

文章编号: 1674-5566(2023)06-1123-12

DOI: 10.12024/jsou.20230204087

美拉德反应对刺参性腺酶解物风味的影响

张美¹, 宋荣珍¹, 林柳¹, 陶宁萍^{1,2}, 王锡昌^{1,2}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

摘要: 为提高刺参(*Stichopus japonicus*)性腺利用率, 制备风味较佳的海鲜风味调味料。以刺参性腺酶解物为研究对象, 加入D-木糖和L-半胱氨酸进行美拉德反应, 结合低分子质量香味中间体、褐变程度、游离氨基酸、呈味核苷酸和挥发性物质等指标分析刺参性腺酶解物滋味和口味的变化。结果表明: 美拉德反应后, 鲜味、甜味游离氨基酸含量显著增加, 苦味游离氨基酸占比减少; AMP为刺参性腺酶解物中主要的呈味核苷酸, 且反应后含量显著下降; 关键风味化合物种类和数量均增加, 醛类为主要的挥发性风味成分, 苯甲醛是反应前后的最主要差异物质, 吡嗪、噻吩和2-乙基呋喃是美拉德反应形成的特征性风味物质。刺参性腺酶解物/D-木糖/L-半胱氨酸美拉德反应产物具有良好的风味, 为高品质调味基料和功能性食品的开发提供应用参考。

关键词: 刺参性腺; 酶解物; 美拉德反应; 风味

中图分类号: TS 254.9; F 762.6 **文献标志码:** A

近年来, 随着经济的发展和人民生活水平的提高, 以海参养殖和加工为主的海参产业已成为我国海洋农业经济的重要组成部分^[1]。由于海参体内含有自溶酶, 受到外界刺激时, 会发生自溶反应, 不易运输保存, 因此, 通常将海参加工成干制品。加工过程中, 许多海参副产物被丢弃, 造成营养物质的严重浪费。

海参性腺含有丰富的蛋白质, 约占干重的70%以上。由于大多数天然蛋白质理化 and 功能特性较差, 需要通过水解、微波、超声等技术打断蛋白质分子间部分肽键, 得到不同分子量的蛋白质水解物、多肽和游离氨基酸^[2]。蛋白质水解物是指由蛋白质水解而产生的肽和氨基酸的混合物, 一般由2~20个氨基酸残基组成, 有良好的溶解性、乳化性、高消化率和抗氧化活性^[3], 是功能性食品配料、调味料以及氨基酸的良好来源^[4]。近年来, 由于食源蛋白水解物和糖类物质形成的复合物分子结构特殊、营养功能较好, 有助于改善机体功能, 因此, 相关研究在食品科学领域备受关注。美拉德反应(Maillard reaction, MR)是还原糖的羰基与氨基酸、肽或蛋白质的氨基之间复

杂的非酶褐变反应^[5], 是简单、高效形成蛋白-糖类物质共价复合的方法之一, 反应过程中产生的一系列复杂的化合物, 称为美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)。越来越多的研究表明, 食源蛋白水解物MRPs不仅能够改善食品色泽和风味, 还可提高蛋白水解物表面活性、抗氧化活性等功能性质。

本研究以刺参(*Stichopus japonicus*)性腺酶解物为原料, 结合褐变程度、游离氨基酸、呈味核苷酸和挥发性成分等指标评估了美拉德反应对刺参性腺酶解物色泽、风味的影响, 以期利用美拉德反应开发具有良好风味和抗氧化活性的刺参性腺产品提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

刺参性腺购自大连市甘井子区金三角市场, 洗净后于-20℃保存; 风味蛋白酶(酶活150 000 U/g)、D-核糖(食品级)、三氯乙酸、2,4,6-三甲基吡啶均为分析纯, 上海麦克林生物科技有限公司; L-半胱氨酸(食品级)、高氯酸、柠檬酸钠、柠檬酸均

收稿日期: 2023-02-17 修回日期: 2023-07-09

基金项目: 浙江省“领雁”研发攻关计划项目(2022C02025)

作者简介: 张美(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与品质评价。E-mail: 17853722723@163.com

通信作者: 陶宁萍, E-mail: npta@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

为色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

主要仪器与设备:油浴锅,德国 IKA 集团;H1850R 高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;L-8800 氨基酸自动分析仪,日本日立公司;Waters-e2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;ASTREE 电子舌,法国 Alpha MOS 公司;6890-5975B 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 质谱公司。

1.3 实验方法

1.3.1 刺参性腺酶解物的制备

取适量的刺参性腺,剪成大小为 1 cm 的碎块,按料液比为 1:4 (g/mL) 加入超纯水,加入风味蛋白酶(加酶量为 5 000 U/g),搅拌均匀,在 40 °C 下酶解 3.5 h。酶解结束后,90 °C 水浴灭酶 15 min,冷却至室温后离心(10 000 r/min, 4 °C, 10 min),上清液-40 °C 真空冷冻干燥,冻干后样品密封于-40 °C 保存。

1.3.2 美拉德反应产物的制备

取 0.50 g 刺参性腺酶解物于消解管中,加入 0.30 g D-核糖、0.05 g L-半胱氨酸和 10 mL 蒸馏水,2 mol/L NaOH 调节初始 pH 至 7.0 后密封,于油浴锅中 80 °C 反应 2 h,反应结束后立即冰浴至室温后备用,命名为 MR 组。未添加 D-核糖和 L-

半胱氨酸为空白对照,命名为 BC 组。

1.3.3 低分子质量香味中间体和褐变程度的测定

参考 YU 等^[6]的方法并稍作修改。294 nm 处吸光度可表示 MRPs 中低分子质量香味中间体,将 MRPs 稀释 250 倍,以水为参比,294 nm 处测定其吸光度。

420 nm 处吸光度可表示美拉德反应最后阶段产生的棕色聚合物含量,反映美拉德反应的褐变程度。将 MRPs 稀释 10 倍,以水为参比,420 nm 下测定其吸光度。

1.3.4 游离氨基酸

参考 WANG 等^[7]方法并稍作修改。取 0.5 mL MRPs 与 15 mL 5% TCA 溶液混合,超声 5 min 后 4 °C 静置 2 h,6 700×g 离心 10 min,取 5 mL 上清液,用 NaOH 溶液(6 mol/L 和 1 mol/L)调 pH 至 2.0,定容至 10 mL,水相膜(孔径为 0.22 μm)过滤后,采用氨基酸自动分析仪进行分析。

1.3.5 呈味核苷酸

根据 ZHANG 等^[8]方法并略加改动。将 MRPs (0.5 mL) 与 5 mL 10% PCA 混合,4 °C 静置 30 min,6 700 ×g 离心 10 min,取上清液并用 KOH 溶液(6 mol/L 和 1 mol/L)调 pH 至 5.8,6 700×g 离心 10 min,取上清液定容至 10 mL,水相膜(孔径为 0.22 μm)过滤后,采用 HPLC 进行分析。见表 1^[9]。

