

基于 SPME-GC-MS 和化学计量法分析长沙臭豆腐卤水挥发性风味物质

Comparative analysis of volatile component of south stinky tofu brine
by SPME-GC-MS combined with chemometrics

唐 辉^{1,2} 蒋立文^{1,3} 谢 靛¹ 李 跑¹

TANG Hui^{1,2} JIANG Li-wen^{1,3} XIE Jing¹ LI Pao¹

贺 静¹ 陈晓艺¹ 谭金萍¹

HE Jing¹ CHEN Xiao-yi¹ TAN Jin-ping¹

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 400128; 2. 韶关学院英东食品科学与工程学院, 广东 韶关 512000; 3. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128)

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Henry Fok School of Food Science and Engineering, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512000, China; 3. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:采用固相微萃取—气相色谱—质谱联用 (SPME-GC-MS) 法测定长沙 5 种品牌臭豆腐卤水的挥发性风味物质, 结合仙农嫡、相关系数和主成分分析等化学计量法对不同品牌卤水的挥发性成分进行分析与比较, 以探讨各卤水之间风味异同情况及原因, 并找出其共有的“臭”味成分。结果共检测到 154 种挥发性风味物质, 其中 5 种商品臭豆腐卤水 (分别标记为 STB1、STB2、STB3、STB4 和 STB5) 分别检出 76, 37, 29, 74, 35 种, 占各自卤水挥发性物质总峰面积的 87.09%, 78.75%, 63.14%, 70.31%, 46.83%。5 种卤水中, 酸类、酚类和杂环类化合物都是其挥发性化合物中的主要成分, 其中乙酸、丙酸、苯酚、对甲基苯酚、吲哚和 3-甲基吲哚等是试验卤水所共有的特殊风味物质, 且相对含量较高, 推测它们为卤水的“臭”味所在。化学计量分析表明, 主成分分析能有效地区分 5 种卤水, 但 STB3 和 STB5 部分区域叠加, 推断这 2 个品牌卤水在原料和配比上有很大的相似性。

关键词: SPME-GC-MS; 化学计量法; 主成分分析; 臭豆腐; 卤水; 挥发性风味物质

基金项目:国家自然科学基金委员会资助项目 (编号: 31571819, 31371828); 韶关学院校级重点项目 (编号: 433-99000412)

作者简介:唐辉, 女, 韶关学院讲师, 湖南农业大学在读博士研究生。

通信作者:蒋立文 (1968—), 男, 湖南农业大学教授, 博士生导师, 博士。E-mail: hnndjlw@163.com

收稿日期: 2018-09-08

腐; 卤水; 挥发性风味物质

Abstract: Detected the volatile component by using head space-solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) combined with chemometrics methods of Shannon Entropy, correlation coefficient, Principal Component Analysis (PCA) etc. for evaluating, distinguishing and looking for the common flavor between five south stinky tofu brines in China. Results showed that a total of 161 flavor components were detected, with 76, 37, 29, 74 and 35 of them being present in the stinky tofu brine of STB1, STB2, STB3, STB4 and STB5, respectively. The main flavor compounds in five south stinky tofu brines were acids, phenolics and heterocyclics, such as acetic acid, propionic acid, phenol, p-cresol, indole and 3-methylindole. The results inferred that the compounds may be the common flavor component as “stinky”, because of these were higher relative content in five south stinky tofu brines. Based on analysis of chemometrics, the principal component analysis chart can be effectively distinguished between five brands of brine. There some overlapping area between STB3 brine and STB5 brine, which can further infer that the raw material, and the ratio of two brands of brine have big similarity.

Keywords: SPME-GC-MS; chemometrics; principal component Analysis; south stinky tofu; brine; volatile flavor compounds

中国湖南长沙臭豆腐因其“黑如墨、香如醇、嫩如酥、

软如绒”和营养丰富的特色,深受消费者喜爱^[1-2]。长沙臭豆腐是将豆腐坯浸入发酵卤水中数小时或数天,油炸后拌佐料食用。臭豆腐卤水是工艺关键点,主要采用豆豉、香菇、茼蒿、竹笋原料加水混合自然发酵数月至一二年不等^[3]。卤水不直接食用,但在浸泡豆腐坯的过程中进行了微生物、功能成分、风味物质等传递,由此赋予了长沙臭豆腐“闻起来臭,吃起来香”的特殊风味。目前已有学者研究臭豆腐及卤水挥发性风味物质,孙洁雯等^[4]采用同时蒸馏萃取(SDE)结合 GC-MS 分析了北京王致和臭豆腐中特征香气成分的种类和含量,鉴定出 44 种挥发性成分,其中吡嗪、正丁醇、正丙醇、二甲基二硫、二甲基三硫、二甲基四硫等挥发性成分对臭豆腐特征性香味贡献较大。郑小芬等^[5]采用 SPME-GC-MS 法比较了深、浅色 2 种臭豆腐卤水的挥发性成分,结果发现,深色臭豆腐中主要挥发性风味物质共有 38 种,浅色臭豆腐中主要挥发性风味物质共有 42 种,2 种臭豆腐卤水中共有 9 种挥发性成分。Liu 等^[6]以发酵型臭豆腐为原料,采用 HS-SPME 法萃取,比较出 4 种不同萃取纤维萃取的挥发性物质的差异性。HS-SPME 法具有方便快捷、灵敏度高、选择性与重复性好的特点,但常常因为萃取纤维涂层材料的嗜好性使萃取到的挥发性风味物质存在一定的局限性,不能全面反映挥发性风味物质的真实情况。本研究拟以长沙不同品牌臭豆腐卤水为原料,采用双萃取纤维同时萃取,并结合仙农熵、相关系数和主成分分析等化学计量法对不同品牌卤水的挥发性成分进行分析与比较,试图通过全面的分析和比较,探讨不同品牌卤水之间风味异同的情况和原因,以期找出其共有的“臭”味成分。

