

微波辅助提取葡萄皮渣中白藜芦醇的工艺研究

缪文玉¹, 秦楠^{2*}

(1. 太原城市职业技术学院管理工程系, 太原 030027; 2. 山西中医学院制药与食品工程学院, 太原 030619)

摘要: **目的** 优化葡萄皮渣中白藜芦醇的微波辅助提取工艺。**方法** 通过单因素试验, 选择微波时间、料液比以及微波功率为自变量, 白藜芦醇提取率为考察指标, 采用正交试验设计分析研究各自变量对多糖提取率的影响。经极差与方差分析, 从而获得最适的提取工艺条件。**结果** 在微波提取时间 70 s、料液比 1:20 (*m*:*V*)、微波作用功率为 600 W 的条件下获得白藜芦醇提取率为 0.284%, 相比有机溶剂乙醇提取法的提取率增加了 42%。**结论** 本研究可为葡萄皮渣的再利用与开发提供参考。

关键词: 白藜芦醇; 微波辅助提取; 葡萄皮渣

Extraction of resveratrol from grape pomace by microwave-assisted extraction method

MIAO Wen-Yu¹, QIN Nan^{2*}

(1. Department of Management Engineering, Taiyuan City Vocational College, Taiyuan 030027, China; 2. College of Pharmaceutical and Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, 030619, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the microwave-assisted extraction (MAE) process of resveratrol from grape pomace. **Methods** Single factor experiments involving three technological parameters of extraction time, material-solvent ratio and microwave power were conducted with resveratrol extraction yield as the examining index, and the effects of each parameter on the extraction yield of resveratrol were investigated by orthogonal test methodology. Both range analysis and variance analysis were carried out, and then the optimal extraction process conditions were obtained. **Results** The optimal conditions of MAE were as follows: extraction time was 70 s, material-solvent ratio was 1:20 (*m*:*V*) and microwave power was 600 W, and the yield of resveratrol was up to 0.284%. Compared to ethanol-extracting method, the extraction yield increased 42%. **Conclusion** The study can provide a reference for reuse and development of grape pomace.

KEY WORDS: resveratrol; microwave-assisted extraction; grape pomace

1 引言

白藜芦醇(resveratrol, Res), 属非黄酮类多酚化合物, 是一种天然活性物质。葡萄皮是合成白藜芦醇的主要合成部位, 白藜芦醇含量很高。白藜芦醇具有多种生物学活性,

人们已经发现它具有抗癌、抗菌、抗氧化、预防心脏病、降血压和抗诱变等药理作用^[1,2]。在葡萄榨汁和酿酒加工过程中, 会产生大量的皮渣等副产物。从葡萄皮渣中可以提取纯度较高的白藜芦醇, 并可进一步开发为药品、功能性食品、美容化妆品, 既可以解决葡萄加工企业下脚料废物

*通讯作者: 秦楠, 讲师, 博士, 主要研究方向为食品微生物及功能食品加工。E-mail: bszy6688@163.com

*Corresponding author: Qin Nan, Lecturer, Ph.D, College of Pharmaceutical and Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China. E-mail: bszy6688@163.com

处理问题,又可以更好地开发葡萄皮渣的用途,变废为宝,创造更多的经济利益和社会效益^[3-6]。

微波辅助萃取技术(microwave-assisted extraction technique)已成为一种具有发展潜力的绿色萃取分离技术,被广泛应用于各种天然活性成分的提取^[7-9]。微波破壁的原理是生物样品吸收微波导致发热而产生破壁,可加速被萃取组分的分子由固体内部向固液界面扩散的速率^[10,11]。因此,该技术具有高选择性、高效性、操作简便、节能省时及产品提取率高等特点。本研究应用微波辅助提取技术提取葡萄皮渣中白藜芦醇,采用正交试验优化提取,旨在摸索微波辅助提取葡萄皮渣中白藜芦醇的最适参数,以期为工业化生产及进一步的研究与利用提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 材料、试剂与仪器

