

SPME-GC-MS 在虾调味料风味检测中的应用

杨锡洪, 解万翠*, 章超桦, 冯小敏, 吉宏武

(广东海洋大学食品科技学院, 水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088)

摘要:以南美白对虾虾头为原料,经过酶解和 Maillard 增香工艺,得到风味良好的虾风味料,采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析法(SPME-GC-MS)进行分析、鉴定它们特征的挥发性风味成分,探讨工艺条件对风味的影响,经 NIST 质谱数据库检索和文献对照,各检出 57 和 63 种成分,主要有烃类、醇类、醛类、酮类,和含氮化合物如吡嗪及含硫化合物等,它们的协同作用构成了虾风味料的特殊气味。将虾头酶解产物和 Maillard 增香型调味料的风味成分进行对照,比较发现吡嗪类化合物对于虾风味料的香气贡献最大,在两种风味料中分别检出了 17 和 21 种,归一化含量高达 40.58% 和 47.83%。经 Maillard 反应处理后的风味料含有更多的醛类、呋喃类、吡嗪类和含硫化合物。结果表明, Maillard 反应具有明显的增香作用,所制备的虾调味料具有更好的风味,该产物将既可以作为虾调味料使用,也可以作为复合调味品的基料,进一步扩展其应用范围。

关键词:南美白对虾虾头;调味料;固相微萃取;气相色谱-质谱法;风味

中图分类号:TS 207.3; S 917

文献标识码:A

南美白对虾(*Penaeus vannamei*),又名凡纳滨对虾,是世界上主要的优良养殖品种之一,具有生长快、抗病力强、易适应环境及肉味鲜美、出肉率高等特点,深受消费者的青睐。中国南美白对虾的产量和出口量居世界第一位,对虾加工中通常要去壳或去头,产生大量的下脚料,若不加以充分利用,将造成环境的污染和资源的浪费。虾头中除含有较丰富的蛋白质外,还含有较多的脑磷脂、高级不饱和脂肪酸、类胡萝卜素及多种微量元素,具有一定的营养价值^[1],利用对虾加工下脚料制备海鲜调味料是提高海洋资源利用率的有效途径^[2]。

对于调味料而言,挥发性香气是影响风味的重要指标之一,如何利用先进的仪器手段,对挥发性香气成分进行分析和鉴定,探索风味组成与食品感官属性的关系,可以为生产工艺的优化提供指导^[3-6],本实验以南美白对虾虾头为原料,利用酶解和 Maillard 增香技术生产虾调味料^[7-8],采用 SPME-GC-MS 方法检测 Maillard 增香处理前后风味料的特征挥发性风味成分,旨在为虾头的

综合利用提供理论依据^[9-10]。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

南美白对虾虾头由湛江国联水产有限公司提供。

风味酶:食品级, 2×10^4 U/g;中性蛋白酶:食品级, 8×10^4 U/g;广西南宁庞博生物工程有限公司;甲醛、乙醚、盐酸均为分析纯。

样品 1:取新鲜虾头,加入蒸馏水使料液比为 1:1,煮熟后打浆,过滤。取虾头浆 100 g,采用风味酶与中性酶组合对虾头进行酶解(风味酶:中性酶为 1:1),加酶量 2 000 U/g 蛋白, pH 7.5, 温度 55 °C, 反应时间 3 h;水解度为 42.16%, 加热至 85 °C 灭酶 15 min, 冷却后冻干。

样品 2:取上述酶解液 100 g, 添加 1% 还原糖(葡萄糖:木糖 = 4:1), Maillard 反应体系温度 100 °C, 起始 pH 8, 反应时间为 40 min, 反应后冷却冻干。

收稿日期:2010-02-25 修回日期:2010-04-12

资助项目:“十一五”国家科技支撑计划项目(2007BAD29B09);国家科技支撑计划和政策引导项目(2008BAD94B08)

通讯作者:解万翠, Tel:0759-3298817, E-mail:xiewanui@163.com

1.2 主要仪器

气相色谱-质谱联用仪是美国 Finnigan 公司的 Trace DSQ GC-MS; 固相微萃取 (SPME) 为美国 Sulpcos 公司的 PDMS 100 μm 萃取头。

色谱条件: 色谱柱, PEG 20M (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm); 程序升温, 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min, 以每分钟 6 $^{\circ}\text{C}$ 的速度升至 120 $^{\circ}\text{C}$, 再以每分钟 10 $^{\circ}\text{C}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$ 保持 10 min; 载气 (He) 流速 0.8 mL/min, 压力 2.4 kPa, 进样量 0.5 μL ; 不分流进样。

