SPME-DSE 联用分析不同固形物浓度发酵对酱油香气物质的影响

相欢，尹文颖，崔春

（华南理工大学轻工与食品学院，广东广州 510640）

摘要：通过固相微萃取（SPME）、直接溶剂萃取（DSE）以及气相色谱-质谱（GC-MS)结合的方法，研究不同固形物浓度(S1.1，S1.5，S2.0，S2.5)发酵对酱油香气物质的影响。SPME 和 DSE 共检测出 114 种挥发性香气成分，其中含量较多的物质是醇（12 种），酸（6 种），醛（12 种）、酮（14 种）、酯（15 种）。GC-MS 分析得出，四种固形物浓度测得的香气物质种类相同，但含量却有较大差异。随着固形物浓度的增加，酸和醛类化合物的含量呈现增长趋势，其中酸类物质在 S1.1 中的含量分别是 S1.5 的 2.5 倍，S2.0 的 2.2 倍，S2.5 的 1.99 倍。另外除 2，3-丁二醇，愈创木酚在高固形物浓度中呈现较低含量外，其他如苯乙醇、2-3 甲基-丁醛、乙酸、4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮（HDMF）和 4-羟基-2-乙基-5-甲基-3(2H)-呋喃酮（HEMF）等重要香气物质均随固形物浓度的增加而提高，进一步表明提高固形物浓度有利于酱油香气的平衡。

关键词：酱油；固相微萃取；直接溶剂萃取；气相色谱-质谱；不同固形物浓度；香气物质

文章篇号：1673-9078(2016)10-259-267 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.10.039

Effects of Different Concentrations of Solids during Fermentation on the Aroma Compounds of Soy Sauce Assessed by SPME-DSE

XIANG Huan, YIN Wen-ying, CUI Chun

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: A combination of solid phase microextraction (SPME), direct solvent extraction (DSE), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to study the effects of different concentrations (S1.1, S1.5, S2.0, and S2.5) of solids during fermentation on the aroma substances in soy sauce. A total of 114 aroma components were detected by SPME and DSE, including alcohols (12 types), acids (six types), aldehydes (eight types), ketones (14 types), and esters (15 types). The results of GC-MS analysis suggested that the types of aroma compounds were the same among the four concentrations of solids, but the corresponding content were significantly different. Acid and aldehyde content showed an upward trend with an increasing concentration of solids. Among them, the content of acids in S1.1 were 2.5-fold, 2.2-fold, and 1.99-fold higher than those in S1.5, S2.0, and S2.5, respectively. Except for 2,3-butanediol and guaiacol exhibiting a relatively low content with high solid concentrations, the content of phenethyl alcohol, 2,3-methylbutanal, acetic acid, 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (HDMF), 4-hydroxy-2-ethyl-5-methyl-3(2H)-furanone (HEMF), and other important flavor compounds increased with increasing concentrations of solids, further suggesting that an increase in the concentration of solids is beneficial for the balance of aroma compounds in soy sauce.

Key words: soy sauce; solid phase microextraction; direct solvent extraction; gas chromatography-mass spectrometry; different concentrations of solids; aroma compounds

酱油的香气是衡量酱油品质优劣的重要指标之一。酱油香气物质的形成是利用酶将原料中的蛋白质、脂肪和碳水化合物降解成小分子肽、游离氨基酸、脂肪酸和糖，形成酱油香气物质的前体，再经过微生物的代谢、氧化还原和酯化反应、美拉德反应等一系列复杂的生理生化反应，最终形成醇、醛、酸、酯、酮、呋喃、吡嗪、硫化物等一系列香气物质[1]。这些香气物质分别具有焦糖香、水果香、花香、醇香和酱香等多种香味。酱油酿造中，生产所用原料、酿造工艺、菌种以及发酵工艺的差异，均会对其香气化合物的形成产生不同程度的影响[2~4]。并且酱油发酵过程中固形

收稿日期：2015-11-02

基金项目：国家自然科学基金资助项目（31201416）

作者简介：相欢（1994-），女，硕士生，研究方向：食品生物技术

通讯作者：崔春（1978-），男，教授，博士生导师，研究方向：食品生物技术

物浓度一直影响酱油酱醪的微生物组成和美拉德反应程度，因此不同固形物浓度对酱油的香气物质组成有重要影响。

酱油香气的提取方法有多种，包括固相微萃取（SPME）、直接溶剂提取（DSE）等。Pitipong.等[6]研究结果表明，固相微萃取法检测到的物质多为高挥发性的香气物质，但是对于一些中挥发性和低挥发性的香气物质却很难检测到。高献礼[2]等也分别用SPME和DSE法检测传统中式酱油中的挥发性物质，发现DSE能萃取到SPME萃取不到的一些酱油特征香气物质，如HEMF和HDMF。因此，将SPME和DSE联合使用，能全面检测酱油的挥发性香气成分。

迄今为止，不同固形物浓度发酵的酱油产生的风味及其香气物质组成鲜见报道和研究。本研究采用SPME和DSE联用提取和浓缩酱油中的香气物质，同时利用GC-MS对香气物质成分进行鉴定，并结合感官分析，对不同固形物浓度发酵的酱油香气物质进行比较，以期为高品质酱油酿造提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 原料

米曲霉曲精(*Aspergillus oryzae*)沪酿3.042，石家庄市鼎鑫酿造食品科学研究所；豆粕、面粉、食盐，均为市购。

1.2 仪器

Sartorius BP211D分析天平，中科院广州化学研究所；Trace DSQ-II气相色谱-质谱，美国Thermo公司；氮吹仪，上海泉岛器械厂；TR-5MS柱，美国J & W Scientific公司；维氏蒸馏柱，上海精科仪器有限公司；75 μm CAR/PDMS萃取头，上海洽姆仪器科技有限公司。

