



富含多酚植物品质快速无损检测专题

- 1 植物多酚作用及测量新技术
- 2 多酚植物品质检测仪介绍及测量原理
- 4 酿酒葡萄成熟度评估上的应用
- 7 浆果成熟度检测上的应用
- 8 农田作物、蔬菜植物多酚检测上的应用



引言

植物多酚是多羟基酚类化合物的总称，广泛存在于植物的皮、根、叶、果中，具有抗氧化、抑菌、抗逆境、防辐射、延缓细胞衰老等多种生理功能。研究植物多酚，对于在食品科学、生物工程、农业管理、植物生理生态研究等方面都具有重要意义。

常见的富含多酚类植物主要有茶叶、水果、蔬菜、烟草、中草药等。主要包括：绿茶、红茶、乌龙茶；葡萄、苹果、柠檬、蓝莓、树莓、西红柿；洋葱、大豆、黄花菜、菠菜、莲藕及色彩鲜艳的紫甘蓝、红苋菜、紫色萝卜等。

多酚植物品质检测仪依据叶绿素荧光原理，采用光学仪器可以准确评估植物多酚的含量，与传统方法相比，具有对植物无损伤、快速、高效及大面积评估植物体多酚含量的特点，检测材料也更广泛，除了叶片以外，还可以检测果实、松针、草坪、蔬菜等材料，此外，内置高精度的GPS，能进行大面积实时监控多个参数，对于大田的作物栽培管理有更大的价值。

多酚植物品质检测仪可运用在食品科学中进行葡萄酒、茶多酚、苹果多酚原料的选择，蔬菜水果等食品中多酚检测等；在生物医药工程中用于测定中草药多酚含量；在农林作物培育（富含多酚蔬菜水果的培育）的生长阶段中判断N肥亏缺等；植物生理中研究多酚的生理功能、病原体的发现等；植物保护领域中研究无公害农药的研制、农药残留等。

多酚植物品质检测仪简介

经过15年植物自身荧光的研究，Force-A公司推出的 Multiplex系列多酚植物品质检测仪可以对作物生理状态提供准确全面的信息。该仪器开创了植物研究新轨迹，可在短时间内测得大量参数：包括作物生长阶段的叶绿素含量、多酚含量、绿色生物量等。因此，Multiplex 能广泛运用于食品科学、医药工程、农作物培育管理、植物生理研究及植物保护领域。

Multiplex 2是一款手持式非接触多参数测定仪。在技术上具有同时测量几个光学信号、实时非接触监测、可在夜间测量、无须对植物做其他准备等优势。此外，LCD触摸式显示屏为用户提供友好的操作界面可以实时显示数据。测得的数据和预处理的数据可以存储在仪器的内存中，然后传输到计算机里进行深入分析；另一方面，内置高精度GPS，可方便获得地理参数和绘图。

测量领域

测量物体：任何植物材料：叶片，松针，作物，草坪，果实，蔬菜等。

测量参数：表皮的紫外吸收率（类黄酮含量）；
表皮可见光吸收率（花青素含量）；
叶绿素荧光发射比率（叶绿素含量）；
紫外-蓝-绿荧光（氢氧根，羧基酸）；
一些其他的荧光比率。

