

行间播种紫花苜蓿对赤霞珠葡萄果实及葡萄酒含氮化合物的影响

惠竹梅, 李 华, 刘延琳, 任玉巧

(西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 研究了赤霞珠葡萄园行间播种紫花苜蓿对葡萄果实与葡萄酒总氮、游离氨基酸、蛋白质、Vc 含量及葡萄理化指标等的影响。结果表明,与清耕相比,行间播种紫花苜蓿使葡萄与葡萄酒中总氮含量降低,葡萄果皮和葡萄酒中氨基酸总含量降低,而葡萄汁中氨基酸总含量升高;行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)葡萄汁、葡萄果皮中均以脯氨酸含量最高,占氨基酸总含量的 32.66%~35.22%,其次是精氨酸,占氨基酸总含量的 23.48%~27.17%,葡萄酒中也均以脯氨酸含量最高,分别占氨基酸总含量的 82.78%及 86.81%;行间播种紫花苜蓿使葡萄汁中 Vc 含量升高,葡萄酒中总酸含量极显著降低,蛋白质含量显著降低,花色苷含量及 pH 升高。

[关键词] 行间播种紫花苜蓿;清耕;葡萄;葡萄酒;含氮化合物

[中图分类号] S663.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)04-0129-05

Effect of vineyard grass covering with alfalfa (*Medicago sativa*) on nitrogenous compound of grape berry and wine in grape cultivar cabernet sauvignon

XI Zhu-mei, LI Hua, LIU Yan-lin, Ren Yu-qiao

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

Abstract: The effects of vineyard grass covering with alfalfa (*Medicago sativa*) on total N, free amino acid composition, protein and Vc contents of grape berry and wine in grape cultivar Cabernet Sauvignon, were studied in comparison with clean tillage. The results showed as follows; the total N content of grape berry and wine decreased, total amino acid contents of grape skin and wine decreased, while total amino acid content of grape juice increased. Proline was the most abundant amino acid in grape juice and skin under two treatments, which accounts for 32.66%—35.22% of the total amino acid content, next in abundance was arginine, which accounts for 23.48%—27.17% of the total amino acid content; proline was also the most abundant amino acid in wine under two treatments, which accounts for 82.78% and 86.81% of the total amino acid content respectively. The total acid and the content of protein in wine decreased remarkably, while the Vc content of grape berry and pH, anthocyan of wine increased.

Key words: inter-row grass covering with alfalfa; clean tillage; grape berry; wine; nitrogenous compound

葡萄与葡萄酒中的总氮包括无机氮和有机氮。无机氮主要包括铵态氮,有机氮主要包括氨基酸、多

[收稿日期] 2006-03-10

[基金项目] 农业部重点推广项目“黄土高原保护性耕作技术研究”;西北农林科技大学青年科研专项基金项目(06ZR048)

[作者简介] 惠竹梅(1969—),女,陕西耀县人,副教授,在职博士,主要从事葡萄与葡萄酒研究。E-mail: xzm0209@163.com

[通讯作者] 李 华(1959—),男,四川重庆人,教授,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒研究。E-mail: putj@263.net

