

快速蒸发电离质谱法分析冷链中断后猪肉的脂质劣变标志物

汪薇, 江丰*, 吴婉琴, 皮江一, 张莉

(湖北省食品质量与安全监督检验研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 国家卫生健康委员会食品安全风险评估与标准研制特色实验室, 湖北武汉 430075)

摘要: 为研发快速、灵敏、准确的实时检测技术以评估冷链断链猪肉的劣变度, 该研究采用快速蒸发电离质谱法(Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry, REIMS)结合智能手术刀(iKnife), 对不同冷链中断时间的猪肉样本进行脂质组学分析。不同样品中特征离子的相对丰度存在显著差异($P<0.05$)。冷鲜肉在冷链物流过程中因温度波动而导致脂质氧化。共确定了6个潜在的标志物, 包括 m/z 353.270 3、 m/z 507.442 59 ([FAHFA(16:1(9Z)/5-O-16:0)]⁻)、 m/z 352.286 1 ([N-palmitoyl proline]⁻)、 m/z 271.228 4 ([2-hydroxy palmitic acid]⁻)、 m/z 331.249 4 ([9,10,13-trihydroxy-Octadecanoic acid]⁻)和 m/z 309.243 8 ([9R-HODE, methyl ester]⁻), 可作为冷链劣变标志物和有效指标。通过目标增强扫描, 将典型标志物 m/z 353.270 3 纳入 REIMS 扫描范畴, 总识别正确率由 55.77% (常规非靶向采集模式) 提升至 97.60% (靶向目标增强扫描), 提高了判别的准确度。结果表明, 靶向增强 iKnife-REIMS 方法能根据不同的脂质劣变水平准确区分冷链中断猪肉, 提供了近乎实时的结果, 为劣变猪肉的分析提供新方法。

关键词: iKnife-REIMS; 冷鲜猪肉; 脂质组学; 劣变标志物; 多元统计

文章编号: 1673-9078(2025)11-323-331

DOI: 13982/j.mfst.1673-9078.2025.11.1116

Evaluation of Lipid Deterioration Markers in Pork Using Rapid Evaporation Ionization Mass Spectrometry (REIMS) after Simulation of Cold Chain Interruption

WANG Wei, JIANG Feng*, WU Wanqin, PI Jiangyi, ZHANG Li

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food, State Administration for Market Regulation, NHC Specialty Laboratory of Food Safety Risk Assessment and Standard Development, Wuhan 430075, China)

Abstract: In this study, lipidomic data of pork samples with different cold chain interruption were analyzed by combining rapid evaporative ionization mass spectrometry (REIMS) with an intelligent knife (iKnife) to develop a rapid, sensitive and accurate real-time detection technique to assess pork deterioration degree during cold chain breaks. The results showed that the relative abundance of the characterized ions differed significantly across the samples ($P<0.05$). Temperature fluctuations during

引文格式:

汪薇,江丰,吴婉琴,等.快速蒸发电离质谱法分析冷链中断后猪肉的脂质劣变标志物[J].现代食品科技,2025,41(11):323-331.

WANG Wei, JIANG Feng, WU Wanqin, et al. Evaluation of lipid deterioration markers in pork using rapid evaporation ionization mass spectrometry (REIMS) after simulation of cold chain interruption [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(11): 323-331.

收稿日期: 2024-08-01; 修回日期: 2024-10-16; 接受日期: 2024-10-22

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2022CFB789); 国家重点研发计划(2022YFF1100901)

作者简介: 汪薇(1989-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品分析, E-mail: wangwei_hbqt@163.com

通讯作者: 江丰(1985-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品分析, E-mail: 349136833@qq.com

cold chain logistics of chilled meat led to lipid oxidation. Six ions were identified as potential markers, including m/z 353.270 3, m/z 507.442 59 ([FAHFA(16:1(9Z)/5-O-16:0)]⁻), m/z 352.286 1 ([N-palmitoyl proline]⁻), m/z 271.228 4 ([2-hydroxy palmitic acid]⁻), m/z 331.249 4 ([9,10,13-trihydroxy-octadecanoic acid]⁻), and m/z 309.243 8 ([9R-HODE, methyl ester]⁻), which could serve as markers and effective indicators for cold chain deterioration. By incorporating the typical marker m/z 353.270 3 into the REIMS scanning scope through target enhancement, the overall recognition accuracy significantly improved from 55.77% (non-targeted acquisition mode) to 97.60% (target enhancement scanning). In conclusion, the target-enhanced iKnife-REIMS method can accurately discriminate cold chain interrupted pork according to different levels of lipid deterioration, providing near real-time results, thereby serving as a new approach to analyze deteriorated pork.

Key words: iKnife-REIMS; chilled pork; lipidomics; deterioration biomarkers; multivariate statistics

顺应猪肉消费升级和生猪疫病防控的客观要求,我国全面推行猪肉产品冷链调运,冷链物流是其中关键一环。冷链物流的核心是全程冷链,这条链的任何断裂(如温度波动)都会使整个冷链失效^[1],而当前我国冷链物流行业面临的最大问题就是“断链”^[2],因成本原因在运输途中关掉制冷设备或配送环节缺乏有效温控措施等,导致冷链食品劣变,安全风险增加^[3-5],因此监测冷链食品的安全和质量是非常必要的^[2]。随着消费者对猪肉品质要求的提升,冷鲜肉的消费需求逐渐增长。生猪屠宰后,由于微生物繁殖、内源性酶水解和脂质氧化的共同作用,易腐败变质^[6,7],冷鲜肉要求在屠宰、加工、流通和销售等环节始终保持在0~4℃内,与冻肉相比,冷鲜肉的储运环境下微生物仍可生长繁殖,对断链更敏感^[8,9],加剧了当前冷链体系下的肉品劣变问题。

