

文章编号:1009-038X(2004)05--

# 利用美拉德反应制备鱼味香料

张彩菊, 张 愨

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要:**以鲮鱼的酶解产物为基料,选择关键氨基酸和还原糖及其恰当配比进行美拉德反应,确定了能产生最逼真鱼香味的反应体系及其最佳配比与反应条件为:还原糖:L-谷氨酸(质量比)2:1;葡萄糖:木糖(质量比)1:2.5;L-谷氨酸:VB<sub>1</sub>(质量比)1:1;pH值7.0,反应温度115℃及反应时间40min,反应物体积分数40%.

**关键词:**鱼味香料;美拉德反应;氨基酸;还原糖

中图分类号:TS264.2

文献标识码:A

## Use of 美拉德 Reaction to Manufacture Fish Flavoring

ZHANG Cai-ju, ZHANG Min

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** Using enzymatically hydrolyzed Bighead Carp as chief raw material, key amino acids and their best proportions were selected for the Maillard reaction with reducing sugars. The optimal component proportions and reaction conditions producing the best and strongest fish flavor were determined as follows: reducing sugars/L-glutamic acid 2:1, glucose/xylose of 1:2.5 and L-glutamic acid/VitB<sub>1</sub> of 1:1; the pH, reaction temperature, reaction time and reactant concentration were 7.0, 115℃, 40 min and 40%, respectively.

**Key words:** fish flavouring; 美拉德 reaction; amino acid; reducing sugar

近年来,淡水渔业得到了飞速发展,鲮鱼作为四大家鱼之一,占有很大的比例.从20世纪80年代以来,虽然渔业加工业得到了发展并形成了一定的规模,但主要是对其可食部分的加工,对其下脚料(包括鱼头、鱼皮、鱼鳍、鱼尾、鱼骨及其残留鱼肉)的加工利用却很少(其蛋白质质量分数约在13.52%).目前,这些废弃物仅限于加工成鱼粉作为饲料或宠物食品,未能加以充分利用.因此利用鲮鱼的酶解产物,将其与还原糖进行美拉德反应来制备鱼味香料,具有很大的实际意义.

自从1960年Morton于英国获得了第一项有关利用美拉德反应制备肉味香精的专利以来<sup>[1]</sup>,艾萍<sup>[2]</sup>等利用美拉德反应制备了牛肉香味料;宋焕祿<sup>[3]</sup>利用鸡肉酶解物/酵母抽提物进行美拉德反应来产生肉香味化合物,但还未见有利用鱼肉的酶解物进行美拉德反应来制备鱼味香料的报道.目前国内生产的也主要是鸡肉香精和牛肉香精,并且国内生产鱼味香精的厂家还很少见,因此,将有十分广阔的市场前景.作者在文献[4]关于鲮鱼下脚料酶解研究的基础上,通过选择关键氨基酸和还原糖

收稿日期 2003-10-24; 修回日期 2003-11-29.

作者简介:张彩菊(1979-),女,浙江金华人,食品科学硕士研究生.  
万方数据

及它们的恰当配比进行美拉德反应来制备能产生最逼真鱼香风味的香料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鳙鱼:无锡市场购买;1.398 中性蛋白酶( $1.0 \times 10^5$  U/g):无锡酶制剂厂生产;Flavorzyme 蛋白酶( $3.8 \times 10^5$  U/g):丹麦诺维信公司提供;盐酸硫酸胺、木糖、L-谷氨酸均为分析纯,葡萄糖、氯化钠(均为食品纯):上海化学试剂公司;HVP(水解植物蛋白)、酵母粉:无锡添加剂厂产品;320-S 型 pH 计:Mettler Toledo 公司生产。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 蛋白质水解度的计算** 蛋白质水解度(DH) = (上清液中的氨基氮质量/样品中总氮质量)  $\times 100\%$

**1.2.2 氨基酸氮的测定** 电位滴定法。

**1.2.3 鳙鱼酶解液的制备** 新鲜鳙鱼去内脏后,在 0.1 MPa 下蒸煮 30 min,按固液比(鱼肉与去离子水质量比)为 1:2 捣碎,调 pH 值为 8.0,加入占水解液质量分数 0.7% 的复合酶(中性蛋白酶:风味蛋白酶(质量比)为 1:3)<sup>[4]</sup>,在温度 50 °C 下水解,取出加热灭酶 5 min,在 4 200 r/min 离心 15 min,取上清液,贮存在冰箱中备用。