表 1 呈味核苷酸高效液相色谱梯度洗脱程序
Tab. 1 HPLC gradient elution program for nucleotide analysis

洗脱时间 Elution time/min	0	8.00	8.01	10.00	10.01	15.00	23.01	26.00	26.01	30
A/%	0	0	3	3	6	6	30	30	0	0
B/%	100	100	97	97	94	94	70	70	100	100

注:A: KH_2PO_4 和 K_2HPO_4 (25 mmol/L, pH 5.8); B: 甲醇(CH_3OH)。

1.3.6 电子舌

采用 LIANG 等^[10]提出的方法确定电子舌。将样品稀释 5 倍,10 000×g 离心 10 min,取 5 mL 上清液,超纯水稀释至 80 mL,用 ASTREE 味觉指纹分析仪进行电子舌分析。

1.3.7 挥发性成分分析

参考 ZHANG 等^[11]的方法并稍作修改。将 2.5 mL MRPs 和 2.5 mL 饱和 NaCl 溶液置于 30 mL 棕色顶空瓶中,并加入 10 μL (0.01 mg/mL) 2,4,6-三甲基吡啶(TMP),50/30 μm DVB/CAR/PDMS 60 °C 水浴萃取 40 min,进样器解吸 12 min。

定性分析:挥发性物质通过 NIST 17.0 和 Wiley MS 质谱库确定,筛选正反匹配度大于 800

的物质。

定量分析:以甲醇稀释 TMP 至质量浓度为 0.01 g/L 作内标,移取 10 μL 并与样品同时加入顶空瓶中顶空萃取,假定校准因子为 1.00,计算挥发性化合物的含量。

$$C_x = (A_x \times 0.1) / (A_s \times 0.125) \quad (1)$$

式中: C_x 为挥发性化合物 x 的含量,ng/g; A_x 为挥发性化合物 x 的峰面积; A_s 为 TMP 的峰面积;0.1 为 TMP 的质量,μg;0.125 为顶空瓶中 MRPs 的质量,g。

关键风味化合物:采用气味活度值(Odor activity value, OAV)法,当 $\text{OAV} \geq 1$ 时认为该物质为关键风味化合物,对样品总体风味起关键性作用。 $0.1 \leq \text{OAV} < 1$ 为重要风味成分,对样品总

体风味具有重要的修饰作用。

$$O_{AVx} = C_x / O_{Tx} \quad (2)$$

式中: O_{AVx} 为挥发性化合物 x 的气味活度值; C_x 为挥发性化合物 x 的含量,ng/g; O_{Tx} 为挥发性化合物 x 在水中的嗅觉阈值, $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.4 数据处理与分析

每个实验重复3次,每次3个平行。所得数据使用IBM SPSS Statistics 19进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著性。用Origin 2018, <https://www.chiplot.online/>和 <https://www.metaboanalyst.ca/>作图。

2 结果与分析

2.1 低分子量香味中间体和褐变程度的测定

294 nm和420 nm处的吸光度可分别表示美拉德反应中间产物的浓度和褐变强度。如图1所示,与BC组相比,MR后294 nm处吸光度增强,说明在美拉德反应初期,形成了大量无色中间风味前体物质^[12]。美拉德反应引起的褐变会降低食品感官质量和消费者接受度,目前,越来越多的研发者致力于开发浅色美拉德反应风味增强肽。值得注意的是,美拉德反应后,420 nm处吸光度降低,说明美拉德反应使得刺参性腺酶解物褐变强度降低,这与相关研究结果不一致^[6],推测可能是添加的L-半胱氨酸易与Amadori化合物发生相互作用进而抑制二羰基化合物的生成^[13],减少类黑素类物质的生成,进而减小酶解液的褐变强度。

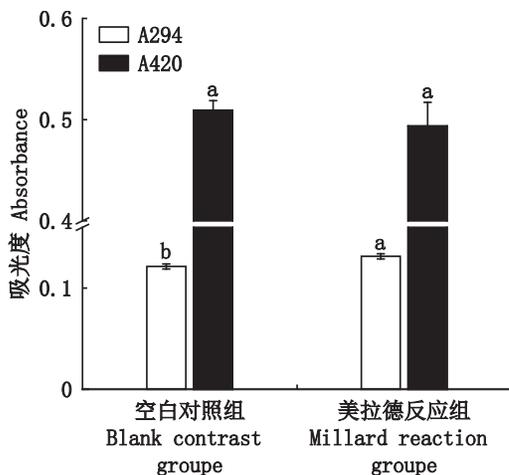


图1 刺参性腺酶解物及其MRPs低分子量香味中间体和褐变程度

Fig. 1 Browning intensity of *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

2.2 非挥发性成分

2.2.1 游离氨基酸

游离氨基酸(Free amino acid, FAA)是食品中重要的小分子呈味物质,其组成及数量与蛋白质水解产物的滋味密切相关^[14]。美拉德反应前后游离氨基酸含量变化见表2。与BC组相比,美拉德反应后总FAA含量显著增加($P < 0.05$),为315.44 mg/100 mL,这与LI等^[15]研究一致,这可能是由于美拉德反应过程中氨基酸的热降解或Strecker降解导致FAA变化^[16]。其中,鲜味FAA(Asp, Glu)含量显著增加($P < 0.05$),丰富了刺参性腺酶解物MRPs的整体滋味,这可能是由于美拉德反应过程中肽的降解,尤其是含有谷氨酸或天冬氨酸的寡肽的降解^[15]。总苦味FAA占比由27.67%减少至24.68%,但并不存在显著性差异($P > 0.05$),这可能与刺参性腺酶解物中肽的分子量有关,据报道,美拉德反应的氨基酸分子量在75.1~204.2 u,且1~5 ku肽比分子量大的肽具有更高的反应性,它们可能是美拉德反应期间发生交联反应的主要贡献者,其形成的美拉德反应产物可以有效掩盖苦味^[17]。