肽和蛋白质^[1]。葡萄与葡萄酒中的氮化物对葡萄酒成分和质量有很重要的作用^[2]。Koki 等^[3]报道,葡萄汁和葡萄果皮中氮化物占葡萄浆果总氮含量的 25%,在葡萄汁中主要是以游离氨基酸的形式存在。葡萄汁中的氨基酸是酒精酵母的主要营养来源,可保证酒精发酵的迅速触发,同时有利于葡萄酒香气的形成^[1-4]。氨基酸直接影响葡萄酒的口感,并与乙醇、有机酸和糖协同构成了红葡萄酒的特有风味,其中游离氨基酸含量及种类是影响葡萄酒口感非常重要的因素^[1]。葡萄酒中的氨基酸是识别葡萄酒的重要指标,其含量大小不仅体现了葡萄酒的发酵工艺特征,而且与葡萄品种、产地、年份、酒精发酵条件、苹果酸-乳酸发酵、酿造工艺、陈酿时间、施肥、气候条件、单位面积产量等密切相关^[4-7]。国外有关葡萄园生草的研究报道较多,大多数研究认为生草有利于葡萄及葡萄酒质量的提高^[8-9],而国内关于生草对葡萄与葡萄酒影响的研究较少,有关生草对葡萄与葡萄酒中氨基酸成分影响的研究尚未见报道。本研究对生草条件下葡萄与葡萄酒中游离氨基酸、总氮等成分进行了测定和分析,旨在探讨行间生草对葡萄与葡萄酒品质的影响机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为欧亚种 (*V. vinifera* L.) 酿酒葡萄品种‘赤霞珠’ (Cabernet Sauvignon), 于 2003 年 3 月定植, 南北行向, 株行距为 1 m × 1.5 m, 单干双臂整形, 2005 年春季人工播种紫花苜蓿 (*Alfalfa*, *Medicago sativa*), 品种为阿尔冈金 (*Algunjin*), 产地为加拿大。

1.2 试验地概况

试验园位于北纬 33°17', 东经 107°04', 海拔高度 514 m, 年日照时数 2 163.8 h, 无霜期 220 d, 年平均降水量 540 mm。试验地土壤为土娄土, 种草前 0~60 cm 土层土壤全氮为 0.82 g/kg, 全磷为 0.72 g/kg, 全钾为 9.14 g/kg, 碱解氮为 44.5 mg/kg, 速效磷为 7.8 mg/kg, 速效钾为 120.4 mg/kg, 有机质为 11.13 g/kg, pH 值为 8.34, 土壤容重为 1.45 g/cm³。

1.3 试验设计

试验于 2005 年在陕西杨凌西北农林科技大学葡萄酒学院葡萄试验园进行。试验设行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)2 个处理。生草区采用行间生草, 行内清耕, 草带宽 1.0 m。每处理分 3 个小区,

小区面积为 351 m², 共 234 株葡萄。

1.4 试验方法

1.4.1 葡萄汁的制备及葡萄酒的酿造 2005-09-13 采收葡萄果实, 迅速通过冷处理将果实温度降到 2 °C, 按照干红葡萄酒小容器酿造规范进行酿酒试验^[10], 每处理 20 L, 浸渍时间 4~5 d, 发酵温度控制在 20~25 °C。

葡萄果实除梗破碎后立即分别取均匀果汁及果皮(剔除果皮上附着的果肉), 测定游离氨基酸、总氮及 Vc 含量。

酒精发酵结束后倒灌, 在 4 °C 冷库中稳定 1 个月, 后取样测定葡萄酒中游离氨基酸、总氮、Vc 含量以及残糖、总酸、挥发酸、蛋白质含量、酒精度、pH 和花色素苷等理化指标。

1.4.2 测定方法 游离氨基酸含量的测定: 用美国 Beckman 公司 121MB 型氨基酸分析仪, 参照文献^[11]的方法测定。

Vc 含量的测定: 采用荧光法, 用日本日立公司 850 型荧光分光光度计, 参照 GB 12392-90 进行。

总氮含量的测定: 采用定氮法, 用日本 MRK 公司 VS-KT-P 型凯氏定氮分析仪, 参照文献^[11]的方法测定。

葡萄酒中残糖、总酸、挥发酸、蛋白质含量、酒精度、pH 和花色素苷等理化指标测定参照文献^[12]的方法进行。

1.5 数据处理

试验数据采用 DPS7.55 数据分析软件进行统计分析, 并用邓肯法进行多重比较, 文中分析数据为 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 行间播种紫花苜蓿对葡萄果实中氨基酸含量的影响

由表 1 可以看出, 行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)处理的葡萄汁中均含有 15 种氨基酸; 行间播种紫花苜蓿的葡萄汁中氨基酸总含量和必需氨基酸含量均高于清耕; 除蛋氨酸、精氨酸外, 行间播种紫花苜蓿的葡萄汁中其他 13 种氨基酸含量均较清耕有不同程度的升高。

