

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2018.05.006

文章编号:2095-6002(2018)05-0035-09

引用格式:范梦蝶,肖群飞,杜文斌,等.山西老陈醋晒制前后挥发性风味物质变化[J].食品科学技术学报,2018,36(5):35-43.



FAN Mengdie, XIAO Qunfei, DU Wenbin, et al. Changes of volatile flavor compounds in Shanxi aged vinegar before and after aging[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018,36(5):35-43.

山西老陈醋晒制前后挥发性风味物质变化

范梦蝶, 肖群飞, 杜文斌, 王雅欣, 王天泽, 梁晶晶, 谢建春*, 孙宝国
(北京工商大学北京食品营养与人类健康高精尖创新中心/食品质量与安全北京实验室/
北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048)

摘要:采用顶空-固相微萃取结合气相色谱-质谱联用、气相色谱-嗅闻对晒制前后山西老陈醋挥发性风味物质进行分析,基于保留指数、质谱、标准品,气-质联机共鉴定出84种挥发性风味物质,气相色谱-嗅闻鉴定出42种香气活性化合物,包括含硫化合物、含氮杂环、含氧杂环、醛类、酮类、醇类、酸类、酯类、酚类、其他类。其中2种醋中含量较高的为乙酸、四甲基吡嗪、糠醛、糠醇、2,3-丁二酮等20种化合物,检测频率较高的为3-甲硫基丙醛、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-呋喃丙烯醛、香兰素、乙酸、3-甲基丁酸等16种化合物。从化合物种类看,晒后新出现了3-甲硫基丙醇、2-乙酰基呋喃、苯甲醇、丙酸等14种化合物,但有二甲基二硫醚、苯丙酮、丁酸、3-甲基戊酸、丁酸乙酯、2-乙酰基吡咯、5-羟甲基糠醛等19种化合物消失。从化合物含量变化看,晒后四甲基吡嗪、糠醇、苯乙醇、丙酸、乙酸苯乙酯等11种香气活性化合物含量升高,而乙酸、糠醛、己酸、二苯甲酮等29种香气活性化合物的含量降低。总体上,晒制后有杂味的化合物种类及含量降低,而具有良好香气特性的化合物种类或含量增加。研究结果可为山西老陈醋生产工艺的升级改造提供参考。

关键词:山西老陈醋;晒制;香气物质;气相色谱-嗅闻;香气活性

中图分类号: TS264.2

文献标志码: A

山西老陈醋是我国传统名醋,采用古法酿造,陈放晒制过程是其酿制工艺中独特的核心工序,随着水分蒸发或结晶析出,一些物质沉淀或发生化学变化,使得老陈醋更具柔软酸醇、绵柔味长的特点^[1-4]。但由于晒制周期过长,为缩短生产周期,提高产量,深入了解晒制过程风味变化具有重要意义。

山西老陈醋之所以风味独特,很大原因在于其成分复杂多样^[5-8]。但目前对山西老陈醋风味的研究报道多数限于挥发性化合物的气相色谱-质谱分析(gas chromatography and mass spectrometry, GC-MS)^[5],而没有采用气相色谱-嗅闻(aroma extract

dilution analysis in gas chromatography-olfactometry, GC-O)针对香气活性化合物进行解析。而实际上对整体香气有贡献的正是醋中的香气活性化合物,因此老陈醋风味研究的重点在于解析其所含的香气活性化合物,尤其是关键香气化合物的构成。课题组前期采用溶剂辅助蒸发(solvent assistant flavor evaporation, SAFE)法处理样品,发现晒制后一些有刺激性气味的物质含量降低或消失,而某些含硫化合物、吡嗪类化合物含量增加^[2]。但SAFE法萃取浓缩步骤较多,一些头香物质可能损失;而顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HP-SPME)

收稿日期:2018-03-07

基金项目:北京市自然科学基金面上项目(6172004);国家自然科学基金面上项目(31671895);国家重点研发计划项目(2017YFD0400100)。

作者简介:范梦蝶,女,硕士研究生,研究方向为食品风味化学;

* 谢建春,女,教授,博士,主要从事食品风味化学方面的研究,通信作者。

具有简单快速、无溶剂污染、适合萃取头香物质等优势^[9],被广泛用于多种醋的风味分析^[10-12]。

本文在前期采用 SAFE 法的研究基础上,进一步采用 HP-SPME/GC-MS 及 GC-O 分析山西老陈醋晒制前后挥发性风味物质组成,以便更全面地了解山西老陈醋晒制过程风味物质的变化,为老陈醋的工艺改进提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

山西老陈醋(晒制前和晒制后),山西老陈醋集团有限公司;氯化钠(分析纯)、C₅~C₂₃正构烷烃(色谱纯)、二氯甲烷溶剂(分析纯)、无水 Na₂SO₄(分析纯),国药集团北京化学试剂有限公司;香料标准品(纯度均为 95%~99%),百灵威化学技术有限公司。

手动 SPME 进样器、75 μm Car/PDMS 萃取纤维,美国 Supelco 公司;7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪、7890A 型气相色谱仪,美国 Agilent 公司;闻香器,瑞士 Brechbuehler 公司;DF-101S 型恒温加热磁力搅拌水浴锅,河南予华仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 固相微萃取

固相微萃取纤维在气相色谱的进样口于 250 °C 老化至无杂峰。取 7 g 醋样,置于 20 mL 萃取瓶中,加入 2.5 g 氯化钠,40 °C 水浴中保温,顶空吸附 40 min。做 3 组平行实验。

