



食品工业科技

Science and Technology of Food Industry

ISSN 1002-0306,CN 11-1759/TS

《食品工业科技》网络首发论文

题目：南美白对虾虾头制备鲜味水解物的研究
作者：吴书建，张佳男，高世珏，徐悦，刘小玲，赵谋明
网络首发日期：2018-08-22
引用格式：吴书建，张佳男，高世珏，徐悦，刘小玲，赵谋明. 南美白对虾虾头制备鲜味水解物的研究. 食品工业科技.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20180820.1741.029.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

南美白对虾虾头制备鲜味水解物的研究

吴书建¹，张佳男²，高世珏¹，徐悦¹，刘小玲^{1,*}，赵谋明^{1,2,*}

(1.广西大学轻工与食品工程学院，广西壮族自治区 南宁市 530000；

2.华南理工大学食品科学与工程学院，广东省 广州 510545)

摘要：本文以 25 °C 下自溶 6 h 后的南美白对虾虾头为原料，采用酶水解法进行鲜味水解物的制备。以鲜味滋味、蛋白质回收率、肽得率和水解度为评价指标进行外源酶的选择和酶解工艺条件的逐步优化研究。研究表明，经四种单酶酶解，均明显提升酶解效率，其中菠萝蛋白酶和风味蛋白酶能有效提升酶解液的鲜味、降低苦涩味。制备具有良好鲜味特征水解物的条件为：自溶后的虾头，加入菠萝蛋白酶（Bromelain，420 U/g 样品）和风味蛋白酶（Flavorzyme，12 U/g 样品）两种酶（料液比 1:1.5 (m:v)），在 pH 7.5、50 °C 下酶解 3 h，该工艺下蛋白质回收率、肽得率和水解度分别可达 79.75%、71.71% 和 18.28%。获得水解物氨基酸组成中 $\Sigma \text{EAA}/\Sigma \text{AA}$ 与 $\Sigma \text{EAA}:\Sigma \text{NEAA}$ 分别为 37% 和 1:1.7。65% 的总蛋白氨基酸释放为游离氨基酸，其中，59% 的总蛋白鲜甜味氨基酸释放为游离氨基酸，水解物营养价值高且具有良好鲜味。

关键词：南美白对虾，虾头，酶解，滋味

Preparation of Hydrolysate with Umami from White Shrimp (*Penaeus vannamei*) Head

Wu-shujian¹, Zhang-jianan², Gao-shijue¹, Xu-yue¹, Liu -xiaoling^{1,*}, Zhao-mouming^{1,2,*}

(1. College of Light industry and Food Engineering, Guangxi University, 530000, China; 2.

College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, 510545, China)

Abstract: In this research, shrimp head had been dealt with autolysis 6 h at 25 °C, and the hydrolysate with umami was prepared from the white shrimp head by the enzymatic hydrolysis process. The taste of umami, the recovery of protein and peptide, and the degree of hydrolysis were used as indexes to choose the enzyme and gradually optimise the enzymatic hydrolysis process. Results showed that a mixture consisting of Bromelain and Flavorzym exhibited good-flavored of hydrolysis in the change of taste among each of Bromelain, Papain, Protamex and Flavourzyme, and have a higher recovery of protein. The hydrolysis process was based on Bromelain (420 U/g sample) + Flavorzym (12 U/g sample) reaction for 3 h at 50°C and pH 7.5 with 1:1.5 solid/liquid ratio. The recovery of protein and peptide and the degree of hydrolysis were 79.75%, 71.71% and 18.28% by using this process, respectively. The $\Sigma \text{EAA}:\Sigma \text{AA}$ and $\Sigma \text{EAA}:\Sigma \text{NEAA}$ of hydrolysate were 37% and 1:1.7, respectively. 65% total amino acid and 59% sweet amino acid was released. The hydrolysate has excellent flavor in umami.

Keywords: white shrimp (*Penaeus vannamei*); shrimp head; enzymolysis; flavor

中图分类号：TS254.9

文献标志码：A

DOI:

南美白对虾是三大优良对虾品种之一。其肉质鲜美且营养价值高，因此深受消费者喜爱，在全球市场上具有较高需求量。2015 年亚洲区对虾产量占全球产量的 46%，其中中国的对

作者简介：吴书建（1991-），男，硕士研究生，研究方向：低值蛋白质资源开发与综合利用，E-mail: 18249985598@163.com

*通讯作者：刘小玲（1972-），女，教授，博士，研究方向：蛋白质功能与活性肽，E-mail: xiaolingliu@hotmail.com

赵谋明（1964-），男，教师，博士，研究方向：蛋白质化学与工程，E-mail: zmmgxu@gxu.edu.cn

基金项目：广西科技重大专项（桂科 AA17204075）；广西重大基金项目（2016GXNSFEA380003）。

虾贸易额占据了全球水产市场的 15%^[1-3]。我国对虾主要以去头冻虾仁形式出口, 导致产生超过约 50 多万吨的虾头废弃物^[3-5]。研究表明南美白对虾虾头(干基)中存在 60.3%蛋白质、19.9%灰分和 7.9%脂肪、11%甲壳素, 同时还含有钾、钙、钠、镁、锌等常量和微量矿物质^[6-7]。因此, 虾头废弃不仅造成严重的环境污染问题, 更是一种资源的浪费。目前已有科研工作者从虾头中提取甲壳素^[8-9]、蛋白质^[10-11]和虾青素^[12]等物质。虾头中的蛋白质含量高, 氨基酸种类齐全, 更有高含量的鲜味氨基酸和甜味氨基酸, 所以有不少科研工作者利用虾头制备水解物, 再进一步加工为调味品^[13]。

将虾头应用于调味品开发应用的研究中, 滋味是重要评价指标。传统的“感官鉴评”存在主观意识干扰较多, 高效液相(HPLC)等精密仪器的化学分析方法无法涵盖食物中的所有滋味物质, 而 TS-5000Z 电子舌是与人体味觉感官评价相吻合的味觉分析系统, 能够表述出通过传统的化学仪器不能测量的参数, 对滋味的全面分析和人体感觉高度相关且具有良好的重现性、低检测限和高灵敏度, 更具有客观性。Hayashi^[14-15]等已使用电子舌针对绿茶的涩味和苦味建立了有效可靠的评价体系; 舒静^[16]等通过研究发现电子舌能够很好地辨别不同地域、不同品牌的食醋, 直观地反映各品牌之间的味感差异。因此, 将电子舌与感官鉴评相结合对滋味进行综合分析, 可更为全面的对可获得较为客观的鲜味水解物并调味品的开发。

本文在基于前期对自溶和滋味的变化关系研究和内源酶分离纯化研究基础上, 采用酶法水解已经过 25 °C 条件下自溶 6 h 的虾头, 以电子舌分析和感官鉴评为主要滋味指标, 辅以蛋白质回收率、肽得率和水解度为酶解效率参考指标, 逐步优化酶解工艺条件, 制备具有良好鲜味、高蛋白回收率和营养丰富的虾头水解物, 为进一步加工为功能性复合调味品提供基料, 也为虾头的综合利用提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

南美白对虾虾头 取自广西正五海洋产业股份公司, 鲜活虾切段后, 虾头快速冻结到 -18 °C 待用; 风味蛋白酶(Flavourzyme, 40 U/mg)、菠萝蛋白酶(Bromelain, 600 U/mg) 南京都莱生物技术有限公司; 木瓜蛋白酶(Papain, 800 U/mg)、复合蛋白酶(Protamex, 120 U/mg) Solarbio; 山梨酸钾(食品级) 南通奥凯生物技术有限公司; 所有其他试剂均为国产分析纯。

JYL-C022E 九阳多功能料理机 九阳有限公司; 5418r 冷冻离心机 Thermo Scientific; TS-5000Z 电子舌 北京盈盛恒泰科技有限责任公司; SKD-800 自动凯氏定氮仪 上海沛欧分析仪器有限公司; L-8900 全自动氨基酸分析仪 日立公司; 916 Ti-Touch 自动电位滴定仪 瑞士万通

1.2 实验方法

1.2.1 酶解工艺流程 虾头自溶: 虾头 → 清洗 → 1%山梨酸钾浸泡 30 s → 匀浆 → 自溶(25 °C 水浴放置 6 h)

酶法制备鲜味水解物: 自溶虾头 → 调节 pH 7.5 → 添加外源酶 → 酶解 → 灭酶, 15 min → 过滤 → 水解物

虾头在 25 °C 水浴中进行自溶; 添加外源酶前需将 pH 调节至 7.5, 酶解过程中每半小时调节一次 pH, 使其维持在 pH 7.5; 沸水浴进行灭酶。

1.2.2 酶解工艺的逐步优化

1.2.2.1 外源酶的筛选 以前期实验结果为参考, 选择四种虾头中并不存在, 具有改善滋味效果而又与虾头内源酶具有相似作用条件的商品酶制剂进行酶解, 以滋味、酶解效率和氨基酸组成的变化为指标, 进行外源酶的筛选, 分别为 Bromelain、Papain、Protamex、Flavourzyme。称取 5 份自溶 6 h 后虾头样品 20.00 g, 按料液比 1:2 (g/mL) 加入纯净水, 调节 pH 至 7.5,

