

牛肉酸汤配方优化及其挥发性风味物质分析

邓雅欣^{1,2}, 赵良忠^{1,2*}, 周晓洁^{1,2}, 李明^{1,2,3}, 庾坤^{1,2}, 车丽娜^{1,2},
莫鑫^{1,2}, 谢春平^{1,2}

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 邵阳 422000; 2. 豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 邵阳 422000;
3. 镇远乐豆坊食品有限公司, 镇远 557700)

摘要: 目的 以辣椒和牛肉为原料, 研究牛肉酸汤的最佳配方, 并分析其挥发性风味物质。**方法** 通过单因素和正交试验, 研究辣椒品种、牛肉预处理方法、姜蒜比例、葡萄糖乳糖比例对牛肉酸汤色差、总酸及感官评分的影响, 得到牛肉酸汤最佳配方; 利用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用(headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)技术对其风味物质进行分析。**结果** 牛肉酸汤最佳辣椒品种为红尖椒, 牛肉预处理方法为水解处理, 姜蒜比例为 1:3(*m:m*)、葡萄糖乳糖比例为 2:1(*m:m*); 此条件下牛肉酸汤总酸含量为 26.91g/kg, 产品口感协调、酸香浓郁。在牛肉酸汤检测出 62 种风味物质, 比传统酸汤多 23 种。牛肉的添加使酸汤中的己酸乙酯含量增加了 33.62%, 反式-4-癸烯酸乙酯、苯甲酸乙酯、己酸、棕榈醛、柠檬醛等是牛肉酸汤特有的风味物质。**结论** 发酵得到的牛肉酸汤风味浓郁、口感协调, 研究结果可为牛肉酸汤产品优化及酸汤风味评价提供试验依据。

关键词: 牛肉酸汤; 配方优化; 总酸; 传统红酸汤; 风味物质

Optimization of beef sour soup recipe and analysis of its volatile flavor substances

DENG Ya-Xin^{1,2}, ZHAO Liang-Zhong^{1,2*}, ZHOU Xiao-Jie^{1,2}, LI Ming^{1,2,3}, YU Kun^{1,2}, CHE Li-Na^{1,2},
MO Xin^{1,2}, XIE Chun-Ping^{1,2}

(1. College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang 422000, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Soybean Products Processing and Safety Control, Shaoyang 422000, China;
3. Zhenyuan Ledoufang Food Co., Ltd., Zhenyuan 557700, China)

ABSTRACT: Objective To study the best formula of beef sour soup, with chili and beef as raw materials, and analyze its volatile flavor substances. **Methods** Through single factor and orthogonal experiments, the effects of pepper varieties, beef pretreatment methods, the proportion of ginger and garlic, and the proportion of glucose and lactose on the color difference, total acid and sensory score of beef sour soup were studied, and the optimal formula of beef sour soup was obtained. The flavor compounds were analyzed by headspace solid-phase microextraction

基金项目: 湖南省研究生科研创新项目(CX20190973)、湖南省科技创新计划资助项目(2019TP1028、2019SK2122、2019NK4229)、贵州省科技支撑项目(黔科合支撑[2020]1Y150号)、贵州传统发酵食品工程技术中心(黔科合平台人才[2018]5251)

Fund: Supported by the Research and Innovation Program for Postgraduates in Hunan Province(CX20190973), Science and Technology Innovation Program of Hunan Province (2019TP1028, 2019SK2122, 2019NK4229), Science and Technology Support Project of Guizhou Province(Guizhou Branch Support [2020]1Y150), and Traditional Fermented Food Engineering Technology Center of Guizhou(Talent of Guizhou Science Cooperation Platform [2018]5251)

***通信作者:** 赵良忠, 硕士, 教授, 主要研究方向为食品科学技术。E-mail: sys169@163.com

***Corresponding author:** ZHAO Liang-Zhong, Master, Professor, Department of Biological and Chemical Engineering, Shaoyang University, Key Laboratory of Bean Products Processing and Safety Control, Shaoyang 422000, China. E-mail: sys169@163.com

combined with gas chromatography-mass spectrometry. **Results** The best pepper variety of beef sour soup was red pepper. The pretreatment method of beef was hydrolysis, the ratio of ginger to garlic was 1:3(*m:m*), and the ratio of glucose to lactose was 2:1 (*m:m*). Under these conditions, the total acid content of the beef sour soup was 26.91 g/kg, and the product had a harmonious taste and strong acid and flavor. A total of 62 flavor substances were detected in the beef sour soup, and 23 more than that in the traditional sour soup. The addition of beef increased the content of ethyl caproate in the sour soup by 33.62%, and trans-4-decenoic acid ethyl ester, ethyl benzoate, hexanoic acid, palmitic aldehyde and citral were the unique flavor substances in the beef sour soup. **Conclusion** The fermented beef sour soup has rich flavor and harmonious taste. The research results can provide experimental basis for product optimization and flavor evaluation of beef sour soup.

KEY WORDS: beef sour soup; formula optimization; total acid; traditional red sour soup; flavor substances

0 引言

食酸嗜酸是苗侗民族的特色饮食文化,“住不离山,走不离盘(盘山路),穿不离带,食不离酸”这句谚语也充分展现出苗侗民族对酸食的热爱^[1-3]。红酸汤是食酸文化中最具代表性的传统发酵型调味品,包括有以辣椒、西红柿等植物性原料发酵而成的传统红酸汤^[4]以及以爬岩鱼、淡水虾、牛肉等与辣椒混合发酵的鱼酱酸汤、虾酱酸汤、牛肉酸汤等特色红酸汤。红酸汤富含多种维生素、有机酸、矿物质^[5-7]及辣椒碱、番茄红等活性物质,具有抗氧化、防癌、预防消化道疾病等功效^[8-10]。

