

## 酱油挥发性成分固相微萃取条件的优化

刘非,杜丽平\*,肖冬光

(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,天津市工业微生物重点实验室,天津 300457)

**摘 要** 顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)是提取挥发性成分比较常用的方法。为了确定提取酱油挥发性成分的 SPME 萃取头,分别以挥发性成分的累积峰面积标准化值和峰面积相对标准偏差的平均值与标准偏差为指标,考察了不同型号萃取头的萃取灵敏度和重复性,确定采用 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 提取酱油挥发性成分;并以各类挥发性成分峰面积和总峰面积为指标,优化了其萃取条件,确定萃取条件为:样品用量 8 mL,萃取温度 60  $^{\circ}\text{C}$ ,萃取时间 60 min。利用优化方法对酱油挥发性成分进行提取,经气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析,共鉴定出 86 种挥发性成分,其中最主要的为酯类物质,其次为醇类、醛类和酸类。挥发性成分峰面积的平均相对标准偏差为 8.14%,方法重复性较好。

**关键词** 顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME);酱油;挥发性成分;灵敏度;重复性;优化

酱油主要是以大豆、小麦等为原料,通过微生物的发酵作用,形成具有特殊色泽、香气、味道和状态的调味品<sup>[1]</sup>。酱油中含有多种挥发性成分,包括醇类、酯类、酸类、酮类、醛类和酚类等,这些成分虽然含量很少,但对其风味有很大影响<sup>[2]</sup>。若对酱油挥发性成分进行分析,首先应将成分提取出来。由于其挥发性成分复杂、含量低,只有选择合适的提取方法,才能够全面、正确地反映出酱油挥发性成分的组成。目前,常用的酱油挥发性成分提取方法主要为液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)<sup>[3]</sup>,液液微萃取(liquid-liquid microextraction, LLME)<sup>[4]</sup>,同时蒸馏萃取(simultaneous distillation-extraction, SDE)<sup>[5]</sup>,热脱附<sup>[6]</sup>和固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)<sup>[7-8]</sup>等。与其他提取方法相比,SPME 具有操作简单、无需溶剂、提取效果好、变异系数小、低样品用量等优点<sup>[9]</sup>,在挥发性成分的分析中被广泛应用,其中 SPME 萃取头是影响挥发性成分提取的重要因素,目前常用的萃取头包括:100  $\mu\text{m}$  PDMS、85  $\mu\text{m}$  PA、75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS、65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 和 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/PDMS/CAR 等型号,研究者多以挥发性成分的总峰面积或总峰面积和种类数为指标,分析不同型号萃取头对酱油挥发性成分的萃取效果,然后选

取萃取头,但研究结果有一定差异。刘贞诚<sup>[10]</sup>等采用 100  $\mu\text{m}$  PDMS 和 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 对酱油挥发性成分进行萃取,结合 GC-MS 分析,结果显示:65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 萃取效果更佳;陈敏<sup>[11]</sup>等利用 85  $\mu\text{m}$  PA、75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 和 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 分别萃取酱油挥发性成分,经 GC-MS 分析,其中 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 的萃取效果较佳。YAN<sup>[12]</sup>等选用以上 5 种型号萃取头分别萃取酱油挥发性成分,通过 GC-MS 分析,确定 85  $\mu\text{m}$  PA 为较适萃取头。在研究 SPME 萃取头对挥发性成分萃取效果方面,通过对比考察不同型号萃取头对挥发性成分的萃取灵敏度和重复性,可以更全面客观地了解到不同型号萃取头对各挥发性成分的萃取效果<sup>[13-15]</sup>。本研究先通过考察不同型号 SPME 萃取头对酱油挥发性成分的萃取灵敏度和重复性,选取萃取头,并以各类挥发性成分峰面积和总面积为指标,优化了酱油用量、萃取温度和时间等萃取条件,为酱油挥发性成分的分析奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

市售生抽酱油(产于广东省佛山市);正构烷烃混标( $\text{C}_8 - \text{C}_{40}$ ,色谱纯,上海 Sigma-Aldrich 公司);NaCl(分析纯,天津市化学试剂一厂)。

