

酶对山葡萄酿酒过程酚类物质浸出率的影响

赵 权

(吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101)

摘 要:以“左优红”山葡萄品种为试材,通过 HPLC 法,研究蜗牛酶、纤维素酶、果胶酶对山葡萄酒陈酿过程中酚类物质浸出率的影响。结果表明:酶对山葡萄皮中总花色苷的浸出率不显著;纤维素酶处理对绿原酸的浸出率效果最好,比对照提高了 7.8 个百分点;蜗牛酶处理对白藜芦醇的浸出率效果最好,比对照提高了 4.3 个百分点。

关键词:山葡萄酒;蜗牛酶;纤维素酶;果胶酶;酚类物质

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0130-04

山葡萄(*Vitis amurensis* Rupr.)属葡萄科葡萄属落叶藤本植物,原产中国东北、华北、俄罗斯远东地区及朝鲜等地,果实可用于酿酒,目前已经选育有很多适合酿酒的品种,如“左山一”、“双红”等。葡萄及葡萄酒中含有的丰富的酚类物质,如花色苷、白藜芦醇类、绿原酸、儿茶素等物质,是赋予红葡萄酒颜色的主要物质,酚类物质的含量和比例都将影响葡萄酒的感官及品质^[1-3]。酚类物质是葡萄浆果中重要的次生代谢产物,在葡萄酒酿造过程中被浸渍到酒中,决定着葡萄酒的口味、色泽及收敛性,是葡萄酒的“骨架成分”,被作为评判干葡萄酒优劣的关键组分,多年来一直为国际葡萄酒科研的重要组成部分。大量研究发现,影响葡萄酒中酚类物质含量的主要因素有浸渍时间、发酵温度、倒罐方式和频率、SO₂ 的使用、酵母类型、发酵容器类型等^[4]。酚类物质主要存在于葡萄的果皮及种子中,由于植物细胞壁通常较厚且坚硬,使细胞壁具有很大的机械强度,在酿酒过程中 30%~50%的酚类物质在葡萄酒发酵过程中未被浸出而损失,因此如何提高酚类物质的浸出率就成为葡萄酒酿造工艺的重要研究内容,目前利用浸渍酶等提高酚类物质浸出率在国外的葡萄酒酿造中已经应用。蜗牛酶被生物学家称为微型手术刀,是从蜗牛的唾液和消化道中制备的混合酶,广泛用于细胞生物学和基因工程学的研究,主要用于溶解细胞壁、造纸及酿酒工业^[5-7];纤维素酶是一组复合酶,是生物催化剂,其功能是降解纤维素和溶解植物果实细胞壁,国外用纤维素酶处理葡萄,使葡萄细胞壁被破坏,从而使色素的提取更加充分,提

高了红葡萄汁的浸提和色泽的稳定^[5,8-9];果胶酶是一类包含多种组分的复合酶,能部分水解植物细胞壁中的多糖果胶、半纤维素、纤维素等从而改变植物细胞壁透性^[10-12]。

该试验以山葡萄为原料,在山葡萄酿酒过程中加入蜗牛酶、纤维素酶、果胶酶,采用 HPLC 法研究山葡萄发酵前后酚类物质的变化,以期为进一步优化山葡萄酒酿造工艺、提高山葡萄酒相关品质提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试山葡萄品种为“左优红”,2013 年 9 月采自中国农业科学院特产研究所山葡萄国家种质资源圃。

1.2 试验方法

1.2.1 酿造过程 葡萄浆果→精选→破碎→发酵→皮渣分离(第 8 天)→冷冻干燥→提取→检测。

1.2.2 试验设计 取葡萄 5 kg,破碎后加酶。酶的添加量分别为纤维素酶 3.0927 g、果胶酶 1.0463 g、蜗牛酶 1.0104 g^[4]。设酿酒前处理为 CK₁,酿酒后处理为 CK₂,纤维素酶为 X,果胶酶为 G,蜗牛酶为 W。

1.3 项目测定

1.3.1 葡萄皮中总花色苷提取及测定 总花色苷的检测参照 Paul 等^[13]方法,在波长为 530 nm 检测花色苷吸光值。

1.3.2 葡萄籽中绿原酸的测定 葡萄籽中绿原酸的提取参考赵权^[14]的方法。色谱条件为 VP-ODS C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm);流动相:乙腈:0.4%磷酸(17:83),0.45 μm 滤膜抽滤,等梯度洗脱,流速 1.0 mL/min;柱温 25℃;检测波长 327 nm。灵敏度 0.5 AUFS。

