



风冷与冷藏过程中酱卤牛肉风味逸散行为研究

强宇¹, 姜薇¹, 刘成江², 黄峰¹, 韩东¹, 张春晖^{1,2}

¹中国农业科学院农产品加工研究所/农业农村部农产品加工综合性重点实验室, 北京 100193; ²新疆农垦科学院农产品加工研究所, 新疆维吾尔自治区石河子市 832061

摘要:【目的】明确风冷与冷藏过程中酱卤牛肉挥发性风味物质逸散行为, 为酱卤牛肉的风味保持与风味调控提供理论依据。【方法】采用电子鼻(electronic nose, E-nose)、顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(headspace solid-phase microextraction gas chromatography mass spectrometry, HS-SPME/GC-MS), 结合气味活性值(odor activity value, OAV)和主成分分析(principal component analysis, PCA), 明确酱卤牛肉在风冷(中心温度从50℃降至10℃, 风速2 m·s⁻¹, 降温时间90 min)和冷藏(4℃贮藏0、6、18、30、42和54 h)阶段挥发性风味物质变化, 揭示酱卤牛肉中关键风味活性物质的逸散行为。【结果】E-nose结果表明, 风冷阶段, 刚出卤煮罐、风冷前和风冷后酱卤牛肉的风味轮廓差异显著, 主要由氮氧类化合物、醇类、醛酮类化合物、芳香类化合物和有机硫化物差异导致; 冷藏0、42和54 h后, 酱卤牛肉的风味轮廓差异显著, 氮氧类化合物、醇类、醛酮类化合物是导致差异的主要风味物质, 而冷藏6、18和30 h后风味轮廓没有显著性差异。HS-SPME-GC-MS结果表明, 酱卤牛肉在风冷阶段分别鉴定出39、31和33种挥发性风味物质, 含量分别为13 636.18、9 799.21和8 213.86 μg·kg⁻¹, 总含量降低39.8%; 冷藏阶段分别鉴定出36、36、34、34、31和29种挥发性风味物质, 含量分别为7 712.65、6 196.00、5 319.42、4 732.69、5 295.05和4 281.82 μg·kg⁻¹, 总含量降低44.5%。冷藏是酱卤牛肉挥发性风味物质逸散的主要阶段。OAV分析表明, 风冷阶段共有18种风味活性物质, 其中桉叶油醇、月桂醇、戊醛和左旋香芹酮在风冷前全部丢失; 3-羟基-2-丁酮、苯乙醇、香叶基丙酮和芳樟醇逸散严重, OAV值分别降低81.3%、64.0%、63.7%和55.1%。冷藏阶段共有15种风味活性物质, 其中乙酸异丁酯、庚酸乙酯在贮藏6 h后全部丢失; 茴香脑、丁香酚、草蒿脑和芳樟醇逸散严重, OAV值分别降低63.9%、63.8%、58.1%和53.9%。【结论】冷藏是酱卤牛肉风味活性物质丢失逸散的主要阶段; 风冷和冷藏过程中醇类、酮类、酯类和酚醚类化合物更容易发生丢失逸散; 丢失逸散的风味活性物质主要来源于香辛料。

关键词: 酱卤牛肉; 风冷; 冷藏; 风味逸散行为

Flavor Escape Behavior of Stewed Beef with Soy Sauce During Air-Cooling and Refrigeration

QIANG Yu¹, JIANG Wei¹, LIU ChengJiang², HUANG Feng¹, HAN Dong¹, ZHANG ChunHui^{1,2}

¹Comprehensive Key Laboratory of Agro-products Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193; ²Institute of Food Science and Technology, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Xinjiang Uygur Autonomous Region, Shihezi 832061, Xinjiang

Abstract: 【Objective】 This study clarified the escape behavior of key volatile compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling process and refrigeration, aiming to provide the theoretical basis for the flavor preservation and conformity of stewed beef

收稿日期: 2021-12-08; 接受日期: 2022-03-23

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(32102017)、新疆生产建设兵团重点领域科技攻关项目(2020AB012)

联系方式: 强宇, E-mail: qiangyu_1996@163.com. 通信作者韩东, E-mail: orange_1101@126.com; 通信作者张春晖, E-mail: dr_zch@163.com

with soy sauce. 【Method】 The volatile flavors in stewed beef with soy sauce were identified by the electronic nose (E-nose) and headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME/GC-MS) combined with odor activity value (OAV) and principal component analysis (PCA), which defined the dynamic change of flavors during cold air-cooling process (the central temperature was reduced from 50°C to 10°C, the wind speed was 2 m·s⁻¹, and the cooling time was 90 minutes) and refrigeration (0, 6, 18, 30, 42 and 54 h at 4°C). Then the escape behavior of key flavor active compounds in stewed beef with soy sauce were revealed. 【Result】 According to the E-nose analysis, the flavor profiles of stewed beef with soy sauce exhibited significant differences among the three stages (“out of the pot”, before air-cooling and after air-cooling). Nitrogen oxides, alcohols, aldehydes, ketones, aromatics and organic sulfides were considered the main compounds for the discrepancy. On the other side, the stewed beef with soy sauce after 0, 42 and 54 h refrigeration showed differential flavor profiles, which mainly caused by the variety in nitrogen compounds, alcohols, aldehydes and ketones. However, there was no significant difference in the flavor profiles among 6, 18 and 30 h refrigeration. The HS-SPME-GC-MS results showed that 39, 31 and 33 volatile compounds were identified in three cold air-cooling stages, and the contents were 13 636.18, 9 799.21 and 8 213.86 μg·kg⁻¹, respectively, with total amounts reducing by 39.8%. Moreover, 36, 36, 34, 34, 31 and 29 volatile compounds were identified on different refrigeration periods, the contents were 7 712.65, 6 196.00, 5 319.42, 4 732.69, 5 295.05 and 4 281.82 μg·kg⁻¹, respectively, and the total contents decreased by 44.5%. Therefore, the flavor escape of stewed beef with soy sauce mainly occurred in the refrigeration stage. Besides, OAV analysis showed stewed beef with soy sauce in the cold air-cooling stage had 18 key active compounds, while eucalyptol, lauryl alcohol, valeraldehyde, and L-carvone were all lost before cold air-cooling, and acetoin, phenethyl alcohol, geranyl acetone, as well as linalool escaped severely, with their OAV values reducing by 81.3%, 64.0%, 63.7% and 55.1%, respectively. 15 key active volatile compounds were identified during refrigeration. Among them, isobutyl acetate and ethyl heptanoate were lost after 6 h. Anethole, eugenol, 4-allylanisole, and linalool were severely escaped, and the OAV values decreased by 63.9%, 63.8%, 58.1% and 53.9%, respectively. Refrigeration was the main stage for the loss and dissipation of flavor compounds in stewed beef with soy sauce; alcohols, ketones, esters and phenolic ethers were more susceptible to lose and escape during air-cooling and refrigeration; the loss and dissipation of flavor compounds were mainly derived from spices. 【Conclusion】 This study revealed the escape behavior of flavor active compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling process and refrigeration, and provide the theoretical basis for stewed beef's flavor retention and regulation with soy sauce.

Key words: stewed beef with soy sauce; cold air-cooling; refrigeration; flavor escape

0 引言

【研究意义】酱卤肉制品是深受消费者喜爱的中式传统肉制品之一, 其色泽鲜亮, 香气浓郁^[1]。风味是衡量酱卤肉制品品质的关键性指标, 其特征风味主要由挥发性风味物质的种类、含量及组成比例决定, 且在整体风味呈现中起主体作用, 是决定产品感官品质的核心要素^[2]。风味丢失包括风味物质与蛋白质共价结合^[3]及在加工过程中的挥发逸散, 其极易导致产品风味品质劣变, 降低消费者接受度, 制约酱卤肉制品产业发展, 是亟待解决的行业技术难题。而风冷和冷藏是酱卤牛肉工业化加工的两个常见阶段, 且酱卤牛肉在这两个阶段风味活性物质的逸散行为尚不明晰, 因此, 开展酱卤牛肉工业化加工过程中风冷和冷藏阶段风味逸散行为研究, 对实现酱卤牛肉特色风味品质保持与调控具有指导意义。【前人研究进展】酱卤牛肉中风味物质的种类及含量通常是其风味研究的热点。李娟等^[4]研究结果表明北京地区酱卤牛肉存在

主体风味 12 种, 包括庚醛、芳樟醇、2-戊基呋喃等; 特征风味 5 种, 包括壬醛、桉叶油醇、草蒿脑等; 修饰风味 11 种, 包括苯甲醛、3-羟基-2-丁酮、 γ -萜品烯等。其中既包括醛类等肉制品的典型风味物质, 也包括酱卤牛肉加工过程中香辛料添加所产生的萜类、醚类等物质。酱卤牛肉在生产加工、冷链物流和冷藏过程中, 其风味物质的种类和含量均有不同程度的衰减。酱卤牛肉风味丢失的途径主要包括风味物质与蛋白质的共价结合及其自身的挥发逸散。ANANTHARAMKRISHNAN 等^[5]通过电喷雾离子源质谱法 (electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS) 研究蛋白质与特定的风味化合物发生的共价结合, 结果表明 β -乳球蛋白与醛、酮、酚和含硫化合物的共价结合方式包括产生席夫碱、迈克尔加成和形成二硫键。醇、酸、酯、内酯和吡喃没有可观察到的配合物形成, 并且 pH、温度和水分活度也会影响风味物质与蛋白质之间的共价结合。李素等^[6]研究了酱卤牛肉真空包装后再常温贮藏 (0、2、4、6 和 8 个月)

条件下风味物质的变化趋势, 研究结果表明酱卤牛肉挥发性风味物质的总含量在贮藏期间先上升后降低, 且醇类和醛类物质含量较高。SUN 等^[7]研究卤牛肉在冻藏期间(-18℃冻藏 0、30、60 和 90 d)挥发性风味物质的变化情况, 通过固相微萃取和溶剂辅助风味蒸发技术综合分析, 得到关键风味活性物质包括己醛、1-辛烯-3-醇、芳樟醇、乙酸己酯、二烯丙基二硫、丁香酚、 α -蒎烯及茴香醚; 且冻藏期间挥发性物质的数量和浓度均有不同程度的下降。【本研究切入点】前人研究主要集中于酱卤牛肉风味物质鉴定、常温真空贮藏和冻藏对酱卤牛肉挥发性风味物质的影响。但笔者调研发现酱卤牛肉生产销售多采用前店后厂、即产即销模式, 冷链配送和终端销售均为 4℃贮藏, 贮藏时间不超过 60 h, 均不进行真空和气调包装。而酱卤牛肉在风冷和低温短时冷藏阶段风味物质的逸散行为尚不明确, 缺乏系统研究。【拟解决的关键问题】基于电子鼻、顶空固相微萃取/气相色谱-质谱仪联用技术, 结合气味活性值法(OAV 法)对酱卤牛肉风冷和冷藏阶段挥发性风味物质进行定性定量分析, 阐明酱卤牛肉在不同阶段挥发性风味物质的种类及含量, 探究关键风味活性物质在不同阶段的逸散行为, 为酱卤牛肉工业化加工、4℃冷藏、冷链配送及终端销售过程中的风味保持与调控提供理论依据。

