

烟末酶解物美拉德反应配料的优化

文冬梅¹, 伍锦鸣², 赵谋明¹, 卓浩廉², 赵强忠¹, 郭文²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 广东中烟工业有限责任公司, 广东广州 510610)

摘要: 以烟末酶解物为基液, 通过添加不同的氨基酸与糖类, 进行美拉德反应, 选择出合适的氨基酸与糖, 同时通过 GC-MS 检测了氨基酸与部分糖类发生的美拉德反应。结果表明: 从评吸得分和褐变程度来看, 甘氨酸和木糖是比较合适的氨基酸和糖类, 且糖氨比为 2:1 时, 具有良好的风味; GC-MS 结果表明: 随着糖类的加入, 产生了以吡嗪类、呋喃类、吡咯类及醛类为代表的 25 种风味物质。三种糖都产生了大量的糠醇, 且木糖产生了其它两种糖所没有的 6 种呋喃类物质, 同时风味得到了很好的改善。

关键词: 美拉德; 甘氨酸; 木糖; 气相色谱-质谱

文章编号: 1673-9078(2013)2-354-357

The Ingredient Optimization of Maillard Reaction of Tobacco Enzymatic Hydrolysate

WEN Dong-mei¹, WU Jing-ming², ZHAO Mou-ming¹, ZHUO Hao-lian², ZHAO Qiang-zhong¹, GUO Wen²

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. China Tobacco Guangdong Industrial Co, Ltd, Guangzhou 510610, China)

Abstract: In order to choose appropriate amino acid and saccharide to conduct Maillard reaction of tobacco enzymatic hydrolysate, different kinds of amino acids and saccharides were experimented and the volatile flavor compounds from Maillard reaction of amino acid and several saccharides were detected by GC-MS. The results demonstrated that xylose and glycine were the better choices from the perspective of the evaluation score and browning degree and good flavor was obtained by reaction of xylose with glycine at the ratio of 2:1. The GC-MS results showed that 25 kinds of flavor compounds generated and represented by pyrazines, furans, pyroles and aldehydes after adding saccharides. Plenty of furfuralcohol was generated in three kinds of saccharides. Six kinds of Furans were generated in xylose. Furthermore, the flavor of product got well improved.

Keywords: maillard; glycine; xylose; GC-MS

酶解与美拉德反应的结合已大量应用于调味料与香精香料中^[1]。而将烟末酶解后进行美拉德反应来制备烟用香精是近年来发展较为迅速的产业。国外在这方面的研究较早, Onishi A, Nishi 和 Kakizawa 在 1969 年就利用糖与氨基酸进行反应研究其在烟草中的应用^[2]。后来也有专利表明用烟草蛋白质水解物和还原糖反应制备烟草增香剂, 可以获得良好的效果^[3]。而研究的内容大多受到专利的保护或作为企业的核心, 对外公布较少。国内的研究大多都只利用某一特定的氨基酸与糖反应^[4-6], 而将烟末应用到烟用香精的制备当中的研究较少^[7-8]。

有文献表明, 天冬氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、甘

收稿日期: 2012-08-13

基金项目: 广东中烟工业有限责任公司科技项目 (05XM-QK[2010]013)

作者简介: 文冬梅 (1986-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品生物技术。

通讯作者: 赵强忠 (1976-), 男, 博士, 副教授, 主要从事于食品生物技术和食品乳液方面的研究

氨酸和丙氨酸与葡萄糖的美拉德反应对烟草有较好的增香效果^[8-10]。本文以烟末酶解物为美拉德反应基液, 通过添加不同氨基酸与糖来制备优质的烟用香精。结合人工评吸, 探讨了反应程度与风味的关系, 同时对其产生的风味物质进行了检测, 以期对烟用香精的制备提供技术指导以及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