2.2.2 呈味核苷酸

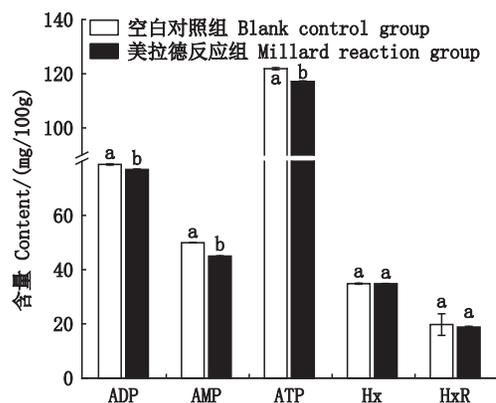
在生物体内,核苷酸不仅是一类具有特殊生理功能的小分子化合物,还与滋味品质息息相关。利用HPLC测定刺参性腺酶解物及其MRPs中的一磷酸鸟苷(Guanosine monophosphate, GMP)、肌苷酸(Inosine monophosphate, IMP)、一磷酸腺苷(Adenosine monophosphate, AMP)、二磷酸腺苷(Adenosine diphosphate, ADP)、三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)、次黄嘌呤(Hypoxanthine, Hx)和次黄嘌呤核苷(Inosine, HxR)的含量(图2)。ATP在生物体内降解产生的GMP、IMP和AMP对水产品滋味有重要贡献。其中AMP可以抑制苦味,增强咸味和甜味。由图2可知,美拉德反应前后含量最高的核苷酸为AMP,未检出IMP和GMP。AMP是刺参性腺酶解物中最主要的呈味核苷酸。对鱼贝类等研究发现,ATP有两种分解途径:ATP-ADP-AMP-IMP-HxR-Hx和腺苷(Adenosine, AdR)途径,即ATP-ADP-AMP-AdR-Ad-HxR-Hx^[18],这说明,刺参性腺中ATP的降解可能以后者为主。美拉德反应后,AMP含量下降,可能是高温促进AMP分解,造成AMP含量显著降低($P < 0.05$),推测可能与风味化合物的生成有关^[18]。

表2 刺参性腺酶解物及其MRPs游离氨基酸种类及含量
Tab. 2 Types and contents of free amino acids in *stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

类别 Category	氨基酸 Amino acids	空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard reaction group
鲜味氨基酸 Umami amino acids	天冬氨酸 Aspartic acid	1.08 ± 0.04 ^b	3.12 ± 0.09 ^a
	谷氨酸 Glutamate	3.74 ± 0.11 ^b	14.96 ± 0.53 ^a
	合计	4.82 ± 0.14 ^b	18.08 ± 0.62 ^a
甜味氨基酸 Sweet amino acids	苏氨酸 Threonine	2.65 ± 0.06 ^b	12.03 ± 0.40 ^a
	丝氨酸 Serine	1.42 ± 0.04 ^b	2.42 ± 0.05 ^a
	甘氨酸 Glycine	1.44 ± 0.04 ^b	8.73 ± 0.18 ^a
	丙氨酸 Alanine	2.09 ± 0.10 ^b	12.95 ± 0.35 ^a
	蛋氨酸 Methionine	1.63 ± 0.85 ^b	5.93 ± 0.21 ^a
	脯氨酸 Proline	0.96 ± 0.02 ^a	0 ^b
	合计	10.19 ± 0.62 ^b	42.07 ± 1.17 ^a
苦味氨基酸 Bitter amino acids	缬氨酸 Valine	2.21 ± 0.39 ^b	12.09 ± 0.41 ^a
	异亮氨酸 Isoleucine	2.59 ± 1.87 ^b	10.19 ± 0.38 ^a
	亮氨酸 Leucine	4.40 ± 1.96 ^b	17.80 ± 0.68 ^a
	酪氨酸 Tyrosine	3.97 ± 2.24 ^b	11.72 ± 0.52 ^a
	苯丙氨酸 Phenylalanine	4.82 ± 3.18 ^b	16.10 ± 0.81 ^a
	组氨酸 Histidine	2.16 ± 0.05 ^b	4.59 ± 0.22 ^a
	精氨酸 Arginine	2.95 ± 0.07 ^b	5.36 ± 0.25 ^a
合计	23.09 ± 9.56 ^b	77.85 ± 3.27 ^a	
其他氨基酸 Other amino acids	半胱氨酸 Cysteine	0.16 ± 0.04 ^b	21.21 ± 1.00 ^a
	赖氨酸 Lysine	5.32 ± 4.01 ^b	18.23 ± 0.84 ^a
总氨基酸 Total FAA		81.69 ± 24.13 ^b	315.44 ± 11.95 ^a
鲜味氨基酸/总氨基酸 Umami FAA/Total FAA		6.24% ^a	5.73% ^a
甜味氨基酸/总氨基酸 Sweet FAA/Total FAA		13.00% ^a	13.34% ^a
苦味氨基酸/总氨基酸 Bitter FAA/Total FAA		27.67% ^a	24.68% ^a

注: 表中不同字母表示存在显著性差异($P < 0.05$)。

Notes: Different letters in the same line of the table indicate significant difference ($P < 0.05$).



图中不同字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

Different letters of histogram indicate significant difference ($P < 0.05$).

图2 刺参性腺酶解液及其MRPs核苷酸含量
Fig. 2 Flavor nucleotides of *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

2.2.3 电子舌

电子舌是一种仿生味觉传感系统,并已用于

模拟人类味觉感知。图3为刺参性腺酶解液及其MRPs滋味主成分分析图,美拉德反应前后产品滋味差异较大,能起到很好的区分作用。此外,电子舌传感器对刺参性腺酶解液及其MRPs滋味的响应强度如图4所示。结果发现,所有样品均缺乏酸味、咸味、涩味、涩味回味和苦味回味。此外,BC组和MR组苦味无显著性差异,这可能与刺参性腺酶解中小分子量肽含量较多有关,美拉德反应后,鲜味显著降低($P < 0.05$),这表明,刺参性腺酶解物滋味不仅取决于游离氨基酸含量,也与AMP含量有关,由于AMP稳定性较差,在高温下易发生分解^[14],因此美拉德反应后AMP含量减少,进而导致鲜味下降。另外,LIANG等^[10]研究结果也表明,鲮鱼肉酶解液鲜味随加热时间的延长逐渐降低,进而推测鲜味降低与美拉德反应速率呈正相关。

