

基于抗氧化活性指标的国产红葡萄酒产地识别

彭芷芯¹, 吕毅², 石洁¹, 李志泉¹, 尹小丽¹, 谷惠文^{1*}

[1. 长江大学生命科学学院/化学与环境工程学院, 荆州 434023; 2. 宁夏食品检测研究院, 国家市场监管重点实验室(枸杞及葡萄酒质量安全), 银川 750004]

摘 要: **目的** 对比分析不同产地葡萄酒抗氧化活性的差异, 以此实现葡萄酒产地的判别。**方法** 以新疆吐鲁番、宁夏银川和河北秦皇岛的红葡萄酒为研究对象, 采用理化检测方法比较不同产地葡萄酒抗氧化活性的差异, 并利用主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)和支持向量机(support vector machine, SVM)建立葡萄酒的产地识别模型。**结果** 在对葡萄酒酒样抗氧化活性指标测定中, 不同产地酒样表现的抗氧化能力依次为: 新疆吐鲁番>宁夏银川>河北秦皇岛。基于以上述抗氧化活性指标数据进行 PCA 分析发现, 不同产地葡萄酒样本大致可以各自聚集成类, 并且前两个主成分的累计方差解释率可达 89.6%, 基本可以反应总体数据信息; 进一步通过 OPLS-DA 和 SVM 建立产地识别模型, 以其中 8 个不同产地的葡萄酒样本作为测试集进行外部验证, 结果发现两个模型的识别准确率均可达 87.5%, 表现出较好的产地识别能力。**结论** 根据抗氧化活性的差异性可以实现国产红葡萄酒的产地识别。

关键词: 国产红葡萄酒; 抗氧化活性; 产地识别; 支持向量机; 化学计量学

Geographical origin identification of Chinese red wines based on antioxidant activity indexes

PENG Zhi-Xin¹, LV Yi², SHI Jie¹, LI Zhi-Quan¹, YIN Xiao-Li¹, GU Hui-Wen^{1*}

(1. College of Life Sciences/College of Chemistry and Environmental Engineering, Yangtze University, Jingzhou 434023, China; 2. Key Laboratory of Quality and Safety of Wolfberry and Wine for State Administration for Market Regulation, Ningxia Food Testing and Research Institute, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT: Objective To compare and analyze the differences of antioxidant activities of Chinese red wines from different origins, so as to achieve their geographical origins identification. **Methods** Taking the red wines of Turpan of Xinjiang, Yinchuan of Ningxia and Qinhuangdao of Hebei as the research objects, the differences of antioxidant activities of Chinese red wines from different regions were compared by physicochemical detection methods, and predictive models were established to distinguish the geographical origins of them by principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and support vector machine (SVM). **Results** In the determination of antioxidant activity indexes in wine samples, the antioxidant capacities of red wine samples from different origins were ranked as follows: Xinjiang Turpan>Ningxia Yinchuan>Hebei Qinhuangdao. Based on the above antioxidant activity indexes data, PCA analysis showed that the

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001790、32272409、31701693)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32001790, 32272409, 31701693)

***通信作者:** 谷惠文, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全与真实性检测及溯源。E-mail: gruyclewee@yangtzeu.edu.cn

***Corresponding author:** GU Hui-Wen, Ph.D, Associate Professor, College of Chemistry and Environmental Engineering, Yangtze University, No.1, Nanhuan Road, Jingzhou District, Jingzhou 434023, China. E-mail: gruyclewee@yangtzeu.edu.cn

red wine samples from different origins could be clustered into categories, and the total variance rate explained by the first two principal components was up to 89.6%, which could basically reflect the overall data information. Furthermore, OPLS-DA and SVM models were established to predict the origins of red wines, and 8 wine samples from different origins were used as the test set for external validation. The results showed that the recognition accuracy of both models could reach 87.5%, showing good ability for geographical origins identification. **Conclusion** The geographical origins of Chinese red wines can be identified according to the differences of antioxidant activity.

KEY WORDS: Chinese red wine; antioxidant activity; geographical origin identification; support vector machine; chemometrics

0 引言

近年来随着生活品质的提升,中国逐渐成为葡萄酒生产和消费大国。葡萄酒具有独特的风味、香气以及色泽^[1],且含有丰富的酚类、氨基酸以及维生素等活性物质^[2-3],因此深受人们喜爱。此外,葡萄酒在酿造过程中积累了葡萄中的大量酚类以及黄酮类等生物活性物质使其具有良好的抗氧化活性^[4-5]。酚类物质和黄酮类物质是广泛存在于葡萄中的次级代谢物,酚类物质根据结构主要分为类黄酮化合物以及非类黄酮化合物^[6],而黄酮类物质主要来源于葡萄皮及葡萄籽,包括黄酮醇、类黄酮、异黄酮以及花青素等^[7]。酚类物质和黄酮类物质不仅与葡萄酒的色泽、滋味以及口感等联系紧密^[8-9],并且还具有显著的抗癌^[10-11]、保护心血管^[12-13]、抗炎^[14]以及清除人体自由基^[15-16]等生物活性。

