

# 不同前处理温度对酱香型高温大曲风味的影响

郑灿杰, 孙仁杰, 赵亚文, 张卜升, 林良才\*, 张翠英\*

(天津科技大学生物工程学院, 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457)

**摘要: 目的** 研究温度对大曲中挥发性化合物的影响, 确定提取大曲中挥发性化合物的最佳前处理温度。

**方法** 利用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)和感官评价手段研究了大曲在 4 个不同前处理温度下的挥发性化合物。

**结果** 共鉴定出 57 种挥发性化合物, 主要为酯类、醇类、醛类、酮类、吡嗪类、烃类、芳香族化合物; 利用偏最小二乘判别分析筛选出 20 种变量投影重要性(variable important in projection, VIP)值大于 1 的标志性感异物, 并计算其香气活力值(odor activity value, OAV), 解析了不同前处理温度下样品风味的变化。感官评价的结果显示 4 种不同温度下样品的风味特征差异显著。**结论** 研究结果表明温度的变化会影响挥发化合物的挥发从而改变样品的风味特征, 同时阐明了在 60°C 条件下样品的萃取效果较好, 为大曲风味的研究奠定了基础。

**关键词:** 酱香型高温大曲; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法; 感官评价; 偏最小二乘判别分析; 香气活力值

## Effects of different pretreatment temperatures on the flavor of sauce aroma type high temperature Daqu

ZHENG Can-Jie, SUN Ren-Jie, ZHAO Ya-Wen, ZHANG Bu-Sheng,  
LIN Liang-Cai\*, ZHANG Cui-Ying\*

(Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the effects of temperature on volatile compounds in Daqu, determine the optimal pretreatment temperature for extracting volatile compounds in Daqu. **Methods** Headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and sensory evaluation methods were used to study the volatile compounds of Daqu at 4 different pretreatment temperatures. **Results** A total of 57 volatile compounds were identified, mainly esters, alcohols, aldehydes, ketones, pyrazines, hydrocarbons, and aromatic compounds; partial least squares discriminant analysis was used to screen 20 kinds of landmark differences with variable important in projection (VIP) values greater than 1 were identified, their odor activity values (OAV) were calculated, and the changes in sample flavor under different pretreatment temperatures were analyzed. The results of

基金项目: 天津市科技计划项目(22ZJDS00050)

Fund: Supported by the Tianjin Science and Technology Plan Project (22ZJDS00050)

\*通信作者: 林良才, 副教授, 主要研究方向为传统发酵食品及酿造微生物育种。E-mail: lclin@tust.edu.cn

张翠英, 教授, 主要研究方向为现代酿造技术。E-mail: cyzhangcy@tust.edu.cn

\*Corresponding author: LIN Liang-Cai, Associate Professor, Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology College of Biotechnology, Tianjin 300457, China. E-mail: lclin@tust.edu.cn

ZHANG Cui-Ying, Professor, Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology College of Biotechnology, Tianjin 300457, China. E-mail: cyzhangcy@tust.edu.cn

sensory evaluation showed that the flavor characteristics of the samples at 4 kinds of different temperatures were significantly different. **Conclusion** The research results show that changes in temperature will affect the volatilization of volatile compounds and thus change the flavor characteristics of the sample. At the same time, it is clarified that the extraction effect of the sample is better at 60°C, which lays the foundation for the research on the flavor of Daqu.

**KEY WORDS:** sauce aroma type high temperature Daqu; headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry; sensory evaluation; partial least squares discriminant analysis; odor activity value

## 0 引言

白酒是中国的一款传统蒸馏酒精饮料,距今已有6000多年的历史<sup>[1]</sup>,其与白兰地、杜松子酒、朗姆酒、伏特加和威士忌并称为世界六大蒸馏酒<sup>[2]</sup>,大曲发酵是中国传统白酒酿造工艺之一,为白酒生产提供多维供应,如发酵原料、风味前体和微生物来源<sup>[3]</sup>,制曲技术的出现使中国白酒迎来了真正的蓬勃发展<sup>[4]</sup>。大曲是以小麦或大麦和豌豆为主要原料经过一系列的加工首先形成曲胚后在曲房内进行微生物的富集培养,最后形成的一种富含多种酶系和菌系的糖化发酵剂和生香剂。大曲可以按照生产过程中达到的温度分为低温大曲(45~50°C)、中温大曲(50~60°C)、高温大曲(60~65°C),而高温大曲以酱香型所用酒曲为代表<sup>[5-7]</sup>。酱香型白酒高温大曲的微生物群落主要以酵母、细菌、霉菌和少量放线菌为主<sup>[8]</sup>,大曲制曲过程中由微生物产生的大量风味物质和风味前体物质在拌曲和酒醅发酵过程中直接或间接地进入酒醅,经酒醅的发酵蒸馏后显著影响白酒的风味特征<sup>[9]</sup>。在传统大曲生产过程中,大曲品质优劣判断依据主要是通过曲师的眼观鼻闻来实现的,曲师通过自己的嗅觉、视觉来识别不同种类的大曲,并对其发酵状况/风味特点进行判别。但这种方式具有较高的主观性,容易受到个人偏爱和主观经验的影响,同时也难以达到科学、客观的评价标准。因此,现代技术手段的引入可以提高大曲品质的科学化水平,例如利用分析化学等检验方法来检测大曲的成份,大曲微生物数量和品种结构等指标分析,以及运用数据挖掘或人工智能技术建立大曲风味模型,从而实现大曲品质的更加科学、客观、全面的评估。这些措施为保护大曲传统、促进大曲产业可持续发展提供了科学化判断依据,将为大曲行业的发展打下坚实基础。

样品前处理是研究风味的首要步骤,目前常用的大曲香气成分提取的前处理方法有直接进样法、液液萃取法(liquid-liquid extraction, LLE)、液液萃取-辅助溶剂蒸发法(liquid-liquid extraction-solvent assisted flavor evaporation, LLE-SAFE)、搅拌棒吸附萃取法(stir bar sorptive extraction, SBSE)及顶空固相微萃取法(headspace solid phase microextraction, HS-SPME)。LLE 适用于易溶于有机溶剂且沸点较高的化合物的检测,且具有样品用量大、操作烦琐、挥发性有机