质谱条件: 电子轰击 (EI) 离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$; 质量扫描范围 m/z 33 ~ 450, 检测器电压 350 V^[11-12]。

1.3 挥发性成分的捕集

采用固相微萃取法 (SPME) 吸附挥发性成分。萃取条件: 萃取头为 PDMS, 厚度为 100 μm ; 萃取温度为 50 $^{\circ}\text{C}$; 萃取时间为 30 min。

将预处理过的两种样品分别放入两只特制的 15 mL SPME 旋盖玻璃瓶中, 迅速盖上盖子, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热 30 min。从瓶盖中插入吸附头, 吸附 30 min。待吸附完成后, 直接进样至色谱-质谱联用仪中测定^[13]。

2 结果与分析

2.1 SPME-GC-MS 总离子流色谱图

虾头酶解产物 (样品 1) 和 Maillard 增香型调味料 (样品 2) 的挥发性成分的 GC-MS 色谱图如图 1、图 2 所示。

GC-MS 中的各组分质谱经 NIST 质谱数据库检索及资料分析, 鉴定其特征性香气成分, 各检出 57 和 63 种成分, 用峰面积归一化法, 将挥发性成分按照结构分类统计见表 1。

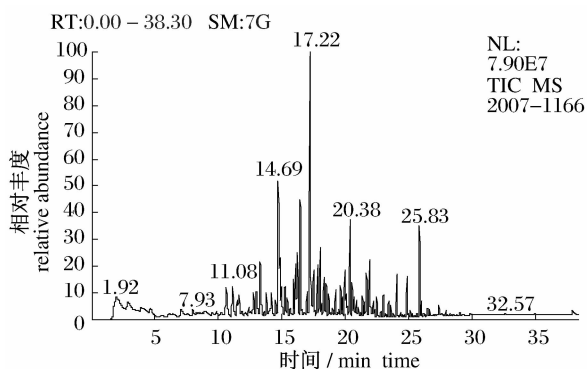


图 1 样品 1 挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion count (TIC) chromatogram of volatile compounds derived from Sample 1

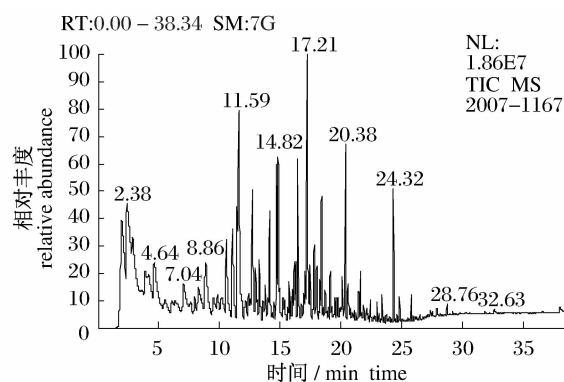


图 2 样品 2 挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion count (TIC) chromatogram of volatile compounds derived from Sample 2

2.2 挥发性风味化合物种类及相对含量

分析表 1 中的挥发性化合物, 进行分类, 各种成分相对含量见表 2。从分析结果来看, 虾头酶解产物和 Maillard 增香型调味料均含有丰富的挥发性化合物, 对于虾的特征性香气有重要的作用。从香气组成及阈值来看, 主要有烃类、醇类、醛类、酮类、含氮化合物如吡嗪及含硫化合物等, 其中吡嗪类对于虾风味料的香气贡献是最大的, 两样品中分别检出了 17 和 21 种, 归一化含量高达 40.58% 和 47.83%, 例如: 烷基吡嗪, 包括甲基吡嗪、2,3-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙基-5-甲基吡嗪、2,3-二甲基-5-乙基吡嗪等, 由于吡嗪类化合物的高含量和低风味阈值, 赋予了对虾浓郁的肉香风味。在碱性条件下非质子化氨基的浓度较高, 有利于氨基酸或氨与二羰基化合物之间的缩合反应, 在此条件下加热反应, 有利于吡嗪类化合物的生成。

烃类化合物通常具有清香和甜香的风味, 对整体风味有一定的贡献; 醇类化合物如 1-戊烯-3-醇、2-丁基-1-辛醇等也是海鲜香气的重要成分。醛类化合物则是清香、果香和坚果香的芳香物质, 热反应后有所增加。呋喃类化合物通常认为是 Maillard 反应的产物, 具有甜的香味, 通过 Maillard 反应, 含量明显增加^[14-15]。

