

## 专题研究专栏

编者按:酒的风味成分复杂,既包括挥发性风味成分,也包括非挥发性风味成分。首先,不同酒中的特征风味化合物,以及这些化合物之间的相互作用,对解析酒的独特风格至关重要。其次,酒的生产涉及原料选择、发酵、蒸馏等多个环节,每个环节都可能影响最终产品的风味和品质。这些过程中的细微差别可以导致不同产区、不同厂家生产的酒体呈现出不同的风格特征。本期的4篇文章分别揭示了不同产地酱香型白酒微量含氮风味化合物的作用与差异;基于主要发酵香气物质的馏出动力学,为鲜食葡萄白兰地蒸馏过程中的摘酒工艺提供了技术指导;基于长链脂肪酸乙酯的精确定量,为解决白酒降度过程中出现的浑浊问题提供了技术支持;提出了一种评价方法,用于分析白酒饮后舒适度与主要风味成分的相关性。希望这4篇研究成果能够为提升酒类产品品质、助力开发满足市场和消费者需求的产品提供理论参考。

(主持人:郑福平教授)

doi:10.12301/spxb202300729

文章编号:2095-6002(2024)03-0035-14

引用格式:吴李玲,裴荣红,李行,等.不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物的差异分析[J].食品科学技术学报,2024,42(3):35-48.



WU Liling, PEI Ronghong, LI Xing, et al. Difference analysis of volatile nitroge-containing compounds in soy sauce flavor-type Baijiu from different regions in China[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024,42(3):35-48.

## 不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物的差异分析

吴李玲, 裴荣红, 李行, 李晴, 李良好, 郑福平\*,  
孙金沅, 孙宝国

(北京工商大学 食品质量与安全北京实验室/中国轻工业酿酒分子工程重点实验室/  
食品与健康学院, 北京 100048)

**摘要:**酱香型白酒中含氮类化合物含量虽占比较少,但部分化合物气味阈值较低,对酒体风味贡献较大。以20种酱香型白酒为对象,来源产地包括贵州、广西、湖南、北京、天津、山东、黑龙江,采用液-液萃取结合全二维气相色谱-氮化学发光检测器联用技术对酱香型白酒中挥发性含氮化合物进行定性定量分析。共定性出49种挥发性含氮化合物,包括16种吡嗪类、12种噻唑类、4种吡啶类、6种吡咯类、2种胺类和9种其他化合物;不同产地的酱香型白酒中挥发性含氮化合物的种类差别不明显。对已报道具有香气的挥发性含氮化合物进行定量分析,结果表明:酱香型白酒挥发性含氮化合物中吡嗪类质量浓度最高;贵州酒样的吡嗪类质量浓度 $[(5.36 \pm 0.96) \text{ mg/L}]$ 最高,其次高的是中北部地区的酒样 $[(4.12 \pm 1.20) \text{ mg/L}]$ ,湖南酒样的质量浓度 $[(3.05 \pm 0.64) \text{ mg/L}]$ 和广西酒样的质量浓度 $(3.00 \text{ mg/L})$ 差别不明显,最低的是黑龙江产地的酒样 $[(1.68 \pm 0.42) \text{ mg/L}]$ 。根据定量结果,采用正交偏最小二乘判别分析,可成功区分不同产地的酱香型白酒;苯并噻唑、吡

收稿日期:2023-11-30

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFF0606800)。

Foundation: National Key Research and Development Program Project(2022YFF0606800)。

第一作者:吴李玲,女,硕士研究生,研究方向为白酒化学。

\*通信作者:郑福平,男,教授,博士,主要从事传统酿造食品风味与品质方面的研究。

嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪等 11 种变量投影值大于 1 的含氮化合物,可作为区分不同产地酱香型白酒的差异成分。研究可为酱香型白酒产地区分和溯源提供理论支持。

**关键词:** 酱香型白酒;挥发性含氮化合物;产地;正交偏最小二乘判别分析;全二维气相色谱-氮化学发光检测器

**中图分类号:** TS261.7

**文献标志码:** A

酱香型白酒具有优雅的酱香气味,空杯留香,幽雅而持久,入口醇甜、绵柔,并具有明显的酸味,口味细腻,回味悠长的特点。与其他香型白酒相比,酱香型白酒风味成分的特征是“三高一低二多”,即酸高、醇高、醛酮高、酯低、高沸点多、杂环多<sup>[1]</sup>。由于酱香型白酒不仅风味独特,而且经济效益较高,因此其产能也不断扩增。据国家统计局数据,2018—2022 年,中国白酒的总产能从约 871.2 万 kL 下降至 671.2 万 kL。在 2022 年,酱香型白酒的产能约 70 万 kL,同比增长 16.7%,实现销售利润为 870 亿元,约占白酒总利润的 39.51%<sup>[2]</sup>。

酱香型白酒的生产受到产地极大影响,不同产地有各自独特的气候、菌群、水源和温度等生态环境,使得各地酿造的酱香型白酒风味有明显差别。尽管目前酱香型白酒的主体香味物质尚未定论,但对酱香型白酒香气成分的研究工作已证明,酱香型白酒中挥发性含氮化合物种类和含量居十二大香型白酒之首,尤以四甲基吡嗪含量最为突出<sup>[3-4]</sup>,其具有抗炎<sup>[5]</sup>和神经保护<sup>[6]</sup>等作用。

酱香型白酒中的挥发性含氮化合物有吡嗪类、噻唑类、吡啶类、吡咯类、胺类和其他类,虽然在酱香型白酒中含量占比较低,但是部分含氮化合物对酒体香气贡献较大<sup>[2]</sup>。对不同产地的酱香型白酒进行区分,有利于控制酱香型白酒质量并保护消费者利益。Song 等<sup>[7]</sup>曾用顶空固相微萃取结合全二维气相色谱-飞行时间质谱联用技术筛选出的酸、酯、呋喃、醇、硫化物和吡嗪等 24 种特征风味化合物,可将四川地区和江淮盆地的浓香型白酒区分开。Pan 等<sup>[8]</sup>建立了一种基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱的非靶向代谢组学方法来区分中国红酒的地理来源,有 40 种的差异代谢物被推定为化学标志物。Huang 等<sup>[9]</sup>利用气相色谱-质谱检测结合多变量分析等技术确定了辛酸乙酯、2-甲基丙酸乙酯、乙酸丙酯、庚酸乙酯、2-壬酮和己酸丁酯,可有效识别 4 个代表性地域的酱香型白酒。而使用挥发性含氮化合物来区分不同产地的酱香型白酒研究鲜

有报道。

基于此,本研究采用液-液萃取 (liquid-liquid microextraction, LLE) 结合全二维气相色谱-氮化学发光检测器联用 (comprehensive two-dimensional gas chromatography-nitrogen chemiluminescence detector, GC×GC-NCD) 技术,以不同产地 (贵州、广西、湖南、北京、天津、山东、黑龙江) 的 20 种酱香型白酒为研究对象,结合正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),对酱香型白酒的挥发性含氮化合物进行定性和定量分析,并筛选出特征差异成分,为我国酱酒产品的产地判别和溯源研究提供借鉴,从而促进酱酒质量与原产地溯源制度的建立。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

白酒样品:20 个酱香型酒样,均由酒厂提供或从酒厂采购获得。其中贵州 (GZ) 8 个 (MT、MTWZ、ZJZSW、ZJJPJD、XJ、GT、GW、WM),广西 (GX) 1 个 (DQ),湖南 (HN) 3 个 (WLSJ、WLSJ15、WLSJ30),北京 (BJ) 4 个 (HD1、HD2、HD3、HD4),天津 (TJ) 1 个 (LTC),山东 (SD) 1 个 (GBY),黑龙江 (HLJ) 2 个 (BDC、LB),均为商品酒。除 DQ 酒精度为 51% vol, LTC 和 LB 酒精度为 52% vol, BDC 酒精度为 50% vol 之外,其他酒样的酒精度均为 53% vol。

