

初始 pH 值对鸡骨素酶解液 Maillard 反应产物的影响

唐春红¹ 胡礼^{1,2} 王金枝² 张春晖² 孙红梅² 李侠²

¹重庆工商大学环境与生物工程学院绿色食品研究所,重庆 400067;

²中国农业科学院农产品加工研究所/农业部农产品加工重点实验室,北京 100193)

摘要:以鸡骨素酶解液为原料,研究了不同初始 pH 值条件下,添加木糖、半胱氨酸及硫胺素制备的 Maillard 反应产物(MRPs, maillard reaction products)在热反应过程中的特性变化。研究表明,pH 值差异引起各体系氨基酸和总糖初始含量及变化趋势差异,pH 值 5、7 和 9 体系反应终点多肽含量分别为 100.11、100.01、104.55 mg·mL⁻¹;与其它 2 个体系相比,pH 值 9 体系分子量为 2.3、1.39kDa 的峰消失,出现峰面积较大的 2.95kDa 峰和较小的 1.04kDa 峰,褐变程度为 pH 值 7 体系的 1.7 倍;随着 pH 值升高,不同体系的 MRPs 风味主成分存在一定差异,pH 值 7 体系的有机硫化物电子鼻响应值约为其它两个体系的 1.6 倍,pH 值 9 体系的氮氧化物响应值最大。不同初始 pH 值影响添加物的含量及状态,导致各体系 Maillard 反应历程不同,引起 MRPs 化学组分的差异。本研究为鸡骨素酶解液 MRPs 风味及功能组分生成机制的研究及鸡骨高值化衍生产品的开发提供一定理论参考。

关键词:鸡骨素酶解液;Maillard 反应;pH 值;化学组分

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2015.01.0063

鸡骨素是以鸡骨为原料经过高效热压抽提技术得到的一种富含胶原蛋白、氨基酸、微量元素以及风味物质的抽提物。但其通常风味单一、香气不足,后期应用过程中需要对其做生香处理,而 Maillard 反应作为生香反应的主要方式在风味形成中起到重要的调节作用^[1],是鸡骨素衍生化处理的必要途径。Maillard 反应是羰氨反应,生产上通常利用高效酶将鸡骨素水解成多肽、氨基酸含量丰富的酶解液,为 Maillard 反应提供前体反应物,使后期得到的肉味香料气味更加浓郁,滋味更加醇厚^[2]。而且酶解液中多肽、氨基酸成分具有一定的生物活性,使得以酶解液为底物的 MRPs 成为营养与风味俱佳的调味料。孙红梅等^[3]对比了以鸡骨素及其酶解液为原料制备的 MRPs 的滋味成分,发现以酶解液为底物制备的 MRPs 风味更加圆润浓厚;Sun 等^[4]分析了机械去骨后剩余鸡骨的酶解液 MRPs 的抗氧化性、结构及感官特点;陈美花等^[5]通过酶解马氏珠母贝后添加辅料进行美拉德反应,分析风味物质的特点;Morales 等^[6]研究酪蛋白-糖体系

Maillard 反应高级阶段褐色物质生成途径。目前多数研究报道集中在 MRPs 风味及产物功能分析方面,或是利用模型体系来推测目标物质的形成途径,生产中只是根据产物的风味来衡量骨素的衍生化处理效果,讨论热反应过程中化学组分变化引起风味及功能变化的研究相对较少,本文在实验室已有的对 Maillard 工艺条件及对 MRPs 风味、滋味分析成果的基础上^[2,3,7-9],根据生产中鸡骨素酶解液需进行 Maillard 反应时的 pH 值范围选择 pH 值 5、7 和 9 共 3 种反应体系,利用紫外可见分光光度仪、电子鼻、高效液相色谱等仪器对各体系 Maillard 反应过程中产物主要化学组分、色泽、分子量分布等特性进行分析,阐述了不同初始 pH 值对含有木糖、半胱氨酸、硫胺素等添加物的鸡骨素酶解液 MRPs 特性的影响,为 MRPs 风味及功能组分生成机制的研究,实现高价值产物的开发提供一定理论参考。

收稿日期:2014-03-07 接受日期:2014-09-16

基金项目:国家自然科学基金(31401623),国家科技合作与交流专项(010S2012ZR0302)

