

浓香型习酒挥发性香气成分研究

王晓欣¹ 徐 岩¹ 范文来¹ 钟方达² 唐云容² 胡建锋² 毛晓红²

(1.教育部工业生物技术重点实验室,江南大学生物工程学院酿酒微生物与应用酶学研究室,江苏 无锡 214122;2.贵州茅台酒厂(集团)习酒有限责任公司,贵州 习水 564622)

摘要: 采用顶空固相微萃取法(HS-SPME)、液液微萃取(LLME)与气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术,气相色谱-氢火焰检测器(GC-FID)技术对13种浓香型习酒酒样的香气化合物进行定量,共分析定量了75种香气化合物。其中包括酯类27种,醇类9种,酸类12种,醛酮类8种,酚类3种,芳香族化合物9种,萜烯类3种,呋喃类3种和硫化物1种。从各类化合物含量上看,在浓香型习酒中含量较高的是酯类、醇类、挥发性有机酸等。结合香气活力值(OAV)分析,浓香型习酒重要的香气物质(OAV≥100)有:己酸乙酯、大马酮、辛酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、二甲基三硫、3-甲基丁醛、2-甲基丙酸乙酯、乙醛、3-甲基丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、己酸、丁酸和戊酸。通过对习酒重要香气化合物的量比分析,有助于更加清晰地认识浓香型习酒的风格特色。

关键词: 浓香型白酒; 习酒; 气相色谱-质谱(GC-MS); 香气化合物; 香气活力值(OAV)

中图分类号:TS262.31;TS261.7;O657.63 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2013)01-0031-08

Analysis of Volatile Flavoring Compounds in Nong-flavor Xijiu Liquor

WANG Xiaoxin¹, XU Yan¹, FAN Wenlai¹, ZHONG Fangda², TANG Yunrong², HU Jianfeng² and MAO Xiaohong²

(1.Key Lab of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Lab of Brewing Microbiology and Applied Enzymology, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122; 2. Guizhou Xijiu Co. Ltd., Xishui, Guizhou 564622, China)

Abstract: The flavoring compounds in 13 kinds of Nong-flavor Xijiu liquor samples were quantified by head-space microextraction (HS-SPME), liquid-liquid microextraction (LLME) coupled with gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS), and gas chromatography-hydrogen flame ion detector (GC-FID). 75 flavoring compounds in total were identified including 27 esters, 9 alcohols, 12 fatty acids, 8 aldehydes and ketones, 3 phenols, 9 aromatic compounds, 3 terpenoids, 3 furans, 1 sulfide-containing compounds. Esters had the highest concentration and then followed by fatty acids and alcohols. Combined with odor active values (OAV) results, the important flavoring compounds (OAV≥100) in Nong-flavor Xijiu liquor included ethyl caproate, β-damascenone, ethyl octanoate, ethyl butanoate, ethyl pentanoate, dimethyl trisulfide, 3-methylbutanal, ethyl 2-methylpropanoate, acetaldehyde, ethyl 3-methylbutanoate, ethyl 2-methylbutanoate, hexanoic acid, butanoic acid, and pentanoic acid. The quantity relative ratio analysis of important flavoring compounds in Xijiu liquor was helpful for deeper understanding of the styles and the features of Nong-flavor Xijiu liquor.

Key words: Nong-flavor liquor; Xijiu liquor; gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS); flavoring compounds; odor active values (OAV)

浓香型白酒是我国三大典型香型(酱香型、浓香型和清香型)白酒中产量最高的白酒,在我国白酒市场占有非常重要的地位,具有“窖香浓郁,绵软甘冽,香味协调,尾净余长”的风格特点^[1,2]。按原料的差异,浓香型白酒可分为单粮型和多粮型;按酒体风格特征可将其分为川派和江淮派^[1,2]。

浓香型白酒主体香是己酸乙酯,其含量是判定浓香型白酒酒质优劣的重要指标之一^[1,2]。2005年范文来等人通过顶空固相微萃取法(HS-SPME)和气相色谱-闻香法

(GC-O)发现洋河大曲酒样中己酸乙酯、丁酸乙酯和戊酸乙酯均有很高的香气稀释因子(FD)值,且储藏年份短的酒样的整体香气强度要低于储藏年份长的酒样^[3];2006年,通过GC-O及香气萃取稀释分析(AEDA),发现剑南春和五粮液中重要的香气化合物有丁酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、己酸丁酯、3-甲基丁酸乙酯、己酸等,酯类尤其是乙酯为其最重要的芳香物质^[4],此研究对川派和江淮派浓香型代表酒的微量成分的含量及风味强度获得更清晰的认识。2010年,通过搅拌棒吸

基金项目:十二五国家科技支撑计划(2012BAK17B11) 黔科合重大专项字[2010]6004号。

收稿日期:2012-09-28 修回日期:2012-10-19

作者简介:王晓欣(1988-),男,硕士研究生,研究方向为饮料酒风味。

通讯作者:范文来(1966-),男,硕士,研究员,研究方向为酿酒工程与发酵工程,E-mail:Wenlai.Fan@163.com。

优先数字出版时间:2012-11-21;地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20121121.1629.009.html。

附萃取(SBSE)和气相色谱-质谱(GC-MS)技术,准确定量了酱香型白酒中76种香气化合物的含量^[5],使得酱香型白酒和浓香型白酒风味物质类别和含量的差异也更加清晰。

HS-SPME技术由于其具有简单、快速、样品量少等优点,已广泛应用于白酒、葡萄酒、果酒、葡萄等物质中香气化合物的定量研究^[3,6]。2005年,范文来^[3]等通过HS-SPME技术进行了洋河酒GC-O分析;2007年,徐岩^[6]等利用此技术分析了苹果酒的风味组成。

习酒为贵州省名特优十大品牌之一^[7],目前研究主要侧重于微生物方面。1995年,陈宗雄^[8]等采用了浓香型曲酒微生物技术增己降乳,提高优质品率;2006年,翁庆北^[9]等从习酒酒曲中分离筛选出16株产 α -淀粉酶菌株,对其性质进行了研究;近两年,唐云容和钟方达分别对习酒窖泥和大曲中的微生态进行了研究和分析^[10,11]。到目前为止,对习酒风味的研究还很少。2009年,王道平等^[12]采用GC-MS技术对习酒香气成分进行研究,检测到23种化合物;同年,肖世政对多粮浓香习酒基酒和成品五星习酒中一些重要的酯类、醇类和酸类进行了研究^[13]。本研究采用HS-SPME、液液微萃取(LLME)与GC-MS联用技术,GC-FID技术定量习酒中挥发性和半挥发性的风味物质,结合OAV分析重要香气化合物的量比关系,研究浓香型习酒的风味物质。