1 材料与方法

1.1 材料

5 种臭豆腐卤水:分别取自湖南长沙不同的卤水企业,经自然发酵 1 年而成,样品编号分别记为 STB1、STB2、STB3、STB4 和 STB5。

1.2 试验仪器与设备

气相色谱—质谱联用仪:GC-MS-QP2010 型,日本岛津仪器公司;

固相微萃取装置手柄:PK1 型,美国 Supelco 公司;

萃取纤维:75 μm Carboxen/PDMS 与 85 μm Polyacrylate 型,美国 Supelco 公司;

数显型磁力加热搅拌器: Talboys 型,上海安谱科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 SPME-GC-MS 测定

(1) SPME 双萃取纤维萃取条件:首次使用时,将 75 μm Carboxen/PDMS 黑色萃取纤维与 85 μm Polyacrylate 白色萃取纤维(以下简称黑白)在厂家推荐的条件下

老化,直到色谱检测图上无干扰峰出现。分别取 5 mL 臭豆腐卤水,放入不同的顶空瓶中并用密封垫密封,取黑白萃取纤维分别在同一样品不同的顶空瓶中萃取,萃取条件为:60 $^{\circ}\text{C}$ 平衡 20 min,吸附 40 min。然后将黑白萃取纤维分别在 240 $^{\circ}\text{C}$ 下插入 GC 进样口,解析 5 min。

(2) GC 条件:色谱柱为 CD-WAX 弹性石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);载气为氦气(99.999%),流速 1.0 mL/min;进样口温度 240 $^{\circ}\text{C}$;不分流进样。设置升温程序:柱温 50 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 14 min,以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 240 $^{\circ}\text{C}$ 。

(3) MS 条件:离子源为电子电离(electron ionization, EI)源,离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$;电子能量 70 eV;发射电流 150 μA ;倍增器电压 1 037 V;接口温度 220 $^{\circ}\text{C}$;质量扫描范围 m/z 45~500。

(4) 数据分析:GC-MS 总离子流色谱图经美国国家标准技术研究所 NIST2014s 标准谱库检索定性鉴定出成分,采用面积归一法计算相对含量,取 $SI>80$ 为有效数据,当 $SI>80$ 则认定该组分存在于样品中。

1.3.2 化学计量方法

(1) 仙农熵:采用时序分析信号信息量的计算方法,计算出色谱图的信息量(Information Content, Φ)^{[7]362-369}。所得到的信息量就是仙农熵(Shannon Entropy),仙农熵越大,则该图谱所具有的信息量越大。仙农熵按式(1)计算:

$$\Phi = - \sum \left[\frac{x_i}{\sum x_i} \right] \lg \left[\frac{x_i}{\sum x_i} \right], \quad (1)$$

式中:

Φ ——色谱图的信息量,仙农指数;

x_i ——色谱图在保留时间上的响应值。

(2) 相关系数:相关系数^{[7]384-398}是统计学中常用于考察变量之间的相关性,比较两组数据的变化趋势,一般来说,两组样品的数据相关系数越大,那么这两组样品就越相似,其变化范围是 $[-1, +1]$ 。相关系数按式(2)计算:

$$s = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}, \quad (2)$$

式中:

s ——样本的简单相关系数;

n ——样本量;

x_i, y_i ——分别表示两组色谱数据相应的色谱峰面积;

$\bar{x}, \bar{y}$ ——分别表示两组色谱数据相应的平均色谱峰面积。

(3) 主成分分析:主成分分析法(Principal

Components Analysis, PCA) 是一种用于特征提取的无监督模式识别方法, 利用数据降维可以尽可能少地损失原有数据信息。PCA 将原始变量转化为一些称之为主成分 (PCs) 不相关的潜变量, 第一个主成分 (PC1) 包含了所有变量中最多的信息, 第二个主成分 (PC2) 与第一个主成分 (PC1) 正交, 包含剩余变量中最大的信息, 能够对类别区分、聚类 and 异常值提供总的概况。而剩余主成分以此类推, 直到将剩余信息提取完全^{[7]458-463}。将原始的图谱数据矩阵分解如式 (3):

$$X=USV^T=YP^T, \quad (3)$$

式中:

X ——原始的图谱数据矩阵;

U ——标准列正交矩阵;

S ——对角矩阵;

V^T ——标准行正交矩阵;

T ——分矩阵, 代表了各个样品在坐标中的空间位置;