2,4,5-三甲基噁唑、噻唑、2,4-二甲基噻唑、2,6-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、4,5-二甲基噻唑、2-乙基-6-甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪、5-乙基-2-甲基-吡啶、2-氨基乙硫醇、2,3-二乙基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2,3,5,6-四甲基吡嗪、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、2-异丁基-3-甲基吡嗪、辛腈、*N,N*-二甲基丁酰胺、2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、4-甲基-5-乙基噻唑、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、4,5-二甲基-2-异丁基噻唑、2-乙酰吡啶、1-乙基吡咯-2-甲醛、*N*-甲基吡咯-2-甲醛、2-乙酰基吡嗪、2-乙酰基-3-甲基吡嗪、2-乙酰基噻唑、2-乙酰基-3-乙基吡嗪、5-甲基噻唑、2-吡

咯甲醛、5-甲基-2-甲酰基吡咯、4-甲基-5-(2-乙酰氧乙基)噻唑、己内酰胺、2-氨基苯乙酮、3-苯基吡啶、2-氨基苯甲酸乙酯、3-羟基吡啶,色谱纯,百灵威科技有限公司;氨基甲酸乙酯、*N*-甲基吡咯烷酮、2-丙酰噻唑、2-乙酰基-2-噻唑啉、2-胍基乙醇、2-氨基嘧啶、3,5-二甲基吡唑、二乙酰一肟、苯并噻唑,色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司;2-乙酰基吡咯、3-乙酰基吡咯、吡嗪、2-甲基吡嗪,色谱纯,百灵威科技有限公司;氯化钠,分析纯,北京百灵威科技有限公司;乙醇,色谱纯,上海阿拉丁试剂公司;无水硫酸钠,分析纯,北京国药集团化学试剂有限公司;二氯甲烷,色谱纯,上海阿拉丁试剂公司。

## 1.2 仪器与设备

GC×GC-NCD仪,美国力可公司(配备7890B型气相色谱仪,美国Agilent公司;225 NCD型氮化学发光检测器、四喷嘴制冷型调制器,美国力可公司)。

GGC-C分液漏斗垂直振荡器,北京国环高科自动化技术研究院;N-EVAPTM氮吹仪,美国Organomation Associates公司;GenPure UV-TOC Xcad plus超纯水仪,美国赛默飞世尔科技公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 挥发性含氮化合物的萃取

参考Song等<sup>[10]</sup>的LLE方法,取不同产地酒样各25 mL,将每种酒样用超纯水稀释至酒精度10% vol,加入35 g氯化钠至饱和,加入100 μL 25 mg/L的3-乙酰基吡咯做内标。每次用50 mL二氯甲烷溶剂充分振荡萃取,重复3次,合并有机相,加入无水硫酸钠并放入-20℃冰箱中进行过夜除水,过滤后,进行韦氏蒸馏,当液体蒸发至1 mL时用氮吹仪氮吹至0.5 mL。每次取1 μL进样,用于GC×GC-NCD分析。每种酒样平行萃取3次。

### 1.3.2 GC×GC-NCD条件

GC×GC方法的第一维柱为DB-WAX(30 m×0.25 mm×0.25 μm),第二维柱为DB-5(2 m×0.25 mm×0.1 μm),2根色谱柱以串联方式连接。一维柱温箱升温程序为初始温度50℃,保持2 min,以3℃/min升至150℃,以5℃/min升至230℃,保持10 min;二维柱温箱升温程序为高于一维柱温箱5℃。调制器温度高于一维柱温箱15℃,调制周期5 s,热吹时间1 s,冷吹时间1.5 s。载气为氦气,纯度99.999%,流速1 mL/min,进样口温度250℃,压力207 kPa,进样量为1 μL,不分流进样。

NCD检测器温度为250℃,燃烧室温度为900℃,

氢气和空气的流速分别设定为5 mL/min和10 mL/min,臭氧压力为0.03 MPa,采集速率设置为100 Hz。

## 1.4 挥发性含氮化合物的定性定量方法

### 1.4.1 定性分析

采用LECO Chroma TOF Pegasus 4D软件初步处理GC×GC-NCD数据;随后采用标准品对化合物进行定性,化合物定性条件为标准品的一维保留时间±10 s,二维保留时间±0.1 s。

### 1.4.2 定量分析

采用外标曲线法对目标化合物进行定量。以色谱级乙醇为溶剂制备含有23种目标化合物标准品的母液(含有100 μL质量浓度为25 mg/L的3-乙酰基吡咯),用体积分数为53%的乙醇溶液母液按1:1的体积比例逐级稀释为8个梯度的标准溶液,取各混合标准溶液1.0 μL进行GC×GC-NCD分析,其条件与1.3.2节相同。以各标准品与内标物的浓度比值为横坐标( $x$ ),各标准品与内标物的峰面积比值为纵坐标( $y$ ),进行线性回归分析,制作每种标准品化合物的标准曲线。使用内标物对4-甲基-5-乙烯基噻唑和2-异丁基-3-甲基吡嗪进行半定量。

## 1.5 数据处理

所有实验数据重复测量3次,以平均值±标准偏差表示;使用GraphPad Prism 9.0软件进行单因素ANOVA分析;韦恩图由hiplot完成(<https://hiplot.com.cn>);OPLS-DA由SIMCA 14.1完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 酱香型白酒中挥发性含氮化合物的定性分析

#### 2.1.1 20种酱香型白酒中挥发性含氮化合物的定性分析

在20种酱香型白酒中,共鉴定出49种挥发性含氮化合物,包括16种吡嗪类、12种噻唑类、4种吡啶类、6种吡咯类、2种胺类、9种其他化合物,20种酱香型白酒中挥发性含氮化合物的定性结果汇总见表1<sup>[11-13]</sup>,各个酒样检测出的化合物详情见表2。在这些挥发性含氮化合物中,吡嗪类化合物的种类最多。此外,20种酒样的挥发性含氮化合物数量范围在22~34。贵州的“MTWZ”酒样含有最高数量的挥发性含氮化合物,为34种;其次高的是贵州的“XJ”和“ZJZSW”,二者均为32种,“MT”为31种;天津的“LTC”酒样中检测到的挥发性含氮化合物种类最少,为22种。

表 1 20 种酱香型白酒中挥发性含氮化合物的定性结果

Tab. 1 Qualitative results of volatile nitroge-containing compounds in 20 soy sauce flavor-type Baijiu

