

清炖猪肉汤香气物质的分析鉴定

王 蒙, 侯 莉, 曹长春, 梁晶晶, 谢建春*, 郑福平, 孙宝国

(北京工商大学 食品质量与安全北京实验室, 北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048)

摘 要: 对实验所用猪肉的氨基酸组成及脂肪酸组成进行分析。将猪肉清炖3 h的肉汤, 采用溶剂辅助蒸发提取, 气相色谱-质谱联机分析, 通过谱库检索和保留指数核对, 鉴定出70种化合物; 进一步采用稀释法-气相色谱-嗅闻分析, 结合保留指数、气味特征及与标准品比对, 鉴定出24种香气活性物质。所鉴定的气味活性化合物主要为脂肪族的醛类、酮类、醇类及含硫化合物, 稀释因子较高的($\log_2 FD \geq 9$)有庚醛、壬醛、(*E*)-2-壬烯醛、(*E,E*)-2,4-癸二烯醛、2-十一酮、3-羟基-2-丁酮、3-(甲硫基)丙醛、糠硫醇、二甲基三硫醚、2-噻吩硫醇、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚、1-辛烯-3-醇、 γ -癸内酯。

关键词: 猪肉汤; 溶剂辅助蒸发提取; 气相色谱-嗅闻分析; 香气活性成分; 肉香味

Characterization of the Aroma Compounds in Stewed Pork Broth

WANG Meng, HOU Li, CAO Changchun, LIANG Jingjing, XIE Jianchun*, ZHENG Fuping, SUN Baoguo

(Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Laboratory for Food Quality and Safety,

Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The amino acid composition and fatty acid composition of raw pork were analyzed. The pork broth obtained after stewing the pork for 3 h was extracted by solvent assisted flavor evaporation (SAFE), and then analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 70 volatile compounds were tentatively identified from the broth by means of library search in the NIST 2010 mass spectral library through comparison of retention index with those reported in the literature. Out of these compounds, 24 odor-active compounds mainly including aliphatic aldehydes, ketones, alcohols, and sulfur-containing compounds were further screened by gas chromatography-olfactometry coupled with aroma extract dilution analysis (AEDA) through comparison of retention index, mass spectra and odor characteristics with those of the authentic standards. Those with high flavor dilution factors ($\log_2 FD \geq 9$) were heptanal, nonanal, (*E*)-2-nonenal, (*E,E*)-2,4-decadienal, 2-undecanone, 3-hydroxy-2-butanone, 3-(methylthio)propionaldehyde, furfuryl mercaptan, dimethyl trisulfide, 2-thiophenethiol, bis(2-methyl-3-furyl)disulfide, 1-octen-3-ol, and γ -decalactone.

Key words: stewed pork broth; solvent assisted flavor evaporation; gas chromatography-olfactometry; odor-active compound; meat flavor

中图分类号: TQ656.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)24-0105-07

doi:10.7506/spkx1002-6630-201524018

肉类在加热时, 氨基酸、还原糖等水溶性组分之间发生Maillard反应, 产生挥发性含硫化合物、含氧、含氮杂环化合物等, 脂溶性部分则氧化降解产生大量的小分子醛、酮、醇、羧酸、酯等羰基化合物, 水溶性组分还可与脂溶性组分相互作用, 产生更为丰富的风味物质^[1]。迄今, 人们已从肉类食品中检测出上千种挥发性化合物,

而在不同种类的肉类食品中, 具体哪些化合物对总体风味有重要贡献并不完全清楚。

气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用及GC-嗅闻(GC-olfactometry, GC-O)是分析鉴定食品香气活性物质的主要手段。本课题组^[2]通过同时蒸馏萃取(simultaneous

收稿日期: 2015-06-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371838; 31171755); 北京市教委科技发展计划重点项目(KZ20101001011);

“十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD23B01)

作者简介: 王蒙(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为炖猪肉汤风味分析及热反应猪肉香精制备。

E-mail: 10011313048@std.btbu.edu.cn.

*通信作者: 谢建春(1967—), 女, 教授, 博士, 研究方向为天然香味物质的分析分离, 热反应肉味香精制备。

E-mail: xjchun@th.btbu.edu.cn.

distillation extraction, SDE) 和GC-MS及GC-O分析小香猪肉, 鉴定出2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-乙酰基噻唑、3-乙基-2,5-二甲基吡嗪以及多种脂肪族的醛酮类等42种香气活性物质。Celia等^[3]通过动态顶空固相萃取和GC-O分析, 在18~19个月大的烤公牛背肉中发现2-甲基-3-呋喃硫醇、2,4,5-三甲基噻唑、二甲基三硫、甲硫基丙醛、糠硫醇、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、1-辛烯-3-醇、庚醛、反,顺-2,6-壬二烯醛等41种香气活性物质。相比于高温煎、炸、烤等烹调方式, 肉在炖煮过程中产生的风味物质不仅种类少, 而且含量低, 因而较难检测。Ma Qinli等^[4]通过顶空固相萃取-GC-MS法在牛背长肌肉汤中分析鉴定出戊醛、1-辛烯-3-醇、2-戊基呋喃等24种挥发性风味物质。Insausti等^[5]对牛背长肌汤通过吹扫捕集-GC-MS鉴定出炔类、醛酮类、醇类等52种挥发性物质。我国是猪肉生产和消费大国, 但相对于鸡肉和牛肉而言^[6-9], 有关猪肉风味的研究目前报道还较少, 尤其是对炖猪肉汤这一种餐常见美食的风味研究更少^[11-12]。徐永霞等^[13]通过固相微萃取-GC-O分析, 从煮猪里脊肉汤中鉴定出(E)-2-庚烯醛、壬醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、1-辛烯-3-醇、2-戊基呋喃等16种物质。

