

张裕 XO 白兰地挥发性成分的初步研究*

赵玉平^{1,2}, 李记明¹, 徐岩², 段辉¹, 范文来², 赵光鳌²

1(烟台张裕集团公司技术中心, 山东烟台, 264001)

2(江南大学生物工程学院酿酒微生物与应用酶学实验室/教育部工业生物技术重点实验室, 江苏无锡, 214122)

摘 要 采用液液萃取方法对烟台张裕 XO 级白兰地中的挥发性成分进行了提取和浓缩, 使用 GC-MS 检测, 通过质谱库检索、标准品比对及 RI 值比较等方法对各色谱峰进行了鉴定, 共鉴定出 108 种挥发性成分, 包括酯类 41 种, 苯同系物及其衍生物 21 种, 醇类 15 种, 缩醛、呋喃类 11 种, 有机酸类 9 种, 萜烯类 6 种, 醛酮类 4 种。

关键词 白兰地, 挥发性成分, 液液萃取, 气相色谱-质谱, 鉴定

白兰地起源于法国, 是一种受国内外消费者欢迎的酒精饮料^[1]。在中国, 白兰地的酿造也已有一百多年历史, 烟台张裕公司自 1895 年建厂起就开始酿造白兰地, 并且在 1915 年巴拿马万国博览会上获得金奖。

张裕白兰地作为国产白兰地的代表, 目前占国产白兰地市场份额的 85% 以上。对其风味成分进行分析, 一方面评价其质量, 另一方面可以与进口白兰地质量进行比较, 为白兰地酿造工艺优化提供依据, 达到提高国产白兰地质量的目的。

白兰地中水和乙醇占到总体积的 98% 左右, 剩余物质对白兰地的品质起着决定性的作用, 其中的 0.2% 为挥发性成分, 决定着白兰地香气。

白兰地挥发性成分形成复杂, 主要来自于葡萄、葡萄发酵原酒、蒸馏、橡木桶贮藏等。国外对其挥发性成分进行了大量的研究^[2], 而与国外相比, 国内对白兰地的研究尚处于起步阶段。

本文以烟台张裕公司酿造的 XO 级白兰地为材料, 采用液液萃取的方法浓缩了挥发性成分, 运用 GC-MS 分析, 并结合国外的研究成果, 对挥发性微量成分进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

白兰地, XO 级, 分别为 2003、2004、2005 年灌装的产品, 葡萄品种为白玉霓 (*Ugni blanc*), 酒龄 6 年以上, 由烟台张裕集团有限公司提供。

1.2 试验方法

第一作者: 博士, 副教授。

* 山东省博士后科研项目择优资助项目 (No. 2006031110)

收稿日期: 2007-07-03, 改回日期: 2007-09-05

1.2.1 样品制备

取 50 mL 白兰地, 用无氧纯水稀释到乙醇含量为 14% (v/v), 加入 NaCl 饱和, 转入 1L 的分液漏斗, 用 3 份 100 mL 新蒸色谱纯乙醚溶剂 (将 300 mL 乙醚溶剂浓缩到 200 μ L, GC-MS 鉴定未出现杂质峰) 萃取 3 次, 合并有机相; 有机相通过溶剂辅助蒸馏处理, 以除去从白兰地样品中提取的非挥发性成分, 加入无水硫酸钠干燥过夜, 在 Kuderna-Danish 装置中浓缩 (KD 浓缩), 再浓缩到 200 μ L, 得挥发性成分浓缩液; 于 -18℃ 下保存, 直至分析使用。

1.2.2 GC-MS 分析

色谱柱为 DB-Wax (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m, Agilent)。色谱条件: 进样口和检测器温度都为 250℃, 载气 He, 流速 2 mL/min。程序升温: 初温 50℃, 保持 2 min, 以 6℃/min 升至 150℃; 以 8℃/min 升至 230℃; 230℃ 恒温 15 min。进样量 1 μ L; 溶剂延迟 4 min; 不分流进样。

MS 条件: EI 电离源, 电子能量 70 eV, 灯丝电流 0.2 mA, 检测器电压 350 V, 扫描范围 33.00 ~ 348.00 amu。

质谱鉴定: 对气相色谱图上的每一个色谱峰经计算机检索的同时, 与 NIST05a 谱库检索, 匹配度大于 94% 的鉴定结果才能被确定为初步鉴定结果。

1.2.3 RI 的比较

将标准直链烷烃根据气相色谱的相应值所需浓度混合, 再与所制备的样品混合, 一起进行 GC-MS 测定, 根据参考文献^[3]的方法计算色谱图上的每一个检测到色谱峰保留指数 (RI), 再用此 RI 值与使用相同色谱柱的参考文献的 RI 值的比较, 进一步确定。

