

## 马氏珠母贝酶解产物品质改良工艺优化

陈柏宇<sup>1</sup>, 龚师芜<sup>1</sup>, 林海生<sup>1,2\*</sup>, 秦小明<sup>1,2</sup>, 饶梦微<sup>1</sup>, 伍彬<sup>1,2</sup>, 张静<sup>1,2</sup>, 陈文楚<sup>1</sup>, 张晨昕<sup>1</sup>, 李艺清<sup>1</sup>

(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:** 为了得到最佳酶解液呈味特性, 以马氏珠母贝酶解产物(EHP)为研究对象, 以感官评价、氨基酸态氮含量和挥发性物质为指标, 通过单因素试验优化品质改良工艺。结果显示, 原料经漂烫处理后, 制备的EHP经美拉德反应(蔗糖8%、温度100℃、30 min、pH 7)改良、酵母脱腥(添加量0.5%, 40℃, 60 min)和气味掩盖法(蒜、姜提取物添加量2%, 比例为1:3)等处理后得到改良后的酶解产物(I-EHP)。与改良前的酶解产物相比, 改良后的酶解产物感官评分由17分上升至19.4分, 氨基酸态氮由99 mg/100 g下降至74 mg/100 g, 游离氨基酸总量下降了49.85%, 但鲜味氨基酸增加了7.23%, 与电子舌结果相符; 气相色谱-质谱联用(GC-MS)结果表明, 改良后的酶解产物香气物质种类由72种升至99种, 与电子鼻结果相符。因此, 优化后的改良工艺有助于改善酶解产物品质。

**关键词:** 马氏珠母贝; 酶解产物; 挥发性风味; 品质指标; 改良工艺优化

中图分类号: TS254

文章编号: 0254-5071(2023)02-0095-07

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2023.02.016

引文格式: 陈柏宇, 龚师芜, 林海生, 等. 马氏珠母贝酶解产物品质改良工艺优化[J]. 中国酿造, 2023, 42(2): 95-101.

## Optimization of flavor improvement process of enzymatic hydrolysates of *Pinctada martensii*

CHEN Boyu<sup>1</sup>, GONG Shiyuan<sup>1</sup>, LIN Haisheng<sup>1,2\*</sup>, QIN Xiaoming<sup>1,2</sup>, RAO Mengwei<sup>1</sup>, WU Bin<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing<sup>1,2</sup>, CHEN Wenchu<sup>1</sup>, ZHANG Chenxin<sup>1</sup>, LI Yiqing<sup>1</sup>

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

**Abstract:** To obtain the optimal flavor characteristics of enzymatic hydrolysate, the enzymatic hydrolysate of *Pinctada martensii* (EHP) was prepared. Using sensory evaluation, amino acid nitrogen and volatile components as evaluation indexes, the quality improvement process was optimized by single factor experiments. The results showed that after blanching the raw materials, the prepared EHP was modified by Maillard reaction (sucrose 8%, temperature 100 °C, 30 min, pH 7), yeast deodorization (addition 0.5%, 40 °C, 60 min) and odor covering method (adding garlic and ginger extract, ratio 1:3, addition 2%), and the improved enzymatic hydrolysis product (I-EHP) was obtained. Compared with the EHP, the sensory score of the I-EHP was 19.4 points, and amino acid nitrogen decreased from 99 mg/100 g to 74 mg/100 g, the free amino acid decreased by 49.85%, but the umami amino acid content increased by 7.23%, which was consistent with the results of electronic tongue. The results of GC-MS showed that the aroma substances of the improved enzymatic hydrolysis products increased from 72 to 99, which was consistent with the results of electronic nose. Therefore, the optimized process was helpful to improve the flavor of the hydrolysate.

**Key words:** *Pinctada martensii*; enzymatic hydrolysate; flavor substance; quality index; improvement process optimization

马氏珠母贝主要分布于我国广东、广西和海南沿海地区, 目前采珠后剩余的贝肉大部分当作废弃物丢弃, 少部分被用作饲料或初加工后鲜销, 造成大量贝肉资源浪费<sup>[1]</sup>。马氏珠母贝肉营养丰富, 富含蛋白质和呈味氨基酸, 蛋白质经酶解后能够产生大量对人体有益的活性肽, 是开发天

然海鲜调味料的理想原料。目前, 国内已开展了许多相关马氏珠母贝的研究, 如挥发性风味物质<sup>[2]</sup>、营养组成<sup>[3]</sup>以及功能特性<sup>[4-9]</sup>等。

由于贝类酶解液腥味较浓苦味较重, 对海鲜调味料的开发与应用具有很大的限制。徐律等<sup>[6]</sup>采用活性炭联合安

收稿日期: 2022-06-30

修回日期: 2022-09-25

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金资助(CARS-49); 广东省现代农业产业技术体系创新团队项目(2021 KJ146); 广东海洋大学贝类高值化加工利用创新团队(CXTD2021004); 广东海洋大学博士启动项目(R17082); 广东海洋大学创新强校专项项目(Q18292); 2021年度省科技专项资金(“大专项+任务清单”)项目(2021A05197); 湛江市科技计划项目(2014C01019)

