

引用格式: 李宁宁, 张波, 牛见明, 等. 发酵前咖啡酸和迷迭香酸添加对干红葡萄酒颜色与香气的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 132-140. LI Ningning, ZHANG Bo, NIU Jianming, et al. The influence of pre-fermentative addition of caffeic acid and rosmarinic acid on the color and aroma compounds of dry red wines[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(10): 132-140.

发酵前咖啡酸和迷迭香酸添加对干红葡萄酒颜色与香气的影响

李宁宁^{1,2,3}, 张波^{1,2,3*}, 牛见明^{1,2,3}, 史肖^{1,2,3}, 马腾臻^{1,2,3}, 韩舜愈^{1,2,3*}

1(甘肃农业大学 食品科学与工程学院, 甘肃 兰州, 730070) 2(甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室, 甘肃 兰州, 730070)

3(甘肃省葡萄与葡萄酒产业技术研发中心, 甘肃 兰州, 730070)

摘要 该试验通过在赤霞珠干红葡萄酒发酵前分别进行 150 mg/L 咖啡酸和迷迭香酸 2 种添加处理, 并在陈酿 6 个月利用超高效液相色谱-质谱以及气相色谱-质谱联用对各样品的颜色参数和香气物质进行测定分析。结果表明, 处理可使样品的颜色参数 L^* 值降低 0.9~1.5 a. u., a^* 值升高 1.0~1.3 a. u., 且迷迭香酸处理样品效果较好。处理后的酒样其平均总花色苷和总酚质量浓度显著增加了约 70 和 580 mg/L, 而超高效液相色谱-质谱结果表明, 尽管供试样品的各类花色苷物质在种类上无差异, 但添加酚类物质可明显提高其质量浓度, 特别是迷迭香酸处理后的酰化花色苷类型。对供试样品的香气成分分析后发现, 咖啡酸处理可增加酒中酯类、酸类和萜烯类化合物含量, 而迷迭香酸处理的样品中除酯类化合物含量升高外, 其他类型的香气物质含量均有所降低。

关键词 咖啡酸; 迷迭香酸; 辅色反应; 颜色; 香气物质

The influence of pre-fermentative addition of caffeic acid and rosmarinic acid on the color and aroma compounds of dry red wines

LI Ningning^{1,2,3}, ZHANG Bo^{1,2,3*}, NIU Jianming^{1,2,3}, SHI Xiao^{1,2,3},
MA Tengzhen^{1,2,3}, HAN Shunyu^{1,2,3*}

1(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

2(Gansu Key Laboratory of Viticulture and Enology, Lanzhou 730070, China)

3(Research and Development Center of Wine Industry in Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT In this study, the pre-fermentative addition of 150 mg/L of caffeic acid and rosmarinic acid in Cabernet Sauvignon red winemaking was performed. The influence of phenolic compounds addition on wine color parameters and aroma components was monitored after 6 months of aging using UPLC-MS and GC-MS technologies. The results showed that the L^* value of the treated samples was decreased by 0.9-1.5 a. u. and the a^* value was increased by 1.0-1.3 a. u.. Among them, the rosmarinic acid treatment had a better effect. Meanwhile, the results showed that the mean total anthocyanin and total phenol concentrations of the treated samples increased significantly by about 70 and 580 mg/L, respectively. The results of UHPLC-MS showed that although there was no difference in the types of anthocyanins in the tested samples, the addition of phenolic compounds could significantly improve their content, especially the type of acylated anthocyanins after rosmarinic acid treatment. The analysis of aroma components showed that caffeic acid treatment increased the content of esters, acids and terpenes in wine, while rosmarinic acid treatment increased the content of esters and decreased the concentration of other types of aroma components.

Key words caffeic acid; rosmarinic acid; copigmentation reaction; color; aroma compound

第一作者: 硕士研究生(张波副教授和韩舜愈教授为共同通讯作者, E-mail: zhangbo@gsau.edu.cn; hanshunyu@gsau.edu.cn)

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31560451); 甘肃省商务厅葡萄酒产业发展专项资金项目(2017010); 甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室开放课题项目(GSPTJ-2017-03)

收稿日期: 2019-12-11, 改回日期: 2020-02-27

在葡萄酒的购买和消费过程中,人们常会选择色度较深、气味较浓郁的产品,所以颜色和香气成为评价红葡萄酒品质的重要指标^[1-2]。但是红葡萄酒中的色素性质不稳定,并且呈香物质易挥发,使得葡萄酒在陈酿过程中常会出现色泽质量降低和香气物质流失的现象。因此,为了提升葡萄酒的品质,通常会通过优化酿造工艺等手段对葡萄酒的颜色和香气做调整^[3]。

研究表明,辅色反应是一种天然有效提升葡萄酒色泽的方式^[4]。其中,酚类化合物作为常见的辅色素物质,借助其自身结构中所含的 π 电子系统,可与缺少电子的花色苷烊盐离子结合,形成“酚类-花色苷”复合物,从而保护花色苷结构,达到稳定和增强颜色的效果^[5]。LAMBERT等^[6]通过向模拟红葡萄酒体系中加入黄酮醇和酚酸进行处理,与不加酚类物质的对照相比,添加处理的试验组样品能够使花色苷的色泽强度提高46%,稳定性提升41%。而在酒精发酵前加入鞣花酸可使所酿造的干红葡萄酒颜色稳定性大幅提升,并且由于酚类物质的加入,使得红酒体系中花色苷等多酚浸出率也得到加强^[7]。此外,研究还发现,不同结构类型酚类物质的辅色效果亦有差异,这其中黄酮醇类在所测化合物中的辅色能力最强,酚酸次之,而黄烷醇类化合物的辅色效果相对较弱^[8]。不过,TEIXEIRA等^[9]在模拟试验中发现,尽管黄烷醇类物质的辅色能力不佳,但依然能引起处理样品在视觉上的颜色变化。

在酚类物质改善红葡萄酒色泽的同时,有研究人员观察到某些多酚类物质还可与酒中的香气化合物作用,影响后者在体系中的溶解度和挥发性,进而改变其感知程度^[10]。ARONSON等^[11]发现,柚皮苷和没食子酸2种多酚在水溶液中可抑制香气物质的扩散。而通过在体积分数10%的水-醇溶液中加入一定量的儿茶素(>2 g/L),可使己酸乙酯在体系气相中的分配系数明显降低^[12]。类似的结果在添加儿茶素等物质的饮料贮藏试验中也有报道^[13]。CHEN等^[14]还检测到,酚类物质处理能有效改善葡萄酒的香气复杂性和感官特性。同时,研究认为,酚类物质和香气化合物的作用程度可能与反应分子的化学结构和性质有关^[15]。

伴随着葡萄酒科学研究的进展,相关的检测技术和测试手段也在不断改善和发展。除利用感官评价或是较为简单的仪器对葡萄酒的品质指标进行测定和分析外,一些性能优良、灵敏度高的分析设备也逐

