

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

赵改名¹, 柳艳霞¹, 田玮², 张春晖³, 高晓平¹, 孙灵霞¹

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002; 2. 河南农业大学牧医工程学院, 郑州 450002;

3. 漯河双汇集团技术中心, 漯河 462000)

摘要: 为了弄清金华火腿风味物质的形成过程, 以 60 只杂交猪后腿为原料, 按照传统工艺加工金华火腿, 用气质联用仪(GC-MS)分析了 6 个工艺点的肌肉中挥发性风味物质的出峰面积, 并用判别分析法分别研究了用挥发性风味物质的出峰面积和出峰面积占总出峰面积的百分率建立的判别函数判断金华火腿加工程度的可能性。研究结果表明, 用金华火腿挥发性风味化合物的峰面积进行逐步判别分析, 有 20 种挥发性化合物进入判别函数, 而用峰面积占总出峰面积的百分率进行逐步判别分析, 有 17 种挥发性化合物进入判别函数, 建立的两套判别函数都能准确判别火腿的加工程度。结果提示: 金华火腿风味化合物是在加工过程中逐步形成的, 在不同加工阶段, 火腿特征风味化合物的含量及其比例各具特征, 可以用以辨别火腿的加工时间。

关键词: 金华火腿; 挥发性风味化合物; 判别分析; 特征风味物质

中图分类号: TS2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2008)-3-0260-05

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.

Zhao Gaiming, Liu Yanxia, Tian Wei, et al. Process for forming volatile flavor compounds in Jinhua Ham by discriminant analysis method[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(3): 260-264. (in Chinese with English abstract)

0 引言

风味是干腌火腿最重要的质量指标, 从 20 世纪 60 年代开始, 人们先后采用有机溶剂萃取、真空蒸馏、静态顶空、动态顶空、吹扫-冷阱捕集、超临界萃取和固相微萃取等方法对干腌火腿风味物质进行提取和富集, 并结合气质联用仪(GC-MS)进行分离和鉴定^[1-16], 表明吹扫-冷阱捕集和固相微萃取结合 GC-MS 是较为理想的方法。目前已经从各种干腌火腿中检测出 260 多种挥发性化合物^[8], 一些主要的化合物为烃、醛、酮、醇、酯、羧酸、内酯、含硫化合物、呋喃、吡嗪、吡啶、吡咯等, 并主要通过主成分分析方法研究了不同干腌火腿的特征芳香物质^[1-16]。到目前为止, 大部分研究仅限于火腿中挥发性化合物的分离和鉴定或比较不同工艺或品种的风味物质差别, 而对风味物质的形成过程研究较少。

金华火腿是世界上著名的干腌火腿, 近年来对金华火腿风味物质的研究逐渐增多, 但对其形成过程的研究很少^[1-2,5], 有关金华火腿不同加工时期风味物质特征的研究报道则更少。目前市场上没有经过成熟或没有完全成

熟的半成品“假火腿”对火腿市场秩序冲击很大, 由于相关研究较少, 不能很好区分火腿的加工程度, 也是火腿市场难以管理的重要原因。本研究采用静态顶空加固相微萃取技术富集挥发性风味化合物, 结合 GC-MS 分析金华火腿中挥发性风味物质随加工进程的变化过程, 用判别分析方法研究各加工阶段挥发性化合物的形成特点, 探索用特征挥发性化合物数据判断金华火腿加工程度的可行性。

1 材料与方法

1.1 火腿加工与样品采集方法

选用 60 只杂交猪后腿, 修整后每条后腿质量 6.2~6.9 kg, 在兰溪市永鑫火腿食品有限公司按照传统加工工艺加工金华火腿。加工工艺主要包括摊晾、腌制、浸泡、洗刷、晒腿、成熟以及后熟等过程。腌制期间上盐 5 次, 翻堆 7 次, 共腌制 30 d; 浸泡、洗刷 24 h, 中间换水 1 次; 晒腿 20 d (包括 11 天阴雨天气); 成熟 152 d; 堆叠后熟 61 d 结束。

在加工过程中, 分别于腌制前(24 h 左右)、腌制结束(第 31 d)、晒腿结束(第 51 d)、成熟中期(第 124 d)、成熟结束(第 203 d)和后熟结束(第 264 d)随机抽取 5 只腿, 取股二头肌作为分析样品。样品分析前于-40℃冰柜中保存。