作者简介:唐春红,女,教授,主要从事农产品加工研究。E-mail:023tch@163.com

通讯作者:张春晖,男,研究员,主要从事肉类科学研究。Email:dr_zch@163.com

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与试剂

鸡骨素由河南省鹤壁市普乐泰生物科技有限公司提供,可溶性固形物含量 42%;复合蛋白酶(120U·mg⁻¹)与风味蛋白酶(20 U·mg⁻¹)购于北京索莱宝公司;考马斯亮蓝 G-250、还原型谷胱甘肽购于日本拜尔迪公司;其他试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

SHA-B 型水浴恒温振荡器(江苏荣华仪器制造有限公司),LDZX-50KBS 型压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂),LXJ-HIB 型飞鸽离心机(上海安亭科学仪器厂),2.5×16cm 厚壁耐压管(北京欣维尔玻璃有限公司),PHS-3C 雷磁 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司),T6 紫外分光光度计(北京普析通用仪器公司),PEN3 便携式电子鼻系统(德国 Airsense 公司),Agilent 6410 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备与保存 根据实验室前期工作优化得到的工艺条件制备 MRPs^[3],鸡骨素(Brix=42%)按 1:3(w/w)加入蒸馏水稀释,用 6mol·L⁻¹ NaOH 溶液调节 pH 值至 6.8,按鸡骨素质量的 1.5%(w/w)添加复合蛋白酶后在 40℃ 水浴 2h,100℃ 水浴中灭酶 10min,冷却至室温;再添加鸡骨素质量的 1.5%(w/w)的风味蛋白酶,在 40℃ 水浴 2h,100℃ 水浴中灭酶 10min;4 700r·min⁻¹ 离心去沉淀得到酶解液;酶解液中按鸡骨素质量的 2%(w/w)分别添加木糖、半胱氨酸盐酸盐、硫酸素后,根据企业生产中鸡骨素酶解液需进行 Maillard 反应时的 pH 值及温度范围,用 6mol·L⁻¹ NaOH 溶液分别调节 pH 值至 5、7、9,分装于厚壁耐压管中于灭菌锅内 105℃ 热反应 90min,每隔 18min 取一次样,每组 3 次平行,反应结束后立即冰水冷却得到反应产物。样品于 -20℃ 下保存。

1.3.2 pH 值测定 采用 pH 计测定 pH 值,pH 计用分别用 pH 值为 6.8 和 9 的磷酸盐缓冲液校准。

1.3.3 产物吸光度测定 产物吸光度采用紫外可见分光光度计测定^[20],在 420nm 处测定吸光值 Abs_{420nm},代表 Maillard 反应褐变程度。

1.3.4 多肽含量测定 采用鲁伟等^[10]测定多肽含量方法并加以修改测定 MRPs 中多肽含量。测得标准曲

中 X 为吸光值,Y 为多肽含量。

样品加入等体积 10% 三氯乙酸混匀后静置 10min,离心后将上清液全部转移到 50ml 容量瓶中,并用 5% TCA 定容,取样品 1.2mL 显色后在 540nm 处测定吸光值,对照标准曲线得到其浓度。样品中多肽含量以谷胱甘肽含量来表示。

1.3.5 游离氨基酸总量测定 参照 Church 等^[11]的 OPA 法测定游离氨基酸总量。测得标准曲线方程为: $Y = 0.4514X - 0.0114 (R^2 = 0.9949)$,其中 X 为吸光值,Y 为游离氨基酸总量。

取 50μL 稀释后样品加入显色剂,在 340nm 处测定吸光值,代入公式求得样品中游离氨基酸总量。

1.3.6 总糖测定 参照国家标准 GB/T 9695.31^[21]测定总糖含量。测得标准曲线方程为: $Y = 128.16X + 1.1879 (R^2 = 0.9966)$,其中 X 为吸光值,Y 为总糖含量。

取 1mL 稀释后样品加入显色剂,在 470nm 处测定吸光值,代入公式求得样品中总糖含量。

1.3.7 产物分子量分布 采用空间排阻色谱法(SEC)测定产物分子量分布^[22],液相系统包括:安捷伦四通道进样泵;安捷伦可变容积自动进样器和安捷伦可变波长检测器。固定相为美国菲罗门公司空间排阻色谱柱,分子量分离范围:0.1-1 000kDa;洗脱液为 100mM pH 值为 6.8 的磷酸钠缓冲液,流速 1mL·min⁻¹。柱温 30℃,进样量 10μL。标准品与保留时间拟合直线方程为: $Y = 6.6703 - 0.4979X (R^2 = 0.98)$,其中 X 为保留时间(min),Y 为标准品分子量的对数。在 280nm 处检测物质吸收值,使用安捷伦数据分析软件分析数据。

