

白兰地酒龄模型的构建

宋 普¹, 李记明², 张葆春², 孙祖莉¹, 郑向平¹, 赵玉平^{1,*}

(1.烟台大学生命科学学院, 山东 烟台 264005; 2.张裕集团公司技术中心, 山东 烟台 264000)

摘 要: 为预测陈酿白兰地酒龄, 实验采用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分析陈酿0~6a的42个张裕白兰地样品, 并且用偏最小二乘回归(PLS)研究挥发性成分含量(自变量)与酒龄(因变量)之间的关系。结果表明: 用28种最佳挥发性化合物结合PLS建模可以比较精确的预测白兰地酒龄, 使用由13种乙基酯和3种饱和醇组成的小组群挥发性化合物也可以较好的预测白兰地酒龄。

关键词: 白兰地; 酒龄; 偏最小二乘法

Predictive Modeling of Brandy Age

SONG Pu¹, LI Ji-ming², ZHANG Bao-chun², SUN Zu-li¹, ZHENG Xiang-ping¹, ZHAO Yu-ping^{1,*}

(1. College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264005, China;

2. Technology Center of Changyu Pioneer Wine Co. Ltd., Yantai 264000, China)

Abstract: Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) were used to analyze Changyu brandy aged for 0 to 6 years (a total of 42 samples), and the relationship between the content of volatile components (X , independent variables) and brandy age (Y , dependent variable) was explored using partial least square regression (PLS) for predictive modeling. The results showed that the PLS model could predict brandy age through the optimal 28 volatiles as well as with a smaller subset consisting of ethyl esters and saturated alcohols.

Key words: brandy; age; partial least square regression (PLS)

中图分类号: TS261.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)21-0107-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201321022

白兰地是一种蒸馏酒, 多指以葡萄为原料, 经过发酵、蒸馏、陈酿而成。白兰地需要在桶里经过多年的贮藏陈酿, 才能达到成熟完美的程度^[1]。目前, 越来越多的学者对白兰地陈酿过程进行研究, 有对陈酿过程中可能涉及到的挥发性物质进行鉴定, 共检测出302种挥发性成分^[2], 还有研究白兰地成品在贮藏过程中挥发性成分的变化^[3], 还有少量的研究用主成分分析以及聚类分析对不同酒龄白兰地进行区分^[4-6]。但还没有研究分析过陈酿过程中顶空组分的变化。

偏最小二乘回归是一种新型的多元统计数据分析方法, 其突出特点是将多元线性回归分析、变量的主成分分析和变量间的典型相关分析有机地结合起来, 给多元数据分析带来极大的便利^[7-9]。有学者利用偏最小二乘回归对葡萄酒醋^[10]以及雪利白兰地^[11]进行过研究。

本研究的主要目标是仅使用挥发性物质的含量结合简单、快速的HS-SPME方法和偏最小二乘回归预测白兰地酒龄, 以此来区分不同陈酿阶段的白兰地。

实验证明使用相对数量较少的一些容易通过HS-SPME和GC-MS检测到的挥发性物质可以成功预测白兰地酒龄。

白兰地国家标准GB/T 11856—2008《白兰地》对不同级别的白兰地做了明确的规定。对XO级、VSOP级、VO级、VS级产品提出了最低酒龄和质量等级要求。其中, XO级最低酒龄为6a, VSOP级最低酒龄为4a, VO级最低酒龄为3a, VS级最低酒龄为2a。但实际生产中, 很多企业并没有严格执行国家标准, 存在着弄虚作假的现象。本实验研究结果能够有助于白兰地陈酿时间的鉴定, 将会对白兰地生产起到监督作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

陈酿0~6a(每年各取6个, 共42个样品)的XO级白兰地张裕葡萄酒有限公司。

收稿日期: 2012-07-28

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2011CM026)

作者简介: 宋普(1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品风味。E-mail: feng3012@126.com

*通信作者: 赵玉平(1964—), 男, 副教授, 博士后, 研究方向为食品风味。E-mail: water168@ytu.edu.cn

3-辛醇标准品 美国Sigma公司; NaCl(分析纯) 上海国药集团化学有限公司。

1.2 仪器与设备

GC-MS-2010气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司; DB-Wax型色谱柱(30m×0.25mm, 0.25μm) 美国Agilent公司; 50μm/30μm CAR/DVB/PDMS(2cm)SPME萃取头 美国Supelco公司。

