文章编号:1009-038X(2003)06-0020-05

均匀设计和回归分析在肉香味物质制备中的应用

华永兵, 宋焕禄*, 陈 坤, 江新业
(北京工商大学 化学与环境工程学院,北京 100037)

摘 要: 利用均匀设计法在有丝氨酸参与的美拉德反应条件下,对样品用 5 个细化的指标评分,通过多项式回归拟合该反应的回归方程,分析各因素及交互作用对反应的影响,结合回归方程和实际情况找到了最佳的反应条件为:丝氨酸 2.000 g,丙氨酸 1.640 g,半胱氨酸 2.400 g,木糖 5.646 g,水 27.267 g,系统 pH 值 8.2,在 120 ℃下反应 53 min。

关键词: 均匀设计;丝氨酸;美拉德反应;回归分析;影响因素;肉香
中图分类号:TS 201.4 **文献标识码**: A

The Application of Uniform Designs and Regression Analysis in the Preparation of Meat Flavors

HUA Yong-bing, SONG Huan-lu, CHEN Kun, JIANG Xin-ye
(College of Chemical and Environmental Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100037, China)

Abstract: The method of Uniform Designs was the Maillard reaction with serine involvement. Based on five standards, the samples were graded and evaluated. Polynomial regression type's mathematical model of the reaction system was constructed. Effects of various factors on the flavors were studied. The model and facts indicated the optimized conditions for the system are: m(serine) = 2.000 g, m(alanine) = 1.640 g, m(cysteine) = 2.400 g, m(xylose) = 5.646 g, m(water) = 27.267 g, and implementing the reaction at 120 ℃ and pH 8.2 for 53 minutes.

Key words: uniform designs; serine; Maillard reaction; regression analysis; effect factor; meat flavors

到 1992 年为止,在肉香气中已鉴定出约有 1 000种化合物.一般认为,含硫化合物、杂环化合物和羰基化合物是肉香味的主要成分[1].还原糖和氨基酸之间发生的美拉德反应是天然肉味香精制备的基础.美拉德反应不仅与反应前体物质有关,还与反应时间、温度、溶剂含量、pH 值等有关[2].研究过程中发现,丝氨酸的参与,反应往往能够产生很好的烘烤香味,而烘烤香味是肉香味的重要构成部分.在国内相关文献上未见有 L-丝氨酸参与制备肉味香味料的报道.评分时将指标细化,评价员详细描述风味特征,对于分析丝氨酸在体系中的作用有很大帮助.

收稿日期:2003-05-21; 修回日期:2003-07-14.
作者简介: 华永兵(1977-),男,江西九江人,香原料合成硕士研究生; * 通讯联系人.
万方数据

1　实验部分

1.1　实验材料和仪器

1.1.1　实验材料　氢氧化钠,盐酸(分析纯):北京化工厂生产;L-丝氨酸,L-半胱氨酸盐酸盐一水合物,L-丙氨酸,D-(+)木糖(食品级):北京健力制药厂生产;实验用水为蒸馏水.

1.1.2　仪器　JA2003 型数字电子天平:上海天平仪器厂生产;YXQG02 型蒸汽消毒器:山东新华医疗器械厂生产;PHS-2C 数字式酸度计:上海理达仪器厂生产;快开式回转搅拌反应釜:山东烟台市牟平区精密仪器厂生产.

1.2　实验设计

按参考文献[1～5]进行多次预备实验后,本次实验选用以下氨基酸:L-丝氨酸,L-半胱氨酸盐酸盐一水合物,L-丙氨酸,还原糖用木糖. 固定丝氨酸的量,将 L-半胱氨酸盐酸盐一水合物、L-丙氨酸、木糖与丝氨酸的质量比率作为它们各自的实验水平,不仅减少了因子数,还利于直接找到丝氨酸与其他原料之间关系是如何影响体系香气的,对于今后解释丝氨酸在美拉德反应中的机理有很大的帮助.

