

食品风味分析的分离方法

沈 国 惠

摘 要

本文根据三十四篇近三年中的文献统计,说明顶空气收集法和萃取法在风味分析中得到较快发展。并且比较了各种分离方法的优缺点。介绍了近年文献报导的新的分离方法。

在食品中产生食品风味的化合物其浓度一般在 $10^{-8}\%$ 甚至小于 $10^{-14}\%$ ^[1]。处于与食品平衡的气相中,主要挥发性化合物的浓度常在 $10^{-1}\sim 10^{-3}\text{mg/l}$ 范围内,而微量成份则在 10^{-7}mg/l ^[2]。但并不是说微量成份对嗅觉就不起作用了,据报导有的化合物的嗅觉阈值低至 10^{-9}mg/l ^[3]。此外,由于风味化合物浓度间的巨大差别,复杂类别、不同极性、广范围的沸点等都造成了风味分析的困难。然而人们仍不惜花费很多精力去分析这些化合物,其目的主要是:^[4]

1. 推测食品异常风味形成的机理,从而设法防止或推迟它们的发生。
2. 配制成风味,用来改善、加强食品质量,给加工后的食品以新鲜食品的风味。
3. 规定新鲜食品的风味质量。
4. 控制产品风味质量。
5. 帮助遗传学家培育风味更好的品种。
6. 理解味觉和嗅觉的生理。

食品风味的分析一般分成二个步骤^{[4][5]},第一步是分离,即从具有代表性的食品中分离出数量足够的挥发性混合物。第二步是鉴定。然而分离步骤的重要性常常被忽视^{[5][6]}。这也许是因为鉴定比分离更使人感兴趣的缘故。

本文将重点介绍近年来在食品风味分析中几种主要的分离方法。

一、分离挥发组份的方法

根据分离对象,主要的分离方法大致上可分成二种:一种是直接从食品中分离挥发化合物,第二种方法是从食品的蒸气中分离挥发性化合物。

第一种方法主要有如下几种:

1. 压榨,即从植物组织之中,用物理方法提取汁液,它常用来研究水果的风味。

2. 浓剂萃取, 所使用的溶剂可以是水也可以是有机溶剂。使用水作溶剂时, 还得用高真空或其他的方法回收芳香组份。有机溶剂则包括低沸点的非极性溶剂、液化的气体溶剂(氟利昂 Freons 及液态二氧化碳)。溶剂选择的主要原则是分析对象的物理特性和是否可能发生氧化或其他反应。

风味分析中常用的溶剂如表一。

表 一

试 剂	沸点℃(760mmHg)	试 剂	沸点℃(760mmHg)
氯代甲烷	-24	氯仿	61
氯代乙烷	12.5	四氢呋喃	66
异丙烷	27—31	己烷	69
石油醚	在特定沸点范围	四氯化碳	77.5
乙醚/戊烷(2:1)	33.5	乙醇	78.5
乙 醚	35	苯	80
戊 烷	36	环己烷	81
二氯甲烷	40.5	庚烷	98
丙 酮	58		

3. 常压或减压下的蒸气蒸馏。

4. 高真空脱气, 适用于从油或含较多脂肪的食品中提取挥发物。

这些方法的优点是步骤较简单、适合于从较大量的食品中分离复杂的芳香组份。它们的缺点是 a. 所得到的提取液中, 芳香物质的浓度还比较低; b. 由于得率多变, 定量分析很困难; c. 改变了芳香组份间的相对比例; d. 蒸馏时的操作条件可能导致后生物(artifact)生成; e. 分离所得到的组份间可能相互反应, 产生一些很容易被误解是存在于原料之中的化合物。

第二种方法主要是顶空气体(Headspace Vapour)收集。

一般的做法是把有代表性的食品样品放在适当的容器里, 然后分离食品上部气体。由于顶空气体中的某些化合物(也可能是由于它们间的相互比例)对人的嗅觉细胞产生出某种刺激而造成各种食品所特有的气味。因而对食品顶空气体进行分析就显得很重要。为了分析这些气体, 通常要取大体积的气体, 最常用的方法是用冷却和吸附。当然并不排斥有的作者仅用很小体积的气体(几毫升)直接进行分析。