1.3 试剂

标准品（色谱纯）：3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、3-甲硫基丙醛、HEMF 购于 Sigma(上海)有限公司；HDMF购于Fluka(上海)有限公司；3-甲基丁醇、苯乙醇、2-甲基丁醇、2-甲基丁酸、4-乙基愈创木酚购于阿拉丁试剂公司。其他试剂均为分析纯，购于国药集团化学试剂有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 发酵工艺

将豆粕用高压蒸汽灭菌锅121 ℃干蒸20 min，之后用豆粕干重80%的水量对豆粕进行充分润湿，将润水后的豆粕再次放入高压蒸汽灭菌锅，125 ℃蒸煮18 min，出锅后凉至40 ℃左右。将蒸料与面粉、曲精（原料干重的万分之四）混合均匀，豆粕:面粉=4:1（干重）。将拌匀的曲分装好，放入霉菌培养箱。将制好的曲分装至桶中，按曲重/盐水分别为1/1.1、1/1.5、1/2.0，1/2.5（分别设置为S1.1、S1.5、S2.0、S2.5）与17%的盐水混合均匀，放在37 ℃的恒温发酵箱进行保温发酵，发酵周期为60 d。

1.4.2 直接溶剂萃取法（DSE）提取酱油中的挥发性香气物质

参照Pitipong[6]等的方法。

1.4.3 固相微萃取法（SPME）提取酱油中的挥发性香气物质

参考冯云子的方法[7]。

1.4.4 GC-MS分离条件

1.4.4.1 直接溶剂萃取（DSE）样分离条件

色谱柱：TR-5MS 弹性石英毛细色谱柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）。升温程序参考罗龙娟[8]等的方法。

1.4.4.2 顶空-固相微萃取（HS-SPME）样分离条件

色谱柱：TR-5MS 弹性石英毛细色谱柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）。升温程序参考冯云子[7]等的方法。

1.4.5 风味化合物的定性与定量

参考蔡宇[9]和冯云子[7]的方法。

1.4.6 感官描述分析

感官描述分析(QDA)用于评定不同食品在风味感官上的差异[10]。配制一系列7倍阈值浓度的标准溶液(25 mL)：3-甲基丁醛(麦芽香)、乙醇(醇香)、乙酸(酸香)、甲硫基丙醛(土豆香)、HEMF(焦糖香)、4-乙基愈创木酚(烟熏)、苯乙醛(甜香)以及乙酸乙酯(果香)，品评人员对标准溶液进行感官强度打分，评分范围为0~3，(从无察觉到最强)[2]。之后再对一系列不同的酱油进行感官品评，从中筛选出能辨别酱油特征香气的四位感官评价人员。

1.4.7 统计分析

所有测定数据重复三次，结果表示为平均值±标准偏差，使用SPSS 16和EXCEL软件进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 不同萃取方法提取酱油中香气物质效果的比较

四组酱油样品 SPME 和 DSE 的挥发性风味物质的对比如图 1 所示。共检测出 114 种挥发性香气成分，其中两者都检测到的物质有 24 种如乙醇，乙酸，乙酸乙酯等。四个固形物浓度发酵的酱油样品用 SPME 提取到的挥发性香气物质种类相同，共得到 65 种物质，包括 5 种醇，13 种酯，4 种酸，10 种醛，9 种酮，3 种呋喃，9 种吡嗪，4 种硫化物和 9 种其他物质。用 DSE 提取到的挥发性香气物质种类有所差异，共检测到 73 种物质，包括 10 种醇，3 种酯，6 种酸，10 种醛，5 种酮，8 种吡嗪，4 种酚，7 种呋喃（酮），4 种吡喃（酮），3 种吡咯和 9 种其他物质。总体来说，固相微萃取操作方法简单，人工误差小，对酱油中各物质萃取较为全面，尤其是酯类物质，但对呋喃（酮）、吡喃（酮）这一类较难挥发的香气物质萃取效果不佳，而直接溶剂萃取的效果恰好能与之互补，因而两种方法联用能全面检测酱油的挥发性香气物质。

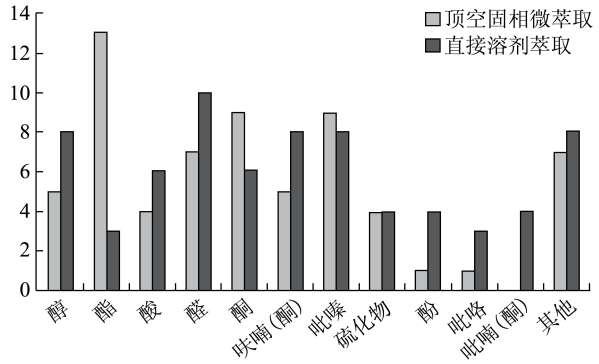


图 1 不同方法提取酱油香气成分比较

Fig.1 Comparison of aroma components in soy sauce by different extraction methods

2.2 不同固形物浓度发酵酱油中香气物质的比较

通过 NIST/Wiley 数据库对比，四种不同固形物浓度的酱油的香气物质成分如表 1 所示。共鉴定出 114 种成分，不同固形物浓度发酵的酱油香气中醇、醛、酮、酸、酯几类化合物所占比例较大。四种酱油样品中均是酸类化合物含量最高，并且发酵固形物浓度越大，酸类化合物含量越高。

