

橡木片陈酿对柿白兰地风味的影响

李佳敏¹, 孙金旭², 王紫娟¹, 袁野³, 朱会霞², 聂馨琦¹, 刘可昕¹, 张一凡¹, 敖常伟^{1,2,*}
(1.河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000; 2.河北省果蔬发酵技术创新中心, 河北衡水 053000;
3.河北农业大学园艺学院, 河北保定 071000)

摘要:以磨盘柿为原料发酵蒸馏制备乙醇体积分数42%的柿白兰地, 加入5~20 g/L的国产中度烘烤橡木片进行陈酿。为研究橡木片陈酿的柿白兰地中的各种成分, 运用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用和液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)联用分析柿白兰地中的挥发性成分和非挥发性成分的变化, 并对添加不同量橡木片柿白兰地的总酚和抗氧化性进行分析, 最后进行感官评价。结果表明GC-MS共鉴定出33种挥发性成分, 其中主要成分为乙酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯, 橡木片添加量为10 g/L时, 柿白兰地的挥发性成分含量最高; LC-MS鉴定出橡木片陈酿后的柿白兰地中非挥发性物质种类增加了183种; 总酚含量和1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除能力随着橡木片添加量的增加而增大, 陈酿90 d, 总酚含量及DPPH自由基清除能力基本稳定; 感官评价中, 橡木片添加量为15 g/L的柿白兰地得分最高, 为72.5分。

关键词: 柿白兰地; 橡木片; 挥发性成分; 非挥发性成分; 总酚; 抗氧化性

Effect of Oak Chip Aging on the Flavor of Persimmon Brandy

LI Jiamin¹, SUN Jinxun², WANG Zijuan¹, YUAN Ye³, ZHU Huixia², NIE Xinyu¹, LIU Kexin¹, ZHANG Yifan¹, AO Changwei^{1,2,*}
(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;
2. Hebei Technology Innovation Center for Fruits and Vegetable Fermentation, Hengshui 053000, China;
3. College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

Abstract: Mopan persimmon brandy with an alcohol content of 42% (*V/V*), prepared by fermentation and distillation, was aged after being added with 5–20 g/L of Chinese-made moderately roasted oak chips. The volatile and non-volatile components of persimmon brandy were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), the total phenol content and antioxidant activity were determined, and sensory evaluation was also performed. The results showed that a total of 33 volatile components were identified by GC-MS, among which the major components were ethyl acetate, ethyl decanoate, and ethyl laurate. The content of volatile components was the highest upon the addition of 10 g/L of oak chips. The results of LC-MS showed that the number of non-volatile substances increased by 183 after aging. The total phenol content and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity increased with increasing addition of oak chips, but was basically stable after 90 days of aging. In the sensory evaluation, persimmon brandy with 15 g/L of oak chip scored the highest (72.5 points).

Keywords: persimmon brandy; oak chips; volatile components; non-volatile components; total phenolics; antioxidant properties

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220908-076

中图分类号: TS262.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)14-0298-07

引文格式:

李佳敏, 孙金旭, 王紫娟, 等. 橡木片陈酿对柿白兰地风味的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 298-304. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220908-076. <http://www.spkx.net.cn>

LI Jiamin, SUN Jinxun, WANG Zijuan, et al. Effect of oak chip aging on the flavor of persimmon brandy[J]. Food Science, 2023, 44(14): 298-304. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220908-076. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2022-09-08

基金项目: 河北省科技厅重点研发计划项目(19227141D)

第一作者简介: 李佳敏(1997—)(ORCID: 0000-0002-0769-3335), 女, 硕士研究生, 研究方向为生物与医药。

E-mail: ljm18434762384@163.com

*通信作者简介: 敖常伟(1971—)(ORCID: 0000-0003-3120-456X), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品化学。

E-mail: aocw@163.com

柿 (*Diospyros kaki* Thunb.) 属于柿科 (Ebenaceae) 柿属 (*Diospyros*) 植物^[1], 我国有着悠久的柿树栽培历史, 是我国的特色果树^[2-3]。目前, 我国仍是世界上主要的柿子生产国和消费国, 柿树栽培地域广泛, 柿品种丰富多样^[4]。磨盘柿是极具优势的涩柿品种, 起源于北京房山区, 一般采收期为10月下旬至11月, 其皮薄肉厚, 果大多汁, 单果质量平均为230 g, 最高的可以达到500 g, 北京房山区、天津蓟县以及河北易县和满城区均被授予“中国磨盘柿之乡”的称号。柿果实营养丰富, 含有多糖、维生素、氨基酸、果胶、有机酸等营养物质, 以及黄酮类、多酚类等活性物质^[5-7]。但柿具有季节性、地域性强和不耐贮存的特点^[8], 长期贮藏与运输的成本较高, 导致大量柿果实弃而不摘, 柿资源利用不充分。因此柿果深加工是柿资源多元化利用的发展方向之一。

