

pH 对阿拉伯糖 - 半胱氨酸模型体系挥发性风味物质形成的影响

侯亚龙¹, 陈正行¹, 罗昌荣², 王光雨²

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036 2. 华宝食用香精香料(上海)有限公司, 上海 201821)

摘 要: 利用顶空-固相微萃取-气质联用的方法, 分析和比较了不同 pH 对阿拉伯糖/半胱氨酸模型体系挥发性风味物质形成的影响。研究结果表明, 中性、弱酸性条件有利于挥发性风味物质的形成。pH5 时挥发性风味物质的总量最大且各类挥发性风味物质较丰富; pH7 时虽然挥发性风味物质的总量较低但各类挥发性风味物质最丰富; 强酸性条件不利于挥发性风味物质的产生; 碱性条件虽有利于含氮、硫、氧等的杂环化合物的形成, 但挥发性风味物质总量低, pH9 时苯系物生成量较多。

关键词: 阿拉伯糖/半胱氨酸模型体系; pH; 挥发性风味物质; 风味化合物

Effects of pH on Formation of Aroma Volatiles in Model System of Arabinose/Cysteine Formation

HOU Ya-long¹, CHEN Zheng-xing¹, LUO Chang-rong², WANG Guang-yu²

(1. School of Food Science and Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China

2. Huabao Flavors and Chemicals (Shanghai) Co. Ltd., Shanghai 201821, China)

Abstract: Effects of pH on the formation of volatile and semi-volatile substances in the Maillard reaction systems of arabinose/cysteine were analyzed and compared by the method of headspace-solid microextraction associated with gas chromatography-mass spectrography. It was found that neutral and weak acid conditions are advantageous to the production of aroma compounds. The relative yield of aroma compounds is lower in strong acid condition than in former condition. The basic condition is advantageous to produce heterocyclic compounds which contain nitrogen, oxygen or sulfur atom. Since the yield of volatiles of pH9 system is the lowest, the absolute yield of every aroma compound is not high. In addition, we should pay attention to that there are a large number of benzene derivatives in the system of pH9, some of which are harmful.

Key words arabinose/cysteine model system; pH; volatile substances; aroma compound

中图分类号: TS264.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0087-05

众所周知, Maillard 反应对食品的香气、色泽有重要影响, 为获得特定 Maillard 反应的一些理论或规律, 常采用各种模型体系进行研究。在肉类香气成分及香气前体物质的研究中, 核糖-半胱氨酸^[1]、葡萄糖-半胱氨酸^[2]等模型体系最先被采用, 因为核糖是高反应活性的肉类成分, 葡萄糖是肉类中含量最大的还原糖, 而半胱氨酸是产生肉类风味的主要氨基酸^[3]。由于木糖价格低廉, 反应活性高于己糖, 目前已有不少学者开始研究。虽然阿拉伯糖与木糖一样, 是自然界中普遍存在的戊糖并已开始被用于反应型香精的生产, DANISCO 公司已有用做反应型香精原料的商品阿拉伯糖液出售, 但将阿拉伯糖用于 Maillard 反应模型体系, 研究其参与形成挥发性风味物质机理的报道不多。本文

的目的在于探索 pH 对 L-阿拉伯糖-半胱氨酸 Maillard 反应体系产生挥发性风味物质的影响规律, 为进一步研究 L-阿拉伯糖在 Maillard 反应中的作用奠定基础, 并为新型肉类风味香精的生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

L-阿拉伯糖(纯度为 > 99%) SANLAND 公司; L-半胱氨酸(BR 级) 国药集团上海试剂有限公司; 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠(均为 AR 级) 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器

Finnigan Trace 2000 气相色谱仪; Finnigan Trace

收稿日期: 2006-04-23

作者简介: 侯亚龙(1971-), 女, 博士研究生, 研究方向为粮食油脂与植物蛋白。

质谱仪; 顶空固相微萃取手动进样手柄及 75 μm CAR/PDMS 纤维萃取头 SUPELCO 公司。

1.3 样品的制备

1.3.1 反应液的制备

分别用 pH2、5、7、9 的 0.2 mol/L 的磷酸盐溶液, 配制 L-阿拉伯糖含量为 0.4 mol/L、L-半胱氨酸含量为 0.2 mol/L 的 4 种溶液, 分别装入具螺旋口的 12 支反应管中(每个 pH 平行三个样), 拧紧螺旋盖, 120 $^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0.02^{\circ}\text{C}$) 反应 1 h。随后取出迅速放入冰水中冷却, 放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱存放备检测用(存放时间不超过 24 h, 如超过 24 h 需冷冻保存)。

