

基于紫外可见光谱的红葡萄酒关键质量指标快速监测

刘彩云¹ 李慧颖¹ 张倩玮¹ 范舒悦¹ 陶永胜^{1,2} 李运奎^{1,2}

(1. 西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西杨凌 712100;

2. 西北农林科技大学宁夏贺兰山东麓葡萄酒试验示范站, 永宁 750104)

摘要: 对葡萄酒发酵和陈酿过程中质量进行有效监控,是葡萄酒品质的重要保证。通过监测葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类物质和颜色的演变规律,以及紫外-可见吸收光谱特征,建立基于紫外-可见吸收光谱的酚类物质和颜色参数的偏最小二乘回归(Partial least squares regression, PLSR)模型。结果显示总酚、总单宁和总黄酮醇质量浓度在发酵过程中不断增加,在陈酿过程中逐渐减小。而总黄酮醇在发酵过程中先增加而后减小,在陈酿过程中逐渐减小。浸渍过程和发酵初期是颜色形成的关键时期,在陈酿过程中颜色逐渐老化。基于紫外-可见光谱的酚类物质和颜色参数预测模型的校正集决定系数 R^2_{cal} 及验证集决定系数 R^2_{val} 均不小于 0.84,残余预测偏差(Residual predictive deviation, RPD) 均不小于 2.54,模型可以达到预测的目的。因此,紫外-可见光谱结合化学计量学是快速监测红葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类化合物及色泽演变的一种简单经济且高效可行的手段。

关键词: 葡萄酒色泽; 定量预测; 快速监测; 紫外-可见光谱; 化学计量学

中图分类号: TS262.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2023)06-0401-09

OSID:



Rapid Monitoring of Key Quality Indicators of Red Wines
Based on UV – Vis Spectroscopy

LIU Caiyun¹ LI Huiying¹ ZHANG Qianwei¹ FAN Shuyue¹ TAO Yongsheng^{1,2} LI Yunkui^{1,2}

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

2. Ningxia Helan Mountain's East Foothill Wine Experiment and Demonstration Station,
Northwest A&F University, Yongning 750104, China)

Abstract: Consumer demand for high-quality and safely produced wines requires high standards in terms of quality assurance and process control methods, which in turn requires proper analysis of wines during and after production. The role of phenolics and color characteristics in ensuring wine quality at all stages of the production process is gradually gaining recognition and importance. However, traditional chemical analysis methods required cumbersome pre-treatment, expensive instrumentation requirements, time-consuming determination procedures, and harsh operating conditions. The evolution of phenolics and color was monitored, as well as UV – Vis absorption spectral characteristics, and a partial least squares regression (PLSR) model was developed for phenolics and color parameters based on UV – Vis spectroscopy during wine fermentation and aging. The results showed that the content of total phenols, total tannins and total flavanols were increased continuously during fermentation and decreased gradually during aging. In contrast, total flavonoids were increased and then decreased during fermentation and gradually decreased during aging. In addition, the maceration process and the early stage of fermentation were the critical periods for color formation, while the color was gradually aged during the aging. The calibration set correlation coefficients R^2_{cal} and validation set correlation coefficients R^2_{val} of the UV – Vis spectroscopy-based phenolic and color parameter prediction models were both no less than 0.84, and the residual predictive deviation (RPD) was no less than 2.54, thus the models could achieve the prediction purpose. Therefore, UV – Vis spectroscopy combined with chemometrics was a simple, economical and efficient way to monitor phenolic compounds and color evolution during red wine fermentation and aging.

Key words: red wine color; quantitative prediction; rapid monitoring; UV – Vis spectroscopy; chemometrics

收稿日期: 2023-02-17 修回日期: 2023-04-05

基金项目: 新疆维吾尔自治区区域协同创新专项(2022E02011)和国家重点研发计划项目(2019YFD1002500)

作者简介: 刘彩云(1997—),女,博士生,主要从事葡萄酒颜色化学研究,E-mail: 1716109345@qq.com

通信作者: 李运奎(1985—),男,副教授,博士,主要从事葡萄酒/果酒品质形成与调控研究,E-mail: ykli@nwsuaf.edu.cn

0 引言

葡萄酒是一种具有很高商业价值的商品。葡萄酒酿造过程中品质指标的检测对于产品的质量控制和等级划分具有重要意义。酚类化合物是红葡萄酒生产中的关键成分,因为它们在很大程度上决定了最终产品的感官特性。因此,对于葡萄酒厂而言,能否通过快速、简单、准确且经济的方式获得红葡萄酒发酵和陈酿过程中与酚类化合物的相关信息至关重要。其中黄烷醇、花色苷、黄酮醇、单宁等的变化对于葡萄酒的感官品质(如口感、颜色乃至香气)都有重要的影响,被广泛用于葡萄酒质量评估^[1-2]。但目前还没有快速、全面且经济的方法来监测葡萄酒酿造过程中酚类物质的演变。颜色是葡萄酒最直观的品质特征,也是决定消费者购买决策和体验的重要因素。颜色反映了葡萄酒的类型、品质层次、陈酿潜力、营养价值等信息,颜色也作为葡萄酒生产过程中质量控制的重要依据和指标。葡萄酒产业亟需可靠的颜色质量控制手段帮助葡萄酒生产者更加方便、有效地进行葡萄酒色泽质量的管理和控制。

消费者对高质量和安全生产的葡萄酒的需求,要求在质量保证和过程控制方法方面有高标准,而这种需求又要求对葡萄酒在生产过程中和生产后进行适当的分析。葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类成分分析方法与颜色管理需以最简单的样品制备,并在多个参数上快速产生结果才能获得广泛的工业应用。虽然有研究者探讨了葡萄酒中酚类物质的分析方法,但都存在葡萄酒行业采用的局限性。如化学方法处理过程的繁琐^[3]、高效液相色谱(HPLC)等仪器昂贵的成本都限制了其在行业的应用^[4]。随着研究的不断深入和创新,基于光谱的测定方法是目前最具吸引力的分析手段。迄今为止,这些预测葡萄和葡萄酒成分的方法主要集中在红外光谱(Infrared spectroscopy)的使用上^[5]。但红外光谱对昂贵的专用仪器的需求,以及对产地、季节和品种的持续验证要求,阻碍了这种技术在常规酚类分析中的应用^[6]。因此仍需要能够同时分析多种酚类物质质量浓度和颜色演变的快速、全面的分析方法。酚类化合物在紫外可见(UV-Vis)区域具有天然吸光度,包含了酚类化合物的大量信息。紫外可见分光光度法也因其可靠性、快速性、成本效益和简单性成为酚类的常用定量方法。在葡萄酒研究中,这种光谱技术主要应用于花青素、黄酮类化合物和非黄酮类化合物的鉴定及其浓度的测量^[7-8]。同时,这种多参数测量技术也非常适合在线检测系统,这使得它适合于葡萄酒发酵和陈酿过程的控制和监测^[9]。