芳香萃取物稀释分析(aroma extract dilution analysis, AEDA)法是在GC-O基础上鉴定关键香气化合物的有效手段。通过逐级稀释挥发性组分, 然后GC-O分析, 直到检测不到气味则停止稀释, 稀释倍数为该物质的稀释因子(flavor dilution factor, FD)值。稀释倍数越大表示该物质对整体风味贡献越大。与固相微萃取和SDE等其他萃取方法相比, 溶剂辅助蒸发(solvent assisted flavour evaporation, SAFE)法先溶剂萃取再在接近常温条件下高真空蒸馏, 既兼有温和萃取(风味组分不会变性)的优点, 又可获得一定量的萃取物样品, 因而常被用于AEDA法GC-O分析时的样品处理。刘笑生等^[14]通过SAFE-GC-O法与SDE-GC-O法提取金华火腿皮下脂肪香气活性物质, 分别检测到40种和22种香气活性成分, 这些物质主要包括醛类、酮类、醇类、酯类等。Duan Yan等^[15]通过SAFE-GC-O法在德州扒鸡中鉴定出2-戊基呋喃、壬醛、苯甲醛等9种香气活性成分。Christlbauer等^[16]通过SAFE从先油炸再高压蒸煮的猪大腿肉汤中提取挥发性组分, 通过AEDA-GC-O分析发现48种香气活性成分, 其中二甲基三硫、3-(甲硫基)丙醛、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚、反-2-十一碳烯醛、反,反-2,4-癸二烯醛、1-辛烯-3-酮等具有较高的FD值, 是关键的香气活性物质。本实验在分析猪肉的氨基酸组成及脂肪酸组成基础上, 采用SAFE提取, GC-MS、AEDA-GC-O法分析对猪肉汤的风味物质进行分析。研究结果对于中餐菜肴的工业化发展及肉味香精的研制具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪后腿肉(大约克猪, 出栏期为5~6个月) 市购。硫酸(优纯级)、盐酸(纯度为36%)、二氯甲烷、无水Na₂SO₄、乙醚、甲醇、H₂O₂、硼酸(均为分析纯) 国药集团北京化学试剂有限公司; 戊醛、己醛、2-甲基-3-呋喃硫醇、庚醛、壬醛、(E)-2-壬烯醛、(E)-2-壬二烯醛(纯度均大于95%), 3-(甲硫基)-丙醛(纯度大于97%)、糠硫醇(纯度为98%)、二甲基三硫醚(纯度为98%)、(E)-2-庚烯醛(纯度为95%)、1-辛烯-3-醇(纯度为98%)、2/3-噻吩甲醛(纯度为98%)、2-乙酰基噻唑(纯度为98%)、2-乙基-3-甲基吡嗪(纯度大于98%)、苯乙醛(纯度为98%)、(E)-2-癸烯醛(纯度为95%)、(E,E)-2,4-癸二烯醛(纯度为95%)、(E)-2-十一烯醛(纯度为95%)、 γ -癸内酯(纯度为99%)、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚(纯度为98%)、AAS18氨基酸标准品 美国Sigma公司。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C型GC-MS联用仪、7890A GC 美国Agilent公司; GC-O测量仪 美国DATU Inc公司; 30+氨基酸自动分析仪 英国Biochrom科技有限公司; RE-52A旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; TRZ-6589凯氏定氮仪 北京市海润仪器科技有限公司; 6530K冷冻离心机 美国Sigma公司; Ethos微波辅助萃取仪 意大利Milestone公司。

1.3 方法

1.3.1 猪肉蛋白质及脂肪含量的测定

参照GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法。0.502 g绞碎的猪肉在微波消仪中消解, 消解液用凯氏定氮仪蒸馏吸收, 馏出液用盐酸标准溶液滴定。同时做试剂空白实验。2次平行测定, 得蛋白质含量为(21.72 $\pm$ 0.27)%。

参照GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》中索氏提取法。80.104 g绞碎的猪肉加入索氏提取器中, 用乙醚在水浴40℃条件下回流抽提10 h, 抽提液旋转蒸发除乙醚, 称量脂肪质量, 得脂肪含量为2次平行测定, 得脂肪含量为(1.79 $\pm$ 0.08)%。

1.3.2 猪肉氨基酸含量测定

氨基酸样品制备: 在耐压密封管中加入0.502 g搅碎的猪肉, 25 mL 6 mol/L盐酸, 搅拌均匀, 用液氮冷冻后抽真空, 冲入高纯氮气, 在氮气保护条件下封管。在110℃恒温干燥箱中水解24 h, 待水解液冷却后, 旋转蒸发除去样品里的盐酸, 用氨基酸分析专用的pH 2.2样品缓冲溶液定容到50 mL, 再用0.45 μ m的膜过滤, 待氨基酸分析仪上测定。

氨基酸标准曲线的绘制：根据30+氨基酸自动分析仪使用说明，以上样缓冲液为溶剂配制17种氨基酸的混合标准品溶液，以氨基酸标准品含量（mg/mL）为纵坐标，所对应的峰面积为横坐标绘制标准曲线，根据标准曲线方程计算猪肉样品中的氨基酸的含量，结果表示为mg/mL。

氨基酸分析仪条件：Biochrom Na型阳离子交换树脂（4.6 μm $\times$ 200 mm，5 nm）；脯氨酸测定波长440 nm，其他氨基酸波长570 nm；进样量20 μL ，茚三酮溶液流速25 mL/h；缓冲液流速35 mL/h。

1.3.3 猪肉脂肪酸的测定

称取约60 mg上述提取脂肪，参照GB/T 17376—2008《动植物油脂：脂肪酸甲酯制备》中的酯交换法将其进行甲酯化，以十三烷酸甲酯为内标，GC-MS分析，平行测定2次。

