

以脫脂花生粉脂酵素水解液製備花生香料=preparation of peanut flavor using defatted peanut hydrolysate

林彥均、游銅錫；張耀南

E-mail: 9019875@mail.dyu.edu.tw

摘要

生花生仁經焙炒或油炸後可產生特殊的香味，常廣被消費者所喜愛。焙炒花生所產生的香氣成分，目前已被鑑定出來的已超過三百種以上，而其重要的香味前驅物質主要為胺基酸、蛋白質、甾月太、醣類及脂質。國外花生油的製造與中國式花生油的製造不同。中國式花生油的製造乃是先將花生焙炒後再經蒸煮，而後擠壓而得。國外花生油的製造過程並無焙炒的過程，因此脫油後的花生油粕中還富含花生香味形成的香味前驅物質，包括糖與含氮化合物(特別是蛋白質)。因此，如能將脫油後之花生粕拿來製備花生香料，不啻可解決廢棄物的處理問題，並可以有經濟上的效益。因為花生香味形成的機制主要是焙炒時之糖及胺基化合物進行梅納反應所產生，因此如能先將花生粕加以水解使花生中之蛋白變為短鏈之甾月太甚至胺基酸，則可以增加梅納反應之強度，達到賦香的效果。本研究分以下五個部份進行，第一部份以鹽酸水解脫脂花生粉。結果得知脫脂花生粉未水解前之水解度為3.96%，經鹽酸水解後其水解度為45.41%。第二部份以市售之六種蛋白質分解酵素Protease、Neutralse、Papain、Bromelain、Flavourzyme、Colorlase S-50於其最適作用溫度及pH對脫脂花生粉進行水解。結果顯示在整體喜好性方面以Protease水解之水解液最佳，Neutralse水解之水解液次之；在嘗味方面以Protease之整體喜好性最佳；在苦味方面以Colorlase S-50及Flavourzyme水解之水解液最苦，另人無法接受。第三部份是將脫脂花生粉以混合酵素與二階段酵素進行水解後再進行喜好性官能品評，之後再將具最佳焙烤花生味的反應液進行密閉加熱模式反應及香氣成份抽提與鑑定。結果得知脫脂花生粉經二階段酵素(Protease-Neutralse)處理之水解液水解度最高、具最佳之香氣、嘗味及整體喜好性；且苦味最少。P-N二階段酵素處理之水解物之模式反應液中鑑定到的香氣成分主要為含硫化合物、pyrazines、pyridines、furans、aldehydes、ketones、alcohols、esters及acids等化合物。第四部份是利用反應曲面法(RSM)設計實驗，將上述第三部份之最佳焙烤花生味反應液與不同比例之木糖進行加熱密閉反應，之後再將反應液進行官能品評，並將有最佳焙烤花生味之反應液進行香氣成分抽提。結果得知，當脫脂花生粉的Protease-Neutralse二階段水解液的用量固定為200 g時，木糖之最適量為1.14 g、最適作用pH值為7.24、最佳反應時間為2.49 hr。再以上述之配方組合與脫脂花生粉水解液進行加熱反應液中所鑑定到的主要香氣成分有acids類、aldehydes類、alcohols類、phenols類及pyrazines類。第五部份是利用反應曲面法(RSM)設計實驗，將上述第四部份之最佳焙烤花生味反應液與不同比例之phenylalanine、arginine及histidine進行加熱密閉反應，之後再將反應液進行官能品評，並將品評結果最受喜愛之反應液進行香氣成分抽提。結果得知，當脫脂花生粉的Protease-Neutralse二階段水解液的用量固定為200 g、木糖固定為1.14 g時，phenylalanine、arginine、histidine之最佳值分別為0.88 g、0.57 g、0.94 g。再以上述之配方組合與脫脂花生粉水解液進行加熱反應液(XPAH)中所鑑定到的香氣成分與第四部份脫脂花生粉水解液與木糖的反應液(X)中所鑑定到的香氣成分做比較，發現acids、aldehydes、alcohols及phenols、esters、furans及pyrans、hydrocarbons、ketones、pyrazines、pyrroles、pyridines、sulfides、thiophenes及thiazoles的含量皆以添加木糖的反應液(X)中鑑定到的為最多，而XPAH反應液中這些香氣成分的含量較少。由實驗結果，可得知脫脂花生粉水解液、phenylalanine、arginine與histidine的模式熱反應可產生咖啡味，而脫脂花生粉水解液與木糖的模式熱反應可產生良好的焙烤花生味。脫脂花生粉水解液、木糖、phenylalanine、arginine與histidine的反應可提供以脫脂花生粉水解液製備咖啡的研究方向，而脫脂花生粉水解液與木糖的模式熱反應可作為焙烤花生香料之參考。關鍵字：脫脂花生粉、蛋白質分解酵素、水解、加熱反應、花生香料、香氣成分、胺基酸、梅納反應、木糖

