

## 基于电子鼻和气相色谱-质谱联用技术分析不同品种苹果酒香气物质

曹有芳,刘丹,徐俊南,赵宁,魏新元,樊明涛\*

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院,陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以陕西白水的嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳4种苹果为原料酿造苹果酒,采用电子鼻(E-nose)和顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)技术分析4种苹果酒香气物质。结果表明,电子鼻检测到4种苹果酒的香气特性差异较大,利用主成分分析(PCA)法和线性判别分析(LDA)法可完全将其区分开;HS-SPME-GC-MS共检测出76种挥发性香气物质,包括醇类11种、酯类43种、醛类7种、酮类3种、酸类7种、萜烯和其他5种;嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳苹果酒分别有66种、43种、45种、47种香气物质,总含量分别为7.17 mg/L、7.08 mg/L、6.64 mg/L、7.56 mg/L,且4种酒共有特征香气物质包括:丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯。电子鼻结合HS-SPME-GC-MS分析可以成功区分不同品种苹果酿造苹果酒的挥发性成分。

**关键词:**苹果酒;品种;电子鼻;气相色谱-质谱法;挥发性成分

中图分类号:TS262.7

文章编号:0254-5071(2020)02-0182-07

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2020.02.034

**引文格式:**曹有芳,刘丹,徐俊南,等.基于电子鼻和气相色谱-质谱联用技术分析不同品种苹果酒香气物质[J].中国酿造,2020,39(2):182-188.

## Analysis of aroma substances in apple wines brewed with different varieties of apple by electronic nose combined with GC-MS

CAO Youfang, LIU Dan, XU Junnan, ZHAO Ning, WEI Xinyuan, FAN Mingtao\*

(College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** The apple wine was brewed using 4 kinds of apples including Gala, Starking, Ruixue and Ruiyang from Baishui, Shaanxi. The aroma substances in the 4 kinds of apple wines were analyzed by electronic nose (E-nose) and HS-SPME-GC-MS. The results showed that the aroma characteristics of 4 kinds of apple wines were greatly different by E-nose analysis, which could be distinguished by principal component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA). A total of 76 aroma substances were detected in 4 kinds of apple wines by HS-SPME-GC-MS, including alcohols (11), esters (43), aldehydes (7), ketones (3), acids (7), terpenes and others substances (5). There were 66, 43, 45 and 47 kinds of aroma substances in the Gala, Starking, Ruixue and Ruiyang apple wines, respectively, and the total contents were 7.17 mg/L, 7.08 mg/L, 6.64 mg/L and 7.56 mg/L, respectively. The ethyl butyrate, ethyl 2-methyl butyrate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl caprylate, ethyl caprate were the common characteristic aroma substances in 4 kinds of apple wines. In conclusion, E-nose combined with HS-SPME-GC-MS analysis could successfully distinguish the volatile components of apple wines brewed with different varieties of apple.

**Key words:** apple wine; variety; electronic nose; GC-MS; volatile components

苹果是我国具有明显国际竞争力的农产品之一,根据国家现代苹果产业技术体系抽样调查数据测算,2015至2020年期间,我国每年市场约有1 000万t以上的鲜果剩额,鲜果销售存在一定的问题<sup>[1-2]</sup>。由此可见,我国苹果产量大,苹果深加工产业有待发展。苹果酒是世界上仅次于葡萄酒的第二大发酵果酒,其含有丰富的维生素、氨基酸、矿物质及多酚等活性物质,具有软化血管、降血脂、降血压、调节新陈代谢、抗衰老和抗癌等作用,丰富的营养成分和较高的保健价值,使其受到广大消费者的喜爱<sup>[3-4]</sup>。

就目前苹果酒发酵技术的研究深度和发展程度而言,

因苹果原料和发酵工艺等不同,直接导致了苹果酒品质的差异性。而目前单纯利用感官评定方法评价、鉴别苹果酒的品质往往不够客观,因此寻找一种快速、灵敏的检测方法尤为重要。风味特性是影响苹果酒品质的重要因素,分析苹果酒中的挥发性香气成分,可作为鉴别苹果酒品质的一种方法<sup>[5]</sup>。电子鼻和气相色谱-质谱技术(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)是目前食品风味分析的重要研究手段<sup>[6]</sup>。电子鼻通过对产品风味轮廓信息进行综合分析,已经应用于白酒、葡萄酒、黄酒及啤酒的品牌区分<sup>[7-8]</sup>、风味分析<sup>[9-10]</sup>、香型分析<sup>[11-12]</sup>、产地辨别<sup>[13-14]</sup>、品种辨别<sup>[15]</sup>、酒

收稿日期:2019-09-19

修回日期:2019-12-02

基金项目:农业部公益性行业专项(201503142-10);陕西省科技统筹项目(2016KTCQ02-13)

作者简介:曹有芳(1993-),女,硕士研究生,研究方向为食品科学。

\*通讯作者:樊明涛(1963-),男,教授,博士,研究方向为食品生物技术。

龄辨别<sup>[16-18]</sup>、真伪鉴别<sup>[19]</sup>以及发酵过程中的动态监测<sup>[20]</sup>等方面。GC-MS技术能够实现待测样品具体风味化合物的定性、定量,检测灵敏度高、操作便捷、结果准确。而通过GC-MS和电子鼻与多变量数据分析区分鉴别不同品种苹果酒的研究鲜有报道。

因此,本实验分别以嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳4种苹果为原料酿造苹果酒,采用电子鼻和固相微萃取-气相色谱-质谱(solidphase microextraction-gas chromatography-mass, SPME-GC-MS)技术相结合的方法检测其挥发性香气物质,通过主成分分析(principal component analysis, PCA)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)探索4种苹果酒香气特性的差异,并找出4种苹果酒的特征香气成分,旨在为苹果酒种类鉴别、品质研究以及瑞阳、瑞雪两个国审的苹果新品种的开发应用奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳:陕西白水苹果试验站;安琪果酒专用酵母SY:市售;果胶酶Macerozyme R-10(酶活40 U/mg):北京索莱宝科技有限公司。