酸类通常是由细菌的代谢活动产生，主要是将糖类物质转化成有机酸。SPME 和 DSE 共检测到 6 种酸类化合物，其中含量较高的是乙酸和 2/3-甲基丁酸，其含量均随固形物浓度的增加而升高。研究表明，酱油中的乙酸主要是由柠檬酸代谢生成，而柠檬酸是酱油乳酸菌的代谢产物[13]。之前的研究发现，SS1.1 和 SS1.5 在发酵中期含有较多的乳酸菌。2/3-甲基丁酸主要来源于支链氨基酸通过发酵过程中微生物产酶过程的 Ehrlich 途径的降解[1]。另一方面，酸类化合物也是酯化反应的物质基础，一定浓度的有机酸可增加酱油的风味。

酱油的挥发性醇类物质主要来源于两个方面：一是原料成分，如己醇是大豆的腥臭成分之一；二是在过程中逐渐形成的，形成途径主要是酵母的发酵，包括酒精发酵、氨基酸的还原反应和生物合成，以及碳水化合物的代谢[1]。此外，不饱和脂肪酸的降解也能产生醇类物质[15]。四组酱油样品中的醇类物质组成相同但含量差异很大。其中含量较多的是苯乙醇，丙酮醇，2,3-丁二醇。苯乙醇和丙酮醇的含量随固形物浓度的增加而增加，而 2,3-丁二醇的含量随固形物浓度的增加而降低。挥发性醇类所占比例在 SS1.1 中仅占 8.11%,而在 SS1.5、SS2.0 和 SS2.5 中分别达到了 16.03%、14.66%和 17.31%（表 1），表明随着固形物浓度的降低，挥发性醇的含量表现出明显的增加，引起这种差异的主要物质是 2，3-丁二醇，其含量随发酵固形物浓度的降低而升高。2，3-丁二醇是发酵产物普遍存在的成分，本身香气不是很好，但能与其他成分起到微妙的调香作用，并且还能与酸类化合物发生酯化反应形成酯，对酱油具有增香作用[11]。2，3-丁二醇是细菌代谢的产物，由之前的实验得知，传统固形物浓度发酵酱油的细菌数量更高，而传统固形物浓度较低，因而含有更多的 2，3-丁二醇。具有花香的苯乙醇的含量随发酵固形物浓度的增加而增大，苯乙醇属于芳香族醇，主要是在酵母菌体内，由氨基酸经 Ehrlich 反应而生成[12]。在本研究的基础上得知，在高固形物浓度发酵中，酵母菌的数量更多，为产生更多的苯乙醇提供了可能。此外苯乙醇还可以来源于亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸的降解，之前的研究看到这几种氨基酸的含量在高固形物浓度发酵下均得到提高，从而为苯乙醇提供了更多降解来源。

醛酮类化合物在较低浓度时呈现出令人愉悦的香气，浓度高则给人刺激感。共检测到 26 种醛酮类化合物，酮类化合物的总量随固形物浓度的增加而呈现降低趋势，其中含量较高的是 2-甲基丙醛、2/3-甲基丁醛，且含量均随发酵固形物浓度的增加而提高。醛类化合物在 SS1.1 中的含量分别是 SS1.5、SS2.0 和 SS2.5 的 1.7、2.4 和 3.4 倍,其中有较大贡献的苯乙醛、2/3-甲基丁醛、2-甲基丙醛等在高固形物浓度发酵的酱油中表现出显著提升,这些物质能产生令人愉悦的香气，已有相关文献报道在大豆发酵品中检测出这类挥发性醛[11~16]。2/3-甲基丁醛为 Strecker 醛，是酱油香气物质中重要的组分，其主要生成途径可能有两种，一是来

源于亮氨酸和异亮氨酸的 Strecker 降解，而另一种是微生物利用游离氨基酸的转氨和去羰基作用[18]。其中 Strecker 降解需要相对较低的水分活度等条件（0.85 左右）[16]。结合之前的实验结果，较高固形物浓度发酵具有更低的水分活度，因而发酵过程中可能产生更多的 2/3-甲基丁醛。除此之外，酱油中一些长链的醛类化合物（如壬醛、月桂醛等）常常通过脂类物质的 β-氧化形成[16]。酮类化合物通常属于发酵中间产物，具有不稳定的特性，它与长链醛类来源相似，主要通过脂类降解以及脂肪酸的 β-氧化和脱羧形成[13]。

酯类物质是食品香气化合物最重要的种类之一，酯类物质有较高的挥发性并且极易被人的嗅觉受体所感受到[16]。大多数酯类物质具有果香，并且对于一些具有刺激性的风味有抑制作用，给酱油带来良好的香气。本实验共检测到 15 种酯类化合物，其中含量较高的是乙酸乙酯、4-羟基丁酸内酯。在不同固形物浓度的酱油中，随固形物浓度增加而升高的物质为苯甲酸乙酯，其具有强烈的甜香，是主要的香气贡献物质[10]。已有相关研究报道酱油中酯类化合物的积累和形成与酱醪中的酵母代谢活动密切相关[1]，酵母发酵氨基酸，通过 Krebes 途径生成酯类物质。由之前的实验可知，提高固形物浓度有利于酵母菌的保存，而 SS1.1 和 SS1.5 中的酵母菌数量高于其他样，因而能产生更多的酯类物质。

酱油中的杂环化合物极大的丰富了酱油的风味。对于表 1 中其余含量较低的化合物，包括呋喃（酮）、吡喃（酮）、吡咯、吡嗪、含硫化合物、酚类化合物以及其他化合物，这些物质含量虽然不高，但对酱油的特征风味具有重要贡献[7,11,15]。

