

顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析白鲢鱼中的挥发性成分

陈俊卿, 王锡昌

(上海水产大学, 上海 200090)

摘要: 以我国重要食用的淡水鱼之一, 白鲢鱼为原料, 采用涂有聚二甲基硅氧烷-二乙烯苯(PDMS-DVB)涂层的固相微萃取头萃取挥发性成分, 以鱼肉气味成分中含量比较多的物质(己醛、己醇、庚醛、庚醇、辛醛、1-辛烯-3-醇、壬醛等)为参照对象, 比较了不同涂层的萃取头、萃取时间、萃取温度、离子强度、初始状态下不分流时间的长短、解吸时间、程序升温速率等因素对固相微萃取的萃取效率以及气相色谱-质谱联用仪分析效率的影响, 建立了顶空固相微萃取技术与气相色谱-质谱联用仪分析鉴定鱼肉中的气味成分的方法。结果表明: 固相微萃取技术有效地吸附了鱼肉中的挥发性成分, 经 NIST 质谱数据库检索和文献对照, 共确定 27 种成分, 并且萃取时不会造成环境污染, 分析简单、快速、经济。

关键词: 顶空-固相微萃取; 气相色谱-质谱; 挥发性成分; 白鲢鱼

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2005)02-76-05

Analysis of Odors from Silver Carp by Headspace-Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

CHEN Jun-qing, WANG Xi-chang

(Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: In this paper, a method for the determination of odors from silver carp using headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) was presented. The SPME fiber was coated with polydimethylsiloxane-divinylbenzene (PDMS-DVB). The extraction and chromatography conditions were optimized with compared some common analysis in fish meat volatiles. The volatiles were hexanal, 1-hexanol, heptanal, heptanol, octanal, 1-octen-3-ol and nonanal. The results showed that SPME was effective to analysis of the volatiles in fish meat.

Key words: headspace-solid phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry; volatiles; silver carp

我国的淡水鱼产量呈逐年上升的趋势, 到目前为止, 淡水鱼总产量已达到 2 000 多万吨以

上, 占渔业总产量的 50% 左右。近年来, 我国主要的淡水鱼如青鱼、草鱼、鲢鱼、鳙鱼等的加工利

收稿日期: 2004-07-21; 修回日期: 2004-09-08

基金项目: 白鲢鱼肉腥味成分的分离与特性(02181)

作者简介: 陈俊卿(1979~), 女(汉族), 河北人, 上海水产大学在读硕士研究生, 从事食品化学研究。E-mail: cjquqin@sohu.com

用已见不少研究报道,但是由于养殖的淡水鱼普遍具有特有的鱼腥味、泥土味,不被一些消费者接受,严重影响了淡水鱼加工产品的发展,因此有必要通过测定淡水鱼肉中的气味成分,为淡水鱼加工及品质管理方面提供有指导意义的基础理论数据。

常用的浓缩预处理的方法有顶空法^[1](HeadSpace, HS)、吹扫捕集法^[2](Purge and Trap)、液液萃取法^[3](Liquid-Liquid Extraction)以及固相萃取法(Solid Phase Extraction, SPE)、同时蒸馏萃取(Simultaneous Distillation Extraction, SDE)^[4]和超临界流体萃取^[5](Supercritical-Fluid Extraction, SFE)等方法,这些传统方法都不同程度地存在着某些缺点,或费用太高,或样品量过多、费时,或使用的是对人体有害的有机溶剂,对操作者造成潜在的危害,还可能在浓缩过程中丢失香气物质。

固相微萃取技术(Solid Phase Microextraction, SPME)是 20 世纪 90 年代以来出现的样品处理方法,它克服了以前一些传统样品处理几乎所有缺点,无需有机溶剂、简单方便、测试快、费用低,集采样、萃取、浓缩、进样于一体,能够与气相或液相色谱仪联用。本试验拟采用固相微萃取技术与气相色谱-质谱(GC/MS)联用技术分析鉴定鱼肉中的气味成分方法,优化 HS-SPME 的萃取参数,探讨 HS-SPME 用于分离鱼肉气味物质的可行性,建立该样品处理法与 GC/MS 联用测定白鲢鱼肉中挥发性物质的分析方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