1.2.2 GC-MS 分析

GC 条件:毛细管柱为 DB-WAX (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)。升温程序为起始柱温 35 °C,保持 2 min;以 3 °C/min 升到 170 °C,再以 5 °C/min 升到 250 °C。载气为氦气,流速 1.0 mL/min;萃取纤维 250 °C 解析 2 min 进样;不分流模式。

MS 条件:电子轰击电离源,能量 70eV;四极杆温度 150 °C;离子源温度 230 °C;全扫描模式,质量扫描范围 33~450 amu;辅助加热线温度 230 °C。

1.2.3 GC-O 分析

GC-O 系统由 Agilent 7890A GC 装置及嗅闻装置组成。GC 装置配有 FID 检测器;毛细管柱为 DB-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);升温程序为起始柱温 40 °C,以 5 °C/min 升到 250 °C。进样口温度 250 °C;载气为氦气(纯度为 99.999%),流速 1.0

mL/min;不分流模式。

将吸附后的萃取纤维插入气相色谱进样口,于 250 °C 解吸 2 min。加湿后的空气携带柱后流出物进入嗅闻口,通过软件记录气味特征。采用频率法分析,共 3 名评价员,每人嗅闻 2 次。

1.3 定性分析

在相同 GC-MS、GC-O 条件下进样 C₅~C₂₃正构烷烃,按式(1)计算保留指数(retention indices, RI)。

$$RI = 100 \times \left(n + \frac{t_i - t_n}{t_{(n+1)} - t_n} \right) \quad (1)$$

式(1)中: t_n 和 t_{n+1} 分别为碳数为 n 、 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间, t_i 是在 t_n 和 t_{n+1} 之间的第 i 个化合物的保留时间。

根据 Nist 14 谱库、嗅闻气味特征、保留指数、标准品等鉴定化合物。

2 结果与讨论

2.1 2 种醋中的挥发性风味物质鉴定结果

采用 GC-MS 及 GC-O 从晾晒前后的山西老陈醋样品中鉴定出的化合物及含量见表 1。2 种醋中气-质联机共鉴定出 84 种挥发性化合物,包括含硫化合物(2 种)、含氮杂环(14 种)、含氧杂环(13 种)、醛类(7 种)、酮类(13 种)、醇类(6 种)、酸类(5 种)、酯类(10 种)、酚类(11 种)、其他类(3 种)。

气相色谱-嗅闻检测出 42 个气味活性区,共鉴定出 42 种物质,其中有 33 种在气-质联机中检测到。但 3-甲硫基丙醛、2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪、5-甲基-2-乙酰基咪喃、庚酸、 γ -壬内酯、苯乙酸乙酯等,尽管 GC-O 检测频率较高,但由于含量低在气-质联机中却未检测到,这可能是由于它们的气味阈值低。

由表 1 可知,气-质联机检测,晒前醋中主要化合物为(按表中数据计算,占总面积 > 1%):乙酸、糠醛、2,3-丁二酮、乙偶姻、糠醇、对乙基苯酚、苯酚、二苯甲酮、己酸、乙酸乙酯、水杨醛、茴香脑、苯乙酮、四甲基吡嗪、邻甲氧基苯酚共 15 种。晒后醋中检测出的主要化合物为:乙酸、2,3-丁二酮、糠醛、糠醇、四甲基吡嗪、乙偶姻、苯乙醇、丙酸、苯酚、乙酸乙酯、2,3-丁二醇、乙酸苯乙酯、邻甲氧基苯酚、5-甲基糠醛、茴香脑共 15 种。其中乙酸、糠醛、2,3-丁二酮、糠醇、四甲基吡嗪等 10 种化合物为二者共有的含量高的化合物。以上从晒后醋中检测到的乙酸、四甲

表1 顶空固相微萃取/气-质联机及气相色谱-嗅闻从晒前、晒后醋中检测的挥发性香气物质

Tab. 1 Volatile flavor compounds identified in Shanxi aged vinegars before and after aging by HP-SPME/GC-MS and GC-O

