

N- [N-3-(3-羟基-4-甲氧基苯基) 丙基-L- α -天冬氨酸] -L-苯丙氨酸-1-甲酯的合成研究

甘水锋, 晏日安*, 李爱军
(暨南大学食品科学与工程系, 广东广州 510632)

摘要:以3-羟基-4-甲氧基苯甲醛和乙醛为初始原料,在-10℃、强碱性条件下反应生成3-羟基-4-甲氧基肉桂醛,然后将其与阿斯巴甜(APM)于0.7MPa氢压、35℃以及10% Pd/C催化剂的作用下还原烷基化,制得甜度高达蔗糖20000倍的纽甜类似物N-[N-3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基-L- α -天冬氨酸]-L-苯丙氨酸-1-甲酯,总产率达32.0%。

关键词:3-羟基-4-甲氧基苯甲醛, 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛, 阿斯巴甜, 纽甜类似物

Synthesis of N- [N-3-(3-Hydroxy-4-Methoxyphenyl) Propyl-L- α -Aspartate]-L-Phenylalanine-1-Methyl

GAN Shui-feng, YAN Ri-an*, LI Ai-jun

(Department of Food Science & Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: N- [N-3-(3-Hydroxy-4-Methoxyphenyl) Propyl-L- α -Aspartate]-L-Phenylalanine-1-Methyl, a neotame analogue sweeteners with the sweetness 20000 times higher than sucrose, was synthesized with production yield of 32% under the following condition. Using 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde and acetaldehyde as original material, made them reacting at -10℃ and strong alkaline condition and N- [N-3-(3-Hydroxy-4-Methoxyphenyl) Propyl-L- α -Aspartate]-L-Phenylalanine-1-Methyl was formed. And then reacted with aspartame (APM) at 35℃ and under hydrogen pressure of 0.7MPa in the presence of 10% Pd/C catalyst for alkylation to produce the final product.

Key words: 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde; 3-hydroxy-4-methoxycinnamylaldehyde; aspartate; neotame analogue

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)08-0336-04

阿斯巴甜具有甜度较高(蔗糖的200倍)、口感好、安全性高等特点,并且生产工艺成熟,产品供应稳定,已广泛应用于食品、饮料及制药行业^[1]。但其稳定性不好,甜度相比三氯蔗糖、甜蛋白等新型甜味剂不高,限制了它的应用和发展。纽甜是1993年Nofre和Tinti发明的^[2],是在APM的天冬氨酸的氨基中引入了3- β -二甲基丁基,从而显著改善了它的稳定性^[3],且甜度更是达到了它的40倍(是蔗糖的8000倍)^[4],安全性也更可靠,成为目前批准使用的最优秀的人工合成甜味剂。纽甜类似物是为了适应

超强甜味剂工业化发展而研发的一类产品,是一类在分子结构上与纽甜相似的人工合成甜味剂。Nofre和Tinti研究了在APM的天冬氨酸的氨基中引入其它烷基,得到了一系列纽甜类似物^[5]。日本味之素的科学家研究了苯环上具有各种取代基的3-苯基丙基衍生物取代的阿斯巴甜衍生物,得到了大量甜度与纽甜相当、甚至远大于纽甜的纽甜类似物^[6-9],且均为非营养型的甜味剂,安全性和稳定性都与纽甜极其相似,极具开发价值。在成功完成肉桂醛与阿斯巴甜这一制备3-苯基丙基取代阿斯巴甜衍生物模型反应的基础上,我们完成了3-(4-甲氧基苯基)丙基-阿斯巴甜衍生物的合成,该衍生物甜度为蔗糖的6500倍,虽甜度比纽甜稍低,但反应条件很有参考价值^[10-12]。本文在纽甜类似物合成研究方面取得了重要进展,制备了超强甜度的纽甜类似物甜味剂N-[N-3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基-L- α -天冬氨酸]-L-苯丙氨酸-1-甲酯(以下称3-(3-羟基-4-

