

马艳儿,杨丽,何玉云,等.降水对葡萄多酚类物质的影响[J].江苏农业科学,2016,44(5):221-224.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.05.063

降水对葡萄多酚类物质的影响

马艳儿¹,杨丽¹,何玉云¹,李华^{1,2,3},王华^{1,2,3}

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院,陕西杨凌 712100;

2.陕西省葡萄与葡萄酒工程技术研究中心,陕西杨凌 712100; 3.西北农林科技大学合阳葡萄试验示范站,陕西合阳 715300)

摘要:酿酒葡萄的成熟度以及多酚类物质的形成,受到葡萄成熟期日照、气温、降水等气候因素的影响。2014 年 9 月陕西省杨凌地区出现持续性降水,对葡萄品质、产量造成较大影响。对比了 2013、2014 年杨凌地区 LHN55、赤霞珠、品丽珠等 3 个酿酒葡萄品种(系)的成熟度指标和果皮多酚类物质含量,同时结合气候特点,研究优选酿酒葡萄品系 LHN55 在杨凌地区的栽培适应性。结果表明,降水量增加会影响葡萄果实的成熟度,并造成果皮多酚类物质含量下降;在相同条件下,优选品系 LHN55 拥有较好的成熟度和较高的多酚类物质含量,在杨凌地区表现出更强的栽培适应性。

关键词:酿酒葡萄;降水;多酚类物质;花色苷

中图分类号: TS262.61 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)05-0221-04

葡萄浆果中富含的多酚类物质,是葡萄重要的次生代谢产物^[1],这些成分在酿酒过程中多被溶入葡萄酒中。葡萄果实中主要含有 5 类多酚化合物,即黄酮醇类、黄烷醇类、黄烷酮醇类、酚酸及其衍生物、花色苷类^[2]。葡萄果实中的酚类物质不但决定了葡萄、葡萄酒的涩味、苦味强弱,还影响着葡萄酒的色泽、贮藏寿命及其化学稳定性^[3]。葡萄多酚类物质的种类和含量因品种、栽培条件、地域等因素而异。在不同年份下,同一葡萄品种的多酚类物质含量往往因日照、降水、温度等气候因素变化而表现出差异^[4]。一般葡萄在营养生长阶段需水量大,从果实转色至成熟阶段水分需求量逐渐减少,须要控制水分^[5]。成熟期降水过多往往不利于糖分积累和多酚类物质形成,同时会增加葡萄病虫害的感染概率,进而影响葡萄酒风格和品质^[6]。因此夏季降水量是决定葡萄原料品质及生产成本的限制性因子。

目前,在影响葡萄多酚类物质形成的因素中,有关地域因素的研究较多^[4,7-10];然而在同一地区内,针对降水量对多酚类物质含量影响的研究较少。2014 年葡萄成熟季期间,陕西省咸阳市杨凌区出现持续性降水,为调查降水对不同酿酒葡萄品种多酚类物质的影响提供了契机。本研究以优选红色酿酒葡萄品系 LHN55 为材料,以品丽珠、赤霞珠对照,对比成熟葡萄中还原性糖、总酸、可溶性固形物、pH 值等理化指标和果皮多酚类化合物含量的差异,以为研究降水对酿酒葡萄品质的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

取样地点为位于咸阳市杨凌区的西北农林科技大学葡萄与葡萄酒示范基地。供试材料为红色酿酒品种(系)品丽珠、赤霞珠、LHN55。

降水数据来源于杨凌区气象局。

1.2 方法

1.2.1 葡萄种植管理 分别于 2009—2010 年定植供试材料。单干双臂篱架式栽培,株行距为 1.0 m × 2.5 m,正常田间管理。

1.2.2 理化指标测定 果实成熟期随机采样 100 颗果粒,测定百粒质量、可溶性固形物含量、还原糖含量、总酸等理化指标。使用数显手持糖量计检测可溶性固形物含量,用 pH 计检测 pH 值,采用斐林试剂热滴定法测定还原糖含量,用 NaOH 滴定法测定总酸(以酒石酸计)含量,计算糖酸比(M 值)^[11-12]。

