

基于 SPME - GC - MS 和电子鼻的鱼粉挥发性物质分析

李培¹ 牛智有^{1,2} 朱明^{1,2} 邵恺悻¹ 耿婕¹ 李洪成¹

(1. 华中农业大学工学院, 武汉 430070; 2. 农业农村部长江中下游农业装备重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 为了能够全面、快速分析鱼粉的新鲜度, 将电子鼻与顶空固相微萃取气质联用技术结合, 以挥发性物质含量辅助评价鱼粉的新鲜度。首先, 采用顶空固相微萃取方法对 18 种储藏时间鱼粉的挥发性物质进行了分析, 得到不同储藏时间鱼粉的挥发性物质种类和含量, 以及挥发性物质变化规律; 采用多元线性回归方法和最近邻回归方法对鱼粉各类挥发性物质和表征新鲜度的标记物与电子鼻传感器响应建立了模型。结果表明: 顶空固相微萃取气质联用 (Solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry, SPME - GC - MS) 共鉴定出 101 种, 主要包括醇类化合物、醛类化合物等 11 类挥发性物质, 其中醛酮类化合物种类较多。随着鱼粉逐渐腐败, 气味阈值较低的醛类化合物相对含量逐渐降低、酮类化合物相对含量逐渐升高, 并出现了二甲基三硫、三甲胺等表征鱼粉新鲜度的标记物; 在储藏过程中, 醇类化合物相对含量呈先上升后下降趋势; 酸类化合物、含氮化合物、含硫化合物相对含量则呈上升趋势。与多元线性回归方法相比, 最近邻回归方法具有更好的预测能力, 测试集相关系数在 0.763 3 ~ 0.999 9 之间, 均方根误差在 0.086 7% ~ 8.465 5% 之间。

关键词: 鱼粉; 挥发性物质; 电子鼻; 顶空固相微萃取气质联用; KNN 回归

中图分类号: TS254.5⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2020)07-0397-09

OSID:



Analysis of Volatile Compounds in Fish Meal Based on SPME - GC - MS and Electronic Nose

LI Pei¹ NIU Zhiyou^{1,2} ZHU Ming^{1,2} SHAO Kaiyi¹ GENG Jie¹ LI Hongcheng¹

(1. College of Engineering, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

2. Key Laboratory of Agricultural Equipment in Mid-lower Yangtze River, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to analyze the freshness of fish meal comprehensively and quickly, the electronic nose and SPME - GC - MS were combined to evaluate the freshness of fish meal through the content of volatile components. The volatile components of fish meal with 18 different storage times levels was analyzed by solid-phase headspace microextraction, and the kinds and contents of volatile components in fish meal were obtained at different storage time, and the change rule of volatile components was obtained. Multiple linear regression and KNN regression were used to model various volatile components and freshness markers of fish meal and the response of electronic nose sensors. A total of 101 volatile compounds were detected, including 11 alcohols, 20 aldehydes, 26 ketones, 8 acids, 9 hydrocarbons, 15 nitrogen-containing compounds, 4 sulfur-containing compounds and other compounds. Among them, there were more aldehyde ketones, less esters, phenols and ethers. Ethoxyquin and γ -dehydrogenase were also detected in the volatile gas of fish meal, the reason was that fish meal, as a feed material, was not only a simple processing of raw fish, and also required other additives to facilitate the transportation and storage of fish meal. At the beginning of storage, the relative content of aldehydes was 48.99%, but at the end of storage, the relative content of aldehydes was 0.95%. The relative content of aldehydes was significantly reduced, while the relative content of ketones was increased. At the beginning of storage, the relative content of ketones was 28.55%, but at the end of storage, it was 51.43%. The results showed that the freshness of fish meal was characterized by trimethylamine, 3-methyl-1-butanol, dimethyl disulfide and dimethyl trisulfide. The relative contents of alcohols showed a downward trend after the first increase, acids, nitrogenous compounds and sulfur compounds showed an upward trend. The models of

收稿日期: 2020-04-01 修回日期: 2020-05-07

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目(2662018PY081、11041910103)

作者简介: 李培(1993—), 女, 博士生, 主要从事农产品加工技术研究, E-mail: huanonglipei8@163.com

通信作者: 牛智有(1965—), 男, 教授, 博士, 主要从事农产品加工技术与装备研究, E-mail: nzhy@mail.hzau.edu.cn

various volatile components in fish meal and the markers representing freshness and the sensor responses of electronic nose were established by multiple linear regression method and KNN regression method. The results showed that the KNN regression method had higher accuracy than multiple linear regression method. The correlation coefficient was between 0.763 3 and 0.999 9, and RMSE was between 0.086 7% and 8.465 5%. Therefore, these volatile components can be well predicted from electronic nose measurement. The results can be used as reference for understanding the flavor composition and change rule of volatile components of fish meal during storage, and for judging the freshness of fish meal according to the smell component.

Key words: fish meal; volatile compounds; electronic nose; SPME – GC – MS; KNN regression

0 引言

鱼粉是以一种或多种鱼类为原料,经去油、脱水、粉碎加工后蛋白质含量较高的饲料原料。近几年,随着我国水产养殖规模的增大,水产饲料需求量快速增长,对鱼粉的需求量也呈持续高增长趋势^[1]。鱼粉是一种重要的饲料蛋白质来源,其品质直接影响饲料产品的质量^[2]。在运输、贮藏过程中,由于温度、湿度等的影响,鱼粉会发生蛋白质-脂类的共价相互作用,造成营养成分的大量流失,并生成有害物质,这不仅会危害动物健康,也会对人类的健康构成威胁^[3],因此对鱼粉新鲜度的检测尤为重要。挥发性盐基氮(Total volatile basic nitrogen, TVB-N)含量和酸价(Acid values, AV)是评价鱼粉新鲜度的主要指标,但其测量方法耗时、耗力。鱼粉品质变化与鱼粉所挥发出来的气味有很大的关系。新鲜的优质鱼粉气味纯正,存放过久、受潮腐败的鱼粉常有腥臭味、哈喇味和刺鼻的氨味,研究鱼粉挥发气味对判断鱼粉的品质具有重要作用。

