

质,大孔吸附树脂法为纯化红花的一种较好方法。

### 3 讨论

明胶沉淀法可以有效去除鞣质、树脂,而由于引入了大量明胶,蛋白质检查常呈阳性;如果药材提取液浓度过高还会导致有效成分包藏于明胶和鞣质沉淀物中,使其损失率增大;同时有效部位或指标成分占固形物中的量也无法满足中药注射剂的技术要求。

ZTC1+1 天然澄清剂法可以有效去除鞣质、蛋白质、树脂等杂质,长期放置澄明度也很好。曾将经天然澄清剂纯化后的红花水溶液充氮密封放置,1 年后仍未见浑浊。而若将纯化后的红花水溶液烘干,考察其复溶性,则发现复溶性不好。考虑有可能是天然澄清剂中 A、B 组分在水溶液中具有澄清作用,干燥后,A、B 组分性质发生改变,导致其水溶性不好。

石硫醇法可以有效去除鞣质、蛋白质、树脂等杂质,然而复溶性不好,并且怀疑引入了大量无机杂质。另外由于 pH 值要求严格,操作中不好控制。

碱性醇沉法可以有效去除鞣质、蛋白质、树脂等杂质,并且复溶性也较好,对于水提取或低体积分数乙醇提取的中药材具有较好的纯化效果。但此种方法的局限性在于有效部位或指标成分占固形物中的量无法满足中药注射剂的技术要求。

大孔吸附树脂法是纯化中药材的有效方法,可将蛋白质、树脂等杂质一步除净,洗脱溶剂是低体积分数乙醇时,鞣质与大孔吸附树脂结合较紧密,不易被洗脱下来,鞣质也可除去。

HSYA 是红花药材中的主要有效成分,然而,除以 HSYA 为代表的 SY 类成分以外,红花药材中还有很多有色物质在 401 nm 处有吸收。大孔吸附

树脂对药材中的有效部位具有分离作用,因此,采用分光光度法跟踪测量 SY 的量,就有失准确性,最好是采用高效液相色谱法跟踪 HSYA 的转移率。当以 15% 乙醇作为洗脱剂时,HSYA 转移率很高,而采用可见分光光度法测出的 SY 的转移率很低,说明 15% 乙醇能够洗脱极性相对较小的 HSYA, 极性相对较大的其他有色物质仍留在大孔吸附树脂上,使有效成分得到了较好的分离。

应用大孔吸附树脂纯化红花提取物,转移率、质量分数、杂质清除效果和复溶性均符合中药注射剂的技术要求,大孔吸附树脂法为纯化红花提取物的一种较好方法。

### References:

- [1] Zang B X, Jin M, Si N, et al. Antagonistic effect of hydroxysafflor yellow A against platelet activating factor [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2002, 37(9): 696-699.
- [2] Jin M, Wu W, Chen W M, et al. Inhibitory effect of gross safflor yellow against platelet activating factor receptor binding in vitro [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2001, 37(3): 167-169.
- [3] Zang B X, Wang Y Q, Li J S, et al. Spectrophotometric determination of safflor yellow [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22(2): 137-138.
- [4] Wang H L. Survey on safflor yellow [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 1998, 5(5): 333-334.
- [5] Wang J, Xu Z S, Mao H L. The discussion on getting rid of tannin in traditional Chinese medicine injection [J]. *Prim J Chin Mat Med* (基层中药杂志), 2001, 15(5): 51-52.
- [6] Chu Y, Song H T, Chen D W, et al. Extracting process for safflower yellow in *Carthamus tinctorius* L [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(8): 1161-1164.
- [7] Lu X Y, Lin D J, Xu S L. Determination on hydroxysafflor yellow A in safflower yellow for injection by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(5): 704-705.
- [8] Song H T, Chu Y, Zhang Q, et al. Purification of the extract of *Carthamus tinctorius* L. by adopting macroporous resin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(7): 996-1000.

