

低温对赤霞珠葡萄香气和单体酚含量的影响

唐国冬¹, 廖欣怡¹, 郑雅轩¹, 陶永胜¹, 杨继红^{1,2,*}

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100;

2.西北农林科技大学葡萄与葡萄酒(合阳)试验站, 陕西 合阳 715300)

摘要:目的: 通过不同低温处理赤霞珠葡萄, 研究果皮内主要功能性物质如香气成分及单体酚的溶出程度, 旨在探究提高葡萄酒品质的低温处理方案。方法: 对葡萄果粒分别进行4、-8、-20℃和-32℃低温处理, 16℃为对照组, 采用气相色谱-质谱和高效液相色谱对葡萄皮和葡萄汁处理前后的香气成分和单体酚含量进行分析。结果: 赤霞珠葡萄果皮和果肉中检测出共有香气成分34种, -8、-20℃和-32℃能够在不同程度上增加葡萄汁中香气总量及酯类、醇类、酸类含量, 减小其在葡萄皮中的含量; 4℃处理不能增加葡萄汁中的香气成分, 反而能使葡萄皮中香气成分增加; 共检测出18种单体酚, 低温及冷冻处理能在不同程度上减少果皮中单体酚类物质含量, 增加葡萄汁中的含量, 但是温度与作用效果之间没有明显的变化趋势。结论: 低温冷冻处理能够增加酯类、酸类和醇类等香气成分及多种酚类物质在葡萄汁中的含量, 降低葡萄皮中的含量。

关键词: 低温处理; 葡萄汁; 葡萄果皮; 香气; 单体酚

Effect of Cryogenic Treatment on Aroma Compounds and Monophenols in Cabernet Sauvignon Grape

TANG Guodong¹, LIAO Xinyi¹, ZHENG Yaxuan¹, TAO Yongsheng¹, YANG Jihong^{1,2,*}

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

2. Viti-Viniculture Experiment Station (Heyang), Northwest A&F University, Heyang 715300, China)

Abstract: Purpose: The effects of cryogenic treatment on volatile compounds and monomeric phenols in Cabernet Sauvignon grape skins and musts were investigated to ascertain the optimum temperature for wine quality improvement. Methods: Cabernet Sauvignon grapes were treated at temperatures of 16 (control), 4, -8, -20 and -32 °C, respectively. Then the aroma compounds and monomeric phenols were qualitatively and quantitatively analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC). Results: Thirty-four aroma compounds were detected simultaneously in both grape skins and musts. The contents of esters, organic acid and alcohols were significantly increased in musts but were reduced in grape skins after exposure to -8, -20 and -32 °C. Treatment at 4 °C led to increased contents of aroma compounds in grape skins rather than in musts. A total of 18 monophenols were detected. After cold and freezing treatments, monophenol contents were decreased in grape skins and increased in musts, but the effect was not significantly correlated with temperature. Conclusions: Cryogenic treatments increased the contents of esters, organic acids, alcohols and monomeric phenols in grape must, but had in the opposite effects on skins.

Key words: cryogenic treatment; grape must; grape skins; aroma; monophenols

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720008

中图分类号: TS261.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)20-0048-07

引文格式:

唐国冬, 廖欣怡, 郑雅轩, 等. 低温对赤霞珠葡萄香气和单体酚含量的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 48-54.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720008. <http://www.spkx.net.cn>

TANG Guodong, LIAO Xinyi, ZHENG Yaxuan, et al. Effect of cryogenic treatment on aroma compounds and monophenols in Cabernet Sauvignon grape[J]. Food Science, 2017, 38(20): 48-54. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201720008. <http://www.spkx.net.cn>

温度是影响葡萄汁或葡萄酒质量的重要因素, 低温发酵与传统发酵相比, 酿制的葡萄酒在酸度、酒度、香

气成分等方面存在显著区别^[1]。低温处理葡萄汁期间, 酿酒酵母和非酿酒酵母同时存在, 能够使酒的品质差异性

收稿日期: 2016-12-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371724); 陕西省农业科技创新与攻关项目(2015NY019)

作者简介: 唐国冬(1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为葡萄与葡萄酒工程。E-mail: 1074743761@qq.com

*通信作者: 杨继红(1975—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为葡萄工程学。E-mail: yangjihong@nwsuaf.edu.cn

增大^[2],产生更多的甘油,更少的挥发酸^[3]。控制低温浸渍和发酵温度有益于增加酯类^[4]及香气物质含量^[5]并延长保留时间^[6],冷冻处理葡萄能够促进酚类物质从果皮中溶出,提高葡萄酒的香气含量、增加颜色强度等^[7],相似的研究在苹果、梨等果酒的实验结果也表明,低温处理能够一定程度上提高酒的品质^[8-9]。

香气是评价葡萄酒质量的重要指标,葡萄果实挥发性香气物质的品质与葡萄酒的香气品质有一致性^[10]。葡萄酒中的香气物质主要来源于葡萄果皮^[11],复杂的香气成分不仅展示了葡萄品种香气的差异性,而且成分之间复杂的相互作用^[12-13]影响着葡萄酒的香气和风味物质的变化^[14]。葡萄果皮是酚类物质最主要的来源^[15],酚类化合物是衡量葡萄酒质量的重要参数,有助于促进葡萄酒的感官特性如颜色、涩味及苦味^[16]。

