

## 冰葡萄酒重要风味化合物嗅觉阈值的研究

唐柯<sup>1</sup>, 马玥<sup>1</sup>, 徐岩<sup>1\*</sup>, 李记明<sup>2</sup>

1(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学  
生物工程学院酿酒微生物与酶技术研究室, 江苏 无锡, 214122) 2(烟台张裕葡萄酒股份有限公司, 山东 烟台, 264000)

**摘 要** 应用国际标准三杯法(3-AFC), 由经过训练的评定员组成品评小组, 首次对冰葡萄酒中 12 种重要的并且香气特征不相同的香气化合物进行觉察阈值测定, 测定结果与目前报道在干型葡萄酒体系中的阈值有较大差异。在冰葡萄酒模拟体系中, 1-辛烯-3-醇、异戊酸乙酯及  $\beta$ -大马酮的阈值相对干型葡萄酒有明显的提高, 而已醇及香叶醇的阈值有明显下降。该研究为冰葡萄酒风味的进一步研究提供基础数据和理论依据。

**关键词** 冰葡萄酒; 风味化合物; 嗅觉阈值; 品评小组

冰葡萄酒是一种采用特殊酿造工艺酿造的葡萄酒。通过推迟采收葡萄, 在  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$  的气温下, 果实挂在枝头通过自然结冰和风干, 葡萄中的糖分得到高度浓缩, 在结冰的状态下压榨、低温保糖发酵酿制而成的甜型葡萄酒(Vintners Quality Alliance, 1999)<sup>[1]</sup>。

冰葡萄酒糖度高, 非挥发物成分复杂, 这些复杂的非挥发物与风味化合物相互作用, 构成了冰酒非凡的品质。但是在不同的环境、体系等因素下, 获得的风味化合物的感官阈值是不同的<sup>[2]</sup>。冰酒香气的感知不光受到其在冰酒中浓度的影响, 也受到酒中非挥发性组分的影响, 糖就是其中一个可能影响其香气感知的因素。风味物质阈值可分为觉察阈值与识别阈值, 觉察阈值是能引起人们觉察的最低物质浓度, 识别阈值是能引起人们识别的最低物质浓度, 一般识别阈值要比觉察阈值高<sup>[3]</sup>。

课题组在前期研究中通过搅拌棒萃取结合气质联用(SBSE-GC-MS)在威代尔冰酒中共定性了 109 种香气化合物<sup>[4]</sup>, 并采用芳香萃取物稀释分析法(AEDA)通过气相色谱-嗅闻仪(GC-O)确定了威代尔冰葡萄酒中 65 种香气活性化合物<sup>[5]</sup>。但是冰酒中的风味化合物, 没有属于自己的阈值体系, 虽然其在干型葡萄酒中有相应的阈值大小<sup>[6-7]</sup>, 然而这些阈值并不能代表风味化合物在冰葡萄酒中的阈值, 采用这些阈值数据可能会对冰酒风味的研究产生影响。因

此测定风味化合物在冰葡萄酒体系中的阈值是必要的。本研究在冰酒模拟酒体系中, 应用国际标准三杯法<sup>[8]</sup>对 12 种在冰酒中重要的且香气特征不相同的香气化合物进行了觉察阈值测定, 为冰酒风味的进一步研究提供基础数据和理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 主要材料

水为煮沸 5 min 的超纯水, 其中 D-果糖(分析纯), L-酒石酸(分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司, 乙醇(色谱纯)购自安谱公司。香气化合物标准品购自 Sigma-Aldrich 公司, 色谱纯, 纯度均在 97% 以上(表 1)。

表 1 用于测定的香气化合物  
Table 1 Aroma compounds for test

测定化合物	CAS	香气描述	配置的最高质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
丁酸乙酯	141-78-6	甜瓜	696.60
2-甲基丁酸乙酯	7452-79-1	苹果	23.52
异戊酸乙酯	108-64-5	菠萝	683.82
乙酸异戊酯	123-92-2	香蕉	240.49
乙酸苯乙酯	103-45-7	花香	5 936.49
己醇	111-27-3	松子	18 401.46
顺-3-己烯-1-醇	928-96-1	松柏	4 584.03
1-辛烯-3-醇	3391-86-4	蘑菇	93.48
里那醇	78-70-6	薰衣草	120.54
$\beta$ -大马酮	23696-85-7	蜂蜜	5.46
香叶醇	106-24-1	橙花	351.69
顺式-玫瑰醚	876-18-6	玫瑰	2.43

