

DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2023.05.026

引文格式:桂海佳,任丽蓉,王晓华,等.基于SPME-GC-MS和电子鼻技术对牛肉蛋白肽美拉德反应产物风味成分分析[J].中国调味品,2023,48(5):160-166.

GUI H J, REN L R, WANG X H, et al. Analysis on flavor components of beef protein peptide Maillard reaction products based on SPME-GC-MS and electronic nose technology[J]. China Condiment, 2023, 48(5): 160-166.

基于 SPME-GC-MS 和电子鼻技术对牛肉蛋白肽 美拉德反应产物风味成分分析

桂海佳¹,任丽蓉¹,王晓华²,李泽林¹,谷大海¹,

王雪峰¹,肖智超¹,王桂瑛¹,范江平^{1*}

(1. 云南农业大学 食品科学技术学院,昆明 650201;2. 昆明冬冬食品有限公司,昆明 650301)

摘要:拟探究不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应产物的风味特性。以牛肉边角料为原料,经酶解后采用液相串联质谱(liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)对其酶解液中肽分子量及分布进行分析;再以不同肽段的牛肉蛋白肽为基料进行美拉德反应,利用电子鼻技术(electronic nose, E-nose)、氨基酸自动分析仪、顶空固相微萃取法-气相色谱-质谱联用(headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS),结合偏最小二乘法判别分析,分析不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应产物(BPM)的挥发性风味物质。结果表明,在未分肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应液(BPMS)中共鉴定出 68 种挥发性成分;牛肉蛋白肽美拉德反应液最佳肽段为 1~3 kDa (BPM 1~3),BPM 1~3 的肽段经过美拉德反应后亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和精氨酸含量明显增加,从 BPM 1~3 中共鉴定出 50 种挥发性成分,包括醇类、酮类、酯类、杂环类、烷类、醛类等;BPMS 与 BPM 1~3 共有 14 种挥发性化合物差异较明显。

关键词:牛肉蛋白肽;美拉德反应;HS-SPME-GC-MS;电子鼻;偏最小二乘法判别分析

中图分类号:TS201.21

文献标志码:A

文章编号:1000-9973(2023)05-0160-07

Analysis on Flavor Components of Beef Protein Peptide Maillard Reaction Products Based on SPME-GC-MS and Electronic Nose Technology

GUI Hai-jia¹, REN Li-rong¹, WANG Xiao-hua², LI Ze-lin¹, GU Da-hai¹,

WANG Xue-feng¹, XIAO Zhi-chao¹, WANG Gui-ying¹, FAN Jiang-ping^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Kunming Dongdong Food Co., Ltd., Kunming 650301, China)

Abstract: The purpose of this study is to investigate the flavor characteristics of Maillard reaction products of beef protein peptides with different peptide segments. With beef offals as the raw materials, the molecular weight and distribution of peptides in the hydrolysate are analyzed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) after enzymatic hydrolysis; and then different beef protein peptides are used as the basic materials for Maillard reaction. The volatile flavor substances of different beef protein peptide Maillard reaction products (BPM) are analyzed by electronic nose (E-nose), automatic amino acid analyzer, headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and partial least squares discriminant analysis. The results show that 68 volatile components are identified in the unsegmented beef protein peptide Maillard reaction solution (BPMS). The optimal peptide segment of beef protein peptide Maillard reaction solution is 1~3 kDa (BPM 1~3), and the content of leucine, tyrosine, phenylalanine and arginine

收稿日期:2022-11-11

基金项目:云南省专家工作站(202005AF150016);校企合作项目(KX142021018)

作者简介:桂海佳(1996—),女,硕士,研究方向:食品加工与安全。

* 通信作者:范江平(1972—),男,教授,博士,研究方向:食品科学。

in the peptide segment of BPM 1~3 increases significantly. Fifty volatile components are identified in BPM 1~3, including alcohols, ketones, esters, heterocycles, alkanes, aldehydes and so on. There are 14 significantly different volatile compounds in BPMS and BPM 1~3.

Key words: beef protein peptide; Maillard reaction; HS-SPME-GC-MS; electronic nose; partial least squares discriminant analysis

牛肉作为我国第二大肉类消费品,其肉质鲜美,富含蛋白质、矿物质、B 族维生素等多种营养成分^[1],还具有低脂肪、低胆固醇等优点^[2-5]。在牛肉加工以及零售过程中会产生大量的边角料,这些边角料和牛肉营养差别较小,但是在市场上利用率低,其利用的方式较单一,包括工业油、重组牛肉制品、肥料及燃料等,未将牛肉边角料的营养价值充分利用,造成资源浪费、环境污染、碳排放超标等问题。牛肉边角料中的蛋白肽可以作为呈味肽的良好来源,将其运用到调味品中,将有利于提高牛肉加工的附加值,获得良好的经济效益。

