

李慧星, 许彬, 罗建成, 等. 国产威士忌加工过程中挥发性成分的变化及风味的形成 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 300–307.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080199

LI Huixing, XU Bin, LUO Jiancheng, et al. Changes in the Volatile Constituents and the Formation of the Flavor of Domestic Whisky during Its Production Process[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(12): 300–307. (in Chinese with English abstract).
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080199

· 分析检测 ·

国产威士忌加工过程中挥发性成分的变化及风味的形成

李慧星^{1,2}, 许彬^{1,2,*}, 罗建成^{1,2}, 韩鑫龙², 段小燕²

(1. 南阳理工学院河南省工业微生物资源与发酵重点实验室, 河南南阳 473004;

2. 南阳理工学院生物与化学工程学院, 河南南阳 473004)

摘要: 为研究国产威士忌顶空中的挥发成分形成的关键阶段, 本文采用静态顶空-气相色谱质谱联用技术分析了国产威士忌生产各阶段酒体挥发成分, 利用主坐标分析初步确定不同阶段威士忌分类的标准, 进而采用正交偏最小二乘判别分析法 (Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis, OPLS-DA) 建立以此标准分类的模型。结果表明: 不同阶段酒样在挥发成分的含量上有显著差异 ($\alpha=0.05$), 以是否浸泡为分类标准建立的 OPLS-DA 模型能将不同阶段威士忌酒样品明确分类。浸泡前后的关键差异化合物共有 17 种, 其中 11 种成分 (3-甲基丁醛、乙醛、癸酸乙酯、苯酚、糠醛、月桂酸乙酯、乙酸-2-苯乙酯、甲酸乙酯、乙酸、丁醛、十七烷) 是由橡木引入到酒体中的, 除乙酸、丁醛、十七烷外, 其余 8 种均对威士忌香气有贡献作用, 橡木的引入会使得二甲硫醚、呋喃、己酸乙酯、丁醇、2-甲基-1-丙醇和正丙醇减少。说明浸泡阶段是国产威士忌挥发性风味成分形成的关键阶段。

关键词: 国产威士忌, 顶空-气相色谱联用, 挥发性成分, 风味形成, 关键阶段

中图分类号: TS261.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)12-0300-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080199



本文网刊:

Changes in the Volatile Constituents and the Formation of the Flavor of Domestic Whisky during Its Production Process

LI Huixing^{1,2}, XU Bin^{1,2,*}, LUO Jiancheng^{1,2}, HAN Xinlong², DUAN Xiaoyan²

(1. Henan Key Laboratory of Industrial Microbial Resources and Fermentation Technology, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China;

2. College of Biology and Chemistry Engineering, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China)

Abstract: This study is aim at confirming the key stage where the formation of volatile constituents in the headspace above domestic whisky takes place. The static headspace gas chromatography-mass spectrometry was employed to analyze the volatile constituents in the headspace above each production stage. The principal coordinates analysis was used for the selection of classification criteria for the beverage in each stage, after which the orthogonal partial least square discrimination analysis was utilized to establish the classification model. The results showed that volatile constituents in the headspace varied significantly in different stages ($\alpha=0.05$), and that the soaking was sufficient to be the classification criteria. Altogether 17 key differential components, including 11 introduced by oaks during soaking and aging, were found in samples before and after soaking. The 11 oak introduced components, except acetic acid, butyraldehyde, and heptadecane, contributed to the aroma of the whisky. Meanwhile, dimethyl sulfide, furan, ethyl hexanoate, butanol, 2-methylpropan-1-ol, and n-propanol were reduced after oak soaking. Obviously, the key stage was soaking in the formation of volatile constituents in the headspace above domestic whisky.

收稿日期: 2022-08-19

基金项目: 河南省工业微生物资源与发酵技术重点实验室开放课题 (HIMFT20200103)。

作者简介: 李慧星 (1982-) (ORCID: 0000-0002-2920-298X), 男, 博士, 副教授, 研究方向为发酵工程, E-mail: comet686@163.com。

* 通信作者: 许彬 (1980-) (ORCID: 0000-0002-2899-5164), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为食品发酵技术, E-mail: nibux@163.com。

Key words: domestic whisky; headspace gas chromatography-mass spectrometry; volatile constituents; flavor forming; key stage

威士忌是以大麦等谷物为原料,经发芽、糖化、发酵、蒸馏、陈酿、混配制得的一种蒸馏酒。威士忌色泽金黄透明,具有威士忌酒特有的香气。世界主要威士忌产地包括苏格兰、爱尔兰、加拿大、美国和日本^[1],但因酿造技术、原料和水质的不同,不同产地的威士忌各有独特的风味。威士忌顶空中的挥发成分含有威士忌的部分风味成分,这些成分因为易挥发,最先被人的感知器官感知,与溶剂辅助风味蒸馏法(solvent assisted flavor evaporation, SAFE)获得的威士忌风味成分存在较大差异^[2]。Rodrigues 等采用动态顶空固相微萃取技术提取五种威士忌顶空中的挥发成分,以气相色谱-三重四极杆质谱连用仪进行分析,每种威士忌中检测出的化合物数量和种类均不相同,最少的样本中检测出 26 种化合物,最多的样本中检测出 36 种化合物^[3]。

目前对于威士忌挥发成分的研究主要针对成品威士忌酒。例如, Poisson 等通过气相色谱-嗅闻联用技术测定了美国 Bourbon 威士忌顶空中的挥发成分,揭示了 23 种香气活性物质^[2]。Camara 等采用顶空固相微萃取技术提取三种苏格兰威士忌的挥发成分,共检测出 70 种挥发性成分,主要包括脂肪酸乙酯、高级醇、脂肪酸、羰基化合物、单萜醇、挥发性酚类等化合物^[4]。Ochiai 等从非年份威士忌和年份威士忌中检出 20 种含硫化合物^[5]。Jelen 等利用固相微萃取结合气相色谱嗅闻技术从单麦芽威士忌中鉴定了 20 种风味稀释值(Flavor Dilution, FD)为 8-2048 的关键化合物^[6]。威士忌酒中挥发成分复杂多样,这些成分形成于威士忌生产的各个阶段,包括发酵、蒸馏、陈酿、勾兑^[7-9],然而各阶段酒体以及成品酒体挥发成分的比较研究未见报道。

