



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20180492

数字出版日期: 2019-12-19; 数字出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20191219.1130.002.html>

液液萃取-气相色谱-质谱法快速分析酱油中的呈香组分

丁莉莉¹, 王昊¹, 潘志辉², 张洁³, 赵国忠¹

(1. 食品生物技术教育部工程研究中心, 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457;
2. 广州致美斋食品有限公司, 广州 510403; 3. 天津市食品安全检测技术研究院, 天津 300308)

摘要: 本文采用液液萃取-气相色谱-质谱法(LLE-GC/MS法)快速分析了酱油中的呈香成分。经单因素和正交实验优化后的最佳液液萃取前处理条件: 选择用二氯甲烷为萃取剂, 料液比为1:1.5, 萃取时间为30 min。在最佳萃取条件下利用LLE-GC/MS法分别从头抽酱油和生抽酱油中检测出79种和94种呈香组分。经过进一步分析比较, 发现两款酱油的呈香组分差异较大。头抽酱油中的主要呈香组分是酸类, 占总含量的28.04%; 头抽酱油中含量较高的为4-羟基丁酸甲酯、异丁酸和3-甲基-2-戊醇; D-丙氨酸仅在头抽酱油中检出。醇类化合物是生抽酱油的最主要呈香组分, 相对含量为39.45%; 生抽酱油中含量较高的为1,3-辛二醇、1,3-丁二醇和醋酸; 醛类和糖类物质仅在生抽酱油中检出。

关键词: 液液萃取; 气相色谱-质谱法; 酱油; 呈香组分

中图分类号: TS255.54

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2020)02-0022-08

Quick Analysis of Aromatic Components in Soy Sauce with Liquid-liquid Extraction-gas Chromatography-mass Spectrometry

DING Lili¹, WANG Hao¹, PAN Zhihui², ZHANG Jie³, ZHAO Guozhong¹

(1. Engineering Research Center of Food Biotechnology, Ministry of Education, College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. Guangzhou Jammy Chai Sauce Workshop Co., Ltd., Guangzhou 510403, China;
3. Tianjin Food Safety Inspection Technology Institute., Tianjin 300308, China)

Abstract: In this research, the aromatic components of soy sauce were rapidly analyzed with liquid-liquid extraction-gas chromatography-mass spectrometry (LLE-GC/MS). After optimization with single factor and orthogonal tests, the optimum extraction conditions with methylene dichloride as extractant were decided as follows: the solid-liquid ratio was 1:1.5, and the extraction time was 30 minutes. Under the optimized conditions, 79 and 94 aromatic components were separately identified from the head-pumped soy sauce and the raw soy sauce. After further analysis and comparison, it was found that the aromatic components of the two kinds of soy sauce were quite different. The main aromatic components of the head-pumped soy sauce are acids, accounting for 28.04% of the total content; the highest contents of the head-pumped soy sauce are 4-hydroxybutyrate, isobutyric acid and 3-methyl-2-pentanol; D-alanine is the unique component of the head-pumped soy sauce. Alcohols are the main aromatic components of the raw soy sauce, and the relative content is 39.45%. The highest contents of the raw soy sauce are 1,3-octanediol, 1,3-butanediol and acetic acid. Aldehydes and sugars are the unique components of the raw soy sauce.

Key words: liquid-liquid extraction; gas chromatography-mass spectrometry; soy sauce; aromatic components

酱油是以大豆或者豆粕等植物蛋白为主要原料, 辅以面粉、小麦、麸皮等淀粉质原料, 经过微生物发

酵作用生产出的一种含有多种氨基酸且具有特殊色、香、味的调味品^[1]。在发酵过程中, 根据酱油的发酵

收稿日期: 2018-12-19; 修回日期: 2019-04-23

基金项目: 食品生物技术教育部工程研究中心(天津科技大学)应用化项目(SPZX003-18)

作者简介: 丁莉莉(1993—), 女, 安徽阜阳人, 硕士研究生; 通信作者: 赵国忠, 副教授, zhaoguozechong@tust.edu.cn

程序和色泽,将酱油细分为头抽酱油和生抽酱油^[2-3]。头抽酱油即是发酵后头一遍晒成的豉油,是指酱醪完全成熟后,将这些晒制成熟的原汁酱醪首次提炼出来的豉油^[4]。头抽酱油中不仅氨基酸含量高,含有豆类许多原有的营养成分,而且还具有极好的香气和滋味^[5]。生抽酱油是将晒制成熟的原汁酱油或二抽油(第二次复酿抽取的油)、三抽油(第三次复酿抽取的油)混合调配煮制成为成品酱油。生抽酱油味道鲜美、豉香浓郁、口感醇厚,具有开胃消食的功效^[6]。目前,在所有市售酱油中已分析出300多种成分,主要包括醇类、酯类、酸类、醛类、酚类、呋喃类、吡嗪类等挥发性成分^[7-8],但针对头抽酱油和生抽酱油中的低挥发性呈香组分的比较分析研究甚少。

