

莫新良, 杨亮, 滕明德, 等. 饮料酒中香草醛的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 417–426. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060115

MO Xinliang, YANG Liang, TENG Mingde, et al. Research Progress on Vanillin in Alcoholic Beverages[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(14): 417–426. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060115

· 专题综述 ·

饮料酒中香草醛的研究进展

莫新良, 杨亮, 滕明德, 钟艳霞, 李芳香
(茅台学院酿酒工程系, 贵州仁怀 564501)

摘要: 香草醛是饮料酒中一种非常重要的香气化合物, 因其具有令人愉悦的甜香及香荚兰豆香草香气, 同时具有一定的生理功能而被广泛关注。香草醛具有很强的极性且在酒中含量甚微, 常规的检测方法难以有效检出饮料酒中香草醛的含量, 探究酒中香草醛的分析方法一直是研究的课题。饮料酒的原辅料细胞壁中含有丰富的木质素、阿魏酸等, 是形成香草醛的重要前驱物质, 它可以通过真菌、细菌等微生物经非氧化脱羧反应等代谢途径在酿造过程中转换成香草醛。本文从饮料酒中香草醛的分析方法、香气贡献、含量差异及形成机理等方面进行综述, 以期为我国饮料酒中香草醛的研究提供理论参考。

关键词: 饮料酒, 香草醛, 分析方法, 香气贡献, 形成机理

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)14-0417-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060115

本文网刊:



Research Progress on Vanillin in Alcoholic Beverages

MO Xinliang, YANG Liang, TENG Mingde, ZHONG Yanxia, LI Fangxiang

(Department of Brewing Engineering, Moutai College, Renhuai 564501, China)

Abstract: Vanillin is a very important aroma compound in alcoholic beverages. It has been widely concerned because of its pleasant sweet aroma, vanilla aroma and physiological function. Vanillin has strong polarity and trace in alcoholic beverage, so conventional detection methods are difficult to effectively detect the content of vanillin in alcoholic beverage. Therefore, exploring the analysis method of vanillin in alcoholic beverage has always been a research topic. The cell wall of the raw and auxiliary materials of alcoholic beverage is rich in lignin and ferulic acid, which is an important precursor for the formation of vanillin. It can be converted into vanillin in the brewing process through metabolic pathways such as non oxidative decarboxylation reaction of fungi, bacteria and other microorganisms. In this paper, analytical method, aroma contribution, different content and formation mechanism of vanillin in alcoholic beverage are reviewed, which can provide theoretical reference for the research of vanillin in alcoholic beverage.

Key words: alcoholic beverages; vanillin; analytic method; aroma contribution; formation mechanism

香草醛(vanillin)是香子兰花荚中的典型香荚兰豆香气物质, 又称香兰素、香草素、香兰醛, 其化学名为 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛。香草醛是一种重要的香气化合物, 因其具有令人愉悦的甜香、浓烈的奶香气及香荚兰豆香草香气, 广泛应用于食品、饮料等领域, 常作为香料添加于糕点、糖果及清凉饮料等食品中, 起助香和定香作用^[1]。

饮料酒是指酒精体积含量为 0.5%~60% 的酒精

饮料^[2]。饮料酒, 特别是经陈酿过的葡萄酒^[3]、黄酒^[4-5]、日本烧酒^[6]、白兰地^[7]、朗姆酒^[7-8]等含有相当数量的香草醛, 其对酒的香气、口感以及稳定性等品质具有重要作用^[8]。此外, 香草醛具有多种生理活性功能, 如通过自身聚合化及与自由基反应清除自由基, 从而拥有较强的抗氧化活性, 同时还具有抗炎、增加免疫力、预防和抑制各种慢性疾病的发生与发展等功能^[9-11], 深受人们广泛关注。香草醛在饮料酒

收稿日期: 2021-06-15

基金项目: 贵州省科技计划基础研究项目(黔科合基础[2019]1295); 贵州省教育厅普通高等学校特色重点实验室项目(黔教合 KY 字[2018]003); 贵州省科技计划基础研究项目(黔科合基础-ZK[2021]一般 093); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2018]462; 黔教合 KY 字[2018]449; 黔教合 KY 字[2018]451)。

作者简介: 莫新良(1970-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物发酵、风味物质分析及机理, E-mail: xinliangmo@163.com。

中的香气阈值为 22~438.52 $\mu\text{g/L}$ ^[8,12]。研究发现,木质素的降解和阿魏酸的转化是香草醛的重要来源,而饮料酒的原辅料中通常含有大量的木质素和阿魏酸^[13-14],为香草醛的形成提供了重要的物质基础。本文从饮料酒中香草醛的分析方法、香气贡献、含量差异及形成机理等方面进行综述,以期为我国饮料酒中香草醛及其形成机理研究提供参考依据。

1 饮料酒中香草醛的分析方法

香草醛具有强极性且在酒中含量甚微,常规的检测方法难以将其有效检出。目前,关于饮料酒中香草醛的分析方法主要有样品预处理、仪器检测、定性定量分析及香气贡献判定和确认等几部分。样品预处理过程主要有化学衍生化(Chemical derivatization, CD)^[15]、液-液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)^[16]、固相萃取(solid-phase extraction, SPE)^[4,17]、固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)^[18-19]、液-液微萃取(liquid-liquid microextraction, LLME)^[4-5]等,仪器检测主要有:气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[3-5]、高效液相色谱(High-performance liquid chromatography, HPLC)^[6,20-21]、液相色谱-质谱联用(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[22-23]等。以下将具体介绍饮料酒中香草醛的分析方法。

1.1 饮料酒中香草醛的样品预处理方法

饮料酒基质复杂,其中存在香草醛等各种香气成分浓度低,且有着不同的挥发性、溶解性及极性等性质的物质。因此,样品预处理方法的选择非常重要。

1.1.1 化学衍生化法(CD) 对于香草醛、不饱和烯醛等这样一些香气贡献大但含量低的物质,常规方法难以分析,通常采用 CD 进行处理分析,因需先将被分析物质萃取出来再进行化学衍生,故该法较为繁琐。轻工业部食品发酵研究所^[24]曾用该预处理方法分析了茅台酒中的愈创木酚、4-甲基愈创木酚等 12 种挥发性酚类物质,由于受当时香气物质认知条件限制,没有香草醛的相关信息。傅玉书等^[15]使用双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺做衍生剂,将茅台酒等白酒中的香草醛等酚类物质检测出来,香草醛不但被鉴定出来,同时还得到初步定量分析。曹长江等^[25]使用羟胺盐酸盐作为衍生剂,将白酒中含量低的反-2-壬烯醛、反,反 2,4-壬二烯醛等检测出来。

1.1.2 液-液萃取法(LLE) LLE 是一种根据相似相溶原理,利用香草醛等微量成分在溶剂相和样品基质中的分配系数差异,直接从样品中萃取、分离挥发性成分的方法。其缺点是耗时、费力且需要的样品及溶剂较多,但该方法因具有操作简便、萃取效果好、能较全面提取样品中的目标物质等优点,被广泛应用于饮料酒风味物质分析中^[16,26-27]。丁云连^[16]应用该萃取法分析出了清香型白酒中包括香草醛在内的 90 种香气化合物;杨亮等^[26]利用该方法分析了缺陷

