

## 葡萄籽中多酚类物质的提取及其 对清除自由基的保健作用

魏福祥, 韩 菊, 张 兰\*

(河北科技大学环境科学与工程学院, 河北 石家庄 050018)

**摘 要:**用乙酸乙酯-水作提取剂从葡萄籽中提取多酚类物质,研究了提取过程中温度、压力、沉淀条件等因素对产物性质的影响,获得了适宜的操作条件。结果表明,当温度为 40~50℃,真空度为 0.06~0.08 MPa 时,可有效防止提取产物的氧化、缩合,并能获得较高的提取率,还对提取产物的结构及对清除自由基的保健作用进行了讨论。

**关键词:**葡萄籽;提取;多酚;自由基

**中图分类号:**TS 209; X 792 **文献标识码:**A

**文章编号:**0367-6358(2001)11-0576-03

## The Extraction of Polyphenols from Grape Seeds and its Health Protection by Scavenging Free Radicals

WEI Fu-xiang, HAN Ju, ZHANG Lan\*

(Institute of Environmental Science and Engineering, Hebei University of  
Science and Technology, Hebei Shijiazhuang 050018, China)

**Abstract:** Polyphenols were extracted with ethyl acetate-water from grape seeds. The effects of temperature, pressure and precipitation conditions on the property of the extract were studied, and suitable extraction conditions were obtained. The results show that the oxidation and condensation of the extract can be prevented efficiently, and higher extraction yields can be obtained under the conditions (40~50℃, 0.06~0.08 MPa) proposed in this paper. The structures and scavenging effect of the extract on free radicals were also discussed.

**Key words:** grape seeds; extraction; polyphenols; free radicals

近年来,多酚类物质的生物活性及对人体的保健防病作用日益受到广泛关注。自由基被认为是人体衰老和某些慢性疾病发生的原因之一<sup>[1]</sup>。当人体内的自由基产生过多或清除过慢,就会转而攻击各种细胞,器官并使之受到损伤,加速机体的衰老过程并诱发各种疾病。多酚类化合物分子结构中含有若干个酚羟基,对自由基有较强的清除能力,从而起到对生物组织的保护作用<sup>[2]</sup>。葡萄籽中富含这些酚类化合物,对其进行研究开发意义重大。

多酚类物质的生物活性与其分子结构和存在状态密切相关。有资料表明,单体及低聚物对自由基的清除率达 98%以上,但当形成高聚物以后,其性能会随之发生变化,不再适用于人体,甚至会对人体产生副作用<sup>[3]</sup>。因此,在多酚类物质的提取过程中,防止活性成分的氧化、缩合,确保其活性不变是至关重要的。本文以葡萄加工产生的废料——葡萄籽为原料,从中提取多酚类物质,对影响提取物活性和产率的重要因素进行了研究,获得了适宜的提取条件,确

修稿日期:2001-02-16,修稿日期:2001-08-15

作者简介:魏福祥(1955~),男,副教授,主要从事精细化工与天然产物的应用开发研究。\*河北科技大学工业分析专业 2000 届毕业生。

保了提取产物的活性。还对提取产物的结构及对清除自由基的保健作用进行了讨论。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

日立 260-50 型红外分光光度计, YHW-2A 远红外干燥箱, LD4-2 型离心机, 减压蒸馏装置; 乙酸乙酯, 石油醚, 氯仿, 丙酮, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 均为分析纯。

### 1.2 多酚类物质的提取

称取 200g 葡萄籽于玻璃容器中, 加入适量溶剂 (乙酸乙酯-水), 摇匀, 浸泡 24h。倾出上层溶液, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 减压蒸馏。浓缩液冷至室温后, 再加入数倍体积的石油醚或氯仿进行沉淀。分离出沉淀, 真空干燥后即得产品。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取产物的结构

葡萄籽中含有的活性成分, 是黄烷醇衍生而来的多酚类化合物, 其中包括单体及 2~5 个分子的低聚物。其基本结构为:

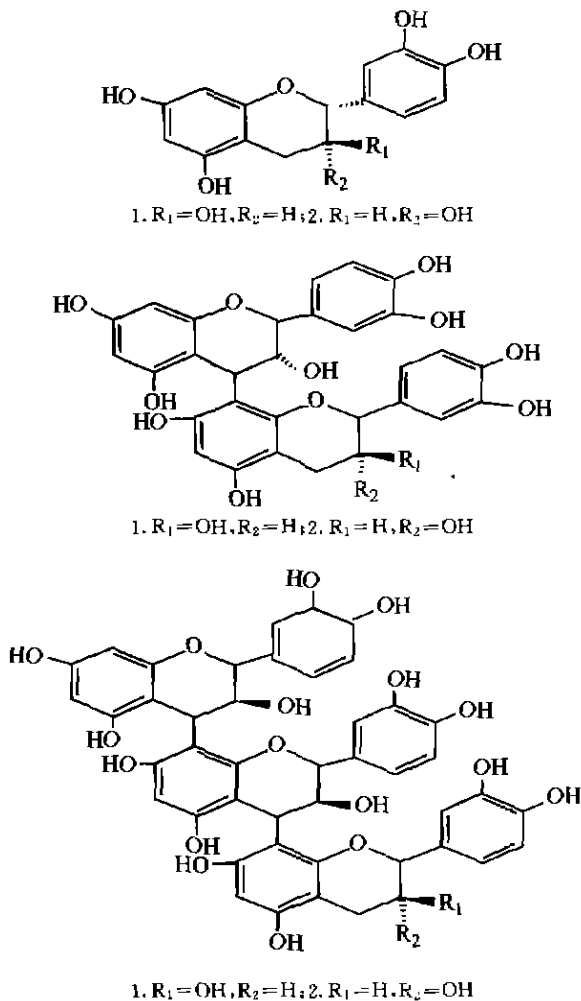
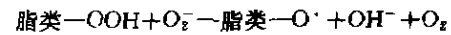


图 1 提取物单体、二聚体、三聚体结构

### 2.2 提取产物的生物活性

人体进行新陈代谢时会产生一些活性物质, 如超氧阴离子自由基 ( $\text{O}_2^-$ )、羟基自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 和过氧化物。过多的自由基会给人体造成严重危害<sup>[4]</sup>。有资料表明, 动物组织脂质过氧化的原因是  $\text{O}_2^-$  直接攻击脂肪酸, 引发链锁反应:



生成的烷氧基脂类  $-\text{O}^\cdot$  沉积在血管壁上, 造成动脉硬化、血小板凝聚等, 从而引发各种心脑血管疾病。

低聚黄烷醇 B 环上邻二酚羟基的存在, 能极大促进其抗氧化活性。它们在清除  $\text{OH}^\cdot$ 、 $\text{O}_2^-$  时起供氢作用, 使具有高度氧化性的自由基还原:

$\text{Ph}(\text{多酚}) + \text{脂类}-\text{O}^\cdot (\text{脂质自由基}) \rightarrow \text{P}^\cdot + \text{脂类}-\text{OH}$   
新形成的中间体不活泼, 这就阻断了自由基的链锁反应, 从而达到清除自由基的目的<sup>[5]</sup>。

黄烷醇还能诱发 SOD、 $\text{V}_1$ 、 $\text{V}_2$  等抗氧化系统的活性, 清除超氧化阴离子自由基 ( $\text{O}_2^-$ ), 从根本上减少体内过多的自由基, 从而达到抑制致癌、预防动脉硬化和血小板凝聚的作用<sup>[6]</sup>。

此外, 多酚类物质还具有较强的紫外吸收特性, 特别是对能量高、破坏力大的远紫外区有更强的吸收。因此, 在化妆品中可作为抗老化剂和防晒剂的有效成分<sup>[7]</sup>。

### 2.3 提取产物的红外光谱、紫外光谱

提取产物的红外光谱、紫外光谱见图 2、图 3。

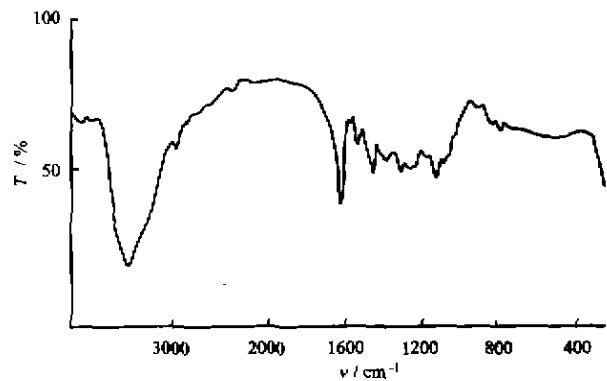


图 2 提取物 IR 光谱

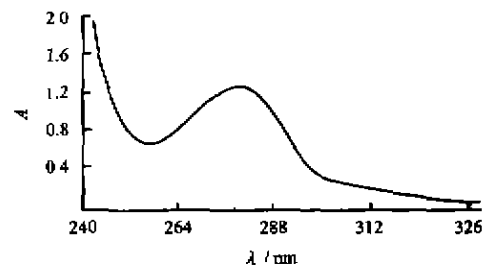


图 3 提取物 UV 光谱

## 2.4 提取过程中温度、压力对产物性质的影响

低聚黄酮醇分子中含有较多的酚羟基,所以具有氧化、缩合等性质,尤其是 B 环上有邻位或间位羟基时,则更易发生上述变化。正常的提取物为淡黄色无定形粉末,若在空气中氧化后,则变成棕色胶状物质,即形成聚合度大的黄酮醇分子。

