第10卷 无锡轻工业学院学报 Vol.10
第1期 JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY 1991 No.1

对以美拉德反应形成的肉类香精在气相色谱分析中不同富集方法比较

彭奇均
(化学与化学工程系)

摘要 本文研究了顶空法和L-N样品分离浓缩方法在肉类香精成分的气相色谱分析中体现的不同特点。

关键词 顶空法；L-N法；肉类香精

0 前 言

在香精香料成分分析中，目前世界上最有效、应用最广泛的仍是毛细气相色谱-质谱联谱方法，而作为其样品的准备(即香料的分离浓缩)则有许多方法，如：吸附、萃取、蒸馏、Likens-Nickerson同时蒸馏/萃取法(以下简称L-N法)[1]及顶空分析法(headspace静态法)[2,3]而这后两种方法目前正受到越来越广泛的重视和应用。

本实验利用L-N及静态顶空分析法对肉类香精进行香味料分离浓缩，用毛细气相色谱-质谱联谱仪进行分析研究，分析比较所获结果，以检定此两种方法在食品香精分析上的差别。实验样品为西德 Wiug Schluter和 Hercules 公司以 Maillard 反应生产的两种肉类香精。

1 试验方法

1.1 静态顶空法

1.1.1 实验原理 静态顶空是将样品(固体、液体或溶液)装在一个与外界隔绝的体系中，一定时间后在样品相和由此产生的蒸汽空间将产生一个动态平衡，在这个空间中所有成分以相应的分压分布，在达到平衡后可以从中取出一部分气体进行气相色谱研究。

图1显示了两种不同量的顶空分析研究装置，右边小的一种最大抽气量只有1ml，而这装置中最关键的是一个气密阀门及在此上面的一个玻璃收束管，其作用是当针头导管伸进去并打开阀门时，不使样品蒸汽外泄。

在顶空分析法中影响结果的因素有：

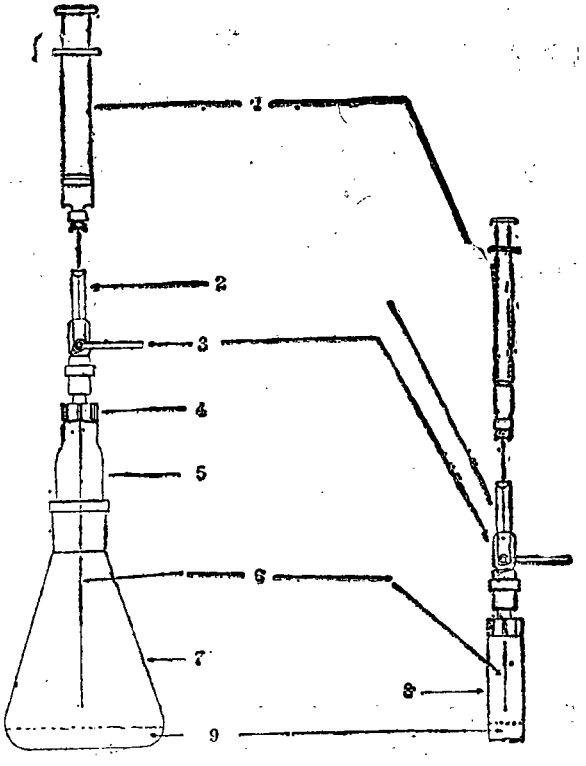
a.样品称量

b.所使用的样品瓶体积

c.所取的顶空气体体积

本文1990年5月22日收到。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



1——气密注射器(1或10ml)； 2——玻璃收束管； 3——阀门； 4——带聚四氟乙烯密封圈的螺旋盖； 5——玻璃接头； 6——熔融氧化硅导管； 7——250ml磨口三角烧瓶； 8——14ml螺旋盖玻璃瓶； 9——样品

图1 不同的顶空分析装置

d.平衡时间

e.在水介质或无水介质中工作

f.温度

1.1.2 最佳参数选择 在选择样品量、瓶体积及顶空气体体积的试验上，我们在20℃时做了以下试验：

	样品量 (g)	样品瓶	顶空气体体积 (ml)
A	1	14ml螺旋盖瓶	1
B	1	250ml三角磨口瓶	1
C	1	250ml三角磨口瓶	10
D	10	250ml三角磨口瓶	1
E	10	250ml三角磨口瓶	10

