

儿茶素协同亚硫酸解聚山葡萄籽高聚原花青素及抗氧化研究

蓝 静^{1,2} 任香芸^{2,3} 苏 昊^{2,3} 庞 杰¹ 李维新^{2,3}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省农业科学院农产品加工研究所, 福建 福州 350003; 3. 农业农村部亚热带特色果蔬菌加工重点实验室, 福建 福州 350003)

摘要: [目的] 解决高聚原花青素生物利用率低的问题。[方法] 以从紫秋山葡萄籽中提取、分离及纯化得到的高聚原花青素(PPC)为原料, 平均聚合度为评价指标, 儿茶素(C)结合亚硫酸为解聚剂, 考察料物比($m_C:m_{PPC}$)、亚硫酸添加量、反应时间、反应温度 4 个因素对平均聚合度的影响, 采用响应面法优化解聚高聚原花青素的工艺参数, 并进行抗氧化活性分析。[结果] 儿茶素协同亚硫酸能较好地解聚山葡萄籽高聚原花青素, 其最优工艺为料物比 0.45:1、亚硫酸添加量 6%、反应时间 31 min、反应温度 40 °C, 在该条件下解聚后原花青素的平均聚合度为 1.83, 与解聚前比降低了 4.09 个单位。解聚后的原花青素抗氧化能力得到显著提升, 其 DPPH·、ABTS⁺· 及 ·OH 的清除能力分别是解聚前的 3.31 倍、1.28 倍和 1.21 倍, 铁氰化钾还原力显著高于解聚前的。[结论] 儿茶素协同亚硫酸对山葡萄籽高聚原花青素有较好的解聚作用, 节约成本, 并能提升其抗氧化能力。

关键词: 山葡萄籽; 高聚原花青素; 解聚; 工艺优化; 抗氧化活性

Synergistic depolymerization of polymeric proanthocyanidins from *Vitis amurensis* seeds by catechin and sulfurous acid and their antioxidant activity

LAN Jing^{1,2} REN Xiangyun^{2,3} SU Hao^{2,3} PANG Jie¹ LI Weixin^{2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;
2. Institute of Food Science and Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China;
3. Key Laboratory of Processing of Subtropical Characteristic Fruit and Vegetable Mushrooms, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: [Objective] To address the problem of low bioavailability of polymeric proanthocyanidins (PPCs). [Methods] PPCs extracted, isolated, and purified from *Vitis amurensis* seeds were used as the raw materials. The average degree of polymerization (mDP) was used as the evaluation index. Catechin (C) combined with sulfurous acid was employed as the depolymerization reagent. The effects of the catechin-to-PPC mass ratio ($m_C:m_{PPC}$), sulfurous acid amount, reaction time, and temperature on mDP were studied. The depolymerization process was optimized using response surface methodology, and the antioxidant activity of PPC before and after depolymerization was analyzed. [Results] Catechin combined with sulfurous acid effectively depolymerized PPC from *V. amurensis* seeds. The optimal depolymerization conditions were as follows: $m_C:m_{PPC}$ of 0.45:1, sulfurous acid addition of 6%, reaction time of 31 min, and reaction temperature of 40 °C. Under these conditions, the mDP of PPC was reduced to 1.83, 4.09 units lower than before depolymerization. The antioxidant capacity of PPC after depolymerization was significantly improved, with DPPH·, ABTS⁺·, and ·OH radical scavenging abilities being 3.31, 1.28, and

基金项目: 福建省科技计划项目(编号:2023N3007);福建省农业科学院科技重点项目(编号:KJZD202403);泉州市引进高层次人才团队项目(编号:2023CT010)

通信作者: 李维新(1970—),男,福建省农业科学院农产品加工研究所研究员,博士。E-mail:lw406@163.com

收稿日期: 2024-07-19 **改回日期:** 2025-04-08

引用格式: 蓝静,任香芸,苏昊,等. 儿茶素协同亚硫酸解聚山葡萄籽高聚原花青素及抗氧化研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(7): 149-157.

Citation: LAN Jing, REN Xiangyun, SU Hao, et al. Synergistic depolymerization of polymeric proanthocyanidins from *Vitis amurensis* seeds by catechin and sulfurous acid and their antioxidant activity[J]. Food & Machinery, 2025, 41(7): 149-157.

1.21 times higher than those before depolymerization, respectively. The ferricyanide reducing power was also significantly enhanced. [Conclusion] Catechin combined with sulfurous acid demonstrates effective depolymerization of PPC from *V. amurensis* seeds, reduces reagent costs, and significantly enhances antioxidant activity.

