

顶空固相微萃取-气质联用检测猪肉新鲜度

马瑜璐¹, 朱 斌^{2,*}, 张 雷¹, 徐昕荣²

(1. 华南理工大学化学与化工学院, 广东 广州 510640; 2. 华南理工大学分析测试中心, 广东 广州 510640)

摘 要: 以猪肉为研究对象, 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)技术考察在不同新鲜程度下挥发性成分的变化, 建立一种可用于评价猪肉的新鲜度的检测方法。结果显示, 不同新鲜度的猪肉的挥发性成分有很大差异, 随着新鲜程度的降低, 出现了甲硫醇、二甲基二硫、二甲基三硫、二甲基四硫、吲哚等物质。结果表明, HS-SPME-GC-MS 可以检测到这些物质的变化, 因此可尝试用 HS-SPME-GC-MS 技术来评价猪肉新鲜度。

关键词: 顶空固相微萃取(HS-SPME); 气相色谱-质谱法(GC-MS); 猪肉; 新鲜度

Evaluation of Pork Freshness by HS-SPME-GC-MS

MA Yu-lu¹, ZHU Bin^{2,*}, ZHANG Lei¹, XU Xin-rong²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. Analytical and Testing Center, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: A method to evaluate pork freshness was proposed based on the use of headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) to analyze changes in the volatile composition of pork with different freshness. Pork samples with different freshness showed a big difference in their volatile composition. Along with the decrease in freshness, some toxic sulfides and amines were detected including methanethiol, disulfide dimethyl, dimethyl trisulfide, tetrasulfide dimethyl, indole and so on. Our results indicated that HS-SPME-GC-MS could changes in these compounds in pork, therefore providing an applicable approach to evaluate pork freshness.

Key words: headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); pork; freshness

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0253-04

猪肉是人们最常食用的肉类食品。在贮存过程中, 由于自身和外界环境的影响, 猪肉会发生腐败现象, 新鲜度下降, 产生不良风味, 导致猪肉品质下降。检验肉类新鲜度的方法, 一般分为感官检验、理化检验和微生物检验。在猪肉品质评价过程中, 感官评价受人为因素影响较大, 微生物和理化检测存在费时、费力等缺点, 因此需要一种新的客观、简洁、快速准确评价猪肉新鲜度的技术^[1]。

气质联用^[2]具有客观、准确、快捷地评价挥发性气体, 并且重复性好的特点, 固相微萃取(SPME)自从19世纪被应用于分析挥发性组分以来就显示了其独特的优势, 简便、快速、经济安全、无溶剂、选择性好且灵敏度高, 可直接与气相色谱-质谱(GC-MS)联用, 集采样、萃取、浓缩、进样于一体, 大大加快了分析

检测的速度, 近年来被广泛应用于检测肉类食品^[3-13]中的挥发性物质。气质联用在肉品中的风味物质, 以前的研究或者是研究新鲜肉中的风味物质, 或者最近出现的研究猪胴体变质后的有机物^[14], 关于研究肉的新鲜度的变化(不同等级)的较少。本工作以猪肉为研究对象, 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)技术考察在不同新鲜程度下挥发性成分的变化, 旨在为 HS-SPME-GC-MS 技术评价猪肉新鲜度提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜猪肉 广州市天河区五山路金沙超市。

三合一自动进样器 美国 CTC 公司; Varian

收稿日期: 2010-09-14

作者简介: 马瑜璐(1985—), 女, 硕士研究生, 主要从事分析化学研究。E-mail: zzumayulu@163.com

* 通信作者: 朱斌(1966—), 男, 高级工程师, 博士, 主要从事分析化学研究。E-mail: esbzh@scut.edu.cn

4000GC/MS/MS system 气相色谱质谱联用仪(配有 EI 电离源) 美国瓦里安公司; 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头 Supelco 公司; 进样隔垫[Thermogreen™ LB-2 Septa, diam=11.0mm (7/16 in.)]; BS110S 电子天平 北京赛多利斯天平有限公司; 顶空瓶(22mm \times 75mm \times 20mL); 色谱柱: 19091R-316 毛细管柱 VOC(60m \times 0.32mm, 1.80 μm) 美国 Agilent 公司; 绞肉机 飞利浦(中国)公司。

