

# 气-质联用法分析即食鲍鱼腐败前后挥发性成分的变化

郑瑞生<sup>1,2</sup>, 王曲芳<sup>1</sup>, 李昌莲<sup>1</sup>, 郑宗平<sup>1,2</sup>

(1. 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建泉州 362002)

(2. 福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室, 福建泉州 362002)

**摘要:** 为分析即食鲍鱼腐败菌引起的腐败特性, 运用固相微萃取结合气-质联用技术分析即食鲍鱼腐败前后和感染腐败菌-生孢梭菌后的鲍鱼挥发性成分的变化。结果表明: 即食鲍鱼中烤肉的香味较显著, 醇类 (51.93%), 含氮含硫类 (20.91%) 和醛类 (6.62%) 化合物是其主要的挥发性成分来源, 其中丁二醇 (42.64%)、甲基吡嗪 (12.41%) 为其最重要特征风味物质。自然腐败鲍鱼产生显著的粪臭味及酸败味, 以含氮含硫类 (49.16%), 芳香族类 (20.73%), 酸类 (18.83%) 化合物为主。其中吲哚 (占 41.93%), 苯酚 (20.73%), 2-甲基丁酸 (7.13%) 等为自然腐败鲍鱼的特征气味物质。生孢梭菌感染的鲍鱼也产生显著的粪臭味及酸败味。酸类 (45.76%), 含氮含硫类 (18.25%) 化合物是其最主要的挥发性物质, 其中 4-甲基戊酸 (37.49%), 二甲基三硫化物 (8.16%) 和吲哚 (5.76%) 等为染菌鲍鱼的特征气味物质。可见, 梭菌是真空包装食品重要的微生物污染源之一, 有必要对其采取更为安全、高效的杀菌方式。

**关键词:** 气-质联用仪; 即食鲍鱼; 腐败鲍鱼; 染菌鲍鱼; 挥发性物质

文章编号: 1673-9078(2019)11-261-269

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.036

## Analyzing the Volatile Components in Ready-to-eat (RTE) Abalone Before and After the Spoilage by Gas Chromatography-mass Spectrometry (GC-MS)

ZHENG Rui-sheng<sup>1,2</sup>, WANG Qu-fang<sup>1</sup>, LI Chang-lian<sup>1</sup>, ZHENG Zong-ping<sup>1,2</sup>

(1. College of Oceanology and Food Sciences, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362002, China)

(2. Fujian Province Key Lab for the Development of Bioactive Material from Marine Algae, Quanzhou 362002, China)

**Abstract:** In order to analyze the spoilage bacteria which caused the spoilage of the vacuum-packed RTE abalone, the solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) were used to analyze the changes of volatile components before and after the spoilage of RTE abalone, and the contaminated abalone by *Clostridium sporogenes* which was the spoilage bacteria of RTE abalone. The results showed that RTE abalone produced obvious scent of roast meat. Alcohols (51.93%), nitrogen-containing sulfur (20.91%) and aldehyde (6.62%) compounds were the main sources of volatile components. And butanediol (42.64%), methylpyrazine (12.41%) were the most important characteristic flavor substances of RTE abalone. But the naturally spoiled abalone produced significant fecal odor and rancidity. It mainly contained nitrogen-containing sulfur (49.16%), aromatic (20.73%), and acid (18.83%) compounds. Indol (41.93%), aromatic (20.73%), 2-methylbutyric acid (7.13%), which were the characteristic flavor substances of the natural spoilage abalone. The contaminated abalone by *Clostridium Sporogenes* also produced significant fecal odor and rancidity. The most important volatile substances in contaminated abalone were acid (45.76%) and nitrogen-containing sulfur (18.25%) compounds. The 4-methylpentanoic acid (37.49%), dimethyl trisulfide (8.16%) and indol (5.76%) were characteristic flavor substances of contaminated abalone. *Clostridium* is one of the most important microbial contamination sources for vacuum-packed food, and it is necessary to adopt a more efficient and safer sterilization method to kill *Clostridium*.

**Key words:** GC-MS; ready-to-eat abalone; spoilage abalone; contaminated abalone; volatile components

收稿日期: 2019-06-10

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目 (2017J0106); 福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发项目 (A101); 泉州市“港湾计划”引进高层次人才团队 (2018CT004); 泉州师范学院青年博士预研基金项目 (2015QBKJ03); 泉州师范学院第四批学科带头人培养对象, 泉州师范学院科研人员启动经费项目 (201407)

作者简介: 郑瑞生 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工与贮藏技术

中国是世界上重要的鲍鱼养殖及出口基地之一,鲍鱼产量占全球总产量的八成。然而,由于受季节性“供大于求”等因素影响,鲍鱼价格持续下跌。销售鲜活鲍鱼很难获得高额利润,脱水干燥方法也会大大降低鲍鱼的营养及口感<sup>[1,2]</sup>。软包装即食鲍鱼作为新型休闲食品,经高温熟制形成烤香味,深受广大消费者喜爱。但由于软包装即食鲍鱼不能像鲍鱼罐头那样进行高温高压杀菌,需要低温保藏<sup>[3]</sup>,导致软包装即食鲍鱼容易发生腐败变质,产生胀袋、恶臭、黑变等现象,并伴有严重的粪臭味及酸败味。目前国内鲜有针对即食鲍鱼腐败前后挥发性成分变化进行系统性研究,而分析腐败前后的即食鲍鱼主要特征风味物质对于揭示即食鲍鱼产品风味成因,及时掌握即食鲍鱼腐败变质情况具有重要的意义。

即食鲍鱼产品虽经过高温熟制过程,仍残留一些耐热腐败菌,如芽孢杆菌等,而真空包装后,造成局部厌氧环境,导致厌氧芽孢菌如生孢梭菌,肉毒杆菌的生长。有许多研究表明生孢梭菌,肉毒杆菌等是许多真空包装熟制肉制品的常见残留腐败菌<sup>[4-9]</sup>。因此,选取生孢梭菌感染的即食鲍鱼作为试验对象,通过分析即食鲍鱼感染前后的感官及挥发性成分变化,进一步验证引起即食鲍鱼腐败变质的特定腐败菌。