1 份作为对照组, 其他 4 份分别加入 Bromelain、Papain、Protamex、Flavourzyme 四种商品酶进行酶解。根据肖如武^[17]酶解法制备蓝蛤水解物时的外源酶选择实验为参考, 同时从经济成本考虑, 以样品质量的 0.1%为加酶量, 即加酶量为 Bromelain600 U/g 样品、Papain800 U/g 样品、Protamex120 U/g 样品、Flavourzyme40 U/g 样品, 在 55 ± 2 °C 条件下酶解 3 h。

1.2.2.2 多酶复合配方的选择 根据单酶筛选结果结合肖如武酶解法制备蓝蛤水解物为参考, 按以下 5 个配方进行酶的复合酶解, 以滋味和酶解效率的变化为指标, 进行最佳复合配方的筛选。配方 1: 0.09% Bromelain (540 U/g 样品)+0.01% Flavorzyme (4 U/g 样品); 配方 2: 0.07% Bromelain (420 U/g 样品)+0.03% Flavorzyme (12 U/g 样品); 配方 3: 0.05% Bromelain (300 U/g 样品)+0.05% Flavorzyme (20 U/g 样品); 配方 4: 0.03% Bromelain (180 U/g 样品)+0.07% Flavorzyme (28 U/g 样品); 配方 5: 0.01% Bromelain (60 U/g 样品)+0.09% Flavorzyme (36 U/g 样品)。在 55 ± 2 °C 条件下酶解 3 h。

1.2.2.3 外源酶加酶量的筛选 选定配方 2, 按 108、216、432、864、1296 U/g 样品 (分别为样品质量的 0.025%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%) 五个水平加酶量, 以滋味和酶解效率的变化为筛选指标, 在 55 ± 2 °C 条件下酶解 3 h 进行加酶量探究。

1.2.2.4 料液比的筛选 选用配方 2 和 216 U/g 样品的加酶量, 以 1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3 (g/mL) 五个水平料液比, 以滋味和酶解效率的变化为筛选指标, 在 55 ± 2 °C 条件下酶解 3 h 进行解工艺的料液比探究。

1.2.2.5 外源酶酶解温度筛选 选用配方 2、216 U/g 样品的加酶量和 1:1.5 g/mL 的料液比, 以 45、50、55、60 °C 四个水平酶解温度, 以滋味和酶解效率的变化为筛选指标, 酶解 3 h 进行酶解温度探究;

1.2.2.6 外源酶酶解时间筛选 选用配方 2、216 U/g 样品的加酶量、1:1.5 g/mL 的料液比和 50 °C 的酶解温度, 以酶解 1、2、3、4 h 四个水平的酶解时间, 以滋味和酶解效率的变化为筛选指标进行酶解时间探究。

1.2.3 感官评价 根据 GB/T12312-90^[18]从多名食品科研人员中筛选感官评价人员, 选出 8 名感官人员后, 在品评之前对品评人员进行了区别检验和排序检验的培训。鲜味排序实验根据 GB/T12315^[19], 感官人员按鲜味特性进行排序, 鲜味最强为“1”, 依次类推, 不同样品之间无同一秩次。同时, 对各样品的风味进行简单描述。各个感官评价人员之间互不影响, 分开进行评价。感官实验结果选用 GB/T 12315 中 Friedman 检验方法对数据进行处理。

1.2.4 电子舌测定 根据实验室电子舌使用经验, 需将样品固形物含量调至 1%, 防止测定的味感值超出测定范围。取 2 mL 上清液稀释至 35 mL (固形物含量约为 1%), 在室温下使用电子舌进行测定。电子舌检测结果中, 均以电子舌测定的第一个样品为对照组, 该样品各味道数值均为 0, 数值大小直接反映该味道的强弱, 不同样品同一味道的数值之差大于 1, 则人体舌头可感知该味道的变化。

电子舌参数设置。探头: AAE (鲜)、CAO (酸)、CTO (咸)、COO (苦)、AE1 (涩); 测定程序: maintenance measurement; 样品测定次数: 4 (结果取后 3 次); 清洗次数: 2-steps-washing; 传感器: Foodstuff。

1.2.5 酶解效率测定

1.2.5.1 原料中蛋白质含量测定 原料中蛋白质含量测定根据段杉等^[20]测定方法略有修改, 称取匀浆后样品 30.00 g, 按料液比 1:4 (g/mL) 加入 5% NaOH, 置于 95 °C 水浴 2 h 进行碱提, 7000 r/min 离心 15 min, 取上清液。沉淀重复碱提两次 (每次均用旋涡振荡器将沉淀摇匀), 合并上清液, 上清液使用国标 GB 5009.5^[21]中微量凯氏定氮法结合自动开始定氮仪进行测定。

1.2.5.2 酶解液中蛋白质含量测定 称取酶解液 4.00 g, 直接使用 GB 5009.5 中的微量凯氏定氮法进行蛋白质含量的测定。

1.2.5.3 氨态氮含量的测定 取 4.00 g 水解液，加去离子水至 80.00 g，使用自动电位滴定仪进行氨态氮测定，详见甲醛电位滴定法^[22]。

1.2.5.4 非蛋白氮测定 原料使用 10%TCA 浸泡处理后，离心取上清液使用凯氏定氮法进行测定^[23]。

蛋白质回收率 (%) = 水解物中总蛋白氮含量/原料中总蛋白氮含量 × 100

肽得率 (%) = (水解物中总蛋白氮含量 - 水解物中总氨态氮含量) / 原料中总蛋白氮含量 × 100

水解度 (%) = (水解物中总氨态氮含量 - 水解物中游离氨态氮含量) / (原料中总蛋白氮量 - 原料液中非蛋白氮含量) × 100

1.2.6 氨基酸组成测定 酶解工艺逐步优化后，将最终获得的鲜味水解物进行氨基酸含量的测定。

1.2.6.1 总氨基酸 称取酶解液 2.00 g，加入 8 mL 6 mol/L 的优级纯盐酸；110 °C 水解 22 h，每隔一段时间摇匀水解溶液；消解后的样品溶液过滤并定容至 50 mL 棕色容量瓶中；吸取 1 mL 滤液放入 10 mL 容量瓶中，于 60 °C 水浴中赶酸，赶酸完毕后使用超纯水定容至 10 mL。取定容样品液过 0.22 μm 滤膜后，按 GB/T 5009.124^[24]方法进行氨基酸测定。

1.2.6.2 游离氨基酸 取 1 mL 酶解液，加入 1 mL 的 5%TCA 溶液，振荡 1 min，静置 15 min；4 °C，10000 r/min 离心 10 min，将上清液全部转移至 10 mL 容量瓶中，使用 5%TCA 定容至 10 mL。将处理好的样品过 0.22 μm 滤膜后，按 GB/T 5009.124 方法进行氨基酸测定。

1.2.7 数据分析 采用 SPSS18.0 对数据差异性进行分析，每个样品做 3 次平行试验，采用单因素方差分析 (ANOVA) 两两比较中 DuncanD 分析每组之间是否有统计学差异 ($p < 0.05$ 为显著性差异)，采用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。采用 Origin9.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同外源酶对水解物的影响

2.1.1 不同外源酶对虾头水解物滋味的影响 虾头自溶 6 h 后再经四种外源酶分别水解，其水解液滋味经感官鉴评后各样品排序次序和及滋味特征如表 1 所示，添加不同的外源酶获得的各样品之间鲜味存在着显著性差异 ($p < 0.05$)。由表 1 可知 Bromelain 水解物和 Flavorzyme 水解物鲜味优于其他水解物，不仅鲜味强，还具有一定的甜味和厚味。而 Autolysis 水解物则能明显感觉到苦味，鲜味滋味差。Protamex 水解物味道怪异，秩和与 Autolysis 水解物无明显差异。Papain 水解物滋味一般，鲜味滋味优于 Autolysis 水解物和 Protamex 水解物，但明显弱于 Bromelain 水解物和 Flavorzyme 水解物。

表1 不同外源酶虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 1 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in different exogenous enzymes on umami taste

样品	Autolysis 水解物	Bromelain 水解物	Papain 水解物	Protamex 水解物	Flavorzyme 水解物
样品秩和	33 ^b	13 ^a	26 ^b	34 ^b	13 ^a
样品风味描述	苦味、微臭	鲜味、厚味	一般	味道怪异	鲜味、甜味

注：标注不同角标者具有显著性差异 ($p < 0.05$)，表2~6同。

以 Autolysis 水解物作为对照组，对虾头水解物进行电子舌分析结果如图 1 可见。不同的外源酶的虾头水解物在滋味上存在较大变化，其中咸味变化最大。在酱料调味品中，适当的咸味和酸味对鲜味具有提升作用，而咸味过高则会覆盖鲜味，鲜味与咸味较难区分，咸味往往决定人们对食品接受程度^[25]。Bromelain 和 Flavorzyme 能有效提高酸味，酸味值均为

