

# 山葡萄生长过程中不同组织部位白藜芦醇含量的变化

赵 权

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘 要:**以“左山一”山葡萄为试材,应用 HPLC 技术,研究山葡萄叶、茎、卷须、果实生长过程中白藜芦醇含量的变化规律。结果表明:不同组织部位的白藜芦醇含量在整个发育过程中都呈现先增长后下降的变化趋势,白藜芦醇含量由高到低的顺序为叶、卷须>茎>种子>果皮果肉。叶中白藜芦醇含量最高,达 20.12  $\mu\text{g/g}$ 。

**关键词:**山葡萄;白藜芦醇;高效液相色谱法

**中图分类号:**S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0001-04

白藜芦醇(Resveratrol,简称 Res)化学名称芪三酚(3,5,4'-trihydroxystilbene),分子式  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5$ ,相对分子质量 228.25,是一种特殊的酚类物质,存在于多种植物中,在葡萄中含量较高。作为芪类化合物的母体分子,存在有顺式(cis-)和反式(trans-)2种构象,并各自可与葡萄糖结合,形成顺式或反式白藜芦苷,它们与白藜芦醇一样具有生理活性<sup>[1]</sup>。研究表明,白藜芦醇主要有抗肿瘤、抗癌、防治心血管、治疗皮炎、降低血清、减少血小板凝聚、防止冠心病等多种生理功能<sup>[2-7]</sup>。目前,白藜芦醇的定量测定方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、气质联用(GC-MS)、毛细管电泳法(CE)等<sup>[9-12]</sup>。HPLC 法是目前应用较为广泛的白藜芦醇含量检测方法。

山葡萄(*Vitis amurensis* Rupr.)是葡萄科葡萄属的一种藤本植物,也称东北山葡萄,主要分布在吉林、辽宁、内蒙古等省份,其中以黑龙江省和吉林省较多,目前已经通过野生选育和杂交育种培育了很多人工栽培的品种,如“左山一”、“左山二”、“左优红”等。目前欧亚种葡萄不同品种、不同部位白藜芦醇含量的研究已有报道<sup>[13-16]</sup>,但是有关山葡萄不同部位白藜芦醇含量变化研究未见报道。该试验以“左山一”山葡萄为试验材料,研究山葡萄叶、茎、卷须、果实中的白藜芦醇含量在整个发育过程中的变化趋势,以及不同部位间的白藜芦醇含量的差异,以期如山葡萄资源的综合利用提供借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

该试验所用山葡萄采自中国农业科学院特产研究所国家山葡萄种植资源圃,品种为“左山一”。于 2010 年 6 月 22 日、7 月 13 日、8 月 9 日、8 月 27 日、9 月 2 日分别采收山葡萄的叶、茎、卷须、果实(果皮和种子剥离),3 次

重复,冷冻干燥,用粉碎机粉碎,保存备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 白藜芦醇的提取 采用超声波提取法。分别称取叶、茎、卷须、果皮果肉、种子 1.00 g 干粉,将其放入 50 mL 的锥形瓶中,加入配好的 85% 的乙醇溶液,然后将锥形瓶至于超声波清洗器中(超声次数为 3 次、时间 30 min、温度 30℃、功率为 99 Hz),超声完毕后,过滤,滤液减压蒸馏,用色谱纯甲醇定容,备用。

1.2.2 色谱条件 高效液相色谱仪(岛津 LC-20AT);色谱柱:VP-ODS  $\text{C}_{18}$  柱(4.6 mm $\times$ 150 mm);洗脱条件:甲醇:水=40:60,0.45  $\mu\text{m}$  滤膜抽滤,等度洗脱;流速:1.0 mL/min;柱温:22℃;波长:305 nm;分析时间:12 min。

