研究论文

DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2018.01.011

香酥兔肉加工过程中挥发性成分的研究

宋丽坤， 张 帆， 李 诚*， 冯朝辉， 刘爱平， 杨 勇， 刘韫韬

（四川农业大学 食品学院，四川 雅安 625014）

摘要： 为了探索经复合酶和改良剂处理的兔肉油炸后产品挥发性物质的变化，采用顶空固相微萃取法（headspace solid phase micro-extraction，HS-SPME）结合气相色谱-质谱（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）联用技术，对兔肉加工过程中鲜肉、嫩化、腌制、油炸4个阶段的挥发性成分进行分析、鉴定。结果表明：香酥兔肉加工过程中共鉴别出挥发性成分60种，烃类24种、醛类14种、酯类3种、酮类3种、酚类2种、酸类2种、醇类2种、醚类1种、其他类化合物7种，其中，醛类、烃类、杂环类贡献最大；此外，4个加工阶段样品中检测出的挥发性成分种类数量分别为18种、19种、27种、31种，油炸阶段数量最多。

关键词： 兔肉；加工过程；挥发性成分；固相微萃取；气质联用技术

中图分类号：TS 251.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673—1689(2018)01—0065—05

Study on the Volatile Compounds in Fried Rabbit Meat Processing

SONG Likun， *ZHANG Fan*， *LI Cheng**， *FENG Zhaohui*， *LIU Aiping*， *YANG Yong*， *LIU Wentao*

（College of Food，Sichuan Agriculture University，Ya′an 625014，China）

Abstract： To explore the changes of volatile compounds about the fried rabbit meat products which were improved by enzyme and modifier，the four processing stages of rabbit meat（fresh，tenderize，pickle，fried）were analyzed by headspace solid phase micro-extraction （HS-SPME）and gas chromatography-maa spectrometry （GC-MS）. Results：A total of 60 volatile compounds were identified in fried rabbit meat processing，including 24 hydrocarbons，14 aldehydes，3 esters，3 ketones，2 phenols，2 Acid，2 alcohols，1 ethers，7 heterocyclic compounds，in which the aldehydes ，the hydrocarbons and the heterocyclicccontribute largestly.While the number of the four processing stages' volatile components were 18，19，27and 31，and the fried stage is most.

Keywords： fried rabbit meat，processing，volatile compounds，headspace solid phase micro-extraction，gas chromatography-mass spectrometry

我国是兔肉生产大国，兔肉制品种类繁多，市场上已有兔肉干、兔肉松、香酥兔肉等产品[1]。为了满足消费者需求，有关人员进行了大量研究。崔震昆等[2]研究了麻辣风味兔肉的加工工艺，分析了腌渍、预煮、卤制等工序对产品口感的影响。孙逸等[3]优化了泡椒兔肉加工工艺，并对加工过程中理化性

收稿日期： 2015-12-12

基金项目： 国家星火计划项目(2012GA810004)。

* **通信作者：** 李 诚(1964—)，男，四川三台人，教授，博士研究生导师，主要从事畜产品加工与安全控制研究。E-mail：lichenglcp@163.com

引用本文： 宋丽坤，张帆，李诚，等. 香酥兔肉加工过程中挥发性成分的研究[J]. 食品与生物技术学报，2018，37(01)：65-69.

质的变化做了分析。为了全面系统地了解经复合酶和改良剂处理的香酥兔肉加工过程中挥发性成分的组成及变化,作者采用顶空固相微萃取装置收集香酥兔肉加工阶段的主要挥发性物质,并使用气相色谱-质谱联用技术对挥发性成分进行分析鉴定。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

兔肉:市售;木瓜蛋白酶(10 万 U/g)、胰蛋白酶(3 500 U/g):诺奥科技发展有限公司产品。

1.2 仪器与设备

SPME 手动进样手柄、75μmCAR/PDMS 萃取头:美国 Supelco 公司产品;7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪:美国 Agilent 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程 兔肉→酶处理→改良剂处理→预煮→冷却→成型切丁→油炸→包装→杀菌→品质评定。