1.3.2 顶空固相微萃取(HS-SPME)法

反应液 8 ml 加入 15 ml 顶空瓶, 用氯化钠饱和, 封盖后置于恒温磁力搅拌器上的 40 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中, 待瓶内溶液温度稳定后将已老化好的固相微萃取针插入顶空瓶上部, 推出纤维萃取头, 吸附挥发性风味物质 40 min。完毕后萃取头插入气相色谱仪进样口, 250 $^{\circ}\text{C}$ 解吸 2 min。

1.4 气相色谱-质谱联用

1.4.1 色谱条件

J&W 的 DB-5 (60 m \times 32 mm \times 0.25 μm) 毛细管柱, 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 载气为氦气, 体积流速 1.2 ml/min, 分流比 10:1, 升温程序: 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min, 然后以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$, 接着以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min。

1.4.2 质谱条件

电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 灯丝发射电流 20 μA , 离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。全扫描, m/z 33~495。

1.4.3 数据处理

实验数据处理由 Xcalibur 软件系统完成, 未知化合物经计算机检索同时与 NIST 谱库(107 K 种化合物)和 Wiley 谱库(320 K 种化合物)相匹配, 正反匹配度均大于 800(最大值为 1000)的结果给予报道。

由于纤维萃取头的涂层会有脱落因此对实验结果的定量分析造成了一定的影响, 因此对每个样品重复三次的实验结果进行分析, 只对 $\text{RSD} < 20\%$ 的组分进行定量(取其平均值)比较, 其余组分只作定性比较。

1.5 挥发性风味物质相对含量的计算

挥发性风味物质相对含量以组分的相对峰面积百分比表示, 相对峰面积百分比的计算考虑了萃取头的随机脱落对结果的影响, 采用如下公式计算:

挥发性物质的总峰面积 = 总峰面积 - 萃取头脱落形成的峰面积 (1)

相对峰面积百分比 = $A_3 / (A_1 - A_2)$ (2)

式中, A_1 为总峰面积; A_2 为萃取头脱落形成的峰面积; A_3 为挥发性风味物质组分峰面积。

2 结果与分析

2.1 pH 对模式体系中挥发性风味物质总量的影响

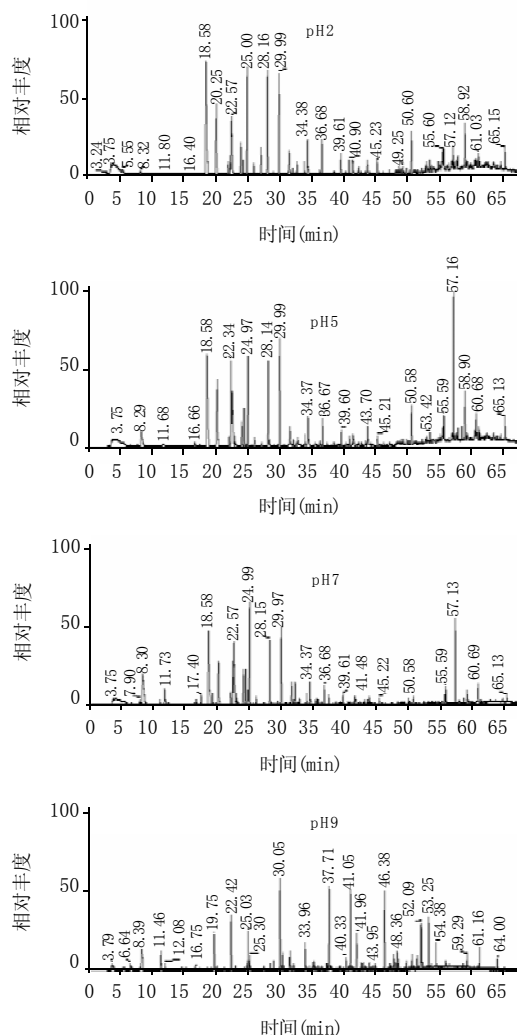


图1 不同 pH 条件下挥发性物质的总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatograms of the volatiles formed under different pH values

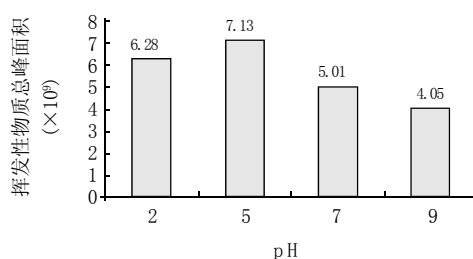


图2 不同 pH 时挥发性风味物质质量的差别

Fig.2 Quantity variance of volatiles formed under different pH values

从 HS-SPME-GC-MS 总离子流图(图 1)可以发现, 不同 pH 时 L-阿拉伯糖与 L-半胱氨酸 Maillard 反应的挥发性风味物质存在明显差异。按 1.4 中的公式(1)计算得到

