

文章编号 :1009-038X(2001)02-0208-03

脱脂葡萄籽中低聚原花青素的提取

吕丽爽¹, 曹 栋²,

(1. 南京师范大学金陵女子学院, 江苏南京 210097; 2. 无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036)

摘 要 :研究了葡萄籽中低聚原花青素的提取. 采用石油醚脱脂的干葡萄籽为原料, 以乙醇为溶剂热提取后, 通过调节 pH 除去蛋白质, 再用乙酸乙酯萃取分离粗提物, 最后用石油醚沉淀纯化产品.
关键词 :葡萄籽; 低聚原花青素; 提取

中图分类号 :S 663.1 文献标识码 :A

Separation of Oligomeric Proanthocyanidins from Defatted Grape Seeds

LU Li-shuang¹, CAO dong²

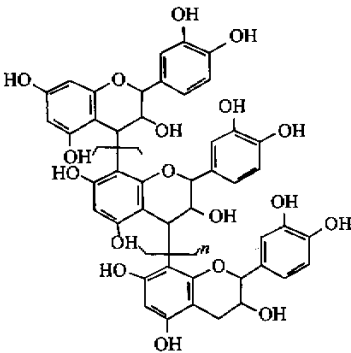
(1. Nan jing Normal University, Jinling College, Nanjing 210097, China; 2. School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract : In this paper, a technology of extraction of oligomeric proanthocyanidins from defatted grape seeds was studied. Details were given of preparation involving the extraction by the proanthocyanidins into aqueous ethanol, the concentration at low temperature to remove the ethanol, the fractionation by extraction with ethyl acetate and the precipitation of proanthocyanidins from the solution by addition of ligroin.

Key words : grape seeds; oligomeric proanthocyanidins; extraction

低聚原花青素(Oligomeric Proanthocyanidins 简称 OPC's)是自然界中广泛存在的一种多酚类聚合物,有人将其归为生物类黄酮. 它是由儿茶素、表儿茶素聚合而成的低聚体类,其中羟基黄烷之间绝大多数以 C-C 键联结,联结位置多为 4,8 位或 4,6 位. 结构通式见图 1^[1].

由于这类物质的分子中具有多电子的羟基部分,使它拥有强有力的抗氧化能力、清除自由基能力和对人体微循环特殊改善的双重功效,以高效、低毒、高生物利用率而著称. 据报导,在体内其抗氧化能力是 V_E 的 50 倍, V_C 的 20 倍. 近 10 年来,它已在北美保健食品业和化妆品业得到广泛应用.



原花青素 n 为 0~10

图 1 原花青素结构通式

Fig. 1 Proanthocyanidins Structural Formula

葡萄籽源于葡萄酒的副产品,占整粒葡萄质量的 4%~6%。我国葡萄资源丰富,每年用于酿造酒和其它饮料的鲜葡萄数量很大,估计超过 100 000 t,这样每年我国就有 4 000~6 000 t 的副产品葡萄籽。国内目前只是简单地提取葡萄籽油,或用作饲料和肥料。鉴于此,以葡萄籽为原料,对 OPC's 这一抗氧化活性成分进行提取研制,以期物尽其用,造福人类。

1 材料与方法

1.1 实验材料

白羽葡萄籽(干),试剂均为分析纯,水为去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 低聚原花青素含量的测定 取 1.0 mL 含原花青素的待测样品的水溶液(质量浓度 1~5 mg/mL)于 25 mL 比色管中,加入 BuOH-HCl 试剂 10.0 mL 摇匀,使溶液成为均一体系。将塞子打开放入 97 ℃ 恒温水浴中,3 min 后将塞子塞紧,加热 40 min 后,打开塞子,在自来水中冷却 5 min,以空白为基准,在 550 nm 处测吸光值,由吸光值从标准曲线查出相应的原花青素含量。

