

外源氨基酸对牡蛎肽美拉德反应产物风味特性的调控作用

吴若彤^{1,2}, 王兴伟^{1,2}, 夏书芹^{*1,2}, 张晓鸣^{1,2}, 于静洋^{1,2}, 崔和平^{1,2}

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 江苏省食品安全与质量控制协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为改善牡蛎肽美拉德反应产物腥味浓、鲜香味不足的问题, 基于牡蛎肽-半胱氨酸-木糖体系, 借助感官评定明确了外源氨基酸对其气味与滋味特性的影响, 结合挥发性风味物质的组成、整体气味轮廓以及肽相对分子质量分布剖析了风味差异的原因。结果表明, 与单一添加甘氨酸或谷氨酸相比, 复合添加这两种氨基酸对牡蛎肽美拉德反应产物的去腥增香具有更理想的效果。甘氨酸和谷氨酸的协同作用显著降低了庚醛、辛醛等关键腥味化合物对整体气味属性的影响, 挥发性风味成分的种类增加至 21 种, 从而提高了整体香气的丰富性。与此同时, 复合添加外源氨基酸促进了美拉德反应过程中牡蛎肽的降解, 提高了相对分子质量小于 1 000 的呈味肽的比例, 进而改善了体系的滋味品质。该研究可为调控牡蛎调味料风味品质提供科学依据。

关键词: 牡蛎肽; 美拉德反应产物; 甘氨酸; 谷氨酸; 去腥增香

中图分类号: TS 213.3 文章编号: 1673-1689(2023)03-0030-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.03.004

Flavor Characteristics of Oyster Peptide Maillard Reaction Products Regulated by Exogenous Amino Acids

WU Ruotong^{1,2}, WANG Xingwei^{1,2}, XIA Shuqin^{*1,2}, ZHANG Xiaoming^{1,2}, YU Jingyang^{1,2}, CUI Heping^{1,2}

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Collaborative Innovation Center of Food Safety and Quality Control in Jiangsu Province, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to improve the strong fishy smell and insufficient fresh fragrance of oyster peptide Maillard reaction products (MRPs), the effects of exogenous amino acids on the odor and taste characteristics were explored by means of sensory evaluation based on oyster peptide-cysteine-xylose system. The causes of flavor differences were analyzed with the combination of the composition of volatile flavor compounds, the overall odor profile and the relative molecular weight distribution of peptides. The results showed that compared with the addition of glycine or glutamic acid alone, the addition of the two amino acids effectively removed fishy smell and enhanced aroma of oyster peptide MRPs. In addition, the synergistic effect of glycine and glutamic acid significantly reduced the impact of key fishy compounds, such as heptanal and octanal, on the overall odor properties, while the types of volatile flavor components increased to 21, which

收稿日期: 2022-07-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD2100103)。

* 通信作者: 夏书芹(1979—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品加工与配料方面的研究。E-mail: sqxia@jiangnan.edu.cn

improved the richness of overall aroma. Meanwhile, the compound addition of exogenous amino acids promoted the degradation of oyster peptides during the Maillard reaction and increased the proportion of flavor peptides with relative molecular weight less than 1 000, which enhanced the taste quality of the system. This study could provide scientific basis for regulating the flavor quality of oyster seasoning.

Keywords: oyster peptide, Maillard reaction products, glycine, glutamic acid, de-fishy and aroma enhancement

蚝汁是蚝油的核心基料,相比于传统的蒸煮浓缩加工,通过生物酶解获得牡蛎肽作为调味基料能有效提高原料利用率^[1]。然而,牡蛎肉等水产品酶解过程往往伴随着腥臭味的形成^[2],限制了其在海鲜调味料中的应用^[3]。因此,如何在保留牡蛎特征风味的同时去腥增香对于改善牡蛎肽调味料的品质具有重要的研究价值和实际意义。

牡蛎风味成分组成复杂、种类多样,主要包括醇类、酮类、酯类和醛类等,牡蛎酶解后产生的醛类和硫醚类化合物直接导致了腥臭味的产生^[4]。目前报道的脱腥方法有多种,如活性炭吸附可有效去除挥发性醛、酮等异味物质^[5];也能通过添加酵母抽提物提高芳香族化合物的比例、降低醛、酮等异味物质的含量,从而削弱腥味^[6]。美拉德反应既能够生成具有愉悦风味的化合物达到掩盖酶解物腥味的目的,又能赋予体系丰富的香气和滋味,是一种具有应用潜力的去腥增香方法。