近年来,电子鼻和气相色谱质谱联用(Gas chromatography – mass spectrometry, GC – MS)技术已经广泛应用于食品、医学等领域^[4-10]。两者的结合能够实现鱼粉新鲜度的全面分析,但目前鲜有对挥发性物质含量快速检测的研究报道。

为了能够全面、快速分析鱼粉的新鲜度,本文将电子鼻与顶空固相微萃取气质联用技术结合,以挥发性物质含量辅助评价鱼粉的新鲜度。首先,通过顶空固相微萃取气质联用技术得到不同新鲜度鱼粉的挥发性物质含量和种类,以研究不同新鲜度鱼粉挥发性物质的变化机理;然后,在所研制的电子鼻的基础上,依据传感器响应采用多元线性回归(Multiple linear regression, MLR)和最近邻回归(K-nearest neighbor, KNN)方法对鱼粉的挥发性物质建立预测模型。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采集4种新鲜鱼粉(其中3种进口鱼粉,分别来

自秘鲁、美国和俄罗斯,1种国产鱼粉)放置于温度35℃、相对湿度80%的恒温恒湿人工气候箱中,使鱼粉随着储藏时间的延长逐渐腐败变质,在储藏的过程中每隔一段时间对不同储藏时间的鱼粉样本进行采集并作为试验样本,共采集了18种储藏时间等级的鱼粉,用于挥发性气体成分检测。并将这18个不同新鲜度鱼粉样本进行编号,记为1~18(新鲜度随样本编号的增大越来越差)。

1.2 试验仪器

DF101 – S型恒温磁力式搅拌器(巩义泰洪升仪器厂);DSQ – II型气质联用仪(美国赛默飞公司);萃取纤维头(2 cm – 50/30μm DVB/CAR/PDMS StableFlex,美国Supelco公司);20 mL螺口透明圆底顶空瓶(美国Agilent公司);氯化钠(分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司);正构烷烃(C₇ ~ C₄₀,美国AccuStandard公司)。RGX – 250B型人工气候箱(上海坤天仪器有限公司);自行研制的基于仿生嗅觉的鱼粉新鲜度检测装置,如图1(图中实线表示气路,虚线表示电路)所示。该装置主要由气体采集与传输模块、以树莓派为核心的控制处理存储模块、ARPI600数据采集模块、传感器阵列模块组成。传感器阵列模块为该装置的核心部件,主要由10个气体传感器组成,即传感器1~10,各传感器所能检测的目标气体如表1所示。

1.3 理化指标测定

酸价测定方法:采用GB/T 19164—2003方法测定^[11]。挥发性盐基氮含量测定方法:采用GB/T 5009.228—2016中的自动凯氏定氮仪法测定^[12]。

1.4 电子鼻数据采集

测试时,首先对该检测装置进行预热,再经活性炭过滤之后的纯净空气对装置进行清洗,经试验优化得到清洗时间为77 s;然后将80 g鱼粉样本置于250 mL的高硼硅采样瓶中,由微型气泵将样本产生的顶空气体抽至检测装置的气体采样室中,与位于采样室中的气体传感器发生化学反应,进而引起传感器的阻值发生变化,泵的流速为2.2 L/min。经试验优化得到该装置的检测时间为39 s,数据采样间

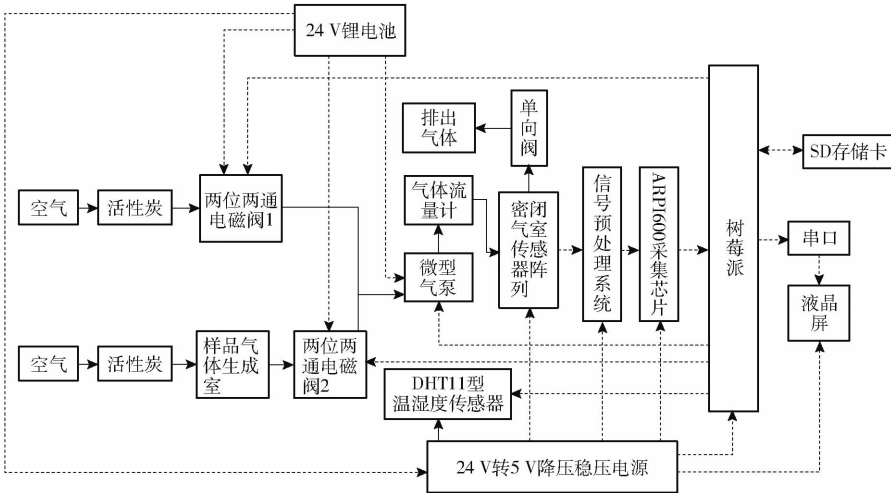


图 1 电子鼻的系统组成框图

Fig. 1 Block diagram of detection device system

表 1 气体传感器所测量的目标气体以及检测范围

Tab.1 Target gas measured by gas sensors and detection range

传感器 序号	传感器类型	目标气体	检测范围/ (mg·m ⁻³)
1	TGS822	乙醇、有机溶剂	50 ~ 5 000
2	TGS2602	挥发性有机物和恶臭气体	1 ~ 30
3	TGS813	可燃气体 (CO、乙醇、甲烷、 氢、异丁烷)	50 ~ 10 000
4	TGS2620	乙醇、有机溶剂	50 ~ 5 000
5	MQ136	硫化氢	1 ~ 200
6	TGS2600	CO、氢气、乙醇、甲烷、异丁烷、 煤气、液化气	1 ~ 30
7	MQ139	氟利昂	10 ~ 1 000
8	TGS2610	乙醇、氢、甲烷、异丁烷、 丙烷 (液化石油气)	500 ~ 10 000
9	MQ137	氨气、三甲胺、乙醇胺	5 ~ 500
10	TGS2611	乙醇、氢、异丁烷、甲烷、天然气	500 ~ 10 000

