

发酵型茶酒香气成分的 GC-MS 初步分析

邱新平,李立祥,赵常锐,倪媛,余红军

(安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部、农业部重点实验室,安徽 合肥 230036)

摘要: 采用溶剂萃取法提取发酵型茶酒中的香气物质,经气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析,结合计算机检索技术对分离化合物进行鉴定,应用色谱峰面积归一法测定各组分的相对含量。结果表明,共鉴定出 72 种香气成分,相对含量较高的香气成分主要有丁二酸单乙酯、苯乙醇、4-羟基苯乙醇、4-羟基丁酸、咖啡因、2,3-丁二醇、己酸、丁二酸二乙酯、辛酸、辛酸乙酯、苹果酸、对羟基肉桂酸乙酯、没食子酸乙酯、棕榈酸乙酯等。

关键词: 发酵型茶酒; 香气成分; 气相色谱-质谱法(GC-MS)

中图分类号: TS262.3; TS261.7; TS261.4; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9286(2011)09-0100-03

Preliminary Analysis of Flavoring Compositions of Tea-flavor Fermenting Wine by GC-MS

QIU Xinping, LI Lixiang, ZHAO Changrui, NI Yuan and YU Hongjun

(Key Lab of Tea Biochemistry & Biotechnology, Ministry of Education and Ministry of Agriculture,

Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: Flavoring compositions of tea-flavor fermenting wine were extracted by solvent extraction and then analyzed by GC-MS and their relative content were determined according to area normalization method. As a result, 72 kinds of flavoring compounds were identified. The main flavoring compositions with higher relative content were ethyl hydrogen succinate, phenylethyl alcohol, benzeneethanol, 4-hydroxy-butanoic acid, caffeine, 2, 3-butanediol, hexanoic acid, butanedioic acid, diethyl ester, octanoic acid, octanoic acid ethyl ester, malic acid, p-hydroxycinnamic acid, ethyl ester, ethyl gallate, hexadecanoic acid, and ethyl ester etc.

Key words: tea-flavor fermenting wine; flavoring compositions; GC-MS

茶酒是以茶叶为主要原料,辅以其他原料发酵或者配制而成的饮用酒的统称^[1-3]。它兼具茶与酒的风味特点,是一种集营养、保健为一体的低醇低糖饮料酒。据现代科学研究分析,茶叶中含有 600 多种具有营养和保健作用的化学成分。其中,最为主要的是茶多酚和多糖类物质,研究表明,茶多酚具有十分明显的抗氧化、抗辐射、抗癌、防癌、防三高等作用^[4-5]。

发酵型茶酒,是对茶叶进行发酵而得。从感官品评的角度分析,配制型茶酒与发酵型茶酒各自有着不同的香气特征。由于条件限制,目前对茶酒香气成分分析的研究,国内还处于起步阶段。本实验利用溶剂萃取发酵型茶酒香气成分,然后利用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)分析鉴定了发酵型茶酒香气的主要特征组成成分,以期为我国茶酒品质评价体系的构建和茶酒产业的持续性发展提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料

发酵型茶酒:安徽农业大学茶叶生物化学与生物技术教育部、农业部重点实验室提供^[6];产品理化指标为:酒精度 $10.6 \pm 0.4\%$ vol,总酸度 4.65 ± 0.30 g/L(以酒石酸计),总残糖 ≤ 3.0 g/L(以葡萄糖计)。

1.1.2 主要试剂

氯化钠(分析纯),北京化学试剂厂;2-辛醇(色谱级),江苏强盛化工有限公司。

1.1.3 主要仪器

岛津 GC-MS-QP2010 气质联用仪:日本 SHIMADZU 公司。

1.2 实验方法^[7-10]

