

搅拌子吸附萃取结合气相色谱 / 质谱技术 分析起泡葡萄酒中香气物质

王伟^{1,2}, 王方², 张岱², 冯良晨², 范国梁¹

(1.天津大学材料科学与工程学院,天津 300072;2.中法合营王朝葡萄酒有限公司,天津 300402)

摘要: 利用搅拌子吸附萃取法提取香气成分,结合气相色谱-质谱联用技术对其进行分析起泡葡萄酒。共检出香气组分41种,与NIST05标准谱库进行比较,并与标准样品的质谱图比较得到定性结果。利用半定量方法对组分进行定量,该方法可较好地对起泡葡萄酒中挥发性物质进行提取与定量分析。

关键词: 分析检测; 起泡葡萄酒; 萜烯类化合物; 搅拌子吸附萃取; 气质联用

中图分类号:TS262.6;TS261.4;O657 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2011)01-0096-03

Analysis of Aroma Compounds of Sparkling Wine by Stir Bar Absorptive Extraction With GC-MS

WANG Wei^{1,2}, WANG Fang², ZHANG Dai², FENG Liang-chen² and FAN Guo-liang¹

(1. Material Science and Engineering College of Tianjin University, Tianjin 300702;

2. Sino-French Joint-Venture Dynasty Winery Co.Ltd., Tianjin 300402, China)

Abstract: The flavoring compounds of sparkling were extracted by stir bar absorptive extraction and then analyzed by GC-MS. 41 kinds of flavoring compounds in total were detected and identified by comparison with NIST05 standard spectrum. And all the 41 kinds of flavoring compounds were quantified by semi-quantified method. The above methods could be applied for the extraction and the quantitative analysis of volatile substances in sparkling grape wine.

Key words: analysis determination; sparkling wine; terpenes; stir bar absorptive extraction; GC-MS

起泡葡萄酒是一种二次发酵葡萄酒。在一次发酵结束之后,加入香槟酒发酵液(继续发酵的酵母和糖)于瓶中进行二次发酵。然而,起泡葡萄酒的香气受到多种多样物质的影响,这些影响物质包括单萜类化合物、倍半萜类化合物、碳13(C₁₃)、碳倍半萜及其衍生物、苯的衍生物和高级脂肪醇等发酵过程中产生的其他物质。据报道,葡萄酒中已鉴定的挥发性物质高达800多种,包括醇类、酯类、酸类、醛类、酮类、酯类、萜烯类和酚类物质。酒中挥发性物质是决定其香气风格和质量的重要因素之一,特别是单萜类化合物、倍半萜类化合物、C₁₃降碳倍半萜及其衍生物对于区别品种葡萄酒起到至关重要的作用^[1-2]。由于这些物质在葡萄酒中含量较低,因此,对其提取方法要求比较苛刻,传统方法(液液萃取、固相萃取)都需要有机溶剂,而且比较费时。相反,无需有机溶剂的方法,如固相微萃取和搅拌子吸附萃取,已经成功地运用到风味物质研究当中,这些方法具有使用方便、精确度和灵敏度都能满足分析要求等特点。

本文主要通过使用SBSE-TDS-GC/MS方法分析起泡葡萄酒的香气物质,特别是对影响葡萄酒品种香气的萜烯类物质做了重点分析。

1 材料与方法

1.1 样品与试剂

王朝起泡葡萄酒,原料来自天津汉沽产区的玫瑰香和蓟县产区的霞多丽葡萄。葡萄的采摘时间一般在每年的9月上、中旬,此时的葡萄有适宜的糖酸比、较低的pH值以及苹果酸含量较高等特点。

内标物:色谱纯2-辛醇。

1.2 搅拌子吸附萃取(SBSE)条件

搅拌子吸附萃取方法试验参数的优化参照文献^[3]。搅拌子长10 mm,萃取涂层为聚甲基硅氧烷,厚度0.5 mm,含量为5 μL。使用前,在热脱附装置(Gerstel公司,德国)中老化60 min。取酒样10 mL,氯化钠3 g,置于20 mg样品瓶中,放入搅拌子(Gerstel公司,德国),在室