型白酒中的挥发性成分,香草醛被分析出来;尹建邦等^[27]采用此方法分析发现,经橡木桶陈酿的葡萄酒香气成分如香草醛等的香气强度明显高于未经橡木桶陈酿的葡萄酒。

1.1.3 固相萃取法(SPE) SPE 是一种用固体材料吸附样品中需分析的成分,然后用恰当的洗脱剂将目标物洗脱下来的方法。其缺点是方法开发较复杂、且萃取小柱的成本较高,但其因具有集样品中目标物质的富集与净化为一体、重现性较好等优点而被应用在饮料酒的香气物质分析中^[4,17,28]。应用该方法时,吸附剂和洗脱剂的选择是关键,需依据待处理的样品基质而定。用在饮料酒中香气物质分析的吸附剂主要为 LiChrolut-EN^[4,17,28],洗脱剂主要有二氯甲烷、乙醚、戊烷等。如在葡萄酒的香气物质分析中^[17],酒样通过填料吸附后,用二氯甲烷进行洗脱,59 种葡萄酒中的香草醛等香气成分被成功分析出来;在白酒香气物质鉴定中^[28],用戊烷、乙醚对经吸附后的酒样洗脱,包括香草醛在内的多种香气物质被鉴定出来;在黄酒香气物质分析中^[4],用二氯甲烷作洗脱剂,香草醛等微量挥发性香气成分被顺利分析出。

1.1.4 固相微萃取法(SPME) SPME 应用在饮料酒微量成分分析中,主要为顶空固相微萃取(head-space SPME, HS-SPME)。HS-SPME 是一种利用被分析物在萃取头与萃取基质之间达到平衡时的分配系数和吸附量的差异来进行分离浓缩的方法^[19]。该法优点较多,如无需溶剂且集采样、萃取、浓缩为一体,操作简便、快速,但也存在萃取效果会受到诸多因素如萃取头、萃取温度、基质等严重影响的缺点,尤其是存在萃取头对某些极性高、含量低的挥发性物质响应差的缺点,故该方法在饮料酒香草醛的分析方面应用不多,目前主要集中在陈酿葡萄酒中有较高含量香草醛等香气成分的分析中^[29-30]。尹建邦等^[29]利用该法鉴定出了经橡木桶陈酿的葡萄酒中的橡木香气物质,香草醛是其成分之一。李兰晓等^[30]采用此法快速检测了经不同橡木制品陈酿的葡萄酒中主要陈酿香气成分及其变化,香草醛的相关信息包含在其中。

1.1.5 液-液微萃取法(LLME) LLME 是一种用极少体积有机溶剂萃取一定体积样品中目标物质的方法。其优点是只需一步萃取无需多步浓缩样品的繁琐操作步骤,是一种快速简单且无需大量溶剂的萃取方法。但该方法不适合用于样品中宽范围的香气物质的全面分析。Ferreira 最早开发该方法定量分析了葡萄酒中有机酸等极性风味成分^[31],因其操作简单,随后逐渐被其他研究者采纳用来分析相关目标物质。饮料酒中用 HS-SPME 方法难以分析检测的香草醛用 LLME 方法可以完成,LLME 应用在黄酒^[4-5]、白酒^[32]等香草醛的定量分析中,结果均比较理想。莫新良等^[5]利用此方法对黄酒中的香草醛进行分析,较理想地将黄酒中的香草醛定量出来;赵雅敏等^[32]运用 LLME 快速定量了 70 种不同白酒样品中的

9 种酚类物质, 香草醛包含在其中。

1.2 饮料酒中香草醛的检测方法

1.2.1 气相色谱-质谱联用技术(GC-MS) 饮料酒中香草醛等成分经预处理后, 即可通过仪器来进行检测分析, 检测仪器通常采用质谱, 如对黄酒^[4-5]、白酒^[16,26]、葡萄酒^[27,29]等香草醛的检测分析。随着仪器的快速发展, 各种高端质谱的诞生, 饮料酒中香草醛等各种挥发性物质检测的种类更加丰富, 如 Zhu 等^[33]应用全二维气相色谱与飞行时间质谱联用技术从酱香型白酒中分离出 528 种物质, 陈双等^[34]同样用该检测方法从清香型白酒中检测到 1092 个峰, 定性了 340 种挥发性物质。

1.2.2 高效液相色谱法(HPLC) 对于热敏性、沸点比较高或极性强的物质的分析, 通常选择 HPLC 来进行检测, 配合适当的检测器, 该方法能够对物质进行准确的定量。紫外可见吸收检测器(ultraviolet-visible detector, UVD)^[6,20]和二极管阵列检测器(Diode-array Detection, DAD)^[35-36], 在饮料酒中香草醛的分析中应用比较广泛, Koseki 等^[6,20]采用 HPLC-UVD 定量分析了日本烧酒中酚类物质, 发现香草醛是其陈酿酒中的重要香气物质; 之后用同样方法快速分析了日本烧酒模拟酒中香草醛的形成途径及其影响因素。Goldberg 等^[35]用高效液相色谱-光电二极管阵列检测器(photodiode array detector, PDAD)分析了 12 种国外蒸馏酒中的 11 种酚类物质, 香草醛均被检测出; Turkoz 等^[21]用 HPLC-DAD 快速分析了葡萄酒中包括香草醛在内的 8 种酚类物质。Vanbeneden 等^[36]用高效液相色谱-电化学(electrochemistry detection, ECD)法分析了啤酒老化过程中 4-乙烯基愈创木酚(4-vinylguaiacol, 4-VG)的降解及其产物的形成, 在老化后的啤酒模拟溶液中鉴定到了香草醛。

1.2.3 LC-MS 随着仪器的快速发展, LC-MS 被应用在饮料酒化合物分析中, 利用此技术不但能对已知物质进行定量分析, 同时还能对未知物进行定性鉴定。Pai 等^[22]用 LC-MS 分析发现印度啤酒中香草醛的含量均比较低; Gonzalez-Centeno 等^[37]用 LC-MS 研究了橡木在霞多丽葡萄酒苹果酸-乳酸发酵和陈酿过程中的作用及相关香气物质, 香草醛是其研究的主要香气成分之一; Canas 等^[23]研究了微氧条件下陈酿过程中葡萄蒸馏酒中的香气物质变化情况, 用 LC-MS 检测定性鉴定香草醛等香气物质, 用 HPLC-UVD 定量分析, 发现在有氧条件下随着储存时间的延长, 香草醛的含量逐渐增加。

1.3 饮料酒中香草醛的定性定量方法

1.3.1 定性方法 香气物质的定性分析常用的手段为标准品比对法、质谱库比对法、保留指数对比法。当未知化合物色谱保留值、质谱库信息以及香气特征与标准品完全一致时, 即可得以确认^[38]。对于无标准品的化合物, 可以采用保留指数法定性(Retention

Index, RI 或 Kovats 指数), 相比与用一个参比化合物, 这种标定方法更为精确^[39]。将保留指数法与质谱谱库对比法结合使用是饮料酒中常用的定性方法^[4-5,16]。

1.3.2 定量方法 饮料酒中香草醛的定量方法主要有外标定量法和内标定量法。外标法定量方法方法简单, 只需校正待测组分峰, 但对仪器稳定性及进样量的准确性要求较高。内标法定量并未严格要求进样量且因内标的加入可消除一定的系统误差, 但因在样品中加入一个组分, 易导致面积测量误差增加^[40]。饮料酒中香草醛的定量分析用得比较多的是内标法^[4-5,9]。