渐被应用,这其中以超高效液相色谱-质谱(ultra high performance liquid chromatography-mass spectrometry, UHPLC-MS),以及气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)等为代表的检测仪器是目前在葡萄酒颜色分析和香气测定过程中较为先进的技术工具^[16-17]。曹鹏等^[18]利用UHPLC-MS方法对陈酿前添加酚类辅色素的干红葡萄酒进行了测定,其数据结果除可反映葡萄酒中单体、酰化、吡喃型花色苷的种类和含量外,还能对酒中的其他酚类化合物(黄酮醇、黄烷醇和酚酸等)进行判断。而GC-MS在应用到葡萄酒香气分析以来,已有1300多种物质被明确的定性检测出^[19]。这些科研结果为揭示葡萄酒研究中的未解问题奠定了重要的物质基础。

但是,尽管有上述研究发现和技术手段的支持,到目前为止,有关酚类化合物参与的辅色化过程,以及对香气的影响机制仍有很多疑问亟待阐明,特别是大量的试验结果来自于模拟反应体系,与真实的发酵条件有较大的区别。因此,研究酚类物质在葡萄酒酿造过程中对颜色和香气品质的影响,将为相关的科研工作提供参考和帮助,对提升干红葡萄酒的品质有重要意义。咖啡酸是葡萄酒中主要的酚类化合物,迷迭香酸是咖啡酸的结构类似物(由咖啡酸和丹参素酯化形成),二者在结构上相似,并且在自然界中均属常见的多酚物质。本试验拟通过发酵前添加上述酚类化合物来研究其对干红葡萄酒呈色效果及香气物质的影响,以期为进一步开展酚类物质在葡萄酒生产中的应用提供有益参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

赤霞珠葡萄(*Vitis vinifera* L., cv. Cabernet Sauvignon),甘肃武威莫高酿酒葡萄种植基地,含糖量为23.3~24.0 °Brix。

酿酒酵母(D254)、乳酸菌(*Oenococcus oeni*),法国Laffort公司;果胶酶,法国Lallemand公司;咖啡酸、迷迭香酸(食品级),陕西润生生物科技有限公司;二甲花翠素-3-*O*-葡萄糖苷、2-辛醇、甲酸、甲醇、乙腈(色谱纯),美国Sigma公司;*L*-苹果酸、*L*-乳酸(色谱纯),上海源叶科技有限公司;乙醛、偏重亚硫酸钾、没食子酸、 Na_2CO_3 、 NaOH 、 I_2 、 KI 、淀粉(分析纯),上海源叶生物科技有限公司;KCl、HCl、乙酸钠、乙酸、NaCl(分析纯),天津市光复科技发展有限公司。费林试剂、次甲基蓝指示剂及酚酞指示剂等,均按

GB/T 603—2002 化学试剂试验方法中所用制剂及制品的制备进行配制。

1.2 仪器与设备

1290 超高效液相色谱、6460 三重四极杆串联质谱、色谱柱(Poroshell 120 EC-C₁₈, 150 mm × 2.1 mm × 2.7 μm; DB-WAX, 60 m × 2.5 mm × 0.25 μm), 美国 Agilent Technologies 公司; TRACE 1310 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Thermo Scientific 公司; 固相微萃取装置、50/30 μm 二乙基苯/碳分子筛/聚二甲基硅萃取头, 美国 Surpelco 公司; TU-1810 紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; PHS-3E pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 干红葡萄酒的酿制

赤霞珠葡萄, 经人工粒选去除霉烂及生青果实; 除梗破碎后均匀分装在 9 个 20 L 的不锈钢罐中, 添加 60 mg/L SO₂, 20 mg/kg 果胶酶, 并进行未加酚酸、添加 150 mg/L 咖啡酸、添加 150 mg/L 迷迭香酸的处理[试验前参考已有文献报道^[7]], 并通过预实验对添加的酚类物质质量浓度(100、150、200 mg/L)进行了筛选, 最终确定使用量为 150 mg/L, 每个处理 3 个平行; 发酵前样品先在 4 ℃ 条件下恒温冷浸渍 48 h, 之后解除温度控制自然回温至 17 ℃, 添加酿酒酵母启动酒精发酵; 待酒精发酵结束后, 进行皮渣分离, 添加商业乳酸菌启动苹果酸-乳酸发酵直到发酵结束; 装瓶陈酿 6 个月后取样测定。

1.3.2 干红葡萄酒理化指标测定

酒精度, 总糖, 挥发酸, 总酸, pH, 游离 SO₂ 和总 SO₂ 参照 GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法进行测定。

1.3.3 干红葡萄酒理化指标测定

1.3.3.1 CIELAB 颜色参数测定

利用紫外-可见分光光度计, 以蒸馏水为参比, 使用 2 mm 光程比色皿测定, 仪器扫描范围为 400 ~ 700 nm, 扫描间隔为 1 nm。在 D65 标准白光源和 10° 观察者视场条件下, 计算 CIELAB 颜色参数 L^* (亮度), a^* (红/绿色度), b^* (黄/蓝色度)。同时根据公式(1) ~ 公式(5)计算色差 (ΔE_{ab}^*)、亮度变化率 (ΔL)、色饱和度变化率 (ΔC) 和色调变化率 (ΔH)^[21]:

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

$$\Delta H_{ab} = \sqrt{(\Delta E_{ab}^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C_{ab}^*)^2} \quad (2)$$

$$\Delta L/\% = \frac{(\Delta L^*)^2}{(\Delta E_{ab}^*)^2} \times 100 \quad (3)$$

$$\Delta C/\% = \frac{(\Delta C_{ab}^*)^2}{(\Delta E_{ab}^*)^2} \times 100 \quad (4)$$

$$\Delta H/\% = \frac{(\Delta H_{ab})^2}{(\Delta E_{ab}^*)^2} \times 100 \quad (5)$$

1.3.3.2 各类型花色苷比率测定

参照 BOULTON^[20] 的方法测定辅色花色苷比率 (CA)、游离花色苷比率 (FA) 和聚合花色苷比率 (PA)。葡萄酒样品先调节 pH 值为 3.60, 使用 2 mm 光程比色皿, 采用分光光度计在 520 nm 下测定, 并利用公式(6) ~ 公式(8)计算各类型花色苷比率:

$$CA/\% = \left(\frac{A_{\text{acet}} - A_{\text{wine}}}{A_{\text{acet}}} \right) \times 100 \quad (6)$$

$$FA/\% = \left(\frac{A_{\text{wine}} - A_{\text{SO}_2}}{A_{\text{acet}}} \right) \times 100 \quad (7)$$

$$PA/\% = \left(\frac{A_{\text{SO}_2}}{A_{\text{acet}}} \right) \times 100 \quad (8)$$

式中: A_{acet} 为 2 mL 葡萄酒中加入 20 μL 200 g/L 乙醛, 并避光静置约 45 min 后的吸光值; A_{SO_2} 为 2 mL 葡萄酒样品中加入 160 μL 50 g/L SO₂ 后的吸光值; A_{wine} 为 100 μL 葡萄酒样品中加入 1 900 μL 模拟酒溶液后的吸光值(测量值乘以 20, 进行稀释校正); 各吸光值测定前通过配有滤膜(0.45 μm 孔径)的微型注射器进行膜过滤。

1.3.3.3 总酚含量的测定

取 1 mL 样品稀释至 10 mL, 再取 0.1 mL 稀释的样品于 10 mL 的容量瓶中, 加入 6 mL 纯净水, 0.5 mL 的福林-肖卡试剂, 1.5 mL 200 g/L 的 Na₂CO₃ 定容到 10 mL。将配好的溶液在 20 ℃ 下放置 2 h, 测定其在 765 nm 处的吸光度, 利用标准曲线 ($Y = 0.0012X + 0.0424$, $R^2 = 0.9975$) 计算总酚含量, 结果以没食子酸计 (mg/L)。