## 微波法提取葡萄籽中原花青素的工艺研究

张 力<sup>1,2,3</sup>, 孙秀利<sup>2</sup>, 王松青<sup>1</sup>, 谭天伟<sup>2\*</sup>

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 北京化工大学生命科学与技术学院 北京市生物加工过程重点实验室, 北京 100029; 3. 武警医学院 化学教研室, 天津 300162)

**摘要:** 目的 采用微波提取技术从葡萄籽中提取原花青素。方法 考察微波提取工艺中 5 个影响收率的因素: 提取温度、微波输出功率、溶剂体积分数、微波加热时间、固液比例。结果 最佳生产工艺条件: 使用 80% 乙醇, 在微波输出功率 600 W, 温度 80 °C 条件下, 持续加热 3 min, 固液比例为 1:8。原花青素收率可达到 22.73%。结论 本研究建立了适合于工业化生产的微波提取葡萄籽中原花青素的工艺条件。

收稿日期: 2007-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20325622, 20576013, 50373003, 20636010); 博士点基金(20030010004); 国家“十五”攻关项目(2004BA411B05); 北京市科委科技计划重大项目(D02050040211)

作者简介: 张 力(1975—), 女, 山西长治人, 硕士研究生, 主要从事药物研究。E-mail: 1111zlw@163.com

\* 通讯作者 谭天伟 Tel: (010) 64416691 Fax: (010) 64416691 E-mail: twtan@mail.buct.edu.cn

关键词: 葡萄籽; 原花青素; 微波提取

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)12-1808-04

## Microwave extraction of proanthocyanidins from grape seeds

ZHANG Li<sup>1,2,3</sup>, SUN Xiu-li<sup>2</sup>, WANG Song-qing<sup>1</sup>, TAN Tian-wei<sup>2</sup>

(1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Beijing Bioprocess Key Laboratory, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China;  
3. Department of Chemistry, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

**Abstract:** Objective Microwave extraction (ME) method was studied for the extraction of proanthocyanidins (PC) from grape seeds. Methods Several factors, such as the ME temperature, microwave power, concentration of extraction solvent, ME time, and the solid/liquid ratios were investigated and the optimal conditions were obtained from the experiments. Results The optimum condition of ME was 3 min extracting in 80% ethanol water solvent at 80 °C under the microwave power 600 W, the solid/liquid ratio was 1:8 (g/mL). The extraction percentage of PC was 22.73% with the described conditions. Conclusion The preliminary extracting technology of PC from grape seeds is established in the study. It can be applied to the production in industry.

**Key words:** grape seeds; proanthocyanidins (PC); microwave extraction (ME)

葡萄是我国重要水果之一。葡萄籽中含有的多酚类物质原花青素(proanthocyanidins, PC)是一种良好的抗氧化剂,具有抗氧化、抗致突变、抗心血管疾病和抗衰老等活性<sup>[1]</sup>。提取葡萄籽中PC的方法主要有热回流提取法<sup>[2,3]</sup>、超声法<sup>[4,5]</sup>、超临界CO<sub>2</sub>提取法<sup>[6]</sup>。国内外使用最广泛的是热回流提取法虽然操作简单,但是浸泡和提取时间冗长,且提取效率较低。超声法和超临界CO<sub>2</sub>萃取技术虽然可以提高提取效率,但是多用于实验室研究,且生产成本高,难以实现大规模工业化生产。微波法是一种不同于传统的提取天然产物有效成分的新方法,具有提取效率高,节省时间、溶剂和能源等优点,该方法非常适合于工业化生产。它有助于提高生产效率、降低工厂能耗,符合现代人的绿色环保意识。目前,在微波法提取天然产物有效成分的研究报道中,使用的微波提取设备均为普通的家用微波炉,缺少相关的控制部件。本实验采用的微波提取设备是专为工业化生产而设计制造,它可对加热温度和功率进行控制。因此本研究对微波提取葡萄籽中原花青素的工艺中涉及到的因素进行了全面考察,为微波提取原花青素的工业化提供参考。

### 1 仪器与材料

HWC3L-A型微波萃取设备(天水华圆制药设备有限责任公司);Cary100-300紫外-可见分光光度计(美国瓦里安中国有限公司);TDL-5-A型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);FW100型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