白藜芦醇标准品(纯度≥95%,天津尖峰天然产物有限公司);无水乙醇(分析纯,天津市天大化工实验厂)。

R201D-11 旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司);SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);SHA-C 型水浴恒温振荡器(常州市华普达教学仪器有限公司);DZF 型真空干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司);752 型紫外-可见分光光度计(上海精密仪器有限公司);NJC03-2 型微波提取设备(日本 SHIMADZU 公司)。

2.2 试验方法

2.2.1 微波提取工艺^[12,13]

葡萄皮渣→筛选、除杂→烘干→粉碎→过筛→称重→微波萃取→离心→蒸馏浓缩→干燥→白藜芦醇粗粉→称重

2.2.2 白藜芦醇标准曲线的绘制

以体积分数为 95%乙醇作溶剂,取相应量的白藜芦醇标准品分别定容至 25.0 mL,配制成浓度为 0.8、1.6、3.2、4.8、6.4 和 8.0 μg/mL 的白藜芦醇标准品工作溶液,以体积分数为 95%乙醇作空白对照,于 306 nm 波长下测定各标准溶液的吸光度值。

2.2.3 白藜芦醇提取率测定

白藜芦醇提取率 = $(m \times V_2 \times D) / (1000 \times G \times V_1) \times 100$ 式(1)
其中: m : 查标准曲线样品液吸光度值对应的白藜芦醇的含量, μg;

V_1 : 待测样品液的取样体积, mL;

V_2 : 样品溶液的体积, mL;

G : 样品称取的质量, g;

D : 样品溶液稀释倍数。

2.2.4 微波萃取条件的优化

(1) 单因素试验

本试验准确称取 2.5 g 碎颗粒度为 80 目的葡萄皮渣干燥粉,加入 70%乙醇(V:V),室温即提取温度为基本提取条件。选取不同时间、料液比、功率进行单因素试验,按照

提取工艺提取白藜芦醇,并测定吸光度值。不同因子的单因素水平设计表见表 1。

表 1 单因素水平设计表
Table 1 Horizontal design of single factor

因子	条件
时间/s	20、40、60、80、100
料液比/(g/mL)	1:10、1:20、1:30、1:40、1:50
功率/W	200、300、400、500、600、700

(2) 正交试验设计

在上述单因素试验的基础上,以微波时间、料液比、和微波功率为考察对象,以白藜芦醇吸光度值为指标,采用正交表 $L_9(3)^4$ 进行正交实验。最后通过分析得出各因素对吸光度值的影响是否显著,并确定最佳微波辅助提取的条件。微波辅助提取试验因素水平表如表 2 所示。

表 2 微波辅助提取的正交试验因素水平表
Table 2 Orthogonal factor level table of microwave-assisted extraction

因素水平	微波时间 A (s)	料液比 B (g/mL)	微波功率 C (W)
1	50	1:10	400
2	60	1:20	500
3	70	1:30	600

3 结果与分析

3.1 标准曲线及回归方程

按照 2.2 的方法,以白藜芦醇浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线,标准曲线及回归方程见图 1。

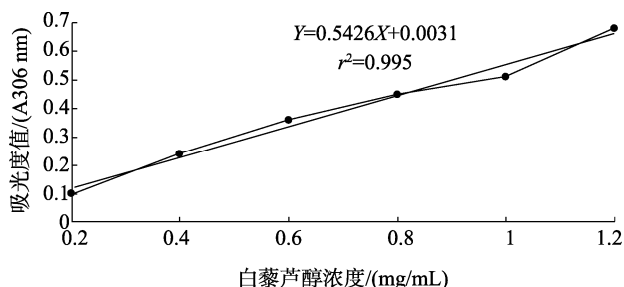


图 1 白藜芦醇的标准曲线
Fig. 1 standard curve of Res

3.2 单因素试验

3.2.1 微波时间对提取率的影响

微波时间对提取率的影响如图 2,可见白藜芦醇提取率在微波作用 20~60 s 时随微波时间的增加而增加,到 60 s 时提取率达到最大,所以最适提取时间为 60 s。