白兰地是以水果为原料, 经发酵、蒸馏、陈酿而成的蒸馏酒^[9], 具有独特的香气。作为世界六大蒸馏酒之一, 白兰地有着十分广阔的消费市场, 尤其近年来, 白兰地市场增幅明显, 有关柿子白兰地酿造工艺的报道也开始不断增多。在这些报道中, 刘静等^[10]测定柿白兰地原液的香气成分, 发现柿白兰地中主要香气成分为酯类和醇类。白兰地原液在调配后, 普遍贮藏于橡木桶中进行陈酿, 以改善白兰地酒体的风味^[11], 但橡木桶的使用提高了白兰地的生产成本。首先, 橡木桶对于其板材原料、制作工艺的要求相对较高, 因此会使板材得不到充分的利用, 且橡木木质紧密, 白兰地原液仅能与橡木板的表面发生物理和化学反应, 深层木板则无法得到利用, 当木板表面成分日趋贫瘠, 橡木桶也随之失去作用^[12]。鉴于此, 研究者开发了不同的橡木制品以期代替橡木桶在柿白兰地酿造中的使用, 橡木片即为其中较常使用的一种橡木制品^[13], 橡木片主要选用树的不用部位, 自然风干18个月, 经过物理、化学、生物等方法处理, 烘烤加工制成, 主要有轻度烘烤、中度烘烤和重度烘烤3种烘烤方式。比起橡木桶, 橡木片具有更大的灵活性, 其烘烤程度, 加工方式都比橡木桶更易控制, 橡木片的有效成分更丰富, 口感更纯净, 橡木片陈酿的白兰地成本更低, 操作更简单, 且与酒体接触面积大, 也可以使白兰地得到较好的品质。

本实验以磨盘柿为原料酿造柿白兰地, 在柿白兰地原液中添加不同量的橡木片进行陈酿, 对陈酿后的柿白兰地进行挥发性成分、非挥发性成分、总酚及抗氧化性的检测, 并进行感官评定, 分析添加不同量橡木片陈酿后的柿白兰地中各成分的变化, 探究橡木片对柿白兰地品质的影响, 以期对柿白兰地的研究和开发提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

磨盘柿: 2020年采摘于河北省保定市满城柿子沟。

3-辛醇 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 氯化钠、碳酸钠 (分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 福林-酚 (分析纯) 上海索宝生物科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯胍 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) (分析纯) 梯希爱 (上海) 化工工业发展有限公司; 国产中度烘烤橡木片 日照红上实业有限公司。

1.2 仪器与设备

12L蒸馏锅 烟台帝伯仕有限公司; 酒精计 河北天天玻璃仪表厂; TU-1810紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; 7890B-5977A型气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用仪 美国Agilent Technologies公司; Vanquish Horizon system-Q-Exactive型高效液相色谱-串联质谱 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 联用仪 美国赛默飞公司; SYG-2数显恒温水浴锅 金坛市杰瑞尔电器有限公司; 50/30 μm DVB/CAR/PDMS固相微萃取纤维 美国Supelco公司。

1.3 方法

1.3.1 柿白兰地工艺流程

磨盘柿→清洗→打浆→发酵→蒸馏→调配乙醇体积分数为42%→添加橡木片→陈酿→成品

1.3.2 操作过程

在蒸馏过程中, 截取乙醇体积分数为30%~60%的馏出物, 调配至乙醇体积分数为42%作为柿白兰地原液, 采用浸泡方式以5、10、15、20 g/L的比例加入国产中度烘烤橡木片进行陈酿。

1.3.3 柿白兰地挥发性成分测定

在柿白兰地对橡木片的萃取基本完全后, 选取陈酿时间为210 d的柿白兰地进行挥发性成分检测。

选用顶空固相微萃取法, 对样品进行挥发性成分的萃取, 取5 mL柿白兰地样品于20 mL顶空瓶中, 加入2.5 μL 3-辛醇为内标, 再加入1.5 g氯化钠, 置于50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中平衡20 min, 后继续置于50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅, 萃取20 min, 每个样品做3次平行处理。

GC条件: HP-Innowax色谱柱 (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持2 min, 然后以6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至100 $^{\circ}\text{C}$, 再以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至240 $^{\circ}\text{C}$, 保持10 min^[14]。

载气为He (纯度99.999%), 进样口温度250 °C, 检测器温度280 °C, 分流比5:1。

MS条件: 电子电离源; 离子源温度230 °C; 四极杆温度150 °C; 电离电压70 eV; 质量扫描范围 m/z 33~350。

定性分析: 用NIST 14.L标准谱库检索, 并且查阅相关文献资料进行定性, 选择匹配度大于80%的组分进行分析。

定量分析: 采用内标法进行定量分析, 按下式计算:

$$X_i = \frac{A_i}{A_s} \times C_s$$

式中: X_i 为待测样品的质量浓度/(mg/L); C_s 为内标物的质量浓度/(mg/L); A_i 为待测样品的峰面积; A_s 为内标物的峰面积。

1.3.4 柿白兰地非挥发性成分测定

在柿白兰地对橡木片的萃取基本完全后, 选取陈酿210 d的柿白兰地进行非挥发性成分检测。

取200 μ L待测样品, 加入800 μ L甲醇-乙腈(1:1, V/V)且含0.02 mg/mL *L*-2-氯苯丙氨酸(内标)的提取液, 混匀, 在5 °C超声提取30 min; 将待测样品在-20 °C静置30 min后离心15 min, 取上清液用氮气吹干; 加入120 μ L乙腈-水(1:1, V/V)进行复溶, 混匀, 5 °C超声萃取5 min, 离心10 min, 取上清液上机进行检测分析; 另外分别取各个样本上清液20 μ L进行混合, 作为质控样本。

LC条件: ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相A: 95%水+5%乙腈(含0.1%甲酸); 流动相B: 47.5%乙腈+47.5%异丙醇+5%水(含0.1%甲酸); 流速0.40 mL/min, 进样量2 μ L, 柱温40 °C。

