

DOI:10.11937/bfyy.201708004

贺兰山东麓酿酒葡萄成熟过程中花色苷组分含量及其主成分分析

葛 谦, 杨 春 霞, 牛 艳, 吴 燕, 张 锋 锋

(宁夏农林科学院 农产品质监中心, 宁夏 银川 750002)

摘 要:选择宁夏贺兰山东麓园林场、御马酒庄、玉泉营 3 个酿酒红葡萄产区,以酿酒葡萄品种“黑比诺”“蛇龙珠”“梅鹿辄”“西拉”“赤霞珠”为研究对象,采用高效液相色谱法,对花色苷含量进行了定性、定量分析,通过主成分分析法对花色苷组分及其含量进行判断。结果表明:6 种花色苷可简化为 4 种主成分,累积方差贡献率可达到 98.417%;第一主成分主要是由芍药色素、飞燕草色素、锦葵色素、矢车菊色素构成,其线性回归函数为 $Y_1 = 0.388X_1 + 0.029X_2 + 0.392X_3 - 0.264X_4 + 0.052X_5$;第二主成分主要是由矮牵牛色素和矢车菊色素构成,其线性回归函数 $Y_2 = -0.181X_1 + 0.408X_2 - 0.185X_3 + 0.726X_4 + 0.052X_5$ 。

关键词:酿酒葡萄;花色苷;含量分析;主成分分析

中图分类号:S 663.101 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)08-0014-06

花色苷作为葡萄酒主要呈色物质,使其呈现出红色、砖红色、紫红色等不同颜色,对葡萄酒的颜色

等感官品质起到决定性作用^[1-3]。花色苷在自然界中常以糖苷形式存在,是由花色素与葡萄糖相结合而生成的糖苷类化合物^[4],具有抗氧化、抗癌、防止动脉硬化等功能^[4-6]。在欧亚种葡萄和葡萄酒中主要有 5 种基本形式:飞燕草花色苷、锦葵花色苷、芍药花色苷、矢车菊花色苷和矮牵牛花色苷^[7]。葡萄中花色苷主要存在于红色、紫色葡萄浆果皮中最靠近表皮 3~4 层细胞的液泡中^[8-11]。在葡萄酒酿制过程中,葡萄表皮中的花色苷经浸渍过程进入葡萄酒中,颜色由紫红色逐渐变为砖红色,对葡

第一作者简介:葛谦(1988-),女,硕士研究生,助理研究员,研究方向为农产品质量安全及风险评估。E-mail:278842005@qq.com.

责任作者:杨春霞(1983-),女,硕士,助理研究员,研究方向为农产品质量标准与检测技术。E-mail:xia0113@126.com.

基金项目:宁夏回族自治区自然科学基金资助项目(NZ15108);宁夏农林科学院科技创新先导资金资助项目(NKYJ-15-08)。

收稿日期:2016-12-07

retained on the influence of amount of grape and the corresponding wine physical indexes and phenolic substances. To discuss the effect of different shoot reserved on quality of grape and grape wine of 'Cabernet Sauvignon'. The results showed that, with the progressive increase of flowering shoots reserved. Soluble solid content and pH in grapes showed a downward trend, and the total acid content showed rising remarkably. Changes in total acid and the pH value in the corresponding wines were consistent with the grapes. Pre anthesis, retained 12 new shoots for per meter squared frame surface to accumulation of phenol in grape types of material were better, so that the corresponding wine phenolic substances content had the highest content. Pre anthesis, reserved 9 new tips for per meter squared frame were not conducive to the accumulation of phenolic compounds. That might because that the grapes were exposed under the sun too much which would speed up the sugar accumulation and accelerated fruit ripening. A shoot retained at the pre flowering stage effectively modified canopy microclimate and influenced berry composition. The quality of berry which 12 new tips retained each meter on 'Cabernet Sauvignon' grape was better, and to make the wine quality improved significantly. Results of this work would help grape growers manage their vine canopies more effectively to optimise 'Cabernet Sauvignon' fruit and wine quality.