## 2.2 实验方法

## 2.2.1 品评人员选拔及培训

初选 50 名 20-26 岁的江南大学学生, 对其进行

第一作者: 博士, 副教授(徐岩教授为通讯作者, E-mail, yxu@jiangnan.edu.cn)。

基金项目: 国家 863 计划项目(2013AA102108); 国家自然科学基金项目(31501470); 山东省泰山学者计划

收稿日期: 2015-06-11, 改回日期: 2015-10-08

嗅觉阈值测试及嗅觉辨别能力测试,选出 30 名评定人员进行培训<sup>[9]</sup>。培训包括感官评定基本方法及理论介绍,相关酒样介绍,标准香气(54 香酒鼻子, le Nez du Vin)记忆及描述训练(每次 30 min,总时长不少于 30 h),每月至少 2 次冰葡萄酒酒样香气描述实验,根据国际标准<sup>[10-11]</sup>选择香气化合物进行香气强度及辨别训练,化合物及其配制浓度见表 2。

每月对评定员进行嗅觉阈值测试及嗅觉辨别能力测试,以及个人和小组重复性及稳定性测试。经过每月 5~7 h,8~12 个月的培训,选出嗅觉阈值较低,香气描述正确率在 80% 以上的 12 名品评员。

### 2.2.2 香气化合物嗅觉阈值测定

根据实验室前期实验结果,选择冰葡萄酒中重要且香气特征独特的 12 种香气化合物进行阈值测定。阈值测定时室内温度为 20℃,按国际标准 3-AFC

法<sup>[7]</sup>进行。查阅文献,确定被测物质在葡萄酒中的觉察阈值的浓度,配制该浓度值约 2~100 倍的待测定香气化合物标准液,配置的最高浓度见表 1,冰酒模拟酒溶液为 11% 乙醇,10 g/L 酒石酸及 130 g/L 果糖混合溶液。样品以稀释 3 倍为不变因素,对配制好浓度的标准溶液依次稀释 5 次;从低浓度开始,逐一将每一稀释梯度的三杯样品以随机的顺序(其中两杯仅为空白溶液,一杯为添加有被测物质的溶液)呈现给品评员,品评员必须选择出含有目标化合物的一杯,并记录,同时要求写出该化合物的香气特征。每杯样品以 3 位随机号码编号,每种样品提供参照样品,包括一杯空白样,一杯标准样,标准样浓度为配制的香气化合物的最高浓度<sup>[12]</sup>。每组样品间休息 3~5 min。提供饮用水,避免在闻香过程中感觉口鼻干燥。重复测定,两次测定人员阈值变化小于 20%。

表 2 训练及描述分析选用标准物  
Table 2 Standard for training and descriptive analysis

描述语	化合物	文献阈值/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) <sup>[6]</sup>	标准液浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	溶剂
菠萝	异戊酸乙酯	3 <sup>[14]</sup>	21	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
甜瓜	丁酸乙酯	20	140	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
苹果	2-甲基丁酸乙酯	1	7	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
香蕉	乙酸异戊酯	30	210	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
玫瑰	顺式-玫瑰醚	0.2	1.4	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
松柏	顺式-3-己烯-1-醇	400	2 800	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
松子	己醇	8 000	16 000	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
蘑菇	1-辛烯-3-醇	1 <sup>[7]</sup>	7	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
薰衣草	里那醇	15	105	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
花香	乙酸苯乙酯	250	1 750	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
蜂蜜	$\beta$ -大马酮	0.05	0.5	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸
橙花	香叶醇	30	210	11% 乙醇 + 130 g/L 果糖 + 10 g/L 酒石酸

### 2.2.3 数据处理

数据处理部分参照美国材料与试验协会标准<sup>[13]</sup>。个体差别阈值以品评员最后一个判断不正确的浓度值和下一个判断正确的浓度值(后面至少两次判断正确)的几何平均数表示。小组阈值为个人阈值的几何平均值。采用 SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)对数据进行分析处理。