隔为 1 s。最后每次采样完之后对装置进行清洗复原,进行下一个样本的测试。

在储藏的过程中采集了 18 个不同储藏时间等级的鱼粉作为试验样本,同一储藏时间的样品平行测试 11 次,共进行 198 次电子鼻测试试验。

1.5 GC - MS 检测

1.5.1 顶空固相微萃取

准确称取样品 3 g 于 20 mL 顶空瓶中,加入 4 mL 饱和 NaCl 溶液,将其放入恒温磁力搅拌器中 67℃ 平衡 10 min,然后将已老化的 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型萃取头插入顶空瓶中于 67℃ 萃取 40 min 后拔出,再插入到 GC 进样口,解吸 5 min,拔出,每个样品重复测试 3 次。

1.5.2 检测条件

色谱柱: TG - 5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 载气为氦气,流速 1 mL/min;升温程序:柱初温

40℃,保持 5 min,以 4℃/min 升至 120℃,保持 1 min,再以 13℃/min 升至 250℃,保持 5 min;进样口温度 250℃,分流进样,分流比为 5:1。

质谱条件:传输线温度 280℃;离子源温度 230℃;四级杆温度 150℃;电子离子源;电子能量 70 eV;溶剂延迟 1 min;全扫描方式;质量扫描范围 50 ~ 500 (质荷比)。

1.5.3 挥发性物质定性及定量分析

利用随机 Xcalibur 工作站 NIST2014 标准谱库进行挥发性成分定性分析,通过将化合物的质谱和保留时间与注入的真实标准 (C₇ ~ C₄₀) 的质谱和保留时间进行比较来鉴定化合物,根据挥发物的保留时间计算保留指数 (Retention index, RI),计算公式为^[13]

$$R_i = 100n + \frac{100(T_{Rx} - T_{Rn})}{T_{R(n+1)} - T_{Rn}}$$

(1)

其中 $T_{Rn} < T_{Rx} < T_{R(n+1)}$

式中 R_i ——保留指数

T_{Rx} ——待测组分的保留时间,min

n ——正构烷烃的碳原子数

采用峰面积归一化法计算各挥发性化合物的相对含量。

2 结果与分析

2.1 不同新鲜度鱼粉的理化指标检测结果

不同新鲜度鱼粉中挥发性盐基氮含量 (质量比) 和酸价如表 2 所示。从表 2 可以看出,鱼粉在高温高湿条件下储藏的过程中,随着储藏时间的增加 (储藏时间随样本编号的增大而增加),鱼粉中挥发性盐基氮含量呈现增加的趋势,表明鱼粉随着储藏时间的增加而逐步变质腐败。酸价变化规律不明显。

表 2 不同新鲜度鱼粉的理化指标检测结果

Tab.2 Test results of physical and chemical indexes of fish meal with different freshness

样本编号	TVB-N 含量/ ($\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$)	酸价/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	样本编号	TVB-N 含量/ ($\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$)	酸价/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	40.93 ± 0.66	1.16 ± 0.07	10	146.06 ± 2.98	2.70 ± 0.08
2	42.86 ± 1.42	2.17 ± 0.03	11	147.93 ± 0.66	4.78 ± 0.19
3	78.27 ± 3.11	1.87 ± 0.12	12	160.23 ± 1.32	2.16 ± 0.03
4	93.86 ± 2.30	2.92 ± 0.08	13	160.23 ± 0.33	2.27 ± 0.24
5	126.49 ± 0.36	3.26 ± 0.23	14	167.49 ± 1.25	5.41 ± 0.02
6	128.33 ± 0.99	2.00 ± 0.01	15	194.51 ± 3.75	3.43 ± 0.04
7	129.52 ± 0.96	3.74 ± 0.14	16	194.60 ± 2.97	1.50 ± 0.15
8	142.80 ± 3.63	1.92 ± 0.22	17	196.84 ± 0.13	4.09 ± 0.46
9	143.27 ± 1.32	2.45 ± 0.03	18	316.81 ± 2.06	2.27 ± 0.23

2.2 电子鼻检测

电子鼻可以敏感获取样品的气味信息,挥发性化合物的微小变化可能导致传感器响应的差异。本文以归一化后的传感器响应信号相对稳定状态均值为研究对象,选取了 5 种不同新鲜度的鱼粉样本(分别对应表 2 中样本编号为 4、7、11、14、17 的样本),得到了相对应的指纹图谱,如图 2 所示。图 2 显示了 5 种新鲜度鱼粉样本之间的明显差异,样本 17 的传感器信号强度显著高于其他新鲜度鱼粉的传感器信号强度,样本 7、样本 11 和样本 14 在一些传感器上的响应较为相似,表明在样品中存在相似的挥发性成分;因此雷达图可以作为一种简单的统计工具,可以有效区分不同新鲜度鱼粉的挥发性成分。