固相微萃取结合气-质联用技术集采样、萃取、浓缩、进样于一体,直接和气相色谱-质谱仪联用,可有效地分析样品中痕量挥发性有机物,重复性好,检出限值低,操作简便,分析速度快,费用低,且无需有机溶剂的优点,越来越广泛应用于食品中挥发性成分检测及品质鉴定等方面<sup>[10-13]</sup>。因此,本研究通过固相微萃取结合气-质联用技术研究即食鲍鱼腐败前后挥发性成分变化情况,以及生孢梭菌感染后即食鲍鱼挥发性物质变化情况,进一步验证引起真空包装即食鲍鱼腐败变质的特定腐败菌,为后期采取有效防腐措施提供理论依据。

## 1 试验材料

### 1.1 试验原料

本实验室在前期腐败变质的即食鲍鱼中筛查发现,肉毒梭菌是引起真空包装即食鲍鱼腐败变质的重要微生物污染源<sup>[3]</sup>。因此,选取厌氧型梭状芽孢杆菌的典型代表-生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*)作为试验对象,因与不产毒素的肉毒梭菌最为接近,常作为蛋白水解型肉毒梭菌B、E和F种的研究替代菌,本身也能引起食品的腐败<sup>[14,15]</sup>。该菌购于广东省微生物菌种保藏中心。

### 1.2 主要试剂

胰蛋白胨、牛肉膏、葡萄糖、碳酸钾、氯化钠、醋酸钠、盐酸、氢氧化钠、可溶性淀粉、硫乙醇酸钠,购于国药试剂公司;三水合乙酸钠,广东光华化学厂有限公司;酵母浸出粉、广东环凯微生物科技有限公司;L-半胱氨酸盐酸盐,上海远航试剂厂;刃天青, Sigma 公司;营养琼脂、蛋白胨、琼脂粉,杭州天和微生物试剂有限公司;Yeast Extract,上海生物工程有限公司。

### 1.3 主要仪器与设备

固相微萃取装置(DVB/CAR/PDMS)三涂层的萃取头,美国 Supelco 公司;气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪(7890A GC system, 5975C MSD),美国安捷伦公司;厌氧工作站,USA, Thermo Fisher Scientific Forma Anaerobic Sysetem 1029; BS224-S 型电子天平,北京;电热干燥箱,上海;超净工作台,苏州; CT-2000 型高压灭菌锅,天津; HZQ-F 型全温振荡培养箱,哈尔滨; HPS-250 型生化培养箱,哈尔滨; PHS-3S 型 pH 计,上海。

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 样品的采集

取三种鲍鱼样品,真空包装即食鲍鱼样品(即食鲍鱼);常温贮藏中发生腐败黑变流汁的即食鲍鱼样品(腐败鲍鱼);用生孢梭菌感染的即食鲍鱼样品(染菌鲍鱼),均取自福建省农副产品保鲜技术开发基地。

#### 1.4.2 菌悬液的制备及感染实验

##### 1.4.2.1 培养基制备

液体培养基的制备:采用厌氧管培养法,取 4 mL 配制好的 TYGA 液体培养基(胰蛋白胨 1.5%,氯化钠 0.25%,酵母浸出粉 0.5%,葡萄糖 0.5%,L-半胱氨酸盐酸盐 0.05%,硫乙醇酸钠 0.05%,刃天青 0.001%, pH 7.0±0.2)加入 15 mL 厌氧管中,冲入氮气后旋紧螺盖,121 °C 灭菌 20 min。固体培养基的制备:将配制好的 TYGA 固体培养基加热溶解,取 100 mL 左右加入 250 mL 医用试剂瓶中,冲入氮气,塞紧丁基 T 型胶塞,压上铝盖,121 °C 灭菌 20 min。

##### 1.4.2.2 染菌鲍鱼的接种培养

先将无菌注射器在充满 N<sub>2</sub> 的试剂瓶中来回抽吸几次,充满 N<sub>2</sub>。在厌氧工作站中打开生孢梭菌冻干粉,注入 1 mL TYGA 液体培养基,充分溶解混匀。再用无菌注射器吸取含生孢梭菌的液体培养基,注入 TYGA 液体厌氧培养管中,在 35 °C 振荡培养箱中培

养 18 h。依此方法对生孢梭菌连续接种活化。

选取培养 18 h 的生孢梭菌, 用充  $N_2$  的无菌生理盐水将已知浓度的菌悬液稀释至浓度为  $10^4 \sim 10^5$  cfu/mL, 然后取 0.1 mL 该菌液注射到经水浴灭菌的真空包装即食鲍鱼表面, 后将注射口进行热封。放置在 35 °C 培养箱培养至出现严重腐败现象后, 进行挥发性成分测定。

## 1.5 挥发性成分的测定

### 1.5.1 挥发性成分的顶空采集

分别取即食鲍鱼、腐败鲍鱼、染菌鲍鱼各 5 g, 切碎、匀浆后加入饱和氯化钠混匀, 转入顶空进样瓶中。将 SPME 针管插入样品瓶中进行萃取, 萃取温度 50 °C、萃取时间 30 min, 后取出萃取头, 迅速转入气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用仪进行后续分析鉴定。

### 1.5.2 GC-MS 分析鉴定鲍鱼挥发性成分

#### 1.5.2.1 气相色谱条件

HP-INNOWax Polyethylene Glyco 毛细管柱 (30 m×250  $\mu$ m×0.25  $\mu$ m); 载气为 He, 流速为 1.04 mL/min; 不分流模式进样; 进样口温度为 250 °C; 程序升温: 柱初温 60 °C, 保持 3 min, 以 3 °C/min 上升至 140 °C, 保持 0 min, 再以 5 °C/min 上升至 210 °C, 保持 5 min。

