

基于响应面分析法优化顶空-固相微萃取与气相色谱-质谱法检测黑龙江野生鳊挥发性风味物质

相懿芳^{1#}, 夏邦华^{1#}, 邹昊博², 张碧涛¹, 邹宇宁¹, 李林原¹, 韩 英^{1*}, 薛淑群^{1*}

(1. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030; 2. 中牧实业股份有限公司, 北京 100070)

摘 要: **目的** 使用响应面分析法优化顶空-固相微萃取(headspace-solid phase microextraction, HS-SPME)与气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联合检测黑龙江鳊肌肉风味的萃取方法, 并检测分析鳊肌肉中挥发性风味物质。**方法** 使用 HS-SPME-GC-MS 技术, 以峰面积和峰个数为指标进行单因素实验, 探究盐度、萃取温度、萃取时间和解吸时间对鳊肌肉风味检测的萃取效率的影响, 根据单因素实验结果采用响应面方法优化萃取条件, 分析鳊肌肉中挥发性风味物质的最佳萃取条件, 并用优化后的萃取条件检测鳊的挥发性风味物质。**结果** 优化后的最佳萃取条件为盐度 7.7%, 萃取温度 82.4℃、萃取时间 46.5 min、解吸时间 5.4 min。此条件下, 综合评分为 101.4173, 共检测出 33 种挥发性风味物质, 其中化合物含量最多的是烃类和醇类。**结论** 优化后的 HS-SPME-GC-MS 分析鳊肌肉挥发性风味物质的方法可以高效萃取鳊肌肉中的风味物质。

关键词: 鳊; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱法; 挥发性风味物质; 响应面法

Optimization of headspace-solid phase microextraction based on response surface analysis and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of volatile flavor substances in Heilongjiang wild *Siniperca chuatsi*

XIANG Yi-Fang^{1#}, XIA Bang-Hua^{1#}, ZOU Hao-Bo², ZHANG Bi-Tao¹, ZOU Yu-Ning¹,
LI Lin-Yuan¹, HAN Ying^{1*}, XUE Shu-Qun^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2. China Animal Husbandry Industry Co., Ltd., Beijing 100070, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the extraction method of headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for the determination of the flavour of *Siniperca chuatsi* muscle and the analysis of volatile flavour substances in *Siniperca chuatsi* muscle. **Methods** Using HS-SPME-GC-MS technology, a single factor experiment was carried out with peak area and peak number as

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(C2017013)、中国博士后科学基金项目(2017M6113470)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (C2017013), and the Post-Doctoral Science Foundation (2017M6113470)

#相懿芳、夏邦华为共同第一作者

XIANG Yi-Fang and XIA Bang-Hua are Co-first Authors

*通信作者: 韩 英, 教授, 主要研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: hanying606@163.com

薛淑群, 讲师, 主要研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: xueshuqun@neau.edu.cn

*Corresponding author: HAN Ying, Professor, College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China. E-mail: hanying606@163.com

XUE Shu-Qun, Lecturer, College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China. E-mail: xueshuqun@neau.edu.cn

indicators to explore the effects of salinity, extraction temperature, extraction time and desorption time on the extraction efficiency of *Siniperca chuatsi* muscle flavor detection. The results of the factor experiment were used to optimize the extraction conditions by using the response surface methodology to analyze the optimal extraction conditions of the volatile flavor compounds in the *Siniperca chuatsi* muscle, and use the optimized extraction conditions to detect the volatile flavor compounds of the *Siniperca chuatsi*. **Results** The optimum extraction conditions were as follows: Salinity 7.7%, extraction temperature 82.4°C, extraction time 46.5 min, desorption time 5.4 min. Under this condition, the comprehensive score was 101.4173, and 33 kinds of volatile flavor substances were detected, of which hydrocarbons and alcohols were the most abundant. **Conclusion** The optimized HS-SPME-GC-MS method for the analysis of volatile flavour substances in *Siniperca chuatsi* muscle can efficiently extract the flavour substances from *Siniperca chuatsi* muscle.

KEY WORDS: *Siniperca chuatsi*; headspace-solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; volatile flavor compounds; response surface methodology

0 引言

鳊(*Siniperca chuatsi*), 隶属鲈形目、鲴科、鳊亚科、鳊属, 是一种具有较高经济价值的鱼类。黑龙江水系中的鳊主要分布于松花江、黑龙江、嫩江等河流及湖泊^[1], 是黑龙江省名优鱼类“三花五罗”中“三花”之首^[2], 属重点开发的名贵土著经济鱼类之列。黑龙江水系鳊具有越冬成活率高、肉质鲜美、营养丰富、绿色安全的特点。

动物肉挥发性风味物质主要来自肌肉风味前体物质在加热中的分解、还原和氧化等化学反应^[3]。肉质风味物质的检测提取方法主要有固相微萃取法、同时蒸馏萃取法^[4]、微波辅助萃取法^[5]等, 其中固相微萃取法是主要的检测提取方法。顶空固相微萃取(headspace-solid phase microextraction, HS-SPME)-气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)具有分析时间短、前处理简单、分离效率高、适用范围广等优点^[6], 其检测效果主要受盐离子浓度、萃取温度、萃取时间和解吸时间等因素的影响^[7-8]。目前对鱼肉的研究更多聚焦于最佳贮藏与解冻方法^[9]、脱腥工艺研究^[10]及不同烹饪方法下风味物质的变化等方面, 对鱼肉中挥发性风味物质的萃取条件优化的研究相对较少; 其中对鳊挥发性风味物质的研究主要聚焦于臭鳊鱼发酵后的风味物质分析^[11]及发酵加工工艺的研究^[12]等方面, 对新鲜鳊肌肉中挥发性风味物质的萃取条件进行优化的研究相对更少。挥发性风味物质是影响肉质风味的重要因素, 研究新鲜鳊肌肉中的挥发性化合物对评价鳊群体品质、指导鳊品种选育和种质资源保护具有参考价值。胡静等^[13]仅使用传统单因素法对萃取条件进行优化, 优化结果不够准确。因此, 本研究以黑龙江水域野生鳊为主要研究对象, 以单因素实验为基础, 采用响应面分析法(response surface methodology, RSM)^[14-15]探究 HS-SPME-GC-MS 技术检测鳊背肌中挥发性风味物质的最佳萃取条件和检测条件, 并在此条件下对鳊背肌挥发性风味物质进行分析, 以期对不同流域不同种群鳊肌肉风味对