**1.2.4 鱼味香料的制备** 在锥形瓶中加入水解液、水、氯化钠、盐酸硫酸胺、还原糖和氨基酸,调节相应的 pH 值,放入高压灭菌锅中,在相应的温度和时间下进行美拉德反应,然后冷却,进行感官评定。

**1.2.5 美拉德反应产物的感官评定方法** 采用评分法<sup>[5]</sup>。将每组样品稀释至同一体积分数,样品按顺序进行编号,并将它们与标准样品进行比较(标准样品为上一组实验中的最佳者)。评定员评定某样品的综合感官与标准样品相似,则该样品得 0 分;比标准样品好,得正分;比标准样品差得负分。样品最高不过 3 分,最低不少于 -3 分。某一样品最后得分为各评定员对该样品评分结果的平均值。评定结果采用 *F* 检验和 Duncan 复合比较来分析样品间的差异程度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 基本反应体系的确定

根据参考文献[6]的研究结果,初步确定反应条件为:反应时间 60 min,反应温度 120 °C,pH 值 7.5,初定各反应物的用量为:水解液 6 mL,水 4

mL,还原糖 6.0 g,盐酸硫酸胺 1.75 g,氨基酸 3.5 g,HVP 0.4 g,酵母粉 0.4 g。

**2.1.1 氨基酸和还原糖的选择** 美拉德反应主要是还原糖和氨基酸之间的反应,它能产生各种杂环类香味物质<sup>[7]</sup>,且不同还原糖的反应活性不同。据报道<sup>[8]</sup>,常见糖的反应活性顺序为 D-木糖 > L-阿拉伯糖 > 己糖(D-半乳糖、D-甘露糖、D-葡萄糖和 D-果糖) > 二糖(麦芽糖、乳糖、蔗糖)。本实验选择了常见的几种糖(葡萄糖、蔗糖、木糖),由于蔗糖在反应时产生的单糖具有还原性,与多种氨基酸(L-天冬氨酸、L-精氨酸、L-苯丙氨酸、甘氨酸、L-半胱氨酸、L-脯氨酸、L-丙氨酸、L-谷氨酸)进行美拉德反应。经感官评定,得出产生鱼香味较浓的几种还原糖和氨基酸,然后经多次复配试验,并根据成本核算及感官评定结果,确定了最终的还原糖和氨基酸为:葡萄糖、D-木糖和 L-谷氨酸。

**2.1.2 酶解时间的选择** 将鳙鱼分别水解 1,2,3,4,5,6 h,测定其水解度,并按最初制定的反应条件将 6 个样品进行美拉德反应,以探讨其水解度对美拉德反应风味的影响(见图 1)。由图 1 可见,随着水解时间的延长,水解度逐渐增大,当水解时间到达 5 h 时水解度基本保持不变,已趋于平缓;而美拉德反应产物的风味在水解时间为 3 h 时感官评分达到最高,从而说明美拉德反应并不要求水解液的水解度很高。因其水解液中的一部分短肽能赋予美拉德反应产物特殊的鱼香味和鲜味(其机理有待进一步研究),因此选择最佳的水解时间为 3 h。

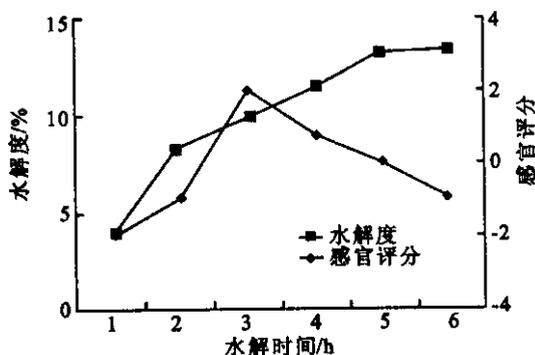


图 1 酶解时间对水解度及美拉德反应产物风味的影响

Fig. 1 Effect of the hydrolysis time on the hydrolysis degree and the flavor of reaction products

### 2.2 工艺参数的确定

美拉德反应要受诸多因素的影响,它们主要包括体系 pH 值、加热温度、反应时间、反应物体积分数等。改变这些参数对反应产物的种类及风味影响很大,所以本实验在最初确定的反应条件基础上进

