

葡萄酒缩合单宁测定方法的比较研究

张振文^{1,2}, 宁鹏飞¹, 张军贤¹, 艾丽丽¹, 王丽娜¹, 张小转¹, 惠竹梅^{1,2,*}

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100;

2.陕西省葡萄与葡萄酒工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 目的: 对比葡萄酒中测定缩合单宁的甲基纤维素沉淀法(MCP法)和蛋白质沉淀法(A-H法), 以寻找一种快速准确的测定方法。方法: 采用两种方法测定不同类型、产地、品种葡萄酒的缩合单宁, 考察其测定值和变异系数; 采用液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS法)测定缩合单宁含量, 采用吸光度法(A_{280})测定总酚含量, 并与上述两种方法的结果对照。结果: (1)MCP法和A-H法均只适用于红葡萄酒缩合单宁测定, MCP法精度略高但差异不显著。(2)MCP法测定值平均为A-H法的9.13倍, 但二者存在较好的线性关系($R^2=0.6029$)。MCP法与HPLC-MS法线性关系良好($R^2=0.7733$), A-H法较差($R^2=0.4843$)。(3)MCP法与总酚存在良好的线性关系($R^2=0.9095$), A-H法与总酚无显著线性关系($R^2=0.2872$)。结论: 两种方法均能反映红葡萄酒缩合单宁含量, 但MCP法与HPLC-MS法、总酚具有更高的一致性, 如采用 A_{280} 测定总酚, 应采用MCP法测定缩合单宁。

关键词: 葡萄酒; 缩合单宁; MCP法; A-H法; HPLC-MS; 总酚

Comparison of Two Methods for the Determination of Condensed Tannins in Wine

ZHANG Zhen-wen^{1,2}, NING Peng-fei¹, ZHANG Jun-xian¹, AI Li-li¹,

WANG Li-na¹, ZHANG Xiao-zhuan¹, XI Zhu-mei^{1,2,*}

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

2. Shaanxi Engineering Research Center for Viti-Viniculture, Yangling 712100, China)

Abstract: Objective: Two most common methods for the determination of condensed tannins in wine: methylcellulose precipitation (MCP) assay and Adams-Harbertson (A-H) protein precipitation assay were compared with each other to find a rapid and accurate method. Methods: Condensed tannins in 32 red and 12 white wine samples from different varieties and different growing regions were determined separately by MCP assay and A-H assay to obtain average condensed tannin content and coefficient of variation. Determination of condensed tannin content in these samples was also carried out using HPLC-MS. In addition, total phenolic content (expressed as absorbance at 280 nm) was spectrometrically determined. Results: Both assays were suitable for the determination of condensed tannins in red wine rather than white wine. The MCP assay, although accurate, did not show a significant variation. The average condensed tannin content measured by the MCP assay was 9.13 times higher than that measured by the A-H assay, and a good linear correlation was observed between both assays ($R^2 = 0.6029$, $P < 0.01$). Moreover, the MCP assay showed a good linear correlation with HPLC-MS ($R^2 = 0.7733$, $P < 0.01$) but there was no significant correlation between the A-H assay and HPLC-MS ($R^2 = 0.4843$, $P < 0.01$). A significant correlation between the content of condensed tannins determined by the MCP assay and the content of total phenols was observed ($R^2 = 0.9095$, $P < 0.01$), but the content of condensed tannins determined by the A-H assay and the content of total phenols revealed a poor correlation with each other ($R^2 = 0.2872$, $P < 0.01$). Conclusion: Both assays can be used to determine condensed tannins in red wine. However, the MCP assay is a better method for the determination of condensed tannins in case that the content of total phenols is determined based on absorbance at 280 nm.

