

低值虾制备天然海鲜风味料的研究*

陈丽花^{1,2} 周培根¹ 肖作兵² 沈佳平²

1(上海水产大学食品学院,上海,200090) 2(上海应用技术学院生物与食品工程系,上海,200233)

摘 要 研究了木瓜蛋白酶水解低值虾及以此酶解产物为主要基料通过美拉德反应制备海鲜风味料的最佳条件。最终得到性状均一、色泽诱人、具有浓郁虾肉风味的海鲜风味料,实现了低值水产品的高值化,为小型低值虾的开发利用探索了一条新的途径。

关键词 低值虾, 酶解, 美拉德反应, 天然海鲜风味料

利用低值水产品生产天然海鲜风味料国内外学者进行了一定的研究,如物理粉碎法、物理抽提法^[1,2]、微生物发酵法^[3]、酶解法^[4-9]及热反应法^[10]等。本文在前人研究的基础上,利用木瓜蛋白酶对低值虾进行酶解,探讨酶解的最佳工艺条件,并对以酶解液为主要基料进行美拉德反应的影响因素进行优化,最终制备出营养丰富、虾味浓郁的天然海鲜风味料,实现了低值水产品的高值化,为小型低值虾的开发加工利用探索了一条新途径。

1 材料与方法

1.1 材 料

低值河虾、低值海虾,市售;木瓜蛋白酶(100万U/g),中国惠兴生化试剂有限公司;化学试剂(分析纯),国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

KDN 定氮仪,上海纤检仪器有限公司;HHS 型电热恒温水浴锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;pHS-25 型 pH 计,上海精科雷磁仪器厂;高压反应釜,上海申安医疗器械厂。

1.3 实验方法

总氮 $N_{\text{总}}$ (g/100 g) 及蛋白质的测定:凯氏定氮法;游离氨基氮 FAN(g/100 mL)的测定:甲醛滴定法;水解度的计算: $DH(\%) = (FAN - FAN_0) / (N_{\text{总}} - FAN_0) \times 100$ 。式中 FAN_0 :酶解前样品本身所含的游离氨基氮。

美拉德反应产物的感官评定方法:评分法^[11]。由 9 位经验丰富的风味评定员分别对样品的综合感官进行评价,满分为 10 分。评分标准如表 1 所示。

表 1 风味料感官评价表

评 价	很不满意	不满意	一般	满 意	非常满意
评 分	0	3	5	8	10
风味描述					

2 结果与讨论

2.1 最佳酶解条件的确定

水解动物蛋白(HVP)主要是通过酸、碱或酶的作用,使蛋白质的肽键断裂而得到小分子的肽和游离氨基酸。因此,原料和酶的种类、酶的浓度、水解温度、pH 值、时间等对水解度及所得到的肽和氨基酸的种类和数量都有影响,并直接影响到风味料的品质。

2.1.1 原料的选择

将新鲜的低值海虾、河虾分别加水打浆[$m(\text{虾}):m(\text{水})=1:1$,下同],一部分加热煮熟,测定蛋白质含量。取等量的 4 种样品,分别加入 4% 的盐、0.15% 的木瓜蛋白酶,在 45℃ 下酶解 3 h,灭酶后过滤,测定滤液中游离氨态氮(FAN)含量并计算水解度,结果见图 1。对于相同种类的低值虾,生虾的蛋白质含量高于熟虾,可能是由于煮虾过程中导致蛋白质的少量损失;在相同条件下生虾的酶解效果好于熟虾,这可能是因为生虾本身存在的内源蛋白酶作用的结果,而熟虾在热处理过程中内源蛋白酶失活。海虾的蛋白质含量高于河虾,相同条件下的酶解效果也好于河虾,这可能与河虾、海虾本身的蛋白质组成不同有关。因此,本研究以水解度较高的低值生海虾为研究对象制备海鲜风味料。

2.1.2 加酶量对酶解效果的影响

加酶量显著影响酶解的效果。在预处理完的生海虾中分别加入 0.05%、0.10%、0.15%、0.20% 的木瓜蛋白酶,以不加蛋白酶的样品为对照,测定 FAN

第一作者:博士研究生(肖作兵为通讯作者)。

* 上海应用技术学院青年基金资助项目(No. QJ200507)