### 1.2 仪器与设备

IT-09A5 磁力搅拌器,上海一恒科学仪器有限公司;固相微萃取装置(SPME 手柄、100  $\mu\text{m}$  PDMS、85

第一作者:硕士研究生(杜丽平副教授为通讯作者,E-mail:dlp123@tust.edu.cn)。

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0400505)

收稿日期:2017-01-18,改回日期:2017-05-03

$\mu\text{mPA}$ 、75  $\mu\text{mCAR/PDMS}$ 、65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  和 50/30  $\mu\text{m DVB/PDMS/CAR}$  萃取头), 美国 Supelco 公司; 7890A-5975C GC-MS 联用仪、HP-5MS 石英毛细管柱 (60 m  $\times$  320  $\mu\text{m} \times$  0.25  $\mu\text{m}$ ), 美国安捷伦公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 挥发性成分的萃取

取 8 mL 酱油至 20 mL 顶空瓶中, 加 3 g NaCl, 立即密封顶空瓶。将样品瓶置于 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴中平衡 10 min, 插入装有纤维头的手动进样器, 萃取 50 min 后, 取出萃取头插入 GC 进样口中于 250  $^{\circ}\text{C}$  解吸附 5 min。

#### 1.3.2 萃取头灵敏度和重复性的评价

各类挥发性成分的萃取灵敏度以累积峰面积标准化值 (cumulative area normalization value, CANV) 为考察指标进行评价<sup>[13]</sup>, 计算方法如下:

$$AV_K = [A_{K(PDMS)} + A_{K(PA)} + A_{K(CAR/PDMS)} + A_{K(PDMS/DVB)} + A_{K(DVB/PDMS/CAR)}] / 5 \quad (1)$$

$$NA_{K(X)} = A_{K(X)} / AV_K \quad (2)$$

$$CA_{K(X)} = \sum_{n=1}^K NA_{n(X)} \quad (3)$$

式中:  $A_{K(X)}$  为萃取头“X”萃取到挥发性成分“K”的峰面积绝对值;  $AV_K$  为 5 种萃取头萃取到挥发性成分“K”的峰面积平均值;  $NA_{K(X)}$  为萃取头“X”萃取到挥发性成分“K”的峰面积标准化值;  $CA_{K(X)}$  为萃取头“X”萃取到的一类挥发性成分中 1 ~ K 个成分的累积峰面积标准化值。

选取能被不同型号萃取头都萃取分析的挥发性成分, 然后通过这些成分的绝对峰面积相对标准偏差的平均值和标准偏差对各萃取头进行重复性评价。

#### 1.3.3 HS-SPME 萃取头的选择

按照 1.2.1 方法, 分别采用 5 种型号萃取头进行挥发性成分的萃取 (每种萃取头做 5 个平行), 对比考察不同型号萃取头的灵敏度和重复性, 选取二者均较佳的萃取头, 进行下一步实验。

#### 1.3.4 萃取条件优化

确定萃取头后, 对酱油用量 (4、6、8 和 10 mL)、萃取温度 (40、50、60、70 和 80  $^{\circ}\text{C}$ ) 和萃取时间 (30、40、50、60 和 70 min) 等条件进行优化。

#### 1.3.5 GC-MS 分析条件

GC 条件: 进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ , 不分流模式; 载气为高纯氮气 (> 99.999 9%), 流速 1 mL/min; HP-5MS (60 m  $\times$  320  $\mu\text{m} \times$  0.25  $\mu\text{m}$ ) 石英毛细管柱的升温程序: 起始温度 40  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min, 以 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升到 120  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min, 然后以 7  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升到 230  $^{\circ}\text{C}$ ,

保持 10 min。

MS 条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ; 四极杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ , 电子能量 70 eV; 连接口温度: 280  $^{\circ}\text{C}$ ; 质量扫描范围 30 ~ 500 amu。

#### 1.3.6 定性方法

挥发性成分经 NIST08 标准谱库 (检索结果匹配度大于等于 80%) 和保留指数对比进行鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 萃取头的选择