Keywords: new tips; 'Cabernet Sauvignon' grape; wine; quality

萄酒颜色品质起着至关重要的作用^[12-13]。葡萄酒中花色苷的组成特征蕴含了产地、品种、年份以及酿酒工艺等信息,可作为区分不同品种红葡萄酒的化学标志。因此,分析葡萄及葡萄酒中花色苷尤为重要^[14]。

酿酒葡萄品质取决于品种和生长环境,同一葡萄品种在不同地域呈现不同的特征,表现出明显的地域风格。贺兰山东麓是继烟台、昌黎之后成为我国第3个地理标志产区,形成了银川、永宁、青铜峡、红寺堡集中产区。目前,对贺兰山东麓酿酒葡萄的研究多集中土壤资源的特征^[15]、栽培技术及管理模式、病虫害防治等方面,着力考察了气候条件^[16-17]、葡萄品种、水分、不同施肥水平、矿质元素^[18]等因素对葡萄产量和品质^[19]的影响。胡博然等^[20]对宁夏产区酿酒葡萄品质与葡萄酒质量进行了研究,重点研究了酿酒葡萄与葡萄酒品质评价因子总糖、总酸、酚类物质、花色苷、单宁及香气物质。集中对贺兰山东麓不同品种酿酒葡萄及葡萄酒品质因子花色苷的种类和含量的研究尚鲜见报道。因此,该试验对该地区不同品种酿酒葡萄及葡萄酒中花色苷种类及含量做了系统研究,以期提升酿酒葡萄品质及品种的优良选择提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

酿酒葡萄为贺兰山东麓的银川市芦花台园林场、永宁玉泉营和青铜峡御马酒庄3个地区种植的果实;3个地区栽培模式和水肥管理措施等基本一致。贺兰山东麓地处东经105°45'39"~106°27'35",北纬27°43'00"~39°0'53"。葡萄生长季活动积温3300℃,年平均温度大于10℃。年降水量仅为193.4mm,在葡萄成熟期降水更少。样品采集期,出现一定的降雨,降雨量达到20~57mm。

1.2 试验材料

标准品:Cyaniding-3-O-glucoside(矢车菊色素-3-O-葡萄糖苷)、Peonidin-3-O-glucoside(芍药色素-3-O-葡萄糖苷)、Delphinidin-3-O-glucoside(飞燕草色素-3-O-葡萄糖苷)、Petunidin-3-O-glucoside(矮牵牛色素-3-O-葡萄糖苷)、Malvidin-3-O-glucoside(锦葵色素-3-O-葡萄糖苷)、Pelargonidin-3-O-glucoside(天竺葵色素-3-O-葡萄糖苷),均购自美国Chromadex公司。将购得的标准品分别用盐酸(v)/甲醇(v)=1:9配制成100mg·L⁻¹的标准储备液,保存于-20℃。

甲醇、乙腈(色谱纯)为德国Merck公司产品;无水乙醇、磷酸(分析纯)、盐酸(优级纯)为上海化学

试剂有限公司产品。

Waters 2695 高效液相色谱仪(配2475紫外检测器及Xcalibur1.2数据处理系统,美国Waters公司);凯航HH-8数显恒温水浴锅(常州市凯航仪器有限公司);法兰特一体式单槽超声波清洗机(杭州法兰特超声波科技有限公司);Mili-Q型超纯水机(美国密理博公司)。

1.3 试验方法

采集2015年9月初至10月中旬的葡萄样品,每隔3~7d取样,从不同方位的上、中、下,向阳、背阳面摘取一定量果粒,并测定总糖和总酸含量,分别绘制总糖和总酸含量变化曲线。待果实成熟后,采取成熟的葡萄果粒5kg待用。

