

郫县豆瓣后发酵过程中脂肪和脂肪酸代谢变化

冉玉琴¹, 陈雨², 彭杰¹, 董锋¹, 杨国华³, 张良^{1,*}

(1. 西华大学食品与生物工程学院, 食品生物技术四川省高校重点实验室, 四川成都 610039;

2. 四川品品食品有限公司, 四川成都 611732;

3. 四川省丹丹郫县豆瓣集团股份有限公司国家企业技术中心, 四川省豆瓣酿制工程实验室, 食品用酶生物发酵技术国家地方联合工程研究中心, 四川成都 611732)

摘要:本研究以 8 个不同后发酵时间郫县豆瓣为研究对象, 通过石油醚提取、硫酸-甲醇甲酯化, 气相色谱内标法定性定量分析了其脂肪及脂肪酸变化过程。结果表明: 粗脂肪含量为 3.46%~4.29%, 总脂肪酸含量为 8.258~18.484 mg/g; 不同后发酵期均检测出 9 种脂肪酸, 分别为: 亚油酸 (4.963~11.668 mg/g)、油酸 (1.186~2.706 mg/g)、棕榈酸 (0.751~1.649 mg/g)、亚麻酸 (0.405~0.886 mg/g)、硬脂酸 (0.296~0.856 mg/g)、肉豆蔻酸 (0.131~0.305 mg/g)、反式油酸 (0.126~0.230 mg/g)、棕榈油酸 (0.056~0.142 mg/g)、月桂酸 (0.030~0.113 mg/g)。主成分分析结果表明, 提取到前两主成分的贡献率分别为 75.09%、15.21%, 累积贡献率达 90.30%, 可较好反映所有脂肪酸组成的基本信息, 同时可将后发酵期脂肪酸变化大致分为三个阶段, 分别为后发酵前期 (1~3 M)、发酵中期 (6~9 M) 和发酵后期 (12~36 M), 且脂肪酸在后发酵前期的变化程度远远大于发酵中后期。该研究结果可为郫县豆瓣工业化生产控制产品品质与建立生产质量控制体系提供科学依据。

关键词: 郫县豆瓣, 后发酵, 脂肪, 脂肪酸, 代谢, 相关性分析

Changes of Fat and Fatty Acid Metabolism in Post-fermentation Process of Pixian Soybean Paste

RAN Yu-qin¹, CHEN Yu², PENG Jie¹, DONG Feng¹, YANG Guo-hua³, ZHANG Liang^{1,*}

(1. Key Lab of Food Biotechnology of Sichuan Province, College of Food & Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, China;

2. Sichuan Pinpin Food Co., Ltd., Chengdu 611732, China;

3. National & Local Joint Engineering Research Center of Food Enzyme Fermentation, Soybean Paste Brewing Technology and Engineering Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Dandan Pixian Soybean Paste Co., Ltd., National Enterprise Technology Center, Chengdu 611732, China)

Abstract: Gas chromatography (GC) internal standard method was used to qualitatively and quantitatively analyze the fatty acids of Pixian soybean paste with eight different post-fermentation stages, which was extracted with petroleum ether and methylated with sulfuric acid-methanol. The results showed that the crude fat contents was 3.46%~4.29%, and the total fatty acid contents was 8.258~18.484 mg/g. There were nine fatty acids detected at different post-fermentation stages, which were linoleic acid (4.963~11.668 mg/g), oleic acid (1.186~2.706 mg/g), palmitic acid (0.751~1.649 mg/g), linoleic acid (0.405~0.886 mg/g), stearic acid (0.296~0.856 mg/g), myristic acid (0.131~0.305 mg/g), transoleic acid (0.126~0.230 mg/g), palmitoleic acid (0.056~0.142 mg/g) and lauric acid (0.030~0.113 mg/g). The results of principal component analysis showed that the contribution rates of the first and second principal components were 75.09% and 15.21% respectively, and the cumulative contribution rate was 90.30%, which could be better reflect the basic information of all fatty acid compositions. Moreover, the fatty acid changes in the post-fermentation period could be roughly divided into three stages (post-fermentation early stage, post-fermentation middle stage and post-fermentation late stage), and the changes of fatty acids in the early stage were far greater than those in the middle and late fermentation stage. The results of the study could provide a scientific basis for

收稿日期: 2019-08-16

作者简介: 冉玉琴 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: 2317334527@qq.com.

* 通讯作者: 张良 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: zhang-liang@foxmail.com.

基金项目: 国家教育部春晖计划项目 (Z2015117); 四川省重点研发项目 (2016 NZ0093); 成都市农业技术成果应用示范项目 (2015-NY01-00001-NC); 农业技术研发项目 (2015-NY02-00097-NC)。

Pixian soybean paste industrialized production control product quality and establishment of production quality control system.

Key words: Pixian soybean paste; post-fermentation; fat; fatty acid; metabolism; correlation analysis

中图分类号: TS205.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)10-0203-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.10.033

引文格式: 冉玉琴, 陈雨, 彭杰, 等. 郫县豆瓣后发酵过程中脂肪和脂肪酸代谢变化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 203-207, 212.

