

苹果多酚浸提方法的研究

栾 晏, 籍保平*, 姜 慧, 周 峰, 陈龙飞
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 苹果多酚是一类具有强抗氧化性的物质, 本文主要研究了有机溶剂浸提法和超声波浸提法两种方法在从苹果粉中提取多酚方面的异同, 影响因素主要包括提取溶剂、温度、时间、料液比、提取次数。结果表明, 有机溶剂提取苹果多酚的最佳工艺参数为: 70% 的乙醇—水混合溶液按 1:20 的料液比, 在 30℃ 水浴中浸提两次, 每次处理 30min。超声波提取苹果多酚的最佳工艺参数为: 70% 的乙醇—水溶液按 1:30 的料液比在冰浴中用超声波处理两次, 每次处理时间为 15min。在同样的提取条件下, 超声波浸提得率远高于有机溶剂浸提得率。

关键词: 苹果多酚; 有机试剂; 浸提; 超声波

Factors Influenced the Extraction of Apple Polyphenols by Organic Regents

LUAN Yan, JI Bao-ping*, JIANG Hui, ZHOU Feng, CHEN Long-fei
(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Apple polyphenols is a kind of functional compounds in apple with strong antioxidant activity. Several extracting reagents, different extracting temperature, time, times and ratio between material and organic reagents. It indicated that the optional conditions for organic reagents extraction is: 70% ethanol solvent was used to extract apple polyphenols from the dried apple powder by 1:20 (apple dried powder: ethanol solvent) under 30℃ two times and 30min for each time. And the optional conditions for ultrasonic wave extraction is: 70% ethanol solvent was used to extract apple polyphenols same to that of organic reagents, the extracting temperature is ice bath and the ratio between apple powder and 70% ethanol solvent is 1:30 not familiar to that of organic reagents extraction, and the extracting times is 2 times same as that of organic reagents extraction. From all above, the optional method for apple polyphenols extracting is ultrasonic wave which can be used to get more apple polyphenols than that by organic reagents.

Key words: apple polyphenols; organic reagents; extraction; ultrasonic wave

中图分类号 TS201.23

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)09-0211-05

苹果中的功效成分主要是苹果多酚, 有研究表明食用富含多酚的食品或果汁可以预防癌症^[1,2], 心脏病以及炎症^[3]。苹果的总酚含量随着果实的成熟而下降, 未成熟果实中的总酚是成熟果实中的 3~10 倍^[4]。有研究表明, 100g 新鲜苹果的抗氧化能力相当于 1500mg VC 的抗氧化性, 而 500mg VC 在体内就可以作为前体氧化剂了^[5]。

有关苹果多酚的浸提方法, 国内外众多学者研究的内容主要是有机试剂提取法, 主要采用甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等为提取试剂^[6~10]。也有人采用超声波浸提法浸提茶叶中的香气^[11], 发现超声波法浸提的香气品质要比常规浸提好。采用超声波浸提茶叶中的主要化学成分的研究表明, 超声波浸提茶汤中的主要儿茶素的含量高于其它浸提方式^[12]。

多酚在植物体内通常与蛋白质、多糖以氢键和疏水键形式形成稳定的分子复合物, 所以提取多酚的溶剂需要对多酚具有很好的溶解性, 而且须具有氢键断裂的作用。研究表明, 有机溶剂和水的复合体系具有氢键断裂的作用, 适合多酚的提取。以缩合单宁为主体的样品为例, 采用弱酸性的醇—水体系可以将不可提取单宁降解溶出, 从而提高多酚提取率。

超声波具有频率高、方向性好、穿透力强、能量集中等特性, 已在机械制造、化学、冶金、医疗、轻工业、农业、动力工程等方面广泛应用。经过超声波处理的浸提物, 其结构和性质不会发生变化; 而超声波的振动作用能够提高破碎速度, 缩短破碎时间, 促进化学物质向溶剂中溶解; 同时超声波的空化效应、搅

收稿日期 2005-06-28

*通讯作者

作者简介: 栾晏(1976-), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能性食品。

拌等作用能够强化浸提液的对流,减少扩散阻力,促使传质速度加快,从而扩大透析膜的孔径,使得多酚等大分子固形物更加容易渗出,适合对苹果多酚进行提取^[11]。

因此本文对有机溶剂浸提法及超声波浸提法进行研究。为了更好地了解两种方法的提取效率,本文着重研究了提取溶剂,提取温度,提取时间,提取次数以及提取的料液比五个影响因素。