美拉德反应是氨基酸、多肽或蛋白质与还原糖发生亲核加成后的复杂反应^[7],其产物的香气与滋味特征很大程度上取决于热反应过程中添加的氨基酸种类^[8]以及反应条件^[9]。其中,半胱氨酸作为含硫氨基酸对肉香味的生成具有积极的促进作用,是水产品酶解物美拉德反应增香研究中广泛应用的外源氨基酸^[10];谷氨酸与羰基化合物的美拉德反应产物具有诱人的焙烤香、坚果香^[11];甘氨酸能赋予美拉德反应产物焦甜香^[12]。目前,就美拉德反应用于牡蛎酶解物脱腥而言,主要着眼于考察添加还原糖^[13]以及单一氨基酸(如赖氨酸^[14]或半胱氨酸^[15])对去腥效果的影响。然而,现有报道通常侧重于对美拉德反应产物气味特征的比较,忽略了对产物滋味属性差异及内在原因的剖析。此外,目前研究普遍采用添加单一氨基酸参与反应,这会造成产生的风味物质种类和数量有限,难以形成丰富的风味品质。有研究表明适量添加甘氨酸可增强半胱氨酸美拉德

反应体系产生的肉香味^[16],这也说明相较于添加单一氨基酸,添加复合氨基酸有助于改善体系的风味品质。但迄今为止,针对添加复合外源氨基酸参与美拉德反应改善酶解物风味的研究鲜有报道,就酶解产物通过美拉德反应实现去腥增香的机制还有待深入探索。因此,明确添加复合外源氨基酸对于牡蛎酶解物美拉德反应产物风味品质的调控作用并揭示其影响机理是实现牡蛎肽体系去腥增香亟待解决的问题。

作者基于酶解牡蛎肽-半胱氨酸-木糖体系,以感官评定结果为指标,考察在半胱氨酸基础上单一添加甘氨酸(Gly)、谷氨酸(Glu)以及复合添加这两种氨基酸对牡蛎肽美拉德反应产物(Maillard reaction products,MRPs)气味及滋味属性的影响。借助气-质联用、快速电子鼻与高效液相色谱等方法,从挥发性风味化合物的组成、整体气味轮廓以及肽相对分子质量分布等角度探索外源氨基酸种类和协同效应对牡蛎肽MRPs风味改善的调控作用,为研发风味更悦人的牡蛎调味料提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜牡蛎肉:厦门中坤食品有限公司产品;碱性蛋白酶(酶活 1.4×10^5 U/g)、风味蛋白酶(酶活 3.4×10^4 U/g);安徽强旺调味食品有限公司产品;*D*-木糖、*L*-半胱氨酸、谷氨酸、甘氨酸:上海源叶生物科技有限公司产品;氢氧化钠、乙腈、氯化钠、无水乙醇:国药集团化学试剂有限公司产品;2,4,6-三甲基吡啶(色谱纯)、 $C_6 \sim C_{24}$ 的正构烷烃标准品:美国Sigma-Aldrich公司产品;细胞色素C、抑蛋白酶肽、杆菌肽、甘氨酸三肽、甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸四肽(纯度99%):北京伊诺凯科技有限公司产品。

1.2 仪器与设备

HH-2 型数显恒温水浴锅:常州金坛良友仪器有限公司产品;PHSJ-3F pH 计:浙江赛德仪器设备有限公司产品;Centrifuge 5810R 型冷冻高速离心机:德国 Eppendorf 公司产品;7890B 系列气相色谱仪(GC)和配备 EI/XTR 源的 5977B 质量选择检测器(MSD):美国安捷伦公司产品;DVB/CAR/PDMS 萃取头:美国 Supelco 公司产品;Waters 2695 高效液相色谱仪:美国沃特斯公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 牡蛎肽美拉德反应产物的制备 取热烫处理的牡蛎肉,按质量比 1:3 的料水比加水打浆,用氢氧化钠调 pH 为 8.0,采用碱性蛋白酶与风味蛋白酶进行酶解后在 90 °C 下灭酶 10 min,经 8 000 r/min 离心 15 min 收集上清液即为牡蛎酶解液。取牡蛎酶解液 10 g,加入酶解液固形物质量分数 20% 的 D-木糖以及质量分数 3% 的 L-半胱氨酸,再分别加入酶解液固形物质量分数 10% 的甘氨酸、谷氨酸、甘氨酸和谷氨酸的混合物(甘氨酸与谷氨酸质量比为 1:1),将上述溶液混合后调节 pH 为 7.4,在 120 °C 下反应 2 h,快速冷却至室温,置于冰箱保存待测。以牡蛎肽-半胱氨酸-木糖体系制备的美拉德反应产物为无额外氨基酸的对照组(control group,CG);在对照体系的基础上添加甘氨酸得到的美拉德反应产物记为 MRP_s-Gly;在对照体系的基础上添加谷氨酸得到的美拉德反应产物记为 MRP_s-Glu;在对照体系的基础上添加甘氨酸和谷氨酸得到的美拉德反应产物记为 MRP_s-Gly+Glu。