MS条件: 电喷雾电离源; 正、负离子扫描模式采集质谱信号; 加热温度400 °C; 毛细管温度320 °C。

1.3.5 总酚含量及DPPH自由基清除率的测定

参照Lu Yao等^[15]的方法进行总酚含量的测定。以没食子酸绘制标准曲线, 吸取1.0 mL样品, 分别加入5.0 mL水, 1.0 mL福林-酚溶液和3.0 mL碳酸钠溶液, 显色, 放置2 h后, 以标准曲线0.0 mg/L为空白, 在765 nm波长下测定样品溶液的吸光度, 每个样品做3次平行处理。

参照夏亚男等^[16]的方法进行DPPH自由基清除率的测定。吸取1 mL样品加入2 mL DPPH自由基乙醇溶液, 混匀, 避光放置30 min, 在517 nm波长处测吸光度为 A_1 , 用1 mL无水乙醇代替DPPH自由基乙醇溶液, 测定吸光度为

A_2 , 取1 mL无水乙醇加入2 mL DPPH自由基乙醇溶液, 测定吸光度为 A_0 。每个样品做3次平行处理。

1.3.6 感官评价

选取10名品评员, 分别从外观、色泽、香气、口味、典型风格等方面对添加不同量橡木片陈酿的柿白兰地进行感官评价, 标准如表1所示。

表1 柿白兰地感官评价标准

Table 1	Criteria for sensory evaluation of persimmon brandy	
项目	评定标准	得分
外观	澄清透明、晶亮、无悬浮物、无沉淀	10
	澄清无光、无悬浮物、无沉淀	9~5
	有浑浊	4~0
色泽	金黄色至赤金黄色	10
	浅金黄色至金黄色	9~5
	暗黄色或无色	4~0
香气	具有柿品种香, 橡木香及酒香, 香气协调	30~20
	具有原料品种香, 酒香及橡木香, 醇香不足	19~10
	香气不协调, 辛辣刺鼻	9~0
口味	醇和、甘冽、丰满、棉柔	30~20
	较纯正、无邪杂味	19~10
	明显苦味, 浓重的后味	9~0
典型风格	具有典型风格, 酒体协调	20~15
	典型性不足, 酒体尚协调 酒体不协调, 有明显苦味	14~8 7~0

1.4 数据处理

采用SPSS 25.0对实验数据进行方差、显著性分析及主成分分析(principal component analysis, PCA)。

2 结果与分析

2.1 柿白兰地挥发性成分分析

2.1.1 柿白兰地挥发性成分

挥发性成分的种类和含量是评价白兰地品质的一个重要指标, 因此, 用GC-MS对不同橡木片添加量陈酿的柿子白兰地进行挥发性成分分析。如表2所示, 在柿白兰地中共检测到33种挥发性成分, 其中酯类有17种, 分别为乙酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸甲酯、辛酸乙酯、壬酸乙酯、癸酸甲酯、苯甲酸甲酯、癸酸乙酯、月桂酸甲酯、月桂酸乙酯、十四酸乙酯、棕榈酸乙酯、辛乙烯二醇单正十二烷基酯、顺-9-十六碳烯酸乙酯; 醇类有4种, 分别为丙醇、异丁醇、异戊醇、苯乙醇; 酸类有4种, 分别为乙酸、辛酸、正癸酸、月桂酸; 醛酮类有5种, 分别为乙醛、壬醛、糠醛、5-甲基呋喃醛、反式-3-戊烯-2-酮; 其他物质有3种, 分别为2,4-二叔丁基苯酚、萘、Ethyl 9-tetradecenoate。可以看出, 无论陈酿时是否添加橡木片, 柿白兰地中主要呈香气物质为酯类, 尤其以乙酸乙酯、辛酸乙酯丰度较高, 对柿白兰地风味的形成有重要贡献。

表2 不同橡木片添加量条件下陈酿210 d的柿白兰地挥发性成分的分析结果

Table 2 Concentrations and flavor description of volatile components in persimmon brandy aged for 210 days with the addition of different amounts of oak chips

挥发性化合物	保留指数	匹配度	质量浓度/(mg/L)					风味描述
			0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L	20 g/L	
乙醛	90	0.16	0.11	0.13	0.14	0.09	果香、咖啡香、酒香	
乙酸乙酯	609	91	0.53	1.16	1.15	1.24	1.71	果香、酒香
丁酸乙酯	1 022	94	—	0.04	0.02	—	0.03	菠萝香味
戊酸乙酯	91	0.01	—	—	—	—	—	苹果似的水果香气
丙醇	83	—	—	—	—	0.01	0.02	像乙醇的气味
异丁醇	1 094	93	—	0.04	0.05	—	0.06	有特殊气味
异戊醇	1 208	86	0.41	0.67	1.72	0.60	0.78	杏仁味
乙酸异戊酯	1 127	90	0.06	0.13	—	—	0.15	香蕉气味
反式-3-戊烯-2-酮	90	0.01	—	—	—	—	—	—
己酸乙酯	1 230	98	0.46	0.82	0.75	0.73	0.67	苹果、菠萝、香蕉样的香气
辛酸甲酯	1 385	90	—	0.02	0.02	0.02	0.02	酒香、果香、甜橙
壬醛	1 408	86	—	0.04	0.03	0.05	—	油脂气味和甜橙香气
乙酸	1 453	91	—	—	0.04	—	—	强烈刺激性气味
辛酸乙酯	1 414	97	0.19	0.32	1.67	1.93	1.39	果香
糠醛	1 452	90	0.02	—	0.03	—	—	杏仁味
5-甲基呋喃醛	1 604	92	—	—	—	—	0.02	浓的、甜的、辛香气味
壬酸乙酯	1 533	86	—	—	0.03	0.03	0.03	玫瑰香气、果香、酒香
癸酸甲酯	1 584	96	—	—	0.01	0.01	—	—
苯甲酸甲酯	1 655	87	—	0.01	0.01	—	0.02	—
癸酸乙酯	1 648	97	0.01	0.53	0.66	0.78	0.71	果香、酒香、梨香
Ethyl 9-tetradecenoate	98	—	—	0.09	0.10	0.09	—	水果香气
萘	1 792	93	—	—	—	0.01	—	水果香、花香、花粉香
月桂酸甲酯	94	—	—	0.01	—	0.01	—	—
月桂酸乙酯	1 843	99	0.01	0.22	0.44	0.30	0.55	花果香
苯乙醇	1 929	89	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	玫瑰样花香
辛酸	2 066	95	0.07	0.06	0.06	0.06	0.08	水果香、花香、油脂臭
十四酸乙酯	2 053	96	0.01	0.02	0.06	0.04	0.06	鸚尾油香气并有油脂气息
棕榈酸乙酯	2 260	97	0.02	0.04	0.06	0.05	0.05	微弱蜡香、果醇和奶油香气
辛乙二醇单正十二烷基酯	83	—	0.02	—	—	—	—	—
正癸酸	2 248	96	0.02	0.03	0.03	0.03	0.04	难闻的气味
顺-9-十六碳烯酸乙酯	2 099	99	0.01	0.03	0.05	0.04	0.07	—
2,4-二叔丁基苯酚	96	0.05	0.02	—	—	—	—	—
月桂酸	2 493	99	0.02	0.04	0.05	—	0.13	月桂油香味

