

# 利用多酚/蛋白互作模型研究多酚对葡萄酒涩感的影响

朱艳云<sup>1</sup>, 王晓宇<sup>1</sup>, 杜国荣<sup>2</sup>, 田呈瑞<sup>1</sup>, 王雪辉<sup>1</sup>, 任梦梦<sup>1</sup>, 张娟<sup>1</sup>

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710119)

(2. 西安文理学院生物与环境工程学院, 陕西西安 710065)

**摘要:** 研究不同红葡萄酒中不同聚合度的酚类物质与蛋白质相互作用的差异性, 找出影响涩感的关键成分, 为葡萄酒酿造工艺的改良及葡萄品种的选育提供理论依据。以不同品种的红葡萄酒为材料, 利用 C18 固相萃取柱将葡萄酒的酚类物质分离为单体酚、低聚物、高聚物三部分, 测定其总酚、总黄酮醇含量, 采用 SDS-PAGE 及荧光光谱法研究不同酚类物质与蛋白质的相互作用。测得红葡萄酒的总酚和总黄酮醇含量存在显著差异, 红葡萄酒中不同组分的总酚和总黄酮醇含量表现为: 单体酚<低聚物<高聚物。SDS-PAGE 及荧光光谱实验的结果显示高聚物对蛋白质的影响较强, 单体酚与低聚物则因酒而异。葡萄酒中不同聚合度的成分对涩感的影响不同。因此, 在葡萄品种选择和葡萄酒酿造工艺改良的过程中可以根据目标而进行酚类物质的控制, 特别是高聚物的调控。

**关键词:** 葡萄酒; 酚类物质; 多酚/蛋白互作; 涩感

文章编号: 1673-9078(2017)11-63-69

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.11.010

## Effects of Polyphenols on the Wine Astringency by Phenolic/Protein Interaction Model

ZHU Yan-yun<sup>1</sup>, WANG Xiao-yu<sup>1</sup>, DU Guo-rong<sup>2</sup>, TIAN Cheng-rui<sup>1</sup>, WANG Xue-hui<sup>1</sup>, REN Meng-meng<sup>1</sup>, ZHANG Juan<sup>1</sup>

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

(2. School of Biological and Environmental Engineering, Xi'an University, Xi'an 710065, China)

**Abstract:** The difference of the interaction between phenolic compounds and protein with diverse polymerization degrees in different red wines was investigated to find out the key components of astringency for improving the wine-making process and selecting grape varieties. Using the different varieties of red wines as material, the phenolic substances of wine were divided into three parts by C18 solid phase extraction column: monophenols, oligomers and polymers. The contents of total phenols and total flavanols were determined. The interactions of different phenolics and protein were investigated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and fluorescent spectrometry. There were significant differences in total phenols and total flavanols contents in red wines. The contents of total phenols and total flavanols of phenolic fragments with different degrees of polymerization in red wines were as follows: monophenols < oligomer < polymer. The results of SDS-PAGE and fluorescence spectrometry showed that the effect of high polymers on the protein was the strongest, and the effects of monophenols and oligomers in different wines on the protein presented variance. The composition with different degrees of polymerization in the wine had different effects on the wine astringency. In the process of selecting grape varieties and improving the wine-making process, the control of the phenolic substance could be considered, especially for the regulation of the polymer.

**Key words:** wine; phenolic compounds; polyphenol/protein interaction; astringency

涩感是葡萄酒最重要的感官质量之一, 普遍的观点认为是葡萄酒多酚与唾液蛋白相互作用, 使得唾液  
收稿日期: 2017-06-20

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31301526); 西安市农业技术研发项目 [NC1503 (5)]

作者简介: 朱艳云 (1994-), 女, 在读硕士, 研究方向: 农产品加工

通讯作者: 王晓宇 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品加工

的润滑度降低, 口腔内的摩擦系数增大, 进而引起涩感<sup>[1]</sup>。而涩感的研究除感官评价外, 多酚/蛋白的相互作用的机制的研究是该类研究的基础。许多研究结果显示: 多酚/蛋白的相互作用不仅与多酚的含量有关, 与酚类物质的结构 (糖苷化, 羟基化, 甲基化, 立体异构化, 聚合度和同分异构化等) 也有很大关系<sup>[2-6]</sup>。不同的葡萄品种、气候条件和酿造工艺导致在静置以

及其他过程中浸入酒中的酚类物质的种类、含量存在差异<sup>[7,8]</sup>。国内外关于葡萄酒酚类物质的研究集中在总酚的含量、总酚与涩感的相关性,也有一部分研究没食子酸和儿茶素等单体酚的,但研究不同聚合度多酚与涩感的关系的却不多。

葡萄酒中影响涩感的物质主要是酚类物质,而酚类物质很多都以复合态或聚合态存在,分子质量大且结构复杂,因此深入研究不同聚合度的多酚对涩感的影响对剖析葡萄酒的涩感有重要意义。而不同聚合度的多酚的对涩感的影响程度不同。选择不同品种的葡萄酒,根据极性将酚类物质分为不同聚合度的单体酚、低聚物(mDP=2~12-15)<sup>[9,10]</sup>、高聚物(mDP=12-15~32-34)<sup>[9,10]</sup>三个部分,利用多酚/蛋白互作模型研究其对涩感的影响,以期确定影响涩感的关键组分及其与涩感的相关性。

