

罐储时间对赤霞珠葡萄酒中酚类化合物及抗氧化活性的影响

房玉林^{1,2}, 孟江飞¹, 张 昂¹, 张振文^{1,2}, 刘金串¹, 韩国民¹, 刘树文^{1,2,*}

(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)

摘 要: 为研究罐储对葡萄酒中酚类成分的影响, 将葡萄酒密封于 120 t 不锈钢罐中陈酿 3 年, 检测各酚类组分变化情况。结果表明: 罐储陈酿 1 年后, 赤霞珠葡萄酒中总酚含量变化不显著, 总黄酮与总黄烷醇含量达到最大值, 此后随陈酿时间延长逐渐降低; 总花色苷从陈酿开始, 含量逐步降低且降幅显著。陈酿过程中, 羟基苯甲酸主体由水杨酸变为没食子酸, 总含量逐步下降, 相对比例要高于另一类非黄酮类酚类——羟基肉桂酸。所有单体酚类化合物中, 以儿茶素含量为最高; 多数酚类在陈酿 1 年后含量达到峰值, 此后逐渐降低; 整个陈酿期间, 黄酮类酚类相对含量增加, 非黄酮类酚类相对含量降低。DPPH 自由基清除能力与 Cu^{2+} 还原力在 1 年陈酿后达到最高, 此后逐渐减弱; 羟自由基清除力在整个陈酿期间逐步下降。在 DPPH 自由基清除力与 Cu^{2+} 还原力方面, 羟基肉桂酸类多酚抗氧化能力强于羟基苯甲酸; 水杨酸、槲皮素及阿魏酸对羟自由基具有强清除能力。

关键词: 红葡萄酒; 罐储; 酚类化合物; 抗氧化活性

Effect of Storage Time on Phenolic Components and Antioxidant Activity of Red Wine

FANG Yu-lin^{1,2}, MENG Jiang-fei¹, ZHANG Ang¹, ZHANG Zhen-wen^{1,2},
LIU Jin-chuan¹, HAN Guo-min¹, LIU Shu-wen^{1,2,*}

(1. College of Enology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. Shaanxi Engineering Research Center for Viti-Viniculture, Yangling 712100, China)

Abstract: In order to explore the effect of storage time on phenolic components of red wine, red wine from Cabernet Sauvignon was sealed in stainless steel tanks for 3 years, and variations in phenolic components and total antioxidant capability during aging period were detected. The results indicated that total phenols did not exhibit an obvious change after storage for 1 year; in addition, total flavonoids and total flavanols in red wine reached up to their respective maximum values, and then exhibited a gradual decrease with extended aging time. However, total anthocyanins revealed a gradual decrease. During the storage period, gallic acid gradually replaced salicylic acid as the major hydroxybenzoic acid, and the total content exhibited a gradual downward trend but remained higher than hydroxycinnamic acid, another phenolic acid. Among all the identified phenols, the content of catechin was the highest. Most of the identified phenols reached their peaks after 1 year of aging, followed by a progressive decline. During the whole aging period, the relative content of flavonoids was increased, while the relative content of non-flavonoids exhibited an opposite change. DPPH scavenging capability and cupric ion reducing anti-oxidant capacity (CUPRAC) reached their maximum values after aging for 1 year, and then declined gradually; in contrast, hydroxyl radical scavenging capability exhibited a gradual decrease throughout the aging period. In terms of DPPH scavenging capability and CUPRAC, hydroxycinnamic acid had stronger antioxidant activity than hydroxybenzoic acid; on the other hand, salicylic acid, quercetin and ferulic acid had strong hydroxyl radical scavenging capability.

Key words: dry red wine; sealing in stainless steel tanks; phenolic compounds; antioxidant activity

中图分类号: TS261.4; TS262.6; S377

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)11-0014-07

收稿日期: 2010-10-10

基金项目: 国家现代农业(葡萄)产业技术体系项目(nycytx-30-2p-04);

西北农林科技大学青年学术骨干支持计划项目(Z111020611)

作者简介: 房玉林(1973—), 男, 副教授, 博士, 主要从事葡萄与葡萄酒方面的研究。E-mail: fangyulin@nwsuaf.edu.cn

* 通信作者: 刘树文(1965—), 男, 教授, 博士, 主要从事葡萄与葡萄酒方面的研究。E-mail: liushuwen@nwsuaf.edu.cn

酚类是葡萄酒中一类重要化合物, 不仅与葡萄酒的感官特征, 特别是颜色、风味和结构密切相关^[1], 同时也是一类重要的抗氧化剂, 是葡萄酒健康保健功能的重要载体^[2]。通常将酚类分为两类: 黄酮类(花色苷、黄酮醇和黄烷-3-醇)和非类黄酮类(羟基苯甲酸、羟基肉桂酸和二苯乙烯)。其中, 花色苷对葡萄和新葡萄酒的颜色有直接的影响^[3], 黄烷-3-醇是形成葡萄酒涩味、苦味和结构的物质基础^[4], 黄酮醇则可能与葡萄酒的苦味有关^[5], 同时还起到稳定葡萄酒色度的作用^[6]。一般而言, 葡萄果皮含有丰富的黄酮醇和花色苷, 而黄烷-3-醇则更多地存在于葡萄籽中^[5]。葡萄酒中酚类不仅与葡萄的品种、气候、地理因素及栽培模式有关^[7], 同时也与酿造工艺有关^[8]。