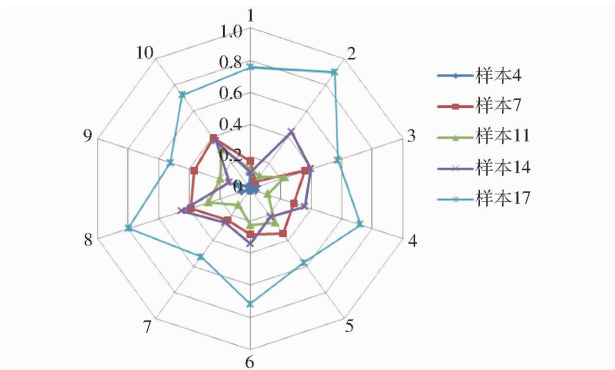


图 2 不同新鲜度鱼粉电子鼻的指纹图谱

Fig.2 Fingerprints of detection system with different freshness fish meal

2.3 不同新鲜度鱼粉挥发性物质的 GC-MS 测定

采用 SPME-GC-MS 方法,对 18 个不同储藏时间的鱼粉所挥发出来的物质进行检测,共检测和鉴定出醇类、醛类、酸类、烃类、酮类、含硫、含氮、酯类、酚类、醚类和其他类化合物 11 类,共计 101 种。不同新鲜度鱼粉的挥发性物质含量存在显著差异,通过挥发性物质来鉴别不同新鲜度等级的鱼粉是一个很好的方法。由于制作鱼粉的原料为各种鱼类,所以不同储藏时间鱼粉所挥发出来的物质与鱼类挥发出来的物质比较相似。

图 3a 为不同储藏时间等级鱼粉的各类挥发性物质相对含量。从图中可以看出,醛类化合物相对含量显著降低,酮类化合物相对含量则有所上升,醇类化合物、烃类化合物、酯类化合物、酚类化合物在储藏过程中相对含量呈先上升后下降的趋势,酸类化合物、含氮化合物、含硫化合物、醚类化合物相对含量则呈现上升趋势。图 3b 为不同储藏时间等级鱼粉挥发性物质种类花瓣韦恩图。从图中可以看出,18 个不同新鲜度鱼粉样本分别鉴定出挥发性物质 39、45、44、41、35、28、39、31、38、33、33、35、38、31、34、29、34、35 种,这些鱼粉样本的共同挥发性物质有 6 种,分别为壬醛、癸醛、十二烷、十四烷、萘和苯乙酮。由于在储藏的过程中受到微生物、光照等的影响,会发生脂肪氧化、蛋白质水解等现象,因此会出现旧物质的消失和新物质的生成,所以 18 个不同新鲜度的鱼粉所共有的挥发性物质较少。图 4 为不同储藏时间等级鱼粉各类挥发性物质种类数量的比较结果。从图中可以看出,在储藏的过程中,醛酮类化合物的种类数量较多,酯类、酚类、醚类化合物种类数量则较少,说明醛酮类化合物在鱼粉的挥发性物质中有着重要的作用。

2.4 挥发性物质分析

2.4.1 醇类化合物

GC-MS 鉴定出来的醇类化合物有 11 种,且醇类化合物在储藏过程中相对含量为先上升后下降趋势。在这些醇类化合物中,苯甲醇、1-庚醇、2-辛炔-1-醇、1-己烯-3-醇、2-乙基-1-己醇、1-辛烯-3-醇仅在储藏初期出现,而 3-甲基-1-丁醇则在储藏后期生成。1-辛烯-3-醇被报道广泛存在于鱼类中,挥发性气味浓郁,产生于亚油酸的氢过氧化物降解作用^[14]。3-甲基-1-丁醇与微生物的活性有关,被认为是评价鱼类在储藏期间腐败或失去新鲜度的一个指标。(Z)-2-戊烯-1-醇在储藏的过程中逐渐减少,文献^[15]报道(Z)-2-戊烯-1-醇、1-辛烯-3-醇、1-戊烯-3-醇可以被用来作为鲑鱼新鲜度的潜在标记物。

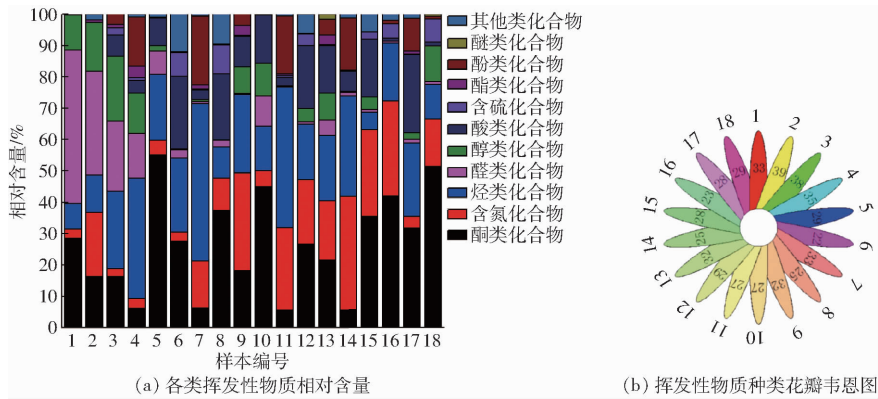


图 3 不同储藏时间等级鱼粉中各类挥发性物质相对含量和种类

Fig.3 Relative content and types of all kinds of volatile components in fish meal at different storage time levels

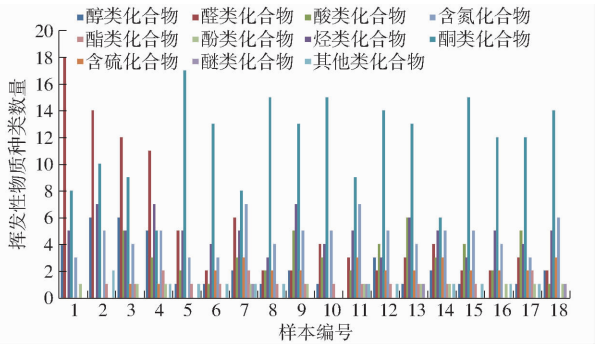


图 4 不同储藏时间等级鱼粉各类挥发性物质种类数量

Fig.4 Numbers of various volatile compounds in fish meal with different storage time levels