6890N/5973 GC/MS 气相色谱-质谱联用仪:美国安捷伦(Agilent)公司产品;萃取装置:SPME 手柄;萃取头(100 μm PDM S, 65 μm PDM S-DVB, 75 μm CAR-PDM S);美国 Spelco 公司产品;顶空进样瓶:中国安谱公司产品,4 mL;RCT-basic 加热磁力搅拌器:日本岛津公司产品。

1.2 主要材料

上海市图门路集贸市场购得鲜活白鲢,急杀后去头、内脏和鳞皮等,取鱼肉部分作为试样。

1.3 样品前处理

鱼肉试样经搅碎并添加一定比例的双蒸水进行水浴减压蒸馏,水浴温度为 90 $^{\circ}\text{C}$,鱼肉与水的比例为 1 : 1。蒸馏完毕取蒸出的馏分为分析试验对象。

1.4 实验条件

1.4.1 固相微萃取条件 萃取温度 50 $^{\circ}\text{C}$;萃取时间 30 min;搅拌;解吸时间 5 min;解吸温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4.2 色谱条件 色谱柱:HP-5MS 弹性毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);程序升温:柱初温 30 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 30 min;进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$;载气(He)流量 0.8 mL/min;分流比 50 : 1;

1.4.3 质谱条件 传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$;离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$;电子能量 70 eV;质量扫描范围 m/z 35~350。

1.5 实验方法

在 4 mL 的顶空瓶中放入微型磁力搅拌子,加入 2.5 mL 的样品,然后置于磁力搅拌台上,将 SPME 针管插入顶空瓶中,调整并固定萃取头在顶空体积中的位置,搅拌速度为该磁力搅拌器的最大挡(360 r/min),在一定温度下顶空萃取一段时间后取出,迅速插入到气相色谱仪的进样口,解吸 5 min 后,取出 SPME 针管。

2 结果与讨论

2.1 固相微萃取条件的优化

2.1.1 萃取头的选择 SPME 使用的第一步是选择合适的萃取头,试验中采用 PDM S、PDM S-DVB 以及 CAR-PDM S 三种不同涂层的纤维头。萃取对象为上述 1.3 项的样品,按 1.4 项的萃取和分析步骤进行比较,发现涂层为 PDM S-DVB 和 CAR-PDM S 两种萃取头都可以有效地吸附样品中的挥发性成分。涂层为 PDM S-DVB 的萃取头吸附的范围比较宽,可以吸附分子质量大的物质,而涂层为 CAR-PDM S 萃取头则适用于小分子物质。因此对于本试验选择涂层为 PDM S-DVB 萃取头。

2.1.2 萃取温度的选择 萃取温度对吸附采样的影响具有两面性,一方面,温度升高会加快样品分子运动,导致液体蒸汽压的增大,有利于吸附;另一方面,温度升高也会降低萃取头吸附分

析组分的能力,使得吸附量下降。从图 1 中也可以看出温度在 55 时 SPM E 对部分物质的吸附能力反而下降。此外在试验过程中随着温度的升高,样品顶空体积中水蒸气的浓度也随之增加,影响了萃取头对目标化合物的吸附。温度太低,样品中的气味物质不能完全挥发。因此萃取温度选择 45 。

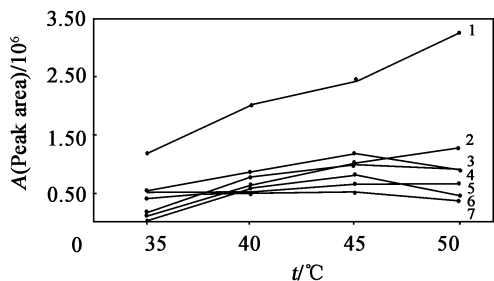


图 1 温度对萃取效率的影响

Fig 1 Effect of temperature on extraction efficiency

1—壬醛 (Nonanal); 2—壬醇 (Nonanol); 3—葵醛 (Decanal); 4—辛醇 (Octanol); 5—1-辛烯-3-醇 (1-Octen-3-ol); 6—己醛 (Hexanal); 7—庚醛 (Heptanal)