葡萄醪(汁)是葡萄酒发酵的基础,无论是白葡萄酒^[17]还是红葡萄酒,葡萄醪的品质优劣一定程度上决定葡萄酒的品质。本课题组前期研究成果^[18-19]表明,相同实验方法处理白葡萄后再酿制成葡萄酒结果表明低温处理能促使葡萄酒中香气成分种类的增加和含量的提高;红葡萄果皮细胞结构在低温冷冻条件下受到破坏,有多种物质从细胞内溶出到细胞外,而且果皮中残留的总酚、单宁、总花色苷含量较对照组有不同程度的降低。本研究是在以上研究基础上,进一步研究低温冷冻、低温解冻处理赤霞珠葡萄皮、葡萄汁中香气成分和单体酚含量与温度的关系,旨在为低温处理葡萄以改善葡萄酒酿造工艺提高葡萄酒品质的可行性提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

红色酿酒品种赤霞珠葡萄,2014年10月采自河北昌黎中粮长城华夏酒庄。

乙酸乙酯(分析纯) 天津市博迪化工有限公司; 甲醇、乙腈(均为色谱级) 天津市科密欧化学试剂有限公司; 氢氧化钠、邻苯二甲酸氢钾、没食子酸、葡萄糖、五水合硫酸铜、酒石酸钾钠(均为分析纯),酚酞、次甲基蓝 广东省化学试剂工程技术研究开发中心; 盐酸(纯度35%)、甲醇、碳酸钠、氯化钾、无水乙酸钠(均为分析纯) 广东光华科技股份有限公司; 儿茶素(纯度≥90%) 南京都莱生物公司; 甲基纤维素(分析纯) 上海麦克林生化科技有限公司。

香草酸 美国Fluka公司; 安息香酸、绿原酸、香豆素 美国Alorich公司; 反式白藜芦醇、阿魏酸、水杨酸、桑色素、芦丁、咖啡酸、香豆酸、儿茶素、没食子酸、表儿茶素、槲皮素、橘皮素、山柰酚、丁香酸 美国Sigma公司。以上试剂均为标准品。

1.2 仪器与设备

HH147温度测定仪 美国Omega公司; 85-2数显恒温磁力搅拌器 杭州仪表电机有限公司; Finnigan Trace GC ultra-Trace DSQ气相色谱-质谱联用仪(配有TurboMatrix 350热解吸仪、DB-Wax色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)、2002版NIST质谱库) 美国Thermo Finnigan公司; DW-FL362型低温冷冻冰箱((−42±2)℃) 安徽中科美菱低温科技有限责任公司; 医用冷藏箱(冷藏温度为(5±2)℃) 山东澳柯玛股份有限公司; LC-2010A高效液相色谱仪(LC-20AT泵、SPD二极管阵列检测器、自动进样器、柱温箱) 日本岛津公司; 5804R台式冷冻离心机 德国Eppendorf公司; FD-IC-50型低温真空冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; UV-60紫外-可见分光光度计 美国安捷伦公司。

1.3 方法

1.3.1 原料低温处理

取成熟度良好、无病害的赤霞珠葡萄果粒,分别用天平称取2 kg在低温冷冻冰箱温度为4、−8、−20、−32℃条件下进行缓慢冷冻处理,用HH147温度测定仪监测葡萄果粒中心温度,当温度达到指定温度后立即取出放入4℃冷藏冰箱自然解冻到恒温后取出,待用。4℃温度接近冷浸渍温度5~10℃,−8℃为冰葡萄酒生产温度,−20、−32℃属于超提冷冻工艺温度,16℃为对照组接近室温温度,且实验组温度跨度为8℃。

1.3.2 香气成分的测定

因前期对果皮破坏研究成果中有液氮轻微处理,为避免液氮冷冻对细胞破坏作用引入实验误差,故采用此方法测定果皮香气成分。

葡萄皮香气提取方法^[20]:取温度处理后葡萄样品,用镊子小心剥取葡萄皮,并用蒸馏水冲洗干净再用吸水纸吸干,天平称取2.000 0 g葡萄皮于小密封瓶中,添加18 g蒸馏水(用酒石酸调纯净水pH 3.5),冰水浴超声波提取20 min,4℃ 8 000 r/min离心后取10 mL上清液、加入2 g的NaCl、50 μL的2-辛醇内标物和搅拌子于50 mL密封瓶,在磁力搅拌器上振荡1 h后气相色谱-质谱测样。

葡萄汁香气提取方法:将不同温度处理后葡萄剥取果肉,注意果肉上不能有果皮残留,用纱布挤汁于50 mL离心管中,4℃ 8 000 r/min离心后取10 mL上清液、加入2 g的NaCl、50 μL的2-辛醇内标物和搅拌子于50 mL密封瓶,在磁力搅拌器上振荡1 h后气相色谱-质谱测样。

热解析仪条件:以He为载气,脱附流速45 mL/min,加热阀温度245℃,脱附管温度270℃,脱附15 min,传输温度255℃,冷阱捕集温度−30℃,以40℃/min升至255℃(二级解吸冷阱温度)。出口分流比为3:1,进样载气流速为1 mL/min。

气相色谱-质谱条件：DB-Wax色谱柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；以He为载气，流速1 mL/min；升温程序：40 ℃保持3 min，以4 ℃/min升至160 ℃，7 ℃/min继续升至230 ℃并保持8 min；连接杆温度230 ℃。质量扫描范围 m/z 33~450；电子电离源为正离子模式；离子源温度230 ℃；电子能量70 eV；灯丝流量0.2 mA；检测器电压350 V；扫描频率1 Hz。

