

基于HS-SPME-GC-MS分析不同基酒装量对美乐葡萄蒸馏酒挥发性成分的影响

郭亚芸¹, 邵学东², 张正文², 李 勃¹, 薛 伟³, 史红梅^{1,*}

(1.山东省葡萄研究院, 山东 济南 250100; 2.君顶酒庄有限公司, 山东 蓬莱 265607;

3.烟台诚达蒸馏设备有限公司, 山东 烟台 264000)

摘要:以胶东半岛产区美乐葡萄为酿酒原料进行基酒发酵, 考察蒸馏工艺中基酒装量(150、200、250 L)对美乐葡萄蒸馏酒挥发性成分的影响, 以期对美乐葡萄蒸馏酒的蒸馏工艺条件进行优化。本研究采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用等方法对不同基酒装量的蒸馏酒酒身挥发性物质进行了定性定量分析, 并结合主成分分析(principal component analysis, PCA)和偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)两种统计学方法对3个不同基酒装量的蒸馏酒酒身进行统计学分析。结果表明, 基酒装量为150、200、250 L时的蒸馏酒酒身分别检测出67、67、64种香气物质, 种类最多的均是酯类物质, 各37种, 基酒装量为150 L时的蒸馏酒酒身中酯类含量最高, 显著高于200 L和250 L。根据PCA结果, 并运用OPLS-DA统计学方法验证, 对基酒装量150、200、250 L蒸馏酒酒身有积极影响的物质分别有13、1、1种。本研究为生产高品质美乐葡萄蒸馏酒奠定基础, 并有助于推动我国葡萄酒行业的发展。

关键词:装量; 挥发性化合物; 葡萄蒸馏酒; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱; 主成分分析; 偏最小二乘法判别分析

Effects of Different Base Wine Volumes on Volatile Compound Profile of Distilled Merlot Wine Analyzed by Headspace Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry

GUO Yayun¹, SHAO Xuedong², ZHANG Zhengwen², LI Bo¹, XUE Wei³, SHI Hongmei^{1,*}

(1. Shandong Academy of Grape, Jinan 250100, China; 2. Chateau Junding Co. Ltd., Penglai 265607, China;

3. Yantai Chengda Distillation Equipment Co. Ltd., Yantai 264000, China)

Abstract: The effects of different base wine volumes (150, 200, and 250 L) during the distillation process on the volatile compounds of distilled wine made from Merlot grapes from the Jiaodong Peninsula were investigated in order to optimize the distillation conditions of distilled Merlot wine. In this study, headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) was used to qualitatively and quantitatively analyze the volatile compounds of the intermediate distillates from different volumes of base wine. In addition, statistical analysis of the volatile composition data was performed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). In total, 67, 67, and 64 aroma compounds were detected in the distillate samples from 150, 200, and 250 L of base wine, respectively. In each sample, 37 esters were found. Ester content was significantly higher in the distillate from 150 L than 200 and 250 L from base wine. PCA and OPLS-DA results consistently showed that 13, 1, and 1 aroma substances had positive effects on distilled samples from 150, 200, and 250 L of base wine, respectively. This study will lay the foundation for the production of high-quality distilled wine and thereby contribute to the development of the wine industry.

Keywords: base wine volumes; volatile compounds; distilled wine; headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230408-074

中图分类号: TS262.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)24-0269-08

收稿日期: 2023-04-08

基金项目: 2019山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019ZZ025); 2018山东省农业重大应用技术创新项目; 山东省农业科学院农业科技创新工程项目(CXGC2023D03)

第一作者简介: 郭亚芸(1984—)(ORCID: 0000-0003-4088-1757), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为蒸馏酒酿造及营养安全物质分析。E-mail: guoyayun405@163.com

*通信作者简介: 史红梅(1979—)(ORCID: 0000-0001-8615-2416), 女, 研究员, 硕士, 研究方向为葡萄酒、果酒酿造新工艺及感官分析。E-mail: hm.sh@163.com

引文格式:

郭亚芸, 邵学东, 张正文, 等. 基于HS-SPME-GC-MS分析不同基酒装量对美乐葡萄蒸馏酒挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 269-276. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230408-074. <http://www.spkx.net.cn>

GUO Yayun, SHAO Xuedong, ZHANG Zhengwen, et al. Effects of different base wine volumes on volatile compound profile of distilled merlot wine analyzed by headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2023, 44(24): 269-276. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230408-074. <http://www.spkx.net.cn>

葡萄蒸馏酒是以葡萄为原料, 经发酵、蒸馏、调整勾兑而成的饮料酒^[1]。蒸馏酒不经橡木桶陈酿, 因此, 很好的保留了葡萄的品种香和发酵香, 且生产周期远低于白兰地产品^[2], 因具有纯正优雅的果香, 清爽舒适的口感, 与高度粮食白酒相比, 辛辣刺激感轻微, 深受消费者喜爱。对于酿酒原料的选择, 应该选择具有弱香或者中性香的酿酒葡萄^[3-4]。“美乐”作为世界栽种面积第2大的酿酒葡萄品种, 在胶东半岛产区广泛种植, 但其品种特性在该产区没有较好的表现, 酒体偏瘦弱, 特征香气不突出。因此, 本研究试图以胶东半岛产区“美乐”为酿酒原料, 尝试开发具有典型特性的葡萄蒸馏酒产品。