#### 2.1.1 不同型号萃取头灵敏度的比较

5 种型号萃取头萃取到的酱油挥发性成分经 GC-MS 分析, 共鉴定出醇类、酸类、酯类、醛类、酮类、呋喃类、酚类、碳氢类 (即烃类)、含氮类和含硫类等 10 类成分, 而不同型号萃取头对酱油各类挥发性成分表现出明显不同的萃取效果。先以各类挥发性成分的累积峰面积标准化 (CANV) 值为指标, 比较不同型号萃取头对各类挥发性成分的萃取灵敏度。由图 1 可知, 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  几乎对每一种成分都显示出较高的  $NA_K$  值, 对每一类成分显示出较高的 CANV 值, 说明其对各类挥发性成分均有很强的萃取灵敏度。与 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  相比, 50/30  $\mu\text{m DVB/PDMS/CAR}$  和 75  $\mu\text{m CAR/PDMS}$  对各类挥发性成分的萃取灵敏度较低。而 85  $\mu\text{m PA}$  和 100  $\mu\text{m PDMS}$  对各类挥发性成分都显示出了很低的萃取灵敏度, 故不再对二者进行重复性考察。

#### 2.1.2 不同型号萃取头重复性的比较

65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$ 、50/30  $\mu\text{m DVB/PDMS/CAR}$  和 75  $\mu\text{m CAR/PDMS}$  三种萃取头都萃取到的挥发性成分为 60 种, 通过比较这些成分绝对峰面积相对标准偏差 (RSD) 的平均值和标准偏差, 对萃取头的重复性进行评价。RSD 平均值和 RSD 标准偏差如图 2 所示。经比较显示, 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  的 RSD 平均值和 RSD 标准偏差均最小, 表现出较好的重复性。

根据不同型号萃取头灵敏度和重复性的比较结果, 选取 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  为萃取酱油挥发性成分的萃取头。酱油挥发性成分分析不仅与萃取头有关, 可能与所采用的色谱柱也有很大关系, 刘贞诚<sup>[10]</sup>等利用非极性色谱柱 DB-5MS, 以挥发性成分的总峰面积为指标, 比较了 100  $\mu\text{m PDMS}$  和 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  的萃取效果, 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  表现了更佳的萃取效果; 陈敏<sup>[11]</sup>等利用中性极性色谱柱 DB-17MS, 通过比较 85  $\mu\text{m PA}$ 、75  $\mu\text{m CAR/PDMS}$  和 65  $\mu\text{m PDMS/DVB}$  等