氯化钠(纯度 $\geq 99.5\%$ ):四川西陇科学有限公司;2-辛醇(纯度 $\geq 98\%$ ):上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

HC-3018R高速冷冻离心机:安徽中科中佳科学仪器有限公司;PEN3型便携式电子鼻:德国Airsense公司;GCMS-QP 2010 Ultra气相色谱质谱联用仪:日本岛津公司;手动固相微萃取(50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/SPME)进样器:美国Supelco公司;DB-17MS毛细管柱(60 m $\times$ 250  $\mu\text{m}$ , 0.25  $\mu\text{m}$ ):美国Agilent公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 苹果酒酿造工艺流程及操作要点

50 mg/L果胶酶 酵母活化  
↓                    ↓  
苹果→分选、清洗、切分→压榨→苹果汁→果胶酶处理→酒精发酵→鲜酒

操作要点:选择成熟度好,无腐烂变质的苹果,进行清洗、榨汁,将得到的苹果清汁倒入经SO<sub>2</sub>熏蒸过的发酵罐,并加入60 mg/L SO<sub>2</sub>。按50 mg/L的量添加果胶酶室温酶解12 h后,加入安琪果酒专用酵母SY于20℃条件下发酵7 d,所有苹果酒的发酵工艺相同。取发酵结束的新鲜酒样,离心冷冻置-20℃冰箱内待用。

#### 1.3.2 电子鼻检测

表1为PEN3型电子鼻10个金属氧化物传感器的敏感物质及其检测限。准确量取5 mL稀释了30倍的苹果酒酒样置于30 mL样品瓶中,加盖密封,室温富集5 min后进行测试。电子鼻参数设置:检测时间60 s,预进样5 s,清洗时间300 s,进样流量和载气流速均为300 mL/min<sup>[21]</sup>。

表1 PEN3电子鼻传感器阵列及其性能描述

Table 1 Sensor arrays and performance specification of electronic nose PEN3

传感器序号	传感器名称	敏感物质	参考物质及检测限
S1	W1C	芳香成分	甲苯, 10 mg/L
S2	W5S	氮氧化物	二氧化氮, 1 mg/L
S3	W3C	氨水、芳香类化合物	苯, 1 mg/L
S4	W6S	对氢气有选择性	氢气, 100 mg/L
S5	W5C	烷烃、芳香类化合物及极性小的化合物	丙烷, 1 mg/L
S6	W1S	甲烷	甲烷, 100 mg/L
S7	W1W	硫化物、含硫有机化合物	硫化氢, 1 mg/L
S8	W2S	乙醇及部分芳香族化合物	一氧化碳, 100 mg/L
S9	W2W	芳香族化合物、有机硫化物	硫化氢, 1 mg/L
S10	W3S	烷烃	甲烷, 100 mg/L

#### 1.3.3 SPME-GC-MS检测<sup>[21]</sup>

香气成分萃取:准确吸取各酒样5 mL至15 mL的固相微萃取专用萃取瓶中,添加6  $\mu\text{L}$ 质量浓度为0.45 mg/mL的2-辛醇作为内标,加入1.5 g NaCl后,密封后于40℃下平衡15 min,插入已老化的萃取头萃取30 min。萃取完毕后,迅速取下萃取器,插入气相色谱仪进样口于260℃条件下解吸3 min。

GC-MS条件:程序升温至40℃,保持3 min,以8℃/min速率升温至80℃,再按10℃/min升至250℃;进样口温度260℃,载气为氦气(He),流速1 mL/min;不分流进样。离子源温度为230℃,扫描范围是35~400 amu,电子电离(electronic ionization, EI)源,电子能量70 eV。

香气物质的定性定量方法:根据检测出的未知化合物经计算机检索与美国国家标准技术研究所(national institute of standards and technology, NIST)library、Wileylibrary相匹配,选择匹配度 $> 85\%$ 的物质作为有效香气成分,结合文献中的保留指数进行香气物质的定性;以2-辛醇为内标(质量浓度0.45 mg/mL),按内标法计算各成分质量浓度实现定量。

#### 1.3.4 数据处理

采用SPSS 20.0统计软件进行显著性分析,电子鼻所测数据用其自带的Winmuster软件进行主成分分析和线性判别分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 电子鼻对不同苹果酒香气物质的分析

#### 2.1.1 苹果酒香气物质电子鼻检测结合主成分分析

4种苹果酒挥发性成分PCA结果如图1所示,PCA分析结果中第一主成分(PC1)占比93.29%,第二主成分(PC2)占比6.21%,这两个主成分总贡献率占比99.5%,能充分的代表原始数据信息。说明PCA方法适用于不同品种苹果酒挥发性成分分析,且这两个主成分可以代表样品挥发性风

味的主要特征。此外,每组样品的测定数据均能聚集成团,说明电子鼻数据稳定性、重复性较好。4种苹果酒样的香气成分无交叉区域,通过比较各组数据的横纵坐标发现红星酒和嘎啦酒的两个主成分差别不大,说明这两种酒的风味比较接近,而瑞雪酒、瑞阳酒的两个主成分差别较大,说明瑞雪酒、瑞阳酒的风味差异较大。

