

杨镡, 王天杨, 吴宝珠, 等. 基于 GC-IMS 结合多元统计模型分析不同酵母菌发酵对豆汤酱挥发性化合物的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(14): 282–289. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090051

YANG Lian, WANG Tianyang, WU Baozhu, et al. Effects of Yeast Fermentation with Different Varieties on Flavor Compounds of Bean Sauce Based on GC-IMS Combined With Multivariate Statistical Methods[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(14): 282–289. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090051

· 分析检测 ·

基于 GC-IMS 结合多元统计模型分析不同酵母菌发酵对豆汤酱挥发性化合物的影响

杨 镡^{1,2}, 王天杨¹, 吴宝珠¹, 熊怡玲¹, 易宇文¹, 朱开宪¹, 乔 兴¹, 邓 静^{1,*}, 吴华昌^{1,*}

(1. 四川旅游学院, 烹饪科学四川省高等学校重点实验室, 四川成都 610100;

2. 四川轻化工大学生物工程学院, 四川宜宾 644000)

摘 要: 为研究安琪酵母、毕赤酵母、酿酒酵母、鲁氏酵母和假丝酵母发酵对豆汤酱挥发性风味物质的影响, 以未发酵豆汤酱作为对照组, 采用气相离子迁移谱技术 (gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 对发酵豆汤酱的挥发性风味物质进行分析。运用相对气味活度值法 (relative odor activity value, ROAV) 确定关键风味组分, 结合主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares-discrimination analysis, PLS-DA) 对发酵豆汤酱香气进行综合评价。结果表明, 6 种发酵豆汤酱中共检测出 50 种挥发性化合物, 主要是酯类和醇类物质, 赋予发酵豆汤酱醇香、果香和麦芽香。不同发酵豆汤酱的挥发性化合物的种类和浓度差异显著 ($P < 0.05$), 其中经酿酒酵母发酵的豆汤酱中挥发性化合物的浓度和种类最高。通过气味活度值 (relative odor activity value, ROAV) 分析安琪酵母、毕赤酵母、酿酒酵母、鲁氏酵母、假丝酵母发酵豆汤酱和未发酵豆汤酱 6 组样品, 分别有 8、13、9、11、19、7 种关键风味物质。对这些关键风味物质进行 PCA 和 PLS-DA 分析, 发现不同酵母菌发酵的豆汤酱能获得较好区分, 发酵豆汤酱与未发酵豆汤酱的整体香气存在明显差异, 这与 GC-IMS 指纹图谱的结果一致。因此酵母发酵具有为豆汤酱提高香气成分的应用潜力, 为今后豆汤酱的精深加工提供一定理论依据。

关键词: 豌豆发酵, 酵母菌, 气相离子迁移谱, 挥发性化合物, 相对气味活度值, 偏最小二乘判别分析

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)14-0282-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090051

本文网刊:



Effects of Yeast Fermentation with Different Varieties on Flavor Compounds of Bean Sauce Based on GC-IMS Combined With Multivariate Statistical Methods

YANG Lian^{1,2}, WANG Tianyang¹, WU Baozhu¹, XIONG Yiling¹, YI Yuwen¹, ZHU Kaixian¹, QIAO Xing¹,
DENG Jing^{1,*}, WU Huachang^{1,*}

(1. Key Laboratory of Culinary Science in Sichuan Higher Education, Sichuan Tourism College, Chengdu 610100, China;

2. College of Biology and Engineering, Sichuan University of Light and Chemical Technology, Yibin 644000, China)

Abstract: To investigate the effects of Angel yeast, *Meyerozyma guilliermondii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii* and *Candida parapsilosis* fermentation on volatile flavour compounds in bean paste, the volatile flavour substances of fermented bean soup paste were analyzed by gas chromatography-ion mobility spectrometry

收稿日期: 2023-09-08

基金项目: 四川省科技计划项目 (2021YJ0275); 四川省教育厅研究中心项目 (18TD0043); 眉山市科技局项目 (2020FN02); 四川省高校重点实验室项目 (PRKX201910)。

作者简介: 杨镡 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵, E-mail: xidongdong1219@qq.com。

* 通信作者: 邓静 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 传统食品发酵, E-mail: 79190096@qq.com。

吴华昌 (1970-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品发酵与加工, E-mail: 694549215@qq.com。

(GC-IMS) technique using unfermented bean soup paste as a control group. The relative odour activity value (ROAV) method was used to determine the key flavour components. Principal component analysis (PCA) and partial least squares-discrimination analysis (PLS-DA) were used to comprehensively evaluate the aroma of fermented bean soup paste. A total of 50 volatile compounds were identified, which were primarily esters and alcohols in six fermented bean sauces. These compounds contribute to the distinct mellow, fruity, and malty flavour profiles characteristic of these sauces. The types and concentrations of volatile compounds in different fermented bean sauces exhibited statistically significant differences ($P<0.05$). Importantly, soybean sauce fermented by *Saccharomyces cerevisiae* demonstrated the highest concentration and diversity of volatile compounds. According to the relative odour activity value (ROAV), there were 8, 13, 9, 11, 19 and 7 key flavour substances in fermented bean sauce and unfermented bean sauce samples of Angel yeast, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces rouxeri* and *Candida parapsilosis*, respectively. By employing PCA and PLS-DA analysis on these pivotal flavour compounds, a distinct differentiation was observed among soybean sauces fermented by various yeast strains. Moreover, a notable disparity in overall aroma between fermented and unfermented soybean sauce was identified, which substantiated the findings obtained from GC-IMS fingerprinting. The utilization of yeast fermentation in soybean sauce production holds the potential to enhance its aroma components, thereby providing a theoretical foundation for further advancements in soybean sauce processing.