葡萄籽(天津王朝干红葡萄酒厂提供,产地:天

津汉沽);儿茶素对照品(中国药品生物制品检定所,批号110877-200001,质量分数≥98%)。

### 2 方法与结果

2.1 样品前处理:晾干的葡萄籽经粉碎后利用石油醚进行脱脂,脱脂后的葡萄籽粉避光自然晾干。

2.2 微波提取:称取脱脂葡萄籽粉100 g,加入适量提取溶剂,置于微波提取罐中进行微波提取。改变提取溶剂乙醇的体积分数、微波加热时间、微波输出功率、提取温度和固液比例条件,依次在不同条件下进行微波提取。将提取后的混合物进行离心分离得到提取液。

### 2.3 PC的UV法分析

2.3.1 标准曲线的绘制:采用香草醛-盐酸法<sup>[7,8]</sup>。精密称量儿茶素对照品6.0 mg,去离子水溶解并定容至25.0 mL;精确称量香草醛40.0 g,甲醇溶解并定容至1.0 L;移液管移取儿茶素对照品溶液1.0、2.5、4.0、5.5、7.0 mL,用去离子水分别定容至10.0 mL。取儿茶素对照品溶液1.0 mL,依次加入香草醛-甲醇溶液6.0 mL,浓盐酸3.0 mL,混合均匀后在(20±1)℃避光条件下反应15 h。以香草醛-甲醇溶液-浓盐酸-甲醇(3.0:1.5:0.5)作为空白对照,在500 nm处测吸光度。以吸光度对质量浓度进行线性回归,得标准曲线的回归方程 $A = 0.8798 C + 0.0678$ , $r = 0.9851$ ,线性范围为0.003~0.032 mg/mL。

2.3.2 测定:取提取液0.2 mL,去离子水定容至10 mL作为待测样品;取待测样品1 mL,依次加入香草醛-甲醇溶液6.0 mL,浓盐酸3.0 mL,混合均

匀后在(20±1)℃避光条件下反应15 h。以香草醛-甲醇溶液-浓盐酸-甲醇(3.0:1.5:0.5)作为空白对照,在500 nm处测吸光度,根据标准曲线的回归方程计算提取液中PC质量浓度。

**2.4 加热回流法提取葡萄籽中PC:**精密称取3份脱脂葡萄籽粉10 g,与80 mL 80%乙醇混匀后置于圆底烧瓶内,在水浴温度80℃条件下加热回流90 min。取热回流提取液制备供试品溶液,UV法测定,计算得脱脂葡萄籽中PC的平均质量分数为19.36%。按下式计算PC收率。

$$\text{PC收率} = \frac{\text{提取液中PC质量}}{\text{脱脂葡萄籽质量}} \times 100\%$$

## 2.5 各因素对PC收率的影响

**2.5.1 提取温度对PC收率的影响:**脱脂葡萄籽粉100 g,1 000 mL 70%乙醇溶液,微波输出功率500 W,微波加热提取时间3 min,在不同温度下提取PC,实验结果见图1。一般来说,冷提杂质少,热提效率高。温度升高,分子运动速率加快,渗透、扩散、溶解速率加快,同时,高温可以引起细胞膜结构的变化,使原花青素由葡萄籽的外层细胞转移到溶剂中,但是,高温易使原花青素被氧化破坏。从实验结果可以看出,随着提取温度的逐渐升高,PC收率也逐渐增大,当温度达到80℃时,PC收率达到最大,此后随温度的升高,PC收率开始下降。因此,微波提取的适宜温度为80℃。

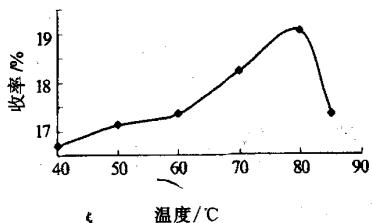


图1 提取温度对PC收率的影响

Fig. 1 Effect of extracting temperature on PC yield

**2.5.2 微波输出功率对PC收率的影响:**脱脂葡萄籽粉100 g,1 000 mL 70%乙醇溶液,微波加热温度80℃,微波加热提取时间3 min,在不同微波输出功率下提取PC,实验结果见图2。当微波输出功率在450~800 W时,PC收率保持相对稳定;当微波功率大于800 W时,原花青素的收率开始明显下降。此外,微波输出功率的大小还影响到加热时间,使用较大功率加热比较小功率加热快,达到预先设计温度的时间短。因此,在实际工作中,可以根据提取物的固液总量,结合考虑降低能耗原则,在450~800 W选择合适功率对葡萄籽中原花青素进行提取。