葡萄酒中的酚类物质的种类、含量等影响着涩感,而不同工艺、不同品种的葡萄酒的涩感差异明显<sup>[11]</sup>,因此研究不同聚合度的酚类物质对涩感的影响至关重要,通过建立体外多酚/蛋白互作模型研究不同红酒中多酚及其不同聚合度的多酚成分对涩感的影响,为葡萄品种选育和葡萄酒酿造工艺改良等提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理

#### 1.1.1 实验样品

莫高干红葡萄酒(R1),长城干红葡萄酒(R2),师原赤霞珠干红葡萄酒(R3),赤霞珠单品种葡萄酒(R4),蛇龙珠单品种葡萄酒(R5),美乐单品种葡萄酒(R6),佳美单品种葡萄酒(R7),神索单品种葡萄酒(R8)。

#### 1.1.2 样品处理

C18固相萃取小柱处理:10 mL的甲醇洗脱活化后,用20 mL的蒸馏水洗。流速0.5 mL/min<sup>[12,13]</sup>。

葡萄酒中单体酚的分离:将20 mL酒样加入C18固相萃取柱。以10 mL的蒸馏水洗脱,流速0.5 mL/min。将洗脱部分收集起来并以60 °C旋转蒸干后,用模拟酒样缓冲液溶解并定容到5 mL棕色容量瓶中<sup>[14-16]</sup>。

葡萄酒中低聚物的分离:将25 mL乙酸乙酯加入C18固相萃取柱,进行洗脱,流速0.5 mL/min。将洗脱部分收集起来并以45 °C旋转蒸干后,用模拟酒样缓冲液溶解并定容到5 mL棕色容量瓶中<sup>[14-16]</sup>。

葡萄酒中高聚物的分离:将15 mL甲醇加入C18固相萃取柱,进行洗脱,流速0.5 mL/min。将洗脱部分收集起来并以40 °C旋转蒸干后,用模拟酒样缓冲液

溶解并定容到5 mL棕色容量瓶中<sup>[14-16]</sup>。

#### 1.1.3 实验试剂

丙烯酰胺、N,N-甲叉双丙烯酰胺、N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TEMED)、 $\beta$ -巯基乙醇、溴酚蓝、过硫酸铵、三羟甲基氨基甲烷(TRIS)、十二烷基硫酸钠(SDS)、谷氨酸、考马斯亮蓝R250、G250,美国Sigma公司;丙三醇、浓盐酸、甲醇(分析纯)、冰乙酸,天津天力。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 总酚和总黄烷醇的测定

本试验采用福林消卡法(F-C)测定总酚,测定结果以没食子酸计<sup>[17]</sup>。将待测的成品酒样10  $\mu$ L稀释10倍至100  $\mu$ L,加入到10 mL的试管中,然后加入7 mL的水,振荡摇匀,在加入0.5 mL的福林酚试剂,充分振荡摇匀,静置1 min后,加20%的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液1.5 mL,振荡混匀后加0.9 mL水,最后在暗处避光反应60 min,于765 nm处测定吸光值,每个处理平行重复两次,最后以没食子酸的等价值计。没食子酸标准溶液浓度为:0 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、250 mg/L和500 mg/L。红葡萄酒酒样稀释10倍;白葡萄酒样品不稀释<sup>[18]</sup>。

采用DMACA法测定总黄烷醇,结果以儿茶酚计<sup>[8]</sup>。将5  $\mu$ L成品酒样稀释20倍至100  $\mu$ L,加入10 mL试管中,加入0.1%DMACA(3 mL)的1 mol/L的盐酸甲醇溶液,充分混匀,室温下反应10 min,在640 nm处测吸光度,每个处理平行重复两次,结果以儿茶酚等价值表示。儿茶酚标准曲线浓度为:125 mg/L、100 mg/L、50 mg/L、25 mg/L、12.5 mg/L和0 mg/L。红葡萄酒酒样稀释10倍;白葡萄酒样品不稀释。

#### 1.2.2 SDS-PAGE 研究葡萄酒中酚类物质与BSA的相互作用

选取4名无口腔疾病且不吸烟的志愿者,2男2女,上午10点~11点收集唾液,在收集之前1 h内不进食和饮料。将唾液收集到离心管中,静置过夜后在4000 r/min条件下离心10 min,除去不溶物质,所得上清液为唾液蛋白样品<sup>[19]</sup>。

在25 °C条件下样品与唾液结合,反应10 min之后,用离心机在4000 r/min条件下离心10 min,取上清液,样品缓冲液(0.6 mL的1 mol/L、pH 6.8 Tris-HCl,5 mL、50%甘油,2 mL、10% SDS,0.5 mL  $\beta$ -巯基乙醇,1 mL、1%溴酚蓝,0.9 mL蒸馏水)与上清液以1:4的比例混合,并用沸水煮沸5 min,放入-20 °C保存待用。使用12%丙烯酰胺分离胶和5%丙烯酰胺浓缩胶进行分析。开始选择电压100 V,电流65 mA,

