

基于R-型聚类分析 的金华火腿主导风味的识别

刘成林, 郇延军, 孙敬, 钱灵燕

(江南大学 食品学院, 农产品加工与贮藏重点实验室, 江苏无锡 214122)

摘要: 为了弄清金华火腿的主导风味成分, 随机取5条不同等级金华火腿的股二头肌为样品, 利用固相微萃取 (SPME) 和气质联用 (GC/MS) 系统进行风味成分研究。结果发现, 四级火腿中共检测到116种成分, 在1-4级火腿中分别检出84, 84, 83和92种成分。经过设定类群数目进行R-型聚类分析, 最终得到13种主导风味成分, 分别为: 丁酸、己醛、丁酸乙酯、乙酸、戊醛、2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、丙酮、3-甲基丁酸、2,3-丁二醇、2-甲基丙酸、苯酚和丙酸。

关键词: 金华火腿; 风味; 聚类分析; 树状图

Study on Jinhua Ham Dominant Flavor Compositions by R-cluster Analysis Method

LIU Chenglin, HUAN Yanjun, SUN Jing, QIAN Lingyan

(The State Key Laboratory of Storage and processing of agricultural products,
School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to analyze Jinhua ham dominant flavor compositions, flavor studying of different grades Jinhua ham was carried out under a SPME (solid phase microextraction)-GC/MS system, with biceps femoris as samples that were taken out randomly from 5 Jinhua hams of different grades. Results showed that 116 flavors were detected in four grades hams, 84 flavors were detected in grade 1 Jinhua ham, and 84 in grade 2, 83 in grade 3, 92 in grade 4, respectively. We got 13 flavor components using R-cluster analysis by setting the number of clusters finally, which were butyric acid, hexanal, ethyl butyrate, ethanoic acid, pentanal, 2-methyl butyraldehyde, 3-methyl butyraldehyde, acetone, 3-methyl-butanoic acid, 2,3^o butanediol, 2-methyl propionic acid, phenol, and propionic acid.

Key words: Jinhua ham; flavor; cluster analysis; tree-map

中图分类号: TS201 文献标识码: B 文章编号: 1001-8123(2008)11-0069-05

风味是干腌火腿最重要的质量指标, 是干腌火腿千百年来长盛不衰并深受消费者喜爱的重要原因^[1]。在较长的干腌火腿生产过程中, 脂肪、蛋白质等风味前体物质在各种因素的作用下发生了酶促或非酶

变化, 形成了众多风味成分。金华火腿是我国著名的传统肉制品, 以色、香、味、形“四绝”驰名中外, 在世界著名火腿已逐步实现工艺科学化, 生产工业化今天, 国内金华火腿的加工仍主要停留在手

收稿日期: 2008-09-19

基金项目: 国家自然科学基金项目, 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BAD05A03)

作者简介: 刘成林: 硕士研究生, 江南大学 食品学院

通讯作者: 郇延军: 副教授, 工学博士。E-mail: liuchenglin0101@163.com

工操作、作坊式生产的原始生产状态,由于金华火腿传统工艺生产周期长,自然条件依赖性强,生产和管理方式粗放等,产品质量难以得到保障^[2-6]。国内一些企业已经开始尝试向大规模产业化生产转变,但工业化生产的金华火腿与传统工艺的金华火腿在风味等方面仍有差距,实际上,火腿的综合风味就是由多种特征风味共同作用形成的。每一种单一的特征风味都是由一大类相似的化学反应形成,而每一类化学反应又都有各自的反应条件,受生产工艺参数的调控。因此,需要对金华火腿的风味形成机理进行深入研究,找出特征风味的主导风味成分,揭示传统工艺内在的科学性,指导实际生产。

近年来有关金华火腿风味物质的研究逐渐增多,但是大多数的研究仍停留在风味物质的检测和分离上,而金华火腿主导风味成分的研究报道较少^[2,3,7]。原因在于金华火腿风味形成过程的复杂性的和风味成分组成的复杂性,很难找到合适的研究方法。本研究尝试采用固相微萃取和气质联用分析不同等级金华火腿的风味成分,用聚类分析方法对金华火腿的风味成分进行逐一归类,探索用R-型聚类分析识别金华火腿主导风味成分的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