1.0; Protamex 水解物和 Flavorzyme 水解物咸味值达 2.0 与 3.0, 明显高于其他酶作用效果, 可有效提高咸味; 而 Bromelain、Flavorzyme 和 Protamex 均能降低水解物苦涩味, 其中 Flavorzyme 降低苦味和涩味最明显, 苦味值和涩味值分别为-1.0 与-1.2; Protamex 和 Papain 作用使水解物酸味降低, 酸味值均为-1.0。因此, Bromelain 和 Flavorzyme 作用可产生适度的咸味和酸味, 具有较好增鲜作用, 同时降低苦味, 使其在鲜味排序实验中滋味最优(秩和 13), 其中 Flavorzyme 中咸味较高, 对鲜味滋味具有较大影响。

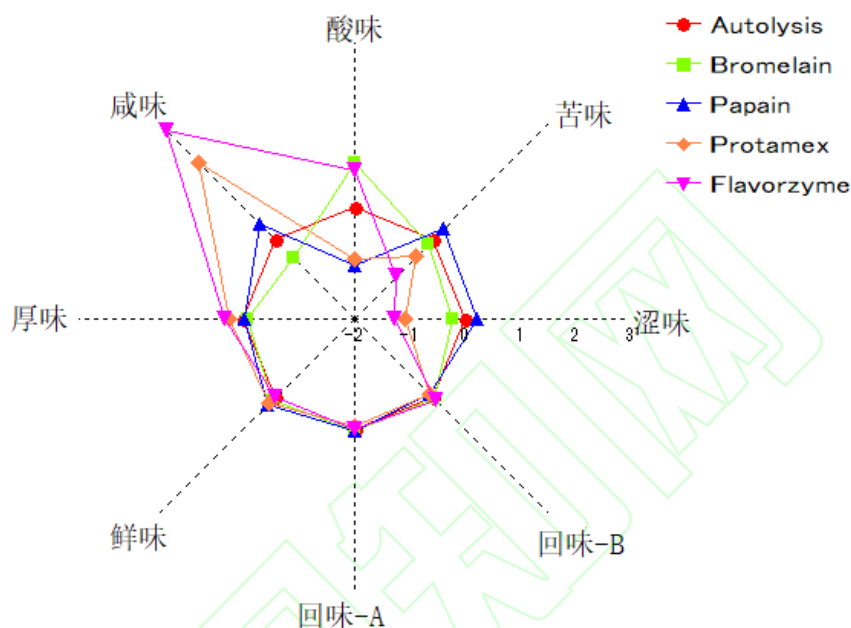


图 1 不同外源酶虾头水解物测定的电子舌雷达图

Fig. 1 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different exogenous enzymes

2.1.2 不同外源酶对虾头水解物其他指标的影响 不同外源酶对虾头的其他指标影响如图 2 可见, 加入不同外源酶后有效提高虾头蛋白水解物中的蛋白质回收率和肽得率: Protamex > Papain > Flavourzyme > Bromelain > Autolysis。Autolysis 组分的蛋白质回收率为 72.99%, 肽得率仅为 66.84%, 而添加外源酶后蛋白质回收率和肽得率中最高 (Protamex) 可达到 92.49% 和 86.03%, 最低 (Bromelain) 亦可达到 80.88% 和 75.29%。因 Bromelain 为内切酶, 酶切位点有限, 而 Protamex 和 Flavourzyme 两者既是内切酶也是外切酶, 具有较多酶切位点, 故 Protamex 与 Flavourzyme 作用后获得的水解物中蛋白质的回收率和肽得率优于 Bromelain 和 Autolysis 作用的效果^[26]。Bromelain 和 Flavourzyme 作用的水解物水解度最低, 其他水解物的水解度相对较高, 由此可知, Bromelain 和 Flavourzyme 酶解作用效果相对于其他组分可获得更多的小分子肽段。鲜味肽结构中一般含有谷氨酸和天冬氨酸的一种或者两种氨基酸, 它具有一定滋味且能增强食品原有的味感^[27]。虾头中天冬氨酸 (Asp) 和谷氨酸 (Glu) 含量较高, 可知 Bromelain 和 Flavourzyme 酶解作用组分相对于其他组分应含有较多鲜味肽, 故该两种酶作用组分具有较好滋味^[28]。

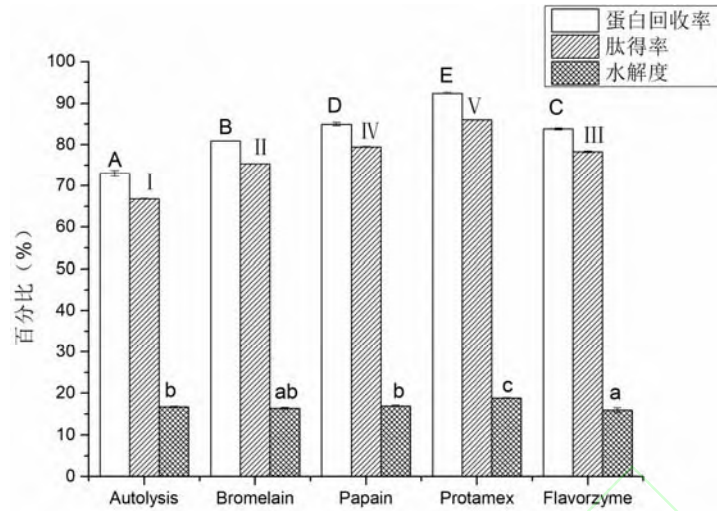


图 2 不同外源酶虾头水解物的其他指标

Fig. 2 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in different exogenous enzymes

注：图中不同字母表示组间差异显著 ($p < 0.05$)，图 6、8、10、12、14、16 同。

2.1.3 不同外源酶对虾头水解物氨基酸组成的影响 蛋白质和多肽被内源酶降解产生对滋味具有重大贡献的游离氨基酸，外源酶作用后的水解液中游离氨基酸组成变化如图 3。Flavourzyme 水解物和 Autolysis 水解物的游离氨基酸总量含量明显高于其他样品，而 Autolysis 水解物含有较高的游离苦味氨基酸，Flavourzyme 水解物的游离甜味氨基酸总量明显高于其他样品，甜味又具有抑制苦味和增加水解物鲜味滋味的效果，同时，Bromelain 水解物虽然总游离氨基酸含量低，但其苦味游离氨基酸占总游离氨基酸比例最低 (27.52%)。因此，Flavourzyme 水解物和 Bromelain 水解物具有较好滋味，Autolysis 水解物滋味差。Protamex 水解物和 Papain 水解物的游离氨基酸含量低，且苦味游离氨基酸含量占总游离氨基酸比例高 (分别为 33.07%和 32.66%)，可知该两种酶作用获得水解物以苦味滋味为主，滋味较差。

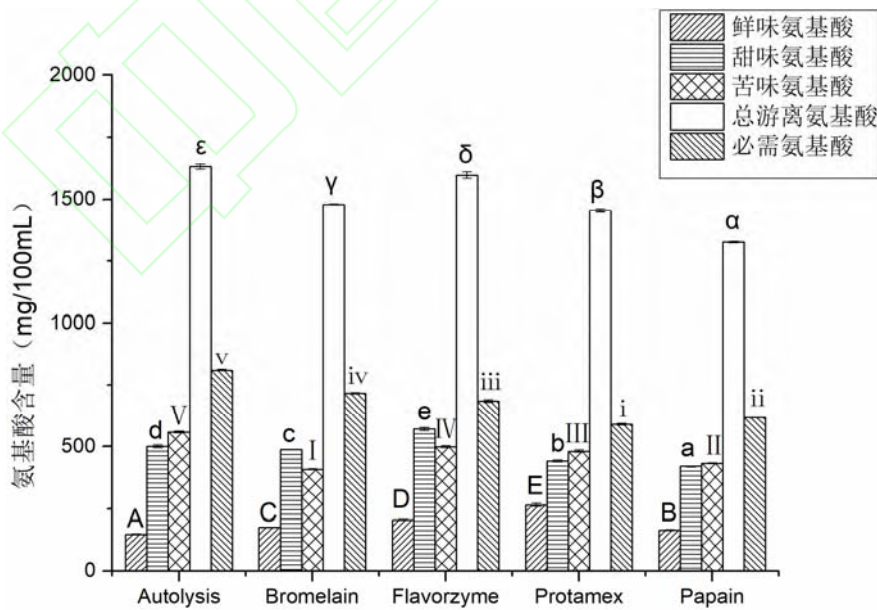


图 3 不同外源酶虾头水解物的游离氨基酸变化

Fig. 3 The changes of free amino acid of shrimp heads in different exogenous enzymes