收稿日期:2010-08-11

作者简介:王伟,工程师,研究方向为葡萄酒品质检测。

通讯作者:王方,正高级工程师,Email:wf0529@126.com。

温下萃取 1 h。吸附结束后,取出搅拌子,用去离子水冲洗后,再用滤纸吸干水分,将搅拌子转移到热脱附装置中解吸附,进入 GC-MS 分析。

1.3 GC/MS 条件

气相色谱-质谱联用仪(Agilent 6890-5975,美国 Agilent 公司),配备 PTV 进样口 CIS4(Gerstel 公司,德国)结合热脱附装置 TDS3(Gerstel 公司,德国)通过液氮制冷完成分析工作。质谱采用 EI 电离源,电子能量为 70 eV,扫描范围 45~500 AMU,质谱接口温度为 280 °C,离子源温度 230 °C。载气为 He,流速 1 mL/min。

毛细管柱: INNOWAX(60 m×0.25 mm×0.25 μm,美国 J&W 公司)。

TDS3 条件:不分流模式,初始温度 30 °C,保留 1 min,30 °C/min 升到 250 °C,保留 10 min。

CIS4 条件:液氮制冷,-50 °C,升温程序为-50 °C 平衡 1 min,12 °C/min 升到 250 °C 保留 3 min。

程序升温条件为:40 °C 保持 5 min,以 4 °C/min 的速率升至 220 °C,保持 5 min。

1.4 定性和半定量分析^[4]

未知化合物的质谱图通过与 NIST05 标准谱库进行比较,定性结果通过与标准样品的质谱图比较得到,两者结合进行定性。

采用半定量方法对各组分进行定量分析。

计算公式:待定量化合物的浓度 = 待定量化合物的峰面积×内标的浓度 / 内标的峰面积。其中,所有化合物的峰面积采用提取色谱图进行积分得来的。

2 结果与讨论

2.1 提取色谱图定量方法的原理

如图 1(a)所示,起泡葡萄酒的总离子流色谱图(TIC)非常复杂,峰面积大的色谱峰一般会掩盖峰面积小的色谱峰,产生重叠现象。如图 1(b)和(c)所示,在全扫描方式(Scan)下,可以通过提取色谱图的方法进行数据定量分析,大大提高了分析灵敏度。

2.2 萜烯类成分的分析

表 1 为 SBSE-GC/MS 法测定起泡葡萄酒的中挥发性化合物的结果。在起泡葡萄酒中检测到共 41 种香气物质,按照化学物质可以分为:单萜类化合物(13 种)、C₁₃ 降碳倍半萜及其衍生物(3 种)、醇类(9 种)、酯类(11 种)、酸类(5 种)。其中,通过发酵得来的香气物质占到总物质含量的 94% 以上,品种特征香气物质占到总物质含量的 6% 左右,据文献报道,这类香气物质对葡萄酒香气起着至关重要的作用^[5-6]。

单萜烯类化合物是酿酒葡萄中较常见的香气成分。这类化合物在阈值范围内都具有特征的香气,如里哪醇、橙花醇、香叶醇具有橙子花香味^[7]。通常情况下,这类化合物的含量随着葡萄的不断成熟而增长,直到葡萄成熟

