石榴籽多酚提取工艺研究

闵 勇[1]，王 洪[2]，姚立华[1]，刘 卫[1,*]，杨 金[1]
(1.红河学院 云南省天然药物与化学生物学重点实验室，云南 蒙自 661100；
2.红河哈尼族彝族自治州公安局技术处，云南 蒙自 661100)

摘 要：采用正交试验对石榴籽多酚的提取工艺进行研究。结果表明：温度和料液比对石榴籽多酚提取率的影响较为显著。石榴籽多酚的最佳提取条件为：提取溶剂50% 乙醇、浸提温度50℃、提取时间2.0h、料液比1:20，在该条件下石榴籽多酚提取量可达12.07mg/g。

关键词：石榴籽；提取率；多酚

Extraction of Polyphenols from Pomegranate Seed

MIN Yong[1]，WANG Hong[2]，YAO Li-hua[1]，LIU Wei[1,*]，YANG Jin[1]
(1. Key Laboratory of Natural Pharmaceutical and Chemical Biology of Yunnan Province, Honghe University, Mengzi 661100, China；2. Technology Department of Honghe Bureau of Public Security, Mengzi 661100, China)

Abstract： Based on single factor test, orthogonal test design was applied to optimize the extraction technology of polyphenols from crushed pomegranate seed (20 mesh). Results showed that temperature and ratio of solid to liquid had significant effects on extraction yield of polyphenols. Under optimized conditions [with 50% ethanol as extraction solvent, at the ratio of material to the solvent of 1:20 (g/ml), extracting for 2.0 h at 50 ℃], the extraction yield of polyphenols reached 12.07 mg/ g.

Key words： pomegranate seed；extraction yield；polyphenols
中图分类号：TS255.36 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2009)12-0066-03

石榴富含多酚类物质[1-2]，国内外的研究表明石榴多酚具有多种生物活性[3-5]。蒙自地区是全国著名的石榴盛产地，石榴种植面积超过6000公顷，石榴年产量达6万t以上，石榴总产量约占全国的40%。目前，对石榴多酚的开发利用研究主要集中在石榴皮多酚的提取，对石榴籽多酚的利用研究较少有文献报道。本实验拟采用新鲜石榴果实榨汁后的废料石榴籽为原料，对其多酚类物质的提取条件进行研究，找出从石榴籽中提取多酚物质的最佳条件，为综合开发利用石榴资源，提高石榴附加值提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

石榴籽干燥后粉碎20目。

乙醇、KH_2PO_4、Na_2HPO_4、$FeSO_4$、酒石酸钾钠、没食子酸均为分析纯。

1.2 仪器与设备

7200分光光度计；Satrious电子天平；DK-80型电热恒温水浴锅。

1.3 方法

1.3.1 标准曲线的建立

配制5.0g/L没食子酸标准液，取标准液0、1、2、4、6、8、10ml，加入蒸馏水定容至100ml，各吸取10ml，用酒石酸亚铁法[6]，于540nm处测定吸光度，用SAS软件处理数据，得到标准曲线为：$y = 0.1755x + 0.0018$，$R^2 = 0.9986$。

1.3.2 石榴籽多酚的提取

采用溶剂浸提法。准确称取1g样品，加入适量提取溶剂，用加热回流装置提取一定时间后过滤，滤液定容，用酒石酸亚铁法测定吸光度，计算多酚浓度。

1.3.3 试验设计

通过单因素试验确定影响提取效果的主要因素及水平，然后利用正交试验对石榴籽多酚提取条件进行优化。

收稿日期：2008-09-21
基金项目：云南省教育厅科学研究项目(06y081A)
作者简介：闵勇(1974-)，男，副教授，硕士，研究方向为天然产物分离及修饰。E-mail：minyong19741206@126.com
* 通讯作者：刘卫(1962-)，女，教授，硕士，研究方向为有机合成及天然产物提取及运用。
E-mail：minyong19741206@126.com

1.3.4 多酚含量计算

$$W = \frac{CV}{m}$$

式中：W 为多酚含量(mg/g)；C 为多酚质量浓度(mg/ml)；V 为提取液体积(ml)；M 为石榴籽质量(g)。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂及浓度对石榴籽多酚提取的影响