1 材料与方法

试验于 2021 年 6—10 月在中国农业科学院农产品加工研究所/农业农村部农产品加工综合性重点实验室室内进行。

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料 酱卤牛肉: 牛后腱原料是由巴西进口的 24 月龄、质量 350—400 kg、饲养和屠宰条件相同的婆罗门牛, 宰后牛肉经吊挂风冷排酸 48 h (冷风风速 $3 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ 、温度 $0\text{—}4^\circ\text{C}$), 牛肉-18℃冻藏, 海运 30 d 至上海港, 检疫合格后运输至卤江南工厂; 花椒、辣椒、丁香、甘草、白芷、陈皮、八角、桂皮、白蔻、小茴香、山柰、香叶、草果采购自江苏卤江南公司。

2-甲基-3-庚酮 ($1.68 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$)、正构烷烃 ($\text{C}_7\text{—}\text{C}_{40}$), Sigma-Aldrich Chemical 公司。

1.1.2 主要仪器 20 mL 顶空进样瓶(美国赛默飞世尔科技公司); BSA423S 电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司); JR18S 多功能破碎机(浙江苏泊尔股份有限公司); PEN3 便携式电子

鼻(德国 Aairsense 公司); 50/30 μm 二乙烯基苯/碳分子筛/二甲基硅氧基烷 (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, DVB/CAR/PDMS) 2 cm SPME 萃取头(美国 Supelco 公司); GC/MS-QP 2010 Plus 气质联用仪(日本岛津公司); YC-300 L 低温冷藏柜(中科美菱低温科技股份有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 酱卤牛肉加工工艺: 解冻-预煮-修整-卤煮-风冷-包装-冷藏-冷链配送。将预煮和修整后的牛后腱 700 kg、1 500 L 水放入卤煮罐。香辛料配比为八角 1 260 g、白芷 450 g、小茴香 150 g、桂皮 600 g、草果 300 g、香叶 150 g、丁香 180 g、花椒 450 g、辣椒 150 g、甘草 200 g。

分别于刚出卤煮罐、风冷前、风冷后各取 3 块共 9 块酱卤牛肉, 均切成小块 ($2 \text{ cm}\times 2 \text{ cm}\times 2 \text{ cm}$), 绞碎成 2 mm 左右的肉粒, 取颗粒度均匀的肉粒放入-80℃冷冻柜冷冻备用; 取 18 块酱卤牛肉样品于包装袋中, 放置在冰箱 4℃冷藏柜, 在贮藏 0、6、18、30、42 和 54 h (样品包装和环境均模拟冷链配送与终端销售过程) 6 个时间点分别取 3 块酱卤牛肉, 按相同方法制样, 放入-80℃冷冻柜冷冻备用。

1.2.2 电子鼻分析 参照崔方超等^[8]的方法并做适当调整。将待测样品从-80℃冷冻柜取出, 4℃解冻 12 h, 在 2 min 内准确称取 2.00 g 待测样品于 20 mL 顶空进样瓶中, 并立即用带 PTFE 聚四氟乙烯硅胶垫片的顶空瓶盖密封。所有样品室温平衡 30 min 后, 使用 PEN3 电子鼻对 9 组样品进行检测。检测前传感器置于干燥空气中平衡 180 s, 检测 60 s, 选取信号稳定的 48—52 s 为信号采集时间。每组样品做 5 次平行重复测定。PEN3 电子鼻标准传感器阵列及其性能描述如表 1 所示。

1.2.3 挥发性风味物质测定 参考李娟等^[4]的方法, 并作适当调整。SPME 条件: 将待测样品从-80℃冷冻柜取出, 4℃解冻 12 h, 在 2 min 内准确称取 2.00 g 于 20 mL 顶空进样瓶中, 加入 $1.5 \mu\text{L}$ $1.68 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的 2-甲基-3-庚酮作内标, 立即用带 PTFE 聚四氟乙烯硅胶垫片的顶空瓶盖密封。采用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头, 250℃老化 30 min, 将样品于 50℃条件下平衡 30 min, 将萃取头插入顶空瓶中吸附 40 min, 最后将萃取头拔出并置于 240℃的进样口中解吸 2 min。

GC 条件: 色谱柱型号 DB-WAX ($30 \text{ m}\times 0.18 \text{ mm}\times 0.18 \mu\text{m}$), 不分流进样; 升温程序: 进样口温度

表 1 PEN3 便携式电子鼻标准传感器阵列及性能描述

Table 1 Sensor arrays and performance descriptions of portable electronic nose

序列号 Order number	传感器名称 Sensor name	敏感化合物 Sensitive compound	灵敏度 Sensitivity
R1	W1C	芳香类化合物 Aromatic components	10 mg·L ⁻¹
R2	W5S	氮氧类化合物 Oxynitride	1 mg·L ⁻¹
R3	W3C	氨类, 芳香类化合物 Ammonia, aromatic components	10 mg·L ⁻¹
R4	W6S	氢化物 Hydrogen	100 mg·L ⁻¹
R5	W5C	短链烷烃, 芳香化合物 Short chain alkanes, aromatic components	1 mg·L ⁻¹
R6	W1S	甲基类化合物 Methane	100 mg·L ⁻¹
R7	W2S	醇类, 醛酮类化合物 Alcohol, aldehyde ketone	1 mg·L ⁻¹
R8	W1W	无机硫化物 Sulphur compound	100 mg·L ⁻¹
R9	W2W	芳香成分、有机硫化物 Organic sulfur compounds, aromatic components	1 mg·L ⁻¹
R10	W3S	长链烷烃 Long chain alkanes	100 mg·L ⁻¹

240℃, 柱温箱初始温度 40℃, 保持 3 min, 以 5℃·min⁻¹ 升至 120℃, 10℃·min⁻¹ 升至 230℃, 保持 10 min。

MS 条件: 离子源温度 200℃, 传输线温度 250℃, 电子能量 70 eV。采用全扫描 (Scan) 模式采集信号, 扫描范围 35—500 m/z。

1.2.4 挥发性风味物质定性定量方法 定性分析: 与美国国家标准与技术研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 数据库对比, 进行化合物的 MS 鉴定, 检测出的挥发性风味物质匹配度均大于 80, 最高匹配度为 100。计算每种待测化合物的保留指数 (retention index, RI 值) 并与文献值比对。保留指数计算公式如下:

$$RI = \frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \times 100 + n \times 100$$

式中, t_x 、 t_n 、 t_{n+1} 分别为样品、正构烷烃 C_n 、正构烷烃 C_{n+1} 的保留时间 (min)。

定量分析: 根据已知内标 2-甲基-3-庚酮的浓度及峰面积计算待测风味化合物相对于内标物的含量, 计算公式如下:

$$C = \frac{A_x \times C_0 \times V \times 1000}{A_0 \times m}$$

式中, C 为测定物质的含量 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); A_x 为测定物质的峰面积; C_0 为内标物质量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$); V 为内物进样体积 (μL); A_0 为添加的内标物峰面积; m 为测定样品质量 (g)。

1.2.5 气味活性值 (OAV) 计算 气味活性值是挥发性风味物质的质量浓度与其阈值的比值, 计算公式如下:

$$OAV_i = \frac{C_i}{OT_i}$$

式中, OAV_i : 风味物质的气味活性值; C_i : 挥发性风味物质的质量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); OT_i : 各挥发性风味化合物在水中的气味阈值。

1.2.6 数据处理 采用 Microsoft Excel 2019 软件绘制雷达图和柱状图, R 语言绘制 PCA 图和热图, 指标测定均为 3 次平行测定结果, 利用 SPSS Statistics 21.0 对数据进行单因素方差分析和差异显著性分析。

2 结果

2.1 电子鼻测定风冷和冷藏阶段酱卤牛肉挥发性风味物质

由图 1 可知, 风冷阶段第一主成分 (PC1) 的贡献率为 66.6%, 第二主成分 (PC2) 的贡献率为 30.6%, PC1 与 PC2 贡献率之和为 97.2%; 冷藏阶段第一主成分 (PC1) 的贡献率为 83.2%, 第二主成分 (PC2) 的贡献率为 10.5%, PC1 与 PC2 贡献率之和为 93.7%, 两组样品的贡献率之和均大于 85%, 说明该结果几乎反映了样品全部信息。酱卤牛肉风冷过程中, 刚出卤煮罐、风冷前和风冷后的挥发性风味物质差异显著; 在冷藏阶段, 6、18 和 30 h 样品之间相互重叠, 表明这 3 个贮藏时间点之间差异不显著, 而贮藏 0、42 和 54 h 样品分离良好, 表明该贮藏时间点下酱卤牛肉的挥发性风味物质差异显著。

相较于电子鼻的主成分分析, 电子鼻响应值的雷达图数据可以更加直观地反应不同种类挥发性风味物质的种类差异, 响应值的大小也反映了电子鼻传感器

对酱卤牛肉中相关气味的区分能力^[9]。如图 2-a 所示，传感器 W5S（氮氧类化合物）的响应值由 1.70 减少至 1.01，传感器 W2S（醇类、醛酮类化合物）的响应值

由 1.75 减少至 1.08，传感器 W2W（芳香成分、有机硫化物）的响应值由 1.68 减少至 1.00。这表明酱卤牛肉在风冷阶段，其风味轮廓发生了较大的变化，该结