收稿日期:2011-04-22 * 通讯联系人

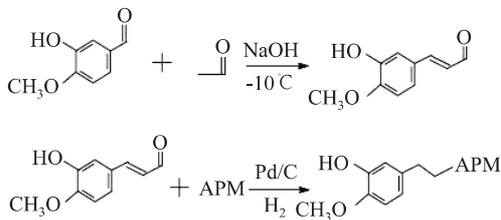
作者简介:甘水锋(1986-),男,硕士研究生,主要从事食品添加剂的制备与应用研究。

基金项目:广东高校科技成果转化项目(cgzhd0805);广东省重大科技专项(2010A080403001)。

甲氧基苯基)丙基-阿斯巴甜),甜度达蔗糖的20000倍^[6],在甜味剂研究方面意义非凡。

1 材料与方法

1.1 反应原理



1.2 材料与设备

3-羟基-4-甲氧基苯甲醛、阿斯巴甜 安耐吉化学; 10% Pd/C 催化剂 本实验室制造; 乙醛、NaOH、36% HCl、乙酸、甲醇 天津市大茂化学试剂厂, 化学纯; 氮气、氢气 高纯气体。

循环真空泵 SHZ-D III 型; 旋转蒸发器 ZFQ85A 型; LPA8-21.5-30 型高压反应釜 大连自控设备厂; 真空干燥箱 ZK-82A 型; 显微熔点测定仪 北京泰克仪器有限公司; 低温恒温槽 上海一恒科技公司; Equinox 55 红外光谱仪 Bruker 公司; 电子轰击电离质谱仪 美国 Thermo 公司; 400MHz 核磁共振仪 瑞士布鲁克公司。

1.3 实验方法

1.3.1 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛的制备 将 32.0g (0.80mol) 氢氧化钠溶解于 200mL 水中,待冷却至 30℃ 后加入 12.2g (0.08mol) 异香草醛并搅拌使其全部溶解。立即转入低温恒温槽中冷却至 -10℃, 4h 内,向反应体系中连续滴加质量分数为 28% 的乙醛水溶液 29.0g (0.18mol),滴加结束后继续搅拌反应 2h,然后添加质量分数为 36% 的浓盐酸 76.8g (0.78mol) 终止反应。过滤反应液,得到 32.4g 淡黄色湿晶体,将结晶分散在 34.0mL 甲醇中,过滤浆液。将得到的 21.4g 湿晶体在 60℃ 下分散在 33.5mL 甲醇中并搅拌 2h,然后冷却到室温,过滤浆液。在 60℃ 下将经上述步骤得到的 9.9g 晶体完全溶解于 120.0mL 甲醇中,冷却至 15℃。最后,常温减压条件下干燥所得的晶体,得到目的物 (2E)-(3-羟基-4-甲氧基)肉桂醛 7.5g,熔点为 144.0~147.0℃ (文献值为 147.0℃),产率达 53.0%。

ESI-MS: 179.3 (M + H)⁺, 201.4 (M + Na); IR (cm⁻¹): 799.66、842.68、865.83、1139.04、1287.29、1508.90、1607.45、1658.55、2983.28、3229.91。

1.3.2 3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基-APM 的制备 在 100mL 甲醇中加入颗粒状氢氧化钠 0.7g (17.5mmol) 和经上述步骤制得的 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛 3.0g (17.0mmol),稍许搅拌,使之完全溶解。接着在室温下加入 APM 5.8g (19.5mmol),于 10℃ 搅拌 1h,然后将反应液转入高压反应釜中,用 N₂ 驱除空气并用氢气驱除 N₂ 各四次,加入 10% 的 Pt/C 1.0g 0.7MPa 的氢气环境下于 10℃ 搅拌 2h,接着加入乙酸 1.7mL (29.0mmol),于 0.7MPa 的氢气环境、35℃ 下搅拌 4h,过滤反应液,除去催化剂,并用少许甲醇

