

现代仪器分析技术在白酒风味组学研究中的应用

郭云霞^{1*}, 程 伟^{2,3*}, 陈兴杰³, 周 端², 李 娜³, 陈雪峰²

(1. 宜宾职业技术学院五粮液技术与食品工程学院, 宜宾 644000; 2. 陕西科技大学食品科学与工程学院, 西安 710021; 3. 安徽金种子酒业股份有限公司, 阜阳 236023)

摘 要: 中国白酒富含丰富的风味成分, 其中大部分风味成分的风味贡献和影响机制尚不明晰。随着现代仪器分析技术和风味组学技术在白酒风味化学研究中的快速发展, 风味组学作为主要研究策略在白酒风味解析中起到重要作用。建立白酒风味组学应用体系, 加强对中国白酒风味的科学认识, 有利于白酒风味成分挖掘及特征风味的解析。本文对近年来在白酒风味分析中应用的现代仪器分析技术进行了分类、总结和展望, 对风味组学技术在白酒风味分析中的研究策略和面临的挑战进行了探讨, 并对制约白酒仪器分析技术发展的问进行了分析, 以期白酒风味组学研究和白酒品质改善提供思路和参考。

关键词: 白酒; 仪器分析; 风味成分; 风味组学

Application of modern instrumental analysis technology in the study of Baijiu flavoromics

GUO Yun-Xia^{1*}, CHENG Wei^{2,3*}, CHEN Xing-Jie³, ZHOU Duan², LI Na³, CHEN Xue-Feng²

(1. School of Wuliangye Technology and Food Engineering, Yibin Vocational & Technical College, Yibin 644000, China;
2. School of Food Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China;
3. Jinzhongzi Distillery Co., Ltd., Fuyang 236023, China)

ABSTRACT: Chinese Baijiu is riched in different flavor components, the contribution and influence mechanism of most flavor components are still unclear. With the rapid development of modern instrumental analysis technology and flavoromics technology in the research of Baijiu flavor chemistry, flavoromics as the main research strategy plays an important role in the flavor analysis of Baijiu. Establishing an application system of flavoromics and strengthening the scientific understanding of flavor are conducive to the exploration of flavor components and the analysis of characteristic flavor in Baijiu. This paper classified, summarized and looked forward to the modern instrumental analysis techniques which applied in Baijiu flavor analysis in recent years. In addition discussed the research strategies, challenges and the problems, which restricting the development of instrumental analysis techniques in flavoromics research of Baijiu. This paper aims to provide ideas and references for the research of flavoromics and the improvement of Baijiu quality.

KEY WORDS: Baijiu; instrumental analysis; flavor components; flavoromics

基金项目: 宜宾职业技术学院科技科研平台项目(ybzy21kypt-02)、2021 年度安徽省“皖北产业创新团队”支持计划项目(FK2021-WB06)

Fund: Supported by the Science and Technology Research Platform Project of Yibin Vocational and Technical College (ybzy21kypt-02), and the “Industrial Innovation Team” Support Project of Northern Anhui Province in 2021 (FK2021-WB06)

*通信作者: 郭云霞, 硕士, 主要研究方向为食品资源研究与开发。E-mail: 327634107@qq.com

程 伟, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为发酵工程与酿酒生产技术。E-mail: 564853735@qq.com

*Corresponding author: GUO Yun-Xia, Master, Yibin Vocational & Technical College, Yibin 644000, China. E-mail: 327634107@qq.com
CHENG Wei, Ph.D, Senior Engineer, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China. E-mail: 564853735@qq.com

0 引 言

中国白酒主要以高粱等谷物为原料, 酒曲为糖化发酵剂, 经固态发酵、固态蒸馏和贮存勾兑, 最终获得以乙醇和水为主体并富含多种微量成分的酒精饮料^[1]。当前, 在白酒中已检测出 2400 多种风味成分, 包括酯类、醇类、酸类、醛酮类和其他类, 而大部分风味成分的风味贡献和影响机制尚不明确^[2-3], 白酒主体风味和关键物质是白酒特征风味研究的重要部分。白酒中的风味物质主要来自原料、酒曲及微生物发酵过程, 其中微生物发酵过程是白酒风味物质的主要来源^[4]。风味组学(flavoromics)是解析风味物质基础的组学技术, 其针对风味相关代谢物质进行综合分析, 并结合化学计量学将样品中的化学成分和感官相联系, 从而挖掘、鉴定或预测影响样品风味感知的关键风味成分。传统分析方法基本可以实现食品成分检测, 但是已不能完全满足现代食品工业的发展要求, 现代仪器分析技术已经逐渐成为食品分析中不可缺少的重要手段。现代仪器分析技术普遍具有取样量小、灵敏度高、重现性好、分析速度快、自动化和信息化程度高等特点, 能够实现对痕量、超痕量物质的测定, 以及从复杂混合物中分离和鉴定目标物。

近年来, 随着仪器分析技术和研究方法的发展, 风味

组学在白酒特征风味解析中发挥着重要作用, 已成为白酒风味化学研究的重要内容^[5-7]。白酒的香气、口感和风格等特征是白酒品质的重要组成部分, 建立白酒特征风味组学应用体系, 有利于白酒的风味成分挖掘及特征风味解析。本文对近年来在白酒风味分析中应用的现代仪器分析技术进行了分类、总结和展望, 并探讨了白酒风味组学的研究策略和挑战, 以期白酒风味组学研究提供思路和参考。

