



# 6种武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物差异分析

李行<sup>1</sup>, 吴李玲<sup>1</sup>, 裴荣红<sup>1</sup>, 朱琳<sup>1</sup>, 郑福平<sup>1,\*</sup>,  
孙金沅<sup>1</sup>, 李凡<sup>2</sup>, 李义<sup>3</sup>, 孙宝国<sup>1</sup>, 佟毅<sup>3,\*</sup>

(1. 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, 北京 100048;

2. 中粮生化能源(肇东)有限公司, 黑龙江 绥化 152001;

3. 玉米深加工国家工程研究中心 吉林中粮生化有限公司, 吉林 长春 130033)

**摘要:**挥发性含硫化合物由于具有香气特征强、阈值低的特点,对食品风味具有十分重要影响。然而大多数挥发性含硫化合物在食品中的浓度低于气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析技术的检出限,难于被鉴定和识别。酱香是我国白酒的主要香型,产于湖南的武陵酱香型白酒是酱香型白酒的重要代表之一。为深入探究我国酱香型白酒中重要的痕量挥发性含硫化合物的组成,研究采用顶空固相微萃取结合全二维气相色谱硫化学发光检测(GC×GC-SCD)技术,以6种不同类型武陵酱香型白酒为研究对象,对其中的含硫化合物进行了分析。研究共定性鉴定出27种含硫化合物,其中共有含硫化合物19种,非共有含硫化合物8种,主要包括4种硫醇、6种硫酯、5种多硫醚、5种噻唑、6种噻吩、1种噻烷;对其中信噪比大于100的23种含硫化合物,采用外标曲线法进行了定量分析。依据定量分析结果,采用主成分分析和正交偏最小二乘判别分析,研究确定了6种不同类型武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物的差异;14种变量投影值大于1的含硫化合物,可作为区分6种不同类型武陵酱香型白酒风味特征的差异组分。希望研究可为酱香型白酒的调配提供数据参考,为白酒企业调控生产过程、提高产品质量提供帮助。

**关键词:**酱香型;武陵酒;白酒;含硫化合物;挥发性风味化合物

**中图分类号:** TS261.2

**文献标志码:** A

白酒是世界6大蒸馏酒之一,是中国的国酒,在中国传统文化中占有独特的地位。白酒以高粱与大麦、玉米、小麦等或仅以高粱为原料,以大曲、小曲或麸曲及酒母等为糖化发酵剂,经蒸煮、糖化、发酵、蒸馏、陈酿、勾兑而成<sup>[1]</sup>。2021年,中国白酒行业规模以上企业产量716万kL,销售收入6033亿元,累计

增长18.6%,利润1702亿元。在酿酒产业中,白酒以13.2%市场份额占据整个饮料酒69.5%销售收入和87.3%利润。

酱香型白酒是中国蒸馏酒重要香型之一。它采用独特的“四高两长”酿造工艺,即高温制曲、高温堆积、高温发酵、高温馏酒和生产周期长、贮存时间

收稿日期:2022-10-16

基金项目:河北省重点研发计划项目(20327107D)。

Foundation: Key R&D Projects of Hebei Province(20327107D)。

第一作者:李行,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,博士生导师,主要从事传统酿造食品风味与品质方面的研究;

佟毅,男,教授级高级工程师,博士,主要从事粮食深加工开发和产业化研究。

长<sup>[2]</sup>。酱香型白酒的典型风味特征是有优雅的酱香气味,空杯留香,幽雅而持久,入口醇甜,绵柔,具有明显的酸味,口味细腻,回味悠长,深受广大消费者的喜爱。武陵酒是中国酱香型白酒三大代表之一,一度与茅台、郎酒并列;因其产地在湖南省常德市,常德古称武陵,故因地得名;其生产工艺遵循酱香型白酒的典型工艺特点:以糯红高粱为原料,用小麦制高温曲,以石壁泥底窖作发酵池,1年为1个生产周期,全年分2次投粮、9次蒸煮、历经下沙、糙沙、8轮次发酵、7次取酒。酒体有“酱香突出、略带焦香、入口绵甜、优雅细腻”的风格特点。1989年第五届全国评酒会上,武陵酒获得中国国家酒称号<sup>[3-5]</sup>。

挥发性含硫化合物具有气味阈值极低的特点,对各种食品的整体香气有重要影响<sup>[6]</sup>。尽管它们以痕量水平出现,但它们的浓度经常超过其气味阈值,因此会给食物带来独特的味道。不同的含硫化合物呈现出不同的典型风味特征,即使在低浓度时,挥发性含硫化合物对酒精饮料的整体风味也具有显著影响,如红葡萄酒中的二甲基硫醚,能够赋予葡萄酒圆润的口感,散发出果香与花香的香味<sup>[6]</sup>;老白干白酒中的苜硫醇和2-甲基-3-呋喃硫醇,其浓度仅有 $4.87 \pm 0.27 \mu\text{g/L}$ 和 $0.77 \pm 0.02 \mu\text{g/L}$ ,对白酒的烤香具有重大影响<sup>[7]</sup>。因此,研究挥发性含硫化合物有非常重要的意义,可帮助调控生产过程,提高白酒产品质量<sup>[8]</sup>。

然而大多数挥发性含硫化合物在食品中的浓度低于气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析技术的检出限,难于被鉴定和识别<sup>[9-11]</sup>。因此,使用专一的硫元素检测器是十分必要的。Song等<sup>[7]</sup>比较了全二维气相色谱-硫化学发光检测器(comprehensive two-dimensional gas chromatography-sulfur chemiluminescence detector, GC×GC-SCD)、气相色谱-氢火焰离子检测器(gas chromatography-flame ionization detector, GC-FID)、GC-MS、气相色谱-火焰光度检测器(gas chromatography-flame photometric detector, GC-FPD)和气相色谱-硫化学发光检测器(gas chromatography-sulfur chemiluminescence detector, GC-SCD)分析技术的灵敏度。结果表明,GC×GC-SCD的灵敏度至少比GC-FID、GC-MS、GC-FPD和GC-SCD分别高出2 769、2 350、985和11倍。硫化学发光检测器(sulfur chemiluminescence detector, SCD)是目前公认检测硫元素最灵敏、选择性最强的检测器,利用其选择

性高、分辨率高、灵敏度高、线性范围宽的优点,可以解决白酒中含硫化合物难以准确检测的难题,完善白酒风味物质研究的理论基础。

本研究以6种不同类型武陵酱香型白酒为研究对象,采用顶空固相微萃取(head space solid phase micro-extraction, HS-SPME)结合GC×GC-SCD分析技术,对挥发性含硫化合物进行定性和定量分析。依据定量分析结果,采用主成分分析和正交偏最小二乘判别分析法,研究6种不同类型武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物的差异,探寻主要特征含硫化合物的组成。希望研究可为酱香型白酒的调配提供数据参考,为白酒企业调控生产过程、提高产品质量提供帮助。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