比较两种样品的挥发性物质的整体轮廓, 作为酶解蛋白的调味料含有大量的羰基化合物和吡嗪类, 同样具备良好的风味, 但是 Maillard 反应后的风味料由于含有更多的醛类、呋喃类、吡嗪类和含硫化合物, 使产品的香气更加柔和、浓郁, 富有甜香、肉香、烤香等丰富的香韵, 同时也具有强烈的海鲜香气, 更加适合作为调味料直接使用。

表 1 两种虾风味料挥发性成分的 GC-MS 分析结果
 Tab.1 GC-MS analysis result of the two shrimp flavorings

酶解后 保留时间(min) R. T. after hydrolysis	Maillard 增香后 保留时间(min) R. T. after MR	组分 compounds	酶解后 含量(%) contents after hydrolysis	Maillard 增香后 含量(%) content after MR
1.90	1.92	三甲胺	6.58	3.23
2.83	2.84	2-羟基-2-甲基丙腈	1.27	1.31
4.10	3.89	乙酸丙烯基酯	0.55	0.52
-	4.15	4-羟基-5-甲基-3-丙基-2-己酮	-	0.44
-	4.64	乙醇	-	0.62
4.65	-	甲氧基-2-丙酮	0.75	-
-	5.50	3-甲基丁醛	-	0.49
6.08	6.07	葵烷	0.39	0.46
7.04	-	甲苯	0.94	-
-	7.21	2-三氟乙酸基十三烷	-	0.47
7.93	7.93	二甲基二硫	2.68	3.50
-	8.24	己烯醛	-	1.26
-	8.52	2-乙基丙烯醛	-	0.58
8.54	8.56	十二烷	2.74	0.79
-	9.04	2-丁基辛醇	-	0.63
9.49	9.50	1-氯-十四碳烷	0.33	0.34
10.58	10.57	1-戊烯-3-醇	2.41	2.44
11.08	11.08	2-庚酮	4.06	3.43
11.47	11.47	D-苧烯	0.79	0.75
11.85	11.85	吡嗪	0.30	0.35
12.39	12.39	2-戊基-呋喃	0.44	2.47
12.73	12.72	2-丁基-1-辛醇	1.45	1.96
12.96	12.97	1-戊醇	1.57	2.14
13.26	13.26	1-甲基吡嗪	3.65	4.25
13.75	13.75	2-辛酮	1.10	1.86
-	14.10	十五烷	-	0.65
14.14	-	十六烷	1.26	-
14.48	-	2-戊烯-1-醇	0.49	-
-	14.49	环戊醇	-	0.48
14.69	14.68	4,6-二甲基嘧啶	8.67	8.32
14.82	14.81	2,6-二甲基吡嗪	2.58	4.59
14.95	14.95	乙基吡嗪	1.38	2.02
15.22	15.22	2,3-二甲基吡嗪	1.19	1.94
15.41	-	3-甲基十二烷	1.55	-
-	15.41	2,9-二甲基葵烷	-	0.68
15.89	15.89	二甲基三硫	1.22	1.84
16.08	-	2-乙基-6-甲基吡嗪	2.36	-
16.19	16.18	2-乙基-5-甲基吡嗪	2.54	3.60
16.29	16.29	十四烷	0.92	0.15
16.44	16.44	三甲基吡嗪	6.18	6.25
-	17.10	6-十四碳烯	-	0.23
17.13	17.19	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	0.98	1.34
17.22	17.25	2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	8.47	7.95
-	17.47	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	-	2.45
-	17.72	2-甲基-5-丙基吡嗪	-	0.70
17.80	17.80	3,5,5-三甲基-2-己烯	1.21	0.39
-	17.90	3,5-二乙基-2-甲基-吡嗪	-	1.75
18.01	18.00	3,6-二甲基-2-乙基吡嗪	2.10	2.55

