

文章编号:1673-1689(2006)03-0001-06

低值鱼蛋白酶解产物制备不同肉香型热反应物

赵谋明, 崔春, 刘珊

(华南理工大学 轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

摘要:以低值鱼蛋白酶解液为主要氨基酸来源,通过添加不同来源的动物水解蛋白制备不同肉香味的美拉德反应物。研究表明:肉酶解液的添加对于肉香的形成具有非常重要的作用,添加不同的肉酶解液能制备出不同肉香风味的调味料。用小杂鱼酶解液 100 mL;肉酶解液 10 mL;葡萄糖 1.8 g;木糖 0.4 g;半胱氨酸盐酸盐 0.75 g;维生素 B₁ 0.75 g;生姜汁 2 g;调节 pH 值至 6.5~7.0,120 ℃加热 40 min 能够形成逼真肉香,无鱼腥味的调味料。

关键词:酶解;蛋白;肉香风味

中图分类号:TS 201.2

文献标识码:A

Study on Different Meat Flavor Synthesis by Maillard Reaction from Low-Valued Fish Hydrolysates

ZHAO Mou-ming, CUI Chun, LIU Shan

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effect of adding different animal meat hydrolysates to low-valued fish hydrolysates on meat flavor synthesis by maillard reaction was studied. The results showed that different animal meat hydrolysate was essential to different meat flavor. Heating the mixture of low-valued fish hydrolysates 100 mL, meat hydrolysates 10 mL, glucose 1.8 g, xylose 0.4 g, cysteine 0.75 g, vitamin B₁ 0.75 g and ginger juice 2 g at pH 6.5, 120 ℃ for 40 min is optimal for sauce flavor synthesis in which meat smell is strengthened and fishy odor is reduced.

Key words: enzymatic hydrolysis; protein; meat flavor

我国拥有丰富的低值鱼蛋白质资源,但由于加工技术手段落后,目前主要用于生产鱼粉等低值产品,还有相当一部分作为废弃物直接抛弃。这不仅导致低值鱼加工产品附加值低,而且造成严重的环境污染^[1]。美拉德反应(Maillard Reaction)是食品加热反应产生风味的重要途径,利用各种低值蛋白酶解液为原料制备肉香型反应料是目前研究的重点和热点之一^[2-4],作者以低值鱼蛋白酶解液为主要氨基酸来源,通过添加不同来源的动物肉酶解液

探讨制备出不同肉香风味的美拉德反应物(Maillard Reaction Product, MRP)的工艺参数,以期提高我国大宗低值鱼资源的附加值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

小杂鱼、猪肉、鸡肉、羊肉、牛肉、生姜购于好有多超市;葡萄糖、木糖、维生素 B₁、半胱氨酸盐酸盐、无水硫酸铜、次甲基蓝、酒石酸钾钠、亚铁氰化钾、

收稿日期:2005-02-18; 修回日期:2005-03-05.

基金项目:广东省科技计划项目(No. 2003B21304).

作者简介:赵谋明(1964-),男,湖南安化人,教授,博士生导师.

乙醚、氢氧化钠、盐酸均为分析纯。

1.2 仪器与设备

MM12 型绞肉机:广东省韶关市食品机械厂制造;JJ500 型精密电子天平:常熟双杰测试仪器厂制造;YXQ602 型电热式蒸汽消毒器:山东新华医疗器械厂制造;pHS-25 型 pH 计:上海雷磁仪器厂制造;LD4-2A 型离心机:北京医用离心机厂制造;721 型分光光度计:上海分析仪器厂制造;高效液相色谱仪、PICO. TAG 氨基酸分析柱:美国 Waters 公司制造。