目前获得牛肉蛋白肽的处理方法主要包括酶解法、化学法及微生物发酵法等,其中酶解法是最环保、安全、高效的方法。酶解可以将蛋白质水解成多肽、游离氨基酸,更有利于人体消化吸收,降解后的活性多肽具有降低胆固醇、降血脂、抗氧化等多种生物活性^[6-10]。美拉德反应主要指羰基化合物(醛类、酮类以及还原糖类)和氨基化合物(氨基酸、多肽和蛋白质等含氮化合物)之间的反应^[11-12]。它能够为食品提供诱人的色泽和愉快的香气,使食物的香气醇厚饱满,减少食物本身的腥味,在食品风味形成和改善过程中起到重要作用,被广泛运用于天然肉类香精香料的生产中^[13-14]。目前,对美拉德反应的研究主要集中于对游离氨基酸-美拉德反应体系或肽-美拉德反应体系,其中挥发性风味化合物、非挥发性呈味及呈色化合物都是美拉德反应研究的热点问题^[15]。

结合牛肉边角料的综合利用情况,本研究以牛肉边角料作为原料,采用酶解及超滤手段得到不同肽段的牛肉酶解液,对其进行美拉德反应后,采用氨基酸分析、顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术和电子鼻技术对美拉德反应液进行风味成分及聚类热图分析,结合偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA),研究不同肽段美拉德反应液样品间风味组分差异,探究牛肉不同肽段的风味特性,可以丰富调味品种类,为实现标准化生产提供很好的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜牛肉(西门塔尔牛)边角料,剔除油脂较厚以及筋、腱较多的部分;昆明蒜村菜市场。葡萄糖(分析纯);天津市风船化学试剂科技有限公司;木糖(食品

级);上海源叶生物科技有限公司;葡萄糖(食品级);国药集团化学试剂有限公司;硫胺素(食品级);上海曙光生物化学制品厂;L-半胱氨酸盐酸(食品级);Biosharp 生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

SPME 仪器:7890B-5977B 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS) 美国安捷伦公司;CTC 三位一体自动进样器、PEN3 电子鼻 德国 Airsense 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 牛肉酶解工艺流程

牛肉边角料预处理→加水混匀→加入木瓜蛋白酶→水浴酶解→灭酶→加入风味蛋白酶→水浴酶解→灭酶→离心→取上清液备用。

酶解条件:木瓜蛋白酶:牛肉与水的比例为 1:1、酶解温度 53 ℃、pH 7.0、酶解时间 310 min、酶添加量 3.5%;风味蛋白酶:牛肉与水的比例为 1:1、酶解温度 51 ℃、pH 7.5、酶解时间 210 min、酶添加量 2.5%。

1.3.2 不同肽段分离纯化流程

酶解工艺优化后的牛肉酶解液经过离心后,将离心上清液过滤膜抽滤,得到澄清的蛋白质酶解液,一方面将澄清的蛋白酶解液经过美拉德反应,得到牛肉蛋白肽美拉德反应液(BPMS),另一方面将澄清的蛋白酶解液通过 1,3,5 kDa 滤膜超滤处理后,得到不同肽段的蛋白质酶解液,进行美拉德反应后得到不同肽段的美拉德产物<1 kDa(BPM 1),1~3 kDa(BPM 1~3),3~5 kDa(BPM 3~5),>5 kDa(BPM 5)。

1.3.3 美拉德反应工艺流程及褐变程度

在澄清的蛋白酶解液中加入 5.0%等量的还原糖和木糖、1.4%半胱氨酸盐、温度 118 ℃、时间 54 min。利用紫外分光光度计测定经美拉德反应后的反应物在 294,420 nm 处的吸光度值,利用吸光值确定其褐变程度。

1.3.4 LC-MS/MS 分子量分布测定

采用液相串联质谱(liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)对蛋白酶解液多肽含量以及分子量分布进行分析。

液相串联质谱分析:反相柱信息:C₁₈ 柱;色谱仪器:EASY-nLC 1200;质谱仪器:Q₁ Exactive HF-X;色谱分离时间:90 min;A:2%乙腈+0.1%甲酸;B:80%乙腈+0.1%甲酸;流速:300 nL/min;梯度:MS 扫描范围(m/z):200~2 000。

1.3.5 电子鼻分析

试验流程:预热仪器 30 min,启动自动清洗传感器 120 s,检测样品流速为 300 mL/min,信号采集 60 s 进行测定。

准确吸取 20 mL 美拉德反应液置于容量瓶中,密封静置 20 min,当瓶中的气体达到平衡后进行检测。

1.3.6 游离氨基酸的测定

根据 GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》的方法,采用氨基酸自动分析仪进行测定。

1.3.7 HS-SPME-GC-MS 挥发性成分测定

采用顶空固相微萃取法分析 BPMS 和 BPM 1~3 的挥发性成分差异。样品处理方法及 SPME-GC-MS 条件参数参考桂海佳等^[16]的测定方法及参数。

SPME 条件:温度 50 ℃;振荡速度和时间分别为 250 r/min,15 min,萃取 30 min;解吸及 GC 循环时间分别为 5,50 min。

GC 条件:进样和接口温度 260 ℃;流量 1 mL/min;柱温 40 ℃,保持 5 min,以 5 ℃/min 升至 220 ℃,以 20 ℃/min 升至 250 ℃,保持 2.5 min。