1.3.2 感官评定 向样品中加入质量分数 0.3% 的美拉德反应产物及质量分数 0.5% 的食盐,配制成待品评的样品溶液,以饮用水代替美拉德反应产物作空白对照,在 60 °C 水浴中保温 10 min 后进行感官评定。根据 GB/T 16291.1—2012 要求,感官评定小组由 15 位经验丰富的感官评定员组成,评定员均参加过 3 次以上感官评定相关培训且对待测样品和各项感官指标有一定熟悉度。以风味接受度高的市售蚝汁为感官评定打分标准,规定其咸味评分为 3,对应 0.5 g/dL NaCl 溶液的咸味;鲜味评分为 3,对应 1 g/dL 谷氨酸钠溶液的鲜味;甜味评分为 3,对应 0.5 g/dL 白砂糖溶液的甜味;醇厚味评分为 3,对应 0.09 g/dL 谷胱甘肽溶液的醇厚味;苦味评分为 1,对应 0.25 g/dL 莲子心溶液的苦味;滋味接受度评

分为 5。规定市售蚝汁气味评分的肉香味、甜香味、焦香味为 3,对应其肉香味、甜香味、焦香味适中;腥味、焦糊味气味评分为 1,对应腥味、焦糊味微弱;香气接受度评分为 5。基于以上对样品的各项滋味指标(咸味、鲜味、甜味、苦味、醇厚味、滋味接受度)和气味指标(肉香味、甜香味、焦香味、焦糊味、腥味、香气接受度)在 0~5 内分别进行打分,分值越高代表该气味或滋味程度越强。

1.3.3 挥发性风味成分分析 顶空固相微萃取条件:在顶空瓶中加入 3 mL 样品与 200 μL 内标液 2,4,6-三甲基吡啶(0.006 3 μg/μL)后密封。使用 DVB/CAR/PDMS 萃取头在 60 °C 水浴中萃取 30 min。将萃取头插入进样口,250 °C 下解吸 10 min。GC 条件:30 m×0.25 mm×0.25 μm 的 DB-WAX 毛细管色谱柱,流量 0.8 mL/min,载气 He,不分流;起始柱温为 40 °C,保持 3 min,以 5 °C/min 的速率升温至 80 °C,再以 10 °C/min 的速率升温至 160 °C,保持 0.5 min,再以 2 °C/min 的速率升温至 175 °C,最后以 10 °C/min 的速率升温至 230 °C,保持 7 min。MS 条件:灯丝电流为 80 μA,电子能量为 70 eV,离子源温度设定为 250 °C,检测器电压 1 000 V,接口温度 250 °C。

以 C₆~C₂₆ 的正构烷烃混合物为标准,在同等色谱条件下分析并根据公式(1)计算待测化合物的保留指数。

$$R=100n+\frac{100(t_s-t_n)}{t_{n+1}-t_n} \quad (1)$$

式中: t 、 t_n 、 t_{n+1} 分别为待测化合物及碳原子数为 n 和 $n+1$ 的正构烷烃调整保留时间,min; R 为待测化合物的保留指数。

采用气味活度对挥发性风味成分进行分析,公式如下:

$$A=C/T \quad (2)$$

式中: A 为气味活度; C 为挥发性化合物质量分数,μg/kg; T 为感觉阈值,μg/kg。

1.3.4 气味特性分析 采用快速气相色谱电子鼻进行气味特性分析。称取美拉德反应液 3 g 于顶空瓶中,迅速加盖密封待测,每个参数条件设置 4 组平行。色谱柱:DB-5 和 DB-1701(10 m×0.18 mm);检测器:氢火焰检测器;顶空萃取温度 60 °C,顶空时间 600 s;进样口温度 250 °C,进样流量 500 μL/s,进样量 500 μL;捕集温度 45 °C,解吸温度 250 °C;

起始柱温 50 ℃,保持 2 s 后以 1 ℃/s 升至 80 ℃,然后 3 ℃/s 升至 120 ℃,保持 21 s 后以 1.5 ℃/s 升至 250 ℃,保持 60 s;检测器温度 260 ℃,采集时间 100 s。

1.3.5 相对分子质量的测定 采用凝胶渗透色谱法,具体条件为:TSK gel 2000 SWXL 色谱柱,规格为 30 cm×7.8 mm×5 μm,柱温 30 ℃,流量 0.5 mL/min,检测波长 220 nm;以乙腈、水、三氟乙酸为流动相,三者体积比为 40:60:0.1。选择 5 种标准品:细胞色素 C(相对分子质量 12 500)、抑蛋白酶肽(相对分子质量 6 500)、杆菌肽(相对分子质量 1 450)、甘氨酸三肽(相对分子质量 189)和甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸四肽(相对分子质量 451),将所测结果绘制成标准曲线,从而分析样品的相对分子质量分布。

1.3.6 数据分析 采用 Excel 处理数据。Origin 制作图表。SPSS 19.0 软件进行相关性和差异性分析, $P<0.05$,结果表示为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 添加不同外源氨基酸的牡蛎肽 MRP_s 感官特性差异

感官评定是最直观的风味分析方法,可以判断整体风味轮廓和各感官属性的差异。风味包括气味和滋味两方面,为明确外源氨基酸对牡蛎肽 MRP_s 风味品质的影响,分别对不同体系的气味与滋味属性进行了感官评定,结果见图 1。