1.2.1 样品制备

基金项目 安徽省高等学校“十五”优秀人才培养项目资助(安徽省教育厅 教秘人 2005 79 号)。

收稿日期:2011-03-11

作者简介 邱新平(1984-),男,硕士研究生,主要从事茶学与天然产物研究。

通讯作者 李立祥,llx@ahau.edu.cn。

取澄清的发酵型茶酒 200 mL, 分别用 200 mL、100 mL、50 mL 重蒸二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 30 °C 旋转蒸发, 浓缩至 20 mL 左右。将浓缩后的样与 5 g 无水硫酸钠混合倒入具塞试管中, 振荡, 4 °C 冰箱静置过夜除去水分。次日用 N₂ 将回收的二氯甲烷浓缩至 1 mL, 转入装有微量无水硫酸钠的样品瓶中, 4 °C 保存待分析。

1.2.2 GC-MS 分析条件

色谱条件: 日本岛津 GC-MS-QP2010S 气质联用仪; 色谱柱 VF-5ms(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 载气 He, 体积流量 0.8 mL/min, 分流比 5:1。进样口温度 250 °C, 程序升温为 40 °C 保持 3 min, 以 2 °C/min 升至 120 °C, 保持 1 min, 然后以 4 °C/min 升温至 200 °C, 保持 1 min, 最后以 8 °C/min 升温至 250 °C, 保持 6 min。

质谱条件: 电离方式 EI, 电离电压 70 eV, 离子源温度 200 °C, 扫描范围 33~450 amu。

2 结果与分析

茶酒酒样经过 GC-MS 分析, 各组分质谱数据入数据库(NIST147; NIST127)进行分析检索。主要根据相对保留时间和相似度对检出物质定性; 同时参考相关文献资料对主要检出物质进一步确认定性并命名^[11-14]。初步鉴定出茶酒中各主要香气组分共 72 个, 其 GC-MS 图谱见图 1; 采用面积归一数据分析法, 分析结果见表 1。

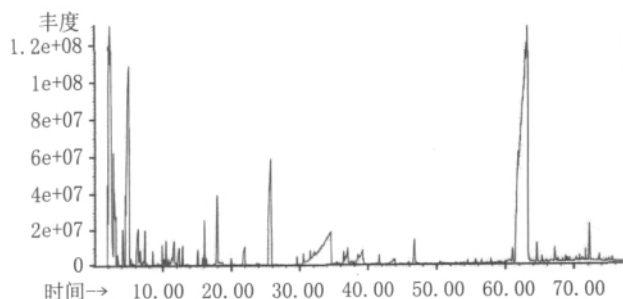


图1 发酵型茶酒香气成分GC-MS分析图谱

表1 结果表明, 茶酒中较重要的风味物质主要是醇类、酯类和酸类化合物, 总体含量较高。醇类化合物在茶酒风味物质中总体含量达到了 12.0887%, 其中相对含量较高的醇类主要有苯乙醇 (5.2779%)、2, 3-丁二醇 (1.6362%)、2-甲基-1-丙醇 (1.5549%) 等; 酯类化合物总体含量达到了 11.0897%, 相对含量较高的酯类主要有丁二酸单乙酯 (7.2872%)、乙酸乙酯 (1.0995%)、丁二酸二乙酯 (0.6722%)、对羟基肉桂酸乙酯 (0.4115%)、没食子酸乙酯 (0.3868%) 等; 羧酸类化合物含量达到了 3.8274%, 其中, 相对含量较高的化合物主要有甲酸 (1.1442%)、苹果酸 (0.7374%)、乙酸 (0.6623%)、4-羟基丁酸 (0.5035%) 等; 此外, 很多醛酮类物质、杂环类化合物和其他的物质, 如 1-氯-1,2,3-丁烯, 也是构成茶酒

香气的不可缺少的成分。

3 讨论

发酵型茶酒香气成分中分析出了咖啡因, 其相对峰面积达到了 37.1678%, 含量很大。咖啡因是茶酒较为重要的特征成分, 赋予了茶酒特殊滋味。大量咖啡因的出现, 可能与茶酒香气提取方法有关, 溶剂萃取香气的方法不是很适合茶酒。

