

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

张军翔^{1,2}, 冯长根¹, 李 华³, 王志东¹

(1.北京理工大学机电工程学院, 北京 100081; 2.宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750001;

3.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 建立了浸入式固相微萃取-气相色谱法(IM-SPME-GC-MS)测定葡萄酒挥发性成分的方法,并对萃取条件和色谱条件进行了优化,对宁夏贺兰山东麓地区赤霞珠葡萄酒挥发性成分进行了测定。该方法简便、快速、精确,适合葡萄酒挥发性较强成分的测定,分离鉴定了葡萄酒中 20 种主要挥发性成分,其中异戊醇、乙酸乙酯、D,L-2,3-丁二醇、内消旋-丁二醇、琥珀酸二乙酯、醋酸、2-羟基丙酸乙酯、苯乙醇等物质占主要比例。

关键词: 葡萄酒; 挥发性成分; 赤霞珠; 浸入式固相微萃取; 气相色谱-质谱

中图分类号: TS262.6; O652.63; O657.63 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2006)05-0095-03

Detection of Volatile Constituents in Cabernet Sauvignon Grape Wine by IM-SPME-GC-MS

ZHANG Jun-xiang^{1,2}, FENG Chang-gen¹, LI Hua³ and WANG Zhi-dong¹

(1.Electromechanical Engineering College of Beijing Technical Institute, Beijing 100081; 2. Agricultural College of Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750001; 3. Enology College of Northwest Agriculture & Forestry Science & Technology University, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: The detection of volatile constituents in grape wine by IM-SPME-GC-MS had been developed and the extraction conditions and chromatography conditions were optimized. Furthermore, the method was used to determine the volatile constituents in cabernet sauvignon grape wine made in Helanshan Ningxia. The method was simple, rapid, and accurate and especially suitable for the detection of components of strong volatility in grape wine. More than 20 kinds of volatile constituents were isolated from grape wine and identified as follows (the main constituents): isoamyl alcohol, ethyl acetate, D,L-2,3-butanediol, internal compensation-butanediol, diethyl succinate, acetic acid, 2-ethyl hydracrylic acid, and phenethyl alcohol etc. (Tran. by YUE Yang)

Key words: grape wine; volatile constituents; cabernet sauvignon; immersion mode solid phase minute extraction (IM-SPME); gas chromatography-mass spectrum (GC-MS)

葡萄酒是一种非常复杂的酒精饮料,含有丰富的挥发性成分。其所含的挥发性成分的种类和含量决定了葡萄酒的香气,从而影响着葡萄酒的品质。葡萄酒中的挥发性成分是由许多具有较强挥发性的物质组成的。利用 MS 对葡萄酒中的挥发性成分进行鉴定,大大增强了对挥发性成分物质的鉴定效果,在葡萄酒中已经被鉴定出来的挥发性成分已超过 800 种。

葡萄酒中的挥发性成分的测定方法有气相色谱和气质联用等。由于葡萄酒中的一些重要挥发性成分一般含量很低($\mu\text{g/mL}$),因此,如果对葡萄酒中的挥发性成

分进行定量,必须对样品进行萃取和浓缩。对样品的预处理是测定挥发性物质的关键。预处理主要采用液-液萃取、顶空萃取和固相微萃取等方法。固相微萃取(SPME)技术是一种新的无溶剂处理技术,SPME 通过石英纤维表面的高分子涂层对样品中有机分子进行萃取和预富集。固相微萃取对样品预处理简单,有良好的重现性,非常适合水相样品的萃取和分离^[1],选择不同的 SPME 涂层,可以对样品中的挥发性物质、半挥发性物质和其他极性物质进行分析^[2,3]。

固相微萃取方法主要有顶空固相微萃取(HS-

收稿日期: 2006-01-24

SPME) 和浸入式固相微萃取(IM- SPME), 浸入式固相微萃取是将萃取头直接浸入到样品中萃取其挥发或半挥发性成分。E. Kafkas, T. Cabaroglu 和 S. Selli 等利用两种方法对草莓酒的挥发性物质进行了鉴定, 都比较成功地鉴定出了样品中的主要挥发性物质^[4]。

本文研究了浸入式固相微萃取技术在葡萄酒挥发性成分测定中的应用, 建立了浸入式固相微萃取对葡萄酒预处理和 GC- MS 的测定方法, 对萃取条件和色谱条件进行了优化, 并对宁夏贺兰山东麓赤霞珠葡萄酒的挥发性成分进行了定性的测定。