1.3 实验方法

1.3.1 低值鱼反应液的制备 冷冻鱼经切块、绞碎、称重后以 1:1 加入水,经高速匀浆后,水浴加热至 55 ℃,调节 pH 值至 7.0。另取少量水溶解 0.05%碱性蛋白酶和 0.1%风味蛋白酶,混合搅拌均匀,恒温水解。酶解结束后,将酶解液加热至 95 ℃灭酶 20 min,过滤,4 800 g 离心 20 min,除去悬浮物,所得上清液为反应液。

1.3.2 肉水解蛋白的制备 将搅碎的肉与水 2:1 混合后打浆,调 pH 值至 7.0,添加 0.05%风味蛋白酶(Flavorzyme),55 ℃水解 20 h 得肉水解液。

1.3.3 肉香型美拉德反应物的制备 100 mL 鱼水解蛋白,10 mL 肉酶解液,1.8 g 葡萄糖,0.4 g 木糖,2 g 生姜汁,调节 pH 值 7.0,120 ℃加热反应 40 min。

1.3.4 酶解过程中游离氨基酸的测定 将反应液离心(4 000 r/min 离心 20 min),取上清液,采用美国 Waters 高效液相色谱仪。PICO. TAG 氨基酸分析柱,38 ℃,254 nm 检测波长,流速为 1 mL/min,进行游离氨基酸分析。

1.3.5 反应前后还原糖损失率的测定 将反应前

后溶液离心(4 000 g 离心 20 min),取上清液 2 mL,用蒸馏水定容至 250 mL 容量瓶中。分别测定稀释溶液的还原糖含量,然后计算还原糖损失率。

还原糖损失率/%=[(反应前体系还原糖含量/%-反应后体系还原糖含量/%)/反应前体系还原糖含量/%]×100%

1.3.6 反应物风味的感官评价 将闻香纸浸入上述制品中 1~2 cm 深,在离闻香纸 2~3 cm 处通过鼻孔吸气,每次 2~3 s,所得结果用文字简单描述。

2 结果与讨论

2.1 不同酶解时间酶解产物的氨基酸组成

由表 1 可以看出,未酶解原料的氨基酸组成中天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、亮氨酸和赖氨酸的含量很高,特别是酶解液鲜味潜在来源的天冬氨酸和谷氨酸的含量非常高。随着酶解时间的延长,体系中的游离氨基酸总体呈上升趋势,并且在酶解的初始阶段幅度较大,随着酶解时间的延长,游离氨基酸的增长速率减慢,直至在酶解后期趋于平衡。酶解 48 h 后,酶解液中游离氨基酸质量浓度达到 0.512 g/dL。

酶解 0~24 h,谷氨酸、天冬氨酸、丝氨酸等亲水性氨基酸质量浓度有较大的增加,这些氨基酸对酶解液的鲜味有明显的贡献作用。24 h 后,谷氨酸和天冬氨酸含量无明显增加,鲜味也无明显提高。游离半胱氨酸在 0~24 h 有较大的增加,延长酶解时间略有降低,这可能是由于半胱氨酸氧化成为胱氨酸。疏水性氨基酸如组氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的含量在酶解过程中不断增加,其中亮氨酸和异亮氨酸在 0~6 h 内增幅很大,其它几种疏水性氨基酸在整个过程中变化相对缓慢。

表 1 酶解液中游离氨基酸随酶解时间的变化

Tab.1 Change of free amino acid in hydrolysates as function of hydrolysis time							
氨基酸名称	原料氨基酸组成	氨基酸质量浓度/(mg/dL)					
		酶解 3 h	酶解 6 h	酶解 12 h	酶解 24 h	酶解 36 h	酶解 48 h
Asp	584.44	35.68	75.65	135.67	171.34	194.34	205.11
Glu	1049.15	66.89	130.88	212.08	337.05	360.21	352.32
Ser	358.44	60.76	108.15	140.21	167.53	176.32	162.45
Gly	510.75	34.61	54.18	68.17	98.98	102.19	107.86
His	378.88	41.88	64.53	83.09	104.52	119.81	125.67
Arg	484.83	211.81	223.34	233.46	259.35	270.38	266.57
Thr	366.90	88.13	112.93	160.76	184.86	194.43	200.99
Ala	297.47	75.44	108.07	146.09	183.02	203.94	215.24

