

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241021003

引用格式: 王美仁, 王柏辉, 杨帆, 等. 不同加工方式对牛肉干产品风味物质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(2): 127-137.

WANG MR, WANG BH, YANG F, *et al.* Effects of different processing methods on flavor substances of beef jerky products [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(2): 127-137. (in Chinese with English abstract).

不同加工方式对牛肉干产品风味物质的影响

王美仁¹, 王柏辉², 杨帆^{1*}, 刘学勤¹, 苏春霞¹, 段晓蓉¹

(1. 鄂尔多斯生态环境职业学院, 鄂尔多斯 017010; 2. 鄂尔多斯市检验检测中心, 鄂尔多斯 017010)

摘要: **目的** 研究不同加工处理方式牛肉干产品挥发性风味物质的特征。**方法** 将牛肉用不同方式(腌制、加菌腌制、风干等 15 种)进行加工, 对其进行顶空固相微萃取结合全二维气相色谱-飞行时间质谱分析。**结果** 检测 15 种样品中的差异代谢物质, 其中添加木糖葡萄球菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌腌制的过程中, 显著性差异代谢物质包含糖、酸、酯类等共 12 种; 以风干方式加工的腌制牛肉和加菌腌制牛肉, 在风干后产生麦芽糖、癸酸和乳酸等 8 种极显著差异代谢物; 以正常烘烤方式加工的腌制牛肉比真空烘烤加工的腌制牛肉多检出包含萘、3-羟基-DL-正缬氨酸、左旋薄荷酮、正癸酸、D-松二糖、肉豆蔻酸在内的 11 种差异代谢物, 并且真空烘烤参与的代谢通路有柠檬酸循环、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等, 烘烤参与的代谢通路为氨基糖和核苷酸糖代谢。**结论** 本研究分析了不同加工处理方式的牛肉干产品挥发性风味物质的变化规律, 为提升风干牛肉的品质和口感提供了方法指导。

关键词: 差异代谢物; 气相色谱-飞行时间质谱法; 代谢组学; 风干; 烘烤; 真空烘烤; 牛肉干

Effects of different processing methods on flavor substances of beef jerky products

WANG Mei-Ren¹, WANG Bo-Hui², YANG Fan^{1*}, LIU Xue-Qin¹,
SU Chun-Xia¹, DUAN Xiao-Rong¹

(1. Ordos Vocational College of Eco-environment, Ordos 017010, China;
2. Ordos City Inspection and Testing Center, Ordos 017010, China)

ABSTRACT: Objective To study the characteristics of volatile flavor substances in beef jerky products processed by different processing methods. **Methods** Beef was processed by different processing methods (15 kinds of curing, bacterial curing, air-drying, etc.), and analyzed by headspace solid-phase microextraction combined with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time of flight mass spectrometry. **Results** The differential metabolites in 15 kinds of samples were detected. Among them, during the pickling process of *Staphylococcus xylosum*, *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*, the significant differential metabolites included 12 kinds of sugars, acids and esters. The cured beef processed by air-drying method and the cured beef with bacteria

收稿日期: 2024-10-21

基金项目: 内蒙古自治区科技创新引导奖励资金项目(NM-KJCXYD-014)

第一作者: 王美仁(1985—), 女, 硕士, 讲师, 实验师, 主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: 1332891666@qq.com

*通信作者: 杨帆(1971—), 男, 硕士, 教授, 主要研究方向为食品加工与安全方向。E-mail: 986079696@qq.com

produced 8 kinds of extremely significant different metabolites such as maltose, decanoic acid and orotic acid after air-drying. More than 11 kinds of differential metabolites including naphthalene, 3-hydroxy-DL-norvaline, L-menthone, n-decanoic acid, D-pinobiose and myristic acid were detected in the cured beef processed by normal baking than in the cured beef processed by vacuum baking. The metabolic pathways involved in vacuum baking were citric acid cycle, alanine, aspartic acid and glutamic acid metabolism, and the metabolic pathways involved in baking were amino sugar and nucleotide sugar metabolism. **Conclusion** In this study, the changes of volatile flavor substances in beef jerky products with different processing methods are analyzed, which provide methodological guidance for improving the quality and taste of air-drying beef.

KEY WORDS: differential metabolites; gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry; metabolomics; air-dry; baking; vacuum baking; beef jerky

0 引言

牛肉是我国主要的肉类之一,仅次于猪肉,是重要的蛋白质来源。它含有高质量的蛋白质和低脂肪,尤其是不饱和脂肪酸,有助于降低胆固醇和预防心血管疾病。牛肉还含有铁、锌、磷等矿物质^[1]。营养学家视牛肉为“肉中之王”,其营养成分丰富且易吸收。牛肉含蛋白质、矿物质等,有助于生长发育、增强免疫力、调理脾胃、强健骨骼。适量食用牛肉对各年龄段人群健康有益。干腌牛肉以独特风味和品质特征著称^[2]。风干牛肉中含多种风味物质,如醛类、酮类、酯类等挥发性化合物,以及氨基酸、肽类等非挥发性物质^[3]。研究发现不同加工工艺会影响风干牛肉风味。传统自然风干能保留原始风味,但时间长、受环境影响大;低温烘烤等现代工艺可缩短时间、减少微生物污染,且能产生独特烤香味。原料肉的品质、新鲜度以及加工过程中的卫生条件等都会影响最终的风味表现^[4]。乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌作为常见的食用益生菌,研究表明可明显提升畜禽肉质的色泽、降低滴水损失及 pH 等,也使蛋白质、脂肪酸以及各种氨基酸含量等显著提高进一步改善肉的风味,提升肉的等级^[5-6]。风干牛肉是多地传统美食,研究其风味有助于传承制作技艺和文化内涵,结合益生菌发酵技术,可以拓宽风干牛肉的应用市场,推动传统美食现代化发展^[7]。在竞争激烈的休闲食品市场,独特风味是吸引消费者的关键。深入研究风味,可打造差异化产品,提高产品附加值和竞争力,助力企业占据市场份额。

目前关于风干牛肉的研究已经取得了一定的成果,但对于不同部位及不同加工工艺的风干牛肉风味研究尚显不足,特别是气味和滋味方面的研究较少^[8]。此外,随着消费者对食品品质和口感的要求不断提高,如何进一步提升风干牛肉的品质和口感,也是未来研究的重要方向^[9]。

本研究以内蒙古自治区鄂尔多斯市鄂托克旗查布其农牧民专业合作社的黄牛为原料,以不同菌液添加的加工方式进行牛肉风干,采用定量描述分析和顶空固相微萃取结合全二维气相色谱-飞行时间质谱(comprehensive

two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-TOF/MS)技术对不同加工处理方式的牛肉干产品挥发性风味物质差异特征和挥发性组分差异特征进行解析,分析测定风干和贮藏过程中理化指标、微生物指标以及挥发性风味物质的变化规律,深入研究风味前体物质与挥发性风味物质之间的相关性,为传统风干牛肉的标准化生产、品质控制以及技术改进奠定一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 牛肉

牛肉来自内蒙古自治区鄂尔多斯市鄂托克旗查布其农牧民专业合作社同一饲养条件的黄牛。采样时调研肉品成熟度是否一致,根据实验采样需求,取样时间为同一生长期,体脂率相近的黄牛。采集的样品分别装入采样袋,贮存在-80℃冰箱备用^[10]。

1.1.2 菌株

木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosum*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)均保藏于内蒙古农业大学食品科学与工程学院食品实验室。

