

葡萄果皮花色素苷提取工艺的研究

王 华^a, 菅 蓁^a, 郭耀东^b

(西北农林科技大学 a. 葡萄酒学院; b. 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] **【目的】**获得葡萄果皮中花色素苷提取最佳工艺。**【方法】**分析了提取剂、盐酸用量、提取温度、料液比、提取时间、提取次数对葡萄果皮中花色素苷提取率的影响,并在此基础上进行正交试验。**【结果】**最佳提取工艺为:用含体积分数 0.1% 盐酸的甲醇作为提取剂,40 ℃ 水浴中超声波辅助提取,提取时间 50 min,料液比 1 : 7,提取 2 次。各因素对葡萄果皮中花色素苷提取率的影响程度依次为:提取次数>料液比>提取时间>提取温度。**【结论】**得到了葡萄果皮中花色素苷的最佳提取工艺,该工艺下花色素苷的提取率为 73.10%。

[关键词] 葡萄果皮;花色素苷;提取工艺优化

[中图分类号] TS261.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2008)02-0129-05

Study on the extraction technology of anthocyanins from the grape pomace

WANG Hua^a, JIAN Zhen^a, GUO Yao-ong^b

(a. College of Enology; b. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract:**【Objective】**The study is to improve the condition for the extraction of anthocyanins from grape pomace.**【Mehtod】**Single-factor and orthogonal experiments were adopted to establish the optimal conditions for the extraction of anthocyanins, with the yield of extraction as index.**【Result】**The results showed that:with 0.1% HCl (V/V) MeOH as extractant assisted by ultrasonic extraction at 40 ℃,the ex-traction time is 50 min,the ratio of grape pomace and extraction being 1 : 7 and twice-time extraction the best. The sequence of actors that worked on the yield of anthocyanins were as below:extraction number> extraction vol. > extracted time> extraction temperature.**【Conclusion】**We obtained the condition for the extraction of anthocyanins from grape pomace,yiefd of extraction is 73.10%.

Key words:grape pomace;anthocyanins;optimal extraction technology

花色素苷是葡萄酒中主要的呈色物质,其对葡萄酒的感官品质和保健功能有重要影响。花色素苷广泛存在于花、果实等植物细胞中,使其呈现由红、紫红到蓝等不同的颜色。葡萄中的花色素苷主要分布于果皮、果肉、葡萄籽、芽鳞片等器官中,以果皮中的含量最高^[1]。葡萄果皮中的花色素苷通过浸渍发酵,可部分转移到葡萄酒中,成为葡萄酒最主要的呈

色物质,对葡萄酒的感官品质有重要影响^[2]。对葡萄酒中多酚类物质生理功能的研究发现,葡萄酒中花色素苷等多酚类物质具有预防心脑血管疾病、预防癌症等保健作用^[3-6]。目前已知花色素苷具有抗氧化、消除自由基、改善肝脏以及血清中的脂质、防止动脉硬化、抗变异原和抗肝炎及预防眼科领域疾病等功能^[7-8]。

* [收稿日期] 2007-03-09
[基金项目] 科技部科技成果重点推广项目计划(2004EC000317)
[作者简介] 王 华(1959—),女,河北阜城人,教授,博士,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒研究。
E-mail:wanghua@nwsuaf.edu.cn

研究葡萄果皮中的花色素苷提取方法,对于利用葡萄果皮渣开发功能性食品具有重要意义。提取葡萄果皮中的花色素苷,常用的提取溶剂为酸化水溶液和酸化有机溶液。常用的酸主要有甲酸、乙酸、盐酸、酒石酸和三氟乙酸等。有机溶剂主要为甲醇、乙醇和丙酮^[9-14]。通常在低温、避光条件下提取多次后^[12,14],合并提取液,在低于 35 ℃ 的温度下用旋转蒸发仪浓缩^[15],1 200~15 000 g 离心 5~15 min^[9,12]。这些常规方法耗时长,溶媒用量大,能耗高。近年来超声波在 高分子化合物降解、有机合成、提取分离等方面得到了广泛的研究和应用^[16]。本试验采用超声波辅助提取葡萄果皮中的花色素苷,研究不同提取条件对赤霞珠(*Cabernet-sauvignon*)葡萄果皮中花色素苷提取率的影响,以期 为花色素苷提取工艺改进、降低提取成本、提高产品质量提供 参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

1.1.1 供试材料 赤霞珠葡萄果皮由西北农林科技大学葡萄酒学院提供。甲醇、乙醇、丙酮、甲酸、盐酸、偏重亚硫酸钠均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 江苏 SP-KQ-300DE 数控型超声波清洗器,岛津 SP-2102UV 紫外可见分光光度计。