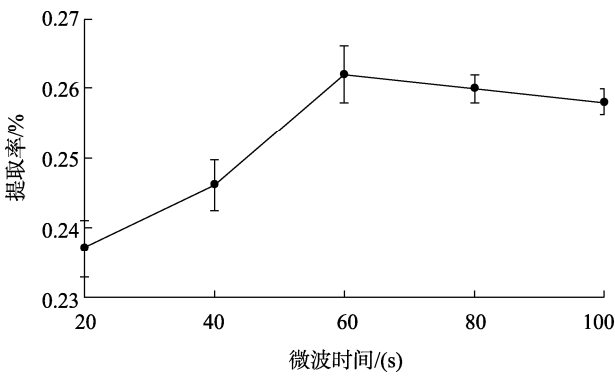


图 2 微波时间对白藜芦醇提取率的影响($n=3$)
Fig. 2 Effect of microwave time on the extraction rate of Res ($n=3$)

3.2.2 料液比对提取率的影响

料液比对提取率的影响如图 3, 随着溶剂料液比的增加, 提取率开始时有明显提高。对于一定质量的葡萄皮渣来说, 料液比增加, 增加了葡萄皮渣颗粒与溶剂的接触面积, 从而提高了传质速率, 在一定时间内, 白藜芦醇含量增大。当料液比继续增大到一定程度后, 由于葡萄皮渣中的白藜芦醇含量有限, 所以提取率变化不大。本单因素实验最适宜的料液比为 1:20。

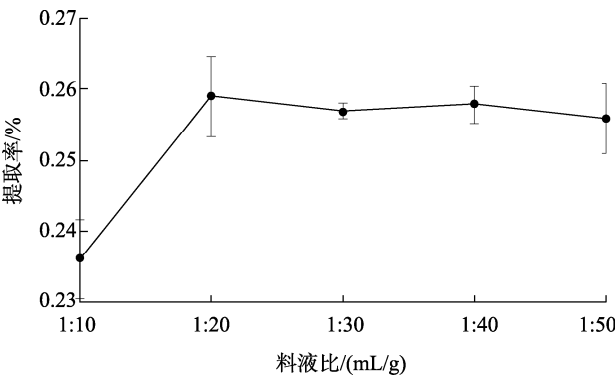


图 3 料液比对白藜芦醇提取率的影响($n=3$)
Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of Res ($n=3$)

3.2.3 微波功率对提取率的影响

从图 4 中可以看出, 随着微波功率的增加, 白藜芦醇提取率逐渐增加, 当功率为 500、600、700 W 时, 白藜芦醇提取率呈下降趋势, 因此选择 500 W 为最佳提取功率。

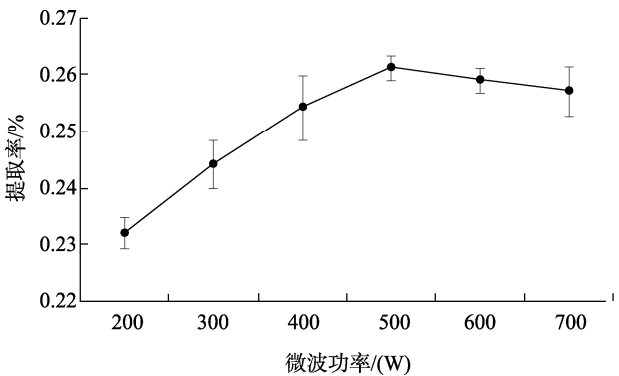


图 4 微波功率对白藜芦醇提取率的影响($n=3$)
Fig. 4 Effect of microwave power on the extraction rate of Res ($n=3$)

