

中国白酒固态发酵及蒸馏过程中 糠臭味物质变化规律的研究

路 虎 杜 海 徐 岩

(江南大学生物工程学院酿造微生物与应用酶学研究中心,教育部工业生物技术重点实验室,江苏 无锡 214122)

摘 要: 以三大香型白酒为研究对象,采用旋转蒸发的方法,将酒醅中糠臭味物质进行浓缩、富集,然后采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术进行检测。结果表明,清香型白酒酒醅中糠臭味物质含量最高,其次是浓香型白酒、酱香型白酒,对清香型白酒蒸馏过程进行跟踪检测,初步揭示蒸馏过程中糠臭味物质的变化规律,并且发现清香型白酒二茬酒醅中糠臭味物质的含量高于大茬酒醅。

关键词: 白酒; 酒醅; 糠臭味

中图分类号:TS262.3;TS261.4;TS261.7;O657.63 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2012)08-0029-04

Study on the Change Rules of Earthy-musty Odorants in Solid Fermentation and Distillation Process of Chinese Liquor

LU Hu, DU Hai and XU Yan

(Research Centre for Brewing Science and Enzyme Technology, Key Lab of Industrial Biotechnology,
Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

Abstract: Earthy-musty odorants from fermented grains of Chinese liquor were condensed and accumulated by rotary evaporation and then detected by GC-MS. The results suggested that earthy-musty odorants content was the highest in Fen-flavor liquor and then followed by in Luzhou-flavor liquor and in Maotai-flavor liquor. Tracing measurement in the distillation process of Fen-flavor liquor revealed the change rules of earthy-musty odorants and it was found that the content of earthy-musty odorants in secondary fermented grains of Fen-flavor liquor was higher than that in primary fermented grains.

Key words: Chinese liquor; fermented grains; earthy-musty odorants

中国白酒以酿造过程复杂,香气成分丰富而闻名于世。三大香型白酒——酱香型、浓香型、清香型白酒中能检测到的香气成分种类有的甚至多达千种以上^[1]。然而,白酒中除了香气成分以外,还存在着许多如糠臭味、涩味、酸味等常见的异味^[2-4]。糠臭味是我国白酒,尤其是清香型白酒酿造和生产过程中常见的异味。这些令人不愉快的异味物质,严重影响了白酒的品质。

虽然糠臭味是中国白酒中常见的异味,但是对中国白酒中糠臭味的研究却很少。例如:首先不能明确中国白酒中糠臭味物质的本质是什么?形成的机理是什么?如何控制它的形成?长期以来都认为糠臭味来源于糠壳,是由于糠壳发霉或蒸煮不彻底而进入白酒中。徐岩^[5]等人通过气相色谱-嗅觉测量法(GC-O)结合 GC-MS 技术确定了中国白酒中糠臭味物质的化学本质为 TDMTDL,并且

建立了中国白酒中糠臭味物质的定量检测方法。即采用顶空固相微萃取-气质联用方法定量白酒中的 TDMTDL 含量,可以方便准确地进行测定。通过对蒸前及蒸后糠壳中的风味物质进行检测,均未检测到 TDMTDL,说明糠臭味物质并非来自于糠壳。进而通过追踪白酒酿造过程中此种物质的出现规律,发现糠臭味物质的真正来源是大曲^[6]。TDMTDL 是由大曲中微生物的新陈代谢而产生的,通过发酵进入酒醅,进而由蒸馏过程进入原酒中。

其实,在自然界中糠臭味也广泛存在^[7],目前在国内外得到广泛关注的主要有 2 种:2-甲基异茨醇(MIB)和 TDMTDL。研究最多的领域是在饮用水和水产养殖方面^[8]。产糠臭味的微生物主要是放线菌(主要是链霉菌)和浮游藻类等^[9-10]。自 Gerber^[9]分离到糠臭味物质 TDMTDL 以来,关于糠臭味物质的研究进展较快,在分

基金项目:国家十一五科技支撑计划项目(2007BAK36B02 和 2008BA I63B06);中国白酒“169 计划”。

收稿日期:2012-06-01; 修回日期 2012-06-07

作者简介:路虎(1988-),男,山东曹县人,在读硕士,主攻酿酒方向。

优先数字出版时间 2012-07-19;地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20120719.1701.003.html?uid=>。

