

影响葡萄和 葡萄酒中酚类 特征的因素分析

YINGXIANG PUTAO HE PUTAOJIU
ZHONG FENLEI TEZHENG DE YINSU FENXI

朱磊 臧延青 汤华成 著 □



国家一级出版社



中国纺织出版社

全国百佳图书出版单位

责任编辑：闫 婷

封面设计：黄墨言

TS262.6
332



中国纺织出版社
官方微博



中国纺织出版社
官方微信

ISBN 978-7-5180-6193-8



定价：68.00元

内 容 提 要

葡萄和葡萄酒中含有丰富的酚类化合物,酚类化合物具有抗氧化、抗肿瘤、抗衰老和预防心脑血管疾病等多种生物活性,而且对葡萄酒的感官品质具有重要影响。本书以葡萄和葡萄酒中酚类特征的影响因素分析为主要内容,研究了基因型、气候和外源植物激素脱落酸对酿酒葡萄果实和葡萄酒中酚类化合物的含量、组成和抗氧化活性等特征的影响;重点分析了不同品种/株系的山葡萄花色苷的组成,以花色素双糖苷合成关键酶——UDP-葡萄糖:类黄酮5-O-葡萄糖基转移酶的基因差异,来探讨山葡萄糖基化花色苷组成差异的分子机制。本书可作为大专院校师生、科研院所从事葡萄和葡萄酒研究人员的参考用书,亦可供酿酒葡萄栽培和葡萄酒生产的相关从业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

影响葡萄和葡萄酒中酚类特征的因素分析/朱磊, 臧延青, 汤华成著. —北京:中国纺织出版社, 2019.8
ISBN 978-7-5180-6193-8

I. ①影… II. ①朱… ②臧… ③汤… III. ①葡萄酒—基本知识 IV. ①TS262.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2019)第087771号

责任编辑:闫婷

责任校对:寇晨晨

责任设计:品欣排版

责任印制:王艳丽

中国纺织出版社出版发行

地址:北京市朝阳区百子湾东里A407号楼 邮政编码:100124

销售电话:010-67004422 传真:010-87155801

<http://www.c-textilep.com>

E-mail: faxing@c-textilep.com

官方微博 <http://weibo.com/2119887771>

北京虎彩文化传播有限公司印刷 各地新华书店经销

2019年8月第1版第1次印刷

开本:710×1000 1/16 印张:23.75

字数:378千字 定价:68元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社图书营销中心调换

前言

葡萄在植物学分类上隶属于葡萄科(Vitaceae Lindl.)葡萄属(*Vitis* L.),是最早被驯化栽培的果树之一。葡萄的分布范围广泛,在热带、温带和寒带地区均可以种植,其产量和栽培面积位居世界第二,其中酿酒葡萄占葡萄总产量的80%以上。葡萄酒因其优良的感官品质和丰富的营养价值,而备受各国人民的青睐,是全世界最重要的果酒。随着国家经济社会发展和人民生活水平的提高,中国葡萄酒产业发展迅速,葡萄酒产量与市场需求以年均15%以上的速度快速增长,成为全球瞩目的葡萄酒需求市场。

酚类化合物是芳香环上连有一个或多个羟基的有机化合物,也是葡萄中的一种重要的次生代谢产物,对葡萄植株的生长发育起到重要的保护作用。更重要的是,葡萄酒中的酚类物质来源于葡萄果实,酚类化合物的含量和组成是决定葡萄酒品质的主要因素,同时它们又可以通过抗氧化等生物活性来预防和治疗人体的多种慢性疾病,如癌症、心脑血管疾病和糖尿病等。因此,酚类化合物的组分特征、生物活性及其在葡萄中的合成调控等课题,一直是葡萄和葡萄酒研究领域的热点。

本书分为两篇,第一篇共7章内容,是作者前期的工作积累,研究了不同因素对酿酒葡萄和葡萄酒酚类特征的影响,包括不同种/品种葡萄和葡萄酒中酚类化合物的含量、组成和抗氧化活性的分析,即基因型对葡萄和葡萄酒酚类特征的影响;在我国南方一年两熟栽培体系下,不同生长季节的气候条件对葡萄酚类化合物的特征差异;外源植物激素脱落酸的应用时间和浓度对葡萄和葡萄酒酚类特征的影响,对优质葡萄品种的选育、葡萄栽培管理措施的选择具有重要的参考价值。第二篇共6章内容,是作者目前的工作重心,主要集中在山葡萄花色苷双糖苷上,首先分析了不同山葡萄品种糖基化花色苷(花色苷单糖苷和花色苷双糖苷)的组成差异,然后从花色苷双糖苷合成的关键酶——UDP-葡萄糖:类黄酮5-O-葡萄糖基转移酶(5GT)的基因入手,对山葡萄中5GT亚家族的成员进行克隆和分析,预测基因的功能性,探寻不同山葡萄品种5GT的基因差异与糖基化花色苷组成差异的内在联系,为进一步探寻花色苷双糖苷的合成机制提供基础数据,从而为抑制山葡萄花色苷双糖苷的合成奠定基础,对提高山葡萄酒的品质有重要意义。

