

[文章编号] 1000-2782(1999)04-0083-05

葡萄酒中白藜芦醇的 HPLC 测定

王 华¹, 尉亚辉², 王庆俐³, 刘树文⁴

(1. 西北农业大学葡萄酒学院, 陕西杨陵 712100)

(2. 西北大学生物技术重点实验室, 西安 710069)

(3. 西北农业大学实验中心色谱组, 陕西杨陵 712100)

(4. 黑龙江八一农垦大学, 黑龙江密山 158308)

[摘 要] 采用高效液相色谱(HPLC)法测定葡萄酒中白藜芦醇(T-RESVERATROL)的含量。葡萄酒样品经 $0.45\ \mu\text{m}$ 超滤后可直接进样测定;采用乙晴-水流动相进行 1:9~9:1 梯度洗脱,在波长 306 nm 下检测。试验结果表明,供试酒样中干红葡萄酒中白藜芦醇含量为 $0.631\ 9\sim 1.881\ 8\ \text{mg/L}$,高于干白葡萄酒中白藜芦醇的含量($0.127\ 1\sim 0.255\ 9\ \text{mg/L}$)。

[关键词] 干白葡萄酒;干红葡萄酒;白藜芦醇;HPLC

[中图分类号] TS262.6 [文献标识码] A

白藜芦醇(Resveratrol)化学名称为芪三酚(3, 4', 5-trihydroxystilbene), 分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$, 相对分子质量 228. 25^[1]。近几年,越来越多的药理学试验表明,白藜芦醇对人体具有很多医疗保健作用,如清除自由基、阻止血小板凝聚、防止人体低密度脂蛋白(LDP)氧化、抗肿瘤等,因此引起了全世界科学家的高度重视^[2]。

白藜芦醇是以葡萄属植物的一种抗逆物质首先被发现的^[2],葡萄中的白藜芦醇含量丰富,葡萄的主要加工产品——葡萄酒中含有白藜芦醇,但它在葡萄酒中的含量因葡萄产地、生长、制酒工艺、葡萄品种、收获时间的不同而不同^[3~10]。90 年代以来,国外对葡萄酒中白藜芦醇的保健作用、测定方法进行了大量的研究^[11, 12],但国内尚未见到关于中国葡萄酒中白藜芦醇的含量及测定方法的研究。本研究对葡萄酒中白藜芦醇含量进行了分析,提出了利用高效液相色谱(HPLC)对葡萄酒中白藜芦醇含量进行测定。

1 材料和方法

1.1 材 料

干白葡萄酒 干白 1 号:爱格丽,陕西杨陵;干白 2 号:龙眼,河北沙城;干白 3 号:8802,陕西杨陵。

干红葡萄酒 干红 1 号:赤霞珠,陕西杨陵;干红 2 号:黑虎香,四川攀枝花;干红 4 号:梅鹿特,河北沙城;干红 5 号:解百纳,天津;干红 6 号:混合品种,法国;干红 7 号:梅鹿特,陕西杨陵。

其他酒种 酒浸越桔,内蒙牙克石;酒浸红豆,内蒙牙克石。

1.2 仪 器

组合型高效液相色谱仪, 包括 510 型泵, U6K 进样器, 680 型梯度控制仪, 730 数据处理机; 481 型紫外检测器, 均为 Waters 公司产品。色谱柱为 C_{18} (10 cm $\times$ 8 mm ID, 10 μ) 茎向加压柱, Guard-pak C_{18} 预柱。美国 Millipore 公司的四柱 Milli-Q 型超纯水制备装置。

1.3 试 剂

乙腈为上海产高效液相色谱用色谱纯, 甲醇为上海产色谱纯, 标样白藜芦醇(T_{rans}-3, 4', 5-trihydroxystilbene) 为美国 SIGMA 公司产, 纯度为 99%。