2.4.2 醛酮类化合物

醛酮类化合物在储藏的过程中相对含量较高,且阈值较低,对风味贡献较大^[16],且在不同储藏时间等级的鱼粉中相对含量较高。在鱼粉储藏的过程中共检测到醛类化合物 20 种,酮类化合物 26 种。醛酮类化合物主要由不饱和脂肪酸的氧化、氨基酸的降解以及美拉德反应或微生物的氧化生成^[3]。其中,壬醛、癸醛在储藏的过程中始终存在,这与文献^[17]在大菱鲆挥发性物质检测中的结果一致。一些醛类化合物被认为是新鲜鱼类的主要挥发性物质,在储藏初期,醛类化合物相对含量为 48.99%,但在储藏末期鱼粉中相对含量为 0.95%,醛类化合物显著降低,这与文献^[18]对三文鱼片冷藏过程中挥发性成分的变化一致;醛类化合物相对含量显著下降,主要是微生物和内源酶的作用引起。新鲜鱼粉挥发性物质特征包含了由多不饱和脂肪酸氧合酶作用产生的 6、8、9 个碳原子的醛类化合物^[15]。己醛是鱼类特有的甜味剂的一个重要贡献者,据报道,其主要是由鱼肉中最丰富的脂肪酸亚油酸氧化形成的^[19],己醛在储藏前期存在,在储藏后期检测不到。庚醛主要由 n-6 多不饱和脂肪酸氧化形成^[20],其也在储藏前期存在,在储藏后期检测不到,而壬醛则来自于 n-9 多不饱和脂肪酸的氧化作用^[21],在储

藏过程中相对含量降低。3-甲基丁醛的产生与 Strecker 降解和微生物对亮氨酸和异亮氨酸的活性有关^[22],苯乙醛的产生与苯丙氨酸有关,并在熏鱼中检测到^[23],这两种物质都是在储藏初期含量较高,在储藏后期含量下降甚至消失。酮类挥发性物质相对含量则有所上升,储藏初期鱼粉中酮类化合物相对含量为 28.55%,但在储藏末期鱼粉中则为 51.43%,增加了近 50%。含量较高的(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮则在储藏后期消失。此外,2-十一烷酮、苯乙酮、6-甲基-5-庚烯-2-酮和 2-壬酮均在鱼类挥发性物质中检测到^[24]。

2.4.3 酸酯酚醚类化合物

酸类化合物相对含量在储藏过程中呈现上升的趋势,且共检测到 8 种酸类化合物。酸类物质可能来源于甘油和磷脂的降解,己酸在检测到的储藏时间等级内含量无显著性差异。辛酸和 3-甲基丁酸具有奶油和油脂味,在样本 3 下检测到辛酸,在样本 18 下 3-甲基丁酸消失。酯类、酚类和醚类化合物种类和含量较少,且随着储藏时间的增加,酯类、酚类化合物呈现先增加后减少的趋势,酯类化合物的增加可能是由于鱼肉中的酶和微生物新陈代谢的共同作用所致。醚类化合物只在样本 7、11、13、18 中出现。

2.4.4 烃类化合物

鱼粉挥发性物质中共鉴定出烃类化合物 9 种,在储藏过程中烃类化合物相对含量呈现先上升后下降的趋势。据报道,烃类化合物由于其较高的气味阈值而对风味贡献较低。在鱼粉储藏过程中,芳香烃-萘在储藏期间表现出变异性,而且在不同鱼类中也被报道,然而其来源尚未完全阐明。萘可能来自周围环境,并在龙虾、扇贝、螃蟹中也被检测到^[25]。

2.4.5 含氮、含硫化合物

含氮化合物、含硫化合物相对含量均呈现上升趋势。含氮化合物主要为三甲胺、吡嗪类化合物、呋

喃类化合物、吡啶类化合物等化合物,共计 15 种。三甲胺在储藏过程中逐渐增加,三甲胺由氧化三甲胺在细菌酶的作用下产生,呈现不好的氨味,广泛存在于海鱼等水产品中^[26],是鱼类腐败的标志物。吡嗪类化合物主要产生于 α -氨基酮经美拉德反应,但也可能与微生物有关^[27],呋喃类产生于糖焦糖化和碳水化合物的降解作用;2-戊基呋喃形成主要与加热过程中的脂质氧化和降解作用有关,一般存在于熟肉和肉制品中,赋予产品烘烤味,出现这个物质的原因可能是由于鱼粉的蒸煮等加工工艺的影响。

鱼粉挥发性物质中共鉴定出含硫化合物 4 种,这些化合物都经历了从无到有的过程,即在特别新鲜的鱼粉样本中检测不到,但随着鱼粉品质变得不新鲜,出现了这些含硫化合物,这可能是蛋氨酸通过酵母代谢的中间产物甲硫醇进一步转化为二甲基二硫、二甲基三硫等硫化物^[28]。

2.4.6 其他类化合物

由于加工鱼粉所用的原料为鱼类,所以检测到的鱼粉所挥发出来的气味与鱼类所挥发出来的物质类似,但是鱼粉作为一种饲料原料,不仅仅是原料鱼的简单加工,而是需要一些其他添加剂以方便鱼粉运输和储藏。因此在检测中便发现有乙氧喹和 γ -脱氢酶,乙氧喹是一种性能优良的抗氧化剂,把它添加到饲料中,可有效地防止饲料中的营养成分(如脂肪、蛋白质、维生素等)受空气中氧的作用而发生变质^[29]。 γ -脱氢酶是一种抗氧化酶,抗氧化酶与抗氧化剂不同,一旦有过氧化物形成,它们就会立刻发挥作用,利用氧化还原反应将有毒害的过氧化物转换为低毒害甚至无毒害的物质。而在鱼粉中检测到尿素,则可能是由于部分厂家为了提高化验结