1.4 饮料酒中香草醛的香气贡献分析方法

1.4.1 香草醛香气贡献的判定 判定饮料酒中风味物质香气贡献的方法主要有气相色谱嗅闻(gas chromatography-olfactometry, GC-O)技术中的香气强度分析法(Osme)^[16,27]和香气萃取稀释分析法(aroma extract dilution analysis, AEDA)^[4,11,16], 这些方法和 GC-MS 结合后即可初步判断香草醛等物质的香气贡献。Osme 技术^[18]是将预处理浓缩获得的样品, 直接进样进行 GC-O 分析, 其结果以香气强度表示。AEDA 法^[41]是将预处理浓缩后得到的组分与溶剂以一定比例梯度稀释, 每一个稀释度样品进样进行 GC-O 闻香, 直到闻不到香气为止, 结果由 FD 值来确定。这两种方法已普遍应用在饮料酒香草醛等呈香化合物的香气贡献分析中。Lee 等^[42]用 Osme 的方法鉴定出了葡萄酒中 81 种具有香气活性的物质, 香草醛在其中。用 AEDA 的方法分析发现, 香草醛在传统黄酒、机械黄酒和新酒中的 FD 值分别为 1024、132 和 32, 是黄酒中的重要香气贡献物质^[4,43]。

GC-O 能够发现具有重要贡献的香气物质, 但因基质效应的影响, 鉴定到的这些物质呈现的香气强度与饮料酒样品中本身香气强度存在一定差异, 故通常采用香气活力值(odour activity value, OAV)的大小来确证其重要程度。OAV 是香气物质在饮料酒中的含量与其在相应基质中的香气阈值的比值^[41], $OA V > 1$, 说明该香气物质对酒样贡献明显。Franitza 等^[8]研究发现香草醛在朗姆酒中的 FD 为 2048, OAV 为 42, 证实香草醛在该酒中的重要性; 赵东瑞^[9]发现香草醛在古井贡酒中的 $FD \geq 729$, 但是其 OAV 均小于 1, 说明白酒基质对香草醛的香气表达有明显的抑制作用, 故在评价香气物质对饮料酒香气贡献时, 采用多种方法并结合 OAV 是很有必要的。

1.4.2 关键香气物质的香气重要性验证 确定了酒样中重要贡献的香气物质后, 还需进一步对其进行验证, 通常采用香气重组、香气缺失实验完成。在进行香气重组时, 通常对 $OA V > 1$ 的物质进行香气重组, 如在陈酿黄酒香气研究中^[4], 共鉴定到 43 个活性香气物质, 却仅采用 31 个 $OA V > 1$ 的物质进行重组, OAV 为 56 的香草醛在其中。鉴于不同物质在同一

基质中可能产生的风味物质间的交互作用,在香气重组时,除了采用 OAV>1 的物质,还有必要考虑那些 OAV<1 但 FD 值却很高的物质,如在浓香型白酒古井贡酒香气分析中^[9],共鉴定到 60 个香气物质,除采用 35 个 OAV>1 的香气物质外,也将另外 11 个 OAV<1 但 FD 值很高的物质一起进行重组,香草醛在这 11 个物质之中。

当重组后的溶液香气与实际饮料酒样品香气相似时,即可确认重组溶液中的香气物质是该酒中的重要香气贡献物质^[4,12],此时,即可进行缺失实验。缺失实验的目的是为确定重组的化合物中某一种或某一类香气物质对该酒风味形成的贡献,当某一香气物质缺失后,重组溶液的香气和实际酒样有显著性差异时,即可认为该物质是关键香气物质。如在陈酿黄酒香气研究中^[4],缺失实验证明香草醛、葫芦巴内酯等是黄酒中的香气贡献关键物质;在浓香型白酒古井贡酒香气分析中^[9],缺失实验证明香草醛、苯乙醇等是白酒中的香气贡献关键物质。

2 饮料酒中的香草醛及其含量分析

按照生产工艺的不同,饮料酒主要分为三大类:发酵酒、蒸馏酒和配制酒。黄酒与啤酒、葡萄酒并称为“世界三大发酵酒”,白酒是世界六大蒸馏酒之一,中国黄酒和白酒是中国独有的酒种。表 1 列出了部分饮料酒中香草醛的含量情况。

2.1 葡萄酒中的香草醛

关于葡萄酒中香草醛的研究主要集中在经橡木桶陈酿的葡萄酒方面,葡萄酒中香草醛含量为 0.66~

590000 $\mu\text{g/L}$ ^[21,43]。相对来说,国外葡萄酒中香草醛的研究起步较早。1984 年,Aiken 等^[50]发现通过橡木桶陈酿过的葡萄酒其香气物质香草醛等产生的香草香、橡木香及调料香味显著增加。2002 年,Lopez 等^[17]定量了西班牙 59 种葡萄酒中的 27 种重要香气物质,香草醛的含量在白葡萄新酒中为 1.43 $\mu\text{g/L}$,在红葡萄陈酿酒中为 9.60~140.00 $\mu\text{g/L}$,平均含量为 59.00 $\mu\text{g/L}$ 。2003 年,Lee 等^[42]对美国加利福尼亚州的 19 种白葡萄陈酿酒的香气成分进行了定量分析,香草醛含量为 107.00~1172.00 $\mu\text{g/L}$ 。2004 年,Culleré 等^[43]对 6 种西班牙红葡萄酒中的 78 种香气成分进行了定量分析,其中,香草醛的含量为 0.66~2.09 $\mu\text{g/L}$ 。2018 年,Turkoz 等^[21]定量分析了土耳其葡萄酒中包括香草醛在内的 8 种酚类物质,香草醛的含量在 10000~590000 $\mu\text{g/L}$ 。以上研究表明,不同地区不同品种的葡萄酒中香草醛的含量差异较大,总的来说,葡萄酒新酒中香草醛含量极低,经过陈酿过的特别是橡木桶陈酿过的葡萄酒,其香草醛的含量普遍较高。

我国研究者们对国内葡萄酒中香草醛的研究虽然起步较晚,但对橡木制品陈酿过的葡萄酒中香草醛的定性、定量及其变化规律等分析得较为透彻。2011 年,尹建邦等^[29]定量分析了经橡木桶陈酿的赤霞珠葡萄酒中的橡木香气成分,结果显示香草醛含量为 754.56 $\mu\text{g/L}$,是该产区葡萄酒中含量最高的橡木香气成分。2015 年,李兰晓等^[30]分析发现橡木制品类型及陈酿时间对葡萄酒的陈酿香气有重要影响,通过橡木片陈酿的葡萄酒,香草醛含量在 30 d 时达到

