

昌黎原产地域赤霞珠干红葡萄酒香气成分研究

李 华,李 佳,王 华,陶永胜

(西北农林科技大学 葡萄酒学院,陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 为了对我国葡萄酒实施原产地域保护提供理论依据。采用溶剂微萃取法提取赤霞珠干红葡萄酒的香气成分,用内标法对检测峰进行半定量分析,经气相色谱-质谱并结合计算机检索技术对分离化合物进行鉴定。结果表明,赤霞珠干红葡萄酒中共分离出 43 个峰,鉴定出 35 种香气物质,其中醇类、酸类、酯类分别为 8,9,14 种,占赤霞珠干红葡萄酒香气成分总量的 52.12%,12.32%,33.52%;香气成分相对含量排在前 10 位的分别为:苯乙醇、琥珀酸单乙酯、异戊醇、琥珀酸二乙酯、辛酸、2-甲基-1-丁醇、五氧四氢咪喃-2-羟基乙酯、2-羟基-3-甲基-琥珀酸二乙酯、3-甲硫基-1-丙醇、香草酸乙酯。35 种香气成分的相对标准偏差均在 10 以下。说明采用的溶剂微萃取法准确度高,分析结果可靠,能真实反映葡萄酒香气成分的组成,适用于葡萄酒香气成分分析。

[关键词] 溶剂微萃取法;气相色谱-质谱法;赤霞珠;干红葡萄酒;香气成分

[中图分类号] TS262.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)06-0094-05

Study on aroma components in cabernet sauvignon wines from Changli original producing area

LI Hua, LI Jia, WANG Hua, TAO Yong-sheng

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

Abstract: The complex aroma compounds affected the wine quality characteristic and quantification analysis of the aroma compounds could provide the theory basis for the wine original production. The chemical constituents of the volatile compounds of the dry red wine of Cabernet Sauvignon from Changli original producing area were extracted by solvent micro extraction and analyzed by GC/MS, meanwhile their relative contents were determined by peak area normalization method. 43 compounds were separated, and 35 of them were identified. These constituents represented 99.06% of the total peak areas. The RSD of 35 aroma compositions were all lower than 10. Through the experimental proof the solvent micro extraction method has high accuracy, and analysis result is reliable, which can reflect grape wine aroma compounds composition truly, and is suitable for the grape wine aroma compounds analysis. In addition, the main characteristic of aroma components in wine from Changli in 2005 were phenylethyl alcohol, butanedioic acid, monoethyl ester, 3-methyl-1-butanol, butanedioic acid diethyl ester, 1-propanol, and 3-(methylthio) S etc.

Key words: solvent micro extraction; gas chromatography-mass spectrometry; cabernet sauvignon; wine; aroma component

葡萄酒中已知的挥发性成分约有 900 多种,这些复杂的成分在葡萄-葡萄汁-葡萄酒-陈酿的整

收稿日期] 2006-12-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30571281)

[作者简介] 李 华(1959-),男,重庆梁平人,教授,博士,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒工程研究。E-mail: putj@263.com

[通讯作者] 王 华(1959-),女,山东济南人,教授,博士生导师,主要从事葡萄与葡萄酒研究。

个过程中不断发生变化^[1]。20世纪90年代,很多学者的研究都着眼于鉴定某些葡萄酒中的特征性香气化合物,它们可产生很特别的或典型的香气,如酵母菌合成的挥发性酚类,萜烯类化合物产生的玫瑰香气,去甲基异戊二烯化合物产生陈年雷司令葡萄酒中的火油气味,一些氨基酚产生美洲种葡萄酒的狐臭味,一些内酯产生雪莉酒的香气特征,甲氧基吡嗪产生缩味浓品种酒的燥辣味^[2]。但是,仅研究一组或几种化合物不能代表葡萄酒的整体香气特征,葡萄酒的整体香气感觉是众多香气化合物共同作用的结果。葡萄酒中的香气成分复杂多样,其在葡萄酒中有无以及含量的差异,构成了不同葡萄酒的风格和特色。这种差异主要受原料葡萄产区的气候、地质、土壤、品种等自然因素的影响,还与栽培管理措施、葡萄酒的酿造工艺等人为因素有关。因此,只有在特定的区域内,才能生产出品质优良、独具风格的葡萄酒。而标志这些地区的葡萄原料和葡萄酒的地理名称,即“地理标志”,也即我国的“原产地域产品”^[3]。另外,随着科学技术的不断提高,现代仪器分析技术,尤其是气相色谱分析技术的迅速发展,已经能够分析测定葡萄酒中很多的香气成分,对一些微量、超微量香气成分也能进行定性分析^[2-5]。但是,对于香气成分的提取方法,目前还存在很多问题,如环境污染、操作繁琐、重现性差等都需亟待解决。此外,在香气成分的定量测定方面,特别是一些具有原产地域特色的葡萄酒香气成分的定量测定研究甚少,仅处于初步探索阶段。