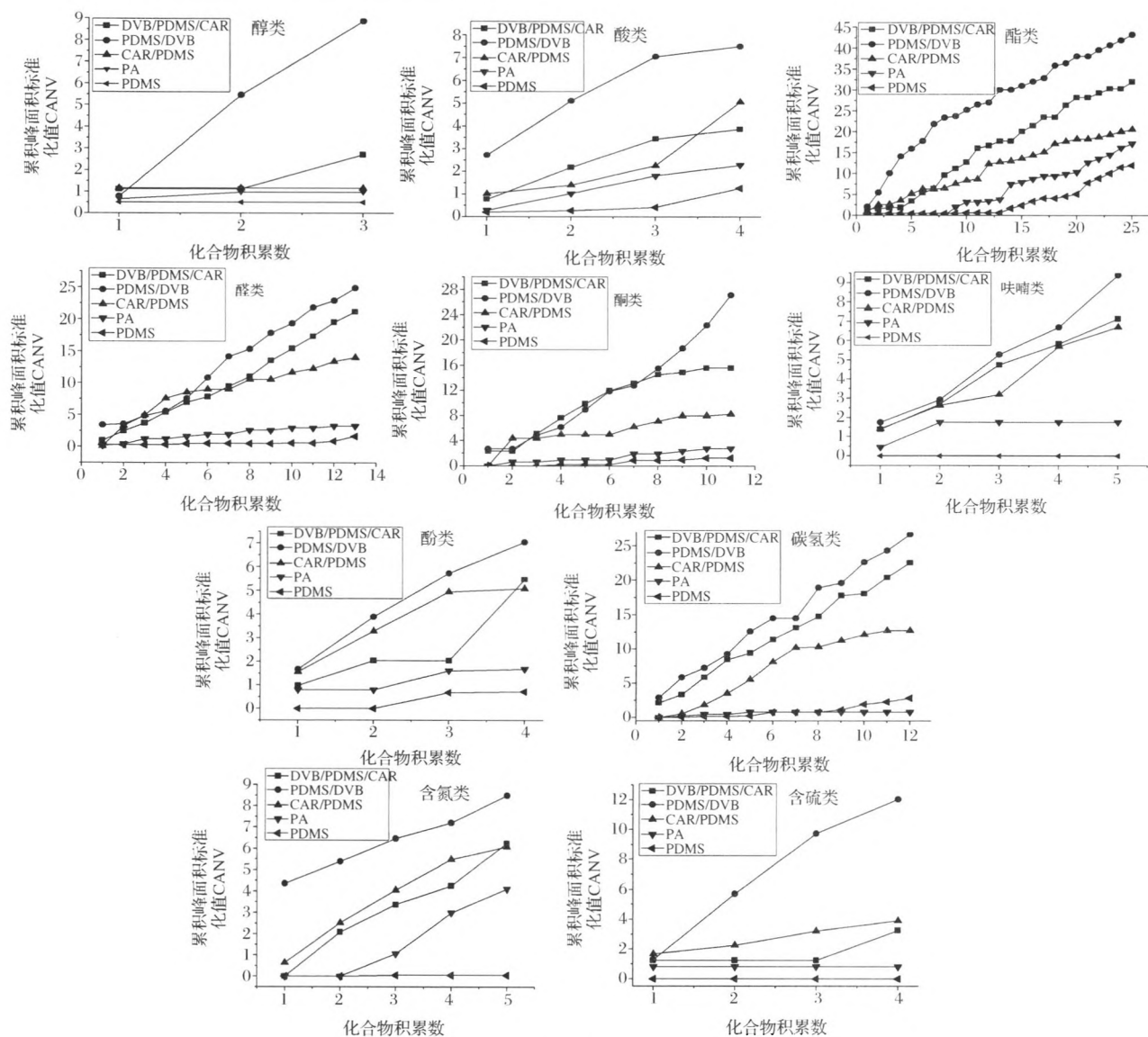


图1 五种萃取头萃取酱油各类挥发性成分累积峰面积标准化值

Fig. 1 The CANV for different categories of soy sauce volatile compounds extracted by five fibers

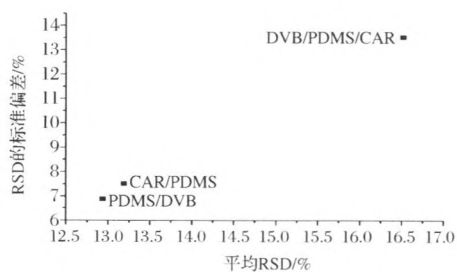


图2 三种萃取头萃取挥发性成分的 RSD 平均值和 RSD 标准偏差

Fig. 2 Average and standard deviation of RSD of volatile compounds extracted by three fibers

3 种型号萃取头萃取的挥发性成分总峰面积和种类数,选取 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 为萃取酱油挥发性成分的

萃取头;YAN<sup>[12]</sup> 等采用极性色谱柱 DB-WAX,以挥发性成分的总峰面积和种类数为指标,考察了 5 种与本实验型号相同的萃取头对酱油挥发性成分的萃取效果,经比较分析,选用 85  $\mu\text{m}$  PA 作为实验用萃取头。由此可见,不同极性色谱柱对挥发性成分的分析效果存在差异,使同一萃取头提取物呈现不同的分析结果,影响实验结果。此外,不同酱油样品中挥发性成分组成不同,则萃取头上的竞争性吸附发生在不同组分之间,影响萃取头的选择。