表 1 饮料酒中香草醛的分析方法及其含量

Table 1 Analysis method and content of vanillin in alcoholic beverages

序号	饮料酒	分析方法	含量($\mu\text{g/L}$)	出版时间	文献来源
1	西班牙葡萄酒	SPE-GC-MS	9.60~140.00	2002	[17]
2	美国白葡萄酒	LLE-GC-MS	107.00~1172.00	2003	[42]
3	西班牙红葡萄酒	SPE-GC-MS	0.66~2.09	2004	[43]
4	土耳其葡萄酒	HPLC-DAD	10000~590000	2018	[21]
5	中粮长城葡萄酒	HS-SPME-GC-MS	754.56	2011	[29]
6	中国烟台葡萄酒	HS-SPME-GC-MS	0~8000000	2015	[30]
7	江浙沪地区黄酒	LLME-GC-MS	80.12~4058.12	2012	[5]
8	浙沪地区黄酒	LLME-GC-MS	40.00~2300.00	2016	[44]
9	浙江绍兴黄酒	LLME-GC-MS	3.40~1460.00	2019	[4]
10	中国各地区黄酒	SPE-GC-MS	381.00~1720.00	2018	[45]
11	黄酒麦曲	LLME-GC-MS	126.90~549.40	2015	[46]
12	印度啤酒	LC-MS	2.43~20.54	2015	[22]
13	比利时浓色啤酒	LLE-GC-MS	2.30~180.00	2014	[47]
14	比利时淡色啤酒	LLE-GC-MS	0.00~590.00	2008	[36]
15	酱香型白酒	CD-GC-MS	30	1985	[15]
16	酱香型白酒	LLME-GC-MS	66.00~255.70	2018	[32]
	浓香型白酒		0.00~130.50		
	清香型白酒		73.60~111.50		
	威士忌		1154.20~2180.30		
17	古井贡白酒	LLE-GC-MS	210.00~306.00	2018	[9]
18	各香型白酒	GC-MS	0.54~279.18	2019	[48]
19	古井贡白酒原酒	LLME-GC-MS	5.98~40.10	2020	[49]

最高值,此后逐渐减少,而橡木桶陈酿的葡萄酒,其含量在 90 d 的陈酿过程中一直在增加。

2.2 黄酒中的香草醛

黄酒中香草醛含量在 3.40~4058.12 $\mu\text{g/L}$ 之间^[4-5]。关于黄酒香草醛的研究主要集中在国内,大多是关于成品黄酒中香草醛的含量差异、储存过程中的含量变化及其影响因素等方面的研究。莫新良等^[5,44]对中国不同种类黄酒中香草醛进行分析,发现香草醛的含量为 80.12~4058.12 $\mu\text{g/L}$,陈酿酒中香草醛的含量普遍高于新酒中的含量,说明香草醛主要来源于储存过程,进一步跟踪发现,随着储存时间的延长,香草醛的含量在不断增加,其主要来源于 4-VG 的降解,氧气和温度有利于香草醛的形成。Chen 等^[4,45]综合分析了陈酿黄酒、新酒及传统黄酒、机械黄酒中的香气物质,香草醛在这四种黄酒中的含量分别为 1460.00、3.40、1180.00 和 381.00 $\mu\text{g/L}$,模拟黄酒缺失实验证明,香草醛是陈酿黄酒中非常重要的香气贡献物质。总的来说,香草醛在黄酒新酒中含量比较低,陈酿有利于香草醛的形成。另外,关于黄酒生产过程中糖化剂麦曲中的香草醛也有一定的研究,莫新良等^[46]通过分析发现,麦曲中香草醛的总含量为 126.00~549.40 $\mu\text{g/kg}$,脚踏麦曲中香草醛的总含量均高于机械麦曲中的总含量。

2.3 啤酒中的香草醛

关于啤酒中香草醛的研究较少,可能与啤酒新鲜度有关。研究发现,新鲜啤酒中香草醛的含量较低甚至没有,但陈酿或老化一段时间,其含量则增加。Pai 等^[22]分析印度啤酒中的酚类物质发现,香草醛的含量在 2.43~20.54 $\mu\text{g/L}$ 之间。Scholtes 等^[47]研究发现香草醛在 12 种新鲜啤酒中的含量范围为 2.30~113.80 $\mu\text{g/L}$,在陈酿 14 个月的啤酒中,其含量达到了 180.00 $\mu\text{g/L}$ 。Vanbeneden 等^[36]对啤酒老化过程中 4-VG 的降解及其产物的形成进行了分析,发现在老化后的啤酒模拟溶液中,鉴定到了香草醛和罗布麻酚两种香气物质,二者共占 4-VG 减少量的 85%,氧气有助于香草醛的形成。

2.4 白酒中的香草醛

白酒中香草醛的含量为 0.54~306.00 $\mu\text{g/L}$ ^[9,48],白酒香型众多,不同香型、不同种类香草醛差异较大。傅玉书等^[15]估测了茅台酒中的香草醛含量为 30 $\mu\text{g/L}$;赵雅敏等^[32]分析发现,香草醛在酱香型、浓香型和清香型白酒中的平均含量分别为 128.20、86.40 和 89.00 $\mu\text{g/L}$,含量范围分别为 66.00~255.70、0.00~130.50 及 73.60~111.50 $\mu\text{g/L}$,而威士忌中香草醛平均含量为 1734.30 $\mu\text{g/L}$,含量范围为 1154.20~2180.30 $\mu\text{g/L}$ 。赵东瑞等^[9]定量分析结果显示古井贡酒中香草醛的浓度为 210.00~306.00 $\mu\text{g/L}$ 。史冬梅等^[48]对中国白酒 103 种样品中的 6 种酚类物质进行分析,香草醛在 94 种白酒中被检出,其含量为 0.54~279.18 $\mu\text{g/L}$ 。陈璐等^[49]对古井贡酒原酒香气

成分在蒸馏过程中的变化进行研究,结果表明,香草醛在不同馏分中的含量随着蒸馏时间的延长而呈现上升趋势,香草醛的含量变化范围为 5.98~40.10 $\mu\text{g/L}$ 。综合目前的各种研究,不难发现,白酒中香草醛的研究主要集中在成品酒各香型白酒中香草醛含量方面,虽有对生产中的蒸馏过程中香草醛的含量变化进行了分析,但并未在白酒中陈酿过程及其影响因素等方面进行系统研究。

3 饮料酒中香草醛的形成机制

关于香草醛在饮料酒中形成机理的研究,主要集中在葡萄酒、啤酒、黄酒和日本烧酒等饮料酒酿造及贮存过程。饮料酒的原辅料通常来源于植物,而植物细胞壁中的阿魏酸、木质素、丁香酚等物质作为前体均可通过化学或生物的途径转化形成香草醛,其中,阿魏酸的转化和木质素的降解是香草醛的重要来源^[1,14,51]。已有研究发现,在饮料酒酿造和贮存过程中,香草醛的形成主要是通过阿魏酸的非氧化脱羧反应代谢途径转化和木质素的降解而成的。

3.1 饮料酒中香草醛由阿魏酸的转化形成途径

3.1.1 结合态阿魏酸转化成游离阿魏酸及其相关的酶 阿魏酸,即 4-羟基-3-甲氧基肉桂酸,是自然界中极其丰富的苯丙烯酸衍生物,主要存在于草本植物、木本植物和粮谷壳等细胞壁中。农副产品如麦麸、米糠和甜菜糖浆等,均含有数量不等的阿魏酸^[14]。在植物细胞壁中,阿魏酸很少以游离态的形式存在,大多与各种碳水化合物以糖苷键、酯键等相连。在谷物的细胞壁中,阿魏酸的单体和多种二聚体主要以酯键的形式连接在阿拉伯木聚糖的阿拉伯糖残基上,因此,要获得游离阿魏酸,需打破阿魏酸与多聚糖之间连接的酯键^[42]。通过化学法(酸、碱、热)或酶的水解作用,可以使植物中结合的阿魏酸游离出来。其中,在酶的水解中,阿魏酸酯酶是水解阿魏酸酯键的一种关键酶^[52]。

阿魏酸酯酶(EC3.1.1.73, ferulic acid esterase, FAE)又称肉桂酸酯酶,属于羧酸酯水解酶的一个亚类,是一种能水解阿魏酸甲酯、低聚糖阿魏酸酯和多糖阿魏酸酯中的酯键,将阿魏酸游离出来的胞外酶。若和其它酶如纤维素酶、半纤维素酶或木聚糖酶协同作用,更加有利于阿魏酸的释放。因为纤维素酶和半纤维素酶能够降解植物细胞壁中的多聚糖,从而有助于阿魏酸酯酶和结合态的阿魏酸酯的接触^[53]。