低,如双(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚阈值是已知风味化合物中最低的,仅为 $0.00002\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[8],对肉类风味贡献很大。不同pH条件下硫醚类化合物产量排序为 $\text{pH}5 > \text{pH}7 > \text{pH}9 > \text{pH}2$ 。说明弱酸性条件最有利于其生成。同样2-甲基-3-呋喃硫醇也在pH5时相对含量最高,该物质也是重要的肉类风味化合物,阈值低,为 $5\sim 10\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[9]。根据Anne Meynier等^[10]的研究,在pH4.5~6.5范围内2-甲基-3-呋喃硫醇生成量是随pH的升高而降低,而本实验结果pH范围可扩大至pH4.5~7,不适用于pH2和pH9条件下。

糠硫醇相对含量随pH上升而下降(pH7例外),这是由于糠醛是糠硫醇生成的主要前体物^[11],酸性条件有利于糠醛的大量生成,从而促进糠硫醇的合成。Christoph等研究表明在糠醛、核糖、半胱氨酸共存体系中,糠硫醇主要由糠醛形成而非核糖,这说明体系中大量糠醛生成时,糠硫醇就由糠醛途径生成而不是由核糖经其它途径生成,即酸性条件下体系中生成的糠醛越多则糠硫醇的生成量越大。但 $\text{pH} \geq 7$ 时,L-阿拉伯糖的Amadori产物降解途径主要是2,3-烯醇化、1-脱氧邻酮醛糖,产物中没有糠醛生成,糠硫醇的形成路径必然改变,这可能是导致pH7条件下糠硫醇量没有下降反而升高的原因。

2,2'-亚甲基二呋喃仅在pH2时出现,这一化合物在Anton Apriyanton等^[12]的木糖-赖氨酸模型体系产物中也有出现,Silwar R等^[13]就其产生提出假设,认为其是2-糠醛的自聚合产物。pH2条件下Maillard反应循1,2-烯醇化经由3-脱氧邻酮醛糖途径生成大量2-糠醛,从而使其聚合的可能性增大,促成2,2'-亚甲基二呋喃的生成,本实验结果说明Silwar的假设是合理的。

在pH2、5、7时均无2,3-二氢-6-甲基噻吩并呋喃检出,pH9时却含量很高。

2.2.2 含氮杂环化合物

pH2、pH5条件下含氮杂环化合物(主要包括吡嗪、吡啶等)没有检出,pH7时仅有少量甲基吡嗪检出,而pH9时有大量含氮杂环类化合物检出,如甲基吡嗪、乙基吡嗪、三甲基吡嗪、甲基乙基吡嗪等,已确认并定量的该类化合物的相对含量就达到9.92%。由此可以看出吡嗪、吡啶类化合物的形成明显依赖于pH值,这与Leahy M M^[14]的实验结果一致。Shu C K^[15]在研究pH对2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮-半胱氨酸模型挥发性化合物形成的影响时也发现,在pH7.1时检测到吡嗪类化合物,但在pH2.2、pH5.1时没有检出,故提出半胱氨酸的氨基在pH7.1时反应活性较高的结论。而通过本实验结果则可以认为,碱性条件提高了半胱氨酸氨基的活性,促成含氮杂环化合物的形成。

2.2.3 含硫杂环化合物

表2 不同pH条件下挥发性风味物质中的含硫杂环化合物的相对含量(%)

Table 2 Relative content of sulfur-containing heterocyclic compound in volatiles formed under different pH values

含硫杂环化合物名称	pH			
	2	5	7	9
噻吩				
2-甲基噻吩	—	*	*	*
2-甲基-4,5-二氢噻吩	—	—	—	*
2-噻吩硫醇	*	—	—	—
2-乙酰基噻吩	—	—	—	*
甲酰基噻吩	*	—	—	—
2-丙酰基噻吩	—	—	—	*
3-甲硫基噻吩	*	—	—	—
2-甲酰基-5-甲基噻吩	*	*	0.61	*
3-乙基-2-甲酰基噻吩	—	—	—	*
3-噻吩甲酸	*	*	*	—
二甲基甲酰基噻吩	—	1.07	*	—
噻吩基-(3,2B)-噻吩	0.52	—	—	—
二氢噻吩基噻吩一	—	—	—	6.94
戊基噻吩	*	—	—	—
2-甲基-3-噻吩基 乙基二硫醚	—	—	—	*
甲基噻吩并噻吩	—	—	—	1.17
甲基二氢噻吩并噻吩 A ^a	—	—	—	1.23
甲基二氢噻吩并噻吩 B ^a	—	—	—	0.63
3-甲基-苯并噻吩-2-甲醛	—	—	—	*
噻唑				
噻唑	—	—	—	*
2-乙酰基噻唑	—	—	—	1.00
2-乙酰基-4-甲基噻唑	—	—	—	*
2-丙酰基-4-甲基噻唑	—	—	—	*
苯并噻唑	*	*	*	0.53