作者简介: 陈柏宇(2000-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品科学与工程。

\*通讯作者: 林海生(1985-), 男, 讲师, 博士, 研究方向为水产品高值化利用。



琪高活性酵母对菲律宾蛤仔酶解液进行脱腥,脱腥后酶解液基本没有腥味,脱腥液比较澄清。刘洪亮等<sup>[7]</sup>以贻贝为原料,利用3%茉莉花茶水和1%姜汁复合液,在温度40℃下反应100 min进行脱腥,并在此基础上进行调味工艺研究。袁林等<sup>[8]</sup>以牡蛎酶解产物为原料进行美拉德反应条件探讨,最佳条件为在初始pH 6.97、114.62℃下和质量比1:1的还原糖(木糖-葡萄糖质量比2:1)反应29.43 min,得到的美拉德产物具有贝香味、肉香味和海鲜味。而作为新型理想原料的马氏珠母贝,对其在风味改善研究几乎未有,具有很好的研究前景和意义。

本研究将通过多手段(漂烫、美拉德反应改良、酵母脱腥、气味掩盖处理)协同对马氏珠母贝酶解产物风味进行改善,并采用电子舌、电子鼻、游离氨基酸和挥发性物质测定,并辅以感官评价,来对比改善前后马氏珠母贝酶解物风味的变化,旨在为马氏珠母贝肉的开发利用及产业化提供一定的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*):湛江市雷州流沙湾养殖场,鲜活开壳取肉,于-80℃冷冻备用;动物蛋白酶(酶活 $1.0 \times 10^5$  U/g)、中性蛋白酶(酶活 $1.0 \times 10^5$  U/g):广西南宁庞博生物公司;葡萄糖、果糖、蔗糖(均为分析纯):常德比克曼生物科技有限公司;安琪高活性干酵母(食品级):安琪酵母股份有限公司;蒜、姜提取物(食品级,浓度1%):武汉冠赢生物科技有限公司;氢氧化钠、L-谷氨酸、茚三酮(均为分析纯):广东汕头西陇化工公司。

### 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;UV-2102PC型紫外分光光度计:尤尼克(上海)仪器有限公司;SA402B型电子舌:日本Insent公司;岛津TQ8050NX型气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)仪:南宁蓝天实验设备有限公司;PEN3型电子鼻:北京盈盛恒泰科技有限责任公司;2-16KL型台式冷冻高速离心机:北京东迅天地医疗仪器有限公司;T-18型均质机:上海楚柏实验室设备有限公司;N-1100V-W型旋转蒸发器:岐昱实业上海有限公司。

### 1.3 方 法

#### 1.3.1 马氏珠母贝酶解条件

参考司蕊等<sup>[2]</sup>的酶解方法,取新鲜马氏珠母贝肉,洗净沥干,按料液比1:3(g:mL)加水打浆、均质后,用0.5%氢氧化钠调pH至7.0;依次加入动物蛋白酶(加酶量为1 500 U/g,酶解2 h,酶解温度55℃)和中性蛋白酶(加酶量为1 500 U/g,酶解3 h,酶解温度55℃)进行分步复合酶解,酶解结束后100℃水浴灭酶10 min,迅速冷却至室温,4℃、8 000 r/min

离心20 min,过滤,取上清液,制得珍珠贝酶解产物(enzymatic hydrolysate of *Pinctada martensii*, EHP)。

#### 1.3.2 前处理方式对酶解效果的影响

马氏珠母贝肉先分成两份,分别采用热水漂烫处理(100℃、5 min)和不做任何处理,参照1.3.1的酶解方法和条件制得EHP,最终分别测定两种酶解产物的氨基酸态氮含量<sup>[9]</sup>,并进行感官评价及电子鼻和电子舌分析。

#### 1.3.3 不同糖对美拉德反应改良EHP品质的影响

参考张胜男等<sup>[10]</sup>的方法,探讨不同糖与EHP进行美拉德反应后感官、游离氨基酸态氮以及风味的变化。将上述1.3.1制好的EHP分成三份,分别加入8%的蔗糖、果糖和葡萄糖,用0.5%氢氧化钠调pH至7.0,100℃加热30 min,冰浴冷却至室温。4℃、8 000 r/min离心20 min,过滤取上清液,分别测定其氨基酸态氮含量,并进行感官评价及电子鼻和电子舌分析。

#### 1.3.4 酵母发酵顺序对美拉德发酵液风味的影响

(1)先美拉德后酵母组:参考徐律等<sup>[11]</sup>的方法,将酶解产物按照1.3.3进行美拉德反应后,接种0.5%的酵母在40℃发酵1 h;

(2)先酵母后美拉德组:将酶解产物接种0.5%的酵母,在40℃发酵1 h后,按照1.3.3进行美拉德反应。

两种不同方式获得的产物,4℃、8 000 r/min离心20 min,取上清液分别得到两种不同美拉德发酵液,分别测定氨基酸态氮含量,并进行感官评价及电子鼻和电子舌分析。

#### 1.3.5 气味掩盖法对EHP品质的影响

经漂烫后的马氏珠母贝肉匀浆,用0.5%氢氧化钠调pH为7.0,每个样品取30 g,分别在酶解前、美拉德反应前、酵母发酵前及发酵后,按照质量分数2%添加蒜、姜提取物(两者比例为1:1),50℃恒温加热10 min<sup>[12-13]</sup>,反应结束后分别在4℃条件下8 000 r/min离心20 min,取上清液。分别测定氨基酸态氮含量,并进行感官评价。

