

基于气相离子迁移谱的大豆分离蛋白风味控制研究

时玉强<sup>1</sup> 刘锡潜<sup>2</sup> 李顺秀<sup>1</sup> 马 军<sup>1</sup> 刘 军<sup>1</sup> 曲玲玲<sup>1</sup>  
(1. 山东禹王生态食业有限公司, 禹城 251200; 2. 临邑禹王植物蛋白有限公司, 临邑 251500)

**摘要:** 为了改善大豆分离蛋白的风味,特别是降低大豆蛋白的豆腥味、提高大豆分离蛋白的豆香味,利用气相离子迁移谱分析了不同原料和不同加工工艺生产的大豆分离蛋白的挥发性有机化合物的含量变化。分析了由普通大豆和缺失3种脂肪氧化酶的大豆生产的大豆分离蛋白的风味变化,结果表明,脂肪氧化酶缺失品种生产的大豆分离蛋白的(E)-2-己烯醛含量低、没有己醇生成,说明脂肪氧化酶是产生己醇的关键控制酶,对(E)-2-己烯醛的产生有较明显的影响,DF3品种中的豆香味成分明显高于其他两个品种。酶解工艺分析表明,蛋白酶的使用能够促进挥发性有机化合物与大豆蛋白的分离,植酸酶和蛋白酶两步处理法能更有效降低挥发性有机化合物与大豆蛋白的结合,非酶解样品主要豆腥味物质的浓度明显高于酶水解的产品,与蛋白酶水解法的样品相比,两步酶解方法豆腥味挥发性有机化合物的浓度明显降低,豆香味挥发性有机化合物浓度也有所降低。脱气工艺分析表明,二次脱气工艺能够促进部分豆香味成分的生成,同时有效降低豆腥味物质的浓度,豆香味挥发性有机化合物如苯甲醛及其多聚体、苯乙醇、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、3-辛烯-2-酮等物质的浓度有不同程度的增加,二次加热是促进豆香味挥发性有机化合物生成的原因。粉碎工艺分析表明,粉碎不利于豆香味物质的产生,但有利于改善冲调后的口感。

**关键词:** 大豆分离蛋白; 气相离子迁移谱; 蛋白酶; 闪蒸脱气; 粉碎

**中图分类号:** TS214.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-1298(2021)02-0355-09      **OSID:** 

Flavor Control of Soy Protein Isolate by GC – IMS

SHI Yuqiang<sup>1</sup> LIU Xiqian<sup>2</sup> LI Shunxiu<sup>1</sup> MA Jun<sup>1</sup> LIU Jun<sup>1</sup> QU Lingling<sup>1</sup>  
(1. Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co., Ltd., Yucheng 251200, China  
2. Linyi Yuwang Protein Industry Co., Ltd., Linyi 251500, China)

**Abstract:** The flavor of soy protein isolate (SPI) is a key factor affecting its application range. In order to improve the flavor of soy protein isolate, especially to reduce unpleasant soybean flavors, and improve the pleasant soy flavor of soy protein isolate, gas chromatograph – ion mobility spectrometer was used to analyze the changes in the content of volatile organic compounds in soy protein isolate produced from different raw materials and different processing techniques. The study of raw materials showed that the SPI produced by soybeans with loss of lipoxygenase had significantly lower (E)-2-hexanoaldehyde and no hexanol, indicating that the lipoxidase was the key control enzyme for the generation of hexanol, and could significantly affect the production of hexenal. And the 2-furanmethanol, (E,E)-3,5-octadien-2-one and maltol (which were considered to be the ingredient of pleasant soybean flavors) of SPI produced by DF3 – variety were significantly higher than the other two varieties (DF1 – variety was loss of lipoxygenase, KS1 – variety had three kind of lipoxygenases). The study of enzymatic hydrolysis process showed that the main unpleasant soybean flavor substances in non-enzymatic samples, such as 2-pentyl furan and 1-pentanol were significantly higher than that of enzyme hydrolysis products, while the concentration of hexanol was slightly lower than that of enzyme hydrolysis products. Compared with the protease hydrolysis sample, the unpleasant soybean flavors (such as 2-pentyl furan, 1-pentanol, 1-Octen-3-ol, (E)-2-hexanoaldehyde and hexanol) produced by the two-step enzyme sample were significantly reduced, and the pleasant soybean flavors (such as benzaldehyde, phenylethanol, 2-furanmethanol, heptanal(dimer) (E,E)-3,5-octadien-2-one and maltol) were also reduced. The study of degassing

process showed that degassing twice process could promote the generation of some pleasant soybean flavors, and effectively reduce unpleasant soybean flavors. The study of grinding process showed that crushing process had disadvantages in flavor control, but improved the taste.

**Key words:** soy protein isolates; GC-IMS; protease; flash degassing; grinding

## 0 引言

近年来,植物蛋白质固体饮料制品发展迅速。大豆分离蛋白是唯一一种植物源完全蛋白,富含人体必需的 8 种氨基酸,其蛋白质消化率校正后的氨基酸分数(PDCAAS)为 1,达到人体消化利用率的最大值<sup>[1]</sup>,因此成为最主要的植物蛋白质原料。同时,大豆分离蛋白还含有丰富的大豆异黄酮、大豆皂苷等保健功能组分。1999 年 12 月,美国食品药品监督管理局(FDA)提出,每日摄入 25 g 大豆蛋白,可减少心脏病发生的风险<sup>[2]</sup>。此外,大豆蛋白还具有调节血脂、血糖的功效<sup>[3]</sup>。但是,因原料大豆本身存在多种挥发性有机化合物,特别是加工过程中脂肪氧化酶的催化作用产生了多种豆腥味物质,大大影响了大豆蛋白应用领域的拓展<sup>[4]</sup>,除了豆腥味外,具有愉悦气味的豆香味物质同时存在<sup>[5-6]</sup>于大豆蛋白中,如何评价和改善其风味成为大豆分离蛋白在食品行业中发展的重要课题。

随着检测技术的发展,各种风味检测技术不断涌现,包括电子鼻技术、二维气相色谱技术、气质联用技术、SPME-GC-MS(顶空固相微萃取气质联用)技术、中红外光谱、表面增强拉曼散射、气相离子迁移谱联用技术等<sup>[7-12]</sup>。离子迁移谱联用仪是将气相色谱(GC)的高分离度与离子迁移谱(IMS)的高灵敏度相结合,通过顶空进样分析固体或液体的顶空成分,从而对单一化合物/标记物进行分析的快速分析仪器,通过挥发性有机化合物指纹谱图的比对,将风味成分直观可视化,应用二次分离技术,通过保留指数和迁移时间,对差异化的物质进行分析。本文基于气相离子迁移谱联用技术对不同品种、不同加工工艺下生产的大豆分离蛋白进行风味分析,以期为大豆分离蛋白豆腥味的去除和豆香味的增强提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

