

蓝蛤酶解液美拉德反应工艺优化及其对挥发性风味物质的影响

步营¹, 韩梦琳^{1,2}, 祝伦伟³, 朱文慧^{1*}, 李学鹏^{1*}, 位正鹏⁴, 励建荣¹

(1. 渤海大学 食品科学与工程学院, 辽宁 锦州 121013; 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; 3. 毕节市农业区划中心, 贵州 毕节 551700; 4. 荣成泰祥食品股份有限公司 农业部冷冻调理海洋食品加工重点实验室, 山东 荣成 246309)

摘要:以蓝蛤超高压酶解液为原料,研究了温度、时间以及 pH 对美拉德反应产物的影响,并对美拉德反应条件进行优化,探究了反应前后挥发性风味物质的变化。结果表明,反应温度对美拉德反应的影响最大,并且电子鼻具有良好的区分效果;最佳反应条件为:反应温度 120 °C、时间 90 min、初始 pH 7.0。此外,通过 HS-SPME-GC-MS 法测定美拉德反应前后酶解液的气味发生变化,具有腥味特征的醛类明显降低,而具有肉香味的呋喃和含硫化合物含量增加。结论:蓝蛤超高压酶解液经过美拉德反应可以明显改善其风味。

关键词:蓝蛤;酶解;美拉德反应;挥发性风味物质

中图分类号:TS201.1

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1000-9973.2022.06.003

文章编号:1000-9973(2022)06-0010-08

Optimization of Maillard Reaction Process of Enzymatic Hydrolysate of *Aloididae aloidii* and Its Effect on Volatile Flavor Compounds

BU Ying¹, HAN Meng-lin^{1,2}, ZHU Lun-wei³, ZHU Wen-hui^{1*}, LI Xue-peng^{1*}, WEI Zheng-peng⁴, LI Jian-rong¹

(1. College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, China; 2. Collaborative Innovation Center for Key Technology of Marine Food Deep Processing Jointly Built by Province and Ministry, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China; 3. Agricultural Division Center of Bijie, Bijie 551700, China; 4. Key Laboratory of Frozen Prepared Marine Food Processing, Ministry of Agriculture, Rongcheng Taixiang Food Co., Ltd., Rongcheng 264309, China)

Abstract: With UHP enzymatic hydrolysate of *Aloididae aloidii* as the raw material, the effects of temperature, time and pH value on the Maillard reaction products (MRPs) are studied, Maillard reaction (MR) conditions are optimized, and the changes of volatile flavor compounds before and after reaction are explored. The results show that the reaction temperature has the greatest influence on MR, and the electronic nose has a good discrimination effect. The optimal reaction conditions are as follows: reaction temperature is 120 °C, time is 90 min, and the initial pH value is 7.0. In addition, HS-SPME-GC-MS method is used to determine the flavor changes of enzymatic hydrolysate before and after MR. Aldehydes with fishiness characteristics significantly decrease, while the content of furans and sulfides with meat flavor increases. It is concluded that the flavor of UHP enzymatic hydrolysate of *Aloididae aloidii* can be significantly improved by MR.

Key words: *Aloididae aloidii*; enzymatic hydrolysis; Maillard reaction; volatile flavor compounds

收稿日期:2021-12-18

基金项目:“十三五”重点研发计划项目(2016YFD0400705);辽宁省海洋与渔业厅科研项目(201813);辽宁兴辽英才项目(XLYC1807133)

作者简介:步营(1981-),男,工程师,硕士,研究方向:水产品加工及贮藏。

*通讯作者:朱文慧(1982-),女,副教授,博士,研究方向:水产品加工及贮藏;

李学鹏(1982-),男,教授,研究方向:水产品加工及贮藏。

引文格式:步营,韩梦琳,祝伦伟,等.蓝蛤酶解液美拉德反应工艺优化及其对挥发性风味物质的影响[J].中国调味品,2022,47(6):10-17.

蓝蛤 (*Aloididae aloid*) 是一种盛产于我国沿海滩涂的小型低值贝类, 主要作为对虾养殖的活饵料使用^[1]。其肉质鲜美, 富含优质蛋白, 呈味氨基酸占氨基酸总量的 50% 左右, 是生产海鲜调味料的理想原料^[2]。近年来, 以提取^[3]、发酵^[4]和酶解^[5]等方式生产的海鲜调味料需求持续增长, 其营养价值高、口感好、抗氧化性强、降胆固醇效果好^[6]。其中酶解技术是一种实现海鲜调味料现代化生产的重要手段, 但是酶解液一般苦腥味重、鲜味醇厚味较弱等问题严重限制将其开发为海鲜调味料的进程。在适宜的反应条件下, 美拉德反应能产生一系列芳香物质, 形成显著的香气并增强味觉^[7]。

前期研究表明, 超高压处理通过提高蛋白酶活性、破坏蛋白质结构来增加蛋白水解度, 促进了呈味氨基酸、核苷酸、有机酸等风味物质的释放, 改善了酶解液的风味^[8]。本研究在前期研究的基础上, 以蓝蛤超高压酶解液为研究对象, 对美拉德反应进行工艺优化, 以期对蓝蛤酶解液进行风味修饰, 研发一种风味良好、天然营养、具有生物活性的海鲜调味料。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与试剂

鲜活蓝蛤: 购于锦州林西路水产市场, 购回实验室后进行吐沙处理并置于 -40 °C 条件下保存待用。

FlavourzymeTM (500 LAPU/g)、NovozymTM 11039 (1.2 AU-A/g): 丹麦 Novozymes 公司; 氢氧化钠 (食品级): 滨化集团股份有限公司; D-木糖 (食品级): 山东福田药业有限公司; L-半胱氨酸 (食品级): 河北华阳生物科技有限公司。

1.2 主要仪器设备

UV-2550 紫外可见分光光度计 日本岛津公司; PEN3 电子鼻 德国 Airsense 公司; Agilent 7890N-5975C 气相色谱-质谱联用仪 美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蓝蛤酶解液的制备