二、常用的分离方法

据 Hiroshi Sugisawa 对 1970—1977 年间的二百篇论文的统计^[5], 蒸馏法和萃取法要占其中的大多数, 见图 1。笔者统计了最近三年来的三十四篇论文, (见表二), 使用蒸馏法的百分比有所下降, 而使用“同时蒸馏—萃取法”(SDE)或类似方法的百分比大为增加。使用顶空气体收集法的百分比也有明显的增加。主要原因应该说是这两种方法要比蒸馏法更为简便。

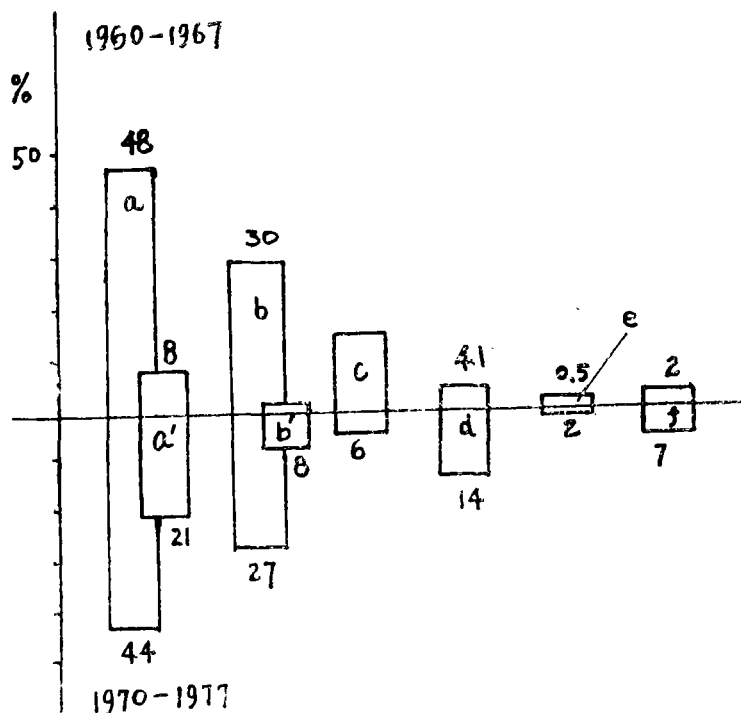


图 1

a. 蒸馏 a'. 蒸气蒸馏 b. 萃取 b' “同时蒸馏-萃取” (SDE)
e. 化学反应 d. 吸附 f. 冷冻浓缩 e. 其他

(一) 馏蒸法

(1) 常压蒸馏

这个方法较多地用来处理干的物料，如香料、谷物等，也适用处理大量样品。其优点是可以连续操作。主要缺点可能发生热分解反应以及由于使用大量溶剂而带进后生物。在本文收集的文献^{[11]-[44]}中，只有一篇是用常压蒸馏法^[20]，它是用来提取花瓣中的芳香成份的。

(2) 减压蒸馏

在本文统计的34篇文献中，用蒸馏法的有七篇，而其中六篇用的是减压蒸馏。减压蒸馏具有明显的优点：即使不能完全避免^{[7][8]}，也至少减少了由热降解引起的后生物。

这个方法的另一个优点是：样品常处在高真空中^{[22][35][39]}，加上有的作者还使用水蒸气蒸馏，所以在系统之中的氧气分压极低。因而对于分离易氧化的挥发物是很有利的。文献^[35]即是例子。由于采用了真空蒸气蒸馏，回生的豆油虽经长时间的分离，豆油的过氧化值并没有增加，感官指数也上升了。

