

气相色谱及气质联用在葡萄酒香气成分分析检测中的应用进展

成晓玲¹ 庄玉婷¹ 李艳^{1,2}

(1.河北科技大学生物科学与工程学院;2.河北省发酵工程技术研究中心,河北 石家庄 050018)

摘要: 葡萄酒的香气组成极其复杂,香气是影响葡萄酒感官质量的重要指标之一。准确分析检测葡萄酒中的香气物质组成对于了解葡萄酒的香气特点具有重要意义。气相色谱及气质联用等先进的分析方法在葡萄酒香气成分检测中得到了广泛的应用。综合论述了国内外利用气相色谱及气质联用仪分析检测葡萄酒中各种香气物质的方法,并阐述了葡萄酒样品前处理的各种方法。

关键词: 葡萄酒香气成分; 气相色谱仪; 气质联用仪; 分析检测

中图分类号:O657.71;TS261.7;TS262.6 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2010)11-0083-04

Application Advance on the Determination of Flavoring Compositions in Grape Wine by GC or by GC-MS

CHENG Xiao-ling¹, ZHUANG Yu-ting¹ and LI Yan^{1,2}

(1. College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018;

2. Hebei Provincial R&D Center for Fermentation Engineering, Shijiazhuang, Hebei 050018, China)

Abstract: The flavor formation of grape wine is extremely complicated. Flavor is one of the important indexes influencing grape wine quality and taste. Accordingly, accurate analysis and determination of flavoring compositions is of vital importance for understanding the flavor characteristics of grape wine. Advanced analytic methods such as GC and GC-MS etc. are widely used for the determination of flavoring compositions in grape wine. In this paper, the methods for analyzing and detecting flavoring compositions in grape wine by GC and GC-MS at home and abroad were reviewed, and different pre-treatment methods of grape wine samples were introduced.

Key words: flavoring compositions in grape wine; gas chromatography (GC); gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS); determination and analysis

葡萄酒是国际性饮品,组分极其复杂,已检测到的挥发性物质多达 1000 多种^[1],它们是葡萄酒香气的主要成分。葡萄酒的香气是葡萄酒重要的感官质量评价指标之一。因此,准确的分析检测葡萄酒中各种香气物质组成具有非常重要的意义。但是,由于各种挥发性物质种类繁多,各组分浓度、极性和沸点差异很大、含量低,同时受葡萄酒中大量非挥发性物质的影响。所以,一般的分析检测方法精确度低、误差大。随着现代分析技术的研究发展,高精密的检测仪器不断涌现,并且在各个领域得到广泛应用。本文综合论述了国内外利用气相色谱(GC)及气质联用(GC-MS)分析检测葡萄酒中各种香气物质组成和含量的方法,并对与之匹配的样品处理方法进行了描述。

自 1941 年英国生物化学家 A.J.P.Martin 和 R.I.M.

Syngé 等人研究液液分配色谱的基础上提出了气液色谱设想,证明了气体流动相的可行性^[2],在此基础上,GC 技术逐渐发展起来。经过近 70 年的发展历程,因其分离效率高、快速、选择性好、灵敏度高、样品用量少的特点得到快速发展。如今,GC、GC-MS、气相-嗅味测定联用(GC-O)技术已经成为医药卫生、农药残留、环境污染、石油化工、地质勘探、天然产物、轻工食品、能源环保、刑侦检测等领域对复杂、混合物分离所不可缺少的分析手段。同时,在葡萄酒挥发性香气成分的分析检测中也得到了广泛应用。

1 气相色谱及气质联用技术原理和优点

气相色谱法是以气体为流动相的色谱法,为常规的分析手段。气相色谱分为流动相和固定相两相。其分离原

基金项目 河北省 2009 年科技支撑计划课题(课题编号:092210003D)。

收稿日期:2010-09-08

作者简介:成晓玲(1985-),女,在读硕士研究生。

通讯作者:李艳(1958-),女,教授,从事传统发酵工程创新技术研究,主要研究方向葡萄酒。

理是利用样品中各组分在两相间分配系数的差异。当两相作相对运动时,各组分经反复多次的两相间分配,使各组分得到分离。分离后的组分通过仪器配置的各种检测器(如 FID、TCD、FPD 等)快速检测出各种目标物质^[3]。

质谱法是一种近代的物理分析方法,其工作原理是将气态化的物质分子裂解成离子,然后使离子按质量的大小分离,经检测和记录系统得到离子的质荷比和相对强度的谱图(质谱图)。质谱图提供了有关物质的分子量、元素组成及分子结构等样品的碎片信息,从而鉴定出物质的分子结构。由此可对样品中各组分进行定性和定量分析^[4]。