物损失较多等缺点<sup>[10]</sup>; LLE-SAFE 适用于绝大部分风味化合物,尤其是醇类和脂肪酸等化合物分离效果好<sup>[11]</sup>,但设备价格昂贵,对人员要求高;直接进样法并不适合检测微量组分<sup>[12]</sup>; SBSE的造价昂贵而 HS-SPME 具有无溶剂、操作简单、灵敏度高、成本低的优点,同时克服了传统前处理方法的缺点,现已被广泛应用<sup>[13]</sup>。目前研究者在使用 HS-SPME 对大曲中的挥发性物质进行提取时均需对大曲样品进行不同程度的加热处理且大曲粉的形态不一, HOU 等<sup>[14]</sup>利用 HS-SPME-气相色谱-质谱法(HS-SPME-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)对中温大曲进行挥发性物质分析时将大曲样品溶于0.85% (m/V)氯化钠中配制成悬浊液并选择50°C为前处理温度,共鉴定出65种挥发性化合物; WANG 等<sup>[15]</sup>利用 HS-SPME 与气相色谱-嗅闻-质谱法(gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, GC-O-MS)将固态大曲样品置于20 mL顶空瓶中在50°C条件下对古井贡酒业公司生产的大曲进行了挥发性物质的提取分析,在6种不同成熟阶段的大曲中共检测出139种挥发性化合物; LI 等<sup>[16]</sup>对藏味大曲的挥发性化合物利用 HS-SPME-GC-MS 技术将固态大曲粉末在60°C条件下进行萃取,共检测出101种挥发性化合物。可见,现有研究在对大曲中的挥发性化合物进行提取分析时样品形态和前处理温度并没有统一的标准,同时有研究表明温度是影响挥发性化合物检测效果的一个重要因素<sup>[17-18]</sup>,不同的温度会改变样品的风味特征,但目前关于不同前处理温度对酱香型高温大曲风味的影响研究鲜少。

本研究借助 HS-SPME-GC-MS, 结合感官评定和气味阈值手段,以偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)为研究方法,对贵州茅台镇某厂家产的酱香型高温大曲固体粉末直接进行表征,还原样品真实状态下的感官效果,解析不同前处理温度下的酱香型高温大曲挥发性物质的物质差异,揭示其风味特征的物质基础和差异性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大曲样品:从贵州茅台镇某厂家随机采集的高温大

曲, 发酵后储存 6 个月, 将大曲完全粉碎成细粉末作为实验样品。

乙酸戊酯、薄荷醇等标准品(色谱纯, 上海阿拉丁试剂有限公司)。

## 1.2 仪器与设备

GCMS-TQ8050NX 三重四极杆-气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司); CP-WAX57 CB 色谱柱(50 m×0.25 mm, 0.2 μm)(美国 Agilent 公司); AB204-S 分析天平(精度 0.0001 g, 梅特勒-托利多仪器上海公司); WH220 Plus 加热磁力搅拌器(德国 WIGGENS 公司)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 感官评价方法

取 3 g 大曲样品于 20 mL 顶空瓶中, 分别在 60、50、40、30°C 条件下水浴加热 30 min, 分别编号为 DQ-60、DQ-50、DQ-40、DQ-30。参考食品感官评价体系中的常用方法<sup>[19]</sup>, 结合有关文献中的品评方法<sup>[20]</sup>, 选取 10 名有相关研究经验的研究员(5 名男性和 5 名女性, 年龄在 23~30 周岁)组成感官评价小组, 在经过系统培训后, 对 4 种不同前处理温度大曲的特征香气进行讨论和筛选, 最终确定其特征描述词为酱香、豉香、果香、粮香、焦香、脂肪臭、青草香、花香和甜香。

### 1.3.2 GC-MS 分析方法

大曲样品预处理方法: 取 3 g 大曲样品于 20 mL 顶空瓶中, 加入一直径为 1 cm 的圆形滤纸片, 将 5 μL 乙酸戊酯(终质量浓度为 1 mg/L)和薄荷醇(终质量浓度为 100 μg/L)滴加于滤纸片上作为内标物, 分别在 60、50、40、30°C 水浴条件下平衡 10 min, 萃取头置于样品上方 5 cm 处吸附 45 min 后于进样口解析 5 min, 每个样品重复 3 次, 萃取头型号为 50/30 μm DVB/CAR/PDMS。

GC-MS 分析条件, GCMS-TQ8050NX 三重四极杆-气相色谱-质谱联用仪分析用色谱柱型号 CP-WAX57 CB (50 m×0.25 mm, 0.2 μm), 进样口温度 250°C, 载气为高纯氮气(99.999%), 流速 1 mL/min, 不分流, 分析时间 67.5 min, 升温程序: 初始温度为 40°C, 以 10°C/min 升至 50°C, 保持 5.5 min, 以 3°C/min 升至 80°C, 保持 8 min, 再以 4°C/min 升至 200°C, 保持 13 min。MS 条件: 全扫描模式, 电子能量 70 eV, 设置离子源温度 230°C, 接口温度为 220°C, 扫描范围为 30~550 amu。

### 1.3.3 定性定量分析

GC-MS 利用内置 NIST 进行定性, 使用乙酸戊酯对 28 min 之前的物质进行半定量分析, 薄荷醇对 28 min 之后的物质进行半定量分析。

## 1.4 统计分析

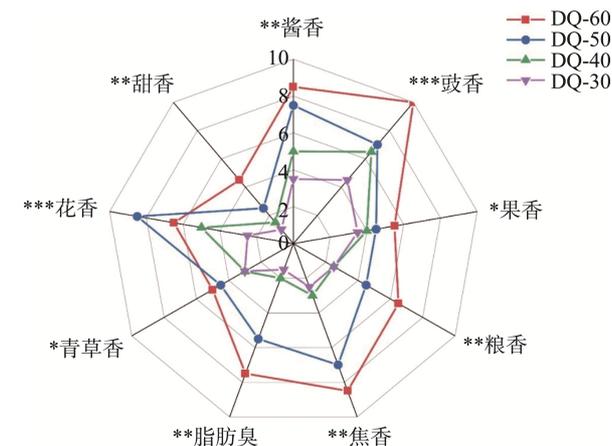
实验至少重复 3 次测定, 所有数据均采用 SPSS 23 用于单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)和邓肯检

验分析数据间显著性; SIMCA 14.1 软件用于 PLS-DA 分析; Origin 2021 软件用于绘制雷达图, 柱状图; TTools V2.0919 软件用于聚类热图分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同前处理温度大曲样品的感官评定结果分析

