

响应面法优化超临界二氧化碳萃取酱鸭挥发性风味物质的工艺

王强¹, 邓泽元^{1,*}, 范亚苇¹, 胡蒋宁¹, 刘蓉¹, 李静¹, 赵丽萍¹, 杜金平²

(1.南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2.湖北省农业科学院, 湖北 武汉 430064)

摘要: 采用响应面法优化超临界二氧化碳萃取酱鸭挥发性风味物质的工艺, 探讨萃取压力、萃取温度和萃取时间对风味物质萃取比率的影响。结果表明: 挥发性风味物质的萃取比率随萃取压力和萃取温度的升高而降低; 随萃取时间的增大而升高, 但达一定程度后又呈现下降趋势; 分析所得的回归方程确定最佳工艺修正参数为萃取压力 11MPa、萃取温度 41℃、萃取时间 60min, 在此条件下酱鸭挥发性风味物质的萃取比率为 83.45%; GC-MS 分析表明萃取物中有 60 种成分, 大部分萃取物是脂质氧化和美拉德反应的产物, 如醛类、酮类、脂肪烃、芳香烃、酯类、杂环类化合物。

关键词: 酱鸭; 超临界二氧化碳; 挥发性风味物质

Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Volatile Components from Sauced Duck Using Response Surface Methodology

WANG Qiang¹, DENG Ze-yuan^{1,*}, FAN Ya-wei¹, HU Jiang-ning¹, LIU Rong¹, LI Jing¹,
ZHAO Li-ping¹, DU Jin-ping²

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
2. Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

Abstract: Response surface methodology (RSM) was employed to optimize the supercritical CO₂ extraction conditions for volatile components from sauced duck. The effects of extraction pressure, temperature and duration on the ratio between volatile components and total extract were investigated. Results indicated that the ratio between volatile components and total extract was decreased with the increase of extraction temperature and pressure, while the ratio exhibited an initial increase and a final decrease with the increase of extraction time. The optimal extraction pressure, extraction temperature and extraction time were determined to be 11 MPa, 41 °C and 60 min, respectively. The ratio between volatile components and total extract was up to 83.45% under these optimal extraction conditions. A total of 60 volatile compounds were identified in extract by GC-MS. Most of these volatile compounds were lipid oxidation and Maillard-reaction products, such as aldehydes, ketones, aliphatic hydrocarbons, aromatic hydrocarbons, esters and heterocyclic compounds.

Key words: sauced duck; supercritical carbon dioxide; volatile components

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)20-0187-05

鸭肉具有低脂肪、低胆固醇、高蛋白等营养特点, 其脂肪酸熔点低, 易于消化吸收, 同其他肉类相比, 鸭肉含有较多的 B 族维生素、VE 和烟酸, 能有效抵抗脚气病、神经炎等多种炎症, 可缓解心肌梗死等心脏疾病, 有益于心脏健康^[1]。肉鸭大多加工成制品销售, 其中酱鸭因其滋味浓郁而且不油腻, 深受消费

者欢迎。酱鸭制品的加工是以我国传统烹饪技术为基础, 原料肉经预煮后, 再用酱油等调味料和香辛料加水煮制而成。因其工艺精湛、风味独特, 深受广大消费者欢迎, 并在各地创造了一批名特优产品。挥发性风味物质是影响肉制品风味的重要因素, 也是影响消费者接受酱鸭制品的重要因素。酱鸭挥发性风味物质的研

收稿日期: 2010-06-29

基金项目: 国家现代农业(水禽)产业技术体系资助项目(ncytx-45)

作者简介: 王强(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: 37109094@163.com

* 通信作者: 邓泽元(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为脂肪酸及天然产物。E-mail: dengzy28@yahoo.com.cn

究对于食品工业,特别是食品风味工业具有重要意义。

超临界流体技术在近几十年来发展迅速,在食品、医药、化工、材料科学、环境科学、分析技术等领域已得到广泛的应用。因二氧化碳临界温度和临界压力低(31.06℃, 7.39MPa),对中、低分子质量和非极性的天然产物有较强的亲和力,而且具有环境友好的特点,超临界二氧化碳技术广泛用于功能性油脂、挥发性油、生物碱、苷类、香豆素类、萜类的提取^[2-3]。许多研究者成功地从不同的肉制品中获得了风味物质^[4-5],Merkle等^[6]用超临界二氧化碳萃取技术获得了与最初来源极具相似并且比其他萃取方法更高质量的风味成分。Major^[7]通过细微改变流体密度的方法从热不稳定的样品中分离出不同种类的挥发性成分。