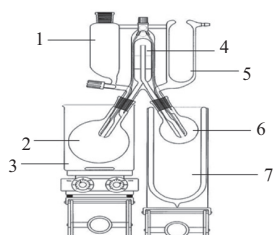
GC条件：毛细管柱为HP-5MS（30 m $\times$ 0.25 mm，0.25 μm ）；起始柱温50 $^{\circ}\text{C}$ ，9 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至140 $^{\circ}\text{C}$ ，然后3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至280 $^{\circ}\text{C}$ ，280 $^{\circ}\text{C}$ 后运行3 min；载气为He（纯度为99.999%）；流速1 mL/min。

MS条件：电子电离源；能量70 eV；离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$ ；四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$ ；全扫描模式；质量扫描范围50~450 u；辅助加热线温度280 $^{\circ}\text{C}$ ；溶剂延迟3 min；进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$ ；分流模式；分流比20:1；进样1 μL 。

1.3.4 猪肉汤的制备

将猪后腿肉去除脂肪、皮和结缔组织，切成0.2 cm见方的小块。将200 g肉和200 mL去离子水加入1 000 mL的三口圆底烧瓶中，电动机械搅拌，使用市场上购买的汽车防冻液为冷媒，在-1 $^{\circ}\text{C}$ 条件下回流冷凝，油浴温度120 $^{\circ}\text{C}$ ，分别煮1、2、3、4 h。将煮好的肉汤进行口尝感官评价，发现煮3 h时猪肉汤风味较好，具有肉汤汁感、鲜香、甜的味道，肉香气、清香、脂肪香，故将3 h作为最佳水煮时间。

1.3.5 SAFE萃取



1.滴液漏斗；2.蒸馏瓶；3.恒温水槽；
4.蒸馏头；5.冷阱；6.样品收集瓶；7.冷阱。

图1 SAFE装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of the SAFE distillation apparatus

200 g猪肉水煮3 h后加入7 g NaCl，搅拌均匀，离心将肉汤与肉渣分离。肉汤每次200 mL二氯甲烷（重蒸）萃取，共萃取3次，合并萃取液。如图1所示，将萃取液

通过SAFE装置处理，恒温水槽温度及蒸馏头夹层回流水温度均为25 $^{\circ}\text{C}$ ，馏出液液氮冷却，系统内压力 10^{-5} Pa。收集液无水 Na_2SO_4 过夜干燥，Vigreux柱浓缩至1.5 mL，再氮吹浓缩至0.3 mL，待GC-MS分析。

1.3.6 GC-MS分析

GC条件：毛细管柱为DB-WAX（30 m $\times$ 0.25 mm，0.25 μm ）；柱温40 $^{\circ}\text{C}$ ，2.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至180 $^{\circ}\text{C}$ ，然后10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至230 $^{\circ}\text{C}$ ，230 $^{\circ}\text{C}$ 后运行2 min；载气为He，流速1 mL/min。

MS条件：电子电离源；能量70 eV；离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$ ；四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$ ；全扫描模式；质量扫描范围50~450 u；辅助加热线温度230 $^{\circ}\text{C}$ ；溶剂延迟4 min；进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$ ；不分流模式；进样2 μL 。

$\text{C}_5\sim\text{C}_{23}$ 的正构烷烃在相同GC-MS条件下进样，按下式计算保留指数（retention indices，RI）。

$$\text{RI} = 100 \times \left(n + \frac{\lg t_i - \lg t_n}{\lg t_{(n+1)} - \lg t_n} \right)$$

式中： $\lg t_n$ 和 $\lg t_{(n+1)}$ 分别为碳数为 n 、 $n+1$ 的正构烷烃保留时间的对数； $\lg t_i$ 是保留时间在 t_n 和 $t_{(n+1)}$ 之间的第 i 个化合物的保留时间的对数。

1.3.7 GC-O分析

GC-O系统由Agilent 7890A GC装置及嗅闻装置组成。毛细管柱为HP-5MS（30 m $\times$ 0.25 mm，0.25 μm ）；升温程序：柱温40 $^{\circ}\text{C}$ ，以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至230 $^{\circ}\text{C}$ ；载气为氮气（纯度为99.999%）；流速1 mL/min；进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$ ；不分流模式；进样2 μL 。

洁净空气加湿后与柱后流出物混合进入人的鼻子。样品用二氯甲烷按1:2、1:4、1:8、1:16等进行逐级稀释，进行GC-O分析，直到嗅闻口检测不到气味时停止。每种香味化合物的最高稀释倍数为FD。

GC-O分析由3名评价员完成，气味描述由3名评价员协商确定，FD值由3名评价员嗅闻到的最大稀释倍数求平均值所得。通过操作软件记录每个气味活性区的RI、气味特征。根据线性RI、气味特征、MS及标准品比对鉴定化合物。

2 结果与分析

2.1 猪肉的氨基酸组成

由表1可知，所用猪肉氨基酸含量是176.98 mg/g肉，17种氨基酸中谷氨酸、天冬氨酸、赖氨酸相对含量最高，分别为16.88%、9.91%、9.43%，其中谷氨酸是猪肉中鲜味的主要来源；含硫氨基酸为甲硫氨酸、半胱氨酸，相对含量最低，分别为2.62%、0.82%，它们是猪肉汤中含硫风味物质的主要来源。