注：图中不同字母表示组间差异显著 ($p < 0.05$)，图 4 同

不同外源酶酶解对水解物总氨基酸组成的影响如图 4。水解物中总氨基酸含量：Flavourzyme>Protamex>Papain>Bromelain>Autolysis，添加外源酶可有效降解蛋白质，获得水解物中，总氨基酸含量均高于 Autolysis 水解物。Flavourzyme 水解物和 Protamex 水解物的总氨基酸含量分别达到 2889 mg/100mL 和 2751 mg/100mL，其他组分最高也仅为 2306 mg/100mL，明显高于其他组分，而 Flavourzyme 水解物含有较多鲜味氨基酸（22.9%），苦味氨基酸较低（27.9%），Protamex 水解物则鲜味氨基酸含量低（12.3%），苦味氨基酸含量高（32.7%），故 Flavourzyme 水解物中含有较多鲜味物质，鲜味滋味好，Protamex 水解物鲜味滋味差。Bromelain 水解物虽然总氨基酸含量低，但是苦味氨基酸占总氨基酸比例低（27.0%），且鲜甜味氨基酸占总氨基酸比例高（54.0%），结合图 3 数据结果计算可得，Bromelain 水解物中，53%游离鲜甜味氨基酸得到释放，所以滋味好。氨基酸组成分析结果与感官鉴评和电子舌分析结果基本一致。

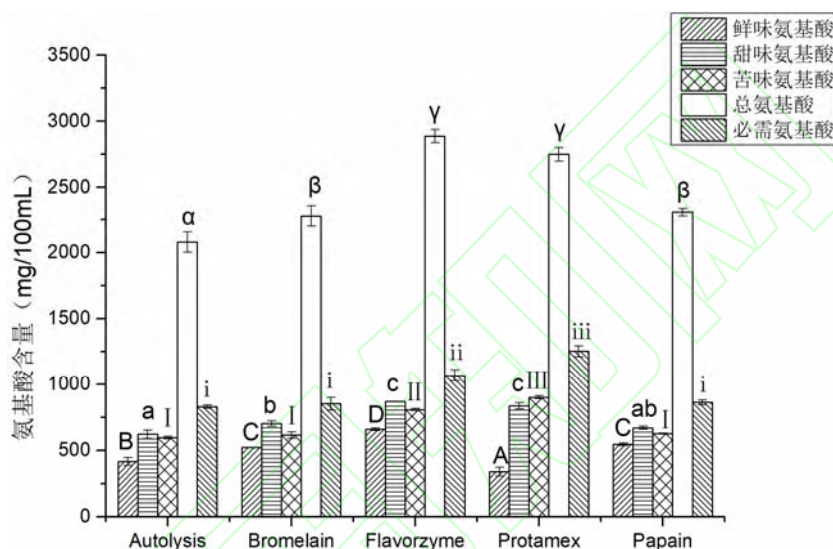


图 4 不同外源酶虾头水解物的总氨基酸变化

Fig. 4 The changes of total amino acid of shrimp heads in different exogenous enzymes

综合感官评价、电子舌和氨基酸组成分析结果可得，通过添加外源酶辅助酶解可改善滋味。单一外源酶作用效果各有优点，其中 Flavorzyme 和 Bromelain 可获得较好滋味的鲜味水解物，但 Flavorzyme 组分具有较高咸味，Bromelain 水解物相对其他外源酶获得的水解物的酶解效率较低，两种酶作用效果有限，各自单独作用效果无法同时达到滋味和酶解效率最优。双酶的协同作用在理论上会优于各自单独酶解作用效果，故而选用蛋白质回收率和肽得率较高且具有较好鲜味的 Flavorzyme 和鲜甜味好的 Bromelain 进行复合酶解^[29]。

2.2 多酶复合酶解对虾头水解物的影响

2.2.1 多酶复合酶解对虾头水解物滋味的影响

多酶复合酶解虾头获得的水解物进行鲜味排序实验，结果如表 2 所示。不同配方获得的水解物之间存在着显著性差异 ($p < 0.05$)，配方 1、配方 2 和配方 3 获得水解物的鲜味滋味明显优于其他配方酶解效果。但配方 1 带有腥味，配方 3 有轻微的涩味，而配方 2 口感较为柔和，鲜味较单酶作用时也更为浓郁。由前文分析可知，Flavorzyme 作用会产生较高咸味，Bromelain 作用则苦味较低，且具有一定的甜味，配方 1 至配方 5 中，Bromelain 含量逐渐降低，Flavorzyme 含量逐渐升高，其咸味升高，鲜甜味降低，对水解物滋味的鲜味具有较大影响，配方 2 的 Bromelain 和 Flavorzyme 含量适中，可产生较好的滋味。

表 2 不同蛋白酶配方对虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 2 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in autolysis with different protease formulations on umami taste

样品	Autolysis 水解物	配方 1 水解物	配方 2 水解物	配方 3 水解物	配方 4 水解物	配方 5 水解物
样品秩和	39 ^b	18 ^a	16 ^a	21 ^a	36 ^b	38 ^b
样品风味描述	较差	腥味	良好	微涩	一般	一般

以配方 1 样品作为对照组, 不同配方获得的水解物进行电子舌分析结果如图 5 所示, 可发现不同配方之间苦涩味感应值变化范围均小于 1, 人体舌头无法明显感知苦涩味的变化, 而咸味感应值变化范围大于 1, 所以不同配方获得水解物配方的的滋味变化主要由咸味的差异引起, 与配方中 Flavorzyme 逐渐增加导致咸味变化的分析结果相一致。配方 1、配方 2 和配方 3 的咸味值分别为 0、0.1、0.05, 而 Autolysis 水解物、配方 4 和配方 5 则为-0.9、-1.2 和-1.0, 且配方 4 与配方 5 苦涩味较高, 因此, 配方 1、配方 2 和配方 3 可提高水解物中咸味, 具有增鲜作用, 滋味较好, 在表 2 鲜味排序实验中具有较好鲜味, 配方 4 和配方 5 获得的水解物滋味较差。配方 2 在鲜味排序实验中最优 (秩和 16), 可说明配方 2 获得水解物中咸味适宜, 优于配方 1 和配方 3。

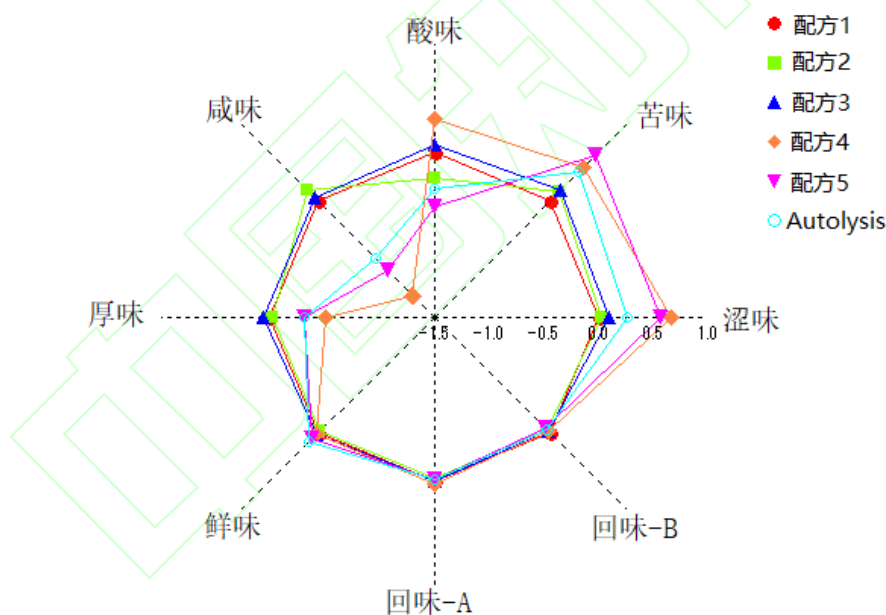


图 5 电子舌对不同蛋白酶配方虾头水解物测定的雷达图

Fig. 5 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different protease formulations

2.2.2 多酶复合酶解对虾头水解物其他指标的影响 不同蛋白酶配方对虾头水解物的酶解效率如图 6 所示, 可发现各配方酶解效率均明显高于 Autolysis 水解物, 有效提高酶解效率, 其中配方 5 与配方 1 的具有较好酶解效率, 蛋白质回收率达 87.22%与 83.78%, 肽得率为 80.99%与 76.84%。配方 2、配方 3、配方 4 酶解效率则相对较差。复配酶解由于协同作用可有效提高酶解效果, 其蛋白质回收率和肽得率优于 Flavourzyme 和 Bromelain 单酶作用。不同配方获得的水解物, 蛋白质回收率范围在 80.12%~87.23%, 肽得率范围在 73.15%~80.99% 之间, 水解度之间差异较小, 均明显高于仅自溶作用获得的水解物。