数据图谱分析：分析结果运用NIST 2002谱库检索，用峰面积归一法和内标物2-辛醇（质量浓度为1 170 μg/L）定量计算各成分含量。

1.3.3 单体酚含量的测定^[21-22]

葡萄皮样品：用液氮冻干葡萄皮并研磨成粉，在-55 ℃低温真空冷冻干燥机中干燥24 h成干粉，再准确称取2.000 0 g葡萄皮干粉于碘量瓶中。向碘量瓶中加入5 mL蒸馏水和45 mL乙酸乙酯，摇床避光振荡30 min，转移上清液于250 mL圆底烧瓶，乙酸乙酯提取需重复4次（上清液加黑色袋遮光），然后合并上清液于旋转蒸发仪33 ℃（150 mL左右）蒸发至干，色谱甲醇定容至2 mL，用0.45 μm膜过滤后使用。

葡萄汁样品：取冷冻处理后完整的葡萄果粒，用镊子轻轻撕去果皮，注意仅保留纯果肉没有任何果皮残留，用纱布挤汁于小烧杯中，量筒准确量取10 mL葡萄汁转入分液漏斗，再加入10 mL蒸馏水和8 mL乙酸乙酯，摇匀，静置分层后分离乙酸乙酯，转移至100 mL圆底烧瓶，乙酸乙酯提取需重复4次（上清液加黑色袋遮光），合并乙酸乙酯相于旋转蒸发仪33 ℃蒸发至干，色谱甲醇溶解并定容至5 mL。

色谱条件：波长280 nm，柱温30 ℃。流动相A：超纯水-乙酸（980:20， V/V ）溶液，流动相B：乙腈，流速1 mL/min。洗脱梯度：0.01 min，97% A，3% B；15 min，94% A，6% B；35 min，85% A，15% B；55 min，70% A，30% B；65 min，70% A，30% B；80 min，100% A。流动相经0.45 μm膜过滤、超声波脱气后使用。

单体酚成分根据标准样品的保留时间定性，根据标准曲线定量。

2 结果与分析

2.1 低温处理对赤霞珠葡萄果皮和果肉中香气成分的影响

样品检测采用气相色谱-质谱分析技术，重复检测2次，表中数值表示平均值，以内标物2-辛醇为定量标准计算各成分含量。通过对低温度处理后赤霞珠葡萄果皮中的挥发性香气物质进行定性、定量分析，共得到包括醇类、酯类、脂肪酸及香气前体物质等34种挥发性物

质，结果见表1。其中，酯类物质13种、醇类物质7种、酸类6种、醛酮类3种、其他物质5种。实验检测出的赤霞珠果皮香气物质香气类型以花香、果香为主。

表1 不同低温处理的赤霞珠葡萄皮和葡萄汁中香气成分含量
Table 1 Aroma compounds identified in Cabernet Sauvignon skins and musts subjected to cryogenic treatment at different temperatures

