

基于气相色谱-质谱联用技术分析酸浆豆腐加工过程中风味物质的变化

杨 杨¹, 杨春华¹, 王 冰¹, 石彦国¹, 张秀敏², 刘 颖¹, 张 娜^{1*}

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与综合加工重点实验室, 黑龙江省普通高校食品科学与工程重点实验室, 哈尔滨 150076; 2. 北京食品科学研究院, 北京 100068)

摘要: **目的** 以酸浆豆腐为研究对象, 结合气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)优化酸浆豆腐不同加工阶段中挥发性风味物质的捕获方法, 对酸浆豆腐的加工阶段进行分类。**方法** 采用顶空-固相微萃取法(head space-solid phase microextraction, HS-SPME)结合 GC-MS 对风味物质进行检测, 优化风味物质捕获方法, 内标法进行定量, 结合聚类分析对加工阶段进行分类。**结果** 不同批次酸浆豆腐中风味物质变化具有较高的稳定性, 酸浆豆腐加工过程中共鉴定出 90 种挥发性风味物质, 制浆、煮浆、点浆、蹲脑 10 min、蹲脑 20 min 和压制工序分别鉴定出 27、25、32、39、45 和 22 种挥发性风味物质, 主要为醛类、酮类、醇类等风味物质。对加工过程中风味物质进行聚类分析发现: 适当延长煮浆与蹲脑时间, 可促进更多良好风味物质的形成。**结论** 该方法操作简单, 适合酸浆豆腐中风味物质的测定且稳定性好, 在后续实验中可进一步对加工工艺进行调控。

关键词: 酸浆豆腐; 挥发性风味物质; 气相色谱-质谱联用技术; 顶空固相微萃取

Analysis of flavor compounds in the processing of fermented soybean whey tofu based on gas chromatography-mass spectrometry

YANG Yang¹, YANG Chun-Hua¹, WANG Bing¹, SHI Yan-Guo¹, ZHANG Xiu-Min²,
LIU Ying¹, ZHANG Na^{1*}

(1. Heilongjiang Key Laboratory of Grain Food and Comprehensive Processing, Heilongjiang Key Laboratory of Food Science and Engineering, Heilongjiang General University, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. Beijing Academy of Food Sciences, Beijing 100068, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the capture method of volatile flavor substances in different processing stages of fermented soybean whey tofu by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) taking fermented soybean whey tofu as the research object, and classify the processing stages of fermented soybean whey tofu. **Methods** Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with GC-MS was used to detect the flavor compounds

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2016YFD0400402)、国家自然科学基金(31871747)、黑龙江省“百千万”重大专项(2019ZX08B02)、中央财政支持地方高校发展专项资金优秀青年人才支持计划项目、黑龙江省自然科学基金(C2018036)

Fund: Supported by National Key Research and Development Program Funding (2016YFD0400402), and National Natural Science Foundation of China (31871747), and Heilongjiang Province “Hundreds of Millions” Major Project (2019ZX08B02), the Central Financial Support for the Development of Local Colleges and Universities Special Fund Outstanding Young Talent Support Program, and Natural Science Foundation of Heilongjiang Province(C2018036)

*通讯作者: 张娜, 博士, 教授, 主要研究方向为食品蛋白与食品安全。E-mail: foodzhangna@163.com

*Corresponding author: ZHANG Na, Ph.D, Professor, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, 138 Tongda street, Daoli District, Harbin 150076, China. E-mail: foodzhangna@163.com

in different processing stages. The capture method of flavor substances was optimized, and the quantitative analysis was carried out with internal standard method. The processing stages were classified by cluster analyses. **Results** The flavor compounds in different batches of fermented soybean whey tofu had high stability. Totally 90 kinds of volatile flavor compounds were identified in the processing of fermented soybean whey tofu, and 27, 25, 32, 39, 45 and 22 volatile flavor compounds were identified in pulping, boiling, spotting, squatting for 10 min, squatting for 20 min and pressing, respectively. The main volatile flavor compounds were aldehydes, ketones and alcohols.. The main volatile flavor compounds were aldehydes, ketones and alcohols. The cluster analysis of flavor compounds in the processing showed that prolonging the heating time and coagulant time could promote the formation of more good flavor substances. **Conclusion** The method is simple to operate, suitable for the determination of flavoring substances in sour paste tofu and has good stability. The processing technology can be further regulated in the follow-up experiments.

KEY WORDS: fermented soybean whey tofu; volatile flavor compounds; gas chromatography-mass spectrometry; headspace solid phase microextraction

1 引言

豆腐作为蛋白质和人体必需氨基酸的优质来源, 广泛流传于中国和其他亚洲国家, 近几年在世界范围内也越来越受欢迎^[1,2]。我国大部分地区以生产卤水豆腐、石膏豆腐和内酯豆腐为主, 南方部分地区也有生产酸浆豆腐^[3]。酸浆豆腐加工过程与卤水豆腐、石膏豆腐相似, 但在制作过程中, 酸浆豆腐是采用乳酸菌发酵黄浆水形成的酸浆作为凝固剂, 不引入重金属离子, 绿色安全^[4], 因此更宜于健康。酸浆中的乳酸菌通过代谢产生多种挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs)^[5], 它赋予酸浆豆腐更加饱满的味觉感^[6]。