郫县豆瓣是一种中国传统地方特色发酵食品, 主要是由二荆条辣椒、蚕豆、小麦粉和盐等原料制成^[1-2], 以其味辣香醇、黏稠绒实、红棕油亮、酱香浓郁等特点, 在我国酱类产品中独树一帜, 是川菜中重要的调味料, 被誉为“川菜之魂”^[3]。作为一种极具地方特色的发酵型调味品, 其特殊的发酵工艺、原料及环境因素造就了郫县豆瓣独特的风味品质^[4]。郫县豆瓣的生产工艺包括前发酵和后发酵 2 个阶段: 前期发酵主要是指蚕豆霉瓣子的制曲和辣椒坯的预处理, 制作周期分别为 40 d 和 6 个月左右。后熟发酵主要是将成熟霉瓣子和成熟辣椒坯按比例配料混合, 加入适量食盐和水, 进入发酵池发酵, 经过一定时期的翻晒和陈化, 经过郫县豆瓣特有的翻、晒、露工艺成为深受欢迎的产品。红豆瓣成熟其为 6 个月到 1 年左右, 成熟一年以上为黑豆瓣^[5]。

脂肪作为郫县豆瓣不可或缺的部分, 赋予其油亮的特性, 增加人民群众的消费意向。在发酵过程, 大量微生物分泌的相关酶系将脂肪分解成脂肪酸和甘油^[6]。有研究表明, 摄入适当比例的饱和、单不饱和、多不饱和脂肪酸可预防心脑血管疾病、癌症、关节炎等^[7]; 脂肪酸作为郫县豆瓣一些风味物质的前体成分, 更是醛类、醇类、呋喃类等的重要来源^[8]。

郫县豆瓣作为一种国家地理标志产品, 国外对于它的研究几乎没有。目前, 国内对于郫县豆瓣的研究主要集中在香气成分分析^[9-10]、后发酵期真菌细菌的演替变化分析^[11-12]和黄曲霉毒素的分析^[13]以及有机酸^[14]、氨基酸^[15]的种类及含量的研究分析。针对郫县豆瓣脂肪酸的报道较少, 仅有部分涉及挥发性脂肪酸^[16], 但没有对不同发酵时间点郫县豆瓣的脂肪酸进行定量及比对分析。因此, 本课题通过追踪 8 个不同后发酵时间的郫县豆瓣, 利用气相色谱仪测定其脂肪酸的种类和含量, 采用主成分分析法研究其组成差异, 以期为郫县豆瓣后发酵工艺改良提供科学依据, 也为进一步挖掘地域特色发酵产品的科技内涵提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

郫县豆瓣 取自四川省丹丹郫县豆瓣集团股份有限公司生产车间; 石油醚(60~90 °C)、硫酸、甲醇、正己烷 均为分析纯, 成都市科隆化学品有限公司; 十一碳酸甘油三酯、37 种脂肪酸甲酯 均为色谱纯, 斯坦福分析化学公司。

超低温冰箱 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; TNG-T98 型真空干燥仪 太仓市华美生化仪器厂; JXFSTPRP-24 型研磨仪 上海警信科技有限公司; Forma 900 series 型全自动索氏抽提仪 赛默飞

世尔科技(中国)有限公司; XW-80A 型涡旋混合器 四川蜀科仪器有限公司; 7820A 型气相色谱仪 美国安捷伦科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 采样及预处理 分别选取后发酵 1、3、6、9、12、18、24 和 36 月(M)的郫县豆瓣, 取样时选取上层(距表面 0~20 cm)、中层(距表面 30~50 cm)、下层(距池底 0~20 cm)的郫县豆瓣, 混合均匀后密封, 4 °C 低温运至实验室。经冷冻干燥后, 粉碎备用。

1.2.2 粗脂肪的提取 采用 GB 5009.6-2016《索氏抽提法》^[17], 准确称取 2.00 g 样品于索氏提取仪, 加入 60 mL 石油醚; 提取条件为: 温度 75 °C, 经浸泡 20 min、淋洗 60 min、回收溶剂 10 min、蒸干 5 min 后取出, 80 °C 烘干至恒重, 计算粗脂肪含量。

$$\text{粗脂肪含量}(\%) = \frac{A_2 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为豆瓣粉样品质量, mg; A_1 为浸提杯质量, mg; A_2 为含有豆瓣油脂的浸提杯的质量, mg。

1.2.3 脂肪酸分析 甲酯化反应^[18]: 称取 0.01 g 上述油脂于 10 mL 具塞试管中, 加入 1 mL 2.5 mol/L 内标溶液(十一碳酸甘油三酯)与 3 mL 2.5 mol/L 硫酸-甲醇溶液, 70 °C 水浴加热至油样溶解。期间每 10 min 涡旋振荡 30 s, 冷却至室温后加入 1 mL 正己烷多次振荡萃取, 合并上清液过 0.2 μm 微孔滤膜后待测。

