

DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2023.03.003

引文格式:邓宇,曹文红,陈忠琴,等.白贝肉酶解工艺的优化及其产物呈味特性研究[J].中国调味品,2023,48(3):11-17.

DENG Y, CAO W H, CHEN Z Q, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis process of *Monetaria moneta* and flavor characteristics of its products[J]. China Condiment, 2023, 48(3): 11-17.

白贝肉酶解工艺的优化及其产物呈味特性研究

邓宇¹, 曹文红^{1,2*}, 陈忠琴^{1,2}, 秦小明^{1,2}, 高加龙^{1,2},
郑惠娜^{1,2}, 林海生^{1,2}

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东省海洋食品工程技术研究中心, 广东省海洋生物制品工程实验室, 水产品深加工广东普通高等学校重点实验室, 广东 湛江 524088; 2. 大连工业大学海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034)

摘要:通过酶解法利用白贝制备酶解产物,并对其进行滋味评价,为白贝调味品的开发奠定了前期基础。以水解度为指标,筛选蛋白酶后,应用响应面优化得到最佳酶解工艺,制备白贝酶解产物,测定其游离氨基酸、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。采用复合蛋白酶进行工艺优化,最佳酶解工艺为加酶量4 586 U/g、料液比1:4.4、酶解温度58℃、酶解5 h,此条件下水解度达42.46%。所制备的酶解液中鲜味和甜味氨基酸含量占游离氨基酸总量的44.70%,鲜味核苷酸GMP和IMP的含量分别为24.21 mg/100 g和66.39 mg/100 g,有机酸琥珀酸含量为360.33 mg/100 g,有机碱甜菜碱含量为394.00 mg/100 g。电子舌分析表明,酶解产物中鲜味、甜味、苦味特征明显。白贝酶解产物中滋味成分丰富,鲜味含量较高,可用于调味品的开发。

关键词:白贝;酶解;响应面优化;呈味特性

中图分类号:TS254.1

文献标志码:A

文章编号:1000-9973(2023)03-0011-07

Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process of *Monetaria moneta* and Flavor Characteristics of Its Products

DENG Yu¹, CAO Wen-hong^{1,2*}, CHEN Zhong-qin^{1,2}, QIN Xiao-ming^{1,2},
GAO Jia-long^{1,2}, ZHENG Hui-na^{1,2}, LIN Hai-sheng^{1,2}

(1. Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong General Institutions of Higher Education, Guangdong Provincial Engineering Laboratory for Marine Biological Products, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Seafood, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing Technology (Zhanjiang), College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing Co-constructed by Province and Ministry, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: The enzymatic hydrolysates are prepared from *Monetaria moneta* by enzymolysis method, and their taste is evaluated, which has laid a foundation for the development of *Monetaria moneta* condiments. With the degree of hydrolysis as the index, after screening protease, the optimal enzymatic hydrolysis process is obtained by response surface optimization, and the enzymatic hydrolysates of *Monetaria moneta* are prepared. The content of free amino acids, nucleotides, organic acids and organic

收稿日期:2022-09-18

基金项目:国家重点研发计划课题(2018YFD0901105);广东海洋大学“冲一流”学科建设科研项目(231419014);广东省科技计划项目(2015A020209164);现代农业产业技术体系专项资金资助(CARS-49)

作者简介:邓宇(1997—),男,硕士,研究方向:生物与医药。

*通信作者:曹文红(1977—),男,教授,博士,研究方向:海洋食品营养与功能。

alkali is determined, and the contribution of these taste compounds to the taste of extracts is evaluated by the taste activity value. The process is optimized by protamex. The optimal enzymolysis process is enzyme addition amount of 4 586 U/g, solid-liquid ratio of 1 : 4.4, enzymolysis temperature of 58 °C, enzymolysis time of 5 h, the hydrolysis degree is 42.46% under such conditions. The content of umami and sweet amino acids accounts for 44.70% of the total free amino acids, and the content of umami nucleotides GMP and IMP is 24.21 mg/100 g and 66.39 mg/100 g respectively. The content of organic acid such as succinic acid is 360.33 mg/100 g, and the content of organic alkali such as betaine is 394.00 mg/100 g. Electronic tongue analysis shows that the enzymatic hydrolysates have obvious characteristics of umami, sweetness and bitterness. The enzymatic hydrolysates of *Monetaria moneta* have rich taste components and high umami content, which can be used in the development of condiments.

