

贮藏温度对 UV-C 辐射葡萄果皮白藜芦醇及其糖苷含量的影响

郑先波^{1,2,4}, 李晓东², 吴本宏², 李绍华^{3*}

(¹ 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193; ² 中国科学院植物研究所, 北京 100093; ³ 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; ⁴ 河南农业大学园艺学院, 郑州 450002)

摘要: 用剂量 $3.6 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 的紫外线 C (Ultraviolet C, UV-C) 辐射处理 ‘京蜜’ 葡萄成熟果实, 25 条件下避光孵育 24 h 后, 控制温度为 25 和 0 贮藏, 贮藏后 0、0.5、1、2、3、7、10、14、24、34 d 取样, HPLC 法分析果皮白藜芦醇 (Resveratrol, Res) 及其糖苷含量。结果表明: UV-C 辐射后 25 条件下孵育 24 h 能显著提高反式白藜芦醇 (*trans*-Resveratrol, *trans*-Res) 和顺式白藜芦醇苷 (*cis*-Piceid, *cis*-PD) 的含量, 不能提高反式白藜芦醇苷 (*trans*-Piceid, *trans*-PD) 含量。贮藏温度对 UV-C 辐射葡萄果皮 Res 及其糖苷含量具有重要影响。无论是对照果实还是 UV-C 辐射处理果实, 果皮中均未检测到顺式白藜芦醇 (*cis*-Resveratrol, *cis*-Res)。25 和 0 贮藏条件下对照果皮 *trans*-Res、*trans*-PD、*cis*-PD 含量低, 变化幅度很小, 而 UV-C 处理果皮中变化幅度很大, 绝大部分时间显著高于对照。

关键词: 葡萄; 贮藏; 温度; UV-C 辐射; 白藜芦醇; 白藜芦醇苷

中图分类号: S 663.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 08-1099-06

Effects of Storage Temperature on Resveratrol and Its Glycosides Content in Grape Berries Skin Following UV-C Irradiation

ZHENG Xian-bo^{1,2,4}, LI Xiao-dong², WU Ben-hong², and LI Shao-hua^{3*}

(¹ College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ² Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ³ Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; ⁴ College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The mature fruits of post-harvest ‘Jingni’ grape were irradiated by the dosage of $3.6 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ ultraviolet C (UV-C) and then incubated 24 hours in dark at 25 . The UV-C irradiated berries and control berries were stored at 0 and 25 . The berries was sampled at 0, 0.5, 1, 2, 3, 7, 10, 14, 24 and 34 d. Resveratrol and piceid content in grape berries was determined by HPLC. The results showed: *Trans*-resveratrol (*trans*-Res) and *cis*-Piceid (*cis*-PD) content in grape berries skin was significantly increased when treated by UV-C irradiation and then incubated 24 h in dark at 25 , but *trans*-Piceid (*trans*-PD) content in grape berries skin was not significantly increased. Storage temperature played an important role on the level of Res and its glycosides by UV-C irradiation treatment. *cis*-Resveratrol (*cis*-Res) could not be detected in skin of UV-C irradiated berries and control berries. *trans*-Res, *trans*-PD and *cis*-PD content of control grape berries skin was low and stable under 25 and 0 , while UV-C irradiated berries skin was higher than control at mostly sampling time and changed sharply.

Key words: grape; storage temperature; UV-C irradiation; resveratrol; piceid

白藜芦醇 (Resveratrol, Res), 化学名称为芪三酚 (3, 4', 5-trihydroxystilbene), 属非黄酮类多

收稿日期: 2009 - 02 - 17; 修回日期: 2009 - 05 - 07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30800744); 中国科学院知识创新工程方向性项目 (KSCX2-YW-N-032)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: shhli@wbcas.cn)

酚化合物, 结构式存在反式 (*trans*-Resveratrol, *trans*-Res) 和顺式 (*cis*-Resveratrol, *cis*-Res) 两种类型 (Jeandet et al, 1992)。1974年在葡萄属植物中发现了该物质, 并认为是一种植物抗毒素 (Langcake & Pryce, 1976)。20世纪 90年代起人们发现 Res同时具有很强的预防及抑制心血管疾病与抗癌作用, 被誉为继紫杉醇后的又一新的绿色抗癌药物 (Jang et al, 1997; Soleas et al, 1997; Fremont, 2000; Corder et al, 2001)。此外, Res也可以通过糖基化而形成白藜芦醇苷 (piceid, PD), PD具有与 Res相似的生物活性, 且选择性、稳定性远大于 Res (王娅宁等, 2007)。由于葡萄中 Res及其衍生物含量高, 且葡萄种质资源丰富以及来源于葡萄的 Res具有纯天然的特点, 符合了当今人们对医药保健品的要求, 其研究与应用引起了科学界和企业界的极大重视 (Jeandet et al, 1991; Ector et al, 1996; Jeandet et al, 2002; Careri et al, 2003)。