3.1.2 饮料酒中阿魏酸转化成香草醛的途径 由阿魏酸降解产生香草醛的途径非常复杂,综合概括主要有四条代谢途径,分别是:非氧化脱羧反应、侧链还原、不依赖于辅酶 A 的去乙酰反应和依赖于辅酶 A 的去乙酰反应^[1]。

其中在非氧化脱羧反应中,阿魏酸首先脱羧形成 4-VG,然后 4-VG 再氧化形成香草醛,在反应基质中还有极少部分的副产物香草酸和愈创木酚产生^[1]。

已有的研究发现,在饮料酒酿造和贮存过程中香草醛的形成主要是通过阿魏酸的非氧化脱羧反应这条代谢途径转化而成的^[20,44,54],具体代谢途径见图1。

Koseki等^[20]研究了日本烧酒shochu模拟酒中香草醛的形成途径,发现该途径是由原料细胞壁中的结合态阿魏酸水解成游离的阿魏酸后,再脱羧形成4-VG,4-VG再氧化成香草醛,香草醛又可转化成香草酸。其中,4-VG是在蒸馏过程中产生的,香草醛和香草酸是在储存过程中形成的。香草醛的形成与储存温度、基质pH、酒精度有关。2008年, Vanbeneden等^[36]分析了啤酒贮存过程中香草醛的形成途径,证明香草醛是由4-VG转化而来,其中氧气和温度有利于此反应的进行。Mo等^[54]对黄酒发酵过程中阿魏酸和4-VG的变化进行了跟踪,发现在黄酒酿造过程中,随着发酵时间的延长,阿魏酸和4-VG的浓度逐渐增加,发酵的前5d上升幅度较大,第6d后上升缓慢,并且证明阿魏酸和4-VG的产生源于麦曲而不是酵母。2016年,莫新良等^[44]对黄酒中香草醛的形成及其影响因素进行了研究,发现香草醛是4-VG降解的主要产物,氧气、温度及储存时间有利于香草醛的形成。

3.1.3 阿魏酸转化成香草醛过程中的相关微生物

将植物细胞壁中结合态阿魏酸转化为游离阿魏酸的阿魏酸酯酶,主要由真菌、细菌等产生,如曲霉

(*Aspergillus*)^[55]、青霉(*Penicillium*)^[56]、乳酸菌(*Lactic acid bacteria*)^[52]、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)^[57]和链霉菌(*Streptomyces*)^[58]等产生,表2列出了文献报道中的部分相关微生物。

由阿魏酸降解产生香草醛的途径中,与之相关的微生物主要有真菌(如黑曲霉(*Aspergillus niger*)、白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)等)^[59-60];某些细菌(如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)^[61]、阿氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhattai*)^[62]、乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)^[63]、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)^[64]和链霉菌(*Streptomyces*)^[58]等)(见表2)。综合表2发现,细菌分泌阿魏酸酯酶的效果比真菌要好,产生阿魏酸或香草醛的含量也比真菌的多。故细菌是该途径中香草醛形成的重要微生物。

3.2 饮料酒中木质素的降解形成香草醛的途径

木质素是一种由苯基丙烷结构单元构成的、具有复杂的三维网状结构的高分子物质,主要由对羟基苯丙烷、紫丁香基丙烷和愈创木基丙烷单元通过醚键和碳-碳键随机聚合而成,不同植物纤维原料木质素的结构组成不同,当受到温度、酸度、化学试剂等影响时,木质素被水解或氧化降解形成单体或低聚物^[65-66]。

研究发现,当饮料酒用橡木桶长期储存时,饮料酒中的酒精、酸度及微量氧气等有助于橡木木质素

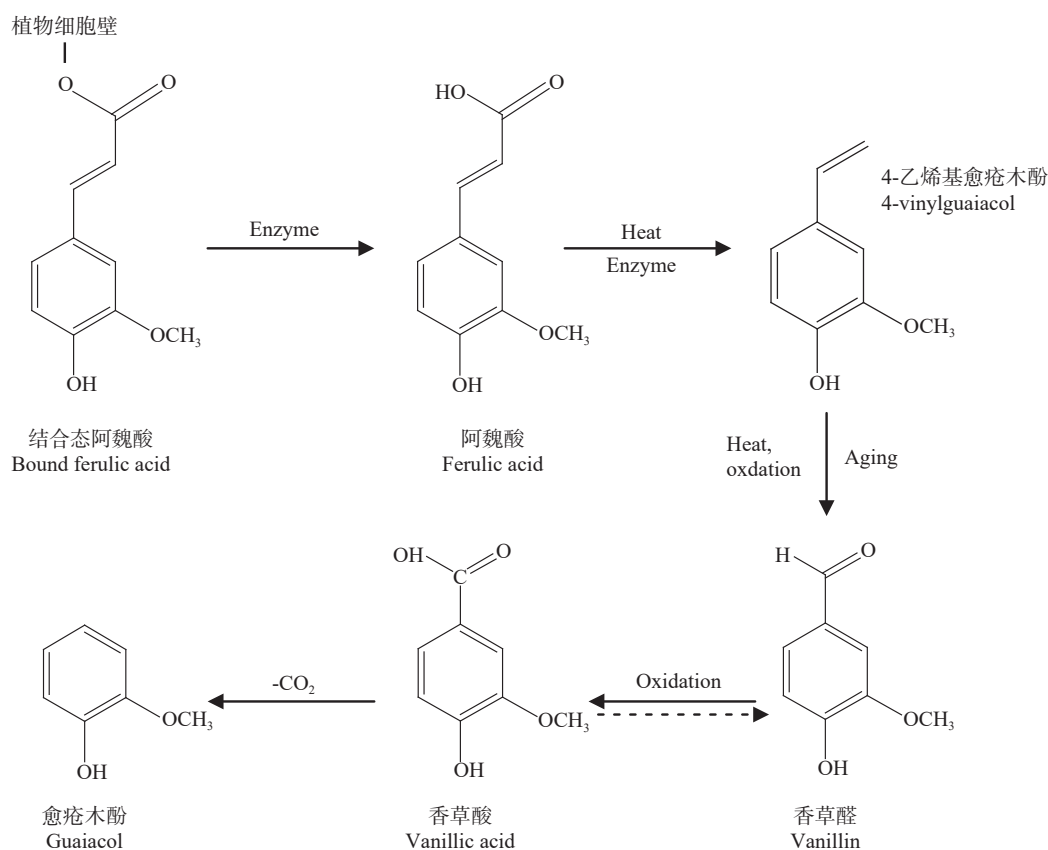


图1 饮料酒中阿魏酸转化成香草醛的形成途径

Fig.1 Pathways of vanillin formation from the degradation of ferulic acid in alcoholic beverages

注: 饮料酒酿造过程和储存过程中, 结合态阿魏酸水解成游离的阿魏酸、游离的阿魏酸脱羧形成4-VG、4-VG氧化成香草醛、香草醛氧化形成香草酸及香草酸脱羧成愈创木酚的途径。

表 2 香草醛形成过程中的相关微生物
Table 2 Different microorganisms involved in synthesis of vanillin