本试验为七因素六水平试验,由于不完全清楚因素间的交互作用,若采用正交表设计就要在表头加上交互作用的位置,试验次数将变得非常大. 以偏差作为均匀性的度量,并考虑减少实验次数(周期时间),选用均匀试验设计本次试验[6,7]. R. A. Fisher 提出设置重复可以降低随机误差[8],本实验作"$m=3$"的重复观察. 实验采用优化的 $U_{12}(6^7)$,$D=0.280\ 26$,与 $U_{16}^{*}(16^{12})$,$S=7$ 时,$D=0.276\ 9$[6] 比较相差很小,但实验次数减少了 4 次. 与正交相比,实验次数减少约 30 多次.

实验按照表 1 进行. 反应原料在加水后用碱液调至表中规定的 pH 值,立即进行加热反应. 每个样中 L-丝氨酸用量都为 2.000 g.

表 1　实验方案与样品得分

Tab. 1　The experimental plan and scores of the samples

实验号	水质量分数/%	pH 值	反应时间/min	温度/℃	丙氨酸	半胱氨酸	木糖	平均得分
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	
1	−0.280	−0.841	0.280	1.402	−1.402	−0.280	−0.841	1.22
2	−0.841	0.280	0.280	−1.402	1.402	−0.280	1.402	1.92
3	0.280	0.841	1.402	0.841	0.280	−1.402	0.841	0.75
4	−1.402	−1.402	−0.280	0.841	−0.280	0.841	0.841	2.22
5	0.841	1.402	−0.280	1.402	1.402	0.280	−0.280	0.85
6	1.402	−0.280	−1.402	0.280	−0.841	−0.841	1.402	3.65
7	−0.280	−1.402	−0.841	−0.841	0.841	−1.402	−0.841	3.48
8	0.280	0.841	−0.841	−0.841	−1.402	0.841	0.280	1.40
9	−1.402	1.402	0.841	−0.280	−0.841	−0.841	−0.280	0.83
10	0.841	−0.280	1.402	−1.402	−0.280	0.280	−1.402	2.53
11	1.402	−0.841	0.841	−0.280	0.841	1.402	0.280	2.67
12	−0.841	0.280	−1.402	0.280	0.280	1.402	−1.402	1.63

注:该表经过数据标准化后得到,最后一列为由表 3 得到的样品平均得分.

1.3　样品评分

食品风味的评定往往带有主观性. 用样品得分作为响应值得出的结果和结论在很大程度上依赖于收集数据的方法. 将相关专业知识的评价员、细化评分指标、对评分结果进行统计学检验结合起来,就能够有效减少评价员主观偏差对样品得分的影响.

万方数据

1.3.1　评分方法　实验的评分指标分为肉香味、烤香味、硫磺味(包括 H_2S)、焦糊味和留香时间 5 个部分. 各部分的加权系数分别为 0.6,0.3,−0.15,−0.15,0.4. 对各样品的气味成分强度打分:该气味不存在打 0,刚好可识别打 1.0…,数字标度含义为:0 为不存在,1.0 为刚好可识别,2.0 为弱,3.0 为中等,4.0 为强,5.0 为很强[9]. 让评价员

对每一处理的 3 个重复样打分，并将样品的平均得分填入表 2 中.