为了探究不同前处理温度对检测大曲挥发性风味物质的影响, 采用感官评价的方法对 4 种不同前处理温度的大曲打分, 绘制雷达图(图 1), 对比得分情况可知, 不同前处理温度的样品存在显著差异( $P<0.05$ )。DQ-60 样品的风味主要以酱香、豉香和焦香为主伴有较为突出的花香、粮香、果香, 同时有着比较明显的脂肪臭; DQ-50 的花香明显强于 DQ-60, 可能是由于较高的温度使酯类物质的挥发程度变高表现出强烈的脂肪臭味掩盖了花香, 随着温度的降低脂肪臭变得不明显使得花香占据主导优势; DQ-40 的酱香、豉香、焦香、果香、花香明显, 脂肪臭大幅度下降; DQ-30 的甜香、脂肪臭不明显, 整体表现出焦中带酱, 略带花果香的特征。4 种样品的感官评价情况除花香外大致呈现随温度降低各风味强度降低的趋势, 均以酱香、豉香、焦香为主要香气, 其中脂肪臭和焦香变化明显。



注: \*表示  $P<0.05$ , \*\*表示  $P<0.01$ , \*\*\*表示  $P<0.001$ 。

图 1 不同前处理温度大曲感官评价雷达图

Fig.1 Radar map for sensory evaluation of large curves with different pretreatment temperatures

### 2.2 不同前处理温度大曲样品的 GC-MS 分析

#### 2.2.1 不同前处理温度大曲样品中香气物质差异分析

对 GC-MS 检测数据进行分析, 筛选定性结果大于 70 的化合物, 通过内标法进行定量, 如表 1 所示, 在 4 种不同前处理温度的大曲样品中共定性出 57 种挥发性化合物, 其中包括 11 种酯类物质、9 种醇类物质、5 种醛类物质、2 种酮类物质、1 种呋喃类物质、10 种吡嗪类物质、9 种烃类物质、7 种芳香族化合物和 3 种其他物质, DQ-60 样品中共检测出 57 种挥发性化合物, DQ-50 样品中共检测出 54

种挥发性化合物, DQ-40 样品中共检测出 41 种挥发性化合物, DQ-30 样品中仅检测出 33 种挥发性化合物, 如表 1 所示。根据 GC-MS 检测的数据绘制关于不同前处理温度的大曲样品各类物质含量的柱状图, 从图 2 中可以观察到随着温度的下降, 各物质的含量也在不断降低, 值得注意的是吡嗪类化合物在各组样品中均有着较高的含量, 吡嗪类通常具有浓烈的烘烤坚果的香气<sup>[21-23]</sup>, 其中四甲基吡嗪为主要挥发性化合物, 同时四甲基吡嗪在白酒中也是一种重要的化合物<sup>[24]</sup>; 在 60°C 时, 酯类物质的含量高于吡嗪类物质的含量, 共检测出 11 种酯类物质, 当温度下降时, 酯类物质的含量下降明显, 从表 1 可以观察到, 当温度下降到 30°C 时, 仅有正己酸乙酯、辛酸乙酯、棕榈酸异丙酯、棕榈酸乙酯被检测到; 呋喃类物质主要为糠醛, 糠醛的含量随着温度的降低逐渐下降, 受温度的影响变化趋势明显而糠醛具有面包香, 焦糖香等风味, 是酱香型白酒的重要风味来源之一<sup>[25]</sup>; 在酯类物质中乙酯类物质占大多数, 由于乙酯类物质阈值较低, 因此对整体的风味影响较大<sup>[26]</sup>, 乙酯类物质主要表现出菠萝, 玫瑰等花果香气<sup>[27]</sup>。吡嗪类和酯类化合物含量的下降使得 DQ-30 的烘烤香和花果香减弱, 这与感官评价的结果是相似的。从图 2 中可以直观地

发现 DQ-30 各类物质之间关系与其余样品存在着明显差异, 在 DQ-30 中由醛类、吡嗪类、芳香族化合物占据主导地位, 酯类物质的含量开始低于醇类和醛类物质的含量, 可能是由于在较低温度下一些高分子量的酯类物质难以挥发, 而醛类物质和醇类物质受温度影响相对酯类物质较小, 从而导致酯类物质的含量低于醇类物质和醛类物质, 这也可能是 DQ-30 在感官评价中表现出与其他样品存在明显风味差异的原因之一。曲师在通过嗅闻对大曲进行评价时通常是在常温条件下进行的, 而温度的升高会改变样品原有的风味特征, 无法通过数据检测结果来表征样品原有的风味, 从而影响实验数据与感官评价之间的相关性。通过表 1 可以发现一些对于酱香型白酒风味有着重要贡献的物质, 如正己酸乙酯、糠醛、二甲基三硫等<sup>[28]</sup>在不同温度下的含量存在着明显差异, 其中 60°C 时含量最高, 依次逐渐降低。同时二甲基三硫仅在 60°C 和 50°C 时被检测到且 60°C 时二甲基三硫的含量显著高于 50°C。这些物质可在拌曲和酒醅发酵过程中直接或者间接的进入白酒当中, 从而影响酱香型白酒的风味。

结果表明, 当前处理温度为 60°C 时, 能够提取到种类更多, 含量更高的影响酱香型白酒风味特征的物质。

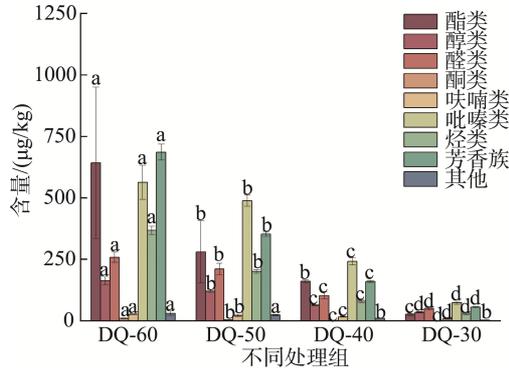
表 1 GC-MS 定量不同前处理温度大曲结果  
Table 1 Quantitative results of Daqu at different pretreatment temperatures by GC-MS