行间播种紫花苜蓿的葡萄果皮中含有 16 种氨基酸, 较清耕(对照)增加了胱氨酸, 除蛋氨酸、赖氨酸和组氨酸外, 行间播种紫花苜蓿的葡萄果皮中其他 13 种氨基酸含量以及氨基酸总含量、必需氨基酸含量均低于清耕(对照)。

行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)葡萄汁和葡萄果皮中均以脯氨酸含量最高,占氨基酸总含量的 32.66%~35.22%,其次是精氨酸,占氨基酸总含量的 23.48%~27.17%。

表 1 行间播种紫花苜蓿对葡萄果皮和果汁中氨基酸含量的影响

Table 1 Free amino acid content of the grape skin and grape juice under grass covering with alfalfa in vineyard

氨基酸 Amino acid composition	清耕 Clean tillage(control)		紫花苜蓿 Alfalfa	
	葡萄汁/(mg·L ⁻¹) Grape juice	葡萄果皮/(mg·kg ⁻¹) Grape skin	葡萄汁/(mg·L ⁻¹) Grape juice	葡萄果皮/(mg·kg ⁻¹) Grape skin
天冬氨酸 Asp.	74.03	66.77	91.60	58.74
苏氨酸 Thr. *	—	—	—	—
丝氨酸 Ser.	238.20	145.10	277.20	102.30
谷氨酸 Glu.	68.59	27.36	85.89	17.13
脯氨酸 Pro.	611.60	703.10	732.50	578.90
甘氨酸 Gly.	7.14	5.65	9.03	3.46
丙氨酸 Ala.	161.00	138.60	191.30	90.63
胱氨酸 Cys.	—	—	—	13.03
缬氨酸 Val. *	29.64	78.91	35.61	33.22
蛋氨酸 Met. *	9.89	15.52	5.61	16.64
异亮氨酸 Ieu. *	19.53	21.91	23.67	15.52
亮氨酸 Leu. *	27.50	36.19	31.68	25.06
酪氨酸 Tyr.	14.05	95.94	17.28	79.96
苯丙氨酸 Phe. *	13.31	44.92	20.52	37.96
赖氨酸 Lys. *	14.17	200.40	25.21	223.30
组氨酸 His.	31.44	13.40	41.32	16.60
精氨酸 Arg.	492.90	548.70	491.10	402.70
氨基酸总含量 Total amino acid contents	1 813.00	2 153.00	2 080.00	1 715.00
必需氨基酸含量 Total essential amino acid contents	114.04	397.85	142.30	351.70

注:“—”未检出; * 表示必需氨基酸。表 2 同。

Note: “—”. Not measured; * essential amino acid. The same as table 2.

表 2 行间播种紫花苜蓿对葡萄酒中氨基酸含量的影响
Table 2 Effect of grass covering with alfalfa in vineyard on amino acid composition of wine mg/L

氨基酸 Amino acid	清耕 Clean tillage (control)	紫花苜蓿 Alfalfa
天冬氨酸 Asp.	14.00	9.80
苏氨酸 Thr. *	4.00	3.30
丝氨酸 Ser.	5.50	6.70
谷氨酸 Glu.	5.50	6.20
脯氨酸 Pro.	322.90	329.60
甘氨酸 Gly.	2.40	2.90
丙氨酸 Ala.	9.90	9.90
胱氨酸 Cys.	1.60	0.80
缬氨酸 Val. *	1.60	0.90
蛋氨酸 Met. *	2.80	1.00
异亮氨酸 Ieu. *	—	3.00
亮氨酸 Leu. *	1.70	—
酪氨酸 Tyr.	1.40	0.70
苯丙氨酸 Phe. *	0.80	0.20
赖氨酸 Lys. *	3.00	2.70
组氨酸 His.	1.20	1.00
精氨酸 Arg.	1.80	1.00
氨基酸总含量 Total amino acid contents	390.10	379.70
必需氨基酸总含量 Total essential amino acid contents	13.90	11.10