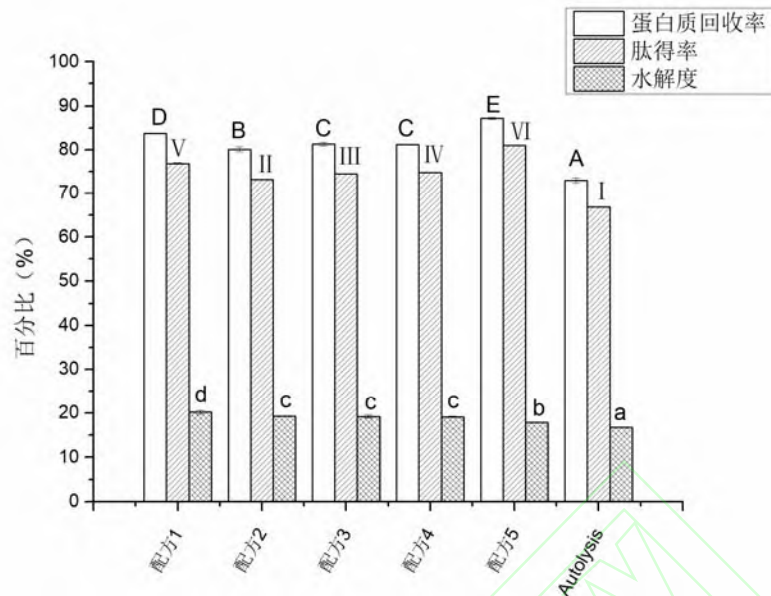


图 6 不同蛋白酶配方虾头水解物的其他指标

Fig. 6 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in h different protease formulations

滋味和酶解效率综合分析后，配方 1 酶解效率明显优于配方 2，但在水解物中，滋味对调味品作用更为重要。配方 2 在滋味上明显突出鲜味，且配方 2 酶解效率相较于 Autolysis 水解物亦有明显提高，故选用配方 2 进行辅助酶解。

2.3 加酶量对虾头水解物的影响

2.3.1 加酶量对虾头水解物滋味的影响 不同加酶量对虾头水解的鲜味滋味排序实验结果如表 3 所示，不同外源酶添加量可对滋味造成显著性差异 ($p < 0.05$)，108 U/g 样品和 216 U/g 样品加酶量获得的水解物在排序实验中得分为 14 与 18，明显高于其他样品得分 (29、31、33、48)，拥有虾米味和良好的鲜味。使用配方 2 进行辅助酶解，所得样品均有滋味上的提升，其中滋味提升最好的是加酶量 216 U/g 样品。评价人员均可辨别出未添加外源酶的样品 (秩和 48)，该样品相对于其他样品滋味差、怪异。随着加酶量的提升，酶对虾头的酶解效果发生变化，当酶量较少时，蛋白质分子并未完全降解为小分子肽段与氨基酸，滋味物质较少；而酶量较高，过度的水解会产生较多的氨基酸，导致了水解物中氨基酸含量提升，同时苦味氨基酸含量也提升，而鲜味肽含量减少，故而滋味变差。因此，随着加酶量的变化对滋味上有较大变化，其中 108 U/g 样品和 216 U/g 样品加酶量酶解效果具有较好滋味。

表 3 不同加酶量虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 3 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in different dosage of protease

加酶量 (U/g 样品)	0	108	216	432	864	1296
样品秩和	48 ^c	33 ^{bc}	14 ^a	18 ^a	31 ^b	29 ^b
样品风味描述	怪异	微酸、微甜	虾米味	鲜味好	微咸	微咸

电子舌测定结果以 108 U/g 样品加酶量组分样品作为对照组，结果如图 7 所示。可发现不同加酶量主要改变了水解物的苦味和咸味。随着加酶量增加，水解物咸味呈现递增趋势，其中 1296 U/g 样品加酶量水解物咸味值达到 3，明显高于其他水解物，容易覆盖鲜味；864 U/g 样品加酶量苦味值达 1.8，明显高于其他水解物，咸味值-2.2，明显低于其他水解物；216 U/g 样品和 432 U/g 样品加酶量获得的水解物苦味值分别为-0.2 和-0.5，咸味值为 0.6 和 1.2。因此，216 U/g 样品和 432 U/g 样品加酶量获得水解物具有较好的增鲜作用的咸味值，滋味较

好，与排序实验结果基本一致。

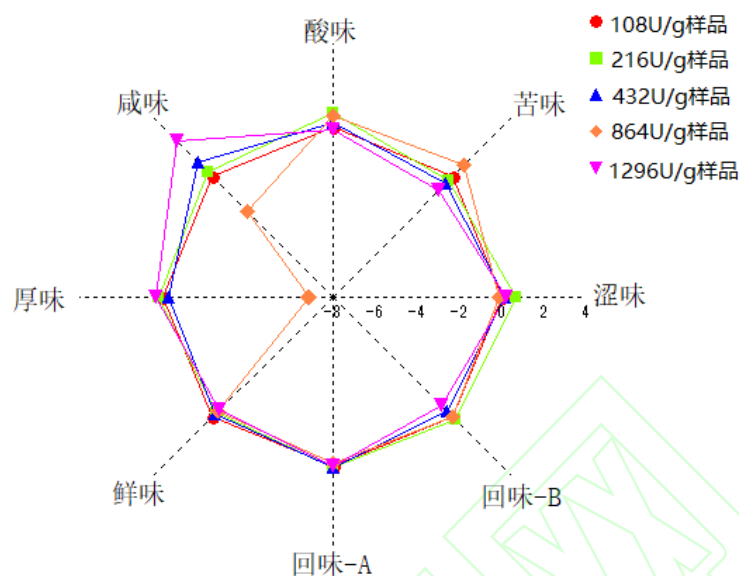


图 7 电子舌对不同加酶量虾头水解物测定的雷达图

Fig. 7 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different dosage of protease

2.3.2 加酶量对虾头水解物其他指标的影响 不同加酶量获得水解物的酶解效率如图 8 所示。可发现随着加酶量的增加，蛋白质回收率和肽得率都是呈现一种先提高后降低的趋势，而水解度则是先降低后增高。在加酶量为 216 U/g 样品时，蛋白质回收率和肽得率最高且水解度最低，分别为 79.81%、74.68%和 15.05%，含有较多小分子肽。因为酶解是酶与底物特异性结合分解底物的过程，在底物浓度一定情况下，随着酶添加量的增加，特异性结合复合物增多使得加酶量与反应速度成正相关，故酶解效率增加。当酶添加量与底物结合饱和之后，继续加酶不会增加反应速度，同时，酶之间还可能存在相互水解作用，加酶量少时，相互作用不明显，而加酶量大时，相互作用明显，可能导致酶活力降低而对酶解效果影响较大^[30]。加酶量 216 U/g 样品的水解物相较于加酶量 108 U/g 样品的水解物可提高 4%蛋白质回收率，且滋味上也具有良好鲜味，故选择 216 U/g 样品加酶量。

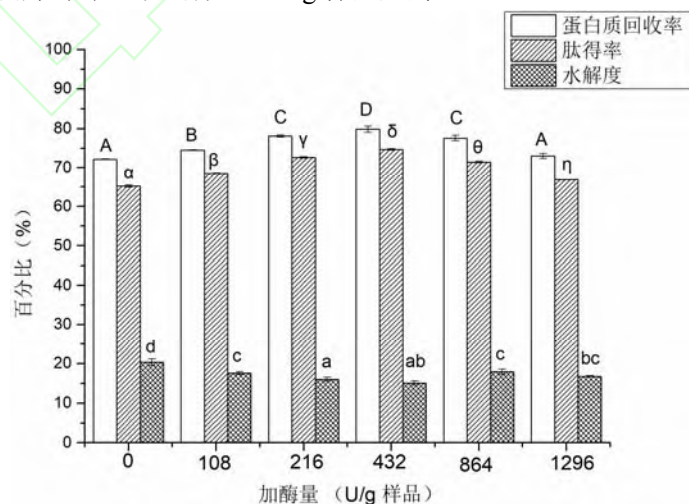


图 8 不同加酶量的虾头水解物其他指标

Fig. 8 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in different dosage of protease

2.4 料液比对虾头水解物的影响

2.4.1 料液比对虾头水解物滋味的影响 鲜味排序实验结果图表 4，不同料液比的样品之间存在显著性差异 ($p < 0.5$)，料液比 1:1.5 的水解物与 1:1 的水解物在鲜味滋味上明显优于其他样品，其中料液比 1:1.5 的水解物鲜味佳且无明显腥味。料液比高于 1:2 时，滋味一般，鲜味较弱，可能是由于加水量多，水解物被稀释。

表 4 不同料液比对虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 4 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in different ratio of solid to liquid

不同料液比 (g/mL)	1:1	1:1.5	1:2	1:2.5	1:3
样品秩和	18 ^{ab}	15 ^a	29 ^b	29 ^b	29 ^b
样品风味描述	微腥味	鲜味好	一般	一般	一般