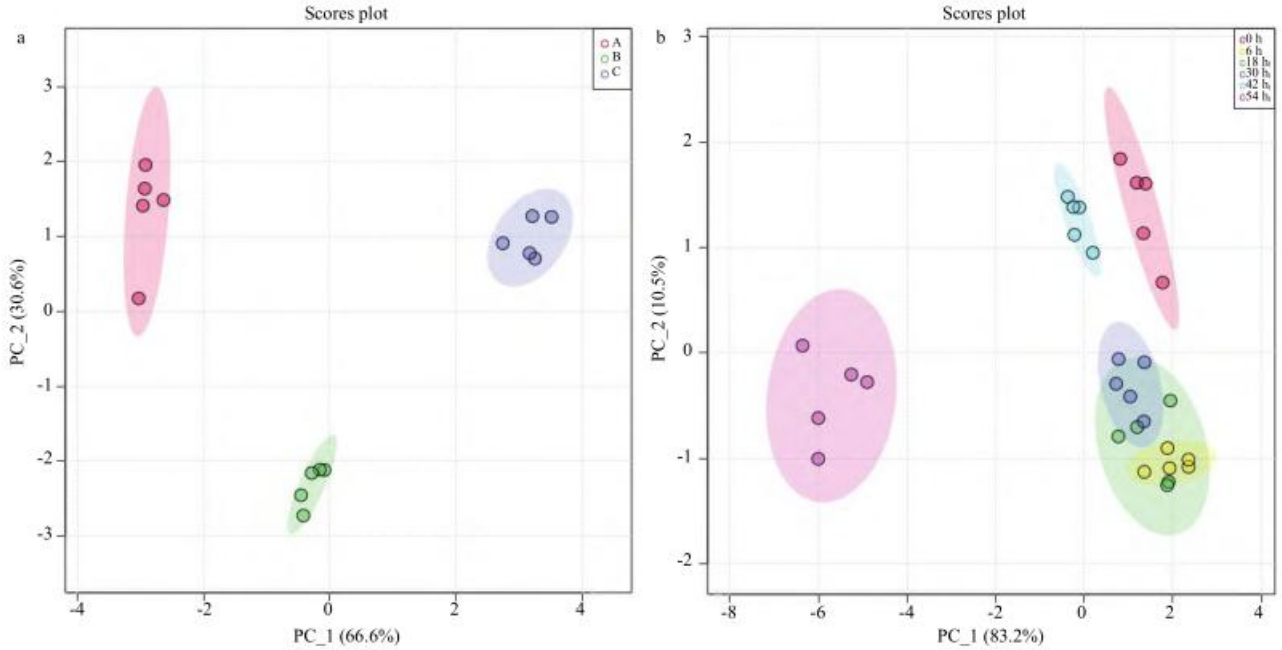


图 1-a 中 A、B、C 分别表示酱卤牛肉风冷后、风冷前和出卤煮罐
A, B, and C represent after air-cooling, before air-cooling, and out of the pot respectively in figure 1-a

图 1 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉风味的主成分分析图

Fig. 1 Principal component analysis of volatile flavor compounds of stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

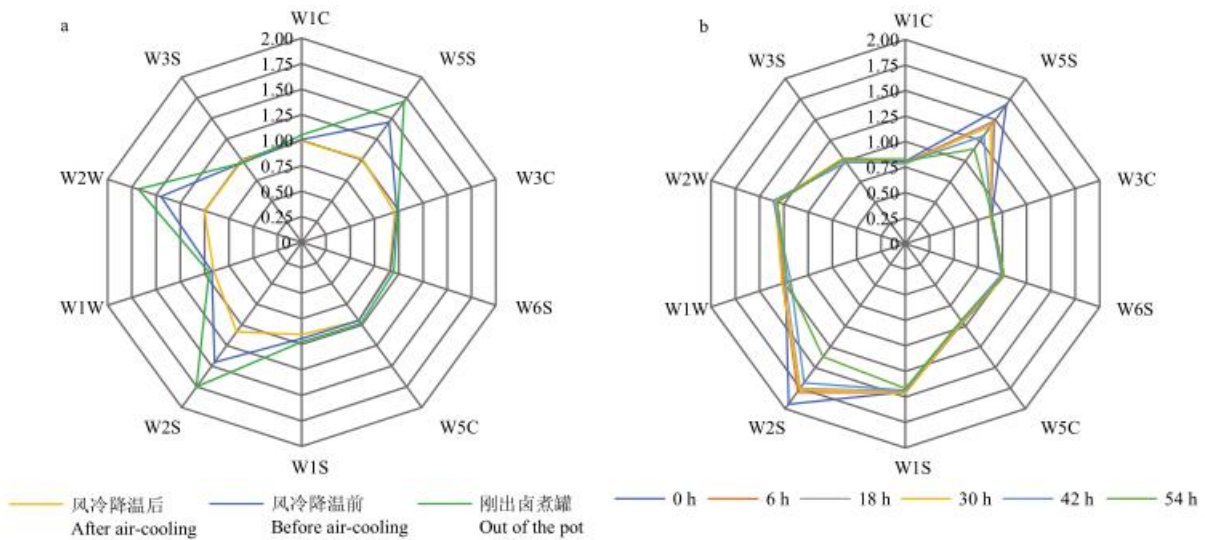


图 2 风冷和冷藏期间酱卤牛肉电子鼻响应值雷达图

Fig. 2 Radar chart of electronic nose response value of stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

果与上述 PCA 的分析结果保持一致,这可能是酱卤牛肉受风冷阶段循环冷风的风速和降温时间影响;但电子鼻不能直接反映风味物质的含量变化,需要结合 GC-MS 的结果综合讨论。如图 2-b 所示,在冷藏阶段,贮藏 0—54 h 后传感器 W5S (氮氧类化合物) 的响应值由 1.68 降低至 1.14,传感器 W2S (醇类、醛酮类化合物) 的响应值由 1.94 降低至 1.37,但酱卤牛肉在贮藏 6、18 和 30 h 时其风味轮廓并未发生显著改变,这与之前的 PCA 分析结果相互印证。

2.2 HS-SPME-GC-MS 测定不同阶段酱卤牛肉中挥发性风味物质

表 2 展示了酱卤牛肉在风冷和冷藏阶段挥发性风味物质的定性结果,定性依据包括 NIST 17 谱库检索、匹配度大于 80 (最大匹配度 100)、计算挥发性风味物质的保留指数并与文献保留指数对比。由表 2 可知,酱卤牛肉风冷和冷藏阶段共鉴定到 64 种挥发性风味物质,两个不同阶段分别鉴定到了 39、31、33 种和

36、36、34、34、31、29 种挥发性风味物质。主要包括烃类、醇类、醛类、酮类、酯类、酸类、酚类、醚类以及杂环(含氮、氧)类化合物。图 3 展示了风冷和冷藏阶段挥发性风味物质的含量。风冷阶段,挥发性风味物质总含量分别为 13 636.18、9 799.21 和 8 213.86 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,呈逐渐降低的变化趋势,总含量降低 39.8%,其中醛类、酚类、酮类和醚类物质含量较高。冷藏阶段,挥发性风味物质总含量为 7 712.65、6 196.00、5 319.42、4 732.69、5 295.05 和 4 281.82 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,总含量呈先降低、后增高、再降低的变化趋势,总含量降低 44.5%。风冷阶段,酱卤牛肉中醛类化合物的含量呈逐渐上升的趋势;酚类、酮类和醚类物质的含量均逐渐降低。冷藏阶段,随着贮藏时间的增加,酱卤牛肉中醛类化合物的含量先增高后降低的趋势;酚类、醚类化合物的含量逐渐降低;而酮类化合物的含量先降低、后增高,贮藏 54 h 后含量再次降低。

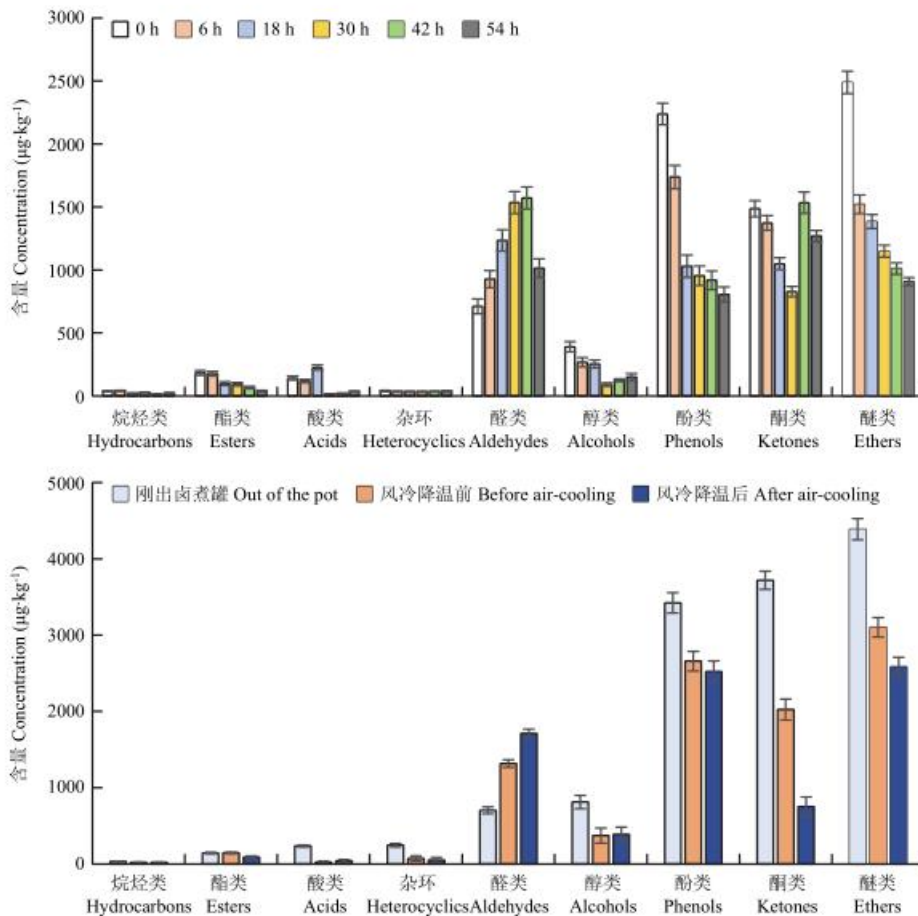


图 3 风冷和冷藏期间酱卤牛肉挥发性风味物质含量

Fig. 3 The concentration of volatile flavor compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

表 2 风冷和冷藏期间酱卤牛肉中挥发性风味物质 GC-MS 鉴定结果
Table 2 Identification of volatile flavor compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration by GC-MS