行了进一步的研究,以确定最佳的工艺参数。

**2.2.1 pH值对产品风味的影响** pH值是一个重要的影响因素,由图2可见,美拉德反应受pH值影响极为显著,pH值的微小变化明显地影响到产品的感官质量。pH值由1.5变化至5.5过程中,评定员认为差异不大,但pH值升至9.5时,感官评分急剧下降,这可能是由于pH值影响到氨基酸的离解状态引起的。在酸性介质中,由于氨基的反转而使美拉德反应的中间产物变得不活泼,从而得不到大量的芳香类物质;在碱性介质中,氨基酸呈阴离子态,此时氨基酸的反应性加强,反应速度加快;而在pH值为9.5时,由于反应速度过快,产品产生明显的焦糊味,因此在反应过程中选择准确的pH值是非常重要的。同时由F检验结果表明,样品在5%水平存在显著差异,所以初定反应pH值为7.5。

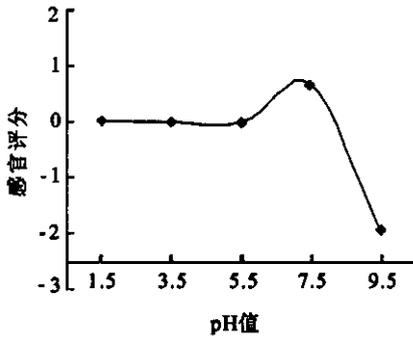


图2 pH值对美拉德反应产物风味的影响

Fig. 2 Effect of the pH on the flavor of reaction products

**2.2.2 反应时间对产品感官性能的影响** 反应时间对产品感官性能的影响显著,不同反应时间对产品感官性能的影响见图3。当反应时间为80 min时,感官评分急剧下降,因过长的反应时间会产生明显的糊味和含硫刺激味,然而反应时间过短,美拉德反应不够充分,产生的风味不够浓郁。当反应时间为40 min和60 min时,由F检验结果表明,样品在5%水平不存在显著差异,考虑到生产效率,确定反应时间为40 min。

**2.2.3 反应温度对产品感官性能的影响** 反应温度是一个非常重要的因素,不同反应温度对美拉德产物风味影响结果见图4。随着温度升高,反应速度加快,同时在较高的温度下,可生成许多香味物质,温度不同,产生的香味也不同。香味物质主要是在较高温度时的高级美拉德反应阶段产生的。一般而言,反应温度不能高过180℃,温度过高,会产生较强烈的异味,温度过低,反应程度不够,产生的香气同样不够浓郁。当反应温度为115℃时,其美拉德反应产物风味最好,同时F检验结果表明,样品在

5%水平存在显著差异,所以确定反应温度为115℃。

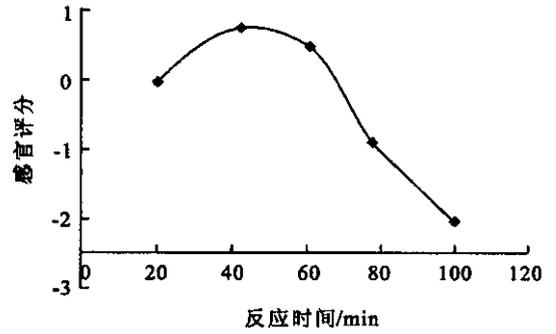


图3 不同反应时间对美拉德反应产物风味的影响

Fig. 3 Effect of the reaction time on the flavor of reaction products

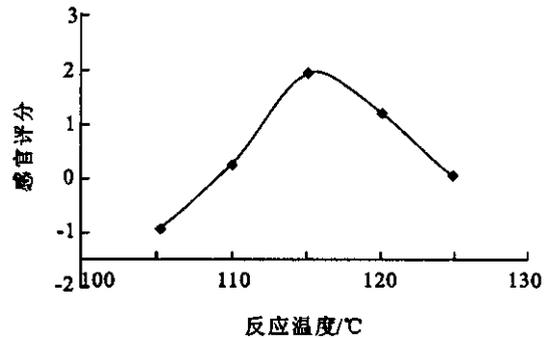


图4 不同反应温度对美拉德产物风味的影响

Fig. 4 Effect of the reaction temperature on the flavor of reaction products

**2.2.4 反应物体积分数对产品感官性能的影响** 反应物体积分数同样对产品的感官性能产生很大的影响,其结果见图5。水分体积分数过低一般观察不到褐变现象,因美拉德反应产物的形成需要水的参与,当其体积分数过高时,由于酶解液中含有大量的腥味成分,产品的腥味过重,同样影响产物的风味,因此选取了5个中间水平进行实验,以确定最终的反应物体积分数。由图5可见,当反应物体积分数水平达到40%时感官评分最高,而且F检验结果表明,样品在5%水平存在显著差异,所以确定反应物体积分数为40%。

