

殷明,陈茂深,徐菲菲,等.影响犬粮适口性关键因素的鉴定[J].江苏农业科学,2020,48(19):190-199.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.19.042

影响犬粮适口性关键因素的鉴定

殷明,陈茂深,徐菲菲,李玥,钟芳

(江南大学食品学院,江苏无锡 214122)

摘要:为了探究影响犬粮适口性的关键因素,选择6种具有代表性的市售犬粮,采用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用和高效液相色谱-质谱联用技术对其气味组成和滋味组成进行测定,共检测出55种气味化合物和34种滋味化合物。采用适口性试验分析试验犬对6种犬粮的采食率,并建立气味物质和滋味物质与采食率的偏最小二乘回归(PLSR)模型,共得出10种气味物质[庚醛、壬醛、辛醛、3-甲基丁醛、(*E,E*)-2,4-癸二烯醛、(*E*)-2-癸烯醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲基呋喃、4-甲基-5-噻唑乙醇、2-甲基-3-呋喃硫醇]和3种滋味物质(乙酸、柠檬酸、抗坏血酸)与采食率呈显著正相关。通过关键化合物的返添加试验得出,PLSR模型筛选出的关键化合物具有较高的可信度,将气味化合物和滋味化合物返添加到基础犬粮中进行2碗试验,结果表明,添加气味化合物基础犬粮的适口性高于添加滋味化合物基础犬粮的适口性。

关键词:犬粮;适口性;气味;滋味;关键化合物;PLSR

中图分类号:S829.25 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)19-0190-10

随着我国经济水平的日益发展,国内宠物行业发展迅速,2010—2014年我国宠物行业年均增长达到50.7%^[1],截至2017年,我国犬猫的数量达到0.9亿只^[2],预计2020年市场规模将超2 000亿元^[1]。然而我国宠物食品工业兴起较晚,至今不过20~30年,国内对犬粮方面的报道也大多集中于犬粮的功能性以及营养品质等方面,而对犬粮诱食剂以及适口性的研究相对较少。

宠物食品适口性^[3]是指宠物觅食、定位和采食某种食物过程中,对食物气味、味道、外观等特征的反应。适口性的好坏直接影响着宠物采食积极性和采食量等。因此适口性问题是生产高品质宠物食品需要解决的问题。

犬的采食过程可以划分为5个阶段:(1)寻找食物并确定位置;(2)选择食物;(3)获取食物;(4)咀嚼;(5)消化^[4]。在(1)(2)阶段,宠物利用嗅觉感知食物气味、视觉感知食物位置、触觉感知食物温度。研究表明,犬的嗅觉系统比人类更发达,犬的嗅脑占大脑的比例为人的35倍,单位面积的嗅觉

细胞是人类的10倍以上,对气味分子浓度的检测阈是人的 $10^6 \sim 10^8$ 倍^[5]。因此,食物是否具有诱食性很大程度上取决于其气味。李超通过美拉德反应制备出烘烤味和肉香味的诱食剂,它们显著提高了犬粮的适口性^[6]。陈雪梅利用啤酒废酵母作为氮源通过美拉德反应制备出肉香味的诱食剂,并通过适口性试验验证发现,其具有较好的诱食效果^[7]。在(4)阶段,起作用的主要是味觉(嗅觉也起到一定作用)。犬大约有1 700个味蕾^[8],而人类拥有9 000个左右的味蕾^[5],因此与人味觉相比很不发达。但研究表明,犬仍然可以尝出酸、甜、苦、咸、鲜5种味道,且偏好甜味食物^[4]。Törres等发现,犬粮中添加蔗糖或者葡萄糖能提高犬粮的适口性^[9-10]。因此,气味和滋味是影响犬粮适口性的主要因素,然而哪种因素是造成适口性差异的关键因素仍不明确。

本研究通过顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)和高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)技术分析市售6种犬粮的气味成分和滋味成分,探讨6种犬粮的气味和滋味差异,并通过适口性试验评定6种犬粮的适口性,通过建立偏最小二乘回归(PLSR)模型探究得出影响犬粮适口性的关键化合物,最后通过关键化合物的返添加试验验证PLSR模型筛选的准确性进而确定引起适口性提高的关键因素,以期为犬粮的加

收稿日期:2020-08-07

基金项目:国家自然科学基金(编号:31601437)。

作者简介:殷明(1995—),男,山东菏泽人,硕士研究生,主要从事食品工程研究。E-mail:1132369193@qq.com。

通信作者:陈茂深,博士,副教授,主要从事食品加工与配料研究。

E-mail:chenmaoshen@jiangnan.edu.cn。

工、生产及深入研究提供研究方法及理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择巅峰、狼道、比瑞吉、麦富迪、宝路、好主人(DF1、DF2、DF3、DF4、DF5、DF6)等 6 种成品犬粮作为试验材料(无锡宠物超市);乙酸、柠檬酸、抗坏血酸、壬酸、果糖(国药集团上海化学试剂有限公司);庚醛、壬醛、辛醛、3-甲基丁醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、E-2-癸烯醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲基呋喃、4-甲基-5-噻唑乙醇、2-甲基-3-呋喃硫醇、1,2-二氯苯、C₆-C₃₃ 正构烷烃标准品[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司]。

1.2 仪器

电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);气相色谱-质谱联用仪、三合一自动进样器、50/30 μmCAR/DVB/PDMS 固相微萃取头(美国安捷伦科技公司);Waters2695 高效液相色谱仪、Waters1525 高效液相色谱仪[沃特世科技(上海)有限公司]。

1.3 试验方法

1.3.1 犬粮风味化合物的测定 精准称取 2 g 左右犬粮于 25 mL 样品瓶中,将样品瓶置于固相微萃取装置上,加入 10 μL 二氯苯甲醇溶液(1.036 μg/μL)作内标,并置于 60 ℃ 恒温水浴中平衡 10 min,从插入萃取头开始计时,萃取时间为 40 min。GC 条件:通过 DB-WAX(30 m × 0.53 mm × 0.25 μm)毛细色谱柱进行分离;载气为 He,流速为 1 mL/min;程序升温条件为初始温度 40 ℃ 保持 2 min,升温速率 4.0 ℃/min,终温 230 ℃,保持 5 min;进样温度为 230 ℃。MS 条件:电子能量 70 eV;离子源温度为 230 ℃;接口温度为 250 ℃;采用全扫描方式,扫描质量范围为 33 ~ 450 m/z。