Key words: *Monetaria moneta*; enzymatic hydrolysis; response surface optimization; taste characteristics

水产品的风味主要由气味和滋味组成,挥发性的含香化合物构成其气味,非挥发性的呈味活性物质构成其滋味,滋味成分对水产品的风味有重要影响^[1]。呈味物质主要包括呈味核苷酸、游离氨基酸、无机离子等,可以利用高效液相色谱仪、氨基酸分析仪、火焰原子吸收分光光度计等仪器进行检测^[2]。目前国内外学者都对水产品的风味物质进行了广泛的研究。Kani等^[3]研究了椭圆形鱿鱼外套膜肌肉中的呈味成分,得出11种呈味活性物质对该鱿鱼的滋味具有重大贡献;崔妍春等^[4]比较了3种不同贝类蒸煮液的呈味物质,指出呈味核苷酸和甜菜碱对鲜味起到重要作用;钱建瑛等^[5]比较了酶热处理后文蛤的呈味物质,指出游离氨基酸和呈味核苷酸对其鲜味有巨大贡献。水产品的风味在一定程度上反映了其新鲜程度,表明其潜在价值,对水产调味品的开发和利用具有指导意义。

白贝(*Monetaria moneta*),别名贝子、贝齿、白海肥等,广泛分布于我国南海海域,营养丰富,味道鲜美,价格低廉。在广东、广西等地区常被用来煲汤,深受消费者的喜爱^[6-7]。张大为等^[8]以白贝自然发酵液为分离源,从中分离得到乳酸菌并对其进行鉴定。目前国内外针对白贝的研究相对较少,主要集中于调味液的初步研制、白贝抗氧化活性和理化性质,尚没有关于呈味特性的研究^[9-11]。课题组前期研究显示,白贝蛋白质含量为10.26 g/100 g,占干质量的58.13%;脂肪含量为1.96 g/100 g,占干质量的11.1%;非蛋白氮含量为0.139 g/100 g,占总氮的8.47%,它是一种高蛋白、低脂肪、呈味物质丰富的海洋贝类,因此可能是开发天然海鲜调味料的理想原料。白贝目前以直接食用为主,但在运输和销售过程中极易发生腐败变质现象,不仅浪费原料,而且会出现食品安全问题。因此,如果以白贝为原料,通过酶解等方法加工成调味品等附加值高的产品,将会产生极高的经济和社会效益。

本文以白贝肉为原料,通过酶解法制备白贝酶解液,并对其进行呈味分析,为白贝天然海鲜调味品的研究与开发提供了实验数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜白贝:购自湛江市东风市场,去壳后洗净,将其水分沥干后用小袋分装(50 g),放置于-20 °C冰箱中备用。

动物蛋白酶(酶活100 U/mg)、菠萝蛋白酶(酶活300 U/mg)、中性蛋白酶(酶活100 U/mg)、木瓜蛋白酶(酶活800 U/mg)、复合蛋白酶(酶活150 U/mg):广西庞博生物工程有限公司;甲醇(色谱级);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

T18型高速分散机 德国艾卡仪器设备有限公司; Agilent 1200型半制备高效液相色谱仪 美国安捷伦公司;SA402B型电子舌 日本Insent公司。

1.3 实验方法

1.3.1 白贝肉酶解产物的制备

称取40 g原料,按料液比1:3(mg/mL)加去离子水打浆,以8 000 r/min均质2 min,调节pH后加入蛋白酶,确定酶解温度和时间;酶解完全后,沸水浴15 min,待其冷却至室温后,用高速离心机10 000 r/min离心15 min(4 °C),用纱布过滤后取上清液,于4 °C备用。

1.3.2 白贝肉水解蛋白酶的选择

选择动物蛋白酶、菠萝蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和复合蛋白酶5种蛋白酶分别对白贝肉进行酶解;按“1.3.1”调节各蛋白酶最适酶解温度和pH,控制加酶量为3 000 U/g,酶解时间为3 h,料液比为1:3,采用水解度(degree of hydrolysis, DH)作为测定指标,按水解度的高低筛选出最佳的水解蛋白酶。

1.3.3 白贝肉复合蛋白酶单因素实验

根据“1.3.2”选择水解度最高的复合蛋白酶进行单因素实验,探究其加酶量、料液比及酶解温度3个因素对白贝水解度的影响;设置料液比分别为1:2、1:3、1:4、1:5、1:6,酶解温度分别为40、45、50、55、60 °C,加酶量分别为2 000、3 000、4 000、5 000、6 000 U/g,控制酶解

pH 7.0 和酶解时间 3 h,以水解度作为指标,筛选出最佳条件。

1.3.4 响应面优化白贝肉酶解工艺

在单因素实验的基础上,根据 Box-Behnken 原理,设计温度、料液比、加酶量三因素三水平实验,见表 1。以白贝蛋白水解度为指标。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	因素		
	A 温度/℃	B 料液比	C 加酶量/(U/g)
-1	50	1:3	3 000
0	55	1:4	4 000
1	60	1:5	5 000