#### 1.5.2.2 质谱条件

5975C 型四极杆质谱仪, 电子轰击 (EI) 离子源, 电子能量为 70 eV; 离子源温度为 230 °C, 四极杆温度为 150 °C, 质量扫描范围: 45~550  $m/z$ 。

## 1.6 挥发性成分定性定量方法与数据统计

先通过 Nist 和 Willey 谱库对 GC-MS 鉴定样品的挥发性成分进行分析, 再结合有关文献进行人工谱图解析, 确定其化学成分; 且仅当正反匹配度均大于 800 (最大值为 1000) 的鉴定结果才予以报道。通过 Excel 数据处理系统, 按峰面积归一化法求得各化学成分在鲍鱼气味物质中的相对百分含量: (挥发性成分的峰面积 / 挥发性成分总峰面积) × 100。

## 2 结果与分析

### 2.1 三种鲍鱼的感官分析

由图 1~图 3 可知, 即食鲍鱼由于产生一系列的美拉德反应, 呈现出金黄色泽, 经高温烘制后组织结构变得更加饱满, 具有明显的烤肉香气, 同时略带鲜鲍鱼少许腥味。而腐败变质的鲍鱼经长时间放置后, 鲍

鱼感官形态发生显著变化, 出现严重黑变现象, 组织结构明显软烂且流汁, 并伴有强烈的粪臭味。生孢梭菌感染后的鲍鱼也呈现严重腐败变质现象, 组织结构出现明显软烂、流汁, 软体部周边开始黑变, 具有强烈的粪臭味及酸败味, 所呈现的腐败现象与自然腐败的即食鲍鱼较为相似。



图 1 即食鲍鱼

Fig.1 RTE abalone



图 2 腐败鲍鱼

Fig.2 Spoilage abalone



图 3 染菌鲍鱼

Fig.3 Contaminated abalone

### 2.2 鲍鱼挥发性成分总离子图谱

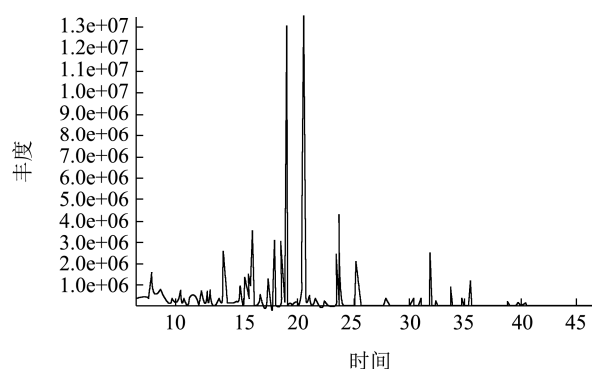


图 4 即食鲍鱼

Fig.4 RTE abalone

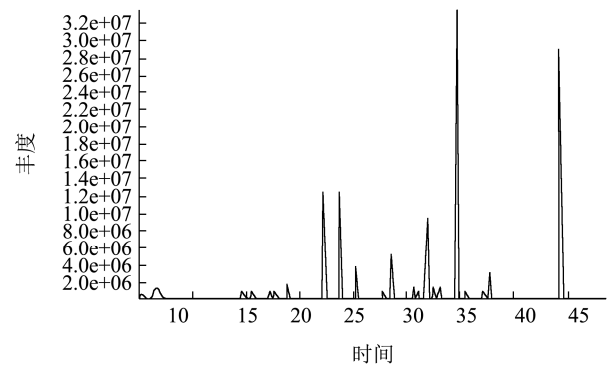


图5 腐败鲍鱼

Fig.5 Spoilage abalone

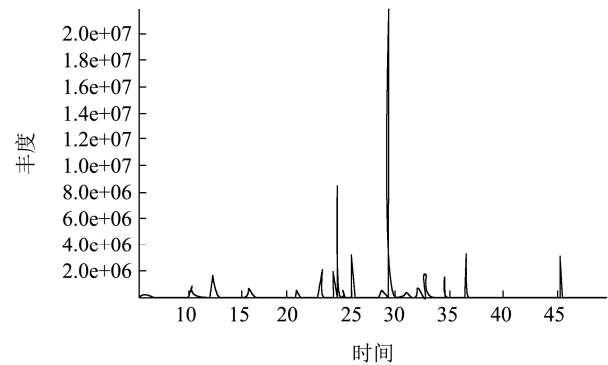


图6 染菌鲍鱼

Fig.6 Contaminated abalone

将三种鲍鱼样品的挥发性成分进行分离鉴定，得到总离子流色谱图，见图4~图6。按面积归一化法求得各成分的相对百分含量，这些挥发性成分多为一些醇、醛、酮、烃、酸、酯、芳香族、含氮含硫化合物等。如图7及表1~表7所示，三种鲍鱼中的挥发性物质共检出81种，按挥发性物质分：醇类物质18种，醛类物质7种，酮类物质4种，烃类物质6种，酯类

物质9种，酸类物质10种，芳香类物质6种，含氮含硫类物质21种。按鲍鱼样品分：即食鲍鱼检出51种，腐败鲍鱼检出23种，生孢梭菌感染的鲍鱼检出31种。即食鲍鱼主要以醇类、含氮含硫化合物为主，而腐败鲍鱼及染菌鲍鱼以酸类、芳香类及含氮含硫化合物为主。

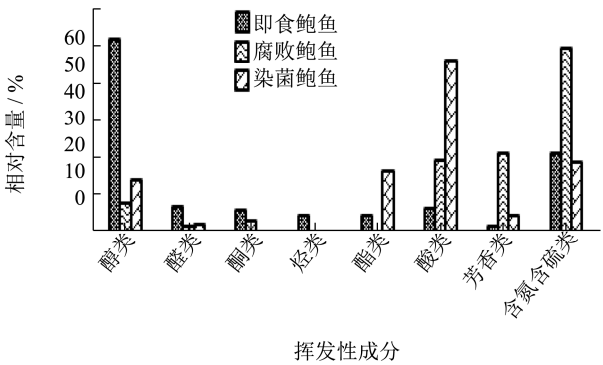


图7 不同处理的鲍鱼挥发性成分对比  
Fig.7 Comparison of volatile compounds from different processed abalones