1 材料与方 法

1.1 材料、仪器

酒样及试剂:单粮优级组合基酒(SB-E,65.7%vol),多粮优级组合基酒(MB-E,66.7%vol),浓香组合基酒(待装)(FP-E-1,52.9%vol),浓香成品酒(FP-E-2,52.9%vol),1年原酒基酒(1Y-0B-0,65.7%vol)、2年多粮甲级基酒(2Y-MB-2nd,65.7%vol)、3年多粮特级基酒(3Y-MB-1st,67.7%vol)、5年单粮特级基酒(5Y-SB-1st,61.7%vol)、8年甲级基酒(8Y-0B-2nd,67.7%vol)、10年原酒基酒(10Y-0B-0,67.7%vol)、12年单粮甲级基酒(12Y-SB-2nd,65.7%vol)、15年单粮特级基酒(15Y-SB-1st,63.7%vol)、18年单粮特级基酒(18Y-SB-1st,62.4%vol),由贵州茅台酒厂(集团)习酒有限责任公司提供;乙醇(上海安谱科学仪器公司,色谱纯);无水乙醚、氯化钠(上海国药集团,分析纯);内标及定量的化合物(上海Sigma-Aldrich公司)。

仪器:GC 6890N-MSD 5975型气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司;GC 6890N型气相色谱,美国Agilent公司;固相微萃取自动进样器,德国Gerstel公司;50 μ m/30 μ m碳分子筛/聚二乙烯苯/聚二甲基硅氧烷

(DVB/CAR/PDMS)微萃取头(加拿大Supelco公司);Milli-Q超纯水系统(美国Millipore公司);超声波清洗仪(天津Autosciennce公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 HS-SPME-GC-MS分析

酒样用煮沸冷却后的超纯水稀释至10%vol,吸取8 mL置于20 mL顶空瓶中,加氯化钠至饱和,加入10 μ L的混标(95.57 μ g/L己酸甲酯;55.55 μ g/L丙酸辛酯),进行HS-SPME-GC-MS分析^[14]。

HS-SPME条件:采用DVB/CAR/PDMS的三相萃取头,在50 $^{\circ}$ C下预热5 min,萃取吸附45 min后直接进样,250 $^{\circ}$ C下GC解析5 min。

利用GC-MS对样品进行分析。GC条件:样品通过DB-FFAP(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m,J&W Scientific)色谱柱进行分离,进样口温度250 $^{\circ}$ C,载气He,流速2 mL/min,不分流进样,程序升温为:50 $^{\circ}$ C保持2 min,以6 $^{\circ}$ C/min速率升温至230 $^{\circ}$ C,并保持15 min;MS条件:EI电离源,离子源温度230 $^{\circ}$ C,电子能量70 eV,扫描范围35.0~350.0 amu。

标准曲线的绘制:取8 mL的10%vol酒精水溶液于20 mL顶空瓶中,分别准确加入一定量的各种待测化合物的贮备液,加氯化钠至饱和,加入10 μ L混标(同上),其他条件与酒样样品检测条件相同。采用选择离子法(SIM)计算各化合物的峰面积,以芳香化合物与内标物的峰面积比为横坐标,芳香化合物与内标物质量浓度之比为纵坐标,建立标准曲线。

1.2.2 LLME-GC-MS分析

由于采用HS-SPME-GC-MS的方法定量有机酸的效果并不好,所以采用LLME-GC-MS的方法来定量酒样中的有机酸含量^[14]。吸取18 mL稀释至酒精度10%vol的习酒酒样,加氯化钠饱和,加入6 μ L的内标叔戊酸(3406.43 μ g/L),添加1 mL重蒸乙醚振荡萃取3 min,静置分层后吸1 μ L有机相进行GC-MS分析。GC条件和MS分析条件与1.2.1相同。

标准曲线的绘制:取18 mL 10%vol的酒精水溶液,加入不同浓度的待测化合物的贮备液,加氯化钠饱和,加入6 μ L的内标叔戊酸,其他条件与样品检测条件相同。用选择离子法(SIM)计算各有机酸的峰面积,以有机酸与内标物的峰面积比为横坐标,有机酸与内标物质量浓度之比为纵坐标,建立标准曲线。

1.2.3 GC-FID分析

参考国标GB/T 10345—2007的方法,将酒样稀释至酒精度40%vol后,加入2%(体积分数)的乙酸正戊酯作为内标。样品通过DB-Wax(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)色

谱柱进行分离,进样口温度 250 °C,载气高纯氮,流速 1 mL/min,分流比为 37:1,尾吹为 20 mL/min;氦气流速为 40 mL/min,空气流速为 400 mL/min,检测器温度为 250 °C;程序升温为:60 °C 保持 3 min,以 5 °C/min 升温至 150 °C,再以 10 °C/min 升温至 230 °C 并保持 5 min。40 %vol 酒精度下待测化合物保留时间的确定和校正因子的计算参考国标 GB/T 10345—2007。

2 结果与讨论

2.1 挥发性香气化合物定量方法

采用 HS-SPME、LLME 与 GC-MS 联用技术和 GC-FID 技术对 13 种浓香型习酒酒样的香气化合物进行定量,共分析定量了 75 种香气化合物,包括酯类 27 种、醇类 9 种、酸类 12 种、醛酮类 8 种、酚类 3 种、芳香族化合物 9 种、萜烯类 3 种、呋喃类 3 种和硫化物 1 种。

所定量的香气化合物的标准曲线线性均较好,线性相关系数 R^2 都在 0.99 以上。白酒中各化合物浓度均在相应标准曲线的线性范围内,适于白酒中香气化合物的定量(见表 1 和表 2)。