1.3.5 酶解时间对白贝肉酶解工艺的影响

在响应面优化的基础上,设置酶解时间分别为 1,2,3,4,5,6,7 h,酶解 pH 为 7.0,以水解度为指标,确定最佳酶解时间。

1.3.6 主要呈味物质测定

1.3.6.1 游离氨基酸测定

准确量取 1 mL 样品,加入 5 mL 质量分数为 10% 的三氯乙酸溶液,混匀后定容至 25 mL,静置 30 min 后取上清液。将上清液在 4 ℃ 下以 10 000 r/min 离心 20 min,用水相滤膜过滤后采用氨基酸自动分析仪对其进行分析测定。

1.3.6.2 呈味核苷酸测定

参考司蕊等的方法进行测定,取 0.30 g 样品溶解完全后定容至 10 mL,然后吸取 5 mL 溶液,向其中加入 30 mL 的冷高氯酸,振荡 5 min 后静置 30 s,用高速离心机以 8 000 r/min 离心 15 min 后取上清液;先用 KOH 调 pH 值至 6.50,放置于 4 ℃ 冰箱中静置 30 min 将钾盐沉淀完全,用超纯水将过滤后的上清液定容至 50 mL,用于 HPLC 分析。

HPLC 条件:色谱柱为 5C18-MS-II (4.60 mm×250 mm, 5 μm);柱温为 25 ℃;检测波长为 254 nm;流动相 A:0.05 mol/L KH_2PO_4 - K_2HPO_4 缓冲液,流动相 B:0.05 mol/L KH_2PO_4 - K_2HPO_4 缓冲液与甲醇的混合液,进样量为 20 μL;流速为 0.70 mL/min。

1.3.6.3 有机酸测定

参考饶梦微等^[12]的方法略作改动,取 30 mL pH 为 2.5 的 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液加入烧杯中,称取 3.00 g 样品加入其中并超声振荡 30 min 使其完全溶解,用高速离心机以 8 000 r/min 离心 15 min 后取上清液;沉淀,按上述步骤进行重复,将两次获得的上清液进行合并,用超纯水定容至 50 mL 容量瓶中用于 HPLC 分析。

HPLC 条件:色谱柱为 5C18-MS-II (4.60 mm×250 mm, 5 μm);柱温为 25 ℃;流动相:2% 的 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液;流速为 0.70 mL/min;进样量为 20 μL;检测波长为 205 nm。

1.3.6.4 甜菜碱测定

取 25 mL 超纯水,加入 10.00 g 样品,溶解完全后加入 150 mL 的乙醇溶液,溶液合并后放置于 4 ℃ 冰箱中冷藏一夜后,用高速离心机以 8 000 r/min 离心 15 min 后取上清液;沉淀,按上述步骤进行重复,将两次获得的上清液进行合并,浓缩定容后得到样品制备液,制备液中甜菜碱含量的测定参照黄丽贞^[13]的方法。

1.3.6.5 无机离子测定

Na^+ 、 K^+ 含量:参考 GB 5009.91-2017 中火焰原子吸收光谱法测定; Cl^- 含量:参考 GB 5009.44-2016 测定; PO_4^{3-} :参考 GB 5009.87-2016 测定。

1.3.6.6 滋味活性值(taste activity value, TAV)定义

呈味物质的浓度与其呈味阈值的比值用 TAV 表示,当 $\text{TAV}>1$ 时,说明该化合物对滋味有贡献^[14]。

1.3.6.7 电子舌测定

将 Insent 电子舌系统进行活化,加入水相过滤后的酶解液进行测定。以参比溶液作为对照,取 3 次测定结果,对酶解产物进行滋味分析。

1.4 数据处理

每组实验需要进行 3 组平行,实验数据以“平均值±标准差”表示,数据用 JMP Pro 14 软件进行分析,通过 Design-Expert 8.0.6 进行响应面优化设计,采用 Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 白贝肉水解蛋白酶的选择

酶具有高效性和专一性,不同蛋白酶的作用位点不同,导致对蛋白的水解能力也不同。木瓜蛋白酶可以用于香菇煮菇水,达到增鲜提味的作用^[15]。中性蛋白酶是一种既包含内切酶又包含外切酶的复合蛋白酶,可用于修饰豌豆蛋白液^[16-17]。菠萝蛋白酶可用于牛肉的嫩化^[18]。复合蛋白酶可对牡蛎中风味物质进行研究^[19]。

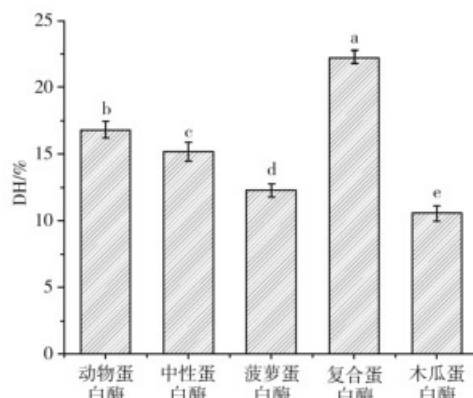


图 1 不同蛋白酶对白贝肉蛋白水解能力的影响

Fig. 1 Effects of different proteases on hydrolysis ability of *Monetaria moneta* protein