比提供参考, 为鳊肌肉的风味品质调控提供分析技术和理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

黑龙江野生鳊 10 尾, 体质量(250±25) g, 2022 年 6 月 3 日采集于黑龙江抚远江段, 使用 MS-222 麻醉后取背部肌肉, 密封包装后置于液氮罐中快速运回实验室, 冷藏备用, 实验所有操作及规程均按照欧盟实验用动物指令 2010/63/EU 执行。

1.2 仪器与试剂

7890A-5975C 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪、DB-5MS 气相色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm) (美国 Agilent 公司); 固相微萃取顶空瓶(15 mL)(美国 QEC 公司); 57330-U 顶空固相微萃取手动进样手柄、75 μm CAR/PDMS 固相微萃取纤维、513171 固相微萃取操作平台(美国 Supelco 公司); ME204 电子天平(感量 0.1 mg, 瑞士梅特勒-托利多有限公司); HWS-12 型电热恒温水浴锅(上海理涛自动化科技有限公司); Vortex-Genie 2 涡旋振荡器(中国奥然科学技术有限公司)。

2-甲基-3-庚酮(分析纯, 美国 Sigma 公司); 氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 萃取纤维老化

初次使用前将 75 μm CAR/PDMS 萃取纤维在氮气保护下置于 GC 进样口 250°C 老化 2 h, 之后每次使用前均需 250°C 下活化 30.0 min。在相同的条件下做数次不加样品空白组进行对照, 直到 GC-MS 测定至无干扰峰出现。

老化升温程序: 初始温度 40°C, 保持 1.0 min, 然后以 5°C/min 的速率升温至 300°C, 保持 37.0 min, 共用时 90.0 min; 进样口温度 250°C; 载气为 99.999% 高纯度氦气; 流速 0.8 mL/min。

1.4 顶空固相微萃取

准确称取鳃样品(2.0±0.05) g(精确到 0.01 g)于 15.0 mL 顶空瓶中, 加入 5.0 mL 纯水、一定量的氯化钠和 7 μL 内标(2-甲基-3-庚酮, 质量浓度为 0.272 μg/μL), 密封后以 800 r/min 的速度涡旋 2.0 min。涡旋后的样品置于水浴锅中 100℃恒温加热 30.0 min, 取出置于 80℃水浴锅中平衡 10.0 min 后进行萃取。使用老化后的 75 μm CAR/PDMS 萃取纤维插入顶空瓶顶空部分做悬空富集, 一定萃取时间后取出萃取纤维上机检测。每个条件下样品重复 3 次, 同时进行 3 组未加样本的空白平行对照组。

1.5 GC-MS 分析条件

GC 条件: DB-5MS 气相色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 整个模式采用不分流进样; 升温程序: 初始温度 40℃, 保持 3.0 min, 然后以 4℃/min 的速率升温至 170℃, 继续以 8℃/min 升到 230℃, 保持 5.0 min, 再以 20℃/min 升到 280℃, 保持 5.0 min, 共用时 60.5 min; 进样口温度 250℃; 载气为 99.999%高纯度氦气; 流速 0.8 mL/min。

MS 条件: 电离方式: 电子轰击离子源(electronic ionization, EI); 离子源温度 230℃; 四极杆温度 150℃; 电子能量 70 eV; 扫描方式为全扫描; 质量扫描范围 *m/z* 30~500 amu。

1.6 单因素实验设计

1.6.1 盐离子浓度优化

选择萃取时的盐度为 0%、5%、10%、15%和 20%作为考察因素, 此时固定萃取的时间为 40 min、萃取温度为 70℃, 解吸时间为 3.0 min, 每组样品做 3 个平行, 以峰个数和峰面积作为衡量指标, 比较不同盐度条件下鳃肌肉中挥发性风味物质萃取结果的变化。

1.6.2 萃取温度优化

选择萃取时的温度为 50、60、70、80 和 90℃作为考察水平, 此时固定萃取的盐度为 10%、萃取的时间为 40 min、解吸时间为 5 min, 每组样品做 3 个平行, 以峰个数和峰面积作为衡量指标, 比较不同萃取温度条件下对鳃肌肉中挥发性风味物质萃取的影响。

1.6.3 萃取时间优化

选择萃取时的时间为 30、35、40、45 和 50 min 作为考察因素, 此时固定萃取的盐度为 10%、萃取的温度为 70℃、解吸时间为 5 min, 每组样品做 3 个平行, 以峰个数和峰面积作为衡量指标, 比较不同萃取时间条件下对鳃肌肉中挥发性风味物质萃取的影响。

1.6.4 解吸时间优化

选择萃取时的解吸时间为 3、5、7、9 和 11 min 作为考察因素, 此时固定萃取的的盐度为 10%、萃取的时间为 40 min、萃取温度为 70℃, 每组样品做 3 个平行, 以峰个数和峰面积作为衡量指标, 比较不同解吸时间条件下对鳃肌肉中挥发性风味物质萃取的影响。

1.7 Box-Behnken 分析法优化

基于单因素实验筛选的盐离子浓度(*A*)、萃取温度(*B*)、萃取时间(*C*)以及解吸时间(*D*)的结果, 利用 Box-Behnken 中心组合设计原理^[16-17]设计四因素三水平的分析实验(表 1), 以检测结果的峰面积与峰个数为指标计算综合评分, 从而获得最优的萃取参数, 并对结果进行验证实验。综合评分标准如下: 设置 100 分为满分, 峰个数和峰面积作为萃取程序优化结果中的重要指标, 数值大小与优化结果好坏成正比。赋予峰面积与峰个数同等权重系数 0.5。保留相似指数(similarity index, SI)大于 80 的化合物的峰个数, 以 SI 大于 80 的化合物峰面积相加作为峰面积指标, 按公式(1)进行计算。

综合评分/分= $\left(\frac{N_i}{N_{\max}} + \frac{M_i}{M_{\max}}\right) \times 0.5 \times 100$ (1)

其中, *N_i* 为检测结果中挥发性风味物质峰面积(AU·min), *N_{max}* 为检测结果中挥发性风味物质峰面积最大值(AU·min); *M_i* 为检测结果中挥发性风味物质峰个数(个), *M_{max}* 为检测结果中挥发性风味物质峰个数最大值(个)。

表 1 响应面实验因素及水平
Table 1 Factors and levels of RSM

水平	A 盐度/%	B 萃取温度 /℃	C 萃取时间 /min	D 解吸时间 /min
-1	5	70	35	3
0	10	80	40	5
+1	15	90	45	7