1.2.4 色谱条件 气相色谱仪配备 FID 检测器; ZB-FAME 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.2 μm); 检测器温度 280 °C; 升温程序: 50 °C 保持 2 min, 以 8 °C/min 升温至 180 °C, 保持 5 min 后, 以 5 °C/min 升温至 230 °C, 保持 5 min; 载气为氢气, 流速 1.2 mL/min; 燃气为氢气, 流速 30 mL/min; 空气流速 300 mL/min, 辅助气体为氮气, 流速 25 mL/min。根据混合标准品确定保留时间, 以十一碳酸甘油三酯为内标物质进行分析处理。

$$X_i = F_i \times \frac{A_i}{A_{C11}} \times \frac{\rho_{C11} \times V_{C11} \times 1.0067}{m} \times 100$$

式中: X_i 为试样中脂肪酸甲酯 i 含量(g/100 g); F_i 为脂肪酸甲酯 i 的响应因子; A_i 为试样中脂肪酸甲酯 i 的峰面积; A_{C11} 为试样中加入的内标物十一碳酸甲酯峰面积; ρ_{C11} 为十一碳酸甘油三酯浓度(mg/mL); V_{C11} 为试样中加入十一碳酸甘油三酯体积(mL); 1.0067 为十一碳酸甘油三酯转化成十一碳酸甲酯的转换系数; m 为试样的质量(mg)。

1.3 数据处理

实验设 3 次重复, 测定结果以平均值(误差的形式表示)。数据处理用 SPSS 19.0 软件进行方差分析

(ANOVA)与主成分分析,通过 Pearson 相关系数分析脂肪酸之间的相关性,采用 Origin 18.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同后发酵期郫县豆瓣的粗脂肪含量

如图 1 为不同后发酵期郫县豆瓣粗脂肪含量,结果表明:粗脂肪在后发酵期间变化不大,含量为 3.46%~4.29% (w/w),与豆酱(4.26%)^[19]、酱油(6.15%)^[20]等其他豆类发酵调味品含量差异不大。随着后发酵进行,粗脂肪含量呈现先下降后上升再下降的趋势,究其原因,可能是前期微生物演替过程比较剧烈,消耗了大量的粗脂肪,但随着代谢的减弱、酶系的作用以及郫县豆瓣特有的“翻、晒、露”工艺,使得郫县豆瓣中大量的可溶物溢出,导致了粗脂肪的含量变化。

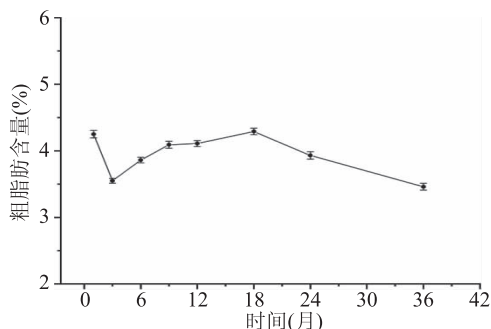


图 1 不同后发酵时期郫县豆瓣酱的粗脂肪含量

Fig.1 Fat contents of Pixian soybean paste during different post-fermentation stages

有报道表明,假单孢菌^[21]、葡萄球菌以及一些曲霉^[22]都具有一定产脂肪酶的能力,这些微生物在郫县豆瓣后发酵期也广泛存在^[12,23],这可能造成了郫县豆瓣粗脂肪的减少。另外,脂肪酶属于羧基水解酶类,能将天然底物油脂逐步地水解成甘油、脂肪酸和甘油单酯或二酯^[24]。随着后发酵进行,可溶物的溶出、pH 的降低^[25]、温度随季节天气的变化^[26]等,都会影响微生物代谢脂肪酶的能力以及脂肪酶的活性。

2.2 不同后发酵期郫县豆瓣的脂肪酸组成

图 2 为 6 个月后发酵期郫县豆瓣样品的气相色谱图。表 1 为 8 个不同后发酵时期的郫县豆瓣样品中脂肪酸组成。由表 1 可知,不同后发酵期的郫县豆瓣样品共检出 9 种脂肪酸,含量存在一定差异。总脂肪酸呈现先下降后上升再下降后上升的动态变化,这与韩国大酱持续升高存在差异^[27]。这可能是由于制作韩国大酱和郫县豆瓣酱的原辅料、发酵工艺以及微生物区系的不同所导致的。在 24~36 M,脂肪酸含量上升幅度较大,可能是郫县豆瓣特有的长时间“翻、晒、露”工艺,使得水分含量减少,导致其含量升高。

不同后发酵期郫县豆瓣脂肪酸,含量最高的是亚油酸(4.963~11.668 mg/g),依次是油酸(1.186~2.706 mg/g)和棕榈酸(0.751~1.649 mg/g),这与豆豉(亚油酸 55.941%、油酸 21.592%、棕榈酸 13.729%)^[28]的含量相似。脂肪酸含量普遍较低的是月桂酸(0.030~0.113 mg/g)、肉豆蔻酸(0.131~