1.4 项目测定

总酸含量参照GB/T 12456—2008法测定;可溶性总糖含量参照GB/T 5009.7—2008法测定。

花色苷含量测定色谱条件:Agilent-ZORBAX SB-C18 色谱柱(4.6mm×250mm,5μm);柱温:40℃;检测波长:525nm;流动相:A:乙腈;B:0.1%磷酸水溶液;流速:0.8mL·min⁻¹,梯度洗脱;进样体积:5μL,洗脱程序见表1。样品预处理:称取5.00g葡萄酒于100mL顶空瓶中,加入无水乙醇:盐酸:水(2:1:1)提取剂25mL,摇匀后用压盖器将瓶盖压紧密封,超声30min后于100℃沸水浴1h。取出样品冷却至室温,经0.22μm微孔滤膜过滤后待测。

表1 梯度洗脱程序

时间 Time	流速 Flow rate	乙腈 Acetonitrile	0.1% 磷酸水溶液 0.1% phosphoric acid-waters solution/%
/min	/(mL·min ⁻¹)	/%	
0.0	0.8	10	90
25.0	0.8	25	75
25.1	0.8	10	90

1.5 数据分析

试验所得数据使用SPSS 17.0和OriginPro 8.5软件进行处理与分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种酿酒葡萄总糖及总酸含量

葡萄原料成熟度的确定对葡萄的采收和酿造最佳品质的葡萄酒具有重要意义。试验对银川市芦花台园林场、永宁玉泉营和青铜峡御马酒庄基地的“赤霞珠”“梅鹿辄”等酿酒葡萄,从9月初至10月初,每隔3~7d采样,定期测定果实总糖和总酸含量。由图1可以看出,不同酿酒葡萄在生长成熟过程中总糖含量