使用二阶多项式方程对萃取条件进行拟合, 并对数据进行多元回归, 以获得与最重要因素相关的经验模型。二阶多项式方程的一般形式如公式(2):

$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j$ (2)

其中, *Y* 是预测响应, *x_i* 和 *x_j* 是独立因素, *x* 是变量因素, *β₀* 是模型截距, *β_i* 是线性系数, *β_{ii}* 是二次系数, *β_{ij}* 是交互系数。

1.8 定性分析

本研究使用 NIST 08 谱图库检索待测组分并确定其成分; 仅对 SI 大于 80 的化合物的检索结果进行分析。

1.9 数据处理

重复 3 次实验, 使用 GraphPad Prism 8.0.1 软件制图, 利用 Design-Expert 12.0.3.0 软件进行响应面分析, 使用 SPSS 13.0 软件分析数据。

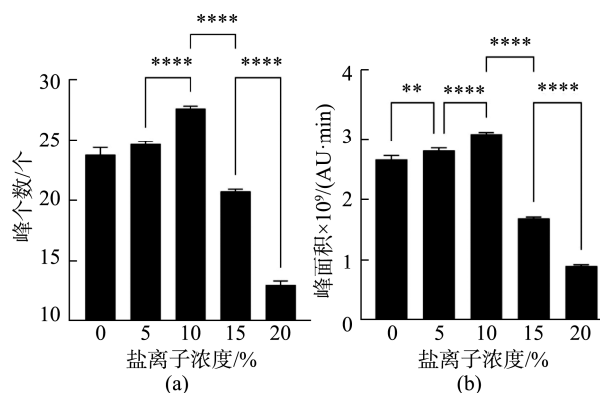
2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 盐离子浓度对鳃肌肉中挥发性物质萃取效果的影响

鳃挥发性风味物质在不同浓度盐离子溶液影响下萃取效果如图 1 所示。萃取过程中溶液中的盐离子可以增加

挥发性风味物质在顶空瓶上空的浓度,使其富集在萃取纤维上的量增多^[18]。当盐离子浓度从 0% 上升至 10% 时,盐离子浓度与峰个数和峰面积呈正相关;当盐离子浓度为 10% 时峰个数与峰面积均达到最大值,此时共检测出 28 种挥发性物质成分,总峰面积为 3.00×10^9 AU·min;当盐离子浓度从 10% 上升至 20% 时,盐离子浓度与峰个数和峰面积数量呈负相关。根据徐梓焙等^[19]研究结果,挥发性物质的逸出与样品中离子强度有关,氯化钠的添加能使溶液离子强度加强,降低挥发性组分在液相中的溶解度,有利于挥发性成分逸出,从而增加其在气相中的含量。当氯化钠添加过量时则会出现饱和现象,使其在增加挥发性成分气-液分配比的同时也将影响基质黏度,降低挥发性物质的扩散速度,产生盐析负效应^[20],使萃取纤维上富集的物质减少。综上所述,10% 为最佳盐离子浓度,选择 5%、10%、15% 浓度盐离子溶液进行响应面优化实验。



注: *表示 0.05 水平的差异显著性, **表示 0.01 水平的差异显著性, ***表示 0.001 水平的差异显著性, ****表示 0.0001 水平的差异显著性, 下同。

图 1 盐离子浓度对鳊肌肉中挥发性物质萃取效果的影响

Fig.1 Extraction of volatile flavour substances from *Siniperca chuatsi* dorsalis muscle under the influence of different salinities

2.1.2 萃取时间对鳊肌肉挥发性风味物质萃取效果的影响

鳊挥发性风味物质在不同萃取时间影响下萃取效果如图 2 所示。当萃取时间处于 30 至 40 min 时,峰个数和峰面积结果随萃取时间的延长极显著增加($P < 0.0001$);当萃取时间处于 40 至 50 min 时,峰个数结果随萃取时间的延长而略微减少,峰面积结果随萃取时间的延长而显著减少($P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$);当萃取时间为 40 min 时,顶空瓶内环境到达平衡状态,萃取纤维处于饱和,峰个数与峰面积均达到最大值。若萃取时间过长,原本被吸附的组分可能出现解吸附现象,反而会降低萃取效果^[21]。综上所述,40 min 为最佳萃取时间,选择 35、40、45 min 进行萃取时间响应面优化实验。

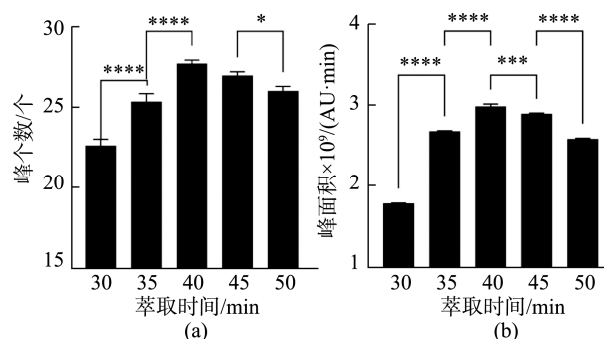


图 2 不同萃取时间影响下的鳊肌肉挥发性风味物质萃取效果

Fig.2 Extraction of volatile flavour substances from *Siniperca chuatsi* dorsalis muscle under the influence of different extraction time

2.1.3 萃取温度对鳊肌肉中挥发性物质萃取效果的影响

鳊挥发性风味物质在不同萃取温度影响下萃取效果如图 3 所示。萃取温度为 50℃ 时,萃取纤维吸附待测组分较少,峰个数和峰面积均偏低;萃取温度从 50℃ 升至 80℃ 过程中,检测结果中挥发性物质峰个数、峰面积随温度升高温度显著增加($P < 0.05$ 、 $P < 0.0001$),此过程中待测组分运动速度随温度升高加快;当萃取温度为 80℃ 时,顶空瓶内环境到达平衡状态,萃取纤维处于饱和,峰个数与峰面积均达到最大值。随温度升高至 90℃,峰个数与峰面积显著减少($P < 0.0001$),此时沸点低的物质可能与沸点高的物质的竞争中损失,导致萃取纤维的吸附能力降低^[22]。综上所述,80℃ 为最佳萃取温度,选择 70、80、90℃ 进行萃取温度响应面优化实验。

