酶解大黄鱼制备咸味增强肽的研究

李微，苏国万，孙为正

（华南理工大学食品科学与工程学院，广东广州 510641）

摘要：本文采用木瓜蛋白酶、胰酶对大黄鱼蛋白进行酶解，对酶解产物进行感官咸味评分，并结合味觉传感系统-电子舌进行味觉数值化分析。通过蛋白回收率、水解度以及肽氮回收率研究蛋白酶解过程中氮存在形式的变化规律，结果表明，酶解大黄鱼制备咸味增强肽的最优条件为采用胰酶酶解大黄鱼 3 h，此时加酶量为蛋白含量 5‰，酶解温度 55 ℃，肉水比 1:1，在控制蛋白含量和钠离子含量一致的情况下，感官咸味值和电子舌咸味电信号值均达到最大，具有较好咸味增强作用。抗氧化实验结果表明，3 h 时胰酶酶解咸味增强肽还原力可达 0.149 mmol TE/mmol，DPPH 自由基清除活性可达 0.057 mmol TE/mmol。咸味增强肽作为一种生物活性肽，具有重要的营养价值和生物活性，可用于开发高档调味品以及作为功能性食品配料。

关键词：大黄鱼；蛋白酶解；咸味增强肽；抗氧化活性；电子舌

文章篇号：1673-9078(2019)06-184-190 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.6.024

Study on Characteristics of Salt-Enhanced Peptides Prepared by Enzymatic Hydrolysis of *Larimichthys crocea*

LI Wei, SU Guo-wan, SUN Wei-zheng

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: In this work, papain and trypsin were used to hydrolyze protein from *Larimichthys crocea*, and their hydrolysates were subjected to sensory salty taste evaluation. The taste sensing system-electronic tongue for numerical analysis of taste was also used. The protein recovery, hydrolysis degree and peptide nitrogen recovery were analyzed to investigate the changes of nitrogen forms during enzymatic hydrolysis. Trypsin hydrolysate was found to have the greatest salt-enhanced activity. The maximum of the sensory saltiness value and the electronic tongue salty electric signal value obtained at the enzyme to substrate ratio of 5‰ based protein content, the incubation time of 3 h, the incubation temperature of 55 ℃, the meat to water ratio of 1:1 (the protein content and sodium content of all samples were the same). The salty taste enhanced effect was the strongest, and the protein recovery rate reached 49.7%. Results of antioxidant activities showed that the salt-enhanced peptide prepared with trypsin for 3h had a reducing power of 0.149 mmol TE/mmol and DPPH radical scavenging activity of 0.057 mmol TE/mmol. The salt-enhanced peptide as a bioactive peptide has important nutritional value and biological activity. It can partially replace sodium chloride for the development of high-grade seasonings and as a functional food ingredient.

Key words: *Larimichthys crocea*; enzymatic hydrolysis; salt-enhanced peptide; antioxidant activity; electronic tongue

食盐（NaCl）作为维持人体渗透压平衡的重要无机盐，对人体健康具有重要作用，在食品加工过程中对食品风味、质构及防腐抑菌等方面也起着重要作用[1]。膳食中盐的摄入除了烹饪加盐外，各种加工食品中的食盐也是重要来源。研究表明，新鲜猪肉中的钠含量为 70 mg/100 g，经加工后其钠含量显著增加，如广式腊肠中氯化钠的添加量为 3500 mg/100 g[2]。由高钠饮食引起的危害被全球疾病负担 GBD（the Global Burden of Disease）研究认为是引起疾病的两大饮食因素之一[3]。食盐摄入过量很容易诱发高血压、心血管疾病等疾病[3]。世界卫生组织（WHO）推荐摄入量不超过 2 g Na/天（或 5 g NaCl）[4]。随着消费者的膳食理念逐步趋向于健康安全，功能性营养型的低钠替代物需求日益迫切。

目前，降低钠含量的方法主要是采用氯化钾、氯化钙等与氯化钠物化性质相似的非钠盐取代[1,5]，但上述盐会产生一定的金属苦涩味，且非钠盐添加量超过一定范围，苦味明显上升而咸味下降。从动植物中提取的呈咸味的天然呈味物质因其可满足人们对咸味口

收稿日期：2019-04-14

基金项目："十三五"国家重点研发计划（2016YFD0401504）；广东省公益研究与能力建设专项资金项目（2016B020203001）；广州市科技计划项目对外科技合作计划（201807010102）；广州市珠江科技新星专项（201610010105）