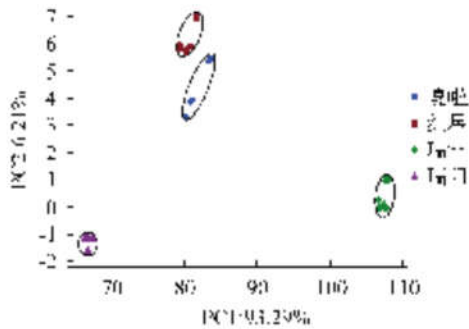


图1 不同苹果酒的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis of different apple wines

差异较小,瑞雪酒、瑞阳酒的风味差异较大。LDA与PCA方法的分析结果一致。

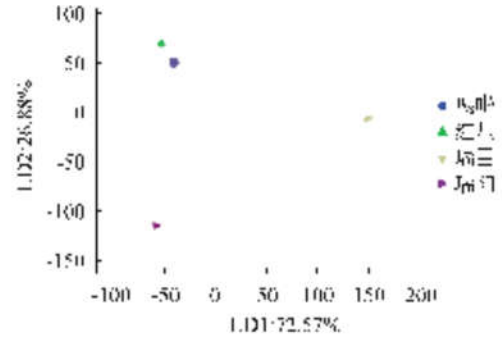


图2 不同苹果酒的线性判别分析

Fig. 2 Linear discriminant analysis of different apple wines

### 2.1.2 苹果酒香气成分电子鼻检测结合线性判别分析

与PCA相比,LDA能通过扩大不同类别间数据点的距离、缩小同一类别数据点的距离,进一步分析电子鼻传感器响应值,获得更精确的分类<sup>[23]</sup>,从而更好地揭示样品间挥发性物质的差异情况<sup>[24]</sup>。由图2可以看出,LDA分析结果中第一主成分占比72.57%,第二主成分占比26.88%,这两个主成分总贡献率占比99.45%,很好的反映了样品的总体信息,且4种苹果酒样品簇间距离较远,区别明显。从样品簇之间的分布距离来看,嘎啦酒和红星酒的距离较为接近,瑞雪酒和瑞阳酒的距离较大,说明嘎啦酒和红星酒的风味

### 2.2 SPME-GC-MS分析不同苹果酒的香气物质

电子鼻可以对苹果酒样品的整体风味进行分析,能直观地鉴别不同苹果酒的差异,但不能检测出苹果酒香气物质的具体种类和含量<sup>[25]</sup>。为进一步分析不同品种苹果酒的香气物质,采用SPME-GC-MS对4种苹果酒的挥发性香气成分进行检测,结果见表2。由表2可知,在嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳4种苹果酒中共检测出76种挥发性物质,包括醇类11种、酯类43种、醛类7种、酮类3种、酸类7种、萜烯和其他类5种,其中酯类物质和醇类物质对苹果酒整体香气贡献较大,苹果酒是以酯香为主并富含醇香的果酒。如表3所示,不同苹果酒各类挥发性香气物质的数量及含量均存在较大差异,嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳4种苹果酒的香气数量分别是66种、43种、45种、47种,总含量分别为7.17 mg/L、7.08 mg/L、6.64 mg/L和7.56 mg/L。

表2 不同苹果酒中挥发性香气成分测定结果

Table 2 Determination results of volatile aroma components in different apple wines

保留时间/ min	化合物	感觉阈值	香气描述	质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )			
				嘎啦	红星	瑞雪	瑞阳
醇类(11种)							
6.867	异丁醇	75 000	杂醇油的醇香	125.53±2.11	n.d.	n.d.	110.36±6.61
7.673	正丁醇	150 000	酒精味	5.99±0.23 <sup>b</sup>	4.19±0.36 <sup>c</sup>	7.19±0.16 <sup>c</sup>	7.73±0.40 <sup>a</sup>
9.992	异戊醇	7 000	苦杏仁味,清香	1324.05±17.19 <sup>a</sup>	1340.13±12.40 <sup>a</sup>	1173.03±9.86 <sup>b</sup>	1307.15±50.77 <sup>a</sup>
11.023	正戊醇	64 000	醇香,涩味	3.23±0.28	n.d.	n.d.	4.37±0.11
11.447	2,3-丁二醇	120 000	黄油,乳酪香	13.79±0.07 <sup>a</sup>	8.04±0.10 <sup>b</sup>	3.12±0.09 <sup>c</sup>	3.31±0.13 <sup>c</sup>
15.282	正己醇	52 000	青草味,吐司味	121.05±5.73 <sup>a</sup>	114.55±7.04 <sup>a</sup>	110.17±1.18 <sup>a</sup>	113.30±5.64 <sup>a</sup>
16.681	2-庚醇	-	柠檬香	n.d.	n.d.	5.84±0.12	n.d.
19.789	正庚醇	1 000	葡萄香	34.80±2.27 <sup>a</sup>	n.d.	23.60±1.69 <sup>b</sup>	15.80±0.63 <sup>c</sup>
22.482	2-乙基己醇	5 000	-	n.d.	3.03±0.25 <sup>c</sup>	6.84±0.12 <sup>b</sup>	8.61±0.53 <sup>a</sup>
24.217	正辛醇	120	玫瑰花,浓郁的甜橘味	46.90±1.05 <sup>a</sup>	23.05±0.44 <sup>b</sup>	25.60±1.31 <sup>b</sup>	45.25±1.72 <sup>a</sup>
25.621	苯乙醇	1 000	玫瑰花香,蔷薇花,蜂蜜味	440.96±6.75 <sup>c</sup>	470.84±6.13 <sup>b</sup>	487.63±2.19 <sup>a</sup>	450.83±10.65 <sup>c</sup>
酯类(43种)							
5.384	乙酸甲酯	-	果香	n.d.	15.37±1.17	n.d.	n.d.

