

Doi:10.20062/j.cnki.CN37-1453/N.2024.01.004

鱿鱼加工副产物酶解液美拉德反应工艺优化

刁韩月,曹燕峰,常立炆,查文鑫,刘海梅,赵芹

(鲁东大学 食品工程学院,山东 烟台 264039)

摘要: 鱿鱼加工过程中会产生 20% 左右的副产物,其中富含蛋白质、氨基酸等多种营养成分和呈味成分。本研究采用双酶酶解工艺制备了鱿鱼加工副产物酶解液,以感官评分为指标,通过单因素和正交试验优化了鱿鱼加工副产物酶解液与大豆多糖-葡萄糖美拉德反应工艺。实验结果表明:在 pH 值 8.0、温度 110 °C、葡萄糖-多糖添加量 4% ($\omega(\text{葡萄糖}):\omega(\text{大豆多糖})=3:1$)、时间 60 min 的条件下,酶解液的感官评分值最高,反应产物具有明显的鱿鱼香气,口味鲜美。电子舌结果显示,美拉德处理前后的酶解液风味变化明显,表明美拉德反应可以改善酶解液的味道。本研究为鱿鱼加工副产物的综合利用和水产调味料的开发提供了思路。

关键词: 鱿鱼加工副产物;酶解液;美拉德反应;感官评定

中图分类号: TS254.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-8020(2024)01-0026-06

鱿鱼是我国重要的渔业资源,据《2022 中国渔业统计年鉴》报告显示,我国鱿鱼捕捞量达 64.01 万 t^[1],居世界首位。鱿鱼加工以胴体为主,产生的加工副产物包括鱿鱼眼、皮及内脏等,占总重量的 20% 左右。这些副产物大部分直接进行掩埋处理,只有少部分被加工制成饲料或者鱼粉,产品利用率和附加值低,造成资源浪费和环境污染。研究发现,鱿鱼加工副产物中富含蛋白质、脂肪、多糖和牛磺酸等营养成分,其中粗蛋白含量高达 63.18%,且含有 17 种氨基酸,占总含量的 55.74%,其中谷氨酸含量最高,占总含量的 7.93%,这提示其是制备海鲜调味汁的良好原料^[2]。目前海鲜调味汁制备的方法主要有抽提法和酶解法,其中酶解法对原料的利用率更高,得到了更广泛的应用。张修正等^[3]采用 AP-200A 碱性蛋白酶和 FF106 风味蛋白酶双步酶解工艺制备了鱿鱼加工副产物鲜味酶解液,所得酶解液鱿鱼特征鲜味明显,鲜甜氨基酸含量占比达 51.37%。陈惠云等^[4]选用风味蛋白酶和碱性蛋白酶制备了鱿鱼下脚料酶解液,其游离氨基态氮含量可达每 100 mL 1.085 mg。

诸多研究表明,美拉德反应对食品的理化性质、风味特性以及抗氧化能力均有改善作用,可以

赋予产物不同的滋味特性^[5]。目前关于水产蛋白水解物美拉德反应的研究多集中在单糖与酶解液的反应上,关于多糖在美拉德反应过程中发生作用的研究报道较少。有研究表明,多糖参与美拉德反应可以改变蛋白质的结构,提高蛋白质的功能性质和生物活性^[6]。龙鑫^[7]以大豆多糖和天冬氨酸为反应底物,进行美拉德反应,进一步提升了大豆多糖的乳化性,改善了大豆多糖的抗氧化性和抑菌活性。本研究以鱿鱼加工副产物酶解液和 大豆多糖-葡萄糖为研究对象,优化了其美拉德反应的最适条件,为鱿鱼加工副产物调味料的制备提供了依据。

1 材料和方法

1.1 原料

冷冻鱿鱼下脚料,由龙口佳宝水产食品有限公司提供,流水解冻之后打浆,分存于 -20 °C 的冰箱内备用。

1.2 仪器和试剂

高速台式大容量离心机购自湖南凯达科学仪

收稿日期:2023-10-20;修回日期:2023-11-14

基金项目:山东省大学生创新创业训练计划项目(2023,2024);烟台市科技计划项目(2022XDRH012);校企合作项目(28000101)