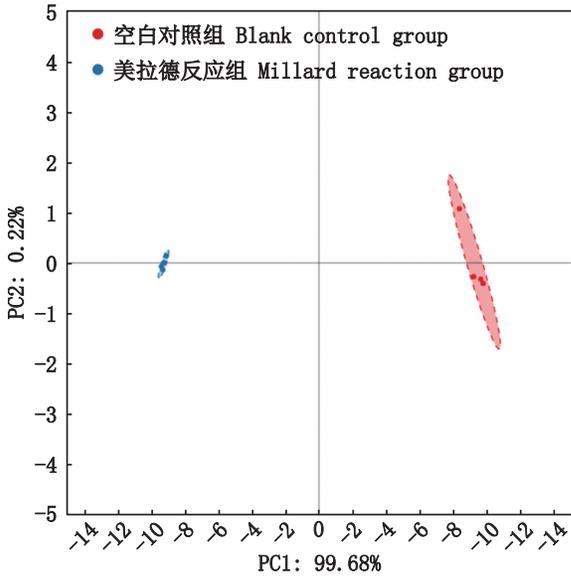
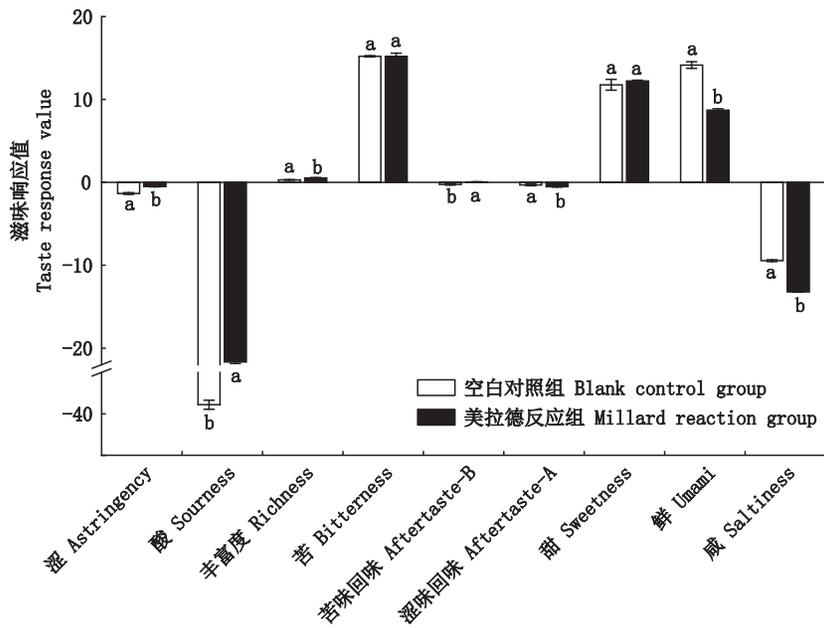


图3 刺参性腺酶解液及其MRPs滋味主成分分析
Fig.3 Principal component analysis by electronic tongues of *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs



图中不同字母表示显著性差异(P<0.05)。
Different letters of histogram indicate significant difference(P<0.05).

图4 刺参性腺酶解液及其MRPs滋味响应值
Fig.4 Taste response value of *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

美拉德反应形成的挥发性物质主要有3大类:(1)肽或氨基酸降解产物(如醛类、酮类);(2)糖降解或裂解产物(如呋喃);(3)肽和糖降解产物进一步反应生成的挥发性物质(如吡嗪类)。醛类是美拉德反应产生的主要化合物,在美拉德反应中,某些肽或氨基酸发生Strecker降解生成具有低气味阈值的醛和酮,对MRPs特征风味的

2.3 挥发性成分

美拉德反应是一种重要的风味挥发性化合物形成反应。采用GC-TOFMS对刺参性腺酶解物及其美拉德反应产物进行挥发性物质分析,反应前后挥发性物质的具体含量、气味描述等详细信息见表3,检测出9大类,共77种挥发性物质,其中醛类16种,酮类9种,醇类7种,烃类17种,芳香类9种,酯类3种,含N、含S杂环化合物、呋喃类等其他化合物16种。对77种挥发性物质含量采取对数归一化,便于观察不同挥发性物质含量的差异(图5)。从色阶上看,MR组中红色区域较广,物质含量相对较高。如图6所示,美拉德反应前后共检测出36种关键风味化合物(OAV≥1),其中BC组19种,MR组28种。对36种关键风味化合物做PCA分析,结果见图7,第一主成分贡献率高达98.9%,第二主成分贡献率0.9%,说明刺参性腺酶解物美拉德反应前后关键性风味化合物差异显著。

形成具有重要贡献^[11],研究^[19]表明带有6~10个碳的醛类物质对肉香味的形成具有重要作用。美拉德反应后,醛类种类和含量增加,己醛、庚醛、壬醛、癸醛、苯甲醛、苯乙醛、4-乙基苯甲醛等大分子不饱和醛的含量显著增加(P<0.05),这与ZHANG等^[11]研究结果一致,其中,己醛、壬醛、苯甲醛是海参的特征性气味活性化合物^[20]。研

究^[21]发现,在热处理中,肽直接反应生成苯甲醛和4-乙基苯甲醛,其中,苯甲醛具有樱桃香味,是食品工业中最常用的芳香类化合物。美拉德反应促进了新的醛类物质的生成,如苯乙醛、庚醛,主要通过氨基酸和糖之间的反应或肽的缩合等途径产生^[16],苯乙醛 $[(487.88\pm 24.67)\text{ ng/g}]$ 是苯丙氨酸的Strecker降解产物,使MRPs具有蜂蜜、玫瑰和巧克力香味^[22]。美拉德反应后,新增酮类物质6种,其中,苯乙酮和2-十一酮含量较高,分别为 (452.96 ± 21.28) 和 $(141.34\pm 4.25)\text{ ng/g}$,使MRPs具有一定的水果香,但由于其阈值较高,因此对食品整体风味贡献度较低,也有研究^[23]表明,醛酮类物质的交互作用在鱼、肉制品形成独特风味的过程中发挥了重要作用。

寡肽或氨基酸降解和核糖经Amadori重排和Strecker降解生成杂环类化合物(如吡嗪、噻吩、呋喃等),赋予MRPs坚果和烤肉香味,丰富了MRPs整体风味。含N杂环化合物主要以吡嗪、吡啶形式存在,吡嗪类化合物是一种具有独特香味的杂环化合物,仅在MR组中发现高含量的吡嗪 $[(4\ 812.98\pm 46.46)\text{ ng/g}]$,是MRPs中鉴定出具有代表性的挥发性化合物^[17],吡嗪风味已经被表征为烘焙谷物产品的特征性风味,可显著促进食品的感官属性^[10]。除吡嗪类化合物外,在Strecker降解过程中形成的含S化合物(如噻吩)是具有烘焙和烤肉香气的主要挥发性物质^[17],研究发现,在美拉德反应过程中,含硫氨基酸(如半胱氨酸)释放的 H_2S 可以与MRPs反应,形成一系列含硫化合物,由于其较低的气味阈值,可显著促进MRPs的整体香气。呋喃类化合物主要通过

还原糖的脱水、裂解或环化产生,其含量受美拉德反应体系内pH和温度的影响,与BC组相比,MR组呋喃类物质含量显著增加 $(P<0.05)$,尤其是2-乙基呋喃,赋予MRPs面包香、豆香,有研究^[22]表明,低pH条件有利于呋喃类物质的形成,美拉德反应初期小分子肽的降解和晚期有机酸的生成降低了反应体系的pH,进而使得呋喃类化合物含量增加。其次,研究^[15]结果表明,在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 时,氨基酸或肽与糖反应生成Amadori化合物,形成二羰基化合物,可以通过提高加热温度 $(120\text{ }^\circ\text{C})$ 和延长反应时间 (120 min) 使得呋喃含量增加。

为了更好地评价美拉德反应前后关键风味化合物之间的差异,对其进行OPLS-DA分析,其VIP值得分见图8。选择VIP得分大于1的为差异性分子,发现BC组和MR组共存在8种差异分子,得分最高的为苯甲醛,说明苯甲醛是美拉德反应前后的最主要差异物质,原因可能是在美拉德反应过程中,苯甲醛既可以由味觉活性肽直接生成,也可以由某些氨基酸,如苯丙氨酸、脯氨酸和半胱氨酸的降解产生^[21]。