本研究以国产威士忌为对象,采用静态顶空-气相色谱质谱联用仪(static headspace gas chromatography-mass spectrometry, SHS GC-MS),测定威士忌生产各阶段酒体顶空中的挥发成分的化合物的类别及含量。利用主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA)和正交偏最小二乘判别分析(Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis, OPLS-DA)判断威士忌顶空中的挥发成分形成的关键阶段,并确定关键阶段前后挥发成分的差异化化合物,为威士忌生产过程的挥发成分质量控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

国产威士忌成品及各阶段酒样 南阳京德精酿有限公司; NaCl 分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司; 2-乙基丁酸、鉴定出的 36 种化合物的标准品 色谱纯,美国 Sigma 公司。

Agilent7890B-5975C 气相-质谱联用仪(配有电喷雾离子源(ESI))、Agilent7697A 顶空进样系统、HP-INNOWAX 毛细管色谱柱(60 m×250 μm×0.5 μm) 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 国产威士忌生产工艺

1.2.1.1 工艺流程 国产威士忌在沿袭了传统威士忌的生产工艺的基础上,增加了净化和浸泡阶段。在净化阶段利用净化器对原酒进行净化处理,以提高陈酿过程中酒体的稳定性^[10-12]。在浸泡阶段,向酒体中添加焙烤过的橡木片,在转入橡木桶之前浸泡橡木片 1 周。橡木片粒度 4~8 mm,相对于橡木桶有更大的比表面积,可以弥补橡木桶香气释放缓慢的问题,以起到促进陈化的作用^[13-14]。国产威士忌生产工艺流程如图 1 所示。

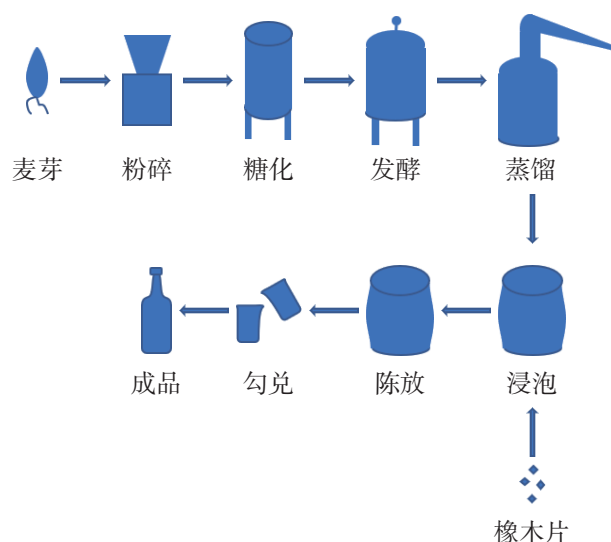


图 1 国产威士忌生产工艺流程

Fig.1 Production process flow diagram of domestic whisky

1.2.1.2 生产阶段操作要点 蒸馏:经蒸馏摘酒后得到的酒液为威士忌原酒,摘酒温度 78~80 ℃,酒精度大于 60°;净化:原酒经过净化器净化,得到澄清、透明、无色的净化酒;浸泡:将净化酒置于不锈钢容器中,按 10 g/L 投放橡木片,浸泡 1 周,得到浸泡酒,色度 10 BEC;陈放:将浸泡酒转移至橡木桶中,于 20 ℃ 下存放 2 年,得到陈放酒;成品酒:将陈放后的威士忌与原酒进行人工调配得到成品酒,维持成品酒精度大于等于 40°,本研究中所用成品酒为出厂两年的产品。各阶段酒样取 3 批次平行样进行测定。

1.2.2 检测方法

1.2.2.1 样品处理 取各阶段酒样,利用去离子水将酒精浓度稀释至 40%(v/v)。取酒精浓度为 40% 的各阶段酒样 8.0 mL 加入到 20 mL 的顶空进样瓶中,

加入 1.5 g NaCl, 20 μ L 2-乙基丁酸(3.312 g/L)^[15]。顶空进样器的样品处理温度 60 $^{\circ}$ C, 定量环/阀温度 100 $^{\circ}$ C, 传输线温度 110 $^{\circ}$ C, 样品处理时间 45 min, 压力平衡时间 0.25 min, 进样时间 1 min。

1.2.2.2 色谱条件 色谱柱: HP-INNOWAX 毛细柱(60 m $\times$ 0.25 mm, 0.5 μ m); 升温程序: 50 $^{\circ}$ C 保持 2 min, 以 3 $^{\circ}$ C/min 升至 80 $^{\circ}$ C, 保持 0 min, 再以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 230 $^{\circ}$ C, 保持 10 min; 载气(He)流速 1 mL/min; 分流比: 5:1。

1.2.2.3 质谱条件 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 $^{\circ}$ C; 离子源温度 230 $^{\circ}$ C; 溶剂延迟 4.5 min, 四级杆温度 150 $^{\circ}$ C, 增益因子 0.996, 采用全扫描(Scan)模式采集信号, 质量扫描范围 m/z 29~350。

1.2.2.4 定量方法 利用标准品和内标物计算各物质的峰面积校正系数, 再根据样品中化合物和内标的峰面积, 采用内标法计算挥发性成分的含量, 结果以平均值 $\pm$ 标准差形式表示。

1.3 数据处理

化合物经检索与 NIST14 谱库相匹配, 并根据质谱特征对挥发成分定性分析。利用 SPSS(v20.0.0, IBM 公司)对各阶段各成分含量的差异进行 Duncan 检验, 对关键差异化化合物在浸泡前后阶段的差异进行 t 显著性检验。利用 R 语言的 vedist 包中的 Bray-