吴妹英等^[17]分析大约克猪肉，主要氨基酸也为谷氨酸、天冬氨酸、赖氨酸，相对含量分别为13.53%、10.05%、9.75%，与本实验结果相近。

表 1 猪肉氨基酸组成
Table 1 Amino acid composition of raw pork

项目	氨基酸种类	标准曲线回归方程及相关系数	含量/(mg/g肉)	相对含量/%
鲜、甜味氨基酸	天冬氨酸	$y=0.010\ 2x-1.903\ 5$, $R^2=0.999\ 2$	17.54 ± 0.21	9.91
	苏氨酸	$y=0.009\ 8x-1.677\ 1$, $R^2=0.999\ 3$	8.44 ± 0.09	4.77
	丝氨酸	$y=0.009\ 1x-0.842\ 4$, $R^2=0.999\ 4$	7.42 ± 0.11	4.19
	谷氨酸	$y=0.009\ 5x-1.827\ 0$, $R^2=0.999\ 0$	29.87 ± 0.52	16.88
	脯氨酸	$y=0.023\ 9x-1.328\ 2$, $R^2=0.999\ 1$	6.84 ± 0.62	3.86
	甘氨酸	$y=0.008\ 6x-1.224\ 4$, $R^2=0.999\ 5$	8.78 ± 0.03	4.96
	丙氨酸	$y=0.009\ 5x-0.057\ 6$, $R^2=0.999\ 2$	10.49 ± 0.14	5.93
	小计		89.38 ± 1.72	50.50
	缬氨酸	$y=0.010\ 2x-0.955\ 7$, $R^2=0.999\ 3$	8.60 ± 0.07	4.86
	异亮氨酸	$y=0.010\ 7x-1.483\ 1$, $R^2=0.999\ 3$	7.99 ± 0.06	4.51
苦味氨基酸	亮氨酸	$y=0.009\ 0x-0.100\ 5$, $R^2=0.999\ 5$	14.56 ± 0.10	8.23
	酪氨酸	$y=0.008\ 8x-0.304\ 9$, $R^2=0.999\ 7$	6.37 ± 0.20	3.60
	苯丙氨酸	$y=0.008\ 7x-0.514\ 0$, $R^2=0.999\ 7$	7.68 ± 0.19	4.34
	组氨酸	$y=0.008\ 2x-1.632\ 3$, $R^2=0.999\ 1$	7.81 ± 0.02	4.41
	赖氨酸	$y=0.008\ 1x-1.614\ 1$, $R^2=0.999\ 0$	16.68 ± 0.06	9.43
	精氨酸	$y=0.008\ 4x-0.060\ 2$, $R^2=0.999\ 7$	11.83 ± 0.09	6.68
	甲硫氨酸	$y=0.009\ 3x-1.844\ 8$, $R^2=0.999\ 2$	4.63 ± 0.03	2.62
	小计		86.15 ± 0.82	48.68
其他	半胱氨酸	$y=0.008\ 2x+0.314\ 6$, $R^2=0.999\ 1$	1.45 ± 0.06	0.82
总量			176.98 ± 2.60	100

2.2 猪肉的脂肪酸组成分析

表 2 猪肉脂肪酸组成
Table 2 Fatty acid compositions of raw pork

脂肪酸种类	含量/(mg/g肉)	相对含量/%
C _{8:0} (辛酸)	0.12 ± 0.03	0.02
C _{10:0} (癸酸)	1.47 ± 0.37	0.22
C _{12:0} (十二烷酸)	0.66 ± 0.10	0.10
C _{14:0} (豆蔻酸)	11.41 ± 1.20	1.71
C _{15:0} (十五烷酸)	0.29 ± 0.03	0.04
C _{16:0} (棕榈酸)	164.84 ± 15.58	24.70
C _{18:0} (硬脂酸)	68.09 ± 5.48	10.20
C _{20:0} (花生酸)	0.96 ± 0.10	0.14
C _{16:1} (棕榈油酸)	34.87 ± 3.58	5.22
C _{17:1} (十七碳烯酸)	1.79 ± 0.14	0.27
C _{18:1} (油酸)	316.26 ± 27.71	47.38
C _{19:1} (十九烯酸)	0.46 ± 0.07	0.07
C _{20:1} (二十碳烯酸)	6.56 ± 0.57	0.98
C _{18:2} (亚油酸)	51.28 ± 4.47	7.68
C _{18:3} (亚麻酸)	0.18 ± 0.01	0.03
C _{20:2} (二十碳二烯酸)	2.34 ± 0.31	0.35
C _{20:3} (二十碳三烯酸)	1.04 ± 0.11	0.16
C _{20:4} (二十碳四烯酸)	3.86 ± 0.28	0.58
C _{22:5} (二十二碳五烯酸)	1.01 ± 0.12	0.15
饱和脂肪酸合计	247.84 ± 22.89	37.13
单不饱和脂肪酸合计	359.94 ± 32.07	53.92
多不饱和脂肪酸合计	59.71 ± 5.03	8.95
总计	667.49 ± 60.26	100

由表2可知, 在所用猪后腿肉中共检测出19种脂肪酸, 总含量为667.49 mg/g肉, 主要由单不饱和脂肪酸(5种)组成, 达53.92%; 其次是饱和脂肪酸(8种), 占37.13%; 多不饱和脂肪酸(6种)的含量最低, 为8.95%。

饱和脂肪酸主要为棕榈酸和硬脂酸, 分别为24.70%、10.20%; 不饱和脂肪酸中油酸含量最高, 为47.38%, 而多不饱和脂肪酸中亚油酸含量最高, 为7.68%。这与黄业传等^[18]在荣昌猪肉及吴妹英等^[17]在大约克猪肉中测定的脂肪酸组成结果一致。