Key words: pea fermentation; yeast; gas chromatography-ion mobility spectrometry; volatile flavor compounds; relative odor activity value; partial least squares-discrimination analysis

豆汤酱由豌豆经高压蒸煮而成,因其色泽金黄、软烂绵密、豆香鲜美而深受四川人民的喜爱。豆汤酱作为四川的特色酱料,被广泛用于传统家庭菜肴中,例如豆汤饭、豌杂面、豆汤鱼、蹄花汤等。但因其仅由简单蒸煮制备,极易产生豆腥味,影响了豆汤酱产品在食品工业中的开发和利用,因此,改良豆汤酱风味对于促进其加工利用具有重要意义。微生物发酵是常用的增香加工技术,而酵母菌在传统发酵豆类食品的过程中扮演着重要的角色^[1]。在发酵过程中,酵母可利用豆汤酱中的糖类和蛋白质产生大量醇类、酸类、酯类等风味物质^[2-3]。并且发酵过程伴随着美拉德反应、焦糖化反应等一系列复杂的生化反应,可促使豆汤酱形成独特的口感、风味、色泽和外观,并减弱豌豆的异味。李志江等^[4]采用鲁氏酵母对豆酱进行人工接种,使其风味品质得到明显改善,同时也增加了其挥发性风味物质。Wah 等^[5]将从酱醪中分离得到的季也蒙毕赤酵母单独接种发酵酱油,发现其愈创木酚和 4-乙基愈创木酚的含量明显提升。张玲^[6]研究发现添加假丝酵母可以增加 4-乙基愈创木酚、甲基吡嗪、苯乙醛和 4-羟基-2(5)-乙基-5(2)-甲基-3(2H)-呋喃酮等风味物质的含量。这些研究表明产香酵母可以丰富豆制品中风味物质的丰富度,赋予豆制品特殊的发酵风味。因此研究产香酵母菌发酵豆汤酱对豆汤酱产品的开发和利用具有重要意义。

风味品质在消费者偏好、接受度和购买行为中起着至关重要的作用^[7]。挥发性风味物质是发酵豆类食品的显著特征,与微生物密切相关^[8]。气相离子迁移谱(gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)是一种较新的分析技术,可快速、简单、直观、准确地分析测试结果,且不需要样品的前处理,可以最大程度地保留样品的原始风味,使分析结果更具有真实性^[9-10],在食品风味分析^[11]和监测食

品加工过程中挥发性代谢物^[12]中展现出良好的应用前景。例如陈丽兰等^[13]通过 GC-IMS 较好地分离了不同炒制时间的郫县豆瓣酱样品,并检测出 97 种风味化合物;Chen 等^[14]通过 GC-IMS 标记了浏阳豆豉中的 49 种关键风味物质,但未运用 ROAV 分析筛选关键风味物质。

本研究采用 GC-IMS 技术对 5 种产香酵母菌发酵豆汤酱的挥发性化合物进行快速分析检测并建立风味指纹图谱。通过气味活度值法确定不同酵母菌发酵豆汤酱样品的关键风味物质和具有重要修饰作用的物质。运用主成分分析法(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA),对 ROAV ≥ 1 的挥发性风味组分进行分析,在 PLS-DA 模型分析的基础上,阐明了不同酵母菌发酵豆汤酱中挥发性化合物的差异。采用变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)确定不同酵母菌发酵豆汤酱样品中的关键香气物质,以期确定不同酵母菌发酵对豆汤酱风味的影响,为豆汤酱产品的高效率加工和应用提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

白豌豆 北京金禾绿源农业科技有限公司;安琪酵母(Angel yeast) 安琪酵母股份有限公司;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、鲁氏酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)、季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*)、近平滑假丝酵母(*Candida parapsilosis*)为唐红梅等^[15]由腌菜中筛选 实验室保藏菌株;麦芽汁培养基 广东中山百微生物技术有限公司;PDA 培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司。

Flavour Spec®气相离子迁移谱(gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)联用仪 德国 G.A.S.公司;BSP-250 生化培养箱 上海博

讯实业有限公司;DLHR-X 200 恒温培养振荡器 北京东联哈尔仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种活化 将冻藏于 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的5株酵母菌株分别接种于经灭菌处理的麦芽汁液体培养基中摇床培养24 h($30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 170 r/min)。将活化后的酵母菌接种于PDA培养基中 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养48 h。挑取单菌落于麦芽汁液体培养基中摇床培养($30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 170 r/min) 36 h, 调整菌种悬液浓度为 $1.0\times 10^8\text{ CFU/mL}$ ^[16]。

1.2.2 样品的制备 将300 g泡发过的豌豆置于1000 mL的锥形瓶中, 然后加入270 mL蒸馏水, 料液比为10:9(mg/mL)。将豌豆在 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 蒸煮处理15 min, 冷却后即为豆汤酱。将5种酵母菌悬液以2%的接种量分别接入豆汤酱, 移入培养箱中 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 固态发酵120 h。安琪酵母、毕赤酵母、酿酒酵母、鲁氏酵母和假丝酵母发酵把豌豆样品分别命名为A、B、C、D和E, 未发酵豆汤酱样品命名为F。发酵完成后, 将样品置于 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻储存。

1.2.3 GC-IMS 检测 样品前处理: 分别称取0.5 g发酵豆汤酱样品, 置于20 mL顶空瓶中待测, 每个样品3个平行。

顶空进样条件: 孵育温度: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$; 孵育时间: 10 min; 进样体积: 200 μL ; 孵育转速: 500 r/min; 进样针温度: $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。GC条件: 色谱柱 MXT-WAX($30\text{ m}\times 0.53\text{ mm}$, $1\text{ }\mu\text{m}$), 柱温 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 载气/漂移气高纯 N_2 (纯度 $\geq 99.99\%$); 分析时间30 min; 载气/漂移气条件: 初始流速2.0 mL/min保持2 min, 在2~10 min内线性增至10 mL/min, 10~20 min内线性增至100 mL/min, 保持15 min。IMS条件: 温度 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$; 漂移气流速150 mL/min(N_2 , 纯度 $\geq 99.99\%$)。

1.2.4 挥发性化合物的ROAV分析 相对气味活度值(relative odor activity value, ROAV)用于评价单个化合物对整体香气的贡献^[17], 按照下式计算:

$$\text{ROAV}_i \approx 100 \times \frac{C_i}{T_i} \times \frac{T_{\text{stan}}}{C_{\text{stan}}} \quad \text{式 (1)}$$

