

doi:10.12301/j.issn.2095-6002.2021.03.007

文章编号:2095-6002(2021)03-0062-11

引用格式:司蕊,章超桦,曹文红,等.冻藏对水煮及酶解马氏珠母贝肉提取物呈味特性的影响[J].食品科学技术学报,2021,39(3):62-72.

SI Rui, ZHANG Chaohua, CAO Wenhong, et al. Effect of frozen storage on flavor characteristics of aqueous extract and enzymatic hydrolysis from *Pinctada martensii*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021,39(3):62-72.

冻藏对水煮及酶解马氏珠母贝肉提取物呈味特性的影响

司蕊¹, 章超桦^{1,2,*}, 曹文红^{1,2}, 秦小明^{1,2}, 郑惠娜^{1,2},
高加龙^{1,2}, 林海生^{1,2}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088;

2. 广东省水产品加工与安全重点实验室/水产品深加工广东普通高等学校重点实验室/国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东湛江 524088)

摘要:为了探究冻藏对水产品呈味物质含量和整体呈味特征的影响,以冻藏前后的马氏珠母贝肉为原料,分别采用水煮、酶解两种方式制备新鲜、冷冻贝肉提取物;利用电子舌测定不同提取物整体滋味轮廓差异,并结合人工感官评定评价整体呈味特征;测定了不同提取物的基本成分、游离氨基酸、呈味核苷酸、有机酸和有机碱含量,并通过滋味活性值评价这些呈味物质对提取物滋味的贡献。电子舌味觉特征检测结果表明:新鲜贝肉水煮提取物甜味最强,强于冷冻贝肉水煮提取物;鲜味、甜味和丰富度是新鲜贝肉酶解提取物的重要味觉特征,其中甜味值和丰富度值高于冷冻贝肉酶解提取物。电子舌主成分分析结果显示,新鲜贝肉酶解提取物最接近谷氨酸钠的呈味特征。人工感官评定结果显示,冷冻贝肉提取物较新鲜贝肉提取物甜味和鲜味强度减弱,酸味更突出,并带有刺激性。呈味物质含量测定结果显示:新鲜贝肉水煮提取物中甘氨酸和5'-磷酸腺苷的含量较冷冻贝肉水煮提取物分别增加了19.30 g/kg、302.60 mg/100 g;新鲜贝肉酶解提取物中谷氨酸和琥珀酸含量高达27.60 g/kg、1352.70 mg/100 g,显著高于冷冻贝肉酶解提取物($P < 0.05$)。冻藏处理会导致马氏珠母贝肉提取物中鲜味物质和甜味物质含量降低,苦味物质含量增加,提取物鲜美口感减弱。

关键词:马氏珠母贝;冻藏;水煮提取物;酶解提取物;呈味特性

中图分类号:TS254.9

文献标志码:A

水产品风味主要由香气和滋味组成,鱼、虾、贝类等水产品的风味在很大程度上取决于非挥发性的呈味物质。呈味物质主要包括含氮类化合物(游离氨基酸、核苷酸等)和非含氮化合物(无机盐、有机

酸等),利用氨基酸分析仪、高效液相色谱仪、火焰原子吸收光谱等方法可进行呈味物质含量检测^[1]。人工感官评定和电子舌检测是用于评价水产品滋味特征和强弱的感官分析方法,电子舌可分析水产品。

收稿日期:2021-01-08

基金项目:广东普通高等学校水产品高值化加工与利用创新团队项目(GDOU2016030503);财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系资助项目。

第一作者:司蕊,女,硕士研究生,研究方向为水产品加工与贮藏。

*通信作者:章超桦,男,教授,博士,主要从事水产风味、水产品精深加工方面的研究。

整体滋味轮廓的差异并进行相似度分析,人工感官评定客观、实用性强,两者结合可达到区别水产品不同时期、不同部位及不同处理方式的特征滋味及强弱的目的^[2]。冷冻贮藏是水产品运输和保藏的重要手段之一,但水产品在冻藏下会发生一系列生化变化,导致其品质和重要呈味物质含量改变^[3]。目前,国内外已有许多学者对水产品冻藏过程中的品质变化进行了研究,但这些研究大多集中在蛋白质的冷冻变性^[4-5]、组织结构的变化^[6-7]等方面,而关于冻藏对水产品呈味特性影响的研究仅见少量报道^[8]。

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)是我国南方用于海水珍珠养殖的主要贝类品种之一,广泛分布于广东、广西、海南等地区。取珠后的贝肉除一部分鲜食外,大部分未得到充分利用,因此贝肉高值化利用已成为目前研究的热点。马氏珠母贝肉蛋白质含量丰富,粗蛋白含量占干基的74.90%,富含鲜味、甜味氨基酸^[9],是开发天然海鲜调味料的理想原料。目前对于马氏珠母贝的研究大多集中在水产养殖及生物活性方面,仅见少量关于贝肉呈味的研究^[10-12],这些研究主要是对马氏珠母贝呈味基料工艺的探讨和其呈味物质含量的测定,未见有对冻藏贝肉呈味特性的研究。

本研究以冻藏前后的马氏珠母贝肉为研究对象,拟采用水煮、酶解两种方式分别制备新鲜、冷冻贝肉提取物,比较不同提取物中主要呈味物质组成及含量的差异;通过滋味活性值评价这些呈味物质对滋味的贡献,同时结合电子舌检测和人工感官评定综合评价提取物的呈味特征,解析它们之间的滋味差异,探讨冻藏对水产品风味的影响,以期水产品加工过程中的风味控制提供理论依据,为马氏珠母贝肉天然海鲜调味料的开发提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

马氏珠母贝肉,购于广东省雷州市覃斗镇养殖场,样品采集后用蒸馏水润洗分装。冷冻贝肉于-18℃以下缓冻保存2个月备用,新鲜贝肉立即进行实验。

动物蛋白酶(130 000 U/g)、中性蛋白酶(80 000 U/g),广西南宁庞博生物工程有限公司;5'-肌苷酸(IMP,纯度≥98%)、5'-鸟苷酸(GMP,纯度

≥98%),5'-一磷酸腺苷(AMP,纯度≥98%)、5'-三磷酸腺苷(ATP,纯度≥95%)、5'-二磷酸腺苷(ADP,纯度≥95%)、肌苷(HxR,纯度≥99%)、次黄嘌呤(Hx,纯度≥99%)、琥珀酸(纯度≥99.5%)、乳酸(纯度≥99.5%)、甜菜碱(纯度≥98%),上海源叶生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