质谱具有灵敏度高、定性能力强的特点,而气相分离效率高、定量分析简便。气质联用既发挥了色谱法的高分离能力,又发挥了质谱法的高鉴别能力。二者功能相辅相成,分析数据的可靠性极大提高,甚至能检测出气相色谱未分离的色谱峰^[2,5]。

2 葡萄酒中挥发性香气物质组成

2.1 葡萄酒中的香气物质

葡萄酒香气是感官质量的一个重要组成部分。酿酒葡萄的品种香赋予了葡萄酒的典型性和代表性。单萜烯类化合物及其氧化物是酿酒葡萄品种香的主要物质,其含量和组成因葡萄品种而异^[6]。

葡萄酒的香气成分复杂多样,各组分浓度差异很大,从 10^{-1} ~ 10^{-10} $\mu\text{g/L}$ 不等^[7]。这些物质的感官作用取决于浓度大小和感官阈值。有些物质的浓度虽然小,但对葡萄酒的特征香气的贡献却很大。相反,浓度大的物质不一定贡献大。如:乳酸酯、琥珀酸酯、苹果酸酯和酒石酸酯等在葡萄酒中的含量较高,但对葡萄酒香味的贡献却不大^[6]。在葡萄酒中这些复杂香气物质的存在及含量的差异构成了不同特色和风格的葡萄酒。根据葡萄酒香气的来源,葡萄酒的香气成分可以分为三大类^[8]。第一类香气又称为果香或品种香。它是葡萄浆果本身的香气,决定于其游离态呈香物质含量、芳香物质的总量和在酿造过程中结合态芳香物质释放为游离态物质的能力^[9-12]。如在合适的酶制剂、适量的酵母氮源、矿物质和酵母多糖的作用下,这些品种香味物质或香气前体物质从植物细胞壁和细胞内释放出来,从而形成葡萄酒的香气成分,如里哪醇、橙花醇、香叶醇、 α -萜品醇、香茅醇等^[6],这些香气主要体现在此类物质可以使葡萄酒产生果香或花香味。第二类香气又称发酵香。它是在葡萄酒的酒精发酵过程中由酵母代谢产生的香气。主要包括高级醇及其乙酯和脂肪酸及其乙酯类。它们在葡萄酒的香气中起主导作用,直接影响葡萄酒的感官特性。它们存在于所有葡萄酒中,因此不会表现出葡萄酒的风格,但是与其他香气能相互协调,保证葡萄酒的质量。第三类香气又称为陈酿香气或醇香,也包括

橡木香气,代表了特定葡萄酒风格的香气^[6]。这类香气是经不同化学反应产生的挥发性的酯类、醛类、芳香性物质,能使葡萄酒的香气向更浓厚的方向转化。

2.2 可从葡萄酒中检测到的挥发性成分

到目前为止,不同葡萄品种和葡萄酒中已有 1000 多种挥发性化合物被检测出来,有醇类、酯类、有机酸类、挥发性酚类、硫醇类、萜烯醇类等。这些香气物质通过累加、协同、分解及抑制等相互作用,使香气千变万化,多种多样^[13-14]。

香气成分一般都含有发香团。这些发香团是由某些特征原子或原子团构成。不同香气成分是由不同的发香团构成,因此可产生不同的气味。羟基、羧基、酯基、醛基、醚基、羰基、苯基、硝基、亚硝基、酰胺基、氰基、内酯等是最常见的发香团^[8]。这些发香团主要构成了萜烯化合物(主要为单萜类,包括香茅醇、香叶醇、芳樟醇、橙花醇、 α -萜品醇、薄荷醇、柠檬醇、香茅醇、蒎烯等)、脂肪族化合物(主要为醛类、酮类、酯类等)、芳香族化合物(主要有 α -松油醇、苯甲醛、丁香酚、桂醇、香兰素、香芹酚等)等香气物质。