按照步营等^[9]的方法进行酶解液的制备: 将蓝蛤脱壳取肉, 取蓝蛤肉加入去离子水 (1:1, W/V) 后均质, 分别添加 FlavourzymeTM 500MG (0.2%, W/V, 500 LAPU/g) 和 NovozymTM 11039 (0.2%, W/V, 1.2 AU-A/g), 用 1.0 mol/L 的 NaOH 溶液调 pH 为 7.0, 在 250 MPa 下高压处理 1 h, 置于 50 °C 水浴锅中酶解 4 h, 酶解结束后 100 °C 下灭活 10 min。在 4 °C 下以 5120 × g 离心 15 min, 将上清液冷冻干燥后得到冻干粉, 置于干燥器中备用。超高压处理所得冻干粉记为 F₁ (超高压酶解物); 常压处理所得冻干粉记为 F₂ (常压酶解物)。

1.3.2 美拉德反应单因素试验

以冻干粉 (0.50 g)、D-木糖 (0.20 g) 和 L-半胱氨酸 (0.20 g) 为原料, 配制成 10 mL 的反应体系。以感

官评价、风味中间体、电子鼻为指标来探究反应温度、反应时间以及初始反应 pH 值对美拉德反应产物的影响。

1.3.2.1 反应温度对美拉德反应产物的影响

取上述反应体系, 调 pH 为 6.5, 分别在 90, 100, 110, 120, 130 °C 下加热 70 min, 冷却至室温后进行评价。

1.3.2.2 反应时间对美拉德反应产物的影响

取上述反应体系, 调 pH 为 6.5, 在 110 °C 下分别加热 60, 70, 80, 90, 100 min, 冷却至室温后进行评价。

1.3.2.3 初始反应 pH 值对美拉德反应产物的影响

取上述反应体系, 调 pH 为 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 分别在 110 °C 下加热 70 min, 冷却至室温后进行评价。

1.3.3 美拉德反应正交试验

在单因素试验基础上, 每个因素确定 3 个水平, 以感官评分为试验指标, 设计 L₉ (3⁴) 正交试验优化各因素组合, 以确定美拉德反应的最佳工艺参数。各因素水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表
Table 1 Orthogonal test factors and levels

水平	因素		
	A 反应温度/°C	B 反应时间/min	C 初始反应 pH 值
1	110	90	6.5
2	120	100	7.0
3	130	110	7.5

1.3.4 低分子量风味中间体的测定

美拉德反应产物中低分子量风味中间体在波长 294 nm 处有最大吸收峰, A_{294 nm} 越大风味越佳。用去离子水将美拉德反应产物稀释 50 倍后在 294 nm 处测定吸光度, 重复 3 次。

1.3.5 感官评价

本试验挑选 10 名受过培训的食品专业人员 (男女各半) 组成感官评价小组, 评价指标用腥味、肉香味、鲜味、苦味等来表示, 对美拉德反应产物逐个进行评分, 最终得出感官综合评分^[10], 见表 2。

表 2 美拉德反应产物的感官评价标准
Table 2 The sensory evaluation criteria for MRPs

分值	风味特征	程度
1	肉香味、鲜味和醇厚味极淡, 腥味、苦味和焦糊味极浓	极不喜欢
2	肉香味、鲜味和醇厚味非常淡, 腥味、苦味和焦糊味非常浓	非常不喜欢
3	肉香味、鲜味和醇厚味中等淡, 腥味、苦味和焦糊味中等浓	不喜欢
4	肉香味、鲜味和醇厚味轻微淡, 腥味、苦味和焦糊味轻微浓	较不喜欢
5	肉香味、鲜味和醇厚味一般淡, 腥味、苦味和焦糊味一般浓	一般
6	肉香味、鲜味和醇厚味轻微浓, 腥味、苦味和焦糊味轻微淡	较喜欢
7	肉香味、鲜味和醇厚味中等浓, 腥味、苦味和焦糊味中等淡	喜欢
8	肉香味、鲜味和醇厚味非常浓, 腥味、苦味和焦糊味非常淡	非常喜欢
9	肉香味、鲜味和醇厚味极浓, 无腥味、苦味和焦糊味	极喜欢

1.3.6 电子鼻的测定

不同传感器性能描述见表 3。

表 3 电子鼻传感器性能描述

Table 3 The performance description of electronic nose sensors

序号	传感器名称	性能描述	敏感气体	阈值/(mL/m ³)
R(1)	W1C	对芳香族化合物灵敏	C ₇ H ₈	10
R(2)	W5S	对氮氧化物很灵敏	NO ₂	1
R(3)	W3C	对氨基类和芳香族类灵敏	C ₆ H ₆	10
R(4)	W6S	对氢类灵敏	H ₂	100
R(5)	W5C	对烷烃和芳香族类灵敏	C ₅ H ₈	1
R(6)	W1S	对甲基类灵敏	CH ₄	100
R(7)	W1W	对硫化物灵敏	H ₂ S	1
R(8)	W2S	对乙醇灵敏	CO	100
R(9)	W2W	对有机硫化物和芳香族类灵敏	H ₂ S	1
R(10)	W3S	对烷烃灵敏	CH ₄	100

参照步营等^[11]的方法稍作修改。移取 5 mL 美拉德反应产物于 20 mL 测试管中,用 3 层保鲜膜封口,50 °C 水浴 30 min,生成顶空气体,有利于电子鼻探头吸取顶端空气。电子鼻参数设置:以洁净干燥空气为载气,测定时间 120 s,气体流量 300 mL/min,采样后清洗时间 240 s,重复 3 次。

1.3.7 美拉德反应产物的制备

以最优反应条件,将 F₁ 和 F₂ 的美拉德反应产物分别记为 MRPF₁ 和 MRPF₂,未添加 D-木糖和 L-半胱氨酸的热反应产物作为阴性对照(F₁NC 和 F₂NC),未加热反应作为空白对照(F₁BC 和 F₂BC)。

1.3.8 挥发性物质测定

采用 HS-SPME-GC-MS 法对样品中的挥发性化合物进行测定^[12],参照步营等的方法稍作修改。取 5 mL 样品于 20 mL 顶空瓶中,加入 1 g NaCl 和磁转子,迅速用聚四氟乙烯隔垫密封。60 °C 磁力搅拌加热平衡 15 min 后,使用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头(280 °C 活化 30 min)顶空吸附 30 min,将萃取头插入气相色谱进样口,解吸 5 min。

气相色谱条件:HP-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度 250 °C;载气为 He,流速 1.0 mL/min;不分流模式进样;程序升温:柱初温 40 °C,保持 4 min,以 5 °C/min 升至 120 °C,保持 1 min,再以 6 °C/min 升至 250 °C,保持 6 min。

质谱条件:电离方式为电子轰击(EI 源),电子能量为 70 eV;色谱-质谱接口温度 280 °C,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C;质量扫描范围 30~550(m/z)。