1.1.3 主要仪器设备与试剂

18L 真空滚揉机(广陵食品机械有限公司); HHS-11-2 恒温水浴锅(上海博讯实业有限公司); KDC-140HR 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); PB-400pH 计(北京赛多利斯仪器系统有限公司); DHP-9802 电热恒温干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); 7890A 气相色谱仪(美国 Agilent 公司); PEGASUS HT 质谱仪(美国 LECO 公司); Heraeus Fresco17 离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); BSA124S-CW 分析天平(精度 0.0001 g, 德国 Sartorius 公司); JXFSTPRP-24 研磨仪(上海净信科技有限公司); LNG-T98 真空干燥仪(太仓市华美生化仪器厂)。

核糖醇标准品(纯度≥99%)、C₇-C₃₀ 直链正构烷烃、乙醇(色谱纯)(美国 Sigma-ALdrich 公司); 甲氧胺盐(分析

纯, 日本 TCI 公司); NaCl(分析纯, 中国医药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 牛肉加工工艺

牛肉去筋, 切条加食盐、糖、五香粉、料酒、红酱油、味精、白胡椒粉、菌液、纯净水放入滚揉机滚揉。滚揉完成后, 放入盆中。选择牛肉条长厚的肉条挂到风干机中, 依据各组时间、温度风干后烘烤。

原料肉预处理: 选用黄牛后腿肉, 剔除牛肉表面筋膜等杂物。顺着肌纤维的方向将牛肉分割成约长 15 cm, 宽 4 cm, 厚度 3 cm 的肉条。

静置腌制: 添加腌制剂, 4 °C 腌制 12.0 h。

真空滚揉腌制: 添加腌制剂, 0.04 MPa 条件下真空滚揉 4.0 h。

低温风干: 将腌制好的牛肉运入风干室, 挂肉要注意肉条之间的距离, 保持空气流通, 确保室内温度达到设定的范围^[11]。

高温烘干: 将风干肉置于鼓风干燥箱中进行烘干。

腌制剂配比(每 kg 肉): 食盐 1.5%、糖 0.2%、五香粉 0.2%、料酒 3%、红酱油 0.5%、味精 0.4%、白胡椒粉 0.1%、菌液 2%、水 10%。

实验设置自然组: 30 h 30 °C、124 h 30 °C、36 h 36 °C; 加菌组(肉:纯净水=10:1, m:I): 24 h 30 °C、30 h 30 °C, 其中 A 组: 鲜牛肉; B 组: 未加菌腌制牛肉; C 组: 添加木糖葡萄糖菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌腌制的牛肉; D 组: B 组经风干工艺加工的产品; E 组: C 组经风干工艺加工的产品; F 组: B 组经蒸煮、烘烤工艺加工的产品; G 组: C 组经蒸煮、烘烤工艺加工的产品; H 组: B 组经烘烤工艺加工的产品; I 组: C 组经烘烤工艺加工的产品; J 组: B 组经真空烘烤工艺加工的产品; K 组: C 组经真空烘烤工艺加工的产品; L 组: B 组经真空烘烤和冻干工艺加工的产品; M 组: C 组经真空烘烤和冻干工艺加工的产品; N 组: B 组经高压蒸煮工艺加工的产品; O 组: C 组经高压蒸煮工艺加工的产品。

1.2.2 GC×GC-TOF/MS 实验方法

取样本(50±1) mg 于 2 mL 离心管中, 加入 1000 μL 预冷提取液(甲醇:氯仿=3:1, V:V), 含核糖醇, 涡旋 30 s; 加入钢珠, 40 Hz 研磨仪处理 4 min, 冰水浴超声 5 min(重复 3 次); 将样本 4 °C 离心, 12000 r/min 离心 15 min 小心移取 300 μL 上清液于 1.5 mL 离心管中, 每个样本各取 100 μL 混合成质控(quality control, QC)样本; 在真空浓缩器中干燥提取物; 向干燥后的代谢物加入 40 μL 甲氧胺盐试剂(甲氧胺盐酸盐溶于 20 mg/mL 吡啶), 轻轻混匀后, 放入烘箱中 80 °C 孵育 30 min; 向每个样品中加入 50 μL N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺 [N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide, BSTFA](含有 1%三甲基氯化亚砷, V:V), 将混合物 70 °C 孵育 1.5 h; 冷却至室温, 向混合的样本中加

入 5 μL 脂肪酸甲酯(溶于氯仿); 随机顺序上机检测^[12-13]。

1.2.3 GC×GC-TOF/MS 分析方法

使用 AgiLent7890 气相色谱仪结合飞行时间质谱仪进行 GC×GC-TOF/MS 分析。该系统采用 DB-5MS 毛细管柱。最大以无分流模式注入等分试样。使用氦气作为载气, 前入口吹扫流量为 3 mL/min, 通过柱的气体流速为 1 mL/min。初始温度保持在 50 °C/min, 以 10 °C/min 的速率升高到 310 °C, 然后在 310 °C 保持 8 min。注入、传输线和离子源的温度分别为 280、280 和 250 °C。在电子撞击模式下能量为 -70 V。在全扫描模式下, 以每秒 12.5 光谱的速率获取质荷比(m/z)范围为 50 至 500 的质谱数据, 溶剂延迟 6.4 min^[14]。

1.3 数据处理

使用 ChromaTOF 软件(V4.3x, LECO)对质谱数据进行峰提取、基线校正、解卷积、峰积分、峰对齐等分析。对物质定性工作中, 使用了 LECO-FiehnRtx5 数据库, 包括质谱匹配及保留时间指数匹配。最后, 将 QC 样本中检出率 50% 以下或相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)>30%的峰去除^[15]。

2 结果与分析

2.1 质量控制

2.1.1 过程质控

当样本量过多、检测时间过长时, 需要在检测过程中实时监控仪器稳定性, 及时发现异常, 尽早将问题排除, 以保证最终采集数据的质量。由表 1 可知, 内标在 QC 样品中峰面积 RSDs=5.56%≤30%, 说明仪器数据采集稳定。

表 1 内标峰面积
Table 1 Internal standard peak area

样品	峰面积	RSDs/%
QC1	9953895.4	
QC2	10871511.9	
QC3	10624968.8	
QC4	11075960.5	5.56
QC5	11531257.6	
QC6	10112275.8	
平均值	10694678.3	

在 QC 过程中, 总离子色谱(total ion chromatogram, TIC)图可以用来确认样品的稳定性和仪器的性能, 可以更好地理解和分析样品中的复杂化合物。通过对空白样品的检测可以考察检测过程中物质残留情况。由图 1 可知, QC 样本 TIC 出峰保留时间和峰面积均重叠适宜, 说明仪器稳定。通过观察 TIC 中的背景噪音和意外出现的峰, 可以识别和排除可能的污染物或仪器故障。由图 2 可知, 空白样品中无显著峰检出, 说明物质残留控制适当, 不存在样品间的交叉污染^[16]。