不同于葡萄酒中以异戊醇为主, 茶酒中苯乙醇的含量最大, 是高级醇类物质的主要成分。苯乙醇的香味独特, 具有玫瑰香、紫罗兰香、茉莉花香等多样风味。同时, 茶酒中也分析出了具有酱香和肉香味的 3-甲硫基丙醇, 它是芝麻香型白酒的特征组分, 在果酒中还未曾检测出。而茶叶中含量较多的芳樟醇, 在茶酒中也被检测到。苯乙醇、3-甲硫基丙醇和芳樟醇等构成了茶酒的茶树花香; 同多数果酒一样, 茶酒中酯类物质也是以丁二酸单乙酯为主, 而能够产生令人愉悦的花果香气的辛酸乙酯也占了很大的比例, 没食子酸乙酯和丁二酸二乙酯含量也较大。其构成了茶酒的芬芳果香; 茶酒中的苹果酸、乙酸、4-羟基丁酸等构成了酸香。茶酒的香气就是由各香气成分相互协调而形成的独特风味。

由于茶酒在发酵生产过程中, 许多的特征香气物质挥发损失, 因此, 剩余含量微少或者检测不到。茶酒与茶叶香气区别较大。香气成分是影响发酵型茶酒风味、质量和特性的主要因素, 各香气成分相互协同才能形成其独特风味。由于茶酒自身特殊性限制, 致使大量香气成分难以定性其香气阈值、呈香特征等, 因而难以确定它们对茶酒香气的影响, 给茶酒香气的研究带来了许多困难。以后的研究, 应该多借鉴啤酒、葡萄酒、果酒等领域的香气分析方法, 对茶酒主要香气成分的形成机理进行研究, 以期可以更好地控制香气形成的主要因素, 生产出品质优良的茶酒。

致谢: 特别感谢安徽农业大学茶与食品科技学院高学玲副教授的指导和谢小花同学对实验的帮助。

参考文献:

- [1] 张帅, 董基, 陈少杨. 发酵型铁观音茶酒的研制[J]. 食品工业科技, 2008, 29(10): 159-161.
- [2] 严鸿德, 汪东风, 王泽农, 等. 茶叶深加工技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 178-208.
- [3] 郭龄盛, 叶乃兴, 王振康. 浅析茶类酒生产的现状及展望[J]. 茶叶科学技术, 2005(1): 27-28.
- [4] 陈立杰, 赖萍, 谭书明, 等. 干型茶酒的加工技术[J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(4): 371-376.
- [5] 顾谦, 陆锦时, 叶宝存. 茶叶化学[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2005: 12-128.