以料液比 1:1 获得水解物作为对照组，图 9 可见，不同料液比对水解物各滋味影响显著。料液比 1:3 获得水解物鲜味值最高 (0.6)，但其苦味值为 3，显著高于其他料液比，具有增鲜作用的咸味值为-3.3，明显低于其他水解物；料液比 1:2 获得的水解物咸味值和酸味值分别为-0.5 和-1.2，增效效果差；料液比 1:2.5 获得水解物的咸味值和酸味值分别为-0.7 和 1.0，增鲜效果较差；料液比 1:1.5 的水解物虽然鲜味最低 (-0.8)，但是苦味和涩味分别为-1.0 和 -1.5，明显降低，咸味和酸味为 3.0 和 2.0，可有效增鲜。故滋味上料液比 1:1 与料液比 1:1.5 获得的水解物具有较好滋味，在感官滋味评分上具有较高得分。

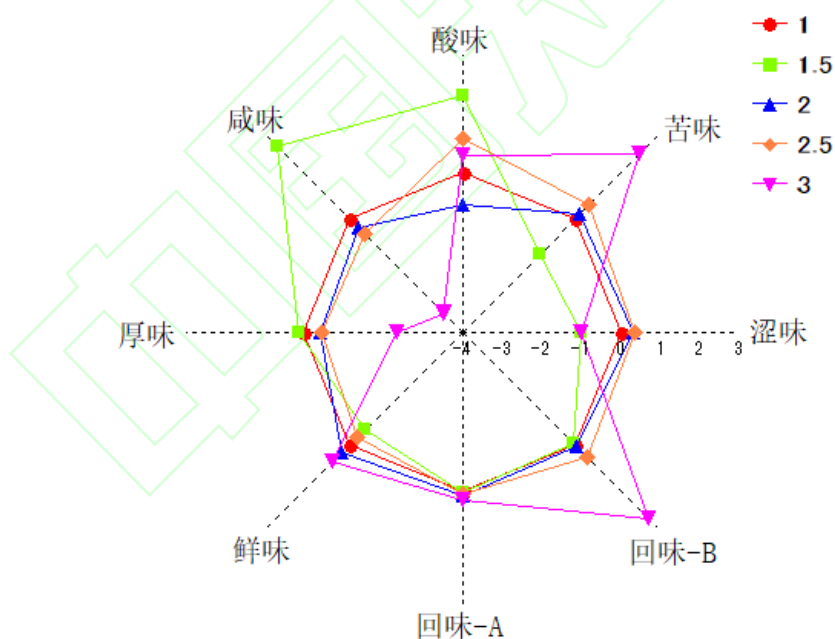


图 9 电子舌对不同料液比虾头水解物测定的雷达图

Fig. 9 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different ratio of solid to liquid

2.4.2 料液比对虾头水解物其他指标的影响 不同料液比对虾头水解物酶解效率影响如图 10 所示。可发现不同料液比之间的蛋白质回收率、肽得率、水解度差异明显，三者随着料液比增加而增加，效果最好时（料液比 1:3）分别达到 81.90%、75.40%、19.06%。在酶解过程水作为运输载体，同时又是反应的介质，不同的料液比可影响酶与底物的结合，间接的影响酶解效果。在理论上，水量增加会让底物与酶变得更加松散，使得底物与酶接触面积增大，

结合位点增加，促进酶解，当达到底物与酶的结合位点饱和后，酶解速度不再增加，因此，随着料液比增加，酶解速度是呈现一种上升趋势后取平缓，增加速度也趋于减缓^[30]。因加水量过多则对应产物需要浓缩耗费成本，并且需要较大反应容器及场地。综合滋味、酶解效率和实际生产分析后，选用料液比 1:1.5 适宜。

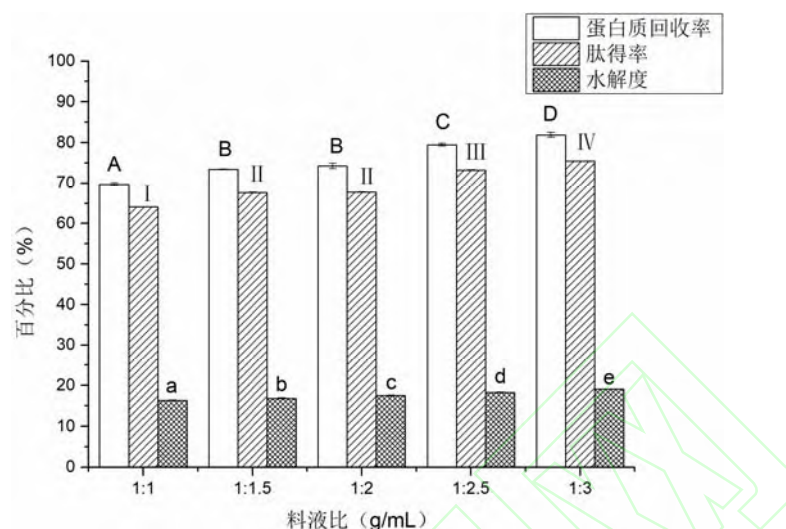


图 10 不同料液比的虾头水解物其他指标

Fig. 10 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in different ratio of solid to liquid

2.5 酶解温度对虾头水解物的影响

2.5.1 酶解温度对虾头水解物滋味的影响 配方 2 中含有两种酶，两种酶的最适温度存在一定的差异，不同的温度对酶的反应作用具有显著的影响，从而导致配方 2 对水解物的酶解效率和滋味产生差异，同时，酶解工艺温度的研究对酶的有效利用和工厂化实际应用具有重要参考意义。不同酶解温度对滋味影响如表 5 所示，不同样品滋味之间存在显著差异 ($p < 0.5$)。50 °C 酶解温度获得的水解物滋味显著优于 45 °C 酶解温度和 60 °C 酶解温度获得的酶解液，50 °C 与 55 °C 酶解温度获得的水解物得分分别为 12 与 17，两样品得分差值小于 LSD 值 (10.12)，在鲜味滋味上无明显差异，但 55 °C 获得水解物有轻微苦味。

表 5 不同酶解温度的虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 5 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in different temperature

温度 (°C)	45	50	55	60
样品秩和	25 ^{bc}	12 ^a	17 ^{ab}	26 ^c
样品风味描述	微涩	鲜味好	微苦	微苦

以 45 °C 酶解温度获得的水解物作为对照组，电子舌对不同酶解温度获得的虾头水解物的滋味分析结果如图 11 所示。可发现鲜味值和涩味值变化范围小于 1，不同酶解温度主要通过对咸味、酸味和苦味的影响改变了水解物滋味。根据滋味的综合呈味效果可知，适宜的咸味和酸味可增鲜，应尽量降低水解物中苦涩味。60 °C 酶解温度获得水解物是涩味值和咸味值分别为 0.8 和 1.8，涩味高，且过高咸味易覆盖鲜味；55 °C 酶解温度获得的水解物苦味值和咸味值分别为 1.3 和 -1.0，其苦味高，具有增鲜作用的咸味低；45 °C 酶解温度获得的水解物咸味值和酸味值均为 0，低于 50 °C 和 60 °C 酶解温度获得的水解物；50 °C 酶解温度获得的水解物咸味值和酸味值均为 1，苦涩味较低。因此，45 °C 和 55 °C 和 60 °C 酶解温度下获得的水解物在不同程度上具有一定的苦涩味，同时具有增鲜作用的酸味和咸味两种滋味较低，故 50 °C 酶解温度获得水解物具有良好滋味。

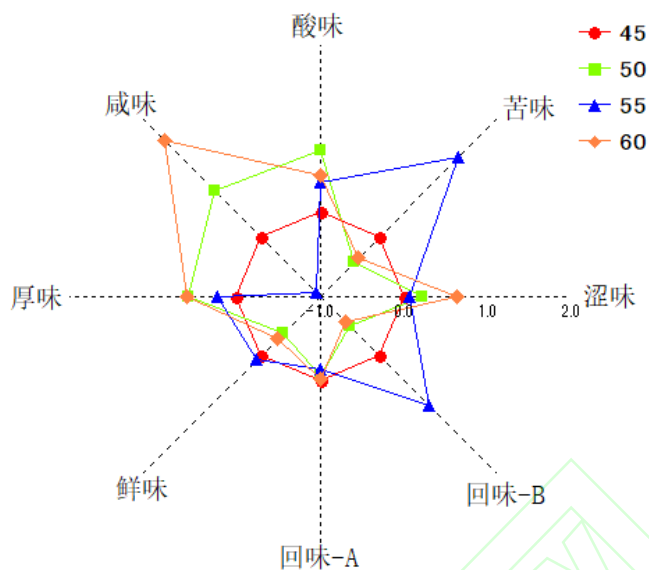


图 11 电子舌对不同酶解温度的虾头水解物测定的雷达图

Fig 11 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different temperature