吡咯类化合物中，2-乙酰吡咯具有焦糖香，被认为是日式酱油中的关键香气化合物[9]。呋喃（酮）类化合物在不同固形物浓度发酵的酱油中的含量差异较大，其中，低固形物浓度的 SS2.0 和 SS2.5 未检测到 5-甲基糠醛。除了 2-甲基呋喃、苯并呋喃、3-羟基-4,5-二甲基-2(5H)呋喃酮三种化合物外，其余的呋喃类化合物在高固形物浓度发酵的酱油中均显著提高，尤其是酱油特征香气化合物 HDMF 和 HEMF。从表 1 来看，HDMF 和 HEMF 在 SS1.5 中含量是 SS2.5 的 2.25 和 3.26 倍，在 SS1.1 中含量为 SS2.5 的 1.20 和 2.98 倍。HEMF 是酵母发酵的产物，除具有焦糖香外，还能使酱油的盐味柔和，味道圆滑[17]。由之前的实验可知，提高固形物浓度发酵有利于酵母的存留，因而有利于 HEMF 的生成。同样具有焦糖香味的 HDMF 是美拉德反应的产物[1,13]，SS1.1 和 SS1.5 含有较高的还原糖，因此为样品中生成呋喃类化合物提供更多物质基础。

另一类同样来源于美拉德反应的化合物吡喃(酮）也是酱油中焦糖香气的重要来源之一，其含量随发酵固形物浓度的增大而增加，其中 SS1.5 中麦芽酚的含量分别是 SS2.0 和 SS2.5 的 2.1 和 2.4 倍。麦芽酚具有焦奶油硬糖的特殊香气，在酱油制曲阶段，原料经蒸煮加热后就已经产生，随后在微生物发酵作用下逐渐减少甚至消失[16]，从表 1 中麦芽酚的相对峰面积可以看出其在发酵阶段重新生成，其本身就是一种广谱香味增效剂，对酱油中其他香气具有提升作用，因而对酱油的香气有重要贡献[14]。

含硫化合物中，3-甲硫基丙醛和 3-甲硫基丙醇是酱油中活性最强的香气物质之一[7]，其含量随高固形物浓度的增加而增加。它们主要来源于甲硫氨酸的降解，是酱香的主要来源，对酱油整体香气具有提升作用。

表 1 中检测到的愈创木酚、4-乙烯基-愈创木酚以及 2,6-二甲氧基苯酚均为酱油风味的贡献者，已有研究报道这些化合物给日本酱油带来良好的香气，其主要源于酱油生产过程中假丝酵母利用原料中小麦所产生[17]。除了愈创木酚，其余酚类化合物的含量均随固形物浓度的增加而提升。

此外，吡嗪类化合物同样随发酵固形物浓度的增加而增加。造成这种差异的物质主要是 2,5-二甲基吡嗪，SS1.1 中的 2,5-二甲基吡嗪含量是 SS2.5 的 20 倍。吡嗪类化合物主要形成途径包括：支链氨基酸经微生物所产酶生物合成转变而成；发酵阶段醛酮物质与氨基酸缩合而成。这类烷基吡嗪使酱油的芳香气味更突出[13]。

表 1 不同固形物浓度发酵酱油香气物质及含量

Table 1 Volatile compounds extracted from soy sauces fermented using different concentrations of solids

RI[a]	香气化合物	相对峰面积[b]				确定方法[c]
		SS1.1	SS1.5	SS2.0	SS2.5	
醇						
1131	苯乙醇	5.04±0.11	4.84±0.06	2.91±0.06	3.43±0.04	AB
1105		371.99±3.77	352.79±3.54	184.13±1.56	138.73±1.45	AB