作者简介：李微（1994-），女，硕士研究生，研究方向：肉制品质量与控制

通讯作者：孙为正（1983-），男，博士，教授，研究方向：食品蛋白质化学与营养

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

感与健康的双重要求而广受关注。张雅玮[6]研究发现相同浓度下海螺蛸水提物溶液与氯化钠溶液具有相似咸度，且其钠含量比食盐中低 27%。

肽类因含有氨基和羧基两性基团而对滋味具有缓冲能力，能赋予食品细腻微妙的风味。研究表明，咸味肽在特定条件下能呈现出咸味特征。咸味肽的最初发现是 1984 年 Tada 等[7]对酪蛋白水解物的 N 端类似物合成过程中发现这些不含钠离子的咸味物质与氯化钠有着相似咸度甚至更高。Schindler 等[8]研究发现，从鱼精蛋白中水解的一系列精氨酰二肽和精氨酸可以作为咸味增强肽，将其加入氯化钠溶液中，咸味效果增强而且没有发现任何异味。另外，Xu 等[9]研究了 Ala-Arg、Arg-Ala、Arg-Pro、Arg-Glu 和 Glu-Arg 等二肽增强咸味的机制，结果表明 Ala-Arg 增加了阿米洛利敏感细胞对 ENaCα 和 ENaCδ 的反应。因此，利用蛋白酶解产物增强咸味可用于降低钠含量。

本研究选取精氨酸、赖氨酸等疏水性氨基酸含量高的大黄鱼为原料，研究酶解过程中肽类物质咸味变化规律，为控制有效酶解咸味肽提供理论和方法的指导。

1 材料与方法

1.1 原料

实验原料大黄鱼购于五山新天地菜市场；去头去尾去鱼鳞去内脏后用绞肉机绞碎后分装冷冻（-20 ℃）保藏。

1.2 试剂与设备

1.2.1 试剂

商业用蛋白酶：木瓜蛋白酶（Papain）和胰酶（Trypsin）均购于广州裕立宝生物科技有限公司。常规化学试剂均为分析纯。感官评定用氯化钠为食用级。

1.2.2 主要仪器设备

KND-103F 型蛋白质测定仪，上海纤检器厂；SHA-C 水浴恒温振荡器，江苏省金坛市农仪器有限公司；AL204 电子分析天平，瑞士 METTLER TOLEDO 公司；GL-21M 高速冷冻离心机，长沙湘仪离心机厂；UV-1800 紫外分光光度计，日本岛津公司；Optima 8300 型电感耦合等离子体发射光谱仪 ICP-OES，美国 PERKINELMER 公司；味觉传感系统-电子舌 TS-5000Z，日本 INSENT 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蛋白酶解

取 50 g 大黄鱼肉糜于 250 mL 锥形瓶中，加入等量的去离子水搅拌均匀，加入蛋白含量 5‰的蛋白酶，置于 55 ℃恒温水浴摇床中反应 0、0.5、1、2、3、4、5 h，然后置于沸水浴中煮 15 min 使酶失活，冷却至常温后离心（4 ℃，8000 r/min），得到酶解产物。将酶解产物冷冻干燥，得到肽粉，冷藏备用。

1.3.2 水解度的测定

采用甲醛电位滴定法测定大黄鱼酶解产物中的游离氨态氮含量[10]：

$$\text{水解度}(\%)=\frac{\text{酶解产物氨态氮含量}-\text{空白游离氨态氮}}{\text{原料总氮含量}}\times 100\%$$

1.3.3 蛋白质回收率的测定

按照凯氏定氮法 GB 5009.5-85 测定其蛋白质含量，蛋白质回收率计算如下：

$$\text{蛋白质回收率}=\frac{\text{酶解产物蛋白含量}}{\text{原料蛋白含量}}\times 100\%$$

1.3.4 肽氮含量测定

采用三氯乙酸沉淀法测定肽氮含量，即上清液中总氮含量与游离氨氮含量之差，计算如下：

$$\text{肽氮含量}(\%)=\frac{\text{上清液总氮}-\text{上清液游离氨氮}}{\text{酶解产物总氮}}\times 100\%$$

1.3.5 还原力的测定

还原力测定参考 Oyaizu[11]的方法并做适当修改。取 2 mL 经适当稀释后的酶解产物（蛋白浓度 10 mg/mL）加入 2 mL 磷酸盐缓冲液（pH 6.6，20 mM）混合，振荡均匀后加入 2 mL 铁氰化钾溶液（1% *W/V*）混合后在 50 ℃保温 20 min。然后向混合物中加入 2 mL 三氯乙酸 TCA 溶液（10% *W/V*），3000 r/min 离心 10 min 后去除沉淀。取离心后上清液 2 mL 加入 2 mL 去离子水和 0.4 mL 氯化铁溶液（0.1% *W/V*）混合均匀后，室温静置 10 min 后，700 nm 处测其吸光值。同等条件下，以磷酸盐缓冲液和不同浓度的 Trolox 溶液代替样品进行反应，分别作为空白组及标准组。结果以 Trolox 当量表示，即 mmol TE/mmol 样品。