1.3.2 原料兔肉预处理操作要点 选择健康无病的肉兔,按常规方法宰杀、修整,清洗去血污、剔骨头、修整等。将整理好的兔肉浸泡 100 mL 酶解液中,酶解温度:45 ℃;酶解时间:60 min,木瓜蛋白酶用量:300 U/g 兔肉; 胰蛋白酶用量:150 U/g 兔肉。加入质量分数 1%食盐与兔肉全部混合均匀后,再加入质量分数 0.6%小苏打、10%变性淀粉、4%大豆蛋白作为品质改良剂,进行腌制。将腌制好的兔肉预煮,切成小块后,在 90 ℃的温度下对处理好的兔肉进行真空油炸,油炸时间 10 min。炸完后捞出,充分沥油。

1.3.3 挥发性成分的检测

1)HS-SPME 萃取条件 将样品绞碎称取 3 g 于 15 mL 样品瓶中, 置于水浴锅中平衡 10 min,然后将萃取纤维头暴露在样品上方,在一定的吸附温度下吸附一定的时间后[4],缩回纤维头,抽出针头,GC 进样,250 ℃解析 5 min, 同时启动仪器采集数据。以总峰面积为检测指标优化萃取条件。重复 3 次取平均值。

2)GC-MS 检测条件 色谱条件:HP-5MS 石英弹性毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度 250 ℃,接口温度 280 ℃;升温程序参考文献[5]的方法并作优化:初始温度 35 ℃,保持 3 min,以 4 ℃/min 升温至 75 ℃,保留 1 min;第二阶段以 5 ℃/min 升温至 120 ℃,保留 1 min;第三阶段以 8 ℃/min 升温至 230 ℃,保留 3 min;载气(He)流量 1.0 mL/min,进样量 1.2 μL;不分流。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV,离子源温度 200 ℃,灯丝电流 150 μA;质量扫描范围:10~450。

3)定性定量分析 定性:利用质谱结果和保留指数定性,通过计算机检索与 NIST.11 提供的标准质谱对照,根据匹配度,并结合已有的文献进行定性分析。保留指数是利用分析样品的 GC-MS 的条件对 C_7~C_{30} 的正构烷烃混合标准品进行检测,根据以下公式计算

$$RI=\left[n+\frac{\lg t'(t)-\lg t'(n)}{\lg t'(n+i)-\lg t'(n)}\right]\times 100$$

式中:n 和 $n+i$ 分别为未知物流出前后正构烷烃的碳原子数;$t'(n)$和 $t'(n+i)$为相应的正构烷烃的调整保留时间;$t'(i)$为待测组分的调整保留时间($t'(n)<t'(i)<t'(n+i)$)。

定量:每个样品采用相同的 HS-SPME-GC-MS 条件,重复 3 次试验;某一组分峰面积为 3 次试验的峰面积平均值;采用峰面积归一法,利用峰面积及峰面积占总面积的百分比进行定量分析。

4)方法学考察 取同一批样品,按 HS-SPME 萃取条件的方法萃取挥发性物质, 并按 GC-MS 检测条件连续进样 5 次,分别对共有峰的相对峰面积进行统计。

2 结果与分析

2.1 HS-SPME 萃取条件的确定

2.1.1 萃取头的选择 根据王珺等[6]的研究,用 75 μm 碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(CAR/PDMS)涂层萃取头可有效萃取兔肉中的挥发性风味成分。