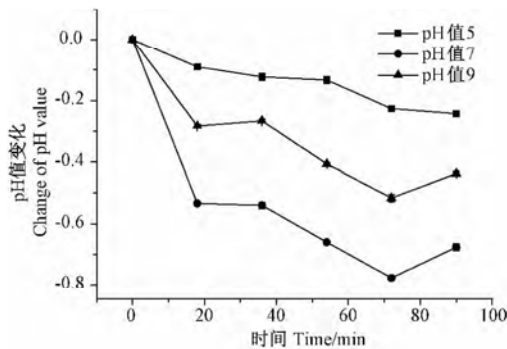
1.3.8 挥发性风味成分测定 PEN3 型便携式电子鼻风味分析系统由气体流量控制系统、气敏传感器阵列、分析控制软件组成,共包含 10 个高灵敏加热型金属氧化物检测器,分别对不同挥发性风味灵敏^[12]。电子鼻载气为干燥空气,流速为 600mL·min⁻¹。样品 50℃ 密封加热震荡 20min,冷却后通过顶空抽样方式检测,检测时间 60s,结果为 10 个传感器电导率比值随时间的响应曲线图。

1.3.9 数据处理 所有数据均采用 SPSS 19.0 和 Origin8.0 进行分析和绘图,差异显著性分析,试验数据如未特殊说明均为 3 次重复,结果均表示为平均值 ± 标准差。

2 结果与分析

2.1 pH 值变化

不同反应体系的 pH 值随热反应的变化情况如图 1 所示。3 种反应体系的 pH 值随热反应均呈下降趋势,但 pH 值 5 体系的 pH 值下降相对缓慢,反应前 18min, pH 值 7 和 pH 值 9 体系的 pH 值分别下降 0.53、0.28,后期 pH 值变化趋势基本相同,72min 时 pH 值分别上升了 0.1、0.08。Maillard 反应 pH 值降低的主要原因是反应过程中甲酸、乙酸等有机酸的形成^[13], pH 值越高 Maillard 反应速率越快, pH 值降低越快。本试验中碱性环境破坏硫胺素,使其在 pH 值 9 的体系中初始含量较低,裂解产物参与反应生成的有机硫化物含量较少,引起 pH 值 9 体系 pH 值下降程度比 pH 值 7 体系小,反应前期,硫胺素加热裂解生成的 H₂S 等物质,导致各体系 pH 值迅速下降,随着氨基酸、硫胺素等物质的消耗及有机酸的生成,各体系 pH 值下降速度减缓^[14],反应后期 pH 值 7 和 pH 值 9 体系中有有机酸等中间产物因为底物的消耗,含量增加缓慢,且不断参与 Maillard 高级阶段反应生成类黑素等物质,含量持续下降,导致体系 pH 值升高。



注:纵坐标为 pH 值变化量,即 $B = A - A_0$, 其中 B 为 pH 值变化量, A 为实测值, A_0 为初始值。

Note: $B = A - A_0$, where B: the value of the changes in pH value, A: the measured pH value of MRPs, A_0 : the initial pH value of MRPs.

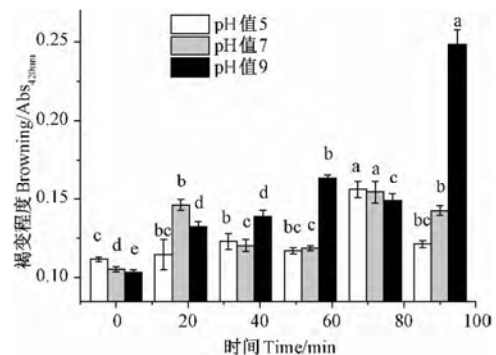
图 1 pH 值变化

Fig. 1 Changes in pH value

2.2 MRPs 吸光值变化

Abs_{420nm} 是衡量 Maillard 反应程度的最直接的指标,反应生成的中间产物经过降解缩合等作用生成类黑精物质使 MRPs 颜色加深,引起产物 Abs_{420nm} 改变。

不同反应体系的 Maillard 反应褐变程度随热反应的变化情况如图 2 所示。各 pH 值体系 MRPs 吸光度随热反应时间均有不同程度上升,其中 pH 值 5、pH 值 7 体系变化趋势接近, pH 值 9 体系在反应后期吸光值显著增大,90min 时吸光值相对于 72min 提高了 39.92% ($p < 0.05$),这与 Kim 等^[15]研究发现的 pH 值越高,褐变程度越大,且随热反应时间增加, Abs_{420nm} 持续增大的结论不太一致。可能是不同酸碱性反应环境会引起各体系 Maillard 反应历程差异,导致反应高级阶段类黑素等物质生成程度不同,同时在添加了木糖、半胱氨酸及硫胺素的条件下,各体系 Amadori 产物在不同 pH 值影响的基础上与添加物不同的裂解产物发生反应^[14],导致各体系反应历程差别增大,褐变程度不一。



注:相同 pH 值不同热反应时间的图形上不同的小写字母说明其差异性显著 ($p < 0.05$)。

Note: Different letters on the histograms of same pH values indicated significant difference at 5% level.