1.3.6 DPPH 自由基清除能力的测定

DPPH 自由基清除能力的测定参照苏国万的方法[10]进行并适当改进。将 2 mL 稀释后的酶解产物（蛋白浓度 10 mg/mL）与等体积的 95% DPPH·乙醇溶液（0.15 mM）充分混合，室温黑暗下放置 60 min 后测定其在 517 nm 处的吸光值。样品与乙醇等体积的混合液作为空白组，DPPH·乙醇溶液与乙醇等体积混合作为对照组。清除率计算公式如下：

$$\text{DPPH清除率}(\%)=\left(1-\frac{\text{样品组}-\text{空白组}}{\text{对照组}-\text{空白组}}\right)\times 100\%$$

同时以 Trolox 溶液作为标准物，采用不同浓度梯

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

度的 Trolox 溶液 DPPH 自由基清除能力做标准曲线。最终结果以 Trolox 当量表示。

1.3.7 钠离子含量

采用电感耦合等离子体发射光谱法测定酶解产物中的钠离子含量，利用 $HClO_4$-HNO_3 湿法消化酶解产物中有机物[12]。

1.3.8 感官品评

1.3.8.1 感官评定人员筛选

感官评定人员（7 名女性和 5 名男性），年龄范围为 22~28 岁，且无味觉异常报告。在正式实验前，通过基本味觉实验、阈值实验、三角实验以及排序实验对感官评定人员进行了初步筛选和培训。

1.3.8.2 感官咸度测定

通过外加去离子水和氯化钠（食品级）控制样品蛋白含量和钠离子含量一致，室温下进行感官评定实验。感官咸味评分 0~5 分（5=非常强烈，4=强烈，3=适中，2=微弱，1=几乎感觉不到，0=没有咸味），0.33 mg/mL NaCl 溶液的咸度作为参照（咸度得分为 0）。感官评定人员评定每一个样品前，先取 1 mL 的 0.33 mg/mL NaCl 溶液，然后再取 1 mL 样品来评定其咸度（不考虑其他味道）。每评定一个溶液都要使其在口中停留约 5 s，之后用去离子水进行漱口，并且相邻两个溶液之间要停留 60 s，每次测定样品个数不超过 6 个。最终咸味得分取平均值表示。

1.3.9 电子舌分析

采用味觉传感系统 TS-5000Z 对样品的呈味进行分析。味觉传感器上的脂质膜通过静电相互作用和疏水作用与不同的味道物质反应，导致脂质膜电位的变化，电信号值输出，并最终将人感知的基本味道数值化[13]。样品经过与感官评定实验相同的前处理进行电子舌测定。

1.4 数据处理

单因素方差分析采用 SPSS 21 软件的 one-way ANOVA（SPSS Inc，Chicago，IL，USA）统计分析软件进行数据分析。用最小二乘法比较三组实验均值在（p<0.05）水平上是否存在显著性差异。所有数据均表示为平均值±标准偏差（X±SD）。

2 结果与讨论

2.1 酶解过程中的氮存在形式的变化

利用蛋白酶水解技术可将大黄鱼中蛋白质分解成小分子肽或者游离氨基酸。本文中采用的蛋白酶为木瓜蛋白酶和胰酶，选其原因主要是木瓜蛋白酶和胰酶可将多肽链中 L-赖氨酸和 L-精氨酸残基中的羧基侧切断，而这两种氨基酸是咸味增强肽的主要氨基酸[8]。

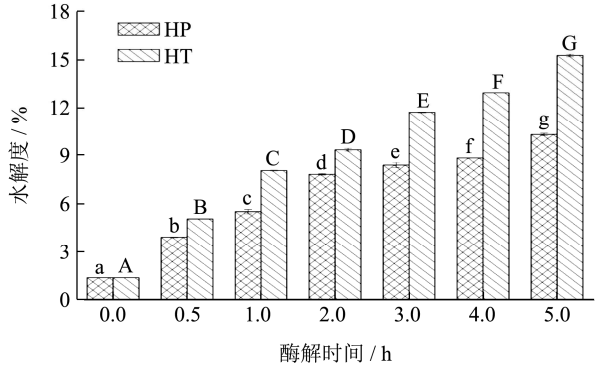


图 1 酶解过程中不同酶酶解大黄鱼水解度的变化

Fig.1 Changes in DH of *Larimichthys crocea* by different proteases during enzymatic hydrolysis