烟末 (水分 11~13%), 广东中烟工业有限责任公司提供; 酶制剂: 碱性蛋白酶 Alcalase 2.4 L、复合植物水解 Viscozyme L 由丹麦诺维信公司提供; 苯丙氨酸、甘氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、木糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、果糖、氢氧化钾、氯化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DFT-200 型手提式高速万能粉碎机, 温岭市林大

机械有限公司生产; RE-52AA 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; UV-2000 型紫外-可见分光光度计, 尤尼科仪器有限公司; DSQII 气质联用仪 美国 Thermo 公司; LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂; 3-18K 高速冷冻离心机, Sigma 仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 美拉德反应基液的制备

将一定量烟末置于锥形瓶中, 按照 1:5 料液比加水, 先用 5‰ 纤维素酶在 50 ± 2 °C 恒温水浴振荡器中振荡酶解 6 h, 再添加 5‰ Alcalase 2.4 L, 总加酶量为 5‰ (以烟末重量计), 在 50 ± 2 °C 恒温水浴振荡器中振荡酶解 6 h, 在 $7020 \times g$ 、20 °C 条件下离心 20 min, 取上清液, 浓缩至固形物含量 $50 \pm 2\%$ 。

1.3.2 美拉德反应工艺

1.3.2.1 氨基酸的确定

取 5 份一定量美拉德反应基液, 置于玻璃瓶中, 分别加入 3% 的 5 种氨基酸 (天冬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸与丙氨酸), 调节 pH 值为 6.5, 压盖密封, 在 100 °C 高压锅中封闭反应 3h 后, 冷却。另做空白对照样。

1.3.2.2 糖类的确定

确定氨基酸种类之后, 在加入 3% 的最佳氨基酸的基础上, 分别加入 6% 的 5 种糖类 (木糖、葡萄糖、果糖、蔗糖与麦芽糖), 进行美拉德反应, 确定最佳糖类。另做空白对照样。

1.3.3 褐变程度的测定

取 1 mL 美拉德反应液, 在 4 °C 下, $7020 \times g$ 离心 15 min, 取 200 μ L 定容到 100 mL, 用蒸馏水作参比, 在 420 nm 下测定其吸光值

1.3.4 风味评价

对制备出来的每一个样品喷洒到对象烟丝上面, 喷雾量为烟丝质量的 2.0‰, 制作成卷烟经平衡水分等相应处理后由卷烟感官评价专家小组进行评吸, 对其光泽、香气、协调、杂气、刺激性和余味六个指标分别进行评分, 具体参见 YC/T138-1998。

1.3.5 SPEM-GC-MS 分析条件

萃取条件: 取美拉德反应产物 8 g, 加入 2.5 g NaCl 溶液, 平衡温度 50 °C, 萃取时间 30 min, 250 °C 解吸 3 min。

色谱条件: 色谱柱: Tr-35 ms 弹性石英毛细管 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m); 升温程序: 初始温度 40 °C, 保持 2 min, 以 5 °C/min 升温至 120 °C, 保持 10 min, 以 12 °C/min 升温至 250 °C, 保持 10 min。载气: He; 载气流速: 1.0 mL/min; 分流比 10:1。

质谱条件: 离子源: EI 离子源; 离子源温度: 250 °C; 传输线温度 275 °C; 电子能量: 70 eV; 质量范围: m/z 33~450 amu。

2 结果与讨论

2.1 氨基酸种类对美拉德反应程度及产物品质的影响

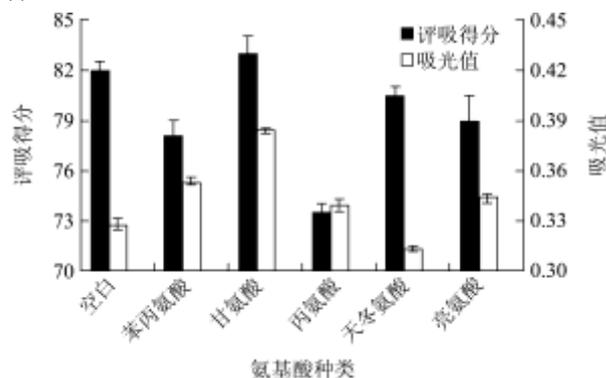


图1 氨基酸种类对美拉德反应程度及产物品质的影响

Fig.1 The influence of species of amino acid on maillard reaction and the quality of products