**2.5.3 提取溶剂对PC收率的影响:**脱脂葡萄籽粉

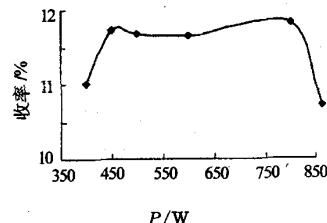


图2 微波输出功率对PC收率的影响

Fig. 2 Effect of microwave power on PC yield

100 g,1 000 mL 不同体积分数乙醇溶液,微波输出功率500 W,加热温度80℃,微波加热提取时间3 min提取PC。实验结果见图3。表明随着乙醇体积分数增大,PC收率也逐渐增大,当乙醇体积分数为80%时,收率达到最大,随后PC收率开始逐渐下降。水虽然是多酚的良好溶剂,但实验说明水并不是最适合多酚的提取,这可能是由于多酚在植物体内与蛋白质、多糖等以氢键和疏水键形成了稳定的分子复合物,所以在多酚提取时不仅要求多酚有良好的溶解性,并且需有断裂氢键作用,因此有机溶剂与水的复合体系比较适合多酚的提取。乙醇的溶解性能好,穿透细胞能力强,当乙醇体积分数达到一定程度时,PC溶出度最大,收率也相应达到最大,继续增大乙醇体积分数,PC的溶出度反而减小,同时一些醇溶性杂质、亲脂性强的成分溶出量增加,这些成分与PC竞争,同乙醇-水分子结合,从而导致PC的收率下降。此外,随着乙醇体积分数的增大,提取液的表观澄清度越来越好。这是由于高体积分数乙醇可以除去多糖、寡糖和少量粗蛋白等杂质。综上所述,微波提取葡萄籽中原花青素的溶剂应为50%~80%乙醇溶液。

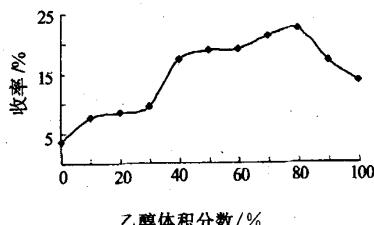


图3 乙醇体积分数对PC收率的影响

Fig. 3 Effect of ethanol concentration on PC yield

**2.5.4 微波加热时间对PC收率的影响:**脱脂葡萄籽粉100 g,1 000 mL 70%乙醇溶液,微波输出功率500 W,加热温度80℃,对不同微波加热提取进行时间考察,实验结果见图4。显示随着微波加热时间的延长,PC收率先呈迅速上升趋势,至3 min时达到最大,说明微波处理加速了葡萄籽中PC的浸出。而后PC收率开始逐渐下降,这可能是由于长时间

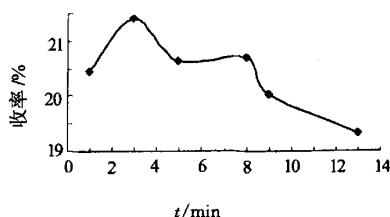


图4 微波辐射时间对PC收率的影响

Fig. 4 Effect of microwave time on PC yield

的微波加热导致PC被氧化破坏。因此可确定微波加热最佳时间为3 min。

2.5.5 提取物固液比例对PC收率的影响：按照不同的固液比例，将脱脂葡萄籽粉和80%乙醇溶液置于微波提取罐中。在微波输出功率600 W，加热温度80℃条件下，微波加热提取3 min。从实验结果（表1）可以看出，固液比例由1:6至1:8时，PC收率呈上升状态，这是因为适度加大固液比例，可使脱脂葡萄籽得到完全浸润，有效成分可充分溶出。当固液比例达到1:8时，PC收率达到最大。固液比例维持在1:8~1:12时，PC收率变化不大，此后继续加大固液比例，PC收率开始明显下降。这可能是由于大的固液比例需要的微波加热时间延长，从而使得部分PC结构破坏，收率下降。从节省溶剂和能源角度考虑，在1:8~1:12，选择小固液比例有利，而且较高的液固比例也会给后期的溶液处理带来一定困难。