1.2.3 标准曲线的绘制 取白藜芦醇标准品 0.01 g 加水定容至 50 mL 的容量瓶中,配成 200  $\mu\text{g/mL}$  的标准储备液。从标准储备液中分别取 0.5、1、1.5、2、2.5 mL 用水定容至 10 mL 容量瓶中,配成 10、20、30、40、50  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液,用 0.22  $\mu\text{m}$  膜过滤,取 10  $\mu\text{L}$  上清样。以白藜芦醇浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归分析,绘制标准品的标准曲线: $f(X) = 103\,221.4 X - 59\,177.83 (r = 0.9999)$ 。说明白藜芦醇浓度与吸光度在 7~35  $\mu\text{g/mL}$  的范围内呈现良好的线性关系。白藜芦醇含量计算方法为  $x(\%) = c \times V / m \times f \times 100\%$ ,式中, $x$ :白藜芦醇含量; $c$ :标准溶液中白藜芦醇的浓度( $\mu\text{g/mL}$ ); $V$ :样品最终定容体积(mL); $m$ :试样质量(g); $f$ :稀释倍数。白藜芦醇标品的保留时间为 7.552 min。白藜芦醇标准品 HPLC 色谱图及标准曲线见图 1。

## 2 结果与分析

### 2.1 山葡萄叶中白藜芦醇含量变化

由图 2 可知,山葡萄叶提取液中保留时间 7.990 min 与白藜芦醇标准品的保留时间 7.552 min 比较接近,可以断定此峰为白藜芦醇。山葡萄叶中白藜芦醇的含量在整个生长发育过程中呈现先增长后下降的变化趋势。从 6 月 22 日至 7 月 13 日含量增长较快;7 月 13 日至 8 月 9 日含量增长变缓,在 8 月 9 日含量达到最高,为

**作者简介:**赵权(1967-),男,博士,副教授,研究方向为森林植物资源利用。E-mail:zhaquanbs@163.com。

**基金项目:**吉林省教育厅“十一五”科学技术规划资助项目(2010240)。

**收稿日期:**2011-11-21

20.12  $\mu\text{g/g}$ ;从6月22日至8月9日,白藜芦醇含量增长了13.6%;8月9~27日含量急剧下降,8月27日至9月2日含量继续下降,此期间下降了64.5%,在9月2日时最低,为7.15  $\mu\text{g/g}$ 。

