

不同单品种葡萄酒中白藜芦醇以及 白藜芦醇苷含量的研究

杨莹, 管敬喜, 谢太理, 文仁德, 黄羽

(广西农科院葡萄与葡萄酒研究所, 广西作物遗传改良生物技术重点实验室, 广西 南宁 530007)

摘要: 采用高效液相色谱法测定了广西地区几个酿酒品种和野生品种的单品种葡萄酒中的白藜芦醇及其糖苷的含量。结果表明, 巨峰冬葡萄酒以及两个野生品种 G203 和 A3051 的葡萄酒中白藜芦醇及其糖苷含量较高, 其总含量分别达到 1.505 mg/L、1.1728 mg/L 和 0.9389 mg/L。

关键词: 白藜芦醇; 白藜芦醇苷; 单品种葡萄酒; HPLC

中图分类号: TS262.6; TS261.4; O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2012)03-0030-04

Measurement of Resveratrol and Piceid Content in Different Single Varietal Grape Wine

YANG Ying, GUAN Jingxi, XIE Taili, WEN Rende and HUANG Yu

(Viticulture and Wine Research Institute of Guangxi Academy of Agriculture Sciences & Guangxi Key Lab
of Biotechs for Crop Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: HPLC was applied to measure the content of resveratrol and piceid in several different single varietal grape wine (grape wine made by several different grape species and wild grape species in Guangxi). The results showed that resveratrol and piceid in kyoho grape wine and other two grape wine made by wild grape species were comparatively higher than others, the total content of resveratrol and piceid as 1.505 mg/L, 1.1728 mg/L, and 0.9389 mg/L respectively.

Key words: resveratrol; piceid; grape wine made by single grape species; HPLC

白藜芦醇及其糖苷是广泛存在于葡萄属植物中的一种具有保健作用的植物应激素。前者是大部分植物包括葡萄属植物自然产生的一种抗氧化剂, 也是植物毒素反应产生的主要物质。它主要积聚在葡萄叶片和果皮中, 以抵御不同霉菌的侵染、紫外线辐射和化学损伤^[1]。白藜芦醇的化学名称为芪三酚(即 3,5,4-三羟基-1,2-二苯基乙烯), 分子式为 $C_{14}H_{12}O_3$, 为无色针状结晶。微溶于水, 易溶于有机溶剂, 是一种活性多酚物质, 对人类健康具有显著作用。天然白藜芦醇存在反式(*Trans*-)和顺式(*Cis*-)两种构型, 其中反式异构体的生物活性高于顺式异构体。其分子结构见图 1。

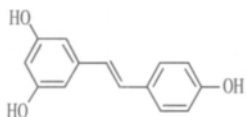


图 1 反式白藜芦醇分子结构图

葡萄糖苷(即白藜芦醇苷或称虎杖苷 Piceid, 简称 PD)的形式存在, 白色针状结晶粉末, 易溶于甲醇、乙醇, 微溶于水、乙酸乙酯。白藜芦醇苷具有和白藜芦醇同样的生物活性, 在肠道中糖苷酶的作用下, 白藜芦醇苷可分离为白藜芦醇^[2]。由于与葡萄糖结合的白藜芦醇存在反式和顺式两种构型, 故白藜芦醇苷有反式体和顺式体两种。图 2 为反式白藜芦醇苷的分子结构。

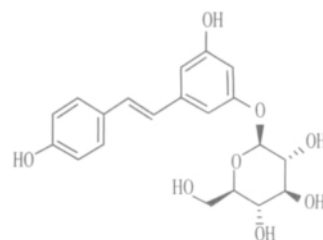


图 2 反式白藜芦醇苷分子结构图

白藜芦醇具有光不稳定和热不稳定性。白藜芦醇对光照十分敏感, 光照 30 min, 吸光度迅速下降 52%。温

天然白藜芦醇分子中的羟基还能与葡萄糖结合, 以

基金项目: 广西农业科学院基本科研业务专项 200937(基)。

收稿日期: 2012-01-11

作者简介: 杨莹(1981-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事酿酒葡萄与葡萄酒工艺研究。