1.3.3.4 总花色苷含量的测定

吸取 0.5 mL 的葡萄酒, 用 pH = 1.0 的缓冲液 [V (0.2 mol/L KCl) : V (0.2 mol/L HCl) = 25 : 67] 定容至 10 mL, 在室温下平衡 10 min 后, 测定其在 521、700 nm 处的吸光值, 分别表示为 A_{521} 、 A_{700} 。用同样的方法测定样品在 pH = 4.5 缓冲液 [V (0.2 mol/L 乙酸钠) : V (0.02 mol/L 乙酸) = 1 : 1] 下的吸光值, 利用公式(9)、公式(10)计算总花色苷含量:

$$\text{总花色苷含量 (mg/L)} = \frac{A \times M \times DF \times 10^3}{\varepsilon \times l} \quad (9)$$

$$A = (A_{521} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{521} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \quad (10)$$

式中: M 为二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷的分子量, 493.2 g/mol; DF 为稀释倍数; 比色皿光程为 1 cm; ε

为摩尔消光系数,28 000 L/(mol · cm)。

1.3.3.5 花色苷的 UHPLC-MS 测定

参照陈欣然等^[21]的方法,采用 UHPLC-MS 联用技术,样品经 0.45 μm 滤膜的注射器过滤后直接进样。使用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱,以 V(甲酸):V(水)=0.2:100 作为流动相 A,V(甲酸):V(甲醇):V(乙腈)=0.2:50:50 作为流动相 B。洗脱程序为 0~27 min,90% A~10% B;27~28 min,44% A~56% B;28~33 min,90% A~10% B;洗脱时间均为 3 min。ESI 正离子模式下,离子源温度 350 ℃,雾化器压力 35 psi,干燥气流速 12 L/min,干燥气温度 350 ℃,扫描范围 m/z 100~1 000。

花色苷的定性通过样品图谱信息与保留时间信息对比进行判定。花色苷的定量以二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷作为标准物,采用外标法定量计算其他花色苷含量(mg/L)。

1.3.4 干红葡萄酒香气指标测定

香气物质的检测参照鲁榕榕等^[22]的方法,采用 GC-MS 联用技术。

香气化合物的萃取:取 8 mL 酒样于 15 mL 顶空瓶中,加入 2.5 g NaCl 和 20 μL 内标物(2-辛醇,88.2 mg/L),加磁力搅拌转子后迅速密封,然后将样品置于恒温磁力搅拌器中,在 40 ℃ 水浴中平衡 30 min 后继续进行 30 min 顶空萃取。

GC-MS 条件:使用 DB-WAX 色谱柱,升温程序为初温 40 ℃ 保持 5 min,之后以 4 ℃/min 升至 180 ℃ 保持 15 min,载气流速 1 mL/min,进样口温度 240 ℃,采用不分流进样;电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV,传输杆温度 180 ℃,离子源温度 200 ℃,质谱扫描范围 m/z 35~350。

香气成分分析:香气成分的定性采用质谱信息、NIST08 标准谱库对比,以及参考相关文献相结合的方法进行定性分析;香气成分的定量采用内标法进行半定量分析,各香气成分含量(μg/L)=(各组分的峰面积×内标物质量)/(内标物峰面积×进样量)。

1.3.5 干红葡萄酒感官评价

选择 10 名具有一定酿酒经验和经专业培训的人员(6 名女性和 4 名男性)对 3 款所酿葡萄酒进行感官评定。供试酒样以随机顺序提供给品尝者。品鉴从视觉(颜色)、香气(香气强度、花香、果香)和风味(甜味、酸味、酒体、余味长短、异味)共 9 个属性方面进行,用 8 分结构化数值进行量化,0 代表没有感觉,8 表示感觉最为强烈。

1.3.6 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 2013 对试验所得数据进行处理,SPSS 19.0 对数据进行多因素方差分析(Duncan 法, $P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 赤霞珠干红葡萄酒的理化指标

由表 1 可知,3 种供试样品的总糖含量均 < 4 g/L,酒精度在 14.17% vol~14.42% vol,表明试验所酿制的红葡萄酒符合国标中干型葡萄酒的基本要求。同时,各样品的挥发酸质量浓度在 0.43~0.47 g/L,总酸质量浓度为 3.73~5.52 g/L,pH 在 3.84~4.01 水平,游离 SO₂ 和总 SO₂ 质量浓度分别在 17.10~19.90 mg/L 和 93.90~102.40 mg/L,以上指标均符合国家 GB/T 15037—2006 的质量规定。

表 1 供试样品的基本理化指标

Table 1 The basic physicochemical indexes of samples

指标	对照	咖啡酸处理	迷迭香酸处理
总糖/(g · L ⁻¹)	2.47 ± 0.12 ^b	2.57 ± 0.15 ^b	2.17 ± 0.06 ^a
酒精度/%vol	14.27 ± 0.04 ^a	14.17 ± 0.69 ^a	14.42 ± 0.53 ^a
挥发酸/(g · L ⁻¹)	0.47 ± 0.03 ^a	0.44 ± 0.01 ^a	0.43 ± 0.02 ^a
总酸/(g · L ⁻¹)	5.25 ± 0.12 ^b	5.52 ± 0.17 ^b	4.73 ± 0.12 ^a
pH	3.86 ± 0.01 ^a	3.84 ± 0.02 ^a	4.01 ± 0.04 ^b
游离 SO ₂ /(mg · L ⁻¹)	19.90 ± 0.05 ^b	19.20 ± 0.11 ^b	17.10 ± 0.03 ^a
总 SO ₂ /(mg · L ⁻¹)	102.40 ± 1.60 ^b	93.90 ± 1.00 ^a	93.90 ± 0.88 ^a

注:表中同行不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)(下同)

2.2 咖啡酸和迷迭香酸对赤霞珠干红葡萄酒颜色的影响

2.2.1 CIELAB 参数

试验采用 CIELAB 系统对供试干红葡萄酒的颜色情况进行了研究。由表 2 可知,发酵前添加酚类物质处理的样品其 L^* 值降低了 0.9~1.5 a. u.,使得处理酒样具有较深的颜色状态($P<0.05$)。同时,样品的 a^* 值也反映出添加酚类物质对酒体红色色度的加强。与对照相比,咖啡酸和迷迭香酸处理样品的 a^* 值分别提高了 1.0 和 1.3 a. u.,这一现象与先前的研究结论相似^[7]。与 a^* 值变化相反,各处理葡萄酒的 b^* 值总体呈现下降的变化(2.3~4.2 a. u.),表现出添加酚酸可有效减弱酒体黄化的效果($P<0.05$)。一般认为,色素溶液中 a^* 值的升高,以及 L^* 和 b^* 值的下降可能是辅色化过程中增色效应和红移变化的结果^[23]。因此,这可能是导致处理样品颜色提升的一种原因。另外,对比 2 个处理样品发现,添加迷迭香酸样品的 b^* 值要远低于咖啡酸样品 11.5% ($P<0.05$),表现为更