MS 条件:离子源及四级杆温度分别为 230 ℃,150 ℃;质量范围 20~400 amu;电离方式 EI⁺,电子能量 70 eV;NIST 2014 谱库。

1.4 数据处理

每组试验重复 3 次,采用 Origin 8.0 进行试验数据处理;采用 Design-Expert 8.0 统计分析软件进行试验设计和结果分析;采用 IBM SPSS Statistics 21.0 进行试验数据差异显著性分析;采用电子鼻 WinMuster 软件进行相应 PCA 和 LDA 分析;试验数据以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 牛肉酶解液中多肽的分布

牛肉原料经酶解后的酶解液总离子流图见图 1,牛肉蛋白酶解液通过液相串联质谱后不同肽段的相对分子量见图 2。

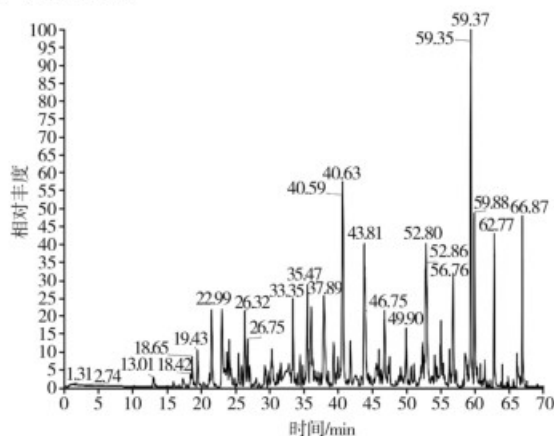


图 1 牛肉酶解液总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of beef hydrolysate

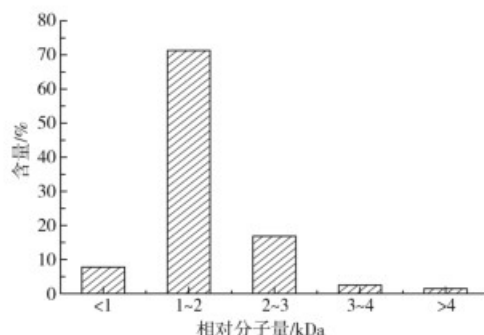


图 2 牛肉酶解液中多肽的分布

Fig. 2 Distribution of polypeptides in beef hydrolysate

由图 2 可知,>4 kDa 的肽段所占含量较少,1~3 kDa 的肽段含量较多。

2.2 不同牛肉蛋白肽美拉德反应产物的褐变

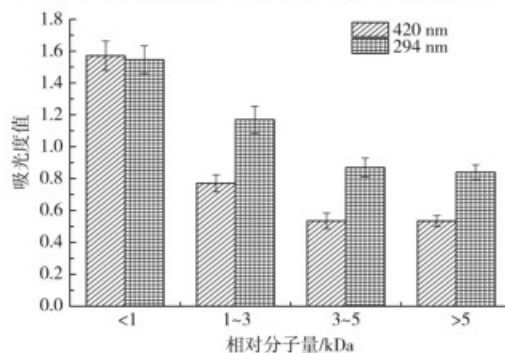


图 3 各肽段美拉德反应后的褐变程度

Fig. 3 Browning degree of each peptide segment after Maillard reaction

由图 3 可知,在 294 nm 条件下,4 组肽段的吸光度值总体较高,BPM<1 和 BPM 1~3 两组肽段产生的美拉德产物比 BPM 3~5 和 BPM>5 组略多;在 420 nm 条件下,BPM<1 肽段组的吸光度值最高,BPM 1~3 组次之。从吸光度方面分析来看,BPM<1、BPM 1~3 肽段组美拉德反应较好。

2.3 不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应电子鼻检测结果

2.3.1 传感器区分贡献率分析

电子鼻 Loadings 分析是传感器对样品中挥发性物质进行区分的一种研究方法,主要考察样品中哪类气体物质起主要区分作用,并判别其贡献率大小。不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应 Loadings 分析见图 4。