离、检测、鉴定、生物合成及降解方面都取得了显著的成效^[8,11-14]。在分离检测方面国际上普遍采用的方法是顶空固相微萃取-气质联用(HS-SPME-GC-MS)^[12,15-16],此方法精确度较高,能够达到检测的目的。在降解方面目前采用的方法主要有膜过滤、活性炭吸附、生物降解等^[17-19],据报道,这些方法都能有效去除水中的糠臭味物质。

本实验采用 GC-MS 技术分别对中国的三大香型白酒——清香型白酒、浓香型白酒、酱香型白酒酒醅中 TDMTDL 进行检测^[20]。对比糠臭味物质在三大香型白酒发酵过程中的分布情况,以期发现 TDMTDL 在不同香型白酒中的分布差异性。随后对清香型白酒的蒸馏过程进行跟踪检测,揭示蒸馏过程中 TDMTDL 的生成规律。

1 材料与方法

1.1 材料、设备

材料:乙醇(色谱纯)、土臭素(TDMTDL)均购自美国 Sigma 公司;氯化钠(分析纯)购于上海国药集团;某清香型白酒厂大茬、二茬不同发酵时间酒醅(QX),取样点为距上层 30 cm 处,大茬、二茬酒醅蒸馏过程取样;某酱香型白酒厂第二轮次堆积酒醅,取样点为中层中间和外侧,不同发酵时间酒醅,取样点为距地面 1.5 m 处。某浓香型白酒厂不同发酵时间酒醅,取样点为距地面 1.5 m 处。

仪器:Millipore, 法国;Buchi R-210 旋转蒸发仪,瑞士;GC6890-MS5975,美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酒醅样品处理

用旋转蒸发仪对酒醅样品进行减压蒸馏前处理,蒸馏所得馏液,装入顶空瓶中,待测。

1.2.2 GC-MS 条件

色谱柱为 CP-WAX(60 m×0.25 mm,i.d.,0.25 μm,R & W Scientific)。升温程序为:60℃保持 2 min,以 8℃/min 升温至 250℃,保持 15 min^[6]。质谱分析用数据库来源于 NIST05a.L (Agilent 公司)。

1.2.3 标准溶液的配制

准确称取一定量的标准样品溶于色谱纯乙醇中,再将上述溶液加入到超纯水中,配制成一系列浓度梯度的标准溶液。

1.2.4 定量方法验证

选取信噪比为 3 时的浓度作为检测限,3 个平行样品的实验数据的相对标准偏差作为方法的精确度。向酒醅提取液中加入一定量的标准溶液,将加入前后的浓度差除以加入的浓度即为回收率,如下式:

$$\text{回收率}(\%) = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100\%$$

式中: M_1 ——添加标样后提取液中该物质检测到的含量;

M_2 ——提取液中该物质含量;

M ——该物质添加量。

1.2.5 提取率计算

将某一定浓度的 TDMTDL 标准溶液添加到不同发酵时间的酒醅中。旋蒸处理添加标准品的样品和未添加标准品的样品。所得提取液经 GC-MS 处理,将检测到的数值利用以下公式,计算提取率。

$$\text{提取率}(\%) = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100\%$$

式中: M_1 ——添加标准品后检测到的含量;

M_2 ——未添加标准品检测到的含量;

M ——标准品添加到酒醅中的最终浓度。

2 结果与分析

2.1 酒醅中 TDMTDL 定量方法验证

建立旋蒸方法的定量标准曲线,通过检测清香型白酒酒醅中 TDMTDL 的含量,分析计算检测方法的回收率和相对标准偏差等,对方法进行准确度验证。结果见表 1。

表 1 方法的准确度分析

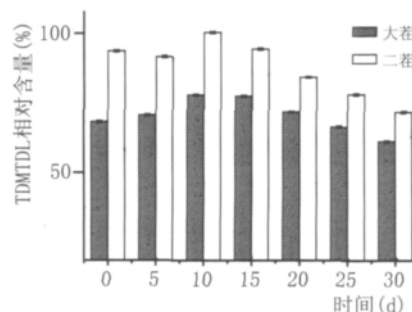
QX	回收率(%)	提取率(%)	RSD(%)
QX-1	89.9	84.8	5.12
QX-2	92.3	93.5	4.55
QX-3	102.5	97.4	6.43
QX-4	87.5	95.4	5.37
QX-5	91.4	92.9	9.71
QX-6	103.7	85.6	5.49

