

银杏葡萄酒香气成分的萃取条件优化及其香气物质的测定

冯涛¹, 桑敏¹, 庄海宁², 孙敏¹, 徐志民³, 王旭增¹

(1. 上海应用技术大学 香料香精技术与工程学院, 上海 201418; 2. 上海市农业科学院 食用菌研究所/国家食用菌工程技术研究中心, 上海 201403; 3. 路易斯安那州立大学 营养与食品科学学院, LA 70803, 美国)

摘要: 香气物质的组成是影响葡萄酒品质的重要因素, 作者利用响应面法优化顶空固相微萃取银杏葡萄酒中香气物质的条件, 使气相色谱法检测香气物质的结果更精确。在单因素实验基础上, 运用 Box-Behnken 中心组合试验设计响应面分析。同时采用气质联用技术测定银杏葡萄酒中的挥发性成分组成。结果表明: 顶空固相微萃取银杏葡萄酒香气的最佳条件为: 萃取温度 55 ℃、萃取时间 42 min、取样量 6 mL。以此优化条件并结合 GC-MS 分析测得银杏葡萄酒香气成分 31 种, 其中包括酯类 15 种、酸 3 种、醇 8 种、羰基类化合物 4 种以及酚类 1 种, 其中酯类物质含量最高且种类最多。经计算香气活性值(OAV), 有 23 种化合物的 OAV 值大于 1, 说明大多数检测到的物质都对酒的风味产生贡献作用, 尤其是异戊醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、庚酸乙酯以及乙醛等。

关键词: 银杏葡萄酒; 挥发性成分; 优化; 顶空固相微萃取(HS-SPME); 气质联用(GC-MS)

中图分类号: TS 261.4 文章编号: 1673-1689(2019)05-0124-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.05.018

Optimization of Aroma Compounds Extraction and the Determination of Odorants in Ginkgo Grape Wine

FENG Tao¹, SANG Min¹, ZHUANG Haining², SUN Min¹, XU Zhimin³, WANG Xuzeng¹

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China; 2. Institute of Edible Fungi / National Engineering Research Center of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 3. School of Nutrition and Food Sciences, Louisiana State University, Baton Rouge, LA 70803, USA)

Abstract: Aroma compositions of wine were one of the important factors which influenced the quality of wine. Optimal conditions were obtained via headspace solid phase microextraction (HS-SPME) to analyze aroma substances in ginkgo wine by response surface method, in order to get more accurate results by chromatography. For optimization of component extracted from ginkgo grape wine by HS-SPME, the extraction conditions were investigated using single factor and

收稿日期: 2016-10-10

基金项目: 上海市创业实践项目(1021ZK161008126)。

作者简介: 冯涛(1978—), 男, 博士, 教授, 主要从事食品风味化学研究。E-mail: fengtao@sit.edu.cn

引用本文: 冯涛, 桑敏, 庄海宁, 等. 银杏葡萄酒香气成分的萃取条件优化及其香气物质的测定[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(05): 124-131.

response surface methodology based on Box-Behnken design principles. The extraction temperature, extraction time and sample volume were used as main factors when the total peak area of chromatogram was taken as response value in this study. Meanwhile, HS-SPME and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) were used for the qualitative determination of volatile compounds in Ginkgo wine samples. The results indicated that the optimal extraction was achieved under the following conditions: extraction temperature 55 °C, extraction time 42 min and sample volume 6 mL. Under the above conditions, 31 different compounds were identified in Ginkgo grape wine samples, including 15 esters, 3 fatty acids, 8 higher alcohols, 4 carbonyl compounds and 1 phenol compounds. Among those, esters had the highest levels, and the calculation of OAV allowed the determination of the volatile compounds that presented the greater contribution to ginkgo grape wine aroma. There were 23 volatile compounds with OAV >1 among those compounds which were detected in ginkgo wine. The results indicated that most compounds were showed the contribution to wine aroma, especially isopentyl alcohol, phenethyl alcohol, ethyl acetate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl acetate and acetaldehyde.