關鍵詞：脫脂花生粉；蛋白質分解酵素；水解；加熱反應；花生香料；香氣成分；胺基酸；梅納反應；木糖

目錄

封面內頁 簽名頁 大葉大學碩士論文全文授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vii 誌謝 x 目錄 xi 圖目錄 xiv 表目錄 xvi 第一章 緒論 1 第二章 文獻回顧 第一節 蛋白質之酵素水解 4 第二節 水解系統的建立、控制及水解液利用 9 第三節 蛋白質水解物之呈味性質 14 第四節 焙炒花生的香氣成分及其前驅物 19 第五節 焙炒花生香氣化合物的形成機構 26 第六節 回應曲面實驗設計法 32 第三章 脫脂花生粉的成分分析及酸水解 摘要 36 第一節 前言 37 第二節 實驗材料與設備 38 第三節 實驗方法 40 第四節 結果與討論 44 第五節 結論 47 第四章 脫脂花生粉的酵素水解 摘要 48 第一節 前言 49 第二節 實驗材料與設備 50 第三節 實驗方法 52 第四節 結果與討論 55 第五節 結論 60 第五章 脫脂花生粉經二階段酵素水解之水解液之密閉加熱反應所形成的香氣成分 摘要 61 第一節 前言 62 第二節 實驗材料與設備 64 第三節 實驗方法 66 第四節 結果與討論 70 第五節 結論 77 第六章 脫脂花生粉酵素水解液與木糖之密閉加熱模式反應 摘要 78 第一節 前言 79 第二節 實驗材料與方法 81 第三節 實驗方法 83 第四節 結果與討論 87 第五節 結論 99 第七章 脫脂花生粉酵素水解液與phenylalanine、arginine、histidine之密閉加熱模式