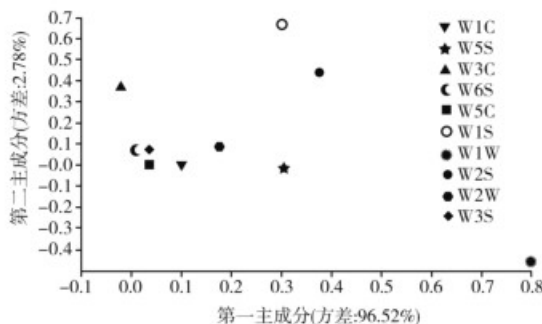


图 4 Loadings 分析图

Fig. 4 Loadings analysis chart

传感器 W1W(对硫化物敏感)距 $x=0$ 最远,说明 W1W 对第一主成分贡献率最大、响应值最高,说明产生了较多硫化物,含硫化物被认为是形成肉香的重要化合物,能够为美拉德反应产物提供基础肉香;传感器 W1S(对甲基类敏感)距 $y=0$ 最远,说明 W1S 对第二主成分贡献率最大,其次为 W2S(对醇类敏感)和 W3C(对芳香成分敏感);除 W1W(对硫化物敏感)外,W2S、W1S 及 W5S(对氮氧化合物敏感)对第一主成分也有较大贡献率;综合以上结果,美拉德反应后香气物质的变化可能主要与硫化物、醇类、芳香类及氮氧类等挥发性物质有关。

2.3.2 主成分分析结果

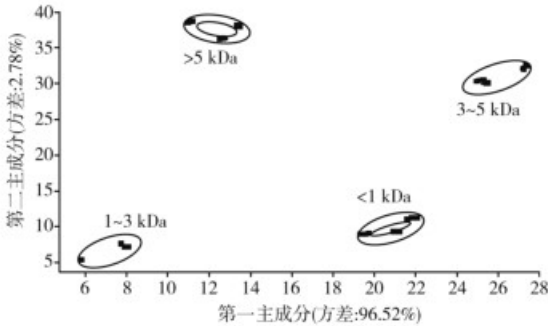


图 5 主成分分析结果图

Fig. 5 Principal component analysis result

不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应产物距离越远说明二者之间的气味差异性越大。由图 5 可知,两个主成分累计贡献率为 99.3%,远大于 80%,说明该模型能够很好地反映原始数据。4 个不同肽段美拉德反应产物数据点均没有重叠,表明不同肽段的牛肉蛋白肽在经过美拉德反应后会产生不同的风味。

结合蛋白肽的含量和美拉德褐变程度,采用 BPM 1~3 肽段组美拉德反应物和未分段的牛肉蛋白肽美拉德反应液(BPMS)对比呈味特性,开展差异研究。

2.3.3 BPMS、BPM 1~3 游离氨基酸含量对比分析

表 1 BPMS、BPM 1~3 中游离氨基酸比较

Table 1 Comparison of free amino acids in BPMS and BPM 1~3

氨基酸种类	游离氨基酸/(mg/g)	
	BPMS	BPM 1~3
天门冬氨酸(Asp)*	0.194	0.149
苏氨酸(Thr)◆	0.328	0.379
丝氨酸(Ser)*	0.33	0.445
谷氨酸(Glu)*	0.571	0.686
甘氨酸(Gly)*	0.275	0.284
丙氨酸(Ala)*	0.557	0.586
胱氨酸(Cys)	0.126	0.144
缬氨酸(Val)◆	1.209	0.942

续 表

氨基酸种类	游离氨基酸/(mg/g)	
	BPMS	BPM 1~3
蛋氨酸(Met)◆	0.488	0.573
异亮氨酸(Ile)◆	0.661	0.738
亮氨酸(Leu)◆	1.696	2.006
酪氨酸(Tyr)▲	0.95	1.191
苯丙氨酸(Phe)◆▲	1.024	1.272
组氨酸(His)◆	0.445	0.527
赖氨酸(Lys)◆	0.581	0.710
精氨酸(Arg)	1.234	1.558
脯氨酸(Pro)*	0.62	0.803
总量	11.29	12.993

注:“*”表示风味氨基酸;“◆”表示必需氨基酸;“▲”表示芳香族氨基酸。

由表 1 可知,BPM 1~3 的肽段经过美拉德反应后,亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和精氨酸含量明显增加。与此同时,本身具有鲜味特征或者为鲜味肽的组成氨基酸的谷氨酸、组氨酸、丙氨酸等均有不同程度的增加,说明经过超滤分离出 BPM 1~3 的牛肉蛋白肽在美拉德反应后增强其鲜味特征。对比必需氨基酸的含量,除缬氨酸外,其余必需氨基酸含量都有不同程度的增加,说明筛选肽段的方式对提高牛肉蛋白肽呈味特性和营养价值具有可行性。