呈逐渐上升趋势,总酸随糖度积累含量呈现‘S’型变化。不同品种酿酒葡萄的总糖、总酸因产区不同而有显著差异性。其中红、白葡萄总糖含量以青铜峡御马

酒庄最高,其次是永宁玉泉营,芦花园林场最低;总酸含量以青铜峡御马酒庄的最低,芦花园林场的最高。

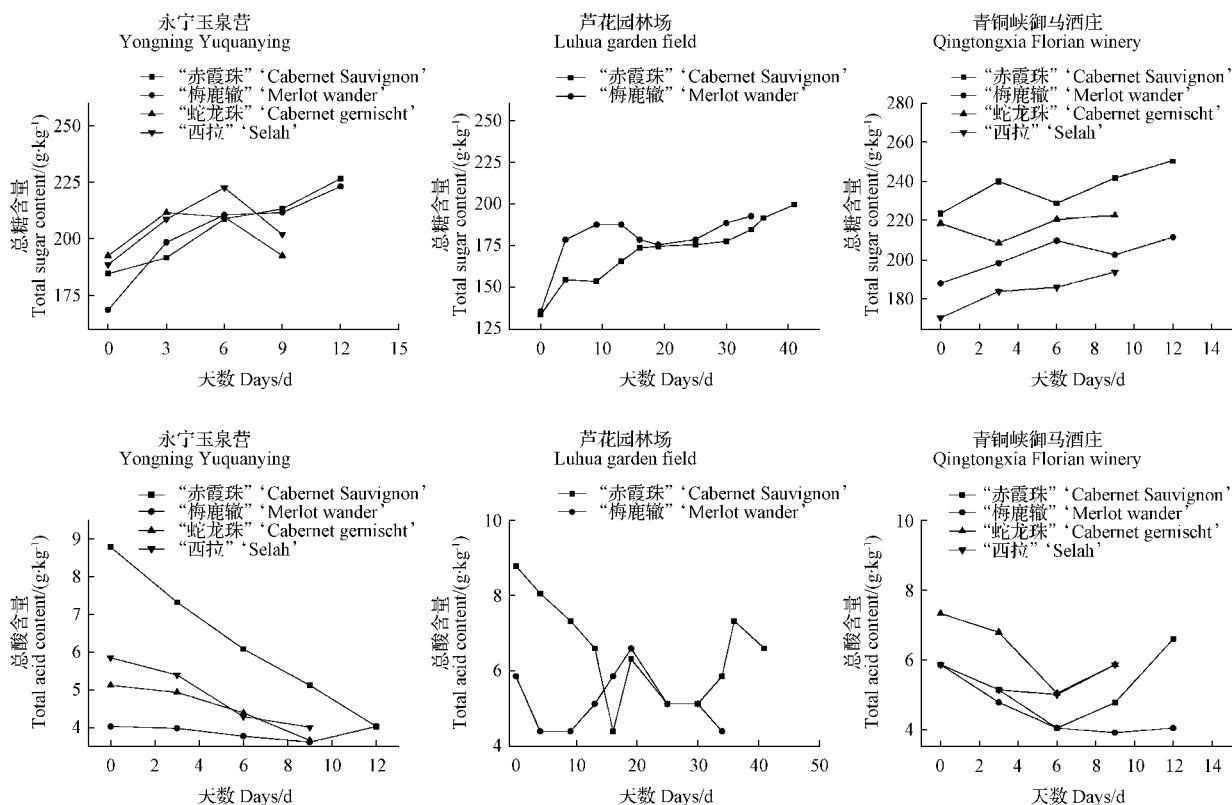


图1 不同地区酿酒葡萄总糖、总酸含量

Fig. 1 Total sugar and acid concentrations of wine grape in different regions

2.2 酿酒葡萄花色苷含量分析

2.2.1 不同品种酿酒葡萄花色苷含量 由图2可以看出,酿酒葡萄中主要花色苷为锦葵色素、飞燕草色素和芍药色素,矮牵牛色素和矢车菊色素含量较低,天竺葵色素未检出,这与赵权等^[9]报道不同品种山葡萄酒中花色苷的组成与含量基本一致。“黑比诺”总花色苷含量最高为81.0 mg·kg⁻¹,其次为“蛇龙珠”“梅鹿辄”“西拉”“赤霞珠”,其含量分别为76.80、74.52、37.02、12.28 mg·kg⁻¹。矮牵牛色素、芍药色素、矢车菊色素、飞燕草色素含量最高的葡萄品种分别为“梅鹿辄”(18.53 mg·kg⁻¹)、“蛇龙珠”(12.61 mg·kg⁻¹)、“梅鹿辄”(6.30 mg·kg⁻¹)、“蛇龙珠”(15.89 mg·kg⁻¹)。各品种酿酒葡萄锦葵色素含量最高为“蛇龙珠”(40.14 mg·kg⁻¹),其次为“黑比诺”“梅鹿辄”“西拉”“赤霞珠”,其含量分别为38.16、34.72、23.35、7.11 mg·kg⁻¹,与花色苷总含量排序高度吻合,说明锦葵色素在一定程度上可以体现出酿酒葡萄中花色苷总含量情况,在用花色苷

