

新疆葡萄中 3 种生物活性物质的含量分析

马龙 刘涛 向阳 苏德奇

(新疆医科大学公共卫生学院,新疆 乌鲁木齐市 830054)

摘要:为开发利用新疆葡萄,分析了新疆葡萄中生物活性物质的构成及其含量。采用超声法和回流法分别提取葡萄皮、籽中的齐墩果酸、白藜芦醇和原花青素,用高效液相色谱法和比色法分别测定葡萄皮、籽中齐墩果酸、白藜芦醇和原花青素的含量。葡萄中齐墩果酸主要存在于葡萄皮中,含量可高达 1%左右,符合工业化提取要求;地产葡萄品种的齐墩果酸含量相对高于欧洲引进品种;齐墩果酸含量比较:人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮。葡萄皮白藜芦醇的含量高于葡萄籽;欧洲引进葡萄品种白藜芦醇含量相对高于地产葡萄;白藜芦醇含量比较:人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮 > 陈旧葡萄皮。葡萄籽原花青素含量高于葡萄皮;地产与欧洲引进葡萄品种的原花青素含量比较接近;原花青素含量比较:新鲜葡萄籽 > 自然发酵葡萄籽 > 人工发酵葡萄籽。由结果可以看出新疆葡萄富含齐墩果酸、白藜芦醇及原花青素等多种具有营养保健功能的生物活性物质。

关键词:葡萄;齐墩果酸;白藜芦醇;原花青素;营养保健品

Content of Bioactive Substances in Xinjiang Grapes

MA Long, LIU Tao, XIANG Yang, SU De-qi

(College of Public Health, Xinjiang Medical University, Xinjiang Urumqi 830054, China)

Abstract: The compositions and content of bioactive substances in Xinjiang grapes were analyzed. Oleanolic acid, resveratrol and procyanidins were extracted from grape skins, grape seeds and waste residue of grape wineries by ultrasonic wave or reflux method, and then analyzed by high-performance liquid chromatographic method or colorimetric method. The content of oleanolic acid in grape skin was about 1% and satisfied the demands of industrial production. The content of oleanolic acid in the breeds of Xinjiang local grapes was higher than that in grapes introduced from Europe. When arranged in order of oleanolic acid content: the artificial fermented skin in waste residue from wineries > the natural fermented skin in waste residue from wineries > the fresh grape skin. The content of resveratrol was higher in grape skins than in grape seeds and abundant in introduced Europe grapes than in Xinjiang local grapes. When arranged in order of resveratrol content: the artificial fermented skin in waste residue from wineries > the natural fermented skin in waste residue from wineries > the fresh grape skin > the stale grape skin. The content of procyanidins was higher in grape seed than in grape skin and similar between introduced Europe grapes and Xinjiang local grapes. When arranged in order of procyanidins content: the fresh grape seeds > the natural fermented seeds in waste residue from wineries > the artificial fermented seeds in waste residue from wineries. Xinjiang grapes were rich in bioactive substances such as oleanolic acid, resveratrol and procyanidins, which were beneficial to human health.

Key word: VITIS VINIFERA; Oleanolic Acid; Resveratrol; Procyanidins; Dietary Supplements

参考文献

- [1] 莫潇,张洁,龚济达. 笋蠹生物学学习性研究观察报告[J]. 中国科技教育,2002,(5):42-46.
- [2] 国家质量监督检验检疫总局职业技能鉴定指导中心组编. 食品微生物检验[M]. 北京:中国计量出版社,2003.9.
- [3] 黄义秀,主编. 微生物学实验教程[M]. 北京:北京大学出版社,1999.7.
- [4] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.2.
- [5] 中国标准出版社第一编辑室编. 无公害食品标准汇编. 畜禽肉、蜂产品、乳制品卷[M]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [6] 张华. 动物性产品中沙门氏菌的危害及控制措施[J]. 中国动物保健,2004,(6):8-10.