风味通常决定了食品独特的感官性质, 是消费者选择和接受某种食品的重要因素^[7]。食品中的挥发性风味由令人愉悦的香气物质和一些异味化合物协同构成, 2 类物质的含量和比例导致最终产品呈现的风味特征存在差异^[8]。顶空-固相微萃取法(head space-solid phase microextraction, HS-SPME)是近些年常用的捕获风味物质预处理方法, 常结合气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)广泛应用于豆制品、肉制品、酒类、咖啡和水果等物质的风味分析。GC-MS 通过整合气相(GC)与质谱(MS)在分离和检测方面的优势, 形成具有高分辨率、高灵敏度、操作简便等特点的挥发性风味物质检测技术^[6]。酸浆豆腐由于引入乳酸菌, 乳酸菌发酵赋予酸浆豆腐滋味物质与香气物质, 对于豆腐品质的形成具有重要作用。所以, 相比于其它类型的豆腐, 酸浆豆腐更加醇香细腻、风味独特。然而, 酸浆豆腐的生产多为家庭作坊操作, 环境卫生很难控制, 且酸浆发酵终点的判断多依据人工经验, 缺乏科学指导。加工方法不稳定导致了酸浆豆腐的品质不稳定, 严重制约了酸浆豆腐

的规模化发展。

本研究采用 HS-SPME 与 GC-MS 技术结合的方法研究酸浆豆腐加工过程中挥发性风味物质的变化, 建立并优化酸浆豆腐加工过程中风味物质的检测方法, 以达到最佳风味物质捕获效果, 通过对酸浆豆腐加工过程的风味物质变化的研究, 以期为后续酸浆豆腐风味调控提供理论和实践依据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

大豆, 黑农 48(购买于黑龙江省绥化市海伦市)。乳酸菌: 菌种来源于哈尔滨商业大学食品工程学院粮食、油脂及植物蛋白工程学科组, 分离自云南建水酸浆豆腐生产用酸浆, 分别为: 棒状乳杆菌(*Lactobacillus coryniformis*), 弯曲乳杆菌(*Lactobacillus curvatus*)。

2.2 仪器与设备

固相微萃取手动装置、PC-420D 固相微萃取搅拌加热装置(美国 Supelco 公司); GC-6890/MS-5973 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 有限公司); DM-Z100A 自动分渣磨浆机(沧州昌宏磨浆机械有限公司); ALC-2100 电子分析天平(上海精密仪器有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 酸浆豆腐制作技术路线

大豆→除杂→泡豆→磨浆→过滤→煮浆→点浆→蹲脑→破脑→压制→成品

工艺要点: 筛选出优质大豆, 去除干瘪和杂质, 称取一定质量的大豆, 以豆水比 1:3(m/V)室温下浸泡 12 h, 使大豆充分吸水膨胀。浸泡好的大豆按照 1:5(m/V)的比例磨浆, 磨出的豆浆过滤掉豆渣后加水定容至 4.5 kg。将豆浆煮沸至 100 °C, 持续 10 min 后温度降至 75~78 °C 之间, 加入酸浆

凝固剂, 蹲脑 20 min(乳酸菌发酵作用), 蹲脑结束收集黄浆水备用。将蹲脑后的脑花进行破脑, 倒入模具压制 25 min, 压力 4.5 Mpa, 压制后从模具中取出即为成品酸浆豆腐。

2.3.2 HS-SPME 捕获风味物质条件优化

(1) 萃取温度的确定

本研究选取 DVB/CAR/PDMS-50/30 μm 为萃取头, 取 2.5 g 样品置于 15 mL 顶空萃取瓶中, 将萃取瓶放于 30 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌加热装置中预平衡 15 min 后, 萃取时间为 30 min, 萃取温度设为 30、35、40、45、50 $^{\circ}\text{C}$, 搅拌速度 500 r/min, 解析 5 min 后拔出萃取头, 立即将萃取头插入 GC 的进样口, 对风味物质萃取捕获效果进行比较。

(2) 萃取时间的确定

本研究选取 DVB/CAR/PDMS-50/30 μm 为萃取头, 取 2.5 g 样品置于 15 mL 顶空萃取瓶中, 将萃取瓶放于 30 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌加热装置中预平衡 15 min 后, 萃取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间设为 10、20、30、40、50 min, 搅拌速度 500 r/min, 解析 5 min 后拔出萃取头, 立即将萃取头插入 GC 的进样口, 对风味物质萃取捕获效果进行比较。

(3) 搅拌速度的确定

本研究选取 DVB/CAR/PDMS-50/30 μm 为萃取头, 2.5 g 样品置于 15 mL 顶空萃取瓶中, 将萃取瓶放于 30 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌加热装置中预平衡 15 min 后, 在萃取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间为 30 min, 搅拌速度设为 300、400、500、600、700 r/min, 解析 7 min 后拔出萃取头, 立即将萃取头插入 GC 的进样口, 对风味物质萃取捕获效果进行比较。

(4) 解析时间的确定

本研究选取 DVB/CAR/PDMS-50/30 μm 为萃取头, 2.5 g 样品置于 15 mL 顶空萃取瓶中, 将萃取瓶放于 30 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌加热装置中预平衡 15 min 后, 萃取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间设为 30 min, 搅拌速度 500 r/min, 解析时间设为 3、

5、7、9、11 min 后拔出萃取头, 立即将萃取头插入 GC 的进样口, 对风味物质萃取捕获效果进行比较。

2.3.3 气相色谱-质谱联用技术

选用 GC-MS 测定样品中挥发性风味物质。色谱条件: 采用 6890 气相色谱仪结合 5973 质谱检测器对样品中的挥发性风味物质进行分离和检测, 挥发性风味物质将通过 AF-WAX MS(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm) 毛细管色谱柱进行分离。载气为氦气, 设置升温程序条件为: 进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$, 色谱柱初始温度为 40 $^{\circ}\text{C}$, 保持 8 min, 接下来以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度上升至 150 $^{\circ}\text{C}$, 最后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速度上升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min, 不分流进样。

质谱条件: 电离方式: EI, 发射电流: 80 μA , 电子能量为: 70 eV, 扫描范围为 m/z 35-500, 离子源温度: 200 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$, 载气为氦气, 流速 1 mL/min, 分离模式: 50:1。