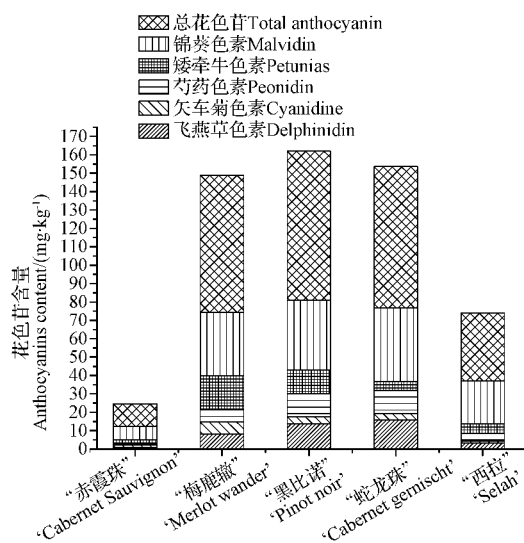


图2 不同品种酿酒葡萄中花色苷含量

Fig. 2 Anthocyanins contents of wine grape in different varieties

评价酿酒葡萄品质优劣时其含量情况具有一定的代表性。

2.2.2 不同产地酿酒红葡萄花色苷含量 图3为酿酒红葡萄园林场、御马酒庄、玉泉营3个产区各花色苷含量和花色苷总含量的平均值。玉泉营产“赤霞珠”“梅鹿辄”“蛇龙珠”花色苷总含量在3个产区均为最高,其含量分别为14.65、76.24、79.10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,这可能因为玉泉营总糖、总酸含量在3个产区表现居中,对花色苷的累积有促进作用。“赤霞珠”酿酒葡萄中,飞燕草色素、矢车菊色素和芍药色素在园林场产区表现最好为0.87、1.39、0.78 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,矮牵牛色素、锦葵色素在玉泉营产区表现最好为3.56、8.89 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;“梅鹿辄”酿酒葡萄中,飞燕草色素和芍药色素御马酒庄产区表现最

好为9.13、8.45 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,矢车菊色素和矮牵牛色素在园林场产区表现最好为6.30、18.53 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,锦葵色素在玉泉营产区表现最好(37.23 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$);“蛇龙珠”酿酒葡萄除飞燕草色素在园林场产区表现最好(15.89 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),其它4种花色苷玉泉营产区均表现最好。

2.3 酿酒葡萄成熟过程中花色苷变化规律

以园林场种植的“赤霞珠”“梅鹿辄”为研究对象,考察当年9月2日至10月10日葡萄在成熟过程中花色苷含量的变化。由图4可以看出,各花色苷和总花色苷含量均成波浪递增趋势,天竺葵色素未检出。“赤霞珠”中芍药色素和矮牵牛素变化较大,其余含量变化不明显;“梅鹿辄”中锦葵色素含量变化最为明显,且含量最高,其它色素含量变化较缓。