加有效减缓酒体黄化速度的效果。

表2 供试样品颜色参数、不同类型花色苷比率以及总酚和总花色苷含量

Table 2 The color parameters, ratio of different types of anthocyanins, and the content of total phenols and anthocyanins

指标	对照	咖啡酸处理	迷迭香酸处理
L^*	47.44 ± 1.19 ^c	46.52 ± 0.20 ^b	45.95 ± 0.14 ^a
a^*	46.70 ± 0.68 ^a	47.68 ± 0.53 ^a	47.98 ± 0.39 ^a
b^*	18.81 ± 0.76 ^c	16.54 ± 0.12 ^b	14.64 ± 0.63 ^a
ΔE_{ab}^*	-	2.45 ± 1.13	2.73 ± 0.78
$\Delta L/\%$	-	28.49 ± 1.42	29.58 ± 1.76
$\Delta C/\%$	-	57.54 ± 1.56	56.00 ± 1.43
$\Delta H/\%$	-	13.97 ± 1.42	14.42 ± 0.90
CA/%	11.52 ± 1.81 ^a	13.40 ± 1.02 ^b	21.62 ± 1.33 ^c
FA/%	23.94 ± 3.05 ^c	17.42 ± 1.63 ^a	21.46 ± 1.52 ^b
PA/%	64.56 ± 2.71 ^b	69.19 ± 1.42 ^c	56.91 ± 1.84 ^a
总酚/(mg · L ⁻¹)	1 684.11 ± 19.62 ^a	2 167.44 ± 39.62 ^b	2 370.22 ± 10.62 ^c
总花色苷/(mg · L ⁻¹)	146.96 ± 8.75 ^a	193.40 ± 0.94 ^b	239.67 ± 5.05 ^c

注: - 表示无

由表2可知,2个处理样品的 ΔE_{ab}^* 为 2.5 ~ 2.7 a. u.。尽管 ΔE_{ab}^* 在数值上 < 3.0,表明添加处理在此时还未能造成视觉上可辨别的颜色差异,但是结合上文中的其他颜色指标,咖啡酸和迷迭香酸的处理仍对干红葡萄酒的亮度和色调的改善产生影响。同时,比较添加两酚类物质的样品,我们还发现迷迭香酸的作用效果要优于咖啡酸处理,例如其 L^* 值比后者低 0.6 a. u., a^* 和 ΔE_{ab}^* 比后者高 0.3 和 0.3 a. u.,呈现出较深的红色状态。而通过计算样品的辅色花色苷比率可以看到,迷迭香酸样品的 CA% 要显著高于对照和咖啡酸样品(87.7% 和 61.3%, $P < 0.05$),从而证实颜色差异上的判断。分析造成 ΔE_{ab}^* 的原因可以看出,由色饱和度变化率(ΔC)和亮度变化率(ΔL)引起的颜色差异较为重要($\Delta C + \Delta L = 85.6\% \sim 86.0\%$)(表2)。相比之下,由色调变化率(ΔH)引起的颜色差异表现出较弱的影响效果(< 14.4%)。研究认为, ΔC 和 ΔL 反映了 ΔE_{ab}^* 的量变因素,而 ΔH 则主要与 ΔE_{ab}^* 的质变相关^[24]。因此,添加酚类处理造成的溶液 ΔE_{ab}^* 改变,可能与其量变因素有关。

2.2.2 总酚和总花色苷含量

酚类物质的添加对样品的总酚含量,特别是总花色苷含量有明显的提升和稳定作用^[7]。陈酿起始时,各样品总酚的平均含量为 2 397 mg/L,经过 6 个月的陈酿贮存后,虽然含量较试验之初有所降低,但处理样品其含量仍显著高于对照(平均高出约 580 mg/L),与所加入的 150 mg/L 添加量比较,我们可以看到处理在发酵过程中加强多酚物质浸出的效果;同时,咖啡酸和迷迭香酸的添加将促进辅色复合体的形

成,并且上述物质还可作为抗氧化剂进一步减少花色苷的氧化降解,降低陈酿期间花色苷的损失(处理较对照高出 46.4 ~ 92.7 mg/L),这可能是处理样品颜色效果提升的原因之一。不过具体的花色苷变化情况还需要我们做进一步的分析。

2.2.3 花色苷的 UHPLC-MS 测定

利用 UHPLC-MS 方法在酒样中可初步测定出 5 种单糖花色苷,10 种酰化型花色苷和 15 种吡喃型花色苷(表3)。其中二甲花翠素-3-*O*-葡萄糖苷及其衍生物在所检测出的花色苷中含量最高,这与一些学者报道的有关欧亚种葡萄的色素含量特征相似^[25]。比较样品各花色苷类型含量可知,单糖苷及酰化型花色苷占比较高,分别是 50.9% ~ 51.0% 和 34.1% ~ 44.1%(图1),而吡喃型花色苷尽管在种类数量上较优(占总检出数的 50%,表3),但是其含量却相对有限(4.9% ~ 14.0%),考虑可能与较短的陈酿时间有关^[22]。

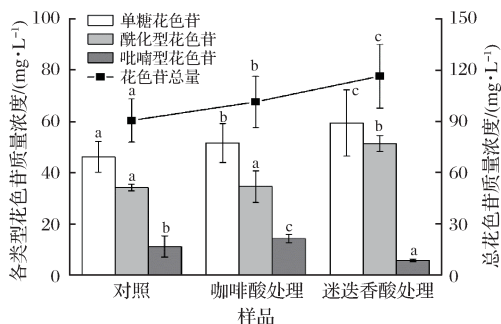


图1 供试样品各类型花色苷含量

Fig. 1 The concentration of different types of anthocyanins

注:同类型的不同小写字母代表差异显著($P < 0.05$)

在 5 种单糖花色苷中,各样品的二甲花翠素-3-*O*-葡萄糖苷分别为 25.1 mg/L(对照组)、29.6 mg/L(咖啡酸)和 32.9 mg/L(迷迭香酸)。可以看出,添加处理可有效稳定二甲花翠素-3-*O*-葡萄糖苷的含量(处理较对照高出 18.2% ~ 31.4%)。同样,其他 4 种单糖花色苷也不同程度地表现出处理对减少其含量降低的效果(5.9% ~ 100.5%,除花青素和甲基花青素-3-*O*-葡萄糖苷的咖啡酸处理)。研究发现,在红葡萄酒陈酿过程中,单糖花色苷等游离态色素会发生降解、聚合、沉淀或与其他物质反应导致其含量的下降^[18]。而本试验中单糖花色苷较高的保留量说明添加酚类处理对陈酿过程中花色苷有保护和稳定作用,这与 ALCALDE-EON 等^[26]的研究结果类似。

花色苷的糖分子上可酰化有机酸基团,形成较为稳定的酰化型花色苷。常见的酰化基团主要为羧基肉桂酸类化合物。另外,乙酸、草酸、丙二酸、苹果酸、

琥珀酸也是较为常见的酰化分子^[25]。供试样品中共检测到 10 种酰化型花色苷,分别是乙酰和香豆酰化合物。与单糖苷类花色苷呈现的趋势相似,添加酚类物质的样品也在一定程度上出现了酰化型花色苷含量维持在较高水平的特点(咖啡酸和迷迭香酸处理较对照高出 0.6% ~ 81.0%)。特别是迷迭香酸处理,其二甲花翠素乙酰化-3-*O*-葡萄糖苷含量是对照的 1.5 倍,表现出明显的差异($P < 0.05$)。

