

中国不同产区赤霞珠干红葡萄酒香气成分数据的可视化分析

陶永胜 李华 王华*

(西北农林科技大学葡萄酒学院, 杨凌 712100)

摘要 可视化技术被引入葡萄酒香气成分数据的分析, 以达到鉴别区分不同产区葡萄酒的目的。葡萄酒分析样品是 2005 年赤霞珠干红葡萄酒产品。5 个产区是河北昌黎、新疆玛纳斯、云南弥勒、宁夏贺兰山东麓和河北沙城。香气成分用二氯甲烷连续萃取, 有机相真空浓缩之后进行 GC-MS 分析检测。共鉴定并半定量分析出 5 个产区赤霞珠干红葡萄酒中 68 种香气成分, 对原始色谱分析数据进行标准归一化处理, 将信息映射到 $[0, 1]$ 之间的灰度图空间, 然后根据数据可视化原理, 用 Vc^{++} 构建含多种香气成分信息的二维灰度图, 直观表征不同产地赤霞珠干红葡萄酒的香气成分信息。研究结果是一种反映葡萄酒化学信息的条形码技术, 该技术转换葡萄酒香气成分色谱数据之后得到二维灰度图, 能够良好区分不同产区的赤霞珠干红葡萄酒。

关键词 葡萄酒, 赤霞珠, 香气成分, 可视化

1 引言

葡萄酒原产地的气候、地质、土壤以及葡萄品种等自然因素和栽培管理措施、酿造工艺等人为因素决定了葡萄酒的质量及其特征和风格。葡萄酒质量及其特征的鉴别在理论分析的基础上, 传统上采用专家品尝的方法, 而感官分析受人为影响的因素较大。葡萄酒香气是葡萄酒质量的重要组成部分, 是感官分析的重点, 而葡萄酒香气成分又是葡萄酒香气特征的物质基础^[1]。现代仪器分析技术的发展已经能够实现葡萄酒中大量香气成分的分析, 目前已鉴定出葡萄酒中的香气成分约有 1000 种^[2,3]。葡萄酒中的香气成分与品种和产地的生态条件密切相关, 品种和产地的不同构成了葡萄酒香气成分的复杂、多变。葡萄酒中的香气成分好比一个复杂的“黑箱”体系, 仅分析单一的、少量的或浓度较高的几种化学成分, 不能真正反映该葡萄酒产品的香气特性, 且分析的越细, 目标越缩小, 离其整体特征的距离就越远。

葡萄酒香气成分分析结果通常是气相色谱分析所得的色谱数据, 包括与谱图对应的峰高、峰面积、保留时间等数字化量测数据。这些数据抽象, 不易直观理解, 且葡萄酒香气成分分析数据复杂多样, 数据解析难度非常大。随着计算机图形学及图像信息处理技术的发展, 科学计算可视化技术 (visualization in scientific computing, ViSC) 应运而生并吸引了众多科研工作者的关注。ViSC 技术是指将巨量的抽象数据转换为直观的计算机图形或图像, 使研究者可以从中获取量测数据群的整体表征及特征信息, 易于直观地发现隐含在数据群体中的客观规律^[4,5]。

本研究以我国 5 个不同产区的赤霞珠干红葡萄酒为研究对象, 通过香气成分的 GC-MS 分析得到葡萄酒的香气成分量化数据, 然后运用基于灰度映象的二维可视化技术对香气成分数据进行可视化处理, 获取反映各样品化学信息的特征图像, 并将其作为不同产区赤霞珠干红葡萄酒的虚拟指纹图谱。通过原始色谱分析数据的标准归一化处理将香气成分的信息映射到 $[0, 1]$ 之间的灰度图空间, 变换得到二维灰度图像, 用视觉可辨识的灰度图整体反映各样品的化学组分, 直观表达分析对象的化学模式差异, 实现不同产区葡萄酒的准确鉴别。该方法作为一种新型的化学信息条形码技术, 可应用于葡萄酒质量评价、产区鉴别等方面, 具有良好的发展前景。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

TRACE DSQ GC-MS 仪 (美国 Thermo-Finnigan 公司); DB-Wax 毛细管色谱柱 (30 m \times 0.32 mm \times

2007-07-04 收稿; 2007-12-19 接受

本文系国家自然科学基金资助项目 (No. 30571281)

* E-mail: putj@263.net

0.25 μm , J&W, Folsom, USA); 旋转蒸发器: RE-52A/52AA (上海亚荣生化仪器厂)。

二氯甲烷, 色谱纯, 经双蒸之后使用; 无水硫酸钠 (99.7%, 西安化学试剂厂); 2-辛醇 (99.9%, 美国 Sigma 公司); 实验用水由美国 Millipore 公司生产的纯水制备仪制备。