注：—，该物质未检出。

2.1.2 橡木片陈酿对挥发性成分的影响

感官上，随着橡木片的添加量增加，柿白兰地香气逐渐浓郁，挥发性成分的种类与丰度检测帮助解释了风味变化的原因。主要呈香的酯类物质在添加橡木片的陈酿过程中丰度显著提升，酯类物质主要是由有机酸与醇类物质在发酵与陈酿过程中发生反应所生成的^[17-18]。陈酿过程中添加橡木片能够显著提升柿白兰地中的酯类物质的丰度，由表3可知，未添加橡木片柿白兰地陈酿210 d后，酯类物质17种，总质量浓度为1.31 mg/L，陈酿过程中添加5、10、15 g/L及20 g/L橡木片的柿白兰地中，酯类物质种类数量差异极小，而总体含量却有明显提升，其原因为陈酿过程中，橡木片浸出的物质发生氧化生成有机酸类，而有机酸又会与醇类发生反应生成酯类^[19]。4个不同橡木片添加量的柿白兰地在陈酿210 d后酯类质量浓度分别升高了2.05、3.63、3.86 mg/L和4.16 mg/L。酯类总体含量的提升主要受益于乙酸乙酯、己酸乙酯、

辛酸乙酯和癸酸乙酯含量的提高，它们大多提供了丰富的花香和果香。

醇类物质大多也是在发酵中产生，主要是酵母在厌氧环境中发生氨基酸脱氨基反应，或在有氧环境下发生糖脱羧反应，将氨基酸进行转化而成^[17-18]，在一定的比例下，醇可以对白兰地的风味产生积极影响。陈酿过程中少量添加橡木片提高了柿白兰地中醇类物质的含量，原因为由橡木片溶出的醛酮类物质发生反应被还原为醇类。在5 g/L和10 g/L橡木片陈酿白兰地中，醇类质量浓度由0.44 mg/L提升至0.74 mg/L和1.81 mg/L，而添加量增至15 g/L和20 g/L，醇类的总含量有所降低，降至0.65 mg/L和0.90 mg/L。从具体成分看，柿白兰地挥发性气体中主要成分为异戊醇，占比达到80%以上，橡木片的添加对异戊醇含量的影响也决定了总醇类含量的变化。

大部分有机酸是在发酵过程中形成的^[18]，在陈酿过程中由醇类转化而成的醛类物质氧化后又能转化为酸类物质，导致酸类物质含量的增加，而有机酸与醇类的反应又导致了酸类物质的消耗^[20]。本实验中，不同橡木片添加量柿白兰地的挥发性物质中，酸类总体含量并不稳定。醛酮类物质主要有乙醛、壬醛和糠醛，在加入橡木片后壬醛和糠醛的含量有小幅度提升。

表3 柿白兰地中各类物质数量及含量

Table 3 Types and concentrations of volatile compounds in persimmon brandy

橡木片添加量/(g/L)	醇类		酯类		酸类		醛酮类		其他		总质量浓度/(mg/L)
	数量	质量浓度/(mg/L)	数量	质量浓度/(mg/L)	数量	质量浓度/(mg/L)	数量	质量浓度/(mg/L)	数量	质量浓度/(mg/L)	
0	2	0.44	10	1.31	3	0.11	3	0.19	1	0.05	2.10
5	3	0.74	13	3.36	3	0.13	2	0.15	1	0.02	4.40
10	3	1.81	14	4.94	4	0.18	3	0.19	1	0.09	7.17
15	3	0.65	11	5.17	2	0.09	2	0.19	2	0.11	6.21
20	4	0.90	14	5.47	3	0.25	2	0.11	1	0.09	6.82

为了能够进一步探究柿白兰地中的主要挥发性成分，运用SPSS Statistics 25进行PCA，结果如表4所示，提取出4个PC，累计贡献率为100%。PC1中贡献较大的挥发性成分有乙酸乙酯、月桂酸乙酯、癸酸乙酯、正癸酸、十四酸乙酯等；PC2中贡献较大的有乙酸异戊酯、辛酸、月桂酸等。