鱼酱酸汤、虾酱酸汤、牛肉酸汤不仅含有传统红酸汤的营养物质,还富含源于动物性原料的氨基酸、脂肪、小分子肽等活性物质,营养更丰富、口感更丰满^[11]。目前红酸汤的研究主要集中在传统红酸汤的工艺优化、微生物筛选及风味物质与微生物的相关性等领域,关于牛肉酸汤等特色酸汤的研究则极少。牛肉蛋白质含量高、低脂肪、味道鲜美,其氨基酸组成比猪肉更接近人体需要,将牛肉与辣椒等植物性原料混合发酵可得到一种新型的酸汤,大大提高酸汤的营养价值,提升产品品质。

挥发性风味成分是酸汤风味的重要组成成分,主要有酯类、烯炔类、醇类、醛类等化合物^[12-14]。利用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用(headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)技术可实现快速检测,且灵敏度高^[15]。目前已广泛应用于食品风味成分的检测与分析^[16]。

本试验探究辣椒品种、牛肉预处理方法、姜蒜比例及葡萄糖与乳糖比例对牛肉酸汤品质的影响,并通过正交试验优化牛肉酸汤基础配方得到最佳生产工艺。利用 HS-SPME-GC-MS 技术研究牛肉酸汤和传统红酸汤的挥发性风味成分,分析牛肉酸汤挥发性风味物质的来源和特色,为牛肉酸汤的生产提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜红尖椒、线椒、大红椒、二荆条、生姜、牛肉、大蒜、食盐均购于邵阳市沃尔玛超市;风味复合蛋白水解酶(10 万 U/g)、柠檬酸(食品级)(浙江一诺生物科技有限公司);氢氧化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、玉米乳杆菌(*Lactobacillus zeae*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)、肠膜明串株(*Leuconostocmesenteroides*)、传统红酸汤由豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室提供。

传统红酸汤生产方法:以红尖椒为原料,加入大蒜、生姜、白酒等辅料并研磨至浆状,置于陶坛中自然发酵 150 d。

1.2 主要仪器与设备

JMS-50D 型分体式高速胶体磨(廊坊市廊通机械有限公司);3205-FP3010 型食品加工机(德国博朗公司);CR-400 型便携式色差仪(日本柯尼卡美能达公司);7890B 气质联用仪(美国安捷伦公司)。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程及操作要点

牛肉挑选→清洗→切碎→研磨→预处理

↓
辣椒挑选→清洗→切碎→研磨→混合装瓶→接种发酵→成品→检测

操作要点:

1)辣椒、牛肉挑选:选用无虫害、无霉变、无机械损伤、果肉厚且色泽鲜红的新鲜红辣椒,将辣椒去蒂、清洗干净后切碎、研磨;挑选无异味、色泽红润、不发黏的新鲜牛肉。

2)预处理方式:水解处理:将牛肉清洗干净、切碎

研磨 3 min 至浆状后调 pH 值至 4.00 ± 0.05 , 在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下恒温水解 3 h, 然后在沸水浴中灭酶 10 min; 切丁处理: 将牛肉清洗干净, 切成 $1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 大小的丁状; 腌制处理: 将洗净切成 $1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 的牛肉加入调味品腌制 30 min; 研磨处理: 将洗净切碎的牛肉置于食品加工机中研磨 3 min 至浆体均匀, 无明显颗粒。

1.3.2 单因素试验

按菌种接种量为辣椒质量的 5%(下同)、姜蒜添加量 2%、糖添加量 2%, 发酵时间 15 d、发酵温度 $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的工艺条件进行单因素试验, 以总酸含量、色差、感官评分为评价指标。依次对辣椒品种、牛肉预处理方法、姜蒜比例、葡萄糖乳糖比例进行研究。辣椒品种为二荆条、红尖椒、大红椒、线椒; 牛肉预处理方法为切丁、研磨、水解、腌制处理; 姜蒜比例为(1:1、1:2、1:3、2:1、3:1)(*m:m*); 葡萄糖乳糖比例为(1:1、1:2、1:3、2:1、3:1)(*m:m*)。

1.3.3 正交优化试验

在单因素试验基础上选取辣椒品种、牛肉预处理方法、姜蒜比例、葡萄糖乳糖比例为因素, 以总酸为评价指标, 采用四因素三水平的正交试验, 如表 1 所示。

表 1 正交试验因素水平表
Table 1 Level of factors in orthogonal tests

因素	水平		
	1	2	3
A 辣椒品种	大红椒	红尖椒	线椒
B 姜蒜比例	2:1	1:3	3:1
C 葡萄糖与乳糖比例	1:1	1:2	2:1
D 牛肉预处理方法	水解处理	研磨处理	腌制处理

表 2 牛肉酸汤感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation standard of beef sour soup

评价指标	评价标准	分值/分
色泽(20分)	红酸汤颜色较佳, 呈鲜红色	16~20
	红酸汤颜色欠佳, 呈桔红色或淡黄色	10~15
	颜色暗淡, 无光泽	1~9
风味(30分)	具有本品固有的香味和辛辣味, 酸咸适中, 无异味	21~30
	本品固有的香味和辛辣味不足, 无异味涩味	11~20
	无香味和辛辣味, 风味不佳, 有异味	1~10
滋味(20分)	酸味浓郁, 纯正	16~20
	酸味淡, 轻微苦涩味	10~15
	苦涩味明显	1~9
组织状态(30分)	红酸汤呈半固(液)态状, 酱体均匀, 细腻	26~30
	酱体较均匀, 细腻, 黏稠适度	18~25
	粗糙, 酱体分散	1~17

1.3.4 总酸测定

参照 GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》。

1.3.5 色差值测定

参照孙孟京等^[17]方法进行测定。

1.3.6 挥发性风味物质的测定

样品前处理: 准确称取 2.00 g 牛肉红酸汤样品置于 20 mL 的顶空进样瓶中、密封, 在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下水浴萃取 30 min, 顶空吸附 30 min。