1 材料与方法

1.1 材料

葡萄酒为宁夏贺兰山东麓地区 2004 年生产的赤霞珠(Cabernet sauvignon)干红葡萄酒, 按常规干红工艺进行酒精发酵^[5], 未经过苹果酸- 乳酸发酵(MLF)。表 1 为该葡萄酒的常规理化指标。

表 1 葡萄酒的常规理化指标

| 项 目 | 指标 |
|---------------------------|-------|
| 酒精度(% , v/v) | 13. 1 |
| 总酸(g/L) | 6. 4 |
| pH | 3. 6 |
| 还原糖(g/L) | 2. 7 |
| 干浸出物(g/L) | 28 |
| 挥发酸(g/L) | 0. 34 |
| 游离 SO ₂ (mg/L) | 24 |
| 总 SO ₂ (mg/L) | 86 |

1.2 仪器与设备

选用岛津 GC- 2010/MS- 2010 气相 / 质谱联用仪。色谱柱: DB- WAX 石英弹性毛细管柱, 30 m ×0.25 μm × 0.32 mm。

固相微萃取装置: 聚二甲基硅氧烷(PDMS) 纤维萃取头, 膜厚 100 μm; 手动进样手柄(美国 Supelco 公司)。

1.3 样品萃取

取 20 左右 3 mL 酒样, 置于 4 mL 进样瓶中, 将固相微萃取装置插入进样瓶, 将萃取头浸入酒样中 10 min, 随后取出萃取头, 立即供 GC- MS 进样, 解析温度 200 。

1.4 GC- MS 测定条件

GC 条件: 柱温采用程序升温, 起始温度为 50 , 以 2.5 /min 升温至 190 , 保持 20 min。进样口温度 200 , 载气 He, 流速 2.24 mL/min, 分流比 10 1。

MS 条件: 电离方式为 EI, 离子化电压 70 eV, 离子源温度 250 。

1.5 方法精密度试验

同一样品按上述操作进样 3 次, 计算相对峰面积标准偏差(RSD), 考察试验的精密度。

2 结果与分析

2.1 萃取条件的优化和选择

2.1.1 平衡时间的选择

浸入式固相微萃取很容易萃取葡萄酒中的挥发性成分, 比较 20 , 30 和 40 的萃取温度, 在相同的萃取时间内, 都具有较好的萃取效果, 考虑到葡萄酒挥发性成分在高温情况下易于分解, 故选择 20 作为最终的萃取温度。

2.1.2 萃取时间的选择

固相萃取头在葡萄酒中的萃取时间关系到对待测组分的萃取量。随着萃取时间的增加, 萃取物质不断增加, 接近平衡时达到稳定。在 20 条件下比较了 5 min, 10 min 和 15 min 的萃取时间, 发现 10 min 时即达到很好的平衡。实际测定中选择 10 min 为萃取时间。

2.1.3 解吸温度和解吸时间的选择

考虑到解析温度过高对葡萄酒 SPME 涂层损坏过大, 解析温度过低, 解析时间过长, 同时又是对葡萄酒中的主要挥发性成分进行测定, 所以选择 200 的解析温度, 在此温度下比较不同解吸时间(5 min, 10 min 和 15 min)对测定结果的影响, 结果表明, 5 min 可以较完全地进行解吸, 故选择 5 min 为解析时间。