常规的肉类劣变评价指标有感官评定如颜色、气味等,理化指标检验如挥发性盐基氮(Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N)、硫化氢、脂肪氧化值等以及微生物学指标^[10-15]。然而,现有指标缺乏客观性和特异性,且检测方法耗时长、灵敏度低,难以无法客观及时地反应劣变情况,亟需探究合适的劣变标志物,研发快速、灵敏、准确的实时检测技术来评价冷链断链猪肉的劣变度。快速蒸发电离质谱(Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry, REIMS)是一种新的敞开式电离质谱技术,通过智能刀(Intelligent Knife, iKnife)电离切割样品组织释放气溶胶直接吸入到质谱仪进行分析检测^[16,17]。该技术无需样品前处理或色谱分离,仅需几秒就能完成数据采集和分析,为冷链肉品劣变的高通量实时监测提供了可能。He用REIMS实现了新鲜和冻融肉的区分^[16],Song利用REIMS研究大眼金枪鱼在日常烹饪过程中磷脂谱的变化^[18]。目前,REIMS多采用无偏向分析,但由于在REIMS分析中没有样品分离步骤,导致所有成分蒸发并留在雾化颗粒中,可能会干扰信号强度和离子丰

度^[18],针对具体事件判别的靶向性不足。构建母离子列表扫描可以增强信号强度,极大提高REIMS平台鉴别能力。

针对冷鲜猪肉因储运过程冷链断链产生的劣变难以管控问题,本文基于劣变标志物建立了一种靶向增强型扫描的iKnife-REIMS方法来分析冷链中断导致的冷鲜猪肉成分的变化,结合化学计量学对冷鲜肉劣变标志物进行实时直接检测,为劣变猪肉的判断提供新方法。为实际储藏销售过程中更准确地监督冷鲜肉的品质变化提供参考,进一步提升肉制品质量安全水平,促进冷链物流高质量发展,切实维护人民群众食品安全。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甲醇、异丙醇(色谱纯),德国默克公司;甲酸钠和亮氨酸脑啡肽(Leu Enkephalin, LE),购自美国Waters公司;水为经Millipore净化的超纯水。

1.2 仪器与设备

iKnife智能刀为单极电高频电刀连接到Erbotom ICC 300电外科发生器,提供可控制功率的正弦交流电,德国爱尔博电子医疗仪器公司;带REIMS源的Synapt XS四极杆飞行时间质谱仪,美国Waters公司;S210-K台式pH计,梅特勒-托利多;超纯水仪Milli-Q法国密理博公司。

1.3 冷鲜肉冷链中断模拟试验

从湖北省超市采购当天屠宰的新鲜猪里脊肉和腹部五花肉,立即在4℃冷藏条件下运输到实验室。将肥肉和瘦肉分开,以每份500g均匀分割,聚乙烯袋分装。冷鲜肉流通过程中冷链“断链”模拟试验设计参照^[19],通过调节储存温度来模拟冷链中断,于室温(20℃),湿度50%下放置,分别于第0、12、24、48和72小时取样进行后续分析,每组3份平行样本。

1.4 REIMS分析

采用 REIMS 系统对猪肉样本进行数据采集。iKnife 切割样品, 在“cut”模式下使用, 切割电功率为 20~50 W, 切割长度为 2~3 cm, 切口深度 0.4~0.6 cm, 切割持续时间 2~3 s, 通过文丘里泵驱动的聚四氟乙烯管路将切割产生的气溶胶直接导入飞行时间质谱仪中。每个样品至少重复采集 10 次, 采集时保证总离子流图信号峰间隔 2~3 s, 总离子流强度应不低于 1×10^7 , 以保证数据结果稳定。每次取样后, 用异丙醇润湿的海绵清洁 iKnife 刀头, 充分清洗管路以降低数据干扰。

质谱仪在使用前先用 5 mmol/L 甲酸钠进行校正, 以亮氨酸-脑啡肽溶液 (200 ng/mL, 溶剂异丙醇) 作为辅助溶液, 经注射泵以 200 μ L/min 流量进入 REIMS 源校正锁定质量, 促进化合物电离, 维持源的清洁。离子化温度 500 $^{\circ}$ C, 质量分辨率为 20 000 FWHM, 质量扫描范围 m/z 100~1 200, 扫描时间为 1 s, 负离子模式, 所有分析均在具有连续数据采集的灵敏度模式下进行。在质谱采集方法中, 通过“Target Enhancement”功能将标志物质荷比纳入 REIMS 扫描列表, 建立靶向增强型扫描的 REIMS 方法。

1.5 数据处理与分析

应用 Live ID 软件 (版本号 3.0.7927.47290), 以亮氨酸脑啡肽 (m/z 554.262 0) 作为内标锁定进行质量数校正, 对 REIMS 原始质谱数据进行峰匹配、归一化等处理形成数据矩阵。通过化学计量学对采集的数据按来源分组进行识别模型构建和实时识别。模型包括主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA)、线性判别分析 (Linear Discriminate Analysis, LDA) 等, 选择合适的模型用于冷鲜猪肉劣变的判别。通过五重交叉验证对所建模型的准确度进行评估, 随机选取 80% 的样本建立模型, 其余 20% 的样本用于验证数据。该循环迭代重复 5 次, 每个分区由其他四个训练的模型预测一次。选取未包含在模型训练集中的 5 个盲样进行实时识别, 计算总体实时鉴别的准确度。

应用 Progenesis QI (版本号 2.0.2309.616) 软件结合高分辨质谱数据库 (Human Metabolome Database, HMDB) (<http://www.hmdb.ca>) 和脂质数据库 (www.lipidmaps.org) 对猪肉样本的质谱信息进行分析, 利用质谱数据库对标志物进行鉴定。

1.6 理化指标分析

将 pH 计插入肉的中心, 测量 pH 值。挥发性盐基

氮 (TVB-N) 值按照食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定 (GB 5009.228-2016)。

