

超声波法从葡萄籽中提取多酚的研究

李 华, 沈 洁

西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100

摘 要: 研究利用超声波辅助提取葡萄籽中总多酚的最佳条件。考察了超声波的频率、作用时间、温度、提取时间、料液比及提取次数 5 个单因素对总多酚提取率的影响,并在单因素的基础上进行正交实验得到多酚提取的最佳工艺条件:温度在 45℃下,频率为 40 kHz,料液比为 1:12,共提取 5 次,每次提取时间为 55 min。这种提取方法能够有效避免多酚在高温下的分解,并极大地缩短了提取时间,此方法应广泛用于实验室内多酚的提取。

关键词: 超声波; 葡萄籽; 多酚; 提取

中图分类号: TS262.6; TS261.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286 (2005)05-0089-03

Research on the Extraction of Polyphenols from Grape Seed by Ultrasonic

LI Hua and SHEN Jie

College of Enology, Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: The optimal conditions of polyphenol extraction from grape seed by ultrasonic were studied. The effects of five single factors (including ultrasonic frequency, action time, temperature, extracting period, and ratio of raw materials and solution and extraction times) on extraction rate of polyphenol were investigated, and the best technical conditions for polyphenol extraction was obtained through orthogonal experiments based on single factor as follows: temperature below at 45℃, frequency as 40 kHz, ratio of raw materials and solution as 1:12, five extraction times, and extraction period as 55 min. Such extraction method could effectively avoid polyphenol decomposition under high temperature and shorten extraction time. The method could be widely applied in labs. (Tran. by YUE Yang)

Key words: ultrasonic; grape seed; polyphenol; extraction

葡萄籽是葡萄酒的下脚料之一,因其含有大量的多酚物质,而被广泛研究。葡萄籽多酚具有很高的药用价值,具有降低血脂、抗氧化、清除自由基、抗癌等作用^[1-2]。目前,许多研究人员致力于研究葡萄籽多酚的功效。

近年来,超声波提取方法作为一种优良的提取方法已经广泛应用于天然植物的有效成分的提取,它是美国环保局(EPA)的基本分析方法之一^[3]。将超声波应用于提取植物的有效成分,具有操作简便快捷、提取温度低、提出率高、提取物的结构未被破坏等特点,尤其在热敏性成分的提取中更显示出明显的优势。目前,利用超声波进行多酚类物质提取的报道已有很多,如:大豆异黄酮的提取^[4]、茶多酚的提取^[5]、虎杖中白藜芦醇的提取^[6]。本实验意在利用超声波技术找到合适的葡萄籽多酚提取工艺,以供实验所需。

1 材料与方法

1.1 实验材料及主要仪器设备

实验原料:葡萄籽,来源于宁夏广厦葡萄酒厂的下脚料。经过挑选,选取颗粒比较饱满,无霉烂变质的葡萄籽进行实验。

实验药品:甲醇(分析纯)、福林-肖卡试剂(自行配制)、20% Na₂CO₃(自行配制)。

实验主要设备:KQ-300DE 型数字控超声波清洗器、SENCO-R 系列旋转蒸发器、SP-2102UV 紫外-可见光分光光度计。

1.2 实验方法

1.2.1 标准液配制和标准曲线的测定

标准液配制:准确称取干没食子酸 0.50 g,用水溶解并定容于 100 mL 的容量瓶中,摇匀得到 0.5% 的母液。

收稿日期:2004-12-21; 修回日期:2005-04-04

作者简介:李华,男,教授,博士生导师,西北农林科技大学副校长,葡萄酒学院院长,多年从事葡萄与葡萄酒的研究工作。

标准曲线的测定：分别取上述没食子酸标准溶液 0.0, 1.0 mL, 2.0 mL, 3.0 mL, 5.0 mL, 10.0 mL 于 100 mL 容量瓶中稀释, 再各取 1 mL 稀释液, 用福林-肖卡试剂比色法测定吸光值。利用 SAS 软件处理, 得出标准曲线为 $C=714.690A$, $R=0.995$ (C 为浓度, 单位为 mg/mL, A 为吸光度)。

1.2.2 样品中总多酚的提取及测定

葡萄籽粉碎过 20 目筛, 准确称取葡萄籽粉 5.00 g, 放入 250 mL 三角瓶中, 按一定的料液比加入甲醇, 在一定温度、一定频率下提取一定时间, 并将几次的提取液合并, 进行抽滤。滤液用旋转蒸发器减压浓缩, 回收甲醇。浓缩后转入 100 mL 容量瓶, 用甲醇定容, 即稀释了 5 倍后用福林-肖卡试剂比色法测定其多酚含量。