续表 1

氨基酸名称	原料氨基酸组成	氨基酸质量浓度/(mg/dL)					
		酶解 3 h	酶解 6 h	酶解 12 h	酶解 24 h	酶解 36 h	酶解 48 h
Pro	399.27	56.82	82.29	116.32	135.06	155.32	141.77
Tyr	273.42	64.72	66.65	93.05	106.21	111.63	91.36
Val	309.64	67.47	99.95	132.83	161.08	178.72	169.47
Met	225.43	66.95	92.93	116.74	134.54	141.41	147.18
Cys	15.93	8.34	12.26	14.01	15.02	15.19	14.45
Ile	265.89	53.87	127.32	117.42	155.28	167.49	173.59
Leu	521.19	110.73	160.61	210.84	251.48	267.69	279.55
Trp	436.73	40.99	57.33	71.83	81.47	95.52	99.58
Phe	322.31	83.19	111.58	139.17	132.89	162.95	170.25
Lys	539.81	87.34	147.32	199.25	250.4	275.68	282.15
总量	7 340.45	1 255.62	1 835.97	2 390.99	2 930.08	3 193.22	3 205.86

2.2 不同酶解时间对 MRP 的影响

将不同酶解时间的鱼酶解液 100 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,维生素 B₁0.75 g,半胱氨酸盐酸盐 0.75 g,生姜汁 2 g,猪肉酶解液 10 mL 混和,调节 pH 值至 7.0,120 ℃加热反应 40 min。

由表 2 可见,随着酶解时间的延长,得到的反应物的鱼腥味渐渐减弱,而肉香不断增强,醇和。这可能是由于酶解程度不深时,脂肪和蛋白质相结合,不能将脂肪尽可能除去,这些脂类物质在加热反应时发生氧化降解,生成具有鱼腥味的低级醛酮。此外,随着酶解时间的增加,游离氨基酸的含量也不断增加,可与还原糖反应生成更多的挥发性成分。但是,超过 24 h 后,酶解的进程逐渐趋于平衡,达到一个较好的风味后继续增加酶解时间并不能得到更好的风味。

表 2 酶解时间对 MRP 香气的影响

Tab. 2 The effect of hydrolysis time on aroma of MRP	
酶解时间/h	香气评价
3	鱼腥味较重,杂气多
6	鱼腥味较重,肉香不明显
12	肉香较淡,稍有鱼腥味
24	肉香柔和
36	肉香较浓郁
48	肉香较浓郁

随着酶解时间的延长,还原糖损失率逐渐增加,其中 12 h 前增加迅速而 12 h 后增加缓慢,见图 1。对酶解过程中的氨基酸含量与不同酶解时间美拉德反应中还原糖的损失率进行关联度分析,发现两者具有较高的相关系数。

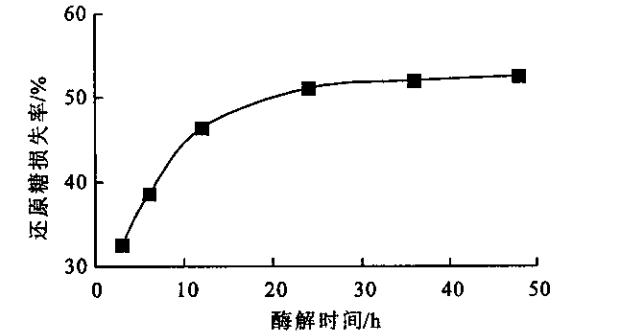


图 1 酶解时间对还原糖损失率的影响

Fig. 1 The effect of hydrolysis time on reducing sugar lose

2.3 反应体系初始 pH 值对 MRP 的影响

将鱼酶解液 100 mL,猪肉酶解液 10 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,维生素 B₁0.75 g,半胱氨酸盐酸盐 0.75g,生姜汁 2 g 混和,调节初始 pH 值分别为 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0,于 120 ℃加热反应 40 min,所得结果见表 3。

