

葡萄酒渣多酚的提取工艺优化

李文蕾,李双石,章宇宁,宋金慧

(北京电子科技职业学院,北京 100029)

摘要: 葡萄酒加工会产生大量的废弃物即葡萄酒渣,酒渣富含多酚类化合物等生物活性物质。通过单因素试验和正交试验,对葡萄酒渣多酚的浸提工艺进行了优化,确定最佳提取工艺条件为:以 60%vol 乙醇水溶液作为提取剂,料液比为 1:10,提取温度为 70℃,提取时间为 30 min,在此条件下多酚提取量可达 39.56 mg/g。

关键词: 葡萄酒渣; 多酚; 提取

中图分类号:TS262.6;TS261.4;X797;TS261.9

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2013)06-0097-03

Optimization of the Extracting Technology of Polyphenols from Wine Pomace

LI Wenlei, LI Shuangshi, ZHANG Yuning and SONG Jinhui

(College of Bioengineering, Beijing Polytechnic, Beijing 100029, China)

Abstract: A large amount of wine pomace is produced during grape wine processing and it contains rich bioactive polyphenols. The extracting technology of polyphenols from wine pomace had been optimized as follows through single factor test and orthogonal experiments: 60% aqueous ethanol solution used as the extracting agent, the ratio of raw materials to the solution was 1:10, the extracting temperature was at 70℃, and the extracting time was 30 min. In these conditions, the yield of total polyphenols was as high as 39.56 mg/g.

Key words: grape wine pomace; polyphenols; extraction

葡萄是世界上广泛种植且产量最大的水果之一,我国有着丰富的葡萄生产基地和葡萄酒加工产业,每年我国葡萄产量约 600 多万吨,其中约 70%用于酿酒。由于葡萄酒的大量生产和消费,产生了大量葡萄酿酒后的副产物,即葡萄酒渣,葡萄酒渣量约占葡萄加工总量的 25%^[1]。国内外大量研究表明,葡萄酒渣中含有大量的多酚类物质,包括原花青素、花色苷、黄酮类化合物、白藜芦醇等^[2-3]。多酚物质是葡萄重要的次生代谢产物,葡萄多酚具有较强的自由基清除能力,在消炎、抗心脑血管疾病、抗突变和抗肿瘤等方面中均具有显著功效^[3]。由于葡萄多酚潜在的生物活性,最近几十年一直为研究者所关注。

研究表明,绝大部分的葡萄多酚都存在于葡萄的种子和果皮中,多酚物质在葡萄种子中的含量可达 50%~70%,果皮中多酚含量可达 25%~50%^[2]。葡萄酒加工过程中,主发酵后压榨获得的葡萄酒渣主要是由葡萄皮和葡萄籽构成的混合物。目前,关于葡萄籽或葡萄皮中多酚提取工艺的研究已见报道^[4-6],而葡萄酒渣作为一种葡萄籽和葡萄皮混合物的多酚资源,其相关研究还未见报

道。本研究从提取剂、料液比、时间、温度等方面对葡萄酒渣多酚的提取工艺条件进行探索,以期为葡萄酒渣多酚的进一步开发利用提供技术支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂及仪器

葡萄酒渣:由中粮华夏长城葡萄酒有限公司 2011 年提供,酿酒葡萄品种为赤霞珠(*Cabernet Sauvignon*),主要由葡萄籽和葡萄皮组成。葡萄酒渣经 60℃恒温干燥至恒重,粉碎,过 60 目筛收集葡萄酒渣粉末,密封储存于阴凉干燥处。

试剂及耗材:福林-肖卡试剂购自 Sigma 公司,其余试剂均为国产分析纯;没食子酸对照品购自中国药品生物制品检定所。

仪器设备:电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

基金项目:2012 年北京市大学生科学研究与创业行动计划项目;北京市教育委员会科技计划面上项目专项资助课题(SQKM201210858001);北京市属高等学校人才强教计划资助项目。