6种不同类型的武陵白酒(SJ1、SJ2、WJ、YJ、ZJ、LJ),湖南武陵酒有限公司;由不同年份、不同轮次的原浆酒调制而成,样品于冰箱中4℃保存,直至分析,样品相关信息见表1。

表1 6种武陵酱香型白酒样品信息

Tab. 1 Information of 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu samples

代号	名称	酒精度/%	产品详情
SJ1	武陵上酱 30	53	15年以上基酒调制而成,酒香馥郁
SJ2	武陵上酱 15	53	酒质醇厚,窖香馥郁
WJ	武陵王酒	53	12年基酒调制而成,酒香绵柔
YJ	武陵原酱	53	陈香、酱香等香气饱满协调,口感细腻
ZJ	武陵中酱	53	9年以上一级基酒调制而成
LJ	武陵少酱	53	6年基酒调制而成,焦香柔和

超纯水由GenPure UV-TOC Xcad plus超纯水仪制得,并煮沸冷却至室温。

烯丙硫醇、正丁硫醇、3-甲基-2-丁硫醇、噻吩、硫代乙酸甲酯、甲硫醇、硫代乙酸乙酯、2-甲基噻吩、硫代丁酸甲酯、二乙基二硫醚、噻唑、烯丙基甲基二硫醚、2-甲氧基噻唑、4,5-二甲基噻唑、二甲基三硫醚、甲硫基乙酸乙酯、2-甲基四氢噻吩-3-酮、3-甲硫基丙酸乙酯、甲基(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚、3-噻吩甲醛、1,3-二噻烷、2-噻吩甲醛、硫代乙酸糠酯、2-噻吩羧酸乙酯、甲基糠基二硫醚、硫代糠酸甲酯、苯并噻

唑, 色谱纯, 上海麦克林生化科技有限公司; 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。

## 1.2 仪器与设备

GC × GC-SCD 仪, 美国力可公司(配备 Agilent 7890B 型气相色谱仪, 美国 Agilent 公司; SCD355 型硫化学发光检测器, 美国力可公司; Pegasus III 型四喷口液氮型调制器, 美国力可公司)。

DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器, 予华仪器有限责任公司; VORTEX2 型涡旋仪, 德国 IKA 公司; 75 μm CAR/PDMS 型萃取头, 美国 Supelco 公司; 固相微萃取手动进样器, 美国 Supelco 公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 挥发性含硫化合物的萃取

参照课题组前期工作经验, 采用 HS-SPME 富集白酒中的挥发性含硫化合物<sup>[7]</sup>。将不同样品用超纯水稀释至乙醇体积分数为 10%; 取 15 mL 稀释后的酒样至 40 mL 顶空进样瓶中, 加入 4.3 g 氯化钠, 并加入搅拌子, 用封口膜密封。

平衡和萃取温度均为 30 °C, 平衡 30 min, 萃取 30 min, 搅拌速度为 400 r/min。然后, 将 SPME 萃取头立即插入 GC × GC-SCD 的进样口, 解析 5 min。萃取头在使用前在气相色谱进样口于 250 °C 老化 10 min。每组实验均进行 3 次平行实验。

### 1.3.2 挥发性含硫化合物的检测

采用 GC × GC-SCD 分析白酒中的挥发性含硫化合物。

GC × GC 系统。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), 两根色谱柱以串联方式连接。载气为 He, 纯度 99.999%, 流速 1 mL/min; 进样口温度 250 °C, 压力 207 kPa, 手动进样, 不分流; 一维柱温箱升温程序为初始温度 50 °C, 保持 2 min, 以 3 °C/min 升至 150 °C, 以 5 °C/min 升至 230 °C, 保持 10 min; 二维柱温箱升温程序为高于一维柱温箱 5 °C。调制器温度高于一维柱温箱 15 °C, 调制周期 5 s, 热吹时间 0.7 s, 冷吹时间 1.8 s, 液氮制冷。

SCD 系统。检测器温度为 250 °C, 双等离子体控制器温度 800 °C, 氢气流速为 45 mL/min, 空气流速为 60 mL/min, 臭氧压力 0.03 MPa, SCD 的采集速率设置为 50 Hz。

### 1.3.3 挥发性含硫化合物的定性和定量

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。在顶空进样瓶中加入 13.5 mL 超纯水, 并加入不同体积的标准品乙醇母液, 加入乙醇补充至 15 mL, 从而制备出不同浓度的混标样品。加入 4.3 g 氯化钠备用。分析条件同 1.3.2 节。

采用标准品保留时间比对和自建谱库进行定性分析, 外标曲线法进行定量, 通过绘制标准化化合物的峰体积和其浓度的响应比来绘制标准曲线。

## 1.4 数据处理

所有实验重复测量 3 次, 计算其平均值和标准偏差。以 SJ1-1、SJ1-2、SJ1-3 分别表示 SJ1 样品的 3 次平行实验结果, 其他组编号与其相似。数据用 LECO Chroma TOF Pegasus 4D 处理。该软件根据组分的保留时间与各自的标准化合物比较, 生成了包含保留时间、峰体积、信噪比 (signal/noise, S/N) 和体积百分比的数据表, 并排除 S/N < 3 的化合物。定性条件为一维保留时间偏差在 30 s 内, 二维保留时间偏差在 0.1 s 内。采用 Graphpad prism 软件进行方差分析, 应用 TTools 软件绘制热图。使用 SIMCA 14.0 进行 PCA 和 OPLS-DA 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 挥发性含硫化合物的定性和定量分析结果

6 种武陵酱香型白酒中含硫化合物的二维气相色谱图见图 1。由图 1 可知, 不同样品中的挥发性含硫化合物在种类和含量上均存在差异。GC × GC-SCD 对含硫化合物检测灵敏度非常高, 因此在二维分离上浓度较大含硫化合物拖尾严重, 但对痕量含硫化合物检测效果非常好。图 1 纵坐标为第二维色谱柱的保留时间, 横坐标为第一维色谱柱的保留时间。SCD 仅对含硫化合物进行响应, 图中的颜色代表峰体积大小程度, 颜色从蓝色向红色逐步递进, 颜色越红代表该含硫化合物的峰体积越大。由于硫化学发光检测器是将含硫化合物燃烧转化形成激发态 SO<sub>2</sub> 再衰变至基态, 发出特征的蓝色光谱 (280 ~ 420 nm), 光波通过滤光片后被光电倍增管接收, 从而实现了对硫的检测。挥发性含硫化合物在 SCD 燃烧过程所发生的化学反应见图 2。