1.2 挥发性化合物的富集

室温条件下迅速将样品切碎至边长 2 mm 左右的肉

收稿日期: 2006-11-07 修订日期: 2007-12-28

基金项目: 国家 863 项目资助课题(2002AA248031); 国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BAD05A03); 国家博士后基金(20060390295)

作者简介: 赵改名(1965-), 男, 河南汝南人, 博士, 副教授、副院长, 硕士生导师, 主要从事肉类加工与产品质量控制技术研究。郑州 河南农业大学食品科学技术学院, 450002。Email: gmzhao@126.com

粒，称取 15 g 于顶空萃取瓶中，将固相微萃取头 (SUPELCO, USA) 插入萃取瓶顶空中，在 60℃ 条件下萃取顶空中挥发性化合物 40 min。萃取头涂层为 Car/PDMS (Carboxen/polydimethylsiloxane)，非极性，涂层厚 75 μm。

1.3 风味化合物的分离和鉴定

用 GC-MS (Trance GC-MS, Finnigan, USA) 对萃取物进行分离、鉴定。气相色谱条件：毛细管气相色谱柱为 DB-5MS，长 60 m，内径 0.32 mm，涂层厚 1 μm；载气为氦气，不分流，恒流 12 mL/min；进样口温度 250℃，解析 0.25 min；起始温度 40℃，保持 1 min，5℃/min 升温至 130℃，8℃/min 升温至 200℃，12℃/min 升温至 250℃，然后于 250℃ 保持 7 min。气相色谱与质谱接口温度为 250℃。质谱条件为：离子源温度 200℃，电离方式为 EI+，电子能量为 70 eV，扫描质量范围 33~500 amu，电子检测器进行检测，检测电压 350 V。取得的流出峰图与 MEANLIB、REPLIB、WILLEY、NISTDEMO 4 个图谱库进行比较，相似指数 (SI, Similarity Index) 800 以上者为确认鉴定的化合物。

1.4 数据处理

风味化合物的含量和比例是影响风味效果的两个重要参数，峰面积和峰面积占总流出面积的百分率分别代表风味化合物的含量和比例。为了探索风味化合物的含量和比例在加工过程中的变化，以挥发性化合物的峰面积和峰面积占总流出面积 (含硅化合物除外) 的百分率为变量，用 SPSS11.0 Discriminant 程序对火腿加工时间进行 Fisher's 判别分析，建立判别函数并进行回代检验。

2 结果与分析

2.1 挥发性化合物峰面积对金华火腿加工时间的判别分析结果

从 6 个工艺点 30 只样品腿中共分离鉴定出 191 种挥发性化合物。为研究不同工艺点火腿样品风味物质特征的模型，以挥发性化合物的出峰面积为自变量，以采样工艺点为类别区分依据，按照类别等同和 Wilks λ 统计量最小的原则 (即类别间方差最大) 进行逐步判别分析，逐个分析每个化合物对模型判别能力的贡献并剔除贡献不显著的自变量，共有 20 种化合物进入模型，取得 5 个典则变量 (或称典则判别函数)，它们都是进入模型的 20 种化合物的线性组合，其特征值分别为 14313.8、3225.0、1923.9、179.4 和 14.0，分别能够解释模型方差变化的 72.8%、16.4%、9.8%、0.9% 和 0.1%。其中，前 2 个典则判别函数共可解释 89.2% 的方差变化，包含了风味化合物出峰面积的主要信息，可以描述各工艺点风味物质特征的差异与联系。将各工艺点样品风味化合物出峰面积数据代入这 2 个典则判别函数并作散点图，结果见图 1。由

图 1 可见，每个工艺点 5 个样品的典则差别函数重合性都很好，虽然晒腿后与成熟中期样品的位置较接近，但建立的函数能够很好地将 6 个时期的样本区分开，表明进入方程的 20 种化合物的峰面积可以反映各时期挥发性化合物的特征，用取得的判别模型可以用以区分金华火腿加工时间。