定性方法: 将样品的谱图中的每个峰与计算机自带数据库 NIST 11 检索匹配, 相似度大于 80% 的风味物质予以保留, 同时参考各种风味物质的保留时间。

定量分析: 选用 2-甲基-3-庚酮作为内标物, 根据被测风味物质和内标物相应的色谱峰面积之比, 计算被测组分的相对含量, 表示为 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 计算公式如下。

$$M_c = \frac{S_T \times C_{\text{标}}}{S_{\text{标}}} \times \frac{V_{\text{标}}}{m} \times 10^{-3}$$

式中: M_c : 风味物质相对含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$; S_T : 总离子流图中风味物质峰面积; $C_{\text{标}}$: 内标物质浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; $S_{\text{标}}$: 内标物质峰面积; $V_{\text{标}}$: 内标物加入的体积, μL ; m : 样品质量, kg 。

2.3.4 感官评价

鉴评时由 10 位经过感官标准培训人员, 对酸浆豆腐不同加工阶段的样品对外观、风味、质地、口感进行感官品质评定。每个感官指标 0~30 分不等, 取 4 个指标, 满分 100 分。详见表 1。

表 1 酸浆豆腐不同加工阶段的感官评价表
Table 1 Sensory evaluation of fermented soybean whey tofu in different processing stages

项目	满分	评分标准	分数
外观	20	豆浆/酸浆豆腐呈微黄色或者淡黄色, 表面油润有光泽。	15~20
		豆浆/酸浆豆腐呈灰白色或者暗黄色, 表面湿润黯淡。	7~14
		豆浆/酸浆豆腐呈黑褐色或深褐色, 表面无光泽。	0~6
风味	30	具有浓郁豆香味, 无苦涩味或糊味, 口感醇香。	21~30
		熟豆味, 有淡淡的豆腥味, 有少量苦涩味, 口感油腻。	11~20
		有刺鼻豆腥味, 较苦涩, 无醇香, 干涩粘连。	0~10
口感	30	口感十分细腻, 颗粒感小, 成团性好, 咀嚼次数少。	21~30
		口感稍微粗糙, 颗粒感较明显, 成团性较好, 咀嚼次数较少。	11~20
		口感十分粗糙, 颗粒感明显, 成团性差, 难咀嚼。	0~10
质地	20	柔软有弹性/流动性好, 硬度小, 按下去后复原很快。	15~20
		柔软较有弹性/流动性较好, 硬度较小, 按下去后复原较快。	7~14
		柔软弹性差/流动性差, 硬度大, 按下去后较难复原。	0~6

3 结果与分析

3.1 酸浆豆腐风味物质捕获的技术条件优化

确定食品中风味物质的种类及含量, 关键过程在于选择一种恰当的风味物质捕获和检测方法, 适当的方法有助于检测食品中几乎所有的风味物质, 同时不改变挥发物的特征风味轮廓^[9]。因此, 筛选出最优的风味物质捕获方法对样品风味的鉴别极其重要。本实验分别以萃取温度、萃取时间、搅拌速度、解析时间为因素, 对风味物质的捕获方法进行优化, 结果如图 1~4 所示。

3.1.1 萃取温度对风味物质萃取捕获效果的影响

萃取温度对 HS-SPME 的影响具有显著效果, 风味分子热运动速度随着萃取瓶内温度升高而加快, 样品在固定空间内分配系数变大, 既缩短了平衡时间又加快萃取速度。但温度过高会使萃取头对风味物吸附量减小, 影响 HS-SPME 法灵敏度。

由图 1 可知, 随着萃取温度的上升, 总峰面积增大, 萃取温度在 30~40 °C 时, 醛类和酮类物质含量明显升高, 而醇类物质并无明显变化, 主要是由于醇类物质的沸点较低^[10]。当温度为 40 °C 时, 总峰面积最大, 而温度为 30 °C 时总峰面积最小, 主要原因为低温时不利于风味物质的挥发, 导致风味物质种类及含量较少, 但随着温度的升高, 一些风味物质尤其是低挥发性的物质在顶空中的浓度开始增大, 直到 40 °C 达到最大值。当温度进一步升高时, 总峰面积开始减小, 这可能是由于温度高时, 萃取瓶内会产生液滴, 容易吸附于萃取针表面, 从而降低吸附效果, 同时, 温度过高会导致部分热化学性质不稳定的风味物质发生化学变性, 可生成新物质, 导致实验结果失真。

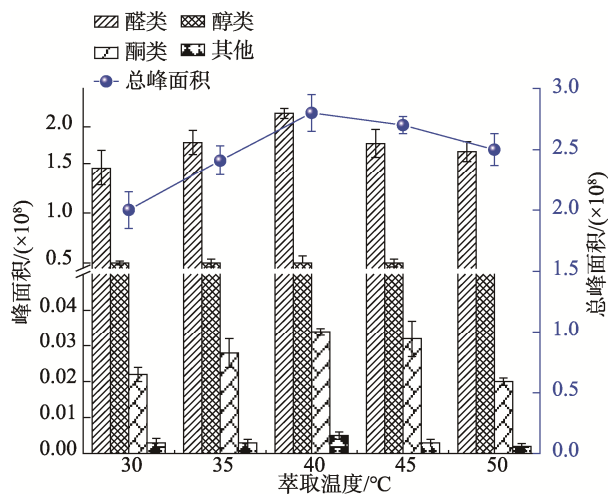


图 1 不同萃取温度的风味物质捕获效果(n=3)

Fig.1 Extraction efficiency of different kinds of extraction temperatures (n=3)