葡萄蒸馏酒是一个由水、乙醇和微量挥发性成分组成的一个相当复杂的混合体系^[5], 而微量的挥发性成分决定着葡萄蒸馏酒的独特风味, 也是决定葡萄蒸馏酒感官和质量参数的重要指标^[5-6], 在蒸馏酒的风格与质量方面起着重要作用。然而, 影响蒸馏酒挥发性成分的因素很多^[7], 比如葡萄品种及成熟度^[8-9]、发酵条件^[10]、蒸馏工艺^[11-13]等。其中, 蒸馏工艺对蒸馏酒香气起着至关重要的作用, 蒸馏工艺不当或设备有缺陷, 葡萄蒸馏酒会丧失典型性, 产生缺陷, 从而降低葡萄蒸馏酒品质^[14]。中链脂肪酸乙酯是含6~12个碳原子的脂肪酸乙酯, 如己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯和十二酸乙酯等^[15-16]。中链脂肪酸乙酯作为酵母次生代谢产物, 具有果香, 甜香和浓郁的发酵香, 对酒体呈香有非常重要的贡献^[17]。此外, 中链脂肪酸乙酯, 这类独特的芳香物质, 可以帮助减轻饮酒者的压力, 给人一种愉悦感^[18]。相比于其他酵母源香气, 中链脂肪酸乙酯具有较低的阈值^[19], 它们浓度的微小变化也会强烈影响其最终风味和口感^[17]。因此, 考察酒身中链脂肪酸乙酯的含量和香气活性值(odor activity values, OAV)对蒸馏酒新产品的开发具有重要意义。

薛氏壶式蒸馏器^[20]由烟台诚达蒸馏设备有限公司生产的专利产品, 近几年在葡萄和其他水果蒸馏酒的生产企业里得到广泛的应用。该设备在构造上借鉴了夏朗德壶式蒸馏器和阿尔马涅克蒸馏器的优点, 创造性地采用多蒸馏釜, 热能回收, 多管路协同的蒸馏方式, 即先将其中一釜加热, 形成蒸发及回流过程, 产生的酒头由酒头出酒管排出, 之后的酒气经酒身出酒管通过预热器, 对葡萄酒基酒进行预热的同时自身冷凝, 得到原葡萄蒸

馏酒。酒尾直接通过酒尾管路串入下一个蒸馏釜, 以此实现多釜间的间歇性蒸馏转换, 进行连续一次蒸馏。薛氏双釜蒸馏设备的蒸馏效率是传统夏朗德壶式蒸馏设备的3~4倍, 冷却水能耗节省约70%, 真正实现了低耗、高效蒸馏^[14]。酒身相当于最终的商业产品, 是馏分的重要部分。蒸馏釜基酒装量是蒸馏前需要考虑的一个必要的蒸馏酒工艺参数, 基酒装量不同, 可以引起蒸馏酒挥发性成分的不同, 并且影响蒸馏效率和能耗, 传统壶式蒸馏的原料装量为锅容的2/3~4/5^[14,21-22], 目前, 国内外蒸馏酒方面的研究还鲜见薛氏蒸馏基酒装量对酒身挥发性成分影响的报道。因此, 本研究考察薛氏蒸馏的原料装量对酒身挥发性成分的影响, 进而为美乐蒸馏酒产品的开发提供理论依据。

本研究采用单釜实际体积330 L的薛氏双釜蒸馏器对美乐葡萄酒进行蒸馏, 顶空固相微萃取与气相色谱-质谱联用(headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)技术对基酒装量分别为150、200、250 L的美乐葡萄蒸馏酒酒身(简称酒身)的挥发性成分进行分析, 并结合主成分分析(principal component analysis, PCA)和偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)两种统计学方法对3种装量的酒身挥发性物质进行分析。以期获得美乐葡萄蒸馏酒的最佳蒸馏工艺条件, 并为今后深入研究美乐葡萄蒸馏酒品质提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

葡萄: 美乐, 栽种时间2003年, 砧木SO₄, 品系M181, 气候条件为受海洋影响的温带季风大陆性气候, 土壤条件为沙质棕壤土。

NaCl(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 标准品: 己酸丁酯(内标)、4-甲基-2-戊醇(内标)、2-辛醇(内标)、叔戊醇(内标)、苯乙醇、3-甲基-1-丁醇、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸异戊酯、正构烷烃(C₇~C₃₀) 美国Sigma-

Aldrich公司；标准品：十二酸乙酯、十四酸乙酯、十六酸乙酯 中国上海源叶生物科技有限公司；超纯水由Millipore-Q超纯水系统制得。

1.2 仪器与设备

QP2010 ULTRA气相色谱-质谱联用仪及工作站（配AOC-6000多功能自动进样器） 日本Shimadzu公司；80 μm DVB/CWR/PDMS萃取头 瑞士CTC Analytics公司；HP-INNOWax毛细管柱（60 m×0.25 mm，0.25 μm）、7890B气相色谱仪（配CPWAX-57CB capillary column（50 m×0.25 mm，0.2 μm）毛细管柱） 美国Agilent公司；CD-GC300 L薛氏双釜蒸馏器（主体设备包括：蒸馏釜二台，基酒介质热能交换器一台，二次水冷却塔一台，整体操作平台车一套。蒸馏单釜体积330 L，电加热内加装3根各5 kW 380 V电加热管、蒸汽紫铜盘管各一套。顶端配回流提纯球及鹅颈管，设备整体长2 m、宽900 m、高度2 m）。

1.3 方法

1.3.1 美乐葡萄酒酿造工艺

葡萄采收→原料筛选→除梗破碎→气囊压榨取汁→清汁入罐→接种酵母菌→控温发酵→监测温度和密度→发酵结束→自然澄清。

1.3.2 美乐葡萄酒蒸馏工艺

澄清后的美乐葡萄酒采用薛氏双釜蒸馏器（标为A、B釜）进行蒸馏，基酒装量分别为150、200、250 L，蒸馏时蒸汽流量为20 L/h。首先加热A釜，计为第1釜，掐去占总乙醇体积分数1.5%的酒头，继续蒸馏，当馏出物的乙醇体积分数降到55%时，中馏分蒸馏结束；低度酒液通过酒气管进入B釜基酒内继续蒸馏，掐去占总乙醇体积分数1.5%的酒头，当馏出物的乙醇体积分数降到55%时，中馏分蒸馏结束，计为第2釜；低度酒液通过酒气管进入A釜基酒内继续蒸馏，计为第3釜，继续蒸馏。以此A、B釜循环蒸馏至第5釜，当馏出液乙醇体积分数降至55%以下时计为酒尾，馏出液乙醇体积分数降至1.0%时蒸馏结束。将所得蒸馏酒密封后，于常温下储藏，用于后续的分析检测。