3 气相及气质联用技术在葡萄酒香气成分分析检测中的应用

3.1 检测前葡萄酒样品的预处理

由于葡萄酒中的一些重要香气成分的含量一般都比较小,因此,在对香气成分定量时必须将样品中的微量成分进行萃取、浓缩。预处理的方法主要包括溶剂萃取、顶空分析、超临界萃取(SFE)、固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)等技术^[11,15]。针对不同的研究目的和分析物质的特异性,可选择不同的处理方法。溶剂萃取适用于所有沸点范围的化合物,且费用低,重现性好,但是,此方法会导致样品中某些化合物的消失和形成^[16],而且费时、污染浪费问题突出。但由于液液萃取成本低,实验室仍旧采用本方法。二氯甲烷、乙醚、正丁醇、正戊醇等有机溶剂常作为萃取溶剂进行葡萄酒香气成分的萃取。李记明^[17]等将西农果园中的 1995~1996 年份的赤霞珠和索味酒经液液萃取和 GC-MS 检测后,发现 2 种酒中最主要的香气成分均为 3-甲基-1-丁醇,含量分别为 68.33% 和 69.54%。顶空分析过程中无需有机溶剂进行提取和复杂装置^[15],但是,静态顶空对痕量物质灵敏度很低^[18],而动态顶空在定量时标准偏差则会偏大^[19]。Laurentino Rosillo^[20]等用动态顶空萃取加 GC-MS 检测 7 种葡萄品种后,结果显示, C6 化合物在一类香气中占主导地位。SFE 技术应用对象主要为低极性和非极性物质,因此,对于葡萄酒中的低挥发性或非挥发性香气萃取效果很好。但是 SFE 技术在葡萄酒中的应用还未达到理想的程度。SPE 所需萃取溶剂少^[21],可以根据目标物质自由选择固相吸附柱^[11]。SPME

无需萃取溶剂,适于分析挥发性与非挥发性物质,若加入内标物质进行定量时,其重现性和精密度较好^[16]。如今此方法已经在葡萄酒的香气成分检测中广泛应用,常用于微量和痕量成分的分选、富集。Ricardo Lo'pez^[22]等人利用 SPE-GC-MS 单次运行对西班牙某红葡萄酒中少量和微量元素进行了检测,27种重要的化合物被检测出来,其中主要包括4-乙基愈创木酚、4-乙基苯酚、愈创木酚、丁子香酚、顺式橡木内酯、2-甲基丁酸乙酯、肉桂酸乙酯、羟基二肉桂乙酯、里哪醇、 β -大马酮、 β -紫罗兰酮等。李景明^[23]等采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用技术,对比分析了赤霞珠干化葡萄和干化葡萄酒的香气成分,检测出34种干化赤霞珠葡萄香气成分和45种干化葡萄酒香气成分。其中,干化葡萄中主要为醇类、酯类、有机酸、醛类和其他类物质;干化葡萄酒主要为醇类、酯类、有机酸和酮类4大类物质。

3.2 气相色谱及气质联用技术在葡萄酒香气成分检测中的应用

近年来,对葡萄酒香气成分进行检测的研究逐渐增多。研究的重点是对葡萄酒整体香气有贡献的化合物进行定性定量分析。葡萄酒成分的种类繁多,而且这些香味物质在感官性质上相互影响,很难评价单一化合物在感官上的重要性。普通方法很难检测到的物质可用GC检测。J.A. Regod'on Mateos^[24]等用GC检测了西班牙生产的5种红、白葡萄酒中葡萄酒的二类香气组分,包括乙酸乙酯和杂醇油(丙醇、异丁醇、2-甲基丁醇、3-甲基丁醇)。E. Koussissi^[25]等人将希腊葡萄品种 Aghiorghitiko 生产酿造的红葡萄酒,利用GC检测了分别用橡木、不锈钢罐中加或不加橡木片3种储存方式陈酿的葡萄酒,测到4种陈酿香气物质,分别为糠醛、愈创木酚、顺式和反式的橡木内酯。Catalina Ortega^[26]等将4种西班牙生产的葡萄酒用GC检测到30多种挥发性物质,主要包括乙醛、双乙酰、乙偶姻、杂醇油及其醋酸盐类、脂肪酸及其乙酯类。甄会英^[27]等利用毛细管气相色谱仪检测了市售的某干红中的主要的高级醇,分别为乙醇、正丙醇、异丁醇、正丁醇、异戊醇和 β -苯乙醇。

随着检测仪器和技术的发展,葡萄酒香气成分的研究报告中出现了气相色谱技术与其他定性技术结合的新方法和新技术,如质谱、红外、紫外、核磁共振等^[9,10,28]。尤其是GC-MS技术,该方法提高了色谱技术的鉴定能力,实现了对混合物各组分的定性分析^[11,12]。李德美^[29]等利用顶空固相微萃取-气相色谱/质谱联用技术(HS-SPME-GC/MS)的分析方法检测了红葡萄酒中产生马厩味的2种挥发性酚类物质为4-乙基苯酚和4-乙基愈创木酚。A. Zalacain^[30]等用搅拌棒吸附法(SBSE)萃取了6种西班牙西南部地区的单一品种的商品白葡萄酒后,利用热解析-GC-MS方法检测了萜烯类物质、非类异戊二烯和