为进一步探讨不同蒜、姜提取物的最佳比例,酶解物经美拉德反应后,分别按照质量分数2%添加不同比例(质量比3:1、2:1、1:1、1:2、1:3)的蒜提取物与姜提取物,经酵母发酵后,4℃、8 000 r/min离心20 min,取上清液,分别测定氨基酸态氮含量,并进行感官评价及电子鼻和电子舌分析,从而确定最佳蒜、姜提取物的最佳比例。

#### 1.3.6 分析检测

##### (1)感官评价

参考饶梦微等<sup>[14]</sup>的方法,感官评定鉴评小组由10名评定员(系统学习过感官评定课程,有丰富的感官评定经验)。对酶解液的颜色、气味、滋味等进行综合评价,按等级进行打分评比。品评员漱口后,取待品评样品2~3 mL于口中,品评10 s后吐出,再漱口后取参比液品尝,具体感官评价标准见表1,最终评分为五项总和,满分为25分。

表1 酶解液感官评价标准  
Table 1 Sensory evaluation standards of enzymatic hydrolysates

评分	气味	滋味	色泽	澄清度	整体可接受度
5	香气浓郁,无不良气味	整体味道好,无腥苦味和异味	浅黄色	无杂质,澄清度高	高
4	有较浓郁的鲜香味,轻微腥味	整体味道较好,略有腥苦味轻微异味	黄色	杂质少,澄清度较好	较高
3	鲜香味较淡,腥味较浓	整体味道较好,略有腥苦味轻微异味	褐中带黄	澄清度一般	一般
2	鲜香味几乎没有,腥味明显	整体味道较好,略有腥苦味轻微异味	棕色	杂质较多,澄清度较差	较低
1	无鲜味,腥味浓	整体味道较好,略有腥苦味轻微异味	深褐色	几乎为杂质,澄清度差	低

### (2) 样品滋味电子舌测定<sup>[9]</sup>

电子舌系统由6个味觉传感器组成,分别是CA0(酸)、C00(苦)、AE1(涩)、AAE(鲜)、CTO(咸)及GL1(甜)。在每次检测前,需要待传感器完成自检,在参比溶液(0.30 mmol/L酒石酸和30.00 mmol/L氯化钾混合溶液)中进行活化,待信号稳定,则认为数据有效。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,以参比溶液和0.50 g/L谷氨酸钠溶液作为对照,运用系统自带程序对样品进行测定与分析。

### (3) 样品风味电子鼻测定<sup>[9]</sup>

取稀释50倍后的样液5 mL置于30 mL顶空瓶中,20~25 °C密封一段时间进行顶空气体生成,采用顶空抽样的方法进行取样并检测。电子鼻在取样的同时获取并记录数据,采样时间为120 s,采样结束后的数据点即为取样数据。采样后WinMuster软件自动控制对传感器阵列进行清洗,清洗时间为90 s,电子鼻各传感器特性:W1C(芳香气味);W5S(氮氧化合物);W3C(氨类);W6S(氢化物);W5C(烷烃芳香成分);W1S(甲烷气味);W1W(硫化物);W2S(醇类、醛酮类化合物);W2W(有机硫化物);W3S(烷烃)。

### (4) 游离氨基酸检测<sup>[10]</sup>

参考GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》进行测定。

### (5) 挥发性风味物质的测定

参照袁林等<sup>[7]</sup>的方法采用固相微萃取(solid-phase mi-

croextraction, SPME)提取样品中挥发性物质。固相萃取头预处理30 min后进行老化(250 °C)。稀释5倍后的样品置于顶空瓶,加入2 μL壬酸甲酯溶液(溶于正戊烷,质量分数为10 μg/g)进行定量,60 °C恒温萃取35 min。然后取出萃取头并直接插进气相色谱-质谱联用仪进行解吸和分析,解吸时间为5 min。参照张迪等<sup>[18]</sup>的方法对GC-MS条件进行设置。

GC条件:色谱柱为InertCap®Pure-WAX石英毛细柱(60 m×0.25 mm,0.25 μm);载气为氦气(He),流速1.0 mL/min,进样口温度250 °C,不分流模式SPME解吸5 min。升温程序:色谱柱起始柱温为40 °C,保持1 min,以3 °C/min的速率升至100 °C,保持5 min,然后以5 °C/min的速率升至230 °C,保持10 min。MS条件:电子电离(electronic ionization, EI)源;电子能量为70 eV;传输线温度为280 °C;离子源温度为230 °C;扫描范围20~350 m/z。