2.3 猪肉汤挥发性成分的GC-MS分析

表 3 猪肉汤SAFE-GC-MS分析结果
Table 3 Analytical results of pork broth by SAFE-GC-MS

化合物	RI	相对含量/%	定性方式
含硫化合物			
二甲基三硫醚 dimethyl trisulfide	1 351	0.08	MS、RI
2-乙酰基噻唑 2-acetylthiazole	1 596	1.21	MS、RI
3-噻吩甲醛 3-thiophenecarboxaldehyde	1 627	0.30	MS、RI
5-甲基-2-噻吩甲醛 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde	1 658	0.33	MS、RI
苯并噻唑 benzothiazole	1 880	0.17	MS、RI
4-甲基-5-噻唑乙醇 4-methyl-5-thiazoleethanol	2 229	0.60	MS、RI
小计		2.69	
含氮杂环			
2-乙基-3-甲基吡嗪 2-ethyl-3-methyl-pyrazine	1 256	2.09	MS、RI
吡啶 pyridine	1 171	1.84	MS、RI
2-吡咯烷酮 2-pyrrolidinone	1 969	0.27	MS、RI
2-哌啶酮 2-piperidinone	2 063	0.34	MS、RI
小计		4.54	
含氧杂环			
2-戊基呋喃 2-pentyl-furan	1 219	0.50	MS、RI
2-呋喃甲醇 2-furanmethanol	1 617	0.34	MS、RI
5-乙基-2-(3H)-呋喃酮 5-ethylidihydro-2(3H)-furanone	1 646	0.22	MS、RI
2-(5H)-呋喃酮 2(5H)-furanone	1 695	0.42	MS、RI
四氢-6-甲基-2H-吡喃-2-酮 tetrahydro-6-methyl-2H-pyran-2-one	1 728	0.58	MS、RI
小计		2.06	
醛类			
戊醛 pentanal	1 001	4.91	MS、RI
己醛 hexanal	1 086	3.14	MS、RI
庚醛 heptanal	1 177	0.83	MS、RI
辛醛 octanal	1 272	2.41	MS、RI
(E)-2-庚烯醛 (E)-2-heptenal	1 300	1.21	MS、RI
壬醛 nonanal	1 369	1.42	MS、RI
苯甲醛 benzaldehyde	1 479	2.42	MS、RI
(E)-2-壬烯醛 (E)-2-nonenal	1 496	1.96	MS、RI
(E,E)-2,4-壬二烯醛 (E,E)-2,4-nonadienal	1 508	1.37	MS、RI
苯乙醛 benzeneacetaldehyde	1 590	3.63	MS、RI
(E,E)-2,4-癸二烯醛 (E,E)-2,4-decadienal	1 753	0.78	MS、RI
十四醛 tetradecanal	2 087	1.79	MS、RI
3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldehyde		1.07	MS
小计		26.94	
酮类			
3-甲基-2-环戊烯-1-酮 3-methyl-2-cyclopenten-1-one	1 472	0.03	MS、RI
2-十一酮 2-undecanone	1 562	0.87	MS、RI
小计		0.90	
醇类			
1-戊醇 1-pentanol	1 249	3.72	MS、RI
1-辛烯-3-醇 1-octen-3-ol	1 424	1.41	MS、RI
1-庚醇 1-heptanol	1 429	0.78	MS、RI
2,3-丁二醇 2,3-butanediol	1 549	0.41	MS、RI

续表3

化合物	RI	相对含量/%	定性方式
苯甲醇 alcohol benzyl	1 817	1.40	MS、RI
2-苯氧基乙醇 2-phenoxy-ethanol	2 073	0.07	MS、RI
小计		7.80	
酸类			
丁酸 butanoic acid	1 543	0.21	MS、RI
己酸 hexanoic acid	1 801	6.28	MS、RI
庚酸 heptanoic acid	1 848	0.16	MS、RI
小计		6.65	
酯类			
苯甲酸甲酯 benzoic acid, methyl ester	1 578	1.05	MS、RI
癸酸乙酯 decanoic acid, ethyl ester	1 951	0.59	MS、RI
十六烷酸甲酯 hexadecanoic acid, methyl ester	2 166	0.96	MS、RI
小计		2.60	
烃类			
甲苯 toluene	1 046	0.91	MS、RI
乙苯 ethylbenzene	1 127	1.13	MS、RI
对二甲苯 <i>p</i> -xylene	1 134	0.23	MS、RI
1,3,5-三氧杂环己烷 1,3,5-trioxane	1 159	8.81	MS、RI
<i>D</i> -柠檬烯 <i>D</i> -limonene	1 191	0.33	MS、RI
丙基苯 propyl-benzene	1 203	0.23	MS、RI
1-乙基-3-甲基苯 1-ethyl-3-methyl-benzene	1 210	1.07	MS、RI
邻伞花烃 <i>O</i> -cymene	1 253	0.81	MS、RI
1-甲基-3-丙基苯 1-methyl-3-propyl-benzene	1 284	0.65	MS、RI
1-乙基-3,5-二甲苯 1-ethyl-3,5-dimethyl-benzene	1 303	1.17	MS、RI
2-乙基-1,4-二甲苯 2-ethyl-1,4-dimethyl-benzene	1 325	0.64	MS、RI
1-乙基-2,3-二甲苯 1-ethyl-2,3-dimethyl-benzene	1 339	1.51	MS、RI
1,3-二乙基-5-甲基苯 1,3-diethyl-5-methyl-benzene	1 358	0.28	MS、RI
1,2,3,5-四甲基苯 1,2,3,5-tetramethyl-benzene	1 392	2.69	MS、RI
1,2,4,5-四甲基苯 1,2,4,5-tetramethyl-benzene	1 409	6.01	MS、RI
2,4-二乙基-1-甲基苯 2,4-diethyl-1-methyl-benzene	1 418	0.31	MS、RI
1,2,3,4-四甲基苯 1,2,3,4-tetramethyl-benzene	1 448	3.30	MS、RI
2-甲基萘 2-methyl naphthalene	1 786	0.74	MS、RI
1-甲基萘 1-methyl naphthalene	1 812	1.48	MS、RI
(1-丁基辛基)-苯 (1-vutyloctyl)-benzene	1 896	5.98	MS、RI
萘 naphthalene	1 676	1.47	MS、RI
(1-丙基壬基)-苯 (1-propylnonyl)-benzene	1 918	1.27	MS、RI
小计		41.02	
其他			
苯甲醚 anisole	1 319	0.49	MS、RI
<i>N,N</i> -二甲基酰胺 <i>N,N</i> -dibutyl-formamide	1 717	0.28	MS、RI
3-甲基丁酰胺 3-methyl-butanamide	1 869	0.64	MS、RI
苯酚 phenol	1 940	0.68	MS、RI
对甲酚 <i>p</i> -cresol	2 013	0.96	MS、RI
二甲基亚砷 dimethyl sulfone	1 839	1.78	MS、RI
小计		4.83	