转下页

接上页

740	3-甲基丁醇	4.53±0.05	9.34±0.10	12.89±0.22	7.79±0.21	AB
744	2-甲基丁醇	1.15±0.02	2.96±0.05	4.71±0.10	2.34±0.08	AB
<600	乙醇	4.49±0.17	2.11±0.02	2.55±0.09	2.99±0.10	AB
729	戊醇	2.04±0.04	5.70±0.06	7.56±0.27	4.45±0.05	AB
655	丙酮醇	1369.45±13.66	501.95±10.33	325.80±7.21	248.52±5.35	AB
782	2,3-丁二醇	761.58±4.55	1914.55±10.45	2028.52±12.34	3047.22±9.88	AB
752	丙二醇	94.17±2.01	211.84±1.11	112.61±1.77	53.14±1.23	A
1266	2-丁基-1-辛醇	27.42±0.23	29.95±0.28	31.24±0.34	28.95±0.56	A
1483	异十三烷醇	26.99±0.54	29.58±0.39	33.42±0.45	18.35±0.43	A
970	苯甲醇	18.49±0.44	18.58±0.47	11.75±0.48	13.29±0.67	A
1023	3,7-二甲基-1-辛醇	6.98±0.21	7.71±0.23	8.68±0.33	5.95±0.32	A
总计		2694.33±25.8	3091.89±27.09	2766.76±25.22	3575.14±20.37	
酯						
<600	乙酸甲酯	5.34±0.06	8.61±0.12	9.82±0.26	6.96±0.30	A
612	乙酸乙酯	0.13±0.00	0.06±0.01	0.10±0.02	0.08±0.01	AB
<600		34.20±0.32	37.79±0.39	31.52±0.29	32.05±0.34	AB
764	2-甲基丁酸甲酯	0.54±0.01	0.48±0.02	0.39±0.04	0.33±0.04	A
765	异戊酸甲酯	0.42±0.02	0.36±0.02	0.23±0.03	0.19±0.05	A
879	乙酸异戊酯	0.55±0.00	0.90±0.10	0.92±0.08	0.45±0.04	AB
1003	己酸乙酯	0.14±0.00	0.04±0.00	0.05±0.01	0.02±0.00	AB
1105	苯甲酸甲酯	1.17±0.03	0.94±0.03	0.96±0.11	0.70±0.02	AB
1117	辛酸甲酯	0.36±0.01	0.48±0.02	0.41±0.07	0.33±0.02	A
1183	苯甲酸乙酯	3.36±0.12	2.19±0.09	1.86±0.10	1.32±0.06	AB
1249	苯乙酸甲酯	3.36±0.09	5.63±0.11	2.21±0.12	2.09±0.10	AB
1186	辛酸乙酯	1.69±0.03	0.74±0.06	0.41±0.02	0.23±0.04	A
1263	乙酸苯乙酯	1.46±0.02	0.78±0.07	0.48±0.03	0.33±0.03	AB
1383	葵酸乙酯	1.08±0.00	0.42±0.01	0.26±0.01	0.15±0.01	A
889	4-羟基丁酸内酯	85.49±0.67	100.46±0.88	75.81±0.76	57.83±0.79	A
1313	甲羟戊酸内酯	24.13±0.77	13.41±0.44	-	-	A
总计		163.41±2.15	173.26±2.37	125.43±1.95	103.08±1.85	
酸						
623	乙酸	229.84±2.33	186.47±1.87	181.25±1.79	175.63±1.34	AB
		6176.44±5.89	5624.83±5.41	4420.87±5.32	5034.08±6.54	AB
806	2-甲基丙酸	5.51±0.12	0.81±0.09	0.48±0.05	0.48±0.02	AB
882	3-甲基丁酸	81.31±1.24	22.59±0.59	13.17±0.30	10.52±0.45	AB
853		12167.05±10.67	2426.29±5.37	1093.75±3.27	960.10±3.01	AB
890	2-甲基丁酸	13.01±0.68	2.37±0.15	1.61±0.09	1.34±0.09	AB
860		2885.90±1.23	530.39±1.02	297.31±1.65	211.55±1.29	AB
777		926.58±2.11	86.32±0.63	101.81±1.07	86.72±0.82	AB
721	丙酸	122.77±1.45	28.17±0.68	24.64±0.78	27.09±0.68	AB
756	2-酮丁酸	31.61±0.89	17.65±0.80	11.03±0.65	7.26±0.49	A
总计		22640.01±26.61	8925.9±16.61	10370.27±14.97	11360.87±14.73	
醛						

转下页

接上页

<600	2-甲基丙醛	3.82±0.15	5.93±0.19	6.62±0.23	4.55±0.25	AB
646		130.17±0.67	97.27±0.56	85.00±0.74	37.96±0.57	AB
655	3-甲基丁醛	19.69±0.43	14.46±0.21	13.70±0.33	12.59±0.37	AB
629		318.36±1.87	147.27±1.28	96.42±1.02	90.80±1.42	AB
665	2-甲基丁醛	14.06±0.08	12.34±0.16	13.10±0.14	10.75±0.21	AB
640		112.93±2.34	81.75±1.19	53.71±0.83	40.98±0.76	AB
980	苯甲醛	3.50±0.05	3.17±0.08	3.32±0.10	2.58±0.08	AB
938		8.14±0.34	4.70±0.32	3.87±0.29	2.34±0.23	AB
1060	苯乙醛	7.14±0.09	4.76±0.06	5.48±0.04	5.13±0.02	AB
1023		110.79±3.21	55.66±1.07	60.82±1.55	37.98±0.31	AB
1069	反-2-辛烯醛	0.14±0.01	0.16±0.01	0.28±0.00	0.28±0.01	AB
1498	5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	0.20±0.00	0.09±0.00	0.11±0.01	0.06±0.01	AB
1079	壬醛	7.71±0.33	4.97±0.30	6.17±0.43	4.68±0.12	AB
1407	月桂醛	10.71±0.29	8.38±0.25	10.37±0.34	5.60±0.21	A
1513	4-苯基丁醛	101.50±5.11	76.11±4.98	17.53±0.78	16.62±0.43	A
809	2-乙基-丁醛	19.75±0.45	8.94±0.33	1.42±0.12	2.03±0.09	A
1485	5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	1.04±0.12	1.58±0.19	0.68±0.09	0.45±0.02	A
总计		869.63±15.54	527.55±11.18	378.59±7.14	275.38±5.11	
酮						
<600	丙酮	2.07±0.08	4.55±0.12	5.83±0.20	3.41±0.07	AB
<600	2,3-丁二酮	1.52±0.10	2.35±0.09	3.18±0.09	4.80±0.18	AB
603	2-丁酮	0.79±0.07	1.50±0.10	1.57±0.05	1.00±0.11	AB
690	3-戊酮	0.28±0.01	0.37±0.02	0.38±0.01	0.37±0.02	A
715	3-羟基-2-丁酮	3.58±0.12	6.76±0.19	13.69±0.31	17.07±0.38	A
710		2472.64±12.44	3866.60±16.77	7481.95±22.76	8868.74±32.56	AB
836	2,3-庚烷二酮	0.09±0.00	0.19±0.02	0.57±0.03	0.67±0.12	A
892	2-庚酮	0.57±0.01	0.45±0.06	0.73±0.05	0.58±0.06	A
978	1-辛烯-3-酮	0.98±0.02	1.56±0.08	2.54±0.11	1.60±0.19	A
983	3-辛酮	1.15±0.04	3.21±0.15	5.26±0.15	3.27±0.22	A
685	2-戊酮	9.54±0.23	7.43±0.31	3.41±0.19	3.87±0.17	A
1039	苯乙酮	7.42±0.44	8.34±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	A
<600	2,3-丁二酮	8.95±0.33	9.94±0.39	6.30±0.34	2.11±0.24	A
1014	甲基环戊烯醇酮	13.59±1.11	11.36±0.99	3.12±0.21	5.39±0.45	AB
1139	3,5-二甲基-4-庚酮	26.46±0.78	37.45±1.34	23.79±0.79	17.34±0.54	A
总计		2549.64±15.78	3962.07±21.13	7552.32±25.29	8930.2±35.31	
呋喃(酮)						
603	2-甲基呋喃	0.41±0.05	0.97±0.04	1.01±0.18	0.53±0.03	AB
707	2,5-二甲基呋喃	0.64±0.04	1.44±0.07	1.20±0.17	0.46±0.02	AB
685		0.71±0.12	0.75±0.21	0.20±0.01	0.20±0.02	A
1006	苯并呋喃	0.42±0.04	0.39±0.02	0.40±0.02	0.20±0.00	AB
980	5-甲基糠醛	0.51±0.03	0.06±0.01	0.07±0.01	0.02±0.00	AB
932		3.39±0.33	1.73±0.14	0.00±0.00	0.00±0.00	AB