所得 GC-MS 检测结果通过计算机 NIST11 谱库和人工检索处理,并利用 C₈~C₂₀ 正构烷烃混标的保留时间计算各个色谱峰的保留指数(RI),计算方式参照 Xu 等^[13]的方法,确定挥发性物质的化学组成,统计

匹配度大于 60 和 RI 偏差 < 20 的挥发性物质,按峰面积归一化法计算各化学成分的相对含量。

1.3.9 数据分析

采用 SPSS Statistics 19.0 分析软件中的 ANOVA 程序进行显著性分析(P < 0.05,表明差异显著),数据绘图采用 Origin 9 软件。电子鼻数据通过自带的 WinMuster 软件进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。

2 结果与讨论

2.1 美拉德反应单因素条件的确定

2.1.1 美拉德反应温度的确定

反应温度对美拉德反应的影响见图 1。

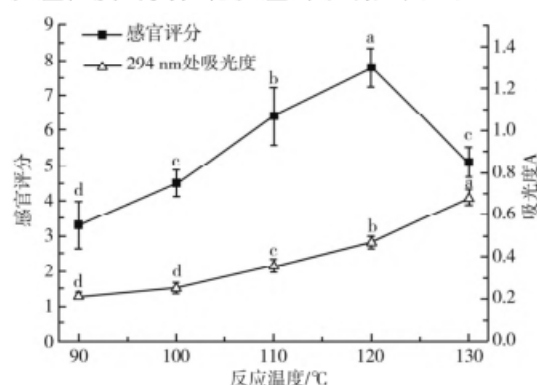


图 1 反应温度对美拉德反应的影响

Fig. 1 The effect of reaction temperature on Maillard reaction

注:a~d 字母不同表示组间差异显著(P < 0.05)。

由图 1 可知,当温度低于 110 °C 时,美拉德反应不能充分进行,所得产物腥味较重,影响感官品质。随着反应温度升高,美拉德反应产物的腥味明显减弱,并产生浓郁的肉香味和醇厚味,感官品质在 120 °C 时达到最佳(7.8 分),显著高于其他反应温度下的感官评分(P < 0.05)。当反应温度继续升高时,由于温度过高而产生焦糊味和苦味,严重影响感官。研究表明,当反应温度过高时会产生羟甲基糠醛和丙烯酰胺等对人体有害的物质^[14];随着反应温度的升高,美拉德反应产物的 A_{294 nm} 呈递增趋势,即有利于美拉德反应的进行,该结果与孙世广^[15]和伊小丽^[16]的研究结果一致。综合来看,选择 120 °C 为最佳反应温度进行后续试验。

不同反应温度的美拉德反应产物电子鼻响应值雷达图见图 2 中(a),其中除传感器 W1W(对硫化物灵敏)以外,其他的传感器对各组美拉德反应产物均有明显的响应,且不同反应温度的响应值存在差异。

由图 2 中(a)可知,随着反应温度的升高,W5S 的响应值明显降低,W5C 显著升高,说明醛类等氮氧化物逐渐减少,并产生芳香类物质。该结果与感官评价时的结果相一致;为进一步分析不同反应温度下美拉德反应产物风味的区别,对其进行 PCA 分析,其结果见图 2 中(b)。

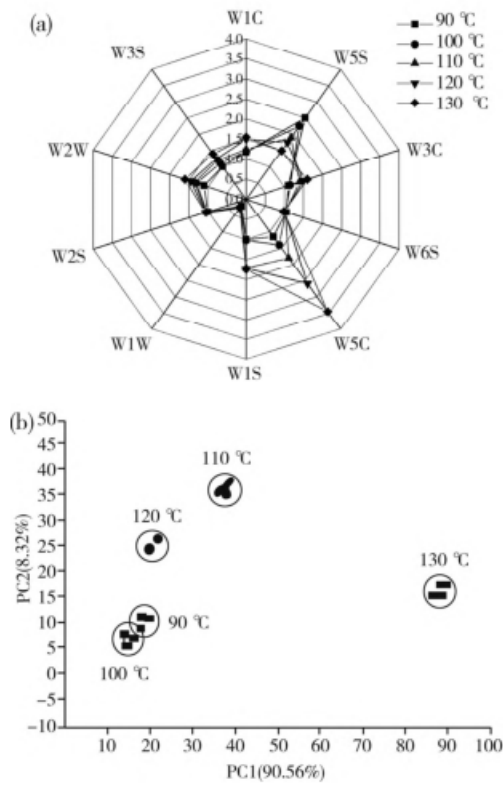


图 2 不同反应温度的美拉德产物的电子鼻响应值雷达图(a)和主成分分析图(b)

Fig. 2 Electronic nose response value radar diagram (a) and principal component analysis diagram (b) of Maillard reaction products at different reaction temperatures

由图 2 中(b)可知,PC1 为 90.56%,PC2 为 8.32%,贡献率总和为 98.88%,说明可代表样品挥发性风味的主要特征。从空间分布上看,除了反应温度为 90 °C 和 100 °C 的美拉德反应产物气味略有重叠,其他区分度良好,说明样品间的气味存在差异。发生重叠的原因可能是反应温度较低,导致美拉德反应产物气味相似。

2.1.2 美拉德反应时间的确定

反应时间对美拉德反应的影响见图 3。

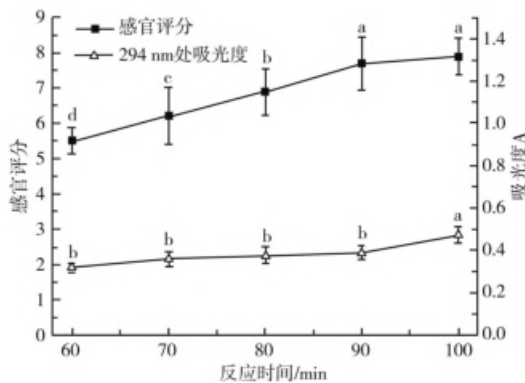


图 3 反应时间对美拉德反应的影响

Fig. 3 The effect of reaction time on Maillard reaction

注:a~d 字母不同表示组间差异显著($P < 0.05$)。

由图 3 可知,随着反应时间的延长,美拉德反应产物的感官评分呈递增趋势。当反应时间为 60 min 和 70 min 时,美拉德反应产物有腥味和苦涩感,无明显肉香味,且感官协调性较差。随着反应时间延长至 90 min,美拉德反应产物的腥味减弱,苦涩味无明显变化,肉香味明显,整体协调性更佳。反应时间为 100 min 与 90 min 的感官评分无显著差异($P > 0.05$)。综合来看,选择 100 min 为最佳反应时间进行后续试验。