度在 $-20\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时白藜芦醇稳定性较好,随温度的升高,对白藜芦醇不稳定性的影响逐渐增强^[3]。白藜芦醇苷在常温条件下稳定性良好,在室内自然光和日光灯条件下稳定性较好,但紫外灯和太阳光直射极易导致白藜芦醇苷的破坏损失^[4]。因此,白藜芦醇和白藜芦醇苷的提取与检测过程应尽量避免强光,尤其是太阳光直射以及温度变化造成的样品中白藜芦醇和白藜芦醇苷的损失。

葡萄酒是人类摄入白藜芦醇以及白藜芦醇衍生物的途径之一。白藜芦醇也逐渐成为检测葡萄酒质量的一个指标。但是葡萄酒中白藜芦醇及白藜芦醇苷的含量取决于较多因素。由于白藜芦醇是对抗自然界不良刺激的一种应激素,所以其在葡萄酒中的含量与气候、环境、年份、病虫害等密切相关。

本实验采用高效液相色谱法分析了2010年广西地区种植的几个不同品种葡萄的单品种葡萄酒中白藜芦醇以及白藜芦醇苷的含量,对不同品种的葡萄酒做一个初步比较。结果显示,不同品种间的差异不大,一些不抗病品种含量略高;红色品种比白色品种含量高。

1 材料、试剂及方法

1.1 材料与设备

反式白藜芦醇标样(99%),sigma公司;反式白藜芦醇苷标样(98%),上海同田生物。

甲醇(色谱级);CAN(acetonitrile)购于fisher scientific;H₂O为millipore过滤水。

戴安U3000高效液相色谱仪;vdw3000紫外检测器;色谱柱sepax HP-C₁₈。

所采集样品的基本情况见表1。

表1 被测试酒样的情况

编号	品种	采样地	采收时间
1	赤霞珠	广西南宁	2010.8
2	梅露辄	广西南宁	2010.8
3	G203	广西南宁	2010.8
4	A3051	广西南宁	2010.8
5	巨峰冬果	广西南宁	2009.12
6	圆叶葡萄(白)	广西南宁	2010.8
7	雷司令	广西南宁	2010.8
8	巨峰夏果	广西南宁	2010.8

1.2 实验方法

1.2.1 反式白藜芦醇和反式白藜芦醇苷标准溶液的配制

分别称取反式白藜芦醇和反式白藜芦醇苷标准品1.0 mg,用甲醇稀释定容至100 mL棕色容量瓶,密封,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,备用。

1.2.2 标准曲线的绘制

准确吸取白藜芦醇及白藜芦醇苷的储备液0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL、6.0 mL、

8.0 mL、10.0 mL于棕色10 mL容量瓶中,用甲醇定容。

1.2.3 酒样制备

采用小容器酿造法:

原料→破碎→低温浸渍过夜→浸渍发酵→压榨→酒精发酵→自然澄清→冷藏

高效液相色谱进样前用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 膜过滤后,直接进样。

1.2.4 色谱条件^[5-6]

流动相A为纯水,B为乙腈,A:B为70:30,流速为1 mL/min等压洗脱,检测波长为306 nm,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$,检测温度 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 反式白藜芦醇糖苷、反式白藜芦醇标准曲线的建立及线性分析

反式白藜芦醇苷和反式白藜芦醇标准品的色谱分析结果见图3、图4。

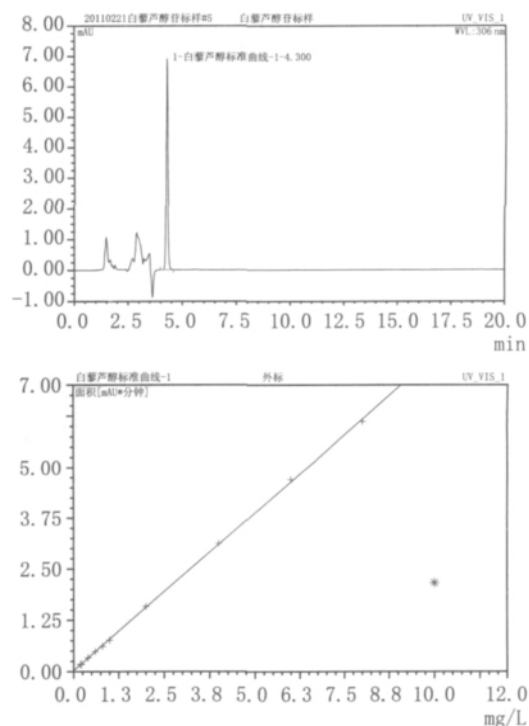


图3 反式白藜芦醇苷标准品的色谱分析图

将标准品储备液做了 $0.2\sim 10.0\text{ mg/L}$ 10个不同浓度的稀释,进样分析,选择多点线性校正法,校准类型为Loff即不计入(0.0)点,得到白藜芦醇苷线性方程相关系数为0.9997和白藜芦醇线性方程相关系数0.9996。具体分析见表2。