3.3 正交试验

微波辅助提取正交试验结果见表 3, 方差分析见表 4。

从极差 R 值分析可知, 微波辅助提取白藜芦醇的最优条件组合是: $A_3B_2C_3$, 即微波时间为 70 s, 料液比为 1:20, 功率为 600 W。按照此条件进行验证试验, 其提取率为 0.284%, 这与正交试验中的各组相比, 其提取率最高。有机溶剂乙醇振荡提取最适工艺: 乙醇浓度 60%, 料液比 1:35, 浸提温度 70 °C, 浸提时间 4 h。据此条件进行验证试验, 提取率为 0.165%^[14]。通过比较, 微波辅助提取葡萄皮渣中白藜芦醇提取率增加了 42%。

由表 4 方差分析可以看出, 在微波辅助提取白藜芦醇正交试验中所选取的因素和水平范围内, 微波时间对提取率的影响达到了极显著的水平($P < 0.01$), 而微波功率和料液比对提取率的影响不显著。

表 3 微波辅助提取正交试验结果
Table 3 Orthogonal test results of microwave-assisted extraction

水平	因素				指标
	A 微波时间(s)	B 料液比(g/mL)	C 微波功率(W)	D(空列)	提取率(%)
1	1	1	1	1	0.244
2	1	2	2	2	0.244
3	1	3	3	3	0.253
4	2	1	2	3	0.245
5	2	2	3	1	0.258
6	2	3	1	2	0.252
7	3	1	3	2	0.254

续表 3

水平	因素				指标
	A 微波时间(s)	B 料液比(g/mL)	C 微波功率(W)	D(空列)	提取率(%)
8	3	2	1	3	0.257
9	3	3	2	1	0.253
K_1	0.741	0.743	0.753	0.755	$T=2.26$ $T^2/9=0.568$
K_2	0.755	0.759	0.742	0.75	
K_3	0.764	0.758	0.765	0.755	
k_1	0.247	0.248	0.251	0.252	
k_2	0.252	0.253	0.247	0.25	
k_3	0.255	0.253	0.255	0.252	
R	0.008	0.005	0.008	0.002	

表 4 微波辅助提取正交试验方差分析表
Table 4 Result of variance analysis of microwave-assisted extraction

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.0051	2	0.000255	30	**
B	0.00006	2	0.00003	3.53	
C	0.0001	2	0.00005	5.84	
D	0.000017	2	0.0000085		
误差 e	0.000017	2	0.0000085		
总和	0.005277				

注: $F_{0.01}(2,2)=9$, $F_{0.05}(3,3)=19$, **差异极显著($P<0.01$); *差异显著($P<0.05$)。

4 结 论

本研究通过对微波时间、料液比及功率 3 个单因素进行考察后进行正交试验,得出微波辅助提取葡萄皮渣中白藜芦醇到的最优条件组合为:微波时间为 70 s,料液比为 1:20,功率为 600 W。微波时间对提取率的影响达到了极显著的水平($P<0.01$)。按此条件进行验证试验,其提取率为 0.284%,这与有机溶剂乙醇振荡提取相比,葡萄皮渣中白藜芦醇提取率增加了 42%。由此可见,采用微波辅助提取大缩短了提取时间,减少了溶剂用量,大大提高了提取率。白藜芦醇不仅存在于葡萄中,而且还存在于虎杖、花生、松树等植物中^[15,16],本研究可为开发白藜芦醇类的相关医药原料、保健品等提供科学依据。

参考文献

[1] 黄瑜,段继华,黄伟,等. 双水相法提取葡萄皮渣中花色苷[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 265–269.
Huang Y, Duan JH, Huang W, et al. Extraction of anthocyanin from grape