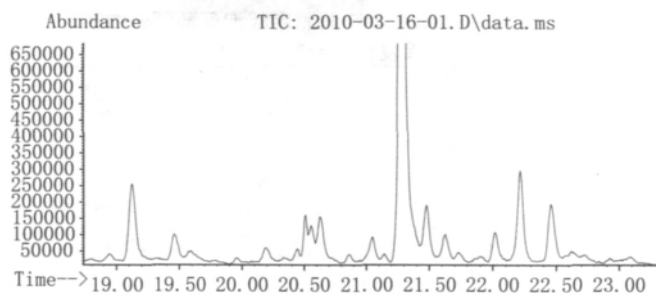


图 1 (a)起泡葡萄酒的总离子流色谱图

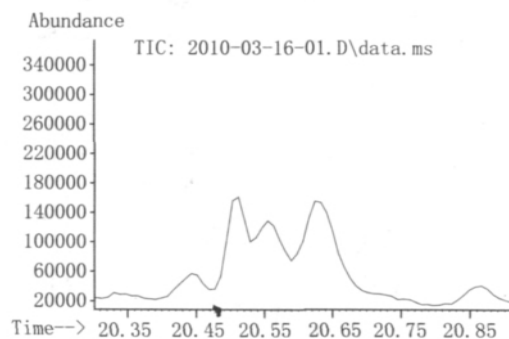


图 1 (b)总离子流图中截取的一段图谱峰

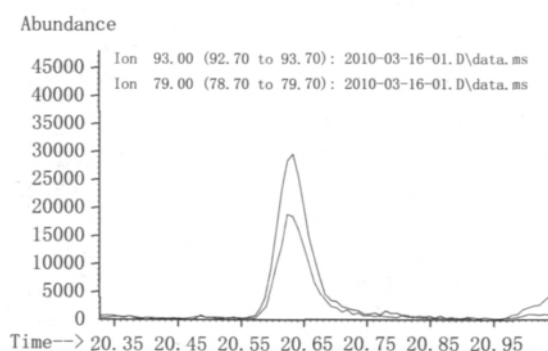


图 1 (c)提取 93、79 离子后的谱图

后开始下降。据文献报道,大概有 50% 的该类化合物来自于葡萄皮,像含量较高的 α-萜品醇可能是通过含量较高的里哪醇环化反应得到的,抑或可能是由灰霉菌新陈代谢产生的。存在于葡萄中的单萜多醇(二醇和二醇)的浓度达 1 mg/L,甚至更高,但没有太多的香气。在酸性 pH 值下,它们也可以经过水解作用形成其他的单萜,其中一些是有味的。例如,3,5-二甲基-1,5-辛二烯-3,7-二醇(3,7-dimethylocta-1,5-dien-3,7-diol)经过酸解产生脱氢芳樟醇。

C₁₃ 降碳倍半萜及其衍生物是决定某些葡萄品种的特征香气。其中,β-大马士酮(β-damascenone)具有复杂的花香、热带水果和煮苹果香气,在水中感官阈值很低(2 ng/L)。β-紫罗兰酮具有紫罗兰花香,α-紫罗兰酮具有类似于雪松的味道。在这里需要指出的是,Nist05 谱库中没有 β-紫罗兰酮和 α-紫罗兰酮的标准谱图,本课题组是通过以下方式进行区分的,其质谱图见图 2 和图 3。

表1 SBSE-GC/MS法测定起泡葡萄酒的挥发性化合物的结果

序号	化合物名称	质荷比(m/z)	浓度(μg/L)
单萜类化合物			
1	β-蒎烯	93	4.20
2	柠檬油精	68, 93	16.63
3	α-蒎品醇	93	18.37
4	里哪醇	93	30.43
5	月桂烯	71, 93	9.96
6	3-萜烯	93	7.26
7	蒎品油烯	93	16.69
8	顺式-氧化芳樟醇	59	23.97
9	反式-氧化芳樟醇	59	14.54
10	脱氢芳樟醇	71	11.73
11	香叶醇	69	11.78
12	顺式玫瑰氧化物	139	8.40
13	反式玫瑰氧化物	139	11.76
C ₁₃ 降碳倍半萜及其衍生物			
14	β-大马士酮	91	33.70
15	α-紫罗兰酮	121	13.04
16	β-紫罗兰酮	177	12.16
醇类			
17	己醇	56	2030.15
18	反式-3-己烯-1-醇	67	100.92
19	顺式-3-己烯-1-醇	67	102.72
20	2-己烯-1-醇	57	95.19
21	戊醇	55	3020.41
22	3-乙氧基异丙醇	59	80.95
23	2-乙基-1-己醇	57	112.07
24	辛醇	56	3022.49
25	苯乙醇	91	1081.53
酯类化合物			
26	丁酸乙酯	71	102.94
27	乙酸异戊酯	70	3065.14
28	己酸乙酯	88	8252.33
29	乙酸己酯	56	1022.68
30	辛酸甲酯	74	1101.95
31	辛酸乙酯	88	5209.55
32	呋喃甲酸乙酯	95	103.37
33	癸酸乙酯	88	1214.74
34	丁二酸二乙酯	101	2076.19
35	戊二酸二乙酯	143	202.13
36	苯乙酸乙酯	104	124.43
酸类化合物			
37	己酸	60	132.08
38	辛酸	60	1578.06
39	壬酸	60	235.35
40	癸酸	60	612.87
41	香叶酸	69	134.00