表 1 发酵型茶酒主要香气成分与相对含量

保留时间(min)	香气组分	分子式	相对面积(%)	相似度(%)
1. 959	甲酸	CH_2O_2	1. 1442	9
2. 254	2-氯乙烯基乙炔	$\text{C}_4\text{H}_3\text{Cl}$	1. 2801	52
2. 3701	1-氯-1, 2, 3-丁烯	$\text{C}_4\text{H}_7\text{Cl}$	8. 048	47
2. 8054	乙酸乙酯	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	1. 0995	90
2. 9215	2-甲基-1-丙醇	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	1. 5549	55
3. 1343	乙酸	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	0. 6623	91
3. 3761	1-丁醇	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	0. 1959	74
4. 1645	3-羟基-2-丁酮	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	0. 6128	83
4. 5659	2, 4, 5-三甲基-1, 3-二氧戊烷	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	0. 7792	83
5. 0738	2-甲基-1-丁烯	C_5H_{10}	9. 3286	58
6. 7231	2, 3-丁二醇	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$	1. 6362	90
6. 8585	丁酸乙酯	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	0. 0371	90
7. 4147	2-羟基-丙酸乙酯	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3$	0. 5344	64
9. 7024	正戊醇	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$	0. 0243	68
9. 9298	己醇	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}$	0. 2593	86
10. 81	乙烯基苯	C_8H_6	0. 119	94
12. 4303	4-羟基丁酸	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$	0. 5035	90
16. 1158	1-(1-乙氧基)戊烷	$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{O}$	0. 5864	78
16. 3625	3-甲硫基丙醇	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{OS}$	0. 1134	96
16. 9235	苯酚	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	0. 0077	93
18. 0215	2-辛醇	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$	1. 763	86
18. 7276	己酸	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	0. 1994	90
20. 0093	苯甲醇	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$	0. 106	97
22. 6549	环氧芳樟醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$	0. 0111	90
24. 6476	3, 7-二甲基辛二烯-[1, 6]-醇-[3]	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	0. 0127	96
25. 881	苯乙醇	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$	5. 2779	83
29. 0393	十甲基环五硅氧烷	$\text{C}_{10}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{Si}_5$	0. 0076	91
30. 5677	丁二酸二乙酯	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_4$	0. 6722	90
31. 2158	辛酸	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$	0. 2704	90
31. 5689	辛酸乙酯	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$	0. 4606	53
34. 5821	丁二酸单乙酯	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_6$	7. 2872	90
37. 0488	1, 3-二醇	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}_2$	0. 4685	83
39. 2059	苹果酸	$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_5$	0. 7374	74
40. 6424	十二甲基环六硅氧烷	$\text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{Si}_6$	0. 0169	90
43. 6943	正月桂酸	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	0. 2432	96
44. 7004	癸酸乙酯	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$	0. 0121	97
45. 3823	蔡, 2, 7-二甲基	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}$	0. 0036	91
46. 7462	4-羟基苯乙醇	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$	0. 6548	90
48. 3278	2-丙烯酸-3-苯基-乙酯	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_2$	0. 0188	98
49. 3048	3-(4-甲氧基苯)-1-丙醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$	0. 0107	94
49. 9916	十五烷	$\text{C}_{15}\text{H}_{32}$	0. 0038	97
51. 1089	二氢猕猴桃内酯	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_2$	0. 0123	94
53. 8899	十六烷	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}$	0. 0146	93
54. 4558	3-羟基- β -二氢大马酮	$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_4$	0. 0398	93
56. 7726	(六氢-1H-azepin-1-基)-1, 1-二氧化碳-1, 2-苯并异噻唑	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$	0. 0119	90
57. 1789	十七烷	$\text{C}_{17}\text{H}_{36}$	0. 0798	96
59. 0216	3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2-丙烯酸	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	0. 0302	94
59. 5005	乙基 3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)支撑-2-烯酸	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{C}_1\text{NO}_5\text{S}$	0. 0169	95
60. 2163	p 桂皮酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	0. 0199	95
60. 4436	3-(4-羟基苯基)-2-丙烯酸	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	0. 2549	97
60. 995	对羟基肉桂酸乙酯	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$	0. 4115	94
61. 8027	咖啡因	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$	37. 1678	96
63. 6551	2-(羟)-N 的-(4-甲氧基苯基)乙酰胺	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	0. 0219	96
64. 5209	没食子酸乙酯	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	0. 3868	94
65. 2512	棕榈酸乙酯	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	0. 0721	98
66. 9005	(二氟甲基)吡啶-3 甲酰胺脒	$\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{F}_2\text{O}$	0. 0255	98

表 3 标准不确定度汇总表

标准不确定度分量		不确定度来源		标准不确定度		ν_i	
$u_{rel}(P)$		色谱纯度引起的不确定度分量		2.89E-03		50	
$u_{rel}(x)$		测量重复性的不确定度		5.50E-03		50	
$u_{rel}(GC)$		气相色谱准确度		6.67E-03		50	
$u_{rel}(m)$	$u(m_1)$	称量引起的标准不确定	天平分度值	2.89E-05		50	
	$u(m_2)$	度分量	称量误差	1.18E-04	6.67E-05	63	50
	$u(m_3)$		重复性	2.00E-04		50	
$u_{rel}(Vp)$	$u(Vp_1)$	容量瓶引起的标准不确定	容量误差	2.31E-02		50	
	$u(Vp_2)$	度分量	温度变化	3.49E-04	2.42E-02	117	50
	$u(Vp_3)$		重复性	1.00E-02		50	
$u_{rel}(Vg)$	$u(Vg_1)$	10 mL 吸量管引起的标准	容量误差	5.77E-03		50	
	$u(Vg_2)$	不确定度分量	温度变化	8.01E-04	2.42E-03	116	50
	$u(Vg_3)$		重复性	5.00E-03		50	
$u_{rel}(Vq)$	$u(Vq_1)$	5 mL 吸量管引起的标准	容量误差	1.73E-03		50	
	$u(Vq_2)$	不确定度分量	温度变化	2.65E-03	1.21E-02	69	50
	$u(Vq_3)$		重复性	5.00E-03		50	
$u_{rel}(Vy)$		100 μ L 移液器引起的标准不确定度分量		1.20E-03		50	
$u_{rel}(x)$		校准曲线引起的标准不确定度分量		2.90E-03		50	
$u_{rel}(\rho)$		己酸乙酯测定的相对合成不确定度		0.0100		165	