1 材料与方法

1.1 材料

国光苹果 10月下旬购于北京昌平南口;无水乙醇、甲醇、丙酮、抗坏血酸 均为AR级。

1.2 仪器设备

KQ-250B型超声波清洗器 昆山市超声波仪器厂; 722s型光栅分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; 水浴振荡器、破碎机、真空包装机、粉碎机、抽滤装置、RE-52旋转蒸发器、SHZ-D循环水式真空泵、恒温水浴锅。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

国光苹果破碎成 $1 \times 1 \times 1$ cm块状,用1%抗坏血酸溶液浸泡,打浆后去汁取渣,果渣经冷冻干燥处理,粉碎成80~100目的粉末。将苹果粉真空包装,暗室冷藏,待用。

1.3.2 提取剂对提取效果的影响

提取苹果多酚通常采用的有机溶剂有甲醇、乙醇、丙酮或它们与水的混合,他们具有以下特性:对多酚有良好的溶解能力,不与多酚起化学反应,浸出杂质少,易于分离。

精确称取1.00g果渣粉置于50ml三角瓶中,加入20ml浓度为20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%甲醇、乙醇和丙酮溶液,同时滴加1ml 5%的盐酸,摇匀,在30℃下水浴振荡30min,将提取液过滤,滤液用去离子水定容于100ml容量瓶中。用福林-肖卡比色法测定多酚含量。超声波法则选择70%的乙醇溶液作为提取试剂,提取时间为15min。

1.3.3 温度对提取效果的影响

精确称取1.00g果渣粉置于50ml三角瓶中,加入70%乙醇溶液20ml,同时滴加1ml 5%的盐酸溶液,摇匀,在20、30、40、50、60℃下水浴振荡30min,将提取液过滤,滤液用去离子水定容于100ml容量瓶中。同样的提取条件下,超声波提取时会随着时间的延长使浸提液周围的环境迅速升温,所以超声波提取时一般使用的冰水浴不涉及到温度的影响。用福林-肖卡比色法^[13]

测定多酚含量。

1.3.4 时间对提取效果的影响

精确称取1.00g果渣粉置于50ml三角瓶中,加入70%乙醇溶液20ml,同时滴加1ml 5%的盐酸溶液,摇匀,在30℃下水浴振荡不同时间,分别为5、10、15、30、45、60min,将提取液过滤,滤液用去离子水定容于100ml容量瓶中。超声波法则是用冷水浴处理,其它处理同有机试剂法。用福林-肖卡比色法测定多酚含量。

1.3.5 料液比对提取效果的影响

精确称取1.00g果渣粉置于100ml三角瓶中,按1:10、1:20、1:30、1:40、1:50料液比加入70%乙醇溶液,摇匀,在30℃下水浴振荡30min,将提取液过滤,滤液用去离子水定容于100ml容量瓶中。超声波法则是将各处理用冷水浴处理15min。用福林-肖卡比色法测定多酚含量。

1.3.6 提取次数对提取效果的影响

精确称取0.50g果渣粉置于100ml三角瓶中,加入70%乙醇溶液20ml,同时滴加1ml 5%的盐酸溶液,摇匀,在30℃下水浴振荡30min,将提取液过滤,滤液用去离子水定容于100ml容量瓶中。用福林-肖卡比色法测定多酚含量。重复以上提取方法,进行二次、三次、四次提取。超声波法则是用冷水浴处理15min,再进行二次、三次、四次提取。(注:将三次和四次提取液浓缩,去除部分乙醇,乙醇体积<25ml,然后用去离子水定容于100ml容量瓶中)。

2 结果与分析

2.1 不同有机溶剂不同浓度对提取效果的影响

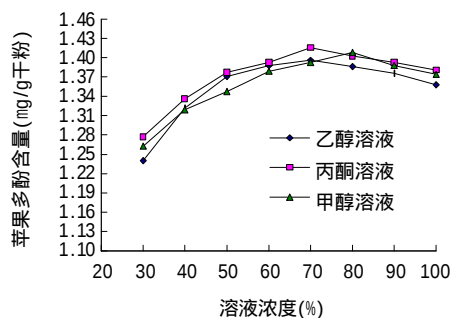


图1 有机溶剂对萃取效果的影响

Fig.1 The effect of extracting agent on the extraction of apple polyphenols

有机溶剂对提取效果的影响如图1所示,70%的丙酮提取的多酚含量最高,这与L. Yeap Foo的研究结果相同^[10],其次是80%的甲醇、70%的乙醇,但三者提取的多酚含量接近。可以看到,有机溶剂-水混合液的提取率比纯有机溶剂的提取率高,可能是因为纯的有

