



食品研究与开发

Food Research and Development

ISSN 1005-6521, CN 12-1231/TS

《食品研究与开发》网络首发论文

题目： 海鲜菇美拉德肽的制备及其风味特性研究
作者： 林钦淋，黄焰峰，方焕新，林波月，缪松，林灼华，邓凯波
网络首发日期： 2023-11-23
引用格式： 林钦淋，黄焰峰，方焕新，林波月，缪松，林灼华，邓凯波. 海鲜菇美拉德肽的制备及其风味特性研究[J/OL]. 食品研究与开发.
<https://link.cnki.net/urlid/12.1231.ts.20231123.0934.002>



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。

海鲜菇美拉德肽的制备及其风味特性研究

林钦淋^{1,2,3}, 黄焰峰^{1,2,3}, 方焕新^{1,2,3}, 林波月^{1,2,3}, 缪松^{4,2}, 林灼华⁵, 邓凯波^{1,2,3*}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建 福州 350002; 2. 中国-爱尔兰国际合作食品物质学与结构设计研究中心, 福建 福州 350002; 3. 福建省特种淀粉品质科学与加工技术重点实验室, 福建 福州 350002; 4. 爱尔兰农业部 Teagasc 食品研究中心, 爱尔兰 科克 119634; 5. 庄臣酿酒(福建)有限公司, 福建 福州 350500)

摘 要: 以海鲜菇 (*Hypsizygus marmoreus*, *H. marmoreus*) 蛋白肽为原料, 采用响应面法分析优化海鲜菇美拉德肽制备工艺, 并通过褐变程度、产物分子量分布、感官评价、电子舌及超滤等特征性指标和评价手段, 明确美拉德反应对海鲜菇蛋白肽风味特性的影响。结果表明, 海鲜菇美拉德肽的最佳制备条件为: 葡萄糖与 D-木糖质量比 4:1, 反应温度 110°C 和反应时间 56 min。与海鲜菇蛋白肽相比, 制备的海鲜菇美拉德肽咸味强烈, 并伴有鲜味产生, 整体接受度好, 在 294 nm 和 420 nm 下吸光值显著增加, 并推测>180~500 Da 组分可能为美拉德反应的主要活性肽段。超滤结果表示, 海鲜菇美拉德肽呈咸鲜味的肽分子量主要集中在 500 Da 以下。本研究结果证明美拉德反应可有效提升海鲜菇蛋白肽的咸鲜味, 使其风味层次更加丰富, 为扩展可替代钠盐的新型食用菌调味领域的研究和应用提供了理论基础。

关键词: 美拉德反应产物; 分子量分布; 风味特性; 咸鲜味; 替代钠盐

Preparation and Flavor Characteristics of Maillard Reacted Peptides from *Hypsizygus marmoreus*

LIN Qinlin^{1,2,3}, HUANG Yanfeng^{1,2,3}, FANG Huanxin^{1,2,3}, LIN Boyue^{1,2,3}, MIAO Song^{4,2}, LIN Zhuohua⁵,
DENG Kaibo^{1,2,3*}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; 2. China-Ireland International Research Centre of Food Material Science and Structure Design, Fuzhou 350002, Fujian, China; 3. Fujian Provincial Key Laboratory of Quality Science and Processing Technology in Special Starch, Fuzhou 350002, Fujian, China; 4. Teagasc Food Research Centre, Agriculture and Food Development Authority of Ireland, Cork 119634, Ireland; 5. Jackson's Winery (Fujian) Co., Ltd, Fuzhou 350500, Fujian, China)

Abstract: The response surface method was used to optimize the preparation process of Maillard reacted peptides from *Hypsizygus marmoreus* peptides. The effects of Maillard reaction on the flavor characteristics of *H. marmoreus* peptides were evaluated based on the browning degree, molecular weight distribution of products,

基金项目: 福建省高校提升办学水平专项 (kjg19004A)

作者简介: 林钦淋 (1998—), 女 (汉), 硕士研究生, 研究方向: 食品加工技术。

*通信作者: 邓凯波 (1983—), 女 (汉), 副教授, 博士, 研究方向: 食品品质科学。

sensory quality score, and electronic tongue values. The results showed that the optimum preparation conditions of Maillard reacted peptides were as follows: reaction with glucose:D-xylose at a mass ratio of 4:1 and 110 °C for 56 min. Compared with *H. marmoreus* peptides, the prepared Maillard reacted peptides had a strong salty taste accompanied by umami, good overall acceptance, and increased absorbance values at 294 nm and 420 nm. The components with the molecular weights of 180–500 Da may be the main active peptides of the Maillard reaction. The results of ultrafiltration showed that the Maillard peptides with salty and umami tastes mainly had the molecular weights below 500 Da. The results proved that the Maillard reaction can improve the salty and umami tastes of the peptides from *H. marmoreus* and enrich the flavors, providing a theoretical basis for expanding the research and application of edible mushroom in flavoring that can replace sodium salt.

Key words: Maillard reaction products; molecular weight distribution; flavor characteristics; salty and umami tastes; sodium salt substitute

钠盐是饮食中不可缺少的调味品,但摄入过多会带来诸多健康问题^[1]。目前采用其他金属元素无机盐取代钠盐的减盐方式存在成本高、后苦味重等缺点,且较难被消费者广泛接受^[2]。咸味肽作为呈咸味的肽段,能够在一定程度上替代食盐用于食物烹调中,且可以较好地被人体吸收利用,开发与应用前景广阔^[3]。

食用菌来源广泛,营养丰富,风味独特,其中海鲜菇含有丰富的呈味氨基酸,是制备咸味肽的良好潜在原料;食用菌作为新型食品调味料的相关研究和应用,也是当前食品加工领域热点之一。研究表明,蛋白在酶解过程中会诱导产生以疏水氨基酸为主的苦味肽,影响酶解液的风味特性,限制其在食品中的应用^[4]。这种问题在小麦^[5]和大豆^[6]等作物蛋白水解时均存在,其原因可能涉及蛋白酶作用过程中蛋白水解度不断增大,苦味肽含量成倍数增长,使产物苦味变重,因而限制了其进一步应用。

美拉德反应是一种加热条件下氨基和羧基之间的非酶促褐变反应,植物蛋白肽的美拉德反应产物具有增强咸味、鲜味并减少苦味的能力^[7],生成的美拉德反应产物,通常可作为咸味和咸味增强剂。Abdelhedi^[8]等研究了超声预处理对前鳍星鲨低分子量肽与蔗糖诱导的美拉德反应演化的影响,结果表明美拉德反应减少了苦味,增强了所得偶联物的抗氧化能力。Fu^[9]等通过美拉德反应对双酶切制备的猪肌肉和血浆蛋白水解物进行肽糖基化,降低了酶解液的苦味。Zhang^[10]等也发现美拉德反应有效降低了牛肉蛋白水解产物的苦味,这可能是由于糖基化肽的亲电性增加。除了上述作用外,美拉德肽的形成以及美拉德反应的修饰与天然蛋白水解物相比具有更显著的咸味、鲜味。

此外,美拉德反应还有助于改善蛋白肽的其他风味特性。Yu^[11]等在对草鱼皮胶原进行酶解和超滤后开展氨基葡萄糖诱导的美拉德反应,结果表明,美拉德肽表现出明显的咸味增强作用。Wei^[12]等发现由葵花蛋白水解物和木糖产生的美拉德多肽除呈现出较好的醇厚味、鲜味外,还呈现出肉的风味。