表 2 样品评分统计

Tab. 2 The statistical table of sample scores

样品	评价员(A)评分 x_{ij}						T_i	T_i^2
(B)	1	2	3	4	5	6		
B_1	0.4	1.2	2.3	1.0	0.6	1.8	7.3	53.29
B_2	2.3	1.3	1.1	2.4	2.7	1.7	11.5	132.25
B_3	−0.2	0.8	0.4	2.1	0.2	1.2	4.5	20.25
B_4	1.6	1.8	2.6	2.9	1.9	2.5	13.3	176.89
B_5	−0.1	1.2	0.6	2.0	0.3	1.1	5.1	26.01
B_6	4.8	2.4	2.2	4.1	5.0	3.4	21.9	479.61
B_7	4.4	2.1	3.1	2.7	4.8	3.8	20.9	436.81
B_8	0.6	0.6	1.6	2.3	1.0	2.3	8.4	70.56
B_9	0.2	1.0	0.6	1.4	0.6	1.2	5.0	25.00
B_{10}	3.3	3.0	1.3	2.4	3.6	1.6	15.2	231.04
B_{11}	2.6	2.8	2.2	3.0	2.9	2.5	16.0	256.00
B_{12}	1.4	1.6	1.3	1.7	1.8	2.0	9.8	96.04
T_j	21.3	19.8	19.3	28.0	25.4	25.1	$\sum_{j=1}^{6} T_j^2$	$\sum_{i=1}^{12} T_j^2$
T_j^2	453.69	392.04	372.49	784.00	645.16	630.01	3277.39	2003.75

1.3.2 方差分析 每个得分数可写成 $x_{ij}=\bar{x}+\mu+\varepsilon_{ij}$，$\mu$ 是处理参数，称为处理效应，$\varepsilon_{ij}(0,\sigma^2)$ 为随机误差. 对于随机误差正态性、独立性和方差同质性的检验见图 1(样品得分均值极差图). 图 1 表明，极差在一个与横轴平行的矩形范围内作不大的随机波动，数据基本满足“三性”[7]，可以进行方差分析.

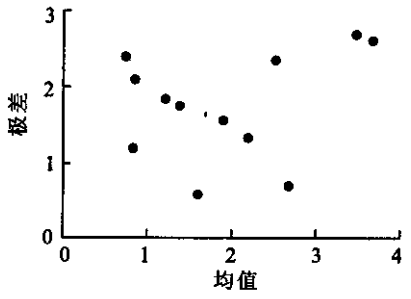


图 1 样品得分均值极差图

Fig. 1 Diagram of sample range dependence and sample mean

对评分结果有效性的分析有两点必须考虑：不同样品对其得分有无影响；不同评价员是否对样品得分产生影响. 对此有两个假设检验[8].

1)检验样品：

$H_0:\mu_1=\mu_2=\cdots=\mu_{12}=0$，$H_1:\mu_i\neq 0$ 至少有一个 i；

2)检验评价员：

$H'_0:\mu'_1=\mu'_2=\cdots=\mu'_6=0$，$H'_1:\mu'_j\neq 0$ 至少有一个 j.

关于处理均值之间没有差异的假设的检验统计量用 F[8]. 对表 2 进行方差分析，并将相关值列于表 3 中.

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

变差来源	df	SS	MS	$F_{计算}$	$F_{临界}$
样品间(B)	11	65.99	6.00	11.54^{**}	$F_{0.01}(11,55)=2.82$
评价员间(A)	5	5.19	1.04	2.00	$F_{0.01}(5,55)=9.24$
随机误差(E)	55	28.63	0.52		
总计(T)	71	99.81			

据此，否定 H_0，肯定 H'_0. 样品的差别对得分的影响是极显著的，而评价员之间判断能力的差别对样品得分无影响. 样品间有差别的得分是因为样品本身存在的差别，而不是因为评价员判别能力的不同而得出的结论. 评价员的评分是有效、可信的. 为

万方数据

减少评价员的随机误差把 T_i. 的平均数作为回归方程的响应值进一步分析.

2　结果与讨论

有量纲的数据经拟合回归之后,其回归系数之间不能直接比较,也就无法直接判断各因素的影响作用的大小. 数据标准化后均为无量纲数据,能进行直接比较. 对表 1 进行回归分析.

2.1　回归分析

作逐步线性回归得到的回归方程为

$$Y=1.764+0.280\ 56X_1-0.526\ 6X_6 \quad (1)$$

线性方程(1)表明,在该体系中半胱氨酸是最重要的影响因素. 虽然方程经检验后可以通过(见表 4),但没有考虑到因子间的交互作用,与实际情况明显不符.