液液萃取法(liquid-liquid extraction, LLE)即直接溶剂萃取法,是最常用、最经典的有机化合物提取方法,这种方法是利用样品中不同组分在两种不相混溶的溶剂中溶解度或分配比的不同,达到分离、提取或纯化的目的^[9-12]。液液萃取技术不仅处理的样本量大,易于获得一些含量微小但可能对风味影响更大的化合物,还可以通过液体进样,收集到低挥发性的呈香组分。液液萃取法与顶空固相吸附法相比,虽然顶空固相吸附法对样品前处理要求简单,但其只能萃取出样品中较易挥发的风味物质,由于顶空固相吸附法易受周围实验环境的影响,故不能精确地反映出样品中风味物质的真实含量。因此,本文通过对液液萃取条件的优化,探索出一种适合酱油中呈香组分快速和高效分离的前处理方法。

1 材料与方法

1.1 材料

2-辛醇(纯度99%),上海安谱实验科技股份有限公司;甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷均为色谱纯,无水硫酸钠为分析纯,天津泰艾瑞科技有限公司。市售的两款头抽酱油和生抽酱油。

GC/MS 2010型气相色谱-质谱联用仪,配置分流/不分流进样口和四级杆质量分析器,日本岛津公司;RCT磁力搅拌器,德国依仕IKA公司,旋转蒸发浓缩装置、氮吹仪装置,郑州长城科工贸有限公司。

1.2 样品前处理方法

取50 mL酱油加入一定量的萃取溶剂和30 μ L(200.5 mg/L)的2-辛醇甲醇溶液作为内标于250 mL碘量瓶内,加入磁力搅拌子,30 $^{\circ}$ C水浴搅拌提取一定时间后,3 000 r/min离心15 min。取上清酱

油样重复提取一次,合并提取液,加入无水硫酸钠于-20 $^{\circ}$ C冷冻过夜除水后,60 $^{\circ}$ C旋转蒸发浓缩至约2.0~3.0 mL,过0.22 μ m有机滤膜到分析瓶中,氮吹浓缩至1.0 mL,待进行GC/MS分析。

1.3 仪器条件

色谱条件:BR-SWax色谱柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.5 μ m),载气为He,流量1 mL/min,分流比10:1。样口温度和柱箱升温程序为:进样口温度250 $^{\circ}$ C,初始温度为40 $^{\circ}$ C,保持3 min;然后以4 $^{\circ}$ C/min升至150 $^{\circ}$ C,保持2 min;再以8 $^{\circ}$ C/min升至250 $^{\circ}$ C,保持6 min。

质谱条件:EI源(70 eV),离子源温度220 $^{\circ}$ C,传输线温度280 $^{\circ}$ C,扫描方式为全扫描,扫描范围m/z为40~500。

1.4 数据处理

定性分析:呈香组分的鉴定根据NIST11数据库进行检索分析确定,参考相关文献和谱库初步鉴定物质成分,结合保留时间和定性离子进行准确定性,相似度在75以上的化合物,被认为是可识别物质。

定量分析:本章采用面积归一法确定呈香组分的相对含量及内标法(2-辛醇为内标,响应因子=1)对酱油中呈香物质进行半定量分析。每个样品平行测定3次,取其平均值进行后续分析。

2 结果与分析

2.1 液液萃取法条件优化

以头抽酱油为研究对象,对液液萃取法的条件进行优化。

2.1.1 不同溶剂对提取酱油中呈香组分的影响

本实验选取极性有一定差异的乙酸乙酯(极性指数4.3)、二氯甲烷(极性指数3.4)和正己烷(极性指数0.06)作为研究对象^[13-14],料液比为1:2,萃取时间为30 min,参照1.2节方法,对比GC/MS分析,结果如图1所示。由图1可知:从乙酸乙酯、二氯甲烷和正己烷萃取液中分别分析鉴定出66种、74种和58种呈香物质,且二氯甲烷萃取物所鉴定出物质的总峰面积约为 6.2×10^9 ,乙酸乙酯萃取物所鉴定出物质的总峰面积约为 4.9×10^9 ,正己烷萃取物所鉴定出物质的总峰面积约为 4.0×10^9 。二氯甲烷萃取物所得峰面积总和约是正己烷萃取物的1.6倍,正己烷的萃取效率较低,这可能与酱油呈香体系的复杂性及其呈香组分多偏向于极性物质有关,弱极性的正己烷不适合用作酱油的萃取溶剂,乙酸乙酯虽然对酱油呈香组分有