· 续表 1 ·

酶解后 保留时间(min) R. T. after hydrolysis	Maillard 增香后 保留时间(min) R. T. after MR	组分 compounds	酶解后 含量(%) contents after hydrolysis	Maillard 增香后 含量(%) content after MR
-	18.11	1-(2-呋喃基)-乙酮	-	0.53
18.27	18.27	2,6-二甲基-3-丙基吡嗪	1.56	2.18
-	18.32	3,5-二甲基-2-丙基-吡嗪	-	0.95
18.42	18.42	苯甲醛	0.87	2.85
18.51	18.52	3,5-二甲基-2-异丁基吡嗪	0.65	1.32
18.63	-	丙酸	0.80	-
-	19.13	环辛酮	-	0.37
-	19.53	葵酮	-	0.66
19.60	-	石竹烯	0.68	-
-	19.75	2-癸烯-1-醇	-	0.86
20.07	20.08	2,5-二甲基-3-(2-甲基丁基)吡嗪	0.50	0.50
20.27	20.28	苯乙酮	1.09	0.96
20.38	20.38	2,5-二甲基-3-(3-甲基丁基)吡嗪	4.16	0.72
20.51	-	己酸	1.13	-
-	20.64	1-乙醇基-3-环己烯	-	0.40
-	20.77	2-异戊基-6-甲基吡嗪	-	0.42
20.89	20.90	2,3,5-三甲基-6-异戊基吡嗪	1.39	1.50
21.33	-	1,3-丙二醇二乙酸酯	0.43	-
21.64	21.63	乙酰胺	1.68	0.70
21.89	21.88	1,3-丙二醇	2.23	0.33
22.23	22.22	2-(3-甲基丁基)-3,5-二甲基吡嗪	0.59	0.50
22.43	22.44	1-甲氧基-4-(2-丙稀基)-苯	0.51	0.70
22.98	22.98	苯甲醇	0.47	0.38
23.39	-	3-甲基丁酰胺	0.34	-
23.57	-	苯甲腈	0.31	-
24.02	-	2-乙酮-1-氢吡咯	1.03	-
-	24.32	苯酚	-	1.00
24.84	24.83	2-吡咯烷醇	1.17	-
25.83	-	2-哌啶酮	2.53	-
25.99	-	2-氨基-3-甲基-咪唑啉	0.43	-
37.87	-	十六烷酸	0.35	-

表 2 两样品中挥发性化合物的种类及相对百分比

Tab. 2 Relative percentage of volatile component of two samples

挥发性化合物 volatile compounds	样品 1 sample 1		样品 2 sample 2	
	种类数量 compounds numbers	含量(%) contents	种类数量 compounds numbers	含量(%) contents
烃类 hydrocarbons,	10	10.99	10	5.13
醇类 alcohols	9	9.79	10	10.84
醛类 aldehydes	1	0.87	4	5.18
酮类 ketones	5	9.53	6	7.81
酸类 acids	2	1.48	0	0
酯类 esters	2	0.98	1	0.52
呋喃类 furans	1	0.44	1	2.47
吡嗪类 pyrazines	17	40.58	21	47.83
含硫化合物 sulfuric compounds	2	3.90	2	5.39
胺类 aminos	3	8.60	2	3.93
其他 others	5	12.84	6	10.90

3 结论

本研究以新鲜南美白对虾虾头为原料,分别利用酶解和 Maillard 增香工艺,制备出良好风味的虾调味料,并通过 SPME-GC-MS 法对两种样品的挥发性风味成分进行分析鉴定,比较 Maillard 增香对风味的影响,结论如下:

(1) 以虾副产品酶解产物为原料,研究 Maillard 反应前后的挥发性风味成分的变化,并将结果进行对照,表明 Maillard 反应后的风味料含有更多的醛类、呋喃类、吡嗪类和含硫化合物,提高了香气品质,可作为调味品基料使用。

(2) Maillard 增香前后各检出 57 和 63 种风味成分,主要有烃类、醇类、醛类、酮类、含氮化合物如吡嗪及含硫化合物等,其中吡嗪类化合物分别检出了 17 和 21 种,归一化含量高达 40.58% 和 47.83%,表明吡嗪类化合物对虾调味料的特征风味具有重要贡献,因此,对于此类化合物的深入研究将对模拟虾味和呈香机理的探讨具有重要意义。

(3) 以成熟的生物酶解技术为基础,添加还原糖和氨基酸,提高了 Maillard 反应的增香效果,得到的产品是一种富有营养的天然海鲜调味料,并具有良好的安全性,所制备的虾调味料具有更好的风味,该产物将既可以作为虾调味料使用,也可以作为复合调味品的基料,具有较好的工业化应用前景。

参考文献:

- [1] 任玉翠,周彦钢. 对虾头营养素含量及综合利用[J]. 食品机械,1998(4):24-25.
- [2] 隋伟,张连富. 酶解虾加工下脚料工艺的研究[J]. 中国调味品,2005(12):54-57.
- [3] 钱敏,刘坚真,白卫东,等. 食品风味成分仪器分析技术研究进展[J]. 食品与机械,2009,25(4):177-181.
- [4] 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, 109:184-195.
- [5] 章超桦,平野敏行. 鲫的挥发性成分[J]. 水产学报,2000,24(4):354-358.
- [6] 李大明,宋焕禄,祖道海,等. Maillard 反应肉味香精的制备和香味成分的检测[J]. 食品与机械,2006,22(2):69-73.
- [7] 薛洁,涂正顺,常伟,等. 中国特有野生水果欧李 (*Cerasus Humilis*) 香气成分的 GC-MS 分析[J]. 中国食品学报,2008,8(1):125-129.
- [8] 白雪,张建丽,唐晓伟,等. SPME-GC-MS 法测定朝鲜蓟 (*Cynara scolymus* L.) 中的风味成分[J]. 中国食品学报,2008,8(3):138-142.
- [9] 杨远帆,陈申如,吴光斌. 鱼露风味成分的萃取及气相色谱分离条件的优化[J]. 食品科学,2008,29(6):346-349.
- [10] Chung H Y, Yung I K S, Ma W C. Analysis of volatile components in frozen and dried scallops (*Platinopecten yessoensis*) by gas chromatography/mass spectrometry [J]. Food Res Int, 2002, 35(1):43-53.
- [11] Defilippi B G, San J W, Valdes H, et al. The aroma development during storage of Castlebrite apricots as evaluated by gas chromatography, electronic nose, and sensory analysis [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 51:212-219.
- [12] Armentaf R E, Guerrero-Legarreta I. Amino acid profile and enhancement of the enzymatic hydrolysis of fermented shrimp carotene-proteins [J]. Food Chemistry, 2009, 112:310-315.
- [13] Huss L V, Huss H H, Dalaard P. Significance of volatile compounds produced by spoilage bacteria in vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) analyzed by GC-MS and multivariate regression [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(5):2376-2381.
- [14] 解万翠,杨翰彬,章超桦,等. Maillard 反应型虾风味料的制备[J]. 食品与机械,2008(1):34-44.
- [15] 张彩菊,张慙. 利用美拉德反应制备鱼味香料[J]. 无锡轻工业大学学报,2004,23(5):11-15.

Application of SPME-GC-MS in flavor determination of shrimp flavorings

YANG Xi-hong, XIE Wan-cui*, ZHANG Chao-hua, FENG Xiao-min, JI Hong-wu

(Key Laboratory of Aquatic Product Advanced Processing of Guangdong Higher Education Institutes,
College of Food Science & Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In order to study flavor determination and evaluation technology of shrimp flavorings, the fresh *Penaeus vannamei* shrimp head was used as raw materials, and processing by enzymatic hydrolysis and Maillard reaction (MR) techniques, we obtained a flavoring which has better flavor. Then Solid Phase Micro-Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (SPME-GC-MS) was adopted to determine the characteristic volatile flavors, the different effects of the two processings were discussed. The results indicated that there were 57 and 63 kinds of volatile compounds identified respectively by comparing their mass spectra with those contained in the NIST mass spectral database. Among these compounds, most of them were hydrocarbons, alcohols, aldehydes, ketones, nitric compounds and sulfuric compounds. They cooperate with each other to make up the specific aroma of shrimp flavor. The results also indicated pyrazines were the primary constituents of shrimp flavorings. Compare the determination results of samples before and after Maillard reaction, there were 17 and 21 kinds in the two samples, and the contents were 40.58% and 47.83% respectively. It is also showed that the flavor development function of Maillard reaction is significant by this study. Therefore, the product manufactured by Maillard reaction can be used not only as a seasoning directly, but also can be used as the basic raw material to functional combined seasoning for further coordination. By this means, the useful range can be expanded in food flavoring industry.

Key words: *Penaeus vannamei* shrimp head; flavorings; SPME; GC-MS; flavor

Corresponding author: XIE Wan-cui. E-mail: xiewancui@163.com

· 会讯 ·

中国水产学会关于召开第十一届全国水产青年学术年会的通知

农渔学[2010]31号

为加强全国水产青年科技工作者之间的交流,促进青年水产科技工作者的成长,我会定于2010年8月27-29日在浙江省湖州师范学院召开第十一届全国水产青年学术年会。请各单位尤其是各分支机构委员认真组织本单位青年科技工作者(45周岁以下)参会交流。现将有关事宜通知如下:

- 一、年会主题: 责任 创新 科技引领未来
- 二、主办单位: 中国水产学会、湖州师范学院
- 三、承办单位: 湖州师范学院生命科学学院
- 四、专题交流:

大会将分四个专题进行学术交流:生物技术、遗传育种、生理;水产食品、海洋生物活性物质、水产加工、质量安全;水产养殖、病害、营养与饲料;资源、环境生态、渔机、渔具渔法、渔业经济与信息、渔业管理。

五、论文征集

请于2010年7月15日前将论文全文及摘要以附件形式发送至指定邮箱:yxzhang@hutc.zj.cn

联系人: 韩志萍 教授, 张易祥 副教授

通讯地址: 湖州师范学院生命科学学院(湖州市学士路1号), 邮政编码: 313000

中国水产学会
二〇一〇年六月七日