注：HP：木瓜蛋白酶酶解产物；HT：胰酶酶解产物，下同；相同指标标注不同字母者具有显著性差异，p<0.05，下同（图 1~5）。

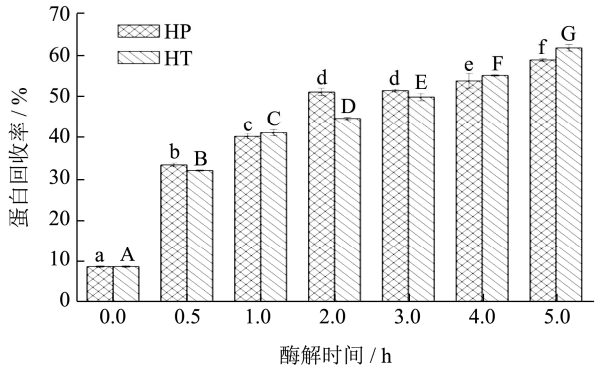


图 2 酶解过程中不同酶酶解大黄鱼蛋白回收率的变化

Fig.2 Changes in PR of *Larimichthys crocea* by different proteases during enzymatic hydrolysis

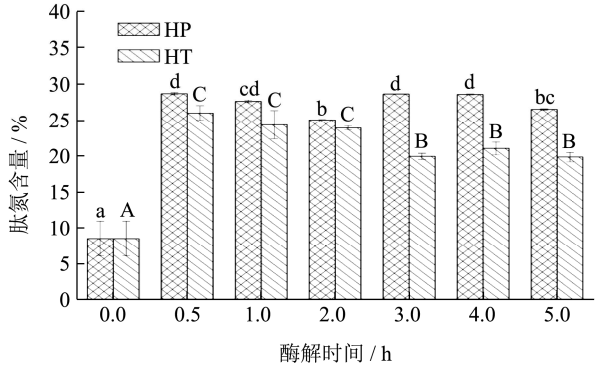


图 3 酶解过程中不同酶酶解大黄鱼肽氮得率的变化

Fig.3 Changes in PNP of *Larimichthys crocea* by different proteases during enzymatic hydrolysis

蛋白酶解时间对大黄鱼酶解产物水解度（DH）、蛋白质回收率（PR）以及肽氮含量（PNP）影响如图 1、图 2 和图 3 所示，0 h 为不外加酶的情况下利用鱼自溶酶进行水解，可以看出在没有外加酶时，虽然水

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

解度、蛋白回收率以及肽氮含量都很低，但是仍有蛋白质在进行缓慢水解。随着酶解时间的延长，产物的水解度和蛋白回收率都逐渐增加，特别是胰酶，在酶解进行到第 5 h 时，水解度达 15.32%，蛋白质回收率达 61.60%。酶解过程中大黄鱼酶解产物各项指标升高幅度逐渐放缓，可能原因是随酶解时间的延长蛋白酶活逐渐下降导致酶解速率减缓[14]，同时由于酶解过程中没有调节最适 pH，也会造成蛋白酶的活性降低，蛋白回收率偏低。由图可以看出，除 0 h 时肽氮含量较低外，肽氮含量处于动态平衡，但整体处于下降趋势。随着酶解时间的增加，大分子蛋白逐渐被酶解成小分子肽以及游离氨基酸，从而蛋白回收率和水解度都逐渐增加，而肽氮含量呈下降趋势。

2.2 酶解过程中的抗氧化能力变化

2.2.1 酶解时间对还原力的影响

木瓜蛋白酶和胰酶对大黄鱼酶解过程中酶解产物还原力的影响如图 4 所示。由图可知，随着酶解时间的延长，木瓜蛋白酶酶解产物 HP 和胰酶酶解产物 HT 还原力都呈现逐渐升高趋势。在前 2 h 内两种酶酶解产物还原力均呈显著增大（p>0.05），木瓜蛋白酶酶解产物 3~4 h 仍明显变大，而 4~5 h 还原力变化不显著，在 5 h 处达到最大值 0.155 mmol TE/mmol；而胰酶酶解产物在 3 h 处达 0.149 mmol TE/mmol，而后增长趋势变缓但仍处于不断增大状态，同样在酶解 5 h 时还原力达 0.16 mmol TE/mmol。这与水解度的变化趋势相似，两种酶水解度均随着酶解时间的延长而增大，还原力也逐渐增强。这说明小分子量肽具有更强的还原力，Feng 等[15]对核桃粕抗氧化肽的分离鉴定中也发现肽的抗氧化活性随着分子量的减小而增强。