本书的相关研究得到了作者主持和参与的现代农业产业技术体系岗位科学家项目“葡萄产业技术体系葡萄分子育种”(nycytx-30-zy-2,2011-2015)、农业部948项目“葡萄品种资源、生产与加工技术引进创新及产业化”(2006-G26)、国家自然科学基金项目“山葡萄及其杂交品种间单、双糖苷花色苷组成差异的机制研究”(31401828)、黑龙江省自然科学基金“山葡萄及其杂交品种间花色苷5-O-葡萄糖基转移酶(5GT)功能性等位基因的筛选”(QC2017024)和黑龙江省高校“青年创新人才”培养计划项目“山葡萄及其杂交品种间糖基化花色苷组成差异的机制研究”(UNPYSCT-2017108)等的支持,并参考了相关国内外文献资料总结而成。本书的出版得到了黑龙江八一农垦大学学术专著论文基金的资助。

本书由黑龙江八一农垦大学朱磊(第二篇第8章至第13章)、臧延青(第一篇第1章至第3章)和汤华成(第一篇第4章至第7章)完成。感谢上海交通大学的卢江、中国农业大学的张雅丽、王军和段长青、黑龙江八一农垦大学的梁英、杨宏志和郭志龙等老师的指导和支持,感谢参与实验和著作整理的李丹丹、刘云清等学生的努力付出。在此一并对给予支持的领导和同行表示感谢!

由于作者学术水平有限,在撰写过程中难免出现疏漏和不妥之处,敬请学术界同仁和读者给予批评指正!

著者

2019年2月

目 录

第一篇 不同因素对葡萄和葡萄酒中酚类特征的影响

第 1 章 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的研究进展	3
1.1 葡萄概述	3
1.2 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的种类和基本结构	7
1.3 葡萄中酚类化合物的生物合成	17
1.4 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的生物活性、构效关系和研究方法	19
1.4.1 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的生物活性	19
1.4.2 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的抗氧化活性及其构效关系	23
1.4.3 抗氧化活性的评价方法	24
1.5 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的萃取和分析方法	28
1.5.1 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的萃取方法	28
1.5.2 葡萄和葡萄酒中酚类化合物的分析方法	30
1.6 葡萄和葡萄酒中酚类特征的影响因素	32
1.6.1 品种对葡萄和葡萄酒中酚类化合物组分特征的影响	32
1.6.2 葡萄果实成熟过程中酚类化合物含量的变化	33
1.6.3 气候因素对葡萄和葡萄酒中酚类化合物组分特征的影响	34
1.6.4 外源脱落酸(ABA)对葡萄和葡萄酒中酚类化合物组分特征的影响	35
参考文献	36
第 2 章 不同种/品种葡萄皮酚类特征的比较分析	54
2.1 材料与方法	55
2.1.1 实验材料	55
2.1.2 试剂与标样	55
2.1.3 仪器与设备	56
2.1.4 酚类化合物的提取方法	57