洗涤催化剂,收集滤液和洗涤液,60℃ 下减压蒸馏出 70.0mL 甲醇,而后,往浓缩液中加入 90.0mL 蒸馏水并在 60℃ 下稍许搅拌使其完全溶解。接着,冷却至 10℃,使晶体析出,并在该温度下使之熟化 12h,过滤并用醇水混合溶剂(1:3 体积) 8.0mL 洗涤所得晶体,45℃ 下减压干燥,最后得 4.7g 晶体,熔点为 97.0~99.0℃ (文献值为 99.0℃),产率达 60.0%。

ESI-MS: 459.6 (M + H)⁺, 481.4 (M + Na)⁺; IR (cm⁻¹): 702, 758, 808, 842, 866, 1028, 1128, 1242, 1381, 1441, 1513, 1587, 1662, 1718, 1744, 2505, 2845, 2949, 3030, 3321, 3406; EI-MS: 458 (M), 440 (M - H₂O), 252, 165, 164, 162, 149, 131, 91; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 1.50~1.57 (m, 2H), 2.17~2.39 (m, 6H), 2.88~2.93 (dd, 1H), 3.05~3.09 (dd, 1H), 3.39~3.43 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.56~4.57 (m, 1H), 6.52 (d, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.78 (d, 1H), 7.18~7.27 (m, 5H), 8.52 (d, 1H)。¹³C NMR (DMSO-d₆) δ: 30.5, 31.9, 36.7, 45.8, 51.9, 53.1, 55.7, 57.8, 112.4, 115.7, 118.6, 126.5, 128.2, 129.1, 134.4, 137.0, 145.8, 146.4, 171.5, 171.6, 172.2。

2 结果与讨论

2.1 温度、时间、pH 对 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛产率的影响及产物结构的确定

中间体 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛的制备过程,其实质是一个羟醛缩合再脱水的过程,羟醛缩合反应在高 pH 条件下反应迅速,长时间连续滴加过量的乙醛水溶液也有利于目标物产率的提高,为此实验优选在 pH = 12.0 以上、4h 内连续滴加过量的乙醛水溶液。同时,为了避免副反应的发生,实验在 -10℃ 条件下进行。缩合的产物为 β-羟基醛,稍微受热或是在酸的作用下即发生分子内脱水而生成 α,β-羟基醛(3-羟基-4-甲氧基肉桂醛),所以实验中我们加入 36% 的浓盐酸用来终止反应。

反应所得 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛,熔点为 144.0~147.0℃,与文献值(147.0℃)基本一致,说明纯度良好。在其 ESI-MS 中:基峰 m/z179.3 为 (M + H)⁺, m/z201.4 为 (M + Na)⁺。产物的 IR 图谱中:799.66、842.68、865.83cm⁻¹ 为含三取代的苯环;在 1139.04、1287.29cm⁻¹ 两处有强烈吸收峰,为 C-O 的单键伸缩振动吸收峰;1508.90、1607.45cm⁻¹ 两处的吸收峰为苯环的骨架振动;1658.55cm⁻¹ 处为强烈的 C=O 伸缩振动峰;2983.28cm⁻¹ 处为 -CH₃ 的弯曲振动;3229.91cm⁻¹ 为 -OH 的吸收,基本确定为 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛。

2.2 还原烷基化过程条件的控制及 3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基-APM 结构的确定

采用阿斯巴甜和 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛直接进行的烷基化反应收率低,这是因为加氢时形成的薛夫碱不稳定而分解或者发生 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛的还原副反应(生成醇)引起的,所以,通过实验开始时添加氢氧化钠使 3-羟基-4-甲氧基肉桂醛成盐,从而使整个反应体系内呈碱性, pH = 10.0~11.0,从而稳定地形成薛夫盐,抑制了副反应,促进了加氢