2.1.2 萃取温度的选择 顶空固相微萃取处理中,萃取温度对香酥兔肉挥发性成分色谱总峰面积的影响如图 1 所示,随着萃取温度的增加,色谱总峰面积呈现出先增大后缓慢减小的趋势。温度较低时,萃取头未达到其最大萃取效率,总峰面积为最低值,随着温度的升高,萃取效率有所增加,80 ℃时总峰面积达到最大值, 之后再随着温度的升高,色谱总峰面积缓慢下降。这是因为萃取温度对 SPME 法的影响具有两重性:温度升高可以加强样品中分子的热运动, 有利于分析物在顶空基质中的分配,

加快分析速度[7];但同时温度的增加会增加萃取头固有组分的解吸[8-9],从而使分析物在萃取涂层上的吸附量减少,影响萃取头的萃取效率。由方差分析结果表明,4 个不同萃取温度之间存在显著性差异,具有统计学意义。Q 检验发现,80℃与 60、70、90 ℃总峰面积间 P 值均小于 0.01,差异极显著,作者选择 80 ℃为顶空固相微萃取的最宜萃取温度。

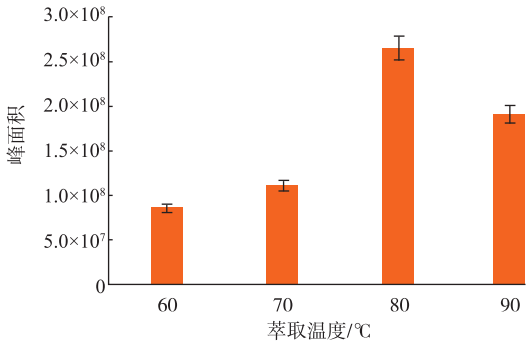


图 1　萃取温度对总峰面积的影响

Fig. 1　Effect of extraction temperature on total peak area

表 1　方差分析结果

Table 1　Analysis of variance

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
总变异	6.363×10^{16}	11				
组内变异	4.602×10^{15}	8	5.752×10^{14}			
组间变异	5.903×10^{16}	3	1.968×10^{16}	34.209	<0.01	**

注:** 表示在 0.01 水平下差异极显著。

2.1.3　萃取时间的选择　由图 2 可知,随着萃取温度的延长,挥发性成分色谱总峰面积在初始阶段呈上升趋势, 在 45 min 时色谱总峰面积达到最大值,之后变化缓慢。固相微萃取是一个吸附平衡过程,吸附时间依赖于分析物的分配系数及对样品的搅拌程度[10],萃取时间过久,易挥发性物质会从纤维头上脱附,而萃取时间过短,部分物质尤其是高沸点、难挥发的分析物不能及时被纤维头吸附[11]。由方差分析结果表明,4 个不同萃取时间之间存在显著性差异,具有统计学意义。故综上所述,萃取时间选择为 45 min 最宜。

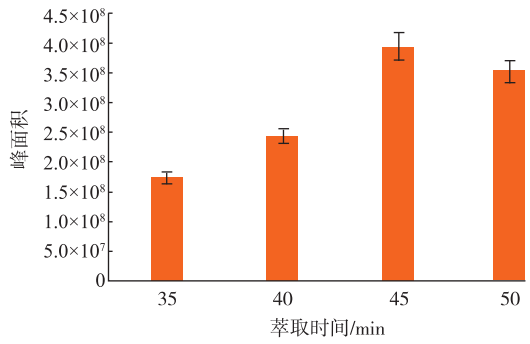


图 2　萃取时间对总峰面积的影响

Fig. 2　Effect of extraction time on total peak area

表 2　方差分析结果

Table 2　Analysis of variance

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
总变异	8.943×10^{16}	11				
组内变异	4.981×10^{15}	8	6.227×10^{14}			
组间变异	8.445×10^{16}	3	2.815×10^{16}	45.207	<0.01	**

注:** 表示在 0.01 水平下差异极显著。

通过对顶空固相微萃取萃取条件的分析,基本确定样品萃取温度为 80 ℃,萃取时间为 45 min,萃取头为 75 μm CAR/PDMS。

2.1.4　方法的重复性　采用峰面积和保留时间作为重复性的评价指标,一般保留时间的变异系数不大于 1%,峰面积的变异系数不大于 5%时说明数据的重现性较好[12]。