图1为不同氨基酸对美拉德反应程度及产物品质的影响。从图1可以看出: 甘氨酸的评吸得分最高, 达到 83 分, 天冬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸较空白样评吸得分稍有降低, 丙氨酸评吸得分明显低于空白对照样仅为 73 分; 甘氨酸褐变程度最高, 其次是苯丙氨酸、丙氨酸和亮氨酸, 天冬氨酸有抑制褐变的作用^[1]; 由此可以看出不同氨基酸种类对美拉德反应物风味影响较大, 褐变程度与评吸得分之间并不存在明显的相关性。这可能的原因是: 氨基酸对美拉德反应褐变程度的影响与其酸碱性及空间位阻有关, 一般碱性氨基酸的褐变程度大于酸性氨基酸, 氨基在 ϵ -位或者末端比 α -位易褐变。甘氨酸的吸光值最高, 因其氨基在末端, 空间位阻较小, 且酸性较弱, 故褐变程度最高, 而天冬氨酸是酸性较强的氨基酸, 导致其褐变程度比空白低。从评吸结果看, 甘氨酸有修饰烟气, 使之柔滑细腻的作用, 而丙氨酸有尖刺感。从氨基酸本身的呈味来分析, 甘氨酸具有爽快的甜味, 而丙氨酸是带有苦味的甜味氨基酸, 且丙氨酸的阈值较低, 这可能也是导致评吸结果差异的原因。综合以上结果, 选择甘氨酸为下一步反应的氮源。

2.2 糖类对美拉德反应程度及产物品质的影响

图2为不同糖类对美拉德反应程度及产物品质的影响。从图2可以看出: 木糖的评吸得分最高, 达到 83 分, 果糖与麦芽糖较空白样评吸得分相近, 而葡萄糖与蔗糖评吸得分低于空白样, 蔗糖的评吸得分最低为 78.5; 加入糖类后褐变程度均高于空白样, 糖类的

褐变程度一般为五碳糖>六碳糖>双糖，而醛糖>酮糖^[12]，其中木糖的褐变程度最强，因其是五碳糖又是醛糖，故反应性最高。葡萄糖和麦芽糖同为醛糖，故反应性大于属于酮糖的果糖和蔗糖。因为甘氨酸的氨基空间位阻较小，使五碳糖与六碳糖的空间效应就不占主导地位，所以葡萄糖与麦芽糖，果糖与蔗糖的褐变程度相近。从评吸结果看，木糖具有集中并增加香气浓度，使烟气柔滑，提高舒适性的作用。而蔗糖使烟气有粗刺感，并且刺激性增大。综合以上结果，选择木糖作为下一步反应的碳源。