储存陈酿是葡萄酒酿造过程中一个非常重要的环节。期间, 葡萄酒内部发生着一系列物理化学变化, 包括单宁与单宁、单宁与花色苷、花色苷与花色苷之间的聚合与解离, 葡萄酒的果香逐渐降低, 醇香逐渐上升等^[9]。同时, 在储藏期间, 褐变与氧化反应对葡萄酒产生重要影响, 二者会影响葡萄酒的感官特征及抗氧化特性^[10]。所有这些因素共同决定了葡萄酒的生命期限。在陈酿方式中, 橡木桶陈酿更有利于改善葡萄酒的香气和口感。但由于其成本较高, 使多数葡萄酒生产者, 特别是一些小生产商望而却步。研究者已对橡木桶陈酿中酚类及香气成分做了较多的研究^[11-17]。瓶储由于其独特的陈酿效果逐渐受到生产商的追捧。研究者对短期瓶储过程对葡萄酒质量的影响进行了大量的研究^[8, 10, 18-19]。葡萄酒的工业化和规模化生产是包括中国在内的新世界葡萄酒生产国家的主要生产方式。葡萄酒发酵和陈酿均在不锈钢罐中进行。葡萄酒在发酵完毕之后转入不锈钢储酒罐进行储藏陈酿, 直至销售前进行过滤和灌装销售。现研究多集中于发酵阶段及短期陈酿期间酚类及抗氧化活性变化, 而对中长期陈酿阶段红葡萄酒中酚类研究少有报道。本研究对不锈钢罐储葡萄酒陈酿过程中酚类成分进行3年全定量跟踪研究, 以期对罐储葡萄酒对葡萄酒质量影响提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

新天葡萄酒业股份有限公司酿造的赤霞珠(*Vitis vinifera* L.cv. Cabernet Sauvignon)单品种干红葡萄酒。葡萄原料于2006年9月3日采收于新疆玛纳斯葡萄园, 采用普通干红葡萄酒标准酿造工艺^[9], 即如图1所示流程进行。

酵母为法国Laffort公司F15红葡萄酒酵母, 发酵罐容量30t。当年10月下旬, 苹果酸乳酸发酵完毕后将葡萄酒转入120t不锈钢储酒罐中, 调硫满罐后储存陈酿,

储酒罐外形及各项参数如图2所示。

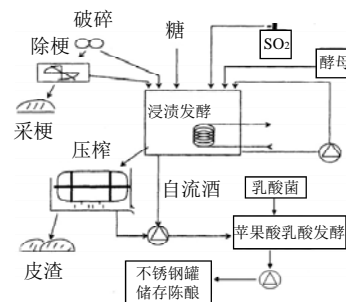


图1 干红葡萄酒发酵工艺流程

Fig.1 Traditional brewing process for dry red wine

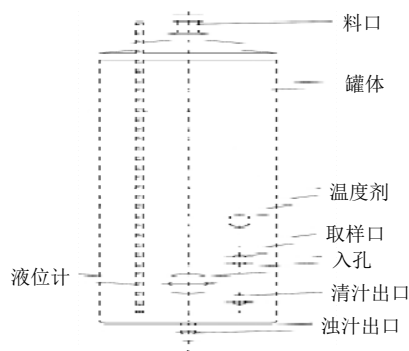


图2 储酒罐示意图

Fig.2 Schematic plot of stainless steel tanks for red wine storage

在贮存过程中, 新酒产生的许多杂质如酵母、酒石等沉降到容器底部。为使该沉淀物同清酒分离, 并使容器中的酒质混合均匀, 必须进行倒酒。每年倒酒两次, 分别在天气比较晴朗、气压高、冷而干燥的春季和秋季进行。倒酒过程中适时调整 SO_2 。贮存期间, 由于倒酒或气体挥发、酒液蒸发等自然条件的影响, 贮酒容器出现空隙, 及时地用同品种、同酒龄的酒添满不锈钢罐, 无法满容的充入氮气隔氧。每月添酒1~2次, 特殊情况下, 可每周一次。保持卫生管理, 每月进行一次外观检查, 每季度进行一次感官检查, 同时进行理化指标, 尤其是挥发酸的检测。从2006年11月开始, 每12个月取1次样(即2006年11月、2007年11月、2008年11月和2009年11月), 共取4次。

p-二甲氨基-肉桂醛(*p*-DMACA)、亚硝酸钠、氯化铝、铁氰化钾、无水碳酸钠、醋酸钠、甲醇、乙醇 天津市博迪化工有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、水溶性VE(trolox)、没食子酸、儿茶素、新亚铜 美国Sigma公司; 其他试剂均为分析纯。