2.1.3 萃取时间的选择 萃取时间主要指达到或接近平衡所需要的时间。在萃取的初始阶段,待分析组分很容易且很快富集到固相微萃取的纤维头上,随着时间的延长,富集的速度越来越慢,因此萃取过程中不必达到完全平衡,因为平衡之前萃取头涂层中吸附的物质质量与其最终浓度就已存在一个比例关系,所以在接近平衡时即可完成萃取过程。从图 2 中可以看出,在 30 min (先平衡 10 min) SPM E 对待测组分的吸附已基本达到平衡。

2.1.4 离子强度的影响 在萃取前于样品中添加无机盐可以降低有机化合物的溶解度,产生盐析,提高分配系数从而达到增加萃取头固定相对分析组分的吸附。实验中,比较了加入不同质量浓度的氯化钠对 SPM E 萃取效率的影响。在其它条件不变的情况下,改变样品中氯化钠的质量浓度(0.09, 0.18, 0.27, 0.36 g/mL),分别进行 SPM E 萃取 GC/MS 测定(当氯化钠质量浓度为 0.36 g/mL 时达到饱和状态),结果示于图 3。添加氯化钠后对萃取效率的影响还是比较显著的,当氯化钠质量浓度达到 0.09 g/mL 时,增

大浓度对萃取效率的影响不大,因此在萃取过程中于样品中添加氯化钠的质量浓度选择为 0.09 g/mL。

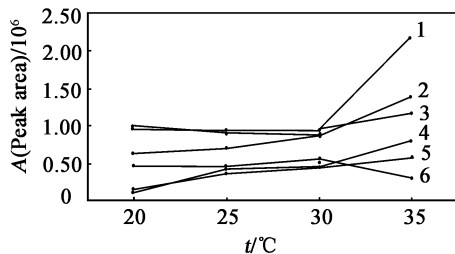


图 2 吸附时间对萃取效率的影响

Fig 2 Effect of adsorption time on extraction efficiency

1—1-辛烯-3-醇 (1-Octen-3-ol); 2—葵醛 (Decanal); 3—己醛 (Hexanal); 4—庚醛 (Heptanal); 5—辛醇 (Octanol); 6—壬醇 (Nonanol)

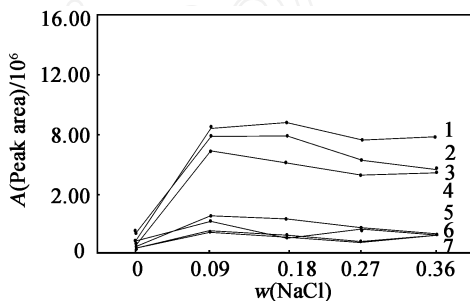


图 3 外加 NaCl 的质量浓度对萃取效率的影响

Fig 3 Effect of NaCl spiked levels on extraction efficiency

1—1-辛烯-3-醇 (1-Octen-3-ol); 2—辛醇 (Octanol); 3—壬醛 (Nonanal); 4—壬醇 (Nonanol); 5—葵醛 (Decanal); 6—己醛 (Hexanal); 7—庚醛 (Heptanal)

2.1.5 搅拌的影响 搅拌可以促进萃取,缩短萃取时间,本试验比较了搅拌与不搅拌情况下 SPM E 对样品萃取效率的影响。从图 4 可以看出,经搅拌样品的萃取效果明显高于不搅拌的样品,搅拌速度可以大一些以提高萃取效率。本实验采用的搅拌速度为该磁力加热搅拌器的最大档(360 r/min)。

2.1.6 解吸时间的选择 将已经吸附目标化合物的 SPM E 萃取头插入到气相色谱仪的进样口,利用进样口的高温热解目标化合物,然后通过载气将其导入色谱柱内,进行分析。分别比较了热解吸时间为 3.0, 5.0, 10.0 min 时的信号值变化,结果示于图 5。热解吸时间超过 5 min 后,