实验证明E是最可推荐的方法。

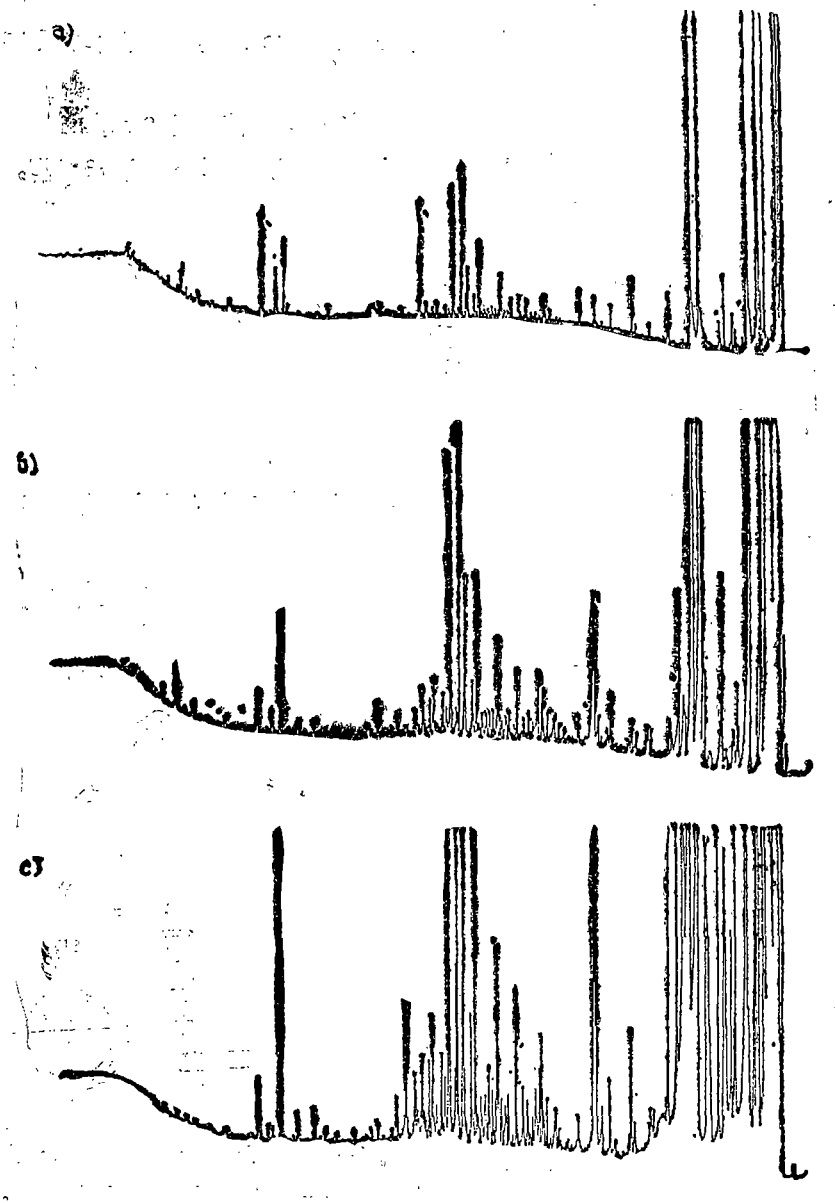
对于平衡时间的试验：取不同平衡时间(0.5、1、2、3h)后，对样品进行气相色谱分析，发现1h后的各图谱一样。

对水溶液分析的结果显示与无水时没有什么差异，而且由于水蒸汽的存在将影响气相色

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

谱中毛细分离柱的寿命，及在采用冷冻进样时堵塞管子，因此我们以后的所有实验都是在无水状态下进行。

对于平衡状态温度的影响：在20℃、50℃、70℃下进行了试验(见图2)。随着温度的升高，主要是易挥发化合物中的一些不易挥发成分增加了，因此提高温度将起到一个很好的作用。根据物质的热力学性质(如在一定温度下的蒸汽压)也可以推测到在升温下各组分浓度的增加



a)20℃　b)50℃　c)70℃

图2　用顶空气相色谱进行的不同温度的色谱图

是不同的。我们在积分仪的帮助下通过色谱图的定量得到确证：在温度从20℃提高到120℃，对于不同的化合物富集系数可在3—120之间，但高温的应用不可避免将产生热裂解或异构，尤其对于活性化合物。同时对于含水分较高的样品将导致水蒸汽大量增加，在低温连续进样