因此,美拉德反应也被认为是增加肽咸鲜味的可行方法^[13],但其对食用菌蛋白酶解肽在风味特性方面的研究目前还未见相关报道。本研究以海鲜菇蛋白肽为原料,采用响应面法优化海鲜菇美拉德肽的最佳制

备工艺，并通过褐变程度、产物分子量分布、感官评价、电子舌和超滤等指标和评价手段，明确美拉德反应对海鲜菇蛋白肽特征性风味的影响，为扩展可替代钠盐的新型食用菌调味领域的研究和应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

海鲜菇干品：福建神农菇业有限公司；葡萄糖、D-木糖（均为食品级）：河南万邦化工科技有限公司。

1.2 仪器与设备

FDU-1200 型冷冻干燥机：东京理化公司；Avanti J-E 型多用途高效离心机：美国 Beckman Coulter 公司；SHA-C 型数显水浴恒温振荡器：常州国华电器有限公司；FA2104 型电子天平：天津方瑞仪器生产有限公司；EUTECH pH700 型 pH 计：美国赛默飞世尔有限公司；SA402B 型电子舌：日本 Insent 公司；DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器：上海力辰科技有限公司；Waters 600 高效液相色谱仪：美国 Waters 公司；超滤离心管：山东博纳生物科技集团有限公司。

1.3 方法

1.3.1 海鲜菇蛋白肽酶解液的制备

海鲜菇蛋白质提取依据张京涛^[14]的方法并经适当修改。3 g 海鲜菇粉加入含 150 mL 蒸馏水的烧杯中，充分搅拌并调整 pH 值至 5.0，添加 3%纤维素酶，磁力搅拌 2 min 后置于 55 °C 水浴锅中酶解 2 h。随后 80 °C 灭酶 10 min，用 1 mol/L NaOH 溶液调整 pH 值至 11.8，55 °C 碱提 1.5 h。然后，浸提液以 4 000 r/min 离心 15 min，保留上清液。将沉淀复提一次后，汇集提取液，用 0.1 mol/L HCl 溶液调 pH 值至等电点（3.4），静置 1 h，4 000 r/min 离心 10 min 得到蛋白质沉淀，脱盐，调节溶液至中性后，经冷冻干燥获得海鲜菇蛋白粉（蛋白质含量为 27.1%）。

海鲜菇蛋白酶解液制备参考余敏^[15]的方法并经适当修改。取适量海鲜菇蛋白粉，控制料水比为 1:20（g/mL）制备成悬浮液，80 °C 热处理 20 min 后冷却至室温，调节 pH 值为 9.96。然后先后添加 0.8%碱性蛋白酶于 50.2 °C 酶解 2.5 h，及调节 pH 值为 7 后添加 0.77%风味蛋白酶于 49.6 °C 酶解 2 h。酶解结束后，水解液在 100 °C 下加热灭酶 10 min，7 000 r/min 离心 15 min，上清液即为海鲜菇蛋白肽酶解液。

1.3.2 海鲜菇美拉德肽制备工艺响应面优化设计

海鲜菇美拉德肽制备参照张历^[16]的方法并适当修改。将海鲜菇蛋白肽酶解液减压浓缩至原体积的 1/2，分别探讨美拉德反应的反应时间（0.5~2.5 h）、反应温度（90~130 °C）和葡萄糖与 D-木糖质量比的添加比例（5:0~0:5，总添加量固定为 2.5 g/100 mL 酶解液）等 3 个单因素对美拉德反应产物的 pH 值和感官评价的影响。然后，在单因素试验的基础上，以美拉德反应产物的感官评分为响应值，设计三因素三水平的响应面分试验，其因素水平及编码见表 1。

表 1 美拉德反应制备海鲜菇蛋白肽工艺优化的响应面设计

Table 1 Response surface design for optimization of the preparation process of Maillard reacted peptides from *Hypsizygus marmoreus*

因素	水平		
	葡萄糖与 D-木糖质量比	反应时间/h	反应温度/℃
-1	5:0	0.5	100
0	4:1	1.0	110
1	3:2	1.5	120

1.3.3 褐变程度测定

将美拉德反应液稀释 100 倍，以蒸馏水为参比，分别测定其在 294 nm 和 420 nm 波长下的吸光值^[17]，以美拉德反应前的海鲜菇蛋白肽作对照。

1.3.4 多肽分子量分布测定

参照严方等^[2]的方法并适当修改：通过凝胶渗透色谱法（gel permeation chromatography, GPC）测定，高效液相色谱仪配 2487 紫外检测器和 Empower 工作站，以及 TSK gel 2000 SW_{XL} 色谱柱（30 cm×7.8 mm×5 μm）。设定柱温 30 ℃，检测波长 220 nm，流速 0.5 mL/min；流动相：乙腈/水/三氟乙酸（40/60/0.1，体积比）。标准曲线采用以下标准品分析绘制：细胞色素 C(MW12384)、抑肽酶(MW6500)、杆菌肽(MW1422)、四肽 GGYR（MW451）和三肽 GGG（MW189）。

1.3.5 海鲜菇美拉德肽感官评价

参照杨文君等^[18]的方法并适当修改。由 20 名具有丰富感官评价经验人员（22~30 岁）组成的感官评定小组，分别对海鲜菇蛋白肽和美拉德肽的咸味、鲜味、苦味、甜味和异味等五种风味进行描述性评价。各风味的对照溶液分别为 0.4%NaCl、0.3%MSG、0.03%盐酸奎宁、1%蔗糖和美拉德反应前的海鲜菇蛋白肽。采用 7 分评价法，分值越高表明该项指标效果越强，反之表明该指标效果越弱，对照溶液均设定为 4 分。根据各风味在美拉德产物风味中的重要性赋予权重计算总分，分别为咸味 0.4、鲜味 0.3、甜味-0.1、苦味-0.1 和异味-0.1。重复评定 3 次，以平均值为样品最终得分结果。每次品尝后，用白面包清口、水漱口。

1.3.6 电子舌测定

将制备的海鲜菇蛋白肽和美拉德肽溶液分别置于电子舌专用测量杯中，采用 C00、AE1、CA0、CT0、AAE、GL1、BT0 共 7 个传感器（见表 2），传感器经活化和校正后，进行常温下检测。每个样品检测时间为 30 s，两个样品之间电子舌清洁时间为 5 min。所有的样品均测试 3 次取平均值。

表 2 传感器与味觉值的匹配信息

Table 2 Matching information between sensors and taste values

传感器	对应的味觉	味觉信息	
		先味	回味
C00	酸性苦味	苦味	酸性苦味回味
AE1	涩味	涩味	涩味回味
CA0	酸味	酸味	×
CT0	咸味	咸味	×
AAE	鲜味	鲜味	丰富度
GL1	甜味	甜味	×
BT0	碱基盐类苦味	×	碱基盐类苦味回味

注：“×”表示样品无此味觉信息。

1.3.7 超滤分离

结合分子量分布结论，选取海鲜菇美拉德反应的主要活性肽段为研究对象，并参考李晓明^[19]并做适当修改：先用 0.45 μm 有机滤膜对样品溶液预过滤，然后采用截留分子质量为 500 Da 的超滤离心管收集<500 Da 和 500~2000 Da 组分，滤液冷冻干燥后进行各超滤组分的感官评价。