P ——载荷矩阵, 与变量空间的矢量有关。

1.4 数据处理

采用 SPSS 19.0 和 R 软件进行数据处理和分析

2 结果与分析

2.1 5 种品牌臭豆腐卤水挥发性成分分析

为了便于后期的化学计量分析, 尽可能地全面采集各卤水的 GC-MS 图谱信息, 运用不同涂层的双萃取纤维结合 SPME-GC-MS 法对卤水中的挥发性成分进行测定, 得到每种卤水的总挥发性物质, 结果见表 1 和表 2。5 种卤水中共检测到 154 种挥发性风味物质, 其中 STB1、STB2、STB3、STB4 和 STB5 分别检出 76, 37, 29, 74, 35 种, 占各自卤水挥发性物质总峰面积的 87.09%, 78.75%, 63.14%, 70.31%, 46.83%。5 种卤水中 STB1 以酸类、醇类、酚类和杂环类物质相对含量较高; STB2 以酚类、含硫化合物类、杂环类和酸类为主; STB3 以酸类、醚类、酚类和杂环类的相对含量较高; STB4 以杂环类、酸类、醇类、酚类为主; STB5 以酚类、酸类、醛酮类、硫醚类和杂环类物质相对含量较高。可见, 酸类、酚类和杂环类化合物是 5 中卤水挥发性化合物中的主要成分。

2.1.1 酸类物质比较 酸类物质赋予卤水一定的酸、酸臭和腐臭味。从 5 种卤水中共检测到 24 种酸类物质, 各种卤水中的酸类物质主要有乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸和戊酸等挥发性酸。5 种样品分别鉴定出 14, 10, 7, 19, 6 种酸类物质, 相对含量分别为 38.65%, 2.08%, 18.87%, 36.72%, 18.58%, 其中 STB1、STB4、STB2 与 STB3 中酸类物质相对含量较高, STB2 中相对含量偏少。STB1 中以 3-甲基戊酸和乙酸为主, 含量分别高达 16.45% 和 11.93%, 3-甲基戊酸呈酸的草药气味, 臭味阈值为

78 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 乙酸具有强烈刺激性酸味^[8], 臭味阈值为 6 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$; STB4 中含量较高的是戊酸 (8.36%) 和丁酸 (8.09%), 戊酸具有汗臭, 臭味阈值为 37 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 丁酸有腐臭, 臭味阈值为 190 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[8]; STB3 和 STB5 中含量最高的酸类物质分别为酮丙二酸 (7.72%) 和氨基甲磺 (11.25%), 两者没有明显的香味特征。综上所述, 酸类物质为 5 种卤水的主体物质, 尤其是 STB1、STB4、STB2 与 STB3 中, 这些挥发性酸的臭味阈值较低, 对卤水风味影响较大, 且一些酸类物质同时存在于几种臭豆腐卤水中, 如乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、3-甲基丁酸等, 为各种卤水提供相似的酸臭味和腐臭味。

2.1.2 酚类物质的比较 从 5 种卤水中共检测到 6 种酚类物质, 种类虽不多, 但酚类物质总的相对含量都较高, 是 5 种卤水中的主要组分。5 种样品分别检出 3, 4, 4, 4, 3 种酚类物质, 相对含量分别为 17.01%, 44.61%, 7.24%, 20.64%, 18.23%。分析 5 种卤水的酚类物质发现, 对甲基苯酚和苯酚均存在于 5 种卤水样品中, 其中对甲基苯酚含量最高, 分别为 15.50%, 33.27%, 3.43%, 11.96%, 11.98%。对甲基苯酚有臭味, 阈值极低, 为 54 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 有研究^[9-10]表明台湾传统工艺发酵的竹笋的臭味就是由于对甲基苯酚产生的, 酪氨酸在竹笋嫩枝中是主要的游离氨基酸, 它经过分解后产生对甲基苯酚, 对甲基苯酚与粪臭素 (即 3-甲基吲哚) 共同组成猪粪臭。臭豆腐卤水主要原料中含有竹笋, 推测对甲基苯酚来源于竹笋发酵产物; 苯酚含量虽不及对甲基苯酚, 但均在 1.00% 以上, 分别为 4.67%, 15.89%, 1.48%, 1.96%, 7.72%。苯酚具有酚醛, 有塑料和橡胶气味, 臭味阈值为 5 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 对卤水的气味特征起到增强作用。刘玉平等^[11]研究发现苯酚亦为王致和臭豆腐中主要特征香气成分, 与本研究结果一致。综上, 苯酚和对甲基苯酚的臭味阈值较低, 相对含量较高, 对卤水气味影响极大。

2.1.3 杂环类物质的比较 从 5 种卤水中共检测到 23 种杂环类物质, 其相对含量都较高, 是卤水中的主要组分。5 种样品分别检出 8, 7, 3, 7, 8 种, 相对含量分别为 13.67%, 33.40%, 6.52%, 22.24%, 5.05%。分析 5 种卤水的杂环类物质发现, 3-甲基吲哚和吲哚均存在于 5 种卤水样品中, 其中 3-甲基吲哚含量最高, 分别为 11.48%, 29.80%, 6.16%, 14.74%, 1.88%。3-甲基吲哚又名粪臭素, 它具有特殊的令人不愉快的风味, 阈值极低, 为 5.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 该化合物与对甲基苯酚成对出现, 可能是色氨酸的降解产物^[12]。另外, 吲哚也存在于 5 种卤水样品中, 相对含量分别为 2.14%, 1.34%, 1.46%, 0.54%, 0.97%。吲哚亦具有强烈的令人不愉快的特殊风味、臭味阈值低, 为 140 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[4]。刘玉平等^[11]研究发现 3-甲基吲哚、吲哚是卤水中的特征风味物质, 与本文的研究结果一致。