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

时堵塞前柱。

由于在顶空气体样品中含有大量空气，所以我们选择了以甲基硅作固定相的对空气不敏感的DB-1毛细分离柱。

1.1.3 实验部分 称量10g肉类香精加入250ml磨口三角烧瓶中(或1g加入14ml螺旋盖瓶中)并在试验温度下(20℃，50℃，70℃)放置1—1.5h然后用一带有熔融氧化硅导管的气密注射器以0.5ml/min的速度取出气体。

气相色谱仪 Carlo Erba 毛细气相色谱，5160Mega系列，带有自动程序升温装置MFC500及测量装置EL480。

毛细分离柱 J&WDB-1 60×0.323mm液膜厚1μm，载气 氦 2ml/min

温度程序 30℃，5min；30—40℃，1℃/min；40℃，1min；40—260℃，3℃/min；260℃，60min

检测器 FID，280℃

燃气 氢气:30ml/min,空气:300ml/min

加入样品体积 1—20ml 在液氮冷却下柱头进样(on-column)

打印机 Servogor S

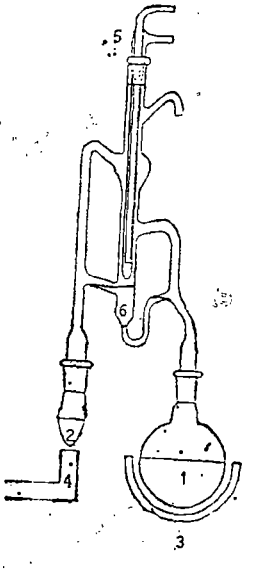
纸速 300mm/h

1.2 L—N法

1.2.1 实验原理 此法是通过同时加热样品的水溶液相与有机溶剂至沸腾来实现的。实验装置如图(3)所示。

上升的两种蒸汽在同一个冷却管中凝结，冷凝水液在萃取区内通过有机相(或由于有机溶剂的不同，使有机相通过水相)下降，在这过程中，水液中所带的香料为有机溶剂很好的萃取。两相分离后各自流回相应的沸腾相中，这样可被提取出的成分就将在有机相中富集，而通过沸腾的有机相可使萃取区内一直注入新鲜的有机溶剂，根据能斯特分配原则就可使萃取的香料成分一直不断地转入有机溶剂中去。

1.2.2 最佳参数选择在蒸馏时间上我们选择了2、4和8h进行试验，通过毛细气相色谱预分析，发现在4h后达到的萃取程度与4h的萃取程度一致，而加入的样品量以我们所使用的样品在10g左右已足够。在萃取溶剂的选择上，我们用乙醚、正丁醇、四氯化碳、三氯甲烷、正已烷做过试验，发现后4种溶剂在样品浓缩去溶剂时都导致较多的香料成分损失，因此我们选用了乙醚作为萃取溶剂。为获得与顶空法较好的对比效果而采用了DB-1毛细管柱进行气相色谱研究。为避免换柱的麻烦及损害柱寿命



1——装有样品水液的100ml圆底烧瓶；
2——装乙醚的10ml圆底烧瓶；
3——电热包；
4——热空气吹风器；
5——冷却管(水温2℃)；
6——萃取区；

图3 Likens和Nickerson微型蒸馏装置

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

也采用了柱头进样法。

1.2.3 实验部分　10g肉类香精加入100ml圆底烧瓶中，加入50ml、0.5mol/L的磷酸缓冲液(pH=6.5)并进行4h的回流萃取，另一边以5ml乙醚加入10ml的尖底烧瓶中，用热空气微微加热至沸腾，所得的萃取液将在冷冻除水后以玻璃棉过滤，过滤液用Vigreux柱浓缩至2ml进行气相色谱研究。