本研究以我国第一个获得原产地域保护的葡萄酒产品——昌黎赤霞珠干红葡萄酒为材料,采用溶剂微萃取法提取赤霞珠干红葡萄酒中的香气成分,用气相色谱-质谱法进行检测,并采用内标法进行半定量分析,以期确定昌黎原产地域赤霞珠葡萄酒的指纹性香气,以及为方便实现原产地域葡萄酒的分类、鉴别,实施原产地域葡萄酒保护提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

选用具有典型代表性的昌黎原产地域赤霞珠红色品种为原料,采用干红葡萄酒标准工艺,于2005年9月中旬进行酒精发酵,后期未进行下胶处理酿造赤霞珠(Cabernet sauvignon)干红单品种原酒备用。

1.2 试验方法

1.2.1 样品准备 采用溶剂微萃取法。向100 mL

具塞锥形瓶中加入50 mL酒样,添加预先配制好的内标物50 μ L,然后加入6 g分析纯级的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 以提高萃取效率,再添加2 mL CH_2Cl_2 ,置于摇床上以300 r/min振荡1.5 h,取出放入离心机以3 500 r/min离心10 min,最后取有机相通过冷冻浓缩仪浓缩至0.1 mL,回收有机相装入0.5 mL密封离心管内,用于GC/MS分析^[1-5]。在进行GC/MS检测前,每个样品用上述方法分别处理3次,做重现性试验。

1.2.2 GC/MS分析条件 色谱柱条件:TR-WaxMS柱,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m(J & W Scientific, Folsom, CA)。色谱条件:载气 He,流速1.0 mL/min,分流注射比50:1,注射体积1 μ L。升温程序:40 $^\circ\text{C}$ 保持2.00 min,然后以5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至60 $^\circ\text{C}$,以25 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至110 $^\circ\text{C}$,再以6 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至180 $^\circ\text{C}$,保持3 min,最后以10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至220 $^\circ\text{C}$,保持5 min。进样口温度250 $^\circ\text{C}$,连接杆温度250 $^\circ\text{C}$,离子源温度250 $^\circ\text{C}$ 。扫描速率,2次/ $\text{s}^{[6-10]}$ 。

1.2.3 定性定量分析 定性分析:未知化合物经计算机检索,同时与NIST library和Wiley library相匹配。仅列出匹配度和纯度大于900(最大值为1 000)的鉴定结果。

定量分析:试验采用内标法对所测香气成分进行检测峰的半定量^[11]分析。选用2-辛醇为内标物,用分析纯级的无水乙醇将其配制成质量浓度为4.095 g/L的标准溶液,然后准确吸取50 μ L 2-辛醇标准溶液加入到样品中,经萃取浓缩为0.1 mL后进行GC/MS分析。此时样品中内标物2-辛醇的质量浓度为2.047 5 g/L,然后吸取此样品1 μ L进行分流注射,分流比为50:1,这样注射到GC/MS中进行分析的内标物2-辛醇的量为0.040 95 μ g,将此含量的内标物检测峰面积设为100,其他香气组分检测峰面积与之对比换算即可进行定量。

2 结果与分析

赤霞珠干红葡萄酒香气GC/MS总离子图见图1,其香气成分含量见表1。

2.1 溶剂微萃取法的研究

从表1可见,利用溶剂微萃取法进行预处理后的样品,经3次重复试验后每种香气成分的相对标准偏差均小于10,说明本试验方法重现性较理想,很好地实现了葡萄酒香气成分含量定量后难以准确重现的情况。

