

10种特级酱油香气差异分析

史伊格, 蒲丹丹, 勇倩倩, 黄实宽, 陈洪卫, 张玉玉

Characterization of the Differential Aroma Compounds among 10 Different Kinds of Premium Soy Sauce

SHI Yige, PU Dandan, YONG Qianqian, HUANG Shikuan, CHEN Weihong, and ZHANG Yuyu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040021>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

气相色谱-嗅闻/质谱联用分析酵母菌发酵酱油中香气物质

Analysis of Aroma Compounds in Yeast-fermented Soy Sauce by GC-O/MS

食品工业科技. 2020, 41(16): 259-265 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.041>

固相微萃取气相色谱质谱联用法分析6个食用玫瑰品种的芳香成分

Analysis of aromatic components of six edible rose varieties by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry

食品工业科技. 2018, 39(2): 261-266 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.02.049>

顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析啤特果挥发性风味物质

Analysis of volatile compounds in Piteguo by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

食品工业科技. 2017(20): 266-270 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.20.047>

基于固相微萃取气质联用对贵州红茶香气成分特征的研究

Study on Aroma Composition Characteristics of Guizhou Black Tea by Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(13): 304-316 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020080048>

顶空固相微萃取-全二维气相色谱/飞行时间质谱测定三种芒果香气成分

Detection of Aroma Components in Three Cultivars of Mango with Headspace Solid Phase Microextraction-Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatograph/Time of Flight Mass Spectrometer

食品工业科技. 2021, 42(15): 218-226 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070275>

顶空固相微萃取-气质联用分析不同芒果品种香气成分差异

Analysis and Comparison of Aroma Components in Different Mango Varieties by Headspace-solid-phase Microextraction-Gas Chromatograph-Mass Spectrometer

食品工业科技. 2021, 42(11): 211-217 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060377>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

史伊格, 蒲丹丹, 勇倩倩, 等. 10 种特级酱油香气差异分析 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 250–260. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040021

SHI Yige, PU Dandan, YONG Qianqian, et al. Characterization of the Differential Aroma Compounds among 10 Different Kinds of Premium Soy Sauce[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 250–260. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040021

· 分析检测 ·

10 种特级酱油香气差异分析

史伊格^{1,2}, 蒲丹丹^{1,2}, 勇倩倩³, 黄实宽³, 陈洪卫³, 张玉玉^{1,2,*}

(1. 中原食品实验室, 北京工商大学, 北京 100048;

2. 中国商业联合会味科学重点实验室, 北京工商大学, 北京 100048;

3. 烟台欣和企业食品有限公司, 山东烟台 264006)

摘要: 研究不同酱油的香气差异有利于从原料和酿造工艺角度加强其风味品质控制和质量提升。采用固相微萃取和固相萃取与气相色谱-质谱联用法对 10 种特级酱油 (CB、HT1、HT2、LH、LJJ1、LJJ2、QH、XH1、XH2、WZ) 中的挥发性香气成分进行定性和定量分析, 结合感官评价、香气活性值 (Odor activity value, OAV) 和偏最小二乘回归分析 (Partial least squares regression, PLSR) 进一步分析不同特级酱油的香气差异及其贡献。结果表明, 在 10 种特级酱油中共检测到 86 种香气化合物, 其中 44 种化合物在 10 种酱油中共有。共 30 种香气物质的 OAV ≥ 1 , 其中 5-乙基-4-羟基-2-甲基-3 (2H)-呋喃酮的 OAV (373–4698) 值最高, 其次为 4-甲氧基-2,5-二甲基-3 (2H)-呋喃酮 (0–1473)。WZ 酱油的烟熏香较强, 其酚类和酮类化合物种类最多。CB 酱油整体香气强度最小, 乙醇 (25.775 $\mu\text{g/L}$) 远低于其余 9 种酱油; 但其吡嗪类物质含量最高 (182.796 $\mu\text{g/L}$), 其中 2,6-二甲基吡嗪含量为 66.256 $\mu\text{g/L}$ 。XH1 酱油的酱香与醇香较为强烈, 其乙醇 (147.257 $\mu\text{g/L}$) 含量最高, 酚类物质含量同样较高, 其中 4-乙基-2-甲氧基苯酚为 18240.479 $\mu\text{g/L}$ 。XH2 酱油的麦芽香强烈。LH 酱油的异丁醇 (51.223 $\mu\text{g/L}$) 和 2,3-丁二醇 (57921.798 $\mu\text{g/L}$) 含量在所检测样品中均为最高。HT1 酱油中 1-辛烯-3-醇 (61.219 $\mu\text{g/L}$) 含量最高。综合 OAV 与 PLSR 分析, 乙酸乙酯、3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮、4-乙基愈创木酚和 4-乙基苯酚为 10 种特级酱油香气差异的关键成分。

关键词: 特级酱油, 固相微萃取, 固相萃取, 气相色谱-质谱联用, 香气活性化合物

中图分类号: TS264.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)04-0250-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040021



本文网刊:

Characterization of the Differential Aroma Compounds among 10 Different Kinds of Premium Soy Sauce

SHI Yige^{1,2}, PU Dandan^{1,2}, YONG Qianqian³, HUANG Shikuan³, CHEN Hongwei³, ZHANG Yuyu^{1,2,*}

(1. Food Laboratory of Zhongyuan, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Key Laboratory of Flavor Science of China General Chamber of Commerce, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

3. Yantai Shinho Food Co., Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract: Investigation of the aroma differences among different kinds of soy sauces is beneficial for controlling their flavor quality and processing improvement from the perspectives of raw materials and brewing techniques. The aroma compounds in ten premium soy sauces (CB, HT1, HT2, LH, LJJ1, LJJ2, QH, XH1, XH2, WZ) were qualitative and quantitative analyzed by solid phase extraction and solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The contributions of aroma compounds to the aroma characteristics of premium soy sauce was

收稿日期: 2023-04-06

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目 (32122069); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (32102118); 北京高校卓越青年科学家计划项目 (BJJWZYJH01201910011025)。

作者简介: 史伊格 (1999–), 女, 硕士研究生, 研究方向: 香精香料, E-mail: jennyshiye@163.com。

* 通信作者: 张玉玉 (1982–), 女, 博士, 教授, 研究方向: 香精香料, E-mail: zhangyuyu@btbu.edu.cn。

determined by sensory evaluation, calculation of aroma activity value (OAV) and partial least squares regression analysis (PLSR). A total of 86 volatile compounds were identified in 10 premium soy sauces, 44 of them were both detected in 10 soy sauce. The 30 aroma compounds with OAV ≥ 1 were detected, the 5-ethyl-4-hydroxy-2-methyl-3(2H)-furanone showed the highest OAV (373~4698), followed by 4-methoxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (0~1473). WZ soy sauce had a strong smoky aroma due to the highest variety of phenolic and ketone compounds. The overall aroma profile of CB soy sauce was the weakest with the lowest concentration of ethanol (25.775 $\mu\text{g/L}$), but the highest content of pyrazine compounds (182.796 $\mu\text{g/L}$), of which 2,6-dimethylpyrazine was 66.256 $\mu\text{g/L}$. XH1 soy sauce had a strong sauce aroma and alcoholic notes, due to the highest ethanol content (147.257 $\mu\text{g/L}$) and higher phenolic content, for example the concentration of 4-ethyl-2-methoxyphenol (18240.479 $\mu\text{g/L}$) was the highest. XH2 soy sauce had a strong malty aroma. The content of 2-methyl-1-propanol (51.223 $\mu\text{g/L}$) and 2,3-butanediol (57921.798 $\mu\text{g/L}$) in LH soy sauce was the highest among others. The content of 1-octen-3-ol (61.219 $\mu\text{g/L}$) in HT1 soy sauce was the highest. Combination of OAV and PLSR analysis confirmed the ethyl acetate, 3-hydroxy-2-butanone, 2,3-butanediol, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, 4-methoxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone, 4-ethylguaiacol and 4-ethylphenol were the key aroma-active components that contribute to the aroma differences among 10 kinds of premium soy sauce.