由图 1 可知, 6 种武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物存在显著差异。不同样品中挥发性含硫化合物的差异主要表现在峰的位置、数量、强度及时间上。根据挥发性物质在全二维气相色谱的保留时

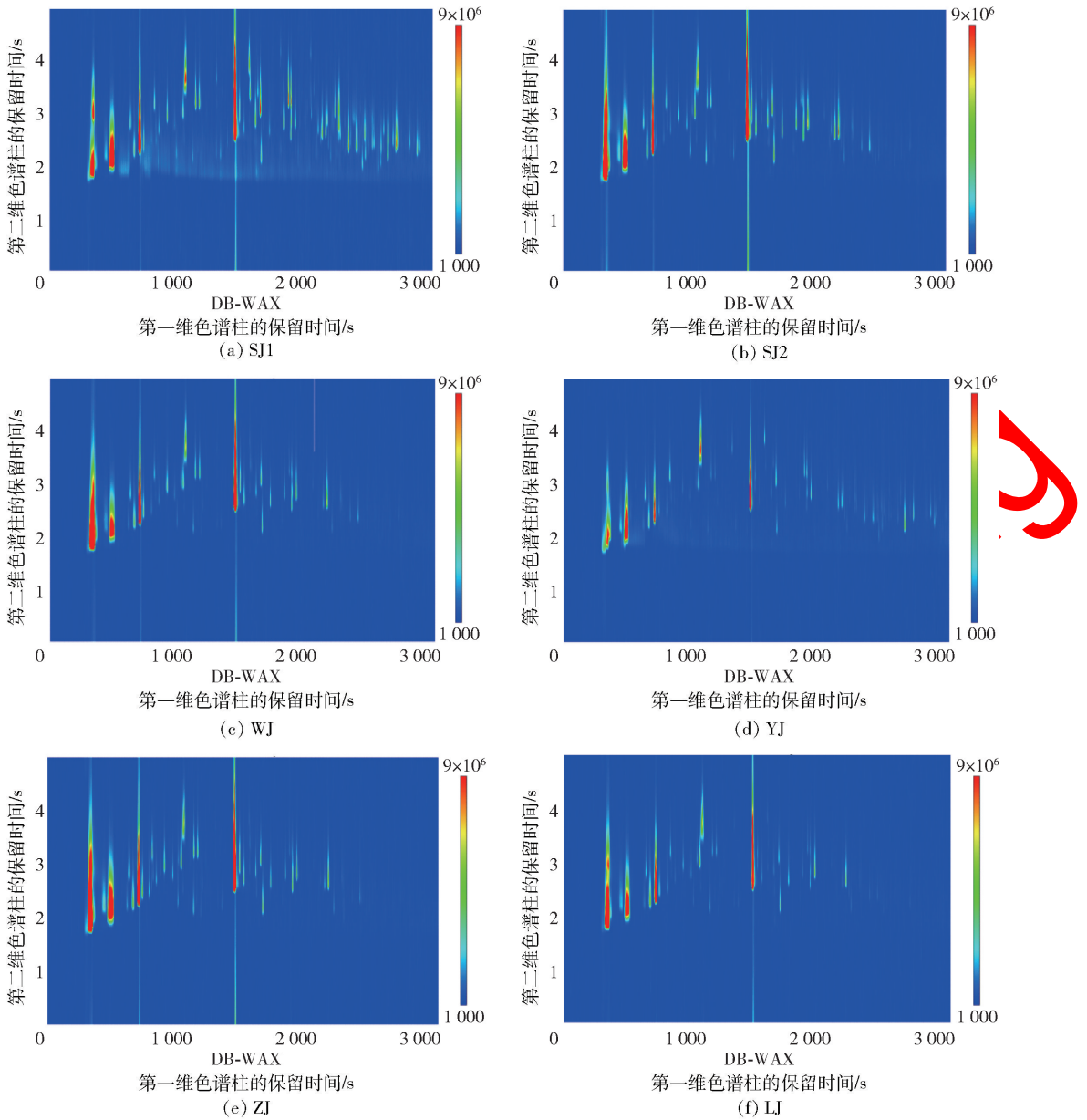


图1 6种武陵酱香型白酒全二维气相色谱-硫化学发光检测器检测图谱

Fig. 1 Comprehensive two-dimensional gas chromatography-sulfur chemiluminescence detector spectra of 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

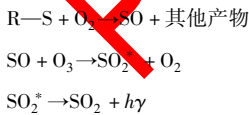


图2 挥发性含硫化合物在SCD燃烧过程所发生的化学反应

Fig. 2 Chemical reactions occurred during combustion of volatile sulfur-containing compounds in SCD

间,与自建的GC x GC-SCD数据库进行匹配从而对6种白酒中的挥发性含硫化合物进行分析,共检出29种挥发性含硫化合物,结果见表2。编号为28和

29的2种含硫组分,由于其保留时间在一维和二维时间上相近,未能准确定性。故研究共准确定性鉴定出27种含硫化合物,主要包括4种硫醇、6种硫酯、5种多硫醚、5种噻唑、6种噻吩和1种噻烷。其中,共有含硫化合物19种,非共有含硫化合物8种。

未能准确定性出编号为28和29的2种含硫组分体现出了GC x GC-SCD方法的不足。虽然在检测分析白酒中的含硫化合物时具有很高的灵敏度和选择性,但所产生的信息除了色谱保留时间之外没有提供化合物鉴定的其他详细信息。因此,在后续