待条带跑过浓缩胶区域,将电压调至 120 V,电流 72 mA,等条带跑至分离胶底部时,停止电泳。将凝胶从玻璃板上剥下,用考马斯亮蓝 R250 (45%甲醇和 10%冰乙酸)染色,再用脱色液(100 mL 甲醇,100 mL 冰乙酸,定容 1000 mL)脱色<sup>[20-22]</sup>。之后把凝胶放置于凝胶成像仪上进行拍照,保存图片。将成像结果用化学发光成像仪的成像软件对条带的光密度进行分析。记录光密度值。记录与样品结合后的蛋白条带(55 ku 左右)的光密度值,计算与唾液蛋白光密度对比后降低的百分比,这个比值就记录为 SPI 值(唾液沉降指数)。

### 1.2.3 光谱法研究葡萄酒中酚类物质与 BSA 的相互作用

荧光光谱测定:分别取 200  $\mu$ L 葡萄酒工作液与 3 mL BSA 工作液,室温下反应 5 min。以相同浓度的 BSA 溶液作空白,固定激发波长 EX=280 nm,激发狭缝宽度为 5 nm,发射狭缝宽度为 10 nm,发射波长在 285~450 nm 范围内扫描 BSA 的荧光光谱及 BSA 与不同品种葡萄酒、不同聚合度葡萄酒的荧光光谱,实验

设定温度分别为 25  $^{\circ}$ C<sup>[23,24]</sup>。

## 1.3 数据处理

采用 UVP VisionWorks<sup>TM</sup> LS (光密度分析软件)、Excel 2010 与 DPS 7.05 (DPS 数据处理系统)进行各因子的数据分析与 Duncan's 差异显著性分析。

## 2 结果

### 2.1 总酚和总黄烷醇的测定

从表 1 中可以看出,不同品种葡萄酒及其组分的总酚含量存在显著差异。8 个样品的总酚含量在 1626~2631 mg/L GAE (没食子当量)之间,其中单体酚总酚含量为 160~252 mg/L GAE,低聚物总酚含量为 346~497 mg/L GAE,高聚物总酚含量为 407~963 mg/L GAE。结合表中数据分析可知,每个品种的不同聚合度组分的总酚含量的高低顺序表现为:高聚物>低聚物>单体酚,且葡萄酒的总酚含量高时,其不同聚合度组分的总酚含量不一定也高。

表 1 葡萄酒及其组分的总酚含量

Table 1 Total phenolic contents of different wines and its components with different degrees of polymerization

样品	总酚含量[TPC (mg/L GAE)]			
	酒	单体酚	低聚	高聚
R1(莫高干红葡萄酒)	1939 $\pm$ 73.31 <sup>bc</sup>	229 $\pm$ 7.33 <sup>b</sup>	346 $\pm$ 10.72 <sup>c</sup>	407 $\pm$ 13.63 <sup>f</sup>
R2(长城干红葡萄酒)	1954 $\pm$ 93.22 <sup>bc</sup>	200 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>	441 $\pm$ 4.30 <sup>b</sup>	758 $\pm$ 0.83 <sup>b</sup>
R3(师原赤霞珠干红葡萄酒)	2249 $\pm$ 93.68 <sup>ab</sup>	172 $\pm$ 6.75 <sup>e</sup>	410 $\pm$ 10.08 <sup>e</sup>	766 $\pm$ 18.64 <sup>b</sup>
R4(赤霞珠单品种葡萄酒)	2631 $\pm$ 42.43 <sup>a</sup>	180 $\pm$ 3.97 <sup>d</sup>	497 $\pm$ 11.98 <sup>a</sup>	963 $\pm$ 10.72 <sup>a</sup>
R5(蛇龙珠单品种葡萄酒)	1626 $\pm$ 49.50 <sup>e</sup>	174 $\pm$ 3.53 <sup>de</sup>	377 $\pm$ 6.75 <sup>d</sup>	550 $\pm$ 4.59 <sup>d</sup>
R6(美乐单品种葡萄酒)	2076 $\pm$ 7.07 <sup>c</sup>	205 $\pm$ 2.58 <sup>c</sup>	410 $\pm$ 12.62 <sup>c</sup>	618 $\pm$ 9.29 <sup>c</sup>
R7(佳美单品种葡萄酒)	2181 $\pm$ 155.56 <sup>b</sup>	252 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>	425 $\pm$ 10.75 <sup>bc</sup>	602 $\pm$ 14.31 <sup>c</sup>
R8(神索单品种葡萄酒)	1741 $\pm$ 56.57 <sup>d</sup>	160 $\pm$ 3.59 <sup>f</sup>	374 $\pm$ 2.58 <sup>d</sup>	488 $\pm$ 5.02 <sup>e</sup>