## 2 结果与分析

共 12 名参加经过良好培训的品评员参与了阈值测定,其中男 7 名,女 5 名。品评小组通过 3-AFC 法测定了 12 种化合物的觉察阈值,经过统计计算,品评员的个人最优阈值如表 3 所示。由表 3 可知,对于丁酸乙酯,阈值最低的为 2 号评价员,其阈值仅为 2.87

$\mu\text{g/L}$ ;对于 2-甲基丁酸乙酯,5 号品评员的阈值最低,为 0.1  $\mu\text{g/L}$ ;异戊酸乙酯阈值最低的为 3 号品评员,为 2.81  $\mu\text{g/L}$ ;有 3 名品评员对乙酸异戊酯较敏感,觉察阈值结果均为 8.9  $\mu\text{g/L}$ ;乙酸苯乙酯最低阈值为 24.43  $\mu\text{g/L}$ ,为 9 号评价员;己醇的最低阈值为 75.73  $\mu\text{g/L}$ ,为 6 号品评员;有 4 名品评员对顺式-3-己烯-1-醇较敏感,阈值均为 56.59  $\mu\text{g/L}$ ;1-辛烯-3-醇最低阈值为 3.46  $\mu\text{g/L}$ ,为 9,10 号评价员;3 号、4 号和 11 号品评员对里那醇较敏感,阈值为 1.49  $\mu\text{g/L}$ ;3 名品评员对  $\beta$ -大马酮较敏感,阈值为 0.20  $\mu\text{g/L}$ ;5 名品评员给出了香叶醇的最低阈值,为 1.45  $\mu\text{g/L}$ ;6 号和 10 号评价员对顺式-玫瑰醚较敏感,阈值为 0.01  $\mu\text{g/L}$ 。

表 3 品评员对 12 种香气化合物的觉察阈值 单位:μg/L

Table 3 The perception thresholds for 12 aroma compounds of panel

化合物名称		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		男	男	女	男	男	女	女	男	女	男	男	女
丁酸乙酯	阈值	232.20	2.87	25.80	77.40	232.20	232.20	77.40	77.40	232.20	77.40	8.60	25.80
	Log <sub>10</sub>	2.37	0.46	1.41	1.89	2.37	2.37	1.89	1.89	2.37	1.89	0.93	1.41
2-甲基丁酸乙酯	阈值	7.84	0.29	7.84	2.61	0.10	0.87	2.61	7.84	2.61	7.84	0.29	0.87
	Log <sub>10</sub>	0.89	-0.54	0.89	0.42	-1.01	-0.06	0.42	0.89	0.42	0.89	-0.54	-0.06
异戊酸乙酯	阈值	75.98	25.33	2.81	25.33	25.33	75.98	227.94	227.94	75.98	227.94	8.44	25.33
	Log <sub>10</sub>	1.88	1.40	0.45	1.40	1.40	1.88	2.36	2.36	1.88	2.36	0.93	1.40
乙酸异戊酯	阈值	80.16	80.16	80.16	26.72	26.72	240.49	240.49	240.49	8.91	8.91	26.72	8.91
	Log <sub>10</sub>	1.90	1.90	1.90	1.43	1.43	2.38	2.38	2.38	0.95	0.95	1.43	0.95
乙酸苯乙酯	阈值	1 978.83	659.61	1 978.83	1 978.83	659.61	1 978.83	978.83	659.61	24.43	73.29	73.29	73.29
	Log <sub>10</sub>	3.30	2.82	3.30	3.30	2.82	3.30	3.30	2.82	1.39	1.87	1.87	1.87
己醇	阈值	6 133.82	681.54	227.18	2 044.61	2 044.61	75.732	044.61	6 133.82	2 044.612	044.612	044.61	6 133.82
	Log <sub>10</sub>	3.79	2.83	2.36	3.31	3.31	1.88	3.31	3.79	3.31	3.31	3.31	3.79
顺-3-己烯-1-醇	阈值	56.59	169.78	56.59	1 528.01	509.34	1 528.01	56.59	1 528.01	509.341	528.01	56.59	1 528.01
	Log <sub>10</sub>	1.75	2.23	1.75	3.18	2.71	3.18	1.75	3.18	2.71	3.18	1.75	3.18
1-辛烯-3-醇	阈值	31.16	10.39	31.16	31.16	31.16	10.39	31.16	31.16	3.46	3.46	93.48	10.39
	Log <sub>10</sub>	1.49	1.02	1.49	1.49	1.49	1.02	1.49	1.49	0.54	0.54	1.97	1.02
里那醇	阈值	40.18	13.39	1.49	1.49	13.39	4.46	13.39	40.18	4.46	13.39	1.49	40.18
	Log <sub>10</sub>	1.60	1.13	0.17	0.17	1.13	0.65	1.13	1.60	0.65	1.13	0.17	1.60
β-大马酮	阈值	1.82	1.82	5.46	0.61	0.20	0.20	1.82	0.61	0.20	5.46	0.61	5.46
	Log <sub>10</sub>	0.26	0.26	0.74	-0.22	-0.69	-0.69	0.26	-0.22	-0.69	0.74	-0.22	0.74
香叶醇	阈值	1.45	1.45	1.45	4.34	117.23	4.34	13.03	4.34	1.45	1.45	13.03	13.03
	Log <sub>10</sub>	0.16	0.16	0.16	0.64	2.07	0.64	1.11	0.64	0.16	0.16	1.11	1.11
顺式-玫瑰醛	阈值	0.09	0.09	0.81	0.03	0.27	0.01	0.09	0.09	0.27	0.27	0.09	0.01
	Log <sub>10</sub>	-1.05	-1.05	-0.09	-1.52	-0.57	-2.00	-1.05	-1.05	-0.57	-0.57	-1.05	-2.00

