

吴娟弟, 牛见明, 张 波, 等. 国产辽东栎和蒙古栎挥发性物质提取工艺优化及其香气轮廓分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(6): 1559-1568.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.06.028

国产辽东栎和蒙古栎挥发性物质提取工艺优化及其香气轮廓分析

吴娟弟, 牛见明, 张 波, 杨 博, 张 瑜, 王莹捷, 韩舜愈

(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃省葡萄与葡萄酒工程学重点实验室, 甘肃省葡萄与葡萄酒产业技术研发中心, 甘肃兰州 730070)

摘要: 对国产辽东栎和蒙古栎中挥发性成分的水浴加热浸提工艺进行了单因素试验和响应面优化试验。结果表明: 影响其挥发性物质提取效率的主次因素分别为提取温度(60 ℃)>酒精体积分数(50%)>提取时间(12 h)>提取次数(2次)。利用此优化条件, 以法国产橡木为对照, 对国产辽东栎和蒙古栎进行挥发性化合物分析, 在法国产橡木、国产辽东栎和国产蒙古栎中分别鉴定出 79、88 和 77 种挥发性物质组分。对上述橡木进行香气轮廓模拟分析, 结果显示国产辽东栎和蒙古栎与法国产橡木的气味特点较为相似, 均表现出浓郁的糠醛、烤面包气味和橡木香, 但是国产辽东栎在烟熏味和香草香方面更为突出。

关键词: 国产橡木; 挥发性物质; 提取工艺优化; 响应面法; 香气轮廓模拟

中图分类号: TS262.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)06-1559-10

Extraction process optimization of volatile components and aroma profile analysis in *Quercus liaotungensis* Koidz and *Q. mongolica* Fisch

WU Juan-di, NIU Jian-ming, ZHANG Bo, YANG Bo, ZHANG Yu, WANG Ying-jie, HAN Shun-yu

(Gansu Key Laboratory of Viticulture and Enology, Research and Development Center of Wine Industry, Gansu Province, College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To optimize the extraction process of volatile components in *Quercus liaotungensis* Koidz and *Q. mongolica* Fisch, the single factor and response surface experiments were used to determine the optimal water bath heating extraction process of the volatile matter. The results showed that the primary and secondary factors affecting the extraction efficiency of aroma compounds in oak followed the order of extraction temperature (60 ℃)> ethanol volume fraction (50%)> extraction time (12 h)> extraction times (two times). Under the optimized process conditions, the number of volatile matter in *Q. liaotungensis* Koidz, *Q. mongolica* Fisch and *Q. acutissima* Caruth was 88, 77 and 79. Meanwhile, the results showed that the aroma profiles of the three kinds of oak were similar, and they all had strong furfural, toast and oak aroma. But *Q. liaotungensis* was more prominent in smoke and vanilla characteristics.

Key words: domestic oak; volatile components; optimization of extraction process; response surface method; aroma profile simulation

收稿日期: 2020-10-02

基金项目: 甘肃省商务厅葡萄酒产业发展项目(2018-06); 甘肃农业大学伏羲人才“青年英才培养计划”项目(Ganfx-02Y06)

作者简介: 吴娟弟(1996-), 女, 甘肃会宁人, 硕士研究生, 主要从事葡萄酒风味化学研究。(Tel) 15193142893; (E-mail) wjd256020@163.com。牛见明为共同第一作者。

通讯作者: 张 波, (Tel) 13919375109; (E-mail) zhangbo@gsau.edu.cn

香气是评价葡萄酒品质的重要指标之一, 影响其感官质量、内在品质和商品价值。研究发现, 葡萄酒的香气除受葡萄品种、环境条件、栽培管理和酿造

工艺等因素影响外,陈酿方式及贮藏环境也对其延续和发展良好风味起关键性作用^[1]。而利用橡木制品来改善和增强葡萄酒的香气被认为是其中的重要环节^[2]。橡木木材中特有的挥发性成分在赋予葡萄酒香草、木质、烘烤、椰子等风味特征的同时,也可与酒中原有的香气物质通过协同、叠加等作用,使酒体的芳香物质复杂性增加,对葡萄酒整体香气有较大贡献^[3]。因此,对于葡萄酒风味化学而言,测定和分析葡萄酒的陈酿香气,尤其是研究来自橡木中的挥发性香气物质与研究葡萄酒的品种和发酵香气同等重要。特别对于中国而言,分布于东北长白山至大兴安岭一带,以及暖温带落叶林区的辽东栎(*Quercus liaotungensis* Koidz)和蒙古栎(*Q. mongolica* Fisch)已被认为是较为理想的酿酒用加工材料,但是有关其挥发性物质提取及香气成分分析的研究目前还鲜有报道。

从橡木中鉴定出的挥发性化合物已有 200 多种^[4],这其中既有人较为熟悉的香草醛、橡木内酯等酚醛和内酯类成分,也有一些可产生烤面包香及烟熏味道的呋喃类和挥发性酚类组分^[5]。同时,由于橡树地理起源、橡木品种和木桶生产工艺等的不同^[6],使得橡木中的挥发性物质数量和含量有较大差别。而随着检测技术和分析设备的不断发展,一些新的挥发性化合物正逐渐被检测和鉴定出。这些物质在丰富橡木香气组成的同时,也为橡木挥发性物质的分析提出了更高的要求。为此,优化合理的挥发性物质提取方法并研究其气味特点便成为研究国产辽东栎和蒙古栎香气首要解决的关键问题之一。

资料显示,常用于木质中挥发性成分提取的方法主要有避光条件下的浸泡提取法^[7]、回流提取法、超声波辅助提取法和搅拌提取法等^[8]。其中,浸泡法主要是利用有机溶剂,在避光条件下对橡木制品浸泡数日(一般为 15 d 左右),且每日定时摇瓶以促进挥发性物质溶解、扩散^[7]。尽管该方法在提取物质时相对自然温和,但存在耗时长、效率低的缺点,不方便样品的快速测定。回流提取法是利用易挥发的有机溶剂通过加热蒸馏,以及冷凝回流的方式反复提取原料中有效成分的方法。不过回流操作依然有用时较长,并存在提取液中香气成分受热损失等问题^[8]。李皓等^[9]利用超声波处理具有较高初始提取速率的特点,辅助提取橡木中挥发性成分。