注:表内不同字母为差异达显著水平 ( $p < 0.05$ )。

表 2 葡萄酒及其组分的总黄烷醇含量

Table 2 Total flavanols contents of different wines and its components with different degrees of polymerization

样品	总黄烷醇含量[TFA (mg/L CTE)]			
	酒	单体酚	低聚	高聚
R1	895.39 $\pm$ 12.82 <sup>bc</sup>	112.87 $\pm$ 1.29 <sup>c</sup>	244.47 $\pm$ 5.85 <sup>de</sup>	272.91 $\pm$ 26.01 <sup>c</sup>
R2	776.24 $\pm$ 67.08 <sup>bc</sup>	102.87 $\pm$ 2.51 <sup>d</sup>	286.45 $\pm$ 21.34 <sup>bc</sup>	376.88 $\pm$ 82.87 <sup>a</sup>
R3	759.22 $\pm$ 26.56 <sup>bc</sup>	78.40 $\pm$ 10.88 <sup>f</sup>	281.63 $\pm$ 2.83 <sup>bc</sup>	303.97 $\pm$ 26.10 <sup>ab</sup>
R4	1015.8 $\pm$ 136.89 <sup>ab</sup>	107.48 $\pm$ 3.46 <sup>cd</sup>	329.00 $\pm$ 20.43 <sup>a</sup>	341.13 $\pm$ 41.52 <sup>a</sup>
R5	624.74 $\pm$ 29.92 <sup>c</sup>	92.38 $\pm$ 1.77 <sup>e</sup>	241.35 $\pm$ 12.34 <sup>e</sup>	207.23 $\pm$ 22.30 <sup>e</sup>
R6	952.31 $\pm$ 7.07 <sup>b</sup>	127.69 $\pm$ 1.61 <sup>b</sup>	302.62 $\pm$ 22.37 <sup>b</sup>	259.72 $\pm$ 51.98 <sup>d</sup>
R7	1108.8 $\pm$ 6.35 <sup>a</sup>	169.61 $\pm$ 5.22 <sup>a</sup>	268.30 $\pm$ 5.31 <sup>cd</sup>	211.20 $\pm$ 24.58 <sup>e</sup>
R8	601.67 $\pm$ 89.75 <sup>c</sup>	80.18 $\pm$ 2.78 <sup>f</sup>	199.22 $\pm$ 5.13 <sup>f</sup>	270.35 $\pm$ 25.10 <sup>c</sup>

注:表内不同字母为差异达显著水平 ( $p < 0.05$ )。

结果显示(表2),不同品种葡萄酒及其组分的总黄烷醇含量存在显著差异,且葡萄酒总黄烷醇含量总体上低于总酚含量。8种葡萄酒总黄烷醇的含量在601~1108 mg/L CTE(儿茶素当量)之间,其中单体酚为78~169 mg/L CTE,低聚物为199~329 mg/L CTE,高聚物为207~376 mg/L CTE。每个品种的不同聚合度组分的总黄烷醇含量的高低顺序表现为:高聚物>低聚物>单体酚。

## 2.2 SDS-PAGE 与 SPI 指数评价葡萄酒中酚类

物质与 BSA 的相互作用

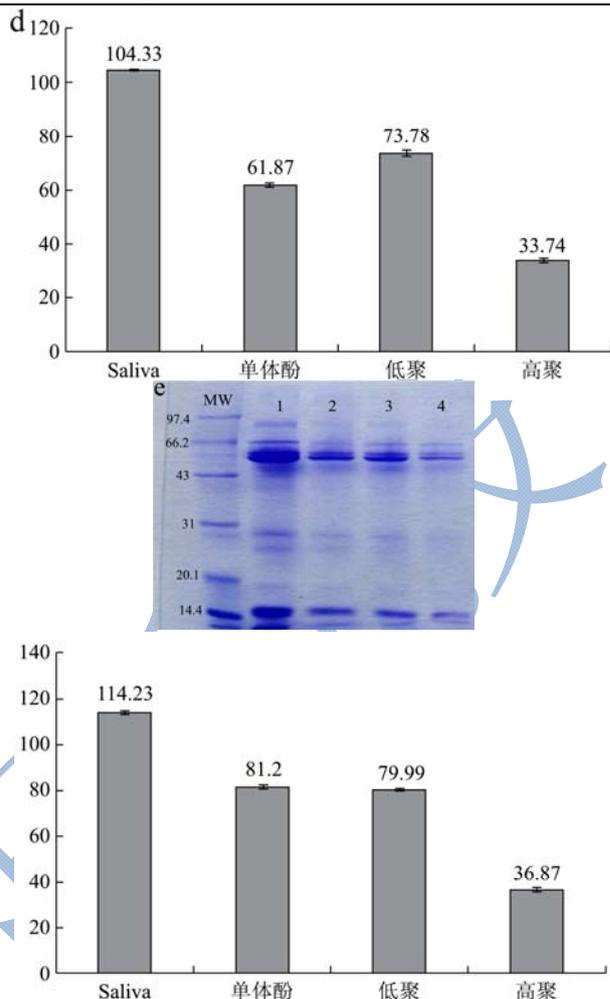
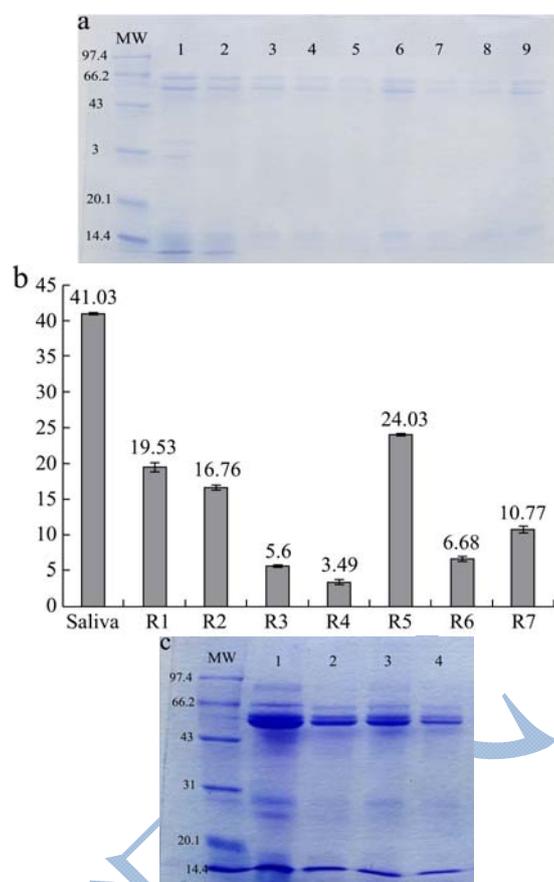