从图 1(a)可见,仅引入半胱氨酸进行反应得到的牡蛎肽 MRP_s 去腥效果微弱,而添加复合氨基酸参与美拉德反应则能有效地改善腥味。其中,甘氨酸的添加对甜香味有积极的促进作用。谷氨酸的添加在给予体系愉悦焦香味的同时,也引入了不良的焦糊味。复合添加这两种氨基酸则提高了肉香味和甜香味的感官强度,并且甘氨酸的加入减弱了焦糊味的不良影响^[7],使整体香气接受度最高。

由图 1(b)可见,添加外源氨基酸的牡蛎肽 MRP_s 在鲜味、咸味、甜味、醇厚味上都有一定提升。其中,MRP_s-Gly 在改善其他滋味属性的同时也增强了体系的苦味,而 MRP_s-Glu 鲜味评分较低。相比之下,MRP_s-Gly+Glu 在咸味、鲜味、甜味、醇厚味上的提升均十分显著,苦味值较低,整体滋味接受度高。由此可以看出,添加复合外源氨基酸产生的协同作用改善了牡蛎肽 MRP_s 的气味和滋味感官属性。

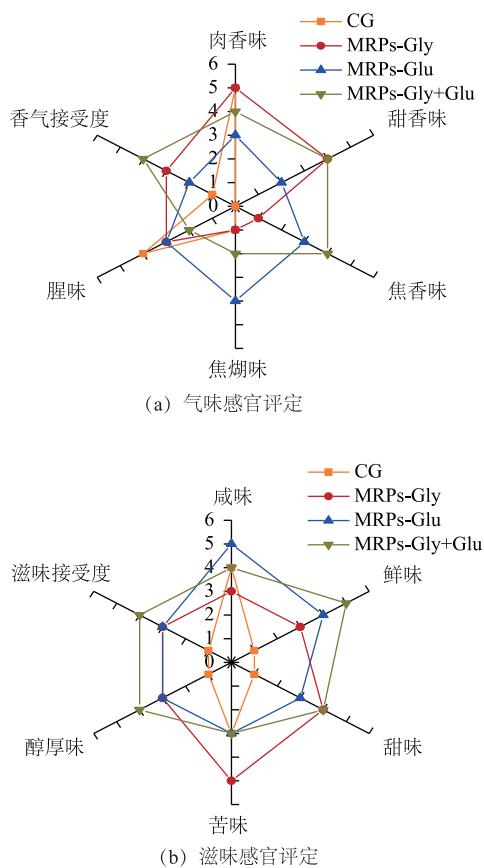


图 1 不同外源氨基酸对牡蛎肽美拉德反应产物感官特性的影响

Fig. 1 Effects of different exogenous amino acids on the sensory properties of Maillard reaction products of oyster peptide

2.2 添加不同外源氨基酸对牡蛎肽 MRP_s 挥发性风味化合物的影响

挥发性风味化合物的种类和质量分数与感官香气特性以及气味轮廓的形成密切相关^[18]。为明晰外源氨基酸与牡蛎肽 MRP_s 气味特性的关系,采用顶空固相微萃取结合气质联用对挥发性风味物质进行定性及定量分析。不同氨基酸作用下生成的牡蛎肽 MRP_s 中各挥发性风味化合物的质量分数见表 1,相应的气味活度见表 2。

由表 1 可以看出,无额外氨基酸的牡蛎肽 MRP_s(CG 组)中挥发性风味化合物种类共 19 种,不仅总质量分数低且种类较为单一,其中醛类化合物占主导。醛类物质能通过脂肪氧化快速形成^[1],有很强的叠加效应,痕量存在时仍对总体风味有很大贡献,含量过高时易导致异味^[19]。高含量的醛类物质是腥味产生的主要因素,如己醛、戊醛、庚醛、癸醛、

2,4-癸烯醛等醛类物质通常被描述为令人反感的刺激性气味,与鱼制品的腥味相关^[20]。研究发现造成牡蛎酶解液腥味明显的主要风味化合物涉及己醛、戊醛和2-壬烯醛^[4]。MRPs-Gly中检测到17种挥发性化合物,主要包括醛类、酮类、呋喃类、醇类和吡嗪类物质,其中多种醛类物质与CG组相比质量分数下降,这意味着外源添加甘氨酸对腥味的削弱效应可能归因于醛类物质质量分数的降低。与添加甘氨酸的体系相比,MRPs-Glu中挥发性化合物总量提高了约一倍,化合物种类增加至18种,表明谷氨酸对美拉德反应产物风味丰富性的提高有积极作用。而相比之下,添加这两种氨基酸在降低醛类化合物质量分数的同时,进一步提高了牡蛎肽MRPs中挥发性化合物种类和总质量分数,其中糠醛和吡

嗪类化合物质量分数的增加赋予了体系烘烤和坚果香气,这也表明甘氨酸和谷氨酸对牡蛎肽MRPs的去腥增香具有协同增强的作用。

气味活度大于1的化合物对整体气味具有重要贡献。由表2可知,CG组中气味活度大于1的化合物共11种,其中9种为醛类物质,表明这类物质对其整体气味具有重要贡献,这也是去腥效果受限的主要原因。在此基础上,MRPs-Gly中气味活度大于1的化合物有10种,MRPs-Glu中有11种,且其中醛类物质质量分数均小于CG组,表明添加外源氨基酸能显著削弱醛类物质对整体气味的影响。MRPs-Gly+Glu中2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、辛醛等醛类物质的气味活度基本小于添加单一氨基酸的产物,此外,该体系中庚醛、壬醛、(E)-2-辛烯醛、