虽然改进后的方法克服了浸泡提取法和回流提取法操作时间问题,但超声波提取对设备的要求较高,试验条件严格,对体系中物理性质不稳定的香气成分还容易造成破坏,因此在使用时仍有障碍^[10]。而搅拌提取法尽管具有节能、污染小、设备简单等优点^[10],但用于提取橡木香气物质时,获得的香气种类较少,也不适合样品后期的分析要求^[8]。

水浴加热浸提法通常是指提取材料在一定温度的水浴环境中浸渍提取的方法,具有温度均匀、避免暴沸、易于控制等优点^[11]。同时,为增加提取效率,在操作中还可使用有机溶剂来促进物质的溶出,以获得较好的试验效果,并且该方法成本低,无污染,操作简便,结果准确^[12]。因此,采用水浴加热浸提法来提取橡木中挥发性成分将是改善现有提取措施的有效方法之一。本试验拟采用水浴加热浸提法优化提取国产辽东栎和蒙古栎等橡木中的挥发性成分,并以法国产橡木为参照,研究其主要的气味特征,并勾勒出香气轮廓,以期国产辽东和蒙古栎增强葡萄酒的香气提供一定的数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

辽东栎(*Q. liaotungensis* Koidz)和法国产橡木(*Q. acutissima* Caruth),日照红上实业有限公司产品;蒙古栎(*Q. mongolica* Fisch),黑龙江凯盛工艺制品厂产品。以上试验用橡木片均为中度烘烤类型 $[(200 \pm 10) ^\circ\text{C}, 30 \text{ min}]$,测定前粉碎,过 20 目备用。

1.2 试剂与仪器

主要试剂:邻香草醛、 γ -己内酯、3,4-二甲基苯酚、2-辛醇,均为色谱级,美国 Sigma-Aldrich 公司产品;无水乙醇、二氯甲烷均为色谱纯,酒石酸、酒石酸氢钾、NaCl、 Na_2SO_4 均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司产品。

主要仪器:PHS-3C pH 计,上海雷磁有限责任公司生产;TRACE 1310 气相色谱仪,ISQ 型单四级杆质谱仪,美国 Thermo Scientific 公司生产;DB-5 色谱柱(60 m \times 2.5 mm \times 0.25 μm),美国 Agilent Technologies 公司生产;H2050R 台式高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司生产;SHA-B 水浴恒温振荡器,天津市赛得利斯实验分析仪器制造厂生产;MGS-HEAT 氮吹仪,日本 EYELA 东京理化器械株式会社生产;涡旋仪,美国 Scientific Industries 公

司生产。

1.3 试验方法

1.3.1 橡木中挥发性物质提取

1.3.1.1 单因素试验设计 (1)提取温度对橡木中挥发性物质的影响:准确称取 10 g 橡木粉于 250 ml 的棕色小瓶,加入 100 ml 50%(体积分数)的酒精溶液(50%酒精,3.80 g/L 酒石酸,1.11 g/L 酒石酸氢钾,调节 pH 至 3.2),密封后于水浴摇床中振荡浸提。水浴温度分别为 30 ℃、40 ℃、50 ℃、60 ℃、70 ℃,振荡速度 130 r/min,12 h 后抽滤分离,收集滤液。将橡木粉按照上述浸提方式进行第 2 次提取,最后将 2 次收集的滤液混合,并稀释至乙醇体积分数 10%后于 4 ℃冰箱中保藏待测。试验重复 3 次。(2)提取时间对橡木中挥发性物质的影响:准确称取 10 g 橡木粉于 250 ml 的棕色小瓶,加入 100 ml 50%的酒精溶液(50%酒精,3.80 g/L 酒石酸,1.11 g/L 酒石酸氢钾,调节 pH 至 3.2),密封后于水浴摇床中振荡浸提。水浴温度为 50 ℃,振荡速度 130 r/min,提取时间分别为 6 h、12 h、18 h、24 h、36 h。其余操作同(1),试验重复 3 次。(3)酒精体积分数对橡木中挥发性物质的影响:准确称取 10 g 橡木粉于 250 ml 的棕色小瓶,分别加入 100 ml 10%、25%、50%、75%、100% 的酒精溶液(3.80 g/L 酒石酸,1.11 g/L 酒石酸氢钾,调节 pH 至 3.2),密封后于水浴摇床中振荡浸提。水浴温度为 50 ℃,振荡速度 130 r/min,提取时间为 12 h。其余操作同(1),试验重复 3 次。(4)提取次数对橡木中挥发性物质的影响:准确称取 10 g 橡木粉于 250 ml 的棕色小瓶,加入 100 ml 50%的酒精溶液(50%酒精,3.80 g/L 酒石酸,1.11 g/L 酒石酸氢钾,调节 pH 至 3.2),密封后于水浴摇床中振荡浸提。水浴温度为 50 ℃,振荡速度 130 r/min,提取时间为 12 h,分别提取 1、2、3、4、5 次。其余操作同(1),试验重复 3 次。

1.3.1.2 响应面试验设计 在单因素试验基础上,利用 Design-Expert V8.0.6 软件进行响应面设计优化(表 1)。

1.3.1.3 试验效果评价方法 试验结果以橡木中挥发性物质含量和种类的综合得分为评价指标进行分析,综合评价总分为 100 分(含量 50 分+种类 50 分)^[13]。每个因素下香气物质含量总和最高的处理赋予 50 分,其他处理得分为其各种香气含量的总和与含量总和最高值的比值乘以 50;种类得分为含有

筛选的 21 种香气物质(糠醛、5-甲基糠醛、5-羟甲基糠醛、香草醛、丁香醛、松柏醛、反式-芥子醛、香草乙酮、乙酰丁香酮、香草酸、丁香酸、反式-芥子醇、愈创木酚、4-乙基愈创木酚、4-乙烯基愈创木酚、2,6-二甲氧基苯酚、丁香酚、4-丙基愈创木酚、反式-橡木内酯、顺式-橡木内酯、麦芽酚)的处理赋予 50 分,其他处理得分为该处理的香气物质种类与 21 的比例乘以 50,各处理的综合得分为含量得分与数量得分之和。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface tests

水平	因素			
	提取温度 A (℃)	提取时间 B (h)	酒精体积 分数 C(%)	提取次数 D
-1	50	6	25	1
0	60	12	50	2
1	70	18	75	3