收稿日期:2013-01-18

作者简介:李文蕾(1990-),女,河北石家庄人,在读高职生,食品质量与安全专业。

通讯作者:李双石(1980-),副教授,博士,研究方向为食品生物技术,E-mail:lishuangshi.1980@163.com。

优先数字出版时间:2013-04-09;地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20130409.0907.003.html>。

1.2.1 多酚粗提液的制备

精确称取 1.000 g 葡萄酒渣原料粉放入容器中,加入一定量的提取溶剂,在一定的条件下提取多酚类物质,过滤,量取提取液的总体积,将提取液稀释至适当倍数,测定多酚提取液中总酚含量。

1.2.2 多酚含量的测定

采用福林-肖卡试剂比色法(Folin-Ciocalteu)测定。

标准曲线绘制:精密称取没食子酸对照品 0.5000 g,加水定容至 100 mL,即为 0.5% 酚母液。取 6 支 10 mL 容量瓶,精确吸取 0.5% 酚母液 0、0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.5 mL、1 mL 置于容量瓶中,用水定容。另取 6 支 10 mL 容量瓶,分别加入上述各溶液 0.1 mL;再分别加水 6 mL,混合;各加入福林-肖卡显色剂 0.5 mL,混匀;在 0.5~8 min 内各加入 1.5 mL 的 20% 碳酸钠溶液,混合;用水定容。将上述标准溶液在室温下避光放置 2 h 以上,取出,用分光光度计测定各溶液在 765 nm 下的吸光值。以多酚浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得到多酚浓度 C (mg/L,以没食子酸计)与吸光度 A 的回归方程: $A=0.0009C+0.0201(R^2=0.9999)$ 。

多酚粗提液中多酚含量测定:用同样的方法测定多酚粗提液中多酚含量,通过标准曲线计算粗提液中多酚浓度,最终计算出原料中多酚的含量。

1.2.3 多酚提取条件优化

1.2.3.1 单因素试验条件优化

分别以浸提剂种类及其浓度、料液比、浸提温度、浸提时间作单因素试验,考察各因素对葡萄酒渣多酚提取量的影响。

1.2.3.2 正交试验条件优化

根据单因素试验结果,选择乙醇浓度、浸提时间、料液比和浸提温度为考察因素,设计 4 因素 3 水平的正交试验,对葡萄皮多酚提取工艺进行优化,因素水平设计见表 1。

表 1 葡萄酒渣提取多酚物质成分的因素水平表

水平	因素			
	A:乙醇浓度 (%vol)	B:浸提温度 (°C)	C:浸提时间 (min)	D:料液比
1	60	60	20	1:8
2	70	70	30	1:10
3	80	80	40	1:12

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 浸提溶剂及其浓度的选择

称取葡萄酒渣粉末 9 份,分别采用 3 种体积分数(50%、70%、90%)的 3 种溶剂(乙醇、丙酮、甲醇)浸提,料液比 1:10,室温搅拌浸提 30 min,测定滤液中总酚含

量,结果见图 1。

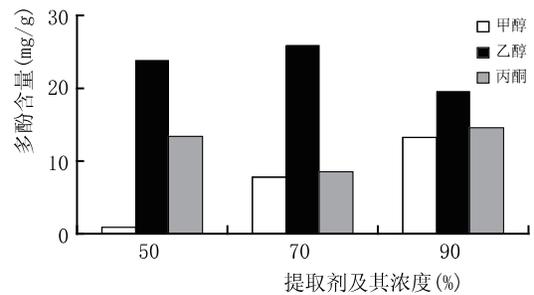


图 1 浸提液对多酚提取量的影响

由图 1 可知,不同的浸提溶剂对葡萄酒渣中多酚的提取能力明显不同,同样条件下,乙醇的多酚提取率远高于甲醇和丙酮,而且当乙醇为 70%vol 时,多酚得率最高。由此可见,乙醇作为一种极性较强的溶剂,更易于提取植物原料中的多酚化合物,而乙醇与水的混合物更增加了溶剂的极性。因此,初步确定采用 70%vol 乙醇水溶液作为葡萄多酚的提取剂。