信号的峰面积基本没有变化, 为了确保吸附在萃取头固定相上的化合物完全解吸下来, 防止将吸附的物质带入下一次分析中, 实验选定热解吸时间为 10 m in。

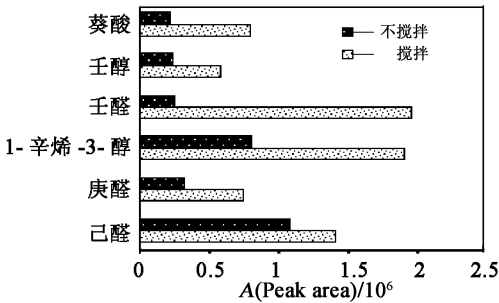


图 4 搅拌对萃取效率的影响

Fig 4 Effects of agitation on extraction efficiency

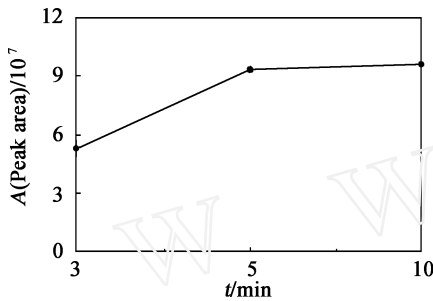


图 5 解吸时间对萃取效率的影响

Fig 6 Effect of desorption time on extraction efficiency

2.2 色谱条件的选择

在尽可能短的分析时间内使样品组分得到最大的分离是试验中选择色谱条件的目的。通过改变程序升温速度、初始状态下不分流的时间, 使样品组分在比较短的时间内得到比较好的分离效果。图 6 是在改变初始状态下不分流的时间前后的比较结果, 从数据分析中可以看出延长初始状态下不分流的时间后, 样品组分的总峰面积明显增大, 为减少色谱柱的污染, 选择初始状态下不分流时间为 3 m in。图 7 是在改变程序升温速度前后的比较结果(10 μ m in 与 5 μ m in), 图谱显示降低升温速度后各个组分峰之间的分离度增大了, 更方便于检索。最后确定初始状态下不分流进样, 3 m in 后打开分流阀, 分流比为 50:1。程序升温程序为: 柱初温 30 $^{\circ}$ C, 保持 2

m in, 以 5 μ m in 上升至 250 $^{\circ}$ C, 保持 30 m in。

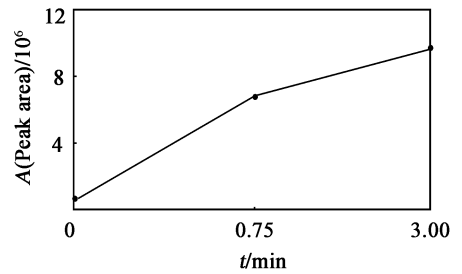


图 6 初始状态不分流时间的变化对分析效率的影响

Fig 6 Effect of splitless on analysis efficiency

2.3 质谱条件的选择

质谱检测器有 SM 检测和 Scan 检测两种方式, 虽然 SM 检测方式的灵敏度明显高于 Scan 检测方式, 但 SM 检测方式更适合于针对已知化合物, 通过已知化合物的特征离子峰进行检测。而本实验样品中的气味成分是未知组分, 并且组分复杂多样, 所以在试验中采用 Scan 检测方式。

2.4 挥发性成分的鉴定

白鲢鱼肉挥发性成分的 GC/MS 色谱图示于图 8。经 NIST 图库检索以及文献参考共检出并确定 27 种成分, 各成分列于表 1。

鱼肉中的气味主要是由于挥发性羰基化合物和醇造成的, 而这些化合物是通过特定的脂肪氧合酶作用于鱼脂质中的多不饱和脂肪酸衍生物而来^[6]。按上述选定的 SPME 萃取条件和 GC/MS 检测条件, 共检出 27 种成分。从表 1 中可以看出, 在所确定的 27 种成分中, 多都是有一些含有羰基的饱和或不饱和的醛类、酮类、酯类以及醇类化合物组成, 其中醇类 6 个、醛类 11 个、酮类 5 个、酯类 1 个和其他(苯类、萘类等) 4 个, 这与前人研究的鱼肉中气味成分组成基本一致^[7-9]。从相对分子质量(M_r)范围来看, 大部分物质的 M_r 处于 90~200, 所确定的样品成分的相似度均在 80% 以上, 有较高的可信度。因为试验中采用的样品是加热以后蒸馏出的馏分为研究对象, 因此在蒸煮过程中可能会失去一些相对分子质量小的挥发性成分并且伴随着一些大分子物质的合成。

