

茅台红葡萄酒风味物质超临界萃取 GC-MS分析研究

王道平, 杨小生

(贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550002)

摘要:采用超临界萃取,以气相色谱-质谱法对茅台红葡萄酒的风味物质进行定性分析。从茅台红葡萄酒的超临界萃取物中分离出了46种成分,鉴定了其中的38种成分,其相对含量占总离子峰的91.81%。结果表明,醇类和含羰基化合物是构成茅台红葡萄酒风味的主要物质,其中醇类物质的相对含量高达44.57%,并以丙三醇的相对含量最高,达21.27%;而含羰基化合物的相对含量达43.62%,其中以有机酸类的相对含量最高,为10.96%。
关键词:超临界萃取,气相色谱-质谱法,茅台红葡萄酒,风味物质

Extraction of the flavor volatiles from Moutai red wine with supercritical fluid extraction and its component analysis

WANG Dao-ping, YANG Xiao-sheng

(Key Lab of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract:The Moutai red wine sample were treated by the supercritical fluid extraction (SFE), then separated and determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). 46 kinds of flavor volatiles had been isolated and 38 kinds of flavor volatiles had been identified, the identified relative contents of flavor volatiles were 91.81%. The flavor volatiles mainly contained alcohols and carbonyl compounds, and alcohols in which the relative content up to 44.57% and the relative content of glycerol was the highest, amounting to 21.27%, and the carbonyl compounds in which the relative content up to 43.62% and the relative content of organic acids was the highest, amounting to 10.96%.
Key words: SFE; GC-MS; Moutai red wine; flavor volatiles

中图分类号: TS262.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2010)10-0161-03

葡萄酒风味物质是葡萄酒质量的重要组成部分,是感官分析的重点,也是葡萄酒香气特征的物质基础,决定着葡萄酒的风味和典型性^[1]。这些香气化化合物的种类和含量决定葡萄酒的特征^[2]。茅台干红葡萄酒精选“中国酿酒葡萄之乡”昌黎盛产的解百纳葡萄酿制而成,而其风味物质内容和成因目前尚不清楚,质量控制指标单一,并不能对其内在质量进行较为全面的综合评价和控制。为了弄清其风味物质内容,制定全面的质量控制标准,我们选用了超临界萃取进行前处理,利用气相质谱联用仪对茅台红葡萄酒的风味物质进行了鉴定分析,从中分离出了46种成分,鉴定了38种成分,香气成分的鉴定,对于科学评价茅台红葡萄酒质量具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期: 2009-08-10
作者简介: 王道平(1979-),男,助理研究员,从事天然产物与食品分析测试研究。
基金项目: 贵州省科学技术基金项目资助(黔科合J字[2007]2046)。

茅台红葡萄酒 本地市售; CO₂ 纯度 99.5%, 食品级, 由贵阳都拉厂提供; 其他试剂 均为分析纯。

超临界 CO₂ 萃取装置 型号 HA120-40-0.5, 容量 5L, 最高压力 42MPa, 最高温度 70℃; HP 6890/5975C GC-MS 联用仪 美国惠普公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茅台红葡萄酒风味物质的提取 取 250mL 茅台红葡萄酒投入萃取釜, 将萃取釜温度升至设定值后开启 CO₂ 泵, 萃取压力升至设定值后进行流动萃取, 设定工艺参数见表 1。从解析釜出料口得萃取物, 用无水硫酸钠脱水后得红色液状物 4.53mL, 得率为 1.8%, 将所得红色液体进行 GC-MS 分析。

表 1 超临界 CO₂ 法工艺参数

项目	压力 (MPa)	温度 (℃)	流量 (L/h)	时间 (h)
萃取釜	25	45	20	2
解析釜	5	50	20	2

1.2.2 茅台红葡萄酒风味物质 GC-MS 分析

1.2.2.1 气相色谱条件 色谱柱为 AB-Inowax (30.0m × 250μm × 0.25μm) 弹性石英毛细管柱, 柱温 45℃ (保留 2min), 以 4℃ · min⁻¹ 升温至 230℃, 保持