由于葡萄种质间 Res含量差异很大, 目前生产上大量栽培的无论是欧亚种品种还是欧美杂交种品种, 自然条件下 Res含量较低, 其果皮和种籽内的反式 Res (*trans*-Res) 含量通常低于 $2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW (Li et al, 2006)。自然条件下栽培的葡萄果实中 Res远远不能满足人类的需求。紫外辐射 (Ultraviolet, UV) 能诱导葡萄产生 *trans*-Res, 辐射后 24~48 h, 果皮中 Res的含量是自然葡萄的 3.6~13.2 倍 (李晓东等, 2007), 为通过人工 UV-C辐射获得富含 Res的鲜食葡萄和葡萄加工原料提供了可能。

温度在 UV-C辐射诱导葡萄果皮 *trans*-Res合成上扮演重要角色, 低温抑制 *trans*-Res合成 (Cantos et al, 2000, 2001)。此外, 在室温避光条件下, UV-C诱导葡萄合成 *trans*-Res在 24~48 h时可达最高值, 但之后 *trans*-Res含量开始迅速下降, 且下降的速率与诱导合成的速率相当 (Bais et al, 2000)。但是, Li等 (2009) 研究结果表明, 常温 UV-C处理导致 *trans*-Res含量增加后, 再将 UV-C处理高 *trans*-Res含量葡萄放入冷库 (-1.0 ± 0.5) 贮藏, 贮藏 21 d间葡萄 *trans*-Res含量没有显著变化。上述结果表明温度在葡萄贮藏过程中果实 Res含量变化上也起着举足轻重的作用, 然而, 有关温度对葡萄 Res及其糖苷在贮藏过程中的影响缺少研究报道。本文报道了不同贮藏温度下 UV-C辐射葡萄果皮 Res及其糖苷动态变化, 以期在生产上采用 UV-C调控葡萄果实 Res合成与转化提供进一步的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以‘京蜜’葡萄 (*Vitis vinifera*, 中国科学院植物研究所育成) 成熟果实 (商品成熟度) 为试材, 2007年采自中国科学院植物研究所葡萄试验地。

1.2 试验处理

果实采收后, 选用成熟度、颗粒大小较为一致的无损伤和无病虫害的果粒分为两组, 每组 2 000粒左右 (对照和 UV-C处理)。

UV-C处理, 在装有 3支 40 W UV-C灯管 (北京电光源研究所, $\lambda = 254 \text{ nm}$) 的培养架下, 通过调节样品放置高度获得辐照光强为 $3 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ 的 UV-C (采用北京师范大学光电仪器厂生产的紫外辐照计测定辐射强度)。所采用辐射剂量为 $3.6 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ (辐射时间 20 min), 照射过程中每隔 2.5 min 将果粒翻转 1次, 使果粒均匀接受 UV-C辐射。以不进行 UV-C照射的果粒为对照。

辐射完成后, 照射葡萄果粒和对照果粒在控制温度为 25 的生长室中, 黑暗避光条件下孵育 24 h后, 分别在控制温度为 0 和 25 的冷库中贮藏 34 d和 10 d, 贮藏期间采用保鲜膜保湿。贮藏 0、0.5、1、2、3、7、10和 14 d, 分别取 2个贮藏温度下的对照和处理果粒, 24 d和 34 d仅取 0 条件下贮藏的对照和处理果粒。每次取样 3次重复。取样后迅速分离葡萄果皮, 液氮速冻后磨碎, -40 保存待测。