转下页

接上页

850		1.35±0.07	0.85±0.10	0.84±0.02	0.58±0.03	AB
818	糠醛	15.80±1.12	4.02±0.33	2.06±0.21	2.29±0.22	AB
836		18.05±1.78	30.37±2.01	12.07±1.23	7.57±0.71	AB
1066	HDMF	189.40±1.11	359.10±4.55	166.03±1.56	159.91±1.39	AB
1147	HEMF	45.39±0.67	49.63±0.77	19.75±0.43	15.22±0.55	AB
1103	3-羟基-4,5-二甲基-2(5H)呋喃酮	0.51±0.22	0.61±0.10	0.89±0.11	0.62±0.07	A
1150	5-乙基-2（5H）呋喃酮	12.99±0.79	16.02±0.67	10.66±0.52	5.80±0.34	A
总计		289.56±6.37	465.93±10.02	215.18±4.47	193.4±3.38	
吡嗪						
838	2-甲基吡嗪	5.41±0.05	3.87±0.11	3.98±0.09	2.62±0.13	AB
810		31.69±4.44	18.85±2.03	15.30±1.35	10.54±1.01	
923	2,5-二甲基吡嗪	592.89±2.61	64.12±0.78	70.14±0.69	32.64±0.61	AB
888		2161.50±23.76	280.25±1.24	242.00±1.36	107.95±1.22	
1010	2-乙基-6-甲基吡嗪	2.41±0.11	0.84±0.06	0.75±0.10	0.33±0.10	AB
1023		4.33±0.19	1.27±0.10	1.22±0.07	0.92±0.12	A
1015	2,3,5-三甲基吡嗪	20.12±0.26	5.93±0.14	8.89±0.19	5.66±0.21	AB
969		212.51±9.77	59.43±1.69	62.25±1.92	50.21±1.03	A
1078	2-乙基-3，5-二甲基吡嗪	1.48±0.11	0.29±0.03	0.33±0.02	0.17±0.07	AB
1086	2,3,5,6-四甲基吡嗪	2.87±0.09	1.53±0.02	3.69±0.09	3.23±0.11	A
1129	2-乙酰基-3-乙基吡嗪	0.15±0.00	0.10±0.01	0.25±0.01	0.15±0.01	A
1308	2-丁基-3,5-二甲基吡嗪	0.46±0.08	0.13±0.01	0.09±0.01	0.05±0.00	A
963	2-乙基-3-甲基吡嗪	15.69±0.56	4.38±0.14	2.49±0.18	1.44±0.11	A
1255	2-甲基-5-丙基吡嗪	65.34±2.22	22.35±1.59	11.18±0.79	8.09±0.98	A
1364	2,5-二甲基-3-丙基吡嗪	24.30±3.45	13.62±1.20	7.05±1.10	5.68±1.17	A
1382	4-甲基吡咯并[1,2-a]吡嗪	13.69±1.09	11.09±0.89	7.20±0.56	3.62±0.46	A
882	2,3-二甲基吡嗪	10.28±0.63	3.63±0.09	4.37±0.23	3.37±0.38	A
总计		3165.112±49.42	491.67±10.13	441.16±6.87	236.67±7.82	
硫化物						
1153	甲硫醚	0.04±0.00	0.10±0.01	0.12±0.02	0.05±0.00	A
744	二甲基二硫	1.19±0.02	0.48±0.01	1.15±0.06	1.06±0.08	AB
978	二甲基三硫	2.18±0.04	0.33±0.00	1.48±0.08	1.86±0.07	AB
923	3-甲硫基丙醛	0.94±0.03	0.63±0.02	0.65±0.02	0.33±0.02	AB
883		40.59±3.77	21.83±3.43	22.08±3.26	13.44±1.22	AB
962	3-甲硫基丙醇	26.80±1.43	15.23±1.05	16.32±1.08	9.85±1.68	AB
1228	2,3-二氢噻吩	34.79±2.33	16.84±1.45	0.00±0.00	0.00±0.00	AB
1328	2,5-二甲基-2,4-二羟基-3(2H)噻吩酮	9.04±0.89	15.58±0.87	7.30±0.45	8.08±0.79	A
总计		115.56±8.51	71.02±3.94	49.1±4.97	34.68±3.86	
酚						
1071	愈创木酚	9.24±0.56	5.57±0.21	7.34±0.33	8.25±0.43	AB
1338	对乙烯基愈疮木酚	16.55±1.04	18.25±1.09	8.51±0.76	8.39±0.82	AB
1384	2,6-二甲氧基苯酚	67.01±3.03	72.39±3.68	3.87±0.14	32.80±1.01	AB
1502	2,4-二叔丁基苯酚	358.77±2.11	476.82±4.02	387.34±4.02	269.58±3.04	A

