

文章编号:1009-038X(2005)01-0069-05

金华火腿挥发性风味物质

田怀香, 王璋, 许时婴

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214036)

摘要: 采用同时蒸馏提取(SDE)法和顶空固相微萃取(HS-SPME)法制备样品, 利用 GC-MS 分离, 鉴定了金华火腿的挥发性风味物质。比较了两种样品制备方法的优劣, 鉴定了金华火腿中 143 种挥发性风味组分, 并分析了风味成分的生成途径。在 SDE 的结果中, 最丰富的是醛类化合物, 出峰面积相对比例为 48%, 其次是酸类 23.45%, 酮类 8.52%; 在 SPME 结果中, 出峰面积相对比例较高的是醇、酸和醛类化合物, 分别为 26.8%、25.84% 和 19.83%。两种方法得到的结果差异是由于处理过程的不同造成的, SDE 中有 2 h 的高温蒸煮过程, 因而其结果可以表征熟火腿的香气成分; 而 SPME 则直接吸附萃取香气成分, 未使香气成分发生变化, 因而可以表征生火腿的香气成分, 两种方法在研究金华火腿的挥发性风味物质方面可相互补充。

关键词: 金华火腿; 挥发性风味化合物; 同时蒸馏提取法; 顶空固相微萃取法

中图分类号: TS 251.15

文献标识码: A

Research on Volatile Flavors of Jinhua Ham

TIAN Huai-xiang, WANG Zhang, XU Shi-ying

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Traditional simultaneous distillation extraction (SDE) and solid-phase micro extraction (SPME) techniques were compared for their effectiveness in the extraction of volatile flavor compounds from the Chinese traditional Jinhua ham. 143 Jinhua ham volatile flavor components were isolated and identified successfully by the capillary gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). The formation approaches of some flavor components were discussed. The aldehyde compounds, which reached 48%, were the major volatiles in the experimental results of SDE, followed by carboxylic acids of 23.45% and ketones of 8.52%. Lipid degradation and oxidation resulted from two hours high temperature cooking with SDE procedure produced more aldehyde compounds, which released fatty aromas to cooked Jinhua ham. Alcohols, carboxylic acids and aldehyde compounds, with the real contents of 26.8%, 25.84% and 19.83%, respectively, were the major flavor compounds of Jinhua ham from SPME procedure results. Aroma compounds were adsorbed and concentrated directly on the fiber in SPME procedure, so that not changed at all. As a result, the SPME experimental results could represent the volatile flavor components of raw Jinhua ham.

Key words: Jinhua ham; volatile flavor compounds; simultaneous distillation extraction (SDE); head space-solid-phase micro extraction (HS-SPME)

收稿日期:2004-04-16; 修回日期:2004-05-26.

作者简介:田怀香(1976-),女,江苏扬州人,食品科学与工程博士研究生。

金华火腿是我国传统的肉类腌腊食品,其风味独特,是火腿中的上品。金华火腿形似竹叶,爪小骨细,肉质细嫩,皮色黄亮,肉红似火,香味独特。

从食品基体中提取挥发性物质的方法很多,然而并没有一种单一的“完美”方法,每一种方法都会给最后的气相色谱分析的结果带来不同程度的采样偏差^[4, 16]。通常,最好的方法是用几种相互补充的,建立在不同分离标准基础上的技术来提取挥发性风味物质,用这种方式可以确定并计算出最终结果中每种方法的偏差。

利用样品挥发性差别的方法包括静态顶空、动态顶空、吹扫-冷阱捕集技术和固相微萃取(SPME)法。固相微萃取(SPME)法是一种快速、无溶剂的新技术^[10],利用一根熔融石英纤维丝或涂有一层具有选择性固相或液相聚合薄膜的石英纤维头从待分析基质中萃取被分析物,然后插入气相色谱仪的进样器中热解吸后分析检测^[7]。

利用化合物极性差别的方法有溶剂萃取技术和蒸馏技术。首先从样品中蒸馏出挥发性物质,随后对水溶性馏分进行溶剂萃取,形成了同时蒸馏提取(SDE)法。

沈国惠等^[1]和 M. DU 等^[13]分别采用 SDE 法和吹扫-冷阱捕集动态顶空法对金华火腿挥发性风味物质进行了分析,但沈国惠等采用正己烷为溶剂,很难检出沸点低于正己烷的挥发物,而 M. DU 等仅鉴别出 36 种风味化合物。作者采用乙醚为溶剂,并且和 SPME 法结合,利用这两种建立在不同分离标准基础上的技术检测分析金华火腿的挥发性风味物质,以期更全面的剖析金华火腿的风味物质。

