

山葡萄发酵酿酒皮渣中原花青素、白藜芦醇和葡萄籽油含量测定分析

张庆田¹, 杨玉平², 宋润刚¹, 孟庆国², 柳树有³, 沈育杰¹

(1. 中国农业科学院 特产研究所, 吉林 吉林 132109; 2. 吉林省柳河县长白山山葡萄开发科技创新中心, 吉林 柳河 135300;

3. 吉林省柳河县雪兰山葡萄酒公司, 吉林 柳河 135300)

摘 要:对山葡萄生产主栽品种“双红”、“左优红”、“北冰红”和品系“2001-1-135”发酵酿酒废皮渣中的原花青素、籽油、白藜芦醇含量测定分析。结果表明:原花青素含量平均 9.5 mg/g, 其中“双红”品种最高, 达 12.39 mg/g; 籽油含量平均 13.4%, 以品系“2001-1-135”最高, 质量分数为 16.4%; 白藜芦醇总含量平均 59.25 μg/g, 以“双红”最高, 可达 103 μg/g。测试分析表明, 山葡萄酿酒皮渣原花青、籽油、白藜芦醇含量较高, 进一步开发综合利用潜力较大。

关键词:山葡萄; 皮渣; 原花青素; 籽油; 白藜芦醇

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)18-0032-03

山葡萄(*Vitis amurensis* Pupr)人工家植近 40 年, 由于该树种生产栽培易管理, 产量和效益高, 目前在内蒙古和东北地区生产栽培近 1.1 万 hm², 年总产量 12.8 万 t, 果实发酵酿酒产生废皮渣近 1.8 万 t, 目前这些皮渣大多被当作肥料、饲料甚至垃圾处理, 附加值很低。随着国内外不断深入研究发现, 葡萄皮渣中

存在着大量的、多种的有益成分, 蕴含着巨大的经济效益, 其中低聚原花青素、白藜芦醇、齐墩果酸、葡萄籽油等多种功能性成分, 具有良好的医疗、保健作用。因此, 开展葡萄皮渣综合利用, 不仅可以获得良好的社会效益, 而且能够有效减轻环保压力, 获得巨大的经济效益。于 2009~2010 年对山葡萄发酵酿酒皮渣中的原花青素、籽油和白藜芦醇含量进行测定分析, 取得了良好的效果, 现将试验结果报道如下。

第一作者简介:张庆田(1981-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事特种经济果树资源评价与利用研究工作。E-mail: tcszqt@163.com。

基金项目:科技部富民强县科技成果转化重大专项资助项目; 吉林省财政厅科研育种专项资助项目。

收稿日期:2011-06-21

1 材料与方法

1.1 试验材料

中国农业科学院特产研究所选育出的山葡萄种内

Research on the Cuttage Propagation Technique of *Hypericum kouytcheouense*

LONG Cheng-chang¹, WU Hua-mei^{2,3}, ZHOU Yan¹, HUANG Cheng-ling¹

(1. Guzhou Botany Garden, Guiyang, Guizhou 550001; 2. Guiyang Donsen Plant Limited Company, Guiyang, Guizhou 550001; 3. Guizhou Biological Research Institute, Guiyang, Guizhou 550001)

Abstract: Taking wild resources plant *Hypericum kouytcheouense* as materials, this study systematically discussed the influence of cuttings material selecting, cuttings treatment, exogenous hormones, cutting matrix and environmental conditions such as factors to cutting propagation of it, and mainly explored its production practical technology optimization scheme to cutting seedlings. The results showed that the half-lignifying branch was the best cutting propagation materials of *Hypericum kouytcheouense*. By 1% NaOH Solution immersing for 10 min, cuttings rooting rate increased significantly. IAA, ABT-2 were significant role in promoting cuttings rooting of *Hypericum kouytcheouense*, they also could improve the strong seedling rate when transplantation of seedlings. The effect of IAA was slightly stronger than ABT-2. IBA had no obvious promoter action to cuttings rooting of *Hypericum kouytcheouense* and NAA easily produce phytotoxicity to it. The perlite+humus(1:2) was a ideal cuttage matrix, cutting rooting rate was higher and strong seedling the highest rate by using this kind of the matrix. In autumn and winter season, the environmental temperature was vital factor to cutting rooting rate, try to improve environmental temperature and humidity, promote rooting cuttings earlier for raising strong seedling rate.