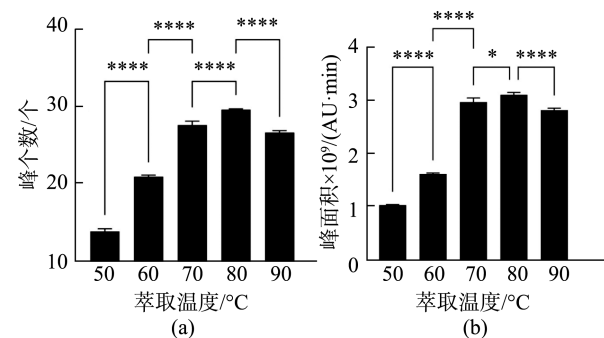


图 3 不同萃取温度影响下的鳊肌肉挥发性风味物质萃取效果

Fig.3 Extraction of volatile flavour substances from *Siniperca chuatsi* dorsalis muscle under the influence of different extraction temperature

2.1.4 解吸时间对鳊肌肉中挥发性物质萃取效果的影响

鳊挥发性风味物质在不同萃取时间影响下萃取效果如图 4 所示。当解吸时间从 3 min 升至 5 min 时,峰个数与峰面积显著增加($P < 0.001$);当解吸时间从 5 min 升至 7 min 时,峰个数与峰面积略微减少,可认为趋于暂时稳定;当解吸时间从 7 min 升至 9 min 时,峰个数与峰面积显著减少($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。该结果可能是由于挥发性风味物质在高温下解吸时间过长发生异构化、氧化等反应^[23]。综上所述,5 min 为最佳萃取温度,选择 3、5、7 min 进行解吸时间响应面优化实验。

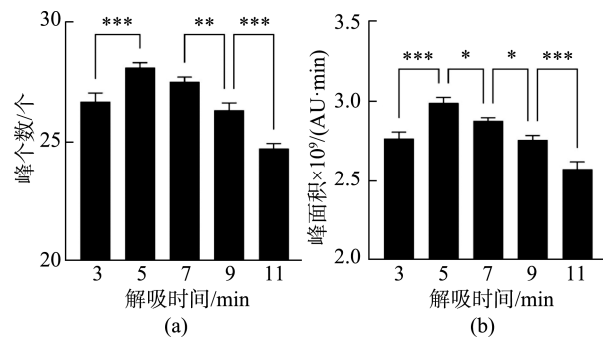


图 4 不同解吸时间影响下的鳊肌肉挥发性风味物质萃取效果
Fig.4 Extraction of volatile flavour substances from *Siniperca chuatsi* dorsalis muscle under the influence of different desorption time

2.2 Box-Behnken 实验设计及结果验证

2.2.1 模型建立及方差分析

以单因素实验结果为基础, 使用 Design-Expert 12.0.3.0 设计四因素三水平的 Box-Behnken 分析实验表^[24-25](表 1)。根据实验优化方案, 设计 29 个实验组, 其中有 5 个中心点, 结果如表 2 所示。

对实验结果进行多元回归分析, 可得综合评分对 *A*、*B*、*C*、*D* 的二次多项回归模型: $Y=-711.5842+7.6468A+13.0941B+7.1090C+29.8770D+0.0451AB-0.0545AC-0.2065AD-0.0127BC+0.0013BD+0.0732CD-0.5057A^2-0.0781B^2-0.0650C^2-2.9545D^2$ 。

对模型进行方差分析, 如表 3 所示, 可知该回归模型极显著, 说明其预测性良好; 模型的一次项均极显著 ($P<0.01$, $P<0.001$), 交互项均不显著 ($P>0.05$); 二次项 B^2 项和 C^2 项影响极显著 ($P<0.001$), A^2 项和 D^2 项影响不显著 ($P>0.05$)。失拟项的 P 为 0.4401, 对综合评分影响不显著,

说明该二次多项回归模型拟合度良好, 可用于确定最优风味物质检测工艺条件。

表 2 响应面实验设计表及综合评分					
Table 2 RSM experimental design and ecomposite score					
序号	A/%	B/°C	C/min	D/min	综合评分
1	-1	-1	0	0	79.4251
2	1	-1	0	0	54.3285
3	-1	1	0	0	89.2639
4	1	1	0	0	73.1820
5	0	0	-1	-1	76.4681
6	0	0	1	-1	81.6467
7	0	0	-1	1	79.0236
8	0	0	1	1	87.1294
9	-1	0	0	-1	77.9058
10	1	0	0	-1	61.0663
11	-1	0	0	1	85.4720
12	1	0	0	1	60.3718
13	0	-1	-1	0	79.0489
14	0	1	-1	0	88.8589
15	0	-1	1	0	84.8513
16	0	1	1	0	92.1262
17	-1	0	-1	0	87.0304
18	1	0	-1	0	69.1186
19	-1	0	1	0	100.0000
20	1	0	1	0	76.6408
21	0	-1	0	-1	69.1579
22	0	1	0	-1	78.3578
23	0	-1	0	0	77.2487
24	0	1	0	0	86.5548
25	0	0	0	0	91.6578
26	0	0	0	0	96.2014
27	0	0	0	0	98.2504
28	0	0	0	0	97.6805
29	0	0	0	0	95.6125

表 3 响应面实验回归方程方差分析						
Table 3 Variance analysis of regression equation in response surface methodology						
方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	3712.69	14	265.19	33.05	<0.0001	***
A	1289.39	1	1289.39	160.69	<0.0001	***
B	344.36	1	344.36	42.92	<0.0001	***
C	152.98	1	152.98	19.07	0.0006	***
D	81.11	1	81.11	10.11	0.0067	**
AB	20.32	1	20.32	2.53	0.1339	
AC	7.42	1	7.42	0.92	0.3526	
AD	17.06	1	17.06	2.13	0.1669	
BD	1.61	1	1.61	0.20	0.6614	
CD	0.00	1	0.00	0.00	0.9853	
A ²	2.14	1	2.14	0.27	0.6134	
B ²	1036.81	1	1036.81	129.21	<0.0001	***
C ²	396.46	1	396.46	49.41	<0.0001	***
D ²	17.14	1	17.14	2.14	0.1659	
残差	112.34	14	8.02			
失拟项	85.47	10	8.55	1.27	0.4401	
纯误差	26.86	4	6.72			
总离差	3825.02	28				