GC 条件: 色谱柱: HB-5MS 毛细管色谱柱($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}, 0.25\text{ }\mu\text{m}$); 升温程序: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 以 $6\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 上升到 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、保持 3 min, 然后以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 达到 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, 并在此温度下保持 5 min; 载气为氦气, 流量为 $0.8\text{ mL}/\text{min}$, 进样口温度为 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

MS 条件: 电子冲击(electron impact ionization, EI)能量为 70 eV, 离子源温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, 四重杆温度为 $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在 30~550 AMU 范围内记录 EI 质谱。

定性定量分析: 通过 NIST14.L 质谱数据库检索各组分, 结合保留指数和人工质谱解析及参考文献等方法进行定性; 采用峰面积归一化法定量, 以各组分峰面积与色谱图总峰面积之比表示其相对含量。

以传统红酸汤为对照样, 用上述相同方法分析, 所有试验重复 3 次。

1.3.7 红辣椒酸汤的感官评价

10 位食品专业的学生经过培训后组成感官评价小组, 对产品的色泽、风味、滋味、组织状态 4 个评价因素集进行感官评价。感官评价标准见表 2。

1.3.8 数据分析

数据采用 SPSS21.0 进行统计分析, Origin2018 作图。

2 结果与分析

2.1 牛肉酸汤单因素试验结果

2.1.1 辣椒品种对牛肉酸汤品质的影响

如表 3 所示, 不同辣椒品种对牛肉酸汤色差的 L^* 无显著影响 ($P < 0.05$), 而对 a^* 、 b^* 值有显著影响 ($P < 0.05$)。其中红尖椒红绿值 a^* 、黄蓝值 b^* 最大, 分别为 40.61、50.87, 明显高于其他辣椒品种, 发酵得到牛肉酸汤色泽鲜红, 显然红尖椒适合用于牛肉酸汤生产。由图 1 可知, 辣椒品种对牛肉酸汤的总酸与感官有显著性差异 ($P < 0.05$)。其中红尖椒发酵的牛肉酸汤总酸含量为 22.03 g/kg, 感官评分 82.67 分, 而二荆条、大红椒、线椒发酵的牛肉酸汤的总酸含量分别为 19.45、19.68、18.51 g/kg, 红尖椒发酵的牛肉酸汤总酸含量明显高于其他辣椒品种。成熟后的红尖椒果肉厚皮薄、富含各种维生素和蛋白质, 能够为发酵微生物提供多种营养物质, 且发酵后的牛肉酸汤口感比其他辣椒品种的酸汤更为协调柔和、酸爽可口。综上所述, 选择红尖椒作为牛肉酸汤的发酵原料。

表 3 辣椒品种对牛肉酸汤色差的影响 ($n=3$)
Table 3 Effect of pepper varieties on color difference of beef acid soup ($n=3$)

辣椒品种	L^*	a^*	b^*
二荆条	42.61±2.51 ^a	35.71±1.29 ^b	46.71±2.43 ^{ab}
大红椒	41.31±1.95 ^a	36.53±1.12 ^b	42.96±1.04 ^b
红尖椒	41.53±1.38 ^a	40.61±0.92 ^a	50.87±0.88 ^a
线椒	40.54±1.67 ^a	38.26±2.81 ^{ab}	46.71±2.32 ^b

注: 同列比较, 不同字母表示具有差异性 ($P < 0.05$), 下同。

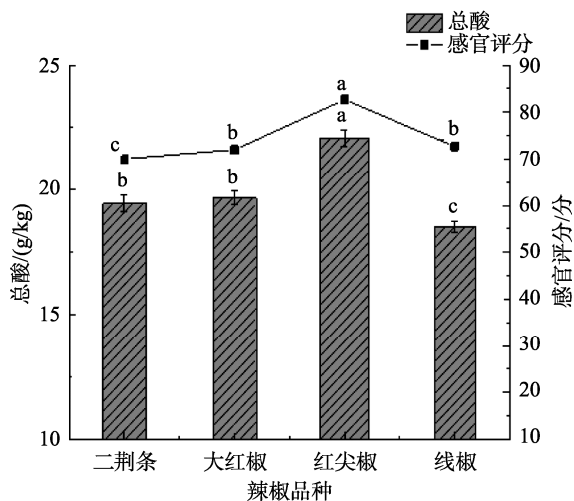


图 1 辣椒品种对牛肉酸汤总酸和感官评分的影响 ($n=3$)
Fig.1 Effect of chili pepper varieties on total acid and sensory score of beef acid soup ($n=3$)

2.1.2 牛肉预处理方法对牛肉酸汤品质的影响

如表 4 可知, 用不同方法预处理的牛肉发酵得到的牛肉酸汤黄蓝值 b^* 无显著差异 ($P < 0.05$), 而明亮值 L^* 有显著差异 ($P < 0.05$), 腌制处理的 L^* 值最小, 可能是腌制时酱油、生抽等调味品的影响; 红绿值 a^* 有明显差异 ($P < 0.05$), 水解处理的 a^* 值最大, 可能原因是牛肉经蛋白酶水解后生成的抗氧化多肽^[18-19], 抑制辣椒中类胡萝卜素氧化, 使得牛肉酸汤红绿度 a^* 比其他预处理方法高, 颜色更为鲜红。由图 2 可知, 用水解牛肉发酵的牛肉酸汤总酸达 22.92 g/kg、感官评分为 85 分, 均高于其他试验组, 说明水解牛肉可促进乳酸菌产酸, 同时风味更为协调。乳酸菌生长的最佳氮源是寡肽^[20], 但乳酸菌对蛋白水解能力弱, 无法直接利用蛋白质进行代谢活动, 需要从外界环境获取, 而牛肉经蛋白酶水解处理后会形成小分子的活性肽和氨基酸, 能够为乳酸菌生长繁殖提供需要的生长因子类似物及基本氨基酸^[21-22], 促进乳酸菌代谢、提高代谢产物合成速率, 因此经水解处理发酵的牛肉酸汤总酸含量更高、感官评价较高。综上所述, 酶水解法是牛肉最佳处理方法。