表 3 供试样品中花色苷质量浓度 单位:mg/L
Table 3 The concentration of anthocyanins of samples

化合物	对照	咖啡酸处理	迷迭香酸处理
单糖花色苷			
花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	1.96 ± 0.21 ^a	2.26 ± 0.65 ^a	3.93 ± 0.85 ^b
花青素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.46 ± 0.03 ^a	0.36 ± 0.09 ^a	0.60 ± 0.09 ^b
甲基花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	13.88 ± 1.45 ^a	14.70 ± 3.21 ^{ab}	15.20 ± 6.82 ^b
甲基花青素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	4.73 ± 0.41 ^a	4.57 ± 0.92 ^a	6.63 ± 0.78 ^b
二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	25.06 ± 3.88 ^a	29.62 ± 2.71 ^a	32.92 ± 4.35 ^a
酰化型花色苷			
花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	2.16 ± 0.17 ^a	2.89 ± 0.61 ^b	3.91 ± 0.05 ^c
花青素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.37 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.04 ^a	0.53 ± 0.03 ^b
甲基花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	3.43 ± 0.21 ^a	2.40 ± 0.91 ^a	4.58 ± 1.08 ^b
甲基花青素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	3.09 ± 0.17 ^a	3.15 ± 0.32 ^a	4.37 ± 0.16 ^b
二甲花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	22.99 ± 0.35 ^a	23.50 ± 3.93 ^a	35.38 ± 1.31 ^b
花翠素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.12 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.03 ^a	0.13 ± 0.02 ^b
花青素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.04 ± 0.03 ^a	0.05 ± 0.02 ^{ab}	0.06 ± 0.01 ^b
甲基花翠素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.17 ± 0.02 ^{ab}	0.16 ± 0.03 ^a	0.18 ± 0.02 ^b
甲基花青素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.29 ± 0.21 ^a	0.38 ± 0.04 ^{ab}	0.42 ± 0.05 ^b
二甲花翠素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	1.54 ± 0.14 ^a	1.55 ± 0.26 ^a	1.71 ± 0.38 ^a
吡喃型花色苷			
乙烯甲酸二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	1.27 ± 0.05 ^a	1.50 ± 0.19 ^b	2.21 ± 0.07 ^c
乙烯甲酸二甲花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.66 ± 0.06 ^a	0.86 ± 0.10 ^b	1.18 ± 0.16 ^c
乙醛二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	5.31 ± 2.63 ^b	6.98 ± 1.00 ^b	1.21 ± 0.13 ^a
乙醛二甲花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	2.46 ± 1.27 ^b	3.12 ± 0.18 ^b	0.53 ± 0.03 ^a
乙醛二甲花翠素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.54 ± 0.05 ^b	0.70 ± 0.06 ^c	0.07 ± 0.01 ^a
乙烯儿茶酚花青素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.03 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^a
乙烯儿茶酚甲基花青素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.06 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.01 ^a
乙烯儿茶酚二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.03 ± 0.00 ^a	0.27 ± 0.04 ^b	0.03 ± 0.00 ^a
乙烯儿茶酚花青素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.00 ^a
乙烯苯酚二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.48 ± 0.05 ^b	0.44 ± 0.04 ^b	0.31 ± 0.06 ^a
乙烯苯酚甲基花青素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.02 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^a
乙烯苯酚二甲花翠素乙酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.14 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^a
乙烯苯酚二甲花翠素香豆酰化-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.04 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^a
乙烯愈创木酚花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.02 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^b	0.01 ± 0.00 ^a
乙烯愈创木酚二甲花翠素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	0.03 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.00 ^a

试验还检测到乙烯类、乙醛类、乙烯基苯酚类、乙烯基儿茶酚类、乙烯基愈创木酚类 5 种吡喃型花色苷。尽管其含量相对较低,但有研究显示,游离态的花色苷在经过吡喃化后可具有更强的颜色稳定性^[21]。例如,当 pH 在 1.0 ~ 5.0 变化时,非吡喃化的游离态色苷色度会降低 80% 左右,而吡喃花色苷的色度却没有太大波动^[25]。对比表 3 可知,处理样品

的吡喃型花色苷在质量浓度方面没有类似于前述花色苷的变化,其总质量浓度分别是 11.1 mg/L(对照组)、14.2 mg/L(咖啡酸)和 5.7 mg/L(迷迭香酸),考虑这可能与处理样品较高的辅色化程度(13.4% ~ 21.6%),以及较短的贮藏时间有关。

2.3 咖啡酸和迷迭香酸对赤霞珠干红葡萄酒香气的影响

试验采用顶空萃取和 GC-MS 技术对各酒样香气物质进行了分析。由表 4 可知,共检出 74 种香气物质,涉及酯类(31 种),醇类(20 种),酸类(11 种),萜烯类(8 种)和醛类(4 种)5 种类型。

