

回归方程为  $y=0.04834+0.00489x$ ,  $R=0.99738$ 。人参皂甙  $R_g$  进样量在  $10\sim199\mu\text{g}$  线形较好。

## 2.5 稳定性考察

测定在  $5\sim70\text{min}$  内每隔  $5\text{min}$  测定一次吸光度, 绘制时间变化曲线如下图 4。

结果表明两者在显色  $35\text{min}$  后稳定, (人参皂甙对照品  $R_g$ , 标准偏差为  $1.012\%$ , 苦瓜皂甙为  $1.056\%$ ), 故含量测定应在显色  $35\text{min}$  后进行。

## 2.6 精密度实验

将上述苦瓜四种浸提条件下制备的苦瓜皂甙分别定量测定, 每个处理重复六次, 计算所得的  $R_{sd}$  分别为  $2.17\%$ 、 $2.09\%$ 、 $1.87\%$ 、 $1.93\%$ , 表明重现性良好。

## 3 结 论

从以上结果, 用大孔树脂能快速分离提取苦瓜皂甙, 通过实验, 分离提取苦瓜皂甙工艺为: 提取溶剂为  $80\%$  乙醇, 浸提时间  $12\text{h}$ , 用  $80\%$  乙醇洗脱。此工艺操作简单, 快速分离效果好。与超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction SFE)、半仿生提取法 (Half Bionic Extraction)、超声提取 (Ultrasonic Extraction) 等其他苦瓜皂甙提取工艺相比较, 此工艺流程简单, 生产成本低, 耗时少, 所得产品纯度高等优点, 适合工业化大规模生产。

## 参考文献:

- [1] Paul M F Tse, T B Ng, W P Fong, et al. New ribosome-inactivating proteins from seeds and fruits of the bitter melon *Momordica charantia* [J]. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 1999, 31: 895-901.
- [2] K C Leung, Z Q Meng, Walter K K Ho. Antigenic determina-

tion fragments of alpha-momocharin *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997, 1336: 419-424.

- [3] W Gao, J ling, X Zhong, Luffin S. A small novel some-inactivating protein from *Luffa cylindrica* [J]. *FEBS Lett*, 1994, 347: 257-260.
- [4] 王先远, 金宏, 许志勤, 等. 苦瓜皂甙对衰老小鼠免疫功能的影响 [J]. *营养学报* 2001, 23(3).
- [5] 王先远, 金宏, 许志勤, 等. 苦瓜皂甙对老年荷瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. *解放军预防医学杂志* 2002, 20(3).
- [6] 王先远, 金宏, 许志勤, 等. 苦瓜皂甙降血糖作用及其机制初探 [J]. *氨基酸和生物资源*, 2001, 23(3): 42-45.
- [7] 王先远, 高兰兴. 苦瓜提取物 MAP30 抗病毒的研究进展 [J]. *氨基酸和生物资源*, 2000, 22(2): 6-11.
- [8] 肖崇厚, 杨松松, 洪彼坤. *中药化学* [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997. 379.
- [9] 芦金清, 刘尚桃, 刘再则, 等. 吸附树脂法提取绞股蓝皂甙 [J]. *中草药*, 1992, 14(4): 2.
- [10] 李伯庭, 王湘, 李小进. 大孔吸附树脂在天然产物分离中的应用 [J]. *中草药*, 1990, 21(8): 42.
- [11] 唐第光. 大孔吸附树脂法提取三七总皂甙工艺探讨 [J]. *中草药*, 1990, 12(8): 5.
- [12] 曾宪明. 无机盐对大孔吸附树脂吸附人参总皂甙的影响 [J]. *中国医药工业杂志*, 1992, 23(8): 339.
- [13] 成 丽, 刘 燕, 陈凌亚, 等. 枇杷花三萜皂甙成分的研究 [J]. *华西大学学报*, 2001, (32): 283-285.
- [14] 滕兴隆, 常洋, 裴福成. 大孔吸附树脂对黄芩总皂甙分离纯化的研究 [J]. *黑龙江医药*, 2002, 15(1): 5.
- [15] 孟勤, 尹建元, 赵俊艳, 等. 西洋参叶三萜皂甙的分离与鉴定 [J]. *中国药学杂志*, 2002, 37(3).
- [16] 刘颖欣, 崔颖, 胥德福. 大孔树脂法测定人参酒中的人参总皂甙 [J]. *黑龙江医药*, 2001, (6): 14.
- [17] 李雁群, 王文生, 王策. 罗汉果中皂甙的分离与测定 [J]. *食品科学*, 1993, 16(5): 66.