序号	名称	CAS	t <sub>出峰</sub>		定性 方法	气味描述
			t <sub>一维柱</sub> /min	t <sub>二维柱</sub> /s		
1	2,4,5-三甲基噁唑	20662-84-4	835	2.04	S	水煮牛肉的芳香 <sup>a</sup>
2	吡嗪	290-37-9	860	1.68	S	与吡啶的气味相似 <sup>a</sup>
3	噻唑	288-47-1	950	1.66	S	恶臭气味 <sup>a</sup>
4	2-甲基吡嗪	109-08-0	995	1.83	S	坚果香、烤牛肉香 <sup>b</sup>
5	2,4-二甲基噻唑	108-99-6	1 040	2.01	S	—
6	2,6-二甲基吡嗪	108-50-9	1 150	2.02	S	青椒香 <sup>b</sup>
7	2-乙基吡嗪	13925-00-3	1 165	2.01	S	炒芝麻香、炒花生香 <sup>b</sup>
8	4,5-二甲基噻唑	3581-91-7	1 270	1.98	S	坚果香、青香 <sup>a</sup>
9	2-乙基-6-甲基吡嗪	13925-03-6	1 300	2.19	S	坚果、焙烤香、甜香 <sup>c</sup>
10	2,3,5-三甲基吡嗪	14667-55-1	1 340	2.16	S	炒花生香 <sup>b</sup>
11	5-乙基-2-甲基-吡啶	104-90-5	1 380	2.18	S	—
12	2-氨基乙硫醇	60-23-1	1 400	1.83	S	—
13	2,3-二乙基吡嗪	15707-24-1	1 470	2.38	S	坚果香、玉米味 <sup>a</sup>
14	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	13925-07-0	1 490	2.36	S	焙烤香、咖啡香 <sup>d</sup>
15	2,3,5,6-四甲基吡嗪	1124-11-4	1 525	2.30	S	烤肉味、烤土豆味 <sup>d</sup>
16	2,3-二乙基-5-甲基吡嗪	18138-04-0	1 565	2.61	S	咖啡香、炒花生香 <sup>c</sup>
17	2-异丁基-3-甲基吡嗪	13925-06-9	1 590	2.43	S	炸土豆味 <sup>a</sup>
18	辛腈	124-12-9	1 590	2.23	S	—
19	N,N-二甲基丁酰胺	760-79-2	1 620	1.98	S	—
20	2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪	17398-16-2	1 625	2.51	S	—
21	4-甲基-5-乙烯基噻唑	1759-28-0	1 640	1.99	S	坚果香、牛肉味 <sup>a</sup>
22	2-甲氧基-3-异丁基吡嗪	24683-00-9	1 640	2.63	S	青椒味 <sup>c</sup>
23	4,5-二甲基-2-异丁基噻唑啉	65894-83-9	1 790	2.60	S	—
24	2-乙酰吡啶	1122-62-9	1805	1.92	S	爆米花味 <sup>a</sup>
25	1-乙基吡咯-2-甲醛	2167-14-8	1 830	1.93	S	烤肉香 <sup>a</sup>
26	N-甲基吡咯-2-甲醛	1192-58-1	1 855	1.81	S	—
27	2-乙酰基吡嗪	22047-25-2	1 870	1.82	S	坚果香、霉味、土豆味 <sup>a</sup>
28	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	39741-41-8	1 870	1.97	S	爆米花味、可可香 <sup>a</sup>
29	2-乙酰基噻唑	24295-03-2	1 915	1.80	S	烤肉香、坚果香 <sup>a</sup>
30	2-乙酰基-3-乙基吡嗪	32974-92-8	1 970	2.13	S	果仁味、爆米花味 <sup>a</sup>
31	氨基甲酸乙酯	51-79-6	1 980	1.59	S	—
32	N-甲基吡咯烷酮	872-50-3	2 005	1.79	S	—
33	2-丙酰噻唑	43039-98-1	2 110	1.84	S	—
34	2-乙酰基-2-噻唑啉	29926-41-8	2 175	1.77	S	—
35	2-胍基乙醇	109-84-2	2 275	1.53	S	—
36	2-氨基嘧啶	109-12-76	2 380	1.60	S	—
37	3,5-二甲基吡唑	67-51-6	2 395	1.60	S	—
38	二乙酰一肟	57-71-6	2 410	1.51	S	—
39	苯并噻唑	95-16-9	2 515	1.82	S	肉香 <sup>a</sup>
40	2-乙酰基吡咯	1072-83-9	2 540	1.57	S	面包香 <sup>a</sup>
41	5-甲基噻啉	13708-12-8	2 560	1.85	S	—
42	2-吡咯甲醛	1003-29-8	2 620	1.52	S	—
43	5-甲基-2-甲酰基吡咯	1192-79-6	2 730	1.55	S	—
44	4-甲基-5-(2-乙酰氧乙基)噻唑	656-53-1	2 785	1.75	S	坚果香、甜果香、木香 <sup>a</sup>
45	己内酰胺	105-60-2	2 865	1.61	S	—
46	2-氨基苯乙酮	551-93-9	2 885	1.66	S	—
47	3-苯基吡啶	1008-88-4	2 920	1.81	S	—
48	2-氨基苯甲酸乙酯	87-25-2	2 960	1.72	S	—
49	3-羟基吡啶	109-00-2	3 095	1.49	S	—

S 为采用标准品进行定性,a 为气味表述来自 [www.perflavory.com](http://www.perflavory.com),b 为气味描述来自参考文献[11],c 为香气描述来自参考文献[12],d 为气味描述来自参考文献[13],e 为气味描述来自参考文献[3],—表示未查询到有香气描述。



表 2 20 种酱香型白酒中鉴定出的挥发性含氮化合物

Tab. 2 Volatile nitroge-containing compounds identified in 20 soy sauce flavor-type Baijiu																					
序号	化合物	MT	MTWZ	ZJJPD	ZJZSW	WM	GW	XJ	GT	WLSJ	WLSJ15	WLSJ30	DQ	GBY	LTC	BDC	LB	HD1	HD2	HD3	HD4
1	2,4,5-三甲基噁唑	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+
2	吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	噻唑	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	+	+	+	+
4	2-甲基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	2,4-二甲基噻唑	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	+		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	2,6-二甲基吡嗪	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	2-乙基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+
8	4,5-二甲基噻唑	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	2-乙基-6-甲基吡嗪	ND	+	+	+	+	+	ND	+	ND	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+
10	2,3,5-三甲基吡嗪	+	+	ND	ND	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	ND	+	+	ND
11	5-乙基-2-甲基-吡啶	ND	+	ND	+	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	+	+	+	+
12	2-氨基乙硫醇	+	ND	ND	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND
13	2,3-二乙基吡嗪	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND
14	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	ND	+	+
15	2,3,5,6-四甲基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	2,3-二乙基-5-甲基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	+	+	+	+	+
17	2-异丁基-3-甲基吡嗪	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	辛腈	ND	+	+	+	ND	+	+	+	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+
19	N,N-二甲基丁酰胺	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+
20	2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	4-甲基-5-乙炔基噻唑	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND
22	2-甲氧基-3-异丁基吡嗪	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	+	ND
23	4,5-二甲基-2-异丁基噻唑啉	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	2-乙酰吡啶	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+
25	1-乙基吡咯-2-甲醛	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	N-甲基吡咯-2-甲醛	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	ND	ND	ND	+	+	+	+
27	2-乙酰基吡嗪	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND
28	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	+	+	+	+
29	2-乙酰基噻唑	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+
30	2-乙酰基-3-乙基吡嗪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	氨基甲酸乙酯	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	N-甲基吡咯烷酮	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	2-丙酰噻唑	ND	ND	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
34	2-乙酰基-2-噻唑啉	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	+
35	2-胍基乙醇	+	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	ND	+	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND
36	2-氨基嘧啶	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
37	3,5-二甲基吡唑	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
38	二乙酰一酐	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+
39	苯并噻唑	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	2-乙酰基吡咯	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41	5-甲基噻唑啉	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	+	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
42	2-吡咯甲醛	+	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	+	+	+	ND	+
43	5-甲基-2-甲酰基吡咯	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	ND	+	+	+	ND	+	+	+	+
44	4-甲基-5-(2-乙酰氧乙基)噻唑	+	+	ND	+	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	+	+	+	+
45	己内酰胺	ND	+	+	ND	+	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
46	2-氨基苯乙酮	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	ND	ND	+	ND
47	3-苯基吡啶	+	+	+	ND	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	2-氨基苯甲酸乙酯	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	+	ND	ND	ND
49	3-羟基吡啶	ND	ND	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

+ 表示定性出该化合物；ND 表示未定性出该化合物。

### 2.1.2 不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物的种类比较

贵州、湖南、广西、黑龙江、中北部(北京、天津、山东)的酒样中分别鉴定出 46、32、26、30、40 种挥发性含氮化合物,见图 1 和表 2。共有的含氮化合物有 22 种,包括 10 种吡嗪(2-甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、四甲基吡嗪、2-乙酰基-3-乙基吡嗪、吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪)、2 种噻唑(2,4,5-三甲基噻唑、苯并噻唑)、4 种吡咯(1-乙基吡咯-2-甲醛、2-乙酰基吡咯、2-吡咯甲醛、*N*-甲基吡咯烷酮)、2 种吡啶(2-乙酰吡啶、3-苯基吡啶)、其他类 4 种(二乙酰一肟、氨基甲酸乙酯、2-胍基乙醇、2-氨基乙硫醇)。另外,2-氨基嘧啶、2-异丁基-3-甲基吡嗪、3,5-二甲基吡嗪、3-羟基吡啶、4,5-二甲基-2-异丁基噻唑啉、4,5-二甲基噻唑仅在贵州产地的酒样中检出。2,3-二乙基吡嗪、4-甲基-5-乙烯基噻唑仅在中北部产地的北京酒样中检出。2-乙酰基吡嗪在贵州和黑龙江产地的酒样中检出。因此,在不同产地酱香型白酒香气化合物种类基本相似的前提下,推断造成酱香型白酒的香气差异原因主要是化合物含量不同。