1 白酒风味组学的研究现状

白酒中的特征风味包括挥发性和非挥发性成分, 其中挥发性成分是白酒香气特征的物质基础, 非挥发性成分对整体香气特征具有重要影响, 并与挥发性成分相互作用从而影响白酒的香气、味道和口感等品质属性, 尤其是白酒储存过程中存在不同风味化合物之间的相互作用。由表 1 可知, 白酒风味研究主要包括特征风味成分的确定、风味成分的相互作用、拓展及酒体异嗅化合物研究等; 当前, 各白酒企业主要关注不同香型白酒关键香气成分的确定、特殊香气成分的风味贡献、生物活性物质的探寻、原产地和真实性鉴别等研究^[3,5-10]。白酒中不同物质的含量和理化属性差异较大, 当前还没有相对固定和优选的前处理方法同时分析所有物质, 尤其是白酒的风味分析需要结合不同的前处理方法、分析仪器和数据处理方法从而明确不同组分对白酒风味的贡献^[8-11]。如 WANG 等^[10]采用

表 1 白酒风味成分和风味组学的研究现状
Table 1 Research status on flavor components and flavomics of Baijiu

发表年份	研究对象	仪器分析技术	研究结果	参考文献
2020 年	酱香、浓香、芝麻香、清香 4 种香型白酒	DI/UPLC-MS/MS	在发酵和蒸馏过程中, 吡嗪类物质的浓度显著增加, 该研究为白酒中吡嗪类物质的含量测定提供了一种有效的方法	[8]
2020 年	酱香型白酒	GC-O; GC-MS	不同浓度的异丁酸乙酯和异戊酸乙酯可加强或协同混合样品的气味	[9]
2020 年	酱香型白酒	GC-MS; GC-O; GC×GC-TOF-MS	高浓度的 2-甲基-3-呋喃硫醇、2-甲基-3-糠基二硫、二甲基三硫等 9 类化合物是酱香型白酒产生盐菜味的主要香气成分	[10]
2020 年	清香、酱香、浓香 3 种香型白酒	HS-SPME/GC×GC-TOF-MS	优化的 HS-SPME/GC×GC-TOF-MS 方法适用于白酒中不同类型微量化合物的同时测定	[11]
2021 年	麸曲清香型白酒	GC-MS/GC-O	鉴定出 55 个香气活性化合物, 其中乳酸乙酯等 9 个化合物被鉴定为麸曲清香型白酒的质量标志物	[12]
2021 年	馥郁香、清香、浓香 3 种香型白酒	GC- ¹ H NMR	NMR 和 GC 结合多元统计分析是验证白酒年份真实性的有效工具	[13]
2021 年	兼香型白酒	GC-O-MS; OAV	酯、醇、酸, 特别是己酸乙酯, γ -非内酯和三硫二甲基对兼香型白酒的风味具有重要影响	[14]
2022 年	酱香型白酒	GC-IMS	GC-IMS 能够快速准确地分离白酒挥发性组分, 对完善酱香型白酒香气指纹图谱和数据库具有积极意义	[15]

注: 直接进样法(direct sampling, DI); 超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS); 气相色谱-闻香法(gas chromatography-olfactometry, GC-O); 气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS); 全二维气相色谱-飞行时间质谱法(comprehensive two-dimensional gas chromatography and time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-TOF-MS); 顶空固相微萃取法(head space solid-phase micro extraction, HS-SPME); 气相色谱-核磁共振氢谱法(gas chromatography olfactometry-¹H nuclear magnetic resonance, GC-¹H NMR); 气相色谱-闻香-质谱法(mass spectrometry-olfactometry-mass spectrometry, GC-O-MS); 气味活度值(odor activity value, OAV); 气相色谱-离子迁移谱法(gas chromatography ion migration mass spectrometry, GC-IMS)。

GC-MS, GC-O 和 GC×GC-TOF-MS 3 种技术相结合, 通过比较香气萃取物稀释法、定量测定法、香气添加法和不添加法研究酱香型白酒中引起酱菜样异味的强香味物质的特征, 结果表明高浓度的 2-甲基-3-呋喃硫醇、2-甲基-3-糠基二硫和二甲基三硫等 9 类化合物是酱香型白酒中产生盐菜味的主要香气成分。

2 白酒风味组学研究中应用的现代仪器分析技术

白酒风味物质的仪器检测技术主要包括色谱法、质谱及其联用法、核磁共振法和光谱法; 此外, 还包括基于电子鼻、电子舌等传感器的分析技术。由于白酒中含有较多微量或痕量的风味成分, 单一的检测方法难以实现对白酒风味成分的全面检测; 因此, 白酒风味组学研究中多采用几种检测技术联用使用。其中, 色谱、质谱及其联用技术

在白酒风味成分的分离、定性和定量分析中克服了传统色谱、质谱检测器定性数据的缺点, 具有实验操作简化, 分析时间缩短等特点。

2.1 色谱及其联用技术

色谱技术基于不同物质在固定相和流动相中具有不同的分配系数而使各物质达到分离。随着新型高效固定相在色谱分离中的研究深入^[16], 促进了现代色谱技术在白酒风味组学研究中应用, 主要有离子色谱法(ion chromatography, IC)、液相色谱法(liquid chromatography, LC)和气相色谱法(gas chromatography, GC)及其联用技术(表 2); 还包括由 LC 技术发展而来的新型高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC), 如二维及多维 HPLC、毛细管和纳升 HPLC、超高效液相色谱法(ultra performance liquid chromatography, UPLC)等。

表 2 白酒风味物质分离的色谱技术原理及其优缺点比较
Table 2 Comparison of principles, advantages and disadvantages of chromatographic techniques for the separation of flavoring substances in Baijiu