2.2 挥发性香气化合物的定量分析

浓香型习酒中含量最高的物质为酯类,其中乙酸乙酯、丁酸乙酯、己酸乙酯和乳酸乙酯的含量要远高于其他酯类,符合浓香型大曲酒的一般规律^[1];己酸乙酯和乳酸乙酯在非成品酒中的含量分别为 2~9 g/L 和 2~3 g/L,在成品酒中的含量约为 3 g/L 和 2 g/L,可能是习酒中主要的风味物质。在习酒中检测到己酸异丁酯、辛酸异戊酯、反-4-癸烯酸乙酯等,在其他浓香酒中未见报道^[15-17],乙酸异戊酯和丁酸异戊酯仅在剑南春中有过报道^[18]。习酒除了酯类之外,酸类、醇类和醛酮类的含量也很高,如 2-甲基丙醇、1-丁醇、3-甲基丁醇、乙酸、丁酸、己酸和乙醛等。醛酮类化合物中,2-戊酮在酱香型郎酒中和浓香型五粮液中有过报道,呈现水果香,但均没有进行定量^[5,16]。除上述物质外,异戊酸苯乙酯、香叶基丙酮、橙花叔醇和 2-丁基呋喃在浓香型白酒中也是首次检测到^[15-17],己酸糠酯仅在剑南春和酱香型郎酒中检测到,呈焦糖香和水果香^[5]。有研究表明,糠醛在不同香型白酒中含量差异较大^[19,20]。在浓香型习酒酒样中,可能由于原料和生成工艺的

表 1 采用 GC-MS 定量浓香型习酒中挥发性化合物的标准曲线

序号	化合物	Compounds	阈值 ($\mu\text{g/L}$)	定量 离子	斜率	截距	n	R^2	检测限 ($\mu\text{g/L}$)	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)
酯类										
1	丙酸乙酯	Ethyl propanoate	19019.33 ^[22]	57	255.49	-6.41	7	0.9907	9.46	262.39~16792.72
2	2-甲基丙酸乙酯	Ethyl 2-methylpropanoate	57.47 ^[22]	71	949.88	10.64	6	0.9946	72.30	250.63~64160.00
3	2-甲基丁酸丁酯	Ethyl 2-methylbutanoate	18.00 ^[14]	102	88.89	1.20	6	0.9923	5.33	79.58~2546.49
4	3-甲基丁酸乙酯	Ethyl 3-methylbutanoate	6.89 ^[22]	88	56.36	-0.44	8	0.9984	19.34	19.34~4950.00
5	乙酸异戊酯	Isopentyl acetate	93.93 ^[22]	43	71.06	2.92	9	0.9982	14.27	30.44~7791.50
6	丁酸异戊酯	Isopentyl butanoate	—	71	3.37	0.49	9	0.9941	2.24	4.18~2139.89
7	乙酸己酯	Hexyl acetate	3500.00 ^[14]	84	3331.80	6.53	6	0.9944	63.05	330.02~221121.49
8	己酸丙酯	Propyl hexanoate	12783.77 ^[22]	99	4.02	-0.03	8	0.9993	5.25	9.79~5013.80
9	庚酸乙酯	Ethyl heptanoate	13153.17 ^[22]	88	9.85	-15.28	10	0.9946	20.65	27.54~112800.00
10	己酸异丁酯	Isopentyl hexanoate	—	99	4.13	7.08	12	0.9958	23.02	49.10~25141.16
11	己酸丁酯	Butyl hexanoate	700.00 ^[25] a	56	4.62	-0.80	7	0.9927	2.15	4.02~8235.77
12	辛酸乙酯	Ethyl octanoate	12.87 ^[22]	88	2.08	1.34	9	0.9968	39.09	67.75~34687.34
13	己酸异戊酯	Isopentyl hexanoate	900.00 ^[14]	70	0.24	0.05	5	0.9990	3.93	7.87~11006.89
14	己酸戊酯	Pentyl hexanoate	—	70	5.13	0.23	11	0.9985	19.52	22.13~22656.59
15	壬酸乙酯	Ethyl nonanoate	3150.61 ^[22]	88	0.79	0.58	10	0.9963	0.66	26.59~1701.62
16	己酸己酯	Hexyl hexanoate	10.00 ^[24] a	117	0.97	0.50	11	0.9977	2.59	4.49~2298.12
17	癸酸乙酯	Ethyl decanoate	1122.30 ^[22]	88	0.94	0.10	9	0.9997	1.01	1.15~1172.50
18	辛酸异戊酯	Isopentyl octanoate	600.00 ^[25] b	70	0.66	0.08	9	0.9914	3.81	6.10~1560.60
19	反-4-癸烯酸乙酯	Ethyl rans-4-decenoate	—	110	3.21	0.62	8	0.9961	4.82	17.98~2301.32
20	丁二酸二乙酯	Diethyl butanedioate	353193.30 ^[22]	101	13.49	0.15	5	0.9983	4.95	95.07~6084.40
21	十一酸乙酯	Ethyl undecanoate	1000.00 ^[14]	88	0.30	0.03	5	0.9934	0.53	1.19~19.11
22	十二酸乙酯	Ethyl dodecanoate	3500.00 ^[14]	88	0.52	0.11	9	0.9924	1.49	3.17~405.87
醛酮类										
1	乙醛	Acetaldehyde	500.00 ^[14]	43	790.20	76.19	8	0.9909	101.39	2430.30~311073.00
2	2-甲基丙醛	2-Methyl propanal	1300.00 ^[25] b	72	56.77	0.63	7	0.9958	20.50	43.74~2799.32
3	3-甲基丁醛	3-Methylbutanal	16.51 ^[22]	58	587.42	-23.95	7	0.9942	65.48	120.04~15364.96
4	2-戊酮	2-Pentanone	70000.00 ^[26] a	43	279.50	20.82	10	0.9932	176.04	305.14~156230.90
5	己醛	Hexanal	25.48 ^[22]	72	267.17	0.57	6	0.9917	31.52	42.03~2690.00
6	壬醛	Nonanal	122.45 ^[22]	57	11.95	-0.67	8	0.9952	0.75	0.75~1538.42
7	癸醛	Decanal	10.00 ^[14]	57	16.75	-0.45	5	0.9980	7.49	12.99~207.85
8	2-十一酮	2-Undecanone	400.00 ^[14]	58	0.64	0.01	8	0.9963	1.90	3.38~172.97

