

文章编号:1673-1689(2008)06-0115-06

## 顶空固相微萃取法测定果酒中的挥发性成分

张影陆<sup>1,2</sup>, 范文来<sup>1,2</sup>, 姜文广<sup>1,2</sup>, 徐岩<sup>\*1,2</sup>

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:**应用顶空固相微萃取法(HS-SPME)和气质联用(GC-MS)研究果酒中的挥发性成分。在 3 种果酒中共检测到 95 种挥发性成分, 鉴定出 73 种; 在梅酒、荔枝酒、枸杞酒中分别鉴定出 46 种、52 种、50 种化合物, 有 23 种化合物是 3 种果酒中共有的成分。通过 TIC 峰面积归一化定量发现辛酸乙酯、辛酸以及  $\beta$ -苯乙醇等成分是 3 种果酒中的主要挥发性成分。

**关键词:**固相微萃取; 果酒; 气质联用; 梅酒; 荔枝酒; 枸杞酒

中图分类号: O 657. 63

文献标识码: A

### Determination of Volatile Compounds in Fruit Wine by Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) Followed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

ZHANG Ying-lu<sup>1,2</sup>, FAN Wen-lai<sup>1,2</sup>, JIANG Wen-guang<sup>1,2</sup>, XU Yan<sup>\*1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 21422, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** A rapid and simple method was developed for determination of aroma components of fruit wine by headspace solid phase microextraction (HS-SPME) coupled to capillary gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). A total of 95 volatiles were detected in three fruit wines, and 73 volatile compounds were identified by GC-MS. Of these, these were 46, 52, and 50 volatile compounds identified in plum wine, lichee wine, and medlar wine, respectively. Furthermore, 23 compounds were existed in all fruit wines studied in this manuscript, of which, ethyl octanoate, octanoic acid, and  $\beta$ -phenylethyl alcohol and so on were the main volatile compounds.

**Key words:** headspace solid phase microextraction (HS-SPME); fruit wine; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); plum wine; lichee wine; medlar wine

果酒是以各种人工种植的果品和野生的果实为原料, 比如苹果、梨、葡萄、石榴、哈密瓜、山楂、刺梨、山葡萄、沙棘、猕猴桃等, 经过破碎、发酵或者浸泡等工艺精心调配酿制而成的各种低度饮料酒, 酒度一般在 12% (乙醇体积分数) 左右<sup>[1]</sup>。不同水果

酿制的果酒的风味和感官品味都存在差异, 这主要是挥发性成分尤其是香气成分的种类、含量、感觉阈值及其之间的相互作用决定的。果酒中的挥发性成分主要有醇类、萜烯类、羰基化合物、酯类、含氮化合物<sup>[2]</sup>等, 种类繁多且各组分之间质量浓度差

收稿日期: 2007-11-26.

作者简介: 张影陆(1968-), 女, 江苏泰州人, 讲师。

\* 通讯作者: 徐岩(1962-), 男, 安徽合肥人, 教授, 博士生导师, 主要从事酿酒科学与工程研究。Email: yxu@jiangnan.edu.cn

别大,最大的可近 1 mg/L、最小的 1  $\mu$ g/L,甚至 1 ng/L,必须经过适当的浓缩富集才能检测。因此,果酒中挥发性成分的检测存在较大的难度。

顶固相微萃取方法(HS-SPME)原理是:当被分析的有机物在萃取头与萃取体系之间达到平衡时,萃取头表面的吸附量与分析物在萃取体系中的浓度存在线性关系<sup>[3]</sup>。和其它样品处理方法相比,具有操作简便、测试迅速,不需有机溶剂,集样品萃取、浓缩为一体等优点<sup>[4]</sup>。该方法在葡萄酒、白酒以及白兰地等酒类的挥发性成分研究中广泛应用<sup>[2,4,5]</sup>。

作者采用 HS-SPME 和气质联用技术(GC-MS)来检测不同果酒之间的差异。选取了国内 3 种比较常见的果酒,包括梅酒、荔枝酒、枸杞酒。通过对其挥发性成分进行检测,进一步了解果酒中的微量挥发性成分。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 样品 梅酒:上海中国酿酒厂产品;荔之味酒:广东惠来帝浓酒业有限公司产品;杞浓酒:宁夏恒生西夏王酒业公司产品。

1.1.2 试剂 NaCl:分析纯,购自中国医药(集团)上海化学试剂公司;标准品:购自 Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司。