紫外-可见光谱与化学计量学可联合使用于葡萄和葡萄酒中酚类化合物以及多个参数的同时监测。文献[10]测定了波尔多产区($n=34$)多产地、多品种、年轻葡萄酒和陈酿葡萄酒的紫外可见光谱,数据显示了紫外可见光谱对葡萄酒酿造过程中酚类物质的分析潜力。文献[11]研究了使用紫外光谱法定量甲基纤维素可沉淀单宁(MCP)的精确多元线性回归(MLR)和偏最小二乘(PLSR)回归校正。文献[12]的研究表明,紫外-可见光谱是监测酿酒过程中酚类成分的有效选择。文献[13]也通过UV-Vis光谱测定发酵过程样品和成品酒中的单宁、花色苷、总酚和颜色的变化。文献[14]基于紫外-可见光谱建立了不同的多元回归方法(RR、PLSR、PCR和PRM)用于预测赤霞珠和西拉葡萄酒中单宁和花色苷的质量浓度,在理论研究的基础上还进行了将预测模型商业化的尝试。

本文探究赤霞珠酿酒葡萄发酵和陈酿过程中总酚、总单宁、总黄烷醇、总黄酮醇、总花色苷及颜色参数的变化规律,基于紫外可见吸收光谱结合PCA(主成分分析)和偏最小二乘法区分发酵进程并构建发酵过程中酚类化合物和颜色参数的预测模型,通过校正集和验证集参数证明基于紫外可见光谱监测葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类物质和颜色参数演变的可信性与可行性。通过紫外-可见光谱代替繁琐复杂的化学法和精密仪器检测法,实现葡萄酒生产过程中质量指标的快速监测,以期葡萄酒产业红葡萄酒发酵和陈酿过程的控制提供简便经济的方案。

1 材料与方法

1.1 葡萄原料

赤霞珠葡萄于2021年10月采摘自宁夏贺兰山东麓葡萄酒产区。浆果的pH值为3.83,还原糖(葡萄糖)质量浓度为262.83 g/L,可滴定酸度(酒石酸)质量浓度为6.85 g/L。

1.2 试剂与仪器

没食子酸、咖啡酸、(+)-儿茶素为国产分析纯试剂,购于天津一方科技有限公司;二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷标准品购于上海阿拉丁生化科技有限公司;酿酒酵母BV818购自湖北安琪酵母股份有限公司;果胶酶购于上海源叶生物科技有限公司。

Cary 60 UV-Vis型紫外可见分光光度计,美国安捷伦公司。

1.3 发酵和陈酿过程中样品采集

1.3.1 发酵过程

酿酒葡萄经粒选、除梗、破碎后转入5 L规格的

玻璃发酵罐中(设置 3 个重复),入罐期间分 3 次添加 60 mg/L 的二氧化硫。然后,添加 20 mg/L 果胶酶,在 4℃ 下浸渍 48 h。通过添加 200 mg/L 活化后的安琪酵母 BV818 启动酒精发酵。发酵温度控制在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。通过测定温度和比重监测发酵过程。当发酵自然终止后(残糖质量浓度低于 4 g/L),加入 60 mg/L 的 SO_2 。酒精发酵期间,从 3 个发酵罐中每天取一次样,每个罐采集 17 个样品,共采集 51 个样品。将采集的样品经 300 目的尼龙布过滤后,于 -80°C 条件下冷冻保存。在光谱分析和化学分析前,样品在室温(20°C)条件下解冻,并使用离心机在 4℃ 下以 7 500 r/min 离心 15 min。

1.3.2 陈酿过程

发酵结束后的葡萄酒分装在 250 mL 规格棕色瓶中,于酒窖贮存(温度: $15 \sim 18^\circ\text{C}$;相对湿度: $55\% \sim 65\%$),贮藏过程中每月取 1 次样品,共采集了 30 个样品。将采集的样品于 -80°C 条件下冷冻保存。在光谱分析和化学分析前,样品在室温条件下解冻,并使用离心机在 4℃ 下以 7 500 r/min 离心 15 min。

1.4 紫外-可见吸收光谱采集

样品经离心后,由 1 mol/L HCl 溶液稀释 10 倍,在室温黑暗条件下反应 1 h,采用光程 1 mm 的石英比色皿,通过紫外-可见分光光度计扫描 200 ~ 780 nm 范围内样品的紫外-可见吸收光谱,扫描间隔为 1 nm,1 mol/L HCl 溶液作为参比溶液,每个样品重复 3 次。

1.5 颜色参数测定

选择光程为 1 mm 的玻璃比色皿,扫描间隔为 1 nm,扫描每个样品在可见光(400 ~ 780 nm)区域的吸收光谱。以去离子水为参照。使用 10° 观察者视角以及 D65 标准白光光源,通过 450、520、570、630 nm 波长处的吸光度计算 CIELAB 参数(L^* 、 a^* 、 b^* 、 C_{ab}^* 和 h_{ab})。 L^* 表示亮度,范围从 0(黑色)到 100(白色)。 a^* 和 b^* 分别表示红-绿通道和黄-蓝通道。 C_{ab}^* 反映样品的颜色饱和度。色相角 h_{ab} 表示颜色的色调, 0° 表示红色, 90° 表示黄色, 180° 表示绿色, 270° 表示蓝色^[15]。

1.6 酚类成分测定

总酚、总黄酮醇、总花色苷质量浓度的测定:取 0.5 mL 酒样,用 10% 的乙醇溶液稀释 10 倍。吸取 0.25 mL 稀释酒样,加入 0.25 mL 的 0.1% HCl - 95% 乙醇溶液,加入 4.55 mL 的 2% HCl 溶液,摇匀,室温静置 15 min。采用 10 mm 光程、2 mm 狭缝宽的比色皿,用紫外分光光度计测定 280、360、520 nm 下的吸光度,分别对应总酚(A_{280})、黄酮醇

(A_{360})、总花色苷(A_{520})的吸光度,由标准曲线计算出质量浓度,浓度乘以稀释倍数进行矫正^[16]。

总黄烷醇质量浓度的测定:首先量取(+) -儿茶素母液配制标准溶液加定量的 *p*-DMACA(对二甲氨基肉桂醛),然后用分光光度计滴定各溶液在 640 nm 波长处的吸光度,绘制总黄烷醇质量浓度的标准曲线。样品中总黄烷醇的测定根据吸光度选取合适的稀释倍数,经与标准溶液相同的处理后在 640 nm 波长下测定其吸光度,以去离子水调零^[17]。重复测定 3 次,结果以儿茶素等价值表示(mg/L)。