表2 超临界萃取茅台红葡萄酒风味物质成分分析结果

序号	保留时间 (min)	成分	化学式	分子量	相对含量 (%)
1	2.94	异丁醇	$C_4H_{10}O$	74	2.919
2	5.94	2-甲基-1-丁醇	$C_5H_{12}O$	88	1.373
3	6.00	3-甲基-1-丁醇	$C_5H_{12}O$	88	8.471
4	8.29	3-羟基-2-丁酮	$C_4H_8O_2$	88	0.471
5	8.65	丙酮醇	$C_4H_8O_2$	74	1.824
6	9.07	丙醇	C_3H_8O	60	0.938
7	9.72	乳酸乙酯	$C_5H_{10}O_3$	118	9.981
8	13.42	糠醛	$C_5H_4O_2$	96	0.149
9	13.49	乙酸	$C_2H_4O_2$	60	5.546
10	15.14	3-甲基-2(5 氢)-呋喃酮	$C_5H_6O_2$	98	0.316
11	15.50	甲酸	CH_2O_2	46	4.267
12	16.59	(2S,3S)-(+)-2,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	90	2.347
13	17.99	[R-(R*,R*)]-2,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	90	0.743
14	18.36	丙二醇	$C_3H_8O_2$	76	0.812
15	18.70	γ -丁内酯	$C_4H_6O_2$	86	0.722
16	20.92	糠醇	$C_5H_6O_2$	98	4.582
17	21.65	丁二酸二乙酯	$C_8H_{14}O_4$	174	0.697
18	23.10	2(5 氢)-呋喃酮	$C_4H_4O_2$	84	0.364
19	24.20	2-羟基-2-环戊-1-酮	$C_5H_6O_2$	98	1.201
20	27.40	己酸	$C_6H_{12}O_2$	116	0.695
21	28.91	苯乙醇	$C_8H_{10}O$	122	3.548
22	30.31	麦芽酚	$C_6H_6O_3$	126	1.098
23	31.33	2-糠酸甲酯	$C_6H_6O_3$	126	0.448
24	31.55	2H-吡喃-2,6(3 氢)-二酮	$C_5H_4O_3$	112	0.382
25	33.46	苹果酸二乙酯	$C_8H_{14}O_5$	190	0.504
26	33.93	1,3-二羟基丙酮	$C_3H_6O_3$	90	2.724
27	34.56	顺-(+)-2',3'-双脱氧核糖酸内酯	$C_5H_8O_3$	116	0.939
28	35.29	4,5-二甲基-1,3-二氧杂环戊烯-2-酮	$C_5H_6O_3$	114	0.299
29	39.45	3,5-二羟基-2-甲基-5,6-二氢吡喃-4-酮	$C_6H_8O_4$	144	0.892
30	41.14	丙三醇	$C_3H_8O_3$	92	21.27
31	41.95	佳味醇	$C_9H_{10}O$	134	0.490
32	42.93	1,4:3,6-双脱水-d-吡喃葡萄糖	$C_6H_8O_4$	144	0.493
33	43.37	丁二酸单乙酯	$C_6H_{10}O_4$	146	1.897
34	45.98	5-羟甲基糠醛	$C_6H_6O_3$	126	3.670
35	47.63	苯乙酸	$C_8H_8O_2$	136	0.458
36	48.16	二氢-4-羟基-2(3 氢)-呋喃酮	$C_4H_6O_3$	102	1.863
37	58.26	4-羟基苯乙醇	$C_8H_{10}O_2$	138	0.648
38	64.79	内醚糖	$C_6H_{10}O_5$	162	1.780

20min;汽化室温度 250℃;载气为高纯 He(99.999%);柱前压 5.08psi,载气流量 1.0mL·min⁻¹;进样量 1μL(正己烷溶液);分流比 20:1。