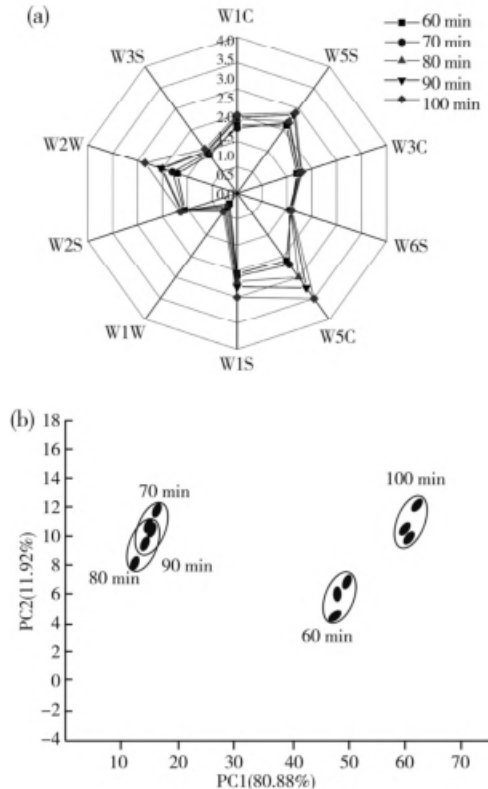


图 4 不同反应时间的美拉德产物的电子鼻响应值雷达图(a)和主成分分析(b)

Fig. 4 Electronic nose response value radar diagram (a) and principal component analysis diagram (b) of Maillard reaction products at different reaction time

不同反应时间的美拉德反应产物电子鼻响应值雷达图见图 4 中(a)。除传感器 W1W 外,其他的传感器对各组美拉德反应产物均有明显的响应,变化趋势与上述反应温度的影响效果一致,但变化幅度低于温度的影响。

由图 4 中(b)可知,PC1 为 80.88%,PC2 为 11.92%,贡献率总和为 92.80%,能较好地代表美拉德反应产物中挥发性风味的主要特征。从空间分布上看,反应时间为 70,80,90 min 的美拉德反应产物相互重叠,可能是该反应时间段内样品的变化程度小,三者气味成分相似度高。

2.1.3 美拉德反应初始 pH 的确定

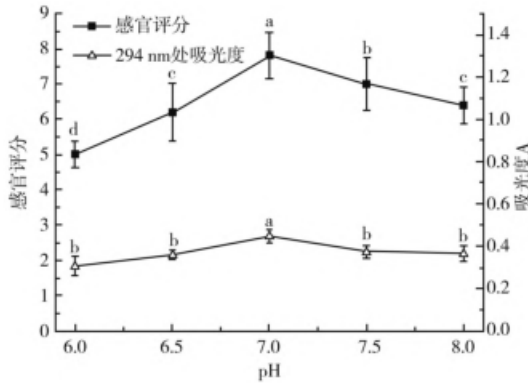


图 5 pH 值对美拉德反应的影响

Fig. 5 The effect of pH value on Maillard reaction

注: a~d 字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

美拉德反应体系的初始 pH 能够影响美拉德反应的进行, pH 值过低或过高都会使产物产生不愉快的感官印象。由图 5 可知, 美拉德反应产物的感官评分和 $A_{294\text{ nm}}$ 随着 pH 的变化先增大后减小。当反应液为酸性时, 美拉德反应产物的增香效果不明显。原因可能是在酸性环境下氨基被质子化, 主要发生 1,2-稀醇化反应, 生成糠醛等物质^[17], 而具有良好风味的物质较少。pH 为 7.0 时美拉德反应产物的评分最高, 此时 $A_{294\text{ nm}}$ 最大, 即低分子质量风味中间体最多。随着 pH 变为碱性, 反应变得剧烈且不易控制, 感官评分和 $A_{294\text{ nm}}$ 开始降低, 因此选择 pH 7.0 为最佳初始 pH 进行后续试验。

不同反应 pH 值的美拉德反应产物电子鼻响应值雷达图见图 6 中(a)。

由图 6 中(a)可知, 与反应温度和时间相比, 不同 pH 值的响应值均较小, 并且强度变化微小, 这表明当 pH 在 6.0~8.0 范围内变化时, 对美拉德反应产物的气味方面影响较小, 结合感官评价分析可知, pH 变化主要影响了美拉德反应产物的滋味。

由图 6 中(b)可知, PC1 为 99.21%, PC2 为 0.44%, 贡献率总和为 99.65%, 能代表样品挥发性风味的主要特征。每组样品测定数据均能成团并且形状圆整, 表明试验重复性良好。同时各组样品在空间分布上距离较为紧密, 表明样品间气味差别较小。

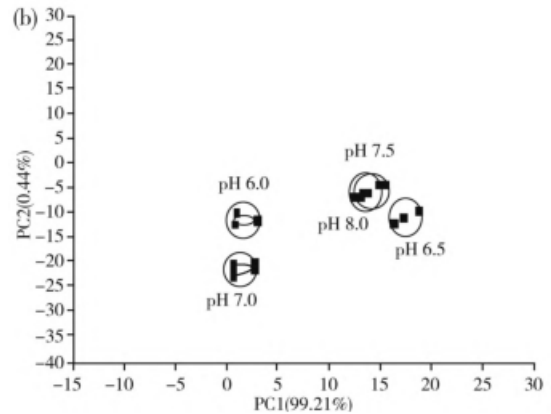
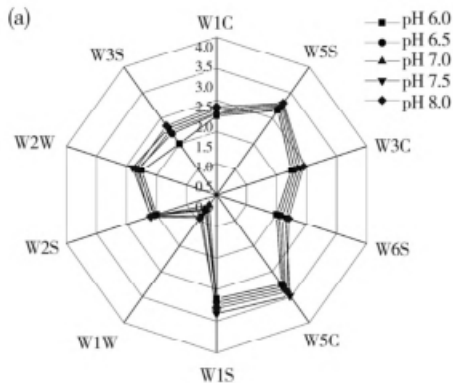


图 6 不同反应 pH 值的美拉德产物电子鼻响应值雷达图(a)和主成分分析(b)