表1 超声波与有机溶剂提取苹果多酚的比较试验

Table 1 Comparison between the methods of ultrasonic wave and organic solvent

	温度 (°C)	乙醇浓度 (%)	时间 (min)	多酚含量 (mg)
超声波 + 有机溶剂提取	0~10	70%	10	1.237
			20	1.357
			30	1.308
有机溶剂提取	30	70%	30	1.224

注：吸光度是从100ml容量瓶中取出10ml溶液，然后移入25ml容量瓶用去离子水定容后测定的溶液吸光度。

机溶剂不能将水溶性多酚浸提出来，导致多酚提取量较有机溶剂水溶液的提取量低。甲醇具有毒性，存在残留危险，丙酮超过允许浓度(0.1%)吸入后会引起麻醉。因此，本试验选用70%的乙醇作为提取溶剂。

超声波与有机溶剂提取苹果多酚的比较试验如表1所示，提取时间在10~30min，超声波提取的多酚含量均大于有机溶剂的提取量，并且提取温度低于30℃，利于降低多酚氧化率。比较超声波与有机溶剂提取效果，超声波用时短，温度低，提取量高于有机溶剂的提取量，在工艺上具有一定的优势。

2.2 温度对提取效果的影响

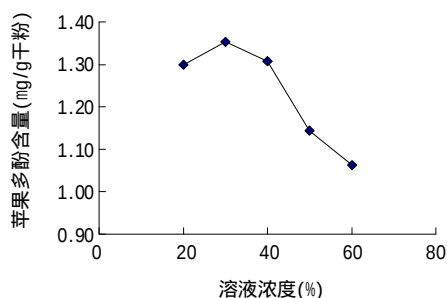


图2 温度对提取效果的影响

Fig.2 The effect of temperature on the extraction of apple polyphenols

温度对提取效果的影响如图2所示，温度在30℃时提取出的多酚含量达到最大值，此后随着温度的升高，多酚含量不断下降，原因可能是温度的升高会导致部分苹果多酚的氧化损耗，而部分乙醇也会在高温下挥发(乙醇沸点=78.5℃)，降低了提取量。

2.3 时间对提取效果的影响

将超声波浸提与有机溶剂浸提的时间对提取多酚含量的影响进行比较，结果见图3。

超声波与有机溶剂提取时间对提取效果的影响如图3所示，用超声波提取时，随着时间增加，溶液中多酚含量也逐渐增加，当提取时间达到15min时，苹果多酚含量达到最高值，为1.393mg/g干粉。此后含量有所降低，原因可能是由于提取时间长，使溶剂在超声波

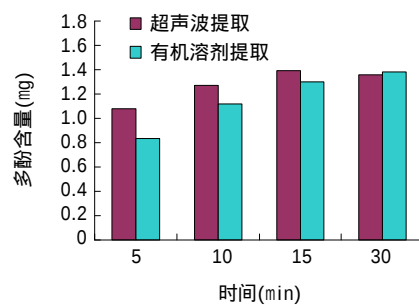


图3 超声波与有机溶剂提取时间效果比较

Fig.3 Time comparison between the method of ultrasonic wave and organic solvent

的空化效应作用下增加氧的含量，导致多酚氧化，同时超声波的振荡、破碎等作用能够将多糖等大分子固形物溶出，这些大分子物质与部分多酚以氢键或疏水键形式形成分子复合物，使多酚含量的降低。因此，选择15min作为最佳提取时间。而对于有机溶剂来说，提取初期，提取出的多酚含量增加较快，随后缓慢上升，在30min时提取量达到最大，但随着提取时间延长，提取出的部分苹果多酚在水溶液中发生氧化损耗，提取量反而降低。详见图4。所以采用有机溶剂浸提时，浸提时间以30min为佳。

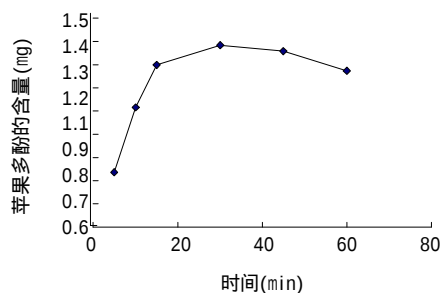


图4 时间对提取效果的影响

Fig.4 The effect of time on the extraction of apple polyphenols

2.4 料液比对提取效果的影响

有机溶剂浸提法和超声波浸提法在相同的料液比的情况下，所浸提出来的多酚含量有很大差异，详见图5。

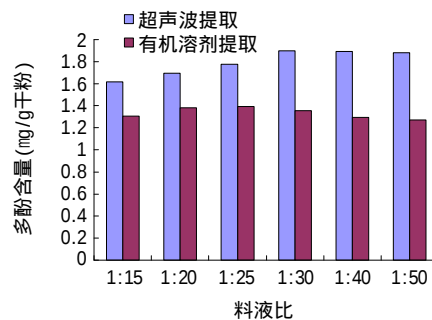


图5 两种浸提方法不同料液比对多酚含量的影响

Fig.5 The effect of different ratio between material and organic reagents by two extraction methods