注:不同字母表示有显著性差异($P<0.05$),下图同。

由图 1 可知,不同蛋白酶的水解能力不同,复合蛋白酶的水解度较高,达到 22.20%,远高于其他 4 种酶

($P < 0.05$)。因此,选择复合蛋白酶进行后续研究。

2.2 复合蛋白酶解单因素实验结果

酶的催化能力随着条件的变化而变化,从温度、料液比及加酶量 3 个因素探讨复合蛋白酶对白贝水解能力的影响,见图 2。

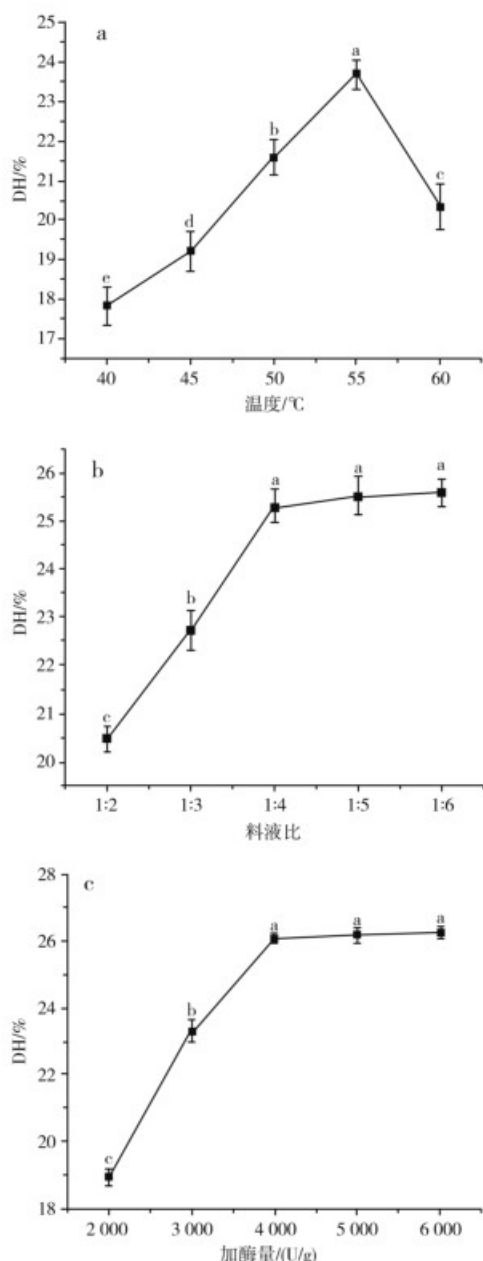


图 2 不同条件对白贝肉蛋白水解度的影响

Fig. 2 Effects of different conditions on the DH of *Monetaria moneta* protein

2.2.1 温度对白贝肉水解度的影响

蛋白酶对温度较为敏感,合适的温度会使蛋白酶的水解能力达到最大。由图 2 中 a 可知,蛋白酶水解能力先随温度的上升而增加,之后随着温度的上升反而减小,温度为 55 °C 时水解度值达到最高,为 23.70%,55~60 °C 之间水解度大幅降低;降幅相较前一个温度

跨度极为显著($P < 0.05$)。这是因为蛋白酶对温度变化敏感,低于最适温度时,未达到最佳酶活,水解度随着温度的上升而升高;高于最适温度时,酶活性降低或部分活性丧失,水解度也随之下降。因此,选择 55 °C 为优化中心点。

2.2.2 料液比对白贝肉水解度的影响

料液比的不同会导致溶质浓度的变化,因此选择合适的料液比能使酶与底物的接触更充分,反应更完全。由图 2 中 b 可知,水解度随着料液比的减小而增大,当料液比减小到 1:4 时,水解度达到 25.30%,之后虽然料液比继续减小,但水解度基本趋于稳定($P > 0.05$)。这可能是因为当料液比较大时,底物质量浓度也高,从而影响酶的扩散。同时,随着料液比的减小,底物浓度也随之降低,当酶与底物接触完全时,水解度也不会随着料液比的减小而大幅增加。同时结合用水等成本考虑,选择料液比 1:4 作为优化中心点。

2.2.3 加酶量对白贝肉水解度的影响

由图 2 中 c 可知,水解度随着加酶量的增加呈现先快速上升后逐渐平稳的趋势,当加酶量为 4 000 U/g 时,水解度达到 26.08%且与 6 000 U/g 加酶量的水解度之间差异性不显著($P > 0.05$)。这可能是因为随着加酶量的不断增加,底物与酶分子结合的可能性增大,反应速度加快。同时酶具有专一性,只会与特定的位点相结合,当底物反应完全时,水解度不会随着加酶量的增大而增大。因此,结合生产成本选择 4 000 U/g 作为响应面优化中心点。