1.2 方法

1.2.1 原料处理

将鲜猪肉用绞肉机(使用前消毒, 以减少微生物的污染)搅碎。猪肉搅碎的目的是为了使样品均匀; 每次购肉 500g 左右, 绞肉机绞肉 2 遍, 每遍绞 1~2min。对猪肉碎肉称质量, 每份样品为 1g(精确到 0.001g)。研究肉在冰箱冷冻 -18℃(每隔 1d 检测 1 次)、冷藏 4℃(每隔 1d 检测 1 次)和 20℃条件下(每隔 4h 左右检测 1 次)肉的变化情况, 限于冷冻 -18℃、冷藏 4℃保存时间较长, 室温 20℃肉新鲜程度的变化较快, 结果显著, 本实验仅对室温 20℃的情况进行讨论。

1.2.2 顶空固相微萃取

萃取纤维头的老化: 第一次使用之前, 萃取纤维头按照厂家提供的温度、时间进行老化。以后使用时先于老化温度下老化 30min, 再在与做样相同的条件下不加样品做数次空白, 直到解析空白萃取头的色谱峰不变再做样。

在 20mL 顶空瓶中加 1g 猪肉样品, 将顶空瓶中的肉类样品在 50℃, 500r/min 平衡 30min, 然后插入 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 纤维头, 于 50℃萃取 5min。

1.2.3 色谱条件

色谱柱: Agilent 19091R-316 毛细管柱, VOC(60m \times 0.32mm, 1.80 μm); 升温程序: 35℃保持 3min, 以 10℃/min 升至 85℃, 以 2℃/min 升至 160℃, 以 20℃/min 升至 200℃, 保持 5min; 载气(He)流速 1.0mL/min, 进样口温度: 220℃; 进样方式: 不分流进样。解吸时间: 5min。

1.2.4 质谱条件

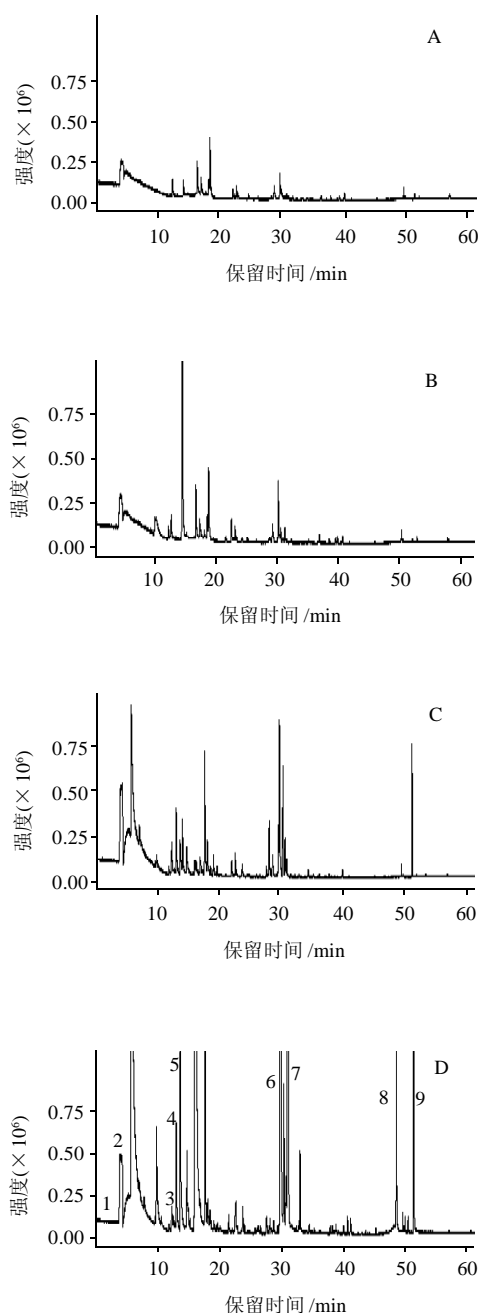
电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70eV; 传输线温度 230℃; 离子源温度 170℃; 离子阱温度 180℃, 质量扫描范围 m/z 30~200。分析结果运用 NIST 检索, 并结合相关文献及标准品进行解谱。

2 结果与分析

猪肉的新鲜程度对猪肉的风味和营养具有很大的影响, 其主要原因在于猪肉中氨基酸的分解。猪肉在一定温度下的存放过程中, 其气味的变化主要是其挥发性成分随新鲜程度的不同而变化。本实验使用 GC-MS 联

用技术检测了 20℃条件下猪肉中挥发物随猪肉新鲜程度不同的变化情况。本实验研究了猪肉保存到 90h 的挥发物质的变化规律。

猪肉在 20℃条件下保存时产生的挥发性物质通过气相色谱-质谱联用技术进行检测, 结果见图 1。新鲜猪肉中的挥发物种类比较少, 峰强度较低, 随着新鲜程度的下降挥发物种类不断增多, 且峰强度增加。肉的新鲜度的判断参照传统肉的新鲜度的检测方法, 结果表明两者较吻合。