表 3 体系初始 pH 值对 MRP 香气的影响

Tab. 3 The effect of initial pH on aroma of MRP	
初始 pH 值	香气评价
6.0	肉香不突出,有酸味和焦甜香
6.5	肉香柔和,稍有酸味
7.0	肉香柔和纯正
7.5	烤鱼香,稍有氨味
8.0	基本无肉香,氨味重

由表 3 和图 2 可见,pH 值对 Maillard 反应和焦糖化反应都有促进作用,升高 pH 值可使反应的速度加快,反应程度增加。提高 pH 值,可加快反应速率并且有利于风味物质的生成,能够形成肉香成分。对照表 3 和图 2 可知,在酸性条件下,Maillard

反应程度很小,还原糖损失率仅为 18%,这是由于氨基酸的氨基在酸性条件下质子化的缘故,在酸性条件下反应,基本上不能生成肉香成分^[7]。当 pH 值继续升高到碱性范围,由于反应速度过快,难以控制,还原糖损失率仅为 78%,生成的风味较差。比较之后可知,在 pH 6.5~7.0 范围内进行反应可得到风味较好的反应物。

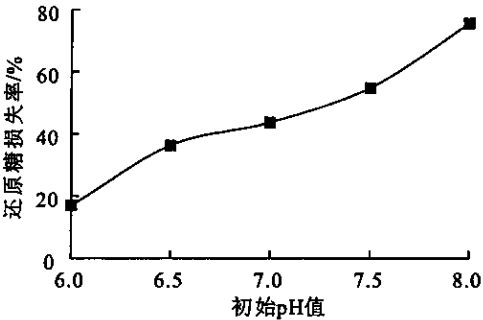


图 2 初始 pH 值对还原糖损失率的影响

Fig. 2 The effect of initial pH on reducing sugar lose

2.4 含硫化合物添加量对 MRP 的影响

将鱼酶解液 100 mL,猪肉酶解液 10 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,含硫化合物 0~4 g(维生素 B₁:半胱氨酸盐酸盐=1:1),生姜汁 2 g 混和,调节 pH 值至 7.0,于 120 ℃加热反应 40 min,所得结果见表 4 和图 3。

表 4 含硫化合物添加量对 MRP 香气的影响

Tab. 4 The effect of sulfur-containing compounds on aroma of MRP

含硫化合物添加量/g	香气评价
0	焦香,稍有酱香,无肉香
1.0	焦香,肉香较淡
1.5	肉香柔和,稍有硫味
2.0	有硫臭
3.0	硫臭严重

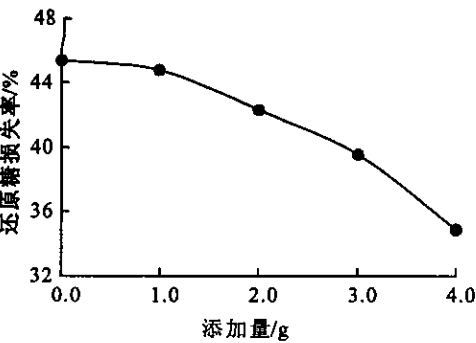


图 3 含硫化合物糖添加量对还原糖损失率的影响

Fig. 3 The effect of sulfur-containing compounds dosage on reducing sugar lose

随着含硫化合物添加量的增加,还原糖损失率

降低,可能是半胱氨酸和维生素 B₁的裂解对美拉德反应产生了抑制。含硫化合物的添加是形成肉香的必要条件。不添加含硫化合物不能形成肉香,随着添加量的增加,肉香逐渐明显,但继续增加会使产物具有不愉快的硫臭味,故含硫化合物的添加量在 1~2 g/dL 为好。