由图5可见,对于有机溶剂浸提法来说,随着料液比的增大,浸提出来的苹果多酚的含量增加,料液比为1:25时,提取量最大,为1.393mg/g干粉;料液比为1:30~1:50的溶液中水的体积增大,使水中吸附更多的氧,部分苹果多酚因而氧化,使部分苹果多酚发生氧化,导致多酚含量降低,故1:25的料液比可以作为有机溶剂浸提法的最佳提取料液比。而对于超声波浸提法来说,当料液比为1:30时提取量最高,达到1.898mg/g干粉,当料液比为1:25时,多酚含量只有1.678mg/g干粉。因此作为超声波浸提法,料液比的最佳选择为1:30。

2.5 提取次数对提取效果的影响

有机溶剂浸提法和超声波浸提法在提取次数上的比较见图6。

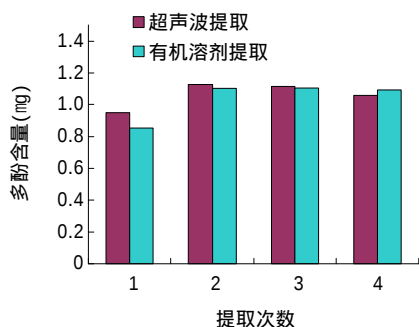


图6 超声波与有机溶剂的提取次数效果比较

Fig.6 Extracting times comparition between the method of ultrasonic wave and organic solvent

由图6可见,对于有机溶剂浸提法来说,提取两次时多酚含量为1.103mg/g干粉,提取三次后,苹果多酚只增加了0.00357mg,而提取四次时,时间较长(120min),部分苹果多酚会发生氧化损耗,因此,选择提取次数为两次。对于超声波浸提法来说,浸提一次、二次、三次所得的多酚含量均高于有机溶剂中相应提取次数的多酚含量。但随着提取次数的增加,最高值的差值逐渐减小。原因可能时由于超声波的振荡、破碎等作用在提高多酚溶出量的同时,也将大分子物质如糖、蛋白质等提取出来,导致多酚与这些大分子物质形成复合物,降低多酚提取。可以认为,在相同提取次数上,超声波对苹果多酚的提取量比有机溶剂高。

3 结论

本文对影响苹果多酚提取效果的两种方法的5种因素:提取剂、温度、时间、料液比、提取次数进行了试验研究。有机溶剂提取苹果多酚的最佳工艺参数为:70%的乙醇-水混合溶液按1:20的料液比,在30℃水浴中浸提两次,每次处理30min。超声波浸提苹果多

酚的最佳工艺参数是70%的乙醇-水溶液按1:30的料液比在冰浴中用超声波处理两次,每次处理时间为15min。

在提取剂选择试验中,70%的丙酮提取的多酚含量最大,达到1.415mg/g干粉,其次是80%的甲醇、70%的乙醇,三者提取的多酚含量接近,差值为0.007mg~0.019mg。由于丙酮和甲醇的潜在危害,提取剂优选70%的乙醇-水混合液。而超声波浸提法中采用有机溶剂法选择的乙醇浓度。

在温度选择试验中,有机溶剂浸提法在30℃时提取出的多酚含量达到最大值,含量为1.353mg/g干粉。温度的升高会导致部分苹果多酚的氧化损耗,降低多酚提取量。在超声波浸提方法中,由于物料所处的环境是冰浴,所以没有考虑温度对超声波浸提苹果多酚的影响。

在时间选择试验中,有机溶剂浸提时随着时间的增加,多酚提取量增加,在30min时提取量达到最大值,含量为1.38407mg/g干粉。但时间的延长,会导致提取出的部分苹果多酚在水溶液中氧化损耗,提取量反而降低。而对于超声波浸提法而言,当提取时间达到15min时,苹果多酚含量达到最高值,为1.393mg/g干粉,还要高于有机溶剂浸提30min时的含量。