果的蛋白质含量,冒充高档鱼粉,也有可能是由于微生物等作用产生的物质。

2.5 挥发性物质模型建立

由于气体传感器阵列只给出了鱼粉气味的整体信息,而 GC-MS 给出了鱼粉样本挥发性成分的详细信息,因此建议根据气体传感器响应来得到鱼粉样本具体挥发性成分信息^[30],以辅助评判鱼粉的新鲜度。本文选择了对于 KNN 分类方法来说,单个特征分类准确率较好的传感器响应信号相对稳定状态均值作为输入来分析不同种类的挥发性物质^[31]。不同种类的挥发性物质以及由参考文献获得的明显表征不同储藏时间鱼粉逐渐腐败或失去新鲜度的标记物被选中进行进一步分析。多元线性回归和 KNN 回归算法被用于挥发性物质模型的建立。用固相微萃取-气相色谱/质谱法测定挥发性物质的相对含量,作为回归模型的参考数据。多元回归的目的是根据一组自变量(如气体传感器响应信号值)到另一组连续的因变量(如挥发性物质相对含量)建立预测模型。KNN 回归算法的核心思想是对于一个新输入的数据,计算给定样本数据集中每个样本与新输入数据的距离,按照距离递增排序,通过找出一个样本的 k 个最近邻居,将这些邻居某个属性的平均值赋给该样本,就可以得到该样本对应属性的值,根据前期试验得到本文的 $k=2$ 效果较好。利用这些回归模型,建立了检测系统的传感器响应信号值与鱼粉挥发性物质含量之间的关系。用于评估模型预测能力的参数有:实际变量与预测变量之间的相关系数(R)和均方根误差。

表 3 为两种预测模型的相关系数和均方根误差,图 5 为不同种类挥发性物质的 KNN 回归模型预

表 3 预测模型的相关系数和均方根误差
Tab.3 Correlation coefficient and RMSE for prediction models

挥发性物质	相关系数			均方根误差/%		
	多元线性回归	KNN 回归		多元线性回归	KNN 回归	
		训练集	测试集		训练集	测试集
醇类化合物	0.664 1	0.985 7	0.945 9	4.611 0	1.070 0	1.856 8
醛类化合物	0.355 0	0.919 0	0.827 4	12.293 0	4.805 5	8.465 5
酸类化合物	0.570 1	0.962 5	0.774 8	6.905 0	2.311 7	5.022 4
烃类化合物	0.686 3	0.985 2	0.899 7	8.798 0	2.082 5	5.220 7
酮类化合物	0.885 4	0.987 1	0.897 1	7.137 0	2.396 2	7.171 5
含硫化合物	0.601 7	0.957 7	0.798 0	2.341 0	0.881 2	1.540 7
含氮化合物	0.459 3	0.930 0	0.773 4	9.920 0	3.945 1	7.633 9
酯类化合物	0.762 2	0.988 6	0.962 9	0.740 0	0.172 4	0.303 6
酚类化合物	0.687 7	0.970 3	0.801 1	5.375 0	1.774 1	4.517 3
醚类化合物	0.516 7	0.969 4	0.961 4	0.305 0	0.088 6	0.095 1
二甲基二硫	0.648 1	0.965 6	0.857 6	1.400 4	0.494 7	0.843 6
二甲基三硫	0.689 2	0.960 1	0.826 1	1.070 0	0.419 0	0.799 8
三甲胺	0.851 5	1	0.999 9	3.040 0	0.040 9	0.086 7
壬醛	0.462 6	0.933 3	0.842 2	0.616 9	0.233 2	0.396 0
3-甲基-1-丁醇	0.697 1	0.959 9	0.763 3	1.043 8	0.395 5	0.918 4
1-辛烯-3-醇	0.647 3	0.989 7	0.960 0	0.687 4	0.131 6	0.213 9