1.7 统计分析

所有实验重复三次, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。使用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 5 统计软件进行统计分析。组间差异通过方差分析和学生 t 检验进行分析。 P 值小于 0.05 视为具有统计学意义。相关性分析采用 Spearman 法进行。

2 结果与讨论

2.1 REIMS方法优化

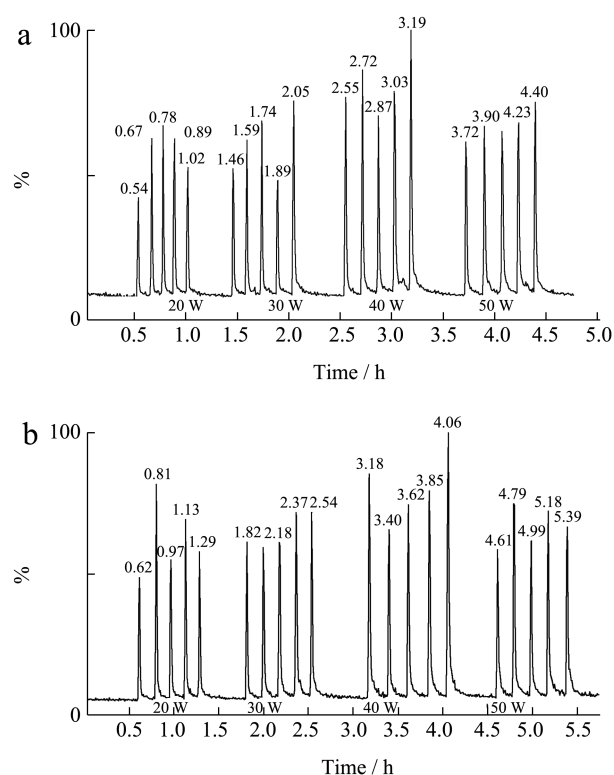


图 1 不同采集条件下猪肉样本的总离子流图

Fig.1 Total ion count chromatogram of pork samples under different conditions

注: (a) 正模式; (b) 负模式。

REIMS 是通过 iKnife 的电极刀切割猪肉组织表面, 与放置在样品下的回流电极板形成电流, 烧灼样品表面产生气溶胶形式的带电粒子进行质谱分析, 离子化效率、质谱灵敏度和样品电导率等对质谱信号有显著影响^[17]。比较了 iKnife 刀不同电功率采样对猪肉质谱信号的影响 (图 1), 结果显示, 电功率从 20 W 升高到 40 W, 质谱信号增强, 继续提高电功率 (50 W), 质谱信号下降, 电功率 40 W 为最优。电功率较低时, 由于样品的不完全电离, 不能产生足够的气溶胶蒸气

进入质谱, 质谱信号较弱。相反, 电功率过高会引起局部过热, 猪肉迅速碳化妨碍气溶胶释放并产生杂质^[20]。因此, 选择电功率 40 W。

2.2 REIMS典型的质谱图

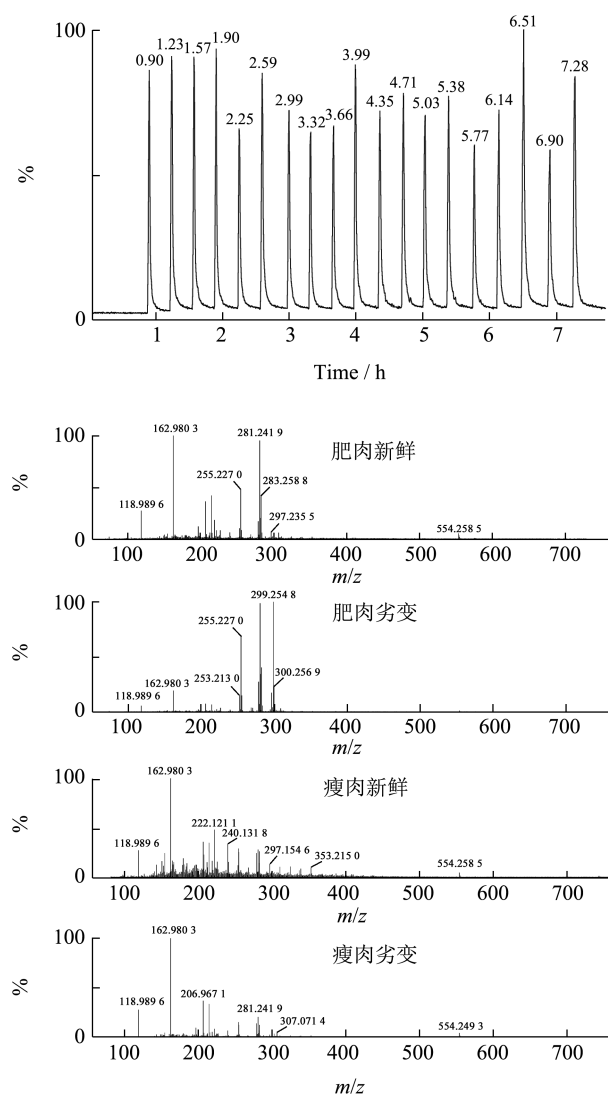


图2 猪肉样本负离子模式下典型的质谱图

Fig.2 Typical mass spectra of pork samples in negative ion mode

猪肉脂质丰富, 脱冷链会加速脂质, 特别是不饱和脂肪酸的降解和氧化, 是导致猪肉劣变的重要原因之一。REIMS 对于脂质, 特别是食品中的脂肪酸和磷脂等成分具有优越的敏感性和准确性, 是分析脂质特征的有力手段^[18,21]。比较了正、负离子模式下猪肉样本的质谱信号, 当脂肪酸和磷脂在负离子模式下检测时, 易于去质子化, 表现出更高的响应, 因此, 采用负电离模式对猪肉中的化合物进行分析, 获得具有代表性的质谱图, 不同猪肉样本的谱图有明显差异 (图2)。 m/z 554.25 为质量锁定物质亮氨酸脑啡肽的信号。在 m/z 200~400, 可能是游离脂肪酸或磷脂碎裂产生的信