续表 1 采用 GC-MS 定量浓香型习酒中挥发性化合物的标准曲线

序号	化合物	Compounds	阈值 ($\mu\text{g/L}$)	定量 离子	斜率	截距	n	R ²	检测限 ($\mu\text{g/L}$)	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)
醇类										
1	2-丁醇	2-Butanol	50000.00 ^[14]	59	5649.40	2.98	6	0.9900	405.38	459.43~58807.10
2	2-庚醇	2-Heptanol	1433.94 ^[22]	45	0.40	-0.01	5	0.9999	3.46	5.54~44.31
3	1-己醇	1-Hexanol	8000.00 ^[14]	69	198.57	1.77	6	0.9903	25.52	47.64~24392.03
4	1-辛醇	1-Octanol	900.00 ^[14]	56	30.80	-0.99	5	0.9953	4.13	95.56~764.45
5	1-壬醇	1-Nonanol	80.00 ^[14]	56	6.73	-0.18	6	0.9907	1.77	4.25~272.17
芳香族										
1	苯甲醛	Benzaldehyde	4203.10 ^[22]	106	39.171	2.5029	7	0.9941	4.38	79.51~10177.20
2	苯甲酸甲酯	Ethyl benzoate	1433.65 ^[22]	105	0.86	0.00	9	0.9970	0.77	1.55~791.68
3	2-苯乙酸乙酯	Ethyl 2-phenylacetate	406.83 ^[22]	91	0.57	0.04	5	0.9981	0.24	2.04~32.58
4	乙酸-2-苯乙酯	2-Phenylethyl acetate	908.83 ^[22]	104	4.38	-0.53	7	0.9934	1.79	3.10~198.38
5	3-苯丙酸乙酯	Ethyl 3-phenylpropanoate	125.21 ^[22]	104	4.83	-2.84	6	0.9921	1.02	56.84~1819.00
6	2-苯乙醇	2-Phenylethanol	28922.73 ^[22]	91	28.08	-0.03	6	0.9961	11.12	41.53~10631.44
7	丁酸苯乙酯	2-Phenylethyl butyrate	—	104	2.24	0.04	8	0.9973	2.28	4.56~583.99
8	异戊酸苯乙酯	2-Phenylethyl isovalerate	—	104	0.42	0.03	7	0.9981	2.81	2.44~2497.16
9	己酸苯乙酯	2-Phenylethyl hexanoate	—	104	0.95	0.04	7	0.9968	1.85	3.45~888.40
酚类										
1	4-甲基愈创木酚	4-Methylguaiacol	314.56 ^[22]	123	96.39	-0.26	5	0.9920	7.24	15.44~494.00
2	4-乙基愈创木酚	4-Ethylguaiacol	122.74 ^[22]	137	1.52	0.03	5	0.9915	7.72	20.90~334.45
3	4-甲基苯酚	4-Methylphenol	166.97 ^[22]	107	15.43	0.34	7	0.9923	4.26	14.19~29056.10
萜烯类										
1	大马酮	Damascenone	0.05 ^[27] c	121	156.02	0.05	7	0.9975	0.30	21.04~1346.50
2	香叶基丙酮	Geranyl acetone	60.00 ^[28] a	43	0.93	-0.10	10	0.9942	0.26	0.63~324.82
3	橙花叔醇	E-Nerolidol	300.00 ^[29] a	69	2.28	0.35	6	0.9977	0.14	0.80~399.45
呋喃类										
1	2-丁基呋喃	2-Butyl furan	50.80 ^[30] a	81	16.31	1.76	6	0.9924	41.62	59.01~1888.23
2	糠醛	Furfural	44029.73 ^[22]	96	145.03	-42.52	7	0.9922	21.17	42.35~86724.00
3	己酸糠酯	Furfuryl hexanoate	—	81	1.78	-0.66	10	0.9960	3.83	6.12~3133.71
硫化物										
1	二甲基三硫	Dimethyl trisulfide	0.36 ^[22]	126	12.96	3.03	6	0.9945	6.89	76.40~2444.80
挥发性有机酸										
1	乙酸	Acetic acid	200000.00 ^[14]	60	52.16	2.39	6	0.9933	2276.83	3462.93~233147.34
2	丙酸	Propanoic acid	8100.00 ^[14]	74	9.06	0.46	6	0.9968	214.24	314.22~80440.56
3	2-甲基丙酸	2-Methylpropanoic acid	2300.00 ^[14]	43	2.37	0.06	5	0.9994	159.18	181.62~11623.50
4	丁酸	Butanoic acid	964.64 ^[22]	60	3.00	0.13	7	0.9957	537.51	5759.01~368576.56
5	3-甲基丁酸	3-methyl butanoic acid	1045.47 ^[22]	60	1.21	0.04	5	0.9997	362.65	580.23~9283.74
6	戊酸	Pentanoic acid	389.11 ^[22]	60	1.87	1.69	5	0.9992	658.07	6350.78~101612.51
7	4-甲基戊酸	4-Methylpentanoic acid	—	57	2.20	0.02	8	0.9990	144.44	269.62~34511.24
8	己酸	Hexanoic acid	2517.16 ^[22]	60	3.33	-5.98	6	0.9965	727.58	3150.59~806550.00
9	庚酸	Heptanoic acid	13281.32 ^[22]	60	1.77	0.53	7	0.9980	643.45	386.07~98834.27
10	辛酸	Octanoic acid	2701.23 ^[22]	60	1.89	0.09	6	0.9960	197.21	236.66~15146.00
11	壬酸	Nonanoic acid	3559.23 ^[22]	60	2.08	0.05	7	0.9994	171.10	262.36~16791.04
12	癸酸	Decanoic acid	13736.77 ^[22]	60	2.80	0.03	7	0.9990	247.09	296.50~18976.26

注: 有机酸类化合物采用 LLME-GC-MS 绘制标准曲线, 其他类化合物采用 HS-SPME-GC-MS 绘制标准曲线; “—”表示未见报道, a表示在纯水中的阈值, b表示在 34 %vol 酒精水溶液中的阈值, c表示在 10 %vol 酒精水溶液中的阈值, 其余为在 46 %vol 酒精水溶液中的阈值。