1.2.2.2 质谱条件 质谱的电离方式为 EI;离子源温度 230℃;四极杆温度 150℃;电子能量 70eV;发射电流 34.6μA;倍增器电压 1015V;接口温度 280℃;质量范围 30~550amu,溶剂延迟 2min。

1.2.2.3 定性分析 取超临界萃取物 1.0μL,用气相色谱-质谱-计算机联用仪进行分析鉴定。最后通过 HPMSD 化学工作站检索 Nist2005 标准质谱图库和 WILEY275 质谱图库,并结合有关文献进行谱图解析,以确认茅台红葡萄酒风味物质的各化学成分。

2 结果与讨论

2.1 成分分析

用气相色谱数据处理系统,以峰面积归一法测

得其中各组分的相对百分含量,对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图,经过 Nist2005 标准质谱图库和 Wiley275 质谱图库数据系统检索,结合人工谱图解析,按各色谱峰的质谱裂片图与文献核对,对基峰、质荷比和相对丰度等方面进行直观比较,结果从茅台红葡萄酒超临界萃取物中分离出 46 个色谱峰(见图 1),共鉴定出 38 个化学成分,占总离子峰相对含量的 91.82%,结果见表 2。

2.2 讨论

由表 2 可以看到,茅台红葡萄酒风味物质主要由醇类及酸、酮、酯等羰基化合物组成。其中醇类物质的相对含量高达 44.57%,并以丙三醇的相对含量最高,达 21.27%,丙三醇具有香甜味,口感舒适^[5],其次为苯乙醇,相对含量为 3.55%,其香味独特,具有玫瑰香、紫罗兰、茉莉香、香料辛辣味、矿物味、茴香

(下转第 167 页)

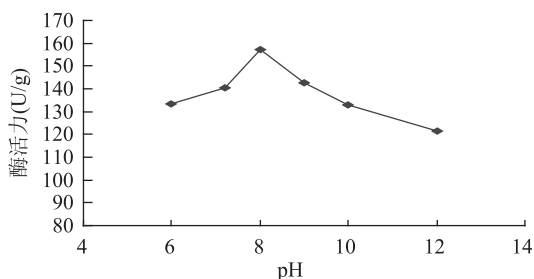


图5 pH对产酶的影响

菌株 YRD-19-35 所产纤维素酶的酶活力最高。

3 结论

枯草芽孢杆菌 YRD-19 经过紫外诱变,选育到一株纤维素酶活力提高 5.97 倍的诱变菌株 YRD-19-35,在最优发酵产酶条件下,纤维素酶活力最高可达到 182.705 U/g,比出发菌株 27.213 U/g 提高了 6.71 倍。

实验结果表明:菌株 YRD-19-35 适合产酶的最优培养基条件为:1.5% 乳糖,1.5% 蛋白胨,NaCl:KH₂PO₄ = 5:1,添加量为 0.55%。在此最适培养基基础上,研究温度、pH、种子活化时间及发酵时间等因素对产酶的影响。实验结果表明:发酵温度为 37℃,pH 为 8.0,种子活化时间为 24h,发酵时间为 48h,时菌株 YRD-19-35 产酶的酶活力达到最高。

通过产酶条件优化实验的研究发现,诱变菌株 YRD-19-35 诱导产酶的最佳碳源是乳糖。而之前发表过的文章多采用的是蔗糖^[2],羧甲基纤维素钠^[13]以及麸皮^[8,12]等等,用乳糖作为纤维素酶的诱导剂还没有研究。并且与以上这三种碳源相比较,使用乳糖作为该菌株的诱导剂,酶活分别提高了 7.52%、33.30% 和 13.75%。

参考文献

[1] 窦烨,王清路,李俏俏.纤维素酶的应用现状[J].中国酿

造,2008(12):15-17.

[2] 肖黎明,王卫卫,郭燕.1株产碱性纤维素酶软化芽孢杆菌 IS-B4 的选育及产酶条件的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(5):59-62.