综上,癸醛、壬醛、苯甲醛等大分子不饱和醛类化合物对MRPs风味的形成具有重要贡献,美拉德反应促进了新的醛类物质(苯乙醛和庚醛)的形成,赋予MRPs蜂蜜和坚果香气,苯甲醛是美拉德反应前后的最主要差异物质;其次,吡嗪、噻吩和2-乙基呋喃是美拉德反应形成的特征性风味物质,具有烘焙、烤肉、面包等令人愉悦的香气,有效地改善了刺参性腺酶解物的整体气味,使得MRPs风味更佳。

表3 刺参性腺酶解物及其MRPs的挥发性物质组成

Tab. 3 Composition analysis of volatile components in *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

类别 Category	阈值 ^[24] Threshold value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	含量 Content/(ng/g)		OAV	
		空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard reaction group	空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard reaction group
醛类 Aldehydes					
己醛 Hexanal	5	130.85 \pm 7.83 ^b	1 896.52 \pm 114.46 ^a	26.17	379.30
庚醛 Heptanal	3	N.D.	565.77 \pm 0.51 ^a		188.59
辛醛 Octanal	0.8	180.39 \pm 12.82 ^b	1 772.77 \pm 143.97 ^a	225.48	2 215.97
壬醛 Nonanal	1.1	86.43 \pm 10.66 ^b	1 245.47 \pm 30.93 ^a	78.57	1 132.24
癸醛 Decanal	0.1	77.45 \pm 12.85 ^b	877.15 \pm 65.37 ^a	774.47	8 771.51
糠醛 Furfural	9 562	99.63 \pm 0.31 ^b	1 754.96 \pm 55.88 ^a	<0.1	0.18

·续表3·

类别 Category	阈值 ^[24] Threshold value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	含量 Content/(ng/g)		OAV	
		空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard rection group	空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard rection group
桃醛 4-Undecanolide	2.1	N.D.	56.51 \pm 5.66 ^a		26.91
苯甲醛 Benzaldehyde	350	489.89 \pm 9.25 ^b	8 341.63 \pm 128.70 ^a	1.40	23.83
苯乙醛 Phenylacetaldehyde	4	N.D.	487.88 \pm 24.67 ^a		121.97
2-甲基丁醛 2-Methylbutanal	1	N.D.	219.15 \pm 13.46 ^a		219.15
3-甲基丁醛 Isovaleraldehyde	0.4	214.13 \pm 3.98 ^b	3 463.53 \pm 114.01 ^a	518.66	8 658.82
2-甲基-2-丁烯醛 Tiglic aldehyde	500	32.61 \pm 7.52 ^b	95.36 \pm 11.76 ^a	<0.1	0.74
2, 5- 二 甲 基 苯 甲 醛 2, 5-Dimethylbenzaldehyde	200	45.93 \pm 13.85 ^b	372.10 \pm 12.96 ^a	0.23	2.24
邻甲基苯甲醛 2-Methylbenzaldehyde	9.6	N.D.	339.94 \pm 10.44 ^a		35.41
4-乙基苯甲醛 4-Ethylbenzaldehyde	13	64.4 \pm 3.64 ^b	971.51 \pm 4.95 ^a	4.95	74.73
(E)-2-己烯醛 Trans-2-Nonenal	19.2	44.85 \pm 6.30 ^a	N.D.	2.34	
酮类 Ketones					
2-庚酮 2-Heptanone	140	11.42 \pm 3.64 ^b	132.94 \pm 3.99 ^a	<0.1	0.95
2-辛酮 2-Octanone	50.2	N.D.	75.83 \pm 2.57 ^a		1.51
2-十一酮 2-Undecanone	5.5	N.D.	141.34 \pm 4.25 ^a		25.70
苯乙酮 Acetophenone	65	12.02 \pm 1.00 ^b	452.96 \pm 21.28 ^a	0.98	6.97
二乙基酮 3-Pentanone	40	N.D.	22.15 \pm 2.00 ^a		0.55
6-甲基-2-庚酮 6-methyl-2-Heptanone	24	5.63 \pm 0.17 ^b	148.00 \pm 1.70 ^a	0.23	6.17
6- 甲 基 -5- 庚 烯 -2- 酮 filbert heptenone B	68	29.80 \pm 0.67 ^a	N.D.	0.44	
甲基壬基甲酮 2-Undecanone	5.5	N.D.	244.61 \pm 1.44 ^a		44.47
甲基庚烯酮 6-Methylhept-5-en-2-one	50	N.D.	54.60 \pm 1.02 ^a		1.09
醇类 Alcohols					
1-戊醇 1-Pentanol	4 000	47.20 \pm 0.78 ^a	N.D.	<0.1	
1-己醇 1-Hexanol	1 000	100.81 \pm 4.66 ^b	725.80 \pm 20.65 ^a	0.10	0.73
1-庚醇 Heptan-1-ol	400	94.63 \pm 1.53 ^b	919.74 \pm 14.59 ^a	0.24	2.30
1-辛醇 1-Octanol	130	1 501.33 \pm 205.44 ^b	6 548.10 \pm 79.77 ^a	11.55	50.37
2-乙基己醇 2-ethyl-1-hexanol	254 822	158.10 \pm 5.45 ^b	1 276.90 \pm 70.32 ^a	<0.1	
2-甲基丁醇 2-Methylbutan-1-ol	15.9	66.84 \pm 5.44 ^a	N.D.	4.20	
3-甲基丁醇 3-Methyl-1-butanol	4	108.22 \pm 1.90 ^a	N.D.	27.05	
烃类 Hydrocarbons					
正己烷 n-Hexane	1 500	409.50 \pm 45.88 ^b	2 339.51 \pm 204.75 ^a	0.27	1.56
1-苯基己烷 Hexylbenzene	29	N.D.	451.55 \pm 22.13 ^a		15.57
庚烷 Heptane	50 000	155.10 \pm 18.52 ^b	563.08 \pm 40.95 ^a	<0.1	<0.1
壬烷 Nonane	10 000	14.47 \pm 0.92 ^a	N.D.	<0.1	
苯乙烯 Styrene	50	306.52 \pm 2.67 ^a	N.D.	6.13	
异戊二烯 Isoprene	5	N.D.	1 069.65 \pm 5.70 ^a		213.94
1-庚烯 Hept-1-ene	1 000	N.D.	104.64 \pm 1.26 ^a		0.10
3- 甲 基 -3- 庚 烯 (E/Z) -3-methyl-3-heptene	N.F.	24.18 \pm 0.98 ^b	563.08 \pm 40.95 ^a		<0.1
5-甲基-3-庚烯 5-methyl-3-heptene	N.F.	12.67 \pm 1.01 ^a	N.D.		
1-辛烯 1-Octene	0.5	89.16 \pm 14.02 ^b	633.72 \pm 2.66 ^a	178.33	1 267.44
2-辛烯 2-Octene	N.F.	51.10 \pm 13.55	241.32 \pm 6.39 ^a	<0.1	
顺-2-辛烯 Cis-2- Octene	N.F.	23.50 \pm 0.02 ^b	348.35 \pm 12.84 ^a	<0.1	

