鲜食葡萄花色苷的研究进展

吴斌[1,2]，张玉丽[1]，程琳琳[1]，吴忠红[2]，车凤斌[2]，王吉德[1]
（1.新疆大学化学化工学院，新疆乌鲁木齐 830046）
（2.新疆农业科学院农产品贮藏加工研究所，新疆乌鲁木齐 830091）

摘要：鲜食葡萄果皮中含有大量酚类活性物质，主要为胡萝卜素、花色苷和原花色素等，占多总酚量的95%。本文就近几年来国内外对葡萄果皮中的花色苷研究进行文献综述，系统介绍了葡萄果皮中主要花色苷的种类、结构与性质，进一步阐述了花色苷分析的主要提取及鉴定方法，应用与展望。对鲜食葡萄在贮藏过程中花色苷稳定性和功能性作用的研究提供一定的参考价值。

关键词：葡萄；二氧化硫；花色苷；果皮
文章篇号：1673-9078(2012)4-441-444

Researches on Anthocyanins of Grape Fruit

WU Bin[1,2], ZHANG Yu-li[1], CHENG Lin-lin[1], WU Zhong-hong[2], CHE Feng-bin[2], WANG Ji-de[1]
(1.College of Chemistry & Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)
(2.Farm Product Storage and Processing Institute, Xinjiang Academy of agricultural sciences, Urumqi 830091, China)

Abstract: Grape skin contains a large number of physiologically active substances. The majority of which is anthocyanins, proanthocyanidins and phenolic compounds, accounting for 95% polyphenols. In this paper, researches on the grape skin anthocyanins were reviewed, including the types of anthocyanins, structure and properties, the extraction and identification methods.

Key words: grape; sulfur dioxide (SO_2); anthocyanins; skin

花色苷是一类重要的植物色素，广泛存在于植物的花、叶和果皮中，葡萄是花色苷色素的主要来源，含量一般在0.30~7.50 mg/g鲜重。葡萄花色苷来源丰富，是人们熟悉的水溶性色素，呈宝石红，主要存在于葡萄的果皮中，属于黄酮类化合物，其具有黄酮的$C_6C_3C_6$结构。葡萄果皮中花色苷不但含量高，而且种类多[1]。葡萄花色苷作为一种天然食用色素，安全、无毒，具有降低肝脏及血清中脂肪含量、抗氧化、抗诱变、延迟血小板凝集等多种生理和药用活性功能[2]，在食品、化妆品、医药等领域有着很大的应用前景。我国拥有丰富的葡萄资源，许多葡萄饮料和酿酒加工中也存在着大量废弃的葡萄皮残渣，可从中提取天然色素[3]，其成本低且效益高，具有良好的市场前景[4]。由此，对葡萄花色苷的开发及利用研究备受关注，并在近些年取得了一定进展。

1 葡萄花色苷的生物学特性

目前已知结构的花色苷大约有250余种，常见的花色苷有花青苷、飞燕草素糖苷、天竺葵素糖苷、锦葵素糖苷、芍药素糖苷等。葡萄中的花色苷因品种而异，主要有飞燕草素糖苷、花青苷、矮牵牛色素糖苷、芍药素糖苷和锦葵素糖苷，其中锦葵素糖苷为多。葡萄花色苷主要分布于果皮、果肉、葡萄籽、芽鳞片等器官中，但以果皮中含量为最高[5]。花色苷为水溶性天然食用色素，其溶解度随花色苷种类的不同而有差异，一般可溶于水和乙醇溶液，不溶于乙醚、氯仿等有机溶剂,其颜色随羟基（-OH）、甲氧基（$-OCH_3$）、糖的结合位置及花色素苷种类的数目不同而有差别，影响花色苷稳定性的主要因素有花色素苷的结构、pH、温度和氧、酶降解等[6]。

葡萄花色苷的生物合成在一系列酶的作用下受细胞膜的控制。通过一系列的化学合成后，使之转化为乙酸与苯丙氨酸，它们在细胞质中最终转化为色素。随后，由液泡膜进入液泡中。在其他植物中许多调控基因作用于花色苷合成途径中的2个或多个结构基因，葡萄花色苷合成途径中的结构基因也可能受到调控基因的控制，但尚未有直接证据表明葡萄花色苷调控基因及其作用的靶位点。据Sparvoli等试验推测，在葡萄果皮中花色苷生物合成的控制位点可能是UFGT[7]。