JA2003型电子天平,上海恒平科学仪器有限公司;HZ-9212S型恒温振荡器,太仓市科教器材厂;PB-10型pH计,德国Sartorius公司;FDU-1100型真空冷冻干燥机,日本东京理化器械株式会社;Thermo Lynx-6000型高速落地离心机,赛默飞世尔(中国)科技有限公司;VAPODEST-450型全自动凯氏定氮仪,德国格哈特分析仪器有限公司;UV-2102PC型紫外分光光度计,尤尼克(上海)仪器有限公司;1200型半制备高效液相色谱仪,美国Agilent公司;SA402B型电子舌,日本Insent公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

1.3.1.1 水煮提取物制备

参考文献[13]的方法,分别取新鲜、冷冻贝肉,洗净沥干,按料液比(mg:mL)1:3加水打浆,均质后,加热煮制,待中心温度达到95℃后保持20 min。加热结束迅速冷却至室温,于4℃下8 000 r/min离心20 min,过滤。取上清液冷冻干燥,分别得到新鲜贝肉水煮提取物(Fresh PMWs)、冷冻贝肉水煮提取物(Freeze PMWs)。

1.3.1.2 酶解提取物制备

分别取新鲜、冷冻贝肉,洗净沥干,按料液比(mg:mL)1:3加水打浆,均质后,调pH值至7.00,酶解温度55℃。选择前期优化后的复合酶解条件进行酶解(总加酶量3 000 U/g,动物蛋白酶与中性蛋白酶之比为1:1),将动物蛋白酶水解2 h后水浴灭酶10 min,再加入中性蛋白酶水解3 h,水浴灭酶10 min,迅速冷却到室温。将酶解液于4℃下8 000 r/min离心20 min,过滤,取上清液冷冻干燥,分别得到新鲜贝肉酶解提取物(Fresh PMHs)、冷冻贝肉酶解提取物(Freeze PMHs)。

1.3.2 基本成分测定

水分含量参照GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》中直接干燥法进行测定,灰分含量参照GB 5009.4—2016《食品安全国家

标准《食品中灰分的测定》中高温灼烧法进行测定,蛋白质含量参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中凯氏定氮法进行测定,脂肪含量参照 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》中索氏抽提法进行测定,总糖含量参照 GB/T 9695.31—2008《食品安全国家标准 肉制品总糖含量测定》中分光光度法进行测定。

1.3.3 主要呈味物质检测

1.3.3.1 游离氨基酸测定

参考 GB/T 22729—2008《海洋鱼低聚肽粉》进行测定。

1.3.3.2 呈味核苷酸测定

参考文献[14]的方法并加以改进:准确称取样品0.20 g,超纯水溶解定容于10 mL容量瓶;准确吸取5 mL样品溶液,加入30 mL体积分数为6%的冷高氯酸,超声震荡5 min,4℃下8 000 r/min离心20 min,取上清液;采用10 mol/L KOH调pH值至6.50,在冰箱里静置30 min沉淀钾盐,过滤取上清液,超纯水定容至50 mL,4℃保存备用。

HPLC条件:5 C₁₈-MS-II型色谱柱(4.60 mm×250 mm, 5 μm),检测波长为254 nm,柱温为25℃,进样量20 μL;流动相A为0.05 mol/L、pH值为6.50的KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液,流动相B为流动相A与色谱级甲醇(二者体积比为9:1)的混合液,流速为0.70 mL/min。梯度洗脱程序:0~14 min,流动相A为100%;14~18 min,流动相B由0增至25%;18~22 min,流动相B由25%增至90%;25 min,流动相B增至100%,保持流动相B洗脱25 min。

1.3.3.3 有机酸测定

参考文献[15]的方法:准确称取3.00 g样品,用30 mL质量分数为2%,pH值为2.5的NH₄H₂PO₄溶液混匀,超声振荡20 min,4℃下8 000 r/min离心30 min,取上清液;沉淀再加入20 mL pH值为2.5的NH₄H₂PO₄溶液,超声振荡5 min,离心后合并上层清液,定容于50 mL容量瓶中,4℃保存备用。

HPLC条件:5 C₁₈-MS-II型色谱柱(4.60 mm×250 mm, 5 μm),检测波长为205 nm,柱温为25℃,进样量20 μL;流动相为质量分数2%,pH值为2.5的NH₄H₂PO₄溶液,流速为0.70 mL/min。

1.3.3.4 甜菜碱测定

采用雷氏盐结晶比色法,参照文献[16]的方法

绘制标准曲线。准确称取样品5.00 g,加入蒸馏水10~20 mL,蒸煮搅拌,冷却到室温后加入150 mL体积分数为95%的乙醇,4℃放置12 h后,于4℃下8 000 r/min离心20 min。用体积分数为80%的乙醇洗涤沉淀,合并上清液,浓缩后定容,即为样品制备液。移取5 mL样品制备液,冰浴15 min后浓盐酸调节pH值至1.00,制备液中甜菜碱含量的测定参照文献[16]的方法。

1.3.4 滋味活性值定义

滋味活性值(taste activity value, TAV)反映了单一化合物对整体味觉特征的贡献,定义为滋味物质的浓度与该物质的呈味阈值的比值^[17]。当TAV<1时,判定为该物质对味道贡献不大,当TAV>1时,该物质对味道贡献较大,且数值越大,贡献越大。

1.3.5 感官检测

1.3.5.1 电子舌检测

电子舌系统由6个味觉传感器组成:CAO(酸)、C00(苦)、AE1(涩)、AAE(鲜)、CTO(咸)及GLI(甜)。首次检测,所有传感器需放在参比溶液(0.30 mmol/L酒石酸和30.00 mmol/L氯化钾混合溶液)中活化一天,待传感器完成自检,信号稳定,认为数据有效^[18]。

待测样品配成质量浓度为1.00 g/L,按照系统预定程序进行检测,每个样品做4次循环,去掉第1次循环(测定甜味时,每个样品做5次循环,去掉前两次循环),取后3次测量结果。以参比溶液、0.50 g/L谷氨酸钠溶液作为对照,运用系统自带程序将测试样品的电势值转化为味觉值后进行味觉特征分析。