Fig. 6 Electronic nose response value radar diagram (a) and principal component analysis diagram (b) of Maillard reaction products at different reaction pH values

2.2 美拉德反应正交试验结果

表 4 正交试验设计结果

Table 4 The design results of orthogonal test

组序	A 温度/℃	B 时间/min	C 初始 pH 值	感官评分
1	1(110)	1(90)	1(6.5)	7.4
2	1	2(100)	2(7.0)	7.8
3	1	3(110)	3(7.5)	7.5
4	2(120)	1	2	8.5
5	2	2	3	7.6
6	2	3	1	7.2
7	3(130)	1	3	4.8
8	3	2	1	4.3
9	3	3	2	3.7
k_1	7.57	6.90	6.30	
k_2	7.77	6.57	6.67	
k_3	4.27	6.13	6.33	
R	3.50	0.77	0.37	
主次因素	A>B>C			
最优组合	A ₂ B ₁ C ₂			

由表 4 可知, 影响蓝蛤酶解液美拉德反应产物感官品质的因素主次顺序依次为 A>B>C, 即反应温度>反应时间>初始 pH 值。比较均值 k 的大小可以得出美拉德反应条件的最佳组合为 A₂B₁C₂, 即反应温度为 120 °C, 时间为 90 min, 初始 pH 为 7.0, 在此条件下制备的美拉德反应产物无腥味并且肉香味浓郁, 整体协调性好(感官评分为 8.5)。

2.3 挥发性物质分析

表 5 气相色谱-质谱法检测美拉德反应后酶解产物挥发性成分的变化

Table 5 Changes of volatile compounds of enzymatic hydrolysate after Maillard reaction detected by GC-MS

化合物 ^a	保留时间/min	Rf ^b	气味特征 ^c	相对含量/%			
				F ₁ BC	F ₁ NC	MRPF ₁	F ₂ BC F ₂ NC MRPF ₂
醛类(27)							

续 表

化合物 ^a	保留时间/min	RI ^b	气味特征 ^c	相对含量/%					
				F ₁ BC	F ₁ NC	MRPF ₁	F ₂ BC	F ₂ NC	MRPF ₂
异丁醛	1.84	<800	刺激味	ND	ND	ND	ND	0.13	ND
异戊醛	2.46	<800	水果味、麦芽味	0.34	2.35	ND	0.52	0.79	ND
2-甲基丁醛	2.58	<800	咖啡味、坚果味	0.36	1.61	ND	ND	0.92	ND
戊醛	3.01	<800	杏仁味、辛辣味	0.33	ND	ND	ND	0.15	ND
E-2-戊烯醛	4.24	<800	青草味	0.11	ND	ND	0.27	ND	ND
3-甲基-2-丁烯醛	5.09	<800		ND	0.21	ND	ND	0.16	ND
正己醛	5.53	801	腥味、青草味、脂肪味	0.98	0.80	ND	0.99	0.68	ND
2-己烯醛	7.25	852	水果味、蔬菜味	ND	ND	ND	0.47	ND	ND
庚醛	8.82	900	腥味、豚膻味、脂肪味	4.63	2.64	ND	3.01	1.72	ND
3-甲硫基丙醛	9.03	906	熟马铃薯味	ND	0.94	ND	ND	0.77	ND
苯甲醛	10.86	960	杏仁味、烧焦味	8.02	7.35	0.77	6.54	4.04	0.73
辛醛	12.33	1003	水果味、腥味	5.29	3.84	ND	2.98	2.85	ND
(E,E)-2,4-庚二烯醛	12.64	1013		0.62	0.91	ND	0.81	0.49	ND
苯乙醛	13.71	1046	杏仁味、风信子味	0.64	2.09	0.16	1.00	1.74	0.13
E-2-辛烯醛	14.15	1060	金属味	1.47	ND	ND	1.43	1.70	ND
壬醛	15.62	1105	脂肪味、腥味、青草味	3.56	2.07	0.41	2.00	2.56	0.31
(E,E)-2,6-壬二醛	17.14	1156	黄瓜味、蜡味、蔬菜味	ND	ND	ND	ND	0.49	ND
4-乙基苯甲醛	17.45	1166		ND	ND	0.19	ND	ND	ND
癸醛	18.66	1206	腥味、橘皮、牛脂味	0.70	0.53	ND	0.39	0.54	ND
2,4-二甲苯甲醛	19.10	1221		ND	0.24	ND	ND	ND	ND
(E)-2-癸醛	20.29	1261	柑橘味、牛脂味	0.96	0.37	ND	0.57	0.81	ND
α -Ethylidenebenzeneacetaldehyde	20.69	1275		ND	1.34	ND	ND	0.85	ND
十一醛	21.67	1308	甜味、玫瑰味、橘皮味	1.24	0.50	ND	ND	0.98	ND
十二醛	21.67	1308	脂肪味、百合味、柑橘味	ND	ND	ND	0.54	ND	ND
(E,E)-2,4-十二碳二烯醛	22.05	1322		0.31	ND	ND	ND	ND	ND
5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	26.61	1495	可可口味、青草味、烤肉味	ND	0.16	ND	ND	ND	ND
十四烷醛	29.21	1616	脂肪味、桃子味	0.76	ND	0.27	0.17	0.29	ND
小计				30.32	27.95	1.80	21.69	22.66	1.17
酮类(16)									
3-戊烯-2-酮	4.41	<800		ND	ND	0.06	ND	ND	0.05
2-庚酮	8.54	891	脂肪味	ND	0.56	0.20	0.29	0.4	0.18
2,3-辛二酮	10.54	950		ND	0.22	ND	ND	ND	ND
6-甲基-2-庚酮	10.75	957		ND	ND	0.13	ND	ND	0.16
2,5-己二酮	11.73	985		0.82	ND	ND	ND	1.25	ND
仲辛酮	11.96	992	苹果味	ND	ND	0.31	0.73	0.79	0.38
3-辛烯-2-酮	13.56	1042	坚果味	ND	ND	ND	0.14	ND	ND
苯乙酮	14.44	1065	杏仁味	ND	ND	ND	ND	0.18	ND
3,5-辛二烯-2-酮	14.60	1074	脂肪味	ND	ND	ND	6.75	ND	ND
2-壬酮	15.25	1094	脂肪味、水果味、蔬菜味	ND	0.68	2.15	ND	0.81	1.60
3-壬烯-2-酮	16.73	1142		ND	ND	ND	ND	0.09	ND
4-氧代异佛尔酮	16.85	1146		0.29	0.50	ND	0.77	0.59	ND