2.2 实验方法

2.2.1 葡萄酒样品 取自河北昌黎华夏长城葡萄酒有限公司、新疆新天葡萄酒有限公司、云南弥勒云南红葡萄酒有限公司、宁夏银川西夏王葡萄酒有限公司和河北沙城容辰葡萄酒有限公司。葡萄酒全部为 2005 年所酿, 在发酵后 9 个月采集酒样。供试酒样常规理化指标见表 1, 所有指标都符合国家关于干红葡萄酒的理化标准。

表 1 供试酒样理化指标

Table 1 General composition of wine sample

产地 Origin	酒精度 (% V/V) Ethanol concentration	残糖 (g/L) Reducing sugars	pH	总酸 ^a Titratable acidity (g/L)	挥发酸 ^b Volatile acidity (g/L)	总 SO ₂ Total SO ₂ (mg/L)	游离 SO ₂ Free SO ₂ (mg/L)
昌黎 Changli	11.01	1.6	3.4	6.21	0.46	117	12
新天 Xintian	12.05	2.1	3.3	6.23	0.41	122	9
云南 Yunnan	11.58	1.8	3.1	6.19	0.32	123	14
贺东 Hedong	11.98	1.5	3.3	6.27	0.41	109	10
沙城 Shacheng	10.87	1.1	3.4	5.95	0.39	105	11

a 以酒石酸计 (as tartaric acid); b 以乙酸计 (as acetic acid)。

酿造工艺: 葡萄原料可溶性固形物达到 22 时采收, 破碎、除梗之后, 添加 45 mg/L SO₂ 静置 24 h, 添加酵母, 在不锈钢罐中发酵并浸渍, 发酵温度控制在 25~30; 当浸渍强度达到要求后, 分离皮渣, 继续进行酒精发酵, 温度控制在 18~20。酒精发酵结束之后, 进行苹果酸-乳酸发酵, 温度控制在 18~20。苹果酸-乳酸发酵结束后, 葡萄酒转罐分离, 加入 70 mg/L SO₂, 进入常规的贮藏陈酿阶段。

2.2.2 香气成分萃取方法 参考文献 [6] 的方法, 取 100 mL 葡萄酒, 加入 20 μL 2-辛醇乙醇溶液 (内标物, 43 mg/L), 然后用 50、30、20 mL 的二氯甲烷连续萃取, 合并有机相, 有机相用无水硫酸钠脱水, 在旋转蒸发器上浓缩至 5 mL, 最后进行 GC-MS 分析。

2.2.3 GC-MS 条件 载气: He, 流速为 1 mL/min; 柱温升温程序: 40 (4 min) $\xrightarrow{4}$ 160 $\xrightarrow{7}$ 230 (8 min)。样品注射体积为 1 μL , 不分流进样。质谱范围: 33~450 amu, 连接杆温度 230, 注射器温度 230。离子源温度 230, 电子源电离轰击, 电子源电压: 70 eV, 电流 10 μA 。

2.2.4 定性定量方法 定性: MS 检测峰采用 GC-MS 仪器随机所带 NIST2.0 谱库和 Wiley 谱库检索法定性, 准确定性依据是匹配度大于 800 的物质 (最大值为 1000)。定量: 采用 2-辛醇内标法进行半定量, 计算公式如下:

$$\text{检测物质浓度} = (\text{检测物质峰面积} / \text{2-辛醇峰面积}) \times \text{2-辛醇浓度}$$

2.2.5 可视化原理与算法 香气成分量化数据采用空间矩阵投影法转换设计二维灰度图。二维灰度图是通过灰度映像对数据矩阵进行映射, 其中灰度映像是一种代表灰度值的数据结构, 对 0~1 的各数值从小到大分配一种特定的灰度, 以灰度的深浅来连续表征不同数值的大小, 从而将数据空间映射到灰度空间, 实现以视觉模式变化来替代抽象数据变化^[4,5]。在本实验中, 采用线性灰度图来实现色谱分析数据的可视化, 灰度图 X 轴的坐标位置表示葡萄酒香气成分的色谱保留时间, 灰度图的 Y 轴为辅助性标量, 目的是将一维数据向量转换为二维平面图, 两个相邻成分之间的区域为后一个成分量化值的灰度。