物质	CAS	质量浓度(平均值±标准偏差, μg/kg)			
		DQ-60	DQ-50	DQ-40	DQ-30
酯类					
正己酸乙酯	123-66-0	30.54±1.62 <sup>a</sup>	17.84±1.02 <sup>b</sup>	14.26±2.25 <sup>c</sup>	8.38±2.39 <sup>d</sup>
辛酸乙酯	106-32-1	19.53±8.58 <sup>a</sup>	21.53±0.94 <sup>a</sup>	6.41±1.00 <sup>b</sup>	3.82±0.76 <sup>b</sup>
壬酸乙酯	123-29-5	16.78±5.42 <sup>a</sup>	13.92±1.26 <sup>a</sup>	ND	ND
2-氯乙酸十五酯	70301-47-2	465.78±56.40 <sup>a</sup>	160.73±122.60 <sup>b</sup>	98.91±6.97 <sup>bc</sup>	ND
癸酸乙酯	110-38-3	8.11±1.93 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
十四酸乙酯	124-06-1	3.11±1.62 <sup>a</sup>	4.43±0.39 <sup>a</sup>	3.67±0.62 <sup>a</sup>	ND
棕榈酸异丙酯	142-91-6	42.52±2.19 <sup>a</sup>	33.66±3.42 <sup>b</sup>	24.76±1.85 <sup>c</sup>	9.96±1.82 <sup>d</sup>
棕榈酸乙酯	628-97-7	30.51±12.81 <sup>a</sup>	15.80±1.83 <sup>b</sup>	9.27±1.31 <sup>b</sup>	3.50±0.69 <sup>b</sup>
油酸乙酯	111-62-6	5.74±3.52 <sup>a</sup>	2.93±0.31 <sup>ab</sup>	ND	ND
亚油酸乙酯	544-35-4	10.66±4.75 <sup>a</sup>	3.29±0.75 <sup>b</sup>	ND	ND
双(2-甲基丙基)苯-1,2-二羧酸酯	84-69-5	4.87±4.12 <sup>a</sup>	4.97±2.11 <sup>a</sup>	3.19±0.94 <sup>ab</sup>	ND
醇类					
(2R)-戊-2-醇	31087-44-2	23.62±2.85 <sup>a</sup>	21.22±4.02 <sup>a</sup>	11.12±0.85 <sup>b</sup>	6.89±0.80 <sup>b</sup>
异戊醇	123-51-3	31.70±6.080 <sup>a</sup>	29.14±0.89 <sup>a</sup>	21.07±1.64 <sup>c</sup>	13.33±2.41 <sup>d</sup>
正己醇	111-27-3	10.49±0.72 <sup>a</sup>	9.48±1.21 <sup>a</sup>	7.52±0.91 <sup>b</sup>	3.96±0.61 <sup>c</sup>
十三醇	112-70-9	22.00±3.42 <sup>a</sup>	14.29±0.67 <sup>b</sup>	ND	ND
1-辛烯-3-醇	3391-86-4	24.54±3.77 <sup>a</sup>	12.93±1.42 <sup>b</sup>	4.79±0.50 <sup>c</sup>	ND
2,3-丁二醇	513-85-9	24.82±1.07 <sup>a</sup>	12.05±0.53 <sup>b</sup>	8.38±0.57 <sup>c</sup>	6.33±0.27 <sup>d</sup>
糠醇	98-00-0	12.42±4.07 <sup>a</sup>	7.39±0.41 <sup>b</sup>	4.09±0.34 <sup>bc</sup>	1.76±0.24 <sup>c</sup>
亚麻醇	506-43-4	5.17±0.53 <sup>a</sup>	2.34±0.37 <sup>b</sup>	ND	ND
十九烷-1-醇	1454-84-8	7.74±4.40 <sup>ab</sup>	11.74±4.30 <sup>a</sup>	6.19±0.14 <sup>ab</sup>	2.43±0.96 <sup>b</sup>

表 1(续)

