

## 葡萄籽中原花青素的提取及应用现状

李 豆, 王珊珊\*

沈阳工学院生命工程学院, 辽宁 抚顺 113122

**摘 要:** 原花青素(proanthocyanidins, PC)是目前国际上公认的清人体内自由基最有效的天然抗氧化剂,广泛分布于多种天然植物中。阐述了葡萄废弃物中原花青素的功能,分析了其应用开发现状。结合常用的提取方法,并综合国内外关于原花青素的研究进展,对葡萄籽中原花青素提取的工艺参数进行优化,从而得出葡萄籽中原花青素最优提取方案。以期对葡萄籽的全面利用和原花青素的工业化生产提供科学依据,使原花青素拥有更广泛的应用。

**关键词:** 葡萄籽;原花青素;提取方法

**DOI:** 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.05.02

## The Extraction and Application Status of Proanthocyanidins from Grape Seed

LI Dou, WANG Shan-shan\*

College of Life Engineering, Shenyang Institute of Technology, Liaoning Fushun 113122, China

**Abstract:** Currently, proanthocyanidins is internationally recognized as the most effective natural antioxidants which can scavenge free radicals in the body. Proanthocyanidins is widely distributed in natural plants. This paper described the function of proanthocyanidins in the grape waste, and analyzed its application development status. Combined with common extraction method, and the progress of proanthocyanidins at home and abroad, the process parameters of extracting the anthocyanin from grape seed was optimized, and the best extraction method of proanthocyanidins from grape seeds was get. The paper was expected to provide scientific basis for industrialized production and comprehensive utilization of proanthocyanidins from grape seed, so as to the proanthocyanidins has a wider application.

**Key words:** grape seed; proanthocyanidins; extraction technology

葡萄籽中富含多酚类物质,经过大量研究显示,葡萄中虽然葡萄籽占的比重极少,但是其中的多酚类物质的含量和种类均比皮和果肉丰富得多<sup>[1]</sup>,而且这些多酚类物质具有极强的抗氧化能力。原花青素是葡萄籽中的主要多酚物质,具有特殊的医疗保健功能。在化妆品、保健品、药品及各类饮料产品上都有着广泛的开发应用价值。

葡萄酒在制作加工过程中产生的皮渣、酒脚等固体废弃物数量庞大,如不加以利用,会对环境造成极大威胁,同时也是一种资源浪费。葡萄籽资源的产量随着葡萄酒产业的发展与日俱增,但我国葡萄籽利用工业化水平还很低,因此,对葡萄

籽资源的综合开发利用及研究受到了极大的关注。从20世纪60年代初至今,原花青素具备清除自由基的能力被逐步揭晓,由于其具备极高的抗氧化活性、显著的疗效和微小的副作用等优势被广泛用于食品、医疗和化妆品等领域,作为天然防腐剂、天然抗氧化剂和DNA保护剂等<sup>[2]</sup>。提取葡萄籽中的天然原花青素并使其发挥相应的食疗作用符合当代人们对保健品的新要求,并且能够较好的利用葡萄酒的副产品。随着研究的深入,原花青素提取方法的研究是一大重点。目前主要的提取方法有有机溶剂提取法<sup>[3,4]</sup>、超声波辅助提取法、超临界二氧化碳萃取法<sup>[5]</sup>、微波辅助提

收稿日期:2015-05-14; 接受日期:2015-06-17

基金项目:辽宁省教育科学规划课题(JG14DB310);辽宁省普通高等教育本科教学改革研究项目(UPRP20140116)资助。

作者简介:李豆,本科生,研究方向为生物工程。E-mail:1069348259@qq.com。\*通信作者:王珊珊,讲师,研究方向为生物化学与微生物发酵。E-mail:shuihugai@163.com

取法和酶提取法<sup>[6]</sup>。本文对以上5种方法进行了分析和比较,以期在实验室条件下葡萄籽中原花青素的提取奠定理论基础,为进一步的原花青素工业化生产提供科学依据。