序号 Number	化合物名称 Compound name	计算 保留指数 Calculate	文献 保留指数 Reference	匹配度 Suitability	定性方式 Qualitative method	冷藏 Refrigeration					风冷 Air-cooling		
						0 h	6 h	18 h	30 h	42 h	54 h	刚出罐 Out of the pot	风冷前 Before air-cooling
烃类化合物 Hydrocarbons (6)													
1	十四烷 Tetradecane	1451	ND	89	MS	+	+	+	+	+	+	-	-
2	十五烷 n-Pentadecane	1498	1500	91	MS, RI	-	-	+	+	-	-	+	+
3	十六烷 n-Hexadecane	1600	1600	95	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	+
4	十七烷 n-Heptadecane	1703	1700	90	MS, RI	+	+	-	+	-	-	+	+
5	十八烷 Octadecane	1801	1800	96	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	+
6	新植二烯 Neophytadiene	1987	ND	89	MS	-	+	+	-	-	+	-	+
醇类化合物 Alcohols (10)													
7	桉叶油醇 1,8-Cineole	1211	1213	93	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	-
8	芳樟醇 Linalool	1546	1537	97	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+
9	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	1611	1602	99	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+
10	α -松油醇 α -Terpineol	1701	1688	98	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+
11	香叶醇 Geraniol	1820	1847	95	MS, RI	+	-	+	-	-	-	+	+
12	苯乙醇 Phenethyl alcohol	1871	1875	92	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+
13	肉豆蔻醇 1-Tetradecanol	1978	ND	88	MS	+	+	+	+	+	+	+	-
14	肉桂醇 Cinnamyl alcohol	2284	2306	93	MS, RI	+	+	-	-	-	-	+	+
15	4-甲氧基苯甲醇 4-Methoxybenzyl alcohol	2290	2296	91	MS, RI	+	+	-	-	-	-	+	-
16	月桂醇 1-Dodecanol	2557	2570	83	MS, RI	-	-	+	-	-	+	-	-
醛类化合物 Aldehydes (10)													
17	戊醛 Valeraldehyde	950	935	89	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	-
18	壬醛 Nonanal	1402	1385	91	MS, RI	-	-	-	+	+	-	-	+
19	苯甲醛 Benzaldehyde	1500	1494	92	MS, RI	-	+	-	+	+	-	+	+
20	茴香醛 p-Anisaldehyde	1739	ND	97	MS	+	+	+	+	+	+	+	+
21	十三醛 Tridecanal	1854	ND	86	MS	-	-	+	+	+	-	-	-
22	月桂醛 Dodecyl aldehyde	1890	ND	84	MS	-	-	+	+	+	-	+	+

续表 2 Continued table 2

序号 Number	化合物名称 Compound name	计算 保留指数 Calculate retention index	文献 保留指数 Reference retention index	匹配度 Suitability	定性方式 Qualitative method	冷藏 Refrigeration						风冷 Air-cooling			
						0 h	6 h	18 h	30 h	42 h	54 h	刚出罐 Out of the pot	风冷前 Before air-cooling	风冷后 After air-cooling	
23	肉豆蔻醛 Nutmeg aldehyde	1961	1940	90	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	反式肉桂醛 cis-Cinnamaldehyde	2058	2040	97	MS, RI	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
25	棕榈醛 Palmitaldehyde	2109	2132	93	MS, RI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
26	十八烷醛 Stearaldehyde	2319	2343	91	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
酮类化合物 Ketones (8)															
27	3-羟基-2-丁酮 Acetoin	1297	1298	93	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮 Furaneol	1379	1399	88	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
29	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮 Hydroxydihromaltol	1455	ND	85	MS	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
30	左旋香芹酮 L(-)-Carvone	1711	1721	93	MS, RI	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
31	胡椒酮 Piperitone	1730	1737	98	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	4-甲氧基苯丁酮 4-Methoxybutyrophenone	1782	ND	97	MS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	香叶基丙酮 Geranyl acetone	1841	1852	87	MS, RI	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
34	2-十三烷酮 2-Tridecanone	1852	ND	84	MS	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
酯类化合物 Esters (14)															
35	乙酸异丁酯 Isobutyl acetate	1028	1002	96	MS, RI	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
36	庚酸乙酯 Ethyl heptanoate	1322	1336	95	MS, RI	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
37	辛酸甲酯 Caprylic acid methyl ester	1382	1385	88	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
38	对茴香酸甲酯 Methyl anisate	1384	ND	86	MS	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
39	琥珀酸二乙酯 Diethyl succinate	1674	ND	87	MS	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
40	对甲氧基苯甲酸甲酯 Methyl 4-methoxybenzoate	1725	ND	93	MS	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
41	苯乙酸乙酯 Ethyl phenylacetate	1757	1785	95	MS, RI	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
42	乙酸肉桂酯 Cinnamyl acetate	1760	ND	97	MS	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
43	乙酸丁香酚酯 Eugenol acetate	1821	ND	83	MS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44	月桂酸甲酯 Methyl laurate	1930	ND	97	MS	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
45	月桂酸乙酯 Ethyl laurate	1956	ND	93	MS	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

续表 2 Continued table 2

序号 Number	化合物名称 Compound name	计算 保留指数 Calculate retention index	文献 保留指数 Reference retention index	匹配度 Suitability	定性方式 Qualitative method	冷藏 Refrigeration						风冷 Air-cooling		
						0 h	6 h	18 h	30 h	42 h	54 h	刚出罐 Out of the pot	风冷前 Before air-cooling	风冷后 After air-cooling
46	肉豆蔻酸甲酯 Methyl myristate	2028	ND	97	MS	+	+	+	+	+	+	-	-	-
47	肉豆蔻酸乙酯 Ethyl myristate	2059	2055	80	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	-	-
48	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	2221	ND	88	MS	-	-	+	+	-	-	-	-	-
酸类化合物 Acids (3)														
49	异戊酸 Isovaleric acid	834	827	90	MS, RI	+	+	+	-	-	-	+	-	-
50	辛酸 Octanoic acid	1184	1186	87	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
51	癸酸 Decanoic acid	1457	ND	89	MS	-	-	-	-	-	-	-	-	+
酚类化合物 Phenols (3)														
52	丁香酚 Eugenol	1355	1356	90	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53	对烯丙基苯酚 4-Allylphenol	1581	ND	87	MS	-	-	-	-	-	-	+	+	+
54	香芹酚 Carvacrol	2079	ND	93	MS	+	-	-	-	-	-	+	-	-
醚类化合物 Ethers (2)														
55	草蒿脑 4-Allylanisole	1684	1655	98	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56	茴香脑 Anethol	1809	1815	97	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
杂环化合物 Heterocyclics (8)														
57	四氢呋喃 Tetrahydrofuran	1285	ND	87	MS	-	-	+	-	-	-	-	-	-
58	2-乙酰吡咯 2-Acetyl pyrrole	1391	1393	85	MS, RI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59	2,3,5-三甲基吡嗪 Trimethyl-pyrazine	1394	1399	91	MS, RI	-	-	-	-	-	-	+	-	-
60	2,3,5,6-四甲基吡嗪 Tetramethylpyrazine	1448	1459	88	MS, RI	-	-	-	-	+	-	+	+	-
61	α -甲基萘 1-Methylnaphthalene	1872	1875	93	MS, RI	-	-	-	-	-	+	-	-	-
62	β -甲基萘 2-Methylnaphthalene	1898	ND	94	MS	-	-	-	+	+	+	-	-	-
63	1,2-环氧十六烷 1,2-Epoxyhexadecane	1986	ND	95	MS	-	-	-	+	-	-	-	-	-
64	3,3'-二甲氧基苯偶酰 3,3'-Dimethoxybenzil	2351	ND	84	MS	-	-	-	-	-	-	+	-	-

ND: 没有查到相关参考文献, 无法给出保留指数; -: 未检出。MS: 质谱; RI: 保留指数。下同

ND: No relevant references had been consulted, and the retention index can't be given; -: Not detected. MS: Mass spectrometry; RI: Retention index. The same as below

2.3 风冷和冷藏过程中酱卤牛肉中的风味活性物质

通过计算挥发性风味物质的 OAV 值来判定它们对酱卤牛肉整体香气的贡献程度。通常来说， $OAV \geq 1$ ，则对整体香气贡献显著，OAV 值越大，则贡献程度越大，且 OAV 值的大小不仅取决于挥发性风味物