2.3 白贝肉水解度响应面优化

Box-Behnken 响应面优化设计实验结果见表 2,回归模型分析结果见表 3。可以看出 DH 拟合模型的 F 值为 37.16,对应的 P 值 < 0.01 ,说明模型具有高度显著性,表明其拟合度良好,拟合方程可用于模拟分析^[20]。

表 2 响应面优化设计及结果

Table 2 Response surface optimization design and results

编号	因素			响应值
	A 温度/°C	B 料液比	C 加酶量/(U/g)	DH/%
1	50	1:5	4 000	26.69±1.22
2	55	1:5	5 000	34.32±1.12
3	55	1:4	4 000	32.51±0.87
4	55	1:3	5 000	25.02±1.02
5	55	1:4	4 000	32.68±0.55
6	50	1:4	3 000	22.64±0.82
7	60	1:4	5 000	34.07±0.74
8	55	1:4	4 000	33.88±0.82
9	50	1:4	5 000	26.54±0.94
10	55	1:3	3 000	24.28±1.12
11	60	1:3	4 000	28.55±0.62
12	55	1:5	3 000	26.45±0.83
13	60	1:4	3 000	32.81±0.62
14	55	1:4	4 000	32.98±0.95
15	60	1:5	4 000	31.79±0.57

续 表

编号	因素			响应值 DH/%
	A 温度/℃	B 料液比	C 加酶量/(U/g)	
16	55	1:4	4 000	33.87±0.86
17	50	1:3	4 000	20.05±1.21

通过 Design-Expert 8.0.6 得出水解度拟合方程为 $DH=33.18+3.91A+2.67B+1.72C-0.85AB-0.66AC+1.78BC-2.46A^2-3.96B^2-1.71C^2$ 。

表 3 DH 响应面二次模型方差分析

Table 3 Variance analysis of DH response surface quadratic model

方差来源	F 值	P 值	显著性
模型	37.16	<0.000 1	**
A	122.46	<0.000 1	**
B	56.98	<0.000 1	**
C	23.7	0.001	**
AB	2.89	0.099 4	—
AC	1.74	0.183 8	—
BC	12.71	0.005 3	**
A ²	25.44	0.000 8	**
B ²	65.89	<0.000 1	**
C ²	12.32	0.005 7	**
失拟项	3.05	0.154 5	—
R ²		0.983 5	
R _{Adj} ²		0.962 3	

注：“*”表示差异显著($P<0.05$)；“**”表示差异极显著($P<0.01$)；“—”表示差异不显著($P>0.05$)。

由表 3 可知,所选自变量对复合蛋白酶水解度的影响较大,由 F 值可知,温度对水解度的影响程度最大,其次是料液比,加酶量对水解度的影响最小,水解度模型拟合系数为 0.983 5,模型校正系数为 0.962 3,说明该模型的拟合度和可信度较高,可用于酶解条件的分析和预测。

2.4 不同酶解时间对水解度的影响

在响应面优化条件基础上,控制酶解 pH 相同,设置不同梯度酶解时间,探究其对水解度的影响,结果见图 3。

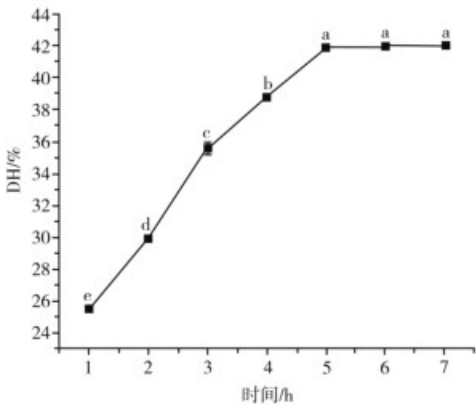


图 3 酶解时间对水解度的影响

Fig. 3 Effect of enzymolysis time on DH

由图 3 可知,水解度随着时间的增加呈现先快速增加后逐渐平缓的趋势,水解度在 5 h 时达到 42.46%后趋于稳定,与酶解 7 h 的水解度差异不显著($P>0.05$)。这是因为随着时间的增加,底物与酶的接触机会增大,水解度也增大;随着酶解时间的继续增加,底物被消耗完全,酶只会与特定位点结合,这些部位水解完全,水解度也不会增加。

2.5 白贝肉酶解产物主要呈味物质含量分析

2.5.1 游离氨基酸含量分析

表 4 白贝肉及其酶解物游离氨基酸含量(mg/100 g)和 TAV
Table 4 The content of free amino acids (mg/100 g) and TAV of *Monetaria moneta* and its enzymatic hydrolysates