收稿日期:2006-09-21,改回日期:2006-10-26

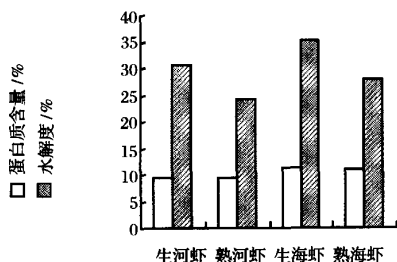


图1 原料对酶解效果的影响

值并计算水解度,结果如图2所示。图2表明,在反应温度45℃,加盐量4%的条件下,与对照组相比,加入木瓜蛋白酶能明显促进生海虾浆的酶解,使水解度提高。在加酶量0.05%~0.15%的范围内,随着加酶量的提高,酶解效果增加明显;而加酶量增至0.15%以后,酶解效果的增加趋于缓和。可能是因为酶浓度逐渐饱和,增大酶的添加量无助于酶解效果的提高。从酶解效果及生产成本角度考虑,选择加酶量为0.10%。

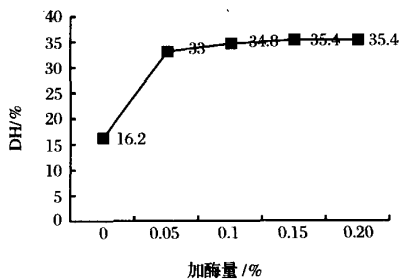


图2 加酶量对酶解效果的影响

2.1.3 加盐量对酶解效果的影响

不加盐时酶解会产生苦味氨基酸或肽,影响产品的风味,但盐的加入又会抑制酶解的进行。为了平衡这2方面因素,分别加入2%、4%、6%、8%的食盐(其他步骤同2.1.2),以不加盐的一组作为空白对照,测定FAN值并计算水解度,结果如图3所示。

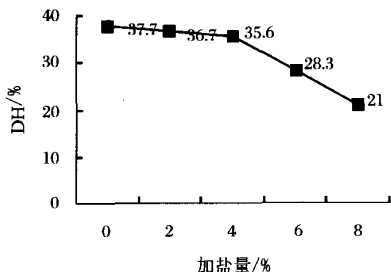


图3 加盐量对酶解效果的影响

从图3可见,随着食盐加入量的增加,水解度不

断下降。在0%~4%之间时,食盐的加入量对酶解效果影响不显著;当加盐量超过4%时,FAN值及水解度大幅下降,因此,初步确定加盐量为4%。

2.1.4 时间对酶解效果的影响

通常,随着酶解时间增加水解度会不断上升,但长时间的酶解一方面会导致成本的增加,另一方面会产生苦味氨基酸或肽。为了平衡这2个因素,进行酶解时间的选择实验,每隔1h测定其FAN值并计算水解度。结果见图4。酶解初期,水解度随酶解时间的增加而增大,反应3h后,水解度的增幅逐渐减小。这可能是由于反应底物减少,或体系的pH发生了改变使酶活力逐渐降低,或水解产物的反馈抑制作用等因素所致。因此,木瓜蛋白酶对生海虾的酶解时间控制在3h较为适宜。

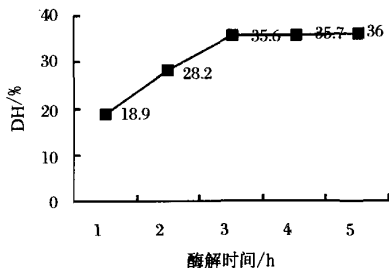


图4 酶解时间对酶解效果的影响

2.1.5 温度对酶解效果的影响

每种酶都有其最佳反应温度,太高或太低都不能使酶达到最佳反应效果。为了解此木瓜蛋白酶对生海虾的最适酶解温度,在上述已确定的条件下,分别在40、45、50、55、60℃下反应,测定其FAN值并计算水解度。结果如图5所示。

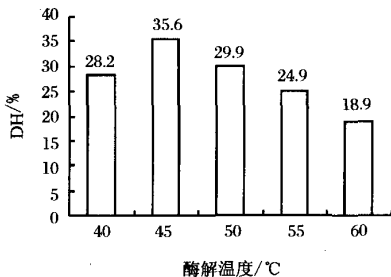


图5 酶解温度对酶解效果的影响

从图5可见,在40~45℃间,随着温度的提高水解度增大。反应温度45℃后,水解度反而呈下降趋势,这可能是由于温度的升高使部分蛋白酶失活所致,所以酶解温度初选为45℃。