质的浓度，同时与该挥发性风味物质在水中的阈值也有密切联系。表 3 展示了不同冷处理酱卤牛肉中各挥发性风味物质的 OAV 值以及对应物质的气味描述。

分别选取两种冷处理条件下 $OAV \geq 1$ 的物质进行分析（图 4）。风冷阶段一共有 18 种挥发性风味物质

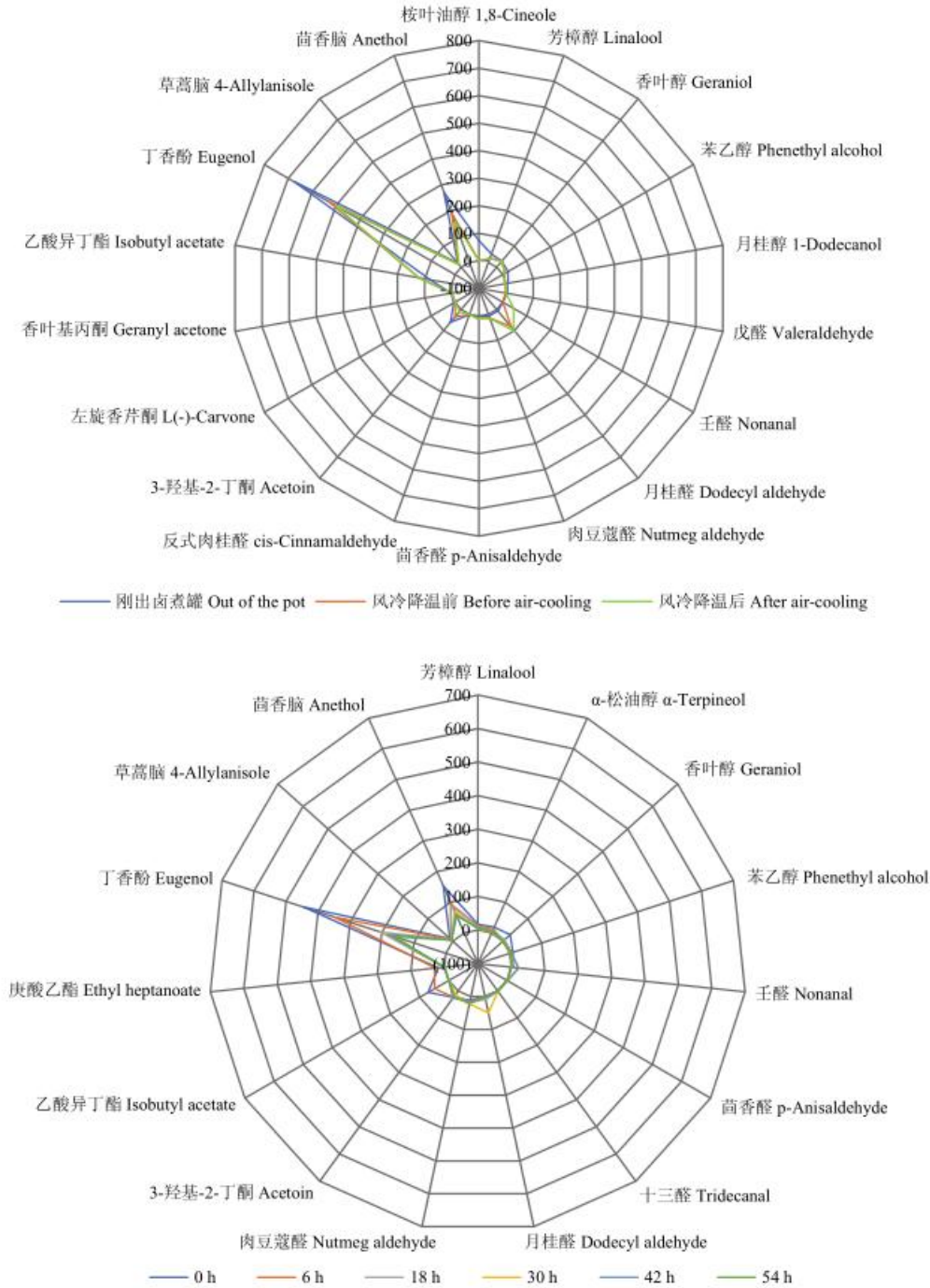


图 4 风冷和冷藏期间酱卤牛肉风味活性物质 OAV

Fig. 4 OAVs of flavor active substances in stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

表 3 风冷和冷藏期间酱卤牛肉中挥发性风味物质 OAV 值

Table 3 OAVs of volatile flavor compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

序号 Number	化合物名称 Compound name	阈值 Threshold ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	冷藏 Refrigeration					风冷 Air-cooling		气味描述 Odor description		
			0 h	6 h	18 h	30 h	42 h	54 h	刚出罐 Out of the pot		风冷前 Before air-cooling	风冷后 After air-cooling
1	桉叶油醇 1,8-Cineole	1.3 ^[10]	-	-	-	-	-	-	73.64	-	-	草药味 Herbal ^[10]
2	芳樟醇 Linalool	6 ^[10]	17.40	12.92	10.97	3.03	4.58	8.03	33.28	16.24	14.94	花香、甜香 Floral, sweet ^[10]
3	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	340 ^[10]	0.24	0.16	0.12	0.07	0.09	0.07	0.41	0.32	0.33	蜡味 Waxy ^[10]
4	α -松油醇 α -Terpineol	4.6 ^[11]	18.72	13.67	8.50	4.35	6.68	5.58	0.46	0.32	0.32	水果香、薄荷味 Fruity, minty ^[10]
5	香叶醇 Geraniol	1 ^[11]	28.87	-	6.67	-	-	-	28.35	30.93	27.80	甜香、玫瑰花香 Sweetly, rosey ^[11]
6	苯乙醇 Phenethyl alcohol	3.17 ^[12]	9.95	7.38	5.84	2.73	5.98	5.01	21.85	8.92	7.20	玫瑰花香 Rosey ^[11]
7	月桂醇 1-Dodecanol	7.1 ^[13]	0.24	0.16	0.12	0.07	0.09	0.07	4.82	-	-	ND
8	戊醛 Valeraldehyde	12 ^[13]	-	-	-	-	-	-	2.64	-	-	辛辣味、杏仁味 Spicy, almond ^[10]
9	壬醛 Nonanal	1 ^[14]	-	-	-	23.30	21.66	-	-	-	45.39	青草味、脂肪味 Grassy, fatty ^[14]
10	苯甲醛 Benzaldehyde	350 ^[14]	-	0.05	-	0.09	0.08	-	0.07	0.13	0.18	苦杏仁味 Bitter almond ^[14]
11	4-甲氧基苯甲醛 p-Anisaldehyde	27 ^[15]	1.37	1.78	0.80	1.33	1.48	0.68	5.76	9.05	13.82	薄荷味、甜味 Mint, sweet ^[15]
12	十三醛 Tridecanal	10 ^[15]	-	-	1.67	1.45	0.83	-	-	-	-	花香、甜香 Flower, sweet ^[15]
13	月桂醛 Dodecyl aldehyde	2 ^[15]	-	-	8.35	50.25	4.13	-	6.92	81.34	106.02	脂肪味 Fatty ^[15]
14	肉豆蔻醛 Nutmeg aldehyde	53 ^[15]	10.73	13.86	18.75	21.23	15.24	21.34	6.23	14.95	16.93	脂肪香、蜡香 Fatty, waxy ^[15]
15	反式肉桂醛 cis-Cinnamaldehyde	50 ^[15]	0.51	0.41	0.19	-	0.23	0.20	1.17	0.82	0.71	桂皮油香 Cassia oil ^[15]
16	棕榈醛 Palmitaldehyde	100 ^[15]	0.55	0.68	0.72	-	-	-	-	-	-	花香、蜡香 Flower, waxy ^[15]
17	3-羟基-2-丁酮 Acetoin	55 ^[15]	24.34	22.90	16.56	13.99	26.17	21.21	61.51	34.66	11.49	奶油香味 Creamy ^[16]
18	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one	200 ^[16]	0.09	0.10	0.07	-	-	0.05	0.08	0.06	0.06	ND
19	左旋香芹酮 L(-)-Carvone	6.7 ^[16]	-	-	-	-	-	-	5.71	-	-	薄荷香味 Minty ^[16]
20	胡椒酮 Piperitone	680 ^[15]	0.05	0.03	0.02	0.01	0.02	0.01	0.10	0.05	0.06	樟脑味 Camphor ^[15]

续表 3 Continued table 3

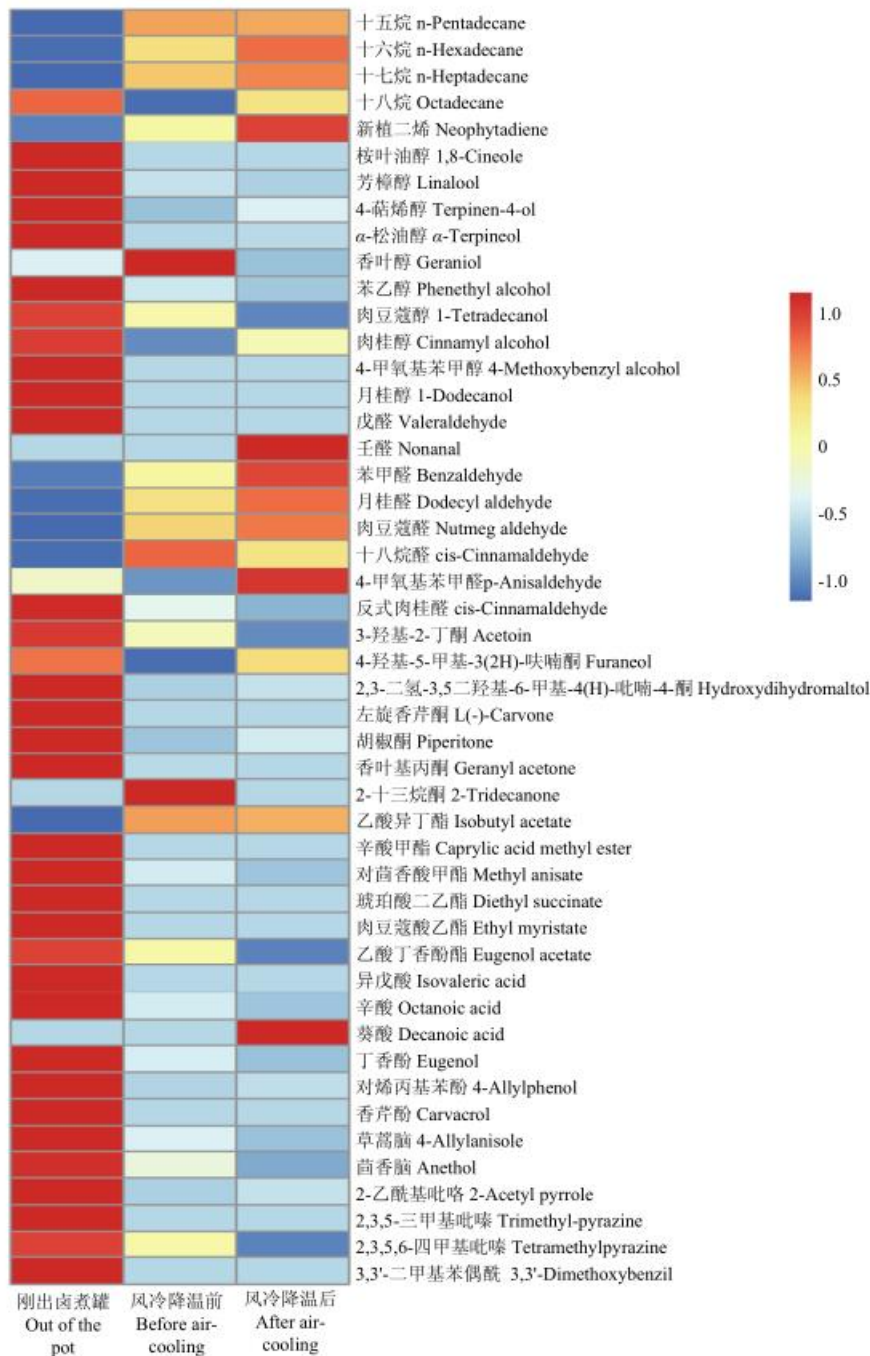
序号 Number	化合物名称 Compound name	阈值 Threshold ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	冷藏 Refrigeration							风冷 Air-cooling		气味描述 Odor description
			0 h	6 h	18 h	30 h	42 h	54 h	刚出罐 Out of the pot	风冷前 Before air-cooling	风冷后 After	
21	香叶基丙酮 Geranyl acetone	60 ^[11]	-	-	-	0.12	0.10	0.09	2.73	1.01	0.99	果香、木香 Fruity, woody ^[12]
22	2-十三烷酮 2-Tridecanone	216 ^[15]	0.07	0.05	0.15	0.05	0.05	0.07	-	0.05	-	青草香 Grassy ^[15]
23	乙酸异丁酯 Isobutyl acetate	0.15 ^[17]	70.27	48.20	-	-	-	-	80	120.80	122.60	水果香 Fruity ^[17]
24	琥珀酸二乙酯 Diethyl succinate	137 ^[17]	-	-	-	-	-	-	0.11	--	-	酒香、水果香 Wine, fruity ^[17]
25	庚酸乙酯 Ethyl heptanoate	1.9 ^[17]	17.92	25.95	-	-	-	-	-	-	-	水果香 Fruity ^[17]
26	苯乙酸乙酯 Ethyl phenylacetate	137 ^[17]	-	0.08	-	-	-	-	-	-	-	甜香、水果香 Sweet, fruity ^[17]
27	月桂酸乙酯 Ethyl laurate	79 ^[17]	-	-	0.23	0.18	-	-	-	-	-	树叶香 Leaf ^[15]
28	棕榈酸甲酯 Methyl myristate	361 ^[17]	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-	ND
29	异戊酸 Isovaleric acid	128 ^[17]	0.58	0.53	0.93	-	-	-	-	-	-	汗味、酸味、馊味 Sweat, acid, rancid ^[16]
30	辛酸 Octanoic acid	148 ^[17]	0.46	0.34	0.72	0.10	0.14	0.24	0.46	0.16	0.12	汗味、奶酪味 Sweat, cheese ^[15]
31	丁香酚 Eugenol	5 ^[16]	445.00	347.52	205.83	190.84	183.71	161.00	676.30	529.92	502.69	辛辣、丁香味 Spicy, clove ^[16]
32	香芹酚 Carvacrol	351 ^[17]	0.04	-	-	-	-	-	0.07	-	-	青草味 Grassy ^[16]
33	葑蒿脑 4-Allylanisole	16 ^[17]	11.39	8.72	6.54	5.19	5.69	4.77	19.33	14.77	13.86	甘草、茴香 Licorice, fennel ^[15]
34	茴香脑 Anethol	15 ^[17]	153.76	92.10	85.29	70.24	61.32	55.45	271.84	192.06	156.47	甘草味 Licorice ^[11]
35	2,3,5-三甲基吡嗪 Trimethyl-pyrazine	290 ^[17]	-	-	-	-	-	-	0.23	-	-	烧烤、土豆味 Roast, potato ^[15]
36	2,3,5,6-四甲基吡嗪 Tetramethylpyrazine	100 ^[16]	-	-	-	-	0.19	-	0.49	0.26	-	坚果味 Nutty ^[15]
37	α -甲基萘 1-Methylnaphthalene	58.1 ^[17]	-	-	-	-	-	0.19	-	-	-	樟脑味 Camphor ^[17]
38	β -甲基萘 2-Methylnaphthalene	362 ^[17]	-	-	-	0.03	0.02	0.03	-	-	-	樟脑味 Camphor ^[17]
39	2-乙酰基吡咯 1,2-Epoxyhexadecane	1000 ^[17]	0.04	0.03	0.02	0.01	0.01	0.01	0.43	0.17	0.18	烧烤、杏仁 Roast, almond ^[17]
40	3,3'-二甲氧基苯偶酰 3,3'-Dimethoxybenzil	362 ^[17]	-	-	-	-	-	-	0.03	-	-	ND

