

基于 PLSR 鹰嘴豆蛋白美拉德风味肽最适底物的研究

张继贤¹, 田洪磊¹, 李姗姗², 未志胜¹, 詹萍¹, 谈思维¹

(1. 石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000) (2. 东北农业大学生命科学学院, 黑龙江哈尔滨 150000)

摘要: 本实验以鹰嘴豆蛋白为原料, 通过双酶定向酶解制备一系列不同水解度 (DH%) 鹰嘴豆蛋白酶解液, 以此为底物采用描述性感官分析 (DSA) 和气质联用技术 (GC-MS) 分析比较经模式美拉德反应体系制备所获得风味肽产品的风味特征, 以期获得美拉德风味肽最适鹰嘴豆蛋白酶解体系。结果表明: 由不同 DH% 鹰嘴豆蛋白酶解液为底物制备的美拉德风味肽产品在感官属性和形成的香气成分上呈现显著差异, 当添加 DH% 为 23.03%~26.02% 的酶解液制得的美拉德风味肽其所形成的香气种类和数量相对较多, 同时呈现明显的肉味、鲜味和较长的持续感。结合偏最小二乘回归 (PLSR) 对其香气物质、感官分析数据和电子鼻响应值进行相关性分析, 进一步表明 DH% 为 23.03%~26.02% 的鹰嘴豆蛋白酶解液可作为风味肽产品热反应最适反应底物。

关键词: 鹰嘴豆蛋白酶解; 美拉德肽; 气相色谱质谱; 偏最小二乘回归

文章编号: 1673-9078(2016)2-176-183

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.027

Most Desirable Substrate for Maillard Reaction Peptides Prepared from Chickpea Protein Hydrolysates Based on PLSR

ZHANG Ji-xian¹, TIAN Hong-lei¹, LI Shan-shan², WEI Zhi-sheng¹, ZHAN Ping¹, TAN Si-wei¹

(1. Food College of Shihezi University, Shihezi 832000, China)

(2. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150000, China)

Abstract: Chickpea protein was used as the raw material in this experiment, and a series of chickpea protein hydrolysates (CPHs) with different degrees of hydrolysis (DHs) were prepared by double-enzyme digestion. Using the CPHs as the substrate, descriptive sensory analysis and gas chromatography-mass spectrometry were employed to analyze and compare the flavor characteristics of flavor peptide products prepared from the model Maillard reaction system to identify the most suitable chickpea proteolytic system for the preparation of Maillard reaction peptides (MRPs). The results revealed significant differences in the sensory attributes and aroma components among MRPs prepared from CPHs with different DHs. Compared with other samples, the MRPs produced from CPHs with a DH range of 23.03~26.02% contained a large number of aroma compounds and showed an apparent meaty and umami taste with a long duration. Correlation analysis on the aroma substances, sensory evaluation data, and electronic nose data was conducted using partial least squares regression and the results further confirmed that the CPHs with a DH range of 23.03~26.02% is a desirable substrate for thermal reactions to produce MRPs.

Key words: chickpea protein hydrolysat; Maillard peptides; gas chromatography mass spectrometry; partial least squares regression

美拉德肽 (MRPs) 是基于还原糖和低分子氨基酸化合物经美拉德反应 (Maillard Reaction) 而产生的一类肽衍生物, 该类化合物在增强食品风味特征的同时, 还可弥补因食品加工等原因造成的风味损失^[1], 因此统称为美拉德风味肽。与此同时, 美拉德肽还可以将人体味觉对咸味和鲜味受体的接受功能起到放大作用, 具有“鲜咸合一”的增强特性, 可以适度减少食品

收稿日期: 2015-05-05

基金项目: 国家自然科学基金 (31460408); 兵团兴边富民科技专项 (2012BA068); 师市中小企业创新基金 (2015QY11)

作者简介: 张继贤 (1989-), 男, 硕士在读, 研究方向: 食品风味化学

通讯作者: 田洪磊 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能食品与食品配料; 詹萍 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品风味化学

中食盐和味精的用量, 真正实现技术降咸, 技术提鲜^[2]。此外, 美拉德肽还同时兼备体内、体外抗氧化作用及杀菌抑菌的作用, 在某种程度上可部分或全部替代食品中的抗氧化剂和防腐剂^[3]。随着经济发展和消费水平的提高, 高端消费群体对新型的全天然调味产品的呼声越来越高, 加之国产呈味基料应用于调味料生产的产品目前相对较为匮乏, 美拉德风味肽势必具有极其广阔的市场空间。

大量研究表明由单一或某几种纯氨基酸混合物制备的热反应产物其风味特征不明显, 若适当添加一定量低分子肽则其整体呈味效果显著提升^[4-6]。鹰嘴豆蛋白是优质的植物蛋白, 其蛋白质含量高达 25%, 若以其为原料经酶解后生成的小分子肽类和游离氨基

酸,经美拉德反应即可获得美拉德风味肽。制备此类产品所用的原料均为天然的,且反应过程较为温和,其产物不会与食品中的其它成分发生不良反应,但产物中某些物质对人体的毒理性作用尚待研究,但利用 Mailard 反应制备天然风味基料已成为必然的发展趋势。然而,前期研究发现,不同水解度鹰嘴豆蛋白酶解液对热反应产物呈味效果差异明显,轻度或过度的酶解均不利于产品风味的呈现。因此如何控制酶解度,实现鹰嘴豆蛋白风味肽最适底物的定向调控是目前制备风味肽亟待解决的关键问题。本文以鹰嘴豆蛋白为原料,通过定向制备一系列不同水解度的鹰嘴豆蛋白酶解体系,以此为底物参与模式美拉德反应,通过对反应产物定量感官分析、电子鼻分析和反应中产生的主要挥发性物质的 GC-MS 分析,同时结合 PLSR 技术系统对鹰嘴豆蛋白酶解程度对热反应产物的影响进行研究,确定适宜美拉德风味肽制备的最适酶解底物,从而实现美拉德风味肽的定向制备,确保产品质量的标准化生产。