表1 牡蛎肽MRPs中挥发性风味化合物的种类及质量分数

Table 1 Types and mass fractions of volatile flavor compounds in oyster peptide MRPs

序号	化合物名称	K1 ¹	R ²	质量分数/(μg/hg)			
				CG	MRPs-Gly	MRPs-Glu	MRPs-Gly+Glu
1	2-甲基丁醛	925	901	0.392±0.214 ^a	0.412±0.211 ^a	1.276±0.156 ^b	0.383±0.171 ^a
2	3-甲基丁醛	927	902	0.791±0.190 ^d	0.055±0.200 ^a	0.261±0.138 ^c	0.148±0.242 ^b
3	戊醛	968	957	—	0.960±0.432 ^b	—	0.334±0.280 ^a
4	己醛	1 078	1 077	0.315±0.190 ^a	0.264±0.170 ^a	0.291±0.137 ^a	0.128±0.171 ^a
5	庚醛	1 187	1 173	0.413±0.229 ^a	0.532±0.200 ^a	2.034±0.358 ^b	0.753±0.222 ^a
6	辛醛	1 287	1 275	0.424±0.357 ^b	0.512±0.381 ^c	—	0.103±0.291 ^a
7	壬醛	1 390	1 382	0.332±0.257 ^b	—	0.253±0.222 ^b	0.101±0.214 ^a
8	(E)-2-壬烯醛	1 410	1 417	—	3.713±0.181	—	—
9	(E)-2-辛烯醛	1 410	1 411	1.561±0.227 ^c	0.902±0.180 ^b	0.584±0.127 ^b	0.103±0.160 ^a
10	(E,E)-2,4-七烯醛	1 488	1 481	2.400±0.208 ^b	—	7.601±0.732 ^c	1.339±0.457 ^a
11	苯甲醛	1 519	1 510	78.568±0.267 ^a	335.562±1.021 ^c	415.844±0.952 ^d	159.210±0.412 ^b
12	(Z)-4-庚烯醛	1 238	1 228	0.423±0.161 ^b	—	—	0.062±0.050 ^a
13	糠醛	1 463	1 453	134.958±0.286 ^a	478.592±0.213 ^b	1 142.116±0.392 ^c	1 612.879±0.641 ^d
14	2-辛酮	1 287	1 273	0.052±0.043 ^a	0.124±0.112 ^a	0.083±0.059 ^a	0.084±0.120 ^a
15	2-壬酮	1 375	1 379	3.929±0.276 ^a	7.453±0.402 ^b	106.872±0.467 ^d	65.253±0.341 ^c
16	2-乙基呋喃	954	932	—	0.001±0.001 ^a	0.013±0.021 ^a	0.002±0.001 ^a
17	2-戊基呋喃	1 235	1 214	1.763±0.216 ^c	1.707±0.173 ^c	0.134±0.106 ^a	1.088±0.180 ^b
18	1-戊醇	1 449	1 450	0.187±0.171 ^a	—	—	0.051±0.052 ^a
19	1-辛烯-3-醇	1 448	1 443	0.134±0.277 ^a	0.329±0.139 ^b	0.312±0.231 ^b	0.559±0.181 ^c
20	1-辛醇	1 554	1 549	1.123±0.178 ^a	16.948±0.131 ^d	10.397±0.650 ^c	3.980±0.431 ^b
21	1-戊烯-3-醇	1 159	1 163	—	—	9.741±0.868	—
22	吡嗪	1 210	1 201	3.429±0.114 ^a	8.776±0.574 ^b	12.708±0.362 ^c	30.942±0.483 ^d
23	甲基吡嗪	1 263	1 256	0.146±0.051 ^a	—	3.949±0.401 ^b	4.968±0.432 ^c
挥发性化合物总量				231.332±4.528 ^a	856.822±4.070 ^b	1 714.443±5.621 ^c	1 882.053±6.121 ^d

注:表中同一行不同上标字母表示有显著性差异($P<0.05$);¹代表从 <https://www.vcf-online.nl/>上搜索到的线性保留指数;²代表在DB-WAX柱(30 cm×0.25 mm×0.25 μm)上使用一系列正构烷烃计算的线性保留指数。