Curtis 函数计算样本数据的距离矩阵、vegan 包中的 cmdscale 函数进行主坐标分析^[16]; 利用 SIMCA 软件进行 OPLS-DA 分析^[17]。利用 Origin 软件进行数据可视化。计算化合物的气味活性值(odor activity values, OAV), 以评价化合物对威士忌香气是否有贡献^[18-19]。

2 结果与分析

2.1 各阶段威士忌挥发性成分

由表 1 可知, 在国产威士忌不同阶段下酒样顶空中的挥发成分中, 除乙醇外共检测出 36 种化合物, 在原酒中检测出了 29 种化合物, 在净化酒中检测出了 28 种化合物, 在浸泡酒中检测出了 31 种化合物, 在陈放酒中检测出了 31 种化合物, 成品酒中检测出了 32 种化合物。其中, 酯类化合物和 1, 1 二乙氧基乙烷主要贡献果香香气^[2,20-22], 醇类中正丙醇和丁醇主要贡献酒样香气, 醇类中 2-甲基-1-丙醇、3-甲基-1-丁醇和醛酮类中丁醛、3-甲基丁醛、2-甲基丁醛主要贡献麦芽香气^[2], 酸类主要贡献酸味^[19], 硫化物中二甲基硫醚主要贡献甜玉米罐头香气^[2], 芳香族类中乙酸-2-苯乙酯和苯乙醇主要贡献花香^[2]。

酯类在各阶段酒样挥发成分(乙醇除外)中占比最高(47.14%-51.53%), 主要为乙酯, 其中乙酸乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、月桂酸乙酯对威士忌的香气有重要贡献^[8]。醇类在各阶段酒样挥发成

表 1 各阶段威士忌顶空中的挥发成分

Table 1 Volatile constituents in the headspace above different producing stage of whiskey

编号	挥发性化合物	含量(μg/mL)				
		原酒	净化酒	浸泡酒	陈放酒	成品酒
酯类						
1	甲酸乙酯	4.17±0.97 ^b	5.85±0.73 ^b	5.29±1.27 ^b	10.30±0.90 ^a	11.52±0.50 ^a
2	乙酸乙酯	533.41±130.44 ^{ab}	725.85±82.95 ^a	721.37±160.07 ^a	632.93±56.38 ^a	427.65±22.66 ^{ab}
3	2-甲基丙酸乙酯	4.41±1.13 ^{-bc}	5.91±0.62 ^b	8.24±1.74 ^a	4.41±0.54 ^{bc}	3.17±0.22 ^c
4	乙酸异戊酯	68.64±17.29 ^{bc}	89.52±10.65 ^{ab}	105.59±24.38 ^a	78.54±7.43 ^{ab}	42.26±2.69 ^c
5	己酸乙酯	29.89±7.79 ^{ab}	34.23±4.03 ^a	22.54±5.20 ^{bc}	17.24±1.5 ^{cd}	11.18±0.72 ^d
6	辛酸乙酯	14.15±3.70 ^{ab}	10.72±1.17 ^b	18.86±4.87 ^a	15.29±1.31 ^{ab}	12.98±0.66 ^b
7	癸酸乙酯	6.92±1.70 ^{bc}	3.81±0.44 ^c	23.24±6.5 ^a	15.79±1.42 ^b	11.53±0.77 ^b
8	月桂酸乙酯	2.91±1.26 ^c	2.42±0.45 ^c	14.33±3.13 ^a	9.11±0.81 ^b	4.36±0.35 ^c
	小计	661.59±163.01 ^{ab}	875.89±100.44 ^a	905.13±203.88 ^a	774.50±69.46 ^a	520.90±28.11 ^b
烷烃类						
9	2, 2 -二甲基-己烷	11.13±5.31 ^{ab}	12.01±2.35 ^{ab}	4.40±2.39 ^b	8.68±2.06 ^b	20.46±11.27 ^a
10	1,1-二乙氧基-3-甲基-丁烷	1.59±0.70 ^{ab}	2.41±0.97 ^a	1.99±0.51 ^{ab}	2.60±0.22 ^a	1.10±0.66 ^b
11	1, 1-二乙氧基乙烷	—	—	—	—	0.61±0.08 ^a
12	十四烷	0.44±0.39 ^a	0.62±0.54 ^a	0.97±1.15 ^a	0.54±0.49 ^a	0.16±0.29 ^a
13	十六烷	0.99±0.17 ^a	1.21±0.92 ^a	2.23±2.90 ^a	1.51±0.46 ^a	1.00±0.17 ^a
14	十七烷	—	—	—	0.69±0.07 ^a	0.27±0.25 ^b
	小计	14.15±6.06 ^{ab}	16.25±4.73 ^{ab}	9.59±6.4 ^b	14.02±1.86 ^{ab}	23.60±11.73 ^a
醇类						
15	正丙醇	68.91±19.66 ^{abc}	90.07±4.69 ^a	74.32±15.96 ^{ab}	58.69±5.26 ^{bc}	47.69±2.47 ^c
16	2-甲基-1-丙醇	167.49±44.95 ^{bc}	221.46±12.32 ^a	183.48±39.16 ^{ab}	121.37±10.70 ^{cd}	111.30±5.97 ^d
17	丁醇	1.68±0.50 ^{ab}	2.17±0.10 ^a	1.51±0.36 ^b	1.48±0.12 ^b	0.87±0.03 ^c
18	3-甲基-1-丁醇	413.81±113.28 ^a	537.72±15.71 ^a	450.05±92.34 ^a	411.20±41.03 ^a	278.76±17.02 ^b
	小计	651.89±178.40 ^{ab}	851.42±31.33 ^a	709.36±147.75 ^{ab}	592.74±56.73 ^{bc}	438.62±25.10 ^c