1.4 试验方法

试剂处理 水经 0.45 μ m 超滤、超声波脱气后使用; 乙腈、甲醇经 0.50 μ m 超滤、超声波振荡脱气后备用。

试验条件 固定相用 Micro Bomdapak C_{18} 柱, 流动相采用乙腈—水(CH_3CN-H_2O) 进行从 1:9~9:1 的梯度洗脱, 流速为 1 mL/min, 纸速为 0.5 cm/min, 检测波长为 306 nm, 定量方法采用外标法, 每次进样 10 μ L。

标准曲线 准确称取标样白藜芦醇 5 mg, 加入 5 mL 甲醇, 分别配制成 31.25, 15.62, 7.81, 3.91, 1.95 mg/L 5 个不同质量浓度的溶液。

样品 直接取酒样, 经 0.45 μ m 超滤、脱气后待测。每次进样 10 μ L, 测峰面积, 并根据标样回归方程计算酒样中白藜芦醇含量。

2 试验结果

2.1 白藜芦醇标样测定结果

分别测定标样的 5 个不同质量浓度的溶液, 以峰面积(Y) 为纵坐标, 标样质量浓度(X) 为横坐标, 测得回归方程为 $Y = 288.36229 + 429.56267X$, $r = 0.9993$, 其标样色谱图见图 1。