1.2.3 果实(果皮)样品预处理 参考 Meng 等的葡萄果皮酚类提取方法^[13],对该方法改进后的多酚提取工艺为:从不同果穗中随机挑选 100 颗果粒,剥下葡萄果皮并用超纯水冲洗干净后吸干表面水分,称质量并记录。然后将葡萄果皮于液氮中研磨成粉并过 60 目筛,真空冷冻干燥后称取 0.5 g 葡萄皮干粉,加入 2% 酸性甲醇溶液 15 mL,在 25 ℃、100% 功率条件下避光超声辅助提取 30 min 后,8 000 g 超低温离心 15 min,重复 4 次。合并上清液共计 60 mL,于 35 ℃ 下旋转蒸发,残留液用甲醇定容至 50 mL,于 -40 ℃ 下保存,用于测定酚类物质含量。

1.2.4 总酚含量测定 采用福林肖卡法^[14]测定总酚含量。分别配制 0、20、40、60、80、100 mg/L 浓度梯度的没食子酸标准溶液。分别取各标准溶液 0.1 mL 于试管中并编号,加 5.9 mL 超纯水摇匀后,加 0.2 mL 福林肖卡试剂,反应 2 min;加入 10% 碳酸钠溶液 2.0 mL,混匀,避光反应 1 h,于 765 nm

收稿日期:2015-04-11

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD31B00);国家林业局“948”新品种引进项目(编号:2009-4-09)。

作者简介:马艳儿(1988—),女,陕西西安人,硕士研究生,主要从事葡萄与葡萄酒研究。E-mail:miyaran@sina.cn。

通信作者:王华,博士,教授,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒研究。Tel:(029)87091994;E-mail:wanghua@nwsuaf.edu.cn。

波长下比色,记录吸光度,绘制标准曲线。测定样品多酚含量,每个处理重复 3 次,用蒸馏水替代样品作为空白,结果以没食子酸等价值表示。

1.2.5 总黄酮-3-醇含量测定 使用 *p*-DMACA-盐酸法^[15]测定总黄酮-3-醇含量。分别配制 0、10、20、40、60、80 mg/L 的 (+)-儿茶素标准溶液。分别取各标准溶液 0.1 mL 与 *p*-DMACA (含 0.1% 1 mol/L 盐酸甲醇溶液) 3.0 mL 于试管中并编号,振荡混匀后反应 10 min,在 640 nm 波长处测定吸光度,绘制标准曲线。同样对葡萄果皮提取液进行测定。每个处理重复 3 次,结果以 (+)-儿茶素等价值表示。

1.2.6 总类黄酮含量测定 采用 NaNO₂-AlCl₃ 法^[16]测定总类黄酮含量。分别配制 0、100、200、300、400、500、600 mg/L 的芸香苷甲醇标准溶液。分别取各标准溶液 0.1 mL 并编号,依次加入 30% 甲醇 2.7 mL、0.5 mol/L NaNO₂ 溶液 0.2 mL、0.3 mol/L AlCl₃ 溶液 0.2 mL。振荡摇匀并静置 5 min 后,加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL,静置反应 10 min,在 510 nm 波长处测定吸光度,并绘制标准曲线。同样对葡萄果皮提取液进行测定。每个处理重复 3 次,结果以芸香苷甲醇等价值表示。

1.2.7 单宁含量测定 采用蛋白-沉淀法^[17]测定单宁含量。配制 1 g/L 的 (+)-儿茶素酚母液。分别吸取儿茶素酚母液 0、50、100、150、200、250、300 μL 于离心管中,加入 buffer C 定容至 875 μL,再加入 125 μL FeCl₃ 溶液,迅速混匀,室温静置 10 min 后,在 510 nm 波长下测定吸光度,并绘制标准曲线。

取 500 μL 葡萄果皮提取液,加入 1 mL 蛋白缓冲液,室温下反应 15 min;超低温离心 5 min(15 000 *g*),倒掉上清液,加入 875 μL 的 buffer C,室温下再反应 10 min 后,涡旋振荡使沉淀完全溶解。在 510 nm 波长下测定其吸光度,即为单宁的背景值,记为 *D*₁。然后在比色皿中加入 125 μL FeCl₃ 溶液,反应 10 min,在 510 nm 波长下测定其吸光度,即为单宁的最终值,记为 *D*₂,单宁的吸光度 *D*_{单宁} = *D*₂ - *D*₁,将数值代入标准曲线即可得到单宁含量。

1.2.8 总花色苷含量测定 采用 pH 值示差法^[13]测定总花色苷含量。对葡萄果皮提取液分别用 pH 值为 1.0 的盐酸-氯化钾缓冲液及 pH 值为 4.5 的乙酸-乙酸钠缓冲液稀释 20 倍,平衡 100 min。分别在 520、700 nm 波长下测定以上稀