Key words: premium soy sauce; solid-phase microextraction (SPME); solid phase extraction (SPE); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); aroma-active compounds

酱油是以大豆和/或脱脂大豆、小麦和/或小麦粉和/或麦麸等为主要原材料,经过微生物发酵制成的液体调味品^[1],在我国已有 3000 多年的历史。酱油的香气已经被研究了 100 多年,检测出 1000 多种芳香化合物,包括醇类、醛类、酯类、酸类、吡嗪类、呋喃类、酮类、酚类、烷烃类等化合物,为酱油贡献醇香、麦芽、焦糖、烟熏、花和水果等香气^[2]。氨基酸态氮是酱油发酵过程中的主要产物,是酱油鲜味的主要来源,也是衡量酱油品质的重要标准。国标规定,特级酱油可溶性无盐固形物 $\geq 15 \text{ g/100 mL}$,全氮 $\geq 1.5 \text{ g/100 mL}$,氨基酸态氮含量 $\geq 0.8 \text{ g/100 mL}$ ^[3]。作为调味品,酱油香气的好坏是衡量其质量的重要指标,同样也是影响消费者是否购买的关键要素。特级酱油具有浓郁的酱香,鲜美醇厚,深受消费者喜爱。但各地消费者的生活习惯和对食品的口味要求不同,酱油也相应具有一定的地域性。明确特级酱油的风味组成、特级酱油之间的风味差异以及特级酱油与其他酱油的风味差异,有利于特级酱油风味品质的控制以及从香气感知角度建立品质区分模型。然而对于特级酱油间的风味差异分析还较少,所以明确特级酱油间的香气特征差异是当前急需解决的行业问题。

目前,气相色谱-串联质谱(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)是检测酱油中的芳香化合物的常用检测方法。液液萃取结合溶剂辅助风味成分蒸发(Solvent assistant flavor evaporation, SAFE)萃取是常用的挥发性成分分离富集方法,该方法制备的芳香提取物具有更为自然的香气特征, Wang 等^[4]采用 SAFE 萃取法在酱油中共检测出 55 种 FD 因子 >8 的关键气味活性化合物。然而,SAFE 耗时费力,并且使用大量有毒有机溶剂^[5]。还可以采用其他提取方法,如搅拌棒吸附萃取(Stir bar sorptive extraction, SBSE)^[6]、同时蒸馏萃取(Simultaneous distillation extraction, SDE)^[7]、固相微萃取(Solid-phase microextraction, SPME)和固相萃取(Solid-

phase extraction, SPE)等。在酱油中,SBSE 捕获了更多较难挥发的化合物,包括乙酸苯乙酯和肉桂酸乙酯等^[6]。Feng 等^[7]采用 SDE 方法检测到酱油中 26 种香气活性化合物。SPME 是近年来提出的所有技术中最流行的。该方法不需要有机溶剂,速度快,操作简单,成本低。SPE 可以将样品提取、浓缩和纯化集成在一个 SPE 筒中,具有操作简单、溶剂消耗少、易于标准化和重复性良好等优点,可以分离鉴定出更多的酯、醇和高沸点化合物^[7],对酸的干扰也更少^[8]。

当前市场酱油种类丰富多样,不同品牌间感官品质差异明显,通过研究不同酱油间的风味差异有利于从分子角度阐明其关键呈香物质及其对香气特征的贡献,为酱油品质控制和品质提升提供科学依据。因此,本文选取 10 种不同品牌的高盐稀态发酵特级酱油作为样品,结合 SPME 和 SPE 两种萃取方法提取酱油中香气化合物,并通过 GC-MS 对特级酱油香气化合物进行鉴定。通过对挥发性香气物质定量分析和香气化合物的香气活性值(Odor activity values, OAV)计算,对比不同香气化合物对酱油香气的贡献,随后进一步对香气活性化合物进行偏最小二乘回归分析(Partial least squares regression, PLSR),确定特级酱油香气化合物与香气属性的相关性,明确不同酱油之间的差异组分及其贡献,旨在为特级酱油生产过程中香气的调控及产品工艺改进提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

特级酱油 北方市场销售量较高的 10 种,均购买于网上商城。10 种酱油的简称、品牌信息以及主要原料和配料如表 1 所示;二氯甲烷(99.9%)、甲醇(99.9%) 色谱级,默克化学公司(中国上海);2-甲基-3-庚酮(99%)、5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)呋喃酮($\geq 98\%$) 分析级,麦克林生化公司(中国上海);

表 1 10 种特级酱油品牌信息及其原理和配料

Table 1 Information on 10 brands of extra soy sauce and their principles and ingredients

酱油名称简称	酱油品牌	主要原料和配料
CB	厨邦特级酱油	水, 非转基因黄豆、小麦粉、食用盐, 谷氨酸钠, 焦糖色, 果葡糖浆, 白砂糖, 5'-呈味核苷酸二钠, 山梨酸钾, 甘草酸三钾, 酵母抽提物, 食用香料
LJJ1	李锦记特级酱油	水, 非转基因脱脂黄豆, 食用盐(未加碘), 小麦, 小麦粉, 白砂糖, 谷氨酸钠, 果葡糖浆, 酵母抽提物, 焦糖色, 乳酸, 5'-呈味核苷酸二钠, 山梨酸钾, 三氯蔗糖
LJJ2	李锦记特级酱油	水, 非转基因黄, 食用盐, 小麦粉, 焦糖色, 果葡糖浆, 谷氨酸钠, 酵母抽提物, 5'-呈味核苷酸二钠, 三氯蔗糖
XH1	欣和特级酱油	水, 非转基因脱脂大豆, 食用盐, 小麦, 白砂糖, 谷氨酸钠, 酵母抽提物, 5'-肌苷酸二钠, 甘草酸一钾
XH2	欣和特级酱油	水, 非转基因脱脂大豆, 食用盐, 小麦, 白砂糖, 谷氨酸钠, 酵母抽提物, 5'-肌苷酸二钠, 甘草酸一钾, 三氯蔗糖
LH	鲁花特级酱油	水, 非转基因脱脂大豆, 小麦, 食用盐(未加碘), 白砂糖, 谷氨酸钠, 酵母抽提物, 5'-肌苷酸二钠, 三氯蔗糖
WZ	万字特级酱油	水, 非转基因黑豆, 非转基因脱脂大豆, 小麦, 食用盐, 谷氨酸钠, 果葡糖浆, 白砂糖, 酵母抽提物, 呈味核苷酸二钠, 柠檬酸钠, 甘草酸铵
QH	千禾特级酱油	水, 非转基因脱脂大豆, 小麦、食用盐, 谷氨酸钠, 白砂糖, 酵母抽提物, 呈味核苷酸二钠, 5'-肌苷酸二钠, 三氯蔗糖
HT1	海天特级酱油	水, 非转基因黄豆, 食用盐, 小麦, 白砂糖, 谷氨酸钠, 酵母抽提物, 5'-肌苷酸二钠, 5'-呈味核苷酸二钠, 三氯蔗糖
HT2	海天特级酱油	水, 非转基因黄豆, 食用盐, 小麦, 谷氨酸钠, 白砂糖, 酵母抽提物, 5'-呈味核苷酸二钠, 5'-肌苷酸二钠, 苯甲酸钠, 三氯蔗糖

2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮(≥98%) 分析级, Sigma-Aldrich(德国斯坦海姆); 乙酸乙酯(分析级)、4-乙基-2-甲氧基苯酚、C6~C28 正链烷烃混合物标准(≥97%) 色谱级, Sigma(中国, 上海); 无水硫酸钠(99.9%) 分析级, 国药集团化学试剂有限公司(中国北京); 54 种香气轮廓 法国 Le Nez du Vin®; 高纯氮气(99.999%) 北京双泉天缘工业气体有限公司。

8890 GC-5977B GC/MSD 气相色谱-质谱联用仪配置三合一自动进样器、固相微萃取萃取头(85 μm CRA/PDMS)、LiChrolut EN 固相萃取小柱 安捷伦科技有限公司; T-403 电子分析天平 北京天林恒泰科技有限公司; EYELAN-1100 旋转蒸发仪 东京理化器械株式会社; BF2000 氮吹仪 北京八方世纪科技有限公司; CYLDZ-6 分液漏斗立式摇床 北京国环高科自动化技术研究所。

1.2 实验方法

1.2.1 顶空固相微萃取(HS-SPME)香气成分萃取 将 4 mL 酱油样品移入 20 mL SPME 专用样品瓶, 加入 0.70 g NaCl。样品在 45 ℃ 水浴中加热平衡 20 min。随后在相同温度下采用萃取头进行顶空萃取 40 min。萃取头使用前 250 ℃ 解析 10 min, 采用脉冲不分流模式^[9]。添加 10 μL 2-甲基-3-庚酮(0.10 mg/mL, 溶剂为甲醇)。所有样品重复三次。

1.2.2 固相萃取(SPE)香气成分萃取 取 30 mL 酱油以 1:1.5 比例用 45 mL 二氯甲烷进行液液萃取。加入 30 μL 混合内标(2-辛醇, 5.00 mg/mL; 1,2-二氯苯, 5.40 mg/mL; 2-甲基-3-庚酮, 4.60 mg/mL; 2-十一烷酮, 4.00 mg/mL)于分液漏斗内, 以 290 次/min 的速率萃取 10 min。重复以上步骤 2 次。加入无水硫酸钠于-18℃ 冷冻过夜除水。25 ℃ 旋蒸浓缩至约 3~5 mL, 然后先将 SPE 小柱分别用 10 mL 甲醇和去离子水活化。将浓缩提取物以 2 mL/min 的速度通过 LiChrolut EN 小柱, 3 mL 二氯甲烷洗脱样品^[10]。随后, 将洗脱下的液体过 0.22 μm 有机滤膜到分析瓶