## 2.2 萃取条件优化

由图 3 可知,随着酱油用量的增加,各类挥发性成分的峰面积不断升高,当酱油用量达到 8 mL 时,它们的峰面积及总峰面积达到最高值,随酱油用量继续

增加,它们的峰面积及总峰面积均降低。萃取温度的升高使各类挥发性成分的峰面积逐渐升高,当萃取温

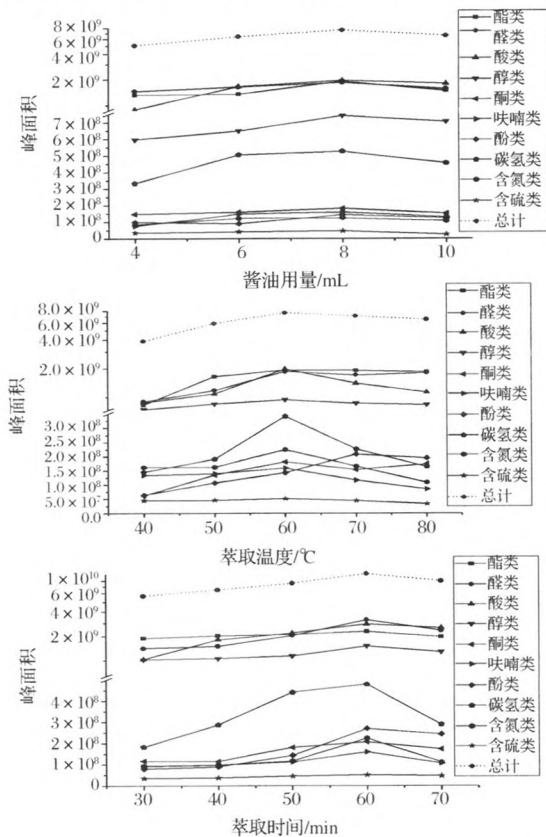


图3 酱油用量、萃取温度和时间对酱油挥发性成分萃取的影响

Fig. 3 Effect of the volume of soy sauce, temperature and time on the extraction of volatile compounds of soy sauce

度为 60 ℃时,除酚类外,其他各类成分的峰面积及总峰面积均达到最高值,而酚类的峰面积在 70 ℃达到最大,随着温度的继续升高,各类成分的峰面积以及总峰面积呈现逐渐降低的趋势。各类挥发性成分的峰面积随着萃取时间的增加而升高,当萃取时间为 60 min 时,它们的峰面积及总峰面积均达到最高,当萃取时间超过 60 min 时,它们的峰面积及总峰面积明显降低。综合考虑,确定萃取条件为酱油用量 8 mL,萃取温度 60 ℃和萃取时间 60 min。

2.3 方法重复性实验

采用优化 HS-SPME 方法对酱油样品挥发性成分进行提取,然后经 GC-MS 分析,总离子流色谱图如图 4,挥发性成分绝对峰面积的相对标准偏差为 0.34%~14.49%,平均值为 8.14%,具有较好的重复性,并通过 NIST08 标准谱库图谱和保留指数定性,共鉴定出 86 种挥发性成分,结果如表 1。

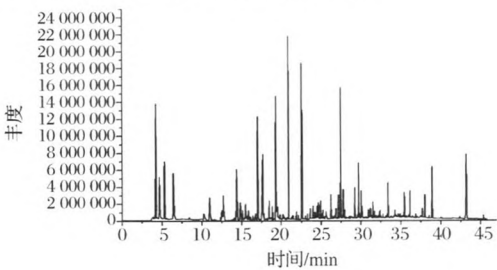


图4 酱油样品挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 4 Total ion chromatogram of volatile compounds of soy sauce sample

表 1 酱油样品挥发性成分 HS-SPME-GC-MS 分析结果

Table 1 HS-SPME-GC-MS analysis results of volatile compounds from soy sauce sample