1.3.2 橡木中挥发性物质分析

1.3.2.1 挥发性物质的液-液萃取 参照本实验室方法。称取 5 g NaCl 于 50 ml 离心管中,加入 20 ml 橡木提取液,并加入混合内标及 5 ml 色谱级二氯甲烷萃取,振荡混匀。于 4 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,收集下层有机相。萃取过程重复 2 次,合并有机相,添加 1.5 g Na₂SO₄干燥,氮吹至 1 ml,用 0.22 μm 有机系微孔过滤膜过滤后备用。

1.3.2.2 气相色谱-质谱(Gas chromatography-mass spectrography,GC-MS)分析 GC 条件:进样口温度 250 ℃,载气氦气,流速 2 ml/min;进样量 1 μl,不分流。升温程序:初温 50 ℃;7 ℃/min 升至 120 ℃,保持 5 min;以 2 ℃/min 升至 200 ℃;以 10 ℃/min 升至 240 ℃,保持 10 min。MS 条件:EI 离子源(70 eV),离子源温度 230 ℃;扫描范围 m/z 为 25~350。

定性分析:采用保留指数(RI)、NIST-11、Wiley 及香精香料谱库检索进行定性。谱库比对要求正负匹配度均大于 800。保留指数计算公式:

$$RI = 100 \times n + 100 \times \frac{t - t_n}{t_{n+1} - t_n}$$

式中: n 和 $n+1$ 分别为未知物流出前、后正构烷烃碳原子数, t_n 和 t_{n+1} 分别为相应正构烷烃的保留时间, t 为未知物在气相色谱中的保留时间($t_n < t < t_{n+1}$)。

定量分析:采用内标法进行半定量,挥发性成分含量计算公式为:各挥发性成分含量($\mu\text{g/L}$)=各挥发性物质的峰面积 \times 内标物质量浓度($\mu\text{g/L}$)/内标物峰面积

1.3.3 挥发性物质的香气轮廓模拟 参照 Garcia-Carpintero 等^[14]方法,并略作修改。根据葡萄酒研究中广泛使用的橡木香气描述^[15],将橡木香气分为 12 种类型(丁香花香、香草香、橡木辛香、橡木香、新鲜木材味、新皮革味、药材味、椰子香、烤面包香、糠醛味、甘草味和烟熏味)。样品中检测到的主要挥发性物质按其气味特征进行分组,特征类似的物质归为同类,并计算该类的气味活性值(OAV)总和,对样品的香气轮廓进行模拟。

1.3.4 试验数据处理 利用 Microsoft Office Excel 2010 和 Origin 2018 对试验数据进行处理及作图,使用 IBM SPSS Statistics 20 进行显著性分析(Duncan 法, $P<0.05$)。

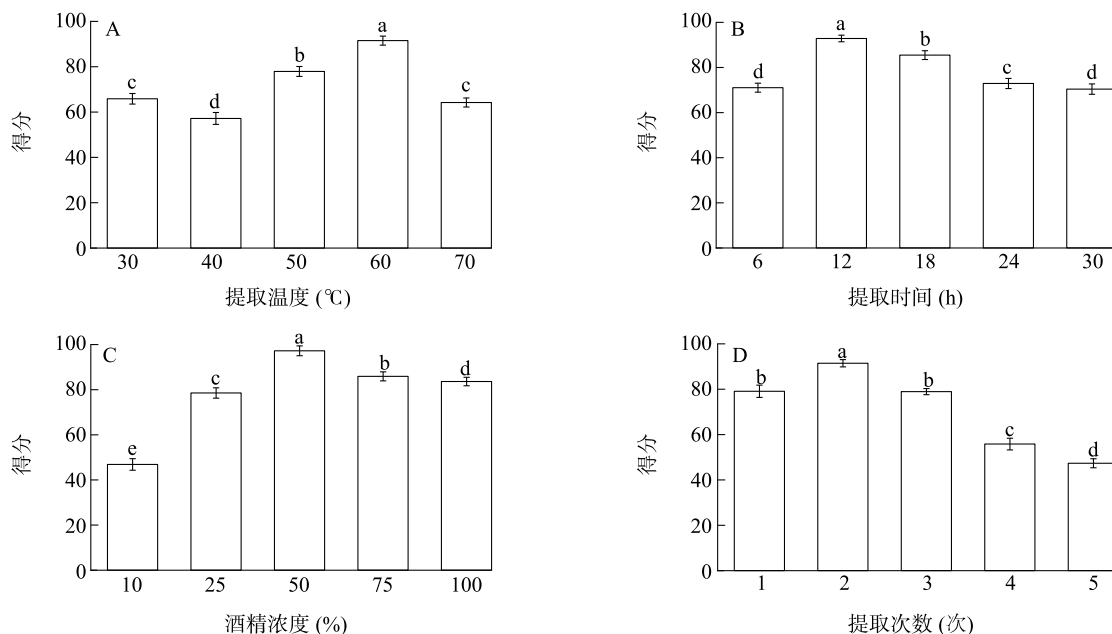
2 结果与分析

2.1 橡木挥发性物质提取工艺的单因素试验

在香气物质的提取过程中,温度是控制挥发性物质释放的主要影响因素,不同的温度会影响试验样品中香气物质的逸散^[16]。同时,Niu 等^[17]在研究

4 种不同溶剂(水、酒精、乙醚和二氯甲烷)时发现,酒精效果较好,且挥发物质的提取效率还与酒精体积分数有关。此外,有研究表明,一般在浸提过程中提取时间越长、提取次数越多,浸提率越高,但是浸提时间过长、次数过多则容易造成香气物质损失^[18]。因此,基于以上几点原因,本试验选择提取温度、酒精体积分数、提取时间和提取次数为考察因素,研究其对橡木挥发性物质提取效果的影响。

由图 1 可知,当提取温度从 30 $^{\circ}\text{C}$ 增加到 70 $^{\circ}\text{C}$ 的过程中,挥发性化合物的综合得分呈现波动变化趋势,并且在提取温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 时,挥发性物质提取评价得分最高(90.16~92.86 分),相比于邻近的 50 $^{\circ}\text{C}$ 和 70 $^{\circ}\text{C}$,分别提高了 14.86% 和 29.82%。分析具体的得分构成可以看到,温度的提高会造成部分挥发性物质如愈创木酚、4-乙烯基愈创木酚等物质含量的减少,甚至还有未检测出的现象。这可能是因为提取温度的升高,可加快溶液中分子的热运动和扩散速度,使得被提取物质较易溶出^[19]。但是当温度过高时,热不稳定的一些挥发性物质又容易被破坏,反而使其含量有所下降^[20]。所以出现了橡木中挥发性物质含量呈现先增加后降低的变化,使得各温度处理的相应得分也表现为先升高后降低的趋势。因此,初步确定 60 $^{\circ}\text{C}$ 为较适提取温度。