(*E,E*)-2,4-七烯醛的气味活度降低至 1 以下,表明显著降低了醛类化合物对整体气味属性的影响。脂质氧化形成的醛类化合物在热反应过程中可以参与美拉德反应,MRPs-Gly+Glu 中美拉德反应与脂质氧化产物相互作用的增强可能促使醛类化合物质量分数降低。除此之外,与添加甘氨酸或谷氨酸的 MRPs 相比,MRPs-Gly+Glu 中苯甲醛、糠醛、1-辛烯-3-醇的气味活度明显增大。其中,苯甲醛具有苦杏仁、樱桃及坚果香,糠醛是产生焦甜香的关键化合物^[21],1-辛烯-3-醇具有明显的蘑菇类气味,这些拥有特殊香气的风味化合物对整体风味均有积极作用,对腥味去除和甜香味、焦香味的协同增强有着促进作用。综上,复合添加甘氨酸和谷氨酸的美拉德反应体系显著降低了腥味物质对整体气味的影响,同时增加了体系中关键挥发性化合物的种类和质量分数,赋予了体系更丰富的气味品质。

2.3 牡蛎肽美拉德反应产物的气味轮廓差异

快速气相电子鼻因具有灵敏性高的特点,故能对整体风味信息进行评判,可用于明确牡蛎肽美拉德反应产物整体气味轮廓的差异。对添加不同外源氨基酸的牡蛎肽 MRPs 和市售蚝汁的气味轮廓进行比较,结果见图 2。

第一主成分(PC1)的方差贡献率为 97.648%,第二主成分(PC2)的方差贡献率为 2.327%,二者累计方差贡献率达到 99.975%,代表了样品绝大部分信息,表明该模型能较全面地反映添加不同外源氨基酸后牡蛎肽 MRPs 和市售蚝汁的气味轮廓差异。通过比较发现,4 组牡蛎肽 MRPs 气味轮廓差异显著,即外源氨基酸的不同能显著改变产物的气味特性。其中,MRPs-Gly+Glu 整体气味轮廓与消费者接受度较高的市售蚝汁的气味轮廓最为接近,表明二者的相似度最高,也意味着在该条件下美拉德反应

表 2 牡蛎肽 MRPs 中挥发性风味化合物的气味活度和阈值

Table 2 Odor activity value and threshold of volatile flavor compounds in oyster peptide MRPs

序号	化合物	阈值 ¹ /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	气味活度			
			CG	MRPs-Gly	MRPs-Glu	MRPs-Gly+Glu
1	2-甲基丁醛	3	1.30±0.23 ^a	1.37±0.21 ^a	4.26±0.16 ^b	1.26±0.17 ^a
2	3-甲基丁醛	0.5	15.77±0.30 ^d	1.13±0.20 ^a	5.17±0.14 ^c	3.07±0.24 ^b
3	戊醛	12	—	<1	—	<1
4	己醛	4.5	<1	<1	<1	<1
5	庚醛	9.5	<1	<1	2.13±0.36	<1
6	辛醛	0.7	5.96±0.40 ^b	7.25±0.38 ^c	—	1.45±0.29 ^a
7	壬醛	1	3.31±0.36 ^a	—	2.50±0.22 ^a	<1
8	(<i>E</i>)-2-壬烯醛	13	—	2.85±0.18	—	—
9	(<i>E</i>)-2-辛烯醛	4	3.89±0.29 ^c	2.24±0.18 ^b	1.44±0.13 ^a	<1
10	(<i>E,E</i>)-2,4-七烯醛	15.4	1.56±0.26 ^a	—	4.94±0.73 ^b	<1
11	苯甲醛	350	2.24±0.27 ^a	4.55±1.02 ^b	9.59±0.95 ^c	11.88±0.41 ^d
12	(<i>Z</i>)-4-庚烯醛	3.4	1.22±0.16	—	—	<1
13	糠醛	1 000	1.35±0.29 ^a	4.79±0.21 ^b	11.13±0.64 ^c	16.42±0.39 ^d
14	2-辛酮	5	<1	<1	<1	<1
15	2-壬酮	200	<1	<1	5.34±0.47 ^b	3.26±0.34 ^a
16	2-乙基呋喃	0.04	—	<1	1.45±0.27	<1
17	2-戊基呋喃	6	2.93±0.32 ^b	2.85±0.17 ^b	<1	1.82±0.18 ^a
18	1-戊醇	3	<1	—	—	<1
19	1-辛烯-3-醇	1	1.29±0.38 ^a	3.30±0.14 ^b	3.12±0.23 ^b	5.61±0.18 ^c
20	1-辛醇	110	<1	1.54±0.13	<1	<1
21	1-戊烯-3-醇	400	—	—	<1	—
22	吡嗪	500	<1	<1	<1	<1
23	甲基吡嗪	60	<1	—	<1	<1