3.1.2 萃取时间对风味物质萃取捕获效果的影响

萃取时间即萃取达到平衡所需要的时间, 由待分析物的分配系数、物质扩散速率、样品体积、萃取头膜厚度等因素决定, 是影响涂层对风味物质萃取量的一个重要因素。

风味物质萃取时间对风味物质捕获效果如图 2 所示, 随着萃取温度的升高, 总峰面积呈先增大后减小的趋势, 当萃取时间在 10~30 min 时, 总峰面积增加效果显著。当萃取时间为 30 min 时, 各种挥发性风味物质含量达到最大值, 说明在 30 min 时萃取瓶内的各种风味物质已达到多相平衡状态, 其聚集部位更有利于萃取头对风味物质的捕获。当萃取时间超过 30 min 时, 萃取瓶内的样品体系需维持体系平衡状态, 从而易发生挥发性风味物质从萃取头向萃取瓶内逆行散发, 导致吸附的气体向外缓慢扩散^[11], 同时被吸附的低丰度组分随着萃取时间的延长将被高含量组分所取代, 导致被识别的组分数量较少, 总峰面积含量开始下降。在吸附过程中, 涂层表面有限的自由空间会导致一些化合物的位移, 这也会影响萃取组分的百分比, 早期研究中也提到了这一现象^[12], 例如, Frank 等^[13]在奶酪风味的研究中观察到宏观浓度成分的一些位移, 包括 2-壬酮和辛酸乙酯取代了 2-戊酮、2-己酮和 2-庚酮。

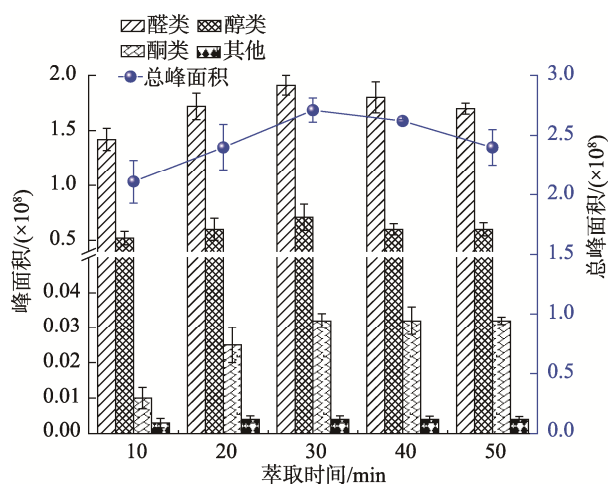


图 2 不同萃取时间的风味物质捕获效果(n=3)

Fig.2 Extraction efficiency of different kinds of extraction time(n=3)

3.1.3 搅拌速度对风味物质萃取捕获效果的影响

搅拌速度是影响 HS-SPME 的一个关键因素, 速度的大小影响着萃取瓶中气体的流速与流量, 从而影响吸附效果。

搅拌速度对风味物质捕获效果如图 3 所示, 速度处于 300~500 r/min 时醛类、醇类、酮类化合物的含量呈上升状态, 当搅拌速度高于 500 r/min 时, 风味物质种类基本保持不变, 同时总峰面积趋于稳定状态, 这说明在此搅拌速度下, 萃取瓶内的风味物质体系已经达到平衡状态, 所以适

当的加快搅拌速度可以提高挥发性风味物质的扩散速率,提高萃取效果,从而有助于减少萃取时间^[14]。当搅拌速度过高时,萃取瓶内的平衡体系不稳定,同时速度过高导致萃取瓶内气流变化速度较大,不易于风味物质的捕获,速度过高也会导致磁力搅拌子不稳定,增加能耗,因此 500 r/min 为挥发性风味物质提取的搅拌速度。

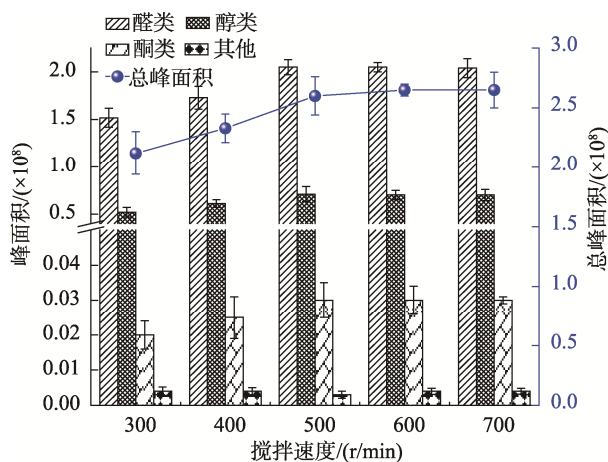


图 3 不同搅拌速度的风味物质捕获效果 (n=3)

Fig.3 Extraction efficiency of different kinds of stirring rates(n=3)

3.1.4 解析时间对风味物质萃取捕获效果的影响

解析时间也是影响 HS-SPME 萃取效率的一个重要因素。解析时间的长短一般与涂层厚度相关,萃取涂层越厚,解析时间会相应延长。

解析时间对风味物质捕获效果如图 4 所示,解析时间 3~5 min 内,醛类、酮类、醇类和总峰面积呈现上升趋势,说明在此过程中萃取头将吸附好的风味物质正进行解析状态,还没有解析完毕。当解析时间为 7 min 时,总峰面积和各种风味物质含量达到最大值,说明解析已经完成。当解析时间较短时,风味物质进入 GC-MS 气相柱不完全,导致萃取头有残留,既影响实验检测结果同时也会影响下一批次样品的风味萃取,而时间过长时,GC-MS 插入口的高温会缩短萃取头的使用寿命。因此,7 min 为挥发性风味物质提取的解析时间。

3.2 不同批次酸浆豆腐风味物质稳定性研究

对于酸浆豆腐来说,风味物质的变化是决定酸浆豆腐品质变化的重要因素之一,而风味物质的稳定也是最终酸浆豆腐品质稳定的直接原因。为了保证本研究后续实验的顺利进行,采用最优风味物质捕获方法对不同生产批次的酸浆豆腐中风味物质进行稳定性研究。基于欧式距离矩阵对不同生产批次的酸浆豆腐中风味物质组成和变化的相似性和差异关系描述和比较,其中颜色代表样本间的距离,距离越大颜色越深,样本间的相似性越小。本研究采用 5 个生产批次,每个批次的酸浆豆腐选取 3 个平行实验进行