1.3.3 美乐葡萄酒理化指标的测定

总糖、总酸、挥发酸、乙醇体积分数等常规理化指标参照GB/T 15038—2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》测定；pH值用pH计直接测定。每个样品做3个平行实验。

1.3.4 美乐葡萄蒸馏酒甲醇的测定

蒸馏过程中，酒身甲醇含量的动态监测按照GB 5009.266—2016《食品中甲醇的测定》要求的内标毛细管柱定量分析。取酒身样品10 mL于试管中，加入0.1 mL叔戊醇内标溶液，混匀，1.0 μL直接进样，进样口温度：250 °C，分流比（20:1，V/V），载气流量：1.0 mL/min，FID检测器温度：250 °C，柱温采用程序升温：起始柱温40 °C，保持1 min，以4 °C/min升至130 °C，最后，以20 °C/min升温至200 °C，保持5 min。每个样品做3个平行实验。

1.3.5 美乐蒸馏酒挥发性组分的测定

酒身挥发性成分的测定采用HS-SPME-GC-MS法，取6 mL稀释至乙醇体积分数10%的酒样加入到20 mL顶空瓶中，同时加入1.5 g NaCl、10 μL己酸丁酯（质量浓度0.251 4 g/L）、10 μL 2-辛醇（质量浓度0.105 0 g/L）、10 μL 4-甲基-2-戊醇（质量浓度1.020 0 g/L）3种内标。用螺纹瓶盖封闭，放入自动进样器托盘，振摇器转速为450 r/min，50 °C平衡10 min，通过隔垫插入萃取头，萃取30 min，插入GC-MS进样口解吸10 min，进行GC-MS分析。每个样品做3个平行实验。GC条件：高纯氦气，分流进样（5:1），进样口温度250 °C，柱温采用程序升温：起始柱温45 °C，保持5 min，以3 °C/min升至130 °C，最后，以5 °C/min升温至230 °C，保持5 min，恒流模式，流量1 mL/min。MS条件：色谱-质谱接口温度250 °C，离子源温度200 °C，电离模式为电子电离源（electron ionization, EI），轰击能量70 eV，全扫描模式，质量数范围m/z 30~500。

利用质谱数据库NIST 17和NIST 17S进行相似度检索，通过计算保留指数（retention index, RI），并参考相关文献报道的RI进行综合定性酒样中挥发性成分。对有标准品的10种挥发性化合物，通过在体积分数10%乙

表1 HS-SPME-GC-MS法挥发性化合物的标准曲线

Table 1 Standard curves for volatile compounds determined by HS-SPME-GC-MS

编号	挥发性化合物	内标物	线性方程	R ²	线性范围/(mg/L)
A5	乙酸异戊酯	4-甲基-2-戊醇	y=7.085 5x+0.040 1	0.999 1	0.054 5~3.633 3
B3	3-甲基-1-丁醇	4-甲基-2-戊醇	y=0.369 6x+0.001 7	0.999 7	0.052~10.4
A6	己酸乙酯	己酸丁酯	y=0.136 1x+0.031 6	0.999 4	0.048 5~9.7
A11	辛酸乙酯	己酸丁酯	y=0.355 7x+0.076 6	0.998 8	0.05~5
A16	癸酸乙酯	己酸丁酯	y=0.291 8x+0.549 2	0.997 6	0.5~10
A33	十二酸乙酯	己酸丁酯	y=0.348 2x+0.023 5	0.999 8	0.05~3.333 3
B9	苯乙醇	2-辛醇	y=0.032 6x-0.030 1	0.998 4	0.375~7.5
A36	十四酸乙酯	己酸丁酯	y=0.187 9x+0.012 2	0.999 8	0.027~2.7
A38	月桂酸异戊酯	己酸丁酯	y=0.166x+0.022 3	0.999 9	0.033 5~3.35
A37	十六酸乙酯	2-辛醇	y=0.613 9x+0.265 3	0.997 4	0.023~2.3

醇溶液中稀释5级得到标准溶液,通过绘制目标香气化合物的内标标准曲线进行定量分析(表1)。其余无标准品的挥发性化合物通过内标4-甲基-2-戊醇进行半定量分析,计算方式如下:

$$\text{待测物浓度} = \frac{\text{内标物浓度} \times \text{待测物峰面积}}{\text{内标物峰面积}}$$

1.4 统计学分析

本研究使用WPS软件,对不同装量的葡萄蒸馏酒样品中挥发性组分进行 T 检验($P < 0.05$)分析,使用SPSS 16.0软件进行单因素方差分析(ANOVA),使用SIMCA 14.1软件进行PCA和OPLS-DA,其余图形使用Graph Pad Prism 9.4.0软件绘制。

2 结果与分析

2.1 美乐葡萄酒理化指标

测得葡萄酒总糖质量浓度1.6 g/L,总酸质量浓度6.2 g/L, pH值为3.12,挥发酸质量浓度0.29 g/L,乙醇体积分数13.56%。

2.2 不同基酒装量酒身中甲醇含量分析

甲醇在人体内氧化为甲醛、甲酸,具有很强的毒性,尤其对视神经的毒性作用最大^[23]。前人的研究发

现,色谱法检测蒸馏酒中甲醇时,内标毛细管柱法优于外标填充柱法^[24],因此,本研究在检测甲醇时,按照GB 5009.266—2016《食品中甲醇的测定》提供的内标毛细管柱法检测。

本研究考察了蒸馏工艺中150、200 L和250 L 3个基酒的不同装量,每个装量条件下第1~5釜酒身甲醇的含量,结果显示,所有酒身样品中甲醇质量浓度在(177.35±0.49)~(198.06±1.16) mg/L之间,远低于国标规定的2.00 g/L(以无水乙醇计)^[1],符合国家标准要求。