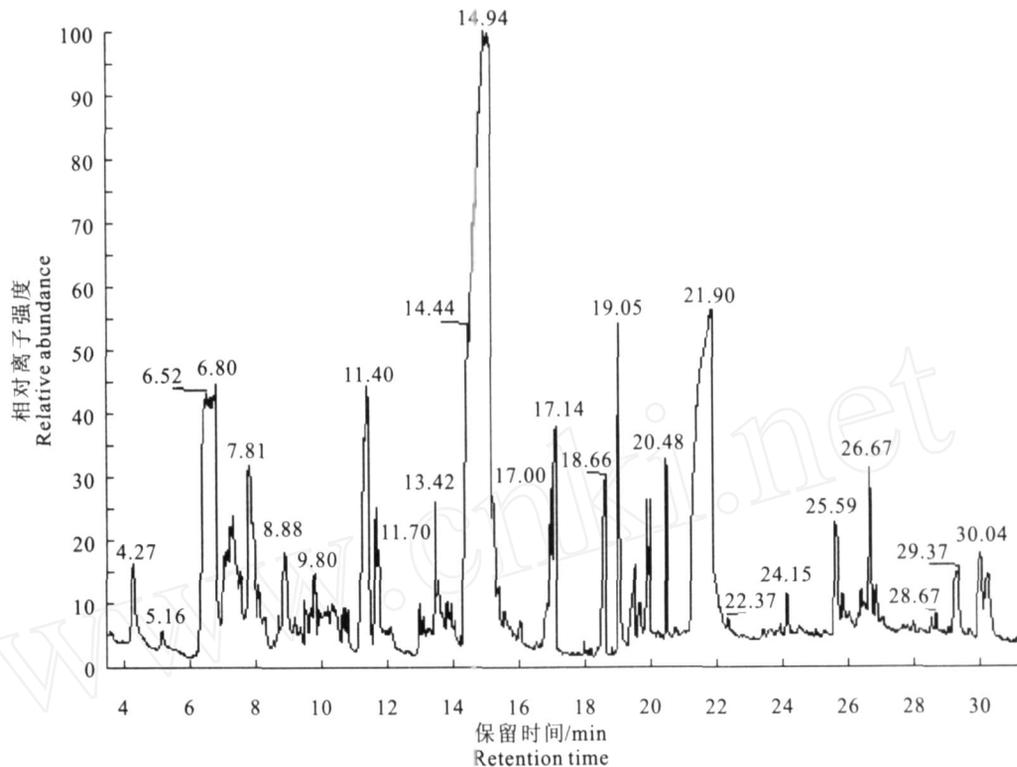


图 1 2005 年昌黎赤霞珠干红葡萄酒香气 GC/MS 总离子图

Fig. 1 GC/MS total ion chromatogram of aroma components in dry wine of cabernet sauvignon from Changli in 2005

表 1 2005 年昌黎赤霞珠干红葡萄酒香气成分含量以及重现性试验结果

Table 1 GC/MS analysis result and reproducibility of aroma in dry red wine of cabernet sauvignon from Changli in 2005

序号 Peak No.	保留时间/min Retention time	香气成分 Aroma components	相对峰面积/% Relative peak mean	相对标准偏差 RSD (n = 3)
1	4.27	2-甲基-1-丙醇 2-methyl-1-propanol	9.534	1.37
2	5.16	甲氧基异戊酸乙酯 Pentyl acid, methoxy acetic ester	2.126	0.92
3	6.52	2-甲基-1-丁醇 2-methyl-1-butanol	18.928	6.91
4	6.80	异戊醇 3-methyl-1-butanol	46.628	2.77
5	7.81	2-辛醇(内标物) 2-octanol (internal standard substance)	100	
6	8.08	1-己醇 Hydroperoxide, hexyl	3.379	0.45
7	8.88	3-甲氧基癸酸乙酯 Methoxyacetic acid, 3-tridecyl ester	10.219	1.47
8	9.49	正十七烷 Heptadecane	3.005	0.39
9	9.80	乳酸异戊酯 Isoamyl-lactate	6.310	3.88
10	10.33	丁内酯 Butyrolactone	5.612	1.78
11	10.66	3-甲基戊酸 3-methyl-pentanoic acid	3.219	0.42
12	10.78	4-羟基丁酸 Butyric acid, 4-hydroxy	2.205	2.27
13	11.40	琥珀酸二乙酯 Butanedioic acid diethyl ester	36.567	5.41
14	11.63	3-甲硫基-1-丙醇 1-propanol, 3-(methylthio) S	13.627	1.98
15	12.07	3-甲基戊酸乙酯 Pentanoic acid, 3-methyl, ethyl ester	2.233	1.27
16	12.96	乙酰丝氨酸 O-acetyl-l-serine	2.639	2.33
17	13.42	己酸苯乙酯 Hexanoic acid, 2-phenylethyl ester	0.883	1.32
18	13.87	己酸 Hexanoic acid	5.383	0.74
19	14.94	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	220.879	9.26
20	15.51	2,6,10-3 甲基-十二烷 2,6,10-trimethyl-tetradecane	0.439	4.21
21	17.00	辛酸乙酯 Octanoic acid, ethyl ester	3.003	0.69
22	17.14	辛酸 Octanoic acid	25.260	3.72
23	18.66	2-羟基-3-甲基-琥珀酸二乙酯 Succinic acid, 2-hydroxy-3-methyl-diethyl ester	15.445	2.25
24	19.05	五氧四氢呋喃-2-羧基乙酯 5-oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid ethyl ester	16.632	1.06
25	19.56	二十六烷醇 2-hexacosylethanol	7.481	0.32