保留 时间/min	化合物	气味 描述 ^[23]	质量浓度/(μg/L)									
			16℃对照		4℃处理		-8℃处理		-20℃处理		-32℃处理	
			葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁
	酯类		3 534.71	818.85	6 800.98	634.99	937.97	923.50	1 693.34	472.06	455.02	926.83
3.30	乙酸乙酯	水果香味	312.2	577.05	205.10	366.66	51.25	512.13	41.42	279.37	217.12	463.15
4.27	丙酸乙酯	菠萝	26.60	14.39	7.68	13.67	2.67	13.25	—	—	8.09	17.22
5.78	丁酸乙酯	水果香	25.10	—	52.00	—	8.51	—	12.48	—	—	—
7.94	乙酸异戊酯	香蕉	329.00	210.24	1 912.60	165.85	164.30	241.03	251.74	58.53	139.24	153.50
10.80	正己酸乙酯	水果香	1 377.80	17.17	1 912.00	—	211.50	12.23	442.20	—	14.28	32.96
11.98	乙酸乙酯	梨、樱桃	652.75	—	462.60	20.19	36.47	20.38	259.25	35.54	33.32	72.48
16.27	辛酸乙酯	果香	429.32	—	102.91	—	112.00	—	42.61	—	—	—
17.14	醋酸辛酯	茉莉、桃	13.73	—	32.19	—	—	—	2.35	—	—	—
20.88	癸酸乙酯	椰子香	83.65	—	112.40	—	18.78	—	23.92	—	—	—
24.00	乙酸苯乙酯	苹果	251.36	—	532.5	82.29	52.50	117.35	146.14	98.62	36.21	187.52
28.81	己酸-2-苯乙酯	果、花香	28.74	—	1 226.00	—	165.10	—	373.50	—	—	—
31.27	辛酸-2-苯乙酯	果香	—	—	243.00	—	114.89	—	94.03	—	—	—
32.10	棕榈酸乙酯	奶油	4.46	—	—	—	—	7.13	3.70	—	6.76	—
	酸类		5 150.90	565.64	3 325.94	533.22	2 131.60	636.84	1 858.50	550.17	754.44	773.13
24.44	己酸	羊膻味	177.00	37.25	—	8.73	38.48	11.97	52.45	18.71	27.79	48.32
27.51	辛酸	奶酪	1 902.40	65.32	151.62	113.02	506.9	87.57	295.50	53.30	111.98	166.81
28.71	壬酸	椰子香	14.40	22.94	4.42	18.32	14.02	17.32	7.55	16.28	18.57	39.05
30.05	癸酸	奶香	2 107.00	139.23	2 570.00	266.14	1 219.80	167.25	1 252.90	118.37	295.10	193.29
31.06	硬脂酸	牛油	172.80	255.42	187.90	57.19	123.60	236.04	88.00	274.81	187.50	249.73
32.30	月桂酸	月桂油香	777.30	45.48	412.00	69.82	228.80	116.69	162.10	68.70	113.50	75.93
	醇类		765.01	384.29	1 151.81	291.37	655.86	1 111.16	1 246.55	1 136.09	983.61	1 287.06
10.36	异戊醇	指甲油	386.00	—	717.70	—	344.50	—	548.10	157.76	182.79	239.54
14.20	正己醇	甜葡萄	159.68	335.55	48.41	176.73	146.14	—	435.00	688.65	612.20	794.46
18.36	2-壬醇	奶油	—	—	—	5.34	—	—	13.25	45.18	5.71	11.57
19.27	1-辛醇	玫瑰花	14.35	7.89	11.49	23.81	33.76	—	41.56	13.50	26.44	12.78
21.39	1-壬醇	玫瑰花	6.11	26.00	—	—	10.31	—	6.50	59.48	34.54	—
22.41	(Z)-6-壬烯-1-醇	甜瓜	8.13	14.85	—	—	8.10	—	8 610.75	54.75	35.01	—
25.47	苯乙醇	玫瑰	190.74	—	374.21	85.49	113.05	111.16	202.14	116.77	86.92	228.71
	醛酮类		15.01	—	31.39	32.18	24.95	7.06	30.42	27.41	15.94	17.83
12.20	2-辛酮	青苹果香	15.01	—	18.37	17.76	14.98	—	17.26	18.32	15.94	17.83
14.92	2-壬酮	甜果香	—	—	—	6.34	—	—	2.69	9.09	—	—
27.09	椰子醛	椰子香	—	—	13.02	8.08	9.97	7.06	10.47	—	—	—
	其他物质		508.66	183.63	606.98	206.4	281.52	676.72	372.62	465	447.55	109.62
29.11	4-乙氧基-2-甲氧基苯酚	丁香、炒花生	16.18	—	54.98	—	—	—	14.73	13.74	—	—
31.91	呋喃	花香	17.45	—	42.3	—	29.1	—	58.73	—	—	—
34.03	肉豆蔻酸	香料	75.04	21.56	83.9	33.37	55.04	56.56	53.84	45.67	72.76	34.72
35.80	正十五酸	香料	30.09	12.89	47.5	12.3	25.58	25.99	13.72	23.90	39.99	36.36
38.49	棕榈酸	香料	369.9	149.18	378.3	160.73	171.8	594.17	231.6	381.69	334.8	38.54
	香气总量		9 974.29	1 952.41	11 917.1	1 698.16	4 031.9	2 355.28	5 201.43	2 650.73	2 656.56	3 114.47

注：—未检测出，表3同。

2.2 低温处理对葡萄果皮和果肉香气含量的影响

以16 ℃对照组的香气含量为参考标准，不同温度处理组与对照组香气物质含量的比值（以百分比表示）可

以表示香气物质含量变化,如表2所示。1)果皮香气成分,4℃低温处理的香气总量、酯类和醇类含量高于对照组,酸类小于对照组,冷冻处理的香气总量、酯类、酸类及-8℃处理的醇类远小于对照组,-20、-32℃冷冻处理的醇类含量高于对照组;2)葡萄汁香气成分,4℃低温处理的所有香气含量小于对照组,-32℃处理所有香气含量高于对照组,-8℃处理的香气总量、酯类、酸类含量高于对照组,-20℃处理的醇类含量高于对照组。由以上分析可知,不同温度处理在不同程度上可以提高葡萄汁中某些香气成分含量。葡萄皮溶出的香气含量(即失去的香气含量)远大于葡萄汁中增加的香气含量(表1),可能是因为葡萄的香气成分主要分布在果皮细胞内,冷冻处理后细胞遭到破坏^[19,24],细胞间隙内存在胞内物质,从而使靠近果肉的果皮中的一部分香气成分扩散到果肉中,使葡萄汁香气成分含量增大,但是由于低温作用,分子扩散作用较小,大部分香气成分仍存在于果皮中,也不排除因为其他原因使香气成分损失掉。因醛酮类、萜烯类等物质的数据量达不到分析要求,故没有分析。

表2 不同低温处理后赤霞珠葡萄皮、葡萄汁的香气成分与对照组含量百分比

Table 2 Changes in contents of aroma compounds in grape skins and musts subjected to cryogenic treatments at different temperatures as compared to untreated control

香气类别	4℃处理		-8℃处理		-20℃处理		-32℃处理	
	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁
酯类	192.41	77.55	26.54	112.78	47.91	57.65	12.87	113.19
酸类	64.57	94.27	41.38	112.59	36.08	97.27	14.65	136.68
醇类	150.56	75.82	85.73	28.93	162.95	295.63	128.57	334.92
挥发性香气总量	119.48	86.98	40.42	120.63	52.15	135.77	26.63	159.52