测定化合物的保留指数(retentionIndex,简称 RI)并与已有文献中采用相同色谱柱获得的数据进行比较,同时结合质谱 NIST08 和 WILEY 数据库检索结果,并与标准化合物数据进行对比,对所得化合物进行定性分析。在相同的色谱条件下,以 C6 ~ C33 的正构烷烃混合物为标准品,对其进行 GC-MS 分析并根据公式计算待测化合物的保留指数(待测物 *x* 的调整保留时间介于 2 个正构烷烃之

间),公式如下:

$$RI = 100 \times \left[n + \frac{t_r'(X) - t_r'(C_n)}{t_r'(C_{n+1}) - t_r'(C_n)} \right]。$$

式中: $t_r'(X)$ 表示化合物 *x* 的调整保留时间; $t_r'(C_n)$ 表示碳原子数为 *n* 的正构烷烃调整保留时间; $t_r'(C_{n+1})$ 表示碳原子数为 *n* + 1 的正构烷烃调整保留时间;*n* 表示碳原子数。

采用内标法进行定量检测,内标物为 10 μL 的二氯苯甲醇溶液(1.036 μg/μL),根据被测化合物和内标物相应的色谱峰面积之比来计算被测组分的含量。

1.3.2 犬粮滋味化合物的测定

1.3.2.1 游离氨基酸含量的测定 游离氨基酸含量的测定参照文献[11]的方法并进行稍微改动,向 2.00 g 粉碎的犬粮中加入 5% 的三氯乙酸至总体积为 25 mL,振荡使其充分溶解,静置 2 h 后,用 Whatman NO.4 双层滤纸过滤。取 1 mL 澄清滤液于 1.5 mL 离心管内,在 15 000 r/min 条件下离心 30 min,将上清液过 0.45 μm 滤膜后进样分析。

高效液相色谱分析条件:Waters2695 高效液相色谱仪,色谱柱为 4 mm × 250 mm C₁₈;流速为 1.0 mL/min;流动相 A 为 20 mmol/L 醋酸钠液,流动相 B 为 20 mmol/L 醋酸钠液:甲醇:乙腈 = 1:2:2;检测器为 Waters2998 紫外检测器,波长 262 nm。

1.3.2.2 有机酸含量的测定 有机酸含量的分析参照 Chen 等的方法^[12]并进行稍微改动。准确称取 2.00 g 样品,加入 10 mL 蒸馏水匀浆 5 min,然后在 15 000 r/min 条件下离心 30 min。取上清液过 0.45 μm 滤膜后进行高效液相色谱分析。

高效液相色谱分析条件:Waters 2695 高效液相色谱仪,色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 4.6 mm × 250 mm;柱温为 30 ℃;流动相 A 为 0.05% 磷酸溶液,流动相 B 为甲醇(色谱纯);采用梯度洗脱,洗脱程序为 0 ~ 10.0 min,95% A ~ 85% A;10 ~ 15 min,85% A ~ 30% A;15 ~ 21 min,30% A ~ 95% A。流速为 0.8 mL/min;进样量为 5 μL;检测器为 Waters 2998 紫外检测器,检测波长为 210 nm。

1.3.2.3 可溶性糖含量的测定 可溶性糖含量的测定参照文献[13]的方法并稍作改动,取 2 g 犬粮粉末溶于 20 mL 75% 乙醇溶液中,匀浆 10 min,80 ℃ 环境下水浴 30 min 后,加入 20 mL 75% 乙醇溶液再提取 1 次,合并上清液,在 90 ℃ 下蒸发乙醇

后溶于 10 mL 双蒸水中,取上清液过 0.45 μm 滤膜,取 10 μL 滤液进样分析。

高效液相色谱分析条件:Waters 1525 高效液相色谱仪,色谱柱为 Sugarpak 1,6.5 mm×300 mm;柱温为 85 ℃;流动相为纯水;流速为 0.3 mL/min;进样量为 10 μL;检测器为示差折光检测器。

1.3.2.4 呈味核苷酸含量的测定 样品的提取与分析方法参考 Liu 等的方法^[14]并作适当修改。准确称取 5 g 样品,加入 20 mL 4 ℃的 5% 高氯酸溶液于冰浴条件下匀浆后,以 5 000 r/min 的转速离心 15 min,吸取上清液,用 10 mL 高氯酸溶液对沉淀物进行重提 2 次,合并 3 次上清液,用 5 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6.5,用超纯水定容至 100 mL。过 0.45 μm 滤膜后进行高效液相色谱分析。

高效液相色谱分析条件:WatersE 2695 高效液相色谱仪,色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 4.6 mm×250 mm;柱温 30 ℃;流动相 A 为 0.05% 磷酸溶液,流动相 B 为甲醇(色谱纯);采用梯度洗脱,洗脱程序为 0~10 min,95% A~85% A;10~15 min,85% A~30% A;15~21 min,30% A~95% A。流速为 0.8 mL/min;进样量为 5 μL。检测器为 Waters 2998 紫外检测器,检测波长为 254 nm。

1.3.3 犬粮适口性试验^[15] 用 6 只健康成年犬进行试验,每个试验测定时间为 2 d,总时间为 2 个月(2019 年 9—11 月),试验地点为江苏省无锡市流浪宠物救助中心。

1.3.3.1 单独试验 为试验犬提供 1 个食碗,食碗中放入已知量的待测犬粮,称量并记录 1 次采食过

程(10:00—15:30)中试验犬对犬粮的采食量,并计算采食率(IR)。

采食率 = $\frac{\text{犬粮采食量}}{\text{所给犬粮总量}} \times 100\%$ 。

1.3.3.2 首选测试 为试验犬同时提供 2 个食碗,每个食碗中放入等量的不同犬粮,观察并记录每只试验犬的第一口选择(注意:隔天将食碗摆放位置对调)。

1.3.3.3 2 碗测试 为试验犬同时提供 2 个食碗,每个食碗中放入等量的不同犬粮,称量并记录 1 次采食过程(10:00—15:30)中 2 种食物的消耗量,并计算消耗率(CR)(注意:隔天将食碗摆放位置对调)。

消耗率 = $\frac{\text{一种试验犬粮消耗率}}{\text{总消耗率}} \times 100\%$ 。

1.4 数据统计分析方法

所有试验均进行 2 次平行试验,取平均值,采用 SPSS 18.0 和 Unscrambler 9.7 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 犬粮中挥发性化合物的结果分析