[3] 李西波,刘胜利,王文兵.高产纤维素酶菌株的诱变选育和筛选[J].2006,25(6):107-110.

[4] 陈香,蒋立建,等.紫外线诱变提高细菌产纤维素酶活力的研究[J].化学与生物工程,2008(2):45-47.

[5] 施巧琴,吴松刚.工业微生物育种学[M].北京:科学出版社,2003:56-57.

[6] 曾文青,刘蓉,等.纤维素酶系高产菌株的选育[J].四川省卫生管理干部学院学报,2000,19(1):4-6.

[7] 范琳,牛艳芳,等.高产纤维素酶菌株的诱变选育研究[J].内蒙古师范大学学报:自然科学版,2004,23(2):195-198.

[8] 杨博,黄蓉,曾晶,等.BA-25 菌株碱性纤维素酶产酶条件优化研究[J].生命科学研究,2006,10(3):92-98.

[9] 饲料添加剂 纤维素酶活力的测定 分光光度法.中华人民共和国农业行业标准——NY/T 912-2004 [S].2005-01-04 发布,2005-02-01 实施.

[10] Lopez MJ, Carmen VM, et al. Lignocellulose degrading enzymes produced by the ascomycete *Coniochaeta ligniaria* and related species: Application for a lignocellulosic substrate treatment[J].Enzyme Microb Technol,2007,40:794.

[11] Hill J, Nelson E, et al. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2006,103:11206.

[12] 钟文文.纤维素酶产生菌的选育及发酵条件优化[J].环境工程学报,2007,1(11):140-144.

[13] 韩学易,陈惠,吴琦,等.产纤维素酶枯草芽孢杆菌 C-36 的产酶条件研究[J].四川农业大学学报,2006,24(2):178-181.

(上接第 162 页)

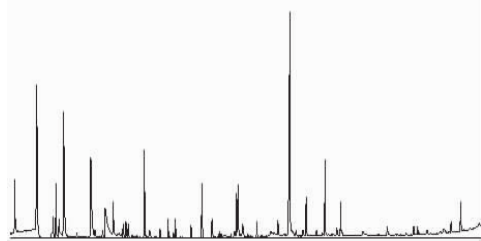


图1 茅台红葡萄酒风味物质的总离子流图

味、丁香味及果味等多样风味,也构成该酒主要特征香气组分。而含羰基化合物的相对含量达 40.62%,其中有机酸类的相对含量最高,为 10.96%,有机酸使其具有淡甜柔和的气味^[3];其次为酮类和酯类,酯类则可提高和改善其香味,乳酸乙酯具有特殊的果香和酒香^[4],它们共同构成了茅台红葡萄酒的风味特征。

对香气贡献比较大的乙酸乙酯损失较大,但乙酸乙酯并非葡萄品种典型性香气成分,而且超临界萃取,一些具有典型香味的酯类相对含量有所增加。

3 结论

但目前为止,茅台红葡萄酒中仍有大量的香气

成分没有定性,因此,有必要考虑综合各种萃取剂进行分离鉴定,以求更真实地反映出它的香气成分,为进一步了解葡萄酒的香气特征及对酿酒葡萄进行深加工和开发利用提供一定的理论依据。

参考文献

[1] 李华.葡萄酒品尝学[M].北京:中国青年出版社,1992:163.

[2] Eduardo B, Adriana L, Karina m, et al. Aroma composition of *Vitis vinifera* Cv. Tannat: the typical red wine from Uruguay [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 5408-5413.

[3] Selli S. Volatile composition of red wine from CV. Kalecik Karast grown in central Anatolia [J]. Food Chemistry, 2004(85): 207-213.

[4] Ferreira V, Lopez R, Cachoj F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties [J]. J Sci Food Agric, 2000, 80(1): 1659-1667.

[5] 李大和.试论中国白酒的甜味(上)[J].酿酒科技,2004(6):26-28.