油炸兔肉检测出的 31 种化合物中,有 27 种成分的保留时间变异系数均小于 1%,24 种成分的相对峰面积变异系数均小于 5%, 说明对于油炸兔肉挥发性成分的分析重复性较好。

2.2　加工过程中挥发性成分检测结果

除去少量分析时萃取头带来的硅氧烷类杂质峰及增塑剂污染杂质峰[13],在香酥兔肉 4 个加工阶段(鲜肉、嫩化、腌制、油炸)样品中共检测出 60 种挥发性风味物质,主要为烃类、醛类、酯类、醇类、酮类、胺类、酚类、酸类和杂环类化合物,其中烃类 24 种、醛类 14 种、酯类 3 种、酮类 3 种、酚类 2 种、酸类 2 种、醇类 2 种、醚类 1 种、杂环类化合物 7 种,烃类、醛类及杂环类化合物的相对含量较多。在油炸兔肉加工过程中不同阶段检测出 7 种共有化合

物,分别是己醛、庚醛、壬醛、苯甲醛、苯乙烯、反-2-辛烯醛、2-正戊基呋喃,这与李莉[14]在陈皮兔加工工艺优化及挥发性风味物质研究中的实验结果基本一致。另外,在加工过程中原料肉中检测出挥发性成分 18 种,嫩化肉 19 种,腌制肉 27 种,油炸肉 31 种。4 个阶段检测出的挥发性成分中相对质量分数最高的物质均为己醛,这与陈红霞[4]研究结果一致;己醛是肉类食品在烹制过程中由于油脂初级氧化和后续深度氧化而产生的;可以由油酸、亚油酸和花生四烯酸氧化而产生,也可以由其他的不饱和醛降解得到;对烹制肉类食品特殊的香味起到积极的贡献作用。

肉类制品在加工过程中产生的挥发性化合物主要来源于美拉德反应、脂肪氧化、氨基酸及硫胺素的降解等过程[15],目前已鉴定出的化合物主要包括醛类、烃类、酮类、酯类、醇类、酚类、呋喃、吡嗪等[16]。作者鉴定出的香酥兔肉加工过程中各阶段样品挥发性物质种类和相对含量较为复杂,结果由图 3、表 5 可知。原料肉中检测出烃类 6 种(15.05%)、醛类 7 种 (23.93%)、酯类 2 种 (0.93%)、醚类 1 种(5.72%)等;嫩化肉中检测出烃类 11 种(31.12%)、醛类 7 种(27.25%)、杂环类 1 种(2.81%);腌制肉中检测出醛类 12 种(41.97%)、酮类 3 种(6.55%)、烃类 5 种(3.48%)、杂环类 3 种(7.09%)等;油炸肉中检测出烃类 11 种(22.88%)、醛类 7 种(25.81%)、醚类 1 种(3.21%)、杂环类 7 种(29.69%)等。其中,油炸肉中检测出的挥发性物质种类最多, 主要为醛类、烃类和杂环类化合物。马相杰等[17]在研究美拉德反应与肉味变化中发现熟肉制品中呋喃、酮类、含硫化合物、吡咯和吡嗪等挥发性物质主要是由美拉德反应产生的;Ouweland[18]发现吡嗪是美拉德反应产生的一组主要的挥发性物质。Reinccius 等[19]发现肉香味中呋喃、噻吩等化合物也与美拉德反应有关,而本研究中兔肉在油炸阶段检测出的 2,3,5-三甲基吡嗪占总组分的比例高达 17.99%,呋喃、吡啶和噻吩等杂环类物质也都有出现,所以,兔肉在油炸阶段检测出的杂环类物质可能是由于肉品中氨基类化合物与羰基类化合物之间相互作用发生美拉德反应产生的。本实验各加工阶段样品中均检测出大量的烃类、醛类化合物,这些物质可以与氨基化合物进一步发生美拉德反应、Strecker 降解反应、硫胺素热解等复杂反应,形成呋喃衍生物、酯类、醛类、酮类等多种风味物质,所以,在兔肉加工过程中脂肪氧化对风味的形成也有重要作用。