不同小写字母表示各处理间存在显著差异($P<0.05$)。

图 1 提取温度(A)、提取时间(B)、酒精体积分数(C)、提取次数(D)对橡木挥发性物质提取的影响

Fig.1 Effects of extraction temperature (A), extraction time (B), ethanol volume fraction (C) and extraction times (D) on the extraction of oak volatile substances

随着提取时间的增加,综合得分变化也呈现先增加后减小的“单峰型”趋势,当提取时间为 12 h 时达到极值。这时从样品中检测出的挥发性物质种类为 18 种,含量为 22 815.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。此后,随着提取时间的延长,综合得分有所回落。可能是因为提取时间过长造成提取溶剂的挥发损失,从而导致香气物质得率的降低。有研究结果表明,浸提时间过长还会增加提取液中杂质的含量,反而不利于提取率的提高^[20]。因此,为了获得较好的试验效果,我们初步选择提取时间为 12 h。

酒精作为提取溶剂具有毒性小、应用广泛的特点^[20]。由图 1 可知,橡木中挥发性物质的综合得分随酒精体积分数的提高而不断增加,当酒精体积分数为 50% 时,综合得分最高,分别是 10% 和 25% 时的 2.07 和 1.24 倍。这其中由挥发性物质含量增加引起的得分变化最为明显(13.43~50.00 分, $P < 0.05$),分别由 10% 时的 15 798.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$,逐渐提高至 25% 和 50% 时的 36 110.93 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 57 947.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。但当继续增大酒精体积分数时,香气化合物得分却随酒精体积分数的提高反而下降,这与李皓等^[9]的研究结果相似。这可能与橡木材料在不同体积分数酒精溶液中的浸润度有关。在浸提过程中,酒精溶液首先浸润橡木表面,并逐渐进入橡木组织及细胞内部,使得其中极性高、亲水性高的挥发性物质被逐渐溶出。但是在这过程中,橡木中的其他一些物质也会因高体积分数酒精的溶胀作用,导致其体积发生变化,从而影响酒精对橡木的浸润和渗透,致使浸提效果下降^[21]。因此,选择 50% 为较优的酒精体积分数。

提取 2 次的综合得分最高(90.05~92.86 分),挥发性物质含量与种类得分分别为 47.17~50.00 分和 42.86 分。继续增加提取次数时,挥发性物质的含量和种类得分均出现下降。可能是由于部分挥发性的酚、醇及醛类物质随着提取次数的增加而减少造成的,这与何理琴等的研究结果相似^[22]。因此,从增加提取次数会引起提取过程中挥发性物质损失等不利影响考虑,以及减少溶剂浪费、节约提取成本的角度出发,较佳提取次数为 2 次。

2.2 橡木挥发性物质提取工艺的响应面试验

2.2.1 响应面试验结果 采用 Design-Expert V8.0.6 试验设计软件,根据单因素试验结果进行响应面优化,结果如表 2 所示。

表 2 Box-Behnken Design 响应面试验方案及结果

Table 2 Box-Behnken design response surface experiment scheme and results

序号	因素				得分
	提取温度 A ($^{\circ}\text{C}$)	提取时间 B (h)	酒精体积 分数 C (%)	提取次数 D	
1	60	12	75	3	74.48
2	60	6	25	2	71.79
3	60	18	75	2	70.39
4	50	18	50	2	78.00
5	60	18	25	2	71.39
6	70	12	50	3	74.91
7	70	12	75	2	59.69
8	60	18	50	1	68.17
9	60	6	75	2	65.45
10	50	12	50	1	83.44
11	60	18	50	3	84.31
12	50	12	25	2	62.61
13	70	12	50	1	59.12
14	60	12	50	2	97.62
15	60	12	50	2	96.99
16	50	12	75	2	65.46
17	60	12	50	2	89.42
18	60	6	50	1	88.26
19	70	18	50	2	59.36
20	60	12	25	3	79.39
21	60	12	50	2	97.49
22	50	6	50	2	70.02
23	60	12	75	1	70.83
24	60	12	50	2	96.80
25	50	12	50	3	66.28
26	70	12	25	2	66.93
27	60	6	50	3	64.87
28	70	6	50	2	56.13
29	60	12	25	1	77.39

2.2.2 响应面回归模型的方差分析及显著性检验

对表 2 所得结果进行多元线性回归拟合,得到提取温度(A)、提取时间(B)、酒精体积分数(C)和提取次数(D)与综合得分的回归方程:

$$Y = 95.66 - 4.14A + 1.26B - 1.93C - 0.25D - 1.19AB - 2.52AC + 8.24AD + 1.34BC + 9.88BD + 0.41CD - 17.95A^2 - 12.18B^2 - 13.73C^2 - 6.76D^2$$

由回归模型的方差分析及显著性检验结果可知(表 3),其模型的 $F = 19.06$, $P < 0.01$,且失拟项 $P =$

0.410 5 > 0.05 (不显著), 表明可用该模型来代替试验操作对响应面结果进行分析。同时, 模型决定系数 $R^2 = 0.950 2$, 矫正决定系数 $R_{Adj}^2 = 0.900 3 > 0.9$, $R_{pred}^2 = 0.760 4$, 表明回归方程对该试验数据的拟合度良好, 试验误差小, 可信度高^[23]。此外, 对模型进行回归方程系数显著性检验, 其中一次项 A 显著, 但 B 、 C 、 D 项不显著; 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 项均显著, 交互项 AD 、 BD 显著, 而其余项不显著。由 F 值和 P 值可知, 4 个因素对橡木香气物质提取效率的影响大小依次为 $A > C > B > D$ 。