2.3 不同基酒装量酒身挥发性物质分析

为研究不同基酒装量对蒸馏酒酒身挥发性物质的影响,本研究利用HS-SPME-GC-MS法对3种不同基酒装量蒸馏酒酒身的挥发性物质进行定性和定量分析。由表2可知,3种基酒装量酒身挥发性物质共检测出74种。基酒装量为150 L时的酒身共检测出67种,总质量浓度(127 042.12±5 595.27) μg/L。其中,酯类37种,醇类8种,醛酮类4种,酸类2种,萜烯类与C₁₃-降异戊二烯类5种,缩醛类4种,萘及萘的衍生物4种,其他类3种;基酒装量200 L时酒身共检测出67种,总质量浓度(117 371.70±2 904.73) μg/L,其中酯类37种,醇类10种,醛酮类3种,酸类2种,萜烯类与C₁₃-降异戊二烯类5种,缩醛类3种,萘及萘的衍生物4种,其他类3种;基酒装量为250 L时酒身共检测出

表2 酒身中挥发性物质含量和RI
Table 2 Concentrations and RI of volatile compounds in distilled wine samples

编号	挥发性物质	RI	质量浓度/(μg/L)		
			150 L	200 L	250 L
A1	乙酸乙酯	899	5 504.32±82.70	3 515.98±273.07	5 467.30±275.49
A2	异丁酸乙酯	1 043	355.78±22.20	273.84±21.26	356.59±37.28
A3	异戊酸乙酯	1 072	447.61±17.36	374.48±5.95	456.31±14.99
A4	2-甲基丁酸乙酯	1 120	209.32±13.19	158.73±16.19	266.34±86.58
A5	乙酸异戊酯	1 127	134.06±4.68	98.80±4.46	134.53±5.93
A6	己酸乙酯	1 238	1 795.38±98.72	1 091.99±10.02	1 486.97±49.96
A7	丁酸异戊酯	1 269	49.78±1.04	26.58±4.78	48.12±7.02
A8	己酸丙酯	1 322	81.83±11.59	65.23±13.35	83.63±10.37
A9	庚酸乙酯	1 337	57.11±6.73	38.41±3.28	54.40±4.50
A10	辛酸甲酯	1 393	152.96±7.52	103.56±9.01	nd
A11	辛酸乙酯	1 443	5 312.69±245.49	3 644.13±59.46	4 378.73±81.95
A12	己酸异戊酯	1 462	979.54±28.90	667.59±38.31	957.48±27.80
A13	辛酸丙酯	1 523	562.65±45.70	332.16±29.47	412.56±49.99
A14	壬酸乙酯	1 540	519.64±16.17	352.05±13.77	387.81±8.22
A15	辛酸异丁酯	1 555	204.31±6.11	145.26±14.62	191.05±7.41
A16	癸酸乙酯	1 650	7 626.28±426.77	4 525.68±175.19	5 500.29±48.40
A17	辛酸异戊酯	1 664	2 522.52±167.32	1 884.62±19.28	2 320.63±69.12
A18	丁二酸二乙酯	1 684	345.98±115.62	276.44±2.66	247.73±6.94
A19	9-癸烯酸乙酯	1 696	912.14±395.94	5 110.65±189.97	6 806.61±137.66
A20	癸酸丙酯	1 728	603.18±173.79	533.47±32.21	435.96±55.25
A21	癸酸异丁酯	1 760	258.82±133.19	nd	187.58±36.94
A22	乙酸己酯	1 276	nd	35.55±2.17	29.01±5.06
A23	2-己烯酸乙酯	1 350	543.82±18.64	342.06±22.68	504.31±10.02
A24	辛酸苯乙酯	2 399	76.95±24.39	51.07±3.69	36.21±11.24
A25	十八酸乙酯	2 463	nd	104.46±3.05	83.43±20.94
A26	油酸乙酯	2 486	494.47±182.32	681.91±10.89	520.76±85.52