Keywords: *Vitis amurensis* seeds; polymeric proanthocyanidins; depolymerization; process optimization; antioxidant activity

原花青素(proanthocyanidin, PC)是一类由黄烷-3-醇单体以不同的聚合度连结而成的黄酮化合物^[1-2],具有抗氧化^[3-4]、保护心血管系统^[5-7]、预防动脉粥样硬化^[8]、降低血脂^[9]、抑制细菌等生物活性^[10],可应用于相关疾病药物的制备。原花青素的聚合度是指原花青素分子中单体之间的连接方式和数量,即原花青素单体的聚合程度,由于原花青素中单体种类较多,一般以平均聚合度(mean degree of proanthocyanidins, mDP)来表示其聚合程度^[11]。聚合度在 2~4 的原花青素被称为低聚原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC),而聚合度在 5 及以上的则被称为高聚原花青素(polymers proanthocyanidins, PPC)^[12-14]。研究^[15]发现,原花青素单体和低聚体在体内能被迅速吸收,而高聚体由于分子较大,难以通过生物膜进入细胞,不易被人体吸收利用。随着原花青素聚合度的增加,其生物利用度会逐渐下降,低聚原花青素,特别是二聚体,具有显著的抗氧化能力^[16],约是 V_E 的 50 倍和 V_C 的 20 倍^[17],且其生物利用度高达 90% 以上^[18]。

葡萄籽中含有大量的原花青素,是工业上植物原花青素的重要来源之一^[19]。在葡萄籽原花青素中,高聚体占比远远大于单体及低聚体^[20],故如何将葡萄籽中的高聚体进行降解,以提升其生物利用率并增强功能性,是目前葡萄籽加工中重要的研究方向^[21]。高聚原花青素的降解方法主要包括酸碱催化降解^[22-23]、催化加氢降解^[24]、黄烷醇单体降解^[25]、生物酶降解^[26]和微生物降解^[27]等多种方法。Potter 等^[28]通过研究发现,将酸催化降解法与黄烷醇单体降解法结合对原花青素进行降解,可以生成相应的二聚体。Suo 等^[29]选用一定浓度的苯硫醇作为亲和降解剂降解葡萄籽高聚原花青素,虽然能够将平均聚合度降低至 2.10~2.47,但同时也引入了新的杂质。文魁山^[30]采用儿茶素结合盐酸的降解方法,使得葡萄籽高聚原花青素的平均聚合度下降了 3.97 个单位。该法虽然加入了亲和试剂促进解聚反应的进行,但盐酸为强酸,其作为降解剂大部分是将高聚原花青素直接转化成花青素类成分^[31],不利于对解聚产物进行生物活性的测定,且儿茶素用量较大,物料比达 1:1,成本较高。由此,亲核试剂结合酸处理降解高聚原花青素的方法具有高效、易控制的优点,但其应用中仍然存在亲核试剂用量大、使用强酸盐酸影响产品安全等问题。

研究拟以紫秋山葡萄籽为原料,在前期从原料中提取、纯化及分离得到高聚原花青素的基础上,使用亲核试剂儿茶素(catechin, C)与葡萄酒加工中常用添加剂弱酸亚硫酸协同解聚高聚原花青素,以期在降低儿茶素使用

量的情况下提高降解率,同时大大提高原花青素的抗氧化能力,为葡萄酒加工副产物葡萄籽的综合利用提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

紫秋山葡萄籽:福建省春秋刺明珠葡萄酒庄园有限公司;

葡萄籽高聚原花青素:通过超声波辅助有机溶剂法从紫秋山葡萄籽中提取、纯化及分离制得,其平均聚合度为 5.92;

儿茶素、香草醛、ABTS、过硫酸钾:分析纯,上海易恩化学技术有限公司;

DPPH:分析纯,北京索莱宝科技有限公司;

亚硫酸及其他实验室常用药品及试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:BSA2201 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

数控超声波清洗器:KQ800DE 型,昆山市超声仪器有限公司;

旋转蒸发器:R206B 型,上海申生科技有限公司;

水浴恒温振荡器:SHA-B 型,杭州钦莱实验仪器有限公司;

分光光度计:UH-5300 型,日立科学仪器(北京)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 高聚原花青素解聚工艺 参考 Luo 等^[32]的方法并作修改,用甲醇溶液配制一定浓度的高聚原花青素母液,称取适量儿茶素,加入到母液中,混合均匀,将混合溶液水浴预热到反应温度,再加入一定量的亚硫酸溶液($SO_2 \geq 6.0\%$),摇匀后迅速放入 200 r/min 恒温水浴振荡器中,在一定温度下反应一定时间,反应结束后取出冷却,加入 0.1 mol/L 的 NaOH 甲醇溶液进行中和以终止反应,稀释后测定平均聚合度。

1.2.2 单因素试验 固定物料比($m_C:m_{PPC}$)0.6:1, H_2SO_3 添加量 5%,反应温度 40 °C,反应时间 20 min,分别考察物料比(0:1, 0.1:1, 0.2:1, 0.3:1, 0.4:1, 0.5:1, 0.6:1, 0.7:1, 0.8:1, 0.9:1, 1:1)、 H_2SO_3 添加量(1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%)、反应时间(15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 min)及

反应温度(25, 30, 35, 40, 45, 50 °C)对山葡萄籽高聚原花青素解聚物平均聚合度的影响。

1.2.3 响应面试验 在单因素试验的基础上,设计四因素(料物比、亚硫酸添加量、反应时间、反应温度)五水平的解聚反应响应面试验,根据 Central Composite 中心组合试验设计原理,运用 Design-Expert 13 软件优化试验设计。