1.3.5.2 人工感官评定

参考文献[19]的方法并做适当修改。感官评定小组成员由3名男性和5名女性组成(年龄在21~25),均为研究室成员,各评定员均以参比溶液进行感官训练。参比溶液组成:甜味(蔗糖溶液,质量浓度分别为4.00、8.00、12.00 g/L)、酸味(柠檬酸溶液,质量浓度分别为0.10、0.30、0.50 g/L)、咸味(氯化钠溶液,质量浓度分别为0.40、0.80、1.20 g/L)、鲜味(谷氨酸钠溶液,质量浓度分别为1.00、4.00、8.00 g/L)、苦味(L-异亮氨酸溶液,质量浓度分别为2.00、4.00、8.00 g/L)。实验在(25±2)℃感官评价室进行。

待评样品配成质量浓度为1.00 g/L,用专业鼻夹将评定员鼻子夹住,以排除气味的干扰。评定员

漱口后,取待评样品 2 ~ 3 mL 于口中,10 s 后吐出,再次漱口后取参比溶液品尝。参比液 3 种浓度依次代表风味弱、一般、强三个等级,分值分别为 3、6、9。以此标度对提取物的酸、甜、苦、咸、鲜进行感官评定,结果取各评定值的平均值。另外,感官评定时,每个评定员须描述每次呈给样品的滋味特性。

1.4 数据处理

实验结果以平均值 ± 标准差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示。采用 JMP 5.0 软件对数据进行方差分析及组间 t-检验,利用 Origin 8.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 电子舌检测及人工感官评定结果分析

食物的呈味是一个复杂的过程,呈味化合物含量高低不能代表整体呈味特点,故采用电子舌和感官评定方法进行辅助评价。电子舌检测样品的味觉值以参比溶液的味觉值为对照值,即无味点;将酸味的无味点定义为 -13,咸味的无味点定义为 -6,即样品的酸咸味觉值分别低于 -13、-6 时,样品无该味道,反之则有;其余味觉指标以 0 值及以下为无味点^[20]。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的味觉响应值见图 1。由图 1 可知,4 种提取物的咸味值小于 -6,酸味值小于 -13,涩味回味值和苦味回味值小于 0,分别低于各自的无味点,说明提取物无这 4 种味道;故取高于各自无味点的鲜味、甜味、涩味、苦味及丰富度(鲜味的回味,反映了鲜味的残留情况)作为有效味觉指标。

冻藏前后马氏珠母贝肉水煮提取物电子舌检测有效味觉指标雷达图与人工感官评定味觉雷达图见

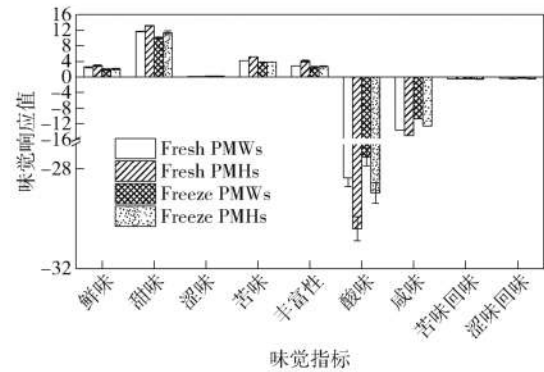


图 1 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的味觉响应值
Fig. 1 Taste response value of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage

图 2。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物人工感官评价结果见表 1。由图 2(a)可知, Fresh PMWs 的甜味值最大,根据韦伯定律,电子舌味觉响应值的大小直接反映该味道的强弱^[20],因此 Fresh PMWs 甜味最强。由图 2(b)可知, Fresh PMWs 鲜甜味较强,酸味、苦味及咸味很弱,可以推论是其含有的谷氨酸、甘氨酸和琥珀酸等呈味物质共同作用的结果。 Fresh PMWs 甜味值高于 Freeze PMWs,其他味觉值无差异,且由表 1 可知, Freeze PMWs 酸味高于 Fresh PMWs,综合说明冷冻贝肉煮汤后的滋味不如新鲜贝肉。感官评定结果与电子舌结果具有不完全一致的现象,这可能是由于样品本身味道复杂以及味觉参比溶液的选择、人体感知与仪器检测具有差异等原因。

冻藏前后马氏珠母贝肉酶解提取物电子舌检测有效味觉指标雷达图与人工感官评定味觉雷达图见图 3。由图 3(a)可知, Fresh PMHs 甜味值最大,其次是丰富性;由图 3(b)可知, Fresh PMHs 鲜味、甜味均较大,说明 Fresh PMHs 具有浓郁鲜甜味的特

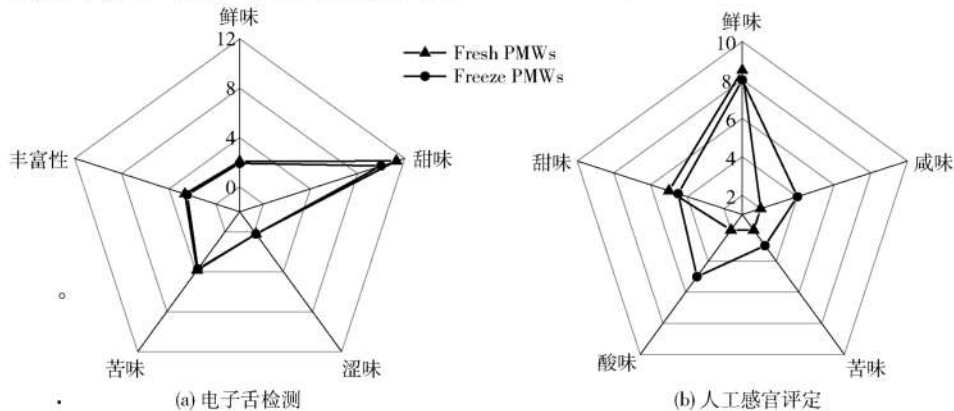


图 2 冻藏前后马氏珠母贝肉水煮提取物电子舌检测与人工感官评定味觉雷达图
Fig. 2 Electronic tongue effective taste detection and sensory evaluation radar chart of aqueous extract of *Pinctada martensii* during frozen storage

