

# GC-O 法在食品风味分析中的应用

张青, 王锡昌\*, 刘源

(上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

**摘要:** 气相色谱-嗅觉测量法(gas chromatography-olfactometry, GC-O)是一种从复杂的混合物中选择和评价气味活性物质的有效方法。本文简单介绍了它的发展、原理、四类强度分析方法及其在食品风味分析中的应用。

**关键词:** 气相色谱-嗅觉测量; 气味活性物质; 风味; 应用

## Applications of Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) in Food Flavor Analysis

ZHANG Qing, WANG Xi-chang\*, LIU Yuan

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Gas chromatography-olfactometry (GC-O) is an efficient tool to select and evaluate odor-active compounds from a complicated mixture. The development, principle and four analytical methods of intensity as well as its applications in food flavor were introduced in this paper.

**Key words:** gas chromatography-olfactometry (GC-O); odor active compound; flavor; application

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)03-0284-04

对于很多食品, 风味物质的组成和含量决定着这种其质量, 即风味是食品质量的重要指标之一。在过去的几十年间, 很多风味方面的检测技术得到了发展, 包括仪器检测(如 GC-MS)和感官检测(如 GC-O)<sup>[1]</sup>。它们被用来分析食品中的挥发性风味化合物的含量和强度大小。

在国内, 对于挥发性化合物的分析运用得最多的还是 GC-MS。但是, 食品中产生的大量挥发性化合物中, 只有小部分对风味有贡献, 且它们的含量和阈值都很低。对于静态顶空分析而言, 其顶空的挥发物浓度一般在  $10^{-11}$  至  $10^{-4}$ g/L, 但只有当挥发物浓度  $10^{-5}$ g/L 时才能被 MS 检测到, 也就是说 MS 只能检测出含量丰富的挥发性物质。而且, GC-MS 是一种间接的测量方法它无法确定单个的风味活性物质对整体风味贡献的大小。而气相色谱-嗅觉测量法(GC-O)却能解决上述问题。因为人的鼻子通常比任何物理检测器更敏感。人类鼻子所能感知到的食品基质中挥发物的强弱与挥发性化合物释放的程度及其本身的性质有关。因此, 从某一食品基质的所有挥发性化合物中区分出风味活性物质(或关键风味物质)成为风味分析的一项重要任务<sup>[2-4]</sup>。

### 1 GC-O 简介

GC-O法是将气相色谱的分离能力与人类鼻子敏感的嗅觉相联系, 从复杂的混合物中选择和评价气味活性物质的一种有效方法, 其中人的鼻子起到了检测器的强大作用。GC-O最早是在1964年由Fuller等提出的, 当时是以直接吸闻气相色谱毛细管柱的流出物这种最简单的形式进行的。到了1971年有人将GC流出组分与湿气相结合, 通过薄层层析后再进行吸闻。在20世纪80年代中期, 美国Acree和德国Ullrich的研究人员几乎同时使用定量稀释分析法来进行风味强度的评价<sup>[5-8]</sup>。而如今, GC-O已发展了许多更为先进的检测方法, 如时间-强度法(time-intensity methods)等。

GC-O的原理非常简单, 即在气相色谱柱末端安装分流口, 将经GC毛细管柱分离后得到的流出组分分流到检测器[如氢火焰离子检测器(FID)或质谱(MS)]和鼻子。当样品进入GC, 经由毛细管柱分离后, 流出组分被分流阀分成两路, 一路进入化学检测器(FID或MS), 另一路通过专用的传输线进入嗅探口。嗅探口通常是圆锥

收稿日期: 2008-02-11

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD05A03); 农业部“948”项目(2006-G43);

上海市重点学科建设项目(T1102); 上海市教委科研创新项目(08YZ117)

作者简介: 张青(1984-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: qzhang@stmail.shou.edu.cn

\* 通讯作者: 王锡昌(1964-), 男, 教授, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: xcwang@sohu.com.cn

形的,由玻璃或者聚四氟乙烯制成。加热传输线是为了防止被分析物在毛细管壁上凝结。将湿润的空气加入到流出组分中,可防止评估人员的鼻黏膜脱水。

## 2 GC-O 的分析方法

为了更好地收集和处理 GC-O 数据,评价单个风味活性物质对样品整体风味的贡献大小,使结果更具重复性和可靠性,研究人员在过去的几十年间,开发了很多先进的检测技术对香味进行强度分析。GC-O 的这些强度分析方法又被称为嗅探技术(sniffing),通常有四类<sup>[9]</sup>,包括稀释法(dilution analysis methods)、频率检测法(detection frequency methods)、峰后强度法(posterior intensity methods)以及时间强度法(time-intensity methods)<sup>[3,10]</sup>。也有文献将嗅探技术分成三类,即频率检测法、阈值稀释法以及直接强度法<sup>[4]</sup>。

