

石月, 王金厢, 李学鹏, 等. 鱼骨泥酶解工艺优化及酶解液呈味特性研究 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 218-227. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040030

SHI Yue, WANG Jinxiang, LI Xuepeng, et al. Study on Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Bone Paste and Flavor Characteristics of Hydrolysates[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 218-227. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040030

鱼骨泥酶解工艺优化及酶解液呈味特性研究

石月¹, 王金厢¹, 李学鹏^{1,2,*}, 励建荣¹, 李婷婷³, 郭晓华⁴, 黄建联⁵, 丁浩宸⁵

(1.渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程

研究中心, 国家鱼糜及鱼糜制品加工技术研发分中心, 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.大连民族大学生命科学学院, 辽宁大连 116600;

4.山东美佳集团有限公司, 山东日照 276815;

5.辽宁安井食品有限公司, 辽宁鞍山 361003)

摘要:以鳕鱼骨制备的超微细鱼骨泥为对象, 研究鱼骨泥酶解的最佳工艺条件, 以水解度为指标, 在单因素的基础上, 利用响应面优化酶解工艺, 并根据电子鼻、电子舌、气相离子迁移色谱(GC-IMS)、游离氨基酸检测结果, 分析酶解对鱼骨泥呈味特性的影响。结果表明, 鱼骨泥最佳酶解工艺为: 选用风味蛋白酶, 酶解时间 5 h, 加酶量 1.0%, 料液比 1:1, 在此条件下水解度可达 43.8%。电子鼻分析结果显示, 酶解液中芳香物质增多, 烷烃、氨类等具有不良风味的化合物含量降低; 电子舌分析结果显示, 酶解液酸味提升, 苦味减少, 整体呈味特性良好、滋味丰富。鱼骨泥和酶解液中共检测出 29 种风味物质, 其中鱼骨泥中主要挥发性风味物质是醛类和酮类, 酶解液中主要呈味物质是酮类和酯类, 挥发性风味物质的种类及含量差异显著。酶解增加了呈味氨基酸的含量, 赋予了酶解液良好的风味。

关键词: 鱼骨泥, 酶解, 风味, 呈味化合物

中图分类号: TS254.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2021)23-0218-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040030



本文网刊:

Study on Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Bone Paste and Flavor Characteristics of Hydrolysates

SHI Yue¹, WANG Jinxiang¹, LI Xuepeng^{1,2,*}, LI Jianrong¹, LI Tingting³, GUO Xiaohua⁴, HUANG Jianlian⁵, DING Haochen⁵

(1.College of Food Science and Technology, Bohai University, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, National R & D

Branch Center of Surimi and Surimi Products Processing, Jinzhou 121013, China;

2.Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

3.College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China;

4.Shandong Meijia Group Co., Ltd., Rizhao 276815, China;

5.Liaoning Anjoy Food Co., Ltd., Anshan 361003, China)

Abstract: Taking the ultra-fine fish bone paste prepared from cod bones as the object, the conditions of enzymatic hydrolysis of fish bone paste were optimized by using the single factor experiment and response surface design based on the degree of hydrolysis as an indicator. Meanwhile, the changes of flavor characteristics of fish bone paste and its hydrolysates were analyzed by employing electronic nose, electronic tongue, gas-phase ion migration chromatography(GC-IMS), and free amino acid determination. The results showed that the optimal enzymatic hydrolysis conditions were obtained at hydrolysis time of 5 hours, enzyme addition of 1.0%, material-liquid ratio of 1:1 by using flavor protease, yield 43.8% of

收稿日期: 2021-04-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0400705); 辽宁省兴辽英才计划项目(XLYC1807133)。

作者简介: 石月(1996-), 女, 硕士, 研究方向: 水产品贮藏加工, E-mail: shiyue0929@163.com。

* 通信作者: 李学鹏(1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品贮藏加工, E-mail: xuepengli8234@163.com。

hydrolysis degree. The electronic nose analysis results showed that the aromatic substances in the hydrolysate increased, while the content of undesirable compounds such as alkanes and ammonia decreased. The results of electronic tongue analysis showed that the acidity of the hydrolysate was increased, while the bitterness was reduced, and the overall taste was good and rich. There were 29 volatile compounds of hydrolysate and fish bone paste were detected by GC-IMS. In fish bone paste, the main volatile flavor substances were aldehydes and ketones, and the main flavor substances in the hydrolysate were ketones and esters. These types and contents of volatile flavor substances were significantly different. The hydrolysate increased the content of flavored amino acids and the hydrolysate had a good flavor.

Key words: fish bone paste; enzymatic hydrolysis; flavor; taste compound

我国水产加工行业每年加工量超过 1000 万吨,通常鱼头骨和脊骨占鱼体重的 10%~15%,是仅次于鱼皮的第二大加工副产物^[1]。鱼骨排具有高蛋白、低脂肪的营养特性,钙磷比接近 2:1,营养价值丰富。然而,我国在水产品加工和综合利用方面比较落后,加工时产生的副产物如鱼骨排等得不到有效地利用,造成了极大的经济损失和环境压力,其开发利用已引起行业高度重视。因此,对鱼骨资源进行高值化利用具有一定的研究意义。但目前,关于鱼骨排加工利用的研究报道主要集中在即食鱼骨和鱼骨泥的制作与应用等方面^[2-4],有关鱼骨泥酶解及其呈味特性的研究仍鲜见报道。