## 2.3 最佳反应物配比的确定

**2.3.1 还原糖与L-谷氨酸比例的确定** 美拉德反应是还原糖与氨基酸之间的反应,因此,还原糖与氨基酸的比例对产物的风味影响很大。相对使用量会影响到产品的口感、风味以及色泽。还原糖过量时较甜,且在温度较高条件下易发生焦糖化反应而产生糊味,作者选用了5个不同的比例水平进行实验,结果见图6。由图可见,当两者质量比为2:1时产物的风味最好,因此确定还原糖与L-谷氨酸质量比为2:1。

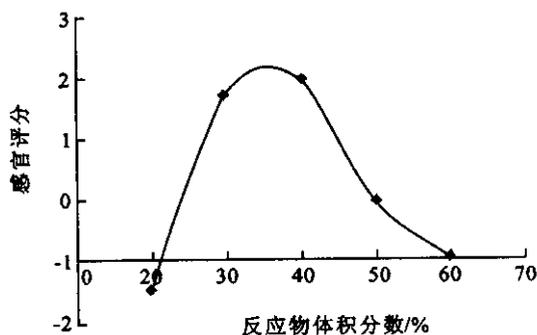


图5 不同反应物体积分数对美拉德产物风味的影响

Fig. 5 Effect of the reactant concentration on the flavor of reaction products

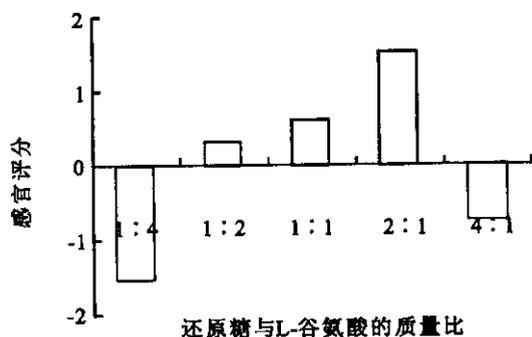


图6 还原糖与L-谷氨酸不同配比对美拉德产物风味的影响

Fig. 6 Effect of the different proportion of reducing sugars and L-glutamic acid on the flavor of reaction products

2.3.2 L-谷氨酸与VB<sub>1</sub>比例的确定 VB<sub>1</sub>分子内含有一个噻吩基,受热后会产生噻吩及一系列含氮或含硫化物,其中许多化合物含有香味,VB<sub>1</sub>热降解中的很多化合物与美拉德反应形成的化合物相同,因此加入适量的VB<sub>1</sub>对产物的风味有加强作用。但其添加量也不易过高,由图7可见,VB<sub>1</sub>添加量过高时,产品的感官评分是最低的,从风味来看,它具有明显含

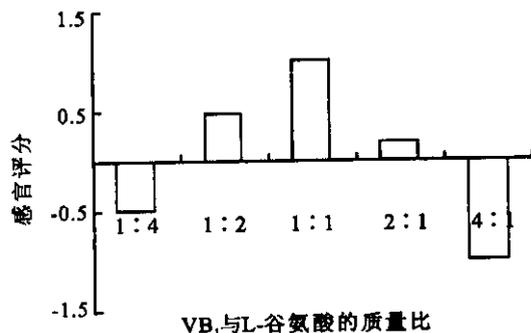


图7 VB<sub>1</sub>与L-谷氨酸不同配比对美拉德产物风味的影响

Fig. 7 Effect of the different proportion of VB<sub>1</sub> and L-glutamic acid on the flavor of reaction products

硫的刺激味,因此初步确定两者的使用质量比为1:1.2.3.3 葡萄糖与木糖比例的确定 葡萄糖和木糖在进行美拉德反应时其反应速度不同,因此其配比对其风味的影响很大。由图8可见,随着木糖的添加量逐渐增加,风味趋于良好,但也不是越多越好,若过多颜色深,产生糊味,所以当两者质量比为1:2时效果最好,因而初步确定葡萄糖与木糖的质量比为1:2.