注:“—”表示此物质没有检出;“*”表示此物质相对含量小于0.5%;^a由于质谱无法区分同分异构体,因此本结果只能按其出峰前后以大写字母表示区别。

从表2中可以看出,碱性条件有利于含硫杂环化合物总量的提高,但各组分与pH的关系不明确。2-噻吩硫醇、甲酰基噻吩、3-甲硫基噻吩、噻吩基-(3,2B)-噻吩、戊基噻吩等只在pH2条件下的挥发性风味物质中检出;2-甲基-4,5-二氢噻吩、2-乙酰基噻吩、2-丙酰基噻吩、3-乙基-2-甲酰基噻吩、二氢噻吩基噻吩、2-甲基-3-噻吩基 乙基二硫醚、甲基噻吩并噻吩、甲基二氢噻吩并噻吩A、甲基二氢噻吩并噻吩B、3-甲基-苯并噻吩-2-甲醛等仅在pH9条件下的挥发性风味物质中检出。这说明不同的噻吩类物质循不同的途径形成。

噻唑类化合物的形成受pH影响较大,噻唑、2-乙酰基噻唑、2-乙酰基-4-甲基噻唑、2-丙酰基-4-甲基噻唑仅在pH9时有检出,苯并噻唑在pH9时相对含量最高,这与形成噻唑的前体物质有关。Elmore J S等^[16]的研究表明,噻唑类化合物最有可能由一个二羰基化合物或羟基酮、 H_2S 、 NH_3 和一个醛反应形成,而碱性条件下L-阿拉伯糖的Amadori化合物经由2,3-烯醇化、1-脱氧邻酮醛糖途径生成羟基酮、二羰基化合物,为噻唑

的形成提供前体物质。

2.2.4 含苯环化合物

值得注意的是, pH9 条件下含苯环化合物的相对含量远高于 pH2、pH5、pH7。pH9 的挥发性风味物质中还检出有毒性的苯衍生物, 如苯胺、N-乙基苯胺, 其中 N-乙基苯胺甚至占到总挥发物的 8.9%。说明虽然碱性条件促进 Maillard 反应的快速进行, 但其会生成一些不期望的有害物质, 并且其挥发性化合物的总量并不高。

2.2.5 烃类

挥发性风味物质中烷烃类产物相对含量基本是随 pH 的升高而减少的, 但 pH9 时又略有上升。烷烃类化合物是 Maillard 反应的中间产物, 虽无明显风味, 但由于其随着反应程度的加深会逐渐消失, 有理由怀疑其与风味化合物的形成有密切关系。

2.2.6 酮类

pH ≥ 7 时酮类化合物种类和相对含量均较高。其中 3-巯基-2-戊酮是具有肉类风味的重要化合物, 从本实验结果看, 中性及弱酸性条件最有利于它的形成。3-巯基-2-戊酮的形成主要是由中间体 2,3-戊二酮与 H_2S 反应形成, 而 2,3-戊二酮主要是戊糖经 1-脱氧戊邻酮醛糖途径形成, 其形成机理已由 Whitfield 等阐明^[17-18]。

表 3 不同 pH 条件下挥发性风味物质中的酮类化合物的相对含量(%)
Table 3 Relative content of ketones in volatiles formed under different pH values

化合物名称	pH			
	2	5	7	9
2-丙酮	—	—	1.16	0.5
2,3-丁二酮	—	—	—	*
2-丁酮	—	—	*	*
羟基丙酮	—	—	*	2.01
2-戊酮	—	*	—	*
3-戊烯-2-酮	—	*	*	—
3-巯基-2-戊酮	0.77	2.38	2.97	*
1-甲硫基-2-丁酮	—	—	1.44	—
6-甲基-5-庚烯-2-酮	—	—	*	*
2-甲基-5-异丙烯基-2-环己烯基酮	—	*	*	—
2,6-二叔丁基-4-羟基-4-甲基-2,5-环己二烯-1-酮	—	—	*	0.81
2,3-二甲基-2-环戊烯-1-酮	—	—	—	*