研究发现葡萄酒的品质和价格受产地因素的影响较大^[17],为了保护消费者权益,开展葡萄酒的产地鉴别具有重要意义。目前研究人员主要是根据不同地区葡萄酒中次生代谢产物的差异性进行葡萄酒的产地鉴别^[18-19]。前期,本课题组 PAN 等^[20]采用基于超高压液相色谱-高分辨飞行质谱法的非靶向代谢组学方法对不同产地葡萄酒中代谢化合物进行分析比较,依此利用化学计量学方法建立的葡萄酒产地判别模型识别率高达 96.7%。同样,LI 等^[21]在对不同产地赤霞珠葡萄酒中酚类化合物比较分析发现,具有相似地理特征的产地葡萄酒中酚类物质组成相似,而在产地地理特征相差较大的葡萄酒中酚类成分则具有显著性差异。WEI 等^[22]也发现在土壤中微生物群落不同的地区,赤霞珠葡萄酒的挥发性成分具有显著差异性,并且进一步通过此差异性能够正确识别各葡萄酒样本的产地。然而葡萄酒代谢产物成分复杂,并且其组成和含量受诸多因素的影响,因此准确测定不同产地葡萄酒中的代谢产物是一项极具挑战性的工作^[23]。有研究指出日常饮食对人体健康的作用是由膳食中多种活性物质相互作用的结果^[24],因此比较不同产地葡萄酒对人体生理活性的差异有可能实现对葡萄酒产地的区分。

基于此,本研究拟对 3 个不同产地(河北秦皇岛、宁夏银川、新疆吐鲁番)的赤霞珠干红葡萄酒的抗氧化活性进行比较研究,并结合主成分分析(principal component analysis,

PCA)、正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)和支持向量机(support vector machine, SVM)方法建立葡萄酒的产地预测模型,以期对葡萄酒产地识别提供一种快速、可靠的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

3 个不同产地 2018 年的赤霞珠干红葡萄酒样本共 45 个,其中来自河北秦皇岛(QHD)的样本 12 个,来自宁夏银川(YC)的样本 17 个,来自新疆吐鲁番(TP)的样本 16 个。

福林酚(生物试剂,北京酷来搏科技有限公司);无水碳酸钠(分析纯,天津市津北精细化工有限公司);无水乙醇、亚硝酸钠、六水合氯化铝(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);氢氧化钠(分析纯)、芦丁(色谱纯)(北京索莱宝科技有限公司);五水合硫酸铜、新亚铜试剂(2,9-二甲基-1,10-菲咯啉盐酸盐)、2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2-diazo-di(3-ethyl-benzothiazol-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS]、过二硫酸钾、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸)(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);没食子酸(色谱纯)、乙酸铵、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine, DPPH)(分析纯)(上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 主要仪器与设备

TU-1900 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);DHG-9030A 型电热恒温鼓风干燥箱(河南巩义予华仪器有限责任公司);GL124-1SCN 型电子分析天平[感量 1 mg,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 总酚含量的测定

葡萄酒中的总酚含量测定参照 ŞENER 等^[25]方法并略作修改。移取 1.0 mL 质量浓度分别为 10、20、30、50、70、90 µg/mL 的没食子酸标准溶液于 10 mL 比色管中,加入 5.0 mL 10%福林酚试剂混合,振荡反应 5 min 后加入 4.0 mL 7.5%碳酸钠溶液,定容静置 60 min,以蒸馏水作为参比溶液进行测定,于 765 nm 处测定吸光度值,以没食子酸含量

作为横坐标, 相应吸光度值作为纵坐标绘制标准曲线。将 1.0 mL 稀释后的酒样按照标准曲线的方法在波长为 765 nm 处测定吸光度值, 每个样本平行测定 3 次, 结果以等价没食子酸含量表示。

1.3.2 总黄酮含量的测定

总黄酮测定方法参考陈健敏等^[26]并进行适当修改。吸取 0.5 mL 质量浓度分别为 10、20、40、60、80、100 μg/mL 的芦丁工作液于 10 mL 的比色管中, 加入 4.5 mL 15%乙醇, 0.4 mL 5% NaNO₂ 溶液, 振荡放置 6 min, 加入 0.4 mL 的 10% AlCl₃ 溶液, 振荡放置 6 min, 加入 1 mol/mL NaOH 溶液 2.5 mL, 最后再加蒸馏水定容至 10 mL, 放置 15 min 后, 在最大吸收波长 510 nm 处测定吸光度值, 以 15%乙醇代替芦丁作为参比溶液进行测定, 标准曲线以芦丁含量作为横坐标, 以相应吸光度值作为纵坐标。将 0.5 mL 稀释后的酒样按照标准曲线的方法在波长为 510 nm 处测定吸光度值, 每个样本平行测定 3 次, 结果以等价芦丁含量表示。

1.3.3 抗氧化活性的测定

(1) DPPH 自由基清除能力测定

用无水乙醇配制 30 μg/mL DPPH 溶液, 避光保存备用。首先以 Trolox 含量作为横坐标, 以相应清除率作为纵坐标绘制标准曲线。分别移取 0.1 mL 利用无水乙醇配制的不同质量浓度(50、80、120、160、200 μg/mL)的 Trolox 工作液于棕色瓶中, 与 3.9 mL 30 μg/mL DPPH 溶液在黑暗条件下反应 20 min, 于波长 517 nm 处测定吸光度值 A_1 , 同时以无水乙醇作为参比溶液进行测定, 记吸光值为 A_0 , 以上实验步骤重复 3 次。按公式(1)计算 DPPH 自由基清除率。将 0.1 mL 稀释后的酒样按照制备标准曲线的方法在波长为 517 nm 处测定吸光度值, 每个样本平行测定 3 次, 结果以 Trolox 含量表示。