RI <sub>exp</sub>	RI <sub>lit</sub>	匹配度/ %	物质名称	相对含量/ %	RSD / %	RI <sub>exp</sub>	RI <sub>lit</sub>	匹配度/ %	物质名称	相对含量/ %	RSD / %
454	448	91	乙醇	19.79	5.96	1 267.7	1 272	86	壬酸	0.25	6.85
597	602	87	乙酸	1.42	2.52	1 273.3	1 273	90	α-亚乙基-苯乙醛	0.71	4.05
598.8	605	94	乙酸乙酯	4.02	5.23	1 282.8	1 280	83	4-乙基愈创木酚	1.37	3.4
639.9	645	89	2-甲基丁醛	4.42	10.92	1 300.1	1 305	87	十一醛	0.14	9.82
832.1	833	91	糠醛	0.11	3.48	1 315.7	1 323	92	4-羟基-3-甲基苯乙酮	0.18	8.39
840.5	841	94	3-甲基丁酸	0.12	12.74	1 318.4	1 318	89	4-乙基愈创木酚	0.07	8.07
849.9	846	82	2-甲基丁酸	0.06	6.26	1 347.4	-	96	苯丙酸乙酯	0.07	10.96
897.4	-	93	甲酸糠酯	0.09	11	1 357.1	1 355	94	1,1,6-三甲基-1,2-二氢萘	0.57	4.98
905.8	911	92	3-(甲硫基)丙醛	0.07	1.81	1 362.8	1 362	85	γ-壬内酯	0.36	5.34
909.9	916	88	2-乙酰基呋喃	0.16	4.07	1 381.8	1 387	97	联苯	0.87	14.49
944.4	-	94	2,6-二甲基-3-庚酮	0.09	10.1	1 385.2	1 392	84	癸酸乙酯	0.13	11.03
962	964	80	5-甲基糠醛	0.34	12.04	1 416.1	-	88	3-苯基噻吩	0.1	12.58
971.4	972	89	二甲基三硫	0.25	6.81	1 435.5	1 430	90	二苯基甲烷	0.76	2.19
986	992	91	2-辛酮	0.21	11.1	1 448.1	1 453	86	香叶基丙酮	0.36	12.72
993.7	996	83	己酸乙酯	0.52	4.55	1 455.5	1 456	81	邻苯二甲酸二甲酯	0.16	1.27
998.2	999	81	2-乙基-6-甲基吡嗪	0.67	5.48	1 469.2	1 472	93	2,6-二叔丁基苯醌	0.39	5.11

续表 1

RI <sub>exp</sub>	RI <sub>lit</sub>	匹配度/ %	物质名称	相对含量/ %	RSD / %	RI <sub>exp</sub>	RI <sub>lit</sub>	匹配度/ %	物质名称	相对含量/ %	RSD / %
1 007.9	1 005	87	2,3,5-三甲基吡嗪	0.42	0.34	1 490.2	1 483	93	5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	1.53	5.24
1 035.8	1 042	94	5-甲基-2-乙酰基呋喃	0.04	12.55	1 497.0	—	80	4-甲基联苯	0.55	11.51
1 037	—	92	2,5-辛二酮	0.04	6.04	1 514.2	1 513	92	2,4-二叔丁基苯酚	0.17	4.59
1 042.1	1 049	83	苯乙醛	1.17	12.59	1 515.5	1 518	88	2,6-二叔丁基对甲酚	0.35	11.94
1 058.1	1 065	86	2-乙酰基吡咯	0.62	7.53	1 525.7	1 525	94	1,2-二苯乙烷	0.23	2.27
1 063.3	—	90	2-壬烯-1-醇	0.11	12.91	1 543.2	—	85	2,2-二甲基联苯	0.24	2.06
1 082.4	1 089	88	2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	0.29	12.86	1 556.7	1 559	91	十二酸	0.58	11.1
1 088.8	1 086	94	愈创木酚	0.07	9.89	1 583.5	—	91	4,7,9-巨豆三烯-3-酮	0.63	6.83
1 094.2	1 094	90	3-甲基硫基丙酸乙酯	0.18	8.94	1 598.0	1 600	87	十六烷	0.2	7.25
1 098.4	1 102	83	壬醛	1.15	13.24	1 620.8	—	89	3,3,5,6-四甲基-1-茚酮	0.19	11.44
1 103.1	1 106	91	2-异丙基-5-甲基-2-己烯醛	0.18	13.34	1 637.7	1 635	94	二苯甲酮	0.18	9.66
1 112.4	1 113	84	苯乙醇	0.02	6.78	1 675.6	—	90	2-甲基二苯甲酮	0.09	2.39
1 118.5	1 116	86	异辛酸	3.31	14.11	1 713.6	1 723	83	十四酸甲酯	0.04	9.45
1 126.4	—	92	2-甲基-5-丙酰呋喃	0.45	9.95	1 773.9	1 774	81	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	0.14	11.87
1 139.8	1 140	93	苯乙腈	0.55	7.65	1 791.1	1 793	85	十四酸乙酯	0.07	9.26
1 156.1	—	88	3,5-二乙基-2-甲基吡嗪	0.82	6.43	1 795.9	1 800	90	十八烷	0.04	10.25
1 158.9	1 152	87	2-苯基丙烯醛	3.03	10.5	1 806.5	1 811	94	植烷	0.04	11.52
1 168.4	1 172	85	苯甲酸乙酯	2.39	7.17	1 862.8	—	93	咖啡因	0.09	4.47
1 173.3	1 182	90	丁二酸二乙酯	3.02	1.03	1 866.3	1 871	87	邻苯二甲酸二异丁酯	0.1	8.32
1 184	1 178	95	苯甲酸	7.93	5.6	1 880.5	1 874	80	十五酸乙酯	0.08	3.48
1 191.9	1 193.8	89	辛酸乙酯	21.93	1.1	1 912.2	1 920	90	十六酸甲酯	0.38	10.37
1 198.4	1 203	90	癸醛	1.69	11.15	1 959.4	1 967	86	邻苯二甲酸二丁酯	0.6	11.68
1 221.4	1 224	93	3-苯基呋喃	1.21	12.45	1 978.8	1 978	81	十六酸乙酯	0.34	9.95
1 242.2	1 244	84	苯乙酸乙酯	0.76	2.51	2 149.0	2 151	94	亚油酸乙酯	0.41	8.38
1 251.8	—	89	2-异戊基-6-甲基吡嗪	0.95	13.9	2 163.7	2 171	85	油酸乙酯	0.11	5.56
1 254.8	1 256	91	乙酸苯乙酯	0.66	4.93	2 166.7	2 173	89	亚麻酸乙酯	0.08	10.41
1 264.3	—	86	2-己酰呋喃	0.69	14.17	2 184.1	2 193	93	十八酸乙酯	0.03	13.77