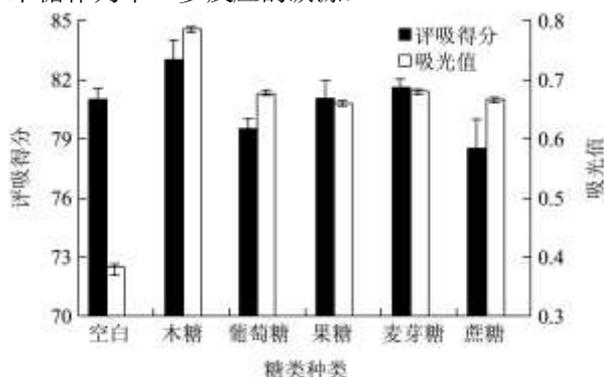


图2 糖类对美拉德反应程度及产物品质的影响

Fig.2 The influence of specie of sugar on Maillard reaction

2.3 部分糖类美拉德反应气质分析

加入糖类后，甘氨酸与糖发生着复杂的化学反应，其中有11种物质发生了降解，较为重要的有2-乙基呋喃、2-庚酮、对甲基苯甲醚、苯甲醛、5-甲基-2-异丙基-2-己烯醛、植物醇。同时产生了以吡嗪类、呋喃类、吡咯类及醛类为代表的25种风味物质。吡嗪类化合物是烘烤食品、油脂加香中常用的食品香料物质，反应产生的吡嗪类物质有2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪及2,5,6-三甲基吡嗪，它们具有浓郁的焦烤香气，香味充足、劲头适中，而且能掩盖部分杂气，改善余味^[13]。呋喃类物质也是重要的烟草香味物质，其中糠醛和5-甲基糠醛均赋予烟气焦甜的特征，2-乙酰呋喃赋予烟气清香型风格^[14]。吡咯类化合物也是烟草和美拉德反应产物中一类重要的香味成分，如N-乙基-2-吡咯甲醛和2-乙酰吡咯对于增加烟草香味，改善卷烟吸食品质有着很重要的作用^[15]。以苯乙醛为代表的醛类物质，它具有浓郁的玉簪花香气，并有定香作用。木糖的反应活性最高，产生的风味物质最多，这与褐变程度相符。三种糖均产生了大量的糠醇，而木糖还产生了其它两种糖所没有的物质：2-丁基呋喃、乙酸糠醇酯、2,3-苯并呋喃、2,2'-联呋喃、2,2-亚甲基双呋喃和2-呋喃基-5-甲基呋喃，它们共有的特点是都具有呋喃环，说明木糖是产生呋喃类物质的良好前体物，这类呋喃类物质对风味作出了积极的贡献。

表1 部分糖类美拉德反应挥发性成分检测分析

Table 1 The analysis of volatile component in part of the saccharide Maillard reaction

保留时间/min	挥发性风味物质	相对百分含量/%			
		空白	木糖	果糖	蔗糖
1.40	乙醇	3.28	0.66	1.45	1.68
1.59	甲酸甲酯	1.21	-	-	-
1.70	2-甲基丙醛	0.41	0.25	0.53	0.74
1.89	2-甲基呋喃	4.62	1.24	1.22	1.66
2.02	乙酸乙酯	3.79	-	-	-
2.03	乙酸	-	1.75	4.10	3.87
2.38	3-甲基丁醛	1.29	0.37	0.71	0.67
2.47	2-甲基丁醛	1.79	0.36	0.57	0.58
2.51	乙酸甲酯	-	0.82	1.62	1.63
2.89	2-乙基呋喃	1.26	-	-	-
2.92	2,5-二甲基呋喃	3.07	0.45	1.77	2.13
3.22	2-乙基呋喃	0.71	1.50	0.53	0.58
3.75	吡啶	2.06	0.47	1.50	1.50
4.69	2-甲基-5-乙基呋喃	1.02	0.13	0.36	0.37
5.10	2-甲基四氢呋喃-3-酮	0.58	0.15	0.58	0.46
5.49	对甲基苯酚	0.48	0.13	0.19	0.17
5.53	2-甲基吡嗪	-	0.32	1.33	1.29
5.77	糠醛	0.04	6.02	1.22	0.87
5.95	2-丁烯酸乙酯	0.87	0.52	0.98	1.22
6.02	3,4,4,三甲基-2-环戊烯-1-酮	3.09	0.66	1.27	1.33
6.46	糠醇	4.39	30.86	17.93	15.74
6.66	1,2-二甲基苯	1.44	-	-	-
7.92	2-乙酰呋喃	-	1.74	4.24	6.02
7.29	2-庚酮	1.29	-	-	-
7.95	2,5-二甲基吡嗪	-	1.49	1.16	0.96
8.06	4,5-二甲基咪唑	1.82	-	-	-
8.41	3,5-二甲基苯酚	-	0.23	0.73	0.70
8.51	对甲基苯甲醚	3.26	-	-	-
9.02	2,6-二甲基-3-庚酮	-	0.27	0.41	0.39
9.18	2-丁基呋喃	-	4.43	-	-
9.25	5-甲基-2-呋喃甲醇	-	-	1.03	1.03
9.55	5-甲基糠醛	-	2.44	2.80	2.16
9.70	苯甲醛	1.70	-	-	-
10.10	2-戊基呋喃	4.66	0.74	1.73	1.90