1.3 Res及其糖苷的提取和测定

Res及其衍生物提取采用李晓东等 (2007) 的方法。含量测定采用 Dionex SummitTMMHPLC系统, 包括 Dionex P680泵、Dionex TCC-100柱温箱、Dionex PDA-100检测器 (美国戴安公司)。色谱柱: Inertsil ODS-3柱 (L 250 mm × I.D. 4.6 mm, 5 μm 粒径, 日本 GL 科技公司) 和 Sunchrom C18保护柱 (北京金欧亚科技发展有限公司)。柱温: 25 °C。进样量: 10 μL。流速: 1.0 mL · min⁻¹。检测波长: 306 nm 和 288 nm。3D 扫描: 200 ~ 380 nm。梯度洗脱: 流动相 A——乙腈 (德国 Sigma-Aldrich 公司); 流动相 B——重蒸水, 洗脱程序为初始 90% A、10% B, 14 min 内转为 70% A、30% B, 在 2 min 内转为 90% A、10% B, 然后平衡 2 min。trans-Res 标样购于 Sigma 公司, trans-Piceid 标样 (纯度 > 99%) 购于北京迪尔塔金公司, cis-Piceid 由 trans-Piceid 经 UV-C 辐射转化制备, 含量通过反式异构体的减少量计算。

Chromleon 色谱管理系统 Version 6.50 处理数据, 外标法定量, 最小检出限 0.011 μg · g⁻¹。回归方程: $y = 1.736x - 0.1577$, $r^2 = 0.9989$ (trans-Res), $y = 3.2561x + 0.4454$, $r^2 = 0.9979$ (trans-Piceid), $y = 3.6313x - 0.0829$, $r^2 = 0.9983$ (cis-Piceid)。

采用 SPSS11.0 for Windows (美国 SPSS 公司) 进行数据处理, 采用 Sigma Plot10.0 软件 (美国 SPSS 公司) 作图。

2 结果与分析

2.1 反式白藜芦醇 (trans-Res) 含量动态变化

‘京蜜’葡萄经 3.6 kJ · m⁻² 的 UV-C 辐射后在 25 °C 中黑暗条件下孵育 24 h, 果皮中 trans-Res 含量为 12.48 μg · g⁻¹ FW, 为对照的 9.92 倍 (图 1, 0 d)。

25 °C 和 0 °C 贮藏条件下, 对照 trans-Res 含量低, 变化幅度很小, 而 UV-C 处理在整个贮藏过程中均显著高于对照 (图 1)。

25 °C 贮藏条件下 UV-C 处理果实果皮中 trans-Res 含量在 0 ~ 2 d 内迅速增加, 3 d 时开始迅速降低, 之后则表现为缓慢持续降低的动态, 在 10 d 时仅为 4.52 μg · g⁻¹ FW。0 °C 贮藏条件下 UV-C 处理果实果皮 trans-Res 含量在 0 ~ 3 d 无显著变化, 之后则表现为持续增加, 在 34 d 试验结束时, 达到 31.8 μg · g⁻¹ FW, 是贮藏开始时的 255%。

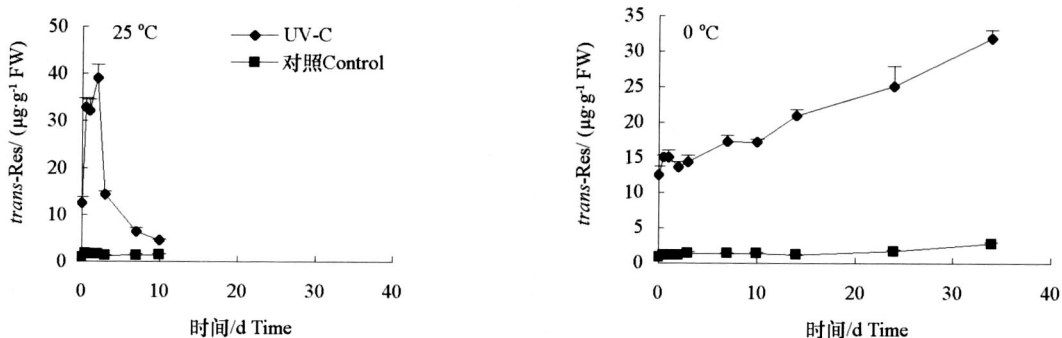


图 1 UV-C 处理后 ‘京蜜’ 葡萄贮藏过程中果皮 trans-Res 含量动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of trans-Res contents in skins of ‘Jingmi’ during storage at different temperature following UV-C irradiation