研究发现，法国人心脏病的发病率相对较低，分

收稿日期：2012-01-18
基金项目：“十二五”国家科技计划项目（2011BAD27B01-01-B）；国家自然科学基金（31060227）
作者简介：吴斌（1973-）男，博士，副研究员，研究方向为农产品贮藏与加工

析原因是与其爱红葡萄酒有关，酒中含有的花色苷能有效地清除超氧自由基和羟基。在体外实验中，花色苷亦能明显抑制低密度脂蛋白的氧化和血小板的聚集，而这两种物质是引起动脉硬化和心血管疾病的主要因子。从红葡萄中提取的花色苷还能抑制胃癌细胞 HCT-15 的生长，并且效果要比其它药物好的多。Jankowski[8]用红葡萄酒中提取的花色苷和链唑霉素饲喂养患有糖尿病的大鼠，发现大鼠尿和血浆中的含糖量降低很多，由链唑霉素引起的大鼠体重降低现象也不复存在。可见，葡萄花色苷的生理功能具有很大的开发和利用价值。

2 葡萄花色苷的提纯与测定分析

2.1 葡萄花色苷的提取

研究葡萄果皮中花色苷的提取方法，对于利用葡萄果皮开发功能性食品具有重要意义。花色苷提取方法的选择取决于提取的目的和花色苷本身的组成，其依据是花色苷的溶解性、显色性和稳定性等[9]。目前主要应用的有溶剂法，超声波辅助提取法，微波萃取法和酶法提取法等。

对于溶剂法提取葡萄花色苷，国外多采用盐酸化的甲醇、丙酮、硫酸、乙酸或盐酸水溶液，国内则多采用柠檬酸、盐酸水溶液和酸化乙醇[10,11]。周雯雯等[12]优化了溶剂法，认为 80%的乙醇溶液，料液比 1:7，提取温度 80 ℃，提取时间 2 h 时为葡萄花色苷提取的最佳工艺条件，但溶剂提取法提取率较低。苗颖等[13]通过超声波辅助提取法得出 90%的乙醇溶液为提取溶剂，提取温度 60 ℃、料液比为 1:6 时，超声作用 20 min，葡萄花色苷粗产品的提取率可达到 7.38%，此法与传统乙醇浸提法相比，大大提高了葡萄花色苷的提取率，并且缩短了提取时间。微波萃取法最早在 1986 年被 Ganzlert 等人首先用于分离各种类型化合物，目前已被广泛应用于各个领域。薛海燕[14]]通过正交实验得出：微波火力为 60%，醇浓度为 40%，酸浓度为 0.5%，时间 10 s 时，微波处理对葡萄花色苷的提取效果有明显的促进作用。杨晓伟[15]等利用酶的高效性和专一性，得出了提取葡萄花色苷的最优条件，并证明酶法提取葡萄皮渣中的花色苷不但可以节省溶剂的用量，还可减少色素样品中溶剂的累积残留量，在减少溶剂和环境污染的同时提高提取率，达到节省资源，实现工业化的目的。

近些年，也有人利用亚临界水提法对葡萄花色苷进行提取，2007 年，Luque-Rodriguez 等人就采用动态过热流体来提取葡萄花色苷，并对提取工艺进行了优化[16]。此法虽清洁、有效、色素提取量为传统动态固液萃取的三倍，但其所需的工艺条件较高，不易实现产业化，因此应用还受局限性。

2.2 葡萄花色苷的纯化

目前国内外主要采用酶法、大孔吸附树脂法、离子交换树脂法等对分离后葡萄花色苷进行纯化。

酶纯化是利用酶的专一和高效催化作用。在常温，中性的条件下，可使天然色素粗制品中的杂质通过酶的反应除去，从而达到精制的目的。曾有日本专利报道[17]，在蚕砂中提取的叶绿素粗品中加入脂肪酶的活化液后，可得到优质的叶绿素。吴朝霞等[18]应用大孔吸附树脂对多种天然色素具有良好的吸附和纯化效果，选择 HPD600 和 HPD450 两种大孔树脂做柱层析纯化葡萄籽原花青素，结果表明 HPD600 为吸附葡萄籽原花青素的最佳树脂，可使原花青素的纯度达到 95%。刘成梅等[19]也利用离子交换树脂法，对葡萄皮浸出的花色苷红色素浸提浓缩液用磺酸型阳离子交换树脂进行纯化，除去了其中的糖和有机酸化合物等杂质，使色素产品得以纯化，产品的稳定性得到提高。