方法/类别	特点/原理	特点/优势	缺点/不足	适用范围	白酒分析中的应用	参考文献
IC	利用被测物质的离子性进行分离和检测	灵敏度高、选择性好, 直接进样, 同时分析多种离子化合物, 搭配选择性较广的检测系统; 样品处理简单、无需衍生、无其他有机物干扰	部分分析柱填料不能耐受较高浓度的乙醇	无机离子、有机酸、甜味剂、防腐剂、食用色素、糖类、生物胺等	挥发性有机酸和非挥发有机酸的同时检测, 离子态化合物的检测, 包括中、短碳链的挥发性酸、乳酸及二元羧酸在内的难挥发酸	[10,15,17]
LC	利用待分离物质在固定相和流动相之间的分配平衡来实现目标物质的分离	快速方便、灵敏度高、选择性好、直接进样、同时分析多种离子化合物、搭配选择性较广的检测系统	不能分析大多数金属盐类和热稳定性差的物质, 色谱图无法定性未知物	无机离子、有机酸、甜味剂、防腐剂、食用色素、糖类、生物胺等	非挥发成分分析, 离子态化合物的检测	[17]
LC×LC	有效串联不同分离机制且互相独立的 2 根液相色谱柱而建立的分系统	分辨率提高、峰容量提高、分辨率提升	不能分析大多数金属盐类和热稳定性差的物质	天然产物的分离测定	非挥发成分分析	[17]
HPLC	液体作为流动相; 粒径更细的固定相填充色谱柱, 提高色谱柱的塔板数并以高压驱动流动相	高压、高效、高灵敏度、简便快速、选择性好、准确度高、样品适应范围广; 不需要对样品进行预分离、衍生化等	易产生“柱外效应”, 对易挥发物质检测较差	大部分有机化合物, 包括高沸点、大分子、强极性、热稳定性差的化合物	非挥发成分分析, 如有机酸、糖组分、氨基酸、维生素、真菌毒素、生物胺、外源甜味剂等	[17–18]
UPLC	液体作为流动相, 采用小粒度色谱柱	色谱柱填料颗粒小、溶剂用量少, 通量、色谱峰容量、灵敏度、速度均提升	分析柱填料制备难度较大, 设备较昂贵	天然产物的定性定量分析	非挥发成分分析, 如有机酸等	[8,19]
GC	利用物质的沸点、极性及吸附性的差异分离混合物	分析速度快、灵敏度高、分离效率高、应用范围广	仅能分析在操作温度下能汽化而不分解的物质	气体物质或可以在一定温度下转化为气体的物质	挥发性风味物质, 结合衍生化法可检测白酒中的非挥发有机酸	[17,20]
GC×GC	分离机制不同而又互相独立的 2 根气相色谱柱串联, 配有调制器	具有正交分离效果, 扩展了色谱分离能力, 物质鉴定数量提升, 实现不同极性化合物的分离和分类	设备较昂贵, 色谱柱的选型和搭配需要优选	气体或可以在一定温度下转化为气体的物质	挥发性风味物质的分析	[11–13,16]

与 GC 联用的广谱性检测仪器包括氢火焰离子检测器(flame ionization detector, FID)、质谱仪(mass spectrometer, MS)、飞行时间质谱仪(time of flight-mass spectrometer, TOF-MS)以及电子捕获检测器(electron capture detector, ECD)等; 与 GC 联用的针对性检测仪器有氮磷检测器(nitrogen phosphorus detector, NPD)、脉冲式火焰光度检测器(pulsed flame photometric detector, PFPD)、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)和红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FFIR); 此外, 还包括 GC-O、GC-¹H NMR 等技术。

2.2 质谱及其联用技术

MS 可进行多种有机物和无机物的定性定量分析, MS 可作为 GC 的检测器为 GC 提供丰富可靠的定性参数, 其灵敏度远高于 GC 的氢离子火焰检测器、热导检测器等; 同时, MS 也可充当 LC 的检测器, 以提高 LC 的定性能力和检测灵敏度。当前, GC-MS 和 LC-MS 等已广泛应用于白酒风味研究^[21-22], 针对白酒中的酸类、酯类、醛酮类等挥发性物质, 通常采用 GC-MS 进行检测; 对于大分子有机酸、氨基酸、糖醇、糖苷类挥发性较低的化合物, 通常采用 LC-MS 进行检测, LC-MS 分离过程处于低温环境, 适用于

检测热敏性化合物^[23]; 对于含量较低的非挥发性物质, 通常采用衍生化-气相色谱法进行分析, 常用的衍生剂可分为烷基化试剂、酰基化试剂、硅烷化试剂和其他衍生试剂。此外, 质谱及其联用技术还包括高分辨质谱(high resolution mass spectrometry, HR-MS)、GC-IMS、GC-TOF-MS、GC×GC-TOF-MS 和其他质谱及其联用技术(表 3)。其中, GC×GC-TOF-MS 采用两根色谱柱串联, 能够有效弥补 GC 分离效果差、峰容量不足和共流干扰问题, 实现了不同极性化合物的分离和分类, 增强了色谱峰解析的准确度, 提升了色谱峰容量和分辨率; 同时, GC×GC-TOF-MS 结合 SPME 的香气分离技术具有快速、敏感和生态等特点^[24]。

质谱及其联用技术涉及到白酒的酿酒工艺、香型判定、年份分析等领域^[9,11,23], 促进了白酒风味化学的理论深入和完善。ZHU 等^[25]利用 GC×GC 从茅台酒中共检测出有机酸、醇、酯、酮、醛、缩醛、内酯、含氮和含硫化合物等 528 个组分。YAO 等^[26]通过 LLE 和 SPME 分别对泸州老窖白酒进行预处理, 再采用 GC×GC-TOF-MS 在 18 种浓香型白酒中检测到了 1300 多种化合物。SONG 等^[27]综述了香气活性化合物的定性/定量分析方法和取样方法, 并介绍了 GC-O-MS 在食品风味研究中的应用。

表 3 常用于白酒风味物质鉴定的质谱及其联用技术原理及优缺点比较
Table 3 Comparison of principles, advantages and disadvantages of mass spectrometry and its coalesced techniques for identification of flavor components in Baijiu