豆粕原料大豆:缺失 3 种脂肪氧化酶的东富 1 号(DF1),缺失 3 种脂肪氧化酶的东富 3 号(DF3),克山 1 号(KS1);低温脱脂豆粕(含粗蛋白 54%~55%),山东禹王生态食业有限公司;液体氢氧化钠,滨化化工有限公司,30%;盐酸,东营赫邦有限公

司,30%;NP(CT)植酸酶,酶活 1 000 U/g,荷兰皇家帝斯曼集团;protex 6L 蛋白酶,酶活 50 000 U/g,杰能科(中国)生物工程有限公司;氮气,99.999%;2-16KL 型离心机,德国 SIGMA 公司;Kjeltec-8200 型凯氏定氮仪,福斯分析仪器公司;AL204-2C 型电子天平,梅特勒-托利多有限公司;RHB-32ATC 型糖度计,上海天全仪器仪表有限公司;LPG-5 型喷雾干燥机,江苏先锋干燥工程有限公司;FlavourSpec 型气相离子迁移谱联用仪,德国 G. A. S. 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 常规大豆分离蛋白工艺方法

低温脱脂豆粕→工艺水(液料比 8 mL/g, 45℃)→调 pH 值(氢氧化钠溶液, pH 值 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min, 30 min)→离心分离(4 500 r/min, 10 min)→取上清液→等电点沉淀(pH 值 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min, 10 min)→取离心沉淀(凝乳)→加水调 pH 值(氢氧化钠溶液, 10%, pH 值 7.3~7.4)→杀菌(140℃, 15 s)→闪蒸脱气(真空度 75 kPa)→喷雾干燥。

水洗工艺:酸沉之前将萃取后离心分离的豆渣加水(45℃, 液料比 4 mL/g)→搅拌水洗(120 r/min, 5 min)→离心分离(4 500 r/min, 10 min)→取上清液,该上清液与上述工艺中的上清液搅拌混合(120 r/min, 5 min)。

#### 1.2.2 酶水解大豆分离蛋白工艺方法

##### (1) 蛋白酶水解工艺

低温脱脂豆粕→工艺水(液料比 8 mL/g, 45℃)→调 pH 值(氢氧化钠溶液, 10%, pH 值 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min, 30 min)→离心分离(4 500 r/min, 10 min)→取上清液→等电点沉淀(pH 值 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min, 10 min)→取离心沉淀(凝乳)→加水调 pH 值(氢氧化钠溶液, 10%, pH 值 7.3~7.4)→蛋白酶(0.6%, 45 min)→杀菌(140℃, 15 s)→喷雾干燥。水洗工艺同 1.2.1 节。

##### (2) 植酸酶和蛋白酶分步水解工艺

低温脱脂豆粕→工艺水(液料比 8 mL/g, 45℃)→调 pH 值(氢氧化钠溶液, 10%, pH 值 7.3~7.4)→添加低温脱脂豆粕质量的 1% 植酸酶→搅拌萃取(120 r/min, 30 min)→离心分离(4 500 r/min, 10 min)→取上清液→等电点沉淀(pH 值 4.5~

4.6)→离心分离(5 000 r/min,10 min)→取离心沉淀(凝乳)→加水调 pH 值(氢氧化钠溶液,10%,pH 值 7.3~7.4)→蛋白酶(0.6%,45 min)→杀菌(140℃,15 s)→喷雾干燥。水洗工艺同 1.2.1 节。

1.2.3 两次闪蒸脱气工艺方法

低温脱脂豆粕→工艺水(液料比 8 mL/g,45℃)→调pH 值(氢氧化钠溶液,pH 值 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min,30 min)→离心分离(4 500 r/min,10 min)→取上清液→等电点沉淀(pH 值 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min,10 min)→取离心沉淀(凝乳)→加水调 pH 值(氢氧化钠溶液,10%,pH 值 7.3~7.4)→杀菌(140℃,15 s)→闪蒸脱气(真空度 75 kPa)→杀菌(140℃,15 s)→闪蒸脱气(真空度 75 kPa)→喷雾干燥。水洗工艺同 1.2.2 节。

1.2.4 超微粉碎工艺方法

低温脱脂豆粕→工艺水(液料比 8 mL/g,45℃)→调pH 值(氢氧化钠溶液,pH 值 7.3~7.4)→搅拌萃取(120 r/min,30 min)→离心分离(4 500 r/min,10 min)→取上清液→等电点沉淀(pH 值 4.5~4.6)→离心分离(5 000 r/min,10 min)→取离心沉淀(凝乳)→加水调 pH 值(氢氧化钠溶液,10%,pH 值 7.3~7.4)→超微粉碎。水洗工艺同 1.2.2 节。

取 0.5 g 样品于 20 mL 顶空进样瓶中,加入 10 mL 水,60℃ 孵化 15 min,经顶空进样,用气相离子迁移谱仪进行测试,得到样品的挥发性有机化合物差异谱图;通过内置的 NIST 数据库和 IMS 数据库对物质进行分析。顶空进样条件:进样体积 500 μL,孵化时间 15 min,孵化温度 60℃。检测条件:分析时间 30 min,色谱柱类型 FS-SE-54-CB-1 15 m ID:0.53 mm,柱温 60℃,载气流量:0~2 min,2 mL/min;2~10 min,2~20 mL/min;10~20 min,20~100 mL/min;20~30 min,100~150 mL/min;漂移气流量 150 mL/min,IMS 温度 45℃,进样针温度 65℃。

图谱结果如图 1 所示,根据图谱分析结果如表 1 所示。将图谱结果转化为指纹图谱,便于产品分析,如图 2 所示,其中点代表挥发性有机化合物,颜色的面积和亮度表示物质的浓度(通过软件将定量检测数据转化得到),将不同样品的指纹图谱利用软件转化到一起便于对比分析,如图 3 所示,其中行代表一个样品中选取的挥发性有机化合物,列代表一种挥发性有机化合物在不同样品中含量情况。

气相离子迁移谱(图 1)中纵坐标为检测运行时间,横坐标为离子迁移时间。整个图背景为蓝色,左侧红色竖线为 RIP(即反应离子峰,离子迁移时间约为 7.96 ms)。RIP 两侧的每一个点代表一种挥发性