技术参数：

测量面积：>10cm直径

测量距离：15cm

反应时间：1ms

采集模式：触发式和连续采集

光源：发光二极管，脉冲操作，

三个激发通道：紫外，红，绿；可选择升级到四个激发通道，包括蓝光或者琥珀色光

探测器：硅光电二极管，蓝光，红光，远红外光。

存储能力：128M内存=1百万个多参数数据（包括：9个分光镜的数据，GPS定位数据，时间，温度），
（可选1G内存）；

用户界面：3.2英寸（160×80）LCD触摸屏，带有声音预警

数据通讯：USB数据传输接口；内置GPS；数据可以输出为Excel表格

温度范围：5-35℃（操作温度）

电源：可充电锂电池

电池工作时间：10个小时；

充电时间：5个小时

树莓



茶叶



针叶树



烟草



紫甘蓝



洋葱



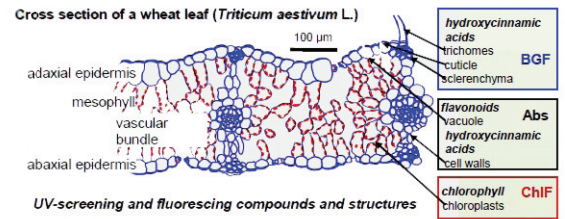
多酚测量方法

Phen absorption properties

- UV or visible absorption ranges
- Use of the screening effect by epidermal phenols of the excitation of chlorophyll fluorescence
- Fluorescence excitation ratios of far red chlorophyll fluorescence

Phen fluorescence properties

- UV or visible excitation
- Visible emissions
- Fluorescence emissions signals or ratios



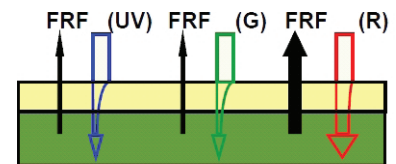
小麦叶片多酚紫外屏蔽和叶绿素结构示意图

通过多酚吸收比率和多酚荧光比率来评估多酚，包括：

- 类黄酮
- 花青素
- 植保素
- 肉桂酸

Multiplex 各测量参数计算原理

Multiplex系列仪器采用叶绿素荧光原理，依据比尔-贝朗定律，利用多光源、多通道技术，可以同时监测几个光学信号，通过计算植物表皮紫外光的吸收比率来评估植物类黄酮的含量；通过表皮可见光吸收比率来评估花青素的含量；通过叶绿素荧光发射比率来评估叶绿素的含量；通过叶绿素吸光度与多酚吸光度的比值来评估NBI指数。



计算公式：

1. 类黄酮、花青素类

$$\left\{ \begin{array}{l} FLAV = \log \frac{FRF_R}{FRF_UV} \\ ANTH = \log \frac{FRF_R}{FRF_G} \\ ANTH = \log \frac{5000}{FRF_R} \end{array} \right.$$

2. 叶绿素

$$SFR = \frac{FRF_R}{RF_R}$$

3. NBI 指数

$$\left\{ \begin{array}{l} NBI_R = \frac{SFR_R}{FLAV} \\ NBI_R = \frac{FRF_UV}{RF_R} \end{array} \right.$$

公式说明：

R: 红光, FR: 远红光

F_R: 红光激发的荧光的强度

FRF_R: 参比光源激发的远红光荧光强度

FRF_G: 绿光激发的远红光荧光强度

FRF_UV: 紫外光激发的远红光荧光强度

RF_R: 参比光激发的红光的荧光强度

FLAV: Flavonoid 类黄酮

ANTH: Anthocyanins 花青素

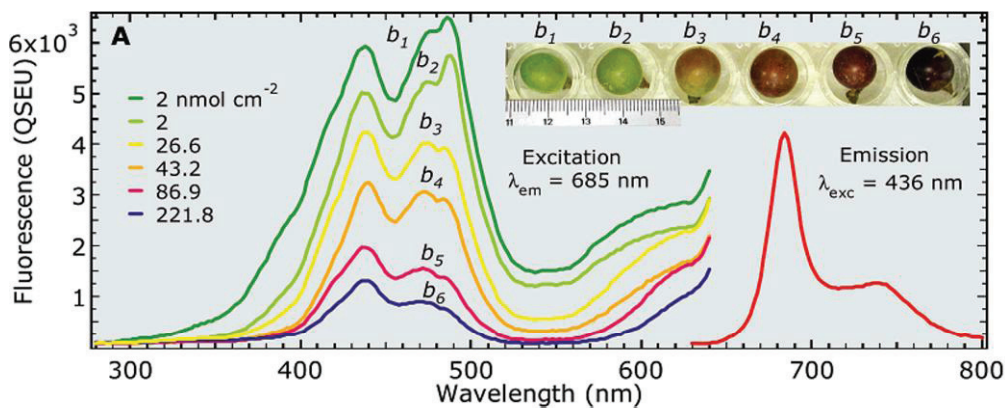
NBI: Nitrogen Balance Index 氮平衡指数，是植物氮素评估的重要指标，与植物叶片的氮素含量的相关性系数可达90%以上。