总单宁质量浓度的测定:准确吸取 0.5 mL 甲醇稀释后的酒样(红葡萄酒需稀释 10 倍)于试管中,依次加入 3 mL 的 4% 的香草醛甲醇溶液和 1.5 mL 浓盐酸,混匀,避光静置 40 min,于 510 nm 波长下测定吸光度,计算质量浓度^[18],结果以儿茶素等价值表示,单位 mg/L。

聚合花色苷相对质量浓度的测定:将 20 μL 10% 乙醛加入到 2 mL 葡萄酒样品中,在室温下保存 45 min,然后用光程 1 mm 的玻璃比色皿在 520 nm 处测量吸光度 A_{acet} 。将 160 μL 0.05 g/mL SO_2 加入到 2 mL 葡萄酒样品中,室温下反应 10 min 后用光程 1 mm 的玻璃比色皿测定 520 nm 处的吸光度 A_{SO_2} ^[19]。

多聚体花色苷相对质量浓度按 $A_{\text{SO}_2}/A_{\text{acet}} \times 100\%$ 计算。

1.7 预测模型构建与验证

通过 Unscrambler X 中的 PLSR 工具箱对数据进行分析,开发稳健的 PLSR 模型。将 81 个数据集(发酵样品:51 个,陈酿样品:30 个)随机分为校正集(54 个)和验证集(27 个)用于构建和验证模型。校正集决定系数 (R_{cal}^2)、校正集均方根误差 (RMSEC) 以及校正集残余预测偏差 (RPD_{cal}) 是判断校正模型准确性和精确度的主要指标;验证集决定系数 (R_{val}^2)、验证集均方根误差 (RMSEP) 和验证集残余预测偏差是通过验证集检验所建模型的稳定性和预测真值能力的指标。 R^2 反映 UV - Vis 光谱预测值与化学实测值之间的拟合度, $R^2 = 1$ 说明完全拟合, $R^2 > 0.8$ 时,可以用于实际预测。RMSEC 是建模过程中各样品的 UV - Vis 光谱预测值与实测值之间的残差,表示预测值与实测值偏离程度。RMSEP 是评价模型预测精确性和稳定性的参数,表示模型预测值与待测样品实测值之间偏差的标准差^[20]。RPD 作为判断模型预测能力的指标,较大的标准偏差和较小的预测误差将提供较高的 RPD 值。RPD 越高,模型准确预测新样本的能力就越大^[21]。

2 结果与分析

2.1 发酵和陈酿过程中酚类物质演变

在红葡萄酒的发酵过程中,酚类物质如黄烷醇、花色苷、黄酮醇、单宁等的变化对于葡萄酒的感官品质(如口感、颜色乃至香气)都有着重要的影响。总酚在浸渍 24 h 后质量浓度增加为 658.01 mg/L,启动酒精发酵后,质量浓度迅速增加,酿造的第 11 天质量浓度增加为 1 606.67 mg/L,而后增加速率减缓(图 1a)。总单宁在浸渍 24 h 后质量浓度为 359.26 mg/L,启动酒精发酵的第 8 天较浸渍结束质量浓度增加了 1 896.02 mg/L,而后增加速率略有减缓(图 1b)。总黄烷醇在酿造的前 7 d 质量浓度稳步

增加,第 8 天到第 12 天之间质量浓度急剧增加,5 d 内质量浓度增加 376.86 mg/L,而后增加速率明显减缓(图 1c)。总黄酮醇在发酵 5 d 后质量浓度增加到 96.43 mg/L,发酵 12 d 后质量浓度为 136.86 mg/L,第 13 天开始质量浓度逐渐减小,发酵结束后质量浓度为 121.86 mg/L(图 1d)。总花色苷在发酵的前 7 d 质量浓度急剧增加,第 7 天时质量浓度为 212.65 mg/L,而后的第 8 天到第 10 天增加速率明显减缓,从第 11 天到发酵结束,质量浓度逐渐降低,发酵结束时质量浓度为 179.73 mg/L(图 1e)。聚合花色苷相对质量浓度在发酵的前 4 d 变化很小,第 5 天开始占比逐渐增加,发酵结束时聚合花色苷相对质量浓度为 34.65%(图 1f)。

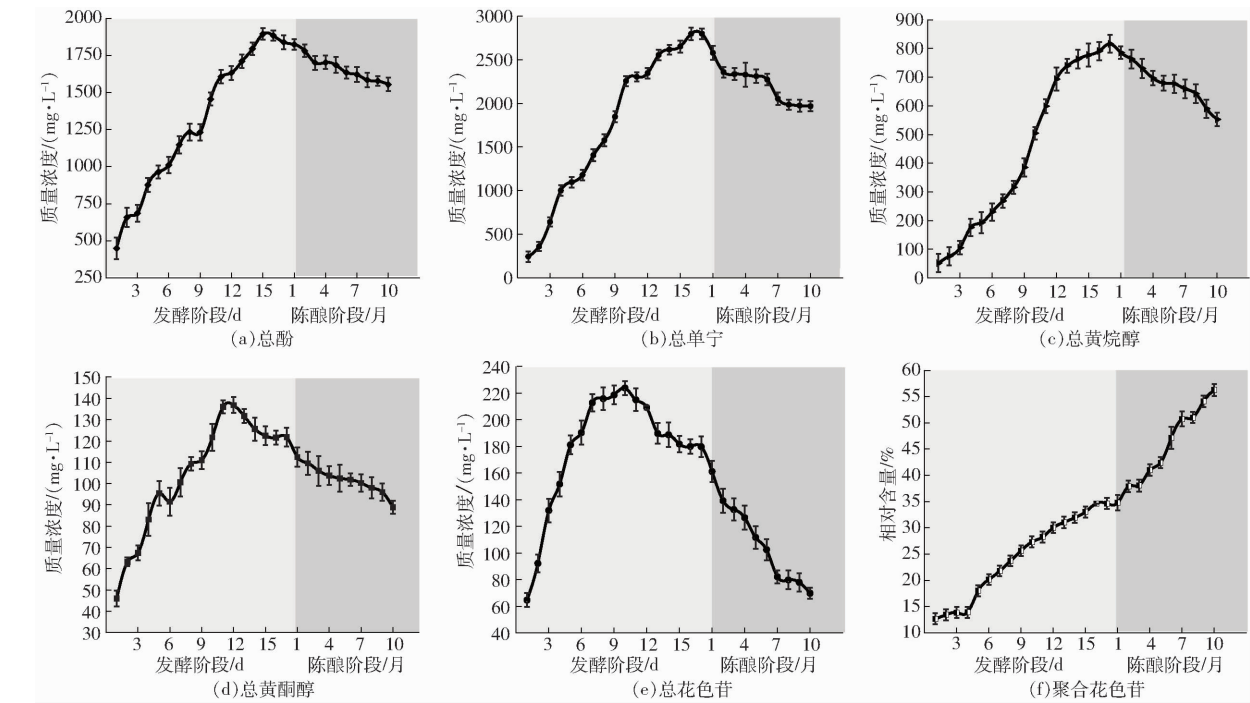


图 1 葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类物质的演变
Fig.1 Evolution of phenolics during wine fermentation and aging