1.3.8 超滤组分咸味阈值、增咸阈值测定及风味描述

采用与之前相同的感官评价小组，参考李晓明^[19]的试验方法并做适当修改：采用三角试验法^[20]，将各超滤组分配制为 5 mg/mL 起始溶液，然后以体积比 1:1 的比例梯度稀释并一次性提供给感官评价员，评价员按照按浓度由高到低的顺序依次评价，直至无法识别出溶液咸味为止，将倒数第 2 个溶液的质量浓度值记为各组分的咸味阈值。同时，将浓度逐渐增大的各超滤组分分别加入到 1 mg/mL NaCl 溶液中混匀并一次性提供给感官评价员，评价员按照浓度由低到高的顺序依次评价，以可感知咸味值增加的组分的质量浓度作为肽液的增咸阈值。此外，每个评价人员要描述各组分的肽溶液在 NaCl 水溶液中的感官特性。

感官特性评价^[21]：分别用超纯水和 1 mg/mL NaCl 溶液将各超滤组分配制成终浓度为 5 mg/mL 的溶液，并一次性提供给感官评价员，评价员分别对样品的咸味、鲜味、苦味、甜味和异味 5 种风味进行描述性评价，以区分各组分之间的风味差异。

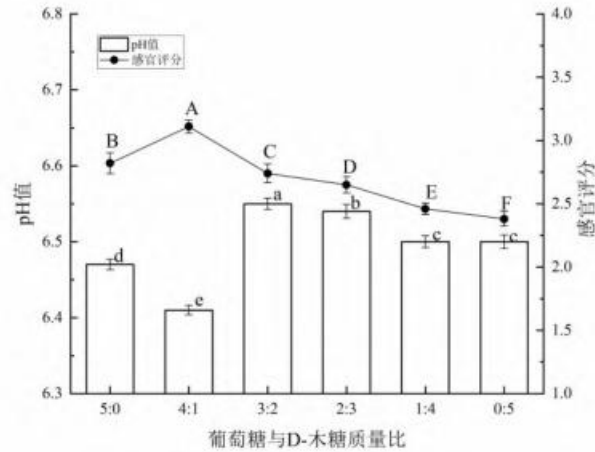
1.4 数据分析

采用 SPSS 和 Origin 2022 进行数据分析和绘图，Design-Expert 软件中的 Box-Behnken 进行试验设计。利用单因素方差分析进行差异性比较， $P<0.05$ 表示显著差异， $P<0.01$ 表示极显著差异。

2 结果与分析

2.1 还原糖添加比例的选择

糖的种类是影响美拉德反应极其重要的因素^[16]。葡萄糖与 D-木糖添加比例对海鲜菇美拉德肽 pH 值和感官评分的影响如图 1 所示。



不同大写字母表示 pH 值间差异显著，不同小写字母表示感官评分间差异显著 ($P<0.05$)。

图 1 葡萄糖与 D-木糖质量比添加比例对海鲜菇美拉德肽 pH 值和感官评分的影响

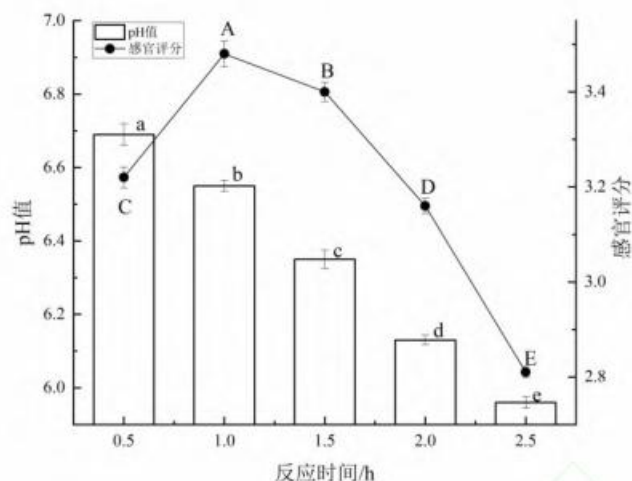
Fig. 1 Effects of mass ratio of glucose to D-xylose on pH and sensory score of Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

由图 1 可知，随着 D-木糖比例增大，pH 值呈先下降后上升的趋势，这是因为醛糖和酮糖在美拉德反应中的代谢途径不同。醛糖主要经 Amadori 重排形成 Amadori 重排产物；而酮糖则主要经 Heyns 重排形成 Heyns 重排产物。一般醛糖在美拉德反应中的反应速率大于酮糖^[22]。因此在葡萄糖（醛糖）与 D-木糖（酮糖）质量比为 4:1 时可能达到了平衡，此时 pH 值最低为 6.41，此后随着葡萄糖比例继续降低，反应速率逐渐减慢。

仅添加葡萄糖时（葡萄糖:D-木糖质量比为 5:0）感官评分较低，此时美拉德肽溶液呈现出明显的异味，咸味不突出，这可能是因为葡萄糖本身甜度较低，对产物的咸味影响很小^[22]。在葡萄糖:D-木糖质量比=4:1 时感官评分达到最高，此时的美拉德肽溶液咸鲜味较为突出，异味较淡，无苦味。而当 D-木糖比例逐渐升高，焦糖化反应加剧，产物颜色向黑褐色转变，并产生焦糊味，呈现出过甜、苦涩的风味，使得咸味不突出，整体风味被破坏。因此选择葡萄糖:D-木糖质量比为 5:0、4:1 和 3:2 进行后续优化试验。

2.2 反应时间的选择

美拉德反应的时间长短可显著影响美拉德产物的生成量和产品品质。图 2 反映了美拉德反应产物的 pH 值和感官评分随反应时间变化的趋势。



不同大写字母表示 pH 值间差异显著，不同小写字母表示感官评分间差异显著 ($P<0.05$)。

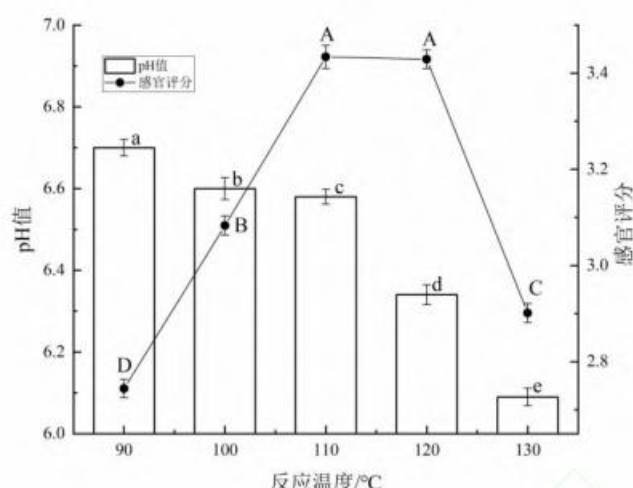
图 2 反应时间对海鲜菇美拉德肽 pH 值和感官评分的影响

Fig. 2 Effects of reaction time on pH and sensory score of Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

由图 2 可见，pH 值随反应时间的延长快速下降 ($P<0.05$)，这是因为在美拉德反应过程中，氨基残基数量会不断减少，并生成一系列有机酸（如甲酸、乙酸和苯甲酸等）^[23]。另外，在反应 0~1.0 h，感官评分随反应时间的延长而增加，这是由于美拉德反应可生成呋喃、吡嗪、含硫化合物和一些小分子呈味肽和呈味氨基酸^[15]，美拉德肽溶液咸鲜味较为突出，苦味、甜味不明显；反应 1.0 h 后，感官评分急剧下降 ($P<0.05$)，美拉德肽溶液呈现出明显的苦味，并伴涩味，甜味突出，咸味感知减弱。这是因为美拉德反应后期生产一些具有刺激性风味的恶唑、噻唑和强烈苦味的大分子聚合物及苦味氨基酸^[24]。因此选择 0.5、1.0、1.5 h 进行后续优化试验。