反應摘要 100 第一節 前言 101 第二節 實驗材料與方法 103 第三節 實驗方法 105 第四節 結果與討論 108 第五節 結論 123
第八章 總結論 124 參考文獻 126 圖目錄 圖 2.1 酵素水解蛋白質苦味的產生 18 圖 2.2 pyrazines之生成途徑 27 圖 2.3
n-alkylbenzenes 之生成機制 28 圖 2.4 2-methylthiazole 之生成機制 29 圖 2.5 furfural 之生成機制 31 圖 2.6 反應曲面法設計流
程圖 35 圖 4.1 脫脂花生粉經六種蛋白質水解酵素作用後之水解度 57 圖 4.2 脫脂花生粉在不同酵素濃度之Protease
及Neutralse 作用下之水解度 58 圖 4.3 脫脂花生粉以Protease 和Neutralse在不同溫度作用 下之水解度 59 圖 4.4 脫脂花生粉
以Protease 和Neutralse在不同pH值作 用下之水解度 59 圖 5.1 混合酵素及二階段酵素水解脫脂花生粉之流程圖 67 圖 5.2 脫脂
花生粉經不同酵素處理法之水解度 73 圖 6.1 木糖與反應時間對應於模式反應液官能品評值之 回應曲面圖 93 圖 6.2 木糖與
反應時間對應於模式反應液官能品評值之 等高線圖 93 圖 6.3 木糖與pH對應於模式反應液官能品評值之回應 曲面圖 94 圖
6.4 木糖與pH對應於模式反應液官能品評值之等 高線圖 94 圖 6.5 pH與反應時間對應於模式反應液官能品評值之回應 曲面
圖 95 圖 6.6 pH與反應時間對應於模式反應液官能品評值之 等高線圖 95 圖 7.1 Phenylalanine與histidine對應於模式反應液官
能品 評值之回應曲面圖 113 圖 7.2 Phenylalanine與histidine對應於模式反應液官能品 評值之等高線圖 113 圖 7.3
Phenylalanine與arginine對應於模式反應液官能品 評值之回應曲面圖 114 圖 7.4 Phenylalanine與histidine對應於模式反應液官
能品 評值之等高線圖 114 圖 7.5 Phenylalanine與arginine對應於模式反應液官能品評 值之回應曲面圖 115 圖 7.6 Histidine
與arginine對應於模式反應液官能品評值 之等高線圖 115 表目錄 表 2.1 各種水解法之優缺點的比較 5 表 2.2 苦味胜月太 之
胺基酸序列 18 表 2.3 對焙炒花生香氣貢獻較大之化合物 20 表 2.4 花生油之一般脂肪組成分 25 表 3.1 本研究所用花生原豆
及脫脂花生粉之成分分析 45 表 3.2 本研究所用脫脂花生粉之胺基酸組成 45 表 3.3 酸水解處理之脫脂花生粉中之胺基酸組
成 46 表 4.1 脫脂花生粉蛋白質水解液經加熱後之官能品評結果 58 表 5.1 P-N二階段酵素處理之水解液中之胺基酸組成 72
表 5.2 經不同酵素處理法處理之脫脂花生水解加熱液之官 能品評之結果 74 表 5.3 P-N二階段酵素水解處理之脫脂花生水解
物模式反 應液中之揮發性成分 75 表 6.1 中心混成實驗設計變數 85 表 6.2 中心混成實驗設計之組合 85 表 6.3 不同量之木糖
與脫脂花生粉酵素水解液之熱反應 液之官能品評結果 88 表 6.4 木糖與脫脂花生粉酵素水解液於不同pH值下之 熱反應液之
官能品評結果 88 表 6.5 木糖與脫脂花生粉酵素水解液於不同反應時間下 之熱反應液之官能品評結果 88 表 6.6 中心混成設
計及其實驗結果 91 表 6.7 中心混成實驗之迴歸分析表 92 表 6.8 反應曲面模式之變異系數分析(ANOVA) 92 表 6.9 脫脂花生
水解物與木糖之模式反應液中之揮發性 成分 96 表 7.1 中心混成實驗設計變數 106 表 7.2 中心混成實驗設計之組合 106 表
7.3 不同量之phenalanine與木糖、脫脂花生粉酵素 水解液之熱反應液之官能品評結果 109 表 7.4 不同量之argininem與木糖
、脫脂花生粉酵素水 解液之熱反應液之官能品評結果表 109 表 7.5 不同量之histidine與木糖、脫脂花生粉酵素水 解液之熱
反應液之官能品評結果 109 表 7.6 中心混成設計及其實驗結果 111 表 7.7 中心混成實驗之迴歸分析表 112 表 7.8 反應曲面模
式之變異系數分析(ANOVA) 112 表 7.9 由模式反應液中所鑑定到的香氣成份含量比較 116