注：MS.质谱库检索鉴定；RI.与文献核对RI鉴定。下同。

由表3可知，通过SAFE-GC-MS分析，从猪肉汤中共鉴定出70种化合物，相对含量由高到低为烃类（22种、41.02%）、醛类（13种、26.94%）、醇类（6种、7.80%）、酸类（3种、6.65%）、其他类（6种、4.83%）、含氮杂环（4种、4.54%）、含硫化合

物（6种、2.69%）、酯类（3种、2.60%）、含氧杂环类（5种、2.06%）、酮类（2种、0.90%）。烃类相对含量最高，但一般对肉的香气贡献不大。

含硫化合物主要包括噻唑类（3种）、噻吩类（2种）、硫醚类（1种），其中2-乙酰基噻唑、4-甲基-5-噻唑乙醇、5-甲基-2-噻吩甲醛、3-噻吩甲醛含量较高；含氮杂环主要为2-乙基-3-甲基吡嗪、吡啶、2-哌啶酮、2-吡咯烷酮；含氧杂环化合物主要为四氢-6-甲基-2*H*-吡喃-2-酮、2-戊基呋喃、2（5*H*）-呋喃酮。

醛类相对含量仅次于烃类，其中戊醛相对含量最高，其次是己醛、苯乙醛等；酮类物质鉴定出2种，为3-甲基-2-环戊烯-1-酮、2-十一酮。醇类物质中1-戊醇、1-辛烯-3-醇、苯甲醇相对含量较高；酸类、酯类中相对含量较高的为己酸、苯甲酸甲酯。

2.4 猪肉汤挥发性成分的GC-O鉴定结果

SAFE法提取的猪肉汤进行GC-O-AEDA分析，结果见表4。

表4 猪肉汤中鉴定出的香气活性物质
Table 4 The aroma-active compounds identified from pork broth

化合物	RI ^a	气味 ^b	log ₁₀ FD	定性方式
含硫化合物、杂环化合物				
甲硫醇	425	臭鸡蛋	6	RI、S、odor
2-甲基-3-呋喃硫醇	860	水煮肉	2	RI、S、odor
3-甲硫基丙醛+糠硫醇	914	白水煮肉，煮土豆	18	RI、S、odor
二甲基三硫醚+2-噻吩硫醇	951	酱肉，煮菜叶，煮土豆，焖米饭味	18	RI、S、odor
3-噻吩甲醛	1 024	青草味	2	MS、RI、S、odor
2-乙酰基噻唑+2-乙基-3-甲基吡嗪	1 046	芝麻香	4	MS、RI、S、odor
γ -癸内酯	1 421	水煮冰糖	17	RI、S、odor
双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚	1 578	水煮肉	9	RI、S、odor
醛类				
戊醛	712	青草味	5	MS、RI、S、odor
己醛	827	青草味	6	MS、RI、S、odor
庚醛	872	水果甜	18	MS、RI、S、odor
(<i>E</i>)-2-庚烯醛	974	葱香，脂香	0	MS、RI、S、odor
壬醛	1 109	水果甜	12	MS、RI、S、odor
苯乙醇	1 125	玫瑰香	2	MS、RI、S、odor
(<i>E</i>)-2-壬烯醛	1 184	黄瓜，脂香	18	MS、RI、S、odor
(<i>E,E</i>)-2,4-壬二烯醛	1 249	石膏，臭虫，脂香	5	MS、RI、S、odor
(<i>E,E</i>)-2,4-癸二烯醛	1 334	茴香，脂香	17	RI、S、odor
(<i>E</i>)-2-十一烯醛	1 356	石膏，臭虫，脂香	0	RI、S、odor
酮类				
3-羟基-2-丁酮	680	酸奶	10	RI、S、odor
2-十一酮	1 287	茴香，香菜叶，脂香	17	MS、RI、S、odor
醇类				
1-辛烯-3-醇	1 000	蘑菇	12	MS、RI、S、odor
其他				
未知	550	臭鸡蛋	6	—
未知	755	青草，汽油味	0	—
未知	841	青草味	9	—
未知	925	汽油味	0	—
未知	1 133	芝麻香，葱香	6	—
未知	1 163	芝麻香，香油香	15	—
未知	1 423	石膏，脂香	0	—

注：a. GC-O嗅闻的RI；b. GC-O嗅闻的气味描述；odor.根据气味特征鉴定；S.通过与标准品的气味、MS、及RI对比鉴定。

由表4可知,SAFE法提取的猪肉汤挥发性成分中,含有29个气味活性区,24种物质被鉴定出来。从所嗅闻的气味特征上看,主要包括清香、甜香、肉香、脂香等,其中肉香、脂香香型检测出的化合物较多,其次为清香。