续表2

编号	挥发性物质	RI	质量浓度/($\mu\text{g/L}$)		
			150 L	200 L	250 L
A27	亚油酸乙酯	2 535	647.19 \pm 252.15	858.66 \pm 41.42	619.46 \pm 129.46
A28	亚麻酸乙酯	2 605	141.49 \pm 65.57	128.56 \pm 94.78	121.71 \pm 18.84
A29	十五酸乙酯	2 156	170.51 \pm 30.48	145.94 \pm 9.74	137.38 \pm 17.63
A30	水杨酸甲酯	1 786	232.72 \pm 179.98	318.90 \pm 135.68	198.33 \pm 60.49
A31	苯乙酸乙酯	1 795	125.25 \pm 92.31	154.43 \pm 6.55	68.27 \pm 4.36
A32	乙酸苯乙酯	1 826	579.16 \pm 70.07	530.47 \pm 38.98	509.20 \pm 24.39
A33	十二酸乙酯	1 850	1 370.65 \pm 128.02	769.68 \pm 12.16	1 037.70 \pm 50.11
A34	癸酸异戊酯	1 866	1 074.75 \pm 103.06	1 097.08 \pm 113.46	852.48 \pm 67.52
A35	月桂酸丙酯	1 932	29.22 \pm 13.38	nd	nd
A36	十四酸乙酯	2 053	269.65 \pm 41.49	218.44 \pm 2.34	235.97 \pm 16.82
A37	十六酸乙酯	2 259	877.99 \pm 156.79	945.65 \pm 112.87	1 049.25 \pm 45.16
A38	月桂酸异戊酯	2 282	156.89 \pm 66.13	95.62 \pm 9.93	204.36 \pm 62.97
A39	9-十六碳烯酸乙酯	2 286	3 972.06 \pm 338.39	3 942.81 \pm 91.13	3 818.08 \pm 182.50
A	酯类		47 608.96 \pm 2 714.04	33 640.96 \pm 677.75	40 205.53 \pm 291.52
B1	异丁醇	1 094	178.30 \pm 84.40	1 907.13 \pm 71.86	2 216.78 \pm 393.81
B2	丁醇	1 145	nd	56.41 \pm 9.50	55.29 \pm 5.39
B3	3-甲基-1-丁醇	1 210	62 019.54 \pm 2 101.26	65 866.82 \pm 1 808.78	69 762.38 \pm 3 346.45
B4	正辛醇	1 560	263.43 \pm 6.38	285.73 \pm 6.36	269.25 \pm 12.70
B5	正癸醇	1 767	767.26 \pm 151.27	855.92 \pm 44.18	758.48 \pm 43.41
B6	4-甲基-1-戊醇	1 316	nd	56.83 \pm 5.79	56.98 \pm 1.94
B7	3-甲基-1-戊醇	1 329	190.58 \pm 10.01	211.74 \pm 0.76	202.35 \pm 7.53
B8	正己醇	1 355	2 976.48 \pm 99.40	3 256.52 \pm 41.81	3 243.10 \pm 26.08
B9	苯乙醇	1 923	2 346.55 \pm 71.28	2 179.66 \pm 241.80	2 577.34 \pm 104.28
B10	1-十四醇	2 176	247.01 \pm 50.04	233.01 \pm 40.95	212.48 \pm 22.46
B	醇类		70 593.84 \pm 2 531.84	74 909.78 \pm 2 111.17	79 354.43 \pm 3 842.86
C1	2-庚酮	1 185	nd	16.41 \pm 1.14	23.04 \pm 4.80
C2	2-壬酮	1 392	69.00 \pm 2.26	nd	58.10 \pm 1.77
C3	2-十三酮	1 813	69.76 \pm 5.19	nd	nd
C4	壬醛	1 397	116.61 \pm 2.15	143.76 \pm 4.44	nd
C5	癸醛	1 502	nd	135.89 \pm 15.92	nd
C6	2,4-二甲基苯甲醛	1 822	280.34 \pm 26.17	nd	nd
C	醛酮类		535.71 \pm 26.74	296.06 \pm 11.15	81.13 \pm 5.95
D1	己酸	1 855	566.83 \pm 63.22	629.22 \pm 172.30	508.07 \pm 31.66
D2	癸酸	2 282	877.90 \pm 110.18	1 014.11 \pm 199.08	1 401.84 \pm 140.99
D	羧酸类		1 444.73 \pm 134.89	1 643.33 \pm 229.48	1 909.91 \pm 160.76
E1	紫罗兰酮	1 530	nd	nd	1 201.53 \pm 40.24
E2	芳樟醇	1 551	70.06 \pm 4.81	76.67 \pm 6.86	75.23 \pm 3.90
E3	香茅醇	1 771	412.58 \pm 116.85	500.91 \pm 61.42	368.85 \pm 31.55
E4	β -大马士酮	1 829	578.32 \pm 73.48	709.40 \pm 47.81	582.23 \pm 18.54
E5	反式橙花叔醇	2 046	1 149.65 \pm 188.46	776.94 \pm 172.54	564.33 \pm 46.39
E6	金合欢醇	2 364	46.05 \pm 12.86	29.62 \pm 1.08	30.12 \pm 10.99
E	萜烯类与C ₁₃ -降异戊二烯类		2 822.29 \pm 47.12	2 093.53 \pm 240.45	2 822.29 \pm 86.21
F1	1-乙氧基丙烷	1 040	2 096.84 \pm 87.42	1 739.62 \pm 75.53	2 101.84 \pm 199.24
F2	异丁醛二乙基乙缩醛	1 055	74.13 \pm 6.56	nd	nd
F3	1-(1-乙氧基乙氧基)-3-甲基-丁烷	1 111	108.65 \pm 5.07	105.08 \pm 5.18	122.46 \pm 15.90
F4	1,1,3-三乙氧基丙烷	1 308	129.52 \pm 35.89	125.10 \pm 19.58	24.28 \pm 1.55
F	缩醛类		2 409.14 \pm 125.69	1 969.80 \pm 65.77	2 248.58 \pm 209.30
G1	萘	1 751	309.31 \pm 19.69	372.59 \pm 27.89	nd
G2	1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基-1-萘	1 558	100.06 \pm 8.07	91.23 \pm 11.63	118.66 \pm 9.09
G3	1,2-二氢-1,1,6-三甲基萘	1 754	1 163.55 \pm 136.81	1 519.44 \pm 64.54	1 779.68 \pm 113.17
G4	1-甲基萘	1 863	169.44 \pm 10.07	379.53 \pm 114.63	nd
G	萘及萘的衍生物		1 742.35 \pm 151.99	2 362.78 \pm 74.82	1 898.34 \pm 119.57
H1	2,3-二氢金合欢醇	2 273	175.95 \pm 30.04	181.83 \pm 30.05	134.40 \pm 9.64
H2	2,4-二叔丁基苯酚	2 322	136.67 \pm 21.41	132.87 \pm 23.83	29.32 \pm 5.68
H3	香叶基乙醚	1 514	139.10 \pm 10.38	140.76 \pm 12.40	nd
H	其他		451.72 \pm 58.72	455.46 \pm 25.33	163.72 \pm 39.82
	总挥发性化合物		127 042.12 \pm 5 595.27	117 371.70 \pm 2 904.73	128 683.95 \pm 3 599.54

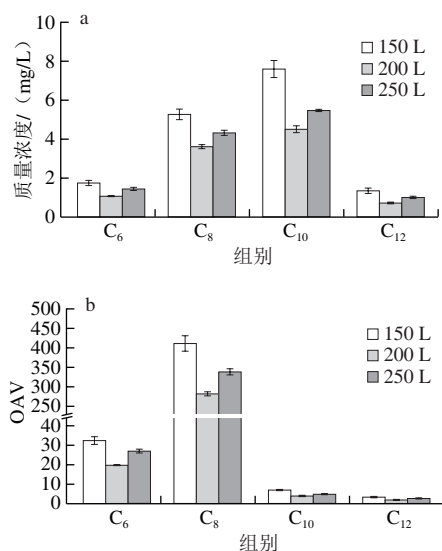
注: nd.未检出; 质量浓度为3次重复实验的平均值, 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