续表 1

编号	挥发性化合物	含量(μg/mL)				
		原酒	净化酒	浸泡酒	陈放酒	成品酒
醛酮类						
19	乙醛	22.51±5.35 ^c	31.03±3.87 ^c	106.34±23.4 ^a	54.18±3.98 ^b	58.86±2.99 ^b
20	2-甲基丙醛	10.66±2.61 ^{bc}	14.67±1.74 ^{ab}	16.24±3.69 ^a	14.55±1.23 ^{ab}	8.95±0.63 ^c
21	丁醛	1.34±0.54 ^c	1.73±0.26 ^c	1.65±0.32 ^c	2.86±0.60 ^b	5.83±0.5 ^a
22	3-甲基丁醛	—	—	—	1.27±0.31 ^b	2.57±0.24 ^a
23	2-甲基丁醛	4.53±2.20 ^{ab}	5.78±1.47 ^a	5.92±1.31 ^a	4.30±0.33 ^{ab}	2.57±0.27 ^b
24	2,3-丁二酮	1.47±1.15 ^a	3.46±3.74 ^a	2.74±0.64 ^a	3.07±0.63 ^a	1.85±0.62 ^a
25	己醛	1.28±1.20 ^b	0.10±0.17 ^b	4.24±1.04 ^a	—	—
	小计	37.26±10.70 ^c	50.99±8.54 ^{bc}	131.21±28.96 ^a	74.66±4.49 ^b	75.49±2.61 ^b
酸类						
26	乙酸	—	—	1.60±0.30 ^b	5.68±2.79 ^a	3.91±0.92 ^{ab}
27	己酸	0.70±0.20 ^a	0.84±0.75 ^a	1.50±0.07 ^a	0.86±0.94 ^a	1.66±0.37 ^a
28	辛酸	13.78±7.44 ^a	—	11.26±1.93 ^a	15.46±5.86 ^a	—
	小计	14.49±7.33 ^{ab}	0.84±0.75 ^c	14.36±2.30 ^{ab}	21.99±9.46 ^a	5.57±1.28 ^{bc}
硫化物						
29	二甲硫醚	3.48±0.88 ^b	4.72±0.40 ^a	—	—	—
30	二甲基二硫醚	1.58±0.41 ^b	1.97±0.19 ^{ab}	2.23±0.41 ^a	—	—
	小计	5.06±1.29 ^b	6.68±0.57 ^a	2.23±0.41 ^c	—	—
呋喃类						
31	呋喃	3.70±1.08 ^a	4.90±0.52 ^b	—	—	0.32±0.55 ^c
32	糠醛	2.48±0.59 ^a	3.42±0.69 ^a	5.41±3.29 ^a	4.89±0.58 ^a	4.01±0.45 ^a
	小计	6.18±1.63 ^{ab}	8.32±1.13 ^a	5.41±3.29 ^{ab}	4.89±0.58 ^b	4.33±0.54 ^b
芳香族类						
33	苯乙烯	1.53±0.39 ^b	1.23±0.16 ^b	2.20±0.51 ^a	1.73±0.17 ^{ab}	1.27±0.03 ^b
34	乙酸2-苯乙酯	—	—	1.15±0.22 ^a	0.99±0.25 ^a	0.28±0.25 ^b
35	苯乙醇	2.20±0.53 ^a	2.86±1.62 ^a	4.02±0.75 ^a	2.23±2.05 ^a	3.90±3.52 ^a
36	苯酚	—	—	3.20±1.18 ^{ab}	5.22±2.91 ^a	1.50±2.60 ^b
	小计	3.73±0.80 ^b	4.09±1.58 ^b	10.57±2.14 ^a	10.17±1.97 ^a	5.23±3.54 ^b

注: 不同小写字母表示同列数据差异显著, $P<0.05$ 。

分中占比较高(39.44%~46.58%)。2-甲基-丙醇、丁醇、3-甲基-1-丁醇这几种主要成分在各阶段酒样中均有存在,这与已有报道一致^[2-3]。酸类、醛酮类在威士忌挥发成分中占比较低(分别为 0.05%~1.46%、3.30%~7.96%)。本研究中检测到的几种酸和醛酮同样是威士忌中的重要香气成分^[3]。其他挥发成分包括呋喃类物质、挥发性硫化物、芳香类及烷烃类物质,在各阶段酒样的挥发成分中检测出的含量较低,占比不到 3%,但在威士忌酒的风味上有着不可替代的作用^[23]。

文献报道的威士忌内酯、 γ -癸内酯、 δ -壬内酯等威士忌特征香气成分需要采用溶剂辅助提取法处理酒样^[2,18],但由于本研究采用静态顶空进样测定威士忌挥发性成分,因此未检测到文献报道的威士忌特征香气成分,这与 Rodrigues 等的研究结果是相近的^[3]。另外,有报道表明威士忌陈放年代对酒体香气影响显著,例如 3-甲基-2,4-壬二酮仅存在于陈酿期在 4 年以上的年代威士忌中,而在陈酿期 2 年的酒中未检出^[24]。

由图 2 可知,不同阶段酒样在挥发成分的含量上有显著差异($\alpha=0.05$)。陈放酒与浸泡酒仅在醛酮

类、硫化物两大类总含量差异显著($P<0.05$)。这说明陈放阶段酒体的挥发成分在浸泡阶段就已经形成,经过陈放后仅有少量成分发生了显著变化。成品酒与陈放酒的挥发成分在醇类、醛酮类、呋喃类、硫化物和烷烃类总含量上差异不显著($P>0.05$)。成品酒是以陈放酒为基础经过勾兑而成的,且在玻璃瓶中存放了较长时间,因此某些类化合物的总量与陈放酒有了差异。原酒和净化酒的挥发成分仅在酸类总含量上差异显著($P<0.05$),说明净化用吸附剂对酸有吸附作用,但不影响其他成分。

2.2 国产威士忌不同工艺环节挥发性成分的主坐标分析

以挥发成分为指标,对不同阶段酒样进行主坐标分析,结果如图 3 所示。浸泡、陈放、成品三个阶段酒样的挥发成分距离接近,而原酒和净化阶段酒样的挥发成分距离接近。初步判定浸泡阶段是威士忌顶空中的挥发成分特征形成的关键阶段。