序号	微生物	产物	产物浓度	出版时间	文献来源
1	乳酸菌	阿魏酸酯酶、阿魏酸	7.54 U/mL、5500 mg/kg	2020	[52]
2	曲霉	阿魏酸酯酶	0.070 U/mL	2016	[55]
3	青霉	阿魏酸酯酶、阿魏酸	0.009 U/mL、115.93 mg/kg	2021	[56]
4	植物乳杆菌	阿魏酸	6336 mg/kg	2018	[57]
5	链霉菌	阿魏酸酯酶、香草醛	0.294 U/mL、708 mg/L	2018	[58]
6	黑曲霉	香草醛、香草酸	7、5 mg/L	2020	[59]
7	白腐菌	香草醛	55 mg/L	2013	[60]
8	枯草芽孢杆菌	香草醛	1500 mg/L	2016	[61]
9	阿氏芽孢杆菌	香草醛	147.1 mg/L	2018	[62]
10	乳酸片球菌	香草醛	1060 mg/L	2017	[63]
11	荧光假单胞菌	香草醛	1279 mg/L	2011	[64]

的降解、木质素单体或低聚成分的溶出及陈酿香气成分的形成,其中能深刻影响陈酿香气的几种重要的橡木挥发性成分有香草醛、丁香醛等,在此过程中,橡木木质素降解形成香草醛等香气化合物融入饮料酒中,其降解途径主要包括部分水解,醚键和碳-碳键的断裂,脱甲氧基化、烷化和缩合反应,在较低温度的温和条件下,醚键和碳-碳键断裂,生成酚类单体、二聚体和寡聚体化合物,再转化成香草醛等香气物质^[66],具体代谢途径模型见图 2。香草醛是橡木浸渍物的主要成分,具有令人愉悦的香草和香子兰甜香香气,对饮料酒的风味品质及酒质风格起到重要作用^[3,13,67]。

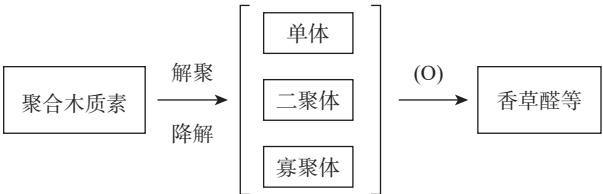


图 2 饮料酒中木质素降解形成香草醛的代谢途径模型
Fig.2 Metabolic pathway model of vanillin formation from the degradation of lignin in alcoholic beverages

3.3 饮料酒中香草醛来源的鉴别

要呈现香草醛的特有风味,未经过长时间橡木桶陈酿的饮料酒很难达到相应浓度要求,新酒若达到则存在人为添加的可能,而添加合成香草醛香精以呈现其甜香风味的酒,将被欧盟法规(European Commission, EC, Regulation No. 110/2008)所禁止^[68]。因此,关于鉴别和区分饮料酒中香草醛甜香及香草香风味的真实来源(是来源于自然发酵或陈酿产生还是外来添加的合成香精)的研究,受到国外该领域范围内研究的重点关注。Van 等^[68]用气相色谱-同位素比质谱仪检测分析了 48 种蒸馏酒样品中的香草醛的来源,发现不同来源的香草醛所具有的 $\delta^{13}\text{C}$ 值不同,人为添加合成香草醛香精的蒸馏酒中的 ^{13}C 值和自然产生的完全不同。来源于橡木桶陈酿的蒸馏酒中香草醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-28.9\text{‰} \sim -25.7\text{‰}$,而人为添加合成香草醛香精的蒸馏酒中香草醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-32.5\text{‰} \sim$

-29.3‰ ,能够被很好的区分开来,为甄别是否是人为添加香草醛人工合成添加剂来源的饮料酒提供了好的鉴定依据。

4 结语

香草醛是饮料酒中重要的风味和生物活性物质,然而现阶段仍缺乏对香草醛分析的有效方法,这些缺陷可能存在样品预处理上,也可能在 GC-O 阶段香草醛的香气被其它物质所掩盖而无法鉴定,亦或是关键香气的构成是香草醛等几种香气物质协同作用的结果。这些问题的解决,需要开发一些新的研究策略来完成,但无论如何,最后仍然需要进行定性定量、GC-O、OAV 分析,并进行香气重组与缺失试验。

对香草醛的产生路径及代谢相关微生物,有部分研究通过相关性分析、参与代谢的酶及陈酿过程影响因素等层面进行了探讨,这也有助于解析饮料酒中香草醛的产生机理、改善饮料酒风味。随着新技术的开发及组学的广泛使用,使得全面揭示饮料酒生产过程中香草醛的代谢机制成为可能,如在研究生物代谢香草醛中,可以香草醛关键结构为靶向,采用代谢组学的研究思路解析其代谢,在宏基因组解析传统发酵过程中与香草醛代谢相关的微生物的基础上,结合转录组及宏蛋白质学方法,考察相关微生物代谢酶的转录或翻译情况,以验证微生物功能,从而构建香草醛代谢图谱。

饮料酒中香草醛的含量与其品质关系密切,目前,国内相关研究比较薄弱,虽在黄酒和葡萄酒中有一定的研究,但在白酒中的研究尤其是其在形成机理方面的研究非常欠缺。白酒作为中国的国酒,其香型众多,酿造工艺、酿造微生物、酿造环境千差万别,不同地域不同香型的白酒形成了其独特的风格,其中香草醛的含量也差异显著。未来对白酒中香草醛的研究,应集中在不同地区、不同香型白酒以及同一香型白酒不同生产环节中香草醛的检测分析方法、含量差异、变化规律、影响因素等方面,以此探寻并明晰白酒中香草醛的形成机制,通过优良自然微生物发酵或良好的贮存条件对其进行调控,以期为更好的提高