的 OAV ≥ 1, 包括桉叶油醇、芳樟醇、香叶醇、苯乙醇、月桂醇、戊醛、壬醛、茴香醛、月桂醛、肉豆蔻醛、反式肉桂醛、3-羟基-2-丁酮、左旋香芹酮、香叶基丙酮、乙酸异丁酯、丁香酚、草蒿脑和茴香脑; 4℃冷藏期间一共有 15 种挥发性风味物质 OAV ≥ 1, 包括芳樟醇、α-松油醇、香叶醇、苯乙醇、壬醛、茴香醛、十三醛、月桂醛、肉豆蔻醛、3-羟基-2-丁酮、乙酸异丁酯、庚酸乙酯、丁香酚、草蒿脑和茴香脑。酱卤牛肉在加工过程中添加了大量的香辛料, 香辛料中主要成分包括

萜类化合物、酚醚类化合物, 并且由于其中部分物质较低的阈值, OAV 值普遍较高, 对酱卤牛肉的整体香气有显著贡献。

2.4 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉风味活性物质逸散分析

图 5 是酱卤牛肉不同冷处理期间挥发性风味物质的含量热图, 可将每一种物质在不同冷处理期间含量的变化趋势进一步可视化。由红到蓝表示该种物质的含量逐渐降低, 反之则代表含量逐渐升高。之前分析



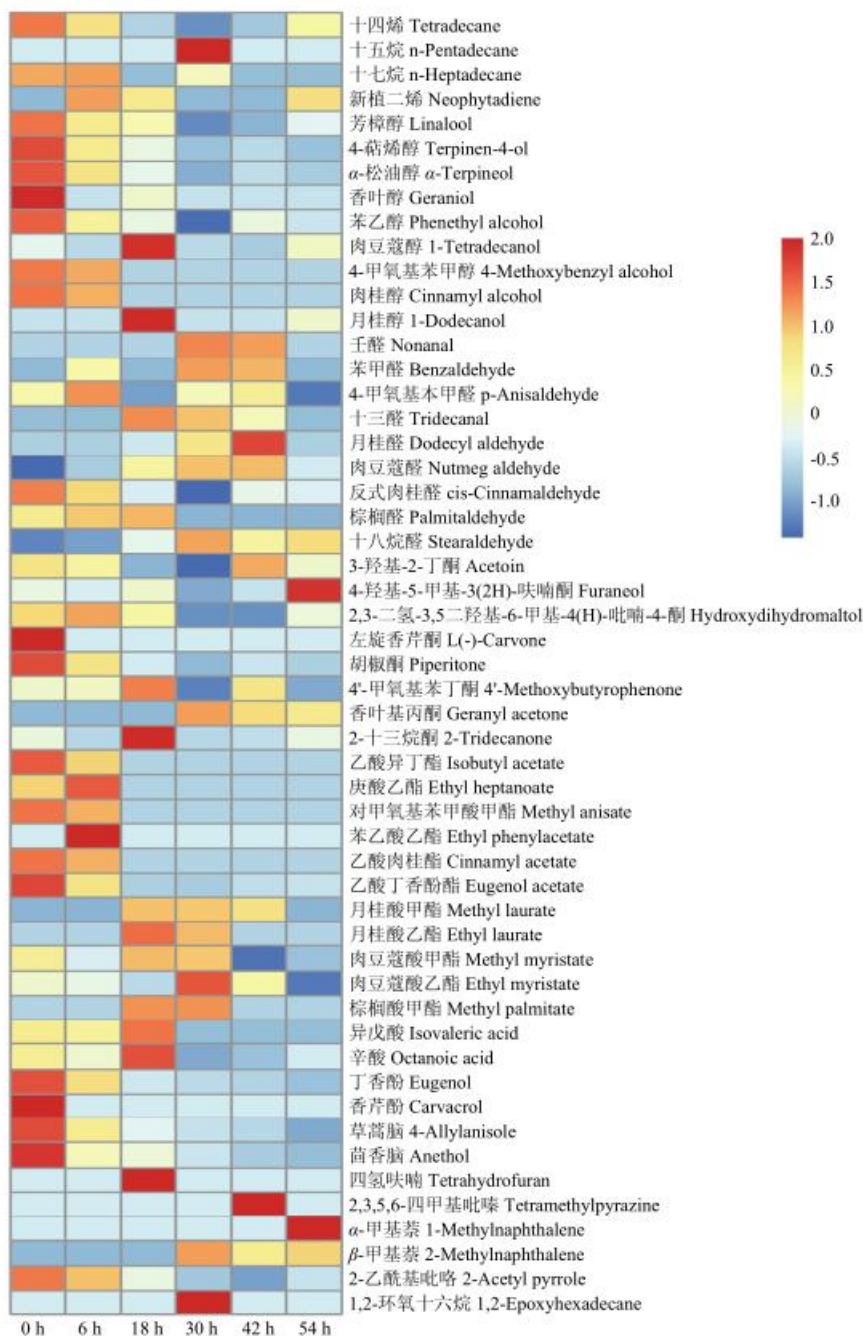


图 5 风冷和冷藏期间酱卤牛肉挥发性风味物质含量热图

Fig. 5 The heat map of volatile flavor compounds in stewed beef with soy sauce during air-cooling and refrigeration

得到，不同冷处理条件下含量较高的挥发性风味物质包括醛类、酚类、酮类和醚类化合物，这些物质的变化趋势在热图中更为简洁直观，每一大类物质的变化趋势与图 3 一致。

酱卤牛肉风冷阶段，易丢失逸散的风味活性物质主要包括酯类、醇类、酮类和酚醚类化合物。风冷阶

段，桉叶油醇（草药香）、月桂醇和左旋香芹酮（薄荷香）只在刚出卤煮罐时检测到，且 OAV>1，在风冷前和风冷后均未检测到，说明桉叶油醇、月桂醇和左旋香芹酮在风冷之前已经全部丢失；醇类和酮类物质中，3-羟基-2-丁酮（奶油香）、苯乙醇（玫瑰花香）、香叶基丙酮（果香、木质香）和芳樟醇（花香、甜香）

OAV 值分别降低 81.3%、64.0%、63.7%和 55.1%。酚醚类物质中,草蒿脑(甘草香、茴香)、茴香脑(甘草香)和丁香酚(辛辣、丁香味)的 OAV 值分别降低 42.4%、28.3%和 25.7%。

冷藏阶段,易逸散或丢失的风味活性物质主要包括酯类、醇类、酚类和醚类化合物。乙酸异丁酯(水果香)和庚酸乙酯(水果香)只在 0 和 6 h 检测到,且 OAV 值较高,说明冷藏 6 h 后,这两种物质已经全部丢失。茴香脑、丁香酚、草蒿脑逸散严重,OAV 值分别降低 63.9%、63.8%、58.1%。芳樟醇 OAV 值变化趋势表现为先降低后增加,最终降低了 53.9%。