表 3 回归模型方差分析及显著性检验

Table 3 Variance analysis and significance test of regression model

误差来源	平方和	自由度 (df)	均方和	F 值	P 值	显著性
模型	4 133.34	14	295.24	19.06	<0.000 1	**
A	205.59	1	205.59	13.27	0.002 7	**
B	19.00	1	19.00	1.23	0.286 7	
C	44.85	1	44.85	2.90	0.110 9	
D	0.74	1	0.74	0.047	0.830 7	
AB	5.64	1	5.64	0.36	0.555 8	
AC	25.45	1	25.45	1.64	0.220 7	
AD	271.43	1	271.43	17.52	0.000 9	**
BC	7.13	1	7.13	0.46	0.508 6	
BD	390.66	1	390.66	25.22	0.000 2	**
CD	0.68	1	0.68	0.044	0.837	
A ²	2 089.85	1	2 089.85	134.93	<0.000 1	**
B ²	961.61	1	961.61	62.09	<0.000 1	**
C ²	1 220.69	1	1 220.69	78.81	<0.000 1	**
D ²	296.59	1	296.59	19.15	0.000 6	**
残差	216.84	14	15.49			
失拟项	167.64	10	16.76	1.36	0.410 5	
纯误差	49.20	4	12.30			
总误差	4 350.18	28				4

A: 提取温度; B: 提取时间; C: 酒精体积分数; D: 提取次数。* 表示考察因素对提取效果有显著影响 ($P < 0.05$); ** 表示考察因素对提取效果有极显著影响 ($P < 0.01$)。

2.2.3 响应面交互作用分析结果 进一步研究各因素及其交互作用对橡木中挥发性物质提取效果的影响, 结果 (图 2) 表明, 提取温度和提取次数、提取时间和提取次数之间的相互作用较强, 对挥发性物质的提取效果影响显著, 与表 3 中回归方程的显著性分析结果一致。

通过回归方程求解得到橡木中挥发性物质提取的最佳参数: 提取温度 58.68 °C、提取时间 12.12 h、酒精体积分数 48.55%、提取次数 1.91 次, 此时综合得分为 96.02 分。考虑实际操作情况, 对上述参数修订 (提取温度 60 °C、提取时间 12 h、酒精体积分数 50%、提取次数 2 次) 后进行验证试验, 所得分数为 97.62 分, 与预测值相近 ($P < 0.05$), 说明该回归模型所优化的参数具有较高的可行性, 可用于实际操作。

2.3 国产辽东栎和蒙古栎中挥发性物质的测定分析

利用上述最佳工艺对国产辽东栎和蒙古栎的挥发性物质进行浸提和分析 (法国产橡木为对照), 结果显示: 辽东栎中共检测出 88 种挥发性物质 (酚醛类 19 种、挥发性酚类 17 种、呋喃类 12 种、内酯类 5 种、其他 35 种), 其中乙酸糠酯、1-羟基-2-丁酮、 γ -丁内酯、 γ -庚内酯、2-甲基-2-环戊烯酮、2-甲基-2-戊烯酸、乙酰丙酸、乙酸薄荷酯等 8 种为其特有; 蒙古栎 77 种 (酚醛类 20 种、挥发性酚类 15 种、呋喃类 10 种、内酯类 3 种、其他 29 种), 其中糠酸甲酯、4-羟基二氢-2(3H)-呋喃、3,4-二甲氧基苯乙酮、反式-松柏醇、吡喃酮、丁酸等 6 种为其特有; 法国产橡木中挥发性成分为 79 种 (酚醛类 20 种、挥发性酚类 15 种、呋喃类 10 种、内酯类 3 种、其他 31 种), 其中顺式-异丁香酚、芥子醛、香草醛乙醚、2-环己烯-1-酮、烟酸甲酯、二氢-3-氧代-紫罗兰醇等 6 种为其特有。参考已有的文献资料^[15,24-29], 并综合考虑各挥发性物质的阈值是否可查到等因素, 筛选出 3 种橡木的主要物质 (表 4) 进行后续分析。

2.4 国产辽东栎和蒙古栎的香气轮廓模拟

从表 4 可知, 样品中香草醛、愈创木酚、4-乙基愈创木酚、4-乙基愈创木酚、反式-异丁香酚、 γ -丁内酯、顺式-橡木内酯和十二醛的 OAV 值均大于 1, 并且这些物质的 OAV 值在不同橡木样品间存在明显差异。例如, 法国产橡木中顺式-橡木内酯的 OAV 值要比辽东栎与蒙古栎分别高出 76.39% 和 39.79%, 而香草醛的 OAV 值在辽东栎中最高。由于实际香气贡献与各挥发性物质的 OAV 值有关^[30], 因此为了直观体现不同橡木所具有的香气特征, 我们对其香气轮廓进行模拟 (图 3)。

从图 3 香气轮廓可以看出, 国产辽东栎香气特征主要是糠醛味、橡木香、新鲜木材味、丁香花香、椰

子香、烤面包香及烟熏味、香草香等,这与法国产橡木有较为相似的特征,可能同其所具有较高含量十二醛、反式-异丁香酚、顺式/反式-橡木内酯、丁香酚、4-丙基愈创木酚和麦芽酚等物质有关。同时,国产辽东栎在烟熏味和香草香方面要明显高于法国产橡木,这主要与其具有较高含量的十二醛、香草醛等物质相对应。因此,推测其可赋予葡萄酒丰富的烟熏、烘烤味^[15],以及奶油香、香草和丁香^[31]等香气。国产蒙古栎与对照的法国产橡木相比没有突出的表现,其整体香气特征虽低于法国产橡木,但是其椰子

香和新鲜木材味的 OAV 值要明显高于辽东栎,这将为葡萄酒体现上述风味特点提供帮助。此外,值得注意的是,本试验检测出的 4-乙基愈创木酚的 OAV 值在所有样品中均较高,该物质当 OAV 值大于 1 时易产生马厩、药水等不良气味^[25],所以要警惕其可能产生的负面影响。当然,橡木中的香气成分较为复杂,进入葡萄酒后将通过叠加、协作、抑制等作用影响葡萄酒整体的风味^[24],所以有关上述橡木挥发性物质对葡萄酒香气的贡献还需做进一步研究。