2.4 BPM 1~3 与 BPMS 的比较

2.4.1 挥发性成分的比较

采用顶空固相微萃取结合 GC-MS 分析反应产物的挥发性成分组成,见表 2。

表 2 BPM 1~3 与 BPM 挥发性成分比较

Table 2 Comparison of volatile components in BPMS and BPM 1~3

序号	化合物名称	英文	保留时间/min	BPMS	BPM 1~3	呈味
醇类						
1	乙醇	Ethanol	3.938	3.346±0.344	4.588±0.336	酒的气味、辛辣味
2	正丁醇	1-Butanol	10.234	0.059±0.05	0.068±0.047	如酒的特殊香味
3	蘑菇醇	1-Octen-3-ol	18.992	0.532±0.080	—	蘑菇香味
4	异辛醇	2-Ethyl-1-hexanol	20.052	—	0.065±0.045	
5	正辛醇	1-Octanol	21.758	0.042±0.029	—	
6	豆蔻醇	1-Tetradecanol	30.815	0.020±0.014	—	
7	顺- α , α -5-三甲基-5-乙烯基四氢呋喃-2-甲醇	5-ethenyltetrahydro- α , α -5-trimethyl-5-trimethyl-,cis-2-Furanmenthanol	18.774	0.201±0.045	—	
8	九甘醇	Nonaethyleneglycol	41.794	0.001±0.000	—	
9	糠(基)硫醇	2-Furfurylthiol	18.305	0.203±0.158	0.689±0.038	
10	丙酮醇	1-Hydroxy-2-propanone	14.573	4.389±0.354	2.790±0.125	

续 表

序号	化合物名称	英文	保留时间/ min	BPMS	BPM 1~3	呈味
11	甲基乙酞甲醇	Acetoin	14.176	0.099± 0.000	0.124± 0.020	
12	苻醇	Benzyl alcohol	28.761	—	0.036± 0.002	
13	芳樟醇	Linalool	21.450	0.418± 0.156	—	樟脑香气
14	甲硫醇	Methanethiol	1.927	16.588± 1.197	21.082± 4.168	
酮类						
1	2-丁酮	2-Butanone	3.312	1.227± 0.879	1.002± 0.088	
2	2-甲基四氢呋喃-3-酮	Dihydro-2-methyl- 3(2H)-furanone	13.490	0.066± 0.092	—	甜焦糖、朗姆酒、新鲜面包香气
3	3-羟基-2-丁酮	Acetoin	14.176	0.034± 0.046	0.124± 0.124	
4	丙酮	Acetone	2.492	14.588± 5.099	13.433± 2.557	特殊气味、辛辣甜味
酸类						
1	乙酸	Acetic acid	18.871	0.342± 0.483	—	
2	丁酸	Butanoic acid	23.329	0.017± 0.023	0.038± 0.031	刺激性及难闻的气味
酯类						
1	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	2,2,4-Trimethyl-1, 3-pentanediol diisobutyrate	28.941	0.051± 0.008	0.212± 0.154	新鲜玫瑰的香甜气、微带柠檬香
2	4-羟基丁酸内酯	Butyrolactone	23.132	0.224± 0.028	0.189± 0.006	轻微的气味
3	乙酸乙酯	Ethyl acetate	3.147	1.048± 0.065	—	水果香味
4	磷酸三丁酯	Tributyl phosphate	29.876	—	0.043± 0.059	
烯类						
1	1-十三烯	1-Tridecene	21.382	0.007± 0.008	—	
2	苏合香烯	Styrene	13.125	0.082± 0.071	—	芳香气昧
酚类						
1	4-甲基苯酚	p-Cresol	32.810	0.010± 0.012	—	苯酚气昧
杂环类						
1	2-乙酰基呋喃	1-(2-Furyl)-ethanone	20.153	0.086± 0.001	—	
2	2-甲基呋喃	2-Methyl-furan	2.949	3.730± 0.911	3.023± 0.624	
3	2-正戊基呋喃	2-Pentyl-furan	12.455	0.053± 0.009	0.005± 0.005	
4	2-甲基噻吩	2-Methyl-thiophene	7.881	0.275± 0.120	0.279± 0.020	
5	N-甲基吡咯	1-Methyl-1H-pyrrole	18.334	0.016± 0.021	—	