本实验以鸭肉为研究对象,采用响应面法研究压力、温度和时间对超临界二氧化碳萃取酱鸭中挥发性风味物质的影响,得出萃取的最优工艺,且对挥发性风味成分进行检测。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

酱鸭(剔除骨头) 南昌市购。

HA120-50-01型超临界流体装置 江苏南通华安超临界萃取公司; 7890-7000B 气质联用仪 Agilent 公司。

1.2 方法

1.2.1 超临界二氧化碳萃取工艺

将酱鸭在-18℃冷冻24h后切成约0.5cm薄片,然后粉碎,称取粉碎的样品100g,装入萃取釜中,设定萃取温度(40~50℃)、分离温度(35~45℃),待温度恒定时调节萃取压力(10~20MPa),萃取一定时间后将提取物于分离釜底部放出收集。

1.2.2 挥发性成分萃取比率

将萃取物进行GC-MS分析,确定其化学组成,采用峰面积归一法进行定量分析,计算出挥发性物质(表4中的60种物质)占总萃取物的比率。

$$\text{挥发性成分萃取比率} = \frac{\text{萃取物中挥发性成分的峰面积}}{\text{萃取物总的峰面积}}$$

1.2.3 响应面试验方案

表1 响应面试验设计因素水平表
Table 1 Factors and levels in the response surface design

因素	水平		
	-1	0	1
X ₁ 时间/min	40	60	80
X ₂ 压力/MPa	10	15	20
X ₃ 温度/℃	40	45	50

利用响应面分析法对酱鸭挥发油提取工艺条件进行优化。根据预实验结果,选取萃取压力、温度和时间3个因素(表1),用Box-Behnken中心组合试验设计原理优化工艺参数。

1.2.4 GC-MS分析

将超临界二氧化碳萃取产物完全溶于三氯甲烷中,定容至10mL,过0.45μm滤膜,采用GC-MS进行分析。GC条件:色谱柱为HP-5MS(0.25mm×30m, 0.25μm);载气:氦气,1mL/min;进样口温度:250℃;分流进样量:1μL;分流比:1:20;柱温升温程序:初始60℃,保持1min,以10℃/min速度升温至180℃,保持10min;以2.5℃/min速度升温至280℃,保持20min。

MS条件:电离方式为EI;离子源温度150℃;四级杆温度150℃;接口温度280℃;电子能量70eV;质量扫描范围为50~500u。

2 结果与分析

2.1 响应面分析方案及结果

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface design matrix and experimental results

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	Y挥发性成分萃取比率/%
1	-1	-1	0	79.24
2	-1	1	0	70.69
3	1	-1	0	80.38
4	1	1	0	76.26
5	0	-1	-1	83.65
6	0	-1	1	77.31
7	0	1	-1	74.16
8	0	1	1	68.73
9	-1	0	-1	80.39
10	1	0	-1	81.52
11	-1	0	1	71.29
12	1	0	1	74.28
13	0	0	0	81.35
14	0	0	0	80.93
15	0	0	0	81.21

采用SAS 8.0 (SAS Institute Inc.)对所得数据进行回归分析,数据经多元拟合后得到回归方程如下:

$$Y=81.16333 + 1.35375X_1 - 3.8425X_2 - 3.51375X_3 - 1.806667X_1^2 + 1.1075X_1X_2 + 0.465X_1X_3 - 2.714167X_2^2 + 0.2275X_2X_3 - 2.486667X_3^2$$

其中, $R^2=0.9747$ 、 $R^2_{Adj}=0.9329$,表明回归方程与实际值具有高度拟合性。

由表3可知,回归模型 $P=0.001571 < 0.01$,表明模型极显著,失拟项 $P=0.1408 > 0.05$,不显著,说明该模型拟合程度良好,可以用此模型对酱鸭挥发性风味物质的超临界CO₂提取效果进行分析和预测。由回归模

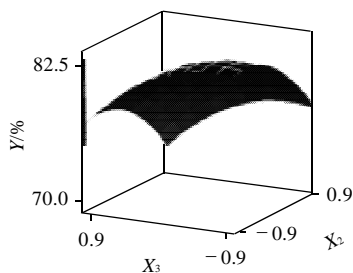
型系数显著性检验结果可知,模型的一次项 X_2 、 X_3 对挥发性物质超临界萃取的线性效应极显著,而 X_1 为影响显著;二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对挥发性物质超临界萃取的曲面效应显著,3个因素的交互作用效果不显著。表明各影响因素对萃取比率的影响不是简单的线性关系。