1 材料和方法

1.1 材料与设备

鹰嘴豆(蛋白质含量 $25 \pm 1.25\%$)购自新疆石河子农贸市场(将鹰嘴豆用小钢磨粉碎,过 80 目筛,脱脂,然后放入 50~60 °C 的烘箱中烘制 4~5 h,用中型广口瓶收集,保存备用);碱性蛋白酶、风味蛋白酶 诺维信(中国)生物技术有限公司;食品级: D(+)-木糖、L-半胱氨酸、L-丙氨酸、L-谷氨酸、维生素 B₁、I+G 枣庄蓝健食品添加剂有限公司;其它试剂均为国产分析级。

DK-8D 数显恒温水浴锅 金坛市医疗仪器厂; PHS-3C 雷磁 pH 计 上海精科; Neofuge 15R 台式高速冷冻离心机 力康发展有限公司;美拉德高压反应瓶 上海有机化学研究所定制;固相微萃取装置和 75 μ mCAR/PDMS 美国 Supelco 公司;气相色谱质谱联用仪(brucker SCION SQ 456-GC/MS) 美国布鲁克.道尔顿公司;电子鼻 法国 Alpha MOS 公司, Fox 4000 传感器,配有 Heracles 电子鼻指纹分析系统。

1.2 实验方法

1.2.1 鹰嘴豆蛋白酶解液的制备

依据前期酶解实验建立的回归模型^[7],酶解完毕后于 90~95 °C 的水浴中灭酶 10 min,降温,离心取上清液经适度浓缩后,依次获得水解度为 8.54%、11.22%、14.01%、17.01%、20.01%、23.03%、26.02%

和 29.17% 鹰嘴豆蛋白酶解液(CPH),依次命名为 CPH1~CPH8。

1.2.2 鹰嘴豆蛋白美拉德肽的制备(MRPs)

以 10.0 g 不同水解度的 CPH 为底物,加入 L-半胱氨酸 0.12 g、L-丙氨酸 0.12 g、L-谷氨酸 0.01 g、I+G 0.01 g、D(+)-木糖 1.08 g、维生素 B₁ 0.12 g,混合均匀后,调整混合液 pH 至 9.0,在 86 °C 条件下反应 30 min,待反应结束后,立即取出于冰浴中冷却至室温,待测^[8]。

1.2.3 描述性感官评定

MRPs 样品采用描述性感官分析的方法^[9]进行分析,选取 8 名感官评定员(4 男,4 女,年龄 20~30 岁)组成感官评定小组。在感官评定之前,首先对感官评定员进行培训,要求对前期确定的 5 个感官属性(肉味、鲜味、持续感、焦糊味和 H₂S 味)建立统一的评定标准,待评定人员就所呈现的风味属性评估达成统一意见时,采用 5 点间隔尺度法对样品的呈味强度进行评定(0 分表示不具有该种感官属性,5 分则表示气味非常强烈)。为了保证实验的准确性,每组实验均进行 3 次平行实验。

1.2.4 样品中挥发性成分的电子鼻分析

准确量取 1.0 mL MRPs 样品,快速地置于顶空瓶中,并将其置于电子鼻自动进样器的保温区域(60 °C 条件下)平衡 5 min,进行检测。电子鼻分析条件如下:注射速度 150 mL/min,注射体积 1500 μ L,注射时间 10 s,获取时间 120 s,载气采用合成干燥空气,在此条件下对样品进行测定,每个样品重复测定 3 次。

1.2.5 样品中挥发性成分 SPME-GC-MS 分析

SPME 样品的制备:用准确吸取 5.0 mL 样品置于 15 mL 顶空瓶中,在密封前添加 5 μ L 浓度为 0.1 μ g/ μ L 的 2-辛醇作为内标物质,50 °C 水浴平衡 10 min 后,将经老化后的萃取头插入样品瓶顶空部分,平衡吸附 30 min 后,于 250 °C GC 进样口处解吸 7 min。

GC-MS 条件:进样口温度为 250 °C,柱温采用程序升温方式,即初始温度 40 °C,保持 3 min,以 3 °C/min 的速度升温至 90 °C,再以 10 °C 的速度升温至 230 °C,保持 7 min;载气为 99.999% He,流速为 0.9 mL/min;无分流进样。MS 条件:EI 电离源,离子源温度为 200 °C,发射电流为 80 μ A,电子能量为 70 eV,接口温度为 250 °C,电压监测器:1000 V。

定性和定量分析:定性采用样品中色谱图中各个峰特征离子与 GC/MS 数据库中的已知化合物进行对比,同时与文献中的化合物的相对保留指数(Kovats Index, KI)进行对比定性。KI 指数的计算按照公式(1)计算样品待测物质的 KI 值;定量采用内标法通过被

测化合物和内标物(2-辛醇)相应的色谱峰面积之比,来计算被测组分的相对含量(见公式 2)。

$$KI(x) = 100n + \frac{RT(x) - RT(n)}{RT(n+1) - RT(n)} \times 100 \quad (1)$$

式中: KI(x)为 x 峰相对保留指数, RT(x)、RT(n+1)、RT(n) 分别代表组分及碳数为 n、n+1 正构烷烃的保留时间(min); n, 碳原子数。

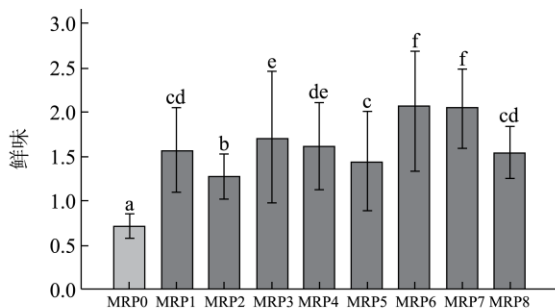
$$W_i(\mu\text{g}/100\text{g}) = \frac{P_i}{P_{\text{内标}}} \times C_{\text{内标}} \times 100/m \quad (2)$$