2.1.6 酶解条件的优化

为了更好地了解不同酶解条件对酶解效果的影响,根据单因素实验结果,以 $L_9(3^4)$ 进行正交实验,结果如表 2 所示。

表 2 酶解正交实验安排及计算结果

序号	(A)温度 /℃	(B)时间 /h	(C)加盐 量/%	(D)加酶 量/%	水解度 /%
1	1(42)	1(2.5)	1(2)	1(0.08)	32.1
2	1	2(3.0)	2(4)	2(0.10)	29.9
3	1	3(3.5)	3(6)	3(0.12)	31.5
4	2(45)	1	2	3	32.1
5	2	2	3	1	33.2
6	2	3	1	2	34.3
7	3(48)	1	3	2	35.6
8	3	2	1	3	37.6
9	3	3	2	1	34.2
K_1	31.2	33.3	34.7	33.2	
K_2	33.2	33.6	32.1	33.3	
K_3	35.8	33.3	33.4	33.7	
R	4.6	0.3	2.6	0.5	

由表 2 可知,酶解温度对水解度影响最为显著,其次是加盐量,影响较小的是加酶量和酶解时间,最佳组合是 $A_3B_2C_1D_3$,即木瓜蛋白酶对生海虾的最佳酶解条件为:加酶量为 0.12%、加盐量为 2%、酶解温度 48℃,酶解时间 3.0 h。经试验验证,在此条件下水解度可达 37.8%。

2.2 美拉德反应条件的确定

美拉德反应是食品热反应中的主要反应,它不仅能产生愉快的风味、滋味物质,还可提高食品的营养价值。在美拉德反应过程中,反应初始的 pH 值、反应温度、反应时间及葡萄糖的加入量对产品的滋味、气味以及色泽都有影响^[12]。

2.2.1 pH 值对美拉德反应的影响

pH 值是影响美拉德反应的一个重要因素,太高或太低的 pH 值都不能产生愉快的香味。因此,将虾酶解液的 pH 值分别调至 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,葡萄糖加入量为 1.5% (以酶解液质量计,下同) 在 115℃ 的条件下反应 60 min 进行感官评定,结果见表 3。pH 值 4~7 过程中,评定员普遍认为虾味不断改善,但 pH 值升至 9 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^[13]。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 时,由于反应速度过快,产品产生明显的焦糊味。因此,确定反应的初

始 pH 值为 7.5。

表 3 pH 值对美拉德反应的影响

pH 值	评分	感官评价
4	7	有生虾味,较腥
5	7	有生虾味,腥气较 pH 值为 4 时好
6	8	有虾味,但缺乏虾肉感
7	9	有浓郁的虾味,有虾肉感
8	8	有浓郁的虾味
9	6	明显的焦味,缺乏虾肉感

2.2.2 时间对美拉德反应的影响

反应时间对产品感官性能的影响显著。时间太短可能使反应不彻底,太长又可能使反应过度,产生焦糊味和某些致癌物质^[11]。为了解海虾风味料热反应的最佳反应时间,将虾酶解液在 pH 值为 7.5,温度为 115℃,加葡萄糖量为 1.5% 的情况下分别反应 30、40、50、60、70 min,进行感官评定,结果如表 4 所示。

表 4 时间对美拉德反应效果的影响

时间/min	评分	感官评价
30	6	虾味不浓郁
40	8	有虾味,但缺乏少许虾肉感
50	8.5	有浓郁虾味及虾肉感
60	7.5	虾味中夹杂少许焦味
70	5	有很强的焦味和少许臭味

由表 4 可知,当反应时间为 70 min 时产生明显的焦糊味和含硫刺激味,感官评分急剧下降;然而反应时间过短,美拉德反应不够充分,风味不够浓郁。当反应时间为 40 min 和 60 min 时,样品水平不存在显著差异,考虑到生产效率,初步确定反应时间为 45 min。

2.2.3 温度对美拉德反应的影响

不同的反应温度对美拉德反应产物风味结果影响不同。因此,低值虾酶解液在 pH 7.5、加葡萄糖加入量 1.5% 的条件下,在不同温度下反应 45 min 进行感官评定。由表 5 可见,温度过低,反应不足以产生浓郁香气;但反应温度高于 120℃ 时则产生较强烈的异味。所以确定反应温度为 115℃。

表 5 温度对美拉德反应效果的影响

温度/℃	评分	感官评价
100	6	有很强的腥味,无褐变
105	6.5	有少许虾味,但夹杂些腥味
110	7.3	有虾肉感,但香气不纯正
115	8.5	有浓郁、纯正的虾味
120	8	有虾味,但夹杂焦味