2.1.5	总酚测定方法	57
2.1.6	抗氧化活性的测定方法	57
2.1.7	酚类化合物的分析方法	58
2.1.8	数据分析	59
2.2	结果与分析	59
2.2.1	不同种/品种葡萄皮的总酚含量和抗氧化活性	59
2.2.2	不同种/品种葡萄皮花色苷的含量和组成	61
2.2.3	不同种/品种葡萄皮黄酮醇的含量和组成	79
2.2.4	不同种/品种葡萄皮黄烷-3-醇的含量和组成	79
2.2.5	不同种/品种葡萄皮非类黄酮酚类化合物的含量和组成	98
2.2.6	主成分分析	101
2.3	讨论	102
2.4	本章结论	103
	参考文献	104
第3章	不同品种葡萄酒酚类特征的比较分析	107
3.1	材料与amp;方法	108
3.1.1	实验材料	108
3.1.2	试剂与标样	108
3.1.3	仪器与设备	109
3.1.4	总酚测定方法	109
3.1.5	抗氧化活性测定方法	110
3.1.6	LC-MS/MS 样品的制备	110
3.1.7	酚类化合物的分析方法	110
3.1.8	数据分析	111
3.2	结果与分析	111
3.2.1	不同品种葡萄酒的总酚含量	111
3.2.2	不同品种葡萄酒花色苷的含量和组成	112
3.2.3	不同品种葡萄酒黄酮醇的含量和组成	119
3.2.4	不同品种葡萄酒黄烷-3-醇的含量和组成	119
3.2.5	不同品种葡萄酒非类黄酮酚类化合物的含量和组成	120
3.2.6	不同品种葡萄酒的抗氧化活性	120
3.3	讨论	121

3.4	本章结论	123
	参考文献	124
第4章	气候对葡萄皮酚类特征的影响	127
4.1	材料与方法	128
4.1.1	实验材料	128
4.1.2	试剂与标样	128
4.1.3	仪器与设备	129
4.1.4	葡萄果实的果重、可溶性固形物和可滴定酸的测定方法	130
4.1.5	酚类化合物的提取方法	130
4.1.6	总酚测定方法	131
4.1.7	抗氧化活性的测定方法	131
4.1.8	酚类化合物的分析方法	131
4.1.9	数据分析	132
4.2	结果与分析	132
4.2.1	气候对葡萄果实基本品质的影响	133
4.2.2	气候对葡萄果实总酚和抗氧化活性的影响	133
4.2.3	气候对葡萄皮花色苷含量和组成的影响	138
4.2.4	气候对葡萄皮黄酮醇含量和组成的影响	149
4.2.5	气候对葡萄皮黄烷-3-醇含量和组成的影响	158
4.2.6	气候对葡萄果皮酚酸和芪类化合物的影响	159
4.3	讨论	160
4.4	本章结论	166
	参考文献	166
第5章	外源脱落酸处理时间对葡萄和葡萄酒酚类特征的影响	169
5.1	材料与方法	170
5.1.1	原料	170
5.1.2	主要试剂	171
5.1.3	主要仪器	171
5.1.4	基本果实品质的测定方法	172
5.1.5	酚类化合物的提取方法	172
5.1.6	酚类化合物的总含量测定方法	172
5.1.7	抗氧化活性测定方法	173

5.1.8	花色苷化合物分析方法	174
5.1.9	数据分析	174
5.2	结果与分析	174
5.2.1	外源 ABA 处理时间对葡萄果实基本品质的影响	174
5.2.2	外源 ABA 处理时间对葡萄果实和葡萄酒酚类总含量和 抗氧化活性的影响	175
5.2.3	外源 ABA 处理时间对葡萄果实花色苷含量和组成的影响	178
5.2.4	外源 ABA 处理时间对葡萄酒花色苷含量和组成的影响	182
5.2.5	酚类含量和抗氧化活性间的相关性分析	186
5.3	讨论	187
5.4	本章结论	189
	参考文献	189
第 6 章	外源脱落酸处理浓度对葡萄酚类特征的影响	193
6.1	材料与方法	193
6.1.1	实验材料	193
6.1.2	试剂与标样	194
6.1.3	仪器与设备	195
6.1.4	葡萄果实的果重、可溶性固形物和可滴定酸的测定方法	196
6.1.5	酚类化合物的提取方法	196
6.1.6	总酚测定方法	196
6.1.7	抗氧化活性的测定方法	197
6.1.8	酚类化合物的分析方法	197
6.1.9	数据分析	198
6.2	结果与分析	198
6.2.1	不同浓度的外源 ABA 对葡萄果实基本品质的影响	198
6.2.2	不同浓度的外源 ABA 对葡萄皮总酚和抗氧化活性的 影响	199
6.2.3	不同浓度的外源 ABA 对葡萄皮花色苷含量和组成的 影响	200
6.2.4	不同浓度的外源 ABA 对葡萄皮黄酮醇的影响	209
6.2.5	不同浓度的外源 ABA 对葡萄皮黄烷-3-醇的影响	213
6.2.6	不同浓度的外源 ABA 对葡萄皮非类黄酮化合物的影响	214