酶解技术反应条件温和,酶解产物安全性高,在动植物蛋白资源加工利用、生物多肽制备、香气改善等方面应用广泛。鱼骨排经酶解可以释放出多肽、游离氨基酸等物质,可改善风味,提高营养价值与应用范围。ATMA 等^[5]利用酶解技术从鱼骨中获取生物活性多肽;TAN 等^[6]将鳕鱼骨高温处理后进行酶解,发现酶解液具有较好的营养价值;杨会成等^[7]将金枪鱼骨酶解制备成骨胶原蛋白肽,再与柠檬酸钙进行螯合,研究发现钙肽螯合物具有增加成骨细胞分泌碱性磷酸酶的生物活性作用;毛毛等^[8]利用高压脉冲电场技术与复合酶解技术对骨胶原多肽风味进行了优化研究;董烨等^[9]研究了不同预处理方式对鳕鱼酶解液的氨基酸和挥发性成分的影响;这些研究为鱼骨排的高值化利用提供了一定参考。

为了提高鱼骨排的酶解效率,采用超微粉碎的预处理方式将鱼骨排制备成鱼骨泥。超微粉碎作为一种绿色高效的原料处理方法,被广泛应用于骨制品的预处理中。鱼骨在超微粉碎过程中,受到剪切和挤压力的作用,胶原蛋白三维结构遭到破坏,营养物质流出,同时增强了蛋白酶和底物的碰撞,有利于提升酶解效率,提高呈味化合物的含量,有益于整体风味的提升。

本研究以鳕鱼骨排为主要原料,采用超微粉碎法制备鱼骨泥后再进行酶解处理,对鱼骨泥酶解工艺进行了深入探究,通过单因素实验和响应面试验获得了最佳酶解条件。在此基础上,对鱼骨泥和酶解液的风味及呈味化合物进行了深度对比,剖析了酶解对鱼骨泥呈味特性的影响,为鱼骨副产物的综合利用提供的一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鳕鱼骨排 大连天宝绿色食品股份有限公司;木瓜蛋白酶(80 万 U/g)、中性蛋白酶(20 万 U/g)、风味蛋白酶(3 万 U/g) 丹麦诺维信公司;NaOH 滴定液 阿拉丁试剂(上海)有限公司;氯化钾、甲醛 国药集团化学试剂有限公司。

SQW-6J 细胞破壁超微粉碎机 济南三清易辰超微粉碎技术有限公司;SORVALL Stratos 型冷冻高速离心机 美国 Thermo 公司;FOSS 8400 全自动定氮仪 瑞典 FOSS 公司;L-8900 全自动氨基酸分析仪 日本日立高新技术公司;PEN3 便携式电子鼻 德国 AIRSENSE 公司;ZB-20 型斩拌机 诸城市瑞恒食品机械厂;SA402B 电子舌 日本 Nikon 公司;avourSpec®风味分析仪 中国海能仪器股份有限公司;RRH-A250 型高速万能粉碎机 上海缘沃工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 鱼骨排基本成分的测定 鱼骨中水分、灰分、蛋白质、脂肪含量分别按 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》直接干燥法^[10]、GB 5009.4-2016《食品中灰分的测定》高温灰化法^[11]、GB 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法^[12]、GB 5009.6-2016《食品中脂肪的测定》索氏提取法^[13]进行测定。

1.2.2 鱼骨泥制备工艺流程 鳕鱼骨排→清洗→切块(2 cm×2 cm)→漂白→清洗→粗粉碎(斩拌机)→细粉碎(骨泥机)→超微粉碎(高精湿法超微粉碎机)→离心脱水(4000 r/min, 5 min)→超微细鱼骨泥

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 蛋白酶种类的筛选 分别采用木瓜蛋白酶、风味蛋白酶、中性蛋白酶对鱼骨泥进行酶解,以料液比为 1:2(g/mL),加酶量 1.5%,酶解温度 50 ℃,酶解时间 5 h 的条件进行酶解。酶解完成后,沸水浴灭酶 10 min,在 4 ℃ 条件下,5000 r/min 离心 10 min,获得上清液备用,以水解度为指标评价酶解效果。

1.2.3.2 酶解时间对水解度的影响 称取 30 g 鱼骨泥在酶解温度为 50 ℃,加酶量为 1%,料液比为 1:2(g/mL)的条件下,考察酶解时间 2、3、4、5、6 h 对水解度的影响。

1.2.3.3 加酶量对水解度的影响 称取 30 g 鱼骨泥

在酶解温度为 50℃, 料液比为 1:2(g/mL), 酶解时间为 5 h, 考察酶添加量 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% 对水解度的影响。

1.2.3.4 料液比对水解度的影响 称取 30 g 鱼骨泥在酶解温度为 50℃, 加酶量为 1%, 酶解时间为 5 h, 考察料液比 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5(g/mL) 对水解度的影响。

1.2.4 响应面试验 在研究酶解时间、料液比、加酶量这三个单因素实验的基础上, 为进一步研究酶解效果, 在 50℃ 条件下利用风味蛋白酶酶解, 以水解度为指标, 利用 Design Expert 8.0 软件, 采用 Box-Behnken 设计三因素三水平响应面试验, 确定酶解鱼骨泥最佳工艺, 因素水平见表 1。

表 1 响应面试验设计因素与水平
Table 1 Factors and levels of response surface experimental design

因素	水平		
	-1	0	1
A 酶解时间(h)	3	4	5
B 加酶量(%)	0.6	0.8	1.0
C 料液比(g/mL)	1:3	1:2	1:1

1.2.5 水解度的测定 采用甲醛滴定法, 按照下式计算:

$$\text{水解度}(\%) = \frac{\text{氨基酸态氮含量}}{\text{总氮含量}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: 总氮含量采用 GB 5009.5—2016《食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法测定^[12]; 氨基酸态氮含量采用 GB 5009.235—2016《食品中氨基酸态氮的测定》测定^[14]。