通信作者简介:赵芹(1983—),女,副教授,博士,研究方向为水产品精深加工。E-mail:lduzhao@126.com

器有限公司;油浴锅购自上海力辰仪器科技有限公司;C-tongue 电子舌购自上海保圣实业发展有限公司。AP-200A 碱性蛋白酶、FF106 风味蛋白酶购自安琪酵母股份有限公司;大豆多糖购自河南万邦化工科技有限公司;葡萄糖购自齐齐哈尔阜丰生物科技有限公司。

1.3 鱿鱼加工副产物酶解液制备

参照实验室前期实验结果^[3],依次采用 AP-200A 碱性蛋白酶、FF106 风味蛋白酶对鱿鱼加工副产物进行酶解反应,灭酶后,离心得酶解液。

1.4 鱿鱼加工副产物酶解液美拉德反应工艺优化

1.4.1 单因素优化实验

改变某一个因素参数,固定其余因素参数,研究糖添加量、反应温度、反应体系 pH 和反应时间 4 个主要因素对酶解工艺的影响。单因素试验步骤如下。

1) 固定美拉德反应 pH 值为 7.5,在 115 °C 条件下反应 60 min,研究不同糖添加量 2% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 1: 1)、3% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 2: 1)、4% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 3: 1)、5% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 4: 1)、6% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 5: 1)对产物风味的影响。

2) 固定美拉德反应时间 60 min,反应 pH 值为 7.5,糖添加量为 4% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 3: 1),研究不同反应温度(100、105、110、115、120 °C)对产物风味的影响。

3) 固定美拉德反应的温度为 115 °C,时间为 60 min,糖添加量为 4% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 3: 1),研究反应体系不同 pH 值(7.0、7.5、8.0、8.5、9.0)对产物风味的影响。

4) 固定美拉德反应温度 115 °C,反应 pH 值为 7.5,糖添加量为 4% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖) = 3: 1),研究不同反应时间(40、60、80、100、120 min)对产物风味的影响。

1.4.2 正交优化试验

根据单因素试验所确定的条件,设计四因素三水平正交试验对美拉德反应条件进一步优化。

1.5 美拉德反应产物感官评定

选择 10 名经过培训的评定员进行感官评定,

要求评定人员在实验前 2 h 未进食、吸烟,且单独进行评定。采用 10 分制,分别对鱿鱼酶解液美拉德反应产物的风味、香气、腥味、色泽和体态打分,满分为 50 分。具体评价标准见表 1。

表 1 美拉德反应产物感官评分标准
Tab. 1 Standards for sensory evaluation of Maillard reaction products

| 项目 | 标准 | 评分 |
|----|-------------|------|
| 风味 | 鱿鱼鲜味浓郁,口味鲜美 | 7~10 |
| | 鱿鱼鲜味一般,口味勉强 | 3~6 |
| | 无鲜味,存在异味 | 0~2 |
| 香气 | 鱿鱼香气浓郁 | 7~10 |
| | 鱿鱼香气较明显 | 3~6 |
| | 鱿鱼香气较淡 | 0~2 |
| 腥味 | 无腥味 | 8~10 |
| | 略有腥味 | 3~7 |
| | 腥味浓郁 | 0~2 |
| 色泽 | 棕褐色,深浅适中 | 7~10 |
| | 颜色过深,色泽比较均匀 | 3~6 |
| | 颜色过深,色泽不均匀 | 0~2 |
| 体态 | 体态澄清透明 | 7~10 |
| | 体态较澄清 | 3~6 |
| | 体态浑浊 | 0~2 |