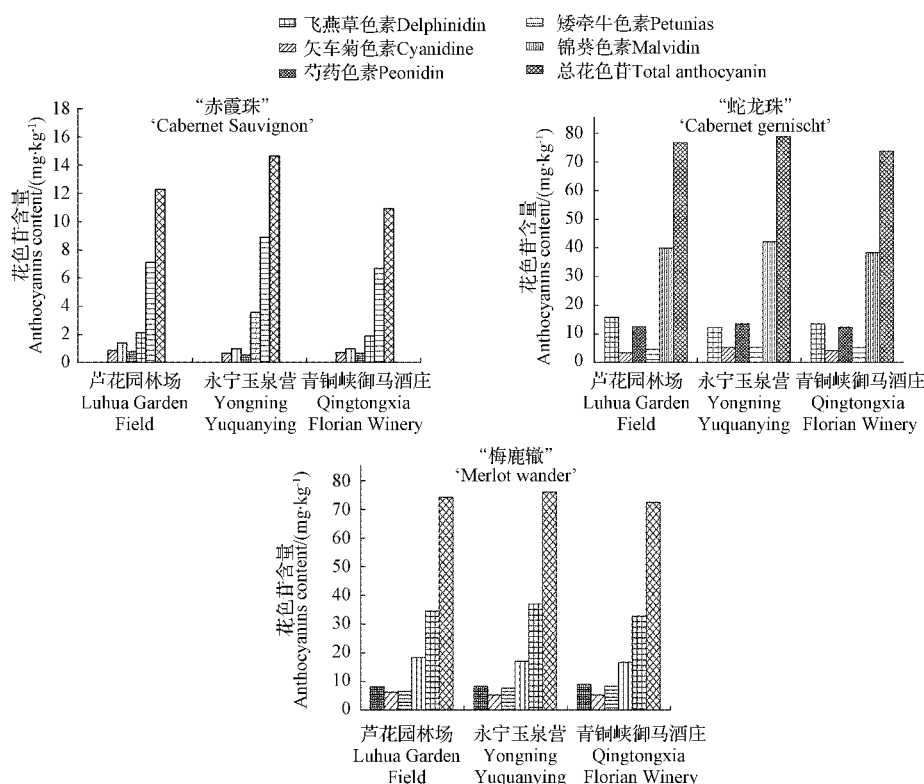


图3 不同产地酿酒葡萄中花色苷含量

Fig. 3 Anthocyanins contents of wine grape in different regions

2.4 宁夏贺兰山东麓酿酒葡萄花色苷主成分分析

主成分分析是用来缩减变量维度的技术,其目的主要在于利用原变量间具有较强相关性的特点,将原来有很多变量(维度)的数据,缩减成较少维度数,并对降维后的特征向量进行线性变换,用少量因素反映原数据所提供的大部分信息^[21-22]。利用SPSS 17.0软件对宁夏贺兰山东麓园林场、御马酒

庄、玉泉营产5种红色酿酒葡萄的6种花色苷含量进行主成分分析,得到主成分的特征值、贡献率和累积贡献率。从表2可知,特征值大于1的共计2个主成分,第1主成分的贡献率为77.405%,第2主成分的贡献率为21.012%,这2个成分的累积贡献率为98.417%,说明2个主成分能很好的代替反映原始数据绝大部分信息,因此构成酿酒葡萄花色苷组

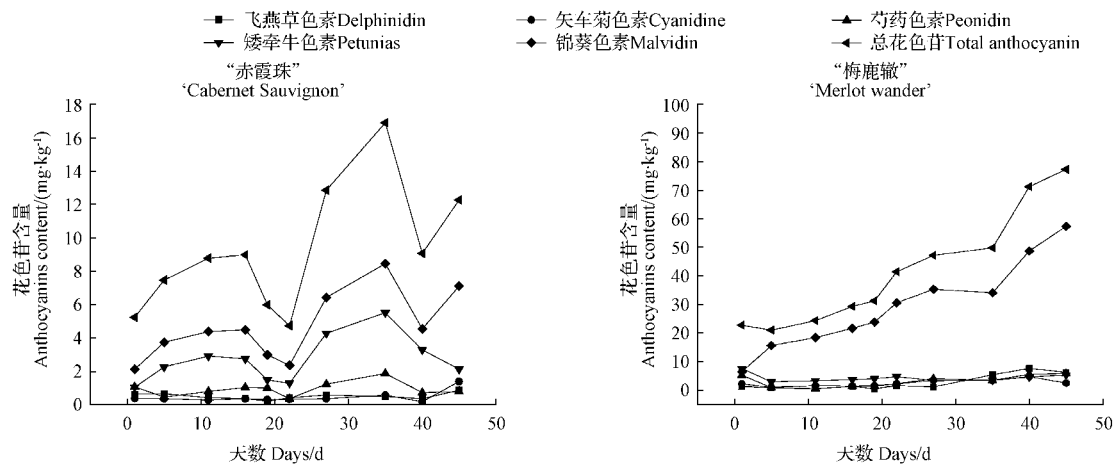


图 4 酿酒葡萄成熟过程中花色苷含量变化规律

Fig. 4 Content variety of several anthocyanins in wine grapes during their maturing

表 2 各主成分的特征值和累积贡献率

Table 2 Characteristic values and cumulative contribution rate of the main elements

主成分 Principal component	特征值 Characteristic value	贡献率 Contribution rate/%	累积贡献率 Cumulative contribution rate/%
1	3.870	77.405	77.405
2	1.051	21.012	98.417
3	0.064	1.289	99.706
4	0.009	0.178	99.884
5	0.006	0.116	100.000