式中: C_i 和 T_i 为该挥发性化合物的相对含量

(%) 和感觉阈值(mg/kg); C_{stan} 和 T_{stan} 为对整体风味贡献最大的挥发性化合物的相对含量和感觉阈值。

1.3 数据处理

利用软件 SPSS 26.0 进行方差分析; GC-IMS 使用仪器配套的 LAV(laboratory analytical viewer)、Gallery Plot 分析; LAV 使用 GC-IMS 数据分析并标记, 并用 NIST 和 IMS 数据库完成; Gallery Plot 绘制指纹图谱。采用 SIMCA 14.0 对 GC-IMS 结果进行 PLS-DA、PCA 分析和 VIP 值计算。

2 结果与分析

2.1 发酵豆汤酱中挥发性物质成分分析

采用 GC-IMS 对不同酵母菌发酵豆汤酱的挥发性化合物进行分析。如图 1a 所示, 图中背景为蓝色, 左侧红色竖线代表反应离子峰, 反应离子峰两侧的每个点代表一种挥发性化合物, 颜色代表物质的浓度, 蓝色表示浓度较低, 红色表示浓度较高。图 1b 差异图谱所示, 对发酵豆汤酱样品的挥发性种类进行比较。若挥发性化合物一致, 扣除后背景为白色, 红色表示该物质浓度高于对照品, 蓝色表示该物质浓度低于对照品^[18]。以未发酵豆汤酱为参照, 对所有谱图进行差异性分析, 发现不同发酵豆汤酱间的挥发性化合物差异明显。与未发酵豆汤酱 F 样品数量相比, A、B、C、D 和 E 样品中挥发性化合物的数量增加, 大部分挥发性化合物的浓度也增加。A 和 C 样品的变化比 B、D 和 E 样品更明显, 说明酵母菌发酵可以增加豆汤酱的挥发性风味物质, 其中安琪酵母和酿酒酵母的发酵更能丰富豆汤酱的风味。

各样品对应的挥发性物质的指纹图谱如图 2 所示。通过 Gallery 图比较不同发酵豆汤酱之间挥发性化合物的差异。GC-IMS 分析共检测到 61 个信号, 表征了 50 个单体和二聚体, 其中包括醛类 9 种、醇类 10 种、酮类 8 种、酯类 12 种、呋喃类 1 种、烃类 9 种和酸类 1 种。酯类和醇类是 GC-IMS 鉴定出的主要物质。所有样品共有的挥发性化合物包括异戊醛-D(杏仁、巧克力、可可香气)、丁醛-M(香蕉、辛辣香气)、2-甲基丁醛(杏仁、巧克力、可可香气)、乙