续表

保留时间/ min	化合物	感觉阈值	香气描述	质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )			
				嘎啦	红星	瑞雪	瑞阳
6.543	乙酸乙酯	7 500	甜果味	237.64±3.90 <sup>b</sup>	260.61±4.95 <sup>a</sup>	193.05±3.86 <sup>c</sup>	134.18±7.64 <sup>d</sup>
8.973	丙酸乙酯	10	菠萝香	9.90±1.04 <sup>a</sup>	6.43±0.47 <sup>b</sup>	8.84±0.20 <sup>a</sup>	5.61±0.23 <sup>b</sup>
9.042	乙酸丙酯	-	柔和水果香	4.85±0.49	7.98±0.38	n.d.	n.d.
10.738	异丁酸乙酯	15	果香,草莓香	10.25±0.98 <sup>a</sup>	3.22±0.35 <sup>c</sup>	7.52±0.61 <sup>b</sup>	7.78±0.30 <sup>b</sup>
11.222	乙酸异丁酯	1 600	果香,清香	14.53±3.03 <sup>b</sup>	12.63±1.44 <sup>b</sup>	21.95±1.77 <sup>a</sup>	15.22±1.39 <sup>b</sup>
12.271	丁酸乙酯	20	酸果,草莓,果香	42.51±2.37 <sup>a</sup>	20.82±1.46 <sup>b</sup>	21.61±1.10 <sup>b</sup>	23.85±3.83 <sup>b</sup>
12.786	乙酸丁酯	66	水果香	14.10±2.25 <sup>a</sup>	11.31±1.13 <sup>a</sup>	2.57±0.33 <sup>b</sup>	14.62±1.56 <sup>c</sup>
14.471	2-甲基丁酸乙酯	0.2	甜果香,草莓香,青苹果味	22.84±1.89 <sup>b</sup>	26.65±1.70 <sup>a</sup>	28.36±1.12 <sup>a</sup>	17.34±0.89 <sup>c</sup>
14.573	异戊酸乙酯	3	香蕉味,甜果香	2.88±0.25	n.d.	n.d.	n.d.
15.555	乙酸异戊酯	200	香蕉味,水果香	219.32±0.65 <sup>d</sup>	293.55±4.54 <sup>b</sup>	247.22±7.63 <sup>c</sup>	314.58±11.20 <sup>a</sup>
15.665	2-甲基丁基乙酸酯	1.57	苹果香,香蕉香	59.59±1.14	n.d.	55.86±1.34	n.d.
16.103	甲酸己酯	-	水果芳香,清香	n.d.	n.d.	3.27±0.23	6.11±0.18
16.588	戊酸乙酯	26	苹果,水果香	1.67±0.13	1.75±0.14	n.d.	n.d.
17.159	乙酸戊酯	43	香蕉味	n.d.	n.d.	n.d.	3.45±0.48
17.646	己酸甲酯	75	乙醚的化学香气	14.48±1.56 <sup>a</sup>	7.62±0.73 <sup>b</sup>	0.85±0.08 <sup>c</sup>	n.d.
18.777	2-甲基丁酸丙酯	-	-	n.d.	11.44±1.52	n.d.	n.d.
21.128	己酸乙酯	14	青苹果,茴香味	430.52±0.92 <sup>b</sup>	397.15±5.07 <sup>d</sup>	416.16±3.70 <sup>c</sup>	458.37±6.07 <sup>a</sup>
21.641	乙酸己酯	150	果香,梨香	39.43±1.73 <sup>c</sup>	162.68±3.27 <sup>a</sup>	132.89±1.52 <sup>b</sup>	140.48±7.58 <sup>b</sup>
21.779	异丁酸异戊酯	-	-	6.05±0.20	n.d.	n.d.	n.d.
22.785	2-己烯酸乙酯	-	果香,甜香	9.59±0.71 <sup>b</sup>	10.33±1.01 <sup>b</sup>	10.56±0.57 <sup>b</sup>	13.49±0.55 <sup>a</sup>
23.575	丁酸异戊酯	-	香蕉香,梨香	9.21±0.38	n.d.	7.67±0.33	n.d.
25.132	己酸丙酯	-	-	10.63±0.91	n.d.	n.d.	n.d.
25.266	庚酸乙酯	2.2	水果香	16.28±1.04	n.d.	n.d.	n.d.
26.297	辛酸甲酯	220	柔软的苹果皮味	67.38±4.18 <sup>a</sup>	53.03±2.91 <sup>b</sup>	18.88±1.24 <sup>c</sup>	23.40±1.72 <sup>c</sup>
27.352	己酸异丁酯	-	果香	12.31±0.90 <sup>b</sup>	10.49±1.08 <sup>c</sup>	10.23±0.40 <sup>c</sup>	15.01±0.33 <sup>a</sup>
29.153	辛酸乙酯	250	果香,花香	1811.58±13.11 <sup>d</sup>	2414.13±5.51 <sup>b</sup>	2076.13±19.57 <sup>c</sup>	2494.50±1.10 <sup>a</sup>
30.173	苯乙酸乙酯	406	蜂蜜的香甜味	24.72±1.25	26.85±1.11	n.d.	n.d.
30.573	乙酸苯乙酯	250	玫瑰花香,蜂蜜香	22.87±0.94 <sup>c</sup>	87.09±1.89 <sup>b</sup>	n.d.	139.02±2.86 <sup>c</sup>
30.734	己酸异戊酯	-	苹果,菠萝香	55.18±1.57	n.d.	147.70±1.64	n.d.
32.007	辛酸丙酯	-	椰子味	15.19±0.74 <sup>c</sup>	24.82±2.64 <sup>b</sup>	22.56±1.01 <sup>b</sup>	71.94±1.55 <sup>a</sup>
32.117	壬酸乙酯	1 300	玫瑰花香,果香	11.41±0.37	n.d.	n.d.	n.d.
32.942	癸酸甲酯	1 200	菠萝香	60.58±0.59	38.43±1.72	n.d.	n.d.
34.623	9-癸烯酸乙酯	100	生青果香,脂肪味	110.81±4.72	60.80±2.66	n.d.	n.d.
34.987	癸酸乙酯	200	果香,脂肪味	733.71±4.96 <sup>a</sup>	718.74±0.11 <sup>b</sup>	717.32±2.26 <sup>b</sup>	713.43±7.24 <sup>b</sup>
36.291	辛酸-3-甲基丁酯	125	梨味,蜡味	88.25±1.26 <sup>c</sup>	75.68±2.50 <sup>d</sup>	123.62±5.84 <sup>b</sup>	162.43±1.03 <sup>a</sup>
38.108	月桂酸甲酯	-	甜味	17.53±0.33	n.d.	n.d.	n.d.
38.659	癸酸异丁酯	-	-	11.85±0.44 <sup>b</sup>	n.d.	9.49±0.27 <sup>c</sup>	15.44±0.62 <sup>a</sup>
39.715	月桂酸乙酯	1 500	果香,花香	161.24±5.31 <sup>a</sup>	115.05±1.73 <sup>b</sup>	104.84±1.55 <sup>c</sup>	167.14±2.99 <sup>a</sup>
42.445	肉豆蔻酸甲酯	-	蜜香,花香	6.99±0.26	n.d.	n.d.	n.d.
43.821	肉豆蔻酸乙酯	2 000	花香,肉桂香	41.49±1.98	n.d.	n.d.	38.23±3.73
46.617	棕榈酸甲酯	-	水果香	12.28±0.74 <sup>b</sup>	9.46±0.35 <sup>c</sup>	n.d.	35.14±2.05 <sup>a</sup>
48.171	棕榈酸乙酯	1 500	蜡香,奶油味	34.71±1.77	n.d.	n.d.	18.51±0.83
醛类(7种)							
4.546	乙醛	20	果香味	3.26±0.16 <sup>a</sup>	1.33±0.11 <sup>c</sup>	1.27±0.05 <sup>c</sup>	1.86±0.08 <sup>b</sup>
7.297	异戊醛	700	苹果香	1.07±0.21 <sup>a</sup>	0.56±0.03 <sup>b</sup>	1.13±0.07 <sup>a</sup>	0.64±0.04 <sup>b</sup>