金华火腿在浙江省食品工业公司金鑫火腿厂按传统工艺生产。产品按公司火腿分级方法^[9]分为1、2、3三个级别,另取有异味的腿(俗称等外腿)作为4级腿。从已分级的产品中,按级别随机取5条腿的股二头肌作为样品进行风味成分分析。样品取出后,立即真空封口,于-40℃冻藏,直至风味分析。

1.2 风味物质提取方法

样品于实验环境温度下(12~15℃)迅速剪成2~3mm大小的颗粒,取15.0g立即装于萃取小瓶(15cm×1cm i.d.)中,采用顶空固相微萃取(headspace-solid phase microextraction, SPME)方法进行风味成分的提取。复合式Car/PDMS萃取头(涂膜厚75 μm)插入密封的萃取瓶内,萃取纤维暴露在瓶内样品上部的顶空中,于60℃萃取40min。

1.3 风味成分鉴定

利用气/质(GC/MS)联用仪(Trace GS, Finnigan)进行风味成分分析。质谱条件为:毛细

管柱为DB-5MS(J&W scientific),柱长60m,内径0.32mm,膜厚1μm。载气为氦气,进样口温度为250℃,平衡时间为0.25min,不分流时间为2min,柱流速为2 mL/min,分流比为10:1,采用三阶段阶梯式程序升温,初始温度40℃、保持1min,第一升温阶段从40℃至130℃,升温速率5℃/min,第二阶段从130℃至200℃,升温速率8℃/min,第三阶段从200℃至250℃,升温速率12℃/min,并于250℃保留7min。质谱条件为:离子化方式为EI+,发射电流200 μA,电子能量70eV,接口温度250℃,离子源温度200℃,质量扫描范围为33-450m/z,检测电压350V。利用计算机比较样品和MAINLIB, NISTDEMO, REPLIB, WILLEY四个标准谱库的质谱数据进行成分鉴定,利用峰面积进行风味成分定量。

1.4 统计分析

在统计学中,一个众值是随机变量的最频观测值,我们认为众值是属于同一类别模式的一个模式簇。聚类分析的目的,是把某些集合中的实验数据加以分类,而这些集合中每个集合的样本应当尽可能的相似,并且应与其它集合不同。具有某种相似变化规律的物质被归为一类,而一些具有特殊变化规律的少数物质将单独归类^[7-9],这些物质可能对整个样品的特性有重要影响。本研究对不同等级金华火腿的GC/MS分离鉴定的风味成分进行聚类分析,风味化合物的百分含量是影响风味效果的重要参数,根据研究对象的特点,应该选用R-型聚类,即对变量进行聚类。所得结果中具有特殊变化规律的物质的风味化合物认为是金华火腿的主导风味成分。相对于大多数人采用的线性映射的主成分分析法(PCA),聚类分析根据待判事物的性质相近程度进行归类,分类比较粗糙,但是解决分类问题效果较好。

数据处理采用SPSS16.0软件分析,变量与变量之间的距离为离差平方和,可分为几类的信息也是由外部输入计算机的,但分类阈值是由计算机自动根据数据情况和分类信息来定义的。

2 结果与分析

对4个等级金华火腿中的116种风味成分进行初步聚类,初始类群设为2个,依次增加类群数目,最大值为9个。当分为两个类群时,己醛和丁酸被单独归为第2类,其它114种风味化合物被归为第1类,第2类的两种风味化合物在不同等级金华火腿的含量变化呈现截然相反的情况,己醛是风味