半胱氨酸热分解产生的 3,5-二甲基-1,2,4-三硫戊烷及噻唑类等都是肉类风味成分中不可缺少的化合物,而它们分解产生的巯基乙醛再继续分解产生乙醛及硫化氢,可与肉香成分如 2-甲基-4-羟基-二氢呋喃酮等作用而生成更重要的杂环化合物,如 2-酮基-3-甲基噻吩和 2,4-二羟基-2,5-二甲基-二氢噻吩酮等,它们在肉类风味成分中占有极其重要的地位^[6-7]。另外乙醛、硫化氢等小分子化合物亦参与肉香风味形成。

硫胺素加热分解所产生的风味化合物是肉香的重要成分,特别是 2-甲基-3-呋喃基硫醇,双-(2-甲基-3-呋喃基)二硫化物,3-甲基-4-氧基-二噻烷对加热产生的肉的风味起决定性作用,这 3 种化合物的生成机理也已提出,即硫胺素降解的第一步是噻唑环中-C-N-及-C-S-键的断裂形成的羟甲基巯基酮,形成中间产物巯基酮是关键的一步,由此产生一系列的对肉香具有贡献作用的含硫杂环化合物^[8]。

2.5 反应时间对 MRP 的影响

将鱼酶解液 100 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,维生素 B₁0.75 g,半胱氨酸盐酸盐 0.75 g,生姜汁 2 g,猪肉酶解液 10 mL 混和,调节 pH 值至 7.0,于 120 ℃加热反应 0~60 min,所得结果见表 5 和图 4。

表 5 反应时间对 MRP 香气的影响

Tab. 5 The effect of time on aroma of MRP

反应时间/h	香气评价
10	生肉腥味,杂气多
20	生肉腥味弱,油腻感强
30	肉香较淡稍有杂气
40	肉香较纯正柔和
50	烤肉香气浓郁
60	烤肉香浓,但焦味较重

由表 5 和图 4 可见,随着反应时间的延长,反应程度不断加深,pH 值有不断下降的趋势,但前期比较显著,后期趋于平缓。反应物的褐变程度不断加深,还原糖损失率也不断提高。由风味随时间的变化可以看出,反应初始阶段生肉腥味和杂气较多,油腻感较强。肉香的形成需要一定的反应时间,但

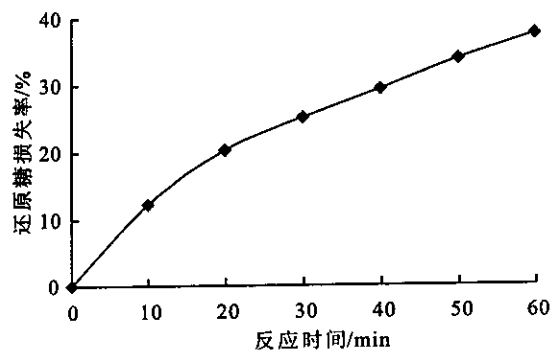


图 4 反应时间对还原糖损失率的影响

Fig. 4 The effect of reaction time on reducing sugar lose
时间过长,反应过于剧烈会导致风味下降。反应时间为 40 min 时能形成纯正柔和的肉香风味。

2.6 猪肉酶解液添加对 MRP 的影响

将 100 mL 鱼水解蛋白,1.8 g 葡萄糖,0.4 g 木糖,2 g 生姜汁,猪肉酶解液 0~15 mL 混和,调节 pH 值至 7.0,于 120 ℃加热反应 40 min,所得结果见表 6 和图 5。

表 6 添加猪肉酶解液对 MRP 香气的影响
Tab.6 The effect of pork hydrolysates dosage on the aroma of MRP