注:数值/%=处理/对照×100,大于100%表示含量高于对照组,表4同。

2.2.1 酯类物质

酯类物质香气表现主要为花香、果香,是葡萄酒里的香气表现最明显、最活跃的物质^[25],是葡萄酒或汁香气的重要组成部分。由表2可知,-8、-32℃低温处理葡萄能促进果汁中酯类物质含量增加,-8、-20、-32℃处理能够使果皮中酯类香气成分降低,其中-20℃处理降低程度较小,这也许是其葡萄汁中酯类物质含量较少的一个原因。4℃处理的葡萄皮中酯类物质含量高于对照组,葡萄汁中酯类含量小于对照组,说明4℃对酯类溶出果皮没有显著作用。由表1可知,共检测到13种酯类物质,经-8、-20、-32℃低温处理葡萄果皮中减少的酯类物质主要为乙酸乙酯、乙酸异戊酯、正己酸乙酯、乙酸己酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯,其中后四者也是赤霞珠葡萄酒的主要香气成分^[26],而葡萄汁中增加的是乙酸己酯、乙酸苯乙酯等酯类,没有检测到丁酸乙

酯、辛酸乙酯等物质,也许是因为这些物质在实验进行过程中损失掉而没有完全进入葡萄汁。发酵过程能在一定程度上增加酯类物质的种类和含量,使葡萄酒具有愉悦的果香、花香^[27],葡萄酒内酯类能够占到香气总量的1/5~1/3^[28-29],是葡萄酒香气的重要组成部分。葡萄经低温处理后,果皮中酯类物质减少,葡萄汁中酯类增加,因此,低温处理对于提高葡萄酒质量有一定的作用。

2.2.2 酸类物质

酸类物质除本身是香气成分外,还能够和醇在酯酶催化作用下形成酯类物质,增加葡萄汁或酒的香气物质种类。实验共检测到6种酸类化合物,果皮中含量减少较多的酸主要是己酸、辛酸、癸酸(4℃除外)、月桂酸等。辛酸(-20℃除外)、癸酸(-20℃除外)、月桂酸是冷冻处理组的葡萄汁中含量增加的酸,尤其是癸酸,癸酸具有脂肪、奶油的香气,是合成癸酸酯类的主要原料之一,其酯类有良好的香气。实验检测到对照组的果皮和果肉中的有机酸的含量占香气总量的一半,少于赤霞珠果粒的脂肪酸占全部果实香气总量的70%^[30],果皮的酸类含量只是果肉的10倍而不是21倍^[31],与现有研究有较大差距。-32℃处理组的果皮减少的有机酸含量大于4000 μg/L,若这些有机酸能够全部进入葡萄汁,则香气会表现的优雅而令人愉悦^[32]更有助于提高葡萄酒的水果香气^[33]。

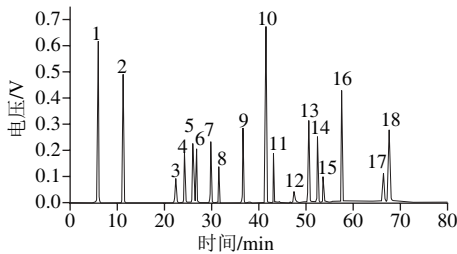
2.2.3 醇类物质

醇类化合物是葡萄香气成分中较为重要的一类化合物。实验检测出葡萄果皮中有7种醇。赤霞珠果实经-20、-32℃处理后,果皮和果肉中的醇类物质含量都明显升高。-8℃处理的果皮和果肉中醇类物质都明显降低,这会导致发酵产生的葡萄酒中的醇含量也较低^[34]。虽然-20、-32℃处理的果汁中醇类物质含量明显增大,但其含量较低且阈值大,所以从表现出的香气特征来看对香气贡献较小^[35],但是香气形成是复杂的化学变化,低温处理能够在一定程度上降低葡萄汁中醇类含量,从而避免过高含量的醇类对酒的风味和品质产生不利影响^[36],但是提高了葡萄汁中醇类含量也有助于香气物质形成,因此,通过选择适当的温度处理葡萄从而控制醇类的含量在合适的范围内,对葡萄酒的酿造是有益的。

2.2.4 其他香气物质

赤霞珠本身的萜烯类含量极低^[37],醛酮类也只检测到3种物质,而且数据过少不能形成有效的分析结果。此外,还检测到3种香气前体物质,无气味的肉豆蔻酸、正十五酸、棕榈酸,这些物质都可以用来合成香气成分,-8、-20℃处理的上述3种物质葡萄汁中的含量增加,它们的存在也会影响与之相关的香气成分的浓度。

2.3 温度对赤霞珠葡萄单体酚含量的影响



1~18依次为没食子酸、安息香酸、儿茶素、绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、表儿茶素、香豆酸、阿魏酸、芦丁、水杨酸、香豆素、白藜芦醇、桑色素、槲皮素、山奈酚、橘皮素。

图1 18种单体酚标准品色谱图

Fig.1 Chromatograms of 18 monophenolics

单体酚标准色谱图^[23]如图1所示。本研究发现，葡萄汁中共检测出15种单体酚，葡萄皮中共检测出18种单体酚，结果如表3所示。因送样检测时未标明重复检测，仅有一次检测结果。

表3 不同温度处理对赤霞珠葡萄皮和葡萄汁中单体酚含量的影响
Table 3 Effects of different temperatures on monophenols contents in Cabernet Sauvignon grape skins and musts