化合物	保留指数		峰面积 × 10 ⁶		嗅闻气味	频率		定性方法
	DB-5	DB-WAX	晒前	晒后		晒前	晒后	
含硫化合物(4种)								
二甲基二硫醚	706	-	-	-	洋葱	1	-	RI/Odor/S
3-甲硫基丙醛	906	1480	-	-	煮土豆香	6	6	RI/Odor/S
乙酸3-甲硫基丙醇酯	1036	1618	1.68 ± 0.03 a	1.72 ± 0.06 a	干酪、酸香	2	1	MS/RI/Odor/S
3-甲硫基丙醇	-	1708	-	0.16 ± 0.01	肉味、咸香	-	1	Odor/MS
合计			1.68	1.88				
含氮杂环(15种)								
三甲基恶唑	862	1198	0.44 ± 0.01 a	0.15 ± 0.00 b	壤香	-	1	MS/RI/S
三甲基吡嗪	998	1399	1.13 ± 0.02 a	1.14 ± 0.04 a	-	-	-	MS/RI/S
2-乙基-5-甲基吡嗪	1007	-	-	0.02 ± 0.00	烤坚果	1	3	MS/RI/Odor/S
2-吡咯甲醛	1010	-	0.24 ± 0.01 a	0.19 ± 0.01 b	-	-	-	MS/RI/S
3-羟基吡啶	1059	-	1.22 ± 0.03 a	1.01 ± 0.05 b	-	-	-	MS/RI/S
四甲基吡嗪	1082	1468	3.84 ± 0.09 b	8.46 ± 0.28 a	烤坚果	2	3	MS/RI/Odor/S
2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	1090	1455	-	0.87 ± 0.04	烤坚果	6	6	MS/RI/Odor/S
2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	1170	-	-	-	霉香、壤香	4	5	RI/Odor/S
(E)-2,3-二甲基-5-(1-丙烯基)吡嗪	1245	1723	-	0.15 ± 0.00	-	-	-	MS/RI/S
2,5-二甲基-3-异戊基吡嗪	1297	-	-	0.03 ± 0.00	烤香	-	2	MS/RI/Odor/S
2,3-二甲基吡嗪	-	1339	0.45 ± 0.01 a	0.46 ± 0.02 a	-	-	-	MS/RI/S
4-乙酰基吡嗪	-	1492	0.19 ± 0.01	-	-	-	-	MS/RI/S
2-乙酰基吡咯	-	1957	0.74 ± 0.02	-	-	-	-	MS/RI/S
N-甲基-2-吡咯甲醛	-	2085	0.02 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 a	-	-	-	MS/RI/S
3-苯基吡啶	-	2219	0.01 ± 0.00	-	-	-	-	MS/RI/S
合计			8.28	12.50				
含氧杂环(13种)								
糠醛	832	1454	49.95 ± 4.40 a	16.63 ± 1.50 b	焦糖香	4	3	MS/RI/Odor/S
乙酸糠酯	981	1530	-	1.75 ± 0.07	焦糖香、水果香	2	3	MS/RI/Odor/S
5-甲基糠醛	959	1559	3.30 ± 0.23 a	2.42 ± 0.14 b	焦糖香	-	1	MS/RI/Odor/S
2-乙酰基呋喃	-	1563	-	0.19 ± 0.01	-	-	-	MS/RI/S
5-甲基-2-乙酰基呋喃	1047	1600	0.01 ± 0.00 b	0.09 ± 0.00 a	焦糖香	5	5	MS/RI/Odor/S
糠醇	-	1654	8.83 ± 0.76 a	9.67 ± 0.84 a	-	-	-	MS/RI/S
1-(2,4-二甲基-3-呋喃基)-乙酮	-	1716	-	0.13 ± 0.01	-	-	-	MS/RI/S
2-呋喃丙烯醛	1105	1838	1.20 ± 0.01 a	0.03 ± 0.00 b	肉桂	6	6	MS/RI/Odor/S
4-(2-呋喃基)-3-丁烯-2-酮	-	1887	0.15 ± 0.01 a	0.02 ± 0.00 b	-	-	-	MS/RI/S
3-乙酰基-2,5-二甲基呋喃	-	1917	-	0.11 ± 0.01	-	-	-	MS/RI/S
5-羟甲基糠醛	-	2488	3.16 ± 0.21	-	-	-	-	MS/RI/S
3-(2-呋喃基)-2-苯基-丙烯醛	1671	2631	0.30 ± 0.02	-	-	-	-	MS/RI/S
3-(2-呋喃基)-2-甲基-2-丙烯醛	1193	1857	0.14 ± 0.01 b	0.23 ± 0.01 a	-	-	-	MS/RI/S
合计			68.50	32.09				
醛类(7种)								
苯甲醛	954	1506	1.59 ± 0.08 a	0.28 ± 0.02 b	-	-	-	MS/RI/S
苯乙醛	1038	1508	0.31 ± 0.02 a	0.11 ± 0.01 b	玫瑰	1	-	MS/RI/Odor/S
水杨醛	-	1659	5.02 ± 0.36 a	0.95 ± 0.07 b	-	-	-	MS/RI/S