一定的萃取效果,因其是酱油中的一种重要的呈香组分,故不适合作为萃取溶剂. 综上考虑,选取二氯甲烷为最佳提取溶剂.

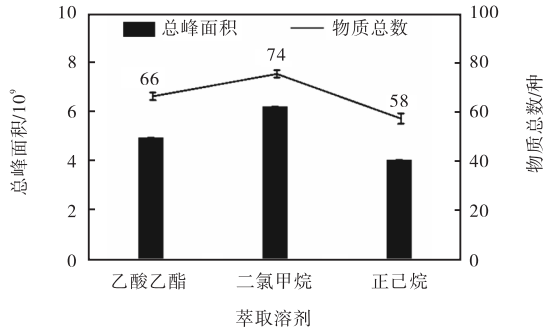


图1 不同溶剂提取结果比较

Fig. 1 Comparison of extraction results with different solvents

2.1.2 不同料液比对提取酱油中呈香组分的影响

以二氯甲烷作为萃取剂,对料液比按体积 1 : 1.0、1 : 1.5、1 : 2.0 进行优化,即取 50 mL 酱油分别加入 50、75、100 mL 二氯甲烷进行提取,萃取时间为 30 min,参照 1.2 节方法,对比 GC/MS 分析结果,如图 2 所示.

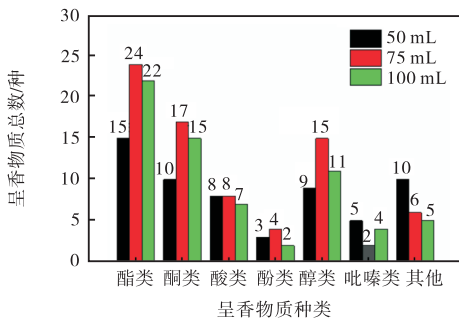


图2 不同料液比提取结果比较

Fig. 2 Comparison of extraction results with different solid-liquid ratios

由图 2 可知:在 3 个不同料液比例的条件分别萃取出 60 种、76 种和 66 种呈香组分,呈香酯类、酮类、酚类和醇类均在料液比为 1 : 1.5 时萃取物总数最多. 当料液比为 1 : 1.0 和 1 : 2.0 时,对呈香组分的提取数量较低,提取效果较差,原因是当料液比为 1 : 1.0 时,由于萃取剂用量与酱油用量相等,使整体溶液体积空间偏小,则酱油中的呈香组分不能与萃取剂充分接触,提取效果不完全;当料液比为 1 : 2.0 时,萃取剂的用量远大于酱油的用量,稀释了酱油样品,从而引起酱油中呈香物质提取效率的显著降低. 综合考虑到萃取溶剂的用量和提取效率,故选取

料液比为 1 : 1.5 时作为最佳配比.

2.1.3 不同萃取时间对提取酱油中呈香组分的影响

以二氯甲烷作为萃取剂,料液比为 1 : 1.5 对搅拌萃取时间进行优化,参照 1.2 节方法,对比 GC/MS 分析结果,该次实验通过比较分析已确定的 8 种主要呈香组分(糠醇、异丁酸、乳酸乙酯、4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-咪喃酮(HDMF)、4-羟基-2-乙基-5-甲基-3(2H)咪喃酮(HEMF)、愈创木酚、麦芽酚和异戊醇)的相对含量筛选最佳搅拌萃取时间,结果如图 3 所示.