Key words: *Hypericum kouytcheouense*; cuttings selecting; cuttings treatments; exogenous hormones; cutting matrix

杂交品种“双红”、种间杂交品种“左优红”、“北冰红”、种间杂交品系“2001-1-135”果实发酵酿酒过滤出废皮渣、皮籽分离后烘干,粉碎。测试分析材料取自吉林省柳河县雪兰山葡萄酒公司。试验试剂有无水乙醇、甲醇、石油醚(天津市光复科技发展有限公司,分析纯),乙腈(天津市光复科技发展有限公司,色谱纯),白藜芦醇标准样品:天津尖峰纯度 99%。主要仪器设备有 UV-1700 紫外分光光度计;美国 Agilent 1200 系列高效液相色谱仪;SP-KQ-300DE 数控型超声波清洗器;FZ102 微型植物试样粉碎机。

1.2 试验方法

1.2.1 原花青素含量的测定 采用硫酸-香草醛法^[1-2]。原花青素在 500 nm 处吸光度最大。标准曲线的绘制:配制浓度分别为 0.00、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20 mg/mL 的标准品系列。试管中分别加入 0.5 mL 不同浓度的标准品水溶液,5 mL 显色剂,立即混匀后于 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中显色 20 min。取出后,以 0.5 mL 去离子水,加入 5 mL 显色剂作空白,调零扣除背景值,在 500 nm 波长下,用分光光度计测定其吸光值,绘制标准曲线($Y = 1.9993X - 0.0104, R^2 = 0.9942$)。样品原花青素的测定:提取方法参考赵权等^[3]的方法,称取 2 g 粉末,1:12 料液比(80%乙醇), 30°C 提取 30 min,过滤定容至 25 mL。取 0.5 mL 样品溶液,加入 5 mL 显色剂,立即混合均匀,于 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中显色 20 min,在 500 nm 波长下,以 0.5 mL 80%乙醇加入 5 mL 显色剂作为空白对照,测定其吸光值,整个过程需避光操作。

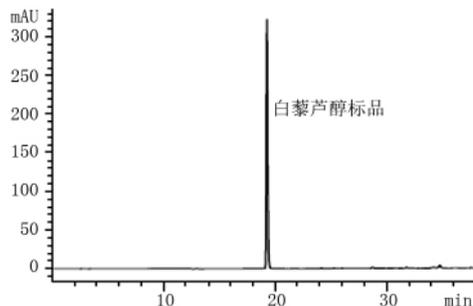


图1 反式白藜芦醇的色谱图

1.2.2 葡萄籽油含量的测定 提取方法参考刘文洁等^[4]方法,4 g 葡萄籽粉,以石油醚($30 \sim 60^\circ\text{C}$)作为提取剂,提取温度 65°C ,提取时间 3 h,提取料液比为 1:12,回收溶剂烘干至衡重,计算出油率。

1.2.3 白藜芦醇含量的测定 提取方法参考毕海丹等^[5]的方法,梯度洗脱:A相(超纯水)、B相(乙腈);梯度洗脱条件为:0~10 min 内 B相从 5% 线形增至 25%,10~20 min 线形增至 40%,20~35 min 线形增至 100%,35~36 min 降到 5%,检测器检测波长为 306 和 288 nm,进样量为 20 μL 。

2 结果与分析

2.1 反式白藜芦醇的色谱曲线及其定量关系

反式白藜芦醇对照品工作液的色谱曲线如图 1 所示。反式白藜芦醇对照品在 0.7~19.6 mg/L 间的色谱峰面积与其溶液浓度存在良好的线性关系(图 2),其拟合关系为: $y = 88.008x + 2.9276 (R^2 = 0.9999)$ 。

2.2 顺式白藜芦醇的色谱曲线及其定量关系

由于白藜芦醇中存在双键,故存在顺、反式异构体。在紫外线照射下反式白藜芦醇可以转化为顺式异构体。转化过程中反式白藜芦醇可以等摩尔转化为顺式异构体,并无其它产物。因而采用反式白藜芦醇色谱峰面积减少来定量的方法,研究了顺式白藜芦醇的含量,结果表明,在 0.56~16.2 mg/L 间的顺式白藜芦醇与其色谱峰面积存在良好的线性关系,其拟合关系为 $y = 44.819x + 6.1622 (R^2 = 0.9999)$ 。