2.3 反应温度的选择

研究显示，反应温度越高，美拉德反应速率加快。图 3 反映了反应温度对海鲜菇美拉德肽 pH 值和感官评分的影响。



不同大写字母表示 pH 值间差异显著，不同小写字母表示感官评分间差异显著 ($p<0.05$)。

图 3 反应温度对海鲜菇美拉德肽 pH 值和感官评分的影响

Fig.3 Effects of reaction temperature on pH and sensory score of Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

如图 3 所示，体系 pH 值随反应温度升高而显著降低 ($P<0.05$)，这是因为高温美拉德反应剧烈，利于有机酸的生成，pH 值下降幅度较大^[25]。感官评分则随反应温度升高呈先升高后降低趋势。当温度小于 120 °C 时，升高反应温度有利于苦味氨基酸与还原糖的交联反应，减低反应产物的苦味，促进咸鲜风味的生成^[15]；而当反应温度超过 120 °C 时，体系易产生有害物质——丙烯酰胺，且反应温度越高生成量越多^[25]，使美拉德肽溶液苦味明显。因此选择反应温度为 100、110、120 °C 进行后续优化试验。

2.4 海鲜菇美拉德肽响应面法最佳制备工艺优化

海鲜菇美拉德肽制备工艺响应面试验结果见表 3、方差分析见表 4。

表 3 海鲜菇美拉德肽制备工艺 Box-Behnken Design 试验设计及结果

Table 3 Box-Behnken design for the preparation of Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

A 葡萄糖与 D-木糖质量比	B 反应时间/h	C 反应温度/°C	Y 感官评分
5:0	0.5	110	2.75
3:2	0.5	110	2.80
5:0	1.5	110	2.66
3:2	1.5	110	2.60
5:0	1.0	100	2.68
3:2	1.0	100	2.65
5:0	1.0	120	2.69
3:2	1.0	120	2.81

4:1	0.5	100	2.88
4:1	1.5	100	2.76
4:1	0.5	120	2.98
4:1	1.5	120	2.79
4:1	1.0	110	3.45
4:1	1.0	110	3.44
4:1	1.0	110	3.45
4:1	1.0	110	3.45
4:1	1.0	110	3.43

表 4 回归方程方差分析

Table 4 Analysis of variance of the regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>p</i> 值	显著性
模型	1.8	9	0.2	770.41	<0.000 1	**
A-葡萄糖与 D-木糖质量比	0.000 8	1	0.000 8	3.08	0.122 9	
B-反应时间	0.045	1	0.045	173	<0.000 1	**
C-反应温度	0.011	1	0.011	43.25	0.000 3	**
AB	0.003 025	1	0.003 025	11.63	0.011 3	*
AC	0.005 625	1	0.005 625	21.63	0.002 3	**
BC	0.001 225	1	0.001 225	4.71	0.066 6	
A ²	0.83	1	0.83	3 178.88	<0.000 1	**
B ²	0.37	1	0.37	1 438.94	<0.000 1	**
C ²	0.36	1	0.36	1 391.08	<0.000 1	**
残差	0.001 821	7	0.000 260 1			
失拟项	0.001 5	3	0.000 5	6.23	0.0547	不显著
净误差	0.000 320 8	4	0.000 080 2			
总误差	1.81	16				

注: *表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$)。

采用 Box-Behnken 试验设计得到葡萄糖与 D-木糖质量比 (*A*)、反应时间 (*B*) 和反应温度 (*C*) 与响应值感官评分 (*Y*) 的关系结果如表 3 所示。经二次多元回归拟合获得方程为 $Y=3.44+0.01A-0.075B+0.038C-0.028AB+0.038AC-0.017BC-0.44A^2-0.3B^2-0.29C^2$ 。

由表 4 可知, 方程 *p* 值 <0.000 1, 说明该方程极显著。模型失拟项 $0.054\ 7>0.05$, 不显著。确定系数 $R^2=0.999\ 0$, $R^2_{Adj}=0.997\ 7$, 表示模型拟合良好, 可信度高。各因素对海鲜菇美拉德风味影响的大小为 *B* (反应时间) > *C* (反应温度) > *A* (还原糖添加比例)。一次项 *B*、*C*, 二次项 *A*²、*B*²、*C*² 和交互项 *AC* 对美拉德风味的影响极显著 ($P<0.01$); 交互项 *AB* 作用显著 ($P<0.05$), 交互项 *BC* 作用不显著 ($P>0.05$)。

交互作用对海鲜菇美拉德肽风味影响的响应面和等高线分析结果见图 4。

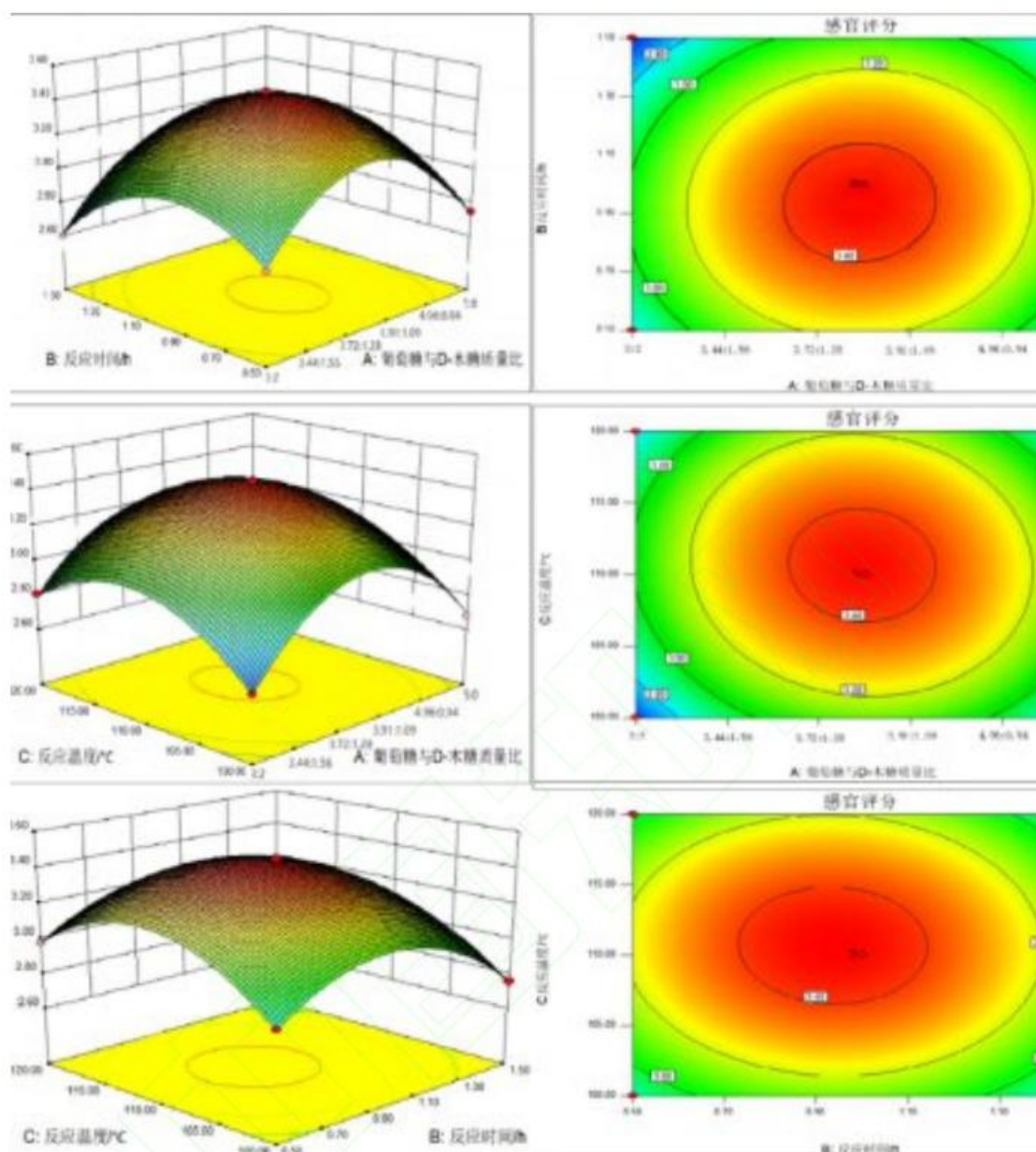


图 4 交互作用对海鲜菇美拉德肽风味影响的响应面和等高线分析

Fig.4 Response surface and contour plots of the effects of interactions between factors on the sensory score of Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