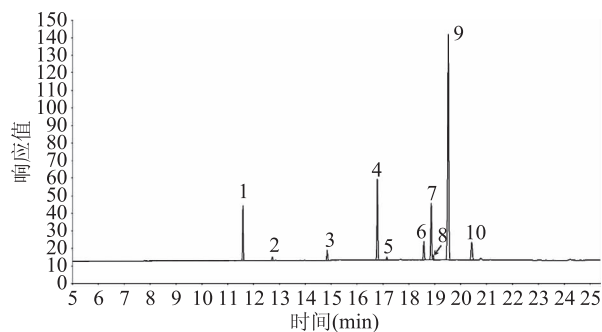


图 2 郫县豆瓣样品中脂肪酸组分气相色谱图

Fig.2 Gas chromatogram of fatty acid components in Pixian soybean paste samples

注:1:十一碳酸甘油三酯(11.587 min);2:月桂酸甲酯(12.725 min);3:肉豆蔻酸甲酯(14.841 min);4:棕榈酸甲酯(16.781 min);5:棕榈油酸甲酯(17.148 min);6:硬脂酸甲酯(18.574 min);7:油酸甲酯(18.859 min);8:反式油酸甲酯(18.935 min);9:亚油酸甲酯(19.511 min);10:亚麻酸甲酯(20.427 min)。

0.305 mg/g)、棕榈油酸(0.056~0.142 mg/g)、反式油酸(0.126~0.230 mg/g),反式油酸和棕榈油酸在整个后发酵期间含量变化不大,处于一个相对稳定的状态;月桂酸和肉豆蔻酸呈起伏变化;不饱和脂肪酸亚油酸、油酸、亚麻酸呈整体下降趋势。

在 1~6 M 期间,脂肪酸含量逐步下降,并在 6 M 处达到最低值,究其原因,一方面可能是原料蚕豆瓣中含有一定量的脂肪酸;另一方面可能是来自于微生物与酶的作用,使 1 M 脂肪酸含量较高。但随着发酵的进行,部分微生物由于不适应新的环境或完成其代谢过程而消失^[8],使得脂肪酸的形成减缓。直至发酵 6 M 时,“翻、晒、露”过程中大量环境微生物的进入,使郫县豆瓣发酵体系达到一个相对稳定的状态,致使脂肪酸含量在此时到达最低点。

亚油酸(C18:2)是郫县豆瓣发酵过程中含量最丰富的多不饱和脂肪酸,相对百分比含量高达 56.90%~69.60%。亚油酸可降低氧化损伤,通过与胆固醇结合,还可维持血液胆固醇正常的运转和代谢、预防动脉粥样硬化、糖尿病和心脑血管疾病^[29-32]。此外,亚油酸和油酸不仅是必需脂肪酸,也可通过氧化、酶系作用分解生成醛类、醇类、酮类及呋喃类化合物^[7],适量的油酸和亚油酸含量可显著增加挥发性风味物质的组成及总量,过高则易产生不愉快气味^[33],对于郫县豆瓣酱独特风味物质生成具有一定贡献。

2.3 不同后发酵期郫县豆瓣脂肪酸相关性分析

为了更直观的解释后发酵过程中郫县豆瓣样品中脂肪酸的变化情况,对 8 个郫县样品 9 种脂肪酸成分进行相关性分析,结果如表 2 所示。大部分脂肪酸含量之间存在正相关关系(仅 1 个负相关),且相关系数大多大于 0.5,表明脂肪酸之间具有较强的正相关性。硬脂酸、油酸、反式油酸、棕榈油酸等脂肪酸之间存在极显著正相关($P < 0.01$);肉豆蔻酸与硬脂酸、油酸、反式油酸、亚油酸存在显著正相关($P < 0.05$),与亚麻酸呈极显著正相关($P < 0.01$);棕榈油

表1 不同后发酵时期郫县豆瓣脂肪酸组成及含量(mg/g)

Table 1 Fatty acid composition and contents of Pixian soybean paste at different post-fermentation stages(mg/g)

月份 (M)	月桂酸 (C12:0)	肉豆蔻酸 (C14:0)	棕榈酸 (C16:0)	棕榈油酸 (C16:1)	硬脂酸 (C18:0)	油酸 (C18:1)
1	0.090 ± 0.003 ^e	0.257 ± 0.006 ^e	1.649 ± 0.081 ^f	0.142 ± 0.007 ^f	0.856 ± 0.005 ^e	2.706 ± 0.081 ^d
3	0.113 ± 0.001 ^g	0.305 ± 0.005 ^f	1.182 ± 0.024 ^c	0.085 ± 0.002 ^e	0.598 ± 0.002 ^f	1.833 ± 0.054 ^c
6	0.030 ± 0.001 ^a	0.131 ± 0.001 ^a	1.157 ± 0.014 ^d	0.056 ± 0.000 ^a	0.351 ± 0.003 ^{bc}	1.339 ± 0.019 ^a
9	0.047 ± 0.003 ^b	0.145 ± 0.002 ^b	0.963 ± 0.017 ^b	0.081 ± 0.002 ^{de}	0.366 ± 0.008 ^c	1.569 ± 0.034 ^b
12	0.067 ± 0.003 ^c	0.194 ± 0.005 ^c	0.899 ± 0.038 ^b	0.076 ± 0.003 ^{cd}	0.364 ± 0.002 ^c	1.515 ± 0.053 ^b
18	0.102 ± 0.001 ^f	0.139 ± 0.003 ^{ab}	0.763 ± 0.019 ^a	0.068 ± 0.004 ^b	0.296 ± 0.009 ^a	1.262 ± 0.064 ^a
24	0.092 ± 0.004 ^e	0.131 ± 0.001 ^a	0.751 ± 0.016 ^a	0.059 ± 0.002 ^a	0.312 ± 0.009 ^{ab}	1.186 ± 0.034 ^a
36	0.076 ± 0.001 ^d	0.235 ± 0.006 ^d	1.232 ± 0.081 ^c	0.074 ± 0.005 ^{bc}	0.500 ± 0.004 ^d	1.786 ± 0.079 ^c