号; 在 m/z 600~1 000 范围内观察到的峰则多为甘油三酯、磷脂等^[17,22]。

2.3 猪肉的脂质组学分析

化学计量学模型来可视化脱冷链样本中脂质的整体差异 (图3)。已发现无监督 PCA 和有监督 LDA 的组合可以减少单一 LDA 模型过度拟合数据的可能^[23]。因此, 选择 PCA-LDA 进行模型构建。基于脂质谱变化, 肥、瘦两组脱冷链 12 h 样本点与 0 h 样本点重合, 之后不同脱冷链时间点样本彼此分离良好, 说明样本间脂质变化显著。随着脱冷链时间延长, 肥肉组样本点距初始样本点距离变化较瘦肉组更大, 表明冷链中断时, 肥肉样本中脂质劣变的进程比瘦肉快。

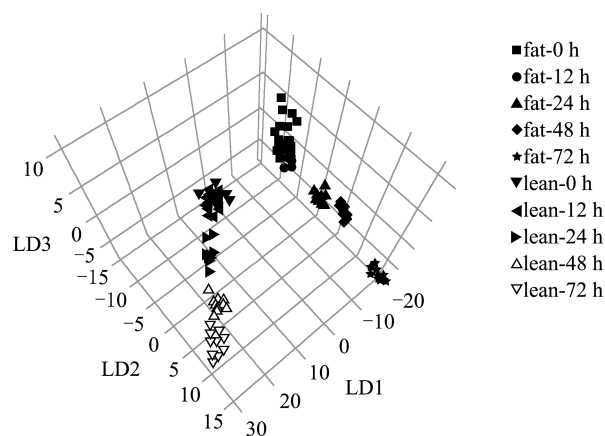


图3 猪肉脂质组 PCA-LDA 分析

Fig.3 PCA-LDA analysis of the lipidomics for pork

2.4 差异脂质分析

为了更清晰地展示不同脱冷链时间样本中的差异脂质, 以 $\log_2$ Fold Change > 1、Variable Importance in the Projection (VIP) 值 > 1 和 $P < 0.05$ 作为阈值, 筛选样本在脱冷链过程中含量显著上升的化合物。由于脱冷链 12 h 样本中脂质与 0 h 差异较小, 重点分析脱冷链 24、48 和 72 h 样本与 0 h 样本的差异。通过搜索 LIPID MAPS 数据库对差异化合物进行初步鉴定, 并通过 ClassyFire 分类系统对差异化合物进行分类, 如图 4a 所示。脱冷链初期 (24 h), 显著升高的化合物主要为长链脂肪酸、亚油酸及其衍生物、磷脂酰乙醇胺 (Phosphatidylethanolamine, PE)、甘油二酯 (Diacylglycerol, DG)、脂肪胺等。脱冷链 48 h, 显著升高的化合物数量增多, 化合物类别上新增了单硬脂酸甘油酯 (Monoglyceride, MG), 甘油三酯随着脱冷链时间延长逐渐降低, 说明在劣变过程中猪肉样品中的甘油三酯进一步水解成单甘油酯和脂肪酸。脱冷链 72 h, 呋喃酮类化合物 (Furanones) 增多。肥肉

和瘦肉样本相比，肥肉脂质代谢物更多些，肥瘦两组样本的差异可能归因于脂质氧化加速了蛋白质代谢分解^[24]，因此，肥肉的劣变进程要明显快于瘦肉。从韦恩图可以看到（图 4b），这些显著上升的差异化合物中，肥肉和瘦肉分别有 174 个、91 个化合物是贯穿脱冷链全过程样本的，其中 48 个共有的化合物，主要为脂肪酸、脂肪酸衍生物和羟基脂肪酸等。

2.5 劣变脂质的鉴定

一种适合评估肉类劣变程度的标志物最初应该不存在或水平较低，而随着脱冷链时间的延长其含量显著升高。在 48 个共有化合物中，6 个差异脂质的丰度随脱冷链时间的延长显著增加 ($P<0.05$)，鉴定结果如表 1 所示，质量误差均小于 5×10^{-6} 。其中， m/z 507.442 6（羟基脂肪酸的支链脂肪酸酯，FAHFA(16:1(9Z)/5-O-16:0)）、 m/z 271.228 4（2-羟基棕榈酸，2-hydroxy palmitic acid）、 m/z 331.249 4（9,10,13-

三 羟 基 硬 脂 酸，9,10,13-trihydroxy-Octadecanoic acid）和 m/z 309.243 8（9-羟基-10,12-十八碳二烯酸甲酯，9R-hydroxy-10E, 12E-octadecadienoic acid, methyl ester）属于羟基脂肪酸，是脂肪酸的氧化产物，羟基脂肪酸广泛存在于富含油脂、高温加工或加工周期较长的食品中^[25,26]。 m/z 352.286 1（N-棕榈酰脯氨酸，N-palmitoyl proline）是一种脂肪酸衍生物，棕榈酸（Palmitic acid）通过酰胺键与氨基酸脯氨酸（Proline）结合而成。值得注意的是化合物 m/z 353.270 3，初期新鲜的肉类含量较低，随着劣变程度加重，含量逐渐增加，认为是典型的劣变标志物，其含量可以帮助评估猪肉的劣变程度。劣变在屠宰后即开始，即使在冷藏或冷冻条件下也会持续存在。生猪屠宰后细胞并非没有生命，而是发生着活跃的生物学过程，猪肉含有多种蛋白酶和脂肪酶仍可以继续活动，分解猪肉中的蛋白质和脂质，产生多肽、游离氨基酸和脂肪酸等，导致质量和风味的损失。