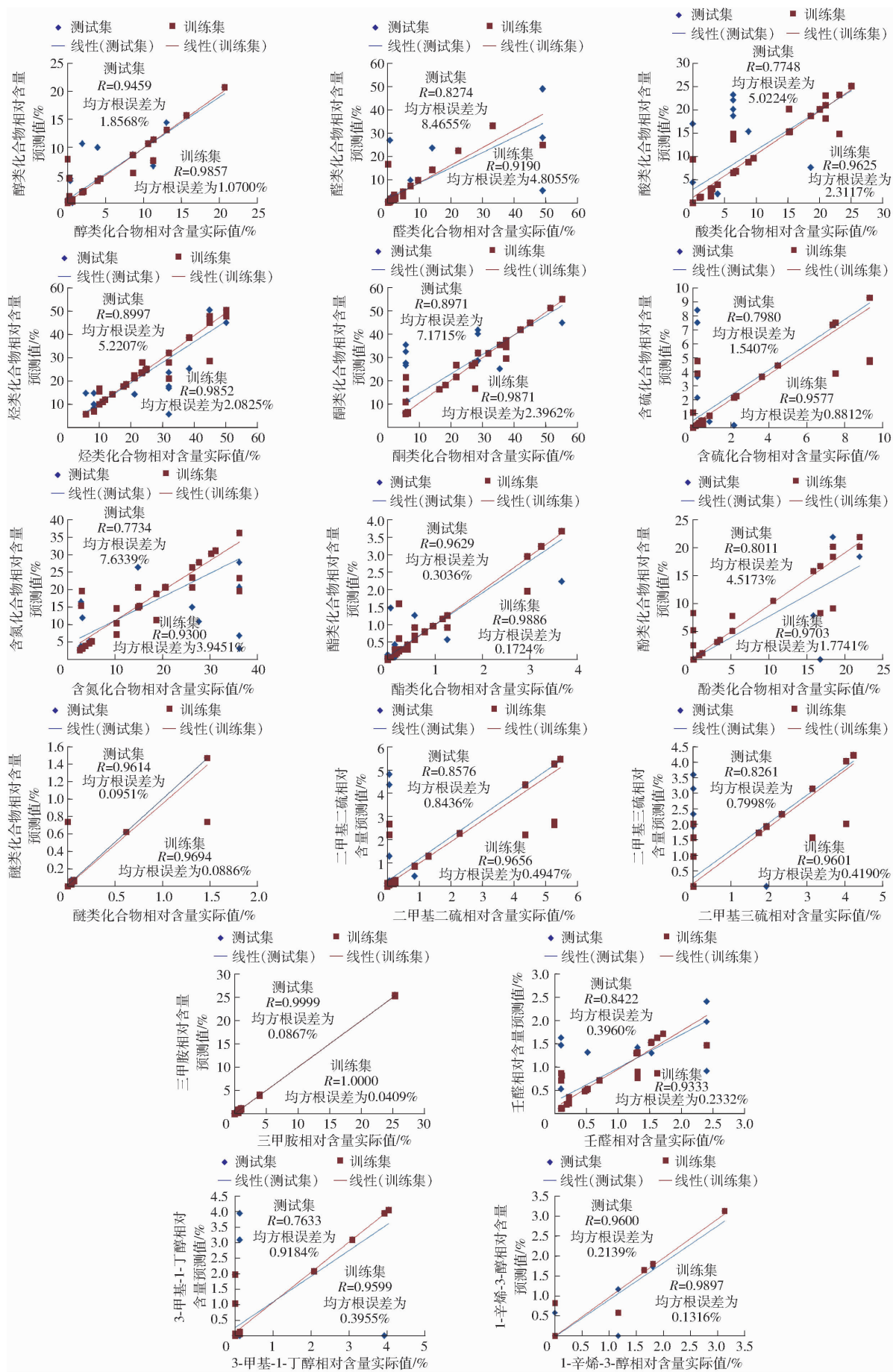


图 5 不同种类挥发性物质的 KNN 回归模型预测结果

Fig. 5 Prediction results of KNN regression model of different volatile components

测结果。从表 3 和图 5 中可以看出,鱼粉不同种类的挥发性物质都得到了比较好的预测结果。与 MLR 方法相比,KNN 回归算法具有更好的预测能力,测试集相关系数在 0.763 3~0.999 9 之间,均方根误差在 0.086 7%~8.465 5%之间。因此,利用检测系统中传感器的响应信息能够实现鱼粉挥发性物质含量的预测,也证明了检测系统适合作为 GC-MS 的替代方法来评价不同新鲜度等级的鱼粉。

3 结论

- (1)采用顶空固相微萃取气质联用方法对 18 种不同储藏时间鱼粉的挥发性物质进行了检测,共检测到 101 种挥发性物质,主要包括醇类、醛类化合物等 11 种挥发性物质,其中醛酮类化合物的种类较多。
- (2)在储藏过程中,醛类化合物相对含量呈下降趋势;酮类化合物、酸类化合物、含氮化合物、含硫

化合物相对含量则呈上升趋势;醇类化合物、烃类化合物、酯类化合物、酚类化合物相对含量呈先上升后下降的趋势。得到了表征鱼粉新鲜度的三甲胺、二甲基二硫、二甲基三硫等化合物。不同储藏时间的鱼粉挥发出来的物质含量具有显著差异,可通过挥发性物质来鉴别不同新鲜度的鱼粉。

(3)采用多元线性回归方法和最近邻算法(KNN)建立了鱼粉各类挥发性物质含量和表征新鲜度的标记物含量与传感器响应参数之间的回归模型。与多元线性回归方法相比,KNN 回归法具有更好的预测能力,得到测试集相关系数在 0.763 3~0.999 9 之间,均方根误差在 0.086 7%~8.465 5%之间。

(4)利用检测系统中传感器的响应信息能够实现鱼粉挥发性物质的预测,也证明检测系统适合作为 GC-MS 的替代方法来评价不同新鲜度的鱼粉。

参 考 文 献

[1] 王铨静.不同储存方法对鱼粉的影响及养殖效果评价[D].湛江:广东海洋大学,2017.
WANG Anjing. Effects of different storage methods on fish meal and the assessment of culture efficiency[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2017. (in Chinese)

[2] 陈星,吴大伟,周岩民.肉粉替代鱼粉对肉鸡生产性能、血清生化指标和抗氧化性能的影响[J].粮食与饲料工业,2012(10):53-56.
CHEN Xing, WU Dawei, ZHOU Yanmin. Influence of meat meal instead of fish meal on growth performance, serum biochemical indices and antioxidant function of broilers[J]. Cereal & Feed Industry, 2012(10): 53-56. (in Chinese)

[3] DENG Y, LUO Y, WANG Y, et al. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets[J]. Food Chemistry, 2015, 171:168-176.

[4] 唐红梅,李玉斌,王浩文,等.基于电子鼻与 GC-MS 对不同格瓦斯挥发性风味成分差异分析[J].食品科学,2019,40(22):287-292.
TANG Hongmei, LI Yubin, WANG Haowen, et al. Comparative analysis of volatile flavor components in different brands of kvass by electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2019, 40(22): 287-292. (in Chinese)

[5] 赵泽伟,丁筑红,许培振,等.基于 SPME-GC-MS 和电子鼻分析方法分析薏仁饮料贮藏过程风味化合物变化[J].食品科学,2018,39(14):276-281.
ZHAO Zewei, DING Zhuhong, XU Peizhen, et al. Change of flavor compounds in coix seed beverage during storage analyzed by SPME-GC-MS and electronic nose[J]. Food Science, 2018, 39(14): 276-281. (in Chinese)

[6] XIN R, LIU X, WEI C, et al. E-nose and GC-MS reveal a difference in the volatile profiles of white- and red-fleshed peach fruit[J]. Sensors, 2018, 18(3): 765-776.

[7] TAN J, KERR W L. Determining degree of roasting in cocoa beans by artificial neural network (ANN) based electronic nose system and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(10): 3851-3859.

