

葡萄籽提取物研究进展

王蔚新¹, 李 华¹, 高锦明²

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学生命学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 葡萄籽提取物是一种新型高效抗氧化剂。对葡萄籽提取物的组成、应用现状、生产工艺方法及生产中存在的问题、产品检测方法及产品标签进行了综述,并展望葡萄籽提取物的发展前景。

关键词: 葡萄籽提取物; 多酚; 原花色素; 抗氧化剂; 生产工艺

中图分类号: TS261.9; TS262.6; TS261.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2005)02-0071-04

Research Progress of Grape Seed Extract

WANG Wei-xin¹, LI Hua¹ and GAO Jin-ming²

(1. College of Enology of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 2. College of Life Science of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China)

Abstract: Grape seed extract (GSE), a kind of new effective antioxidants, its composition, its current applied situation, its production techniques, and the problems in the production, the examining methods of products, and product label etc. were introduced in this paper. Besides, the development foreground of GSE was also illustrated. (Tran. by YUE Yang)

Key words: Grape seed extract; Polyphenols; Proanthocyanidins; Antioxidant; Processing technology

我国葡萄的种植面积和产量都居世界首位。葡萄在榨汁及酿酒过程中,会产生大量的副产物,如葡萄籽、葡萄皮等。目前,大多数酒厂常将其丢弃或发酵后用做肥料。这种处理方法不仅造成了资源的浪费,而且污染环境^[1]。

随着葡萄酒工业的稳步发展,葡萄酒的营养保健作用,特别是其中多酚物质的保健作用,在全世界掀起了研究高潮。研究发现,葡萄籽多酚类物质无论是含量还是种类都比葡萄皮和果肉丰富得多^[2],并且这些多酚物质有着极强的抗氧化能力。因此,以酿酒过程中产生的葡萄籽为原料,提取富含多酚类物质的葡萄籽提取物(grape seed extract, GSE),不仅能为葡萄的综合利用开辟新途径,而且还可带来巨大的经济效益和社会效益。

1 葡萄籽提取物的组成

在葡萄酒酿造过程中,产生葡萄总量 3 % 的葡萄籽^[3]。葡萄籽中的多酚物质含量可达 5 %~8 %。葡萄籽中的多酚类物质是葡萄的重要次生代谢产物,按其结构的不同,可分为酚酸类(phenolic acids)和黄酮类(flavonoids)

^[4]。酚酸类主要包括羟基肉桂酸(hydroxy-cinnamic acid)、羟基苯甲酸(hydroxy-benzoic acid)、没食子酸(gallic acid)及其衍生物。黄酮类主要包括黄酮醇(flavonols)、花色素苷(anthocyanins)、黄烷醇(flavanols)等几类^[2,5]。葡萄籽多酚成分主要是黄酮类化合物,而葡萄籽中含量最丰富且研究最多的是黄烷醇及其低聚物等黄酮类。黄烷醇单体包括儿茶素((+)-catechin)、表儿茶素((-)-epicatechin)和表儿茶素没食子酸酯((-)-epicatechin-3-gallate),如图 1,图 2,图 3。不同数量的黄烷醇单体聚合构成原花色素(proanthocyanidins),如图 4。根据聚合度的不同,原花色素又分为低聚原花色素(oligomeric proanthocyanidins, OPCs)和高聚原花色素(polymeric proanthocyanidins, PPCs)^[6]。其中生物活性最强的是 OPCs。

目前,国际市场上备受关注的 GSE 是从酿酒葡萄的种子中提取出来的一种多酚物质混合物,多酚含量多在 95 % 以上。GSE 包含单体酚和聚合多酚。单体酚主要是没食子酸、儿茶素、表儿茶素及儿茶素、表儿茶素的没食子酸酯,聚合多酚即不同聚合度的原花色素。OPCs 在