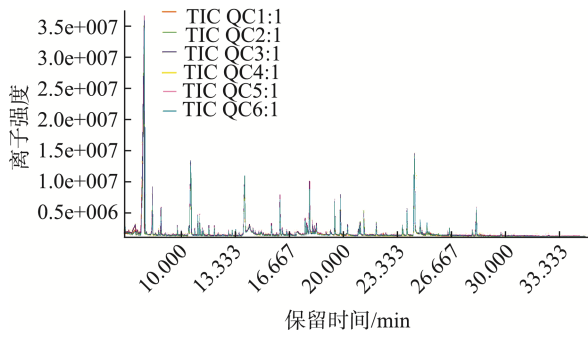


图 1 总 QC 样本 TIC 叠图

Fig.1 TIC stacked image of all QC samples

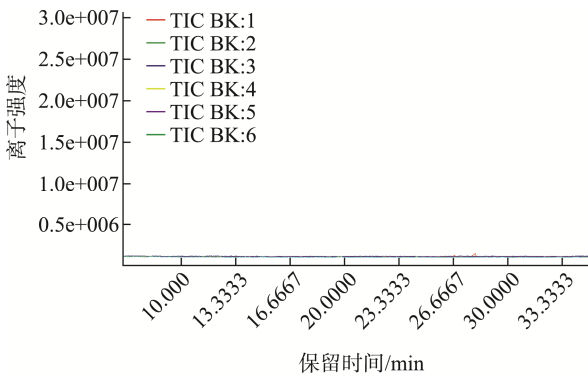


图 2 空白样品 TIC 图

Fig.2 TIC diagram of blank samples

2.1.2 数据质控

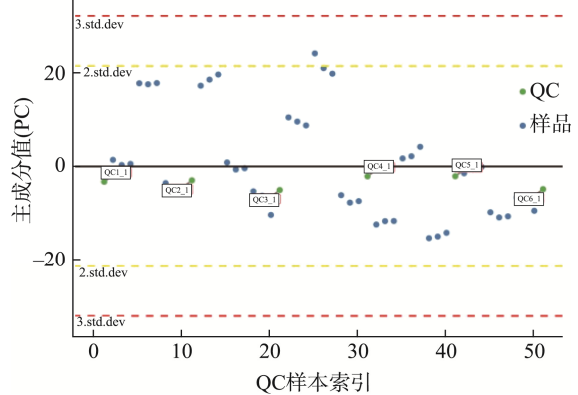
QC 样本在物质提取、检测分析的过程中会有系统误差, 导致 QC 样品间存在差异。这个差异越小说明整个方法稳定性越好、数据质量越高。由图 3 可知, 样本几乎全部分布在 ± 2 std 范围内, 因此本研究的数据更加可靠、准确^[17]。

2.2 统计学分析

2.2.1 主成分分析

由图 4a 可知, 各组之间的样本呈现分离趋势, 尤其不同工艺对样本影响较大, 使得样本分离明显。由图 4b 可知, 第一成分贡献率为 21.1%, 第二成分贡献率为 9.5%, 结合两幅图可以更加直观地看出各样本分散情况, 从二维图中看出整体分离效果较好, 说明不同组别牛肉干风味物

质存在差异, 但有少部分重叠^[18], 而 $PC1 > PC2$, 以横坐标为主说明横坐标距离越大, 样本差异性越大^[2,19]。



注: std.dev 表示标准偏差。

图 3 主成分分析得分图

Fig.3 Score plot of principal component analysis

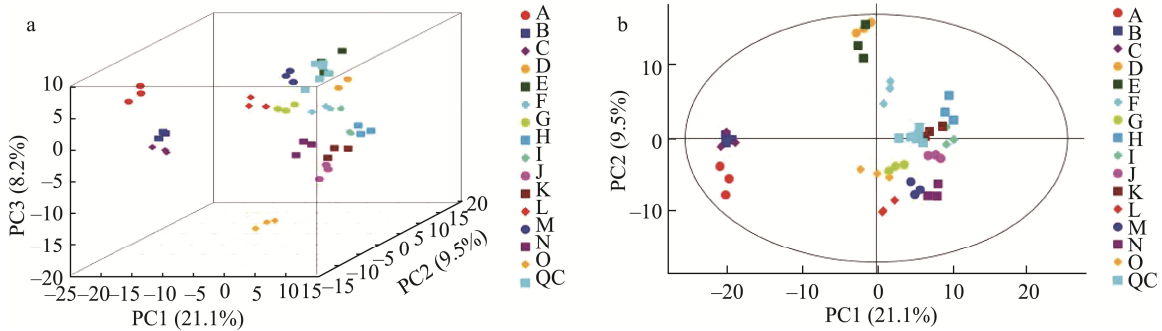
2.2.2 正交偏最小二乘法-判别分析

采用的统计方法对结果进行分析。通过正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal projections to latent structures discriminant analysis, OPLS-DA), 能够获得更加可靠的代谢物的组间差异与实验组的相关程度信息。OPLS-DA 结果见图 5, 由图 5 可知, 15 组的样品未交叉重叠, 说明代谢信息不同; 不同处理方式下的样本横向距离较远, 说明组间差异明显; 大部分样本组内纵向距离较近, 重复性好。各组得分散点图下方对应置换检验结果, 各组别 R^2 均接近于 1, Q^2 趋向于 0, 表明 OPLS-DA 模型稳定可靠, 没有出现过拟合现象, 组间分离明显, 无交叉重合^[20], 模型合理且鉴定的代谢物可用于下一步分析。

2.3 差异代谢物分析

2.3.1 差异代谢物聚类分析

为对比菌种、烘烤、冻干等方式对牛肉干风味物质的影响, 对以下 10 组进行差异代谢物聚类分析, 结果见图 6, 由图 6a 可知, 经过加入木糖葡萄球菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌腌制过的牛肉(C 组)中, 2-脱氧-D-葡萄糖、环氧缩酮、6-磷酸蔗糖含量增加, 癸酸、乳清酸、葡萄糖酸内酯、