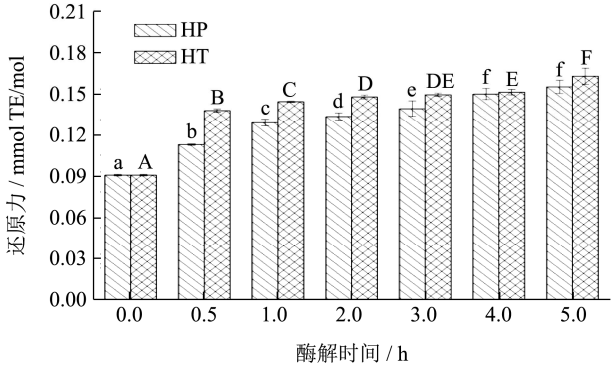


图 4 酶解过程中不同酶酶解大黄鱼还原力的变化

Fig.4 Changes in reducing power of *Larimichthys crocea* by different proteases during enzymatic hydrolysis

2.2.2 酶解时间对 DPPH 自由基清除力的影响

木瓜蛋白酶和胰酶对大黄鱼酶解过程中酶解产物 DPPH 自由基清除能力的影响如图 5 所示。由图可知，DPPH 清除能力变化趋势为先增后减，在酶解 3 h 时木瓜蛋白酶和胰酶的酶解产物 DPPH 自由基清除力均达到最大值，分别为 0.056 mmol TE/mmol 和 0.057 mmol TE/mmol。胰酶的酶解产物 DPPH 自由基清除力略高于木瓜蛋白酶。酶解前 1 h 内，自由基清除能力随着酶解时间的增加而显著升高，而后 1~3 h 变化趋于平缓，3 h 后甚至出现降低现象。可能原因是酶解前 3 h 内大分子蛋白被酶解生成具有抗氧化能力的多肽类物质，随着酶解反应的进行，多肽被进一步降解成游离氨基酸，抗氧化能力下降。这与厉望等[16]关于带鱼酶解产物对 DPPH 清除率的变化规律基本一致。这表明酶解产物的 DPPH 清除能力并不完全受肽分子量大小的影响，可能还与肽的氨基酸组成、氨基酸序列、肽键以及肽的空间结构有关。Jiang 等[17]鉴定合成了两种肽（HDHPVC 和 HEKVC），研究发现 HDHPVC 具有更强的 DPPH 清除能力，其原因为在 N 端都有 His 的情况下，该肽段的中间位置也有一个 His 残基，表明抗氧化活性与活性氨基酸的数量及其位置均有关系。

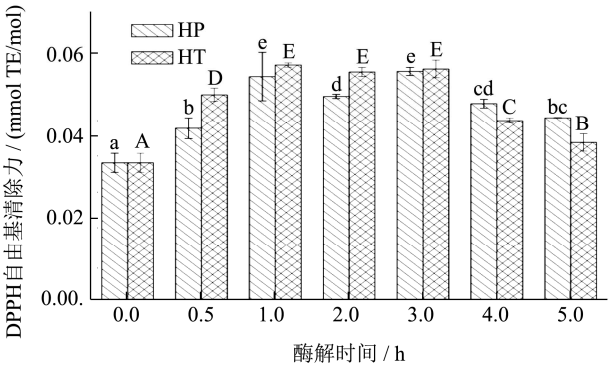


图 5 酶解过程中不同酶酶解大黄鱼 DPPH 自由基清除力的变化

Fig.5 Changes in DPPH free radical scavenging ability of *Larimichthys crocea* by different proteases during enzymatic hydrolysis

2.3 酶解过程中的钠离子含量

咸味的产生与食盐中解离出来的钠离子含量有着直接关系。因此，判断多肽中的咸味是否由酶解产物中的钠所引起的，需要控制钠离子含量以排除自身钠离子的影响。不同酶解时间下两种蛋白酶酶解大黄鱼所得酶解产物中钠离子含量并没有明显的变化，都集中在 33 mg/100 g 酶解产物左右。

2.4 酶解过程中的咸味程度变化

表 1、表 2 分别为木瓜蛋白酶和胰酶不同酶解时间下酶解大黄鱼后的咸味评分。控制氮含量一致后，以 0.33 mg/mL 氯化钠溶液作为基准分。感官品评过程

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

中各样品鲜味浓厚，咸味略淡，苦味随着酶解时间的增加而增强。由表 1 可以看出，木瓜蛋白酶的酶解产物咸味偏低，最高为酶解 3 h 时，感官咸味平均值为 1.83，且各样品之间感官咸味差异较小。由表 2 可知，胰酶酶解产物的咸味感官得分稍高于木瓜蛋白酶，最高也为酶解 3 h 时，感官咸味平均值为 2.08；其次为酶解 1 h 时，其咸味平均值与木瓜蛋白酶酶解 3 h 时相同。结合氮存在形式可知，酶解 3 h 后水解度和蛋白质回收率仍在增长（p<0.05），而肽氮含量有所降低（p<0.05）。研究表明，呈现咸味增强作用的主要是小分子肽，游离氨基酸如 L-精氨酸等疏水性氨基酸可能会增强苦味和腥味[14]，增加酶解时间小分子肽被降解为游离氨基酸，故而咸味值出现不增反降的现象。