续 表

序号	化合物名称	英文	保留时间/ min	BPMS	BPM 1~3	呈味
6	2-乙酰基噻唑	2-Acetylthiazole	23.627	0.095± 0.037	0.061± 0.021	牛肉、爆玉米、坚果、烘烤花生香气
7	4-甲基-5-羟乙基噻唑	4-Methyl- 5-thiazoleethanol	37.035	1.684± 0.453	0.681± 0.050	
8	4-氨基吡啶	4-Aminopyridine	13.616	—	0.347± 0.490	
9	2,3-二甲基吡嗪	2,3-Dimethyl- pyrazine	16.037	0.015± 0.010	—	
10	2,5-二甲基吡嗪	2,5-Dimethyl-pyrazine	15.357	2.042± 0.463	0.997± 0.060	呈刺鼻的炒花香气和巧克力、奶油气昧
11	2,6-二甲基吡嗪	2,6-Dimethyl-pyrazine	15.537	0.481± 0.055	0.300± 0.031	
12	2-甲基吡嗪	Methyl-pyrazine	13.637	1.656± 0.217	1.069± 0.090	
13	2,3,5-三甲基吡嗪	Trimethyl-pyrazine	17.709	0.087± 0.061	—	
14	噁啶	1,3-Diazine	11.939	0.072± 0.047	0.053± 0.027	
15	噻嗪	Pyridazine	11.915	—	0.029± 0.040	
烷类						
1	十甲基环五硅氧烷	Decamethyl- cyclopentasiloxane	11.182	0.548± 0.049	0.220± 0.044	
2	八甲基环四硅氧烷	Octamethyl- cyclotetrasiloxane	5.698	0.328± 0.034	0.193± 0.038	
3	六甲基环三硅氧烷	Hexamethyl- cyclotrisiloxane	2.812	0.236± 0.086	0.139± 0.028	
4	甲基磺酸甲烷	Dimethyl sulfone	29.135	0.028± 0.023	—	
5	十二烷	Dodecane	11.394	0.074± 0.051	—	
6	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	2,2,4,6,6-Pentamethyl- heptane	4.414	0.413± 0.082	0.186± 0.132	
7	2,4-二甲基己烷	2,4-Dimethyl-hexane	2.402	1.987± 2.809	—	
8	甲基环己基二甲氧基硅烷	Dimethoxymethyl- silane-cyclohexyl	16.088	0.015± 0.001	—	
9	二十四烷	Tetracosane	17.589	0.015± 0.020	—	
10	十四烷	Tetradecane	17.531	0.023± 0.031	0.013± 0.016	
11	三氯甲烷	Trichloromethane	5.848	5.845± 1.822	0.496± 0.117	特殊香甜气昧
醛类						
1	苯甲醛	Benzaldehyde	20.568	0.806± 0.008	0.812± 0.028	苦杏仁味、芳香气昧
2	苯乙醛	Benzeneacetaldehyde	23.464	0.225± 0.036	0.168± 0.012	有浓郁的玉簪花香气
3	2-甲基丁醛	2-Methyl-butanal	3.492	1.480± 1.054	1.069± 0.759	

续 表

序号	化合物名称	英文	保留时间/ min	BPMS	BPM 1~3	呈味
4	异戊醛	3-Methyl-butanal	3.558	8.364± 0.655	6.403± 0.031	
5	糠醛	Furfural	19.056	—	0.116± 0.031	
6	己醛	Hexanal	7.741	0.200± 0.028	0.112± 0.025	
7	壬醛	Nonanal	17.331	0.461± 0.049	0.308± 0.025	强烈的油脂 气味和甜橙 气味
8	正十五碳醛	Pentadecanal	33.999	0.068± 0.049	—	
醚类						
1	二糠基二硫	Bis(2-furfuryl)disulfide	27.220	—	0.025± 0.034	炒坚果、烤肉 和咖啡香味
2	乙醚	Ethyl ether	1.832	4.371± 6.180	4.458± 6.303	有芳香气味
3	甲基糠基二硫醚	2-[(Methyl dithio) methyl]-furan	27.200	—	0.032± 0.030	
4	双(2-甲基-3-呋喃基) 二硫醚	Bis(2-methyl-3-fural) disulfide	34.138	0.143± 0.016	0.367± 0.022	
其他						
1	苯乙腈	Benzyl nitrile	29.699	0.649± 0.017	0.325± 0.013	
2	硝基苯	Nitro-benzene	25.642	0.032± 0.080	—	苦杏仁味
3	乙基苯	Ethylbenzene	8.887	0.096± 0.049	0.054± 0.001	有芳香气味
4	邻二甲苯	o-Xylene	9.377	0.021± 0.029	0.029± 0.020	有芳香气味
5	对二甲苯	p-Xylene	9.283	0.034± 0.025	—	
6	甲苯	Toluene	6.347	0.955± 0.384	0.639± 0.099	
7	甲胍	Methyl isocyanide	5.237	0.011± 0.013	—	
8	硫化氢	Hydrogen sulfide	1.742	3.757± 5.312	6.389± 4.590	
10	双(2-甲基-3-呋喃基) 二硫	2-methyl-3-[(2- methylfuran-3-yl) disulfanyl]furan	34.138	0.143± 0.016	0.367± 0.022	
11	二甲基二硫	Dimethyl disulfide	7.338	0.030± 0.021	0.010± 0.007	

从 BPMS 中共鉴定出 68 种挥发性成分,包括醇类 12 种、酮类 4 种、酸类 2 种、酯类 3 种、烯类 2 种、酚类 1 种、杂环类 13 种、烷类 11 种、醛类 7 种、醚类 2 种、其他类 11 种。从 BPM 1~3 中共鉴定出 50 种挥发性成分,包括醇类 8 种、酮类 3 种、酸类 1 种、酯类 3 种、杂环类 11 种、烷类 6 种、醛类 7 种、醚类 4 种、其他类 7 种。二者美拉德反应产物的主要挥发性成分包括醇类、酮类、杂环类、醛类、烷类;其中经过肽段筛选后,发现醇类含量总体升高(如乙醇、糠(基)硫醇、甲硫醇等),醛类、烷类、杂环类含量总体降低(如苯乙醛、异