续表 1

化合物	保留指数		峰面积 $\times 10^6$		嗅闻气味	频率		定性方法
	DB-5	DB-WAX	晒前	晒后		晒前	晒后	
2-苯基-2-丁烯醛	1 266	1 912	0.37 \pm 0.25 a	0.08 \pm 0.01 b	青香	3	2	MS/RI/Odor/S
5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	1 489	2 059	2.06 \pm 0.14 a	0.42 \pm 0.03 b	青香	5	6	MS/RI/Odor/S
异香兰素	1 389	2 554	2.08 \pm 0.18 a	1.48 \pm 0.07 b	甜、水果	5	6	MS/RI/Odor/S
香兰素	1 402	2 554	1.63 \pm 0.06 a	0.88 \pm 0.03 b	香甜巧克力	6	6	MS/RI/Odor/S
合计			13.06	4.2				
酮类(13种)								
2,3-丁二酮		985	31.12 \pm 2.31 a	29.19 \pm 1.19 b	奶香	-	1	MS/RI/Odor/S
乙偶姻	716	1 277	9.01 \pm 0.87 a	6.50 \pm 0.34 b	酸奶	2	2	MS/RI/Odor/S
2-乙酰氧基-3-丁酮	1 061	1 376	0.04 \pm 0.00 b	0.15 \pm 0.01 a	-	-	-	MS/RI/S
苯乙酮	1 084	1 632	4.32 \pm 0.24 a	1.16 \pm 0.07 b	水果香	2	2	MS/RI/Odor/S
3-甲基苯乙酮	-	1 667	0.03 \pm 0.00	-	-	-	-	MS/RI/S
苯基乙基甲酮	-	1 705	2.02 \pm 0.12 a	0.56 \pm 0.03 b	-	-	-	MS/RI/S
苯丙酮	-	1 709	1.33 \pm 0.09	-	花香、水果香	3	-	MS/RI/Odor/S
2-甲基苯乙酮	-	1 735	2.03 \pm 0.14	-	-	-	-	MS/RI/S
1-苯基-1,2-丙二酮	-	1 792	1.51 \pm 0.07	-	-	-	-	MS/RI/S
邻羟苯丙酮	-	1 954	0.28 \pm 0.01	-	-	-	-	MS/RI/S
对羟苯丙酮	-	1 954	1.50 \pm 0.09	-	-	-	-	MS/RI/S
2-羟基-5-甲氧基苯乙酮	-	1 988	1.67 \pm 0.05	-	-	-	-	MS/RI/S
二苯甲酮	-	2 460	6.87 \pm 0.31 a	1.49 \pm 0.07 b	-	-	-	MS/RI/S
合计			61.73	39.05				
醇类(6种)								
异丁醇	-	1 094	-	0.20 \pm 0.01	-	-	-	MS/RI/S
异戊醇	-	1 209	-	0.65 \pm 0.04	-	-	-	MS/RI/S
2,3-丁二醇	799	1 575	0.93 \pm 0.07 b	2.87 \pm 0.14 a	-	-	-	MS/RI/S
苯甲醇	1 028	1 864	-	1.17 \pm 0.06	花香	-	1	MS/RI/Odor/S
苯乙醇	1 108	1 898	1.96 \pm 0.09 b	5.93 \pm 0.42 a	花香	1	1	MS/RI/Odor/S
2-苯基-1-丁醇	-	1 973	0.12 \pm 0.01 b	0.32 \pm 0.02 a	-	-	-	MS/RI/S
合计			3.01	11.14				
酸类(8种)								
乙酸	669	1 432	86.17 \pm 4.53 a	55.72 \pm 3.14 b	酸	6	6	MS/RI/Odor/S
丙酸	748	1 533	-	5.51 \pm 1.12	-	-	-	MS/RI/S
丁酸	805	-	-	-	酸臭、微甜	2	-	RI/Odor/S
3-甲基丁酸	846	-	0.48 \pm 0.03	-	腐臭、干酪	6	6	RI/Odor/S
3-甲基戊酸	868	-	-	-	腐臭、干酪	1	-	MS/RI/Odor/S
己酸	981	1 876	6.68 \pm 0.34 a	0.22 \pm 0.01 b	-	-	-	MS/RI/S
庚酸	1 078	-	-	-	酸臭、奶油	6	5	RI/Odor/S
苯甲酸	1 178	2 412	0.49 \pm 0.02	-	-	-	-	MS/RI/S
合计			93.82	61.45				
酯类(13种)								
乙酸乙酯	601	904	6.32 \pm 0.34 a	3.28 \pm 0.21 b	水果香	5	2	MS/RI/Odor/S
异丁酸甲酯	679	-	-	-	水果香	1	-	RI/Odor/S
丁酸乙酯	801	-	-	-	水果香	3	-	MS/RI/Odor/S
丁内酯	-	1 606	0.90 \pm 0.07	-	-	-	-	MS/RI/S
苯甲酸乙酯	1 178	1 649	-	-	甜香	1	2	RI/Odor/S

续表 1

化合物	保留指数		峰面积 $\times 10^6$		嗅闻气味	频率		定性方法
	DB-5	DB-WAX	晒前	晒后		晒前	晒后	
琥珀酸二乙酯	1 190	1 670	2.29 \pm 0.15a	1.36 \pm 0.04b	水果香,酯香	1	-	MS/RI/Odor/S
γ -己内酯	-	1 681	-	0.22 \pm 0.02	-	-	-	MS/RI/S
苯乙酸乙酯	1 240	1 773	0.31 \pm 2.00	-	水果香,酯香	5	1	MS/RI/Odor/S
乙酸苯乙酯	1 252	1 802	2.30 \pm 0.16b	2.63 \pm 0.17a	水果,花香	2	3	MS/RI/Odor/S
2,2-二甲基丙酸-2-苯乙酯	-	1 870	-	0.16 \pm 0.01	-	-	-	MS/RI/S
γ -壬内酯	1 355	2 009	0.56 \pm 0.03a	0.60 \pm 0.04a	椰子香	6	5	MS/RI/Odor/S
棕榈酸乙酯	1 991	2 253	1.95 \pm 0.09a	1.43 \pm 0.08b	-	-	-	MS/RI/S
亚油酸乙酯	-	2 527	0.40 \pm 0.02a	0.36 \pm 0.02a	-	-	-	MS/RI/S
合计			13.57	9.22				
酚类(11种)								
2,6-二甲基对苯二酚	-	1 664	-	1.41 \pm 0.07	-	-	-	MS/RI/S
邻甲氧基苯酚	-	1 845	3.71 \pm 0.23a	2.45 \pm 0.13b	-	-	-	MS/RI/S
愈创木酚	1 191	1 941	2.69 \pm 0.16a	1.26 \pm 0.02b	木香	-	1	MS/RI/S
苯酚	-	1 994	8.28 \pm 0.36a	5.06 \pm 0.23b	-	-	-	MS/RI/S
4-乙基愈创木酚	1 273	2 017	1.25 \pm 0.09a	0.80 \pm 0.04b	辛香,药香	4	4	MS/RI/Odor/S
2,3-二甲基苯酚	-	2 068	0.58 \pm 0.04a	0.55 \pm 0.03a	-	-	-	MS/RI/S
对甲苯酚	-	2 070	0.63 \pm 0.05a	0.49 \pm 0.03a	-	-	-	MS/RI/S
对乙基苯酚	1 184	2 165	8.55 \pm 0.76a	0.81 \pm 0.03b	-	-	-	MS/RI/S
4-乙烯基愈创木酚	1 364	2 180	2.14 \pm 0.18a	2.04 \pm 0.15a	辛香	1	-	MS/RI/Odor/S
3,4-二甲苯酚	-	2 207	-	0.54 \pm 0.03	-	-	-	MS/RI/S
2,5-二叔丁基苯酚	-	2 310	0.10 \pm 0.01b	0.25 \pm 0.02a	-	-	-	MS/RI/S
合计	-		27.93	15.66				
其他(3种)								
苯乙烯	-	1 247	1.57 \pm 0.08a	0.34 \pm 0.02b	-	-	-	MS/RI/S
1,3-二噁烷	-	1 265	1.44 \pm 0.07a	0.95 \pm 0.05b	-	-	-	MS/RI/S
茴香脑	-	1 811	2.71 \pm 0.35a	2.32 \pm 0.13b	-	-	-	MS/RI/S
合计			7.72	3.61				
总计			335.30	190.80				