点,可以推论出是谷氨酸、呈鲜核苷酸及琥珀酸等物质协同作用的结果。电子舌检测 Fresh PMHs 的甜味值和丰富性值高于 Freeze PMHs,其他味觉值无差

异,说明 Fresh PMHs比 Freeze PMHs 味道更鲜美,这可能与 Freeze PMHs 中苦味氨基酸、核苷酸含量增加,鲜甜味氨基酸及琥珀酸含量降低有关。

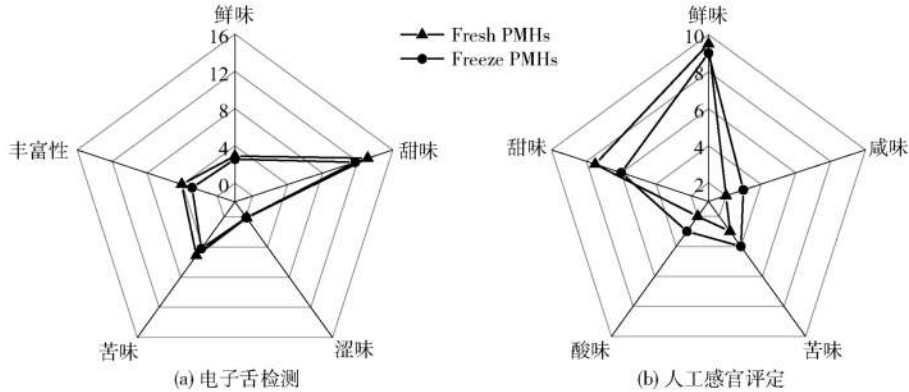


图3 冻藏前后马氏珠母贝肉酶解提取物电子舌检测与人工感官评定味觉雷达图

Fig. 3 Electronic tongue effective taste detection and sensory evaluation radar chart of enzymolysis extract of *Pinctada martensii* during frozen storage

表1 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物人工感官评价结果

Tab. 1 Results of sensory evaluation of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage

组别	滋味特性
Fresh PMWs	柔和感、微甜、鲜味
Freeze PMWs	强烈的酸感、鲜味
Fresh PMHs	柔和感、爽快的鲜甜味、浓厚感
Freeze PMHs	微苦、带有刺激性

电子舌采集的多维数据无法直观分析不同提取物之间的味觉差异,因而采用 PCA 降低数据维度,达到识别目的。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物电子舌检测二维主成分分析结果见图4。由图4可知,二维主成分的累计贡献率达到98.16%,表明数据足以代表原始数据信息,不同样品数据点无重叠,说明电子舌可以区分4种样品^[21];Fresh PMHs 与谷氨酸钠较为接近,说明 Fresh PMHs 最为接近谷氨酸钠的呈味特性。

2.2 基本营养成分分析

冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物基本营养成分测定结果见表2。由表2可知,马氏珠母贝肉提取物具有高蛋白、低脂肪的基本特征。水煮时,得到的是游离氨基酸、核苷酸、多糖等,特别是多糖和灰分占比较高;而酶解后,可溶性蛋白增多,蛋白质占比增大。与新鲜贝肉提取物相比,冷冻贝肉提取物粗脂肪、灰分含量显著增加($P < 0.05$),总糖含量显著下降($P < 0.05$),粗蛋白含量无显著差异($P > 0.05$),这与 Songsaeng 等^[22]对冷冻牡蛎蛋白含量变

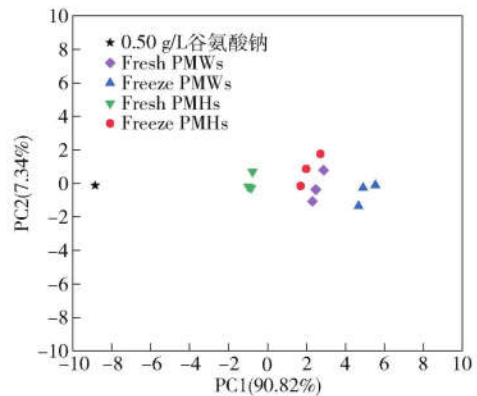


图4 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物电子舌检测二维主成分分析结果

Fig. 4 Results of two-dimensional principal component analysis of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage

化的研究结论一致。

2.3 主要呈味物质含量分析

2.3.1 游离氨基酸含量分析

游离氨基酸是一类重要的呈味成分,对水产品风味具有重要贡献。根据氨基酸的呈味特性可将其分为鲜味、甜味、苦味及无味四类氨基酸^[23]。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的游离氨基酸含量及TAV见表3。由表3可知,冷冻前后贝肉水煮提取物分别检测到8种、13种氨基酸。Fresh PMWs 总氨基酸含量为98.10 g/kg,鲜味、甜味氨基酸含量占总氨基酸含量的81.4%,特别是谷氨酸和甘氨酸,分别占总量的16.92%和43.32%;Freeze PMWs 总氨基酸含量为89.00 g/kg,较 Fresh PMWs 甜味氨基酸总含

表 2 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物基本营养成分含量比较

Tab.2 Comparison of basic components in different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage %

组别	w(水分)	w(粗蛋白)	w(粗脂肪)	w(总糖)	w(灰分)
Fresh PMWs	6.61 ± 1.03 ^b	41.97 ± 3.49 ^b (44.94)	1.24 ± 0.02 ^d (1.33)	21.16 ± 0.41 ^a (22.66)	22.63 ± 0.51 ^b (24.23)
Fresh PMHs	15.51 ± 2.08 ^a	52.77 ± 4.19 ^a (62.46)	1.89 ± 0.02 ^b (2.24)	14.99 ± 0.21 ^b (17.74)	12.64 ± 0.67 ^d (14.96)
Freeze PMWs	7.61 ± 1.16 ^b	42.29 ± 3.85 ^b (45.77)	1.65 ± 0.03 ^c (1.79)	16.89 ± 1.01 ^b (18.28)	29.08 ± 0.60 ^a (31.48)
Freeze PMHs	13.64 ± 2.15 ^a	51.89 ± 2.95 ^a (60.09)	2.21 ± 0.01 ^a (2.56)	8.95 ± 0.41 ^c (10.36)	16.93 ± 0.18 ^c (19.60)

括号外的基本营养成分含量以干基计,括号内的基本营养成分含量以干物质计;同列数据不同上标字母表示各样品之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