表 4 牛肉预处理方法对牛肉酸汤色差的影响 ($n=3$)
Table 4 Effect of beef pretreatment on color difference of beef sour soup ($n=3$)

牛肉预处理	L^*	a^*	b^*
切丁处理	42.79±0.76 ^a	40.68±0.57 ^b	46.11±0.51 ^b
水解处理	41.34±0.96 ^a	42.43±0.28 ^a	50.36±0.85 ^a
研磨处理	41.61±0.44 ^a	41.11±0.53 ^b	50.45±2.26 ^a
腌制处理	39.80±0.80 ^b	39.53±0.08 ^c	49.41±2.12 ^a

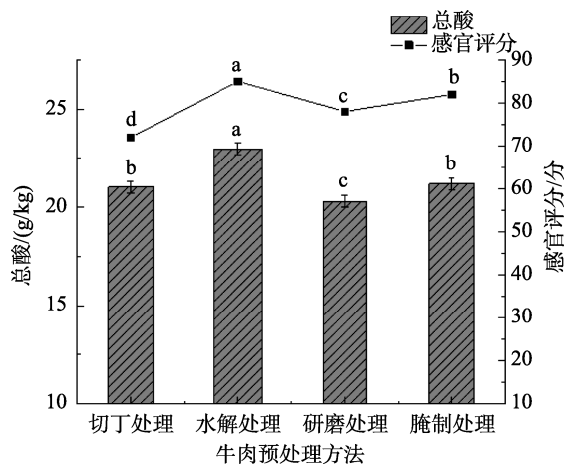


图 2 牛肉预处理方法对牛肉酸汤总酸和感官评分的影响 ($n=3$)
Fig.2 Effect of beef pretreatment on total acid and sensory score of beef sour soup ($n=3$)

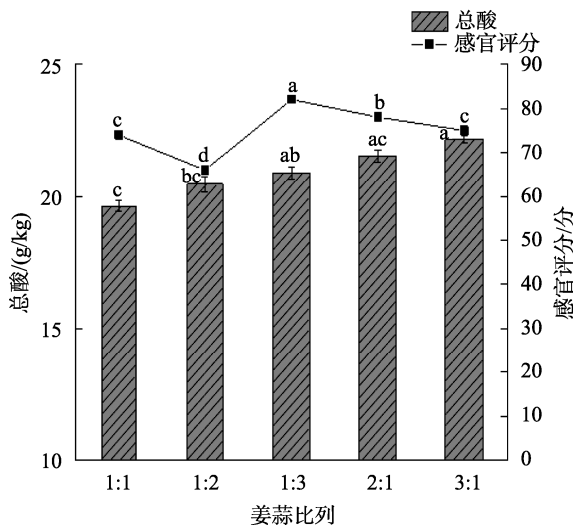
2.1.3 姜蒜比例对牛肉酸汤品质的影响

如表 5 可知, 姜蒜比例对牛肉酸汤的 b^* 无显著影响,

而对 L^* 、 a^* 有显著影响 ($P < 0.05$)，随着姜含量的增加， L^* 、 a^* 值逐渐减小，酸汤颜色逐渐由鲜红变暗红。从图 3 可以看出，不同姜蒜比例的牛肉酸汤酸度有较大差异 ($P < 0.05$)，当姜蒜比为 3:1 ($m:m$) 时总酸达 22.15 g/kg。随着蒜含量的增加总酸含量增大，而感官评分是先增加后减小。可能是大蒜中刺激性的硫化化合物风味愈浓，使牛肉酸汤产生不良风味。由于姜蒜比例为 3:1 ($m:m$) 的总酸与 1:3 ($m:m$) 无明显差异 ($P < 0.05$)，但两者感官存在显著差异 ($P < 0.05$)，且姜蒜比例为 1:3 ($m:m$) 时的感官评价优于姜蒜比例 3:1 ($m:m$)，产品酸度适中、风味较好。综上所述，选择姜蒜比例为 1:3 ($m:m$)。

表 5 姜蒜比例对牛肉酸汤色差的影响 ($n=3$)Table 5 Effect of ginger and garlic ratio on color difference of beef sour soup ($n=3$)

姜蒜比例 ($m:m$)	L^*	a^*	b^*
1:1	45.11±0.28 ^a	40.97±0.32 ^a	48.57±0.52 ^a
1:2	42.85±0.73 ^b	39.48±1.63 ^{ab}	48.11±1.97 ^a
1:3	43.64±1.57 ^{ab}	38.01±1.69 ^b	47.07±1.17 ^a
2:1	44.06±0.77 ^{ab}	40.62±0.99 ^a	50.06±0.70 ^a
3:1	42.59±0.31 ^b	39.89±1.15 ^{ab}	48.10±0.44 ^a

图 3 姜蒜比例对牛肉酸汤总酸和感官评分的影响 ($n=3$)Fig.3 Effect of beef pretreatment on total acid and sensory score of beef sour soup ($n=3$)