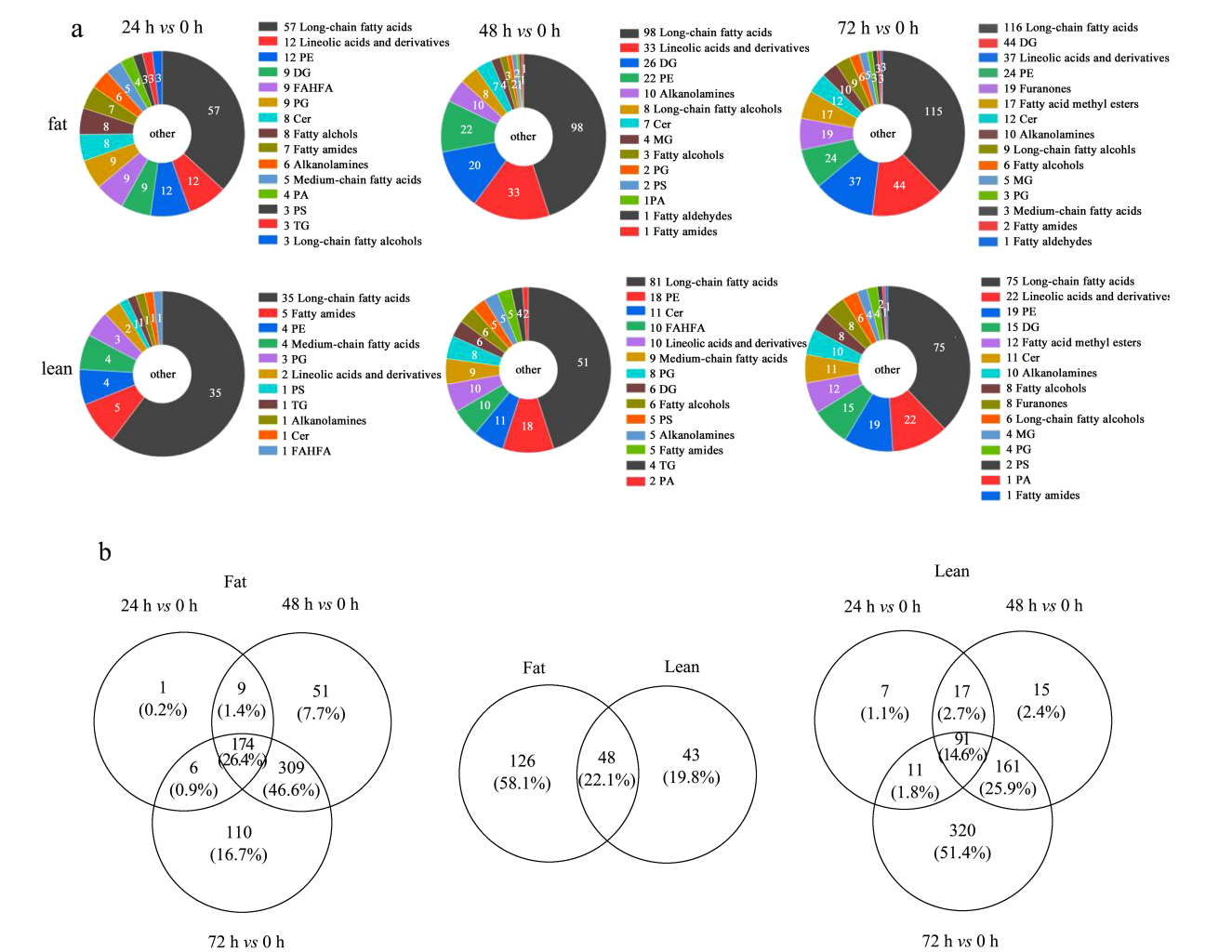


图 4 差异脂质的分类和韦恩图

Fig.4 Classification and Venny diagram of differential lipids

注：(a) 分类图；(b) 韦恩图。

表 1 REIMS方法检测猪肉样品中脂质的可能归属和丰度特征

Table 1 Tentative identification and abundance characterization of lipids in pork samples by REIMS method

实测质量 数 (<i>m/z</i>)	加合 方式	理论质量数 (<i>m/z</i>)	质量误 差 [10 ⁻⁶]	分子式	化合物名称	VIP	相对丰度 (cps, 10 ³)									
							fat-0 h	fat-12 h	fat-24 h	fat-48 h	fat-72 h	lean-0 h	lean-12 h	lean-24 h	lean-48 h	lean-72 h
1	353.270 3	[M-H] ⁻	1.46	C ₃₁ H ₅₈ O ₄	/	1.09	1.28 ± 0.13 ^c	1.16 ± 0.18 ^c	66.72 ± 13.03 ^b	120.78 ± 18.2 ^a	109.35 ± 22.35 ^a	0.92 ± 0.17 ^c	1.1 ± 0.15 ^c	0.99 ± 0.01 ^c	8.14 ± 5.77 ^b	64.94 ± 5.55 ^a
2	507.442 6	[M-H] ⁻	1.39	C ₃₂ H ₆₀ O ₄	FAHFA(16:1(9Z)/5-O-16:0)	1.03	3.32 ± 1.36 ^d	5.51 ± 1.26 ^d	12.4 ± 4.45 ^c	21.17 ± 4.4 ^b	38.79 ± 3.17 ^a	0.15 ± 0.07 ^b	0.19 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.04 ^b	0.59 ± 0.25 ^b	4.21 ± 0.72 ^a
3	352.286 1	[M-H] ⁻	1.03	C ₃₁ H ₅₀ N O ₃	N-palmitoyl proline	1.15	2.98 ± 0.31 ^d	3.6 ± 0.72 ^d	8.85 ± 1.15 ^c	11.96 ± 0.42 ^b	18.41 ± 0.93 ^a	1.84 ± 0.36 ^c	1.76 ± 0.09 ^c	2.81 ± 0.48 ^c	4.09 ± 0.72 ^b	5.61 ± 1.43 ^a
4	271.228 4	[M-H] ⁻	1.8	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	2-hydroxy palmitic acid	1.02	323.76 ± 77.56 ^d	441.06 ± 125.97 ^{cd}	610.82 ± 133.62 ^c	1 026.92 ± 183.75 ^b	2 122.75 ± 145.42 ^c	25.04 ± 1.09 ^c	49.56 ± 5.73 ^{bc}	66.14 ± 2.18 ^b	72.13 ± 7.01 ^b	248.47 ± 53.15 ^a
5	331.249 4	[M-H] ⁻	1.12	C ₁₈ H ₃₆ O ₃	9,10,13-trihydroxy-Octadecanoic acid	1.02	2.37 ± 0.47 ^d	3.07 ± 0.67 ^d	6.12 ± 0.36 ^c	18.01 ± 0.57 ^a	10.22 ± 0.91 ^b	0.69 ± 0.29 ^c	1.2 ± 0.08 ^c	3.73 ± 1.12 ^a	1.16 ± 0.31 ^c	2.45 ± 0.45 ^b
6	309.243 8	[M-H] ⁻	0.67	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	9R-hydroxy-10E,12E-octadecadienoic acid, methyl ester	1.02	0.53 ± 0.1 ^b	0.75 ± 0.2 ^b	1.25 ± 0.32 ^b	2.19 ± 0.39 ^a	1.96 ± 0.9 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	0.39 ± 0.05 ^b	0.25 ± 0.04 ^b	0.4 ± 0.13 ^b	0.71 ± 0.35 ^a