# 葡萄籽中低聚原花青素提取条件研究

赵文军, 吴雪萍, 王 旭

(中国科学院新疆理化技术所, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**摘 要:** 研究了葡萄籽中低聚原花青素的提取条件, 考察了提取温度, 时间, 磷酸浓度对提取液总酚含量的影响, 并对提取物的溶解性作了分析。结果表明:  $3\%$  磷酸的乙酸乙酯-水溶液作提取剂, 室温下搅拌提取  $10\text{h}$  的条件最适, 所得产物颜色淡, 水溶性好, 其低聚原花青素提取率大于  $2.0\%$ , 总酚含量大于  $70\%$ 。

**关键词:** 葡萄籽; 提取; 低聚原花青素; 总酚含量

收稿时间: 2003-06-17

作者简介: 赵文军 (1963-), 男, 研究员, 主要从事天然产物提取研究。

## Extraction of Oligomeric Proanthocyanidins from Grape Seeds

ZHAO Wen-jun, WU Xue-ping, WANG Xu

(Xinjiang Institute of Physical and Chemical Technology, Chinese Academy of Science, Urumqi 830011, China)

**Abstract:** The extraction of oligomeric proanthocyanidins(OPC) from grape seeds was studied in this paper. Some factors, including extracting time, extracting temperature and the concentration of phosphoric acid were studied. The optimal conditions were: ethylacetate-water containing 3% phosphoric acid and stirring at room temperature for ten hours. The yield of oligomeric proanthocyanidins was more than 2.0% and the polyphenolic content more than 70%. The sample was grayish and showed good water solubility.

**Key words:** grape seeds; extraction; oligomeric proanthocyanidins; total polyphenolic content

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)02-0117-04

原花青素是葡萄籽中主要的多酚物质,其主要是由黄烷-3-醇和黄烷-3,4-二酚的配位缩合或聚合而成的低聚或多聚物,平均聚合度(DP)范围从2到大于15,平均分子量从578到大于5000 Dalton,结构见图1<sup>[1]</sup>。属多酚类化合物的低聚原花青素(OPC)有强抗氧化作用,易溶于水,人体吸收度高,可以清除体内的自由基和活性氧,能预防由于人体血液中低密度脂蛋白(LDL)的氧化为主要原因引起的动脉硬化<sup>[2]</sup>。OPC还具有另外一些令人注目的生理功能,如改善血管的生化性质、抗凝血、抗白内障、抗溃疡、防癌抗肿瘤等多种功效<sup>[3~5]</sup>。OPC亦可用于疗效化妆品,具抗菌、除色素,使皮肤细腻、光洁的功能。目前在国内外,葡萄籽低聚原花青素在保健食品业及化妆品行业已得到广泛的应用。

低聚原花青素主要存在于葡萄籽中,葡萄籽来源丰富,是生产葡萄酒和葡萄汁的废弃物。选用不同溶剂提取葡萄籽低聚原花青素的方法较多,如 Bourzeix M<sup>[6]</sup>和 Weinges K<sup>[7]</sup>用甲醇提取, Torres J L<sup>[8]</sup>用乙酸乙酯-水提取, James A K<sup>[9]</sup>用丙酮-水提取, Peng Z K<sup>[10]</sup>用70%乙醇提取。本文尝试用磷酸改性乙酸乙酯-水作为提取溶剂,对葡萄酒厂的废渣-葡萄籽中低聚原花青素的提取条件进行了研究,并对提取产物的溶解性进行了测定。

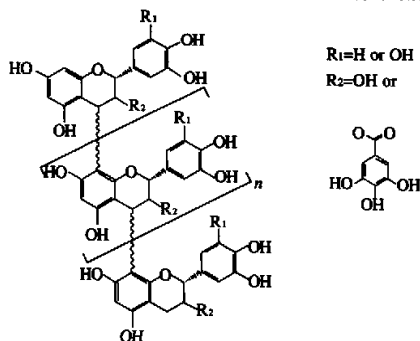


图1 原花青素结构通式

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

葡萄籽由新天国际股份有限公司提供 产地新疆玛纳斯; 没食子酸、乙酸乙酯、石油醚(30~60℃)、乙醇、磷酸等均为国产分析纯试剂, Folin-Ciocalteu 试剂自制。

### 1.2 主要仪器

UV-9100 型分光光度计 北京瑞利仪器厂; RV06-ML 型旋转蒸发器 德国; D60-2F 型电动搅拌机 杭州仪表电机厂; 粉碎机; 恒温水浴。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 低聚原花青素的提取

葡萄籽用粉碎机粉碎, 过≤1mm 筛, 以石油醚(30~60℃)用索氏提取器抽提油脂, 晾干, 加入提取剂, 搅拌下提取一定时间, 过滤, 乙酸乙酯洗涤残渣, 合并提取液及洗涤液, 中和, 过滤, 减压浓缩, 加入4倍体积石油醚混合均匀后, 静置2h, 过滤, 沉淀置真空干燥箱中干燥, 得到低聚原花青素。其提取流程为: 葡萄籽粉碎→脱脂→搅拌提取→(中和)→减压浓缩→浓缩液+石油醚→静置→分离→真空干燥→成品。