表4 柿白兰地主成分总方差解释

Table 4 Total variance explained by first four principal components in persimmon brandy

PC	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比/%	累计/%	总计	方差百分比/%	累计/%
1	16.681	50.547	50.547	16.681	50.547	50.547
2	7.848	23.781	74.328	7.848	23.781	74.328
3	4.948	14.993	89.32	4.948	14.993	89.32
4	3.524	10.68	100	3.524	10.68	100

陈酿时添加橡木片能够明显提高原柿白兰地中的挥发性香气成分。橡木片与橡木桶的制作工艺类似，所

添加的橡木片也需要经过烘烤之后才能使用, 烘烤过程对橡木中的化学成分有重要的影响, 在烘烤过程中, 橡木木质素、多糖等受热降解, 而呋喃、酚类等新物质出现, 这些化学成分在白兰地陈酿过程中被酒体吸收, 改变了酒体风味^[21-23]。柿白兰地中主要香气物质仍然是由醇和有机酸反应生成的酯类物质, 包括乙酸乙酯、癸酸乙酯和月桂酸乙酯。

2.2 柿白兰地非挥发性成分分析

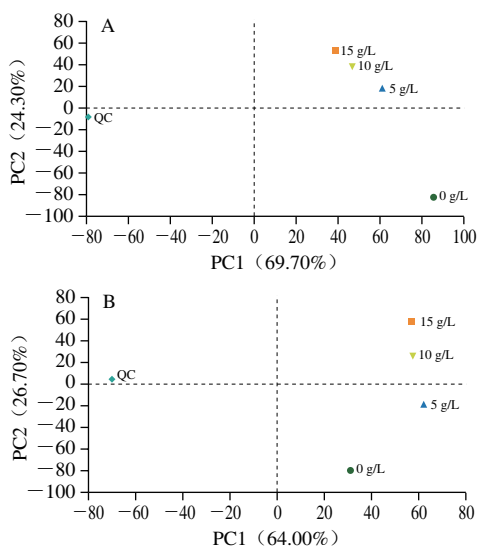
2.2.1 柿白兰地非挥发性成分

为明确陈酿时加入橡木片对柿白兰地中活性物质的影响, 利用LC-MS对陈酿210 d后的柿白兰地进行检测。如表5所示, 全部样品在正离子模式下检测到质谱峰数7 349个, 负离子模式下检测到质谱峰数6 070个, 其中通过一、二级质谱数据, 于自建库、Metlin、HMDB等代谢物数据库中注释到非挥发性物质388个(正离子模式)和230个(负离子模式)。对样品中的非挥发性物质进行PCA, 由图1可知, 加入橡木片的柿白兰地样本较为聚集, 且与未加橡木片白兰地距离较远, 说明添加橡木片的柿白兰地中代谢物种类或者丰度与对照组有较大的差别, 且橡木片添加量越高对陈酿的效果影响越大。

表5 陈酿210 d柿白兰地中非挥发性物质数量统计

Table 5 Statistics of the number of non-volatile substances in persimmon brandy aged for 210 days

模式	质谱峰数	已鉴定代谢物数量	公共数据库的代谢物数量	KEGG库中注释的代谢物数量
正离子	7 349	388	320	135
负离子	6 070	230	210	66
总计	13 419	618	530	201



A.电喷雾离子源正离子模式; B.电喷雾离子源负离子模式。下同。

图1 陈酿210 d柿白兰地PCA得分图

Fig. 1 PCA score plots of non-volatile compounds in persimmon brandy aged for 210 days

2.2.2 橡木片陈酿对非挥发性成分的影响

表6 陈酿210 d柿白兰地中的差异非挥发性物质数量

Table 6 Number of differential non-volatile compounds in persimmon brandy aged for 210 days

模式	5 g/L vs 0 g/L	10 g/L vs 0 g/L	15 g/L vs 0 g/L
正离子	2 349 (129)	3 037 (166)	3 295 (172)
负离子	1 634 (78)	2 395 (101)	3 195 (123)

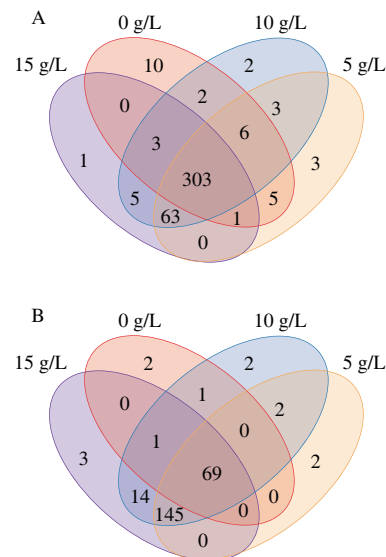


图2 陈酿210 d柿白兰地Venn图

Fig. 2 Venn diagrams of non-volatile compounds in persimmon brandy aged for 210 days