2.3 醇类物质

如表1所示，三种鲍鱼中共检出醇类物质18种，其中即食鲍鱼检出12种，其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量的51.93%，其特征挥发性成分是2,3-丁二醇（占22.80%）。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中醇类物质相对含量大幅减少，其中严重腐败鲍鱼只检出醇类物质3种，占其总挥发性成分含量的7.51%；染菌鲍鱼中也只检出8种，占其挥发性成分含量的13.71%。可见，随着鲍鱼的腐败程度加重，醇类物质相对含量显著降低。

表1 鲍鱼中醇类物质的相对含量

Table 1 Relative contents of alcohols in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                 | 中文名                    | 挥发性成分相对含量% |      |      |
|----|----------|--------------------------------|------------------------|------------|------|------|
|    |          |                                |                        | 即食鲍鱼       | 腐败鲍鱼 | 染菌鲍鱼 |
| 1  | 6.89     | 1-Butanol, 3-methyl-           | 异戊醇                    | -          | 3.12 | -    |
| 2  | 9.65     | 2-Tetradecanol                 | 2-十四烷醇                 | 0.32       | -    | -    |
| 3  | 10.23    | 1-Pentanol, 4-methyl-          | 4-甲基-1-戊醇              | -          | -    | 3.95 |
| 4  | 13.80    | 1-Hexanol, 3-methyl-           | 3-甲基-1-己醇              | -          | -    | 0.73 |
| 5  | 15.20    | 1-Octen-3-ol                   | 1-辛烯-3-醇               | 4.35       | -    | 0.38 |
| 6  | 16.69    | 1-Hexanol, 2-ethyl-            | 2-乙基己醇                 | -          | -    | 0.38 |
| 7  | 18.97    | 2,3-Butanediol, [R- (R*,R*) ]- | (2R,3R) - (-) -2,3-丁二醇 | 19.84      | -    | -    |
| 8  | 20.46    | 2,3-Butanediol                 | 2,3-丁二醇                | 22.80      | -    | -    |
| 9  | 21.50    | (E) -2-Decen-1-ol              | 反式-2-癸烯醇               | 0.22       | -    | -    |
| 10 | 23.44    | 2-Furanmethanol                | 2-呋喃甲醇                 | 2.03       | -    | 3.02 |
| 11 | 25.60    | 2-Furanmethanol,5-methyl-      | 5-甲基-2-呋喃甲醇            | 0.07       | -    | -    |

转下页

|     |       |                             |             |       |      |       |
|-----|-------|-----------------------------|-------------|-------|------|-------|
| 接上页 |       |                             |             |       |      |       |
| 12  | 27.20 | 1-Hexanol, 2-ethyl-         | 2-乙基己醇      | 0.06  | -    | -     |
| 13  | 28.16 | 1H-Inden-5-ol, 2,3-dihydro- | 5-茛醇        | 0.13  | -    | -     |
| 14  | 29.55 | 5-Octen-1-ol, (Z)           | 顺式 5-辛烯-1-醇 | 0.03  | -    | -     |
| 15  | 29.67 | 4- (Methylthio) -1-butanol  | 4- (甲硫基) 丁醇 | -     | -    | 0.28  |
| 16  | 30.88 | Benzyl Alcohol              | 苄醇          | 0.08  | -    | 0.05  |
| 17  | 31.90 | Phenylethyl Alcohol         | 苯乙醇         | 1.99  | 4.00 | -     |
| 18  | 35.55 | Benzenepropanol             | 3-苯丙醇       | -     | 0.39 | 4.93  |
| 小计  |       |                             |             | 51.93 | 7.51 | 13.71 |

注：“-”表示该挥发性成分未检出。下表同。

表 2 鲍鱼中醛类物质的相对含量

Table 2 Relative content of aldehydes in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                           | 中文名     | 挥发性成分相对含量% | 序号   | 类别   |
|----|----------|------------------------------------------|---------|------------|------|------|
| 1  | 14.15    | 2-Octenal, (E) -                         | 反-2-辛烯醛 | 0.45       | -    | -    |
| 2  | 15.89    | Furfural                                 | 糠醛      | -          | -    | -    |
| 3  | 17.78    | Benzaldehyde                             | 苯甲醛     | 5.48       | 0.97 | 1.34 |
| 4  | 24.53    | Benzaldehyde, 3-ethyl-                   | 3-乙基苯甲醛 | 0.23       | -    | -    |
| 5  | 22.55    | Benzeneacetaldehyde                      | 苯乙醛     | 0.25       | -    | -    |
| 6  | 36.10    | 5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal              | 可卡醛     | 0.06       | -    | -    |
| 7  | 32.28    | Benzeneacetaldehyde, .alpha.-ethylidene- | 2-苯基巴豆醛 | 0.15       | -    | -    |
| 小计 |          |                                          |         | 6.62       | 0.97 | 1.34 |

表 3 鲍鱼中酮类物质的相对含量

Table 3 Relative content of ketones in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID          | 中文名       | 挥发性成分相对含量% | 序号   | 类别   |
|----|----------|-------------------------|-----------|------------|------|------|
| 1  | 6.83     | Cyclobutanone, 2-ethyl- | 2-乙基-环丁酮  | 4.36       | -    | -    |
| 2  | 9.33     | 2-Butanone, 3-hydroxy-  | 3-羟基-2-丁酮 | 0.85       | -    | -    |
| 3  | 22.47    | Acetophenone            | 苯乙酮       | -          | 0.38 | 0.84 |
| 4  | 37.66    | 2-Piperidinone          | 2-氮己环酮    | -          | 2.29 | -    |
| 小计 |          |                         |           | 5.21       | 2.67 | 0.84 |