表 2 6 种武陵酱香型白酒挥发性含硫化合物的组成

Tab. 2 Composition of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

序号	化合物名称	$t_{\text{一维保留}}/s$ , $t_{\text{二维保留}}/s$	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$					
			SJ1	SJ2	WJ	YJ	ZJ	LJ
硫醇类								
1	烯丙硫醇	450, 2.12	8.10 ± 1.36	6.10 ± 1.23	2.33 ± 1.69	6.81 ± 0.85	11.08 ± 5.93	5.41 ± 0.86
2	正丁硫醇	535, 2.42	0.46 ± 0.14	0.65 ± 0.21	0.65 ± 0.04	0.79 ± 0.04	0.48 ± 0.16	0.59 ± 0.07
3	3-甲基-2-丁硫醇	540, 2.62	1.22 ± 0.91	1.58 ± 0.09	2.70 ± 0.36	1.45 ± 0.86	3.78 ± 0.41	1.41 ± 0.76
4	甲硫醇	720, 2.43	2 255.17 ± 768.54	3 073.70 ± 448.43	3 238.97 ± 350.92	405.75 ± 104.49	4 088.84 ± 791.19	1 291.29 ± 106.35
	小计		2 264.95	3 082.03	3 244.65	414.80	4 104.18	1 298.70
硫酯类								
5	硫代乙酸甲酯	685, 2.27	5.68 ± 0.70	21.56 ± 2.24	19.60 ± 2.64	9.57 ± 0.83	24.19 ± 3.07	23.64 ± 1.26
6	硫代丁酸甲酯	1 005, 2.76	1.18 ± 0.38	3.23 ± 0.32	2.57 ± 0.48	1.22 ± 0.16	3.40 ± 0.27	2.70 ± 0.02
7	甲硫基乙酸乙酯	1 655, 2.48	4.19 ± 0.22	3.53 ± 0.06	3.50 ± 0.30	3.53 ± 0.59	5.70 ± 0.90	ND
8	3-甲硫基丙酸乙酯	1 950, 2.60	8.73 ± 1.33	22.94 ± 4.07	11.63 ± 1.59	7.00 ± 0.11	26.32 ± 6.05	9.36 ± 3.01
9	硫代乙酸糠酯	2 395, 2.31	0.63 ± 0.09	0.19 ± 0.09	0.37 ± 0.07	0.38 ± 0.17	0.24 ± 0.14	0.18 ± 0.10
10	硫代糠酸甲酯	2 540, 2.21	4.06 ± 0.82	2.48 ± 0.88	1.91 ± 0.82	4.06 ± 0.53	1.44 ± 0.57	1.03 ± 1.01
	小计		24.47	53.93	39.58	25.76	61.29	36.91
多硫醚类								
11	二乙基二硫醚	1 065, 2.94	0.70 ± 0.40	2.74 ± 0.35	1.44 ± 0.10	0.74 ± 0.17	2.36 ± 0.40	2.21 ± 0.07
12	烯丙基甲基二硫醚	1 235, 2.68	NQ	ND	ND	NQ	ND	ND
13	二甲基三硫醚	1 490, 2.66	10.64 ± 1.34	16.79 ± 1.75	11.61 ± 1.34	4.39 ± 0.28	13.64 ± 1.79	6.99 ± 0.46
14	甲基(2-甲基-3-咪唑基)二硫醚	2 195, 2.64	0.53 ± 0.06	0.60 ± 0.07	0.41 ± 0.04	0.36 ± 0.04	0.37 ± 0.07	0.25 ± 0.01
15	甲基糠基二硫醚	2 475, 2.37	1.36 ± 0.36	1.25 ± 0.21	0.94 ± 0.22	0.76 ± 0.20	0.84 ± 0.22	0.31 ± 0.09
	小计		13.23	21.38	14.40	6.25	17.21	9.76
噻唑类								
16	噻唑	1 155, 2.15	12.80 ± 5.36	23.27 ± 0.94	11.37 ± 0.83	8.92 ± 2.23	18.04 ± 1.84	10.61 ± 1.02
17	2,4-二甲基噻唑	1 235, 2.51	ND	NQ	NQ	ND	NQ	NQ
18	2-甲氧基噻唑	1 390, 2.36	ND	0.63 ± 0.02	0.33 ± 0.08	ND	0.54 ± 0.21	0.45 ± 0.03
19	4,5-二甲基噻唑	1 475, 2.48	7.07 ± 2.57	8.56 ± 0.49	4.82 ± 1.61	ND	ND	3.21 ± 0.65
20	苯并噻唑	2 480, 2.36	6.34 ± 1.00	1.48 ± 0.68	2.2 ± 0.43	10.36 ± 0.38	1.3 ± 0.42	1.64 ± 0.14
	小计		26.21	33.94	18.72	19.28	19.88	15.91
噻吩类								
21	噻吩	635, 2.23	ND	ND	NQ	NQ	NQ	NQ
22	2-甲基四氢噻吩-3-酮	1 865, 2.36	1.81 ± 0.78	2.78 ± 0.38	2.13 ± 0.21	1.44 ± 0.26	2.31 ± 0.50	1.46 ± 0.21
23	3-噻吩甲醛	2 230, 2.17	ND	0.15 ± 0.09	ND	ND	0.16 ± 0.07	NQ
24	2-噻吩甲醛	2 265, 2.17	20.55 ± 0.25	24.87 ± 0.68	24.09 ± 0.42	21.09 ± 0.06	22.86 ± 0.72	21.83 ± 0.17
25	2-噻吩羧酸乙酯	2 390, 2.37	10.95 ± 2.50	4.77 ± 1.68	3.66 ± 1.23	3.66 ± 0.44	2.94 ± 1.68	2.07 ± 0.26
26	苯并噻吩	2 480, 2.36	NQ	ND	ND	NQ	ND	ND
	小计		33.31	32.57	29.88	26.19	28.27	25.36
噻烷类								
27	1,3-二噻烷	2 240, 2.40	2.87 ± 0.81	2.58 ± 0.59	NQ	1.92 ± 0.71	0.99 ± 0.17	1.14 ± 0.38
	小计		2.87	2.58	NQ	1.92	0.99	1.14
含硫化合物								
28	硫代乙酸乙酯/2-甲基噻吩*	760, 2.48	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
29	2-乙酰基噻唑/ $\gamma$ -硫代丁内酯**	2 155, 2.26	NQ	ND	ND	ND	ND	ND
	总计		2 365.04	3 226.43	3 347.23	494.20	4 231.82	1 387.78

ND 为化合物未检出, NQ 为化合物未定量, \* 为硫代乙酸乙酯和 2-甲基噻吩保留时间相同; \*\* 为 2-乙酰基噻唑和  $\gamma$ -硫代丁内酯保留时间相同。

工作中可与其他色谱技术共同应用于白酒含硫化化合物风味物质分析。

选取 HS-SPME 结合 GC×GC-SCD 的分析手段,采用外标曲线的定量方法对信噪比大于 100 的

23 种含硫化化合物进行定量分析,定量分析结果见表 2。23 种含硫化化合物的外标定量的线性方程、相关系数、线性范围见表 3。

表 3 23 种挥发性含硫化化合物的外标定量的线性方程和系数

Tab. 3 Linear equations and coefficients for external standard quantification of 23 volatile sulfur-containing compounds