2.2 酒样中反式白藜芦醇苷及反式白藜芦醇的色谱分析结果

酒样中的色谱分析结果见图5~图7,表3为测试品种中反式白藜芦醇苷及反式白藜芦醇的含量结果。

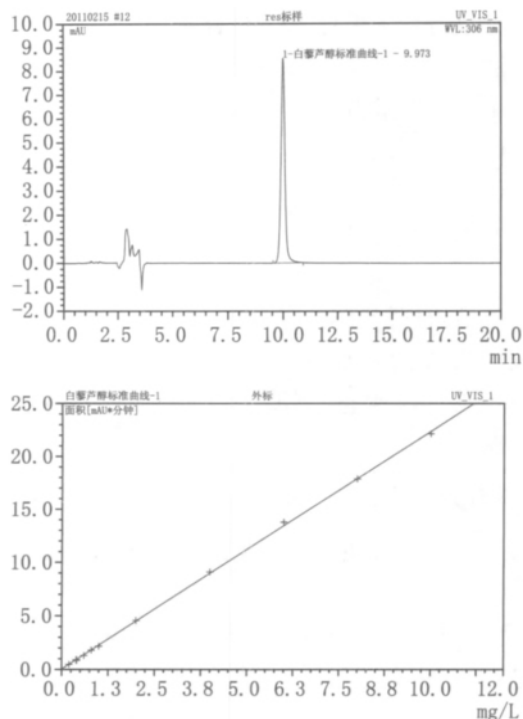


图4 反式白藜芦醇标准品的色谱分析图

表2 反式白藜芦醇糖苷、反式白藜芦醇标准曲线的建立

项目	编号 1	编号 2
保留时间(min)	4.36	9.760
峰名称	白藜芦醇苷	白藜芦醇
曲线类型	Loff	Loff
浓度点	9	10
系数(%)	99.9720	99.9655
偏移	0.0232	0.0361
斜率	0.7693	2.2336