注: **表示差异高度显著, $P<0.01$; ***表示差异极显著, $P<0.001$ 。

2.2.2 响应面分析与优化

利用 Design-Expert 12.0.3.0 软件根据模型绘制 A 、 B 、 C 、 D 交互作用对综合评分 Y 影响的响应面交互图(图 5)。响应面三维图是回归方程的图形表示,从中可以直观快速地找到最佳参数、变量之间的交互作用对响应值的影响。等高线是响应面在水平方向上的投影。等高线的椭圆形状表示两个因素之间有明显的相互作用,而圆形表示两个因素之间的相互作用不明显。响应曲面坡度与该因素对响应值的影响呈正相关,对比图 5 中各响应面图曲面坡度,可知对综合评分 Y 影响程度为 $A>B>C>D$ 。根据模型拟合结果,预测理想条件下的最佳提取条件为盐度 7.7121%, 萃取温度 82.3616℃, 萃取时间 46.4883 min, 解吸时间 5.3611 min, 综合评分为 101.3680。

2.2.3 模型验证

根据响应面实验预测结果结合实际条件进行模型验证。在萃取时间 46.5 min、盐度 7.7%、解吸时间 5.4 min、萃取温度 82.4℃条件下,测得鳊肌肉中挥发性物质共 33 种,综合评分为 101.4173,与预测值的误差为 0.049%,说明建立的回归方程模型能较真实准确地反映出各因素对萃取结果的影响。

2.3 挥发性风味物质分析

在优化后的萃取条件下,使用 HS-SPME-GC-MS 方法分析鳊背部肌肉挥发性成分,相似度筛选后测得 33 种挥发性风味物质,其中烷烃类化合物 13 种、醛类化合物 5 种、芳香类化合物 5 种、烯类化合物 3 种、醇类化合物 2 种、酚类化合物 2 种、酮类化合物 1 种、酸类化合物 1 种、酯类化合物 1 种。结果如表 4 所示。

醛酮类化合物的主要来源为美拉德反应和脂肪的氧化^[27]。醛类物质阈值低,对食品风味的影响较大,其中饱和的直链醛会产生辛辣的刺激性气味。本实验结果中共检测出 5 种醛类物质,壬醛相对含量最高,呈油炸香、烤焦香、油脂味,在金枪鱼^[28]、小龙虾^[22]、鳃^[29]等水产品均有检出。其余醛类物质按相对含量由高到低依次是己醛,呈青草香;庚醛,呈果子香味;苯甲醛,呈樱桃味、坚果味^[30];癸醛,呈柑橘香^[26],都是鳊肌肉中重要的风味贡献物质。检测结果中酮类化合物数量远低于醛类化合物。酮类化合物来源可能为氨基酸的降解或多不饱和脂肪酸的氧化与降解^[31],通常表现出花朵和水果的香气,负责形成奶酪般的香气。检测结果中仅检测出苯乙酮一种酮类化合物,相对含量 0.042%,呈山楂香味,在整体香气中发挥细微作用。

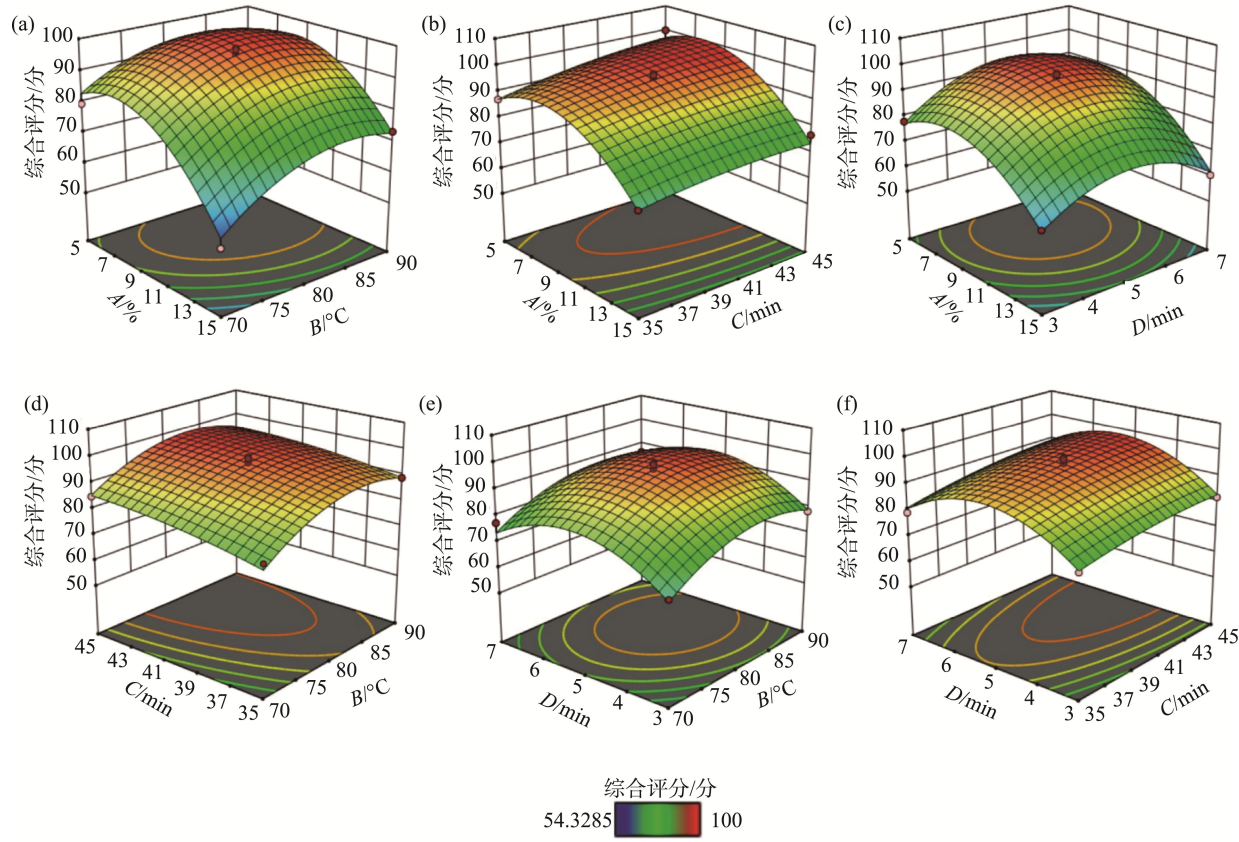


图 5 各因素对萃取效果的影响
Fig.5 Influences of various factors on extraction effect

表 4 鳊肌肉挥发性物质检测结果
Table 4 Results for volatile substances in*Siniperca chuatsi dorsalis muscle*