稳定性观察(#1~#5 代表 5 批次样品,0~2 代表每个批次进行 3 个平行实验)。从图 5 中可以发现,不同批次的酸浆豆腐的风味物质变化情况基本相同,变化的差异性不大,这说明不同批次的酸浆豆腐在加工过程中的风味物质变化是相对稳定的,这为最终产品的质量及后续实验的稳定提供了直接保证。通过对挥发性风味物质验证产品的稳定性,说明了相同的实验结果可行性和重现性较好,可为后期酸浆豆腐标准化生产提供一个量化的标准,为工业化生产提供理论依据。

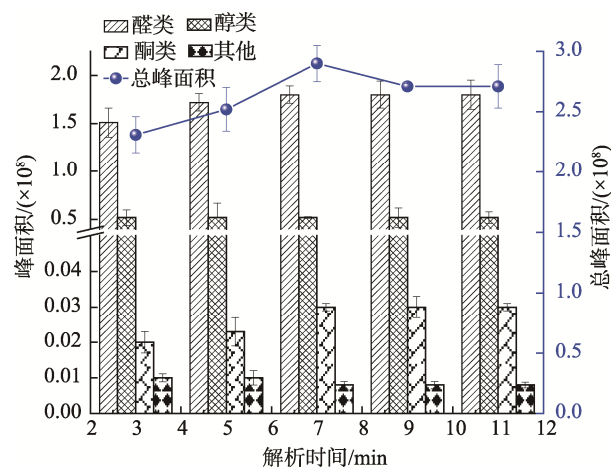


图 4 不同解析时间的风味物质捕获效果(n=3)

Fig.4 Extraction efficiency of different kinds of desorption time(n=3)

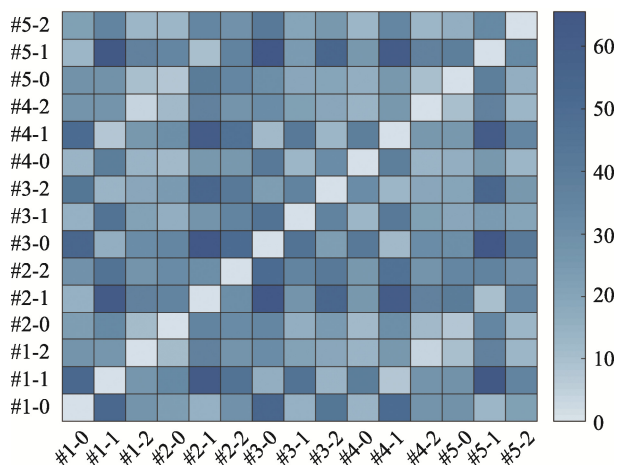


图 5 不同批次酸浆豆腐风味物质的稳定性

Fig.5 Stability of flavor substances of fermented soybean whey tofu in different batches

3.3 酸浆豆腐加工过程中风味物质的变化

挥发性风味物质的变化是酸浆豆腐加工过程中嗅觉变化的最直观体现,不同的加工阶段会产生独特的风味特性,采用上述最优风味检测方法对不同加工过程的挥发性物质进行测定。

如表 2 所示, 不同的加工过程共检测到 90 种风味物质, 分别为: 醛类 17 种、醇类 7 种、酸类 9 种、酮类 9 种、酯类 9 种、呋喃类 1 种、烷烃类 12 种、烯烃类 8 种、芳香族化合物 18 种, 其中制浆、煮浆、点浆、蹲脑 10~20 min 和压制阶段各包含 27、25、32、39、45、22 种挥发性风味物质。研究发现豆腥味是生浆中不良风味的主要体现形式, 主要包括脂质氧化后产生的己醛, 具有令人不悦的“草腥味”^[15]、浓郁的绿叶气味的 2-己烯醛^[16]以及具有“蘑菇-壤香”的气味的 1-辛烯-3 醇, 在整个加工过程中其 3 者含量最高, 分别为 135.52、327.99 和 559.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 分别是熟浆中的 2.17、34.27 和 1.47 倍。生浆在加热过程风味物质发生较大变化, 豆腥和酸涩味伴随着香甜气味的产生而逐渐消失, 产生苯甲醛、2,4-癸二烯醛、3-乙基-苯甲醛等芳香醛类化合物, 如 2-戊基呋喃具有独特的焦糖香味并伴有果香与面包香, 略有甜味^[17]。从感官评价雷达图(图 6)中可以发现生浆中的风味值和口感值较低, 而熟浆和酸浆豆腐的风味值、口感值较高, 且酸浆豆腐的质地较好, 弹性较大。随着加入酸浆后进行蹲脑, 乳酸菌进行充分反应, 开始直接生成一些风味物质, 如小分子的醛类、酸类等, 例如生成肉桂醛、3-呋喃甲醛、苯甲醇和氯甲酸辛酯等化合物。研究发现在压制过程中风味物质会有大量的散失, 主要是一些存在于空气或黄浆水中的风味物质发生减少或消失, 导致酸浆豆腐中风味物质种类下降。因此, 不同加工阶段中风味物质所表现的感官特征也有所差异。

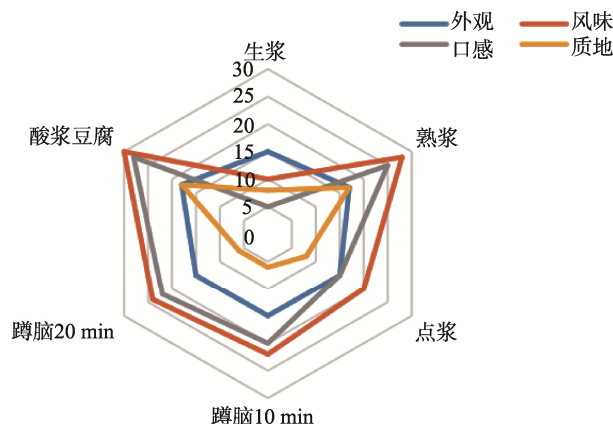


图 6 酸浆豆腐不同加工阶段的感官评价
Fig.6 Sensory evaluation of fermented soybean whey tofu at different processing stages