1.6 电子舌检测

电子舌系统是由传感器阵列、信号调理系统、测试平台 and 数据处理系统四部分组成。将酶解液和美拉德反应后的酶解液 7000 r · min⁻¹ 离心并过滤,分别吸取 20 mL 酶解液和美拉德反应后的酶解液于 50 mL 烧杯中,采用 C-Tougue 电子舌进行测试。在进行检测前,需对电子舌传感器进行充分清洗并擦干。S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8、S9 传感器参数设定为 10 倍,调整传感器的位置,使传感器完全浸没于样品中。每个样品平行测定 5 次。

1.7 数据分析

采用 Excel 进行曲线绘制与标准偏差分析,数据以 $X \pm SD$ 表示,同时进行 LSD 比较, $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 葡萄糖-大豆多糖添加量对感官评分的影响

大豆多糖是一种水溶性的酸性多糖,由同型半乳糖醛酸和鼠李糖醛酸的半乳糖醛酸骨架组成,支链由 β -1,4-半乳糖和 α -1,3或 α -1,5-阿拉伯聚糖组成,含有葡萄糖、木糖、鼠李糖、阿拉伯糖和岩藻糖等多种成分^[8]。课题组通过预实验评价了不同大豆多糖添加量(0.25%、0.5%、1%、1.5%和2%)对美拉德反应的影响,结果显示,随着大豆多糖质量分数的增加,美拉德反应的褐变程度增加,2%大豆多糖组溶液呈现淡黄褐色,但是过高质量分数的多糖使得溶液变得粘稠,影响产品的质构。因此,选择大豆多糖的添加量为1%。

为提升美拉德反应的程度,选择葡萄糖和大豆多糖进行复配,固定大豆多糖的添加量为1%,葡萄糖与大豆多糖的质量比分别为1:1、2:1、3:1、4:1和5:1,不同糖添加量对美拉德反应产物感官评分的影响见图1。由图1可见,随着葡萄糖-大豆多糖添加量的增加,感官评分呈现先升高后下降的趋势。可见,加糖量增加导致美拉德反应程度加深,风味更好。然而,当葡萄糖-大豆多糖添加量达到6%(ω (葡萄糖): ω (大豆多糖)=5:1)时,评分开始降低。杨宁等^[9]在研究不同葡萄糖添加量对兰茂牛肝菌酶解产物调味油美拉德反应感官指标的影响时同样发现,随着葡萄糖添加量增加,电子鼻传感器的响应值先升高后下降,且当还原糖添加量为6%和7%时,因为出现焦糊味导致综合评分降低。在本实验体系中,当葡萄糖-大豆多糖添加量达到6%(ω (葡萄糖): ω (大豆多糖)=5:1)时,美拉德反应过度,产物褐变程度过大而产生焦苦味。根据实验结果选取葡萄糖-大豆多糖添加量3%、4%和5%进行后续正交试验。

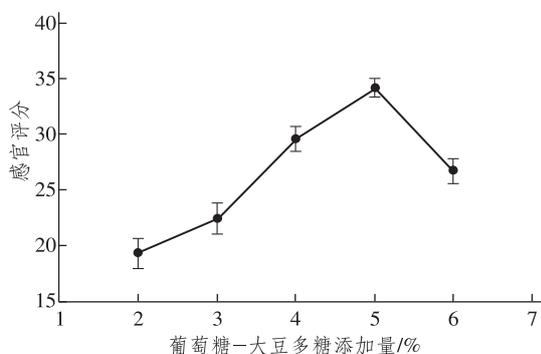


图1 不同糖添加量对美拉德反应产物感官评分的影响
Fig.1 Effects of different sugar addition on sensory scores of Maillard reaction products

2.1.2 美拉德反应时间对感官评分的影响

美拉德反应时间不仅影响反应速率,也会对产物的风味品质产生重要的影响,反应时间过短,中间产物未充分转化成风味化合物;反应时间过长,则会导致类黑精等末期反应产物增多,不仅造成焦苦味,而且对人体健康产生不利的影响^[10]。不同时间对美拉德反应产物感官评分的影响见图2,由图2可见,当时间为80 min时,感官评分最高,之后感官评分逐渐降低。穆红等^[11]研究发现适度的反应时间有助于美拉德反应风味成分的积累,其中游离氨基酸和挥发性成分随着加热时间的延长均出现了先上升后下降的趋势。在本实验中,加热时间超过80 min后,风味的降低可能与游离氨基酸和挥发性成分的损失有关。根据实验结果选取40、60和80 min进行正交试验。