图1 唾液与葡萄酒及与各聚合度组分相互结合的 SDS-PAGE  
Fig.1 The SDS-PAGE of supernatant that formed by binding reactions amongst saliva, different wines and its components with different degrees of polymerization

注: a, b: 唾液与不同品种葡萄酒相互结合的 SDS-PAGE 和光密度值; c, d: R3 不同聚合度组分与 BSA 作用的 SDS-PAGE 和光密度值; e, f: R6 不同聚合度组分与 BSA 作用的 SDS-PAGE 和光密度值。MW, 左边标记的为分子量。

表3 不同品种葡萄酒及其组分的 SPI 值

Table 3 The SPI values of different wines and and its components with different degrees of polymerization

样品	SPI 值 (光密度降低百分比/%)			
	酒	单体酚	低聚	高聚
R1	52.39±2.84 <sup>e</sup>	33.88±0.53 <sup>d</sup>	26.00±0.92 <sup>ef</sup>	44.38±1.83 <sup>c</sup>
R2	59.15±1.66 <sup>d</sup>	25.89±0.81 <sup>f</sup>	23.96±1.09 <sup>f</sup>	36.08±1.23 <sup>f</sup>
R3	86.35±3.41 <sup>a</sup>	28.91±0.42 <sup>e</sup>	29.97±0.64 <sup>d</sup>	67.73±1.18 <sup>b</sup>
R4	91.50±0.63 <sup>a</sup>	57.03±1.04 <sup>a</sup>	68.35±2.95 <sup>a</sup>	98.85±1.77 <sup>a</sup>
R5	41.42±1.80 <sup>e</sup>	40.70±0.75 <sup>b</sup>	29.28±1.02 <sup>d</sup>	67.66±0.63 <sup>b</sup>
R6	83.73±0.60 <sup>b</sup>	42.80±1.29 <sup>b</sup>	45.20±0.66 <sup>b</sup>	45.71±1.48 <sup>d</sup>
R7	73.74±2.33 <sup>c</sup>	38.65±0.55 <sup>c</sup>	41.67±1.02 <sup>c</sup>	63.31±1.56 <sup>c</sup>
R8	47.63±1.03 <sup>f</sup>	24.16±0.63 <sup>f</sup>	27.19±0.34 <sup>e</sup>	43.18±1.18 <sup>e</sup>

注: 表内不同字母为差异达显著水平 ( $p < 0.05$ )。

唾液与 8 种不同葡萄酒在 2:1 比例条件下结合, 并取上清液进行 SDS-PAGE, 电泳条带图如图 2A 所示。可以观察到不同品种葡萄酒与唾液蛋白相互作用的强度不同, 即表明各品种葡萄酒中的酚类物质含量不同, 产生的涩感亦有差异。根据光密度值, 可以计算出各品种葡萄酒与唾液结合后, 使唾液蛋白光密度值减少的百分比, 即 SPI 值, 进而得出葡萄酒酚类物质沉降唾液蛋白的能力大小。SPI 值大的品种对应沉降蛋白的能力就越强, 反之, SPI 值越小的, 其沉降蛋白的能力就越弱。