续 表

化合物 ^a	保留时间/min	RI ^b	气味特征 ^c	相对含量/%					
				F ₁ BC	F ₁ NC	MRPF ₁	F ₂ BC	F ₂ NC	MRPF ₂
甲基辛基甲酮	18.30	1194		ND	0.31	ND	ND	ND	ND
2-十一酮	21.26	1294	脂肪味、柑橘味	1.10	1.29	0.57	0.67	1.15	0.45
2,4-辛二酮	23.74	1381	玫瑰味、水果味	ND	ND	0.30	ND	ND	ND
2-戊二酮	31.00	1706		ND	0.06	ND	ND	ND	ND
小计				2.21	3.62	3.72	9.35	5.26	2.82
醇类(15)									
环丁醇	1.69	<800		ND	ND	ND	0.18	ND	ND
异戊醇	3.93	<800	辛辣味、威士忌酒味	0.86	ND	0.18	0.33	ND	ND
戊醇	4.63	<800	香草味	0.41	0.44	ND	0.36	ND	ND
己醇	7.90	872	花香味	ND	ND	ND	0.19	ND	ND
庚醇	11.35	974	辛辣味、脂肪味、柑橘味	1.23	1.48	2.17	ND	ND	2.50
1-辛烯-3-醇	11.64	983	蘑菇味	0.94	1.28	0.82	4.93	2.60	1.88
2-乙基己醇	13.26	1032	香甜、花香味	ND	ND	0.34	ND	ND	0.17
正辛醇	14.62	1074	香甜、玫瑰味、水果味	0.57	ND	ND	ND	ND	1.47
芳樟醇	15.53	1103	花香味	0.60	ND	ND	0.48	0.36	ND
L-薄荷醇	16.32	1129	薄荷味	ND	ND	ND	0.09	ND	ND
(E,Z)-3,6-Nonadien-1-ol	17.30	1161		ND	ND	0.38	ND	ND	1.65
1-壬醇	17.73	1175	玫瑰味、柑橘味	1.32	1.47	ND	1.44	1.86	ND
α -松油醇	18.29	1194	脂肪味、茴芹味、薄荷味	ND	ND	0.35	ND	ND	ND
雪松醇	29.98	1654	水香味	0.18	ND	ND	ND	ND	ND
2-己基-1-癸醇	30.95	1703		ND	ND	ND	0.10	ND	ND
小计				6.11	4.67	4.25	8.10	4.81	7.67
芳香族化合物(7)									
甲苯	4.58	<800	类似苯的味道	ND	ND	ND	0.11	ND	0.07
间二甲苯	7.72	867	芳香味	ND	ND	ND	0.07	ND	ND
邻二甲苯	7.64	864	芳香味	0.05	ND	ND	ND	ND	ND
茴香脑	21.10	1288	甜味、茴香味	ND	ND	0.51	ND	ND	ND
2,6-二甲基萘	24.52	1410	青草味	ND	ND	ND	ND	ND	0.62
1,6-二甲基萘	24.52	1410		ND	ND	0.73	ND	ND	ND
丁基烷基苯	27.06	1515		ND	0.26	0.15	ND	0.29	0.17
小计				0.05	0.26	1.39	0.18	0.29	0.86
酯类(4)									
氨基甲酸甲酯	1.60	<800		ND	ND	ND	0.12	ND	ND
乙酸丙酯	3.32	<800	水果味	0.13	ND	ND	0.17	0.11	ND
乙酸丁酯	5.95	813	水果味	0.21	0.34	ND	0.4	0.38	ND
甲酸辛酯	14.63	1075	水果味	ND	ND	1.28	ND	ND	ND
小计				0.34	0.34	1.28	0.69	0.49	0.00
酸类(3)									
乙酸	3.08	<800	酸味	ND	0.24	0.29	ND	ND	0.13
3-甲基丁酸	8.37	886	难闻的气味	0.25	ND	ND	0.11	ND	0.23
2-甲基丁酸	8.62	894	辛辣味、奶酪味、水果味	0.06	ND	0.35	0.10	ND	0.31
小计				0.32	0.24	0.64	0.21	0.00	0.67
酯类(3)									
对甲氧基苯磺酸	17.44	1166		ND	ND	ND	0.07	0.58	ND
2-(4-Hs(1,1-dimethylethyl)-phenyl)	27.12	1518		1.13	0.60	0.56	0.39	ND	ND