表 1 酶解过程中木瓜蛋白酶酶解大黄鱼酶解产物的感官咸味评定

Table 1 Evaluation of sensory salty taste of enzymatic hydrolysate of *Larimichthys crocea* by papain during enzymatic hydrolysis

品评人员编号	H0	HP-0.5	HP-1	HP-2	HP-3	HP-4	HP-5
1	0	1	1	2	2	1	1
2	1	1	2	1	1	1	2
3	0	1	2	1	2	2	2
4	1	0	1	2	3	2	2
5	1	1	2	1	2	2	1
6	0	1	2	2	2	2	2
7	0	0	1	1	1	2	2
8	0	0	1	1	2	2	1
9	1	1	2	1	2	1	2
10	0	1	1	1	2	1	1
11	1	1	2	1	1	2	1
12	0	1	1	1	2	1	1
平均值	0.42	0.75	1.50	1.25	1.83	1.58	1.60

表 2 酶解过程中胰酶酶解大黄鱼酶解产物的感官咸味评定

Table 2 Evaluation of sensory salty taste of enzymatic hydrolysate of *Larimichthys crocea* by trypsin during enzymatic hydrolysis

品评人员编号	H0	HT-0.5	HT-1	HT-2	HT-3	HT-4	HT-5
1	0	0	1	2	2	2	1
2	1	1	2	1	2	1	1
3	0	1	2	2	2	1	1
4	1	1	2	2	1	2	2
5	1	1	2	1	2	2	1
6	0	1	2	1	2	1	0
7	0	1	2	2	3	3	2
8	0	2	2	2	2	2	2
9	1	2	2	1	3	2	2
10	0	1	2	2	2	1	2
11	1	1	2	2	2	2	1
12	0	1	1	2	2	1	1
平均值	0.42	1.08	1.83	1.67	2.08	1.67	1.33

2.5 酶解过程中酶解产物的电子舌咸味评定

采用 TS-5000Z 味觉分析系统（电子舌）对经感官评定的大黄鱼酶解产物样品的味觉特征进行辅助分析。木瓜蛋白酶和胰酶不同酶解时间下酶解产物的味觉特征电信号值如表 3、表 4 所示。由表 3 可知，木瓜蛋白酶酶解产物咸味值差异性不明显，最高为酶解 3 h，其咸味电信号值（saltiness）为-1.39。胰酶酶解产物咸味电信号值在 0.5 h 时即达到最大-0.94，酶解 3 h 达-1.02（电子舌对咸味的最低感受阈值的电信号值为-6，即人不能感知电信号值-6 以下的咸味，且人不能分辨电信号值小于 1 的咸味）。此外，两种酶酶产物

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的后酸味值（sourness）均小于-40，且没有显著性差异（p>0.05），因此酶解过程中各酶解产物酸味较弱。样品苦味和鲜味都值较大，可能是由于酶解过程中产生了大量的苦味氨基酸（Arg、Lys、Leu、Pro 等）和鲜味氨基酸（Glu、Asp 等）[18]；木瓜蛋白酶酶解产物的苦味值略低于胰酶酶解产物。

表 3 酶解过程中木瓜蛋白酶酶解样品得到的电子舌电信号值

Table 3 Electronic tongue signal value obtained by enzymatic hydrolysis of *Larimichthys crocea* by papain during enzymatic hydrolysis

NO.	酸味	苦味	涩味	苦味后味	涩味后味	鲜味	鲜味后味	咸味
HP-0.5	-44.10±1.53^{a}	5.86±0.08^{a}	-1.22±0.19^{ab}	-0.63±0.05^{a}	-0.30±0.07^{a}	15.48±0.13^{a}	1.68±0.22^{a}	-1.51±0.27^{b}
HP-1	-44.03±1.30^{a}	6.41±0.13^{d}	-0.84±0.16^{c}	-0.38±0.01^{c}	-0.29±0.07^{a}	15.47±0.13^{a}	1.77±0.22^{a}	-1.68±0.18^{b}
HP-2	-43.73±1.08^{a}	6.08±0.10^{b}	-1.51±0.16^{a}	-0.47±0.04^{b}	-0.31±0.06^{a}	15.51±0.10^{a}	1.77±0.22^{a}	-1.79±0.22^{b}
HP-3	-43.14±0.93^{a}	5.87±0.08^{a}	-1.05±0.16^{bc}	-0.57±0.03^{a}	-0.29±0.06^{a}	15.41±0.10^{a}	1.81±0.24^{a}	-1.39±0.21^{b}
HP-4	-42.84±0.74^{a}	6.20±0.07^{bc}	-1.35± 0.14^{ab}	-0.46±0.02^{b}	-0.26±0.07^{a}	15.47±0.09^{a}	1.81±0.24^{a}	-2.29±0.22^{a}
HP-5	-42.40±0.60^{a}	6.37±0.01^{cd}	-1.14±0.16^{abc}	-0.30±0.04^{d}	-0.25±0.06^{a}	15.46±0.04^{a}	1.82±0.22^{a}	-1.50±0.17^{b}