呈味特征	成分	阈值	白贝匀浆	TAV	酶解物	TAV
鲜味	天冬氨酸(Asp)	1.00	0.63	0.63	2.04	2.04
	谷氨酸(Glu)	0.30	2.4	8	6.09	20.3
	总计		3.03		8.13	
甜味	苏氨酸(Thr)	2.60	1.1	0.42	3.91	1.5
	丝氨酸(Ser)	1.50	0.32	0.21	2.22	1.48
	甘氨酸(Gly)	1.30	2.3	1.77	2.96	2.28
	丙氨酸(Ala)	0.60	6.8	11.33	9.57	15.95
	脯氨酸(Pro)	3.00	0.72	0.24	1	0.33
	总计		11.24		19.66	
苦味	缬氨酸(Val)	0.40	1	2.5	3.7	9.25
	蛋氨酸(Met)	0.30	0.65	2.17	2.26	7.53
	苯丙氨酸(Phe)	0.90	1.1	1.22	3.83	4.26
	异亮氨酸(Ile)	0.90	0.77	0.86	3.52	3.91
	亮氨酸(Leu)	3.80	1.5	3.03	6.09	1.60
	赖氨酸(Lys)	0.50	1.4	2.8	4.78	9.56
	精氨酸(Arg)	0.50	1.7	3.4	5.22	10.44
	组氨酸(His)	0.20	0.41	2.05	1.3	6.5
	酪氨酸(Tyr)	—	1.1	—	3.26	—
	总计		9.63		33.96	
无味	胱氨酸(Cys)	—	0.03	—	0.61	—
总计			23.93		62.17	

注：“—”表示其阈值未见文献报道。

水产品中游离氨基酸有着重要的呈味作用,对其滋味有着巨大贡献。由表 4 可知,白贝匀浆和酶解液均分别检测出 17 种氨基酸。白贝匀浆中总游离氨基酸含量为 23.93 mg/100 g,甜味和鲜味氨基酸总含量占游离氨基酸总量的 59.63%,其中甜味氨基酸含量最高的是丙氨酸,占总量的 28.00%;鲜味氨基酸含量最高的是谷氨酸,占总量的 10.00%。酶解液中总游离氨基酸含量为 62.17 mg/100 g,甜味和鲜味氨基酸含量占游离氨基酸总量的 44.7%,其中甜味氨基酸含量最高的是丙氨酸,占总量的 15.39%;鲜味氨基酸含量最高的是谷氨酸,占总量的 9.8%。虽然酶解后鲜味和甜味氨基酸占比降低,但是鲜味氨基酸含量从 3.03 mg/100 g 上升到 8.13 mg/100 g,甜味氨基酸含量上升到 19.66 mg/100 g,说明酶解后不仅鲜、甜味氨基酸被释放,而且苦味氨基酸也被释放,酶解后可以增加风味,成为制备贝类风味基料的优质原料。

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。白贝匀浆中丙氨酸的 TAV 最高(11.33),其次为谷氨酸(8),说明丙氨酸和谷氨酸对白贝匀浆的鲜味、甜味具有巨大贡献。同时酶解液中所有游离氨基酸的 TAV 相对于酶解前都显著提升,其中 TAV 最高的为谷氨酸(20.3),其次为丙氨酸(15.95),说明酶解更有利于呈味物质的释放,从而提升滋味。饶梦微等对菲律宾蛤仔肉不同提取物游离氨基酸含量进行了研究,发现酶解提取物中 TAV 最高的分别为谷氨酸和丙氨酸;司蕊等对马氏珠母贝肉不同提取物游离氨基酸含量测定发现,新鲜酶解提取物中谷氨酸、精氨酸和丙氨酸的 TAV 最高,与本研究的结果一致。

2.5.2 核苷酸含量分析

核苷酸是一类风味增强剂,可以与其他呈味物质协同增鲜,对水产品的风味提升有巨大作用。其中 GMP、IMP 和 AMP 是主要呈鲜核苷酸^[21]。通过对鱼贝类的研究发现,ATP 的分解有两种途径^[22]:第一种途径是 ATP→ADP→AMP→IMP→HxR→Hx,第二种途径是 ATP→ADP→AMP→AdR→HxR→Hx。

表 5 白贝肉酶解产物呈鲜核苷酸含量(mg/100 g)及 TAV
Table 5 The content of umami nucleotides (mg/100 g) and TAV of *Monetaria moneta* enzymatic hydrolysates

成分	阈值	鲜味 PMWs	TAV	呈味特性
GMP	12.50	24.21±1.28	3.50	鲜味
IMP	25.00	66.39±3.40	1.52	鲜味
AMP	50.00	ND		鲜、甜味