自由基清除率/%= $(1-\frac{A_1}{A_0})\times 100\%$ (1)

(2) ABTS 自由基清除能力测定

避光称取 ABTS 自由基粉末 0.0385 g, 用适量蒸馏水溶解并定容至 10 mL 棕色容量瓶中, 另外称取 0.19 g K₂S₂O₈ 固体, 适量蒸馏水溶解并超声处理 10 min 后, 定容至 5 mL。量取 0.18 mL K₂S₂O₈ 溶液于 10 mL ABTS 二胺盐标准储备液中, 在黑暗条件下反应 12 h 以制备 ABTS 自由基储备液, 使用时, 用无水乙醇稀释至吸光度在(0.7±0.02) Abs 范围内。

标准曲线以 Trolox 含量作为横坐标, 以相应清除率作为纵坐标。分别移取 0.1 mL 利用无水乙醇配制的不同质量浓度(50、80、120、200、250 μg/mL)的 Trolox 工作液于棕色瓶中, 与 3.9 mL ABTS 自由基储备液在黑暗条件下反应 8 min 后, 于最大吸收波长 734 nm 处测定吸光度值 A_1 。以无水乙醇作为参比溶液进行测定, 记吸光值为 A_0 , 以上实验步骤重复 3 次。按公式(1)计算 ABTS 自由基清除率。将 0.1 mL 稀释后的酒样按照制备标准曲线的方法在波长为 734 nm 处测定吸光度值, 每个样本平行测定 3 次, 结果以 Trolox 含量表示。

(3)铜离子还原能力测定

用无水乙醇配制 0.00375 mol/L 新亚铜试剂, 以及适量蒸馏水配制 0.005 mol/L CuSO₄ 溶液和 1 mol/L 乙酸铵缓冲溶液。首先进行标准曲线的制备, 分别移取 0.1 mL 利用无水乙醇配制的不同质量浓度(50、80、120、200、300、400 μg/mL)的 Trolox 工作液于棕色瓶中, 按顺序加入 1 mL 0.005 mol/L CuSO₄ 溶液, 1 mL 0.00375mol/L 新亚铜试剂, 1 mL 1 mol/L 乙酸铵溶液, 最后再加入蒸馏水 1 mL, 反应体系共 4.1 mL。反应 30 min 后, 在最大吸收波长 450 nm 处测定吸光度值, 以 15%乙醇代替 Trolox 作为参比溶液进行测定, 结果以 Trolox 含量表示。标准曲线以 Trolox 含量作为横坐标, 以相应吸光度值作为纵坐标。将 0.1 mL 稀释后的酒样按照制备标准曲线的方法在波长为 450 nm 处测定吸光度值, 每个样本平行测定 3 次, 结果以 Trolox 含量表示。

1.4 数据分析

所有数据统计及计算采用 Microsoft Excel 2016 分析; 采用 Origin 2018 进行绘图; 在 SIMCA-P 中进行 PCA 和 OPLS-DA 分析^[27-28]; 基于 RBF 核函数的 SVM 建模在 MATLAB 软件中使用 LIBSVM 工具包实现^[29]。

2 结果与分析

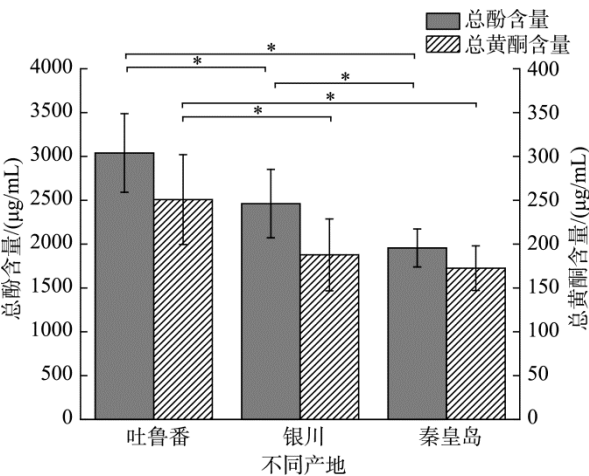
2.1 不同产地红葡萄酒总酚及总黄酮含量比较分析

按照 1.3.1 以及 1.3.2 的分析方法得到测定总酚含量以及总黄酮含量的标准曲线方程见表 1。图 1 为 45 个葡萄酒样本的总酚及总黄酮含量, 3 个不同地区的酒样之间差异明显。其中产自新疆吐鲁番的 16 个样本中总酚含量和总黄酮含量均显著高于宁夏银川及河北秦皇岛的红葡萄酒样本。

表 1 抗氧化活性指标测定标准曲线方程
Table 1 Standard curve equation for determination of antioxidant activity indexes

抗氧化活性指标	线性回归方程	拟合系数(r^2)	线性范围/(μg/mL)
总酚测定	$Y=0.01035X+0.03473$	0.9963	10~100
总黄酮测定	$Y=0.00898X+0.02178$	0.9959	10~100
DPPH 自由基清除能力测定	$Y=0.00398X-0.04059$	0.9971	50~200
ABTS 自由基清除能力测定	$Y=0.00415X-0.10893$	0.9987	50~250
铜离子还原能力测定	$Y=0.00898X+0.02178$	0.9989	500~400

同时, 3 个不同产地的酒样中总酚含量均显著高于总黄酮含量。葡萄酒中总酚含量以及总黄酮含量取决于葡萄的品种、采摘时间和生长环境以及葡萄酒酿造过程中的复杂化学变化等^[30-31], 因此可以作为区分葡萄酒产地的指标之一。