## 1 原花青素的概念、功能及应用

### 1.1 原花青素的概念

原花青素是一类普遍存在于天然植物中的多酚类黄酮。原花青素的单位是儿茶素和表儿茶素<sup>[7]</sup>。根据其聚合度的大小,可以分为高聚原花青素(PPC)和低聚原花青素(OPC)。因为原花青素聚合度不同导致其生物活性也不同,其中低聚原花青素更易被人体吸收,能更有效的发挥其生物功能。葡萄籽在整个葡萄重量中约占3%~6%<sup>[8]</sup>。葡萄的品种不同,其葡萄籽含量亦不相同。葡萄籽中含有脂肪、糖类、原花青素、蛋白质、粗纤维、维生素和矿物质等多种人体需要的营养物质。葡萄籽多酚(grape seed polyphenols, GSP)是葡萄籽中原花青素<sup>[9]</sup>的主要成分。

### 1.2 原花青素的功能

**1.2.1 清除自由基** 目前国内外研究的一大热点就是从酿酒工业废弃物——葡萄皮渣中提取具有高附加值的有效活性成分。牟京霞等<sup>[10]</sup>研究发现:葡萄皮渣中的有效活性成分是低聚黄烷醇类化合物,其抗衰老机理类似于黄烷酮,在机体内起排除自由基的作用,其结构中的酚羟基具有预防老年性、退行性转变和延缓衰老的功能。

**1.2.2 美容抗衰老** GSP具有高效的特异性,可以特异性中止弹性蛋白酶的合成,保护胶原蛋白,促进其再生。从而减少和防止皱纹的产生、改进皮肤弹性。GSP还可通过抑制酪氨酸酶的活性,将黑色素复原,使黑色素发生脱色,减缓脂褐素和老年斑的出现<sup>[11]</sup>。GSP对皮肤中的透明质酸、胶原蛋白等大分子物质均起到保护其完整性的作用,使皮肤光滑有弹性,能够起到较好的美容抗衰老功效。

**1.2.3 抗癌活性** 如今,癌症和许多慢性疾病一样,一直困扰着人们的生活。具体来说,癌症的成因是由多个基因突变引起的。Huynh等研究发现:用松树皮中提取的原花青素对人体乳腺癌细胞进行处理后,细胞凋亡的数目比未处理的人体乳腺癌细胞数目更多。作为一种天然药物,原花

青素所具有的特性是在发挥抗癌活性时对正常的细胞和组织无毒无损伤<sup>[12,13]</sup>。目前,市场上已有原花青素类物质的相关产品,用于癌症患者的保健和治疗。

### 1.3 原花青素的应用

在国际上,原花青素是清除人体内自由基最强大的天然抗氧化剂,具有抗癌、改善心脑血管功能、降血压、降血脂、抗过敏和促进骨形成等多方面的作用<sup>[14,15]</sup>。在食品加工、营养保健、化妆品的生产制作和医学药品的研究开发等领域中的应用正在逐步深入。作为天然抗氧化剂,其之所以受到人们的青睐,是因为其具有其他抗氧化剂无法比拟的安全、无毒等优点<sup>[16]</sup>。除此之外原花青素还具有更高效的紫外线吸收作用,因此正在广泛应用于美容保健产品中<sup>[17-19]</sup>。

## 2 原花青素的提取方法

目前,提取原花青素的方法主要有有机溶剂提取法、超声波辅助提取法、超临界二氧化碳萃取法、微波辅助提取法和酶提取法等。

### 2.1 有机溶剂提取法

有机溶剂提取法是利用不同的有效成分在不同种类有机溶剂中的溶解度不同,从而将其活性成分从原料中浸泡提取出来的一种方法。该方法具备传质速度快、分离效率高和生产能力高等一系列的优点<sup>[20]</sup>。同时也有提取周期较长、热不稳定成分易被破坏、溶剂消耗量大、杂质含量较高以及污染环境等缺点。我国每年葡萄酒生产产生的葡萄皮渣约5 000 t。葡萄籽中原花青素含量为5%~8%。可以说,原料来源相当丰富。但同一地区的不同品种或者是不同年份采摘的葡萄,其葡萄籽中原花青素的聚合度和总含量有很大的差别<sup>[21]</sup>。因此,对有机溶剂的种类及浓度的选择还有待实验性的优化研究。黄思梅等<sup>[22]</sup>以短穗鱼尾葵果实为原料,在碱性(pH 9.0)条件下,以60%乙醇为提取剂,原花青素得率达95.18%,以上述条件重复提取5次,原花青素平均得率为6.59%。