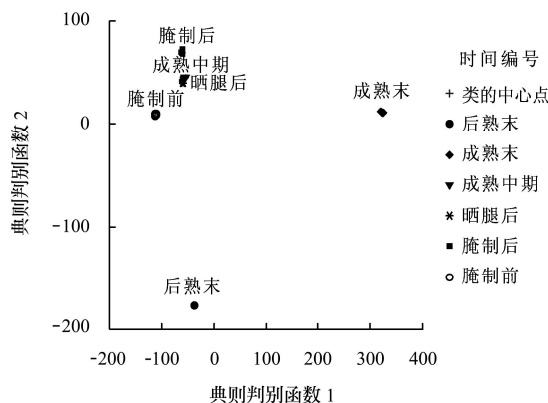


图 1 峰面积典则判别函数散点图

Fig.1 Scatter plot of canonical discriminant functions on peak areas

典则判别函数直观描述了不同加工时间火腿的风味化合物之间的关系，但不便于对未知样品加工时间的客观判别。为此，以进入模型的 20 种化合物的出峰面积为基础，建立了 6 个 Fisher 线性判别函数，分别描述各工艺时间点火腿风味化合物出峰面积的特征。Fisher 线性判别函数模型如下：

$$F_T = \sum A_i \times B_i + C_T$$

式中： F_T —— T 工艺时间点的 Fisher 线性判别函数值，其中 T 代表腌制前、腌制后、晒腿结束、成熟中期、成熟结束、后熟结束 6 个工艺时间点中的任何一个，共有 6 个 F_T ； A_i —— 进入 Fisher 线性判别函数的第 i 个化合物的出峰面积，其中本例中共 20 种化合物进入模型， i 的取值范围为 1 到 20； B_i —— 进入 Fisher 线性判别函数模型的第 i 个化合物的 Fisher 线性判别函数系数； C_T —— T 工艺时间点的 Fisher 线性判别函数常数项。

表 1 是各 Fisher 线性判别函数的系数表。由这组函数，给出任意一个样品的挥发性化合物峰面积测定数据，分别代入 6 个函数方程，计算出 6 个函数值，数值最大的 F 值对应的工艺点时间即为该样品被判定的加工时间。因此，既可以用这组方程对未知样品的加工时间进行判别，也可以用已知加工时间的样品对取得的函数进行判别效果检验。

表 2 是由挥发性化合物峰面积得到的 Fisher 判别函数对原始数据进行回代检验的判别结果。由表 2 可见，取得的判别函数对原始数据的时间段判别效果很好，正确率为 100%。

表 1 基于峰面积的 Fisher 线性判别函数系数
Table 1 Coefficients of Fisher's linear discriminant functions based on peak areas

序号	挥发性化合物	腌制前	腌制后	晒腿结束	成熟中期	成熟结束	后熟结束
1	1-戊烯-3-醇	-0.000035	0.000086	0.000083	0.000069	-0.000420	0.000173
2	1-己醇	0.000002	-0.000009	-0.000012	-0.000008	0.000025	-0.000002
3	乙基苯	-0.000013	0.000146	0.000055	0.000027	-0.000056	0.000022
4	异丙基苯	-0.000034	-0.000835	-0.000110	0.000063	-0.001055	0.000457
5	γ -己内酯	0.000003	0.000144	0.000109	0.000072	-0.000048	-0.000148
6	2-甲基-2-丁醛	-0.000151	0.000083	0.000042	0.000099	-0.001298	0.001018
7	(Z)-2-庚烯醛	0.000005	-0.000016	0.000000	-0.000001	0.000030	-0.000031
8	(E,E)-2,4-十二烯醛	-0.000080	-0.001124	-0.000596	-0.000226	-0.000851	0.001172
9	3-环丙基-1-丁炔	0.002464	0.013888	0.011124	0.005659	0.019415	-0.026587
10	壬酸	-0.000068	0.000300	0.001534	0.001104	-0.002539	-0.000861
11	2,3-丁二酮	-0.000001	0.000007	0.000015	0.000011	-0.000030	-0.000004
12	2-戊酮	0.000014	0.000050	0.000020	0.000001	0.000164	-0.000118
13	2,3-戊二酮	0.000059	-0.000008	-0.000020	-0.000045	0.000632	-0.000394
14	2-甲基-6-庚酮	-0.000089	-0.000214	-0.000462	-0.000266	-0.000236	0.000956
15	苯乙酮	0.000021	-0.000006	-0.000018	-0.000023	0.000191	-0.000125
16	癸烷	-0.000014	0.000097	0.000287	0.000208	-0.000551	-0.000104
17	p-薄荷-1,4(8)-二烯	0.000045	-0.003596	-0.004591	-0.003021	0.005703	0.003410
18	(E)-2,2-二甲基-4-癸烯	-0.000567	0.004540	0.002965	0.001851	-0.005312	0.000864
19	2,3-二甲基吡嗪	-0.000122	-0.000640	-0.000667	-0.000352	-0.000173	0.001334
20	丙酸丙酯	0.000032	-0.000048	-0.000134	-0.000112	0.000593	-0.000137
	常数项	-228.531090	-8534.568431	-4185.994371	-2097.268318	-30133.623800	-5820.476303