方法/类别	特点/原理	特点/优势	缺点/不足	适用范围	白酒分析中的应用	参考文献
GC-MS	结合气相色谱和质谱的特性, 鉴别不同物质	操作简单、灵敏度高、产生丰富的碎片离子、具备标准质谱图数据库	样品衍生定量偏差, 温度等因素影响柱效	食品、环保、农药残留、添加剂等领域	酸类、酯类、醛酮类等挥发性物质	[16,21]
HR-MS	采用高分辨率质量分析器的 GC-MS, 包括四极杆质量过滤器, 线性离子阱和 Orbitrap 质量分析器	高灵敏度、高通量, 可靶向定量和定性分析, 包括相对分子量测定、化学式的确定及结构鉴定	需要配置合适的离子源, 样品纯度需达到要求, 不能满足无机物的检测要求	食品、生物、环境等样品中活性成分的鉴定、农药残留和毒物的筛查	极性和非极性化合物的分析, 未知物的定性	
GC-IMS	结合气相色谱的高分离度与离子迁移谱高灵敏度进行检测分析	可对样品中所有挥发性有机物进行非靶向分析; 简单、快速、准确、无损的检测	谱库数据量有限	汽车舱内和建筑室内 VOCs 在线检测、家用电器异味现场检测等	总酸、总酯、可溶性固形物质量浓度及 pH, 酯类、醛类、酮类、醇类	[15]
GC-TOF-MS	结合气相色谱和飞行时间质谱进行测定分析	检测速度提升, 灵敏度高, 能同时鉴定上千种物质	设备较昂贵, 谱库数据量有限	农药残留、食品、环境、质检、科研等领域	挥发性物质	[24]
GC×GC-TOF-MS	通过两根色谱柱串联的分离方式, 联合飞行时间质谱进行测定分析	峰容量、色谱分辨率和灵敏度提升, 定性和定量能力提升, 可同时鉴定上万种物质	设备较昂贵, 色谱柱的选型和搭配需要优选, 谱库数据量有限	农药残留、食品、环境、质检和等领域, 复杂样本分析	挥发性物质	[16,24]
LC-MS	结合液相色谱和质谱的特性, 鉴别不同物质	分离过程处于低温环境, 适用于热敏性化合物的检测分析 ^[23]	谱库数据量有限, 不能分析大多数金属盐类和热稳定性差的物质	无机离子、有机酸、甜味剂、防腐剂、食用色素、糖类、生物胺等的检测	大分子有机酸、氨基酸、糖醇、糖苷类挥发性较低的化合物	[22-23]

2.3 核磁共振技术

NMR 是磁场中磁性原子核因响应合适频率的电磁信号而产生的共振现象^[28], 包括核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)、核磁共振碳谱($^{13}\text{C-NMR}$)、核磁共振氮谱($^{15}\text{N-NMR}$)和核磁共振磷谱($^{31}\text{P-NMR}$)等; 其中, $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 在白酒风味组学研究中均有所应用。NMR 在白酒的酒精度判定、年份辨别、有机酸和醛类等微量组分的检测中有所应用^[13,29]; 同时, NMR 能快速准确无损地地对大多数代谢化合物进行高通量分析并提供完整图谱。有研究采用 GC、 $^1\text{H-NMR}$ 并结合数据多元统计分析有效识别了不同品牌和类型白酒的贮藏年份^[29]。

2.4 闻香仪、电子鼻和电子舌技术

白酒的感官评定通常受品评环境、品酒师的品评能力及经验等因素的影响, 闻香仪、电子舌和电子鼻技术对白酒的品质评价更为客观, 具有数据化等特点。当前, 闻香仪、电子舌和电子鼻技术已应用于检测白酒的真伪、风味、产地、香型和酒龄等方面^[30-32]。闻香技术与 GC 联用可以实现对挥发性香气组分的识别, 绘制的香气谱图再比对气相色谱结合火焰光度检测器(gas chromatography-flame photometric detector, GC-FID)或 GC-MS 谱图以鉴定特征香气化合物^[14,32]。电子鼻实现了由仪器“嗅觉”进行香气分析的转变^[31], 电子鼻和 GC-MS 联用可以得到白酒香气成分的检测结果和指纹图谱, 有利于实现感官评价的科学化和定量化。电子舌应用味觉传感器阵列和模式识别的数字信号处理方法, 实现仪器“味觉”对白酒滋味的客观分析^[30]。当前, 传感器的灵敏度、选择性、稳定性以及数据分析方法、检测数据库等是闻香仪、电子舌和电子鼻技术需要完善的重要内容。

2.5 光谱分析技术

白酒风味组学研究中应用的光谱技术主要包括: 紫外光谱、拉曼光谱和红外光谱等, 光谱技术在白酒的分类、溯源和品质分析中具有重要的应用价值。紫外光谱法在有机化合物的定性、定量分析中具有一定的优势。赵宇^[33]的研究表明采用紫外分光光度法测定不同白酒中糠醛含量的精密度及准确度较高。荧光光谱法多应用于白酒的定性检测, 如品牌鉴定、香型分类和产地分析等。敖锐等^[34]的研究表明三维荧光光谱技术可以准确区分酱香型白酒的基酒轮次及成品酒。BURNS 等^[35]介绍了基于荧光光谱区分不同白酒的方法, 该方法具有低成本和方便等特点。TIAN 等^[36]选择灵敏度较高的拉曼光谱结合样品的衍生化操作实现了葡萄酒、清酒和高酒精饮料中甲醇的检测。

3 白酒风味组学的研究方法

随着现代仪器分析技术的进步和检测方法的改进, 逐步建立了现代仪器分析技术与感官分析相结合的现代风

味化学研究思想, 形成了基于风味导向技术的白酒风味研究体系。当前, 白酒风味组学分析流程主要包括: 样品的制备和前处理, 风味物质的分离和鉴定、风味组学的数据处理和统计分析等^[37-39]; 其中, 风味物质的分离主要基于表 2 所述的色谱及其联用技术, 风味物质的鉴定主要基于表 3 所述的质谱及其联用技术, 还包括 NMR、闻香仪、电子鼻、电子舌和光谱等仪器分析技术。