### 2.2 超声波辅助提取法

超声波即高于20 kHz的声波,在植物的有效成分提取中应用广泛,其主要原因在于超声波产

生的强烈振动、强烈的空化作用和机械效应等特殊作用,致使植物细胞壁破碎从而使溶解在溶剂中的有效成分被高效提取出来。该方法具备快捷、低能、提取率高且安全等工艺优点<sup>[23-25]</sup>。而最大的缺点就是提取过程中使用了有机溶剂。经过大量研究显示:原花青素提取率随着超声波功率的增大而提高,经过一段时间之后,随着处理过程中产生的热效应不断增加而导致提取率下降,但一定时间之后由于大部分与蛋白质纤维结合在一起的原花青素被提取出来,提取率又趋于平稳。刘新等<sup>[26]</sup>通过考察提取溶剂、超声波功率、乙醇浓度、提取次数、pH、料液比、提取时间及荔枝核粉末粒径等单因素,对荔枝核中活性物质的超声波辅助提取条件进行了正交优化。结果表明,采用70%的乙醇在pH 5.0环境中,对粒径100目原料提取(选择料液比1:8(w/V),超声波功率为600 W,提取时间为30 min,提取1次,原花青素产率为13.11%。

### 2.3 超临界二氧化碳萃取法

超临界流体是一种气体或液体的流体,即温度和压力都高于其相应临界点值的状态。将其作为溶剂,利用临界温度状态下的新型高效分离技术即为超临界提取法,二氧化碳作为溶剂最为普遍。超临界二氧化碳萃取法是目前比较新颖的方法之一。该方法具备溶解速率高、传质速率高、无毒无污染等优点。但是由于设备必须能耐高压、密封性好,因此也有设备投资大、生产成本低以及难以推广等缺点。近年,原花青素的提取方法出现了超临界萃取法和亚临界流体萃取法,但在实际工业化生产中却还没有成功的报道<sup>[27]</sup>,所以目前依旧以有机溶剂提取法为主。叶孝兆等<sup>[28]</sup>以超临界二氧化碳为溶剂,以甲醇或乙醇为夹带剂,从葡萄籽中萃取原花青素。其中,萃取反应器温度为55℃、压力为30 MPa,一级分离反应器温度为45℃、压力为10 MPa;二级分离釜温度为常温、压力为5 MPa,二氧化碳的流速为160 L/h。同年,以“紫秋”刺葡萄籽为原料,成智涛等<sup>[29]</sup>用超临界二氧化碳为提取剂,对原花青素的提取工艺分别进行了单因素和正交试验进行优化研究。

### 2.4 微波辅助提取法

微波辅助提取法即利用微波辐射可以使植物

细胞内的极性物质尤其是水分子产生大量热能,从而导致细胞内温度迅速提升,液态水汽化产生的压力足以将细胞膜和细胞壁冲破,从而造成微小的孔,再经过进一步加热,使细胞内和细胞壁所含的水分减少,出现了细胞缩紧外观呈裂纹的现象。因为孔和裂纹的存在,导致细胞外的溶剂很容易渗透到细胞内,并溶解和释放细胞内产物<sup>[30]</sup>。因为微波的频率高,所以能深入渗透到细胞中并对其结构起到了一定的作用。微波加热不仅热效率很高,而且温度提升的速度均匀,该设备具有作用时间短、提取效率高、有效成分破坏小、节能等<sup>[31-33]</sup>显著优点。其最大的缺点在于提取过程中使用了有机溶剂,会造成溶剂残留等问题。

张柏清等<sup>[34]</sup>通过单因素试验和响应曲面优化试验,从树莓籽中提取原花青素,原花青素得率为7.19 mg/g,比传统水提法提高了2倍左右。温志英等<sup>[35]</sup>又对花生红衣原花青素提取设计出单因素试验和三因素三水平(微波时间、微波功率、乙醇体积分数)响应曲面试验,确定最佳条件为:75%(V/V)乙醇,在料液比1:40(m/V),微波功率240 W,提取120 s后,原花青素提取率为11.38%。

### 2.5 酶提取法

目前,酶提取法是一项前景广阔的新型技术。即利用酶反应较温和的特点将植物的组织进行分解,不仅可以大幅度地提高提取率,还能够最大限度把植物体内的有效成分提取出来。因为植物的细胞壁大多数是由纤维素构成的,所以应用最多的是纤维素酶。酶法具有条件温和、节约能源、提取率高、除杂和无污染等优点。