“-”,未检测到。峰面积分析结果为3个样品的平均值;不同字母标注代表存在显著性差异($p < 0.05$),相同字母代表无显著性差异;MS,检索 Nist 14 质谱库鉴定;RI,核对保留指数鉴定;S,标准品鉴定;Odor,嗅闻气味鉴定。

基吡嗪、苯乙醇、乙酸乙酯等化合物,苗志伟等^[3]在市场购置的山西老陈醋中也曾检测到。

GC-O 检测结果中,晒前醋中频率较高(频率 > 4)的物质有13种,包括乙酸、3-甲硫基丙醛、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-呋喃丙烯醛、 γ -壬内酯、香兰素、3-甲基丁酸、庚酸等。晒后醋中 GC-O 检测频率较高(频率 > 4)的物质有12种,包括乙酸、3-甲硫基丙醛、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-呋喃丙烯醛、5-甲基-2-乙酰基呋喃、5-甲基-2-苯基-2-己烯醛、异香兰素、香兰素、3-甲基丁酸等。晒前晒后2种醋中共有的检测频率较高(频率 > 4)的化合物有11种,具有煮土豆、坚果、肉桂、甜巧克力、酸、椰子香等香气特征。以上这些检测频率大的化合物,应对晒前或晒后醋

的总体香气贡献较大。

2.2 醋晒制前后香气物质组成变化

由表1可知,晒后含氧杂环、醇类、酚类化合物的种类数均有所增加,而含氮杂环、酮类、酸类、酯类化合物种类数有所减少。晒后新出现的化合物共14种,其中 GC-O 检测有气味活性为3-甲硫基丙醇、2,5-二甲基-3-异戊基吡嗪、苯甲醇,晒制过程的这些化合物的出现有利于增加陈醋的肉香、烤香、花香等香气特征。3-甲硫基丙醇,具有肉香,与3-甲硫基丙醛均可来源于微生物发酵代谢过程^[2,13];3-甲硫基丙醛在不同的发酵食品中均有被发现^[2],具有土豆香气,GC-O 检测出较高频率,对醋的整体风味贡献很大。

晒后消失的化合物共 19 种,它们来源于酒精发酵或乙酸发酵阶段。如二甲基二硫醚可由蛋氨酸降解产生的甲硫醇进一步转化产生,是蛋氨酸通过酵母代谢的中间产物^[14];其中检测到有气味活性的为二甲基二硫醚、苯丙酮、丁酸、3-甲基戊酸等,具有洋葱、花香、酸臭、腐臭、干酪等杂味,其在晒制过程中蒸发逸失时,将使腐臭、干酪杂味消失。

2 种醋共有化合物晒前晒后含量变化见图 1,其中图 1(a)为醋中主要化合物晒制前后含量变化,图 1(b)为一些晒制前后含量明显变化的非主要化合物含量变化。由图 1(a)可知,20 种主要化合物中,四甲基吡嗪、糠醇、2,3-丁二醇、苯乙醇、丙酸、乙酸苯乙酯 6 种化合物晒后含量升高;其中四甲基吡嗪、苯乙醇、乙酸苯乙酯 3 种物质 GC-O 检测到气味活性,对香气有一定贡献,因此它们的含量升高会使醋的坚果、花、水果香等香气增强。尤其四甲基吡嗪

(即川芎嗪),它是醋中的一个重要香气化合物^[8],具有烤坚果香气,可由发酵体系中的乙偶姻和主要由氨基酸转化而来的氨经过非酶促反应形成。在晾晒时醋中的氨基酸还可发生美拉德反应产生氨,从而乙偶姻进一步被消耗形成四甲基吡嗪^[15],因此晾晒后四甲基吡嗪含量升高幅度大,由图 1(a)可知含量增加超过 1 倍。此外,晒制后,苯乙醇、糠醇的相对含量有所增加,可能也与美拉德反应有关。其中苯乙醇可由苯丙氨酸经 Strecker 降解产生的苯乙醛进一步还原生成^[2]。乙酸苯乙酯少量产生于酒精发酵阶段,大量产生于醋酸发酵阶段,由苯乙醇在酯酶的作用下合成^[16]。晒制后乙酸苯乙酯的含量增加可能是因醋酸与苯乙醇发生反应造成。糠醇未检测到气味活性,而苯乙醇、乙酸苯乙酯有气味活性,虽 GC-O 检测频率不高,对醋的总体香气也有一定影响。