收稿日期:2004-09-06

作者简介:王蔚新(1976-),女,河北唐山人,硕士研究生,研究方向:葡萄酒酿造副产物的开发与利用。

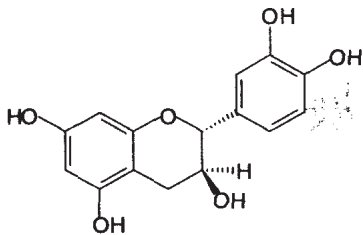


图 1 儿茶素

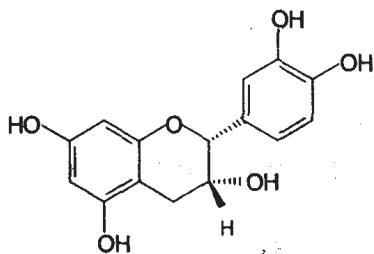


图 2 表儿茶素

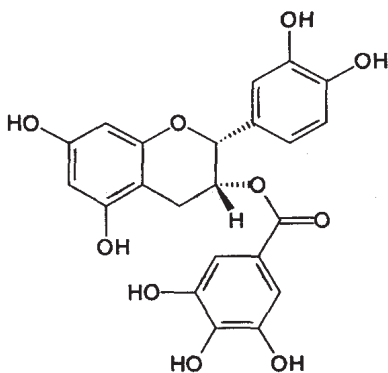


图 3 表儿茶素没食子酸酯

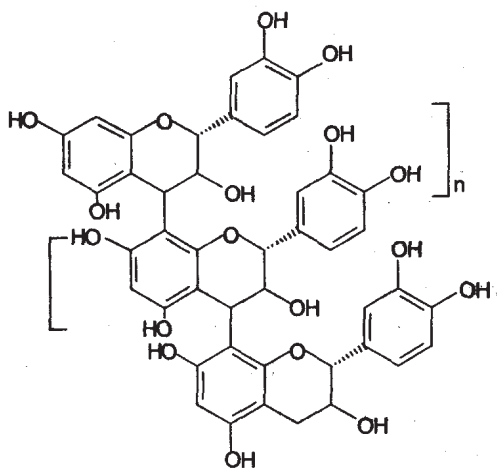


图 4 原花色素结构通式

GSE 中含量的高低是产品质量的关键指标。国际市场上 GSE 最佳成分组成比例约为多酚:原花色素:低聚原花色素:单体=1:0.82:0.81:0.18^[7]。这些成分以协同方式起抗氧化作用,使 GSE 具有高度的生物利用度。

20 世纪 80 年代以来,人们对 GSE 进行了大量生化、药理活性等研究。结果表明,GSE 是清除自由基能力

最强的抗氧化剂,能够防治 80 多种因自由基引起的疾病,包括心脏病、癌症及关节炎等病症。GSE 还有降低毛细血管通透性的作用,可减轻水肿、瘀伤。此外,GSE 还有抗过敏、抗辐射和改善视力等作用。GSE 最突出的生物活性表现为抗氧化活性^[8-9]。GSE 是迄今为止所发现的最强的有效氧自由基清除剂^[10]和脂质过氧化抑制剂^[11]。

2 葡萄籽提取物的应用现状

历经几十年的研究与开发,GSE 优越的抗氧化活性已为人们认可,并在食品、药品与化妆品等领域得到了广泛应用。因其资源丰富、疗效确切、副作用小等特点,GSE 在欧洲、日本备受青睐,近年来又风靡美国。GSE 已直接制成胶囊、片剂等剂型,作为人们经常服用的具有延缓衰老和美容等功能的保健品。市场调查表明,1996 年世界范围内葡萄籽提取物销售额约为 2 亿美元,并且以每年 20 % 的速度递增。

3 葡萄籽提取物的生产工艺方法及存在的问题

3.1 生产工艺方法

目前,粗提 GSE 主要采用水提法^[12-14]、有机溶剂提取法^[15,16-18]、微波法^[19]、超临界 CO₂ 提取法^[20]等。国内外使用最广泛的是有机溶剂提取法,所采用的有机溶剂主要是乙醇、甲醇、丙酮等。由于 GSE 粗品所含杂质较多,OPCs 含量较低,因此需要进一步纯化。GSE 粗品的纯化主要采用溶剂萃取法^[12]、沉淀法^[12]、酶解法^[13]、超滤法^[16]、吸附洗脱法^[21-22]等方法。归纳起来,主要有溶剂法和吸附树脂法两种。