2.2 反式白藜芦醇苷 (trans-PD) 含量动态变化

UV-C 辐射完成后在 25 °C 黑暗条件下孵育 24 h 后, UV-C 处理和对照果实果皮中 trans-PD 含量均

很低, 且不存在显著差异 (图 2, 0 d)。

25 和 0 贮藏条件下, 对照果实果皮中 *trans*-PD 含量无明显变化 (25) 或在贮藏后期明显增加 (0)。

UV-C处理果皮中 *trans*-PD 含量, 在 25 和 0 贮藏条件下变化动态存在显著差别 (图 2); 25 贮藏条件下在 2 d内迅速提高, 3 d显著降低, 之后则维持在一个相对稳定状态; 0 贮藏条件下在 0~24 d表现为少量持续增加, 24 d至试验结束时大幅度增加。

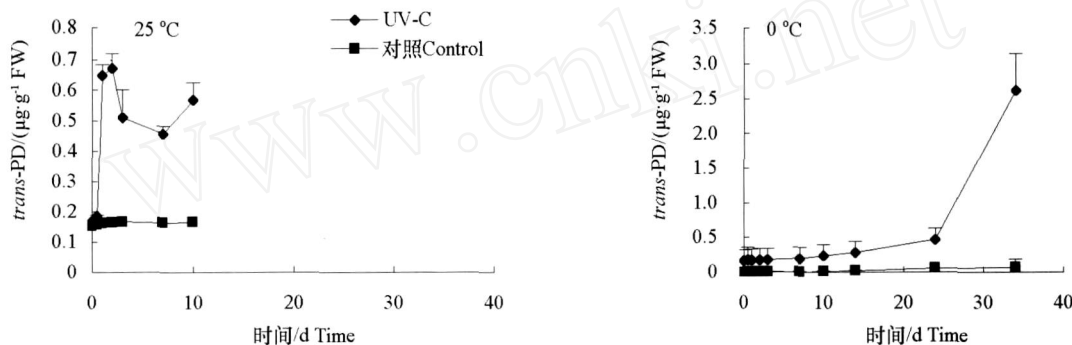


图 2 UV-C处理后‘京蜜’葡萄贮藏过程中果皮 *trans*-PD 含量动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of *trans*-PD contents in skins of ‘Jingni’ during storage at different temperature following UV-C irradiation

2.3 顺式白藜芦醇苷 (*cis*-PD) 含量动态变化

UV-C辐射完成后在 25 黑暗条件下孵育 24 h, UV-C处理果实果皮中 *cis*-PD 含量显著高于对照 (图 3, 0 d)。

25 贮藏条件下, 对照果实果皮中 *cis*-PD 含量低, 变化幅度很小, 且在整个贮藏过程中始终显著或极显著低于 UV-C处理。0 贮藏条件下, 对照 *cis*-PD 含量在 0~24 d无显著变化, 24 d以后开始显著增加, 除 2 d和 34 d外, 均显著或极显著低于 UV-C处理。

UV-C处理果实果皮中 *cis*-PD 含量, 在 25 贮藏条件下 0~3 d内迅速增加, 之后维持在一个相对稳定状态; 0 贮藏条件下在 0.5 d内显著增加, 0.5~2 d显著降低, 2 d后持续增加, 在 24~34 d维持在一个相对稳定状态 (图 3)。

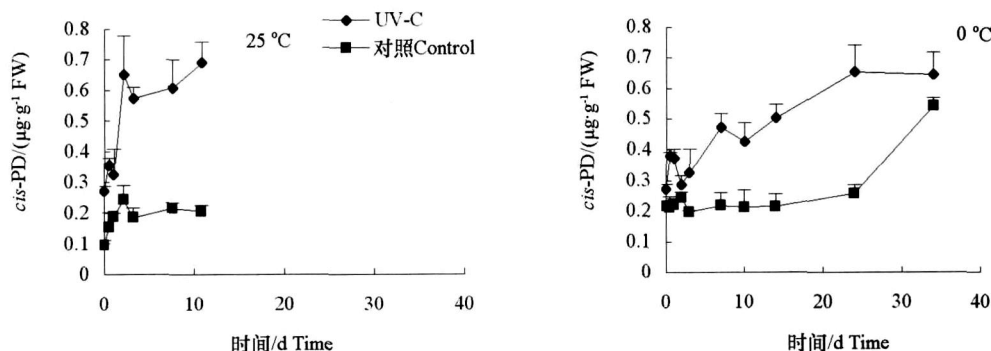


图 3 UV-C处理后‘京蜜’葡萄贮藏过程中果皮 *cis*-PD 含量动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of *cis*-PD contents in skins of ‘Jingni’ during storage at different temperature following UV-C irradiation