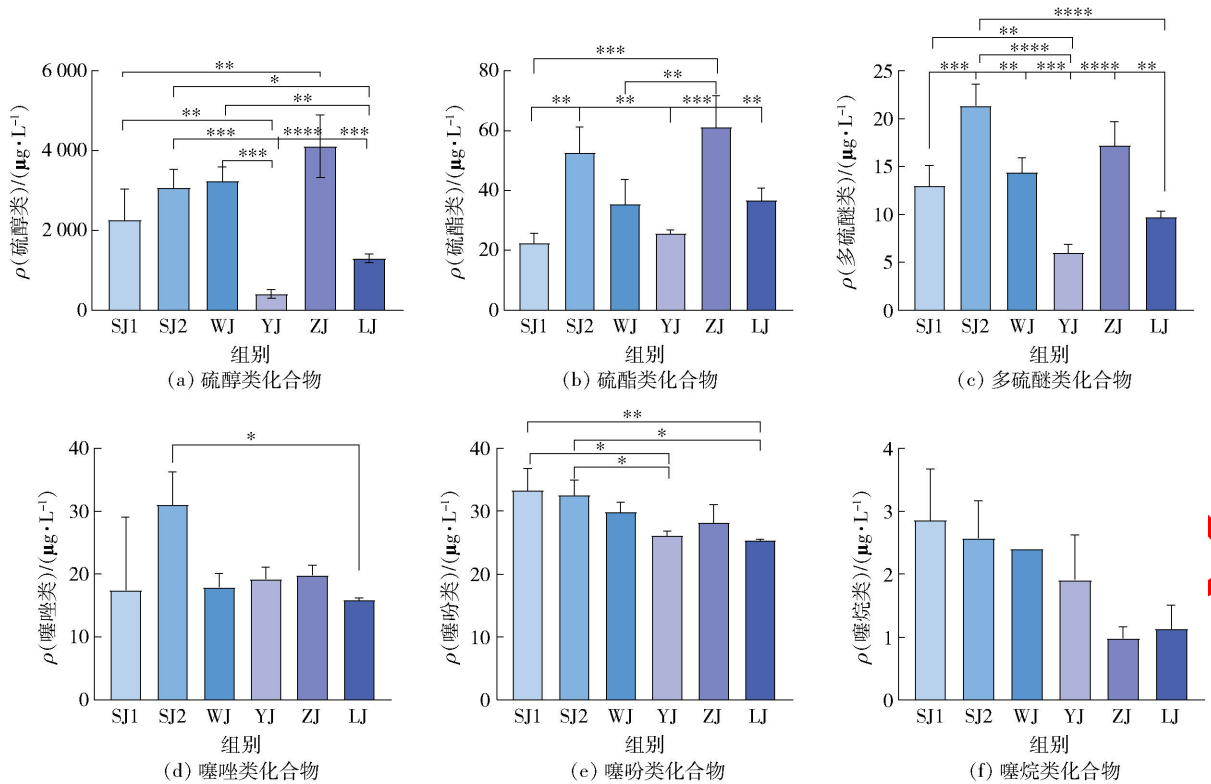
序号	化合物名称	CAS	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg·L <sup>-1</sup> )
1	烯丙硫醇	870-23-5	$y = 42.826x + 3.1604$	0.9930	0.0005 ~ 5
2	正丁硫醇	109-79-5	$y = 123.92x - 3.766$	0.9878	0.0002 ~ 6.67
3	3-甲基-2-丁硫醇	2084-18-6	$y = 10.711x + 1.0669$	0.9314	0.05 ~ 2.5
4	甲硫醇	74-93-1	$y = 2.8867x + 15.792$	0.9998	0.0005 ~ 5.000
5	硫代乙酸甲酯	1534-08-3	$y = 18.447x + 8.5066$	0.9746	0.0025 ~ 6.67
6	硫代丁酸甲酯	2432-51-1	$y = 39.156x + 1.2994$	0.9917	0.0005 ~ 2
7	甲硫基乙酸乙酯	4455-13-4	$y = 12.352x - 3.9038$	0.9587	0.1 ~ 10
8	3-甲硫基丙酸乙酯	13327-56-5	$y = 10.305x - 8.6532$	0.9835	0.05 ~ 10
9	硫代乙酸糠酯	13678-68-7	$y = 88.039x - 0.063$	0.9922	0.0025 ~ 6.67
10	硫代糠酸甲酯	13679-61-3	$y = 20.198x + 1.3467$	0.9934	0.005 ~ 15
11	二乙基二硫醚	110-81-6	$y = 110.15x + 16.206$	0.9466	0.001 ~ 2.5
13	二甲基三硫醚	3658-80-8	$y = 2.835.3x - 1.228.7$	0.9905	0.0667 ~ 13.3
14	甲基(2-甲基-3-咪唑基)二硫醚	65305-17-1	$y = 597.16x - 13.397$	0.9979	0.0005 ~ 2.5
15	甲基糠基二硫醚	57500-00-2	$y = 240.96x - 2.5724$	0.9871	0.0005 ~ 5
16	噻唑	288-47-1	$y = 7.6661x + 3.1885$	0.977	0.0005 ~ 10
18	2-甲氧基噻唑	14542-13-3	$y = 89.129x - 3.292$	0.9798	0.0005 ~ 2.5
19	4,5-二甲基噻唑	3581-91-7	$y = 6.1886x + 0.5662$	0.9562	0.1 ~ 5
20	苯并噻唑	95-16-9	$y = 29.108x + 2.3951$	0.9025	0.05 ~ 2
22	2-甲基四氢噻吩-3-酮	13679-85-1	$y = 30.049x - 4.913$	0.9662	0.001 ~ 13.33
23	3-噻吩甲醛	498-62-4	$y = 54.566x + 1.5523$	0.9915	0.00125 ~ 6.67
24	2-噻吩甲醛	1998/3/3	$y = 22.843x - 72.558$	0.9915	1 ~ 50
25	2-噻吩羧酸乙酯	2810-04-0	$y = 28.195x + 1.0792$	0.9981	0.005 ~ 5
27	1,3-二噻烷	505-23-7	$y = 27.002x - 0.1942$	0.9967	0.05 ~ 2.5

化合物序号同表 2。

不同种类的含硫化化合物具有不同的风味特征。如硫醚类多有蒜香味;二烯丙基二硫醚,被认为是腊八蒜的重要香气物质;而硫酯类化合物多有令人愉快的香味,如硫代糠酸甲酯具有奶酪香、洋葱香的香气特征。硫代糠酸酯类还具有咖啡、坚果香气,可用于调配蔬菜、水果、咖啡、奶制品、肉、海鲜等食用香精<sup>[12]</sup>。因此,为了进一步了解不同含硫化化合物对白酒风味的影响,本研究进一步分析了 6 种武陵酱香型白酒中含硫化化合物的含量差异。6 种武陵酱香型

白酒中含硫化化合物的含量差异分析见图 3。

由图 3 可知,6 种不同类型的武陵酱香型白酒中,除噻烷类化合物在 6 种白酒中的含量无显著性差异外,硫醇类、硫酯类、多硫醚类、噻唑类、噻吩类化合物在 6 种白酒中的含量均具有显著性差异,但显著程度不同。硫醇类化合物包括烯丙硫醇、正丁硫醇、3-甲基-2-丁硫醇和甲硫醇,其可能是酵母对酿酒原料中的含硫蛋白质的降解产物,如甲硫氨酸的代谢产生<sup>[13]</sup>。香气活性值是表征某一香气成分对整体