量下降,尤其是甘氨酸,含量从 42.50 g/kg 下降到 23.20 g/kg。Fresh PMHs 总氨基酸含量为 257.50 g/kg,是水煮提取物的 2 倍多,鲜味、甜味氨基酸含量占总氨基酸含量的 41.55%;与 Fresh PMHs 相比,Freeze PMHs 鲜味、甜味氨基酸含量明显减少,其中鲜味氨基酸总含量从 34.90 g/kg 减少到

27.80 g/kg; Fresh PMHs 中谷氨酸含量最高 (27.60 g/kg),高于克氏原螯虾酶解液和鸡肉酶解液中谷氨酸含量 (16.74、0.29 g/kg)^[24-25]。研究表明,冻藏过程中细胞内冰晶的形成及其体积变化导致解冻后水溶性风味物质大量损失^[26],这可能是提取物中鲜、甜味氨基酸含量减少的原因。

表 3 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的游离氨基酸含量及 TAV

Tab.3 Content of free amino acid and TAV of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage g/kg

呈味特征	成分	阈值 ^[27]	Fresh PMWs		Fresh PMHs		Freeze PMWs		Freeze PMHs	
			w(游离氨基酸)	TAV	w(游离氨基酸)	TAV	w(游离氨基酸)	TAV	w(游离氨基酸)	TAV
鲜味	天冬氨酸(Asp)	1.00	4.00	4.00	7.30	7.30	5.40	5.40	6.00	6.00
	谷氨酸(Glu)	0.30	16.60	53.33	27.60	92.00	18.00	60.00	21.80	72.60
	总计		20.60		34.90		23.40		27.80	
甜味	苏氨酸(Thr)	2.60	0.00	0.00	15.90	6.12	4.10	1.58	11.90	4.58
	丝氨酸(Ser)	1.50	0.00	0.00	11.00	7.33	3.60	2.40	9.00	6.00
	甘氨酸(Gly)	1.30	42.50	32.70	19.20	14.77	23.20	17.85	13.00	10.00
	丙氨酸(Ala)	0.60	10.80	18.00	21.30	35.50	13.20	22.00	18.40	30.66
	脯氨酸(Pro)	3.00	6.00	2.00	4.70	1.57	4.50	1.50	3.10	1.03
	总计		59.30		72.10		48.60		55.50	
苦味	缬氨酸(Val)	0.40	0.00	0.00	16.90	42.35	2.60	6.50	14.40	36.00
	蛋氨酸(Met)	0.30	0.00	0.00	8.50	28.33	0.00	0.00	8.30	27.67
	苯丙氨酸(Phe)	0.90	0.00	0.00	19.80	22.00	1.60	1.78	19.50	21.67
	异亮氨酸(Ile)	0.90	0.00	0.00	16.30	18.11	0.00	0.00	13.40	14.88
	亮氨酸(Leu)	3.80	0.00	0.00	28.40	7.47	1.50	0.40	28.50	7.50
	赖氨酸(Lys)	0.50	0.30	0.60	14.00	28.00	1.60	3.20	11.60	23.20
	精氨酸(Arg)	0.50	9.10	18.20	22.10	44.20	8.30	16.60	19.50	39.00
	组氨酸(His)	0.20	0.00	0.00	3.90	19.50	0.00	0.00	3.00	15.00
	酪氨酸(Tyr)	—	8.80	—	19.40	—	1.40	—	18.60	—
	总计		18.20		149.30		17.00		136.80	
无味	胱氨酸(Cy's)	—	0.00	—	1.20	—	0.00	—	1.20	—
总计			98.10		257.50		89.00		221.30	

游离氨基酸含量以干物质计;“—”表示其阈值未见文献报道。

通过各氨基酸的 TAV,可直观了解各呈味氨基酸对整体滋味的贡献情况。由表 3 可知, Fresh PMWs 中 Glu 的 TAV 最高(53.33),其次是 Gly(32.70),说明 Glu 和 Gly 对 Fresh PMWs 的鲜甜味具有重要贡献; Freeze PMWs 中苦味氨基酸的种类和含量较 Fresh PMWs 增加,原本低于阈值浓度的 Val、Phe、Leu 含量增加至阈值浓度以上,即对味感的贡献增加,呈甜味的 Gly 和 Pro 的 TAV 减小,可以推测,这是冷冻贝肉煮汤后的滋味不如新鲜贝肉的原因之一。Fresh PMHs 中 Glu 的 TAV 最高(92.00),其次是 Arg(44.20)和 Ala(35.50),Arg 虽是苦味氨基酸,但具有一定的提鲜作用; Freeze PMHs 各类氨基酸的 TAV 较 Fresh PMHs 均减小,对滋味贡献下降,这可能是导致冷冻贝肉酶解提取物不如新鲜贝肉酶解物味道鲜美的原因之一。

2.3.2 核苷酸含量分析

核苷酸类物质是水产品风味产生的主要因素之一,可以与某些氨基酸类物质协同增鲜,尤其是 IMP、GMP 和 AMP,是主要呈鲜核苷酸^[28], HxR、Hx 为苦味核苷酸^[29]。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的核苷酸含量见图 5。由图 5 可知, Fresh PMWs 共检测到 5 种核苷酸,鲜味核苷酸总量占核苷酸总量的 77.17%,其中 AMP 占核苷酸总量的 60.75%。由 AMP 大量积累可以推测出,马氏珠母贝肉 ATP 关联产物的主要降解途径为 ATP→ADP→AMP→腺苷(AdR)→HxR→Hx。高温短时的加热方式可以减缓 IMP 降解^[30],因此 Fresh PMWs 中检测到少量 IMP,说明马氏珠母贝肉还存在降解途径 ATP→ADP→AMP→IMP→HxR→Hx。Freeze PMWs 鲜味核苷酸总量小于 Fresh PMWs,其中 AMP 在脱氢酶的作用下发生降解,生成大量苦味核苷酸。Wang 等^[31]将牡蛎在 -20℃ 下贮藏 12 周后, HxR

含量升高,与本研究结果一致。Fresh PMHs 中鲜味核苷酸含量占核苷酸总量的 27.67%,远低于新鲜贝肉水煮提取液中鲜味核苷酸含量,说明水煮更有利于鲜味核苷酸的释放,未检测到 IMP,可能是酶解方式有利于 IMP 降解; Freeze PMHs 较 Fresh PMHs 苦味核苷酸含量增加,尤其是 Hx 占核苷酸总量的 41.25%。