图 2 产物吸光度变化

Fig. 2 Changes of absorbance of MRPs

2.3 多肽及游离氨基酸总量变化 不同反应体系随热反应的进行,其多肽及游离氨基酸总量变化情况如表 1 所示。Maillard 反应中多肽主要发生 2 个变化:一是降解成小分子碎片或游离氨基酸;二是直接和糖或其降解产物交联形成大分子 MRPs^[13]。如表 1 所示, pH 值越大,各体系多肽初始含量越高,这可能与体系中水溶性蛋白含量有关,水溶性蛋白含量增多,降解生成的多肽含量随之增多,由于碱性环境破坏了硫胺素和半胱氨酸, pH 值 9 体系中游离氨基酸含量较低,促使多肽不断裂解生成游离氨基酸,裂解作用强于交联作用,导致其多肽含量与其它两个体系相比在前 36min 呈减小趋势, pH 值 5 和 pH 值 7 体系木糖与半胱氨酸含量较高,多肽交联作用强于裂解作用,导致反应前期 MRPs 大分子产物含量增多,多肽含量变化与

表 1 多肽及游离氨基酸总量变化

物质类型 Compound	pH 值 pH Value	时间 Time/min						/(mg · mL ⁻¹)
		0	18	36	54	72	90	
多肽	5	90.36 ± 0.4 ^d	101.89 ± 0.42 ^{ab}	103.95 ± 0.83 ^a	98.34 ± 0.42 ^c	101.59 ± 1.56 ^b	100.11 ± 0.42 ^{bc}	
Peptides	7	98.04 ± 0.0 ^e	105.43 ± 0.42 ^a	106.91 ± 1.56 ^a	100.7 ± 0.42 ^b	104.84 ± 0.42 ^a	100.01 ± 0.9 ^{bc}	
	9	106.62 ± 0.42 ^a	106.32 ± 0.84 ^a	105.73 ± 0 ^a	102.58 ± 0.9 ^b	106.32 ± 0.84 ^a	104.55 ± 1.56 ^{ab}	
氨基酸	5	30.12 ± 0.8 ^a	27 ± 0.41 ^b	29.3 ± 0.32 ^a	27.57 ± 0.64 ^b	30.2 ± 0.73 ^a	30.0 ± 0.67 ^a	
Amino acids	7	30.62 ± 0.22 ^b	31.3 ± 0.36 ^{ab}	30.3 ± 0.96 ^b	32.67 ± 0.77 ^a	30.4 ± 1.56 ^b	31.7 ± 0.61 ^{ab}	
	9	27.24 ± 0.97 ^a	25.8 ± 0.45 ^{ab}	25.5 ± 0.68 ^{ab}	24.74 ± 0.74 ^b	25.4 ± 0.92 ^{ab}	24.2 ± 1.26 ^b	

注:同一行中数值上不同的小写字母上标说明其差异性显著($p < 0.05$)。

Note: Different letters in the same row indicated significant difference at 5% level.

pH 值 9 体系存在差异。随着各体系游离氨基酸、还原糖被逐渐消耗,多肽含量在蛋白水解形成多肽、多肽自身裂解和交联等作用下逐渐平衡。

游离氨基酸在反应中的变化,一方面是与还原糖反应生成 Amadori 重排产物和参与多肽交联,另一方面多肽不断裂解生成游离氨基酸。pH 值 9 体系中半胱氨酸被破坏,反应起点游离氨基酸含量低于其它两个体系,同时碱性 pH 值体系氨基不会发生质子化影响羰基反应亲核加成^[13],导致其在体系中消耗较快,随反应时间含量持续下降,且与 pH 值在显著水平上正相关($r = 0.841, p < 0.05$),与 MRPs 吸光度在显著水平上负相关($r = -0.874, p < 0.05$) (数据未在本文中显示),说明随游离氨基酸含量降低, pH 值逐渐降低,褐变产物逐渐增多。pH 值 5 和 pH 值 7 体系中游离氨基酸含量随反应时间出现一定波动,原因可能是体系反应初期还原糖及游离氨基酸含量不同,多肽交联和裂解作用强度不同,造成反应过程中氨基酸含量差异,同时各体系硫胺素裂解生成不同产物参与 Maillard 反应导致反应途径不同,进一步影响氨基酸含量变化。