Key words: wine; condensed tannins; MCP assay; A-H assay; HPLC-MS; total phenols

中图分类号: TS261.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)20-0233-05

收稿日期: 2011-09-11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-30-zp-9)

作者简介: 张振文(1960—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为葡萄与葡萄酒。E-mail: zhangzhw60@nwsuaf.edu.cn

*通信作者: 惠竹梅(1969—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为葡萄与葡萄酒。Email: xizhumei@nwsuaf.edu.cn

单宁是葡萄酒中一类重要的多酚物质,它可产生收敛性、稳定色素、提高葡萄酒结构感和防止不良风味,对葡萄酒尤其是红葡萄酒质量有重要意义^[1];此外单宁还具有抗氧化性等生物活性^[2]。葡萄酒中单宁主要来源于葡萄果实,称为缩合单宁;少部分来源于橡木桶陈酿,称为水解单宁^[3]。缩合单宁又称原花色素,是亲核的黄烷-3-醇和亲电的黄烷-3,4-二醇类物质,通过C₄—C₈或C₄—C₆共价键连接而成的缩合物(B型),或在此基础上通过额外的C₂—O—C₇连接而成(A型);其中黄烷-3-醇由于B环上羟基数目不同和C环上3-羟基结构不同,可分为儿茶素、表儿茶素、阿福豆素、表桔儿茶素和表儿茶素没食子酸酯等,黄烷-3,4-二醇主要有花白素及其衍生物等^[4]。葡萄中缩合单宁主要存在于果皮、果籽和果梗中^[5-6],在发酵过程中通过浸渍进入葡萄酒中。

目前,缩合单宁测定方法主要有色谱法和分光光度计法^[7-8]。色谱法包括液相色谱(liquid chromatography, LC)、气相色谱(gas chromatography, GC)、凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)等^[7-8],这类方法精度高,但价格昂贵,耗时费力。分光光度计法精度略低但简便易行,包括丁醇-HCl法、福林-丹尼斯法、普鲁士蓝法、香兰素法、4-二甲氨基肉桂醛法等^[9]。近年来又出现了甲基纤维素法(methylcellulose precipitation tannin assay, MCP法)和蛋白质沉淀法(Adams-Harbertson tannin assay, A-H法)。蛋白质沉淀法最早出现于20世纪70年代^[10],经Harbertson等^[11]改进后广泛应用于葡萄与葡萄酒上;甲基纤维素法在2006年由Sarneckis等^[12]提出,后经Mercurio等^[13]改进,应用也较为广泛。

目前,葡萄酒中MCP法和A-H法的对比在国外研究较少,国内尚属空白;且由于具体方法不同,不同实验结果间差异较大^[14-15],有待进一步研究。因此本实验采用MCP法和A-H法测定不同类型、品种、产

地的葡萄酒缩合单宁含量,对比结果间的差异与联系;采用液相色谱-质谱联用(high performance liquid chromatography-mass spectrophotometry, HPLC)法测定缩合单宁含量,采用吸光度法(A₂₈₀)测定总酚含量,与上述两种方法的结果对照。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

酒样共44个,其中干红葡萄酒32个,干白12个;品种有赤霞珠、蛇龙珠、品丽珠、梅鹿辄、西拉、霞多丽、维欧尼等,产地包括河北沙城、昌黎、宁夏、陕西、山东烟台等。酒样均为2010年采用传统工艺酿造^[16],陈酿6个月测定,发酵及陈酿期间未接触橡木桶,故所含单宁均为缩合单宁。

(+)-儿茶素(色谱纯)、甲基纤维素、牛血清蛋白(BSA) 美国Sigma公司;其他试剂均为分析纯 天津博迪化学试剂公司。

Agilent 1200系列LC/MSD离子阱液相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;UV-1800紫外-可见分光光度计 日本岛津公司。

1.2 方法

所需试剂及配制方法见表1。

A-H法:采用Harbertson等^[11]的方法,结果以儿茶素表示;MCP法:采用Mercurio等^[13]的方法,结果以儿茶素表示;HPLC-MS法:采用Agilent 1200系列LC/MSD离子阱液相色谱-质谱联用仪进行标准物质及酒样的LC-UV-MS分析,色谱条件和MSD参数均按照姜寿梅^[17]的方法进行。计算黄烷-3-醇类单体酚的总量,结果以儿茶素表示^[14]。

总酚含量测定:采用Somers等^[18]的方法,结果以儿茶素表示。

1.3 数据处理

使用Excel 2003和SPSS 18.0处理数据。

表1 试剂配制方法
Table 1 Preparation of reagents for the determination of total phenols and condensed tannins in wine