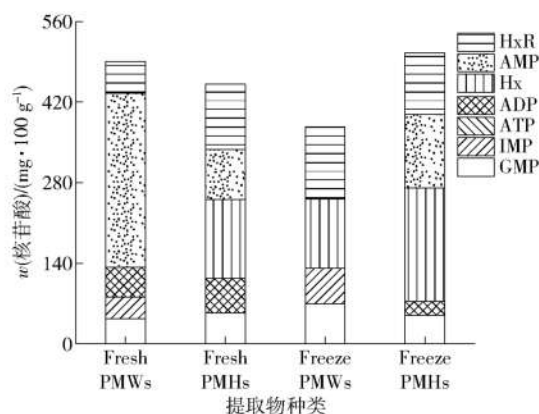


图5 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的核苷酸含量

Fig.5 Content of nucleotide in different extracts of *Pinctada martensii* during frozen storage

对 3 种已知阈值的呈鲜核苷酸 TAV 进行比较,冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的呈鲜核苷酸含量及 TAV 值见表 4。由表 4 可知,4 种提取物中 GMP、IMP 和 AMP 的 TAV 均大于 1,对滋味具有一定贡献。Fresh PMWs 中 AMP 的 TAV 最大(6.05),GMP 和 IMP 的 TAV 均低于 Freeze PMWs,可以推论,AMP 是使新鲜水煮提取物鲜味强度高于冷冻水煮提取物的最主要核苷酸。研究表明,低浓度的 AMP(0.50~1.00 mg/g)仅对甜味有影响而对鲜味无影响^[30],因此 AMP 在 Fresh PMHs 中对甜味贡献较大,而在 Freeze PMHs 中对鲜味贡献较大。Fresh PMHs 中 GMP 的 TAV 高于 Freeze PMHs,说明 GMP

表 4 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的呈鲜核苷酸含量及 TAV

Tab.4 Umami nucleotide content and TAV of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage mg/100g

成分	阈值 ^[32]	Fresh PMWs		Fresh PMHs		Freeze PMWs		Freeze PMHs	
		w(呈鲜核苷酸)	TAV	w(呈鲜核苷酸)	TAV	w(呈鲜核苷酸)	TAV	w(呈鲜核苷酸)	TAV
GMP	12.50	43.70 ± 1.50 ^b	3.50	53.70 ± 6.70 ^b	4.30	69.30 ± 4.30 ^a	5.54	49.90 ± 6.80 ^b	3.99
IMP	25.00	38.00 ± 0.50 ^b	1.52	ND		61.90 ± 2.80 ^a	2.48	ND	
AMP	50.00	302.60 ± 4.60 ^a	6.05	86.90 ± 1.40 ^c	1.74	ND		127.50 ± 3.00 ^b	2.55
总计		384.30 ± 6.10 ^a		140.60 ± 8.20 ^c		131.20 ± 7.30 ^c		177.40 ± 9.77 ^b	

呈鲜核苷酸含量以干物质计,ND 表示成分未检测出;同行数据不同上标字母表示各样品之间存在显著差异($P < 0.05$)。

是使新鲜酶解提取物鲜味强度高于冷冻酶解提取物的最主要核苷酸。

2.3.3 有机酸、有机碱含量分析

海产品中有机酸类鲜味物质主要有乳酸和琥珀酸,这些有机酸对风味有特殊贡献^[27]。甜菜碱在硬蛤、牡蛎等中均有存在,具有爽快的鲜甜味。冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的有机酸、有机碱含量及TAV见表5。由表5可知,与Freeze PMWs相比,Fresh PMWs中琥珀酸和甜菜碱含量显著升高($P < 0.05$),乳酸含量较低(397.00 mg/100 g);水提取物中

3种物质的TAV均大于1,说明其对鲜甜味具有一定贡献。冻藏前后马氏珠母贝肉酶解提取物中琥珀酸含量无显著差异($P > 0.05$),TAV较高(124.11 ~ 127.61),说明琥珀酸对酶解提取物风味具有重要贡献;与Fresh PMWs相比,Freeze PMWs中甜菜碱损失近51.58%,甜菜碱由于阈值低,对味感贡献相对较大。研究发现,缢蛏在贮藏过程中甜菜碱含量先上升后下降^[33],与本研究呈现相同规律,但目前对于甜菜碱代谢途径及低温贮藏期甜菜碱含量变化尚不明确。

表5 冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物的有机酸、有机碱含量及TAV

Tab.5 Content of organic acid, organic base and TAV of different extracts from *Pinctada martensii* during frozen storage

成分	呈味特征	阈值 ^[34]	Fresh PMWs		Fresh PMHs		Freeze PMWs		Freeze PMHs	
			w(有机酸或碱)	TAV	w(有机酸或碱)	TAV	w(有机酸或碱)	TAV	w(有机酸或碱)	TAV
乳酸	酸中带鲜	12.50	397.00 ± 6.60 ^b	31.76	ND	663.50 ± 14.40 ^a	53.08	ND		
琥珀酸	酸中带鲜	10.60	780.00 ± 25.10 ^b	73.58	1 352.70 ± 98.70 ^a	127.61	234.10 ± 5.70 ^c	22.09	1 315.50 ± 72.80 ^a	124.11
甜菜碱	甜	25.00	3 311.10 ± 2.60 ^b	132.44	6 141.20 ± 10.30 ^a	245.65	1 077.80 ± 1.40 ^c	43.11	2 973.70 ± 8.70 ^b	118.95

有机酸、有机碱含量以干物质计,ND表示成分未检测出;同行数据不同上标字母表示各样品之间存在显著差异($P < 0.05$)。

3 结论

研究表明,冻藏前后马氏珠母贝肉不同提取物主要呈味物质的组成及含量具有一定差异,对其呈味有重要影响。冻藏处理会导致贝肉提取物中鲜甜味物质(鲜味氨基酸、甜味氨基酸、琥珀酸、甜菜碱)含量降低,苦味物质(苦味氨基酸、Hx、HxR)含量升高。冷冻贝肉水煮提取物中Gly和AMP含量较新鲜贝肉水煮提取物分别减少了19.30 g/kg、302.60 mg/100 g,苦味物质Val、Phe、Lev、HxR及Hx含量增加,对整体滋味负面影响增大。冷冻贝肉水煮提取物中琥珀酸、甜菜碱含量显著低于新鲜贝肉水煮提取物($P < 0.05$)。冷冻贝肉酶解提取物中Glu、Ala、Arg、琥珀酸及甜菜碱含量显著低于新鲜贝肉酶解提取物($P < 0.05$)。电子舌味觉特征检测和人工感官评定结果综合表明,冷冻贝肉提取物较新鲜贝肉提取物甜味和鲜味强度减弱,酸味更突出,并带有刺激性。