1.2.6 电子鼻测定 参考 GAO^[15] 的方法略有修改, 准确称取 10 g 样品于 50 mL 烧杯内, 酶解液称取 15 mL, 用三层保鲜膜密封, 室温下静置 20 min, 然后依次用电子鼻对挥发性气味进行分析检测, 每组样品做 3 个平行。电子鼻载气为干燥空气, 设置测试时间为 120 s, 清洗时间为 120 s。

1.2.7 电子舌测定 准确称取 30 g 样品于料理机中, 按照料水比 1:4(g/mL) 的比例加入蒸馏水, 绞碎、混匀, 再以 9000 r/min 离心 10 min, 再经 0.45 μm 和 0.22 μm 滤膜抽滤至澄清; 酶解液的前处理方法同样品, 准确称取 30 mL 酶解液按照料水比 1:4(g/mL) 的比例混匀, 离心、抽滤; 分别取 40 mL 的上清液于电子舌专用样品杯中。按照设置的序列放置在电子舌自动进样器上进行检测, 单次采样时间为 120 s, 1 次/s。每组样品重复检测 4 次, 运用系统自带数据库系统, 选取传感器信号趋于稳定时即第 120 s 的响应值, 对后 3 次采集到的数据进行味觉特征分析。

1.2.8 GC-IMS 检测 称取 2.0 g 样品和 2 mL 酶解液分别置于 20 mL 顶空瓶中, 设置孵育温度 60℃, 孵

化转数 500 r/min, 孵育 15 min, 采用顶空自动进样, 进样体积为 500 μL, 进样针温度 65℃。色谱柱类型: MXT-5 (15 m×0.53 mm, 1 μm), 柱温 60℃, IMS 温度 45℃, 分析时间 30 min, 载气/漂移气为 N₂。

1.2.9 游离氨基酸测定 称取 5.0 g 样品于料理机中绞碎后, 以 9500 r/min 匀浆三次(每次 10 s), 加入 20 mL 超纯水, 然后加入 5% 三氯乙酸 20 mL, 搅拌均匀。于 4℃ 静置 12 h, 用中性定性滤纸过滤, 去除悬浮物。然后加入超纯水, 得到最终体积为 50 mL。样品经过 0.22 μm 滤膜, 注入自动氨基酸分析仪。

1.3 数据统计分析

每组实验重复 3 次取平均值, 采用 SPSS 19.0 软件进行方差分析处理, 以 Duncan's 法进行检验, 取 95% 置信度($P < 0.05$), 结果以均值±标准差表示。利用 Origin 9.0 软件作图。GC-IMS 结果通过 Reporter 插件直接对比样品间谱图差异(二维俯视图、三维谱图), 结合 Gallery Plot 插件对指纹图谱对比。

2 结果与分析

2.1 鱼骨排基本成分测定结果

鱼骨排中基本成分含量如表 2 所示, 鱼骨中营养物质含量丰富, 具有高蛋白、低脂肪的特点, 适用于后续鱼骨泥酶解的研究。

表 2 鳕鱼骨排的营养组成成分表
Table 2 Nutrient composition of cod bone row

组成	水分	蛋白质	灰分	脂肪
含量(%)	74.20±1.06	13.33±0.55	6.83±0.06	2.24±0.21

2.2 单因素实验结果

酶解法便于控制且反应条件温和, 由于蛋白酶具有专一性和选择性, 可以赋予酶解液不同的风味^[16-18]。以水解度为指标, 研究不同蛋白酶的酶解效果。使用木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、风味蛋白酶对鱼骨泥进行酶解, 实验结果如图 1(A) 所示, 可以看出不同蛋白酶对鱼骨泥水解度的影响差异显著($P < 0.05$)。在风味蛋白酶作用下, 酶解液的水解度最高, 为 33.83%。有研究表明, 风味蛋白酶可以赋予酶解液较好的风味^[19], 而且可以将肽链末端的疏水性氨基酸切除, 降低苦味^[20], 因此选取风味蛋白酶为水解用酶。

不同酶解时间对鱼骨泥水解度的影响如图 1(B) 所示。由图可知, 酶解 4 h 后, 水解度增加不明显, 酶解 5 h 时水解度达到最大值, 这可能是因为随着时间的延长, 反应体系中的底物基本被完全酶解, 酶解过程基本结束, 故选取 4~6 h 为最佳酶解时间段。

不同加酶量对鱼骨泥水解度的影响如图 1(C) 所示。由图可知, 加酶量在 0.2%~1.0% 范围内, 水解度随着酶添加量的增多呈现先上升后下降的趋势, 在添加量为 0.8% 时水解度最大。这是由于蛋白酶添加量增多时, 酶与底物的触点增多, 酶解效果显著提高,