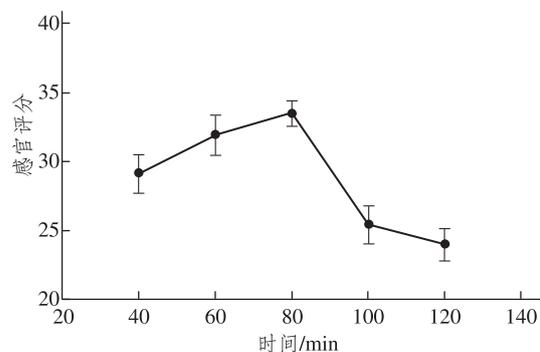


图2 不同时间对美拉德反应产物感官评分的影响
Fig.2 Effects of different time on sensory score of Maillard reaction products

2.1.3 美拉德反应初始 pH 值对感官评分的影响

pH 值一方面可以通过影响蛋白质的溶解性而影响参与反应的蛋白质含量进而影响反应程度,另一方面碱性条件可以催化美拉德反应的发生,通过使糖分子结构链打开,从而增加其反应性。然而,过高的 pH 值会导致蛋白质发生脱氨、脱羧与肽键断裂等情况,不利于美拉德反应的进行^[12]。由图3可见,当 pH 值为7.5时感官评分最高,当 pH 值大于7.5时感官评分下降。谢宜桐等^[13]研究了不同缓冲溶液 pH 值对低聚半乳糖与大豆分离蛋白美拉德反应的影响,发现在 pH 值6~10范围内美拉德反应的中间产物和终产物均呈现先升高后下降的趋势,其结果与本研究的结论一致。另外,在 pH 值为7.5时,反应产物呈现出更好的乳化性和稳定性,而随着 pH 值继续升高,生成的类黑精等不溶性大分子物质导致体

系的稳定性显著下降。因此根据实验结果选择 pH 值 7.5、8.0 和 8.5 三个水平进行正交试验。

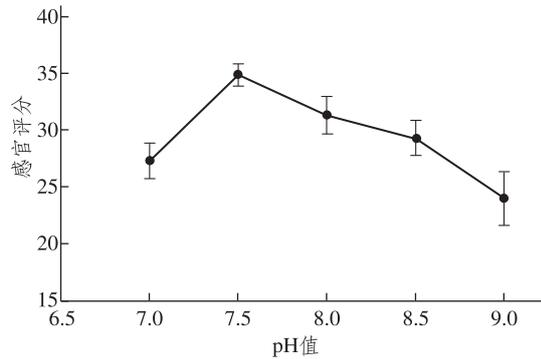


图 3 不同 pH 值对美拉德反应产物感官评分的影响

Fig. 3 Effects of different pH on sensory score of Maillard reaction products

2.1.4 温度对感官评分的影响

美拉德反应是一个复杂的反应网络,温度的高低会促使反应网络沿着不同的反应支路而生成不同的产物^[14]。通常反应温度升高,会促进美拉德反应进行。不同温度对美拉德反应产物感官评分的影响见图 4,由图 4 可见,在 100 ~ 115 °C 之间,随着温度的升高,美拉德反应速度加快,产生的风味物质显著增多,感官评分逐渐升高。温度继续升高至 120 °C 时,产物的风味品质下降,主要是因为杂味成分增多,且伴有一定的焦苦味产生。因此,选取感官评分较高的温度 110、115 和 120 °C 进行正交试验。