CAS 号	中文名	英文名	分子式	化合物	相对含量 /%	保留时间 /min	气味描述 ^[13,19,26]
104-76-7	2-乙基己醇	2-ethylhexanol	C ₈ H ₁₈ O	醇类	0.948	15.291	-
14722-40-8	1,15-十五烷二醇	1,15-pentadecanediol	C ₁₅ H ₃₂ O ₂		0.058	40.135	-
097-54-1	4-丙烯基-2-甲氧基苯酚	phenol,2-methoxy-4-(1-propen-1-yl)-	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	酚类	0.078	29.342	石竹香, 丁香花样花香
5912-86-7	乙酰基异丁香酚	phenol,2-methoxy-4-(1z)-1-propen-1-yl	C ₁₀ H ₁₂ O ₂		0.614	30.735	似丁香和香辛料香气
111-71-7	庚醛	heptaldehyde	C ₇ H ₁₄ O	醛类	0.452	8.809	果子香味
124-19-6	壬醛	1-nonanal	C ₉ H ₁₈ O		1.144	18.440	油炸香, 烤焦香, 油脂味
066-25-1	己醛	hexanal	C ₆ H ₁₂ O		0.679	18.626	油脂香, 青香, 叶香, 果香
100-52-7	苯甲醛	benzaldehyde	C ₇ H ₆ O		0.400	11.855	苦杏仁味, 樱桃味, 坚果味
112-31-2	癸醛	decanal	C ₁₀ H ₂₀ O		0.091	22.427	柑橘香
098-86-2	苯乙酮	acetophenone	C ₈ H ₈ O	酮类	0.042	16.728	山楂香气
686-07-7	氨基甲酸	carbamic acid	C ₆ H ₁₃ NS ₂	酸类	0.197	28.412	-
541-05-9	六甲基环三硅氧烷	hexamethylcyclotrisiloxane	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃		2.036	4.028	-
556-67-2	八甲基环四硅氧烷	octamethyl cyclotetrasiloxane	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄		34.106	13.276	-
141-62-8	十甲基四硅氧烷	decamethyl-tetrasiloxane	C ₁₀ H ₃₀ O ₃ Si ₄		1.770	16.479	-
541-02-6	十甲基环五硅氧烷	decamethyl cyclopentasiloxane	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅		15.779	19.829	-
141-63-9	十二甲基五硅氧烷	dodecamethyl pentasiloxane	C ₁₂ H ₃₆ O ₄ Si ₅		0.065	21.028	-
112-40-3	十二烷	dodecane	C ₁₂ H ₂₆	烷烃	0.061	22.227	-
3555-47-3	1,1,1,5,5,5-六甲基-3,3-双[(三甲基硅基)氧基]-三硅氧烷	tetrakis (trimethylsiloxy) sil	C ₁₂ H ₃₆ O ₄ Si ₅		0.807	23.205	-
540-97-6	十二甲基环六硅氧烷	cyclohexasiloxane, dodecamethyl	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆		0.027	25.079	-
107-52-8	十四甲基六硅氧烷	tetradecamethyl hexasiloxane	C ₁₄ H ₄₂ O ₅ Si ₆		0.115	28.850	-
629-59-4	十四烷	tetradecane	C ₁₄ H ₃₀		0.037	29.201	-
629-62-9	正十五烷	pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	烯烃	0.055	32.361	-
629-78-7	正十七烷	heptadecane	C ₁₇ H ₃₆		0.175	37.860	-
107-51-7	八甲基三硅氧烷	octamethyl trisiloxane	C ₈ H ₂₄ O ₂ Si ₃		0.675	7.609	-
100-42-5	苏合香烯	cinnamene	C ₈ H ₈		0.199	8.106	芳香气味
2579-04-6	8-十七烷烯	8-heptadecene	C ₁₇ H ₃₄		0.049	37.369	-
475-20-7	长叶烯	D-longifolene	C ₁₅ H ₂₄	芳香烃	0.036	29.595	木香气味
108-38-3	1,3-二甲基苯	1,3-xylene	C ₈ H ₁₀		0.233	6.923	强烈芳香气味
091-20-3	萘	naphthalene	C ₁₀ H ₈		0.127	21.600	强烈的焦油味
091-57-6	2-甲基萘	2-methylnaphthalene	C ₁₁ H ₁₀		0.021	25.701	-
106-42-3	对二甲苯	1,4-xylene	C ₈ H ₁₀		0.120	7.031	芳香气味
090-12-0	1-甲基萘	1-methylnaphthalene	C ₁₁ H ₁₀	酯类	0.017	25.701	类似萘气味, 焦油味
54546-22-4	9-十六碳烯酸乙酯	9-hexadecenoic acid,ethyl ester	C ₁₈ H ₃₄ O ₂		0.053	42.544	-

注: -表示该化合物无气味。

烃类化合物的来源主要为脂肪酸中烷氧自由基均裂, 本研究结果中共检测出 13 种烷类物质、3 种烯类物质和 5 种芳香烃类物质。烷烃基本无香气^[32], 相对含量占比较大, 为 55.708%, 但对鳊风味的贡献较小。烯类化合物中苏合香烯相对含量最高, 为 0.199%, 有芳香气味; 长叶烯占 0.036%, 有木香气味。芳香烃中 1,3-二甲基苯、对二甲苯均呈芳香气味, 对鳊风味起到不同程度的提升作用。

酯类化合物由低水平的饱和脂肪酸和饱和脂肪酸醇

组成, 由酸将醇酯化而成, 主要包括乙酯类。大多数酯都有果香和花香的味道, 酯的味道可以减弱脂肪酸的刺激性味道和氨基的苦味, 具有较低的阈值。检测结果中仅检测出 9-十六碳烯酸乙酯一种酯类化合物, 在整体香气中发挥细微作用。1-辛烯-3-醇在许多水产品中广泛分布^[33], 被认为是土腥味等异味的来源, 胡静等^[13]在鳊样本中曾检出, 本次样品中没有检出, 可能由于黑龙江鳊背肌中土腥味较少。本研究结果中共检测出 2 种酚类物质, 乙酰基异丁香