试剂名称	所需药品体积(质量)	定容体积及最终pH值
缓冲液A(含0.2mol/L乙酸, 0.17mol/L NaCl)	冰醋酸6.0mL, NaCl 4.79g	蒸馏水定容到500mL, 调整pH值
缓冲液B(含12%(V/V)乙醇, 5g/L酒石酸氢钾)	乙醇60mL, 酒石酸氢钾2.5g	蒸馏水定容到500mL, 调整pH值
缓冲液C(含5%(V/V)三乙醇胺, 10g/100mL SDS)	三乙醇胺25mL, SDS 50g	蒸馏水定容到500mL, 调整pH值
FeCl ₃ 溶液(含0.01mol/L HCl, 0.01mol/L FeCl ₃)	FeCl ₃ ·6H ₂ O 0.27g, 12.1mol/L HCl 80μL	蒸馏水定容到100mL
1g/L儿茶素溶液	(+)-儿茶素50mg, 无水乙醇5.0mL	蒸馏水定容到50mL
1g/L BSA溶液	BSA 50mg	Buffer A定容到50mL
0.04 g/L甲基纤维素溶液	甲基纤维素0.04g	按照Sarneckis等 ^[12] 的方法配制, 最终定容到1000mL

2 结果与分析

2.1 不同测定方法精度及适用范围比较

表2 红葡萄酒缩合单宁及总酚含量(n=3)

Table 2 Contents of total phenols and condensed tannins in red wine (n=3)

酒样(品种及产地)	MCP法缩合单宁含量		A-H法缩合单宁含量		HPLC-MS法缩合单宁含量/(mg/L)	总酚含量/(mg/L)
	均值/(mg/L)	变异系数/%	均值/(mg/L)	变异系数/%		
酒样1(赤霞珠 宁夏)	812.90	1.1	93.18	2.1	79.80	2157.26±17.11
酒样2(赤霞珠 宁夏)	1022.58	4.0	260.51	1.4	149.60	2645.16±102.64
酒样3(赤霞珠 宁夏)	1506.45	7.0	268.06	3.6	168.70	3502.02±151.12
酒样4(梅鹿辄 宁夏)	416.13	3.3	41.63	23	52.60	1941.53±111.20
酒样5(梅鹿辄 宁夏)	400.00	9.1	27.27	7.3	63.40	1550.40±14.26
酒样6(梅鹿辄 宁夏)	812.90	7.8	7.3	5.5	60.70	2483.87±74.13
酒样7(西拉 昌黎)	677.42	5.4	168.11	7.3	62.78	2197.58±2.1
酒样8(西拉 昌黎)	464.52	19.6	78.25	1.0	49.61	2237.90±1.0
酒样9(赤霞珠 昌黎)	667.74	0.7	145.30	1.6	126.39	2302.42±2.0
酒样10(赤霞珠 昌黎)	438.71	27.0	—	—	101.60	1866.94±2.1
酒样11(赤霞珠 昌黎)	506.45	13.5	84.45	9.4	45.72	1812.50±2.0
酒样12(赤霞珠 昌黎)	448.39	13.2	75.72	8.9	64.17	1725.81±3.0
酒样13(赤霞珠 昌黎)	725.81	1.9	94.87	0.4	76.11	2086.69±6.4
酒样14(品丽珠 昌黎)	193.55	23.6	—	—	85.89	1239.92±3.9
酒样15(梅鹿辄 昌黎)	469.77	1.8	50.93	3.9	95.95	1933.47±2.8
酒样16(蛇龙珠 陕西)	558.06	9.0	72.06	3.3	107.75	2159.27±65.58
酒样17(蛇龙珠 陕西)	925.81	8.4	198.82	1.2	123.15	2417.34±76.98
酒样18(蛇龙珠 陕西)	758.06	1.8	160.51	2.5	113.36	2108.87±17.11
酒样19(蛇龙珠 陕西)	1664.52	1.6	588.62	0.4	156.18	2943.55±5.70
酒样20(西拉 沙城)	612.90	0	—	—	51.71	2254.03±51.32
酒样21(西拉 沙城)	987.10	3.7	32.00	27.4	65.33	2756.05±71.28
酒样22(赤霞珠 沙城)	1635.48	1.4	303.55	8.7	111.23	3905.24±42.77
酒样23(赤霞珠 沙城)	1732.26	2.4	334.54	7.6	139.08	4104.84±125.45
酒样24(梅鹿辄 沙城)	1141.94	8.0	107.49	14.1	86.67	2752.02±65.58
酒样25(梅鹿辄 沙城)	1670.97	2.2	348.06	15.1	154.97	3860.89±145.41
酒样26(马瑟兰 沙城)	1309.68	0	74.82	7.5	135.77	4262.10±102.64
酒样27(马瑟兰 沙城)	1351.61	3.7	131.15	0.6	136.34	4282.26±102.64
酒样28(蛇龙珠 烟台)	441.94	1.0	—	—	25.20	1614.92±14.26
酒样29(蛇龙珠 烟台)	400.00	13.7	—	—	23.04	1584.68±22.81
酒样30(蛇龙珠 烟台)	367.74	5.0	—	—	16.89	1544.35±28.51
酒样31(蛇龙珠 烟台)	470.97	1.9	—	—	29.67	1471.77±28.51
酒样32(蛇龙珠 烟台)	500.00	2.7	—	—	38.70	1631.05±37.07