1.3 方法

1.3.1 样品预处理

采用顶空固相微萃取技术对样品进行预处理。把蒸馏白兰地酒样用脱氧超纯水调配至酒精体积分数10%, 然后取5mL调配后的样品加入到20mL的萃取瓶中, 加入2.0g NaCl、20μL 50.5mg/L的3-辛醇内标物; 小瓶内放入磁力搅拌转子, 小瓶放入恒温水浴; 预平衡温度50℃、10min; 萃取头首先在GC进样口中活化10min(250℃); 再将活化后的萃取头插入萃取小瓶中, 暴露萃取头, 萃取温度50℃, 萃取时间5min, 不分流进样。在GC进样口热解析8min(250℃), 实验结束后萃取头在250℃条件下平衡2min, 以消除后续实验影响。

1.3.2 GC-MS分析

GC条件: 色谱柱为DB-Wax(30m×0.25mm, 0.25μm)。进样口温度250℃, 载气He, 流速2mL/min, 检测器温度250℃。

升温程序: 初始温度40℃保持2min, 以6℃/min的速率升温至100℃, 再以5℃/min的速率升温至200℃, 然后以10℃/min的速率升到240℃, 保持4min。

MS条件: EI电离源, 电子能量70eV, 离子源温度200℃, 接口温度250℃, 质量扫描范围 m/z 30~500。

1.3.3 定量分析

采用内标法进行定量。根据内标物和被测物在色谱图峰面积的比值, 以及内标物的含量计算出某组分的含量。内标法定量可以消除操作条件变化引起的一些误差, 可得到较准确的结果。

$$\text{某组分含量}/(\text{mg/L}) = \frac{\text{某组分的峰面积}}{\text{内标物的峰面积}} \times \text{内标物含量}/(\text{mg/L})$$

1.4 统计学分析

每个样品进行6次平行实验, 所得数据用Microsoft Excel 2003进行初步分析。使用Unscrambler 9.7软件进行PLS分析, 建模方法是PLS。

2 结果与分析

2.1 白兰地挥发性物质的分析

为了研究挥发性物质和酒龄之间的相关性, 以挥发

性物质的含量为自变量, 酒龄为因变量使用PLS进行分析。目标是发现部分挥发性物质, 可以用于生成PLS模型以准确预测酒龄。尽管挥发性物质含量是最重要的决定峰面积大小的因子, 但通过HS-SPME检测还有其他的物理现象可能对峰大小有影响。1)有研究表明疏水芳香物质的顶空浓度不仅由它们在溶液中的浓度决定, 它还受溶液中其他疏水挥发性物质的影响^[12]。2)芳香物质与多酚类物质结合后挥发性会降低^[13-15]。3)当乙醇体积分数大于20%时, 长链脂肪酸酯的顶空浓度会受到影响^[16]。在本研究中, 乙醇体积分数都统一到10%, 以消除这些影响。

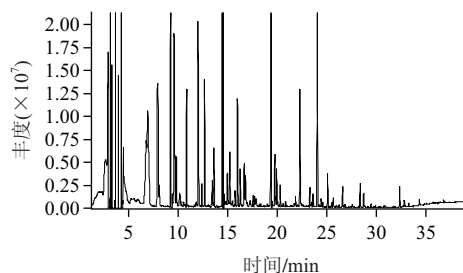


图1 陈酿时间为5a的白兰地挥发性物质总离子流色谱

Fig.1 Total ion current chromatogram of brandy with the age of 5 years

2.2 所有挥发性物质与白兰地酒龄模型的构建

本实验共检出93种挥发性物质, 使用这93种挥发性物质的质量浓度以及陈酿0~6a白兰地样品的酒龄进行PLS建模。结果表明: 使用这个模型预测酒龄, 对酒龄的方差贡献率为85%。真实酒龄和预测酒龄关系图的斜率为0.7754, 相关系数 R^2 为0.8069, 偏移值为0.8254, 均方根误差(RMSE)为0.895, 如图2所示。酒龄预测的结果不是很令人满意。