转下页

接上页					
10.40	乙酸糠醇酯	-	0.57	-	-
10.49	2,3-苯并呋喃	-	1.31	-	-
10.53	2-乙基-6-甲基吡嗪	-	0.98	0.97	1.23
10.66	2,5,6-三甲基吡嗪	-	0.64	1.51	2.92
10.89	N-甲基-2-吡咯甲醛	-	2.54	1.40	0.32
11.74	2,2'-联呋喃	-	1.41	-	-
11.92	苯甲醇	1.85	0.58	0.97	0.94
11.99	1-甲基-3-异丙基环己烯	-	1.97	1.48	1.70
12.11	苯乙醛	-	0.58	0.64	0.55
12.21	N-乙基-2-吡咯甲醛	-	0.60	0.37	0.40
12.92	2-乙酰吡咯	-	1.44	4.62	3.86
13.04	2, 2-亚甲基双呋喃	-	3.80	-	-
13.36	2,4-二甲基-3-乙酰基呋喃	-	0.99	1.45	1.42
13.54	芳樟醇	2.14	1.09	1.56	1.63
13.99	5-甲基-2-异丙基-2-己烯醛	1.13	-	-	-
14.28	苯乙醇	0.64	0.50	0.81	0.78
14.42	异佛尔酮	1.38	0.43	1.13	1.23
14.76	6-甲基-5-乙基-3-庚烯-2-酮	0.55	0.19	0.38	0.37
15.89	2-呋喃基-5-甲基呋喃	-	0.49	-	-
16.17	氧化柠檬烯	0.76	0.30	0.49	0.57
16.26	1-(1,4-二甲基-3-环己烯-1-基)乙酮	0.60	0.20	0.41	0.46
16.32	辛酸乙酯	-	1.02	0.88	0.32
16.64	藏花醛	2.14	0.70	1.15	1.18
16.78	紫罗烯	-	1.06	1.04	0.91
17.09	3,4-脱氢-β-紫罗兰酮	0.52	0.26	0.32	0.33
17.19	1-对薄荷烯-9-醛	0.58	0.36	0.51	0.55
18.02	1,1,5,6-四甲基茛满	-	1.29	1.20	1.12
21.65	烟碱	4.14	-	-	-
21.77	茄酮	21.32	9.49	14.56	14.43

22.89	β-大马酮	3.53	3.26	4.59	4.54
24.45	α-大马酮	1.22	0.69	0.83	1.15
31.14	二氢猕猴桃桃内酯	0.67	0.32	0.48	0.47
31.69	巨豆三烯酮 A	0.88	0.44	0.97	1.05
32.11	巨豆三烯酮 B	2.80	1.20	2.69	3.07
32.76	巨豆三烯酮 C	0.77	0.30	0.61	0.70
33.00	巨豆三烯酮 D	2.48	1.03	2.01	2.15
35.55	植物醇	1.80	-	-	-

注：“-”表示未检出。

2.5 最佳糖氨比确定

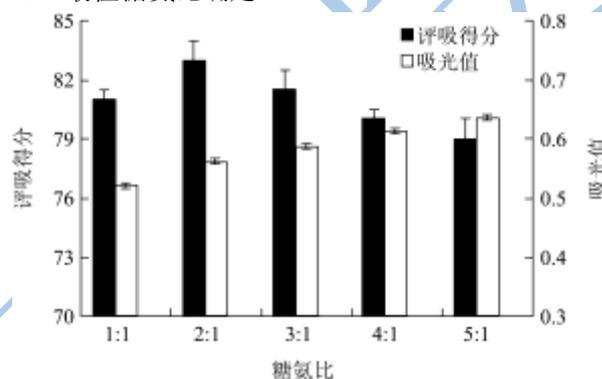


图3 不同糖氨比对美拉德反应程度及产物品质的影响

Fig.3 The influence of different C/N on maillard reaction and the quality of products