1.2.4 平均聚合度测定 在甲醇体系中原花青素的每个单元都能与香草醛发生反应,建立儿茶素—甲醇标准曲线,可以测得体系中总原花青素的质量含量。而在乙酸体系中,仅原花青素分子链末端的黄烷-3-醇会与香草醛发生缩合反应,建立儿茶素—乙酸标准曲线,可以测得体系中原花青素的物质的量浓度,进而可以求出原花青素末端的黄烷-3-醇的质量含量,将体系中总原花青素的质量含量与末端的黄烷-3-醇的质量含量相除,即可求得原花青素的平均聚合度。

根据张惠^[33]的方法测定平均聚合度。采用甲醇体系的盐酸—香草醛法测定原花青素的质量含量,绘制以吸光度作为纵坐标,儿茶素浓度作为横坐标的标准曲线,得回归方程 $y=0.418\ 2x+0.001$, $R^2=0.999\ 1$ 。采用乙酸体系的盐酸—香草醛法测定原花青素的物质的量浓度,绘制以吸光度为纵坐标,儿茶素浓度为横坐标的标准曲线,得回归方程 $y=5.596\ 9x-0.003\ 1$, $R^2=0.999\ 8$ 。

解聚反应结束后,分别测定降解产物的质量浓度和物质的量浓度,根据式(1)计算出平均聚合度^[34]。

$$D=\frac{\rho}{cM}, \quad (1)$$

式中:

D ——平均聚合度;

ρ ——解聚产物的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

c ——解聚产物的物质的量浓度, $\mu\text{mol/mL}$;

M ——儿茶素的摩尔质量, g/mol 。

1.2.5 抗氧化能力测定

(1) DPPH· 及 ABTS⁺· 清除能力:按 GB/T 39100—2020 执行。

(2) ·OH 清除能力:参照高思琦等^[35]的方法,并略作修改。取 1 mL 6 mmol/L 的 FeSO₄ 溶液和 1 mL 6 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液,再加入 1 mL 不同质量浓度的原花青素(解聚前及解聚后)样品溶液和 2 mL 6 mmol/L 的 H₂O₂ 溶液,于 37 °C 反应 30 min,反应完全后在 510 nm 处测定吸光度 A_1 ,用去离子水代替样品溶液测定吸光度 A_0 ,用去离子水代替 H₂O₂ 溶液测定吸光度 A_2 ,并以 V_c 溶液作为对照,按式(2)计算·OH 清除率。

$$E=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_0}\right)\times 100\%, \quad (2)$$

式中:

E ——·OH 清除率, %;

A_1 ——在反应体系中加入样品后的吸光度;

A_2 ——用去离子水代替 H₂O₂ 后反应体系的吸光度;

A_0 ——用去离子水代替样品后反应体系的吸光度。

(3) 亚铁氰化钾还原力:参照李维新等^[36]的方法,并略作修改。取不同浓度的原花青素(解聚前及解聚后)样品溶液 0.8 mL 加入 2 mL 0.2 mol/L pH 6.6 的磷酸盐缓冲溶液和 2 mL 1% 的铁氰化钾溶液,50 °C 水浴中反应 20 min,冷却后加入 2 mL 10% 的三氯乙酸溶液,混匀,3 000 r/min 离心 10 min,取 0.5 mL 上清液,加入 5.25 mL 蒸馏水和 0.25 mL 0.3% 的三氯化铁溶液,混匀,在 700 nm 处测定吸光度,以吸光度表示还原能力的大小,以 V_c 溶液作为对照。

1.3 数据处理

所有试验重复 3 次,试验数据运用 Excel 进行处理,Origin 2018 进行作图,SPSS 27.0 进行相关性分析,利用统计分析软件 Design-Expert 13 对试验进行设计及分析。

2 结果与分析

2.1 山葡萄籽高聚原花青素降解单因素试验

由图 1(a)可知,在物料比($m_c:m_{\text{PPC}}$)为 0.6:1 之前,原花青素的平均聚合度随着料物比的增加而降低,当料物比为 0.6:1 时平均聚合度降至较低水平,之后随料物比的增加变化较小,表明亲核试剂可能达到饱和利用状态。因此,料物比选择 0.6:1 作为响应面试验的中心水平。

由图 1(b)可知,随着亚硫酸添加量的增加,平均聚合度呈先降低后平稳的趋势,当亚硫酸添加量 < 5% 时,平均聚合度随着亚硫酸添加量的增加而降低;当亚硫酸添加量超过 5% 时,平均聚合度趋于平稳。亚硫酸主要提供了 $[\text{H}]^+$ 作为解聚反应的催化剂,其浓度增加时促使高聚原花青素解聚,当亚硫酸添加量达到一定值后,对高聚原花青素的解聚效果趋于稳定^[37]。因此,亚硫酸添加量选择 5% 作为响应面试验的中心水平。

由图 1(c)可知,反应前 30 min,随着反应时间的增长,产物的平均聚合度降低,当反应时间 > 30 min 时,平均聚合度趋于平稳。反应时间对原花青素的解聚有一定的影响,过短不利于反应的进行,过长则可能导致原花青素发生分解或氧化^[38]。因此,反应时间选择 30 min 作为响应面试验的中心水平。