FD越大,表明对猪肉汤的香气贡献也就越大,FD值较高的($\log_2\text{FD} \geq 9$)化合物由高到低分别为3-(甲硫基)丙醛、糠硫醇、二甲基三硫醚、2-噻吩硫醇、 γ -癸内酯、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚等、庚醛、(*E*)-2-壬烯醛、(*E,E*)-2,4-癸二烯醛、2-十一酮、壬醛、1-辛烯-3-醇、3-羟基-2-丁酮等,主要为含硫化合物及脂肪族醛类化合物。

$\log_2\text{FD} \leq 2$ 的化合物有(*E*)-2-庚烯醛、(*E*)-2-十一烯醛、2-甲基-3-呋喃硫醇、3-噻吩甲醛、苯乙醛,它们对猪肉汤的香气贡献相对较小。2-甲基-3-呋喃硫醇、3-噻吩甲醛是构成肉香味的常见物质;尤其是2-甲基-3-呋喃硫醇,是肉味香精配方的重要原料,此处检测到的FD不高,与其在肉汤中二聚形成双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚有关。

3 讨论与结论

炖煮猪肉汤具有肉汤汁感、鲜香、甜的味道,肉香气、清香、脂肪香。根据表1结果,所用猪肉中鲜甜味氨基酸占氨基酸总量的半数以上,其中谷氨酸的含量最高。炖煮猪肉汤的味道,推测可能是由于炖煮过程中释放出较大比例的鲜甜味氨基酸或由鲜甜味氨基酸组成的多肽造成。Ishibashi等^[19]在成熟火腿中鉴定出缬氨酸-谷氨酸、脯氨酸-谷氨酸、脯氨酸-丙氨酸-谷氨酰胺、天冬酰胺-甘氨酸-甘氨酸4种具有肉的鲜味的多肽。

在炖煮过程中,释放出的氨基酸、多肽将发生热降解以及与还原糖发生美拉德反应,产生挥发性含硫化合物、杂环化合物,形成肉的基本香味。从猪肉汤中鉴定出2-甲基-3-呋喃硫醇、3-(甲硫基)丙醛、糠硫醇、2-噻吩硫醇、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚等含硫香气活性物质,具有芝麻香、煮肉香、煮土豆香等气味特征,这些化合物由于含量极低,GC-MS分析并未检测到,它们是通过与标准品比对RI、气味特征鉴定出来。甲硫氨酸Strecker降解产生甲硫醇,甲硫醇进一步与脂肪氧化降解产生的丙烯醛反应可生成3-(甲硫基)丙醛。3-(甲硫基)丙醛有煮土豆的香气。Christlbauer等^[16]通过SAFE-GC-O从先油炸再高压蒸煮的牛肉汤、猪肉汤中发现3-(甲硫基)丙醛FD值为2 048,是重要的香气活性物质。

2-甲基-3-呋喃硫醇可由半胱氨酸降解产生的 H_2S 与葡萄糖或核糖脱水生成的5-甲基-4-羟基-3(2*H*)呋喃酮反应产生^[20],2分子的2-甲基-3-呋喃硫醇进一步缩合可生

成双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚,该物质有水煮肉的香气, $\log_2\text{FD}=9$,是肉汤中的重要风味贡献物质。Gasser等^[21-22]报导双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚,是熟牛肉、鸡肉、猪肉中肉香味的主要贡献物质,其阈值很低,仅为0.02 ng/kg。糠硫醇可由美拉德反应产生的糠醛与含硫氨基酸降解产生的 H_2S 进一步反应形成。Christlbauer等^[16]通过SAFE-GC-O曾在先油炸再高温水煮制备的猪肉汤中鉴定出糠硫醇。

2-噻吩硫醇($\log_2\text{FD}=18$)对炖煮猪肉香气有直接贡献,可能由含硫氨基酸降解产生的噻吩、 H_2S 进一步反应形成。3-噻吩甲醛可由含硫氨基酸降解产生的噻吩与脂肪酸氧化降解产生的甲醛进一步作用生成^[23]。2-乙酰基噻唑可由亚油酸产生的(*E,E*)-2,4-癸二烯醛与半胱氨酸降解产生的硫化氢反应生成;二甲基三硫可由甲硫氨酸降解生成的两分子甲硫醇与半胱氨酸降解产生的硫化氢反应形成。

含氮杂环化合物仅鉴定出2-乙基-3-甲基吡嗪,主要由苏氨酸、丝氨酸降解产生的 α -氨基酮缩合形成^[23]。吡嗪类化合物一般呈现出芝麻香、烤香等,在烤肉、深度油炸等高温处理的肉制品中易于形成吡嗪风味物质。在本实验的炖煮条件下,较难形成的吡嗪化合物,所以本实验仅鉴定出一种吡嗪。

γ -癸内酯($\log_2\text{FD}=17$)可由脂肪酸降解产生的羟基脂肪酸经环化反应生成^[23],宋焕禄^[24]通过动态顶空制样-气相色谱-嗅闻法,在金华火腿中发现 γ -癸内酯的存在。

在炖煮过程中,脂肪将发生氧化降解反应产生脂肪族的小分子醛、酮、醇、酸、酯等挥发性化合物,形成肉的特征风味。在所用猪肉中亚油酸、油酸是主要的不饱和脂肪酸,相对含量分别为7.68%、47.38%。戊醛、己醛、(*E*)-2-庚烯醛、(*E*)-2-壬烯醛、(*E,E*)-2,4-癸二烯醛,可由亚油酸氧化降解产生;壬醛、(*E*)-2-十一烯醛可由油酸氧化降解产生。1-辛烯-3-醇($\log_2\text{FD}=12$)可由二十碳四烯酸氧化降解产生。所用猪肉中二十碳四烯酸的相对含量占0.58%。Takakura等^[25]通过AEDA-GC-O分析牛肉膏,徐永霞等^[13]分析煮猪肉汤,也发现1-辛烯-3-醇是重要香气活性物质。3-羟基-2-丁酮、苯乙醛是通过美拉德反应形成的风味物质,苯乙醛具有玫瑰花的香气,来源于苯丙氨酸Strecker降解,刘笑生等^[14]通过GC-MS/GC-O鉴定出苯乙醛是金华火腿皮下脂肪中重要的香气活性物质。3-羟基-2-丁酮可来源于糖的降解。Raes等^[12]曾在烤牛肉中通过GC-MS检测到3-羟基-2-丁酮存在。