### 2.1 稀释分析法

稀释法是基于连续稀释一种气味直到在嗅探口感觉不到它的存在,即逐步稀释到嗅觉阈值的方法。例如:Charm 分析(combined hedonic aroma response measurement)<sup>[7]</sup>和芳香萃取物稀释分析(aroma extraction dilution analysis, AEDA)<sup>[11]</sup>。

AEDA 法在 GC-O 的检测分析中是比较常用的。萃取物通常按照 1:2、1:3、1:5 或 1:10 的稀释度进行稀释(R),然后再用气味测量法对每个稀释度的样品进行评价。评价员只需说明在哪个稀释度下仍然能闻到被分析物,并描述该气味。稀释因子(FD 因子)就是一种风味化合物所能感知到的最后的一个稀释度。当萃取物按照一定的稀释度稀释( $P=P_0, 1, 2, 3, \dots$ )倍之后,所得到的 FD 因子就是  $R^P$ <sup>[4]</sup>。AEDA 的分析结果可以用图来表示,它的横坐标是保留时间(RT)或保留指数(RI),纵坐标是稀释因子(FD Factor),常用对数( $\lg_R$  FD)表示。这种方法已用于许多不同食品中风味活性物质的强度测定,包括烤牛肉、小麦面包、鸡汤、大豆油等食品中<sup>[3]</sup>。AEDA 法除了将萃取物(液体)梯度稀释后进行分析外,也有使用静态顶空进行分析的。稀释步骤可以改为不断降低顶空体积<sup>[12]</sup>或者改变分流比<sup>[13]</sup>。

### 2.2 频率检测法

频率检测法最早是由 Linssen 等提出的,采用一组评价员(通常需要 6 至 12 个评价员组成一个评价小组)同时记录一种气味化合物,并用能够感知这种气味的所有评价员数目(检测频率)来表示此种气味的强度<sup>[14]</sup>。在由频率检测法得到的谱图中,保留时间(RT)或保留指数(RI)为横坐标,能感知到一种气味化合物的所有评价员的数目为纵坐标。

频率检测法最大的优点就是简便、耗时少,对评价员的要求不高。这种方法的重复性比较好,结果能

够反映各评价员的敏感性差异。但此方法得到的结果只与给定浓度的被分析物中的风味物强度有关。如果被分析物的浓度总是高于检测阈值以至于所有评价员都能感觉到,那么某一给定的样品在不考虑其浓度的情况下,可能也会得到相同的结果<sup>[4]</sup>。

### 2.3 峰后强度法

峰后强度法就是出峰后一定时间内记录气味强度变化的方法<sup>[15]</sup>。它将感觉到的气味强度在标度上进行评估,常见的有 5~9 点标度法。以 5 点标度法为例:1-极弱;2-弱;3-中等;4-强;5-极强<sup>[16]</sup>。此方法对于感官评价员来说属于中等难度,在使用标度时会有很大的差异。

### 2.4 时间强度法

时间强度法是基于气味强度的数量估测,评估人员记录气味强度和持续时间并描述该气味<sup>[15]</sup>,例如:OSME 和指距法(Finger Span)。

OSME 最早是由 McDaniel 等提出的<sup>[17]</sup>。评价员使用可变电阻,通过上面指针的移动来确定强度。同时,指针所在位置的电脑图解反馈将帮助评价员调整到感知的强度位置。由此方法得到的风味谱图与传统检测器得到的谱图相似。它的横坐标是保留时间,纵坐标是风味强度,峰的高度对应于最大的气味强度,而峰宽则对应于气味的持续时间<sup>[4]</sup>。

指距法是在 1967 年由 Ekman 等提出的。Etievant<sup>[18]</sup>等还利用指距与跨通道匹配相结合(cross-modality matching with the finger span, GC-O-FSCM)的方法对气味强度进行了评价。它使得拇指和其他手指之间的距离能够得到精确地测量和采集。两手指间的距离正比于气味的强度,而滑动的时间对应于气味的持续时间。

## 3 GC-O 在食品风味分析中的应用

GC-O 具有很广泛的适用性,它在香精、香水的分析方面展示了强大的检测功能。由于 GC-O 拥有一些 GC-MS 所没有的优点,它受到了越来越多的重视,尤其是在食品风味分析方面。