综上推测, 臭豆腐普遍闻起来的“臭”主要来源于酸

表 1 5 种品牌卤水双萃取纤维萃取挥发性风味物质的相对含量[†]
Table 1 The contents of volatile compounds in five stink tofu brines by double SPME fiber %

类别	物质名称	STB1		STB2		STB3		STB4		STB5	
		白	黑	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑
醇类	乙醇	0.02	—	0.96	0.13	1.76	—	—	—	0.69	0.26
	1-丙氧基-2-丙醇	—	1.65	—	—	—	—	—	—	—	—
	4-甲基-6-庚烯醇	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.11
	二脱水—半乳糖醇	—	—	—	—	—	—	—	0.14	—	—
	(R)-(-)-2-戊醇	—	0.16	—	—	—	—	—	0.18	—	—
	丁醇	—	0.35	—	—	—	—	—	7.18	—	—
	3-甲基-2-丁醇	—	1.81	—	—	—	—	—	—	—	—
	5-甲氧基-1-戊醇	—	0.43	—	—	—	—	—	—	—	—
	甲基庚基甲醇	—	0.19	—	—	—	—	—	—	—	—
	旋性戊醇	—	—	—	—	—	—	—	5.31	—	—
	2-甲基丁醇	—	1.05	—	—	—	—	—	—	—	—
	1-甲基戊醇	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2-己醇	—	0.12	—	—	—	—	—	0.35	—	—
	2-茨醇	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
	5-甲基-2-己醇	—	0.10	—	—	—	—	—	—	—	—
	2-甲基-1-戊醇	—	0.43	—	—	—	—	—	—	—	—
	1-戊醇	—	0.25	—	—	—	—	0.20	8.75	—	—
	4-甲基-1-戊醇	—	0.19	—	—	—	—	—	0.23	—	—
	甲基乙酰甲醇	—	—	—	—	—	—	0.02	0.11	—	—
	2-庚醇	—	0.32	—	—	—	—	—	—	—	—
	正己醇	—	0.21	—	—	—	—	0.20	3.79	—	—
	3-辛醇	—	0.17	—	—	—	—	0.07	—	—	0.38
	2,3-二甲基戊醇	—	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—
	正庚醇	—	—	—	—	—	—	—	0.20	—	—
	3-甲基-3-丁烯-1-醇	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.17
	2-壬烯-1-醇	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—
	异辛醇	—	—	—	—	—	0.21	—	—	—	—
	4-乙基环己醇	—	0.65	—	—	—	—	—	—	—	—
	正辛醇	—	0.04	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	4-萜烯醇	—	5.48	—	—	—	—	0.03	0.12	—	—
	1-壬醇	—	—	—	—	—	—	0.03	—	—	—
	萜品醇	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—	—
	异丙醇	0.04	2.02	—	—	—	—	—	—	—	—
	癸醇	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	苯乙醇	0.02	0.11	—	—	—	—	0.12	0.05	—	—
	1,4-丁二醇	0.05	—	0.16	—	1.69	—	0.12	—	—	—
	二甘醇	—	—	—	—	0.47	—	—	—	—	—
	氢化肉桂醇	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	苯氧异丙醇	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—
	3-苯丙醇	—	7.25	—	—	—	—	—	—	—	—
	柏木烯醇	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—	—
	柏木脑	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	0.11
	1-十四醇	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	4-丁香醇	—	—	0.19	—	—	—	—	—	—	—
	C15 醇	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—
	喇叭茶醇	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—
	4-庚醇	—	—	0.05	—	—	—	—	—	—	—
	7-甲基-4-辛醇	—	—	—	—	—	—	0.23	—	—	—
	4-异丙氧基丁醇	0.10	—	—	—	2.57	—	1.98	—	—	—