戊醛、三氯甲烷、2,4-二甲基己烷、嘧啶、哒嗪等)。而乙醇、糠(基)硫醇、丙酮醇、蘑菇醇、芳樟醇等呈现蘑菇香味或者其他香味的醇类,具有水果香气的乙酸乙酯,有肉类香气的吡嗪类杂环物质,烷类物质大多香气较弱或无味,但烃类化合物可能作为杂环类化合物的重要中间体对风味形成具有基底作用。烯烃类化合物可作为醛类、酮类的前体物质对风味形成具有潜在作用。说明经过肽段筛选后,香味物质更加浓郁。

2.4.2 偏最小二乘法判别分析

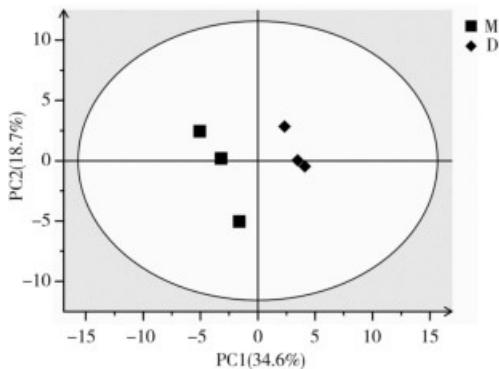


图 6 PLS-DA 图

Fig. 6 PLA-DA diagram

注:M 代表 BPMS,D 代表 BPM 1~3,下图同。

采用 SIM CA-P 11.5 对两组样品香气组分进行偏最小二乘判别分析,以挥发性组分的相对含量为自变量,建立 PLS-DA 模型。由图 6 可知,BPMS 与 BPM 1~3 可明显区分,证明两组样品各有差别并且模型稳定性较好。

2.4.3 差异代谢物聚类及其显著性差异代谢物分析

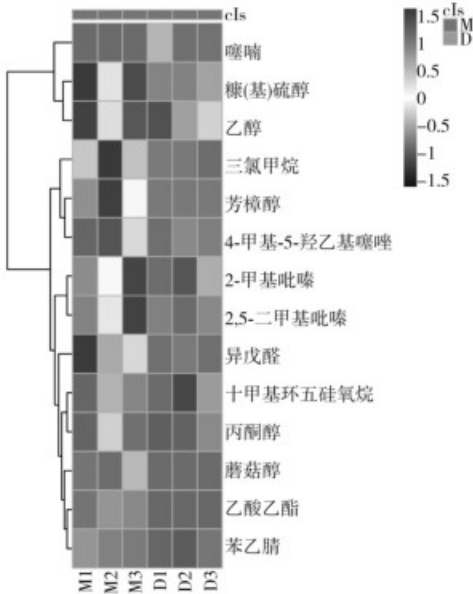


图 7 挥发性风味组分聚类热图

Fig. 7 Clustering heat map of volatile flavor components

醛类物质的主要来源是脂肪的降解和氧化,醛类物质可以赋予肉类特殊的脂肪香味,尽管醛类化合物相对含量较低,但其阈值也较其他风味物质低,因此它

是肉类中主要的风味贡献物质^[17]。杂环类物质大都具有很强的肉香味以及极低的香气阈值,主要有呋喃、吡咯、吡嗪和噻唑,如2-乙酰基噻唑具有牛肉香气,大多数呋喃类化合物呈现似焦糖味、肉香味、焦香味、水果香味以及坚果味,具有增香的作用^[18]。而噻唑类化合物是烤肉和炸肉类风味的重要组分,阈值很低,具有坚果香^[19]。醇类化合物中不饱和醇阈值较低,对产品风味贡献较高,饱和醇则对肉品风味影响不显著,但总体而言,醇类化合物在肉制品风味中无较大贡献,一般是由脂肪氧化分解以及醛酮类化合物还原所得^[20-23]。

两组挥发性风味组分间存在差异,选择同时具有多维统计分析变量权重值(VIP>1)且单变量统计分析($P<0.05$)的化合物,对具有显著性差异的化合物进行聚类热图分析(见图7),发现BPMS与BPM1~3的香气主要在乙醇、糠(基)硫醇、丙酮醇、蘑菇醇、芳樟醇、乙酸乙酯、4-甲基-5-羟乙基噻唑、2,5-二甲基吡嗪、2-甲基吡嗪、噻喃、十甲基环五硅氧烷、三氯甲烷、异戊醛、苯乙腈14种化合物中差异较明显,其中乙醇、糠(基)硫醇、噻喃3种化合物在BPM1~3中含量更高,呋喃、吡嗪类等其余11种化合物与BPM相比都有一定程度的降低。