1 材料与方 法

1.1 材料

金华火腿,购自上海第二副食品商店。火腿剔去骨头、肥膘,待用。

1.2 设备

气相色谱质谱联用仪:Trace MS,美国 Finigon 质谱公司制造;SPME 手动进样手柄及 75 μm CAR/PDMS 萃取头(纤维头):上海安谱科学仪器有限公司产品。

SDE 装置:测试中心气质实验室定制。装置如图 1 所示(左端入口接盛有物料的圆底烧瓶,右端入口接溶剂烧瓶)。

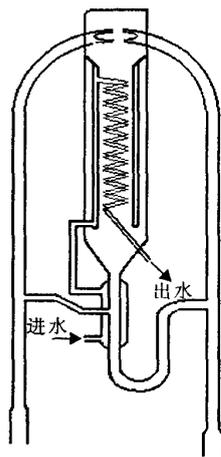


图 1 同时蒸馏萃取装置

Fig. 1 Equipment of simultaneous distillation extraction

1.3 方法

1.3.1 试剂制备方法 无水 Na_2SO_4 :将分析纯 Na_2SO_4 在 530~570 $^\circ\text{C}$ 下灼烧 3 h,冷却,包装备用;重蒸乙醚:将分析纯乙醚用 Oldershow 柱进行蒸馏,去掉前 30 mL、后 30 mL,得中间乙醚馏分备用,重蒸后的乙醚经 GC-MS 检测后无杂质峰出现。

1.3.2 样品制备方法

1) 同时蒸馏提取(SDE)法:原料 100 g,加水 500 g,放置于 1 000 mL 圆底烧瓶中接 SDE 装置的左端,用电热套加热至沸腾,装置的右端接 100 mL 的圆底烧瓶,内装 50 mL 重蒸乙醚,60 $^\circ\text{C}$ 的恒温水浴加热保持沸腾。提取 2 h 后在萃取溶剂中加入活化后的无水硫酸钠适量,放入冰箱内过夜;第二天过滤,过滤后用 Oldershow 柱浓缩,50 $^\circ\text{C}$ 水浴加热,控制分流比为 5~10,当瓶内的溶剂少于 1 mL 时,停止加热,静置,使柱内的溶剂滴下来,总量约为 3 mL,再转入带刻度溶剂瓶中,用洗耳球吹至 1 mL,供 GC-MS 分析鉴定。

2) 顶空固相微萃取(HS-SPME)法:选择 SPME 手动进样手柄及 75 μm CAR-PDMS 纤维头,CAR-PDMS 纤维头比 100 μm PDMS 及其它类似的纤维头的吸附效率都要高,但重现性稍差,且需要较长的平衡时间^[22]。萃取头的老化:75 μm CAR-PDMS 萃取头第一次使用时在气相色谱进样口在氮气保护下,于 270 $^\circ\text{C}$ 老化 2 h 以上,第二次以后使用在上述温度下老化 30 min,以确保脱去其可能吸附的挥发性成分。老化后的萃取头在 GC-MS 上检测有极少量的萃取头固有杂质峰出现,在样品质谱检索的时候去除。在 15 mL 的样品瓶中装入切碎的原料肉,40 $^\circ\text{C}$ 下顶空吸附 1 h,250 $^\circ\text{C}$ 下解吸 2 min。

1.3.3 测定条件

1) 色谱条件: 色谱毛细管柱为 OV1701 柱(柱长 30 m, 内径 0.25 mm, 液膜厚度 0.25 μm); 起始温度 32 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min, 然后以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速度升温到 60 $^{\circ}\text{C}$, 再以 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速度升温到 100 $^{\circ}\text{C}$, 最后以 18 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温到 240 $^{\circ}\text{C}$; 汽化室温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 1 μL ; 载气为 He, 体积流量 0.8 mL/min; 分流比 10:1.

2) 质谱条件: 电离方式为 EI, 电子能量 70 eV, 灯丝发射电流为 200 μA , 离子源温度为 200 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$.

1.3.4 数据处理 实验数据处理由 Xcalibur 软件系统完成, 未知化合物经计算机检索同时与 NIST 谱库(107k compounds)和 Wiley 谱库(320k Compounds, version 6.0)相匹配, 仅当正反匹配度均大于 800(最大值为 1000)的鉴定结果才予以报道.