从表 1 中可以看出,在这 6 种化合物犬粮中检测到了 55 种化合物,包括醛类化合物 11 种、酸类化合物 10 种、醇类化合物 7 种、脂类化合物 6 种、酮类化合物 5 种、芳香烃类化合物 4 种、杂环类化合物 12 种,其中醛类、酸类、杂环类的化合物种类较多且含量较高。

表 1 犬粮中风味化合物组成及含量

编号	化合物	定性方式	RI	含量(μg/g)					
				DF1	DF2	DF3	DF4	DF5	DF6
A1	己醛	MS,RI	1 075	0	2.52	9.59	4.36	7.67	3.72
A2	庚醛	MS,RI	1 182	0.52	0.90	0.45	0	0.45	0
A3	壬醛	MS,RI	1 384	1.37	1.41	0	0	0	0
A4	辛醛	MS,RI	1 280	2.83	3.82	1.12	0.56	0.41	0
A5	3-甲基丁醛	MS,RI	926	2.21	3.51	1.96	0	1.36	0
A6	(E,E)-2,4-癸二烯醛	MS,RI	1 802	1.21	3.01	1.39	0.82	0.83	0.56
A7	苯甲醛	MS,RI	1476	0	0	0	0	2.7	0
A8	(E)-2-壬烯醛	MS,RI	1 520	0	0	0	0	0	0.89
A9	(E)-2-辛烯醛	MS,RI	1 420	0	0	0	1.02	0	1.29
A10	(E)-2-庚烯醛	MS,RI	1 315	0.39	2.27	0	0	0	0
A11	(E)-2-癸烯醛	MS,RI	1 250	0.23	0.42	0	0	0	0
总量	醛类			8.76	17.86	14.51	6.76	13.42	6.46
B1	丁酸	MS,RI	1 589	0	1.40	0	1.85	0	0

表 1(续)

编号	化合物	定性方式	RI	含量(μg/g)					
				DF1	DF2	DF3	DF4	DF5	DF6
B2	己酸	MS,RI	1 802	0	3.71	1.40	1.08	2.20	2.58
B3	2-甲基丁酸	MS,RI	1 620	0.43	0.47	0.62	1.23	0	0.61
B4	壬酸	MS,RI	2 150	0	0.06	0.62	0.04	0.04	7.38
B5	3-甲基丁酸	MS,RI	1 660	1.1	0.67	0.13	0	0	0.49
B6	辛酸	MS,RI	2 075	0	0.54	0	0	0	0
B7	4-甲基丁酸	MS,RI	1 645	0	0	0	0	0	0.63
B8	乙酸	MS,RI	1 401	5.86	3.71	0	2.66	1.84	2.26
B9	戊酸	MS,RI	1 720	0	0	0	0.47	0	0
B10	癸酸	MS,RI	2 275	0.23	0	0	0	0	0
总量	酸类			7.62	10.56	2.77	7.33	4.08	13.95
C1	2-甲基丁醇	MS,RI	1195	0	0	0.13	1.16	0	0
C2	庚醇	MS,RI	1 350	0	0	0.47	0	0	0
C3	1-辛烯-3-醇	MS,RI	1 430	0	3.27	0		0	0
C4	辛醇	MS,RI	1 530	0	0	0.5	0.33	0	0
C5	2,3-丁二醇	MS,RI	1 568	0.68	0	2.62	0	0	0
C6	5-甲基庚醇	MS,RI	1 700	0	0	0	0	0.82	0
C7	丁醇	MS,RI	1 142	0	0	0.74	0	0.07	0.07
总量	醇类			0.68	3.27	4.46	1.49	0.89	0.07
D1	草酸二乙酯	MS,RI	1 800	0	0	0	0	0.66	0.99
D2	甲酸辛脂	MS,RI	1 544	0	0	0	0	0	0.35
D3	癸酸乙酯	MS,RI	1 602	0	0.05	0.08	0	0.13	0
D4	丁内酯	MS,RI	1 313	2.27	0.31	0.11	0.25	0	0
D5	乙酸乙酯	MS,RI	1 738	0.24	0	0	0.08	0	0
D6	己内酯	MS,RI	1 693	0	0	0.03	0	0	0
总量	酯类			2.51	0.36	0.22	0.33	0.79	1.34
E1	2,3-辛二酮	MS,RI	1 325	0.57	0	0	0	0	0
E2	2(5H)-呋喃酮	MS,RI	1 702	0.06	0	0	0	0	0
E3	2-壬酮	MS,RI	1 346	0	0	0.38	0	0	0.13
E4	1-(2-呋喃)乙酮	MS,RI	1 605	0	0.25	0	0	0	0
E5	2-十五烷酮	MS,RI	2 008	0.57	0	0	0	0	0
总量	酮类			1.20	0.25	0.38	0	0	0.13
F1	十二烷	MS,RI	1 189	0	0.19	0.1	0	0	0.29
F2	苯乙烯	MS,RI	1 236	0	0.83	0.11	0.23	0	4.02
F3	十五烷	MS,RI	1 495	0	6.27	0	4.33	0	0
F4	十七烯	MS,RI	1 759	0.33	0	0	0	0	0
总量	芳香烃类			0.33	7.29	0.21	4.56	0	4.31
G1	2,5-二甲基吡嗪	MS,RI	1 281	0	1.60	1.86	3.43	0	0
G2	2-乙烯-6-甲基吡嗪	MS,RI	1 353	1.01	0	0	0	0	0
G3	吡啶	MS,RI	1 178	0	0.08	0	0.12	0	0
G4	吡嗪	MS,RI	1 206	0	0.11	0	0.47	0	0
G5	乙基麦芽酚	MS,RI	1 562	0	0.24	0	6.35	1.77	3.89
G6	2,6-二甲基吡嗪	MS,RI	1 290	0.35	0.38	0	0	0	0
G7	2-呋喃硫醇	MS,RI	1 400	0	0.41	0	0.98	0.57	0
G8	2-乙酰呋喃	MS,RI	1 461	0	0	0	0	0	0.31
G9	2-戊基呋喃	MS,RI	1 234	0	0	0	0	0	0.27

表 1(续)

编号	化合物	定性方式	RI	含量(μg/g)					
				DF1	DF2	DF3	DF4	DF5	DF6
G10	2-甲基呋喃	MS,RI	1 522	0.29	0.61	0.24	0.21	0	0
G11	4-甲基-5-噻唑乙醇	MS,RI	2 275	0.70	0.84	0	0	0	0
G12	2-甲基-3-呋喃硫醇	MS,RI	875	0.32	0.65	0	0	0	0
总量	杂环类			2.67	4.92	2.10	11.56	2.34	4.47