3.4 酸浆豆腐不同加工阶段风味物质的比较分析

本研究对 90 种挥发性风味物质进行多元统计分析酸浆豆腐在加工阶段风味物质变化情况。采用聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 描述和比较风味物质在不同加工过程中的相似性和差异关系。根据酸浆豆腐样本的聚类情况(图 7), 可以将酸浆豆腐加工过程分为 4 类: 第一类为制浆阶段, 第二类为煮浆阶段, 第三类为点浆阶段, 第四类为蹲脑和压制后样品形成的风味。由表 1 可知生浆在加热形成熟浆后, 风味物质发生较大变化, 其口感和香

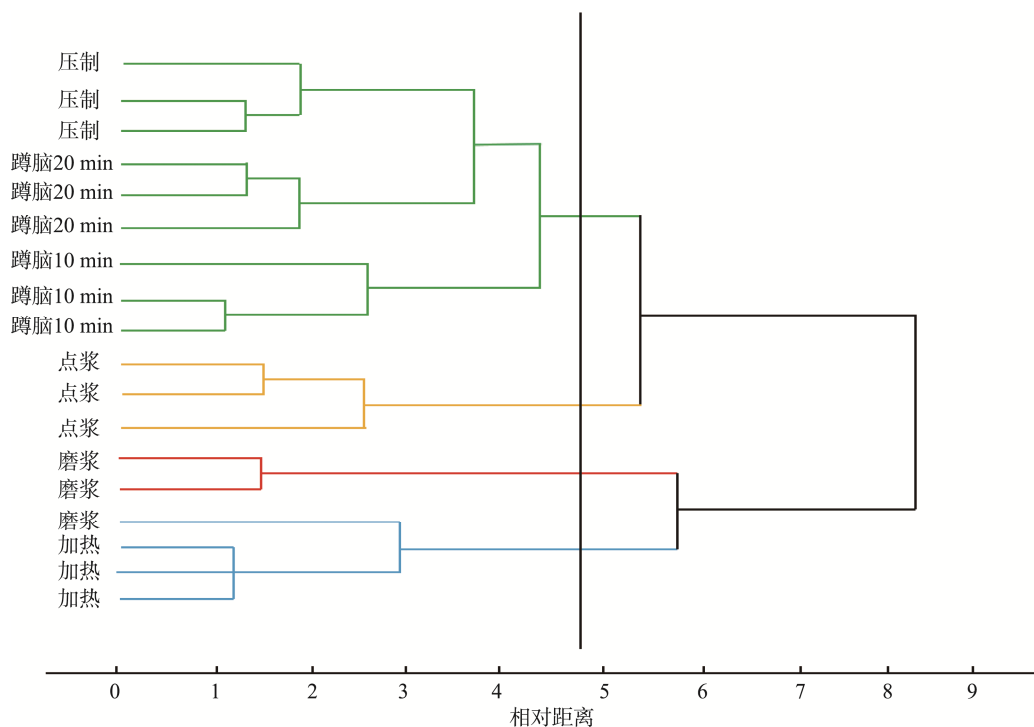


图 7 酸浆豆腐不同加工阶段风味物质的聚类分析
Fig.7 HCA analysis of flavor substances in fermented soybean whey tofu in different processing stages

表 2 酸浆豆干加工过程中挥发性风味物质含量变化($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Table 2 Changes in organic acid during FSWT production($\mu\text{g}/\text{kg}$)

风味物质	保留时间/min	生浆	熟浆	点脑	蹲脑 10 min	蹲脑 20 min	压制
醛类							
己醛	8.48	135.52	62.57	22.96	157.36	168.86	167.49
2-己烯醛,(E)-	14.83	327.99	9.57	24.15	38.14	9.49	-
壬醛	21.79	9.02	16.28	9.69	16.08	15.85	27.72
2,6-壬二烯醛,(E,E)-	28.06	2.88	-	-	-	-	-
苯甲醛	26.08	-	8.11	6.11	17.33	23.41	71.48
2-辛烯醛,(E)-	22.97	-	6.43	6.43	12.93	12.03	20.25
2,4-癸二烯醛	34.45	-	3.43	3.23	10.81	11.81	16.27
5-乙基环戊基-1-烯醛	22.42	-	11.69	10.01	-	8.79	-
3-乙基-苯甲醛	31.59	-	4.17	-	-	7.27	-
肉桂醛,(E)-	38.32	-	-	6.94	-	3.85	-
3-呋喃甲醛	24.38	-	-	46.33	-	92.03	-
2-壬烯醛,(E)-	26.46	-	-	9.19	-	-	-
2,4-壬二烯醛,(E,E)-	31.46	-	-	2.18	3.94	5.27	-
4-乙基-苯甲醛	31.59	-	-	-	2.93	-	10.62
2-乙基-苯甲醛	31.59	-	-	-	5.18	-	-
2,4-七烯醛,(E,E)-	25.14	-	-	-	-	-	11.81
2,5-呋喃二甲醛	37.77	-	-	-	-	-	34.66
醇类							
1-辛烯-3-醇	24.00	559.87	381.15	258.83	641.97	732.55	289.65
3-己烯-1-醇,(E)-	21.64	8.23	-	35.43	-	50.80	-
2-己烯-1-醇,(E)-	22.44	57.88	-	-	-	-	-
环己醇	22.44	17.82	-	-	-	-	-
苯甲醇	36.26	-	-	0.84	2.58	4.66	10.96
4-[3,4-二甲氧基环己基]-正丁醇	40.10	-	-	1.20	-	-	-
9-癸-2-醇	40.96	-	-	-	9.48	-	-
酸类							
己酸	35.84	229.91	-	503.46	31.51	28.87	66.95
2-己烯酸	37.74	13.57	-	-	-	-	-
月桂酸	41.27	12.34	-	-	-	-	-
Z-8-甲基-9-十四烯酸	40.18	6.55	-	-	-	-	-
苯甲酸	41.18	339.97	-	467.39	-	436.37	-
肉豆蔻酸	42.63	17.04	-	3.61	-	20.38	48.97
正十六酸	44.53	22.87	-	8.04	-	-	215.47
2,5-二羟基苯甲酸 3TMS 衍生物	40.62	-	28.20	-	3.91	-	-