\* 代表在  $P < 0.05$  程度上有统计学差异, \*\* 代表在  $P < 0.01$  程度上显著统计学差异, \*\*\* 和 \*\*\*\* 代表在  $P < 0.001$  程度上有极其显著统计学差异

图 3 6 种武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物的含量差异

Fig. 3 Contents differences of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

香气特征贡献度的指标,为香气成分的浓度与阈值的比值。甲硫醇的阈值为  $2.21 \mu\text{g/L}$ <sup>[14]</sup>, 6 种白酒中甲硫醇的浓度在  $405.75 \sim 4088.84 \mu\text{g/L}$ , OAV 值范围为  $183.6 \sim 1850.15$ , 这表明其对白酒中的煮熟的土豆味具有重要贡献。硫酯化合物包括硫代乙酸甲酯、硫代丁酸甲酯、甲硫基乙酸乙酯、3-甲硫基丙酸乙酯、硫代乙酸糠酯和硫代糠酸甲酯。其中,硫代丁酸甲酯具有果香、奶酪香的香气特征,可用于调制水果、奶制品等食用香精,在芝麻香型白酒中曾被检出;3-甲硫基丙酸乙酯、甲硫基乙酸乙酯具有果香,是瓜果中常见的含硫化合物。甲基糠基二硫醚和甲基(2-甲基-3-咪喃基)二硫醚是 2 种具有肉香风味的硫醚化合物,2 种含硫化合物均有极低的阈值,分别为  $0.8 \mu\text{g/L}$  和  $0.3 \mu\text{g/L}$ <sup>[14]</sup>。而甲基糠基二硫醚和甲基(2-甲基-3-咪喃基)二硫醚在 6 种白酒中的浓度分别为  $0.84 \sim 1.36 \mu\text{g/L}$  和  $0.36 \sim 0.6 \mu\text{g/L}$ , 计算得出,除 YJ、LJ 外,甲基糠基二硫的 OAV 值范围为  $1.05 \sim 1.7$ , 甲基(2-甲基-3-咪喃基)二硫醚在 LJ 外的其余样品的 OAV 值范围为  $1.2 \sim 2.0$ 。因此,甲基糠基二硫醚和甲基(2-甲基-3-咪喃基)二硫

醚对白酒的整体香气特征有重要贡献。二甲基三硫醚与前两种多硫醚化合物相比,浓度相对较高,为  $4.39 \sim 16.79 \mu\text{g/L}$ , 其阈值为  $0.36 \mu\text{g/L}$ , 在 6 种白酒中 OAV 值均大于 1, 范围为  $12.19 \sim 46.64$ 。因此,二甲基三硫醚对 6 种白酒中的整体香气轮廓具有重要贡献。

对于噻唑类含硫化合物,仅在 SJ2 与 LJ 中存在显著性差异,其余均无显著性差异。苯并噻唑具有肉香、坚果香,可用于调配坚果、肉、可可、咖啡等食用香精。但由于其阈值较高,为  $3581 \mu\text{g/L}$ , 在 6 种白酒中 OAV 值均小于 1, 表明它对白酒的香气轮廓影响不大。2-甲基四氢噻吩-3-酮是一种具有烤牛肉的特征风味物质,在食用香精中调配饮料、奶制品、肉类、烟料香精<sup>[15]</sup>。3-噻吩甲醛、2-噻吩甲醛具有油漆味、硫磺味,是热反应形成肉味的主要香气活性化合物<sup>[16-17]</sup>。噻烷类化合物在 6 种白酒中的含量无显著性差异,该物质的形成被认为是烯丙基硫醚类化合物分子中的不稳定 C—S 键发生断裂,生成了烷硫基和丙烯基自由基,其中部分自由基在发酵过程中转化为带有香气的噻烷类物质,且被认为与白

酒中的大蒜味有关<sup>[18]</sup>。

### 2.2 挥发性含硫化合物的主成分分析结果

为了更加直观地分析 6 种白酒中含硫化合物的风味差异,将不同类型白酒中的挥发性含硫化合物的峰体积进行 PCA 分析<sup>[19]</sup>。PCA 分析结果见表 4,由表 4 可知,前 7 个主成分的累积贡献率为 93.50%,PC1 和 PC2 分别解释了总方差的 44.1% 和 22.9%,两者贡献率之和为 67.0%,见图 4,说明数据降维后所得综合变量在二维空间能基本代表原始数据所反映的信息<sup>[20]</sup>。通过二维空间的数据分布差异可以直观地观察到组间和组内样品间的差异性,组内各样品相对距离较近或重叠,说明样品的重复性较好,不同样品各组数据的成簇区域有明显的间距,说明不同类型的武陵酱香型白酒间的特异性较明显,PCA 模型能够依据 GC × GC - SCD 测定得到的挥发性成分对样品进行有效区分。

表 4 6 种武陵酱香型白酒挥发性含硫化合物 GC × GC - SCD 数据的主成分累积贡献率

Tab. 4 Principle components cumulative contribution rates of GC × GC - SCD data of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

贡献程度	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7
贡献率/%	44.1	22.9	10.2	5.62	5.42	2.74	2.4
累计贡献率/%	44.1	67.1	77.3	82.9	88.3	91.1	93.5

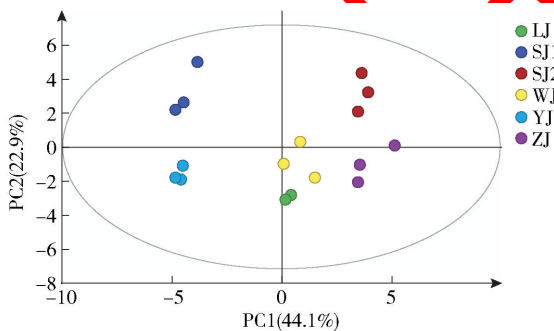


图 4 6 种武陵酱香型白酒挥发性含硫化合物 GC × GC - SCD 数据的主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of GC × GC - SCD data of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

### 2.3 挥发性含硫化合物的正交偏最小二乘判别分析结果

和 PCA 相似,OPLS - DA 也是基于降维的多维

向量分析方法。但是 OPLS - DA 为有监督的分析,可以预设分类,弥补了 PCA 方法的不足,强化组间差异,同时可以量化特征化合物造成组分差异的程度。以 GC × GC - SCD 鉴定的挥发性含硫化合物的峰体积为  $x$  变量,以样品类别为  $y$  变量进行 OPLS - DA 分析,结果见图 5。由图 5 可知,6 种武陵酱香型白酒酒含硫化合物含量存在显著性差异,OPLS - DA 分析可以实现 6 种武陵酱香型白酒的良好分离。OPLS - DA 模型解释率参数  $R^2 Y$  为 0.941,预测能力参数  $Q^2$  为 0.725,说明该模型对 6 种武陵酱香型白酒样品具有良好的稳定性和较好的预测能力,相比于 PCA 分析结果,OPLS - DA 使组间差异更明显<sup>[21-22]</sup>。