·续表3·

类别 Category	阈值 ^[24] Threshold value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	含量 Content/(ng/g)		OAV	
		空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard rection group	空白对照组 Blank control group	美拉德反应组 Millard rection group
1,3-辛二烯 1,3-Octadiene	5 600	112.86 \pm 38.17 ^b	1 085.11 \pm 130.37 ^a	<0.1	0.19
壬烯 Nonene	9 000	16.33 \pm 5.21 ^b	114.08 \pm 1.85 ^a	<0.1	<0.1
莰烯(+)-Camphene	26 000	N.D.	835.98 \pm 14.50 ^a	<0.1	<0.1
1,4-二氧六环 1,4-Dioxane	46 000	45.99 \pm 12.07 ^b	251.73 \pm 46.65 ^a	<0.1	<0.1
1,3,6-三氧杂环辛烷 1,3-Octadiene	N.F.	23.29 \pm 1.61 ^b	79.25 \pm 21.30 ^a		
芳香类化合物 Aromatic compounds					
苯 Benzene	10 000	1 010.65 \pm 19.06 ^b	7 928.73 \pm 127.09 ^a	0.10	0.79
联苯 Biphenyl	0.5	75.04 \pm 10.88 ^b	347.14 \pm 34.27 ^a	150.08	694.27
甲苯 Toluene	527	84.36 \pm 10.43 ^b	667.78 \pm 11.76 ^a	0.16	1.27
乙苯 Ethylbenzene	200	159.34 \pm 11.00 ^b	625.56 \pm 6.11 ^a	0.80	3.13
对二甲苯 p-Xylene	530	40.08 \pm 3.17 ^b	529.50 \pm 15.33 ^a	<0.1	1.00
2-甲基联苯 2-methylbiphenyl	N.F.	29.74 \pm 0.83 ^b	271.24 \pm 14.64 ^a		
庚基苯 Heptylbenzene	4 000	12.29 \pm 1.88 ^b	71.24 \pm 16.09 ^a	<0.1	<0.1
萘 Naphthalene	6	97.70 \pm 19.14 ^b	516.90 \pm 126.03 ^a	16.28	86.15
酯类 Esters					
乙酸乙酯 Ethyl Acetate	5	36.06 \pm 8.51 ^b	220.15 \pm 1.84 ^a	7.21	44.03
丁酸甲酯 Butanoic acid, methyl ester	59	22.61 \pm 7.30 ^b	259.63 \pm 50.62 ^a	0.38	4.40
2,4,6-三甲基苯甲酸 Isobutyl acetate	N.F.	22.98 \pm 2.48 ^b	292.36 \pm 77.46 ^a		
含 N 化合物 Nitrogen-containing compounds					
吡啶 Pyridine	2 000	11.58 \pm 8.04 ^a	N.D.	<0.1	<0.1
嘧啶 Pyrimidine	N.F.	N.D.	182.17 \pm 17.09 ^a		
吡嗪 Pyrazine	75 000	N.D.	4 812.98 \pm 46.46 ^a		<0.1
2-甲基吡啶 2-Picoline	50	15.09 \pm 1.19 ^a	N.D.	0.30	
含 S 化合物 Sulphur-containing compounds					
噻吩 Thiophene	84	N.D.	225.43 \pm 34.91 ^a		2.68
2-甲基噻吩 Methylthiol	N.F.	15.60 \pm 0.75 ^b	221.09 \pm 2.08 ^a		
2-乙基噻吩 2-ethylthiophene	N.F.	8.84 \pm 0.19 ^b	178.62 \pm 16.47 ^a		
2-正丁基噻吩 2-Butylthiophene	N.F.	N.D.	387.55 \pm 17.09 ^a		
2-正己酰噻吩 2-Hexanoylthiophene	N.F.	N.D.	N.D.		
2-(N-庚基)噻吩 2-(N-Heptyl) thiophene	N.F.	N.D.	83.67 \pm 1.83 ^a		
3,3-联噻吩 3,3'-Bithienyl	N.F.	43.98 \pm 2.30	365.48 \pm 8.72 ^a		
呋喃类 Furans					
3-苯基呋喃 3-Phenylfuran	N.F.	128.47 \pm 16.97 ^a	N.D.		
2-丁基呋喃 2-Butylfuran	5	N.D.	62.65 \pm 2.61 ^a	<0.1	<0.1
2-乙基呋喃 2-Ethylfuran	8 000	36.14 \pm 1.02	208.50 \pm 9.83 ^a	<0.1	<0.1
2-乙基硫代呋喃 2-Ethylthiophene	N.F.	N.D.	101.84 \pm 9.82 ^a	<0.1	
其他 Others					
二硫化碳 Carbon disulphide	5	N.D.	342.21 \pm 8.10 ^a		68.44

注:表中不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$)。

Notes: Different letters in the same line of the table indicate significant difference ($P<0.05$).