Masquelier^[12](1987)成功研制出了富含 OPCs 的松树皮提取物,并将此方法应用于生产 GSE。用沸水浸泡松树皮或葡萄籽粗粉,冷却后过滤,滤液中加入氯化钠或硫酸铵至饱和,弃去沉淀。乙酸乙酯萃取余下的液体,萃取液真空浓缩,加氯仿沉淀原花色素。真空干燥沉淀物,即得原花色素粉末。

Frangi 等^[16](1996)以 80 % 的丙酮水溶液浸泡葡萄籽,浓缩提取液,并冷冻保藏以沉淀原花色素高聚体,过滤。该工艺还对提取液进行两次超滤以去除高分子量的物质。滤液用乙酸乙酯:甲苯=8:2(v/v)反复萃取以去除儿茶素单体。萃取后的部分,用乙酸乙酯反复提取。真空浓缩乙酸乙酯相,并加入二氯甲烷沉淀低聚体。离心,所得沉淀真空干燥,得到粉状 GSE。

Feries^[14](2002)以新鲜葡萄籽为原料,用 SO₂ 水溶液 25 °C 提取。粗提液真空浓缩,30 °C 下接种酵母,发酵的浓缩物经吸附树脂柱纯化,可得到精制的 GSE。

Shrikhande 等^[13](2003)以新鲜或干燥的葡萄籽为原料,热水提取。水提液用果胶酶处理,充分破坏细胞壁。

酸化水提液,并冷却几周,以沉淀蛋白质和其他多糖。硅藻土过滤后,用吸附树脂 XAD-7HP.RTM.纯化,真空浓缩富含原花色素单体和低聚物滤液,得到黑棕色液体。这种方法不需溶剂萃取、膜过滤等工艺,更加安全、简单、高产,因此更适合大规模的工业生产。

近年来,国内的科学工作者也开始关注 GSE 的发展,纷纷投入到研究开发中国 GSE 产品的工作中。吕丽爽等^[23-24](2001)从脱脂葡萄籽中提取出低聚原花色素,其工艺流程为:粉碎的葡萄籽经石油醚脱脂后,乙醇提取,浓缩,用乙酸乙酯萃取,减压蒸馏,加石油醚沉淀。过滤得到的沉淀即原花色素粗产品。经聚酰胺柱层析纯化,得到精制的原花色素。张峻等^[21,25](2002)以 60%~80%的丙酮为提取剂,粗提物利用大孔吸附树脂 AB-8 柱,以乙酸乙酯洗脱,所得产物总酚含量可达 90%以上。经高效液相色谱检测,酚类物质中单体约 28%,低聚原花色素占 64%,高聚体仅为 8%。李润丰等^[26](2003)采用正交实验法发现 50%丙酮,60℃,料液比 1:6,提取 60 min 为最佳提取条件,此时葡萄籽中原花色素提取率最大。选择 NKA 型大孔吸附树脂,用不同浓度洗脱液可以分离得到不同聚合度的原花色素。

此外,科学工作者们还积极将超临界 CO₂ 和微波等新技术应用于葡萄籽提取物的生产。孙传经等^[20](1998)用丙酮及水制成改性剂,在高压下利用 CO₂ 的渗透作用达到萃取原花色素的目的,大大提高了提取效率。刘征涛等^[19](2003)利用微波对水或有机溶剂中的葡萄籽进行处理,从而提取出原花色素。这种方法更加简便、高效。

3.2 生产中存在的问题

传统的有机溶剂提取法,虽然操作简单,但是提取时间冗长,往往需要长时间浸泡,提取效率低。精制处理过程繁杂,多数方法涉及乙酸乙酯萃取程序,其操作过程容易出现乳化现象,而导致产率下降。此外,由于处理中使用多种有机溶剂,不仅成本高,而且工业污染排放大,更重要的是有机溶剂还可能残留于最终产品中,影响 GSE 的品质和用途。

超临界 CO₂ 萃取技术是一种不同于传统提取方法的新工艺。它提取效率高,无溶剂残留,活性成分和热不稳定成分不易被分解破坏。但是由于超临界提取所需设备价格昂贵,生产成本低,目前还难以实现大规模的工业化生产。再如超滤法,虽然它可以在常温下有效去除提取液中的蛋白质、多糖等杂质,除杂效率高,但是由于此方法对超滤膜的要求相当高,所以在工业上的使用和推广受到了极大的限制。