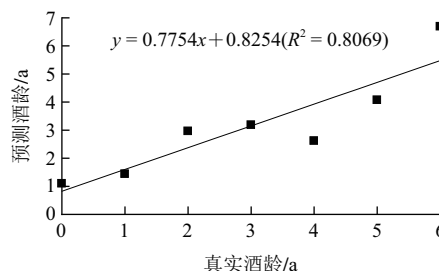


图2 白兰地真实酒龄和预测酒龄关系图

Fig.2 Predicted age using PLS versus actual age

2.3 最佳变量的确定

用PLS软件, 鉴定出影响最显著的变量, 并且通过主成分1和主成分2的相关载荷从中选出28种物质(表1)。这28种物质对酒龄的方差解释率都大于50%。

表1 最佳挥发性化合物及其平均含量
Table 1 Optimal volatile compounds and their average contents

			mg/L							
保留 指数	名称	类别	陈酿时间/a							
			0	1	2	3	4	5	6	
1208	异戊醇	3-methylbutanol	醇	10.615	11.215	11.580	11.593	11.965	12.315	12.472
1226	己酸乙酯	ethyl hexanoate	酯	0.958	0.982	1.092	1.280	1.458	1.602	1.764
1342	(S)-乳酸乙酯	ethyl lactate	酯	0.102	0.110	0.146	0.131	0.152	0.151	0.180
1352	正己醇	hexanol	醇	1.156	1.171	1.185	1.255	1.338	1.383	1.395
1428	辛酸乙酯	ethyl octanoate	酯	2.149	3.132	4.085	4.821	5.691	7.855	9.166
1434	乙酸	acetic acid	酸	0.292	0.270	0.474	0.413	0.765	0.574	0.942
1454	氧化里那醇	(Z)-linalool oxide	萜烯	0.040	0.043	0.048	0.061	0.070	0.067	0.072
1470	4-辛烯酸乙酯	ethyl oct-4-enoate	酯	0.091	0.105	0.126	0.122	0.109	0.107	0.106
1507	安息香醛	benzaldehyde	芳香	0.266	0.251	0.227	0.250	0.316	0.285	0.324
1514	辛酸丙酯	propyl octanoate	酯	0.152	0.156	0.196	0.169	0.153	0.162	0.149
1527	壬酸乙酯	ethyl nonanoate	酯	0.015	0.014	0.013	0.017	0.029	0.040	0.045
1530	丙酸	propanoic acid	酸	0.053	0.047	0.056	0.053	0.051	0.050	0.049
1544	2-羟基己酸乙酯	ethyl 2-hydroxyhexanoate	酯	0.037	0.025	0.056	0.034	0.045	0.084	0.062
1559	正辛醇	octanol	醇	0.078	0.092	0.147	0.094	0.111	0.175	0.097
1586	癸酸甲酯	methyl decanoate	酯	0.015	0.013	0.009	0.019	0.037	0.029	0.038
1618	香叶烯醇	myrcenol	萜烯	0.015	0.013	0.030	0.015	0.028	0.047	0.025
1621	2-呋喃酸乙酯	ethyl 2-furoate	酯	0.082	0.072	0.081	0.080	0.130	0.116	0.124
1637	癸酸乙酯	ethyl decanoate	酯	2.274	2.648	2.940	3.308	3.124	4.808	6.796
1677	丁二酸二乙酯	diethyl succinate	酯	0.145	0.204	0.126	0.066	0.121	0.600	0.343
1689	9-癸烯酸乙酯	ethyl dec-9-enoate	酯	0.013	0.006	0.036	0.023	0.046	0.035	0.034
1694	α -萜品醇	α -terpineol	萜烯	0.088	0.081	0.120	0.090	0.106	0.172	0.102
1742	1,1,6-三甲基-2-萘 蒽	1,1,6-trimethyl-1,2- dihydronaphthalene (TDN)	甾类 衍生物	0.104	0.071	0.134	0.073	0.085	0.092	0.107
1811	乙酸-2-苯乙酯	2-phenylethyl acetate	芳香	0.149	0.150	0.253	0.142	0.155	0.161	0.118
1840	十二酸乙酯	ethyl dodecanoate	酯	0.820	0.906	0.767	0.939	0.859	1.149	1.706
1862	己酸	hexanoic acid	酸	0.027	0.029	0.044	0.041	0.056	0.058	0.057
1914	2-苯乙醇	2-phenylethanol	芳香	0.099	0.139	0.161	0.152	0.214	0.313	0.243
2046	十四酸乙酯	ethyl tetradecanoate	酯	0.179	0.161	0.158	0.148	0.172	0.213	0.254
2252	十六酸乙酯	ethyl hexadecanoate	酯	0.167	0.151	0.176	0.114	0.153	0.195	0.169