酿酒葡萄成熟度评估上的应用

葡萄多酚是一类重要的植物多酚，主要存在于葡萄籽与葡萄皮中。有研究表明，红葡萄的果皮中，多酚含量达25%—50%，种籽中则达55%—70%。这类多酚物质的主要成分包括表儿茶酸、花色苷类、黄酮醇类和缩聚单宁等物质，其中含量最高的为原花色苷，可达80%—85%。葡萄多酚是构成葡萄酒外观色泽和内在特征的重要物质，直接决定葡萄酒的特征和品质。研究葡萄多酚对于葡萄种植、采收、及葡萄酒酿制、储存都具有十分重要的意义。

葡萄多酚含量的多少主要受葡萄品种、地域特征、气候条件、栽培条件、成熟度等因素的影响。在其他条件已定的情况下，葡萄的适时采收将直接影响葡萄的品质。目前广泛采用的成熟度评判方法有布氏系数、糖/酸比系数等，但实践中常常会发现糖酸比系数已达到采收要求，但色度比较差，单宁含量较低等。试验证明，通过对植物多酚含量的测定，能够对葡萄成熟度做出准确的评价。

与传统的破坏性的化学方法相比较，利用叶绿素荧光激发强度，可以无损评估葡萄浆果中的花青素、类黄酮类物质的含量，是一种快速的无损评价葡萄中多酚含量的途径，对酿酒葡萄的大田管理及适时采收具有普遍的指导意义。



Figures A. ChlF excitation spectra obtained from the apex of intact berries skin colors.

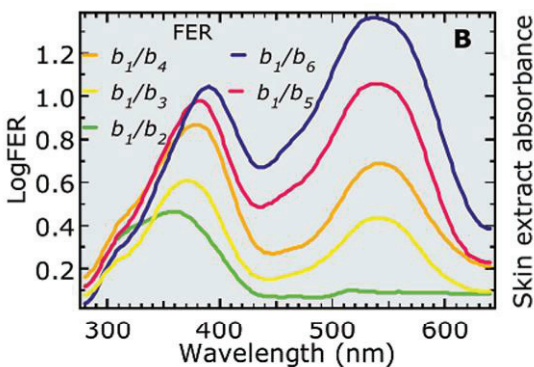


Figure B. Different absorbance spectra derived from the logFER of berries at increasing reddish color versus the greenest berry (b1) for the Pi noir cultivar.

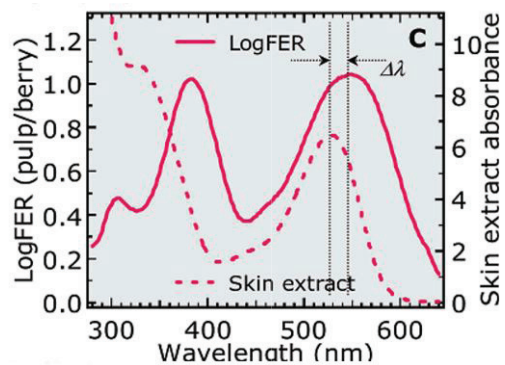


Figure C. Absorbance spectrum derived from the logFER between a berry and the same berry devoid of the skin and the respective in vitro absorption spectrum from the extracted anthocyanins.

Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a noninvasive chlorophyll fluorescence method

G. Agati, S. Meyer, P. Matteini, ZG. Cerovic. *Agricultural and Food Chemistry*. (2007) Vol. 55, No. 4, 1053-1061.

Abstract: Anthocyanins (Anths) in grape (*Vitis vinifera* L) berries harvested at véraison from Pinot Noir and Pinot Meunier cultivars were assessed nondestructively by measuring chlorophyll fluorescence (ChlF) excitation spectra. With increasing Anth content, less excitation light was transmitted to the deeper Chl layers, and thus the ChlF signal decreased proportionally. Applying Beer-Lambert's law, the logarithm of the ratio between the fluorescence excitation spectra (log FER) from a green and a red berry gave the in vivo absorption spectrum of Anths, which peaked at about 540 nm. Absolute quantitative nondestructive determination of Anths for each berry was obtained by the log FER calculated for two excitation wavelengths, 540 and 635 nm (absorbed and not-absorbed by Anths respectively) of ChlF at 685 nm. Over a range of skin colors going from green to purple, the relationship between the log [ChlF(635)/ChlF(540)] and the Anth concentration of berry extracts was fairly well fitted ($r^2 = 0.92$) using a power function. Reflectance spectra on the same berry samples were also measured, and Anth reflectance indices, which were originally developed for apples and table grapes, were derived. The logFER Anth index was superior to the reflectance-ratio-based index, but was as good as the color index for red grapes (CIRG) calculated from the whole visible reflectance spectrum. The proposed logFER method, applied by means of suitable portable devices, may represent a new rapid and noninvasive tool for the assessment of grape phenolic maturity in vineyards.

基于无损叶绿素荧光法评估葡萄浆果中的花青素

摘要: 通过叶绿素荧光激发强度可以无损评价葡萄浆果中的花青素。增加花青素浓度, 较少的透射光会透过叶绿素层, 叶绿素荧光信号会相应的减弱, 根据比尔-贝朗定律, 通过绿葡萄和红葡萄浆果的叶绿素荧光强度比率的对数, 得出花青素活体内的吸收光谱在540nm处有吸收峰, 吸收的数量和花青素的含量可以通过计算两种波(540nm, 635nm)激发的荧光在685nm处吸收的比率的对数比值获得。从绿色到紫色的一系列表皮颜色浆果的试验结果来看, 两种波与花青素的浓度是呈幂函数相关的($r^2 = 0.92$)。同一浆果上也可获得反射波谱以及原来用于苹果和鲜食葡萄中的花青素反射指数。花青素指数要优于基于反射比率的指标, 但能和红葡萄颜色指数一样从整个可见光波谱都可以计算。便携式荧光仪测得的花青素指数的方法, 展现了一种全新的快速无损评估葡萄中酚含量的途径。

New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence

Personal Authors : Z.G. Cerovic, N. Moise, G. Agati, G. Latouche, N. Ben Ghazlen and S. Meyer

www.ese.u-psud.fr/ecophysio/biospectro/pdfs/ceroviczg2007skiathos.pdf

Abstract: Grape phenolic maturity is usually analysed by destructive wet chemistry in the laboratory. Yet, for precision agriculture more rapid and nondestructive methods are needed. Therefore, in addition to measurements of fruit colour, a new optical method was recently proposed. It is based on the screening of fruit chlorophyll fluorescence that allows both flavonol and anthocyanin contents of intact berry skin to be assessed. Here we present preliminary results obtained with two commercial devices, Dualex FLAV™ and Dualex ANTH™, and a prototype, Multiplex, all based on this new method. We found that Multiplex has strong potential for an application in the vineyard for precision viticulture or for crop evaluation at the weighbridge.

基于浆果荧光的新便携式光学传感器评估酿酒葡萄酚成熟度

摘要: 传统的葡萄酚成熟度是通过实验室里破坏性的湿化学方法来测量, 但是, 精准农业要求更迅速且无损的方法。因此, 除了评估果实的颜色外, 近来提出了一种新的光学方法。该方法基于果实叶绿素荧光的屏蔽, 在浆果表皮完整无缺的条件下测量出黄酮醇和花青素的含量。使用该方法, 用仪器 Dualex FLAV™、Dualex ANTH™以及Multiplex(成像型)测量的数据结果表明, 对单个葡萄, 叶夹式的FLAV™、ANTH™仪器更准确, 能得出许多数据, 这对于研究环境对葡萄成熟的影响具有很大的价值; Multiplex对于在地秤上做农业评估的精准葡萄栽培的大田里具有更大的应用潜力。