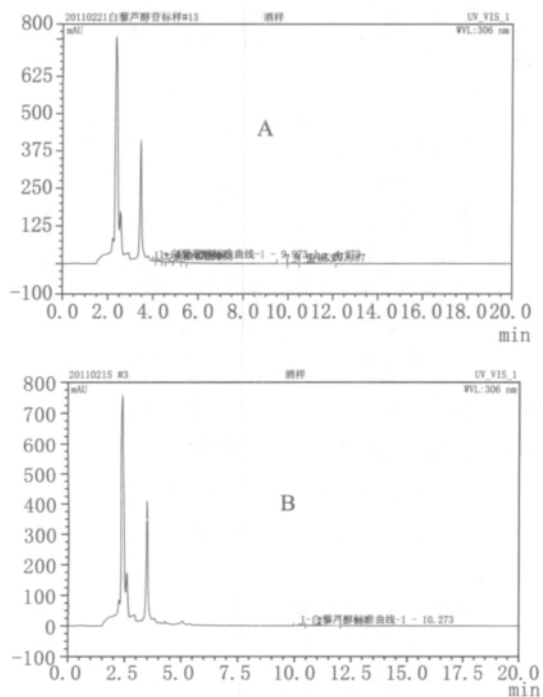


图5 G203 白藜芦醇苷及白藜芦醇色谱分析图

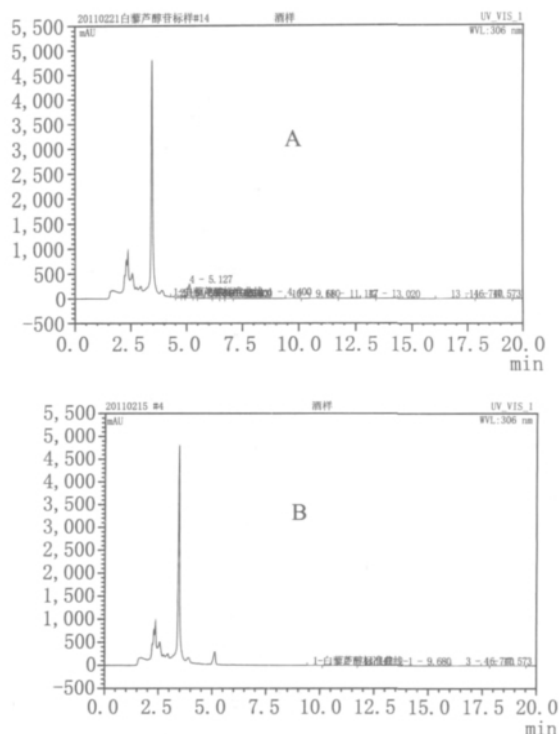


图6 A3051 白藜芦醇苷及白藜芦醇色谱分析图

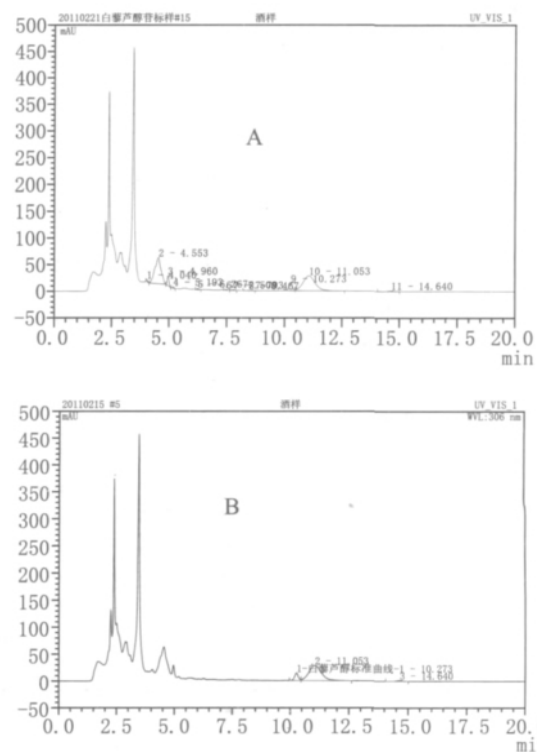


图7 巨峰冬果酒中白藜芦醇苷及白藜芦醇色谱分析图

图5~图7是G203、A3051以及巨峰冬果3种单品种葡萄酒的白藜芦醇糖苷和白藜芦醇的色谱分析图。其中A为白藜芦醇苷的色谱分析图;B为白藜芦醇的色谱分析图。

表3中的结果由戴安液相色谱变色龙色谱工作站自

表3 测试品种中反式白藜芦醇苷及反式白藜芦醇的含量

编号	品种	反式-白藜 芦醇苷 (mg/L)	反式-白 藜芦醇 (mg/L)	总含量 (mg/L)
1	赤霞珠	0.2496	0.27	0.5196
2	梅露辄	n. a	0.82	0.82
3	G203	0.7168	0.456	1.1728
4	A3051	0.8789	0.060	0.9389
5	巨峰冬果	0.36	1.145	1.505
6	圆叶葡萄(白)	0.1396	0.084	0.2236
7	雷司令(白)	n. a	0.121	0.121
8	巨峰夏果	n. a	0.170	0.170

注:表中n. a表示未检测到;G203、A3051是本地野生资源品种。

动分析得出。从表3可以看出,反式白藜芦醇含量最高的是巨峰冬果酿造的葡萄酒;反式白藜芦醇苷含量最高的是A3051。白色葡萄品种中,反式白藜芦醇和反式白藜芦醇苷的含量都较低。

3 结论与讨论

3.1 从实验结果来看,南宁引种栽培的酿酒葡萄品种,反式白藜芦醇及其糖苷含量并不高。其中赤霞珠0.52 mg/L与张予林^[6]2004年报道的赤霞珠1~2.1 mg/L相差较大;与梅露辄的结果(0.82 mg/L)和A.M Tarola,F. Milano,and V.Giannetti 2007年报道的梅露辄0.77 mg/L的含量^[7]相近。同时,大部分研究已经证明,白藜芦醇是植物对外界不良环境产生的一种应激物质。因此,葡萄中