### 3.1 GC-O 在肉品风味中的应用

Machiels 等<sup>[19]</sup>利用 GC-O 对两种商品爱尔兰牛肉(标签上分别为“传统”和“有机”)的挥发性风味化合物作了评价,并通过 GC-MS 鉴定了这些风味化合物。由八名感官评价员组成一个评价小组,使用 GC-O 中的频率检测法对风味物质进行了强度分析,同时描述了该气味。81 种挥发性风味物质被鉴定出来,其中的 11 种具有气味活性(第二种样品中具有 14 种气味活性物质)。两种肉共有的风味物质为:甲硫醇、二甲基硫醚、2-丁酮、乙酸乙酯、2-甲基丁醇和 3-甲基丁醇、一种未知化合物、2-辛酮、正癸醛以及苯并噻唑。根据频率检

测, 气味特征以及挥发性风味物质本身这三方面综合考虑, 两种肉品存在着很大的差异。但就频率检测法所得到的结果来看, 风味活性物质除了二甲基硫醚外, 其他的在统计学上没有显著性差异。

田怀香等<sup>[20]</sup>采用自制简易的 Sniffing 装置, 接 GC-MS 的毛细管柱出口, 对顶空固相微萃取法提取的金华火腿的风味物质进行柱后感官嗅闻评价, 有效地将原样品风味轮廓中的 88 种化合物精简到 22 种比较重要的化合物, 其中包括 9 种醛类化合物(2-甲基丙醛、3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、己醛、庚醛, 3-甲硫基丙醛、辛醛、苯乙醛、壬醛)、4 种含硫化合物(甲硫醇、二甲基二硫化物、3-甲硫基丙醛、二甲基三硫化物)及 3 种杂环化合物(甲基-吡嗪、2, 6-二甲基吡嗪、2-戊基味喃), 它们是金华火腿的重要的风味化合物, 对金华火腿的整体风味贡献很大。

### 3.2 GC-O 在乳品风味中的应用

GC-O 在乳制品方面的应用包括对新鲜牛奶和加热牛奶、奶酪、酸奶以及牛奶巧克力等的风味研究分析。

Frank 等<sup>[21]</sup>通过固相微萃取对乳酪的香味进行浓缩, 并通过 GC-MS 和 GC-O 分析了 Cheddar、Hard grating 以及 Mold-ripened blue 三种乳酪的风味。他们将鉴定出的挥发性化合物与之前报道的进行比较发现: 由嗅觉测量法鉴定出的组分中甲硫醇、蛋硫醛、二甲基三硫化物以及丁酸存在于所有的乳酪中。这说明它们是形成基本的乳酪风味物质。在某些乳酪中发现, 大量的烷基-吡嗪酰胺传递烤坚果味、生马铃薯味以及类似肉汤的风味。总的来说, 由嗅觉测量法鉴定的风味活性物质与文献报道的相一致。

### 3.3 GC-O 在酒类风味中的应用

国外对于酒类风味的分析主要集中在葡萄酒。Gomez-Miguez 等<sup>[22]</sup>利用 GC-O 法以及定量分析技术对产自西班牙南部的一种新鲜的白葡萄酒(Zalema wine)的挥发性组分进行了研究。这是利用嗅觉测量法对该葡萄酒品种风味的首次报道。经过定量化学分析得出的 71 种挥发物中, 有 23 种化合物的浓度是高于嗅觉阈值的。依据气味活性值(OAVs), 大多数有效的气味化合物是发酵物质, 主要是脂肪酸和它们的乙酯。其中的两种酮、两种醇、三种挥发性的硫醇以及两种羰基化合物的 OAVs 都大于 1。GC-O 的分析结果验证了上述结果, 表明五种酯类(乙酸异戊酯、己酸乙酯、丁酸乙酯、异戊酸乙酯和辛酸乙酯)以及异戊醇和 - 突厥烯酮是 Zalema 葡萄酒最有效的气味物质。

Campo 等<sup>[23]</sup>对 Malvazia、Boal、Verdelho 以及 Sercial 这四种标志性的葡萄品种所酿制的马德拉白葡萄酒的风味谱图进行了感官、GC-O 以及 GC-MS 的分析研究。这些葡萄酒的风味特征有: 糖果味、坚果味、焦香味以

及干果味等。利用 GC-O 法分析了动态顶空技术得到的萃取物。他们将马德拉葡萄酒的 GC-O 谱图与三种新鲜的单一品种(Malvazia、Boal、Verdelho)酿制的白葡萄酒谱图进行比较, 使得鉴定出与马德拉葡萄酒相关的气味物质成为可能。他们指出, GC-O 是一种筛选存在于葡萄酒中的活性气味物质的有效工具。同样, Falcao 等<sup>[24]</sup>也对产自巴西葡萄酒风味进行了研究, 首次使用 GC-O 法对该品种的葡萄酒进行风味分析。通过频率检测法发现了 14 种重要的风味物质, 其中的 9 种被 GC-MS 鉴定出来。