1.1.3 主要仪器 Agilent 6890 N 气相色谱仪和 5975 型质谱仪(GC-MS);色谱柱:DB-Wax (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m);Gerstel MPS 多用途进样器:德祥科技有限公司提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品制备 取 10 mL 酒样,加入 20 mL 的顶空瓶中,再加入 3 g NaCl,盖上瓶盖摇匀。

1.2.2 SPME 条件 采用 CAR/DVB/PDMS 萃

取头,样品预热 5 min,50  $^{\circ}$ C 萃取 30 min。

1.2.3 GC-MS 分析 色谱条件:进样口温度 250  $^{\circ}$ C,程序升温:初温 50  $^{\circ}$ C,保持 2 min,以 3  $^{\circ}$ C/min 升至 230  $^{\circ}$ C,保持 10 min;载气 He。各个组分经 NIST05a 谱库检索、标准品对比以及参考文献对比进行定性。采用 TIC 峰面积归一化定量计算出各化学成分在果酒中的相对含量。

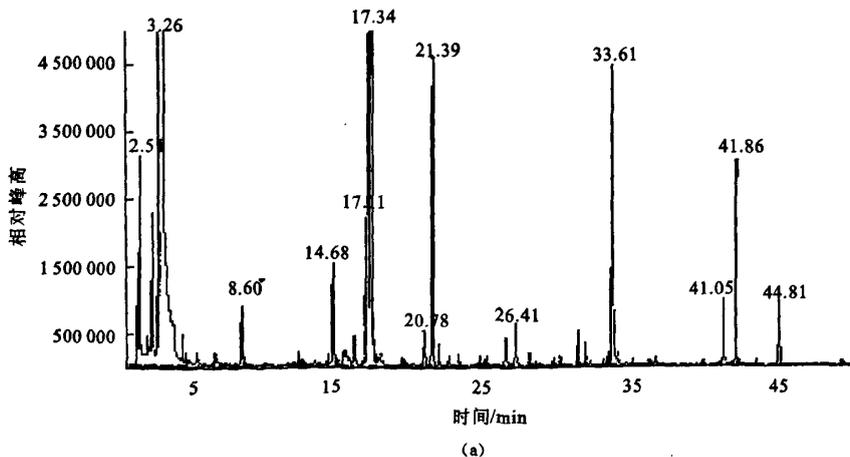
## 2 结果与讨论

### 2.1 SPME 条件的优化

影响 SPME 萃取效率的因素主要有萃取头种类、萃取时间、萃取温度和离子强度等,实验中优化萃取头种类、萃取时间和萃取温度。选取了 PA、PDMS、PDMS/CAR、和 CAR/DVB/PDMS 共 4 种不同涂层的纤维头分别萃取梅酒中挥发性成分,发现 CAR/DVB/PDMS 萃取头萃取挥发性物质种类和总峰面积均优于其他 3 种萃取头,PA 萃取头效果最差。萃取温度是影响萃取速度和效率的重要因素。一方面,温度升高时较多的分析物会从基质中逸出进入液上空间,从而有利于 HS-SPME;另一方面,温度升高也会降低萃取头吸附分析组分的能力,使得吸附量下降,作者比较了 30、40、50、和 60  $^{\circ}$ C 的萃取效果,结果表明 50  $^{\circ}$ C 时吸附效果最佳。萃取时间比较了 20、30、40、60 min 的萃取效果,在萃取时间为 30 min 时达到平衡。离子强度参照文献<sup>[4]</sup>,采用质量分数 30% 的 NaCl 饱和溶液进行。SPME 条件:采用 CAR/DVB/PDM 萃取头,在 50  $^{\circ}$ C 下萃取 30 min,加入质量分数 30% 的 NaCl 溶液。