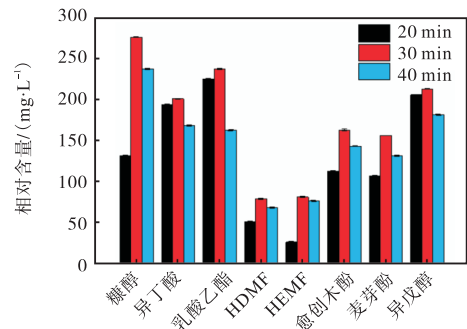


图3 不同萃取时间提取结果比较

Fig. 3 Comparison of extraction results with different extraction time

由图 3 可知:8 种主要呈香组分随着搅拌萃取时间的延长其相对含量均有降低的趋势,乳酸乙酯表现较为明显. 当萃取时间为 20 min 时,相对分子质量较小的呈香组分更易萃取,但萃取不充分;当萃取时间为 40 min 时,虽然对相对分子质量较大的呈香组分提取效率较高,但由于萃取时间过长,降低了对相对分子质量较小的呈香组分的提取效率,因此在该萃取时间下不能准确萃取出酱油中的呈香组分;当萃取时间为 30 min 时,萃取物的相对含量明显高于其余两个萃取条件. 综合考虑萃取时长和萃取效率,故选取搅拌萃取 30 min 为最佳萃取时间.

2.1.4 正交实验优化萃取条件结果

基于单因素条件优化的最佳萃取条件下,以萃取溶剂(A)、料液比(B)、萃取时间(C)设计正交实验,根据 GC/MS 鉴定出的呈香物质总数(Y)为依据,对比分析结果见表 1.

根据正交实验结果,用极差分析法对表中数据进行分析:从极差大小看出各萃取条件对呈香组分提取影响的程度为萃取溶剂 > 料液比 > 萃取时间;通过不同的均值得出当萃取条件为 A₂B₂C₂ 时对酱油中的呈香组分提取效果最好,即选择用二氯甲烷为萃取剂,

料液比为 1 : 1.5, 萃取时间为 30 min 时得到的实验结果最佳。在最佳提取条件下进行验证实验, GC/MS 鉴定出的呈香物质总数为 79 种。

表 1 正交实验设计及其结果

Tab. 1 Orthogonal experimental design and its results

实验号	A	B	C/min	Y/种
1	乙酸乙酯	1 : 1.0	20	52
2	乙酸乙酯	1 : 1.5	30	69
3	乙酸乙酯	1 : 2.0	40	57
4	二氯甲烷	1 : 1.0	30	58
5	二氯甲烷	1 : 1.5	40	70
6	二氯甲烷	1 : 2.0	20	63
7	正己烷	1 : 1.0	40	48
8	正己烷	1 : 1.5	20	51
9	正己烷	1 : 2.0	30	55
k_1	59.333	52.667	55.333	
k_2	63.667	63.333	60.667	
k_3	51.333	58.333	58.333	
R	12.334	10.666	5.334	

2.2 头抽酱油和生抽酱油中呈香组分结果分析

按照本文确定的样品最优前处理方法, 分别对头抽酱油和生抽酱油中的呈香组分进行分析, 头抽酱油

和生抽酱油中呈香组分的总离子流图对比结果如图 4 所示。

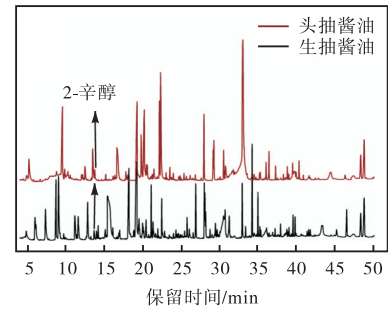


图 4 两种酱油呈香组分的总离子流图

Fig. 4 Total ion flow diagram of fragrant components in two kinds of soy sauce

通过面积归一化法求得每种呈香组分的峰面积百分比, 进而根据内标法 (2-辛醇为内标, 响应因子 = 1) 计算出呈香组分的物质含量, 两款酱油中呈香组分的物质含量分析结果见表 2, 两款酱油中呈香组分的物质种类总数及其相对含量见表 3。