注:RI<sub>exp</sub>为测得的保留指数;RI<sub>lit</sub>为标准谱库文献和参考文献<sup>[4,7,9,16]</sup>中的保留指数;RSD为3个平行实验挥发性成分绝对峰面积的相对标准偏差。

由表 1 可知,所分析酱油样品的挥发性成分包括酯类、酸类、醛类、酮类、呋喃类、酚类、含硫类、碳氢类、含氮类和醇类等物质。酯类、醇类、醛类和酸类的含量较高,相对含量分别为 36.35%、19.95%、14.61%和 13.67%,而其他 6 类挥发性成分的含量均相对较低,为 0.6%~4.32%。在样品挥发性成分中,乙酸乙酯、辛酸乙酯、苯甲酸乙酯、乙醇、2-甲基丁醛、2-苯基丙烯醛、癸醛、5-甲基-2-苯基-2-己烯醛、苯乙醛、壬醛、苯甲酸、异辛酸、乙酸和 4-乙基愈创木酚的相对含量均高于 1%,为样品中主要的挥发性成分。其他相关文献报道中,乙酸乙酯、乙醇、苯甲酸、2-甲基丁醛、乙酸、苯乙醛和 4-乙基愈创木酚等也被确认为酱油中主要的挥发性成分<sup>[3,7,11,16]</sup>。

### 3 结论

不同型号 SPME 萃取头对酱油挥发性成分的萃取灵敏度和重复性具有明显差异,即萃取效果明显不同,其中 65 $\mu$  mPDMS/DVB 的萃取效果最好;并通过条件优化,确定其萃取条件为:样品用量 8 mL,萃取温度 60 $^{\circ}$ C,萃取时间 60 min。采用优化的 HS-SPME 方法对酱油样品挥发性成分进行提取,经 GC-MS 分析,共鉴定出 86 种挥发性成分,且挥发性成分峰面积的平均相对标准偏差为 8.14%,有较好的重复性。

### 参 考 文 献

- [1] 刘婷,罗秀华,孙晶,等.酱油中香气成分的提取和分析方法[J].中国调味品,2014,39(4):135-140.