中, 氮吹浓缩至 1 mL。最后, 对浓缩提取物进行挥发性成分分析。所有样品重复三次。

1.2.3 感官评价 从实验室招募了 8 名无鼻炎、嗅觉正常的感官评价小组成员, 评价人员都有一定的感官评价经验, 且熟悉定量描述性感官评价方法(Quantitative descriptive analysis, QDA)。首先让评价人员熟悉并识别 54 种香气轮廓(Le Nez du Vin®), 随后通过对随机呈递的不同香气特征样品进行评价训练, 能够正确识别随机样品香气特征的评价人员进行酱油样品评价环节^[10]。通过感官描述词的频率统计结果和评价小组讨论, 确定酱油的 7 种香气特征: 酱香、焦糖香、烟熏香、烤土豆香、麦芽香、醇香、酸香。在 25 ℃ 条件下, 将 10 种特级酱油装在无味的透明塑料瓶中(10 mL), 并对塑料瓶随机编码 3 位数字。要求评价人员将 7 个给定香气轮廓进行强度打分(1~3, 微弱; 4~6, 中等; 7~9, 较强)。

1.2.4 GC-MS 分析条件

1.2.4.1 GC 条件 色谱柱: DB-WAX 石英毛细柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 起始温度为 35 ℃ 保持 1 min, 以 4 ℃/min 速率上升到 100 ℃ 后保持 1 min; 2 ℃/min 速率上升至 170 ℃ 后保持 1 min; 5 ℃/min 速率上升至 220 ℃ 后, 保持 1 min; 载气(He, 99.999%)流速 1.00 mL/min, 压力 2.4 kPa, SPME 采取脉冲不分流, SPE 分流比为 20:1, 进样量 1 μL。

1.2.4.2 MS 条件 质谱条件: 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 ℃; 离子源温度 250 ℃; 质量扫描范围 m/z 35~550; 扫描模式为全扫描; 调谐文件为标准调谐。

1.2.4.3 定性定量分析 定性定量方法: GC-MS 数据比对 NIST 20 数据库进行检索。化合物的定性采用比较 MS 数据库、保留指数(Retention index, RI)、标准品。RI 计算公式如下, 在相同的色谱条件下, 以正构烷烃(C6~C28)的保留时间为标准, 计算各化合物的 RI 值。

$$RI = 100 \times \left[\frac{(\lg t_{(x)} - \lg t_{(i)})}{\lg t_{(i+1)} - \lg t_{(i)}} + n \right]$$

式中: $t_{(x)}$ 为化合物 x 的保留时间; n 为化合物 x 保留时间前出峰的正构烷烃碳原子个数; $t_{(i)}$ 和 $t_{(i+1)}$ 分别为具有 i 和 $i+1$ 个碳原子的正构烷烃的保留时间。

定量分析: SPME 分析的样品以 2-甲基-3-庚酮为内标, SPE 分析的样品通过混合内标分析, 通过色谱峰面积比较, 计算出未知香气活性化合物的含量^[11]。

OAV 计算方法: 挥发性香气物质的含量与其水中阈值的比值^[9,12-13], 其中 $OAV \geq 1$ 的物质被认为是能够被人感知的香气活性化合物, 对样品的香气感知有重要贡献, 且 OAV 值越高贡献越大。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2021 统计香气化合物和香气轮廓, 采用 Origin Pro 2021 (OriginLab Corporation, 美国) 制图得到 QDA 曲线。香气物质与香气轮廓的相关性分析采用 XLstat 2018 (Addinsoft, 纽约, 美国) 进行偏最小二乘分析 (PLSR), 其中 X 变量为香气物质 ($OAV \geq 1$), Y 变量为香气轮廓的强度。显著性分析 ($P < 0.05$) 采用 SPSS 17.0 软件分析 (Duncan test)。

2 结果与分析

2.1 10 种特级酱油感官评价结果

招募的 8 名感官评价人员能够区分 54 种香气特征, 并且对随机取出的香气成分能够准确地描述其香气特征和与之相关的食品。在预实验中对随机编号样品打分的感官评价数据标准偏差在 20% 以内, 符合感官评价人员的筛选标准^[13]。QDA 分析结果如图 1 所示, 在所有样品中酱香的香气强度最大, 其次是烟熏香、酸香、醇香、焦糖香和麦芽香, 烤香整体强度最弱。XH1 酱油的酱香和醇香的强度最强; XH2 酱油的麦芽香气最强; WZ 酱油的焦甜香和烟熏香最强, 且醇香强度与 XH1 一致; LJJ1 酱油的酸香最强; QH 酱油的烤香最强, 麦芽香和醇香最弱; CB 酱油的酱香和焦糖香最弱; LJJ2 酱油的烟熏香最

弱; LH 的烤香最弱; XH2 和 HT2 酱油的酸香最弱。

2.2 10 种特级酱油挥发性香气物质分析

10 种酱油共检测 86 种挥发性香气化合物, 各物质含量测定结果如表 2 所示。CB 酱油中吡嗪类物质含量最高, 为 182.796 $\mu\text{g/L}$, 其中 2,6-二甲基吡嗪为 66.256 $\mu\text{g/L}$ 。该结果与感官评价结果一致, 即 CB 酱油的烤香最强。吡嗪类化合物在发酵过程中通过缓慢的美拉德反应和加热灭菌过程中产生, 其浓度受许多因素影响, 如发酵温度和灭菌条件等^[14]。此外, 吡嗪化合物是酵母提取物中的重要气味成分^[15-17], 10 种酱油配料中均添加了酵母抽提物, 因此, 酱油样品中的吡嗪化合物也可能来源于原料中的酵母提取物。添加酵母抽提物可以改善酱油的风味^[18-20], 在酱油发酵前期添加可增强酱油的麦芽、焦糖和花果香气; 中、后期添加酵母抽提物, 酯类、醛类和醇类等物质浓度下降^[21]; 直接添加到成品酱油中, 可在增强酱油增鲜的同时去除酱油中的豆腥味^[22]。

XH1 酱油中乙酸 (28657.455 $\mu\text{g/L}$) 含量最高。酱油中的酸味主要由乙酸引起, 来源于乳酸菌发酵^[15]。其酚类物含量最高 (47356.009 $\mu\text{g/L}$), 其中 4-乙基-2-甲氧基苯酚 (18240.479 $\mu\text{g/L}$) 含量为所有样品中最高。酚类化合物是由曲 (发酵剂) 在发酵过程中产生的羟基肉桂酸和羟基苯甲酸形成^[23]。WZ 酱油的酚类化合物种类最多, 该结果与感官评价结果对应, 即 WZ 和 XH1 酱油的烟熏香强度最高。酮类化合物主要来源于美拉德反应, 其中 LH 酱油的酮类化合物含量最高 (19135.535 $\mu\text{g/L}$), 与其具有最强的焦甜香一致。

除了酚类化合物, XH1 酱油中酯类化合物 (13986.445 $\mu\text{g/L}$) 含量也较高, 乙酸乙酯含量为 199.011 $\mu\text{g/L}$ 。酯类化合物通常由醇和酸的酯化反应产生。酯类与酵母代谢脂质同样有关, 主要在发酵的中间阶段积累^[24]。高分子量脂肪酸酯也存在于酱油中, 由长链脂肪酸在真菌脂肪酶存在下经过长时间恒温发酵后生成^[25]。

XH1 酱油醇类化合物含量最高 (146664.28 $\mu\text{g/L}$), 显著高于其他样品, 且与感官评价中醇香强度最强结果一致。CB 酱油中醇含量最少为 33305.645 $\mu\text{g/L}$, 该差异源于不同发酵方法及原料差异^[26]。LH 酱油异丁醇 (51.223 $\mu\text{g/L}$) 和 2,3-丁二醇 (57921.798 $\mu\text{g/L}$) 含量在所检测样品中均为最高。在好氧条件下的发酵阶段, 杂醇主要可以由糖和支链或芳香族氨基酸产生^[27]。乙醇是酱油发酵过程中葡萄糖与氨基酸通过 Ehrlich 途径与 α -酮酸脱羧等多种途径生成^[28]。2/3-甲基丁醛是贡献麦芽香的关键成分^[11-12], 其中 XH2 酱油中的 3-甲基丁醛含量最高 (4.012 $\mu\text{g/L}$), 该结果与感官评价结果一致, 即 XH2 酱油的麦芽香气最强。CB 酱油中香气化合物种类最少共检测到 62 种, XH1 酱油中的香气化合物种类最多为 75 种, 该结果与感官评价结果一致, CB 酱油的整体香气轮廓