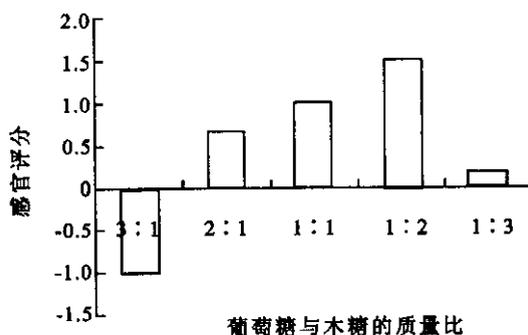


图8 不同还原糖配比对美拉德产物风味的影响

Fig. 8 Effect of the different proportion of reducing sugars on the flavor of reaction products

## 2.4 工艺条件优化的试验结果与分析

采用正交试验L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)安排了美拉德反应的优化试验(见表1),考察了pH值、反应时间、葡萄糖:木糖(质量比)、L-谷氨酸:VB<sub>1</sub>(质量比)4个因素对美拉德反应产物鱼香风味的影响;另外反应温度取115℃,反应物的质量分数取40%,还原糖与L-谷氨酸质量比为2:1。对反应产物进行感官评定,其正交试验的结果见表2。从表中可以看出,因素的主次顺序为:pH>时间>葡萄糖:木糖>L-谷氨酸:VB<sub>1</sub>,最佳的反应条件为A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即各因素的最佳水平分别为pH值7.0,反应时间40min,葡萄糖:木糖(质量比)1:2.5,L-谷氨酸:VB<sub>1</sub>(质量比)1:1.

表1 正交试验L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)因素水平表

Tab. 1 The factors and levels of orthogonal test

水平	1	2	3
A(pH)	7.0	7.5	8.0
B(反应时间/min)	30	40	50
C(葡萄糖:木糖)(质量比)	1:1.5	1:2	1:2.5
D(氨基酸:VB <sub>1</sub> )(质量比)	1:1.5	1:1	1:0.5

表 2  $L_9(3^4)$  正交设计方案与试验结果Tab. 2 The  $L_9(3^4)$  orthogonal design and results

序号	A pH	B 反应时 间/min	C 葡萄糖: 木 糖(质量比)	D L-谷氨酸: VB <sub>1</sub> (质量比)	美拉德 风味平均 评分
1	1	1	1	1	1.9
2	1	2	2	2	1.7
3	1	3	3	3	1
4	2	1	2	3	0.6
5	2	2	3	1	1.5
6	2	3	1	2	0.4
7	3	1	3	2	0.1
8	3	2	1	3	-0.4
9	3	3	2	1	-1.4
K1	1.53	0.86	0.63	0.67	
K2	0.83	0.93	0.3	0.73	
K3	-0.57	0	0.8	0.4	
R	2.1	0.93	0.5	0.33	

### 3 结 论

1) 通过本试验, 确定了制备鱼味香料的最佳反应物配比及反应条件: 还原糖: L-谷氨酸(质量比) 2: 1, 葡萄糖: 木糖(质量比) 1: 2.5, L-谷氨酸: VB<sub>1</sub>(质量比) 1: 1, pH 值为 7.0, 反应温度 115 °C 及反应时间 40 min, 反应物体积分数 40%.

2) 鳙鱼的酶解产物中含有大量的氨基酸、小肽、蛋白质以及腥味成分, 这些是产生鱼香味的前体物质, 只有在这些前体的存在下才会产生强烈的鱼香味, 其反应机理有待进一步研究.

3) 香味物质易挥发, 不易贮藏, 因此若将它微胶囊化, 经喷雾干燥制成粉末, 从而可以长时间保持香气, 这将是今后研究的重点.

### 参考文献:

- [1] Morton I D. A method of preparing meat-like substance [P]. 英国专利 836694, 1960.
- [2] 艾萍, 张伟民. 论述利用美拉德反应来制备牛肉香味料 [J]. 中国调味品 2002 (7): 32-35.
- [3] 宋焕禄. 利用鸡肉酶解物/酵母抽提物-美拉德反应产生肉香味化合物的研究 [J]. 食品科学 2001 22(10): 83-85.
- [4] 段振华, 张愨, 郝建, 等. 酶法水解鳙鱼下脚料及其降苦机理研究 [J]. 食品工业科技 2003 (5): 19-22.
- [5] 朱红, 黄一贞, 张弘. 食品感官入门 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.
- [6] 宋焕禄, 廖国洪. 动物蛋白酶解研究 II [J]. 食品科学, 2001 22(6): 28-31.
- [7] Hodge J E. Browning reaction theories integrated in reviews [J]. J Agric Food Chem, 1953 (1): 98-104.
- [8] 魏冰. 美拉德反应在肉味香精生产中的应用 [J]. 北京轻工业学院学报 2000 18(3): 21-25.

(责任编辑 杨勇)