#### 1.3.2 总酚含量的测定

按参考文献<sup>[11]</sup>的方法, 以没食子酸作为标准品, 在760nm 测定吸光度值A, 样品总酚含量以GAE(没食子酸的相当值)表示。

**样品吸光度值的测定** 取1ml 葡萄籽提取上清液, 减压浓缩至干, 用40%乙醇溶解, 定容至10ml, 摇匀后取1ml, 加入5ml Folin-Ciocalteu 试剂, 充分混匀后加入15ml 20%碳酸钠, 用蒸馏水定容至100ml, 不时振荡, 2h后, 测760nm 吸光度值, 以1ml 40%乙醇替代样品作空白。

## 2 结果与讨论

## 2.1 提取剂的选择

有报道用水、甲醇、乙醇、水-丙酮、乙酸乙酯-水等作为提取溶剂。一般水、甲醇、乙醇提取物会含有大量杂质,造成分离纯化工作复杂;甲醇毒性较大,作为提取剂不合适,实验结果乙醇作为提取剂,与乙酸乙酯-水相比,所得产物的提取率及总酚含量均较低,见表1,结果表明选择乙酸乙酯-水作为提取溶剂较好,而磷酸改性乙酸乙酯-水作为提取溶剂不仅提高了提取率,而且总酚含量也增大。

表1 提取溶剂的比较

提取溶剂	提取率(%)	总酚含量(%)
70% 乙醇	1.1	28.7
乙酸乙酯-水	1.6	65.6
乙酸乙酯-水 (含3%磷酸)	2.2	71.4

## 2.2 提取时间的确定

分别称取60g脱脂的葡萄籽粉,各加入240ml含水8%的乙酸乙酯溶液或含水8%、磷酸3%的乙酸乙酯溶液,在20℃下搅拌提取,定时取样2ml,离心静置,取1ml上清液,按1.3.2步骤测定总酚含量,结果见图2。

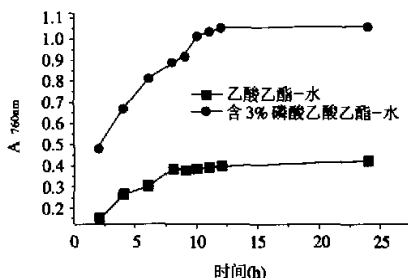


图2 总酚含量与提取时间的关系

图2中曲线显示两种提取方法的总酚含量均随提取时间的延长而提高,10h以后总酚含量变化不明显,因此选择10h提取较合适。从图中还可看出,含3%磷酸的乙酸乙酯-水提取液比乙酸乙酯-水提取液的总酚含量高约1.5倍。

## 2.3 提取温度的影响

分别称取10g脱脂的葡萄籽粉,各加入40ml含水8%的乙酸乙酯溶液或含水8%、磷酸3%的乙酸乙酯溶液,各在20、30、40、50℃下搅拌提取10h,静置,取1ml上清液,按1.3.2步骤测定总酚含量,结果见图3。

从图3中可见,在20~50℃范围内,用乙酸乙酯-水溶液作提取剂时,原花青素含量变化不大。用含3%磷酸的乙酸乙酯-水溶液作提取剂时,原花青素

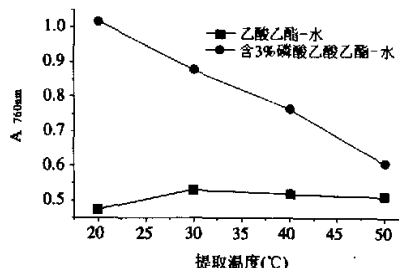


图3 总酚含量与提取温度的关系

含量随温度的升高而降低,其原花青素含量比乙酸乙酯-水提取剂明显提高。结果显示磷酸改性乙酸乙酯-水溶液作提取剂选择20℃作为提取温度较为合适。

## 2.4 磷酸浓度对提取率的影响

分别称取10g脱脂的葡萄籽粉,各以40ml含1%、2%、3%、4%、5%、和6%磷酸的乙酸乙酯-水溶液作提取溶剂,在20℃下搅拌提取10h,静置,取1ml上清液,按1.3.2步骤测定总酚含量,结果见图4。