注: *表示差异显著性水平为 $P<0.05$, 图 2 同。

图 1 不同产地红葡萄酒总酚及总黄酮含量

Fig.1 Content of total phenols and total flavonoids in red wines from different origins

2.2 不同产地红葡萄酒抗氧化活性比较分析

葡萄酒具有较强的抗氧化活性, 通过选取的酒样对 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力以及铜离子还原能力测定比较不同产地葡萄酒抗氧化活性的差异。图 2 为产自新疆

吐鲁番、宁夏银川以及河北秦皇岛地区的葡萄酒样本的抗氧化能力测定结果。从图 2 中可以看出, 不同产地酒样的抗氧化活性之间差异较为显著, 同时不同抗氧化活性指标之间也存在差异性。具体如表 2 所示, 在对 3 个产地的葡萄酒进行自由基清除能力以及铜离子还原能力测定比较中发现, 3 个产地葡萄酒的抗氧化能力大小顺序为: 新疆吐鲁番>宁夏银川>河北秦皇岛, 与不同产地葡萄酒中的总酚以及总黄酮化合物含量规律一致。这一结论也证实了葡萄酒中起抗氧化活性作用的主要是酚类物质以及黄酮类物质。

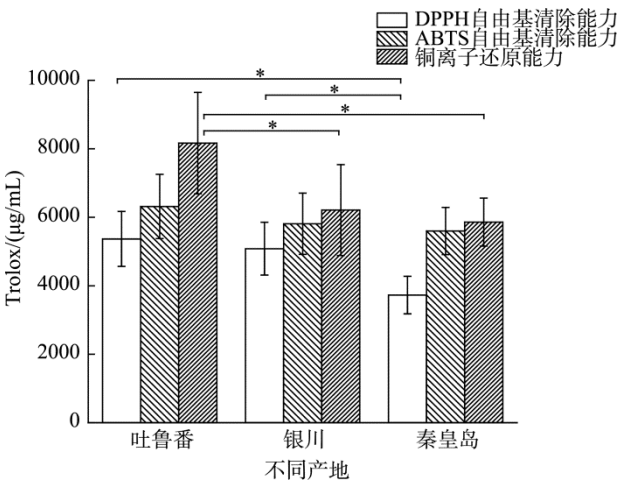


图 2 不同产地红葡萄酒 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力以及铜离子还原能力

Fig.2 DPPH radical and ABTS radical scavenging ability and copper ion reduction ability of red wines from different origins

表 2 葡萄酒总酚、总黄酮及抗氧化活性测试结果
Table 2 Test results of total phenols, total flavonoids and antioxidant activity of wines

样品	总酚含量 /(μg/mL)	总黄酮含量 /(μg/mL)	DPPH 抗氧化活性 /(μg/mL Trolox 当量)	ABTS 抗氧化活性 /(μg/mL Trolox 当量)	铜离子还原能力 /(μg/mL Trolox 当量)
TP01	2948.16±17.42	244.79±1.12	3143.64±0.00	114.25±0.21	8106.72±0.00
TP02	3209.03±12.78	286.66±1.80	6023.17±15.20	131.54±0.42	8517.16±0.00
TP03	2967.49±9.66	233.36±1.80	4917.00±30.41	122.18±0.21	8032.09±0.00
TP04	3529.48±16.97	307.74±0.93	5478.86±15.20	141.03±0.21	9263.43±0.00
TP05	2399.05±7.38	175.90±1.69	4881.89±0.00	100.33±0.21	5867.91±0.00
TP06	2349.13±14.49	183.47±1.28	4802.88±0.00	103.69±0.00	5979.85±0.00
TP07	2946.55±14.76	239.00±1.12	5584.21±15.21	124.58±0.00	7584.33±0.00
TP08	3767.81±16.96	341.75±2.32	6312.87±15.21	151.23±0.62	10382.83±37.31
TP09	3344.30±9.66	292.30±2.68	5909.04±0.00	142.47±0.21	9163.93±57.00
TP10	3307.26±26.61	280.28±1.34	5689.56±15.21	138.99±0.36	9425.13±21.54
TP11	3184.88±14.49	279.24±4.14	5882.70±0.00	133.82±0.21	9114.18±0.00
TP12	2065.72±16.97	272.85±2.97	5487.64±0.00	144.15±0.21	9151.49±0.00
TP13	2866.04±14.49	151.25±1.43	4249.80±0.00	81.60±0.21	5270.90±0.00
TP14	3192.93±27.47	205.29±3.84	5724.68±0.00	119.30±0.55	6838.06±0.00
TP15	3257.34±8.37	257.86±3.37	5882.70±0.00	138.63±0.36	9425.13±21.54
TP16	3295.99±19.32	260.97±5.37	5909.04±0.00	133.46±0.21	8554.48±0.00
YC01	2857.99±274.02	232.17±0.77	5794.91±15.21	115.81±0.42	6900.25±21.55

表 2(续)