Keywords: Ginkgo wine, volatile compound, optimization, headspace solid phase microextraction (HS-SPME), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

银杏(*Ginkgo*, *Ginkgo biloba* L.)是我国珍贵树种之一,果实中富含淀粉、维生素、蛋白质以及多种氨基酸^[1]。除此之外,果实中含有黄酮类及内酯类化合物等生物活性成分,能够降血脂、促进血液循环及清除自由基,具有较高的经济效益及药用价值^[2]。但是目前对于银杏果的深加工还处在初始阶段,在酿酒行业的应用主要体现在银杏叶提取物参与酒精发酵以及银杏果酿造白酒上^[3-4],对于银杏果应用于葡萄酒行业的还未见报道。因此以葡萄酒为依托,开发一种新型葡萄酒,既可以丰富葡萄酒的种类,又可以延长银杏产业链的发展,提高其经济附加值。

葡萄酒的风味特征在很大程度上影响葡萄酒品质好坏和消费者喜好。葡萄酒的香气是评判其品质的一项重要感官指标,决定了葡萄酒风味的典型性^[5]。葡萄酒中的香气成分具有种类复杂、含量低、不稳定等特点,因此对样品进行萃取和浓缩十分必要。目前常用的香气化合物萃取方法主要有液-液萃取、固相萃取、同时蒸馏萃取以及顶空固相微萃取(Headspace solid phase microextraction, HS-SPME)等,其中 HS-SPME 具有操作简单、环保、重现性好等优点^[6-7]。目前许多学者采用该方法测定酒的香气成分。Sagrati^[8]等人采用 HS-SPME 结合气质联用(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术测定了蒙特普齐亚诺红葡萄酒中的香气成

分,共检测到 28 种香气成分,其中酯类物质含量最高,主要为酒体提供花香和果香香气。Welke^[9]等人采用 HS-SPME 结合 GC × GC/TOFMS 对霞多丽葡萄酒的挥发性组分进行了定量分析,结果表明,共检出 243 种挥发性成分,化合物种类明显多于一维 GC 所检出的。

作者选用 HS-SPME 方法萃取银杏葡萄酒中的香气物质。为了更好地研究葡萄酒的挥发性风味物质,作者在单因素试验的基础上设计响应面试验,最终确定了香气成分的最佳的萃取条件。并结合 GC-MS 分析银杏葡萄酒中的香气成分。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

葡萄(*Vitis* L.):购于上海奉贤区海湾区葡萄种植园;银杏果(*Ginkgo biloba* L.):购于上海市奉贤区乐购超市;酵母:安琪酵母有限公司产品;2-辛醇(色谱纯)和 C7-C30 正构烷烃(色谱纯):Dr. Eichenstorfer GmbH 公司产品。

1.2 仪器与设备

气相色谱仪(Agilent 6890 型)、气相色谱-质谱联用仪(GC 7890A - 5975C 型):美国 Agilent 公司产品;萃取手柄、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头:美国 Supelco 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 银杏葡萄酒酿造工艺流程

银杏果(蒸煮脱毒、制粉、酶解)→酶解液

↓

葡萄分选(去除烂果及青果)→葡萄破碎、除梗→主发酵→分离皮渣→后发酵→澄清→陈酿→成品酒

1.3.2 主要理化指标的测定 残糖量(总糖)、乙醇体积分数、总还原糖、挥发酸、游离二氧化硫含量、总酸的测定方法参照 GB/T 15038—2006^[10];总酚含量及抗氧化活性测定参照王旭^[6]的方法测定。

1.3.3 萃取条件的单因素实验 采用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,以一定量的葡萄酒酒样加到 15 mL 顶空萃取瓶中,加入 10 μL 2-辛醇(400 mg/L),磁力加热搅拌器上平衡 15 min,水浴加热萃取,GC 解析 5 min 为不变因素,选取萃取温度、萃取时间和取样量 3 个因素进行单因素实验:萃取温度设定为 40~65 $^{\circ}\text{C}$,以 5 $^{\circ}\text{C}$ 为梯度、萃取时间设定为 20~55 min,以 5 min 为梯度、取样量为 3~9 mL,以 1 mL 为梯度。并以色谱总峰面积(色谱总峰面积是指包括内标物在内的检出的所有化合物的峰面积总和)为响应值。

1.3.4 萃取条件的响应面优化设计 在单因素实验的基础上,运用 Box-Behnken 中心组合实验设计原理进行响应面分析,确定 HS-SPME 法萃取银杏葡萄酒香气成分的最佳萃取条件。

1.3.5 GC 检测条件 毛细管色谱柱型号:Agilent HP-INNOWAX (60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$;采用不分流进样模式;程序升温:初温 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$,再以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;载气:氮气(N_2),流量 0.8 mL/min;燃气:氢气(H_2),流量 30 mL/min;助燃气:空气,流量 400 mL/min;检测器(FID)温度:250 $^{\circ}\text{C}$ 。每个样品重复 3 次平行^[6,11]。