2 结 果

SDE 方法与 SPME 方法的总离子流图见图 2, 3. 对两图进行数据库检索定性, 采用面积归一化法计算各成分的出峰面积相对比例.

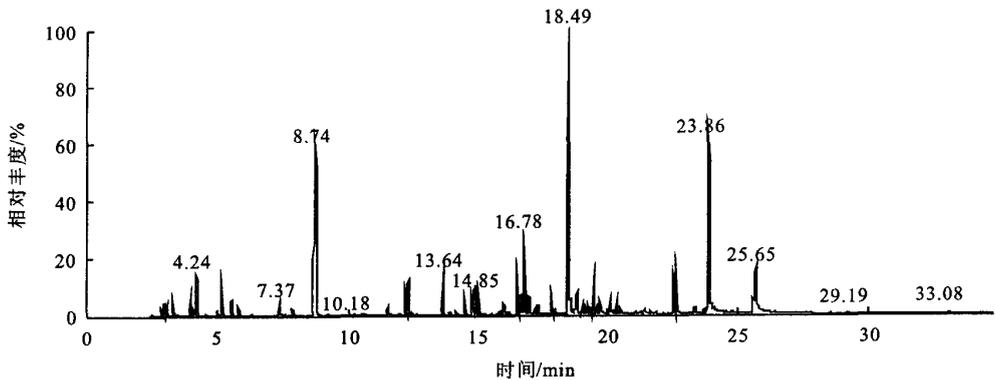


图 2 SDE 方法的总离子流图

Fig. 2 Total ion current chromatogram of SDE procedure

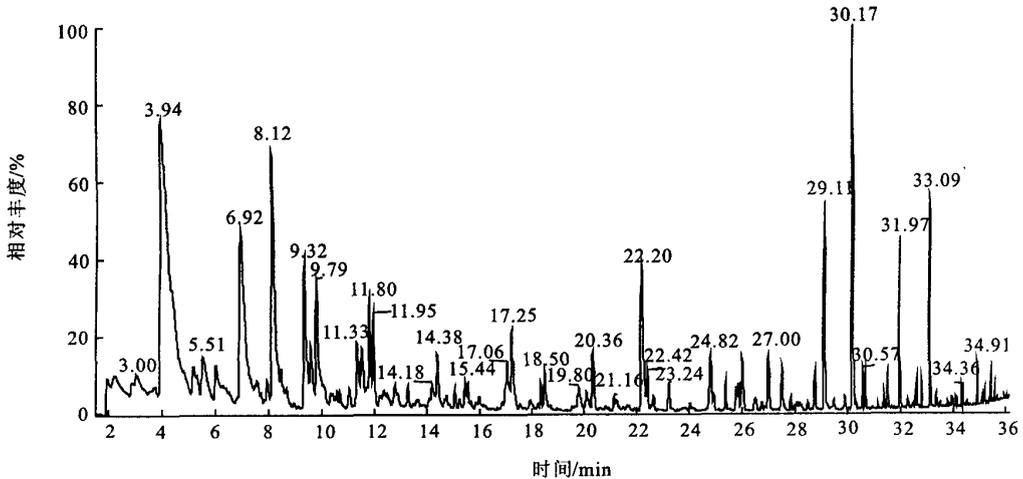


图 3 SPME 方法的总离子流图

Fig. 3 Total ion current chromatogram of SPME procedure

共检出 143 种化合物, 其中 SDE 法检出 81 种化合物, SPME 法检出 72 种化合物, 两种方法检出的相同的化合物为 10 种, 分别是乙酸乙酯(0.65, 0.51), 2-戊基呋喃(2.55, 0.66), 3-羟基-2-丁酮(1.00, 2.68), 苯乙醛(1.06, 0.17), 3-甲基-丁醛

(1.11, 1.97), 壬醛(3.33, 2.02), 辛醛(1.45, 1.64), 庚醛(2.08, 1.81), 己醛(20.36, 11.34), 这 10 种化合物的出峰面积相对比例在 SDE 中占到 29.60%, 在 SPME 中占到 22.80%.