样品	总酚含量/(μg/mL)	总黄酮含量 /(μg/mL)	DPPH 抗氧化活性 /(μg/mL Trolox 当量)	ABTS 抗氧化活性 /(μg/mL Trolox 当量)	铜离子还原能力 /(μg/mL Trolox 当量)
YC02	2630.93±33.93	236.47±2.11	5628.11±15.21	109.93±0.75	6788.31±21.55
YC03	2118.86±15.53	159.41±0.68	4302.47±0.00	128.78±0.75	5246.02±215.43
YC04	1903.08±29.52	143.97±0.89	4012.76±0.00	101.29±0.21	4711.19±0.00
YC05	2527.87±26.90	223.41±3.16	4829.21±0.00	122.30±0.91	6514.68±21.54
YC06	2746.88±22.83	218.06±3.79	5399.85±15.21	133.70±1.16	6987.31±0.00
YC07	1917.57±18.29	147.54±1.34	4583.4±15.21	81.60±0.91	4114.18±0.00
YC08	1801.63±12.16	131.35±1.57	4460.50±0.00	94.68±0.95	4039.55±0.00
YC09	2318.53±41.65	186.88±1.44	4662.41±15.20	116.05±1.50	5706.22±21.55
YC10	2790.35±65.95	218.06±1.44	5610.55±15.21	145.59±0.21	7596.77±21.54
YC11	2334.64±33.82	169.81±1.78	5487.64±0.00	123.38±0.55	5718.66±0.00
YC12	2756.54±19.53	230.39±5.79	5329.62±0.00	140.19±0.21	7634.08±21.55
YC13	2857.98±27.89	241.08±4.70	6514.79±45.62	127.46±0.62	8454.98±21.54
YC14	1946.56±80.45	108.34±1.78	5399.85±66.28	83.76±2.20	4450.00±98.72
YC15	2618.05±42.21	181.24±4.28	5399.85±40.23	116.77±1.27	6427.61±0.00
YC16	2851.54±31.68	165.35±5.35	5610.55±106.44	120.62±0.95	7285.82±0.00
YC17	2869.26±33.93	197.87±4.46	3371.89±40.23	114.25±0.75	7012.19±107.72
QHD01	2310.48±17.42	232.46±0.25	3187.53±15.20	111.73±0.21	6365.43±21.54
QHD02	1819.34±40.23	160.75±1.36	3424.57±15.21	96.00±1.50	5420.15±0.00
QHD03	1761.37±14.76	162.83±1.12	3723.06±26.34	91.08±0.36	5047.01±0.00
QHD04	1742.04±15.53	171.14±1.34	3687.94±15.21	118.94±0.42	5681.34±0.00
QHD05	1899.85±8.37	173.37±1.18	2783.70±15.21	132.86±0.36	6017.16±0.00
QHD06	1819.34±19.52	164.76±0.68	2968.06±54.83	111.85±1.10	5830.60±0.00
QHD07	1711.45±21.06	136.70±0.93	3696.72±0.00	94.32±1.90	4860.45±0.00
QHD08	2056.05±16.97	172.48±0.89	4328.81±26.34	105.73±0.21	6676.37±21.55
QHD09	2315.31±22.14	195.79±1.69	4223.46±0.00	129.74±0.55	6477.37±21.54
QHD10	2022.24±41.09	169.07±0.25	4021.54±15.21	120.74±0.55	5494.78±0.00
QHD11	1829.00±44.62	140.26±3.13	4390.26±169.33	106.57±0.00	5283.34±21.54
QHD12	2181.66±15.53	190.60±1.85	4293.69±15.20	124.22±0.00	7173.88±0.00

2.3 不同产地红葡萄酒 PCA 及 OPLS-DA 分析

以葡萄酒中总酚含量、总黄酮含量、DPPH 和 ABTS 自由基清除能力以及铜离子还原能力 5 个抗氧化活性指标为基础,对分别来自 3 个不同产地的 45 个葡萄酒样本进行 PCA 以及 OPLS-DA 分析。在 PCA 分析中,前两个主成分的方差解释率分别为 77.5%和 12.1%,累计方差为 89.6%,反应前两个主成分能够有效代表总体数据信息。由图 3 可知,不同产地间的葡萄酒样本可以较好地区分开,表明采用抗氧化活性指标对国产红葡萄酒的产地进行区分是可行的^[32]。为了更进一步探究组间差异,将每组葡萄酒样本按照 80%作为训练集、20%作为预测集进行 OPLS-DA 建模分析。如图 4 所示,37 个训练集样本建立的 OPLS-DA 模型中: $R^2X_{cum}=0.953$, $R^2Y_{cum}=0.488$, $Q^2_{cum}=0.33$ (见表 3),表明模型拟合效果尚可。同时与图 3 中的 PCA 模型相比,该模

型能够对不同产地葡萄酒进行更好地区分,其中产自新疆吐鲁番的酒样主要位于第 4 象限,宁夏银川的酒样主要位于第 1、2 象限,而河北秦皇岛的酒样主要位于第 3 象限。此外,以 8 个不同产地样本作为测试集进行外部验证,结果发现该 OPLS-DA 模型产地识别准确率可达 87.5%,表明模型准确可靠。结合 PCA 和 OPLS-DA 模型的结果可以得出,不同产地的葡萄酒可以由抗氧化活性的差异性进行判别区分。

表 3 PCA 以及 OPLS-DA 模型统计学参数
Table 3 Statistical parameters of PCA and OPLS-DA models

模型	R^2X_{cum}	R^2Y_{cum}	Q^2_{cum}	总识别率/%
PCA	0.896	-	0.616	-
OPLS-DA	0.953	0.488	0.330	87.5