表 1 白鲢鱼肉蒸馏样品中的挥发性成分

Table 1 Volatile compounds identified in the distillation of Silver Carp

No.	$t_R/m\text{in}$	Compound	M_r	Similarity/%	No.	$t_R/m\text{in}$	Compound	M_r	Similarity/%
1	2.627	hexane	86	86	15	15.19	1-octenol	130	96
2	2.856	ethyl acetate	88	88	16	15.442	1-nonen-3-ol	142	95
3	6.345	hexanal	100	94	17	15.874	2-nonanone	142	90
4	8.336	<i>p</i> -xylene	106	95	18	16.202	nonanal	142	95
5	8.569	1-hexanol	102	94	19	18.039	(<i>E</i>)-2-nonanal	140	91
6	9.217	2-heptanone	114	89	20	18.404	nonanol	144	91
7	9.45	heptanal	114	90	21	18.803	naphthalene	128	94
8	11.863	1-heptanol	116	92	22	19.07	2-decanone	156	88
9	12.107	1-octen-3-ol	128	96	23	19.416	decanal	156	92
10	12.412	2-octenone	128	94	24	22.099	11-dodecen-2-one	170	93
11	12.845	octanal	128	93	25	22.453	undecanal	170	91
12	13.236	(<i>E, E</i>)-2, 4-heptadienal	110	90	26	22.822	2, 4-decadienal	152	93
13	14.757	(<i>E</i>)-2-octenal	126	91	27	25.321	dodecanal	184	89
14	15.103	2-octen-1-ol	128	93					

3 小 结

采用涂有 PDM S-DVB 固相涂层的 SPM E 装置,建立了 HS-SPM E-GC/MS 测定鱼肉中气味物质的方法,初步优化了色谱条件和萃取条件,经 GC/MS 分析鉴定,初步确定有 27 种成分组成,这些成分多都是一些羰基类及醇类化合物,鱼肉的气味成分组成复杂且多变,故需通过进一步深入研究包括结合感官试验法方可加以确定。本试验结果为我国养殖淡水鱼肉气味组成的探明提供了一些初步数据,并为以后如何改善养殖淡水鱼肉不良风味提供有关理论参考。

参考文献:

- [1] Hanne HF Refsgaard Isolation and Quantification of Volatiles in Fish by Dynamic Headspace Sampling and Mass Spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 1997, 47: 1 114~ 1 118
- [2] Gislaire V, Fish Off-flavour Analysis by Headspace and Off-line Purge-and-Trap Followed by HS-GC/MS[J]. Am Lab, 2001: 28~ 31
- [3] 王 杰 食品风味分析的研究方法[J] 食品科学, 1988, (9): 1~ 5
- [4] 曹 健 食品风味物质的获取[J] 郑州粮食学院学报, 1996, 17(4): 36~ 40
- [5] 王伟丽 超临界流体萃取技术及其在食品工业中的应用[J] 食品研究与开发, 2002, 23(1): 4~ 7
- [6] Hanne HF Refsgaard Isolation and Quantification of Volatiles in Fish by Dynamic Headspace Sampling and Mass Spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 1997, 47: 1 114~ 1 118
- [7] David B Josephson Variations in the Occurrences of Enzymically Derived Volatile Aroma Compounds in Salt and Freshwater Fish [J]. J Agric Food Chem, 1984, 32: 1 344~ 1 347
- [8] Josephson D. Enzymic Hydroperoxide Initiated Effects in Fresh Fish[J]. J Food Sci, 1985, 52: 596~ 600
- [9] Josephson DB, Lindsay RC. Volatile Compounds Characterizing the Aroma of Fresh Atlantic and Pacific Oysters[J]. J Food Sci, 1987, 50: 5~ 9