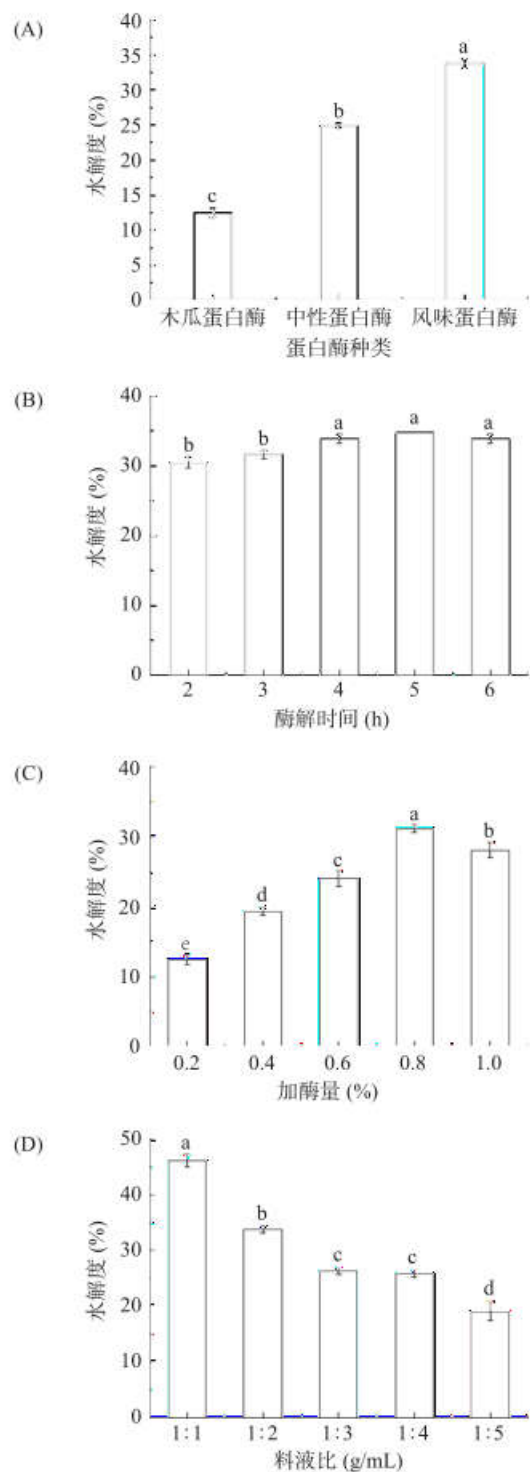


图 1 不同因素对水解度的影响

Fig.1 Effect of different factors on the degree of hydrolysis
注: A.蛋白酶种类; B.酶解时间; C.加酶量; D.料液比; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

但当酶添加量过多时,酶与底物作用位点被完全占据,即此时的鱼骨泥不能满足更多蛋白酶酶解所需的营养成分,因此继续增加蛋白酶含量水解度没有提升,故选取 0.6%~1.0% 为最佳蛋白酶添加量范围。

不同料液比对鱼骨泥水解度的影响如图 1(D) 所示。由图可知,水解度随料液比的增加呈下降趋势,这可能是由于料液比浓度较低时,物料粘稠,增大了酶与底物间的碰撞接触,酶解效率较高,但当料液

比低于 1:1 g/mL 时,物料过于粘稠,影响酶解效率。当料液比浓度增大时,酶与底物不能进行有效接触,水解度下降,同时由于料液比增大,对溶液中的可溶性肽有一定的稀释作用,故水解度下降,因此最佳料液比范围选取 1:1~1:3 g/mL。

2.3 响应面分析

以酶解时间(A)、加酶量(B)、料液比(C)三个因素为自变量,水解度为响应值,进行 Box-Behnken 试验设计,采用三因素三水平进行酶解工艺条件优化,Box-Behnken 试验结果见表 3。

表 3 响应面试验设计结果
Table 3 Response surface test design results

组别	A酶解时间	B加酶量	C料液比	水解度(%)
1	1	-1	0	28.04
2	1	0	-1	27.38
3	-1	-1	0	29.93
4	-1	0	-1	28.49
5	-1	1	0	29.94
6	0	0	0	34.84
7	0	0	0	32.16
8	0	0	0	30.38
9	0	0	0	30.83
10	-1	0	1	36.62
11	1	1	0	32.61
12	0	1	-1	27.93
13	1	0	1	40.51
14	0	-1	-1	28.15
15	0	-1	1	40.07
16	0	0	0	33.05
17	0	1	1	43.64

2.3.1 回归模型的建立及显著性、可信性分析 对实验数据进行多元回归拟合,建立水解度(R)对时间(A)、酶添加量(B)、料液比(C)多元二次回归模型:

$R=3.1488+0.09A-0.093B-0.075C-0.077AB+0.195AC-0.015BC-0.35A^2-0.478B^2-0.298C^2$ 。方差分析结果如表 4 所示,回归模型 P 值为 0.0008,达到了

表 4 响应面回归模型方差分析表
Table 4 Variance table of response surface regression model analysis

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	371.95	9	41.33	15.57	0.0008	**
A 酶解时间	1.59	1	1.59	0.60	0.4637	
B 加酶量	7.84	1	7.84	2.95	0.1293	
C 料液比	298.77	1	298.77	112.54	<0.0001	**
AB	5.19	1	5.19	1.96	0.2046	
AC	6.27	1	6.27	2.36	0.1683	
BC	3.59	1	3.59	1.35	0.2832	
A ²	15.36	1	15.36	5.78	0.0471	*
B ²	0.19	1	0.19	0.0701	0.7979	
C ²	35.56	1	35.56	13.39	0.0081	**
残差	18.58	7	2.65			
失拟项	5.74	3	1.91	0.60	0.6505	不显著
绝对误差	12.84	4	3.21			
总离差	390.54	16				

注: **表示极显著($P < 0.01$); *表示显著($P < 0.05$)。

极显著水平,失拟项不显著,表明模型对实验拟合良好,可以用该模型来分析和预测酶解鱼骨泥的工艺结果。 C 、 C^2 的影响极显著($P<0.01$), A^2 对结果的影响显著($P<0.05$),三种因素对水解度影响的顺序为:料液比>加酶量>时间。