注：上标字母表示化合物在不同脱冷链时间点丰度差异显著 (*P* < 0.05)。

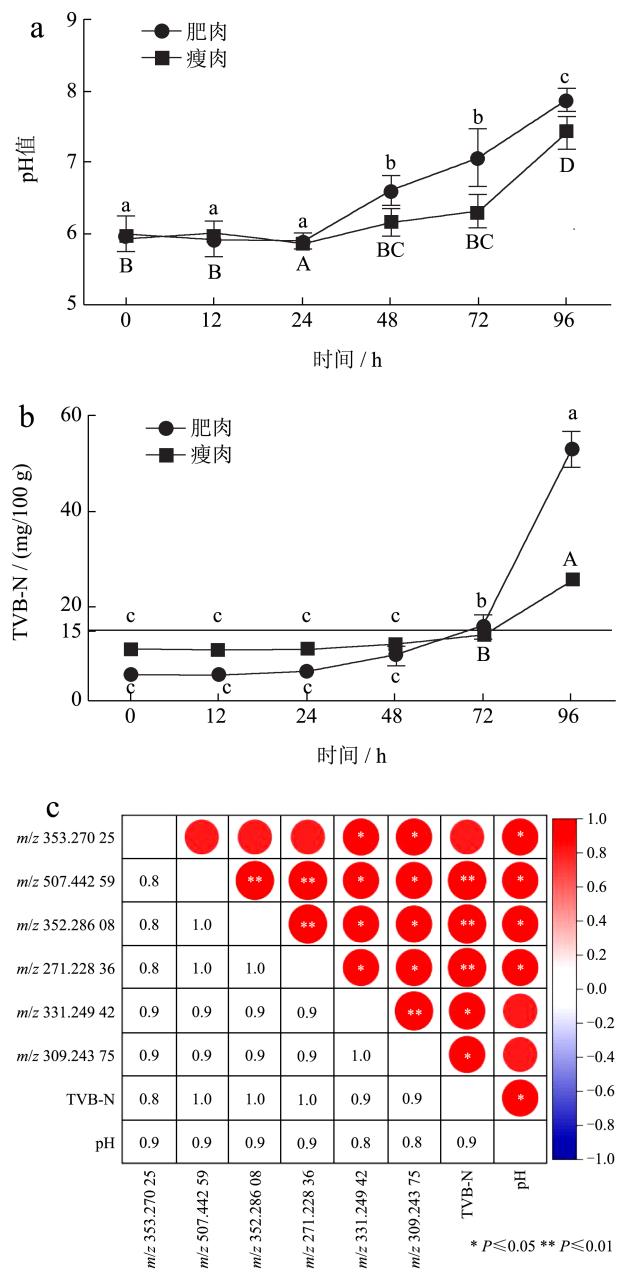


图 5 不同劣变程度猪肉样本的理化指标变化

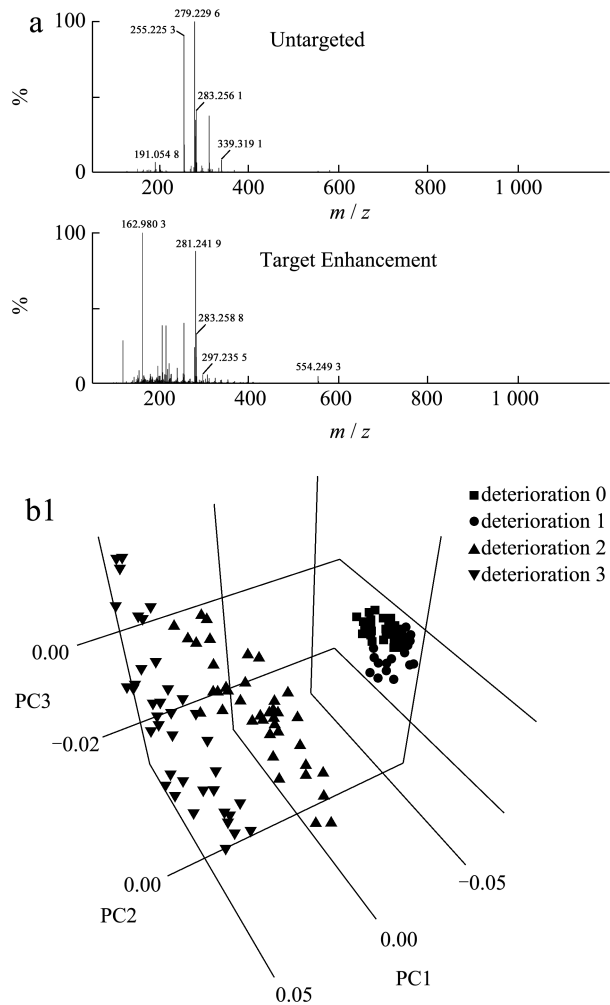
Fig.5 Changes in physical and chemical indicators of chilled pork samples with different degrees of deterioration