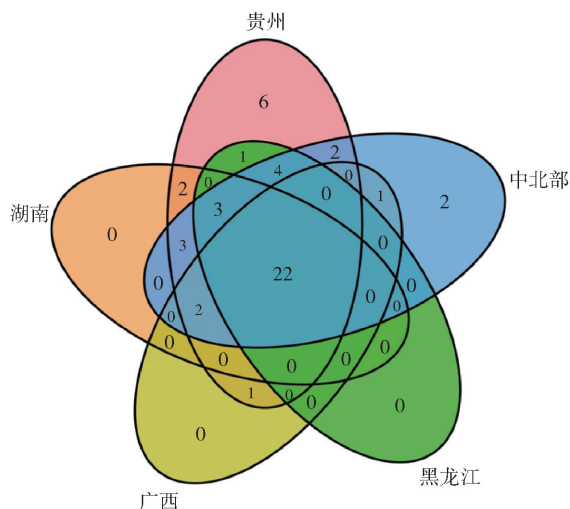


图1 不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物种类的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of volatile nitroge-containing compounds in soy sauce flavor-type Baijiu from different origins

### 2.2 酱香型白酒中挥发性含氮化合物的定量分析

为了表征不同酱香型白酒之间挥发性含氮化合

物的差异,选取已报道具有香气的 25 种挥发性含氮化合物进行定量计算,定量结果见表 3 和图 2。由表 3 和图 2 可知,不同种类的化合物含量之间存在差异,吡嗪类的质量浓度远远高于其他类,噻唑类质量浓度次之,吡咯类和吡啶类的质量浓度最低,说明了在挥发性含氮化合物中,吡嗪类化合物对酱香型白酒的焦香、焙烤香形成具有重要意义。同时,吡嗪类化合物质量浓度在不同酒样之间存在差异。例如,GW 的吡嗪类总质量浓度最高,为 7.02 mg/L,其次高的是 MT (6.00 mg/L)、MTWZ (5.73 mg/L),而 BDC 的质量浓度最低,仅为 1.39 mg/L。吡嗪类化合物在酿造过程中主要通过微生物途径代谢合成和美拉德反应产生<sup>[14]</sup>。噻唑类的质量浓度为 0.08 mg/L (WM) 到 1.83 mg/L (HD2),吡咯类的质量浓度为 0.04 mg/L (BDC) 到 0.36 mg/L (MTWZ),吡啶类质量浓度为 0.08 mg/L (HD1) 到 0.53 mg/L (HD2)。

由图 2(a) 可知,在含氮化合物总质量浓度方面,贵州和中北部产地的酒样中质量浓度较高,分别为  $[(6.25 \pm 1.12) \text{ mg/L}]$  和  $[(5.51 \pm 1.73) \text{ mg/L}]$ ; 其次高的是广西酒样  $(3.74 \text{ mg/L})$  和湖南酒样  $[(3.54 \pm 0.63) \text{ mg/L}]$ ,但差别不明显;黑龙江产地的酒样质量浓度最低,为  $(2.45 \pm 0.75) \text{ mg/L}$ 。同样,由图 2(b) 可知,在吡嗪类化合物含量方面,其质量浓度高低分布规律与含氮化合物总质量浓度维持类似的规律,贵州酒样的吡嗪类质量浓度  $[(5.36 \pm 0.96) \text{ mg/L}]$  最高,其次高的是中北部产地  $[(4.12 \pm 1.20) \text{ mg/L}]$  的酒样,湖南酒样的质量浓度  $[(3.05 \pm 0.64) \text{ mg/L}]$  和广西酒样的质量浓度差别不明显,质量浓度最低的是黑龙江酒样  $[(1.68 \pm 0.42) \text{ mg/L}]$ 。从地理位置上看,贵州、湖南、广西地处北纬  $25^\circ \sim 29^\circ$ ,避开了高原气流,常年少风少雨,冬暖夏热,具有温润的特殊气候;中北部产地(北京、天津、山东)地处北纬  $39^\circ \sim 41^\circ$ ,夏季高温多雨,冬季寒冷干燥;黑龙江地处我国的最东北部,约为北纬  $45^\circ \sim 47^\circ$ ,常年冬季漫长严寒、干燥,夏季温暖短促。外界环境温度的不同,可导致微生物种类和繁衍情况不同。王源等<sup>[15]</sup>发现相较于贵州省等其他产区,北京地区酱香型白酒堆积发酵过程中的细菌群落在种类数量、优势门类排序、群属丰度等方面存在明显差异。因此,即使在各酒厂尽量遵循传统的酱香型白酒酿造工艺条件下,但因生产的地理环境、气候条件、贮存环境和人工勾调等各方面差异,不同产地的吡嗪类风味物质的质量浓度会具有一定差异性。