液的吸光度。通过下式计算吸光度:

$$D = (D_{510\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}1.0} - (D_{510\text{ nm}} - D_{700\text{ nm}})_{\text{pH}4.5} \quad (1)$$

总花色苷含量用矢车菊素-3-葡萄糖苷(CGE)表示,通过下式计算:

$$CGE(\text{mg/g}) = (D \times MW \times DF \times V_e \times 1\ 000) / (\varepsilon \times l \times M) \quad (2)$$

式中:MW 为矢车菊素-3-葡萄糖苷相对分子量,449;DF 为稀释倍数; ε 为摩尔吸光系数,29 600;V_e 为提取液总体积,0.05 L;M 为葡萄皮取样质量,g。

2 结果与分析

2.1 降水对葡萄理化指标的影响

如图 1 所示,2013 年 9 月研究区降水量为 68.4 mm,3 个品种均正常成熟后采收。2014 年 9 月研究区降水量为 215.1 mm,较 2013 年 9 月增长 146.7 mm,比常年同期水平增加 110.1 mm^[18]。中晚熟品种品丽珠在 9 月 6 日降水前正常采收,而晚熟品种赤霞珠、LHN55 经历 12 d 的持续性降水后,于 9 月 18 日采收。

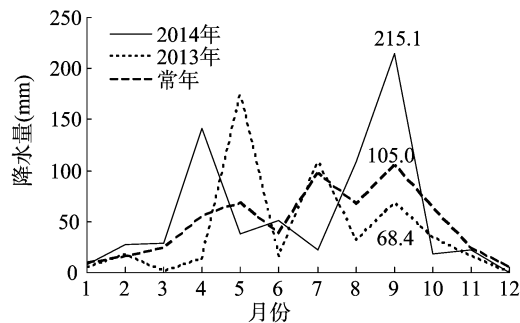


图1 2013、2014年研究区月均降水量

如表 1 所示,2013 年可溶性固形物、还原糖含量最高的葡萄品种(系)是 LHN55,分别为 20.80、197.33 mg/g,在杨凌地区表现出了最佳成熟度。2014 年 9 月的大量降水使得 LHN55、赤霞珠的果实百粒质量有所增加,但葡萄浆果可溶性固形物、还原糖含量都有不同程度降低,其中 LHN55 的可溶性固形物、还原糖含量下降幅度最大,分别为 25.10%、29.86%。此外,由于品丽珠在 2013、2014 年都是正常成熟后采收,因此其果实理化指标未受到降水量变化影响。

表 1 2013、2014 年葡萄果实成熟期理化指标

年份	品种 (系)	可溶性固形物含量 (mg/g)	百粒质量 (g)	还原糖含量 (mg/g)	总酸含量 (mg/g)	pH 值	M 值
2014	品丽珠	17.57	152.24	167.19	6.58	3.64	25.41
	赤霞珠	14.21	147.85	133.00	7.54	3.33	17.64
	LHN55	15.58	114.24	138.40	8.59	3.14	16.11
2013	品丽珠	18.04	149.31	164.33	6.26	3.52	26.25
	赤霞珠	17.30	133.71	169.75	7.36	3.44	23.06
	LHN55	20.80	106.17	197.33	7.52	3.16	26.24

果实的成熟系数(M)即糖酸比,是目前普遍被采用的葡萄成熟度控制指标^[19],其计算公式为:

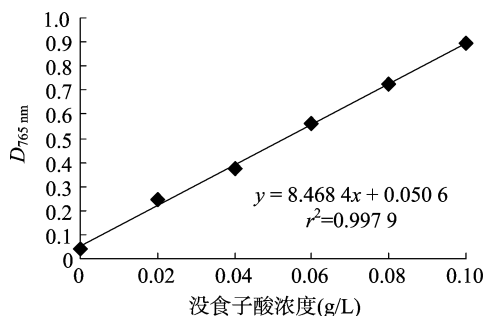
$$M = S/A \quad (3)$$

式中:S 表示还原糖含量(以葡萄糖计,g/L);A 表示滴定酸含量(以酒石酸计,g/L)。

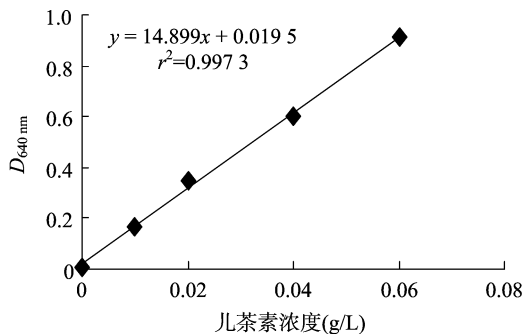
2013 年品丽珠、赤霞珠、LHN55 的成熟系数分别为 26.25、23.06、26.24;2014 年 3 个品种的成熟系数分别为 25.41、17.64、16.11。其中,品丽珠连续 2 年都保持良好的成熟度,而 2014 年赤霞珠、LHN55 的成熟系数大幅下降,表明果实成熟度受持续性降水天气影响严重。

2.2 不同葡萄品种多酚类物质含量的差异

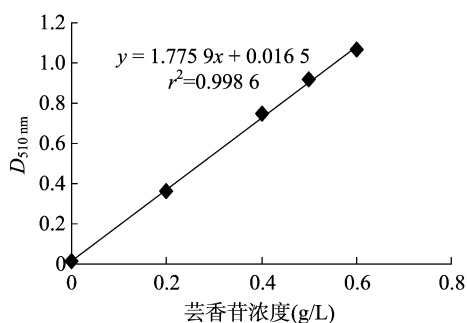
图 2 中,各标准曲线的 r^2 均不低于 0.997 3,说明相关性



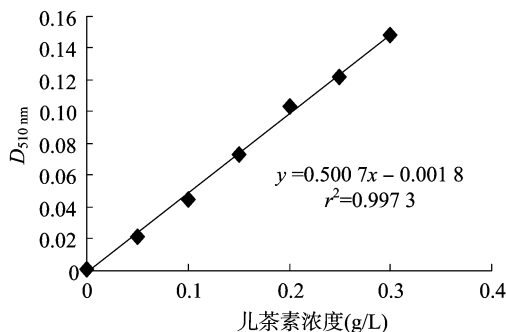
a. 总酚含量测定中没食子酸的标准曲线



b. 总黄烷-3-醇含量测定中(+)-儿茶素的标准曲线



c. 总类黄酮含量测定中芸香苷的标准曲线



d. 单宁含量测定中(+)-儿茶素的标准曲线

图2 测定多酚类物质含量的标准曲线

如图 3 所示,总酚含量最高的品种(系)是 LHN55,为 142.21 mg/g,其次分别是赤霞珠、品丽珠,分别为 107.57、60.41 mg/g。3 个葡萄品种的总类黄酮、总黄烷-3-醇含量差异不大。LHN55 的花色苷总量高达 91.25 mg/g,分别是品丽珠(3.57 mg/g)、赤霞珠(19.45 mg/g)的 25.56、4.69 倍。赤霞珠的单宁含量最高,为 50.14 mg/g,LHN55 的单宁含量最低,为 20.55 mg/g。可以看出,总酚含量高并不意味着各项多酚类物质含量均较高,如 LHN55 的总类黄酮、单宁含量较低。以上结果表明,葡萄果皮多酚类物质种类和含量存在品种特异性,赤霞珠是单宁、类黄酮含量高的酿酒品种;LHN55 是总酚含量高、花色苷含量高、单宁含量低的酿酒品种;而品丽珠的多酚类物质含量较以上 2 个品种都低。

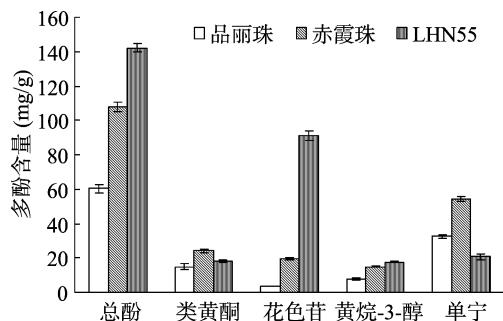


图3 2013年葡萄皮多酚物质含量

2.3 降水对葡萄多酚类物质形成的影响

由图 4-a 可见,2013、2014 年品丽珠的酚类物质含量变化幅度不大,总酚含量在 60 mg/g 左右,总类黄酮含量约 14 mg/g,总花色苷含量约 3.5 mg/g,总黄烷-3-醇含量约