注: a. 主成分分析模型三维得分散点图; b. 全部样本主成分分析得分散点图。

图 4 主成分分析散点图

Fig.4 Principal component analysis scatter plot

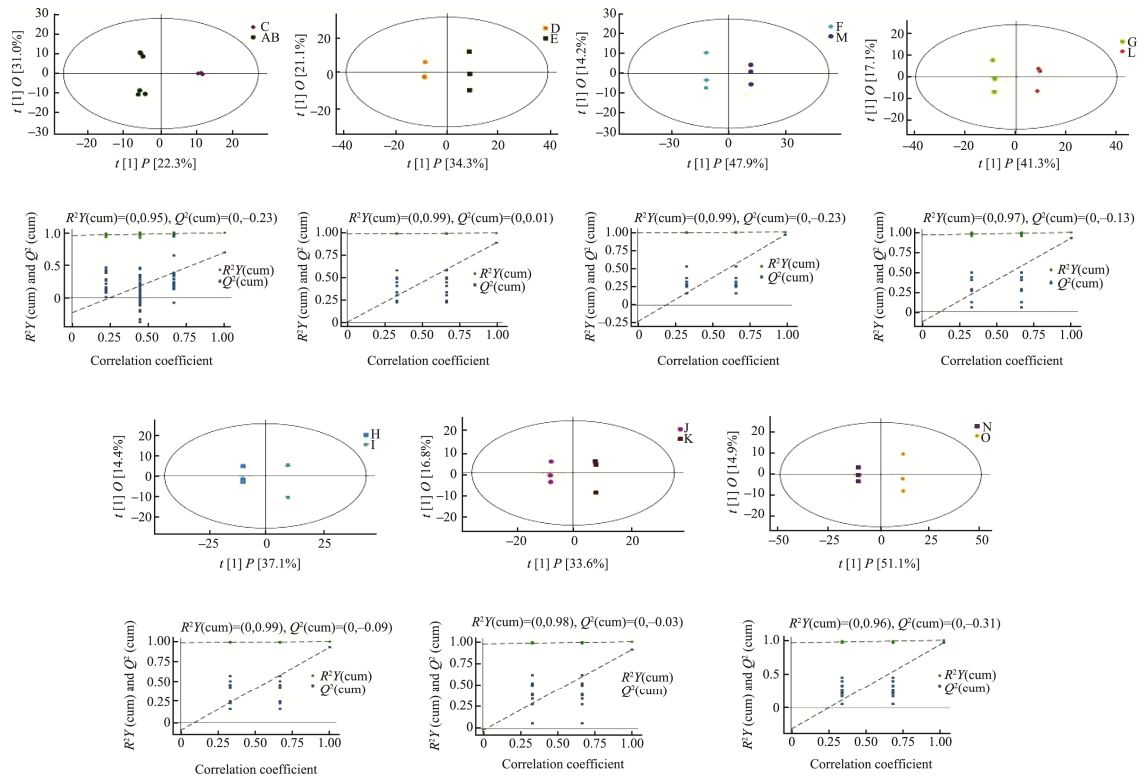
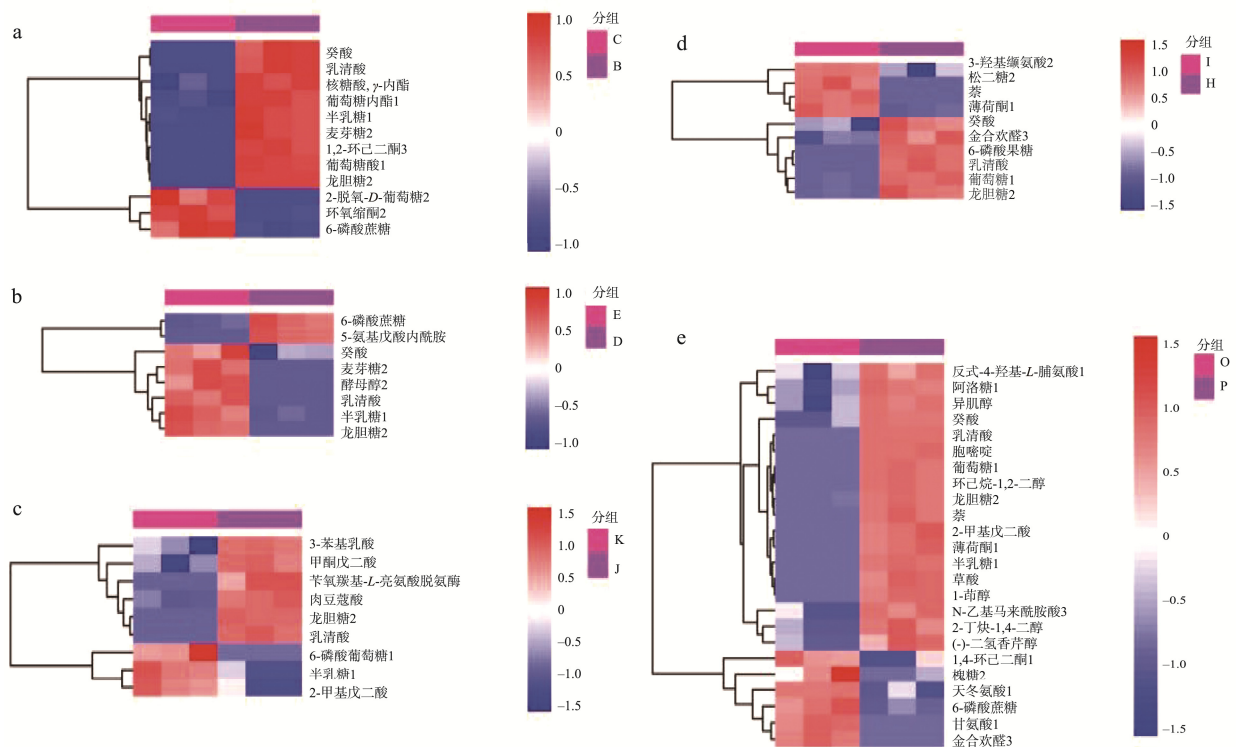


图 5 OPLS-DA 模型得分散点图与置换检验结果点状图
Fig.5 Scatter plot of OPLS-DA model scores and point plot of permutation test results



注: 图中横坐标代表不同样本分组, 纵坐标代表所有的代谢物, 不同位置的色块代表对应位置代谢物的相对表达量, 其中红色表示该物质含量高表达, 蓝色表示该物质含量低表达。

图 6 聚类热图
Fig.6 Clustering heat map

1,2-环己二酮等物质含量降低。由图 6b 可知,牛肉经过风干后癸酸、麦芽糖、乳清酸等物质含量增加,同时比未加菌种的 D 组高,可能是加入菌种后产生的相关物质增加了牛肉干的风味^[21-22]。通过对比图 6c 与 6d 可知,经过真空烘烤后,隔绝了氧气,限制了各菌种对物质的产生,降低了 J 组与 K 组整体代谢物的数量。由图 6e 可以得到:经过高压蒸煮后两组产生了一些新物质如反式-4-羟基-L-脯氨酸、阿洛糖、胞苷酸、草酸等物质,经过加菌腌制过的 O 组新产生天冬氨酸、甘氨酸等物质。

2.3.2 差异代谢物的筛选

基于 OPLS-DA 模型,以变量重要性投影(variable importance for the projection, VIP)>1、 $P<0.05$ 为标准进行筛选,对比不同组别差异代谢物,结果见表 2。通过筛选后对比 C 组与 B 组可知,腌制牛肉时加入木糖葡萄球菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌后,有效增加了牛肉的风味物质,其中具有显著性差异代谢物有糖类、酯类、酸类共 12 种,改善了牛肉的品质^[23-24]。C 组与 B 组经过风干后得到 E 组与 D 组,其中如

麦芽糖、癸酸、乳清酸、戊糖、6-磷酸蔗糖等 5 种物质经过干制后仍为极显著差异代谢物,说明这几种物质在牛肉干的制作过程中起到重要作用。孔琪^[25]将鼠李糖乳杆菌 LR1、植物乳杆菌 LP5、乳酸片球菌 PA45 发酵液加入牛肉经过干制后对牛肉干的品质进行分析得出结论:乳酸菌发酵液能够优化调理牛肉的感官品质。将 C 组与 B 组经过烘烤后得到 I 组与 H 组,由表 2 可知,经过烘烤后产生了新的物质 3-羟基缬氨酸、门冬酰胺、呋喃糖等。从整体上看, D、E 组特有的差异代谢物为 5-氨基戊酸内酰胺、酵母醇总计 2 种, J、K 组特有的差异代谢物为苜蓿基-L-亮氨酸脱氨酶、2-甲基戊二酸、 α -酮戊二酸、3-苯基乳酸总计 4 种, H、I 组特有的差异代谢物为 3-羟基缬氨酸、松二糖 2 种, O、N 组特有的差异代谢物为甘氨酸、草酸、2-丁炔-1,4-二醇、环己烷-1,2-二醇、二氢香芹醇、1,4-环己二酮、1-茛醇、N-乙基马来酰胺酸、天冬氨酸、阿洛糖、反式-4-羟基-L-脯氨酸、异肌醇、槐糖总计 13 种,综上所述 O、N 组高压蒸煮的处理方式使得牛肉的风味物质增多^[26]。