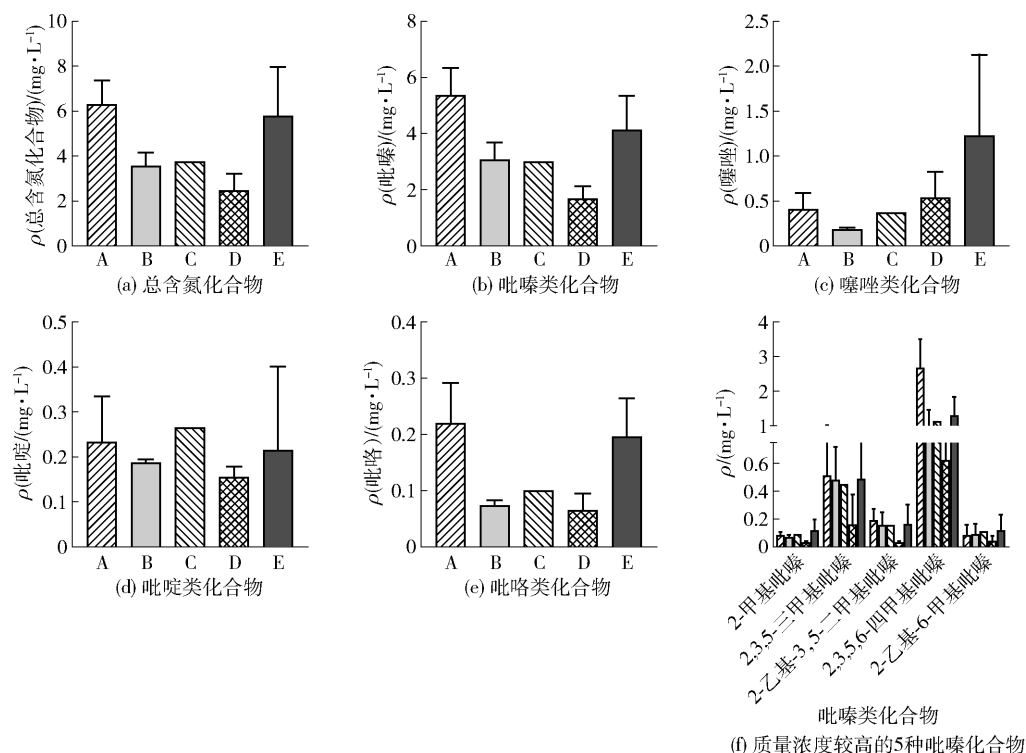


续表 3

化合物名称	MT	MTWZ	ZJHPJD	ZJZSW	WM	GW	XJ	GT	WLSJ	WLSJ15	WLSJ30	DQ	BDC	LB	GBY	LTC	HD1	HD2	HD3	HD4
2,3-二乙基吡嗪	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	238.57 ± 17.45	ND	ND
2-异丁基-3-甲基吡嗪*	ND	93.06 ± 1.97	ND	ND	ND	31.64 ± 5.43	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
吡嗪类小计	6 002.80	5 726.23	3 739.69	4 865.72	4 938.11	7 024.35	5 038.53	5 568.78	3 247.90	2 334.73	3 571.63	2 995.97	1 388.03	1 977.17	3 813.87	2 223.43	5 320.46	5 113.79	4 927.70	3 343.96
噻唑	33.00 ± 0.34	34.69 ± 0.56	13.31 ± 1.52	30.57 ± 2.88	20.79 ± 3.22	22.61 ± 2.12	31.27 ± 3.97	23.17 ± 0.41	13.47 ± 1.05	15.19 ± 4.80	14.24 ± 1.10	ND	4.55 ± 0.16	ND	35.94 ± 3.00	21.10 ± 0.45	32.67 ± 0.73	50.40 ± 1.48	20.81 ± 0.38	10.32 ± 0.18
2-乙酰基噻唑	55.68 ± 2.68	35.46 ± 0.31	23.39 ± 2.49	65.21 ± 0.95	ND	36.49 ± 6.08	84.42 ± 12.57	42.01 ± 20.89	14.20 ± 7.53	4.12 ± 1.82	3.84 ± 0.64	ND	24.96 ± 3.23	60.66 ± 8.38	65.43 ± 6.06	53.91 ± 12.46	77.56 ± 1.53	172.63 ± 5.45	69.82 ± 2.44	39.97 ± 3.14
苯并噻唑	265.26 ± 5.43	443.52 ± 39.50	212.52 ± 27.41	307.20 ± 23.18	ND	311.92 ± 20.74	320.35 ± 20.3	271.95 ± 63.02	181.03 ± 7.95	152.52 ± 73.18	148.10 ± 10.71	363.89 ± 8.52	269.70 ± 76.95	679.34 ± 78.88	666.88 ± 35.74	176.20 ± 16.06	763.44 ± 31.36	947.83 ± 37.83	588.40 ± 27.58	654.73 ± 66.13
4-甲基-5-(2-乙酰基)噻唑	83.95 ± 1.49	76.71 ± 0.98	ND	48.42 ± 4.60	ND	173.49 ± 21.03	95.11 ± 13.11	ND	ND	ND	ND	ND	34.63 ± 4.56	ND	102.25 ± 8.35	ND	58.96 ± 1.71	133.06 ± 11.44	82.44 ± 8.67	96.31 ± 0.73
4,5-二甲基噻唑	4.58 ± 4.32	39.52 ± 23.50	5.96 ± 4.82	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4-甲基-5-乙基噻唑*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	420.00 ± 225.39	104.33 ± 12.50	ND
噻唑类小计	457.92	670.58	287.81	460.03	80.84	580.17	542.03	420.82	226.86	234.11	196.88	375.88	345.99	748.67	778.00	298.02	989.83	1 831.38	887.60	803.28
2-乙酰吡嗪	281.72 ± 2.64	ND	184.11 ± 7.24	277.08 ± 11.32	280.53 ± 38.41	259.68 ± 16.72	325.19 ± 43.30	255.50 ± 6.26	196.15 ± 17.92	180.69 ± 38.09	185.38 ± 9.36	265.12 ± 5.57	139.76 ± 5.07	1 72.35 ± 5.54	ND	171.36 ± 4.89	77.69 ± 1.21	534.47 ± 15.93	296.39 ± 7.51	204.44 ± 10.48
吡啶类小计	281.72	0	184.11	277.08	280.53	259.68	325.19	255.50	196.15	180.69	185.38	265.12	139.76	172.35	0	171.36	77.69	534.47	296.39	204.44
1-乙基吡咯-2-甲 醛	271.33 ± 11.08	291.25 ± 17.03	79.00 ± 11.27	184.08 ± 24.09	176.47 ± 30.99	164.33 ± 15.23	161.85 ± 23.10	166.18 ± 3.47	65.28 ± 4.27	59.67 ± 25.19	53.49 ± 5.57	86.9 ± 3.30	27.37 ± 2.13	75.50 ± 3.44	215.03 ± 18.26	134.93 ± 7.52	136.41 ± 5.71	274.38 ± 36.15	150.55 ± 3.85	79.65 ± 6.16
2-乙酰基吡咯	40.33 ± 0.77	43.78 ± 0.91	25.08 ± 2.20	29.04 ± 1.79	22.34 ± 3.55	36.44 ± 3.54	33.30 ± 6.32	35.48 ± 0.77	17.88 ± 3.45	11.90 ± 3.12	12.42 ± 1.13	13.52 ± 0.50	15.50 ± 0.34	10.54 ± 0.33	19.95 ± 1.64	9.39 ± 0.85	20.04 ± 0.62	44.34 ± 0.86	29.34 ± 0.30	61.04 ± 0.61
吡咯类小计	311.66	335.03	104.08	213.13	198.81	200.78	195.15	201.66	83.17	71.58	65.91	100.41	42.87	86.05	234.99	144.31	156.45	318.72	179.89	140.69
总计	7 054.09	6 731.84	4 315.68	5 815.96	5 498.30	8 064.97	6 100.90	6 446.76	3 754.08	2 821.09	4 019.80	3 737.38	1 916.65	2 984.23	4 826.86	2 837.13	6 544.42	7 798.36	6 191.58	4 492.36

ND 表示化合物未被检出,\* 表示化合物为半定量。





A 代表贵州,B 代表湖南,C 代表广西,D 代表黑龙江,E 代表中北部(北京、天津、山东)。

图2 不同产地酱香型白酒中含氮化合物含量及种类

Fig. 2 Content and types of nitrogen-compounds in soy sauce flavor-type Baijiu from different origins

由图 2(c) 可知,噻唑类化合物质量浓度在不同产地差异明显,中北部产地的酒样质量浓度最高为  $[(1.23 \pm 0.90) \text{ mg/L}]$ ,其次是黑龙江产地酒样为  $[(0.54 \pm 0.28) \text{ mg/L}]$ ,湖南产地的酒样质量浓度最低,为  $[(0.18 \pm 0.02) \text{ mg/L}]$ 。由表 3 可知,4-甲基-5-乙烯基噻唑和苯并噻唑是导致中北部产地酒样噻唑类质量浓度高的原因,4-甲基-5-乙烯基噻唑只在 HD2(0.42 mg/L) 和 HD3(0.10 mg/L) 酒样中检出且质量浓度最高。由图 2(d) 可知,吡啶类化合物质量浓度在不同产地酒样中差异不明显,范围为 0.16 ~ 0.27 mg/L。由图 2(e) 可知,吡咯类化合物质量浓度在不同产地差异明显,贵州产地的吡咯类质量浓度最高,为  $[(0.22 \pm 0.07) \text{ mg/L}]$ ,中北部产地的吡咯类质量浓度次之,为  $[(0.20 \pm 0.06) \text{ mg/L}]$ ,黑龙江产地的吡咯类质量浓度最低,为  $[(0.06 \pm 0.03) \text{ mg/L}]$ 。

另外,图 2(f) 呈现了这些产地中质量浓度较高的 5 种吡嗪化合物,由高到低依次为 2,3,5,6-四甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪、2-甲基吡嗪,这与前人的研究结果类似<sup>[4]</sup>。从整体趋势来看,2,3,5,6-四甲基

吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪和 2-乙基-3,5-二甲基吡嗪的质量浓度在贵州产地和中北部产地的酒样中质量浓度相对略高,其次是在湖南产地和广西产地酒样中,在黑龙江产地的酒样中质量浓度最低。具体来讲,2,3,5,6-四甲基吡嗪在贵州产地的酒样中质量浓度  $[(2680.04 \pm 810.68) \mu\text{g/L}]$  最高,其次是中北部产地酒样中  $[(1287.84 \pm 551.98) \mu\text{g/L}]$  和湖南  $[(1197 \pm 188.02) \mu\text{g/L}]$  和广西  $[(1132.03 \pm 127.98) \mu\text{g/L}]$  酒样中,最低的是黑龙江产地酒样中  $[(623.43 \pm 218.80) \mu\text{g/L}]$ 。四甲基吡嗪主要通过糖酵解途径产生的丙酮酸缩合为  $\alpha$ -乙酰乳酸,再脱羧形成乙偶姻,乙偶姻与氨经过非酶促反应而得<sup>[14]</sup>。2,3,5-三甲基吡嗪的质量浓度较高的依旧在贵州产地的酒样  $[(814.90 \pm 504.51) \mu\text{g/L}]$  和中北部产地的酒样  $[(734.24 \pm 348.70) \mu\text{g/L}]$ ,其次高的是湖南产地的酒样  $[(477.50 \pm 244.24) \mu\text{g/L}]$  和广西产地的酒样  $(477.59 \mu\text{g/L})$ ,最低是黑龙江产地的酒样且只在 LB 酒样中测出  $[(313.44 \pm 32.73) \mu\text{g/L}]$ 。2-乙基-3,5-二甲基吡嗪在贵州产地的酒样中质量浓度为  $(189.88 \pm 84.85) \mu\text{g/L}$ ,湖南、广西和中北部产地的酒样中质量浓度分别  $(157.31 \pm 90.67) \mu\text{g/L}$ 、 $(154.30 \pm$