2.4 醛类物质

如表 2 所示，三种鲍鱼中共检出醛类物质 7 种，其中即食鲍鱼检出 6 种，其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量的 6.62%，其主要挥发性成分是苯甲醛（占 5.48%）。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中醛类物质相对含量大幅减少，其中严重腐败鲍鱼只检出醇类物质 1 种，占其总挥发性成分含量的 0.97%；染菌鲍鱼中也只检出 1 种醛类物质，占其总挥发性成分含量的 1.34%。可见，随着鲍鱼的腐败程度加重，醛类物质含量也显著降低，尤其是苯甲醛。

2.5 酮类物质

如表 3 所示，三种鲍鱼中共检出酮类物质 4 种，其中即食鲍鱼检出 2 种，其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量的 5.21%，其特征挥发性成分是 2-

乙基-环丁酮（占 4.36%）。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中酮类物质相对含量大幅减少，其中严重腐败鲍鱼只检出酮类物质 2 种，占其挥发性成分相对含量 2.67%；染菌鲍鱼中也只检出 1 种酮类物质，占其挥发性成分相对含量 0.84%。可见，随着鲍鱼的腐败程度加重，醛类物质相对含量显著降低。

2.6 烃类物质

如表 4 所示，三种鲍鱼共检出烃类物质 6 种，其中即食鲍鱼检出 4 种，其相对含量占即食鲍鱼中总挥发性成分含量的 4.10%。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼烃类物质大幅减少，其中严重腐败鲍鱼只检出烃类物质 1 种，为 2,4,7-三甲氧基-11-芪-b、d 环庚烷，占挥发性成分相对含量 0.13%；染菌鲍鱼也检出 1 种烃类物质，为 1-环丙基-戊烷，占挥发性成分相对含量 0.21%。可见，随鲍鱼的腐败程度加重，烃类物质相对含量显著降低。

表4 鲍鱼中烃类物质的相对含量

Table 4 Relative content of hydrocarbons in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                                          | 中文名                         | 挥发性成分相对含量% | 序号   | 类别   |
|----|----------|---------------------------------------------------------|-----------------------------|------------|------|------|
| 1  | 7.60     | Tridecane, 4-methyl-                                    | 4-甲基-十三烷                    | 2.91       | -    | -    |
| 2  | 11.45    | Hexane, 1-methoxy-                                      | 1-甲氧基-己烷                    | 0.19       | -    | -    |
| 3  | 19.30    | Cyclopropane, pentyl-                                   | 1-环丙基-戊烷                    | -          | -    | 0.21 |
| 4  | 20.98    | Dibenz[b,d]cycloheptane, 2,4,7-trimethoxy-11-acetamino- | 2,4,7-三甲氧基-11-苄基- b, d 环庚烷, | -          | 0.13 | -    |
| 5  | 26.79    | 4H-1,3-Benzodioxin                                      | 4H-1,3-苯并二噁烷                | 0.12       | -    | -    |
| 6  | 24.12    | 1,3-Cyclooctadiene                                      | 环辛二烯                        | 0.88       | -    | -    |
| 小计 |          |                                                         |                             | 4.10       | 0.13 | 0.21 |

表5 鲍鱼中酯类物质的相对含量

Table 5 Relative content of esters in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                                   | 中文名              | 挥发性成分相对含量% | 序号   | 类别    |
|----|----------|--------------------------------------------------|------------------|------------|------|-------|
| 1  | 11.37    | Propanoic acid, 2-hydroxy-, 2-methylpropyl ester | 乳酸异丁酯            | 0.69       | -    | -     |
| 2  | 16.60    | Oxalic acid, isobutyl nonyl ester                | 乙二酸异壬酯           | 0.90       | -    | -     |
| 3  | 22.14    | Dihydro-2-(3H)-thiophenone                       | $\gamma$ -硫代丁内酯  | -          | -    | 0.53  |
| 4  | 23.74    | Pentanoic acid, methyl ester                     | 戊酸甲酯             | -          | -    | 15.31 |
| 5  | 25.37    | Acetic acid, 2,2'-oxybis-, dibutyl ester         | 乙酸 2,2'-双氧-5-二丁酯 | 0.63       | -    | -     |
| 6  | 27.57    | Benzeneacetic acid, ethyl ester                  | 苯乙酸乙酯            | 0.27       | -    | -     |
| 7  | 35.43    | Tetradecanoic acid, ethyl ester                  | 十四酸乙酯            | 1.19       | -    | -     |
| 8  | 39.65    | Adipic acid, di (but-2-en-1-yl) ester            | 己二酸二丁基-2-烯基酯     | -          | -    | 0.21  |
| 9  | 40.35    | Hexadecanoic acid, ethyl ester                   | 棕榈酸乙酯            | 0.34       | -    | -     |
| 小计 |          |                                                  |                  | 4.03       | 0.00 | 16.04 |

表6 鲍鱼中酸类物质的相对含量

Table 6 Relative content of acid substances in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID            | 中文名    | 挥发性成分相对含量% | 序号    | 类别    |
|----|----------|---------------------------|--------|------------|-------|-------|
| 1  | 15.50    | Acetic acid               | 乙酸     | -          | 0.29  | 2.15  |
| 2  | 18.82    | Propanoic acid            | 丙酸     | -          | 0.10  | 0.69  |
| 3  | 19.93    | Propanoic acid, 2-methyl- | 异丁酸    | -          | 0.39  | 1.52  |
| 4  | 22.14    | Butanoic acid             | 丁酸     | -          | 8.77  | 3.44  |
| 5  | 23.74    | Butanoic acid, 3-methyl-  | 异戊酸    | 3.96       | -     | -     |
| 6  | 23.77    | Butanoic acid, 2-methyl-  | 2-甲基丁酸 | -          | 7.13  | -     |
| 7  | 25.19    | Benzeneacetic acid        | 苯乙酸    | 1.35       | -     | -     |
| 8  | 26.24    | Pentanoic acid            | 正戊酸    | 0.39       | -     | 0.46  |
| 9  | 28.54    | Pentanoic acid, 4-methyl- | 4-甲基戊酸 | 0.09       | 2.15  | 37.49 |
| 10 | 30.02    | Hexanoic acid             | 己酸     | 0.37       | -     | -     |
| 小计 |          |                           |        | 6.16       | 18.83 | 45.76 |