从图 4 也可以看出，交互作用 AC 曲面最陡，交互作用影响极显著，其次为 AB，而 BC 的曲面陡峭程度较小；从等高线图中可以看出，交互作用 AC、AB 的等高线最扁，交互作用 BC 的等高线最趋近于圆形。由此可见，各因素对美拉德肽风味的影响不是简单的线性关系。

2.5 海鲜菇蛋白美拉德肽制备工艺最佳条件的确定和验证

由 Design-Expert 8.0.6 软件进行数据分析可得，海鲜菇美拉德肽的最佳制备工艺为：葡萄糖与 D-木糖质量比 4:1，反应时间 56.4 min 和反应温度 110.68 °C，此时感官评分为 3.450 01。考虑到实际操作过程的可行性与方便性，调整配方工艺为葡萄糖与 D-木糖质量比 4:1，反应温度 110 °C 和反应时间 56 min。经 3 次验证其感官评分均值为 3.43，与预测值非常接近，且 pH 值为 6.55，验证了所建模型的准确性。

2.6 美拉德反应对海鲜菇蛋白肽褐变程度的影响

美拉德反应对海鲜菇蛋白肽褐变程度的影响见图 5。

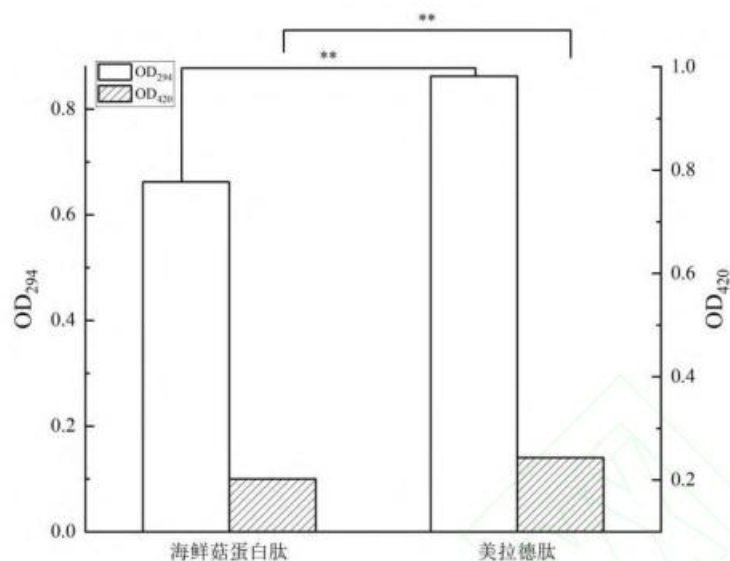
**表示数据差异极显著 ($P<0.01$)。

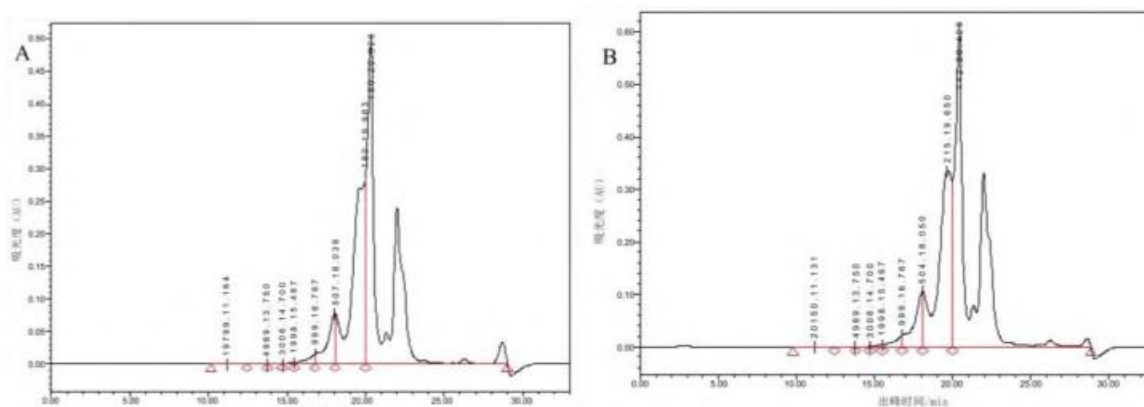
图5 海鲜菇蛋白肽和美拉德肽的褐变程度

Fig.5 Comparison on browning degree of *H. marmoreus* peptides before and after Maillard reaction

褐色的类黑素是美拉德反应的重要产物,褐变程度是衡量美拉德反应进度的最重要的指标之一^[17]。在美拉德反应中,前期生成的无色中间化合物可导致 294 nm 下吸光值增加,而应后期形成的黑色素等大分子物质则会造成 420 nm 下吸光值显著增加^[15]。本研究中的海鲜菇蛋白肽经美拉德反应后,两个波长的吸光值均呈极显著增加趋势($P<0.01$) (图 5),说明美拉德反应中间化合物有助于提高后续类黑素的生成,体系中的还原糖与肽之间的反应活性增加,加速了美拉德褐色产物的累积,导致褐变程度增加。

2.7 美拉德反应对海鲜菇蛋白肽分子量分布的影响

美拉德反应对海鲜菇蛋白肽分子量分布的影响见图6。



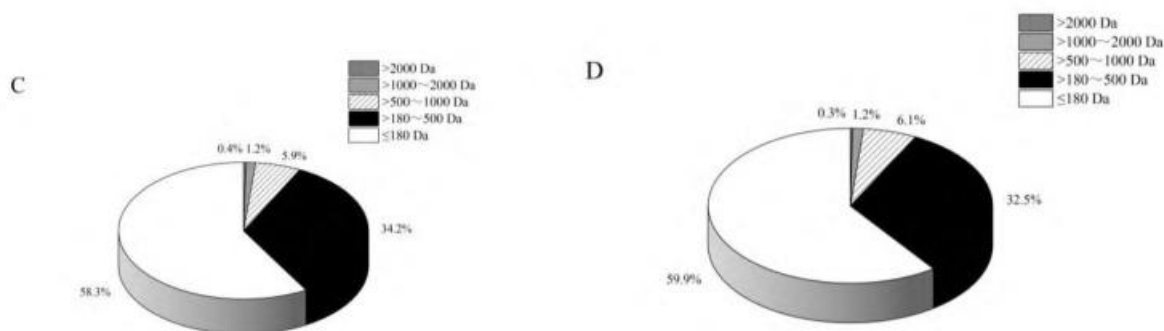


图6 海鲜菇蛋白肽与美拉德肽分子量分布情况

Fig.6 Molecular weight distribution of peptides and Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