2.4 总糖含量变化

Maillard 反应过程中总糖含量变化如图 3 所示。总糖含量变化是由于还原糖与游离的氨基发生羰基反应,另有部分还原糖发生异构或降解参与 MRPs 大分子物质的形成。本试验中 pH 值 9 体系中总糖含量分别与对应 pH 值呈显著正相关($r = 0.847, p < 0.05$),与游离氨基酸含量在极显著水平上呈正相关($r = 0.96, p < 0.01$),反应终点损失率比同体系游离氨基酸损失率高 14.56%,这与 Laroque 等^[16]所得结论一致。pH 值 9 体系中,木糖等还原糖在碱性环境中加热迅速发生异构化和分解反应,导致反应起点总糖含量为

10.38mg · mL⁻¹相对于其它两个体系较低,反应过程中主要和氨基酸结合生成 1-氨基-1-脱氧-2-酮糖等,经过 Amadori 重排产物和 2,3-烯醇化生成还原酮类物质。pH 值 5 体系中,糖类脱水生成糠醛等物质,促进 Maillard 反应途径多样化,还原糖主要经过 Amadori 重排和 1,2-烯醇化生成羟甲基糠醛等物质。pH 值 7 体系中前 36min 总糖含量了上升 1.2mg · mL⁻¹,可能是 Maillard 反应过程中氮代还原糖基胺等 Amadori 重排产物分解后生成的小分子糖片段,进而发生醇醛缩合形成糖类^[16],其后下降趋势与 pH 值 5 体系基本一致。

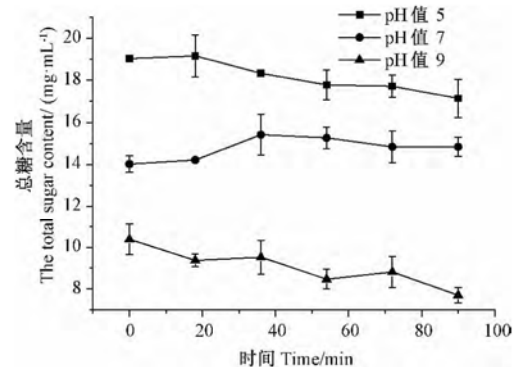


图 3 总糖含量变化

Fig. 3 Changes of total sugar content

2.5 MRPs 产物分子量分布变化

根据菲罗门公司空间排阻色谱柱参数要求得到分子量校准曲线, $Y = 6.6703 - 0.4979X$ ($R^2 = 0.98$), 其中 X 为保留时间(单位: min), Y 为标准品分子量的对数,将 MRPs 产物主要出峰时间代入校准曲线可求得产物分子量^[15]。热反应 90min 时各 pH 值体系

MRPs 的分子量分布随保留时间的变化趋势见图 4。

Maillard 反应过程中多肽的降解与交联作用共同导致 MRPs 分子量分布随热反应时间的变化^[13]。由图 4 可知,在 280nm 波长检测条件下,不同 pH 值体系的 MRPs 始终包含 3 个峰,但出峰时间及峰面积有一定差别,pH 值 5 体系 3 个峰保留时间分别为 12.19、12.67、13.17min,分子量为 3.98、2.30 和 1.29kDa,pH 值 7 体系第 2 个峰的峰面积比 pH 值 5 体系的小,其它分子量分布与 pH 值 5 体系基本一致,由于碱性环境对反应体系中多肽、游离氨基酸和总糖等化合物初始含量及变化趋势的影响,pH 值 9 体系相对于其它两个 pH 值体系分子量分布发生明显迁移,2.3、1.39kDa 峰消失的同时出现峰面积增大的 2.95kDa 峰和峰面积减小的 1.04kDa 峰,且 3.93kDa 峰面积相对于其他两个体系有所增大,小分子物质的裂解产物参与大分子褐变产物的合成,这与 pH 值 9 体系 MRPs 的 Abs_{420nm} 大于其他两个体系是对应的,说明 pH 值越大 Maillard 反应越易形成类黑素等物质,引起产物颜色加深。