式中: W_i 为 i 峰相对含量, P_i 、 $P_{\text{内标}}$ 分别为 i 峰和内标峰峰面积, $C_{\text{内标}}$ 为内标物质含量(μg), m 为样品质量(g)。

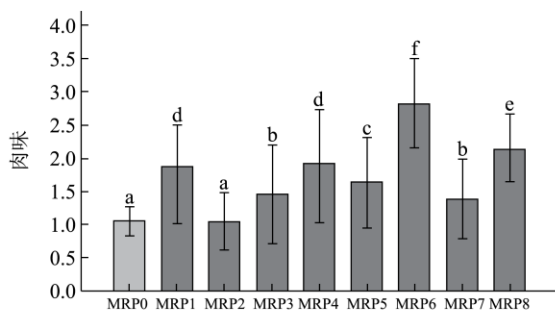
1.3 数据统计分析

数据均采用 Origin 8.0 和 SPSS 18.0 数据处理软件进行分析处理, 每组实验数据均进行三次平行。

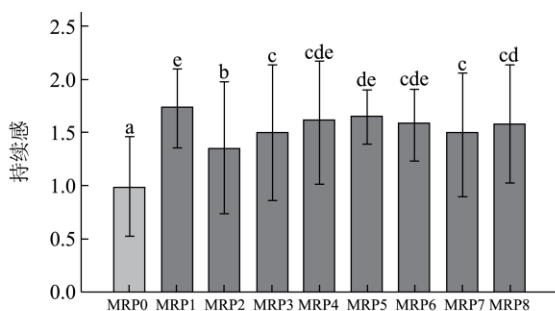
2 结果与讨论



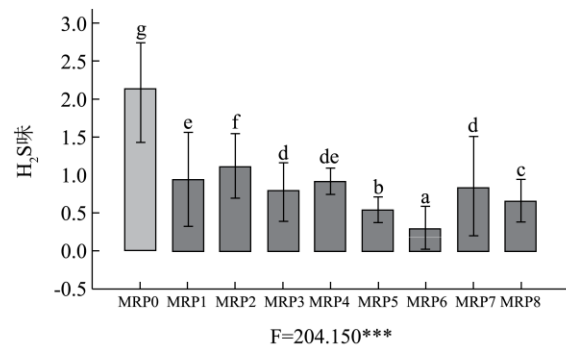
F=108.660***



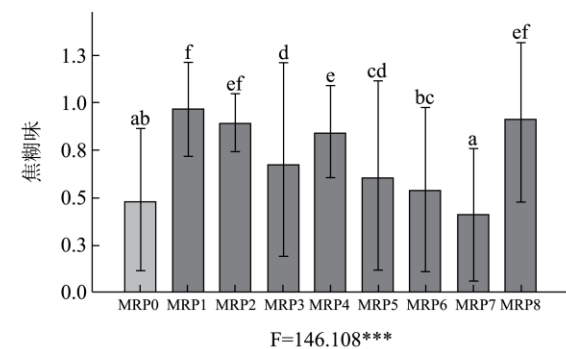
F=127.112***



F=30.617***



F=204.150***



F=146.108***

图 1 不同 DH 制备 Maillard 反应样品感官属性比较分析

Fig.1 Mean sensory scores of MRP samples prepared from CPHs with different DHs

注: a-h 代表不同 DH 为底物制备美拉德风味肽样品在同一感官属性中存在显著差异 (P<0.05); MRP0-8, 分别代表 9 种风味肽样品, 其中 MRP0 代表未添加 CPH 的风味肽, MRP1-8 代表分别添加 DH 1-8 鹰嘴豆蛋白酶解液制备的风味肽

2.1 不同 DH 鹰嘴豆蛋白美拉德肽(MRPs)感官评定

以不同 DH 的鹰嘴豆蛋白酶解液制备的 MRPs 样本的感官评定结果见图 1 所示。

图 1 可以看出, 与未添加鹰嘴豆蛋白酶解液的 MRP0 样本相比, 添加不同水解度的鹰嘴豆蛋白酶解液为底物制备的 MRPs 样品之间在不同的感官属性上均呈现不同程度的差异 (肉味 1.75、鲜味 1.32、持续感 0.76、焦糊味 0.51 和 H₂S 味 1.81), 表明以不同 DH% 鹰嘴豆蛋白酶解液为底物制备的热反应产物对风味肽产品的特性影响较大。

由图可知, 以轻度酶解液为底物制备的 MRP 1 和 MRP 2 与空白样品 MRP0 相比, H₂S 味明显降低, 而在肉味、鲜味及持续感上则有所提升; MRP 3、MRP 4 和 MRP 5 各个感官属性表现较为温和; 随着 CPH 水解度的进一步提高, MRP 8 则表现出强烈的焦糊味, 且在鲜味属性上有所降低; 对比其它几个样品, MRP

6 在各个感官属性上较为均匀,表现出明显的鲜味、肉味,同时风味的持续感明显增长,而 H₂S 味则几乎感知不到;MRP7 在各个感官属性上较为均匀,且呈现出较弱的焦糊味和 H₂S 味。与添加了 CPH 制备的 MRPs 样本相比,MRP0 整体感官属性相对较弱,且具有明显的 H₂S 味。以上结果表明单纯依靠单一或某几种纯氨基酸混合物通过 Maillard 反应制备的热反应产物呈现风味整体不佳;而当添加不同 DH% 的 CPH 为底物制备的 MRPs 样品其整体风味呈现不同程度的提升,但产品的风味仍存在明显的差异。这可能是由于鹰嘴豆蛋白在酶解时由于酶解度(由 DH 表示)的差异,其所形成的游离氨基酸种类和含量及解离出的肽段相对分子量亦会呈现显著差异,以此为底物参与 Maillard 反应会产生大量不同或不同量的风味物质,最终导致其感官属性的显著差异^[10]。综上所述,初步确定当添加 DH 为 23.03%~26.02% 的 CPH 时,所制得的 MRPs 能够呈现出较好的风味特性。