3 讨论

3.1 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉风味轮廓变化

电子鼻是一种模拟人体嗅觉系统来对待测物进行风味评价的电子感官系统,在风味轮廓判别、品质评价和产地区分方面都有良好的应用^[18-19]。电子鼻具有操作简单、速度快和灵敏度高优点^[20],可以客观地反映样品的风味轮廓,避免感官评价员主观判断造成的误差。将电子鼻的风味轮廓与气质联用技术的定性定量相互结合,能够更加真实准确地反映样品的风味特征。电子鼻结果表明,醇类、醛酮类、氮氧类和有机硫化物是导致酱卤牛肉风冷和冷藏期间风味轮廓改变的主要化合物,这类物质的阈值较低^[15],在肉制品风味研究中备受关注。造成这种变化的原因可能包括酱卤牛肉中风味物质的挥发逸散,蛋白质、脂质氧化以及微生物作用。张淼等^[21]研究表明电子鼻能够对不同贮藏时间点(1、3、5、7、9、10、11 和 12 d)的调理牦牛肉样品进行有效区分,贮藏第 7 天时其挥发性风味物质类别发生显著改变。在加工和贮藏过程中,牛肉中的蛋白质会因为超氧阴离子、羟基自由基、过氧自由基等发生氧化,进而影响醛酮类物质与蛋白质的结合能力,导致调理牦牛肉风味轮廓改变。SHEN 等^[22]研究表明,随着蛋白氧化程度的加剧,较短碳链的醛和酮因为蛋白质的聚集和空间位阻效应而与蛋白质的结合减弱,最终被释放出来。上述结果与本研究结果一致。肉制品在冷藏过程中不可避免的会出现微生物生长繁殖,导致其货架期、产品品质和食用品质发生改变。如研究表明随着大鲵肉冷藏时间的延长,其感官品质下降,菌落总数逐渐增加。在冷藏过程中,大鲵肉的醛类和醇类物质含量也分别呈现先增加后降低和逐渐降低的趋势^[23]。

3.2 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉挥发性风味物质含量变化趋势

李素等^[6]的研究表明,随贮藏时间(0、2、4、6 和 8 个月)逐渐延长,卤汤牛肉样品挥发性风味物质总含量呈先上升后降低的趋势,肉汤中挥发性风味物质总含量基本呈逐渐降低趋势,贮藏期间牛肉和肉汤中醇类、醛类物质占比较高。在本研究的风冷阶段,酱卤牛肉挥发性风味物质的总含量降低 39.8%,冷藏阶段,酱卤牛肉中挥发性风味物质的总含量降低 44.5%。且风味物质总量变化趋势与前人研究成果基本一致。醛类物质占比较高是由于在风冷和冷藏阶段酱卤牛肉中的醛类物质多由不饱和脂肪酸的自动氧化^[24-26]和氨基酸的 Strecker 降解产生,且蛋白质氧化后与醛类物质的结合作用降低^[27-28],导致醛类物质挥发到了顶空中,进而含量逐渐增加。真空包装卤牛肉在常温贮藏(0、3、6、9 和 12 个月)过程中,随着贮藏时间的延长,卤牛肉感官品质下降。醛类物质在卤牛肉贮藏期间占比最高,如辛醛、壬醛等脂肪氧化产物被认定为卤牛肉贮藏期间的主要异味物质^[29]。

3.3 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉的风味逸散

酱卤牛肉冷处理期间易丢失的风味活性物质包括醇类、酮类、酯类和酚醚类物质。醇类化合物是酱卤牛肉样品中一类重要物质,其主要来源于脂肪氧化、醛的还原反应以及香辛料的添加。由于部分易挥发醇类物质的挥发逸散,加之风冷阶段冷风的吹扫作用,导致含量下降,进而引起 OAV 值的降低;酱卤牛肉中的酮类物质一般与不饱和脂肪酸氧化、脱羧基作用、部分美拉德反应以及香辛料的添加有关。相关研究结果表明,酮类物质可以与蛋白质中的特定氨基酸残基发生不可逆的共价结合,共价结合会使风味物质无法再次释放,导致了含量的降低^[30-32];本研究中左旋香芹酮、香叶基丙酮的丢失有可能与酮类物质与蛋白质的共价结合有关;一般认为,除内酯和硫酯以外,其他酯类物质阈值偏高,在肉制品中含量较少,对肉制品的风味贡献有限^[33]。多数直链醛由不饱和脂肪酸的自动氧化和氧化脱氨-脱羧作用产生,多数支链醛由氨基酸的 Strecker 降解产生^[34-35],是卤制类牛肉中具有代表性的一类风味物质,本研究中醛类物质 OAV 值的升高说明风冷和冷藏阶段,酱卤牛肉可能发生了一定程度的脂肪氧化及氨基酸降解,且醛类物质在酱卤牛肉热加工期间与蛋白质形成可逆的非共价结合,在风冷和冷藏期间又重新释放,导致醛类物质含量和 OAV 值的增加。

3.4 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉挥发性风味物质来源

酱卤牛肉中还检测到了一些值得关注的物质。由于在卤制过程中加入了大量香辛料, 因此丁香酚、茴香脑, 肉豆蔻醛的含量较高, 又因其较低的阈值, 对酱卤牛肉整体香气形成贡献较大; 香辛料中的成分主要包括酚醚类化合物、萜类化合物和萜烯衍生物。萜类化合物是一类分子式是异戊二烯 (C_5H_8) 整数倍, 也可能包括其他官能团的一大类有机化合物, 其味道强烈, 易发生环化、氧化、还原、聚合等反应^[36-37]。本研究中的风味活性物质如芳樟醇、 α -松油醇、香叶醇均属于萜类化合物。但萜类化合物与蛋白质的相互作用目前鲜有相关报道, 后续会就萜类化合物与蛋白质的相互作用进行进一步研究; 本研究中还检测到萘、吡嗪、吡咯等杂环化合物。孙玉亮等^[38]在扇贝豆酱中检出萘、 β -甲基萘, 因此推断酱卤牛肉中的此类物质与卤制加工过程中添加了黄酱、酱油等辅料有关; 杂环化合物一般具有强烈的气味, 在风味分析中需重点关注。王柏文等^[39]对芝麻香型白酒风味进行了分析, 发现了多达 17 种吡嗪类化合物, 认为吡嗪是酒类物质的典型风味物质。在酱卤牛肉加工工艺中, 为了起到去腥提鲜的作用, 用白酒、料酒等浸泡香辛料, 推测这是样品中吡嗪类物质的重要来源。其次, YU 等^[40]和 STAROWICZ 等^[41]认为美拉德反应也是吡嗪类物质的来源之一。美拉德反应过程中会生成吡嗪类化合物, 每 100 g 可可豆在烘焙时会损失 1.3 g 还原糖和全部的氨基酸, 却只生成 0.9 mg 吡嗪类化合物^[42]。酱卤牛肉加工工艺过程中温度较低, 达不到美拉德反应的最适条件, 因此推测美拉德反应产生的吡嗪类物质相对较少。吡嗪类化合物在一定条件下也可以反应生成呋喃、吡咯等杂环化合物。

4 结论

酱卤牛肉风冷过程中, 刚出卤煮罐、风冷前和风冷后的挥发性风味物质差异显著; 在冷藏阶段, 6、18 和 30 h 样品之间差异不显著, 贮藏 0、42 和 54 h 样品之间差异显著, 且酱卤牛肉在不同阶段风味轮廓均发生了改变; 风冷和冷藏阶段酱卤牛肉中共检测到 64 种挥发性风味物质。风冷阶段, 酱卤牛肉的挥发性风味物质总含量降低 39.8%; 冷藏阶段, 挥发性风味物质总含量降低 44.5%。酱卤牛肉挥发性风味物质逸散的主要阶段是冷藏; OAV 分析表明, 风冷阶段, 共有 18 种风味活性物质, 其中桉叶油醇、月桂醇、戊醛和左旋香芹酮风冷前完全丢失。3-羟基-2-丁酮、苯乙醇、

香叶基丙酮和芳樟醇逸散严重, OAV 值分别降低 81.3%、64.0%、63.7%和 55.1%; 冷藏阶段, 共有 15 种风味活性物质, 其中乙酸异丁酯、庚酸乙酯在冷藏 6 h 后完全丢失, 茴香脑、丁香酚、草蒿脑和芳樟醇逸散严重, OAV 值分别降低 63.9%、63.8%、58.1%和 53.9%。醇类、酮类、酯类和酚醚类物质更容易发生丢失逸散; 冷降温和冷藏阶段酱卤牛肉逸散的风味活性物质主要来源于香辛料。

参考文献 References

- [1] 孙圳, 韩东, 张春晖, 李海, 李侠, 刘志斌, 徐世明. 定量卤制鸡肉挥发性风味物质剖面分析. 中国农业科学, 2016, 49(15): 3030-3045.
SUN Z, HAN D, ZHANG C H, LI H, LI X, LIU Z B, XU S M. Profile analysis of the volatile flavor compounds of quantitative marinated chicken during processing. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(15): 3030-3045. (in Chinese)
- [2] ZOU Y H, KANG D C, LIU R, QI J, ZHOU G H, ZHANG W G. Effects of ultrasonic assisted cooking on the chemical profiles of taste and flavor of spiced beef. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, 46: 36-45. doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.04.005.
- [3] ZHANG J, KANG D, ZHANG W, LORENZO J M. Recent advantage of interactions of protein-flavor in foods: Perspective of theoretical models, protein properties and extrinsic factors. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111: 405-425.
- [4] 李娟, 韩东, 米思, 李侠, 张春晖. 北京地区酱卤牛肉中挥发性风味物质剖面分析. 核农学报, 2020, 34(1): 94-103. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2020.01.0094.
LI J, HAN D, MI S, LI X, ZHANG C H. Profile analysis of the volatile flavor compounds from Beijing area of marinated beef. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(1): 94-103. doi: 10.11869/j.issn.100-8551.2020.01.0094. (in Chinese)
- [5] ANANTHARAMKRISHNAN V, REINECCIUS G A. Method to characterize and monitor covalent interactions of flavor compounds with β -lactoglobulin using mass spectrometry and proteomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(46): 13121-13130. doi: 10.1021/acs.jafc.9b07978.
- [6] 李素, 周慧敏, 赵冰, 潘晓倩, 朱宁, 吴倩蓉, 刘梦, 张顺亮. 卤汤牛肉贮藏过程中挥发性风味物质分析. 食品科学, 2020, 41(18): 203-209.
LI S, ZHOU H M, ZHAO B, PAN X Q, ZHU N, WU Q R, LIU M, ZHANG S L. Analysis of volatile flavor compounds in stewed beef with broth during storage. *Food Science*, 2020, 41(18): 203-209. (in