转下页

接上页						
总计		451.57±5.74	573.03±9.00	407.05±5.25	319.02±5.30	
吡喃						
1109	麦芽酚	120.53±4.37	139.93±4.76	66.80±2.12	58.18±3.01	AB
1175	5,6-二氢-4-甲基-2H-吡喃-2 酮	13.20±0.55	9.77±0.44	4.80±0.12	4.01±0.20	AB
1185	3-甲氧基-2-甲基-4H-吡喃 4-酮	231.04±2.67	212.94±2.89	141.80±1.73	115.90±1.90	A
1137	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4 酮	235.3±2.48	290.07±2.57	177.16±2.13	110.22±1.89	A
总计		600.07±10.07	652.71±10.66	390.56±6.1	288.31±8.00	
吡咯						
1064	2-乙酰基吡咯	82.06±1.28	104.18±1.59	59.28±1.22	39.32±1.34	AB
1026	1-甲基-2-吡咯烷酮	62.85±1.05	47.86±0.99	60.61±1.34	46.72±0.93	A
1104	2-吡咯烷酮	83.67±1.16	49.75±0.56	47.33±0.68	38.38±0.59	AB
总计		228.57±3.49	201.79±3.14	167.22±3.24	124.42±2.86	
其他						
977	双戊烯	3.74±0.21	4.18±0.20	4.39±0.18	3.08±0.08	A
1018	3,7-二甲基-1-辛烯	21.08±0.66	18.44±0.45	21.63±0.65	20.73±0.84	A
987	柠檬烯	3.74±0.23	4.18±0.33	4.39±0.43	3.08±0.30	AB
821	乙基苯	29.86±1.22	33.99±1.45	28.94±1.23	28.11±1.44	A
848	对二甲苯	92.86±1.86	102.84±1.89	86.00±2.04	85.17±2.10	A
1182	萘	92.44±1.79	188.24±2.77	250.17±3.21	96.39±3.29	AB
851	苯乙烯	51.20±0.87	51.18±1.49	46.39±1.54	44.33±1.34	A
1105	甲基苯乙烯	0.32±0.12	0.39±0.13	0.36±0.10	0.31±0.10	A
总计		295.23±6.96	403.44±8.71	442.26±9.38	281.21±9.49	
1099	愈创木酚	2.15±0.10	1.51±0.09	1.56±0.04	1.55±0.17	AB
1089	3-乙酰基-1H-吡咯	0.54±0.02	0.51±0.03	0.31±0.01	0.27±0.04	AB
998	苯甲氰	2.39±0.13	1.96±0.11	1.87±0.07	1.49±0.20	A
1153	邻苯二甲醚	3.38±0.17	1.68±0.05	1.54±0.05	0.51±0.03	A
1182	萘	13.04±0.22	12.55±0.21	12.20±0.10	12.14±0.30	AB
1226	2-羟基萘	0.49±0.02	0.47±0.02	0.38±0.02	0.22±0.04	A
818	1,3-辛烯	0.20±0.01	0.24±0.01	0.33±0.02	0.42±0.03	A
1028	柠檬烯	3.31±0.14	4.12±0.17	3.64±0.11	3.42±0.15	AB
1404	alpha-柏木烯	0.29±0.01	0.26±0.00	0.26±0.01	0.29±0.02	A
总计		25.79±0.82	23.31±0.69	22.09±0.43	20.31±1.01	

注:[a]: Retention indices; [b]: 化合物峰面积与内标（20 μL，17.24 mg/L 2-甲基-3-庚酮）峰面积的比值; -: 该物质未被检测到; [c]: 香气物质确定方法，(A)NIST/Wiley 数据库; (B)对比香气化合物的 RI (科瓦茨常数)和真实物质的 RI。

2.3 不同固形物浓度发酵酱油的香气感官分析

采用定量描述分析方法，从醇香、酸香、土豆香、果香、烟熏、焦香及花香这七种风味特性来评价不同固形物浓度发酵的酱油的风味特征。如图 2 所示，不同固形物浓度发酵的酱油香气物质感官评定的结果除在烤土豆香上差异不显著外，其他香味均有显著的差异。

发酵固形物浓度为 41%的 SS1.1 具有最突出的酸香，但花香、醇香、焦香较弱，GC-MS 分析得出高固形物浓度发酵的酱油中的酸类香气物质含量较高，并且随着固形物浓度的增加,酸类物质呈现增长的趋势。浓度为 37%的 SS1.5 酸香较 SS1.1 有所下降，但烟熏味最强，花香、醇香、焦香均有一定强度；SS2.0 和 SS2.5 在焦香，花香和醇香上较为突出，但烟熏味和酸香较弱，GC-MS 结果表明固形物浓度较低时，检测

出的具有典型焦糖香味的 HEMF 含量较高。表明高固形物浓度发酵的酱油具有更加良好的风味。

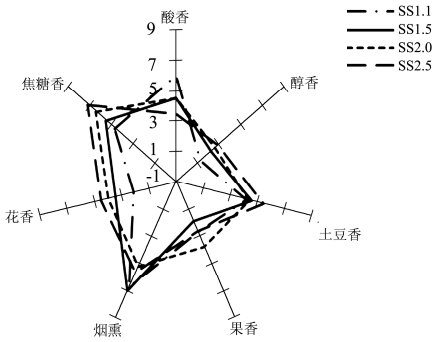


图 2 不同固形物浓度发酵的酱油香气感官评定

Fig.2 Sensory evaluation of the flavor of soy sauces fermented using different concentrations of solids