1.2.4 与标准品色谱峰的比对

对于难以确定并有标准品的成分, 用标准品进行

确定。

通过以上方法对每一个色谱峰进行综合分析鉴定,或暂定。

2 结果与讨论

白兰地中的挥发性成分很多,有微量成分、痕量成分和极痕量成分,实验中以乙醚溶剂对3个XO样品进行液液萃取和GC-MS分析。在色谱图上出现176个较明显的色谱峰,见图1。通过质谱库检索、标准品比对和RI值比较,从3个白兰地样品中共鉴定出108种物质,其挥发性成分见表1。

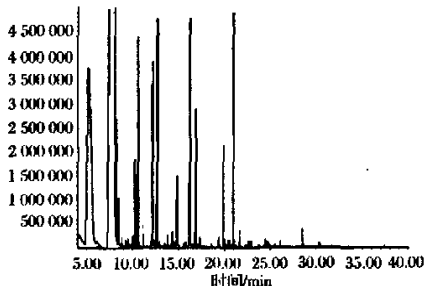


图1 白兰地挥发性成分的气相色谱-质谱总离子图

2.1 酯类

通过分析从烟台张裕XO级白兰地中鉴定出的41种酯类物质(见表1),表明白兰地与其他蒸馏酒^[3]相同,酯类是主要的挥发性成分,并主要在发酵过程中形成,陈酿期间也有部分的生成。在酯类中有2种邻苯二甲酸的酯,白兰地特殊风味的橡木香气成分——顺式- α -甲基- γ -辛内酯(cis- α -methyl- γ -octalactone)^[2,6]也得到了鉴定。通过分析RI值的分布可知,酯类中既有低沸点的酯,同时也有高沸点的酯,它们构成了白兰地的前香、中香和底香。

表1 白兰地中的挥发性成分

保留指数 RI	化合物名称
<900	乙酸乙酯 Ethyl acetate (a,b) 1
<900	1,1-二乙氧基乙烷 1,1-Diethoxyethane (a,b) 1
916	丙酸乙酯 Ethyl propanoate (a,b) 1
932	乙酸丙酯 Propyl acetate (a,b) 1
941	双乙酰 Diacetyl (2,3-butanedione) (a,b) 1
959	2-甲基丙酸乙酯 Ethyl 2-methylpropanoate (a,b) 1
987	乙酸-2-甲基丙酯 2-Methylpropyl acetate(a,b) 1
1028	丁酸乙酯 ethyl butanoate (a,b) 1
1055	3-甲基丁酸乙酯 ethyl 3-methylbutanoate (a,b) 1
1032	1-丙醇 1-Propanol (a,b) 1
1038	2-甲基丁酸乙酯 Ethyl 2-methylbutanoate (a,b) 1
1061	1,1-二乙氧基-3-甲基丁烷 1,1-Diethoxy-3-methylbutane (a,b) 1