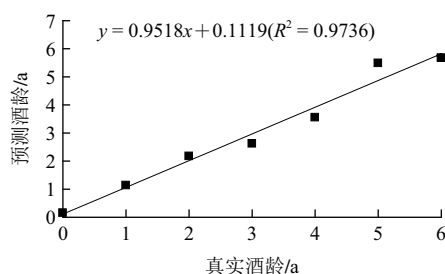


图3 最佳28种变量进行PLS建模的真实酒龄和预测酒龄关系图
Fig.3 Predicted age using PLS model with optimal 28 volatiles versus actual age

由图3可知, 预测酒龄与真实酒龄关系曲线的斜率为0.9518, 偏移值为0.1119, $RMSE$ 为0.329。这28种物质(表1)包括15种酯、3种醇、3种酸、3种芳香族化合物、3种萜烯类以及1种甾类衍生物。

2.4 饱和醇与白兰地酒龄模型的构建

使用28种最佳变量中的3种饱和醇(异戊醇、正己醇、正辛醇)来进行PLS建模。这种情况下, 预测结果相

当不可靠, 如图4所示, 真实酒龄与预测酒龄关系曲线的斜率为0.8695, 相关系数 R^2 为0.8189。较低的相关系数表明, 当用3种饱和醇预测酒龄时, 曲线图有相对较高的发散。尽管是一个明确增加的趋势, 这一组分化化合物的含量, 与所有的挥发性物质一致, 受发酵条件以及蒸馏等几个因素的影响。这些因素决定挥发物的初始浓度以及前体。这与Watts等^[3]的研究结果相一致。因此, 最好使用不同种类的更多挥发性物质来进行可靠地酒龄预测。

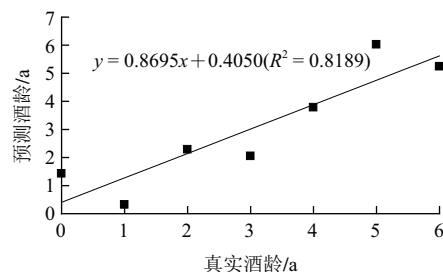


图4 饱和醇进行PLS建模的真实酒龄和预测酒龄关系图
Fig.4 Predicted age using PLS model with the saturated alcohols versus actual age

2.5 乙基酯与白兰地酒龄模型的构建

用13种乙基酯预测的结果比3种饱和醇预测的结果要好。斜率为0.9048, 偏移值为0.1996, 相关系数 R^2 为0.9500, 如图5所示。乙基酯预测结果比饱和醇好的一个原因是乙基酯包括13个变量而饱和醇仅有3个变量。更多的变量能形成一个更好的PLS模型。

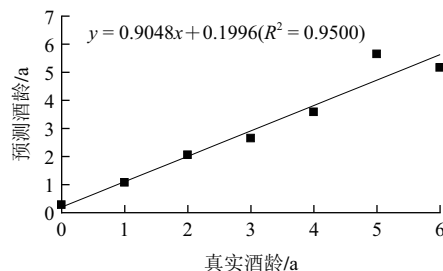


图5 乙基酯进行PLS建模的真实酒龄和预测酒龄关系图
Fig.5 Predicted age using PLS model with ethyl ester versus actual age

研究过程中发现, 白兰地陈酿过程中酯类的总含量几乎没有变化, 但是, 随着贮藏时间的延长, 酯的性质有所变化, 即低沸点酯的含量没有显著变化, 高沸点酯的含量逐渐升高。早期的一些研究也指出白兰地中一些乙基酯的浓度随陈酿时间增加而增加, 而某些高级醇的乙酸酯类则减少^[17]。这是由于乙醇的含量多于高级醇的含量, 导致乙基酯的形成或替代乙酸酯类中的高级醇基团形成乙酸乙酯(酯基转移)^[3]。乙醇在陈酿过程中的氧化也会形成乙酸乙酯^[18], 乙酸乙酯来源的不确定性和易挥发性导致其含量变化的不规律, 因此, 乙酸乙酯不适合作为预测酒龄的指标。