表3 回归方程的ANOVA分析
Table 3 Variance analysis for the fitted regression model

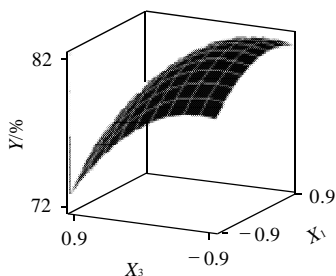
系数项	平方和	自由度	均方	F值	P值
X_1	14.66111	1	14.66111	10.20174	0.024156
X_2	118.1184	1	118.1184	82.19118	0.000273
X_3	98.77151	1	98.77151	68.72887	0.000417
X_1^2	12.05186	1	12.05186	8.386127	0.033953
X_1X_2	4.906225	1	4.906225	3.413933	0.123917
X_1X_3	0.8649	1	0.8649	0.601829	0.47296
X_2^2	27.20013	1	27.20013	18.92685	0.007356
X_2X_3	0.207025	1	0.207025	0.144056	0.719868
X_3^2	22.83143	1	22.83143	15.88695	0.01047
回归模型	291.6916	9	32.41017	22.5522	0.001571
失拟项	7.094125	3	2.364708	26.81	0.1408
误差	7.185592	5	1.437118		

2.2 响应曲面分析与优化

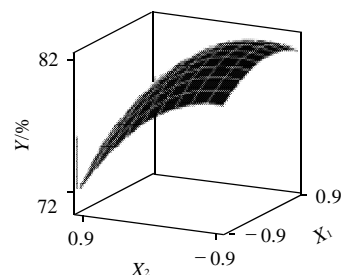
响应面图直观地反映了各自变量对响应值的影响,并且从图上可形象地看出最佳参数以及各参数之间的相互作用。图1(A)是在萃取时间为60min时压力和温度的响应曲面,随着萃取压力和萃取温度的增加,挥发性风味成分的萃取比率在不断增大,当萃取压力和温度分别升高到11.5MPa、41℃左右时,萃取比率达最大,而萃取压力和温度继续升高时,挥发性成分的萃取比率又会随之下降。



固定水平: $X_1=0$ 。
A. 萃取压力和温度



固定水平: $X_2=0$ 。
B. 萃取温度和时间



固定水平: $X_3=0$ 。

C. 萃取压力和时间

图1 各因素交互作用对挥发性成分萃取比率影响的响应曲面图
Fig.1 Response surface plot illustrating the interactive effects of any two factors on the ratio between volatile components and total extract

萃取压力15MPa、温度45℃条件下,萃取温度和萃取压力、时间对挥发性成分萃取比率影响的响应曲面分别见图1(B)、1(C)。随着萃取时间的延长,萃取比率随之增高,当时间大于60min左右时,萃取比率又呈下降趋势。

2.3 最佳工艺条件的优化

对模型方程取一阶偏导数等于零,求解得挥发性风味物质的最佳超临界提取工艺为萃取压力11.5MPa、温度41.5℃、时间61.3min。考虑到实际操作,对提取条件修正为萃取压力11MPa、萃取温度41℃、时间为60min,在此条件下酱鸭挥发性成分的萃取比率为83.45%,与理论评分值83.87%基本一致。因此,基于响应曲面法所得的优化提取工艺参数准确可靠,具有实用价值。

2.4 酱鸭挥发性成分的GC-MS鉴定

在最佳工艺条件下萃取的酱鸭挥发性风味物质用GC-MS分析,并通过NIST OSs.LIB和NIST OS.LIB谱图库自动检索获得目标组分的初步鉴定结果,再结合相关文献资料进行人工谱图解析,最终确定酱鸭挥发性成分的化学组成,采用峰面积归一法进行定量分析,计算出挥发性物质化学组分的相对含量,结果见表4。

由表4可知,在酱鸭中共检测出60种挥发性化合物,其中包括酸类13种、酮类3种、醛类10种、烯烃类14种、酯类15种、杂环类3种、其他类2种。酱鸭的风味物质主要来源于加工过程中所发生的氨基酸热降解反应和美拉德反应等复杂反应。

3 讨论

3.1 压力、温度和时间对超临界CO₂萃取酱鸭挥发性风味物质影响显著。随着萃取压力、温度和时间升高,挥发性风味成分的萃取比率在不断增大,当升高到某一值时,挥发性成分萃取比率达到最大;继续升高时,萃取比率又随之下降。因为萃取压力的升高使CO₂密度增加,从而提高对弱极性化合物在超临界CO₂中的

表4 酱鸭挥发性风味物质成分

Table 4 GC-MS identified volatile flavor compounds and their relative contents in sauced duck