葡萄酒在贮藏过程中酚类化合物的演变是复杂的。年轻的赤霞珠红葡萄酒在陈酿过程中酚类物质质量浓度逐渐减小,聚合花色苷相对质量浓度逐渐增加。贮藏 3 个月后,总酚质量浓度减小 7.52%,而后,总酚质量浓度减少速率逐渐降低(图 1a)。单宁在陈酿 2 个月后,由 2 798.33 mg/L 减少为 2 358.06 mg/L,而后降解速率变缓,呈稳定缓慢减少的趋势(图 1b)。黄烷醇质量浓度在陈酿期间逐渐减少,黄烷醇由最初的 716.08 mg/L 降为 552.63 mg/L。在黄烷醇贮藏的前 5 个月降解速率大于后 5 个月(图 1c)。黄酮醇在最初陈酿时的质量浓度为 121.57 mg/L,陈酿 10 个月后,黄酮醇质量浓度降为 88.86 mg/L,陈酿过程中,黄酮醇质量浓度稳步减少(图 1d)。陈酿过程中花色苷质量浓度逐

渐减少,尤其是在贮藏的前 7 个月,从贮藏前的 178.90 mg/L 降低到 102.45 mg/L,贮藏 8 个月后,花色苷质量浓度缓慢降低,直至贮藏 10 个月后,花色苷质量浓度仅为 69.80 mg/L(图 1e)。通过 SO₂ 漂白法估算聚合花色苷对总花色苷的贡献。新酿造的葡萄酒中聚合花色苷占总花色苷的 34.65%,随着葡萄酒的陈酿,聚合花色苷相对逐渐增加,贮藏 10 个月后,聚合花色苷占总花色苷的 56.27%(图 1f)。

在葡萄酒发酵过程中总酚、总单宁、总黄烷醇、总黄酮醇和总花色苷在浸渍过程中质量浓度逐渐增加。酚类物质在低温条件以及无酒精环境(水介质)下从浆果的固体部分转移到葡萄汁中。尤其是总花色苷,在浸渍 48 h 后,由最初的 64.69 mg/L 增

加到 131.84 mg/L。聚合花色苷比例在浸渍过程中变化很小。从这个意义上讲,为了改善葡萄酒的一些重要品质特征,如酚类物质,在受控条件下对破碎后的葡萄进行发酵前的冷浸渍是一种重要方法。在浸渍过程中,不同的因素,如浸渍时间、浸渍温度等会强烈影响果皮和种子中酚类物质的提取进程^[22]。接种酵母后,酚类化合物质量浓度急剧增加,酵母释放的果胶酶增加葡萄中酚类物质的提取,并且由于酵母对酚类化合物的吸附作用加速了酚类化合物的提取^[23],随着酒精发酵的进行,乙醇、二氧化碳、二氧化硫以及温度等都会影响酚类物质的浸提,通常较高温度会增加酚类物质的提取率,因为升高温度可以增加葡萄皮细胞的渗透性^[24]。在酒精发酵后期直到发酵结束,随着酒糟的再吸附以及发生的一系列氧化、降解、酒石酸盐沉淀、酚类化合物间的聚合反应等,酚类物质提取速率逐渐变缓,甚至出现质量浓度逐渐减小的趋势,尤其是总黄酮醇和总花色苷。葡萄酒是一个复杂的体系,在储存期间经历许多复杂的变化。这些复杂的变化对葡萄酒的质量和经济效益具有非常重要的影响^[25]。年轻的赤霞珠红葡萄酒在陈酿过程中酚类物质质量浓度逐渐减小,聚合花色苷比例逐渐增加。总酚、总单宁、总黄酮醇和总黄烷质量浓度的降低主要归因于陈酿过程中的氧化和聚合反应。其中,黄酮醇极易与花色苷发生聚合反应,对于稳定颜色具有积极作用。花色苷是葡萄酒呈紫红色的主要原因,随着葡萄酒的陈酿,花色苷逐渐聚合,形成聚合花色苷,使得花色苷质量浓度减少,颜色逐渐丧失,红葡萄酒的紫红色逐渐变为橙红色^[26]。在红葡萄酒的储存和陈酿过程中,葡萄中存在的游离花色苷和无色多酚(特别是单体和聚合物黄烷醇)之间逐渐形成聚合花色苷。这些化合物在有氧和无氧条件下形成,因此在瓶中储存葡萄酒期间发生的聚合反应基本上是厌氧的,并且受温度的影响比溶解氧浓度的影响更大^[27]。

2.2 发酵和陈酿过程中颜色演变

颜色是葡萄酒最重要的感官特性之一。红葡萄酒的颜色在酿造和储存过程中的不断变化归因于酚类化合物的互相作用和不稳定性。由图 2 可以看出,浸渍过程和发酵前期是红葡萄酒酿造过程中颜色参数快速变化的关键时期。明度 L^* 在浸渍和发酵过程中逐渐减小,尤其在前 4 d,由第 1 天的 91.20 降为第 4 天的 71.35,从第 6 天开始到发酵结束这一过程中稳步减小,发酵结束时为 63.45。红绿色调 a^* 浸渍 48 h 后增加为 14.91,接种酵母后的第 2