续表 2

风味物质	保留时间	生浆	熟浆	点脑	蹲脑 10 min	蹲脑 20 min	压制
戊酸	33.00	-	-	-	-	-	26.43
酮类							
3-辛酮	16.45	46.00	-	19.88	31.90	68.43	-
环己基-15-冠-5	44.71	3.24	-	-	6.03	9.03	16.60
4-苯基-3-丁烯-2-酮	36.15	3.69	-	-	-	-	-
N-[4-溴-正丁基]-2-哌啶酮	37.99	0.23	-	-	-	-	-
二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮	38.23	-	1.77	1.05	3.25	7.66	-
2-羟基环戊烷酮	40.19	-	-	-	5.05	-	-
皮质酮	39.04	-	-	-	-	1.99	-
2,5-二甲基-3-己酮	13.01	-	-	-	-	59.77	-
5,6,7-三甲氧基-1-萘酮	39.94	-	-	-	-	-	27.89
呋喃类							
2-戊基呋喃-	15.60	-	29.12	9.77	16.31	25.06	78.35
酯类							
邻苯二甲酸二丁酯	42.72	23.35	-	-	10.44	-	-
十六酸甲酯	39.69	3.15	-	-	-	6.72	-
2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	36.04	-	1.14	-	2.81	3.97	-
甲酸辛酯	27.36	-	6.97	-	-	-	-
氯甲酸辛酯	27.36	-	-	5.16	-	-	-
苯甲酸 2-溴乙基酯	41.19	-	-	-	30.04	-	-
七氟丁酸辛酯	27.36	-	-	-	14.97	-	-
乙酸苯酯	38.11	-	-	-	-	4.44	-
十四甲基十五烷酸甲酯	39.68	-	-	-	-	-	37.35
烷烃类							
二十烷	25.44	2.81	-	2.47	-	1.35	6.31
十六烷基环氧乙烷	38.93	3.21	-	-	-	-	-
十四烷	22.09	-	4.23	3.07	8.75	8.85	-
十六烷	28.56	-	4.93	5.70	12.98	13.32	-
十五烷	25.45	-	3.91	-	7.56	13.44	-
月桂烷	14.16	-	5.10	-	-	13.50	-
环十六烷	31.72	-	0.69	-	-	9.27	-
二苯甲烷	38.80	-	-	0.37	-	-	-
十三烷	18.11	-	-	-	-	6.73	-
十七烷	31.48	-	-	-	-	2.87	-
十八烷	34.26	-	-	-	-	1.69	-

续表 2

风味物质	保留时间	生浆	熟浆	点脑	蹲脑 10 min	蹲脑 20 min	压制
1,4,7,10,13,16-己酰氯辛烷	40.93	-	-	-	-	-	41.83
烯烃类							
二苯乙烯	41.52	15.55	-	-	-	-	-
D-柠檬烯	13.81	-	9.21	17.87	34.32	35.70	-
(E)-二苯乙烯	41.57	-	-	3.97	-	-	-
1,2,3,4-四甲基-5-亚甲基-1,3-环戊二烯	22.72	-	-	-	2.06	2.61	-
十六烯	40.18	-	-	-	6.16	12.62	-
1-亚甲基-1H-茛	32.41	-	-	-	6.24	-	-
3-乙基-2-甲基-1,3-己二烯	22.42	-	-	-	-	30.99	-
3-乙基-2-甲基-(Z)-1,3-己二烯	22.30	-	-	-	-	-	12.78
芳香化合物							
萘	32.40	5.14	6.44	10.73	17.56	20.65	18.34
苯酚	38.12	4.71	1.19	1.52	2.36	-	-
(2-甲基-1-亚甲基丙基)-苯	36.91	2.00	-	-	-	-	-
4-甲基-1,1'-联苯	36.72	1.87	-	-	-	-	-
1-甲基萘	35.39	-	0.43	3.23	-	1.42	-
2,2', 5,5'-四甲基-1,1'-联苯	39.58	-	1.51	-	2.41	11.67	-
1,3-二甲苯	11.47	-	5.01	-	-	-	-
1,2,3,5-四甲基苯	22.71	-	1.30	-	-	-	-
1,2,3,4-四氢-5-甲基萘	29.28	-	0.97	-	-	-	-
2-甲基萘	35.40	-	-	-	1.31	-	-
伞花烃	16.96	-	-	-	3.56	-	-
1,2,3,4-四氢-6-甲基萘	31.00	-	-	-	1.18	-	-
1,7-二甲基萘	37.85	-	-	-	1.94	-	-
1-乙烯基-3-乙苯	23.60	-	-	-	2.31	-	-
2,6-二叔丁基对甲酚	36.82	-	-	-	1.41	-	-
1,2,3,4-四氢-1,4-二甲基萘	31.82	-	-	-	-	0.8	-
1,2,3-三甲基-4-丙烯基-萘,(E)-	40.24	-	-	-	-	5.59	-
1,2,3,4-四氢-2,5,8-三甲基-萘	34.55	-	-	-	-	0.57	-

气更容易使消费者接受,在蹲脑过程中经过乳酸菌水解、游离氨基酸和有机酸共同作用^[18],挥发性风味物质种类达到最多,在这个过程中还会生成一些新的风味物质促进酸浆豆腐独特风味的形成,因此,在后续实验或调控研究中可适度延长煮浆与蹲脑时间以促进更多良好风味的形成。