3 结论

3.1 比较不同提取方法对酱油香气的提取效果，四个固形物浓度发酵的酱油样品用 SPME 法提取到的挥发性香气物质种类相同，共得到 65 种物质，DSE 法共得到 73 种。SPME 法对酱油中各物质萃取较为全面，尤其是酯类物质，但对呋喃（酮）、吡喃（酮）这一类较难挥发的香气物质萃取效果不佳，而 DSE 的效果恰好能与之互补。

3.2 GC-MS 分析得出，四个固形物浓度发酵的酱油中，醇、醛、酮、酸类是挥发性风味物的主要成分。不同固形物浓度发酵的酱油中香气物质的种类相同，但是含量差异较大，其中酸类物质的含量最多。高固形物浓度发酵的酱油中，除醇和酮类物质以外，其他物质均表现出显著的增加，其中，酱油的重要香气物质 HDMF 和 HEMF 在 SS1.5 中含量分别是 SS2.5 的 2.25 和 3.26 倍，苯乙醛、2/3-甲基丁醛、2-甲基丙醛等在高固形物浓度发酵的酱油中表现出显著提升，SS1.1 中的 2,5-二甲基吡嗪含量是 SS2.5 的 20 倍。上述结果表明高固形物浓度发酵的酱油具有更浓郁的香气。

3.3 本研究主要对四个不同固形物浓度发酵的酱油的香气物质进行研究和对比，根据香气感官评定，高固形物浓度发酵的酱油具有更突出的酸味和烟熏味，但花香、醇香和焦香不如传统固形物浓度下发酵的酱油。整体上，提高固形物浓度发酵的酱油香气更为均衡。

参考文献

[1] Feng Y, Chen Z, Liu N, et al. Changes in fatty acid compositian and lipid profile during koji fermentation and their relationships with soy sauce flavor [J]. Food Chemistry, 2014, 158: 428-444

[2] 高献礼.高盐稀态酱油在发酵和巴氏杀菌过程中风味物质的形成和变化的研究[D].广州:华南理工大学,2010
GAO Xian-li. Study on the formation and changes of flavor compounds in high-salt and diluted-state soy sauce during fermentation and pasteurization [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010

[3] Feng Y, Cai Y, Su G, et al. Evaluation of aroma differences between high-salt liquid-state fermentation and low-salt solid-state fermentation soy sauces from China [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 126-134

[4] Van Der Sluis C, Tramper J, Wijffels R H. Enhancing and accelerating flavour formation by salt-tolerant yeasts in Japanese soy-sauce processes [J]. Trends in Food Science & Technology, 2001, 12(9): 322-327

[5] 刘贞诚,李国基,耿予欢,等.固相微萃取提取酱油中挥发性成分条件的优化[J].中国酿造,2012,11:130-134
LIU Zhen-cheng, LI Guo-ji, GENG Yu-huan, et al. Optimization of SPME extraction conditions for flavor compounds in soy sauce [J]. China Brewing, 2012, 11: 130-134

[6] Wanakhachornkrai P, Lertsiri S. Comparison of determination method for volatile compounds in Thai soy sauce [J]. Food Chemistry, 2003, 83(4): 619-629

[7] Feng Y, Cai Y, Su G, et al. Evaluation of aroma differences between high-salt liquid-state fermentation and low-salt solid-state fermentation soy sauces from China [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 126-134

[8] 罗龙娟,高献礼,冯云子,等.中式酱油和日式酱油香气物质的对比研究[J].中国酿造,2011,30(5):150-155
LUO Long-juan, GAO Xian-li, FENG Yun-zi, et al. Comparative study on aroma compounds in Chinese-type and Japanese-type soy sauces [J]. China Brewing, 2011, 30(5): 150-155

[9] Steinhaus P, Schieberle P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 6262-6269

[10] Gao X L, Cui C, Zhao H F, et al. Changes in volatile aroma compounds of traditional Chinese-type Soy Sauce during moromi fermentation and heat treatment [J]. Food Science and Biotechnology, 2010, 19: 889-898

[11] Sun S Y, Jiang W G, Zhao Y P. Profile of volatile compounds in 12 Chinese soy sauces produced by a high-salt-siluted state

fermentation [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2012, 116: 316-328

[12] Lin C H, Wei Y T, Chou C C. Enhanced antioxidative activity of soybean koji prepared with various filamentous fungi [J]. Food Microbiology, 2006, 23(7): 628-633

[13] Zhang Y F, Tao W Y. Flavour and taste compounds analysis in Chinese solid fermented soy sauce [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 8: 673-681

[14] Shieh Y S C, Beuchat L R, Worthington R E, et al. Physical and chemical changes in fermented peanut and soybean pastes containing kojis prepared using aspergillus oryzae and rhizopus oligosporus [J]. Journal of Food Science, 1982, 47(2): 523-529

[15] O'toole D K. The role of microorganisms in soy sauce production [J]. Advances in Applied Microbiology, 1997, 45: 87-152

[16] Lee S M, Seo B C, Kim Y S. Volatile compounds in fermented and acid hydrolyzed soy sauces [J]. Journal of Food Science, 2006, 71:146-156

[17] Giri A, Osako K, Okamoto A, et al. Olfactometric characterization of aroma active compounds in fermented fish paste in comparison with fish sauce, fermented soy paste and sauce products [J]. Food Research International, 2010, 43: 1027-1040

现代食品科技