2.5.2 酶解温度对虾头水解物其他指标的影响 不同酶解温度的酶解效率如图 12 所示,随着温度升高,蛋白质回收率、肽得率和水解度均为先升高趋于平缓后再降低。因 50 °C 和 55 °C 在 Flavorzyme 和 Bromelain 的最适作用温度区间,所以在此两温度下的酶解效率高高于其他温度。50 °C 酶解温度获得的水解物滋味好且酶解效率高,综合滋味和酶解效率分析后,选择酶解温度为 50 °C。

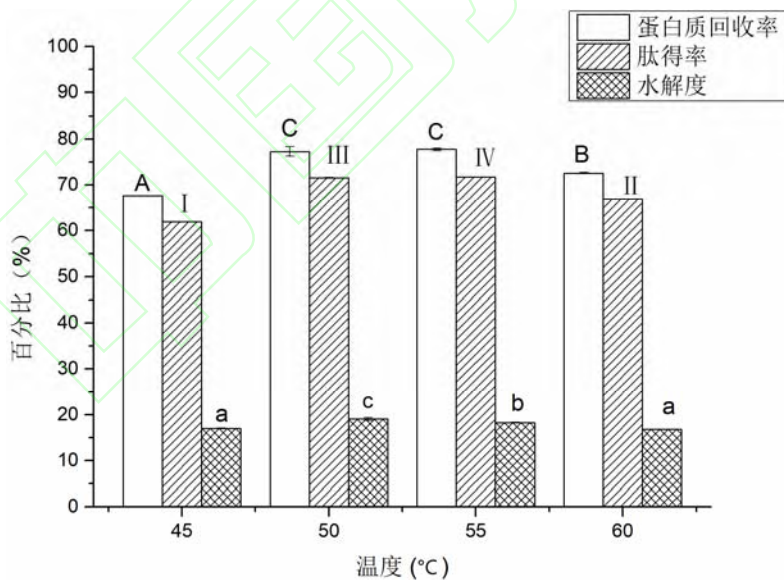


图 12 不同酶解温度的虾头水解物的其他指标

Fig. 12 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in different temperature

2.6 外源酶酶解时间对虾头水解物的影响

2.6.1 外源酶酶解时间对虾头水解物滋味的影响 外源酶酶解时间对虾头水解物鲜味排序实验结果如表 6 所示,不同酶解时间对水解物滋味具有明显影响 ($p < 0.5$),其中酶解时间 3 h 的水解物具有最好滋味,口感柔和且鲜味良好,与酶解 1 h 和 2 h 获得水解物之间存在显著性差异。

表 6 不同酶解时间对虾头水解物的鲜味排序试验评分结果

Table 6 Ranking test results of the hydrolysate of shrimp heads in different enzymatic hydrolysis time

时间 (h)	1	2	3	4
样品秩和	22 ^{bc}	29 ^c	11 ^a	18 ^{ab}
样品风味描述	一般	一般	鲜味、口感好	虾米味

以外源酶酶解 1 h 获得的水解物作为对照组, 电子舌对不同外源酶酶解时间获得水解物的电子舌测定结果如图 13 所示。不同外源酶酶解时间对水解物的咸味和酸味影响显著, 其他滋味的响应值变化范围均小于 1, 人体舌头不易感知其变化。酶解 1 h 样品的咸味、酸味和厚味明显低于其他组分; 酶解 2 h 样品咸味值和酸味值分别为 2.0 和 0.7, 咸味过高易覆盖鲜味, 酸味较低, 故在鲜味滋味上差; 酶解 4 h 样品咸味值和酸味值为 1.4 和 1.2, 酶解 3 h 样品咸味和酸味分别为 1.2 和 1.1, 两样品的咸味和酸味适中, 故具有较好鲜味滋味。

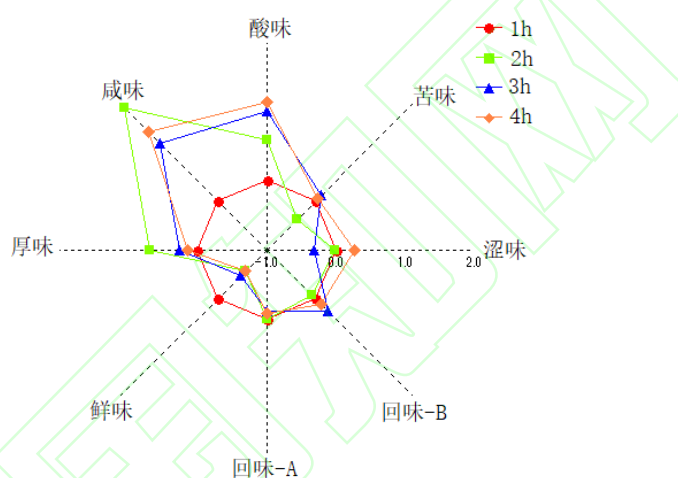


图 13 电子舌对不同酶解时间虾头水解物测定的雷达图

Fig. 13 Radar graph of electronic tongue of the hydrolysate of shrimp heads in different enzymatic hydrolysis time

2.6.2 外源酶酶解时间对虾头水解物其他指标的影响 酶解效率如图 14, 可发现外源酶酶解 3 h 样品的蛋白质回收率和肽得率最高, 分别为 79.75%和 71.71%。因为在最初加入外源酶时, 由于底物充足, 酶解速度较快, 降解蛋白质为主, 随着酶解时间增加, 底物开始减少, 肽分子与底物接触几率增加, 所以蛋白质分解速率降低, 肽分解速率升高, 肽得率降低, 同时水解度上升。综合分析得外源酶酶解时间 3 h 为宜。

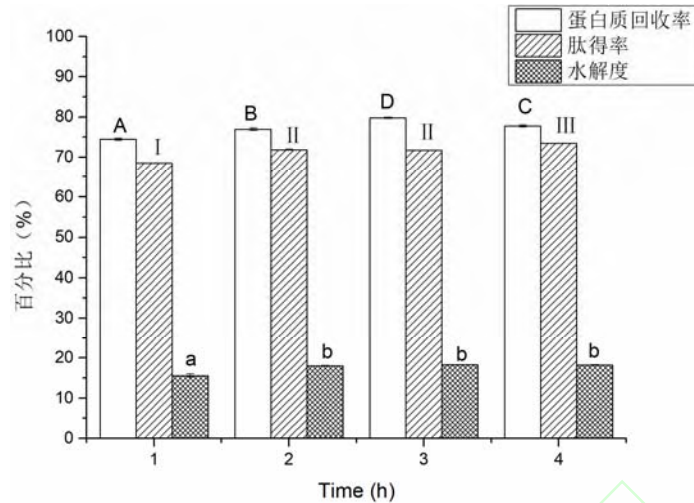


图 14 不同酶解时间虾头水解物的其他指标

Fig 14 The other indexes of the hydrolysate of shrimp heads in different enzymatic hydrolysis time

2.7 获得的鲜味水解物的氨基酸组成

滋味主要成分来源于原料中蛋白质的降解生成的呈味多肽和氨基酸,或其蛋白质水解物转化为相关的衍生物^[31]。因此,游离氨基酸组成对水解物滋味具有重大贡献。其中鲜甜味氨基酸能掩盖苦味氨基酸带来的不好滋味,鲜甜味和苦味与人们是否接受该食物密切相关^[32]。酶解工艺通过工优化后获得的鲜味水解物氨基酸组成如表 7 所示。获得水解物的游离氨基酸组成中,游离鲜甜味氨基酸占总游离氨基酸的 47%,与鲜味形成具有关键作用的游离谷氨酸和游离天冬氨酸共占总游离氨基酸的 12%,游离鲜甜味氨基酸含量明显高于游离苦味氨基酸含量,故具有良好的鲜味滋味。获得的水解物总氨基酸组成中,鲜甜味氨基酸占总氨基酸 52%,苦味氨基酸占仅总氨基酸的 29%, $\Sigma EAA/\Sigma AA$ 与 $\Sigma EAA:\Sigma NEAA$ 分别为 37%和 1:1.7。水解物的总游离氨基酸占总氨基酸的 65%,总游离苦味氨基酸占总氨基酸的 23%。游离鲜甜味氨基酸占总鲜甜味氨基酸的 59%,其中游离鲜味氨基酸占总鲜味氨基酸的 36%,游离甜味氨基酸占总甜味氨基酸的 77%。可知优化酶解工艺后,降低了苦味,同时释放出大量鲜甜味氨基酸,有效的改善了水解物滋味。酶法水解动物蛋白具有多种呈味氨基酸、呈味肽以及多种风味物质,能使蛋白水解物具有良好滋味,尤其鲜味突出,可应用于高级调味品的生产和功能性食品的基料,许多发达国家已经使用动物水解蛋白作为高档调味品和汤料^[33]。王彦蓉^[34]等在罗非鱼皮酶解液中分离出具有除腥味作用的小分子肽,在调味品方面具有极大的应用价值。本研究获得的水解物氨基酸种类齐全,具有高营养价值和良好的风味基础,在理论上也是一种制备调味品的优质基料,可进一步加工成调味品。