酚呈现似丁香的香辛料香气; 4-丙烯基-2-甲氧基苯酚呈香石竹、丁香花样花香气, 均对鳙肌肉清香味有贡献。

3 结 论

本研究探究了盐离子浓度、萃取温度、萃取时间和解吸时间对鳙肌肉中挥发性风味物质萃取效率的影响, 在单因素实验基础上进行响应面优化, 优化后的最佳萃取条件为盐度 7.7%、萃取温度 82.4℃、萃取时间 46.5 min、解吸时间 5.4 min。此条件下, 检测出挥发性风味物质共 33 种, 综合评分为 101.4173, 与模型理论值接近, 说明建立的回归方程模型能较真实准确地反映出各因素对萃取结果的影响。检测出的挥发性风味物质中, 醛类化合物对鳙肌肉风味贡献较大。本研究优化了高效萃取鳙肌肉中风味物质的方法, 为鳙的风味品质调控提供了技术支持和理论依据。

参考文献

- [1] 孔令杰. 黑龙江省鳙鱼产业现状及发展对策[J]. 黑龙江水产, 2022, 41(2): 28–31.
KONG LJ. Present situation and development countermeasures of *Siniperca chuatsi* industry in Heilongjiang Province [J]. North China Fish, 2022, 41(2): 28–31.
- [2] 葛一笑, 邹昊博, 夏邦华, 等. 黑龙江 5 个群体翘嘴鲌肌肉质构及营养成分比较分析[J/OL]. 大连海洋大学学报: 1–12. [2022-12-07]. DOI: 10.16535/j.cnki.dlhyxb.2022-023
GE YX, ZOU HB, XIA BH, et al. Comparative analysis of muscle texture and nutritional components in five groups of *Culter alburnus* in Heilongjiang [J/OL]. J Dalian Ocean Univ: 1–12. [2022-12-07]. DOI: 10.16535/j.cnki.dlhyxb.2022-023
- [3] 刘欢, 张德权, 王振宇, 等. 北京烤鸭腿皮与腿肉关键挥发性风味物质解析[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 308–318.
LIU H, ZHANG DQ, WANG ZY, et al. Analysis of aroma compounds in leg skin and leg meat from Beijing roasted duck [J]. J China Inst Food Sci Technol, 2021, 21(2): 308–318.
- [4] 宋居易, 陈啸天, 刘舒芹, 等. 基于全二维气相色谱-四极杆飞行时间质谱法比较顶空-固相微萃取法和同时蒸馏法对砂仁中挥发性成分的提取效果[J]. 理化检验-化学分册, 2022, 58(2): 181–192.
SONG JY, CHEN XT, LIU SQ, et al. Comparison of extraction effect of Headspace-solid phase microextraction and simultaneous distillation on volatile components in *Amomum villosum* based on comprehensive two-dimensional gas chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal, 2022, 58(2): 181–192.
- [5] 汤秀华, 周郑虹. 微波辅助萃取法从生姜中提取姜辣素的工艺[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(8): 88–91.
TANG XH, ZHOU ZH. Study on microwave-assisted extraction of gingerol in ginger [J]. Food Res Dev, 2012, 33(8): 88–91.
- [6] 李耀光, 侯鹏娟, 李皓, 等. 基于顶空固相微萃取印蒿挥发性风味成分的 GC-MS 分析[J]. 食品科技, 2016, 41(4): 293–297.
LI YG, HOU PJ, LI H, et al. Analysis on volatile constituents of *Artemisia pallis* W. by SPME-GC-MS [J]. Food Sci Technol, 2016, 41(4): 293–297.
- [7] MUÑOZ RJM, VALCÁRCEL MMJ, SOLANA RR, et al. Development of a methodology based on headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of esters in brandies [J]. J Food Compos Anal, 2022, 108: 104458.
- [8] SVENBERG L, EMMER Å. Chemical diversity between three graminoid plants found in western kenya analyzed by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) [J]. Plants, 2021, 10(11): 2423–2423.
- [9] 宋敏杰, 李婷婷, 任丽琨, 等. 贮藏和解冻方式对大菱鲆嘌呤含量的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(7): 143–150.
SONG MJ, LI TT, REN LK, et al. Effects of storage and thawing methods on the content of purine in *Scophthalmus maximus* [J]. J China Inst Food Sci Technol, 2020, 20(7): 143–150.
- [10] 李亚会, 周伟, 李积华, 等. 罗非鱼酶解液酵母发酵脱腥工艺及其挥发性成分的研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 66–71.
LI YH, ZHOU W, LI JH, et al. Study on deodorization process of *Oreochromis mossambicus* enzymatic hydrolysate by yeast fermentation and its volatile componets [J]. Food Res Dev, 2021, 42(4): 66–71.
- [11] 周迎芹, 孙子怡, 黄晶晶, 等. 臭鳊鱼源清酒乳杆菌的分离鉴定及其在臭鳊鱼发酵中的应用[J]. 食品科学, 2022, 43(12): 194–202.
ZHOU YQ, SUN ZY, HUANG JJ, et al. Isolation and identification of *Lactobacillus sakei* from fermented mandarin fis and its application in fermented mandarin fish [J]. Food Sci, 2022, 43(12): 194–202.
- [12] 雷跃磊, 卢素芳, 张光华, 等. 湖北风味发酵鳊鱼加工关键工艺[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 155–160.
LEI YL, LU SF, ZHANG GH, et al. Key process of Hubei flavor fermented mandarin fish [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(16): 155–160.
- [13] 胡静, 张凤枰, 刘耀敏, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法测定鳊鱼肌肉中的挥发性风味成分[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17): 313–316.
HU J, ZHANG FP, LIU YM, et al. Determination of volatile flavor components of *Siniperca chuatsi* meat by head space solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34(17): 313–316.
- [14] SINGH A, VAISH A, SHUKLA R. Box-Behnken design optimized silibinin loaded glycerylmonooleate nanoliquid crystal for brain targeting [J]. Chem Phys Lipids, 2022, 244: 105193.
- [15] 夏邦华, 黄晓丽, 高磊, 等. 辽宁省稻田养殖中华绒螯蟹中可食部分砷的含量特征及食用安全评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(16): 5359–5366.
XIA BH, HUANG XL, GAO L, et al. Characterization of arsenic and evaluation of food safety in the edible fraction of *Eriocheir sinensis* cultured in rice fields in Liaoning Province [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(16): 5359–5366.
- [16] LATIF A, MAQBOOL A, ZHOU R, et al. Optimized degradation of bisphenol a by immobilized laccase from *Trametes versicolor* using Box-Behnken design (BBD) and artificial neural network (ANN) [J]. J Environ Chem Eng, 2022, 10(2): 107331.
- [17] RAJADURA I, VIJAYALAKSHM I, ANGURA J, et al. Multivariate response optimization of Pb(II) extraction from wastewater using Box-Behnken design [J]. Chem Pap, 2022, 76(5): 2677–2690.
- [18] 艾对, 张富新, 于玲玲, 等. 羊奶中挥发性成分顶空固相微萃取条件的优化[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(1): 40–46.
AI D, ZHANG FX, YU LL, et al. Optimization of head space solid phase micro-extraction conditions for volatile components in goat milk [J]. J Food Sci Biotechnol, 2015, 34(1): 40–46.
- [19] 徐梓焱, 舒畅, 罗中魏, 等. 响应面法优化 HS-SPME-GC-MS 法检测猪肉中挥发性风味物质[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 252–259.
XU ZH, SHU C, LUO ZW, et al. Optimization of the HS-SPME-GC-MS