反应的进行。0.7MPaH₂ 下加氢2h 后进行体系 pH 的调整,有利于抑制原料和产物的分解反应,也有利于10% Pd/C 催化剂催化活力的释放,从而提高产率,调整后的以 pH6.0~7.0 为宜。为了减少副反应的发生,增加还原烷基化反应,选择在0.7MPaH₂、35℃ 条件下反应4h,产率达到了60.0%。

产物熔点为97.0~99.0℃,与参考文献值(99.0℃)基本一致,说明纯度良好。ESI-MS 中基峰 m/z459.6 为 (M+H)⁺, m/z481.4 为 (M+Na)⁺。

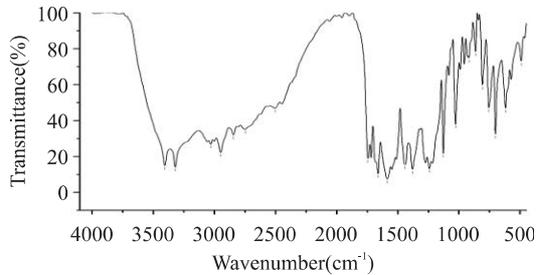


图1 IR

IR: 702、758、1513cm⁻¹有强烈的吸收峰表明产物含一取代苯环,且808、842、866cm⁻¹处的吸收表明化合物还含1,2,4-三取代苯环;1028、1128、1242cm⁻¹为C-C及C-O的单键伸缩振动;1441、1587cm⁻¹为苯环的C=C骨架振动;1662、1718、1744cm⁻¹的尖锐吸收峰为C=O;2505cm⁻¹为苯环上的累积双键吸收;2845、2949cm⁻¹是饱和的CH吸收峰;3030cm⁻¹处宽而强的吸收为不饱和的CH吸收峰;3321cm⁻¹为-OH,3406cm⁻¹为-NH。

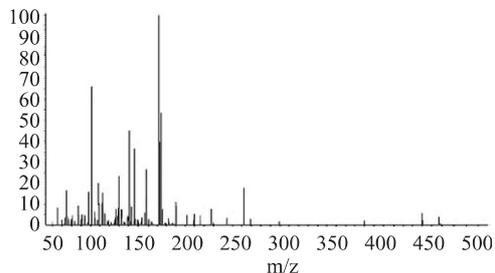
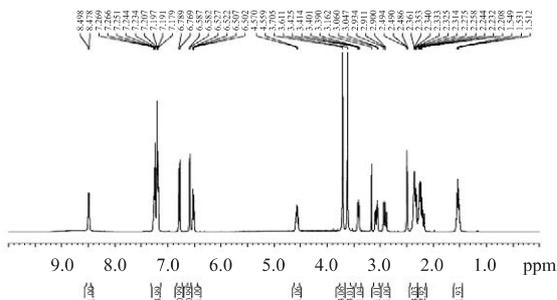


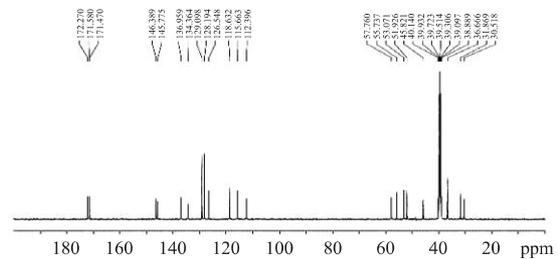
图2 EI-MS

EI-MS: 458 为分子离子峰 M; m/z = 440 为 M-H₂O, m/z = 165 与 m/z = 164 分别为产物脱去3-羟基-4-甲氧基苯丙基部分、继而打掉一个质子,基峰 m/z = 162 为分子脱去苯丙氨酸甲酯部分后打掉一个质子所形成的峰, m/z = 91 为苄基峰。

图3 ¹H NMR(DMSO-d₆)