表 4 供试样品中香气物质含量 单位:μg/L
Table 4 The concentration of aroma compounds of samples

化合物	阈值	对照	咖啡酸处理	迷迭香酸处理	香气描述
酯类					
乙酸乙酯	7 500	180.7 ± 11.7 ^b	199.9 ± 13.9 ^c	122.0 ± 6.8 ^a	菠萝、清漆、香脂
丁酸乙酯	35	20.7 ± 3.9 ^b	21.9 ± 5.0 ^b	13.9 ± 3.2 ^a	香蕉、草莓味
异戊酸乙酯	15	10.1 ± 1.7 ^a	33.7 ± 7.9 ^c	14.2 ± 5.5 ^b	香蕉、甜果
乙酸异戊酯	30	144.2 ± 15.1 ^b	175.2 ± 16.1 ^c	72.3 ± 7.4 ^a	果香、香蕉味
己酸乙酯	14	964.2 ± 16.5 ^b	1 058.6 ± 39.8 ^c	368.6 ± 13.7 ^a	
庚酸乙酯	300	20.6 ± 2.6 ^b	23.8 ± 3.7 ^b	16.2 ± 2.5 ^a	水果香、白兰地
反式-2-己烯酸乙酯		24.3 ± 1.8 ^a	21.3 ± 1.4 ^a	51.6 ± 3.9 ^b	
辛酸乙酯	600	7 272.6 ± 191.2 ^b	8 447.9 ± 143.4 ^c	2 425.0 ± 132.7 ^a	菠萝、梨、花香
己酸异戊酯		60.0 ± 5.0 ^b	74.6 ± 7.6 ^c	18.2 ± 1.7 ^a	
山梨酸乙酯		170.3 ± 7.8 ^a	323.3 ± 65.4 ^b	8 892.3 ± 45.5 ^c	
壬酸乙酯	1 300	68.6 ± 1.2 ^a	92.1 ± 11.8 ^b	71.2 ± 8.2 ^a	哈密瓜味、草莓味
癸酸乙酯	200	6 783.3 ± 135.3 ^b	7 773.4 ± 174.4 ^c	3 020.4 ± 119.5 ^a	果香、脂肪味
棕榈酸乙酯	1 500	265.0 ± 21.0 ^b	788.8 ± 78.0 ^c	249.5 ± 33.0 ^a	苹果、菠萝味
琥珀酸二乙酯	1 200	2 704.9 ± 102.2 ^b	3 366.3 ± 127.6 ^c	527.6 ± 31.8 ^a	水果清香、花香
反式-4-癸烯酸乙酯		1 030.1 ± 25.2 ^c	905.8 ± 13.0 ^b	526.3 ± 54.3 ^a	
9-十六碳烯酸乙酯		308.1 ± 17.4 ^c	135.7 ± 18.8 ^b	110.6 ± 10.3 ^a	
月桂酸乙酯	83	2 799.7 ± 49.1 ^b	2 785.3 ± 34.2 ^c	1 109.7 ± 156.0 ^a	甜香、蜂蜡香
癸酸 3-甲基丁酯		234.3 ± 15.8 ^b	203.7 ± 23.7 ^b	62.4 ± 0.0 ^a	
肉豆蔻酸乙酯	2 000	605.8 ± 14.1	-	-	椰子味、蜂蜡香
癸酸甲酯		23.8 ± 0.8 ^b	28.8 ± 1.4 ^c	8.2 ± 1.4 ^a	酒香、果香、花香
甲酸甲酯		98.9 ± 3.8 ^b	77.4 ± 0.0 ^a	187.7 ± 30.1 ^c	
辛酸异丁酯		10.8 ± 1.5 ^a	12.1 ± 2.5 ^a	-	
十四酸乙酯		365.0 ± 10.6 ^a	612.7 ± 72.9 ^c	449.2 ± 8.0 ^b	
苯乙酸乙酯		94.6 ± 6.2 ^b	57.9 ± 4.6 ^a	-	
乳酸异戊酯	23	-	23.34 ± 4.6 ^b	17.94 ± 2.5 ^a	
3-己烯酸乙酯		-	81.2 ± 4.8 ^a	7 578.0 ± 70.4 ^b	
辛酸甲酯	200	-	21.8 ± 2.5	-	柑橘香
甲酸庚酯		-	25.0 ± 0.3	-	
3-羟基己酸乙酯		-	15.3 ± 0.6	-	
3-己烯酸甲酯		-	-	15.1 ± 3.2	
小计		24 260.2 ± 666.7 ^a	27 386.8 ± 916.3 ^c	25 957.7 ± 778.7 ^b	
醇类					
异丁醇	40 000	47.5 ± 3.9 ^b	64.1 ± 11.7 ^c	32.5 ± 1.6 ^a	溶剂味、生青味
正戊醇	1 000	6 071.4 ± 65.9 ^b	8 444.7 ± 77.4 ^c	3 877.5 ± 105.5 ^a	
3-甲基-1-戊醇		19.7 ± 1.6 ^a	25.1 ± 2.9 ^b	-	辛辣味、生青味
正己醇	8 000	427.1 ± 20.9 ^c	361.5 ± 34.5 ^a	382.1 ± 18.2 ^b	草本植物、青草味

续表 4

化合物	阈值	对照	咖啡酸处理	迷迭香酸处理	香气描述
叶醇		17.3±2.5 ^b	18.9±0.3 ^b	9.8±0.5 ^a	
2,3-丁二醇	12 000	22.2±3.5 ^a	34.6±6.3 ^b	44.4±1.8 ^c	黄油、乳酪
正辛醇	800	32.8±1.2 ^a	72.9±1.8 ^c	38.6±2.7 ^b	茉莉香、柠檬味
壬醇	600	126.6±4.7 ^b	88.8±0.0 ^a	126.9±1.6 ^b	水果、蔷薇香
癸醇	500	55.6±6.1 ^b	65.1±0.0 ^c	47.3±0.0 ^a	
癸醇	41	301.9±3.9 ^c	127.9±9.5 ^a	218.2±6.1 ^b	
苯乙醇	1 100	15 356.5±130.4 ^b	19 677.0±1.9 ^c	3 482.9±71.2 ^a	玫瑰、花粉香
异戊醇	30 000	9 997.7±211.1 ^b	-	3 057.9±59.5 ^a	
3-己烯-1-醇	0.4	21.3±5.5 ^a	25.8±4.0 ^b	18.2±5.2 ^a	
庚醇	2 500	30.9±3.7 ^a	27.9±4.8 ^a	-	油腻味
正丙醇	50 000	-	16.8±3.7 ^b	11.7±0.7 ^a	酒精味、成熟果香
正丁醇		-	-	9.4±1.6	
小计		32 528.7±474.2 ^c	29 051.1±162.6 ^b	11 357.4±278.2 ^a	
酸类					
乙酸	20 000	61.3±13.2 ^a	159.3±78.5 ^c	105.7±25.2 ^b	醋酸味
辛酸	1 000	929.5±47.9 ^b	1 318.9±167.7 ^c	369.6±185.1 ^a	奶油味
丁酸	2 500	9.8±4.6 ^a	11.5±0.5 ^a	-	
癸酸	30 000	126.5±4.8 ^b	453.3±57.7 ^c	54.9±8.5 ^a	酸腐味、脂肪味
异丁酸	420	12.7±1.7 ^b	-	7.3±1.8 ^a	黄油、乳酪、馥味
2-甲基己酸	50	149.2±8.8	-	-	
3-羟基月桂酸		-	27.8±5.0 ^b	6.3±1.9 ^a	
庚酸		-	15.2±0.0	-	
2-羟基内豆蔻酸		-	3.4±0.6	-	
反式-3-己烯酸		-	-	470.4±0.0	
异辛酸		-	-	13.2±4.5	
小计		1 289.0±80.9 ^b	1 989.4±310.0 ^c	1 027.4±226.9 ^a	
萜烯类					
薄荷醇		45.5±9.7	-	-	
香茅醇	40	140.5±12.1 ^c	123.7±13.9 ^b	52.0±9.0 ^a	柠檬、柑橘香
芳樟醇	15	30.7±2.4 ^b	26.9±3.2 ^b	18.0±2.7 ^a	玫瑰香、柑橘味
γ-萜品醇		16.5±1.3 ^b	33.7±3.7 ^c	9.4±3.4 ^a	
反式-橙花叔醇	700	53.2±13.2 ^b	38.5±7.2 ^a	63.0±7.1 ^c	玫瑰、苹果、青草味
L-薄荷醇		-	27.7±1.1 ^a	37.1±3.7 ^b	
β-大马士酮		203.9±11.4 ^a	365.9±5.9 ^c	215.7±19.7 ^b	花香、果香、紫丁香
香叶基丙酮	60	-	57.1±7.1 ^b	29.9±1.9 ^a	青草味、果香味
小计		490.2±50.1 ^b	673.3±42.0 ^c	425.0±47.6 ^a	
醛类					
苯甲醛	2 100	98.5±3.6 ^b	43.4±0.0 ^a	129.1±12.1 ^c	烘烤味、杏仁味
壬醛	-	15.2±0.7 ^b	10.3±0.0 ^a	8.0±2.0 ^a	
糠醛	-	35.4±2.0 ^b	37.4±0.0 ^b	17.6±8.0 ^a	
癸醛	10	17.0±1.6 ^a	15.7±0.0 ^a	-	香皂、橙皮味
小计		166.0±7.9 ^b	106.8±0.0 ^a	154.7±22.0 ^b	
总计		58 734.1±525.6 ^b	59 207.4±615.3 ^b	38 922.2±458.9 ^a	