2.2 不同 DH 的 MRPs 电子鼻分析

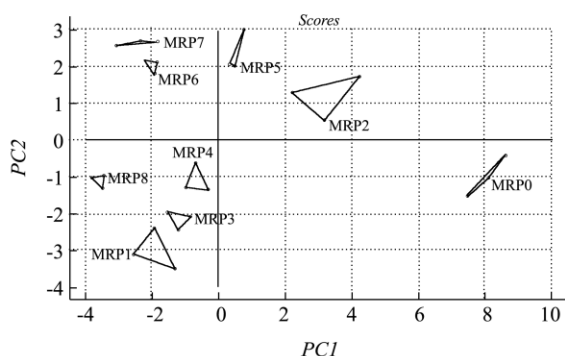


图 2 不同 DH 美拉德肽电子鼻响应值 PCA 分析

Fig.2 Plot of principal component analysis of MRPs prepared from CPHs with different DHs based on E-nose data

电子鼻可对样品的气味进行感知识别,并对其香

气物质进行整体评价。利用电子鼻技术对添加不同 DH 的鹰嘴豆蛋白酶解液制备的 MRPs 样品进行分析,并对电子鼻的 18 个电极响应值进行主成分分析(Principle component analysis, PCA)分析,结果见图 2 所示。

由图 2 所示,9 个 MRPs 样品在 PCA 中分别聚集在不同位置,表明电子鼻某些系统数据变量可能对以不同 DH% CPH 为底物制备的 MRPs 样品风味属性较为敏感。其中,以未添加 CPH 制备的 MRP0 位于载荷图的右下方(即第四象限),添加轻度酶解 CPH 制备的 MRP1、MRP3 和 MRP2 样本分别位于载荷图的左下方(第三象限)和右上方(第二象限)。随着 CPH 水解度的增高,制备的 MRP4 和 MRP5 样本聚集在载荷图的中心位置,MRP6 和 MRP7 则分布于载荷图的第一象限。对于由 DH 最高 CPH 制备的 MRP8 样品,则位于载荷图的左下方。以上结果充分表明未添加 CPH(空白样品)和添加不同 DH% CPH 制备的 MRPs 样本在风味整体信息存在显著差异。同时,从图中还可以发现,每个 MRPs 样品的三次平行实验的重复性较好,可以对 MRPs 样本进行快速鉴定。

2.3 不同 DH 制备 MRPs 的 GC-MS 分析

对未添加和添加不同 DH% CPH 为底物制备的 MRPs 样品中的挥发性成分进行 GC-MS 分析鉴定。然后对 9 个 MRPs 样品(其中 MRP0 为未添加 CPH 的空白样品)中的挥发性成分进行分离鉴定,共检出 172 种化合物,其中包括酮类 20 种,酯类 33 种,醇类 30 种,烷烯类 23 种,醛类 16 种,酸类 8 种,酚类 5 种,噻唑类 3 种,吡啶类 3 种,吡嗪类 3 种,呋喃类 2 种,同时还检出胺类、萘类等 25 种,未知化合物 26 种。在这些化合物中,我们仅针对至少同时在两个样品中存在化合物进行分析,结果见表 1 所示。

表 1 GC-MS 分离鉴定不同水解度美拉德肽的挥发性成分及含量

Table 1 Volatiles and their content of MRPs (prepared by CPHs with different DHs) identified by GC-MS

编号	化合物	KI	相对含量/(μg/100 g)								
			MRP0	MRP1	MRP2	MRP3	MRP4	MRP5	MRP6	MRP7	MRP8
1	2-壬酮	815	0.93 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.11 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	4.37 ^d	0.00 ^a
2	2-丁酮	904	0.00 ^a	5.12 ^d	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	3.52 ^b	4.02 ^c
3	2-戊酮	978	0.53 ^d	1.34 ^e	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	1.16 ^c	1.14 ^b
4	2-庚酮	1176	3.64 ^d	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	1.58 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	1.21 ^b
5	6-甲基-2-庚酮	1233	0.00 ^a	0.15 ^d	0.00 ^a	0.17 ^d	0.15 ^{c,d}	0.16 ^d	0.00 ^a	0.14 ^c	0.11 ^b
6	羟基丙酮	1280	0.00 ^a	2.86 ^b	4.81 ^f	6.90 ^h	3.00 ^f	4.65 ^g	3.84 ^d	0.00 ^a	3.89 ^e
7	2-辛酮	1289	0.00 ^a	1.13 ^d	1.17 ^e	1.32 ^f	1.39 ^g	0.70 ^b	1.49 ^h	1.40 ^g	1.00 ^c
8	2,3-辛二酮	1313	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.17 ^d	0.00 ^a	0.11 ^b	0.16 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a