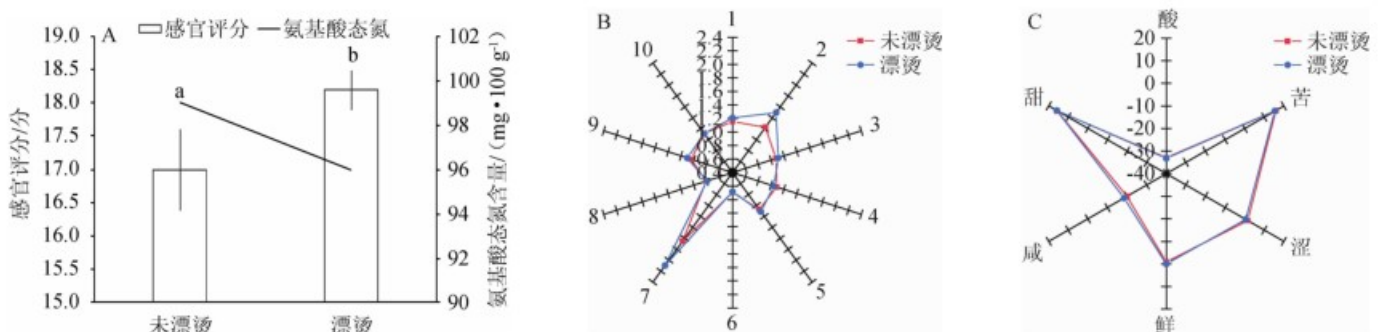
### 1.3.7 数据处理

采用SPSS 20.0软件对数据进行方差分析和显著性分析,实验结果利用Origin 8.0软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理方式对酶解液品质的影响

氨基酸态氮是以氨基酸形式存在的氮元素,而蛋白质在酶解等过程中生成短肽和氨基酸,可通过测定游离氨基酸态氮总量判断酶解物水解程度及反应变化。不同前处理方式对酶解液品质的影响结果见图1。



图A中不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。图B中1~10代表各传感器特性:1.芳香气味;2.氮氧化合物;3.氨类;4.氢化物;5.烷烃芳香成分;6.甲烷气味;7.硫化物;8.醇类、醛酮类化合物;9.有机硫化物;10.烷烃。下同。

图1 前处理方式对酶解液品质的影响

Fig. 1 Effect of pretreatment modes on the quality of enzymatic hydrolysates



由图1A可知,漂烫组的整体感官评分较高,能够降低氨基酸态氮含量。林海生等<sup>[19]</sup>在牡蛎酶解物制备时也发现加热会导致氨基酸态氮含量的下降,水产蛋白质结构中(肌球蛋白、肌动蛋白)含有较多的-SH基,热处理容易使松散的蛋白质肽链重新结合,最终导致氨基酸态氮有所降低。由图1B可知,与未漂烫相比,漂烫后再进行酶解制得酶解物中香气成分的含量有所不同,但是主要成分极为相似,其中氮氧化合物和硫化物两个传感器上的响应值尤为突出,其次芳香气味也略高于其他传感器的响应。表明漂烫后再进行酶解使得酶解物中具有较高的硫化物气体以及芳香物质。由图1C可知,滋味特性变化规律与相关报道结果一致,漂烫后进行酶解能够降低酶解产物的腥味即表面的三甲胺和土腥味<sup>[20]</sup>。因此,下一步研究采用漂烫对珍珠贝肉

前处理后开展美拉德反应工艺研究。

## 2.2 不同糖对酶解液品质的影响

不同糖对酶解液品质的影响见图2。由图2A可知,蔗糖处理酶解物的感官评分更佳,与其他糖之间有显著性差异( $P<0.05$ )。由图2B可知,蔗糖处理酶解物的综合效果更好,不良风味成分较少,W5S和W5C感受器反应尤为明显,说明不同糖类和蛋白质发生不同程度的美拉德反应,产生了醛类、酚等氮氧化合物以及硫化物。且蔗糖处理美拉德反应氨基酸态氮含量相对最低,与电子鼻分析结果相符。顾聆琳等<sup>[21]</sup>在探讨美拉德反应制备牡蛎调味料中,也得到相似结果。由图2C可知,不同糖处理的酶解液在滋味上没有显著差异。所以选择最佳糖类为蔗糖。

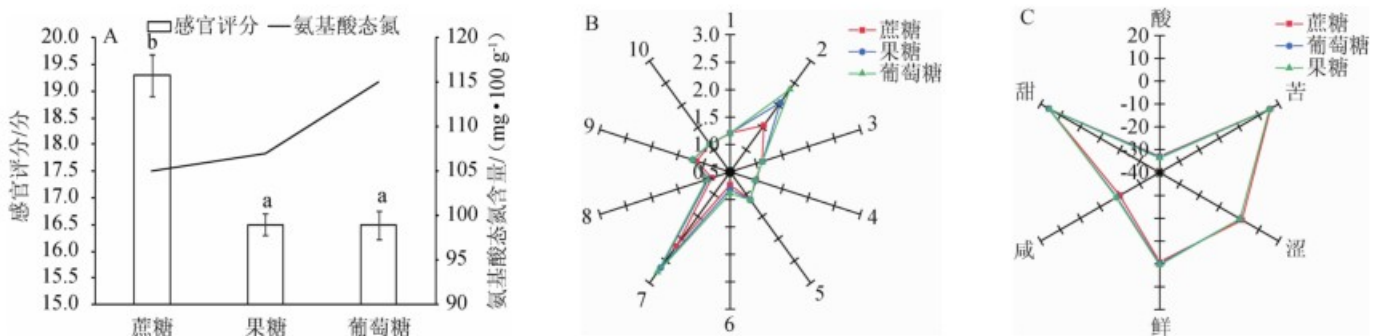


图2 不同糖对酶解液品质的影响

Fig. 2 Effect of different sugar on the quality of enzymatic hydrolysates

## 2.3 酵母发酵顺序对酶解液品质的影响

酵母添加顺序对酶解液品质的影响见图3。由图3A可知,美拉德反应前进行酵母发酵感官评分更高,而美拉德反应后进行酵母发酵氨基酸态氮含量更低,可能是在美拉德反应中,蛋白质等进一步降解生成小分子物质,有利于酵母生长。由图3B可知,电子鼻分析结果表明,先美拉德