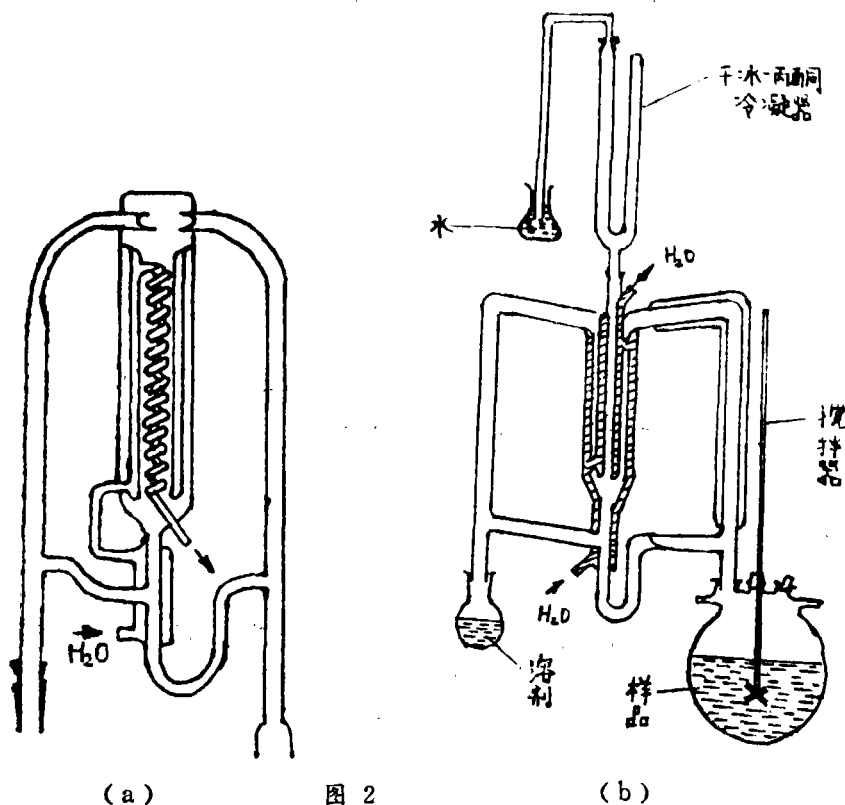
然而有的作者倾向于使用不很高的真空，因为在高真空中，冷阱常不能很有效地把所有风味化合物捕集住。常用的压力为600—650mmHg^[34]。

至于蒸馏装置近年去并没有很大变化，大部分作者使用的仍是60年代提出的装置^{[15][20][35]}。

(二) 萃取法

萃取法用来直接从食品中分离风味化合物,也被用来从蒸馏法所得的水溶液中回收芳香化合物。常用的有机溶剂见表一。在这34篇文献中,较多作者使用二氯甲烷(CH_2Cl_2)^{[19][26][28][29]}及乙醚^{[11][12][30]}。乙醚的提取效率高,但较易生成过氧化物。烷烃如丙烷、异丙烷则常用来提取含大量酒精的食品,因为它们不那么与乙醇亲合。此外,过去使用的液体 CO_2 和氟昂 12 (二氯二氟甲烷)^{[9][10]} 现在已经没有人用了。其原因是蒸馏浓缩时用的装置较为复杂。

在所引用的资料中,除了少数作者^{[29][31]} 使用食品中直接萃取法之外,几乎所有的作者都使用Likens—Nickerson型的“同时蒸馏—萃取器”。该装置由Likens及Nickerson在1964年提出,现在使用得最多的是由Schultz修改的型式^[15]和由MacLeod及Cave^[46]提出的改进型。这二种装置见图2。使用这类装置时,把食品样品的水液或浆状物放在烧瓶中,



经 Schultz 修改的装置

经 Macleod-Cave 修改的装置

并连接到右面的接头上。左面的接头接上一个小烧瓶,其中放溶剂。然后分别加热这两个烧瓶,样品烧瓶中的蒸气与溶剂蒸气在中部的冷阱冷凝下来。通常溶剂和水在U形管中分层。由于很多溶剂比水轻,所以溶剂可以流回左边烧瓶继续回流,而水则回到样品烧瓶。但如果使用如 CH_2Cl_2 这种比水重的溶剂时,只要把左右烧瓶换一下就可以了^[47]。

在使用这种装置分离风味组份时,很多作者^{[13][17][23][26][42][43]}还用减压来降低沸点。以减少生成后生物的可能性。常用的压力为100mmHg。

图2中的那二套装置都有很好的回收率。Schultz等^[45]曾报道他的装置在常压和减压下的回收率。他们用己烷、戊烷、乙醚三种溶剂分别提取酯、醇和萜类的水溶液,大部分回