2.6 挥发性风味物质成分分析

主成分分析是一种降维或者把多个指标转化为少数几个综合指标的一种多元数理统计方法,简化数据量的同时又能较好的代表原始数据的波动情况,其中 X 轴代表方差较高的第 1 主成分(P1),Y 轴代表第二主成分(P2)。由于电子鼻信号采集初期各传感器灵敏度不同,信号在 50s 后基本稳定,本文选择了 57s 时各传感器响应值进行作图,热反应 90min 时各 pH 值体系挥发性风味成分分析如图 5。

图 5 - A 表示各体系反应 90min 时挥发性风味物

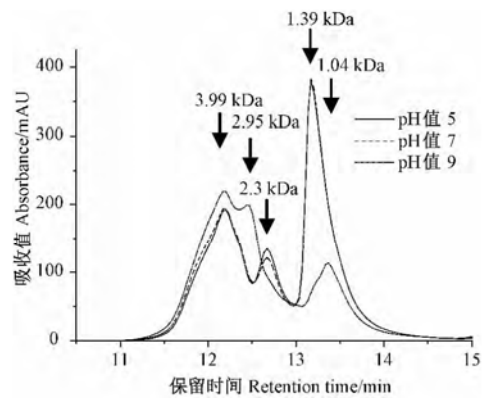
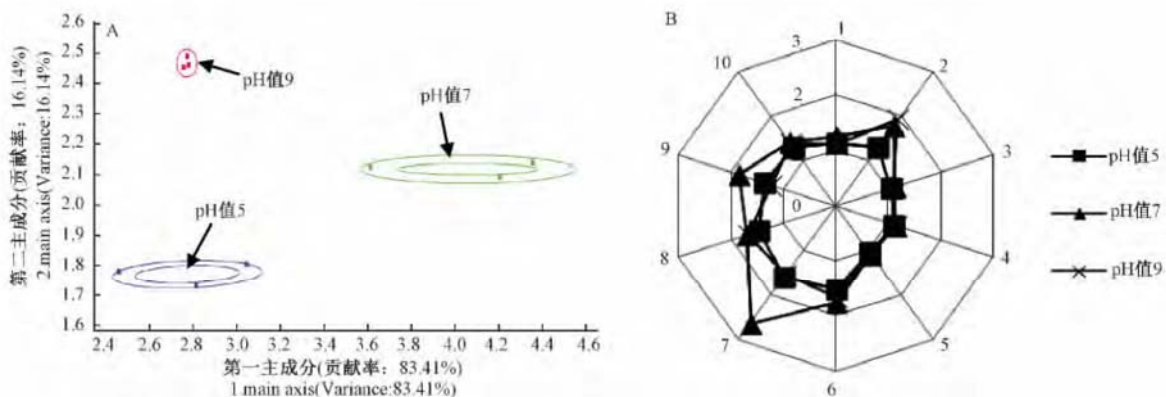


图 4 产物分子量分布变化

Fig.4 Changes of MW of MRPs

质在 P1、P2 上的相似度,主成分贡献率分别为 83.41%、16.14%,pH 值 5 和 pH 值 9 体系在 P1 上有一定相似性,P2 无交集,pH 值 7 体系与其它两个体系在 P1、P2 上都无相似性,说明风味物质类型及含量存在差异^[12],这与它们在图 5 - B 上显示的各传感器电导率比值的差异是对应的。如图 5 - B 所示,三个体系主要在对氮氧化物灵敏的 2 号和对有机硫化物灵敏的 7、9 号传感器的比值上存在较大差异,氮氧化物是 Maillard 反应中间产物和褐变产物的重要组成部分,pH 值越大 Maillard 反应越剧烈,氮氧化物含量升高导致 pH 值 5 体系 2 号传感器比值低于其他两个体系,引起 pH 值 5 体系和 pH 值 9 体系在 P2 上无相似性;硫胺素在 pH 值 ≤ 7 条件下加热裂解生成 5 - (2 - 羟



注:A:MRPs 挥发性风味物质主成分分析; B:MRPs 挥发性风味雷达图

Note: PCA of volatile flavor components from MRPs; B: Radar character of volatile flavor components from MRPs

图 5 MRPs 挥发性风味物质成分分析

Fig.5 Analysis of volatile flavor components from MRPs

乙基)-4-甲基噻唑与其它物质结合成较稳定的不易挥发的含硫有机物^[4],在pH值 ≥ 7 条件下加热生成 H_2S 、S和3-巯基-2-戊酮,裂解产物参与Maillard反应导致含硫有机物种类及含量增多,而碱性环境加剧硫胺素裂解,反应过程中生成 H_2S 增多,含硫有机物产物含量减少,导致pH值7体系7号和9号对有机硫化物灵敏的传感器的电导率比值比其它两个体系大^[17],引起pH值7体系肉香味较浓,同时pH值5体系肉香味较淡,pH值9体系硫味较重。