转下页

接上页

9	甲基庚烯酮	1332	0.20 ^b	0.52 ^g	0.94 ⁱ	0.00 ^a	0.65 ^h	0.33 ^d	0.38 ^f	0.35 ^e	0.22 ^c
10	2-十二酮	1484	0.00 ^a	0.12 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.16 ^d	0.00 ^a	0.08 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a
11	香叶基丙酮	1843	0.32 ^d	0.39 ^e	0.41 ^f	0.29 ^c	0.43 ^g	0.54 ⁱ	0.26 ^b	0.48 ^h	0.16 ^a
12	乙酸烯丙酯	806	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.56 ^b	0.94 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a
13	乙酸乙酯	893	0.97 ^a	3.57 ^e	14.51 ^h	38.47 ⁱ	4.24 ^f	2.03 ^c	10.56 ^g	2.13 ^d	1.49 ^b
14	丁酸甲酯	986	0.42 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.56 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.54 ^c	0.53 ^d
15	乙酸丁酯	1070	0.14 ^c	0.00 ^a	0.36 ^e	0.10 ^b	0.10 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.23 ^d	0.13 ^c
16	乙酸异戊酯	1115	0.00 ^a	0.00 ^a	0.63 ^b	0.00 ^a	0.79 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
17	己酸乙酯	1230	0.24 ^e	0.16 ^a	0.22 ^{cd}	0.23 ^{db}	0.22 ^{cd}	0.21 ^c	0.18 ^b	0.37 ^f	0.21 ^c
18	乙酸己酯	1268	0.50 ^f	0.40 ^e	0.35 ^c	0.38 ^d	0.40 ^e	0.59 ^g	0.26 ^b	0.00 ^a	0.87 ^h
19	己酸丙烯酯	1360	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.35 ^c	0.15 ^b	0.00 ^a
20	辛酸乙酯	1428	0.52 ^d	0.56 ^c	0.48 ^c	0.72 ^h	0.43 ^b	0.67 ^g	0.00 ^a	0.00 ^a	0.62 ^f
21	甲酸辛酯	1547	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.42 ^c	0.31 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
22	磷酸三乙酯	1653	0.14 ^a	0.34 ^f	0.32 ^e	0.28 ^d	0.28 ^d	0.23 ^c	0.36 ^g	0.20 ^b	0.22 ^c
23	乙酸苏合香酯	1688	1.84 ^d	0.00 ^a	0.60 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	3.15 ^e	0.27 ^b	6.24 ^f	0.31 ^b
24	γ -己内酯	1692	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.15 ^c	0.09 ^b	0.00 ^a
25	十四酸异丙酯	2021	0.00 ^a	0.15 ^c	0.19 ^d	0.32 ^e	0.12 ^b	0.13 ^b	0.16 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a
26	丙位癸内酯	2141	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.07 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.24 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a
27	丁醇	1146	1.23 ^d	8.24 ^h	1.07 ^a	3.24 ^g	1.20 ^c	8.33 ⁱ	1.71 ^b	1.92 ^e	2.65 ^f
28	戊醇	1248	0.00 ^a	0.46 ^a	0.32 ^f	0.20 ^c	0.27 ^e	0.23 ^d	0.00 ^a	0.15 ^b	0.21 ^c
29	己醇	1350	0.00 ^a	0.41 ^e	0.53 ^g	0.40 ^e	0.36 ^c	0.38 ^d	0.37 ^d	0.33 ^b	0.43 ^f
30	3-辛醇	1387	0.12 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.11 ^b	0.12 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.15 ^c
31	1-辛烯-3-醇	1442	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.30 ^c	0.00 ^a	0.04 ^b	0.41 ^d	0.36 ^d	0.00 ^a
32	正庚醇	1448	0.64 ^b	0.71 ^c	0.88 ^f	0.93 ^g	0.77 ^d	0.82 ^e	0.83 ^e	0.00 ^a	0.88 ^f
33	2-乙基己醇	1480	0.22 ^d	0.21 ^d	0.22 ^d	0.34 ^e	0.15 ^b	0.17 ^c	0.15 ^b	0.00 ^a	0.14 ^b
34	沉香醇	1536	2.13 ^f	0.25 ^b	1.08 ^e	0.00 ^a	0.00 ^a	3.06 ^g	0.41 ^c	7.40 ^h	0.61 ^d
35	辛醇	1548	0.46 ^d	0.55 ^c	0.60 ^f	0.00 ^a	0.00 ^a	0.69 ^g	0.38 ^c	1.10 ^h	0.31 ^b
36	1,3-丁二醇	1565	0.00 ^a	0.27 ^c	0.40 ^d	0.00 ^a	0.21 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
37	2,3-丁二醇	1566	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.29 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.53 ^d	0.21 ^b
38	E-2-辛烯醇	1602	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.32 ^c	0.24 ^b	0.00 ^a
39	壬醇	1648	0.00 ^a	0.19 ^d	0.19 ^d	0.17 ^c	0.09 ^b	0.17 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
40	香叶醇	1832	0.12 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.27 ^c	0.00 ^a	0.29 ^d	0.00 ^a
41	十二醇	1952	0.41 ^f	0.40 ^f	0.19 ^d	0.34 ^e	0.12 ^b	0.99 ^h	0.64 ^g	0.00 ^a	0.15 ^c
42	丙酮醛	903	1.49 ^b	4.59 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
43	异戊醛	916	0.00 ^a	0.00 ^a	1.30 ^c	0.79 ^b	3.60 ^f	3.39 ^e	2.78 ^d	3.88 ^g	4.92 ^h
44	戊醛	984	0.00 ^a	0.73 ^b	3.30 ^f	1.57 ^c	2.47 ^e	0.00 ^a	2.08 ^d	0.00 ^a	0.00 ^a
45	己醛	1077	0.17 ^a	2.39 ^e	5.28 ^f	6.05 ^g	2.35 ^d	1.90 ^b	6.71 ⁱ	6.46 ^h	2.10 ^c
46	壬醛	1383	0.46 ^a	1.21 ^d	1.46 ^f	1.60 ^g	0.89 ^b	1.45 ^f	1.32 ^e	1.65 ^h	1.08 ^c
47	糠醛	1452	1.12 ^a	1.79 ^d	2.63 ⁱ	1.95 ^f	2.11 ^g	1.81 ^e	1.57 ^b	2.41 ^h	1.66 ^c
48	癸醛	1488	0.31 ^b	0.56 ^e	0.61 ^f	0.75 ^g	0.45 ^c	0.80 ^h	0.00 ^a	1.39 ⁱ	0.48 ^d
49	苯甲醛	1512	0.28 ^a	6.83 ^f	5.49 ^d	8.05 ^g	4.05 ^b	5.07 ^c	6.62 ^e	15.11 ^h	15.51 ⁱ
50	十二醛	1698	0.08 ^d	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.03 ^b	0.10 ^e	0.05 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a
51	乙酸	1443	0.14 ^a	1.79 ^f	2.19 ^g	1.14 ^b	3.52 ^h	1.14 ^b	1.69 ^d	1.77 ^e	1.39 ^c