醛类化合物是脂肪酸氧化生成的小分子物质,同时也是氨基酸美拉德反应中 Strecker 降解的产物。短链的饱和或不饱和醛类是水果^[16]中或谷物中^[17]主要的挥发性化合物。由表 1 中可知,总体而言,犬粮中 3-甲基丁醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、辛醛的含量较高,通常辛醛具有水果香,而(E,E)-2,4-癸二烯醛在一定浓度范围内呈现出愉悦的脂肪味^[18]。其中(E,E)-2,4-癸二烯醛曾在鸡肉、鸡汤中被检测出,是调配鸡肉香精常用的原料。在 6 种样品中,DF2、DF3、DF5 醛类物质含量较高,达到了 13 μg/g 以上。

一些短链脂肪酸可由脂质氧化和脂质氧化产物的二次分解产生^[19],会在犬粮的整体风味中增加一些酸香。从表 1 中可以看出,己酸和乙酸含量总体较高,分别为 0~3.71、0~5.86 μg/g。醇类主要是脂肪酸氧化所得到的降解产物^[20],醇类化合物一般呈现出水果味和青草香。直链饱和醇阈值较高,对风味影响不大,而不饱和醇阈值较低,对风味形成有一定的作用。1-辛烯-3-醇只在 DF2 中检测到,且含量较高,为 3.27 μg/g,它具有蘑菇的香味。酯类化合物被认为对未经烹饪的肉类风味有影响,通常呈现出水果香味,其中 DF1 的酯类化合物的含量最高,为 2.51 μg/g,DF3 的含量最低,为 0.22 μg/g。

杂环类化合物是在 6 种犬粮里检测到种类最多的化合物,它们一般具有特殊的香气,气味阈值较低,对犬粮整体的风味贡献较大,是重要的风味成分,在 6 种犬粮中,吡嗪类化合物种类最多,共有 4 种,一般可以通过美拉德反应制备,这类化合物通常具有烤香味和坚果香^[21],犬粮风味物质中还检测出一种具有坚果香和烤香的噻唑类化合物(4-甲基-5-噻唑乙醇)^[22],并且只在 DF1 和 DF2 中检测出,含量分别为 0.70 μg/g 和 0.84 μg/g。在 12 种杂环类化合物中,乙基麦芽酚和 2-甲基呋喃分布最广,在 4 种犬粮中被检测到。其中乙基麦芽酚的含量最高,在 DF4、DF5、DF6 中分别占杂环类化

合物含量的 54.93%、75.64%、87.02%。它是一种安全无毒、用途广、效果好、用量少的理想食品添加剂,是烟草、食品、饮料、香精、果酒、日用化妆品等良好的香味增效剂,对食品的香味改善和增强具有显著效果。

2.2 犬粮中滋味化合物的结果分析

游离氨基酸是犬粮中主要呈味物质。不同的游离氨基酸具有不同的滋味特点,共同构成犬粮的特征滋味。根据游离氨基酸的呈味特性分为鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸和其他氨基酸^[23]。本研究所用 6 种犬粮中 16 种游离氨基酸的含量见表 2。

由表 2 可以看出,在 6 种样品中,游离氨基酸总量范围为 0.59~1.07 mg/g,其中 DF3 和 DF4 的游离氨基酸总量较高,DF2 的游离氨基酸总量最低,为 0.59%。在 6 种犬粮中,游离谷氨酸含量总体最高,在 0.09~0.14 mg/g 之间,其中在 DF3 和 DF4 中最高,为 0.14 mg/g,而在 DF1 和 DF2 中最低,为 0.09 mg/g;游离丝氨酸含量最低,在 6 种犬粮中都在 0.10 mg/g 以下。

有机酸是犬粮中主要呈现酸味的物质之一,其中琥珀酸和乳酸具有提升海鲜鲜味的作用^[24],同时还可以与谷氨酸协同作用增强鲜味。

6 种犬粮样品中有机酸成分含量的检测结果见表 3,在 6 种样品中,苹果酸的含量范围为 0.09~0.47 mg/g。在 6 种犬粮中,DF1 中乳酸含量最高,为 0.65 mg/g,DF3 含量最低,为 0.18 mg/g;乙酸的含量范围最广,在 DF1 中最高,为 2.81 mg/g,在 DF6 中最低,为 0.01 mg/g;DF3 维生素 C 含量最高,DF4 和 DF5 维生素 C 含量最低,为 0.08 mg/g;有机酸总量范围是 1.05~6.94 mg/g,其中在 DF3 中最高,为 6.94 mg/g,在 DF6 中最低,为 1.05 mg/g。

此外,从表 3 可以看出,乙酸、柠檬酸、琥珀酸是犬粮样品中最主要的有机酸成分。

可溶性糖也是犬粮滋味成分的重要组成部分,并且呈现甜味。

表 2 犬粮样品中游离氨基酸含量

犬粮种类	含量(mg/g)								
	天冬氨酸	谷氨酸	丝氨酸	组氨酸	甘氨酸	苏氨酸	精氨酸	丙氨酸	半胱氨酸
DF1	0.04 ± 0.01b	0.09 ± 0.01c	0.005 ± 0.002a	0.01 ± 0.01a	0.06 ± 0.00b	0.03 ± 0.01b	0.02 ± 0.00b	0.12 ± 0.01a	—
DF2	0.04 ± 0.02b	0.09 ± 0.00c	0.006 ± 0.001a	0.01 ± 0.01a	0.06 ± 0.01b	0.03 ± 0.01b	0.02 ± 0.00b	0.12 ± 0.02a	—
DF3	0.07 ± 0.01a	0.14 ± 0.00a	0.003 ± 0.000b	0.01 ± 0.00a	0.08 ± 0.01a	0.04 ± 0.01a	0.07 ± 0.00a	0.09 ± 0.00b	0.01 ± 0.01a
DF4	0.07 ± 0.02a	0.14 ± 0.00a	0.007 ± 0.003a	0.01 ± 0.00a	0.08 ± 0.02a	0.04 ± 0.01a	0.07 ± 0.02a	0.10 ± 0.00b	0.02 ± 0.01a
DF5	0.06 ± 0.01a	0.12 ± 0.00b	0.005 ± 0.001a	0.01 ± 0.00a	0.05 ± 0.01c	0.03 ± 0.00b	0.05 ± 0.01a	0.07 ± 0.01c	—
DF6	0.07 ± 0.01a	0.12 ± 0.01b	0.005 ± 0.001a	0.01 ± 0.00a	0.06 ± 0.01b	0.03 ± 0.00b	0.06 ± 0.01a	0.09 ± 0.00b	—