月份 (M)	反式油酸 (C18:1t)	亚油酸 (C18:2)	亚麻酸 (C18:3)	饱和脂肪酸	单不饱和 脂肪酸	多不饱和 脂肪酸	总脂肪酸
1	0.230 ± 0.006 ^c	11.668 ± 0.063 ^e	0.886 ± 0.004 ^f	2.852	3.078	12.555	18.484
3	0.177 ± 0.003 ^b	8.472 ± 0.025 ^c	0.784 ± 0.002 ^e	2.198	2.095	9.257	13.548
6	0.128 ± 0.001 ^a	5.382 ± 0.056 ^a	0.464 ± 0.005 ^b	1.669	1.523	5.846	9.038
9	0.141 ± 0.008 ^a	7.091 ± 0.014 ^b	0.549 ± 0.002 ^c	1.521	1.790	7.640	10.951
12	0.146 ± 0.002 ^a	6.689 ± 0.035 ^b	0.602 ± 0.003 ^d	1.522	1.737	7.291	10.551
18	0.130 ± 0.002 ^a	4.963 ± 0.023 ^a	0.535 ± 0.002 ^c	1.300	1.460	5.498	8.258
24	0.126 ± 0.005 ^a	5.488 ± 0.015 ^a	0.405 ± 0.001 ^a	1.286	1.371	5.892	8.549
36	0.178 ± 0.007 ^b	10.677 ± 0.085 ^d	0.581 ± 0.004 ^{cd}	2.043	2.038	11.258	15.340

注:同列不同字母表示具有显著性差异($P < 0.05$, $n = 3$)。

表2 脂肪酸指标间的皮尔森相关系数

Table 2 Pearson correlation coefficient between fatty acid indicators

	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:1t	C18:2	C18:3
C12:0	1	-	-	-	-	-	-	-	-
C14:0	0.519	1	-	-	-	-	-	-	-
C16:0	-0.289	0.417	1	-	-	-	-	-	-
C16:1	0.276	0.608	0.534	1	-	-	-	-	-
C18:0	0.334	0.801 [*]	0.699	0.915 ^{**}	1	-	-	-	-
C18:1	0.225	0.733 [*]	0.68	0.959 ^{**}	0.977 ^{**}	1	-	-	-
C18:1t	0.346	0.818 [*]	0.634	0.912 ^{**}	0.980 ^{**}	0.981 ^{**}	1	-	-
C18:2	0.225	0.785 [*]	0.587	0.782 [*]	0.885 ^{**}	0.904 ^{**}	0.944 ^{**}	1	-
C18:3	0.428	0.863 ^{**}	0.524	0.890 ^{**}	0.919 ^{**}	0.909 ^{**}	0.910 ^{**}	0.773 [*]	1

注: * 表示具有显著的相关性($P < 0.05$); ** 表示具有极显著的相关性($P < 0.01$)。

酸与亚油酸呈显著正相关($P < 0.05$); 棕榈酸、月桂酸与其他脂肪酸均不存在显著相关性。由于指标之间均存在不同程度的相关性,所以可以利用主成分分析对这些变量即原始的脂肪酸含量进行降维处理,来研究豆瓣中脂肪酸与不同后发酵时期的关系。主成分的特征值和贡献率见表3。由表3可知,前2个主成分的贡献率分别为75.09%、15.21%,累积贡献率为90.30%,确定提取2个主成分最合适,可较好地反映所有脂肪酸组成的基本信息。

表3 主成分的特征值和贡献率

Table 3 Eigen values and contribution rate and of the principal components

主成分	特征值	贡献率(%)	累积贡献率(%)
PC1	6.758	75.09	75.09
PC2	1.369	15.21	90.30

主成分的载荷矩阵见表4。由表3和表4各特征向量值可知,第一主成分PC1主要反映C18:1t、C18:0、C18:1的变异信息,故可将PC1命名为十八碳脂肪酸因子 F_1 。第二主成分主要反映C12:0和C16:0的变异信息,故可将PC2命名为饱和脂肪酸因子 F_2 。