2.3 葡萄花色苷的定性和定量分析

花色苷种类繁多,现已发现的就有 400 多种，而且每年不断有新的花色苷被发现。花色苷的定性和定量对于人们认识其结构、理化性质和生理功能，进行新资源的开发及指导生产有十分重要的意义。

目前可应用于葡萄花色苷的定性有纸层析、薄层层析、光谱分析法等 7 种方法，但以 HPLC、HPLC-MS 为主要分析手段。Garrido Frenich A 等[20]人用 HPLC 成功的从葡萄皮中提取鉴定了 3-O-葡萄糖苷。HPLC 可以在 30 min 内分离 15 种不同的花色苷，其分辨能力远远超过纸层析和薄层层析。但是，由于缺乏花色苷的标准对照品，使得仅靠 HPLC 方法对花色苷进行定性和定量分析还不够充分。Zhang 等[21]人利用 HPLC-MS 联用的方法对花色苷进行了鉴定，该法克服了 HPLC 法缺少标准品的缺陷，大大提高了花色苷鉴定的准确性。

通过 pH 示差法、差减法、HPLC 法等可对葡萄花色苷进行定量分析，近些年使用 HPLC 法较为普遍，其基于花色苷的浓度与色谱图中峰面积成正比，由此做定量分析，且简单易于操作[22]。

3 鲜食葡萄贮藏过程中花色素苷的变化

3.1 鲜食葡萄贮藏现状

葡萄是世界上产量最大的果品，目前世界栽培面积已达 1000 万 hm^2，年产量近 6000 万 t，占世界水果总产量的 20%。鲜食葡萄主要以巨峰系品种和玫瑰香品种为主，近年红地球、瑞必尔、黑大粒等大粒品种

以及皇家秋天、克瑞森等无核品种有相当强的发展势头，但仍然不能满足人们消费水平提高的要求，其中以高档无核葡萄和红地球为主深受消费者的喜爱[23]。近年，国内外对葡萄的贮藏保鲜技术研究较多，有冷藏、冰温贮藏，臭氧贮藏保鲜、辐射处理、保鲜剂处理等。由于国内气调产品造价高，故应用比较少[24]。冰温贮藏和臭氧贮藏大多还处于研究实验阶段。目前应用较广泛的是冷藏和保鲜剂处理相结合，保鲜剂主要为防腐剂，商业化使用最多的是 SO_2 熏蒸方式，其既可控制葡萄各种贮藏病害的发生，又有明显的保鲜作用。但 SO_2 处理葡萄容易出现两大问题，一是会对果皮产生漂白作用，二是容易在果实中积累，造成残留量超标。2002 年王吉德等人首次将新型的防腐杀菌剂 ClO_2 应用于葡萄保鲜，并取得了一定效果[25]。为了弥补 SO_2 浓度难以控制的缺陷，结合绿色广普的 ClO_2 杀菌剂形成了双组份保鲜剂[26]。SO_2 和 ClO_2 相互作用，互补抑菌范围，起到双重杀菌的作用,但其也存在着释放期短和稳定性差的缺陷。

3.2 贮藏过程中 SO2 对葡萄花色苷的影响

葡萄贮藏过程中以灰霉引起的腐烂造成损失最为严重，SO_2 是一种强还原剂，可减少植物组织中氧的含量，抑制氧化酶和微生物的活动，从而阻止腐败变质、变色及 Vc 的损耗，从而延长葡萄的贮藏保鲜期。为此，国内外普遍采用 SO_2 熏蒸处理来处理。浓度过小不足于抑制真菌的生长，起不到保鲜的作用；但浓度过大，会对葡萄产生药害，浆果上表现为轻者漂白，形成下陷漂白点，重者葡萄组织结构受损伤，果粒带刺鼻气味，损伤处凹陷变褐。有研究发现适宜浓度的 SO_2 处理可以减缓对葡萄果皮花色素苷的褪色作用，但会存在 SO_2 残留量过高的问[27]。因此，保持葡萄果皮花色素苷的稳定性和降低 SO_2 残留量是提高葡萄贮藏品质和食用安全性的重要途径之一。