6.3	讨论	214
6.4	本章结论	216
	参考文献	216
第7章	外源脱落酸处理浓度对葡萄酒酚类特征的影响	220
7.1	材料与amp;方法	220
7.1.1	实验材料	220
7.1.2	试剂与标样	221
7.1.3	仪器与设备	222
7.1.4	总酚测定方法	222
7.1.5	抗氧化活性测定方法	222
7.1.6	LC-MS/MS 样品的制备	223
7.1.7	酚类化合物的分析方法	223
7.1.8	数据分析	224
7.2	结果与分析	224
7.2.1	不同浓度的外源 ABA 对葡萄酒总酚和抗氧化活性的影响	224
7.2.2	不同浓度的外源 ABA 对葡萄酒花色苷含量和组成的影响	226
7.2.3	不同浓度的外源 ABA 对葡萄酒黄酮醇含量和组成的影响	233
7.2.4	不同浓度的外源 ABA 对葡萄酒黄烷-3-醇的影响	239
7.2.5	不同浓度的外源 ABA 对葡萄酒酚酸和芪类化合物的影响	240
7.3	讨论	240
7.4	本章结论	241
	参考文献	241
第二篇	山葡萄糖基化花色苷的组成和合成调控	
第8章	葡萄糖基化花色苷的研究进展	247
8.1	葡萄中糖基化花色苷的组成	247
8.2	糖基化花色苷在葡萄酒中的作用	252
8.3	葡萄中糖基化花色苷合成的关键酶及其基因	254

8.3.1	花色素单糖苷合成的关键酶及其基因	254
8.3.2	花色素双糖苷合成的关键酶及其基因	254
8.4	葡萄中糖基化花色素合成的转录调控	257
8.4.1	花色素单糖苷合成的转录调控	257
8.4.2	花色素双糖苷合成的转录调控	260
8.5	结语	260
	参考文献	261
第9章	不同山葡萄品种糖基化花色素的组成	270
9.1	材料与方法	271
9.1.1	试验材料	271
9.1.2	试剂	272
9.1.3	仪器与设备	272
9.1.4	葡萄花色素化合物的提取方法	273
9.1.5	葡萄花色素化合物的定性定量分析方法	273
9.1.6	数据分析	274
9.2	结果与分析	274
9.3	本章结论	283
	参考文献	284
第10章	3个山葡萄品种的UDP-葡萄糖:类黄酮5-O-葡萄糖基转移酶(5GT)等位基因的克隆与分析	286
10.1	材料与方法	288
10.1.1	植物材料	288
10.1.2	试剂药品	289
10.1.3	仪器设备	289
10.1.4	方法	289
10.2	结果与分析	290
10.2.1	5GT等位基因的克隆和序列分析	290
10.2.2	系统进化树的构建	294
10.2.3	亚细胞定位	294
10.2.4	蛋白质结构预测	296
10.3	本章结论	297

参考文献	298
第 11 章 山葡萄及其杂交品种 <i>Cha5GT</i> 等位基因的克隆与分析	303
11.1 材料与方法	303
11.1.1 试验材料	303
11.1.2 酶和生化试剂	304
11.1.3 仪器与设备	305
11.1.4 溶液的配制方法	305
11.1.5 <i>5GT</i> 基因的克隆	307
11.1.6 <i>5GT</i> 基因的分析方法	309
11.2 结果与分析	310
11.2.1 山葡萄及其杂交品种中 gDNA 质量检测	310
11.2.2 山葡萄及其杂交品种 <i>Va5GT</i> 和 <i>Cha5GT</i> 的等位基因的克隆	310
11.2.3 山葡萄及其杂交品种 <i>Va5GT</i> 和 <i>Cha5GT</i> 的等位基因的序列分析	311
11.2.4 山葡萄及其杂交品种 <i>Va5GT</i> 和 <i>Cha5GT</i> 的等位基因的亚细胞定位预测	318
11.2.5 山葡萄及其杂交品种 <i>Va5GT</i> 和 <i>Cha5GT</i> 的等位基因的蛋白质结构预测	319
11.3 山葡萄及其杂交品种 <i>Va5GT</i> 和 <i>Cha5GT</i> 的等位基因的突变特征	321
11.4 本章结论	324
参考文献	324
第 12 章 山葡萄及其杂交品种 <i>Vb5GT3</i> 等位基因的克隆与分析	326
12.1 材料与方法	326
12.1.1 试验材料	326
12.1.2 酶和生化试剂	327
12.1.3 仪器与设备	328
12.1.4 溶液的配制方法	328
12.1.5 <i>5GT</i> 基因的克隆	330
12.1.6 <i>5GT</i> 基因的分析方法	332
12.2 结果与分析	333
12.2.1 山葡萄及其杂交品种 <i>Vb5GT3</i> 的等位基因的克隆	333