2.3.2 响应面交互作用分析 各因素间的交互作用如图2所示,由图可知,随着酶解时间的延长,水解度呈先上升后下降的趋势,随着料液比的增大,水解度呈现下降趋势。由响应曲面的陡峭程度可以看出,料液比与其它两因素间的交互较好。等高线图的形状可以反映出两因素交互作用的强弱和显著程度^[21]。料液比与其余两个因素交互的曲线比较陡,说明在酶

解时间不是很充分和加酶量较少时,降低料液比浓度能明显提高水解度。

2.3.3 最佳酶解条件的确定及验证实验 利用 Design-Expert 统计软件求解回归方程得到,以水解度为指标,酶解鱼骨泥的最佳工艺为:时间 5 h,加酶量 1.0%,料液比 1:1,水解度可达 43.92%,在上述最优条件下进行验证实验,水解度可达 43.8%,接近预测值。证明通过响应面分析获得的最佳条件是有效可靠的。

2.4 酶解对鱼骨泥气味轮廓的影响

将鱼骨泥、鱼骨泥酶解液挥发性气体变化进行 PCA 分析,其目的是将电子鼻输出的数据降维成两个不存在信息交叉的新指标,使得原本复杂并可能存在相互影响的数据变得简单明了,性质相似的样品在距离上接近^[22-23]。根据图3(A)可以看出,PC1与PC2的贡献率分别为84.50%和8.68%,两者贡献率之和达93.18%,说明主成分包含了样品的主要气味信息。两组样品主成分没有重叠交互的部分,说明两组样品间气味具有一定差异性。主要表现在酶解后的气味向PC1正向移动,而PC1特征值占比较大,说明鱼骨泥经酶解后,气味特征越发复杂,和鱼骨泥气味差异较大。

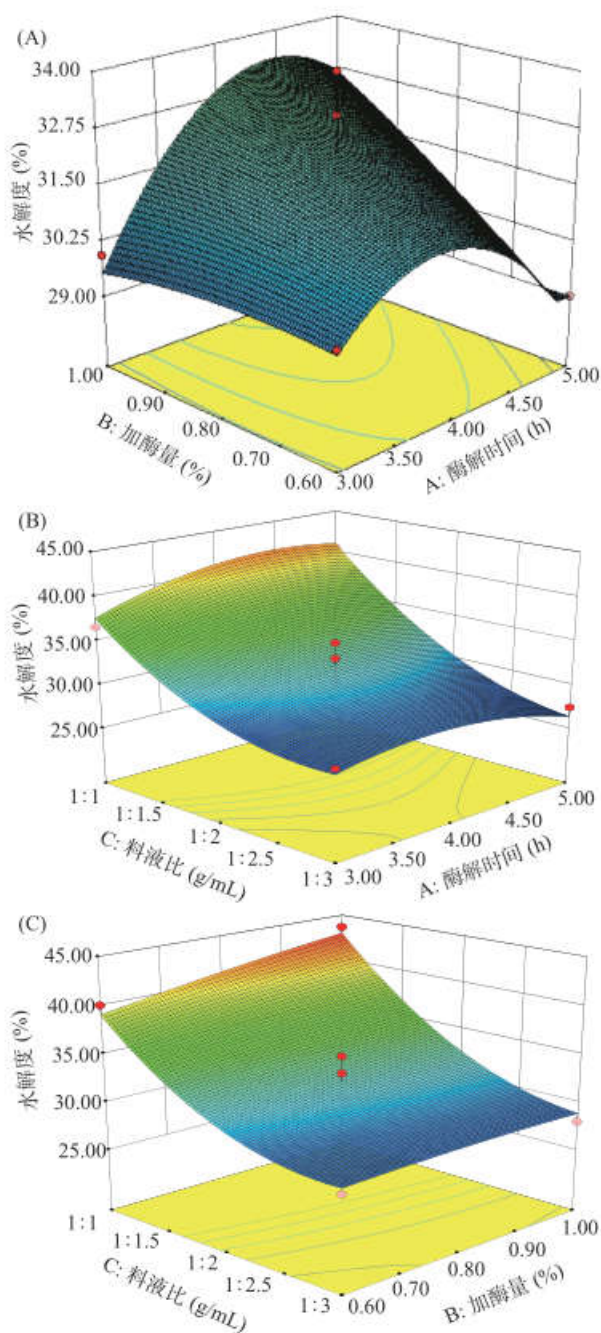


图2 响应面交互作用曲线图

Fig.2 The graph of response surface interaction

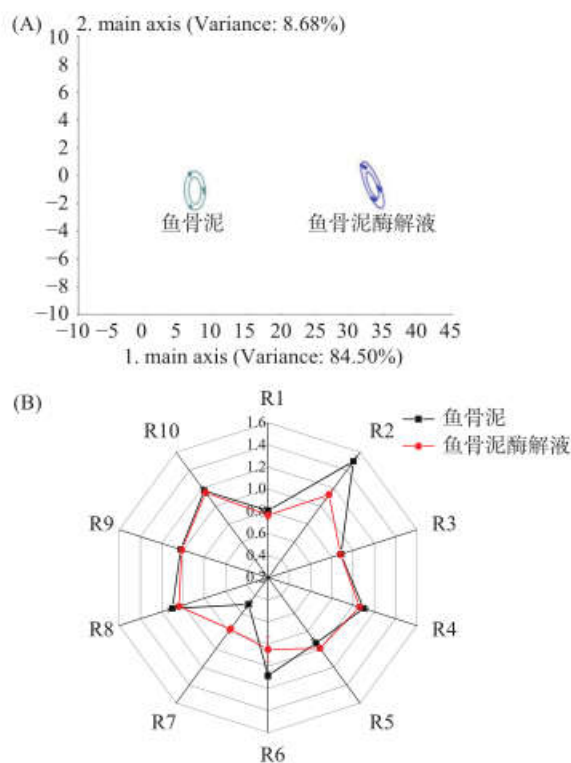


图3 鱼骨泥和酶解液电子鼻响应值的PCA(A)和雷达图(B)