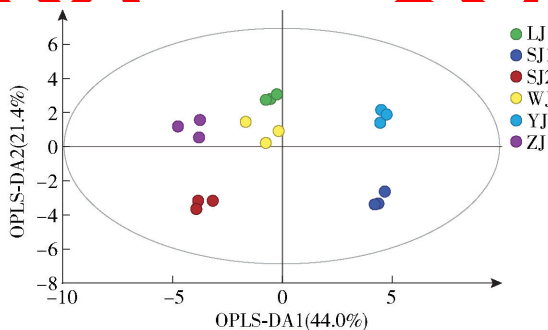


图 5 6 种武陵酱香型白酒挥发性含硫化合物 GC × GC - SCD 数据的正交偏最小二乘判别分析

Fig. 5 Orthogonal partial least squares discriminant analysis of GC × GC - SCD data of volatile sulfur-containing compounds in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)可以进一步量化 OPLS - DA 的每个变量对样品分类的贡献。VIP 值越大,变量在不同样品间的差异越显著,通常可以将  $VIP > 1$  表示为关键变量。从 GC × GC - SCD 分析结果中共筛选出 14 种 VIP 值大于 1 的潜在挥发性特征标志物,结果见表 5。包括噻吩类 4 种(3-噻吩甲醛、2-噻吩甲醛、噻吩、2-噻吩羧酸乙酯),硫醇类 3 种(正丁硫醇、甲硫醇、3-甲基-2-丁硫醇),硫醚类 2 种[甲基糠基二硫醚、甲基(2-甲基-3-咪唑基)二硫醚],硫酯类 1 种(甲硫基乙酸乙酯),噻唑类 2 种(苯并噻唑、4,5-二甲基噻唑),还有编号 28 和 29 的 2 种未准确定性的含硫组分。

依据 6 种武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物的定量分析结果,分析得到的  $VIP > 1$  的化合物中,



噻吩类化合物最多,可知噻吩类化合物对于不同类型的武陵酱香型白酒风味有重要影响。噻吩类化合物的生成被认为与美拉德反应有关,高粱蛋白富含赖氨酸、色氨酸、甲硫氨酸等氨基酸,氨基酸是酱香白酒中重要风味物质的前体物质,在酱香型白酒生产发酵过程中,高温发酵条件下与还原糖发生美拉德反应,形成一系列缩合、分解、脱羧、脱氨、脱氢等复杂反应,生成具有焙烤香的噻吩类化合物<sup>[23-24]</sup>。

表 5 可区分 6 种武陵酱香型白酒风味特征的挥发性含硫化合物

Tab. 5 Volatile sulfur-containing compounds which can distinguish the flavor characteristics of 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu

序号	化合物名称	VIP 值
2	正丁硫醇	1.07
3	3-甲基-2-丁硫醇	1.01
4	甲硫醇	1.06
7	甲硫基乙酸乙酯	1.14
14	甲基(2-甲基-3-咪唑基)二硫醚	1.02
15	甲基糠基二硫醚	1.06
19	4,5-二甲基噻唑	1.10
20	苯并噻唑	1.12
21	噻吩	1.05
23	3-噻吩甲醛	1.08
24	2-噻吩甲醛	1.02
25	2-噻吩羧酸乙酯	1.02
28	硫代乙酸乙酯/2-甲基噻吩	1.07
29	2-乙酰基噻唑/ $\gamma$ -硫代丁内酯	1.16

化合物序号同表 2。

### 3 结 论

为深入探究我国酱香型白酒中重要的痕量挥发性含硫化合物的组成,研究采用 HS-SPME 结合 GC  $\times$  GC-SCD 技术,以 6 种产于湖南的不同类型武陵酱香型白酒为研究对象,对其中的含硫化合物进行了分析。共检出 29 种挥发性含硫化合物,但有 2 种含硫组分由于其保留时间在一维和二维时间上相近,未能准确定性。因此,本研究最终共准确定性鉴定出 27 种挥发性含硫化合物,主要包括 4 种硫醇、6 种硫酯、5 种多硫醚、5 种噻唑、6 种噻吩和 1 种噻烷。其中共有含硫化合物 19 种,非共有含硫化合物 8 种。采用外标曲线法对鉴定出的 27 种挥发性含

硫化合物在 GC  $\times$  GC-SCD 上 S/N > 100 的 23 种含硫化合物进行了定量分析。对 23 种定量检出的挥发性含硫化合物的峰体积进行主成分分析和正交偏最小二乘判别分析,发现 6 种不同类型武陵酱香型白酒中挥发性含硫化合物具有显著性差异。研究发现,14 种变量投影值大于 1 的含硫化合物,可作为区分 6 种不同类型武陵酱香型白酒风味特征的差异组分。未能准确定性出的 2 种含硫组分也体现出了 GC  $\times$  GC-SCD 方法的不足,因此,在后续工作中可与其他色谱技术共同应用于白酒含硫化合物风味物质分析。希望本研究可为酱香型白酒的调配提供数据参考,为白酒企业调控生产过程、提高产品质量提供帮助。

#### 参考文献:

- [1] LIU H L, SUN B G. Effect of fermentation processing on the flavor of Baijiu[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(22): 5425-5432.
- [2] ZHU L, SONG X B, LI X, et al. Interactions between kafirin and pickle-like odorants in soy sauce flavor Baijiu: aroma profile change and binding mechanism[J]. Food Chemistry, 2023, 400: 133854.
- [3] 孙宝国. 国酒[M]. 北京:化学工业出版社, 2019: 168.
- [4] SUN B G. Baijiu and Huangjiu[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2019: 168.
- [5] DUAN J W, YANG S Q, LI H H, et al. Why the key aroma compound of soy sauce aroma type Baijiu has not been revealed yet? [J]. LWT, 2022, 154: 112735.
- [6] 肖利民. 毛泽东与武陵酒[J]. 酒世界, 2005(7): 18.
- [7] XIAO L M. Mao Zedong and Wuling liquor[J]. Wine World, 2005(7): 18.
- [8] 沙莎. 白酒中挥发性含硫化合物及其风味贡献研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [9] SHA S. Characterization and Flavor Impact of Volatile Sulfur Compounds in Chinese Liquors[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [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] CHEN S, SHA S, QIAN M, et al. Characterization of