由表 1 可以看出,此方法具有较高的回收率和提取率,能将酒醅中的绝大部分 TDMTDL 提取出来。RSD 值均小于 9.71,重复性较好。故此方法适用于酒醅中 TDMTDL 的检测。

2.2 不同香型白酒酒醅中 TDMTDL 的变化规律

2.2.1 清香型白酒酒醅发酵过程中 TDMTDL 的检测

按上述方法对清香型白酒酒醅发酵过程中 TDMTDL 进行检测,结果见图 1。



注:以二茬 15 d 酒醅作为参照,为 100%。

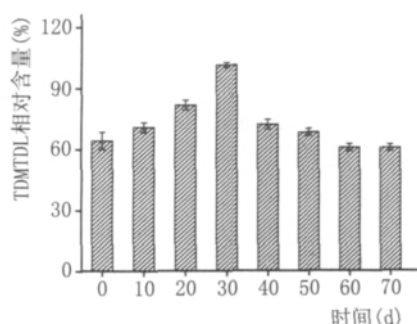
图 1 清香型白酒酒醅发酵过程 TDMTDL 的产生情况

从图 1 可以看出,清香型白酒大茬和二茬酒醅在发酵初期就已经存在 TDMTDL,且二茬酒醅中 TDMTDL 含量高于大茬酒醅。两者均在发酵约 10 d 时,TDMTDL 含量有一个小幅度的增长,然后有所下降。分析原因是发

酵开始时,酒醅中淀粉等营养物质含量丰富,适合微生物的生长,TDMTDL 含量增加。后由于营养物质及氧气减少、酸度升高^[21],抑制微生物的生长,TDMTDL 含量不再增加。由于可能存在的生物降解作用,TDMTDL 含量反而开始下降。

2.2.2 浓香型白酒酒醅中 TDMTDL 的变化规律

按上述方法对浓香型白酒酒醅发酵过程中 TDMTDL 进行检测,结果见图 2。



注:以发酵 30 d 酒醅作为参照,为 100 %。

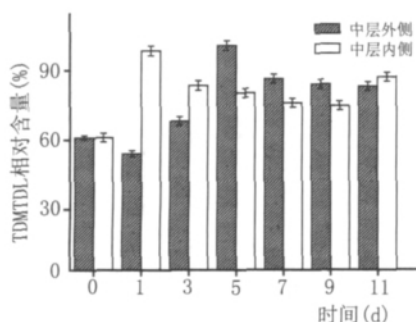
图 2 浓香型白酒酒醅发酵过程中 TDMTDL 含量变化情况

浓香型白酒厂酒醅在窖池发酵时间较长,达 70 d,与清香型白酒类似的地方是酒醅在前期发酵过程中 TDMTDL 含量有一个增长过程,在 30 d 左右达到最高,后有一个小幅降低的过程,分析原因是前期淀粉等营养物质含量较高,适合微生物的生长,后随着淀粉含量的降低、酸度的升高,外界环境不适合微生物的生长^[22],其代谢产物 TDMTDL 含量也随之下降。

2.2.3 酱香型白酒酒醅中 TDMTDL 的变化规律

2.2.3.1 堆积酒醅中 TDMTDL 的检测

按上述方法对酱香型白酒堆积酒醅中 TDMTDL 的含量进行检测,结果见图 3。



注:以堆积 5 d 中层外侧酒醅作为对照,为 100 %。

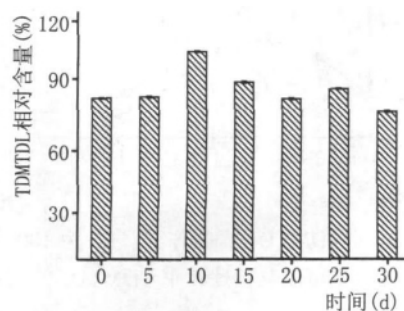
图 3 酱香型白酒堆积酒醅中 TDMTDL 含量的变化情况

堆积酒醅从开始阶段就已经存在 TDMTDL,随着堆积时间的延长,堆积中层中间在 1 d 后有一个一定幅度增加的过程,后缓慢下降直至保持相对稳定的水平。堆积中层外侧则是在 5 d 后有一定幅度的增加。分析原因是中间的温度快速升高,说明微生物的繁殖和新陈代谢活跃,有利于产生 TDMTDL。但长时间的高温状态会抑制