2.2.4 葡萄糖加入量对美拉德反应的影响

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。将虾酶解液在 115℃,pH 值为 7.5,时间为 45 min 的情况下,加入不同量的葡萄糖量进行反应,结果如表 6 所示。

表 6 葡萄糖量对美拉德反应的影响

加入葡萄糖量/%	评分	感官评价
0.5	6.75	有烘烤香,但缺乏质感,无褐变
1.0	7	有虾的香味,但缺乏虾肉感
1.5	8	有浓郁虾味,有虾肉感
2.0	7.5	有虾味,但偏淡
2.5	6.25	有少许苦感,虾味欠缺

葡萄糖是美拉德反应中的关键因素,葡萄糖的加

表 7 美拉德反应的正交实验安排及结果

序号	A pH 值	B 葡萄糖/%	C 温度/℃	D 时间/min	评分	感官评价
1	1(7.2)	1(1.2)	1(110)	1(40)	5.0	气味淡,无虾肉感,有生虾味,
2	1	2(1.5)	2(115)	2(45)	7.5	色泽诱人,香味有虾肉感
3	1	3(1.8)	3(120)	3(50)	5.5	色泽较深,有焦味及熟虾味
4	2(7.5)	1	2	3	9.0	虾味浓郁,有虾肉感,色泽诱人
5	2	2	3	2	7.0	色泽深,虾味中稍有焦味
6	2	3	1	1	6.5	虾味较淡,但有鲜味
7	3(7.8)	1	3	2	8.0	色泽较深,虾味中稍有焦味
8	3	2	1	3	8.5	色泽诱人,虾味纯正
9	3	3	2	1	8.0	色泽诱人,虾味中稍有焦味
K ₁	6	7.3	6.7	6.7		
K ₂	7.5	7.7	8.2	7.3		
K ₃	8.2	6.7	6.8	7.7		
R	2.2	1.0	1.5	1.0		

2.3 产品的后处理

由于美拉德反应完的产物是悬浮液,为使其达到均一、稳定的目的,因此加入适量的食品级乳化稳定剂黄原胶。在相同量的美拉德反应产物中分别放入 0.3%、0.4%、0.5%、0.8% 的黄原胶并微热溶解、均质。经感官评定小组评定,一致认为加入 0.4% 黄原胶效果最好。所以,确定美拉德反应产物中加入 0.4% 的黄原胶经微热溶解、均质等后处理,最终制得色、香、味、形俱佳的海鲜风味料。

3 结 论

生海虾是制作海鲜风味料的最佳原料。木瓜蛋白酶酶解低值生海虾的最佳条件是:加盐量为 2%、酶用量 0.12%、酶解温度 48℃、酶解时间 3.0 h。在此条件下生海虾的水解度可达 37.8%;以上述酶解产物为主要基料进行美拉德反应制备海鲜风味料的

量直接影响产品口感。葡萄糖不加或少加入则难以发生美拉德反应。但加入太多的葡萄糖易发生焦糖化反应产生糊味,根据表 6 结果,确定葡萄糖加入量为 1.5%。

2.2.5 美拉德反应条件的优化

为了更好地了解不同反应条件对美拉德反应的影响,根据单因素实验结果,进行 L₉(3⁴) 的正交实验,结果如表 7 所示。

由表 7 可知,对美拉德感官评价结果影响最显著的因素是初始 pH 值,其次是反应温度,影响较小的是葡萄糖加入量和反应时间。最佳美拉德反应方案组合为 A₃B₂C₂D₃,即:反应初始 pH 值为 7.8、葡萄糖加入量为 1.5%、反应温度 115℃、反应时间 50 min。

最佳条件是:葡萄糖的添加量为 1.5%、初始 pH 值 7.8、反应温度 115℃、反应时间 50 min。美拉德反应产物加 0.4% 的食品级黄原胶微热溶解、均质后,产品具有纯正、浓郁的虾肉风味和诱人的色泽,是一种色、香、味、形俱佳的天然海鲜风味料。

参 考 文 献

- Shahidi F. Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods [M]. London: Blackie Academic & Professional, 1998
- Green J D, Payne B P. Reproducibility of simultaneous distillation extraction techniques used in isolation of volatiles[J]. Analytica chimica Acta, 1989, 226: 183~186
- 张雪花. 白鲢发酵鱼露的研究[D]. 上海水产大学硕士论文. 2001
- 梁郁强, 孙俊华. 酶法水解虾头生产虾调味汁[J]. 中国调味品, 2001(9): 20~21, 36
- Josephson D B, Lindsay R C. Enzymic generation of volatile aroma compounds from fresh fish. in biogeneration of aromas

- [C]. American Chemical Society, 1986, 201~211
- 6 Beak H H, Cadwallader K R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products[J]. Journal of Food Science, 2004, 26(2): 42~47
 - 7 郑丽, 汪秋宽. 扇贝加工废弃物海鲜调味料的加工利用[J]. 水产科学, 2005, 24(1): 34~37
 - 8 邓尚贵, 章超桦, 黄晋. 翡翠贻贝双酶水解法的建立[J]. 水产学报, 2000, 24(1): 72~75
 - 9 郝记明, 张静, 洪鹏志. 酶法水解珍珠贝肉蛋白质的工艺研究[J]. 食品科学, 2002, 23(4): 51~53
 - 10 [加]F. Shahidi 著, 李洁, 朱国斌译. 肉制品和水产品的风味[M]. 北京: 中国轻工业出版社. 2001
 - 11 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
 - 12 廖劲松, 齐军茹. 脂质对肉类风味的影响[J]. 中国食品添加剂, 2002(6): 52~55
 - 13 薛长湖. 中国对虾风味物质的产生机理[J]. 水产学报, 1997(1): 57~62

Studies on Natural Seafood Flavoring Preparation with Low Price Shrimps

Chen Lihua Zhou Peigen Xiao Zuobing Shen Jiaping

1(Food Science & Technology Department, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

2(Biology & Food Science Department, Shanghai Institute Technology, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT The optimum conditions of seafood flavoring preparation by prawn proteinase hydrolysis and Maillard reaction with low price shrimp were studied. The product was homogeneous, vivid and had intensive delicious shrimp flavor. Thus a new way to make full use of the low price aquatic products was found.

Key words low price shrimp, enzymatic hydrolysis, Maillard reaction, natural seafood flavoring

企 业

“2006 发酵行业部分高校、科研院所(所)高峰论坛”会议圆满结束

近年来技术转化越来越受到国家、企业及科研机构的关注,可依然存在科技技术、成果转移和转化率低的的问题。技术转化之所以成为“老大难”问题,一个重要原因就是企业与高校、科研单位之间缺乏高效和科学的互动机制,具体表现在:(1)由于推广的技术不适合企业的需要,(2)技术推广方式落后,资源分散,各自为政,无法形成合力;(3)一些实用的技术在推广中由于渠道不畅通,不能及时、有效的找到合适的企业。

为解决上述问题,密切产、学、研合作,促进发酵行业现有技术的推广和转移以及高校、科研院所的创新性科研成果更好地转化为生产力,推动产业创新,逐步形成院所、校、企、行业协会多方优势互补、资源共享格局,发酵协会希望通过整合资源的基础上,发挥行业协会集成、组织、引领的作用,充分利用发挥院所、校的科研、成果优势资源,建立“论证—转移—消化吸收—创新”完整的技术转移体系平台,面向全行业企业,特别是龙头企业提供围绕技术进步的全面服务,推进全行业企业技术创新能力的提高。因此,中国发酵工业协会于2006年11月3~5日,在北京举办了“2006 发酵行业部分高校、科研院所(所)高峰论坛”,就建立发酵行业技术转移服务平台事宜开展讨论和征集意见工作。

参加此次会议的有中国发酵工业协会理事长石维忱及中国食品发酵工业研究院、山东省食品发酵工业研究设计院、天津科技大学、山东大学等16所高校、科研院所共计20多人,会议由中国发酵工业协会生物技术中心主任杜军主持。

信 息 窗

日研究发现牛乳成分可防放射伤害

来自日本放射医学综合研究所等机构的研究人员将50只实验鼠分成数量相同的2组,只给其中一组的饲料中混入0.1%的乳铁蛋白,并持续一个月。之后,用足以导致半数以上实验鼠死亡的高剂量X射线照射全部50只实验鼠。受X射线照射30天后,未食用乳铁蛋白的实验鼠生存率为62%,而食用含乳铁蛋白饲料的实验鼠生存率达85%。

研究人员还进行了“紧急治疗实验”,用相同剂量的X射线照射另外一些未食用乳铁蛋白的实验鼠,照射之后立即向实验鼠腹部注射含4mg乳铁蛋白的食盐水0.3mL。接受紧急治疗的这些实验鼠30天后的生存率高达90%。

乳铁蛋白具有抗氧化作用,可除去癌症诱因之一的活性氧。研究人员认为,乳铁蛋白防止放射伤害应该也是这种抗氧化性质在起作用。