续表 1

类别	物质名称	STB1		STB2		STB3		STB4		STB5	
		白	黑	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑
酸类	乙醛酸	—	0.15	—	—	—	—	—	—	—	—
	酮丙二酸	—	—	—	—	7.72	—	0.14	—	—	—
	(甲硫基)乙酸	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
	乙酸	11.93	7.18	0.48	0.53	3.41	—	2.32	0.57	1.66	0.17
	丙酸	6.34	5.04	0.20	0.02	1.61	—	—	1.45	1.00	—
	异丁酸	5.63	3.91	0.41	0.25	0.44	—	1.07	0.59	—	—
	丁酸	—	—	—	0.20	3.98	—	8.09	4.47	4.16	0.14
	氨基甲磺酸	—	—	—	—	—	—	—	—	11.25	—
	3-甲基丁酸	3.53	—	—	—	1.31	—	4.24	2.93	—	—
	戊酸	3.35	2.79	0.20	0.05	0.40	—	8.36	4.53	—	—
	2-甲基戊酸	0.41	0.25	—	—	—	—	—	—	—	—
	4-甲基戊酸	1.27	0.38	0.07	0.03	—	—	0.40	0.17	—	—
	己酸	0.84	0.74	0.26	0.10	—	—	4.01	1.58	—	—
	2-甲基己酸	0.66	0.21	0.08	0.04	—	—	0.02	—	—	—
	2-甲基辛酸	—	—	0.35	—	—	—	—	—	—	—
	庚酸	—	0.03	0.03	—	—	—	1.96	0.12	—	—
	石炭酸	—	—	—	—	—	—	—	1.77	—	—
	辛酸	0.07	0.08	—	—	—	—	0.20	—	—	—
	辛酸	—	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—
	正癸酸	—	—	—	—	—	—	0.09	—	—	—
	3-甲基戊酸	4.58	16.45	—	—	—	—	5.54	—	0.51	—
	苯乙酸	—	—	—	—	—	—	0.03	—	—	—
	3-苯基丙酸	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	十四酸	—	—	—	—	—	—	0.23	—	—	—
酯类	2-羟乙基甲酸酯	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—
	亚硫酸二甲酯	—	—	6.51	—	—	—	—	—	—	—
	γ-硫代丁内酯	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15
	4-羟基丁酸乙酯	—	—	—	—	—	—	0.10	—	—	—
	烯丙酸乙氧酯	—	—	—	—	—	—	0.28	—	—	—
	烯丙酸乙氧酯	—	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—
	alphs-戊基-gama-丁内酯	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	4-羟基丁基丙烯酸酯	0.06	—	0.25	—	1.97	—	0.02	—	—	—
	邻苯二甲酸二正丁酯	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	2,6-二甲苯基异氰酸酯	—	—	0.23	—	—	—	—	—	—	—
	2-十二烷酮	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—
醛酮类	3-辛酮	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14.24
	仲辛酮	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.32
	丁醛	—	1.98	—	—	—	—	—	11.50	—	—
	甲基异丁酮	—	0.15	—	—	—	—	—	—	—	—
	二甲醇缩甲醛	—	0.69	—	—	—	—	—	—	—	—
	己醛	—	0.26	—	—	—	—	—	—	—	—
	3-甲基戊醛	—	0.43	—	—	—	—	—	—	—	—
	5-甲基-3-庚酮	—	—	—	—	—	0.98	—	—	—	—
	辛醛	—	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—
	(E)-2-庚烯醛	—	0.07	—	—	—	—	—	—	—	—

续表 1

类别	物质名称	STB1		STB2		STB3		STB4		STB5	
		白	黑	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑
醛酮类	3-乙基环戊酮	—	—	—	—	—	0.11	—	—	—	—
	壬醛	—	0.49	—	—	—	—	—	—	—	—
	甲基庚基甲酮	—	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
	反-2-辛烯醛	—	0.39	—	—	—	—	—	—	—	—
	顺-3-辛烯	—	0.07	—	—	—	—	—	—	—	—
	反式-2,4-庚二烯醛	—	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
	苯甲醛	—	1.01	—	—	—	—	—	—	—	—
	(E)-壬烯醛	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—
	2-十一酮	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.02
	苯乙酮	—	—	—	0.02	—	—	—	—	—	—
	2,4,5-三甲基苯甲醛	—	—	0.04	—	—	—	—	—	—	—
	2-十五烷酮	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—
	椰子醛	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	2-十四酮	—	—	—	—	—	—	0.02	—	—	—
	2-哌嗪酮	15.50	0.02	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	邻氨基苯乙酮	—	0.01	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	十七烷酮	0.13	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—
酚类	5-羟基-4-辛酮	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3-甲酚	—	—	1.23	0.14	—	0.09	—	—	—	—
	苯酚	1.37	4.67	2.38	15.89	1.02	1.48	1.96	—	—	7.72
	对甲基苯酚	15.50	7.45	33.27	28.59	3.43	0.23	11.96	—	11.98	10.39
	4-乙基苯酚	0.13	0.53	—	—	—	—	6.69	—	—	0.11
	4-丙基苯酚	—	—	—	—	2.80	—	0.03	—	—	—
醚类	4-(1-甲基乙烯基)苯酚	—	—	0.03	—	—	—	—	—	—	—
	甲醚	—	—	—	—	—	2.48	—	—	—	—
	二甲醚	—	—	—	—	—	—	0.05	—	—	—
	乙二醇甲基乙烯基醚	—	—	—	—	—	—	0.04	—	—	—
	乙二醇乙醚	0.02	—	0.03	—	1.55	—	0.01	—	0.34	—
	二乙二醇乙醚	—	—	0.64	—	16.26	—	—	—	1.28	—
含硫化合物	二氧化硫	—	—	—	8.33	—	—	—	—	3.23	0.36
	氧硫化碳羰基硫	—	—	—	—	—	—	0.07	—	—	—
	二甲基硫	—	0.10	—	9.60	—	—	—	—	—	—
	二甲基二硫	—	0.20	—	2.97	—	—	—	0.74	—	3.72
	二甲基三硫	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.03
	二甲基亚砷	—	—	—	0.69	—	—	—	—	—	—
烷烃类	正己烷	—	—	—	—	—	60.61	—	—	—	8.10
	正十一烷	—	—	—	—	—	0.48	—	—	—	0.53
	1-乙-辛烷	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.12
杂环类	三甲胺	—	—	—	—	—	—	0.04	0.04	—	—
	甲基环氧丙烷	—	—	—	0.40	—	—	—	—	—	—
	正丁基甲酰胺	—	—	—	—	—	—	0.03	—	—	—
	环氧丙烷	—	—	—	1.90	—	—	—	—	—	—
	1,2-环氧基-5-己烯	—	0.22	—	—	—	—	—	—	—	—
	2-正戊基呋喃	—	0.94	—	—	—	—	—	—	—	—
	B-柏木烯	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.14