犬粮种类	含量(mg/g)							氨基酸总量 (mg/g)
	缬氨酸	甲硫氨酸	苯丙氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	赖氨酸	脯氨酸	
DF1	0.04 ± 0.02a	0.02 ± 0.00c	0.03 ± 0.01b	0.02 ± 0.01b	0.05 ± 0.00a	0.04 ± 0.01b	0.05 ± 0.01a	0.63 ± 0.02d
DF2	0.04 ± 0.01a	0.01 ± 0.00c	0.02 ± 0.01b	0.02 ± 0.00b	0.04 ± 0.00b	0.04 ± 0.01b	0.04 ± 0.00b	0.59 ± 0.03e
DF3	0.05 ± 0.03a	0.10 ± 0.03b	0.04 ± 0.00a	0.04 ± 0.00a	0.08 ± 0.01a	0.04 ± 0.02b	0.06 ± 0.00a	0.92 ± 0.02b
DF4	0.05 ± 0.02a	0.20 ± 0.02a	0.04 ± 0.01a	0.04 ± 0.00a	0.09 ± 0.01a	0.05 ± 0.01b	0.06 ± 0.00a	1.07 ± 0.00a
DF5	0.04 ± 0.01a	0.03 ± 0.01c	0.03 ± 0.00b	0.03 ± 0.00b	0.05 ± 0.00a	0.08 ± 0.01a	0.04 ± 0.00b	0.70 ± 0.04d
DF6	0.04 ± 0.01a	0.03 ± 0.02c	0.04 ± 0.01a	0.03 ± 0.00b	0.06 ± 0.02a	0.08 ± 0.00a	0.06 ± 0.01a	0.76 ± 0.00c

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。“—”表示未检测到。下表同。

表 3 犬粮样品中有机酸含量

犬粮种类	含量(mg/g)							有机酸总量 (mg/g)
	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸	富马酸	维生素 C	
DF1	0.25 ± 0.01c	0.65 ± 0.02a	2.81 ± 0.01a	0.35 ± 0.07e	0.92 ± 0.07a	0.28 ± 0.01a	0.25 ± 0.03a	5.51 ± 0.00c
DF2	0.09 ± 0.02d	0.51 ± 0.07b	2.46 ± 0.06b	2.28 ± 0.03b	0.71 ± 0.03b	0.13 ± 0.00b	0.12 ± 0.02b	6.29 ± 0.04b
DF3	0.31 ± 0.02b	0.18 ± 0.07d	2.32 ± 0.05c	3.14 ± 0.02a	0.60 ± 0.01c	0.12 ± 0.02b	0.28 ± 0.02a	6.94 ± 0.03a
DF4	0.24 ± 0.00c	0.37 ± 0.07c	1.29 ± 0.08d	1.62 ± 0.16c	0.65 ± 0.01c	0.12 ± 0.01b	0.08 ± 0.03b	4.39 ± 0.02d
DF5	0.47 ± 0.05a	0.55 ± 0.07b	1.03 ± 0.03e	1.25 ± 0.08d	0.50 ± 0.01d	0.06 ± 0.01c	0.08 ± 0.02b	3.93 ± 0.01e
DF6	0.11 ± 0.03d	0.22 ± 0.05d	0.01 ± 0.01f	0.06 ± 0.01f	0.47 ± 0.07d	0.06 ± 0.02c	0.09 ± 0.04b	1.05 ± 0.00f

6 种犬粮样品中可溶性糖含量的检测结果见表 4,在 6 种样品中,可溶性糖总量范围为 3.61 ~ 8.48 mg/g,其中在 DF4 中最高,为 8.48 mg/g,在 DF1 中最低,为 3.61 mg/g。其中蔗糖在 6 种样品中含量最高,占可溶性总糖含量的 60.14% ~ 88.64%,这可能是由于犬粮中主要成分为淀粉,而在生产加工过程中淀粉受热降解生成了蔗糖。而

阿拉伯糖、半乳糖和木糖的含量较低,大多不足 0.02 mg/g。甘露糖只有在 DF1 中被检测出来,含量为 0.04 mg/g,果糖的含量范围为 0.20 ~ 0.71 mg/g,其中在 DF3 中最高,为 0.71 mg/g,在 DF6 中最低,为 0.20 mg/g。

呈味核苷酸与氨基酸具有协同作用,可以增加肉制品的鲜味。呈味核苷酸包括 5'-肌苷酸

表 4 犬粮样品中可溶性糖含量

犬粮种类	含量(mg/g)							可溶性糖总量 (mg/g)
	蔗糖	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	木糖	甘露糖	果糖	
DF1	3.20 ± 0.01d	0.018 ± 0.001a	—	0.13 ± 0.02e	0.01 ± 0.00a	0.04 ± 0.00	0.22 ± 0.01d	3.61 ± 0.01e
DF2	6.47 ± 0.08b	0.009 ± 0.000d	0.01 ± 0.00a	0.42 ± 0.01c	0.02 ± 0.00a	—	0.40 ± 0.00c	7.32 ± 0.08b
DF3	2.55 ± 0.01e	0.010 ± 0.000c	—	0.95 ± 0.12a	0.02 ± 0.01a	—	0.71 ± 0.00a	4.24 ± 0.01d
DF4	7.25 ± 0.01a	0.008 ± 0.000d	0.01 ± 0.00a	0.59 ± 0.06b	—	—	0.62 ± 0.00b	8.48 ± 0.02a
DF5	3.90 ± 0.03c	0.015 ± 0.000b	0.01 ± 0.00a	0.32 ± 0.03d	—	—	0.41 ± 0.02c	4.65 ± 0.03c
DF6	4.08 ± 0.02c	0.002 ± 0.000e	0.01 ± 0.00a	0.41 ± 0.02c	0.01 ± 0.00a	—	0.20 ± 0.03d	4.71 ± 0.03c

(5′-IMP)、5′-鸟苷酸(5′-GMP)、5′-胞苷酸(5′-CMP)和5′-腺苷酸(5′-AMP)。6种犬粮中核苷酸的含量见表5。

6种犬粮中DF1的核苷酸含量最高,达到0.08 mg/g,高于其他5种犬粮,而DF6中仅有1种核苷酸(5′-CMP),且含量较低,仅为0.01 mg/g。5′-IMP、5′-GMP、5′-AMP在DF1中含量最高,分