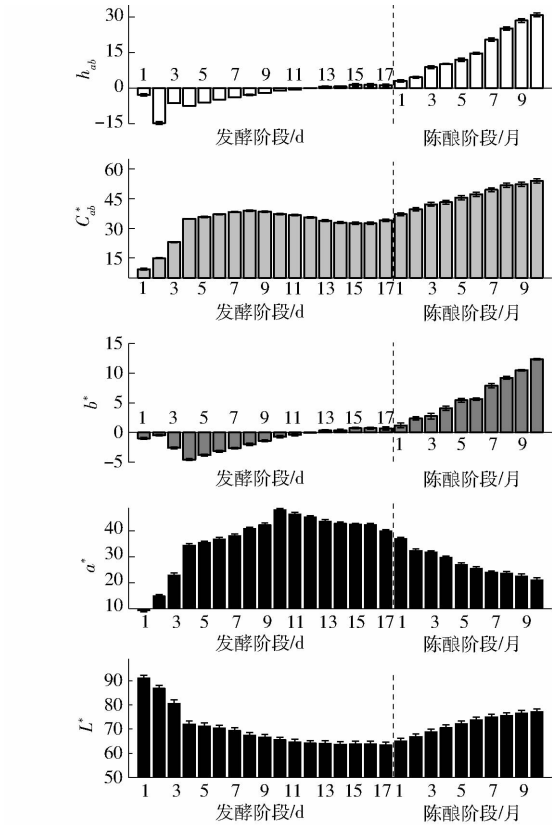


图 2 发酵和陈酿过程中颜色的演变

Fig. 2 Evolution of color during fermentation and aging

天较浸渍结束时增加 29.60,从第 5 天开始到第 10 天之间 a^* 稳步增加,而后逐渐减小,发酵结束时为 40.12。黄蓝色调 b^* 在发酵的前 4 d 明显减小,在第 4 天时为 -4.57,而后逐渐增加,由第 5 天的 -3.80 增加为酒精发酵结束时的 0.68。色度 C_{ab}^* 在浸渍 48 h 后增加为 14.91,接种酵母 2 d 增加为 34.81,第 4 天度 C_{ab}^* 显著增加,从第 5 天开始到第 8 天这一过程中, C_{ab}^* 缓慢增加,而后逐渐减小。色调 h_{ab} 在浸渍过程中明显增大,浸渍 48 h 后 h_{ab} 为 -14.76°,接种酵母后第 1 天为 -6.4°,从第 4 天开始逐渐增加,酒精发酵结束时为 1.15°。

陈酿过程中颜色的演变,总体而言,红绿色调 a^* 不断减小,而黄蓝色调 b^* 、明度 L^* 、色度 C_{ab}^* 和色调 h_{ab} 逐渐增加。具体而言,陈酿 10 个月后,明度 L^* 由陈酿最初的 63.45 升高为 77.22,增加 17.82%,尤其在陈酿最开始的 6 个月,变化最为显著。 a^* 伴随着 L^* 的增大逐渐减小, a^* 在陈酿 6 个月后,减小 36.29%。 b^* 在陈酿 6 个月后,增加 4.94,在后期的陈酿过程中持续增加,但增加速率逐渐减小。 C_{ab}^* 在陈酿过程中不断增加,由最初的 34.12 增加为成陈酿 10 个月的 54.08。 h_{ab} 在陈酿 10 个月后增加 3.0°。

红葡萄酒酿造过程中,葡萄果实中的花色苷经过浸渍和发酵等工艺逐渐进入葡萄酒中,并发生一

定的变化,其色度色调均会发生明显的变化。在浸渍及发酵初期,果皮中的部分单体花色苷转移进入葡萄酒中,颜色鲜艳呈紫红色^[28]。在这一过程中 L^* 逐渐减小,样品颜色逐渐变暗。 a^* 和 C_{ab}^* 在这一过程中逐渐增加,葡萄汁逐渐向葡萄酒转变,红色色调增加,颜色更加饱和。而在发酵后期,由于花色苷吸附损失以及和各种酚类物质形成无色聚合物等导致颜色略有损失^[29],酒样逐渐出现黄色色调。陈酿过程葡萄酒由最初的紫红色转变为砖红色。 L^* 的不断 增加与多酚质量浓度的降低有关^[30], a^* 的降低可能与花色苷和花色苷衍生物的降解以及不溶性聚合花色苷衍生物的沉淀有关^[3], b^* 的演变可能与辅色效应的丧失有关,伴随着红橙色花色苷衍生(如吡喃花色苷)的形成以及红葡萄酒颜色的氧化^[31], C_{ab}^* 和 h_{ab} 在陈酿过程中不断增加,意味着葡萄酒越来越成熟。

2.3 发酵和陈酿过程中紫外-可见光谱分析

图 3 展示了发酵和陈酿过程中样品的紫外-可见吸收光谱特征。在浸渍和发酵初期,在 520 nm 附近观察到显著变化,吸收强度随发酵进程显著增加。由于花色苷在可见光谱的 490 ~ 550 nm 区域表现出特征吸收带,因此这一现象与葡萄皮中的游离花色苷浸提到葡萄酒中有关。在整个酿造过程中,280 nm 附近的吸收强度随发酵进程逐渐增强,说明酚类物质也在快速地浸提到葡萄酒中,280 nm 处的吸光度被提议作为葡萄酒中酚类质量浓度的最佳预测指标,因为该波长处具有特征吸光峰。并且以 520 nm 和 280 nm 为中心出现轻微红移现象。在酒精发酵即将结束时,发现花色苷的吸收带在逐渐降低,这可能是由于聚合花色苷的形成、酵母细胞壁的再吸收以及形成酒石酸盐沉淀等^[32]。

随着葡萄酒的陈酿,520 ~ 535 nm 区域的吸光度逐渐降低,在 400 ~ 420 nm 处的黄色/棕色区域的吸光度没有显著变化。因此,陈酿过程中葡萄酒的 420 nm 和 520 nm 处的吸光度增加,这也是红葡萄酒陈酿的主要特征之一。并且,红葡萄酒在陈酿期间 270 ~ 283 nm 处的吸光度略有降低,280 nm 附近处的吸光度通常与总酚质量浓度和呋喃化合物(如糠醛、乙酰呋喃、5-甲基糠醛)的存在有关,意味着陈酿过程中酚类化合物的聚合,导致总酚质量浓度在减少。这种聚合使得低分子量多酚物质浓度降低,同时聚合多酚浓度增加,进而影响葡萄酒颜色。对这些变化的分析,以及其他不太明显的变化,是为了找到一个简洁的模型来表征葡萄酒的发酵和陈酿过程,特别是预测葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类物质和颜色的变化。