葡萄的生物学特性决定了其长期贮藏必须采用防腐保鲜技术。从 1972 年起葡萄商业化主要采用 SO_2 处理来提高葡萄采后贮藏品质[28]。鲜食葡萄在采后贮藏过程中花色素苷的变化不仅能影响到果实外在品质，还影响到葡萄的食用安全性。目前，关于葡萄花色苷与 SO_2 的反应研究多数集中在葡萄酒行业，葡萄酒在酿造贮藏过程中花色素苷与亚硫酸盐（SO_2）或重亚硫酸盐（HSO_3^-）的反应是可逆的，能引起颜色的减退而形成一种无色的结合物。SO_2 在低浓度时，对果汁中的花色素苷具有稳定性作用。因为它可与 Vc 或芸香苷（一种辅色剂）有效地结合。但实际应用时，亚硫酸盐常常使花色素苷褪色。SO_2 与花色素苷在葡萄酒中作用方式（见图 1）即花色素苷与 SO_2 结合成花色素苷-SO_3^-复合物[26]。关于 SO_2 在鲜葡萄贮藏中与花色素苷的反应机理是否与葡萄酒中一致的报道较少，对其作用原理还需进一步探讨。

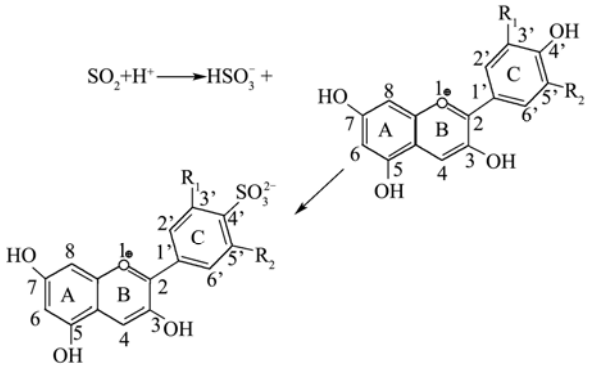


图 1 二氧化硫与花色苷反应方程

Fig.1 The reaction shemes for sulfur dioxide and anthocyanins

4 结论与展望

4.1 葡萄花色苷因其色泽鲜艳，比人工合成色素更具营养价值和安全性，特别适宜用作食品添加剂，目前已广泛应用于果酱、冰淇淋、糖果等食品中。葡萄是我国重要的果树，改革开放和农村产业结构的调整促进了葡萄栽培业的发展，特别近十年葡萄栽培面积和产量一直呈上升趋势，为花色苷提供了广阔的来源。同时，许多葡萄饮料和酿酒加工中存在大量废弃的葡萄皮残渣，而这些葡萄皮中含有大约 60%的花色苷，从中提取葡萄花色苷可以充分利用废弃资源，也可减轻环境污染。

4.2 花色苷最突出的作用就是使植物呈现出五颜六色，但其也是一类具有保健功能的活性成分。研究表明：葡萄花色苷具有很强的抗氧化作用，可以清除体内的自由基；降低氧化酶的活性；可以降低高血脂大鼠的甘油脂水平，改善高甘油脂脂蛋白的分解代谢；抑制胆固醇吸收，降低低密度脂蛋白胆固醇含量；抗变异、抗肿瘤、抗过敏、保护胃粘膜等多种功能，由此可以说明，葡萄花色苷有着不可忽视的药用价值[29]。

4.3 天然的葡萄花色苷因其鲜艳的色调，广泛的生理活性，已在食品工业和医学界占据着主导作用。但由于其不稳定性及利用率极低，中国每年至少浪费的花色苷已达数万吨。目前可用来提高花色苷稳定性较好的方法是通过分子内或分子间辅色作用、化学改性以及生物工程、组织培养等技术[30]。另外，研究表明：不同种类的花色苷混合使用比单一的稳定效果好。故我们期待着葡萄花色苷在给食品鲜艳色泽的同时，也能为提高人民生活水品和身体素质方面做出更大贡献，展现出更大的应用价值。