采用 GPC 法测定海鲜菇蛋白肽和美拉德肽的分子量分布如图 6 (A、B) 所示。根据不同分子量肽段对美拉德反应的贡献，将其分为 ≤ 180 、 $>180\sim 500$ 、 $>500\sim 1\,000$ 、 $>1\,000\sim 2\,000$ 及 $>2\,000$ Da 等五个肽段范围，各个肽段的含量占整个海鲜菇蛋白肽和美拉德肽的中比例如图 6 (C、D) 所示。相较于酶解后得到的一系列小分子肽，美拉德反应后，相对分子质量 ≤ 180 Da 和 >500 Da 组分占比增大，而 $>180\sim 500$ Da 组分占比减小。

肽在美拉德反应过程中存在 2 种转化方式：一是肽直接参与美拉德反应生成产物；二是通过热降解形成小分子肽，这些小分子肽再参加美拉德反应生成产物；且肽和小分子肽之间也会通过降解或交联作用在美拉德反应中同时发生，形成相对动态平衡^[26-27]。并且美拉德反应后， $>180\sim 500$ Da 组分含量明显下降，说明此组分在美拉德反应中被消耗，因此推测 $>180\sim 500$ Da 组分应为美拉德肽生成过程主要反应肽段。这与严方^[22]和刘平^[25]的研究结果一致。Liu 等^[28]研究了热处理对木糖和鸡肉肽美拉德反应产生风味的影响，结果表明 200~500 Da 的肽将是该交联反应的主要参与者。而在鸡肉蛋白研究中发现，可能直接参与美拉德反应的主要肽段则为 2800~3500 Da^[29]，这说明美拉德反应的最佳肽段可能存在原料差异性。

2.8 美拉德反应对海鲜菇蛋白肽感官风味特征的影响

美拉德反应对海鲜菇蛋白肽感官风味特征的影响见表 5。

表 5 海鲜菇蛋白肽与美拉德肽的感官风味特征评分对比

Table 5 Sensory score comparison of the tastes of peptides and Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

组别	咸味	鲜味	甜味	苦味	异味	总分
海鲜菇蛋白肽	2.24 ^a	0.78 ^a	0 ^b	0 ^a	-0.4 ^a	2.62 ^a
海鲜菇美拉德肽	2.59 ^b	1.26 ^b	-0.27 ^a	0 ^a	-0.15 ^b	3.43 ^b

注：不同小写英文字母表示感官评分差异显著 ($P<0.05$)

美拉德反应对海鲜菇蛋白肽感官风味特征可产生较显著影响。由表 5 可知，与未发生美拉德反应的蛋

白肽溶液相比，美拉德肽溶液咸味和鲜味评分显著增高（ $P<0.05$ ），说明其具有更强烈的咸味，并伴有鲜味产生。同时，美拉德反应后肽液的异味有所减弱，且未产生额外苦味。此外，由于美拉德反应还原糖底物的加入，使产物的甜味评分有所增加，但由于其增幅不大且有咸鲜味加成，故海鲜菇美拉德肽的整体评分更高，接受度更好，口感更丰富。

2.9 美拉德反应对海鲜菇蛋白肽电子舌风味特征的影响

美拉德反应对海鲜菇蛋白肽电子舌风味特征的影响见图 7。

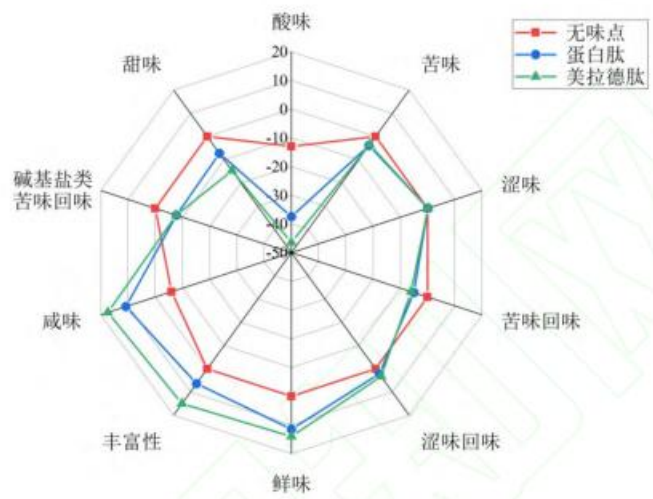


图 7 海鲜菇蛋白肽和美拉德肽电子舌结果雷达图

Fig.7 Electronic tongue radar map of peptides and Maillard reacted peptides from *H. marmoreus*

用电子舌进一步评价了肽和美拉德肽之间的味觉特性差异，从图 7 可以看出，经过美拉德反应后，咸味、鲜味和丰富味传感器信号明显升高，说明美拉德反应可有效提升海鲜菇蛋白肽的咸鲜味，风味层次更加丰富；苦味、涩味、酸味和甜味等传感器信号明显下降，说明原蛋白肽中的异味经美拉德反应后明显减少。此外，肽和美拉德肽的咸味和鲜味均优于电子舌无味点，苦味甜味均低于无味点，这与感官评分一致。

采用主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）进一步分析美拉德反应前后海鲜菇蛋白肽不同的口感特征，如图 8 所示。

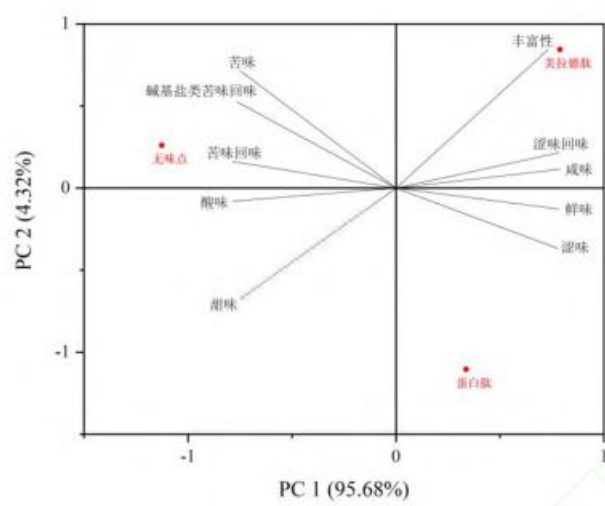


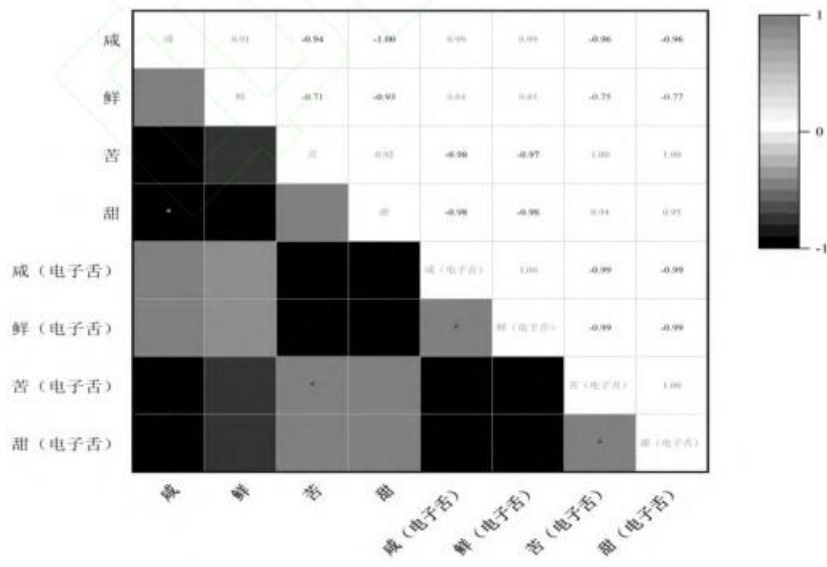
图 8 海鲜菇蛋白肽和美拉德肽电子舌结果主成分分析图

Fig.8 Principal component analysis plot of electronic tongue results for peptides (A) and Maillard reacted peptides (B) from *H. marmoreus*