由图 1(d)可知,当反应温度低于 40 °C 时,产物的平均聚合度随温度的升高略有降低;当反应温度为 40 °C 时,平均聚合度降至最低;当反应温度超过 40 °C 时,平均聚合度不再降低且趋于平衡。有研究^[39-41]表明,山葡萄籽原花青素的提取最佳温度为 45 °C,当温度 > 45 °C 时,原花青素结构不稳定易被破坏。因此,反应温度选择 40 °C 作为响应面试验的中心水平。

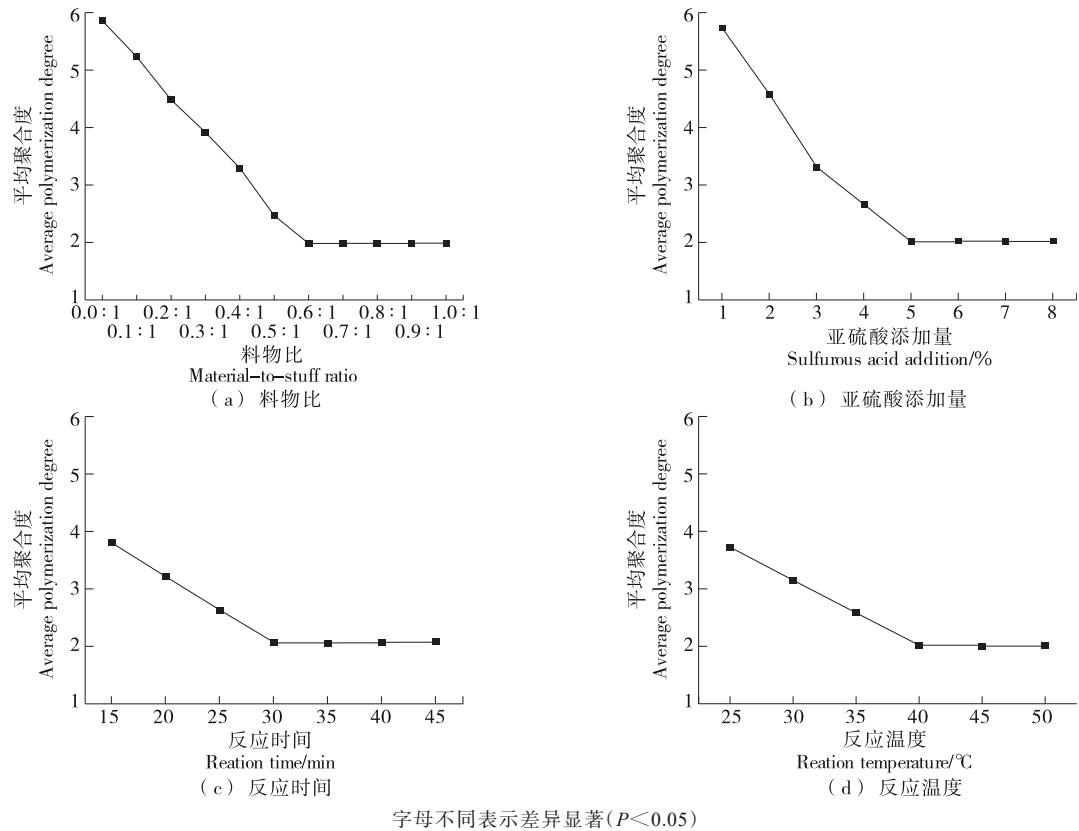


图 1 各因素对山葡萄籽高聚原花青素解聚物平均聚合度的影响

Figure 1 Effects of factors on mDP of depolymerized products of polymeric proanthocyanidins from *Vitis amurensis* seeds

2.2 山葡萄籽高聚原花青素解聚响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果 以单因素试验结果为依据,根据 Central Composite 中心组合试验设计原理,以平均聚合度为响应值,试验中心组合设计见表 1,响应面试验结果见表 2。

2.2.2 回归方程拟合及方差分析 运用 Design-Expert 13 软件对上述试验数据进行多元回归拟合,获得的回归方程为:

$$Y=14.196\ 17-7.107\ 62A-1.184\ 38B-0.173\ 05C-0.192\ 2D+0.371\ 77AB+0.014\ 26AC-0.011\ 89AD+0.005\ 4BC+0.002\ 04BD+0.000\ 17CD+4.014\ 69A^2+0.062\ 05B^2+0.002\ 03C^2+0.002\ 25D^2。(3)$$

表 1 中心组合设计及各因素水平

Table 1 Central composite design and factor levels				
水平	A 料物比	B 亚硫酸添加量/%	C 反应时间/min	D 反应温度/°C
-2	0.4:1	3	20	34
-1	0.5:1	4	25	37
0	0.6:1	5	30	40
1	0.7:1	6	35	43
2	0.8:1	7	40	46

由表 3 可知,模型的 P 值 $<0.000\ 1$,表明模型极显著;失拟项误差 $P=0.075\ 6>0.05$,表明模型与实际试验的拟合较好。模型的 R^2 为 $0.977\ 3$,表明模拟程度较高; R^2_{Adj} 为 $0.956\ 1$,表明该模型可以描述试验中 95.61% 的变异情况; R^2_{Pred} 为 $0.880\ 7$,表明该模型对试验预测较高,对试验具有较强的指导作用, R^2_{Adeq} 为 $21.976\ 3$,表明该模型可以应用于实践中。综上分析,该模型具有较高的拟合度,能有效反映响应量与自变量之间的关系。