[8] SAIDI T, ZAIM O, MOUFID M, et al. Exhaled breath analysis using electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry for non-invasive diagnosis of chronic kidney disease, diabetes mellitus and healthy subjects[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 257: 178-188.

[9] MAROM O, NAKHOUL F, TISCH U, et al. Gold nanoparticle sensors for detecting chronic kidney disease and disease progression[J]. Nanomedicine, 2012, 7(5): 639-650.

[10] 殷勇,申晓鹏,于慧春.基于 KECA+FDA 的白酒电子鼻多特征鉴别方法[J/OL].农业机械学报,2018,49(4):374-380.
YIN Yong, SHEN Xiaopeng, YU Huichun. Multi-features identification method of electronic nose data based on KECA+FDA for Chinese liquors[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(4): 374-380. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20180444&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.04.044. (in Chinese)

[11] GB/T 19164—2003 鱼粉[S].北京:中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,2003.

[12] GB/T 5009.228—2016 食品中挥发性盐基氮的测定[S].北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2016.

[13] TIMSORN K, THOOPBOOCHAGORN T, LERTWATTANASAKUL N, et al. Evaluation of bacterial population on chicken meats using a briefcase electronic nose[J]. Biosystems Engineering, 2016, 151: 116-125.

[14] 王霞,黄健,侯云丹,等.电子鼻结合气相色谱-质谱联用技术分析黄鳍金枪鱼肉的挥发性成分[J].食品科学,2012,

- 33(12):268 - 272.
WANG Xia, HUANG Jian, HOU Yundan, et al. Analysis of volatile components in yellowfin tuna by electronic nose and GC - MS[J]. Food Science, 2012, 33(12): 268 - 272. (in Chinese)
- [15] WIERDA R L, FLETCHER G, XU L, et al. Analysis of volatile compounds as spoilage indicators in fresh king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during storage using SPME - GC - MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 8480 - 8490.
- [16] 杨倩倩, 邱杨, 余以刚, 等. 养殖大黄鱼脱脂脱腥处理前后挥发性成分的变化[J]. 食品科学, 2012, 33(14): 206 - 210.
YANG Qianqian, QIU Yang, YU Yigang, et al. Volatile component analysis in fresh and defatted deodorized *Pseudosciaena crocea*[J]. Food Science, 2012, 33(14): 206 - 210. (in Chinese)
- [17] XU Y, LIU Y, JIANG C, et al. Determination of volatile compounds in turbot (*Psetta maxima*) during refrigerated storage by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(12): 2464 - 2471.
- [18] 李婷婷, 丁婷, 邹朝阳, 等. 顶空固相微萃取-气质联用技术结合电子鼻分析 4℃ 冷藏过程中三文鱼片挥发性成分的变化[J]. 现代食品科技, 2015, 31(2): 249 - 260.
LI Tingting, DING Ting, ZOU Zhaoyang, et al. Analysis of changes in volatile components of salmon fillets during refrigerated storage by the HS - SPME - GC - MS technique combined with electronic nose[J]. Modern Food Science & Technology, 2015, 31(2): 249 - 260. (in Chinese)
- [19] JÓNSDÓTTIR R, ÓLAFSDÓTTIR G, CHANIE E, et al. Volatile compounds suitable for rapid detection as quality indicators of cold smoked salmon (*Salmo salar*) [J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 184 - 195.
- [20] DUFLOS G, COIN V M, CORNU M, et al. Determination of volatile compounds to characterize fish spoilage using headspace/mass spectrometry and solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(4): 600 - 611.
- [21] PROST C, HALLIER A, CARDINAL M, et al. Effect of storage time on raw sardine (*Sardina pilchardus*) flavor and aroma quality[J]. Journal of Food Science, 2004, 69(5): S198 - S204.
- [22] FALL P A, PILET M F, LEDUC F, et al. Sensory and physicochemical evolution of tropical cooked peeled shrimp inoculated by *Brochothrix thermosphacta* and *Lactococcus piscium* CNCM I - 4031 during storage at 8℃ [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 152(3): 82 - 90.
- [23] VINCENT V, CAROLE P, THIERRY S. Volatile aldehydes in smoked fish: analysis methods, occurrence and mechanisms of formation[J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1536 - 1556.
- [24] IGLESIAS J, MEDINA I. Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds associated to oxidation of fish muscle[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1192(1): 9 - 16.
- [25] BOONSUMREJ H, CHAIWANICH SIRI S, TANTRATIAN S, et al. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(1): 292 - 299.
- [26] 张晶晶, 梁萍, 施文正, 等. 不同冷藏期鲳鱼及草鱼气味变化分析[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 31 - 36.
ZHANG Jingjing, LIANG Ping, SHI Wenzheng, et al. Changes in volatile compounds of pomfret and grass carp during different storage periods[J]. Food Science, 2016, 37(20): 31 - 36. (in Chinese)
- [27] MARTÍN A, CÓRDOBA J J, ARANDA E, et al. Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 110(1): 8 - 18.
- [28] 马瑜璐, 朱斌, 张雷, 等. 顶空固相微萃取-气质联用检测猪肉新鲜度[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 253 - 256.
MA Yulu, ZHU Bin, ZHANG Lei, et al. Evaluation of pork freshness by HS - SPME - GC - MS[J]. Food Science, 2011, 32(14): 253 - 256. (in Chinese)
- [29] MEREL S, REGUEIRO J, BERNTSEN M H G, et al. Identification of ethoxyquin and its transformation products in salmon after controlled dietary exposure via fish feed [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 259 - 268.
- [30] CAPONE S, TUFARIELLO M, FRANCIOSO L, et al. Aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to Negroamaro and Primitivo typical Italian Apulian wines[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013, 179: 259 - 269.
- [31] LI P, REN Z, SHAO K, et al. Research on distinguishing fish meal quality using different characteristic parameters based on electronic nose technology[J]. Sensors, 2019, 19(9): 2146.