1.3.3 葡萄籽中白藜芦醇的测定 葡萄籽中白藜芦醇的提取参考赵权^[15]的方法。色谱条件为 VP-ODS C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm);洗脱条件:甲醇(A):水(B)为

作者简介:赵权(1967-),男,博士,教授,研究方向为森林植物资源利用。E-mail:zhaoquanbs@163.com。

基金项目:吉林省教育厅酿造技术高等学校工程研究中心资助项目(吉农院合字[2012]第 605 号)。

收稿日期:2014-03-13

40 : 60, 0.45 μm 滤膜抽滤, 等梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 柱温 22 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 305 nm; 分析时间 15 min。

2 结果与分析

2.1 酶对总花色苷浸出率的影响

从图 1 可以看出, 山葡萄酒酿造 8 d 后, 葡萄皮的总花色苷含量下降显著, 说明葡萄皮中的花色苷大部分浸渍到酒中。酿酒前葡萄皮(CK₁)总花色苷的吸光度为 0.86, 发酵后 CK₂ 总花色苷的吸光度为 0.32, 浸出率为 60.49%; 纤维素酶(X)处理的总花色苷的吸光度为 0.30, 果胶酶(G)处理的总花色苷的吸光度为 0.30, 蜗牛酶(W)处理的总花色苷的吸光度为 0.31。处理与 CK₂ 之间无显著差异, 说明酶对总花色苷的浸出率影响不显著。

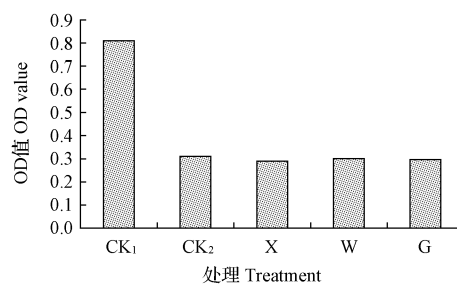


图 1 酶对总花色苷浸出率的影响

Fig. 1 Effect of enzyme on the total anthocyanin leaching rate

2.2 酶对绿原酸浸出率的影响

图 2 为绿原酸标准品及样品高效液相色谱图, 所有样品在 4.1 min 左右有 1 个峰, 与标品的保留时间 4.19016 min 相符, 可以断定此峰为绿原酸。