SDE 方法的结果中相对含量较高的是:

己醛(20.36%),十六烷酸(13.74%),9,12-二烯十八烷酸(4.76%),壬醛(3.33%),戊醛(3.28%),十四烷酸(2.70%),2-戊基咪喃(2.55%),2-乙基咪喃(2.24%),庚醛(2.08%),辛烯-2-醛(2.05%),2,4-癸二烯醛(1.92%),1-辛烯-3-醛(1.69%),12种化合物共计占60.70%。

SPME方法的结果中相对含量较高的是:

己醛(11.34%),乙酸(11.02%),乙醇(8.04%),丁酸(6.52%),2-丙酮(3.94%),3-甲基-1-丁醇(3.68%),2,3-丁二醛(3.09%),3-羟基-丁酮(2.68%),4-(苯甲酸)-2H-吡喃-3-酮(2.01%),3-甲基-丁醛(1.97%),壬醛(2.02%),庚醛(1.81%),辛醛(1.64%),此12种化合物共计占58.12%。

在SDE结果中检出32种醛类化合物,占了48.34%,6种酸类23.45%,15种酮类8.52%;SPME法检出16种醇类化合物26.87%,10种酸类25.84%,9种醛类化合物,为19.83%。

3 讨论

3.1 重要风味化合物及其可能的生成途径

从检测到的大量的挥发性化合物中分析发现,醛类占的比重最大,在SDE结果中为48.34%,在SPME结果中为19.83%,说明脂质氧化是生成特殊的火腿风味的重要途径。

将本研究中的SDE的结果同文献[1]的结果相比较,本研究中该方法检出81种化合物,比文献[1]中的75种要多,主要表现在多了一些低沸点的化合物,如正丁醛、戊醛、2,3-丁二酮、乙酸乙酯、2-甲基咪喃等,这主要是选择的溶剂的差别。本研究中所选择的溶剂乙醚的沸点远远低于正己烷的沸点,减少了低沸点的化合物在实验过程中的损失。文献[1]中出现的精油的常见成分, β -蒎烯、 α -蒎烯、4-萜烯、 β -蒎烯等可能来自于饲料的污染,在本研究中并未检出这些化合物。另外,在本研究中给出了各化合物的相对含量,有助于研究化合物对风味影响的贡献。

在SDE法得到的火腿风味中己醛的出峰面积相对比例最高为20.36%,2,4-癸二烯醛的相对含量也很高,为1.92%。己醛和2,4-癸二烯醛是亚油酸氧化的基本产物,亚油酸的自氧化作用产生了亚油酸的9-氢过氧化物和13-氢过氧化物。13-氢过氧化物断裂生成己醛,9-氢过氧化物断裂生成2,4-癸二烯醛^[8]。2,4-癸二烯醛被报道和油炸食品的香气有关^[3]。后续的2,4-癸二烯醛的逆羟醛缩合反应将产生2-辛烯醛和己醛^[11]。在本实验中检测到的2-辛

烯醛的出峰面积相对比例是2.05%。有文献表明,在脂类的低温氧化过程中,会有大量的己醛产生,而在高温的氧化过程中则生成较多的2,4-癸二烯醛^[5]。因而在SPME结果中己醛的相对含量最高,为11.34%,未检出2,4-癸二烯醛,这是因为长期的发酵过程是在较低的温度下完成的;而在SDE的结果中,不仅己醛的出峰面积相对比例继续增加为20.36%,而且因为SDE过程中长达2h的高温蒸煮使得2,4-癸二烯醛的出峰面积相对比例变为1.92%。由于2,4-癸二烯醛的阈值为0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$,与己醛的4.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相比较^[22],它的阈值低得多,所以虽然它的相对含量低一些,但它对火腿风味的贡献也是非常重要的。

Buscailhon等^[2]报道了干腌火腿中的醛类化合物可能和火腿以及腌制肉制品的特征香味有关。具有支链的醛如2-甲基丙醛、2-甲基丁醛和3-甲基丁醛在成熟的火腿中含量也很高,通常不是脂质氧化的结果,而是分别由缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等氨基酸的斯特雷克尔氨基酸反应产生的^[6,17]。

在SPME结果中,醇类的相对含量较高,尤其是乙醇为8.04%。醇类一般对于食品的风味贡献很小,因为它们是高阈值的,除非它们是以高质量分数存在或者是不饱和的。醇类可能是由脂肪酸的二级氢过氧化物的分解^[21]、脂质氧化酶对脂肪酸的作用^[20]、脂肪的氧化分解生成或由羰基化合物还原生成醇^[15],脱氢酶也可以将由脂肪酸和氨基酸生成的醛还原成相应的醇^[5]。金华火腿由于长期的发酵过程,脂肪酶对产品的最终风味影响显著,这一点在类似的干腌火腿的风味形成中已经得到了验证^[9]。