注：- 表示样品中未检出该物质；表中阈值来源于相关文献[27-28]

酯类物质是葡萄酒中最主要的一类挥发性物质，其赋予葡萄酒浓郁的花香、果香。通常认为酯类物质主要是由脂肪酸氧化、氨基酸代谢以及醇醛酯化等反应途径生成^[27]。由表 4 可知，本试验所测酒样共检出酯类物质 31 种（对照 25 种、咖啡酸 29 种、迷迭香酸 25 种）。结合酯类物质的香气描述可知，乙酸异

戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、琥珀酸二乙酯和月桂酸乙酯等表现果香、花香气味的酯类物质在各样品中均具有较高含量水平（都高于各自对应的阈值），对葡萄酒的香气有较大贡献。但与对照相比，咖啡酸处理酒样中的这些酯类物质含量有所增加（14.2%），表现出更加明显的气味特征，这与本实验中的感官评价结果相一致（图 2）。而迷迭香酸处理酒样却与前者效果相异，尽管其全部酯类化合物总含量较对照样品高出 7.0%，但上述的酯类物质却呈现含量减少的现象（63.6%），这一差异直接导致迷迭香酸处理样品在感官评价中与咖啡酸的不同（图 2）。

葡萄酒中的醇类化合物主要由酵母细胞酒精发酵过程中的糖代谢以及由氨基酸脱羧、脱氢产生，也是葡萄酒香气物质的重要组成^[28]。尽管处理样品中正丙醇、正辛醇等具有花香、果香气味的醇类含量有较大幅度的增加（ $P<0.05$ ），但是处理酒样的醇类物质总量却明显降低（咖啡酸和迷迭香酸处理分别较对照降低了 10.7% 和 65.1%）。从检测到的 16 种醇类物质含量来看，正戊醇、异戊醇、正己醇和苯乙醇等香气化合物的含量相对较高（占醇类物质总量的 95.1%~98.0%）。其中具有草本植物和青草味的正己醇在处理样品中的含量明显降低（较对照降低了 11.8%~18.1%），考虑这有助于弱化酒样的生青感。同时，具有玫瑰样气味的苯乙醇在咖啡酸处理样品中维持较高水平（是对照样品含量的 1.3 倍），这有可能在一定程度上提升其香气的整体品质。

葡萄酒中的脂肪酸类化合物来源于酵母菌和乳酸菌代谢的副产物。少量的酸类有助于改善葡萄酒的风味，但其含量过高时则一般具有油脂、酸腐以及奶酪的气息，会产生令人不愉快的感觉^[28]。各试验酒样酸类化合物的种类数目无明显差异，但经咖啡酸和迷迭香酸处理酒样其酸类物质总含量相较对照有显著差别（ $P<0.05$ ）。其中咖啡酸处理样品中的酸类物质含量增加了 54.3%，而迷迭香酸处理却降低了 20.3%。例如，咖啡酸处理中辛酸（有奶油气味）含量分别高于对照和迷迭香酸处理 41.9% 和 256.8%，且超过阈值水平，考虑这将会对咖啡酸处理样品带来一定的负面影响。

萜烯类化合物作为葡萄酒的品种香气，主要以键合态的形式存在，酿造过程可在糖苷酶的作用下将其转变为游离态的香气物质，从而赋予葡萄酒浓郁的花香和果香^[28]。试验共定性出 8 种萜烯类化合物，其中咖啡酸处理可明显提高酒中萜烯类化合物含量

(较对照高出 37.3%),推测可赋予该处理葡萄酒样品强烈的花香、果香,从而增强其酒体香气的复杂性。此外,试验还初步定性出 4 种醛类物质,其中苯甲醛在迷迭香酸处理中含量相对较高(分别是对照和咖啡酸处理的 1.3 和 2.9 倍),结合香气描述,推测可赋予产品一定的烘烤和杏仁风味。

2.4 感官品质分析

对所有酒样进行感官分析,各处理酒样在余味长短和酒体方面得分无显著性差异(图 2)。从颜色方面来看,咖啡酸和迷迭香酸处理的酒样拥有较好的色度、色调特点。在香气方面,咖啡酸处理的酒样花香、果香较为突出,而迷迭香酸处理的样品却在酸度、甜度、花香、果香得分较低。

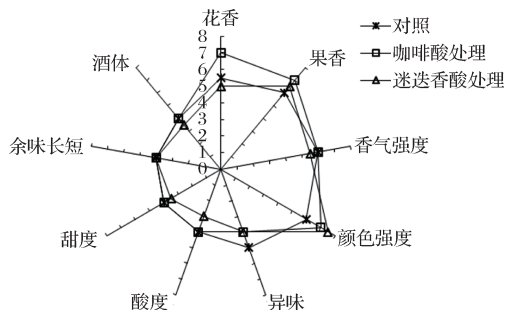


图 2 感官分析雷达图

Fig. 2 Radar chart of sensory analysis

3 讨论

本试验中咖啡酸和迷迭香酸的添加提升了葡萄酒的整体颜色质量以及总酚、总花色苷的含量。这主要是与咖啡酸和迷迭香酸作为辅色素同酒中花色苷发生辅色作用,促进酚类物质浸提,保护花色苷的降解有关。酚类辅色素苯环中的共轭 $C=C$ 双键结构,可以增强其与花色苷之间的 π -电子离域,使得花色苷的吸收光谱发生变化,产生增色和红移效应^[29],考虑这可能是造成咖啡酸和迷迭香酸处理酒样具有较好颜色状态的主要原因之一。另外,反应体系中不同化学结构的辅色素将对花色苷的有色质子化程度产生影响,抑制因水化和去质子化反应产生的无色化合物生成,形成不同的颜色效果^[20]。观察迷迭香酸的结构发现,相比于咖啡酸,其结构中含有 2 个多酚平面,且 2 个酚环之间有较长碳链,使其在与花色苷发生辅色作用时能够更灵活的调整其空间构象,这可能是造成迷迭香酸辅色能力较强的原因之一^[23]。

试验检测出的各类花色苷中,咖啡酸和迷迭香酸处理酒样的单糖花色苷比对照酒样分别高出了 11.8%

和 28.6%,酰化花色苷分别高出 0.9% 和 49.9%。单糖花色苷是赋予新鲜葡萄酒色泽的主要成分,酚类物质添加可促进发酵阶段单糖花色苷的提取并降低其在陈酿期间的降解,这一结果与张波等^[4]的研究结论一致。此外,酒样中较高含量的酰化型花色苷可进一步提高花色苷的稳定性,影响葡萄酒的陈酿潜能,改善葡萄酒的感官特性,使得样品具有更好的颜色状态^[30]。因此,在陈酿过程中红葡萄酒颜色的变化除可部分归因于辅色作用对花色苷类物质的稳定效果外,酰化型花色苷较高的含量水平以及自身的稳定特性也是导致其颜色增强的原因。