A. 新鲜猪肉; B. 次新鲜猪肉; C. 变质猪肉; D. 完全腐败猪肉。

图 1 不同新鲜程度猪肉挥发物的 GC-MS 总离子流图

Fig.1 TIC of volatile components of pork at different freshness levels

猪肉在 20℃ 条件下保存不同时间使猪肉的新鲜程度下降后变化明显的 9 种化合物的分析结果(使用 SPSS 软件进行主成分分析结果)(表 1)。对 9 种含量变化明显的化合物的特征离子进行抽提后的离子流图的面积积分结果, 从该积分面积可以看出各种组分的相对变化(表 2)。由表 1、2 可以看出, 1 号物质(2-氨基-1-丙醇)在新鲜猪肉和次新鲜猪肉中含量(质量分数, 下同)比较低, 随着新鲜程度的降低该物质含量也增加; 3 号物质在新鲜猪肉中含量较低、随着猪肉新鲜程度的降低, 该物质含量增加; 4 号物质(3-羟基-2-丁酮)在新鲜猪肉中含量较高, 随着新鲜程度的降低逐渐减少, 并逐渐检测不到; 2、5、7、8 号含硫化合物(甲硫醇、二甲基硫醚、二甲基三硫、二甲基四硫)在新鲜猪肉中检测不到, 随着猪肉品质变得不新鲜, 出现了这些含硫化合物, 且这些含硫化合物随着猪肉新鲜程度的降低而增加, 并且这些物质的增加趋势一致, 这可能是蛋氨酸通过酵母代谢的中间产物, 甲硫醇可进一步转化为二甲基二硫、二甲基三硫等化合物^[15]; 6 号物质(苯酚), 从腐败到一定程度以后出现, 并且随着腐败程度的增加有上升的趋势; 9 号物质(吡啶)在新鲜猪肉中含量很低, 随着新鲜程度的下降, 吡啶含量急剧增加。

表 1 20℃ 贮存条件下 9 种含量变化明显的化合物的分析结果
Table 1 Information on 9 volatile compounds changing significantly during storage at 20 °C

峰序号	化合物名称	保留时间/min	相对分子质量	CAS 号	分子式	特征离子(m/z)
1	2-氨基-1-丙醇	4.14	75	78-91-1	CH ₃ NO	44
2	甲硫醇	5.75	48	74-93-1	CH ₃ S	47
3	甲基丁基-胺	12.89	103	19411-65-5	CH ₃ NO	41、55、71
4	羟基-2-丁酮	13.97	88	513-86-0	CH ₃ O ₂	45
5	二甲基二硫	15.98	94	624-92-0	CH ₃ S ₂	45、79、94
6	苯酚	29.61	94	108-95-2	CHO	66、94
7	二甲基三硫	30.751	126	3658-80-8	CH ₃ S ₃	45、79、126
8	二甲基四硫	48.230	158	5756-24-1	CH ₃ S ₄	45、64、79、94、158
9	吡啶	51.20	117	120-72-9	CHN	90、117

选取同样储存条件下的猪肉分析 5 次, 各个色谱峰峰面积和保留时间的平均相对标准偏差(RSD)分别在 3.2%~4.70% 和 0.31%~0.62% 之间。此结果表明方法具有较高的精密度和重现性。

实验说明: 在 20℃ 条件下保存不同时间, 猪肉样品从新鲜到严重腐败, 其挥发物的种类和峰面积发生了显著变化, 这可能是因为在一一定的保存温度下, 随着保存时间的延长, 猪肉样品在微生物和酶等因素的作用下, 蛋白质发生的催化降解反应, 致使猪肉样品产生了不同的挥发性成分, 并且随着反应的进程, 挥发性的成分发生了显著变化, 含氮和含硫化合物最明显反映了肉的变质, 对应于表 1 中的 2、3、5~9 组

分, 这些微观的化学变化过程可以通过 GC-MS 检测到, 并且通过对这些物质进行分析, 可以反映出肉类的新鲜程度, 该方法可以作为一种肉类新鲜度的检验评价方法。

表 2 20℃ 贮存条件下 9 种含量变化明显的化合物的积分面积
Table 2 Integral areas of 9 volatile compounds changing significantly after different periods of storage at 20 °C × 10⁴