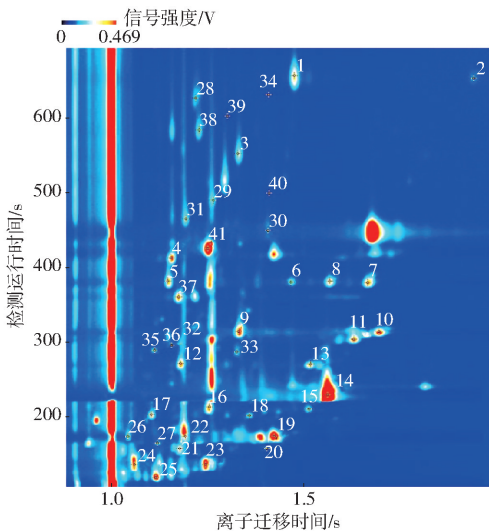


图 1 大豆分离蛋白风味物质图谱

Fig.1 Qualitative map of VOCs for SPI

有机化合物。颜色代表物质的浓度,颜色越深表示浓度越大。

1.2.5 感官评价方法

人的嗅觉对不同的挥发性有机化合物阈值不同,造成了人类对挥发性有机化合物的识别不是靠浓度单一决定的,因此对大豆蛋白的挥发性有机化合物的风味评价,不仅要进行风味的检测,还要与人类的感官评价相互验证和确定。感官评价方法如下:

风味:称取 10 g 蛋白粉放在 250 mL 的干净玻璃罐中,盖上盖子,试验小组成员通过 3 次轻叩玻璃罐以振动产品,使蛋白粉在罐内轻微扬起,然后打开盖子,细嗅 3 次,打分。

口感:称取蛋白粉 5.00 g,50℃ 的蒸馏水 100 mL,将蛋白粉放入蒸馏水中搅拌均匀,品尝一次后,40℃ 的蒸馏水漱口;重复 3 次;打分。

感官小组由 9 名拥有 SGS 感官评价资质的人员组成,豆香味物质参照物为煮熟的意大利白豆粉,豆腥味参照物为生大豆粉。评价后,除去最高值和最低值,计算平均值进行分析。评价表如表 2 所示。

2 结果与讨论

2.1 不同原料大豆对大豆分离蛋白风味的影响

1932 年,脂肪氧化酶(简称 Lox)首次在大豆中被发现<sup>[13]</sup>,其后又发现了其他种类。普遍认为大豆脂肪氧化酶存在 3 种同工酶 Lox1、Lox2 和 Lox3,它仅占大豆总蛋白的 1%~2%,但是能够专一催化多元不饱和脂肪酸的氧化反应,形成具有共轭双键脂肪酸氢过氧化物,这些产物经过进一步分解,产生醇、酮、醛类等挥发性有机化合物,从而形成豆腥味<sup>[14]</sup>。早期的研究认为豆腥味与 2-戊基呋喃有关。

表 1 大豆分离蛋白风味物质成分表  
Tab.1 VOCs of SPI

| 序号 | 成分                | CAS 号     | 化学式    | 分子量    | 阻力指数     | 气相保留<br>时间/s | 离子迁移<br>时间/s | 注释   |
|----|-------------------|-----------|--------|--------|----------|--------------|--------------|------|
| 1  | 壬醛                | C124196   | C9H18O | 142. 2 | 1 104. 7 | 657. 703     | 1. 477 2     | 单体   |
| 2  | 壬醛                | C124196   | C9H18O | 142. 2 | 1 103. 0 | 653. 913     | 1. 944 1     | 多聚体  |
| 3  | (E)-2-辛烯醛         | C2548870  | C8H14O | 126. 2 | 1 057. 9 | 552. 854     | 1. 331 1     |      |
| 4  | 1-辛烯-3-醇          | C3391864  | C8H16O | 128. 2 | 983. 7   | 412. 815     | 1. 157 6     |      |
| 5  | 苯甲醛               | C100527   | C7H6O  | 106. 1 | 961. 4   | 381. 615     | 1. 148 4     | 单体   |
| 6  | 苯甲醛               | C100527   | C7H6O  | 106. 1 | 960. 8   | 380. 815     | 1. 468 8     | 多聚体  |
| 7  | (E)-2-庚烯醛         | C18829555 | C7H12O | 112. 2 | 960. 2   | 380. 015     | 1. 668 3     |      |
| 8  | 2-戊基呋喃            | C3777693  | C9H14O | 138. 2 | 961. 4   | 381. 615     | 1. 569 4     |      |
| 9  | 庚醛                | C111717   | C7H14O | 114. 2 | 899. 4   | 314. 414     | 1. 331 5     | 单体   |
| 10 | 庚醛                | C111717   | C7H14O | 114. 2 | 899. 4   | 314. 414     | 1. 697 6     | 多聚体  |
| 11 | 2-庚酮              | C110430   | C7H14O | 114. 2 | 887. 9   | 304. 014     | 1. 631 7     |      |
| 12 | 2-己烯-1-醇          | C2305217  | C6H12O | 100. 2 | 848. 6   | 271. 177     | 1. 181 7     | 单体   |
| 13 | 2-己烯-1-醇          | C2305217  | C6H12O | 100. 2 | 847. 9   | 270. 634     | 1. 520 4     | 多聚体  |
| 14 | 己醛                | C66251    | C6H12O | 100. 2 | 791. 6   | 229. 383     | 1. 564 1     |      |
| 15 | 1-戊醇              | C71410    | C5H12O | 88. 1  | 762. 9   | 210. 386     | 1. 515 9     | 多聚体  |
| 16 | 1-戊醇              | C71410    | C5H12O | 88. 1  | 767. 2   | 213. 100     | 1. 257 0     | 单体   |
| 17 | 丙酸                | C79094    | C3H6O2 | 74. 1  | 750. 7   | 202. 787     | 1. 106 5     | 单体   |
| 18 | 丙酸                | C79094    | C3H6O2 | 74. 1  | 748. 1   | 201. 158     | 1. 360 9     | 多聚体  |
| 19 | 戊二醛               | C110623   | C5H10O | 86. 1  | 694. 7   | 172. 934     | 1. 424 1     | 多聚体  |
| 20 | 3-甲基丁醛            | C590863   | C5H10O | 86. 1  | 654. 4   | 157. 193     | 1. 406 0     | 多聚体  |
| 21 | 3-甲基丁醛            | C590863   | C5H10O | 86. 1  | 652. 8   | 156. 651     | 1. 180 2     | 单体   |
| 22 | 戊二醛               | C110623   | C5H10O | 86. 1  | 694. 7   | 172. 934     | 1. 193 8     | 单体   |
| 23 | 2-丁酮              | C78933    | C4H8O  | 72. 1  | 582. 2   | 135. 482     | 1. 246 5     | 多聚体  |
| 24 | 2-丁酮              | C78933    | C4H8O  | 72. 1  | 582. 2   | 135. 482     | 1. 061 3     | 单体   |
| 25 | 丙酮                | C67641    | C3H6O  | 58. 1  | 521. 0   | 118. 113     | 1. 117 0     |      |
| 26 | 2-乙基呋喃            | C3208160  | C6H8O  | 96. 1  | 696. 0   | 173. 477     | 1. 044 7     |      |
| 27 | 2-戊酮              | C107879   | C5H10O | 86. 1  | 673. 8   | 164. 250     | 1. 121 5     |      |
| 28 | 麦芽酚               | C118718   | C6H6O3 | 126. 1 | 1 091. 5 | 627. 753     | 1. 221 2     |      |
| 29 | 3-辛烯-2-酮          | C1669449  | C8H14O | 126. 2 | 1 027. 8 | 490. 087     | 1. 266 1     | 不能确定 |
| 30 | 辛醛                | C124130   | C8H16O | 128. 2 | 1 006. 4 | 449. 893     | 1. 408 2     |      |
| 31 | (E,E)-2,4-庚二烯     | C4313035  | C7H10O | 110. 2 | 1 014. 9 | 465. 426     | 1. 195 2     |      |
| 32 | (E)-2-己烯醛         | C6728263  | C6H10O | 98. 1  | 884. 2   | 300. 731     | 1. 181 7     |      |
| 33 | 1-己醇              | C111273   | C6H14O | 102. 2 | 868. 2   | 287. 032     | 1. 327 9     |      |
| 34 | 2-壬酮              | C821556   | C9H18O | 142. 2 | 1 093. 2 | 631. 634     | 1. 410 1     |      |
| 35 | 2-呋喃甲醇            | C98000    | C5H6O2 | 98. 1  | 870. 5   | 288. 944     | 1. 113 7     |      |
| 36 | 丙硫醚               | C111477   | C6H14S | 118. 2 | 878. 4   | 295. 731     | 1. 158 0     |      |
| 37 | 二氢-3-甲基 2(3H)-呋喃酮 | C1679476  | C5H8O2 | 100. 1 | 944. 3   | 360. 586     | 1. 176 7     | 不能确定 |
| 38 | (E,E)-3,5-辛二烯-2-酮 | C30086023 | C8H12O | 124. 2 | 1 072. 3 | 584. 563     | 1. 229 1     | 不能确定 |
| 39 | 苯乙醇               | C60128    | C8H10O | 122. 2 | 1 080. 7 | 603. 236     | 1. 303 1     |      |
| 40 | 2-乙基己醇            | C104767   | C8H18O | 130. 2 | 1 032. 7 | 499. 94      | 1. 411 3     |      |
| 41 | 4-乙基环己醇           | C4534741  | C8H16O | 128. 2 | 991. 9   | 425. 567     | 1. 252 2     | 不能确定 |