3.1 样品的制备和前处理

白酒风味组学的关键在于高选择性、高通量和高灵敏度分析仪器和方法的应用^[40], 其中的样品前处理方法具有重要影响。白酒中的风味物质含量低、种类多, 且极性、挥发性、溶解性等不尽相同; 因此, 直接对白酒样品进行风味分析的效果较差, 需要对白酒样品进行前处理以初步分离和富集待测成分, 再结合现代仪器分析技术进行进一步的分离和鉴定, 以提高分析检测的准确性。当前, 多种样品前处理方法被广泛用于白酒风味研究^[41-43], 但依然存在价格昂贵、操作复杂、分析成分单一等问题; 因此, 样品前处理方法的开拓和改进仍然有较大的发展空间。

如表 4 所示, 每种前处理方法均有各自特点, 将不同前处理方法进行有机结合可以有效改善分离提取效果。其中 LLE 技术由于其具有浓缩倍数高、使用范围广、回收率高等优点, 当前仍被广泛应用于风味物质的提取领域, 但是不能忽视该技术使用萃取剂对人体和环境有危害等缺点^[26,45,48]。当前, SPE 仍然较适用于某些特殊香气物质的提取; 与 SPME 相比, 液体提取物的收集是 SPE 的显著优势, 其相对较低的成本和溶剂使用量使其成为 SAFE 分析低脂食品的理想替代品。值得注意的是, 每一种香气提取和富集技术都不能对白酒中所有的风味物质进行有效提取和富集; 因此, 通常需要综合多种提取方法才能更加全面地解析白酒的香气^[49]。

3.2 白酒风味组学的数据处理和统计分析

数据处理和统计分析是仪器分析之后非常重要的部分, 其中的质谱解析、新物质的发现以及数据库的构建和完善是风味组分鉴定的前提和基础等。基于现代仪器分析技术在定性分析的基础上可实现白酒微量成分的定量分析, 其方法包括半定量法、面积归一化法、外标法、内标法、稳定同位素稀释法等^[50]。统计分析方法中的多元数据分析有利于发掘数据间的内在关联, 利用多元数据图还可以实现分类的可视化表示。当前, 多元数据分析已应用于白酒风味成分及其差异和代谢途径研究, 采用的方法有主成分分析法(principal component analysis, PCA)、聚类分析法(cluster analysis, CA)、偏最小二乘判别分析法(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析法(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。

表 4 白酒风味成分研究中常用前处理方法的原理及优缺点比较

Table 4 Comparison of principles, advantages and disadvantages of common pretreatment methods in the study of flavor components in Baijiu

方法/类别	特点/原理	特点/优势	缺点/不足	白酒分析中的应用	参考文献
DI	仅需要简单处理或不处理直接进样的方式	无溶剂影响、操作简单、方便、快速、真实性高	检测成分少, 对痕量化合物很难检出	检测含量较高的微量成分, 如己酸乙酯等	[8,44]
LLE	利用待测物在基质中与有机溶剂的溶解性差异, 提取出待测物并进行蒸发浓缩	浓缩倍数高、使用范围广、回收率高; 可检测大多数风味物质	样品及萃取剂用量大、耗时长; 不适用于检测低沸点化合物; 萃取剂对人体和环境有危害	挥发性化合物的检测	[26,45]
SPE	利用相似相溶原理, 在基质中加盐、升温等方式使微量成分挥发被萃取头上的涂层吸附	富集效率高、操作简单、无污染、选择性好; 有利于分析含氮化合物的提取	对脂肪酸等强极性化合物的检测效果不佳, 涂层较少, 富集能力有限	挥发性化合物, 萃取特定化合物, 如萜烯类、吡嗪类等	[26,41,45-46]
SPME	与 SPE 的原理相同	富集效率高、操作简单、无污染、选择性好, 对醇类、硫化物等易挥发性化合物, 尤其是萜类化合物的提取效果较好	对脂肪酸等强极性化合物的检测效果不佳, 涂层较少, 富集能力有限	挥发性化合物, 萃取特定化合物, 如萜烯类、吡嗪类、酯类、含硫化合物等	[15,16,41,46]
SAFE	利用溶剂在低温和高真空条件下的迅速汽化, 萃取出样品中的风味物质	高沸点的挥发性成分, 能实现高回收率, 保证挥发性成分的稳定性	操作复杂、不易清洗、耗时长	对醇类、脂肪酸类有较好的吸附效果, 可定性定量痕量成分	[47]
SDE	利用样品蒸汽和溶剂蒸汽在密闭装置中充分混合, 在低于各组分离沸点时蒸馏出各组分	溶剂用量小、提取效率高、对色谱柱污染小	加热温度较高, 影响风味成分结构	多用于难挥发性化合物检测, 也可用于样品分离	[42]
HVT	通过玻璃管连接的两个容器之间的极端温差, 在真空系统中“转移”挥发物	实现不同组分的隔离或提取	溶剂消耗大、耗时长、提取装置易破碎; 易形成气泡、挥发物凝结	挥发性化合物, 风味成分的溶剂提取或蒸馏	[47]
SCCD	通过真空度降低物料沸点, 进而分离不同沸点的物质, 双锥体结构则是收集物料挥发性成分的有效方式	蒸馏时间短, 温度可以调节, 提取物损失少, 回收率高, 保持热敏性成分的原有风味	存在萃取剂的污染问题	汽提和保存果味香味的物质, 以及萃取可溶性物质	
SBSE	利用吸附涂层富集微量成分, 边搅拌边吸附	吸附容量大、灵敏度高、选择性高、回收率高、重现性好	涂层种类少、费用较高、产生一定的歧化效应	挥发性微量或痕量化合物	[46]
SFE	随着压力、温度、极性溶剂添加量等参数的变化, 超临界流体的萃取能力也会改变, 从而提取出不同物质	保持萃取物的有效成分, 利于高沸点、低挥发性、易热解物质的萃取; 无有机溶剂溶剂残留; 萃取的速度快	从萃取物中分离回收夹带剂的难度较大, 萃取物中可能残留夹带剂	对酸、醇、酯、醛、酚类、杂环类物质有较好的提取分离效果	