- [2] KANEKO S, KUMAZAWA K, NISHIMURA O. Comparison of key aroma compounds in five different types of Japanese soy sauces by aroma extract dilution analysis (AEDA) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(1): 3 831 - 3 836.
- [3] 朱志鑫, 吴惠勤, 黄晓兰. 酱油香气成分 GC/MS 分析 [J]. *食品研究与开发*, 2007, 28(12): 135 - 138.
- [4] ZHENG Jia, WU Chong-de, HUANG Jun, et al. Analysis of volatile compounds in Chinese soy sauces moromi cultured by different fermentation processes [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2013, 22(3): 605 - 612.
- [5] 冯笑军, 吴惠勤, 黄晓兰, 等. 气相色谱-质谱对天然酿造酱油与配制酱油香气成分的分析比较 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(6): 661 - 665.
- [6] SONG Y R, JEONG D Y, BAIK S H. Monitoring of yeast communities and volatile flavor changes during traditional Korean soy sauce fermentation [J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(9): M2005-M2014.
- [7] FENG Yun-zi, SU Guo-wan, ZHAO Hai-feng, et al. Characterisation of aroma profiles of commercial soy sauce by odour activity value and omission test [J]. *Food Chemistry*, 2015, 167: 220 - 228.
- [8] 赵谋明, 蔡宇, 冯云子, 等. HS-SPME-GC-MS/O 联用分析酱油中的香气活性化合物 [J]. *现代食品科技*, 2014, 30(11): 204 - 212.
- [9] 李莹, 吕欣然, 马欢欢, 等. 应用顶空-固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术分析传统锦州虾酱中挥发性物质 [J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(9): 210 - 216.
- [10] 刘贞诚, 李国基, 耿予欢, 等. 固相微萃取提取酱油中挥发性成分条件的优化 [J]. *中国酿造*, 2011, 236(11): 130 - 134.
- [11] 陈敏, 蒋予箭, 张海珍, 等. 酿造酱油挥发性风味成分测定方法的建立与组成比较 [J]. *中国食品学报*, 2011, 11(3): 197 - 204.
- [12] YAN Liu-jun, ZHANG Yan-fang, TAO Wei-yi, et al. Rapid determination of volatile flavor components in soy sauce using head space solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2008, 26(3): 285 - 291.
- [13] TAT L, COMUZZO P, STOLFO I, et al. Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection [J]. *Food Chemistry*, 2005, 93(2): 361 - 369.
- [14] DU Li-ping, LI Jian-xun, LI Wei, et al. Characterization of volatile compounds of pu-erh tea using solid-phase microextraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography - mass spectrometry [J]. *Food Research International*, 2014, 57(1): 61 - 70.
- [15] Du Li-ping, HE Ting-ting, LI Wei, et al. Analysis of volatile compounds in Chinese Laobaigan liquor using headspace solid-phase microextraction coupled with GC-MS [J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(5): 1 906 - 1 913.
- [16] STEINHAUS P, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science [J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2007, 55(15): 6 262 - 6 269.

## Optimization of extraction conditions for volatile compounds in soy sauce by solid-phase microextraction

LIU Fei, DU Li-ping\*, XIAO Dong-guang

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

**ABSTRACT** Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) was commonly used for the extraction of volatile compounds. To determine the SPME fiber to extract volatile compounds in soy sauce, the sensitivity of different fibers were examined on the basis of cumulative area normalization value, and their repeatability were examined by the average value and standard deviation of relative standard deviation (RSD) of peak area. 65  $\mu$ m PDMS/DVB was then selected to extract volatile compounds in soy sauce. By comparing the peak area of all kinds of volatiles and the total peak area, the extraction conditions were optimized, and the extraction conditions were established as follows: the volume of soy sauce sample was 8 mL, extraction temperature was 60 °C and extraction time was 60 min. Using the optimized method for the extraction of volatile compounds in soy sauce, a total of 86 compounds were identified by GC-MS, wherein the main compounds were esters and followed by alcohols, aldehydes and acids. The average RSD of the peak area of compounds was 8.14%, which showed that the repeatability of the method was well.

**Key words** headspace solid-phase microextraction; soy sauce; volatile compounds; sensitivity; repeatability; optimization