随着研究的发展,醛类和醇类物质受到关注,文献[15]认为己醛和己醇是豆奶中最典型的异味成分。文献[16]将豆奶中的豆腥味组分确定为己醛、己醇、戊醇、(E)-2-己烯醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、乙酸、1-辛烯-3-醇;文献[17]则认为组分为己醛、己醇、戊醇、(E)-2-己烯醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛、(E,z)-2,4-癸二烯醛、(z)-2-己烯醇、(z)-2-庚烯

醛、庚醛;文献[18]认为豆腥味组分包括己醇、己醛、(E)-2-己烯醛、(E,E)-2,4-庚二烯醛、1-辛烯-3-醇、辛醛。不同研究人员对豆腥味成分的确定存在一定的差异,主要是风味受主观喜好和阈值影响较大,但大部分组分达成了共识,如 2-戊基呋喃、己醛、己醇、1-戊醇、1-辛烯-3-醇、(E)-2-己烯醛等。

对使用普通大豆品种(KS1)和脂肪氧化酶缺失

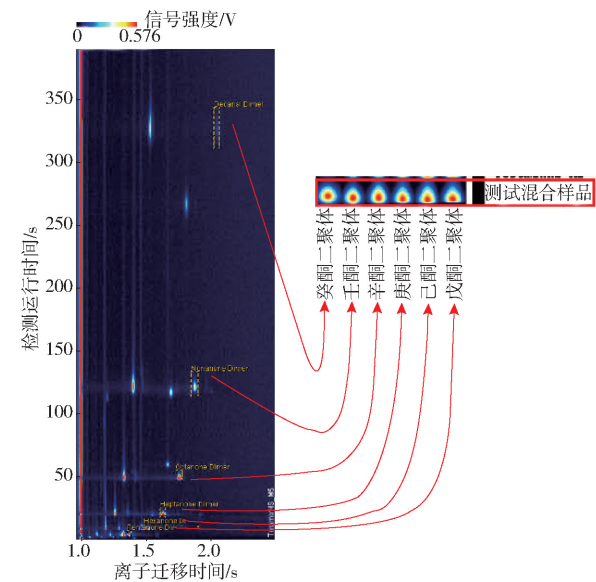


图2 单个样品的指纹图谱转化示意图

Fig.2 Schematic of fingerprint conversion of single sample

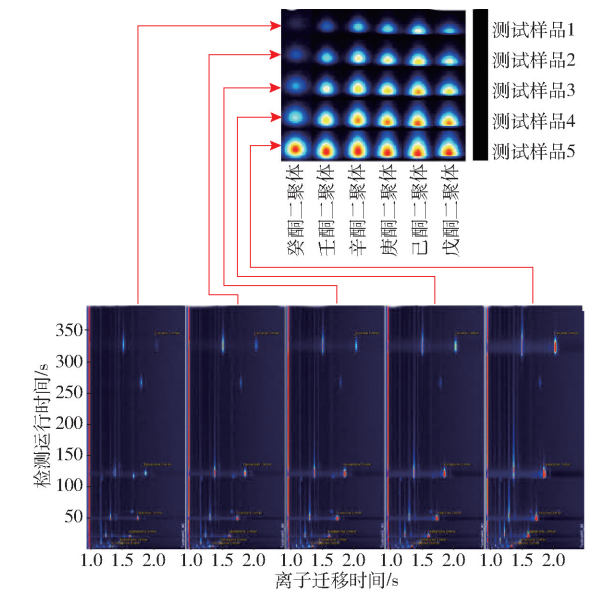


图3 不同样品的指纹图谱转化对比

Fig.3 Comparison of fingerprints of different samples

品种(DF1 和 DF3)生产的大豆分离蛋白进行挥发性有机化合物的气相离子迁移谱检测对比图谱如图4所示。每个样品作一组平行检测。其中数字标

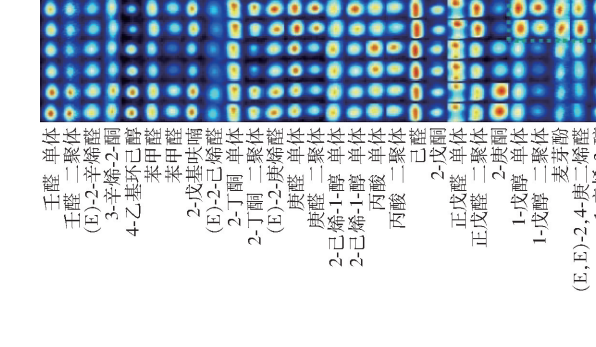


图4 不同品种的大豆生产的大豆分离蛋白的指纹图谱对比

Fig.4 Comparison fingerprints of SPI produced with different varieties of soybeans