图3为主成分分析得到的不同发酵期脂肪酸组成的分值图。从图3可以看出,不同样品在横、纵坐标的距离各不相同且没有重叠,说明8个不同后发酵期郫县豆瓣样品得到了较好的区分。其中,样品在坐标上的距离随时间变化而变化,因而可大致将后发酵期脂肪酸的变化分为三个阶段,分别为后发酵前期(1~3 M)、中期(6~9 M)、后期(12~36 M),并且随着发酵时间的延长脂肪酸变化程度减弱,究其原因,可能是由于在后发酵前期,各种微生物与酶系的作用代谢过程较快,仅相隔一两个月其脂肪酸含

表4 主成分载荷矩阵

Table 4 Loading matrix of principal components

脂肪酸	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:1t	C18:2	C18:3
PC1	0.134	0.325	0.251	0.352	0.381	0.377	0.382	0.352	0.364
PC2	0.769	0.251	-0.560	-0.033	-0.036	-0.106	-0.003	-0.061	0.120

量都存在显著差异;随着发酵的进行,底物的消耗及pH的降低^[28],影响发酵体系中相关酶活性及微生物产酶能力,导致后发酵中期、后期脂肪酸含量变化逐渐减缓。

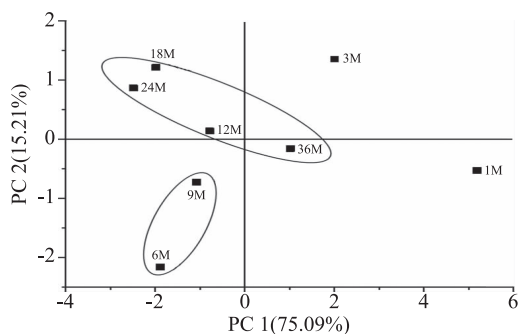


图3 郫县豆瓣后发酵过程中脂肪酸组分的分值图

Fig.3 Score plots of fatty acid composition during post-fermentation of Pixian soybean paste

3 结论

郫县豆瓣在后发酵过程中粗脂肪含量变化为3.46%~4.29%,其中饱和脂肪酸以棕榈酸为主,不饱和脂肪酸以亚油酸、油酸为主,且不饱和脂肪酸含量远远高于饱和脂肪酸,另外还含有少量其他种类脂肪酸如:月桂酸、亚麻酸、棕榈油酸、硬脂酸等。基于主成分分析法,提取得到前两个主成分贡献率分别为75.09%、15.21%,累积贡献率达90.30%,可较好地反映所有脂肪酸组成的基本信息。脂肪酸含量在后发酵期的变化可大致分为三个阶段,依次分别为1~3、6~9、12~36 M,可称为后发酵前期、发酵中期和发酵后期。在发酵过程中,一些不饱和脂肪酸还可氧化分解为挥发性香味物质,对后发酵过程中香气成分的变化具有潜在影响。相对于郫县豆瓣中其他呈香呈味物质(氨基酸、有机酸),部分发酵节点上脂肪酸的含量相对稍高。本研究结果为郫县豆瓣工业化生产控制产品品质与建立生产质量控制体系提供了科学依据。同时脂肪酸还是些霉菌的代谢物质,要系统阐明发酵过程中脂肪酸的代谢通道,还需结合发酵过程中参与转化的真菌细菌进一步研究。

参考文献

[1] 孟甜,黄韬睿,李玉锋.响应面法优化郫县豆瓣制曲工艺[J].食品科学,2014,35(15):193-197.
 [2] 高岭.郫县豆瓣生产工艺改进[J].中国调味品,2006,31(5):34-39.
 [3] 李幼筠.“郫县豆瓣”剖析[J].中国酿造,2008,188(11):83-86.
 [4] 杨国华,杨帆,叶玉娇,等.豆瓣中风味物质的研究现状[J].中国调味品,2018,43(6):194-200.
 [5] 余浪,阚建全.传统豆瓣的研究进展[J].中国调味品,

2008,33(5):26-31.