续表 1 Continued to table 1

序号 Peak No.	保留时间/ min Retention time	香气成分 Aroma components	相对峰面积/ % Relative peak mean	相对标准偏差 RSD(n = 3)
26	19.92	2-苯基-3-羟基丁酸 2-benzyl-3-hydroxybutanoic acid	6.923	1.98
27	20.01	癸酸 Decanoic acid	6.100	0.81
28	20.48	2,4-二叔丁基苯酚 Phenol,2,4di-tert-butyl	6.505	2.89
29	21.86	琥珀酸单乙酯 Butanedioic acid,monoethyl ester	101.302	1.06
30	25.59	香草酸乙酯 Benzoic acid,4-hydroxy-3-methoxy,ethyl ester	12.521	1.79
31	25.81	十六酸乙酯 Hexadecanoic acid,ethyl ester	3.764	4.50
32	26.67	十四酸 Tetradecanoic acid	10.248	1.47
33	26.85	邻苯二甲酸二丁酯 1,2-benzene dicarboxylic acid,dibutyl ester	1.873	3.22
34	29.37	十六酸 Hexadecanoic acid	9.492	1.36
35	30.04	4-羟基苯乙醇 Benzene ethyl,4-hydroxy-	9.951	2.43
36	30.25	3,4,5-三甲氧基-苯乙酸 Phenyl acetic acid,3,4,5-trimethoxy-	8.251	1.19

2.2 葡萄酒香气成分与葡萄酒感官特征的关系

从表 1 可见,我国昌黎原产地赤霞珠干红葡萄酒中共定量出 35 种香气化合物,其中醇类有 8 种,其含量占赤霞珠干红葡萄酒香气成分总量的 52.12%,2-甲基-1-丙醇、2-甲基-1-丁醇、1-己醇、异戊醇、3-甲硫基-1-丙醇是葡萄浆果中的香气成分,属于品种香气范畴,这些品种香气成分赋予了赤霞珠干红葡萄酒风格迥异的风味特征;苯乙醇、4-羟基苯乙醇是酵母菌的代谢产物,这些高级醇对葡萄酒的风味有着重要贡献,特别是苯乙醇,其含量在赤霞珠干红葡萄酒中很高,且具有独特的紫罗兰香、丁香和茴香味,赋予葡萄酒一种浓郁优雅的风味特征。酸类有 9 种,其含量占赤霞珠干红葡萄酒香气成分总量的 12.32%,其中 4-羟基丁酸为首次检出;两种长链脂肪酸(十四酸、十六酸)是弱极性化合物,这些不饱和脂肪酸对于干红葡萄酒的味感平衡具有调节作用;3-甲基戊酸、己酸、辛酸、癸酸等低级脂肪酸都具有明显的脂肪味,它们对赤霞珠干红葡萄酒的整体结构具有重要作用。香气成分中酯类物质种类最多,共检测到 14 种,其含量占赤霞珠干红葡萄酒香气成分总量的 33.52%,这些酯类成分都是在葡萄酒陈酿过程中产生的,它们使葡萄酒的香气向更浓厚的方向转化,降低其品种香气的特性,同时使各种气味趋于平衡、融合、协调,如 3-甲氧基癸酸乙酯、十六酸乙酯、辛酸乙酯具有典型的果香味,乳酸异戊酯、己酸苯乙酯、甲氧基异戊酸乙酯则赋予葡萄酒一种明显的肉桂味和奶酪味。另外,从供试的 2005 年昌黎赤霞珠干红葡萄酒中还首次检出一种氨基酸,其具体合成机理还有待于进一步研究证实。

3 结论与讨论

3.1 关于香气成分萃取方法

采用溶剂微萃取法对葡萄酒香气成分进行预处

理,与传统的溶剂萃取法相比,溶剂微萃取法操作步骤简单快速,提取效率高,很少受人为因素的限制,这样也就相对减少了人为操作的试验误差;且其仅应用很微量的有机溶剂,避免了环境的污染以及这些有毒溶剂对试验人员造成的伤害;不需要大量的经济投入就可以收到很好的试验结果。本研究通过 3 次重复试验测得所有香气成分的相对标准偏差均小于 10,方法的重现性较理想。另外,与李华等^[7-8]的试验结果相比,该方法所萃取出的香气种类也有了很大程度的提高。综上所述,本方法准确度高,分析结果可靠,能真实反映葡萄酒香气成分的组成,适用于葡萄酒香气成分的分析。