成分中含量最大的化合物,随着等级的升高,含量呈现明显的增加趋势,己醛是 ω 6 不饱和脂肪酸的主要降解产物,在国外的相关研究中,关于己醛对干腌火腿的风味的作用有两种不同的看法,这可能是浓度不同所致。但总体认为己醛对干腌火腿的风味有重要贡献^[4-5]。丁酸具有刺激性臭味,极稀溶液也有汗臭味。酸败牛奶的臭味就是丁酸乙酯水解成丁酸的缘故,丁酸的含量随着等级的升高,急剧减少,因此限制丁酸的产生可能对最终风味的形成产生重要影响。当分为三个类群时,依然是这两种物质,并没有其它物质被分离出来,进一步说明这两种物质的含量的多少可能对整体风味产生重要影响。当分到5个类群时,丁酸乙酯和乙酸被分离出来,丁酸乙酯具有和丁酸相同的变化趋势,甚至在1级火腿中没有检测出来,但丁酸乙酯的阈值很低,可用作工业品不良气息的掩盖剂,具有清灵强烈的甜果香,凤梨、香蕉、苹果气息,乙酸在4个等级的金华火腿风味成分中,变化趋势并不明显。另外,丁酸乙酯和乙酸在浓香型白酒的四大酸、四大酯均有出现,在浓香型白酒的储存过程中丁酸乙酯是缓慢减少的,而乙酸是增多的^[14]。

分到7类群时,又有5种风味成分被分离出来,分别是:3-甲基丁酸、戊醛、2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、丙酮。3-甲基丁酸具有难闻的气味,在我国主要用以配制干酪和奶油香精,亦微量用于水果型香精。戊醛属于中直链醛,可能来源于不饱和脂肪酸如亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸氧化形成的过氧化物的裂解。支链醛如2-甲基丁醛和3-甲基丁醛则主要来自于氨基酸通过Strecker降解途径进行的氧化性脱氨和脱羧反应,由于支链醛感觉阈值很低,应该是重要风味贡献者,它们使产品具有愉快的甜味或水果味特征。丙酮是一种无色透明液体,有特殊的辛辣气味。一般认为酮类物质也是脂肪氧化的产物,但在毕红霞^[16]的相关研究中,在亮氨酸和核糖的反应模型中,不仅生成了3-甲基丁醛,还生成了丙酮,而且是第二大主要成分。

当分为9类群时,总共有15种风味化合物分离出来,本研究只分到9个类群,考虑到随着类群数的增多,一些影响程度相对较小的成分也会被逐一分离出来,后面的分析更加繁杂,而且准确性会有所下降,也不利于指导实际的生产,因此,进一步分类的意义不大。其它6种风味化合物为:乙醇、2,3-丁二醇、苯酚、丙酸、2-甲基丙酸、二甲基二硫化物。其中,乙醇具有特殊香味的液体,2,3-

丁二醇是商品酒的天然成分,有增加酒的甜味作用,一般认为醇类的感觉阈值高于醛,对风味的贡献可能小于醛。苯酚具有特殊气味(与浆糊的味道相似)。吸湿后,由结晶变成液体,有特臭。关于酚类对干腌火腿风味的影响的报道很少,本研究中只检测出三种酚类,在1级火腿中的含量最少,而酚类在烟熏肉制品中有着非常重要的作用。丙酸存在明显的变化趋势,火腿等级越高的,丙酸含量越少。虽然一般火腿中羧酸的种类和含量都很少,但所含的乙酸和丙酸足以使火腿呈酸味,并且会调整碱性化合物如吡嗪和胺对整体风味的影响,而这两种风味化合物在主导风味中均有体现。2-甲基丙酸在1级火腿中的含量最少,其对金华火腿整体风味的影响机理还不清楚。二甲基二硫化物是蛋氨酸通过Strecker降解形成的巯基化合物。表现脏袜子的不愉快气味。硫化物呈味阈值很低,是肉品风味的重要影响者,在1级火腿中的含量最少。

表1为初步聚类产生的15种重要风味成分在不同等级金华火腿股二头肌风味组成中的百分比,表2为初步聚类的类群关系,未注明类群的和未列出的为第1类。由表2可见,15种物质涵盖了醇、酚、醛、酮、酸、酯和含硫化合物7类物质,其中酸类和醛类占了绝大部分,既说明了金华火腿风味化合物组成的复杂性,也突出了酸类和醛类在其中的重要性。