转下页

接上页

52	己酸	1837	0.00 ^a	0.12 ^b	0.22 ^c	0.00 ^a	0.12 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
53	2,6-二叔丁基甲酚	1898	0.34 ^a	3.60 ^g	3.80 ^h	4.36 ⁱ	3.39 ^f	2.62 ^d	2.68 ^e	1.56 ^b	1.70
54	麦芽酚	1963	0.00 ^a	2.78 ^f	4.79 ⁱ	3.07 ^e	2.16 ^c	2.36 ^e	3.58 ^h	2.26 ^d	1.32 ^b
55	柠檬烯	1180	0.12 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.36 ^c	11.52 ^e	0.49 ^d
56	双戊烯	1186	0.00 ^a	0.00 ^a	0.55 ^c	0.00 ^a	0.17 ^b	1.23 ^d	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
57	苯乙烯	1246	0.12 ^b	0.00 ^a	0.31 ^d	0.11 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.19 ^c	0.00 ^a
58	4-甲基噻唑	1275	0.00 ^a	0.80 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	1.12 ^a	0.97 ^c	0.00 ^a
59	4-甲基-5-羟乙基噻唑	2302	1.69 ^a	6.93 ^f	9.44 ⁱ	7.46 ^e	5.84 ^e	5.32 ^d	7.90 ^h	4.09 ^b	4.75 ^c
60	嘧啶	1211	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.28 ^b	0.00 ^a	0.32 ^c	0.60 ^d	0.90 ^e	0.00 ^a
61	吡啶	1185	0.21 ^b	0.00 ^a	0.31 ^c	0.49 ^f	0.38 ^d	0.41 ^e	1.20 ⁱ	0.96 ^h	0.60 ^g
62	2-甲基吡嗪	1260	0.00 ^a	0.44 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.39 ^b	0.00 ^a	0.45 ^c	0.60 ^d	2.60 ^a
63	2,5-二甲基吡嗪	1317	0.00 ^a	0.47 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.67 ^c	2.04 ^d	4.62 ^e
64	α -甲基萘	1886	1.23 ^c	0.40 ^a	1.15 ^b	1.42 ^e	1.14 ^b	1.26 ^d	2.95 ^g	1.56 ^f	1.14 ^b
65	2-戊基呋喃	1214	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.48 ^c	0.00 ^a	0.00 ^a	0.68 ^e	0.64 ^d	0.40 ^b

注: a~i 同行数据中的不同上标字母代表差异显著 ($p < 0.05$)。

为了研究不同 DH 的 CPH 对 MRP 样品的影响, 在具体分析的过程中, 发现某些化合物本身并不具备香味特征, 例如大多数的烷烃, 因其具有较高的风味阈值, 且经测定发现烷烃类物质整体含量偏低, 对于 MRP 样品风味的形成贡献意义不大^[10], 此处不做过多考虑。

羰基化合物是在热加工过程中呈现肉香味的特征化合物^[11], 主要通过脂质的热氧化降解或者氨基酸的降解产生的^[12]。在所鉴别出的化合物中, 羰基化合物的种类和数量较多, 主要包括异戊醛、己醛、壬醛、糠醛、2-壬酮、2-丁酮、2-戊酮、6-甲基-2-庚酮、2-庚酮、2-辛酮、羟基丙酮、2,3-辛二酮、甲基庚烯酮等。Cross 等^[13]人的研究发现, 在热反应产物中除去含硫化合物, 肉味基本消失; 但若如除去羰基化合物, 则肉品特有的风味消失。由此可见, 羰基化合物在 Maillard 反应产物中, 对产品特征风味的呈现起到举足轻重的作用。在所制备的样品中, 醛类物质在各个样品中的含量呈现明显差异, 如己醛在 MRP6 和 MRP7 样品中的含量明显高于其它样品 (其含量分别为 6.71 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 和 6.46 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 异戊醛则分别达到 2.78 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 和 3.88 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。就酮类化合物而言, 代表性物质羟基丙酮在 MRP6 和 MRP7 中的含量分别为 1.49 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 和 1.40 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 两者的含量均高于其它样品中该化合物的含量, 羟甲丙酮可以增加肉品的肉香味, MRP6 和 MRP7 样品相对其它, 具有较好的肉香味, 这一观点也与感官评定的结论基本一致。

热反应过程中产生的醇类化合物, 尤其是不饱和醇类化合物, 在肉类风味香气中起到了举足轻重的作用, 如 E-2-辛烯醇仅在 MRP6 (0.32 $\mu\text{g}/100\text{g}$) 和 MRP7

(0.24 $\mu\text{g}/100\text{g}$) 样品中检出, 而在其它样品中均未检出。1-辛烯-3-醇, 具有强烈的蘑菇味, 在 MRP6 中含量最高, 达到 0.41 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 其次为 MRP7 (0.36 $\mu\text{g}/100\text{g}$) 和 MRP3 (0.30 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 其它 MRP 样品未发现。有研究表明, 不饱和醇对肉味具有很强的修饰作用, 可以增强样品肉类风味的感知强度, 且因其具有相对较低的阈值, 在肉味呈现过程中起到重要作用^[14]。这一结论与感官评定结论基本吻合。

酯类化合物主要赋予食品醚味和水果的香甜气味, 样品中检出的酯类化合物主要包括丁酸甲酯、乙酸乙酯、乙酸丁酯、己酸烯丙酯、 γ -己内酯、邻苯二甲酸二乙酯等, 这类化合物一般认为是由脂类降解生成的羧酸和醇的酯化作用生成的产物^[15]。如 γ -己内酯, 具有药草香气和焦糖香味, 仅存在于 MRP6 和 MRP7 样品中, 含量分别为 0.15 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 和 0.09 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 对于提高样品的肉味起到重要作用, 与此同时 γ -己内酯在样品中的分布也可以与感官评定肉香味较明显的的数据相统一。丙位癸内酯, 在 MRP6 样品中的含量较高 (0.24 $\mu\text{g}/100\text{g}$), MRP3 样品中也有少量存在 (0.07 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 其它样品中则均未检出。