续表 1

1091	2-甲基丙醇 2-Methylpropanol (a,b) 1
1114	乙酸-2-甲基丁酯 2-Methylbutyl acetate (a,b) 1
1122	乙酸-3-甲基丁酯 3-Methylbutyl acetate (a,b) 1
1143	1-丁醇 1-Butanol (a,b) 1
1147	1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol (a,b) 1
1156	2-丁烯酸乙酯 Ethyl but-2-enoate (a,b) 1
1170	2-庚酮 2-Heptanone (a,b) 1
1175	柠檬烯 Limonene1 (a,b) 1
1203	3-甲基丁醇 3-Methylbutanol(a,b) 1
1224	己酸乙酯 Ethyl hexanoate (a,b) 1
1232	1,1-二乙氧基己烷 1,1-diethoxyhexane (a,b) 1
1237	3-甲基-3-丁烯-1-醇 3-Methyl-3-buten-1-ol (a,b) 1
1241	戊醇 pentanol (a) 1
1258	丁酸异戊酯 Isoamyl butanoate(a,b) 1
1267	乙酸己酯 Hexyl acetate (a,b) 1
1282	2-羟基-3-丁酮 2-Hydroxy-3-butanone (a,b) 1
1287	3-甲基丁酸异戊酯 Isopentyl 3-methylbutyrate (a,b) 1
1303	1,1,3-三乙氧基丙烷 1,1,3-Triethoxypropane (a,b) 2
1316	4-甲基-1-戊醇 4-Methyl-1-pentanol (a,b) 1
1324	2-庚醇 heptan-2-ol (a) 1
1331	庚酸乙酯 Ethyl heptanoate (a,b) 1
1349	乳酸乙酯 Ethyl 2-hydroxypropanoate (a,b) 1
1368	反式-3-己烯-1-醇 (E)-3-Hexen-1-ol (a,b) 1
1376	3-乙氧基-1-丙醇 3-Ethoxy-1-propanol (a,b) 2
1377	顺式-3-己烯-1-醇 (Z)-3-Hexen-1-ol (a,b) 1
1426	2-羟基-3-甲基丁酸乙酯 Ethyl 2-hydroxy-3-methylbutanoate (a,b) 1
1432	辛酸乙酯 Ethyl octanoate (a,b) 1
1441	乙酸 Acetic acid (a,b) 1
1453	二乙氧基甲基呋喃 2-Furaldehyde diethyl acetal (a,b) 2
1459	糠醛 Furfural (a,b) 1
1465	顺式-氧化里哪醇 cis-Linaloloxide (a,b) 1
1486	2-乙基-1-己醇 2-Ethyl-1-hexanol (a,b) 1
1490	2-乙酰基呋喃 2-acetylfuran (b) 1
1509	3-乙基-4-甲基戊醇 3-Ethyl-4-methylpentanol (a,b) 2
1511	苯甲醛 Benzaldehyde (a,b) 1
1525	丙酸 Propanoic acid (a,b) 1
1552	2-羟基己酸乙酯 Ethyl 2-hydroxyhexanoate (a,b) 1
1557	1-辛醇 1-Octanol (a,b) 1
1561	5-甲基糠醛 5-Methylfurfural (a,b) 1
1568	2-甲基丙酸 2-Methylpropanoic acid (a,b) 1
1585	癸酸甲酯 Methyl decanoate (a,b) 1
1593	2-乙氧基-2-苯基乙苯 2-Ethoxy-2-phenyl acetophenone (c) 2
1602	3-乙酰基丙酸乙酯 Ethyl 3-acetylpropionate (a,b) 2
1618	糠酸乙酯 Ethyl 2-furoate
1623	丁酸 Butanoic acid (a,b) 1
1625	癸酸乙酯 Ethyl decanoate (a,b) 1
1662	3-甲基丁酸 3-Methylbutanoic acid (a,b) 1
1667	2-甲基丁酸 2-Methylbutanoic acid (a,b) 1
1669	5-羟基甲基糠醛 5-Hydroxymethylfurfural (b) 2
1675	丁二酸二乙酯 Diethyl succinate (a,b) 2
1680	α -萜品醇 α -Terpineol (a,b) 1
1732	1,1,6-三甲基-1,2-二萜(TDN)