[收稿日期:2005-08-19]

中图分类号:R15;Q969 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)01-0026-03

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(20002)

作者简介:马龙 男 教授

葡萄 (*Vitis Vinifera* L.) 为葡萄科葡萄属落叶藤本植物葡萄的成熟果实,既是居民喜爱并长期食用的果品,又被维吾尔医学用作滋补强壮、软坚驱寒、补肝利胆的药物^[1],同时,又是传统医学常用补气药^[2]。古书记载葡萄具有主筋骨、利湿痹、健脾胃、滋肾液、益阴肝、止渴等作用,民间用于治疗小儿麻疹和肝炎等症^[3]。现代研究分析,葡萄除含有丰富的糖、蛋白质、多种维生素和微量元素^[4]外,还含有齐墩果酸 (Oleanolic acid, OA)^[5]、白藜芦醇 (Resveratrol, Res)^[6]和原花青素 (Procyanidins, PC)^[7]等生物活性物质,具有延长果蝇寿命、抗突变、抑制肿瘤细胞生长和免疫保护等生物学作用^[4]。本文旨在通过分析新疆地产和引种栽培的主要葡萄品种中的活性物质成分,揭示葡萄营养保健作用的物质基础及其含量,为深层次开发利用葡萄资源提供理论依据,也为提高葡萄制品的附加值提供参数。

1 材料和方法

1.1 材料 在吐鲁番、和田、伊犁、喀什和鄯善采集 23 个品种的新鲜葡萄及葡萄原料,由专家鉴定品种并出具鉴定证明。

酒厂葡萄皮渣 分别采自新疆 3 家葡萄酒加工企业,由厂家提供葡萄品种鉴定书。

1.2 主要仪器与试剂 Agilent - 1100 高效液相色谱仪, Agilent - 1100 色谱工作站 (美国惠普公司); Exlipes XDB - C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱; SUPELCOSIL TMLC - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; SB - 3200 型超声波清洗器 (上海必能信超声有限公司); 721 分光光度计 (上海第二仪器厂); METTLER TOLEDO AB104 - N 型分析天平 (METTLER TOLEDO Instr. Shanghai Ltd)。

OA 对照品 (中国药品生物制品检定所), Res 和儿茶素对照品 (美国 Sigma 公司), 甲醇 (保证试剂, 北京化工厂, 批号 980527), 乙腈 (色谱纯, 西安化学试剂厂)。

1.3 方法

1.3.1 试样制备 取新鲜葡萄各 1 kg, 分离葡萄皮、籽, 自然晾干, 称量葡萄皮, 计算出皮率。分别粉碎酒厂葡萄皮渣、分离的皮和籽样品, 过 80 目筛 (测定 OA 和 PC) 和 100 目筛 (测定 Res), 备用。

1.3.2 HPLC 法测定葡萄皮中 OA 的含量^[8]

色谱条件 色谱柱: Exlipes XDB - C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 + 水 (85 + 15); 流速: 1.0 ml/min; 检测器波长: 220 nm; 温度: 40 °C; 数据处理: 外标法峰面积定量。

校正曲线: $y = 203.2945x - 4.0634$, $r = 0.9992$ 。

试样溶液制备及测定 精密称取经干燥恒重过 80 目筛的 22 种葡萄皮粉末各 0.500 0 g, 分别置于 25 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 密封, 浸泡 30 min, 超声提取 15 min, 再分别吸取以上溶液各 0.5 ml, 甲醇定容至 5 ml, 混匀。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取滤液 5 μl 进样测定。根据峰面积计算各品种葡萄皮中 OA 的含量, 结果见表 1。

1.3.3 HPLC 法测定葡萄皮、籽中 Res 的含量^[9]

色谱条件 色谱柱: SUPELCOSIL TMLC - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 + 水 (26 + 74); 流速: 1.0 ml/min; 检测器波长: 303 nm; 温度: 35 °C; 数据处理: 外标法峰面积定量。

校正曲线: $y = 6955x - 1.671$, $r = 0.9998$ 。

试样溶液制备及测定 葡萄皮样溶液: 精密称取经干燥恒重过 100 目筛的葡萄皮粉末 1.000 0 g, 分别置于 10 ml 容量瓶中, 加 90% 甲醇至刻度, 超声提取 30 min, 取出至室温, 备用。葡萄籽试样溶液: 称取干燥粉碎成粗粉的葡萄籽试样 1.000 0 g, 置于 25 ml 碘量瓶中, 加入 25 ml 石油醚, 超声提取 1 h。回收石油醚并挥发至干, 加入甲醇 8 ml, 静置 30 min, 超声提取 30 min, 用定量滤纸过滤于 10 ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 混于备用。将上述试样溶液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取滤液 5 μl 进样测定。根据峰面积计算各品种葡萄皮、籽中 Res 的含量, 结果见表 1。