表 2 Fisher 线性判别函数对原始资料的判别结果
Table 2 Classification results of original data by Fisher's linear discriminant functions

	时间	腌制前	腌制后	晒腿结束	成熟中期	成熟结束	后熟结束	总和
各工艺点 样品数	腌制前	5	0	0	0	0	0	5
	腌制后	0	5	0	0	0	0	5
	晒腿结束	0	0	5	0	0	0	5
	成熟中期	0	0	0	5	0	0	5
	成熟结束	0	0	0	0	5	0	5
	后熟结束	0	0	0	0	0	5	5
判别正确率 /%	腌制前	100	0	0	0	0	0	100
	腌制后	0	100	0	0	0	0	100
	晒腿结束	0	0	100	0	0	0	100
	成熟中期	0	0	0	100	0	0	100
	成熟结束	0	0	0	0	100	0	100
	后熟结束	0	0	0	0	0	100	100

注：原各组数据区分正确率为 100%。

2.2 挥发性化合物峰面积百分率对金华火腿加工时间的判别分析结果

挥发性化合物的组成比例也是火腿风味的重要特征。按照挥发性化合物出峰面积建立判别函数相同的方

法，进一步以分离鉴定的各挥发性化合物的出峰面积占总出峰面积的百分率为自变量，研究了挥发性化合物出峰面积占总出峰面积的百分率对火腿加工时间的判别能力。经逐步判别分析，共有 17 种化合物进入了判别方程，

取得 5 个典则判别函数,其特征值分别为 26658.4、8348.2、1540.9、114.0 和 13.9, 分别能够解释模型方差变化的 72.7%、22.8%、4.2%、0.0% 和 0.0%。其中, 前 2 个典则判别函数共可解释 95.7% 的方差变化, 包含了主要信息, 可以描述各工艺点风味物质特征的差异与联系。用前两个典则判别函数对各样品作散点图, 结果见图 2。由图 2 可见, 取得的判别模型可以很好地将 6 个时期的样本区分开, 表明进入方程的 17 种化合物的构成百分率可以反映各时期挥发性化合物的组成特征。

表 3 是用挥发性化合物的峰面积百分率建立的 6 个 Fisher 线性判别函数的系数表。由这组函数对原始数据进行回代检验, 结果同表 2, 取得的判别函数对原始数据的时间段判别效果很好, 正确率为 100%。

表 3 基于峰面积百分率的 Fisher 线性判别函数系数

Table 3 Coefficients of Fisher's linear discriminant functions based on peak area percentage