2.1.2 料液比的影响

称取葡萄酒渣粉末 4 份,分别按 1:4、1:10、1:20、1:30 的料液比加入 70%vol 的乙醇溶液,室温浸提葡萄皮 30 min,结果见图 2。

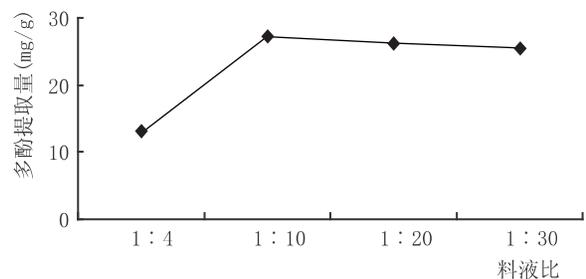


图 2 料液比对多酚提取量的影响

由图 2 可知,随着料液比的变化,提取液中多酚含量先逐渐增加,当料液比为 1:10 时多酚提取率达到最大值,随后又略有降低。这可能是由于多酚类物质在植物中常与蛋白质、多糖通过氢键结合成稳定的化合物,而有机溶剂具有氢键断裂的作用。在一定范围内增加溶液比例有利于多酚物质更大限度的浸出,但继续增大又会增加多酚与空气接触的机会,而多酚容易氧化,所以提取量又会有所降低,同时还会造成试剂原料的浪费,对多酚后期的纯化也会增加困难。因而,料液比初步确定采用 1:10。

2.1.3 浸提时间的影响

称取葡萄酒渣粉末 4 份,用 70%vol 乙醇、1:10 料液比、室温浸提 10 min、30 min、60 min、90 min,结果见图 3。

由图 3 可知,随着浸提时间的延长,葡萄酒渣多酚浸提量先增加后减少,浸提 30 min 时多酚的提取量最大。

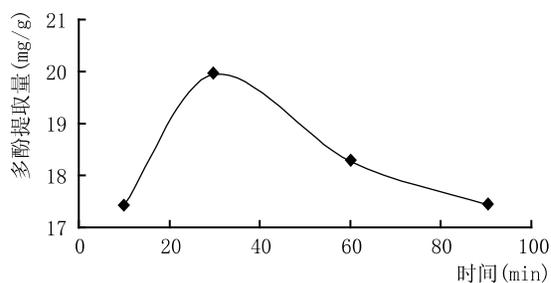


图3 浸提时间对多酚提取量的影响

这可能是由于延长提取时间, 提取出的多酚类物质会与空气中的氧气接触, 从而发生氧化、聚合等反应, 使多酚的提取率下降。因此, 初步确定浸提时间为 30 min。

2.1.4 浸提温度的影响

称取葡萄酒渣粉末 4 份, 按 1:10 料液比加入 70%vol 乙醇, 分别置于 20 °C、50 °C、70 °C、80 °C 水浴中浸提 30 min, 结果见图 4。

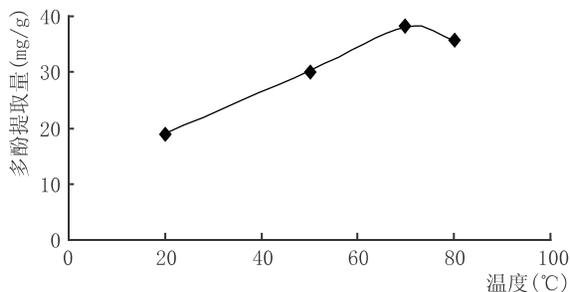


图4 浸提温度对多酚提取量的影响

由图 4 可知, 浸提温度对葡萄酒渣多酚的浸提量有较大的影响。随着浸提温度的升高, 多酚的浸提量先呈显著增加, 当提取温度为 70 °C 时, 多酚的提取量达到最大值, 这是因为温度的升高有助于多酚的溶出。但当温度继续升高时, 多酚的提取量又略有下降, 这可能是由于高温加速了多酚物质的非酶促氧化聚合, 多酚化合物的稳定性受到了破坏。因此, 初步确定采用 70 °C 为浸提温度。