| 表2 感官评价表                             |         |               |           |
|--------------------------------------|---------|---------------|-----------|
| Tab.2 Sensory evaluation form of SPI |         |               |           |
| 项目                                   | 分数      | 评分标准          | 参照物       |
| 豆香味                                  | 31 ~ 40 | 入口有明显豆香味      | 煮熟的意大利白豆粉 |
|                                      | 21 ~ 30 | 入口有轻微豆香味      |           |
|                                      | 11 ~ 20 | 入口无豆香味,后味有豆香味 | 生大豆粉      |
|                                      | 0 ~ 10  | 入口无豆香味,后味无豆香味 |           |
| 豆腥味                                  | 31 ~ 40 | 入口无豆腥味,后味无豆腥味 | 生大豆粉      |
|                                      | 21 ~ 30 | 入口无豆腥味,后味有豆腥味 |           |
|                                      | 11 ~ 20 | 入口有轻微豆腥味      |           |
|                                      | 0 ~ 10  | 入口有明显豆腥味      |           |
| 口感                                   | 16 ~ 20 | 入口滑腻,无颗粒感     |           |
|                                      | 10 ~ 15 | 入口稍粗糙,稍有颗粒感   |           |
|                                      | 0 ~ 10  | 入口粗糙,颗粒感重     |           |

号部分的挥发性有机化合物为系统数据中没有的种类,因此只能显示序号,未能显示名称。

通过指纹图谱可以看出,主要豆腥味物质如2-戊基呋喃、己醛、(E)-2-己烯醛、1-戊醇、1-辛烯-3-醇在3个品种均有检出,其中己醛的面积和亮度颜色几乎无差别,因此可以看出脂肪氧化酶对己醛的产生基本上没有影响。DF3 和 DF1 品种的(E)-2-己烯醛含量程度相似,较普通 KS1 大豆的含量较低,而2-戊基呋喃含量则是DF3 和KS1 相当,并且明显高于DF1;DF3 的1-戊醇、1-辛烯-3-醇含量明显高于DF1 和KS1,其中DF1 和KS1 的1-戊醇含量表现相同,而DF1 的1-辛烯-3-醇含量为3 种中最低。其中KS1 中的己醇为独有挥发性有机化合物。因此可以看出脂肪氧化酶对己醇和(E)-2-己烯醛的影响最大,两种缺失脂肪氧化酶的品种生产的大豆分离蛋白几乎无己醇检出,(E)-2-己烯醛也明显低于普通品种。其中DF1 中2-戊基呋喃和1-辛烯-3-醇均低于其他两个品种。同样为脂肪氧化酶全缺失品种,但是DF1 和DF3 两种大豆制得的大豆分离蛋白的挥发性有机化合物也存在较大差别。

DF3 生产的大豆分离蛋白中的绿色框部分的挥

发性有机化合物明显高于 DF1 和 KS1,其成分主要包括 1-戊醇(单体)、1-戊醇(二聚体)、麦芽酚、(E,E)-2,4-庚二烯醛、1-辛烯-3-醇、2-呋喃甲醇、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、二氢-3-甲基-2(3H)-呋喃酮等,另 42、43、45 这 3 种未知成分也明显高于其他两种大豆原料的产品。

相关文献报道豆香味成分有苯甲醛、戊醛、2-庚烯酮、3-辛酮、3-辛醇、戊酸、2-呋喃甲醇、苯乙醇、庚醛、3-辛烯-2-酮、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、麦芽酚等<sup>[19]</sup>。DF3 中 2-呋喃甲醇、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、麦芽酚明显高于其他两个品种。

通过 9 人组成的感官评价小组评价认为,豆腥味 DF3 和 DF1 相差不大,均好于 KS1,而 DF3 的豆香味明显高于其他两个品种,检测结果与感官评价结果一致。虽然 DF3 中豆腥味物质的含量略高于 DF1,但是评价结果显示差异不明显( $P=0.33$ ),结果如表 3 所示。该结果验证了基于气相离子迁移谱识别的特异性挥发性有机物的识别能力与感官评价的对应性,豆腥味和豆香味特异性挥发性有机物基本与文献[15-18]结论一致。同时验证了脂肪氧化酶是大豆产生豆腥味的关键因素。

表 3 不同品种原料的风味评价

| Tab. 3 Sensory evaluation of SPI produced with different varieties of soybeans |           |           |           |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 项目                                                                             | 参照物       | KS1       | DF1       | DF3       |
| 豆香味(40)                                                                        | 煮熟的意大利白豆粉 | 24.8±1.99 | 25.6±1.96 | 31.2±2.01 |
| 豆腥味(40)                                                                        | 生大豆粉      | 12.4±1.16 | 22.8±1.84 | 22.3±1.98 |

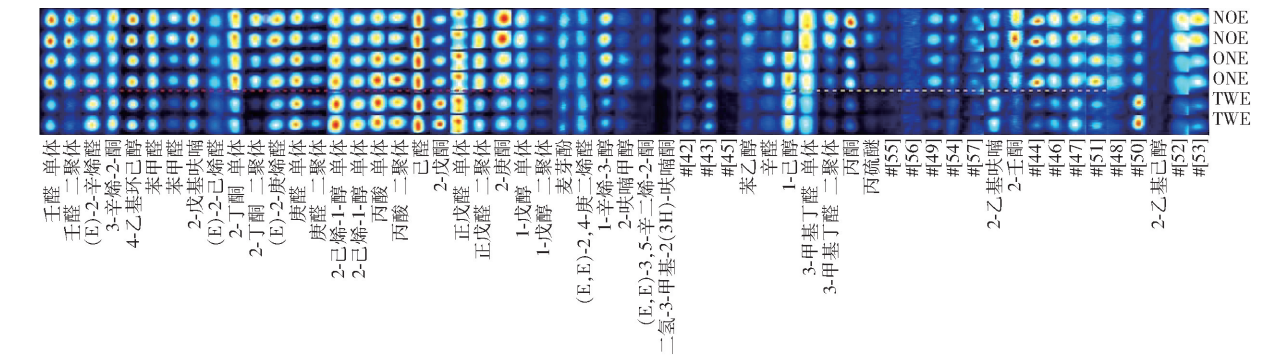


图 5 酶处理与非酶处理大豆分离蛋白的指纹图谱对比

Fig. 5 Comparison fingerprints of SPI produced with different varieties of enzymes

比,主要豆腥味物质如 2-戊基呋喃、1-戊醇的浓度明显高于酶水解的产品,(E)-2-己烯醛、1-辛烯-3-醇、己醛的浓度几乎无明显的变化,而己醇的浓度略低于酶水解产品。由于真空脱气的作用,2-戊基呋喃、1-戊醇被真空部分脱除,含量降低;但是蛋白水解作用对(E)-2-己烯醛、1-辛烯-3-醇、己醛的释放没有显示出明显的作用。其中己醇浓度水解后有所提高,