表 4　线性方程检验

Tab. 4　Test of linear regression equation

偏相关	偏相关系数	t 检验值	显著水平 α
$r(y,X_1)=$	0.59415	2.22	0.05
$r(y,X_6)=$	−0.80611	4.08	0.002

采用多项式及交互项回归分析以找出交互因素. 借助计算机软件的帮助,拟合非线性回归方程为

$$Y=1.78+0.44X_1-0.31X_4-0.54X_6-0.50X_7+0.47X_1X_2+0.12X_1X_4+0.024X_2X_5-0.078X_2X_7-0.28X_3X_5-0.051X_6X_7 \quad (2)$$

相关系数 $R=1.000\ 0$,显著水平 $\alpha=0.003\ 5$,剩余标准差 $S=0.001\ 08$. F 值 $=49\ 999.925\ 0$,$F(10,1,0.003\ 5)=9\ 998.940\ 403$,$F>F_{临界}$,方程检验通过.

2.2　结果分析

表 5 表明,方程(2)中的各项偏相关均极强,各项都是极显著项.

2.2.1　X_1,X_4,X_6,X_7 的主效应对样品的得分有极显著的影响　X_6(即半胱氨酸与丝氨酸的质量比率)是最重要的影响因素. 因为含硫化合物是形成肉香的关键化合物. 半胱氨酸反应后生成的含硫化合物和杂环化合物的气味阈值极低,因此对整体风味贡献很大. 随着半胱氨酸的增加,将生成更多含硫肉香味前体物质. 在 120 ℃下,含硫氨基酸加热 1 h 后,有 41%降解,较其他类型氨基酸降解率高,仅次于羟基氨基酸[10]. 有鉴于此,X_6 不能一直增大.

X_7 表明木糖与丝氨酸之间的反应对肉香味有很大影响,这与它们间的羰氨反应在体系中占有很大主导作用有关.

当反应温度(X_4)较低时,反应主要产物除了醛类外,还有呋喃类化合物. 反应温度较高,加热时间(X_3)增加,生成的风味物质种类增多,有烘烤香气的吡嗪、吡咯、吡啶类化合物生成. 但随着温度的升高,有色聚合物增加,样品颜色加深,同时焦糊味有所加重. 这是因为糖连续的脱水,生成焦糖酐、焦糖烯缘故. 而较高的水含量(X_1)能降低糖脱水的进一步进行. 实验发现,若以温度 127 ℃为界,反应温度高于此的样品颜色明显比反应温度低于此的样品颜色深得多. 若温度过高,还有可能造成样品的炭化.

表 5　多项式回归方程检验

Tab. 5　Test of polynomial regression equation

偏相关	偏相关系数	t 检验值	显著水平 α
r(y,X_1)=	1	934.6235	0
r(y,X_4)=	−1	613.3528	0
r(y,X_6)=	−1	1119.9	0
r(y,X_7)=	−1	994.5387	0
r(y,X_1X_2)=	1	889.437	0
r(y,X_1X_4)=	0.99998	162.6821	0.00004
r(y,X_2X_5)=	0.99965	37.6811	0.0007
r(y,X_2X_7)=	−0.99996	113.1808	0.00008
r(y,X_3X_5)=	−1	366.3447	0.00001
r(y,X_6X_7)=	−0.99996	115.2553	0.00008

2.2.2　X_1X_2,X_1X_4,X_2X_5,X_2X_7,X_3X_5,X_6X_7 之间的交互作用　虽然 pH 值 X_2 在主效应中被忽略,但它与其他因素的交互影响不可小视. 因为 pH 值与水含量、木糖、丙氨酸都有交互作用,主要考虑它与木糖、水含量的交互作用.