由于大部分植物的细胞壁都是由纤维素构成的,因此纤维素酶的应用最为广泛。植物的有效成分往往存在于细胞壁内,纤维素酶是一类能水解纤维素、使细胞壁结构疏松并瓦解的复合酶,通过充分释放细胞内含物而大大提高了提取率<sup>[36,37]</sup>。

汪志慧等<sup>[37]</sup>将果胶酶与纤维素酶结合使用,研究对莲房原花青素的提取效果,利用相关软件进行试验设计,通过响应曲面进行提取优化,结果显示,在酸性环境(pH 4.8)中,53℃酶解1.6 h、果胶:纤维素酶=1:1.1时,原花青素得率为5.20%,

比用醇提取率高。以清除 DPPH 能力为指标进行对比试验,发现将两种酶结合后提取的莲房原花青素比以一种醇为溶剂提取的原花青素抗氧化活性更强。

## 2.6 提取方法的比较

根据以上 5 种方法的难易程度、提取率的高低和适用性等各项指标,对提取方法进行多方面的比较,结果如表 1。

表 1 提取方法的比较

Table 1 Comparison of extraction methods.

提取方法	难易程度	提取率	能源的消耗	是否污染环境	适用性
有机溶剂提取法	非常容易	低	高	是	已实现工业化操作
超声波辅助提取法	较容易	高	低	否	设备相对简单、便于推广
超临界二氧化碳萃取法	复杂	很高	低	否	设备投资大、生产成本低,难于推广
微波辅助提取法	较容易	高	低	是	设备相对简单、便于推广
酶提取法	较容易	高	低	否	设备简单、便于操作推广

## 3 展望

葡萄籽多酚作为一种具有多种功能性天然抗氧化剂的物质,对维持人类机体健康有着重要的作用,利用葡萄籽多酚开发各种各样的功能性产品具有广阔的市场前景。如何克服其应用研发推广中所存在的问题,并高效利用葡萄籽多酚将成为目前研究的热点。根据现在国内外的开发利用现状,可以从以下几个方面进行深入研究:①继续增大葡萄籽中原花青素的提取和分离方法的创新度,降低生产成本,提高有效成分的提取率、纯度以及其利用率;②尝试将高聚体原花青素降解为低聚体原花青素,提高低聚体原花青素的提取率;③深入研究不同聚合度的原花青素的生物功能和临床应用研究,继续研究葡萄籽原花青素与其他生物活性成分是否具有协同作用,提高其生物效能;④继续加大开力度研发原花青素功能性产品,拓宽其应用领域;⑤尽快确立葡萄籽原花青素定性定量检测以及快速检测方法标准,设立原花青素作为食品添加剂和在医药方面的国家标准,保证其安全性。