物质	CAS	质量浓度(平均值±标准偏差,μg/kg)			
		DQ-60	DQ-50	DQ-40	DQ-30
醛类					
己醛	66-25-1	89.67±7.23 <sup>a</sup>	24.26±2.94 <sup>b</sup>	21.92±9.02 <sup>bc</sup>	12.05±1.36 <sup>c</sup>
正辛醛	124-13-0	14.54±1.95 <sup>ab</sup>	17.96±4.50 <sup>a</sup>	9.60±1.26 <sup>bc</sup>	4.74±2.78 <sup>c</sup>
壬醛	124-19-6	112.19±16.27 <sup>a</sup>	126.27±11.13 <sup>a</sup>	48.74±1.68 <sup>b</sup>	21.07±2.21 <sup>c</sup>
癸醛	112-31-2	33.84±3.42 <sup>a</sup>	33.34±6.26 <sup>a</sup>	14.22±4.11 <sup>b</sup>	9.71±0.46 <sup>b</sup>
吡咯-2-甲醛	1003-29-8	7.50±3.01 <sup>a</sup>	8.56±0.21 <sup>a</sup>	7.62±0.58 <sup>a</sup>	2.10±0.83 <sup>b</sup>
酮类					
香叶基丙酮	3796-70-1	2.59±0.30 <sup>a</sup>	2.27±0.47 <sup>a</sup>	ND	ND
(Z)-氧环戊烷-6-烯-2-酮	63958-52-1	6.92±1.05 <sup>a</sup>	2.74±0.30 <sup>b</sup>	1.26±0.05 <sup>c</sup>	ND
呋喃类					
糠醛	1998-01-1	26.22±1.98 <sup>a</sup>	21.17±3.79 <sup>b</sup>	15.89±1.69 <sup>c</sup>	8.02±2.58 <sup>d</sup>
吡嗪类					
2-甲基吡嗪	109-08-0	30.90±9.43 <sup>a</sup>	36.57±8.94 <sup>a</sup>	24.52±1.07 <sup>a</sup>	12.05±1.65 <sup>b</sup>
2,5-二甲基吡嗪	123-32-0	17.71±1.13 <sup>a</sup>	17.79±2.01 <sup>a</sup>	11.20±0.78 <sup>b</sup>	2.94±0.85 <sup>c</sup>
2,6-二甲基吡嗪	108-50-9	26.14±2.83 <sup>a</sup>	24.34±4.99 <sup>a</sup>	17.14±2.70 <sup>b</sup>	4.46±0.37 <sup>c</sup>
2,3-二甲基吡嗪	5910-89-4	23.98±6.97 <sup>a</sup>	25.63±0.78 <sup>a</sup>	16.19±0.93 <sup>b</sup>	6.49±1.41 <sup>c</sup>
2-乙基-6-甲基吡嗪	13925-03-6	9.98±1.53 <sup>a</sup>	10.80±1.58 <sup>a</sup>	5.96±0.77 <sup>b</sup>	ND
2,3,5-三甲基吡嗪	14667-55-1	56.38±5.81 <sup>a</sup>	55.08±4.41 <sup>a</sup>	26.30±2.67 <sup>b</sup>	8.35±1.71 <sup>c</sup>
2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	13925-07-0	15.81±4.47 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
四甲基吡嗪	1124-11-4	366.69±42.34 <sup>a</sup>	313.85±14.14 <sup>b</sup>	139.88±6.49 <sup>c</sup>	38.87±0.50 <sup>d</sup>
2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪	17398-16-2	6.62±0.46 <sup>a</sup>	3.92±0.45 <sup>b</sup>	ND	ND
2,5-二甲基-3-戊基吡嗪	56617-69-7	5.27±0.91 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
烃类					
十二烷	112-40-3	26.52±0.54 <sup>a</sup>	20.1±0.60 <sup>b</sup>	12.25±1.49 <sup>c</sup>	5.71±0.68 <sup>d</sup>
d-柠檬烯	5989-27-5	6.32±1.41 <sup>a</sup>	6.64±0.54 <sup>a</sup>	3.91±0.17 <sup>b</sup>	2.65±0.89 <sup>b</sup>
正十三烷	629-50-5	55.99±4.18 <sup>a</sup>	57.94±9.70 <sup>a</sup>	22.84±1.15 <sup>b</sup>	7.52±0.53 <sup>c</sup>
十四烷	629-59-4	90.39±2.22 <sup>a</sup>	36.57±1.11 <sup>b</sup>	17.53±3.19 <sup>c</sup>	5.13±1.61 <sup>d</sup>
二十烷	112-95-8	14.38±1.73 <sup>a</sup>	13.03±0.77 <sup>a</sup>	ND	ND
十七烷	629-78-7	29.66±0.95 <sup>a</sup>	13.88±4.79 <sup>b</sup>	ND	ND
十六烷	544-76-3	29.84±2.67 <sup>a</sup>	8.49±0.05 <sup>b</sup>	6.09±0.65 <sup>b</sup>	3.21±0.17 <sup>c</sup>
6,8a-二甲基-3-丙烯-1-烯-2-基-2,3,3a,4,5,8-六氢-1H-茈萜	142878-08-8	102.89±7.95 <sup>a</sup>	38.94±3.02 <sup>b</sup>	15.29±0.90 <sup>c</sup>	3.65±0.65 <sup>d</sup>
1-甲基-4-(6-甲基庚-5-烯-2-基)环己-1,3-二烯	451-55-8	11.68±2.23 <sup>a</sup>	4.41±1.18 <sup>b</sup>	2.1±0.16 <sup>bc</sup>	ND
芳香族					
乙基苯	100-41-4	54.83±3.68 <sup>a</sup>	23.66±0.83 <sup>b</sup>	11.71±1.71 <sup>c</sup>	6.15±0.36 <sup>d</sup>
1,2-二甲苯	95-47-6	35.21±0.74 <sup>a</sup>	15.38±0.88 <sup>b</sup>	13.41±2.17 <sup>b</sup>	4.23±1.53 <sup>c</sup>
苯乙烯	100-42-5	560.41±24.79 <sup>a</sup>	270.22±5.97 <sup>b</sup>	102.78±4.90 <sup>c</sup>	38.83±0.97 <sup>d</sup>
邻苯二甲醚	91-16-7	1.51±0.42 <sup>a</sup>	1.12±0.15 <sup>a</sup>	ND	ND
苯甲醇	100-51-6	4.12±2.46 <sup>a</sup>	4.53±0.12 <sup>a</sup>	3.27±0.86 <sup>a</sup>	ND
苯乙醇	1960-12-8	28.09±7.51 <sup>a</sup>	33.96±3.29 <sup>a</sup>	28.24±3.02 <sup>a</sup>	6.33±0.77 <sup>b</sup>
2,4-二特丁基苯酚	96-76-4	2.03±0.54 <sup>a</sup>	2.74±0.07 <sup>b</sup>	ND	ND
其他					
二甲基三硫	3658-80-8	13.70±2.27 <sup>a</sup>	8.34±0.34 <sup>b</sup>	ND	ND
2-羟基萘	135-19-3	3.24±0.56 <sup>a</sup>	2.48±0.07 <sup>b</sup>	ND	ND
2-乙酰基吡咯	1072-83-9	13.13±6.94 <sup>a</sup>	12.3±2.09 <sup>a</sup>	9.42±0.75 <sup>ab</sup>	3.30±0.56 <sup>b</sup>

注: ND 表示未检出该物质; 同一化合物的不同上标字母表示数字之间存在显著的统计学差异( $P<0.05$ )



注: 同一类化合物的不同上标字母表示组间之间存在显著的统计学差异( $P < 0.05$ )。

图 2 不同前处理温度大曲各类物质含量

Fig.2 Content of various substances in Daqu at different pretreatment temperatures

2.2.2 不同前处理温度大区样品聚类热图分析

为了更加直观地比较不同样品之间挥发性风味化合物种类和含量的差异性, 利用表 1 中的数据构建了关于不同前处理温度大曲的聚类热图。由图 3 中可以观察到各组团间差异显著, DQ-60 与其他样品差异明显, 在 DQ-30 中所有的挥发性风味物质的含量均为最低, 可能是由于前处理温度低, 影响了风味物质的挥发造成 DQ-30 样品在感官评定中各个方面均不突出, 而 DQ-60 样品中各物质均具有较高的含量其中 2,5-二甲基-3-戊基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、癸酸乙酯仅在 DQ-60 中被检测出来, 这也造成了 DQ-60 样品在感官评价中表现出较强的焦香、酱香、豉香同时癸酸乙酯可能是带来脂肪臭味从而掩盖花果香气的原因之一。结果表明, 当前处理温度为 60°C 时相比于其他温度有着更好的分离效果。