表1 不同等级金华火腿股二头肌中的15种重要风味成分(%)

Table1 15 important flavor compounds in biceps femoris of different grades Jinhua ham (%)

序号	风味物质	等级1	等级2	等级3	等级4
24	乙醇	0.55±0.32 ^b	2.60±1.83 ^c	5.34±0.98 ^d	0.00±0.00 ^a
39	2,3-丁二醇	1.86±0.83 ^c	5.24±2.11 ^d	0.01±0.01 ^a	0.50±0.50 ^b
40	苯酚	0.32±0.09 ^a	4.32±2.14 ^d	4.94±1.17 ^c	2.86±1.13 ^b
44	戊醛	5.53±1.63 ^c	2.06±1.12 ^b	0.78±0.08 ^{ab}	0.55±0.33 ^a
45	己醛	22.02±1.86 ^d	17.09±1.06 ^c	10.95±4.55 ^b	6.22±1.93 ^a
54	2-甲基丁醛	5.82±1.16 ^c	2.55±1.58 ^b	0.88±0.31 ^a	0.52±0.16 ^a
56	3-甲基丁醛	7.88±1.80 ^d	4.39±4.14 ^c	2.04±0.33 ^b	0.83±0.36 ^a
60	丙酮	5.69±2.63 ^d	1.61±1.53 ^b	1.54±1.54 ^a	3.20±0.39 ^b
73	乙酸	6.28±0.47 ^b	8.42±2.06 ^c	7.67±0.83 ^c	5.00±0.28 ^b
74	丙酸	0.18±0.31 ^a	2.14±1.79 ^b	5.59±0.85 ^c	2.46±2.46 ^b
75	丁酸	0.62±0.55 ^a	14.63±1.25 ^d	22.04±4.70 ^e	15.29±7.93 ^d
78	2-甲基丙酸	0.39±0.17 ^a	4.56±6.93 ^c	1.58±0.48 ^b	1.89±1.66 ^b
80	3-甲基丁酸	4.44±0.62 ^c	2.75±0.97 ^b	3.95±0.77 ^b	6.84±4.18 ^d
89	丁酸乙酯	0.00±0.00 ^a	3.37±1.18 ^b	5.64±2.71 ^c	19.65±2.03 ^d
108	二甲基二硫化物	0.51±0.27 ^a	1.25±0.90 ^b	3.64±0.76 ^c	1.05±0.15 ^b

注:1)各成分的定量以检出物峰面积占总峰面积的百分含量计;

2)同行中标准差后具有不同角标者为差异显著($p < 0.05$)。

表2 116种风味成分聚类分析结果

Table2 Analyze of cluster Membership of 116 flavor components

Case	name	9 Clusters	8 Clusters	7 Clusters	6 Clusters	5 Clusters	4 Clusters	3 Clusters	2 Clusters
var024	乙醇	2	2						
var039	2,3-丁二醇	3							
var040	苯酚	2	2						
var044	戊醛	4	3	2	2				
var045	己醛	5	4	3	3	2	2	2	2
var054	2-甲基丁醛	4	3	2	2				
var056	3-甲基丁醛	4	3	2	2				
var060	丙酮	4	3	2	2				
var073	乙酸	6	5	4	4	3			
var074	丙酸	2	2						
var075	丁酸	7	6	5	5	4	3	3	2
var078	2-甲基丙酸	3							
var080	3-甲基丁酸	8	7	6	2				
var089	丁酸乙酯	9	8	7	6	5	4		
var108	二甲基二硫化物	2	2						

注：1) var为变量缩写；

2) 未填写的为第1类，依次类推。

进一步对这15种风味化合物进行聚类分析，使分类结果更加明确，同时简化聚类分析树状图，具体结果如表3、图1所示。从表3中可以看出，把15种风味化合物依次分成2到10个类群，丁酸与其它14种风味化合物的变化规律相似性最差，其次是己醛，随着分类类群的增多，丁酸乙酯等依次分离出来，最后分离出来的是乙醇和二甲基二硫化物，说明这两种化合物影响较小，总共剩下13种主导风味成分。