3 讨论

目前对鸡骨利用的研究主要侧重于酶解效果^[2]、挥发性风味物质及滋味物质的分析^[3,7,9],以此来优化酶解、Maillard反应工艺条件,为鸡骨副产品的制备提供理论支持,本研究讨论了pH值5、7和9共3个体系下鸡骨素酶解液MRPs关键化学组分随热反应时间的变化及MRPs色泽、风味等特性的变化,发现pH值9体系分子量分布变化明显,褐变程度加深,这与孙方达等^[18]关于初始pH值对猪骨蛋白水解物美拉德产物特性的影响研究中结果一致,但pH值7体系的pH值减小速率比其他两个体系大和孙丽平等^[9]以葡萄糖-赖氨酸为模型体系研究pH值对MRPs挥发性风味物质时发现的初始pH值越大,pH值下降程度越大的结果不同,这主要是由于硫胺素在不同pH值条件下裂解途径不同引起各体系有机酸等产物含量不同,其中pH值7体系硫胺素裂解产物更有利于有机酸类物质的生成^[17],同时pH值7体系风味发育程度也大于其他两个体系,尤其有机硫化物含量较高,这与孙红梅等^[9]对pH值7体系MRPs挥发性风味成分进行GC-MS分析时发现的以有机硫化物为主要成分的杂环类化合物含量占挥发性风味物质总量的42.86%的结论是一致的。本试验只是对以鸡骨素酶解液为原料制备的MRPs密切相关的化学组分及风味、色泽、分子量分布等产物特性进行了分析,抗氧化性、ACE抑制率等功能性及高价值目标产物的生成机制还需进一步研究。

4 结论

不同初始pH值影响木糖、半胱氨酸、硫胺素等添加物的含量及状态,造成各体系反应初期氨基酸、糖等Maillard反应基础底物含量不同,引起MRPs化学组分随热反应时间的差异。反应初期pH值5、pH值7体

系中氨基酸、还原糖初始含量较高,多肽交联作用较强,多肽含量增加,同时pH值9体系有所下降;各体系总糖含量随反应时间持续降低;反应历程不同导致反应终点MRPs分子量分布差异,其中碱性体系生成更多大分子物质,引起产物颜色加深。不同pH值条件下硫胺素等物质降解途径不同对MRPs风味贡献不同,引起各体系风味成分差异,其中pH值7体系中有有机硫化物含量最高,肉香味浓郁,pH值9体系因 H_2S 等物质含量较高、刺激性气味较浓。本研究结果为高价值骨素产品的开发提供了理论支持。

参考文献:

- [1] Sara I F S M, Wim M F J, Martinus A J S V B. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling [J]. Trends in Food Science & Technology, 2001, 11 (9/10): 364-367
- [2] 董宪兵,唐春红,张春晖. 组合酶水解鸡骨素工艺研究与水溶液风味分析 [J]. 核农学报, 2013, 27 (5): 629-634
- [3] 孙红梅,张春晖,李侠,李银,董宪兵,王春青,谢小雷. 鸡骨素及其酶解液 Maillard 反应产物滋味成分研究 [J]. 现代食品科技, 2013, 29 (8): 1872-1877
- [4] Sun W Z, Zhao M M, Cui C, Zhao Q Z, Yang B. Effect of Maillard reaction products derived from the hydrolysate of mechanically deboned chicken residue on the antioxidant, textural and sensory properties of cantonese sausages [J]. Meat Science, 2010, 86 (2): 276-282
- [5] 陈美花,吉宏武,励建荣. 马氏珠母贝酶法抽提物美拉德反应产物呈味成分分析 [J]. 中国调味品, 2010, 39 (5): 42-47
- [6] Morales F J, Martinus A J S V B. A study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: color formation [J]. Dairy Journal, 1998, 8 (10/11): 907-915
- [7] 孙红梅,董宪兵,李银,李侠,张春晖,贾伟. 应用模糊数学优化鸡骨素美拉德反应工艺 [J]. 中国食品学报, 2014, 14 (6): 213-216
- [8] Dong X B, Li X, Zhang C H, Wang J Z, Tang C H, Sun H M, Jia W, Li Y, Chen L L. Development of a Novel Method for Hot-pressure Extraction of Protein From Chicken Bone and the Effect of Enzymatic Hydrolysis on the Extracts [J]. Food Chemistry, 2014, 157: 339-346
- [9] 孙红梅,李侠,张春晖,董宪兵,李银,贾伟. 鸡骨素及其酶解液的美拉德反应产物挥发性风味成分比较分析 [J]. 分析测试学报, 2013, 32 (6): 661-667
- [10] 鲁伟,任国谱,宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法 [J]. 食品科学, 2005, 26 (7): 169-171
- [11] Church F C, Swaisgood H E, Porter D H, Cagnanl G L. Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins [J]. Dairy Science, 1983, 66 (6): 1219-1227
- [12] Liu M, Han X M, Tu K, Pan L Q, Tu J, Tang L, Liu P, Zhan G, Zhong Q D, Xiong Z H. Application of electronic nose in chinese spirits quality control and flavour assessment [J]. Food Control,