800	12.2.2	山葡萄及其杂交品种 <i>Vv5GT3</i> 的等位基因的序列分析	334
802	12.2.3	山葡萄及其杂交品种 <i>Vv5GT3</i> 的等位基因的亚细胞定位	338
803		预测	338
804	12.2.4	山葡萄及其杂交品种 <i>Vv5GT3</i> 的等位基因的蛋白质结构	339
805		预测	339
806	12.3	讨论	342
807	12.3.1	山葡萄及其杂交品种 <i>Vv5GT3</i> 等位基因的突变特征	342
808	12.3.2	花色苷双糖苷比例与 <i>5GT</i> 基因组成的关联	343
809	12.4	本章结论	346
810		参考文献	346
811	第 13 章	山葡萄及其杂交品种其他 <i>5GT</i> 家族基因的克隆与分析	348
812	13.1	材料与amp;方法	348
813	13.1.1	试验材料	348
814	13.1.2	酶和生化试剂	349
815	13.1.3	仪器与设备	349
816	13.1.4	溶液的配制方法	350
817	13.1.5	<i>5GT</i> 基因的克隆	351
818	13.1.6	<i>5GT</i> 基因的分析方法	354
819	13.2	结果与分析	354
820	13.2.1	山葡萄及其杂交品种其他 <i>5GT</i> 亚家族基因的克隆	354
821	13.2.2	山葡萄及其杂交品种其他 <i>5GT</i> 家族基因的序列分析	355
822	13.2.3	山葡萄及其杂交品种其他 <i>5GT</i> 家族基因的亚细胞定位	358
823		预测	358
824	13.2.4	山葡萄及其杂交品种其他 <i>5GT</i> 家族基因的蛋白质结构	360
825		预测	360
826	13.2.5	系统进化树的构建	363
827	13.3	本章结论	364
828		参考文献	365

第 1 章 葡萄和葡萄酒中 酚类化合物的研究进展

酚类化合物是芳香环上连有一个或多个羟基的有机化合物,也是广泛分布于植物的根、茎、叶、种子、浆果及花粉中的一种重要的次生代谢产物(孙建平, 2006)。葡萄中富含酚类化合物,它们对葡萄植株的生长发育起到重要的保护作用,例如,帮助植株抵抗病虫害,赋予葡萄果实色泽和香味,等等。酚类化合物的含量和组成也是决定葡萄和葡萄酒品质的主要因素,同时它们又可通过抗氧化等生物活性来预防和治疗人体的许多慢性疾病,如癌症、心脑血管疾病和糖尿病等。

1.1 葡萄概述

葡萄,又被称为山葫芦,草龙珠,古代被称为蒲陶,是葡萄科葡萄属植物(李盛仙等,2001),通常是一个椭圆形形状,类似于一个长圆形(钟祥等,2000),小枝圆柱形,有纵棱纹,无毛或被稀疏柔毛,叶卵圆形,圆锥花序密集或疏散,基部分枝发达,果实球形或椭圆形,花期4~5月,果期8~9月(李小明等,1999)。葡萄是集食用、药用、加工、观赏、绿化、美化于一体的多功能树种(谷忻等,2010)。葡萄作为一种营养价值极高的水果,在全球享有非常重要的地位(孙欣等,2012),其产量非常之大,约占世界水果总产量的1/4,葡萄品种达8000个以上,中国约有800个,年产量在亿吨以上,有百果之冠的地位(刘平方等,1994),而且其分布范围非常广泛,在热带、温带和寒带地区都可以种植栽培(Alleweldt et al., 1988),其产量和栽培面积稳居世界亚军,仅次于柑橘(孙欣等,2012),但生产上栽培比较优良的品种只有数十个。全国以新疆地区的葡萄品种最多,质量最好,又以该自治区的吐鲁番地区居首,是吐鲁番地区种植业的支柱,负有“新疆葡萄甲天下”之盛名(周伟斩等,1994)。按葡萄口感可分为又甜又脆的红葡萄,清爽可口的马奶葡萄,果粒碎小的索索葡萄,适宜长期贮存的喀什噶尔葡萄和吐鲁番、鄯善等地盛产的无核白葡萄,无核白葡萄长得翠绿晶莹,皮薄无核,甜而清