UV-1700型紫外-可见分光光度计、LC-2010高效液相色谱仪 日本岛津公司; SENCOR系列旋转蒸发仪 上海神圣科技有限公司。

1.2 总酚、总黄酮、总花色苷、总黄烷-3-醇及原花色素测定

总酚(TP)检测使用福林肖卡试剂法进行^[20]。5.9mL 蒸馏水、0.1mL 被稀释 10 倍后的葡萄酒酒样及 0.2mL 福林肖卡试剂依次加入 10mL 玻璃试管之中。反应 5min 后向混合液中加入 2mL 10% 碳酸钠。将混合液在室温避光条件下反应 2h 后于波长 765nm 处测定吸光度。结果用没食子酸等价(GE)表示。

总黄酮(TFO)含量的测定使用 Peinado 等^[21]的方法略有修改。向 10mL 试管中加入 0.5mL 稀释 10 倍的葡萄酒酒样、0.5mL 乙醇和 0.15mL 0.5mol/L NaNO₂。5min 后向混合液中加入 0.15mL 0.3mol/L AlCl₃, 并保持 10min。最后加入 1mL 1mol/L NaOH 和 2mL 蒸馏水, 在波长 510nm 处测定吸光度, 结果用儿茶素等价值(CE)表示。

总黄烷醇含量(TFA)测定使用 *p*-DMACA 法^[22]。0.3mL 稀释 10 倍后的酒样、0.7mL 去离子水、1mL 0.24mol/L HCl 甲醇溶液和 1mL 0.2% *p*-DMACA 甲醇溶液依次加入 10mL 离心管。2h 后, 在波长 640nm 处测定吸光度, 结果用儿茶素等价(CE)表示。

总花色苷含量(TMA)采用 pH 示差法^[23]。酒样分别用 pH1.0 和 pH4.5 的缓冲液稀释 20 倍, 然后分别在波长 510nm 和 700nm 处测定吸光度。最后吸光度(A)通过公式(1)计算。

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5} \quad (1)$$

总花色苷含量用矢车菊素-3-葡萄糖苷(CGE)表示, 并通过公式(2)计算。

$$CGE \text{ 含量} / (\text{mg/L}) = (A \times M_w \times DF \times 1000) / (\varepsilon \times 1) \quad (2)$$

式中: M_w 为矢车菊素-3-葡萄糖苷相对分子质量(449); DF 为稀释倍数; ε 为摩尔吸光系数(29600)。

1.3 高效液相色谱(HPLC)分析葡萄酒中单体酚

取 30mL 酒样, 用乙酸乙酯 40、30、30mL 分 3 次提取, 合并有机相, 用旋转蒸发仪将有机相 40℃ 旋转蒸发至干, 用 4mL 色谱甲醇溶解并转移到 5mL 离心管中, 在 -25℃ 冰箱保存。直至 HPLC 上样, 上样前用 0.45 μm 有机虑头进行过滤。

色谱条件如下: Hibar^{RT} Lichrospher 反相 C₁₈ 柱 (250mm × 4.0mm, 5 μm); 流速: 0.8mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 280nm; 梯度洗脱: 流动相 A: 水: 乙酸体积比 98:2; 流动相 B: 乙腈。洗脱程序: 0~10min, B 为 16%; 10~25min, B 为 20%~40%; 25~30min, B 为 40%~0%。

1.4 抗氧化活性检测

DPPH 自由基清除力参考 Brand-Williams 等^[24]的方法, 稍加改动。将 100 μL 稀释 30 倍后的酒样加入到 4mL 6.25 × 10⁻⁵mol/L DPPH 乙醇溶液中。反应 30min 后, 于波长 517nm 处测定吸光度。用同样体积的乙醇替代酒样加入到乙醇溶液中作为对照。DPPH 清除能力通过公式(3)计算:

$$\text{清除率} / \% = (1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100 \quad (3)$$

式中: A_{sample} 为加入酒样所测吸光度; A_{control} 为加入乙醇所得吸光度。

羟自由基(•OH)清除力(HRSA)测定参考 Sroka 等^[25]的方法, 稍加改动。100 μL FeSO₄(0.02mol/L), 45 μL H₂O₂(体积分数 0.15%)与 1mL 水杨酸(8mmol/L)依次加入到 4mL 去离子水中, 混匀后, 向混合物中加入 120 μL 酒样。避光 3℃ 条件下反应 30min 后, 于波长 593nm 处测定吸光度。

$$\text{羟自由基清除力} / \% = (1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100 \quad (4)$$