由图 1 和表 3 可以看出, 8 种葡萄酒中 R5 和 R8 的 SPI 值较小, R3 和 R4 较大, 即 R4 和 R3 沉降唾液蛋白的能力较强, R5 和 R8 较弱。这个结果与总酚含量的测定结果(表 1)相一致。8 个样品不同聚合度组分中都是高聚物的 SPI 值最高, 即其结合唾液蛋白的能力最强; R3、R4、R6、R7 和 R8 这五个品种的单体酚与唾液蛋白结合后的 SPI 值低于低聚物, 即与唾液蛋白结合作用的能力弱于低聚物; R1、R2 和 R5 这三个品种葡萄酒的单体酚类物质结合蛋白后的光密度值高于低聚物, 即表明他们的单体酚类物质结合蛋白的能力较其低聚物强。

### 2.3 光谱法研究葡萄酒中酚类物质与 BSA 的相互作用

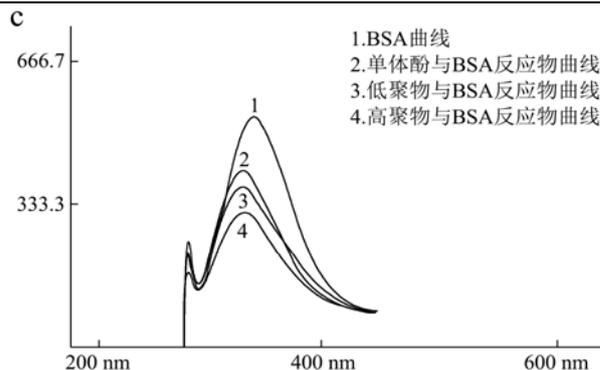
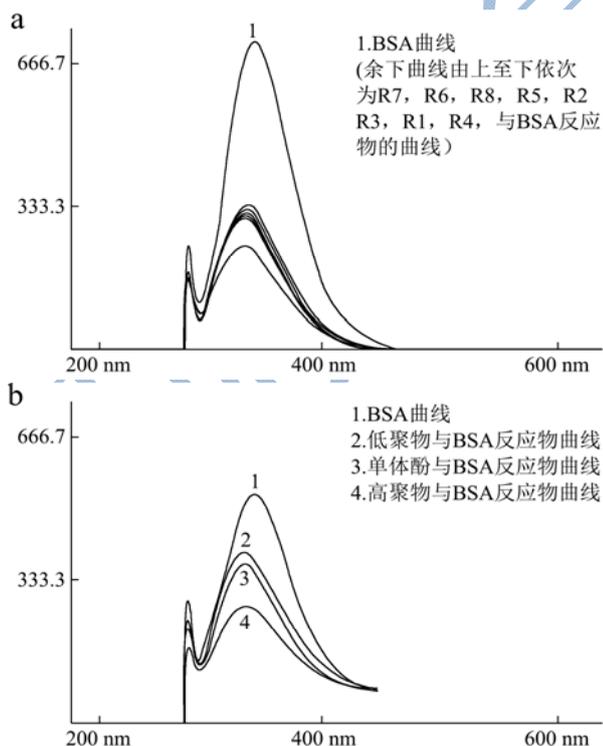


图 2 葡萄酒与 BSA 作用的荧光光谱图

Fig.2 Fluorescence spectra of the interactions amongst wines and BSA

单一体系的牛血清蛋白与多酚提取液反应 5 min 后进行荧光光谱测定, 结果如图 2 所示。8 种不同品种葡萄酒对 BSA 荧光猝灭作用有强有弱, 但差异不甚明显, 葡萄酒的不同聚合度组分对 BSA 的猝灭作用有显著差异。BSA 峰值一定, 样品的峰值越高, 表示物质对 BSA 的猝灭作用就越弱; 反之, 峰值越低, 则表示物质对 BSA 的猝灭作用越强。与葡萄酒样品作用的 BSA 的峰值为 734.65 nm, 8 种酒中 R6 和 R7 的峰值较高为 347.76 nm、347.98 nm, R4 的峰值较低为 257.61 nm, 表明 R6 和 R7 对 BSA 的猝灭作用较弱, R4 对 BSA 的猝灭作用较强。与葡萄酒不同聚合度组分作用的 BSA 峰值为 541.68 nm, 8 种葡萄酒的 3 种组分高聚物的峰值最低, 表明高聚物对 BSA 的猝灭作用最强; R1、R2、R3 和 R6 的单体酚峰值低于低聚物, 表明这几种酒的单体酚对 BSA 的猝灭作用强于低聚物; R4、R5、R7 和 R8 的单体酚峰值高于低聚物, 表明这几种酒的单体酚对 BSA 的猝灭作用弱于低聚物。

### 3 讨论

3.1 多酚是葡萄酒中最重要的涩感物质。葡萄品种、酿酒工艺和地理环境等因素都会造成葡萄酒中酚类物质含量及种类的差异, 进而导致葡萄酒涩感的差异<sup>[7,8]</sup>。酚类物质除影响葡萄酒涩感以外, 对葡萄酒的色泽、香气和抗氧化等性质也有一定影响。本实验测定的 8 种红葡萄酒的总酚含量在 1626~2631 mg/L GAE (没食子当量) 之间、总黄酮醇含量在 601~1108 mg/L CTE (儿茶素当量) 之间。被测的葡萄酒涩感存在显著的差异, 其中 R4 和 R7 涩感较强, R5 和 R8 涩感较弱, 而 R1、R2、R3 及 R6 的涩感强弱居中。根据品鉴结果: 赤霞珠品种葡萄酒涩感较强, 蛇龙珠和神索葡萄酒涩感较弱; 几种酒之间色泽、香气和口感等