PC1 和 PC2 两个主成分的累积贡献率为 100%，说明前两个主成分间独立性较强，并已包含全部信息。蛋白肽和美拉德肽与电子舌的咸味、鲜味和丰富性高度相关，其中美拉德肽较蛋白肽更靠近咸味和鲜味，说明美拉德反应具有增强原蛋白肽咸鲜味，减少苦味的作用。

2.10 电子舌与感官评分相关性分析

基于电子舌信号与感官评价两种技术对样品鲜、咸、苦、甜等四种风味特征的结果，对其进行 Pearson 相关性分析，如图 9 所示。



*表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 9 电子舌与感官评价结果的相关性分析

Fig.9 Correlations between the results of electronic tongue and sensory evaluation

结果表明，海鲜菇蛋白肽和美拉德肽四种风味的电子舌传感器信号与感官评分呈高度正相关关系，表明两种评价手段对海鲜菇蛋白肽类物质的风味判定结果相对一致，电子舌数据合理可靠。同时也表明电子舌可作为一种有效判别蛋白肽和美拉德肽滋味的技术，该应用也同样在香菇特征风味和相关化合物的比较研究^[30]以及乳蛋白水解物苦味筛选研究^[31]中得到了证实。邴芳玲^[32]等曾利用这两种评价手段探究 5 种食用菌的鲜味，结果显示电子舌与感官评分规律相同，可以利用电子舌仪器来预判感官评分。而本研究中对食用菌在鲜、咸、苦、甜等四种风味特征相关性的综合评价和分析，使电子舌技术对目前感官评价存在的耗时长、易疲惫及处理量小^[33]等问题，提供了一种科学可行的补充替代方案。因此，将电子舌与感官评分两种方法相结合将有助于更加科学有效地评价海鲜菇美拉德肽的风味特征。

2.11 海鲜菇美拉德肽超滤分级组分的感官分析

海鲜菇美拉德肽超滤分级组分的感官分析见表 6。

表 6 各超滤组分咸味阈值、增咸阈值和风味描述

Table 6 Saltiness threshold, saltiness enhancement threshold and flavor description for each ultrafiltration

component				
组别	咸味阈值 (mg/mL)	增咸阈值 (mg/mL)	肽+水溶液风味描述	肽+NaCl 溶液风味描述
海鲜菇美拉德肽	2.500±0.150 ^c	×	咸味不突出，鲜味突出， 滞留度较高	咸味不突出，鲜味更加 浓烈，略有异味
500-2000 Da 组分	1.250±0.130 ^b	×	咸鲜味不突出，略有苦味	咸鲜味均不突出，略有 涩味
<500 Da 组分	0.625±0.088 ^a	1.625±0.075	无苦味，鲜味甜味较突 出，咸味较淡	咸鲜味略有增加，口感 较丰富

注：“×”表示未尝出，不同小写英文字母表示感官评分差异显著（ $P<0.05$ ）

膜超滤是一种利用膜两侧的压力差值，在混合液料通过不同孔径的超滤膜时，对混合料液进行分子量截留，并筛选分离的物理分离过程^[34]，由于其高通量的分离效率及温和的分离条件，因此广泛地用于蛋白质、肽类物质以及热敏性原料的分离纯化^[35]。根据郑莹莹^[36]、温青玉等^[37]的研究结论显示，小分子肽段显示出更加强烈的咸鲜风味特征，并结合海鲜菇美拉德肽分子量分析结果，以 500 Da 超滤膜对其进行分级分离，获得<500 Da 和 500~2 000 Da 两个组分。

由表 6 可知，随着对美拉德肽溶液的逐步分离，各超滤组分的咸味阈值逐渐降低，这是由于相比于经超滤分离后的组分，美拉德肽溶液组成更复杂，体系中多种风味成分共存可能导致一定程度的风味掩盖或风味增强效应^[38]。而<500 Da 的增咸阈值可测，可显著提升原有咸味感知，且在水中和 NaCl 溶液中的风味

明显优于美拉德肽溶液和 500~2 000 Da 组分。此结果表明海鲜菇美拉德肽呈咸鲜味的肽分子量主要集中在 <500 Da 以下, 这与张顺亮的研究结论一致^[39]。同时, 结合 >180~500 Da 组分应为美拉德肽生成过程主要反应肽段的结果, 也证明了本研究中的美拉德反应是提高海鲜菇蛋白肽咸味水平的关键步骤之一, 由此反应生成的小分子量美拉德肽也是构成海鲜菇美拉德肽咸鲜味感知的重要组分。

3 结论

本研究以海鲜菇蛋白肽为原料, 采用响应面法优化制备了具有特色咸鲜风味的海鲜菇美拉德肽。最佳制备工艺条件为葡萄糖:D-木糖质量比为 4:1、反应温度 110 °C、反应时间 56 min。海鲜菇美拉德肽褐变程度显著增强, 咸鲜味突出, 无苦味, 异味减弱, 口感丰富, 整体接受度较好。其中, >180~500 Da 组分推测为美拉德反应的主要活性肽段。电子舌技术与感官评分在其鲜、咸、苦、甜的综合风味评价方面呈高度正相关, 可在食用菌风味评价中互为补充。超滤结果表明, 海鲜菇美拉德肽呈咸鲜味的肽分子量主要集中在 <500 Da 以下。本研究可为扩展可替代钠盐的新型食用菌调味领域的研究和应用提供理论基础。

参考文献

- [1] VAN HORN L. Dietary sodium and blood pressure: How low should we go?[J]. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 2015, 58(1): 61-68.
- [2] 严方, 于静洋, 崔和平, 等. 减盐增鲜的豌豆肽美拉德反应产物制备及其风味分析[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(3): 37-45.
- YAN Fang, YU Jingyang, CUI Heping, et al. Preparation and flavor analysis of Maillard reaction products with SaltReducing and umami-enhancing effect derived from pea protein hydrolysates[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2022, 41(3): 37-45.
- [3] 李迎楠, 刘文营, 张顺亮, 等. 牛骨咸味肽氨基酸分析及在模拟加工条件下功能稳定性分析[J]. *肉类研究*, 2016, 30(1): 11-14.
- LI Yingnan, LIU Wenying, ZHANG Shunliang, et al. Amino acid composition and stability analysis of salty peptides derived from bovine bone under simulated processing conditions[J]. *Meat Research*, 2016, 30(1): 11-14.
- [4] 周雪. 减盐增鲜豌豆肽美拉德中间体制备及加工风味受控形成[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- ZHOU Xue. Preparation of Maillard intermediate for reducing salt and freshening pea peptide and controlled formation of processing flavor[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [5] 刘伯业. 小麦蛋白低苦味肽的制备及其脱苦机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- LIU (Bai|Bo)(Ye). Preparation of low bitterness peptide from wheat protein and study on its bitterness removal mechanism[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [6] 黄磊, 周其洋. 大豆水解蛋白中苦味肽的研究进展[J]. *现代食品*, 2022, 28(21): 22-24.