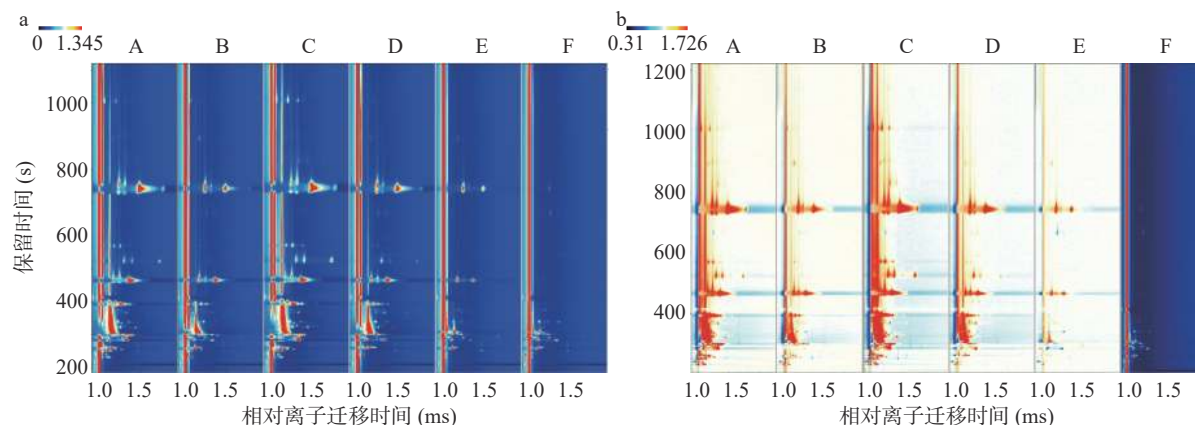


图1 不同发酵豆汤酱中挥发性化合物的 GC-IMS 二维谱图

Fig.1 Two dimensional GC-IMS maps of different fermented bean sauces

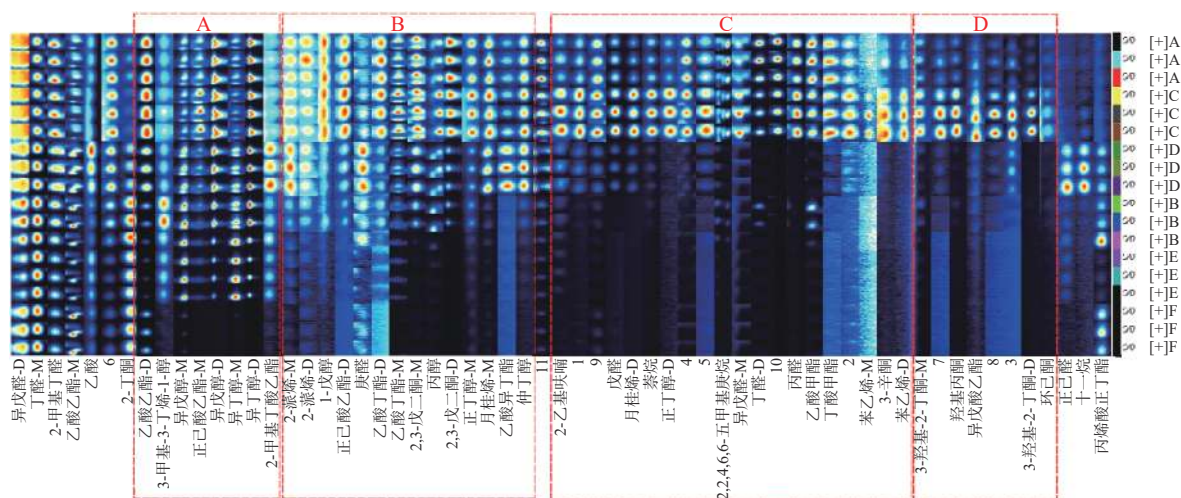


图 2 不同发酵豆汤酱挥发性化合物指纹图谱

Fig.2 GC-IMS fingerprints of different fermented bean sauces

酸乙酯-M(水果、葡萄、菠萝香气)、乙酸(酸味、水果香气)和 2-丁酮(牛油果、芬芳、水果香气),这些化合物多数为醛类物质,醛类能与醇类、甲硫醇、氨等物质结合或缩合,产生不同于自身的香气,使发酵豆汤酱风味复杂化^[1]。未发酵豆汤酱样品中挥发性物质数量和浓度最低,表明酵母菌发酵可以丰富豆汤酱的风味。A 区域的化合物仅在发酵豆汤酱(A、B、C、D 和 E)样品中检出,这些物质均为醇类和酯类物质,可能由酵母菌酶催化形成或有机酸和醇的非酶酯反应形成^[1]。B 区域中 2-萜烯-D、2-萜烯-M、庚醛、月桂烯-M、乙酸异丁酯、仲丁醇在 A、C 和 D 样品浓度较高。庚醛主要来源于氨基酸的脂质氧化和 Strecker 降解,产生发酵和刺激性脂肪香味^[19-20]。月桂烯-M 具有果香、天竺葵香气。C 区域中化合物仅在 A 和 C 样品中检出,其中 2-乙基呋喃通过美拉德反应和糖降解途径产生,赋予发酵豆汤酱黄油、焦糖香气^[21]。D 区域中 3-羟基-2-丁酮-M、羟基丙酮、异戊酸乙酯、3-羟基-2-丁酮-D、环己酮仅在 C 样品中检出,这些酮类物质是发酵豆类富含的另一类挥发性物质,一般在较低的含量下呈现令人赏心悦目的香气,但在较高的含量下具有刺激性气味^[22-23]。

2.2 发酵豆汤酱中挥发性物质的风味贡献分析

在豆汤酱中已鉴定出 50 种挥发性化合物,通过计算 ROAV 进一步明确其关键风味物质。ROAV 可根据化合物相对含量和阈值计算,评价化合物对豆汤酱风味的贡献^[24]。2-甲基丁酸乙酯在 6 种发酵豆汤酱中浓度较高,其阈值为 0.0003 mg/kg,对整体气味的贡献最大,因此定义为 6 种发酵豆汤酱样品的关键性挥发性化合物($ROAV_{stan}=100$),一般认为 $ROAV \geq 1$ 的物质为样品的关键挥发性物质,其值越大表明组分对样品的总体风味贡献率越大;而 $0.1 \leq ROAV < 1$ 的物质对样品总体风味起一定的修饰作用; $ROAV < 0.1$ 的物质为潜在风味物质^[25]。

如表 1 所示, A、B、C、D、E、F 组分别有 8、13、9、11、19、7 种关键风味物质和 14、14、15、12、

11、15 种修饰风味物质,主要是醇类、酯类和醛类物质。此外,异戊醇-D、丙烯酸正丁酯、2-甲基丁酸乙酯、异戊醛-D 和异戊醇-M 的 ROAV 值在各组中均大于 1,这些物质为 6 种发酵豆汤酱的关键性挥发物质。A 和 C 样品中关键挥发性物质主要是异戊醇-D、2-甲基丁酸乙酯、异戊醛-D,主要赋予醇香、可可和果香;B 和 D 样品中关键化合物主要是异戊醇-D、异戊醇-M、乙酸丁酯-M、2-甲基丁酸乙酯、丙醛、异戊醛-D、异戊醛-M 和 2-甲基丁醛,主要提供醇香、可可和花香;E 组中的关键风味物质主要集中在异戊醇-D、2-甲基丁酸乙酯、异戊醛-D、异戊醛-M、2-甲基丁醛和壬醛,其中异戊醇-D 和 2-甲基丁酸乙酯 ROAV 值均大于 50,其对风味的贡献较大。异戊醇能带来酒精、香蕉和可可香气,2-甲基丁酸乙酯能提供茴香和苹果香。E 与 F 样品中异戊醛的 ROAV 值较高,可能会带来浓郁的焦味,与其他样品风味差异较大。其中正己酸乙酯-D、正丁醇-D、正丁醇-M、异丁醇-M、3-辛酮和正己醛等物质的 ROAV 值在 0.1~1。因此,上述化合物对风味的贡献差异不大。

2.3 发酵豆汤酱中挥发性物质 PCA 分析

为了区分 6 组发酵豆汤酱样品中 $ROAV \geq 1$ 的关键组分,采用 PCA 和 PLS-DA 分析。如图 3 所示,PCA 使用少量的综合变量(主成分)取代原先的复杂多变量,从而能在最大程度保留数据原有信息的情况下,降低数据复杂度,并对数据进行可视化处理,当累计贡献率达到 60% 时,即可使用 PCA 模型^[26-27]。降维后前 2 个 PC 累计贡献率为 88.1%,6 组发酵豆汤酱样本没有发生重叠,证明各组产品的特征风味物质具有差异。结合图 3b 的欧氏距离结果可知,以未发酵豆汤酱 F 样品为标准,不同酵母菌发酵豆汤酱样品之间都具有一定欧氏距离,说明各样品之间的挥发性化合物有较大差异。E 组(假丝酵母发酵豆汤酱)和 F 组(未发酵豆汤酱)样本点距离较近,表明两组样品具有更相似的香气特征。C 组样本点分布较密集,并与其他组样本点距离较远,表明酿酒

表 1 不同发酵豆汤酱挥发性风味物质的阈值及 ROAV

Table 1 Threshold values and ROAVs of volatile flavor substances in different fermented bean sauces