续表

保留时间/ min	化合物	感觉阈值	香气描述	质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )			
				嘎啦	红星	瑞雪	瑞阳
11.961	正己醛	5	强烈的青香,草香	15.95±1.27 <sup>a</sup>	14.97±1.25 <sup>a</sup>	2.84±0.27 <sup>b</sup>	1.31±0.12 <sup>b</sup>
18.709	苯甲醛	350	特殊芳香植物味	17.41±0.73	n.d.	4.17±0.12	n.d.
22.321	苯乙醛	4	甜芳香味	3.40±0.24	n.d.	n.d.	n.d.
25.399	壬醛	1	花香,柑橘味	18.18±1.12	n.d.	n.d.	n.d.
35.333	月桂醛	2	花香,果香	n.d.	n.d.	n.d.	48.05±3.50
酮类(3种)							
15.933	2-庚酮	9	令人愉快气味	8.07±0.31 <sup>b</sup>	n.d.	10.38±0.53 <sup>a</sup>	7.89±0.12 <sup>b</sup>
20.518	2-辛酮	250	花香,苹果香	n.d.	46.23±1.34 <sup>a</sup>	30.44±0.69 <sup>b</sup>	28.10±1.17 <sup>c</sup>
24.903	2-壬酮	41	热牛奶味	11.04±1.12 <sup>b</sup>	n.d.	22.59±1.79 <sup>a</sup>	24.72±0.62 <sup>a</sup>
酸类(7种)							
7.035	乙酸	480	刺激气味和酸味	47.21±1.46	21.52±1.68	n.d.	n.d.
14.835	2-甲基丁酸	30	-	17.51±1.05 <sup>a</sup>	n.d.	12.25±0.75 <sup>b</sup>	18.96±1.29 <sup>a</sup>
20.712	己酸	420	奶酪,烧烤味	54.00±2.08 <sup>a</sup>	22.25±1.08 <sup>c</sup>	30.43±0.70 <sup>b</sup>	n.d.
28.596	辛酸	500	奶酪味,水果味	161.48±2.29	n.d.	n.d.	n.d.
34.158	癸酸	1 000	愉快脂肪味	153.43±2.83 <sup>c</sup>	107.75±2.94 <sup>d</sup>	272.98±4.92 <sup>a</sup>	231.49±3.36 <sup>b</sup>
38.831	月桂酸	1 500	金属味	8.64±0.61	n.d.	n.d.	50.18±0.99
43.067	肉豆蔻酸	9 000	果仁香	n.d.	n.d.	n.d.	19.55±0.58
萜烯,其他类(5种)							
16.219	1,3,5,7-环辛四烯	-	-	n.d.	n.d.	4.97±0.22	n.d.
22.911	d-柠檬烯	34	柠檬香	11.64±1.42	n.d.	n.d.	n.d.
29.999	香茅醇	100	青草味,丁香味,蔷薇花香	13.23±1.32 <sup>ab</sup>	14.83±0.38 <sup>a</sup>	13.42±0.62 <sup>ab</sup>	12.08±1.03 <sup>b</sup>
36.132	异丁香酚	60	丁香气味	10.08±1.18	n.d.	n.d.	n.d.
37.764	2,4-二叔丁基苯酚	200	果香味	19.52±0.61	n.d.	n.d.	n.d.