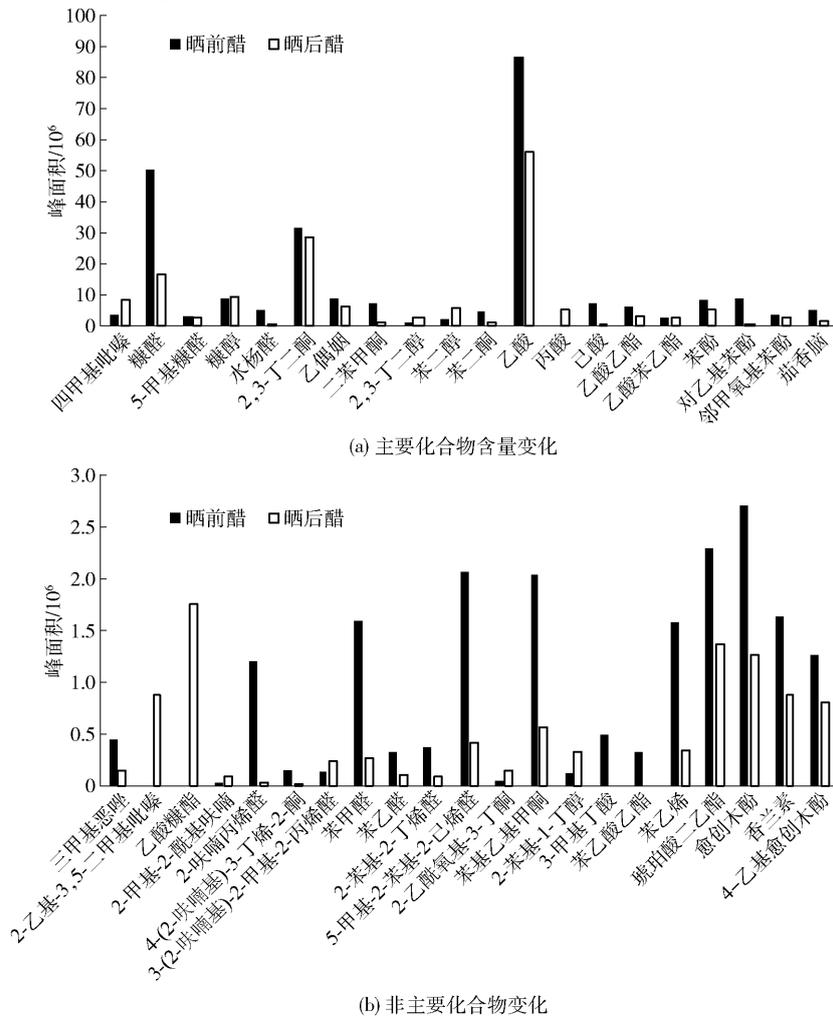


图 1 2 种醋中共有化合物晒制前后含量比较

Fig. 1 Comparison of amounts of major volatile flavor compounds of two kinds of vinegars

图1(a)所示的20种醋中主要化合物中,晒制后,乙酸、糠醛、乙偶姻(3-羟基-2-丁酮)、2,3-丁二酮、5-甲基糠醛、乙酸乙酯、对乙基苯酚等化合物含量减少。其中乙酸、糠醛、乙酸乙酯具有酸、焦糖、水果香气,GC-O检测频率较高,贡献较大;乙偶姻、苯乙酮、5-甲基糠醛、2,3-丁二酮等化合物也检测到气味活性,分别具有酸奶、水果、奶香等香气特征,因此其含量降低使醋的总体香气会发生变化。乙酸、糠醛、2,3-丁二酮3种物质是醋中含量较高的化合物,约占到醋中所有化合物的50%。乙酸是酵母菌利用糖类物质产生乙醇,乙醇又继续被醋酸菌分泌的乙醇脱氢酶氧化成乙醛,乙醛再继续氧化而形成^[17],其在晾晒过程中挥发造成减少。糠醛是由戊聚糖在酸的作用下水解生成戊糖,再由戊糖脱水环化而成^[18],具有焦糖香气,糠醛的减少与上述的其还原成糠醇并进一步与乙酸反应形成乙酸糠酯有关;5-甲基糠醛可由己糖脱水环化而成^[18]。2,3-丁二酮主要产生在微生物发酵阶段,可由乳酸和酵母代谢产生^[19],且和3-羟基-2-丁酮可以相互转化,具有轻微奶香。乙偶姻产生于发酵阶段,可由乳酸被乳酸脱氢后变成丙酮酸,由丙酮酸变为3-羟基-2-丁酮,具有酸奶味。2,3-丁二酮、乙偶姻(3-羟基-2-丁酮)均为四甲基吡嗪的前体物质,晾晒过程中,随着四甲基吡嗪的不断产生而被消耗^[20],因此晾晒后含量降低。乙酸乙酯主要产生于醋酸发酵中期,由乙酸和乙醇酯化反应生成,具有水果香,晒制过程中乙酸乙酯挥发跑掉,因此含量降低。