2.3 正交试验

在单因素试验结果基础上, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 对乙醇浓度、浸提时间、料液比和浸提温度进行试验, 考察其对葡萄酒渣多酚提取量的影响, 对多酚提取工艺条件进行优化, 结果见表 2。

由表 2 可知, 以葡萄酒渣多酚提取量为指标, 确定多酚最佳提取工艺条件为浸提温度 70 °C、乙醇 60%vol、浸提时间 30 min、料液比 1:10, 此条件下的葡萄酒渣多酚浸提率为 39.56 mg/g。赵竞^[7]等对不同品种的葡萄皮、籽中多酚物质的含量进行分析, 结果发现, 不同品种葡萄皮中多酚含量范围为 13.8~47.1 mg/g, 葡萄籽中多酚的含量范围为 12~103 mg/g。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	多酚提取量(mg/g)
1	1	1	1	1	11.72
2	1	2	2	2	39.56
3	1	3	3	3	37.46
4	2	1	2	3	35.44
5	2	2	3	1	28.37
6	2	3	1	2	33.78
7	3	1	3	2	27.37
8	3	2	1	3	33.06
9	3	3	2	1	28.27
均值 1	29.580	24.843	26.187	22.787	
均值 2	32.530	33.663	34.423	33.570	
均值 3	29.567	33.170	31.067	35.320	
极差	2.963	8.820	8.236	12.533	

从表 2 极差分析可知, 各因素对葡萄酒渣多酚提取量的影响程度依次为: 料液比>浸提温度>浸提时间>乙醇浓度, 即料液比对多酚浸提量的影响最大, 浸提温度和浸提时间其次, 乙醇浓度的影响最小。

3 结论

葡萄酒渣中含有丰富的多酚物质, 本研究采用单因素和正交试验设计对葡萄酒渣多酚的提取工艺进行优化, 得到葡萄酒渣多酚的最佳提取工艺条件为: 60%vol 乙醇水溶液作为提取剂, 提取温度为 70 °C, 提取时间 30 min, 料液比为 1:10。在此条件下赤霞珠葡萄酒渣多酚提取量可达 39.56 mg/g。该提取方法成本低廉、操作简便, 适合于工业化生产。本研究结果可为葡萄酒生产中废弃物的工业化利用提供理论依据, 但只是以多酚提取量为单一指标对葡萄酒渣中多酚物质的提取条件进行了优化, 而各提取条件对提取物中多酚物质的化学组成和生物活性的影响还有待作进一步的研究。

参考文献:

- [1] 彭丽霞, 黄彦芳, 刘翠平, 等. 酿酒葡萄皮渣的综合利用[J]. 酿酒科技, 2010(10): 93-96.
- [2] 李双石, 李晓燕, 苑函, 等. 葡萄酒渣提取多酚化合物研究进展[J]. 酿酒科技, 2012(12): 45-47.
- [3] 唐传核, 彭志英. 葡萄多酚类化合物以及生理功能[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2000(2): 12-15.
- [4] 郭雄飞, 倪慧, 卿德刚, 等. 葡萄籽中多酚类物质的提取和纯化工艺[J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 41-44.
- [5] 周惠燕, 陈珏. 正交试验法优化葡萄皮中多酚的提取工艺[J]. 上海中医药杂志, 2011, 45(6): 84-86.
- [6] 范济民, 赵志换, 穆瑞娜. 葡萄皮中多酚的提取及其抗氧化活性研究[J]. 化学与生物工程, 2010, 27(10): 59-61.
- [7] 赵竞, 景浩. 不同品种葡萄皮、籽提取物多酚含量及抗氧化能力的比较研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(10): 154-158.