Fig.3 PCA and radar chart of electronic nose response value of fish bone paste and its enzymatic hydrolysates

根据电子鼻雷达图可以看出鱼骨泥酶解前后的挥发性气体传感器响应值的变化。从图3(B)中可以看出R2、R5、R6、R7的响应值变化较为明显,R2对

鱼骨泥中主要呈味物质,表现为癸醛、(E,Z)-2,6-壬二烯醛、辛醛、苯甲醛、庚醛、E-2-己烯醛、己醛、E-2-戊烯醛、戊醛、2-壬酮、2-戊酮、2-乙基己醇、二甲基硫醚等物质的含量较高;B区域是酶解液中主要呈味物质,表现为2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、壬醛、E-2-辛烯醛、3-辛酮、2-庚酮、环己酮、异己醇、2-丙醇、3-甲基丁酸乙酯、丁酸戊酯等物质的含量较高。

醛类化合物是酶解液和鱼骨泥中主要的挥发性风味物质之一,醛类物质的阈值较低,对气味形成的贡献较大^[27],含有6~9个碳原子的醛、烯醛类物质一般具有清香、果香和脂香味。鱼骨泥中的主要呈味物质是醛类化合物,如庚醛、辛醛具有青草味、鱼腥味和令人不愉快的气味^[28],苯甲醛有杏仁的味道,可能与氨基酸的降解有关^[29],(E,Z)-2,6-壬二烯醛是鱼腥味的特征化合物。酶解液中壬醛含量较高,具有强烈的油脂气味和甜橙气息。醛类物质是水产品主要的风味物质,经过酶解作用,可以减少鱼骨泥中的不良风味。

酮类和醇类物质主要来源于脂肪氧化,部分还可与美拉德反应和硫胺素降解的化学物质反应,对香

气形成具有较大贡献^[30]。酮类化合物是酶解液中主要呈味物质,其阈值一般高于醛类。鱼骨泥中酮类物质主要有2-壬酮、2-戊酮、甲基庚烯酮等,具有柠檬草香味和柑橘样气息。酶解产生了一些新的酮类物质,如3-辛酮、2-庚酮、二氢香芹酮等,具有水果和药草等香气。醇类阈值较高,对气味影响较小^[31],检测出的种类也相对较少,醇类物质一般具有令人愉悦的气味,2-乙基己醇有甜味和淡淡的花香。不饱和醇类的临界值较饱和醇低,因此对于气味形成贡献较大,1-辛烯-3-醇具有蘑菇和泥土味等香气。醇类物质具有良好的风味,能够掩盖不良气味,因此可以掩盖一定的腥味。

2.7 酶解对鱼骨泥呈味化合物的影响

游离氨基酸具有甜味、苦味和鲜味等呈味特性,对食品风味的形成具有重要贡献^[32-34]。根据表6可知,两组样品中共检测出15种游离氨基酸,其中必需氨基酸7种,半必需氨基酸2种,非必需氨基酸6种,酶解后必需氨基酸占比达58.73%,较鱼骨泥中占比高33.53%。鱼骨泥中游离氨基酸总量为18.72 mg/100 g,酶解液中含量为1095.11 mg/100 mL,

表5 鱼骨泥和酶解液挥发性化合物的定性分析

Table 5 Qualitative analysis of volatile compounds in fish bone paste and its enzymatic hydrolysates