注：“—”表示未检出。

表3 白葡萄酒缩合单宁及总酚含量(n=3)

Table 3 Contents of total phenols and condensed tannins in white wine (n=3)

酒样(品种及产地)	MCP法缩合单宁含量		A-H法缩合单宁含量		HPLC-MS法缩合单宁含量/(mg/L)	总酚含量/(mg/L)
	均值/(mg/L)	变异系数/%	均值/(mg/L)	变异系数/%		
酒样33(霞多丽 宁夏)	19.35	47.1	—	—	5.30	409.27±10.83
酒样34(霞多丽 宁夏)	18.06	80.8	—	—	3.40	432.26±10.26
酒样35(霞多丽 宁夏)	13.55	87.5	—	—	3.00	448.79±17.68
酒样36(雷司令 沙城)	17.74	90.0	—	—	3.78	621.37±0.57
酒样37(霞多丽 沙城)	16.13	73.5	—	—	4.97	591.53±8.55
酒样38(维欧尼 沙城)	10.32	123.7	—	—	5.93	478.23±6.84
酒样39(维欧尼 沙城)	24.19	17.0	—	—	8.05	418.95±9.69
酒样40(霞多丽 烟台)	12.90	42.4	—	—	1.66	377.02±11.98
酒样41(霞多丽 烟台)	19.35	47.1	—	—	3.02	380.65±7.98
酒样42(霞多丽 烟台)	21.29	12.9	—	—	1.36	360.08±2.85
酒样43(霞多丽 烟台)	27.74	3.3	—	—	2.38	361.29±5.70
酒样44(霞多丽 烟台)	17.42	15.7	—	—	0.82	304.44±2.85

如表2、3所示, MCP法对所有酒样均能测定, 但白葡萄酒测定误差较大, 平均变异系数为53.42%, 而红葡萄酒为6.42%, 二者差异极显著($P<0.01$)。按Harbertson

等^[11]确定的酒样及试剂添加量, A-H法对于干白及部分缩合单宁含量较低的干红均无法测定, 仅适用于含量较高的红葡萄酒。所测24个干红的平均变异系数为6.83%,

比MCP法略高,但差异不显著。二者变异系数分布情况基本一致(如图1所示),说明两种方法的精度无显著性差异。总酚测定平均变异系数为2.33%,与MCP法差异极显著($P<0.01$)。说明MCP法所产生的误差,一部分在吸光度测定过程中产生,一部分在沉淀缩合单宁时产生。

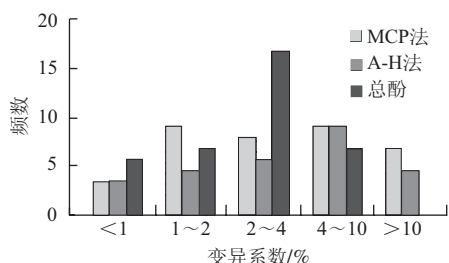


图1 总酚和不同缩合单宁测定方法变异系数分布

Fig.1 Coefficient of variation distribution of total phenol assay and condensed tannin assay