单体酚名称	mg/kg									
	16℃		4℃		-8℃		-20℃		-32℃	
总量	12.632	304.927	25.892	163.522	26.064	193.786	24.163	168.425	26.6837	175.627
非类黄酮类总量	5.897	102.096	18.716	82.303	10.161	79.072	11.787	81.771	17.9317	90.306
没食子酸	1.021	20.136	1.575	11.064	3.164	33.154	3.467	9.481	5.186	22.301
安息香酸	0.043	8.901	—	—	—	6.483	0.131	—	0.381	3.124
咖啡酸	0.153	6.331	1.379	4.276	1.047	1.738	0.052	2.674	0.223	1.786
丁香酸	—	6.758	6.627	8.639	1.737	3.041	0.242	7.827	0.5687	10.643
香豆酸	—	8.386	—	8.821	—	8.743	—	15.501	—	13.839
阿魏酸	—	1.311	—	10.164	—	0.142	—	1.731	—	1.401
水杨酸	3.078	17.653	3.484	14.252	3.758	14.258	4.085	24.473	5.705	23.853
绿原酸	1.602	6.987	5.607	6.152	0.24	0.301	0.72	2.885	0.522	2.297
香草酸	—	24.101	0.044	15.673	0.215	9.534	3.09	13.426	4.059	9.529
山奈酚	—	1.532	—	3.262	—	1.678	—	3.773	1.287	1.533
类黄酮类总量	6.703	200.527	7.15	78.78	15.834	109.27	12.3	82.932	8.702	82.247
儿茶素	0.197	41.315	0.189	18.645	7.522	31.073	4.37	12.217	1.852	14.175
槲皮素	1.968	4.446	1.92	4.098	1.951	2.932	1.941	7.731	2.017	4.776
芦丁	—	68.471	0.469	17.335	—	17.248	—	20.205	—	22.482
表儿茶素	—	58.643	0.092	11.204	1.918	35.694	1.293	11.193	0.257	11.535
香豆素	0.389	0.421	0.106	0.322	0.105	0.69	0.127	0.542	0.099	0.644
桑色素	4.149	26.739	4.374	27.176	4.338	21.581	4.569	30.583	4.477	28.334
橘皮素	—	0.492	—	—	—	0.052	—	0.461	—	0.301
芪类物质总量	0.032	2.304	0.026	2.439	0.069	5.444	0.076	3.722	0.05	3.074
白藜芦醇	0.032	2.304	0.026	2.439	0.069	5.444	0.076	3.722	0.05	3.074

以16℃对照组的多酚含量为参考标准，温度处理与对照组多酚物质含量的比值（以%表示）可以表示多酚物质含量变化，数值越大表示溶出效果越明显，如表4所示。与16℃对照组的葡萄皮中单体酚含量相比，其中安息香酸、咖啡酸、绿原酸、香草酸、儿茶素、芦丁、表儿茶素7种物质在不同温度条件下有不同程度的减少，葡

萄汁中没食子酸、咖啡酸（-20℃除外）、丁香酸、水杨酸、香草酸、儿茶素（4℃除外）、表儿茶素、桑色素、白藜芦醇（4℃除外）9种物质在不同温度条件下有不同程度的增加。分析可知，低温冷冻处理能够一定程度上减小葡萄皮中多酚物质含量、增加葡萄汁中多酚物质含量。酚类物质能够影响葡萄酒或葡萄汁的颜色、口感收敛性和抗氧化性等特性。葡萄酒的抗氧化活性在很大程度上决定于儿茶素、没食子酸等浓度水平^[38]，本研究发现低温冷冻处理可以提高葡萄汁中儿茶素等9种物质含量，因此用低温及冷冻处理葡萄能够提高葡萄酒中酚类物质含量^[39]。从葡萄汁中增加的单体酚含量分析，不同处理间的效果虽然有差距但没有明显的变化趋势。

表4 不同温度处理对赤霞珠葡萄皮和葡萄汁溶出单体酚与对照组的含量百分比

Table 4 Effects of different temperatures on monomeric phenols contents of Cabernet Sauvignon grape skins and musts as compared to untreated control

单体酚名称	4℃处理		-8℃处理		-20℃处理		-32℃处理	
	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮	葡萄汁	葡萄皮
总量	204.97	53.63	206.33	63.55	191.28	55.23	211.24	57.60
非类黄酮类总量	317.38	80.61	172.31	77.45	199.88	80.09	304.08	88.45
没食子酸	154.26	54.95	309.89	164.65	339.57	47.08	507.93	110.75
安息香酸	—	—	—	72.83	304.65	—	886.05	35.10
咖啡酸	901.31	67.54	684.31	27.45	33.99	42.24	145.75	28.21
丁香酸	+	127.83	+	45.00	+	115.82	+	157.49
香豆酸	+	105.19	—	104.26	—	184.84	—	165.03
阿魏酸	—	775.29	—	10.83	—	132.04	—	106.86
水杨酸	113.19	80.73	122.09	80.77	132.72	138.63	185.35	135.12
绿原酸	350.00	88.05	14.98	4.31	44.94	41.29	32.58	32.88
香草酸	+	65.03	+	39.56	+	55.71	+	39.54
山奈酚	—	212.92	—	109.53	—	246.28	+	100.07
类黄酮类总量	106.67	39.29	236.22	54.49	183.50	41.36	129.82	41.02
儿茶素	95.94	45.13	3 818.27	75.21	2 218.27	29.57	940.10	34.31
槲皮素	97.56	92.17	99.14	65.95	98.63	173.89	102.49	107.42
芦丁	+	25.32	—	25.19	+	29.51	—	32.83
表儿茶素	+	19.11	+	60.87	+	19.09	+	19.67
香豆素	27.25	76.48	26.99	163.90	32.65	128.74	25.45	152.97
桑色素	105.42	101.63	104.56	80.71	110.12	114.38	107.91	105.97
橘皮素	—	—	—	10.57	+	93.70	—	61.18
白藜芦醇	81.25	105.86	3 818.27	236.28	237.50	161.55	156.25	133.42