注:表中同一行不同上标字母表示有显著性差异($P<0.05$);¹代表从 <https://www.vcf-online.nl/>上搜索到的阈值。

产物对整体香气产生了积极的调控作用。

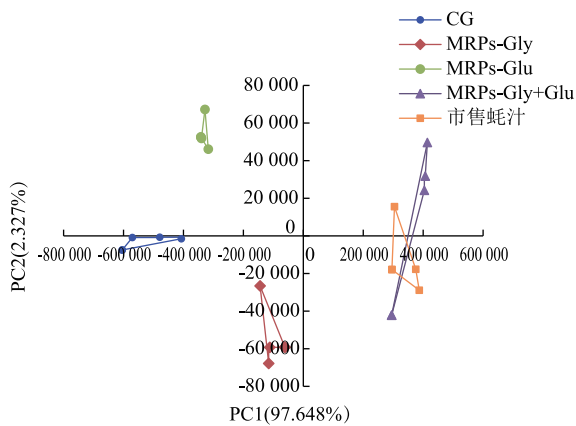
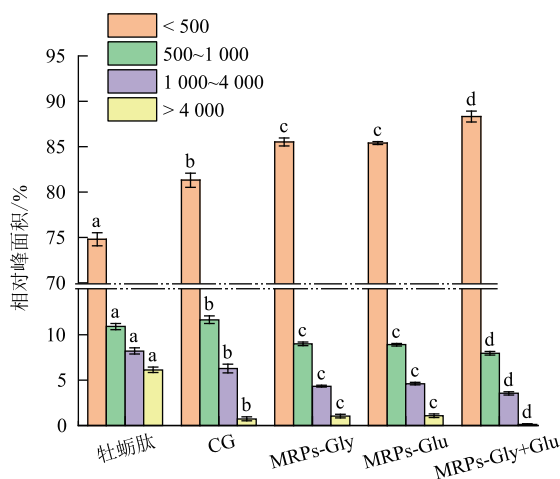


图2 基于电子鼻的牡蛎肽美拉德反应产物主成分分析
Fig. 2 Principal component analysis of oyster peptide MRPs based on electronic nose

2.4 MRPs 中肽的相对分子质量分布

美拉德反应产物的肽相对分子质量可以通过肽降解、肽交联和聚合来改变^[22]。在美拉德反应过程中,肽不仅会发生降解生成小分子肽和氨基酸,而且小分子肽可与糖发生美拉德反应形成糖肽交联物^[23]。肽的相对分子质量分布与牡蛎肽 MRPs 的滋味特性直接相关^[24],因此对不同外源氨基酸作用下 MRPs 中肽的相对分子质量分布进行分析,结果见图 3。



相对峰面积表示肽段占总体峰面积的百分比;图中不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

图3 牡蛎肽美拉德反应产物相对分子质量分布
Fig. 3 Relative molecular weight distribution of oyster peptide MRPs

从图 3 可以看出,与热反应前的牡蛎肽相比,美拉德反应产物中肽相对分子质量小于 1 000 的小肽比例显著增大,而大于 4 000 的肽段比例显著减少。相比于无额外氨基酸和单一添加甘氨酸或谷氨酸的 MRPs,添加复合氨基酸使产物中相对分子质量小于 500 的肽段比例显著提高,而大于 4 000 的肽段比例明显降低。小分子肽的积累是热反应过程中肽降解生成和反应消耗的共同结果,复合添加两种氨基酸时小分子肽的比例最高,这可能是其大量降解生成或热反应时少量消耗导致的。结合表 1 可以看出,复合添加两种氨基酸生成的咪唑、吡嗪类等美拉德产物质量分数显著增加,表明该体系具有较高的反应程度,不仅促进了美拉德反应产物中小分子肽的消耗,也提高了肽的降解程度,从而使小分子肽大量积累。鲜味肽是一类小分子肽^[25],多为相对分子质量低于 1 000 的寡肽类^[26],这相应增强了 MRPs-Gly+Glu 的鲜味和醇厚味。此外,研究表明牡蛎肽的苦味与多肽的疏水性有关^[27],随着多肽相对分子质量的下降,多肽暴露出的疏水性氨基酸末端被水解成小分子肽和游离氨基酸,苦味值降低^[28],因此相对分子质量小于 1 000 的小分子肽段比例的升高还有利于苦味的降低。MRPs-Gly+Glu 中相对分子质量大于 4 000 的大分子肽段比例最低且小分子肽段比例最高,这也可能是其苦味最弱的原因。综上,肽的相对分子质量分布结果表明 MRPs-Gly+Glu 具有更为优越的滋味品质。

3 结语

基于牡蛎肽-半胱氨酸-木糖体系,剖析了单一添加甘氨酸或谷氨酸以及复合添加 2 种氨基酸对牡蛎肽 MRPs 风味特性的调控作用。结果表明,添加外源氨基酸显著削弱了牡蛎肽 MRPs 的腥味,提高了气味和滋味感官属性的接受度。其中,MRPs-Gly+Glu 中关键腥味化合物对整体气味的贡献程度显著降低,同时也增加了体系中关键香气化合物的质量分数及对整体气味的贡献程度,实现了对牡蛎肽的去腥增香,提高了与市售蚝汁整体气味轮廓的相似性。肽相对分子质量分布的结果进一步表明,与单一添加甘氨酸或谷氨酸的 MRPs 相比,复合添加这 2 种氨基酸显著促进了体系中肽的降解,提高了小分子肽段的比例,增强了牡蛎肽美拉德反应产物的醇厚味和鲜味。因此,在牡蛎肽-半胱氨酸-木糖体