表 2 两款酱油中呈香组分的物质含量分析结果

Tab. 2 Analysis results of aromatic components in two kinds of soy sauce

物质种类	CAS 号	相对分子质量	呈香组分名称	含量/(mg·L ⁻¹)	
				头抽酱油	生抽酱油
醇类	107-88-0	90	1,3-丁二醇	—	1 477.50
	118-71-8	126	麦芽醇	430.00	300.00
	123-51-3	88	异戊醇(3-甲基-1-丁醇)	237.50	1 135.00
	150-86-7	296	植物醇	45.00	—
	19780-33-7	214	2-乙基-1-十二醇	20.00	—
	23433-05-8	146	1,3-辛二醇	—	2 345.00
	24621-61-2	90	(S)-(+) -1,3-丁二醇	1 862.50	—
	27583-37-5	116	3-甲基-1,2-环戊烷二醇	—	12.50
	30385-19-4	126	1,7-辛二烯-3-醇	—	637.50
	36653-82-4	242	鲸蜡醇	—	257.50
	3913-02-8	186	2-丁基-1-辛醇	—	40.00
	501-94-0	138	对羟基苯乙醇	130.00	155.00
	505-10-2	106	3-甲硫基丙醇	187.50	415.00
	565-60-6	102	3-甲基-2-戊醇	1 867.50	72.50
	57-55-6	76	丙二醇	137.50	—
	60-12-8	122	苯乙醇	20.00	690.00
	623-39-2	106	3-甲氧基-1,2-丙二醇	—	630.00
	628-99-9	144	2-壬醇	—	40.00
	71-36-3	74	正丁醇	—	692.50
78-83-1	74	异丁醇(2-甲基-1-丙醇)	17.50	425.00	
98-00-0	98	糠醇	1 090.00	532.50	
酸类	103-82-2	136	苯乙酸	400.00	—
	65-85-0	122	苯甲酸	370.00	—
	107-92-6	88	丁酸	852.50	—
	149-87-1	129	DL-焦谷氨酸	—	242.50
	334-48-5	172	正癸酸	—	92.50

续表

物质种类	CAS号	相对分子质量	呈香组分名称	含量/(mg·L ⁻¹)	
				头抽酱油	生抽酱油
酸类	338-69-2	89	D-丙氨酸	167.50	—
	503-74-2	102	异戊酸	—	250.00
	57-10-3	256	棕榈酸	970.00	232.50
	57-11-4	284	硬脂酸	—	195.00
	60-33-3	280	亚油酸	650.00	25.00
	64-19-7	60	醋酸	1 267.50	1 635.00
	646-07-1	116	4-甲基戊酸	305.00	—
	79-31-2	88	异丁酸	1 915.00	407.50
98-79-3	129	L-焦谷氨酸	110.00	—	
酚类	1138-52-9	206	3,5-二叔丁基苯酚	—	432.50
	7786-61-0	150	2-甲氧基-4-乙炔苯酚	655.00	665.00
	824-46-4	140	2-甲氧基对苯二酚	—	22.50
	90-05-1	124	愈创木酚	1 080.00	202.50
	91-10-1	154	2,6-二甲氧基苯酚	100.00	1 057.50
	96-76-4	206	2,4-二叔丁基酚	185.00	257.50
	2785-89-9	152	4-乙基愈创木酚(4-EG)	895.00	465.00
	123-07-9	122	4-乙基苯酚(4-EP)	800.00	552.50
酯类	0-00-0	276	6-乙基-3-苯乙酸辛酯	—	32.50
	0-00-0	212	环氧- α -乙炔基萜烯酯	—	65.00
	10032-15-2	186	2-甲基丁酸己酯	32.50	55.00
	104-62-1	150	2-甲酸苯乙酯	10.00	—
	105-46-4	116	乙酸仲丁酯	—	12.50
	1070-34-4	146	琥珀酸单乙酯	—	130.00
	108-29-2	100	γ -戊内酯	—	120.00
	110-39-4	200	丁酸辛酯	17.50	82.50
	111-61-5	312	硬脂酸乙酯	15.00	—
	112-39-0	270	棕榈酸甲酯	107.50	120.00
	112-61-8	298	硬脂酸甲酯	25.00	45.00
	112-62-9	296	(Z)-油酸甲酯	40.00	25.00
	117-84-0	390	邻苯二甲酸二辛酯	—	25.00
	123-25-1	174	丁二酸二乙酯	—	32.50
	123-86-4	116	乙酸丁酯	17.50	40.00
	13481-95-3	296	10-十八碳烯酸甲酯	70.00	70.00
	1731-92-6	284	十七烷酸甲酯	—	90.00
	1937-62-8	296	反式油酸甲酯	27.50	—
	2412-80-8	130	4-甲基-戊酸甲酯	—	42.50
	2462-85-3	294	十八碳-9,12-二烯酸甲酯	60.00	122.50
	2734-47-6	316	二十碳五烯酸甲酯	—	17.50
	27751-88-8	214	2,2-二甲基丙酸辛酯	40.00	72.50
	27751-89-9	228	2,2-二甲基丙酸壬酯	—	62.50
	28664-35-9	128	葫芦巴内酯	50.00	—
	301-00-8	292	亚麻酸甲酯	82.50	—
	4071-36-7	201	N-乙酰基-L-亮氨酸乙酯	—	20.00
	5434-57-1	186	2,2-二甲基-丙酸己酯	—	62.50
	54546-22-4	282	9-十六碳烯酸乙酯	15.00	77.50
	59020-85-8	170	硫代丙酸糠酯	80.00	—
	6114-18-7	310	反油酸乙酯	145.00	—
617-35-6	116	丙酮酸乙酯	—	30.00	
628-97-7	284	十六酸(棕榈酸)乙酯	77.50	35.00	
674-26-0	130	甲瓦龙酸内酯	—	82.50	
79-20-9	74	乙酸甲酯	—	462.50	
84-69-5	278	邻苯二甲酸二异丁酯	62.50	12.50	
925-57-5	118	4-羟基丁酸甲酯	2 342.50	—	