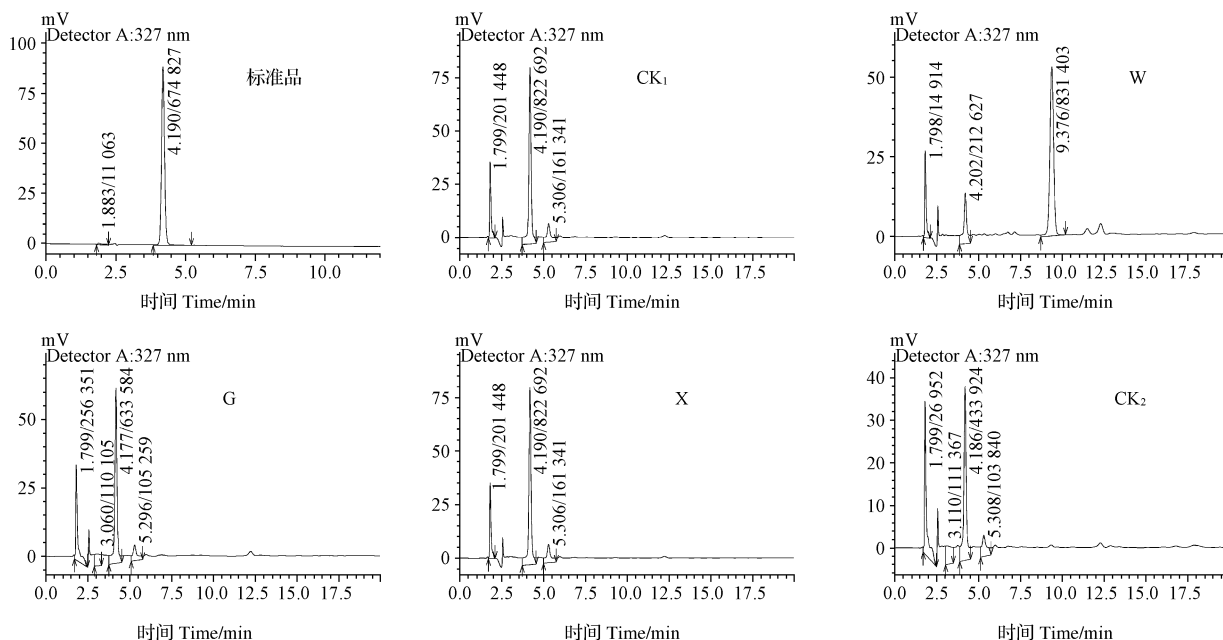


图 2 绿原酸标准品及样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of chlorogenic acid standard and sample

由图 3 可以看出, 山葡萄酒酿造 8 d 后, 葡萄籽中绿原酸含量显著下降, 说明葡萄籽中的绿原酸在发酵过程中大部分被浸渍到酒中。酿酒前葡萄籽(CK₁)绿原酸含量为 51.72 $\mu\text{g/g}$, 发酵后 CK₂ 绿原酸含量为 23.69 $\mu\text{g/g}$, 浸出率为 54.91%; 纤维素酶(X)处理的绿原酸含量为 19.31 $\mu\text{g/g}$, 浸出率为 62.70%, 与 CK₂ 差异极显著; 果胶酶(G)处理绿原酸含量为 22.84 $\mu\text{g/g}$, 浸出率为 55.80%, 与 CK₂ 差异不显著; 蜗牛酶(W)处理绿原酸含量为 21.76 $\mu\text{g/g}$, 浸出率为 57.90%, 与 CK₂ 差异显著, 说明酶处理提高了绿原酸的浸出率。