数据计算方法: 由于数据空间到灰度空间的映射是采用 [0, 1] 区间内的数值与不同灰度深浅之间的一一对应, 故必须对数据矩阵进行标准化处理。

(1) 平移变换 设标准化前数据矩阵为 $[X_{ij}]$, 各列向量中数据最小值为 X_{\min}^j , 而经平移变换后的数据矩阵设为 $[Y_{ij}]$, 那么对各列向量中数据点作如下的平移变换:

$$Y_{ij} = X_{ij} - X_{\min}^j$$

(2) 压缩变换 平移变换后的数据矩阵为 $[Y_{ij}]$, 令矩阵中数据最大值为 Y_{\max} , 而经压缩变换后的数据矩阵设为 $[Z_{ij}]$:

$$Z_{ij} = Y_{ij} / Y_{\max}$$

经过以上连续两步的空间等价变换, 将整个坐标空间压缩为一个 $[0, 1]$ 超立方体, 而变换前后数据点分布形状和相对位置均保持不变。

香气成分数据矩阵的可视化图形的转换用 Vc^{++} 软件设计完成。

3 结果与讨论

3.1 香气成分 GC-MS 分析结果

GC 分析前香气成分样品采用二氯甲烷连续萃取制备, 该法所用样品量大, 灵敏度高。Perestrelo 等^[6]用二氯甲烷连续萃取葡萄酒中主要的和微量的挥发性成分并进行了方法验证, 共检测出 86 种成分, 均具有很高的回收率和线性相关系数 ($r^2 > 0.98$), 检测线达到 $\mu\text{g/L}$ 。赤霞珠葡萄品种在我国各葡萄酒产区均有大面积栽培, 是红葡萄酒的主要酿造品种。在我国赤霞珠干红葡萄酒香气成分分析中, 二氯甲烷萃取香气成分和 GC-MS 分析是常用方法, 有研究已对昌黎、贺兰山东麓产区的赤霞珠干红葡萄酒进行了香气分析, 但由于仅是峰面积归一化法的相对含量 (%), 无法进行相互之间的量化比较^[7,8]。本研究所得香气成分定量数据为相对于 2-辛醇的含量, 可以进行不同样品之间的量化比较。

GC-MS 共鉴定出 5 个产区年轻赤霞珠干红葡萄酒中 68 种香气成分, 不同产区的赤霞珠葡萄酒香气成分主要为高级醇、酯类、有机酸等, 产区间差异明显的香气成分半定量值见表 2。

表 2 5 个产区赤霞珠干红葡萄酒香气成分 GC-MS 分析结果 (部分)

Table 2 Aroma compounds of Cabemet Sauvignon dry red wines from five origins(part)

序号 No	化合物 Compound	保留时间 R_T (min)	相对含量 Relative contents* (mg/L)				
			新天 Xintian	云南 Yunnan	昌黎 Changli	贺东 Hedong	沙城 Shacheng
1	1-丙醇 1-Propanol	6.67				1.471	
2	异戊醇 Isopentyl alcohol	11.15	59.85	65.76	72.59	127.7	98.84
3	3-甲基-3-丁烯-1-醇 3-Methyl-3-buten-1-ol	12.15	0.026				
4	3-羟基-2-丁酮 3-Hydroxy-2-butanone	13.14	9.039	0.344	0.963	2.184	2.499
5	乳酸甲酯 Methyl lactate	14.22	0.077		0.267	0.069	0.199
6	3-甲基-1-戊醇 3-Methyl-1-pentyl alcohol	14.85	0.163				
7	(Z)-2-己烯-1-醇 (Z)-3-hexen-1-ol	17.22	0.026				
8	十四烷	17.38	0.112				
9	糠醛 Furfural	18.64		0.843	0.086	0.181	0.736
10	山梨酸乙酯 Ethyl sorbite	20.20		2.451			
11	2-甲硫基-1-丙醇 2-Methylsulfanylpropan-1-ol	20.77	0.31				
12	2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	21.35	1.823	3.913	3.165	7.147	9.824
13	乳酸异戊酯 Isopentyl lactate	22.10	0.507		2.331	1.436	1.042
14	丁二酸甲酯乙酯 Methyl-ethyl succinate	23.95	0.172				
15	癸酸乙酯 Ethyl decanoate	24.21	0.155				
16	糠醇 Furfuryl alcohol	24.67	0.318	0.06	0.421	0.206	0.009
17	异戊酸 Isopentyl acid	24.96	0.886	0.671	5.427	1.066	0.727
18	3-甲硫基-1-丙醇 3-Methylsulfanylpropan-1-ol	26.28	10.501	2.296	1.359	0.310	0.968
19	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	27.61	0.464				
20	1,3-丙二醇 1,3-Propanediol	28.22			1.823		
21	2-甲基-四氢噻吩 2-Methyl-tetrahydro-thiophene	28.57				2.563	
22	1,4-丁二醇二乙酸酯 1,4-Butanediol diacetate	30.65	0.464				
23	1H-吡咯-2-羧醛 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	33.55		0.232			
24	DL-苹果酸二乙酯 Diethyl dimalate	34.01	0.232	6.295	0.370	0.310	0.374
25	(Z)-2-丁烯酸 (Z)-2-Butenoic acid	35.88				0.585	
26	山梨酸 Sorbic acid	35.90		97.70			
27	肉桂酸乙酯 Ethyl cinnamate	37.66	0.533	0.714	1.066	0.611	
28	癸酸 Decanoic acid	37.72	28.64			0.559	