式中: A_{sample} 为加入酒样所测吸光度; A_{control} 为加入乙醇所测吸光度。

Cu²⁺ 还原力(CUPRAC 法)测定参考 Apak 等^[26]的方法。酒样稀释 20 倍, 取 200 μL, 加入 0.3mL CuSO₄(5mmol/L)摇匀, 再加入 0.3mL 新亚铜(3.75mmol/L), 反应 30min 后在波长 450nm 处比色。结果用 Trolox 等价(TE)表示。

1.5 数据分析

所有数据均使用 DPS 7.55 进行分析。通过使用 Duncan 新复极差法在 $P < 0.05$ 对所有酚类组分含量进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 罐储陈酿过程中总酚、总黄酮、黄烷醇及总花色苷含量变化

酚类化合物是葡萄酒的重要组成部分, 对葡萄酒的感官品质具有重要影响。表 1 为葡萄酒 3 年陈酿过程中总酚、总黄酮, 总黄烷醇和总花色苷的含量变化。总酚是对葡萄酒的酚含量的综合评价, 通常用没食子酸作为标准物质。从赤霞珠葡萄酒酿造完成后总酚含量为 (1951.00 ± 17.58)mg/L GE, 1 年后, 总酚含量为 (1942.33 ± 38.28)mg/L GE, 变化不显著。但是继续陈酿, 总酚含量出现下降趋势。黄酮类物质是一类存在于自然界的、具有 2-苯基色原酮(flavone)结构的化合物, 其分布广泛, 种类繁多, 具有多种生物活性, 除利用其抗菌、消炎、抗突变、降压、清热解毒、镇静、利尿等作用外, 在抗氧化、抗癌、防癌、抑制脂肪酶等方面也有显著效果, 是重要的天然产物之一。葡萄酒中富含黄酮类物质。从酿造完 1 年后的陈酿过程中, 总黄酮含量从 (1394.07 ± 8.37)mg/L CE 增加到 (1466.53 ± 30.83)mg/L CE, 随后, 黄酮含量逐渐下降, 陈酿 3 年之后, 下降至 (1284.17 ± 51.56)mg/L CE。黄烷醇是黄酮家族中一类非常重要的物质, 在陈酿 1 年之后, 其含量达到最高值 (496.28 ± 13.34)mg/L CE, 随后逐渐下降, 陈酿时间越久, 黄烷醇含量越低。在葡萄酒中, 黄烷醇是引起葡萄酒苦味和结构感的一类重要酚类物质。包括单体儿茶素、寡聚体和多聚体。因此赤霞珠葡萄酒陈

表 1 罐储陈酿过程中总酚、总黄酮、黄烷醇及总花色苷含量变化

Table 1 Changes in the contents of total phenols, total flavonoids, total flavanols and total anthocyanins in red wine during storage in stainless steel tanks

取样时间	TP 含量/(mg/L GE)	TFO 含量/(mg/L CE)	TMA 含量/(mg/L CGE)	TFA 含量/(mg/L CE)
2006 年 11 月	1951.00 ± 17.58 ^a	1394.07 ± 8.37 ^b	256.81 ± 10.01 ^a	453.22 ± 22.23 ^b
2007 年 11 月	1942.33 ± 38.28 ^a	1466.53 ± 30.83 ^a	157.45 ± 10.43 ^b	496.28 ± 13.34 ^a
2008 年 11 月	1872.33 ± 47.17 ^c	1374.77 ± 23.57 ^c	82.67 ± 3.65 ^c	460.22 ± 26.05 ^b
2009 年 11 月	1907.67 ± 11.55 ^b	1284.17 ± 51.56 ^d	52.94 ± 1.1 ^d	399.37 ± 13.60 ^c

注：同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

表 2 罐储过程中 10 种单体酚类组分含量

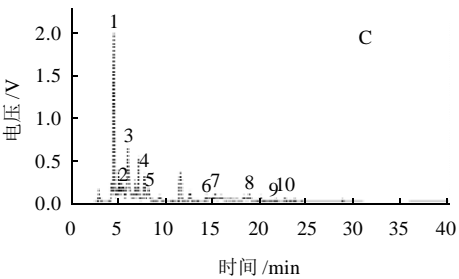
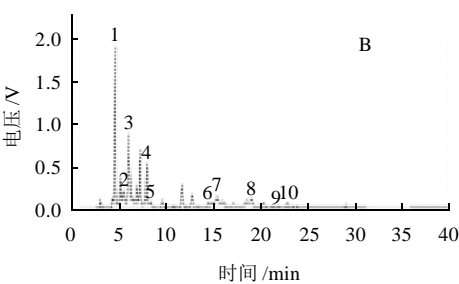
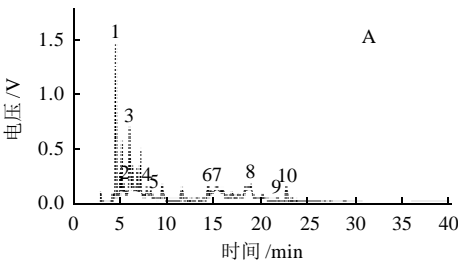
Table 2 Changes in the contents of 10 phenols in red wine during storage in stainless steel tanks