64种,总质量浓度($128\ 683.95 \pm 3\ 599.54$) $\mu\text{g/L}$,其中酯类37种,醇类10种,醛酮类2种,酸类2种,萜烯类与 C_{13} -降异戊二烯类6种,缩醛类3种,萘及萘的衍生物2种,其他类2种。不同基酒装量蒸馏酒酒身总挥发性物质含量无显著差异。

酯类物质是蒸馏酒香气最主要的贡献物质^[25],主要通过发酵和蒸馏过程中醇类和有机酸酯化作用生成,大部分酯类化合物呈现花香和果香。结果显示,基酒装量为150、200 L和250 L时蒸馏酒酒身中酯类物质均为37种,其质量浓度分别为($47\ 608.96 \pm 2\ 714.04$)、($33\ 640.96 \pm 677.75$) $\mu\text{g/L}$ 和($40\ 205.53 \pm 291.52$) $\mu\text{g/L}$,150 L时酯类物质含量显著高于200 L和250 L ($P < 0.05$)。虽然醇类物质总含量在酒体中占比最大,但是3个不同酒身样本中醇类物质总质量浓度分别为($70\ 593.84 \pm 2\ 531.84$)、($74\ 909.78 \pm 2\ 111.17$)、($79\ 354.43 \pm 3\ 842.86$) $\mu\text{g/L}$,无显著差异。

2.4 基酒装量对酒身中链脂肪酸乙酯的影响

本研究以HS-SPME-GC-MS法对基酒装量为150、200、250 L的酒身中己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯和十二酸乙酯进行了定量分析(表1),含量如图1所示。不同酒身中4种中链脂肪酸乙酯含量和OAV大小均为150 L > 250 L > 200 L。其中癸酸乙酯含量最高,辛酸乙酯含量次之,这与前人的研究结果一致^[16],但是,辛酸乙酯OAV最大,达到411.84,依次是己酸乙酯、癸酸乙酯和十二酸乙酯,4种中链脂肪酸乙酯中癸酸乙酯虽然含量高,但是,最主要的特征风味物质是辛酸乙酯,赋予酒体浓厚的花香和果香。当基酒装量为150 L时,酒身中辛酸乙酯的OAV显著高于其他两个装量 ($P < 0.05$)。因此,基酒装量为150 L时的酒身花香果香更加浓郁。



C₆:己酸乙酯; C₈:辛酸乙酯; C₁₀:癸酸乙酯; C₁₂:十二酸乙酯。

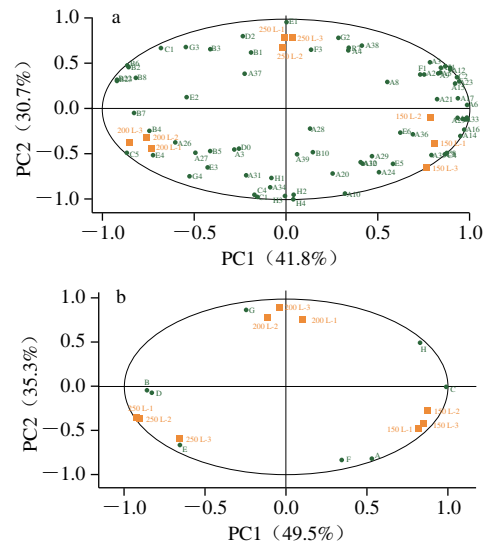
图1 酒身中链脂肪酸乙酯含量(a)和OAV(b)

Fig. 1 Contents (a) and OAV (b) of medium-chain fatty acid ethyl esters in distilled wine samples

2.5 不同基酒装量酒身挥发性物质的统计学分析

由于3个基酒装量条件下的蒸馏酒酒身中挥发性化合物的总含量无显著差异,因此,本研究采用多元统计分析方法对各挥发性化合物进行了具体鉴别。为了观察挥发性化合物的分布,本研究采用PCA对其进行分析,如图2a所示,位于不同象限的3个样本分别相距较远,说明不同基酒装量的酒身的挥发性成分存在显著差异,PC1对整体方差的贡献率是41.8%,PC2对整体方差的贡献率是30.7%,累计贡献率为72.5%。对150 L酒身样品有积极影响的高含量物质有A16、A33、A19、A11和A6,低含量物质有A35、C6、F2、C3、E6、A36、A14和A13,其中本研究2.4节着重讨论的4种中链脂肪酸乙酯与150 L酒身样品有强烈的相关性,这些发现与前人研究^[14,26]一致,己酸乙酯、辛酸乙酯和癸酸乙酯是蒸馏酒酒身的关键挥发性化合物。对200 L酒身样品有积极影响的物质仅有C5,对250 L酒身样品有积极影响的物质仅有E1。

PCA结果显示,对150 L酒身样品有积极影响的化合物包括酯类9种、醛酮类2种、萜烯类化合物1种和缩醛类化合物1种,对200 L和250 L酒身样品有积极影响的挥发性物质都仅有1种,分别为醛酮类、 C_{13} -降异戊二烯类。结果显示,蒸馏工艺中,随着填料量的增加,对酒身样品有积极影响的挥发性物质逐渐减少,这可能因为蒸馏过程中,填料量越大,受热越不均匀,塔顶温度偏低、塔底液位波动较大,导致香气的释放受到影响。



a.所有挥发性化合物; b.酯类(A)、醇类(B)、羰基化合物(C)、酸类(D)、萜烯类和 C_{13} -降异戊二烯类(E)、缩醛类(F)、萘类(G)、其他类(H)。

图2 蒸馏酒样品中挥发性化合物的PCA图

Fig. 2 PCA plots of volatile compounds in distilled wine samples

如图2b所示,PC1对整体方差的贡献率是49.5%,PC2对整体方差的贡献率是35.3%,累计贡献率为84.8%。

研究发现, 醇类丰富的蒸馏酒中, 酸类物质也更加丰富, 且与醛酮类物质呈负相关, 这可能与醇类物质氧化形成了醛酮类物质有关。在发酵期间酯类物质主要由醇类物质和酰基辅酶A通过酶促反应与酸生成^[25,27], 因此, 醇和酸在蒸馏酒样品中与酯呈负相关, 与前人的研究结果一致^[28]。