定度来源进行分析,并对其不确定度分量进行评定,得出该分析方法的测量不确定度;同时可以看出,人员的操作水平、气相色谱仪和标准品纯度等对气相色谱法测量不确定度影响较大。因此,在测试样品时,必须严格操作规范,并且使用合格的计量器具。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会,GB/T 10345—2007 白酒分析方法[S].北京:中国标准出版社,2007.

[2] 国家质量技术监督局,JJF 1059—1999 中华人民共和国国家计量技术规范 测量不确定度评定与表示[S].北京:中国计量出版社,1999.

(上接第 102 页)

续表 1 发酵型茶酒主要香气成分与相对含量

保留时间(min)		香气组分	分子式	相对面积(%)	相似度(%)
67.2149	油酸腈		$C_{31}H_{53}N$	0.0863	91
67.5583	正十八烷		$C_{18}H_{38}$	0.0532	97
67.7034	十七腈		$C_{17}H_{33}N$	0.0278	96
68.0758	十九烷		$C_{19}H_{40}$	0.0196	93
68.1967	(z, z 表示)-9, 12 -十八碳二烯酸		$C_{18}H_{34}O_2$	0.0285	95
68.7046	9, 12 -十八碳二烯酸乙酯		$C_{20}H_{36}O_2$	0.0551	95
69.2318	硬脂酸乙酯		$C_{20}H_{40}O_2$	0.03	99
70.0105	二十三烷		$C_{23}H_{48}$	0.1646	91
70.4119	1-二十六烷		$C_{26}H_{54}$	0.1124	95
71.1664	二十八烷		$C_{28}H_{58}$	0.3946	96
71.6453	油酸酰胺		$C_{18}H_{35}NO$	0.1581	98
72.2111	角鲨烯		$C_{30}H_{50}$	0.7788	98
73.0672	二十烷		$C_{20}H_{42}$	0.2586	99
73.3526	正-14-二十九烷		$C_{29}H_{60}$	0.0227	93
74.9874	二十九烷		$C_{29}H_{60}$	0.1666	89

[6] 邱新平,李立祥,蒋其忠,等.发酵型茶酒酿造工艺参数研究[J].食品科学,2010(6):300-304.

[7] 张巧珍,杨志言,肖冬光.荔枝酒香味成分初探[J].酿酒,2008,166(4):49-51.

[8] 彭帮柱,岳田利,袁亚宏,等.气相色谱-质谱联用法分析苹果酒香气成分的研究[J].西北农林科技大学学报,2006,34(1):71-74.

[9] 杨红亚,吴少华,王兴红,等.气质联用分析青梅发酵酒和浸泡酒的香气成分[J].酿酒科技,2005(9):80-83.

[10] 汪立平.苹果酒酿造中香气物质的研究[D].无锡:江南大学,2004.

[11] 马立志,王瑞,蔡竹,等.刺梨干酒香气成分的 GC/MS 分析[J].酿酒科技,2008(2):114-115.

[12] 王贞强,马波,迟建,等.荔枝酒香气成分的 GC/MS 分析[J].食品科学,2006,22(8):135-138.

[13] 龙明华.以浓缩苹果汁酿造的苹果酒挥发性香气成分分析[J].酿酒科技,2006(6):94-95.

[14] 薛洁,涂正顺,常伟,等.中国特有野生水果欧李香气成分的 GC-MS 分析[J].中国食品学报,2008,8(1):125-129.