### 2.2 酒样挥发性成分的检测

图 1 为“梅酒”,“荔之味”和“杞浓酒”挥发性成分的气相色谱质谱 GC-MS 总离子图,经 NIST05a 谱库检索其挥发性成分见表 1。



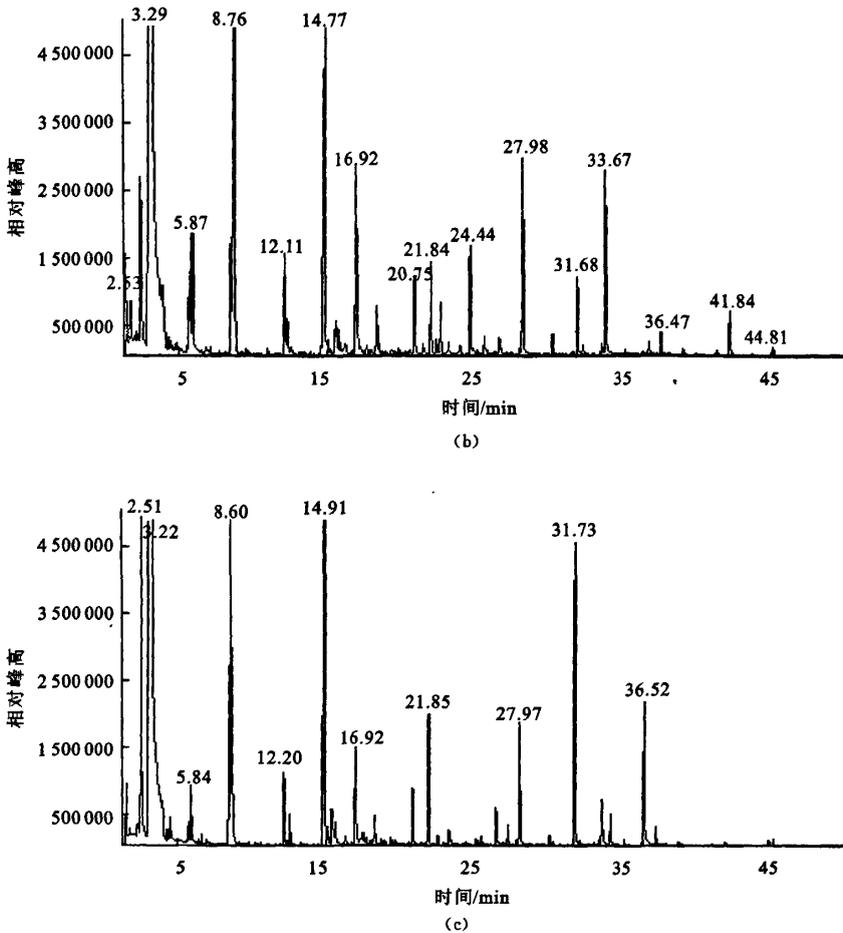


图 1 (a)梅酒,(b)荔之味和(c)杞浓酒挥发性成分的气相色谱-质谱总离子图

Fig. 1 GC-MS total ionic chromatogram of volatile compounds in (a) plum wine, (b) lichee wine, (c) medlar wine

表 1 采用 HS-SPME 和 GC-MS 技术在果酒中检测到的挥发性微量成分

Tab. 1 The volatile compounds in three fruit wines were detected by HS-SPME and GC-MS

RI	化合物名称 <sup>d</sup>	相对质量分数/%		
		“梅酒”	“荔之味”	“杞浓酒”
酸类 acids				
1449	乙酸 acetic acid <sup>a,b,c</sup>	0.21	0.40	0.83
1842	己酸 hexanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.63	0.24	0.64
1936	庚酸 heptanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.04	ND	ND
2051	辛酸 octanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.33	0.96	4.41
2133	山梨酸 sorbic acid <sup>a,b</sup>	4.01	2.31	0.84
2264	癸酸 decanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.14	0.23	2.32
2446	苯甲酸 benzenecarboxylic acid <sup>a,b,c</sup>	0.03	0.02	0.01
2488	月桂酸 dodecanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.04	0.03	ND
2908	棕榈酸 hexadecanoic acid <sup>a,b,c</sup>	0.11	ND	ND
醇类 alcohols				
< 900	乙醇 ethyl alcohol <sup>a,b</sup>	42.32	44.44	40.72
1029	1-丙醇 1-propanol <sup>a,b,c</sup>	0.15	0.42	0.70
1076	2-甲基-1-丙醇 2-methyl-1-propanol <sup>a,b</sup>	0.12	0.16	0.39