3 讨论

本研究结果表明,无论是对照果实还是 UV-C 辐射处理果实,果皮中仅检测到 *trans*-Res, 而检测不到 *cis*-Res, 表明 Res 的顺式异构体极不稳定,与 Trela 和 Waterhouse (1996) 的研究结果一致。但是本试验中同时检测到 *trans*-PD 和 *cis*-PD, 由此推断,对于活体葡萄, *cis*-Res 可能被迅速转化成 *trans*-Res, 或通过糖基化而形成 *cis*-PD。

UV-C 辐射处理果实能显著增加果皮 Res 及其糖苷的含量,但是贮藏温度对维持 UV-C 辐射处理获得的 Res 及其糖苷的高含量具有关键作用。25℃ 贮藏条件下,UV-C 处理果皮中 *trans*-Res 含量在贮藏后 2 d (即辐射处理后 3 d) 出现高峰,而后开始下降,到贮藏后 3 d (即辐射处理后 4 d) 已下降到约为最高峰的 1/3。但在 0℃ 条件下贮藏,UV-C 处理 *trans*-Res 含量不出现下降现象,相反表现出持续增加。表明低温贮藏能够抑制‘京蜜’葡萄果皮中 *trans*-Res 含量下降,与 Li 等 (2009) 在‘北全’葡萄上的研究结果一致。表明无论是欧亚种的酿酒葡萄还是鲜食葡萄,低温贮藏条件下能稳定采收时 UV-C 辐射处理果实获得的高 *trans*-Res 含量。由于采收时 UV-C 辐射处理果实诱导获得的主要是 *trans*-Res, 占总白藜芦醇及其糖苷总量的 96.6%, 可以在室温 (25℃) 下采用 UV-C 辐射提高葡萄 *trans*-Res 含量,在低温 (0℃) 下使高含量的 *trans*-Res 保持较长的时间来满足不同时期消费的需要。

25℃ 贮藏条件下,果皮中 *trans*-Res 含量在 2~10 d 随贮藏时间延长迅速下降,而 *trans*-PD 和 *cis*-PD 含量则保持一个相对稳定状态,表明室温条件下白藜芦醇苷具有较 Res 更好的稳定性,与王娅宁等 (2007) 的研究结果一致。0℃ 贮藏条件下,UV-C 辐射处理果皮中 *trans*-Res、*trans*-PD 含量,对照 *trans*-Res、*trans*-PD 和 *cis*-PD 含量,在贮藏后 24 d 均具有一个上升的过程。Res 是一种葡萄属植物对真菌侵染、机械伤害、UV 照射后的反应产物 (Langcake & Pryce, 1976)。本试验贮藏过程中没有对葡萄果实施用任何化学物质,只是在贮藏后期发现果实出现轻微的霉菌污染。果皮中 *trans*-Res、*trans*-PD 和 *cis*-PD 含量的增加或许是霉菌侵染的结果,与 Li 等 (2009) 的研究结果相同,具体原因仍需进一步进行研究。

References

- Bais A J, Murphy P J, Dry I B. 2000. The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 425 - 433.
- Cantos E, Garc ía-Viguera C, Pasual-Teresa S, Tomás-Barberán F A. 2000. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4606 - 4612.
- Cantos E, Esp í J C, Tomás-Barberán F A. 2001. Postharvest induction modeling method using UV irradiation pulses for obtaining resveratrol-enriched table grapes: A new “functional” fruit? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5052 - 5058.
- Careri M, Corradini C, Elviri L. 2003. Direct HPLC analysis of quercetin and *trans*-resveratrol in red wine, grape, and wine making by products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5226 - 5231.
- Corder R, Douthwaite J A, Lees D M, Khan N Q, Santos A, Wood E, Carrier M. 2001. Health: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature*, 414: 863 - 864.
- Ector B J, Magee J B, Hegwood C P. 1996. Resveratrol concentration in muscadine berry, juice, pomace, purees, seeds, and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 57 - 62.
- Fremont L. 2000. Minireview biological effects of resveratrol. *Life Science*, 66: 663 - 673.
- Jang M, Cai L, Udeani G O, Slowing K V, Thomas C F, Beecher C W W, Fong H H S, Farnsworth N R, Kinghorn A D, Mehta R G, Moon R C, Pezzuto J M. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275: 218 - 220.
- Jeandet P, Bessis R, Gautheron B. 1991. The production of resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stage. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42: 41 - 46.