1.3.4 比色法测定葡萄皮、籽中 PC 的含量^[10]

试样溶液制备及测定 精密称取葡萄皮粉末 1.000 0 g, 分别置于 100 ml 平底烧瓶中, 加 60% 乙醇溶液 50 ml, 在沸水浴中回流提取 2 次, 每次 30 min, 合并提取液, 回收乙醇后用蒸馏水定容至 100 ml, 摇匀, 备用。葡萄籽试样, 脱脂后, 粉碎成粗粉, 精密称取 0.500 0 g, 其余同上。将定容好的试样溶液以 16 000 r/min 离心, 分别吸取上清液 0.5 ml, 按校正曲线项下操作, 测定吸光度, 换算 PC 含量, 结果见表 1。

校正曲线: $y = 0.0255x + 4.4378$, $r = 0.9988$ 。

2 结果

从表 1 可见不同品种葡萄皮、籽中 OA、Res 和 PC 的含量。同一品种葡萄皮 OA 含量: 人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮; 就 Res 含量来说, 葡萄皮高于葡萄籽, 人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮 > 陈旧葡萄皮; 而 PC 含量则表现为葡萄籽高于葡萄皮, 新鲜葡萄籽 > 自然发酵葡萄籽 > 人工发酵葡萄籽 (注: 自然发酵: 酒厂葡萄经榨汁后, 堆放于晒场, 未及时铺开通风, 在夏季高温作用下部分自然发酵)。

表1 不同品种葡萄皮、籽中 OA、Res 和 PC 的含量

 $(\bar{x} \pm s, n=3)$

品种	产地	葡萄皮中 OA 的含量 (g/100 g)	Res($\mu\text{g/g}$)		PC($\mu\text{g/g}$)	
			葡萄皮	葡萄籽	葡萄皮	葡萄籽
1 扎娜	伊犁	0.772 \pm 0.035	15.730 \pm 0.189	0.449 \pm 0.006	2.19 \pm 0.06	12.08 \pm 0.37
2 里扎马特	伊犁	1.073 \pm 0.027	1.916 \pm 0.031	—	1.09 \pm 0.04	10.33 \pm 0.27
3 和田红	伊犁	0.614 \pm 0.041	4.753 \pm 0.052	0.435 \pm 0.006	2.47 \pm 0.05	11.38 \pm 0.34
4 巨峰	伊犁	0.568 \pm 0.025	5.538 \pm 0.067	1.063 \pm 0.017	>7.01 \pm 0.14	8.84 \pm 0.31
5 红地球	伊犁	0.962 \pm 0.033	41.750 \pm 0.560	0.587 \pm 0.010	>7.02 \pm 0.11	10.24 \pm 0.20
6 红克里米斯克	伊犁	0.991 \pm 0.029	155.195 \pm 2.514	0.487 \pm 0.007	6.40 \pm 0.17	10.55 \pm 0.34
7 绿克里米斯克	伊犁	0.853 \pm 0.041	41.740 \pm 0.426	0.649 \pm 0.007	3.83 \pm 0.05	8.10 \pm 0.26
8 塔依菲	伊犁	0.776 \pm 0.027	23.810 \pm 0.314	—	0.28 \pm 0.01	8.19 \pm 0.38
9 秋黑	伊犁	0.951 \pm 0.031	8.304 \pm 0.095	1.295 \pm 0.016	>7.03 \pm 0.16	13.17 \pm 0.54
10 黑奥林	伊犁	0.492 \pm 0.043	7.587 \pm 0.086	1.070 \pm 0.014	5.11 \pm 0.11	7.31 \pm 0.20
11 琐琐葡萄	吐鲁番	0.901 \pm 0.027	0.985 \pm 0.010	—	—	—
12 无核白	吐鲁番	0.656 \pm 0.040	2.728 \pm 0.036	—	—	—
13 马奶子	吐鲁番	0.657 \pm 0.020	6.599 \pm 0.078	—	—	—
14 马奶子	伊犁	0.986 \pm 0.063	4.697 \pm 0.071	—	—	—
15 红木纳格	喀什	1.008 \pm 0.068	30.760 \pm 0.317	—	—	—
16 白木纳格	喀什	0.837 \pm 0.050	16.810 \pm 0.185	—	—	—
17 克里米扎特	伊犁	0.693 \pm 0.040	9.609 \pm 0.146	—	—	—
18 和田红(新鲜)	和田	0.761 \pm 0.020	2.586 \pm 0.026	—	—	—
19 和田红(陈旧)	和田	—	2.010 \pm 0.029 ^a	—	—	—
20 酒厂和田红 1	和田	0.838 \pm 0.043 ^a	3.179 \pm 0.040 ^a	3.365 \pm 0.039	0.61 \pm 0.02	8.43 \pm 0.21
21 酒厂和田红 2	和田	0.978 \pm 0.037 ^{ac}	12.280 \pm 0.187 ^{ac}	1.581 \pm 0.021	—	1.82 \pm 0.08 ^c
22 酒厂马奶子	吐鲁番	0.980 \pm 0.064 ^b	—	0.612 \pm 0.008	—	6.00 \pm 0.27
23 酒厂山株	鄯善	0.714 \pm 0.034	—	0.948 \pm 0.013	—	3.92 \pm 0.18