白藜芦醇的含量与葡萄的生长环境、气候条件、采收年份、真菌感染等多种因素密切相关^[1]。

3.2 在本试验中的巨峰冬季果的白藜芦醇含量显著高于巨峰夏季果,进一步说明品种对于白藜芦醇含量的影响很大。本地野生品种G203和A3051中白藜芦醇苷及白藜芦醇的总含量明显高于其他几个品种。对于野生品种中白藜芦醇及其糖苷含量较高的原因还需进一步研究。

参考文献:

- [1] A. Moreno,M. castro. E.Falque. Evolution of trans- and cis-resveratrol in red grapes during ripening [J].Eur Food Res Technol,2008,227:667-674.
- [2] 舒友琴.葡萄酒中白藜芦醇及其糖苷异构体的快速测定方法研究[D].北京:中国农业大学,2004.
- [3] 史先敏,严泽民,谢静红,等.光热稳定性研究[J].日用化学工业,2011,41(3):204-207.
- [4] 叶秋雄,黄苇.白藜芦醇苷稳定性的研究[J].食品工业科技,2011,23(4):155-157.
- [5] 李栋. HPLC法测定酒中顺、反式白藜芦醇含量的研究[J].湖北师范学院学报:自然科学版,2008,28(1):92-94.
- [6] 张予琳,王华,魏冬梅,等.HPLC法直接进样测定葡萄酒中的白藜芦醇[J].酿酒科技,2004(1):68-69.
- [7] A.M Tarola,F.Milano,and V.Giannetti. Simultaneous determination of phenolic compounds in red wines by HPLC-UV[J].Analytical letters,2007,40:2433-2455.

枝江市政府表彰奖励科技创新和质量兴企

本刊讯 2012年2月19日,笔者从湖北省枝江市经济和信息化局获悉,近日,枝江市人民政府连续发文,表彰奖励强企业与科技创新、实施名牌战略及标准化战略的先进企业和单位。决定对在2011年度取得突出发展成绩的宜昌江峡船用机械有限责任公司奖励8万元,对获得国家级高新技术企业认定和省级企业技术中心的湖北三宁化工股份有限公司奖励15万元,对在推动企业技术改造和科技创新方面作出突出贡献的枝江市发展和改革局奖励2万元,对2011年度获得湖北省名牌产品三宁牌农业用碳酸氢铵、三宁牌尿素,土家人牌三峡苔酥,YIYI牌给用水用硬聚氯乙烯、聚乙烯管材的湖北三宁化工股份有限公司、宜昌金利粮油食品有限公司、宜昌宜硕塑业有限公司分别奖励6万元、3万元、3万元,对被认定生产中密度纤维板、额定电压450/750以下聚氯乙烯绝缘电缆采用国际标准及国外先进标准的湖北万联人造板有限公司、枝江市三峡电线电缆厂分别奖励2万元、2万元,对在推动创品牌、标准化建设方面作出积极贡献的市质技监局奖励1.2万元,并予以通报表彰。

2011年,上述受到表彰奖励的企业江峡船用机械、湖北三宁化工、宜昌金利粮油食品、宜硕塑业、湖北万联人造板、三峡电线电缆厂以科技创新为发展支撑,大力实施精品名牌和质量兴企战略,均取得长足发展,创造了历史最好水平。分别完成工业总产值40802万元、609294.6万元、18101.8万元、21431.1万元、6100.3万元、5522.5万元,各同比增长196.4%、91.1%、70.1%、41.8%、1.5%、159.6%。

据悉,枝江市委、市政府为加快建设工业强市、冲刺全国百强县市步伐,出台《枝江市创名牌奖励办法》和《关于加快建设湖北工业强市的意见》,并设置了奖励措施。激励政策收到预期效果,该市企业深入实施科技创新、质量兴企发展战略,积极投身精品名牌创建,成果丰硕。截止2011年,枝江市拥有国家高新技术企业4家、湖北省高新技术企业5家、省级企业技术中心5家,拥有中国名牌产品2个、中国驰名商标3件、国家地理标志保护产品1个、国家地理标志证明商标1件、湖北省名牌产品18个、湖北省著名商标11件、宜昌市知名商标17件、绿色食品和无公害农产品69个,居宜昌各县市之首。(杨至爱)