2.2 葡萄酒中白藜芦醇含量的测定

分别测定干白 3 个酒样, 干红 6 个酒样, 其他酒种 2 个酒样。从高效液相色谱图可见, 保留时间一致, 结果重现性好。其样品色谱图见图 2。

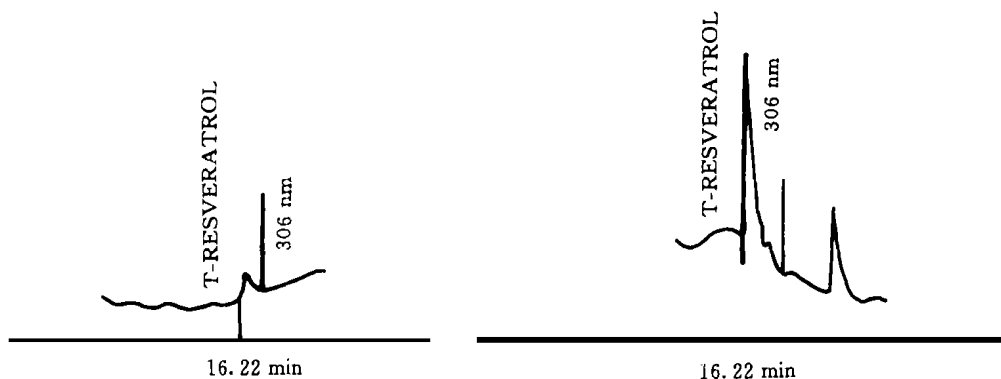


图 2 酒样色谱图

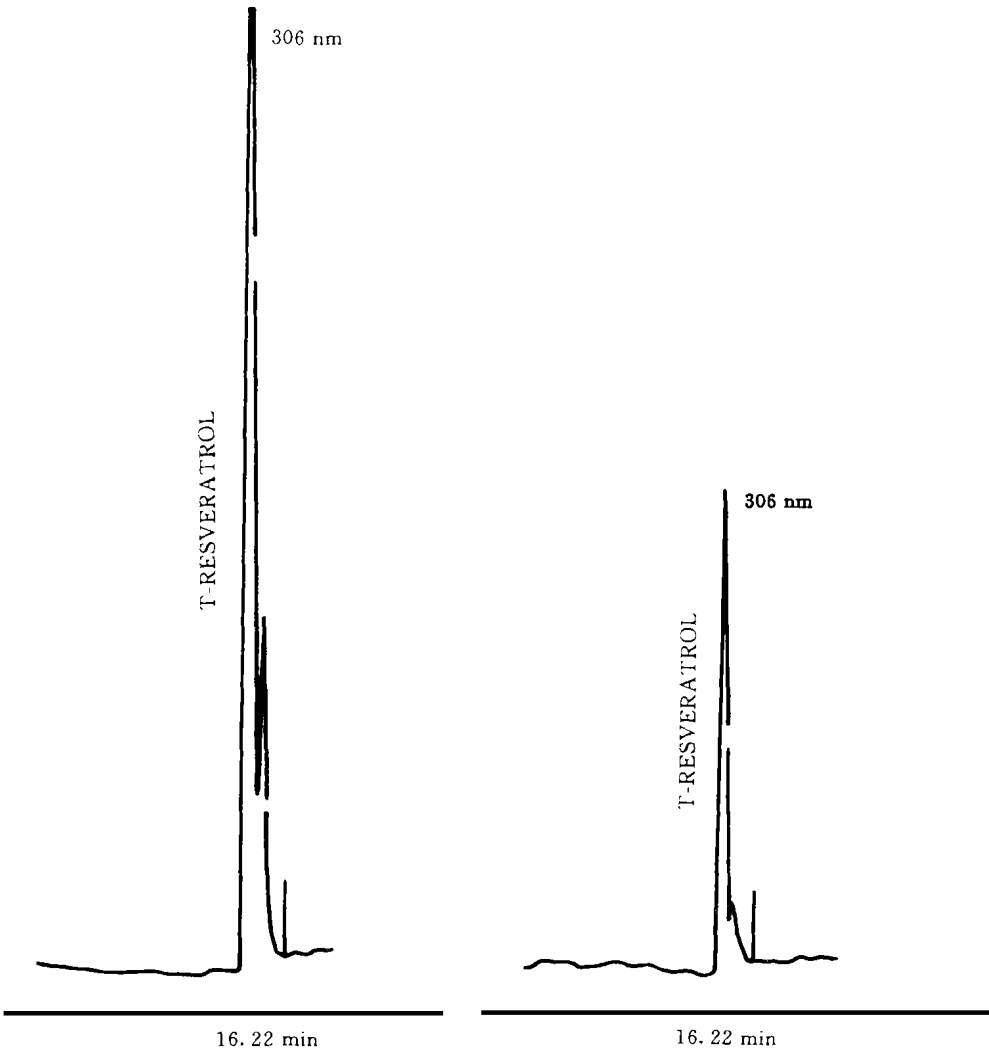


图 1 标样色谱图

2 号标样(15. 62 mg/L) 色谱图; 4 号标样(3. 91 mg/L) 色谱图

2. 3 葡萄酒中白藜芦醇的含量

葡萄酒中白藜芦醇的含量测定结果见表 1.

表 1 葡萄酒中白藜芦醇的含量

葡萄酒种类	来源	白藜芦醇含量/ (mg · L ⁻¹)	葡萄酒种类	来源	白藜芦醇含量/ (mg · L ⁻¹)
干白 3 号	陕西杨陵	0. 255 9	干红 2 号	四川攀枝花	0. 694 0
干白 1 号	陕西杨陵	0. 180 1	干红 5 号	天津	0. 659 7
干白 2 号	河北沙城	0. 127 1	干红 7 号	陕西杨陵	0. 631 9
干红 6 号	法国	1. 878 7	酒浸越桔	内蒙牙克石	未测出
干红 4 号	河北沙城	1. 521 4	酒浸红豆	内蒙牙克石	0. 204 3
干红 1 号	陕西杨陵	0. 717 7			

由表 1 可知, 供试酒样中, 干红葡萄酒中白藜芦醇的含量为 $0.6319 \sim 1.8787 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 干白葡萄酒中白藜芦醇的含量为 $0.1271 \sim 0.2559 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 干红葡萄酒中白藜芦醇的含量高于干白葡萄酒。

3 讨 论

1) 采用高效液相色谱法(HPLC)测定葡萄酒中白藜芦醇的含量, 通过乙腈-水流动相体系进行 1:9~9:1 梯度洗脱能较好地分离芪类化合物^[13]。采用标样白藜芦醇外标, 从而能快速方便地定性定量测定葡萄酒中白藜芦醇的含量。