为进一步识别样本特征, 验证PCA结果的合理性, 建立了OPLS-DA模型, 本模型解释变异数 $R^2=0.997$, 预测能力 $Q^2=0.969$, 说明模型优秀。在OPLS-DA得分图中(图3), 基酒装量分别为150、200、250 L的酒身被清晰地分开, 说明该模型可将3种工艺的酒样明显分离, 与上述PCA模型一致。

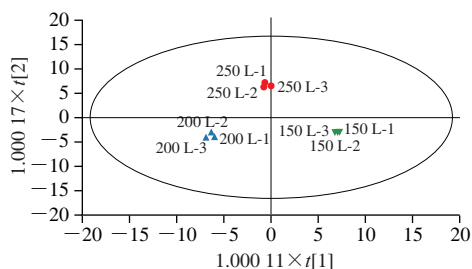


图3 不同填料量的蒸馏酒样本的OPLS-DA得分图
Fig. 3 OPLS-DA score plot of distilled wine samples

为进一步分析两组之间的差异挥发性化合物, 进行了变量投影重要度(variable importance for the projection, VIP)分析, VIP值可以量化每个变量对样品分类的贡献, $VIP > 1$ 可认为该变量为该判别模型的潜在差异物质^[29], VIP值越大说明该物质在判别过程中的贡献越大^[30]。

根据OPLS-DA模型VIP值(> 1)和T检验的P值($P < 0.05$), 确定了不同基酒装量的蒸馏酒酒身的潜在差异物质(表3)。

表3 3种不同填料量酒身的差异挥发性物质
Table 3 Differential volatile compounds in distilled wine samples

150 L vs 200 L		150 L vs 250 L		200 L vs 250 L	
A1	>	A6	>	A3	<
A5	>	A10	>	A6	<
A6	>	A14	>	A10	>
A12	>	A22	<	A12	<
A14	>	B2	<	A16	<
A15	>	B6	<	A19	<
A19	>	C3	>	A31	>
A22	<	C4	>	C2	<
A25	<	C6	>	C4	>
B2	<	E1	<	C5	>
B6	<	F2	>	E1	<
C1	<	G1	>	G1	<
C2	>	G4	>	H3	>
C3	>	H3	>		
C4	<				
C5	<				
C6	>				
E5	>				
F2	>				

由表3可知, 基酒装量150 L vs 200 L的酒身样品中, 共鉴定出19种潜在差异挥发性物质, 其中, 酯类9种, 醇类2种, 羰基化合物6种, 萜烯类1种, 缩醛类1种。基酒装量150 L vs 250 L的酒身样品中, 共鉴定出14种潜在差异挥发性物质, 包括酯类4种, 醇类2种, 羰基化合物3种, 萜烯类1种, 萜及其衍生物2种, 缩醛类1种和其他物质1种。基酒装量200 L vs 250 L的酒身样品中, 共鉴定出13种潜在差异挥发性物质, 其中, 酯类7种, 羰基化合物3种, 萜烯类1种, 萜类1种和其他物质1种。因此, 200 L vs 250 L酒身样品中差异挥发性化合物最少, 150 L vs 200 L酒身样品中差异挥发性化合物最多。研究结果进一步表明OPLS-DA结果与PCA结果一致, 可以证明其合理性。

3 结论

本研究考察不同基酒装量对美乐葡萄蒸馏酒酒身挥发性物质的影响, 旨在探究使用薛氏双釜蒸馏器时美乐葡萄蒸馏酒的最佳蒸馏条件。通过气相色谱-氢火焰离子化检测器法分析蒸馏酒酒身样本中甲醇含量远低于国家标准。HS-SPME-GC-MS法对3个不同基酒装量条件下的蒸馏酒进行分析, 装量为150、200、250 L时的酒身, 分别检出67、67、64种挥发性化合物。为了进一步研究不同基酒装量对挥发性物质的影响, 利用SIMCA 14.1软件对挥发性成分进行PCA和OPLS-DA。PCA结果显示, 对基酒装量150 L蒸馏酒酒身有积极影响的挥发性化合物共13种(酯类9种、醛酮类2种、萜烯类化合物1种和缩醛类化合物1种), 对基酒装量200 L和250 L的蒸馏酒酒身有积极影响的挥发性化合物都仅有1种, 分别为醛酮类和 C_{13} -降异戊二烯类。研究发现, 蒸馏工艺中采用150 L的基酒装量为最佳, OPLS-DA结果与PCA结果一致。该结果可用于美乐葡萄蒸馏酒生产过程中基酒装量的确定, 以获得更高品质的成品美乐葡萄蒸馏酒, 此外, 本研究采用胶东半岛产区美乐葡萄为原料进行葡萄蒸馏酒产品开发, 为胶东半岛产区美乐葡萄蒸馏酒香气化合物的研究提供了理论指导。

参考文献:

[1] 卫生部. 蒸馏酒及其配制酒: GB 2757—2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 1.
[2] 成池芳, 张如意, 陈新军, 等. 贵人香蒸馏酒桶储前后香气成分的变化对比[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2014(2): 51-53. DOI:10.13414/j.cnki.zwpp.2014.02.012.
[3] 王鑫, 李华, 王华. 白兰地香气成分的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 287-295. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201819044
[4] TSAKIRIS A, KALLITHRAKA S, KOURKOUTAS Y. Grape brandy production, composition and sensory evaluation[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94: 404-414. DOI:10.1002/jsfa.6377.