续表

物质种类	CAS号	相对分子质量	呈香组分名称	含量/(mg·L ⁻¹)	
				头抽酱油	生抽酱油
酯类	96-48-0	86	γ-丁内酯	175.00	237.50
	97-64-3	118	乳酸乙酯	140.00	112.50
酮类	116-09-6	74	羟基丙酮	330.00	—
	118452-32-7	156	3,6-二甲基-辛烷-2-酮	27.50	—
	13905-10-7	112	5-甲基-4-己烯-3-酮	20.00	262.50
	22122-36-7	98	3-甲基-2(5H)-呋喃酮	—	40.00
	3188-00-9	100	2-甲基四氢呋喃-3-酮	115.00	15.00
	3658-77-3	128	HDMF	480.00	200.00
	39151-19-4	180	3,5-二甲氧基苯乙酮	—	82.50
	4077-47-8	142	2,5-二甲基-4-甲氧基-3(2H)-呋喃酮	90.00	420.00
	4780-14-7	140	3-甲氧基-2-甲基-4H-吡喃-4-酮	345.00	1577.50
	497-23-4	84	2(5H)-呋喃酮	—	60.00
	5077-67-8	88	1-羟基-2-丁酮	25.00	145.00
	513-86-0	88	3-羟基-2-丁酮	—	522.50
	28664-35-9	156	3-羟基-4,5-二甲基-2(5H)-呋喃酮	45.00	—
	585-25-1	142	2,3-辛二酮	—	50.00
	616-45-5	85	2-吡咯烷酮	375.00	87.50
	7491-74-9	142	乙酰胺吡咯烷酮	45.00	442.50
	80-71-7	112	甲基环戊烯醇酮	60.00	42.50
815-24-7	142	2,2,4,4-四甲基-3-戊酮	45.00	62.50	
947-19-3	204	1-羟基-环己基苯基甲酮	57.50	182.50	
27538-9-6	142	HEMF	400.00	577.50	
醛类	100-52-7	106	苯甲醛	—	40.00
	104-67-6	184	桃醛	—	32.50
吡嗪	108-50-9	108	2,6-二甲基吡嗪	42.50	17.50
	109-08-0	94	2-甲基吡嗪	20.00	—
	123-32-0	108	2,5-二甲基吡嗪	30.00	15.00
	13925-03-6	122	2-乙基-6-甲基吡嗪	27.50	—
	14667-55-1	122	2,3,5-三甲基吡嗪	27.50	—
	23787-80-6	136	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	30.00	—
糖类	20235-19-2	150	DL-阿拉伯糖	—	80.00
	533-67-5	134	2-脱氧-D-核糖	—	67.50
其他	108-88-3	92	甲苯	775.00	492.50
	1072-83-9	109	2-乙酰基吡咯	562.50	267.50
	1120-59-8	86	2,3-二氢噻吩	345.00	—
	121-00-6	180	4-羟基-3-叔丁基-苯甲醚	—	27.50
	123-56-8	99	丁二酰亚胺	27.50	—
	23069-99-0	149	N-(2-苯基乙基)-甲酰胺	60.00	—
	496-16-2	120	2,3-二氢苯并呋喃	—	22.50
	507-70-0	154	冰片	7.50	55.00
	627-51-0	86	二乙烯基硫醚	172.50	42.50
76-74-4	226	戊巴比妥	—	70.00	

注: —表示未检出或低于检测限.

表3 两款酱油中呈香组分的物质种类总数及其相对含量

Tab. 3 Total number and relative content of aromatic components in two kinds of soy sauce

呈香物质种类	种类总数(相对含量/%)		呈香物质种类	种类总数(相对含量/%)	
	头抽酱油	生抽酱油		头抽酱油	生抽酱油
醇类	12(24.19)	17(39.45)	醛类	—	2(0.29)
酸类	11(28.04)	9(12.33)	吡嗪类	6(0.71)	2(0.13)
酚类	6(14.87)	8(14.63)	糖类	—	2(0.59)
酯类	22(14.54)	30(9.58)	其他类	7(7.80)	7(3.91)
酮类	15(9.84)	17(19.09)	总计	79(100)	94(100)

注: —表示未检出或低于检测限.