峰号	保留时间/min	化合物	相对含量/%	峰号	保留时间/min	化合物	相对含量/%
1	3.48	己醛	26.7	31	24.18	二十三烯酸	0.79
2	8.26	壬醛	0.10	32	24.50	环二十烷	0.40
3	10.87	(E)-癸烯醛	0.17	33	24.66	邻苯二甲酸二异辛酯	0.65
4	11.51	2,4-癸二烯醛	0.85	34	24.74	1-(1,5-二甲基己基)-4-(4-甲基戊基)-环己烷	0.45
5	11.95	(E,E)-2,4-癸二烯醛	1.87	35	24.82	辛酸十五基酯	3.44
6	12.25	(E)-2-癸烯醛	0.28	36	24.89	二氢呋喃酮	0.78
7	13.32	γ -戊基丁内酯	0.13	37	24.92	十九碳烯	0.40
8	17.30	环氧乙基十七烷	0.10	38	25.03	辛酸十八烷酯	0.56
9	17.90	14-十六烯醛	0.19	39	25.19	顺-9-二十三烯	1.21
10	18.87	棕榈酸	7.01	40	25.23	环二十四烷	0.59
11	19.29	十四烯酸乙酯	0.09	41	25.42	顺-9-二十三烯	0.27
12	19.34	十四烷醛	0.14	42	25.53	二十二烯酸	1.25
13	19.90	1-十八烷烯	0.47	43	25.69	2,6-二氟苯甲酸十八基酯	1.42
14	20.75	反油酸	6.96	44	25.74	七氟丁酸十七基酯	0.50
15	20.78	油酸	3.68	45	25.92	十八碳九烯酸	0.96
16	20.84	亚油酸	4.14	46	26.04	1,2-二乙基环十六烷	0.38
17	21.44	顺十八碳-6-烯酸	0.10	47	26.36	3-羟基-2-丁酮	0.72
18	22.28	2-氯丙酸十八基酯	0.47	48	26.47	十七酸十七基酯	1.45
19	22.46	3-甲基丁醛	0.33	49	26.60	2-戊基呋喃	0.61
20	22.56	2-辛基-环氧丙基辛醛	0.55	50	26.73	环十六烷	0.85
21	22.65	2-甲基-Z-4-十四烯	0.84	51	26.99	甘油三反油酸单酯	0.64
22	22.74	二甲基三硫	0.28	52	27.31	十四烯酸乙酯	0.61
23	22.98	1-辛基-1,2,3,4-四氢化萘	0.73	53	28.11	1-乙基-1-甲基茛	0.37
24	23.21	8-十七碳烯	0.55	54	28.30	单油酸甘油酯	0.57
25	23.37	十七基己酸酯	0.53	55	29.73	二十三烯酸	0.30
26	23.47	甘油三反油酸单酯	0.33	56	30.33	十八碳九烯酸	0.33
27	23.62	1-二十六烯	0.29	57	31.41	环二十烷	0.37
28	23.70	2-甲基-3-呋喃硫醇	0.23	58	32.42	5-二十烯	0.90
29	23.91	2-羟基-环十五烷酮	1.37	59	32.96	十八碳九烯酸	0.42
30	24.00	环二十四烷	1.05	60	38.28	2-羟基十六烷酸甲酯	0.73

溶解性^[8], 同时还会减少分子间的传质距离, 增加溶质与溶剂间的传质效率。当压力超过 11.5MPa 时, CO₂ 密度较大, 增加了脂质的萃取, 挥发性成分萃取比率相对降低。同样萃取温度达 41℃ 后挥发性成分萃取比率显下降趋势, 主要是当体系低温时, 升温增加物质的扩散系数占主导而利于萃取; 当体系达到一定的温度时, 升温降低 CO₂ 的密度占主导, 降低溶质在二氧化碳中的传质速度, 使物质溶解度降低而不利于萃取^[9]; 此外温度升高, 增加脂质的萃取, 使挥发性成分萃取比率也相对降低。同理萃取时间 61min 后挥发性成分萃取比率呈下降趋势, 也可能是因为不易溶解的脂质萃取比率升高而使挥发性成分萃取比率相对降低之故。

3.2 酱鸭风味物质中的醛类、酮类、酸类等羰基化合物主要来源于鸭肉中的不饱和脂肪酸, 在酱鸭制作过程中由于蛋白质的水解, 导致游离氨基酸含量增加^[10], 氨基酸和多肽在较高温度下热降解, 通过脱氨、脱羧, 形成醛、酮等^[11]。含硫化合物的形成可能是美拉德反应和 Strecker 反应形成的^[12]。而杂环化合物等主要是由于