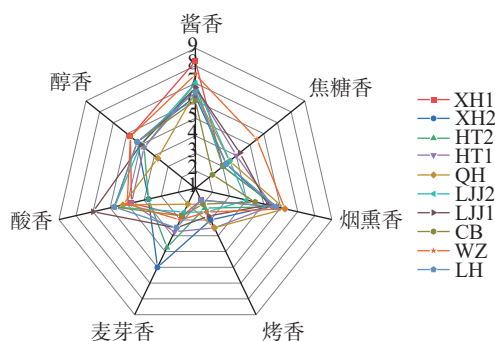


图 1 10 种特级酱油感官评价结果

Fig.1 Sensory evaluation results of 10 brands of premium soy sauce

表 2 10 种特级酱油样品中香气物质定量分析结果
Table 2 Quantification results of aroma compounds among 10 brands of premium soy sauce

编号	RI 计算/文献	化合物名称	萃取方法	定性方法	含量(μg/L)									
					CB	HT1	HT2	LH	LJ1	LJ2	QH	XH1	XH2	WZ
1	<1100/880	乙酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI/S	99.739±19.897	133.754±16.385	117.172±3.425	179.441±29.372	157.790±6.025	76.176±8.249	94.450±4.355	199.011±25.942	133.981±10.492	140.199±23.543
2	<1100/926	乙醇 ^A	SPME	MS/RI	25.775±2.45	94.950±5.925	102.025±9.700	131.651±7.925	143.158±10.975	146.975±12.300	142.513±9.901	147.257±9.102	145.325±12.109	144.897±11.623
3	<1100/900	3-甲基丁醇 ^A	SPME	MS/RI	1.450±0.275	1.625±0.075	0.876±0.025	0.427±0.755	1.623±0.021	0.275±0.00	0.871±0.053	2.110±0.077	4.012±0.149	1.499±0.074
4	<1100/1003	叔戊醇 ^B	SPE	MS/RI	24420.922±475.659	34126.873±1299.153	27750.669±2038.142	56851.398±2819.197	43901.982±3023.466	22095.150±1225.228	17487.360±77.306	49276.852±28257.357	18690.682±773.083	46426.302±5695.965
5	<1100/1086	异丁醇 ^A	SPME	MS/RI	1.306±1.448	8.298±5.629	6.742±0.452	51.223±23.595	30.110±20.963	2.482±1.821	8.206±7.309	2.282±0.113	3.646±4.076	0.275±0.238
6	1142/1141	5-甲基-2-己醇 ^A	SPME	MS/RI	1.241±0.440	2.618±1.156	2.233±0.881	1.697±1.119	1.768±1.145	0.236±0.019	1.630±0.450	1.979±0.393	0.694±0.720	0.092±0.159
7	1151/1154	正丁醇 ^A	SPME	MS/RI	2.611±0.769	10.061±1.657	12.940±1.135	4.768±3.339	29.422±7.907	2.470±0.805	9.130±0.913	28.199±10.900	20.929±6.386	8.693±4.665
8	1209/1185	异戊醇 ^B	SPE	MS/RI	—	4109.674±141.377	1603.837±74.087	10425.862±6849.591	5185.964±194.545	1665.733±151.700	1106.914±10.081	6375.677±4025.974	2234.617±74.942	2208.761±135.933
9	1252/1261	3-辛醇 ^A	SPME	MS/RI	1.304±0.207	1.748±0.425	7.526±0.798	1.689±0.64	2.763±0.987	0.377±0.148	—	1.121±0.531	0.853±0.501	1.208±0.346
10	1260/1264	2-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	10.032±0.738	4.062±0.961	3.740±1.400	4.977±2.913	4.459±0.357	1.631±0.630	4.357±0.648	3.888±0.690	1.959±0.489	6.023±0.992
11	1279/1280	3-羟基-2-丁酮 ^B	SPE	MS/RI	—	1008.165±4.723	710.249±50.594	3211.758±69.183	1999.924±27.579	445.510±29.558	1051.547±19.582	3221.878±2005.419	1505.973±17.574	2158.839±138.037
12	1285/1291	乙基糠基酯 ^A	SPME	MS/RI	0.805±0.173	12.160±0.182	7.456±1.240	12.450±0.651	9.346±0.668	2.215±0.135	4.273±1.219	16.657±1.454	17.570±0.659	7.242±1.311
13	1288/1275	羟基丙酮 ^B	SPE	MS/RI	4004.180±45.958	7607.501±282.488	5331.432±172.953	15912.648±924.007	4804.404±351.113	2031.615±112.430	2948.326±70.101	7714.011±4779.348	4325.538±120.594	9759.485±519.076
14	1314/1323	2,5-二甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	44.222±3.195	2.652±0.267	2.070±0.128	4.588±0.456	2.088±0.523	2.314±0.227	9.468±0.876	8.166±0.831	1.929±0.082	2.777±0.742
15	1321/1328	2,6-二甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	66.256±5.675	11.575±0.739	9.012±0.347	17.046±0.998	19.132±1.891	8.175±0.198	18.431±2.552	25.690±2.610	5.627±0.254	14.482±2.913
16	1339/1337	2,3-二甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	1.384±0.326	3.264±0.263	3.344±0.228	3.656±0.413	—	—	—	4.250±0.465	2.353±0.125	3.145±0.654
17	1339/1340	乳酸乙酯 ^A	SPE	MS/RI	—	507.767±242.622	194.904±337.583	7401.186±347.244	4661.433±72.993	310.723±30.314	2334.212±166.729	13724.127±15362.451	4248.265±1682.189	2668.073±4621.238
18	1353/1373	2-异丙基-5-甲基-2-己烯醇 ^A	SPME	MS/RI	0.577±0.132	0.959±0.172	1.640±0.133	1.526±0.289	—	0.260±0.050	—	2.962±0.326	1.081±0.153	1.325±0.740
19	1363/1375	1-羟基-2-丁酮 ^A	SPME	MS/RI	0.461±0.135	—	—	—	—	—	—	—	—	4.338±7.513
20	1366/1378	二甲基三硫 ^A	SPME	MS/RI	2.258±0.261	0.393±0.137	0.157±0.098	—	—	—	0.110±0.021	0.787±0.101	0.048±0.004	0.498±0.101
21	1374/1364	1,3-丙二醇单乙酯 ^A	SPME	MS/RI	—	0.504±0.144	0.372±0.051	1.075±0.423	—	—	—	0.153±0.102	—	—
22	1378/1385	2-乙基-6-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	19.883±1.523	7.678±0.093	4.995±0.273	10.519±1.523	4.090±0.749	2.435±0.358	5.481±0.736	13.776±1.634	5.396±0.355	6.262±1.487
23	1384/1392	2-乙基-5-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	13.614±2.329	1.312±0.082	0.940±0.063	2.555±0.981	1.506±0.368	1.314±0.202	3.082±0.509	5.473±0.621	1.030±0.380	2.412±0.674
24	1387/1390	壬酸 ^A	SPME	MS/RI	3.223±0.393	3.008±0.201	2.778±0.518	3.128±0.688	1.896±0.231	1.702±0.235	2.339±1.246	3.929±0.618	2.266±0.799	2.880±0.861
25	1395/1406	2,3,5-三甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	14.479±0.926	7.002±0.118	5.168±0.337	12.865±2.066	8.798±0.548	3.650±0.470	8.464±1.082	19.336±2.015	5.211±1.208	14.200±3.409
26	1403/1403	2-甲基-5-异丙基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	7.185±0.240	0.866±0.196	0.575±0.159	1.078±0.579	0.920±0.096	—	—	—	—	1.056±0.953
27	1417/1429	5-甲基-2-(3H)-呋喃酮 ^A	SPME	MS/RI	0.800±0.053	0.621±0.051	0.602±0.107	—	0.725±0.232	0.259±0.034	0.356±0.021	0.796±0.124	0.704±0.108	0.483±0.162
28	1426/1447	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	0.566±0.036	0.690±0.093	0.435±0.063	1.451±0.453	0.480±0.063	0.166±0.043	0.321±0.026	1.138±0.061	0.452±0.052	0.846±0.301
29	1431/1420	辛酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI	—	0.423±0.097	0.137±0.130	0.522±0.260	—	—	0.052±0.090	0.357±0.311	0.063±0.109	0.145±0.131