进一步比较处理组和对照组差异非挥发性物质种类可以发现(表6), 随着橡木片添加量的提高, 差异非挥发性物质种类也随之增加, 添加量为5、10 g/L和15 g/L时, 处理组与对照组中非挥发性物质种类差异依次达到207、267种和295种。由图2可以看出, 有12种非挥发性物质在添加橡木片的处理组中消失, 它们可能作为前体同橡木片浸提物发生反应而被消耗。与之相比, 有更多的非挥发性物质在各添加量的柿白兰地中均有出现, 新增物质种类有183种, 根据HMDB数据库, 将这些新增非挥发性物质分为21类, 其中异戊烯醇酯类最多, 有40种, 有机氧化合物有30种, 黄酮类有20种, 羧酸及其衍生物有13种, 脂肪酰基有3种, 类固醇及其衍生物有8种, 香豆素及其衍生物有7种, 苯并吡喃、单宁有6种, 肉桂酸及其衍生物有4种, 嘌呤核苷有3种, 2-芳基苯并呋喃黄酮类化合物、唑系、二氢呋喃、甘油酯类、吲哚及其衍生物、异香豆素及其衍生物、酚类、嘧啶核苷均有2种, 氮杂菲酮类有1种、其他有16种。如表7所示, 非挥发性成分中部分物质的相对丰度随着橡木片添加量的增加而增加, 如山茶花素A、灵芝酸、Castacreinin C等; 而部分物质的相对丰度则出现先上升后

下降的趋势,在橡木片添加量为10 g/L时相对丰度最高,如葡萄糖苷、Castacrenin E等。橡木片的添加丰富了柿白兰地中非挥发性成分的种类与丰度,新增的非挥发性成分中不乏有益物质,如灵芝酸在抑癌、防治心血管疾病、保护肝脏和防治癫痫方面具有一定作用^[24];绿原酸具有抗氧化、预防心血管疾病、降低血浆和肝脏脂质及改善矿物质分布的功能;茶花素A具有抗氧化活性,并能够抑制肿瘤增殖;根皮苷具有降血糖血脂、急性肝损伤保护作用。

表7 陈酿210 d柿白兰地中部分非挥发性物质
Table 7 Relative abundance of non-volatile substances in persimmon brandy aged for 210 days

非挥发物质	相对分子质量	模式	分子式	相对丰度			
				0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L
根皮苷	435.1304	负离子	C ₂₁ H ₃₄ O ₁₀	4.098 7	3.834 6	4.121 6	4.271 1
槲皮素3-O-葡萄糖苷	477.068 2	负离子	C ₃₁ H ₄₈ O ₁₃	4.087 7	3.823 6	4.089 3	4.055 1
茶花素A	662.213 9	正离子	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₅	3.763	4.115 6	4.4	4.572 8
异亮氨酸	229.155 7	负离子	C ₁₁ H ₂₂ N ₂ O ₃	2.163 5	1.901 8	2.449 4	2.107
缬氨酸	215.139 9	负离子	C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₃	2.167 8	2.037 8	1.801 6	1.754 4
绿僵菌素R	711.397 4	负离子	C ₃₆ H ₅₈ O ₁₁	4.143 9	4.991 2	5.236 8	5.209 9
绿原酸	353.088 5	负离子	C ₁₆ H ₁₈ O ₆	4.503 7	4.239 6	4.614 7	4.640 9
Castacrenin E	527.029 4	负离子	C ₂₇ H ₃₈ O ₂₉	4.611 4	5.406	5.552	5.524 3
Castacrenin C	613.048 3	负离子	C ₂₇ H ₃₈ O ₁₇	3.818 2	4.750 7	4.811 3	4.969 9
灵芝酸	533.310 5	正离子	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	3.444	5.353 8	5.507 6	5.742 1
葡萄糖内酯	223.045 6	负离子	C ₁₄ H ₁₆ O ₆	2.538 5	2.275 4	2.997 1	2.970 5
D-酒石酸	149.008 2	负离子	C ₄ H ₆ O ₆	2.301 9	2.039 6	2.094 3	2.167 5

2.3 柿白兰地总酚和抗氧化能力

如表8所示,加入橡木片陈酿的柿白兰地中,总酚含量显著增加,且总酚含量随橡木片添加量的增加而增加。90 d是柿白兰地浸提橡木片中多酚物质的关键时间点,橡木片添加量为5 g/L和10 g/L的柿白兰地在陈酿90 d时总酚含量达到最高,橡木片添加量为15 g/L的柿白兰地同样在陈酿90 d时总酚含量趋于稳定,而未添加橡木片的柿白兰地在同样的陈酿时间内总酚含量稳定在10 mg/L左右。此外,如表9所示,加入橡木片陈酿的柿白兰地具有更强的DPPH自由基清除能力,且DPPH自由基清除能力随橡木片添加量的增加而上升。柿白兰地的DPPH自由基清除能力变化与多酚含量变化类似,橡木片添加量为5 g/L的柿白兰地在陈酿90 d时对DPPH自由基的清除能力达到最高值,随后下降,而添加量为10 g/L和15 g/L的柿白兰地在陈酿90 d后对DPPH自由基的清除能力趋于稳定。

在传统橡木桶陈酿方法中,其主要目的之一为将酚类物质从橡木中萃取出来,并且氧气分子能够通过橡木桶结构中的微孔进行渗透和扩散,因此可以使白兰地发生氧化作用,萃取出的酚类物质能够使原白兰地呈现现金黄且透明的颜色^[25-27]。从实验结果看,使用橡木片代替橡木桶能够达到与橡木桶陈酿相近的结果,但是陈酿周期明显缩短。橡木桶陈酿白兰地往往需要数年的时间,与

之相比,本研究中,加入橡木片的柿原白兰地在陈酿90 d后,柿白兰地中总酚含量便达到最高。橡木片缩短陈酿周期的原因在于,相较于橡木桶,橡木片与柿白兰地的接触面积更大,萃取效率高。

表8 陈酿210 d柿白兰地总酚含量
Table 8 Content of total phenols in persimmon brandy aged for up to 210 days