2.3 加工过程中主要特征挥发性物质

烃类物质香味阈值较高,一般对肉品风味的直接贡献不大,但在各加工阶段被检测出的烃类物质种类繁多,相对含量较高,所以有助于提高兔肉的整体风味。

醛类主要来自脂肪的氧化, 感觉阈值较低,且其检测出的种类和相对含量均比较高,所以对肉品风味贡献较大。本实验鉴定出的醛类物质主要是饱和醛及不饱和醛,饱和直链醛含量较高,主要有己醛、辛醛、壬醛和庚醛等,不饱和醛主要有反式-2-庚烯醛、反式-2-辛烯醛、反式-2,4-癸二烯醛、反,反-2,4-任二烯醛和反式-2-壬烯醛等,它们大部分由亚油酸和油酸氧化生成,其中主要贡献物质以己醛、苯甲醛、辛醛、壬醛、庚醛、反式-2-庚烯醛和反式-2-辛烯醛为主。醛类相对分子质量较低(C_3~C_4)的醛有强烈刺激性的气味,中等相对分子质量(C_5~C_9)的醛具有清香、酯香和油香的风味,而相对分子质量较高的醛具有柑橘或橘子皮的风味。样品中检测出的醛类大多都介于 C_5 与 C_9 之间, 属于中等相对分子质量的醛,能形成肉品清香、酯香等风味,且相对含量较高,所以醛类物质在油炸兔肉加工过程中的贡献较大。

杂环化合物如吡嗪、吡啶、呋喃类化合物在加工过程中出现的比较多,其阈值较低,是肉品中最重要的风味呈味物质。杂环类化合物主要来源于氨基酸和还原糖之间的美拉德反应,氨基酸的热降解和硫胺素的热解,本实验中油炸阶段产生较多。油炸阶段检测出的吡嗪类化合物是美拉德反应的中间产物,具有强烈的烤香和坚果味香气;吡啶类化合物如吡啶、3-氨基吡啶、2-丙基吡啶具有青香和坚果香味;呋喃类化合物具有果香味、咖啡味和焦香味,其形成途径主要为碳水化合物降解反应和多不饱和脂肪酸热氧化反应, 通常与热处理相关联,也是美拉德反应的产物。杂环类化合物在四个加工工序中油炸阶段检测出最多,所以杂环类化合物在油炸阶段是主要贡献物质。此外,2-戊基呋喃具有青豆味、甜香味,是亚油酸的自动氧化产物,被认为是大豆油回味的一种化合物,在 4 个加工阶段均有检出,在对肉品加工过程中良好风味的产生也有积极的贡献作用。

酯类、酚类、醚类、醇类、酮类物质,大部分能产生令人愉快的香味,其中乙酸香叶酯呈花香、柑香、浆果香;棕榈酸甲酯呈脂肪香、乳酪香、油脂香;百里香酚呈辛香、药香、酚香、木香;茴香脑呈茴香、辛香料、甘草香。对油炸兔肉在加工过程中产生良好的风味具有一定的贡献作用。