¹H NMR(DMSO-d₆) δ: 1.50~1.57(m, 2H) 为天冬氨酸中的-CH₂; 2.17~2.39(m, 6H) 为-CH₂-CH₂-CH₂-; 2.88~2.93(dd, 1H), 3.05~3.09(dd, 1H) 为苯丙

氨酸中的-CH₂; 3.39~3.43(m, 1H) 为天冬氨酸中的-CH; 3.61(s, 3H) 为苯丙氨酸甲酯中的-OCH₃; 3.71(s, 3H) 为肉桂醛衍生物苯环上的-OCH₃; 4.56~4.57(m, 1H) 为苯丙氨酸中的-CH; 6.52(d, 1H), 6.58(s, 1H), 6.78(d, 1H) 为三取代苯环,确定为3-羟基-4-甲氧基苯丙基中的苯环; 7.18~7.27(m, 5H) 为一取代苯,确定为苯丙氨酸中的苯环; 8.52(d, 1H) 为苯丙氨酸甲酯部分的-NH。

图4 ¹³C NMR(DMSO-d₆)

¹³C NMR(DMSO-d₆) δ: 30.5, 31.9, 45.8 为-CH₂-CH₂-; 51.9 为苯丙氨酸甲酯中的-OCH₃; 53.1 为肉桂醛衍生物苯环上的-OCH₃; 55.7, 57.8 为-CH; 112.4, 115.7, 118.6, 134.4, 145.8, 146.4 为3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基中的苯环; 126.5, 128.2, 129.1, 137.0 为苯丙氨酸中的苯环; 171.5 为苯丙氨酸甲酯中的羰基; 171.6 为酰胺基; 172.2 为天冬氨酸中的羰基。

综上分析,完全可以确定产物为3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基-APM。

3 结论

本文以3-羟基-4-甲氧基苯甲醛和乙醛为初始原料,在-10℃、强碱性条件下反应生成3-羟基-4-甲氧基肉桂醛,然后将其与阿斯巴甜于0.7MPa 氢压、35℃以及10% Pd/C 催化剂的作用下还原烷基化,制得甜度高达蔗糖20000 倍的纽甜类似物3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基阿斯巴甜,总产率达32.0%。该超强纽甜类似物甜味剂的成功合成在国内尚属首次,整条合成路线工艺简单、产率较高,为其他超强纽甜类似物甜味剂的合成奠定了基础。

参考文献

- [1] 钱亚杰,钱志伟.阿斯巴甜的合成研究[J].河北化工,2007,30(11):38-40.
- [2] Nofre, Claude, Tinti. N-substituted derivatives of aspartame useful as sweetening agents [P].5480668.1996, 1.
- [3] Claude Nofre & Jean-Marie Tinti. Neotame: discovery, properties, utility [J].Food Chemistry 2000, 69: 245-257.
- [4] Indra Prakash, Hoffman Estates, Kurt Wachholder. Method for the purification N-[N-(3-β-dimethylbutyl)-L-α-aspartyl]-L-phenylalanine 1-methyl ester [P].US Patent: 6784309B₂.
- [5] Prakash I., Corliss G., Ponakala R., et al. Neotame: the next generation sweetener [J].Food Technology 2002, 56: 36-45.
- [6] 网野裕右, 泽和子, 竹本正, 等.天冬氨酸基二肽酯衍生物及甜味剂 [P].WO1999/052937.
- [7] 森健一, 藤田伸二, 船越直, 等.肉桂醛衍生物的制造方法及其应用等 [P].WO01/87813.
- [8] 河原兹, 长岛一孝, 竹本正.天冬氨酸基二肽酯衍生物的制备方法 [P].WO01/85761.