含氮、含硫以及呋喃等杂环化合物是呈现烤制肉品香气的主要成分, 它们来源于氨基酸和还原糖之间的 Maillard 反应、氨基酸和硫氨酸的热降解反应, 多数杂环类化合物具有烤香气味^[16]。在本实验制备的 MRP 样品中相对较多的含氮、含硫以及呋喃类物质, 包括 4-甲基噻唑、4-甲基-5-羟乙基噻唑、嘧啶、吡啶、2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-正戊基呋喃、二甲基二硫、烯丙基硫醚等, 这些物质具有较低的阈值, 且多数具有烤肉香、焦香和坚果香等, 因此对美拉德肽

的肉味风味的贡献具有明显的作用。同样的从几种典型的特征物质,如4-甲基噻唑仅在 MRP6 和 MRP7 样品中检出,其它样品中均未检出。嘧啶、吡啶、2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-戊基呋喃在 MRP6 和 MRP7 中的含量均高于其它样品,可能正是由于这些杂环类物质的存在,使得 MRP6 和 MRP7 样品与其它 MRPs 样本相比呈现较佳的风味属性。

综上所述,添加 CPH 制备的 MRPs 样本所形成的风味物质种类和含量明显多于空白对照样本 MRP0,且添加不同 DH 的 CPH 为前体物质制备的 MRPs 所形成的挥发性风味物质存在明显差异。添加 DH 为 23.03% 的 CPH 制备的 MRP6 和添加 DH 为 26.02% 的 CPH 制备的 MRP7 样品形成了种类较为广泛的香味活性物质。

2.4 PLSR 相关性分析

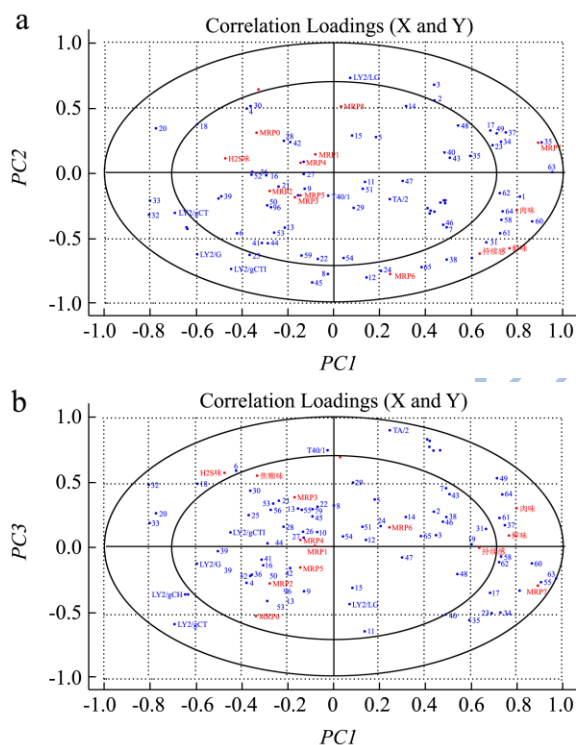


图 6 MRPs 样品、感官评价、相应香味活性物质及电子鼻响应值 PLS2 相关性分析

Fig 6 PLS2 correlation analysis of MRP samples, sensory evaluation, corresponding aroma-active substances, and E-nose values

为了明确 CPH 为前体对 MRPs 样品整体风味的影响,采用偏最小二乘回归(PLSR)对不同 DH 制备的 MRPs 样品的感官评分、挥发性成分和电子鼻响应值进行相关性分析,建立了 PLS2 模型,所获得的 PLS2 模型前三个主成分累积解释方差达到 59.789%,因此实验仅对 PC1-PC2 和 PC1-PC3 进行讨论分析,结果

见图 6 所示。

由图 6(A)所示,由不同 DH% 的 CPH 制备的美拉德风味肽 MRPs 样品沿着 PC1 轴分布,空白样品 MRP0 和 DH% 较低的 CPH 制备的 MRP(1-5)样品位于相关载荷图的左侧,而由相对较高 DH% 制备的 MRP6、MRP7 和 MRP8 则分别位于载荷图的右上方和右下方区域;沿着 PC2 轴方向分布的变量可以解释不同的感官属性变量,其中焦糊味和 H₂S 位于载荷图的上方,肉味、咸味和持续感则位于载荷图的下方。与此同时,图中发现空白对照样本 MRP0 除了与焦糊味、H₂S 味及有限的几种活性化合物(2-庚酮、戊醇、3-辛醇和丙酮醛)呈正相关外,几乎与其它所有的感官变量和香气活性物质均呈明显的负相关。这一结果验证了我们的感官结果(图 1)的可靠性,即 MRP0 呈现出相对较弱的肉味、鲜味、持续感和较强的 H₂S 味;同时与 GC-MS 分析结果(表 1)较为一致,即由单纯的某几种氨基酸混合物为底物制备的热反应产物相对较为单一,以上结果表明,可能正是由于某些物质的缺失导致 MRP0 样本呈现较弱的感官特性。样本 MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、和 MRP5,位于接近载荷图的中心区域,在图中呈现较弱的相关性。与此相反,样本 MRP6 与肉味、鲜味和持续感呈明显的正相关,同时还与一些香气物质(包括 2-壬酮、2-辛酮、乙酸烯丙酯、己酸烯丙酯、 γ -己内酯、1-辛烯-3-醇、E-2-辛烯醇、壬醛、麦芽酚、4-甲基噻唑、嘧啶、吡啶、2-甲基吡嗪和 2-戊基呋喃)呈正相关。样本 MRP7,位于载荷图右上方两个椭圆之间,沿 PC1 轴同样与肉味、鲜味和持续感呈正相关,且与己酸乙酯、乙酸苏合香酯、沉香醇、2,3-丁二醇和苯甲醛发生共变。样本 MRP8 位于载荷图右侧小椭圆内侧,沿着 PC2 轴方向,可以看出 MRP8 与 MRP0 具有部分类似的风味特征,即与焦糊味呈现正相关趋势,而与肉味、鲜味和持续感呈负相关。图 6(B)为 PC1-PC3 分析,可以看出第三主成分对 X 变量的解释方差为 18%,对 Y 变量解释方差为 17%。沿着 PC3 方向,MRP6 仍旧与肉味和鲜味属性呈正相关,而持续感属性由于接近 PC3 Y 轴零水平区域,在载荷图中呈现较弱的相关性,此处不作分析。