4 结论与讨论

本研究采用 HS-SPME-GC-MS 法对酸浆豆腐中风味物质成分进行全面表征,同时对风味物质的捕获方法进行优化,

具有较高的精密度和检测范围,结合最优萃取技术条件表明不同批次酸浆豆腐加工过程中风味物质变化具有稳定性,为最终产品的质量稳定提供了直接保证。通过对酸浆豆腐不同加工阶段风味物质的变化规律进行聚类分析,将酸浆豆腐加工过程分为 4 类,第二类熟浆产生的风味物质从滋味特性方面体现较好,第四类蹲脑及压制过程中香气成分的含量较多,因此在后续研究中可适度延长煮浆与蹲脑时间以促进更多良好风味的形成,以科学的终点判断代替人为感官,同时也为酸浆豆腐工业化生产、稳定产品品质提供理论指导。

参考文献

- [1] 于寒松, 陈今朝, 张伟, 等. 两种工艺生产豆腐的营养成分与品质特性的关系[J]. 食品科学, 2015, 36(19): 49-54.
Yu HS, Chen JZ, Zhang W, *et al.* Relationship between nutritional components and quality characteristics of tofu produced by two processes [J]. Food Sci, 2015, 36(19): 49-54.
- [2] 杨春华, 于森, 张雪楠, 等. 豆浆制作工艺对酸浆豆制品品质影响分析[J]. 大豆科学, 2019, 38(4): 607-614.
Yang CH, Yu M, Zhang XN, *et al.* Analysis on the influence of soybean milk processing technology on the quality of soya bean curd [J]. Soybean Sci, 2019, 38(4): 607-614.
- [3] 李笑梅, 涂婧, 王嘉琪, 等. 1 株酸浆豆腐中产蛋白酶菌种的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2018, 39(5): 101-105.
Li XM, Tu J, Wang JQ, *et al.* Isolation and identification of a protease producing strain from fermented tofu [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(5): 101-105.
- [4] 王嘉琪, 吕铭守, 涂婧, 等. 云南建水酸浆豆腐中乳酸菌的生长特性[J]. 食品工业科技, 2018, (8): 90-94.
Wang JQ, Lv MS, Tu J, *et al.* Growth characteristics of lactic acid bacteria in fermented bean curd of Jianshui, Yunnan province [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(8): 90-94.
- [5] 刘琳琳, 王嘉琪, 曾剑华, 等. 云南建水豆腐酸浆中乳酸菌的分离与鉴定[J]. 中国食品学报, 2019, 19(11): 239-245.
Liu LL, Wang JQ, Zeng JH, *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented bean curd in Jianshui of Yunnan province [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2019, 19(11): 239-245.
- [6] Shi YG, Yang Y, Piekoszewski W, *et al.* Influence of four different coagulants on the physicochemical properties, textural characteristics and flavour of tofu [J]. Int J Food Sci Technol, 2020, 55(3): 1218-1229.
- [7] 夏宁, 石彦国, 王晓琪, 等. 豆浆中挥发性成分顶空固相微萃取条件的优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(1): 262-266.
Xia N, Shi YG, Wang XQ, *et al.* Optimization of headspace solid phase microextraction conditions of volatile components in soybean milk [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(1): 262-266.
- [8] Qiao ZH, Chen XD, Cheng YQ, *et al.* Microbiological and chemical changes during the production of acidic whey, a traditional chinese tofu-coagulant [J]. Int J Food Prop, 2010, 13(1): 90-104.
- [9] 孙灵湘. 豆浆风味模拟体系的构建及各组分对其风味组成的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
Sun LX. Construction of soybean milk flavor simulation system and effects of its components on its flavor composition [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.
- [10] Majcher M, Jeleń H. Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks [J]. J Food Compos Anal, 2009, 22(6): 606-612.
- [11] Xia Y, Zhong F, Chang Y, *et al.* An aromatic lexicon development for soymilks [J]. Int J Food Prop, 2014, 18(1): 125-136.
- [12] Ceva-Antunes P, Bizzo H, Alves S, *et al.* Analysis of volatile compounds of tapreba (*Spondias mombin* L.) and caja (*Spondias mombin* L.) by simultaneous distillation and extraction (SDE) and solid phase microextraction (SPME) [J]. J Agric Food Chem, 2003, (51): 1387-1392.
- [13] Frank DC, Owen CM, Patterson J. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds [J]. Lebensm Wissensch Technol, 2004, (37): 139-154.
- [14] Perez-Gonzalez M, Gallardo-Chacon JJ, Valencia-Flores D, *et al.* Optimization of a headspace SPME GC-MS methodology for the analysis of processed almond beverages [J]. Food Anal Methods, 2015, 8(3): 612-623.
- [15] Solina M. Volatile aroma components of soy protein isolate and acid-hydrolysed vegetable protein [J]. Food Chem, 2005, 90(4): 861-873.
- [16] 吴玉营, 钟芳, 王璋. 无腥昧豆乳加工条件的确定[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(5): 5-10.
Wu YY, Zhong F, Wang Z. Determination of processing conditions of non fishy soybean milk [J]. J Wuxi Univ Light Ind, 2003, 22(5): 5-10.
- [17] Polisel-scopei FH, Hernandez-herrero M, Guamis B, *et al.* Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH) [J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2013, 20(10): 73-80.
- [18] Tang AL, Shah NP, Wilcox G, *et al.* Fermentation of calcium-fortified soymilk with *Lactobacillus*: Effects on calcium solubility, isoflavone conversion, and production of organic acids [J]. J Food Sci, 2007, 72(9): 431-436.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

杨 杨, 博士, 讲师, 主要研究方向为大豆、谷物化学及加工机理。
E-mail: foodyangyang@163.com

张 娜, 博士, 教授, 主要研究方向为食品蛋白与食品安全。
E-mail: foodzhangna@163.com