多酚类物质极性较大，易溶于极性溶剂，可采用丙酮、甲醇、乙醇、水等溶剂提取[7-9]。但是，丙酮、甲醇作为提取剂不仅毒性大而且价格较高。水为提取剂价格便宜，但极性较大，提取多酚的同时得到的杂质也较多。因此，考虑工业生产成本及提取效率，本实验采用乙醇、水混合体系作为提取溶剂。配制30%、40%、50%、60%、70%、80%(V/V)的乙醇水溶液，固定提取温度为30℃，提取时间为1h，料液比为1:10(g/ml)，研究乙醇浓度对石榴籽中多酚提取的影响。不同乙醇浓度对多酚总量提取的影响见图1，当乙醇浓度为50%时，多酚的提取率达到最大，为7.27mg/g。随乙醇浓度继续增加，多酚提取量反而下降，当乙醇浓度增加到80%时，多酚提取量急剧下降，这可能是由于溶剂与多酚极性的相似程度降低导致。因此，选择50%乙醇作为后续试验的溶剂浓度。

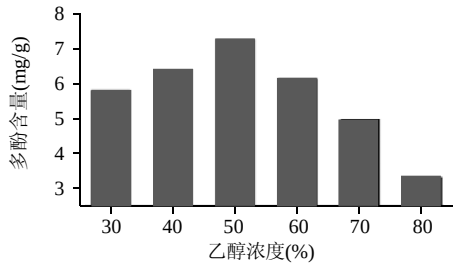

图1 乙醇浓度对多酚提取的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on extraction yield of polyphenols

2.2 提取时间对多酚提取的影响

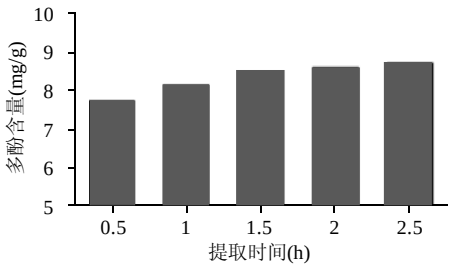

图2 提取时间对多酚提取的影响

Fig.2 Effects of extraction duration on yield of polyphenols

采用提取时间分别为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5h，固定乙醇浓度为50%，提取温度为30℃，料液比为1:10，研究不同提取时间对石榴籽多酚提取量的影响。不同提取时间对多酚总量提取的影响见图2。结果如图2所示，多酚的提取量随提取时间不断延长而增加。但提取时间增加到1.5h以后，多酚提取量随提取时间的延长而产生的变化已经不再显著，说明提取时间在1.5h左右，多酚的溶出已经接近于饱和。因此，选取1.5h做为后续试验的提取时间。

2.3 料液比对多酚提取的影响

采用不同的料液比即1:10、1:15、1:20、1:25、1:30，固定乙醇浓度为50%，提取时间为1.5h，提取温度为30℃，研究不同料液比对石榴皮中多酚提取的影响。结果见图3。实验结果表明，随着料液比的降低，多酚的提取量增加。当料液比降低到1:20后，多酚提取率随料液比的变化率趋于平缓，考虑实际中的生产成本要求，选择料液比1:20为后续试验的料液比。

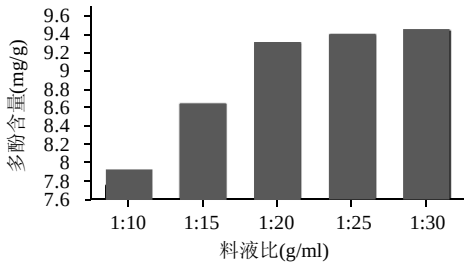

图3 料液比对多酚提取的影响

Fig.3 Effects of ratio of material to liquid on extraction yield of polyphenols

2.4 温度对多酚提取率的影响

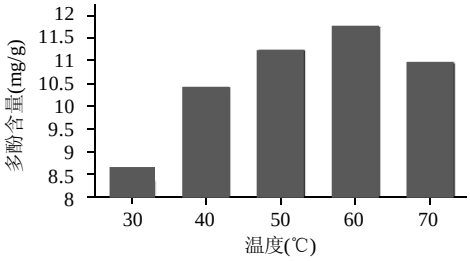

图4 温度对多酚提取的影响

Fig.4 Effects of temperature on extraction yield of polyphenols

采用不同的提取温度即30、40、50、60、70℃，固定乙醇浓度为50%，提取时间为1.5h，提取料液比为1:20，研究不同提取温度对石榴籽中多酚提取量的影响，结果见图4。如图4所示，随着提取温度的升高，多酚提取量增加，当提取温度为60℃时，多酚提取量达到最大为11.75mg/g，此时再增加提取温度，多酚提取量开始下降，这可能与多酚的热稳定性有关。