续表 2 (continued to Table 2)

序号 No	化合物 Compound	保留时间 R_T (min)	相对含量 Relative Contents* (mg/L)				
			新天 Xintian	云南 Yunnan	昌黎 Changli	贺东 Hedong	沙城 Shacheng
29	丁二酸单乙酯 Ethyl hydrogen succinate	39.27	33.38	48.31	48.26	41.75	17.64
30	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	43.17		1.445			
31	4-羟基苯乙醇 4-(2-Hydroxyethyl)phenol	49.08	6.33		5.624	4.42	2.577

* 香气成分量化数据为 3 次重复的平均值, 相对含量为相对于 2-辛醇的含量 (concentration is the mean of three repetitions and it is the relative content to 2-octanol)。

3.2 可视化分析结果

国外利用香气成分进行不同产区葡萄酒鉴别的研究较多, 例如 Marti 等开发了一种葡萄酒挥发性成分的 HS-MS 分析方法和相应的多元统计技术用于区分不同产地的葡萄酒^[9]。还有文献对单产区葡萄酒进行香气成分分析, 然后用主成分分析 (PCA) 等统计方法寻找该产区葡萄酒特征成分及其含量^[10,11]。这些研究均需要用化学计量学方法对香气成分数据进行产区信息的挖掘, 虽然区分效果很好, 但是抽象, 不直观。本研究采用可视化原理, 按照 2.2.5 节的计算方法, 用 Vc^{++} 软件将葡萄酒香气成分数据设计生成二维灰度图 (图 1)。

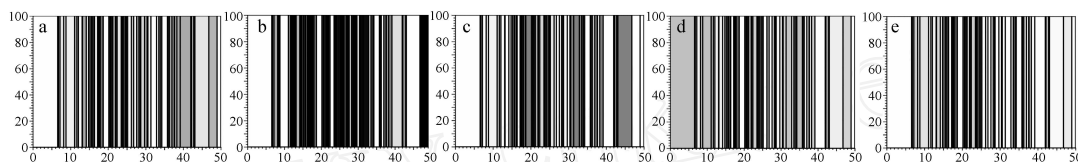


图 1 昌黎 (a)、新疆 (b)、云南 (c)、贺东 (d) 和沙城 (e) 产区的葡萄酒灰度图

Fig 1 Gray-scale maps of wine produced from Changli (a), Xinjiang (b), Yunnan (c), Hedong (d) and Shacheng (e)

程翼宇等^[12]最先将可视化技术引入中药的产地鉴别, 使用 Matlab 语言构建不同产地中药川芎化学成分的二维灰图, 取得了较好的分辨效果; 余杰等^[13]用可视化原理, 对 3 个不同桑白皮样品的原始化学数据进行可视化表征, 效果较好。但他们的灰度图在 X 方向上采用不同标准化数据的线性插值法完成。本研究直接计算各成分数据的灰度, 在 X 方向上, 相邻成分 (即相邻保留时间) 之间的区域为后一个成分量化值的灰度, 是一种真正意义上的化学数据条形码, 结果显示不同产区葡萄酒灰度图之间的可比性增强, 效果较好。由图 1 可见, 5 个产区赤霞珠葡萄酒之间的差别显而易见, 各产区葡萄酒特征条带是灰度较深或较浅的区域, 对应含量较高和较低的特征香气成分。