都有一定的差异。因此,葡萄酒中酚类物质的种类和含量直接影响着葡萄酒的涩感,也在一定程度上影响着葡萄酒的色泽及香气等其他品质。

3.2 葡萄酒中的酚类物质结构复杂、种类繁多,大多以化合态或聚合态存在,而酚类物质的聚合度与涩感之间的关系是一个关键问题。有些葡萄酒即使总酚含量相近,涩感却相去甚远。马锦锦<sup>[25]</sup>和孙云<sup>[26]</sup>等人分别测定葡萄酒,葡萄皮、籽的聚合度,其结果表明不同葡萄酒,葡萄皮、籽的平均聚合度各不同。葡萄皮、籽中酚类物质及其聚合度不同,浸入酒中的酚类物质及其聚合度也不相同,因而葡萄酒中单体酚、低聚合度多酚、高聚合度多酚的含量不同,而不同聚合度的多酚对涩感的影响不同。本研究根据不同的原理,采用多种方法测定葡萄酒中不同聚合度的酚类物质对涩感的影响。其中高聚物的总酚、总黄烷醇含量最高,能沉淀最多的唾液蛋白,对牛血清蛋白的影响最强,因此可以确定高聚物对葡萄酒涩感的影响最,而单体酚与低聚物对涩感的影响则因葡萄酒品种的不同而不同。

3.3 葡萄酒涩感的产生是由于多酚和蛋白的相互作用,而这种相互作用会导致多酚与蛋白质的结构、功能和特性发生变化。感官评价是评价涩感较好的方法,但受到的影响因素较多,因此在许多研究中都需采用非感官的体外评价方法。而非感官的评价方法大多是在多酚/蛋白相互作用的基础进行的<sup>[27]</sup>,多酚/蛋白的相互作用主要通过3种方式来进行研究:通过多酚来沉淀蛋白质;研究蛋白质与多酚形成的复合物;研究多酚与蛋白质相互作用对蛋白质造成的影响<sup>[28]</sup>。由于蛋白质/多酚的相互作用较为复杂,没有单一的技术能提供全面的信息,一般通过多种方法进行检测。Baoshan Sun<sup>[20]</sup>、Raúl Ferrer-Gallego<sup>[23]</sup>和 Bernd Schwarz等<sup>[1]</sup>利用 SDS-PAGE、荧光光谱与 HPLC 等方法在多酚/蛋白相互作用的基础上研究酚类物质与涩感的关系。本研究结合 SDS-PAGE 与荧光光谱法来检测葡萄酒及其不同组分与蛋白质的相互作用。在 SDS-PAGE 实验中:R4 和 R3 沉降唾液蛋白的能力较强,R5 和 R8 较弱;高聚物能沉淀最多的唾液蛋白,单体酚与低聚物沉淀蛋白的能力在不同的葡萄酒中表现不同。在荧光光谱实验中:R4 对 BSA 的淬灭作用较强,R6 和 R7 较弱;高聚物对蛋白质的作用最强,单体酚和低聚物较弱。总而言之,红葡萄酒中的高聚物对蛋白质的影响最强;而单体酚和低聚物则因酒而异。

## 4 结论

不同葡萄酒中酚类物质的种类和含量存在显著差异。赤霞珠品种葡萄酒中酚类物质含量较高,蛇龙珠、神索品种葡萄酒中酚类物质含量较低。不同的酚类物质与蛋白质相互作用的强度不同:高聚物结合蛋白的能力最强,单体酚和低聚物作用于蛋白质的能力在不同的葡萄酒中表现不同。

## 参考文献

- [1] Schwarz B, Hofmann T. Is there a direct relationship between oral astringency and human salivary protein binding? [J] *European Food Research and Technology*, 2008, 227: 1693-1698
- [2] Vidal S, Francis L, Guyot S, et al. The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83(6): 564-573
- [3] Vidal S, Francis L, Noble A, et al. Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 513(1): 57-65
- [4] Vidal S, Francis L, Williams P, et al. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium [J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(4): 519-525
- [5] Gawel R, Franci L, Waters E J. Statistical correlations between the in-mouth textural characteristics and the chemical composition of shiraz wines [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(7): 2683-2687
- [6] Sáenz-Navajas M P, Ferreira V, Dizy M, et al. Characterization of taste-active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 673(2): 151-159
- [7] 张娟,王晓宇,田呈瑞,等.基于酚类物质的酿酒红葡萄品种特性分析[J].*中国农业科学*,2015,48(7):1370-1382  
ZHANG Juan, WANG Xiao-yu, TIAN Cheng-rui, et al. Analysis of phenolic compounds in red grape varieties [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(7): 1370-1382
- [8] 张影陆,于贞,徐岩,等.由多酚物质剖析葡萄酒的差异性[J].*酿酒科技*,2008,4:29-31  
ZHANG Ying-lu, YU Zhen, XU Yan, et al. Investigation on