白酒中香草醛的含量,最终达到有效控制白酒品质的目的提供基础。

参考文献

- [1] PRIEFERT H, RABENHORST J, STEINBÜCHEL A. Biotechnological production of vanillin[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2001, 56(3-4): 296-314.
- [2] 马佩选, 管锡建. 科学分类饮料酒促进行业发展[J]. *酿酒科技*, 2010, 194(8): 117-119. [MA P X, GUAN Y J. Scientific classification of alcoholic beverage to advance healthy industry development[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2010, 194(8): 117-119.]
- [3] SANCHEZ-GOMEZ R, DEL A S M, NEVARES I. Volatile composition of oak wood from different customised oxygenation wine barrels: Effect on red wine[J]. *Food Chemistry*, 2020, 329: 127181.
- [4] CHEN S, WANG C C, QIAN M C, et al. Characterization of the key aroma compounds in aged Chinese rice wine by comparative aroma extract dilution analysis, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(17): 4876-4884.
- [5] 莫新良, 徐岩, 范文来. 中国黄酒中香草醛的定性定量分析[J]. *食品与发酵工业杂志*, 2012, 38(12): 133-137. [MO X L, XU Y, FAN W L. The qualitative and quantitative analysis of vanillin in different chinese rice wines[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 38(12): 133-137.]
- [6] KOSEKI T, ITO Y, ITO K, et al. Phenolic compounds found in awamori[J]. *Nippon Jojo Kyokai Zasshi*, 1994, 89(5): 408-411.
- [7] GRANJA-SOARES J, ROQUE R, CABRITA M J, et al. Effect of innovative technology using staves and micro-oxygenation on the odorant and sensory profile of aged wine spirit[J]. *Food Chemistry*, 2020, 333: 127-450.
- [8] FRANITZA L, GRANVOGL M, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in two commercial rums by means of the sensomics approach[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(3): 637-645.
- [9] 赵东瑞. 古井贡酒风味物质及酚类风味物质的抗氧化性和抗炎性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [ZHAO D R. Research on the aroma compounds of Gujinggong Chinese Baijiu and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory effects of phenolic aroma compounds[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]
- [10] ZHAO D R, SUN J Y, SUN B G, et al. Intracellular antioxidant effect of vanillin, 4-methylguaiacol and 4-ethylguaiacol: Three components in Chinese Baijiu[J]. *Royal Society Chemistry Advances*, 2017, 7(73): 46395-46405.
- [11] ZHAO D R, SHI D M, SUN J Y, et al. Quantification and cytoprotection by vanillin, 4-methylguaiacol and 4-ethylguaiacol against AAPH-induced abnormal oxidative stress in HepG2 cells[J]. *Royal Society Chemistry Advances*, 2018, 8: 35474-35484.
- [12] 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. [FAN W L, XU Y. Determination of odor thresholds of volatile aroma compounds in Baijiu by a forced-choice ascending concentration series method of limits[J]. *Liquor Making*, 2011, 38(4): 80-84.]
- [13] MAYR MARANGON C, DE ROSSO M, CARRARO R, et al. Changes in volatile compounds of grape pomace distillate (Italian grappa) during one-year ageing in oak and cherry barrels[J]. *Food Chemistry*, 2021, 344: 128658.
- [14] ROSAZZA J P N, HUANG Z, DOSTAL L, et al. Review: Biocatalytic transformations of ferulic acid: An abundant aromatic natural product[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1995, 15(6): 457-471.
- [15] 傅玉书, 胡国栋, 龚书宝. 气相色谱法分析白酒的非挥发性酚类化合物[J]. *色谱*, 1985(S1): 111-115. [FU Y S, HU G D, GONG S B. Analysis of non-volatile phenolic compounds in chinese spirits by gas chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 1985(S1): 111-115.]
- [16] 丁云连. 汾酒特征香气的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008. [DING Y L. Studies on characteristic aroma compounds in Fen-Liquor[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008.]
- [17] LOPEZ R A, MARGARITA C, JUAN F V. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 966(1-2): 167-177.
- [18] WANG J, YUAN C, GAO X, et al. Characterization of key aroma compounds in Huangjiu from northern China by sensory-directed flavor analysis[J]. *Food Research International*, 2020, 134: 109-238.
- [19] ARTHUR C L, PAWLISZYN J. Solid-phase microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers[J]. *Analytical Chemistry*, 1990, 62(19): 2145-2148.
- [20] KOSEKI T, ITO Y, FURUSE S, et al. Conversion of ferulic acid into 4-vinylguaiacol, vanillin and vanillic acid in model solutions of shochu[J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1996, 82(1): 46-50.
- [21] TURKOZ A E, CELEP M E, CHAREHSAZ M, et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatography-diode-array detection method for the determination of eight phenolic constituents in extracts of different wine species[J]. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 15(1): 22-28.
- [22] PAI T V, SAWANT S Y, GHATAK A A, et al. Characterization of Indian beers: Chemical composition and antioxidant potential[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(3): 1414-1423.
- [23] CANAS S, DANALACHE F, ANJOS O, et al. Behaviour of low molecular weight compounds, iron and copper of wine spirit aged with chestnut staves under different levels of micro-oxygenation[J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 52-66.
- [24] 轻工业部食品发酵研究所发酵室、酒分析小组. 气相色谱法分析白酒的挥发性酚元化合物[J]. *食品与发酵工业*, 1980, 6(2): 10-15. [Fermentation chamber and beverage analysis group of the food fermentation Institute of ministry of light industry. Volatile phenols compounds in Baijiu are analyzed by gas chromatography[J]. *Food and Fermentation Industries*, 1980, 6(2): 10-15.]
- [25] 曹长江, 范文来, 聂尧, 等. HS-SPME 同时萃取衍生化定量白酒中反-2-稀醛和二烯醛类化合物[J]. *食品工业科技*, 2014,

- 35(21): 286–290, 296. [CAO C J, FAN W L, NIE Y, et al. Quantification of trans-2-alkenals and alkadienals in Chinese liquors by simultaneous extraction/derivatization by HS-SPME coupled with GC-MS-SIM[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(21): 286–290, 296.]
- [26] 杨亮, 陈双, 徐岩. LLE 和 HS-SPME 与 GC-MS 联用分析酱香型盐菜味缺陷酒中挥发性物质[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(17): 221–226. [YANG L, CHEN S, XU Y. Identification of volatile compounds from pickled mustard-like off-flavor Maotai by LLE and HS-SPME combined with GC-MS[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(17): 221–226.]
- [27] 尹建邦. 烟台产区蛇龙珠葡萄酒中挥发性香气成分的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009. [YIN J B. Free volatile aroma compounds of Cabernet Gernischet wine in Yantai region[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.]
- [28] 沈海月. 酱香型白酒香气物质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010. [SHEN H Y. Studies on aroma compounds of Chinese soy sauce aroma type liquor[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010.]
- [29] 尹建邦, 张辉, 孙建平, 等. 沙城产区橡木桶陈酿赤霞珠葡萄酒中橡木香气成分的研究[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2011, 5: 30–32. [YIN J B, ZHANG H, SUN J P, et al. Study of volatile oak compounds in oak-aged Cabernet Sauvignon from Shacheng district wine[J]. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, 2011, 5: 30–32.]
- [30] 李兰晓, 李记明, 徐岩, 等. 不同类型国产橡木制品对葡萄酒陈酿香气的影响[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(15): 184–193. [LI L X, LI J M, XU Y, et al. Effect of different types of domestic oak products on wine aging aroma[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(15): 184–193.]
- [31] FERREIRA V, RAPP A, CACHO J, et al. Fast and quantitative determination of wine flavor compounds using microextraction with Freon 113[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 41(9): 1413–1420.
- [32] 赵雅敏, 林琳, 王和玉, 等. 液-液微萃取结合气相色谱-质谱联用技术快速测定饮料酒中挥发性酚类化合物[J]. *分析科学学报*, 2018, 34(6): 789–794. [ZHAO Y M, LIN L, WANG H Y, et al. Quantitative analysis of volatile phenols in alcoholic beverages by liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical Science*, 2018, 34(6): 789–794.]
- [33] ZHU S K, LU X, JI K L, et al. Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two chromatography/time-of-flight mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597(2): 340–348.
- [34] 陈双, 徐岩. 全二维气相色谱-飞行时间质谱法分析芝麻香型白酒中挥发性组分特征[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(7): 212–218. [CHEN S, XU Y. Characterization of volatile compounds in Chinese roasted sesame-like flavor type liquor by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2017, 43(7): 212–218.]
- [35] GOLDBERG D M, HOFFMAN B, YANG J, et al. Phenolic constituents, furans, and total antioxidant status of distilled spirits[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(10): 3978–3985.
- [36] VANBENEDEN N, SAISON D, DELVAU X F, et al. Decrease of 4-vinylguaiacol during beer aging and formation of apocynol and vanillin in beer[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(24): 11983–11988.
- [37] GONZALEZ-CENTENO M R, CHIRA K, TEISSEDE P L. Use of oak wood during malolactic fermentation and ageing: Impact on chardonnay wine[J]. *Food Chemistry*, 2019, 278: 460–468.
- [38] GATES V E, MELOAN C E. Separation of sulfones by gas chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 1963, 11(4): 472–478.
- [39] 徐杨斌, 侯静林, 章俊, 等. 气相色谱保留指数在定性分析中的应用研究进展[J]. *香料香精化妆品*, 2017(3): 59–63. [XU Y B, HOU J L, ZHANG J, et al. Advance in application of gas chromatography retention index in the qualitative analysis[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2017(3): 59–63.]
- [40] 孙宝国, 吴继红, 黄明泉, 等. 白酒风味化学研究进展[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(9): 1–8. [SUN B G, WU J H, HUANG M Q, et al. Recent advances of flavor chemistry in Chinese liquor spirits (Baijiu)[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2015, 15(9): 1–8.]
- [41] 范文来, 徐岩. 白酒香气物质研究的方法学[J]. *食品科学技术学报*, 2018, 36(3): 1–10. [FAN W L, XU Y. Methodology for aroma compounds in Baijiu[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 36(3): 1–10.]
- [42] LEE S J, NOBLE A C. Characterization of odor-active compounds in Californian Chardonnay wines using GC-olfactometry and GC-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(27): 8036–8044.
- [43] CULLERÉ L, ESCUDERO A, CACHO J, et al. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(6): 1653–1660.
- [44] 莫新良, 徐岩, 范文来. 黄酒储存期间 4-乙烯基愈疮木酚和香草醛的变化及其影响因素[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(2): 29–33. [MO X L, XU Y, FAN W L. Evolution of 4-vinylguaiacol and vanillin as well as factors affected its change during the storage of Chinese rice wines[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2016, 42(2): 29–33.]
- [45] CHEN S, XU Y, QIAN M C. Comparison of the aromatic profile of traditional and modern types of Huang Jiu (Chinese rice wine) by aroma extract dilution analysis and chemical analysis[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2018, 33(3): 263–271.
- [46] 莫新良, 徐岩, 范文来. 液液微萃取-气相色谱/质谱法测定黄酒麦曲中挥发性酸及香草醛[J]. *分析科学学报*, 2015, 31(5): 616–620. [MO X L, XU Y, FAN W L. Determination of volatile organic acids and vanillin in wheat Qu by liquid liquid microextraction combined with gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical Science*, 2015, 31(5): 616–620.]
- [47] SCHOLTES C, NIZET S, COLLIN S. Guaiacol and 4-methylphenol as specific markers of torrefied malts. Fate of volatile phenols in special beers through aging[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(39): 9522–9528.