[6] 解春芝,曾海英,宋杰,等.不同种类腐乳游离脂肪酸组成分析及营养评价[J].中国酿造,2018,37(2):39-44.
 [7] 谢艳华,谢靓,李跑,等.豆类脂肪酸分析方法研究现状及进展[J].食品与机械,2016,32(12):213-217.
 [8] Jeongho S, Ohshima T. Control of lipid oxidation and meat color deterioration in skipjack tuna muscle during ice storage[J]. Fisheries Science Citation Index, 2010,76(4):703-710.
 [9] 李治华,黄驰,王自鹏,等.不同后熟发酵时间郫县豆瓣酱挥发性成分分析[J].食品科学,2014,35(16):180-184.
 [10] 张玉玉,孙宝国,冯军,等.不同发酵时间的郫县豆瓣酱挥发性成分分析[J].食品科学,2010,31(4):166-170.
 [11] 汪先丁,刘敏,高鹏,等.郫县豆瓣自然发酵过程中真菌群落的演替及黄曲霉毒素B₁的消长[J].食品科学,2012,33(11):142-146.
 [12] 赵红宇,徐炜楨,杨国华,等.基于高通量测序的郫县豆瓣后发酵期细菌多样性研究[J].食品科学,2017,38(10):117-122.
 [13] 张帅,马秀灵,李恒,等.郫县豆瓣加工过程中黄曲霉毒素B₁的变化及关键控制点研究[J].中国酿造,2018,37(1):108-111.
 [14] 于筱雨,方佳兴,向琴,等.响应面法优化郫县豆瓣中有机酸的提取工艺及HPLC定量分析[J].食品科学,2019,40(4):286-291.
 [15] 林洪斌,方佳兴,毕小鹏,等.响应面法优化郫县豆瓣游离氨基酸的提取工艺及呈味特性分析[J].食品工业科技,2019,40(17):56-63.
 [16] 黄著,彭照敏,刘超兰,等.郫县豆瓣挥发性香气成分剖析及其在陈酿过程中的变化研究[J].中国调味品,2009,34(3):106-111.
 [17] 杨选,杨震,陶阳,等.花生籽粒发芽过程中脂肪代谢的变化[J].食品科学,2017,38(1):142-148.
 [18] 田甜,武俊瑞,岳喜庆.传统豆瓣中脂肪酸酯化方法的选择与组成分析[J].食品科学,2014,35(18):78-83.
 [19] 黄俊生.普宁豆瓣中微量金属元素及其营养成分分析[J].中国调味品,2012,37(1):60-61,73.
 [20] 李宏梁,黄峻榕,丁勇,等.酱油原料脂肪利用率研究实验报告[J].中国调味品,2001(9):13-15,19.
 [21] 王侨,秦正山,袁涛,等.两种假单胞杆菌协同发酵产脂肪酶优化和酶性质研究[J].酿酒科技,2018(4):38-46.
 [22] 廖焰焰,张菊,李翔,等.传统曲霉型豆豉中高产脂肪酶的米曲霉筛选及鉴定[J].江西师范大学学报:自然科学版,2018,42(5):494-499.
 [23] 张琦,汪先丁,杨虎,等.郫县豆瓣自然发酵过程中细菌群落结构的变化[J].食品与发酵科技,2010,46(6):16-18,35.
 [24] Tan Tianwei, Lu Jike, Nie Kaili, et al. Biodiesel production

(下转第212页)

量为 1 μL 时, PCR 扩增效率最高, 正品狗肉皆在 481 bp 处出现单一明亮条带, 伪品无相应条带。灵敏性试验表明, 在模板浓度低至 10^{-4} ng/ μL 时, 仍可出现特异浅带。对随机抽取的 12 份样品进行试剂盒检测, 有 1 份掺杂狐肉, 1 份为狐肉、貂肉混合伪品, 1 份为貂肉伪品。该结果与食品药品检验中心结果一致, 证明本试剂盒具有良好准确性及特异性。反复冻融试剂盒 20 次, 仍可实现稳定检测。

4 结论

本文所研发狗源性 DNA 检测试剂盒具有良好特异性、灵敏性以及稳定性, 可于 4.5 h 内完成全部检测, 且在同一反应体系中同时检测狗、狐、貂三种成分。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 1 年, 仍能稳定检测。相较其他常见掺假肉类鉴别方法, 该试剂盒不仅准确度高、特异性好、灵敏性强, 而且可操作性高, 更易普及, 可以很大程度上减轻质检工作人员的工作量。由于试剂盒的形式更为便捷, 使操作人员及地点不受限制, 可广泛应用到狗肉的质量监督工作中, 在肉制品质量考察方面具有广泛的应用前景。未来本团队将进一步完善该试剂盒, 更大程度上提高检测效率, 节省检测成本。

参考文献

[1] 范露, 张振环, 张莉. 花江狗肉营养成分分析及营养学评价[J]. 肉类工业, 2015(4): 16-18.

[2] 钱佳, 李拥军, 吴洁. 有毒狗肉“链”上餐桌[J]. 方圆, 2016(10): 54-56.

[3] 刘艳艳, 李会荣, 胡悦, 等. 饲料中狐狸、水貂、貉子和狗源性的五重实时荧光 PCR 检测方法的建立[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(12): 67-76.

[4] 施姿鹤, Josef Voglmeir, 刘丽. 肉及其加工制品的掺假鉴别技术研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 319-326.

[5] 佚名. 马来西亚研究人员利用聚合酶链反应检测靶细胞色素 b 基因来检测肉丸配方中掺假狗肉[J]. 肉类研究, 2014, 28(3): 13.

[6] Li M, Li B, Zhang W. Rapid and non-invasive detection and imaging of the hydrocolloid-injected prawns with low-field NMR and MRI[J]. Food Chemistry, 2018, 242: 16-21.

[7] 李婷婷, 张桂兰, 赵杰, 等. 肉及肉制品掺假鉴别技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 409-415.

[8] Ropodi A I, Panagou E Z, Nychas G J E. Rapid detection of frozen-then-thawed minced beef using multispectral imaging and Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Meat Science, 2018, 135: 142-147.