注:香气物质感觉阈值和香气描述参考文献<sup>[33-36]</sup>,下同。“n.d.”表示未检出。“-”表示未查阅到该物质的香气阈值或香气描述;同一行不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

表3 不同苹果酒挥发性风味物质种类及含量

Table 3 Types and contents of volatile flavor substances in different apple wines

种类	嘎啦		红星		瑞雪		瑞阳	
	数量	含量/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	数量	含量/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	数量	含量/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	数量	含量/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
醇类	9	2 116.29±15.62 <sup>a</sup>	7	1 963.82±5.78 <sup>c</sup>	9	1 843.01±7.54 <sup>d</sup>	10	2 066.71±54.96 <sup>b</sup>
酯类	39	4 476.35±15.02 <sup>c</sup>	28	4 884.09±1.76 <sup>b</sup>	24	4 389.14±34.25 <sup>d</sup>	25	5 049.30±22.02 <sup>a</sup>
醛类	6	59.27±3.63 <sup>a</sup>	3	16.86±1.31 <sup>c</sup>	4	9.41±0.21 <sup>d</sup>	4	51.87±3.52 <sup>b</sup>
酮类	2	19.12±1.41 <sup>c</sup>	1	46.23±1.34 <sup>b</sup>	3	63.41±1.86 <sup>a</sup>	3	60.70±1.49 <sup>a</sup>
酸类	6	442.27±8.87 <sup>a</sup>	3	151.52±3.19 <sup>c</sup>	3	315.65±5.06 <sup>b</sup>	4	320.17±4.46 <sup>b</sup>
萜烯和其他	4	54.48±3.49 <sup>a</sup>	1	14.83±0.38 <sup>bc</sup>	2	18.39±0.75 <sup>b</sup>	1	12.08±1.03 <sup>c</sup>
总量	66	7 167.77±12.91 <sup>b</sup>	43	7 077.34±9.49 <sup>c</sup>	45	6 639.02±24.30 <sup>d</sup>	47	7 560.83±50.58 <sup>a</sup>

注:同一行不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

### 2.2.1 不同苹果酒中醇类香气物质比较

醇类是形成发酵酒风味的主要物质,多为氨基酸或糖类经酵母代谢产生<sup>[26]</sup>。本实验各酒样中含量相对较高醇类香气物质有异戊醇、苯乙醇、正己醇、正辛醇。不同品种苹果酒的醇类物质含量显著不同,且嘎啦酒醇类化合物质量浓度最高(2.12 mg/L),红星酒最低(1.96 mg/L)。4种酒中共

检测出11种醇类物质,共有的有6种,分别是正丁醇、异戊醇、2,3-丁二醇、正己醇、正辛醇和苯乙醇。异丁醇和正戊醇分别只在嘎啦酒和瑞阳酒中检出,说明这两种酒更具醇香。异戊醇是4种苹果酒中含量最高的醇类物质,它是杂醇油的主要成分,赋予苹果酒白兰地香气和辛辣味<sup>[27]</sup>。苯乙醇是莽草酸类衍生物,具有一定的杀菌作用和诱人的玫瑰香

味<sup>[28]</sup>。正己醇和正辛醇分别表现出青草味和玫瑰花香、甜草药味<sup>[29]</sup>。

### 2.2.2 不同苹果酒中酯类香气物质比较

酯类物质是苹果酒中最重要的香气成分,主要来源于果实和酒精发酵,富含花香、果香和酒香<sup>[30]</sup>。嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳4种苹果酒中共检测出43种酯,分别检测出39种、28种、24种、25种,共有成分有18种,其中辛酸乙酯、癸酸乙酯、己酸乙酯、乙酸异戊酯、月桂酸乙酯、乙酸乙酯的含量较高,赋予了苹果酒水果香、花香、青苹果香、香蕉味。在本研究中,瑞阳酒酯类物质含量(5.05 mg/L)显著高于红星酒(4.88 mg/L)、嘎啦酒(4.48 mg/L)和瑞雪酒(4.40 mg/L)中的( $P < 0.05$ ),且瑞阳酒中的辛酸乙酯含量也显著高于其他三种酒的( $P < 0.05$ ),具有更浓郁的果香和花香。

### 2.2.3 不同苹果酒中醛、酮、酸类香气物质比较

醛酮类物质主要来源于发酵过程中的各类代谢途径,如糖、氨基酸和脂肪酸代谢等,能够增加果酒的水果香<sup>[31]</sup>。4种苹果酒中共有的醛类物质有乙醛、异戊醛和正己醛,赋予了苹果酒果香、苹果香、清香和草香。苯乙醛和壬醛仅在嘎啦酒中检测出,表明嘎啦酒具有更浓郁的甜芳香味、花香和柑橘味。此外,检测出3种酮类物质,分别为1-庚酮、2-辛酮和2-壬酮,三种物质在瑞雪酒和瑞阳酒均有检出,嘎啦酒中检测出了2-庚酮和2-壬酮,红星酒中仅检测出了2-辛酮。

在酒中,酸类物质主要来源于酒精发酵,其含量受发酵条件、营养物质含量和酵母类型影响,酸类物质浓度较低时呈奶酪香,较高时则会产生腐臭味,其可与醇类物质反应生成酯,提高酒体的协调性和平衡性<sup>[31-32]</sup>。4种苹果酒中共检测出7种酸,其中具有愉快脂肪气味的癸酸在4种酒中均有检出;瑞雪酒中癸酸含量最高,为272.98  $\mu\text{g/L}$ ,红星酒中癸酸含量最低,为107.75  $\mu\text{g/L}$ 。