由样本测定色谱图可见, 在保留时间 18.30 min, 红葡萄酒出现显著的峰, 需要低聚芪类化合物的其他标样, 以进一步鉴定其种类。

2) 在采用 HPLC 对葡萄酒中白藜芦醇的测定中, 应注意以下几点:¹ 所用试剂必须采用色谱纯; ④样品、试剂、水均应经过超滤及脱气处理, 否则在测定过程中致使压力过高; ④每个试样进样之前, 应以 1:9 的乙腈-水洗脱 10 min。根据笔者的试验, 如果 2 个样品测定之间的洗脱时间不够, 则白藜芦醇的保留时间会提前, 峰面会与上一个试样重叠。⁴ 关于 HPLC 测定的稳定性、流动相、样品的处理可进行进一步的比较筛选。

3) 葡萄酒中白藜芦醇的含量因不同酒种、产地、品种等而不同, 国外报道研究较多^[3~10]。笔者的试验结果表明, 供试干红葡萄酒的白藜芦醇含量高于干白葡萄酒, 与国外研究基本一致, 而用越桔等野果的酒浸汁未检测出白藜芦醇。有关中国葡萄酒白藜芦醇的含量及产地、品种、工艺对其影响需进一步进行大量取样测定。

[参考文献]

- [1] 冯永红, 许实波. 白藜芦醇药理作用研究进展[J]. 国外医药(植物药分册), 1996, 11(4): 155~157.
- [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, 27(2): 188~195.
- [3] Siemann E H, Creasy L L. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine[J]. *A M J Vitic*, 1992, 43(1): 49~52.
- [4] Creasy L L, Coffee M. Phytoalexin production potential of grape berries J AM[J]. *Soc Hortie Sci*, 1998, 113(2): 230~233.
- [5] Gonzalo, Albert, Pere V, et al. Concentration of resveratrol in wines from Cataloria[J]. *Spain Journal of Wine Research*, 1995(3): 213~218.
- [6] Mozzon M, Frega N, Pallotta U. Resveratrol content in some Tuscan wine[J]. *Italian Journal of Food Science*, 1996, 8(2): 145~152.
- [7] Goldberg D M, Ng E, Karumanchiri A, et al. Resveratrol glucosides are important components of commercial wines[J]. *Americah Journal of Enology and Viticulture*, 1996, 47(4): 415~420.
- [8] Goldkerger D M, Ng E, Yan J, et al. Regional differences in resveratrol isomer concentrations of wines from Various cultivars[J]. *Journal of Wine Research*, 1996, 7(1): 13~24.
- [9] Vrhorsek U, Wendelin S, Eder R. Effects of various vinification techniques on the concentration of cis and trans-resveratrol and resveratrol glucoside isomers in wine[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1997, 48(2): 214~219.
- [10] Feandet, Philippe, Roger B, et al. Effect of enological practices on the reaseveratrol isomer content of wine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(2): 316~319.
- [11] Soleas G J, Goldbera D M, Diamandis E P, et al. A dertvatized gas chromatographic-mass spectrometric method

for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1995, 46(3): 346~352.

[12] Soleas G J, Goldberg D M, Ng E, et al. Comparative evaluation of four methods for assay of cis and trans-resveratrol[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1997, 48(2): 169~176.

[13] 李文成, 李宇飞, 丁立生, 等. 葡萄属低聚芪含量的 HPLC 测定[J]. 中草药, 1998, 29(5): 301~303.

Aualysis of Trans-Resveratrol in Wines by Direct Injection of HPLC

WANG Hua¹, WEI Ya-Hui², WANG Qing-li³, LIU Shu-wen⁴

(1. College of Enology, Northwest Agricultural University, Shaanxi 712100, China)

(2. Key Lab of Biotechnology, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

(3. Department of Central Lab, Northwest Agricultural University, Shaanxi 712100, China)

(4. Heilongjiang August First Agricultural Recamlation University Mishan 158308, China)

Abstract: The content of resveratrol in wines was dedetermined by HPLC. After being ultrafiltrated ($0.45\ \mu\text{m}$), the wine samples were gradiently eluted by acetonitrile-water from 1 : 9- 9 : 1. Then the content of resveratrol was detected under 306 nm. The results showed that among the wine samples, the resveratrol content in red wine was $0.6319\sim1.8818\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, higher than that of white wine ($0.1271\sim0.2559\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Key words: dry white wine; dry red wine; resveratrol; HPLC