注: “—”表示此物质没有检出; “*”表示此物质相对含量小于 0.5%。

3 结 论

碱性条件下氨基酸的氨基活性提高, 有利于吡嗪类和吡啶类含氮杂环化合物和噻吩类硫杂环化合物的形成, 2,3-烯醇化糖降解途径生成二羰基化合物和羟基酮等前体物质也是原因。不同 pH 条件下形成的噻吩类化合物不同。pH5 时挥发性风味物质最多, 且呋喃、硫醇、硫醚、噻吩类化合物较丰富, 这些低阈值物质对

肉类风味的贡献度最大, 也是肉类香精的常见成分。pH7 时挥发性风味物质组分多, 对肉类风味有较大贡献。因而中性偏酸条件下通过 Maillard 反应可生成大量具有肉类风味的挥发性化合物且无明显有害挥发性物质生成, 是进行反应型肉类香精生产的适合条件。

参考文献:

- [1] CHEN Yong. Effects of urea, carnosine, DNA on volatile generation from Maillard reaction model system of ribose and cysteine[D]. New Brunseick Rutgers University, 2002.
- [2] ZHANG Y, HO C T. Comprison of the volatile compounds formed from the thermal reaction of glucose with cysteine and glutathione[J]. J Agric Food Chem, 1991, 39: 760-763.
- [3] MOTTRAM D S. Flavor formation in meat and meat products: a review [J]. Food Chemistry, 1998(4): 415-424.
- [4] BAILEY M E. Maillard reactions and meat flavor development[M]// SHAHID I F. Flavor of meat, meat products and seafoods. Blackie Academic & Professional, New York: 1998: 267-287.
- [5] NAGODAWITHANA T W. Flavor enhancers. Savory flavors. Esteekay Associates, 1995: 297-333.
- [6] FARMER L J, MOTTRAM D S, WHITFIELD F B. Volatile compounds produced in Maillard reactions involving cysteine, ribose and phospholipids[J]. J Sci Food Agric, 1989, 49: 347-368.
- [7] SHIBAMOTO T. Formation of sulfur- and nitrogen-containing compounds from the reaction of furfural with hydrogen sulfide and amonia [J]. J Agric Food Chem, 1977, 25: 205-208.
- [8] BUTTERY R G, HADDON W F, SEIFERT R M, et al. Thiamin odor and bis(2-methyl-3-furyl)disulfide. J. Agric[J]. Food Chem, 1984, 32: 674-676.
- [9] GASSER U, GROSCH W. Identification of volatile flavor compounds with high aroma values from cooked beef[J]. Z Lebensm Unders Forsch, 1988, 186: 489-494.
- [10] MEYNIER A, DONALD S M. The effect of pH on the formation of volatile compounds in meat-related model systems[J]. Food Chemistry, 1995, 52: 361-366.
- [11] CERNY C, DAVIDEK T. Formation of aroma compounds from ribose and cysteine during the maillard reaction[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 2741-2721.
- [12] APRIYANTONO A, AMES J M. Xylose-lysine model systems: the effect of pH on the volatile reaction products[J]. J Sci Food Agric, 1993, 61: 477-484.
- [13] SILWAR R, TRESSL R. Gaschromatographisch-massenspektrometrische untersuchung de rim modellsystem cystein/methinin/furfural unter rostbedingungen gebildeten aromastoffe[J]. Z Lebensm Unders Forsch, 1989, 189: 205-211.
- [14] LEAHY M M, REINECCIUS G A. Kinetics of alkyl pyrazine formation effect of pH and water activity[M]//PARLIAMENT T H, MCCORRIN R J, HO C T. Thermal generation of aromas. Washington DC: American Chemical Society, 1989: 196-208.
- [15] SHU C K, HO C T. Effect of pH on the volatile formation from the reaction between cysteine and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone [J]. J Agric Food Chem, 1988, 33: 442-446.
- [16] ELMORE J S, MOTTRAM D S, ENSER M, et al. Novel thiazoles and 3-thiazolines in cooked beef aroma[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45: 3603-3607.
- [17] MOTTRAM D S, IAN C C. Nobrega formation of sulfur aroma compounds in reaction mixtures containing cysteine and three different forms of ribose[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 4080-4086.
- [18] WHITFIELD F B, MOTTRAM D S. Investigation of the reaction between 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone and cysteine or hydrogen sulfide at pH4.5[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47: 1626-1634.