微生物的生长,TDMTDL 的含量也开始下降。

2.2.3.2 不同发酵时间酒醅中 TDMTDL 的变化规律

按上述方法对不同发酵时间酒醅中 TDMTDL 的含量进行检测,结果见图 4。



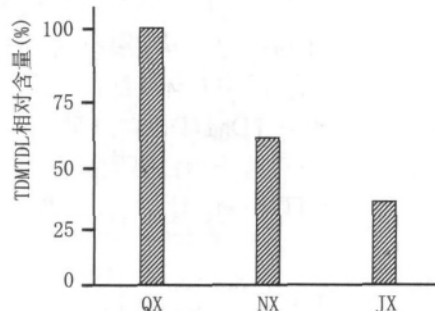
注:以发酵 10 d 酒醅作为对照,为 100 %。

图 4 酱香型白酒酒醅不同发酵时间 TDMTDL 含量变化情况

酒醅在发酵开始后,TDMTDL 含量有一个小幅度增加过程,约 10 d 后达到最高值,随后同样有一个减少的过程。但是与清香型和浓香型相比较而言,酒醅中 TDMTDL 含量相对比较稳定,减少幅度要小。

2.2.4 三大香型白酒酒醅中 TDMTDL 含量对比

按上述方法对不同香型白酒酒醅中的 TDMTDL 含量进行检测分析,结果见图 5。



注:QX:清香型白酒发酵 10 d 二茬酒醅;NX:浓香型白酒发酵 30 d 酒醅;JX:酱香型白酒发酵 10 d 酒醅;以清香型白酒酒醅作为对照,为 100 %。

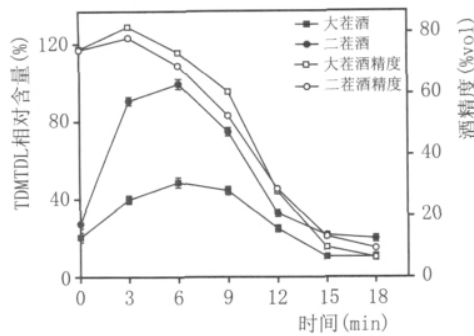
图 5 三大香型白酒酒醅中 TDMTDL 含量对比

从三大香型白酒酒醅中 TDMTDL 含量的对比结果可以看出,清香型白酒中 TDMTDL 含量最高,其次是浓香型白酒、酱香型白酒。进而对清香型白酒酒醅蒸馏过程进行跟踪检测,以期发现 TDMTDL 在蒸馏过程中的生成规律。

2.3 清香型白酒蒸馏过程中 TDMTDL 的馏出规律

对清香型白酒不同蒸馏过程酒体中的 TDMTDL 含量进行分析,结果见图 6。

大茬和二茬酒醅在蒸馏过程中,原酒中 TDMTDL 含量的变化规律相似。TDMTDL 含量在酒精度达到最高,并开始下降的时候达到最大值。TDMTDL 是随着酒精的蒸馏而被蒸馏出来的,这与 TDMTDL 的理化性质即醇溶性是相关的。同时可以发现,在蒸馏过程中,二茬



注:以蒸馏 6 min 时 TDMTDL 含量作为对照,为 100%。

图 6 清香型白酒蒸馏过程中 TDMTDL 变化情况

酒中 TDMTDL 含量始终高于大茬酒,这与清香型白酒的生产工艺有关。清香型白酒酿造工艺为“两排清”,大茬酒醅蒸馏后作为二茬酒醅的原料,大茬酒醅中未被蒸馏出的 TDMTDL 随之进入二茬酒醅,进而使得二茬酒醅中 TDMTDL 含量高于大茬酒醅。

3 结论

通过对中国三大香型白酒酒醅中糠臭味物质的检测分析,发现 3 种香型白酒酒醅中均检测到 TDMTDL,其含量的变化规律类似,即随着发酵时间的延长,TDMTDL 含量开始有一个小幅度的增长过程,后因为环境因素的改变而开始缓慢下降,直至达到一个相对稳定的水平。比较 3 种香型白酒酒醅中总体 TDMTDL 含量,得出结论:清香型白酒酒醅中 TDMTDL 含量最高,其次是浓香型白酒、酱香型白酒;对清香型白酒酒醅蒸馏过程进行跟踪检测,揭示了 TDMTDL 在原酒中的生成规律。