方程(2)表明,pH 值(X_2)与木糖(X_7)的含量是负相关. 在实验中,曾以样品色值作为响应值进行线性回归,发现色值与 pH 值呈现较好的正线性相关,说明 pH 值升高能促进焦糖化反应. 但 pH 值过高时,还原糖受到破坏,同时,在强碱性条件下,氨基氮被消耗,还原糖与氨基氮的反应减少. 美拉德反应产生酸,因此 pH 值的升高又能促进美拉德反应进行. 对表 1 作线性分析,发现随 pH 值的升高,Y 值有所下降,这说明 pH 值升高对焦糖化的影响大于对美拉德反应的影响. 因此,pH 值应该选用偏碱性、不能偏高的值.

pH 值(X_2)与水含量(X_1)正相关,即较高(低)

万方数据

pH 值和较高(低)水含量能使肉香味增强. 考虑到主反应是美拉德反应,稍高的 pH 值能提高 Y 值,但也使焦化程度加深,而用较高的含水量起着抑制焦化的作用.

水含量(X_1)与温度(X_4)正相关. 当温度升高时,含水量也应该增加. 在较低温度下,可以用较低含量的溶剂水.

X_6X_7 项表明,半胱氨酸和木糖之间的变化与丝氨酸的交互作用对整体风味有影响. 根据回归方程还可对各因素作详尽的分析.

2.3 寻最优值

对表 4 得到的回归方程(2)进行步长为 0.002 的寻求 Y 最大值. 预测 Y 最大值为 4.43,得到各个因素最佳值的结果经还原,为

$X_1=70\%$, $X_2=8.2$, $X_3=53$ min, $X_4=120$ ℃, $X_5=0.82$, $X_6=1.2$, $X_7=2.823$

依照最佳因素值再安排实验,检验样品得到的评分为 4.19,预测误差为 -5.73%.

3 结 论

1)对有丝氨酸参与产生肉香味物质的美拉德反应条件进行优化,确定最佳条件为:丝氨酸 2.000 g,丙氨酸 1.640 g,半胱氨酸 2.400 g,木糖 5.646 g,水 27.267 g,系统 pH 值 8.2,在 120 ℃下反应 53 min.

2)各因素主效应及其之间交互作用对整体风味都有较大影响. 半胱氨酸与丝氨酸的质量比率是最主要的影响因素,木糖与丝氨酸的质量比率是重要的影响因素. pH 值与其他因素的交互作用对整体风味有较大影响.

3)利用均匀设计能够大大减少实验次数,缩短实验时间,节省实验经费. 非线性回归分析拟合的方程得到的预报结果足够精确. 利用该回归方程可有助于今后分析丝氨酸在该体系中的反应机理.

参考文献:

[1] Shahidi F. Flavor of Meat and Meat products[M]. Glasgow:Blackie Academic & Professional. 1994.

[2] Farmer L J. Poultry meat flavor[A]. Richardson R I, Mead G C. **Poultry Meat Science**[C]. New York:CAB International, 1999. 110-153.

[3] Farmer L J, Hagan T D J. Role of selected precursors in meat flavor formation[A]. **Quality Attributes of Muscle Foods: Based on a Symposium**[C]. Dallas: CABInternational, 1998. 159-172.

[4] Mottram D S. Some factors influencing meat-like Maillard reaction[A]. Thomas H Parliment. **Thermally Generated Flavors**[C]. Washington DC: American Chemical Society, 1994. 105-126.

[5] Thomas P D. A method for preparation of meat flavoring [P]. **美国专利**:USP 3660114,1972.

[6] **方开泰. 均匀设计与均匀设计表**[M]. **北京:科学出版社**,1994. 35-52,75.

[7] **袁志发,周静芋. 实验设计与分析**[M]. **北京:高等教育出版社**,2001. 74.

[8] Douglas C Montgomery. **实验设计与分析**[M]. **汪仁官,陈荣昭译. 北京:中国统计出版社**,1998. 31-71.

[9] **朱红,黄一贞,张弘. 食品感官分析入门**[M]. **北京:中国轻工业出版社**,1993.

[10] **丁耐克. 食品风味化学**[M]. **北京:中国轻工业出版社**,2001.

(责任编辑:杨 勇)

万方数据