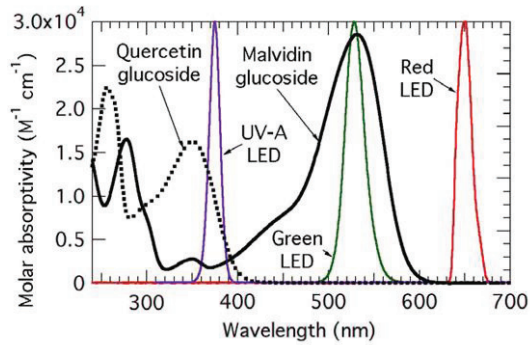


Figure 1. Spectra of the main berry skin absorbers compared to the light source used in Dualex FLAV™, Dualex ANTH™ and Multiplex.

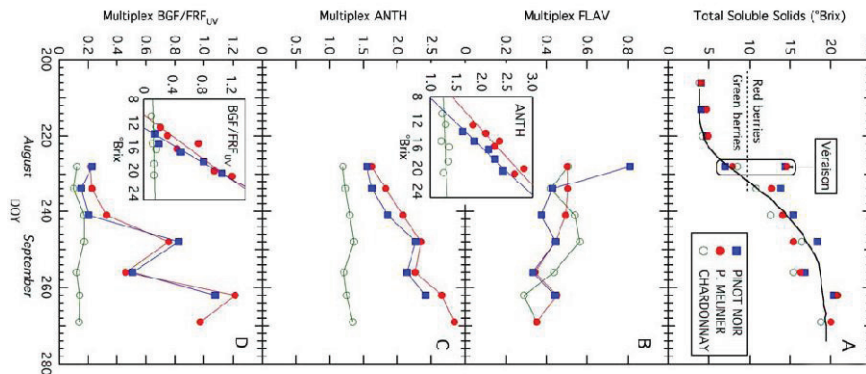
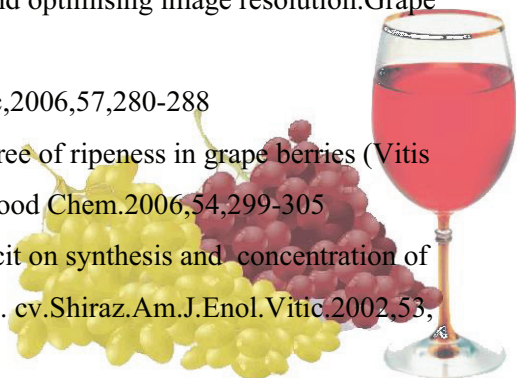


Figure 2. Changes in technological and phenolic maturity during the summer 2005. Fluorescence ratios measured on whole bunches with Multiplex are compared to the sugar content of the berry juice (inserts).

相关论文

1. Adams, DO. Phenolics and ripening in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.* 2006, 57, 249-256
2. Agati, G; Pinelli, P; Cortes-Eb, S; et al. Nondestructive evaluation of anthocyanins in olive (*Olea europaea*) fruits by in situ chlorophyll fluorescence spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 1354-1363
3. Boulton, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *Am. J. Enol. Vitic.* 2001, 52, 67-87
4. CA, Kolb; EE, Pfü. 2005, Origins of non-linear and dissimilar relationships between epidermal UV absorbance and UV absorbance of extracted phenolics in leaves of grapevine and barley. *Plant, Cell & Environment*. Vol, 28, Issue 5, 580-590
5. Lamb, DW; Weedon, . Using remote sensing to predict grape phenolics and colour at harvest in a Cabernet Sauvignon vineyard: timing observations against vine phenology and optimising image resolution. *Grape Wine Res.* 2004, 10, 46-54
6. Harbertson, JF; Measuring phenolics in the winery. *Am. J. Enol. Vitic.* 2006, 57, 280-288
7. Kolb, CA; Wirth, E; Kaiser, WM; Noninvasive evaluation of the degree of ripeness in grape berries (*Vitis Vinifera* L. Cv. Bacchus and Silvaner) by chl fluorescence. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 299-305
8. Ojeda, H; Andary, C. Influence of pre and post veraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis Vinifera* L. cv. Shiraz. *Am. J. Enol. Vitic.* 2002, 53, 261-267