葡萄籽中活性成分是指单体及那些低聚的黄酮醇类化合物。提取过程中防止活性成分的氧化、缩合是非常重要的,严格控制蒸馏温度、压力、成品干燥的真空度是防止活性成分氧化、缩合的必要条件。实验发现,采用常压蒸馏,提取产物易缩合成大分子化合物,干燥后外观表现由淡黄色粉末状变为棕色的胶状物质。提取产物在常压下干燥,由于在空气中易氧化,使颜色加深。本实验确定出适宜的操作条件为:干燥温度 40~50℃,真空度 0.06~0.08 MPa。

## 2.5 沉淀条件的选择

实验中发现,提取产物的沉淀条件很关键。以石油醚作沉淀剂时,一般会出现白色絮状沉淀,且能在短时间内沉至容器底部。但有时沉淀会在瞬间内转化成红油状;或者在加入石油醚后,溶液只是浑浊而无沉淀出现,静置一段时间后,容器底部同样出现红油状产物。以氯仿作沉淀剂时,会出现大团白色絮状沉淀,且悬浮时间长,很难沉淀到容器底部,有时也会出现红油状物漂浮在表面。

笔者对产生上述现象的原因进行了探讨。考虑到所用沉淀剂的相对密度,石油醚为 0.6250(20℃),氯仿为 1.4890(20℃)。水的密度介于以上两者之间。如果提取物浓缩液中含有水,由于水与含有羟基的提取物极易结合,在加入沉淀剂时,水有可能与提取物一起析出,形成红油状产物。对上述分析进行了实验,结果见表 1。

表 1 水对沉淀形成的影响

实验条件	出现的沉淀现象
浓缩液+石油醚	白色絮状沉淀
浓缩液+回收石油醚(含水)	红棕色颗粒状沉淀
浓缩液+石油醚+微量水	容器底部出现红油状沉淀
浓缩液+氯仿+微量水	沉淀剂表面出现红油状沉淀

实验结果证实,正是由于沉淀过程中水的引入导致了红油状产物的出现。可是,水的存在会直接影响沉淀物(提取产物)的形态。因此,在提取过程中,浓缩液应充分干燥,并避免沉淀剂中含水。

为进一步了解红油状产物的性质,将其干燥后作红外光谱图,并与提取产物的红外光谱图进行比较。结果发现,各官能团吸收峰的位置没有变化,两图谱一致。这说明由于水的引入,只改变了提取物的结晶形式,而没有影响其内部结构。

## 3 结 论

从葡萄籽中提取多酚类物质,由实验确定了适宜的操作条件,避免了活性成分的氧化、缩合,确保了提取产物的活性不变。该提取工艺简单、溶剂可回收、无污染,技术可行,可进行工业化生产。

## 参考文献:

- [1] Salah N, Miller N J, Paganga G, et al. Arch Biophys, 1995, 322:339-346.
- [2] 凌关庭. 中国食品添加剂, 2000, (1):28-37.
- [3] 姚开, 吕远平, 石碧, 等. 精细化工, 2000, 17(7): 398-401.
- [4] Harald P. US WO 97/39632, 1997-10-30.
- [5] 胡春, 丁晋林. 食品与发酵工业, 1996, 3:46-53.
- [6] 银平章, 祝庆蕃, 程书钧, 等. 营养学报, 1994, 16(2): 149-153.
- [7] 宋立江, 狄莹, 石碧. 化学进展, 2000, 12(2):161-170.

(上接第 600 页)

- [2] 嵇耀武. 有机合成路线设计技巧. 北京:科学出版社, 1984. 171-192.
- [3] 赵知中, 周瑾, 鲁桂霖, 等. 有机化学中的保护基团.

北京:科学出版社, 1984. 44.

- [4] 陈震华, 卢彩霞. 化学试剂, 1985, 7(1):6.
- [5] 刘东志, 钱颖, 聂中方. 染料工业, 1998, 35(3):35-37.

(上接第 603 页)

- [52] 任玉林, 蒯文, 金钦汉. 光谱学与光谱分析, 1990, (3):36.
- [53] 符廷发, 多凤琴, 王银妹. 光谱学与光谱分析, 1987 (2):70.
- [54] 陈浩, 江祖成, 赖志远, 等. 分析化学, 1990, 18(12): 1152.
- [55] 张寒琦, 张金生, 叶冬梅, 等. 分析化学, 1992, 20(9): 1065.
- [56] 段亿翔, 张寒琦, 鲁慧, 等. 分析化学, 1992, 20(4): 383.
- [57] 不破敬一郎主编. ICP 发射光谱分析(中译本). 北京:化工出版社.