与α-紫罗兰酮不同,β-紫罗兰酮有177(M-CH₃)⁺的基峰,只有β-紫罗兰酮的结构才能产生这种丢甲基的断裂,它是通过置换反应得来的。

酯类化合物和酸类化合物主要是在发酵过程中通过酵母的新陈代谢作用产生的,该类化合物具备水果香和花香的特点。醇类化合物共检测到9种,其中C₆醇类化

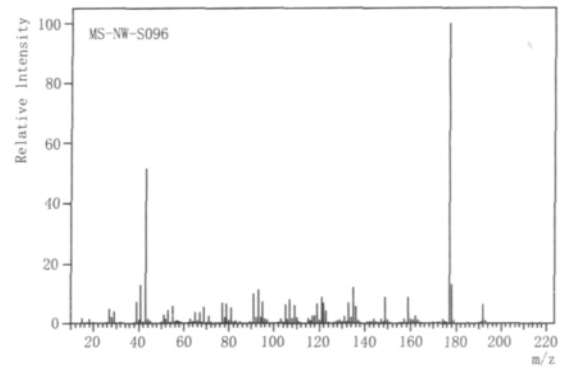


图2 β-紫罗兰酮

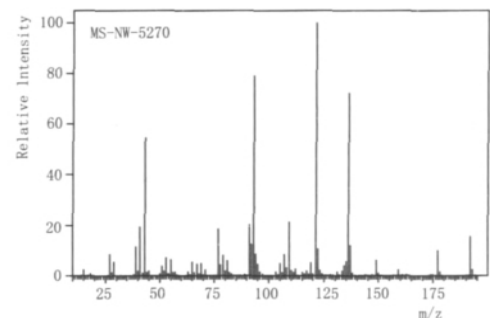


图3 α-紫罗兰酮

合物有3种,该类化合物具有绿色植物气味和油脂味,虽然一些消费者喜欢白葡萄酒中的这类气味,但据报道,这些气味对葡萄酒是有一定危害作用的^[8]。

3 结论

搅拌子吸附萃取和气相色谱质谱技术的结合,可以一次性分析物质达41种之多,加之提取色谱图法的运用,特别是对萜烯类这种含量较低物质的分析,该方法较好地实现了起泡葡萄酒中挥发性物质的提取与定量分析。

参考文献:

- [1] Maicas s, Mateo J[J]. J Appi M biol BloLechno1. 2005, 67(3):322.
- [2] Rosi 0 L, sallnasMR, Garijo J. AlonsoG L[J]. J Chromatogr .A 1999.847:15.
- [3] 杨丽丽,王方,张岱,王伟,李景明. 搅拌子吸附萃取-气质联机分析(SBSE-GC/MS)在葡萄酒香气分析中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2009,35(4):153-157.
- [4] 姜文广,范文来,徐岩,等. 溶剂辅助蒸馏-气相色谱-串联质谱法分析酿酒葡萄中的游离态萜烯类化合物[J]. 色谱, 2007, 25:881-886.
- [5] S.M. Rocha, E. Coelho, J. Zrostlikova, I. Delgadillo, M.A. Coimbra[J]. J. Chromatogr. 2007,A 1161 ,292.
- [6] Elisabete C, Manuel A.C, J.M.F. N & Silvia M.R[J]. Analytica Chimica Acta,2009, 635:214-221.
- [7] Alessandro G, Angelita G, Paola P & Luigi M[J]. Food Chemistry, 2007,103:1228-1236.
- [8] P. Dubois, Rev. Fr[J]. Oenol.,1994, 145:27.