保存时间/h	峰序号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	46	—	—	35	—	—	—	—	6
6	169	—	3	947	—	—	—	—	3
10	539	—	4	1939	—	—	—	—	3
14	858	—	35	1156	—	—	—	—	2
18	927	103	121	117	65	406	35	1	196
24	1109	218	340	87	94	377	140	43	195
29	902	647	274	32	1491	1412	846	27	395
34	1064	602	458	33	158	2152	248	61	412
38	1032	779	261	30	119	903	81	32	607
43	1047	930	490	65	262	1389	372	115	561
48	913	1106	472	11	347	4197	374	126	1556
53	909	2818	219	—	6290	9082	6949	761	1886
59	984	907	85	12	261	1131	164	85	931
64	1062	1540	346	—	2361	4682	5810	954	1389
68	1150	1370	223	16	435	2081	181	55	1051
73	1261	2990	71	—	130	20630	11100	1868	4224
78	1161	1329	363	22	637	1457	766	244	1227
83	1219	1690	402	—	704	4391	373	128	2199
86	1267	1852	486	—	1040	5113	1995	765	1784
90	1188	2355	126	—	4118	15190	10860	1351	2726

注: 峰面积是对表 1 所列出的特征离子进行抽提之后对抽提离子进行面积积分; —. 未检测到组分。

3 结 论

本实验通过对新鲜程度不同的猪肉样品的气相色谱-质谱联用检测发现, 随着新鲜程度的变化, 猪肉样品的挥发性物质会发生明显的变化, 在不同新鲜程度下, 猪肉挥发性成分发生变化, GC-MS 可以检测到这些组分的变化。本方法检测肉的新鲜度只需使用少量样品即可, 对样品消耗极低, 并且前处理简单、快速, 整个检测过程完全自动化, 可解决目前传统的感官检验、理化检验猪肉的新鲜度等方法存在的主观性、复杂性、不准确性等缺点, 显著提高肉的新鲜度的检测的客观性和准确性, 有利于开发一种客观、简洁、快速、准确检测猪肉新鲜度的新方法。

参考文献:

- [1] 巢强国. 食品质量检验 - 肉蛋及制品类[M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 160-163; 170-192; 308-325.
- [2] 戴军. 食品仪器分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 22.
- [3] SONCINA S, CHIESA L M, CANTONI C, et al. Preliminary study of

- the volatile fraction in the raw meat of pork, duck and goose[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(5): 436-439.
- [4] ELMORE J S, MOTTRAM D S, HIERRO E. Two-fibre solid-phase microextraction combined with gaschromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 905(1/2): 233-240.
- [5] CHIESA L M, SONCIN S, BIONDI P A, et al. Different fibres for the analysis of volatile compounds in processed meat products by solid phase micro-extraction (SPME)[J]. Veterinary Research Communications, 2006, 30(1): 349-351.
- [6] BRUNTON N P, CRONIN D A, MONAHAN F J, et al. A Comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey[J]. Food Chemistry, 2000, 68(3): 339-345.
- [7] BRUNTON N P, CRONIN D A, MONAHAN F J. Volatile components associated with freshly cooked and oxidized off-flavours in turkey breast meat[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2002, 17(5): 327-334.
- [8] PIGNOLI G, BOU R, RODRIGUEZ-ESTRADA M T, et al. Suitability of saturated aldehydes as lipid oxidation markers in washed turkey meat[J]. Meat Science, 2009, 83(3): 412-416.
- [9] MACHIELS D, ISTASSE L. Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibres for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat[J]. Talanta, 2003, 61(4): 529-537.
- [10] SONCIN S, CHIESA L M, PANSERI S, et al. Determination of volatile compounds of precooked prawn (*Penaeus vannamei*) and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice as possible spoilage markers using aolid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89(3): 436-442.
- [11] GUILLÉN M D, ERRECALDE M C. Volatile Components of raw and smoked black bream(*Brama raii*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) studied by means of solid phase microextraction and gas ghromatography/mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(9): 945-952.
- [12] CHAN S T, YAO M W Y, WONG Y C, et al. Evaluation of chemical indicators for monitoring freshness of food and determination of volatile amines in fish by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. European Food Research and Technology, 2006, 224(1): 67-74.
- [13] DUFLOS G, COIN V M, CORNU M, et al. Determination of volatile compounds to characterize fish spoilage using headspace/mass spectrometry and solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(4): 600-611.
- [14] AKDENIZ N, KOZIEL J A, AHN H K, et al. Laboratory scale evaluation of volatile organic compound emissions as indication of swine carcass degradation inside bio secure composting units[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 71-78.
- [15] 张礼星, 陈延登, 丁育云. 含硫化物对啤酒风味的影响[J]. 酿酒科技, 2005(5): 77-80.