2.2 不同缩合单宁测定方法结果间关系

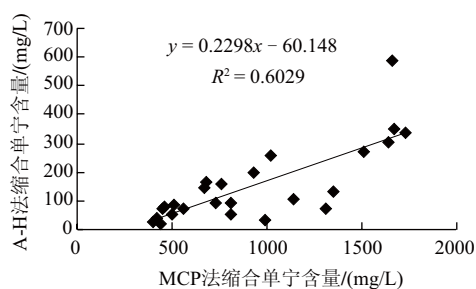


图2 红葡萄酒MCP法与A-H法测定结果的线性关系

Fig.2 Linear regression analysis of condensed tannin content in red wine determined by the MCP assay and the A-H assay

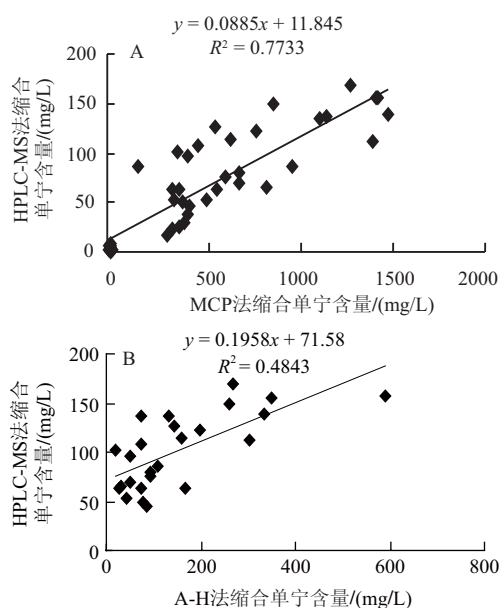


图3 MCP(A)、A-H法(B)测定结果与HPLC-MS法结果的线性关系

Fig.3 Linear regression analysis of condensed tannin content in wine determined by the MCP assay, the A-H assay and HPLC-MS

在MCP法和A-H法均适用的24个酒样中,二者测定结果呈现出极显著相关性($P<0.01$)。如图2所示,线性拟合后表现出较好的线性关系($R^2=0.6029$)。MCP法和A-H法测定值差异较大,线性方程斜率为0.2298,即MCP法是A-H法测定值的4.35倍;实际测定值MCP法平均为A-H法的9.13倍。

对44个酒样MCP法和HPLC-MS法测定值进行相关性分析,结果表明二者存在极显著相关性($P<0.01$)。对二者进行线性拟合,发现存在良好的线性关系($R^2=0.7733$),而A-H法与HPLC-MS法测定值也存在极显著相关性($P<0.01$),但二者线性关系较差($R^2=0.4843$)(图3)。说明与A-H法相比,MCP法与HPLC-MS法具有更高的一致性。

2.3 两种方法测定结果与总酚间关系

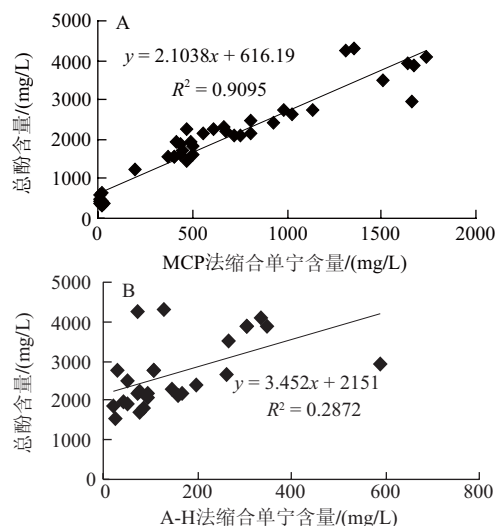


图4 MCP(A)、A-H法(B)测定结果与总酚的线性关系

Fig.4 Linear regression analysis of total phenolic content and condensed tannin content determined by the MCP assay and the A-H assay