注：表中数据以电信号值±标准差的形式，不同小写字母表示同一列中差异显著(p<0.05)。

表 4 酶解过程中胰酶酶解样品得到的电子舌电信号值

Table 4 Electronic tongue signal value obtained by enzymatic hydrolysis of *Larimichthys crocea* by trypsin during enzymatic hydrolysis

NO.	酸味	苦味	涩味	苦味后味	涩味后味	鲜味	鲜味后味	咸味
HT-0.5	-43.57±0.51^{a}	6.59±0.02^{b}	-0.25±0.12^{e}	-0.54±0.06^{a}	-0.25±0.06^{a}	15.75±0.05^{d}	1.91±0.23^{a}	-1.84±0.07^{c}
HT-1	-42.86±0.40^{b}	7.42±0.01^{d}	-0.58±0.15^{d}	-0.03±0.03^{c}	-0.24±0.05^{a}	15.67±0.05^{c}	1.86±0.23^{a}	-0.94±0.16^{d}
HT-2	-41.95±0.25^{c}	8.20±0.01^{f}	-1.11±0.07^{b}	0.42±0.02^{d}	-0.11±0.01^{b}	15.67±0.01^{c}	2.50±0.17^{b}	-1.70±0.09^{c}
HT-3	-41.25±0.21^{c}	7.12±0.03^{c}	-0.78±0.05^{cd}	0.01±0.03^{c}	-0.10±0.00^{b}	15.50±0.01^{a}	2.51±0.14^{b}	-1.02±0.09^{d}
HT-4	-41.78±0.17^{c}	8.11±0.05^{e}	-0.97±0.07^{bc}	0.41±0.02^{d}	-0.10±0.00^{b}	15.63±0.01^{bc}	2.55±0.14^{b}	-2.11±0.07^{b}
HT-5	-41.56±0.10^{c}	6.27±0.01^{a}	-1.48±0.06^{a}	-0.46±0.02^{b}	-0.06±0.01^{b}	15.58±0.00^{b}	2.60±0.14^{b}	-3.48±0.11^{a}

注：表中数据以电信号值±标准差的形式，不同小写字母表示同一列中差异显著(p<0.05)。

3 结论

本文以大黄鱼为原料，利用蛋白酶解技术制备咸味增强肽，对酶解产物的特性及感官咸味评分进行表征，并电子舌进行客观辅助分析。结果表明，利用胰酶酶解大黄鱼 3 h 制备的咸味增强肽具有较好的咸味效果，制备的咸味增强肽兼具有一定的抗氧化能力，其还原力分别达到 0.149 mmol TE/mmol，DPPH 分别达到 0.057 mmol TE/mmol。咸味增强肽作为一种生物活性肽，本身具有重要的营养价值和生物活性（抗氧化活性），食品加工中可部分替代氯化钠，用于开发高档调味品以及作为功能性食品配料等，具有广泛的应用价值。

参考文献

[1] Inguglia E S, Zhang Z, Tiwari B K, et al. Salt reduction strategies in processed meat products-A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 59: 70-78

[2] 刘瑜彬,葛亚中,孙为正.糖添加量对广式腊肠脂质氧化稳定性及感官品质的影响研究[J].现代食品科技,2018,34(4): 215-220
LIU Yu-bin, GE Ya-zhong, SUN Wei-zheng. Effects of sugar addition on the lipid oxidation stability and sensory quality of cantonese sausage [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(4): 215-220

[3] Brown I J, Tzoulaki I, Candeias V, et al. Salt intakes around the world: implications for public health [J]. International Journal of Epidemiology, 2009, 38(3): 791-813

[4] World Health Organization. Sodium intake for adults and children [M]. Geneva: WHO Document Production Services, 2012

[5] Stanley R E, Bower C G, Sullivan G A. Influence of sodium chloride reduction and replacement with potassium chloride based salts on the sensory and physico-chemical characteristics of pork sausage patties [J]. Meat Science, 2017, 133: 36-42