參考文獻

1. 太田靜行 (1990) 天然調味料, *New Food Industry* 32:17.
2. 李秀、賴滋漢 (1976) 食品分析與檢驗. p. 195.
3. 洪哲穎、陳國誠 (1992) 回應曲面實驗設計法在微生物酵素生產上之應用, *化工* 39 (2) :3-18.
4. 徐錫樑、邱義源 (1993) 通氧氣與二氧化碳焙炒花生仁對其化學組成及油脂氧化安定性的影響. *食品科學* 20(1):1-8.
5. 陳怡宏 (1997) 蛋白質酵素水解液之生產技術. *食品工業* 29(11):34-40.
6. 彭秋妹、王家仁 (1991) 食品官能檢查手冊. 食品工業發展研究所. p. 10-33.
7. 鄭靜桂 (1997) 蛋白質之水解與水解液之利用. *食品工業* 29(5):10-17.
8. A.O.A.C. (1984) *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th edition, Washington D. C., U. S. A.
9. Adler-Nissen, J. (1982) Limited enzymic degradation of proteins: A new approach in the industrial application of hydrolysates. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 32:138-156.
10. Adler-Nissen, J. (1986) "Enzymic Hydrolysis of Food Proteins," Elsevier Applied Science Publ. Ltd., Barking, Essex. UK. 31:213-254.
11. Arctander, S. (1975) *Perfume and flavor chemicals*. Published by the author. Montclair, N.J. 31:142-158.
12. Basha, S. M. and Pancholy, S. K. (1981) Identification of methionine-rich polypeptides in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed. *J. Agric. Food Chem.* 29:331-335.
13. Box, G. E. P. and Wilson, K. B. (1951) On the experimental attainment optimum conditions. *J. Roy. Statist. Soc.* B13:1-45.
14. Brown, D. F.; Seen, J. V. and Dollear, F. G. (1973) Comparison of carbonyl compounds in raw and roasted runner peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 21:463-470.
15. Chiou, R. Y. Y.; Chang, C. Y. and Ho, S. (1991a) Characteristics of peanut kernels roasted under various atmospheric environments. *J. Agric. Food Chem.* 39:1852-1856.
16. Chiou, R. Y. Y.; Chang, Y. S.; Tsai, T. T. and Ho, S. (1991b) Variation of flavor-related characteristics of peanut during roasted as affected by initial moisture contents. *J. Agric. Food Chem.* 39:1155-1158.
17. Frokjaer, S. (1944) Use of hydrolysates for protein supplement -ation. *Food Technol.* 48(10):86-88.
18. Garnero, J. (1982) Heterocyclic aroma compounds precursors. In "Chemistry of heterocyclic compounds in flavour and aromas" ed. By Vernin, G., Ellis Horwood Limited, England. p. 23-25.
19. Heath, H. B. (1978) Flavoring materials. Part 6. Imitation flavorings. In "Flavor technology-profiles, products, applications" . AVI Publ. Co., Lnc., Westport Connecticut. p. 352.
20. Heller, S. R. and Milne, G. W. A. (1978) EPA/NIH mass spectral database. Vol. 1., U. S. Government Printing Office, Washington, D. C. U. S. A.
21. Heller, S. R. and Milne, G. W. A. (1980) EPA/NIH mass spectral database. Supplement. 1., U. S. Government Printing Office, Washington, D. C. U. S. A.
22. Heyne, K.; Stute R. and Paulsen H. (1966) Brungsreaktionen and Fragmentierungen von kohlenhydraten. *Carbohydrate Res.* 2:132.
23. Himmelblau, D. M. (1970) *Process analysis by statistical methods*. John Wiley and sons. Inc., New York. p. 230-292.
24. Ho, C. T.; Lee, M. H. and Chang, S. S. (1981) Isolation and identification of volatile components from roasted peanuts. *J. Food Sci.* 47:127 -133.
25. Ho, C. T.; Smagula, M. S. and Chang, S. S. (1978) The synthesis of 2-(1-pentenyl) furan and its relationship to the