- Chinese)
- [7] SUN Y, ZHANG Y, SONG H. Variation of aroma components during frozen storage of cooked beef balls by SPME and SAFE coupled with GC-O-MS. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(1): e15036.
- [8] 崔方超, 李婷婷, 杨兵, 刘滢, 励建荣, 李洪军, 李敏镇. 电子鼻结合 GC-MS 分析草鱼脱腥前后风味变化. *食品科学*, 2014, 35(20): 126-130. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201420025.
- CUI F C, LI T T, YANG B, LIU Y, LI J R, LI H J, LI M Z. Flavor compounds of fresh and deodorized grass carps as determined by electronic nose combined with GC-MS. *Food Science*, 2014, 35(20): 126-130. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201420025. (in Chinese)
- [9] 张清安, 徐博文, 陈博文, 张宝善, 程爽. 超声降低红酒中高级醇含量对酒体风味特性的影响. *中国农业科学*, 2021, 54(8): 1772-1786.
- ZHANG Q A, XU B W, CHEN B Y, ZHANG B S, CHENG S. Changes of wine flavor properties from the decreased higher alcohols induced by ultrasound irradiation. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(8): 1772-1786. (in Chinese)
- [10] TIAN P, ZHAN P, TIAN H L, WANG P, LU C, ZHAO Y, NI R J, ZHANG Y Y. Analysis of volatile compound changes in fried shallot (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) oil at different frying temperatures by GC-MS, OAV, and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 2021, 345: 128748.
- [11] VAN GEMERT L J. *Compilations of Odor Threshold Values in Air, Water and Other Media*. 2th ed. Zeist: Oliemans Punter & Partners BV, 2011: 242-342.
- [12] CHOI H S, MIN K C. Aroma-active compounds of *Elsholtzia splendens* using AEDA and HS-SPME-GC-O dilution analysis. *Flavour & Fragrance Journal*, 2010, 23(1): 58-64.
- [13] ZHU J C, NIU Y W, XIAO Z B. Characterization of the key aroma compounds in Laoshan green teas by application of odour activity value (OAV), gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS-O) and comprehensive two-dimensional gas chromatography mass spectrometry (GC×GC-qMS). *Food Chemistry*, 2021, 339: 128136. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128136.
- [14] WANG M Q, MA W J, SHI J, ZHU Y, LIN Z, LV H P. Characterization of the key aroma compounds in Longjing tea using stir bar sorptive extraction (SBSE) combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography-olfactometry (GC-O), odor activity value (OAV), and aroma recombination. *Food Research International*, 2020, 130: 108908.
- [15] AL-DALALI S, ZHENG F P, SUN B G, CHEN F. Characterization and comparison of aroma profiles and aroma-active compounds between traditional and modern Sichuan vinegars by molecular sensory science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(18): 5154-5167. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00470.
- [16] HUANG X H, ZHENG X, CHEN Z H, ZHANG Y Y, DU M, DONG X P, QIN L, ZHU B W. Fresh and grilled eel volatile fingerprinting by e-Nose, GC-O, GC-MS and GC×GC-QTOF combined with purge and trap and solvent-assisted flavor evaporation. *Food Research International*, 2019, 115: 32-43. doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.056.
- [17] HUI G, ZHEN Y, MENG L, ZHIJIA S, JIAPENG L, WENHUA C, XIAOLING Q. Time-dependent categorization of volatile aroma compound formation in stewed Chinese spicy beef using electron nose profile coupled with thermal desorption GC-MS detection. *Food Science and Human Wellness*, 2017, 6(3): 137-146.
- [18] HAN D, ZHANG C H, FAUCONNIER M L, JIA W, WANG J F, HU F F, XIE D W. Characterization and comparison of flavor compounds in stewed pork with different processing methods. *LWT-Food Science & Technology*, 2021, 144: 111229.
- [19] TAN J Z, XU J. Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 2020(1): 104-115.
- [20] NOHD ALI M, HASHIM N, ABD AZIZ S, LASEKAN O. Principles and recent advances in electronic nose for quality inspection of agricultural and food products. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 99: 1-10.
- [21] 张淼, 何江红, 贾洪锋, 张振宇, 贾冬英. 电子鼻在调理牦牛肉新鲜度识别中的应用. *食品研究与开发*, 2014, 35(21): 89-92.
- ZHANG M, HE J H, JIA H F, ZHANG Z Y, JIA D Y. Application in freshness analysis of yak meat by electronic nose. *Food Research and Development*, 2014, 35(21): 89-92. (in Chinese)
- [22] SHEN H, STEPHEN ELMORE J, ZHAO M M, SUN W Z. Effect of oxidation on the gel properties of porcine myofibrillar proteins and their binding abilities with selected flavour compounds. *Food Chemistry*, 2020, 329: 127032. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127032.
- [23] 赵萍, 陈小华, 刘俊霞, 王景华, 金文刚, 陈德经, 姜鹏飞. 大鲵肉冷藏过程中理化指标及挥发性成分的变化. *食品工业科技*, 2022, 43(9): 259-267. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080108.
- ZHAO P, CHEN X H, LIU J X, WANG J H, JIN W G, CHEN D J, JIANG P F. Analysis of physicochemical indexes and volatile components of giant salamander meat during cold storage. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(9): 259-267. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080108. (in Chinese)
- [24] VAN HECKE T, HO P L, GOETHALS S, DE SMET S. The potential

- of herbs and spices to reduce lipid oxidation during heating and gastrointestinal digestion of a beef product. *Food Research International*, 2017, 102: 785-792.
- [25] BUENO M, RESCONI V C, CAMPO M M, FERREIRA V, ESCUDERO A. Development of a robust HS-SPME-GC-MS method for the analysis of solid food samples. Analysis of volatile compounds in fresh raw beef of differing lipid oxidation degrees. *Food Chemistry*, 2019, 281: 49-56.
- [26] TRABELSI I, BEN SLIMA S, KTARI N, TRIKI M, ABDEHEDI R, ABAZA W, MOUSSA H, ABDESLAM A, BEN SALAH R. Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage. *Meat Science*, 2019, 154: 29-36. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.04.005.
- [27] FOURATI M, SMAOUI S, BEN H H, ENNOURI K, MTIBAA C A, SELLEM I, ELHADEF K, MELLOULI L. Synchronised interrelationship between lipid/protein oxidation analysis and sensory attributes in refrigerated minced beef meat formulated with *Punica granatum* peel extract. *International Journal of Food Science & Technology*, 2020, 55(3): 1080-1087.
- [28] 刘珊, 吴香, 黄俊逸, 李聪, 徐宝才. 杀菌和贮藏方式对酱牛肉的微生物和品质的影响. *食品科技*, 2020, 45(3): 151-158. doi: 10.13684/j.cnki.spkj.2020.03.028.
- LIU S, WU X, HUANG J Y, LI C, XU B C. Effects of sterilization and storage methods on microbes and quality of sauced beef. *Food Science and Technology*, 2020, 45(3): 151-158. doi: 10.13684/j.cnki.spkj.2020.03.028. (in Chinese)
- [29] 潘晓倩, 周慧敏, 李素, 张顺亮, 赵冰, 刘梦, 朱宁, 吴倩蓉, 王守伟, 乔晓玲, 臧明伍, 刘博文. 卤牛肉贮藏过程中气味活性化合物变化及异味分析. *食品科学*, 2021, 42(22): 240-248. doi: 10.7506/spkx1002-6630-20201217-208.
- PAN X Q, ZHOU H M, LI S, ZHANG S L, ZHAO B, LIU M, ZHU N, WU Q R, WANG S W, QIAO X L, ZANG M W, LIU B W. Changes in odor-active compounds during storage and analysis of off-flavor substances in stewed marinated beef. *Food Science*, 2021, 42(22): 240-248. doi: 10.7506/spkx1002-6630-20201217-208. (in Chinese)
- [30] WANG K, ARNTFIELD S D. Effect of salts and pH on selected ketone flavors binding to salt-extracted pea proteins: The role of non-covalent forces. *Food Research International*, 2015, 77: 1-9.
- [31] WANG K, ARNTFIELD S D. Binding of carbonyl flavours to canola, pea and wheat proteins using GC/MS approach. *Food Chemistry*, 2014, 157: 364-372. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.042.
- [32] DUPUIS J H, WANG S, SONG C, YADA R, MILLET O. The role of disulfide bonds in a *Solanum tuberosum* saponin-like protein investigated using molecular dynamics. *PLoS ONE*, 2020, 15(8): e0237884.
- [33] 王永华, 戚德坚. 食品风味化学. 北京: 中国轻工业出版社, 2015.
- WANG Y H, QI S J. *Food Flavor Chemistry*. Beijing: China Light Industry Press, 2015. (in Chinese)
- [34] RIZZI G P. The strecker degradation of amino acids: Newer avenues for flavor formation. *Food Reviews International*, 2008, 24(4): 416-435.
- [35] KOUZNETSOV V V, GALVIS C E P. Strecker reaction and α -amino nitriles: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties. *Tetrahedron*, 2018, 74(8): 773-810.
- [36] YANG W Q, CHEN X, LI Y L, GUO S F, WANG Z, YU X L. Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 2020, 15(3): 1934578X20903555.
- [37] TETALI S D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. *Planta*, 2019, 249(1): 1-8. doi: 10.1007/s00425-018-3056-x.
- [38] 孙玉亮, 王颖. HS-SPME/GC-MS 分析发酵前后扇贝豆酱中的香气成分. *中国酿造*, 2010, 29(11): 156-159. doi: 10.3969/j.issn.0254-5071.2010.11.046.
- SUN Y L, WANG J. HS-SPME GC-MS analysis of aroma components in scallop miso before and after fermentation. *China Brewing*, 2010, 29(11): 156-159. doi: 10.3969/j.issn.0254-5071.2010.11.046. (in Chinese)
- [39] 王柏文, 李贺贺, 张锋国, 信春晖, 孙金沅, 黄明泉, 孙宝国. 应用液-液萃取结合 GC-MS 与 GC-NPD 技术对国井芝麻香型白酒中含氮化合物的分析. *食品科学*, 2014, 35(10): 126-131. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201410023.
- WANG B W, LI H H, ZHANG F G, XIN C H, SUN J Y, HUANG M Q, SUN B G. Analysis of nitrogen-containing compounds of guojing sesame-flavour liquor by liquid-liquid extraction coupled with G-C-MS and GC-NPD. *Food Science*, 2014, 35(10): 126-131. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201410023. (in Chinese)
- [40] YU H, ZHANG R Y, YANG F W, XIE Y F, GUO Y H, YAO W R, ZHOU W B. Control strategies of pyrazines generation from Maillard reaction. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 112: 795-807.
- [41] STAROWICZ M, ZIELIŃSKI H. How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products? *Food Reviews International*, 2019, 35(8): 707-725. doi: 10.1080/87559129.2019.1600538.
- [42] AASLYNG M D, MEINERT L. Meat flavour in pork and beef-From animal to meal. *Meat Science*, 2017, 132: 112-117. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.04.012.

(责任编辑 赵伶俐)