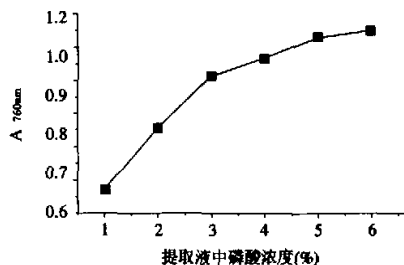


图4 磷酸浓度对原花青素提取率的影响

从图4中可见,在含1%~6%磷酸范围内,随着磷酸浓度的升高,总酚含量明显上升,但磷酸浓度超过4%后提取率增加值趋小,考虑到实际生产时较高磷酸浓度会腐蚀提取设备,并增大中和、脱盐等后续处理工作量,因此选择含3%磷酸的提取条件为好。

## 2.5 溶解性分析

选择以2.2条件提取10h得到的浅灰白色低聚原花青素为分析样品,各称取1g,分别用100ml不同溶剂进行溶解试验,结果见表2。

表2 低聚原花青素样品溶解性试验

溶 剂	水	乙醇	甲醇	异丙醇
溶解性	溶	易溶	易溶	溶
①* 不溶物含量(%)	0.5	0	0	0
②* 不溶物含量(%)	0.2	0	0	0

注:①为乙酸乙酯-水提取样品,外观浅棕色;

②为3%磷酸乙酸乙酯-水提取样品,外观浅灰白色。

溶解性能是评价低聚原花青素产物的重要指标,由表2中可知,本文所选3%磷酸乙酸乙酯-水提取剂提取

的低聚原花青素样品易溶于水、乙醇、甲醇和异丙醇中,水中不溶物含量低于乙酸乙酯-水提取剂的提取物。

### 3 结 论

选择含 3% 磷酸乙酸乙酯-水溶液为提取溶剂时,其提取液的总酚含量是乙酸乙酯-水溶液的近 2.5 倍,可见酸性条件有利于原花青素的浸出。当选择酸性条件提取时,温度对提取率的影响较大,常温提取最合适,10h 可提取完全,所得低聚原花青素产物外观为浅灰白色,水溶性较好。关于磷酸改性乙酸乙酯-水溶液有利于原花青素的浸出机理有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Kennedy JA, Jones GP. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 1740-1746.
- [2] Teissedre PL, Frankel EN, Waterhouse AL, et al. Inhibition of In Vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines[J]. *J Sci Food Agric*, 1996, 70: 55-61.
- [3] Ricardodasilva JM, Darmon N, Fernandez Y, et al. Oxygen free radical of different procyanidins from grape seeds[J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39: 1549-1552.
- [4] Saito M, Hosoyama H, Ariga T, et al. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins[J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 1460-1464.
- [5] Zhao J, Wang J, Chen Y, et al. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent[J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20: 1737-1745.
- [6] Bourzeix M, Weyland D, Heredia N. A study of catechins and procyanidins of grape clusters, the wine and other by-products of the wine[J]. *Bull OIV*, 1986, 59: 1171-1254.
- [7] Weinges K, Piretti M. V. Isolierung des procyanidins B1 Aus Weintrauben[J]. *Liebigs Ann Chem*, 1971, 748: 218-220.
- [8] Torres J L, Bobet R. New flavanol-derivatives from grape (*Vitis vinifera*) byproducts, antioxidant aminoethylthio-flavan-3-ol conjugates from a polymeric waste fraction used as a source of flavanols[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 4627-4634.
- [9] Jame a K, Graham P J. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 1740-1746.
- [10] Peng Z K, Hayasaka Y, Iland P G, et al. Quantitative analysis of polymeric procyanidins (tannins) from grape (*Vitis vinifera*) seeds by reverse phase high-performance liquid chromatography[J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 26-31.
- [11] Waterman PG, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites [M]. Blankwell Scientific Publication, 1994.

## 扇贝裙边酶解中温度对氨基氮的影响和抑臭工艺的确定

迟玉森, 庄桂东, 顾 军, 丁卫东  
(莱阳农学院食品科学系, 山东 莱阳 265200)

**摘 要:** 酶解法由扇贝边制取海鲜调味料, 关键在于获得高氨基酸含量的酶解液和抑制酶解过程中臭味的产生。本文报道了主要参数温度对酶解过程的影响和加糖抑臭工艺。按本文所述方法, 加入 1%~3% 的糖, 控制酶解温度波动范围 < 3℃, 可消除或推迟臭味的产生, 酶解液中氨基氮含量可达 0.9% 以上。

**关键词:** 调味料; 酶解; 扇贝边

### Study on the Influence of Temperature to AN in the Hydrolysis of Scallop Margin and the Technology of Inhibiting Bad Smell

CHI Yu-seng, ZHUANG Gui-dong, GU Jun, DING Wei-dong  
(Department of Food Science, Shandong Teachers University, Laiyang 265200, China)

**Abstract:** It is important getting high content of AN and inhibiting bad smell in making marine sauce. This article showed that

收稿时间: 2003-03-15

作者简介: 迟玉森(1962-), 男, 教授, 博士后, 研究方向为海洋生物活性物质。