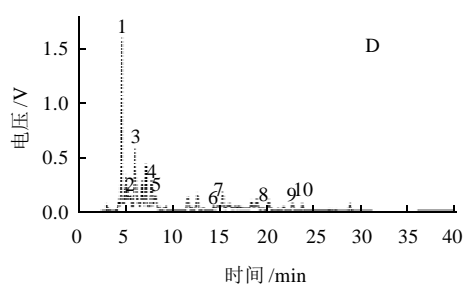
序号	酚类化合物	保留时间/min	酚类物质含量/(mg/L)			
			2006 年 11 月	2007 年 11 月	2008 年 11 月	2009 年 11 月
非黄酮类酚类	羟基苯甲酸		212.59(40.52%)	192.02(32.35%)	179.83(35.09%)	126.79(31.71%)
	1 没食子酸	4.52	60.39 ± 1.32	85.47 ± 4.98	97.31 ± 4.58	64.74 ± 3.21
	2 安息香酸	5.37	24.17 ± 0.99	30.67 ± 1.79	30.24 ± 1.32	23.05 ± 0.47
	3 丁香酸	8.14	2.89 ± 0.13	11.66 ± 0.84	20.17 ± 1.00	17.71 ± 2.12
	4 水杨酸	18.67	125.15 ± 2.31	64.23 ± 3.39	32.11 ± 2.28	21.28 ± 1.67
	羟基肉桂酸		42.38(8.08%)	48.95(8.25%)	37.65(7.35%)	29.87(7.47%)
	5 咖啡酸	7.74	19.66 ± 0.78	39.48 ± 2.34	28.11 ± 2.45	23.45 ± 1.37
黄酮类酚类	6 阿魏酸	15.06	18.31 ± 0.35	6.35 ± 0.34	5.63 ± 0.32	3.13 ± 0.24
	7 香豆酸	21.78	4.41 ± 0.67	3.12 ± 0.54	3.91 ± 0.23	3.29 ± 0.24
	非黄酮类酚类含量		254.97(48.60%)	240.90(40.60%)	217.47(42.43%)	156.66(39.18%)
	黄烷醇		230.85(44.00%)	332.06(55.94%)	277.57(54.16%)	230.51(57.65%)
	8 儿茶素	5.94	230.85 ± 10.03	332.06 ± 9.83	277.57 ± 2.19	230.51 ± 5.67
	黄酮醇		34.44(6.56%)	17.44(2.94%)	13.57(2.65%)	9.38(2.34%)
	9 槲皮素	13.91	23.12 ± 0.97	7.39 ± 0.91	5.07 ± 0.57	3.29 ± 0.45
	10 芦丁	23.29	11.32 ± 0.56	10.05 ± 0.67	8.50 ± 0.67	6.09 ± 1.01
	黄酮类酚类		265.29(50.56%)	349.50(58.88%)	291.13(56.81%)	239.89(60.60%)
	酚类总含量		524.67	593.59	512.51	399.83

注：括号中的百分数表示该类物质所占总酚含量百分比。

酿 1 年后，黄烷醇含量增高，结构感可能达到最佳。黄烷醇中的单体儿茶素较多聚体苦味贡献率更高，而聚合体(原花色苷，也称为缩合单宁)更多的与葡萄酒的涩味有关。当黄烷醇聚合度在 2~10 之间，即相对分子质量在 500~3000 时与唾液蛋白结合能力最强。花色苷是葡萄酒的呈色物质，对葡萄酒的感官特征具有举足轻重的作用。新酒具有最高含量花色苷(256.81 ± 10.01) mg/L CGE，陈酿期间，花色苷含量逐渐降低，陈酿 3 年之后，总花色苷含量仅约为新酒的 1/5 为(52.94 ± 1.1) mg/L CGE。

2.2 陈酿过程中单体酚含量的变化





A.2006年11月; B.2007年11月; C.2008年11月; D.2009年11月; 1.没食子酸; 2.安息香酸; 3.儿茶素; 4.咖啡酸; 5.丁香酸; 6.槲皮素; 7.阿魏酸; 8.水杨酸; 9.香豆酸; 10.芦丁。