猪肉酶解液添加量/mL	香气评价
0	酱香较浓,有烤鱼香,基本无肉香
5	有肉香,稍有鱼的鲜味
10	肉香柔和稍有鱼鲜
15	稍有生肉腥味

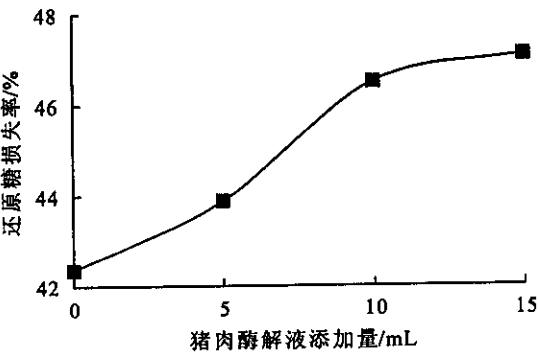


图 5 猪肉酶解液添加量对还原糖损失率的影响
Fig. 5 The effect of pork hydrolysates dosage on reducing sugar lose

加入猪肉酶解液的反应物肉香味重,而不加猪肉酶解液反应物则产生焦的酱香味,鱼味重而肉味少。原因可能是肉酶解后产生许多风味前驱体,这些前驱物质主要是水溶性且具有透析性的低分子化合物,包括游离氨基酸、游离糖、肽、有机酸、糖肽等等^[8]。它们之间相互作用、反应,有增香作用。此外,猪肉中还有脂肪,在加热过程中,脂肪氧化

裂解产生多种羰基化合物,它们还可以参加美拉德反应,并能够与美拉德反应物发生反应,产生复杂而逼真的肉类风味^[6]。并且适量的脂肪还可以溶解一部分挥发性成分,使得产物的风味较柔和。但是对于一定的鱼酶解液和还原糖量,继续增加猪肉酶解液会使反应不够彻底,产生生肉的腥味。

随着猪肉酶解液添加量的增加,整个体系体积增加而浓度降低,因而反应程度不断减小,pH 值降低幅度略有减少,反应物褐变程度减小。而游离氨基酸的总量是增加的,对于一定的加糖量,还原糖与氨基酸之间的比例是逐渐降低的,故还原糖损失率不断增加。因此,若增加猪肉酶解液的量,应相应增加还原糖的量。但是从经济上考虑,在形成逼真肉香的前提下应尽量减少肉酶解液的比例。

2.7 添加不同肉酶解液及脂肪对 MRP 的影响

将鱼酶解液 100 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,维生素 B₁ 0.75 g,半胱氨酸盐酸盐 0.75 g,生姜汁 2 g,分别与猪肉/羊肉/牛肉/鸡肉酶解液 10 mL 混和,调节 pH 值至 7.0,于 120 ℃加热反应 40 min,所得结果见表 7。

表 7 添加不同肉酶解液对 MRP 香气的影响
Tab. 7 The effect of different meat hydrolysates on aroma of MRP

肉酶解液	香气评价
猪肉	猪肉香
羊肉	酱羊肉香
牛肉	酱牛肉香
鸡肉	烤鸡肉香

将鱼酶解液 100 mL,葡萄糖 1.8 g,木糖 0.4 g,维生素 B₁ 0.75 g,半胱氨酸盐酸盐 0.75 g,生姜汁 2 g,猪肉酶解液 10 mL 混和,分别加入 0,5,10,15 g 猪脂肪,调节 pH 值至 7.0,于 120 ℃加热反应 40 min,所得结果见表 8。

表 8 脂肪添加量对 MRP 香气的影响
Tab. 8 The effect of lipid dosage on aroma of MRP

脂肪添加量/g	香气评价
0	肉香浓郁
5	肉香浓郁醇和
10	猪肉香醇和,稍闷
15	猪肉香,略有氧化味

脂肪受热氧化产生的挥发性成分有酸类、酯类、醚类、烃类、醇类、羰基化合物、苯环化合物、内酯类以及呋喃类等多种化合物。研究表明,脂质是

形成肉类风味的重要前体物质,在已经鉴定的肉类风味的挥发物中,半数以上都是由脂质衍生的,它决定了肉类的“物种”风味(species flavor)。文献[9]报道,从煮熟的鸡分离到的脂肪具有肌肉特有的香味,而如果从生鸡身上分离出脂肪,然后加热,则鸡的香味很淡。