注: -表示无此项。

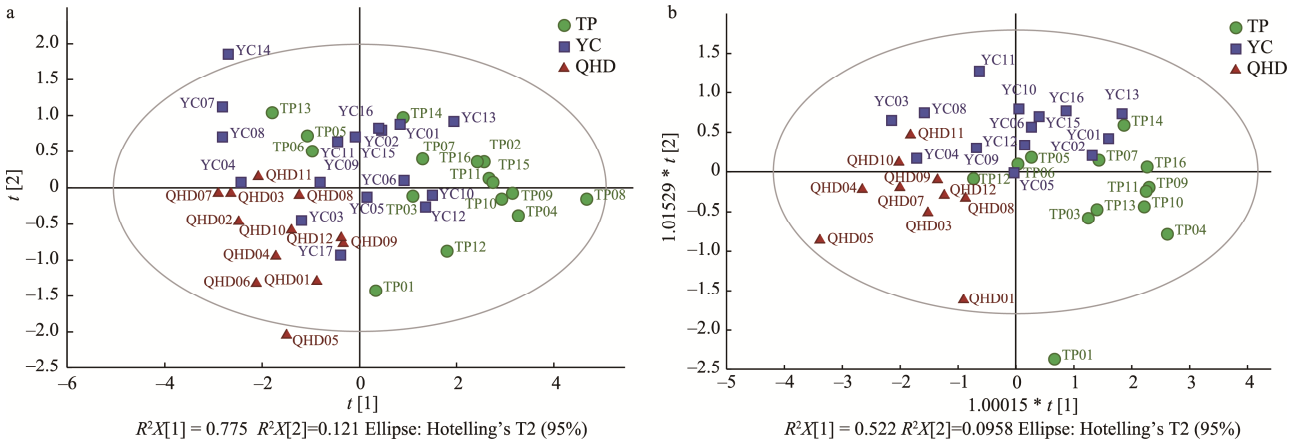


图 3 不同产地红葡萄酒抗氧化活性指标的 PCA 得分图(a)和 OPLS-DA 得分图(b)

Fig.3 PCA score plot (a) and OPLS-DA score plot (b) based on the antioxidant activity indexes of red wines from different origins

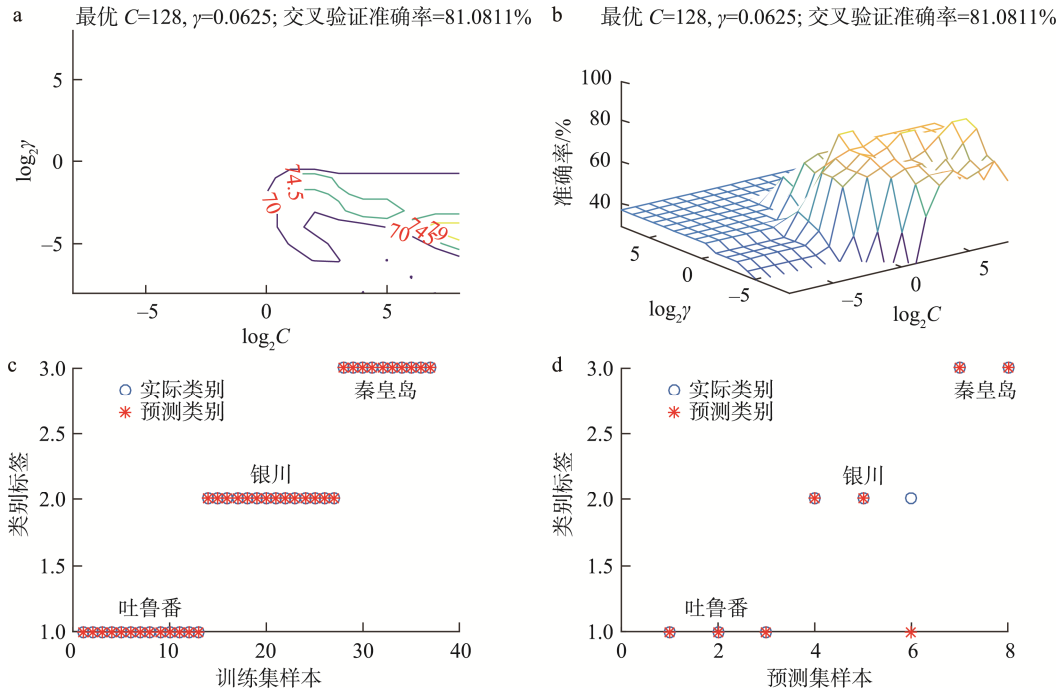
2.4 不同产地红葡萄酒 SVM 分析

为了验证基于抗氧化活性差异进行葡萄酒产地识别方法的可行性,本研究进一步借助 SVM 算法建立了国产红葡萄酒的产地识别模型。选择 RBF 核作为非线性分类的核函数,其中惩罚因子 C 和核参数 γ 是影响模型预测性能的 2 个最重要的参数。使用网格搜索(grid search, GS)算法对这 2 个参数进行优化,优化范围为 2^{-8} 到 2^8 , 间隔为 1, 如图 4a~b 所示, $C=128$ 和 $\gamma=0.0625$ 为最优参数组合。采用与 2.3 部分相同的训练集和预测集进行 SVM 建模,从图 4c~d 可以看出, SVM 模型训练集的识别率可达 100%, 而

预测集红酒样本的预测类别标签与实际类别标签基本一致, 只有一个宁夏银川的葡萄酒样本被误判为新疆吐鲁番的样本, 预测集的总识别率为 87.5%。结果再次表明, 不同产地葡萄酒抗氧化活性的差异可以作为国产红葡萄酒进行产地识别的依据之一。