编号	化合物名称	分子式	CAS号	保留指数	保留时间(s)	迁移时间(ms)	气味
1	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	112-31-2	737.75	1.54	1272.6	香气青辛微甜
2	反-2,顺-6-壬二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	557-48-2	602.29	1.37	1178.4	具有强烈的紫罗兰和黄瓜似香气
3	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	124-19-6	507.76	1.48	1112.7	具有强烈的油脂气味和甜橙气息
4	2-壬酮	C ₉ H ₁₈ O	821-55-6	483.40	1.41	1095.8	呈水果、花、油脂和药草似香气
5	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	C ₈ H ₁₂ N ₂	55031-15-7	448.91	1.23	1071.8	吡嗪类香料
6	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	104-76-7	394.29	1.42	1033.8	有甜味和淡淡的花香
7	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	106-68-3	339.07	1.31	994.6	
8	甲基庚烯酮	C ₈ H ₁₄ O	110-93-0	339.81	1.18	995.5	该品具有水果香气和新鲜清香香气
9	苯甲醛-D{1}	C ₇ H ₅ DO	3592-47-0	312.56	1.47	962.6	
10	2-庚酮	C ₇ H ₁₄ O	110-43-0	256.18	1.26	894.6	具有香味
11	4-甲基-1-戊醇	C ₆ H ₁₄ O	626-89-1	221.40	1.32	826.9	
12	D-甘露糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	3458-28-4	203.89	1.56	791.9	味甜,略带苦的后味
13	1-戊醇	C ₅ H ₁₂ O	71-41-0	190.31	1.25	758.9	略有气味
14	2-戊酮	C ₅ H ₁₀ O	107-87-9	160.36	1.36	675.6	具酒和丙酮气味
15	丁醛	C ₄ H ₈ O	123-72-8	135.40	1.29	565.1	有窒息性醛味
16	丙醛	C ₃ H ₆ O	123-38-6	122.00	1.05	505.8	有窒息性刺激气味
17	异丙醇	C ₃ H ₈ O	67-63-0	127.41	1.22	529.7	有似乙醇的气味
18	乙醇	C ₂ H ₆ O	64-17-5	104.95	1.04	430.3	有酒的气味和刺激性辛辣味
19	二甲基硫	C ₂ H ₆ S	75-18-3	107.79	0.98	442.8	有难闻的气味
20	丁酸戊酯	C ₉ H ₁₈ O ₂	540-18-1	437.59	1.41	1063.9	呈强烈穿透性臭味,有甜味
21	水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	99-83-2	353.84	1.23	1005.7	具有黑胡椒和葛荷似香气
22	二氢香芹酮	C ₁₀ H ₁₆ O	5524-05-0	259.46	1.46	898.6	浓而强烈的药草样气味,留兰香样的风味
23	丙酮	C ₃ H ₆ O	67-64-1	112.69	1.12	464.5	
24	2-丁酮	C ₄ H ₈ O	78-93-3	131.67	1.25	548.6	
25	正己醇	C ₆ H ₁₄ O	111-27-3	245.51	1.32	874.9	有淡青的嫩枝叶气息,微带酒香、果香和脂肪气息
26	糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	35796	222.74	1.08	829.5	有类似苯甲醛的特殊气味
27	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	3391-86-4	331.71	1.16	985.7	有蘑菇和泥土味等香气
28	反-2-辛烯醛	C ₈ H ₁₄ O	2548-87-0	427.24	1.33	1056.7	肥腻香气
29	异戊酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	108-64-5	237.88	1.26	859.7	有类似苹果、香蕉的香气和酸甜气味

表 6 鱼骨泥和鱼骨泥酶解液游离氨基酸的含量
Table 6 Free amino acid content of fish bone paste and its enzymatic hydrolysates

分类	名称	鱼骨泥		鱼骨泥酶解液	
		含量(mg/100 g)	占比(%)	含量(mg/100 mL)	占比(%)
必需氨基酸	蛋氨酸	0.01	0.04	1.71	0.16
	苯丙氨酸	0.85	4.52	113	10.32
	赖氨酸	1.36	7.27	107.00	9.77
	亮氨酸	0.45	2.40	187.00	17.08
	苏氨酸	1.30	6.95	99.90	9.12
	缬氨酸	0.38	2.04	74.10	6.77
	异亮氨酸	0.37	1.98	60.50	5.52
半必需氨基酸	组氨酸	0.00	0.00	24.20	2.21
	精氨酸	3.10	16.56	115.00	10.50
	丙氨酸	2.05	10.95	62.20	5.68
非必需氨基酸	甘氨酸	2.31	12.34	33.60	3.07
	谷氨酸	2.05	10.95	27.40	2.50
	酪氨酸	1.47	7.85	120.00	10.96
	丝氨酸	2.02	10.79	56.20	5.13
	天冬氨酸	1.00	5.34	13.30	1.21
总量		18.72	100.00	1095.11	100.00
必需氨基酸总量 Σ EAA		4.72	25.20	643.21	58.73
非必需氨基酸总量 Σ NEAA		10.90	58.24	312.70	28.55
半必需氨基酸总量 Σ HEAA		3.10	16.56	139.20	12.71

酶解后游离氨基酸的含量显著高于鱼骨泥,说明酶解液的水解程度较高。

蛋氨酸、组氨酸是苦味氨基酸^[35],蛋氨酸的含量远低于阈值 30 mg/100 mL,有研究表明当苦味氨基酸含量低于阈值时,对总体滋味有利^[36],组氨酸仅在酶解液中检出,其呈味阈值为 20 mg/100 mL,酶解液中含量为 24.20 mg/100 mL,是酶解液中苦味的主要贡献氨基酸。天冬氨酸、谷氨酸具有鲜甜味^[37],其阈值分别为 100 和 30 mg/100 mL,酶解液中谷氨酸含量为 27.4 mg/100 mL,对于鲜味的贡献高于天冬氨酸。甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸具有甜味,能够赋予食品总体较好的风味^[38],这些具有良好风味的氨基酸在酶解后含量均提升数倍,说明酶解液的风味更佳。陈怡颖等^[39]分别研究了鸡肉酶解液和鸡肉中风味成分,分析结果发现鸡肉酶解液中风味成分更丰富,风味更佳。

3 结论

本研究通过单因素和响应面试验优化了鱼骨泥酶解工艺,得到最佳工艺条件为:采用风味蛋白酶,酶解时间 5 h,加酶量 1.0%,料液比 1:1,在此条件下水解度可达 43.8%。酶解前后的鱼骨泥气味和滋味特征有明显差异。酶解降低了鱼骨泥的苦味和腥味,改变了挥发性风味物质的组成。鱼骨泥中主要呈味物质是醛酮类化合物,酶解液中主要呈味物质为酮类、酯类化合物;酶解液中游离氨基酸的含量显著高于鱼骨泥中,赋予了酶解液整体较好的滋味。

本研究建立了鱼骨泥的酶解工艺,为鱼骨副产品的深加工提供了一定思路。后续研究可以根据分

子量分布对酶解液中的肽段进行分离纯化,深入探究酶解液中呈味物质组成及呈味机制。亦可将鱼骨酶解液应用到调味料的研制中,赋予食品水产品特有的风味。

参考文献

[1] 阳丽红,崔益玮,叶繁,等. 鱼骨钙综合利用及制备技术研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(1): 194-200. [YANG Lihong, CUI Yiwei, YE Fan, et al. Research progress of fish bone calcium utilization and related processing technologies[J]. Food Research and Development, 2019, 40(1): 194-200.]