### 3.4 GC-O 在水果风味中的应用

水果风味是一种由特征挥发性化合物组成的混合物, 包括碳水化合物(糖: 葡萄糖、果糖和蔗糖)、有机酸(柠檬酸和苹果酸)以及一些常见的无特征气味的挥发性酯类。单独的某种水果可能就有超过 100 种不同的挥发性物质, 当然, 这也会随着水果不同的成熟阶段而发生变化。是相对于其他食物, 水果中的挥发物含量比较高, 一般超过  $30 \times 10^{-6} \text{g/g}$ , 这就能使分析研究得到一定的简化<sup>[25]</sup>。

Guillot 等<sup>[26]</sup>按照感官特性选择了六种杏品种进行实验, 它们分别是 Iranien、Orangered、Goldrich、Hargrand、Rouge du Roussillon 以及 A4025。它们的风味强度通过顶空固相微萃取-气味测量法(HS-SPME-Olfactometry)进行确定和分级。在这六个杏品种中, HS-SPME-GC-MS 鉴定出了 23 种常规的挥发物。最终, 通过 HS-SPME-GC-O 分析发现乙酸乙酯、柠檬烯、r-癸内酯等 10 种化合物是对杏风味有贡献的。

### 3.5 GC-O 在茶风味中的应用

窦宏亮等<sup>[27]</sup>采用顶空固相微萃取(HS-SPME)提取绿茶和绿茶鲜汁饮料样品中的挥发性成分, 用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)结合气相色谱-嗅觉测量法(GC-Olfactometry), 根据挥发性化合物的保留指数(RI), 鉴定了绿茶和饮料中的主要风味化合物, 并对二者香气组成及相对含量差异进行了比较。结果表明, 采用 GC-MS/GC-Olfactometry/RI 法能有效地鉴别和确认绿茶和绿茶鲜汁饮料中香味化合物的类别、香味强度及其对总体香气的贡献。

Schieberlea 等<sup>[28]</sup>采用芳香萃取物稀释分析法对红茶茶叶的挥发物进行分析。在 25 种气味活性化合物中(它们的 FD 值范围在 16 ~ 256), 芳樟醇、-紫罗兰酮、3-羟基-4,5-二甲基-2(5H)-呋喃酮、苯乙酸等六种物质含有最高的风味稀释因子(FD)。定量分析结果表明, 所浸提的红茶汁显示了相同的气味。但用热水浸提可以得到更多的风味物质, 尤其是醇类。

除了以上提到的五个方面外, 也有人利用 GC-O 分析了咖啡<sup>[25]</sup>、豆类<sup>[29]</sup>、辣椒<sup>[30]</sup>等食品的风味。

## 4 总结和展望

近年来,食品风味方面的研究越来越受到人们的重视,尤其是国外,他们通常都会将经过前处理(如同时蒸馏萃取、固相微萃取等)的样品进行GC-MS以及GC-O分析,得到其中的关键挥发性化合物。

GC-O法是研究食品风味的一个有力工具,对鉴别特征香味化合物、香味活性化合物、具有有效香味的化合物及用来确定香味化合物的香味强度和作用大小都是非常有用的。但是它也有很多不足之处,例如:频率检测法耗时最少,最容易进行,但准确度不高;稀释法在评判化合物对样品整体风味贡献大小方面很具说服力,但是工作量很大、耗时,特别是对于一个比较大的评价小组来说;强度法是最难进行的,对评价员的要求很高。另外,每一个评价员的嗅觉灵敏度是有差异的,即使是同一天的不同时段也会有所不同,而且不同的评价员对同一种风味的感知也有差异。

针对上述不足之处,可以结合几种分析方法同时对食品基质进行风味分析,使结果更可靠。至于评价员,可以经过专业的闻香培训,毕竟拥有一个好的评价小组是进行GC-O分析的前提。