气相色谱在使用DB-1毛细柱时条件与顶空法中相同，进样量为0.2μl。

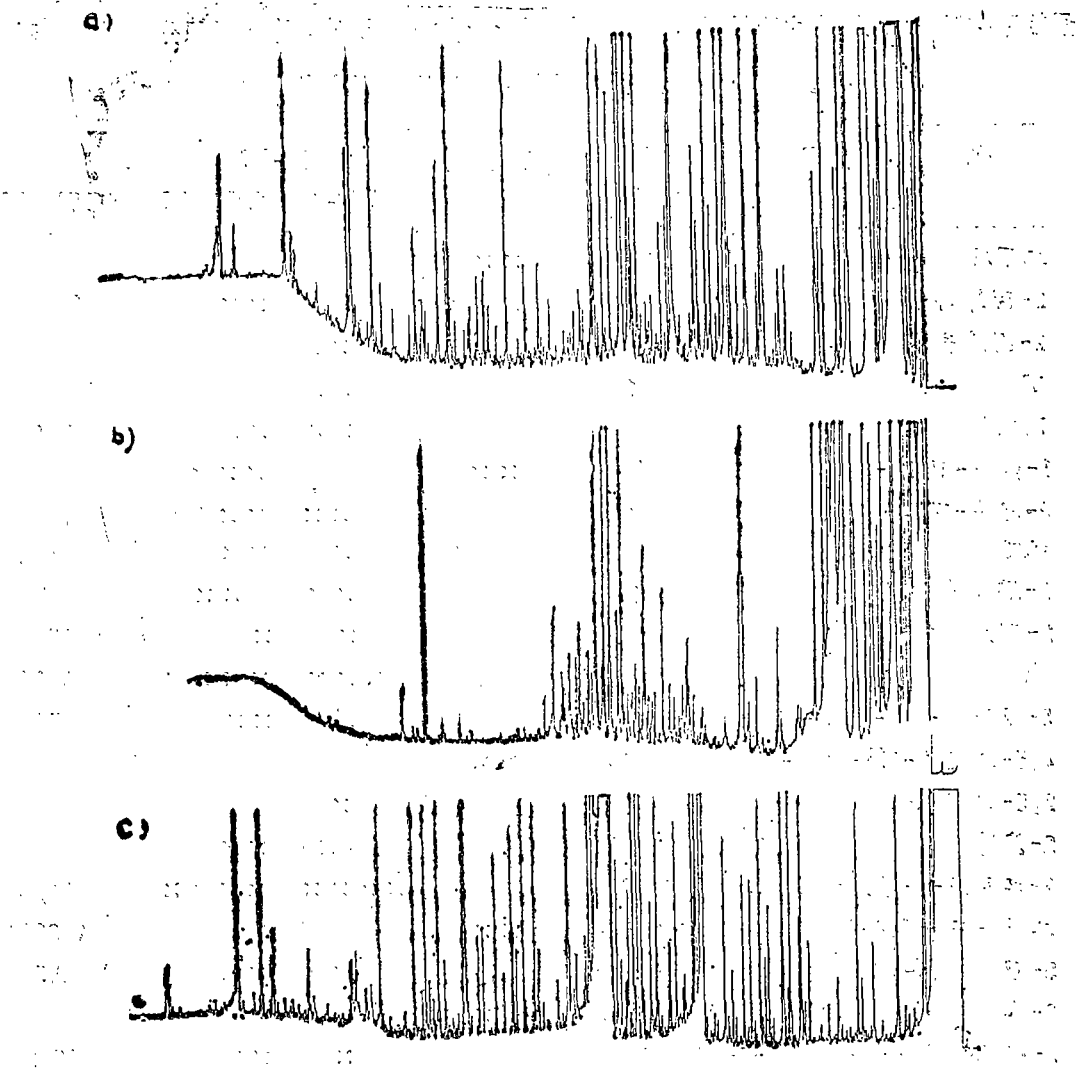
在使用Carbowax20M毛细管柱时，条件如下：气相色谱仪如顶空分析法

分离柱　J & W Carbo-Wax　20M，60×0.25mm，液膜厚0.25μm

载气　氦气，2ml/min

温度程序　40℃，5min；40—210℃，2℃/min；210℃，60min；

检测器　FID，250℃



a)L-N法(DB-1)　b)静态顶空法　c)L-N法(CW20M)