skin with aqueous two-phase system [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(7): 265–269.
[2] 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(196): 93–96.
Peng LX, Huang YF, Liu CP, et al. Comprehensive utilization of grape skin residue [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2010, 10(196): 93–96.
[3] 汪开拓,马莉,卢霞. 超声波辅助提取葡萄皮渣中白藜芦醇工艺的优化研究[J]. 西南农业学报, 2013, 26(3): 1201–1206.
Wang KT, Ma L, Lu X. Study on process optimization of ultrasonic-assisted extraction of resveratrol from grape skin dreg [J]. Southwest China J Agric Sci, 2013, 26(3): 1201–1206.
[4] Luzi C, Brisdeli F, Cinique B, et al. Differential sensitivity to resveratrol induced apoptosis of human chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemia cells [J]. Biochem Pharm, 2004, 68(10): 2019–2030.
[5] 王彪,何英姿,王晓,等. 广西都安酿酒葡萄皮渣中白藜芦醇的提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(15): 6912–6914.
Wang B, He YZ, Wang X, et al. Study on extraction technology of resveratrol from wine grape skin residue in Du'an, Guangxi [J]. J Anhui Agric Sci, 2013, 41(15): 6912–6914.
[6] 史丽,刘艳,许现辉. 白藜芦醇的生物活性研究进展[J]. 食品与药品,

- 2006, 8(11): 5-8.
- Shi L, Liu Y, Xu XH. Research progression of resveratrol on its physiology function [J]. Food Drug, 2006, 8(11): 5-8.
- [7] 刘春娟. 微波萃取技术应用及其研究进展[J]. 广东化工, 2008, 35(3): 53-56.
- Liu CJ. The application and research development of microwave assisted extraction [J]. Guangdong Chem, 2008, 35(3): 53-56.
- [8] 李扬, 赵树法, 李婷, 等. 微波辅助萃取技术在食品工业中的研究进展[J]. 中国酿造, 2006, 162(9): 5-7.
- Li Y, Zhao SF, Li T, *et al.* The application of microwave-assisted extraction technique in food industry [J]. China Brew, 2006, 162(9): 5-7.
- [9] Rui H, Zhang LY, Li ZW, *et al.* Extraction and characteristics of seed kernel oil from white pitaya [J]. J Food Eng, 2009, 93(4): 482-486.
- [10] Spigno G, Faveri DM. Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study [J]. J Food Eng, 2009, 93(2): 210-217.
- [11] 侯振健, 王丽君, 李明浩, 等. 微波辅助酵母破壁工艺的研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 183-185.
- Hou ZJ, Wang LJ, Li MH, *et al.* Study on microwave-assisted breaking of yeast cell wall [J]. Food Mach, 2012, 28(1): 183-185.
- [12] 朱立贤, 金征宇, 罗欣. 白藜芦醇和白藜芦醇苷抗氧化化用的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(5): 22-25.
- Zhu LX, Jin ZY, Luo X. Study on the antioxidant activity of the resveratrol and piceid [J]. Food Res Dev, 2007, 28(5): 22-25.
- [13] 李婷, 李胜, 张青松, 等. 酶法提取葡萄皮渣中白藜芦醇工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 194-196.
- Li T, Li S, Zhang QS, *et al.* Study on enzymatic extration technology of resveratrol from grape residue [J]. Food Sci, 2008, 29(12): 194-196.
- [14] 缪文玉. 葡萄皮渣中白藜芦醇的提取与纯化研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008.
- Miao WY. Study on extraction and purification of resveratrol from grape residue [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2008.
- [15] 刘树兴, 程丽英. 虎杖有效成分的开发现状及展望[J]. 食品科学, 2005, 2(2): 96-98.
- Liu SX, Cheng LY. Exploitation actuality and expectation of polygonum cuspidatum effective ingredients [J]. Food Sci, 2005, 2(2): 96-98.
- [16] 李秋菊, 高丽娟. 葡萄皮白藜芦醇浸提工艺的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(18): 10844-10845.
- Li QJ, Gao LJ. Study on extraction process of resveratrol from grape skin [J]. J Anhui Agric Sci, 2011, 39(18): 10844-10845.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



缪文玉, 主要研究方向为天然产物成分分析。

E-mail: 3150556983@qq.com

秦楠, 讲师, 博士, 主要研究方向为食品微生物及功能食品加工。

E-mail: bszy6688@163.com