注：(a) pH 值；(b) TVB-N；(c) 相关性分析。不同大写字母（瘦肉组）和小写字母（肥肉组）表示组内差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.6 理化指标变化

为进一步验证这些潜在劣变标志物的可靠性，将劣变标志物与常规的理化指标进行比较。猪肉的初始 pH 值呈弱酸性 (5.7~5.8)，在脱冷链初期 (0~12 h)

无变化，12~24 h 略有下降但不显著，脱冷链 24 h 之后，猪肉 pH 值显著升高 ($P < 0.05$)。文献评价冷藏猪肉新鲜度的参考标准为：pH 值 5.2~6.2 为新鲜，6.2~6.7 为可食用，6.7 及以上为变质^[27]。参照此标准，根据 pH 值变化，猪肉脱冷链 48 h，肥肉和瘦肉 pH 值为 6.59 和 6.14，按分级标准依旧为可食用；72 h 分别上升至 7.04 和 6.29，指示猪肉变质 (图 5a)。TVB-N 常作为评价肉类新鲜度和腐败的理化指标。国家标准规定 TVB-N 值大于 15 mg/100 g 为腐败 (GB 2707-2016 食品安全国家标准 鲜 (冻) 畜、禽产品)。如图 5b 所示，肥肉样品在脱冷链 72 h，其 TVB-N 值大于 15 mg/100 g (15.95 mg/100 g)，瘦肉样品在脱冷链 96 h 达到这一要求 (25.61 mg/100 g)。采用 Spearman 系数评估劣变标志物与理化指标的相关性，由图 5c 可知劣变标志物与常规理化指标 (TVB-N 和 pH 值) 有较高的相关性，相关系数均在 0.80 以上。



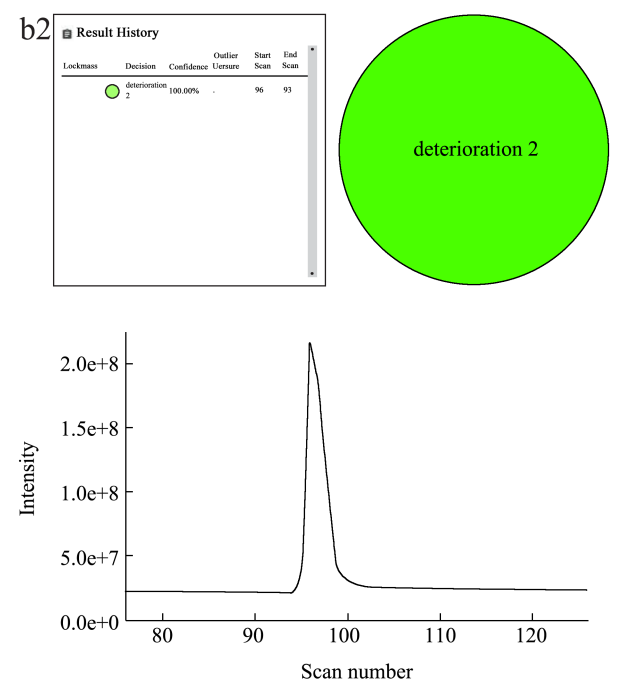


图 6 不同劣变程度猪肉样本的实时识别

Fig.6 Real-time identification of chilled pork samples with different degrees of deterioration

注：(a) 靶向增强型扫描 REIMS 质谱图；(b) 实时识别。

表 2 五重交叉验证结果

		Table 2 Five-fold cross validation results					
		谱图数	通过	失败	异常值	识别正 确率/%	总正确 率/%
非 靶 向	Fold 1	41	22	0	19	53.66	55.77
	Fold 2	42	24	0	18	57.14	
	Fold 3	42	24	0	18	57.14	
	Fold 4	42	23	0	19	54.76	
	Fold 5	41	23	0	18	56.10	
靶 向 增 强	Fold 1	41	41	0	0	100.00	97.60
	Fold 2	42	40	0	2	95.24	
	Fold 3	42	41	0	1	97.62	
	Fold 4	42	42	0	0	100.00	
	Fold 5	41	39	0	2	95.12	

2.7 实时识别

通过目标增强（Target Enhancement）将标志物 m/z 353.270 3 纳入 REIMS 扫描范畴提高判别的准确度，建立靶向增强型扫描的快速蒸发电离质谱技术对冷鲜肉进行实时直接检测。从典型质谱上可以直接看到靶向增强型扫描和非靶向扫描离子的强度差异（图 6a）。使用 PCA 模型，猪肉样品清晰地分为 4 组，劣变 0 级（0~12 h）、1 级（24 h）、2 级（48 h）、3 级（72 h），不同脱冷链时间点猪肉样本区分度较好。

通过五重交叉验证进行模型评价，将每组数据随机分为 5 组，选取其中 4 组（80%）建立模型，剩余 1 组（20%）数据进行训练，重复模拟测试 5 次，总识别正确率为由 55.77%（常规非靶向采集模式）提升至 97.60%（靶向增强扫描）（表 2）。使用 Live ID 对从收集的但未包含在模型训练集中的猪肉样本进行实时识别，如图 6b 所示，根据所建立的模型正确识别不同劣变程度的猪肉样本。