本研究探讨了冻藏对水煮及酶解马氏珠母贝肉提取物呈味特性的影响,希望为水产品加工过程中的风味控制提供理论参考,为马氏珠母贝肉天然海鲜调味料的开发提供理论指导。

参考文献:

- [1] 章超桦,解万翠.水产风味化学[M].北京:中国轻工业出版社,2012:98-102.
- [2] ZHANG N, WANG W, LI B, et al. Non-volatile taste active compounds and umami evaluation in two aquacultured pufferfish (*Takifugu obscurus* and *Takifugu rubripes*) [J]. Food Bioence, 2019, 32: 1-7.
- [3] 杨婷婷. 采捕后活品虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)的风味变化[D].大连:大连海洋大学,2014.
YANG T T. Post-harvest changes in flavor of live scallop *Patinopecten yessoensis* [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2014.
- [4] LIU S, GUANG Q X, AN Z D, et al. Effects of freezing temperature and frozen storage on the biochemical and physical properties of *Procambarus clarkii* [J]. International Journal of Refrigeration, 2018, 91: 223-229.
- [5] 陈海强,梁钻好,梁风雪,等.不同冻结方式对牡蛎品质的影响[J].食品工业科技,2019,40(7):243-247.
CHEN H Q, LIANG Z H, LIANG F X, et al. Effects of different freezing methods on the quality of oyster [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(7): 243-247.

- [6] LI D P, QIN N, ZHANG L T, et al. Degradation of adenosine triphosphate, water loss and textural changes in frozen common carp (*Cyprinus carpio*) fillets during storage at different temperatures[J]. International Journal of Refrigeration, 2019, 98: 294 – 306.
- [7] 刘宏影. 超声波辅助冷冻与低温速冻对海鲈鱼冰晶形成及品质特性的影响[D]. 锦州: 渤海大学, 2020.
LIU H Y. Effects of ultrasound-assisted freezing and quick-freezing on ice crystal formation and quality characteristics of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [8] 杨利艳. 冻结方式对凡纳滨对虾贮藏特性的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.
YANG L Y. Effect of different freezing processes on the quality characteristics of *Litopenaeus vannamei* during frozen storage [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012.
- [9] 章超桦, 吴红棉, 洪鹏志, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及其游离氨基酸组成[J]. 水产学报, 2000(2): 180 – 184.
ZHANG C H, WU H M, HONG P Z, et al. Nutrients and composition of free amino acid in edible part of *Pinctada martensii* [J]. Journal of Fisheries of China, 2000(2): 180 – 184.
- [10] 赵永强, 王安凤, 陈胜军, 等. 米曲霉和鲁氏酵母协同发酵优化合浦珠母贝肉酶解液风味[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(15): 115 – 120.
ZHAO Y Q, WANG A F, CHEN S J, et al. Synergistic fermentation of *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces rouxii* to optimize enzymatic hydrolysate flavor of *Pinctada fucata* meat [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(15): 115 – 120.
- [11] 王安凤. 合浦珠母贝肉调味料的制备及风味研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
WANG A F. Study on preparation and flavor improvement of seasoning derived from *Pinctada fucata* muscle [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.
- [12] 郑惠娜, 章超桦, 秦小明, 等. 马氏珠母贝肉蒸煮液主要呈味成分分析[J]. 食品科技, 2012, 37(2): 151 – 155.
ZHENG H N, ZHANG C H, QIN X M, et al. Analysis of taste-active components of the cooking liquor of *Pinctada martensii* meat [J]. Food Science and Technology, 2012, 37(2): 151 – 155.
- [13] 谢晓霞. 文蛤与蓝蛤鲜味肽的呈味特性及其与鲜味受体 T1R1/T1R3 的分子作用研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
XIE X X. Flavor characteristics of umami peptides from *Meretrix meretrix* (Linnaeus) and *Aloididae aloidii* and their interactions with umami receptor T1R1/T1R3 [D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [14] 步营, 何玮, 胡显杰, 等. 超高压对蓝蛤酶解液风味及其蛋白质结构的影响[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(1): 104 – 116.
BU Y, HE W, HU X J, et al. Effects of ultra-high pressure on flavor and protein structure of enzymatic hydrolysates of *Aloididae aloidii* [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(1): 104 – 116.
- [15] 刘亚, 邱创平. 高效液相色谱法检测贝类中的乳酸和琥珀酸[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 268 – 271.
LIU Y, QIU C P. Detection of lactic acid and succinic acid in shellfish by HPLC [J]. Food Science and Technology, 2012, 37(4): 268 – 271.
- [16] 黄丽贞. 海产品中呈味成份甜菜碱的测定[J]. 上海水产大学学报, 1994(3): 160 – 163.
HUANG L Z. Measurement of betaine as flavouring component in seafood products [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 1994(3): 160 – 163.
- [17] TIAN X, LI Z J, CHAO Y Z, et al. Evaluation by electronic tongue and headspace-GC – IMS analyses of the flavor compounds in dry-cured pork with different salt content [J]. Food Research International, 2020, 137: 1 – 10.
- [18] ISMAIL I, HWANG Y H, JOO S T. Low-temperature and long-time heating regimes on non-volatile compound and taste traits of beef assessed by the electronic tongue system [J]. Food Chemistry, 2020, 320: 1 – 8.
- [19] 肖如武. 蓝蛤蛋白源鲜味肽的制备及分离研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
XIAO R W. Study on the preparation and purification of umami peptides from *Aloididae aloidii* protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.
- [20] 刘洪波, 姜涛, 骆仁军, 等. 味觉分析系统对不同产地中华绒螯蟹滋味强度值的区分[J]. 食品科学, 2020, 41(16): 132 – 137.
LIU H B, JIANG T, LUO R J, et al. Evaluation of the taste-active values of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) from different geographic origins using a taste sensing system [J]. Food Science, 2020, 41(16): 132 – 137.
- [21] LI X P, XIE X X, WANG J X, et al. Identification,