别为0.03、0.03、0.02 mg/g),而5′-CMP在DF2中含量最高,为0.04 mg/g。这可能是由DF1原料是风干的牛肉,而DF2中添加了较多的蔬菜所致。有文献报道,在核苷酸中主要呈味核苷酸就是IMP和GMP,其中IMP主要存在于动物性食物和海产鱼类中,而GMP则主要存在于植物性食品如香菇和藻类等中^[25]。

表5 犬粮中核苷酸含量

犬粮种类	含量(mg/g)				核苷酸总量 (mg/g)
	5′-IMP	5′-GMP	5′-CMP	5′-AMP	
DF1	0.03 ± 0.01a	0.03 ± 0.01a	—	0.02 ± 0.01a	0.08 ± 0.03a
DF2	0.02 ± 0.01a	0.01 ± 0.01b	0.04 ± 0.00a	—	0.07 ± 0.01a
DF3	0.01 ± 0.01a	—	—	0.02 ± 0.01a	0.03 ± 0.01b
DF4	—	0.01 ± 0.01b	0.01 ± 0.00b	—	0.02 ± 0.01b
DF5	0.02 ± 0.02a	0.01 ± 0.00b	0.01 ± 0.00b	0.01 ± 0.00a	0.05 ± 0.02a
DF6	—	—	0.01 ± 0.00b	—	0.01 ± 0.00b

2.3 犬粮适口性试验结果

适口性测试是指单独测试,单独测试是仅提供单一犬粮,测试试验犬对其采食量,本试验采用6种犬粮(DF1、DF2、DF3、DF4、DF5、DF6),其中DF1、DF2为高端犬粮,DF3、DF4为中端犬粮,DF5、DF6为低端犬粮,犬粮的选择主要从营养成分、气味以及市场占有率等几个方面考虑,6种犬粮为市场上具有影响力的品牌,并受到消费者欢迎的产品。分别对这6种犬粮进行单独测试,测定试验犬对其喜好度。

由表6可知,试验犬对6种犬粮样品的采食率在3个水平,在单独测试中,犬对DF1、DF2、DF3的接受度最高且没有显著性差异,采食率均在80%以上,对DF4、DF5 2种样品的采食率没有显著性差异,处于40%左右,然而犬对DF6的接受性最差,采食率低于20%。从单独测试的结果可以基本了解犬对6种市售犬粮的适口性偏好,高端犬粮的适口性普遍优于低端犬粮。

表6 市售犬粮的单独测试结果

样品	采食率(%)
DF1	82.16 ± 1.22a
DF2	83.45 ± 0.56a
DF3	80.87 ± 0.49a
DF4	40.66 ± 0.23b
DF5	39.61 ± 0.41b
DF6	19.08 ± 0.85c

2.4 PLSR 相关性分析

在上述研究中,通过适口性测试已经明确了试验犬对样品的喜好程度,并通过GC-MS检测了样品中的风味(滋味和气味)物质组成。虽然对于犬粮和诱食剂中的风味(滋味和气味)成分进行了初步的分析,但是其与适口性之间的联系需要进一步探索。偏最小二乘回归性分析(PLSR)可以用于研究风味物质与样品各属性之间的联系。

以样品中气味和滋味物质为x变量,其中未检测到的物质标示其含量为0,采食率(IR)为y变量建立PLSR模型,其拟合效果见图1、图2。

由图1、图2可知,利用所建立的PLSR模型分析得出,6个样品的气味成分经过线性拟合后的实际观测值与预测值之间吻合度达到84.73%,而滋味成分拟合后吻合度为91.32%,说明所建立的模型对于所分析的数据具有很好的拟合效果,且滋味成分模型对于滋味成分的预测效果好于气味成分,故可以通过此模型进行相关性分析。

通过建立的PLSR模型可以更加清楚地判断影响采食率的风味(气味和滋味)物质。利用Jack-knife 不确定度分析计算回归系数,以判断哪些变量对采食率有显著影响,图3、图4显示了模型的回归系数值。误差棒没有与横轴(零点)相交的变量与因变量有显著相关性。

由图3、图4可知,犬粮中共有10种气味化合物[A2:庚醛 A3:壬醛,A4:辛醛,A5:3-甲基丁醛,A6:(E,E)-2,4-癸烯醛,A11:(E)-2-癸烯醛,