表 2 采用 GC-FID 定量浓香型习酒中挥发性化合物的标准曲线

序号	化合物	Compounds	密度 (25 $^{\circ}\text{C}$)	阈值 ($\mu\text{g/L}$)	保留时间	校正因子 (F)
1	乙酸乙酯	Ethyl Acetate	0.902	32551.60 ^[22]	1.90	1.47
2	1-丙醇	1-propanol	0.804	53962.63 ^[22]	2.81	0.83
3	丁酸乙酯	Ethyl butanoate	0.875	81.50 ^[22]	2.99	1.05
4	2-甲基丙醇	2-Methyl-1-propanol	0.798	40000.00 ^[22]	3.81	0.72
5	戊酸乙酯	Ethyl pentanoate	0.875	26.78 ^[22]	4.21	0.96
6	1-丁醇	1-Butanol	0.811	2733.53 ^[22]	4.67	0.75
7	3-甲基丁醇	3-Methylbutanol	0.809	179190.80 ^[22]	5.90	0.54
8	己酸乙酯	Ethyl hexanoate	0.869	55.33 ^[22]	6.17	1.16
9	乳酸乙酯	Ethyl lactate	1.031	128083.80 ^[22]	8.90	1.54

注: 表中阈值均为在 46 %vol 酒精水溶液中的嗅觉阈值; 密度单位为 g/mL。

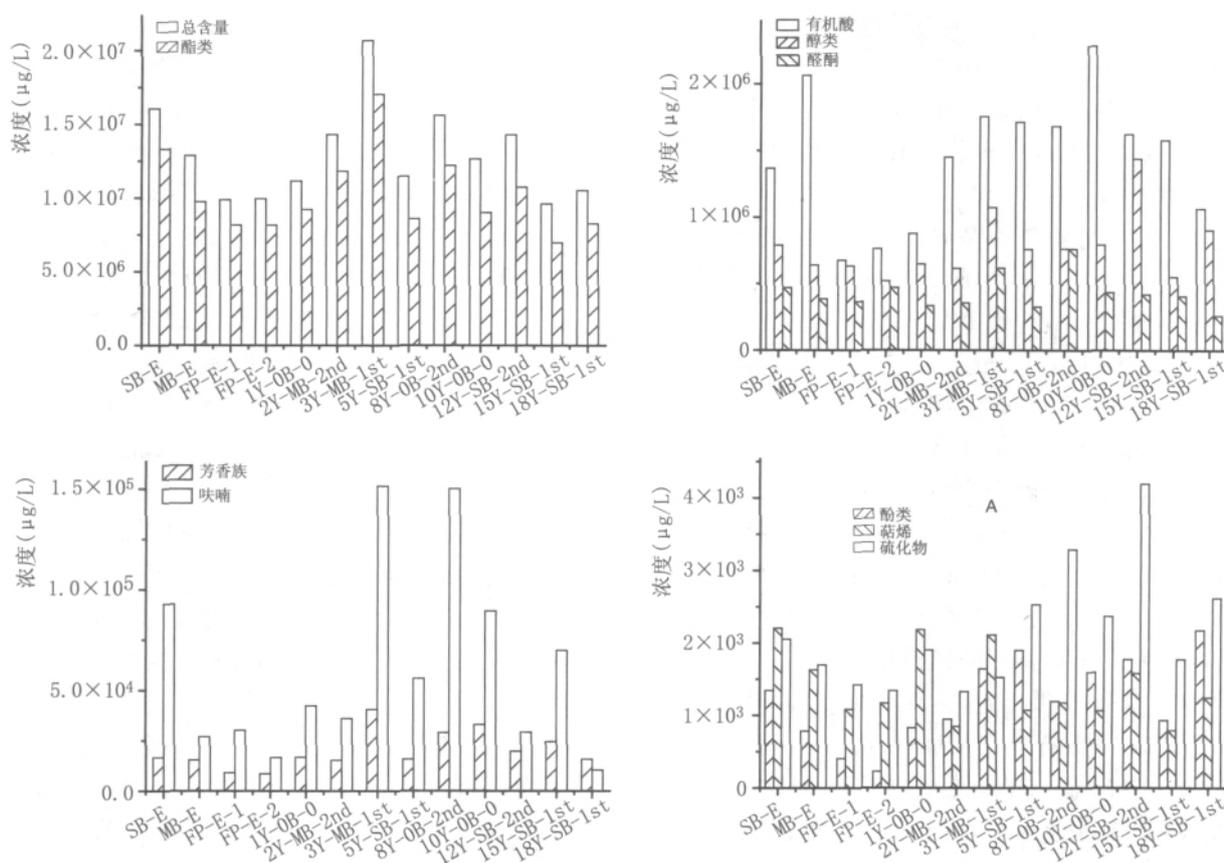


图1 浓香型习酒香气化合物总含量及各类香气化合物含量

差别, 糠醛的含量变化较大, 成品酒中的糠醛含量为 14.92~28.43 mg/L, 和其他的浓香型白酒相差不多, 但低于酱香型白酒, 高于清香型白酒^[19,20]。酯类、醇类、有机酸类这 3 类物质占习酒总香气成分的 94% 以上(成品酒为 95%), 其中, 酯类占总香气成分的 71%~83%(成品酒为 82%), 醇类占 5%~10%(成品酒为 5%~6%), 有机酸占 7%~16%(成品酒为 7%~8%, 非成品酒为 8%~16%)。

2.2.1 不同族香气化合物总量

从图 1 中可以看出: 浓香型习酒香气化合物总含量约占总量的 2%; 不同年份酒中, 多粮浓香酒样 (2Y-MB-2nd 和 3Y-MB-1st) 的挥发性化合物总含量要明显高于单粮浓香酒样 (5Y-SB-1st, 12Y-SB-2nd, 15Y-SB-1st 和 18Y-SB-1st), 和以前的研究结果相一致^[21]; 原酒酒样的挥发性化合物总含量高于成品酒 (FP-E-1, FP-E-2)。对于单粮基酒中香气化合物的浓度, 除 12 年酒样外, 其他年份酒相差不多, 总体上呈下降趋势。酯类的含量变化情况和化合物总含量变化情况大体一致, 说明酯类是浓香型习酒中最主要的成分。

2.2.2 有机酸

在浓香型习酒中, 成品酒中有机酸含量低于原酒, 单粮基酒的有机酸含量低于多粮基酒; 年份酒中, 总体上随

着贮存时间的延长, 单粮基酒和多粮基酒中有机酸含量都呈升高的趋势。酸类化合物在白酒风味方面的作用主要是影响白酒的口感和后味, 起到呈香、助香、减少刺激和缓冲平衡的作用^[2]。