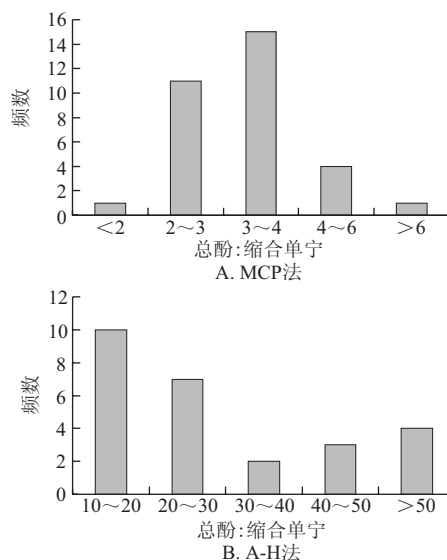


图5 红葡萄酒总酚与缩合单宁比值的数值分布

Fig.5 Distribution of total phenols/condensed tannins ratio in red wine determined by the MCP assay and the A-H assay

如图4所示, MCP法测定值与总酚含量极显著正相关($P<0.01$), 表现出良好的线性关系($R^2=0.9095$); 而A-H法与总酚含量也呈现极显著正相关($P<0.01$), 但二者无显著线性关系($R^2=0.2872$)。这说明两种方法测定值都呈现出随总酚增加的趋势, 但MCP法与总酚关系更为密切。总酚与MCP法测定值的比值相对恒定, 这一现象在干红中尤为明显(图5), 所有酒样总酚与缩合单宁含量的比值中, 81.25%的频数位于2~4之间, 平均为3.35, 说明MCP法缩合单宁约占总酚含量的25%~50%。总酚与A-H法测定值的比值差异较大, 说明二者无固定关系。

3 讨论

作为安全无毒的缩合单宁测定方法, MCP和A-H法均可分为两个部分, 即沉淀缩合单宁与进行检测; 但二者采用的沉淀剂和测定方法均不同。MCP法采用甲基纤维素沉淀缩合单宁, A-H法采用蛋白质; MCP法测定基于酚类物质在280nm有最大吸收值, A-H法根据 FeCl_3 与所沉淀缩合单宁发生显色反应^[11-12]。蛋白质与缩合单宁结合受pH、离子浓度、温度、酒精浓度等影响^[19-21], 甲基纤维素受外界影响较小^[12]; 且MCP法属于直接测定, A-H法属于间接测定, 因此一般认为MCP法具有较高的精度。本实验MCP法变异系数较小, 与上述说法一致。

不同研究结果MCP和A-H法线性关系差异较大, Seddon等^[14]发现两种方法无显著线性关系($R^2=0.41$), Mercurio等^[15]发现线性关系良好($R^2=0.80$), 本实验结果介于二者之间($R^2=0.6029$)。葡萄酒中缩合单宁组成十分复杂, 不同酒样中缩合单宁种类及含量存在差异, 其化学性质及与甲基纤维素、蛋白质反应能力不一, 这可能导致了研究结果的不一致^[8,22-24]。

MCP和A-H法测定结果在数值上存在差异, 有研究表明MCP法测定值平均是A-H法的6.7倍, 与本实验类似; 本实验两种方法测定结果数值范围也与前人研究^[15]基本一致。这种差异可能是由于甲基纤维素和蛋白质与酚类物质结合能力以及检测方法不同引起的。

Seddon等^[14]研究表明葡萄中A-H与HPLC法测定值线性关系较好($R^2=0.6155$); MCP与HPLC法测定值线性关系较差($R^2=0.2517$)。Kennedy等^[25]研究发现A-H与HPLC法测定值线性关系良好($R^2=0.91$), 本实验与上述结果存在差异, MCP与HPLC-MS法测定值线性关系良好而A-H法较差。这可能与样品及HPLC方法不同有关。本实验HPLC-MS法在285nm波长处测定单体酚含量, 与MCP法测定波长近似, 因此二者线性关系良好。MCP法测定值与总酚线性关系较A-H法好, 可能也是由于相同测定波长及标准曲线的原因。

4 结论

本实验通过对不同酒样采用A-H法和MCP法测定缩合单宁含量, 并与HPLC-MS法和总酚含量对比, 结果表明两种方法都能反应红葡萄酒缩合单宁含量, 但均不

适用于含量偏低的葡萄酒, MCP法精度略高但差异不显著; MCP法与HPLC-MS法、总酚具有更高的一致性, 如果采用 A_{280} 测定总酚, 应尽量采用MCP法测定缩合单宁。