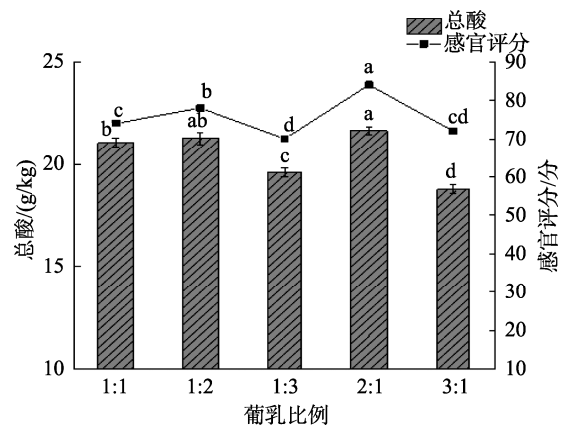
2.1.4 葡萄糖与乳糖比例对牛肉酸汤品质的影响

如表 6 可知，葡萄糖乳糖比例对牛肉酸汤的 L^* 、 a^* 、 b^* 值有显著影响 ($P < 0.05$)，随着葡萄糖含量的增加，明亮值 L^* 先减小后增大、红黄值 a^* 逐渐减小、黄蓝值 b^* 先增加后减小，酸汤颜色红色变浅。从图 4 可以看出随着葡萄糖或乳糖含量的增加，牛肉酸汤的总酸先增加后减少。当

葡萄糖与乳糖比例为 2:1 ($m:m$) 时产酸最高，总酸含量为 21.64 g/kg、感官评分为 84 分。可能原因是，乳酸菌属于化能异养型微生物，能利用葡萄糖、乳糖进行糖酵解产生乳酸等多种代谢物。综上所述，葡萄糖与乳糖最佳比例为 2:1 ($m:m$)。

表 6 葡萄糖乳糖比例对牛肉酸汤色差的影响 ($n=3$)Table 6 Effect of glucose lactose ratio on color difference of beef acid soup ($n=3$)

葡乳比例 ($m:m$)	L^*	a^*	b^*
1:1	42.79±1.18 ^{ab}	41.77±1.99 ^a	53.46±1.08 ^a
1:2	43.63±0.14 ^a	38.08±0.53 ^c	45.08±1.55 ^c
1:3	42.19±0.64 ^{ab}	40.87±0.36 ^{ab}	53.58±0.79 ^a
2:1	42.12±0.91 ^b	40.23±0.13 ^{ab}	53.93±0.71 ^a
3:1	42.31±0.49 ^{ab}	39.25±0.38 ^{bc}	50.43±1.60 ^b

图 4 葡萄糖与乳糖比例对牛肉酸汤总酸和感官评分的影响 ($n=3$)Fig.4 Effect of glucose-lactose ratio on total acid and sensory score of beef acid soup ($n=3$)

2.2 牛肉酸汤配方优化试验结果

由表 7、8 分析可知：影响牛肉酸汤总酸的因素主次顺序为辣椒品种 > 葡萄糖乳糖比例 > 牛肉预处理方法 > 姜蒜比例，最佳工艺组合：辣椒品种为红尖椒、葡萄糖与乳糖比例为 2:1 ($m:m$)、牛肉预处理方法为水解处理、姜蒜比例为 1:3 ($m:m$)；辣椒品种、葡萄糖与乳糖比例、牛肉预处理方法、姜蒜比例 4 个因素对总酸含量的影响均极显著 ($P < 0.01$)。

2.3 优化条件的验证性试验

按最佳因素水平组合 $A_2B_2C_3D_1$ ，进行 3 次平行验证试验，其总酸含量分别为 26.78、27.12、26.83 g/kg，均值为 26.91 g/kg，优于表 7 中的其他试验组。

表 7 正交试验设计与结果
Table 7 Orthogonal design and results

序号	A	B	C	D	总酸/(g/kg)		
					I	II	III
1	1	1	1	1	19.04	18.15	18.45
2	1	2	2	2	18.36	19.40	18.99
3	1	3	3	3	17.57	19.47	18.32
4	2	1	2	3	19.55	17.31	18.23
5	2	2	3	1	26.63	25.41	26.28
6	2	3	1	2	19.17	20.09	19.88
7	3	1	3	2	17.21	17.13	17.30
8	3	2	1	3	15.17	15.80	15.17
9	3	3	2	1	16.14	15.82	16.21
k_1	18.639	18.041	17.880	20.237			
k_2	21.395	20.135	17.779	18.615			
k_3	16.216	18.073	20.590	17.397			
R	5.179	2.094	2.811	2.840			

注: I、II、III 分别表示 3 组重复试验。

表 8 正交试验结果方差分析
Table 8 Analysis of variance of orthogonal test results

方差来源	偏差平方和	自由度	均方(MS)	F 值	F 临界值
A	120.846	2	60.423	156.975	6.01
B	25.918	2	12.959	33.666	6.01
C	45.755	2	22.878	59.435	6.01
D	36.531	2	18.265	47.452	6.01
试验误差	6.929	18	0.385		
总和	242.917	27			

注: $F_{0.05(2, 18)}=3.55$, $F_{0.01(2, 18)}=6.01$ 。

2.4 牛肉酸汤风味成分分析

通过面积归一化法求得各类化合物的相对百分含量, 结果见表 9。由表可知牛肉酸汤中挥发性风味成分的种类高于传统红酸汤, 比传统红酸汤多检测出 23 种挥发性风味物质。两者含量较多的均是烯炔类, 其中姜烯类物质含量最高。 α -姜黄烯、姜烯具有特殊的姜香味, 是姜类物质主要的风味成分。

酯类物质主要是发酵产物中的酸、醇反应的结果, 牛肉酸汤、传统酸汤中酯类物质分别有 13 种和 8 种, 相对含量分别为 18.35%和 11.07%, 显然牛肉酸汤的酯类物质种类更多, 含量更为丰富。2 种酸汤共有酯类挥发性物质 7 种, 包括己酸乙酯、水杨酸乙酯、棕榈酸乙酯等酯类物质,