因此,以是否浸泡橡木片为分类标准,将各阶段威士忌酒样划分为浸泡前和浸泡后两类。原酒和净化酒归类为浸泡前酒样,浸泡、陈放和成品归类为浸泡后酒样。利用 OPLS-DA 方法对各阶段威士忌挥

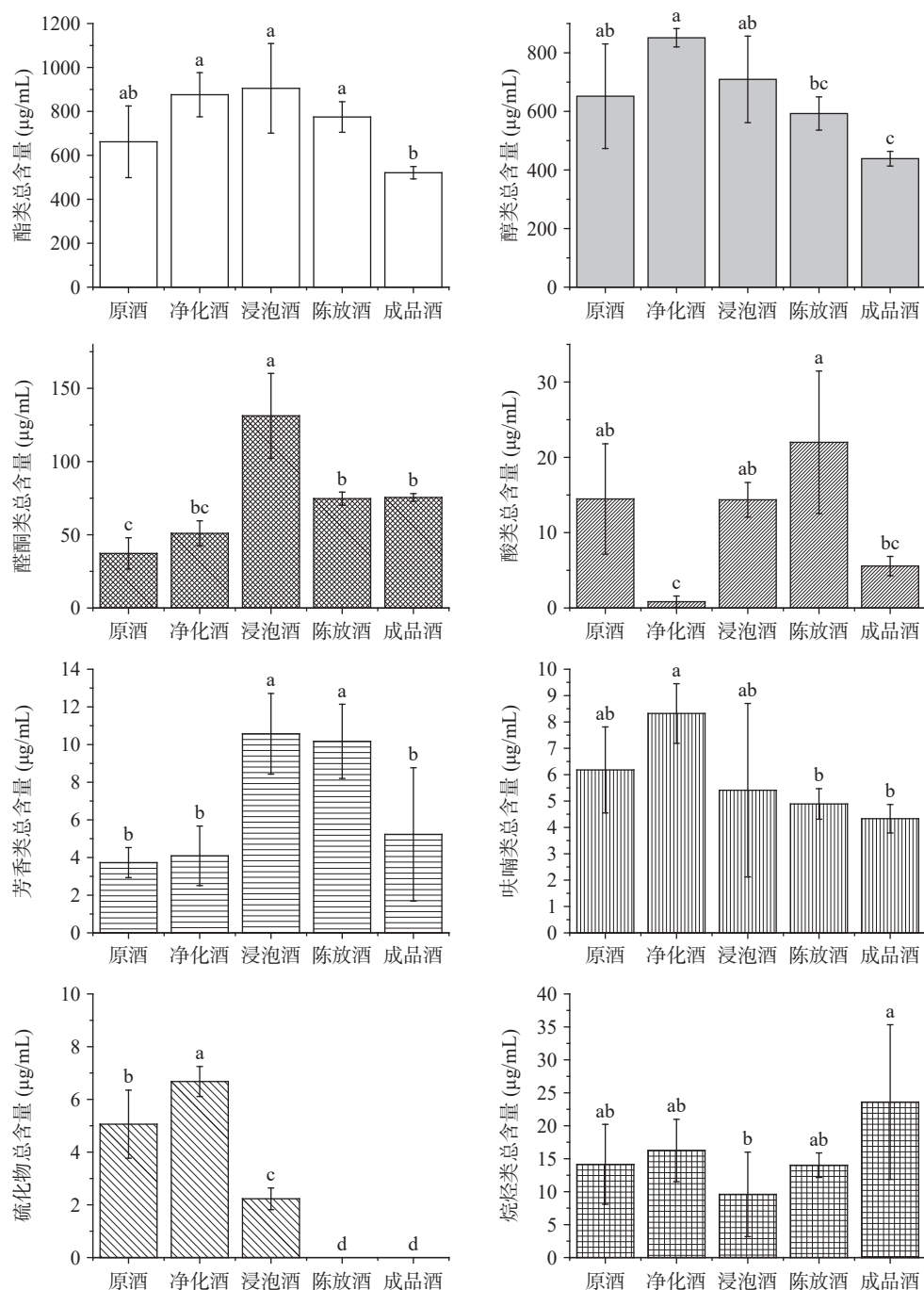


图2 各类挥发成分在各阶段威士忌顶空中的总含量

Fig.2 Content of each kind of volatile constituents in the headspace above whisky during each manufacturing stage

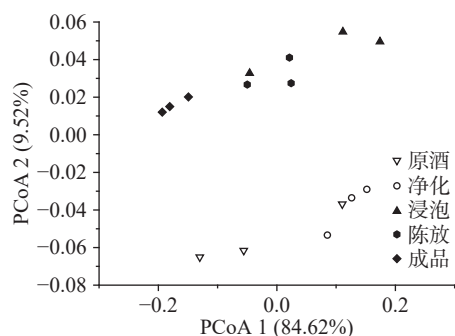
注: 不同小写字母表示数据差异显著, $P < 0.05$ 。

图3 不同阶段威士忌顶空中的挥发成分主坐标分析图

Fig.3 PCoA of volatile constituents in the headspace above whisky from different manufacturing stage

发成分进行分类建模分析。该方法可以去除挥发成分中与分类无关的成分,使分类信息主要集中在一个主成分中,从而模型变得简单和易于解释,其判别效果及主成分得分图的可视化效果更加明显^[17,25-27]。模型主成分得分图如图4所示,浸泡前后阶段存在明显的组间差异。由图4可知,在纵轴方向上,各类样品高度聚集说明将国内威士忌生产工艺划分为浸泡前和浸泡后两个阶段是合理的;在横轴方向上样品间的离散说明不同阶段的酒样在挥发成分上存在一定差异,但浸泡后三个阶段的酒样没有明显分界线,说明浸泡橡木后,各阶段酒体挥发成分具有相似性。