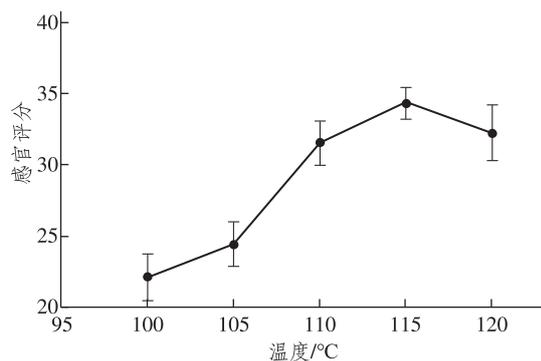


图 4 不同温度对美拉德反应产物感官评分的影响

Fig. 4 Effects of different temperature on sensory score of Maillard reaction products

2.2 正交试验

根据单因素试验结果,设计四因素三水平正交试验,如表 2,正交试验的数据分析如表 3。

表 2 美拉德工艺优化正交试验因素水平
Tab. 2 Factor levels of Maillard process optimization orthogonal test

| 水平 | 温度/°C | pH 值 | 时间/min | 葡萄糖-大豆多糖添加量/% |
|----|-------|------|--------|---------------|
| 1 | 110 | 7.5 | 40 | 3 |
| 2 | 115 | 8.0 | 60 | 4 |
| 3 | 120 | 8.5 | 80 | 5 |

表 3 美拉德工艺优化正交实验结果

Tab. 3 Orthogonal experimental results of Maillard process optimization

| 试验号 | 温度/°C | pH 值 | 时间/min | 加糖量/% | 感官评分 |
|-----|-------|-------|--------|-------|------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 29.2 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 40.2 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 29.8 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 35.0 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 36.2 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 34.2 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 30.4 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 34.0 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 29.0 |
| K1 | 99.2 | 94.6 | 97.4 | 94.4 | |
| K2 | 105.4 | 110.4 | 104.2 | 104.8 | |
| K3 | 93.4 | 93.0 | 96.4 | 98.8 | |
| k1 | 33.07 | 31.53 | 32.47 | 31.47 | |
| k2 | 35.13 | 36.80 | 34.73 | 34.93 | |
| k3 | 31.13 | 31.00 | 32.13 | 32.93 | |
| R | 4.00 | 5.80 | 2.60 | 3.46 | |

根据正交试验极差分析可知, R 值由大到小依次为 pH 值、温度、加糖量、时间,所以 pH 值对鱿鱼下脚料酶解液美拉德反应的影响最大,时间对鱿鱼下脚料酶解液美拉德反应的影响较小。这与步营等^[15]研究的结果一致:pH 值是影响蓝蛤酶解液美拉德反应工艺的最显著因素。经极差分析表明,最佳组合水平为 pH 值 8.0,温度 110 °C,葡萄糖-多糖添加量 4% (ω (葡萄糖): ω (大豆多糖)) = 3: 1),时间为 60 min。

2.3 最优美拉德工艺条件下酶解产物感官评定

美拉德反应产物的感官评定见图 5。由图 5 可见,采用美拉德工艺优化条件下制备的鱿鱼下脚料酶解液与未反应之前相比,腥味显著降低,呈现出更为浓郁的鱿鱼风味和香气,体态为棕褐色粘稠状液体,整体风味具有明显的改善。美拉德反应在水产调味料脱腥方面也显示出良好的效果,如贻贝酶解物美拉德反应后酮类和醇类的增加使得风味更加丰富,达到了减少腥味,增加熏香风味的目的^[16];牡蛎蛋白酶解液与 3.0% 的葡萄

糖反应后,其脱腥和脱臭效果显著优于活性炭^[17]。由此可见,在水产调味汁的制备中,美拉德反应产物不仅可以增强产物的风味特性,还可以减少腥味,为水产调味汁加工业带来诸多益处。