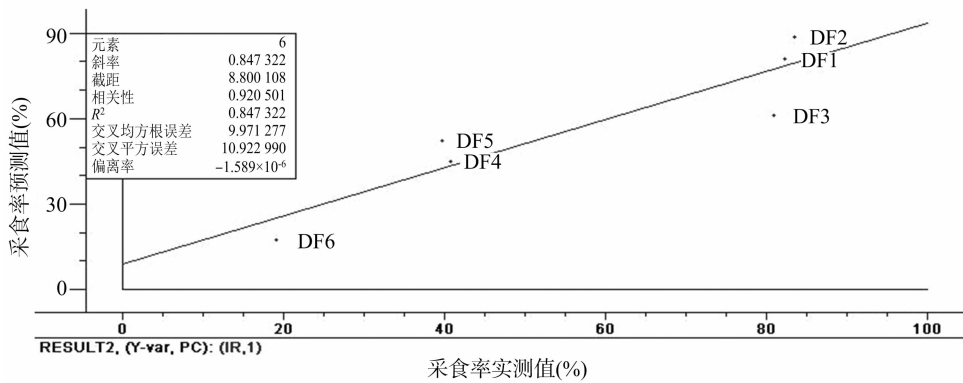


图1 气味化合物与采食率的观测值与期望值关系

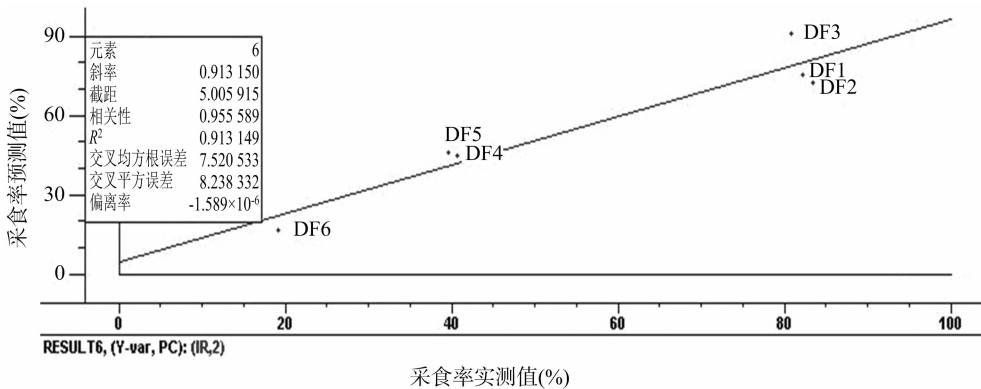


图2 滋味化合物与采食率的观测值与期望值关系

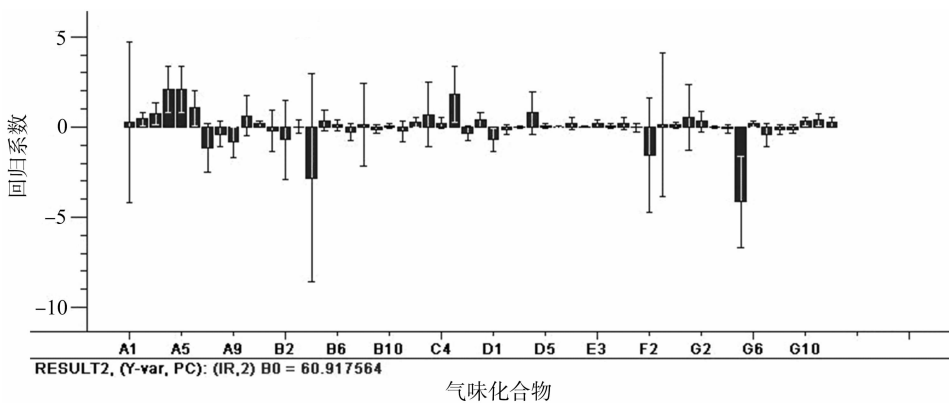


图3 气味化合物与感官属性的显著性分析

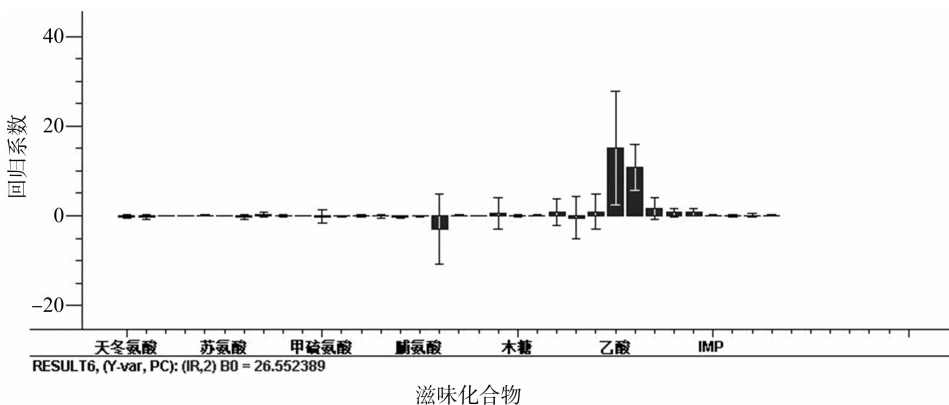


图4 滋味化合物与感官属性的显著性分析

G6:2,6 - 二甲基吡嗪,G10:2 - 甲基呋喃,G11:4 - 甲基 - 5 - 噻唑乙醇,G12:2 - 甲基 - 3 - 呋喃硫醇]和 3 种滋味化合物(乙酸、柠檬酸、维生素 C)与采食率呈显著正相关关系;而 3 种气味化合物[A9:(*E*) - 2 - 辛烯醛,D1:草酸二乙酯,G5:麦芽酚]与采食率呈负相关关系,并没有滋味化合物与采食率呈负相关关系。

为了测定 PLSR 分析结果的可信度,选择若干种化合物(显著相关和非显著相关)返添加入基础

犬粮中进行适口性测试。由表 7 中可知,添加了显著相关化合物的试验组基础犬粮在首选犬数和采食率方面均高于或低于对照组。其中添加辛醛的采食率相比对照组高出 23.46 百分点,添加(*E*) - 2 - 辛烯醛的基础犬粮比对照组低于 13.44 百分点,添加乙酸的基础犬粮相比于对照组高出 15.28 百分点,而添加壬酸和果糖的试验组采食率仅比对照组高 1.08 百分点、4.78 百分点,差异不明显。由以上试验可知,PLSR 筛选出的关键化合物具有较高的可信度。

表 7 PLSR 模型验证试验

相关性	化合物种类	犬粮	添加量 (μg/g)	组别	首选犬数 (条)	采食率 (%)
显著正相关	风味化合物	辛醛	3.82	对照	8	38.27
				试验	16	61.73
	滋味化合物	乙酸	2810	对照	11	42.36
				试验	13	57.64
显著负相关	风味化合物	(<i>E</i>) - 2 - 辛烯醛	1.29	对照	14	56.72
				试验	10	43.28
非显著相关	风味化合物	壬酸	7.38	对照	10	49.46
				试验	14	50.54
	滋味化合物	果糖	510	对照	11	47.61
				试验	13	52.39

注:添加量由样品间该化合物的最大差值决定。

为了进一步检测气味和滋味哪一种因素更能影响犬粮的适口性,分别将气味化合物和滋味化合物返添加到基础犬粮中,并进行 2 碗试验,结果见表 8。

由表 8 可知,添加气味化合物的犬粮适口性(采食率和首选数量)高于添加滋味化合物。有文献报道^[5],以人为参照物,犬的嗅觉细胞是人类的 10 倍以上,而味觉细胞仅为人类的四分之一。因此在犬采食过程中气味是影响采食率的关键因素。