序号	挥发性化合物	腌制前	腌制后	晒腿结束	成熟中期	成熟结束	后熟结束
1	1-丙醇	579.48	2084.96	4.66	27.27	-1232.59	-9388.25
2	1-己醇	-31.57	139.31	12.85	4.32	22.37	-531.00
3	3-甲硫基丙醛	6500.46	-3004.31	-356.43	-1088.66	-18732.70	20946.94
4	氯苯	74632.89	-5885.99	-371.30	-5917.01	-87270.60	65497.33
5	γ -己内酯	-18896.90	2622.40	40.73	2491.06	23485.21	-29723.10
6	壬酸	-2323.18	-13781.80	497.90	131.11	8765.01	54837.91
7	棕榈酸	269.23	2518.06	230.89	744.47	15532.86	-14933.40
8	壬烷	-1318.16	-150.24	-13.52	401.57	2940.18	-3960.12
9	β -香叶烯	16108.68	-5149.84	-293.33	-2281.19	-10044.40	46817.51
10	p-薄荷-1,4(8)-二烯	-102339.00	-7537.03	3363.99	7778.66	603452.40	111364.10
11	4-苯甲酸基-2H-吡喃-3-酮	793.67	-350.02	11.25	-44.18	165.38	1638.90
12	2,3-二甲基吡嗪	-13527.40	5722.17	1367.77	4186.98	167255.80	-21968.90
13	三甲基吡嗪	3573.55	-5140.93	-322.72	-1559.63	-4894.52	39527.19
14	丁酸乙酯	-41440.40	3592.72	191.22	3417.87	48040.94	-40097.60
15	丙酸丙酯	-2699.67	855.85	312.20	699.29	37238.66	-1204.72
16	己酸甲酯	33380.86	-17056.80	-1921.16	-3736.37	-54426.90	103852.30
17	邻苯二甲酸二丁酯	-44915.50	100300.40	13390.89	32055.96	1067034.00	-507816.00
	常数项	-6577.56	-863.24	-64.84	-98.35	-74882.20	-23704.20

3 讨论

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。但有些挥发性化合物在火腿加工过程中呈现出一定的变化规律, 能够反映火腿的加工程度。通过逐步判别分析发现, 一些挥发性化合物的实际含量(用峰面积表示)或相对含量(用占对应时期总峰面积的百分率表示)随加工进程表现出有规律的变化, 可以运用这些规律对火腿的加工程度进行判别。本研究从金华火腿加工过程中得到鉴定的 191 种挥发性化合物中, 分析出 20 种化合物的实际峰面积变化或 17 种化合物的峰面积百分率的变化, 分别建立 6 个 Fisher 线性判别函数, 利用这些判别函数能够准确判别金华火腿的加工程度, 这对金华火腿产品质量检测和加工

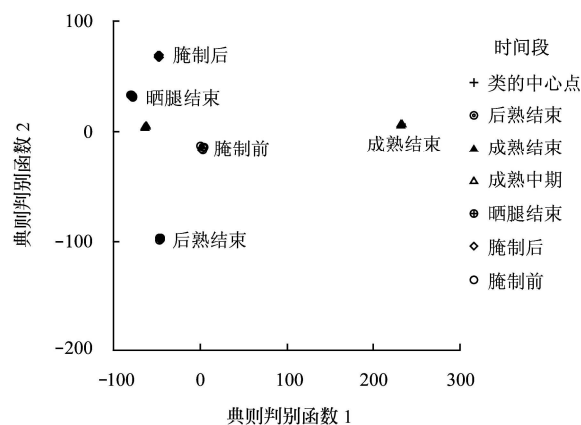


图 2 峰面积百分率典则判别函数散点图
Fig.2 Scatter plot of canonical discriminant functions on peak area percentage

进程控制都具有重要的意义。这方面的研究目前还未见报道。

从建立的判别函数可以发现, 两套判别函数选用的挥发性化合物并不完全相同, 这表明火腿中的挥发性化合物既存在着绝对含量的变化, 也存在相对含量的变化, 两者变化规律并不一致。挥发性化合物对火腿风味的贡献是由其绝对含量、相对含量及风味阈值三方面决定的, 对一个加工阶段而言, 进入到其判别函数且系数较大者, 是体现该加工阶段风味物质绝对含量或相对含量的特征性风味化合物。对于成熟结束或后熟结束的成品火腿而言, 这种特征性风味化合物体现了火腿风味物质含量的概念, 但由于风味化合物对风味的贡献大小还取决于其风味阈值, 所以特征性风味化合物未必是火腿风味最重要的贡献者, 一些含量低但风味阈值也很低的化合物也