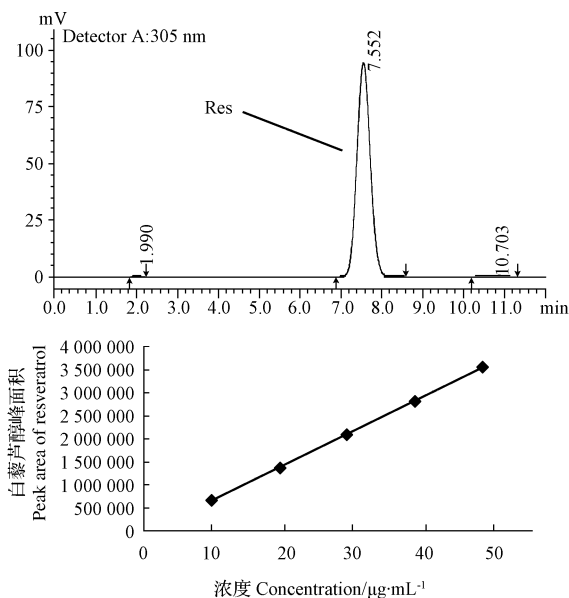


图1 白藜芦醇标准品 HPLC 色谱图及标准曲线

Fig. 1 HPLC chromatogram and standard curve of resveratrol standard sample

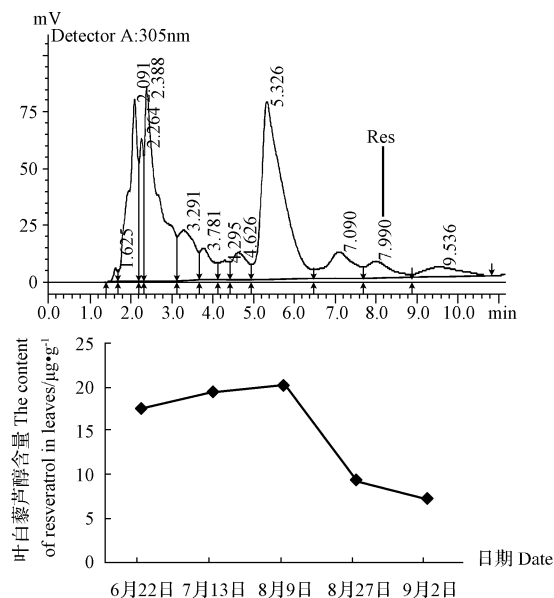


图2 叶白藜芦醇 HPLC 色谱图及含量变化

Fig. 2 HPLC chromatogram and the content changes of resveratrol in leaves

## 2.2 山葡萄茎中白藜芦醇含量变化

由图3可知,山葡萄茎提取液中保留时间7.808 min与白藜芦醇标准品的保留时间7.552 min比较接近,可以断定此峰为白藜芦醇。山葡萄茎中白藜芦醇的含量,在山葡萄整个生长发育过程中呈现先增长后下降的变

化趋势。从6月22日至7月13日含量急剧上升,增长了82.9%,7月13日时含量达到最高,为7.21  $\mu\text{g/g}$ ;7月13日至9月2日含量持续下降了55.9%,在9月2日时最低,为3.18  $\mu\text{g/g}$ 。

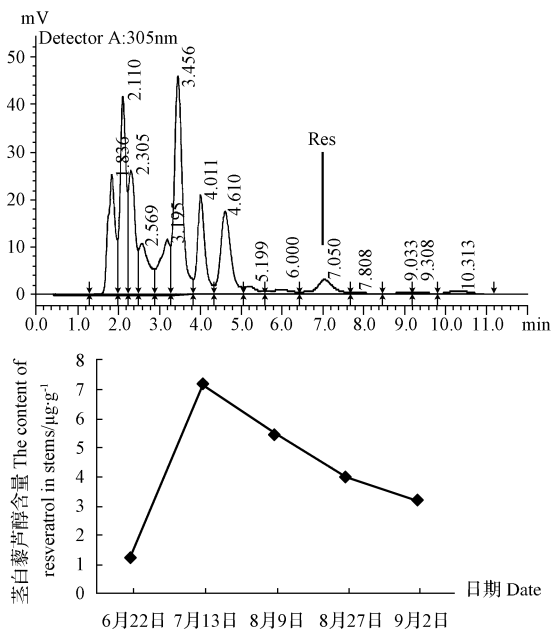


图3 茎白藜芦醇 HPLC 色谱图及含量变化

Fig. 3 HPLC chromatogram and the content changes of resveratrol in stems

## 2.3 山葡萄卷须中白藜芦醇含量变化

由图4可知,山葡萄卷须提取液中保留时间7.928 min与白藜芦醇标准品的保留时间7.552 min比较接近,可以断定此峰为白藜芦醇。山葡萄卷须中白藜芦醇的含量,在山葡萄整个生长发育过程中呈现先增长后下降的变化趋势。从6月22日至7月13日含量不断增长;7月13日至8月9日含量继续增长,在8月9日含量达到最高,为19.25  $\mu\text{g/g}$ ;从6月22日至8月9日,白藜芦醇含量增长了10.2%;8月9~27日含量急剧下降,下降54.4%,8月27日至9月2日含量继续下降,在9月2日时最低,为7.42  $\mu\text{g/g}$ 。

## 2.4 山葡萄果皮果肉中白藜芦醇含量变化

由图5可知,山葡萄果皮果肉提取液中保留时间7.808 min与白藜芦醇标准品的保留时间7.552 min比较接近,可以断定此峰为白藜芦醇。山葡萄果皮果肉中白藜芦醇的含量,在山葡萄整个生长发育过程中呈现先增长后下降的变化趋势。从6月22日至7月13日含量急剧上升;7月13日至8月9日含量增长变缓,在8月9日含量达到最高,为3.86  $\mu\text{g/g}$ ;从6月22日至8月9日,白藜芦醇含量增加了65.8%;8月9~27日含量开始下降,下降了73.6%,8月27日至9月2日含量急剧下降,在9月2日时最低,为1.02  $\mu\text{g/g}$ 。