### 2.2.4 不同苹果酒中萜烯及其他物质比较

萜烯类物质是植物次生代谢产物,多与花香及柠檬香有关,其香气阈值较低,即使在浓度较低时对酒体香气风格也有较大贡献<sup>[33]</sup>。本实验共检测出1,3,5,7-环辛四烯、d-柠檬烯和香茅醇3种萜烯类物质,其中1,3,5,7-环辛四烯仅在瑞雪酒中检出,含量为4.97  $\mu\text{g/L}$ ,d-柠檬烯仅在嘎啦酒中检出,含量为11.64  $\mu\text{g/L}$ 。4种酒中均检测出香茅醇,含量在12~15  $\mu\text{g/L}$ 之间,香茅醇具有柠檬味、青草味、丁香花香和蔷薇香。其他类化合物尽管种类和含量较少,但也有一定的贡献作用,本实验在嘎啦酒中检测出了异丁香酚、2,4-二叔丁基苯酚,能够赋予嘎啦酒丁香味和果香味。

## 2.3 不同苹果酒特征香气物质的分析

利用已报道的感觉阈值及香气描述相关文献计算香气物质的香气值<sup>[21,34-36]</sup>,据此确定样品的特征香气成分。香气值(odor activity value, OAV)是香气物质浓度与其香气阈值之比。香气值 $\geq 1$ 的香气物质可被认定为特征香气成

分,香气值越大,对整体香气的贡献也就越大;但香气值 $< 1$ 的物质也不容忽略,其同样能够增加酒体的香气及协调性。如表4所示,本实验共得到13种特征香气物质,嘎啦、红星、瑞雪、瑞阳酒分别有11种、8种、7种、7种。4种苹果酒共有的特征香气物质有6种,包括丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯。李记明等<sup>[37]</sup>研究发现,丁酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯及癸酸乙酯是苹果酒区别于其他酒的特征香味成分,与本实验研究结果一致。庚酸乙酯、9-癸烯酸乙酯、壬醛仅在嘎啦酒中的OAV值 $> 1$ ,说明这三种物质是嘎啦酒区别于其他三种酒的特征香气物质。乙酸己酯仅在红星酒中OAV值 $> 1$ ,说明红星酒和其他三种酒相比具有更浓郁的果香。辛酸-3-甲基丁酯仅在瑞阳酒中OAV值 $> 1$ ,说明瑞阳酒和其他三种酒相比其具有浓郁的梨香。

表4 不同苹果酒特征香气成分的香气值

Table 4 Odor activity value of characteristic aroma of different apple wines

香气名称	感觉阈值/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	OAV			
		嘎啦	红星	瑞雪	瑞阳
丁酸乙酯	20	2.13	1.04	1.08	1.19
2-甲基丁酸乙酯	0.2	114.22	133.24	141.78	86.71
乙酸异戊酯	200	1.10	1.47	1.24	1.57
2-甲基丁基乙酸酯	1.57	37.96	-	35.58	-
己酸乙酯	14	30.75	28.37	29.73	32.74
乙酸己酯	150	0.26	1.08	0.89	0.94
庚酸乙酯	2.2	7.40	-	-	-
辛酸乙酯	250	7.25	9.66	8.30	9.98
9-癸烯酸乙酯	100	1.11	0.61	-	-
癸酸乙酯	200	3.67	3.59	3.59	3.57
辛酸-3-甲基丁酯	125	0.71	0.61	0.99	1.30
正己醛	5	3.19	2.99	0.57	0.26
壬醛	1	18.18	-	-	-
月桂醛	2	-	-	-	24.02

注:“-”表示未检出该物质。

## 3 结论

苹果酒含有丰富的香气物质,且不同品种的苹果酒香气特性差异较大。电子鼻技术结合PCA和LDA方法,能够很好地区分陕西白水嘎啦、红星、瑞雪和瑞阳4个品种的苹果酒。采用SPME-GC-MS对4种苹果酒中的挥发性香气物质进行分析检测,共检测出76种挥发性香气物质,包括醇类11种、酯类43种、醛类7种、酮类3种、酸类7种、萜烯和其他5种,香气物质总量从高到低依次为瑞阳酒、嘎啦酒、红星酒和瑞雪酒。通过计算香气值得出了丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯为4种苹果酒共有的特征香气物质。通过电子鼻和气相色谱-质谱两