## 2.7 酯类物质

如表5所示,三种鲍鱼中共检出酯类物质9种,其中即食鲍鱼检出6种,其相对含量占即食鲍鱼中总

的挥发性成分含量的4.03%。腐败鲍鱼中酯类物质大幅减少,其中严重腐败鲍鱼未检出酯类物质;染菌鲍鱼中酯类物质却大幅增加,共检出3种酯类物质,占其挥发性成分相对含量16.04%,其主要挥发性成分为

戊酸甲酯, 占比达 15.31%。

## 2.8 酸类物质

如表 6 所示, 从三种鲍鱼中共检出酸类物质 10 种, 其中即食鲍鱼检出 5 种, 其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量的 6.16%。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中酸类物质相对含量大幅增加, 其中严重腐败鲍鱼

共检出酸类物质 6 种, 占其挥发性成分相对含量 18.83%, 其主要挥发性成分是丁酸 (占 8.77%) 和 2-甲基丁酸 (占 7.13%); 染菌鲍鱼中酸类物质也大幅增加, 共检出 6 种, 占其挥发性成分相对含量 45.76%, 其主要挥发性成分是 4-甲基戊酸 (占 37.49%)。由此可见, 随着鲍鱼的腐败程度加重, 酸类物质含量显著增加。

表 7 鲍鱼中芳香类物质的相对含量

Table 7 Relative content of aromatic substances in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                        | 中文名          | 挥发性成分相对含量% | 序号    | 类别   |
|----|----------|---------------------------------------|--------------|------------|-------|------|
| 1  | 29.84    | 2-Naphthalenol                        | 2-羟基萘        | 0.09       | -     | -    |
| 2  | 30.30    | Phenol, 2-methoxy-                    | 愈创木酚         | 0.40       | -     | 0.55 |
| 3  | 33.17    | Phenol, 2-methoxy-4-methyl-           | 2-甲氧基-4-甲基苯酚 | -          | -     | 0.09 |
| 4  | 34.65    | Phenol                                | 苯酚           | 0.41       | 20.73 | 3.22 |
| 5  | 36.60    | Phenol, 4-methyl-                     | 4-甲基苯酚       | 0.01       | -     | -    |
| 6  | 42.30    | Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl) - | 2,4-二叔丁基苯酚   | 0.10       | -     | -    |
| 小计 |          |                                       |              | 1.02       | 20.73 | 3.85 |

表 8 鲍鱼中含氮含硫类物质的相对含量

Table 8 Relative content of nitrogen-containing sulfur compounds in abalone

| 序号 | 保留时间/min | 化学名 Library/ID                                               | 中文名                      | 挥发性成分相对含量% | 序号    | 类别    |
|----|----------|--------------------------------------------------------------|--------------------------|------------|-------|-------|
| 1  | 30.64    | N- (3-Methylbutyl) acetamide                                 | N-3-甲基乙酰胺                | -          | 0.74  | -     |
| 2  | 31.64    | Butanamide                                                   | 丁酰胺                      | -          | 0.68  | -     |
| 3  | 31.78    | Propanamide                                                  | 丙酰胺                      | -          | 0.46  | -     |
| 4  | 32.48    | Butanamide, 3-methyl-                                        | 3-甲基-1-丁酰胺               | -          | 1.15  | -     |
| 5  | 38.81    | Caprolactam                                                  | 1,6-己内酰胺                 | 0.25       | -     | -     |
| 6  | 10.40    | Pyrazine, 2,5-dimethyl-                                      | 2,5-二甲基吡嗪                | 0.63       | -     | -     |
| 7  | 10.57    | Pyrazine, 2,6-dimethyl-                                      | 2,6-二甲基吡嗪                | 2.06       | 0.53  | -     |
| 8  | 12.86    | Pyrazine, 2-ethyl-5-methyl-                                  | 2-乙基-5-甲基吡嗪              | 0.88       | -     | -     |
| 9  | 13.23    | Pyrazine, trimethyl-                                         | 三甲基吡嗪                    | 6.34       | -     | -     |
| 10 | 14.61    | Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-                              | 3-乙基-2, 5-二甲基-吡嗪         | 1.26       | 0.93  | -     |
| 11 | 15.81    | Pyrazine, tetramethyl-                                       | 四甲基吡嗪                    | 6.07       | -     | -     |
| 12 | 17.27    | Pyrazine, 3,5-diethyl-2-methyl-                              | 3,5-二乙基-2-甲基-吡嗪          | 1.95       | 0.45  | -     |
| 13 | 27.34    | Ethanone, 1- (3,5-dimethylpyrazinyl) -                       | 2-乙酰基-3-5-二甲基吡嗪          | 0.08       | -     | -     |
| 14 | 20.99    | 2-Chloro-4- (4-methoxyphenyl) -6- (4-nitrophenyl) pyrimidine | 2-氯-4-4-甲氧基苯基-6-4-硝基苯基嘧啶 | -          | -     | 0.14  |
| 15 | 33.71    | Ethanone, 1- (1H-pyrrol-2-yl) -                              | 2-乙酰基吡咯                  | 0.62       | -     | 0.35  |
| 16 | 17.33    | Ethanone, 1- (2-furanyl) -                                   | 2-乙酰基呋喃                  | -          | -     | 0.80  |
| 17 | 27.90    | Oxime-,methoxy-phenyl-                                       | 甲氧基-苯基-肟                 | 0.77       | 2.29  | 2.30  |
| 18 | 44.22    | Indole                                                       | 吲哚                       | -          | 41.93 | 5.76  |
| 19 | 24.19    | Thiazole, 2,4-dimethyl-                                      | 2,4-二甲基噻唑                | -          | -     | 0.71  |
| 20 | 32.80    | Benzothiazole                                                | 苯并噻唑                     | -          | -     | 0.02  |
| 21 | 12.34    | Dimethyl trisulfide                                          | 二甲基三硫化物                  | -          | -     | 8.16  |
| 小计 |          |                                                              |                          | 20.91      | 49.16 | 18.25 |