表1 固液比例对PC收率的影响

Table 1 Effect of solid/liquid ratio on PC yield

固液比/(g·mL <sup>-1</sup> )	PC收率/%	固液比/(g·mL <sup>-1</sup> )	PC收率/%
1:6	20.70	1:15	19.69
1:8	22.73	1:20	15.17
1:10	21.97	1:25	14.61
1:12	21.88		

2.6 微波工艺与传统热回流工艺比较：脱脂葡萄籽粉100 g，乙醇体积分数80%，在固液比1:8，提取温度80℃基本条件相同的情况下，采用实验优选的最佳微波工艺与热回流提取进行比较。从结果（表2）可知，微波提取3 min比热回流提取90 min的PC收率高。此外，能耗有明显降低，节省了能源。

### 3 讨论

本实验研究了微波法提取葡萄籽中原花青素的工艺条件，考察了提取温度、微波输出功率、溶剂体积分数、微波加热时间、固液比例等重要工艺参数对原花青素收率的影响，并给出了适合于工业化生产

表2 微波提取与热回流提取葡萄籽中原花青素的比较

Table 2 Comparison between microwave-assistant extraction and hot reflux on extracting of PC from grape seeds

提取方法	时间/min	收率/%	功率/W	能耗/(kW·h)
微波法	3	22.73	600	0.03
热回流法	90	18.39	500	0.75

的各工艺条件的取值范围。微波法提取脱脂葡萄籽中原花青素的最佳生产工艺条件为：使用80%乙醇，按固液比例1:8将料液混合，在微波输出功率600 W，温度80℃条件下，持续加热3 min。在该条件下PC收率可达到22.73%。

传统的热回流提取工艺，热是通过对流方式在提取溶剂中进行传导的，传热速度较慢，易造成提取液中PC结构的破坏。微波法是一种以溶液内的分子、离子接受微波辐射获得能量而迅速升温的加热方式，具有快速加热的优点，减少了有效成分在高温下的受热时间，对于热敏性物质的提取是十分有利的。实验证明，微波技术用于葡萄籽中PC提取具有省时、高效、节能等优点，其收率高于传统的热回流提取法。由此可以看出，微波法是颇具发展潜力的提取天然产物中有效成分一种技术，且符合社会的节能环保要求。

### References:

- [1] Guo Z, Xu L. Procyandin: a plant medicine with many uses [J]. World Phytomed (国外医药:植物药分册), 1996, 11(5): 196-204.
- [2] Pekic B, Kuvac V, Alonso E. Study of extraction of proanthocyanidins from grape seeds [J]. Food Chem, 1998, 61(12): 201-206.
- [3] Corinne P, Jacques R. Oligomeric and polymeric procyandins from grape seeds [J]. Phytochemistry, 1994, 36(3): 781-784.
- [4] Li H, Shen J. Research on the extraction of polyphenols from grape seed by ultrasonic [J]. Liquor-making Sci Tech (酿酒科技), 2005, 31(5): 89-91.
- [5] Zhong Z S, Feng Y, Sun L J. Extraction of proanthocyanidins from grape seeds with ultrasonic wave [J]. Fine Chem (精细化工), 2005, 22(1): 41-43.
- [6] Wu Z X, Meng X J, Li X X, et al. Study on extracting of grape seed oil and procyandins (OPC's) by supercritical fluid extract-CO<sub>2</sub> [J]. Food Sci Tech (食品科技), 2005(7): 47-49.
- [7] Bao J Z, Chen Y K, Xu G H. Primary study on the determination methods of proanthocyanidin content of grape seed extract [J]. J Agric Sci (农业科学), 2005, 26(1): 43-45.
- [8] Shao Y D, Hu G X, Yu H J. Quality evaluation of grape seed extract [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2001, 32(11): 1044-1046.