- taste characteristics and molecular docking study of novel umami peptides derived from the aqueous extract of the clam *Meretrix meretrix* Linnaeus [J]. *Food Chemistry*, 2020, 312: 1–11.
- [22] SONGSAENG S, SOPHANODORA P, KAEWSRI-THONG J, et al. Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant[J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(2): 286–290.
- [23] 张苏平, 邱伟强, 卢祺, 等. 全自动氨基酸分析仪法测定4种贝类肌肉中谷胱甘肽和游离氨基酸含量[J]. *食品科学*, 2017, 38(4): 170–176.
- ZHANG S P, QIU W Q, LU Q, et al. Determination of glutathione and free amino acids in muscles of four shellfish species by automatic acid analyzer[J]. *Food Science*, 2017, 38(4): 170–176.
- [24] KONG Y, YANG X, DING Q, et al. Comparison of non-volatile umami components in chicken soup and chicken enzymatic hydrolysate [J]. *Food Research International*, 2017, 102: 559–566.
- [25] 王紫微. 超声辅助酶解制备克氏原螯虾调味料的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2019.
- WANG Z W. Study on preparation of *Procambarus Clarckii* flavoring by ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis [D]. Changchun: Jilin University, 2019.
- [26] YU D W, JING D T, YANG F, et al. The factors influencing the flavor characteristics of frozen obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) during storage: ice crystals, endogenous proteolysis and oxidation[J]. *International Journal of Refrigeration*, 2021, 122: 147–155.
- [27] 黄艳球, 杨发明, 秦小明, 等. 不同养殖区香港牡蛎的化学组成及特征气味成分分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(14): 236–242.
- HUANG Y Q, YANG F M, QIN X M, et al. Chemical composition and characteristic odorans of oyster (*Crassostrea hongkongensis*) from different culture areas[J]. *Food Science*, 2019, 40(14): 236–242.
- [28] YUE J, ZHANG Y, JIN Y, et al. Impact of high hydrostatic pressure on non-volatile and volatile compounds of squid muscles[J]. *Food Chemistry*, 2016, 194: 12–19.
- [29] 孙鲁浩, 毛伟杰, 吉宏武, 等. 贮藏时间和加热温度对凡纳滨对虾虾仁 ATP 关联化合物及品质的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2020, 40(1): 78–86.
- SUN L H, MAO W J, JI H W, et al. Effects of storage period and heating time on ATP-related compounds and quality changes in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2020, 40(1): 78–86.
- [30] MINNA K, ROTOLA P, SEIJA T, et al. Concentration of umami compounds in pork meat and cooking juice with different cooking times and temperatures[J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(12): C2711–C2716.
- [31] WANG Q, XUE C H, LI Z J, et al. Changes in the contents of ATP and its related breakdown compounds in various tissues of oyster during frozen storage[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2007, 41(3): 407–412.
- [32] 周纷, 张艳霞, 张龙, 等. 冰鲜大黄鱼不同副产物中滋味成分差异分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(16): 193–199.
- ZHOU F, ZHANG Y X, ZHANG L, et al. Differences in taste components in by-products of chilled large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Food Science*, 2019, 40(16): 193–199.
- [33] 杨文鸽, 徐大伦, 孙翠玲, 等. 缢蛭冰藏保活期间呈味物质的变化[J]. *中国食品学报*, 2009, 9(3): 181–186.
- YANG W G, XU D L, SUN C L, et al. Changes of taste components in *Sinonovacula constricta* during iced storage-keeping alive[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2009, 9(3): 181–186.
- [34] 祝亚辉. 华贵栉孔扇贝干贝生产工艺的改良及其风味形成机制的初步研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2017.
- ZHU Y H. Improvement of drying process of *Chlamys nobilis* scallop and formation mechanism of its flavor components[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2017.

Effect of Frozen Storage on Flavor Characteristics of Aqueous and Enzymolysis Extract from *Pinctada martensii*

SI Rui¹, ZHANG Chaohua^{1,2,*}, CAO Wenhong^{1,2}, QIN Xiaoming^{1,2}, ZHENG Huina^{1,2},
GAO Jialong^{1,2}, LIN Haisheng^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety/Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong Higher Education Institution/National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing (Zhanjiang), Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In order to explore the effect of frozen storage on the content and characteristics of flavor substances of aquatic products, the fresh and frozen meat of *Pinctada martensii* was used, and the *Pinctada martensii* extracts were prepared by boiled water extraction method and enzymatic hydrolysis, respectively. And then the flavor characteristics of different extracts were evaluated by electronic tongue and sensory evaluation system, the contents of basic components, free amino acids, flavor nucleotides, organic acids and organic bases of different extracts were determined and their contributions to the flavor were assessed by taste activity value. Taste characteristics results of the electronic tongue showed that the aqueous extract from fresh meat exhibited the strongest sweetness, which was stronger than the aqueous extract from frozen meat. Umami, sweetness and richness were the important flavor characteristics of the enzymolysis extract of fresh meat. Sweetness and richness were higher than those of frozen meat. The principal component analysis results of electronic tongue revealed that the enzymolysis extract of fresh meat taste characteristics were close to those of sodium glutamate. The results of artificial sensory evaluation showed that the sweetness and umami of frozen meat extract were weaker than those of fresh meat extract, and the sourness was more prominent with irritation. Compared with those in the aqueous extract of frozen meat, the determination results of flavor substances showed that the aqueous extract of fresh meat contents of glycine and 5'-monophosphate increased by 19.30 g/kg and 302.60 mg/100 g, respectively. The enzymolysis extract from fresh meat had higher contents of glutamic of 27.60 g/kg and succinic acid of 1 352.70 mg/100 g, which were significantly higher than those of enzymolysis extract from frozen meat ($P < 0.05$). Therefore, frozen storage treatment could reduce the content of umami and sweetness substances in *Pinctada martensii* meat extract, increase the content of bitter substances, and weaken the delicious taste of the extract.

Keywords: *Pinctada martensii*; frozen storage; aqueous extract; enzymolysis extract; flavor characteristic

(责任编辑:叶红波)