5.43)  $\mu\text{g/L}$  和  $(141.10 \pm 51.85) \mu\text{g/L}$ , 黑龙江产地的酒样质量浓度为  $(25.15 \pm 14.19) \mu\text{g/L}$ 。2-甲基吡嗪和 2-乙基-6-甲基吡嗪的质量浓度整体较低, 质量浓度在  $30 \sim 120 \mu\text{g/L}$ , 但在黑龙江产地的酒样中依旧最低。

2.3 酱香型白酒中挥发性吡嗪类化合物的香气活性值分析

香气活性值(odor activity value, OAV)是指测定的化合物质量浓度与该化合物的香气阈值浓度之比, 表示该化合物对香气的贡献度。根据酒样的定量结果, 结合现有文献已报道的吡嗪化合物嗅觉阈值, 计算了 8 种化合物的 OAV, 见表 4<sup>[11-12,16]</sup>。由表 4 可知,  $\text{OAV} > 1$  的吡嗪类化合物有 3 种, 2-乙基-6-甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪和

2-乙基-3,5-二甲基吡嗪。值得一提的是, 四甲基吡嗪作为酱香型白酒中含量最高的吡嗪类化合物, 但具有较高阈值, 为  $80.10 \text{ mg/L}^{[11]}$ , 通常难以被闻到。同样, 2-甲基吡嗪呈坚果, 烤牛肉香气, 但阈值较高, 为  $121.93 \text{ mg/L}^{[11]}$ , 通常很难从酒样中被闻到, 但却是红砂糖饮料中的一种关键的芳香化合物<sup>[17]</sup>。2-乙基吡嗪(阈值为  $21.81 \text{ mg/L}$ )和吡嗪(阈值为  $30 \text{ mg/L}$ )因其阈值较高, OAV 值均  $< 1$ 。2,6-二甲基吡嗪在体积分数为 46% 的乙醇水溶液中的阈值为  $790.79 \mu\text{g/L}$ , 在所有酒样中的质量浓度均未达到阈值, 质量浓度最高的仅为  $(123.91 \pm 7.18) \mu\text{g/L}$ 。但 2,6-二甲基吡嗪却与芝麻香白酒的烘烤香气有关<sup>[18]</sup>。

表 4 酱香型白酒中吡嗪类化合物的质量浓度范围、嗅觉阈值和香气活性值分析结果  
Tab. 4 Analysis results of quality concentration range, odor thresholds, and OAV of pyrazine compounds in soy sauce flavor-type Baijiu

序号	化合物	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$					嗅觉阈值/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	OAV				
		贵州	湖南	广西	黑龙江	中北部		贵州	湖南	广西	黑龙江	中北部
2	吡嗪	473.52 ~ 1 408.56	893.60 ~ 1 320.28	443.08	362.32 ~ 608.68	143.90 ~ 1 870.91	30 000 <sup>a</sup>	<1	<1	<1	<1	<1
4	2-甲基吡嗪	40.99 ~ 112.05	47.36 ~ 78.80	87.46	23.54 ~ 36.66	23.95 ~ 149.25	121 927.01 <sup>b</sup>	<1	<1	<1	<1	<1
6	2,6-二甲基 吡嗪	44.31 ~ 123.91	42.00 ~ 52.48	ND	ND	0 ~ 108.77	790.79 <sup>b</sup>	<1	<1	<1	<1	<1
7	2-乙基吡嗪	9.39 ~ 63.26	16.38 ~ 41.95	80.91	10.42 ~ 16.68	10.68 ~ 170.03	21 814.58 <sup>b</sup>	<1	<1	<1	<1	<1
9	2-乙基-6-甲基吡嗪	0 ~ 189.78	0 ~ 136.64	110.78	5.69 ~ 68.73	0 ~ 320.41	40 <sup>b</sup>	0 ~ 4.74	0 ~ 3.42	2.77	0.14 ~ 1.72	0 ~ 8.01
10	2,3,5-三甲基吡嗪	0 ~ 1 349.72	256.26 ~ 739.70	447.59	0 ~ 313.44	0 ~ 1 116.91	729.86 <sup>b</sup>	0 ~ 1.85	0.35 ~ 1.01	<1	<1	0 ~ 1.53
14	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	46.47 ~ 289.26	62.37 ~ 242.98	154.30	15.11 ~ 35.18	0 ~ 408.81	7.5 <sup>c</sup>	6.20 ~ 38.57	8.32 ~ 32.40	20.57	2.01 ~ 4.70	0 ~ 28.32
15	四甲基吡嗪	1 330.43 ~ 3 471.87	982.54 ~ 1 333.47	1 132.03	468.71 ~ 778.14	462.28 ~ 1 889.19	80 073.16 <sup>b</sup>	<1	<1	<1	<1	<1

化合物序号同表 1, a 表示化合物在水溶液中的嗅觉阈值, 来自 [www.thresholdcompilation.com](http://www.thresholdcompilation.com); b 表示化合物在 46% vol 酒精水溶液中的嗅觉阈值, 参考文献来自 [11,16]; c 表示在空气中测定出的嗅觉阈值, 参考文献来自 [12]。

对于 2-乙基-6-甲基吡嗪, 在体积分数为 46% 的乙醇水溶液中, 它被检测为坚果香气, 阈值较低为  $40 \mu\text{g/L}$ , 该吡嗪在贵州 ( $0 \sim 4.74$ ) 和中北部产地 ( $0 \sim 8.01$ ) 的酒样中 OAV 略高于其他产地的酒样, 湖南、广西、黑龙江的酒样 OAV 分别为  $0 \sim 3.42$ 、

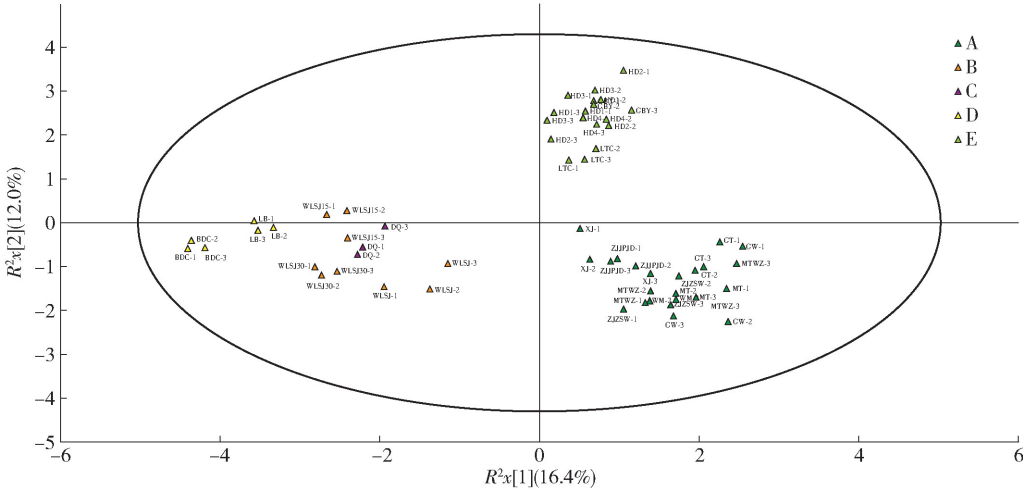
$2.77$ 、 $0.14 \sim 1.72$ 。另外, 2-乙基-6-甲基吡嗪可用于识别龙牌酱油在生产过程中是否成熟<sup>[19]</sup>。2,3,5-三甲基吡嗪在体积分数为 46% 的乙醇水溶液中呈坚果味和烤肉香气, 阈值为  $729.86 \mu\text{g/L}$ , 贵州、湖南、中北部产地的酒样中 OAV 分别是  $0 \sim 1.85$ 、