一次项 A、B、C,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 ,交互项 AB、BC 对回归模型的影响均达到极显著水平 ($P < 0.01$),结合表 3 中的 F 值可知,各因素对平均聚合度的影响由高到低分别为亚硫酸添加量 $>$ 料物比 $>$ 反应时间 $>$ 反应温度。

2.2.3 响应面交互作用分析 各因子交互作用对平均聚合度的影响见图 2。料物比与亚硫酸添加量如图 2(a)以及亚硫酸添加量与反应时间如图 2(b),两种交互作用的响应面的坡度较陡峭,二者的交互作用对平均聚合度具有极显著影响 ($P < 0.01$),且曲面随着各自两因素值的增大而下降,坡度陡峭,在到达中心点附近时响应值最小,此时平均聚合度最小,而后趋于平稳。

料物比与反应时间如图 2(c)、料物比与反应温度如图 2(d)、亚硫酸添加量与反应温度如图 2(e)及反应时间

表2 响应面试验结果

Table 2 Response surface test results

试验号	A	B	C	D	平均聚合度
1	-1	1	1	-1	1.98
2	0	0	0	0	1.88
3	1	1	1	-1	1.96
4	0	2	0	0	1.95
5	-1	-1	1	-1	2.18
6	-1	1	-1	1	1.98
7	0	0	-2	0	2.18
8	-1	-1	-1	-1	2.38
9	0	0	0	2	1.96
10	-1	-1	1	1	2.17
11	-1	1	-1	-1	2.03
12	0	0	0	-2	1.99
13	1	1	-1	-1	2.03
14	0	0	0	0	1.91
15	1	1	-1	1	2.00
16	0	-2	0	0	2.33
17	-2	0	0	0	2.16
18	0	0	0	0	1.92
19	-1	-1	-1	1	2.35
20	1	1	1	1	1.96
21	0	0	2	0	2.01
22	1	-1	1	-1	2.10
23	2	0	0	0	1.94
24	0	0	0	0	1.93
25	1	-1	-1	-1	2.16
26	1	-1	1	1	2.02
27	1	-1	-1	1	2.15
28	0	0	0	0	1.90
29	0	0	0	0	1.92
30	-1	1	1	1	2.00

与反应温度如图2(f),4个响应面坡度均较为平缓,各两因素之间的交互作用不显著($P>0.05$),表明各交互作用对平均聚合度的影响较小。

2.2.4 优化工艺验证 通过Design-Expert 13软件中心组合法的优化分析可得最佳解聚条件为:料物比0.45:1、亚硫酸添加量6.18%、反应时间31.10 min、反应温度39.87℃,为便于操作,选取条件为料物比0.45:1、亚硫酸添加量6%、反应时间31 min、反应温度40℃,进行3次平行验证实验,在此解聚条件下解聚产物的平均聚合度为 1.83 ± 0.01 ,与模型预测值(1.81)相对误差为1.28%,二者间的差异未达显著水平($P>0.05$),说明该响应面模型与实际拟合结果较好,具有可行性且稳定性较高。

表3 中心组合设计方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance of central composite design

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	备注
模型	0.541 2	14	0.038 7	46.16	<0.000 1	**
A	0.055 0	1	0.055 0	65.68	<0.000 1	**
B	0.227 9	1	0.227 9	272.11	<0.000 1	**
C	0.045 3	1	0.045 3	54.13	<0.000 1	**
D	0.003 0	1	0.003 0	3.60	0.077 3	不显著
AB	0.022 1	1	0.022 1	26.41	0.000 1	**
AC	0.000 8	1	0.000 8	0.97	0.340 0	不显著
AD	0.000 2	1	0.000 2	0.24	0.629 3	不显著
BC	0.011 7	1	0.011 7	13.92	0.002 0	**
BD	0.000 6	1	0.000 6	0.71	0.411 5	不显著
CD	0.000 1	1	0.000 1	0.12	0.729 8	不显著
A ²	0.044 2	1	0.044 2	52.79	<0.000 1	**
B ²	0.105 6	1	0.105 6	126.09	<0.000 1	**
C ²	0.070 9	1	0.070 9	84.67	<0.000 1	**
D ²	0.011 3	1	0.011 3	13.48	0.002 3	**
残差	0.012 6	15	0.000 8			
失拟项	0.011 1	10	0.001 1	3.83	0.075 6	不显著
纯误差	0.001 4	5	0.000 3			
总和	0.553 8	29				

[†] **表示影响极显著($P<0.01$); R^2 为0.977 3; R_{Adj}^2 为0.956 1; R_{Pred}^2 为0.880 7; R_{Adeq}^2 为21.976 3。

2.3 山葡萄籽高聚原花青素解聚前后抗氧化活性对比

2.3.1 解聚对DPPH·清除能力的影响 由图3可知,山葡萄籽原花青素解聚后能够提升对DPPH·的清除作用,在样品质量浓度为0.05~0.50 mg/mL时,PPC(解聚前)和OPCs(解聚后)对DPPH·的清除率分别为8.81%~56.02%,29.67%~80.12%,其中,解聚后的清除率接近阳性对照 V_c 溶液的。解聚前后的样品与 V_c 溶液的 IC_{50} 值大小为 $PPC>OPCs>V_c$,其中解聚前的 IC_{50} 是解聚后的3.31倍(表4),表明采用儿茶素协同亚硫酸的降解方法能够显著提高原花青素对DPPH·的清除能力。