大孔树脂法是近 10 年来发展起来的一种纯化方

法。它吸附选择性独特,不受无机物存在的影响,再生方便,解吸条件温和,而且操作简单,回收率高,安全可靠,对环境无污染,因此比较适合大规模的工业化生产。目前,国内外已经开始采用这种新型方法来生产 GSE。

4 GSE 产品检测方法及产品标签

4.1 检测方法

由于 GSE 产品成分复杂,目前尚无统一的检测方法。在实际生产中,GSE 的测定大多采用 Bate-Smith 法、Porter 法、Folin-Ciocalteu 法、香兰素法和高效液相色谱(HPLC)法等方法。

Bate-Smith 法和 Porter 法不需标样,其结果用原花色素指数(procyanidolic index)和 PVU(porter value unit)表示,即原花色素的相对含量,而非百分含量,且不能测出是哪种原花色素。Folin-Ciocalteu 法以没食子酸为标样,测定的是 GSE 中总多酚的含量(以没食子酸当量表示),而不能区分单体和聚合体。香兰素法以儿茶素作标样,测定 GSE 中黄烷-3-醇的含量。HPLC 法由于受标样的限制,只能测定 GSE 中单体和某些低聚体的含量^[27]。

美国葡萄籽方法评定委员会(The Grape Seed Method Evaluation Committee,GSME)综合比较了各种分析方法之后,在其发布的《葡萄籽白皮书》中,建议采用以下方法分析 GSE 成分:薄层色谱法(TLC)定性分析待测原料是否是来源于葡萄;改良的 Folin-Ciocalteu 法定量测定以没食子酸计的总多酚的百分含量;HPLC 法定量测定包括没食子酸、儿茶素、表儿茶素及儿茶素、表儿茶素的没食子酸酯在内的单体的总量;GSE 中原花色素含量即为用改良的 Folin-Ciocalteu 法测定的总多酚百分含量与用 HPLC 法测定的单体总量之差。

4.2 产品标签

美国葡萄籽方法评定委员会建议生产者采用以下形式的产品标签:总多酚的百分含量及构成总体的单体和原花色素的百分含量。例如:

葡萄籽提取物粉末 100 mg

90%以没食子酸计的总多酚(90 mg),包含 85%的原花色素(85 mg)和 5%的单体酚(5 mg)。

5 展望

纵观国内,现已有一些天然产物研究开发公司购进了大量先进设备生产 GSE,如天津尖峰天然产物研究开发公司等。但是从整体来看,国内厂家 GSE 产品中还存在着一些问题,主要表现为功效成分低聚原花色素的含量良莠不齐,其次是大多数产品醇溶性差,少数水溶性差^[7],再加上有机溶剂残留等缺点,与国外同类产品相比还有一定差距。为摆脱我国 GSE 产业的落后局面,我们

应该借鉴国外的先进经验,充分发挥自身优势,生产出高质量的产品,参与国际市场的激烈竞争。

作为天然抗氧化剂,GSE 在食品、药品、化妆品等领域有着广泛的应用前景。随着科学工作者不断地深入研究,还将会有更多的 GSE 产品出现在国内外市场上,满足不同人群的不同需求。虽然目前 GSE 生产中还存在一些问题,但是随着高新技术的不断引入,这些问题终将迎刃而解,生产出更加安全、更高品质的 GSE 产品。

参考文献:

- [1] Fernando G B, Fernando A L, Arminda A. Recovery of winery by-products in the Douro Demarcated Region: Production of Calcium Tartrate and Grape pigment [J]. Am J Enol Vitic, 2002,53(1): 41-45.
- [2] 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,2002,28(4):75-78.
- [3] 李华.现代葡萄酒工艺学[M].西安:陕西人民出版社,2000.
- [4] 高锦明.植物化学[M].北京:科学出版社,2003.
- [5] Calabrese G. Table grape nutritional value [J]. Bulletin de l'O.I.V, 2003,76(1):124-133.
- [6] 万本屹,李宏,等.葡萄籽原花色素提取及其应用研究进展[J].粮食与油脂,2002,(2):43-45.
- [7] 邵云东,胡光祥,等.葡萄籽的质量评价[J].中草药,2001,32(11):1044-1046.
- [8] Negro C, Tommasi L, Miceli A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts [J]. Biore-source Technology, 2003,87(1): 41-44.
- [9] Jayaprakasha G K, Tamil Selvi, Sakariah K K. Antibacterial and antioxidant activities of grape (vitis vinifera) seed extracts [J]. Food Research International. 2003,36(2): 117-122.
- [10] Jorge M Ricardo Da Silva, Nicole Darmon, Yvette Fernandez, et al. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds [J]. J Agric Food Chem, 1991,39 (9): 1549-1552.
- [11] 夏开元,戎卫华.葡萄中的功效成分——白黎芦醇、白黎芦醇苷和原花青素[J].食品科学,2002,23(8):356-359.
- [12] Masquelier Jack. Plant extract with a proanthocyanidins content as therapeutic agent having radical scavenger effect and use thereof [P]. US: 4698360, 1985-04-09.
- [13] Shrikhande A J, Race E J, Wightman J D, et al. Process for extraction, purification and enrichment of polyphenolic substances from whole grapes, grape seeds and grape pomace [P]. US: 6544581, 1992-09-23.
- [14] Feries M. Method for obtaining grape tannin, resulting tannin and uses [P]. US: 6479081, 1999-07-15.
- [15] Bonilla F, Mayen M, Merida J, et al. Extraction of phenolic compounds from of red grape marc for use as food lipid antioxidants [J]. Food Chem, 1999,66 (2): 209-215.
- [16] Frangi E, Bertani M, Mustich G, et al. Process for preparing grapeseed extracts enriched in procyanidol oligomers[P]. US: 5484594, 2000-06-22.
- [17] Sun B S, Belchir G P, Ricardo-Da-Silva J M, et al. An improved method for isolation and purification of dimeric and trimeric procyanidins from grape seeds [R]. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, Basel: MDPI, 1998.
- [18] Sun Baoshan, Belchior G P, Ricardo Da Silva J M, et al. Isolation and purification of dimeric and trimeric procyanidins from grape seeds [J]. Journal of Chromatography A, 1999, 841(1): 115-121.
- [19] 刘征涛,倪红,陈复.微波提取葡萄籽中原花青素类物质的方法[P].中国专利:1102589C, 2003-03-05.
- [20] 孙传经,孙云鹏.超临界二氧化碳提取葡萄籽油和原花青素低聚物的方法[P].中国专利:1241623A, 1998-08-05.
- [21] 张峻,吉伟之,等.吸附层析法制备低聚原花青素[J].天然产物研究与开发,2002,14(4):31-33.
- [22] Howard A N. Method of producing high flavonol content polyphenol compositions [P]. US: 6238673, 2001-05-29.
- [23] 吕丽爽,曹栋.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):208-210.
- [24] 吕丽爽,曹栋.葡萄籽中低聚原花青素的提取工艺初探[J].食品工业科技,2002,23(1):17-19.
- [25] 张峻,吉伟之,等.葡萄籽中多酚物质的提取及其对油脂的抗氧化作用[J].食品科学,2001,22(10):43-45.
- [26] 李润丰,吕晓玲,等.葡萄籽中原花色素提取和分离的初步研究[J].粮油加工与食品机械,2003,(6):67-69.
- [27] 冯建光.葡萄籽提取物中有效成分不同测定方法的比较[J].中国食品添加剂,2003,(5):100-103.

茅台葡萄酒 2005 年打造“1+1 万店工程”

本刊讯:据茅台葡萄酒销售总监潘汝显介绍,该企业将在 2005 年实施“双工程、双突围、双打造”的长期性营销体系。在商超渠道打造“1+1 万店工程”,即把商超渠道作为终端渠道拓展的核心,在全国选择 1 万个以上的 KA 类和 A 类商超门店进场销售。在每一个重点商超门店安排一个专门的业务人员或理货人员全面跟进产品陈列、产品供应和客情关系维护。(江砂)