注：+，对照组没有此物质，处理组有此物质。

2.4 温度对赤霞珠葡萄汁中单宁、总酚、总花色苷含量的影响

如表5所示，对总花色苷分析：经过不同低温处理后的葡萄汁中总花色苷含量与常温组对比有显著的增加，并且处理温度越低，总花色苷含量越高，在-20℃和-32℃时达到最大，且这两组间没有显著差异。对总酚分析：经过不同低温处理后葡萄汁中总酚含量与常温组对比，温度越低总酚含量越大，-8、-20℃处理之间没有显著差异。对单宁分析：常温组单宁含量最低，经过低温处理葡萄汁中单宁含量呈现先增加后减少的趋势，

在-20℃时达到最大值。由此可知,低温处理能够增加葡萄汁中的单宁、总酚、总花色苷含量。

表5 不同温度对葡萄汁中单宁、总酚、总花色苷含量的影响
Table 5 Effect of different temperatures on the contents of tannins, total phenolics and total anthocyanins in Cabernet Sauvignon grape musts

处理温度/℃	质量浓度/(mg/L)		
	单宁	总酚	总花色苷
16	9.36±0.05 ^a	7.61±0.15 ^a	117.32±0.51 ^a
4	18.57±0.1 ^b	8.8±0.04 ^b	133.13±0.49 ^b
-8	24.47±0.03 ^d	9.56±0.02 ^c	140.27±3.71 ^c
-20	25.36±0.17 ^e	9.53±0.03 ^c	227.04±2.24 ^d
-32	23.21±0.67 ^c	11.96±0.21 ^d	229.71±0.53 ^d

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

3 结论

总体来看,-8、-20℃和-32℃能够在不同程度上增加葡萄汁中香气总量、酯类、醇类、酸类含量,减小其在葡萄皮中的含量;4℃处理不能增加葡萄汁中的香气成分,反而能使葡萄皮中香气成分增加。低温及冷冻处理能在不同程度上减少果皮中单体酚类物质含量,增加葡萄汁中的含量,但是温度与作用效果之间没有明显的变化趋势;低温处理能够增加葡萄汁中单宁、总酚、总花色苷含量。

参考文献:

- [1] REDDY L V, REDDY L P, WEE Y J, et al. Production and characterization of wine with sugarcane piece immobilized yeast biocatalyst[J]. Food & Bioprocess Technology, 2011, 4(4): 142-148. DOI:10.1007/s11947-009-0321-9.
- [2] LENCIONI L, CIANI M, BLASI S D. Spontaneous and inoculated yeast populations dynamics and their effect on organoleptic characters of Vinsanto wine under different process conditions[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 281-289. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.052.
- [3] CORTES S, SALGADO J M, RIVAS B, et al. Fermentation kinetics and chemical characterisation of vino tostado, a traditional sweet wine from Galicia (NW Spain)[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 90(1): 121-131. DOI:10.1002/jsfa.3794.
- [4] GAMERO A, TRONCHONI J, QUEROL A, et al. Production of aroma compounds by cryotolerant *Saccharomyces*, species and hybrids at low and moderate fermentation temperatures[J]. Journal of Applied Microbiology, 2013, 114(5): 1405-1414. DOI:10.1111/jam.12126.
- [5] GARCIA-RIOS E, LOPEZ-MALO M, GUILLAMON J M. Global phenotypic and genomic comparison of two *Saccharomyces cerevisiae*, wine strains reveals a novel role of the sulfur assimilation pathway in adaptation at low temperature fermentations[J]. BioMed Central Genomics, 2014, 15: 1-18. DOI:10.1186/1471-2164-15-1059.
- [6] BRUNEAU C. Genomic and transcriptomic analysis of aroma synthesis in two hybrids between *Saccharomyces cerevisiae*, and *S. kudriavzevii*, in winemaking conditions[J]. Microbial Cell Factories, 2014, 14(1): 1-10. DOI:10.1186/s12934-015-0314-5.
- [7] TORRES C D, DIAZ-MAROTO M C, PÉREZ-COELLO M S. Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 660(1/2): 177-182. DOI:10.1186/s12934-015-0314-5.
- [8] KOURKOUTAS Y, KOUTINAS A A, KANELAKI M, et al. Continuous wine fermentation using a psychrophilic yeast immobilized on apple cuts at different temperatures[J]. Food Microbiology, 2002, 19(s 2/3): 127-134. DOI:10.1006/fmic.2001.0468.
- [9] MALLIOS P, KOURKOUTAS Y, ICONOMOPOULOU M, et al. Low-temperature wine-making using yeast immobilized on pear pieces[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2004, 84(12): 1615-1623. DOI:10.1002/jsfa.1848.
- [10] ROCHA S M, COUTINHO P, COELHO E, et al. Relationships between the varietal volatile composition of the musts and white wine aroma quality. A four year feasibility study[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 43(10): 1508-1516. DOI:10.1016/j.lwt.2010.06.007.
- [11] TERRIER N, PONCETLEGRAND C, CHEYNIER V. Flavanols, flavonols and dihydroflavonols[M]//Wine Chemistry & Biochemistry. 2009: 463-507. DOI:10.1007/978-0-387-74118-5_22.
- [12] FERREIRA V. Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: a flavour chemistry view. Part 1: intensity and detectability. A review[J]. Flavour & Fragrance Journal, 2012, 27(2): 124-140. DOI:10.1002/ffj.2090.
- [13] ALVES R F, NASCIMENTO A, NOGUEIRA J M F. Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques[J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 546(1): 11-21. DOI:10.1016/j.aca.2005.05.012.
- [14] SWIEGERS J H, BARTOWSKY E J, HENSCHKE P A, et al. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(2): 139-173. DOI:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x.
- [15] RIBÉREAU-GAYON P, DUBOURDIEU D, DONÉCHE B, et al. The chemistry of wine stabilization and treatments[M]//Handbook of enology: volume 2. 2nd ed. England: John Wiley & Sons, Ltd., 2006: 141. DOI:10.1002/0470010398.ch5.
- [16] PAIXÃO N, PERESTRELO R, MARQUES J C, et al. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines[J]. Food Chemistry, 2007, 105(1): 204-214. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.04.017.
- [17] BURIN V M, CALIARI V, BORDIGNON-LUIZ M T. Nitrogen compounds in must and volatile profile of white wine: influence of clarification process before alcoholic fermentation[J]. Food Chemistry, 2016, 202: 417-425. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.01.096.
- [18] 李娜娜, 王华, 唐国冬, 等. 低温处理葡萄对爱格丽干白葡萄酒香气成分的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 71-76. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201613013.
- [19] 唐国冬, 田雨, 王倩, 等. 低温处理对葡萄果皮细胞结构的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 191-196. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705031.
- [20] 范文来, 徐岩, 李记明, 等. 应用HS-SPME技术分析葡萄果皮与果肉挥发性香气物质[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(12): 113-118. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2011.12.012.
- [21] 成宇峰, 张振文, 岳秦新. HPLC测定葡萄酒中单体酚样品预处理方法的优化[J]. 酿酒科技, 2008(2): 116-118.
- [22] 张予林. HPLC同时测定葡萄酒中18种单体酚方法的研究[C]//第八届国际葡萄与葡萄酒学术研讨会论文集. 2013: 211-219.
- [23] 陶永胜, 彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分关联分析[J]. 农业机械学报, 2012, 43(3): 130-139. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.03.025.
- [24] 张红娜, 高畅. 果皮冷冻处理对红葡萄酒品质的影响[J]. 中国酿造, 2011, 30(6): 119-122. DOI:10.3969/j.issn.0254-5071.2011.06.033.