可能对火腿整体风味起重要作用。

4 结 论

金华火腿风味化合物的形成过程极为复杂,它们在肌肉中的绝对含量和相对含量随加工进程都不断发生变化,一些化合物呈现规律性变化。用金华火腿风味化合物的峰面积进行逐步判别分析,有20种挥发性化合物进入判别函数,用峰面积占总出峰面积的百分率进行逐步判别分析,有17种挥发性化合物进入判别函数,这两套判别函数都能够准确判别样品的加工程度。这表明在金华火腿加工过程中,挥发性风味化合物是逐步形成的,并且在不同的加工阶段特征风味化合物各有其特点,其中进入判别函数的挥发性化合物及其构成比例可能是金华火腿不同加工阶段的风味化合物的重要特征。

[参 考 文 献]

- [1] 赵改名, 张秋会, 柳艳霞, 等. 原料腿对金华火腿腌制及产品品质的影响[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 44-47.
- [2] 郇延军, 周光宏, 赵改名, 等. 金华火腿生产过程中风味成分的变化[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(4): 1-12.
- [3] 田怀香, 王 璋. 热脱附-气质联用分析金华火腿挥发性风味[J]. 食品与机械, 2007, 23(3): 10-12, 69.
- [4] 田怀香, 王 璋, 许时婴. 超临界CO₂流体技术提取金华火腿中挥发性风味组分[J]. 食品与机械, 2007, 23(2): 18-22.
- [5] 尹晓婷, 宋焕禄, 祖道海, 等. 采用同时蒸馏提取法分析不同加工时期金华火腿香味成分[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(10): 122-128.
- [6] Du M, Ahn D U. Volatile substances of Chinese traditional Jinhua ham and Cantonese sausage [J]. Journal of Food Science, 2001, 66(6): 827-831.
- [7] Timón M L, Ventanas J, Martín L, et al. Volatile compounds in supercritical carbon dioxide extracts of Iberian ham [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(12): 5143-5150.
- [8] Toldrá F. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products [J]. Meat Science, 1998, 49(Suppl. 1): S101-110.
- [9] García C, Berdague J J, Antequera T, et al. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham [J]. Food Chemistry, 1991, 41: 23-32.
- [10] Sabio E, Vidal-Aragon M C, Bernalte M J, et al. Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries [J]. Food Chemistry, 1998, 61(4): 493-503.
- [11] Flores M, Grimm C C, Toldra F, et al. Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish Serrano dry-cured ham as a function of two processing times [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(6): 2178-2186.
- [12] 竺尚武. 金华火腿挥发性风味物质的研究[J]. 食品科学, 1993, 15(2): 16-18.
- [13] 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, 83.
- [14] 田怀香, 王 璋, 许时婴. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分离鉴定金华火腿的挥发性风味物质[J]. 色谱, 2006, 24(2): 177-180.
- [15] 郇延军, 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.
- [16] 乔发东, 马长伟. 宣威火腿加工过程中挥发性风味化合物分析[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(3): 24-29.

Process for forming volatile flavor compounds in Jinhua Ham by discriminant analysis method

Zhao Gaiming¹, Liu Yanxia¹, Tian Wei², Zhang Chunhui³, Gao Xiaoping¹, Sun Lingxia¹

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Animal Husbandry and Veterinary Science Engineering, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

3. Technique Centre of Luohe Shuanghui Corp., Luohe 462000, China)

Abstract: In order to realize the forming process of the flavor substances in Jinhua ham, 60 Jinhua hams were processed using legs of cross-line pigs by traditional processing technology and the peak areas of flavor volatiles in ham muscle after each processing stage were analyzed by using Gas Chromatography and Mass Spectrometer (GC-MS). The possibility of discriminating Jinhua hams of different processing stages by using discriminant functions established on the volatile peak areas or ratios of the volatile peak areas accounting for the total peak area was individually studied. The results show that when stepwise discriminant analysis was performed on volatile peak areas of Jinhua ham, 20 kinds of volatile compounds enter the gained discriminant functions; while 17 kinds of volatile compounds enter the gained discriminant functions when ratios of the volatile peak areas accounting for the total peak area are analyzed. All of the two series of discriminant functions established can be used to discriminate Jinhua hams of different stages accurately. The results indicate that the flavor compounds are formed gradually during Jinhua ham processing and characterized by the concentrations and ratios of the character flavor compounds at different stages, which can be used to discriminate Jinhua hams of different processing stages.

Key words: Jinhua ham; volatile flavor compounds; discriminant analysis; character flavor compound