# 微波法提取葡萄籽中原花青素的工艺研究

作者: 张力, 孙秀利, 王松青, 谭天伟, ZHANG Li, SUN Xiu-li, WANG Song-qing, TAN Tian-wei  
作者单位: 张力, ZHANG Li(天津大学药物科学与技术学院, 天津, 300072; 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京市生物加工过程重点实验室, 北京, 100029; 武警医学院, 化学教研室, 天津, 300162), 孙秀利, 谭天伟, SUN Xiu-li, TAN Tian-wei(北京化工大学生命科学与技术学院, 北京市生物加工过程重点实验室, 北京, 100029), 王松青, WANG Song-qing(天津大学药物科学与技术学院, 天津, 300072)  
刊名: 中草药 [ISTIC PKU]  
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS  
年, 卷(期): 2007, 38(12)  
被引用次数: 3次

## 参考文献(8条)

- Guo Z;Xu L Procyanidin:a plant medicine with many uses 1996(05)
- Pekic B;Kuvac V;Alonso E Study of extraction of proanthocyanidins from grape seeds[外文期刊] 1998(12)
- Corinne P;Jacques R Oligoneric and polymeric procyandins from grape seeds[外文期刊] 1994(03)
- Li H;Shen J Research on the extraction of polyphenols from grape seed by ultrasonic[期刊论文]-酿酒科技 2005(05)
- Zhong Z S;Feng Y;Sun L J Extraction of proanthocyanidins from grape seeds with ultrasonic wave[期刊论文]-精细化工 2005(01)
- Wu Z X;Meng X J;Li X X Study on extracting of grape seed oil and procyandins (OPC's) by supercritical fluid extract-CO<sub>2</sub>[期刊论文]-食品科技 2005(07)
- Bao J Z;Chen Y K;Xu G H Primary study on the determination methods of proanthocyanidin content of grape seed extract[期刊论文]-农业科学研究 2005(01)
- Shao Y D;Hu G X;Yu H J Quality evaluation of grape seed extract[期刊论文]-中草药 2001(11)

## 本文读者也读过(10条)

- 钟振声. 冯焱. 孙立杰 超声波法从葡萄籽中提取原花青素[期刊论文]-精细化工2005, 22(1)
- 李瑞丽. 马润宇. LI Rui-li. MA Run-yu 从葡萄籽中提取原花青素的工艺研究[期刊论文]-现代食品科技 2008, 24(1)
- 曹明华. 陈卫航. 张婕. 张富芳 03F3大孔吸附树脂分离葡萄籽中原花青素的研究[期刊论文]-粮油加工2008(7)
- 任俊. 曹飞. 卢金珍. REN Jun. CAO Fei. LU Jin-zhen 微波辅助有机溶剂法提取葡萄籽中原花青素的工艺研究[期刊论文]-保鲜与加工2010, 10(4)
- 温钢. 李立群. 隋新. WEN Gang. LI Liqun. SUI Xin 葡萄籽中低聚原花青素的提取研究[期刊论文]-中国酿造 2010(1)
- 吴春. 张艳. WU Chun. ZHANG Yan 纤维素酶法提取葡萄籽中原花青素的研究[期刊论文]-食品科学2006, 27(10)
- 李超. 王卫东. 郑义. 范东梅. 谢鑫陟. LI Chao. WANG Wei-dong. ZHENG Yi. FAN Dong-mei. XIE Xin-zhi 原花青素的超声提取工艺研究[期刊论文]-中国食品添加剂2010(2)
- 姚添元. 孟利娟. 李维. 张学俊. 李巧玲. Yao Tianyuan. Meng Lijuan. Li Wei. Zhang Xuejun. Li Qiaoling 葡萄籽中原花青素提取工艺研究[期刊论文]-绿色大世界·绿色科技2010(8)
- 马亚军. 郎惠云. 董发昕 间接原子吸收法测定葡萄籽提取物中的原花青素[期刊论文]-分析化学2005, 33(1)
- 王卫东. 李超. 凌莉. WANG Wei-dong. LI Chao. LING Li 葡萄籽原花青素的提取与分离[期刊论文]-中国食品添加

**引证文献(3条)**

1. 张萍, 廖正根, 梁新丽, 赵国巍 均匀设计优选舒胸片处方药材的微波辅助提取工艺的研究 [期刊论文] - 中草药 2009(1)
2. 罗书勤, 崔晓霞, 刘晔, 张力平, 王博超 原花青素活性物质提取工艺研究 [期刊论文] - 现代化工 2011(z1)
3. 史国富, 王新瑞 天然高效抗氧化剂原花青素提取工艺研究概况 [期刊论文] - 中国药物与临床 2011(5)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200712015.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200712015.aspx)