0.35~1.01和0~1.53,其余产地的OAV值均小于1。在贵州产地的酒样中,仅有MT和XJ的OAV>1,分别为1.55和1.85;湖南产地的酒样中只有WLSJ的OAV>1,为1.01;中北部产地的酒样中也只有HD2的OAV为1.53,同时,此化合物被证明对浓香型白酒的焙烤香<sup>[20]</sup>和绵柔型白酒的香气<sup>[21]</sup>具有重要贡献。具有坚果味和烘烤气味的2-乙基-3,5-二甲基吡嗪的气味阈值最低(7.5 μg/L),该化合物除HD2和GBY未检出外,其余酒样均检测到,在能检测的酒样中OAV范围为2.01(BDC)~38.57(MT),表明2-乙基-3,5-二甲基吡嗪对大部分酒中的焙烤方面的香气具有重要贡献。除HD2和GBY之外,OAV在贵州(6.20~38.57)、湖南(8.32~32.40)、广西(20.57)、中北部(0~28.32)产地的酒样中明显高于黑龙江的酒样(2.01~4.70)。并且,2-乙基-3,5-二甲基吡嗪是所有吡嗪化合物中OAV

最大的化合物,且对浓香型白酒的大曲风味具有重要贡献<sup>[13]</sup>。

2.4 酱香型白酒中含氮化合物的正交偏最小二乘判别分析

采用有监督的OPLS-DA法建立了不同产地酱香型白酒的分类判别模型,该模型可使组内差异弱化,组间差异凸显最大化,从而使组间样本分离效果更佳。以各酒样挥发性含氮化合物定量结果为 $x$ 变量,以样品类别为 $y$ 变量,进行OPLS-DA分析,得到该模型的预测能力参数 $Q^2$ 为0.75,对 $y$ 矩阵的解释率 $R^2y$ 为0.839。 $Q^2$ 一般高于0.5,则表示模型未过拟合,则可被接受使用,2个值越接近于1表明模型的拟合度越好。由图3可见,OPLS-DA模型能够更加直观看到不同产地的酱香型酒样的分布特点。整体来看除广西产地酒样与湖南产地个别酒样出现聚集,其余产地的酒样均能明显区分。



A 代表贵州产地,B 代表湖南产地,C 代表广西产地,D 代表黑龙江产地,E 代表中北部产地(北京、天津、山东)。

图3 不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物的正交偏最小二乘法判别分析模型

Fig.3 Orthogonal partial least squares discriminant analysis model of volatile nitroge-containing compounds in soy sauce flavor-type Baijiu from different origins in China

造成不同产地的酱香型白酒风味有着明显差别的原因可能有:1)酿酒原料的品质差异。酱香型白酒主要以糯高粱为原料,不同品种的高粱具有不同含量的蛋白质、支链淀粉、单宁、脂肪等成分,这些成分会分解成小分子化合物,形成白酒的风味成分或其前体物质<sup>[22]</sup>。2)微生物菌群的多样性。微生物是影响酱香型白酒风味的重要根源,在酱香型白酒酿造过程中,高温制曲、高温堆积和酒醅发酵等富集了大量的微生物菌群,包括细菌、酵母菌和霉菌等<sup>[23]</sup>。王晖等<sup>[24]</sup>曾从白酒

窖泥中分离得到11株乳酸菌,发现窖泥中各种乳酸菌特征不一,对白酒酿造有不同影响。3)酿酒周围的地理环境不同,也是影响风味物质形成的因素之一<sup>[25]</sup>。在环境温度适宜条件下,微生物生长代谢会较为旺盛,美拉德反应越剧烈,促进合成的吡嗪类化合物等风味物质也就越丰富。反之,若生产环境温度较低,微生物生长繁殖所需的养分会受限,吡嗪类化合物含量也会略微下降。

图4为酱香型白酒含氮化合物的VIP值分布,

筛选到对于模型分类起到重要作用的特征变量有 11 种:苯并噻唑、吡嗪、四甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、噻唑、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、2-

乙酰基噻唑、2-乙酰基-3-甲基吡嗪、2-乙酰基吡嗪、1-乙基吡咯-2-甲醛,表明这 11 种含氮化合物可作为区分不同产地酱香型白酒的差异成分。

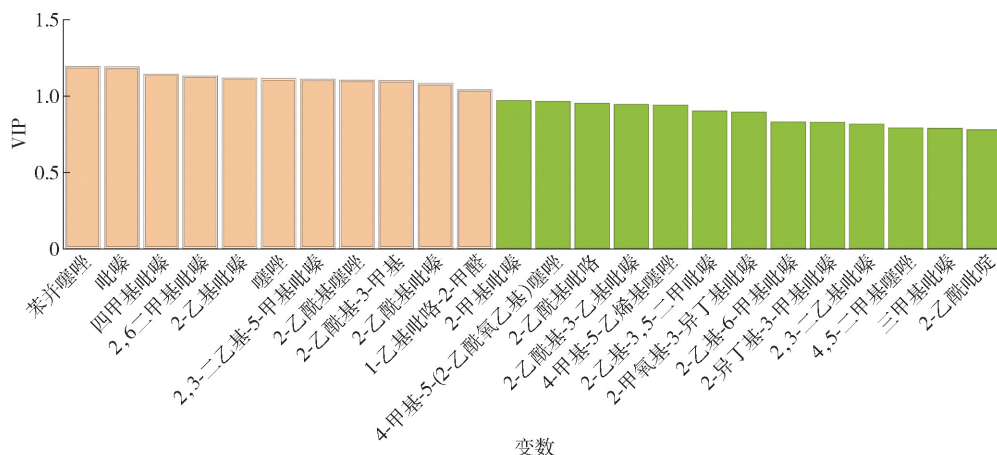


图 4 不同产地酱香型白酒中挥发性含氮化合物的 VIP 值分布

Fig. 4 VIP value distribution of volatile nitroge-containing compounds in soy sauce flavor-type Baijiu from different origins in China

### 3 结 论

本研究采用 LLE 前处理方法结合 GC × GC-NCD 检测技术,对 20 种不同产地酱香型白酒进行定性定量研究,共鉴定出 49 种挥发性含氮化合物,贵州、湖南、广西、黑龙江、中北部(北京、天津、山东)产地的酒样中分别鉴定出 46、32、26、30、40 种挥发性含氮化合物,共有的有 22 种,包括 10 种吡嗪、2 种噻唑、4 种吡咯、2 种吡啶、其他类 4 种。进一步选取出文献已报道的 25 种挥发性含氮化合物进行定量分析,结果表明,吡嗪类质量浓度占比为含氮化合物种类中最高,贵州酒样的吡嗪类质量浓度[(5.36 ± 0.96) mg/L]最高,其次高的是中北部产地[(4.12 ± 1.20) mg/L]的酒样,湖南酒样的质量浓度[(3.05 ± 0.64) mg/L]和广西的质量浓度差别不明显,质量浓度最低的是黑龙江产地[(1.68 ± 0.42) mg/L]。在吡嗪类化合物中,质量浓度较高的 5 个吡嗪化合物质量浓度由大到小依次为四甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5-二甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪、2-甲基吡嗪。同时,进行 OAV 计算,得到 OAV > 1 的吡嗪化合物有 3 种,2-乙基-6-甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪和 2-乙基-3,5-二甲基吡嗪。对 25 种含氮化合物采用有监督的 OPLS-DA 法进行分析,结果表明,此模型可将贵州、湖南、广西、黑龙江、中北部(北京、天津、山东)产地酒样分开,同时,筛选出 11 种变量投影

值大于 1 的含氮化合物,可作为潜在区分不同产地酱香型白酒的差异成分。研究工作旨在为我国酱香型白酒产地的区分和溯源提供理论支持。

### 参考文献:

- [1] 孙宝国. 国酒[M]. 北京:化学工业出版社, 2019.
- [2] SUN B G. Baijiu and Huangjiu[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2019.
- [3] 国家统计局. 国家数据[EB/OL]. [2023-10-19]. <https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=A01&zb=A020909&sj=202404>.
- [4] YAN Y, CHEN S, NIE Y, et al. Quantitative analysis of pyrazines and their perceptual interactions in soy sauce aroma type Baijiu[J]. Foods, 2021, 10(2): 441.
- [5] FAN W L, XU Y, ZHANG Y H, et al. Characterization of pyrazines in some Chinese liquors and their approximate concentrations[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(24): 9956 - 9962.
- [6] LI J, GONG X Z. Tetramethylpyrazine: an active ingredient of Chinese herbal medicine with therapeutic potential in acute kidney injury and renal fibrosis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 820071.
- [7] HAIDY E M, ESTHER T M, et al. Tetramethylpyrazine guards against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats through inhibiting HMGB1/TLR4/NF-kappa B and activating Nrf2 and PPAR-gamma signaling pathways[J]. European Journal of Pharmacology, 2019, 857: 172422.