化合物名称	气味描述*	阈值(mg/kg) [#]	ROAV					
			A	B	C	D	E	F
乙酸	酸味、水果、辛辣	22	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	<0.01
3-羟基-2-丁酮-M	黄油、奶油、青椒	0.8	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.04	<0.01
3-羟基-2-丁酮-D	黄油、奶油、青椒	0.8	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01
环己酮	苦味、薄荷	5.27	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
羟基丙酮	黄油、草药	10	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
3-甲基-3-丁烯-1-醇	草药	0.5471	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.04	<0.01
1-戊醇	杏仁、香脂、水果	0.36	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.03	<0.01
苯乙烯-M	香脂、汽油	26.4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	<0.01
苯乙烯-D	香脂、汽油	26.4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
异戊醇-D	香蕉、奶酪、可可	0.0061	11.86	39.38	12.12	17.24	58.41	3.86
异戊醇-M	香蕉、奶酪、可可	0.0061	1.01	2.71	1.01	1.25	4.03	0.50
3-辛酮	黄油、草药	0.018	0.12	0.43	0.14	0.12	0.84	0.15
正己酸乙酯-M	香蕉、白兰地、奶酪	0.005	0.52	0.71	0.97	0.29	1.87	0.33
正己酸乙酯-D	香蕉、白兰地、奶酪	0.005	0.07	0.21	0.18	0.06	0.85	0.15
庚醛	柑橘、脂肪、坚果	0.003	0.85	1.01	2.07	0.96	3.95	0.75
丙烯酸正丁酯	—	0.0029	1.86	1.96	2.09	3.50	5.28	1.11
正丁醇-D	酒精、水果	0.48	0.02	0.21	0.01	0.05	0.70	0.01
正丁醇-M	酒精、水果	0.48	0.02	0.06	0.02	0.02	0.11	<0.01
异丁醇-D	苹果、可可、麦芽	0.033	1.27	6.09	1.12	1.74	8.29	0.28
异丁醇-M	苹果、可可、麦芽	0.033	0.03	0.15	0.02	0.04	0.28	0.030
萘烷	—	0.1	0.12	0.26	0.12	0.14	0.14	0.03
乙酸丁酯-D	苹果、香蕉、甜味	0.012	1.66	1.95	1.50	1.03	1.13	0.18
乙酸丁酯-M	苹果、香蕉、甜味	0.012	0.87	3.40	0.74	1.46	2.12	0.36
正己醛	青草、新鲜、水果	0.005	0.13	0.39	0.11	0.29	0.97	0.10
十一烷	—	5.6	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
丙醇	酒精、糖果	0.24	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.02	<0.01
2,3-戊二酮-D	黄油、焦糖、奶油	0.063	<0.01	0.01	<0.01	0.01	0.04	<0.01
2,3-戊二酮-M	黄油、焦糖、奶油	0.063	<0.01	0.02	0.01	0.01	0.05	<0.01
2-蒎烯-D	雪松、松树	0.1	0.01	0.01	0.02	0.01	0.04	<0.01
2-蒎烯-M	雪松、松树	0.1	0.15	0.24	0.12	0.04	0.21	0.02
2-甲基丁酸乙酯	茴香、苹果、水果	0.0003	100	100	100	100	100	100
仲丁醇	酒精、葡萄酒	0.66	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.04	0.01
乙酸异丁酯	苹果、香蕉、花香、	0.038	0.03	0.05	0.03	0.01	0.15	0.03
丁酸甲酯	苹果、香蕉、奶酪	0.03	0.12	0.65	0.11	0.28	1.78	0.32
2-乙基呋喃	黄油、焦糖	0.0023	0.80	1.63	0.45	0.17	2.52	0.48
丙醛	可可、花香、坚果	0.0151	0.87	8.33	0.77	2.02	29.86	5.89
丁醛-D	香蕉、刺激性	0.011	0.25	0.17	0.30	0.03	0.50	0.09
丁醛-M	香蕉、刺激性	0.011	0.06	0.77	0.06	0.23	1.07	0.81
异戊醛-D	杏仁、可可	0.00035	4.54	18.09	3.64	7.67	39.95	15.57
异戊醛-M	杏仁、可可	0.00035	1.78	8.09	1.81	4.98	29.81	1.84
2-甲基丁醛	杏仁、可可	0.001	0.65	2.34	0.72	1.42	10.97	3.18
乙酸乙酯-D	香醋、水果	0.005	0.27	0.42	0.45	0.19	1.60	0.40
乙酸乙酯-M	香醋、水果	0.005	0.13	0.70	0.20	0.20	3.33	0.62
异戊酸乙酯	八角、苹果、柑橘	0.002	0.14	0.63	0.29	0.22	1.97	0.34
2,2,4,4,6,6-五甲基庚烷	—	—	—	—	—	—	—	—
月桂烯-D	香醋、水果、天竺葵	0.1125	<0.01	0.03	<0.01	0.01	0.16	0.03
月桂烯-M	香醋、水果、天竺葵	0.1125	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.05	0.01
戊醛	杏仁、麦芽	0.85	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
2-丁酮	牛油果、乙醚、芬芳	1.3	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
乙酸甲酯	酯香、甜香	5.1	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	<0.01

注: “-”表示未查询到此化合物香气描述或未检测到此物质; “M”表示单体, “D”表示二聚体; “*”表示物质气味描述源于<https://www.vcf-online.nl/Vcf-CompoundSearch.cfm>; “#”表示阈值数据来源于<https://www.doc88.com/p-2039102934971.html>。

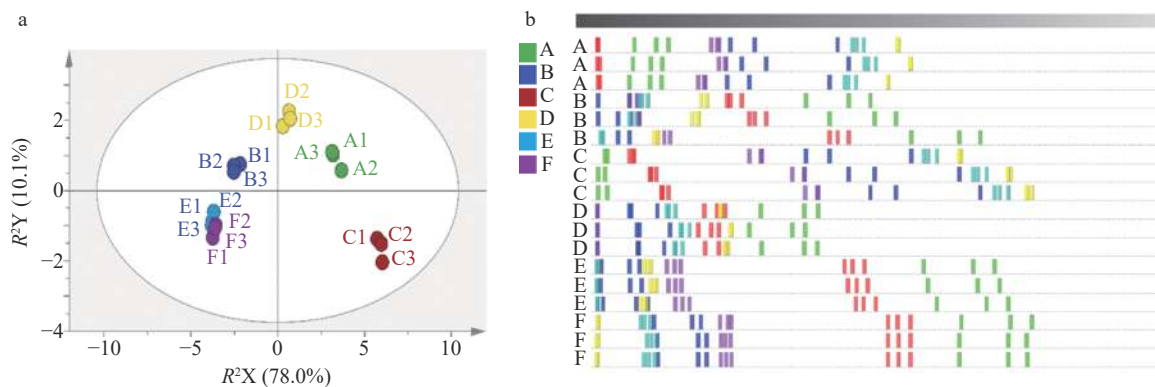


图 3 不同发酵豆汤酱挥发性化合物的 PCA(a)与欧氏距离图(Euclidean distance plot)(b)