2.2 不同工艺对大豆分离蛋白风味的影响

在生产过程中可以对大豆蛋白进行改性以改善大豆分离蛋白的风味。目前鲜有报道大豆分离蛋白的豆腥味改善工艺,但相关的大豆和豆浆的豆腥味去除报道较多。主要的方式包括湿热处理、半湿热处理、干热处理、远红外线加热法、微波法、超临界二氧化碳萃取法、高频电磁场法等<sup>[20]</sup>,文献[21]认为微压煮浆可使豆腥味成分的质量浓度显著降低。但上述大部分工艺在大规模的工业化生产过程中很难实现,主要原因是成本高、处理量低和存在安全风险。本文在上述研究的基础上,对大豆分离蛋白生产工艺进行工业化可实施的改进和分析,包括酶水解工艺、两次闪蒸脱气工艺和粉碎工艺等。

2.2.1 酶水解工艺

文献[6]分析了大豆分离蛋白与特定的风味物质互相作用的原理,为酶法解除大豆的风味物质与蛋白的结合提供了理论基础。利用植酸酶水解植酸,通过解除植酸与蛋白的结合,有利于挥发性有机化合物的脱除,同时蛋白酶水解蛋白降低蛋白与挥发性有机化合物的结合能力,在闪蒸脱气过程更利于不良气味的脱除。植酸酶在大豆分离蛋白的冻融和去植酸方面已经有所应用,但是对风味的影响方面鲜有报道。对使用植酸酶和蛋白酶两步附加工艺的大豆分离蛋白的 GC-IMP 分析结果如图 5 所示。

通过指纹图谱可分析出非酶解样品(图 5 中 NOE)与通过蛋白酶水解的样品(图 5 中 ONE)相

分析认为酶解工艺的生产温度也在脂肪氧化酶的最佳温度范围内,在脂肪氧化酶的作用下,产生了部分己醇,这与文献[22]的研究结果相吻合。

非酶解与酶解的大豆分离蛋白中的豆香味物质呈现出一定的变化。经过酶解工艺生产的大豆分离蛋白中的苯甲醛、苯甲醛多聚体、苯乙醇、3-辛烯-2-酮明显降低,2-呋喃甲醇酶解后浓度明显提高,庚

醛、3-辛烯-2-酮、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、麦芽酚变化不明显。分析认为豆香味挥发性有机化合物降低主要是由于酶水解造成大豆蛋白二级结构的破坏,使被大豆球蛋白包埋、保护的挥发性成分释放出来,被后续的真空脱气工艺脱除。壬醛、2-庚酮、3-甲基丁醛、丙酮、丙硫醚、2-壬酮减少明显,丙酸、辛醛增加明显。挥发性有机化合物减少原因是水解造成的蛋白球状结构的不完整及氢键的断裂造成与之相关联的挥发性有机化合物释放。增加的挥发性有机化合物可能因为酶解工艺时间长,酶解料液中存在的微生物产生次生代谢产物。

两步酶解方法(图5中TWE)在萃取工段进行植酸酶水解植酸,通过酸沉离心去除与蛋白结合的植酸部分,而后在中和工段后进行酶水解工艺。与使用蛋白酶的样品相比,豆腥味挥发性有机化合物如2-戊基呋喃、1-戊醇、(E)-2-己烯醛、1-辛烯-3-醇、己醇的浓度明显降低,己醛比较稳定没有明显变化。豆香味挥发性有机化合物如苯甲醛、苯乙醇、2-呋喃甲醇、庚醛多聚体、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、麦芽酚浓度降低,3-辛烯-2-酮浓度无明显变化。其他具有明显变化的挥发性有机化合物有壬醛、2-庚酮、3-甲基丁醛、丙酮、丙硫醚、2-壬酮及未知成分42、44、45、46、47、48、49、51、52、53、54、55和57浓度均有较明显降低,只有50号有较明显升高。

通过9人组成的感官评价小组评价结果如表4所示,两步加酶方式生产的大豆分离蛋白的豆

腥味物质最低,略微有豆香味,与检测结果存在一定的分歧,可能原因是两步加酶工艺较有效地解除了挥发性有机化合物与大豆蛋白的结合,更有利于真空脱气,豆腥味挥发性有机化合物和杂味降低比较明显,从而略微突出了豆香味。用蛋白酶处理的大豆蛋白与非酶解相比,风味略有改善,差异较小( $P=0.16$ ),可能的原因为工艺过程较长,微生物次级代谢产物产生了不良的风味,同时在脂肪氧化酶的作用下产生了更多的己醇,从而抵消了酶水解促进挥发性有机物脱除的效果。

表4 酶处理与非酶处理大豆分离蛋白的风味评价  
Tab.4 Sensory evaluation of SPI produced with different varieties of enzymes

| 项目      | 参照物       | 非酶处理      | 蛋白酶处理     | 两步酶解处理    |
|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 豆香味(40) | 煮熟的意大利白豆粉 | 24.7±1.76 | 26.2±1.83 | 28.9±1.66 |
| 豆腥味(40) | 生大豆粉      | 12.3±1.07 | 14.1±1.23 | 21.0±1.79 |

2.2.2 真空脱气工艺

因挥发性有机化合物本身的挥发性,利用真空脱气除去是比较有效的控制手段。基于大豆蛋白本身的功能性需求和成本的考虑,大豆分离蛋白生产工艺的最佳真空度为75 kPa。通过单次脱气和二次脱气对比考察二次脱气对挥发性有机化合物的影响有一定的经济价值和可实施性。检测结果如图6所示。

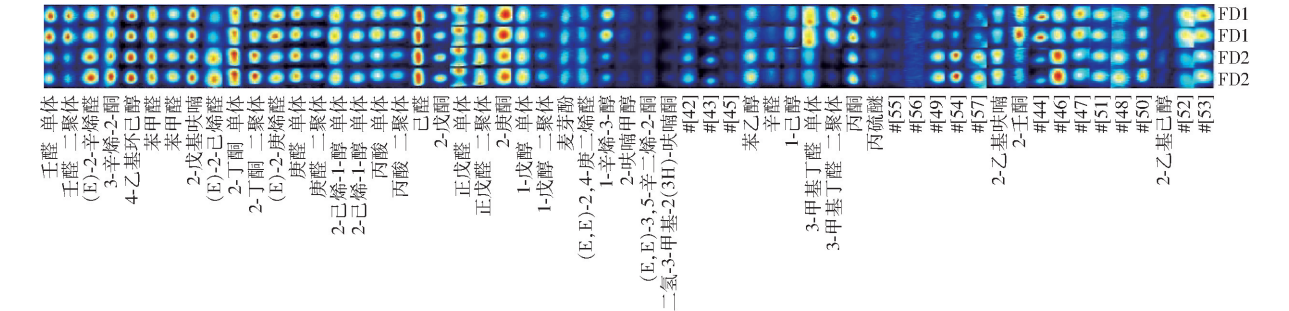


图6 二次脱气与单次脱气大豆分离蛋白的指纹图谱对比  
Fig.6 Comparison fingerprints of SPI produced with different vacuum degassing times