2.2 试验精密度

对样品按优化条件重复萃取 3 次, 并进行测定。各组分相对面积标准偏差在 1.8 % ~ 9.2 %, 结果见表 2。表 2 表明, 试验方法具有较好的精密度。

表 2 葡萄酒样品中主要挥发性成分 GC-MS 的分析结果

| 编 号 | 时 间 (min) | 挥发性成分 | 相似性 (%) | 相对含量 (%) | RSD (%) n=3 |
|-----|--------------|-----------------------|------------|-------------|----------------|
| 1 | 1. 361 | 乙酸乙酯 | 97 | 19. 6 | 1. 9 |
| 2 | 2. 367 | 乙醛 | 96 | 0. 4 | 5. 0 |
| 3 | 3. 661 | 异丁醇 | 91 | 1. 5 | 2. 3* |
| 4 | 4. 059 | 丙酮酸乙酯 | 81 | 1. 5 | 4. 5 |
| 5 | 7. 145 | 异戊醇 | 96 | 29. 0 | 1. 8 |
| 6 | 9. 805 | 3-羟基-2-丁酮 | 92 | 1. 3 | 2. 3 |
| 7 | 12. 883 | 2-羟基丙酸乙酯 | 95 | 3. 2 | 3. 0 |
| 8 | 13. 716 | 1-丁醇 | 80 | 0. 2 | 6. 5 |
| 9 | 17. 364 | 丙酸甲酯 | 97 | 0. 1 | 5. 7 |
| 10 | 18. 294 | 醋酸 | 81 | 4. 6 | 2. 7 |
| 11 | 22. 804 | 2, 3-丁二醇, <i>D, L</i> | 97 | 18. 1 | 2. 0 |
| 12 | 24. 683 | 2, 3-丁二醇, <i>Meso</i> | 94 | 4. 9 | 1. 9 |
| 13 | 25. 232 | 2-羟基丙酸丙酯 | 97 | 0. 9 | 3. 9 |
| 14 | 28. 943 | 琥珀酸二乙酯 | 88 | 4. 8 | 3. 9 |
| 15 | 38. 775 | 苯乙醇 | 90 | 3. 1 | 5. 6 |
| 16 | 43. 242 | 乙二醛 | 98 | 1. 4 | 9. 2 |
| 17 | 44. 011 | 未知 | | 1. 8 | 7. 0 |
| 18 | 45. 554 | 丁酸 | 87 | 0. 3 | 8. 7 |
| 19 | 47. 040 | 乙酸甲酯 | 89 | 0. 6 | 4. 7 |
| 20 | 49. 153 | 2-丁酸甲酯 | 98 | 2. 7 | 5. 1 |

2.3 赤霞珠葡萄酒的香气分析

按上述试验条件, 对宁夏贺兰山东麓地区生产的赤霞珠葡萄酒的芳香成分进行了 GC- MS 分析, 图 1 为总离子流图, 通过岛津公司自带化学工作站检索标准图谱库并结合相关文献^[6~11]进行分析, 鉴定其主要成分, 结果

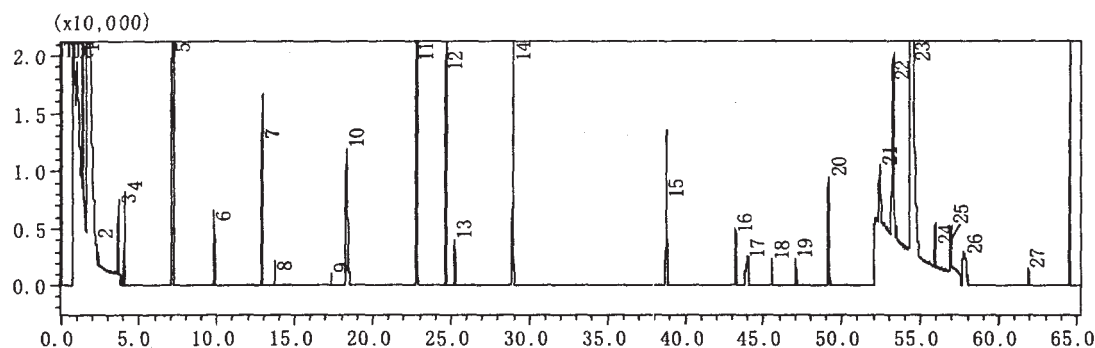


图1 赤霞珠葡萄酒挥发性成分 GC-MS 总离子图

见表2。

采用浸入式固相微萃取分离了宁夏贺兰山赤霞珠葡萄酒中20种主要挥发性成分,其中醇类有6种,酯类有8种,有机酸2种,酮、醛类等成分有4种。占主要比例的物质有:异戊醇(29%)、乙酸乙酯(19.6%)、D,L-2,3-丁二醇(18.1%)、内消旋丁二醇(4.9%)、琥珀酸二乙酯(4.8%)、醋酸(4.6%)、2-羟基丙酸乙酯(3.2%)、苯乙醇(3.1%)等,其中醇类物质占到总面积的54.7%;酯类成分占到总面积的27.6%。