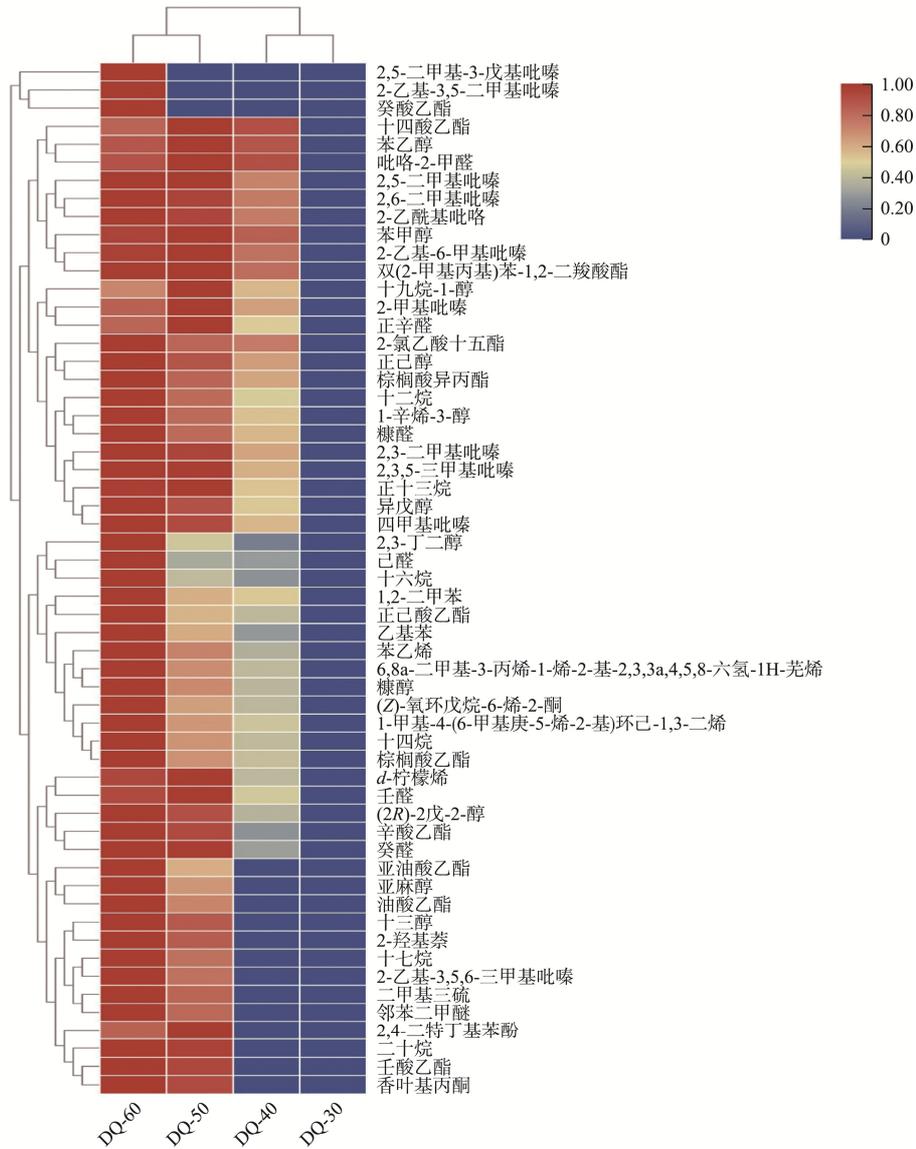


图 3 不同前处理温度大曲的 GC-MS 热图

Fig.3 GC-MS heatmap of Daqu with different pretreatment temperatures

### 2.3 不同前处理温度大曲样品的挥发性成分特征

对 GC-MS 所得数据(表 1), 利用 PLS-DA 建立聚类模型(图 4), 发现 4 种样品分别分布于不同的区间, 且模型中的第一主成分和第二主成分之和为 91%, 说明模型对 4 种样品具有较好的分离效果, 与热图聚类分析结果相似。同时, 通过将内标物质滴加于统一规格滤纸片上的方式, 使内标物质的物理状态与被检测物质的物理状态相统一, 显著提高了试验组间稳定性和平行性。

对鉴定出的 57 种挥发性化合物进行变量投影重要性(variable important in projection, VIP)分析, 当该物质的 VIP 值大于 1 则表示该物质为重要变量, 其在偏最小二乘判别分析模型中影响了不同样品之间的分离效果<sup>[29]</sup>, 共筛选出 20 种 VIP 值>1 的物质, 分别为十四酸乙酯、2,4-二特丁基苯酚、吡咯-2-甲醛、苯乙醇、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、癸酸乙酯、2,5-二甲基-3-戊基吡嗪、二十烷、香叶基丙酮、苯甲醇、己醛、壬酸乙酯、1,2-二甲苯、辛酸乙酯、十九烷-1-醇、2-羟基萘、十六烷、邻苯二甲醚、壬醛、双(2-甲基丙基)苯-1,2-二羧酸酯, 如表 2 所示。

### 2.4 不同前处理温度大曲样品的气味活度值分析

挥发性化合物的浓度及其气味阈值是影响整体风味特征的两个决定性因素, 同时气味阈值是与其介质相关的<sup>[31]</sup>, 一般来说, 香气活力值(aroma activity value, OAV)  $\geq 1$  的化合物被认为是关键风味化合物<sup>[32]</sup>。

对 VIP 值>1 的挥发性化合物(表 2)计算其 OAV, 如表 2 所示。其中, 壬醛在 4 种样品中的 OAV 均大于 1, 尤其是在 DQ-50 中的 OVA 最高。苯乙醇在 DQ-60、DQ-50、

DQ-40 样品中的 OAV 均在 3 左右, DQ-50 最高为 3.65, 而在 DQ-30 样品中的 OAV<1, 壬醛和苯乙醇均带有花香气味, 壬醛带有柑橘的香气和花香, 苯乙醇带有馥郁的玫瑰花香, 使样品呈现出清新的花果香气, 这可能是感官评价中 DQ-50 花香最突出的原因之一。己醛仅在 DQ-60 样品中的 OAV>1, 同时苯乙醇具有蜂蜜和玫瑰的香气, 己醛会赋予样品生青香。此外, 辛酸乙酯和壬酸乙酯在 DQ-60 和 DQ-50 样品中的 OAV>1, 而在 DQ-40 和 DQ-30 中并没有检测到这两种物质, 辛酸乙酯和壬酸乙酯带有明显的水果香气同时也带有脂肪臭<sup>[33]</sup>, 这与感官评价的结果是相似的。同时, 在 VIP>1 的物质中 DQ-60 共占有 20 种高于 DQ-50 的 17 种, DQ-40 的 12 种和 DQ-30 的 8 种。

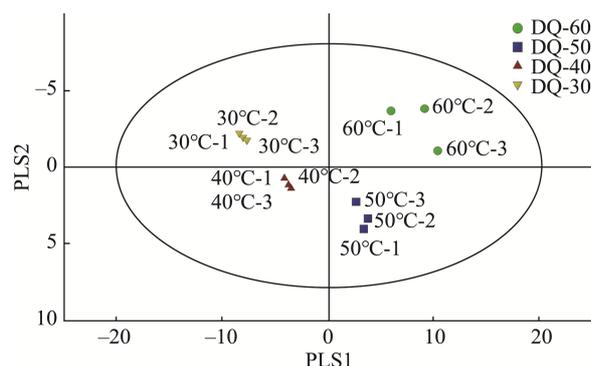


图 4 不同前处理温度大曲的 PLS-DA 模型  
Fig.4 PLS-DA model for Daqu with different pretreatment temperatures

表 2 VIP 值大于 1 的挥发性化合物 OAVs  
Table 2 Volatile compound OAVs with VIP value greater than 1