注: 液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE); 固相萃取(solid-phase extraction, SPE); 溶剂辅助风味蒸馏萃取(solvent assisted flavor extraction, SAFE); 同时蒸馏萃取(simultaneous distillation extraction, SDE); 高真空转移(high-vacuum transfer, HVT); 旋转锥柱体蒸馏(spinning cone column distillation, SCCD); 固相搅拌棒吸附萃取(stir bar sorptive extraction, SBSE); 超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)。

PCA 通过降维把繁多的组分分析数据转化为少数几个综合指标, 再根据综合指标的相关性和变异程度确定权重, 进而确定关键成分^[51]。PCA 可应用于鉴别白酒的香型、产地、酿造工艺差异等。CA 通过多因素分析对研究对象或指标进行分类, 将样品按品质特性的相似度逐渐聚合, 并根据类别综合性质多个品种聚合, 完成聚类分析^[52]。CA

根据风味成分的归类聚合, 主要应用于鉴别白酒的香型和产地。PLS-DA 可通过已知的样品分组信息对多变量数据进行归类、识别和预测, 适用于样品观测数量少、解释变量多及存在多重共线性的情况^[53]。OPLS 可以去除自变量中与分类变量无关的数据变异, 其判别效果及主成分得分图的可视化效果更加明显^[54], 其中 OPLS-DA 适用于判断多组风味数据之间的分组及其差异^[9,55]。

4 总结与展望

白酒风味成分受到酿酒工艺、环境及时间等因素的影响而呈现稳定性较差的特点^[56-57]。结合现代仪器分析技术, 将风味组学、感官组学、代谢组学等多组学技术应用于白酒特征风味成分研究, 是白酒风味化学发展的重要方向。同时, 结合传统感官评价体系, 利用现代电子仪器对感官指标进行定性和定量, 逐步建立并完善白酒感官评价的标准化、科学化是白酒品质评价的必然趋势。当前, 白酒风味组学研究面临的挑战主要有: (1)白酒的品质提升及其安全控制是白酒风味组学研究的重点和难点^[58], 特别是微量成分对白酒风味和功能品质的影响; 同时, 白酒风味组学还需要结合各类人群的口感香气偏好研究特征香气, 尤其是去除有害和异嗅的成分^[59]; (2)样品预处理与检测仪器的完美结合是白酒风味检测技术发展的重要方向, 尤其是新型预处理材料的开发与应用; 同时, 未来的仪器分析技术必须满足日益增长的现实需要, 如准确性、精密度、灵敏度、节省时间和便携性等; (3)通过白酒风味组学、感官感知和数据科学的深度融合, 有利于科学认知白酒的风味品质特征和实现白酒风味品质的直接调控。

参考文献

- [1] XU YQ, SUN BG, FAN G, *et al.* The brewing process and microbial diversity of strong flavour Chinese spirits: A review [J]. J Instit Brew, 2017, 123: 5–12.
- [2] JIN GY, ZHU Y, XU Y. Mystery behind Chinese liquor fermentation [J]. Trends Food Sci Technol, 2017, 63: 18–28.
- [3] HONG JX, TIAN WJ, ZHAO DR. Research progress of trace components in sesame-aroma type of Baijiu [J]. Food Res Int, 2020, 137: 109695.
- [4] HU XL, TIAN RJ, WANG KL, *et al.* The prokaryotic community, physicochemical properties and flavours dynamics and their correlations in fermented grains for Chinese strong-flavour Baijiu production [J]. Food Res Int, 2021, 148: 1–9.
- [5] WANG GN, SONG XB, ZHU L, *et al.* A flavoromics strategy for the differentiation of different types of Baijiu according to the non-volatile organic acids [J]. Food Chem, 2022, 374: 131641.
- [6] SUN JY, LI QY, LUO SQ, *et al.* Characterization of key aroma compounds in Meilanchun sesame flavor style Baijiu by application of aroma extract dilution analysis, quantitative measurements, aroma recombination, and omission/addition experiments [J]. Res Adv, 2018, 8(42): 23757–23767.
- [7] WANG Z, WANG Y, ZHU T, *et al.* Characterization of the key odorants and their content variation in Niulanshan Baijiu with different storage years using flavor sensory omics analysis [J]. Food Chem, 2022, 376: 131851.
- [8] YAN Y, CHEN S, HE Y, *et al.* Quantitation of pyrazines in Baijiu and during production process by a rapid and sensitive direct injection UPLC-MS/MS approach [J]. LWT-Food Sci Technol, 2020, 128: 109371.
- [9] NIU YW, ZHU Q, XIAO ZB. Characterization of perceptual interactions among ester aroma compounds found in Chinese Moutai Baijiu by gas chromatography-olfactometry, odor Intensity, olfactory threshold and odor activity value [J]. Food Res Int, 2020, 131: 108986.
- [10] WANG LL, FAN SS, YAN Y, *et al.* Characterization of potent odorants causing a pickle-like off-odor in Moutai-aroma type Baijiu by comparative aroma extract dilution analysis, quantitative measurements, aroma addition, and omission studies [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(6): 1666–1677.
- [11] MU XQ, LU J, GAO MX, *et al.* Optimization and validation of a headspace solid-phase microextraction with comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection for quantification of trace aroma compounds in Chinese liquor (Baijiu) [J]. Molecules, 2021, 26(22): 6910.
- [12] WANG J, MING YZ, LI YM, *et al.* Characterization and comparative study of the key odorants in Caoyuanwang mild-flavor style Baijiu using gas chromatography-olfactometry and sensory approaches [J]. Food Chem, 2021, 347: 129028.
- [13] LI Y, FAN S, LI A, *et al.* Vintage analysis of Chinese Baijiu by GC and ¹H NMR combined with multivariable analysis [J]. Food Chem, 2021, 360: 129937.
- [14] DU J, LI Y, XU J, *et al.* Characterization of key odorants in Langyatai Baijiu with Jian flavour by sensory-directed analysis [J]. Food Chem, 2021, 352: 129363.
- [15] CAI W, WANG Y, WANG W, *et al.* Insights into the aroma profile of sauce-flavor Baijiu by GC-IMS combined with multivariate statistical analysis [J]. J Anal Methods Chem, 2022, 4614330: 14.
- [16] WU Y, ZHANG N, LUO K, *et al.* Recent advances of innovative and high-efficiency stationary phases for chromatographic separations [J]. TrAC Trends Anal Chem, 2022, 153: 116647.
- [17] 熊燕飞, 马卓, 彭远松, 等. 中国白酒风味成分的色谱分析方法研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(11): 1–5.
XIONG YF, MA Z, PENG YS, *et al.* Research progress on chromatographic analysis of Baijiu flavor components [J]. China Brew, 2019, 38(11): 1–5.
- [18] WANG GG, LI X, SONG XB, *et al.* Optimization and validation of a method for analysis of non-volatile organic acids in Baijiu by derivatization and its application in three flavor-types of Baijiu [J]. Food Anal Methods, 2022, 15: 1606–1618.
- [19] 白丽真, 刘洪银, 刘伟, 等. 超高效液相色谱法检测白酒中乳酸含量的方法及方法确认[J]. 酿酒科技, 2020, 307(1): 75–77.
BAI LZ, LIU HY, LIU W, *et al.* Determination of lactic acid content in Baijiu by UPLC [J]. Liquor-making Sci Technol, 2020, 307(1): 75–77.
- [20] LI YC, FAN SX, LI AJ, *et al.* Vintage analysis of Chinese baijiu by GC and ¹H NMR combined with multivariable analysis [J]. Food Chem, 2021, 360: 129937.
- [21] SUN JY, ZHAO DR, ZHANG FG, *et al.* Joint direct injection and GC-MS