较高。利用标准曲线分别对 2013 年品丽珠、赤霞珠、LHN55 成熟期果皮的多酚类物质含量进行检测。

7.5 mg/g,单宁含量约为 30 mg/g。因其在降水前采收,酚类物质含量未受到较大影响。

由图 4-b 可见,2014 年赤霞珠果皮中总酚、总花色苷、总类黄酮、总黄烷-3-醇、单宁含量都因为持续性降水影响而不同程度下降。总酚含量由 2013 年的 107.57 mg/g 下降为 2014 年的 83.32 mg/g,总花色苷含量由 2013 年的 19.45 mg/g 下降为 2014 年的 10.36 mg/g,总黄烷-3-醇含量由 2013 年的 14.85 mg/g 下降为 2014 年的 8.76 mg/g,降幅分别为 22.54%、46.74%、41.01%。

由图 4-c 可见,同赤霞珠一样,2014 年 LHN55 的多酚类物质含量都分别有所下降,但其总酚、花色苷总量仍然比赤霞珠、品丽珠高,分别达到 111.91、75.96 mg/g;总类黄酮含量为 15.84 mg/g,与同年其他品种无明显差异;总黄烷-3-醇含量为 11.64 mg/g,高于品丽珠(7.97 mg/g)、赤霞珠(8.76 mg/g);LHN55 的单宁含量最低,仅为 16.90 mg/g,分别为品丽珠 29.29 mg/g、赤霞珠 44.58 mg/g 的 57.7%、37.9%。即使受长降水天气影响,但 LHN55 的花色苷总量仍分别是品丽珠 3.05 mg/g、赤霞珠 10.36 mg/g 的 24.90、7.33 倍。

3 结论与讨论

杨凌地区 2013 年降水量为 486.0 mm,2014 年降水量为 683.7 mm,增加的 197.7 mm 降水主要集中在 4 月的葡萄生长期和 9 月的浆果成熟期^[18]。降水量增加会影响葡萄园光照,阻碍光合作用和果实成熟,表现为 2014 年 LHN55、赤霞珠果实含糖量不足,总酸升高,使得 M 值较 2013 年有所降低。同时,葡萄成熟期吸水过多会使风味物质浓度降低,也影响到