- [48] 史冬梅, 王松, 赵东瑞, 等. GC-MS/SIM 法检测 103 种白酒中 6 种酚类化合物[J]. 中国食品学报, 2019, 19(4): 235–248. [SHI D M, WANG S, ZHAO D R, et al. Determination of 6 phenols in 103 kinds of Chinese Baijiu by GC-MS/SIM[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(4): 235–248.]
- [49] 陈璐, 史冬梅, 何宏魁, 等. 酒醅蒸馏过程中部分挥发性活性成分的变化[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 137–143. [CHEN L, SHI D M, HE H K, et al. Changes in some volatile bioactive ingredients of fermented grains of Chinese Baijiu during distillation[J]. Food Science, 2020, 41(24): 137–143.]
- [50] AIKEN J, NOBLE A. Comparison of the aromas of oak-and glassaged wines[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1984, 35(4): 196–199.
- [51] BANERJEE G, CHATTOPADHYAY P. Vanillin biotechnology: The perspectives and future[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(2): 499–506.
- [52] SHARMA A, SHARMA A, INGH J, et al. A biorefinery approach for the production of ferulic acid from agroresidues through ferulic acid esterase of lactic acid bacteria[J]. 3 Biotechnology, 2020, 10(8): 1–10.
- [53] HARSHVARDHAN K, SURI M, GOSWAMI A, et al. Biological approach for the production of vanillin from lignocellulosic biomass (Bambusatulda)[J]. Journal of Cleaner Production, 2017, 149: 485–490.
- [54] MO X L, XU Y. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during Chinese rice wine brewing and fermentation[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2010, 116(4): 304–311.
- [55] PÉREZ-RODRÍGUEZ N, MOREIRA C D, TORRADO A A, et al. Feruloyl esterase production by *Aspergillus terreus* CECT 2808 and subsequent application to enzymatic hydrolysis[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2016, 91: 52–58.
- [56] LI J S, LAU Y Q, SUN T Y, et al. Purification and biochemical characterization of an alkaline feruloyl esterase from *Penicillium sumatrense* NCH-S2 using rice bran as substrate[J]. CyTA - Journal of Food, 2021, 19(1): 1–10.
- [57] LI F H, DING Z T, CHEN X Z, et al. The effects of *Lactobacillus plantarum* with feruloyl esterase-producing ability or high antioxidant activity on the fermentation, chemical composition, and antioxidant status of alfalfa silage[J]. Animal Feed Science and Technology, 2021, 273: 114835.
- [58] CHATTOPADHYAY P, BANERJEE G, SEN S K. Cleaner production of vanillin through biotransformation of ferulic acid esters from agroresidue by *Streptomyces sannanensis*[J]. Journal of Cleaner Production, 2018, 182: 272–279.
- [59] TANG P L, HASSAN O. Bioconversion of ferulic acid attained from pineapple peels and pineapple crown leaves into vanillic acid and vanillin by *Aspergillus niger* I-1472[J]. BMC Chemistry, 2020, 14(1): 1–7.
- [60] KARODE B, PATIL U, JOBANPUTRA A. Biotransformation of low cost lignocellulosic substrates into vanillin by white rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium* NCIM 1197[J]. Indian Journal of Biotechnology, 2013, 12(2): 281–283.
- [61] YAN L, CHEN P, ZHANG S, et al. Biotransformation of ferulic acid to vanillin in the packed bed-stirred fermentors[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 34644.
- [62] PAZ A D, OUTEIRIÑO R P, DE S O, et al. Fed-batch production of vanillin by *Bacillus aryabhattai* BA03[J]. New Biotechnology, 2018, 40: 186–191.
- [63] CHAKRABORTY D, KAUR B, OBULISAMY K, et al. Agrowaste to vanillin conversion by a natural *Pediococcus acidilactici* strain BD16[J]. Environmental Technology, 2017, 38(13–14): 1823–1834.
- [64] DIG D, LUZIATELLI F, NEGRONI A, et al. Metabolic engineering of *Pseudomonas fluorescens* for the production of vanillin from ferulic acid[J]. Journal of Biotechnology, 2011, 156(4): 309–316.
- [65] 赵煜涵, 郭俊江. 木质素的降解及其应用概述[J]. 胶体与聚合物, 2021, 39(2): 92–94. [ZHAO Y H, GUO J J. Overview of the degradation of lignin and its application[J]. Chinese Journal of Colloid & Polymer, 2021, 39(2): 92–94.]
- [66] VIRIOT C, SCALBERT A, LAPIERRE C. Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41(11): 1872–1879.
- [67] COLDEA T E, SOCACIU C, MUDURA E, et al. Volatile and phenolic profiles of traditional Romanian apple brandy after rapid ageing with different wood chips[J]. Food Chemistry, 2020, 320: 126643.
- [68] VAN L K A, PRENZLER P D, RYAN D, et al. Differentiation of wood derived vanillin from synthetic vanillin in distillates using GC/C-IRMS for $\delta^{13}\text{C}$ analysis[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2018, 32(4): 313–318.