3 结论

3.1 浸入式固相微萃取在葡萄酒香气分析中的特性及应用

固相微萃取技术对样品的预处理与液-液萃取相比,具有简便、样品处理时间短、需求量少、无需大量的有机溶剂和绿色环保等优点。本研究采用聚二甲基硅氧烷(PDMS)100 μm纤维萃取头,建立了浸入式固相微萃取 GC-MS 测定葡萄酒中的挥发性成分的方法,优化了萃取条件,对赤霞珠葡萄酒的挥发性成分进行了测定。该方法操作简单、快速、准确,可以作为大批样品处理测定的方法。从测定的成分可以看出,大多数成分为分子量较小的醇类物质和酯类物质,说明该方法适合葡萄酒中挥发性较强物质的测定。

3.2 宁夏赤霞珠葡萄酒挥发性成分特点分析

宁夏贺兰山东麓葡萄酒产区为我国葡萄酒“原产地域产品保护”地区,其葡萄酒具有优良的品种和风格。高级醇是葡萄酒中重要的挥发性成分,是酒精发酵的副产物,如丙醇、异丁醇、异戊醇和苯乙醇等。苯乙醇具有玫瑰香、紫罗兰香、茉莉香、香料辛辣味等香气^[6]。这些物质主要是酵母通过相应的氨基酸的分解代谢形成的(也可以通过葡萄糖代谢途径形成)^[11]。贺兰山东麓赤霞珠葡萄酒中高级醇含量占很高比例(33.6%),可能成为该地区该品种典型香气的重要组成成分,同时也说明葡萄中可能具有较高的氨基酸含量。2,3-丁二醇是酒精发酵的副产物,略带酸甜,葡萄汁含糖越多,其含量越大^[12]。2,3-丁二醇在贺兰山东麓赤霞珠葡萄酒中具有较高的含量(23%),说明该地区的该种葡萄具有较高的含糖量,在发酵过程中形成了大量的2,3-丁二醇,赋予了产品圆润

的感官特征。酯类主要是在发酵过程中形成的,乙酯类物质是葡萄酒中重要的酯类物质,具有水果香气和花香,如乙酸乙酯、2-羟基丙酸乙酯和琥珀酸二乙酯等。这几种酯类在贺兰山东麓赤霞珠葡萄酒中大量存在,也成为该地区该品种葡萄的香气特点的重要组成成分。当然,一些相对含量较低、阈值较低(香气值较高)的物质在葡萄酒总体香气构成中也有不可忽视的作用,对葡萄酒地域、品种香气特点的鉴定还必须通过感官分析的参与才能够完成。

参考文献:

- [1] 黄骏雄. 样品制备与处理的进展[J]. 化学进展, 1997,9(6): 179-191.
- [2] 刘红河,黎源倩,孙成均. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定酒中的甲醇和杂醇油[J]. 色谱, 2001, 20(1): 90-93.
- [3] 胡国栋,张晓磊. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱分析啤酒微量香味组分的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004,30(2): 1-5.
- [4] E. Kafkas, T. Cabaroğlu and S. Selli. Identification of volatile aroma compounds of strawberry wine using solid-phase microextraction techniques coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2004.
- [5] 李华. 现代葡萄酒工艺学[M]. 西安: 陕西人民出版社, 2000.
- [6] 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: 85-87.
- [7] 李记明, 贺普超, 刘玲. 优良品种葡萄酒的香气成分研究[J]. 西北农业大学学报, 1998,26: 6-9.
- [8] Rafael A. Peinado, Jose A. Moreno, David Muñoz, etc. Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection[J]. J. Agric. Food Chem., 2004, 52: 6389-6393.
- [9] M. Ortega-Heras, M.L. González-SanJosé and S. Beltrán. Aroma composition of wine studied by different extraction methods[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 458: 85-93.
- [10] Teresa Garde Cerdán, Diego Torrea Goñi and Carmen Ancín Azpilicueta. Accumulation of volatile compounds during ageing of two red wines with different composition[J]. Journal of Food Engineering, 2004, 65: 349-356.
- [11] Eduardo Boido, Adriana Lloret and Karina Medina, etc. Aroma composition of vitis vinifera Cv. Tannat: the typical red wine from Uruguay[J]. J. Agric. Food Chem., 2003, 51: 5408-5413.
- [12] 程劲松. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定葡萄酒的风味物质[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2004, (6): 19-21.