本研究分析样品均为年轻赤霞珠干红葡萄酒产品, 各产区生产工艺相似, 绝大多数香气成分是来源于葡萄原料的品种香气和酒精发酵香气。原料的品种香气受产区生态条件的影响很大, 而来自酒精发酵的香气成分大多是共性成分; 其差异成分主要来源于原料成分的调整^[1]。不同年份和贮藏条件会引起香气成分的差异, 但只是在原有基础上的细微变化^[14]。本研究可视化灰度图展示的是葡萄酒香气成分的整体信息, 因此采集酒样具有代表性, 同产区单品种葡萄酒产品香气成分的灰度图理论上具有直观相似性, 其它因素造成的细微差别还需进一步研究阐明, 以便提高不同产区葡萄酒的鉴别效果。综上分析, 用葡萄酒香气成分建立起来的化学信息条形码, 即二维灰度图, 可以区分不同产区的赤霞珠干红葡萄酒。本研究提出了一种鉴别我国葡萄酒产地和质量的可视化技术, 可以为客观评价我国葡萄酒产品质量提供技术支持。

References

- 1 Li Hua (李 华). *Wine Tasting* (葡萄酒品尝学). Beijing (北京): Science Press (科学出版社), 2006: 29 ~ 106
- 2 Li Hua (李 华), Tao Yong-Sheng (陶永胜), Kang Wen-Huai (康文怀), Yin Chun-Li (尹春丽). *Journal of Food Science and Biotechnology* (食品与生物技术学报), 2006, 25(1): 99 ~ 104
- 3 Diaz C, Conde E, Mendz J. *Food Chemistry*, 2003, 81: 447 ~ 452

- 4 Bian Mao-Qi (边肇祺). *Pattem Recognition (模式识别)*. Beijing (北京): Tsing Hua University Press (清华大学出版社), 2000: 176 ~ 199
- 5 Li Yue-Jing (李月景). *Picture Reorganization technology and Application (图像识别技术及其应用)*. Machine Industry Press (机械工业出版社), 1985: 14 ~ 20
- 6 Perestrelo R, Fernandes A, Albuquerque F F, Marques J C, Camara J S *Anal Chim Acta*, 2006, 563: 154 ~ 164
- 7 Li Hua (李 华), Li Jia (李 佳), Wang Hua (王 华), Tao Yong-Sheng (陶永胜). *Journal of Northwest A & F University (西北农林科技大学学报)*, 2007, 35 (6): 94 ~ 98
- 8 Hu Bo-Ran (胡博然), Yang Xin-Yuan (杨新元), Wang Zhi-Jun (汪志君), Li Hua (李 华). *Transactions of Chinese Society for Agriculture Machinery (农业机械学报)*, 2005, 36(12): 87 ~ 90, 113
- 9 Marti M P, Bustó O, Guasch J. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1057: 211 ~ 217
- 10 Lee S J, Noble A C. *J. Agric Food Chem.*, 2003, 51: 8036 ~ 8044
- 11 Gil M, Cabellos J M, Arroyo T, Prodanov M. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563: 145 ~ 153
- 12 Chen Yi-Yu (程翼宇), Yu Ji (余 杰), Wu Yong-Jiang (吴永江). *Acta Chimica Sinica (化学学报)*, 2002, 60(2): 328 ~ 333
- 13 Yu Ji (余 杰), Wu Yong-Jiang (吴永江), Chen Yi-Yu (程翼宇). *China Journal of Chinese Materia Medica (中国中药杂志)*, 2002, 27(2): 97 ~ 99
- 14 Perez-Prieto L J, Lopez-Roca J M, Gomez-Plaza E. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2003, 16: 697 ~ 705

Data Visualization of Wine Aroma Compounds of Cabernet Sauvignon Dry Red Wines from Different Origins in China

TAO Yong-Sheng, LI Hua, WANG Hua*

(College of Enology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100)

Abstracts To classify several wines from different origins, data visualization was introduced to wine aroma compounds. Sample wines were collected from five famous wine production regions: Hebei Changli, Xinjiang Manasi, Yunnan Mile, the eastern region of Helan Mountain of Ningxia and Hebei Shacheng, China. Volatiles of wine were extracted by dichloromethane, then the collected dichloromethane was concentrated and submitted to GC-MS. Sixty eight aroma compounds were identified and semi-quantified. After standardizing and normalizing, data information was compressed in gray map space of 0 to 1. Data visualization was completed with Vc⁺⁺ program and the gray map can express the information of wine aroma compounds. The research outcome was a bar code technology of wine chemicals. Five gray-scale maps were converted from respective data of wine aroma compounds, which can distinguish Cabernet Sauvignon dry red wines from different origins easily.

Keywords Wine, cabernet sauvignon, aroma compounds, data visualization

(Received 4 July 2007; accepted 19 December 2007)