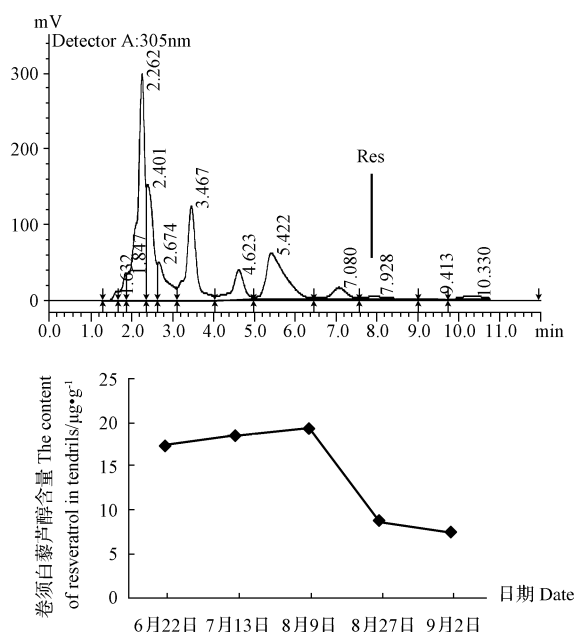


图4 卷须白藜芦醇 HPLC 色谱图及含量变化

Fig. 4 HPLC chromatogram and the content changes of resveratrol in tendrils

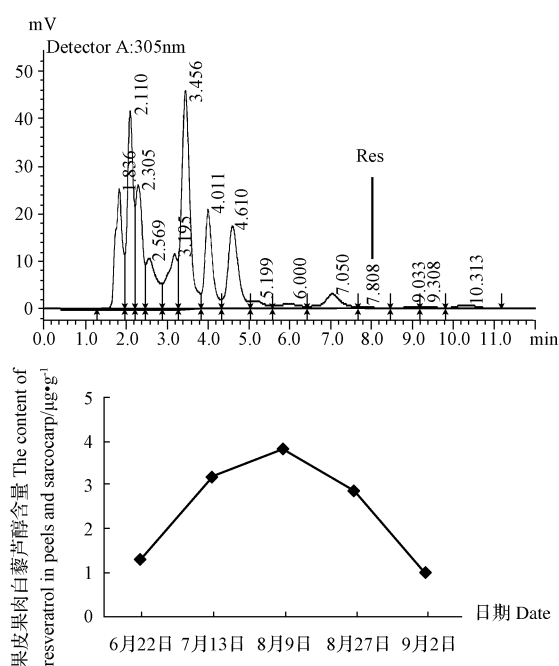


图5 果皮果肉白藜芦醇 HPLC 色谱图及含量变化

Fig. 5 HPLC chromatogram and the content changes of resveratrol in peels and sarcocarp

## 2.5 种子中白藜芦醇含量变化

由图6可知,山葡萄种子提取液中保留时间7.356 min与白藜芦醇标准品的保留时间7.552 min比较接近,可以断定此峰为白藜芦醇。山葡萄种子中白藜芦醇的含量,在整个生长发育过程中呈现先增长后下降

的变化趋势。从6月22日至7月13日含量增长较快;7月13日至8月9日含量增长变缓,在8月9日含量达到最高,为5.68 μg/g;从6月22日至8月9日,白藜芦醇含量增加了47.4%;8月9~27日含量急剧下降,8月27日至9月2日含量继续下降,在9月2日时最低,为2.32 μg/g;8月9日至9月2日含量下降了59.2%。