3 结 论

本研究以新疆吐鲁番、宁夏银川和河北秦皇岛葡萄酒样本为研究对象, 通过测定总酚和总黄酮含量、DPPH 和 ABTS 自由基清除能力以及铜离子还原能力, 对不同产地



注: a 为等高线视图, b 为三维视图; c 为 SVM 对训练集样本的预测类别标签和实际类别标签, d 为 SVM 对预测集样本的预测类别标签和实际类别标签。

图 4 网格搜索法对参数 C 和 γ 的优化结果

Fig.4 Optimization results for parameters C and γ by grid search method

葡萄酒的抗氧化活性进行比较分析,并且结合 PCA、OPLS-DA 和 SVM 方法建立葡萄酒的产地预测模型。结果发现,产自新疆吐鲁番的葡萄酒酒样的总酚含量以及总黄酮含量均最高,宁夏银川产区次之,而河北秦皇岛产区最低;同时在 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力以及铜离子还原能力测定中,结果与上述结果一致。因此可知,新疆吐鲁番产区葡萄酒的抗氧化活性最强,宁夏银川葡萄酒抗氧化活性次之,河北秦皇岛葡萄酒抗氧化活性最弱。根据抗氧化活性指标数据,对所有酒样进行 PCA 分析发现,不同产地葡萄酒样本大致可以各自聚集成类,并且前两个主成分的累计方差解释率可达 89.6%,基本可以反应总体数据信息;进一步通过 OPLS-DA 和 SVM 建模,以其中 8 个不同产地葡萄酒样本作为测试集进行外部验证,结果发现两个模型的产地识别准确率均可达 87.5%,表明模型的预测能力较好,所以基于葡萄酒抗氧化活性指标可以将不同产地的葡萄酒样本区分开。本研究为不同产地葡萄酒的判别以及客观评价我国葡萄酒的抗氧化能力提供了理论参考,但对于不同产地葡萄酒的其他生物活性以及生化成分差异还需进一步研究。

参考文献

- [1] 曹炜玉, 路文鹏, 舒楠, 等. 葡萄酒风味物质及其影响因素研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 1-7.
- CAO WY, LU WP, SHU N, *et al.* Research progress on wine flavor substances and their influencing factors [J]. China Brew, 2022, 41(5): 1-7.
- [2] PERESTRELO R, BORDIGA M, LOCATELLI M, *et al.* Polyphenols, biogenic amines and amino acids patterns in Verdelho wines according to vintage [J]. Microchem J, 2020, 153: 104383.
- [3] EVERS MS, ROULLIER-GALL C, MORGE C, *et al.* Vitamins in wine: Which, what for, and how much? [J]. Compr Rev Food Sci F, 2021, 20(3): 2991-3035.
- [4] COVAS MI, GAMBERT P, FITÓ M, *et al.* Wine and oxidative stress: Up-to-date evidence of the effects of moderate wine consumption on oxidative damage in humans [J]. Atherosclerosis, 2010, 208(2): 297-304.
- [5] 程玉. 葡萄叶总黄酮的萃取及其在葡萄酒酿造中应用的初步研究[D]. 昆明: 云南大学, 2015.
- CHENG Y. A preliminary study on extraction of total flavonoids from grape leaves and its application in wine brewing [D]. Kunming: Yunnan University, 2015.
- [6] 王华, 田雪林, 杨晨露, 等. 葡萄酒与健康[J]. 中国酿造, 2022, 41(3): 1-5.
- WANG H, TIAN XL, YANG CL, *et al.* Wine and health [J]. Chin Brew, 2022, 41(3): 1-5.
- [7] SHEN N, WANG T, GAN Q, *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity [J]. Food Chem, 2022, 383: 132531.
- [8] 杨博, 张波, 王学庆, 等. 酚类物质添加对“黑比诺”干红葡萄酒发酵阶段主要香气成分的影响[J]. 西北农业学报, 2021, 30(10): 1514-1525.
- YANG B, ZHANG B, WANG XQ, *et al.* Effect of phenolics addition on main aroma components of ‘Pinot Noir’ dry red wine during fermentation [J]. Acta Agric Boreali-Occidentali Sin, 2021, 30(10): 1514-1525.
- [9] 卢素文, 郑喧昂, 王佳洋, 等. 葡萄类黄酮代谢研究进展[J]. 园艺学报, 2021, 48(12): 2506-2524.
- LU SW, ZHENG XANG, WANG JY, *et al.* Research progress on the metabolism of flavonoids in grape [J]. Acta Horti Sin, 2021, 48(12): 2506-2524.
- [10] SALEHI B, VLAISAVLJEVIC S, ADETUNJI CO, *et al.* Plants of the genus *Vitis*: Phenolic compounds, anticancer properties and clinical relevance [J]. Trends Food Sci Technol, 2019, 91: 362-379.
- [11] ZHOU D, BAI Z, GUO T, *et al.* Dietary flavonoids and human top-ranked diseases: The perspective of *in vivo* bioactivity and bioavailability [J]. Trends Food Sci Technol, 2022, 120: 374-386.
- [12] D'ONOFRIO N, MARTINO E, CHIANESE G, *et al.* Phenolic profiles of red wine relate to vascular endothelial benefits mediated by SIRT1 and SIRT6 [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 5677.
- [13] KANG Q, SUN J, WANG B, *et al.* Wine, beer and Chinese Baijiu in relation to cardiovascular health: The impact of moderate drinking [J]. Food Sci Hum Well, 2023, 12(1): 1-13.
- [14] WANG X, CAO Y, CHEN S, *et al.* Anti-inflammation activity of flavones and their structure-activity relationship [J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(26): 7285-7302.
- [15] VAN-LEEUEW R, KEVERS C, PINCEMAIL J, *et al.* Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir [J]. J Food Compos Anal, 2014, 36(1-2): 40-50.
- [16] LI Z, PAN Q, JIN Z, *et al.* Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China [J]. Food Chem, 2011, 125(1): 77-83.
- [17] ENGLEZOS V, JOLLY NP, DI GIANVITO P, *et al.* Microbial interactions in winemaking: Ecological aspects and effect on wine quality [J]. Trends Food Sci Technol, 2022, 127: 99-113.
- [18] PHAN Q, TOMASINO E. Untargeted lipidomic approach in studying pinot noir wine lipids and predicting wine origin [J]. Food Chem, 2021, 355: 129409.
- [19] 葛谦, 王小丽, 王云霞, 等. 宁夏贺兰山东麓不同产地“赤霞珠”葡萄酒挥发性香气物质特征分析[J]. 中国酿造, 2022, 41(2): 98-106.
- GE Q, WANG XL, WANG YX, *et al.* Characteristics analysis of volatile aroma substances in ‘Cabernet Sauvignon’ wines from different producing regions at the eastern foot of Helan Mountain in Ningxia [J]. Chin Brew, 2022, 41(2): 98-106.
- [20] PAN Y, GU HW, LV Y, *et al.* Untargeted metabolomic analysis of Chinese red wines for geographical origin traceability by UPLC-QTOF-MS coupled with chemometrics [J]. Food Chem, 2022, 394: 133473.
- [21] LI Z, PAN Q, JIN Z, *et al.* Comparison on phenolic compounds in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon wines from five wine-growing regions in China [J]. Food Chem, 2011, 125(1): 77-83.
- [22] WEI R, DING Y, CHEN N, *et al.* Diversity and dynamics of microbial communities during spontaneous fermentation of Cabernet Sauvignon