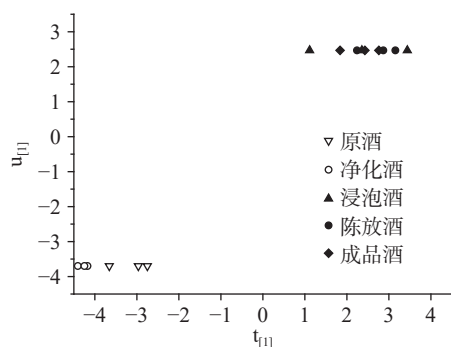


图 4 模型主成分得分图

Fig.4 Scores of OPLS-DA model

以是否浸泡作为判别标准建立的 OPLS-DA 模型, 能将不同阶段威士忌酒样明确分类。模型解释率 R^2_X 、 R^2_Y 和模型预测能力 Q^2 分别为 0.677、0.955、0.922, 其中 R^2_Y 接近于 1 且 $Q^2 > 0.5$, 说明模型质量较好^[17]。因此, 认为浸泡橡木片是威士忌挥发成分形成的关键工艺步骤是合理的。

2.3 不同工艺环节酒样关键差异化合物分析

根据 OPLS-DA 模型中的 VIP (VIP>1.0) 筛选出潜在的关键差异化合物, VIP 如图 5 所示。然后对其进行显著性分析, 将其中具有显著差异的化合物 ($P < 0.05$) 作为浸泡前后威士忌挥发成分的关键差异化合物。由于各物质的含量存在数量级的差异, 为使数据便于观察, 采用对数纵坐标绘制浸泡前后的关键化合物含量变化图, 如图 6 所示。

由图 5 可知, VIP>1.0 的化合物共有 17 种。对这 17 种化合物在浸泡前后的差异性进行 t 检验, 显著性值 P 均小于 0.05。由图 6 可知, 乙酸-2-苯乙酯、乙酸、苯酚、3-甲基丁醛、十七烷在浸泡前威士忌挥发成分中并未检出, 癸酸乙酯、乙醛、月桂酸乙酯、甲酸乙酯、丁醛、糠醛在浸泡后威士忌顶空香气成分中显著高于浸泡前。有报道指出以上成分存在于橡木中^[8,26-27], 说明这 11 种化合物的出现或增加是由浸泡橡木片以及在橡木桶中陈放引起的。而二甲硫醚、呋喃、己酸乙酯、丁醇、2-甲基-1-丙醇和正丙醇在浸泡后威士忌挥发成分中显著低于浸泡前。

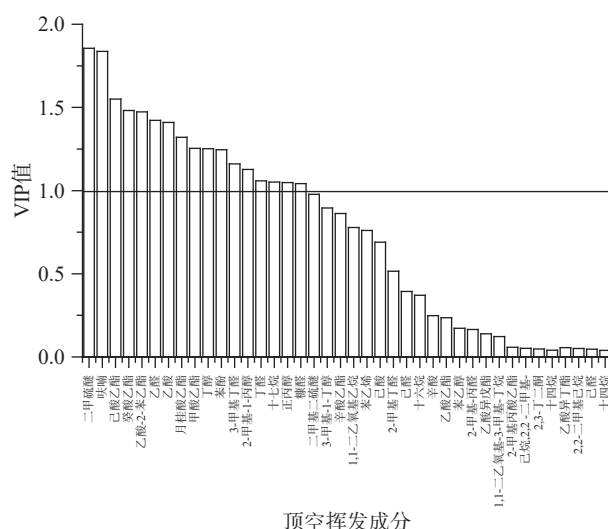


图 5 OPLS-DA 模型的 VIP

Fig.5 VIP of OPLS-DA model

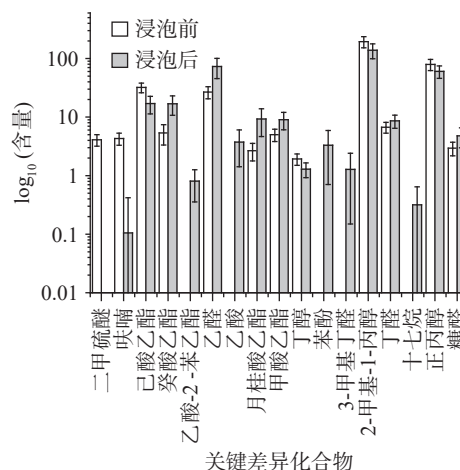


图 6 浸泡前后关键差异化合物的变化

Fig.6 Changes of key differential constituents before and after stage of soaking

原酒和净化酒中的这些成分主要来源于发酵阶段^[28], 在与橡木接触后, 这些化合物可能与橡木片引入的成分发生了化学反应^[29], 或者可能被橡木片吸附^[30]。

由图 7 可知, 在浸泡后的三种酒样中这些关键

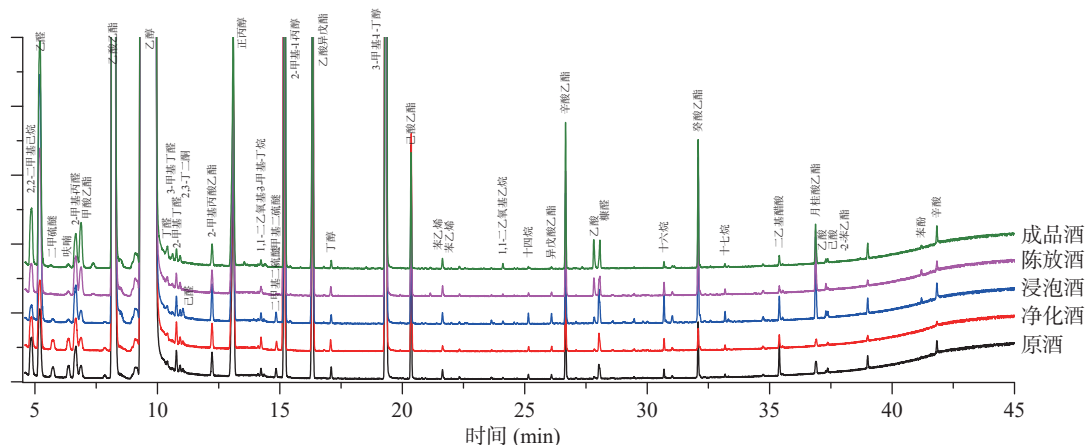


图 7 各阶段威士忌顶空中的挥发成分总离子流图

Fig.7 Total ion current diagram of volatile constituents in the headspace above whisky from each manufacturing stage