2.2.3 醇类化合物

各酒样 (除 12Y-SB-2nd) 中醇类的含量相差不是很大, 成品酒中醇类含量略低于原酒中醇类含量; 醇类不但呈香呈味, 还是醇甜和助香的主要来源, 对形成酒的风味和促进酒体丰满、浓厚起着重要作用^[17]。总体上讲, 随着贮存时间的延长, 醇类含量有升高的趋势。推测酸和醇含量的增加可能是发生了酯的水解, 但是也可能存在其他复杂反应过程。除 3Y-MB-1st, 8Y-OB-2nd 2 个酒样外, 醛酮类化合物在浓香型习酒中含量变化不大, 其主要由氨基酸脱氨脱羧、酮酸脱羧、醇氧化等反应生成^[31]。

2.2.4 芳香族化合物

浓香习酒酒样中, 原酒中的芳香族化合物含量要高于成品酒; 单粮年份原酒中, 随着贮存时间的延长, 芳香族化合物含量总体上呈上升趋势, 其可以使酒体香浓协调, 主要来源于芳香族氨基酸为前体的生物分解^[32]。

2.2.5 咪喃类化合物

原酒中咪喃类化合物含量要高于成品酒, 不同年份白酒中咪喃类化合物的上下波动较大, 总体上呈下降趋

势,呋喃化合物特别是糠醛主要通过蒸馏生成^[33]。

2.2.6 其他化合物

酚类、萜烯类及硫化物在原酒中的含量均明显高于成品酒;随着贮存时间的延长,单粮组合基酒中酚类化合物含量随之升高,酚类化合物最初可能来自于原料中木质素的降解^[34]或芳香族氨基酸的分解^[32];年份酒中,萜烯类化合物的含量上下波动较大,整体上呈下降趋势;单粮基酒的年份酒中,硫化物含量随着贮存时间的延长先上升后下降,整体上呈上升趋势,其主要是由含硫氨基酸(蛋氨酸、胱氨酸)热分解产生^[35]。

2.3 挥发性香气化合物的OAV分析

白酒中香气化合物的含量并不能说明其对整体香气贡献的大小,还需要考虑其在白酒中的香气阈值。香气化合物与其阈值之比为OAV值,香气化合物的OAV值越大,说明其对整体香气贡献越大。因此,香气化合物是否重要,OAV值是个很重要的评判参数。

浓香型习酒中共有45种香气物质OAV大于1,其中包括酯类17种、有机酸9种、醇类7种、醛酮类5种、芳香族化合物2种、呋喃类2种、酚类1种、萜烯类1种、硫化物1种。其中呈水果香、花香的酯类物质占大多数,与浓香型白酒的风格相一致;虽然醇类、有机酸类香气物质含量很高,但由于其阈值也较高,因此整体上这两类物质的OAV整体上并不高,OAV大于10的仅有1-丁醇、丁酸、戊酸和己酸,但其对白酒的香浓协调起到很重要的作用;醛酮类物质中由于其阈值较低,含量较高,所以其对整体香气贡献较大;芳香族化合物中由于含量相对较低,仅有苯乙酸乙酯和苯丙酸乙酯的OAV大于1,其中苯丙酸乙酯的OAV大于10;呋喃类和酚类物质中,2-丁基呋喃、糠醛、4-甲基苯酚的OAV均在1~50之间,对整体香气具有一定的贡献;萜烯类化合物和硫化物中,由于大马酮和二甲基三硫具有很低的香气阈值,所以这两种成分的OAV很高,对整体香气成分贡献很大。

结合OAV值,浓香型习酒重要的香气物质有(OAV>100):己酸乙酯、大马酮、辛酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、二甲基三硫、3-甲基丁醛、2-甲基丙酸乙酯、乙醛、3-甲基丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、己酸、丁酸和戊酸。己酸乙酯的OAV最高,与其是浓香型白酒的主体香相符合;大马酮虽然含量很少,但其具有很低的香气阈值,所以对整体香气贡献很大,呈蜂蜜香。

2.4 重要挥发性香气化合物及量比关系

同一香型白酒虽然风味有很大差别,但其组分却大同小异,关键在于各组分的含量及量比关系^[2],表3和表4分别列出了各种香气化合物总量及重要香气物质的量比关系(由于乙酸乙酯、乳酸乙酯及乙酸是浓香型白酒中

重要的香气成分,且在习酒中的OAV均大于10,故计算时也将其作为习酒中重要的香气物质)。浓香型习酒成品酒的醇酯比约在0.07(非成品酒在0.08左右),要低于五粮液和洋河中的醇酯比(0.27,0.16)^[1],可能是习酒中酯类的含量较高而醇类物质含量较低所致;酯类物质中,己酸乙酯:乙酸乙酯:丁酸乙酯:乳酸乙酯为1:0.5:0.2:0.7(非成品酒为1:0.5:0.2:0.6),更接近于洋河大曲中的四大酯的量比,其中乳酸乙酯和己酸乙酯的量比要远高于在水井坊中的量比^[16]。习酒的酸酯比在0.09左右(非成品酒在0.16左右),也更接近于洋河大曲中的酸酯比;己酸、乙酸和丁酸的量比为1:0.5:0.3(非成品酒为1:0.6:0.2),习酒中这3类酸含量大小顺序与五粮液和洋河相同,而与水井坊不同;与酸酯比相反,习酒中该3类酸的量比相对而言更接近五粮液。浓香型白酒中萜烯类化合物的含量还未见报道,虽然白酒中含硫化物很低,但由于其阈值极低,对整体香气贡献很大,所以其也是白酒中很重要的香气成分之一,习酒中二甲基三硫的含量要高于五粮液和洋河。总之,白酒中这些微量成分的含量和量比关系,是白酒风味差别的重要原因之一,决定了浓香型白酒中不同的品牌具有不同风格特点的这一现状。

3 结论

HS-SPME-GC-MS技术可以快速、简单、准确的定量白酒中的挥发性成分,适用于多个样品多种成分的定量分析;由于DVB/CAR/PDMS萃取头对有机酸的萃取效果不理想,可以采用LLME-GC-MS来准确定量白酒中有机酸含量;对于GC-MS不能准确定量的过载化合物,可以利用GC-FID来准确定量。