3.2 赤霞珠葡萄酒特征香气成分的确定

从表 1 可以看出,昌黎原产地赤霞珠干红葡萄酒香气成分相对含量排在前 10 位的分别为苯乙醇、琥珀酸单乙酯、异戊醇、琥珀酸二乙酯、辛酸、2-甲基-1-丁醇、五氧四氢呋喃-2-羟基乙酯、2-羟基-3-甲基-琥珀酸二乙酯、3-甲硫基-1-丙醇、香草酸乙酯,这些香气成分与 2005 年昌黎原产地域赤霞珠葡萄酒的风味感官特性有着密切的关系。如苯乙醇、琥珀酸单乙酯、异戊醇、琥珀酸二乙酯与文献^[7-9]报道的葡萄酒中含量较高的香气物质一致,因此它们的存在对于葡萄酒的整体风格特征有着至关重要的作用。另外,一些相对含量略低的香气成分对葡萄酒的风味特征也有着不可忽视的作用。由于这些香气成分的嗅觉阈值都较低,所以香气值就相对变高,因此这些香气成分对赤霞珠干红葡萄酒的整体风格特征有重要贡献。根据文献^[5,12-15]的报道,赤霞珠单品种酒的特征香气成分主要是一些甲氧基类和硫醇类以及挥发性酚类物质。而本试验检测到的香气成分中甲氧基异戊酸乙酯、3-甲氧基癸酸乙酯、3-甲硫基-1-丙醇、2,4-二叔丁基苯酚、3,4,5-三甲氧基-苯乙酸这几种物质很可能也属于昌黎原产地域赤霞

珠干红葡萄酒的特征香气成分,然而,特征香气组分的鉴定必须有人体嗅觉感官分析的参与才能够完成,这有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Ferreira V, Lopez R, Aznar M, et al. Quantitative determination of trace and ultratrave flavour active compounds in red wines through gas chromatographic-ion trap mass spectrometric analysis of microextracts[J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 806:349-354.
- [2] Ortega C, López R, Cacho J. Fast analysis of important wine volatile compounds development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 923:205-214.
- [3] Ortega Heras M, Gonzalez-Sanjose M L, Beltran S. Aroma composition of wines studied by different extraction methods[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458:85-93.
- [4] Pérez-Prieto L J, López-Roca J M, Gómez-Plaza E. Differences in major volatile compounds of red wines according to storage length and storage conditions[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2003, 16:697-705.
- [5] Cerdán T G, Goni D T, Azpilicueta C A. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition[J]. *Journal of Food Engineering*, 2004, 65:349-356.
- [6] 李华,涂正顺,王华,等. 猕猴桃果酒香气成分的气相色谱/质谱分析[J]. *分析化学*, 2002, 30(6):695-698.
- [7] 李华,胡博然,杨新元,等. 蛇龙珠干红葡萄酒香气成分的 GC-MS 分析[J]. *分析测试学报*, 2004, 23(1):85-87.
- [8] 李华,胡博然,张予林. 贺兰山东麓地区霞多丽干白葡萄酒香气成分的 GC/MS 分析[J]. *中国食品学报*, 2004, 4(3):72-75.
- [9] 李华,王华,刘拉平,等. 爱格丽白葡萄酒香气成分的 GC/MS 分析[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(6):1250-1254.
- [10] 王华. 葡萄与葡萄酒实验操作规范[M]. 西安:西安地图出版社, 2000.
- [11] Bonino M, Schellino R, Rizzi C. Aroma compounds of an Italian wine (Ruche) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS[J]. *Food Chemistry*, 2003, 80:125-133.
- [12] 王华,张莉,刘拉平. 热浸渍处理对赤霞珠干红葡萄酒香气的影响[J]. *中国食品学报*, 2006, 6(3):100-104.
- [13] 张军翔,冯长根,李华,等. 浸入式固相微萃取 GC-MS 联用测定赤霞珠葡萄酒中挥发性成分[J]. *酿酒科技*, 2006, 3:95-97.
- [14] 胡博然,李华. 不同年份干红葡萄酒香气物质分析研究[J]. *食品科学*, 2006, 27:487-492.
- [15] Arriagada-Carrazana J P, Sáez-N C, Bordeu E. Membrane filtration effects on aromatic and phenolic quality of Cabernet Sauvignon wines[J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 68:363-368.