1.2 试验方法

1.2.1 葡萄果皮花色素苷提取工艺的单因素试验

(1)提取剂的选择。称取葡萄皮 5.00 g 3 份置于三角烧瓶中,分别加入均含体积分数 1% 盐酸的甲醇、乙醇和丙酮,料液比为 1:10(质量比体积,下同),30 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间为 30 min,共提取 3 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率,以衡量提取溶剂对浸提效果的影响。

(2)盐酸用量的选择。称取葡萄皮 5.00 g 5 份

置于三角烧瓶中,分别加入含体积分数 0.1%,0.5%,1%,2%,5% 盐酸的甲醇,料液比为 1:10,30 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间为 30 min,共提取 3 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率。

(3)提取温度的选择。称取葡萄皮 5.00 g 5 份置于三角烧瓶中,加入含体积分数 0.1% 盐酸的甲醇,料液比为 1:10,分别于 20,30,40,50,60 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间为 30 min,共提取 3 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率。

(4)料液比的选择。称取葡萄皮 5.00 g 10 份置于三角烧瓶中,加入含体积分数 0.1% 盐酸的甲醇,料液比分别为 1:2,1:3,1:4,1:5,1:6,1:7,1:8,1:9,1:10 和 1:11,于 40 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间为 30 min,共提取 3 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率。

(5)提取时间的选择。分别称取葡萄皮 5.00 g 10 份置于三角烧瓶中,加入含体积分数 0.1% 盐酸的甲醇,料液比为 1:7,40 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间分别为 10,20,30,40,50,60,70,80,90 和 100 min,共提取 3 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率。

(6)提取次数的选择。称取葡萄皮 5.00 g 5 份置于三角烧瓶中,加入含体积分数 0.1% 盐酸的甲醇,料液比为 1:7,40 ℃ 水浴中超声波辅助提取,频率 24 kHz,提取时间为 50 min,提取次数分别为 1,2,3,4 和 5 次,合并提取液,每处理重复 3 次。测定花色素苷含量,并计算各处理的提取率。

1.2.2 葡萄果皮花色素苷提取工艺的正交试验 根据 1.2.1 中单因素试验结果,选择提取温度、料液比、提取时间、提取次数 4 个因素各 3 个水平,设计 L₉(3⁴)正交试验(表 1)。

表 1 葡萄果皮花色素苷提取工艺 L₉(3⁴)正交试验的因素水平

Table 1 Factor levels list for extraction technology of anthocyanins from the grape pomace

水平 level	因素 Factor			
	A	B	C	D
	提取温度/℃ Extracted temperature	提取时间/min Extracted time	料液比 Extracted vol	提取次数 Extracted number
1	20	40	1:6	2
2	30	50	1:7	3
3	40	60	1:8	4

1.2.3 花色素苷含量的测定 花色素苷含量的测定采用亚硫酸脱色法进行^[17]。

1.3 数据处理

采用 DUNCAN 新复极差法对试验数据进行方

差分析。

2 结果与分析

2.1 葡萄果皮花色素苷提取工艺的单因素试验结果

2.1.1 提取剂的选择 不同提取剂对葡萄果皮花色素苷提取率的影响见表 2。表 2 表明,采用含体

积分数 1%盐酸的甲醇作为提取剂,其提取效果与均含体积分数 1%盐酸的乙醇、丙酮作为提取剂差异显著,而含体积分数 1%盐酸的乙醇与含体积分数 1%盐酸的丙酮之间差异不显著。因此,选择含体积分数 1%盐酸的甲醇作为提取剂。

表 2 不同提取剂对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 2 Comparison of extraction capacity of different extractants

提取剂 Extactant	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
甲醇 MeOH	47.54	48.05	50.56	48.72 a
乙醇 Ethanol	30.32	31.52	31.75	31.20 b
丙酮 Acetone	24.45	26.39	24.97	25.27 b

注:同列数据后标相同字母者表示差异不显著($P>0.05$),标不同字母者表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note:The same word means the otherness was little ($P>0.05$),contrarily means the otherness was big ($P<0.05$). The following table is same.

2.1.2 盐酸用量的选择 不同 pH 值对花色素苷的颜色与结构影响很大。在溶液介质中,蓝色的醌式(脱水)碱、红色的黄钯盐阳离子、无色的甲醇假碱和查耳酮 4 种结构之间存在着平衡。通常在 pH 值较低时,花色素苷溶液呈现最强的红色,随着 pH 值的增大,花色素苷的颜色将褪至无色,在高 pH 值时变成紫色或蓝色^[9]。因此,对采用不同 pH 值提取剂的花色素苷溶液,需将 pH 值调到相同水平,再

进行比较。

表 3 表明,葡萄果皮花色素苷的提取率随提取剂中盐酸体积分数的增加而增大。对含不同体积分数盐酸提取剂的提取率进行方差分析,结果表明,各处理间差异不显著。据 Revilla 等^[18]报道,提取剂中添加过多的盐酸提取花色素苷,会使乙酰化的花色素苷部分分解。因此,采用含体积分数 0.1%盐酸的甲醇作为提取剂。