表 2 不同组别差异代谢物筛选

Table 2 Screening of differential metabolites in different groups

组别	中文名称	英文名称	VIP	P
C vs B	1,2-环己二酮	1,2-cyclohexanedione	4.10	0.00
	癸酸	capric acid	3.97	0.00
	核糖酸, γ -内酯	ribonic acid, gamma-lactone	1.02	0.00
	乳清酸	orotic acid	3.93	0.00
	2-脱氧-D-葡萄糖	2-deoxy-D-glucose	3.73	0.01
	葡萄糖内酯	gluconic lactone	1.13	0.00
	环氧缩酮	conduritol b epoxide	2.27	0.00
	葡萄糖酸	gluconic acid	1.15	0.00
	龙胆糖	gentiobiose	3.84	0.00
	半乳糖	melibiose	1.03	0.00
	6-磷酸蔗糖	sucrose-6-phosphate	1.35	0.00
	麦芽糖	maltotriose	4.16	0.00
E vs D	5-氨基戊酸内酰胺	5-aminovaleric acid lactam	3.61	0.00
	癸酸	capric acid	1.62	0.01
	乳清酸	orotic acid	3.38	0.00
	龙胆糖	gentiobiose	4.11	0.00
	半乳糖	melibiose	1.07	0.00
	6-磷酸蔗糖	sucrose-6-phosphate	1.02	0.00
	酵母醇	zymosterol	3.14	0.01
	麦芽糖	maltotriose	3.61	0.00
K vs J	苜蓿基-L-亮氨酸脱氨酶	carbobenzyloxy-L-leucine degr	3.85	0.01
	2-甲基戊二酸	2-methylglutaric acid	2.70	0.03
	甲酮戊二酸	alpha-ketoglutaric acid	1.77	0.01
	3-苯基乳酸	3-phenyllactic acid	1.75	0.05
	半乳糖	xylose	2.31	0.01
	乳清酸	orotic acid	3.72	0.00
	肉豆蔻酸	myristic acid	1.03	0.00
	6-磷酸葡萄糖	glucose-6-phosphate	3.63	0.03
I vs H	龙胆糖	gentiobiose	4.24	0.00
	萘	naphthalene	3.47	0.00
	3-羟基缬氨酸	3-hydroxynorvaline	1.39	0.05
	癸酸	capric acid	1.52	0.01
	薄荷酮	menthone	1.14	0.00
	乳清酸	orotic acid	3.11	0.00
	金合欢醛	farnesal	1.61	0.00
	葡萄糖	glucose	1.40	0.00
	6-磷酸果糖	fructose-6-phosphate	1.56	0.00
	松二糖	turanose	2.98	0.00
龙胆糖	gentiobiose	2.79	0.00	

表 2(续)

组别	中文名称	英文名称	VIP	P
O vs N	甘氨酸	glycine	1.15	0.00
	草酸	oxalic acid	2.67	0.00
	萘	naphthalene	2.99	0.00
	2-丁炔-1,4-二醇	2-butyne-1,4-diol	1.98	0.00
	环己烷-1,2-二醇	cyclohexane-1,2-diol	3.14	0.00
	二氢香芹醇	(-)-dihydrocarveol	2.19	0.00
	1,4-环己二酮	1,4-cyclohexanedione	1.92	0.05
	1-茛醇	1-indanol	2.93	0.00
	2-甲基戊二酸	2-methylglutaric acid	2.79	0.00
	癸酸	capric acid	2.08	0.01
	N-乙基马来酰胺酸	N-ethylmaleamic acid	1.86	0.01
	天冬氨酸	aspartic acid	1.49	0.03
	薄荷酮	menthone	3.16	0.00
	阿洛糖	allose	1.30	0.00
	乳清酸	orotic acid	2.67	0.00
	反式-4-羟基-L-脯氨酸	trans-4-hydroxy-L-proline	1.17	0.03
	金合欢醛	farnesal	2.72	0.00
	葡萄糖	glucose	2.53	0.00
	异肌醇	allo-inositol	1.25	0.03
	槐糖	sophorose	2.18	0.03
	龙胆糖	gentiobiose	2.39	0.00
	半乳糖	melibiose	1.16	0.00
	6-磷酸蔗糖	sucrose-6-phosphate	1.58	0.00

2.3.3 差异代谢物的雷达图分析

通过雷达图对比各组差异代谢物含量趋势变化, 如图 7 所示。图中用红色字体表示, 每一条网格线表示一个差异倍数, 紫色阴影由每个物质的差异倍数连线组成。

由图 7 可知, B、C 组中麦芽糖、乳清酸的得分最高, 风味贡献最大, 为牛肉提供了牛奶清香和甜味。周亚军等^[27]以牛臀肉为原料, 接种木糖葡萄糖菌和清酒乳杆菌制作发酵牛肉干, 对牛肉干发酵前后蛋白质含量、质构、质构、

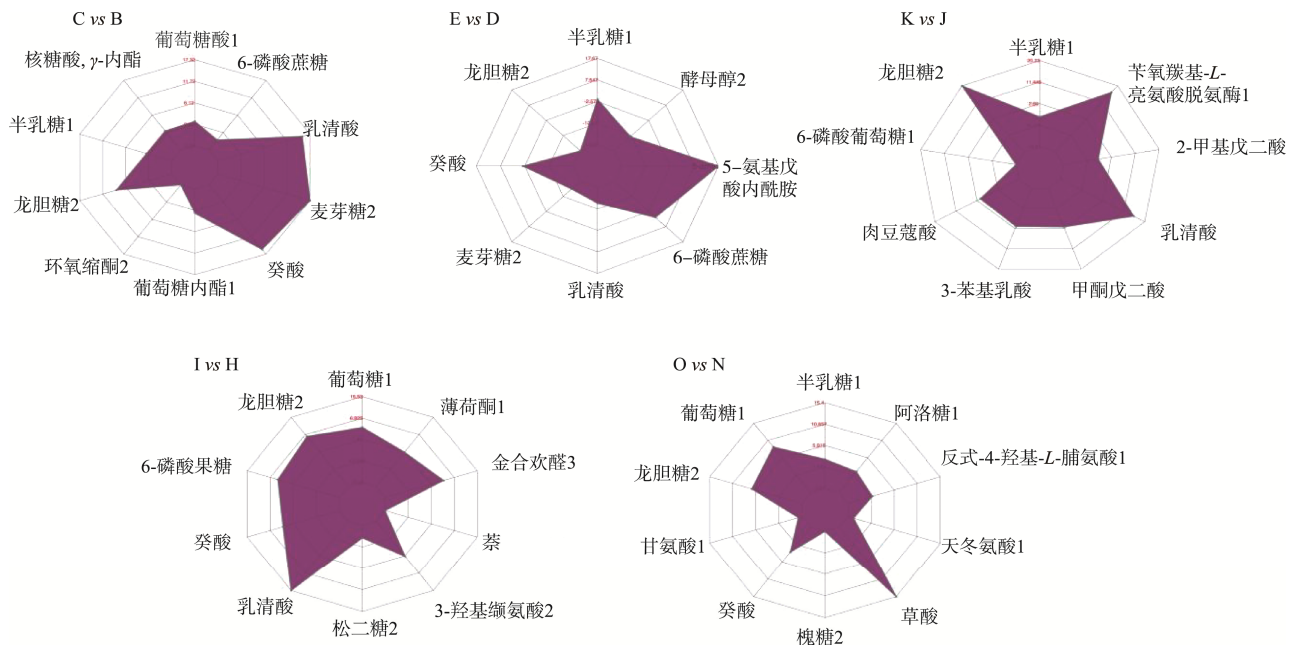


图 7 不同组别差异代谢物雷达图
Fig.7 Radar chart of differential metabolites in different groups

色泽游离氨基酸、脂肪酸组成和挥发性风味物质对比分析,结果表明:接种发酵剂的牛肉干 pH、硬度均显著降低,经过发酵后,挥发性物质增加 5 种,同时提高了牛肉干中醛、醇、酚、酯、酸等物质的相对含量,使得产品营养与风味显著提高。D、E 组风干牛肉的风味物质种类有所下降,可能的原因是在普通风干过程中流失,只有 5-氨基戊酸内酰胺的评分最高,其他物质评分接近。

经过真空烘烤, K、J 组各风味物质的贡献率都有所增加,其中 6-磷酸葡萄糖的评分较低,其他物质对风味的贡献均比较大。采用真空的方式进行烘烤,有效防止牛肉的氧化,尽可能地保留了牛肉原始风味。对比 H、I 组可得,在正常条件下烘烤,各物质对风味的贡献相近,同时也说明各物质产生的风味较平和,使得牛肉干风味平衡。经过高压蒸煮后,破坏了大部分风味物质,降低了风味物质的评分,导致牛肉干的风味不明显,如图 7 所示, O、N 组可能无法使人感知。