Fig.3 Principal component analysis (a) and Euclidean distance plot (b) of volatile flavor substances in different fermented bean sauces

酵母发酵豆汤酱具有更明显的风味差异,这与之前研究的电子鼻和 GC-MS 结果一致^[16]。

2.4 发酵豆汤酱中挥发性物质 PLS-DA 分析

PLS-DA 是一种有监督的判别分析方法,可以识别复杂且难以发现的变量,以评估样本之间的规律性和差异性^[28-29]。如图 4 所示,模型的 R^2 和 Q^2 均高于 0.90,表明模型准确且可靠^[30]。如图 4a 所示,6 组发酵豆汤酱样品在模型中均得到了较好的分离,说明 6 种酵母菌发酵豆汤酱的风味差异较大,此模型能用于发酵豆汤酱的特征挥发性物质的筛选。进一步采用 200 次响应的置换检验方法对模型进行验证,如图 4b 所示, Q^2 的回归线与 Y 轴的截距为负值,表明该模型稳定性和预测能力较好^[31]。B 和 D 样品的香气较为接近,且 A 和 C 的香气较为接近, E 与 F 样品香气最为接近。该结果与 GC-IMS 指纹图谱分析结果一致,表明 PLS-DA 是一种利用挥发性风味特征区分不同酵母菌发酵豆汤酱样品的有效方法。

PLS-DA 因子载荷图反应了香气化合物与不同发酵豆汤酱样品相关性,距离样品点较近的化合物与样品相关性较高,而距离样品点较远的化合物相关性较低^[32]。如图 4c 所示,不同酵母菌发酵豆汤酱的样本存在明显差异。异戊醛-M、2-甲基丁醛、2-乙基呋喃、庚醛、异戊酸乙酯和乙酸乙酯-M 对 A 样品的香气影响较大;异丁醇-D、异戊醇-D、异戊醇-M、丙烯酸正丁酯、2-甲基丁酸乙酯、乙酸丁酯-D、乙酸丁酯-M 和正己酸乙酯-M 对 C 样品的香气影响较大,因此 A 样品呈现酯香、果香和甜香香气;C 样品呈现醇香、果香气味。E 样品与丙醛具有较高的正相关性。这种正相关关系表明,E 样品具有较高的可可和花香。

2.5 发酵豆汤酱特征香气物质分析

利用 PLS-DA 模型的 VIP 值筛选发酵豆汤酱的关键挥发性化合物,突出不同组别的关键香气成分, VIP ≥ 1 的物质具有显著贡献^[33]。如图 5 所示。在 95% 置信区间下,6 种发酵豆汤酱样品中共筛选出 8 个 VIP ≥ 1 的关键风味物质,分别为异戊醇-D(酒

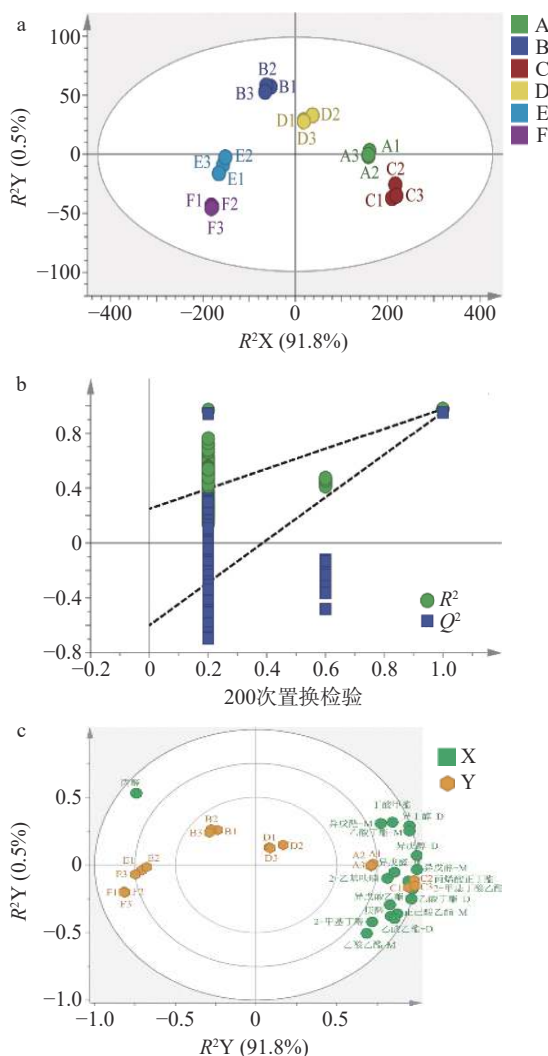


图 4 不同发酵豆汤酱的挥发性成分 PLS-DA 分析

Fig.4 PLS-DA analysis of volatile components of different fermented bean sauces

精、香蕉、奶酪、可可香气)、异丁醇-D(酒精、苹果、麦芽香气)、2-甲基丁酸乙酯(茴香、苹果、泡泡糖香气)、乙酸丁酯-D(苹果、香蕉香气)、庚醛(柑橘、脂肪、坚果香气)、乙酸丁酯-M(苹果、香蕉香气)、丙醛(可可、花香、坚果香气)和正己酸乙酯-M(香蕉、白兰地、奶酪)。这 8 种成分是区分不同酵母菌发酵豆汤酱的差异成分。这一发现与 ROAV 方法分析的结