差异化合物也有一定的差异。乙酸-2-苯乙酯、苯酚、十七烷、癸酸乙酯、月桂酸乙酯、糠醛在成品酒中的丰度小于浸泡酒和陈放酒,乙酸、3-甲基丁醛、甲酸乙酯、戊醛在成品酒中的丰度高于浸泡酒和陈放酒,乙醛在成品酒和陈放酒中的丰度变化不大,但都低于浸泡酒。这说明威士忌在玻璃瓶中存放时,挥发成分也会发生酯化、水解、氧化等反应,同时可能伴随着高挥发性成分的挥发损失。但与引入橡木之前的威士忌相比这种变化引起的差异是不显著的。

浸泡后酒样中,因橡木引入的关键差异化合物的 OAV 如表 2 所示。由表 2 可知,11 种由橡木引入的关键差异化合物中,8 种成分的 OAV>1,说明这 8 种挥发成分对浸泡后酒样的香气有贡献,而乙酸和丁醛的 OAV<1,说明这两种化合物对香气无贡献^[18-19]。

表 2 浸泡后橡木片引入的关键差异化合物气味活性值
Table 2 OAV of key different constituents brought in by oak after stage of soaking

化合物	气味阈值(μg/L) (水:醇=6:4, v/v)(浸泡酒)	OA V	化合物	气味阈值(μg/L) (水:醇=6:4, v/v)(浸泡酒)	OA V
3-甲基丁醛	2.8 ^[18]	1021(陈放酒)	乙酸-2-苯乙酯	108 ^[19]	10
乙醛	500.4 ^[31]	212	甲酸乙酯	2700 ^[22]	2
癸酸乙酯	200.3 ^[20]	116	乙酸	230000 ^[19]	<1
苯酚	31 ^[32]	103	丁醛	2901.87 ^[34]	<1
糠醛	143 ^[33]	38	十七烷	—	—
月桂酸乙酯	600 ^[21]	24			

注:“—”表示十七烷的气味阈值未获得。

3 结论

在不同生产阶段中国产威士忌酒样顶空中的挥发成分中共检测出 36 种香气成分,不同阶段酒样在挥发成分的含量上有显著差异($\alpha=0.05$)。经主坐标分析初步判定、OPLS-DA 建模验证,浸泡阶段是国产威士忌挥发成分特征形成的关键阶段。浸泡前后的关键差异化合物共有 17 种,分别为乙酸-2-苯乙酯、乙酸、苯酚、3-甲基丁醛、十七烷、癸酸乙酯、乙醛、月桂酸乙酯、甲酸乙酯、丁醛、糠醛、二甲硫醚、呋喃、己酸乙酯、丁醇、2-甲基-1-丙醇和正丙醇。经浸泡阶段,有 11 种高挥发性橡木成分引入到的酒体中,其中 3-甲基丁醛、乙醛、癸酸乙酯、苯酚、糠醛、月桂酸乙酯、乙酸-2-苯乙酯、甲酸乙酯 8 种成分对威士忌香气有贡献;浸泡阶段还会使得发酵、蒸馏阶段产生的部分挥发性成分显著减少。这说明浸泡阶段是威士忌挥发成分形成的关键阶段。

参考文献

- [1] AKIRA W. Flavors in malt whisky: A review[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2020, 8: 1-19.
- [2] POISSON L, SCHIEBERLE P. Characterization of the most odor-active compounds in an American Bourbon whisky by application of the aroma extract dilution analysis[J]. Journal of Agricultur-

al and Food Chemistry, 2008, 56(14): 5813-5819.

- [3] RODRIGUES F, CALDEIRA M, CMARA J S. Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC-qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 609(1): 82-104.
- [4] CAMARA J S, MARQUES J C, PERESTRELO R M, et al. Comparative study of the whisky aroma profile based on headspace solid phase microextraction using different fibre coatings[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1150(1-2): 198-207.
- [5] OCHIAI N, SASAMOTO K, MACNAMARA K. Characterization of sulfur compounds in whisky by full evaporation dynamic headspace and selectable one-dimensional/two-dimensional retention time locked gas chromatography-mass spectrometry with simultaneous element-specific detection[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1270: 296-304.
- [6] JELEN H J, MAJCHER M, MAJCHER A. Key odorants in peated malt whisky and its differentiation from other whisky types using profiling of flavor and volatile compounds[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 107(6): 56-63.
- [7] 宋绪磊, 沈国全, 路峻, 等. 不同酵母对威士忌品质的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(10): 89-94. [SONG Xulei, SHEN Guoquan, LU Jun, et al. Effect of different yeasts on the quality of whisky[J]. China Brewing, 2021, 40(10): 89-94.]
- [8] LI W, SHI C, GUANG J. et al. Development of Chinese chestnut whiskey: yeast strains isolation, fermentation system optimization, and scale-up fermentation[J]. AMB Express, 2021(11): 17.
- [9] BATHGATE G N. The influence of malt and wort processing on spirit character: the lost styles of Scotch malt whisky[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 125(2): 200-213.
- [10] 王金华, 李萍. 活性炭对清香型降度酒除浊的研究[J]. 中国酿造, 2010, 29(6): 135-137. [WANG Jinhua, LI Ping. Application of active carbon on turbidity removal for alcohol-reduced Fen-flavor liquor[J]. China Brewing, 2010, 29(6): 135-137.]
- [11] 黄小晖, 刘锦武, 吴生文, 等. 冷冻过滤技术在特香型白酒中的应用[J]. 酿酒科技, 2016(11): 77-79. [HUANG Xiaohui, LIU Jingwu, WU Shengwen, et al. Application of freezing filtration in Texiang Baijiu production[J]. Liquor-making Science & Technology, 2016(11): 77-79.]
- [12] 周海妹, 符小捷, 洪玉程, 等. 不同酒类活性炭在酒体净化过程中对小曲白酒质量的影响[J]. 现代食品, 2021(12): 91-93, 97. [ZHOU Haimei, FU Xiaojie, HONG Yucheng, et al. Effect of different alcoholic activated carbon on the quality of Xiaoku Chinese Baijiu in the process of purification[J]. Modern Food, 2021(12): 91-93, 97.]
- [13] 孙长花. 蒸馏酒人工陈酿工艺的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2007: 12. [SUN Changhua. Study of artificial aging process of distilled liquor[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2007: 12.]
- [14] 陈计密. 香梨白兰地的品质及陈酿机理的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2002: 45. [CHEN Jiluan. Studies on character and mechanism of ageing of fragrant pear brandy[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2002: 45.]
- [15] 孙金沅, 宫俐莉, 刘国英, 等. 古井贡酒酒醅挥发性香气成分的 GC-MS 与 GC-O 分析[J]. 食品科学, 2016, 37(24): 87-93. [SUN Jinyuan, GONG Lili, LIU Guoying, et al. Analysis of volatile compounds in fermented grains of Chinese Gujingong liquor by solvent-assisted flavor evaporation combined with GC-MS and GC-O[J]. Food Science, 2016, 37(24): 87-93.]
- [16] 李慧星, 韩朝洪, 姚涵译, 等. 不同来源浓香型酒醅的挥发性成分差异分析[J]. 中国酿造, 2021, 40(6): 87-91. [LI Huixing,