图3 罐储过程中10种单体酚HPLC色谱图

Fig.3 HPLC chromatograms of 10 phenols in red wine after storage for different periods

为进一步研究罐储陈酿过程中酚类组分的变化过程,对葡萄酒中的主要10种单体酚类物质含量的动态变化进行了研究。图3和表2分别为4个酒样的HPLC色谱图与10种单体酚含量。其中没食子酸、安息香酸、丁香酸和水杨酸4种组分属于羟基苯甲酸类。总羟基苯甲酸含量随着陈酿过程的延长含量逐渐下降,从新酒的212.29mg/L,占到所测单体酚类总含量的40.52%,陈酿3年之后质量浓度下降为126.79mg/L,仅占总量的31.71%。水杨酸是新酒中羟基苯甲酸的主体物质,含量达125.15mg/L,约为排名第二的没食子酸的2倍(60.39mg/L)。随着陈酿时间的延长,水杨酸含量逐渐下降,而没食子酸含量逐渐升高,并超过水杨酸,最终成为羟基苯甲酸类物质的主体。从变化趋势来看,没食子酸、安息香酸与丁香酸具有相同的变化趋势,均在陈酿两年后含量达到最大值,唯有水杨酸含量呈逐渐下降趋势。葡萄酒中羟基肉桂酸类含量要明显低于羟基苯甲酸类成分,仅约为总酚类含量的7.35%~8.25%。羟基肉桂酸源于葡萄酒发酵期间羟基酒石酸酯的水解^[27]。作为苯丙氨酸的次级代谢产物,这些酸是葡萄酒氧化褐变的底物,同时也对葡萄酒的苦味具有重要贡献^[28]。羟基肉桂酸包括咖啡酸、阿魏酸和香豆酸,其中咖啡酸是羟基肉桂酸类物质的主体成分。陈酿1年后,咖啡酸含量达到最大值(39.48mg/L),但随着陈酿时间的延长,其含量逐渐下降。咖啡酸和阿魏酸则在陈酿过程中一直呈现下降趋势。这与白葡萄酒有所差异。Komes等^[18]研究发现,在白葡萄汁中没食子酸、儿茶酸、香草酸和香豆酸含量较为丰富,而在白葡萄酒中陈酿一段时间之后咖啡酸含量最高。黄烷醇是非花色苷多酚中含量最丰富的一类,包括单体儿茶素及其聚合体原花色素,对葡萄酒的结构和口感具有重要作用。葡萄籽中的黄烷醇含量显著高于葡萄皮^[5]。发酵期间,黄烷醇等通过对皮渣和籽的浸渍作用进入到葡萄酒中。发酵后一年的陈酿过程中,单体儿茶素含量从230.85mg/L(44.00%),上升到

332.06mg/L(55.94%)。随着继续陈酿,儿茶素含量出现下降,陈酿3年后,儿茶素含量降为230.51mg/L。而白葡萄酒中黄烷醇含量仅为总酚含量的5.7%^[18]。这可能归因于对皮渣的浸渍作用^[5]。黄酮醇相对含量较低,仅占总酚含量2.34%~6.56%,其质量浓度随陈酿时间延长呈下降趋势。总体来看,总酚含量在1年陈酿后,含量出现峰值(593.59mg/L),随后逐渐下降。黄酮酚类相对含量从新酒的50.56%经过3年陈酿后上升到60.60%。相反,非黄酮酚类相对含量则从48.60%下降为39.18%。

2.3 陈酿过程中葡萄酒抗氧化能力的变化

葡萄酒是一类重要的抗氧化资源。抗氧化活性的测定方法依赖于反应条件、底物及产物,不同的方法所测抗氧化活力会有所差异。因此通常使用多种测定方法来衡量体系抗氧化特征^[18]。在本研究中,选择了DPPH自由基清除力、 Cu^{2+} 还原力以及羟自由基清除力来评价罐储过程中葡萄酒抗氧化能力的变化。DPPH自由基通过抗氧化化合物提供氢原子从而被还原。因此,通过测定抗氧化分子(诸如抗坏血酸、生育酚、黄酮类、丹宁酸)的供氢能力来检测他们的抗氧化能力。 Cu^{2+} 还原力则是通过抗氧化剂提供电子将 Cu^{2+} 还原为 Cu^{+} 。 Cu^{2+} 还原力与抗坏血酸、儿茶素、绿原酸等密切相关。由于样品中抗氧化物作为还原剂具有很好的颜色反应,所以 Cu^{2+} 还原力方法简单且容易定量。DPPH自由基清除力可通过与葡萄酒反应后吸光度的降低程度来反映。DPPH自由基清除力与 Cu^{2+} 还原能力表现出类似的变化趋势,在陈酿1年后达到最大值,分别为 $(75.82 \pm 1.52)\%$ 与 $(28.35 \pm 0.21)\text{mmol/L TE}$ 。在随后陈酿过程中,二者皆表现出下降趋势。羟自由基清除力则在新酒(刚发酵完成时)表现出最高,清除率为 $(71.73 \pm 1.10)\%$,并随着陈酿时间的延长逐渐下降。