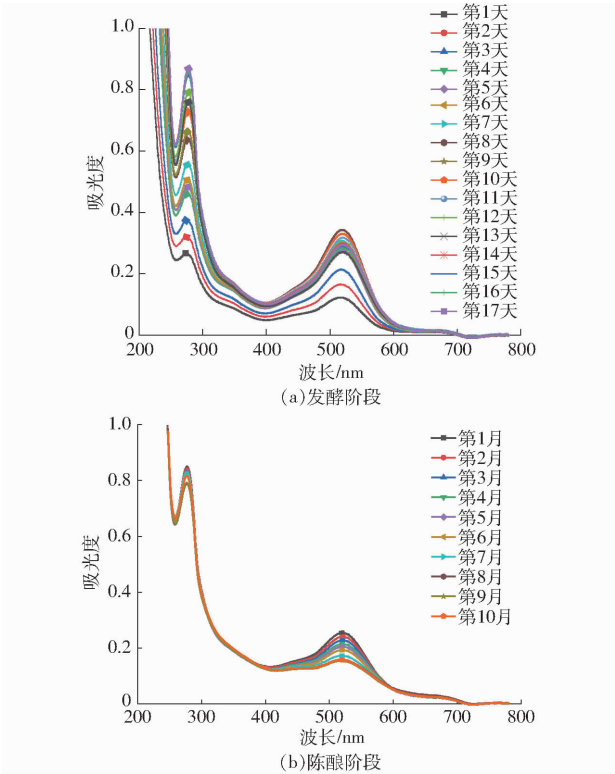


图 3 发酵和陈酿过程中紫外-可见吸收光谱的演变
Fig. 3 Evolution of UV - Vis absorption spectra during fermentation and aging

为了更进一步研究发酵和陈酿过程中的紫外-可见光谱特征,对 200 ~ 780 nm 范围的光谱采用主成分分析(PCA),得到 PC1、PC2 和 PC3 贡献率分别为 51.9%、33.2% 和 3.8%,前 3 个主成分的累计贡献率达到 88.9%。发酵样品的 PCA 发现,随着发酵进程样品出现明显的分布差异(图 4a),发酵的前 7 d,样品得分由第一象限逐渐向第二象限移动,且 PC2 的影响越来越小。这可能与浸渍和发酵初期酚类物质的浸提有关。发酵后 10 d,样品得分由 PC1 的负半轴逐渐向中心移动,PC1 的影响越来越小,而 PC1 的影响逐渐明显,尤其在发酵的第 11 天到第 17 天。这可能与酚类物质的提取基本完成,开始发生一系列复杂的生物化学反应有关。在陈酿过程中,样品得分由第四象限向第一象限移动,主成分的贡献率越来越大。图 4b 显示了前 3 个主成分的载荷,即每个波长对该区域方差的影响,PC1 和 PC2 表明 200 ~ 780 nm 的整个紫外-可见光谱都在影响样品光谱的方差,在建立 PLSR 校正模型时需要考虑这一因素。PC3 显示 280 nm 和 520 nm 附近区域对光谱方差有很大影响,可能与酚类物质和花色苷有很大关系。结果表明,基于紫外-可见光谱的 PCA 可用于对发酵和陈酿阶段进行区分,对酿造过程中酚类物质质量浓度变化的定量预测需要进一步建立偏最小二乘回归(PLSR)预测模型。

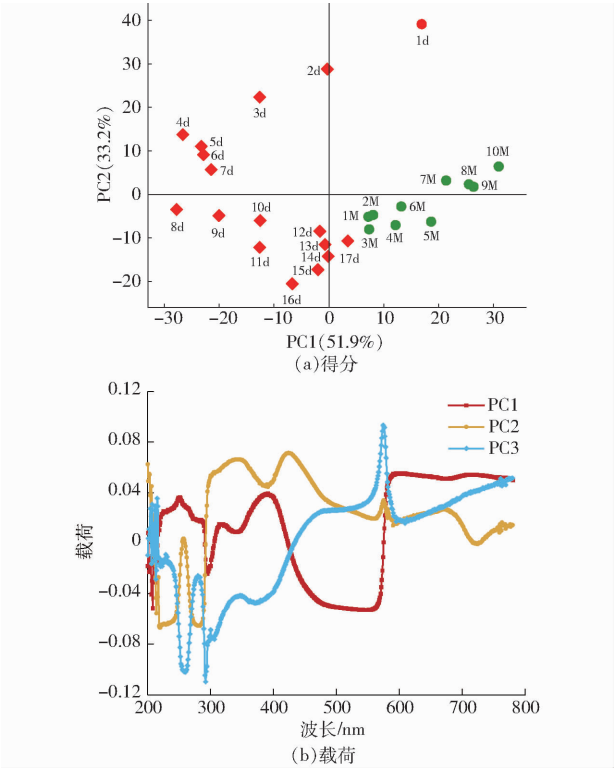


图 4 葡萄酒酿造过程中紫外-可见光谱的主成分分析
Fig. 4 Principal component analysis of UV - Vis spectra during winemaking

2. 4 基于紫外-可见光谱构建酚类物质和颜色参数的 PLSR 预测模型

在分析技术中,紫外-可见光谱很适用于研究多酚化合物,因为多酚物质是 π 共轭系统,含有酚羟基。同时,紫外-可见光谱可以快速同时分析大量样

品的多个参数。然而,由于每个紫外-可见光谱提供了大量的信息,因此使用化学计量学来快速获取所需要的信息是非常有必要的,PLSR 回归是一种多元校准方法,当需要从大量自变量(即光谱)中预测一组因变量(即酚类物质或颜色参数)时,它具有明显的应用价值^[33]。本文的目的是将紫外-可见光谱与 PLSR 回归相结合,量化葡萄酒发酵和陈酿过程中酚类化合物质量浓度的变化和颜色的演变。为了开发稳健的 PLSR 模型,在模型校准之前,通过 Hotelling's T^2 对数据进行异常值筛选,所谓异常值是指具有异常光谱特征或测量浓度的样品。总体而言,模型校准过程中未识别到异常值。从表 1 可以看出,针对总酚、总单宁、总花色苷质量浓度和聚合体花色苷相对含量建立的校正集模型残余预测偏差均大于 3, R^2_{cal} 分别为 0.91、0.97、0.98 和 0.99。总黄烷醇和黄酮醇的校正集模型残余预测偏差高于 2.5, R^2_{cal} 均为 0.89,意味着模型可以达到定量预测酚类物质的目的,进一步说明可以通过紫外-可见光谱准确量化发酵和陈酿过程中酚类物质的质量浓度。此外,1/3 的样本用于验证,验证集参数进一步证明了模型的准确性,酚类物质验证集的残余预测偏差值均大于 2.5,总酚、总单宁、总黄烷醇、总黄酮醇、总花色苷和聚合体花色苷的 R^2_{val} 分别为 0.92、0.96、0.84、0.91、0.98 和 0.94,验证集模型残余预测偏差分别为 2.89、5.25、2.85、2.56、7.71 和 10.21。这些参数表明紫外-可见光谱结合 PLSR 可以快速可靠地提供有关酚质量浓度变化的信息,同