续表 1

	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (a,b) 2
1749	癸酸异丁酯 Isobutyl decanoate (a,b) 1
1757	水杨酸甲酯 Methyl salicylate (c)1
1763	戊二酸二乙酯 Diethyl pentanedioate (a,b) 1
1780	苯乙酸乙酯 Ethyl benzenecacetate (c)1
1792	橙花醇 Nerol (a,b) 1
1803	乙酸苯乙酯 2-Phenethyl acetate (a,b) 1
1806	反式- β -大马酮 trans- β -Damascenone (a,b) 1
1836	十二酸乙酯 Ethyl dodecanoate (a,b) 1
1854	愈创木酚 Guaiacol (c)1
1861	癸酸异戊酯 iso-Amyl n-decanoate (b)1
1863	黄樟油精 Safrole (b)1
1869	苯甲醇 Benzyl Alcohol (c)1
1906	苯乙醇 Phenylethyl Alcohol (c)1
1948	2-甲氧基-4-甲基苯酚 2-Methoxy-4-methylphenol (c)2
1953	橡木内酯 cis- β -Methyl- γ -Octalactone (c)1
1969	2,5-呋喃二酮 2,5-Furandicarboxaldehyde (b) 2
2000	苯酚 Phenol (c)1
2005	戊二酸二仲丁酯 Di(sec-butyl) pentanedioate
2019	α -吡咯醛 α -Pyrrolaldehyde 2
2024	4-乙基愈创木酚 4-Ethylguaiacol (c)1
2039	苹果酸二乙酯 Diethyl dl-malate (a,b) 2
2048	十四酸乙酯 Ethyl tetradecanoate (a,b) 1
2073	辛酸 Octanoic Acid (c)1
2135	肉桂酸乙酯 Ethyl cinnamate (c)1
2167	丁香酚 Eugenol (c)1
2175	4-乙基苯酚 4-Ethylphenol (c)1
2194	5-乙氧基甲基-2-糠醛 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyde2
2246	十六酸乙酯 Ethyl hexadecanoate (a,b) 1
2258	2,6-二甲氧基苯酚 2,6-dimethoxy-Phenol (c)1
2266	癸酸 n-Decanoic acid (c)1
2367	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Di-tert-butylphenol (c) 2
2341	5-(2-糠基)-2-糠醛 5-(2-Furfuryl)-2-furaldehyde2
2435	苯甲酸 Benzenecarboxylic acid (c)1
2467	十二酸 Dodecanoic acid (b)1
2548	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate2
2553	香草醛 Vanillin (c)1
2614	4-羟基-3-甲氧基苯甲酸乙酯 Ethyl 4-hydroxy-3-methoxy-benzoate 2
2623	乙酰基愈创木酚 Acetylguaiacol(c)1
2640	4-羟基-3-甲氧基苯乙醇 4-Hydroxy-3-methoxyphenethanol(c) 2
2639	香兰基甲酮 Vanillyl methyl ketone (c) 2
2680	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate 2
2819	α -氨基-3-羟基-4-甲氧基苯乙酮 α -Amino-3-hydroxy-4-methoxyacetophenone 2
>3000	丁香醛 Syringaldehyde (c)1
>3000	4-羟基-2-甲氧基肉桂醛 4-Hydroxy-2-methoxycinnamaldehyde 2

注:a表示参考文献4;b表示参考文献5;c表示参考文献2,6,7;
1表示与标准物对比;2表示暂定。

2.2 苯同系物及其衍生物

实验中鉴定出 21 种主要成香物质,愈创木酚、香兰素和丁香醛也在其中。由于这些成分在新蒸馏的

白兰地^[5]和白酒^[3]中未被发现,因此可以认为这些挥发性成分来源于橡木^[1],主要通过蒸馏后的原白兰地从橡木中直接浸提或由陈酿期间橡木中的木质素类等大分子物质降解或氧化产生。这类物质的 RI 值都大于 1 500,表明沸点较高,因此可以推断它们与白兰地的底香密切相关,其与橡木内酯一起构成了白兰地特殊风味。

2.3 醇类

从 XO 中鉴定出 15 种醇,资料显示,白兰地中的异戊醇和异丁醇等杂醇是主要的挥发性成分,达 0.8~1.5g/L,也被认为是白兰地的主要香气成分,它们多为葡萄汁中的氨基酸的脱羧和脱氨形成^[1]。

2.4 呋喃类和缩醛类物质

从白兰地中鉴定到 11 种缩醛和呋喃类物质,其主要赋予白兰地的花香。一般认为,呋喃类和缩醛类挥发性成分是在白兰地原葡萄酒蒸馏的过程中形成^[5],蒸馏时间越长产生的呋喃和缩醛类物质越多。然而多过的此类物质将给白兰地带来不愉快的风味。

2.5 有机酸类

从 XO 白兰地中鉴定出 9 种挥发性的有机酸,它们是醇类氧化的最终产物^[2],有的直接成香,有的酯化后参与。

2.6 萜类挥发性成分

采用液液提取,从白兰地中鉴定出 6 种萜类成分。一般认为,萜类挥发性成分来源于葡萄,通常以苷的形式存在,通过发酵过程游离出来,经过蒸馏进入白兰地^[5]。

2.7 醛酮类挥发性成分

共鉴定出 4 种醛酮类物质。醛酮类物质来源较为复杂,在原料和整个白兰地的酿造过程中都能产生,由醇类氧化成相应有机酸的中间产物。一部分醛酮类物质也直接成香,另一部分在陈酿过程中形成缩醛后成香^[5]。

3 结 论

白兰地挥发性成分较多,通过乙醚液液萃取,采用 GC-MS 鉴定和辅助技术的分析鉴定出 108 种挥发性成分,其中酯类 41 种,苯衍生物类 21 种,醇类 15 种,缩醛、呋喃类 11 种,有机酸类 9 种,萜烯类 6 种,醛酮类 4 种。挥发性成分的鉴定是香气成分确定的基础,同时也有利于白兰地产品之间的比较,为改进产品必不可少的手段和理论依据,因此对白兰地产品的品质的提高有着重要的意义。

参考文献

- 1 王恭堂. 白兰地工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002. 01
- 2 Savchuk S A, Kolesov G M. Chromatographic techniques in the quality control of Cognac and Cognac spirits [J]. *Journal of Analytical Chemistry*, 2005, 60(8): 752~771
- 3 Fan W L, Qian M C. Characterization of aroma compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" liquors by aroma extract dilution analysis [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 2 695~2 704
- 4 Gearald Ferrari, Odile Lablanquie, Roger Cantagrel, et al. Determination of Key Odorant Compounds in Freshly Distilled Cognac Using GC-O, GC-MS, and Sensory Evaluation[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 5 670~5 676
- 5 Jerome Ledauphin, Jean-françois Saint-clair, Odile Lablanquie. Identification of Trace Volatile Compounds in Freshly Distilled Calvados and Cognac Using Preparative Separations Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 5 124~5 134
- 6 Guichard E, Fournier N, Masson G, et al. Stereoisomers of cis- α -Methyl- γ -Octalactone. I. Quantification in brandies as a function of wood origin and treatment of the barrels[J]. *Am J Enol Vitic*, 1995, 46: 419~423
- 7 Masson G, Guichard E, Fournier N, et al. Stereoisomers of cis- α -Methyl- γ -Octalactone. II. Contents in the wood of French (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) and American (*Quercus alba*) oaks[J]. *Am J Enol Vitic*, 1995, 46: 424~428

Measurement of Volatile Compounds of Changyu XO Brandy by Liquid-liquid Extraction Followed by GC-MS

Zhao Yuping^{1, 2}, Li Jiming¹, Xu Yan²,

Duan Hui¹, Fan Wenlai², Zhao Guangao²

1(Center of Science and Technology, Changyu Group Company Ltd., Yantai 264001, China)

2(Laboratory of Brewing Microbiology and Applied Enzymology, Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT The Changyu XO brandy was extracted by liquid-liquid extraction and the volatile compounds were analyzed by GC-MS. These compounds were identified by comparison with mass spectrometric data, pure standard and retention indices from the literature. The results showed that a total of 108 volatile compounds were identified. The compounds included 41 esters, 21 substituted benzene and derivatives, 15 alcohols, 11 acetals and furans, 9 acids, 6 terpenes, 4 aldehydes and ketones.

Key words brandy, volatile compound, liquid-liquid extraction, GC-MS, analysis

政策法规标准

中国将在进出口食品检验检疫行标中增设国际通行检测方法

从2007年12月1日起,中国出入境食品检验检疫行业标准中将增设目前国际通用的Petrifilm™测试片法,以使行业标准进一步与国际接轨,提高出口食品的安全性。

据Petrifilm™测试片法的发明者美国3M公司介绍,这种测试方法相对于传统食品微生物检测手段来说,能在原来的基础上节省3—5天的测试时间,大大缩短食品库存的时间,提高食品生产商的货物周转率。此外,这种测试方法不需要配制试剂和准备大量的玻璃器皿,操作简便迅速;除纸片外无其他任何废液废物,大大减少或消除对环境的污染,以及试验后的清洗工作,减少了工作量。

目前Petrifilm™测试片法拥有国际化的认证体系,已经获得包括美国FDA、美国AOAC、欧盟Nordic在内的众多国际权威机构的认证,其检测结果在美国、欧洲、澳大利亚、日本、韩国等国家均得到广泛的认可。此次中国出入境食品检验检疫行业标准新增的Petrifilm™测试片法,主要用于对食品中的金黄色葡萄球菌、乳酸菌、大肠杆菌及菌落总数的测定。

此同业内人士认为,中国加入WTO,极大地促进了中国食品和农产品的国际贸易总量,在与国际标准尽快接轨方面,引入方便、快速、标准化、高精度、高灵敏度的微生物检验技术显得十分重要。而此次国家将3M公司的Petrifilm™测试片法作为出入境检验检疫行业标准之一,在行标中扩充国际上广泛认可的快速方法,提高国际标准的采标率,大大满足了进出口贸易的需求。