由表2和表3可知:在本实验优化的液液萃取条件下,头抽酱油中共提取出79种呈香组分,酯类的种类最多为22种,酸类的相对含量最高,为28.04%;在生抽酱油中共提取出94种呈香组分,酯类的种类最多为30种,醇类的相对含量最高,为39.45%.

2.3 头抽酱油和生抽酱油中呈香组分比较分析

2.3.1 醇类化合物分析

醇类化合物是生抽酱油中含量最高的化合物,占据最主要的成分,含量较高的是1,3-辛二醇、1,3-丁二醇和异戊醇,分别为2345、1477.5、1135 mg/L,其中1,3-辛二醇、1,3-丁二醇是生抽酱油特有醇类物质;头抽酱油中含量较高的是3-甲基-2-戊醇、(S)-(+)-1,3-丁二醇和糠醇,其中3-甲基-2-戊醇、(S)-(+)-1,3-丁二醇是其特有成分.醇类贡献出一定的花香和果香,尤以苯乙醇贡献最大^[15],其在生抽酱油中的含量约是头抽酱油的34.5倍,因此生抽酱油多呈现出较为温和的果香气息.

2.3.2 酸类化合物分析

酸类化合物是头抽酱油中含量最高的化合物,也是其最主要的成分.两款酱油中共有且含量相对较高的成分有醋酸、棕榈酸、异丁酸和亚油酸,但两者含量差异较大.头抽酱油中异丁酸含量最高,为1915.00 mg/L,占比7.66%,而在生抽酱油中仅占比1.63%;头抽酱油中的亚油酸含量是生抽酱油中的26倍.生抽酱油中还检测到异戊酸、DL-焦谷氨酸、硬脂酸和正癸酸,而在头抽酱油中均未检出;在未对样品进行衍生化处理的条件下,两款酱油共检测出一种氨基酸,仅在头抽酱油中含有,为D-丙氨酸.

2.3.3 酚类化合物分析

两款酱油中的酚类化合物总数几乎相当,且含量差异较小,两款酱油中含量差异较为明显的为2,6-二甲氧基苯酚和愈创木酚,在生抽酱油中2,6-二甲氧基苯酚含量最高,为1057.5 mg/L,约为头抽酱油的10.6倍,贡献出一定的甜香、木香和烟熏香;愈创木酚在头抽酱油中的相对含量为4.32%,约是生抽含量的5.3倍,贡献给头抽特有的焦糖香和烟熏香^[16].3,5-二叔丁基苯酚和2-甲氧基对苯二酚是区分两款酱油的特有物质,仅在生抽酱油中存在.

2.3.4 酯类化合物分析

酯类化合物是生抽酱油种类最多的化合物,但其总含量相对较低,仅为9.58%,低于头抽酱油所占比例.头抽酱油的酯类总数有22种,其含量最高的是4-羟基丁酸甲酯,为2342.5 mg/L,在生抽酱油中未

检测到该物质,是头抽酱油的典型呈香组分,贡献出特有的酯香和酱香,其余酯类含量较低.生抽酱油中乙酸甲酯的含量相对较高,在头抽酱油中未检测到该物质,是生抽酱油的典型呈香组分,贡献给生抽酱油特有的果香和酒香.

2.3.5 酮类化合物分析

酮类化合物包括呋喃酮和吡喃酮等,呈现给酱油一定的果香、甜香和焦糖香^[17].在两款酱油中其含量差异表现较大,但种类几乎接近,3-甲氧基-2-甲基-4H-吡喃-4-酮、HEMF和3-羟基-2-丁酮在生抽酱油中含量较高,HDMF、HEMF和2-吡咯烷酮在头抽酱油中含量较高,对HEMF而言,在生抽酱油中的含量是头抽酱油的1.44倍.

2.3.6 其他化合物分析

醛类和糖类化合物仅在生抽中检测到,是其独有的呈香成分,赋予生抽酱油特别的果香和甜香;吡嗪类化合物在头抽酱油中含量与种类均多于生抽酱油,主要提供头抽相应的坚果香、烟熏香和焙烤香,增添其浓郁的酱香风味^[18].其他类化合物在头抽酱油中的含量明显高于生抽酱油,其中甲苯和2-乙酰基吡咯的含量在两款酱油中较为突出,含硫化合物2,3-二氢噻吩和二乙烯基硫醚在头抽酱油中的含量相对较高,推测含硫氨基酸的降解作用在头抽酱油中占据一定的比重.