注:个体最好阈值;品评员需正确答对连续两个稀释梯度,则其答对的样品中最低浓度与前一个未答对样品浓度的几何平均值就是个体的最优浓度。

根据品评员的个人最优阈值,求其几何平均值可 得到品评小组的小组最优阈值,结果如表 4 所示。

表 4 12 种香气化合物觉察阈值结果分析

Table 4 Analysis of the perception thresholds for 12 aroma compounds

测定化合物	文献阈值 <sup>[6]</sup>	组阈值	AVLog <sub>10</sub>	个体阈值范围		STV
				最低	最高	
丁酸乙酯	20	58.81	1.8	2.87	232.20	0.59
2-甲基丁酸乙酯	1	1.65	0.2	0.46	2.37	0.63
异戊酸乙酯	3 <sup>[16]</sup>	43.87	1.6	0.10	7.84	0.57
乙酸异戊酯	30	46.28	1.7	2.81	227.94	0.53
乙酸苯乙酯	250	457.35	2.7	43.43	3 517.68	0.68
己醇	8 000	1 553.56	3.2	24.43	1 978.83	0.56
顺式-3-己烯-1-醇	400	353.16	2.5	56.59	1 528.01	0.63
1-辛烯-3-醇	1 <sup>[6]</sup>	17.99	1.3	3.46	93.48	0.41
里那醇	15	7.47	0.9	1.49	40.18	0.53
β-大马酮	0.05	1.05	0.0	0.20	5.46	0.53
香叶醇	30	4.76	0.7	1.45	117.23	0.57
顺式-玫瑰醛	0.2	0.09	-1.0	0.03	0.27	0.55

注:表中阈值单位为 μg/L。AVLog<sub>10</sub>为阈值对数的平均数,STV 为阈值对数的相对标准偏差。

其中 2-甲基丁酸乙酯、乙酸异戊酯、顺式-3-己烯-1-醇 3 种化合物阈值与文献中给出阈值较为接近,其他 9 种风味化合物与文献中阈值具有较大差异。例如里那醇在冰酒模拟酒溶液中阈值为 7.47 μg/L,而文献报道阈值为 15 μg/L,果糖对里那醇的挥发可能会起到促进作用。异戊酸乙酯、1-辛烯-3-醇、己醇、香叶醇及 β-大马酮的阈值则与文献报道差

别较明显,这一方面可能由于人员对这几种化合物的敏感程度不同,也可能由于测定的模拟酒溶液不同,果糖对不同香气化合物的挥发起到一定影响。其中 1-辛烯-3-醇、异戊酸乙酯及 β-大马酮的阈值有明显的提高,而己醇及香叶醇的阈值有明显下降。这一结果与 VILLAMOR 等人的研究结果有部分相同<sup>[15]</sup>。VILLAMOR 等人研究表明果糖对多种化合物的香气