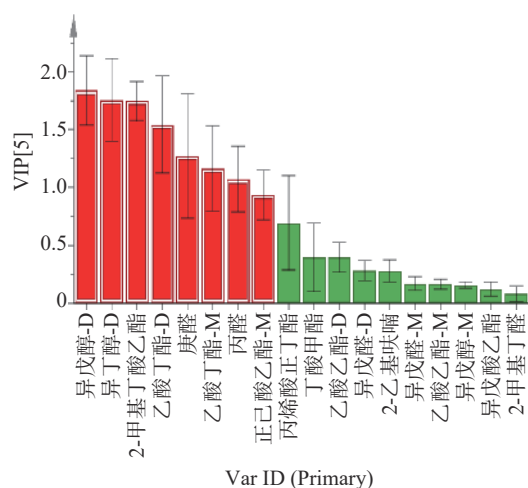


图5 不同发酵豆汤酱挥发性成分 VIP 图

Fig.5 VIP chart of volatile components of different fermented bean sauces

果相似。其中 2-甲基丁酸乙酯也被报道是黄豆酱^[34]、浏阳豆豉^[35]和腐乳^[36]特征香气贡献较大的关键香气活性化合物。异戊醇主要由酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)通过合成代谢途径和 Ehrlich 途径合成,使发酵豆汤酱口感醇厚,增强香气复杂度,其对发酵豆类形成特有酱香风味有显著贡献^[37]。

3 结论

GC-IMS 技术共鉴定出 50 种挥发性物质(包括二聚体),其中醛类 9 种、醇类 10 种、酮类 8 种、酯类 12 种、呋喃类 1 种、烃类 9 种和酸类 1 种。指纹图谱结果表明 6 组发酵豆汤酱样品中挥发性组分主要是酯类和醇类,但各组浓度存在显著差异,C 样品挥发性物质的种类数量和浓度均显著高于其他 5 组发酵豆汤酱样品($P < 0.05$)。结合 ROAV 分析 A、B、C、D、E、F 组分别有 8、13、9、11、19、7 种关键风味物质和 14、14、15、12、11、15 种修饰风味物质。进一步对这些关键挥发性物质进行 PCA 和 PLS-DA 分析,模型稳定性好,能通过 ROAV 数据有效区分 6 种发酵豆汤酱样品的风味。PLS-DA 表明,各组样品间能实现很好区分($R^2X > 0.9$, $Q^2 > 0.9$),B 和 D 样品的香气较为接近,A 和 C 的香气较为接近,E 与 F 样品香气最为接近。这与 GC-IMS 指纹图谱结果也相一致。筛选出 8 种 $VIP \geq 1$ 的关键挥发性物质,包括异戊醇-D、异丁醇-D、2-甲基丁酸乙酯、乙酸丁酯-D、庚醛、乙酸丁酯-M、丙醛和正己酸乙酯-M。综合来看,不同酵母菌发酵豆汤酱的挥发性风味物质存在差异,A 和 C 样品中挥发性物质浓度和种类数量较多,与未发酵豆汤酱 F 组的整体风味差异较大,而 E 组与 F 组香气特征最接近。这对发酵豆汤酱的研究具有重要意义,也为进一步研究或开发发酵豆汤酱产品奠定了理论基础。

参考文献

- [1] QUE Z L, JIN Y, HUANG J, et al. Flavor compounds of traditional fermented bean condiments: Classes, synthesis, and factors involved in flavor formation[J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 133: 160–175.
- [2] SANJUKTA S, RAI A K. Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 50: 1–10.
- [3] JAYACHANDRAN M, XU B J. An insight into the health benefits of fermented soy products[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 362–371.
- [4] 李志江, 赵婧, 戴凌燕, 等. 鲁氏酵母对豆酱品质及挥发性香气成分的影响[J]. 中国调味品, 2018, 43(10): 30–36. [LI Z J, ZHAO J, DAI L Y, et al. Effects of *Zygosaccharomyces rouxii* on the quality and volatile aroma components of soybean paste[J]. China Condiment, 2018, 43(10): 30–36.]
- [5] WAH T T, WALAISRI S, ASSAVANING A, et al. Co-culturing of *Pichia guilliermondii* enhanced volatile flavor compound formation by *Zygosaccharomyces rouxii* in the model system of Thai soy sauce fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 160(3): 282–289.
- [6] 张玲. 嗜盐四联球菌、鲁氏接合酵母及易变假丝酵母的添加对日式酱油品质的影响[D]. 镇江: 江南大学, 2019. [ZHANG L. Effect of *Tetragenococcus halophilus*, *Zygosaccharomyces rouxii* and *Candida versatilis* on Japanese soy sauce quality[D]. Zhenjiang: Jiangnan University, 2019.]
- [7] DIEZ-SIMON C, EICHELSHEIM C, MUMM R, et al. Chemical and sensory characteristics of soy sauce: A review[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(42): 11612–11630.
- [8] KANEKO S, KUMAZAWA K J, 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(15): 3831–3836.
- [9] ZHANG K Y, GAO L L, ZHANG C, et al. Analysis of volatile flavor compounds of corn under different treatments by GC-MS and GC-IMS[J]. Frontiers in Chemistry, 2022, 10: 725208.
- [10] SHEN C, CAI Y, WU X N, et al. Characterization of selected commercially available grilled lamb shashliks based on flavor profiles using GC-MS, GC×GC-TOF-MS, GC-IMS, E-nose and E-tongue combined with chemometrics[J]. Food Chemistry, 2023, 423: 136257.
- [11] OTHMAN A, GOGGIN K A, TAHIR N I, et al. Use of headspace–gas chromatography–ion mobility spectrometry to detect volatile fingerprints of palm fibre oil and sludge palm oil in samples of crude palm oil[J]. BMC Research Notes, 2019, 12(1): 229.
- [12] GALLEGOS J, ARCE C, JORDANO R, et al. Target identification of volatile metabolites to allow the differentiation of lactic acid bacteria by gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Chemistry, 2017, 220: 362–370.
- [13] 陈丽兰, 陈祖明, 袁灿. 气相色谱-离子迁移谱结合化学计量法分析不同炒制时间对郫县豆瓣酱挥发性化合物的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 283–290. [CHEN L L, CHEN Z M, YUAN C. Effect of different frying time on volatile compounds in Pixian Douban Sauce analyzed by gas chromatography-ion mobility spectrometry combined with chemometric method[J]. Food Science, 2023, 44(14): 283–290.]
- [14] CHEN Y, LI P, LIAO L Y, et al. Characteristic fingerprints and volatile flavor compound variations in Liuyang Douchi during