还原糖和氨基酸之间发生复杂的美拉德反应所产生的化合物^[13]。

值得注意的是己醛、E,E-2,4-癸二烯醛、二甲基三硫、2-甲基-3-呋喃硫醇等几种化合物。己醛具有清香青草气味, 来自 ω -6 不饱和脂肪酸^[14]; E,E-2,4-癸二烯醛具有油炸食品的脂香味^[15], 醛类是脂肪降解的主要产物, 一般阈值很低, 具有脂肪香味, 可能构成肉品种的特征性风味。二甲基三硫化合物是葱属植物的特征, Farmer^[16]认为二甲基三硫化合物是由蛋氨酸降解产生的; 2-甲基-3-呋喃硫醇具有肉香味, 并且这些含硫含氮含氧杂环化合物在肉中大多以很低的浓度存在, 但是它们的阈值非常低并且具有重要的感官特性^[17]。因此, 酱鸭的风味物质部分可能来源于加工过程还原糖、氨基酸和脂肪的反应产物。

4 结论

本实验研究了超临界二氧化碳萃取酱鸭挥发性风味物质的萃取工艺, 并采用超临界二氧化碳萃取和 GC-MS

联用技术检测分析了酱鸭中挥发性风味物质的组成。综合分析回归模型确定的超临界二氧化碳萃取最佳工艺修正参数为萃取压力 11MPa、温度 41℃、时间 60min, 在此条件下的萃取率为 83.45%。萃取物中含有醛、酮、酯类、杂环类等 60 种成分, 这些风味化合物主要来源于加工过程中所发生的氨基酸热降解反应和美拉德反应等复杂反应。

参考文献:

- [1] 王劫, 张水华. 肉类风味的研究[J]. 中国调味品, 2001(8): 31-35.
- [2] 曾志将, 樊兆斌, 谢国秀, 等. 蜂胶 CO₂ 超临界萃取研究[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(5): 769-771.
- [3] 韩玉谦, 隋晓, 冯晓梅, 等. 超临界 CO₂ 萃取蜂胶有效成分的研究[J]. 精细化工, 2003, 20(7): 422-424.
- [4] WU C M, LIU S E. Volatile components of water-boiled duck meat and cantonese style roasted duck[J]. J Agric Food Chem, 1992, 40(5): 838-841.
- [5] UM K W, BAILEY M E, OARKE A D, et al. Concentration and identification of volatile compounds from heated beef fat using supercritical CO₂ extraction-gas liquid chromatography/mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 40(9): 1641-1646.
- [6] MERKLE J A, LARICK D K. Concentration of beef fat volatiles with supercritical carbon dioxide[J]. J Food Sci, 1994, 59(3): 478-483.
- [7] MAJOR R E. Supercritical fluid extractions: an introduction[J]. LC-GC Int, 1991, 4: 10-17.
- [8] XU Xiang, GAO Yanxiang, LIU Guangmin, et al. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of sea buckthorn oil using response surface methodology[J]. LWT-Food Sci Technol, 2008, 41(7): 1223-1231.
- [9] BERNARDO G, ONETO C, ANRUNES P, et al. Extraction of lipids from cherry seed oil using supercritical carbon dioxide[J]. Eur Food Res Technol, 2001, 212(2): 170-174.
- [10] 宋焕禄. 食品风味化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 34-36.
- [11] 赵旭壮. 肉品风味形成与美拉德反应[J]. 肉类工业, 2006(1): 14-16.
- [12] PEREZ J M, FLORES M, TOLDRA F. Effect of pork meat proteins on the binding of volatile compounds[J]. Food Chemistry, 2008, 108: 1226-1233.
- [13] 高尧来. 美拉德反应与肉的风味[J]. 广州食品工业科技, 2003, 20(1): 91-94.
- [14] ELMORE J S, MOTTRAM D S, ENSER M, et al. Effect of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles[J]. J Agric Food Chem, 1999, 25: 1619-1625.
- [15] 李建军, 文杰, 陈继兰, 等. 烘烤鸡肉挥发性风味物的微捕集和 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(1): 58-61.
- [16] FARMER L J. Poultry meat flavor[M]// RICHARDSON R I, MEAD G C. Poultry meat science symposium. Oxford, UK: CAB I Publishing, 1999: 36-38.
- [17] MOTTRAM D S. Flavor formation in meat and meat products: a review [J]. Food Chem, 1998, 62(4): 415-424.