续表 2

编号	RI	化合物名称	萃取方法	定性方法	含量(μg/L)									
					CB	HT1	HT2	LH	LJ1	LJ2	QH	XH1	XH2	WZ
30	1437/1447	3-乙基-2,5-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	-	1.557±0.081	1.087±0.145	2.877±0.987	1.367±0.454	1.335±0.259	5.824±0.868	7.936±1.108	0.972±0.196	2.352±0.736
31	1439/1452	乙酸 ^A	SPE	MS/RI	12491.864±65.809	10312.554±994.1352	3360.568±2922.600	16544.323±9733.939	8068.491±987.550	808.440±480.645	3228.329±552.312	28657.455±19330.758	8227.841±2215.906	14184.727±9762.332
32	1441/1451	3-甲硫基丙酸 ^A	SPME	MS/RI	-	2.068±0.221	1.939±0.168	1.738±1.312	1.069±0.797	1.549±0.304	-	0.897±0.069	0.549±0.294	0.580±0.211
33	1449/1458	1-辛烯-3-醇 ^A	SPME	MS/RI	0.891±0.771	61.219±3.413	37.061±1.249	28.801±4.592	43.335±7.976	5.569±0.423	20.117±1.933	40.255±4.639	31.420±6.928	36.591±21.820
34	1450/1460	糠醛 ^A	SPME	MS/RI	20.373±1.842	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	1466/1466	2,3,5,6-四甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	-	1.804±1.205	0.882±0.673	4.622±1.126	2.346±1.094	1.866±0.320	0.964±0.913	8.853±0.517	1.224±1.061	4.594±2.662
36	1476/1488	2-乙基-6-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	2.671±0.848	2.531±1.394	2.484±0.925	4.100±1.130	1.151±0.522	3.509±0.552	2.310±0.921	5.175±0.497	0.988±0.410	4.869±2.126
37	1485/1469	3,5-二乙基-2-甲基吡嗪 ^A	SPME	MS/RI	1.699±0.732	0.789±0.546	0.420±0.297	1.514±0.722	-	0.635±0.144	0.666±0.247	3.255±0.290	-	0.971±0.613
38	1489/1479	2-乙基呋喃 ^A	SPME	MS/RI	9.315±1.297	10.016±2.543	7.630±1.431	7.785±1.762	20.408±5.587	22.985±2.279	4.933±0.323	2.954±5.116	11.388±1.627	6.294±2.415
39	1504/1490	苯甲酸 ^A	SPME	MS/RI	25.252±2.186	18.007±1.593	13.089±0.822	24.081±4.108	16.818±0.477	4.538±0.618	12.412±1.185	36.066±4.362	13.897±1.377	16.751±5.678
40	1521/1524	2,3-二甲基-2-环戊烯-1-醇 ^A	SPME	MS/RI	0.701±0.237	-	-	-	0.524±0.223	0.329±0.182	-	-	-	-
41	1547/1547	芳樟醇 ^A	SPME	MS/RI	0.896±0.374	0.383±0.142	0.276±0.079	2.139±0.807	-	-	-	0.260±0.226	0.378±0.147	-
42	1558/1570	5-甲基呋喃 ^A	SPME	MS/RI	1.441±0.980	1.275±0.168	0.693±0.254	0.823±0.658	4.420±0.598	2.986±0.376	1.085±0.140	4.231±0.845	1.754±0.281	0.332±0.574
43	1562/1563	2-丙基呋喃 ^A	SPME	MS/RI	2.436±0.843	2.272±0.196	1.777±0.084	2.904±0.907	3.393±0.311	1.135±0.191	2.338±0.349	6.575±0.766	2.867±0.302	2.001±0.127
44	1573/1570	2,3-二乙醇 ^A	SPE	MS/RI	-	13910.435±726.466	13854.443±3821.836	57921.798±39935.242	26225.637±2041.899	9730.924±829.521	14357.100±478.570	37288.294±18032.527	12992.145±1024.675	27544.766±2387.125
45	1574/1577	3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-醇 ^A	SPME	MS/RI	0.25±0.10	0.770±0.277	0.703±0.063	1.312±0.709	0.791±0.268	0.331±0.101	0.731±0.351	1.445±0.622	0.785±0.269	0.554±0.121
46	1587/1582	6-甲基-3,5-庚二烯-2-醇 ^A	SPME	MS/RI	1.214±0.386	1.175±0.306	1.103±0.050	-	1.289±0.665	0.828±0.259	0.580±0.599	5.287±1.507	1.890±1.108	0.994±1.110
47	1600/1597	5-甲基-2-乙基呋喃 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	5.700±0.520	-	-	-	-
48	1603/1626	γ-丁内酯 ^A	SPME	MS/RI	1.432±0.230	-	-	-	-	-	-	-	-	0.523±0.481
49	1612/1618	2-糠酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI	6.894±0.477	4.811±1.931	3.016±0.365	7.116±2.431	1.138±0.241	0.563±0.052	1.029±0.634	2.362±1.577	0.738±0.437	1.144±0.370
50	1626/1648	苯乙酯 ^A	SPME	MS/RI	17.528±0.617	26.556±9.276	19.345±4.086	33.848±7.309	18.981±1.874	4.751±0.296	13.769±0.885	22.895±2.497	26.844±2.234	18.512±4.471
51	1651/1644	苯甲酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI	5.165±1.295	6.495±1.942	4.080±0.269	12.662±1.904	5.536±0.585	1.168±0.166	4.580±0.850	8.150±1.797	6.554±0.769	2.761±0.475
52	1656/1669	糠醇 ^B	SPE	MS/RI	7412.486±184.021	13315.543±1506.098	4855.134±3508.128	10791.914±7351.951	7956.452±2330.947	2586.960±852.842	3626.272±994.832	23885.690±9880.837	9695.466±513.711	13533.153±923.598
53	1671/1690	丁二酸二乙酯 ^A	SPME	MS/RI	3.790±1.286	10.551±0.294	7.591±0.375	39.353±4.220	11.700±0.570	1.768±0.267	4.151±0.851	22.237±2.323	12.980±1.390	1.617±0.471
54	1707/17108	3-甲硫基丙醇 ^B	SPE	MS/RI	-	-	2028.621±433.657	10762.449±7010.393	9534.609±1291.813	1097.015±190.085	-	12487.573±8729.322	2481.372±439.619	5919.371±545.159
55	1744/1767	5,5'-二甲基-2-吡喃基甲酯 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	0.575±0.201	1.091±0.149	2.554±0.248	0.076±0.011	0.301±0.249	-	-
56	1757/1787	2,2,6-三甲基-1,4-环己二酮 ^A	SPME	MS/RI	0.354±0.077	0.377±0.025	0.227±0.011	0.401±0.009	-	-	0.265±0.074	0.424±0.010	-	0.266±0.253
57	1765/1767	正癸醇 ^A	SPME	MS/RI	0.499±0.013	0.602±0.015	-	-	0.650±0.008	0.264±0.025	0.503±0.078	-	-	0.500±0.122
58	1772/1767	苯乙酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI	-	5.223±0.135	3.257±0.165	16.064±1.121	3.325±0.150	1.163±0.182	3.665±0.567	15.785±3.526	17.694±0.806	4.374±0.890
59	1799/1791	乙酸苯乙酯 ^A	SPME	MS/RI	-	4.961±0.402	1.314±0.225	3.122±0.267	2.386±0.299	0.745±0.089	0.849±0.148	2.537±0.565	1.454±0.121	0.450±0.086
60	1810/1825	3-硫基-1-乙醇 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	-	0.111±0.192	0.044±0.004	-	-