续表

化合物 ^a	保留时间/min	RI ^b	气味特征 ^c	相对含量/%					
				F ₁ BC	F ₁ NC	MRPF ₁	F ₂ BC	F ₂ NC	MRPF ₂
2,5-Hs(1,1-dimethylethyl)-phenol	27.13	1518		ND	ND	ND	ND	0.27	ND
小计				1.13	0.60	0.56	0.46	0.85	0.00
烃类(20)									
1,3,5-Cycloheptatriene	4.46	<800		0.09	ND	ND	ND	ND	ND
2,4-二甲基庚烷	6.04	816		0.14	ND	ND	ND	ND	ND
2,4-二甲基-1-庚烯	6.78	838		ND	ND	ND	0.02	ND	ND
4-甲基辛烷	7.45	858		0.08	ND	ND	ND	ND	ND
正壬烷	8.71	896		0.09	ND	ND	ND	ND	ND
3-甲基-2-戊烯	10.39	946		ND	0.13	ND	ND	ND	ND
3,5,5-三甲基-1-己烯	11.40	976		ND	1.79	ND	ND	ND	ND
1,3-二甲基环戊烷	11.40	976		ND	ND	ND	2.55	ND	ND
4-辛烯	12.19	999		ND	ND	ND	ND	0.38	ND
柠檬烯	13.10	1027	柠檬味	0.13	ND	ND	0.10	ND	ND
2,2,6-三甲基环庚烷	13.32	1034		ND	ND	ND	ND	0.33	ND
环辛烷	14.62	1074		ND	1.14	ND	ND	ND	ND
4-甲基-2-戊烯	19.48	1234		ND	ND	ND	ND	0.20	ND
1,3-环辛二烯	20.84	1280		ND	ND	ND	ND	1.26	ND
5-十一烷	24.30	1401		0.19	ND	ND	ND	ND	ND
(1,13-十四烷二)烯	24.52	1410		1.62	ND	ND	ND	ND	ND
6-十二烷	24.72	1418		ND	ND	ND	ND	0.11	ND
环十二烷	26.15	1476		ND	ND	ND	ND	ND	0.49
8-十六烷	30.14	1662		ND	ND	ND	0.23	0.08	ND
9-十八烷	31.26	1720		ND	0.02	ND	ND	ND	ND
小计				2.52	3.28	0.00	2.90	2.36	0.49
呋喃类(13)									
3-甲基呋喃	2.42	<800		ND	ND	0.13	ND	ND	0.43
2-甲基呋喃	2.61	<800		ND	ND	1.07	ND	ND	0.53
2-乙基呋喃	3.06	<800	咖啡味、焦糖味	0.11	ND	ND	0.22	ND	0.18
3-糠醛	6.89	842		0.01	ND	0.09	ND	0.75	ND
糠醛	7.23	852	焦糖味	ND	1.41	2.09	ND	0.62	1.67
2-呋喃甲醇	7.54	861	烧焦味	ND	8.26	ND	ND	3.65	ND
2-甲基-3-噻基呋喃	7.72	867	肉味、甜味	ND	ND	4.36	ND	ND	3.50
糠(基)硫醇	9.31	914	咖啡味、肉味	0.19	ND	9.1	ND	ND	10.27
2-甲基-5-(甲硫基)呋喃	10.54	950	烧焦味、肉味	ND	ND	0.36	ND	ND	ND
2-正戊基呋喃	11.92	991	青豆味、黄油味	0.47	ND	ND	ND	ND	ND
甲基糠基二硫	18.87	1213		ND	ND	0.85	ND	ND	2.07
双(2-甲基-3-呋喃基)二硫	27.46	1534	肉味	ND	ND	1.49	ND	ND	0.98
二糠基二硫	30.73	1692	肉味	ND	ND	13.06	ND	ND	3.3
小计				0.78	9.67	32.61	0.22	5.02	22.93
含硫化合物(18)									
二甲基二硫	3.94	<800	腐烂味、大蒜味	ND	1.15	ND	ND	0.92	ND
3-甲基噻吩	4.75	<800	硫磺味	ND	ND	0.75	ND	ND	0.04
2-甲基噻吩	4.85	<800	硫磺味	ND	ND	0.35	ND	ND	0.77
二甲基三硫	11.08	966	洋葱味、薄荷味、辛辣味	ND	1.24	ND	ND	ND	ND
2,5-二甲基噻吩	11.95	992	肉味	ND	0.97	ND	ND	ND	ND
2-乙酰基噻吩	12.86	1020	爆米花味	ND	2.54	ND	ND	ND	ND
1,2,3-Trithiolane	15.97	1117		ND	ND	0.27	ND	ND	0.26
3-甲基噻吩醛	16.20	1125		ND	0.85	1.47	ND	0.59	0.96
5-甲基-2-噻吩甲醛	16.22	1125	杏仁味	ND	ND	ND	ND	0.45	ND
2-Methyl-5-(methylthio)thiophene	16.70	1141		ND	ND	0.12	ND	ND	ND
2,3-二甲基噻吩	16.91	1148	肉味	ND	ND	0.21	ND	ND	0.22

续表

化合物 ^a	保留时间/min	RI ^b	气味特征 ^c	相对含量/%					
				F ₁ BC	F ₁ NC	MRPF ₁	F ₂ BC	F ₂ NC	MRPF ₂
2-丙基噻吩	19.57	1237		ND	0.19	ND	ND	ND	ND
5-甲基噻吩	19.79	1244	烤肉味	ND	ND	ND	0.19	ND	ND
2,5-噻吩二甲醛	20.11	1255	硫磺味	ND	ND	0.31	ND	ND	ND
烯丙氧基苯硫酚	21.42	1299		ND	ND	ND	ND	ND	0.22
[1,2,3,4]Tetrathiane	22.47	1336		ND	ND	0.38	ND	ND	0.29
二巯基硫醚	33.97	1871	牛肉味、鸡肉味	ND	ND	0.71	ND	ND	1.96
Cyclic octaatomic sulfur	36.13	1999		0.21	ND	2.25	ND	ND	2.87
小计				0.21	6.93	6.82	0.19	1.96	7.60
含氮化合物(13)									
N-己基甲胺	1.97	<800		ND	ND	0.20	ND	ND	ND
吡嗪	3.63	<800		ND	ND	ND	ND	ND	0.04
噁啉	3.78	<800		ND	ND	1.46	ND	ND	0.31
2-甲基噻嗪	6.22	822	牛肉味、可可味、巧克力味	ND	ND	0.61	ND	ND	0.06
2,6-二甲基吡嗪	8.28	883	薄荷味	ND	ND	0.22	0.61	ND	ND
2,3-二甲基吡嗪	8.29	884	烤肉味	ND	ND	ND	ND	0.03	0.35
2,5-二甲基噻嗪	9.16	910	花生味、巧克力味、黄油味	ND	ND	0.66	ND	ND	ND
2-乙基-5-甲基噻嗪	12.17	998		ND	ND	0.34	ND	ND	ND
2-甲基-5-异丙基噻嗪	13.98	1054		ND	ND	0.29	ND	ND	ND
3-乙基-2,5-甲基噻嗪	14.81	1080		ND	ND	0.94	ND	ND	0.7
2-丁基噻嗪	18.45	1199		ND	0.21	ND	ND	ND	ND
2,5-Dimethyl-3-(3-methylbutyl)-pyrazine	21.94	1318		ND	ND	0.64	ND	ND	0.47
吡嗪	22.06	1322		ND	1.00	0.89	ND	0.95	ND
小计				0.00	1.21	6.26	0.61	0.98	1.93

注:ND表示未检出;a表示GC-MS鉴定;b表示保留指数;c表示气味描述主要来自以下在线数据库(<http://www.odour.org.uk/>, <http://www.flavornet.org/>, <https://www.chemicalbook.com/ProductIndex.aspx>)。

在一定程度上,样品的风味特征取决于挥发性化合物的组成和含量。由表5可知,根据它们的一般性质和化学结构,共鉴定出139种挥发性化合物并将其分为11个类别,包括醛类、酮类、醇类、芳香族化合物、酯类、酸类、酚类、烃类、呋喃类、含硫化合物、含氮化合物。