本研究采用HS-SPME、LLME与GC-MS联用技术,GC-FID技术分析13种浓香型习酒酒样,共定量了75种挥发性或半挥发性的风味物质。其中包括酯类27种,醇类9种,酸类12种,醛酮类8种,酚类3种,芳香族化合物9种,萜烯类3种,呋喃类3种和硫化物1种。从各类化合物含量上看,浓香型习酒含量较多的是酯类(8.18~17.09 g/L)、醇类(519.92~1440.72 mg/L)、挥发性有机酸(676.00~2288.57 mg/L)等;从个别化合物含量来看,含量较多(浓度>0.1 g/L)的有乙酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯、乙酸己酯、庚酸乙酯、乳酸乙酯、辛酸乙酯、2-甲基丙醇、1-丁醇、3-甲基丁醇、乙酸、丁酸、己酸、乙醛等。己酸乙酯作为浓香型白酒中重要的风味物质,在浓香型习酒中的含量高达2~9 g/L。根据定量结果进行OAV分析,浓香型习酒中重要的香气物质(OAV>100)有:己酸乙酯、大马酮、辛酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、二甲基三硫、3-甲基丁醛、2-甲基丙酸乙酯、乙醛、3-

表3 浓香型习酒中各类香气化合物的量比关系

香气化合物	成品酒			非成品酒											
	FP-E-1	FP-E-2	Ave	SB-E	MB-E	1Y-0B -0	2Y-MB -2nd	3Y-MB -1st	5Y-SB -1st	8Y-0B -2nd	10Y-0B -0	12Y-SB -2nd	15Y-SB -1st	18Y-SB -1st	Ave
酯类	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
醇类	0.08	0.06	0.07	0.06	0.07	0.07	0.05	0.06	0.09	0.06	0.09	0.13	0.08	0.11	0.08
有机酸	0.08	0.09	0.09	0.10	0.21	0.09	0.12	0.10	0.20	0.14	0.25	0.15	0.23	0.13	0.16
醛酮类	0.04	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.06	0.05	0.04	0.06	0.03	0.04
芳香族($\times 10^{-2}$)	0.49	0.13	0.31	0.15	0.18	0.24	0.17	0.29	0.25	0.29	0.44	0.26	0.39	0.25	0.26
呋喃类($\times 10^{-2}$)	0.37	0.20	0.29	0.70	0.28	0.46	0.31	0.89	0.65	1.23	0.99	0.27	1.00	0.13	0.63
酚类($\times 10^{-4}$)	0.50	0.28	0.39	1.01	0.81	0.90	0.80	0.96	2.21	0.98	1.77	1.65	1.34	2.63	1.37
萜烯类($\times 10^{-4}$)	0.13	0.14	0.14	1.66	0.17	0.24	0.07	0.12	0.12	0.10	0.12	0.15	0.11	0.15	0.27
硫化物($\times 10^{-4}$)	1.74	1.64	1.69	1.54	1.75	2.06	1.12	0.89	2.94	2.70	2.63	3.91	2.55	3.17	2.30

表4 浓香型习酒中重要风味物质的量比关系

香气化合物	成品酒			非成品酒											
	FP-E-1	FP-E-2	Ave	SB-E	MB-E	1Y-0B -0	2Y-MB -2nd	3Y-MB -1st	5Y-SB -1st	8Y-0B -2nd	10Y-0B-0	12Y-SB -2nd	15Y-SB -1st	18Y-SB -1st	Ave
己酸乙酯	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
大马酮($\times 10^{-4}$)	2.69	3.34	3.01	4.10	4.19	6.83	0.99	2.02	2.32	1.51	2.16	3.13	3.04	3.55	3.08
辛酸乙酯	0.02	0.02	0.02	0.04	0.03	0.04	0.02	0.02	0.02	0.03	0.05	0.05	0.02	0.02	0.03
丁酸乙酯	0.18	0.19	0.18	0.21	0.21	0.25	0.11	0.13	0.15	0.12	0.16	0.17	0.20	0.21	0.18
戊酸乙酯	0.02	0.02	0.02	0.06	0.02	0.03	0.03	0.05	0.05	0.06	0.05	0.04	0.03	0.03	0.04
二甲基三硫($\times 10^{-4}$)	4.06	4.35	4.20	4.38	4.85	6.58	1.87	1.56	6.44	5.27	5.87	9.36	8.20	8.57	5.72
3-甲基丁醛	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02
2-甲基丙酸乙酯	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.03	0.03	0.06	0.04	0.05	0.05	0.03
乙醛	0.10	0.08	0.09	0.07	0.08	0.10	0.03	0.04	0.05	0.05	0.06	0.05	0.11	0.06	0.06
3-甲基丁酸乙酯($\times 10^{-3}$)	0.44	0.31	0.38	0.86	0.24	0.60	0.23	0.17	0.86	0.49	0.84	1.77	2.83	3.26	1.10
2-甲基丁酸乙酯($\times 10^{-3}$)	0.33	0.36	0.34	0.76	0.59	0.67	0.48	0.42	1.30	0.78	1.49	3.28	4.89	4.54	1.75
己酸	0.10	0.13	0.11	0.16	0.31	0.16	0.11	0.10	0.20	0.14	0.23	0.19	0.32	0.18	0.19
丁酸	0.02	0.03	0.03	0.05	0.07	0.04	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04	0.03	0.06	0.03	0.04
戊酸	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02
乙酸	0.04	0.06	0.05	0.05	0.15	0.07	0.04	0.04	0.16	0.07	0.20	0.11	0.28	0.11	0.12
乙酸乙酯	0.48	0.54	0.51	0.53	0.55	0.64	0.27	0.25	0.47	0.38	0.36	0.42	0.68	0.56	0.47
乳酸乙酯	0.55	0.79	0.67	0.81	0.83	1.07	0.17	0.19	0.40	0.26	0.40	0.54	1.12	0.74	0.59

甲基丁酸乙酯、2-甲基丁酸乙酯、己酸、丁酸和戊酸。对习酒中重要香气化合物的定量检测，并结合其在白酒中的阈值及各化合物之间的量比关系，有利于更加清晰的认识浓香型习酒。

参考文献:

[1] 范文来,徐岩.从微量成分分析浓香型大曲酒的流派[J].酿酒科技,2000(5):92-94.
 [2] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
 [3] Fan W,Qian M. C.Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese "Yanghe Daqu" liquors[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry ,2005, 53 (20):7931-7938.
 [4] Fan, W., Qian, M. C. Characterization of aroma compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" liquors by aroma extraction dilution analysis[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry ,2006, 54 (7):2695-2704.