1.2.2 溶剂去提取 OPC's 取葡萄籽筛分,用捣碎机磨碎过重筛,用石油醚脱脂,加入 60% 的乙醇,料液比为 1:7,于 50 ℃ 的恒温水浴中加热,不断搅拌 30 min 后,用自来水冷却至 20 ℃,于 4 000 r/min 下离心 20 min,取上清液。反复提取 3 次,最终残渣洗涤 2 次,将上清液及洗涤液合并,减压蒸馏($\leq 37\text{ }^{\circ}\text{C}$)浓缩回收乙醇,到溶液密度在 1.1~1.2 g/cm³ 之间^[5]。

1.2.3 等电点沉淀法除去蛋白质 以缓冲液调节,至提取液 pH 3.5。

1.2.4 溶剂萃取法分离粗提物 通过对一系列影响因素的考察,取影响 OPC's 萃取率的 3 个主要因素:温度、溶剂比、加盐量进行正交优化组合实验。

1.2.5 溶剂沉淀法纯化粗提物

溶剂沉淀法是当料液中加入某种溶剂时,该溶剂可与料液混溶,使目的溶质沉淀析出^[2]。在减压蒸馏浓缩到一定浓度的(饱和)乙酸乙酯萃取液中,慢慢加入氯仿或石油醚,不断搅拌,则 OPC's 沉淀出来。

1) 所用溶剂体积对溶剂沉淀的影响

取饱和的乙酸乙酯萃取液 5 份,将石油醚与乙酸乙酯的体积比配成 1:1、2:1、3:1、4:1、5:1。不断搅拌,静置,过滤,收集 OPC's,减压蒸馏,最后真空

干燥,测定产品的纯度和得率,同时以氯仿为沉淀溶剂做对照。

2) 温度对溶剂沉淀的影响

取饱和的乙酸乙酯萃取液 5 份,分别加入 3 倍体积的石油醚,于 5、10、15、20、25 ℃ 条件下不断搅拌,静置,过滤,收集 OPC's,减压蒸馏,真空干燥,测定产品的纯度和得率。

3) 沉淀次数对产品得率的影响

用石油醚以 3:1 的溶剂比,在室温下再次沉淀,静置,过滤,收集 OPC's,减压蒸馏,真空干燥,测产品的纯度和得率。

工艺流程见图 2。

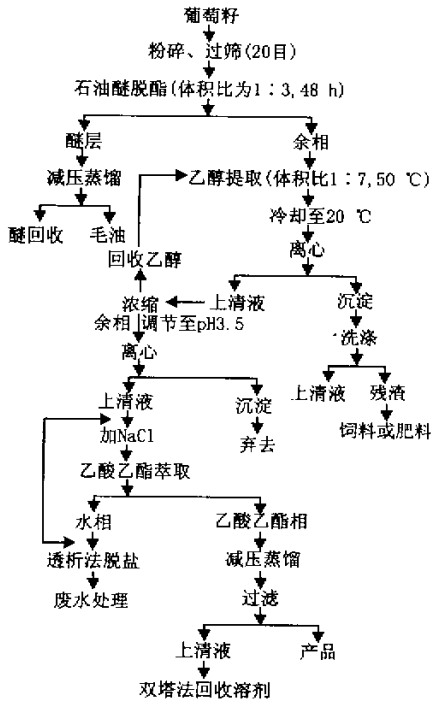


图 2 工艺流程

Fig.2 The technology flowchart

2 结果与讨论

2.1 溶剂萃取法分离粗提物

正交实验优化萃取工艺见表 1,极差分析结果见表 2。

表 1 实验方案及结果

Tab.1 Test plan and results

试验号	因 素			萃取率/%
	A 温度/℃	B 饱和度	C 溶剂体积比	
1	0	0.5	2:1	39.7
2	0	0.75	3:1	43.0
3	0	1	4:1	40.6
4	5	0.5	3:1	37.4