但牛肉的添加使酸汤中的己酸乙酯、水杨酸乙酯、棕榈酸乙酯的相对含量增加, 其中具有曲香、果香味的己酸乙酯含量增加了 33.62%, 水杨酸甲酯、反式-4-癸烯酸乙酯、苯甲酸乙酯、乙酸香叶酯、月桂酸乙酯等酯类物质是牛肉酸汤特有挥发性酯类物质, 其中反式-4-癸烯酸乙酯与苯甲酸乙酯具有花香和果香味, 月桂酸乙酯具有脂肪与奶油香, 乙酸香叶酯具有玫瑰和薰衣草香味。这些特有的酯类物质丰富了牛肉酸汤风味, 使牛肉酸汤风味更为突出。

醇类物质对酸汤风味贡献较大。牛肉酸汤、传统酸汤中共有的醇类物质 3 种, 其中芳樟醇在 2 种酸汤中的相对含量分别为 3.04%和 3.27%, 芳樟醇主要呈现木香、果香味; 牛肉的加入让酸汤中的芳香醇类物质种类更为丰富, 如具有酒香味的乙醇, 温和、甜玫瑰花气息的香叶

醇、香芹醇等。

酸类挥发性化合物主要是乳酸菌进行同型发酵和异型发酵时产生的,也是乳酸发酵过程中主要的代谢产物。

加入牛肉发酵的红酸汤酸类物质更为丰富,如脂肪在多种酶的作用下生成具有特殊风味的己酸^[23]。而且没有检测出传统红酸汤中具有酸臭味的丁酸风味成分^[24]。

醛酮类物质香气浓郁强烈,牛肉酸汤中有着花香味的棕榈醛,浓郁柠檬香味的柠檬醛等其他醛类,与传统红酸汤相比,醛类挥发性风味物质含量更多。醚类物质主

要来源大蒜中有机含硫化合物,在高温情况下可能会发生水解或自由基重排反应,转化生成一系列的挥发性含硫物质^[25]。

综上所述,加入水解牛肉发酵的牛肉酸汤挥发性风味成分种类与含量比传统红酸汤更为丰富。牛肉的加入不仅丰富了红酸汤的营养价值,同时也为发酵微生物新陈代谢提供了营养物质,丰富了红酸汤发酵过程中风味物质的代谢途径,使得红酸汤风味更为浓郁、口感独特。

表9 牛肉酸汤与传统酸汤风味物质种类及含量
Table 9 Types and content of flavor substances in beef sour soup and traditional sour soup

类别	化合物	分子式	相对含量/%	
			牛肉酸汤	传统红酸汤
烯烃类	α -姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂	10.81±0.22	15.31±0.38
	β -姜黄烯	C ₁₅ H ₂₄	7.60±0.21	-
	姜烯	C ₁₅ H ₂₄	-	12.29±0.11
	β -柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	5.04±0.14	0.16±0.05
	β -倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	-	9.09±0.23
	β -红没药烯	C ₁₅ H ₂₄	4.42±0.13	9.21±0.15
	1-(烯丙基二硫基)-1-丙烯	C ₆ H ₁₀ S ₂	2.32±0.10	-
	苯乙烯	C ₈ H ₈	2.06±0.17	-
	二硫化二丙烯	C ₆ H ₁₀ S	1.98±0.16	4.44±0.23
	1,2-二硫代环戊烯	C ₃ H ₄ S ₂	0.42±0.12	-
	α -胡椒烯	C ₁₅ H ₂₄	0.32±0.07	1.17±0.12
	1-十四烯	C ₁₄ H ₂₈	0.26±0.11	-
	(Z)- γ -没药烯	C ₁₅ H ₂₄	0.30±0.10	0.62±0.11
	反式- β -金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	0.22±0.08	0.70±0.12
	4,8,12-三甲基十三-1,3,7,11-四烯	C ₁₆ H ₂₆	0.21±0.08	-
	(+)-环苜蓿烯	C ₁₅ H ₂₄	0.20±0.14	0.53±0.12
	苾烯	C ₁₀ H ₁₆	0.19±0.02	2.45±0.09
	2-甲基-1-十四(碳)烯	C ₁₅ H ₃₀	0.18±0.11	1.49±0.05
	(+)-7-表-倍半萜烯	C ₁₅ H ₂₄	0.15±0.02	-
	3-萆烯	C ₁₀ H ₁₆	0.10±0.08	0.53±0.09
	β -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	0.10±0.03	0.35±0.07
	(E)-B-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	-	0.19±0.11
	酯类	己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	11.05±0.23
水杨酸乙酯		C ₉ H ₁₀ O ₃	2.44±0.14	1.17±0.09
水杨酸甲酯		C ₈ H ₈ O ₃	1.54±0.13	-
棕榈酸乙酯		C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.28±0.05	0.74±0.12
反式-4-癸烯酸乙酯		C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.45±0.12	-
亚油酸乙酯		C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0.32±0.17	0.16±0.04
苯甲酸乙酯		C ₉ H ₁₀ O ₂	0.23±0.10	-
肉豆蔻酸乙酯		C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.22±0.09	-
辛酸乙酯		C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.20±0.13	0.26±0.11
乙酸香叶酯		C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.19±0.09	-
橙花醇乙酸酯		C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.14±0.09	0.23±0.10
2-己烯酸乙酯		C ₈ H ₁₄ O ₂	0.13±0.06	-
月桂酸乙酯		C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.19±0.05	-
亚麻酸乙酯		C ₂₀ H ₃₄ O ₂	0.11±0.08	0.16±0.11

表 9(续)