1.2.3 正交实验设计

选取温度、频率、料液比、提取时间、提取次数 5 个对超声波提取有影响的因素进行单因素实验。在单因素的基础上, 确定正交实验的因素和水平 (见表 1), 采用 $L_9 3^4$ 进行正交实验, 实验结果用数理统计进行分析。

表 1 因素和水平

因素	温度(°C)	时间(min)	次数	料液比
	A	B	C	D
水平	40	35	4	1:10
	45	45	5	1:12
	50	55	6	1:14

2 结果与分析

2.1 温度对超声波提取的影响

分别在 25 °C, 35 °C, 45 °C, 55 °C, 65 °C, 75 °C 下进行提取。从图 1 中可以看出, 45 °C 下的提取率是最高的, 这可能是由于高温有利于提取, 但过高的温度会引起多酚的变性, 又影响提取率。

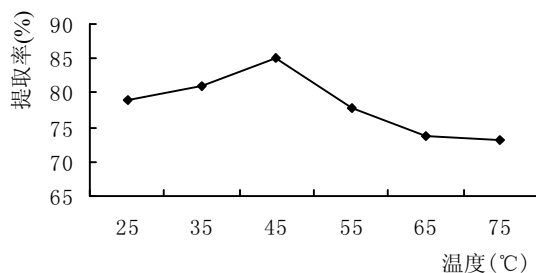


图 1 温度对超声波提取的影响

2.2 频率对超声波的影响

分别在 16 kHz, 24 kHz, 32 kHz, 40 kHz 下进行提取。图 2 反应出频率对提取有一定的影响, 随着频率的增加, 提取率也是增加的, 几乎成线性关系, 且频率最大时效果最好。但是数据处理分析发现, 进行实验的各水平之间是无显著差异的。

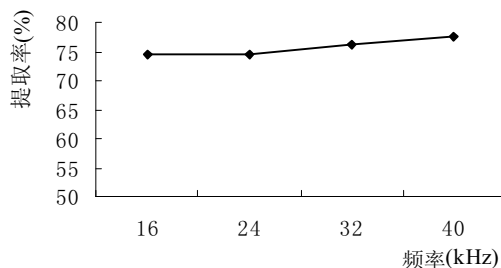


图 2 频率对超声波提取的影响

2.3 料液比对超声波提取的影响

分别按料液比 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12, 1:14 的量加入甲醇 (即 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL) 进行提取。料液比增加, 提取的溶液越多, 达到饱和时能提取的多酚也越多。因此, 随着料液比的增加, 提取率也是逐渐增加的 (图 3)。数据处理分析发现, 1:12 和 1:14 是最好的水平, 而且两者之间是没有显著差异的。

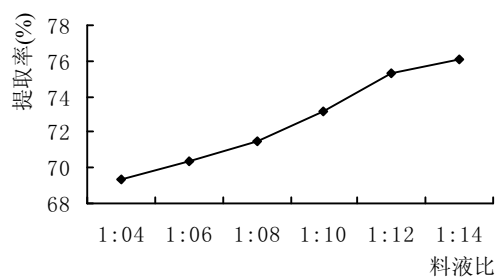


图 3 料液比对超声波提取的影响

2.4 提取时间对超声波提取的影响

每次提取时间分别为 5 min, 10 min, 15 min, 25 min, 45 min, 65 min。图 4 表明, 提取时间越长, 提取率就越高, 且变化较平缓。数据处理分析发现, 45 min 和 65 min 是最佳水平, 且二者之间没有显著差异。这说明当提取时间达到一定程度, 提取溶液达到饱和, 此时继续增加提取时间是无明显效果的。

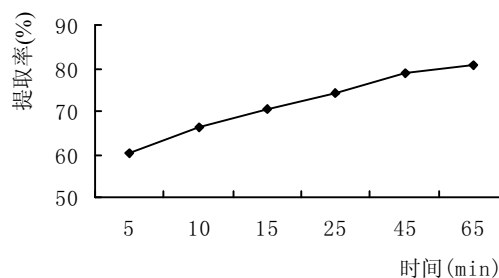


图 4 提取时间对超声波提取的影响

2.5 提取次数对超声波提取的影响

提取次数分别为 1, 2, 3, 4, 5, 6。提取次数越多, 提取的总量就越大, 但也不是无限增大的, 当提取近乎完全时, 再增加提取次数是不必要的。实验证明, 提取 5 次和 6 次最高, 且二者之间没有显著差异。