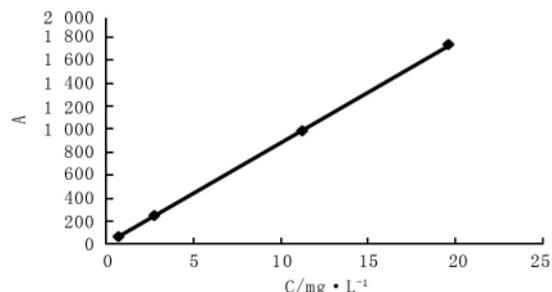


图2 反式白藜芦醇含量的标准曲线

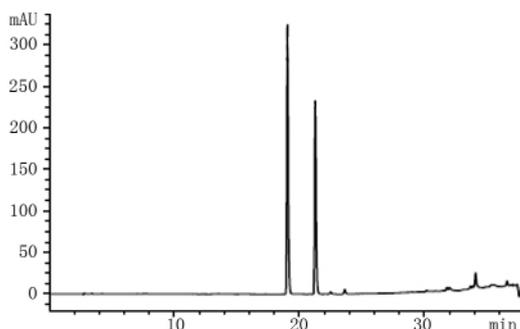


图3 顺式白藜芦醇的色谱图

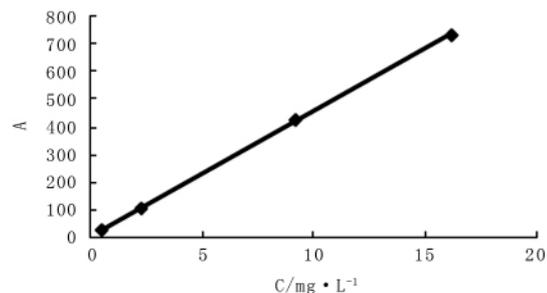


图4 顺式白藜芦醇含量的标准曲线

2.3 原花青素、籽油、白藜芦醇含量

酿酒发酵皮渣原花青素含量平均 9.5 mg/g, 其中“双红”品种最高, 达 12.39 mg/g, 这也说明纯系山葡萄含有较高的花色素, 而种间杂交品种色素含量较低。葡萄籽出油率含量平均 13.4%, “2001-1-135”最高可达 16.4%, 白藜芦醇以反式结构为主, 总含量平均 59.24 $\mu\text{g/g}$, 以“双红”最高, 可达 103 $\mu\text{g/g}$, 其中反式白藜芦醇占 82.2%, 种间杂交品种“左优红”、“北冰红”和“2001-1-135”种白藜芦醇含量相对较低。

表 1 原花青素、籽油、白藜芦醇含量

样品	原花青素 含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	葡萄籽 出油率/%	反式白藜芦醇 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	顺式白藜芦醇 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
“双红”	12.39	13.6	84.75	18.31
“2001-1-135”	10.61	16.4	11.80	22.66
“左优红”	6.81	13.2	39.64	21.60
“北冰红”	8.21	10.4	18.84	19.39

3 讨论与结论

原花色素能够清除人体内过剩的自由基, 提高人体免疫力, 并具有很强的抗氧化能力, 可作为防癌、抗突变、防治心血管疾病药物的主要有效成分和用作安全无毒的新型天然抗氧化剂^[8-10]。山葡萄果实呈紫黑色, 色素含量高, 艾军等^[11]对 44 份山葡萄种质和 7 个葡萄对照品种进行了色价的评价, 结果表明, 山葡萄浆果的色素含量远高于对照品种, 而该研究发现酿酒后山葡萄皮渣中仍含有大量的原花青素, 以纯山葡萄含量最高, 种间杂交品种含量略低。

葡萄籽油是一种营养价值很高的油脂, 含有大量的亚油酸和脂溶性维生素。葡萄籽油中的亚油酸具有防治高血压、动脉硬化、心脏病的功能; 对降低人体血清胆固醇和植物性神经功能失调有明显的疗效^[12]。该试验材料的籽油含量均在 10% 以上, 利用价值较高。

白藜芦醇是一种特效功能成分, 具有多种生物学活性及药理作用, 具有抗癌、抗菌、抗氧化、抗自由基、预防心脏病和抗诱变等作用^[13]。自然界中白藜芦醇存在顺、反异构体, 反式白藜芦醇在紫外线的照射下可转化成顺式结构, 季梅等^[14]对野生山葡萄根中白藜芦醇进行了测定, 孟宪军等^[15]对野生山葡萄皮、籽中白