表 1 酚类物质和颜色参数的最佳模型性能指标

校正集							验证集					
参数	样本数	数值	R^2_{cal}	校正集均方根误差	斜率	校正集残余预测偏差	样本数	数值	R^2_{val}	验证集均方根误差	斜率	验证集残余预测偏差
总酚质量浓度	54	449.67 ~ 2 514.67 mg/L	0.91	163.80 mg/L	0.91	3.11	27	514.67 ~ 1 969.67 mg/L	0.92	181.69 mg/L	0.92	2.89
总单宁质量浓度	54	243.51 ~ 2 892.78 mg/L	0.97	130.57 mg/L	0.97	5.43	27	192.96 ~ 3 057.59 mg/L	0.96	151.41 mg/L	0.96	5.25
总黄烷醇质量浓度	54	41.80 ~ 762.37 mg/L	0.89	125.05 mg/L	0.89	2.76	27	50.02 ~ 696.86 mg/L	0.84	127.23 mg/L	0.86	2.85
总黄酮醇质量浓度	54	46.00 ~ 122.43 mg/L	0.89	15.64 mg/L	0.89	2.54	27	41.71 ~ 128.86 mg/L	0.91	17.08 mg/L	0.92	2.56
总花色苷质量浓度	54	64.69 ~ 240.20 mg/L	0.98	8.25 mg/L	0.98	6.68	27	48.37 ~ 236.12 mg/L	0.98	7.69 mg/L	0.94	7.71
聚合花色苷相对含量	54	10.87% ~ 60.74%	0.99	2.16%	0.99	11.11	27	13.04% ~ 63.34%	0.94	6.00%	0.98	10.21
L^*	54	67.11 ~ 91.34	0.97	2.10	0.97	2.60	27	67.09 ~ 92.46	0.93	2.70	0.93	2.65
a^*	54	8.13 ~ 49.56	0.91	2.44	0.91	3.41	27	6.67 ~ 49.90	0.94	1.48	0.73	5.78
b^*	54	-4.91 ~ 10.85	0.94	0.99	0.94	4.27	27	-3.32 ~ 14.19	0.87	1.59	0.84	2.54
C_{ab}^*	54	8.26 ~ 59.69	0.86	2.68	0.86	2.99	27	7.07 ~ 59.91	0.92	1.84	0.95	4.51
h_{ab}	54	-78.37° ~ 26.54°	0.93	3.52°	0.93	2.83	27	-5.64° ~ 29.14°	0.89	4.01°	0.87	2.59

时评估多个参数。

针对颜色参数 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C_{ab}^* 和 h_{ab} 建立的模型稳定性与酚类物质类似。相比之下,针对 a^* 和 b^* 建立的 PLSR 预测模型效果好于 L^* 、 C_{ab}^* 和 h_{ab} ,说明模型可用于预测这些颜色参数的变化。

3 结 论

(1)浸渍阶段和发酵初期是红葡萄酒酚类物质浸提和颜色形成的关键时期。

(2)在发酵和陈酿过程中,酚类物质和颜色的演变与葡萄酒的紫外-可见光谱之间具有非常紧密的联系。

(3)基于紫外-可见光谱的 PCA 可以很好地区分发酵和陈酿进程。

(4)基于干红葡萄酒发酵和陈酿过程中的 UV-Vis 光谱特征构建酚类物质和 CIELAB 颜色参数的 PLSR 预测模型,发现 PLSR 预测模型可以成功地代替化学法和复杂仪器对发酵和陈酿过程中酚类物质和颜色的变化进行定量分析。特别适用于处理大批量样品,实现实时检测。这种方法可以帮助酿酒厂在葡萄酒发酵和陈酿过程快速、简便、准确、经济地监测总酚、总黄酮、总黄烷醇、总单宁、总花色苷、聚合花青素比例和 CIELAB 颜色参数的变化,进而更好地控制葡萄酒的质量。

参 考 文 献

[1] MERKYTE V, LONGO E, WINDISCH G, et al. Phenolic compounds as markers of wine quality and authenticity[J]. Foods, 2020, 9(12): 1785.

[2] 李运奎,汪兴杰,靳国杰,等. 爱格丽干白葡萄酒发酵过程中典型乙酸酯的生成动力学[J]. 农业机械学报, 2018, 49(8): 360-367.

LI Yunkui, WANG Xingjie, JIN Guojie, et al. Kinetical feature for acetate esters production during Ecolly dry white wine fermentation[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(8): 360-367. (in Chinese)

[3] 牛雪,张军翔,徐国前. 葡萄与葡萄酒中总酚测定方法的研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(3): 239-242.

NIU Xue, ZHANG Junxiang, XU Guoqian. Research progress on determination of total polyphenols in grape and wine[J]. Food & Machinery, 2016, 32(3): 239-242. (in Chinese)

[4] 马燕玲,王一名,初坤,等. 超高效液相色谱串联质谱法测定葡萄酒中酚酸和酚醛类化合物[J]. 化学试剂, 2023, 45(2): 141-147.

MA Yanling, WANG Yiming, CHU Kun, et al. Determination of phenolic acids and phenolic aldehydes in wine by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Chemical Reagents, 2023, 45(2): 141-147. (in Chinese)

[5] 高升,王巧华,施行,等. 便携式红提葡萄多品质可见/近红外检测仪设计与试验[J]. 农业机械学报, 2021, 52(2): 308-319.

GAO Sheng, WANG Qiaohua, SHI Hang, et al. Design and test of portable red globe grape extraction multi-quality visible /near infrared detector[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(2): 308-319. (in Chinese)

[6] COZZOLINO D, CYNKAR W, SHAH N, et al. Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 401: 1475-1484.

[7] ANDRADE-FILHO T, RIBEIRO T, DEL NERO J. The UV-Vis absorption spectrum of the flavonol quercetin in methanolic solution: a theoretical investigation[J]. The European Physical Journal E, 2009, 29: 253-259.

[8] TIAN Wenfei, CHEN Gengjun, GUI Yijie, et al. Rapid quantification of total phenolics and ferulic acid in whole wheat using UV-Vis spectrophotometry[J]. Food Control, 2021, 123: 107691.

[9] KOEPPE B, TOLSTOY P M, LIMBACH H. Reaction pathways of proton transfer in hydrogen-bonded phenol-carboxylate complexes explored by combined UV-Vis and NMR spectroscopy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(20): 7897-7908.

[10] GARCÍA-JARES C, MÉDINA B. Prediction of some physico-chemical parameters in red wines from ultraviolet-visible spectra using a partial least-squares model in latent variables[J]. Analyst, 1995, 120(7): 1891-1896.

[11] DAMBERGS R G, MERCURIO M D, KASSARA S, et al. Rapid measurement of methyl cellulose precipitable tannins using ultraviolet spectroscopy with chemometrics: application to red wine and inter-laboratory calibration transfer[J]. Applied Spectroscopy, 2012, 66(6): 656-664.

