k ₂	2.553	2.557	2.533	2.56	
k ₃	2.477	2.553	2.563	2.473	
极差 R	0.076	0.114	0.106	0.087	

表 3 乙醇回流浸提法验证实验结果

试验次序	1	2	3	平均值
A ₂ B ₂ C ₃ D ₂ 原花青素提取率/%	2.62	2.69	2.60	2.637
方案 原花青素纯度/%	41.77	41.31	42.68	41.92
A ₂ B ₂ C ₃ D ₁ 原花青素提取率/%	2.59	2.67	2.64	2.633
方案 原花青素纯度/%	42.76	41.39	41.82	41.99

从表3可以看出, A₂B₂C₃D₂方案与A₂B₂C₃D₁方案相比, 在试验误差内可认为所得原花青素的提取率没有变化, 但考虑到D因素对试验效果影响不是很大, 且A₂B₂C₃D₂方案比A₂B₂C₃D₁方案的生产周期短, 所以, 最优方案为A₂B₂C₃D₂方案, 此方案的原花青素提取率为2.637%, 原花青素纯度为41.92%。

2.2 超声辅助法与微波辅助法比较

以新疆葡萄籽粉碎后为原料, 在 2.1 的基础上考察超声辅助法与微波辅助法对原花青素的影响, 具体结果见表 4。

表 4 各方法最佳工艺条件验证实验

乙醇回流	原花青素提取率/%	1.125	1.027	1.113	1.088
浸提法	原花青素纯度/%	38.79	38.87	39.96	39.21
超声辅助	原花青素提取率/%	1.487	1.556	1.492	1.512
浸提法	原花青素纯度/%	39.22	37.81	38.58	38.54
微波辅助	原花青素提取率/%	1.846	1.859	1.836	1.847
浸提法	原花青素纯度/%	43.89	44.03	43.92	43.95

注: 本稿中乙醇回流浸提法最优条件确定的实验原料为青岛海隆达生化科技有限公司提供的葡萄籽粉末, 由于同批葡萄

籽粉末已无货,故表4三种不同方法的对比实验以2005年的新疆产葡萄籽为原料做实验。特此说明。

从表4可看出,在原花青素提取率方面,微波辅助法>超声辅助法>乙醇回流法;在原花青素纯度方面,微波辅助浸提法所得原花青素的粗品的纯度较高,而其它两种方法的结果相差不大。

3 结论

乙醇回流浸提法的基础上对样品进行外加能量处理,可提高原花青素的提取率和纯度,微波辅助浸提法的提取率和纯度分别为1.847%和43.95%,比单用乙醇回流浸提法提高了69.8%和12.1%,提取率和纯度比超声辅助乙醇回流浸提法提高了22.2%和14.0%,故微波辅助浸提法从葡萄籽中提取原花青素有很大的优势。

参考文献

- [1] 范明远,叶音.体内自由基清除剂及抗氧化剂-原花青素的研究进展[J].中国预防医学杂志.2001,2(4):303-305
- [2] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S J. Free Radicals and Grape Seed Proanthocyanidin Extract: Importance in Human Health

- and Disease Prevention[J]. Toxicology.2000,148(2):187-197
- [3] Castillo J, Benavente G O, Lorente J. Antioxidant Activity and Radioprotective Effect against Chromosomal Damage Induced in Vivo by X-Rays of Flavan-3-Ols from Grape Seed: Comparative Study Versus Other Phenolic and Organic Compounds[J]. J Agric Food Chem. 2000, 48(5): 1738-1745
- [4] 孙志广,赵万洲,陆茵.葡萄籽原花青素对鼠伤寒沙门氏菌的抗诱变作用[J].癌变畸变突变,2002,14(3):191-194
- [5] 闫少芳,李勇,吴娟,等.葡萄籽提取物原花青素调节血脂作用及机理研究,中国食品卫生杂志,2003,15(4):302-304
- [6] 马亚兵,高海青,由倍安,等.葡萄籽原花青素抗兔动脉粥样硬化形成的实验研究[J].山东大学学报(医学版).2003,41(6):646-650
- [7] Huynh TH, Tee RW. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells(MCF-7)by pycnogenol[J]. Anticancer Res. 2000,20(4):2417-2420
- [8] 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
- [9] 李瑞丽,乔五忠,王艳辉,等.葡萄籽原花青素的超声提取工艺研究[J].食品研究与开发,2006,27(2):64-66

(上接第60页)

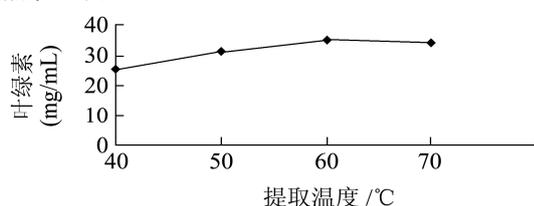


图5 提取温度对叶绿素提取量的影响

3 结论

用5 mL 60%乙醇溶剂溶解5 g甘蔗糖厂干滤泥,650 W的微波照射50 s后加入50 mL 95%乙醇溶液于60 °C下萃取30 min,提取液中叶绿素含量达到45 mg/mL。与传统提取方法相比较,提取率比传统方法的23.86 mg/mL明显提高,提取时间比传统方法的4~12 h大大缩短。

参考文献

- [1] 任清国,于才渊,丁洁.微波预处理萃取蚕沙中叶绿素的研究[J].辽宁化工,2004,33(11):624-626

- [2] 陈晓山,黄谷亮.蔗叶提取叶绿素试验[J].广西轻工业.2005(5):12-13
- [3] 郑国栋.叶绿素及其衍生物的药理研究进展[J].中南药学.2006,4(2):146-148
- [4] 罗庆锋.叶绿素的研究进展及叶绿素铜钠的开发利用[J].林产化工通讯.(1):32-33
- [5] 由滤泥制造的产品.<http://www.sugar-huo.com/copro/4.htm>
- [6] 王建平,吉苏宁.天然使用叶绿素铜钠的提取研究.南平师范学院学报[J].1998,17(4):16-18
- [7] Vernon L Pand Seely G R.The Chlorophylls.Newyork. Academic press.1966,352-353
- [8] 任清国.微波辅助萃取蚕沙中叶绿素及叶绿酸铜钠的研究[J].大连理工大学(M).2005.06
- [9] 杨振德.分光光度法测定叶绿素含量的探讨.广西农业生物科学[J].1996,(2):145-150
- [10] 徐美奕,许学军等.甘蔗叶制取叶绿素铜钠盐的研究[J].食品工业科技,2002,23(1):59-60