- Jeandet P, Douillet-Breuil A C, Bessis R, Debord S, Sbaghi M, Adrian M. 2002. Phytoalexins from the Vitaceae: Biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity and metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2731 - 2741.
- Jeandet P, Shashi M, Bessis R. 1992. The use of phytoalexin induction and *in vitro* methods as a tool for botrytis research. *Proceeding of 10th International Botrytic Symposium*, Heraklion, Crete, Greece: 109 - 112.
- Langcake P, Pryce R J. 1976. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiological Plant Pathology*, 9 (1): 77 - 86.
- Li X D, Wu B H, Wang L J, Li S H. 2006. Extractable amounts of *trans*-resveratrol in seed and berry skin in *Vitis* evaluated at the gempasm level. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8804 - 8811.
- Li Xiao-dong, Zheng Xian-bo, Yan Shu-tang, Li Shao-hua. 2007. Effects of salicylic acid (SA), ultraviolet (UV-B and UV-C) on resveratrol inducement in the skin of harvested grape berries. *Journal of Fruit Science*, 24 (1): 30 - 33. (in Chinese)
- 李晓东, 郑先波, 闫树堂, 李绍华. 2007. 水杨酸和紫外线对诱导采后葡萄果皮内白藜芦醇合成作用研究. *果树学报*, 24 (1): 30 - 33.
- Li X D, Wu B H, Wang L J, Zheng X B, Yan S T, Li S H. 2009. Changes in *trans*-resveratrol and other phenolic compounds in grape skin and seeds under low temperature storage after post-harvest UV-irradiation. *J Hort Biotechnol*, 84: 113 - 118.
- Soleas G J, Diamandis E P, Goldberg D M. 1997. Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone? *Clinical Biochemistry*, 30: 91 - 113.
- Trela B C, Waterhouse A L. 1996. Resveratrol: Isomeric molar absorptivities and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1253 - 1257.
- Wang Ya-ning, Wei Ya-hui, Hao Hao-yong, Ji Jing-yuan. 2007. Advances in the research of resveratrol metabolism. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 27 (4): 852 - 857. (in Chinese)
- 王娅宁, 尉亚辉, 郝浩永, 姬婧媛. 2007. 白藜芦醇代谢物的研究进展. *西北植物学报*, 27 (4): 852 - 857.

期刊征订

欢迎订阅 《西北园艺·蔬菜专刊》

《西北园艺·蔬菜专刊》: 来自中国杨凌农科城故里, 全国优秀农业期刊。立足北方独特的生态和区位优势, 扎根反季节菜、设施菜和外销菜基地, 深入追踪菜业品种更新、技术创新、产业发展和市场动向, 突出先进生产技术和实用经营方略, 专心服务专业菜农和菜业一线人士。16开 64页, 逢单月出版, 期发文章 75篇以上。期价 4.00元, 全年 6期 24.00元。邮发代号 52 - 223。为表示感谢, 特向 2010年度订户赠送本刊精编《2010年农友历书》, 订 1份赠 1册, 寄邮局订单复印件或电子邮件告知即赠。索要样刊信附 1.20元邮资即寄。地址: 西安市习武园 27号。邮编: 710003。电话: 029 - 87322643。传真: 029 - 87345539。E-mail: xbyy@vip.163.com。

欢迎订阅 《西北园艺·果树专刊》

《西北园艺·果树专刊》: 全国优秀农业期刊, 陕西省优秀科技期刊, 来自中国杨凌农科城故里。扎根苹果、梨、葡萄、猕猴桃、冬枣等水果最佳优生区和果树设施栽培基地, 深入追踪果业品种更新、技术创新、产业发展和营销动向, 突出先进生产技术和实用经营方略, 专心服务专业果农和果业一线人士。16开 64页, 逢双月出版, 期发文章 80篇以上。期价 4.00元, 全年 6期 24.00元。邮发代号 52 - 224。为表示感谢, 特向 2010年度订户赠送本刊精编《2010年果农历书》, 订 1份赠 1册, 寄邮局订单复印件或电子邮件告知即赠。索要样刊信附 1.20元邮资即寄。地址: 西安市习武园 27号。邮编: 710003。电话: 029 - 87322643。传真: 029 - 87345539。E-mail: xbyy@vip.163.com。