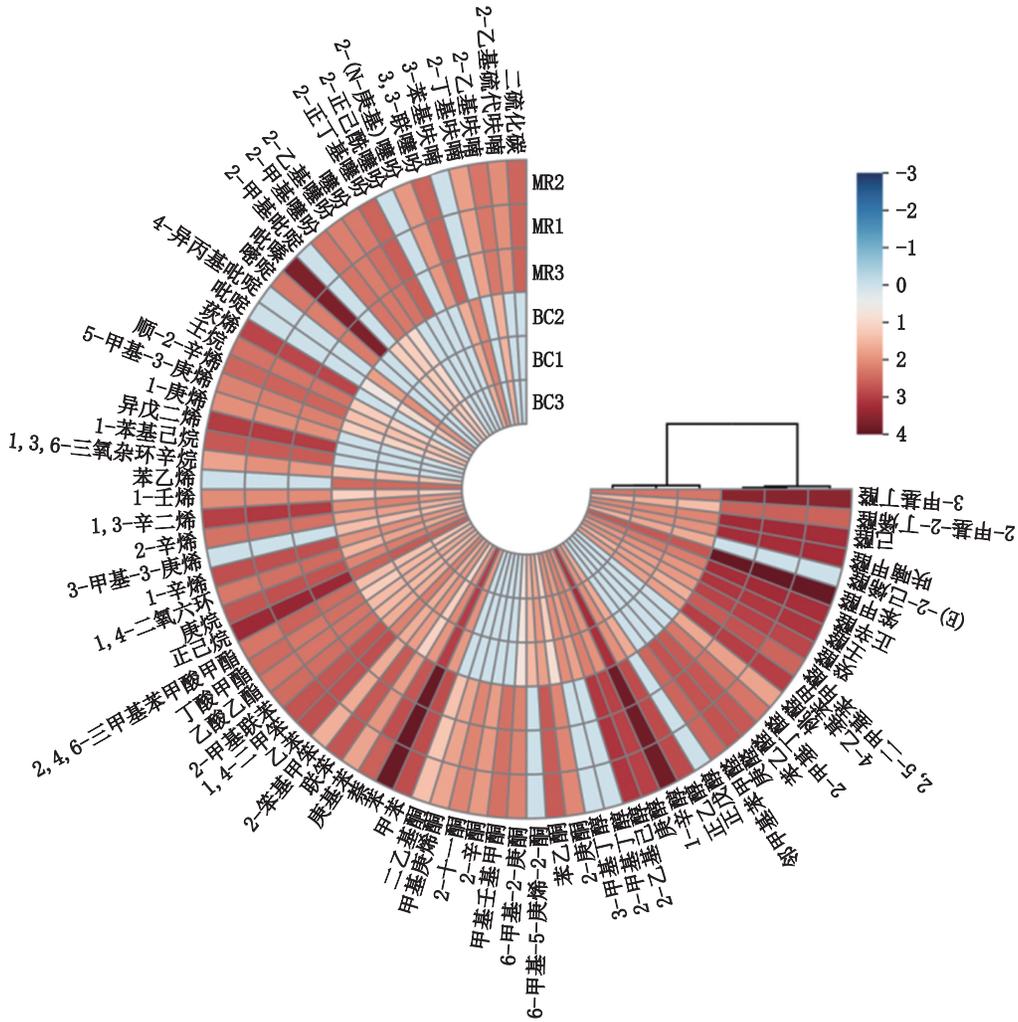


图 5 刺参性腺酶解物及其 MRPs 挥发性风味物质含量热图

Fig. 5 Heat map of the content of volatile flavor substances in *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRP

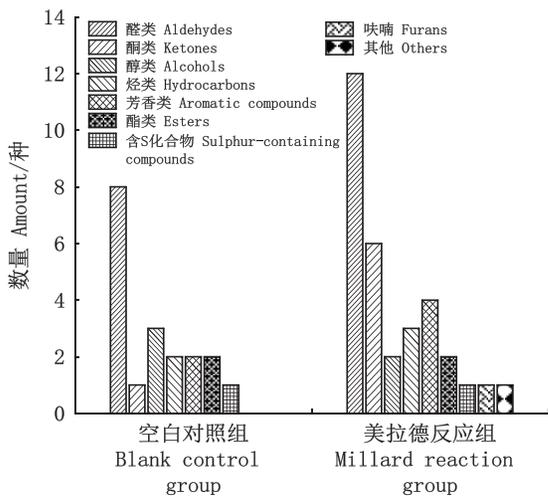


图 6 刺参性腺酶解物及其 MRPs 关键风味化合物数量
Fig. 6 Numbers of content of key aroma compounds in *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

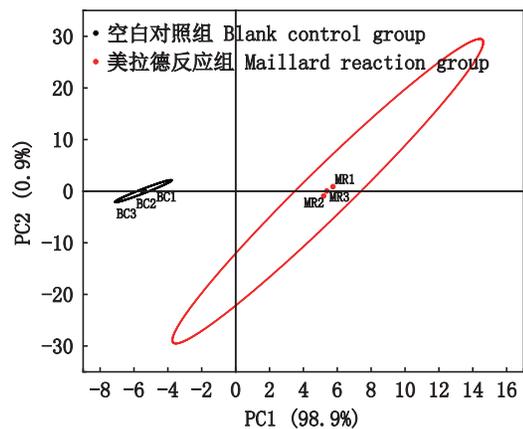


图 7 刺参性腺酶解物及其 MRPs 关键风味化合物主成分分析

Fig. 7 Principal component analysis of key aroma compounds in *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

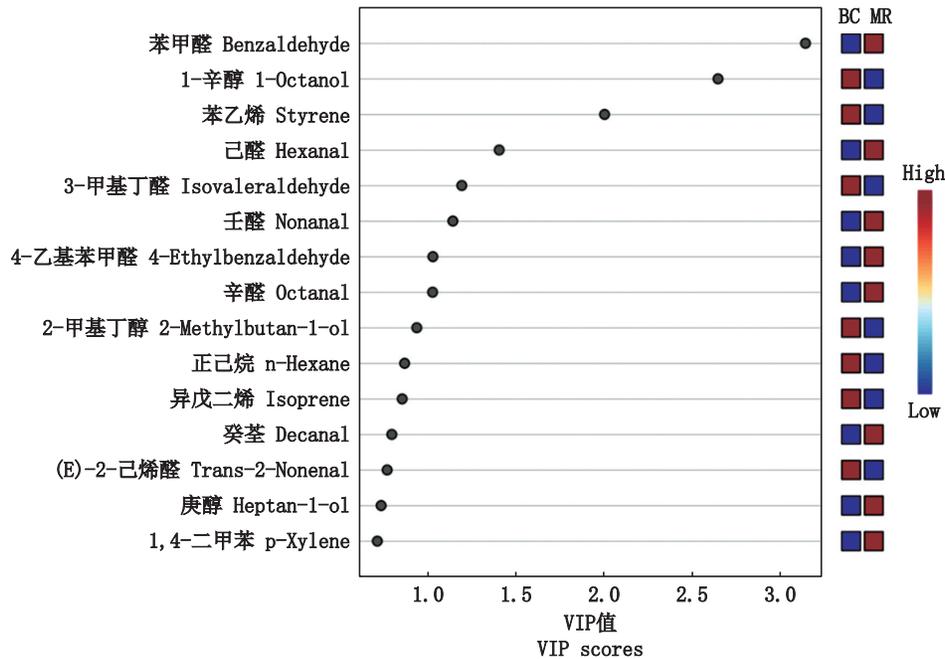


图8 刺参性腺酶解液及其MRPs关键风味化合物VIP得分图

Fig. 8 VIP scores of key aroma compounds in *Stichopus japonicus* gonads hydrolysates and MRPs

3 结论

综上所述,美拉德反应使得刺参性腺酶解物中间风味前体物质增多,降低褐变程度,提升了感官品质;与空白对照组相比,美拉德反应组总游离氨基酸含量显著增加($P < 0.05$),尤其是鲜味氨基酸和甜味氨基酸,苦味氨基酸占比减小;美拉德反应后,关键风味化合物含量和种类均有所增加,癸醛、壬醛和苯甲醛等大分子不饱和醛类对刺参性腺酶解物美拉德反应产物风味的形成具有显著贡献,且苯甲醛是美拉德反应前后的最主要差异物质,美拉德反应促进了吡嗪、噻吩和2-乙基呋喃等烘焙、烤肉和面包香气特征性风味物质的形成,有效地改善了刺参性腺酶解物整体气味。本研究探讨了美拉德反应对刺参性腺酶解物风味的影响,为进一步开发食品源天然增味肽提供了一定的理论依据和技术支持。

参考文献:

- [1] 薛长湖. 海参精深加工的理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- XUE C H. Intensive processing of sea cucumber theory and technology [M]. Beijing: China Science Publishing & Media Ltd., 2015.
- [2] OZOGUL F, CAGALJ M, ŠIMAT V, et al. Recent developments in valorisation of bioactive ingredients in

discard/seafood processing by-products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 116: 559-582.