reversion flavor of soybean oil. *JAOCS*. 55:233. 26. Johnson, B. R.; Waller, G. R. and Foltz, R. L. (1971a) Volatile components of roasted peanuts:basic fraction. *J. Agric. Food Chem.* 19:1025-1027. 27. Johnson, B. R.; Waller, G. R. and Burlingame, A. L. (1971b) Volatile components of roasted peanuts:neutral fraction. *J. Agric. Food Chem.* 19:1020-1024. 28. Kirmura, J.; Shimizu, A.; Kimizuka, A.; Ninomiya, T. and N. Katsuya. (1969) The contribution of peptides and amino acids to the taste of foodstuffs. *J. Agri. Food Chem.* 19:689. 29. Koehler, P. E.; Mason, M. E. and Newell, J. A. (1969) Formation of pyrazine compounds in sugar-amino acid model system. *J. Agric. Food Chem.* 17:393-396. 30. Koehler, P. E.; and Odell, G. V. (1970) Factors affecting formation of pyrazine compounds in sugar-amine reactions. *J. Agric. Food Chem.* 18:895. 31. Kuninaka, A.; Kibi, M. and Sakaguchi, K. (1964) History and development of flavor nucleotides. *Food Technol.* March:29. 32. Lahl, W. J. and Braun, S. D. (1994) Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Technol.* 48(10):68-71. 33. Lee, M. H., Ho, C. T. and Chang, S. S. (1980) Isolation and identification of volatile components from roasted peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 47:127-133. 34. Maga, J. A. (1977) Alkylpyrazine level in various vegetable protein flavor. *Lebensm-Wiss. Technol.* 10(2):100. 35. Mason, M. E.; Newell, J. A.; Johnson, B. R.; Koehler, P.E. and Waller, G. R. (1969) Nonvolatile flavor compounds of peanuts. *J. Agric. Food Chem.* 17:728-732. 36. Mason, M. E.; Johnson, B. R.; Hamming, M. C. (1967) Volatile components of roasted peanuts:the major mono-carbonyls and some noncarbonyl compounds. *J. Agric. Food Chem.* 15:66-72. 37. Mazur, R. H.; Schlatter, J. M.; and A. H. Goldkamp, J. (1969) Structure-taste relationship of some dipeptides. *Amer. Chem. Soc.* 91:2684. 38. Merritt, C. and Robertson, D. H. (1967) The analysis of protein, peptides and amino acids by pyrolysis gas chromatography and mass spectrometry. *J. Gas Chrom.* 5:96. 39. Min, D. B. S.; Ina, K.; Peterson, R. J. and Chang, S. S. (1977) The alkylbenzenes in roast beef. *J. Food Sci.* 42(2):503. 40. Murray, T. K. and Baker, B. E. (1952) Studies on protein hydrolysate. *J. Sci. Food Agric.* 3:470-475. 41. Newell, J. A.; Mason, M. E. and Matlock, R. S. (1967) Precursor of typical roasted peanut flavor. *J. Agric. Food Chem.* 15:767-772. 42. Nonaka, M.; Black, D. R. and Pippen, E. L. (1967) Gas chromatographic and mass spectrometral analysis of cooled chicken meat volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 15:713. 43. Oupudissakoon, C. and Young, C. T. (1984) Changes in free amino acid and sugars of peanuts during oil roasting. *Peanut Sci.* 11:6-9. 44. Pattee, H. E.; Singleton, J. A.; Johns, E. B. and Mullin, E. B. (1970) Effects of storage time and conditions on peanut volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 18:353-360. 45. Sakaguchi, M. and Shibamoto, T. (1978) Formation of heterocyclic compounds from reaction of cystamine and D-glucose, acetaldehyde or glyoxal. *J. Agric. Food Chem.* 26:1179-1183. 46. Shibamoto T. and Bernhard R. A. (1976) Effect of time, temperature and reactant ratio on pyrazine formation in model system. *J. Agric. Food Chem.* 24:847. 47. Shu, C. K. and Waller, G. R. (1971) Volatile components of roasted peanut:comparative analysis of the basic fraction. *J. Food Sci.* 36:579-583. 48. TNO (1988) Compilation of mass spectra of volatile compounds in food, Central Institute for Nutrition and Food Research-TNO. The Netherlands. 49. Vitzthum, O. G. and Werkhoff, P. (1974) Newly discovered nitrogen-containing heterocycles in coffee aroma. *Z. Lebensm. Unters-Forsch.* 156:300-307. 50. Walradt, J. R.; Pittet, A. O.; Kinlin, T. E.; Murlaidhara, R. and Sanderson, A. O. (1971) Volatile components of roasted peanuts. *J. Agric. Food Chem.*, 19:972. 51. Young, C. T. (1973) Influence of drying temperature at harvest on major volatiles released during roasting of peanuts. *J. Food Sci.* 38:123-130.