1.3.6 GC-MS 检测条件 毛细管色谱柱型号:Agilent HP-INNOWAX (60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$;采用不分流进样模式;程序升温:初温 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$,再以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;载气:氦气(He),流量 1.0 mL/min;电离源 EI,电子能量 70 eV;离子源温度 250 $^{\circ}\text{C}$,质谱接口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,扫描范围 m/z 30~450。每个样品重复 3 次平行^[6,11]。

1.3.7 香气物质的定性定量分析 香气成分的定

性通过:与质谱的 Wiley 和 NIST 05 谱库中的标准质谱图进行比对;与标准品的保留指数(RI)值进行比对,没有标准品的,与已报道的文献中的 RI 值进行比对。保留指数根据计算得到,按照样品的分析方法,将 $\text{C}_7\text{--C}_{30}$ 的正构烷烃混标注入 GC-MS 进行分离,通过烷烃混标的保留时间来计算未知化合物的 RI^[11-12]。

香气成分的定量分析通过内标物 2-辛醇进行定量分析。

同时计算待测物的 OAV 值来表征某种香气化合物对整体香气的贡献。

1.3.8 数据分析 所有实验结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。响应面实验中采用 Design-expert 7.5 统计软件进行回归分析。使用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析,Duncan 多重比较进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同酒样理化指标比较

比较两种不同的酒样可以看出,银杏葡萄酒酒样的酒精度、总糖及总还原糖的质量浓度均显著高于不添加银杏酶解液的葡萄酒酒样,这是由于加入酶解液导致总体系中的可发酵糖含量增多,从而导致酒精度增大且总糖及总还原糖含量增大。且对于总酚含量、DPPH 及 ABTS 自由基清除活性,两种酒样之间存在显著性差异,且银杏葡萄酒酒样的总酚含量及自由基清除活性显著高于葡萄酒酒样。

2.2 萃取条件的单因素实验

2.2.1 萃取温度的影响 萃取温度对葡萄酒香气成分萃取的影响如图 1 所示。

顶空固相微萃取方法中,萃取温度对于萃取效果具有较大的影响^[12]。如图 1,萃取温度在 40~65 $^{\circ}\text{C}$ 范围内,色谱总峰面积随着温度升高而呈现先增大后减小的趋势,原因是随温度的升高,气体分子的热运动加快,有利于挥发性物质挥发出来吸附到纤维萃取头上,从而能够缩短达到吸附平衡的时间,然而温度过高又会导致挥发性物质与萃取头纤维