C6化合物等一类香气成分。研究结果表明,萜烯类化合物是决定特色品种香的主要成分,特别是里哪醇、橙花醇、香叶醇、正己醇、 α -萜烯醇等。Vicente Ferreira^[31]等人经SPME后,用气相-离子阱质谱法,检测出含量不等的醇、酯等挥发性物质。M. Jose' Go' mez-M1' guez^[1]将西班牙萨雷马新干白葡萄酒中的挥发性物质经液液萃取和SPME后,用GC-MS、GC-O检测后对71种挥发性物质进行了定量分析。S. Selli^[32]等人对土耳其某葡萄酒液液萃取后,进行GC-MS检测,共检测出87种重要化合物,其中包括异戊醇、2-苯乙醇、乙酸异戊酯、己酸乙酯、乙偶姻、辛酸、癸酸、4-乙基苯酚等;在另一组实验中S. Selli^[32]等将液液萃取后的土耳其某葡萄酒经GC、GC-MS、GC-O检测出2个不同年份的葡萄酒中挥发性成分的差异。陶永胜、李华^[33]等在对昌黎赤霞珠的定性分析中,经顶空固相微萃取(HS-SPME)后用GC-MS检测出69种挥发性成分,其中异丁醇、苯乙醇、正丙醇、异戊醇、乙酸乙酯、乳酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸苯乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、己酸、辛酸是该产区赤霞珠葡萄酒中的主要成分。李华^[33]等利用SPME的方法提取了我国昌黎原产地葡萄酒,赤霞珠干红葡萄酒的香气成分,并用内标法对检测峰进行半定量分析,经GC-MS并结合计算机检测到醇类8种、酸类9种、酯类14种,其含量分别占赤霞珠干红葡萄酒香气成分总量的52.12%、12.32%、33.52%。李景明^[34]等针对半干白葡萄酒香气成分分析检测中采用了搅拌棒吸附萃取气相色谱/质谱(SBSE-GC-MS)联用技术。此方法分析得到香气成分约90种,其中包括醇类、酸类、酯类、萜烯类分别为13种、12种、31种和21种,以及挥发性酚类和酮类。

4 展望

随着GC在葡萄酒分析技术中的不断应用,GC及GC-MS的功能将不断强化,在葡萄酒香气成分分析中的作用也将越来越大。但是,在微量成分分析尤其是定量上,采用GC及GC-MS分析,尚存在一定的误差。这一问题的解决,需要借助其他学科的研究进展或是新技术的开发。

虽然葡萄酒中香气物质的定性定量方面的研究已经取得引人瞩目的成果,然而葡萄酒中物质含量众多,许多物质及其作用仍旧未知。因此,其香气成分的研究始终是一个诱人的课题。这一课题的解决有助于人们通过葡萄酒生产酿造过程和贮存成熟过程中及时调控,来调节葡萄酒中相关的香气成分的生成从而达到稳定和提高葡萄酒质量的目的。

参考文献:

- [1] M. Jose' Go' mez-M? ' guez, Volatile components of Zalema white wines[J]. Food Chemistry 100 (2007) 1464-1473.