## 2.9 芳香类物质

如表7所示,三种鲍鱼中共检出芳香类物质6种,其中即食鲍鱼检出5种,其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量仅为1.02%。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中芳香类物质相对含量大幅增加,其中严重腐败鲍鱼检出芳香类物质1种,为苯酚,占比达20.73%,为腐败鲍鱼的特征挥发性物质;染菌鲍鱼中芳香类物质检出3种,占其挥发性成分相对含量3.85%,其中苯酚占比达3.22%。可见,随着鲍鱼的腐败程度加重,芳香类物质含量显著增加,尤其是苯酚物质。

## 2.10 含氮含硫类物质

如表8所示,三种鲍鱼中共检出含氮含硫类物质21种,其中即食鲍鱼检出11种,其相对含量占即食鲍鱼中总的挥发性成分含量的20.91%。腐败鲍鱼及染菌鲍鱼中含氮含硫类物质相对含量大幅增加,其中严重腐败鲍鱼检出含氮含硫类物质9种,占其总挥发性成分的49.16%,其特征挥发性成分是吡啶,占到41.93%;染菌鲍鱼中含氮含硫类物质检出8种,占其挥发性成分相对含量18.25%,其中吡啶相对含量也高达5.76%。可见,随着鲍鱼的腐败程度加重,含氮含硫类物质相对含量显著增加,尤其是吡啶。

## 3 讨论

即食鲍鱼的烤肉香味显著增强。根据GC-MS分析表明:醇类物质含量相对最多,为51.93%,含氮含硫化合物20.91%,醛类6.62%,酸类6.16%,酮类5.21%,烃类4.10%,酯类4.03%,芳香族化合物1.02%。单一挥发性成分中2,3-丁二醇最高(22.80%),其次为(2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇(19.84%),三甲基吡嗪(6.34%),四甲基吡嗪(6.07%),苯甲醛(5.48%),2-乙基-环丁酮(4.36%),1-辛烯-3-醇(4.35%)等。可见醇类物质是即食鲍鱼主要的挥发性成分来源。在饱和醇中, $C_1\sim C_3$ 的醇类有轻快香气, $C_4\sim C_6$ 的醇类有近似麻醉性的气味, $C_7\sim C_8$ 的醇类则显示出芳香气味,碳数再多的饱和醇,其气味逐步减弱以至无嗅感<sup>[16]</sup>,熟制肉品中醇类物质的提高可能与腌制料中加入的料酒有关。含氮含硫和酯类化合物是一种具有显著特征的风味物质。而经过高温熟制后,含氮含硫和酯类化合物显著增加,这是鲍鱼加热后发生蛋白及糖的分解,美拉德反应产生的特征物质,具有烤肉的香味。其中吡嗪类化合物阈值低,对烘烤焦香风味起主导作用,2,6-二甲基吡嗪、三甲基吡嗪具有类似牛肉加热时散发的烘烤香。四甲基吡嗪具有牛肉和猪脂肪加热时的

香气和发酵的大豆味<sup>[17,18]</sup>。在即食鲍鱼中烷醛、烯醛等成分是由饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸氧化后形成的氢过氧化物的降解产物<sup>[19,20]</sup>。但经过高温烘制后鲍鱼中醛种类和相对含量较低,这使得鲍鱼的鲜香味和腥味减弱,但仍有少许的鲜味物质,如苯甲醛、1-辛烯-3-醇。酮类物质主要呈现桉叶味、脂肪味和焦燃味,阈值远远高于其同分异构体的醛,对鱼肉的气味贡献相对较小。即食鲍鱼中的酮类物质3-羟基-2-丁酮具有清香、土壤香、蜡香和未成熟的果香及牛奶风味。

腐败鲍鱼气味发生明显改变,由于经过长时间放置,腐败鲍鱼出现严重的粪臭及酸败味,同时具有明显的黑变、流汁等现象。分析表明:腐败鲍鱼主要挥发性物质发生显著变化,以含氮化合物相对含量最多,由即食鲍鱼中20.91%升高到49.16%,其次芳香族化合物由1.02%升高到20.73%,酸类物质由6.16%升高到18.83%。此外,醇类降为7.51%,酮类降为2.67%,醛类降为0.97%,烃类降为0.13%,酯类物质完全消失。单一挥发性成分中吡啶相对含量最高(41.93%),其次苯酚(20.73%),丁酸(8.77%),2-甲基丁酸(7.13%),苯乙醇(4.00%),异戊醇(3.12%)等。腐败鲍鱼中含氮含硫、芳香族及酸类化合物显著提高,而醇、醛、酯、酮类物质则明显减少。这是由于鲍鱼蛋白在腐败菌作用下首先降解形成氨基酸,进而再分解形成小分子含氮化合物。吡啶含量显著升高,形成强烈的粪臭味,且扩散力强而持久。可见,腐败鲍鱼主要臭味来源由吡啶所引起的。芳香族化合物主要为苯酚,其本身具有特殊臭味和燃烧味。酸类物质增加及醇、醛、酯、酮的减少之间相互关联,鱼肉中的醇类物质被氧化成醛和酮,并进一步氧化成各种酸,如丁酸、异戊酸、2-甲基丁酸、4-甲基戊酸等,从而导致鲍鱼产生具有刺激性及难闻的酸败气味。可见,腐败鲍鱼中含氮含硫化合物如吡啶,芳香族物质如苯酚,酸类物质如丁酸等是其主要特征气味来源。