续表2

RI	化合物名称 <sup>d</sup>	相对质量分数/%		
		“梅酒”	“荔之味”	“杞浓酒”
1136	1-丁醇 1-butanol <sup>a,b,c</sup>	0.07	ND	0.10
1179	2-甲基-1-丁醇 2-methyl-1-butanol <sup>a,c</sup>	ND	ND	0.43
1193	3-甲基-1-丁醇 3-methyl-1-butanol <sup>a,b</sup>	0.62	7.01	7.42
1243	1-戊醇 1-pentanol <sup>a,c</sup>	0.02	ND	0.04
1348	1-己醇 1-hexanol <sup>a,b,c</sup>	0.06	0.10	0.45
1354	反-3-己烯-1-醇 (z)-3-hexen-1-ol <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.03
1377	顺-3-己烯-1-醇 (e)-3-hexen-1-ol <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.03
1483	2-乙基-1-己醇 2-ethyl-1-hexanol <sup>a,b</sup>	ND	0.08	0.09
1509	2-壬醇 2-nonanol <sup>a,c</sup>	ND	ND	0.10
1547	1-辛醇 1-octanol <sup>a,b,c</sup>	ND	0.07	0.12
1564	2,3-丁二醇 2,3-butanediol <sup>a,b,c</sup>	ND	0.07	0.60
1653	1-壬醇 1-nonanol <sup>a,b,c</sup>	ND	ND	0.04
1860	苯甲醇 benzyl alcohol <sup>a,b,c</sup>	0.53	0.03	0.03
1898	$\beta$ -苯乙醇 $\beta$ -phenylethyl alcohol <sup>a,b,c</sup>	0.22	2.73	1.76
	酯类 esters			
892	乙酸乙酯 ethyl acetate <sup>a,b,c</sup>	1.43	1.80	4.67
1022	丁酸乙酯 ethyl butyrate <sup>a,b,c</sup>	ND	0.22	0.22
1035	2-甲基丁酸乙酯 ethyl 2-methylbutyrate <sup>a,b,c</sup>	0.30	ND	ND
1051	3-甲基丁酸乙酯 ethyl 3-methylbutyrate <sup>a,b,c</sup>	0.22	0.16	0.18
1113	乙酸-3-甲基丁酯 3-methylbutyl acetate <sup>a,b,c</sup>	ND	1.36	0.70
1263	己酸乙酯 ethyl hexanoate <sup>a,b,c</sup>	0.30	1.15	2.93
1292	乙酸己酯 hexyl acetate <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.07
1315	庚酸乙酯 ethyl heptanoate <sup>a,b,c</sup>	0.02	0.02	ND
1329	2-己烯酸乙酯 ethyl 2-hexenoate <sup>a,c</sup>	ND	ND	0.02
1331	2-羟基丙酸乙酯 ethyl 2-hydroxypropanoate <sup>a,b</sup>	ND	0.59	1.01
1411	辛酸乙酯 ethyl octanoate <sup>a,b,c</sup>	1.56	7.10	0.05
1496	2,4-己二烯酸乙酯 ethyl 2,4-hexadienoate <sup>a,b</sup>	0.51	0.15	ND
1603	丁内酯 butyrolactone <sup>a,b,c</sup>	ND	0.02	ND
1629	癸酸乙酯 ethyl decanoate <sup>a,b,c</sup>	0.58	1.14	1.03
1649	苯甲酸乙酯 ethyl benzoate <sup>a,b,c</sup>	4.15	0.19	0.08
1667	丁二酸二乙酯 diethyl succinate <sup>a,b,c</sup>	0.36	1.12	1.84
1685	9-癸烯酸乙酯 ethyl 9-decenoate <sup>b</sup>	ND	0.26	ND
1785	$\beta$ -苯乙酸乙酯 ethyl $\beta$ -phenylacetate <sup>a,b,c</sup>	0.16	0.16	0.05
1751	2-羟基苯甲酸甲酯 methyl 2-hydroxybenzoate <sup>a,b</sup>	0.17	0.03	0.06
1805	乙酸 $\beta$ -苯乙酯 $\beta$ -phenylethyl acetate <sup>a,b,c</sup>	ND	0.26	0.14
1878	苯丙酸乙酯 ethyl benzenepropanoate <sup>a,b,c</sup>	ND	ND	0.31
2133	肉桂酸乙酯 ethyl cinnamate <sup>a,b,c</sup>	0.09	0.01	0.06
2250	棕榈酸乙酯 ethyl hexadecanoate <sup>a,b,c</sup>	0.09	0.06	ND
	醛酮类 aldehydes and ketones			
1073	己醛 hexanal <sup>a,b,c</sup>	0.11	ND	ND
1446	糠醛 furfural <sup>a,b,c</sup>	0.31	0.49	0.84
1503	苯甲醛 benzaldehyde <sup>a,b,c</sup>	13.59	ND	ND
1587	2-十一酮 2-undecanone <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.14
	苯环类 benzenes			
1245	苯乙烯 styrene <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.10
	萜烯类和降类异戊二烯 terpenes and norisoprenoids			