续表 1

类别	物质名称	STB1		STB2		STB3		STB4		STB5	
		白	黑	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑
杂环类	1,3,5-三噻烷	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.07
	2-正戊基噻吩	—	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—
	2,3-二氢-1,1,3-三甲基-3-苯基-1H-茚	—	—	—	—	—	—	—	—	0.67	—
	吡咯	—	—	—	0.04	—	—	—	—	—	—
	2,3-二甲基-2,3-二苯基丁烷	—	—	—	—	—	—	—	—	0.39	—
	<i>α</i> -柏木烯	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.91
	四氢吡喃	—	—	1.31	—	—	—	—	—	—	—
	萘	—	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
	苯并噻唑	—	—	—	—	2.15	0.07	—	—	1.14	—
	乙胺	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	丁酰胺	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2-正己基噻吩	—	—	0.96	—	—	—	6.66	—	—	—
	2,3-二氢苯并呋喃	—	—	—	—	—	—	—	0.03	—	—
	5-甲酰基 3-甲腈 1H 吡咯	—	—	—	—	—	—	0.23	—	—	—
	吡啶	2.14	2.12	1.34	0.54	1.46	0.31	0.54	0.04	0.97	0.95
	3-甲基吡啶	11.48	6.49	29.80	6.16	2.91	0.27	14.74	0.05	1.88	—

† “—”表示未检出。

表 2 5 种品牌卤水挥发性风味物质各自卤水挥发性物质总峰面积的比例[†]

Table 2 The proportion of volatile flavor compounds in the total area of five stink tofu brines %										
类别	STB1		STB2		STB3		STB4		STB5	
	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑	白	黑
醇类	0.24	23.08	1.35	0.13	6.48	0.27	3.19	26.40	0.69	1.17
酸类	38.65	37.21	2.08	1.22	18.87	—	36.72	18.19	18.58	0.46
酯类	0.06	—	7.02	—	1.97	—	0.50	—	—	0.15
醛酮类	15.67	5.76	0.07	0.02	—	1.09	0.16	11.50	—	14.58
酚类	17.01	12.65	36.92	44.61	7.24	1.80	20.64	—	11.98	18.23
醚类	0.02	—	0.67	—	17.81	2.48	0.10	—	1.62	—
含硫化物	—	0.30	—	21.59	—	—	0.07	0.74	3.23	7.10
烷烃类	—	—	—	—	—	61.09	—	—	—	8.75
杂环类	13.67	9.86	33.40	9.05	6.52	0.65	22.24	0.16	5.05	2.07
总计	85.32	88.86	81.51	76.62	58.89	67.38	83.62	56.99	41.15	52.51
黑白萃取纤维总计的平均值	87.09		78.75		63.14		70.31		46.83	

† “—”表示未检出。

类、酚类和杂环类物质,尤其是对甲基苯酚、苯酚、3-甲基吡啶、吡啶等,因其臭味阈值较低,相对含量较高,是卤水重要的特征性气味贡献物质。

此外,STB1 中醇类物质相对含量较高,其中 3-苯丙醇和 4-萘烯醇相对含量分别达 7.25%和 5.48%,3-苯丙醇有柔和的花香和香脂香气,香气酷似风信子^{[13]68-69},4-萘烯醇天然存在于松节油和薰衣草中,具有辛香、壤香、青

香和木香香味^[9],但因其气味阈值一般较高,它们对 STB1 卤水的风味影响还需进一步验证;STB2 中含硫化物和酯类物质相对含量较高,其中,二甲基硫(9.60%)、二氧化硫(8.33%)和亚硫酸二甲酯(6.51%)相对含量较高,亚硫酸二甲酯具有葱头气味,用于香料、医药、染料等生产^[11]。二甲基硫是啤酒中生青味物质之一,呈粮食味、菜味、草味、甜麦芽味。二氧化硫具有强烈的刺激性气