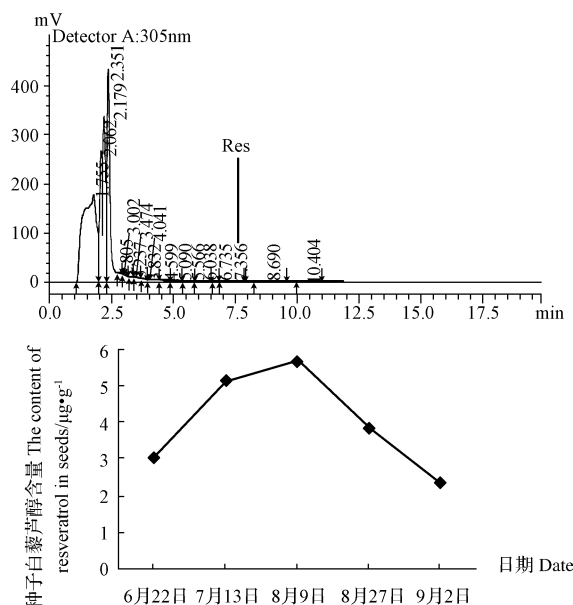


图6 种子白藜芦醇 HPLC 色谱图及含量变化

Fig. 6 HPLC chromatogram and the content changes of resveratrol in seeds

## 2.6 山葡萄不同部位白藜芦醇含量的多重比较

由表1可知,在6月22日时,山葡萄叶和卷须中白藜芦醇的含量最高且无显著差异,叶和卷须与茎、果皮果肉、种子中的白藜芦醇的含量差异显著,茎、果皮果肉、种子之间白藜芦醇的含量无显著差异。在7月13日时,山葡萄叶和卷须中白藜芦醇的含量最高且无显著差异,叶和卷须与茎、果皮果肉中的白藜芦醇的含量差异显著,与种子中的白藜芦醇的含量差异极显著,果皮果肉与茎、种子之间白藜芦醇的含量有差异,但差异不显著。在8月9日时,山葡萄叶和卷须中白藜芦醇的含量最高且无显著差异,叶和卷须与茎、果皮果肉、种子中的白藜芦醇的含量差异显著,茎、果皮果肉、种子之间白藜芦醇的含量无显著差异。在8月27日时,山葡萄叶和卷须中白藜芦醇的含量最高且无显著差异,叶和卷须与茎、果皮果肉、种子中的白藜芦醇的含量差异显著,茎、果皮果肉、种子之间白藜芦醇的含量无显著差异。在9月2日时,山葡萄叶和卷须中白藜芦醇的含量最高且无显著差异,叶和卷须与茎、果皮果肉、种子中的白藜芦醇的含量差异显著,茎、果皮果肉、种子之间白藜芦醇的含量无显著差异。

表 1 不同组织部位白藜芦醇含量比较

Table 1 Comparison of the resveratrol contents in different tissues

	6月22日	7月13日	8月9日	8月27日	9月2日
叶 Leaves	17.39aA	19.42aA	20.12aA	9.23aA	7.15aA
茎 Stems	1.23bB	7.21bB	5.45bB	4.02bB	3.18bB
卷须 Tendrils	17.29aA	18.46aA	19.25aA	8.78aA	7.42aA
果皮果肉 Peels and sarcocarp	1.32bB	3.21cB	3.86bB	2.88bB	1.02bB
种子 Seeds	2.99bB	5.12bB	5.68bB	3.84bB	2.32bB

### 3 结论与讨论

山葡萄叶中的白藜芦醇,在整个发育过程中呈现先增长后下降的趋势,8月初含量达到最高;茎中的白藜芦醇,在整个发育过程中呈现先增长后下降的趋势,7月中下旬含量达到最高。在6月22日,检测到白藜芦醇的含量极少,可能由于白藜芦醇以白藜芦醇苷的形式存在造成的;卷须中的白藜芦醇,在整个发育过程中呈现先增长后下降的趋势,7月末8月初含量达到最高;果皮果肉中的白藜芦醇,在整个发育过程中呈现先增长后下降的趋势,8月初含量达到最高。在果实完全成熟检测到白藜芦醇的白藜芦醇含量也极少,此种现象的可能由于白藜芦醇在果实成熟时被分解成其它物质或是白藜芦醇以其它形式存在造成的;种子中的白藜芦醇,在整个发育过程中呈现先增长后下降的趋势,8月上旬含量达到最高。山葡萄中白藜芦醇含量的比较结果为:叶、卷须>茎>种子>果皮果肉。该试验提取的不同部位白藜芦醇含量相对来说较少,叶中最高仅为 20.12  $\mu\text{g/g}$ , 低于希拉、米勒、红克里米斯克<sup>[13,16]</sup>。可能是山葡萄本身白藜芦醇含量低于欧亚种葡萄,或者在试验的提取方法及高效液相色谱条件等方面存在问题,还有待进一步研究。