- chemometric approach for chemical profile and sulfur compounds of sesame-flavor Chinese Baijiu (Chinese liquor) [J]. *Eur Food Res Technol*, 2018, 244(1): 145–160.
- [22] JIA W, LI YL, DU A, *et al.* Foodomics analysis of natural aging and gamma irradiation maturation in Chinese distilled Baijiu by UPLC-Orbitrap-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2020, 315: 126308.
- [23] FAN WL, XU Y, QIAN M. *Sex, smoke, and spirits: The role of chemistry* [M]. New York: American Chemical Society, 2019.
- [24] YU YM, CHEN S, YAO N, *et al.* Optimization of an intra-oral solid-phase microextraction (SPME) combined with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOFMS) method for oral aroma compounds monitoring of Baijiu [J]. *Food Chem*, 2022, 385: 132502.
- [25] ZHU SK, LU X, JI KL, *et al.* Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 597(2): 340–348.
- [26] YAO F, YI B, SHEN CH, *et al.* Chemical analysis of the Chinese liquor Luzhoulaojiao by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Sci Reports*, 2015, 5: 9553.
- [27] SONG HL, LIU JB. GC-O-MS technique and its applications in food flavor analysis [J]. *Food Res Int*, 2018, 114: 187–198.
- [28] FOTAKIS C, ZERVOU M. NMR metabolic fingerprinting and chemometrics driven authentication of greek grape marc spirits [J]. *Food Chem*, 2016, 196: 760–768.
- [29] LI Y, FAN S, LI A, *et al.* Vintage analysis of Chinese Baijiu by GC and ¹H NMR combined with multivariable analysis [J]. *Food Chem*, 2021, 360: 129937.
- [30] HUANG Y, LUO M, WANG W, *et al.* Study on grading of Xiaoqu Baijiu based on in-situ untargeted detection of electrochemical measurements [J]. *Int J Food Propert*, 2022, 25(1): 885–893.
- [31] WU X, ZHU J, WU B, *et al.* Discrimination of Chinese liquors based on electronic nose and fuzzy discriminant principal component analysis [J]. *Foods*, 2019, 8(1): 38.
- [32] ZHAO DR, SHI DM, SUN JY, *et al.* Characterization of key aroma compounds in Gujingong Chinese Baijiu by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, and sensory evaluation [J]. *Food Res Int*, 2018, 105: 616–627.
- [33] 赵宇. 紫外分光光度法测定十种白酒中的糠醛[J]. *中国林副特产*, 2019, (6): 29–31.
- ZHAO Y. Determination of furfural in 10 kinds of liquor by ultraviolet spectrophotometry [J]. *Forest Prod Spec China*, 2019, (6): 29–31.
- [34] 敖锐, 王迁, 吴天祥, 等. 两种酱香型白酒轮次基酒及成品酒的三维荧光光谱研究[J]. *中国酿造*, 2017, 36(4): 137–141.
- AO R, WANG Q, WU TX, *et al.* Three-dimensional fluorescence spectrum of two kinds of Moutai-flavor basic batch distillates and Baijiu [J]. *China Brew*, 2017, 36(4): 137–141.
- [35] BURNS RL, ALEXANDER R, SNAYCHUK L, *et al.* A fast, straightforward and inexpensive method for the authentication of Baijiu spirit samples by fluorescence spectroscopy [J]. *Beverages*, 2021, 7(3): 65.
- [36] TIAN Y, NIE X, WANG X, *et al.* Study of green surface-enhanced Raman spectroscopy determination of methanol in alcoholic beverages [J]. *Surf Innov*, 2022, 40: 1–9.
- [37] WANG Z, WANG Y, ZHU T, *et al.* Characterization of the key odorants and their content variation in Niulanshan Baijiu with different storage years using flavor sensory omics analysis [J]. *Food Chem*, 2022, 376: 131851.
- [38] WANG J, CHEN H, WU Y, *et al.* Uncover the flavor code of strong-aroma baijiu: Research progress on the revelation of aroma compounds in strong-aroma Baijiu by means of modern separation technology and molecular sensory evaluation [J]. *J Food Compos Anal*, 2022, 109: 104499.
- [39] XU Y, ZHAO J, LIU X, *et al.* Flavor mystery of Chinese traditional fermented baijiu: The great contribution of ester compounds [J]. *Food Chem*, 2022, 369: 130920.
- [40] WANG GN, SONG XB, ZHU L, *et al.* A flavoromics strategy for the differentiation of different types of Baijiu according to the non-volatile organic acids [J]. *Food Chem*, 2022, 374: 131641.
- [41] JIA W, FAN ZB, DU A, *et al.* Recent advances in Baijiu analysis by chromatography-based technology-a review [J]. *Food Chem*, 2020, 324: 126899.
- [42] MA LH, GAO WJ, CHEN F, *et al.* HS-SPME and SDE combined with GC-MS and GC-O for characterization of flavor compounds in Zhizhonghe Wujiapi medicinal liquor [J]. *Food Res Int*, 2020, 137: 109590.
- [43] DING XF, WU CD, HUANG J, *et al.* Characterization of inter phase volatile compounds in Chinese Luzhou flavor liquor fermentation cellar analyzed by head space solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry (HS-SPME/GC/MS) [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2016, 66: 124–133.
- [44] WU JH, ZHENG Y, SUN BG, *et al.* The occurrence of propyl lactate in Chinese Baijius (Chinese liquors) detected by direct injection coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2015, 20(10): 19002–19013.
- [45] ZHENG J, ZHANG LH, YANG KZ, *et al.* Volatile analysis of Wuliangye Baijiu by LiChrolut EN SPE fractionation coupled with comprehensive GC×GC-TOFMS [J]. *Molecules*, 2022, 27: 1318.
- [46] WANG LL, GAO MX, LIU ZP, *et al.* Three extraction methods in combination with GC×GC-TOFMS for the detailed investigation of volatiles in Chinese herbaceous aroma-type Baijiu [J]. *Molecules*, 2020, 25(19): 4429.
- [47] ENGEL W, BAHR W, SCHIEBERLE P. Solvent assisted flavour evaporation-a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices [J]. *Eur Food Res Technol*, 1999, 209(3): 237–241.
- [48] ZHOU R, CHEN X, XIA Y, *et al.* Research on the application of liquid-liquid extraction-gas chromatography-mass spectrometry (LLE-GC-MS) and headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) in distinguishing the Baiyunbian aged liquors [J]. *Int J Food Eng*, 2021, 17(2): 83–96.
- [49] ZHAI X, ZHANG L, GRANVOGL M, *et al.* Flavor of tea (*Camellia sinensis*): A review on odorants and analytical techniques [J]. *Comprehen Rev Food Sci Food Saf*, 2022. DOI: 10.1111/1541-4337.12999
- [50] CHEN H, WU YS, WANG JS, *et al.* Uncover the flavor code of roasted sesame for sesame flavor Baijiu: Advance on the revelation of aroma compounds in sesame flavor Baijiu by means of modern separation