参考文献:

- [1] Zhu shukui L x, Ji keliang et al. Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597(2): 340-348.
- [2] 孙启栋,刘涛.防止浓香型大曲酒异杂味产生的措施[J].*山东食品发酵*,2004(1):43-44.
- [3] 王英臣,于加平.白酒中异杂味产生的原因及防止措施[J].*吉林特产高等专科学校学报*,2004,13(2):16-17.
- [4] 武敬松,刘恒兆.白酒不良口味的成因及解决措施[J].*酿酒科技*,2006(2):109.
- [5] Du H, Fan W L, Xu Y. Characterization of geosmin as source of earthy odor in different aroma type Chinese liquors [J].*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2011,59(15): 8331-8337.
- [6] Du H, Xu Y. Determination of the microbial origin of geosmin in Chinese liquor[J].*J Agric Food Chem*,2012,60(9): 2288-2292.
- [7] Izaguirre, Taylor. A guide to geosmin- and MIB-producing cyanobacteria in the United States [J].*Water Science and Technology*,2004,49(9): 19-24.
- [8] Izaguirre. Geosmin and 2-methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems [J]. *Applied and Environmental Microbiology*,1982,43(3): 708-714.
- [9] Gerber, H A Lechevalier. Geosmin, an earthy-smelling substance Isolated from Actinomycetes [J]. *Applied Microbiology*, 1965,13(6): 935-838.
- [10] Jo-Anne L., Tabachek M Y. Isolation and identification of blue-green algae producing muddy odor metabolites, geosmin, and 2-methylisoborneol, in saline lakes in Manotoba [J].
- [11] Weingart G, Schwartz H, Eder R, et al. Determination of geosmin and 2,4,6-trichloroanisole in white and red Austrian wines by headspace SPME-GC/MS and comparison with sensory analysis [J]. *European Food Research and Technology*, 2010,231(5):771-779.
- [12] Huang Y, Ortiz L, Garcia J, et al. Use of headspace solid-phase microextraction to characterize odour compounds in subsurface flow constructed wetland for wastewater treatment [J]. *Water Science and Technology*, 2004,49(9): 89-98.
- [13] Singh B, Oh T J, Sohng J K. Exploration of geosmin synthase from *Streptomyces peucetius* ATCC 27952 by deletion of doxorubicin biosynthetic gene cluster [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2009,36(10): 1257-1265.
- [14] Bruce D, Westerhoff P, Brawley-Chesworth A. Removal of 2-methylisoborneol and geosmin in surface water treatment plants in Arizona [J]. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*,2002,51(4): 183-197.
- [15] Wateon S B, B B SATCHWILL, and E E Hargesheimer. Quantitive analysis of trace levers of geosmin and MIB in source and drinking water using headspace SPME[J].*Water Research*, 2000,34(10): 2818-2828.
- [16] Jelen H H, Majcher M, Zawirska-Wojtasiak R, et al. Determination of geosmin, 2-methylisoborneol, and a musty-earthy odor in wheat grain by SPME-GC-MS, profiling volatiles, and sensory analysis [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003,51(24): 7079-7085.
- [17] Drikas M, Dixon M, Morran J. Removal of MIB and geosmin using granular activated carbon with and without MIEEX pre-treatment [J].*Water Research*,2009,43(20): 5151-5159.
- [18] Lawton L A, Robertson P K J, Robertson R F, et al. The destruction of 2-methylisoborneol and geosmin using titanium dioxide photocatalysis [J].*Applied Catalysis B-Environmental*, 2003,44(1): 9-13.
- [19] Xue Q A, Li M A, Shimizu K, et al. Electrochemical degradation of geosmin using electrode of Ti/IrO₂-Pt [J].*Desalination*, 2011,265(3): 135-139.
- [20] 杜海,范文来,徐岩.顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱(GC-MS)联用定量白酒中两种异味物质 [J].*食品工业科技*,2010,31(1): 373-377.
- [21] 曹云刚,马丽,杜小威,等.汾酒酒醅发酵过程中有机酸的变化规律[J].*食品科学*,2011,32(7): 229-232.
- [22] 梁晓静.浓香型酒醅窖期发酵参数变化规律研究[J].*酿酒科技*,2011(1): 65-67.