反应后再进行酵母发酵能够提高酶解物风味,表现出较强的硫化物和醇香气味。由图3C可知,美拉德反应前进行酵母发酵的酸味、咸味、鲜味有所下降。综上,酶解液在美拉德反应后利于酵母生长,提高酶解物风味,因此本研究选择先美拉德反应后再进行酵母发酵。

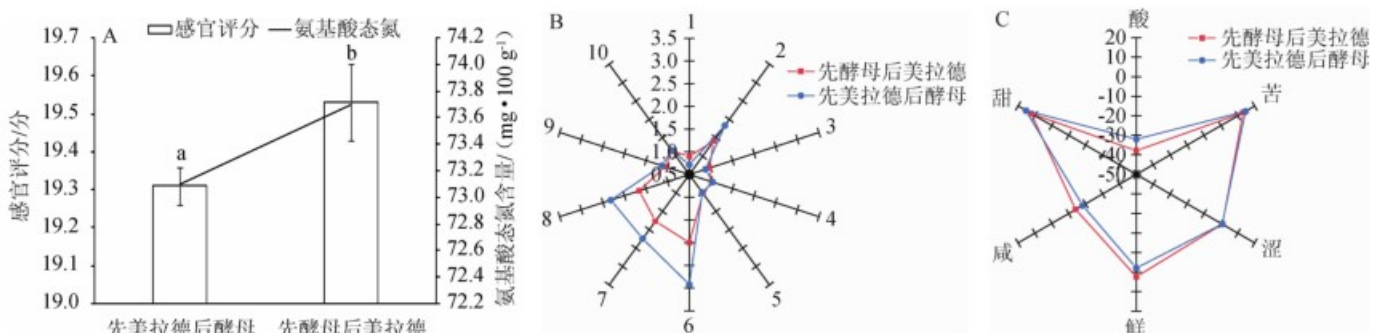


图3 酵母发酵顺序对酶解液品质的影响

Fig. 3 Effect of yeast fermentation sequence on the quality of enzymatic hydrolysates

## 2.4 蒜、姜提取物对酶解液品质的影响

### 2.4.1 蒜、姜提取物添加顺序对酶解液品质的影响

蒜、姜提取物(添加比例为1:1)添加次序对酶解物感官评分及氨基酸态氮含量的影响见图4。由图4可知,蒜、姜提

取物在美拉德反应前和酵母发酵前添加的整体评分最高,而两者相比,酵母发酵前添加蒜、姜提取物的氨基酸态氮含量更低,反应更充足,酶解液改良效果更优。且与其他组之间感官结果有显著性差异( $P<0.05$ )。因此采用酵母发酵

前添加蒜、姜提取物作为进一步探讨的阶段。

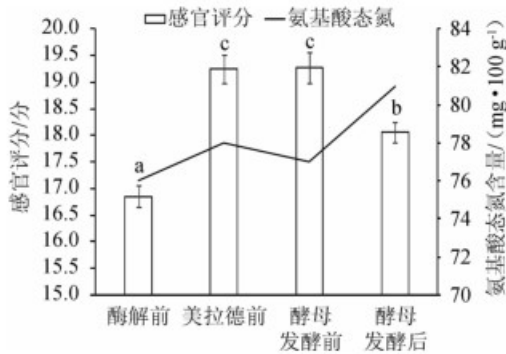


图4 蒜、姜提取物添加次序对酶解液感官评分及氨基酸态氮含量的影响  
Fig. 4 Effect of adding order of garlic and ginger extract on sensory score and amino acid nitrogen content of enzymatic hydrolysates

#### 2.4.2 蒜、姜提取物添加比例对酶解液品质的影响

复合掩盖物(蒜、姜提取物)添加比例对酶解液品质的影响见图5。由图5A可知,蒜、姜提取物添加比例为1:1及比例为1:3时,整体评分显著高于与其他组( $P < 0.05$ ),且比例为1:1时游离氨基酸态氮含量最高。由图5B可知,蒜、姜提取物添加比例为1:3能够提高酶解物风味,表现出较强的硫化物和醇香气味。硫化物阈值低,含多种不同风味,其内硫化物主要成分可能为三硫化物、二丙基二硫醚等<sup>[22]</sup>、半胱氨酸及蛋氨酸等反应物<sup>[23]</sup>,醇类物质主要来源于脂肪氧化分解以及糖、醛、氨基酸等物质的还原产物<sup>[24]</sup>。由图5C可知,不同蒜、姜提取物添加比例对滋味影响不显著。最终确定为蒜、姜提取物的添加比例为1:3。