[5] Fan, W.; Shen, H.; Xu, Y., Quantification of volatile compounds in Chinese soy sauce aroma type liquor by stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2011, 91 (7):1187-1198.
 [6] Xu, Y.; Fan, W.; Qian, M. C., Characterization of aroma compounds in apple cider using solvent-assisted flavor evaporation and headspace solid-phase microextraction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry ,2007, 55 (8):3051-3057.
 [7] 李永林,彭勇.贵州名特优产品品牌公众知名度调查[J].当代贵州,2007(3):23-24.
 [8] 陈宗雄,龙则河,黄仕琴,张地英,王章松.浓香型曲酒微生物技术在习水系列曲酒生产中的应用研究[J].酿酒科技,1995(3):15-17.
 [9] 翁庆北,赵维娜,万晴姣.习酒酒曲中产淀粉酶细菌分离及性质研究[J].酿酒,2006, 139 (1):21-22.
 [10] 唐云容,钟方达,张文学.浓香习酒窖泥微生物菌群多样性及系统发育分析[J].酿酒科技 2011(12):24-28.
 [11] 钟方达,胡峰,唐云容.浓香型习酒架式大曲微生态研究探讨

- [J].酿酒科技,2012(7):22-26.
- [12] 王道平,杨小生.习酒香气成分 GC-MS 分析[J].酿酒科技,2009(11):111-112.
- [13] 肖世政.试论浓香型习酒的质量与风格[J].中国酿造,2009,213(12):100-102.
- [14] 聂庆庆.洋河绵柔型白酒风味研究[D].无锡:江南大学,2012.
- [15] 吴兆征,范志勇,左国营,王汉臣. GC-MS 直接进样定性定量分析白酒的探讨[J].酿酒,2009,36(6):88-89.
- [16] 王然,李蕊,宋焕禄.GC-O-MS 对比两种浓香型白酒中的挥发性成分[J].北京工商大学学报(自然科学版),2012,30(1):41-45.
- [17] 聂庆庆,范文来,徐岩.洋河系列绵柔型白酒香气成分研究[J].食品工业科技,2012,33(12):68-74.
- [18] 柳军.口子窖和剑南春白酒香气物质研究[D].无锡:江南大学,2008.
- [19] 靳争京.贵州省白酒中糠醛含量初探[J].广东微量元素科学,2001,8(2):68-69.
- [20] 许汉英.白酒中糠醛含量与香型之间关系的研究[J].酿酒,2002,29(5):37-39.
- [21] 李维青.试论浓香型白酒的流派[J].酿酒,2011,38(4):3-8.
- [22] 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.
- [23] Takeoka, G. R.; Flath, R. A.; Mon, T. R.; Teranishi, R.; Guentert, M., Volatile constituents of apricot (*Prunus armeniaca*) [J].*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1990,38(2):471-477.
- [24] 段月亮,田兰兰,郭玉蓉,邓红,李卓,王晓宇.采用主成分分析法对六个苹果品种果实香气分析及分类[J].食品工业科技,2012,33(3):85-88.
- [25] Salo, P.; Nykänen, L.; Suomalainen, H., Odor thresholds and relative intensities of volatile aroma components in an artificial beverage imitating whiskey[J].*Journal of Food Science*,1972,37(3):394-398.
- [26] ASTM, Compilation of Odor and Taste Threshold Values Data [M].*American Society For Test Mate*,1978.
- [27] Guth, H., Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1997,45(8):3027-3032.
- [28] Buttery, R. G.; Turnbaugh, J. G.; Ling, L. C., Contribution of volatiles to rice aroma [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1988,36(5):1006-1009.
- [29] Ohloff, G., *Perfumer and Flavorist*,1978,1(3):11-22.
- [30] Ruth, J. H., Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: a review[J]. *American Industrial Hygiene Association Journal*,1986,47(3):A142-151.
- [31] Fan, W. Qian, M. C., Identification of aroma compounds in Chinese 'Yanghe Daqu' liquor by normal phase chromatography fractionation followed by gas chromatography/olfactometry[J]. *Flavour and Fragrance Journal*,2006,21(2):333-342.
- [32] Tressl, R.; Drawert, F..Biogenesis of banana volatiles[J].*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1973,21:560.
- [33] 赵书圣,范文来,徐岩,张国强,徐钦祥,李志强.酱香型白酒生产酒醅中呋喃类物质研究[J].中国酿造,2008,198(21):10-13.
- [34] Steinke, R. D.,Paulson, M. C.,Phenols from grain.The production of steam-volatile phenols during the cooking and alcoholic fermentation of grain[J].*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,1964,12:381-387.
- [35] Spinnler, H. E.; Martin, N.; Bonnarme, P., Generation of sulfur flavor compounds by microbial pathway. In *Heteroatomic Aroma Compounds*[M].Reineccius,G A.;Reineccius,T A., Eds. Washington:American Chemical Society,D.C.,2002,826:54-72.

(上接第 30 页)

- [14] Howeler M, Ghiorse WC, Walker LPA. Quantitative analysis of DNA extraction and purification from compost[J].*Journal of Microbiological Methods*,2003,54:37-45.
- [15] 张伟,刘丛强,刘涛泽,等.荧光原位杂交在喀斯特山地土壤硫酸盐还原菌检测中的应用[J].微生物学通报,2008,35(8):1273-1277.
- [16] Li Y, Dick WA, Tuovinen OH. Evaluation of fluorochromes for imaging bacteria in soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*,2003,35:737-744.
- [17] Bachoon DS, Otero E, Hodson RE. Effects of humic substances on fluorometric DNA quantification and DNA hybridization[J]. *Journal of Microbiological Methods*,2001,47:73-82.
- [18] 苏慧玉,钟雨,沈勇.窖泥中的水分、腐植酸对窖泥质量的影响[J].酿酒,1996(5):11.
- [19] 杨忠莲,高宝玉,岳钦艳,等.铝盐混凝剂的混凝效果与残留铝含量和组分之间的关系研究[J].环境科学,2010,31(6):1542-1547.
- [20] 周勤,肖锦,朱云.硫酸铝去除给水中腐植酸机理研究[J].工业水处理,2000,20(5):18-20.
- [21] 余有贵,李侦,熊翔,等.窖泥微生态的主要特征研究[J].食品科学,2009,30(31):258-261.
- [22] 吴衍庸,卢世晰,刘光焯,等.利用窖泥甲烷菌与己酸菌二元发酵技术提高泸型曲酒质量的研究[J].食品工业与发酵,1990(6):2-6.