2.2 行间播种紫花苜蓿对葡萄酒中氨基酸含量的影响

由表 2 可以看出,行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)葡萄酒中均含有 16 种氨基酸,且均以脯氨酸含量最高,分别占氨基酸总含量的 86.81% 和 82.78%,其次是天冬氨酸和丙氨酸。行间播种紫花苜蓿的葡萄酒中未检出亮氨酸,清耕(对照)未检出异亮氨酸。

由表 2 可见,行间播种紫花苜蓿葡萄酒中氨基酸总含量低于清耕(对照),除丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸含量高于清耕,其余氨基酸含量均低于清耕。除异亮氨酸外,行间播种紫花苜蓿的葡萄酒中其他必需氨基酸含量均低于清耕(对照)。

2.3 行间播种紫花苜蓿对葡萄果实总氮和含量的影响

与清耕(对照)相比,行间播种紫花苜蓿的葡萄汁与葡萄果皮中总氮含量降低,但差异不显著;行间播种紫花苜蓿处理的葡萄汁中 Vc 含量极显著升高,而葡萄果皮中 Vc 含量降低,但差异不显著(表 3)。

表 3 行间播种紫花苜蓿对葡萄果皮及葡萄汁中总氮、Vc 含量的影响

Table 3 Contents of total N and Vc in grape skin and grape juice under grass covering with alfalfa in vineyard

处理 Treatments	葡萄汁/(mg·L ⁻¹) Grape juice		葡萄果皮/(mg·kg ⁻¹) Grape skin	
	总氮 Total N	Vc	总氮 Total N	Vc
清耕(对照) Clean tillage(control)	930.00a	52.21bB	2 780a	100.00a
紫花苜蓿 Alfalfa	890.00a	71.20aA	2 760a	93.62a

注:邓肯法分析数据,不同大写字母表示在 $P < 0.01$ 水平上差异极显著,不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。表 4 同。

Note: The data were analyzed by Duncan's method. Different capital letters mean significant at $P < 0.01$ level, different small letters mean significant at $P < 0.05$ level. The same as table 4.

2.4 行间播种紫花苜蓿对葡萄酒基本理化指标的影响

由表 4 可以看出,行间播种紫花苜蓿和清耕(对照)的葡萄酒中酒精度、挥发酸、残糖均在国标标准要求范围内。与清耕(对照)相比,行间播种紫花苜

蓿的葡萄酒中总酸含量极显著降低,花色苷含量显著升高,pH 值有所升高但差异不显著,总氮含量降低,但无显著差异,与葡萄汁和葡萄果皮中总氮含量一致,同时蛋白质含量显著降低。

表 4 行间播种紫花苜蓿对葡萄酒基本理化指标的影响

Table 4 Effect of grass covering with alfalfa on wine component in vineyard

处理 Treatments	酒精度/ (mL·L ⁻¹) Acoholicity	挥发酸/ (g·L ⁻¹) Volatile acid	总酸/ (g·L ⁻¹) Total Acid	残糖/ (g·L ⁻¹) Residual sugar	花色苷/ (mg·L ⁻¹) Anthocyan	总氮/ (g·L ⁻¹) Total N	蛋白质/ (g·L ⁻¹) Protein	pH
清耕(对照)Clean tillage(control)	108.4	0.36	8.45aA	1.90	175.25b	0.260a	0.209a	3.23a
紫花苜蓿 Alfalfa	103.6	0.31	8.09bB	1.51	196.08a	0.253a	0.139b	3.26a

3 结论与讨论

(1)葡萄果实中的氮化物不仅是酒精发酵中酵母主要的营养来源,同时也与葡萄酒的成分及葡萄酒的质量有关^[2,6-7]。葡萄园生草的研究认为,生草使葡萄果实氮化物含量降低^[13-15]。在本试验条件下,葡萄园行间播种紫花苜蓿使赤霞珠葡萄汁、果皮及葡萄酒中总氮含量降低,这与前人的研究结果一致。Koki 等^[3]研究认为,葡萄果皮和种子中的游离氨基酸含量很低,相对于葡萄汁中的含量可以被酿酒师忽略,且葡萄汁中的游离氨基酸最早被酵母细胞利用。当葡萄园氮水平较低时,脯氨酸和精氨酸是葡萄汁中主要的氨基酸,葡萄汁中的不同氨基酸组分被酵母利用的顺序也不同,除铵离子外,谷氨酸由于能够直接用于生物合成而最先被利用,脯氨酸只有在有氧条件下才是酵母较好的氮源,一般不被酵母利用^[16]。