2.5 正交试验优化多酚提取条件

根据以上单因素试验结果，设计四因素三水平的正

交试验 $L_9(3^4)$，对影响石榴籽多酚提取率的4个主要影响因素乙醇浓度、提取时间、料液比、提取温度进行研究，以便进一步优化多酚提取条件。各因素编码值及试验设计和试验结果分别见表2和表3。

表1 $L_9(3^4)$正交试验设计因素及水平

Table 1 Factors and levels of $L_9(3^4)$ orthogonal test for optimizing extraction of polyphenols from crushed pomegranate seed

水平	因素			
	A温度(℃)	B乙醇浓度(%)	C时间(h)	D料液比(g/ml)
−1	50	40	1.5	1:15
0	60	50	2.0	1:20
1	70	60	2.5	1:25

表2 $L_9(3^4)$正交试验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test and range analysis

试验号	因素				多酚提取率
	A温度(℃)	B乙醇浓度(%)	C时间(h)	D料液比(g/ml)	(mg/g)
1	−1	−1	−1	−1	10.67
2	−1	0	0	0	12.07
3	−1	1	1	1	11.34
4	0	−1	0	1	9.63
5	0	0	1	−1	9.23
6	0	1	−1	0	10.52
7	1	−1	1	0	7.78
8	1	0	−1	1	8.77
9	1	1	0	−1	7.07
K_1	11.36	9.36	9.99	8.99	
K_2	9.79	10.02	9.59	10.12	
K_3	7.87	9.64	9.45	9.91	
R	3.49	0.66	0.54	1.13	

表3 正交试验结果方差分析

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for the results of orthogonal test

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	18.235	1	18.235	47.306	0.002
B	0.120	1	0.120	0.312	0.606
C	0.432	1	0.432	1.121	0.349
D	1.279	1	1.279	3.317	0.143
模型	20.067	4	5.017	13.014	0.015

表3正交试验方差分析结果表明，各处理间的差异显著($p<0.05$)。对各因素进行回归分析可知，因素A($p<0.01$)对试验结果影响最显著。根据表2的结果得出拟合方程(1)，模拟的拟合性能良好($R^2=92.86\%$)。从方程可知，A和C的系数为负，说明实验所选择的零水平处，Y值随提取温度和提取时间的进一步降低而增大。

$$Y=9.675556-1.743333A+0.141667B-0.268333C+0.461667D \quad (1)$$

表2的试验结果显示，在第二组试验条件下多酚得率最高为12.07mg/g。因此，通过正交试验优化得到石榴籽多酚的最佳提取条件是：提取温度50℃、溶剂浓度50%、提取时间2.0h、料液比1:20。

3 结 论

3.1 通过对正交试验结果分析可知提取温度和料液比对石榴籽多酚提取率影响最为显著，在以后的研究中应该重点研究浸提温度和料液比对多酚提取的影响。

3.2 本实验通过单因素试验和正交试验，优化得出了从石榴籽中提取多酚的最佳条件：提取温度50℃、乙醇浓度50%、提取时间2.0h、料液比1:20。在该条件下从1g石榴籽中可提取得到12.07mg多酚。

参考文献：

[1] LI Y F, GUO C J, YANG J J, et al. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract [J]. Food Chemistry, 2006, 96: 254-260.

[2] GUO C J, YANG J J, WEI J Y, et al. Antioxidant activities of peel,pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay[J]. Nutrition Research, 2003, 23: 1719-1726.

[3] NEGI P S, JAYAPRAKASHA G K. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(4): 1473-1477.

[4] NEGIPS, JAYAPRAKASHA G K, JENA B S. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts[J]. Food Chemistry, 2003, 80: 393-397.

[5] SNGH R P, CH DAMBARA M KN, JAYAPRAKASHA G K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate(*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models[J]. Journal of Aricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 81-86.

[6] 熊皓平, 杨伟丽, 张友胜. 显齿蛇葡萄多酚含量测定方法的比较研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2001(5): 381-383.

[7] 贾东英, 姚开, 谭薇, 等. 石榴皮中多酚提取条件的优化[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 123-126.

[8] 李凤英, 崔蕊静, 李春华. 从葡萄皮中提取多酚物质[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(4): 147-149.

[9] 贾东英, 李莞, 姚开, 等. 香蕉皮中多酚的提取工艺条件研究[J]. 四川大学学报: 工程科学版, 2005, 37(6): 52-55.