- volatile sulfur compounds in Moutai liquors by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-pulsed flame photometric detection and odor activity value[J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(12): 2816–2822.
- [9] SONG X B, ZHU L, GENG X J, et al. Analysis, occurrence, and potential sensory significance of tropical fruit aroma thiols, 3-mercaptohexanol and 4-methyl-4-mercapto-2-pentanone, in Chinese Baijiu[J]. *Food Chemistry*, 2021, 363: 130232.
- [10] SONG X B, ZHU L, JING S, et al. Insights into the role of 2-methyl-3-furanthiol and 2-furfurylthiol as markers for the differentiation of Chinese light, strong, and soy sauce aroma types of Baijiu[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(30): 7946–7954.
- [11] SONG X B, WANG G N, ZHU L, et al. Comparison of two cooked vegetable aroma compounds, dimethyl disulfide and methional, in Chinese Baijiu by a sensory-guided approach and chemometrics[J]. *LWT*, 2021, 146: 111427.
- [12] WANG L L, GAO M X, LIU Z P, et al. Three Extraction Methods in Combination with GC×GC-TOFMS for the Detailed Investigation of Volatiles in Chinese Herbaceous Aroma-Type Baijiu[J]. *Molecules*, 2020, 25(19):4429.
- [13] YAN Y, CHEN S, NIE Y, et al. Characterization of volatile sulfur compounds in soy sauce aroma type Baijiu and changes during fermentation by GC×GC-TOFMS, organoleptic impact evaluation, and multivariate data analysis[J]. *Food Research International*, 2020, 131: 109043.
- [14] SUN J Y, WANG Z, SUN B G. Low quantity but critical contribution to flavor: review of the current understanding of volatile sulfur-containing compounds in Baijiu[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021, 103: 104079.
- [15] The Good Scents Company. The Good Scents Company Information System[DB/OL]. [2022-10-01] <http://thegoodscentscompany.com>.
- [16] ZHAO J, WANG M, XIE J C, et al. Volatile flavor constituents in the pork broth of black-pig[J]. *Food Chemistry*, 2017, 226: 51–60.
- [17] 肖群飞. 肉酶解物组分在热反应肉香风味形成中作用及机理[D]. 北京: 北京工商大学, 2019.
- XIAO Q F. The role and mechanism of enzymatic hydrolysate components in the formation of thermal reaction meat flavor[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2019.
- [18] YU T H, WU C M, ROSEN R T, et al. Volatile compounds generated from thermal degradation of alliin and deoxyalliin in an aqueous solution[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42(1): 146.
- [19] 李良好, 孟士皓, 景思, 等. 基于 GC×GC/TOF MS 对不同等级食用酒精挥发性成分的判别分析[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(5): 71–81.
- LI L H, MENG S H, JING S, et al. Discriminant analysis of volatile components of different quality grades of edible alcohol based on GC×GC/TOF MS[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(5): 71–81.
- [20] 王新磊, 宋学博, 朱琳, 等. 老白干原酒主要风味物质含量批次间差异及变化规律[J]. *食品科学技术学报*, 2021, 39(5): 125–134.
- WANG X L, SONG X B, ZHU L, et al. Difference and its change rule of contents of main flavor compounds in base Laobaihan Baijiu among production batches[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 39(5): 125–134.
- [21] 刘子轩, 高雅, 王文倩, 等. 不同品种食用菌制备热反应肉味基料风味差异分析[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(1): 30–43.
- LIU Z X, GAO Y, WANG W Q, et al. Flavor difference analysis of thermal processing meat flavoring prepared with different varieties of mushroom materials[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(1): 30–43.
- [22] WANG G N, SONG X B, ZHU L, et al. A flavoromics strategy for the differentiation of different types of Baijiu according to the non-volatile organic acids[J]. *Food Chemistry*, 2022, 374: 131641.
- [23] ZHU L, SONG X, PAN F, et al. Interaction mechanism of kafirin with ferulic acid and tetramethyl pyrazine: Multiple spectroscopic and molecular modeling studies[J]. *Food Chemistry*, 2021, 363: 130298.
- [23] ZHU L, SONG X, LI X, et al. Interactions between kafirin and pickle-like odorants in soy sauce flavor Baijiu: Aroma profile change and binding mechanism[J]. *Food Chemistry*, 2023, 400: 133854.

## Difference Analysis of Volatile Sulfur-Containing Compounds in 6 Kinds of Wuling Soy Sauce Aroma-Type Baijiu

LI Xing<sup>1</sup>, WU Liling<sup>1</sup>, PEI Ronghong<sup>1</sup>, ZHU Lin<sup>1</sup>, ZHENG Fuping<sup>1,\*</sup>, SUN Jinyuan<sup>1</sup>,  
LI Fan<sup>2</sup>, LI Yi<sup>3</sup>, SUN Baoguo<sup>1</sup>, TONG Yi<sup>3,\*</sup>

1. *Beijing Laboratory of Food Quality and Safety/Key Laboratory of Brewing Molecular Engineering of China Light Industry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;*
2. *COFCO Biochemical and Bioenergy (Zhaodong) Co Ltd, Suihua 152001, China;*
3. *National Engineer Research Center of Corn Deep Processing, COFCO (Jilin) Bio-Chemical Technology Co Ltd, Changchun 130033, China)*

**Abstract:** Volatile sulfur-containing compounds (VSCs) have the characteristics of intensive aromas and low thresholds, which have important impacts on the flavor of foods. However, concentrations of most VSCs in food are below the detection limit of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), which are difficult to be identified and recognized. Soy sauce aroma-type is a main aroma-type of Baijiu in China, Wuling soy sauce aroma-type Baijiu, which produced in Hunan, is one of important representatives. In order to further explore the composition of important trace contents of VSCs in soy sauce aroma-type Baijiu in China, head space solid phase micro-extraction combined with comprehensive two-dimensional gas chromatography-sulfur chemiluminescence detector was used in this study to analyze the VSCs in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu samples. A total of 27 VSCs were identified in this study, of which 19 VSCs were coexistent and 8 VSCs were not coexistent in 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu samples, mainly including 4 kinds of thiols, 6 kinds of thioesters, 5 kinds of thioethers, 5 kinds of thiazoles, 6 kinds of thiophenes and 1 kind of thiane. The external standard curve method was used for quantitative analysis of 23 VSCs of which signal to noise ratio was greater than 100. Based on quantitative analysis results, principal component analysis, orthogonal partial least squares discriminant analysis were used to demonstrate the differences in the VSCs contents of 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu samples. Fourteen VSCs with variable projection importance value greater than 1 were screened out as the difference components to distinguish the flavor characteristics of the 6 kinds of Wuling soy sauce aroma-type Baijiu samples. It was hoped that the study could provide data reference for the blending of soy sauce aroma-type Baijiu and provide help for Baijiu enterprises to regulate the production process and improve product quality.

**Keywords:** soy sauce aroma-type; Wuling Baijiu; Baijiu; sulfur-containing compounds; volatile flavor compounds