图4　第一种肉类香精用不同方法所获得的气相色谱的相对位置图

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

燃气 氢气 30ml/min
空气 300ml/min
进样量 1μl
进样分流 1∶5
打印机 Servogor S
纸速 300mm/h

2 L-N法与顶空法的比较和讨论

图(4)是用L-N法和顶空法所得到的第一种肉类香精的气相色谱图，可以看到存在大量的组分峰，而香料组分在不同的试验条件下的色谱峰出现的保留时间是不同的，可见没有质谱测定是不可能进行峰的确认，因此我们又进一步做了色-质联谱试验。

表1中列出了通过色-质联谱所确定的第一种肉类香精所含的部分化合物，及对各化合物量粗略估计，这种量的估计是通过质谱仪中的Incos数据系统对各峰面积积分进行的。表中×

表1 第一种肉类香精中用质谱法测定出的化合物

化合物	RI (DD-1)	顶空法	N-L法 DB-1	N-L法 (CW20M)	RI (CW20M)
二甲硫醚	(700)	××××			
2-丙烯醇-1	700	×××		××	(1122)
2-丙烯硫醇	700		××		
丁醛	(700)		××		
丙硫醇	700		××	××	(828)
1-羟基-丙酮-2	(700)	××		×××	1287
3-羟基-丁酮-2	713		××	××	1272
吡咯	751		×	××	1494
2-醛呋喃	827		××	×××	1453
2-甲基吡咯	(842)		×	×	1547
糠醇	858		×××	××××	1651
5-亚甲基-3H-呋喃-2酮	(882)		××	××	1578
4,5-二羟基-3H-呋喃-2酮	910	××			
2,5-二甲基吡咯	927		×		
2-蒎烯	931		(×)	××	
2-羟甲基-5-甲基呋喃	958		××××	××××	1714
二甲基三硫化合物	(958)	××		×	(1380)
5-甲基呋喃-2醛	(962)		××	××	1559
2-非兰烯	1002	××	(×)		
2-羟基-3甲基-2-环戊烯-1-酮	1026		××	××	1818
苯乙醇	1032		×	×	1865
2,5-二甲基-4-羟基-2H-呋喃-3酮	(1067)		××	××	2022

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

续表1

化　合　物	RI (DB-1)	顶空法	L-N法 DB-1	L-N法 (CW20M)	RI (CW20M
3-乙基-2-羟基-2环戊烯-1酮	1117		××		
2,3-二氢化-3,5-二羟基-6-甲基-四氢吡喃-4酮	(1142)		×	×	2269
3-苯呋喃	(1220)		(×)	(×)	(1851)
吲哚	1292		(×)		
2-乙酰基-4-甲基苯酚	(1313)		××		
5(6)-甲基-2-(2-呋喃基)-吡嗪	(1354)		×		
1-苯乙酮	1356		×		
蒎草烯	1460	×	×		
2-乙酰基-1-(2-糠基)-吡咯	1477		×	×	(2259)
2-甲基-1,3-二噁戊烷				××	953
吡嗪				×	1199
α-甲基吡嗪				×	1254
1-羟基-2-丁酮				××	1361
α-乙基-6-甲基吡嗪				×	1378