### 参 考 文 献

- [1] 林亲录,施兆鹏.葡萄籽中的天然抗氧化剂及其保健功能[J].食品与发酵工业,2002,53(1):41-45.
- [2] 赵平,张月萍,刘俊英,等.原花青素分级分离[J].中国食品添加剂,2011,6:75-80.
- [3] 吕丽爽.脱脂葡萄籽中低聚原花青素的提取[J].无锡轻工大学学报,2001,20(2):20.
- [4] 姜守霞,孙威.葡萄籽中提取原花青素的研究[J].应用化工,2005,34(2):108-110.
- [5] 吕丽爽.天然抗氧化剂低聚原花青素的研究进展[J].食品科学,2002,23(2):147.
- [6] 何伟,李伟.大孔树脂在中药成分分离中的应用[J].南京中医药大学学报,2005,21(2):134-136.
- [7] 范培红,娄红祥,季梅.葡萄籽多酚的研究概况[J].国外医药:植物药分册,2003,18(6):248-255.
- [8] 李华,王华,袁春龙,等.葡萄酒化学[M].北京:科学出版社,2005.
- [9] 李春阳.葡萄籽中原花青素的提取纯化及其结构和功能研究[D].江苏无锡:江南大学,博士学位论文,2006.
- [10] 牟京霞.酿酒葡萄成熟过程中黄烷-3-醇类化合物含量变化的研究[D].济南:山东轻工业学院,硕士学位论文,2011.
- [11] 袁小英,刘玮.葡萄籽提取物原花青素对皮肤急性光损伤 Fas 蛋白及 Bel-2 蛋白表达的影响[J].中国美容医学,2008,17(3):58-59.
- [12] Rossi M, Negri E, Parpinel M, et al.. Proantho cyanidins and the risk of colorectal cancer in Italy[J].Can. Causes Control, 2010,21(2):243-250.
- [13] Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, et al.. Safety evaluation of proantho cyanidins-rich extract from grape seeds [J]. Food Chem. Toxicol.,2002,40(5):599-607.
- [14] 屈自望.葡萄籽提取物——原花青素的营养保健功能[J].医学信息,2005,9:29-30.
- [15] 李超,王卫东.原花青素提取方法的研究进展[J].粮油加工,2009,9:145-146.
- [16] 赵万洲,陆茵,闫新琦,等.葡萄籽原花青素抗促癌作用的实验研究[J].中草药,2000,31(12):917-920.
- [17] 苏海霞,孔保华,徐晔.葡萄皮和葡萄子的综合利用[J].农产品加工学刊,2005,47(11):40-42.
- [18] 孙范.原花青素的研究进展[J].食品与机械,2010,26(4):147-148.
- [19] 张迪,赵文军,马丽娟,等.原花青素的性质、功能、纯化和利用[J].安徽农学通报,2009,15(1):35-49.
- [20] 严希康.生化分离技术[M].上海:华东理工大学出版社,1996.
- [21] Baoshan S, Jorge M. Separation of grape and wine proantho cy-

- anidins according to their degree of polymerization [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46: 1390-1396.
- [22] 黄思梅,张 镜,范玉琴,等.短穗鱼尾葵果实原花青素的提取工艺[J].*食品科学*, 2012, 33(20): 104-108.
- [23] 李雅晶,黄美珍,胡福良.均匀设计法优化超声波提取蜂胶精油工艺条件的研究[J].*农产品加工*, 2011, 2: 60-61.
- [24] 钟振声,冯 焱,孙立杰.超声波法从葡萄籽中提取原花青素[J].*精细化工*, 2005, 23(1): 41-43.
- [25] 李瑞丽,乔五忠,王艳辉,等.葡萄籽原花青素的超声提取工艺研究[J].*食品研究与开发*, 2006, 27(2): 64-66.
- [26] 刘 新,韩 琴,徐 洁.荔枝核中原花青素超声波提取工艺研究[J].*安徽农业科学*, 2011, 39(6): 3282-3285.
- [27] 姜守霞,孙 威.葡萄籽中提取原花青素的研究[J].*应用化工*, 2005, 2: 108-110.
- [28] 叶孝兆,周 亮,莫启武,等.超临界萃取葡萄籽原花青素的研究[J].*资源开发与市场*, 2010, 23(10): 868-869.
- [29] 成智涛,王仁才,熊兴耀,等.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取刺葡萄籽原花青素的工艺研究[J].*现代生物医学进展*, 2009, 7(3): 363-366.
- [30] 曾 里,夏之宁.超声波和微波对中草药提取的促进和影响. *化学研究与应用*, 2002, 14(3): 245-248.
- [31] Jacob J, Chia L H L. Review thermal and non-thermal interaction of microwave radiation with materials [J]. *J. Mater. Sci.*, 1995, 30: 5321-5327.
- [32] 李凤英,崔蕊静,李春华.采用微波辅助法提取葡萄籽中的原花青素[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(1): 39-42.
- [33] 白光辉,张 辉,王克亮,等.微波场作用下原花青素浸提工艺研究[J].*应用化工*, 2006, 35(9): 685-687.
- [34] 张佰清,张艳艳,李龙杰.微波提取树莓籽中原花青素工艺[J]. *食品科学*, 2011, 32(6): 25-28.
- [35] 温志英,曹 妍.响应面法优化花生红衣原花青素微波辅助提取工艺[J].*中国粮油学报*, 2011, 26(6): 97-101.
- [36] 吴 春,张 艳.纤维素酶法提取葡萄籽中原花青素的研究[J].*食品科学*, 2006, 27(10): 258-261.
- [37] 汪志慧,孙智达,谢笔钧.响应曲面法优化双酶法提取莲房原花青素[J].*食品科学*, 2011, 32(4): 64-68.