如图1(b)所示,2种醋共有的非主要化合物(按表中数据计算,占总面积<1%)中,有21种晒制前后含量变化较大,其中含量升高的有5种,降低的有16种。2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、5-甲基-2-乙酰基呋喃、2-呋喃丙烯醛、5-甲基-2-苯基-2-己烯醛、3-甲基丁酸、苯乙酸乙酯、香兰素7种化合物,虽然含量较低,但GC-O检测频率较高,它们的变化对晒后醋的香气影响较大。2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、5-甲基-2-乙酰基呋喃含量的升高,将使晒后醋的坚果香、焦糖香增强。其他化合物含量的降低,将减弱醋的肉桂香、青香、腐臭、干酪、酯香、香甜巧克力香,从而使晒后醋的杂味减少,整体香气更和谐。2-呋喃基丙烯醛可由糠醛和乙醛缩合而成,具有肉桂香。5-甲基-2-苯基-2-己烯醛,可由苯乙醛与丁醛缩合形成,苯乙醛在醋酸发酵阶段通过苯丙氨酸的Strecker降解形成^[11,21],其含量降低

与上述的苯乙醛还原成苯乙醇有关。丁醛可能来源于脂肪酸的氧化降解^[22]。3-甲基丁酸是以支链氨基酸亮氨酸为前体经微生物降解产生。香兰素、愈创木酚、4-乙基愈创木酚可能由所用高粱、麦麸等原料带入,具有较高的GC-O检测频率,有香甜巧克力、辛香、药香味,晒后仍有一定含量存在。此外,产生于醋酸发酵阶段的琥珀酸二乙酯等酯类化合物,也由于晒制过程的分解和蒸发,导致含量减少,并GC-O不再检测到,因此其存在对晒后醋的气味影响较小。

3 结论

HP-SPME/GC-MS及GC-O分析山西老陈醋晒制前后的挥发性风味物质组成,表明2种醋总体香气特征类似。但与晒前相比,晒后19种化合物香气活性成分消失,14种香气活性成分新出现。具有焦糖香、水果香、花香的四甲基吡嗪、乙酸苯乙酯、苯乙醇等主要物质含量有较大的增加;多数非主要成分如2-呋喃丙烯醛、5-甲基-2-苯基-2-己烯醛、3-甲基丁酸、3-甲基恶唑等含量减少,从而肉桂香、青香、腐臭、干酪、壤香等杂味消失。由于香气物质之间的相对比例发生变化,总体香气趋于和谐、醇厚,形成其特有的酸、绵、香、甜的香气特征。这与先前采用SAFE样品处理方法所观察的现象基本一致。后续还将对主要香气物质进行准确定量,精确地了解晒制后老陈醋主要风味物质的含量变化及相对比例关系变化,以便从分子化学角度去研究美拉德反应、酯化反应、水解反应、缩合反应等物理化学反应及晒制期间,光照、温度、空气等对老陈醋风味形成的影响,为缩短老陈醋的晒制周期,提高老陈醋的产量提供技术指导。

参考文献:

- [1] CHEN T, GUI Q, SHI J J, et al. Analysis of variation of main components during aging process of Shanxi aged vinegar[J]. *Acetic Acid Bacteria*, 2013, 2(1s):6.
- [2] LIANG J, XIE J, HOU L, et al. Aroma constituents in Shanxi aged vinegar before and after aging [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(40):7597-7605.
- [3] 苗志伟,刘玉平,黄明泉,等. HS-SPME和GC-MS联用分析山西老陈醋中挥发性香味成分[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(8):197-202.