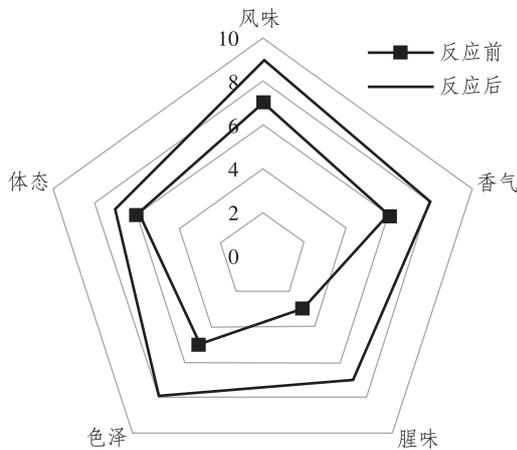


图5 美拉德反应产物的感官评定雷达图
Fig. 5 Sensory evaluation radar chart of Maillard reaction products

2.4 电子舌分析

经美拉德反应前后酶解液电子舌主成分分析(PCA)见图6,其中 x 轴代表第一主成分, y 轴代表第二主成分,两者相加之和为96.48%,可以代表样品的气味组成。从图6中可以看出,美拉德反应前后PCA散点图的数据没有交叉,均独立分布,PCA分析的区分效果明显,证明美拉德反应对酶解液的风味产生了显著影响。

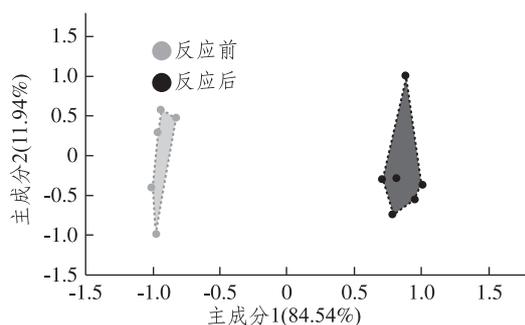


图6 酶解液和美拉德反应产物的电子舌PCA
Fig. 6 PCA of the E-tongue of enzymatic hydrolysate and Maillard reaction products

3 结论

通过单因素和正交实验优化鱿鱼下脚料酶解液美拉德反应的最佳工艺为pH值8.0、温度110℃、葡

萄糖-大豆多糖添加量4%、时间60 min。此条件下制得的鱿鱼调味汁色泽呈棕褐色,溶液澄清且带有一定的粘稠度,具有明显的鱿鱼香气,口味鲜美。经电子舌分析,美拉德反应对酶解液的风味产生了显著影响,显著改善了鱿鱼酶解液的风味。本实验为鱿鱼加工副产物的高值化利用提供了技术参考,也为水产品新型调味料的开发提供了思路。

参考文献:

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[Z]. 北京:中国农业出版社,2022.
- [2] 姚雨杉. 鱿鱼加工副产物酶解、发酵工艺的优化和抗高血压肽的制备[D]. 广州:华南理工大学,2020.
- [3] 张修正,梁振鲁,裴继伟,等. 双步酶法制备鱿鱼加工副产物鲜味酶解液的工艺研究[J]. 食品与发酵工业,2023,49(15):201-207.
- [4] 陈惠云,王翰韬,曾纪豪,等. 鱿鱼下脚料复合酶法制备海鲜酱汁[J]. 食品与发酵工业,2021,47(17):200-205.
- [5] 丁俭,黄祯秀,杨梦竹,等. 食源蛋白水解物/多肽与糖类物质美拉德反应产物在食品应用中的研究进展[J]. 食品科学,2023,44(1):305-318.
- [6] KE C X, LI L. Influence mechanism of polysaccharides induced Maillard reaction on plant proteins structure and functional properties: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 302: 120430.
- [7] 龙鑫. 大豆多糖的化学改性及其功能性研究[D]. 上海:上海海洋大学,2022.
- [8] NAKAMURA A, FURUTA H, MAEDA H, et al. Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan [J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 2002, 66(6):1301-1313.
- [9] 杨宁,张沙沙,周镭,等. 兰茂牛肝菌酶解产物调味油美拉德反应增香工艺优化及电子鼻分析[J]. 食品工业科技,2023,5(13):1-18.
- [10] 吴靖娜,靳艳芬,陈晓婷,等. 鲍鱼蒸煮液美拉德反应制备海鲜调味基料工艺优化[J]. 食品科学,2016,37(22):69-76.
- [11] 穆红,罗瑞明,李亚蕾. 热处理对牛骨酶解液美拉德反应产物呈味物质及挥发性成分的影响[J]. 中国食品学报,2023,9(9):181-191.
- [12] CHE W, MA X B, WANG W J, et al. Preparation of modified whey protein isolates with gum acacia by ul-