醛类主要是由不饱和脂肪酸氧化或氨基酸降解产生的,一般具有水果、青草、脂肪和腥味气味特征,并且具有较低的气味活性值(odour activity value, OAV),因此即使微量也能表现出其独特的风味。在本研究中,醛类是酶解液最主要的挥发性化合物,而其他研究也表明醛类是水产品中最主要的风味物质^[18-19]。空白对照组中醛类的相对含量(F₁BC:30.32%,F₂BC:21.69%)高于阴性对照组(F₁NC:27.95%,F₂NC:22.66%)和美拉德反应产物(MRPF₁:1.80%,MRPF₂:1.17%)。该结果表明,随着美拉德反应的进行,醛类的相对含量明显下降,这与Zhao等的研究一致。

总共检测出16种酮,它们有脂肪和坚果的良好风味。但是,酮类的相对含量较低并且具有高气味阈值,

因此对风味贡献较小。醇类主要来源于多不饱和脂肪酸的降解或羰基化合物的还原,一般来讲,由于醇类的感官阈值高,风味贡献较小。1-辛烯-3-醇是不饱和醇,由于其 OAV 低,因此对样品风味有较大贡献。一些研究发现,1-辛烯-3-醇广泛存在于贝类中,是贝类的特征风味物质^[20]。芳香族化合物主要是通过芳香族氨基酸的分解代谢产生。此外,还发现了一些酯类、酸类、烃类和酚类物质,由于其 OAV 较高,通常对样品的风味没有影响。

共检出 13 种呋喃化合物,有研究表明,呋喃是氨基酸热降解而形成的^[21]。呋喃类及其衍生物可贡献出肉味、咖啡味和焦香味等香味,并且因极低的 OAV 而显著影响食品的风味。呋喃类物质在 F₁BC、F₂BC、F₁NC、F₂NC、MRPF₁、MRPF₂ 中的相对含量分别为 0.78%、0.22%、9.67%、5.02%、32.61%、22.93%。这些结果表明,加热美拉德反应后呋喃含量明显增加,反应体系中 L-半胱氨酸和 D-木糖的加入促进了呋喃的形成。

共检测到 18 种含硫化合物,是提供肉香味、烧烤味和牛肉风味的重要风味物质,其呈味特性好且 OAV 低。由表 5 可知,美拉德反应前含硫化合物的相对含量低于 0.21%,而反应后其种类和相对含量明显增大(大于 6.82%)。此外,还检出 13 种含氮化合物,它们是引起熟食烘焙、花生、牛肉、可可味的挥发性物质,具有极低的气味阈值。在本研究中,美拉德反应后 F₁ 中含氮化合物的相对含量从 0.00% 增加到 6.26%,这是热诱导的碳水化合物降解产物和氨基酸的 Strecker 产物之间反应导致的。

3 结论

本文以蓝蛤超高压酶解液为原料,采用美拉德反应对酶解液的风味进行改良。在单因素试验的基础上,采用正交试验设计对反应的各个条件进行优化试验。结果表明,反应温度对酶解液气味的改变影响最大,电子鼻技术能良好地将其区分。最优工艺条件为反应温度 120 °C、时间 90 min、初始 pH 7.0,在此条件下制备的美拉德反应产物无腥味并且肉香味浓郁,整体协调性好。此外,HS-SPME-GC-MS 结果表明,酶解液的挥发性化合物在美拉德反应前后发生变化,具有腥味特征的醛类明显降低,具有肉香味的呋喃和含硫化合物含量增加。由此可见,蓝蛤超高压酶解液通过美拉德反应可以明显地改善其风味。

参考文献:

[1]李学鹏,刘晏玮,谢晓霞,等.热预处理对蓝蛤酶解及酶解液呈味特性的影响[J].食品科学,2020,41(2):133-140.
[2]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.

[3]张晓瑜,张桂芳.固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定海产品中谷氨酸钠的含量[J].中国调味品,2019,44(11):167-170.
[4]CHO W I, KIM S M. Taste compounds and biofunctional activities of the sandy beach clam hydrolysate for the shellfish flavoring condiment[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2016, 25(1): 24-34.
[5]顾盼祺,袁美兰,赵利,等.酶法提取淡水鱼内脏鱼油的工艺优化[J].中国调味品,2021,46(3):95-99.
[6]ZHAO T T, ZHANG Q, WANG S G, et al. Effects of Maillard reaction on bioactivities promotion of anchovy protein hydrolysate: the key role of MRPs and newly formed peptides with basic and aromatic amino acids[J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 97: 245-253.
[7]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.
[8]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.
[9]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.
[10]刘树萍,苏晓文,方伟佳.基于感官评价结合理化指标分析低温慢煮过程中鸡胸肉品质变化[J].中国调味品,2021,46(2):40-45.
[11]步营,祝伦伟,何玮,等.蓝蛤蒸煮液与酶解液的风味改善作用研究[J].现代食品科技,2020,36(1):253-261,234.
[12]杨林子,卢云浩,何强.基于 HS-SPME-GC-MS 探究郫县豆瓣优势菌株地衣芽孢杆菌和埃切假丝酵母的酯合成途径及能力[J].中国调味品,2021,46(3):56-59.
[13]XU X R, ZHENG Y Y, SONG H L, et al. The effects of enzymatic hydrolysis degree of bovine bone marrow extract on flavor generation via the Maillard reaction[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019, 13(1): 521-535.
[14]温超,王紫梦,石星波,等.食品中丙烯酰胺与 5-羟甲基糠醛的研究进展[J].食品科学,2015,36(13):257-264.
[15]孙世广.栉孔扇贝裙边酶解物美拉德反应产物特性研究[D].大连:大连工业大学,2016.
[16]伊小丽.超声波-微波辅助酶解河蚌肉制备调味料工艺研究[D].长春:吉林大学,2018.
[17]FU Y, ZHANG Y H, SOLADOYE O P, et al. Maillard reaction products derived from food protein-derived peptides: insights into flavor and bioactivity[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(20): 3429-3442.
[18]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.
[19]陈丽丽,江勇,白春清,等.不同种类鱼露中挥发性风味化合物的比较研究[J].中国调味品,2020,45(9):11-17,28.
[20]严超,牟建楼,陈志周,等.栉孔扇贝酶解液制备条件优化及其抗氧化性研究[J].中国调味品,2017,42(12):1-6.
[21]YAYLAYAN V A. Precursors, formation and determination of furan in food[J]. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 2006(1): 5-9.