由表 7 看出,添加不同的肉酶解液,可以形成强弱不一的各种肉类的风味,这主要是动物肌肉内的脂类氧化产生的特征风味。此外,由表 7 可看出,外加少量动物脂肪,可以使肉香更醇和,但是继续增加脂肪量并不能有效地改善风味,反而会增加脂肪氧化不愉快的气味。总的看来,外加脂肪不能明显改善风味。动物脂肪通常被分为肌间脂肪和肌内脂肪,肌间脂肪的主要成分是甘油三酸酯,肌内脂肪的主要组成是磷脂。由于磷脂富含不饱和脂肪酸,特别是多不饱和脂肪酸,如亚麻酸和花生四烯酸,这些长链不饱和脂肪酸极易氧化,氧化(或其它降解反应)的产物直接影响挥发性风味成分的

组成,继而改变肉品风味^[10]。由于不同动物的脂肪其脂肪酸的组成不同,生成的风味成分必然要有差异,反映出不同的畜禽肉风味不同。但甘油三酸酯只含有非常少的多不饱和脂肪酸,所以对肉类风味的影响远不及磷脂。

3 结 论

小杂鱼酶解液 100 mL;肉酶解液 10 mL;葡萄糖 1.8 g;木糖 0.4 g;半胱氨酸盐酸盐 0.75 g;维生素 B₁ 0.75 g;生姜汁 2 g;调节 pH 值至 6.5~7.0,120 ℃加热 40 min 能够形成逼真肉香,无鱼腥的调味料。肉酶解液的添加对于肉香的形成具有非常重要的作用,这是由于肉酶解液中含有肉类风味形成的前体,添加不同的肉酶解液能制备出不同肉香风味的调味料。添加脂肪可以使美拉德反应物的香气柔和圆润。

参考文献:

[1] 郑伟,石伟勇. 低值鱼高值化研究进展综述[J]. 中国水产, 2005,(9):70—71.

[2] 涂小珂,朱志伟,曾庆孝,等. 利用罗非鱼酶解液进行美拉德反应制备肉类风味物的研究[J]. 中国调味品,2005,(3):35—39.

[3] 刘通讯,李媛. 鲢鱼蛋白的酶解及产物热反应肉类风味的形成[J]. 华南理工大学学报:自然科学版,2005,33(5):78—82, 86.

[4] 谭斌,丁霄霖,刘立国. 牛肉蛋白水解物的特性及其模式体系的 Maillard 反应[J]. 食品科学,2004,25(11):64—68.

[5] 马相杰,谢华编译. 美拉德反应与肉味变化[J]. 肉类工业,2002,(11):8—11.

[6] 杨龙江,常泓. 肉与肉制品风味形成的进展[J]. 肉类工业, 2001,(5):17—22.

[7] 郭俊成,程晓蕾. 美拉德增香调味料研究及其应用[J]. 中国调味品, 1995(6):6—8.

[8] Guntert M Bruning J, Emberger R Kuhn, W Thelmann T, et al. Identification of some selected surfur-containing flavor compounds in various meat model systems[J]. **J AgricFood Chem**, 1990,38:2027—2041.

[9] Pippen E L, Mecchi E P, Nonaka M. Origin and nature of aroma in fat of cooked poultry[J]. **Food Sci**, 1969,34(4): 436—441.

[10] 廖劲松,齐军茹. 脂质对肉类风味的作用[J]. 中国食品添加剂, 2002,(6):52—55.

(责任编辑:李春丽)