续表 2

RI	化合物名称 <sup>d</sup>	相对质量分数/%		
		“梅酒”	“荔之味”	“杞浓酒”
1169	d-柠檬油精 d-limonene <sup>a,b,c</sup>	0.03	0.10	ND
1335	反式-玫瑰氧化物 trans-rose oxide <sup>a,b</sup>	ND	0.10	ND
1540	里哪醇 $\beta$ -linalool <sup>a,b,c</sup>	ND	0.71	0.08
1681	$\alpha$ -萜品醇 $\alpha$ -terpinenol <sup>a,b,c</sup>	ND	0.67	ND
1721	杜松烯 cadinene <sup>a,b</sup>	ND	0.06	ND
1714	萘 naphthalene <sup>a,b,c</sup>	0.18	0.08	ND
1786	$\beta$ -香茅醇 $\beta$ -citronellol <sup>a,b</sup>	ND	1.33	ND
1802	$\beta$ -大马酮 $\beta$ -damascenone <sup>a,b,c</sup>	0.03	ND	0.03
1823	1-甲基萘 1-methylnaphthalene <sup>a,b</sup>	0.03	ND	ND
1834	$\alpha$ -紫罗兰酮 $\alpha$ -ionone <sup>a,b</sup>	0.06	ND	ND
1924	$\beta$ -紫罗兰酮 $\beta$ -ionone <sup>a,b,c</sup>	0.05	ND	0.04
2034	橙花叔醇 nerolidol 2 <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.04
	酚类 phenols			
2002	苯酚 phenol <sup>a,b,c</sup>	0.04	0.02	0.01
2036	异丁香酚 isoegenol <sup>a,b</sup>	0.23	ND	ND
2168	4-乙基苯酚 4-ethylphenol <sup>a,b</sup>	ND	ND	0.44
2180	4-乙烯愈创木酚 2-methoxy-4-vinylphenol <sup>a,b,c</sup>	ND	ND	0.03
2406	2,4-二异丁基苯酚 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol <sup>b</sup>	0.03	0.26	0.27
	硫化物 sulfides			
< 900	二甲基硫 dimethyl sulfide <sup>a,b</sup>	ND	0.22	ND
	呋喃类 furans			
1594	2-呋喃甲酸乙酯 2-furancarboxylic acid ethyl ester <sup>b</sup>	ND	0.05	0.06
1947	2,5-呋喃醛 2,5-furandicarboxaldehyde <sup>a,b</sup>	ND	0.04	ND
> 2500	5-(羟甲基)-2-呋喃醛 5-(hydroxymethyl)-2-furancarboxaldehyde <sup>b</sup>	0.92	0.08	ND

注:<sup>d</sup>:未知成分(22种)在此表中未列出;<sup>a</sup>:通过与文献报道 RI 相比较确定的成分;<sup>b</sup>:通过质谱解图匹配度在 94% 以上的成分;<sup>c</sup>:通过与标准样品对比确定的成分。ND:未检测出的。

从表 1 可以看出,采用 HS-SPME 和 GC-MS 技术在 3 种果酒中共检测出 95 种化合物,其中鉴定出 73 种挥发性成分和半挥发性成分,主要包括 17 种醇类、23 种酯类、9 种酸类、11 种萜烯类和降类异戊二烯化合物、4 种醛酮类、5 种酚类、3 种呋喃类、1 种苯环类,以及 1 种硫化物。在梅酒中鉴定出 46 种挥发性成分和半挥发性微量成分,荔之味和杞浓酒中分别检测出 52 种和 50 种。

**2.2.1 酸类组分的比较分析** 据表 1,在 3 种果酒中检测出 9 种挥发性有机酸,其中乙酸、己酸、辛酸、山梨酸、癸酸以及苯甲酸是 3 种果酒共有的。在杞浓酒中酸性组分总相对质量分数最高(9.05%),其次是梅酒。从各种有机酸的相对质量分数对比可看出,梅酒和荔之味中都是山梨酸相对质量分数最高,杞浓酒中辛酸和癸酸质量分数较高。