3 结论

电子鼻能够较好地地区分不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应产物,且不同肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应产物的香气差异较大。通过筛选肽段,分离出1~3 kDa的牛肉蛋白肽在美拉德反应后,除缬氨酸外,其余必需氨基酸含量都有不同程度的增加,说明筛选肽段的方式可能具有提高牛肉蛋白肽的呈味特性和营养价值的作用。

对比挥发性风味成分发现,1~3 kDa肽段的美拉德反应产物(BPM1~3)与未分肽段的牛肉蛋白肽美拉德反应液(BPMS)的挥发性风味成分差异较大,从BPMS中共鉴定出68种挥发性成分;从BPM1~3中共鉴定出50种挥发性成分;对比二者的挥发性成分,共14种挥发性化合物差异较明显,说明肽段筛选的方式能有效改变牛肉蛋白肽挥发性成分组成。

参考文献:

- [1]张慧,丁原春,王喆,等.牛肉的营养价值及其嫩度的影响因素[J].饲料博览,2019(11):47-50.
- [2]ZHANG W, XIAO S, SAMARAWEEERA H, et al. Improving functional value of meat products[J]. Meat Science, 2010, 86(1):15-31.
- [3]HU Y Y, XING L J, ZHOU G H, et al. Antioxidant activity of crude peptides extracted from dry-cured Jinhua ham[J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2016, 4(6):377-387.
- [4]JANG J, JEONG S, KIM J, et al. Characterisation of a new antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *pleurotus cornucopiae*[J]. Food Chemistry, 2011(2): 412-418.
- [5]张波. 呈味肽研究技术进展[J]. 现代食品, 2020(4):61-63.

- [6]张茂迎,赵森,刘畅,等.响应面优化水解黑豆7S球蛋白制备抗氧化肽的研究[J].中国调味品,2022,47(6):18-22
- [7]LEE S Y, HUR S J. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants[J]. Food Chemistry, 2017, 228:506-517.
- [8]CHOE J, PARK B, JO C, et al. Potential antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in crust of dry-aged beef[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1):7883.
- [9]何梓钰,陈珍,黄俊逸,等.酶解公犊奶牛肉制备抗氧化活性肽口服液的工艺优化[J].肉类研究,2019,33(3):26-33.
- [10]LEE S H, HUR S J. Protective effect of a 3 kDa peptide obtained from beef myofibrillar protein using alkaline-AK on neuronal cells[J]. Neurochemistry International, 2019, 129:104459.
- [11]LIU J, LIU M, HE C, et al. Effect of thermal treatment on the flavor generation from Maillard reaction of xylose and chicken peptide[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 64(1):316-325.
- [12]YU M, HE S D, TANG M M, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2018, 243:249-257.
- [13]阮雁春,陈翰玄,刘红艳,等.花生蛋白水解物制备美拉德反应产物对猪肉脯品质的影响[J].中国调味品,2021,46(12): 74-77.
- [14]ANLANCKER L, ADAMS A, DEKIMPE N. Chemical modifications of peptides and their impact on food properties[J]. Chemical Reviews, 2011, 111(12):7876-7903.
- [15]ORTNER E, GRANVPGL M. Thermally induced generation of desirable aroma-active compounds from the glucosinolate sinigrin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(10):2485-2490.
- [16]桂海佳,李江龙,李泽林,等.基于双酶水解优化牛肉酶解液工艺及其呈味成分分析[J].中国调味品,2022,47(10): 103-109.
- [17]黄百祺,杨昭,王如意,等.4种龟肉酶解液的氨基酸对比分析[J].中国调味品,2021,46(1):67-70,76.
- [18]马琦,伯继芳,冯莉,等.GC-MS结合电子鼻分析干燥方式对杏鲍菇挥发性风味成分的影响[J].食品科学,2019,40(14): 276-282.
- [19]SUN W, ZHAO Q, ZHAO H, et al. Volatile compounds of Cantonese sausage released at different stages of processing and storage[J]. Food Chemistry, 2010, 121(2):319-325.
- [20]黄贵元,高阳,许利平,等.基于HS-SPME/GC-MS和电子鼻技术对干枣及其不同提取物挥发性成分分析[J].食品科学,2022,43(10):255-262.
- [21]张根生,潘雷,岳晓霞,等.发酵肉制品加工过程中风味物质形成和影响因素研究进展[J].中国调味品,2022,47(1): 200-205.
- [22]谭斌. Maillard 反应体系制备热加工牛肉风味基料的研究[D]. 无锡:江南大学,2005.
- [23]WANG Y, SONG H L, ZHANG Y, et al. Determination of aroma compounds in pork broth produced by different processing methods[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2016, 31(4):319-328.