陈酿时间/d	mg/L			
	0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L
7	108.40±9.40 ^b	298.64±27.25 ^c	354.53±21.44 ^c	407.40±21.34 ^c
30	87.40±9.40 ^b	287.31±15.86 ^c	430.06±53.52 ^c	647.58±11.55 ^b
90	100.13±11.55 ^b	585.30±10.70 ^b	548.60±25.54 ^b	1 018.26±23.79 ^a
150	98.79±8.27 ^b	442.42±5.02 ^b	732.35±8.27 ^a	1 035.70±9.86 ^c
210	141.74±5.69 ^a	514.90±39.23 ^b	779.33±16.87 ^a	1 049.13±5.02 ^a

注:同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。表9同。

表9 陈酿210 d柿白兰地DPPH自由基清除率
Table 9 DPPH radical scavenging capacity of persimmon brandy aged for up to 210 days

陈酿时间/d	%			
	0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L
7	10.08±0.71 ^a	30.75±3.06 ^d	55.88±2.4 ^c	63.24±0.17 ^c
30	10.69±1.17 ^a	24.57±3.28 ^c	64.6±2.21 ^b	85.12±0.29 ^b
90	12.36±0.43 ^a	66.71±0.58 ^a	77.25±0.11 ^a	94.10±0.18 ^a
150	12.44±0.45 ^a	49.61±0.33 ^b	81.9±0.78 ^a	94.03±0.08 ^a
210	11.39±1.15 ^a	40.74±0.43 ^c	78.1±1.29 ^a	93.81±0.47 ^a

2.4 柿白兰地感官评价

分别从外观、色泽、香气、口味和典型风格对添加不同量橡木片陈酿的柿白兰地进行感官评价。如表10所示,柿白兰地的澄清度评分均高于8分,说明柿白兰地酒体有光泽,无悬浮物和沉淀物。但橡木片添加量为0 g/L的柿白兰地的色泽、香气、口味、典型风格分数相对较低,感官评价总分分别为45.5、58.8、69.8和72.5。橡木片添加量为10 g/L和15 g/L陈酿的柿白兰地澄清透明,色泽金黄,有明显的橡木香及酒香,香气协调,品尝起来酒体醇和丰满,回味悠长,具有较典型的柿白兰地特征,感官评分最高为72.5。

表10 柿白兰地感官评分
Table 10 Sensory evaluation results

项目	0 g/L	5 g/L	10 g/L	15 g/L
外观(10分)	8	8	8.5	8.4
色泽(10分)	1	6.5	7.4	8.1
香气(30分)	13.8	18.2	23.0	21.8
口味(30分)	11.4	15.8	17.4	20.3
典型风格(20分)	10.3	11.3	13.2	13.9
总分	44.5	59.8	69.8	72.5

实际上,欧盟法规(CE)第2165/2005号和(CE)第1507/2006号批准,这些法规定义了葡萄酒中橡木碎片的使用方式,但目前,高品质的白兰地仍然必须利用橡木桶进行陈酿获得^[28],不能仅通过浸泡橡木制品,所以

橡木片在柿白兰地陈酿时的应用仍然需要进一步的探索以提高白兰地品质。不同产地的橡木同样会对白兰地的品质产生影响^[29],目前,葡萄酒中使用的橡木制品大多来自于法国橡木和美国橡木^[30]。此外,橡木的风干时间及方法、橡木品种等因素也会影响挥发性香气成分。可见,通过橡木片改善柿白兰地风味的方法并不局限于本研究所使用的方法,可以通过变换橡木片的类型优化柿白兰地的品质。

3 结论

利用GC-MS对橡木片陈酿的柿白兰地中挥发性成分进行检测与分析,共检测到33种挥发性成分,主要成分为酯类物质,包括乙酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯等,这些酯类物质大多呈花果香气,在橡木片添加量为10 g/L时,柿白兰地中的挥发性成分含量最高;利用LC-MS对柿白兰地中的非挥发性成分进行检测与分析,发现柿白兰地中非挥发性成分种类丰富,经橡木片陈酿的柿白兰地中,非挥发性物质种类及含量显著增加,共检测出183种、21类差异代谢物,橡木片中被萃取到酒体中的物质大多数都随橡木片添加量的增加而增加,且对柿白兰地的品质具有积极影响,它们不仅能提供多样的味道使柿白兰地的风味更为丰富,还能提高柿白兰地的功能性作用。橡木片陈酿对柿白兰地中酚类物质以及抗氧化能力均有积极影响,均随着橡木片添加量的增加而增加,陈酿90 d时基本达到平衡;在感官评价中,橡木片添加量为15 g/L时评分最高,为72.5。本实验为橡木片在柿白兰地中的应用提供了理论基础。

参考文献:

- [1] DA VINHA A F, SOARES M O, MACHADO M. Recent advances regarding the phytochemical and therapeutic benefits of diospyros kaki fruit[J]. *Current Advances in Chemistry and Biochemistry*, 2021, 5: 147-155. DOI:10.9734/bpi/cacb/v5/8480D.
- [2] 罗桂环. 柿树栽培起源考略[J]. *北京林业大学学报(社会科学版)*, 2017, 16(1): 1-6. DOI:10.13931/j.cnki.bjfu.2016065.
- [3] XIE C Y, XIE Z S, XU X J, et al. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: a review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 163: 229-240. DOI:10.1016/j.jep.2015.01.007.
- [4] LIANG Y, HAN W, SUN P, et al. Genetic diversity among germplasm of *Diospyros kaki* based on SSR markers[J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 186: 180-189. DOI:10.1016/j.scienta.2015.02.015.
- [5] 冯娟, 张鹏, 李江阔, 等. 柿子加工产品研究进展[J]. *保鲜与加工*, 2020, 20(3): 204-209. DOI:CNKI:SUN:BXJG.0.2020-03-036.
- [6] AKAGI T, IKEGAMI A, SUZUKI Y, et al. Expression balances of structural genes in shikimate and flavonoid biosynthesis cause a difference in proanthocyanidin accumulation in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit[J]. *Planta*, 2009, 230(5): 899-915. DOI:10.1007/s00425-009-0991-6.
- [7] BUTT M S, SULTAN M T, AZIZ M, et al. Persimmon (*Diospyros kaki*) fruit: hidden phytochemicals and health claims[J]. *Excli Journal*, 2015, 14: 542. DOI:10.17179/excli2015-159.
- [8] LUO Z S. Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of postharvest persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 40(2): 285-291. DOI:10.1016/j.lwt.2005.10.010.
- [9] TSAKIRIS A, KALLITHRAKA S, KOURKOUTAS Y. Grape brandy production, composition and sensory evaluation[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(3): 404-414. DOI:10.1002/jsfa.6377.
- [10] 刘静, 李保国. 柿子白兰地酿造工艺及其香气成分探究[J]. *食品工业*, 2021, 42(2): 139-142.
- [11] ZHANG B, ZENG X A, SUN D W, et al. Effect of electric field treatments on brandy aging in oak barrels[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(7): 1635-1643. DOI:10.1007/s11947-012-0788-7.
- [12] 王霞, 王恭堂. 橡木桶与橡木片[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2001(5): 52-53. DOI:10.3969/j.issn.1004-7360.2001.05.022.
- [13] SCHWARZ M, RODRÍGUEZ M C, SÁNCHEZ M, et al. Development of an accelerated aging method for Brandy[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 108-114. DOI:10.1016/j.lwt.2014.05.060.
- [14] 毕芸杰. 葡萄品种、陈酿时间与橡木制品对白兰地香气成分的影响[D]. 烟台: 烟台大学, 2021. DOI:10.27437/d.cnki.gytdu.2021.000188:15-22.
- [15] LU Y, LIU Y Q, LV J W, et al. Changes in the physicochemical components, polyphenol profile, and flavor of persimmon wine during spontaneous and inoculated fermentation[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(6): 2728-2738. DOI:10.1002/fsn3.1560.
- [16] 夏亚男, 王颀, 张玉杰, 等. 原料热处理对红枣白兰地清除DPPH·能力和香气成分的影响[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(19): 62-67; 72. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2014.19.004.
- [17] 曾朝珍, 康三江, 张霁红, 等. 不同陈酿时间苹果白兰地主要香气成分变化分析[J]. *食品科学技术学报*, 2019, 37(3): 76-85. DOI:CNKI:SUN:BQGB.0.2019-03-010.
- [18] 杜展成, 王淼, 李瑞龙, 等. 白兰地中香气成分的来源及陈酿期间香气物质变化研究进展[J]. *中国酿造*, 2021, 40(5): 8-13. DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2021.05.002.
- [19] 宋普. 白兰地陈酿过程中挥发性成分变化规律研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2013. DOI:10.7666/d.D432766.
- [20] FEDRIZZI B, ZAPPAROLI G, FINATO F, et al. Model aging and oxidation effects on varietal, fermentative, and sulfur compounds in a dry botrytized red wine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(5): 1804-1813. DOI:10.1021/jf104160m.
- [21] PÉREZ-BURILLO S, OLIVERAS M J, QUESADA J, et al. Relationship between composition and bioactivity of persimmon and kiwifruit[J]. *Food Research International*, 2018, 105: 461-472. DOI:10.1016/j.foodres.2017.11.022.
- [22] 王霞. 橡木制品在白兰地陈酿中的应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006: 10-15. DOI:10.7666/d.y968002.
- [23] CADAHIA, MUNOZ, DE, et al. Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(4): 1790-1798. DOI:10.1021/jf0006168.
- [24] 邢康康, 刘艳, 贺宗毅, 等. 灵芝酸研究进展[J]. *食用菌学报*, 2017, 24(3): 96-103. DOI:10.16488/j.cnki.1005-9873.2017.03.018.
- [25] SHAH P K, JOSHI V K. Effect of different sugar sources and wood chips on the quality of peach brandy[J]. *Journal of scientific and industrial research*, 1999, 58(12): 995-1004.
- [26] COLDEA T E, SOCACIU C, MUDURA E, et al. Volatile and phenolic profiles of traditional Romanian apple brandy after rapid ageing with different wood chips[J]. *Food Chemistry*, 2020, 320: 126643. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126643.
- [27] MADRERA R R, HEVIA A G, VALLES B S. Comparative study of two aging systems for cider brandy making. Changes in chemical composition[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 54(2): 513-520. DOI:10.1016/j.lwt.2013.05.037.
- [28] HERNÁNDEZ-ORTE P, FRANCO E, HUERTA C G, et al. Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments[J]. *Food Research International*, 2014, 57: 234-241. DOI:10.1016/j.foodres.2014.01.044.
- [29] GARCÍA-MORENO M V, SÁNCHEZ-GUILLÉN M M, RUIZ DE MIER M, et al. Use of alternative wood for the ageing of brandy de Jerez[J]. *Foods*, 2020, 9(3): 250. DOI:10.3390/foods9030250.
- [30] JORDÃO A M, RICARDO-DA-SILVA J M, LAUREANO O. Comparison of volatile composition of cooperage oak wood of different origins (*Quercus pyrenaica* vs. *Quercus alba* and *Quercus petraea*) [J]. *Mitteilungen. Klosterneuburg*, 2005, 55: 31-40.