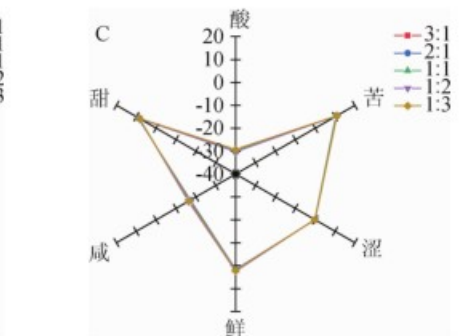
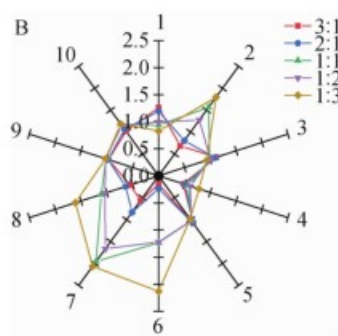
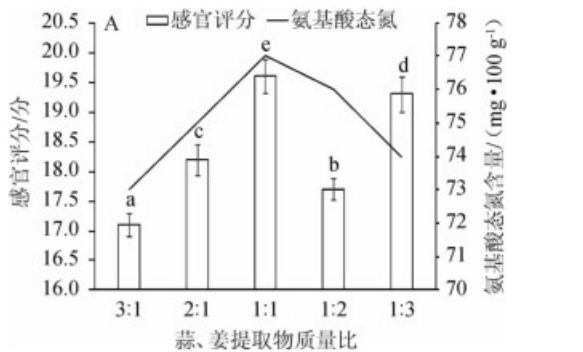


图5 蒜、姜提取物比例对酶解液品质的影响

Fig. 5 Effect of garlic and ginger extract proportion on the quality of enzymatic hydrolysates

### 2.5 改良工艺对酶解液品质的影响

#### 2.5.1 马氏珠母贝肉酶解产物(EHP)和改良酶解液(I-EHP)对比

EHP经过上述漂烫处理、美拉德反应、酵母发酵和掩盖法等多种方式协同处理的优化条件下,制得改良后的酶解产物(improved enzymatic hydrolysate, I-EHP),改良前后各指标测定结果见图6。由图6A可知, I-EHP感官评分由

17.0分上升至19.4分,氨基酸态氮含量由99 mg/100 g下降至74 mg/100 g。由图6B可知, I-EHP表现出较强的甲烷气味、醇香气味等,而芳香气味与硫化物弱于EHP。而电子舌分析结果显示I-EHP的酸、甜、苦、涩味都得到相对的改善,鲜味与EHP相比有提升。说明经过多种方式改良有助于改善酶解液的风味。

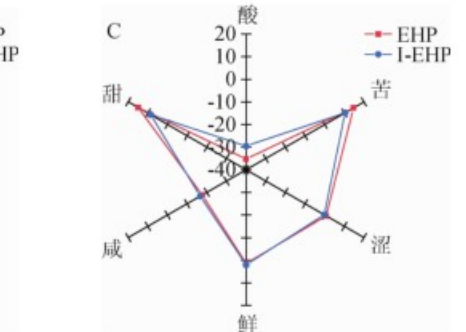
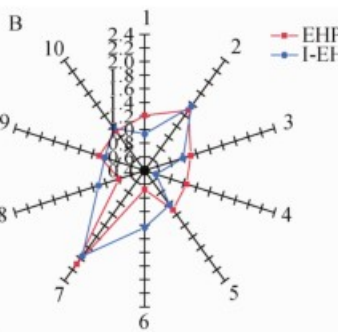
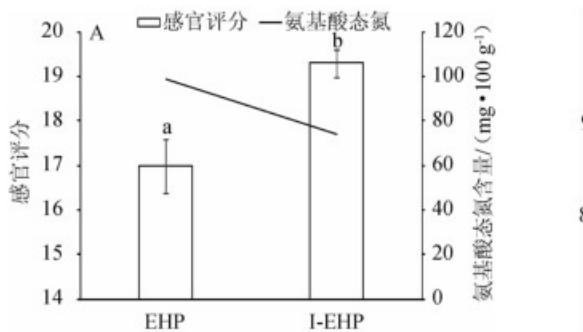


图6 多种方式协同改良对酶解液品质的影响

Fig. 6 Effect of multiple ways of synergistic improvement on the quality of enzymatic hydrolysate

#### 2.5.2 游离氨基酸含量

游离氨基酸是水产品重要呈味成分之一,其种类和含

量不仅直接影响人们对水产品美味的感受,也决定其营养价值,必需氨基酸是衡量其营养价值的指标之一<sup>[25]</sup>。在食



品中,各游离氨基酸具有独特的味道,其呈味特性是由各种氨基酸的含量、阈值或者与其他成分之间的相互作用所决定的。工艺改良前后酶解液中游离氨基酸的种类与含量见表2。

表2 改良前后酶解液中游离氨基酸含量对比

Table 2 Comparison of free amino acids contents in enzymatic hydrolysate before and after treatment

项目	EHP	I-EHP	呈味特性
Phe(苯丙氨酸)O	29.00	12.00	苦(-)
Arg(精氨酸) $\Delta$	19.75	7.13	甜·苦(+)
Tyr(酪氨酸)	13.25	6.38	苦(-)
Gly(甘氨酸) $\Delta$	12.75	4.13	甜
Lys(赖氨酸)O	12.25	5.25	甜·苦(-)
Glu(谷氨酸) $\Delta$	10.00	6.38	鲜
Leu(亮氨酸)O	7.75	6.75	苦(-)
Ala(丙氨酸) $\Delta$	4.75	3.53	甜
Val(缬氨酸)O	3.50	2.51	甜·苦(-)
His(组氨酸)	2.48	1.05	苦(-)
Asp(门冬氨酸) $\Delta$	2.25	1.24	甜·鲜
Ser(丝氨酸) $\Delta$	2.13	1.54	甜
Ile(异亮氨酸)O	2.10	1.84	苦(-)
Thr(苏氨酸)O	1.78	2.06	甜
Met(蛋氨酸)O	1.55	0.83	甜·苦(-)
Pro(脯氨酸) $\Delta$	1.08	0.75	甜·苦(+)
总计	126.37	63.37	
呈甜味氨基酸百分比/%	59.13	55.71	
呈苦味氨基酸百分比/%	19.76	15.95	
呈鲜味氨基酸百分比/%	21.11	28.34	