2.6 乙基酯和饱和醇与白兰地酒龄模型的构建

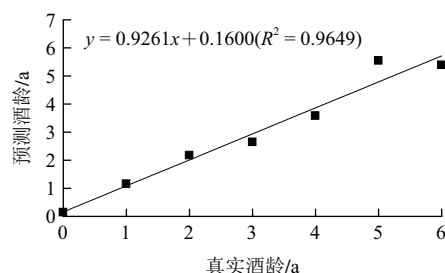


图6 乙基酯和饱和醇进行PLS建模的真实酒龄和预测酒龄关系图

Fig.6 Predicted age using PLS model with ethyl ester and saturated alcohol versus actual age

包含两类物质的PLS模型预测结果明显优于单类物质的预测。由图6可知, 乙基酯和饱和醇模型中斜率为0.9261, 偏移值为0.1600, 相关系数 R^2 为0.9649。这16种变量能够比乙基酯更准确的预测酒龄, 准确度接近于28种最佳物质的预测结果。

3 结论

用HS-SPME耦合GC-MS得到挥发性物质色谱数据, 并且用PLS回归分析用来区分白兰地酒龄是一个合适的方法。酯类、醇类、酸类、芳香族化合物、萜烯类以及甾类衍生物等28种最佳变量对准确预测白兰地陈酿时间都有贡献。16种挥发性物质(13种乙基酯和3种饱和醇)也可以较准确的预测酒龄。

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.
- [2] 赵玉平, 李记明, 徐岩, 等. 张裕 XO 级白兰地挥发性成分的提取分离与鉴定[J]. 色谱, 2008, 26(2): 212-222.
- [3] WATTS V A, BUTZKE C E, BOULTON R B. Study of aged cognac using solid-phase microextraction and partial least-squares regression[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(26): 7738-7742.
- [4] 姜忠军, 李记明. 白兰地成分与酒龄关系的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(3): 137-140.
- [5] YANG Yang, ZHAO Yu, ZHANG Shuming, et al. Qualitative analysis of age and brand of unblended brandy by electronic nose[J]. Computer and Computing Technologies in Agriculture V, 2012, 369: 369-619-628.
- [6] 姜忠军, 李记明, 徐岩, 等. 聚类分析在白兰地酒龄鉴定中的应用[J]. 酿酒科技, 2006(8): 112-115.
- [7] 钟龙权, 马弘舸. 偏最小二乘回归在微波效应预测中的应用[J]. 强激光与粒子束, 2011, 23(5): 1324-1328.
- [8] ROY P P, ROY K. On some aspects of variable selection for partial least squares regression models[J]. QSAR & Combinatorial Science, 2008, 27(3): 302-313.
- [9] CARRASCAL L M, GALV N I, GORDO O. Partial least squares regression as an alternative to current regression methods used in ecology[J]. Oikos, 2009, 118(5): 681-690.
- [10] TEFAYE W, MORALES M, CALLEJON R, et al. Descriptive sensory analysis of wine vinegar: tasting procedure and reliability of new attributes[J]. Journal of Sensory Studies, 2010, 25(2): 216-230.
- [11] DURÁN GUERRERO E, CEJUDO BASTANTE M J, CASTRO MEJÍAS R, et al. Characterization and differentiation of sherry brandies using their aromatic profile[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(6): 2410-2415.
- [12] CONNER J M, PATERSON A, PIGGOTT J R. Interactions between ethyl esters and aroma compounds in model spirit solutions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(10): 2231-2234.
- [13] JUNG D M, de ROPP J S, EBELER S E. Study of interactions between food phenolics and aromatic flavors using one-and two-dimensional ^1H NMR spectroscopy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(2): 407-412.
- [14] DUFOUR C, BAYONOVE C L. Interactions between wine polyphenols and aroma substances. An insight at the molecular level[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(2): 678-684.
- [15] ESCALONA H, BIRKMYRE L, PIGGOTT J R, et al. Relationship between sensory perception, volatile and phenolic components in commercial Spanish red wines from different regions[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2001, 107(3): 157-166.
- [16] ZHAO Yuping, XU Yan, LI Jiming, et al. Profile of volatile compounds in 11 brandies by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): C90-C99.
- [17] ONISHI M, GUYMON J, CROWELL E. Changes in some volatile constituents of brandy during aging[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1977, 28(3): 152-158.
- [18] CHINNICI F, NATALI N, SONNI F, et al. Comparative changes in color features and pigment composition of red wines aged in oak and cherry wood casks[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(12): 6575-6582.