3 结 语

本实验得到了一种对酱油呈香组分提取快速、分离高效、浓缩效果好且重现性好的最佳液液萃取前处理条件:选择用二氯甲烷为萃取剂,料液比为1:1.5,萃取时间为30 min.在最佳萃取条件下利用LLE-GC/MS法分别从头抽酱油和生抽酱油中检测出79种和94种呈香组分.经过进一步分析比较,发现两款酱油的呈香组分差异较大.头抽酱油中的主要呈香组分是酸类,占总含量的28.04%;头抽酱油中含量较高的为4-羟基丁酸甲酯、异丁酸和3-甲基-2-戊醇;D-丙氨酸仅在头抽酱油中检出.醇类化合物是生抽酱油的最主要呈香组分,相对含量为39.45%;生抽酱油中含量较高的为1,3-辛二醇、1,3-丁二醇和醋酸;醛类和糖类物质仅在生抽酱油中检出.如果通过大量的样本分析,可以进一步探讨研究不同种类的头抽与生抽酱油之间的成分差异,通过这种差异建立酱油的指纹图谱,作为酱油质量标准的有益补充,并且有可能为真假酱油的辨别提供科学依据.

参考文献:

- [1] 冯杰. 纯生酱油发酵生产技术的研究[D]. 无锡:江南大学, 2009.
- [2] 鲁肇元. 酱油生产技术(一)酱油的起源及酱油生产工艺的沿革[J]. 中国调味品, 2002(1): 43-46.
- [3] 赵德安. 我国酱油酿造工艺的演变与发展趋势[J]. 中国酿造, 2009, 28(9): 15-17.
- [4] 熊芳媛, 蔡明招, 吴惠勤. 酱油香气成分的研究: 头油和生抽香气成分的比较[J]. 中国酿造, 2008(9): 51-55.
- [5] 高献礼, 赵谋明, 曹鸣凯. 酱油风味物质研究进展[J]. 中国酿造, 2009, 28(4): 1-4.
- [6] Jansen M, Veurink J H, Euverink G J, et al. Growth of the salt-tolerant yeast *Zygosaccharomyces rouxii* in microtiter plates: Effects of NaCl, pH and temperature on growth and fusel alcohol production from branched-chain amino acids[J]. FEMS Yeast Research, 2003, 3(3): 313-318.
- [7] 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 & Biotechnology, 2010, 19(4): 889-898.
- [8] Sugawara E, Saiga E, Kobayashi A. Relationships between aroma components and sensory evaluation of miso[J]. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 1992, 39(12): 1098-1104.
- [9] Zhao J X, Dai X J, Liu X M, et al. Comparison of aroma compounds in naturally fermented and inoculated Chinese soybean pastes by GC-MS and GC-Olfactometry analysis[J]. Food Control, 2011, 22(6): 1008-1013.
- [10] 童佳, 赵国忠, 赵建新, 等. 米曲霉发酵高盐稀态酱油过程中典型挥发性风味物质的形成[J]. 中国酿造, 2017, 36(5): 22-29.
- [11] 冯云子. 高盐稀态酱油关键香气物质的变化规律及形成机理的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [12] 刘贞诚. 传统酿造酱油风味成分的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [13] Lee S J, Ahn B. Comparison of volatile components in fermented soybean pastes using simultaneous distillation and extraction (SDE) with sensory characterization[J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 600-609.
- [14] Shin H S, Lim H H. Simple determination of formaldehyde in fermented foods by HS-SPME-GC/MS[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(2): 350-356.
- [15] Zhao G, Yao Y, Wang X, et al. Functional properties of soy sauce and metabolism genes of strains for fermentation[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 48(5): 903-909.
- [16] Ohmori Y, Toriba T, Nakamura H, et al. Temporal and spatial regulation of DROOPING LEAF gene expression that promotes midrib formation in rice[J]. The Plant Journal, 2011, 65(1): 77-86.
- [17] Zhao G, Ding L, Pan Z, et al. Proteinase and glycoside hydrolase production is enhanced in solid-state fermentation by manipulating the carbon and nitrogen fluxes in *Aspergillus oryzae*[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 606-613.
- [18] 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.

责任编辑: 郎婧