收率都大于80%。Chi Y, Au—Yeung^[47]等则用MacLeod—Cave装置测定了回收率。他们用异戊烷、二氯甲烷和CFC1₃三种溶剂提取四种化学性质完全不同的化合物。其主要结果见表三、表四。

由表中可见二氯甲烷的回收率大多超过80%。此外,随萃取时间增长,回收率有所提高。

表 二

	蒸 馏 法	萃 取 法	顶 空 法	其 他
文献号码	[15][20][22] [25][34][35] [39]	[11][12][13][17] [19][21][23][24] [26][28][29][30] [31][37][40][43] [42]	[11][13][14][16] [17][18][22][27] [30][33][36][38] [41]	[32] [44]
小 计	7	17	13	2
百 分 比	18%	44%	33%	5%

表 三

使用图2(b)装置从水相中回收化合物的百分率

时间 (小时)	乙 酸 乙 酯			甲 基 吡 嗪			异硫氰酸烯丙酯		
	异戊烷	CH ₂ Cl ₂	CFC1 ₃	异戊烷	CH ₂ Cl ₂	CFC1 ₃	异戊烷	CH ₂ Cl ₂	CFC1 ₃
0.5	85	75	96	26	70	62	60	82	81
1.0	65	86	84	52	94	79	57	80	74
3.0	74	82	91	54	101	78	79	52	79

表 四

从油/水相中回收化合物的百分率

时间 (小时)	乙 酸 乙 酯		甲 基 吡 嗪		异硫氰酸烯丙酯	
	异 戊 烷	CH ₂ Cl ₂	异 戊 烷	CH ₂ Cl ₂	异戊烷	CH ₂ Cl ₂
0.5	91	65	28	52	66	96
1.5	80	80	31	73	60	90
3.0	79	82	67	95	73	75

(三) 顶空气体收集法

这个方法发展得较快,使用这个方法的作者越来越多,(见图1、表二)。其主要优点是方便、不需要很多特殊装置,甚至有些装置已经商业化。根据操作方式大致可分成三种形式:

1. 将有代表性的食品置于一个密封的容器中,容器大小可按工作者的要求。有的作者用8ml的小瓶装样品,用针筒抽出2ml气体直接进气相色谱仪分析^[11]。有的作者则用较大的容器^[38]来放置样品。这种方法是顶空分析中最快的方法,但缺点是不能测定沸点较高的组份,而那些组份也许对风味有较大影响。

2. 在通常条件下,顶空气中挥发组份的浓度极低,为了收集足够量的挥发物,Chang等^[48]提出一套装置,该装置由一个可装几磅或几十磅食品样品的玻璃圆筒与一系列

冷阱组成。 N_2 从圆筒底部经过一块烧结板的细孔进入筒内,将食品的蒸气带入冷阱。然后再用乙醚提取,提取液浓缩后供气相色谱分析。

这个方法的优点是可以处理大量样品,因而可以收集到数量较多的挥发物。这样在气相色谱分离时可以使用填充柱。填充柱的主要优点是可以由专家在气相色谱仪的出口对各个馏份进行感官鉴定。当然使用FID时,检定器前要用分流器,然后在分流器出口进行感官检定。这样可以对整个风味提取物中的几个有兴趣的馏份着重分析研究。其缺点是费工、费时。

3. 在顶空气体的收集分离中,当样品含大量水时,一个最大问题是气体中含有大量的水蒸气,因而不能很方便地进入色谱联用仪。对于这种情况,近年来的大部分文献作者采用多孔聚合物来吸附挥发物,这些聚合物都是疏水的。使用得最多的是 Tenax GC 这种对水和低级醇都很少吸附的聚合物。它可以在室温吸附挥发物,在 200°C — 300°C 解吸。Tenax GC 在 400°C 时还是稳定的。常见的装置如图 3。在烧瓶口上接上氮气,经 5—24 小时,再用溶剂洗出吸附物或者升温至 200°C — 300°C 解吸。吸附物被解吸后用液氮冷阱捕集,然后供气相色谱仪进一步分离。