注：“ $\Delta$ ”为呈味氨基酸，“O”为必需氨基酸；“+”表示味道愉悦，“-”表示味道不好。

由表2可知,与EHP相比较,I-EHP总游离氨基酸含量减少,甜味和苦味氨基酸比例减少,鲜味氨基酸比例增加。高加龙等<sup>[20]</sup>研究发现,美拉德反应会使酶解液提高游离氨基酸含量,而奚宽鹏<sup>[27]</sup>研究发现,酵母发酵过程能够利用部分游离氨基酸作为氮源进行增殖,因此最终导致游离氨基酸含量下降。与该文上述“酵母发酵顺序对美拉德发酵液的影响”中先美拉德再酵母发酵导致游离氨基态氮含量下降的结果相一致(图3A)。

由表2可知,多种方式协同改良前后酶解液的主要呈味氨基酸的种类及含量也发生了变化。EHP的主要呈味氨基酸为苯丙氨酸、精氨酸、酪氨酸、甘氨酸,而I-EHP的主要呈味氨基酸为苯丙氨酸、精氨酸、亮氨酸、谷氨酸。处理后鲜味氨基酸比例有所上升,甜味和苦味氨基酸比例有所下降,呈味氨基酸总量下降。综上,结合EHP和I-EHP的呈味氨基酸含量及比例对比分析结果和感官评价结果,鲜味氨基酸比例上升是导致I-EHP感官评分较高的原因之一。

### 2.5.3 挥发性风味成分测定结果

马氏珠母贝酶解液经多手段协同改良前后,采用GC-MS对其挥发性香气成分进行测定,并结合质谱图库(SI $\geq$ 85)分析,改良前后酶解液中各类别挥发性香气成分测定结果见图7。

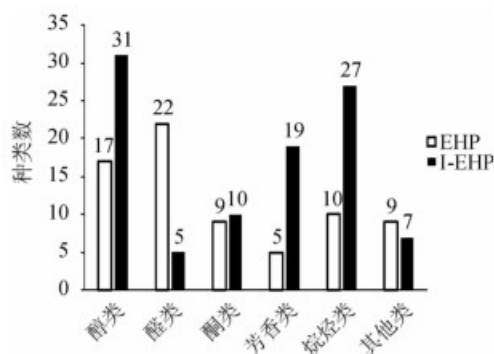


图7 改良前后酶解液中各类别挥发性香气成分数量的对比  
Fig. 7 Comparison of numbers of flavor components of enzymatic hydrolysate before and after treatment

由图7可知,EHP含有72种挥发性风味化合物,包括醛类、芳香族类、酮类、醇类、烷烃类和其他类化合物。I-EHP含有99种挥发性风味化合物,包括醛类、芳香族类、酮类、醇类、烷烃类和其他类化合物。EHP和I-EHP分别检测出22种和5种醛类物质。改良前后醛类物质减少的主要原因是蒸煮时温度升高加速脂肪的热降解和氧化从而产生醛类物质,而经过美拉德反应和酵母脱腥等步骤,高温及酵母发酵利用会导致醛类物质的种类减少。醛类物质的气味阈值非常低,对其他挥发性化合物产生非常重要同时也间接影响水产品的风味<sup>[28]</sup>;酮类物质主要由于不饱和脂肪酸的降解<sup>[29]</sup>,经过改良后,I-EHP种类略微增加;醇类物质种类大大增加,由17种升至31种,醇类多是脂质氧化降解的产物<sup>[30]</sup>,故推测其为产生变化的主要原因;烷烃类化合物主要来源于脂肪酸烷氧自由基的断裂和迁移,改良后得到的I-EHP的烷烃类化合物的种类大量增加,共检测出27种,但烷烃类化合物由于阈值高,对于风味的变化的影响很小<sup>[31]</sup>;芳香族化合物一般认为阈值较低,对风味贡献较大。其中杂环类化合物一般认为来自美拉德反应,这与马氏珠母贝酶解液的生产工艺有关,高温促成了这些化合物的形成<sup>[32]</sup>;改良处理后芳香族化合物由于美拉德反应中还原糖与氨基酸等作用,种类上升,共有19种。而其他化合物主要包括挥发性酸类、酯类、醚类、咪唑类、噻唑类、含氮氧化合物等。这些化合物在种类和含量较少,因此被归为一类。在改良处理后种类有所降低,可能某些成分进一步分解导致。