- [7] SONG X B, JING S, ZHU L, et al. Untargeted and targeted metabolomics strategy for the classification of strong aroma-type Baijiu (liquor) according to geographical origin using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2020, 314: 126098.
- [8] PAN Y, GU H W, LV Y, et al. Untargeted metabolomic analysis of Chinese red wines for geographical origin traceability by UPLC-QTOF-MS coupled with chemometrics[J]. Food Chemistry, 2022, 394: 133473.
- [9] HUANG H, WU Y S, CHEN H, et al. Identification of regional markers based on the flavor molecular matrix analysis of sauce-aroma style Baijiu[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103 (15): 7434 – 7444.
- [10] SONG X B, ZHU L, WANG X L, et al. Characterization of key aroma-active sulfur-containing compounds in Chinese Laobaigan Baijiu by gas chromatography-olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with sulfur chemiluminescence detection[J]. Food Chemistry, 2019, 297: 124959.
- [11] 范文来, 徐岩. 白酒 79 个风味化合物嗅觉阈值测定[J]. 酿酒, 2011, 38(4): 80 – 84.
- FAN W L, XU Y. Determination of odor thresholds of volatile aroma compounds in Baijiu by a forced-choice ascending concentration series method of limits [J]. Liquor Making, 2011, 38(4): 80 – 84.
- [12] ZHENG Y, SUN B G, ZHAO M M, et al. Characterization of the key odorants in Chinese Zhima aroma-type Baijiu by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(26): 5367 – 5374.
- [13] WANG Z, WANG S, LIAO P F, et al. HS-SPME combined with GC-MS/O to analyze the flavor of strong aroma Baijiu Daqu[J]. Foods, 2022, 11(1): 116.
- [14] 吴建峰. 白酒中四甲基吡嗪全程代谢机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- WU J F. Study on the biosynthesis mechanism of tetramethylpyrazine during the Chinese liquor brewing [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [15] 王源, 李微微, 李秀婷, 等. 北京地区酱香型白酒第六轮次堆积发酵中细菌群落多样性分析[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(3): 68 – 76.
- WANG Y, LI W W, LI X T, et al. Diversity analysis of bacterial community during the sixth heap fermentation of sauce-flavor Baijiu produced in Beijing[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(3): 68 – 76.
- [16] GAO W J, FAN W L, 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]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(25): 5796 – 5804.
- [17] JULIANA M G, PAULO C N, FRANCISCO J H, et al. Physicochemical and sensory (aroma and colour) characterization of a non-centrifugal cane sugar (“panela”) beverage[J]. Food Chemistry, 2017, 228: 7 – 13.
- [18] QIN D, DUAN J W, LI H H, et al. Characterization and comparison of the aroma-active compounds on different grades of sesame-flavor Baijiu by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry [J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(1): 79 – 88.
- [19] ZOU M Y, TANG H B, CHEN X, et al. Insights into volatile flavor compound variations and characteristic fingerprints in Longpai soy sauce moromi fermentation via HS-GC-IMS and HS-SPME-GC × GC-ToF-MS [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 176: 114490.
- [20] HE Y X, LIU Z P, QIAN M, et al. Unraveling the chemosensory characteristics of strong-aroma type Baijiu from different regions using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry and descriptive sensory analysis[J]. Food Chemistry, 2020, 331: 127335.
- [21] 牛云蔚, 李雯慧, 肖作兵. 白酒风味物质分析研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(2): 23 – 31.
- NIU Y W, LI W H, XIAO Z B, et al. Research progress on analysis of flavor compounds in Baijiu[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(2): 23 – 31.
- [22] LIU C J, GONG X W, ZHAO G, et al. Liquor flavor is associated with the physicochemical property and microbial diversity of fermented grains in waxy and non-waxy sorghum (sorghum bicolor) during fermentation [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 618458.
- [23] WANG M Y, YANG J G, ZHAO Q S, et al. Research progress on flavor compounds and microorganisms of maotai flavor Baijiu [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1): 6 – 18.
- [24] 王晖, 蒲叶, 李霁阳, 等. 白酒窖泥中乳酸菌分离鉴定及其发酵产挥发性风味物质比较[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(1): 26 – 35.
- WANG H, PU Y, LI J Y, et al. Isolation and identifi-

cation of lactic acid bacteria from mud of Baijiu and comparison of fermented volatile flavor compounds[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020,38(1): 26–35.

[25] DU H, LU H, XU Y, et al. Community of environmental streptomyces related to geosmin development in Chinese liquors [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(6): 1343–1348.

## Difference Analysis of Volatile Nitrogen-Containing Compounds in Soy Sauce Flavor-Type Baijiu from Different Regions in China

WU Liling, PEI Ronghong, LI Xing, LI Qing, LI Lianghao, ZHENG Fuping\*,  
SUN Jinyuan, SUN Baoguo

(Beijing Laboratory of Food Quality and Safety/Key Laboratory of Brewing Molecular Engineering of China Light Industry/School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Nitrogen-containing compounds account for a low content in soy sauce flavor-type Baijiu, but some compounds have lower thresholds contribute significantly to the flavor of the Baijiu. In this study, 20 soy sauce flavor-type Baijiu, with origins including Guizhou, Guangxi, Hu'nan, Beijing, Tianjin, Shandong, and Heilongjiang, were qualitatively and quantitatively analyzed for volatile nitrogen-containing compounds by liquid-liquid extraction combined with a comprehensive two-dimensional gas chromatography-nitrogen chemiluminescence detector (GC × GC-NCD). A total of 49 volatile nitrogen-containing compounds were identified, including 16 pyrazines, 12 thiazoles, 4 pyridines, 6 pyrroles, 2 amines, and 9 other compounds. The kinds of volatile nitrogen-containing compounds did not significantly vary among soy sauce flavor-type Baijiu from different origins. Quantitative analysis of volatile nitrogen-containing compounds with reported aroma showed that the content of pyrazines were found to be the highest among the volatile nitrogen-containing compounds. The pyrazine content in Guizhou samples was the highest ( $(5.36 \pm 0.96) \text{ mg/L}$ ), followed by samples from northern central regions ( $(4.12 \pm 1.20) \text{ mg/L}$ ). The content of pyrazine in Hunan samples ( $(3.05 \pm 0.64) \text{ mg/L}$ ) was not significantly different from that in Guangxi, while the lowest content was from Heilongjiang ( $(1.68 \pm 0.42) \text{ mg/L}$ ). Based on the quantitative results, orthogonal partial least squares discriminant analysis was established, which could successfully distinguished soy sauce-flavor Baijiu of different origins. Eleven nitrogen-containing compounds, including benzothiazole, pyrazine, 2,3,5,6-tetramethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine and etc., were screened out as the different components to distinguish the soy sauce flavor-type Baijiu from different regions. This research provided theoretical support for the origin discrimination and traceability of soy sauce flavor-type Baijiu in China.

**Keywords:** soy sauce flavor-type Baijiu; volatile nitrogen-containing compounds; region; orthogonal partial least squares discriminant analysis; comprehensive two-dimensional gas chromatography-nitrogen chemiluminescence detector technology

(责任编辑:李 宁)