类别	化合物	分子式	相对含量/%	
			牛肉酸汤	传统红酸汤
醚类	二烯丙基三硫醚	C ₆ H ₁₀ S ₃	0.76±0.13	-
	二烯丙基四硫醚	C ₆ H ₁₀ S ₄	0.38±0.18	-
	甲基烯丙基三硫醚	C ₄ H ₈ S ₃	-	0.21±0.12
	烯丙基二硫醚	C ₆ H ₁₀ S ₂	14.25±0.16	0.26±0.12
醇类	乙醇	C ₂ H ₆ O	3.41±0.15	-
	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	3.04±0.18	3.27±0.21
	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.70±0.21	-
	香芹醇	C ₁₀ H ₁₆ O	0.66±0.18	-
	橙花醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.43±0.14	2.21±0.09
	2-茨醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.17±0.08	1.04±0.21
	(D)-(-)-2,3-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂	0.12±0.05	-
	甲醛缩二甲醇	C ₃ H ₈ O ₂	-	0.18±0.09
	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	2.67±0.27	-
	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	1.35±0.35	-
酸类	L-乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	0.85±0.21	0.23±0.09
	甲基丙二酸	C ₄ H ₆ O ₅	0.21±0.12	-
	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.15±0.08	0.18±0.09
	丁酸	C ₄ H ₈ O ₂	-	0.25±0.13
	棕榈醛	C ₁₆ H ₃₂ O	0.71±0.12	-
	十五醛	C ₁₅ H ₃₀ O	0.38±0.10	-
醛酮类	柠檬醛	C ₁₀ H ₁₆ O	0.37±0.13	-
	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	0.32±0.14	0.27±0.11
	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	0.23±0.11	0.30±0.12
	β-大马烯酮	C ₁₃ H ₁₈ O	0.15±0.08	-
	2,4-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	-	0.46±0.12
	1-亚甲基-4-(1-甲基乙基)环己烷	C ₁₀ H ₁₆	0.99±0.15	-
	2-甲基四癸烷	C ₁₅ H ₃₂	0.45±0.13	1.73±0.17
烷烃类	正丁基环戊烷	C ₉ H ₁₈	0.14±0.07	-
	2-甲基十五烷	C ₁₆ H ₃₄	0.16±0.06	0.81±0.19
	2-甲基十三烷	C ₁₆ H ₃₀	-	2.52±0.21
	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	C ₉ H ₁₀ O ₂	3.01±0.05	-
其他类	丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.13±0.07	-
	5-methyltetrathiane	C ₃ H ₆ S ₄	1.53±0.23	0.37±0.15
	4H-1,2,3-Trithiine	C ₃ H ₄ S ₃	1.38±0.18	-
	3,5-二叔丁基甲苯	C ₁₄ H ₂₂	-	2.83±0.15

注: X±D 表示平行样的相对含量均值与标准差,“-”表示未检出。

3 结论与讨论

本试验研究辣椒品种、姜蒜比例、葡萄糖与乳糖比例、牛肉预处理方法对牛肉酸汤品质的影响,并通过正交试验对其基础配方进行优化。结果表明,牛肉酸汤的最佳基础配方是:辣椒品种为红尖椒、姜蒜比例为 1:3(*m:m*)、葡萄糖与乳糖比例为 2:1(*m:m*)、牛肉预处理方法为水解处理,影响牛肉酸汤总酸的因素依次为辣椒品种、葡萄糖与乳糖比例、牛肉预处理方法、姜蒜比例,且通过方差分析发现 4 个因素对总酸含量有极显著影响($P < 0.01$);通过顶空固相微萃取结合气质联用仪分析牛肉酸汤挥发性风味成分,共检测出 62 种风味物质,比传统酸汤多 23 种。牛肉的添加使酸汤中的己酸乙酯、水杨酸乙酯、棕榈酸乙酯的相对含量增加,其中具有曲香、果香味的己酸乙酯含量增加了 33.62%,除去了具有不良风味的丁酸。其中反式-4-癸烯酸乙酯、苯甲酸乙酯、己酸、棕榈醛、柠檬醛等风味物质是牛肉酸汤特有的风味物质,这些特有的风味物质使牛肉酸汤风味更浓郁、口感更协调。影响牛肉酸汤风味的因素较多,原料、发酵工艺、微生物等都能影响牛肉酸汤的风味。后续将从发酵工艺、微生物代谢与牛肉酸汤风味相关性等方面进行深入研究,以提高牛肉酸汤产品风味与品质。