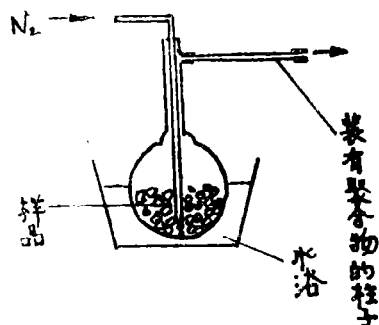


图 3

这种方法仅需少量样品 (10 — 300 g),也能用于大量样品,而且分离和浓缩可以同时进行,并能吸附广范围沸点的化合物。在本文统计的文献中, [13][14][17][18][22][36][41][27]都使用 Tenax GC 这种聚合物。

该法的缺点是由于解吸挥发物时常加热到 200°C — 300°C ,所以有可能产生后生物。

有人认为^[49]Tenax GC 有较小的表面积 ($19\text{ m}^2/\text{g}$),它适合于沸点较高的化合物。而 Porapak Q 和 P 则具有较大的表面积 (550 — $750\text{ m}^2/\text{g}$),它们适用于收集中等沸点的化合物。在本文所引用的文献中,只有一篇文献的作者^[30]使用 Porapak Q 为吸附剂。Chromosorb 102 则由于热分解引起较大流失而很少使用了。Chromosorb 105 和 106 则在 225°C 时仍是稳定的^[50]。

三、新的分离方法

在近二年的文献中,关于风味分离的新方法只看到二篇。第一方法由 Hussein 等^[32]提出,用来分析饮料。其要点为用一根 25 英尺长 $\frac{1}{4}$ 吋的铝管,在其内壁涂上 2g SE-30,把要分析的饮料 20ml 注入管中,流出后再用 150ml 水分三次洗管以去掉糖和非挥发物,再用 500ml/分的 N_2 吹五分钟去掉水份。

把管子加热到 250°C ,用 500ml/分 N_2 吹 12 分钟, N_2 经过管子后进入 $15\text{ cm} \times 0.6\text{ cm}$ 的小管 (内装 200mg Tenax GC)。该小管经干燥后加热到 250°C ,解吸。然后再进气相色谱仪进一步分离。

这个方法的特点是用气相色谱中的固定液来提取挥发物,但步骤并不简单。

另外一个方法是由 Parliment^[44]提出的。他把含有芳香化合物的稀溶液通过一根 C_8 填充柱 ($22 \times 300\text{ mm}$),有机化合物被滞留在柱上,然后用梯度溶剂系统洗脱这些化合物。再把所得前的各个馏份供 GC/MS 分析。作者用该法分析了包括可乐饮料在内的四种样品。

该法特点是可以把挥发物从稀溶液中浓缩起来,并被梯度溶剂分成各个馏份。回收率超

过80%。因为不需要加热,所以化合物分解的可能性很小,固体物质的存在不影响分析。收集到的馏份可以用感官方法评价。

该方法发表至今没有人重复使用过。

参 考 文 献

- [1] Robert A. Flath, Hiroshi Sugisawa, Roy Teranishi, "Problems in Flavor Research" 1981 FLAOR RESEARCH Edited by Roy Teranishi.
- [2] J.M.H. Bemelmans, "Progress in Flavour Research" 1978 Edited by D. G. Land and H.E. Nursten.
- [3] Van Gemert, L.J. et al "Compilation of Odour Threshold Values in Air and Water" 1977.
- [4] Stephen, S. Chang, Food Technolog. 1973 Vol. 27 No. 4 27—39.
- [5] Hiroshi Sugisawa, "Sample Preparation", 1981 FLAVOR RESEARCH Edited by Roy Teranishi.
- [6] Karl O. Herz and Stephen S. Chang, J. Food Sci. 1966 Vol 31(6) 937—40
- [7] I.J. Jeon, G.A. Reinceus and E.L. Thomas, J. Agric. Food Chem. 24. 433 1976.
- [8] P.L. Lee, G. Sords, and G.L. Hunter, J. Agric. Food Chem. 23. 1195(1975)
- [9] M.H. Brodnitz et al, J. Agric. Food Chem. 10. 273(1971)
- [10] O.G. Vitzthum, P. Werkoff, and P. Hubert, J. Food Sci. 40: 91(1975)
- [11] Thomas H. Parliment, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 6, 1006, 1982
- [12] Robert C. McIver, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 6, 1017—20, 1982
- [13] Ron G. Buttery, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 6, 1208, 1982
- [14] Chu-Chin Chen et al, J. Agric. Food Chem. 30; 6, 1211-45, 1982
- [15] Ronald C. Welch, Judy C. Johuston, George L.K. Hunter, J. Agric. Food Chem. 30; 4, 1982
- [16] Philip E. Shaw et al, J. Agric. Food Chem. 30; 4, 685-88, 1982
- [17] Ron G. Buttery et al, J. Agric. Food Chem. 30; 4, 839-42, 1982
- [18] Wendy Wellnitz-Ruen, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 512-14, 1982
- [19] Alexander J. MacLeod, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 515-17, 1982
- [20] Hisayuki Toda et al, J. Agric. Food Chem. 30; 81-84, 1982
- [21] Roland Tressl, et al, J. Agric. Food Chem. 30; 89-93, 1982
- [22] Menard G. Heydanek and Robert J. McGorrin, J. Agric. Food Chem. 29, (5) 950-54, 1981
- [23] Ron G. Buttery et al, J. Agric. Food Chem. 29; 5, 955-58, 1981
- [24] Roland Tressl and Reinhard Silwar, J. Agric. Food Chem. 1078, 1981
- [25] Michael J. Greenberg, J. Agric. Food Chem. 29; 831-34, 1981
- [26] Alexander J. MacLeod and Nirmala M. Pieris, J. Agric. Food Chem. 29, 488-490, 1981
- [27] Patridlk J. Dirirck et al, J. Agric. Food Chem. 29; 316-21, 1981