2.3 酶对白藜芦醇浸出率的影响

由图 4 可以看出, 白藜芦醇标准品出峰时间为 12.211 min, 而 CK₁、CK₂、W、X、G 分别在 11.666、12.222、

12.156、12.241、12.162 min 出现特征峰, 由此推断为白藜芦醇。

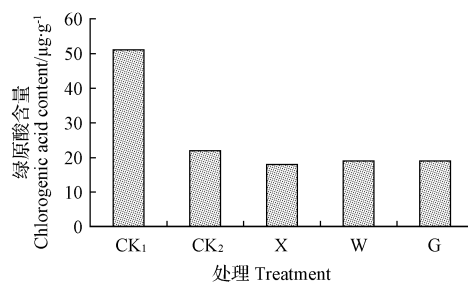


图 3 酶对绿原酸浸出率的影响

Fig. 3 Effect of enzyme on chlorogenic acid leaching rate

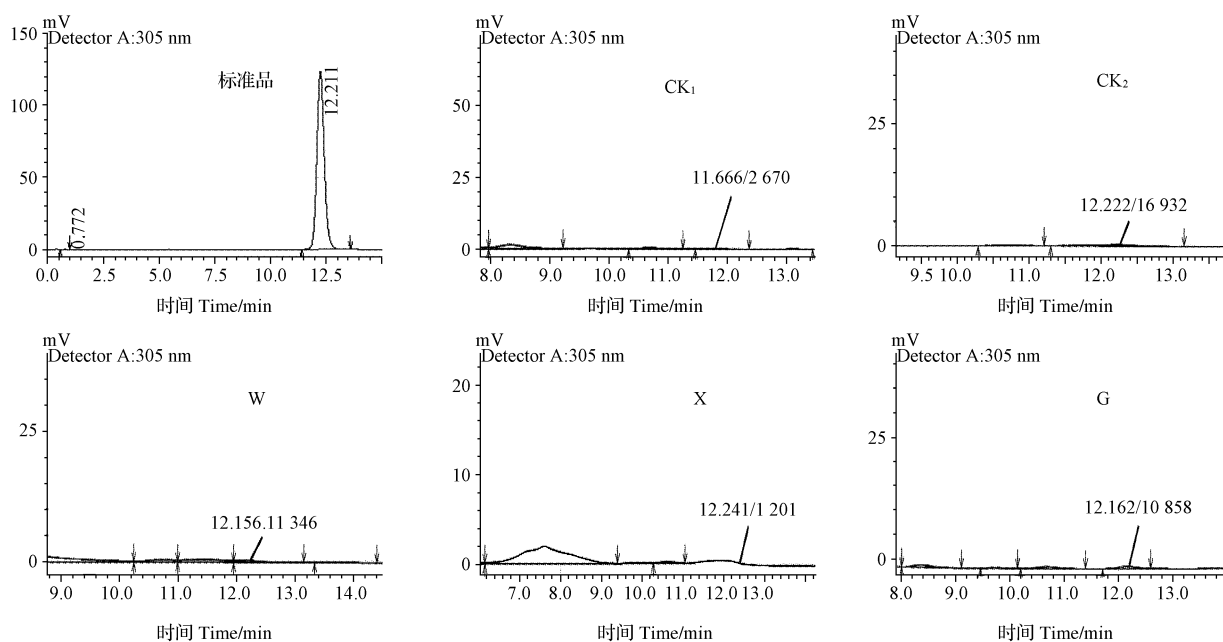


图4 白藜芦醇标准品及样品色谱图

Fig. 4 Chromatograms of resveratrol standard and sample

由图5可以看出,山葡萄酒酿造8d后,葡萄籽中白藜芦醇含量显著下降,说明葡萄籽中的白藜芦醇在发酵过程中大部分被浸渍到酒中。酿酒前葡萄籽(CK₁)白藜芦醇含量为21.44 μg/g,发酵后CK₂白藜芦醇含量为8.71 μg/g,浸出率为60.4%;纤维素酶(X)处理白藜芦醇的含量为7.91 μg/g,浸出率为63.1%,与CK₂差异显著;果胶酶(G)处理白藜芦醇含量为8.14 μg/g,浸出率为62.2%,与CK₂差异不显著;蜗牛酶(W)处理白藜芦醇含量为7.56 μg/g,浸出率为64.7%,与CK₂差异显著,说明酶处理对提高白藜芦醇的浸出率具有一定的作用。

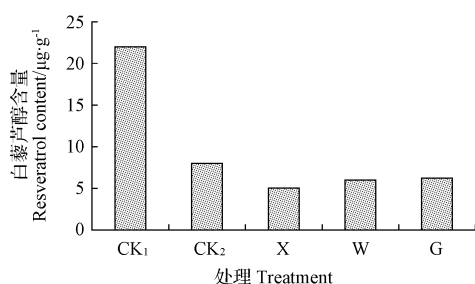


图5 酶对白藜芦醇浸出率的影响

Fig. 5 Effect of enzyme on resveratrol leaching rate

3 结论与讨论

该试验结果表明,酶对葡萄皮中总花色苷的浸出率不显著;纤维素酶处理对绿原酸的浸出率效果最好,比对照提高了7.8个百分点;蜗牛酶处理对白藜芦醇的浸出率效果最好,比对照提高了4.3个百分点。葡萄中的花色苷主要存在于葡萄浆果的果皮中。在红葡萄浆果

中,花色苷在最靠近表皮的3~4层细胞的液泡里^[16],葡萄酒中的花色苷主要来自于葡萄果实,但其种类较葡萄果实要复杂一些,与相应的葡萄果实花色苷组成有显著差异。该试验使用的蜗牛酶、纤维素酶、果胶酶对花色苷浸出率的效果不显著,可能是由于这3种酶虽然对植物细胞壁起到破坏和溶解作用,但是对液泡膜的作用不大,液泡里的花色苷浸出率与对照差别不大。但是对非花色苷酚类物质如绿原酸、白藜芦醇等物质的浸出具有促进作用,提高了葡萄酒的品质。该试验仅对总花色苷及绿原酸和白藜芦醇进行了检测,而对单体花色苷如二甲花翠素、花青素及儿茶素、表儿茶素等的浸出是否具有促进作用还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 方志. 山葡萄与山葡萄酒[J]. 酿酒科技, 2003, 6(5): 35-37.
- [2] 张金柱, 戴永平, 王万民. 山葡萄资源开发及利用[J]. 中国林副特产, 2002, 5(3): 27-29.
- [3] 吴八斤. 酒精发酵过程中影响红葡萄酒颜色的五大因素[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2001, 5(2): 47-49.
- [4] 程国立. 浸泡酶对蛇龙珠红葡萄酒花色苷的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2007: 57-59.
- [5] 张艳芳, 魏冬梅, 袁春龙. 酶在葡萄酒中的应用[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2001(22): 24-26.
- [6] 曾友梅, 李林基, 程儒雄. 纤维素酶和蜗牛酶的试制及脱壁试验初报[J]. 热带农业科学, 1982(4): 32-33.
- [7] 刘伟, 查晶, 胡一桥. 壳聚糖作为缓释辅料研究的最新进展[J]. 中国药科大学学报, 2000(3): 12-15.
- [8] 王玉芝. 纤维素酶的生产和应用[J]. 湖北化工, 1997(2): 56-57.
- [9] 张明霞, 段长青, 张文娜. 纤维素酶在食品工业中的应用与展望[J]. 酿酒科技, 2005(4): 22-28.