2.3.4 差异代谢物的相关性分析

进行差异代谢物相关性分析有利于进一步了解生物状态变化过程中代谢物之间的相互调节关系。为了探究各代谢物之间的相关性,通过对比 B 与 C、D 与 E、J 与 K、

H 与 I 组间代谢物,探究各物质之间的相关程度,结果见图 8。由图 8 可知, C vs B 组中代谢物间均具有显著性,相关性系数的绝对值接近 1,甚至有 24 种相关性系数等于 1,可能是接入菌种后产生各种物质,提高了牛肉的风味^[28]。从 E vs D 组中可以看出,牛肉经过风干后风味物质有所减少,但各物质之间相关性系数也较高,也具有显著性。从整体看,随着处理温度的升高,呈负相关的物质占比逐渐增多,部分物质失去了显著性。

2.3.5 差异代谢物的 KEGG 富集分析

根据京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路注释的结果对 B、C、D、E、H、I、J、K 组别的样本进行分类,结果见图 9。

如图 9 所示, C vs B 组中新陈代谢途径差异代谢物的数量最高占 85.71%,其次为戊糖磷酸途径、碳水化合物代谢、ABC 转运体,各占 28.57%,其他均为 14.29%。E vs D 组中主要代谢通路为靛酚和蔗糖代谢、半乳糖代谢、碳水化合物代谢、辅因子的生物合成、代谢途径、类固醇生物合成、脂肪酸的生物合成、ABC 转运蛋白、嘧啶代谢,其中 ABC 转运蛋白占比最高为 33.33%,其余均为 16.67%,