通过表3的聚类分析研究结果与郁延军的主成分分析的结果^[2]进行对比，发现有9种相同成分在两者研究结果中出现。因此可以得出以下结论：1) 两次研究结果的高重复性说明了聚类分析可以很好的处理这一类问题；2) 聚类分析结果中的4种风味化合物在主成分分析中并没有出现，而主成分分析得出的1-辛烯-3-醇也没有在聚类分析结果中出现，说明主成分分析法具有变差最优性、嫡达到极小值以及相关最优性等特点。但是PCA法属于线性映射，难以描述非线性映射关系，而聚类分析法可以弥补这一方面的不足。

图1为15种风味化合物聚类分析的树状图，每种化合物的线的长短代表该种化合物在整个风味组成中变化规律的相似性，根据每种化合物的线的长短可以这样分类：var044、var054、var056和var060为一类；var039和var078为一类；var040、var074、var024和var108为一类；var045、var073、var075、var080以及var089各分为一类。这样分类与分为8个类群时的结果一致。由于每次分为几个类群为人为设定，而分类阈值是由计算机自动根

据数据情况和分类信息来定义的，因此，最终的树状图不能完全反映每一次的聚类分析结果。从图中我们还可以得出，var075和var045的线最长，在整个研究对象中与其它化合物的变化规律相似性最差，其次是var089。图1能很好的反映各个风味化合物变化规律的相似性。

表3 15种风味成分聚类分析结果

Table3 Analyze of cluster membership of 15 flavor components

Case	name	10 Clusters	9 Clusters	8 Clusters	7 Clusters	6 Clusters	5 Clusters	4 Clusters	3 Clusters	2 Clusters
var075	丁酸	8	7	6	5	5	4	3	3	2
var045	己醛	5	4	4	3	3	2	2	2	2
var089	丁酸乙酯	10	9	8	7	6	5	4		
var073	乙酸	7	6	5	4	4	3			
var044	戊醛	4	3	3	2	2				
var054	2-甲基丁醛	4	3	3	2	2				
var056	3-甲基丁醛	6	5	3	2	2				
var060	丙酮	4	3	3	2	2				
var080	3-甲基丁酸	9	8	7	6	2				
var039	2,3-丁二醇	2	2	2						
var078	2-甲基丙酸	2	2	2						
var040	苯酚	3								
var074	丙酸	3								
var024	乙醇									
var108	二甲基二硫化物									

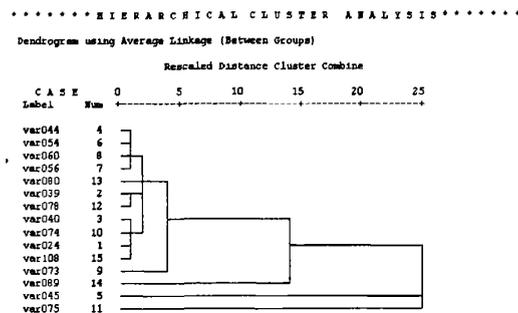


图1 15种风味成分聚类分析树状图

Fig.1 Cluster analysis tree-map of 15 flavor components

3 结论

为了找出金华火腿风味的主导成分，以4个不同等级的金华火腿为样品，利用固相微萃取(SPME)和气质联用(GC/MS)系统进行风味成分研究，根据各个化合物在不同等级金华火腿中的规律性变化，用金华火腿风味化合物的百分含量进行R-型聚类分析，初步聚类有15种主导风味成分被分离出来，再次经过简化，最终得到13种主导风味成分，分别为：丁酸、己醛、丁酸乙酯、乙酸、戊醛、2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、丙酮、3-甲基丁酸、2,3-丁二醇、2-甲基丙酸、苯酚和丙酸。