- 2012, 26 (2) :564 – 570
- [13] Lan X H, Liu P, Xia S Q, Jia C S, Mukunzi D, Zhang X M, Xia W S, Tian H X, Xiao Z B. Temperature effect on the non – volatile compounds of Maillard reaction products derived from xylose – soybean peptide system: further insights into thermal degradation and cross – linking [J]. Food Chemistry, 2010, 120 (4) :967 – 972
- [14] Cerny C, Briffod M. Effect of pH on the Maillard reaction of [¹³C₅] xylose, cysteine, and thiamin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55 (4) :1552 – 1556
- [15] Kim J S, Lee Y S. Study of Maillard reaction products derived from aqueous model systems with different peptide chain lengths [J]. Food Chemistry, 2009, 116 (4) :846 – 853
- [16] Laroque D, Inisan C, Berger C, Vouland É, Dufossé L, Guérand F. Kinetic study on the Maillard reaction. consideration of sugar reactivity [J]. Food Chemistry, 2008, 111 (4) : 1032 – 1042
- [17] 阚建全, 谢笔钧. 食品化学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008
- [18] 孙方达, 孔保华, 韩齐, 陈倩, 刘骞. 反应初始 pH 和加热时间对猪骨蛋白水解物美拉德产物特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2013, (22) :106 – 115
- [19] 孙丽平, 汪东风, 徐莹, 张莉, 张宾, 刘炳杰. 初探 pH 和加热时间对美拉德反应挥发性产物的影响 [J]. 食品工业科技, 2009, (4) :122 – 155
- [20] Jiang Z M, Wang L Z, Wu W, Wang Y. Biological activities and physicochemical properties of Maillard reaction products in sugar – bovine casein peptide model systems [J]. Food Chemistry, 2013, 141 (4) : 3837 – 3845
- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 9695. 31—2008 肉制品总糖含量测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008
- [22] 李京, 范慧红. 高效体积排阻色谱与多角激光光散射仪联机测定低分子肝素分子量及分子量分布 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44 (2) :140 – 142

Characteristics of Maillard Reaction Products From the Enzymatic Hydrolysate of the Chicken Bone Extract as Influenced by pH

TANG Chunhong¹ HU Li^{1,2} WANG Jinzhi² ZHANG Chunhui²
SUN Hongmei² LI Xia²

¹ College of Environmental and Biological Engineering, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067;

² Comprehensive Key Laboratory of Agro-Products Processing, Ministry of Agriculture/ Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

Abstract: The influence of different initial pH on the characteristics of Maillard reaction productions (MRPs) with the thermal reaction was studied by using a system with the enzymatic hydrolysate of the chicken bone extract, xylose, cysteine and thiamin. The pH, the formation of intermediate products, browning, peptide content, total free amino acid and total sugar content were analyzed, and molecular weight distribution and volatile flavor composition were analyzed by qualitative analysis. The study found that the content of total free amino acid and total sugar were influenced differently by the initial pH in each system. The peptide content of the final product of pH 5, pH 7 and pH 9 systems were 100.11, 100.01 and 104.55 mg · mL⁻¹, respectively. There were not peaks of 2.3, 1.39 kDa but 2.95, 1.04 kDa in molecular weight distribution analysis of the MRPs of pH 9 systems compared with the other two systems, and the browning of pH 9 system was 1.7 times that of pH 7 system. With the increasing of pH value, the volatile flavor compounds changed, the response value of sulphur – organic of pH 7 system was approximately 1.6 times that of the other two systems, and the response value of nitrogen oxides of pH 9 system was maximum in each system. In conclusion, the influence of the initial pH on the Maillard reaction mechanism was different, it led to different changes of the chemical components of MRPs with the thermal reaction in each system.

Keywords: the enzymatic hydrolysate of chicken bone extract, maillard reaction, pH, chemical composition