3 结 语

作者采用 HS-SPME 法从香酥兔肉 4 个加工阶段(鲜肉、嫩化、腌制、油炸)中萃取挥发性成分,并采用 GC-MS 进行分析。实验结果表明:顶空固相微萃取最宜萃取温度为 80 ℃,萃取时间为 45 min。在 GC-MS 分析中共鉴定出了 60 种挥发性物质, 主要挥发性化合物包括:醛类、烃类、酚类、醚类、酸类、酮类和杂环类化合物等,其中,烃类、醛类和杂环类的相对含量较多。在 4 个加工阶段中检出 7 种共有化合物,分别是己醛、庚醛、壬醛、苯甲醛、苯乙烯、反-2-辛烯醛、2-正戊基呋喃。在加工过程中,贡献最大的为醛类物质,以己醛、苯甲醛、辛醛、壬醛、庚醛、反式-2-庚烯醛和反式-2-辛烯醛为主;此外,油炸阶段伴随着美拉德反应、脂肪氧化等反应的发生,挥发性成分中检测出的大量杂环类化合物如吡嗪、吡啶、呋喃等为良好风味的产生也作出较大贡献。

参考文献:

[1] KANG Huaibin. The development trend of Chinese meat processing[J]. **Scientific Breeding**, 2007(2): 56-57.(in Chinese)
[2] CUI Zhenkun. Study on the processing technology of rabbit meat spicy flavor [J]. **The Processing of Agricultural Products**, 2008(10): 16-18.(in Chinese)
[3] 孙逸. 泡椒兔肉工艺优化及其理化特性变化研究[D]. 重庆:西南大学,2011.
[4] 陈红霞. 伊拉兔生长过程中挥发性风味物质的变化及其定量研究[D]. 重庆:西南大学,2014.
[5] CHEN Hongxia. Headspace solid phase micro extraction and simultaneous distillation extraction for analysis and comparison of the volatile flavor components of rabbit meat[J]. **Food Industry Science and Technology**, 2014(3): 288-291.(in Chinese)
[6] WANG Jun. Analysis of volatile flavor substances of rabbit meat in combination with gas chromatography-mass spectrometry headspace solid-phase microextraction[J]. **Food Science**, 2013(14): 212-217.(in Chinese)
[7] LI Qian. Study on the extraction conditions of HS-SPME by response surface method to optimize the aroma components of Chinese prickly ash[J]. **Food Industry Science and Technology**, 2012(2): 334-337.(in Chinese)
[8] 张静. 硫磺火腿加工过程中风味物质变化研究[D]. 雅安:四川农业大学,2010.
[9] 田怀香. 金华火腿风味物质研究及其风味基料的研制[D]. 无锡:江南大学,2005.
[10] 谭汝成. 腌腊鱼制品生产工艺优化及其对风味影响的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2004.
[11] HUANG Li. Optimization of SPME conditions for the extraction of volatile components from Mango peel [J]. **Food science and Technology**, 2012(7): 255-259.(in Chinese)
[12] 张金凤. 传统四川泡菜挥发性成分的萃取条件优化及发酵过程中的变化研究[D]. 雅安:四川农业大学,2014.
[13] LIU Xiaojun, JIN Qingzhe. Optimazation of solid-phase microextraction conditions combinedwith GC-MS for analysis of volatiles in peanut oil[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010(4): 500-507.(in Chinese)
[14] 李莉. 陈皮兔加工工艺优化及挥发性风味物质研究[D]. 重庆:西南大学,2012.
[15] 赵丽华. 羊肉发酵干香肠品质特性及挥发性风味变化及其形成机理研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2009.
[16] 刘源. 鸭肉风味及其在加工过程中的变化研究[D]. 南京:南京农业大学,2006.
[17] MA Xiangjie. With the change of Maillard reaction meat[J]. **Meat Industry**, 2002(11): 8-10.(in Chinese)
[18] OUWELAND G, PEER H. Components contributing to beef flavor. Volatile compounds produced by the reaction of 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone and its thio analog with hydrogen sulfide[J]. **J Agric Food Chem**, 1975, 23: 501-505.
[19] REINCCIUS G, LIARDON R. The use of activated charcoal for the concentration and analysis of headspace vapours containing food aroma volatiles[J]. **Journal of the Science of Food & Agriculture**, 1975, 26(26): 1615-1624.