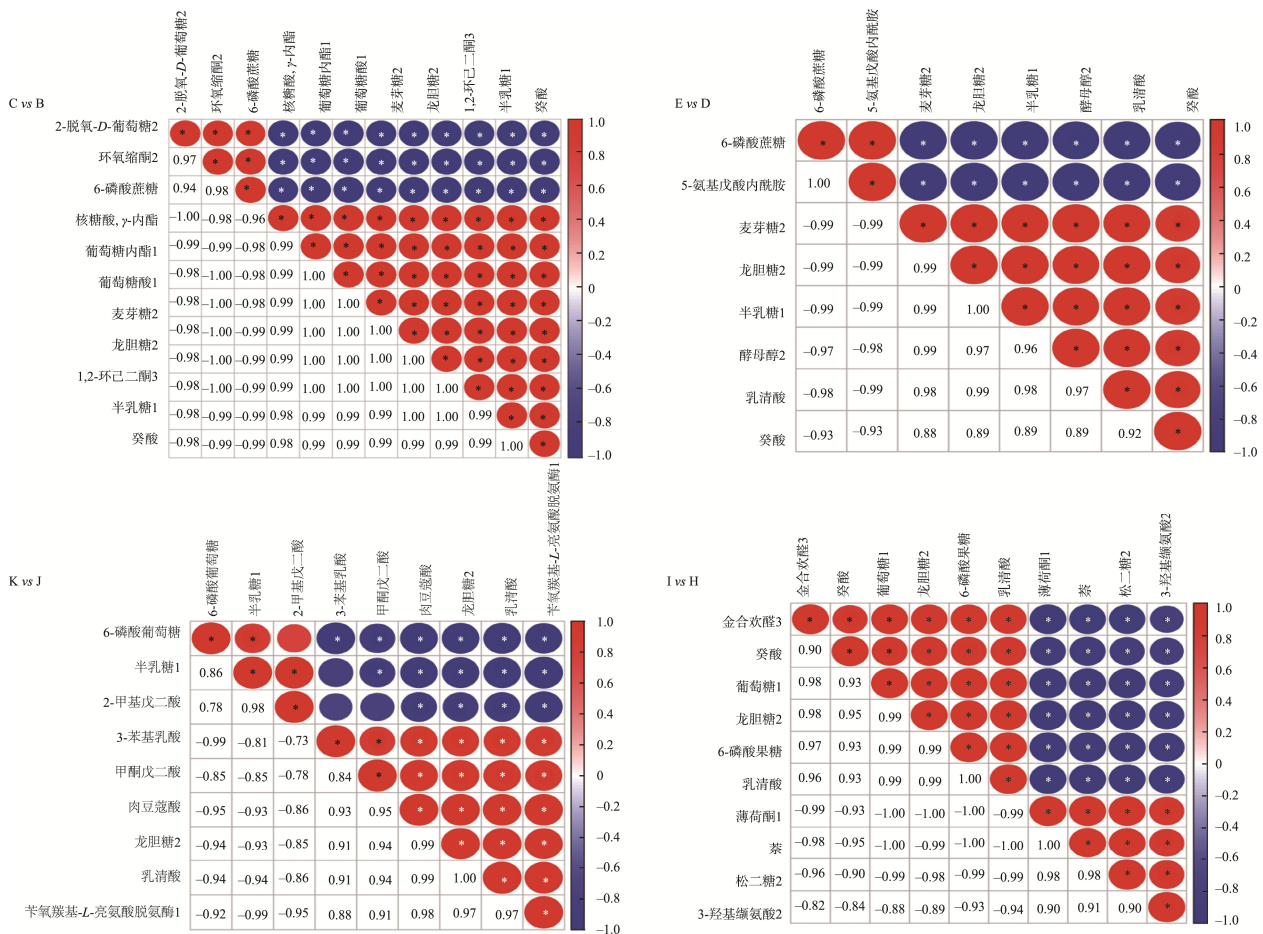


图 8 相关分析热力图
Fig.8 Heat map of correlation analysis

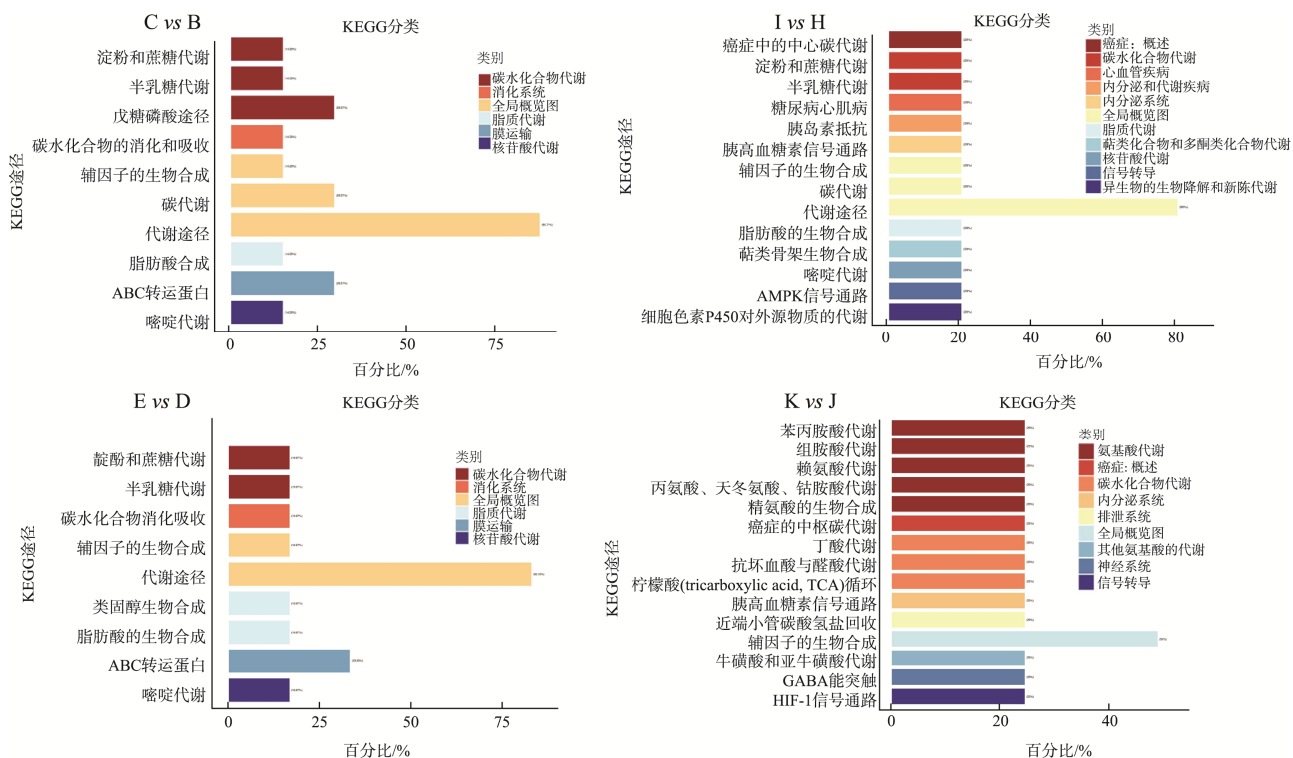


图 9 差异代谢物 KEGG 分类图
Fig.9 KEGG classification map of differential metabolites

与 C vs B 组相比增加了类固醇的生物合成。I vs H 组中代谢通路与 C vs B 组相比种类明显增加, 产生了腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路、胰岛素抵抗等新的代谢通路, 各通路差异代谢物的数量占比均匀^[29]。而 K vs J 组与 I vs H 组相比, 代谢通路又有所增加, 可能原因是在接触空气后经过高温产生的, K

vs J 组中代谢通路与前 3 组大不相同, 各代谢通路差异代谢物占比较 I vs H 组有所增加。

2.3.6 差异代谢物的代谢通路分析

通过对差异代谢物所在通路的富集分析, 可以对通路进行进一步的筛选, 找到与代谢物差异相关性最高的关键通路, 代谢通路分析的结果以气泡图展示, 结果见图 10。

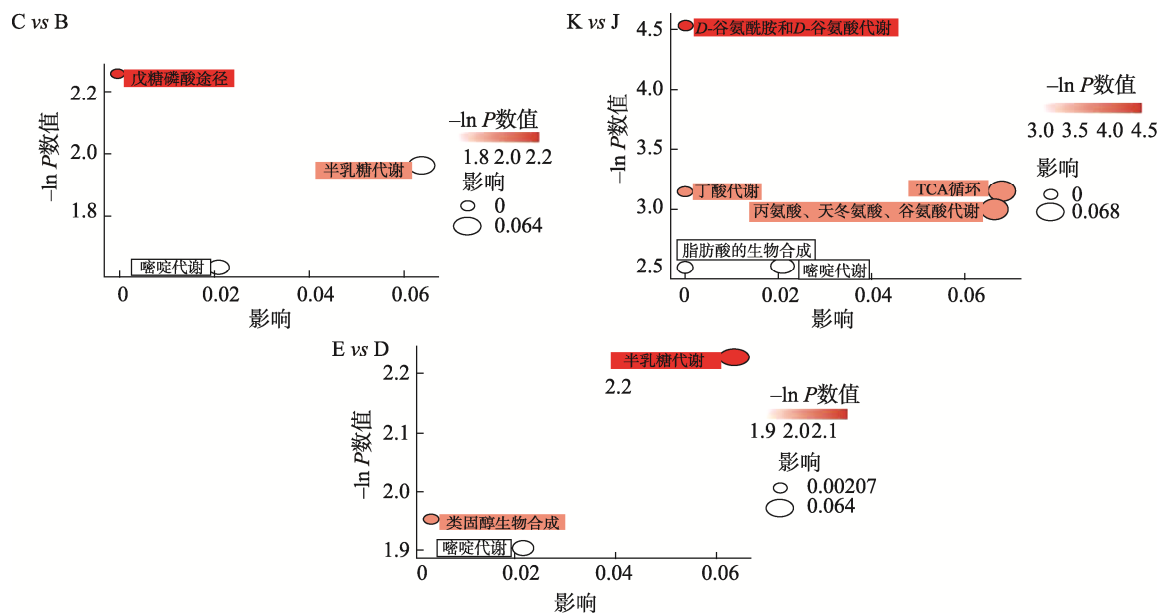


图 10 代谢通路气泡图
Fig.10 Bubble diagram of metabolic pathway

由图 10 可知, C vs B 组中戊糖磷酸途径的显著性最高但是其影响因子几乎为 0, 该组中只有半乳糖代谢通路的影响因子和显著性均较高, 可能是因为加入木糖葡萄糖菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌后消耗了乳糖或半乳糖, 使得半乳糖代谢通路上的物质得到富集并具有显著性。经过干制后得到 E vs D 组, 半乳糖代谢通路显著性有所提高, 新得到类固醇生物合成通路, 该通路影响因子和显著性均较低^[30]。相比前两组, K vs J 组中 TCA 循环、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、嘧啶代谢显著性高, 前两条通路的影响因子也较高。经过 K vs J 组真空烘烤后, 代谢通路数量增加, 各通路的影响因子也比其他组高。

3 结 论

本研究使用 GC×GC-TOF/MS 技术探究不同加工处理方式风干牛肉中风味物质的变化规律。结果显示, 加木糖葡萄糖菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌腌制, 显著性差异代谢物有糖、酯、酸类等共 12 种, 在牛肉风味形成过程中发挥重要作用, 通过 KEGG 通路富集分析发现代谢途径、戊糖磷酸途径、碳代谢、ABC 转运蛋白是主要的代谢途径, 且半乳糖代谢通路上的物质得到富集并具有显著性; 将风干牛肉与未风干的牛肉进行对比, 发现风干牛肉产生麦芽糖、癸酸和乳清酸等 8 种极显著差异代谢物, 通过雷达图和相关性分析充分表明风味物质数量减少; 将烘烤和真空烘烤的牛肉进行比较, 真空烘烤的牛肉整体风味化合物数量降低, 6-磷酸葡萄糖对风味的贡献也较小, 通过代谢通路分析发现 TCA 循环、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、嘧啶代谢具有显著性, 影响因子也比其他组高。相比之下, 接入木糖葡萄糖菌、植物乳杆菌和戊糖片球菌腌制的风干牛肉的品质最优, 在半乳糖代谢、类固醇生物合成和嘧啶代谢中产生的麦芽糖、癸酸、乳清酸、戊糖、6-磷酸蔗糖对风干牛肉风味物质的产生奠定基础, 为标准化生产提供依据。