表 7 鲜味水解物游离氨基酸组成 (mg/100mL)

Table 7 Total free amino acids composition and content of the Hydrolysate with umami (mg/100mL)

氨基酸	游离氨基酸含量	总氨基酸含量	氨基酸	游离氨基酸含量	总氨基酸含量
NEAA			缬氨酸♦	133.84±0.22	151.90±10.70
甘氨酸▲	118.00±0.03	197.01±4.42	苏氨酸▲	127.67±0.52	148.59±11.05
丙氨酸▲	231.26±0.10	238.42±13.49	蛋氨酸	72.22±0.49	68.41±10.17
组氨酸♦	58.57±1.66	67.68±8.25	苯丙氨酸	134.75±0.73	191.34±38.72
酪氨酸♦	75.74±0.20	161.57±32.01	赖氨酸♦	206.93±0.22	213.92±1.42
丝氨酸▲	93.35±0.17	101.67±13.23	异亮氨酸	122.08±0.61	125.07±8.47
半胱氨酸♦	0.19±0.03	16.83±2.17	$\Sigma NEAA$	1133.26	1848.06

天冬氨酸 [●]	37.15±0.55	223.15±4.31	ΣEAA	750.40	1091.67
谷氨酸 [●]	188.83±0.31	420.73±16.61	ΣSUAA	873.17	1501.48
精氨酸 [◆]	206.93±0.08	249.09±2.05	ΣAA	1883.65	2939.73
脯氨酸 [▲]	76.92±0.99	171.91±7.76	ΣEAA/ΣAA	40%	37%
EAA			ΣEAA/ΣNEAA	67%	60%
亮氨酸	0.17±0.03	192.44±6.40	ΣSUAA/ΣAA	47%	52%

苦味氨基酸 (◆), 鲜味氨基酸 (●), 甜味氨基酸 (▲)

3 结论

感官鉴评结合电子舌对南美白对虾虾头水解物制备过程滋味变化进行分析可知, 四种外源酶对滋味改善具有明显差异, Bromelain 和 Flavourzyme 两种外源酶对滋味改善具有较好作用, Papain 改善滋味效果一般, 而 Protamex 滋味改善效果最差。通过对酶解工艺逐步优化确定最佳的反应条件为: 虾头 25 °C 自溶 6 h, 加入 Bromelain (420 U/g 样品) 和 Flavorzyme (12 U/g 样品) 两种酶 (料液比 1:1.5 (m:v)), pH7.5、50 °C 下进行双酶复合酶解 3 h。该酶解工艺条件下可获得的水解物, 蛋白回收率 79.76%、肽得率 71.71%、水解度 18.28%; 氨基酸组成中, 游离氨基酸占总氨基酸 65%, 游离苦味氨基酸占总氨基酸的 23%, 游离鲜甜味氨基酸占总氨基酸 52%, 游离鲜甜味氨基酸占总鲜甜味氨基酸的 59%, 游离鲜味氨基酸占总鲜味氨基酸的 36%, 游离甜味氨基酸占总甜味氨基酸的 77%。总氨基酸中 ΣEAA/ΣAA 与 ΣEAA:ΣNEAA 分别为 37% 和 1:1.7。该工艺有效的提高了虾头蛋白的酶解效率, 大量鲜甜味氨基酸得到释放, 获得的水解物氨基酸组成营养价值高且具有良好的鲜甜味滋味, 是一种优质的调味品基料。

参考文献

- [1] Synowiecki J, AL-khateeb N. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards[J]. Food Chemistry, 2000,68(2):147-152.
- [2] 2017-2022年中国对虾行业市场运营态势及发展前景预测报告[R].智研咨询集团, 2017.
- [3] CUI H, XIAO L. Current situation of China shrimp industry in 2011-2012 and its prospect[J]. China Fisheries, 2012,39(7):85-87.
- [4] CAO W, TAN C, ZHAN X, et al. Ultraviolet irradiation and gradient temperature assisted autolysis for protein recovery from shrimp head waste [J]. Food Chemistry, 2014,164:136-141.
- [5] 张玲玲, 宁凌. 基于转型升级中的对虾出口企业发展战略分析——以国联水产为例[J]. 中国渔业经济, 2013(04):115-122.
- [6] CAO W, ZHANG C, HONG P, et al. Response surface methodology for autolysis parameters optimization of shrimp head and amino acids released during autolysis[J]. Food Chemistry, 2008,109(1):176-183.
- [7] Sanchez-Camargo A P, Almeida Meireles M A, Fontoura Lopes B L, et al. Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*)[J]. Journal of food engineering, 2011,102(1):87-93.
- [8] Sjafullah A, Santoso A B. Autolytic Isolation of Chitin from White Shrimp (*Penaues Vannamei*) Waste[J]. Procedia Chemistry, 2016,18:49-52.
- [9] Dutta P K, Dutta J, Tripathi V S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications[J]. Journal of scientific & industrinal research, 2004,63(1):20-31.
- [10] Sowmya R, Rathinaraj K, Sahindra N M. An Autolytic Process for Recovery of Antioxidant Activity Rich Carotenoprotein from Shrimp Heads[J]. Marine Biotechnology,

2011,13(5):918-927.

- [11] Sowmya R, Ravikumar T M, Vivek R, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of shrimp waste for recovery of antioxidant activity rich protein isolate[J]. *Journal of science and technology-mysore*, 2014,51(11):3199-3207.
- [12] Sarada R, Vidhyavathi R. An Efficient Method for Extraction of Astaxanthin from Green Alga *Haematococcus pluvialis*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006(54):7585-7588.
- [13] 刘素磊. 酶解法制备南美白对虾虾头调味汁的研究[D]. 河北农业大学, 2014.
- [14] Nobuyuki hayashi K K. Techniques for Universal Evaluation of Astringency of Green Tea Infusion by the Use of a Taste Sensor System[J]. *Biosci. Biotechnol Biochem.*, 2006,70(3):626-631.
- [15] Nobuyuki hayashi T U. Evaluation of Umami Taste Intensity of Green Tea by a Taste Sensor[J]. *J. Agric. Food*, 2008(56):7384-7387.
- [16] 舒静, 陈轩, 潘从道, 等. 不同品牌食醋味感特征的电子舌分析[J]. *中国调味品*, 2013(08):95-98.
- [17] 肖如武. 蓝蛤蛋白源鲜味肽的制备及分离研究[D]. 华南理工大学, 2010.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 12312-90 感官分析—味觉敏感度分析[S]. 北京: 国标标准出版社, 2012.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T12315 感官分析方法学 排序法[S]. 北京: 国标标准出版社, 2008.
- [20] 段杉, 李婷, 毛颖超, 等. 蛋白酶对甲壳素制备的影响及不同甲壳素的性质比较[J]. *现代食品科技*, 2014(11):119-124.
- [21] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [22] Guerard F, Sumaya-martinez M T, Laroque D, et al. Optimization of free radical scavenging activity by response surface methodology in the hydrolysis of shrimp processing discards[J]. *Process Biochemistry*, 2007,42(11):1486-1491.
- [23] 黄显彬, 曹荣, 李智博. 南极磷虾自溶过程蛋白质组分含量变化[J]. *湖南农业科学*, 2015(09):76-78.
- [24] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.124 食品中氨基酸的测定[S]. 北京: 国标标准出版社, 2003.
- [25] Schindler A, Dunkel A, Staehler F. Discovery of salt taste enhancing arginyl dipeptides in protein digests and fermented fish sauces by means of a sensomics approach[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011,59(23):12578-12588.
- [26] 陈纯馨, 孙恢礼, 陈晓刚, 等. 风味蛋白酶酶解波纹巴非蛤制备小分子肽工艺研究[J]. *广东农业科学*, 2011(20):5-8.
- [27] 刘静泊. 风干武昌鱼鲜味肽的纯化与结构分析[D]. 武汉轻工大学, 2015.
- [28] 苗晓丹, 刘源, 仇春泱, 等. 呈味肽构效关系研究进展[J]. *食品工业科技*, 2014(06):357-362.
- [29] 相孝亮, 黄文涛译. 酶应用手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993.
- [30] 宁正祥, 赵谋明. 食品生物化学[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1995.
- [31] ZHAO C J, Schierer A, G Nzle M G. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations - A review[J]. *Food Research International*, 2016,89:39-47.
- [32] Bary KO-Pikielna N, Kostyra E. Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect[J]. *Food Quality and Preference*, 2007,18(5):751-758.

-
- [33] 吴新良, 蓝德安, 张羽. 动物水解蛋白及其在方便面中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2000(01):63-66.
- [34] WANG Y, CUI C, ZHAO M, et al. Characteristics of Enzymatic Hydrolysates of Tilapia Skin Protein and Effects of Ultrafiltration on It[J]. Food and Fermentation Industries, 2011,37(9):133-136.