2.3.2 ABTS⁺清除能力 由图4可知,山葡萄籽原花青素经解聚后能够在一定程度上提升对ABTS⁺的清除作用,在样品质量浓度为0.02~0.08 mg/mL时,PPC(解聚前)和OPCs(解聚后)对ABTS⁺的清除率分别为8.03%~52.02%,24.81%~58.93%,阳性对照 V_c 溶液的清除率为27.67%~63.75%。解聚前后的样品与 V_c 溶液的 IC_{50} 值大小为 $PPC>OPCs>V_c$,解聚前的 IC_{50} 值是解聚后的1.28倍(表5),表明采用儿茶素协同亚硫酸的降解方法能够提高原花青素对ABTS⁺的清除能力。

2.3.3 ·OH清除能力 由图5可知,解聚前后原花青素样品对·OH的清除率随着样品质量浓度的增大而增大,解

是解聚后的 1.21 倍(表 6),表明采用儿茶素协同亚硫酸的降解方法能够提高原花青素对 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力。

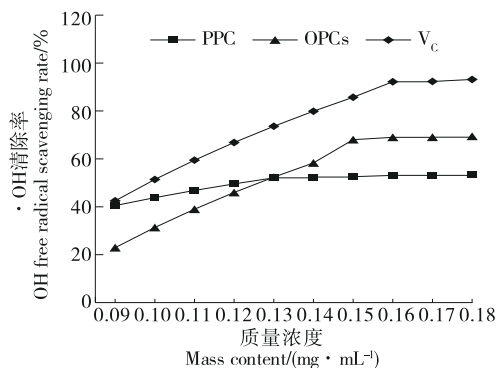


图 5 原花青素对 $\cdot\text{OH}$ 的清除效果

Figure 5 Effects of proanthocyanidins on hydroxyl radical scavenging

表 6 原花青素的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力[†]

样品	平均聚合度	线性方程	R^2	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
PPC	5.92	$y=41.265x-156.21$	0.989 2	147.14 ± 1.15^A
OPCs	1.83	$y=31.425x-100.89$	0.979 9	121.70 ± 2.74^B
V_c	—	$y=84.659x-338.47$	0.975 9	99.11 ± 1.32^C

[†] 字母不同表示差异极显著($P<0.01$)。

2.3.4 铁氰化钾还原力 由图 6 可知,解聚后原花青素(OPCs)的还原力仍低于 V_c 溶液,但与解聚前原花青素(PPC)的还原力相比得到了显著提升,表明采用儿茶素协同亚硫酸的降解方法能够显著提高原花青素对铁氰化钾的还原力。

3 结论

以紫肤山葡萄籽中提取纯化的高聚原花青素为研究

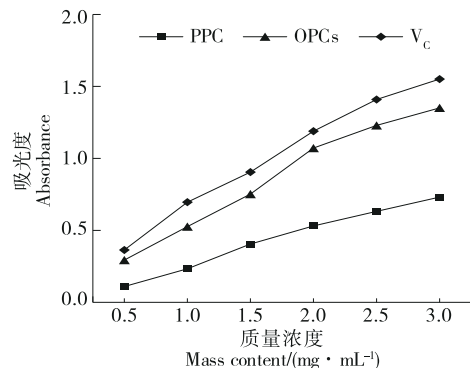


图 6 原花青素的铁氰化钾还原力

Figure 6 Potassium ferricyanide reducing abilities of proanthocyanidins

对象,采用亲核试剂儿茶素与较为安全的葡萄酒加工常用添加剂亚硫酸协同解聚高聚体,通过单因素试验和响应面试验,使儿茶素使用量比其他类似研究降低了 55%,降解后平均聚合度为 1.83。确定了儿茶素协同亚硫酸降解山葡萄籽高聚原花青素的最佳工艺条件为:料物比 0.45:1、亚硫酸添加量 6%、反应时间 31 min、反应温度 40 $^{\circ}\text{C}$,降解后原花青素的平均聚合度与解聚前相比下降了 4.09 个单位。在最优降解条件下获得的低聚原花青素(平均聚合度为 1.83)的 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^+$ 及 $\cdot\text{OH}$ 的清除能力分别为降解前高聚体的 3.31 倍、1.28 倍及 1.21 倍,铁氰化钾还原力与降解前高聚体的相比得到了显著提升。