啤酒废酵母酶解液 制备鸡肉味香精的研究

任静朱凯*

(南京林业大学化学工程学院, 江苏南京 210037)

摘要:以富含氨基酸的啤酒废酵母酶解液为主要氨基酸源,外加半胱氨酸、半胱氨酸盐酸盐、甘氨酸、硫胺素等,与还原糖进行 Maillard 反应制备鸡肉味香精。以产物的风味评分值作为评价指标,采用中心复合设计法对反应工艺进行了优化。研究表明,反应温度(X_1)和 pH(X_3)对评价指标无显著影响($P > 0.1$),反应时间(X_2)对评价指标有显著影响($P < 0.1$);拟合所得多元二次方程为 $Y = 7.744 - 0.722X_2 - 1.865X_1^2 - 1.423X_2^2 - 0.946X_3^2$; Maillard 反应优化工艺条件为:温度 121.9℃,反应时间 50min, pH6.4。所制备的鸡肉味香精有浓郁的鸡肉香味,用 GC-MS 对鸡肉味香精的挥发性风味成分进行测定,共鉴定出 40 种化合物,主要包括 2-甲基-3-呋喃硫醇、2-癸二烯醛、2-乙基-3-甲基吡嗪、十六烷醛等对鸡肉风味有贡献的化合物。

关键词:啤酒废酵母 酶解液, Maillard 反应, 鸡肉味香精, 中心复合设计

Research on preparation of chicken essence by waste beer yeast hydrolysis liquid

REN Jing, ZHU Kai*

(Chemical Engineering College of Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: Prepared chicken essence by Maillard reaction between reducing sugar and waste beer yeast hydrolysis liquid which was rich in amino acids, adding cysteine, cysteine hydrochloride, glycine, V_{B1} , et al. The score of product flavour was chosen as response variable and the preparation conditions of reaction techincs were optimized by central composite design. The results showed that the reaction temperature(X_1) and pH(X_3) had less significant effect($P > 0.1$) on the response, and reaction time(X_2) had significant effect($P < 0.1$). The secondorder polynomial equation was $Y = 7.744 - 0.722X_2 - 1.865X_1^2 - 1.423X_2^2 - 0.946X_3^2$. The optimized conditions of preparation of Maillard reaction were: reaction temperature 121.9℃, reaction time 208min and pH6.4. The chicken essence was of full-bodied chicken flavor, 40 kinds of compounds were identified using GC-MS. The main compounds were 2-Methyl-3-furanthiol, 2-ethyl-3-methyl-Pyrazine, Cis-11-hexa decenal, etc, which were contributed to chicken flavor.

Key words: waste beer yeast; enzymatic hydrolysis liquid; Maillard reaction; chicken essence; central composite design

中图分类号: TS264.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2011)08-0339-04

鸡肉味食品味道鲜美,风味诱人,鸡肉味香精具有浓郁明显的鸡肉香气,可以改善鸡肉制品的风味,还可以作为汤料代替鸡肉使用,起到很好地增鲜增香效果。Maillard 反应所形成的肉味香精无论从原

料还是过程均可以视为天然的,其香味浓郁,具有较好的贮藏稳定性和热加工稳定性。肉类香精生产所采用的氨基酸源^[1-3]常见的有纯氨基酸、水解植物蛋白(HVP)和水解动物蛋白(HAP),但这些氨基酸源或多或少存在香气不够逼真、成本相对较高等缺点。啤酒酵母酶解液含有丰富的氨基酸,可以作为 Maillard 反应制备肉味香精的优质氨基酸源。酶解

收稿日期: 2010-06-22 * 通讯联系人

作者简介: 任静(1987-)女,硕士研究生,主要从事香精香料的研究。

[9] 长岛一孝,青木雄一,小野惠理子,等.天冬甜素衍生物物的结晶[P].WO01/47949.

[10] 白德发,晏日安,黄雪松.阿斯巴甜衍生物甜味剂的合成研究[J].食品科技,2008,33(3):228-230.

[11] 晏日安,舒小康,杜淑霞,等.强力甜味剂纽甜的合成研究[J].食品与发酵工业,2007,33(3):5-7.

[12] 晏日安,白德发,舒小康,等.纽甜合成方法的改进[J].食品科学,2008,29(12):312-315.