续表 1

试验号	因 素			萃取率/%
	A 温度/℃	B 饱和度	C 溶剂体积比	
5	5	0.75	4 :1	38.2
6	5	1	2 :1	36.5
7	10	0.5	4 :1	34.1
8	10	0.75	2 :1	32.0
9	10	1	3 :1	31.5

表 2 试验数据处理
Tab.2 the test date processing

指标	因 素		
	A	B	C
K_1	123.3	111.1	108.2
K_2	112.1	113.2	111.9
K_3	97.5	108.6	112.8
K_1	41.10	37.07	36.07
K_2	37.37	37.73	37.30
K_3	32.50	36.2	37.60
R	8.60	1.53	1.50

表 1、2 可知,各因素的主次为 A、B、C,即温度、饱和度、溶剂体积比。最佳条件为 $A_1B_2C_3$,即温度为 0℃,加盐饱和度为 0.75,乙酸乙酯与水的体积比为 4 :1,萃取 3 次。

2.2 溶剂沉淀法纯化粗提物

2.2.1 溶剂体积比对溶剂沉淀的影响

在溶剂沉淀过程中,溶剂的添加量直接关系到目的溶质的纯度和得率,同时溶剂的选取是产物沉淀出的关键。选用氯仿、石油醚两种溶剂对比实验,结果见表 3。

表 3 体积比对产物纯度和得率的影响
Tab.3 The effects of the volume ratio on the purity and yield of the product

溶剂		1 :1	2 :1	3 :1	4 :1	5 :1
石油醚	纯度 %	76.9	78.6	82.5	79.1	75.2
	得率 %	84.7	86.6	93.7	88.2	87.1
氯仿	纯度 %	80.4	80.8	80.3	78.4	72.7
	得率 %	73.2	81.6	83.0	79.9	76

由表 3 可知,选用氯仿沉淀,体积比为 1 :1 至

3 :1,对 OPC's 的纯度影响不大,但得率随着体积比增大逐渐增大,其最适体积比为 3 :1。相比之下,用石油醚不仅得率较高,而且纯度也高于用氯仿所得,其最适体积比也是 3 :1。石油醚为工业上常用溶剂,无毒,价格较氯仿低,因此选用石油醚沉淀产物不仅效率高,而且经济实用。

2.2.2 温度对溶剂沉淀的影响 温度对溶剂沉淀的影响主要是高温会使目的产物变性。由表 4 可知,温度对溶剂沉淀的得率、纯度影响不显著。一方面,在 0~20℃ 之间,OPC's 在乙酸乙酯中的溶解度随温度变化很小。另一方面,由于石油醚的加入,引起 OPC's 的沉淀,导致其化学势升高,使乙酸乙酯溶液成为过饱和状态,其间温度影响不大,故可根据实际选取室温沉淀。

表 4 温度对溶剂沉淀的影响
Tab.4 The effects of the temperture on the yield

温度/℃	纯度/%	得率/%
5	80.0	82.9
10	80.9	85.3
15	89.7	81.1
20	80.8	82.8
25	82.8	85.3

2.2.3 沉淀次数对纯度的影响 为了提高产品纯度,增加溶剂沉淀次数,实验结果见表 5。

表 5 两次沉淀的 OPC's 纯度
Tab.5 OPC's purity of the two-time treatment

次数	纯度/%	得率/%
1	82.8	93.3
2	95.6	81.0

结果表明,经过两次沉淀,OPC's 纯度达到 95.6%,符合国外标准要求。

4 结 论

研究了从脱脂葡萄籽中提取低聚原花青素的方法,通过对分离、纯化等影响因素的试验研究,得出最佳的工艺条件,最终制备得到符合国外标准的样品。实验结果表明,此工艺路线简便、可行。

参考文献：

[1]王宪楷.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,1980.
[2]梁世中编译.生物分离技术[M].广州:华南理工大学出版社,1995.

(责任编辑:李春丽)