通过图6中的指纹图谱可以看出二次脱气样品(FD2),主要豆腥味挥发性有机化合物如1-辛烯-3-醇、己醇的浓度明显低于一次脱气的产品,2-戊基呋喃、己醛的浓度几乎无明显的变化,而1-戊醇、(E)-2-己烯醛的浓度高于一次脱气产品。主要豆香味挥发性有机化合物如苯甲醛及其多聚体、苯乙醇、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、3-辛烯-2-酮等物质的浓度有不同程度的增加,而庚醛、2-呋喃甲醇、麦芽酚变化不明显。其他具有明显变化的挥发性有机化合物中壬醛、(E)-2-庚烯醛、丙酸多

聚体、2-庚酮、2-壬酮、3-甲基丁醛、丙酮、丙硫醚、44、47、52、53 含量减少,(E)-2-辛烯醛、2-丁酮及其多聚体、1-戊醇多聚体、辛醛、2-乙基呋喃、42、46、48、49、50、54 和 57 等含量增加。  
挥发性有机化合物通过二次真空脱气,在不考虑加热的情况下浓度应该有所降低,但是整个分析过程中升高、降低和不变的物质都存在,分析认为大豆分离蛋白中主要成分是蛋白质,同时存在大豆低聚糖、蔗糖、葡萄糖等小分子糖类,二次杀菌工艺促进了羰氨反应,进而增加了有益的香味物质,这与文

献[23–26]的研究结论一致。挥发性有机化合物降低,可能是由于加热过程没有再形成新的该物质或是生成的量少于真空脱气的量;挥发性有机化合物增加则是因为新产生的量超过了真空脱气的量,没有明显变化的真空脱气的量则是新生成的量与真空脱气的量相当。

通过9人组成的感官评价小组评价结果如表5所示,二次杀菌真空脱气工艺能够使豆香味提高,豆腥味降低,有利于产品风味的改善。

表5 二次脱气与单次脱气大豆分离蛋白的风味对比  
Tab.5 Sensory evaluation of SPI produced with different vacuum degassing times

| 项目      | 参照物       | 单次脱气      | 二次脱气      |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 豆香味(40) | 煮熟的意大利白豆粉 | 23.9±1.94 | 31.3±2.01 |
| 豆腥味(40) | 生大豆粉      | 12.5±1.11 | 18.9±1.34 |

2.2.3 粉碎工艺

文献[15]认为蛋白质溶解度是豆浆的重要指标,随温度升高而降低。溶解度的降低造成蛋白颗粒聚集度升高,进而会增加蛋白溶液的沙粒感。使用超微粉碎的主要目的是改善沙粒感,未经过粉碎的蛋白粉冲调后存在颗粒,造成口感粗糙,同时粉碎工艺是物料摩擦碰撞的过程,在此过程中可能存在化学反应的产生,同时存在热效应,特别是局部热效应,从而造成蛋白或是挥发性有机化合物的变化。通过分级轮控制颗粒细度,对比溶解后的蛋白颗粒感,颗粒感及非豆异味感官评价如表6所示。

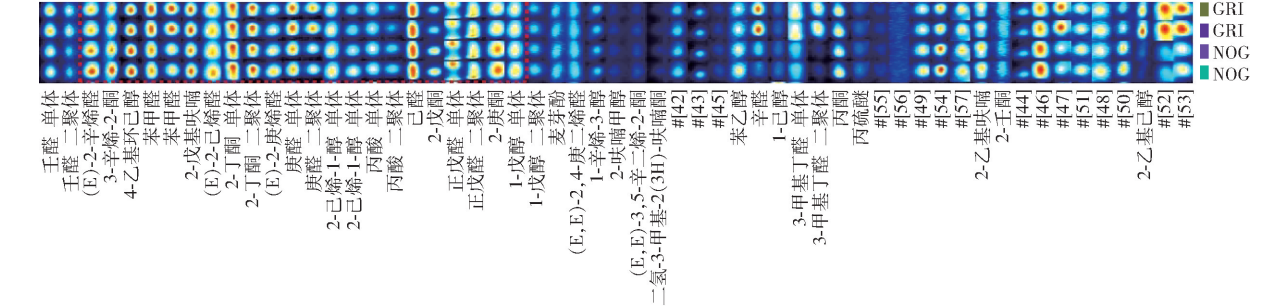


图7 粉碎与未粉碎大豆分离蛋白粉的指纹图谱对比

Fig.7 Comparison fingerprints of comminuted and non-comminuted SPI

3 结束语

基于气相离子迁移谱联用技术对大豆分离蛋白的挥发性有机化合物进行了检测。研究分析了不同品种、不同加工工艺下生产的大豆分离蛋白的豆腥味、豆香味和其他挥发性有机化合物的含量变化。通过品种控制(如使用无脂肪氧化酶的东富3号品种)、酶改性(包括植酸酶、水解酶等酶的复合使用)

表6 不同粉碎细度的蛋白粉感官评价  
Tab.6 Sensory evaluation of SPI with different crushing fineness

| 项目     | 未粉碎      | 筛分粒度/目   |           |           |           |
|--------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
|        |          | 150      | 180       | 200       | 250       |
| 口感(20) | 8.1±0.82 | 9.4±0.91 | 14.3±0.98 | 19.3±0.82 | 19.7±0.94 |
|        | 20±1.16  | 20±1.32  | 18.7±1.73 | 15.2±1.14 | 9.6±0.63  |

根据口感和风味均衡后,将粉碎至200目筛通过率95%的条件作为对比条件,如图7所示。

通过图7中的指纹图谱可以看出粉碎样品(GRI)与未粉碎样品(NOG)相比,主要豆腥味挥发性有机化合物如2-戊基呋喃、(E)-2-己烯醛、1-戊醇、己醛、己醇的浓度几乎无明显的变化,而1-辛烯-3-醇的浓度高于未粉碎样品。分析原因,可能为通过粉碎促进1-辛烯-3-醇生成,而对其他豆腥味成分无明显的影响。主要豆香味挥发性有机化合物如苯甲醛特别是其多聚体、庚醛特别是其多聚体等物质的浓度有不同程度的增加,3-辛烯-2-酮浓度有所降低,而苯乙醇、(E,E)-3,5-辛二烯-2-酮、2-呋喃甲醇、麦芽酚无变化。分析原因可能是粉碎和局部温度升高促进了部分豆香味挥发性有机化合物的生成,同时破坏了3-辛烯-2-酮。壬醛多聚体、辛醛、3-甲基丁醛及其多聚体、2-乙基己醇明显升高,2-己烯-1-醇多聚体、丙酸多聚体、2-戊酮减少,此外46、50、54号减少,47、52、53号等增加,其他无明显变化。