生孢梭菌感染的鲍鱼虽然培养时间较短,但仍发生显著腐败、黑变现象,具有明显粪臭及酸败味,与腐败鲍鱼极为相似。GC-MS分析表明:与即食鲍鱼相比,酸类物质升高至45.76%,含氮含硫化合物为18.25%,酯类升至16.04%,醇类降为13.71%,芳香族化合物升至3.85%,醛类降为1.34%,酮类降为0.84%,烃类降为0.21%。从组成成分种类及变化情况看与腐败鲍鱼较为相似。单一挥发性成分中4-甲基戊酸最高(37.49%),其次戊酸甲酯(15.31%),二甲基三硫化物(8.16%),吡啶(5.76%),3-苯丙醇(4.93%),4-甲基-1-戊醇(3.95%),丁酸(3.44%),苯酚(3.22%),2-呋喃甲醇(3.02%)等。可见,酸类物质是生孢梭菌

感染鲍鱼产生的最主要的挥发性物质,如4-甲基戊酸。而醇、醛、酮类物质相对于即食鲍鱼含量显著减少,说明在生孢梭菌作用下,鲍鱼肉发生严重酸败,各类醇、醛、酮物质进一步氧化形成酸。此外,含氮含硫化合物也显著升高,出现与腐败鲍鱼同样的恶臭物质吲哚和二甲基三硫化物等。这是由于生孢梭菌作用下含硫氨基酸进一步降解形成各种小分子含氮含硫化合物,它们的气味阈值低,具有硫磺及洋葱似的气味<sup>[21]</sup>。生孢梭菌污染的鲍鱼容易发生酸败现象,产生大量酸类物质,同时也会形成与腐败鲍鱼相似的酸败物质—丁酸。这也进一步验证梭菌是真空包装食品重要的微生物污染源之一。

## 4 结论

4.1 GC-MS 分析结果表明,不同处理鲍鱼中的挥发性成分差异显著。这些挥发性成分多为一些醇、醛、酮、烃、酸、酯、芳香族、含氮含硫化合物等物质。

4.2 即食鲍鱼风味口感中烤肉的香味显著增强。醇类物质是即食鲍鱼主要的挥发性成分来源,含氮含硫和酯类化合物是其重要的特征的风味物质。主要的挥发性特征成分是丁二醇、甲基吡嗪、苯甲醛、2-乙基-环丁酮和1-辛烯-3-醇等。

4.3 腐败鲍鱼气味发生明显改变,已完全没有即食鲍鱼固有的烤肉香气,而是出现极恶劣的粪臭和酸败气味,同时具有明显的黑变、流汁等现象,主要的挥发性特征成分有吲哚、苯酚和丁酸。

4.4 生孢梭菌感染的鲍鱼虽然培养时间较短,但仍出现明显腐败、黑变现象,且具有强烈的粪臭及酸败味,产生大量的酸类及含氮含硫化合物等。与腐败鲍鱼极为相似,出现部分吲哚、苯酚、丁酸。可见,梭菌是真空包装鲍鱼制品重要的微生物污染源之一。有必要寻找更为高效、安全的即食鲍鱼杀菌方式,为即食鲍鱼产品的安全控制提供技术支撑。

## 参考文献

- [1] Jo Y J, Jung K H, Lee M Y, et al. Effect of high-pressure short-time processing on the physicochemical properties of abalone (*Haliotis discus hannai*) during refrigerated storage [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 23: 33-38
- [2] 郑瑞生,王则金,童金华,等.鲍鱼冻藏过程生化及感官指标变化研究[J].中国食品学报.2012,12(11):170-177
- ZHENG Rui-sheng, WANG Ze-jing, TONG Jin-hua, et al.

- Study on the chances of biochemistry and sensory indexes of abalone during frozen storage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(11): 170-177
- [3] 郑瑞生,许爱萍,张青山,等.复合生物抑菌剂对即食鲍产品保藏效果的研究[J].食品工业科技,2014,35(17):266-270
  - ZHENG Rui-sheng, XU Ai-ping, ZHANG Qing-shan, et al. Study on preservation effect of applying combined bio-inhibitor agent on ready-to-eat (RTE) abalone product [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(17): 266-270
  - [4] Peck M W, Vliet A H M. Impact of *Clostridium botulinum* genomic diversity on food safety [J]. Current Opinion in Food Science, 2016, 10: 52-59
  - [5] Linton M, Malachy Connolly, Laurette Houston, et al. The control of *Clostridium botulinum* during extended storage of pressure-treated, cooked chicken [J]. Food Control, 2014, 37: 104-108
  - [6] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish [J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 319-333
  - [7] Mah J H, Kang D H, Tang J. Effects of minerals on sporulation and heat resistance of *Clostridium sporogenes* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 128(2): 385-389
  - [8] Mah J H, Kang D H, Tang J. Morphological study of heat-sensitive and heat-resistant spores of *Clostridium sporogenes*, using transmission electron microscopy [J]. Journal of Food Protection, 2008, 71(5): 953-958
  - [9] Hu P, Zhou G H, Xu X L, et al. Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16S rDNA-DGGE [J]. Food Control, 2009, 20(2): 99-104
  - [10] Akan J C, Abdulrahman F I, Chellube Z M. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in fish samples from Lake Chad, Baga, North Eastern Nigeria [J]. International Journal of Innovation, Management and Technology, 2014, 5(2): 87-92
  - [11] Ke C L, Wang Z H, Gan J L, et al. Identification and quantitation of diethylstilbestrol in aquatic products using gas chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. RSC Advances, 2014, 4, 2355-2359
  - [12] Mottram D S. Flavor formation in meat and meat products: A review [J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 415-424

(下转第 299 页)