- HAN Zhaoqi, YAO Hanyi, et al. Differences of volatile compounds in strong-flavor fermented grains from different sources[J]. *China Brewing*, 2021, 40(6): 87–91.]
- [17] 闫涵, 范文来, 徐岩. 单粮和多粮型白酒发酵过程的成分差异分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(16): 5. [YAN Han, FAN Wenlai, XU Yan. The differences in the composition of baijiu made by single grain and multiple grain[J]. *Food Science*, 2021, 42(16): 5.]
- [18] POISSON L, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in an american bourbon whisky by quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(14): 5820–5826.
- [19] KERLEY T, MUNAFO J P. Changes in Tennessee whiskey odorants by the Lincoln County process[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(36): 9759–9767.
- [20] GARCIA J M, MARTINEZ T G, MILLAN M C, et al. Proteins involved in wine aroma compounds metabolism by a *Saccharomyces cerevisiae* flor-velum yeast strain grown in two conditions[J]. *Food Microbiology*, 2015, 51(10): 1–9.
- [21] SATORA P, KOSTRZ M, SROKA P, et al. Chemical profile of spirits obtained by spontaneous fermentation of different varieties of plum fruits[J]. *European Food Research and Technology*, 2017, 243(8): 489–499.
- [22] Chemical book. 甲酸乙酯[EB/OL]. [2022-08-17]. <https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3411274.htm>. [Chemical book. Ethyl formate[EB/OL]. [2022-08-17]. <https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3411274.htm>]
- [23] DAUTE M, JACK F, BAXTER I, et al. Comparison of three approaches to assess the flavor characteristics of scotch whisky spirit[J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(4): 1410.
- [24] THIBAUD F, PETERSON A, URRUTY L, et al. Sensorial impact and distribution of 3-methyl-2,4-nonanedione in cognacs and spirits[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(15): 4509–4517.
- [25] KEW W, GOODALL I, CLARKE D, et al. Chemical diversity and complexity of scotch whisky as revealed by high-resolution mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2017, 28(1): 200–213.
- [26] 周双. 国产橡木与欧美橡木中挥发性化合物差异研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 11. [ZHOU Shuang. Volatile compounds among Chinese, European and American oaks[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013: 11]
- [27] 李春光, 赵新节, 孙玉霞, 等. 橡木制品对干红葡萄酒中橡木香气成分的影响研究[J]. *酿酒科技*, 2014(9): 17–20. [LI Chunguang, ZHAO Xinjie, SUN Yuxia, et al. Effects of oak products on oak-related aroma components in dry red wines[J]. *Liquor-making Science & Technology*, 2014(9): 17–20.]
- [28] REID S J, SPEERS R A, WILLOUGHBY N, et al. Pre-fermentation of malt whisky wort using *Lactobacillus plantarum* and its influence on new-make spirit character[J]. *Food Chemistry*, 2020, 320: 126605.
- [29] CĂLUGĂR A, COLDEA T E, POP C R, et al. Evaluation of volatile compounds during ageing with oak chips and oak barrel of muscat ottonel wine[J]. *Processes*, 2020(8): 1000.
- [30] COELHO E, DOMINGUES L, JTEIXEIRA J A, et al. Understanding wine sorption by oak wood: Modeling of wine uptake and characterization of volatile compounds retention[J]. *Food Research International*, 2019, 16(2): 249–257.
- [31] MARCQ P, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in a commercial fino and a commercial pedro ximénez sherry wine by application of the sensomics approach[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(17): 5125–5133.
- [32] CZERNY M, BRUECKNER R, KIRCHHOFF E, et al. The influence of molecular structure on odor qualities and odor detection thresholds of volatile alkylated phenols[J]. *Chemical Senses*, 2011, 36(6): 539–553.
- [33] 刘明, 徐姿静, 钟其顶, 等. 白酒中风味物质阈值测定方法的比较[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(4): 253–260. [LIU Ming, XU Zijiang, ZHONG Qiding, et al. Comparison of the threshold determination method for Chinese liquor (Baijiu) flavor substances[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(4): 253–260.]
- [34] 范文来, 徐岩. 白酒 79 个风味化合物嗅觉阈值测定[J]. *酿酒*, 2011, 38(4): 80–84. [FAN Wenlai, XU Yan. Determination of odor thresholds of volatile aroma compounds in baijiu by a forced-choice ascending concentration series method of limits[J]. *Liquor Making*, 2011, 38(4): 80–84.]