本试验中行间播种紫花苜蓿处理的葡萄汁中氨基酸总含量和必需氨基酸含量均高于清耕(对照),果皮中氨基酸总含量和必需氨基酸含量均低于清耕(对照),两种处理葡萄汁和果皮中均以脯氨酸含量最高,其次是精氨酸,且行间播种紫花苜蓿使葡萄汁中谷氨酸含量明显高于清耕(对照)。说明葡萄园行间播种紫花苜蓿虽然使葡萄果实及葡萄酒的总氮含

量降低,但使酵母可直接利用的葡萄汁中氨基酸总含量及谷氨酸含量升高,有利于酒精发酵的顺利进行及葡萄酒质量的提高。

(2)葡萄酒中氨基酸含量对其产品非常重要,对葡萄酒的香气形成有直接影响^[17]。红葡萄酒中含 300~1 300 mg/L 的脯氨酸,是含量最丰富的氨基酸,占氨基酸总含量的 30%~85%,其次是丙氨酸、谷氨酸等,脯氨酸及其衍生物是鉴别不同品种及不同产地葡萄酒的主要指标^[17]。本试验中行间播种紫花苜蓿使赤霞珠葡萄酒中的总氮、氨基酸及蛋白质含量降低。两种处理葡萄酒中均含有 16 种氨基酸,且均以脯氨酸含量最高,分别占氨基酸总含量的 82.78%,86.81%,其次是丙氨酸和天冬氨酸,这与前人的研究结果基本一致。

(3)行间播种紫花苜蓿使葡萄酒中总酸含量极显著降低,花色苷含量升高,pH 值有所升高,这与大多数葡萄园生草的研究结果相一致^[13-14,17]。

总之,行间播种紫花苜蓿使葡萄与葡萄酒的总氮含量降低,差异不显著,但使葡萄汁中氨基酸总含量升高,同时改变了氨基酸的组成,使葡萄酒所测的理化指标优于清耕(对照)。关于行间生草对葡萄与葡萄酒氨基酸组分的影响,及其与品质的关系还有待进一步深入的研究和探讨。

[参考文献]

- [1] 李华,王华,袁春龙,等.葡萄酒化学[M].北京:科学出版社,2005:46-47.
- [2] Monteiro F F, Bisson L F. Nitrogen supplementation of grape juice. I. Effect on amino acid utilization during fermentation[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1992, 43(1):1-10.
- [3] Koki Y, Masakazu F. Changes in nitrogen compounds in berries of six grape cultivars during ripening over two years[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2002, 53(1):69-77.
- [4] 李华.现代葡萄酒工艺学[M].西安:陕西人民出版社,2000:25-27,55-56.
- [5] Sivertsen H K, Holen B, Nicolaysen F, et al. Classification of French red wines according to their geographical origin by the use of multivariate analyses[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79:107-115.
- [6] Soufleros E H, Bouloumpasi E, Tsarhopoulos C, et al. Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage[J]. Food Chemistry, 2003, 80:261-273.
- [7] Spayd S E, Andersen-Bagge J. Free amino acid composition from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1996, 47(4):389-402.
- [8] Riou C, Morlat R. First results on the effects of controlled permanent cover on the vine and wine, in combination with soil diversity of Saumur vineyards[J]. Seizieme Conference du Columa Tome, 1996, 3:1137-1144.
- [9] Agulhon R. Advantage of new methods of maintaining grapevine soils for viticulture, oenology, the environment and health[J]. Progress-Agricole et -Viticole, 1996, 113(12):275-278.
- [10] 李华.葡萄酒小容器酿造规范[C].葡萄与葡萄酒研究进展.西安:陕西人民出版社,2002:97-99.
- [11] 宋治军,纪重光.现代仪器分析与测试方法[M].西安:西北大学出版社,1994.
- [12] 王华,王飞,张春晖,等.葡萄与葡萄酒实验技术操作规范[M].西安:西安地图出版社,1999:111-132,149-152.
- [13] Maigre D. Influence of grassing down and nitrogen fertilizer on the quality of Chasselas wines[J]. Progress-Agricole et -Viticole, 1996, 114(11):255-258.
- [14] 惠竹梅,李华,刘延琳,等.葡萄园行间生草对'赤霞珠'干红葡萄酒质的影响[J].中国农业科学,2004,37(10):1527-1531.
- [15] Rodriguez-Lovelle B, Soyer J P, Molot C. Nitrogen availability in vineyard soil according to soil management practices, effects on vine[J]. Acta Horticulture, 2000, 526:277-285.
- [16] 张春晖,李华.葡萄酒微生物学[M].西安:陕西人民出版社,2003:62-69.
- [17] Pekka L. Determination of amine and amino acid in wine[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1996, 47(2):127-133.