分特征的物质由最初 6 个降到了 2 个不相关的主成分,成功达到了降维目的。

由表 3 可知,因子 1 主要是由芍药色素、飞燕草色素、锦葵色素、矢车菊色素 4 个相关程度较高的变量所构成,其因子载荷量介于 0.603~0.985。因子 2 主要是由矮牵牛色素和矢车菊色素 2 个相关程度较高的变量构成,其因子载荷量分别为 0.988、0.778。得分系数反映各个指标对主成分影响程度的判定依

据,通过得分系数将各个变量进行线性组合,建立关于第 1 主成分(Y_1)和第 2 主成分(Y_2)与飞燕草色素(X_1)、矢车菊色素(X_2)、芍药色素(X_3)、矮牵牛色素(X_4)、锦葵色素(X_5)这 5 个变量得分系数模型。因此第 1 主成分可以提取为: $Y_1 = 0.388X_1 + 0.029X_2 + 0.392X_3 - 0.264X_4 + 0.052X_5$;第 2 主成分可以提取为: $Y_2 = -0.181X_1 + 0.408X_2 - 0.185X_3 + 0.726X_4 + 0.052X_5$ 。

表 3 主成分载荷矩阵

Table 3 Component matrix

指标 Index	成分载荷矩阵 Components load matrix		旋转成分载荷矩阵 Rotate components load matrix		得分系数矩阵 Scoring coefficient matrixes	
	因子 1 Factor 1	因子 2 Factor 2	因子 1 Factor 1	因子 2 Factor 2	因子 1 Factor 1	因子 2 Factor 2
飞燕草色素 Delphinidin	0.915	-0.374	0.976	0.158	0.388	-0.181
矢车菊色素 Cyaniding	0.920	0.349	0.603	0.778	0.029	0.408
芍药色素 Peonidin	0.922	-0.381	0.985	0.156	0.392	-0.185
矮牵牛色素 Petunidin	0.593	0.796	0.091	0.988	-0.264	0.726
锦葵色素 Malvidin	0.992	-0.100	0.899	0.432	0.269	0.052

3 结论

该研究采用高效液相色谱法测定了宁夏贺兰山东麓 5 个品种酿酒红葡萄中 6 种花色苷含量。结果表明,酿酒葡萄中含有芍药色素、飞燕草色素、锦葵色素、矢车菊色素、矮牵牛色素 5 种色素,天竺葵色

素未检出,且在成熟过程中,花色苷含量逐渐增加。由于含量高的成分不一定代表酿酒葡萄典型花色苷的主成分,因此用主成分分析法进行分析,经分析提取出 2 种主成分,其累积贡献率达到 98.417%。第 1 主成分为芍药色素、飞燕草色素、锦葵色素、矢车菊

色素,第2主成分为矮牵牛色素和矢车菊色素。

该试验采用统计学方法探讨了酿酒葡萄特征花色苷,为酿酒葡萄在今后葡萄酒酿制工艺提供了重要理论依据,且酿酒葡萄的中和开发利用提供了重要参考。

参考文献

- [1] 陈曦,周小平,韩舜愈,等. HPLC测定葡萄和葡萄酒中花色苷[J]. 光谱实验室,2013(4):1704-1709.
- [2] 韩富亮,李杨,李记明,等. 红葡萄酒花色苷结构和颜色的关系研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2011(3):328-336.
- [3] 杜文华,刘忠义. 葡萄酒中花色苷的研究进展[J]. 食品与机械,2011(4):169-172,176.
- [4] 王丽娜. 宁夏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.
- [5] 刘丽媛,苑伟,刘延琳. 红葡萄酒中花色苷辅助成色作用的研究进展[J]. 中国农业科学,2010,43(12):2518-2526.
- [6] 王华,丁刚. 葡萄酒中花色苷研究现状[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2002(2):25-29.
- [7] 韩富亮. 葡萄与葡萄酒花色苷 HPLC 指纹图谱的初步研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2005.
- [8] 季梅,李强,姜红祥. 高效液相色谱-质谱检测红葡萄皮中花色苷[J]. 药物分析杂志,2011(12):2240-2243.
- [9] 赵权,王军,韩富亮. 不同品种山葡萄酒中花色苷的成分分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2013(6):195-201.
- [10] 刘丽媛,苑伟,刘延琳. 红葡萄酒中花色苷辅助成色作用的研究进展[J]. 中国农业科学,2010(12):2518-2526.
- [11] 刘一健,孙剑锋,王颀. 葡萄酒酚类物质的研究进展[J]. 中国酿

造,2009,28(8):5-9.