表 8 滋味化合物和气味化合物返添加试验

添加物	采食率 (%)	首选犬数 (条)
滋味化合物	20.21	6
气味化合物	79.79	18

注:将所有显著正相关滋味化合物气味化合物添加到基础犬粮中。

3 讨论与结论

犬粮适口性是犬粮气味、滋味和质构等因素的

总和,可以通过影响犬的食欲来影响其采食量,而采食量是衡量犬摄入营养物质数量的尺度,因此适口性越来越受到犬粮购买者和犬粮生产厂家的重视。在犬类采食过程中气味和滋味是影响其采食率的主要因素,本研究选取市场中具有代表性的 6 种犬粮作为研究对象,分别采用 HS - SPME - GC - MS 和 HPLC - MS 测定犬粮的气味组成和滋味组成,分别检测出 55 种气味化合物和 34 种滋味化合物。其中气味化合物包括醛类(11 种)、酸类(10 种)、醇类(7 种)、脂类(6 种)、酮类(5 种)、芳香烃类(4 种)、杂环类(12 种),其中醛类、酸类、杂环类的化合物种类较多且含量较高;而滋味成分包括 16 游离氨基酸,7 种有机酸,7 种可溶性糖,4 种呈味核苷酸。

通过建立气味物质和滋味物质与采食率的 PLSR 模型得出,共有 10 种气味物质[庚醛、壬醛、辛醛、3 - 甲基丁醛、(*E,E*) - 2,4 - 癸二烯醛、(*E*) - 2 癸烯醛、2,6 - 二甲基吡嗪、2 - 甲基呋喃、4 甲基 - 5 - 噻唑乙醇、2 - 甲基 - 3 - 呋喃硫醇]和 3 种滋味物质(乙酸、柠檬酸、维生素 C)与采食率呈

显著正相关关系。陈雪梅的试验结果表明,庚醛、壬醛、辛醛、3-甲基丁醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲基呋喃能够提高犬粮的适口性^[7],与本试验结果一致。有研究报道,醛类化合物通常具有脂肪味、牛油味和清香,其中辛醛广泛地存在于水果、茶叶中,其形成可能与亚油酸脂的自动氧化有关^[26]。(E)-2-癸烯醛在鸡汤中发现具有脂肪香^[27]。在 10 种气味化合物中包括 2 种含硫化合物,含硫化合物的气味阈值通常较低,尤其是 3 位上含巯基的噻吩、呋喃以及一些有类似结构的硫醚,一般都具有较强的肉味^[28]。通过添加不同的化合物(显著相关和非显著相关)进行试验可知,PLSR 模型可以准确筛选犬粮中关键化合物,同时适口性试验表明,添加气味化合物的犬粮对应采食率和首选犬数高于添加滋味化合物的犬粮,由此可知,气味可能是影响犬粮喜好度的关键因素。

参考文献:

- [1] 杜莉,李群. 功能性饲料添加剂在犬粮中研究进展[J]. 中国工作犬业,2017(10):11-13.
- [2] 王心竹. 浅谈我国宠物行业的发展现状及趋势[J]. 现代畜牧兽医,2018(2):57-59.
- [3] Araujo J A, Milgram N W. A novel cognitive palatability assessment protocol for dogs[J]. Journal of Animal Science, 2004, 82(7): 2200-2206.
- [4] 易建华,黄鑫,杨凡,等. 宠物诱食剂的应用和研究进展[J]. 饲料工业,2016(2):61-64.
- [5] 杨加豹. 动物饲料适口性与影响因素[J]. 饲料研究,2001(1): 23-26.
- [6] 李超. 犬粮诱食剂的制备及其应用效果评价[D]. 无锡:江南大学,2013.
- [7] 陈雪梅. 啤酒废酵母制备犬粮诱食剂的研究及其应用[D]. 无锡:江南大学,2015.
- [8] Leibetseder J. Does the presence of a gut flora influence performance of man and animals? [J]. Advances in Veterinary Medicine, 1982: 41-43.
- [9] Törres C L, Hickenbottom S J, Rogers Q R. Palatability affects the percentage of metabolizable energy as protein selected by adult beagles[J]. The Journal of Nutrition, 2003, 133(11): 3516-3522.
- [10] Borochoff E H, Park S L, Craig T W, et al. In situ conversion of starch; US3617300[P]. 1971-11-02.
- [11] Mau J L, Chyau C C, Li J Y, et al. Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(12): 4726-4729.
- [12] Chen D W, Zhang M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200-1205.
- [13] 王建宇,王振磊,林敏娟. 不同枣品种果实中可溶性糖及组成成分分析[J]. 黑龙江农业科学, 2019(8): 115-119.
- [14] Liu Y, Xu X L, Zhou G H. Changes in taste compounds of duck during processing[J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 22-26.
- [15] Lugay J C, Haas G J, Beale R J. Pet food acceptability enhancer: US4089978[P]. 1978-5-16.
- [16] Jordan M J, Margaria C A, Shaw P E, et al. Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC/GC-O [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(19): 5386-5390.
- [17] Liu J, Tang X, Zhang Y, et al. Determination of the volatile composition in brown millet, milled millet and millet bran by gas chromatography/mass spectrometry[J]. Molecules, 2012, 17(3): 2271-2282.
- [18] Janney C G, Hale K K, Higman H C. The identification of fried chicken volatiles by gas chromatographic and mass spectral analysis [J]. Poultry Science, 1974, 53(5): 1758-1761.
- [19] Molina-Garcia L, Santos C S P, Cunha S C, et al. Comparative fingerprint changes of toxic volatiles in low PUFA vegetable oils under deep-frying[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2017, 94(2): 271-284.
- [20] Wettasinghe M, Vasanthan T, Temelli F, et al. Volatile flavour composition of cooked by-product blends of chicken, beef and pork: a quantitative GC-MS investigation [J]. Food Research International, 2001, 34(2/3): 149-158.
- [21] Kerth C. Determination of volatile aroma compounds in beef using differences in steak thickness and cook surface temperature [J]. Meat Science, 2016, 117: 27-35.
- [22] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京:化学工业出版社, 2016.
- [23] 刘天天,梁中永,范思华,等. 北海沙蟹特征滋味成分的分析[J]. 食品科学, 2018, 39(14): 236-241.
- [24] Kani Y, Yoshikawa N, Okada S, et al. Taste-active components in the mantle muscle of the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* and their effects on squid taste [J]. Food Research International, 2008, 41(4): 371-379.
- [25] 杨平,王瑶,宋焕禄,等. 不同熬煮条件对猪肉汤中滋味成分变化的影响[C]. 中国食品科学技术学会, 2016.
- [26] Wilson R A, Katz I. Review of literature on chicken flavor and report of isolation of several new chicken flavor components from aqueous cooked chicken broth[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1972, 20(4): 741-747.
- [27] 蔡宇. 鸡汤中关键香气物质的鉴定及其鸡肉香精的制备[D]. 广州:华南理工大学, 2016.
- [28] Mottram D S. Flavour formation in meat and meat products: a review [J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 415-424.