[12] ALEIXANDRE-TUDÓ J L, ALVAREZ I, GARCÍA M J, et al. Application of multivariate regression methods to predict sensory quality of red wines[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2015, 33(3): 217-227.

[13] ALEIXANDRE-TUDO J L, NIEUWOUDT H, OLIVIERI A, et al. Phenolic profiling of grapes, fermenting samples and wines using UV-Visible spectroscopy with chemometrics[J]. Food Control, 2018, 85(1): 11-22.

[14] BEAVER C, COLLINS T S, HARBERTSON J. Model optimization for the prediction of red wine phenolic compounds using ultraviolet-visible spectra[J]. Molecules, 2020, 25(7): 1576.

[15] 李运奎,韩富亮,张予林,等. 基于 CIELAB 色空间的红葡萄酒颜色直观表征[J]. 农业机械学报, 2017, 48(6): 296-301.

LI Yunkui, HAN Fuliang, ZHNAG Yulin, et al. Visualization for representation of red wine color based on CIELAB color space[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(6): 296-301. (in Chinese)

[16] 赵宇, 沙青, 孔彩琳, 等. 西北地区干红葡萄酒质量相关理化指标的判别功能解析[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(3): 129–139.
ZHAO Yu, SHA Qing, KONG Cailin, et al. Discriminant analysis of physicochemical indexes related to quality of dry red wines from northwest China[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(3): 129–139. (in Chinese)

[17] 房玉林, 孟江飞, 张昂, 等. 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[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 14–20.
FANG Yulin, MENG Jiangfei, ZHANG Ang, et al. Effect of storage time on phenolic components and antioxidant activity of red wine[J]. Food Science, 2011, 32(11): 14–20. (in Chinese)

[18] 张斌, 曾新安. 电场对无定型橡木陈酿白兰地的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(2): 93–99.
ZHANG Bin, ZENG Xin'an. Effect of electric field on amorphous oak-aged Brandy[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(2): 93–99. (in Chinese)

[19] 兰惠晶, 李帅, 郭少鹏, 等. 低温浸渍发酵工艺对“媚丽”桃红葡萄酒品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(3): 163–169.
LAN Huijing, LI Shuai, GUO Shaopeng, et al. Effects of low-temperature maceration and fermentation on Meili rosé wine quality[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(3): 163–169. (in Chinese)

[20] BOULET J, TRARIEUX C, SOUQUET J, et al. Models based on ultraviolet spectroscopy, polyphenols, oligosaccharides and polysaccharides for prediction of wine astringency[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 357–363.

[21] GENISHEVA Z, QUINTELAS C, MESQUITA D P, et al. New PLS analysis approach to wine volatile compounds characterization by near infrared spectroscopy (NIR)[J]. Food Chemistry, 2018, 246: 172–178.

[22] 周鹤, 张佳佳, 时蒙蒙, 等. 冷浸渍时间和发酵温度对西拉桃红葡萄酒品质的影响[J]. 中国酿造, 2022, 41(6): 178–183.
ZHOU He, ZHANG Jiajia, SHI Mengmeng, et al. Effect of cold maceration time and fermentation temperature on the quality of Syrah rosé wines[J]. China Brewing, 2022, 41(6): 178–183. (in Chinese)

[23] 刘晓燕, 赵晓敏, 张小月, 等. 混菌顺序发酵对赤霞珠干红葡萄酒品质的影响[J]. 中国酿造, 2022, 41(4): 65–72.
LIU Xiaoyan, ZHAO Xiaomin, ZHANG Xiaoyue, et al. Effects of mixed yeasts sequential fermentation on quality of Cabernet Sauvignon dry red wine[J]. China Brewing, 2022, 41(4): 65–72. (in Chinese)

[24] KOYAMA K, GOTO-YAMAMOTO N, HASHIZUME K. Influence of maceration temperature in red wine vinification on extraction of phenolics from berry skins and seeds of grape (*Vitis vinifera*) [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71(4): 958–965.

[25] 李维新, 郭艳波, 何志刚, 等. 贮藏条件对刺葡萄酒主要黄酮类物质的影响[J]. 食品科学技术学报, 2013, 31(6): 36–40.
LI Weixin, GUO Yanbo, HE Zhigang, et al. Effects of storage conditions on flavonoids in brier grape wine[J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 31(6): 36–40. (in Chinese)

[26] 王振中, 严斌, 段长青, 等. 橡木桶陈酿对干红葡萄酒花色苷和颜色的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2017(5): 24–28.
WANG Zhenzhong, YAN Bin, DUAN Changqing, et al. Comparison of anthocyanin components and color of red wines aged in oak barrels[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2017(5): 24–28. (in Chinese)

[27] ESCRIBANO-BAILÓN M T, RIVAS-GONZALO J C, GARCÍA-ESTÉVEZ I. Wine color evolution and stability[M] // Red wine technology. Elsevier, 2019: 195–205.

[28] FAN Shuyue, LIU Caiyun, LI Yunkui, et al. Visual representation of red wine color: methodology, comparison and applications[J]. Foods, 2023, 12(5): 924.

[29] HERAS-ROGER J, ALONSO-ALONSO O, GALLO-MONTESDEOCA A, et al. Influence of copigmentation and phenolic composition on wine color[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53: 2540–2547.

[30] 李运奎, 范舒悦, 张煜, 等. 西北地区红葡萄酒颜色的微观量化分类与宏观量化分级[J]. 农业机械学报, 2023, 54(5): 379–386.
LI Yunkui, FAN Shuyue, ZHANG Yu, et al. Micro-quantitative classification and macro-quantitative gradation of the color of dry red wines in northwest China[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2023, 54(5): 379–386. (in Chinese)

[31] 吴璐璐, 范舒悦, 张煜, 等. 不同产区陈酿干红葡萄酒花色苷与颜色相关性分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2022(2): 1–7.
WU Lulu, FAN Shuyue, ZHANG Yu, et al. Correlation between anthocyanins and color of aging red wines from different regions of China[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2022(2): 1–7. (in Chinese)

[32] 李运奎, 张煜, 范舒悦, 等. 外源多酚添加条件下干红葡萄酒颜色特征和花色苷特性研究[J]. 农业机械学报, 2023, 54(4): 399–406.
LI Yunkui, ZHANG Yu, FAN Shuyue, et al. Effects of exogenous polyphenols addition on color and anthocyanins of dry red wine[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2023, 54(4): 399–406. (in Chinese)

[33] OLIVERI I P, FAILLA S, COLOMBO A, et al. Synthesis, characterization, optical absorption/fluorescence spectroscopy, and second-order nonlinear optical properties of aggregate molecular architectures of unsymmetrical Schiff-base zinc (II) complexes [J]. Dalton Transactions, 2014, 43(5): 2168–2175.