[6] 张雅玮.海螵蛸水提物主体咸味物质对草鱼肌球蛋白凝胶特性的影响研究[D].南京:南京农业大学,2014
ZHANG Ya-wei. Effect of primary salty components in aqueous extract from cuttlefish boneon the gel properties of myosin from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014

[7] Tada M, Shinoda I, Okai H. L-ornithyltaurine, a new salty peptide [J]. J Agric Food Chem., 1984, 32(5): 992-996

[8] Schindler A, Dunkel A, Stähler F, et al. Discovery of salt taste

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

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

[9] Xu J, Elkaddi N, Garcia-Blanco A, et al. Arginyl dipeptides increase the frequency of NaCl-elicited responses via epithelial sodium channel alpha and delta subunits in cultured human fungiform taste papillae cells [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 7483

[10] 苏国万.花生粕酶解及其产物呈味特性研究[D].广州:华南理工大学,2012
SU Guo-wan. Study on enzymatic hydrolysis of defatted peanut meal and sensory taste of its hydrolysate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012

[11] Oyaizu M. Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography [J]. Journal of the Japanese Society for Food Science & Technology, 2010, 35(11): 771-775

[12] 刘剑,刘芳竹,叶润,等.火焰原子吸收/发射光谱法对小麦粉中钠的检测[J].中国粮油学报,2013,28(12):94-96
LIU Jian, LIU Fang-zhu, YE Run, et al. Compare of AAS and AES analysis in the test of Na in wheat [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, 28(12): 94-96

[13] Cheung I W Y, Li-Chan E C Y. Application of taste sensing system for characterisation of enzymatic hydrolysates from shrimp processing by-products [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 1076-1085

[14] 周雪松.鸡肉蛋白酶解及其产物抗氧化活性研究[D].广州:华南理工大学,2006
ZHOU Xue-song. Study on Enzymatic Hydrolysis of Chicken Protein and Antioxidant Activities of its Hydrolysate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2006

[15] Feng L, Peng F, Wang X, et al. Identification and characterization of antioxidative peptides derived from simulated *in vitro* gastrointestinal digestion of walnut meal proteins [J]. Food Research International, 2019, 116: 518-526

[16] 厉望,靳挺,武玉学.带鱼蛋白酶解条件优化及酶解物抗氧化性能[J].食品科学,2013,9(34):234-239
LI Wang, JIN Ting, WU Yu-xue. Optimization of enzymatic hydrolysis of hairtail protein and antioxidant activities of its hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2013, 9(34): 234-239

[17] Jiang H, Tong T, Sun J, et al. Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate [J]. Food Chemistry, 2014, 154: 158-163

[18] Zhang J, Xu J, Liu L, et al. Physicochemical and sensory characteristics of soya protein isolate hydrolysates with added substrate-like amino acids [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(1): 69-77

（上接第 279 页）

[14] 李薇薇,王晓英,郭云昌,等.中国部分水产品副溶血性弧菌毒力基因的分布特征[J].中国食品卫生杂志,2010,22(3):239-243
LI Wei-wei, WANG Xiao-ying, GUO Yun-chang. Distribution of virulence genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood in China [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2010, 22(3): 239-243

[15] 白瑶,赵洋洋,叶淑瑶,等.中国水产品中副溶血性弧菌耐药性及遗传特征分析[J].中国食品卫生杂志,2018,30(3):229-234
BAI Yao, ZHAO Yang-yang, YE Shu-yao, et al. Antimicrobial resistance and genetic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic products [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(3): 229-234

[16] 胡婕,陈茂义,陈婷,等.水产品及其环境中副溶血性弧菌污染状况与毒力基因分布研究[J].公共卫生与预防医学,2013,24(4):33-37
HU Jie, CHEN Mao-yi, CHEN Ting, et al. Study on the Contamination and distribution of virulence genes of *Vibrio parahaemolyticus* in inland marketing aquatic products and environment [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2013, 24(4): 33-37

[17] 纪懿芳,胡文忠,姜爱丽,等.海产品中副溶血弧菌检测方法研究进展[J].食品工业科技,2015,36(5):365-369
JI Yi-fang, HU Wen-zhong, JIANG Ai-li, et al. Advancement of detection techniques for *Vibrio parahaemolyticus* in aquatic products [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5): 365-369

[18] GB 29921-2013,食品安全国家标准食品中致病菌限量[S]
GB 29921-2013, National Food Safety Standard Limit of Pathogen in Foods [S]

[19] GB 4789.7-2013,食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验[S]
GB 4789.7-2013, National Food Safety Standard-Food Microbiological Examination-*Vibrio parahaemolyticus* [S]

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net