- fermentation via HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130055.
- [15] 唐红梅, 王浩文, 吴华昌, 等. 川南腌菜耐盐生香酵母的筛选、鉴定及特性[J]. *食品科学*, 2020, 41(12): 150–157. [TANG H M, WANG H W, WU H C, et al. Screening, identification and characterization of salt-tolerant aroma yeasts from Sichuan pickles[J]. *Food Science*, 2020, 41(12): 150–157.]
- [16] 杨镰, 邓静, 朱建仓, 等. 五种产香酵母对发酵豉豆挥发性风味物质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(9): 278–284. [YANG Lian, DANG Jing, ZHU Jiancang, et al. Effect of five aroma-producing yeasts on volatile flavor compounds of fermented pulpy peas[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(9): 278–284.]
- [17] 刘登勇, 赵志南, 吴金城, 等. 基于 SPME-GC-MS 分析熏制材料对熏鸡腿挥发性风味物质的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(24): 220–227. [LIU D Y, ZHAO Z N, WU J C, et al. Effect of smoking materials on volatile flavor substances in smoked chicken thighs based on SPME-GC-MS analysis[J]. *Food Science*, 2019, 40(24): 220–227.]
- [18] XU J Y, ZHANG Y, YAN F, et al. Monitoring changes in the volatile compounds of tea made from summer tea leaves by GC-IMS and HS-SPME-GC-MS[J]. *Foods*, 2022, 12(1): 146.
- [19] BASSAM S M, NOLETO-DIAS C, FARAG M A. Dissecting grilled red and white meat flavor: Its characteristics, production mechanisms, influencing factors and chemical hazards[J]. *Food Chemistry*, 2022, 371: 131139.
- [20] DOMÍNGUEZ R, GÓMEZ M, FONSECA S, et al. Influence of thermal treatment on formation of volatile compounds, cooking loss and lipid oxidation in foal meat[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 58(2): 439–445.
- [21] LIU H, HUI T, FANG F, et al. The formation of key aroma compounds in roasted mutton during the traditional charcoal process[J]. *Meat Science*, 2022, 184: 108689.
- [22] ZHANG L J, ZHANG L, XU Y. Effects of *Tetragenococcus halophilus* and *Candida versatilis* on the production of aroma-active and umami-taste compounds during soy sauce fermentation[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(6): 2782–2790.
- [23] LEE S M, SEO B C, KIM Y S. Volatile compounds in fermented and acid-hydrolyzed soy sauces[J]. *Journal of Food Science*, 2006, 71(3): C146–C156.
- [24] MA W J, ZHU Y, MA S C, et al. Aroma characterisation of Liu-pao tea based on volatile fingerprint and aroma wheel using SB-SE-GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2023, 414: 135739.
- [25] LI Y, YUAN L, LIU H J, et al. Analysis of the changes of volatile flavor compounds in a traditional Chinese shrimp paste during fermentation based on electronic nose, SPME-GC-MS and HS-GC-IMS[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(1): 173–182.
- [26] WANG F, GAO Y Q, WANG H B, et al. Analysis of volatile compounds and flavor fingerprint in Jingyuan lamb of different ages using gas chromatography–ion mobility spectrometry (GC–IMS) [J]. *Meat Science*, 2021, 175: 108449.
- [27] 刘彬球, 陈孝权, 吴晓刚, 等. PCA 和 PLS-DA 用于晒青毛茶级别分类研究[J]. *茶叶科学*, 2015, 35(2): 179–184. [LIU B Q, CHEN X Q, WU X G, et al. PCA and PLS-DA for sun-dried green gross tea grade classification study[J]. *Tea Science*, 2015, 35(2): 179–184.]
- [28] HE X, HUANG Y M, GÓRSKA-HORCZYK E, et al. Rapid analysis of Baijiu volatile compounds fingerprint for their aroma and regional origin authenticity assessment[J]. *Food Chemistry*, 2021, 337: 128002.
- [29] POLLO B J, TEIXEIRA C A, BELINATO J R, et al. Chemometrics, Comprehensive Two-Dimensional gas chromatography and "omics" sciences; Basic tools and recent applications[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 134: 116111.
- [30] 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.
- [31] 杨双喜, 马雪梅, 张海红, 等. GC-MS 结合化学计量法分析不同干燥方式对黄花菜风味物质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(4): 274–283. [YANG S X, MA X M, ZHANG H H, et al. Effect of different drying methods on the flavor substances of cauliflower analyzed by GC-MS combined with chemometrics[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(4): 274–283.]
- [32] ZHANG B, WANG J, JIANG X Y, et al. Comparative study on key odorants of Jiujiang Fenggang Huangjiu and their succession regularities during aging using sensory-directed flavor analysis[J]. *Food Chemistry*, 2023, 430: 137052.
- [33] WANG J, WANG D Q, HUANG M Q, et al. Identification of nonvolatile chemical constituents in Chinese Huangjiu using widely targeted metabolomics[J]. *Food Research International*, 2023, 172: 113226.
- [34] ZHANG X, WEI J P, ZHAO S Y, et al. Flavor differences between commercial and traditional soybean paste[J]. *LWT*, 2021, 142: 111052.
- [35] CHEN Q C, XU Y X, WU P, et al. Aroma impact compounds in Liuyang douchi, a Chinese traditional fermented soya bean product; Aroma impact compounds in Liuyang douchi[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46(9): 1823–1829.
- [36] YAO D, XU L, WU M N, et al. Effects of microbial community succession on flavor compounds and physicochemical properties during CS sufu fermentation[J]. *LWT*, 2021, 152: 112313.
- [37] 范琳, 陶湘林, 欧阳晶, 等. 曲霉型豆豉后发酵过程中挥发性成分的动态变化[J]. *食品科学*, 2012, 33(22): 274–277. [FAN L, TAO X L, OUYANG J, et al. Dynamic changes of volatile components during post-fermentation of *Aspergillus* type tempeh[J]. *Food Science*, 2012, 33(22): 274–277.]