[9] 牛晓颖, 邵利敏, 董芳, 等. 基于近红外光谱和化学计量学的驴肉鉴别方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10): 2737-2742.

[10] 陈颖, 郝蕾, 郭升阳. 畜禽肉制品真伪鉴别技术研究进展[J]. 口岸卫生控制, 2019, 24(3): 35-37, 44.

[11] Kumeta Y, Maruyama T, Asama H, et al. Species identification of Asini Corii Collas (donkey glue) by PCR amplification of cytochrome b gene[J]. J Nat Med, 2013, 68(1): 181-185.

[12] 张继红, 徐文决, 廖燕芝, 等. 毒狗肉及大米中毒鼠残留的气相色谱-质谱法测定[J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(6): 99-102.

[13] 宋宪章. 狗年, 狗与民间的狗肉佳[J]. 杭州: 周刊, 2018(8): 50-51.

[14] 张吉富, 梅岭南. 狗肉市场监管现状及对策[J]. 中国动物检疫, 2011, 28(4): 30-31.

[15] 刘艳, 王鸣秋, 李诗瑶, 等. 基于实时荧光定量 PCR 和数字 PCR 的肉制品中牛源性成分的检测[J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 254-260.

[16] 陈颖, 吴亚君, 徐宝梁, 等. 食品及饲料中马属动物源性成分的 PCR 检测研究[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(5): 78-83.

[17] 谢莉萍, 徐广锐, 谢军, 等. 应用 PCR 方法鉴别猪肉和牛肉[J]. 生物学通报, 2015, 50(6): 47-49.

[18] 陈静茹, 夏海剑, 张泽宾, 等. PCR 技术鉴别多趾北京油鸡肉[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 229-234.

[19] 李婷婷. 基于 DNA 检测的羊肉掺假鉴别技术研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.

[20] 李婷婷, 张桂兰, 王之莹, 等. 羊肉掺假鉴别快速荧光定量 PCR 芯片制备及应用研究[J]. 生物技术进展, 2018, 8(6): 522-529.

[21] 孙虹. 七重 PCR 检测技术在羊肉产品中若干动物源性成分检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2018(27): 139.

[22] 高晓丽, 杨昕霆, 薛晨玉, 等. 实时荧光聚合酶链式反应法检测食品中狗源性成分[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 61-64.

[23] 李婷婷, 张桂兰, 王之莹, 等. 羊肉掺假鉴别快速荧光定量 PCR 芯片制备及应用研究[J]. 生物技术进展, 2018, 8(6): 522-529.

[24] 孙虹. 七重 PCR 检测技术在羊肉产品中若干动物源性成分检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2018(27): 139.

[25] 赵红宇, 徐炜楨, 杨国华, 等. 郟县豆瓣后熟期理化特性与微量元素动态分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(7): 81-86.

[26] 李蓓, 衣杰荣. 腐乳在发酵过程中脂肪酶活力变化研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 261-263, 272.

[27] Su Yun Lee, Sarah Lee, Sunmin Lee, et al. Primary and secondary metabolite profiling of doenjang, a fermented soybean paste during industrial processing[J]. Food Chemistry, 2014, 165: 157-166.

[28] 耿予欢, 李国基. 豆豉中脂肪酸成分的 GC/MS 分析[J]. 中国酿造, 2005(8): 51-52.

[29] Kim J H, Kim Y, Kim Y J, et al. Conjugated linoleic acid:

Potential health benefits as a functional food ingredient [J]. Annual Review of Food Science & Technology, 2016, 7(1): 221.

[30] 陈忠周, 李艳梅, 赵刚, 等. 共轭亚油酸的性质及合成[J]. 中国油脂, 2000(5): 41-45.

[31] 蒋焯, 薛培华, 陈士明, 等. 壳聚糖对超氧阴离子自由基和亚油酸脂类自由基的抑制作用[J]. 科学通报, 2002(3): 182-184.

[32] 李君, 杨文卓, 候霞飞, 等. 油酸和亚油酸对山羊乳腺细胞甘油三酯含量及乳脂合成相关基因表达的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(2): 380-386.

[33] 毕雪, 赛里木汗·阿斯米, 张敏, 等. 脂肪酸对米饭食味的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 8-14.

(上接第 207 页)

with immobilized lipase: A review [J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(5): 628-634.

[25] 赵红宇, 徐炜楨, 杨国华, 等. 郟县豆瓣后熟期理化特性与微量元素动态分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(7): 81-86.

[26] 李蓓, 衣杰荣. 腐乳在发酵过程中脂肪酶活力变化研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 261-263, 272.

[27] Su Yun Lee, Sarah Lee, Sunmin Lee, et al. Primary and secondary metabolite profiling of doenjang, a fermented soybean paste during industrial processing [J]. Food Chemistry, 2014, 165: 157-166.

[28] 耿予欢, 李国基. 豆豉中脂肪酸成分的 GC/MS 分析[J]. 中国酿造, 2005(8): 51-52.

[29] Kim J H, Kim Y, Kim Y J, et al. Conjugated linoleic acid: