

气相色谱 - 嗅闻技术鉴定清炖猪肉汤中的挥发性香气物质

徐永霞, 陈清婵, 吴 鹏, 徐晓云, 王可兴, 潘思轶*

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 采用顶空固相微萃取(HS-SPME)提取清炖猪肉汤的香气成分,并结合气质联用技术(GC-MS)和气相色谱-嗅闻技术(GC-O)进行分析。采用 GC-MS 分析鉴定得到 42 种挥发性风味物质,主要包括醛类、酸类、醇类、烃类和呋喃类化合物;通过 GC-O 分析出 19 种香气活性成分,根据香气强度的大小,确定己醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、2-十一烯醛、1-辛烯-3-醇、1-辛醇和保留指数值为 912 的未知化合物为清炖猪肉汤中的关键香味化合物。
关键词: 香味化合物;气质联用技术(GC-MS);气相色谱-嗅闻技术(GC-O);清炖肉汤

Characterization of Aroma Components in Stewed Pork Broth by GC-O

XU Yong-xia, CHEN Qing-chan, WU Peng, XU Xiao-yun, WANG Ke-xing, PAN Si-yi*

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-olfactometry (GC-O) were used to determine the volatile compounds and aroma compounds in stewed pork broth. A total of 42 volatile compounds including aldehydes, acids, alcohols, hydrocarbons and furans were identified. Meanwhile, 19 aroma compounds were identified by GC-O. According to aroma intensity, hexanal, (E,E)-2, 4-nonadienal, 2-undecenal, 1-octen-3-ol, 1-octanol and an unknown compound of RI (retention index) 912 were identified as the critical aroma compounds in stewed pork broth.

Key words: aroma compounds; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); gas chromatography-olfactometry (GC-O); stewed pork broth

中图分类号: TS251

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)18-0274-04

目前对食品中的挥发性物质大多采用气质联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行分析检测,然而在众多的挥发性化合物中仅有一小部分挥发物是具有香气活性的,GC-MS作为一种检测手段无法用来判定对食品香气起关键作用的化合物,一些特征香气化合物由于其含量低于GC-MS的检测限而无法被检测到,而人的鼻子却能嗅到这些无法用仪器来检测的物质。气相色谱-嗅闻技术(gas chromatography-olfactometry, GC-O)技术是近年发展起来的鉴定香气活性化合物的一种有效手段,它以人的鼻子作为检测器,将气相色谱的分离能力与人类鼻子敏感的嗅觉相联系。GC-O技术现已广泛运用于水果^[1]、饮料^[2]、酒类^[3]、乳制品^[4]、肉质品^[5-8]等食品中香气活性化合物和异味物质的检测,在食品品质控制和鉴别方面显示了其强大的应用价值。

猪肉是人类肉食的重要组成部分,它为人类的膳食提供优良的蛋白质,还提供一些矿物质和维生素。对猪肉风味研究,对肉和肉制品加工具有重要意义。猪肉的特征风味是猪肉在加工中产生的挥发性和非挥发性化合物共同作用的结果^[9]。瘦肉中的水溶性前体物质产生了肉类的基本风味,主要是一些含硫化合物,如2-甲基-3-呋喃硫醇;而脂肪和脂溶性物质是猪肉产生的区别于其他肉类的特征风味物质的前体,在热加工过程中,猪肉的挥发性风味化合物主要是通过美拉德反应、脂质的氧化降解及后续反应形成的。随着研究的深入,在猪肉中分离鉴定出的风味化合物也越来越多,然而对猪肉的基本风味和特征风味的研究仍然是热门课题。这对于丰富快餐面、调味品、罐头食品和肉制品等的风味种类和提高猪肉制品的风味质量都有非常重要的意义。

收稿日期: 2011-03-12

基金项目: 湖北省农业科技创新团队项目(2007620)

作者简介: 徐永霞(1983—),女,博士研究生,研究方向为香精香料。E-mail: xuyx1009@webmail.hzau.edu.cn

*通信作者: 潘思轶(1956—),男,教授,博士,研究方向为农产品加工化学。E-mail: pansiyi@mail.hzau.edu.cn

本实验采用顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)法提取清炖猪肉汤的香味物质,利用 GC-O 技术鉴别其关键芳香化合物,并结合 GC-MS 法进行分离、鉴定,以探讨肉汤香味的形成机理,为深入了解其独特风味的化学本质及其质量控制提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

猪排骨(大排) 武汉市购; NaCl(分析纯)。

C₈ ~ C₂₀ 正构烷烃标准品、庚醛、(*E*)-2-庚烯醛、(*E*)-2,4-癸二烯醛、(*E*)-2-辛烯醛、1-辛烯-3-醇 德国 Fluka 化学公司; 1-辛醇、己醛、辛醛、壬醛、癸醛、柠檬烯 D 深圳冠利达波顿香精香料有限公司; 2-戊基呋喃、(*E*)-2-壬烯醛 日本东京化工有限公司。

6890N/5973 气质联用仪 美国 Agilent 公司; ODP2 嗅闻装置 德国 Gerstel 公司; 固相微萃取装置、DVB/CAR/PDMS 50/30 μm 萃取头、20mL 顶空钳口样品瓶 美国 Supelco 公司。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备

取猪排骨上的里脊肉, 去除表层可见的脂肪, 切成 $20\text{g} \pm 0.1\text{g}$ 小块。称取 200g 上述猪里脊肉样品, 放入 1000mL 烧杯中, 同时加入 400mL 蒸馏水, 用聚乙烯保鲜膜封口。将装有样品和蒸馏水的烧杯于电炉上大火煮沸, 持续 20min, 改小火保持微沸 1h, 冷却至室温。

1.2.2 挥发性物质的提取分离

用移液管准确移取 10mL 肉汤样品到 20mL 螺口样品瓶中, 加入 1g NaCl, 加入磁转子, 用聚四氟乙烯隔垫密封, 于 60 磁力搅拌器上加热平衡 20min。用已活化好的 DVB/CAR/PDMS 50/30 μm 萃取头(270 活化 30min)顶空吸附 40min 后, 将萃取头插入 GC 进样口, 解析 5min。

1.2.3 GC-MS 分析

GC 条件: HP-5 毛细管柱(30m $\times$ 320 μm , 0.25 μm); 进样口温度: 250 , 不分流进样; 升温程序: 起始温度 35 保持 5min, 然后以 3 /min 升至 130 , 再以 5 /min 升至 220 , 保持 5min。

MS 条件: 色谱-质谱接口温度 280 , 离子源温度 230 , 四极杆温度 150 ; 离子化方式: EI; 电子能量 70eV; 质量扫描范围 35 ~ 350u。

1.2.4 定性分析

通过标准化合物的质谱、保留指数值(relative index, RI)和气味进行比较鉴定, 在没有标准化合物时, 借助质谱检索, 结合文献报道的 RI 值和气味完成鉴定。

1.2.5 GC-O 分析

色谱柱流出物以 1:2 的比例分别进入质谱检测器和

ODP2, ODP 加热温度为 180 , 尾吹气流量 60mL/min, 加湿器在嗅闻出口处对尾吹气进行加湿以减少干燥气体对鼻黏膜的伤害。

本实验选择 4 人进行嗅觉分析, 4 人为 3 名女性和 1 名男性, 每人都熟悉待测肉汤样品, 而且经过单体嗅闻训练。SPME 萃取完成以后, 将萃取头插入 GC 进样口, 进行热解析。嗅觉分析员开始嗅觉分析, 使用 ODP2 配套的可控制手柄记录香气的强度和嗅闻时间, 并描述气味。强度最强记为 4 分, 中等强度记为 3 分, 强度较弱为 2 分, 很弱为 1 分。每位嗅闻员对同一样品作 3 次平行测定, 共 12 份数据用于统计分析。每位嗅闻员的 3 次数据中有 2 次重复时才被记录用来分析。

2 结果与分析

2.1 清炖猪肉汤挥发性成分分析

用固相微萃取-气相色谱-质谱联用对猪肉汤中香气成分进行提取分离, 通过计算机谱库(Nist/Wiley)进行检索及 RI 值, 再结合相关文献进行人工谱图解析, 共鉴定出 42 种香气成分, 见表 1。肉汤香气的主要成分为 16 种醛类化合物(65.01%), 其次是 3 种酸类(12.73%)、8 种醇类(11.99%)、1 种呋喃类(4.98%)和 10 种烃类(4.93%), 还有部分酮类化合物等。其中含量最高的是己醛(10.27%)、(*E*)-2-庚烯醛(15.39%)、壬醛(12.03%)、(*E*)-2-辛烯醛(6.02%)、辛醛(5.48%)、2-戊基呋喃(4.98%)、1-辛烯-3-醇(4.70%)、2-环己烯-1-醇(4.85%)、(*E*)-2,4-癸二烯醛(3.63%)和(*E*)-2-壬烯醛(3.59%)。Ramirez 等^[10]和 Timon 等^[11]对油煎排骨中的香气成分进行分析, 结果表明醛类物质是其主要的风味成分, 此外还检测到烃类、酸类、醇类、呋喃类和其他化合物。

猪肉风味生成的反应是很复杂的, 其中包括猪肉的肌肉成分的热降解、脂质的热氧化、氨基酸与碳水化合物间的反应以及各种反应之间的相互作用^[12]。据报道, 肉类香气物质的 90% 来自脂质氧化^[13]。Mottram 等^[14]研究发现, 脂肪氧化是产生肉风味的主要途径, 不同种类风味的差异也主要由于脂肪氧化产物不同所致。

油酸和亚油酸是猪肉中两种最丰富的不饱和脂肪酸, 醛类物质主要来源于这些不饱和脂肪酸的氧化^[15]。高含量的低分子质量醛类物质与肉品的风味强度有关, 特别是带支链的醛类。2,4-癸二烯醛是多不饱和脂肪酸氧化的主要产物之一, 它会进一步形成与猪肉香味密切相关的 2-戊基吡啶、2-己基噻吩等。猪肉中的酮类化合物也是由不饱和脂肪酸的热氧化或降解以及氨基酸降解而产生的。一部分酮类化合物有甜的花香和果香味。在猪肉中, 酮类化合物比醛类少, 含量也较低, 其对肉类风味有增强作用^[16]。烃类化合物的香味阈值一般比较高, 对肉味的直接贡献不大, 但它们可能有助

表 1 清炖肉汤挥发性成分的 GC-MS 分析
Table 1 GC-MS analysis of volatile compounds in stewed pork broth

序号	保留指数	化合物	相对含量/%	鉴定方式
醛类				
1	< 800	2-甲基-2-丁烯醛 2-methyl-2-butenal	0.002	MS
2	< 800	反式-2-戊烯醛 (<i>E</i>)-2-pentenal	0.02	MS
3	801	己醛 hexanal	10.27	MS/RT
4	856	(<i>E</i>)-2-己烯醛 (<i>E</i>)-2-hexenal	0.99	MS/RI
5	908	庚醛 heptanal	3.52	MS/RT
6	960	(<i>E</i>)-2-庚烯醛 (<i>E</i>)-2-heptenal	15.39	MS/RT
7	1011	辛醛 octanal	5.48	MS/RT
8	1024	(<i>E,E</i>)-2,4-庚二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal	0.75	MS/RI
9	1062	(<i>E</i>)-2-辛烯醛 (<i>E</i>)-2-octenal	6.02	MS/RT
10	1113	壬醛 nonanal	12.03	MS/RT
11	1170	(<i>E</i>)-2-壬烯醛 (<i>E</i>)-2-nonenal	3.59	MS/RT
12	1208	癸醛 decanal	0.27	MS/RT
13	1226	2,4-壬二烯醛 2,4-nonadienal	0.18	MS/RI
14	1306	(<i>E,E</i>)-2,4-癸二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	3.63	MS/RT
15	1381	2-十一烯醛 2-undecenal	2.40	MS/RI
16	1823	十四碳醛 tetradecanal	0.47	MS/RI
酸类				
17	1981	棕榈酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid	3.78	MS/RI
18	> 2000	硬脂酸 octadecanoic acid	4.32	MS
19	> 2000	亚油酸 (<i>Z,Z</i>)-9,12-octadecadienoic acid	4.63	MS
醇类				
20	993	1-辛烯-3-醇 1-octen-3-ol	4.70	MS/RT
21	1086	1-辛醇 1-octanol	1.82	MS/RT
22	1132	1-十二醇 1-dodecanol	0.02	MS/RI
23	1181	1-十一醇 1-undecanol	0.07	MS/RI
24	1266	2-环己烯-1-醇 2-cyclohexen-1-ol	4.85	MS/RI
25	1505	2-十四醇 2-tetradecanol	0.02	MS/RI
26	1175	(<i>E</i>)-2-壬烯-1-醇 (<i>E</i>)-2-nonen-1-ol	0.07	MS/RI
27	1708	3-甲基-3-环己烯-1-醇 3-methyl-3-cyclohexen-1-ol	0.45	MS/RI
烃类				
28	978	1,3-二甲基-环戊烯 1,3-dimethyl-cyclopentane	0.48	MS/RI
29	981	5-甲基-1-庚烯 5-methyl-1-heptene	1.08	MS/RI
30	1028	柠檬烯 D limonene D	2.55	MS/RT
31	1175	1-十四烯 1-tetradecene	0.08	MS/RI
32	1274	2,3-二甲基-1-戊烯 2,3-dimethyl-1-pentene	0.31	MS/RI
33	1307	4-甲基-环己烯 4-methyl-cyclohexene	0.04	MS/RI
34	1598	十六烷 hexadecane	0.09	MS/RI
35	> 2000	十四烷基环氧乙烷 tetradecyl-oxirane	0.12	MS
36	> 2000	十二烷基环氧乙烷 dodecyl-oxirane	0.05	MS
37	> 2000	1-二十烯 1-ricosene	0.14	MS
其他类				
38	839	5-甲基-2-苯基吲哚 5-methyl-2-phenyl-1(<i>H</i>)-indole	0.03	MS/RI
39	997	2-戊基呋喃 2-pentyl-furan	4.98	S/RT
40	1288	1-庚烯-3-酮 1-hepten-3-one	0.06	MS/RI
41	1458	2-羟基吡啶 2(1 <i>H</i>)-pyridinone	0.02	MS/RI
42	1705	2-十五酮 2-pentadecanone	0.25	MS/RI

注：MS.通过质谱鉴定；RI.保留指数的文献值；RT.通过与标准品的 RI 值比较进行鉴定；Odor.通过气味进行鉴定。下同。

于提高肉品的整体风味^[17]。

2.2 清炖肉汤中的香气活性物质

由表 2 可知，通过 GC-O 分析，共检测到了 19 种香气活性成分，包括有 12 种醛类化合物、3 种醇类化合物、1 种呋喃类化合物和 3 种未知化合物。其中香气强度最大的化合物是 RI 值为 912 的未知化合物，具有强烈的猪肉特征香味，但在检测结果中找不到与之相匹配

的化合物。可能因此化合物的阈值较低，它在样品中的含量很低，甚至不能被 GC-MS 检测到，但是仍能被人的嗅觉器官所感知。香气强度较大的化合物还有己醛、(*E,E*)-2,4-壬二烯醛、2-十一烯醛、1-辛烯-3-醇和 1-辛醇等。这些化合物是关键香气化合物，对肉汤的香气有重要贡献。Timon 等^[11]通过 GC-O 分析指出己醛、庚醛、2-庚烯醛、1-辛烯-3-醇、辛醛、2,4-庚二烯

醛、壬醛、2-壬烯醛、癸醛、2,4-壬二烯醛和2-癸烯醛是油煎排骨中的特征香气化合物。

表2 清炖肉汤中的香气活性化合物
Table 2 Aroma compounds in stewed pork broth

序号	保留指数	化合物	气味描述	气味强度	鉴定方式
1	< 800	未知物	肉汤	1	Odor
2	801	己醛	青草	3	MS/RT/Odor
3	856	(E)-2-己烯醛	水果清香	2	MS/RT/Odor
4	866	未知物	鸡精鲜味, 炒蚕豆	2	RI/Odor
5	908	庚醛	果香, 脂肪	1	MS/RT/Odor
6	912	未知物	瘦肉汤, 烤土豆	4	RI/Odor
7	960	(E)-2-庚烯醛	脂香, 泡面汤	2	MS/RT/Odor
8	993	1-辛烯-3-醇	蘑菇味	3	MS/RT/Odor
9	997	2-戊基呋喃	青香、豆香	2	MS/RT/Odor
10	1011	辛醛	辛辣, 脂肪	2	MS/RT/Odor
11	1024	(E,E)-2,4-庚二烯醛	鸡汤	1	MS/RT/Odor
12	1086	1-辛醇	脂香, 肉汤味	3	MS/RT/Odor
13	1113	壬醛	脂味, 花香, 油脂	2	MS/RT/Odor
14	1170	(E)-2-壬烯醛	炒蚕豆, 青香, 脂香	2	MS/RT/Odor
15	1175	(E)-2-壬烯-1-醇	脂味, 甜香	2	MS/RT/Odor
16	1208	癸醛	蜡香, 辛甜	2	MS/RT/Odor
17	1226	(E,E)-2,4-壬二烯醛	果香, 脂香, 鸡汤	3	MS/RT/Odor
18	1306	(E,E)-2,4-癸二烯醛	油腻的脂肪味, 鸡汤	2	MS/RT/Odor
19	1381	2-十一烯醛	脂香	3	MS/RT/Odor

醛类具有脂肪的香味,是肉品的特征风味物质^[17]。醛类除具有油脂香味外,也带有清香的气味。己醛具有青草气味,是亚油酸氧化的主要挥发性产物。(E,E)-2,4-壬二烯醛有果香、脂香和鸡汤香味,2-十一烯醛有强烈的脂香味,(E)-2-壬烯醛有脂香、炒蚕豆和青香味,(E)-2-己烯醛、辛醛、壬醛、癸醛等具有多种香味特征如脂肪香、油炸香味、腊香、坚果味和水果香等。

1-辛烯-3-醇是亚油酸自动氧化的产物,具有蘑菇香、青香。辛醇来自于油酸的氧化,具有脂香和肉汤香味。最近的研究表明,1-辛烯-3-醇在熟猪肉中的浓度较高,是熟蘑菇的特征风味化合物之一。不饱和醇的阈值一般较低,对肉品的风味形成有一定的作用。而随着碳链的增长,直链的一级饱和醇也会产生清香和特征的脂肪香^[16]。2-戊基呋喃是亚油酸自动氧化的产物,具有蔬菜青香。呋喃类化合物大都具有很强的肉香味以及很低的香气阈值,可能对肉品的整体风味作用巨大^[18]。

3 结 论

本研究采用固相微萃取-气质联用技术对清炖猪肉汤中的挥发性物质进行分析,共鉴定出42种化合物,主要为醛类、酸类、醇类、烃类和呋喃类化合物,还有少量的酮类和吡啶。结果显示挥发物中占主要的是醛

类,其相对总含量为65.01%,酸类和醇类相对含量也较高。通过GC-O分析,得出19种香气活性成分,其中有12种醛类、3种醇类、1种呋喃类和3种未知化合物,主要表现为脂香、豆香和肉汤香味。己醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、2-十一烯醛、1-辛烯-3-醇、1-辛醇和RI为912的未知化合物是清炖肉汤中的关键香味化合物,对肉汤的香气具有重要贡献。

参 考 文 献 :

- [1] CURIONI P M G, BOSSET J O. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry[J]. Int Dairy J, 2002, 12(12): 959-984.
- [2] FAN Wenlai, QIAN M C. Characterization of aroma compounds of Chinese "Wuliangye" and "Jiannanchun" liquors by aroma extract dilution analysis[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2695-2704.
- [3] GUILLOT S, PEYTAVIL L, BUREAU S, et al. Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase micro-extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry[J]. Food Chem, 2006, 96(1): 147-155.
- [4] KIM T H, LEE S M, KIM Y, et al. Aroma dilution method using GC injector split ratio for volatile compounds extracted by headspace solid phase microextraction[J]. Food Chem, 2003, 83(1): 151-158.
- [5] 戴水平, 肖作兵, 马双双, 等. 基于GC-MS/GC-O的新疆烤羊肉香气成分分析[J]. 食品工业, 2010(4): 89-92.
- [6] SONG Huanlu, CADWALLADER K R, SINGH T K. Odour-active compounds of Jinhua ham[J]. Flavour Frag J, 2008, 23(1): 1-6.
- [7] MACHIELS D, van RUTH S M, POSTHUMUS M A, et al. Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats[J]. Talanta, 2003, 60(4): 755-764.
- [8] 田怀香, 王璋, 许时婴. GC-O法鉴别金华火腿中的风味活性物质[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12): 117-123.
- [9] 林宇山, 岑泳延. 对猪肉风味的探讨[J]. 食品工业科技, 2006(9): 194-197.
- [10] RAMÍREZ M R, ESTÉVEZ M, MORCUENDE D, et al. Effect of the type of frying culinary fat on volatile compounds isolated in fried pork loin chops by using SPME-GC-MS[J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(25): 7637-7643.
- [11] TIMON M L, CARRAPISO A I, JURADO A, et al. A study of the aroma of fried bacon and fried pork loin[J]. J Sci Food Agric, 2004, 84(8): 825-831.
- [12] 蔡原, 赵有璋, 蒋玉梅, 等. 顶空固相微萃取-气质联用检测合作猪肉挥发性风味成分[J]. 西北师范大学学报, 2006, 42(4): 74-79.
- [13] 吕东坡, 朱仁俊. 猪肉中风味物的研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(8): 352-355.
- [14] MOTTRAM D S. Flavor formation in meat and meat products: a review[J]. Food Chem, 1998, 62(4): 415-424.
- [15] XIE Jianchun, SUN Baoguo, ZHENG Fuping, et al. Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig[J]. Food Chem, 2008, 109(3): 506-514.
- [16] 王玉涛, 王世锋, 刘孟洲, 等. 应用HS-SPME和GC-MS技术检测舍饲合作猪肌肉中的风味物质[J]. 核农学报, 2008, 22(5): 654-660.
- [17] 江新业, 宋焕禄, 夏玲君. GC-O/GC-MS法鉴定北京烤鸭中的香味活性化合物[J]. 中国食品学报, 2008, 8(4): 161-164.
- [18] CALKINS C R, HODGEN J M. A fresh look at meat flavor[J]. Meat Sci, 2007, 77(1): 63-80.