浆果成熟度评估

——以树莓、草莓、红穗醋栗为例

以树莓、草莓、红穗醋栗三种浆果的不同成熟时期果实为材料，利用 Multiplex Indexes 仪器检测其样品中叶绿素、花青素及类黄酮的含量，以此来检测和评估浆果成熟过程中的多酚类物质含量的变化，及各酚类物质间的关系。

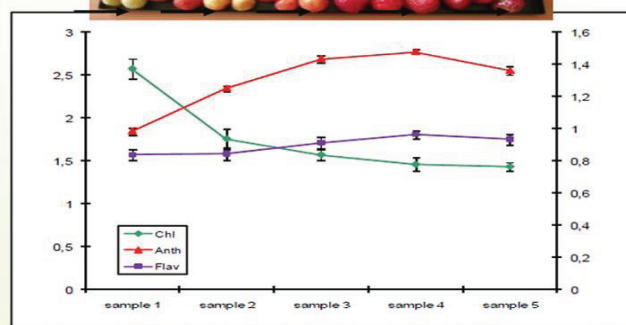


图1. 不同成熟度树莓叶绿素、花青素及类黄酮含量

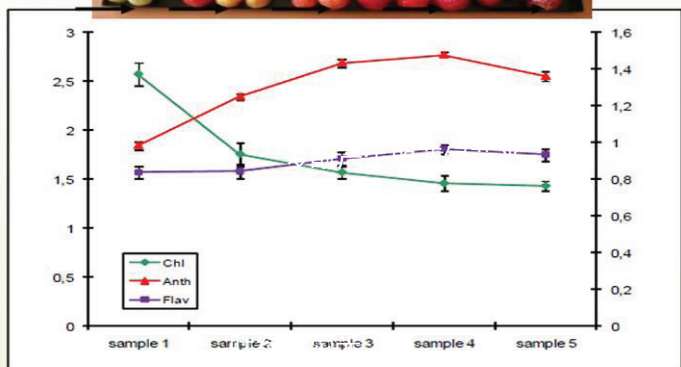


图2. 不同成熟度草莓叶绿素、花青素及类黄酮含量

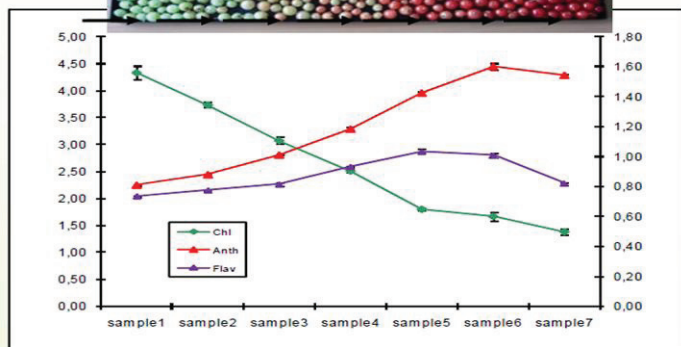


图3. 不同成熟度红穗醋栗叶绿素、花青素及类黄酮含量

结论:

1. 三种不同浆果果实的成熟度均能用 Multiplex Indexes 仪器很好的检测评估。
2. Multiplex 仪器检测的结果表明，在果实成熟过程中：
 - 叶绿素含量是逐渐递减的；
 - 花青素的含量是逐渐递增的；
 - 类黄酮的含量一直是比较稳定。
3. 该结论证实了在果实成熟过程中类黄酮的含量与叶绿素的含量不是紧密相关联的，尽管类黄酮的含量是依据叶绿素荧光原理来测得的。