- technology and molecular sensory evaluation [J]. *Foods*, 2021, 11(7): 998.
- [51] MEIRA CLC, NOVAES CG, NOVAIS FC, *et al.* Application of principal component analysis for the evaluation of the chemical constituents of *Mimosa tenuiflora* methanolic extract by DLLME/GC-MS [J]. *Microchem J*, 2020, 152: 104284.
- [52] 公丽艳, 孟宪军, 刘乃侨, 等. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(13): 276–285.
- GONG LY, MENG XJ, LIU NQ, *et al.* Evaluation of apple quality based on principal component and hierarchical cluster analysis [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2014, 30(13): 276–285.
- [53] YOSHITOMI T, WAKANA D, UCHIYAMA N, *et al.* ^1H NMR-based metabolomic analysis coupled with reversed-phase solid-phase extraction for sample preparation of *Saposhnikovia* roots and related crude drugs [J]. *J Nat Med*, 2020, 74(1): 65–75.
- [54] 李永迪, 张贻杨, 彭忠, 等. 基于正交偏最小二乘判别分析法分析茯砖茶和千两茶差异性品质成分[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(11): 4382–4387.
- LI YD, ZHANG YY, PENG Z, *et al.* The difference of quality components of Fuzhuan tea and Qian-liang tea based on the orthogonal partial least squares discriminant analysis model [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(11): 4382–4387.
- [55] 孙晓丽. 基于 ^1H NMR 代谢组学的双相抑郁患者代谢生物标志物研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2018.
- SUN XL. Study on metabolic biomarkers in bipolar depression patients based on ^1H NMR metabolomics [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2018.
- [56] JIN GY, ZHU Y, XU Y. Mystery behind Chinese liquor fermentation [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2017, 63: 18–28.
- [57] SUN WN, XIAO HZ, PENG Q, *et al.* Analysis of bacterial diversity of Chinese luzhou-flavour liquor brewed in different seasons by Illumina miseq sequencing [J]. *Annal Microbiol*, 2016, 66: 1293–1301.
- [58] HONG JX, TIAN WJ, ZHAO DM. Research progress of trace components in sesame-aroma type of Baijiu [J]. *Food Res Int*, 2020, 137(2): 109695.
- [59] WU JH, LIU Y, ZHAO H, *et al.* Recent advances in the understanding of off-flavors in alcoholic beverages: Generation, regulation, and challenges [J]. *J Food Compos Anal*, 2021, 103: 104117.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



郭云霞, 硕士, 主要研究方向为食品资源研究与开发。

E-mail: 327634107@qq.com



程 伟, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为发酵工程与酿酒生产技术。

E-mail: 564853735@qq.com