注:a 与第 18 组相比, $P < 0.01$; b 与第 13 组相比, $P < 0.01$; c 与第 20 组相比, $P < 0.01$ 。和田红(陈旧): 为隔年葡萄皮; 酒厂和田红 1: 自然发酵处理; 酒厂和田红 2: 人工发酵处理; “—”: 未测定。

3 讨论

OA, 化学名为 3 - hydroxy-olea - 12 - en - 28 - oic acid, 是一种五环三萜类化合物, 因其结构复杂, 人工合成困难, 国内均从植物如青叶胆、女贞子、雪胆中提取, 资源非常有限, 而且其生物利用度较低, 不易质控。马龙等在葡萄皮中分离得到 OA^[5], 本研究结果表明: 葡萄中 OA 主要存在于葡萄皮中, 含量可高达 1% 左右, 符合工业化提取要求。地产葡萄品种的 OA 含量相对高于欧洲引进品种; 酒厂葡萄皮比新鲜葡萄皮中 OA 含量较高, 实地考察发现, 酒厂葡萄皮、渣在生产过程中已经过部分自然发酵, 为证实发酵在其中产生的作用, 将酒厂葡萄皮进一步采用人工方法进行完全发酵, 含量测定结果为: 人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮, 这可能是因为葡萄皮中的多糖体 OA 经发酵后转化为游离体所致。分析结果可见, OA 含量较高的品种主要有: 红木纳格、马奶子、和田红和琐琐葡萄等新疆地

产葡萄, 而引种的欧洲种葡萄中含量较低。其中, 琐琐葡萄含量较高, 而其品种特征为体积较小、出皮率高, 使得在相同用量下, 其 OA 含量更高, 这可能是维吾尔医选其入药治疗麻疹效果显著的原因之一^[3]。

Res, 化学名为 3,5,4 - 三羟基苯二烯, 是一类主要存在于葡萄、藜芦、虎杖等植物中的多酚类化合物^[11]。本研究结果可见: 葡萄皮 Res 含量高于葡萄籽, 欧洲引进葡萄品种 Res 含量相对高于地产葡萄; 人工发酵葡萄皮 > 自然发酵葡萄皮 > 新鲜葡萄皮 > 陈旧葡萄皮。陈旧葡萄皮 Res 低于新鲜葡萄皮可能与 Res 见光易分解, 在储存过程中损耗有关。而发酵葡萄皮 Res 高于新鲜葡萄皮可能是在发酵过程中合成了部分顺式 Res 之故。

PC 是植物中广泛存在的一大类多酚化合物的总称, 由不同数量的儿茶素或表儿茶素结合而成, 在酸性溶液中加热可降解氧化成花色素 (Bate-Smith 反

应)^[12]。从表 1 可见:葡萄籽 PC 含量高于葡萄皮;地产与欧洲引进葡萄品种的 PC 含量比较接近;新鲜葡萄籽 > 自然发酵葡萄籽 > 人工发酵葡萄籽,这与 PC 在酸性条件下易氧化分解有关。