综上,经过多种方式协同改良后的马氏珠母贝酶解液的总体特征风味物质种类增加,含量显著上升,与电子鼻结果对比趋势相同。因此可以得出改良处理后可以改善酶

解物的腥味并产生独特风味,结合感官结果分析,可知酶解物的风味有所提高。

### 3 结论

研究表明,原料漂烫处理后,制备的珍珠贝酶解产物经美拉德反应改良(8%蔗糖、温度100℃、30 min)、酵母脱腥(添加量0.5%,40℃,60 min)和气味掩盖法(添加姜、蒜提取物,总量为酶解液的2%,蒜、姜提取物比例为1:3)处理后感官评分(19.4分)提高,氨基酸态氮含量(74 mg/100 g)下降,综合风味评价优于处理前的酶解液风味,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。经改良处理后,酶解液游离氨基酸含量总体下降,甜味和苦味游离氨基酸比例分别降低了3.42%和3.81%,鲜味游离氨基酸比例增加了7.23%。通过质谱库分析可知主要特征风味物质种类增加,含量显著上升,与电子鼻结果对比趋势相同。最后结合电子舌与感官评价结果,可以得出工艺处理后可以改善酶解物的腥味并产生独特风味,风味有所提高。本研究通过对马氏珠母贝海鲜酱的工艺优化及风味特性探究,为后续马氏珠母贝肉的开发利用及产业化提供理论依据。

### 参考文献:

- [1] 司蕊. 马氏珠母贝肉提取物呈味特性的比较研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021.
- [2] 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.
- [3] 刘晓月, 黄丽, 徐羽, 等. 马氏珠母贝综合利用的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(2): 200-204.
- [4] 郑惠娜, 章超桦, 吉宏武, 等. 马氏珠母贝高F值寡肽体外抗氧化研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(6): 63-66.
- [5] 郑惠娜, 章超桦, 吉宏武, 等. 马氏珠母贝高F值寡肽初步分离纯化及氨基酸组成分析[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(6): 47-50.
- [6] 徐律, 杨最素, 郁迪, 等. 菲律宾蛤仔酶解液脱腥工艺研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2014, 33(1): 79-84, 91.
- [7] 刘洪亮, 陈丽娇, 肖欣欣, 等. 即食贻贝脱腥及调味工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(12): 277-281.
- [8] 袁林, 查锋超, 姚焯, 等. 牡蛎酶解产物与还原糖美拉德反应工艺优化及挥发性风味物质分析[J]. 食品科学, 2015, 36(24): 1-9.
- [9] 张岩. 鲑鱼多肽的制备及其美拉德产物抗氧化活性研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.
- [10] 张胜男, 崔琦, 喻佩, 等. 海参肠酶解液美拉德反应增香工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 4944-4952.
- [11] 徐律, 杨最素, 郁迪, 等. 菲律宾蛤仔酶解液脱腥工艺研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2014, 33(1): 79-84, 91.
- [12] 吴静, 黄卉, 李来好, 等. HS-SPME-GC-MS分析大蒜水提取物对罗非鱼肉腥味的的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(14): 10.
- [13] 陈增鑫, 刘咏霖, 潘芸芸, 等. 不同脱腥方法对海参肠卵酶解液脱腥效果的比较[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 187-192.
- [14] 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.
- [15] 丁媛, 郑平安, 缪芳芳, 等. 电子鼻在8种贝类气味差异研究中的应用[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 353-355.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.124—2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [17] 袁林, 查锋超, 姚焯, 等. 牡蛎酶解产物与还原糖美拉德反应工艺优化及挥发性风味物质分析[J]. 食品科学, 2015, 36(24): 1-9.
- [18] 张迪, 吉宏武, 陈浩, 等. 脂质对凡纳滨对虾热风干制品香气特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 189-196.
- [19] 林海生, 曹文红, 章超桦, 等. 牡蛎蛋白酶解物的制备及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 163-168.
- [20] 董婧琪, 王圆圆, 闫保国, 等. 水产品腥味物质形成机理与脱腥技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(5): 189-194.
- [21] 顾聆琳. 牡蛎中风味物质的研究及调味料的制备[D]. 无锡: 江南大学, 2005.
- [22] 仪淑敏, 倪雪, 李强, 等. 洋葱、生姜和大蒜对鲢鱼鱼丸挥发性风味成分的影响[J]. 渤海大学学报(自然科学版), 2020, 41(3): 193-201.
- [23] 程玉娇, 李贵节, 翟雨淋, 等. 食品中挥发性硫化物的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(4): 229-235.
- [24] 关平房. 海产品加工副产物的生物转化工艺研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021.
- [25] 施文正, 方林, 吴旭干, 等. 我国沿海主要海域雌性三疣梭子蟹呈味成分含量的比较[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 127-133.
- [26] 高加龙, 沈建, 章超桦, 等. 美拉德反应对牡蛎酶解产物风味物质的影响[J]. 食品科技, 2015, 40(6): 169-174.
- [27] 奚宽鹏. 小麦面筋蛋白酶解物作为啤酒酵母氮源的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- [28] 王珏. 鲈鱼干制过程中营养和风味物质变化研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- [29] 王霞, 黄健, 侯云丹, 等. 电子鼻结合气相色谱-质谱联用技术分析黄鳍金枪鱼肉的挥发性成分[J]. 食品科学, 2012, 33(12): 268-272.
- [30] 吴燕燕, 曹松敏, 李来好, 等. 比较2种蓝圆鲹腌干工艺中脂质氧化与挥发性风味物质形成的关系[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 165-172.
- [31] 张迪. 美拉德反应改良南极磷虾酶解产物风味的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2017.
- [32] 杨雪娟, 李永歌, 许丽娟, 等. SPME-GC-MS联用技术分析酸水解玉米蛋白粉中的挥发性物质[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 176-180.