RI：校正保留指标　　××××：极高浓度

CW20M：Carbowax 20M分离柱　×：非常低浓度

(×)：痕量

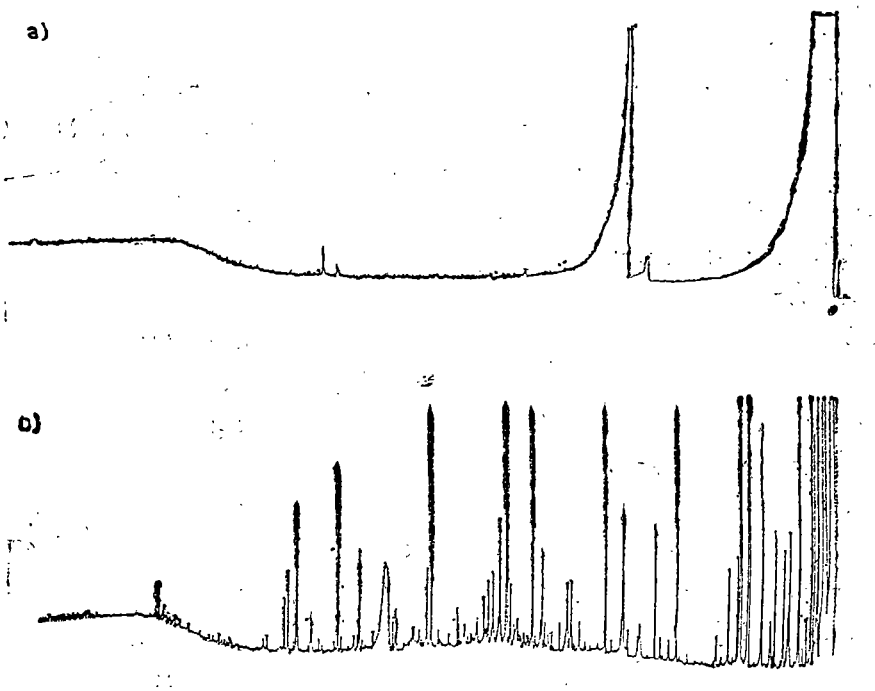
的数目就是这样一种半定量估计。

各单体组分是根据它们的质谱图及相对保留时间确定的(以保留标志来计算)。它是以VandenDool和Kratze为程序升温气相色谱而编写的Kovats标志公式来计算的[14]。作为标准使用了基准样品，表中那些括起来的保留标志因在计算机系统的数据库中没有发现相符合的确切的保留标志，因此它们的确定不是通过比较标准化合物，而是通过与计算机系统中的NBS资料库里的标准图谱[5]比较来确定的，这种确定并不是十分可靠的。

图5是第二种肉类香精在L-N法和顶空法下的气相色谱图，同样我们也进行了色-质联谱分析以确定其中的化合物的成分。

为了使质谱分析结果更明显的显示出来，我们在图6中将其主要化合物以柱式图表的方式显示出来，图中最强的峰面积作为100，其它峰面积依此计算。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net



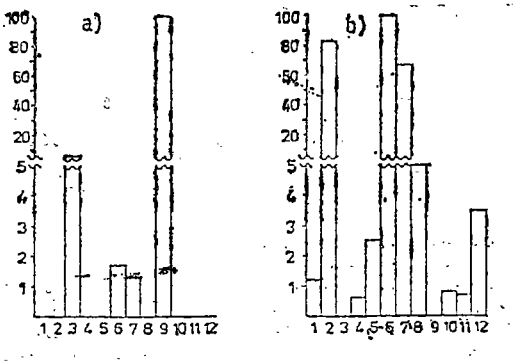
a)L-N法 b)顶空法

图5 第二种肉类香精的色谱相对位置图

通过对以上二种肉类香精分析结果的比较可以看到：

a.由图4可看到在顶空法中组分峰集中在图谱的前部，而在L-N法中组分峰是平均出现在整个图谱中。即在顶空分析中主要检出的是易挥发的化合物成分，而在感官研究中知道，这些化合物在决定化合物“香气”的基调方面起了很大作用。L-N法虽能将香精香料从易挥发到难挥发整个区域内的化合物平均检出，但其所检出的易挥发化合物部分却明显少于顶空法，我们认为这是由于这些易挥发成分已经在L-N法的分离浓缩过程中损失掉了。如果说顶空法在分析香料“香气”方面有明显特点的话，则L-N法更适合于体现香料的“香味”性质。

b.通过对表1及图6的观察可以发现，在静态顶空法中有一些成分未被发现，而这些成分在L-N法中则是作为主



1——呋喃
2——2-甲基丙醛
3——2,3-丁二酮
4——2-甲基呋喃
5——四氢呋喃
6——3-甲基丁醛
7——2-甲基丁醛
8——二甲二硫化物
9——α-羟甲基呋喃
10——2,5-二甲基吡嗪
11——2,6-二甲基吡嗪
12——二甲基三硫化物