参考文献

- [1] 何志贵,徐祥林,崔莹莹,等.三叶青原花青素纯化工艺及抗氧化、 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J].食品工业科技,2022,43(6):178-185.
HE Z G, XU X L, CUI Y Y, et al. Study on purification process and antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity of proanthocyanidins from *Tetrastigma hemsleyanum*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 178-185.
- [2] DOWNING L E, FERGUSON B S, RODRIGUEZ K, et al. A grape seed procyanidin extract inhibits HDAC activity leading to increased Ppara phosphorylation and target-gene expression [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2017, 61(2): 1600347.
- [3] DELALUZ CADIZ-GURREA M, BORRAS-LINARES I, LOZANO-SÁNCHEZ J, et al. Cocoa and grape seed byproducts as a source of antioxidant and anti-inflammatory proanthocyanidins[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(2): 376.
- [4] CHANG C H, CHIU H F, HAN Y C, et al. Photoprotective effects of cranberry juice and its various fractions against blue light -induced impairment in human retinal pigment epithelial cells[J]. Pharmaceutical Biology, 2017, 55(1): 571-580.
- [5] VALLS R M, LLAURADÓ E, FERNÁNDEZ-CASTILLEJO S, et al. Effects of low molecular weight procyanidin rich extract from french maritime pine bark on cardiovascular disease risk factors in stage-1 hypertensive subjects: randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled intervention trial[J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2016, 23(12): 1451-1461.
- [6] RICHTER C K, SKULAS-RAY A C, GAUGLER T L, et al. Effects of cranberry juice supplementation on cardiovascular disease risk factors in adults with elevated blood pressure: a randomized controlled trial[J]. Nutrients, 2021, 13(8): 2618.
- [7] THIMÓTEO N S B, SCAVUZZI B M, SIMÃO A N C, et al. The impact of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) and cranberry products on each component of the metabolic

- syndrome: a review[J]. *Nutrire*, 2017, 42: 1-12.
- [8] RONG S, HU X T, ZHAO S Q, et al. Procyanidins extracted from the litchi pericarp ameliorate atherosclerosis in ApoE knockout mice: their effects on nitric oxide bioavailability and oxidative stress[J]. *Food & Function*, 2017, 8(11): 4 210-4 216.
- [9] 张艳华, 汪雄, 王文利, 等. 葡萄籽原花青素对高脂高糖饮食诱导代谢综合征大鼠干预作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 112-120.
- ZHANG Y H, WANG X, WANG W L, et al. Effects of grape seed proanthocyanins on high-fat and high-sugar diet-induced metabolic syndrome in rats[J]. *Food Science*, 2020, 41(1): 112-120.
- [10] 涂芬, 苏云霞, 黄雪薇, 等. 不同聚合度板栗壳原花青素的体外抗氧化活性、抑菌活性及其组成分析[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(6): 59-65.
- TU F, SU Y X, HUANG X W, et al. Antioxidant, antimicrobial activity and structure analysis of procyanidins with different polymerization degree from Chinese chestnut shell[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(6): 59-65.
- [11] YANG H H, YE X Q, LIU D H, et al. Characterization of unusual proanthocyanidins in leaves of bayberry (*Myricarubra sieb. et Zucc.*)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(5): 1 622-1 630.
- [12] LI X, LIU J L, CHANG Q X, et al. Antioxidant and antidiabetic activity of proanthocyanidins from *Fagopyrum dibotrys*[J]. *Molecules*, 2021, 26(9): 2 417.
- [13] 曾雨, 杨晓迪, 胡卓炎, 等. 不同品种荔枝壳中原花青素的鉴定及其体外抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(21): 218-226.
- ZENG Y, YANG X D, HU Z Y, et al. Identification of procyanidins in the pericarps of different litchi cultivars and their *in vitro* antioxidant activities[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(21): 218-226.
- [14] 纪秀凤, 吕长鑫, 芦宇, 等. 响应面优化碱降解红树莓籽高聚原花青素及对降血糖酶活性抑制作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(4): 159-165.
- JI X F, LV C X, LU Y, et al. Response surface optimization of alkaline degradation process of high polymeric proanthocyanidins from red raspberry seed and inhibitory activities on hypoglycemic enzymes[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(4): 159-165.
- [15] ZHANG R Y, KONG W Q, QIN Z, et al. Modified Chinese quince oligomeric proanthocyanidin protects deep-frying oil quality by inhibiting oxidation[J]. *Food Chemistry*, 2024, 444: 138642.
- [16] SPRANGER I, SUN B S, MATEUS A, et al. Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds[J]. *Food Chemistry*, 2008, 108: 519-532.
- [17] 梁红敏, 高德艳, 胡文效. 葡萄籽低聚原花青素体外抗氧化活性研究[J]. *中国酿造*, 2017, 36(4): 149-152.
- LIANG H M, GAO D Y, HU W X. *In vitro* antioxidant capacity of grape seed oligomeric procyanidins[J]. *China Brewing*, 2017, 36(4): 149-152.
- [18] LU Y R, YEAP FOO L. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. *Food Chemistry*, 2000, 68(1): 81-85.
- [19] 伍勇, 邹蝶, 卢倩, 等. 巨峰葡萄籽原花青素的纯化与抗氧化活性分析[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(1): 131-138.
- WU Y, ZOU D, LU Q, et al. Purification and antioxidant activity analysis of proanthocyanidins from jufeng grape seeds[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(1): 131-138.
- [20] 杨洋. 葡萄籽高聚原花青素的降解及抗衰老作用比较[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021: 7.
- YANG Y. Degradation of polymeric proanthocyanidins from grape seeds and anti-aging effect comparison[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021: 7.
- [21] 李森, 胡文泽, 岳国鑫, 等. 高聚原花青素降解技术研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 417-423.
- LI M, HU W Z, YUE G X, et al. Review on degradation technology of polymeric proanthocyanidin[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(7): 417-423.
- [22] 赵平, 张月萍, 任鹏. 原花青素高聚体水解[J]. *中国食品添加剂*, 2012(5): 124-128.
- ZHAO P, ZHANG Y P, REN P. Hydrolysis of proanthocyanidins polymer[J]. *China Food Additives*, 2012(5): 124-128.
- [23] WHITE B L, HOWARD L R, PRIOR R L. Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(13): 7 572-7 579.
- [24] LI Z, ZENG J J, ZOU T H, et al. Hydrogenolytic depolymerization of procyanidin polymers from hi-tannin sorghum bran[J]. *Food Chemistry*, 2015, 188: 337-342.
- [25] LIU H W, TAO Z, GAO J M, et al. Depolymerization of cranberry procyanidins using (+)-catechin, (-)-epicatechin, and (-)-epigallocatechin gallate as chain breakers[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(1): 488-494.
- [26] DEVENISH S R A, GERRARD J A. The quaternary structure of *Escherichia coli* N-acetylneuraminidase is essential for functional expression[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 388(1): 107-111.
- [27] 邓兆雯. 荔枝皮高聚原花青素生物转化的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020: 37-53.
- DENG Z W. Study on the biotransformation of polymeric proanthocyanidins from litchi (*Litchi chinensis* Sonn) pericarp [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020: 37-53.
- [28] PORTER L J, HRSTICH L N, CHAN B G. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin

- [J]. *Phytochemistry*, 1985, 25(1): 223-230.
- [29] SUO H, TIAN R C, LI J, et al. Compositional characterization study on high-molecular-mass polymeric polyphenols in red wines by chemical degradation[J]. *Food Research International*, 2019, 123: 440-449.
- [30] 文魁山. 葡萄籽原花青素高聚体的解聚方法与条件优化的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018: 47.
- WEN K S. Study on depolymerization method and condition optimization of grape seed polymeric proanthocyanidins[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018: 47.
- [31] 王新伟. 山葡萄种质资源原花青素动态含量变化及提取、降解研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011: 35.
- WANG X W. Studys of the extraction and degradation in procyanidine, and the dynamic contents in germplasm resources on *Vitis amurensis* Rupr. [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011: 35.
- [32] LUO L X, CUI Y, CHENG J H, et al. An approach for degradation of grape seed and skin proanthocyanidin polymers into oligomers by sulphurous acid[J]. *Food Chemistry*, 2018, 256: 203-211.
- [33] 张惠. 莲房高聚体原花青素催化降解工艺研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018: 16-17.
- ZHANG H. Study on the catalytic degradation process of high polymer procyanidins form lotus seed pot[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2018: 16-17.
- [34] 王丹阳. 葡萄籽原花青素的分离纯化、降解及结构鉴定[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021: 27.
- WANG D Y. Purification, depolymerization and identification of proanthocyanidin from grape seed[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2021: 27.
- [35] 高思琦, 吴越, 沈雪, 等. 花楸原花青素保存条件优化及其抗氧化性研究[J]. *食品工业*, 2023, 44(10): 84-90.
- GAO S Q, WU Y, SHEN X, et al. Optimization of preservation conditions and study on antioxidant properties of rowan proanthocyanidins[J]. *The Food Industry*, 2023, 44(10): 84-90.
- [36] 李维新, 郭艳波, 何志刚, 等. 南方2种山葡萄酒体外抗氧化能力的研究[J]. *福建农业学报*, 2013, 28(7): 714-717.
- LI W X, GUO Y B, HE Z G, et al. Evaluation on *in vitro* antioxidant activity of southern wild grape wines[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 28(7): 714-717.
- [37] QI Y J, ZHANG H, AWIKA J M, et al. Depolymerization of sorghum procyanidin polymers into oligomers using HCl and epicatechin: Reaction kinetics and optimization[J]. *Journal of Cereal Science*, 2016, 70: 170-176.
- [38] FU C L, CHEN W, QUEK Y L, et al. Sustainability from agricultural waste: chiral ligands from oligomeric proanthocyanidins via acid-mediated depolymerization[J]. *Tetrahedron Letters*, 2010, 51(48): 6 322-6 324.
- [39] 张强, 渠淑洁, 戴航. 南酸枣叶原花青素的提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *中国饲料*, 2024(5): 51-56.
- ZHANG Q, QU S J, DAI H, et al. Optimization of extraction process of proanthocyanidins from *Choerospondias axillaris* leaves and evaluation of antioxidative activity[J]. *China Feed*, 2024(5): 51-56.
- [40] 陈茵茹. 吐鲁番葡萄籽原花青素的提取纯化及抗菌抗氧化研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2013: 29.
- CHEN Y R. Study on extraction and purification and antibacterial antioxidant of procyanidins from grape seed in Turpan [D]. Urumqi: Xinjiang University, 2013: 29.
- [41] 韦永贵, 董卓娅, 张晓磊, 等. 紫米米糠中原花青素提取工艺与测定[J]. *农产品加工*, 2024(8): 67-70.
- WEI Y G, DONG Z Y, ZHANG X L, et al. Extraction technology and determination of proanthocyanidins of from purple rice bran[J]. *Farm Products Processing*, 2024(8): 67-70.