农田作物、蔬菜植物多酚评估上的应用

Multiplex与遥感技术相结合，能够实时监测出大面积范围内的酚类、叶绿素等多个参数，以此为依据可绘制出大田酚类物质分布格局图，这对于大田作物栽培管理具有十分重要的意义。这是由于酚类物质的含量与作物的生长阶段、成熟度、环境胁迫等密切相关，依据此分布图，可以指导农业生产管理中的采收区域与时间的确定、农田灌溉、施肥的管理及病虫害的监测等。



1. 农田作物黄酮、花青素含量格局分布图



图1. 大田黄酮类物质含量分布图

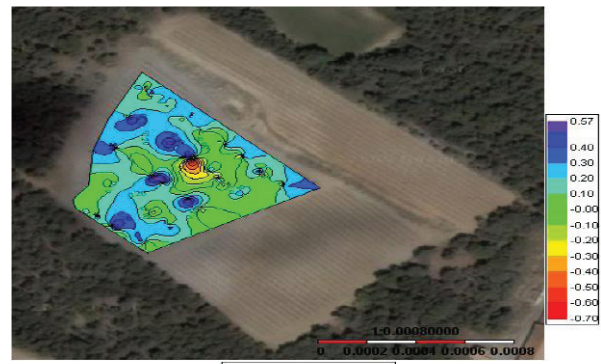


图2. 大田花青素含量分布图

2. 利用Multiplex绘制蔬菜花青素、叶绿素、类黄酮含量及NBI指数分布图

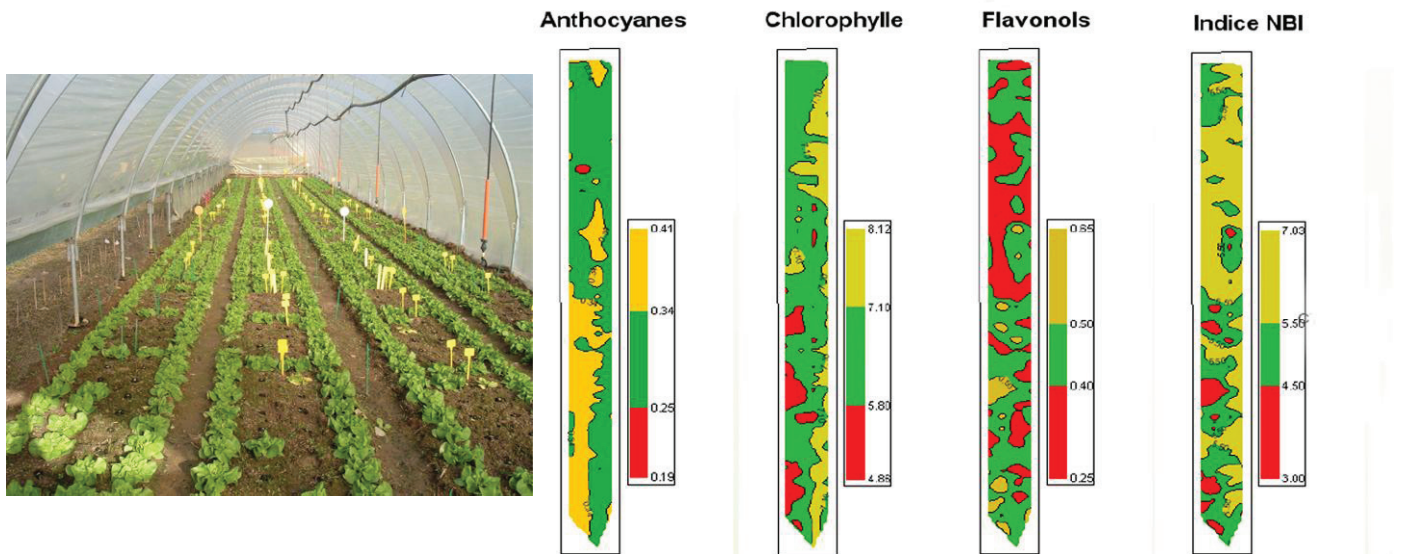


图3. 大棚生菜花青素、叶绿素、类黄酮含量及NBI指数分布图