图6 第二种肉类香精主要成分柱式分布图

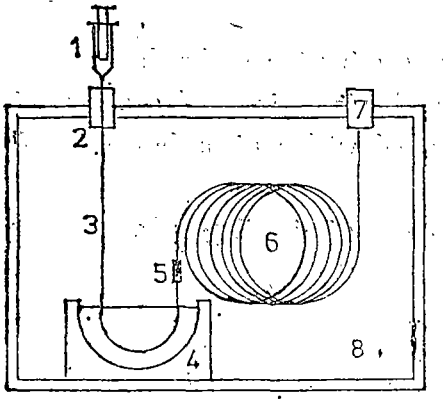
© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

要成分被检出的。

这些成分大都是呋喃的衍生物，如α-羟甲基呋喃，2-羟甲基-5-甲基呋喃，α-乙酰呋喃；5-甲基-三氢呋喃-2酮等。接着可以发现这些化合物都是在焦糖化过程中存在的化合物。我们可以推测到在L-N法中肉类香精水溶液在连续长时间高温沸腾下产生了水溶液中的糖解反应。

C.顶空法和L-N法在第二种肉类香精的研究中可以发现非常显著的不同(图5)，这里在L-N法中只得到一个主要组分峰，而在顶空法中则出现了许多组分峰。

这是由于第二种肉类香精(Hercules公司产品)的贮放期已达到6年之久，大部分易挥发组分已损失掉。在顶空法中我们采用了多批量进样的方法(图7)增大进样量，以利分析。由于较难挥发成分在贮藏时损失较少，因此能更好地被检测出来。在L-N法中，一是由于挥发性组成大部分已损失掉，二是由于其中的α-羟甲基呋喃不挥发或可能由于以下原因含量反而增加：长期贮放过程中的分解反应；长期贮放后使别的化合物更易于在L-N蒸馏中产生糖解生成α-羟甲基呋喃，这样使图谱中出现了α-羟甲基呋喃的特大组分峰，并由于它的特高浓度又影响了其它组分的分析和鉴定。



1——带熔融氧化硅导管的气密注射器；2——柱头进样注射口；3——迟缓区；4——装液氮的柱瓦瓶；5——联结装置；6——毛细柱；7——检测器(FID)；8——气相色谱炉箱

图7　气相色谱中的冷冻多批进样示意图

d. 对图4a)、c)及表1的分析中可看到在Carbowax20M毛细管柱上发现的一些组分在DB-1柱上未能被发现。Carbowax20M是属于极性固定相，样品各单体组分与柱的固定相之间存在着强烈的交换作用而延长了在柱中的逗留时间。DB-1柱是以甲基硅为固定相，实际上是按组分的沸点顺序进行分离的。对于香精香料中各化合物的分离Carbowax20M显然有更好的效果，但是此柱对空气的敏感性限制了其在静态顶空法中的应用。使用动态顶空法应能够弥补静态顶空法这方面的缺陷，已有此类报道[6,7,8]。

参　考　文　献

1　Nickerson G B, Likens S T. J Chromatogr, 1966; 21: 1

2　Gagliard P, Verga G B. J Chromatogr, 1983; 279, 323

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 Gramiceion L, Milana M R. Chromatographia, 1986; 21, 9
4 Van Den Dool H, Kartze PJ. Chromatogr, 1963; 11: 463
5 Massen Spectram collection of 1: brarg of the National Bureau of Standards(NBS), VSA
6 Aslard E R, Davenpor J N.Chromatographia, 1983; 17: 421
7 Etievant P, Maarse H. Chromatographia, 1986; 21: 379
8 Nunez A J, Maarse H. Chromatographia, 1986; 21: 44

The Contrast of Concentrated Methods in GC analysis for Maillard-reactioned meat flavor

Peng Qijun
(Dept. of Chem. &chem Eng.)

Abstract In this paper, distinction of headspace and likens-Nickerson simultaneous distillation in the isolation and concentration of meat flavor and aroma components generated with maillard-reaction for GC analysis are studied.

Keywords headspace; L－N distilation; meat flavor

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net