物质	气味描述词	VIP 值	阈值/(mg/m <sup>3</sup> )	OAVs			
				DQ-60	DQ-50	DQ-40	DQ-30
十四酸乙酯	鸢尾油香气	1.55008	0.0067	<1	<1	<1	ND
2,4-二特丁基苯酚	un	1.51614	0.5	<1	<1	<1	ND
吡咯-2-甲醛	霉味牛肉咖啡	1.48080	65	<1	<1	<1	<1
苯乙醇	玫瑰花香	1.47941	0.012	3.02	3.65	3.04	<1
2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	烘烤坚果香	1.25456	0.00004	527	ND	ND	ND
癸酸乙酯	水果香气	1.24956	0.53	<1	ND	ND	ND
2,5-二甲基-3-戊基吡嗪	un	1.23630	0.024	<1	ND	ND	ND
二十烷	un	1.18829	un	<1	<1	ND	ND
香叶基丙酮	花果香	1.17404	0.06	<1	<1	ND	ND
苯甲醇	花香	1.15182	0.1	<1	<1	<1	ND

表 2(续)

物质	气味描述词	VIP 值	阈值/(mg/m <sup>3</sup> )	OAVs			
				DQ-60	DQ-50	DQ-40	DQ-30
己醛	生青味	1.12570	0.034	3.4	<1	<1	<1
壬酸乙酯	花香	1.09212	0.01	2.17	1.8	ND	ND
1,2-二甲苯	芳香	1.08596	0.052	<1	<1	<1	<1
辛酸乙酯	水果香气	1.08290	0.022	1.15	1.26	<1	<1
十九烷-1-醇	un	1.07873	un	<1	<1	<1	<1
2-羟基萘	甜味	1.05382	0.23	<1	<1	ND	ND
十六烷	un	1.05115	0.6	<1	<1	<1	<1
邻苯二甲醚	奶油味	1.02487	un	<1	<1	ND	ND
壬醛	柑橘, 花香	1.01366	0.0031	46.75	52.61	20.31	8.78
双(2-甲基丙基)苯 -1,2-二羧酸酯	un	1.00018	un	<1	<1	<1	ND

注: un 表示没有可用的参考文献, ND 表示未检出该物质; 气味阈值参考化合物香味阈值汇编(第二次扩大修订版)<sup>[30]</sup>。

### 3 讨论与结论

本研究以不同前处理温度的大曲为研究对象, 通过结合 HS-SPME-GC-MS 和感官评价的方法, 绘制了不同前处理温度的各类物质含量柱状图, 感官评价得分雷达图, 并利用 PLS-DA 和聚类热图分析对样品进行解析。感官评价结果显示, 4 种样品感官特征存在着一定的差异性, 但均以豉香、焦香、酱香为主, DQ-60 样品带有一定程度的花香但具有较为明显的脂肪臭, DQ-50 样品的酱香、豉香、焦香相对平衡, 脂肪臭为相对明显, 花香突出, DQ-40 样品的花香, 果香开始变得突出, 同时脂肪臭大幅度降低, DQ-30 样品香气变得单一, 发酵香中带有花香。利用 GC-MS 手段从所有样品中共鉴定出 57 种挥发性化合物, 并对其进行 PLS-DA, 计算出 20 种 VIP>1 的物质。并对 20 种物质进行了 OVA 的计算, 其中壬醛在 4 种样品中的 OAV 均大于 1, 特殊的像 2-乙基-3,5-二甲基吡嗪具有较低的阈值且仅在 DQ-60 中被检测出来, 对样品的香气具有较大的影响。不同温度处理下的大曲样品呈现出不同的风味特征, 这可能是与样品中各种挥发性物质之间的香气互作有关, 例如在 DQ-60 样品中检测出的较高浓度的二甲基三硫能够促进果香和焦糖香味中部分物质的扩散<sup>[34]</sup>。除此之外, 较高的温度更有利于风味物质的挥发, 从而影响物质的风味。

综上所述, 本研究结果表明不同前处理温度的大曲之间挥发性化合物存在显著差异, DQ-60 在挥发性化合物的种类和浓度以及对酱香型白酒有重要影响的香气物质方面表现最好, 风味特征突出, 同时具有较高的分离度, 可作为 HS-SPME-GC-MS 鉴定挥发性化合物的最佳前处理温度, 但也存在着无法还原样品真实风味特征的问题, 同时本研究提高了对于大曲风味的检测水平, 完善了大曲风味检测技术, 能够更完整的解析大曲风味, 提高白酒品质。

### 参考文献

- [1] YAO F, YI B, SHEN C, *et al.* Chemical analysis of the Chinese liquor Luzhoulaojiao by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9553.
- [2] SUN YL, MA Y, CHEN S, *et al.* Exploring the mystery of the sweetness of Baijiu by sensory evaluation, compositional analysis and multivariate data analysis [J]. *Foods*, 2021, 10(11): 2843.
- [3] JIANG X, PENG Z, ZHU Q, *et al.* Exploration of seasonal fermentation differences and the possibility of flavor substances as regulatory factors in Daqu [J]. *Food Res Int*, 2023, 168: 112686.
- [4] 沈怡方. 我国白酒生产技术进步的回眸[J]. *酿酒科技*, 2002, (6): 24-28. SHEN YF. Review of Baijiu production technology progress in China [J]. *Liquor-Making Sci Technol*, 2002, (6): 24-28
- [5] 佚名. 白酒酿造技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2015. Anonymity. *Baijiu brewing technology* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2015.
- [6] ZHENG XW, YAN Z, ROBERT-NOUT MJ, *et al.* Microbiota dynamics related to environmental conditions during the fermentative production of Fen-Daqu, a Chinese industrial fermentation starter [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.008>
- [7] LIU P, ZHANG L, DU X, *et al.* Dynamic analysis of physicochemical and biochemical indices and microbial communities of light-flavor Daqu during storage [J]. *J Am Soc Brew Chem*, 2019, 77(4): 1-8.
- [8] DU H, WANG X, ZHANG Y, *et al.* Exploring the impacts of raw materials and environments on the microbiota in Chinese Daqu starter [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 297: 32-40.
- [9] 郑佳, 彭智辅, 赵东. 中国传统酿酒大曲的风味化学研究进展[J]. *酿酒科技*, 2017, (3): 89-94. ZHENG J, PENG ZF, ZHAO D. Research progress on flavor chemistry of traditional Chinese brewing Daqu [J]. *Liquor-Making Sci Technol*, 2017, (3): 89-94.
- [10] SUN X, QIAN Q, XIONG Y, *et al.* Characterization of the key aroma compounds in aged Chinese Xiaoku Baijiu by means of the sensomics approach [J]. *Food Chem*, 2022, (1): 384.
- [11] 宫俐莉, 李安军, 孙金沅, 等. 溶剂辅助风味蒸发法与顶空-固相微萃取法结合分析白酒酒醅中挥发性风味成分[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(9): 169-177. GONG LL, LI ANJ, SUN JR, *et al.* Analysis of volatile flavor components