续表 2

编号	RI 计算文献	化合物名称	萃取方法	定性方法	CB	HT1	HT2	LH	LJ1	LJ2	QH	XH1	XH2	WZ
61	1813/1837	甲基环戊烯醇酮 ^A	SPME	MS/RI	2.246±0.195	0.517±0.173	0.407±0.237	0.632±0.391	0.704±0.129	0.175±0.011	0.365±0.093	1.066±0.187	0.595±0.100	1.128±0.374
62	1826/1796	2,4-二甲基环戊烷-1,3-二酮 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	-	0.110±0.015	0.301±0.202	-	-
63	1833/1851	苯基丙酮 ^A	SPME	MS/RI	0.904±0.077	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	1843/1860	愈创木酚 ^A	SPME	MS/RI	35.806±2.627	12.358±0.752	8.968±0.699	13.215±1.354	8.808±0.539	3.468±0.330	7.423±0.385	10.879±1.419	7.009±0.473	11.519±3.245
65	1863/1877	苯甲酚 ^A	SPME	MS/RI	2.288±0.648	1.814±0.078	1.464±0.058	3.115±0.321	3.849±0.013	1.018±0.066	1.939±0.036	4.300±0.428	2.299±0.157	1.770±0.566
66	1879/1894	乙基环戊烯醇酮 ^A	SPME	MS/RI	0.324±0.010	-	-	-	-	-	-	0.052±0.03	-	0.175±0.149
67	1895/1901	苯乙醇 ^C	SPE	MS/RI	1437.971±38.971	39881.996±2083.198	11669.815±3139.319	10451.611±1007.134	20026.801±2310.234	3829.910±463.314	4441.898±544.016	23869.445±3954.871	4800.163±262.520	7502.398±1388.834
68	1904/1907	α -亚乙基-苯乙醛 ^A	SPME	MS/RI	2.117±0.251	2.585±0.169	0.975±0.209	0.452±0.147	2.761±0.078	-	-	5.37±1.280	1.104±0.321	0.872±0.347
69	1924/1952	3-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-2-丙烯醛 ^A	SPME	MS/RI	1.637±0.271	1.048±0.139	0.827±0.162	-	1.270±0.156	-	0.799±0.010	1.079±0.365	-	-
70	1937/1959	2-甲氧基-4-甲基苯酚 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.158±0.06
71	1952/1971	2-乙醌基吡咯 ^C	SPE	MS/RI	16234.432±298.611	8889.060±181.776	7603.048±1548.486	9510.989±6573.005	3198.561±2790.794	1820.845±421.745	2841.102±1188.882	6552.096±11348.563	5158.655±2479.932	13323.040±1689.395
72	1955/1965	甲基麦芽酚 ^C	SPE	MS/RI	13672.605±2217.543	18244.420±864.114	13086.912±4583.854	16977.758±11419.424	19070.625±2076.676	17720.395±1039.309	4199.229±748.307	17553.580±9198.916	2910.216±528.037	22449.797±2858.784
73	1969/1953	十二醇 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	-	1.915±1.621	-	-	-
74	1975/1967	4-甲基-5,6-二氢吡喃-2-酮 ^A	SPME	MS/RI	-	-	-	-	-	-	-	0.962±0.32	0.584±0.152	-
75	1989/1992	苯酚 ^A	SPME	MS/RI	3.729±0.227	1.379±0.131	1.226±0.134	1.076±0.119	1.950±0.148	0.658±0.056	0.456±0.119	1.217±0.085	0.864±0.043	0.979±0.292
76	1995/2012	丙位壬内酯 ^A	SPME	MS/RI	-	1.358±0.441	0.477±0.030	1.992±0.359	4.618±0.173	0.832±0.067	1.527±0.383	3.050±0.463	1.227±0.058	0.773±0.285
77	2009/2033	4-乙基-2-甲氧基苯酚 ^C	SPE	MS/RI/S	1529.793±530.600	1027.878±33.612	354.213±19.586	643.541±1.147	2631.812±29.431	729.921±76.945	287.013±19.586	18240.479±6335.969	3584.005±1266.460	3811.898±1138.300
78	2021/2037	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮 ^C	SPE	MS/RI/S	-	-	214.344±71.448	369.510±62.428	-	106.959±27.253	-	41.604±5.557	33.609±5.414	75.231±30.304
79	2082/2080	4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮 ^C	SPE	MS/RI	-	12467.141±5219.756	9669.400±1968.949	14239.139±4480.231	20117.480±7281.284	2128.067±3685.919	1811.869±406.199	18155.620±1446.456	8872.189±3116.895	23571.682±13506.842
80	2096/2094	2,6-二(叔丁基)-4-羟基-4-甲基-2,5-环己二烯-1-酮 ^A	SPME	MS/RI	3.147±0.576	5.856±0.600	3.780±1.210	5.216±2.435	3.542±0.276	1.925±0.477	4.031±0.23	1.186±0.250	-	-
81	2100/2124	4-羟基-5-甲基-3(2H)-呋喃酮 ^C	SPE	MS/RI	-	9396.760±5347.462	10043.600±3640.646	19818.712±2099.764	-	4801.585±1852.487	1322.261±763.408	4836.248±2912.526	8144.973±7231.352	10267.514±9355.453
82	2159/2164	4-乙基苯酚 ^A	SPME	MS/RI	-	1.741±0.058	1.026±0.079	0.889±0.093	-	8.402±0.969	1.009±0.046	23.695±2.700	7.581±6.393	9.666±2.966
83	2164/2111	5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮 ^C	SPE	MS/RI/S	429.433±143.204	5402.308±1769.138	4728.071±386.001	2383.973±770.853	4104.358±855.628	2087.175±370.997	2176.031±306.689	3351.820±905.051	3283.174±310.561	564.556±123.947
84	2251/2270	棕榈酸乙酯 ^A	SPME	MS/RI	-	2.510±1.160	1.000±0.725	1.487±0.517	0.962±0.034	-	1.110±0.402	2.873±0.740	0.683±0.051	0.208±0.180
85	2312/2330	2,4-二叔丁基苯酚 ^C	SPE	MS/RI	3008.418±776.688	9320.465±154.263	6597.128±3490.328	20699.480±2910.512	30543.297±8434.382	11242.469±5580.773	13823.628±1124.752	29079.739±18868.664	4207.301±552.192	17862.529±599.371
86	2673/2678	邻苯二甲酸二丁酯 ^A	SPME	MS/RI	-	5.732±3.709	4.490±2.290	7.589±0.773	3.027±0.102	0.305±0.041	4.627±2.251	5.956±4.761	5.310±0.584	5.796±2.01

注:“-”表示未检出;“A”表示采用2-甲基-3-庚酮定量;“B”表示采用1,2-二氯苯定量;“C”表示采用1,2-二氯苯定量;“D”表示采用2-十一烷酮定量。

强度较弱。

2.3 PLSR 分析结果与感官评价结果

化学计量学可将食品的感官品质、物理化学性质、工艺参数与风味物成分和含量等参数进行关联分析,为感官科学和风味分析的融合发展起到了重要的作用^[29-30]。采用偏最小二乘分析(PLSR)不同特级酱油中的香气物质与香气轮廓之间的相关性,结果如图 2 所示。PLSR 分析的结果显示第一主成分(Dim 1)的解释变量为 38.4%,预测变量为 20.2%;第二主成分(Dim 2)的解释变量为 56.4%,预测变量为 38.8%,说明了该 PLS 预测模型的可靠性。

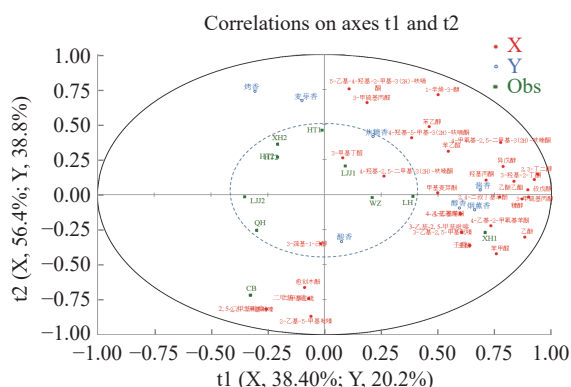


图 2 10 种特级酱油香气物质与香气轮廓的偏最小二乘相关性模型分析

Fig.2 Correlation matrix of the aroma compounds to the aroma attributes among 10 brands of premium soy sauces

由图 2 可知,PLSR 分析分将 10 种不同的特级酱油样品分成了三组,CB 酱油为一组,LJJ1 酱油、QH 酱油、HT1 酱油、LH 酱油、XH2 酱油、LJJ2 酱油、WZ 酱油和 HT2 酱油为一组;XH1 酱油为一组。PLSR 结果表明,CB 酱油与其他酱油有较大区分,这与 GC-MS 结果相同。根据 PLSR 结果显示,共有 15 个香气物质的 VIP 值在三个主成分中均大

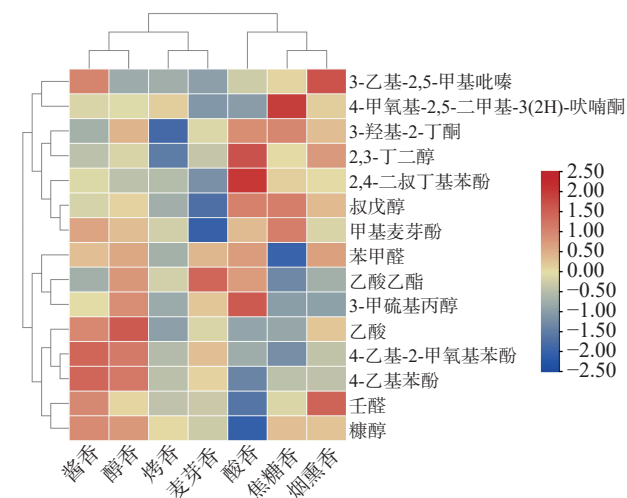


图 3 10 种特级酱油中 15 种香气活性化合物与香气属性的相关系数热图

Fig.3 Heat map of correlation coefficients of 15 aroma-active compounds to the aroma attributes

于 0.7,说明它们与特级酱油中酱香、醇香、酸香、烟熏香、焦糖香、烤香和麦芽香显著相关($P<0.05$)。根据化合物与感官属性的相关系数结果(图 3)可知,3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、壬醛、糠醇、苯甲醛、4-乙基-2-甲氧基苯酚、4-乙基苯酚等物质与酱香呈显著($P<0.05$)正相关;壬醛、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪和 2,3-丁二醇等与烟熏香呈显著($P<0.05$)正相关;3-羟基-2-丁酮、甲基麦芽酚和 4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮等与焦糖香呈显著($P<0.05$)正相关;3-羟基-2-丁酮、乙酸乙酯和苯甲醛等化合物与麦芽香呈显著($P<0.05$)正相关。