- HUANG Lei, ZHOU Qiyang. Research progress of bitter peptides in hydrolysed soybean protein[J]. Modern Food, 2022, 28(21): 22-24.
- [7]ZHOU X, CUI H P, ZHANG Q, et al. Taste improvement of Maillard reaction intermediates derived from enzymatic hydrolysates of pea protein[J]. Food Research International, 2021,140: 109985.
- [8] ABDELHEDI O, MORA L, JEMIL I, et al. Effect of ultrasound pretreatment and Maillard reaction on structure and antioxidant properties of ultrafiltrated smooth-hound viscera proteins-sucrose conjugates[J]. Food Chemistry, 2017, 230: 507-515.
- [9]FU Y, LIU J, ZHANG W, et al. Exopeptidase treatment combined with Maillard reaction modification of protein hydrolysates derived from porcine muscle and plasma: Structure - taste relationship[J]. Food Chemistry, 2020, 306: 125613.
- [10] ZHANG C L, ALASHI A M, SINGH N, et al. Glycated beef protein hydrolysates as sources of bitter taste modifiers[J]. Nutrients, 2019, 11(9): 2166.
- [11] YU B B, WU W, WANG B, et al. Maillard-reacted peptides from glucosamine-induced glycation exhibit a pronounced salt taste-enhancing effect[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131776.
- [12] WEI C K, THAKUR K, LIU D H, et al. Enzymatic hydrolysis of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) protein and sensory characterization of Maillard reaction products[J]. Food Chemistry, 2018, 263: 186-193.
- [13] YAN F, CUI H P, ZHANG Q, et al. Small peptides hydrolyzed from pea protein and their Maillard reaction products as taste modifiers: Saltiness, umami, and kokumi enhancement[J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(6): 1132-1141.
- [14] 张京涛. 海鲜菇蛋白质的提取及其特性研究[D]. 太谷: 山西农业大学, 2019.
- ZHANG Jingtao. Research on extraction and properties of *Hypsizygus marmoreus* protein[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2019.
- [15]余敏. 酶解豆粕制备美拉德风味增强肽的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- YU Min. Maillard-flavor-enhancing peptide products preparation using the enzymatic Soybean meal[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.
- [16] 张历. 基于美拉德反应的真姬菇调味品的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- ZHANG Li. Study on *Hypsizygus marmoreus* condiment based on Maillard reaction[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015.

- [17]程玉. 酶解法制备海鲜菇调味料的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- CHENG Yu. Study on the preparation of condiment from *Hypsizygus marmoreus*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [18]杨文君, 段杉, 崔春. 豌豆蛋白深度酶解制备咸味肽的研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(8): 1-5.
- YANG Wenjun, DUAN Shan, CUI Chun. Study on preparation of salty peptides by deep enzymatic hydrolysis of pea protein[J]. China Condiment, 2021, 46(8): 1-5.
- [19] 李晓明. 白玉菇中鲜味肽的分离纯化及呈味特性研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2021.
- LI Xiaoming. Isolation, purification and flavor characteristics of umami peptides from *Pleurotus eryngii*[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2021.
- [20]SCHINDLER A, DUNKEL A, STÄHLER F, et al. 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.
- [21] 吴阳. 双孢菇中浓厚感呈味肽与基本味感相互作用的研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2019.
- WU Yang. Study on the interaction between strong sensory peptides and basic sensory in *Agaricus bisporus*[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2019.
- [22]严方. 豌豆蛋白美拉德肽制备及其呈味特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
- YAN Fang. Preparation of pea protein Maillard peptides and their flavor characteristics[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [23] ERIC K, RAYMOND L V, ABBAS S, et al. Temperature and cysteine addition effect on formation of sunflower hydrolysate Maillard reaction products and corresponding influence on sensory characteristics assessed by partial least square regression[J]. Food Research International, 2014, 57: 242-258.
- [24] CAI L Y, LI D M, DONG Z J, et al. Change regularity of the characteristics of Maillard reaction products derived from xylose and Chinese shrimp waste hydrolysates[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 65: 908-916.
- [25]刘平. 美拉德肽的形成机理及功能特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- LIU Ping. Study on the formation mechanism and functional characteristics of Maillard peptides[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012.
- [26]兰小红. 大豆肽美拉德反应特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.

- LAN Xiaohong. The characteristics of soybean peptide Maillard reaction[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [27] SU G W, ZHENG L, CUI C, et al. Characterization of antioxidant activity and volatile compounds of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of peanut hydrolysate[J]. Food Research International, 2011, 44(10): 3250-3258.
- [28] LIU J B, LIU M Y, HE C C, et al. Effect of thermal treatment on the flavor generation from Maillard reaction of xylose and chicken peptide[J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 64(1): 316-325.
- [29] 赵谋明, 曾晓房, 崔春, 等. 不同鸡肉蛋白肽在 Maillard 反应中的降解趋势研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 92-95
- ZHAO Mouming, ZENG Xiaofang, CUI Chun, et al. Degradation trend of different chicken protein peptides in Maillard reaction[J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(02): 92-95
- [30] HOU H, LIU C, LU X S, et al. Characterization of flavor frame in shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) detected by HS-GC-IMS coupled with electronic tongue and sensory analysis: Influence of drying techniques[J]. LWT, 2021, 146: 111402.
- [31] NEWMAN J, HARBOURNE N, O'RIORDAN D, et al. Comparison of a trained sensory panel and an electronic tongue in the assessment of bitter dairy protein hydrolysates[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 128: 127-131.
- [32] 邴芳玲, 冯涛, 杨焱, 等. 食用菌鲜味味觉定性定量方法的电子舌研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(08): 317-321.
- BING Fangling, FENG Tao, YANG Yan, et al. Quantification of the umami taste of edible fungi using electronic tongue[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(8): 317-321.
- [33] 王兴亚, 庞广昌, 李阳. 电子舌与真实味觉评价的差异性研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 213-216, 220.
- WANG Xingya, PANG Guangchang, LI Yang. Research progress of difference between electronic tongue and real taste evaluation[J]. Food & Machinery, 2016, 32(1): 213-216, 220.
- [34] 彭皖皖. 利用小麦面筋蛋白制备呈味基料及呈味肽的分离鉴定[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- PENG Huanhuan. Preparation of flavoring base material from wheat gluten protein and isolation and identification of flavoring peptides[D]. Guangzhou: South China University of Technology,

2014.

- [35] 苏国万, 赵炫, 张佳男, 等. 酱油中鲜味二肽的分离鉴定及其呈味特性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 7-15.

SU Guowan, ZHAO Xuan, ZHANG Jianan, et al. Isolation, identification and taste characteristics of umami dipeptides from soy sauce[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(5): 7-15.

- [36] 郑莹莹. 酵母抽提物中异味化合物和咸味肽的研究[D]. 北京: 北京工商大学, 2020.

ZHENG Yingying. Study on odor compounds and salty peptides in yeast extract[D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2020.

- [37] 温青玉, 张雨, 李天齐, 等. 面筋蛋白咸味肽的分离纯化及结构鉴定[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 194-199.

WEN Qingyu, ZHANG Yu, LI Tianqi, et al. Isolation, purification and structural identification of salty peptides from gluten protein[J]. Food Science, 2023, 44(4): 194-199.

- [38] 邓静. 雅鱼鲜味肽的制备、分离及滋味特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2020.

DENG Jing. Preparation, separation and taste characteristics of tasty peptides from Yau fish[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2020.

- [39] 张顺亮, 成晓瑜, 乔晓玲, 等. 牛骨酶解产物中咸味肽组分的分离纯化及成分研究[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 29-32.

ZHANG Shunliang, CHENG Xiaoyu, QIAO Xiaoling, et al. Isolation, purification and composition analysis of salty peptides from enzymolyzed bovine bone[J]. Food Science, 2012, 33(6): 29-32.