味,使臭豆腐卤水特殊气味更浓郁;STB3 中醚类物质的相对含量较高,主要是乙二醇乙醚(16.26%),该物质具有中等程度令人愉快的气味,在该卤水中相对含量最高;STB4 中醇类物质相对含量较高,主要有呈果香味的 1-戊醇(8.75%)和正己醇(3.79%),酒香味的丁醇(7.18%),醇香、香蕉、药和溶剂气味^{[13]86-90}的旋性戊醇(5.31%);STB5 中醛酮类物质和含硫化化合物含量较高,其中 3-辛酮相对含量高达 14.24%,3-辛酮具有强烈的蘑菇香,涂宝军等^[14]研究发现香菇中含有 3-辛酮,由此推测 STB5 卤水中添加了大量的香菇原料。二甲基二硫(3.73%)、二甲基硫(3.23%)和二甲基三硫(3.03%)是相对含量较高的含硫化化合物,二甲基二硫呈竹笋气味,Jeremy 等^[15]对吃过芦笋后的尿液(简称芦笋尿)飘出的挥发部分用气相色谱进行了成分分析,结果发现芦笋尿主要的特征成分中包含了二甲基二硫,李雨枫等^[16]亦检出二甲基二硫是不同配方卤水中的共性硫化物之一。

综上所述,5 种卤水主要以酸类、酚类和杂环类化合物为主,其中共有的挥发性风味物质主要包括乙酸、丙酸、苯酚、对甲基苯酚、吡啶和 3-甲基吡啶等,这些共有的特征性挥发性风味物质或许就是卤水的“臭”味所在;另一方面,每种卤水中的醇类、酯类、醛酮类、醚类、含硫化化合物各有差异,这些差异物质赋予了卤水不同的挥发性风味,这或许就是各品牌臭豆腐油炸后呈现不同香味的原因。

2.2 南方臭豆腐卤水挥发性风味物质化学计量分析

2.2.1 不同品牌卤水图谱信息特征分析 通过采用黑白双萃取纤维对 5 种卤水进行 GC-MS 检测与分析发现,样品之间有一些共同的和差异性的气味物质。为进一步挖掘其数据信息,先对色谱图的信息量进行评价。采用仙农熵法^{[7]362-369}对其信息量进行简单计算,结果如表 3 所示。由黑、白萃取纤维萃取不同的卤水所得到的仙农熵均>1,说明卤水样品色谱图都具有一定的信息量,但是白色萃取纤维萃取各卤水得到的仙农熵均大于黑色萃取纤维,说明白色萃取纤维所得的色谱图具有更大信息量,谱峰分离度更高。因此,选用白色萃取纤维对卤水样品的挥发性成分进行相关性和主成分分析。

2.2.2 不同品牌卤水的相关性分析 5 种卤水的相关系

数结果见表 4。不同品牌卤水之间的相关系数为 0.009 0~0.587 4,相关性较低,但是 STB3 与 STB5 样品之间相关系数达 0.587 4,呈显著相关($P<0.05$)。

表 4 5 种品牌卤水的相关系数[†]

Table 4 Correlation coefficient of five brand brine					
相关系数	STB1	STB2	STB3	STB4	STB5
STB1	1.000 0	0.256 6	0.065 1	0.217 1	0.000 9
STB2		1.000 0	0.062 1	0.240 0	0.013 4
STB3			1.000 0	0.037 5	0.587 4*
STB4				1.000 0	0.005 3
STB5					1.000 0

[†] *表示显著相关($P<0.05$)。

2.2.3 不同品牌卤水主成分分析 相关系数的计算虽然可以定量表征色谱指纹图谱的相似度,为进一步确认卤水主成分之间的相关性,结合多变量的分析手段和识别技术,采用 PCA 法对 5 种卤水进行分析,结果见图 1。主成分 PC1 和 PC2 的方差贡献率之和在 80%以上,涵盖了各卤水样品的大部分信息,因此选取 PC1 和 PC2 进行 PCA 分析。总体上,通过主成分分析能够有效地将 5 种卤水区别开来。图中 STB1 卤水在第一主成分上和其他卤水有较大差距;STB4 卤水和 STB2 卤水在第一主成分上差异不明显,但在第二主成分上能有效区分;主图上 STB3 卤水和 STB5 卤水在第一、二主成分上部分重叠,并不能很好地区分,但从局部放大图上看到 2 种卤水并不是完全重叠,仅部分叠加,因而推断 STB3 卤水和 STB5 卤水风味特征有部分相似。这与相关系数结论一致,因此可以认为 STB3 卤水和 STB5 卤水气味特征上具有很大的相似性,推断这 2 品牌卤水因原料和配比上的相似而导致风味的部分相似。

3 结论

本研究采用不同涂层的双萃取纤维结合 SPME-GC-

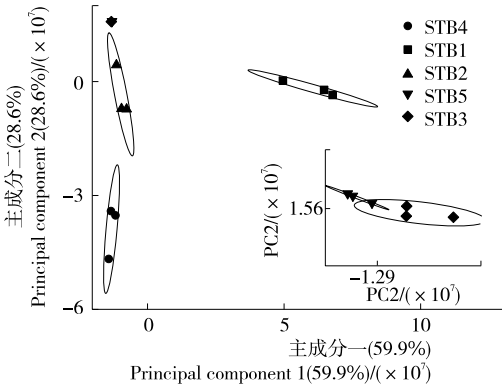


图 1 5 种品牌卤水主成分分析图

Figure 1 Principal component analysis of five brand brine

表 3 5 种品牌卤水的仙农熵

Table 3 The Shannon entropy of five brand brine

样品	白色萃取纤维	黑色萃取纤维
STB1	2.252 1	1.744 9
STB2	4.903 2	2.798 3
STB3	9.504 0	3.507 5
STB4	3.005 6	2.511 2
STB5	8.897 1	3.057 4