- technique for determination of volatile flavor compounds in pork by response surface methodology [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(6): 252–259.
- [20] RUI M, XIAOHONG L, HAINING T, *et al*. Odor-active volatile compounds profile of triploid rainbow trout with different marketable sizes [J]. *Aquacult Rep*, 2020, 17(C): 100312.
- [21] 张鹏云, 李蓉, 陈丽斯, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法结合自动解卷积技术分析葛根中的挥发性成分[J]. *食品科学*, 2019, 40(12): 220–225.
- ZHANG PY, LI R, CHEN LS, *et al*. Analysis of volatile compounds in *Pueraria radix* using headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) combined with automated mass spectral deconvolution and identification system (AMDIS) [J]. *Food Sci*, 2019, 40(12): 220–225.
- [22] 杨祺福, 徐文思, 胡思思, 等. 基于HS-SPME-GC-MS的小龙虾加工水煮液中挥发性风味成分萃取条件优化[J]. *食品与机械*, 2022, 38(2): 57–63.
- YANG QF, XU WS, HU SS, *et al*. Optimization of extraction conditions for volatile flavor compounds in *Procambarus clarkii* boiled liquid based on HS-SPME-GC-MS [J]. *Food Mach*, 2022, 38(2): 57–63.
- [23] 刘晓慧, 张丽霞, 王日为, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法分析黄茶香气成分[J]. *食品科学*, 2010, 31(16): 239–243.
- LIU XH, ZHANG LX, WANG RW, *et al*. Analysis of volatile components of Yellow Tea by HS-SPME/GC-MS [J]. *Food Sci*, 2010, 31(16): 239–243.
- [24] AGI A, JUNIN R, ZAIDI J M, *et al*. Process optimization of reservoir fines trapping by mesoporous silica nanoparticles using Box-Behnken design [J]. *Alex Eng J*, 2022, 61(11): 8809–8821.
- [25] 陈鸿彬, 梁鹏, 汪晴, 等. 响应面法优化海鲈鱼肉脱腥工艺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(13): 4203–4211.
- CHEN HB, LIANG P, WANG Q, *et al*. Optimized deodorization process of *Lateolabrax japonicus* meat by response surface methodology [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(13): 4203–4211.
- [26] 史晓杰, 朱瑞, 祁立波, 等. 砂锅鱼高汤的工艺优化及挥发性风味物质分析[J]. *中国调味品*, 2020, 45(4): 5–12.
- SHI XJ, ZHU R, QI LB, *et al*. Process optimization and volatile flavor compounds analysis of casserole fish stock [J]. *China Cond*, 2020, 45(4): 5–12.
- [27] 赵元元, 武润琳, 王然, 等. 煎炸过程对棕榈油品质及南美白对虾中AGEs含量的影响[J]. *中国油脂*, 2022, 47(3): 78–85.
- ZHAO YY, WU RL, WANG R, *et al*. Effects of frying process on the quality of palm oil and AGEs content in *Penaeus vannamei* [J]. *China Oils Fats*, 2022, 47(3): 78–85.
- [28] 赵玲, 胡梦月, 曹荣, 等. 三种金枪鱼不同部位肌肉营养成分与风味物质比较[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(21): 319–326.
- ZHAO L, HU MY, CAO R, *et al*. Comparison of nutritional components and flavor substances of different muscle parts of three kinds of tuna species [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(21): 319–326.
- [29] 凌胜男, 刘特元, 陈雪叶, 等. 不同解冻方式对鳊鱼鲜度及挥发性风味物质的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 322–330.
- LING SN, LIU TY, CHEN XY, *et al*. Effect of different thawing methods on the freshness and volatile flavor compounds of *Engraulis encrasicolus* [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022, 43(5): 322–330.
- [30] 李波, 邵俊峰, 史莹莹. 盐水鹅卤水中营养成分及挥发性特征风味物质分析[J]. *中国调味品*, 2019, 44(4): 27–30.
- LI B, SHAO JF, SHI YY. Analysis of nutritional components and volatile characteristic flavor substances in salted goose brine [J]. *China Cond*, 2019, 44(4): 27–30.
- [31] 高先楚, 顾赛麒, 陶宁萍, 等. 基于MonoTrap捕集法检测中华绒螯蟹性腺和肝胰腺中的香气成分[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(15): 324–329.
- GAO XC, GU SL, TAO NP, *et al*. Comparison of volatile compounds in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) hepatopancreas and crab gonad by monotrapp adsorption [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(15): 324–329.
- [32] 步婷婷, 徐大伦, 杨文鸽, 等. 虾籽酱发酵工艺条件的优化及其挥发性风味成分研究[J]. *核农学报*, 2016, 30(1): 110–119.
- BU TT, XU DL, YANG WG, *et al*. Optimization of fermentation conditions and volatile components of *Centropages mcmurrici* sauce [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2016, 30(1): 110–119.
- [33] 胡梦月, 王善宇, 薛勇, 等. 即食虾干加工过程风味变化[J]. *中国渔业质量与标准*, 2020, 10(6): 10–16.
- HU MY, WANG SY, XUE Y, *et al*. Changes in flavor characteristics of dried shrimps during processing [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2020, 10(6): 10–16.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



相懿芳, 硕士研究生, 主要研究方向
水产动物遗传育种。
E-mail: 747189461@qq.com



夏邦华, 博士研究生, 主要研究方向
水产动物遗传育种。
E-mail: 1037352095@qq.com



韩英, 教授, 主要研究方向为水产
动物遗传育种。
E-mail: hanying606@163.com



薛淑群, 讲师, 主要研究方向为水产
动物遗传育种。
E-mail: xueshuqun@neau.edu.cn