- [28] Kenji Yamaguchi et al, J.Agric.Food Chem.29; 366-70,1981
- [29] Jun-ichi Shimizu J.Agric.Biol.Chem.46; 9, 2265-74,1982
- [30] Izumi Yajima et al, Agric.Biol.Chem.45; 2; 373-77,1981
- [31] Yukiko Tokitomo et al, Agric.Biol.Chem.46; 7; 1873-77,1982
- [32] M.M.Hussein, D.A.M.Mackay, J.Food Sci.46; 4; 1043,1981
- [33] Chi-Tang Ho et al, J.Food Sci.47; 1; 127,1982
- [34] A.E.Labripoulos, et al, Dairy Sci.65(2) 191-196,1982
- [35] Stephen S.Chang, Guo⁺Hui Shen, Jian Tang, Qi Zhang Jin, Huang Shi
James T.Carlin, Chi-Tang Ho, J.A.O.C.S.60(3)553-57,1983
- [36] D.B.Min and D.B.Tickner, J.A.O.C.S.59(5) 226,1982
- [37] Ron G.Buttery et al, J.Agric.Food Chem. 28, 771-4,1980
- [38] Philip E.Shaw et al, J.Agric.Food Chem. 28, 778-81,1980
- [39] Judy C.Johnston et al, J.Agric.Food Chem. 28, 859-61,1980
- [40] Peter Schreier, J.Agric.Food Chem. 28, 926-28, 1980,
- [41] Albert E.Purcell et al, J.Agric.Food Chem. 28, 939-941,1980
- [42] Ron G.Buttery and James A.Kamm, J.Agric.Food Chem. 28;978-81,1980
- [43] Thomas H.Schultz et al, J.Agric.Food Chem.28; 1255-58,1980
- [44] Thomas H.Parliament, J.Agric.Food Chem. 29; 836-41,1981
- [45] H.T.Schultz et al, J.Agric.Food Chem. 25; 446,1977
- [46] MacLeod A.J. and Cave S.T. J.Sci.Food Agric.26; 351-60,1975
- [47] Chi Y, Au-Yeung et al, J.Agric.Food Chem. 29; 502-5,1981
- [48] Chang,S.S.J.Agric.Food Chem. 25; 3; 450,1977
- [49] Butler, L.D.and Burke, M.F. J.Chromatog.Sci. 14; 117,1976
- [50] Marrary, K.E. J.Chromatog. 135; 49,1977

Isolation Methods in Flavor Analysis

Shen Guo-hui

Abstract

This paper reviewed the isolation methods of flavor analysis according 34 papers published recently. The headspace vapour collection and simultaneous distillation-extraction have been got progress and compared the advantages with other methods. Two new ways of isolation were introduced.