#### 参考文献

[1] 凌家庭.红葡萄酒及其衍生制品的生理功能(续)[J].江苏食品与发酵,2001,14(1):18-20.

- [2] 尉亚辉,刘兴旺,李华.白藜芦醇的研究进展[J].西北农业大学学报,1999,7(2):188-195.
- [3] 唐传核,杨晓泉.葡萄及葡萄酒生理活性物质的研究概况[J].生理活性物质概况[J].中国食品添加剂,2003(1):41-48.
- [4] Frankel E N, Bosanek C A, Meyer A S, et al. Commercial grape juices inhibit in vitro oxidation of human low-density lipoproteins[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1998, 46(3): 834-838.
- [5] 李华,王华,袁春龙,等.葡萄酒化学[M].北京:科技出版社,2005:106-110.
- [6] 孙文基,绳金房.天然活性成分简明手册[M].北京:中国医药科技出版社,1998:148.
- [7] 赵霞,陆阳,陈泽乃.白藜芦醇的化学药理研究进展[J].中草药,1998,29(12):837-839.
- [8] Pezet R, Pont V, Cuenat P. Method to determine resveratrol and pterostilbene in grape berries and wines using high-performance liquid chromatography and highly sensitive fluorometric detection[J]. J Chromatogr A, 1994, 663: 191-197.
- [9] Goldberg D M, Ng E, Karumanchiri A. Assay of resveratrol glucosides and isomers in wine by direct-injection high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 1995, 708: 89-98.
- [10] Goldberg D M, Karumanchiri A, Eg E, et al. A direct GC-MS assay for cis-resveratrol and a preliminary evaluation of its concentration in wines from various countries[J]. Am J Enol Vitic, 1994, 45: 364.
- [11] Soleas G J, Goldberg D M, Ng E. Comparative evaluation of four methods for assay of cis- and trans-resveratrol [J]. Am J Enol Vitic, 1997, 48: 169-176.
- [12] Prasongsidh B C, Skurray G R. Capillary electrophoresis analysis of trans- and cis-resveratrol, l quercetin, catechin and gallic acid in wine[J]. Food Chem, 1998, 62: 355-358.
- [13] 陈雷,韩雅珊.葡萄不同品种和组织白藜芦醇含量的差异[J].园艺学报,1999,26(2):118-119.
- [14] 段朝晖.中国葡萄野生种白藜芦醇含量分析的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2002.
- [15] 余兴,高丽萍,夏涛.蛇龙珠和白羽葡萄生长期间白藜芦醇及其相关酶变化趋势研究[J].安徽农业大学学报,2007,34(4):555-559.
- [16] 向阳,张彤,张焯,等.高效液相色谱法测定葡萄皮和葡萄籽中白藜芦醇的含量[J].卫生研究,2003,32(5):490-492.

## The Changes of Resveratrol Content in Different Tissues Growth Process of *Vitis amurensis* Rupr.

ZHAO Quan

(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking 'Zuoshanyi' *Vitis amurensis* Rupr. as test materials, applying HPLC technology, the changes of resveratrol content in leaves, stems, tendrils, fruit growth process of *Vitis amurensis* Rupr. were studied. The results showed that the changes of resveratrol in different tissues were all increased at first and decreased in the end. The contents of resveratrol in tissues were taking the order of leaves and tendrils>stems>seeds>peels and sarcocarp. The resveratrol contents of in leaves were the highest, which were up to 20.12  $\mu\text{g/g}$ .

**Key words:** *Vitis amurensis* Rupr.; resveratrol; HPLC