- (*Vitis vinifera* L.) from different regions of China and their relationship with the volatile components in the wine [J]. Food Res Int, 2022, 156: 111372.
- [23] 李叶凤, 王圣仪, 谭丹, 等. 基于挥发性成分分析的葡萄酒产地及品种鉴别研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(13): 309–318.
- LI YF, WANG SY, TAN D, *et al.* Progress in the identification of the geographical origin and variety of wine based on analysis of volatile compounds [J]. Food Sci, 2022, 43(13): 309–318.
- [24] CHEN X, LI H, ZHANG B, *et al.* The synergistic and antagonistic antioxidant interactions of dietary phytochemical combinations [J]. Crit Rev Food Sci, 2022, 62(20): 5658–5677.
- [25] ŞENER H, YILDIRIM HK. Influence of different maceration time and temperatures on total phenols, colour and sensory properties of Cabernet Sauvignon wines [J]. Food Sci Technol Int, 2013, 19(6): 523–533.
- [26] 陈健敏, 黄子尧, 黄玮玥, 等. 2 种品牌不同价格葡萄酒中酚类物质及其抗氧化特性[J]. 南昌大学学报: 工科版, 2019, 41(2): 113–119.
- CHEN JM, HUANG ZY, HUANG WY, *et al.* Phenolic substances and antioxidant properties of two brands wines with different prices [J]. J Nanchang Univ (Eng Technol Ed), 2019, 41(2): 113–119.
- [27] GU HW, YIN XL, PENG TQ, *et al.* Geographical origin identification and chemical markers screening of Chinese green tea using two-dimensional fingerprints technique coupled with multivariate chemometric methods [J]. Food Control, 2022, 135: 108795.
- [28] 张欣, 陈双宜, 谷惠文, 等. 基于电子鼻技术的荆州鱼糕贮藏过程新鲜度预测[J]. 轻工学报, 2022, 37(3): 17–25.
- ZHANG X, CHEN SY, GU HW, *et al.* Prediction of freshness of Jingzhou fish cake during storage based on electronic nose technology [J]. J Lig Ind, 2022, 37(3): 17–25.
- [29] PENG TQ, YIN XL, GU HW, *et al.* HPLC-DAD fingerprints combined with chemometric techniques for the authentication of plucking seasons of Laoshan green tea [J]. Food Chem, 2021, 347: 128959.
- [30] LUBIN BCR, INBAR N, PINKUS A, *et al.* Ecogeographic conditions dramatically affect *trans*-resveratrol and other major phenolics' levels in wine at a semi-arid area [J]. Plants, 2022, 11(5): 629.
- [31] FANG F, LI JM, ZHANG P, *et al.* Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines [J]. Food Res Int, 2008, 41(1): 53–60.
- [32] CHEN X, WANG Z, LI Y, *et al.* Survey of the phenolic content and antioxidant properties of wines from five regions of China according to variety and vintage [J]. LWT, 2022, 169: 114004.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



彭芷芯, 硕士研究生, 主要研究方向为食品真实性检测及溯源。
E-mail: 1246267506@qq.com



谷惠文, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全与真实性检测及溯源。
E-mail: gruyclewee@yangtzeu.edu.cn