总之,通过SAFE提取,GC-MS、AEDA-GC-O分析,从炖煮猪肉汤中鉴定出24种香气活性物质,其中3-(甲硫基)丙醛、糠硫醇、二甲基三硫醚、2-噻吩硫醇、 γ -癸内酯、双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚、庚

醛、(E)-2-壬烯醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、2-十一酮、壬醛、1-辛烯-3-醇、3-羟基-2-丁酮, 由于FD较高($\log_2 \text{FD} \geq 9$), 认为是构成肉香味的重要成分, 它们均来源于猪肉炖煮过程中的美拉德反应与脂肪氧化降解反应。

参考文献:

- [1] 靳林溪, 潘翠芳, 王石, 等. “氧化鸡脂-半胱氨酸”反应体系的肉香味物质及其形成机制[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 1-6.
- [2] XIE Jianchun, SUN Baoguo, ZHENG Fuping, et al. Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig[J]. Food Chemistry, 2008, 109(3): 506-514.
- [3] CELIA R V, MARÍA D M C, MONTOSI F, et al. Gas chromatographic-olfactometric aroma profile and quantitative analysis of volatile carbonyls of grilled beef from different finishing feed systems[J]. Journal of Food Science, 2012, 77(6): 240-246.
- [4] MA Qinli, HAMID N, BEKHIT A E D, et al. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology[J]. Microchemical Journal, 2013, 111(14): 16-24.
- [5] INSAUSTI K, GOÑI V, PETRI E, et al. Effect of weight at slaughter on the volatile compounds of cooked beef from Spanish cattle breeds[J]. Meat Science, 2005, 70(1): 83-90.
- [6] SCHINDLER S, KRINGS U, BERGER R G, et al. Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated[J]. Meat Science, 2010, 86(2): 317-323.
- [7] JAYASEN D, AHN D U, NAM K C, et al. Flavour chemistry of chicken meat: a review[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2013, 26(5): 732-742.
- [8] WATKINS P J, ROSE G, WARNER R D, et al. A comparison of solid-phase microextraction (SPME) with simultaneous distillation-extraction (SDE) for the analysis of volatile compounds in heated beef and sheep fats[J]. Meat Science, 2012, 91(2): 99-107.
- [9] KIM H, CADWALLADER K R, KIDO H, et al. Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef[J]. Meat Science, 2013, 94(2): 170-176.
- [10] RIVAS-CAÑEDO A, JUEZ-OJEDA C, NUÑEZ M, et al. Effects of high-pressure processing on the volatile compounds of sliced cooked pork shoulder during refrigerated storage[J]. Food Chemistry, 2011, 124(3): 749-758.
- [11] RIVAS-CAÑEDO A, JUEZ-OJEDA C, NUÑEZ M, et al. Volatile compounds in low-acid fermented sausage “espetec” and sliced cooked pork shoulder subjected to high pressure processing. A comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction[J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 18-26.
- [12] RAES K, BALCAEN A, DIRINCK P, et al. Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef[J]. Meat Science, 2003, 65(4): 1237-246.
- [13] 徐永霞, 陈清婵, 吴鹏, 等. 气相色谱-嗅闻技术鉴定清炖猪肉汤中的挥发性香气物质[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 274-277.
- [14] 刘笑生, 刘建斌, 刘梦雅, 等. SAFE与SDE法对金华火腿皮下脂肪气味活性物质研究[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(1): 40-46.
- [15] DUAN Yan, ZHENG Fuping, YANG Mengyun, et al. Analysis on volatile flavor compounds in Dezhou braised chicken by ASE-SAFE/GC-MS/GC-O[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 4(14): 224-230.
- [16] CHRISTLBAUER M, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in beef and pork vegetable gravies à la chef by application of the aroma extract dilution analysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(19): 9114-22.
- [17] 吴妹英, 曹长贤, 张力, 等. 不同品种猪肉脂肪酸和氨基酸含量[J]. 福建农林大学学报, 2009, 38(2): 166-170.
- [18] 黄业传, 李洪军, 吴照民, 等. 不同部位荣昌猪肉中脂肪含量和脂肪酸组成对比[J]. 食品科学, 2011, 32(22): 216-220.
- [19] ISHIBASHI N, SADAMORI K, YAMAMOTO O, et al. Bitterness of phenylalanine-and tyrosine-containing peptides (food & nutrition)[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1987, 51(12): 3309-3313.
- [20] HAHIDE F. 肉制品与水产品的风味[M]. 李洁, 朱国斌, 译. 2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 5-12.
- [21] GASSER U, GROSCH W. Identification of volatile flavour compounds with high aroma values from cooked beef[J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, 1988, 186(6): 489-494.
- [22] GASSER U, GROSCH W. Primary odorants of chicken broth[J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1990, 190(1): 3-8.
- [23] 夏延斌, 迟玉杰, 朱旗, 等. 食品风味化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 89-103.
- [24] 宋焕禄. 金华火腿关键香味化合物的鉴定及其形成途径初探[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 48-51.
- [25] TAKAKURAA Y, SAKAMOTO T, HIRAI S, et al. Characterization of the key aroma compounds in beef extract using aroma extract dilution analysis[J]. Meat Science, 2014, 97(1): 27-31.