- trasound maillard reaction [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 298 – 307.
- [13] 谢宜桐. 超高压均质对大豆分离蛋白美拉德反应及乳化性质的影响研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
- [14] TAN Z W, YU A N. Volatiles from the Maillard reaction of ascorbic acid with glutamic acid/aspartic acid at different reaction times and temperatures [J]. Asia – Pacific Journal of Chemical Engineering, 2012, 7(4): 563 – 571.
- [15] 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.
- [16] 郭福军, 姜启兴, 许艳顺, 等. 河蚌酶解液美拉德反应前后风味成分的分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 171 – 184.
- [17] 许庆陵, 周勇强, 战宇, 等. 牡蛎水解蛋白制备及脱腥技术研究[J]. 食品研究与开发 2012, 33(10): 1 – 5.

Optimization of Maillard Reaction Process for Enzymatic Hydrolyzate of Squid Processing By – products

DIAO Hanyue, CAO Yanfeng, CHANG Liyang, ZHA Wenxin, LIU Haimei, ZHAO Qin

(School of Food Engineering, Ludong University, Yantai 264039, China)

Abstract: By – products from squid processing accounts for about 20%, which abounds with protein, amino acids and other nutrients and flavor components. In this study, a dual – enzyme enzymatic hydrolysis process was utilized to prepare the enzymatic hydrolyzate of squid processing by – products. Using sensory scores as indicators, the Maillard reaction process of the enzymatic hydrolyzate of squid processing by – products and soybean polysaccharide – glucose were optimized through single factor and orthogonal experiments. The result shows that the sensory score of the enzymatic hydrolyzate approaches the highest, and the product of experimental reaction presents an obvious squid aroma and tastes delicious at the conditions of pH 8.0, temperature 110 °C, 4% ($\omega(\text{glucose}) : \omega(\text{soybean polysaccharide}) = 3 : 1$) of glucose – polysaccharide addition amount, and 60 minutes of reaction times. The results of the electronic tongue showed that there was significant difference between enzymatic hydrolysate and Maillard reaction products, and that Maillard reaction can improve the flavour of enzymatic hydrolysate. This study provides ideas for the comprehensive utilization of squid processing by – products and the development of aquatic seasonings.

Keywords: squid processing by – products; enzymatic hydrolyzate; Maillard reaction; sensory evaluation

(责任编辑 李维卫)

版权声明

根据《中华人民共和国著作权法》《信息网络传播权保护条例》等法律法规的规定,本刊作如下声明:

1. 作者向本刊投稿,即表明同意将作品的发表权、删改权、信息网络传播权、数字化汇编权、数字化复制权、数字化制品形式(包括光盘、互联网出版物)出版发行权等权利授予本刊,并视同许可本刊官方新媒体免费转载以及与有关数据库的合作(本刊不再另行支付费用)。如不同意以上授权,请在投稿时说明。

2. 本刊刊载的全部编辑内容归《鲁东大学学报(自然科学版)》编辑部所有,非经书面同意,任何单位和个人不得转载、摘编、刊印或以其他方式使用。如有违反,本刊保留一切法律追究的权利。

3. 本刊版面、栏目等受著作权保护,对复制、仿制、假冒者将追究法律责任。

4. 已在本刊发表的论文,本刊具有免费结集出版精华本、合订本以及相关电子产品的权利,有特别声明者除外。

《鲁东大学学报(自然科学版)》编辑部