- [25] GÓMEZ-MÍGUEZ M J, CACHO J F, FERREIRA V, et al. Volatile components of Zalema white wines[J]. Food Chemistry, 2007, 100(4): 1464-1473. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.11.045.
- [26] 胡健宁, 范文来, 徐岩, 等. 应用香气化合物多维统计分析方法建立赤霞珠葡萄酒原产地模型[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(1): 169-175. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2013.01.029.
- [27] 韦广鑫, 杨笑天, 周永文, 等. 葡萄酒中酯类化合物研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(14): 394-399. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.14.073.
- [28] 李华, 李佳, 王华. 昌黎原产地域赤霞珠干红葡萄酒香气成分研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(6): 94-98. DOI:10.3321/j.issn:1671-9387.2007.06.020.
- [29] 岳泰新, 迟明, 李梅花, 等. 2种产量赤霞珠葡萄酒香气和花色苷的比较[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 194-200. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201424037.
- [30] 杨晓帆, 高媛, 韩梅梅, 等. 云南高原区酿酒葡萄果实香气物质的积累规律[J]. 中国农业科学, 2014, 47(12): 2405-2416. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2014.12.013.
- [31] 范文来, 徐岩, 李记明, 等. 应用HS-SPME技术分析葡萄果皮与果肉挥发性香气物质[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(12): 113-118. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2011.12.012.
- [32] TAKASHI S. Gas chromatographic analysis of volatile fatty acids in wines[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1985, 49(7): 2211-2212. DOI:10.1271/abb1961.49.2211.
- [33] SANJUAN F, FERREIRA V, CACHO J, et al. Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of Spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(14): 7916-7924. DOI:10.1021/jf1048657.
- [34] KANDYLIS P, KOUTINAS A A. Extremely low temperature fermentations of grape must by potato-supported yeast, strain AXAZ-1. A contribution is performed for catalysis of alcoholic fermentation[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, 56(9): 3317-3327. DOI:10.1021/jf073273n.
- [35] 于立志, 马永昆, 张龙, 等. GC-O-MS法检测句容产区巨峰葡萄酒香气成分分析[J]. 食品科学, 2015, 36(8): 196-200. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201508036.
- [36] 王国正, 吴群, 徐岩. 低产高级醇酿酒酵母突变菌株的差异蛋白组分析及高级醇合成相关蛋白的差异表达[J]. 微生物学通报, 2015(12): 2407-2416. DOI:10.13344/j.microbiol.china.150135.
- [37] 赵悦, 孙玉霞, 孙庆扬, 等. 不同产地酿酒葡萄“赤霞珠”果实中挥发性香气物质差异性研究[J]. 北方园艺, 2016, 40(4): 23-28. DOI:10.11937/bfy.201604005.
- [38] 惠竹梅, 张振文, 成宇峰, 等. 行间生草对赤霞珠葡萄与葡萄酒中主要单体酚的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(9): 3209-3215. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2009.09.024.
- [39] GIL-MUÑOZ R, MORENO-PÉREZ A, VILA-LÓPEZ R, et al. Influence of low temperature prefermentative techniques on chromatic and phenolic characteristics of Syrah and Cabernet Sauvignon wines[J]. European Food Research & Technology, 2009, 228(5): 777-788. DOI:10.1007/s00217-008-0989-5.