

快速鉴定鲜味剂产品呈味特点及理化性质的方法研究

刘贺^{1,2}, 章启鹏³, 徐婧婷², 郭顺堂²

(1. 昆明学院农学院, 云南昆明 650214) (2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

(3. 天津顶育咨询有限公司, 食品安全中心检验科学部, 天津 300457)

摘要: 本文对常见的食品工业用鲜味剂的呈味特点、基本性质、色谱特性进行了详细分析, 初步探索了以理化方法鉴定不同种类、来源和复合情况的鲜味剂的方法。结果显示, 在呈味方面, 以大豆蛋白为原料的鲜味剂呈甜鲜和酱香味, 而以海鲜制品为原料的鲜味剂呈咸鲜和腥味; 鲜味剂的 pH 值一般为中性偏酸, 而与 I+G 复配的鲜味剂的 pH 值偏碱性; 鲜味剂若在 pH 3~8 内测得等电点, 则与 MSG 复配或高含游离谷氨酸的原料复配的可能性较高; 根据 Zeta 电位滴定图谱可将鲜味剂分为四类, 结合 RP-HPLC 图谱即可初步辨别鲜味剂的组成特征及其与 MSG 或 I+G 的复配情况。通过上述方法, 基本可以判断鲜味剂的种类、呈味特征以及原料来源或加工方法, 对于鲜味剂产品在食品工业生产中的选择及应用具有指导意义。

关键词: 鲜味; 鲜味剂选择; 特征

文章编号: 1673-9078(2017)7-320-327

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.7.045

Methods for the Rapid Identification of Taste Characteristics and Physicochemical Properties of Umami Flavor Enhancers

LIU He^{1,2}, ZHANG Qi-peng³, XU Jing-ting², GUO Shun-tang²

(1.College of Agriculture, Kunming University, Kunming 650214, China) (2.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China) (3.Food Safety Department, Tinghsin Group Co., Ltd, Tianjin 300457, China)

Abstract: The taste characteristics, basic properties, and chromatographic behaviors of several common umami flavor enhancers in the food industry were examined, and the methods using physicochemical properties to identify the different types, sources, and composition of the enhancers were preliminarily explored. The results showed that with regard to taste, the enhancers derived from soybean protein had sweet umami and soy sauce flavor while the enhancers derived from seafood had salty umami and fishy flavor. The enhancers were mostly either neutral or slightly acidic, whereas the enhancer mixed with the disodium 5'-ribonucleotide mixture (I+G) had a higher pH value and was alkaline in nature. The measured isoelectric point ranging between pH 3 and 8 indicate the possibility that the enhancers were prepared by mixing with monosodium glutamate (MSG) or using raw materials containing free glutamic acid. Based on the zeta potential profiles, the enhancers could be divided into four categories. Using the combination of zeta potential profiles and reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) profiles, the composition characteristics of the enhancers and whether they were mixed with MSG or I+G could be preliminarily determined. Using all the aforementioned methods, the type, umami taste characteristics, and source of raw materials or processing methods of the enhancers could be generally determined. Thus, the paper is of guiding significance for the appropriate selection and application of umami flavor enhancers in the food industry.

Key words: umami; selection of flavor enhancers; characteristic

收稿日期: 2016-12-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31471582); 昆明学院引进人才科研项目 (YJL16004)

作者简介: 刘贺 (1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质加工与利用

通讯作者: 郭顺堂 (1961-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白质加工与利用

鲜味是区别于酸、甜、苦和咸四种基本滋味的第五种滋味, 对食品的滋味、可口性及可接受性起着重要作用^[1]。目前常用的鲜味物质有三种, 分别是谷氨酸钠 (monosodium glutamate MSG)、肌苷酸 (disodium inosinate IMP) 和鸟苷酸 (disodium guanylate GMP), 它们的鲜味特性分别由 Ikeda、Kodama 以及 Kuninaka

于1908年、1913年和1961年发现^[2]。日本是世界上最早将IMP与GMP进行工业化生产的国家,其最初的产品由2%IMP和98%MSG组成^[3]。这些鲜味物质对提高食品的风味都起着重要的作用。

然而,上述鲜味剂在调味上也存在一些缺点,如谷氨酸钠的鲜味单一,口腔内留鲜时间较短;IMP与GMP食用较多后会喉咙发干,等等。为此,一些企业开发了具有天然性口感的鲜味剂部分或全部取代MSG的产品,如酵母提取物(YE)、水解植物蛋白(HVP)等肽类产品,这些产品具有提升食品鲜味的功能,因而被命名为鲜味肽或风味提升肽。当这些肽的使用量低于其单独检测阈值时,仅增强滋味,只有当其用量高于其单独的检测阈值时,方产生鲜味^[4]。研究表明,小肽(二肽、三肽和四肽等)的感官特性与其氨基酸的组成密切相关,其味感取决于其组成氨基酸的原有味感。目前的肽类鲜味剂主要是使用富含蛋白质的动植物为原料,利用酸(盐酸、磷酸)、碱(氢氧化钠等)、外源蛋白酶或自身所含酶进行水解,形成富含氨基酸、肽类、无机盐、有机酸的调味液,再通过复配、浓缩或造粒而制成产品。这些鲜味肽中大部分都含有Glu或Asp,此外有些还含有Gly、Ser、Leu和Ala等,其呈味特征未有明确定论,与MSG、IMP或GMP的呈味差别更鲜见报道。由于产品种类繁多,许多以鲜味剂为辅料的厂家在选择产品时会产生困惑,如对于所使用鲜味剂为肽类还是与MSG、I+G等的复合物无法进行有效判断。

综上,为明确含肽类鲜味剂与传统鲜味剂(MSG、IMP和GMP)等在呈味、理化指标等方面的区别,本研究对几种市场常见的鲜味剂的色谱或光谱学特性以及pH、氨基酸组成等化学特性进行了分析,比较不同鲜味剂在物理、化学特性方面的相似度和差异性,以期能找到准确反映肽类鲜味剂固有的质量特征及方法。为以鲜味剂为辅料的食品厂家在鲜味剂的口感、理化鉴定方面提供简单快速的参考方法。

1 材料与方法

1.1 原料

MSG、I+G、HVP、YE和厂家提供含肽类鲜味调料(肽鲜、D201、D202、HTG001及HTF004)等。

1.2 方法

1.2.1 鲜味剂肽含量测定

以Folin-酚法进行样品肽含量测定。测定方法参考Lowry法,以牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin,

BSA)为标准蛋白^[5]。

1.2.2 鲜味剂游离氨基酸含量测定

采用色谱法进行氨基酸分析,将17种氨基酸混合标样(PN: 5061-3331)以漩涡振荡器混合,配制合适样品浓度以备衍生化进样(1 mol/L),并绘制氨基酸混合液的校正曲线。溶液的衍生化:取上述样品溶液200 μ L,加入0.1 mol/L异硫氰酸苯酯乙腈溶液100 μ L、1.0 mol/L三乙胺乙腈溶液100 μ L,摇匀,放置1 h,加入正己烷400 μ L,摇匀,放置10 min,吸取下层溶液,过0.45 μ m微孔滤膜,以备进样。取色谱条件:Agilent 1100高效液相色谱系统;色谱柱:ZORBAX Eclipse-AAA;流动相:A液:0.1 M、pH 6.5的乙酸钠;B液:乙腈/水=4/1;检测波长:254 nm;流速1 mL/min;检测温度为36 $^{\circ}$ C。

1.2.3 鲜味肽分子量分布分析

采用体积排阻高效液相色谱法(SE-HPLC)测定。分别称取待测样品溶于0.03 mol/L的pH 7.4的Tris-HCl缓冲溶液中,配制成终浓度为5 mg/mL的溶液,用直径为0.45 μ m的微孔滤膜过滤后进样。色谱条件:Agilent 1100高效液相色谱系统,色谱柱:Protein Pak 60凝胶色谱柱(waters,分离范围1~20 ku);流动相:0.03 mol/L的pH 7.4的Tris-HCl缓冲溶液;检测波长:214 nm;流速0.5 mL/min;检测温度为27 $^{\circ}$ C。分子量校正曲线所用标准品为:羧肽酶A(MW 34397)、胰蛋白酶抑制剂(MW20100)、蛋清溶菌酶(MW14400)、AB2-80(MW7823)、AB2-81(MW5856)、AB2-95(MW3313),根据标准品分子量的对数与保留时间作回归分析,获得的回归方程为:

$$T=35.499-5.0457 \log M_w \quad (R^2=0.9923, p<0.05)$$

式中, M_w 为分子量,T为保留时间。

根据标准品分子量的对数与保留时间之间的回归方程计算样品的分子量分布。

1.2.4 鲜味肽疏水性分析

将所有鲜味肽样品溶于含有0.1% TFA的超纯水中,样品经过0.45 μ m微孔滤膜过滤,取滤液以RP-HPLC系统进行分析。色谱柱:半制备柱ZORBAX SB-C18(9.4 \times 150 mm, 5 μ m);洗脱溶剂为0.1% TFA(A)和0.1% TFA配制的80%的乙腈溶液(C),用A和C的混合液进行梯度洗脱,溶剂C体积分数为0 min:1%、10 min:1%、50 min:55%;洗脱时间50 min;流速为1.0 mL/min;柱温为30 $^{\circ}$ C;检测波长为214 nm;上样量为200 μ L。

1.2.5 Zeta电位滴定法测定样品荷电性质

将待测样品配制成浓度为0.1%的水溶液,以Malvern电位仪配套MPT-2型电位滴定仪测定样品在

酸滴定 (pH 3±0.02 到溶液起始 pH) 及碱滴定 (溶液起始到 pH 8±0.02) 的 Zeta 电位值的变化。滴定过程的测量间隔为 ΔpH=0.1。滴定酸为 0.01 M 的盐酸, 滴定碱为 0.01 M 的氢氧化钠。每个点测定三次取平均值作为相应 pH 下样品的 Zeta 电位值。

1.2.6 描述性感官评价

1.2.6.1 感官品评人员筛选

(I) 鉴评员基本要求: 身体健康, 没有任何感觉方面缺陷; 具有感官分析能力; 对感官鉴评实验感兴趣; 具有所检验产品的专业知识并对所检验产品无偏见; 分辨和再现实验结果的能力较佳; 具有适当的感官鉴评人员素质 (合作性、主动性和准时性等)。在感官分析期间, 要求评价员具有正常的生理状态, 如不能饥饿或过饱, 在检验前 1 h 内不抽烟、不吃东西, 但可以喝水, 身体不适时不能参加检验。

(II) 以敏感性进行感官鉴评员的筛选。方法包括: a 阈检验: 用于确定鉴评员的不同的阈值, 例如, 刺激阈、识别阈、差别阈和最大阈; b 稀释检验: 用于确定可感觉到的混入食品中的其他物质的最低量。

表 1 各种鲜味样品的描述性感官评价

Table 1 Descriptive sensory evaluation of the umami samples

| 样品名 | 谷氨酸含量 (g/kg) | 感官特性 (浓度 0.5%) | |
|---------|-----------------|----------------|-----------------------------|
| | | 气味 | 滋味 |
| MSG | - | 无气味 | 鲜味较单一, 从舌尖扩散到全舌, 消失较快 |
| I+G | - | 无气味 | 鲜味较单一, 鲜味比 MSG 柔和 |
| HVP | 118.46 | | |
| YE | 43.55 | | |
| HTG001 | 37.93 | 酱香, 酱油味 | 甜鲜, 味道略淡, 水味重 |
| HTF004 | 142.69 | 萝卜干味 (酱)、朱古力味 | 咸鲜, 鲜味重, 后味发甜, 冲击性强, 味道会扩散 |
| D201 | 162.16 | 鸡精味、腥味重, 咸味 | 咸鲜, 海鲜味, 后味甜但不如 HTF004 冲击感强 |
| D202 | 163.78 | 咸饼干味、鲜味强、凉爽感 | 咸鲜、鲜味重过其它味道, 后味平淡 |
| TaiXian | 232.49 | 鸡腥味, 味道淡, 厚重味 | 咸鲜味, 入口咸味重过鲜味, 入口时冲击性大 |
| D308A | 478.15 | 鸡腥味、生鸡味 | 咸鲜味, 海带鲜味 |

对几种鲜味剂的气味和滋味进行了感官分析, 结果如表 1 所示。与参考溶液 MSG、I+G 相比, 市售鲜味剂在气味和滋味上都更为丰富, 以大豆蛋白为原料的鲜味剂 (HTG001、HTF004) 具有甜鲜和酱香味, 而另一类以海鲜制品为原料的鲜味剂 (D201、D202、Taixian 和 D308A) 有咸鲜和腥味。总体而言, 所有鲜味剂 (浓度为 0.5%) 鲜度已远高于同等浓度下 MSG 或 I+G 所产生的鲜度。对鲜味剂中的谷氨酸含量分析发现, 海鲜制品为原料的鲜味剂中游离谷氨酸含量普遍较高, 其中具有海带鲜味的 D308A 的游离谷氨酸含量达到了 478.15 g/kg (表 1)。谷氨酸是构成蛋白质的基本氨基酸之一, 广泛存在于各类生物体中。但就游

根据 I 和 II 的要求, 经过筛选, 选定 10 人作为本次研究的感官鉴评员, 鉴评员选定后, 除非有特殊原因, 否则不得缺席。

1.2.6.2 样品的品评方法

对各种鲜味物质的呈鲜特点进行描述性评价。相同质量浓度(0.5%)的各个样品均送感官鉴评小组进行描述性鉴评。参考溶液主要有两种: MSG (0.5%)、I+G (0.5%)。所评价样品浓度为 0.5% (m/V), 评价内容包括样品溶液的气味及滋味呈现情况。

1.2.7 数据处理及分析

所有的实验重复至少三次, 数据采用平均值±标准差 (Means±SD) 表示, 以方差分析 ANOVA 来检测平均值之间的显著性差异, $p < 0.05$ 。用 Origin Pro 8.0 统计分析数据并作图。

2 结果与讨论

2.1 几种鲜味剂的呈味特点及氨基酸组成

离的谷氨酸来说, 海带是目前已知游离谷氨酸含量最高的食物原料, 其它海产品如贝、鱼、虾和蟹等也都有游离的谷氨酸分布^[6]。上述产品的呈鲜味性也体现了原料特征。

呈鲜味的氨基酸除 L-谷氨酸外, 还包括 L-天门冬氨酸、L-丙氨酸及甘氨酸等。如表 2 所示, 水解植物蛋白 (HVP)、酵母提取物 (YE) 属于复合鲜味剂, 其中含有大量的各种游离氨基酸^[7,8]。HVP 中含量较高的游离氨基酸除谷氨酸外, 主要还有: 丙氨酸、丝氨酸和亮氨酸; 而 YE 中除谷氨酸外含量较高的游离氨基酸为丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、亮氨酸和赖氨酸。丝氨酸具有甜味, 而缬氨酸和亮氨酸一般为

苦味^[9]。与这两种常用的复合鲜味剂比较,其余几种鲜味剂中含量较高的游离氨基酸又各有其特点,四种海鲜产品为基料的鲜味剂除均含有甘氨酸、丙氨酸两种游离氨基酸且不含或含少量呈苦味氨基酸(Leu、Phe等),D201、D202中游离氨基酸种类较多,除主

要呈鲜氨基酸外,含量均较低,而TaiXian及D038A中游离氨基酸种类较少,D201、D202、D038A中游离甘氨酸含量较高,而TaiXian中游离丙氨酸远高于其它鲜味剂。

表2 各种鲜味样品的游离氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of the umami samples (g/kg)

| 氨基酸 | HVP | YE | HTG001 | HTF004 | D201 | D202 | TaiXian | D308A |
|-----|--------|-------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
| Glu | 118.46 | 43.55 | 37.93 | 142.69 | 162.16 | 163.78 | 234.49 | 487.15 |
| Asp | 7.16 | 8.93 | 5.36 | 7.15 | 3.19 | 0.02 | 2.26 | 9.03 |
| Ala | 21.65 | 80.03 | 7.08 | 9.84 | 8.23 | 8.78 | 102.99 | 2.69 |
| Gly | 6.91 | 16.18 | 1.59 | 4.27 | 12.62 | 11.48 | 5.66 | 17.65 |
| Val | 6.12 | 25.36 | 4.89 | 7.46 | 1.08 | 0.78 | - | - |
| Ser | 11.98 | 14.64 | 4.69 | 7.32 | 0.88 | - | - | - |
| Phe | 4.94 | 9.98 | 2.44 | 4.52 | - | - | - | - |
| Ile | 2.92 | 14.89 | 3.36 | 5.48 | 0.67 | - | - | - |
| Leu | 22.65 | 38.96 | 10.53 | 15.40 | 2.15 | 1.75 | - | - |
| Lys | 3.11 | 12.89 | 3.94 | 5.16 | 2.13 | 2.31 | - | - |

综合来看,以大豆蛋白为基料的鲜味剂中游离氨基酸种类较为丰富,海鲜味基料鲜味剂中游离氨基酸主要有谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸和甘氨酸,不含其它种类游离氨基酸(TaiXian、D038A)或其它种类游离氨基酸含量偏低(D201、D202)。

2.2 聚类分析法对鲜味剂口感进行分类及口

感分类验证

计方法,是将某个对象集划分为若干组的过程,最终使同一组内的数据对象具有较高的相似度,而不同组中的数据对象是不相似的^[13]。通常可分为分层聚类和非分层聚类,前者是将单独类别依据其相似度合并为一大类,后者则是依据其微小的差别细分为更小的类别以除去异常样本^[14]。本研究中的聚类分析采用组间联接法,以欧氏距离(Euclidean distance)为度量标准,对原始变量采用Z得分法进行标准化的预处理,获取鲜味物质的聚类谱系图,结果如图1所示。

从图1中可以看出,以四种氨基酸含量及蛋白含量为变量对鲜味剂进行聚类可分为四类,第一类,HVP以及与其口感接近的D201、D202和HTF;第二类, YE 以及与其口感接近的 HTG; 第三类, 肽鲜(TX),其口感介于上述两类之间,更接近于第一类HVP口感;第四类,D038A,如图所示,它与其他样品间存在较大的差异。

将鲜味调味料进行随意编号并以随机的顺序逐个呈现给专家品评员,让其对各种鲜味剂的接受程度进行打分,8分制,对样品的接受程度越高则分值越高。将数据统计后根据图1中分类列入表中,如表3所示,除HVP评分略有差异外,品评员对鲜味剂的感官评分与分类基本一致。从该表也可以看出, TX的鲜味感官与HVP所属类别更为近似。

此外,值得注意的是,鲜味剂的接受度较高的为II类,即YE与HTG,对其进行进一步分析发现两者的游离谷氨酸含量均较低,但可溶性蛋白含量均较高,即蛋白在其呈味中起到较为重要的作用。

使用平均联接(组间)的树状图
重新调整距离聚类合并

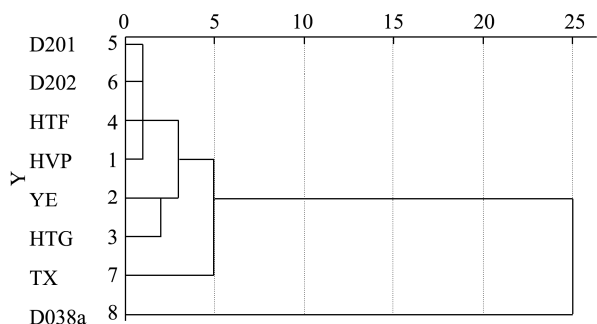


图1 鲜味剂按四种氨基酸及蛋白质含量进行的聚类分析

Fig.1 Cluster pedigree diagram of different umami samples

目前被报道的对鲜味产生有贡献的氨基酸主要有谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸和丙氨酸^[10],而有研究发现^[11,12]认为肽类物质也具有呈鲜及增鲜的作用,故本文选取四种氨基酸含量及可溶性蛋白质含量作为变量对鲜味剂进行聚类分析。

聚类分析是对样品或变量进行分类的一种多元统

表 3 几种鲜味剂的鲜味感官接受度评分

Table 3 Acceptance scores of the umami samples

| 类别 | I 类 | | | | II 类 | | III 类 | IV 类 |
|---------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 样品名 | D201 | D202 | HTF | HVP | YE | HTG | TX | D038A |
| 鲜味接受度评分 | 4.3 ^b | 4.5 ^{bc} | 4.2 ^b | 5.05 ^c | 6.15 ^d | 6.05 ^d | 4.9 ^{bc} | 3.3 ^a |

2.3 鲜味剂中的蛋白含量及分子量分布

Chiti^[5]指出, 形成聚集体是所有蛋白质的固有特性。因此, 很难找出聚合与非聚合蛋白质的明显界限。而肽为蛋白质水解产物, 其分子量远小于蛋白质, 但有研究表明, 肽在制备过程中也会通过疏水性相互作用发生聚集, 形成表观分子量较大的聚合物^[15-18]。

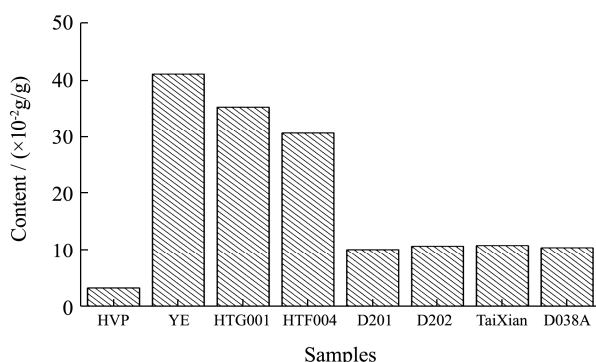


图 2 各种鲜味剂的蛋白/肽含量

Fig.2 Protein/peptide content of the samples

如图 2 所示, 各种鲜味剂的蛋白或多肽含量差异较大, 整体来说, 大豆蛋白基鲜味剂中蛋白或多肽含量较高, 均在 0.35 g/g 左右, 而海鲜产品鲜味剂中蛋白或多肽含量较低, 均在 0.10 g/g 左右。然而, 植物水解蛋白 HVP, 其蛋白含量远低于其它鲜味剂, 这可能是由于酸水解对蛋白破坏度较大, 已被完全水解成氨基酸, 这一现象与表 2 所示的 HVP 样品中游离氨基酸种类最多且含量均较高的结果一致。

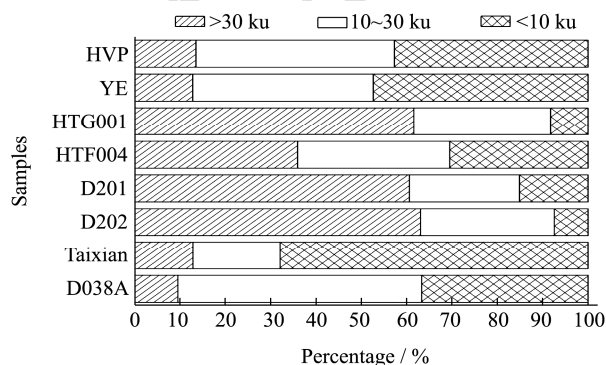


图 3 各种鲜味剂的表观分子量分布情况

Fig.3 Molecular weight distribution of the umami samples

对鲜味剂的表观分子量分布分析显示(图 3), 大豆蛋白基两种鲜味剂中蛋白或多肽倾向于形成分子量较大的聚集体, 其中 HTG001 中 30 ku 以上组分含量

达到 60%以上, HTF004 中>30 ku 组分也在 35%以上。但 4 种海鲜产品鲜味剂的表现分子量分布出现不一致, D201 与 D202 两种样品中蛋白质或多肽倾向于聚合, 且 30 ku 以上组分含量均在 60%以上, 而 TaiXian 及 D038A 两种样品中小分子量蛋白质或多肽 (<10 ku) 含量较高, 如 TaiXian 中<10 ku 组分含量达到近 70%, D038A 中<10 ku 组分含量也在 35%左右。由此可见, 大豆鲜味剂不仅在蛋白含量而且在分子量的分布上与海鲜基原料的调味剂有明显的区别。

2.4 鲜味剂等电点及 pH 对鲜味剂溶液 Zeta 电位的影响

表 4 各样品起始 pH 及等电点

Table 4 pH and pI values of the samples

| 样品名称 | 起始 pH | 等电点 |
|---------|-------|------|
| MSG | 6.54 | 4.17 |
| I+G | 7.88 | 3.54 |
| HVP | 5.29 | |
| YE | 5.84 | |
| HTG001 | 5.52 | |
| HTF004 | 5.64 | |
| D201 | 6.57 | |
| D202 | 5.54 | |
| Taixian | 5.68 | 3.70 |
| D038A | 6.34 | 3.51 |

食品中所用调味剂的种类十分丰富, 酸碱范围较广泛。从鲜味剂的酸碱碱性分析结果可以看出(表 4), 目前常用的鲜味剂 pH 大部分接近中性, 而发酵、酶解及酸解工艺制备的鲜味剂的 pH 偏酸, 如 YE、HTG001、HTF004 及 HVP 等, 这主要是由于加工产生的游离酸性氨基酸(谷氨酸与天门冬氨酸)等含量较高, 而 I+G 的 pH 为 7.88, 偏碱性。值得指出的是, D038A 中谷氨酸含量最高, 但其 pH 却并未明显低于其它鲜味剂, 可推测该鲜味剂与其它碱性物质(如偏碱性的 I+G)进行了复配。

等电点是蛋白或多肽类溶液稳定性的一个常见指标, 此时样品溶解度最低。如表 4 所示, 在 pH 3~8 范围内, 部分样品未测得等电点, 表明这些样品在该 pH 范围内稳定, 即这样鲜味剂可广泛用于食品加工体

系,不会产生沉淀,而等电点在酸性的样品需谨慎选择适用范围,不可用于需要溶解状态澄清的酸性食品加工。Zeta 电位势是带电微粒表面剪切层的电位,由微粒表面电荷和周围溶液环境条件共同决定,比表面电势更适合于描述带电颗粒在溶液中的相互作用,其值不仅与微粒表面的电化性质相关,还受周围溶液环境因素的影响,如 pH、离子强度和表面活性剂等。因此,离开环境因素来描述 Zeta 电位势是没有实际意义的^[19]。样品表面的电荷主要取决于基团的情况,也和样品中蛋白或多肽的构象变化存在一定的关系。在没有外加任何电解质的样品溶液中,其电性主要取决于其侧链的羧基和氨基的解离程度。即羧基和氨基在溶液中的解离状态直接影响到样品分子的带电状况,而影响这些可解离基团解离状态的因素中,主要是所处溶液的 pH 值。

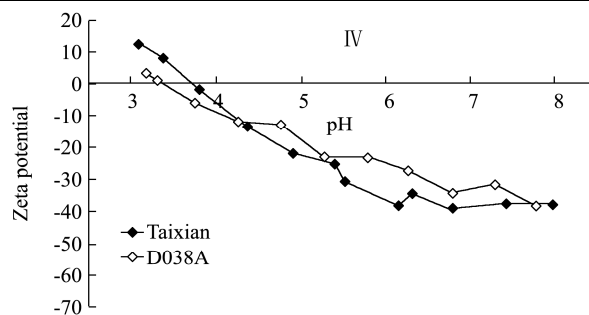
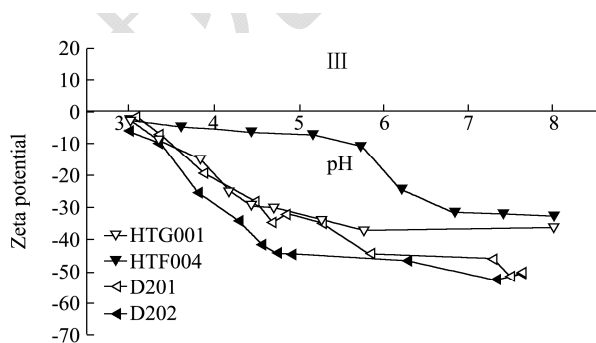
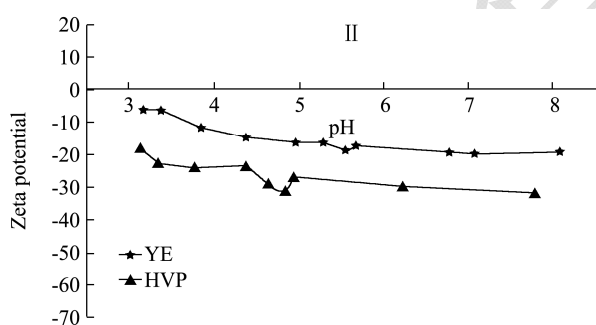
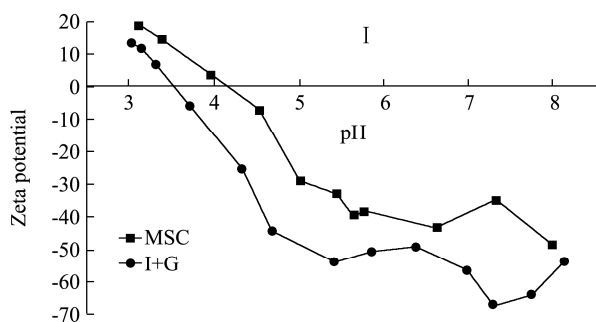


图 4 四类 Zeta 电位滴定图谱

Fig.4 Four types of Zeta potential titration curves

注: I, MSG 及 I+G; II, 常用鲜味剂; III, 高分子量肽段含量高的鲜味剂; IV表示低分子量肽段含量高的鲜味剂。

从图 4 中可看出,所有样品 Zeta 电位值均随着 pH 值的升高而降低,在其初始 pH 值时各样品 Zeta 电位值均为负值,且绝对值均在 30~60 mV 之间。Zeta 电位负值一般是由去质子化的羧基、磷酸基或氨基基团所造成的^[20]。根据 Zeta 电位滴定谱图的变化趋势及 Zeta 电位值变化范围,可将 10 种鲜味剂样品分为四大类:第 I 类:常用单体鲜味剂如 MSG 及 I+G,这类鲜味剂 Zeta 电位值受 pH 影响较大,Zeta 电位绝对值变化范围为 20~70 mV,且在整个滴定 pH 范围 3~8 内出现等电点;第 II 类:常用复合鲜味剂如 HVP 及 YE 等,该类鲜味剂在测定 pH 范围内无等电点出现,Zeta 电位波动较小且均为负值,绝对值变化范围为 20~30 mV,即在测定 pH 范围内该类鲜味剂较为稳定;第 III 类:分子量 30 ku 以上肽段含量较高的复合鲜味剂,如大豆蛋白基鲜味剂 HTG001、HTF004 以及海鲜产品基鲜味剂 D201、D202,虽在测定 pH 范围内未出现等电点,但它们受 pH 影响较为明显,Zeta 电位绝对值的变化范围在 1~50 mV;第 IV 类:分子量 10 ku 以下肽段含量较高的复合鲜味剂,如 TaiXian 及 D038A,测定 pH 范围内出现等电点,变化趋势与第 I 类类似,但 Zeta 电位绝对值变化仅为 0~40 mV。

2.5 鲜味剂疏水性特征分析

有研究指出,肽可通过疏水性相互作用发生聚集^[5]。反相高效液相色谱可通过流动相浓度梯度变化对样品以疏水性强弱进行区分。本研究以 MSG 与 I+G 等常用鲜味剂作为对照,分析了各鲜味剂在 C18 疏水性柱上的分离图谱。以期通过疏水性分布情况对不同样品进行区分。如图所示,将 MSG 与 I+G 的色谱图作为分类的固定对照物质,MSG 的出峰时间分别在 7 min 及 30 min 左右,而 I+G 的出峰时间在 10~15 min。

如图所示鲜味剂样品也可大致分为4类。

类型1(图5a)包括HVP及YE等常用复合鲜味剂,两者均存在与MSG出峰时间相重合的峰,且均在25 min与28 min出现两个分离较为明确的峰,该两峰与该类鲜味剂呈味间关系仍需继续研究。与I+G出峰时间未重合,这说明两者在制备过程中可能产生或引入了MSG,而未以I+G进行复配。

类型2(图5b)则主要包括HTG001与HTF004两种豆基鲜味剂,即其中存在大豆蛋白酶解物,两者的共同性质为,蛋白质含量较高,均在30%以上,且谷氨酸含量较低,其中HTG001的谷氨酸含量更低至50 g/kg以下。如图所示,两者图谱均较为复杂,符合大豆蛋白酶解肽图谱特征(一般成分复杂,峰多且杂),两者峰型均与MSG及I+G特征峰有所重合,其中HTF004中与MSG类似的峰出峰时间有所推迟,可能是MSG与其它疏水性肽类物质发生了相互作用,导致出峰时间延后。两者在20~30 min间存在多且较杂的一组峰,可能为大豆肽类鲜味组分。

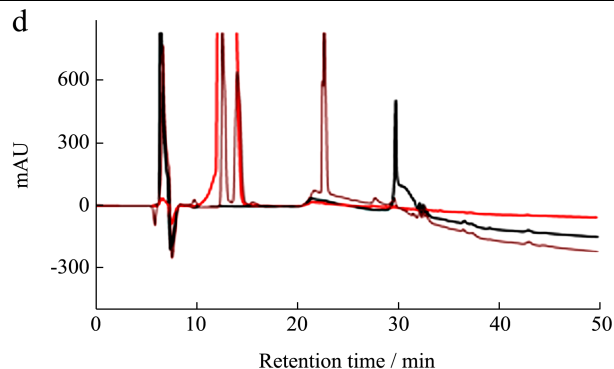
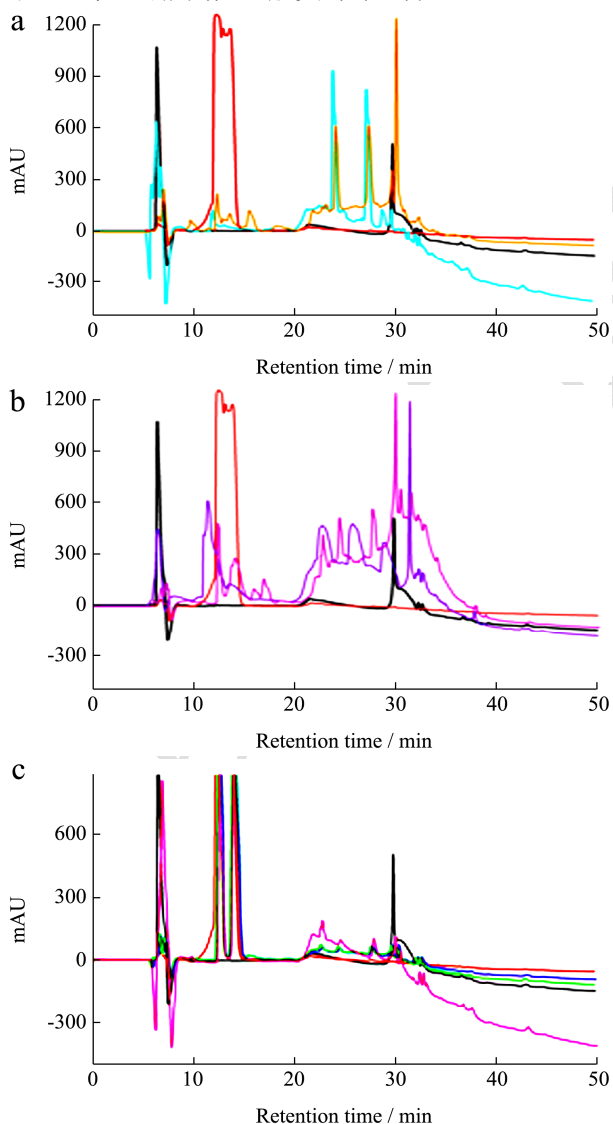


图5 常用鲜味剂(a)、HTG001与HTF004(b)、D201、D202及肽鲜粉(c)和D038A(d)疏水性图谱

Fig.5 HPLC profiles of regular umami samples (a), HTG001 and HTF004 (b), D201, D202 and Taixian (c), and D038A (d)

注: a(黑: MSG; 红: I+G; 荧光蓝: HVP; 橙: YE); b(黑: MSG; 红: I+G; 紫: HTG001; 紫红: HTF004); c(黑: MSG; 红: I+G; 蓝: D201; 绿: D202; 粉: 肽鲜); d(黑: MSG; 红: I+G; 紫: D038A)。

类型3(图5c)主要包括D201、D202及TaiXian,三者均为海鲜类鲜味剂制品,共同点为蛋白含量均为10%左右,而谷氨酸含量在150~200 g/kg左右。如图所示,两种肽的特征峰均与I+G特征峰重合,故可推测两种鲜味剂是以I+G进行了复配。

类型4(图5d)主要包括D038A,该鲜味剂中蛋白含量较低,<10%,但其谷氨酸含量较高,达到450 g/kg以上。如图所示,D038A的特征峰除了与I+G重合外,还存在22 min左右一个明显单峰,与上述几种类型均不同。是否也由呈味肽所造成仍需进一步研究。综上所述,市售肽类鲜味剂均非纯粹的肽类产品,其中大部分与MSG或I+G进行了复配,而值得注意的是几乎所有肽类产品均在20~30 min间存在单峰或多个小峰,这些峰是否具有相似性仍需进行详细研究。

3 结论

3.1 鲜味剂是食品行业最常用的调味剂,为区别调味剂不同种类、来源和复合情况,本文分析了几种常见食品工业鲜味剂的呈味特点、基本性质和色谱特性。

3.2 结果显示,以大豆蛋白为原料的鲜味剂具有甜鲜和酱香味,而以海鲜制品为原料的鲜味剂有咸鲜和腥味;以聚类分析对口味进行了分类并以专家品评员验证了口味分类的准确性;鲜味剂的pH值为中性偏酸,而与I+G复配的鲜味剂的pH值较高;游离谷氨酸含量较高的鲜味剂的等电点较高,会在pH 3~8内测得等电点,该类鲜味剂与MSG复配或高含游离谷氨酸的原料复配的可能性较高;根据Zeta电位滴定图谱鲜味剂可分为四类,主要可初步辨别鲜味剂的组成特征,

如鲜味剂是否为常用复合鲜味剂 (YE、HVP 等) 或其它类型复合鲜味剂 (>30 ku 蛋白或肽段含量高) 等; 进一步根据 RP-HPLC 图谱中 MSG 的特征峰 (7 min 及 30 min 左右) 以及 I+G 的出峰时间 (10~15 min), 对比各种鲜味剂的出峰时间特征可进一步判断其与 MSG 或 I+G 的复配情况。据此, 可以判断鲜味剂的种类、呈鲜特征以及原料来源或加工方法, 这对鲜味剂产品在食品工业生产中的应用具有指导意义。

参考文献

- [1] Yamaguchi S. Basic properties of umami and its effects on food flavor [J]. Food Reviews International, 1998, 14(2-3): 139-176
- [2] Yamaguchi S, Ninomiya K. Umami and food palatability [J]. Journal of Nutrition, 2000, 13: 921S-926S
- [3] Marseno D W, Hori K, Miyazawa K. Distribution of 5'-nucleotidase in muscle of some marine fishes [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1992, 102(2): 247-253
- [4] 王仲礼. 食品鲜味剂及其在食品工业中的应用[J]. 中国调味品, 2003, 2: 288: 3-7
WANG Zhong-li. Food umami flavor enhancers and their utilization in food industry [J]. China Condiment, 2003, 2: 288: 3-7
- [5] Chiti F, Taddei F B, Capanni M S, et al. Kinetic partitioning of protein folding and aggregation [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2002, 9(2): 137-143
- [6] 翁世兵, 孙恢礼. 海产鲜味物质及海产品特征滋味的研究进展[J]. 中国调味品, 2007, 345: 21-27
WENG Shi-bing, SUN Hui-li. Marine umami substances and characteristic taste of seafood [J]. China Condiment, 2007, 345: 21-27
- [7] Aaslyng M D, Martens M, Poll L, et al. Chemical and sensory characterization of hydrolyzed vegetable protein, a savory flavoring [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1998, 46(2): 481-489
- [8] Festring D, Hofmann T. Discovery of N 2-(1-carboxyethyl) guanosine 5'-monophosphate as an umami-enhancing Maillard-modified nucleotide in yeast extracts [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2010, 58(19): 10614-10622
- [9] Toelstede S, Hofmann T. Kokumi-active glutamyl peptides in cheeses and their biogeneration by *Penicillium roquefortii* [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2009, 57(9): 3738-3748
- [10] Seung-Ho K, Kyung-Ae L. Evaluation of taste compounds in water-soluble extract of a doenjang (soybean paste) [J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 339-342
- [11] Papk J N, Ishida K, Watanabe T, et al. Taste effects of oligopeptides in a Vietnamese fish sauce [J]. Fisheries Science, 2002, 68(4): 921-928
- [12] Ogasawara M, Katsumata T, Egi M. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptide [J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 600-604
- [13] 贾丽艳, 杜强. SPSS 统计分析标准教程[M]. 北京: 人民邮电出版社, 2010
JIA Li-yan, DU Qiang. SPSS statistical analysis standard tutorial [M]. Beijing: The People's Posts and Telecommunications Press, 2010
- [14] Tistaert C, Dejaegher B, Heyden Y V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: a review [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 690(2): 148-161
- [15] Otte J, Lomholt S B, Halkier T, et al. Identification of peptides in aggregates formed during hydrolysis of β -lactoglobulin b with a glu and asp specific microbial protease [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 48(6): 2443-2447
- [16] Nagai K, Inouye K. Insights into the reaction mechanism of the coagulation of soy protein isolates induced by *subtilisin Carlsberg* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(15): 4921-4927
- [17] Kuipers B J H, Altling A C, Gruppen H. Comparison of the aggregation behavior of soy and bovine whey protein hydrolysates [J]. Biotechnology Advances, 2007, 25: 606-610
- [18] Creusot N, Gruppen H. Hydrolysis of whey protein isolate with *Bacillus licheniformis* protease: fractionation and identification of aggregating peptides [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2007, 55(22): 9241-9250
- [19] Marek K. Zeta Potentials in nonaqueous media: how to measure and control them [J]. Physicochemical and Engineering Aspects, 1999, 159: 277-281
- [20] Vandermer H C, Leonard A J, Weerkamp A H, et al. Properties of oral streptococci relevant for adherence: zeta potential, surface free energy and elemental composition [J]. Colloids and Surfaces, 1988, 32(88): 297-305