响应面法优化微波辅助提取芦荟凝胶多糖工艺

谭启明¹, 付瑞敏², 李景原¹, 王太霞¹

(1. 河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007; 2. 河南教育学院, 河南 郑州 450046)

摘要:以库拉索芦荟为试材,在单因素试验的基础上,选择微波时间、微波功率、液料比3个因素,利用 Box-Behnken 中心组合试验和响应面分析法,对数据进行回归分析,优化微波辅助提取库拉索芦荟中的多糖提取工艺。结果表明:芦荟多糖微波辅助提取的优化工艺条件为微波时间 2 min,微波功率 800 W,液料比 39:1 mL/g,在此工艺条件下,芦荟多糖的提取率可以达到 6.03%。

关键词:库拉索芦荟;多糖;微波辅助提取;响应面法

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0133-04

芦荟属百合科芦荟属多年生常绿肉质草本植物。食用品种主要是库拉索芦荟,其主要活性成分是多糖,

芦荟多糖具有免疫调节、抗病毒、抗氧化、抗菌等多种功效^[1]。传统提取多糖的方法是热水提取法,但是该方法得率较低,耗时长且较为耗能。采用微波法辅助提取芦荟多糖,具有操作步骤简单、节省溶剂、产物收率高、处理时间短等优点。当前,已有文献报道应用微波辅助方法提取植物多糖^[2-4]。

响应面法是数学方法与统计方法相结合的产物,它采用多元二次回归方法,进行函数估计,并用多项式模拟多因子试验中各个因素与相应指标间的相互关系。

第一作者简介:谭启明(1982-),男,河南郑州人,硕士研究生,现主要从事植物产品开发和应用等研究工作。

责任作者:李景原(1963-),男,河南新乡人,博士,教授,博士生导师,现主要从事植物产品开发和应用等研究工作。

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划子课题资助项目(2006BRI06R12-06);河南省重点科技攻关资助项目(122102310283)。

收稿日期:2014-03-13

[10] 辛建刚,芮汉明.酶法澄清西蕃莲果汁的工艺研究[J].饮料工业,2005,8(4):22-40.

[11] 姜守军,周广麒.果胶酶澄清葡萄汁的工艺研究[J].安徽农业科学,2007,35(4):1109-1110.

[12] 钦传光,丹娃伦亭娜,丁诺,等.果胶酶高产菌种的筛选[J].中国酿造,2000,3(4):32-34.

[13] Paul K B, Christopher D, Simon P R. Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape

berries and the implications for pathway regulation[J]. Plant Physiol, 1996, 111:1059-1066.

[14] 赵权.脱落酸对长白忍冬果实和叶绿素含量的影响[J].北方园艺,2011(22):22-24.

[15] 赵权.山葡萄生长过程中不同组织部位白藜芦醇含量的变化[J].北方园艺,2012(2):17-18.

[16] 徐渊金,杜琪珍.花色苷分离鉴定方法及其生物活性[J].食品与发酵工业,2006,32(3):67-72.

Effect of Enzyme on the Phenolic Substances Leaching Rate in *Vitis amurens* Brewing Process

ZHAO Quan

(Traditional Chinese Medicine Department, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Taking *Vitis amurens* ‘Zuoyouhong’ as experimental material, by means of HPLC techniques, the effect of snail enzyme, cellulase enzyme and pectinase enzyme on the phenolic substances leaching rate in *Vitis amurens* brewing process was studied. The results showed that the effect of enzyme on the leaching rate of total anthocyanins of *Vitis amurens* was not significant; cellulase treatment on the leaching rate of chlorogenic acid had the best effect, increased by 7.8 percentage point than CK; the leaching of resveratrol of snail enzyme treatment was the best, increased by 4.3 percentage point than CK.

Key words: *Vitis amurens* wine; snail enzyme; cellulase; pectinase; phenolic substances