由表 5 可知,酶解液中只检测出 GMP 和 IMP 两种核苷酸,未检测出 AMP。司蕊等对马氏珠母贝肉酶解产物的呈味核苷酸进行检测,未检测出 IMP,说明不同原料中呈味核苷酸种类未必相同。推断白贝 ATP 关联产物的主要降解途径可能主要以第一种为主;另外,可以推测出白贝酶解物中 AMP 含量低。鲜味核苷酸 GMP 和 IMP 的 TAV 都大于 1,其中 GMP 的 TAV 最大(3.50),可以推论其对酶解物的滋味贡献最大。饶梦微等对菲律宾蛤仔肉酶解后的呈味物质进行研究,发现 GMP 含量最高,与本研究结果一致。

2.5.3 有机酸、有机碱含量分析

琥珀酸是贝类中呈鲜的有机酸,主要由贝类的糖原及氨基酸的降解产生;乳酸是反映机体代谢的重要指标,对鲜味具有增强作用;甜菜碱具有爽快的鲜甜味,这些物质都对滋味有特殊贡献^[23]。

表 6 白贝肉酶解产物有机酸、有机碱含量(mg/100 g)及 TAV
Table 6 The content of organic acids, organic alkali (mg/100 g) and TAV of *Monetaria moneta* enzymatic hydrolysates

成分	呈味特征	阈值	鲜味 PMWs	TAV
乳酸	酸中带鲜	12.50	641.33±33.61 ^a	50.72

续 表

成分	呈味特征	阈值	鲜味 PMWs	TAV
琥珀酸	酸中带鲜	10.60	360.33±17.16 ^e	34.25
甜菜碱	甜	25.00	394.67±26.3 ^b	15.44

注:同行数据不同上标字母表示各样品间存在显著性差异($P<0.05$),下表同。

由表 6 可知,酶解液中检测出琥珀酸、乳酸和甜菜碱,且 TAV 均大于 1,说明对滋味都有贡献,其中乳酸的 TAV 最高(50.72),说明乳酸对酶解液的滋味贡献较大。钱建瑛等对文蛤酶解前后呈味物质进行分析,发现乳酸在有机酸含量中占比最高,这是文蛤味道鲜美的原因之一,与本研究的结果一致。

2.5.4 无机离子含量分析

无机离子是水产品中不可或缺的辅助呈味成分, Na^+ 对水产品中的鲜咸味具有增强作用, Cl^- 可以提高鲜甜味并抑制酸味, K^+ 可以提升鲜味和整体风味, PO_4^{3-} 的缺失会使整体味道下降。

表 7 白贝酶解产物无机离子含量(mg/100 g)及 TAV
Table 7 The content of inorganic ions (mg/100 g) and TAV of *Monetaria moneta* enzymatic hydrolysates

成分	呈味特征	阈值	鲜味 PMWs	TAV
Na^+	酸中带鲜	180	5 043.4±120.5 ^a	28.02
K^+	酸中带鲜	130	478.86±11.34 ^d	3.68
Cl^-	咸味	266	2 882.61±31.32 ^b	10.84
PO_4^{3-}	咸味	130	1 847.52±16.78 ^c	14.42

由表 7 可知,酶解液中检测出 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} ,且 TAV 均远大于 1,说明对滋味都有贡献,其中 Na^+ 的 TAV 最高(28.02),说明 Na^+ 对酶解液的滋味贡献较大。边昊等^[24]对鱼露发酵过程中的呈味物质进行研究,发现 Na^+ 是对其滋味贡献最大的无机离子,与本研究的结果一致。

2.6 电子舌滋味轮廓分析

电子舌检测可以对水产品进行整体轮廓分析,电子舌检测样品的味觉值通常以参比溶液(无味点)为对照。

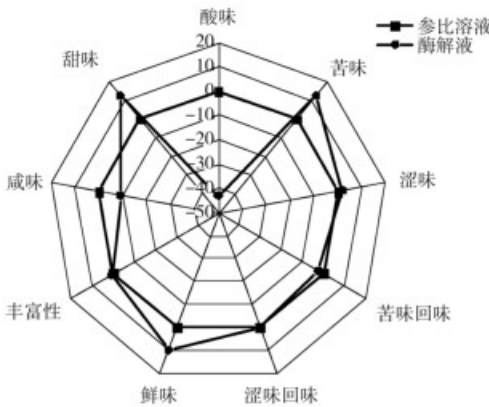


图 4 白贝肉酶解产物电子舌检测有效味觉指标雷达图
Fig. 4 Radar map of effective taste indexes of *Monetaria moneta* enzymatic hydrolysates detected by electronic tongue

由图4可知,酶解液中的酸味值、苦味回味值和咸味值均小于无味点(0),说明酶解液中无这3种滋味^[25]。酶解液中的甜味值最大(12.73),其次是苦味值(12.61)和鲜味值(9.87),说明其具有浓郁鲜甜的特点。甜味值最大,可能是因为酶解后甜味氨基酸得到大量释放,甜菜碱对酶解液的甜味贡献巨大;鲜味值含量较高,可以推断出是游离氨基酸、鲜味核苷酸、有机酸和无机离子共同作用的结果。步营等^[26]用高压辅助法酶解蓝蛤并对其进行滋味评价,电子舌分析表明,鲜味和苦味含量较高;饶梦微等对菲律宾蛤仔肉酶解后进行滋味分析,电子舌分析表明,甜味、鲜味和苦味含量较高,与本研究的结果一致。