表3 罐储陈酿过程中抗氧化能力变化

Table 3 Changes in antioxidant properties of red wine during storage in stainless steel tanks

取样时间	DPPH自由基清除率/%	CUPRAC/(mmol/L TE)	HRSC/%
2006年11月	66.82 ± 2.31^b	26.88 ± 0.25^b	71.73 ± 1.10^a
2007年11月	75.82 ± 1.52^a	28.35 ± 0.21^a	58.53 ± 1.20^b
2008年11月	66.97 ± 1.99^b	25.27 ± 0.44^c	56.65 ± 1.06^c
2009年11月	63.02 ± 0.89^c	25.19 ± 1.91^c	53.54 ± 2.32^d

2.4 葡萄酒多酚与抗氧化指标之间的相关性

葡萄酒的抗氧化活性不是单独某种化合物的作用,而是由广泛分布在葡萄酒体系中的多酚物质共同作用的结果,既依赖于酚类物质的总含量也依赖于其中单体酚类的相对含量^[29]。如表4所示,各酚类总量、酚类单体含量与不同抗氧化方法之间存在相关性。一般地,相关性越强,该酚类化合物可能对抗氧化能力贡献越大。

总羟基肉桂酸、儿茶素及总酚含量与 DPPH 自由基清除率相关性达显著水平, 总黄酮类酚类含量与之达到极显著相关, 由此可得出这些物质对 DPPH 自由基清除力贡献较大。Brand-Wiliams 等^[24]研究发现几种酚酸对 DPPH 自由基清除能力依次为咖啡酸>原儿茶酸>阿魏酸>香草酸>香豆酸。结合前人研究可知, 羟基肉桂酸酚比羟基苯甲酸酚具有更强的抗氧化活性。这可能归因于 CH=CHCOOH 基团参与了清除自由基的作用。与本研究结论相类似, Komes 等^[18]研究白葡萄酒时也认为酚类总含量与 DPPH 自由基清除力有较好相关性。同样, 羟基肉桂酸含量与 Cu²⁺ 还原力相关性也达显著水平。羟基肉桂酸具有较强的 Cu²⁺ 还原力。黄酮醇与羟自由基清除力相关性为极显著。另外各酚类单体中, 水杨酸、槲皮素及阿魏酸等含量与羟自由基清除力相关性为极显著, 三者对羟自由基具有强清除能力。

表 4 各酚类总量、酚类单体含量与不同抗氧化指标之间的相关性

Table 4 Linear correlation between total phenol content or individual phenol content and different antioxidant effects

酚类物质	抗氧化方法		
	DPPH	CUPRAC	HRSC
羟基苯甲酸	0.54	0.63	0.81
没食子酸	0.44	0.01	-0.47
安息香酸	0.75	0.39	-0.25
丁香酸	-0.24	-0.61	-0.93*
水杨酸	0.23	0.56	0.98**
羟基肉桂酸	0.92*	0.93*	0.46
咖啡酸	0.87	0.61	-0.41
阿魏酸	0.01	0.34	1.00**
香豆酸	-0.37	-0.2	0.78
非黄酮类酚类	0.63	0.7	0.76
黄烷醇	0.92*	0.65	-0.28
儿茶素	0.92*	0.65	-0.28
黄酮醇	0.13	0.45	1.00**
槲皮素	0.02	0.36	1.00**
芦丁	0.56	0.71	0.85
黄酮类酚类	0.98**	0.77	-0.05
酚类总含量	0.91*	0.83	0.39

注: *.显著相关($P < 0.05$); **.极显著相关($P < 0.01$)。

3 结 论

3.1 罐储陈酿 1 年后, 赤霞珠葡萄酒中总酚含量无显著变化、总黄酮与总黄烷醇含量达到最大值, 此后随陈酿时间延长逐渐降低; 总花色苷从陈酿开始花色苷含量逐步降低, 且降幅显著。

3.2 陈酿过程中, 羟基苯甲酸主体由水杨酸变为没食子酸, 总含量逐步下降, 相对比例要高于另一类非黄酮类酚类(羟基肉桂酸)。所有单体酚类化合物中, 以儿茶素含量为最高; 多数酚类在陈酿 1 年后含量达到峰

值, 此后逐渐降低; 整个陈酿期间, 黄酮类酚类相对含量增加, 非黄酮类酚类相对含量降低。

3.3 DPPH 自由基清除能力与 Cu²⁺ 还原力在 1 年陈酿后达到最高, 此后逐渐减弱; 羟自由基清除力在整个陈酿期间逐步下降。

3.4 在 DPPH 自由基清除力与 Cu²⁺ 还原力方面, 羟基肉桂酸类多酚抗氧化能力强于羟基苯甲酸; 水杨酸、槲皮素及阿魏酸对羟自由基具有强清除能力。

参考文献:

- [1] LEE C, JAWORSKY A. Phenolic compounds in white grapes in New York[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1987, 38: 277-281.
- [2] BENÍTEZ P, CASTRO R, SÁNCHEZ P J A, et al. Influence of metallic content of fino sherry wine on its susceptibility to browning[J]. Food Research International, 2002, 35: 785-791.
- [3] FERRANDINO A, GUIDONI S. Anthocyanins, xanones and hydroxycinnamates: an attempt to use them to discriminate *Vitis vinifera* L. cv 'Barbera' clones[J]. European Food Research and Technology, 2010, 230: 417-427.
- [4] SUSANA G M, JULIÁN C R G, CELESTINO S B. Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 513: 283-289.
- [5] HUFNAGEL J C, HOFMANN T. Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56: 1376-1386.
- [6] BOULTON R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2001, 52: 67-87.
- [7] ELÍAS O S, ÁLVARO P N, REMIGIO L S, et al. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 3591-3599.
- [8] ÁNGELES F R, ANA SAYAGO M, LOURDES G M, et al. The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine[J]. Food Research International, 2006, 39: 220-229.
- [9] 李华, 王华, 袁春龙, 等. 葡萄酒工艺学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [10] KALLITHRAKA S, SALACHA M I, TZOUROU I. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: accelerated browning test versus bottle storage[J]. Food Chemistry, 2009, 113: 500-505.
- [11] MIRIAM O H, SILVIA P M, ESTELA C M, et al. Differences in the phenolic composition and sensory profile between red wines aged in oak barrels and wines aged with oak chips[J]. LWT - Food Science and Technology, 2010, 43(10): 1533-1541.
- [12] TERESA G C, CARMEN A A. Effect of oak barrel type on the volatile composition of wine: storage time optimization[J]. LWT, 2006, 39: 199-205.
- [13] GARDE-CERDÁN T, LORENZO C, CAROT J M, et al. Statistical differentiation of wines of different geographic origin and aged in barrel according to some volatile components and ethylphenols[J]. Food Chemistry, 2008, 111: 1025-1031.
- [14] CERDÁN T G, MOZAZ S R, ANCÍN-AZPILICUETA C. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak[J]. Food Research International, 2002, 35: 603-610.

- [15] GARDE-CERDÁN T, LORENZO C, CAROT J M, et al. Differentiation of barrel-aged wines according to their origin, variety, storage time and enological parameters using fermentation products[J]. Food Control, 2009, 20: 269-276.
- [16] ALAMO M, BERNAL J L, NOZAL M J, et al. Red wine aging in oak barrels: evolution of the monosaccharides content[J]. Food Chemistry, 2000, 71: 189-193.
- [17] ORTEGA-HERAS M, GONZÁLEZ-HUERTA C, HERRERA P, et al. Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 513: 341-350.
- [18] KOMES D, ULRICH D, GANIC K K, et al. Study of phenolic and volatile composition of white wine during fermentation and a short time of storage[J]. Vitis, 2007, 46 (2): 77-84.
- [19] LERMA N L, PEINADO J, MORENO J, et al. Antioxidant activity, browning and volatile Maillard compounds in Pedro Ximénez sweet wines under accelerated oxidative aging[J]. LWT - Food Science and Technology, 2010, 43(10): 1557-1563.
- [20] 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.
- [21] PEINADO J, LERMA N L, 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: 1050-1055.
- [22] LI Y G, TANNER G, LARKIN P. The DMACA-HCl protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes[J]. Journal of Science of Food and Agriculture, 1996, 70(1): 89-101.
- [23] STOJANOVIC J, SILVA J L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries[J]. Food Chemistry, 2007, 101: 898-906.
- [24] BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER M E, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity[J]. LWT - Food Science and Technology, 1995, 28: 25-30.
- [25] SROKA Z, CISOWSKI W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids[J]. Food Chemistry and Toxicology, 2003, 41: 753-758.
- [26] APAK R, GUCLU K, OZYUREK M, et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 7970-7981.
- [27] CHEYNIER V F, TROUSDALE E K, SINGELTON V L, et al. Characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1986, 34: 217-221.
- [28] BARANOWSKI J D, NAGEL C W. Isolation and identification of the hydroxycinnamic acid derivatives in white Riesling wine[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1981, 32: 5-13.
- [29] MAKRIS D P, PSARRA E, KALLITHRAKA S, et al. The effect of polyphenolic composition as related to antioxidant capacity in white wines[J]. Food Research International, 2003, 36: 805-814.