综合本研究可知葡萄皮、葡萄籽中均含有具有多种保健作用的生物活性成分,且 OA 和 Res 主要存在于葡萄皮中,经发酵后存在形式可发生一定改变,影响回收率。PC 主要存在于葡萄籽中,我们的研究证实葡萄籽经脱脂处理后,便于 PC 提取并可提高收率。根据葡萄的保肝、降脂和免疫保护等多重生物学功效和生物活性物质含量分析可知榨汁后的葡萄皮和籽具有更广泛的开发应用价值。

参考文献

- [1] 刘勇民,沙吾提·伊克木.维吾尔药志[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1999.365.
- [2] 陈可冀.抗衰老中药学[M].北京:中国古籍出版社,1989.193-194.
- [3] 张立群,张翔华,郭博信.中国民族民间秘方大全[M].太原:山西科学技术出版社,1992.77,1097.
- [4] 马龙,邓淑文,屈卫东,等.新疆红葡萄干保健功能的实验研究[J].新疆医科大学学报,1999,22(1):3-7.
- [5] 赵江霞,马龙,堵年生.新疆和田红葡萄果皮化学成分

的研究[J].新疆医科大学学报,2001,24(3):189-191.

- [6] Meishang Jang, Lining Cai, George O Vdeani, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes[J]. Science, 1997, 275(10):218-220.
- [7] 万本屹,李宏,董海州.葡萄籽原花青素提取及其应用研究进展[J].粮食与油脂,2002(2):43-45.
- [8] 刘涛,马龙,堵年生,等. HPLC 测定葡萄皮中齐墩果酸的含量[J].中国公共卫生,2003,19(2):213.
- [9] 向阳,张彤,马龙,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.
- [10] 向阳,马龙,苏德奇,等.比色法测定葡萄皮和葡萄籽中原花青素的含量[J].中国公共卫生,2003,19(10):1228-1229.
- [11] 王兵,蒋晖.齐墩果酸的研究[J].中国药学杂志,1992,27(7):383-387.
- [12] D Bagchi, A Carg, L-R Krohn, et al. Protection effects of grape and proanthocyanidins and selected antioxidant against TPA-Induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation and peritoneal macrophage activation in mice [J]. Gen Pharmac, 1998, 30(5):771-776.

[收稿日期:2005-08-02]

中图分类号:R151.3;TS218 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)01-0028-04

[上接导读]

食品到那里去了呢?毫无疑问是到那些监管松的地方去了,很有可能是到农村去了。保证农民的食品安全,不仅仅从道义上是政府的责任——代表最广大人民的根本利益,而且从经济上、从社会安定上都是十分必要的。在目前农村监管力量还十分薄弱的情况下,城市的食品安全监管者不应对问题食品简单地一拒了之。

印尼海啸时期我国政府支援了大量的食品,由于标注习惯的不同,差点造成误会,认为我国是把过期食品处理给了灾区。无论是误会还是其它什么,保证救灾时期的食品安全的重要性是大家都认可的。灾害期间,人的抵抗力弱,食品需要量大,卫生条件差,情况复杂。为大灾之后防大疫,食品安全监管不可忽视。可能是以往做的比较好,或者是灾害期间重要的事情比较多,有关这方面的问题还没有过报道。本期刊出张理同志的“自然灾害期间救援食品的安全管理问题及法律适用”一文,希望能引起大家的关心,促进这方面工作的开展,做到未雨绸缪。

在生产养殖业日益科学化的今天,了解养殖业的情况对其后的加工环节、流通环节、消费环节的研究与监督非常有益。上期我们刊登了安利华等同志的“东海地区常见水产品甲醛本底值调查及含量分析”一文,这期我们又推出了许钟同志的“闽东大黄鱼在养殖和处理加工过程中的细菌污染”,我们衷心希望食品生产、加工、流通和消费各个环节的同志给我们提供卫生安全方面的文章,使《中国食品卫生杂志》能够为不同食品领域的同仁提供多方位的信息。“一起疑似食用养殖鲶鱼引起的食物中毒”一文存在一定的不足,但作者提出的问题值得大家注意,予以刊登。“一起河鲢鱼行政复议、诉讼案件的分析与思考”一文所反映的问题充分反映了政府的谨慎与消费者需求之间的矛盾。

[下转第 40 页]