表 3 不同盐酸用量对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 3 Comparison of extraction capacity of different HCl content

盐酸用量/% HCl content	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
0.1	43.97	45.77	48.37	46.04 a
0.5	44.77	46.57	48.97	46.74 a
1	48.47	51.17	49.37	49.67 a
2	48.77	51.97	48.32	49.69 a
5	51.97	48.37	49.25	49.86 a

2.1.3 提取温度的选择 不同提取温度对葡萄果皮花色素苷提取率的影响见表 4。

表 4 不同提取温度对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 4 Comparison of extraction capacity of different extracted temperature

提取温度/℃ Extracted temperature	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
20	72.44	67.56	67.24	69.08 a
30	71.18	67.16	69.76	69.37 a
40	71.18	68.66	70.00	69.95 a
50	56.36	53.38	57.32	55.69 b
60	49.68	49.76	52.28	50.57 c

由表 4 可见,花色素苷的提取率随提取温度的升高总体呈下降趋势,但以提取温度为 40℃时最高。另在试验中观察到,当提取温度分别为 50 和 60℃时,花色素苷提取液中出现白色絮状沉淀,且甲醇的沸点为 64~65℃,在提取温度为 60℃时提

取剂会大量挥发。方差分析结果表明,20,30,40℃处理间差异不显著,而 50 和 60℃处理与 20,30,40℃处理差异显著。故选择提取温度为 40℃。

2.1.4 料液比的选择 由表 5 可见,当料液比为 1:2~1:7 时,随着提取剂体积的增加,提取率增

大,当料液比为 1∶7 时提取率最高且与其他处理间 不变。因此,确定料液比为 1∶7。差异显著;之后随着提取剂体积的增加,提取率基本

表 5 不同料液比对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 5 Comparison of extraction capacity of different extractant vol.

料液比 Extractant vol.	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
1∶2	44.38	46.14	49.38	46.63 e
1∶3	57.32	51.12	55.16	54.54 d
1∶4	59.95	54.01	56.27	56.74 cd
1∶5	55.74	58.83	55.13	56.57 cd
1∶6	63.04	57.68	59.56	60.09 bc
1∶7	69.53	68.15	63.93	67.20 a
1∶8	70.53	64.93	64.93	66.80 a
1∶9	63.42	68.00	63.98	65.13 ab
1∶10	67.06	62.46	64.06	64.53 ab
1∶11	65.53	61.67	67.79	65.00 ab

2.1.5 提取时间的选择 由表 6 可见,随提取时间的增加,花色素苷的提取率呈先增大后减小的趋势,其中提取时间为 50 min 时提取率最大。据报道,超声波可缩短提取时间,提高提取效率,但其在一定频

率和功率下也可使有机大分子降解^[19]。可以推断,在频率 24 kHz 时过长时间的超声波处理将导致花色素苷分解。因此,确定提取时间为 50 min。

表 6 不同提取时间对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 6 Comparison of extraction capacity of different extractant time

提取时间/min Extractant time	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
10	29.08	27.90	28.32	28.43 c
20	34.96	35.04	32.52	34.17 b
30	34.12	35.88	33.84	34.61 b
40	37.90	40.92	31.68	36.83 b
50	53.02	58.98	54.36	55.46 a
60	37.48	36.30	35.46	36.41 b
70	33.22	38.82	37.14	36.40 b
80	36.64	37.56	32.94	35.71 b
90	36.64	37.98	32.52	35.71 b
100	37.06	37.50	32.52	35.69 b

2.1.6 提取次数的选择 不同提取次数对葡萄果皮花色素苷提取率的影响见表 7。由表 7 可见,花色素苷的提取率随提取次数的增加而增大,但当提

取次数增至 3 次后,提取率基本不变。因此,从节约成本角度考虑,确定提取次数为 3 次。

表 7 不同提取次数对葡萄果皮花色素苷提取率的影响

Table 7 Comparison of extraction capacity of different extracted number

提取次数 Extracted number	提取率/% Yield of extraction			
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	平均值 Average
1	29.66	30.68	26.96	29.10 c
2	50.08	54.88	54.12	53.03 b
3	63.78	63.54	58.34	61.89 a
4	59.00	63.76	62.40	61.72 a
5	61.60	61.80	60.80	61.40 a

2.2 葡萄果皮花色素苷提取工艺的正交试验结果

根据葡萄果皮花色素苷提取工艺单因素试验结果,设计的 L₉(3⁴)正交试验结果见表 8。

表 8 显示,各因素对花色素苷提取率的影响程

度依次为:提取次数>料液比>提取时间>提取温度;综合比较,A3B2C2D1 为最佳提取条件。在此最佳工艺下,提取葡萄果皮中的花色素苷,重复 3 次,平均提取率为 73.10%。