- MIAO Z W, LIU Y P, HUANG M Q, et al. Analysis of the volatile aroma components in Shanxi overmature vinegar by HS-SPME and GC-MS [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(8): 197-202.
- [4] CHEN H, ZHOU Y, SHAO Y, et al. Free phenolic acids in Shanxi aged vinegar; changes during aging and synergistic antioxidant activities[J]. International Journal of Food Properties, 2016, 19(6):1183-1193.
- [5] ZHU H, ZHU J, WANG L, et al. Development of a SPME-GC-MS method for the determination of volatile compounds in Shanxi aged vinegar and its analytical characterization by aroma wheel [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(1):171-183.
- [6] 李弘文, 王旭莘, 杨小兰. 不同熏醅工艺对山西老陈醋香气成分的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(20): 90-94.
- LI H W, WANG X P, YANG X L. Influence of different fumigation processes on aroma compounds of Shanxi aged vinegar[J]. Food Science, 2015, 36(20):90-94.
- [7] 朱宏, 王爱莉, 仇菊, 等. 动态顶空结合气质联用法测定山西老陈醋发酵过程中挥发性物质的变化[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1):264-271.
- ZHU H, WANG A L, QIU J, et al. Changes of aroma compounds in Shanxi aged vinegar during its fermentation determined by dynamic headspace-gas chromatography [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(1):264-271.
- [8] 苗志伟, 刘玉平, 陈海涛, 等. 两种陈酿期山西老陈醋挥发性成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24):380-384.
- MIAO Z W, LIU Y P, CHEN H T, et al. Analysis of volatile components in Shanxi overmature vinegar with different aging periods[J]. Food Science, 2010, 31(24): 380-384.
- [9] 谢建春, 孙宝国, 刘玉平, 等. 固相微萃取在食品香味分析中的应用 [J]. 食品科学, 2003, 24(8): 229-233.
- XIE J C, SUN B G, LIU Y P, et al. Application of solid-phase microextraction in food flavor analysis [J]. Food Science, 2003, 24(8):229-233.
- [10] CALLEJÓN R M, MORALES M L, TRONCOSO A M, et al. Targeting key aromatic substances on the typical aroma of sherry vinegar[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(15):6631-6639.
- [11] YU Y J, LU Z M, YU N H, et al. HS - SPME/GC - MS and chemometrics for volatile composition of Chinese traditional aromatic vinegar in the Zhenjiang region [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2012, 118(1):133-141.
- [12] 熊越, 贺稚非, 李洪军, 等. 顶空固相微萃取-气质联用分析四川麸醋的香气成分 [J]. 食品科学, 2011, 32(2):252-255.
- XIONG Y, HE Z F, LI H J, et al. Determination of volatile compounds in Sichuan bran vinegars using head space-solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Science, 2011, 32(2):252-255.
- [13] LI S, LI P, LIU X, et al. Bacterial dynamics and metabolite changes in solid-state acetic acid fermentation of Shanxi aged vinegar [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(10):4395-4411.
- [14] BOLTEN C J, SCHRÖDER H, DICKSCHAT J, et al. Towards methionine overproduction in *Corynebacterium glutamicum*—methanethiol and dimethyldisulfide as reduced sulfur sources [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 20(8):1196-1203.
- [15] ZHU B F, XU Y. Production of tetramethylpyrazine by batch culture of *Bacillus subtilis* with optimal pH control strategy [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2010, 37(8): 815-821.
- [16] CALLEJÓN R M, TESFAYE W, TORIJA M J, et al. Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4):1252-1259.
- [17] 周秉辰. 食醋生产中醋酸菌乙醇脱氢酶的活性与产酸速率关系的研究 [J]. 中国酿造, 2009, 28(11): 58-59.
- ZHOU B C. Correlation between the alcohol dehydrogenase activity of acetic acid bacteria and acid-producing rate in vinegar production [J]. China Brewing, 2009, 28(11):58-59.
- [18] 孙宗保, 尹俊玲, 赵杰文, 等. 杂环化合物在镇江香醋陈酿过程中的变化 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(6):199-205.
- SUN Z B, YIN J L, ZHAO J W, et al. The changes of heterocyclic compounds in Zhenjiang aromatic vinegar during ageing [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(6):199-205.
- [19] XU W, XU Q, CHEN J, et al. Ligustrazine formation in Zhenjiang aromatic vinegar; changes during fermentation and storing process [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(9):1612-1617.
- [20] ZHU B F, XU Y. A feeding strategy for tetramethyl-

- pyrazine production by *Bacillus subtilis* based on the stimulating effect of ammonium phosphate[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2010, 33 (8): 953 – 959.
- [21] FRANK S, WOLLMANN N, SCHIEBERLE P, et al. Reconstitution of the flavor signature of dornfelder red wine on the basis of the natural concentrations of its key aroma and taste compounds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(16):8866 – 8874.
- [22] POYATO C, ANSORENA D, NAVARRO-BLASCO I A, et al. A novel approach to monitor the oxidation process of different types of heated oils by using chemometric tools[J]. *Food Research International*, 2014, 57 (1):152 – 161.

Changes of Volatile Flavor Compounds in Shanxi Aged Vinegar Before and After Aging

FAN Mengdie, XIAO Qunfei, DU Wenbin, WANG Yaxin, WANG Tianze,
LIANG Jingjing, XIE Jianchun*, SUN Baoguo

(*Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health/Beijing Laboratory for Food Quality and Safety/Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*)

Abstract: The samples of Shanxi aged vinegar before and after aging were analyzed by headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectra and gas chromatography-olfactometry. Based on retention indices, mass spectra, and injection of authentic standards, a total of 84 volatile compounds were identified by GC-MS and 42 odor-active compounds were identified by GC-O, including sulfur-containing compounds, nitrogen-containing heterocycles, oxygen-containing heterocycles, aldehydes, ketones, alcohols, acids, esters, phenols and others. For both the vinegars before and after aging, 20 compounds were found in a major amount, such as acetic acid, tetramethyl pyrazine, furfural, furfuryl alcohol, 2, 3-butanedione, and so on. Meanwhile 16 compounds were found with high detection frequencies, such as 3-methylthio propanal, 2-ethyl-3, 5-dimethyl pyrazine, 2-furanacrolein, vanillin, acetic acid, 3-methyl butanoic acid, and so on. However, according to the total number of compounds, after aging, 14 compounds were newly detected, e. g. 3-methylthio-1-propanol, 2-acetylfurane, benzyl alcohol, and propanoic acid, whereas 19 compounds were disappeared, e. g. dimethyl disulfide, benzyl acetone, butanoic acid, 3-methylpentanoic acid, ethyl butyrate, 2-acetyl pyridine, and 5-hydroxymethyl furfural. According to amounts of the compounds, those of the 11 odoractive compounds (e. g. tetramethyl pyrazine, furfuryl alcohol, phenylethyl alcohol, propanoic acid, and phenethyl acetate) were markedly increased; whereas those of the 29 odor-active compounds (e. g. acetic acid, furfural, hexanoic acid, and benzophenone) were decreased. Overall, the aging processing resulted in decrease of compounds with off-flavors and simultaneously increase of compounds with pleasant flavors. The research results were expected to provide guidance for improving or up-grading the production technology of Shanxi aged vinegar.

Keywords: Shanxi aged vinegar; aging; volatile flavor compounds; GC-O; odor-active