- the difference among grape wine products by polyphenol analysis [J]. Liquer-Making Science & Technology, 2008, 4: 29-31
- [9] Sun B, Leandro C, Ricardo da Silva J, et al. Separation of grape and wine proanthocyanidins according to their degree of polymerization [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(4): 1390-1396
- [10] Sun B, de Sa M, Leandro C. Reactivity of polymeric proanthocyanidins toward salivary proteins and their contribution to young red wine astringency [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(4): 939-946
- [11] 孙翔宇,杜国荣,马婷婷,等. 陕西省售国产葡萄酒中多酚类物质的特征与抗氧化能力分析[J]. 现代食品科技, 2014, 30(8): 242-250  
SNU Xiang-yu, DU Guo-rong, MA Ting-ting, et al. Polyphenol composition and antioxidant activity of domestic wines from Shaanxi province [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(8): 242-250
- [12] 李小燕,李梅,陈其锋,等. 固相萃取-高效液相色谱检测葡萄酒中罗丹明 B[J]. 食品科学, 2011, 32(8): 238-243  
LI Xiao-yan, LI Mei, CHEN Qi-feng, et al. Determination of rhodamine B in red wine by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2011, 32(8): 238-243
- [13] 陶莎,黄英,康玉凡,等. 大孔吸附树脂分离纯化红小豆多酚工艺及效果[J]. 农业工程学报, 2013, 29(23): 276-285  
TAO Sha, HUANG Ying, KANG Yu-fan, et al. Technology of separation and purification and its efficiency of adzuki bean polyphenols with macroporous adsorption resins [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2013, 29(23): 276-285
- [14] 郭耀东. 葡萄皮花色苷提取纯化技术及稳定性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008  
GUO Yao-dong. Extraction, purification and stability of anthocyanins from grape skins [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2008
- [15] 马玉美. 刺葡萄籽中原花青素的提取、分离纯化研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007  
MA Yu-mei. Study on extraction, separation and purification of Proanthocyanidins from Grape (*Vitis davidii* Foëx) seeds [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2007
- [16] 田燕,邹波,董晓倩,等. 不同聚合度柿子单宁的体内外抗氧化作用[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 54-60  
TIAN Yan, ZOU Bo, DONG Xiao-qian, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of persimmon tannin fractions of different degrees of polymerization [J]. Food Science, 2013, 34(13): 54-60
- [17] Singleton V L, Rossi J A. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, 16(3): 144-158
- [18] 王晓宇. 葡萄酒抗氧化活性及其检测方法的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009  
WANG Xiao-yu. Oxidation activity and anti-detection methods wine [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2009
- [19] Rinaldi A, Gambuti A, Moine-Ledoux V, et al. Evaluation of the astringency of commercial tannins by means of the SDS-PAGE-based method [J]. Food Chemistry, 2010, 122(4): 951-956
- [20] Sun B S, de Sá M, Leandro C, et al. Reactivity of polymeric proanthocyanidins toward salivary proteins and their contribution to young red wine astringency [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 939-946
- [21] Zhou T, Li Q H, Zhang J, et al. Identification of four low molecular and water-soluble proteins from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45(6): 1243-1249
- [22] Tesniere C, Jean-Pierre R. Two-dimensional electrophoresis of the total polypeptides in ripe red grape berries [J]. Electrophoresis, 1992, 13: 93-96
- [23] Ferrer-Gallego R, Gonçalves R, Rivas-Gonzalo J C, et al. Interaction of phenolic compounds with bovine serum albumin (BSA) and  $\alpha$ -amylase and their relationship to astringency perception [J]. Food Chemistry, 2012, 135(2): 651-658
- [24] Le Moigne M, Dufour E, Bertrand D, et al. Front face fluorescence spectroscopy and visible spectroscopy coupled with chemometrics have the potential to characterise ripening of Cabernet Franc grapes [J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 621: 8-18
- [25] 马锦锦. 葡萄和葡萄酒中酚类物质及原花青素聚合度的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2014  
MA Jin-jin. Study on phenolic compounds and degree of polymerization of procyanidins of grapes and wines [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2014
- [26] 孙芸. 葡萄籽原花青素聚合度与功效关系的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2004  
SUN Yun. Study on the degree of polymerization and bioactivities of grape seed procyanidins [D]. Wuxi: Jiangnan

- University, 2004
- [27] 王洁.多酚-蛋白质相互作用的影响因素及其功能特性研究进展[J].河南工业大学学报,2012,33(3):91-96
- WANG Jie. Progress on factors influencing polyphenol-protein interaction and functional characteristics thereof [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2012, 33(3): 91-96
- [28] 刘夫国,马翠翠,王迪,等.蛋白质与多酚相互作用研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(2):282-288
- LIU Fu-guo, MA Cui-cui, WANG Di, et al. Recent research progress on interactions between polyphenols and proteins [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(2): 282-288

现代食品科技