系中辅以外源甘氨酸和谷氨酸制得的美拉德反应产物有助于实现去腥提香,是改善牡蛎肽调味基料风味品质的有效途径,在天然海鲜调味料蚝汁的生产中具有应用潜力。

参考文献:

- [1] 黄可欣. 牡蛎酶解液挥发性风味成分分析及脱腥工艺研究[D]. 广州:华南理工大学,2020.
- [2] HOU H,ZHOU X,LI B F, et al. Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds in hydrolysates of Alaska pollock frame[J]. **International Journal of Food Properties**,2013,16(4):790-802.
- [3] CHEN K N, YANG Q F, HONG H, et al. Physicochemical and functional properties of Maillard reaction products derived from cod(*Gadus morhua* L.) skin collagen peptides and xylose[J]. **Food Chemistry**,2020,333:1-10.
- [4] 张梅超. 牡蛎蛋白酶解液风味改善及其运动饮料的研制[D]. 青岛:中国海洋大学,2014.
- [5] CHEN D K, CHEN X, CHEN H, et al. Identification of odor volatile compounds and deodorization of *Paphia undulata* enzymatic hydrolysate[J]. **Journal of Ocean University of China**,2016,15(6):1101-1110.
- [6] 叶盛权,吴晖,赖富饶,等. 牡蛎酶解过程的成分变化及脱腥初步研究[J]. 现代食品科技,2009,25(3):262-265.
- [7] HUANG M G, ZHANG X M, KARANGWA E. Comparison sensory characteristic, non-volatile compounds, volatile compounds and antioxidant activity of MRPs by novel gradient temperature-elevating and traditional isothermal methods[J]. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**,2015,52(2):858-866.
- [8] YU A N, ZHOU Y, YANG Y N. Kinetics of browning and correlations between browning degree and pyrazine compounds in L-ascorbic acid/acidic amino acid model systems[J]. **Food Chemistry**,2017,221:1678-1684.
- [9] YU M, HE S D, TANG M M, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate[J]. **Food Chemistry**,2018,243:249-257.
- [10] GAO P, XIA W S, LI X Z, et al. Optimization of the Maillard reaction of xylose with cysteine for modulating aroma compound formation in fermented tilapia fish head hydrolysate using response surface methodology[J]. **Food Chemistry**,2020,331:1-10.
- [11] 徐慢. 谷氨酸-木糖美拉德反应中间体制备及其加工风味[D]. 无锡:江南大学,2019.
- [12] 侯莉. “半胱氨酸-木糖-甘氨酸”体系有利于形成肉香味的初期美拉德反应途径[D]. 北京:北京工商大学,2017.
- [13] 曾茂茂,李伶俐,何志勇,等. 甘氨酸对美拉德反应体系及产生肉香风味物质的影响[J]. 食品科学,2012,33(7):32-36.
- [14] 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(6):169-174.
- [15] 张洁,董士远,郭晓伟,等. 美拉德反应应用于牡蛎酶解液脱腥的研究[J]. 食品工业科技,2009,30(11):215-217.
- [16] 张满,周亚军,温丑玉,等. 不同因素对牡蛎酶解液美拉德反应产物的影响[J]. 食品与发酵工业,2019,45(22):190-195.
- [17] 钱敏,白卫东,赵文红,等. 不同氨基酸和糖对美拉德反应产物的影响[J]. 食品科学,2016,37(13):31-35.
- [18] 梁静,杨冬梅,武建勇,等. 籼砂稻谷各组织香气成分分析[J]. 食品与发酵工业,2014,40(1):202-206.
- [19] 朱梦琴,夏书芹,张晓鸣,等. 电饭煲中预浸泡对陈米饭气味特性影响及机制解析[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(11):46-53.
- [20] 杨运懿. 双氧水适度氧化处理对鱼糜凝胶腥味脱除及品质特性的影响[D]. 无锡:江南大学,2021.
- [21] 巩敏. 镇江香醋中糠醛的形成途径及调控研究[D]. 无锡:江南大学,2021.
- [22] DONDERO M, FIGUEROA V, MORALES X, et al. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels[J]. **Food Chemistry**,2006,99(3):546-554.
- [23] 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.
- [24] KARANGWA E, MUREKATETE N, HABIMANA J D, et al. Contribution of crosslinking products in the flavour enhancer processing: the new concept of Maillard peptide in sensory characteristics of Maillard reaction systems[J]. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**,2016,53(6):2863-2875.
- [25] 阮仕艳. 罗非鱼下颌水提鲜味肽的呈味特性及其作用机制研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2021.
- [26] RHYU M R, KIM E Y. Umami taste characteristics of water extract of Doenjang, a Korean soybean paste: low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste[J]. **Food Chemistry**,2011,127(3):1210-1215.
- [27] IZAWA N, TOKUYASU K, HAYASHI K. Debittering of protein hydrolysates using *Aeromonas caviae* aminopeptidase [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,1997,45(3):543-545.
- [28] 解铭. 鳕鱼肉酶解液中苦味肽的分离纯化及脱苦方法研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2015.