2.4 10 种特级酱油香气物质的香气活性值分析

挥发性香气化合物对酱油的贡献可以通过 OAV 进行评价。为了进一步评估挥发性香气化合物对酱油整体香气的贡献,对其 OAV 进行计算,结果见表 3。从 10 种特级酱油中共发现 30 种 $OA V \geq 1$ 的挥发性香气化合物,包括乙酸乙酯、5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮、二甲基三硫、愈创木酚等。吡嗪类化合物多具有烤香及可可香,其中 3-乙基-2,5-甲基吡嗪 OAV 最大($OA V=0\sim 20$),XH1 酱油最高。焦糖香是构成酱油整体风味的关键^[2,6]。5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮赋予酱油强烈的甜香、焦糖、面包香气,其 OAV 为 373~4698。HT1 酱油中 5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮 OAV 最高。除了呋喃类化合物,甲基麦芽酚(2~18)也会产生焦糖样香气,甲基麦芽酚由糖在加热过程中通过 2,3-烯醇化或直接由 Amadori 重排形成,存在于蒸熟大豆中^[31]。WZ 酱油中甲基麦芽酚 OAV 最高,赋予其较强烈的焦糖香。3-甲基丁醛(0~4)具有麦芽香,XH2 中 3-甲基丁醛 OAV 最高,这与感官评价结果相同。愈创木酚(2~22)具有典型的烟熏香气^[7],4-乙基愈创木酚(3~204)和 4-乙基苯酚(0~2)同样具有烟熏香,它们的 OAV 均大于 1。在其他实验中,添加了酵母抽提物的酱油样品 4-乙基-2-甲氧基苯酚和 4-乙基苯酚含量高于不添加酵母抽提物的样品^[27]。3-甲硫基丙醛(0~10)具有熟土豆香气,尽管其以低浓度存在,但它正鼻气味阈值很低,OAV 较大^[32],这与之前的实验结果相同^[4]。HT1 酱油中 3-甲硫基丙醛 OAV 最大。3-甲硫基丙醛在 Strecker 降解和发酵过程中产生^[33],在热灭菌或烹饪过程中也会大量产生,这会增加熟土豆类气味的强度^[34],3-甲硫基丙醇同样有助于酱油中熟土豆的香气^[12]。其他含硫化合物,包括二甲基三硫(0~226)具有熟洋葱香气,也具有较高 OAV。酯类化合物通常具有果香,果香和花香使酱油香气更加饱满和谐^[35-36]。其中乙酸乙酯(1~2)是酱油中典型的果香化合物^[37-40]。1-辛烯-3-醇具有蘑菇的香气,是米曲霉孢子的特征性挥发性成分。酱油的发酵过程中采用了米曲霉作为主要的发酵菌种,可以推测 1-辛烯-3-醇可能主要来源于大曲发酵阶段^[39]。

结合 PLSR 分析与 OAV 分析发现,乙酸乙酯、

表 3 10 种特级酱油样品中风味物质的香气活性值

Table 3 Aroma activity values of aroma-active compounds in 10 brands of premium soy sauces

编号	化合物名称	气味特征	阈值(μg/L)	OAV									
				CB	HT1	HT2	LH	LJJ1	LJJ2	QH	XH1	XH2	WZ
1	乙酸乙酯	果香、甜香	100 ^a	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1
2	3-甲基丁醛	麦芽	1.1 ^a	1	1	1	—	1	—	1	2	4	1
3	叔戊醇	刺激气味	20000 ^a	1	2	1	3	2	1	1	2	1	2
4	异戊醇	威士忌、果香	220 ^a	—	19	7	47	24	8	5	29	10	10
5	3-羟基-2-丁酮	甜香、黄油	14 ^a	—	72	51	229	143	32	75	230	108	154
6	羟基丙酮	黄油、麦芽	10000 ^a	—	1	1	2	—	—	—	1	—	1
7	2,5-二甲基吡嗪	椰子、烤香	80 ^a	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	二甲基三硫	硫磺、熟洋葱	0.1 ^a	226	39	16	—	—	—	11	79	5	50
9	2-乙基-5-甲基吡嗪	咖啡、坚果	16 ^a	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	壬醛	脂肪、青草	1.1 ^a	3	3	3	3	2	2	2	4	2	3
11	3-乙基-2,5-甲基吡嗪	可可、烤香	8.6 ^a	—	4	3	7	3	3	15	20	2	6
12	乙酸	刺鼻酸	22000 ^a	1	—	—	1	—	—	—	1	—	1
13	3-甲硫基丙醛	发霉、土豆	0.45 ^a	—	10	10	9	5	8	—	4	3	3
14	1-辛烯-3-醇	蘑菇、泥土	1.5 ^a	1	41	25	19	29	4	13	27	21	24
15	苯甲醛	杏仁、焦糖	24 ^a	1	1	1	1	1	—	1	2	1	1
16	2,3-丁二醇	水果、奶油	20000 ^a	—	1	1	3	1	—	1	2	1	1
17	苯乙醛	风信子、香兰草	6.3 ^a	3	4	3	5	3	1	2	4	4	3
18	糠醇	醇香、发霉	4500.5 ^b	4	7	3	6	4	1	2	13	5	7
19	3-甲硫基丙醇	硫磺、洋葱	123.23 ^a	—	—	16	87	77	9	—	101	20	48
20	3-巯基-1-己醇	硫磺、果香	0.06 ^a	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—
21	愈创木酚	烟熏、木香	1.6 ^a	22	8	6	8	6	2	5	7	4	7
22	苯乙醇	水果、蜂蜜	564.23 ^a	3	71	21	19	35	7	8	42	9	13
23	甲基麦芽酚	焦糖、甜香	1240 ^a	11	15	11	14	15	14	3	14	2	18
24	4-乙基-2-甲氧基苯酚	辛辣、烟熏	89.25 ^a	17	12	4	7	29	8	3	204	40	43
25	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮	甜香、棉花糖	22.3 ^a	—	—	—	17	—	5	—	2	2	3
26	4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮	甜香、焦甜	16 ^a	—	779	604	890	1257	133	113	1135	555	1473
27	4-羟基-5-甲基-3(2H)-呋喃酮	甜香、棉花糖	2100 ^a	—	4	5	9	—	2	1	2	4	5
28	4-乙基苯酚	烟熏、醛香	13 ^a	—	—	—	—	—	1	—	2	1	1
29	5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮	甜香、焦糖	1.15 ^a	373	4698	4111	2073	3569	1815	1892	2915	2855	491
30	2,4-二叔丁基苯酚	酚醛香	500 ^a	6	19	13	41	61	22	28	58	8	36

注：“—”表示未检出或OAV < 1；“a”表示该化合物阈值查询来自文献[13]，“b”表示该化合物阈值查询来自文献[12]。

3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮、4-乙基愈创木酚和 4-乙基苯酚是造成不同品牌特级酱油香气轮廓差异的关键香气成分。而 3-甲基丁醛、3-甲硫基丙醛、二甲基三硫、5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮和愈创木酚是对不同品牌特级酱油香气轮廓均具有重要贡献的共性成分。

3 结论

感官评价结果显示,特级酱油具有较为强烈的酱香、烟熏香和酸香,其中 WZ 和 XH1 酱油的酱香、焦糖、烟熏、醇香最强,LJJ1 的酸香最强、XH2 酱油的麦芽香最强,QH 和 HT1 酱油的烤香最强,该结果与香气化合物的种类和含量具有相关性。10 种特级酱油中共鉴定出 86 种挥发性化合物,CB 酱油中吡嗪类物质含量最高,其中 2,6-二甲基吡嗪为 66.256 μg/L。XH1 酱油中酚类物含量最高,其中 4-乙基-2-甲氧基苯酚为 18240.479 μg/L。除了酚类化合物,XH1 酱油同样含有较高浓度的酯类化合物,乙

酸乙酯含量为 199.011 μg/L。XH2 酱油具有最高的 3-甲基丁醛(4.012 μg/L),呈现较强的麦芽香气。LH 酱油中异丁醇(51.223 μg/L)和 2,3-丁二醇(57921.798 μg/L)含量在所检测样品中均为最高。WZ 酱油的酚类化合物种类最多,与其烟熏香强度最高一致。XH1 乙醇含量最高,为 147.257 μg/L。香气活性值计算结果显示,共 30 种香气活性成分(OAV ≥ 1)对特级酱油的香气贡献较大,其中 14 种为 10 种酱油中共有成分,如乙酸乙酯、5-乙基-4-羟基-2-甲基-3(2H)-呋喃酮等。结合 OAV 分析和 PLSR 回归分析,乙酸乙酯、3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪、4-甲氧基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮、4-乙基愈创木酚和 4-乙基苯酚是造成不同品牌特级酱油香气轮廓差异的关键香气成分。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局.GB 2717-2018 食品安全国家标准 酱油国家标准[S].北京:

- 中国标准出版社, 2018. [National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration of Market Regulation. GB 2717-2018 National food safety standard. National standard for soy sauce[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.]
- [2] DIEZ-SIMON C, EICHELSHEIM C, MUMM R, et al. Chemical and sensory characteristics of soy sauce: A review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(42): 11612–11630.
- [3] 国家市场监督管理总局. GB 18186-2000 中华人民共和国国家标准 酿造酱油[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000. [State Administration for Market Regulation. GB/T 18186-2000 National Standard of the People's Republic of China. Brewed soy sauce[S]. Beijing: Standards Press of China, 2000.]
- [4] WANG X J, GUO M Y, SONG H L, et al. Characterization of key odor-active compounds in commercial high-salt liquid-state soy sauce by switchable GC/GC×GC-olfactometry-MS and sensory evaluation[J]. *Food Chemistry*, 2021, 342: 128224.
- [5] JO Y J, CHO I H, SONG C K, et al. Comparison of fermented soybean paste (Doenjang) prepared by different methods based on profiling of volatile compounds[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(3): 368–379.
- [6] DIEZ-SIMON C, EICHELSHEIM C, JACOBS D M, et al. Stir bar sorptive extraction of aroma compounds in soy sauce: Revealing the chemical diversity[J]. *Food Research International*, 2021, 144: 110348.
- [7] FENG Y Z, CAI Y, SUN-WATERHOUSE D X, et al. Reducing the influence of the thermally induced reactions on the determination of aroma-active compounds in soy sauce using SDE and GC-MS/O[J]. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(4): 931–942.
- [8] ZHAO P T, QIAN Y P, HE F, et al. Comparative characterization of aroma compounds in merlot wine by lichrolut-en-based aroma extract dilution analysis and odor activity value[J]. *Chemosensory perception*, 2017, 10(4): 149–160.
- [9] FENG Y Z, CUI C, ZHAO H, et al. Effect of koji fermentation on generation of volatile compounds in soy sauce production[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2013, 48(3): 609–619.
- [10] PU D D, SHAN Y M, ZHANG L L, et al. Identification and inhibition of the key off-odorants in duck broth by means of the sensomics approach and binary odor mixture[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(41): 13367–13378.
- [11] GAO L H, LIU T, AN X J, et al. Analysis of volatile flavor compounds influencing Chinese-type soy sauces using GC-MS combined with HS-SPME and discrimination with electronic nose[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(1): 130–143.
- [12] STEINHAUS P, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(15): 6262–6269.
- [13] VAN G L J. Compilations of odour threshold values in air, water and other media[J]. *Odour Thresholds*, 2011.
- [14] LEE S M, SEO B C, KIM Y S. Volatile compounds in fermented and acid-hydrolyzed soy sauces[J]. *Journal of Food Science*, 2006, 71(3): 146–156.
- [15] ZHANG Y, SONG H L, LI P, et al. Determination of potential off-flavour in yeast extract[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 82: 184–191.
- [16] MAHADEVAN K, FARMER L. Key odor impact compounds in three yeast extract pastes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(19): 7242–7250.
- [17] WANG Z L, XIAO Q, ZHUANG J D, et al. Characterization of aroma-active compounds in four yeast extracts using instrumental and sensory techniques[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 68(1): 267–278.
- [18] 张玉洁, 张彦民, 王菲, 等. 外源添加物对酱油发酵的影响[J]. *中国酿造*, 2022, 41(4): 152–156. [ZHANG Y J, ZHANG Y M, WANG F, et al. Effect of exogenous additives on the fermentation of soy sauce[J]. *China Brewing*, 2022, 41(4): 152–156.]
- [19] 何天鹏, 赵镭, 钟葵, 等. 气相色谱-嗅闻/质谱联用分析酵母菌发酵酱油中香气物质[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(16): 259–265. [HE T P, ZHAO L, ZHONG K, et al. Analysis of Aroma Compounds in Yeast-fermented Soy Sauce by GC-O/MS[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(16): 259–265.]
- [20] WANG J W, ZHAO M M, XIE N Y, et al. Community structure of yeast in fermented soy sauce and screening of functional yeast with potential to enhance the soy sauce flavor[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 370: 109652.
- [21] 曲艾钰, 张彦民, 王菲, 等. 酵母抽提物添加时间对酱油风味的影响[J]. *中国酿造*, 2022, 41(3): 146–151. [QU A J, ZHANG Y M, WANG F, et al. Effect of addition time of yeast extract on soy sauce flavor[J]. *China Brewing*, 2022, 41(3): 146–151.]
- [22] 周朝晖. 酵母抽提物对发酵酱油品质影响研究[J]. *中国调味品*, 2016, 41(5): 57–60, 71. [ZHOU Chao-hui. Study on the effect of yeast extract on quality of fermented soy sauce[J]. *China Condiment*, 2016, 41(5): 57–60, 71.]
- [23] FENG Y Z, CUI C, ZHAO H F, et al. Effect of koji fermentation on generation of volatile compounds in soy sauce production[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2013, 48(3): 609–619.
- [24] FENG Y Z, CHEN Z H, LIU N, et al. Changes in fatty acid composition and lipid profile during koji fermentation and their relationships with soy sauce flavour[J]. *Food Chemistry*, 2014, 158: 438–444.
- [25] ZHENG J, WU C D, HUANG J H, et al. Analysis of volatile compounds in Chinese soy sauces moromi cultured by different fermentation processes[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2013, 22(3): 605–612.
- [26] LI J Y, ZHANG M L, FENG X J, et al. Characterization of fragrant compounds in different types of high-salt liquid-state fermentation soy sauce from China[J]. *LWT*, 2022, 169: 113993.
- [27] SUN S Y, JIANG W G, ZHAO Y P. Profile of volatile compounds in 12 Chinese soy sauces produced by a high-salt-diluted state fermentation[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2010, 116(3): 316–328.
- [28] AN F Y, WU J R, FENG Y Z, et al. A systematic review on the flavor of soy-based fermented foods: Core fermentation microbiome, multisensory flavor substances, key enzymes, and metabolic pathways[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2023, 22(4): 2773–2801.
- [29] 李杨, 李明达, 刘军等. 酱油酿造过程中风味物质的形成与鉴定[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(4): 251–256. [LI Y, LI M D, LIU J, et al. Formation and identification of flavor substances during soy sauce brewing[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(4): 251–256.]
- [30] PU D D, ZHANG H Y, ZHANG Y, Y et al. Characterization of the aroma release and perception of white bread during oral processing by gas chromatography-ion mobility spectrometry and temporal dominance of sensations analysis[J]. *Food Research International*, 2019, 123: 612–622.

- [31] YAYLAYAN V A, MANDEVILLE S. Stereochemical control of maltol formation in Maillard reaction[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42(3): 771-775.
- [32] KANEKO S, KUMAZAWA K, NISHIMURA O. Comparison of key aroma compounds in five different types of Japanese soy sauces by aroma extract dilution analysis (AEDA)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(15): 3831-3836.
- [33] PRIPIS-NICOLAU L, DE REVEL G, BERTRAND A, et al. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(9): 3761-3766.
- [34] KANEKO S, KUMAZAWA K, NISHIMURA O. Studies on the key aroma compounds in raw (unheated) and heated Japanese soy sauce[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(14): 3396-3402.
- [35] MENG Q, IMAMURA M, KATAYAMA H, et al. Key compounds contributing to the fruity aroma characterization in Japanese raw soy sauce[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2017, 81: 1984-1989.
- [36] 王道君, 孟琦, 宋焕禄. 基于 Mono Trap 方法对酱油气味活性成分的分析[J]. *食品科学技术学报*, 2021, 39(5): 93-100.
- [37] WANG X J, MENG Q, SONG H L. Analysis of odor-active compounds of soy sauce by mono trap method[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 39(5): 93-100.]
- [38] ZHAO G Z, DING L L, HADIATULLAH H, et al. Characterization of the typical fragrant compounds in traditional Chinese-type soy sauce[J]. *Food Chemistry*, 2020, 312: 126054.
- [39] PIRES E J, TEIXEIRA J A, BRÁNYIK T, et al. Yeast: the soul of beer's aroma—a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(5): 1937-1949.
- [40] ZHAO G Z, FENG Y X, HADIATULLAH H, et al. Chemical characteristics of three kinds of Japanese soy sauce based on electronic senses and GC-MS analyses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 11: 579808.
- [40] 冯云子, 周婷, 吴伟宇, 等. 酱油风味与功能性成分研究进展[J]. *食品科学技术学报*, 2021, 39(4): 14-28. [FENG Y Z, ZHOU T, WU W Y, et al. Research progress on flavor and functional components of soy sauce[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 39(4): 14-28.]