参考文献:

- [1] JACKSON R. Wine science[M]. 3rd ed. Salt Lake City: Academic Press, 2008: 281.
- [2] TEBIB K, ROUANET J, BESAYÇON P. Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol-vitamin E-deficient diet[J]. Food Chemistry, 1997, 59(1): 135-141.
- [3] 李华, 王华, 袁春龙, 等. 葡萄酒化学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 114-116.
- [4] 曹鹏, 段长青. 葡萄果实和葡萄酒中缩合单宁的研究进展[J]. 农业工程学报, 2004, 20(z1): 5-12.
- [5] PRIEUR, C, RIGAUD J, CHEYNIER V, et al. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds[J]. Phytochemistry, 1994, 36(3): 781-784.
- [6] SOUQUET J-M, CHEYNIER V, BROSSAUD F, et al. Polymeric proanthocyanidins from grape skins[J]. Phytochemistry, 1996, 43(2): 509-512.
- [7] NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1054(1/2): 95-111.
- [8] HÜMMER W, SCHREIER P. Analysis of proanthocyanidins[J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(12): 1381-1398.
- [9] HERDERICH M, SMITH P. Analysis of grape and wine tannins: methods, applications and challenges[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005, 11(2): 205-214.
- [10] MAKAR H. Protein precipitation methods for quantitation of tannins: a review[J]. J Agric Food Chem, 1989, 37(4): 1197-1202.
- [11] HARBERTSON J F, KENNEDY J A, ADAMS D. Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot noir berries during ripening[J]. Am J Enol Vitic, 2002, 53(1): 54-59.
- [12] SARNECKI C J, DAMBERGS R G, JONES P, et al. Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2006, 12 (1): 39-49.
- [13] MERCURIO M D, DAMBERGS R G, HERDERICH M J, et al. High throughput analysis of red wine and grape phenolics adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified Somers color assay to a rapid 96 well plate format[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(12): 4651-4657.
- [14] SEDDON T, DOWNEY M. Comparison of analytical methods for the determination of condensed tannins in grape skin[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2008, 14(1): 54-61.
- [15] MERCURIO M D, SMITH P A. Tannin quantification in red grapes and wine: comparison of polysaccharide- and protein-based tannin precipitation techniques and their ability to model wine astringency[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(14): 5528-5537.
- [16] 李华. 小容器酿造葡萄酒[J]. 酿酒科技, 2002(4): 70-74.
- [17] 姜寿梅. 西拉葡萄成熟及葡萄酒发酵过程中酚类物质研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2008.
- [18] SOMERST C, ZIEMELIS G. Spectral evaluation of total phenolic components in Vitis vinifera: grapes and wines[J]. J Sci Food Agric, 1985, 36(12): 1275-1284.
- [19] NACZK M, OICKLE D, PINK D, et al. Protein precipitating capacity of crude canola tannins: effect of pH, tannin, and protein concentrations[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44(8): 2144-2148.
- [20] SERAFINI M, MAIANI G, FERRO-LUZZI A. Effect of ethanol on red wine tannin-protein (BSA) interactions[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(8): 3148-3151.
- [21] JOSCELYNE V. Consequences of extended maceration for red wine colour and phenolics[D]. Adelaide: The University of Adelaide, 2009.
- [22] BARTOLOMÉ B, ESTRELLA I, HERNÁNDEZ M. Interaction of low molecular weight phenolics with proteins (BSA)[J]. Food chemistry and toxicology, 2000, 65(4): 617-621.
- [23] RIOU V, VERNHET A, DOCO T, et al. Aggregation of grape seed tannins in model wine-effect of wine polysaccharides[J]. Food hydrocolloids, 2002, 16(1): 17-23.
- [24] HARBERTSON J, PICCIOTTO E, ADAMS D. Measurement of polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching[J]. Am J Enol Vitic, 2003, 54(4): 301-306.
- [25] KENNEDY J, FERRIER J, HARBERTSON J, et al. Analysis of tannins in red wine using multiple methods: correlation with perceived astringency[J]. Am J Enol Vitic, 2006, 57(4): 481-485.