- [3] 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.
- DING J, HUANG Z X, YANG M Z, et al. Review and prospect of maillard reaction products from food-derived protein hydrolysates/peptides and saccharides in food application and research[J]. Food Science, 2023, 44(1): 305-318.
- [4] MARTÍNEZ-ALVAREZ O, CHAMORRO S, BRENES A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review [J]. Food Research International, 2015, 73: 204-212.
- [5] HONG J H, JUNG D W, KIM Y S, et al. Impacts of glutathione Maillard reaction products on sensory characteristics and consumer acceptability of beef soup[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(8): S427-S434.
- [6] 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.
- [7] WANG W L, ZHANG L, WANG Z Q, et al. Physicochemical and sensory variables of Maillard reaction products obtained from *Takifugu obscurus* muscle hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2019, 290: 40-46.
- [8] ZHANG N L, AYED C, WANG W L, et al. Sensory-guided analysis of key taste-active compounds in pufferfish (*Takifugu obscurus*) [J]. Journal of Agricultural and Food

- Chemistry, 2019, 67(50): 13809-13816.
- [9] TU L D, WU X G, WANG X C, et al. Effects of fish oil replacement by blending vegetable oils in fattening diets on nonvolatile taste substances of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) [J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(9): e13345.
- [10] LIANG Y F, WANG K, YANG Q F, et al. The antioxidant activities and flavor properties of glycated bighead carp meat hydrolysates produced with galactose and galacto-oligosaccharides [J]. LWT, 2022, 158: 113104.
- [11] ZHANG N L, YANG Y F, WANG W L, et al. A potential flavor seasoning from aquaculture by-products: An example of *Takifugu obscurus* [J]. LWT, 2021, 151: 112160.
- [12] LERTITTIKUL W, BENJAKUL S, TANAKA M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH [J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 669-677.
- [13] ZHAI Y, CUI H P, HAYAT K, et al. Interaction of added L-cysteine with 2-threityl-thiazolidine-4-carboxylic acid derived from the xylose - cysteine system affecting its maillard browning [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(31): 8632-8640.
- [14] CHIANG J H, YEO M T Y, ONG D S M, et al. Comparison of the molecular properties and volatile compounds of Maillard reaction products derived from animal- and cereal-based protein hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2022, 383: 132609.
- [15] LI X Z, LIU S Q. Effect of heat treatment on amino acids and volatile compounds of enzymatic pork trimmings hydrolysate supplemented with xylose and cysteine [J]. Food Bioscience, 2022, 46: 101538.
- [16] HABINSHUTI I, MU T H, ZHANG M. Structural, antioxidant, aroma, and sensory characteristics of Maillard reaction products from sweet potato protein hydrolysates as influenced by different ultrasound-assisted enzymatic treatments [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130090.
- [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] 刘晏玮. 预处理方式对蓝蛤酶解特性及酶解液呈味特性的影响 [D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
- LIU Y W. Effects of different pretreatment methods on enzymatic hydrolysis of *Aloididae aloidii* and taste characteristics of its hydrolysates [D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [19] 叶繁, 陈康, 陶美洁, 等. 5种市售鳕鱼肠品质比较及风味分析 [J]. 南方水产科学, 2019, 15(6): 96-105.
- YE F, CHEN K, TAO M J, et al. Comparison of quality and volatile components among five brands of cod sausages [J]. South China Fisheries Science, 2019, 15 (6) : 96-105.
- [20] CHEN F, LIN L Z, ZHAO M M, et al. Modification of *Cucumaria frondosa* hydrolysate through maillard reaction for sea cucumber peptide based-beverage [J]. LWT, 2021, 136: 110329.
- [21] XU X R, YU M G, RAZA J, et al. Study of the mechanism of flavor compounds formed via taste-active peptides in bovine bone protein extract [J]. LWT, 2021, 137: 110371.
- [22] LOTFY S N, SAAD R, EL-MASSREY K F, et al. Effects of pH on headspace volatiles and properties of Maillard reaction products derived from enzymatically hydrolyzed quinoa protein-xylose model system [J]. LWT, 2021, 145: 111328.
- [23] 邢贵鹏, 孙申宇, 黄卉, 等. 美拉德反应改良罗非鱼加工副产物熬煮液风味 [J]. 食品与发酵工业, 2022, 48 (5): 165-172.
- XING G P, SUN S Y, HUANG H, et al. Flavor improvement of tilapia-broth extraction by Maillard reaction [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48 (5) : 165-172.
- [24] VAN GEMERT L J. Compilations of odour threshold values in air, water and other media [M]. The Netherlands: Oliemans Punter & Partners BV, 2011.

Flavor improvement of enzymatic hydrolysates of *Stichopus japonicus* gonad as influenced by Maillard reaction

ZHANG Mei¹, SONG Rongzhen¹, LIN Liu¹, TAO Ningping^{1,2}, WANG Xichang^{1,2}

(1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China)

Abstract: To improve the utilization rate of *Stichopus japonicus* gonads and to prepare seafood flavor seasoning with better flavor. The enzymatic hydrolysate of gonads was subjected to a Maillard reaction with the addition of D-xylose and L-cysteine, and the changes of taste and odor of gonad enzymatic hydrolysates were analyzed by combining low molecular mass flavor intermediates, browning degree, free amino acids, flavoring nucleotides and volatile substances. The results showed that the content of umami and sweet free amino acids increased significantly and the proportion of bitter free amino acids decreased after the Maillard reaction; AMP was the main flavor-presenting nucleotide in enzymatic hydrolysates of *Stichopus japonicus*, and the content decreased significantly after the reaction; the types and amounts of key flavor compounds increased. The aldehydes were the main volatile flavor components, benzaldehyde was the most different substance before and after the reaction; pyrazine, thiophene and 2-ethylfuran were the characteristic flavor substances formed by the Maillard reaction. The gonadal enzymatic hydrolysate/D-xylose/L-cysteine Maillard reaction products have good flavor and can be used as a reference for the development of high quality flavoring bases and functional foods.

Key words: *Stichopus japonicus*; enzymatic hydrolysates; Maillard reaction; flavor