在料液比选择试验中,用有机溶剂浸提时,料液比为1:25时提取量最大,达到1.393mg/g干粉。料液比为1:30~1:50时溶液中水的体积增大,使水中吸附更多的氧,部分苹果多酚因氧化,导致多酚含量降低。用超声波浸提时,当料液比为1:30时,多酚含量达最大,为1.898mg/g干粉,远远高于有机溶剂浸提的多酚量。

在提取次数选择试验中,两种浸提方法的结果一致,都是浸提两次时多酚的含量最高。

综上,在同样的提取条件下,超声波浸提所得的多酚要高于有机溶剂浸提的多酚。

参考文献:

- [1] Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer [J]. J Natl Cancer Inst [J]. 1993, 85: 1038-1049.
- [2] Shela Gorinstein, Marina Zemser, Ratiorn Haruenkit et al. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon [J]. J Nutr Biochem, 1999, 10: 367-371.
- [3] Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables and cardiovascular disease: a review [J]. INT J Epidemiol, 1997, (6): 1-13.
- [4] 唐传核, 彭志英. 苹果多酚的开发及应用 [J]. 中国食品添加剂, 2001, (2): 41-45.
- [5] Marian V, Eberhardt, ChangYong Lee, et al. Antioxidant activity of fresh Apple [J]. Nature, 2000, 405: 903-904.
- [6] Tomomasa, Hiroshi, Akio et al. Inhibitory effects of apple polyphenol on induced histamine release from RBL-2H3 cells

葛仙米藻胆蛋白提取工艺 及藻蓝蛋白稳定性研究

范 刚¹, 陈德文^{1,2}, 潘思轶^{1,*}, 汪兴平²

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070;

2. 湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北 恩施 445000)

摘 要: 对葛仙米藻胆蛋白的提取工艺及其稳定性进行了研究。采用单因素实验优化葛仙米藻胆蛋白的提取工艺。结果表明, NaCl 浓度为 0.24mol/L, pH7 及提取时间为 4.2h 时, 藻胆蛋白的得率最高, 分别为 7.004%, 7.438%, 5.924%; 藻蓝蛋白的稳定性实验表明, 藻蓝蛋白在 30℃ 以下, 酒精浓度在 10% 以下, pH 值在 6~8 的范围内比较稳定。

关键词: 葛仙米; 藻胆蛋白; 藻蓝蛋白; 提取; 稳定性

Study on Extraction Technology of Phycobiliproteins and Stability of Phycocyanins from *Nostoc sphaeroids* Kutz

FAN Gang¹, CHEN De-wen^{1,2}, PAN Si-yi^{1,*}, WANG Xing-ping²

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

2. College of Biological Science and Technology, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 44500, China)

Abstract: Effect of one factor on extraction of phycobiliproteins from *Nostoc sphaeroids* Kutz and stability of phycocyanin were studied. The results show that concentration, pH value and extraction time of buffer affected the extraction rate of phycobiliproteins mostly. When concentration of buffer was 0.24mol/L, pH7, extraction time was 4.2h, the yield of phycobiliproteins was the highest, which was 7.004%, 7.438%, 5.924% respectively. And phycocyanin is stable under 30℃, 10% alcohol concentration and pH6~8.

收稿日期 2005-04-04

*通讯作者

基金项目: 湖北省科技攻关项目(2002AA201C15)

作者简介: 范刚(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品加工化学。

- and rat mast cells[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1998, 62(7): 1284-1289.
- [7] Matej Stopar, Uros Bolcina, Andreha. Lower Crop Load for Jonagold Apples Increases Polyphenol Content and Fruit Quality[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 1643-1646.
- [8] Juan J Mangas, Anna Picinelli, Javier Moreno. Differentiation by polyphenol profile of apple juices prepared according to two membrane technology[J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 4777-4784.
- [9] R M Alonso-Salces, E Korta, A Barranco, et al. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple[J]. *J Chromatogr A*, 2001, 933: 37-43.
- [10] L Yeap Foo, Yinrong Lu. Isolation and identification of procyanidins in apple pomace[J]. *Food Chem*, 1999, 64: 511-518.
- [11] 夏涛, 时思全, 宛晓春. 微波、超声波浸提对茶汤香气的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2004, 27(3): 99-102.
- [12] 夏涛, 时思全, 宛晓春. 微波、超声波对茶叶主要化学成分浸提效果的研究[J]. *农业工程学报*, 2004, 20(6): 170-173.
- [13] V L Singleton, Joseph A, Rosso J R. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents[J]. *J Sci Food Agric*, 1965, (10): 144-148.