- in Baijiu fermented grains by solvent assisted flavor evaporation combined with headspace solid phase microextraction [J]. *Food Ferment Ind*, 2016, 42(9): 169–177.
- [12] 赵东瑞. 古井贡酒风味物质及酚类风味物质的抗氧化性和抗炎性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- ZHAO DR. Study on the antioxidant and anti-inflammatory properties of flavor compounds and phenolic flavor compounds in Gujinggong liquor [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [13] 崔新莹, 吕志远, 张梦梦, 等. 基于主成分分析法的中高温大曲香气物质评价模型的建立[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(7): 279–287.
- CUI XY, LV ZY, ZHANG MM, *et al.* Establishment of an evaluation model for aroma substances in medium and high temperature Daqu based on principal component analysis [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(7): 279–287.
- [14] HOU X, HUI M, SUN Z, *et al.* Comparative analysis of the microbiotas and physicochemical properties inside and outside medium-temperature Daqu during the fermentation and storage [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13: 934696.
- [15] WANG Z, WANG S, LIAO P, *et al.* HS-SPME combined with GC-MS/O to analyze the flavor of strong aroma Baijiu Daqu [J]. *Foods*, 2022, 11(1): 116.
- [16] LI Y, QIAO H, ZHANG R, *et al.* Microbial diversity and volatile flavor compounds in tibetan flavor Daqu [J]. *Foods*, 2023, 12(2): 324.
- [17] STELT BVD, TEMMINGHOFF EJM, VLIET PCJV, *et al.* Volatilization of ammonia from manure as affected by manure additives, temperature and mixing [J]. *Bioresour Technol*, 2007, 98(18): 3449–3455.
- [18] 崔静娴, 刘慧, 刘红. 室内 CO<sub>2</sub> 浓度、温湿度和光照变化对碰碰香挥发物释放量的影响 [J]. *广西植物*, 2023. DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202204043
- CUI JX, LIU H, LIU H. Indoor CO<sub>2</sub> The effects of concentration, temperature, humidity, and light changes on the release of volatile compounds from touch fragrance [J]. *Guihaia J*, 2023. DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202204043
- [19] 赵镭, 刘文, 汪厚银. 食品感官评价指标体系建立的一般原则与方法[J]. *中国食品学报*, 2008, (3): 121–124.
- ZHAO L, LIU W, WANG HY. General principles and methods for establishing a food sensory evaluation index system [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2008, (3): 121–124.
- [20] 沈世明, 梁明锋, 张娇娇, 等. 酱香高温大曲风味轮的初步构建及其香气特征分析[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(1): 73–78.
- SHEN SM, LIANG MF, ZHANG JJ, *et al.* Preliminary construction and aroma characteristics analysis of sauce flavored high-temperature Daqu flavor wheel [J]. *Food Ferment Ind*, 2023, 49(1): 73–78.
- [21] BURDOCK GA. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients* [Z]. 2010.
- [22] YAN Y, CHEN S, NIE Y, *et al.* Quantitative analysis of pyrazines and their perceptual interactions in soy sauce aroma type Baijiu [J]. *Foods* (Basel, Switzerland), 2023, 10(2): 441.
- [23] GAO W, FAN W, XU Y. Characterization of the key odorants in light aroma type chinese liquor by gas chromatography–olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(25): 5796–5804.
- [24] SHI X, ZHAO S, CHEN S, *et al.* Tetramethylpyrazine in Chinese baijiu: Presence, analysis, formation, and regulation [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 1004435.
- [25] AILAN LJ, YAO F, HENGYE C, *et al.* Furfural and organic acid targeted carbon dot sensor array for the accurate identification of Chinese Baijiu [J]. *J Food Sci*, 2023. DOI: 10.1111/1750-3841.15766
- [26] YANG Y, QIAN MC, DENG Y, *et al.* Insight into aroma dynamic changes during the whole manufacturing process of chestnut-like aroma green tea by combining GC-E-Nose, GC-IMS, and GC×GC-TOFMS [J]. *Food Chemistry*, 2022, (S1): 387.
- [27] TIAN P, ZHAN P, TIAN H, *et al.* Analysis of volatile compound changes in fried shallot (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) oil at different frying temperatures by GC-MS, OAV, and multivariate analysis [J]. *Food Chem*, 2021, 345: 128748.
- [28] 王晓欣. 酱香型和浓香型白酒中香气物质及其差异研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- WANG XX. Study on aroma substances and their differences in Maotai flavor and Luzhou flavor Baijiu [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [29] 张卜升, 袁丛丛, 高杏, 等. 不同产地酱香型白酒化学风味和感官特征差异分析[J]. *食品科学* 2023, 44(12): 235–243.
- ZHANG BS, YUAN CC, GAO X, *et al.* Difference analysis of chemical flavor and sensory characteristics of Maotai flavor Baijiu from different origins [J]. *Food Sci*, 2023, 44(12): 235–243.
- [30] 里奥·范海默特. 化合物香味阈值汇编[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- LEO HEMERT. *Compilation of aroma threshold for compounds* [M]. Beijing: Science Press, 2015.
- [31] PU D, DUAN W, HUANG Y, *et al.* Characterization of the key odorants contributing to retronasal olfaction during bread consumption [J]. *Food Chem*, 2020, 318: 126520.
- [32] NICOLOTTI L, MALL V, SCHIEBERLE P. Characterization of key aroma compounds in a commercial rum and an australian red wine by means of a new sensomics-based expert system (SEBES)-An approach to use artificial intelligence in determining food odor codes [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(14): 4011–4022.
- [33] YANG Y, AI L, MU Z, *et al.* Flavor compounds with high odor activity values (OAV>1) dominate the aroma of aged Chinese rice wine (Huangjiu) by molecular association [J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132370.
- [34] SHIQI Y, GUIHU Z, LING X, *et al.* Investigation on the interaction between 1,3-dimethyltrisulfide and aroma-active compounds in sesame-flavor baijiu by feller additive model, odor activity value and partition coefficient [J]. *Food Chem*, 2023, 410: 135451.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

## 作者简介

郑灿杰, 硕士研究生, 主要研究方向为食品风味化学和现代酿造技术。  
E-mail: 17353659943@163.com

林良才, 副教授, 主要研究方向为传统发酵食品及酿造微生物育种。  
E-mail: lclin@tust.edu.cn

张翠英, 教授, 主要研究方向为现代酿造技术。  
E-mail: cyzhangcy@tust.edu.cn