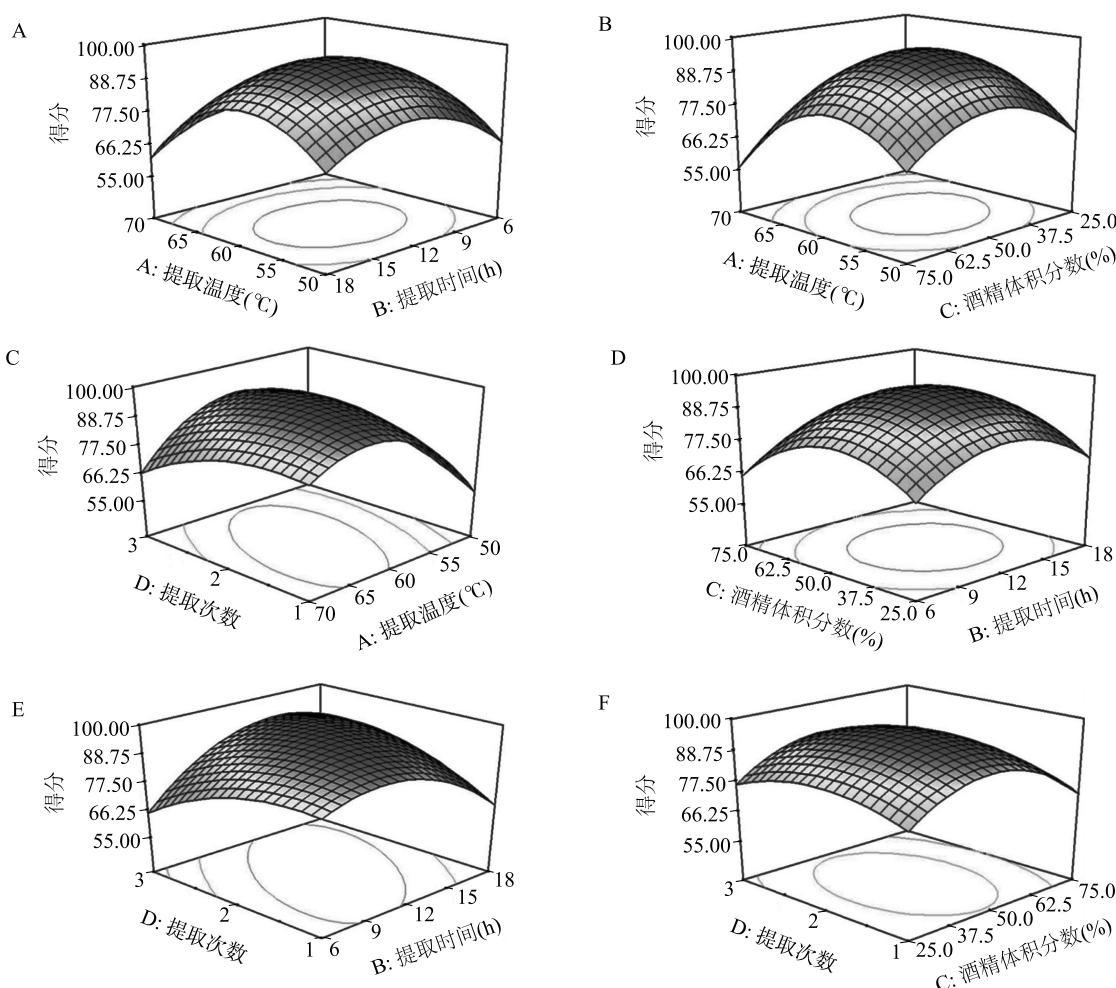


图2 因素间交互作用对橡木挥发性物质提取得分的影响

Fig.2 Effects of interaction among factors on extraction score of volatile compounds in oaks

3 讨论

为了快速有效地提取橡木中挥发性物质,本试验利用单因素试验和响应面试验对水浴浸提法进行了优化。优化后的方法与传统浸泡提取至少

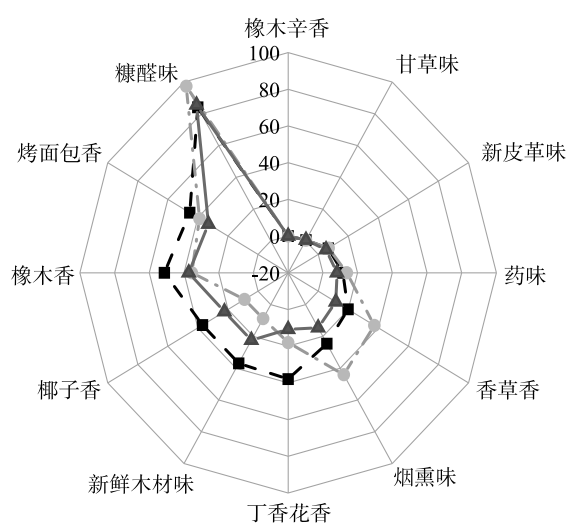
需要 15 d 相比,可大大减少时间消耗,还能克服传统浸泡和回流方法存在的选择性低、分析时间长、效率低等缺点。此外,该方法相比于超声波提取法,所用的设备简易,因此操作更为简便。但是,目前有关挥发性物质提取的方法较多,在其他材

表4 3种不同品种橡木主要挥发性物质的OAV值

Table 4 The OAV values of main volatile compounds in three different varieties of oak