金华火腿中挥发性化合物的组成和来源极为复杂，它们对火腿风味的具体贡献更难以阐明^[6]。但有些挥发性化合物在不同等级金华火腿的含量呈现

出一定的变化规律,能够在一定程度上反映这些化合物对火腿风味的影响程度。通过聚类分析发现,具有某种相似变化规律的物质被归为一类的同时,一些具有特殊变化规律的少数物质将单独归类,本研究从不同等级金华火腿鉴定的116种挥发性化合物中,最终分离出13种主导风味化合物,这13种物质涵盖了醇、酚、醛、酮、酸和酯6类物质,其中酸类和醛类占了绝大部分,既说明了金华火腿风味化合物的复杂性和主导风味化合物的组成的合理性,也突出了酸类和醛类在其中的重要性。所得到的13种化合物,其中的绝大多数化合物在相关的研究中均有报道,普遍认为这些化合物对干腌火腿的风味有重要贡献。本研究的数据分析建立在风味化合物含量变化的基础上,从形成的多种风味化合物中寻找出金华火腿的主导风味成分。但一些含量低同时风味阈值也较低的化合物也可能对火腿整体风味起重要作用,因此R-型聚类分析不能全面反映各个化合物的风味贡献。目前这种数据分析方法在金华火腿中风味成分的研究应用较少,采用R-型聚类分析对金华火腿主导成分的研究具有实际意义。

参考文献

[1] Arnal, J. Gou, P. Compaposada, J. Dry-cured ham and fermented meat products: formulating for flavor. 49th ICoMST, in Brazil, 2003, 126-136.

[2] 邴延军,周光宏,徐幸莲,等.不同等级金华火腿风味特点研究[J].食品科学,2006,27(6):39-45.

[3] 朱健辉.不同等级金华火腿蛋白质和脂肪水解产物与挥发性风味物质分析[D].南京农业大学硕士学位论文,2005.

[4] Garcia C, Berdague J J, Antequera et al., Volatile compounds of dry-cured Iberian ham [J]. Food Chemistry, 1991, 41: 23-32.

[5] Toldra F. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products [J]. Meat Science, 1998, 49(Suppl. 1): 101-110.

[6] 赵改名,柳艳霞,田玮,等.基于判别分析法的金华火腿挥发性风味物质的形成过程分析[J].农业工程学报,2008,24(3):260-264.

[7] 田怀香,王璋,许时婴.金华火腿挥发性风味物质[J].无锡轻工大学学报,2005,24(1):69-73.

[8] 李海莲.白酒香型的聚类分析和主成分分析[D].中国人民大学硕士学位论文,1999.

[9] 金华火腿分级标准,浙江省食品工业公司内部资料.

[10] 唐守正.多元统计分析方法[M].中国林业出版社,1990.

[11] 冯雪松,董鸿华.中药指纹图谱中的数据挖掘技术[J].药学进展,2002,16(4):198-200.

[12] 叶润仪.中药指纹图谱相似性评价方法的研究[D].中山大学硕士学位论文,2007.

[13] Lan-Fang Huang, Ming-Jian Wu, Ke-Jun Zhong, et al. Fingerprint developing of coffee flavor by gas chromatography mass spectrometry and combined chemometrics methods. Analytica Chimica Acta, 2007, 58(8): 216-223.

[14] 李家民.浓香型成品酒贮存过程中四大酸、四大酯的变化规律[J].酿酒,2008,35(2):35-37.

[15] 毕红霞.3-甲基丁醛对干腌火腿风味品质的贡献及形成机理研究[D].中国农业大学博士学位论文,2006.

[16] 田兰,毕开顺,孙德健,等.白术的化学模式识别[J].中国中药杂志,2003,28(2):143-146.

[17] 张宜华主编.精通SPSS[M].清华大学出版社,2001.

[18] Massart. D. Luc, Kaufman Leonard. The interpretation of analytical chemical data by the use of cluster analysis [M]. N.Y. Wiley, 1983.

欢迎订阅 2009年 《肉类研究》