- [12] RENTZSCH M, SCHWARZ M, WINTERHALTER P. Pyrano-anthocyanins-an overview on structures, occurrence, and pathways of formation[J]. Trends Food Sci Tech, 2007,18(10):526-534.
- [13] 陈继峰. 红葡萄酒颜色研究进展[J]. 农业工程学报,2004,20(S1):18-24.
- [14] 于庆泉. 蛇龙珠红葡萄酒酿造过程中花色苷的变化规律研究[D]. 北京:中国农业大学,2006.
- [15] 于庆泉,段长青. 蛇龙珠葡萄酒酿造过程中颜色变化规律研究[J]. 中国酿造,2006(11):28-30.
- [16] 施明,孙权,王锐,等. 贺兰山东麓酿酒葡萄园土壤微量营养素及微肥施用进展[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2013(2):59-62.
- [17] 江志国,张振文. 宁夏酿酒葡萄气候区域化初探[J]. 西北林学院学报,2008,2(4):123-126.
- [18] 张翔翔,李玉鼎,王战斗,等. 气象因子对葡萄酒质量影响的研究[J]. 山西果树,2004(2):2-5.
- [19] 田海燕. 贺兰山东麓葡萄与葡萄酒矿质元素特征研究[D]. 宁夏:宁夏大学,2014.
- [20] 胡博然,杨新元,江志君,等. 贺兰山东麓地区葡萄酒香气成分分析研究[J]. 农业机械学报,2005,36(12):87-90.
- [21] NUR A T, CHE M Y, RAJA R N, et al. Use of principal component analysis for differentiation of gelatine sources based on polypeptide molecular weights[J]. Food Chemistry, 2014,151(5):286-292.
- [22] GUILLÉN - CASLA V, ROSALES - CONRADO N, LEÓN - GONZÁLEZ M E, et al. Principal component analysis (PCA) and multiple linear regression (MLR) statistical tools to evaluate the effect of E-beam irradiation on ready-to-eat food[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011,24(3):456-464. doi:10.1016/j.jfca.2010.11.010.

Determination and Principal Component Analysis of Anthocyanins in Mature Process of Wine Grapes in Eastern Helan Mountain

GE Qian, YANG Chunxia, NIU Yan, WU Yan, ZHANG Fengfeng

(Quality Standards and Testing Institute of Agricultural Technology, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract: The qualitative and quantitative analysis of red grape wine for 6 kinds of anthocyanins by HPLC in eastern Helan Mountain were studied. The content of anthocyanins component in 'Pinot noir', 'Cabernet gernischt', 'Merlot wander', 'Selah', 'Cabernet Sauvignon' were determined. The principal component method was conducted in garden field, Yuquanying and Yuma chateaus. The results showed that six kinds of anthocyanins could be simplified into four, principal components and the cumulative variance contribution rate could reach 98.417%. The first principal component mainly contained peony pigment, pigment delphinidin, mallow, cornflower pigment, the linear regression function for $Y_1 = 0.388X_1 + 0.029X_2 + 0.392X_3 - 0.264X_4 + 0.052X_5$; the second principal component mainly contained petunias pigment and cornflower pigment, the linear regression function $Y_2 = -0.181X_1 + 0.408X_2 - 0.185X_3 + 0.726X_4 + 0.052X_5$.

Keywords: wine grapes; anthocyanins; contents analysis; principal component analysis