参考文献

[1] 张学英,张上隆,骆军,等.果实花色素苷合成研究进展[J].果树学报,2004,24(5):456-460

[2] 唐传核,彭志英.天然花色苷类色素的生理功能及应用前景[J].食品添加剂,2001,1:26-28

[3] 吕忠进.天然食用色素的开发现状及研究进展[J].江苏食品与发酵,1993,1:23-24

[4] 石永峰.国外食品天然色素研究进展[J].食品与机械,1997,3:32-34

[5] 温普红,王晓玲,杨得锁.葡萄籽中花色素的分离研究[J].精细化工,2001,18(4):218-219

[6] Maier T, Fromm M, Schieber A. Process and storage stability of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics in pectin and gelatin gels enriched with grape pomace extracts [J]. European Food Research and Technology, 2009, 6: 949- 960

[7] Mazza G, Cacace J E, Kay C D. Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids [J]. Journal-Aoac International, 2004,87(1): 129-145

[8] Jankowski A, Jankowska B, Niedworok J. The effect of anthocyanin dye from grapes on experimental diabetes [J]. Folia medica Cracoviensia, 2000, 41(3-4): 5-15

[9] 史海英,吕晓玲.紫玉米色素的稳定性研究[J].现代食品科技,2007,23(11):7-10

[10] 资名扬,王琴,温其标.紫甘薯花色苷光谱特性及抗氧化性的研究[J].现代食品科技,2009,25(11):1279-1281

[11] 邹阳,张秀玲,石岳.野生蓝莓果实中花色苷色素提取工艺的研究[J].现代食品科技,2007,23(1):60-62

[12] 周雯雯,陈卫平,方曼轩.葡萄皮色素提取工艺的研究[J].安徽农业科学,2008,36(14):5703-5704,5741

[13] 苗颖,吴淑娟.超声波法提取葡萄皮色素[J].食品研究与开发,2009,30(3):190-193

[14] 薛海燕.葡萄皮色素的提取及纯化研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2005

[15] 杨晓伟,薛红玮,牟德华.酿酒葡萄皮渣中花色苷提取工艺的优化[J].食品与机械,2009,25(2):130-132

[16] Luque-Rodriguez J M, Luque de Castro M D, P¨¦rez-Juan P. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues [J]. Bioresource technology, 2007, 98(14): 2705-2713

[17] 刘钟栋.食品添加剂原理及应用技术[M](第二版).北京:中国轻工业出版社,2000

[18] 吴朝霞,吴朝晖.大孔吸附树脂纯化葡萄籽原花青素的研究[J].食品与机械,2006,22(4):46-48

[19] 刘成梅,游海.天然产物有效成分的分离与应用[M].北京:化学工业出版社,2003

[20] Garrido Frenich A, Aguilera-Luiz M M, Mart¨ªnez Vidal J L. Comparison of several extraction techniques for multiclass analysis of veterinary drugs in eggs using ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytica chimica acta, 2010, 661(2): 150-160.

[21] Zhang Z, Xuequn P, Yang C. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp [J]. Food Chemistry, 2004, 84(4): 601-604.

[22] Paola-Naranjo R D, Sanchez-Sanchez J, Gonzalez-Paramas A M, et al. Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of anthocyanin composition of dark blue bee pollen from Echium plantagineum [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1054(1-2): 205-210.

[23] 高扬,杨丽芳,张晓玉.中国葡萄产业的现状、趋势与发展建议[J].河北果树,2007,2:1-2

[24] 关文强,张华云,刘兴华.葡萄贮藏保鲜技术研究进展[J].果树学报,2002,19(5):326-329

[25] 王吉德,孙月华,付军怀等.二氧化氯保鲜剂[P].申请号:02154457.3

[26] 张玉萍.新疆葡萄甜瓜保鲜技术研究与应用[D].乌鲁木齐:新疆大学,2006

[27] 葛毅强,谭敦炎,张惟一.SO_2 对鲜葡萄采后熏蒸处理的组织解剖研究[J].西北植物学报,1997,17(4):516-521

[28] Morris J R, Fleming J W, Benedict R H, et al. Effects of sulfur dioxide on postharvest quality of mechanically harvested grapes [J]. Ark. Farm Res, 1972, 21(2): 5

[29] 张泽生,李博轩,王冀.葡萄皮中花色苷的体外抗氧化研究[J].食品研究与开发,2007,28(2):148-154

[30] 孙建霞,张燕,胡小松,等.花色苷的结构稳定性与降解机制研究进展[J].中国农业科学,2009,42(3):996-1008