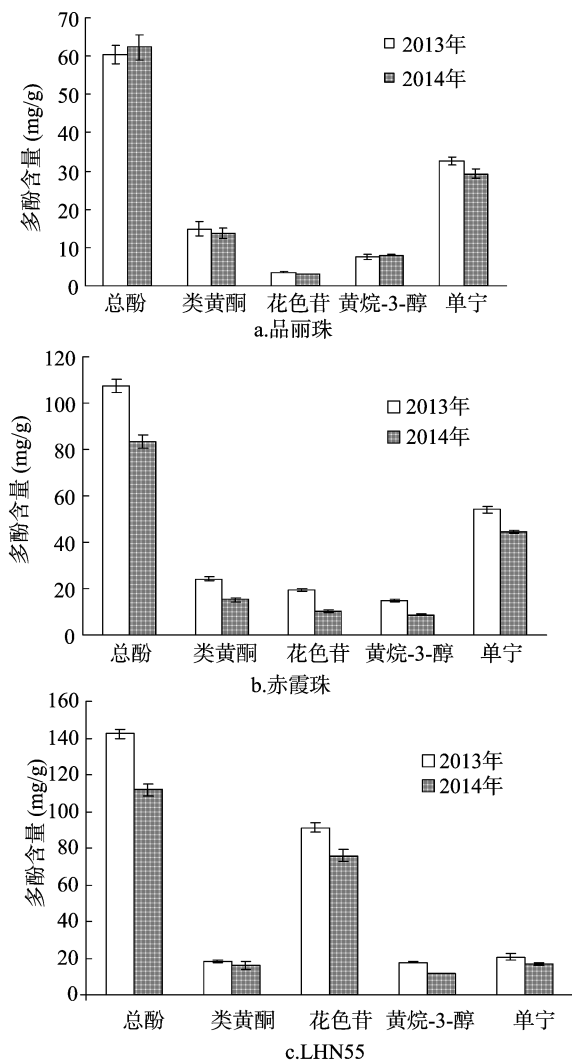


图4 2013、2014年葡萄果皮多酚物质含量

LHN55、赤霞珠葡萄果皮多酚类物质的形成。

2014年品丽珠成熟度较赤霞珠、LHN55更好,但品丽珠各酚类物质含量却最低,说明葡萄中多酚类物质含量因品种不同而存在差异。Zhao等分析了7个山葡萄品种果皮中的花色苷含量,结果表明花色苷含量最高的山葡萄品种为左山二号(14.677 mg/g)^[20]。李小龙等分析了山西省乡宁地区马瑟兰、赤霞珠、梅鹿辄等3个酿酒葡萄品种的花色苷含量,结果表明,其含量从高到低依次为马瑟兰(47.51 mg/g)、梅鹿辄(31.10 mg/g)、赤霞珠(29.93 mg/g)^[21]。本研究中花色苷含量最高的葡萄品种是红色酿酒葡萄LHN55,花色苷总量高达75.96 mg/g,远高于一般酿酒葡萄。LHN55果皮颜色较深,总酸、总酚、花色苷含量高于其他酿酒葡萄品种,而单宁含量较对照更低,建议可将其作为压榨不浸渍桃红葡萄酒的原料,可减少桃红葡萄酒中浸渍环节,降低工艺难度。虽然2014年葡萄成熟期遇持续性降水,阻滞了赤霞珠、LHN55的成熟,但LHN55仍然积累了较高的总酚、花色苷含量,在杨凌地区有较强的适应性,有重要的研究推广意义。

参考文献:

[1] 史明科,郭金英,任国艳,等. 葡萄酒酚类物质研究进展[J]. 酿

酒科技,2012,4(4):17-20.

- [2] 贺晋瑜. 酚类物质对葡萄酒品质的影响[J]. 山西农业科学, 2012,40(10):1118-1120.
- [3] 郝笑云,王宏,张军翔. 酚类物质对红葡萄酒颜色影响的研究进展[J]. 现代食品科技,2013,5(5):1192-1197.
- [4] 王秀芹,张庆华,战吉成,等. 产地与品种对葡萄酒中酚类物质含量的影响[J]. 食品科学,2009,30(21):113-118.
- [5] 周萍. 北京地区葡萄品种生态区划研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2004:2-7.
- [6] 张晓煜,刘玉兰,张磊,等. 气象条件对酿酒葡萄若干品质因子的影响[J]. 中国农业气象,2007,28(3):326-330.
- [7] 陈奕霖. 天津产区酿酒葡萄品质与葡萄酒质量的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2013:30-43.
- [8] 孙翔宇. 单品种葡萄酒、商业葡萄酒酚类物质分析及发酵时去籽时间对葡萄酒中酚类物质含量影响[D]. 西安:陕西师范大学,2013:28-30.
- [9] 孟江飞. 山西乡宁地区葡萄采收时间对葡萄及葡萄酒酚类物质与抗氧化活性影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011:15-26.
- [10] 艾丽丽. 沙城产区酿酒葡萄品质与葡萄酒质量的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011:24-39.
- [11] 王华. 葡萄酒分析检验[M]. 北京:中国农业出版社,2011:125-133.
- [12] 中国国家标准化管理委员会. GB/T15038-2006,葡萄酒果酒通用分析方法[S]. 北京:中国标准出版社,2006.
- [13] Meng J F, Fang Y L, Qin M Y, et al. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China) [J]. Food Chemistry, 2012, 134(4):2049-2056.
- [14] Jayaprakasha G K, Singh R P, Sakariah K K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro* [J]. Food Chemistry, 2001, 73(3):285-290.
- [15] Arnous A, Makris D P, Kefalas P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2002, 15(6):655-665.
- [16] Peinado J, Lopez de Lerma N, Moreno J, et al. Antioxidant activity of different phenolics fractions isolated in must from Pedro Ximenez grapes at different stages of the off-vine drying process [J]. Food Chemistry, 2009, 114(3):1050-1055.
- [17] Rajković M B, Sredović I D. The determination of titratable acidity and total tannins in red wine [J]. Journal of Agricultural Sciences, 2009, 54(3):223-246.
- [18] 杨凌气象局. 杨凌气候月报 [EB/OL]. (2015-01-04) [2015-04-10]. <http://www.ylnyqx.com/sort.php?sortid=17>.
- [19] 李华,王华,袁春龙,等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京:科学出版社,2007:41-46.
- [20] Zhao Q, Duan C Q, Wang J. Anthocyanins profile of grape berries of *Vitis amurensis*, its hybrids and their wines [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(5):2212-2228.
- [21] 李小龙,张振文. 不同酿酒葡萄品种果实成熟过程中花色苷含量变化[J]. 北方园艺,2014(22):13-17.