由图3可看出,随着糖氨比从1:1增至5:1,吸光值呈现不断增加趋势;从评吸的得分来看,当糖氨比从1:1增加至2:1时,评吸得分增加较明显,但当糖氨比进一步增加至5:1时,评吸得分呈现较明显的下降趋势,由此可知并不是反应程度越高,产品的风味越好,整体风味的好坏需要美拉德反应产生的风味物质与反应基液相互协调,才能获得良好的效果。

3 结论

3.1 在氨基酸的选择中,甘氨酸的评吸得分最高为83分,且褐变程度也最高;丙氨酸的评分得分最低为73分,天冬氨酸有抑制褐变的作用。

3.2 在糖类的选择中,木糖的评吸得分最高为83分,随着糖类的加入,褐变程度均高于空白样,且木糖的褐变程度最强,在木糖与甘氨酸比例为2:1时反应能取得良好的风味。

3.3 气质结果表明,随着糖类的加入,减少了11种物质,同时产生了以吡嗪类、呋喃类、吡咯类及醛类为代表的25种风味物质,三种糖都产生了大量的糖醇,且木糖产生了其它两种糖所没有的6种呋喃类物质。

参考文献

- [1] 崔春,赵谋明,刘珊,等.低值鱼蛋白酶解产物对酱香型美拉德反应产物风味的影响[J].现代食品科技,2006,22(2):9-12
- [2] Onishi. Process for reacting amino acid and an active carbonyl sugar in a polyhydric alcohol [P]. US3478015. 1969-11-11. Google Patents
- [3] H Gaisch. Method of tobacco treatment to produce flavors [P]. US4537204, 1985-8-27. Google Patents
- [4] 方百盈,冯大炎. Maillard 反应与烟用香料的开发[J]. 安徽师大学报(自然科学版),1997,209(3):253-256
- [5] 孙凤玲,蔡妙颜,李冰. Maillard 反应及其产物在烟草加香中的作用[J]. 广东化工,2005(1):26-29
- [6] 杨叶昆,李雪梅,唐自文,等. 酪蛋白的酸水解及其棕色化反应产物在卷烟加香中的应用[J]. 烟草科技,2001,1:8-10
- [7] 饶国华. 利用低次烟叶蛋白制备生物活性肽及烟用香精的研究[D]. 华南理工大学, 2006
- [8] 唐胜,沈光林,饶国华,等. 利用烟末酶解液制备烟用美拉德反应香精的研究[J]. 食品工业科技,2011,32(4):268-271
- [9] 陈群. 甘氨酸与烟草直接反应制备烟用香精及其致香成分分析研究[J]. 食品工业,2000,4:36-38
- [10] 周正红,贾宗剑,李静,等. Maillard 反应产物及其在烟草中的增香研究[J]. 暨南大学学报(自然科学版),1999,20 (3):110-116
- [11] 李鹏. 柿子褐变机理及柿子加工中抑制褐变关键技术的研究[D]. 陕西师范大学,2010
- [12] 王莹. 美拉德反应的工艺条件优化及其产物的 GCMS 鉴定、卷烟加香应用研究[D]. 河南农业大学,2009
- [13] 郭正,吕建明. 烟用香精中烷基吡嗪类化合物的合成与应用[J]. 烟草科技,1996,3:4-5
- [14] 薛超群,王建伟,奚家勤,等. 烤烟烟叶理化指标与焦甜感程度的关系[J]. 烟草科技,2011,12:9-13
- [15] 卢叶. 吡咯类香料的合成及其卷烟加香应用研究[D]. 河南农业大学,2010