及二次真空脱气对提高豆香味、降低豆腥味的方法进行了研究。结果表明,大豆品种对豆腥味的控制有较大的优势,特别是缺失3种脂肪氧化酶的大豆;二次酶解及多次真空脱气工艺有利于产品的风味改善;粉碎工艺对风味有负向作用,但能够改善冲调后的口感。基于气相离子迁移谱联用技术对大豆分离蛋白的挥发性有机化合物的检测,可为大豆分离蛋白的风味改善提供有力的检测手段。

## 参 考 文 献

- [1] 任广旭,伊素芹,卢林纲,等. “牛乳与大豆”双蛋白运动营养功能的研究进展[J]. 中国食品学报, 2015, 15(6):154 – 161.  
REN Guangxu, YI Suqin, LU Lin'gang, et al. Recent progress of ‘Dairy – Soy’ dual protein in sports nutrition function[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(6):154 – 161. (in Chinese)
- [2] 时玉强,鲁绪强,马军,等. 大豆蛋白在传统豆制品中的应用[J]. 中国油脂,2017, 42(3):155 – 157.
- [3] 武月,周婷婷,钱凯,等. 低大豆蛋白饮食对慢性肾脏病人影响的研究进展[J]. 护理研究,2018, 32(19):27 – 30.
- [4] 刘博,卫玲,肖俊红,等. 大豆脂肪氧化酶研究进展[J]. 山西农业科学,2018,46(2):303 – 305.
- [5] 刘瑞雪. 大豆品种和制浆工艺对豆浆中不良风味物质影响的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2016.
- [6] 汪娟. 大豆分离蛋白与特定风味化合物相互作用机制的研究[D]. 广州:华南理工大学,2018.
- [7] 王瑞花,田金虎,姜万舟,等. 基于电子鼻和气相质谱联用仪分析葱姜蒜复合物对炖煮猪肉风味物质的影响[J]. 中国食品学报,2017,17(4):209 – 218.  
WANG Ruihua, TIAN Jinhu, JIANG Wanzhou, et al. Effects of the composite of ginger, onion and garlic on the volatile compounds of stewed-pork based on electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017,17(4):209 – 218. (in Chinese)
- [8] 朱宏,王爱莉,仇菊,等. 动态顶空结合气质联用法测定山西老陈醋发酵过程中挥发性物质的变化[J]. 中国食品学报, 2016,16(1):264 – 271.  
ZHU Hong, WANG Aili, QIU Ju, et al. Changes of aroma compounds in Shanxi aged vinegar during its fermentation determined by dynamic headspace-gas chromatography[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016,16(1):264 – 271. (in Chinese)
- [9] MINZHEN S, DEQING Z, RENMING L. Study of volatile organic compounds of fresh allium species using headspace combined with surface-enhanced Raman scattering[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2014, 34(9):2449 – 2452.
- [10] 郑文刚,矫雷子,赵贤德,等. 通过挥发物鉴别葡萄变质状态—基于长光程红外光谱和简易电子鼻阵列[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(6):1645 – 1649.  
ZHENG Wen'gang, JIAO Leizi, ZHAO Xiande, et al. Research on grape deterioration process via volatiles-using long optical-path infrared spectroscopy and simplified E-Nose[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(6):1645 – 1649. (in Chinese)
- [11] 陈学敏,朱国茵,罗海玲,等. 基于指纹图谱的欧拉羊肉挥发性风味物质定量分析[J/OL]. 农业机械学报,2020,51(5):349 – 355.  
CHEN Xuemin, ZHU Guoyin, LUO Hailing, et al. Quantitative analysis of Oula lamb meat volatile compounds based on fingerprint[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020,51(5):349 – 355. [http://www.jcsam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?file\\_no=20200538&flag=1](http://www.jcsam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20200538&flag=1). DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.05.038. (in Chinese)
- [12] 王辉,田寒友,李文采,等. 基于顶空气相色谱-离子迁移谱技术的冷冻猪肉贮藏时间快速判别方法[J]. 食品科学, 2019, 40(2):277 – 282.  
WANG Hui, TIAN Hanyou, LI Wencai, et al. Fast discrimination of frozen pork stored for different periods using headspace – gas chromatography – ion mobility spectroscopy (HS – GC – IMS) [J]. Food Science, 2019, 40(2):277 – 282. (in Chinese)
- [13] ANDRÉ E, HOU K W. The presence of a lipid oxidase in soybean *Glycine soya*[J]. CR Acad. Sci., 1932,194:645 – 648.
- [14] ESTEVES E A, HÉRCIA S D M, OLIVEIRA F C E, et al. Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenases (LOX2 and LOX3) [J]. Food Chemistry, 2010, 122(1):238 – 242.
- [15] MIZUTANI T, HASHIMOTO H. Effect of grinding temperature on hydroperoxide and off-flavor contents during soymilk manufacturing process[J]. Journal of Food Science, 2010, 69(3):SNQ112 – SNQ116.
- [16] LV Y C, SONG H L, LI X, et al. Influence of blanching and grinding process with hot water on beany and non-beany flavor in soymilk[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(1):S20 – S25.
- [17] KOBAYASHI A, WANG D, YAMAZAKI M, et al. Aroma constituents of tofu (soy bean curd) contributing to its flavor character[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2000, 47(8):613 – 618.
- [18] 张文灿,邹焱,朱辰,等. 豆奶风味物质的研究[J]. 大豆科技, 2014(4):32 – 38.
- [19] 赵毅. 脂肪氧合酶缺失型大豆加工特性及其豆奶加工工艺研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2006.
- [20] 李慧静,周惠明,朱科学,等. 大豆异味去除的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2012,33(2):215 – 220.
- [21] 施小迪,左锋,郭顺堂. 微压煮浆对豆乳风味特性的影响[J/OL]. 农业机械学报,2017,48(5):343 – 349.  
SHI Xiaodi, ZUO Feng, GUO Shuntang. Effect of micro-pressure heating on soymilk flavor characteristics [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017,48(5):343 – 349. [http://www.jcsam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?file\\_no=20170543&flag=1](http://www.jcsam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20170543&flag=1). DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.05.043. (in Chinese)
- [22] 牛丽影,沈凌雁,刘春菊,等. 鲜食糯玉米己醛和己醇的生成与 LOX 活性及其基因表达的相关性[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(5):184 – 189.
- [23] NOOSHKAM M, VARIDI M, VERMA D K. Functional and biological properties of maillard conjugates and their potential application in medical and food: a review[J]. Food Research International, 2020,131:109003.
- [24] ELIK E E, GKMEN V. Formation of Maillard reaction products in bread crust-like model system made of different whole cereal flours [J]. European Food Research and Technology, 2020,246(7):1207 – 1218.
- [25] 戚繁. 美拉德反应在食品工业中的研究进展[J]. 现代食品, 2020(19):44 – 46.
- [26] HELLWIG M, HENLE T. Maillard reaction products in different types of brewing malt[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020,68(48):14274 – 14285.