- [5] MIHAJLOV-KRSTEV T M, DENIĆ M S, ZLATKOVIĆ B K, et al. Inferring the origin of rare fruit distillates from compositional data using multivariate statistical analyses and the identification of new flavour constituents[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95(6): 1217-1235. DOI:10.1002/jsfa.6810.
- [6] WEI X F, MA X L, CAO J H, et al. Aroma characteristics and volatile compounds of distilled crystal grape spirits of different alcohol concentrations: wine sprits in the Shangri-La region of China[J]. Food Science and Technology, 2018, 38(Suppl): 50-58. DOI:10.1590/fst.12117.
- [7] RADEKA S, HERJAVEC S, PERŠURIĆ D, et al. Effect of different maceration treatments on free and bound varietal aroma compounds in wine of *Vitis vinifera* L. cv. Malvazija istarska bijela[J]. Food Technology and Biotechnology, 2008, 46: 86-92.
- [8] CACHO J, MONCAYO L, PALMA J C, et al. The impact of grape variety on the aromatic chemical composition of non-aromatic Peruvian pisco[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 373-381. DOI:10.1016/j.foodres.2013.07.019.
- [9] ZIERER B, SCHIEBERLE P, GRANVOGL M. Aromatic compounds in Bartlett pears and their changes during the manufacturing process of Bartlett pear brandy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(50): 9515-9522. DOI:10.1021/acs.jafc.6b04612.
- [10] ARRIETA-GARAY Y, BLANCO P, LÓPEZ-VÁZQUEZ C, et al. Effects of distillation system and yeast strain on the aroma profile of Albariño (*Vitis vinifera* L.) grape pomace spirits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(43): 10552-10560. DOI:10.1021/jf502919n.
- [11] XIANG X F, LAN Y B, GAO X T, et al. Characterization of odor-active compounds in the head, heart, and tail fractions of freshly distilled spirit from Spine grape (*Vitis davidii* Foex) wine by gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Research International, 2020, 137: 109388. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109388.
- [12] LUNA R, LÓPEZ F, PÉREZ-CORREA J R. Minimizing methanol content in experimental charentais alembic distillations[J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2018, 57: 160-170. DOI:10.1016/j.jiec.2017.08.018.
- [13] DE LUCCA F, MUNIZAGA-MIRANDA R, JOPIA-CASTILLO D, ET AL. Operation strategies to minimize methanol recovery in batch distillation of hydroalcoholic mixtures[J]. International Journal of Food Engineering, 2013, 9, 259-265. DOI:10.1515/ijfe-2013-0031.
- [14] 吴旭杰, 张朝阳. 葡萄酒蒸馏工艺研究[J]. 现代食品, 2022, 28(7): 59-61. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2022.07.014.
- [15] SAERENS S M G, DELVAUX F R, VERSTREPEN K J, et al. Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbial Biotechnology, 2010, 3: 165-177. DOI:10.1111/j.1751-7915.2009.00106.x.
- [16] RAIČEVIĆ D, POPOVIĆ T, JANČIĆ D, et al. The impact of type of brandy on the volatile aroma compounds and sensory properties of grape brandy in Montenegro[J]. Molecules, 2022, 27: 2974. DOI:10.3390/molecules27092974.
- [17] HU K, JIN G J, MEI W C, et al. Increase of medium-chain fatty acid ethyl ester content in mixed *H. uvarum/S. cerevisiae* fermentation leads to wine fruity aroma enhancement[J]. Food Chemistry, 2018, 239: 495-501. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.06.151.
- [18] DONG J J, LI Q L, YIN H, et al. Predictive analysis of beer quality by correlating sensory evaluation with higher alcohol and ester production using multivariate statistics methods[J]. Food Chemistry, 2014, 161: 376-382. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.04.006.
- [19] MAYR C M, GEUE J P, HOLT H E, et al. Characterization of the key aroma compounds in Shiraz wine by quantitation, aroma reconstitution, and omission studies[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62: 4528-4536. DOI:10.1021/jf405731v.
- [20] 薛万杰. 蒸馏器: 中国, CN 101376067 B[P]. 2010-11-17.
- [21] 童军茂, 左立夫, 丁刚, 等. 蟠桃蒸馏酒的研制[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(21): 208-209. DOI:10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2008.21.003.
- [22] 单扬, 何建新, 谭斌. 柑桔白兰地的研制[J]. 食品与机械, 2000(4): 21-22. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2000.04.011.
- [23] 莫燕霞, 殷居易, 顾晓俊, 等. 气相-内标法测定白兰地中甲醇、乙酸乙酯、糠醛和高级醇[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(21): 150-152. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2015.21.038.
- [24] 王雅楠, 王倩, 刘延琳, 等. 葡萄酒高级醇检测方法的优化及其在本土酿酒酵母筛选中的应用[J]. 中国酿造, 2020, 39(6): 47-52. DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2020.06.010.
- [25] FERRARI G, LABLANQUIE O, CANTAGREL R, et al. Determination of key odorant compounds in freshly distilled cognac using GC-O, GC-MS and sensory evaluation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 5670-5676. DOI:10.1021/jf049512d.
- [26] MATIJAŠEVIĆ S, POPOVIĆ-DJORDJEVIĆ J, RISTIĆ R, et al. Volatile aroma compounds of brandy 'Lozovača' produced from muscat table grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.)[J]. Molecules, 2019, 24: 2485. DOI:10.3390/molecules24132485.
- [27] BELDA I, RUIZ J, ESTEBAN-FERNÁNDEZ A, et al. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement[J]. Molecules, 2017, 22(2): 189. DOI:10.3390/molecules22020189.
- [28] NAN L J, LIU L Y, LI Y S, et al. Comparison of aroma compounds in cabernet sauvignon red wines from five growing regions in Xinjiang in China[J]. Journal of Food Quality, 2021, Article ID 5562518. DOI:10.1155/2021/5562518.
- [29] SU D, HE J J, ZHOU Y Z, et al. Aroma effects of key volatile compounds in Keemun black tea at different grades: HS-SPME-GC-MS, sensory evaluation, and chemometrics[J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131587. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131587.
- [30] STUPAK M, GOODALL I, TOMANIOVA M, et al. A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1042(26): 60-70. DOI:10.1016/j.aca.2018.09.017.