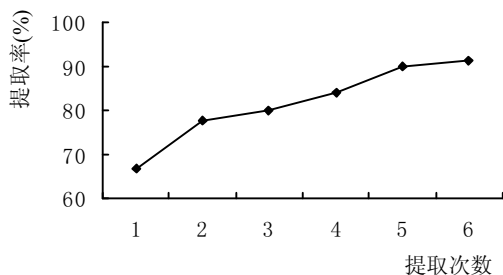


图5 提取次数对超声波提取的影响

2.6 正交实验确定超声波提取的最佳工艺

通过单因素实验,选择合理的因素水平进行正交实验,以确定最佳的提取条件(表2)。对于没有显著差异的频率因素,选择水平间最好的,即40 kHz。

表2 正交实验

编号	A	B	C	D	提取率(%)
1	1	1	1	1	85.4
2	1	2	2	2	94.6
3	1	3	3	3	96.1
4	2	1	2	3	95.8
5	2	2	3	1	98.4
6	2	3	1	2	94.3
7	3	1	3	2	97.2
8	3	2	1	3	89.7
9	3	3	2	1	97.8
K1	276.1	278.4	269.7	281.6	
K2	288.5	282.7	288.2	286.1	
K3	284.7	288.2	281.7	281.6	
k1	92.033	92.800	89.900	93.867	
k2	96.167	94.233	96.067	95.367	
k3	94.900	96.067	93.900	93.867	
R	4.134	3.267	6.167	1.500	

通过正交实验可以看出,影响因素 $C > A > B > D$ 。因

此,多酚的最佳提取条件是 $A_2B_3C_2D_2$,即:提取温度 45℃,提取时间为 55 min,料液比为 1:12,共提取 5 次。

3 讨论

本实验中,通过正交实验得出提取葡萄籽总多酚的最佳条件:温度 45℃,提取时间为 55 min,料液比为 1:12,共提取 5 次,提取频率为 40 kHz。

多酚是热敏性物质,温度对多酚的提取影响较明显,而且并不是温度越高提取的效果越好。温度大于 45℃,温度增加提取率反而下降。因此多酚的提取不适宜用连续回流的方式提取,如索式提取。而采用超声波辅助提取的方法,温度低,能避免多酚在高温下的分解,并能极大地缩短提取时间,因此这是一种非常适宜的提取方法,应该广泛用于实验室内葡萄籽多酚的提取及相关研究。

参考文献:

- [1] Fran LaBell .Grape Extracts for Food Use [J]. Prepared Foods. 2002,000(5).E16-E16.
- [2] Linda Milo Ohr .Harvesting the Benefits of Grape Seed Extract [J]. Prepared Foods. 2002.000(1): E14-E14.
- [3] US Environmental Protection Agency(EPA), in Test Methods for the Analysis of Solid Wastes(SW-846 Method No.3550) [J]. EPA Office Waste(OWS), Washington. D C, 1986.
- [4] 谢明杰,宋明,邹翠霞,等.超声波提取大豆异黄酮[J].大豆科学,2004, (1):76-77.
- [5] 尹莲.超声法提取茶多酚的实验研究[J].食品工艺,1999, (1): 10-11.
- [6] 曾里,连春霞,夏之宁.超声提取虎杖白藜芦醇及其液质联用分析[J].重庆大学学报,2007, (1):53-56.

山东省泰安市夏张泰山酿酒设备厂 产 品 简 介

我厂是生产酿酒设备的专业厂家,产品畅销全国各地,以注册商标(望海)生产的JFB 封闭冷却器、套管冷却器,是肖家世代传人在祖传工艺的基础上自1984年研制的新型节能产品,1987年通过省级酿酒专家鉴定,产品质量达国内先进水平,属国内首创,是一种理想的酿酒冷却设备。主要产品还有移动打茬机、灌装机、灌装线、移动式酒尾提酒器、双层节能保温甑锅、压轴流通风机、酿酒原料对辊锤式粉碎机、压纹封盖机、酒篓、酒罐等。我厂以优质的服务、可靠的质量、最低廉的价格,愿为各酿酒厂家提供理想的酿酒设备。

联系人:肖立水,肖立国

电 话:(0538)8311090 8311292

手 机:(0)13605383629