表 8 葡萄果皮花色苷提取工艺 L₉ (3⁴) 正交试验的结果

Table 8 Orthogonal experiment for extraction technology of anthocyanins from the grape pomace

试验序号 No.	A 提取温度/℃ Extracted temperature	B 提取时间/min Extracted time	C 料液比 Extracted vol.	D 提取次数 Extracted number	提取率/% Yield of extraction
1	1(20)	1(40)	1(1 : 6)	1(2)	45.43
2	1(20)	2(50)	2(1 : 7)	2(3)	73.10
3	1(20)	3(60)	3(1 : 8)	3(4)	20.79
4	2(30)	1(40)	2(1 : 7)	3(4)	28.59
5	2(30)	2(50)	3(1 : 8)	1(2)	50.43
6	2(30)	3(60)	1(1 : 6)	2(3)	36.37
7	3(40)	1(40)	3(1 : 8)	2(3)	45.24
8	3(40)	2(50)	1(1 : 6)	3(4)	34.32
9	3(40)	3(60)	2(1 : 7)	1(2)	66.69
K ₁	417.95	357.76	348.37	487.66	
K ₂	346.17	473.56	505.11	464.11	
K ₃	438.75	371.54	349.39	251.10	
k ₁	139.32	119.25	116.12	162.55	
k ₂	115.39	157.85	168.37	154.70	
k ₃	146.25	123.85	116.46	83.70	
R	30.86	38.60	52.25	78.86	

3 结 论

Renault 等^[20]采用来自香槟省的葡萄果皮渣,用含体积分数 1%甲酸的甲醇 10 L 浸提 5 d,提取葡萄皮中的花色苷,该方法耗时长,溶媒用量大。本研究采用超声波辅助提取葡萄果皮中的花色苷,以含体积分数 0.1%盐酸的甲醇为提取剂,提取葡萄果皮中花色苷的最佳工艺为:40℃水浴中超声波辅助提取,提取时间 50 min,料液比 1 : 7,提取 2 次。

采用本研究得到的最佳工艺提取葡萄果皮中的花色苷后,进行纯化、分离,可得到花色苷单体,这对于定性、定量研究葡萄酒中的花色苷类物质及鉴别掺假葡萄酒具有重要意义。

[参考文献]

[1] 温普红,王晓玲,杨得锁. 葡萄籽中花色素的分离研究[J]. 精细化工,2001,18(4):218-219.
Wen P H, Wang X L, Yang D S. Separation of anthocyan from grape seeds[J]. Fine Chemicals, 2001, 18(4): 218-219. (in Chinese)

[2] 李 华. 现代葡萄酒工艺学[M]. 西安:陕西人民出版社,2001.
Li H. Morden enology[M]. Xi'an: Shaanxi People Press, 2001. (in Chinese)

[3] 高尧来,温其标,张福艳. 葡萄酒中的多酚类物质及其保健功能[J]. 食品与发酵工业,2002,8(3):124-128.
Gao Y L, Wen Q B, Zhang F Y. Polyphenols in wine and their health functions [J]. Food and Fermentation Industries, 2002, 8(3): 124-128. (in Chinese)

[4] 陈曾三. 红葡萄酒多酚的保健功效[J]. 酿酒科技, 2001, 2(3): 77-79.
Chen Z S. Healthy effects of polyphenols in red grape wine [J]. Liquor-making Science Technology, 2001, 2(3): 77-79. (in Chinese)

[5] 齐 慧,葛毅轩,战吉成. 多酚类物质与葡萄酒的保健作用[J]. 中国食品, 2006, 16(3): 122-123.
Qi H, Ge Y X, Zhan J M. Polyphenols and healthy protecting effects of wine [J]. China Food, 2006, 16(3): 122-123. (in Chinese)

[6] 刘树文,李 华,房玉林. 葡萄酒的营养与保健[J]. 酿酒, 1999, 5(4): 40-42.
Liu S W, Li H, Fang Y L. Nutrition and healthy protecting effects of wine [J]. Liquor Making, 1999, 5(4): 40-42. (in Chinese)

[7] Bridle P, Timberlake C F. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects [J]. Food Chem, 1997, 58: 103-109.

[8] Tedesco I, Russo G L, Nazzaro F. Antioxidant effect of red wine anthocyanins in normal and catalase-inactive human erythrocytes [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2001(12): 505-511.

[9] Cantos E, Espín J C, Francisco A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(20): 5691-5696.

[10] Bakker J, Timberlake C F. The distribution of anthocyanins in grape skin extracts of port wine cultivars as determined by high performance liquid chromatography [J]. J Sci Food Agric, 1985, 36: 1315-1324.