编号	保留指数	化合物	内标	阈值 ($\mu\text{g/kg}$)	OAV 值			香气描述 ^[20,27-29]	香气 类型
					法国产橡木 (<i>Q. acutissima</i> Caruth)	辽东栎 (<i>Q. liaotungensis</i> Koidz)	蒙古栎 (<i>Q. mongolica</i> Fisch)		
1	838	糠醛*	β	14 100	0.25	0.06	0.12	焦糖、面包、咖啡香	9、10
2	855	糠醇	β	1 410	0.12	0.24	0.15	甜香、焦糖、面包香	9
3	964	5-甲基糠醛*	β	20 000	0.09	0.03	0.04	甜香、咖啡、焦糖香	9、10
4	1 223	5-羟甲基糠醛*	β	100 000	0.03	0.01	0.01	烤面包、杏仁气味	9、10
5	977	苯酚	γ	5 900	0.02	0.01	0	药香	7
6	1 094	愈创木酚*	γ	10	4.78	6.85	2.92	烟熏、焦糊、甜香	1、7、12
7	1 196	4-甲基愈创木酚	γ	20	3.89	2.24	1.30	丁香、香兰素香、烟草香	1、3
8	1 280	4-乙基愈创木酚*	γ	33	6.70	6.95	5.24	药香、木香、丁香	1、4、7
9	1 316	4-乙基愈创木酚*	γ	40	1.82	1.99	1.32	丁香、甜香、香子兰	1
10	1 350	2,6-二甲氧基苯酚*	γ	570	0.21	0.23	0.06	木香、药香、烟熏香	7、12
11	1 359	丁香酚*	γ	6 000	0.01	0.01	0.01	香草、丁香、辛香、木香	1、2
12	1 410	顺式-异丁香酚	γ	6 000	0.02	/	/	甜香、木香、焙烤香	4、9
13	1 452	反式-异丁香酚	γ	6	44.53	28.43	32.16	甜香、木香、焙烤香	4、9
14	1 511	2,4-二叔丁基苯酚	γ	200	1.19	0.87	1.03	石碳酸味	-
15	1 604	4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯酚	γ	1 200	0.13	0.10	0.04	烤肉香、花香、甜香、	1
16	1 402	香草醛*	α	60	19.57	36.92	11.57	烟熏、香兰素、奶油香	12
17	1 664	丁香醛*	α	50 000	0.08	0.12	0.02	木味、香草、苦杏仁气味	1、2
18	1 487	香草乙酮*	α	1 000	0.17	0.23	0.11	香兰素、木香	1
19	1 565	香草酸*	δ	52 967	0.02	0.03	0	奶油香气	5、8
20	1 817	丁香酸*	δ	52 121	0.01	0.04	0.02	无	-
21	1 520	香草酸甲酯	δ	3 000	/	0.08	0.01	香草醛香气	9
22	915	γ -丁内酯	β	35	/	9.96	/	牛奶、奶油气味	9
23	1 123	γ -庚内酯	β	400	/	0.20	/	奶油、椰子、焦糖香	8、9
24	1 293	反式-橡木内酯*	β	790	0.51	0.23	0.43	花香、内酯、椰子香	5、8
25	1 326	顺式-橡木内酯*	β	67	36.47	8.61	21.96	花香、内酯、椰子香	5、8
26	731	乙缩醛	δ	1 400	0.56	0.57	0.56	水果香、甘草、青香	11
27	1 103	壬醛	δ	10	22.71	0	0	柑桔香、脂肪香、花香	1
28	1 408	十二醛	δ	2	83.72	97.38	85.43	醛香、柑橘香、紫罗兰香	10
29	773	丁酸	δ	4 000	/	/	0.05	奶油、奶香、干酪、果香	9
30	1 967	棕榈酸	δ	10 000	0.24	0.36	0.30	蜂蜡、油脂味	-
31	818	乳酸乙酯	δ	14 000	0.02	0.02	0.01	水果香气、乳脂味	-
32	1 395	癸酸乙酯	δ	200	1.59	0.56	0.69	近似葡萄、康酿克酒香	-
33	1 034	柠檬烯	δ	200	0.24	0	0.49	甜香、柑橘香、柠檬香	9
34	1 473	月桂醇	δ	10 000	/	0.02	0.03	无	-
35	1 115	麦芽酚*	δ	5 000	0.08	0.06	0.02	甜香、果香、焦糖香	9

内标 α 、 β 、 γ 、 δ 分别为邻香草醛、 γ -己内酯、3,4-二甲苯酚、2-辛醇，“/”表示未检测到该物质，“-”表示该香气物质未归类，“*”表示该物质为试验效果评价时筛选出的21种物质。香气类型1：丁香花香；2：香草香；3：橡木辛香；4：橡木香；5：新鲜木材味；6：新皮革味；7：药材味；8：椰子香；9：烤面包香；10：糠醛味；11：甘草味；12：烟熏味。



●、■、▲分别表示辽东栎、法国产橡木、蒙古栎。

图3 3种橡木的香气轮廓雷达图

Fig.3 Radar map of aroma profile for three different oaks

质(水果^[32]、茶叶^[33]、稻米及其制品^[34]等)的样品分析中还使用如静态顶空、固相微萃取、蒸馏萃取等方法,不过上述方法应用于橡木挥发性物质的提取测定还未见报道,因此对于其他方法是否能够更好地提取橡木挥发性物质还有待进一步研究。

橡树属于壳斗科(Fagaceae)栎属(*Quercus* L.)植物。据统计,世界上栎属植物有300多种,但适合在葡萄酒加工中使用的却仅有几种,主要为欧洲的无柄橡(*Q. petraea*)和有柄橡(*Q. robur*),以及美洲白橡(*Q. alba*)等^[35]。近年来,随着国际葡萄酒市场的不断发展,葡萄酒行业对橡木资源的需求也越来越大。为了开发新的木材资源,除了本文提及的2种国产橡木外,有学者还尝试对其他树种木材的使用效果进行研究评价^[36-37]。文献^[37]显示,刺槐木(*Robinia pseudoacacia*)、栗子木(*Castanea sativa*)、樱桃木(*Prunus avium*),以及白蜡木(*Fraxinus excelsior* and *F. vulgaris*)、山毛榉木(*Fagus sylvatica*)和桑木(*Morus alba* and *M. nigra*)等可作为橡木替代资源使用,这些树种木材还有其独特的风味特性。例如,Santos等^[36]研究发现刺槐木提取物中存在大量可提取的酚类化合物。Simon等^[38]发现,利用白蜡木桶陈酿的葡萄酒含有高浓度的邻甲基苯酚(烟熏和皮革味)和香草醛(烟熏和奶油香气)等物质,而樱桃木桶陈酿的葡萄酒中茴香醛(辛香、木香和杏仁香)等物质含量则相对较高,此外,乙酰丁香酮(香

兰素香和橡木味)、香草酸乙酯(花香、香兰素香和巧克力味)对陈酿在栗子木桶和刺槐木桶的葡萄酒香气有较大贡献。因此,明确这些木材中挥发性物质的种类将是我们后期需要重点研究的一个方向。

4 结论

(1)通过单因素试验和响应面试验,得到橡木中挥发性物质最佳的水浴加热浸提参数为:提取温度60℃、提取时间12h、酒精体积分数50%、提取次数2次。

(2)利用优化后的方法,以法国产橡木为对照,对国产辽东栎和蒙古栎等橡木材料进行挥发性物质浸提和检测,分别鉴定出79、88和77种挥发性物质组分。

(3)对国产辽东栎、蒙古栎和法国产橡木的香气轮廓模拟分析结果显示,三种橡木的气味特点较为相似,均表现出浓郁的糠醛、烤面包气味和橡木香。但是国产辽东栎在烟熏味和香草香方面更为突出,蒙古栎的整体香气特征虽低于法国产橡木,但是其椰子香和新鲜木材味的OAV值明显高于辽东栎,这将为葡萄酒体现上述风味特点提供帮助。

参考文献:

- [1] 郑青. 不同陈酿年份、葡萄品种及葡萄产地葡萄酒香气成分的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [2] DUMITRIU G D, PEINADO R A, COTEA V, et al. Volatilome fingerprint of red wines aged with chips or staves: Influence of the aging time and toasting degree[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125801.
- [3] ZHANG B, CAI J, DUAN, C Q, et al. A review of polyphenolics in oak woods[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(4): 6978-7014.
- [4] 田文. 橡木片处理对红葡萄酒关键橡木香气的影响[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2015.
- [5] BOZALONGO R, CARRILLO J D, TORROBA M F, et al. Analysis of French and American oak chips with different toasting degrees by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1173(1/2): 10-17.
- [6] GONZÁLEZ-CENTENO M R, CHIRA K, TEISSEDE P L. Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods[J]. Food Chemistry, 2016, 210: 500-511.
- [7] BOZALONGO R, JOSÉ D C, MIGUEL ÁNGEL F T, et al. Anal-

- ysis of French and American oak chips with different toasting degrees by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1173(1/2): 10-17.
- [8] 周兴鹏,赵 华. 浸提橡木中香气成分的工艺研究[J]. *山西化工*, 2019, 39(5): 10-12, 16.
- [9] 李 皓,李 运,赛 嘉. 利用超声波改良方法提取白兰地和橡木浸提液中的香气成分[J]. *酿酒*, 2009, 36(3): 41-44.
- [10] 杜联云,喻建明,曹 雅,等. 搅拌法提取葛根异黄酮的研究[J]. *食品科技*, 2012, 37(9): 208-211.
- [11] 邓年方. 水浴加热浸提法提取大肉姜抑菌活性成分及抑菌试验[J]. *中国调味品*, 2013, 38(4): 28-31.
- [12] 斯琴格日乐,恩 德,陈 阳. 水浴法提取怀菊花总黄酮工艺研究[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(7): 113-115.
- [13] 陈 环,吴 胜,唐婉莹,等. 不同橡木制品对刺葡萄酒品质的影响[J]. *中国酿造*, 2019, 38(2): 26-30.
- [14] GARCIA-CARPINTERO E G, GALLEGU M G, SANCHEZ-PALOMO E, et al. Impact of alternative technique to ageing using oak chips in alcoholic or in malolactic fermentation on volatile and sensory composition of red wines[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 851-863.
- [15] 李记明. 橡木桶-葡萄酒的摇篮[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2010: 73-76.
- [16] TAO M, LIU Z. Influence of ultrasonic nebulization extraction, infusion temperatures, and matrices on aroma release and perception of green tea[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, 115: 108216.
- [17] NIU M C, HUANG J, JIN Y, et al. Effect of oak matrix (barrel and toasted chips) on the volatiles in Goji (Lycium Chinese) wine[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2018, 124(1): 68-76.
- [18] 吕春秀. 浸提工艺对茶叶提取液品质的影响研究[D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- [19] 弓 威,顾丰颖,贺 凡,等. 山楂叶有效成分提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *核农学报*, 2015, 29(8): 1547-1558.
- [20] 李 娜. 香荚兰浸提过程中风味物质变化及精制方法研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江东方学院, 2017.
- [21] 梁慧玲. 茶叶功能成分制备和分离新工艺研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006: 26-30.
- [22] 何理琴,王彩楠,倪 莉,等. 正山小种挥发性香气组成及其在多次沸水浸提下的释放规律研究[J]. *福州大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(5).
- [23] 刘 琦,祝 霞,赵丹丹,等. 超声波辅助液-液萃取结合 GC 检测单萜化合物工艺优化[J]. *核农学报*, 2020, 34(4): 805-815.
- [24] 易男波. 橡木桶对葡萄酒香气的影响[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2004(3): 54-58.
- [25] 李兰晓,李记明,徐 岩,等. 不同产地和烘烤程度橡木片对葡萄酒陈酿香气的影响[J]. *食品科学*, 2015, 36(6): 192-197.
- [26] 孙玉霞,胡文效,史红梅. GC-MS 分析橡木片中的挥发性香气成分[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2008(1): 17-19.
- [27] GLABASNIA A, HOFMANN T. Sensory-directed identification of taste-active ellagitannins in American (*Quercus alba* L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in Bourbon whiskey and oak-matured red wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(9): 3380-3390.
- [28] RODRÍGUEZ-BENCOMO J J, ORTEGA-HERAS M, PÉREZ-MAGARIÑO S, et al. Volatile compounds of red wines macerated with Spanish, American, and French oak chips[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(14): 6383-6391.
- [29] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 82-354.
- [30] 陶永胜,彭传涛. 中国霞多丽干白葡萄酒香气特征与成分关联分析[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(3): 130-139.
- [31] SÁNCHEZ-PALOMO E, ALONSO-VILLEGAS R, DELGADO J A, et al. Improvement of Verdejo white wines by contact with oak chips at different winemaking stages[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 79: 111-118.
- [32] 张 博,李小兰,黄世杰,等. 不同提取方法对南果梨挥发性香气成分的影响研究[J]. *化学试剂*, 2018, 40(8): 784-788.
- [33] CHEN X, CHEN D, JIANG H, et al. Aroma characterization of Hanzhong black tea (*Camellia sinensis*) using solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry and sensory analysis[J]. *Food Chemistry*, 2019, 274(FEB.15): 130-136.
- [34] VERMA D K, SRIVASTAV P P. A paradigm of volatile aroma compounds in rice and their product with extraction and identification methods: A comprehensive review[J]. *Food Research International*, 2020, 130(2020): 1-33.
- [35] 李兰晓,李记明,赵 虎,等. 国产橡木与欧美橡木主要成分的差异分析[J]. *酿酒科技*, 2016(12): 52-55, 58.
- [36] SANTOS F, CORREIA A C, ORTEGA-HERAS M, et al. Acacia, cherry and oak wood chips used for a short aging period of rosé wines: effects on general phenolic parameters, volatile composition and sensory profile[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(7): 3588-3603.
- [37] CEREZO A B, TESFAYE W, JESÚS TORIJA M, et al. The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods[J]. *Food Chemistry*, 2008, 109(3): 606-615.
- [38] SIMON B F D, MARTINEZ J, SANZ M, et al. Volatile compounds and sensorial characterisation of red wine aged in cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood barrels[J]. *Food Chemistry*, 2014, 147(mar.15): 346-356.

(责任编辑:张震林)