参考文献

- 谢泓珊. 侗族饮食文化与环境关系的研究[D]. 吉首: 吉首大学, 2017.
XIE HS. A study on the relationship between Dong Minority's food culture and environment [D]. Jishou: Jishou University, 2017.
- 赵德贵. 独特的侗族人食酸、辣饮食文化[J]. 烹调知识, 2020, (6): 57-59.
ZHAO DG. The unique sour and spicy food culture of the Dong people [J]. Cook Knowl, 2020, (6): 57-59.
- 霍晓丽. 贵州苗族酸文化的应用与发展[J]. 四川旅游学院学报, 2020, (1): 11-15.
HUO XL. The application and development of Miao's Sour diet culture in Guizhou [J]. J Sichuan Tourism Univ, 2020, (1): 11-15.
- 张东亚. 红酸汤发酵工艺优化及品质控制研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2018.
ZHANG DY. Research on the optimization of fermentation process and quality control of the red sour soup [D]. Guiyang: Guizhou University, 2018.
- 邹大维. 凯里红酸汤营养成分分析与研究[J]. 中国调味品, 2015, 40(5): 129-132.
ZOU DW. Analysis and research on nutrients in Kaili red sour soup [J]. China Cond, 2015, 40(5): 129-132.
- 鲁杨, 王楠兰, 李贤, 等. 凯里红酸汤主要营养和功能成分的分析研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(7): 163-166.
LU Y, WANG NL, LI X, et al. Analysis and research on main nutrition and functional components of Kaili red acid soup [J]. Food Res Dev, 2019, 40(7): 163-166.
- 鲁青松, 徐俐, 牟琴, 等. 凯里红酸汤有机酸的提取及抗氧化活性[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 89-94.
LU QS, XU L, MOU Q, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of organic acid from Kaili red sour soup [J]. Food Ind, 2019, 40(2): 89-94.
- 潘季红, 秦礼康, 文安燕, 等. 贵州红酸汤营养品质及呈味特征分析[J]. 中国调味品, 2020, 45(6): 43-48, 53.
PAN JH, QIN LK, WEN AY, et al. Analysis of nutritional quality and flavor characteristics of red acid soup in Guizhou province [J]. China Cond, 2020, 45(6): 43-48, 53.
- SLAM A, SU AJ, ZENG ZM, et al. Capsaicin targets tNOX (ENOX2) to inhibit G1 cyclin/CDK complex, as assessed by the cellular thermal shift assay (CETSA) [J]. Cells, 2019, 8: 1275-1286.
- WU T, GAO YF, HAO JY, et al. Capsanthin extract prevents obesity, reduces serum TMAO levels and modulates the gut microbiota composition in high-fat-diet induced obese C57BL/6J mice [J]. Food Res Int, 2019, 128. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108774
- 周晓琴, 石庆楠, 陈中爱. 凯里特色鱼酱酸品质特性研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(3): 87-91.
ZHOU XQ, SHI QN, CHEN ZA. Study on quality characteristics of typical fish sauce acid from Kaili [J]. China Cond, 2020, 45(3): 87-91.
- 徐俐, 戴岳宗. 乳酸菌对酸汤挥发性物质的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 505-509.
XU L, DAI YZ. Effects of different lactic acid bacteria in sour soup on volatile flavor compounds [J]. Food Sci, 2008, 29(11): 505-509.
- LI DF, DUAN FX, TIAN QM, et al. Physicochemical, microbiological and flavor characteristics of traditional Chinese fermented food Kaili red sour soup [J]. LWT, 2021, 142. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.110933
- 杨进军, 胡金祥, 王林, 等. 气质联用技术结合电子鼻分析红酸汤挥发性风味差异[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 234-242.
YANG JJ, HU JX, WANG L, et al. Analysis of the volatile flavor substances in different red sour soup based on electronic nose and GC-MS [J]. Food Ferme Ind, 2020, 46(14): 234-242.
- 吴江超, 郭玉霞, 赵群. 国内应用 SPME-GC-MS 技术在食品挥发性风味物质检测中的研究进展[J]. 农产品加工, 2017, (22): 62-64.
WU JC, GUO YX, ZHAO Q. Domestic research progress on solid phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) determination of volatile components in foods [J]. Farm Prod Process, 2017, (22): 62-64.
- 杨艳, 潘亨琴, 贺银菊, 等. 气质联用技术在发酵食品风味分析中的研究进展[J]. 广州化工, 2019, 47(9): 30-31, 50.
YANG Y, PAN HQ, HE YJ, et al. Research progress on GC-MS in flavor analysis of fermented food [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, 47(9): 30-31, 50.
- 孙孟京, 赵良忠, 李明, 等. 基于模糊数学感官评价和响应面法的红辣椒酸汤发酵工艺研究[J]. 食品科技, 2020, 45(3): 142-150.
SUN MJ, ZHAO LZ, LI M, et al. Based on fuzzy sensory evaluation and response surface method of red pepper sour soup fermentation process research [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(3): 142-150.
- 李希宇, 杨怀谷, 唐道邦, 等. 牛肉蛋白水解及活性肽功能特性的研究进展[J/OL]. 食品工业科技: 1-11 [2021-03-15]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070004>.
LI XY, YANG HG, TANG DB, et al. Research progress on beef proteolysis and functional properties of active peptides [J/OL]. Sci

- Technol Food Ind: 1-11 [2021-03-15]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070004>.
- [19] 周小理, 张正强. 牛肉水解液的制备及其抗氧化活性的研究[J]. 食品工业, 2007, (2): 24–27.
ZHOU XL, ZHANG ZQ. Preparation for beef hydrolyzate and its antioxidant activity [J]. Food Ind, 2007, (2): 24–27.
- [20] 陈建康, 包建强. 酶解法制备草鱼皮蛋白水解物增殖嗜热链球菌[J]. 食品科学, 2016, 37(5): 144–148.
CHEN JK, BAO JQ. Enzymatic preparation of protein hydrolysate from grass carp skin for use as a nitrogen source for streptococcus thermophiles growth [J]. Food Sci, 2016, 37(5): 144–148.
- [21] ZHANG GY, MILLS DA, BLOCK DE. Development of chemically defined media supporting high-cell-density growth of *Lactococci*, *Enterococci*, and *Streptococci* [J]. Appl Environm Microbiol, 2009, 75(4): 1080–1087.
- [22] 高海燕. 乳清蛋白水解物在乳酸菌培养基中的应用研究[D]. 内蒙古: 内蒙古农业大学, 2012.
GAO HY. The application of whey protein hydrolysates in lactic bacteria culture [D]. Inner: Inner Mongolia Agricultural University, 2012.
- [23] 郑晓吉. 新疆哈萨克族奶酪微生物菌群结构及特征风味解析[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
ZHENG XJ. Microbail community flora in Kazak artisanal cheese and analysis on the formation flavor compounds [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [24] 何扬波, 李咏富, 钟定江, 等. 电子鼻和气相离子迁移谱技术比较瓮臭味及正常红酸汤的风味差异[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 216–221, 227.
HE YB, LI YF, ZHONG DJ, *et al.* Analysis on the flavor difference of red sour soup including urn odor and normal flavor samples with electronic nose and gas chromatography-ion mobility spectroscopy [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(14): 216–221, 227.
- [25] 胡兴鹏, 周华, 杜阳敏, 等. 蒜氨酸的热分解及其机理分析[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 64–68.
HU XP, ZHOU H, DU YM, *et al.* Thermal decomposition of alliin and mechanism analysis [J]. Food Sci, 2017, 38(3): 64–68.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



邓雅欣, 硕士研究生, 主要研究方向为果蔬清洁加工。

E-mail: 1197315324@qq.com



赵良忠, 硕士, 教授, 主要研究方向为食品科学技术。

E-mail: sys169@163.com