## 参考文献:

- [1] 夏玲君,宋焕祿. 香味检测技术——GC/O的应用[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 83-87.
- [2] FRIEDRICH J E, ACREE T E. Gas chromatography olfactometry(GC/O) of dairy products[J]. International Dairy Journal, 1998, 8(3): 235-241.
- [3] VAN RUTH S M. Methods for gas chromatography- olfactometry: a review[J]. Biomolecular Engineering, 2001, 17(4/5): 121-128.
- [4] PLUTOWSKA B, WARDENCKI W. Application of gas chromatography-olfactometry (GC-O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages: a review[J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 449-463.
- [5] FULLER G H, STELLENCAMP R, TISSERAND G A. The gas chromatography with hurnen sensor: perfume model[J]. Acad Sci, 1964, 116: 711-724.
- [6] ACREE T E, BUTTS R M, NELSON P R, et al. Sniffer to determine the odor of gas chromatographic effluents[J]. Anal Chem, 1976, 48(12): 1821-1822.
- [7] ACREE T E, BARNARD J, CUNNINGHAM D G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents[J]. Food Chemistry, 1984, 14(4): 273-286.
- [8] ULLRICH F, GROUCH W. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid[J]. Z Lebensm Unters Forsch, 1987, 184(4): 277.
- [9] HAARSE H, VANDEHEIJ D G. Trends in flavour research[M]. Amsterdam: Elsevier Saence Publishers, 1994: 211-220.
- [10] VAN RUTH S M, CATHERINE H O. Evaluation of three gas chromatography- olfactometry methods: comparison of odour intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data[J]. Food Chemistry, 2001, 74: 341-347.
- [11] GROSCH W. Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs) [J]. Flavour and Fragrance Journal, 1994, 9(4): 147-158.
- [12] GUTH H, GROSCH W, ÉTIEVANT P, et al. Bioflavour' 95[M]. Dijon: Institut National de la Recherche Agronomique, 1995:201-205.
- [13] KIM T H, LEE S M, KIM X S, et al. Aroma dilution method using GC injector split ratio for volatile compounds extracted by headspace solid phase microextraction[J]. Food Chemistry, 2003, 83: 151-158.
- [14] LINSSEN J P H, JANSSENS J L G M, ROOZEN J P, et al. Combine gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages[J]. Food Chemistry, 1993, 46(4): 367-371.
- [15] 刘亚琼,朱运平,乔支红. 食品风味物质分离技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(6): 181-183.
- [16] ĐACMPORA ZELLNER B, LO PRESII M, SOARES BARAFA L E, et al. Evaluation of leaf-derived extracts as an environment ally sustainable source of essential oils by using gas chromatography- mass spectrometry and enantioselective gas chromatography-olfactometry[J]. Anal Chem, 2006, 78: 883-890.
- [17] SANCHEZ N B, LEDERER C L, NICKERSON G B, et al. Food science and human nutrition[M]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992: 403-426.
- [18] ÉTIEVANT P X, CALLEMENT G, LANGLOIS D, et al. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method [J]. Agric Food Chem, 1999, 47: 1673-1680.
- [19] MACHIELS D, VAN RUTH S M, POSTHUMUS M A, et al. Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats[J]. Talanta, 2003, 60(4): 755-764 .
- [20] 田怀香,王璋,许时婴. GC-O法鉴别金华火腿中的风味活性物质[J]. 食品与发酵工业, 2004, 12: 117-123.
- [21] FRANK C O, OWEN C M, PATTERSON J. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds[J]. Lebensm Wiss U Technol, 2004, 37: 139-154.
- [22] JOSÉGÓMEZ-MÍGUEZ M, CACHO J F, FERREIRA V, et al. Volatile components of Zalema white wines[J]. Food Chemistry, 2007, 100: 1464 -1473.
- [23] CAMPO E, FERREIRA V, ESUOERO A, et al. Quantitative gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines[J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 563: 180-187.
- [24] FÁLCAO L D, De REVEL G, ROSIER J P, et al. Aroma impact components of brazilian cabernet sauvignon wines using detection frequency analysis (GC-olfactometry)[J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 497-505.
- [25] DACAMPORA Z B, DVGO P, DUGO G, et al. Gas chromatography - olfactometry in food flavour analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1186(1/2): 123-143.
- [26] GUILLOT S, DEYIAVI L, BUREAU S, et al. Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase micro extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2006, 96:147-155.
- [27] 窦宏亮,李春美,顾海峰,等.采用HS-SPME/GC-MS/GC-Olfactometry/RI对绿茶和绿茶鲜汁饮料香气的比较分析[J]. 茶叶科学, 2007, 27(1): 51-60.
- [28] SEHIEBERLE P, SCHUH C. Aroma compounds in black tea powders of different origins-changes induced by preparation of the infusion[J]. Developments in Food Science, 2006, 43: 151-156.
- [29] PÉREZ-SILVA A, ODOUX E , BRAT P, et al. GC-MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans [J]. Food Chemistry, 2006, 99: 728-735.
- [30] VAN RUTH S, BOSCAINI E, MAYR D, et al. 干辣椒风味物质气相色谱及质谱方法的研究[J]. 国外瞭望, 2007(1): 41-47.