MS 法对 5 种品牌(STB1、STB2、STB3、STB4 和 STB5)臭豆腐卤水中的挥发性成分进行测定,结果共检测到 154 种挥发性风味物质,依次为 76,37,29,74,35 种,分别占各自卤水挥发性物质总峰面积的 87.09%,78.75%,63.14%,70.31%,46.83%。其中酸类、酚类和杂环类化合物是挥发性化合物中的主要成分,乙酸、丙酸、苯酚、对甲基苯酚、吡啶和 3-甲基吡啶等相对含量均较高。通过化学计量分析,不同卤水之间的相关系数为 0.009 0~0.587 4,相关性较低,但是 STB3 与 STB5 样品之间相关系数达 0.587 4,呈显著相关($P<0.05$);主成分分析进一步发现,主图上 STB3 卤水和 STB5 卤水在第一、二主成分上部分重叠,并不能很好地区分,但从局部放大图上看到 2 种卤水并不是完全重叠,仅部分叠加。

本试验对长沙臭豆腐不同品牌卤水中的挥发性风味物质进行共性和差异性风味研究,发现乙酸、丙酸、苯酚、对甲基苯酚、吡啶和 3-甲基吡啶等物质在卤水中相对含量较高,但是要明确其“臭”味所在,还需进一步进行定量分析,并根据阈值确定其“臭”味物质。

参考文献

- [1] 何理. 发酵型臭豆腐生产工艺和营养价值的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012: 27-35.
- [2] ASO T, UCHIYAMA S, MATSUMURA Y, et al. A natural S(-) equol supplement alleviates hot flushes and other menopausal symptoms in equol nonproducing postmenopausal Japanese women[J]. J. Men's Health, 2012, 21(1): 92-100.
- [3] CHAO S H, TOMII Y, WATANABE K, et al. Diversity of lactic acid bacteria in fermented brines used to make stinky tofu[J]. Int J of Food Microbiol, 2008, 123(1): 134-141.
- [4] 孙洁雯, 杨克玉, 李燕敏, 等. SDE 结合 GC-MS 分析王致和臭豆腐中的特征香气成分[J]. 食品科学, 2015, 36(16):

127-131.

- [5] 郑小芬, 苏梧, 蒋立文, 等. 两种臭豆腐卤水中挥发性成分的比较[J]. 中国酿酒, 2013, 32(10): 122-125.
- [6] LIU Yu-ping, MIAO Zhi-wei, GUAN Wei, et al. Analysis of organic volatile flavor compounds in fermented stinky tofu using SPME with different fiber coatings[J]. Molecules, 2012, 17(4): 3 708.
- [7] 梁逸曾. 复杂体系仪器分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012.
- [8] 刘树文. 合成香料技术手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 369-374.
- [9] 何理, 吴晖. 市售臭豆腐中菌种的分离及生化鉴定[J]. 现代食品科技, 2012(8): 952-955.
- [10] 万力婷, 吴祖芳, 张天龙, 等. 苋菜梗腌制过程细菌群落变化及风味的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 166-170.
- [11] 刘玉平, 苗志伟, 黄明泉, 等. 臭豆腐中挥发性香成分提取与分析[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 228-231.
- [12] ABIRU Y, UENO T, UCHIYAMA S. Isolation and characterization of novel S-equol-producing bacteria from brines of stinky tofu, a traditional fermented soy food in Taiwan[J]. International Journal of Food Sciences & Nutrition, 2013, 64(8): 936-943.
- [13] 范文来, 徐岩. 酒类风味化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2014.
- [14] 涂宝军, 陈尚龙, 马庆昱, 等. 3 种干燥方式对香菇挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(19): 106-110.
- [15] JEREMY B Essner, CHARLES H Laber, SUDHIR Ravula, et al. Pee-dots: biocompatible fluorescent carbon dots derived from the upcycling of urine[J]. Green Chemistry, 2015, 18(1): 243-250.
- [16] 李雨枫, 徐睿烜, 蒋立文, 等. 臭豆腐卤水发酵过程中微生物变化及风味成分研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014(10): 3 098-3 109.

信息窗

澳新拟批准来自里氏木霉转基因菌株的木聚糖酶作为加工助剂

据澳新食品标准局(FSANZ)消息,2019年1月3日,澳新食品标准局发布 70-19 号通告,拟批准使用来自里氏木霉转基因菌株的木聚糖酶作为烘焙产品生产中的加工助剂。

来自里氏木霉转基因菌株的木聚糖酶主要用于面包、蛋糕、甜点、玉米饼和其他烘焙产品的烘焙过程中,能够提高面团稳定性和面团处理性能。经计算得出这种

酶的每日最大摄入量为每天 0.488 mg TOS/kg·体重。

此次申请是由 DuPont Industrial Biosciences (IB) 公司提出,预计 2019 年 10 月-11 月,澳新食品标准局就该申请征求有关意见。2020 年 3 月,此申请得到全面批准,若无其他评审要求,预计 2020 年 5 月份刊登在澳新公报上。

(来源: <http://news.foodmate.net>)