同时,图 6 中还可看出,沿着 PC1 轴方向,MRP0、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 和 MRP5 可以被电子鼻的 6 个传感器(LY2/gCT、LY2/GH、LY2/gCTI、LY2/G、LY2/AA 和 T40/1)很好的解释,MRP6、MRP7 和 MRP8 则可通过电子鼻其它 13 个传感器进行区分。同时发现,传感器 P 系列(P10/1、P10/2、P30/1、P30/2、P40/1、P40/2、PA/2)和 T 系列(T30/1、T40/2 和 T70/2)的传感器与肉味、鲜味和持续感呈显著正相关,表明

利用电子鼻技术可以较好的对 MRP 样本风味属性进行区分和评估。

3 结论

通过比较未添加和添加不同 DH 的鹰嘴豆蛋白酶解液为底物制备的风味肽产品的感官属性和所含挥发性成分,证实鹰嘴豆蛋白酶解液在热反应过程中对于风味肽产品风味特征呈现具有重要的作用。结合描述性感官分析结果,表明以不同 DH 为鹰嘴豆蛋白酶解液制备的风味肽产品在某一个或几个感官属性相对较强, DH 为 23.03%~26.02% 的样本整体呈现的风味较佳。结合电子鼻响应值、感官分析数据和香气活性物质的相关性分析再次证明以 DH 为 23.03%~26.02% 鹰嘴豆蛋白酶解液可作为 Maillard 反应的最适反应底物。在此条件下制备的美拉德风味肽产品香气浓郁,持香时间持久,整体风味良好。

参考文献

- [1] 刘平,车振明,张晓鸣.大豆肽的美拉德反应产物在鸡汤中的应用[J].食品工业科技,2014, 35(4):112-115
LIU Ping, CHE Zhen-ming, ZHANG Xiao-ming. Application of maillard reaction products derived from soy peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(4):112-115
- [2] Eric Karangwa, Xiaoming Zhang, Nicole Murekatete, et al. Effect of substrate type on sensory characteristics and antioxidant capacity of sunflower Maillard reaction products [J]. Eur. Food Res. Technol., 2015, 240(2): 939-960
- [3] Wijewickreme AN, Kitts DD, Druance TD. Reaction conditions influence the elementary composition and metal chelating affinity of nondialyzable model maillard reaction products [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(12):4577-4583
- [4] Lu C. peptides as flavor precursors in maillard reaction [D]. Rutgers: the State of University of New Jersey, 2006, 8-10
- [5] Zuobing Xiao, Minling Wu, Yunwei Niu, et al. Contribution of chicken base addition to aroma characteristics of Maillard reaction products based on gas chromatography-mass spectrometry, electronic nose, and statistical analysis [J]. Food Sci. Biotechnol., 2015, 24(2): 411-419
- [6] A P Echavarría, J Paga ñ, A Ibarz. Melanoidins formed by maillard reaction in food and their biological activity [J]. Food Eng. Rev., 2012, 4: 203-223
- [7] 张继贤,程卫东,田洪磊,等.二次旋转正交优化鹰嘴豆蛋白酶解工艺的研究[J].食品工业科技,2015, 36(8):196-201
ZHANG Ji-xian, CHENG Wei-dong, TIAN Hong-lei, et al. Optimizing enzymatic hydrolysis conditions of chickpea flour through quadratic orthogonal rotation combination design [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(8):196-201
- [8] 张继贤,程卫东,田洪磊,等.鹰嘴豆蛋白酶解物美拉德风味肽制备工艺的研究[J].食品科技(已录用)
ZHANG Ji-xian, CHENG Wei-dong, TIAN Hong-lei, et al. Study on flavor peptides by maillard reaction from chickpea protein hydrolysates [J]. Food Science and Technology (Accept)
- [9] Moon SY, Eunice CY, Li C. Changes in aroma characteristics of simulated beef flavour by soy protein isolate assessed by descriptive sensory analysis and gas chromatography [J]. Food Research International, 2007, 40(10):1239-1248
- [10] Sutherland MM, Ames JM. The effect of castration on the headspace aroma components of cooked lamb [J]. Journal of Science and Food Agricultural, 1995, 69(4):403-413
- [11] 卜凡艳,韩剑众,王彦波.三黄鸡鸡肉挥发性香气成分的研究[J].中国食品学报,2008, 6(8):152-155
BAO Fan-yan, HAN Jian-zhong, WANG Yan-bo. Studies on cooked sh-chicken meat volatile components [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 6(8):152-155
- [12] Xie JC, Sun BG, Zheng FP. Volatile Flavor Constituents in Roasted Pork of Mini-pig [J]. Food Chemistry, 2008, (109):509-514.
- [13] Cross CK, Ziegler PA. Comparison of the volatile fractions from cured and uncured meats [J]. Journal of Food Science, 1965, 30(4): 610-614.
- [14] Jarunrattanasri A, Theerakulkait C, Cadwallader KR. Aroma components of acid-hydrolyzed vegetable protein made by partial hydrolysis of rice bran protein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(8): 3044-3050
- [15] 刘红,杨荣华,戴志远,等.利用鲢鱼制备肉味香精及其香气成分的分析[J].中国食品学报,2010, 10(2):149-152
LIU Hong, YANG Rong-hua, DAI Zhi-yuan, et al. The preparation of meat flavor essence from silver carp and the analysis of flavor components [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(2):149-152
- [16] 江新业,宋焕禄,夏玲君.GC- O/GC-MS 法鉴定北京烤鸭中的香味活性化合物[J].中国食品学报,2008,8(8):160-163
JIANG Xin-ye, SONG Huan-lu, XIA Ling-jun. Identification of Aroma-active Compounds of Beijing Grilled Ducks by GC-

现代食品科技