种技术的结合,从宏观和微观上研究苹果酒的香气物质,可为不同苹果酒的快速鉴别、酿造原料的选择及香气特性的综合评价提供参考。

### 参考文献:

- [1] 王璇,刘军弟,邵砾群,等.我国苹果产业年度发展状况及其趋势与建议[J].中国果树,2018(3):101-104.
- [2] 张永茂.研发苹果高度蒸馏酒化解苹果产业潜在危机[J].中国农村科技,2016(8):43-45.
- [3] JOSHI V K, SANDHU D K, KUMAR V. Influence of addition of insoluble solids, different yeast strains and pectinesterase enzyme on the quality of apple wine[J]. *J I Brewing*, 2013, 119(3): 191-197.
- [4] 程拯良,黄佳,苗壮,等.果胶酶和浸渍处理对苹果酒香气成分的影响[J].西北农业学报,2017(1):79-86.
- [5] 杨颖迪,李闯,彭帮柱.苹果酒香气成分代谢研究进展[J].食品工业科技,2018,39(19):320-326.
- [6] 陆宽,王雪雅,孙小静,等.电子鼻结合顶空 SPME-GC-MS 联用技术分析贵州不同品种辣椒发酵后挥发性成分[J].食品科学,2018,39(4):199-205.
- [7] 杨利军,汤旭祥,张千金,等.基于智能电子鼻系统对不同品牌啤酒区分[J].食品科学,2011,32(22):184-187.
- [8] 亓培锋,孟庆浩,井雅琪,等.用于白酒识别的电子鼻数据分析与参数优化[J].天津大学学报,2015(7):643-651.
- [9] 李静,宋飞虎,浦宏杰,等.基于电子鼻的白酒品质检测[J].食品与发酵工业,2015,41(4):160-164.
- [10] XIAO Z, YU D, NIU Y, et al. Characterization of aroma compounds of Chinese famous liquors by gas chromatography-mass spectrometry and flash GC electronic-nose[J]. *J Chromatogr B*, 2014, 945-946: 92-100.
- [11] LAN Y, WU J, WANG X, et al. Evaluation of antioxidant capacity and flavor profile change of pomegranate wine during fermentation and aging process[J]. *Food Chem*, 2017, 232: 777-787.
- [12] LIU M, HAN X, TU K, et al. Application of electronic nose in Chinese spirits quality control and flavour assessment[J]. *Food Control*, 2012, 26(2): 564-570.
- [13] BERNA A Z, TROWELL S, CLIFFORD D, et al. Geographical origin of Sauvignon Blanc wines predicted by mass spectrometry and metal oxide based electronic nose[J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 648(2): 146-152.
- [14] CYNKAR W, DAMBERGS R, SMITH P, et al. Classification of Tempranillo wines according to geographic origin: Combination of mass spectrometry based electronic nose and chemometrics[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 660(1-2): 227-231.
- [15] CAPONE S, TUFARIELLO M, FRANCIOSIO L, et al. Aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to Negroamaro and Primitivo typical Italian Apulian wines[J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2013, 179: 259-269.
- [16] WEI Z B, XIAO X Z, WANG J, et al. Identification of the rice wines with different marked ages by electronic nose coupled with smartphone and cloud storage platform[J]. *Sensors*, 2017, 17(11): 2500.
- [17] 董画,何雨,薛桂新.电子鼻技术对山葡萄酒酒龄的识别[J].中国酿造,2018,37(10):92-97.
- [18] YU H, DAI X, YAO G, et al. Application of gas chromatography-based electronic nose for classification of Chinese rice wine by wine age[J]. *Food Anal Met*, 2014, 7(7): 1489-1497.
- [19] 董画,何雨,薛桂新.电子鼻技术对哈达山白酒中掺兑酒精的鉴别[J].中国酿造,2018,37(9):49-53.
- [20] APETREI I M, RODRÍGUEZ-MÉNDEZ L, APETREI C, et al. Monitoring of evolution during red wine aging in oak barrels and alternative method by means of an electronic panel test[J]. *Food Res Int*, 2012, 45(1): 244-249.
- [21] 赵宁,魏新元,樊明涛,等.SPME-GC-MS结合电子鼻技术分析不同品种猕猴桃酒香气物质[J].食品科学,2019,40(22):249-255.
- [22] XU J N, QI Y M, ZHANG J, et al. Effect of reduced glutathione on the quality characteristics of apple wine during alcoholic fermentation [J]. *Food Chem*, 2019, 300: 125130.
- [23] 费雅君,白雪,康小红,等.LDA优化电子鼻传感器阵列的研究[J].食品与机械,2012,28(1):97-100.
- [24] 潘冰燕,鲁晓翔,张鹏,等.GC-MS结合电子鼻分析1-MCP处理对线辣椒低温贮藏期挥发性物质的影响[J].食品科学,2016,37(2):238-243.
- [25] IVANOVA V, STEFOVA M, VOJNOSKI B, et al. Volatile composition of macedonian and hungarian wines assessed by GC/MS[J]. *Food Bioproc Technol*, 2013, 6(6): 1609-1617.
- [26] 王咏梅,史红梅,陈迎春,等.不同冷浸渍时间对贵人香葡萄酒品质影响的研究[J].食品工业科技,2016,37(6):68-73.
- [27] 王洋洋,王积武,吴志莲,等.不同酵母菌株发酵苹果酒香气成分比较[J].食品工业,2016,37(8):280-284.
- [28] 谢春梅,焦红茹,曹芳玲.宁夏青铜峡小产区不同品种干红葡萄酒的香气成分分析[J].中国酿造,2018,37(1):170-176.
- [29] XIAO Z, WU Q, NIU Y, et al. Characterization of the key aroma compounds in five varieties of mandarins by gas chromatography-olfactometry, odor active values, aroma recombination, and omission analysis[J]. *J Agr Food Chem*, 2017, 65(38): 8392-8401.
- [30] 周文杰,张芳,王鹏,等.基于GC-MS/GC-O结合化学计量学方法研究库尔勒香梨酒的特征香气成分[J].食品科学,2018,39(10):222-227.
- [31] 刘亚娜,杨华,郭德军.3种酵母发酵生产红树莓酒香气成分的GC-MS分析[J].食品科学,2015,36(12):160-165.
- [32] 杨婷,祝霞,赵宾宾,等.不同酿酒酵母对甜瓜酒香气品质的影响分析[J].食品科学,2015,36(14):145-150.
- [33] CAI J, ZHU B Q, WANG Y H, et al. Influence of pre-fermentation cold maceration treatment on aroma compounds of Cabernet Sauvignon wines fermented in different industrial scale fermenters[J]. *Food Chem*, 2014, 154: 217-229.
- [34] 李维妮,郭春锋,张宇翔,等.气相色谱-质谱法分析乳酸菌发酵果汁香气成分[J].食品科学,2017(4):152-160.
- [35] 李娜娜,束廷廷,梁艳英,等.不同采收期对爱格丽葡萄酒及蒸馏酒香气成分的影响[J].食品科学,2018,39(2):215-221.
- [36] 王雪薇,王舸楠,江伟,等.新疆产区不同品种葡萄酒香气成分分析[J].中国酿造,2018,37(11):159-165.
- [37] 李记明,段辉,赵荣华,等.苹果酒主要风味成分的分析研究[J].食品科学,2007,28(12):362-365.