- [2] 贾春晓,熊卫东,毛多斌,等.现代仪器分析技术及其在食品中的应用[M].北京:中国轻工业出版社,2005.168-169.
- [3] 沈红林.气相色谱在白酒中的应用[J].山东食品发酵,2001,(1):41-44.
- [4] 何金兰,杨克让,李小戈.仪器分析原理[M].北京:科学出版社,2004.402-423.
- [5] 梁汉昌.痕量物质分析气相色谱法[M].北京:中国石化出版社,2001.164-166.
- [6] 王方,王树生.葡萄酒中的香味物质的来源[J].中外葡萄与葡萄酒,2005,(5):50-51.
- [7] Rapp, A., & Mandery, H. Wine aroma[J]. *Experientia*,1986, 42:873-884.
- [8] 李华,等.葡萄酒化学[M].北京:科学出版社,2005:125-142.
- [9] 马宗魁.葡萄酒香气分析[J].酿酒,2009,36(2):76-77.
- [10] 李华,陶永胜,康文怀,尹春丽.葡萄酒香气成分的气相色谱分析研究进展[J].食品与生物技术学报,2006,25(1):100-104.
- [11] 陶永胜,李华.葡萄酒香气成分的仪器分析方法评述[J].科技导报,2008,26(24):89-94.
- [12] 于静,李景明,吴继红,葛毅强.葡萄酒芳香物质研究进展[J].中外葡萄与葡萄酒,2005,(3):48-59.
- [13] Aznar,M.,Lopez,R.,Cacho,J.F.,&Ferreira,V.Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-Olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions[J]. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*. 2001,(49):2924-2929.
- [14] Ferreira, V., Lo?pez, R., Escudero, A., &Cacho, J.F.. The aroma of Grenache red wine: Hierarchy and nature of its main odorants[J]. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 1998,(77):259-267.
- [15] 王立,汪正范,牟世芬,丁晓静,等.色谱分析样品处理[M].北京:化学工业出版社,2001.48-176.
- [16] Maria E.O. Mamede, Gla'ucia M. Pastore. Study of methods for the extraction of volatile compounds from fermented grape must[J].*Food Chemistry*, 2006,(96):586-590.
- [17] 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):6-9.
- [18] M. Ortega-Heras, M.L. González-SanJosé, S. Beltrán. Aroma composition of wine studied by different extraction methods [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002,(458):85-93.
- [19] Rosillo L, Salinas M R, Garijo J. Study of volatiles in grapes by dynamic headspace analysis application to the differentiation of some *Vitis vinifera* varieties[J]. *J Chromat A*, 1999,(847):155-159.
- [20] Laurentino Rosillo, M Rosario Salinas, Jose? Garijo, Gonzalo L. Alonso.Study of volatiles in grapes by dynamic headspace analysis Application to the differentiation of some *Vitis vinifera* varieties[J].*Journal of Chromatography A*, 1999,(847):155-159.
- [21] 陈猛,袁东星,许鹏翔,昌敦虎.固相微萃取研究进展[J].分析科学学报.2002,18(5):429-435.
- [22] Ricardo Lo'pez, Margarita Aznar, Juan Cacho & Vicente Ferreira .Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002,(966):167-177.
- [23] 张岱,王方,李景明,等.顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用技术比较赤霞珠干化葡萄和干化葡萄酒香气成分[J].食品与发酵工业.2010,36(2):168-171.
- [24] J.A. Regod'on Mateos, F. P'erez-Nevalo, M. Ramrez Fern'andez, Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine[J].*Enzyme and Microbial Technology*, 2006,(40):151-157.
- [25] E.Koussissi, V.G. Dourtoglou, G. Ageloussis, Y. Paraskevopoulos, T. Dourtoglou,A. Paterson, A.Chatzilazarou, Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis[J].*Food Chemistry*, 2009,(114):1503-1509.
- [26] Catalina Ortega, Ricardo Lo'pez, Juan Cacho, Vicente Ferreira. 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.
- [27] 甄会英,王颀,李长文,张伟,田益玲.气相色谱法测定葡萄酒中高级醇[J].食品科技.2005,(4):74-76.
- [28] Leila Denise Falca?oa,Gilles de Revel b, Jean Pierre Rosier c, Marilde T. Bordignon-Luiz, Aroma impact components of Brazilian *Cabernet Sauvignon* wines using detection frequency analysis (GC-olfactometry)[J].*Food Chemistry*, 2008,(107):497-505.
- [29] 罗焯,李德美,于静,战吉成,黄卫东.顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析葡萄酒中马味物质[J].食品与发酵工业.2009,35(7):128-132.
- [30] A.Zalacain a,J.Mar'in b, G.L. Alonso a, M.R.Salinas.Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction[J]. *Talanta*, 2007,(71):1610-1615.
- [31] Vicnte Ferreira, Ricardo Lo'pez, Ana Escudero & Juan F. Cacho. Quantitative determination of trace and ultratrace 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.
- [32] S.Selli, T. Cabaroglu, A. Canbasa, H. Erten, C. Nurgel, J.P. Lepoutre & Z. Gunata. Volatile composition of red wine from cv. Kalecik Karasi grown in central Anatolia[J].*Food Chemistry* 2004,(85):207-213.
- [33] Yongsheng Tao, Hua Li, Hua Wang & Li Zhang. Volatile compounds of young *Cabernet Sauvignon* red wine from Changli County (China) [J].*Journal of Food Composition and Analysis*, 2008,(21):689-694.
- [33] 李华,李佳,王华,陶永胜.昌黎原产地域赤霞珠干红葡萄酒香气成分研究[J].西北农林科技大学学报.2007,35(6):94-98.
- [34] 杨丽丽,王方,张岱,王伟,李景明.搅拌棒吸附萃取-气质联用(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.