参考文献

- [1] 赵柏全, 高月红, 韩畅, 等. 内蒙古自治区肉牛产业高质量发展研究[J]. 当代畜禽养殖业, 2024, 44(2): 43–45.
ZHAO BQ, GAO YH, HAN C, *et al.* Research on high-quality development of beef cattle industry in Inner Mongolia Autonomous Region [J]. Contemporary Livestock and Poultry Industry, 2024, 44(2): 43–45.
- [2] 孙光城, 罗秀群, 林丹, 等. 基于 GC-MS 分析牛肉不同部位对牛肝菌牛肉品质及挥发性香气成分的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 216–227.
SUN GC, LUO XQ, LIN D, *et al.* Analysis of impact of different parts of beef on the quality and volatile aroma components of boletus beef sauce based on GC-MS [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 216–227.
- [3] 宋达. 复方中草药添加剂对育肥肉牛成熟品质及蛋白质功能特性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2024.
SONG D. Effect of compound herbal additives on maturity quality and protein functional properties of fattened beef [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2024.
- [4] YANG XL, PEI ZY, DU WB, *et al.* Characterization of volatile flavor compounds in dry-rendered beef fat by different solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) combined with GC-MS, GC-O, and OAV [J]. Foods, 2023, 12(17): 3162.
- [5] 黄桂芳, 陈静雅, 陈馨雨, 等. 干腌牛肉加工过程中理化变化与品质形成的相关性研究[J]. 食品工业, 2022, 43(1): 171–175.
HUANG GF, CHEN JY, CHEN XY, *et al.* Study on correlation between physicochemical changes and quality formation of dry-corned beef during processing [J]. Food Industry, 2022, 43(1): 171–175.
- [6] ZHOU JY, YING YB, PENG JB, *et al.* Lactic acid bacteria and Staphylococcus carnosus fermentation as a means for eliminating 4-alkyl branched odour fatty acids of mutton jerky and its effect on other quality characteristics [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2022, 57(10): 6843–6851.
- [7] RODOLFO C, ALINE FO, RODRIGO G, *et al.* Calcium, Fe, Cu, Zn, and Mg fractionation in natural and aged beef samples by bioanalytical methods [J]. Food Analytical Methods, 2019, 13(1): 186–194.
- [8] 甘芳媛. 发酵干巴牛肉工艺及其品质特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2014.
GAN FY. Study on fermentation process and quality characteristics of dried beef [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2014.
- [9] HUNT MR, GARMYN AJ, O'QUINN TG, *et al.* Consumer assessment of beef palatability from four beef muscles from USDA choice and select graded carcasses [J]. Meat Science, 2014, 98(1): 1–8.
- [10] 田晓静, 刘元林, 蒙秋柏, 等. 多指标综合评价风干牛肉品质的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(14): 6–10.
TIAN XJ, LIU YL, MENG QB, *et al.* Research on multi-index comprehensive evaluation of air dried beef quality [J]. Food Industry Science and Technology, 2017, 38(14): 6–10.
- [11] 刘寅初, 高晓光, 张松山, 等. 干法成熟牛肉品质形成与增值途径研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 321–328.
LIU YC, GAO XG, ZHANG SS, *et al.* Research progress in the formation of quality of dry-aged beef and approaches for its added value [J]. Food Science, 2023, 44(15): 321–328.
- [12] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(1): 27–30.
- [13] KANEHISA M, SATO Y, KAWASHIMA M, *et al.* KEGG as a reference resource for gene and protein annotation [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(D1): D457–D462.
- [14] XIA J, SINELNIKOV IV, HAN B, *et al.* Metaboanalyst 3.0—making metabolomics more meaningful [J]. Nucleic Acids Research, 2015,

- 43(W1): W251–W257.
- [15] PICART-ARMADA S, FERNÁNDEZ-ALBERT F, VINAIXA M, *et al.* FELLA: An R package to enrich metabolomics data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2018, 19(1): 538.
- [16] 金文刚, 赵萍, 刘俊霞, 等. 基于 GC-MS 代谢组学分析大鲵肉冷藏过程中肌肉代谢产物差异[J]. *食品科学*, 2022, 43(24): 192–201.
- JIN WG, ZHAO P, LIU JX, *et al.* Analysis of differences of muscle metabolites during cold storage of giant salamander meat based on GC-MS metabolomics [J]. *Food Science*, 2022, 43(24): 192–201.
- [17] 梁鹏. 三个绵羊品种肉质性状的转录组学与代谢组学研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2023.
- LIANG P. Transcriptomic and metabolomic study on meat quality traits of three sheep breeds [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2023.
- [18] 王俊钢, 李宇辉, 刘钰, 等. 复合乳酸菌发酵对风干牛肉细菌多样性及代谢物的影响[J]. *微生物学报*, 2024, 64(8): 2861–2881.
- WANG JG, LI YH, LIU Y, *et al.* Effects of complex lactic acid bacteria fermentation on bacterial diversity and metabolites of air-dried beef [J]. *Journal of Microbiology*, 2024, 64(8): 2861–2881.
- [19] 郭进, 孙学颖, 杜梅, 等. 不同犊牛肉加工产品中挥发性风味成分分析[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(12): 177–184.
- GUO J, SUN XY, DU M, *et al.* Analysis of volatile flavor components in different processed calf products [J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(12): 177–184.
- [20] 赵志平, 张盛源, 陈泓帆, 等. 基于 GC-IMS 和电子鼻分析牛肉腐败进程中挥发性风味物质的变化[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(11): 235–244.
- ZHAO ZP, ZHANG SY, CHEN HF, *et al.* Analysis of volatile flavor substances in beef spoilage process based on GC-IMS and electronic nose [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2024, 45(11): 235–244.
- [21] XU XY, YANG H, XU Z, *et al.* The comparison of Largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed trash fish and formula feeds: Growth, flesh quality and metabolomics [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 966248.
- [22] CHENG HL, JUNG EY, SONG SM, *et al.* Effect of freezing raw meat on the physicochemical characteristics of beef jerky [J]. *Meat Science*, 2023, 197: 109082.
- [23] 张杏艳, 蓝海恩, 谢炳坤, 等. 性别对杜陆猪肉品质及风味影响的代谢组学分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2021, 48(10): 3585–3594.
- ZHANG XY, LAN HEN, XIE BK, *et al.* Metabolomics analysis of effects of sex on quality and flavor of Dulu pork [J]. *Chinese Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021, 48(10): 3585–3594.
- [24] ANNA T, FABRIZIO A, AMALIA P, *et al.* Characterization of volatile organic compounds in ‘Rossa di Tropea’ onion by means of headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS/SPME GC-MS) and sensory analysis [J]. *Agronomy*, 2021, 11(5): 874.
- [25] 孔琪. 乳酸菌发酵液辅助调理的牛肉制品研制及冻藏期间品质变化研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2023.
- KONG Q. Research on preparation and quality change of beef products assisted by lactic acid bacteria fermentation solution during freezing storage [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2023.
- [26] 王潇, 李慧, 苏少锋, 等. 内蒙古呼伦贝尔地区本土牛牛肉黄脂现象的相关基因和代谢组学研究[J]. *畜牧与饲料科学*, 2023, 44(6): 1–12.
- WANG X, LI H, SU SF, *et al.* Study on genes and metabolomics related to yellow fat in beef meat of native cattle in Hulunbuir Region of Inner Mongolia [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2023, 44(6): 1–12.
- [27] 周亚军, 张玉, 陈艳, 等. 发酵牛肉干加工中理化特性与风味品质分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(14): 240–247.
- ZHOU YJ, ZHANG Y, CHEN Y, *et al.* Analysis of physicochemical properties and flavor quality of fermented beef jerky [J]. *Food Science*, 2021, 42(14): 240–247.
- [28] 刘梦, 陈松, 张顺亮, 等. 微发酵对牛肉干风味的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(14): 232–239.
- LIU M, CHEN S, ZHANG SL, *et al.* Effect of micro-fermentation on the flavor of beef jerky [J]. *Food Science*, 2021, 42(14): 232–239.
- [29] 张剑, 曹婧, 耿爱莲, 等. 基于气相色谱-质谱技术的鸡胸肉代谢组学研究[J]. *中国家禽*, 2021, 43(2): 7–14.
- ZHANG J, CAO J, GENG AIL, *et al.* Metabolomics of chicken breast based on gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Poultry*, 2021, 43(2): 7–14.
- [30] 常天鹏. 基于多组学数据解析中国肉用西门塔尔牛肉肉质性状遗传机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- CHANG TP. Analysis of genetic mechanism of quality traits of Simmental beef for meat in China based on multi-omics data [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2022.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)