**2.2.2 醇类组分的比较分析** 醇类物质是果酒中主要的物质之一,在表 1 可看出,除乙醇外,在果酒中的醇类物质的总相对质量分数也是很高的,其中在 3 种酒中都存在的成分有 1-丙醇、2-甲基-1-丙

醇、3-甲基-1-丁醇、1-己醇、苯甲醇以及  $\beta$ -苯乙醇等 6 种挥发性成分,其中 3-甲基-1-丁醇和  $\beta$ -苯乙醇在荔之味和杞浓酒中的相对质量分数都很高,尤其是 3-甲基-1-丁醇的相对质量分数达到 7% 以上。在梅酒中各种醇类组分(除乙醇外)相对质量分数都较低,共检测出 8 种。在杞浓酒中检测出 16 种醇类物质。

**2.2.3 酯类组分的比较分析** 在 3 种果酒中检测到大量的酯类,共 23 种,其中在 3 种酒中有 10 种成分相同,包括乙酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯以及肉桂酸乙酯等。其中乙酸乙酯、3-甲基丁酸乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、苯甲酸乙酯、丁二酸二乙酯在 3 种酒中的相对质量分数都较高。在梅酒中苯甲酸乙酯是峰面积最大的酯类物质,辛酸乙酯是荔之味中相对质量分数最高,而杞浓酒中己酸乙酯和乙酸乙酯相对质量分数较高。酯类物质如辛酸乙酯和癸酸乙酯等具有浓郁的水果香气<sup>[6-7]</sup>是果酒中一类重要的香气物质。

**2.2.4 萜烯类组分的比较分析** 萜烯类和降类异

戊二烯化合物是果酒中的重要香气物质。这类化合物具有令人愉悦的芳香气味和极低的阈值<sup>[8-9]</sup>。共有11种萜烯类和降类异戊二烯化合物在3种果酒中被检测出来,但没有任何一种成分是3种果酒中共有的。梅酒中检测出6种,荔之味和杞浓酒中分别有7种和4种,在梅酒中检测出5种降类异戊二烯化合物如萘、 $\alpha$ -紫罗兰酮、 $\beta$ -紫罗兰酮以及 $\beta$ -大马酮等。

**2.2.5 其他组分的比较分析** 在果酒中还检测出5种酚类、4种醛酮类、3种味喃类、1种苯环类化合物以及1种硫化物,其中苯甲醛在梅酒中相对质量分数远大于其他两种酒,达到13.59%,苯甲醛具有花香气味<sup>[10]</sup>,是梅酒中一种重要的香气物质。其他各组分虽然成分种类比较少、相对质量分数也较低,但考虑到化合物的阈值,它们也可能是各类果酒中重要的风味物质<sup>[11]</sup>。通常来说,苯乙烯、萘、1-甲基萘可能并不是酒的风味物质,或许是来自于原料的污染,或许来自于生产或包装过程的污染。空白试验也证明了这一点。

## 参考文献(References):

- [1] 奚惠萍. 中国果酒[M]. 北京: 轻工业出版社, 1991.
- [2] Wang L, Xu Y, Zhao G, et al. Rapid analysis of flavor volatiles in apple wine using headspace solid-phase microextraction [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2004, 110(1): 57-65.
- [3] Arthur C L, Pawliszyn J. Solid-phase microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers[J]. *Analytical Chemistry*, 1990, 62(19): 2145-2148.
- [4] Fan W L, Qian M C. Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese "Yanghe Daqu" liquors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20): 7931-7938.
- [5] 汪立平, 徐岩, 赵光鳌, 等. 顶空固相微萃取法快速测定苹果酒中的香味物质[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(1): 1-7. WANG Li-ping, XU Yan, ZHAO Guang-ao, et al. Rapid determination of aroma components in apple wine by headspace solid-phase micro extraction (HS-SPME) [J]. *Journal Wuxi University and Light Industry*, 2003, 22(1): 1-7. (in Chinese)
- [6] Fan W L, 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.
- [7] Fan W L, Qian M C. Identification of aroma compounds in Chinese "Yanghe Daqu" liquor by normal phase chromatography fractionation followed by gas chromatography olfactometry[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2006, 21(2): 333-342.
- [8] Pena R M, Barciela J, Herrero C, et al. Optimization of solid-phase microextraction methods for GC-MS determination of terpenes in wine[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85(7): 1227-1234.
- [9] Coelho E, Rocha S M, Delgado I, et al. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563(1-2): 204-214.
- [10] Xu Y, Fan W L, Qian M C. Characterization of aroma compounds in apple cider using solvent-assisted flavor evaporation and headspace solid-phase microextraction[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(8): 3051-3057.
- [11] Cullere L, Escudero A, Cacho J, et al. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(6): 1653-1660.

(责任编辑:朱明)