(上接第128页)

本研究结果表明,我国苹果煤污病和蝇粪病菌病原菌体类型具有丰富的多样性,其中可能包括一些特殊的类型。随着对更多苹果种植区的进一步研究可能会发现更多的类型。由于病原菌种类较多,它们在自然寄主上和人工培养基上很少形成成熟的子实体,所以对该类群病原物的鉴定还有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Schweinitz L D. *Dothidea pomigena* [J]. Trans Am Phil Soc N S, 1832, 4:232.
- [2] Colby A S. Sooty blotch of pomaceous fruits[J]. Trans III State Acad Sci, 1920, 13:139-175.
- [3] Groves A B. A study of the sooty blotch disease of apples and causal fungus *Gloeodes pomigena* [J]. Virginia Agricultural Experiment Station Bulletin, 1933, 50:1-43.
- [4] Baines R C, Gardner M W. Pathogenicity and cultural characters of the apple sooty-blotch fungus [J]. Phytopathology, 1932, 22:937-952.
- [5] Hickey K D. The sooty blotch and fly speck disease of apple with emphasis on variation within *Gloeodes pomigena* [D]. University Park, The Pennsylvania State University, 1960:1-127.
- [6] Johnson E M, Sutton T B, Hodges C S. Etiology of apple sooty blotch disease in North Carolina [J]. Phytopathology, 1997, 87:88-95.
- [7] Johnson E M, Sutton T B, Hodges C S. *Peltaster fructicola*: A new species in the complex of fungi causing apple sooty blotch [J]. Mycologia, 1996, 88:114-120.
- [8] Batzer J C, Gleason M L, Harrington T C, et al. Expansion of the sooty blotch and flyspeck complex on apple using ribosomal DNA [J]. Phytopathology, 2002, 92:59.
- [9] 戴芳澜.中国真菌总汇[M].北京:科学出版社,1980:1-1527.
- [10] Belding R D, Sutton T B, Blandenship S M, et al. Relationship between apple fruit epicuticular wax and growth of *Peltaster fructicola* and *Leptodontidium elatius*, two fungi that cause sooty blotch disease [J]. Plant Disease, 2000, 84:767-772.
- [11] Williamson S M, Hodges C S, Sutton T B. Re-examination of *Peltaster fructicola*, a member of the apple sooty blotch complex [J]. Mycologia, 2004, 96:885-890.
- [12] Batzer J C, Gleason M L, Harrington T C, et al. Expansion of the sooty blotch and flyspeck complex on apples based on analysis of ribosomal DNA gene sequences and morphology [J]. Mycologia, 2005, 97:1268-1286.
- [13] Duttweiler K B, Sun G Y, Batzer J C, et al. Assessment of an RFLP-based technique for identifying members of the sooty blotch and flyspeck complex on apples [J]. Phytopathology, 2006, 96(6):S31