挥发有抑制作用,在10%的乙醇及低单宁条件下,高浓度的果糖可以使己醇及 $\beta$ -大马酮的阈值下降10倍以上。但在10%的乙醇及高单宁条件下,高浓度的果糖对己醇及 $\beta$ -大马酮的阈值影响不显著。

### 3 结论

本研究由12名经过训练的评定员组成品评小组,采用国际标准三杯法,对冰葡萄酒中12种重要的并且香气特征不相同的香气化合物进行觉察阈值测定,结果显示除2-甲基丁酸乙酯、乙酸异戊酯、顺式-3-己烯-1-醇这3种化合物外,其余9种香气化合物在冰酒模拟酒中的阈值与国际文章上报道的普通葡萄酒中的阈值均具有较大差异。研究结果为冰酒风味的深入研究提供了基础数据和理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] V. Q. A. Vintners Quality Alliance Act, Ontario Regulation 406/00. 1999.
- [2] 经斌,王栋,徐岩,等. 中国黄酒中若干重要风味物质嗅觉阈值的研究[J]. 食品工业科技, 2012,33(6): 135-142.
- [3] PANGBORN R M. Flavour 81 [M]. Berlin: Walter de Gruyter, 1981.
- [4] 王蓓,唐柯,李记明,等. 搅拌棒吸附萃取-气质联用分析威代尔冰葡萄酒挥发性成分[J]. 食品与发酵工业, 2012,38(11): 131-137.
- [5] 马玥,唐柯,徐岩,等. 固相萃取结合GC-O/MS分析威代尔冰葡萄酒中的香气活性化合物[J]. 食品与发酵工业, 2015,41(4): 153-159.
- [6] GUTH H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997,45(8): 3 027-3 032.
- [7] BOWEN A J, REYNOLDS A G. Odor potency of aroma compounds in Riesling and Vidal blanc table wines and icewines by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012,60(11): 2 874-2 883.
- [8] ISO-13301. Sensory analysis-Methodology-General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three alternative forced-choice (3-AFC) procedure [S]. 2002.
- [9] ISO-8586. Sensory analysis-General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors[S]. 2012.
- [10] ISO- 5496. Sensory analysis-Methodology-Initiation and training of assessors in the detection and recognition of odours[S]. 1992.
- [11] ISO- 4121. Sensory analysis-Guidelines for the use of quantitative response scales[S]. 2003.
- [12] SACKS G L, GATES M J, FERRY F X, et al. Sensory threshold of 1, 1, 6-trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene (TDN) and concentrations in young Riesling and non-Riesling wines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012,60(12): 2 998-3 004.
- [13] ASTM. Standard Practice for Determination of Odor and Taste Thresholds By a Forced-Choice Ascending Concentration Series Method of Limits, 2011, Subcommittee[S].
- [14] FERREIRA V, LOPEZ R, CACHO J F. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000,80: 1 659-1 667.
- [15] VILLAMOR R R, EVANS M A, MATTINSON D S, et al. Effects of ethanol, tannin and fructose on the head-space concentration and potential sensory significance of odorants in a model wine[J]. Food Research International, 2013,50(1): 38-45.

## Study on olfactory thresholds for several flavor components in ice wine

TANG Ke<sup>1</sup>, MA Yue<sup>1</sup>, XU Yan<sup>1\*</sup>, LI Ji-ming<sup>2</sup>

1 (Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education; State Key Laboratory of Food Science & Technology; Centre for Brewing Science and Enzyme Biotechnology, School of Biotechnology Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

2 (Center of Science and Technology, ChangYu Group Company Ltd., Yantai 264001, China)

**ABSTRACT** The international standard of the three-alternative-forced-choice (3-AFC) method was used to determine the olfactory detection thresholds of 12 important aroma compounds in ice wine. The thresholds ( $\mu\text{g/L}$ ) were obtained by trained panel. The thresholds were different from the results obtained with dry wine. In ice wine simulation system, the thresholds of 1-octen-3-ol, Ethyl isovalerate and  $\beta$ -Damascenone had been significantly improved in comparison with dry wine, but the value of hexanol and geraniol had decreased obviously. This study provided the basic data and theoretical evidence for further research on ice wine flavor.

**Key words** ice wine; flavor compounds; olfactory thresholds; tasting panel