目前为止,酚类物质是如何影响挥发性化合物的研究还鲜有报道。本研究中添加咖啡酸和迷迭香酸处理对赤霞珠葡萄酒中香气物质的含量具有不同效果。其中,经咖啡酸处理的酒样香气物质种类和含量均有所增加,赋予样品复杂的香气特点,这与 CHEN 等^[14]的研究结果相似,其认为酚类物质可改变葡萄酒的香气复杂性,防止颜色损失并增强葡萄酒的圆润度。同时,试验发现,迷迭香酸处理酒样的香气化合物与对照相比减少了 33.7%,造成这种差异的原因可能与咖啡酸和迷迭香酸分子本身的化学属性有关,但这 2 种物质与挥发性化合物之间具体的互作关系尚不清楚,因此酚类物质对挥发性化合物的影响还需从机理上做进一步研究。

4 结论

发酵前添加 150 mg/L 咖啡酸和迷迭香酸处理均可增强赤霞珠干红葡萄酒的颜色强度,显著增加样品中总酚和总花色苷含量,且迷迭香酸处理效果要优于咖啡酸。

花色苷类物质的 UHPLC-MS 分析发现,样品中共有 30 种花色苷被检出(包括 5 种单糖花色苷,10 种酰化型花色苷和 15 种吡喃型花色苷),供试样品在各类花色苷物质种类上无差异,但发酵前添加酚类物质均可提高葡萄酒中花色苷的含量,特别是迷迭香酸处理后的酰化型花色苷。

香气物质分析发现,咖啡酸处理提升了葡萄酒中酯类、酸类、萜烯类化合物的含量,降低了醇类和醛类化合物的浓度。迷迭香酸处理的葡萄酒中酯类化合物含量升高,但醇类、酸类、萜烯类和醛类却有所降低。感官分析可知,咖啡酸处理提升了酒体香气的复杂性,使其具有浓郁的花香、果香气味和较低的生青感,而迷迭香酸处理的样品却在酸度、甜度、花香、果

香方面表现较差。

参 考 文 献

- [1] BIMPILAS A, PANAGOPOULOU M, TSIMOGIANNIS D, et al. Anthocyanin copigmentation and color of wine: The effect of naturally obtained hydroxycinnamic acids as cofactors[J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 39–46.
- [2] 刘丽媛, 刘延琳, 李华. 葡萄酒香气化学研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(5): 310–316.
- [3] PAMÉLA N, CHARLÈNE M, ANGERS P, et al. Co-fermentation of red grapes and white pomace: A natural and economical process to modulate red hybrid wine composition[J]. *Food Chemistry*, 2017, 242: 481–490.
- [4] 张波, 祝霞, 盛文军, 等. 红葡萄酒中花色苷辅色化反应研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2017, 19(8): 92–104.
- [5] HERAS-ROGER J, ROMERO C D, DARIAS-MARTIN J. What gives a wine its strong red color? Main correlations affecting copigmentation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(34): 6 567–6 574.
- [6] LAMBERT S G, ASENSTORFER R E, WILLIAMSON N M, et al. Copigmentation between malvidin-3-glucoside and some wine constituents and its importance to colour expression in red wine[J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(1): 106–115.
- [7] ZHANG B, HE F, LIU Y, et al. Impact of adding ellagic acid to red grapes on the phenolic composition and chromatic quality of Cabernet Sauvignon wines from a warm climate[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2017, 41(4): e13 080.
- [8] GÓMEZ-MÍGUEZ, M, GONZÁLEZ-MANZANO, S, ESCRIBANO-BAILÓN, M T, et al. Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin 3-glucoside[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(15): 5 422–5 429.
- [9] TEIXEIRA N, CRUZ L, BRÁS N F, et al. Structural features of copigmentation of oenin with different polyphenol copigments[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(28): 6 942–6 948.
- [10] DUFOUR C, BAYONOVE C L. Interactions between wine polyphenols and aroma substances. An insight at the molecular level[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(2): 678–684.
- [11] ARONSON J, EBELER S E. Effect of polyphenol compounds on the headspace volatility of flavors[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2004, 55(1): 13–21.
- [12] ESCALONA H, HOMMAN-LUDIYE M, PIGGOTT J R, et al. Effect of potassium bitartrate, (+) catechin and wood extracts on the volatility of ethyl hexanoate and octanal in ethanol/water solutions[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2001, 34(2): 76–80.
- [13] CHENG Y, HUYNH-BA T, BLANK I, et al. Temporal changes in aroma release of longjing tea infusion: Interaction of Volatile and nonvolatile tea components and formation of 2-butyl-2-octenal upon aging[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 4 156(6): 2 160–2 169.
- [14] CHEN K, ESCOTT C, LOIRA I, et al. The effects of pre-fermentative addition of oenological tannins on wine components and sensorial qualities of red wine[J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1 445–1 452.
- [15] VILLAMOR R R, ROSS C F. Wine matrix compounds affect perception of wine aromas[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2013, 4(1): 1–20.
- [16] 糜川清. 感官分析及仪器分析在葡萄酒香气研究中的应用[J]. *食品科学*, 2012, 33(23): 351–355.
- [17] 王昶森, 杨志伟, 刘亚新, 等. UHPLC-MS/MS 方法在葡萄酒花色苷鉴定过程中对两种锦葵色素同分异构体的分离[J]. *酿酒科技*, 2018, 288(6): 63–66.
- [18] 曹鹏, 张波, 张欣珂, 等. 陈酿前添加咖啡酸对干红葡萄酒颜色品质及多酚构成的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(7): 153–160.
- [19] 张明霞, 吴玉文, 段长青. 葡萄与葡萄酒香气物质研究进展[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(7): 227–233.
- [20] 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(2): 98–165.
- [21] 陈欣然, 张波, 张欢, 等. 红葡萄酒中花色苷的超高效液相色谱串联三重四级杆质谱检测方法建立[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(7): 262–268.
- [22] 鲁榕榕, 马腾臻, 张波, 等. 不同澄清剂对起泡葡萄酒原酒的澄清作用及对香气品质的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(12): 146–153.
- [23] ZHANG B, WANG Q, ZHOU P P, et al. Copigmentation evidence of oenin with phenolic compounds: A comparative study of spectrographic, thermodynamic and theoretical data[J]. *Food Chemistry*, 2020, 313: 126 163.
- [24] GORDILLO B, RODRÍGUEZ-PULIDO F J, ESCUDERO-GILETE M L, et al. Comprehensive colorimetric study of anthocyanic copigmentation in model solutions. Effects of pH and molar ratio[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(11): 2 896–2 905.
- [25] 张波, 韩舜愈, 马腾臻, 等. 红葡萄酒中花色苷衍生物结构研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 284–295.
- [26] ALCALDE-EON C, BOIDO E, CARRAU F, et al. Pigment profiles in monovarietal wines produced in Uruguay[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2006, 57(4): 449–459.
- [27] 王玉华, 盛文军, 李敏, 等. 耐热克鲁维酵母和粟酒裂殖酵母顺序接种发酵对美乐干红葡萄酒品质的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 102–111.
- [28] 牛见明, 张波, 史肖, 等. 三种澄清方式对‘美乐’甜型桃红葡萄酒品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(16): 129–138.
- [29] LI Y K, MARIO P, MARIROSA T, et al. Oenin and quercetin copigmentation: Highlights from density functional theory[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2018, 6: 245.
- [30] FIGUEIREDO-GONZÁLEZ M, CANCHOGRADE B, SIMAL-GÁNDARA. Effects on colour and phenolic composition of sugar concentration processes in dried-on- or dried-off-vine grapes and their aged or not natural sweet wines[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2013, 31(1): 36–54.