SPME中鉴定到的多为短链的脂肪酸,如乙酸为11.02%、丁酸为6.52%,这些化合物是在长期的发酵过程中由火腿中的甘油三酸酯和磷脂被水解得到的^[5]。而在SDE中检测的化合物中出现了相当数量的长链酸,如十六烷酸的出峰面积相对比例高达13.74%,这可能是在高温蒸煮过程中相应的醇、醛等化合物氧化而来的。

在SPME中检测到13种酮类化合物,在SDE中检测到15种酮类化合物,在SPME结果中,丙酮的出峰面积相对比例较高,占了3.94%,这和法式的干腌火腿接近^[14]。酮也是通过脂质的氧化产生的,不饱和酮是造成动物和蔬菜脂肪中特征性风味标志的原因^[14]。3-羟基-2-丁酮赋予熟肉以黄油的特性^[19],可能产生于2-乙酰乳酸的脱羧基反应的副产物,2-乙酰乳酸可能形成于由缬氨酸和亮氨酸的生物合成途径中的中间产物——2个丙酮酸分子进行

的缩合反应^[5]。

在金华火腿的 SDE 结果中鉴别出 5 种呋喃,尽管作为一类化合物一般认为它们对基本的肉香味道所起的作用是很小的,但它们可以对煮熟的肉或烤肉的总体风味有所贡献,其中的 2-戊基呋喃已经被提议为亚油酸的一种氧化产物,它也被认为具有类火腿香味^[14]。

金华火腿中大量的挥发性化合物,可能是由于脂质氧化作用和氨基酸降解产生的,这一点和类似的干腌火腿的研究^[18]中得出的结论相吻合。

3.2 SDE 和 SPME 两种方法的比较

SDE 法利用风味化合物和食品基体物质之间的极性差别,首先从样品中蒸馏出挥发性物质,随后对水溶性馏分进行溶剂萃取^[12]。SPME 法是一种快速、无溶剂的新技术,利用有聚合物涂层的纤维在样品顶空中吸附被分析物,在分析时,将其在加热的气相色谱进样器中受热解吸^[6]。

SDE 的缺点是繁琐、耗时,需要的样品量大,需消耗大量的溶剂。样品制备时间长,因而效率低下,处理过程复杂因而容易导致被分析物的损失,处理过程中的高温蒸煮会导致香气成分发生变化,但是 SDE 法便于加入内标进行定量分析。SPME 法不需要溶剂,分析样品量少,操作简单、方便、快速,能够尽可能减少被分析的香气物质的损失,但是 SPME 法不便于加入内标定量,而且分析结果同吸附头的选择有很大的关系。

两种方法得到的结果的差异是由于处理过程的不同造成的,SDE 中有 2 h 的高温蒸煮过程,因而其结果可以表征熟火腿的香气成分;而 SPME 则直接吸附萃取香气成分,未使香气成分发生变化,因而可以表征生火腿的香气成分。

由此可见,这两种方法各有优缺点,因此同时采用这两种方法有助于全面考察被分析物,两种方法得到的结果可以相互补充。

参考文献:

- [1] 沈国惠,王林祥,王勤. 金华火腿挥发性风味的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业,1988,(3):12-18.
- [2] Buscaillon S, Berdague J, Bousset J, *et al.* Relation between compositional traits and sensory qualities of French dry-cured ham [J]. *Meat Sci*, 1994, 37(2): 229-243.
- [3] Donald S Mottram. Flavor formation in meat and meat products: a review [J]. *Food Chem*, 1998, 62(4): 415-424.
- [4] Etievant P X. Artifacts and contaminants in the analysis of food flavor [J]. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 1996, 36: 733-745.
- [5] Germana B, Luciana B, Giovanni P, *et al.* Flavor compounds of dry-cured ham[J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 2389-2394.
- [6] Harmon A D. Solid Phase Microextraction for the Analysis of Flavors[M]. New York: Marcel Dekker, 1997. 81-112.
- [7] Hiroyuki K, Heather L L, Janusz P. Applications of Solid-phase microextraction in food analysis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 880: 35-62.
- [8] Ho C T, Zhang Y, Shi H, *et al.* Flavor chemistry of Chinese foods[J]. *Food Rev Int*, 1989, 5: 253-287.
- [9] Jean L B, Christian D, Jean L Q, *et al.* Volatile components of dry-cured ham [J]. *J Agric Food Chem*, 1991, 39: 1257-1261.
- [10] Jibao Cai, Baizhan Liu, Qingde Su. Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction for the determination of volatile flavor components [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 930: 1-7.
- [11] Josephson D B, Lindsay R C. Retro-aldol degradation of unsaturated aldehydes: role in the formation of c 4-heptenal from t2, c6-nonadienal in fish, oyster and other flavors[J]. *J Amer Oil Chem Soc*, 1987, 64: 132-138.
- [12] Cadwallader K R, Macleod A J. Instrumental Methods for Analyzing the Flavor of Muscle Foods[M]. USA: Aspen Publishers, Inc., 1998. 355-372.
- [13] DU M, AHN D U. Volatile substances of Chinese traditional Jinhua ham and cantonese sausage[J]. *J of Food Sci*, 2001, 66 (6): 827-831.
- [14] Flores M, Spanier A M, Toldra F. Flavor Analysis of Dry-Cured Ham [M]. USA: Aspen Publishers, Inc., 1998. 320-341.

(下转第 83 页)

下继续加热,产品粘度反而下降,这和通过正交试验所获得的结果相符合。

2.4 交联对海藻酸钠粘度的影响

通过本实验得到的交联海藻酸钠,一方面可以提高热稳定性,另一方面也可以提高海藻酸钠的粘度。在 pH 值为 10,温度为 60 ℃,加入质量分数 5% 的环氧氯丙烷,用粘度不同的原料产品和环氧氯丙烷反应,所得产品均比原产品粘度有明显的提高。

3 结 论

1) 在 pH 值为 8~10,温度控制在 40~60 ℃,

环氧氯丙烷和海藻酸钠反应可以制得交联海藻酸钠。

2) 通过正交试验设计,综合粘度和热稳定性指标,得到最佳合成条件为 60 ℃,5%,3.5 h,pH 值为 10。

3) 在最佳合成条件下,交联海藻酸钠粘度可以从 560 mPa·s 升高到 680 mPa·s,质量分数 1% 的溶液以 1.5 ℃/min 从 20 ℃升温到 70 ℃,交联海藻酸钠粘度仅下降了 95 mPa·s,而海藻酸钠下降了 280 mPa·s。

参考文献:

- [1] Windhues T, Borchard W. Effect of acetylation on physico-chemical properties of bacterial and algal alginates in physiological sodium chloride solutions investigated with light scattering techniques[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2003,52:47-52.
- [2] Sherry X Ci. Molecular mass distribution of sodium alginate by high-performance size-exclusion chromatography[J]. *Journal of chromatography A*, 1999,(864):199-210.
- [3] ARNE H. Studies on the uronic acid residues in alginic acid[J]. *Acta Chemica Scandinavica*,1967, 21:691-704.
- [4] 黄来发,洪文生. 食品增稠剂[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000. 25-26.
- [5] 沈淑娟. 波谱分析法[M]. 上海:华东化工学院出版社,1992. 142-143.

(责任编辑:朱明)

(上接第 73 页)

- [15] Pan B S, Kou J M. Flavor of Shellfish and Kamaboko Flavourants [M]. New York: Blackie Academic and Professional, 1994. 85-114.
- [16] Reineccius G. Biases in Analytical Flavor Profiles Introduced by Isolation Method [M]. New York: Marcel Dekker, 1993. 61-76.
- [17] Ruiz J, Ventanas J. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process[J]. *Meat Sci*, 1999, 52(1): 19-27.
- [18] Sabio E, Vidal Argon M C, Bernalte M J, *et al.* Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from South European countries [J]. *Food Chem*, 1998, 61(4): 493-503.
- [19] Shahidi F, Rubin L J, D Souza L A. Meat flavor volatiles: a review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluations [J]. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 1986, 24: 141-243.
- [20] Suzuki J, Ichimura N, Etoh T. Volatile components of boiled scallop[J]. *Food Rev Int*, 1990, 6: 537-552.
- [21] Tanchotikul U, Hsieh T C Y. Volatile flavor components in the crayfish waste[J]. *J Food Sci*, 1989, 54: 1515-1520.
- [22] Mani V. Applications of Solid Phase Microextraction [M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. 57.

(责任编辑:朱明)