3 结论

本研究建立了一种基于脂质劣变标志物的靶向增强型扫描 REIMS 方法，能够在不进行样品制备的情况下，实现对脱冷链猪肉样本的实时、高通量区分。对 REIMS 方法进行了优化，确定最佳电功率为 40 W。不同猪肉样本的 REIMS 指纹图谱存在差异。在脱冷链过程中，6 个差异脂质的丰度随脱冷链时间的延长显著增加（ $P<0.05$ ），可作为冷链劣变标志物和有效指标。将靶向增强型扫描的快速蒸发电离质谱技术与化学计量学方法相结合，是快速区分不同脱冷链猪肉的有效手段。然而，由于样本量的限制，未来建立的判别模型在准确性、可靠性和实用性方面还需要进一步修正和验证。

参考文献

[1] REN Q, FANG K, YANG X, et al. Ensuring the quality of meat in cold chain logistics: A comprehensive review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 119: 133-151.

[2] LOISEL J, DURET S, CORNU JOLS A, et al. Cold chain break detection and analysis: Can machine learning help? [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 112: 391-399.

[3] REGUERA C, SANLLORENTE S, HERRERO A, et al. Detection of cold chain breaks using partial least squares-class modelling based on biogenic amine profiles in tuna [J]. Talanta, 2019, 202: 443-451.

[4] DEGLI ESPOSTI M, TOSELLI M, SABIA C, et al. Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for *Listeria monocytogenes* control under simulated cold chain break [J]. Food Microbiology, 2018, 76: 173-179.

[5] BASSEY A P, YE K, LI C, et al. Transcriptomic-proteomic integration: A powerful synergy to elucidate the mechanisms of meat spoilage in the cold chain [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 113: 12-25.

[6] ZHANG Y, WEI J, YUAN Y, et al. Diversity and characterization of spoilage-associated psychrotrophs in food in cold chain [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 290: 86-95.

[7] FANG J, FENG L, LU H, et al. Metabolomics reveals spoilage characteristics and interaction of *Pseudomonas lundensis* and *Brochothrix thermosphacta* in refrigerated beef [J]. Food Research International, 2022, 156: 111139.

[8] LUONG N-D M, COROLLER L, ZAGOREC M, et al. Spoilage of

- chilled fresh meat products during storage: A quantitative analysis of literature data [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1198.
- [9] 岳琪琪,刘文,孔萍,等.非冷链运输对冷鲜猪肉冰箱贮藏品质的影响[J].*现代食品科技*,2019,35(10):116-124.
- [10] SHAO P, LIU L, YU J, et al. An overview of intelligent freshness indicator packaging for food quality and safety monitoring [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 118: 285-296.
- [11] WU L, PU H, SUN D W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: A review of recent developments [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 83: 259-273.
- [12] PEREIRA P F M, DE SOUSA PICCIANI P H, CALADO V, et al. Electrical gas sensors for meat freshness assessment and quality monitoring: A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 118: 36-44.
- [13] ALMASI H, FORGHANI S, MORADI M. Recent advances on intelligent food freshness indicators; an update on natural colorants and methods of preparation [J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2022, 32: 100839.
- [14] LEBRET B, ČANDEK-POTOKAR M. Review: Pork quality attributes from farm to fork. Part I. Carcass and fresh meat [J]. *Animal*, 2022, 16: 100402.
- [15] BEKHIT A E-D A, HOLMAN B W B, GITERU S G, et al. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109: 280-302.
- [16] HE Q, YANG M, CHEN X, et al. Differentiation between fresh and frozen-thawed meat using rapid evaporative ionization mass spectrometry: The case of beef muscle [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(20): 5709-57024.
- [17] PAXTON T. Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry [M]. *Ambient Ionization Mass Spectrometry in Life Sciences*, 2020.
- [18] SONG G, GUO X, LI Q, et al. New insights into phospholipid profile alteration of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during daily cooking processes using rapid evaporative ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(28): 10830-10840.
- [19] WU W, CRONJ P, NICOLAI B, et al. Virtual cold chain method to model the postharvest temperature history and quality evolution of fresh fruit-A case study for citrus fruit packed in a single carton [J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2018, 144: 199-208.
- [20] CUI Y, WANG H, ZHAO Q, et al. Real-time detection of authenticity and adulteration of krill phospholipids with soybean phospholipids using rapid evaporative ionization mass spectrometry: Application on commercial samples [J]. *Food Control*, 2021, 121: 107680.
- [21] YIN X, WANG H, LU W, et al. Evaluation of lipid oxidation characteristics in salmon after simulation of cold chain interruption using rapid evaporation ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(2): 1391-1404.
- [22] SHEN Q, LI L, SONG G, et al. Development of an intelligent surgical knife rapid evaporative ionization mass spectrometry based method for real-time differentiation of cod from oilfish [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 86: 103355.
- [23] GAO H, LIN J, JIA X, et al. Real-time authentication of animal species origin of leather products using rapid evaporative ionization mass spectrometry and chemometric analysis [J]. *Talanta*, 2021, 225: 122069.
- [24] TOOMIK E, ROOD L, BOWMAN J P, et al. Microbial spoilage mechanisms of vacuum-packed lamb meat: A review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2023, 387: 110056.
- [25] PÜSSA T, RAUDSEPP P, TOOMIK P, et al. A study of oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in mechanically deboned meat [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2009, 22(4): 307-314.
- [26] LIANG N, TANG K, CURTIS J M, et al. Identification and quantitation of hydroxy fatty acids in fermented sausage samples [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(32): 8648-8657.
- [27] YU Q, ZHANG M, ADHIKARI B, et al. Mitigating quality deterioration in chilled pork by combining cinnamaldehyde nanoemulsions and a high-voltage electrostatic field [J]. *Food Chemistry*, 2024, 449: 139306.