3 结论

本研究通过酶解法制备白贝肉的酶解产物并优化其酶解工艺,最佳酶解工艺为:采用复合蛋白酶,加酶量4586 U/g、料液比1:4.4、酶解温度58℃,水解度达35.58%,且酶解5 h时水解度最高,达到42.46%。白贝肉的酶解产物中鲜味和甜味氨基酸总含量占游离氨基酸总量的44.70%,鲜味核苷酸、有机酸、甜菜碱、无机离子等呈鲜物质的TAV均大于1,说明这些物质对酶解产物中的鲜味具有较大贡献。电子舌味觉特征分析表明,酶解产物中鲜甜味和苦味特征明显。综上,白贝肉的酶解产物呈味物质丰富,具有较强的鲜甜味,可为白贝天然海鲜调味料的开发提供理论指导。

参考文献:

- [1]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.
- [2]章超桦,解万翠.水产风味化学[M].北京:中国轻工业出版社,2012.
- [3]KANI Y, YOSHIKAWA N, OKADA S, et al. Taste-active components in the mantle muscle of the oval squid *Sepioteuthis lessoniana* and their effects on squid taste[J]. Food Research International, 2008, 41(4):371-379.
- [4]崔妍春,张化贤,王爱辉,等.三种贝类蒸煮液主要滋味化合物的分析与比较[J].中国调味品,2022,47(1):1-7.
- [5]钱建琰,高原,陆震鸣,等.文蛤酶热处理后呈味物质分析及感官评价[J].食品科技,2016,41(10):106-112.
- [6]陈晓婷,吴靖娜,苏永昌,等.海鲜调味品的种类及研究进展[J].渔业研究,2018,40(2):163-168.
- [7]陈超,魏玉西,刘慧慧,等.贝类加工废弃物复合海鲜调味料的制备工艺[J].食品科学,2010,31(18):433-436.
- [8]张大为,张洁,田永航.白贝自然发酵调味液中乳酸菌的分离鉴定及生物学特性的研究[J].现代食品科技,2019,35(11):76-82.
- [9]张洁,张大为,田永航.白贝酶解调味液的研制[J].中国酿造,2019,38(9):177-181.
- [10]YUAN J, CHEN S X, WANG L P, et al. Preparation of purified fractions for polysaccharides from *Monetaria moneta* Linnaeus and comparison their characteristics and antioxidant activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108:342-349.
- [11]GUAN Z X, LIN Z D, MAI K C. *Monetaria moneta* as a novel β -nucleating agent for isotactic polypropylene[J]. Composites Science and Technology, 2013, 87:58-61.
- [12]饶梦微,章超桦,林海生,等.菲律宾蛤仔肉不同提取物呈味特性[J].广东海洋大学学报,2022,42(1):90-97.
- [13]黄丽贞.海产品中呈味成份甜菜碱的测定[J].上海海洋大学学报,1994(3):160-163.
- [14]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(7):1329-1336.
- [15]李顺峰,刘丽娜,王安健,等.香菇煮菇水木瓜蛋白酶酶解增鲜技术研究[J].食品与机械,2020,36(6):188-192.
- [16]郭永,张桢奇.中性蛋白酶修饰处理对豌豆分离蛋白凝胶性的影响[J].粮食与油脂,2021,34(9):147-150.
- [17]高雪琴,刘航江,张雨菁,等.三种蛋白酶复配对牛肉嫩化效果的影响[J].现代牧业,2022,6(1):19-24.
- [18]RYU T H, KIM J H, SHIN J Y, et al. Optimization of hydrolysis using oyster and oyster cooking drip[J]. Journal of Life Science, 2015, 25(7):795-800.
- [19]柏昌旺.可控酶解制备牡蛎短肽工艺及其产品开发[D].湛江:广东海洋大学,2019.
- [20]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.
- [21]YUE J, ZHANG Y F, JIN Y F, et al. Impact of high hydrostatic pressure on non-volatile and volatile compounds of squid muscles[J]. Food Chemistry, 2016, 194:12-19.
- [22]沈月新.水产食品学[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [23]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.
- [24]边昊,陈柏宇,杜金晶,等.罗非鱼加工副产物速酿鱼露发酵过程中呈味物质分析[J].食品与发酵工业,2020,46(13):255-261.
- [25]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.
- [26]步营,王飞,胡显杰,等.蓝蛤超高压辅助酶解工艺研究[J].中国调味品,2021,46(1):57-62.