涂层之间的分配系数降低^[13],从而又降低了吸附量。综合来说,萃取温度为 55 ℃时,萃取效果较好,因此存在最佳值。

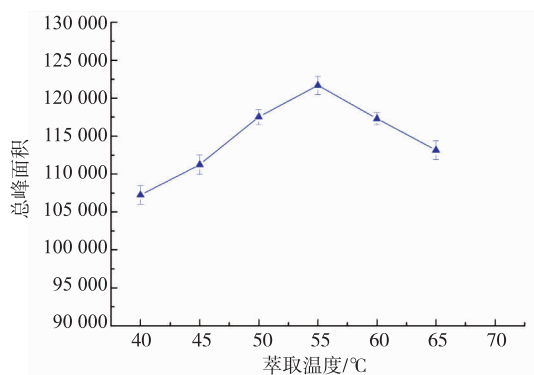


图1 萃取温度对葡萄酒香气成分萃取的影响

Fig. 1 Effect of temperature of extraction on aroma compounds of wine

2.2.2 萃取时间的影响 萃取时间对葡萄酒香气成分萃取的影响如图 2 所示。

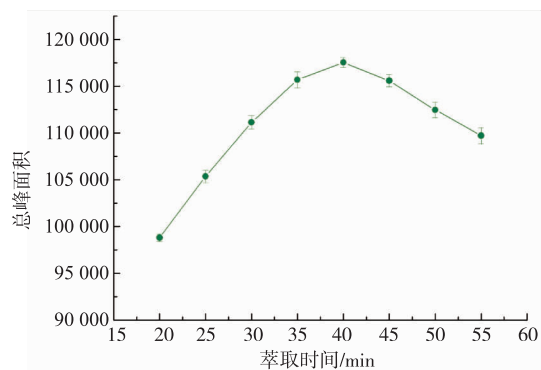


图2 萃取时间对葡萄酒香气成分萃取的影响

Fig. 2 Effect of time of extraction on aroma compounds of wine

顶空固相微萃取的最佳萃取时间是指挥发性物质在样品、顶空基质和萃取头纤维涂层之间的分配达到平衡状态所需要的时间^[13-14]。如图 2,在萃取时间 20~55 min 范围内,色谱总峰面积随着萃取时间的延长而呈现出先快速增大后缓慢减小的趋势,在 40 min 时达到最大,存在最佳值,随后开始缓慢减小,原因可能是由于涂层上香气化合物的吸附量在萃取初始阶段迅速增加,但随着萃取时间的延长,萃取头纤维涂层上的吸附量达到饱和,萃取时间过长导致挥发性组分发生解析,且有些热不稳定性的组分发生分解。考虑到实际实验的实施性以及

能源损耗,选取萃取时间为 40 min。

2.2.3 取样量的影响 取样量对葡萄酒香气成分萃取的影响如图 3 所示。

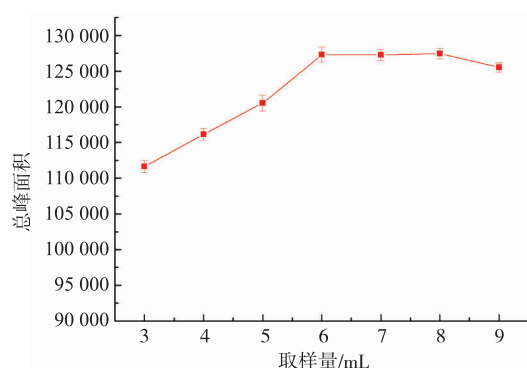


图3 取样量对葡萄酒香气成分萃取的影响

Fig. 3 Effect of sample volume on aroma compounds of wine

取样量会影响样品瓶中气相和液相的体积比,从而影响香气物质在两相间的分配比,进而影响萃取结果^[15-16]。如图 3,在取样量为 3~9 mL 范围内,随着取样量的增加,色谱总峰面积先是呈现增大的趋势,在 6 mL 以后趋于平缓,说明取样量存在最佳点。原因在于,取样量过少时,挥发性组分顶空到萃取头涂层的质量浓度小,萃取涂层的吸附量也较小;随着取样量的增加,涂层的吸附量逐渐增多,但是取样量过多时,一方面可能液面会接触到萃取头,污染涂层,另一方面可能导致水浴加热时受热不均匀,从而挥发性组分不能较好的挥发出来,因此,选取取样量为 6 mL。

2.3 响应面优化分析

2.3.1 响应面试验设计及结果 在单因素实验结果的基础上,根据 Box-Behnken 中心组合实验设计原理^[17],以萃取温度、萃取时间以及取样量为自变量,以色谱总峰面积(Y)为响应值设计响应面试验。Box-Behnken 试验因素及水平见表 1。实验方案及结果见表 2。

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Analytical factors and levels for RSA

水平	萃取温度/℃	萃取时间/min	取样量/mL
-1	50	35	6
0	55	40	7
1	60	45	8

表 2 响应面实验方案及结果

Table 2 Program and experimental results of RSA

试验号	温度 A/℃	时间 B/min	取样量 C/mL	总峰面积 Y
1	50	35	6	54 780
2	50	40	5	59 239
3	50	40	7	85 046
4	50	45	6	80 656
5	55	35	5	68 937
6	55	35	7	65 306
7	55	45	5	88 646
8	55	45	7	100 025
9	60	35	6	54 498
10	60	40	5	98 261
11	60	40	7	68 791
12	60	45	6	91 065
13	55	40	6	124 275
14	55	40	6	129 782
15	55	40	6	115 529
16	55	40	6	123 246
17	55	40	6	123 696

表 3 回归方程方差分析结果

Table 3 Regression equation and rariance analysis for the experimental results

来源	总和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.074×10 ¹⁰	9	1.19×10 ⁹	56.56	< 0.000 1	**
萃取温度 A	1.358×10 ⁸	1	1.36×10 ⁸	6.44	0.038 8	*
萃取时间 B	1.709×10 ⁹	1	1.71×10 ⁹	81.01	< 0.000 1	**
取样量 C	2.086×10 ⁶	1	2.09×10 ⁶	0.099	0.762 4	
AB	2.819×10 ⁷	1	2.82×10 ⁷	1.34	0.285 7	
AC	7.639×10 ⁸	1	7.64×10 ⁸	36.2	0.000 5	**
BC	5.633×10 ⁷	1	5.63×10 ⁷	2.67	0.146 3	
A ²	3.297×10 ⁹	1	3.30×10 ⁹	156.26	< 0.000 1	**
B ²	2.651×10 ⁹	1	2.65×10 ⁹	125.61	< 0.000 1	**
C ²	1.288×10 ⁹	1	1.29×10 ⁹	61.02	0.000 1	**
残差	1.477×10 ⁸	7	2.11×10 ⁷			
失拟项	4.420×10 ⁷	3	1.47×10 ⁷	0.57	0.664 3	not significant
纯误差	1.035×10 ⁸	4	2.59×10 ⁷			
总误差	1.089×10 ¹⁰	16				

注: * 表示显著 (0.01 < P ≤ 0.05), ** 表示极显著 (P ≤ 0.01)

2.3.3 萃取条件对萃取效果的影响 图 4 是色谱总峰面积对萃取温度、萃取时间和取样量两两因素交互作用的 3D 图及其等高线图^[17-18]。

从图 4 中可以看出,萃取温度和取样量对总峰面积的影响最大,表现为响应曲面较陡,这与方差分析的结果基本一致。如图 4(a),在因素所考察的范围内,随着萃取温度的升高,总峰面积呈现先增大后减小的趋势,55℃为转折点;随萃取时间的延长呈现先快速增大后缓慢减小的趋势,转折点为 42 min。如图 4(b),总峰面积随温度的升高呈现迅速上

2.3.2 回归模型的建立及显著性检验 对实验结果进行回归分析,拟合得到多元二次回归模型:

$$Y = -6.1617 \times 10^6 + 1.3629 \times 10^5 A + 7.2867 \times 10^4 B + 3.3235 \times 10^5 C + 106.19 \times AB - 2.7639 \times 10^3 BC + 750.54 C - 1.1194 \times 10^4 A^2 - 1.0036 \times 10^4 B^2 - 1.7487 \times 10^4 C^2$$

对模型进行方差分析,结果见表 3。

由表 4 知,该模型 $P < 0.0001 < 0.01$, 表示该模型极显著;且失拟项 $P = 0.57 > 0.05$, 说明模型失拟项不显著;回归模型拟合度 $R^2 = 0.9862$, 说明试验值与预测值具有较好的相关性,校正拟合度 $R^2 \text{ Adj} = 0.9690$, 说明模型拟合度良好,可以用来预测 HS-SPME 银杏葡萄酒香气组分的最佳条件。对模型的回归方程进行分析可知: B 、 AC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 项 P 值均小于 0.01, 为极显著; A 项 P 值大于 0.01 小于 0.05, 为显著,其他项均为不显著,因此可知各因素之间影响大小依次为:萃取时间 > 萃取温度 > 取样量。

升后略有下降的趋势,随取样量的增大,总峰面积亦呈现迅速上升趋势,但较萃取温度平缓,且响应面投影的等高线图为椭圆,说明两者的交互作用较为显著,这与方差分析的结果也基本一致。如图 4(c),萃取时间与取样量对总峰面积的影响呈现先增大后减小的趋势,但取样量的影响较为平缓。

结合方差分析以及回归方程的响应面 3D 图可知,回归模型存在稳定点,此时对应的理论萃取条件为:萃取温度 55.42℃,萃取时间 41.48 min,取样量为 6.01 mL。为了实验实施的可行性及方便性,取

萃取温度 55 ℃,萃取时间 42 min,取样量 6 mL,进行验证实验,经证实,实际总峰面积占预测值的 89.28%。说明该模型可较好地反映葡萄酒香气物质检测时 HS-SPME 的条件^[19]。

2.4 银杏葡萄酒香气成分的 GC-MS 分析

以上述响应面法优化确定的萃取条件对银杏

葡萄酒进行香气组分萃取并结合 GC-MS 分析。共检测到了 31 种香气物质,包括醇类、酯类、酸类、羰基类以及酚类化合物。香气活性值(OAV)可以用于评价一种香气物质对酒香气的贡献大小^[28]。

酯类物质是主要的香气物质,共检出 15 种,总质量浓度为 511.38 mg/L,占总挥发性物质质量浓度

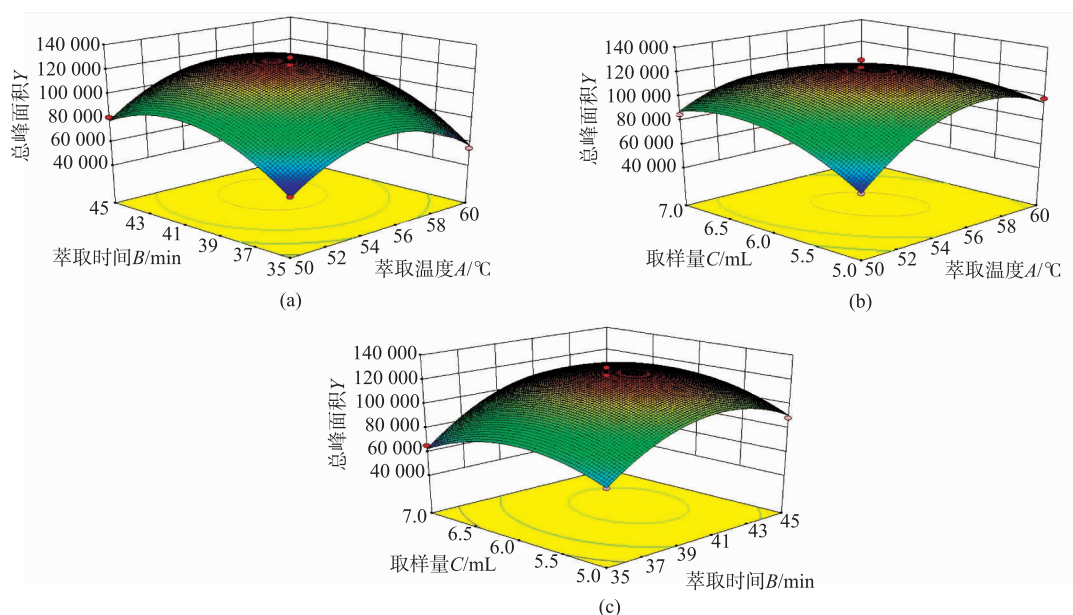


图4 萃取温度、萃取时间与取样量交互作用的响应面图

Fig. 4 Response surface graph of total peak area as a function of extraction temperature, extraction time and sampling volume

的 65.94%。葡萄酒中的酯类物质主要来源于酵母在生物合成或陈酿过程中的酯化反应,是氨基酸或碳水化合物降解产生的高级醇与乙酰辅酶 A 的反应产物^[29-30]。其中,乙酸乙酯、乙酸异戊酯、乙酸异丁酯、辛酸乙酯、乙酸甲酯和己酸乙酯的含量较高。乙酸乙酯产生令人愉悦的果香香气,辛酸乙酯产生菠萝、梨子的香甜香气^[29]。酯类物质的 OAV 值均大于 1,说明检出的酯类香气物质几乎都对酒香气具有贡献作用,其中,乙酸异戊酯、己酸乙酯、乙酸乙酯等的 OAV 值较大,且主要产生成熟的果香香气^[29],说明这几种物质对银杏葡萄酒的香气产生关键性作用。

醇类物质含量仅次于酯类,葡萄酒中的醇类主要来源于酵母菌的新陈代谢,主要有两种形成途径:葡萄糖合成代谢途径和氨基酸分解代谢途径^[29,31]。有文献报道^[32],醇类物质的质量浓度低于 300 mg/L 时,对酒产生理想的香气。共检出 8 种醇

类,总质量浓度为 162.16 mg/L,占总检出化合物的 20.91%,其中异戊醇最高,其次是苯乙醇、异丁醇和芳樟醇等。8 种化合物中除丙醇和苯甲醇,其他化合物的 OAV 值均大于 1。其中,芳樟醇 OAV 值最大,产生薰衣草花香香气^[33],其次苯乙醇产生玫瑰的甜香香气^[34]。

酸类物质可能来源于葡萄中饱和脂肪酸的自动氧化反应^[35],酸类物质能够产生果香、奶酪香气、脂肪香,还可能产生腐臭味短链脂肪酸一般具有芳香酸香气和腐臭味,会掩盖掉酒体特有的香气,因此,适宜的挥发酸质量浓度较为重要,但随着挥发酸浓度的增大,可能会对酒体香气产生负面作用。在银杏葡萄酒中共检出酸类物质 3 种:乙酸、戊酸和 2-甲基丁酸。酸类物质总质量浓度为 26.64 mg/L,占总挥发性组分的 3.43%。这些酸类物质可能对于银杏葡萄酒香气的贡献较小,因为它们具有较高的香气检测阈值。

在银杏葡萄酒中还检测到了4种羰基类化合物。羰基类化合物包括醛类物质和酮类物质。羰基类化合物主要来源于酒中的不饱和脂肪酸或氨基酸的降解,氨基酸的部分降解产物可形成高级醇,这些高级醇在氧气存在的条件下可以转化为醛和酮。且仅游离态的醛能够在低质量浓度时产生水果果香香气,而在高质量浓度(>200 mg/L)时,产生单调的香气。乙醛能够产生青草香气和脂肪香,苯甲醛产生杏仁香和焦糖香。此外,醛类物质在低质量浓度水平时贡献出令人愉悦的水果香气,但是在高质量浓度水平(>125 mg/L)时会影响葡萄酒的感官特性,会产生辛辣刺激气味。

除此之外,还检测到一种酚类物质,2,4-二叔丁基苯酚。酒样中的挥发酚类物质主要来源于香豆酸和阿魏酸的酶解或热脱羧反应。这类物质主要产

生辛辣、烟熏香气,并且容易与其他芳香化合物产生协同作用。

3 结 语

通过响应面法优化 HS-SPME 萃取葡萄酒中香气物质的条件,并采用 SPME 结合 GC-MS 技术测定银杏葡萄酒中的挥发性成分组成。结果表明:HS-SPME 萃取银杏葡萄酒香气的最佳条件为:萃取温度 55℃、萃取时间 42 min、取样量 6 mL。以此萃取条件并结合 GC-MS 分析测得银杏葡萄酒香气成分 31 种,其中种类最多且含量最高的是酯类物质,通过 OAV 值的计算,其中有 24 种化合物的 OAV 值大于 1,说明检测到的 31 种物质中基本上都对酒的风味产生贡献作用,尤其是异戊醇、苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、庚酸乙酯以及乙醛等。

参考文献:

- [1] 李八方,功能食品与保健食品[M]. 青岛:青岛海洋大学出版社,1997.
- [2] DU Wenming, XU Kehan. Nutrition and medicinal value of Ginkgo [J]. *Hebei Forestry Science and Technology*, 2002(3): 48-48. (in Chinese)
- [3] SUN Pengpeng, WANG Jungao, LIU Mingming, et al. Research on one kind of Ginkgo leaf flavored liquor [J]. *Journal of Shandong Polytechnic University*, 2013, 27(2): 42-46. (in Chinese)
- [4] ZHAO Li, LIU Liping, LIU Jianjun, Study on the fermentation conditions of Ginkgo fruit wine [J]. *Liquor-making Science and Technology*, 2014(6): 35-38. (in Chinese)
- [5] MALHERBE S, MENICHELLI E, TOIT M D, et al. The relationships between consumer liking, sensory and chemical attributes of Vitis vinifera L. cv. Pinotage wines elaborated with different *Oenococcus oeni* starter cultures [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(11): 2829-2840.
- [6] WANG X, XIE K L, ZHUANG H N, et al. Volatile flavor compounds, total polyphenolic contents and antioxidant activities of a China ginkgo wine[J]. *Food Chemistry*, 2015, 182: 41-46.
- [7] ZHENG Xinhua, ZHANG Min, LIU Yaping. Analysis of aroma components by GC-MS and deacidification of plum wine[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2014, 33(4): 432-437. (in Chinese)
- [8] SAGRATINI G, MAGGI F, CAPRIOLI G, et al. Comparative study of aroma profile and phenolic content of *Montepulciano monovarietal* red wines from the Marche and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME-GC-MS and HPLC-MS [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1592-1599.
- [9] WELKE J E, ZANUS M, LAZZAROTTO M, et al. Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine[J]. *Food Research International*, 2014, 59: 85-99.
- [10] 中华人民共和国国家标准, GB/T 15038-2006, 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [11] XIAO Z B, YU D, NIU Y W, et al. Characterization of aroma compounds of Chinese famous liquors by gas chromatography-mass spectrometry and flash GC electronic-nose[J]. *Journal of Chromatography B*, 2014, 945: 92-100.
- [12] VAN DEN D H, KRATZ P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 1963, 11: 463-471.
- [13] ZHANG Yi, GAO Bei, XU Yajuan, et al. Determination of volatile compounds in "Chuliang" longan using headspace solid-phase microextraction and GC-MS[J]. *Food Science*, 2010, 31(16): 156-160. (in Chinese)
- [14] ZHOU Shan, ZHAO Liwen, MA Tengjiao, et al. Fundamental theory of SPME technology and its application progress [J].

- Modern Scientific Instruments**, 2006(2):86-90.(in Chinese)
- [15] PU Biao, ZHANG Yao, LIU Yun, et al. Optimization of aroma components extraction from loquat wine by HS-SPME [J]. **Biochemistry Engineering**, 2001, 37(6):114-119.(in Chinese)
- [16] CUEVAS-GLORY L F, PINO J A, SANTIAGO L S, et al. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey[J]. **Food Chemistry**, 2007, 103(3):1032-1043.
- [17] BOX G E P, STUART H J, GORDON H W. Statistics for experiments: an introduction to design, data analysis, and model building[M]. 1978.
- [18] SADOUGH N, SCHMIDTKE L M, ANTALICK G, et al. Gas chromatography-mass spectrometry method optimized using response surface modeling for the quantitation of fungal off-flavors in grapes and wine [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2015, 63(11):2877-2885.
- [19] SHI Jiayi, ZHANG Mengda, JU Xingrong. Optimization of SPME conditions for volatile compounds research in Indica Rice by response surface method[J]. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, 2015, 30(12):120-125.(in Chinese)
- [20] MURALIDHAR R V, CHIRUMAMILA R R. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 20019(1):17-23.
- [21] CAPONE S, TUFARIELLO M, FRANCIOSO L, et al. Aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to Negroamaro and Primitivo typical Italian Apulian wines[J]. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2013, 179:259-269.
- [22] GÜRBÜZ O, ROUSEFF J M, ROUSEFF R L. Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006, 54(11):3990-3996.
- [23] AND W F, QIAN M C. Characterization of aroma compounds of Chinese “Wuliangye” and “Jiannanchun” liquors by aroma extract dilution analysis[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006, 54(7):2695-2704.
- [24] NIU Y W, ZHANG X M, XIAO Z B, et al. Characterization of odor-active compounds of various cherry wines by gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and their correlation with sensory attributes[J]. **Journal of Chromatography B**, 2011, 879(23):2287-2293.
- [25] FUHRMANN E, GROSCH W. Character impact odorants of the apple cultivars Elstar and Cox Orange [J]. **Food/Nahrung**, 2002, 46(3):187-193.
- [26] CHOI H S. Character impact odorants of Citrus Hallabong [(C. unshiu Marcov × C. sinensis Osbeck) × C. reticulata Blanco] cold-pressed peel oil[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003, 51(9):2687-2692.
- [27] PEINADO R A, MORENO J A, MUNOZ D, et al. Gas chromatographic quantification of major volatile compounds and polyols in wine by direct injection[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004, 52(21):6389-6393.
- [28] GARCIA-CARPINTERO E G, SANCHEZ-PALOMO E. Volatile and sensory characterization of red wines from cv. Moravia Agria minority grape variety cultivated in La Mancha region over five consecutive vintages [J]. **Food Research International**, 2011, 44(5):1549-1560.
- [29] 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):3027-3032.
- [30] PERESTRELO R, FERNANDES A. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds[J]. **Analytica Chimica Acta**, 2006, 563(1):154-164.
- [31] QUIJANO C E, SALAMANCA G, PINO J A. Aroma volatile constituents of Colombian varieties of mango (*Mangifera indica* L.) [J]. **Flavour and Fragrance Journal**, 2007, 22(5):401-406.
- [32] LI H, TAO Y S, KANG W H, et al. Wine aroma analytical investigation progress on GC [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006(1):20-20.
- [33] NOGUEROL-PATO R, GONZALEZ-RODRIGUEZ R M. Influence of tebuconazole residues on the aroma composition of Mencía red wines[J]. **Food Chemistry**, 2011, 124(4):1525-1532.
- [34] CHISHOLM M G, WILSON M A, GASKEY G M. Characterization of aroma volatiles in key lime essential oils (*Citrus aurantifolia* Swingle)[J]. **Flavour and Fragrance Journal**, 2003, 18(2):106-115.
- [35] FERREIRA V, AZNAR M, LOPEZ R, et al. Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of an extract. Key differences in the odor profiles of four high-quality Spanish aged red wines [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2001, 49(10):4818-4824.