藜芦醇的含量测定显示, 皮中白藜芦醇含量可达 159 $\mu\text{g/g}$, 该试验结果显示, “双红”的白藜芦醇含量最高为 103 $\mu\text{g/g}$, 且以反式结构为主, 最低的“2001-1-135”含量也有 34.46 $\mu\text{g/g}$ 。

此外, 山葡萄皮渣中还含有酒石酸、果胶、芳香物质等, 这些有益成分的提取和精深加工研究还需要进一步深入, 山葡萄皮渣形成系统性的产业化加工过程还需推进。提高山葡萄皮渣的综合利用率, 降低生产成本, 提高附加值和经济效益, 减少环境污染, 是发展山葡萄加工业必须重视的一个重要环节。

参考文献

- [1] 陈磊, 王军. 山葡萄籽中原花青素的提取[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(1): 58-60.
- [2] 郑永丽. 葡萄籽中原花青素的分析、提取与纯化[D]. 天津: 河北工业大学, 2004.
- [3] 赵权, 王军. 山葡萄皮花色苷提取工艺的研究[J]. 吉林农业科技学院学报, 2009, 18(2): 15-16, 23.
- [4] 刘文洁, 戴晶晶, 曾凡骏. 葡萄籽油提取工艺的研究[J]. 中国食品添加剂, 2009(1): 100-104.
- [5] 毕海丹. 醇提法提取酿酒葡萄皮渣中反式白藜芦醇的研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(8): 271-273, 276.
- [6] 万本屹, 董海洲, 刘传富. 原花青素及其应用[J]. 中国食物与营养, 2001(6): 15-16.
- [7] 余晓琴, 阚建全, 赵国华, 等. 天然抗氧化剂原花青素保健功能[J]. 粮食与油脂, 2003(4): 40-42.
- [8] 山越纯. 原花色素高含量的葡萄种子提取物的抗动脉硬化作用[J]. 国外医学中医中药分册, 1999, 21(5): 54.
- [9] Liviero L, Puglisi P P. Antimutagenic activity of procyanidins from *Vitis vinifera* [J]. Fitoterapia, 1994, 65(3): 203-209.
- [10] Gali H U, Perchellet E M. Comparison of the inhibitory effects of skin tumorpromotion in mouse epidermis *in vivo* [J]. Planta Med, 1994, 60(3): 235-239.
- [11] 艾军, 沈育杰, 臧埔, 等. 山葡萄浆果中色素含量的研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 1998(1): 1-3.
- [12] 王四维. 葡萄籽开发利用[J]. 粮食与油脂, 2007, 17: 17-19.
- [13] 郭景南, 刘崇怀, 潘兴, 等. 葡萄属植物白藜芦醇研究进展[J]. 果树学报, 2002, 19(3): 199-204.
- [14] 季梅, 娄红祥. 野生山葡萄根中白藜芦醇的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志, 2008, 39(2): 127-129.
- [15] 孟宪军, 杜彬. 野生山葡萄皮、籽中白藜芦醇的含量测定[J]. 食品科技, 2006(2): 96-99.

Analysis on Procyanidins and Seed Oil and Resveratrol of Wild Grape Residues

ZHANG Qing-tian¹, YANG Yu-ping², SONG Run-gang¹, MENG Qing-guo², LIU Shu-you³, SHEN Yu-jie¹

(1. Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Jilin, Jilin 132109; 2. Changbai Mountain Wild Grape Development Technology Center of Liuhe County, Liuhe, Jilin 135300; 3. Xuelan Wild Grape Wine Company Limited of Liuhe County, Liuhe, Jilin 135300)

Abstract: The content of procyanidins, seed oil, resveratrol were measured in wild grape residues. The results showed that average procyanidin was 9.5 mg/g, ‘Shuanghong’ had the highest procyanidin, up to 12.39 mg/g; average seed oil was 13.4%, ‘2001-1-135’ had the highest seed oil, up to 16.4%; resveratrol average was 59.25 $\mu\text{g/g}$, ‘Shuanghong’ had the highest resveratrol, up to 103 $\mu\text{g/g}$. The wild grape residues had higher proanthocyanins, seed oil, resveratrol content, further development and utilization potential.

Key words: wild grape; residues; procyanidins; seed oil; resveratrol