[2] 王文勇,张英慧,赖长生. 即食鳕鱼骨的工艺及其风味外撒粉的配方研究[J]. 食品工业, 2017, 38(10): 77-82. [WANG Wen Yong, ZHANG Yinghui, LAI Changsheng. The technology of leisure food produced by cod bone and flavor powder formula research[J]. The Food Industry, 2017, 38(10): 77-82.]

[3] 柏杨,潘守昊,王灵昭,等. 利用沙光鱼骨制备高可溶性钙含量的骨泥[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 84-88. [BAI Yang, PAN Shouhao, WANG Lingzhao, et al. Preparation of bone pastes with high soluble calcium level using synchogobius hasta bones[J]. Food Research and Development, 2020, 41(11): 84-88.]

[4] 尹涛,石柳,张晋,等. 加工方式对微粒化鱼骨泥营养品质的影响[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(4): 124-128. [YIN Tao, SHI Liu, ZHANG Jin, et al. Effects of processing methods on nutrition of the micro-sized fish bone pastes[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(4): 124-128.]

[5] ATMA Y, LIOE H N, PRADIMURTI E, et al. The hydroxyproline content of fish bone gelatin from Indonesian *Pangasius* catfish by enzymatic hydrolysis for producing the bioactive peptide[J]. Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry, 2018, 16(2): 64-68.

- [6] TAN X Y, QI L B, FAN F J, et al. Analysis of volatile compounds and nutritional properties of enzymatic hydrolysate of protein from cod bone[J]. Food Chemistry, 2018, 264: 350–357.
- [7] 杨会成, 胡世伟, 周小敏, 等. 金枪鱼骨胶原蛋白肽螯合钙制备工艺及对 MG-63 细胞碱性磷酸酶分泌的影响[J]. 中国海洋药物, 2020, 39(1): 9–18. [YANG Huicheng, HU Shiwei, ZHOU Xiaomin, et al. Preparation of collagen peptide from tuna bone chelated calcium and its effects on alkaline phosphatase secretion in MG-63 cells[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2020, 39(1): 9–18.]
- [8] 毛毛, 衣美艳, 郭红. 真鲷鱼骨胶原肽及鱼骨钙联产工艺的优化设计[J]. 食品科技, 2017, 42(10): 138–141. [MAO Mao, YI Meiyang, GUO Hong, et al. Design and optimization on combined-producing of active peptide and organic calcium from cod fish bone[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(10): 138–141.]
- [9] 董烨, 张益奇, 姚洪正, 等. 预处理方式对鳊鱼骨蛋白酶解液游离氨基酸和挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 179–185. [DONG Ye, ZHANG Yiqi, YAO Hongzheng, et al. Effect of different pretreatments on the free amino acids and volatile components of bighead carp bone protein hydrolysates[J]. Food Science, 2021, 42(8): 179–185.]
- [10] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品中水分的测定: GB 5009.3-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [State Food and Drug Administration, National Health and Family Planning. Determination of moisture in food: GB 5009.3-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [11] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品中灰分的测定: GB 5009.4-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [State Food and Drug Administration, National Health and Family Planning. Determination of ash in food: GB 5009.4-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [12] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [State Food and Drug Administration, National Health and Family Planning. Determination of protein in food: GB 5009.5-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [13] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品中脂肪的测定: GB 5009.6-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [State Food and Drug Administration, National Health and Family Planning. Determination of fat in food: GB 5009.6-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [14] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品中氨基酸态氮的测定: GB 5009.235-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [State Food and Drug Administration, National Health and Family Planning. Determination of amino acid nitrogen in food: GB 5009.235-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [15] GAO L, LIU T, AN X, et al. Analysis of volatile flavor compounds influencing Chinese-type soy sauces using GC-MS combined with HS-SPME and discrimination with electronic nose[J]. Journal of Food Science & Technology, 2017, 54(1): 130–143.
- [16] LIASET B, LIED E, ESPE M. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2000, 80(5): 581–589.
- [17] 屈帅杰, 刘淑集, 苏永昌, 等. 响应面法优化菊黄东方鲀肌肉多肽制备工艺[J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 133–138. [QU Shuaijie, LIU Shuji, SU Yongchang, et al. Optimization of polypeptides extraction from *Takifuguflavidus* by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 133–138.]
- [18] 王振猛, 江晓, 孙建安, 等. 米曲霉固态发酵产蛋白酶酶解虾头工艺探究[J]. 中国渔业质量与标准, 2020, 10(3): 12–30. [WANG Zhenmeng, JIANG Xiao, SUN Jianan, et al. Study on protease hydrolysis of shrimp heads processed by solid state fermentation of *Aspergillusoryzae*[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2020, 10(3): 12–30.]
- [19] 陶美洁, 孟粉, 董烨, 等. 贻贝蒸煮液酶解工艺的优化[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 209–220. [TAO Meijie, MENG Fen, DONG Ye, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions of mussel cooking liquor[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(12): 209–220.]
- [20] 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. [LI Xuepeng, LIU Yanwei, XIE Xiaoxia, et al. Effect of thermal pretreatment on enzymatic hydrolysis of clam (*Aloididacaloidi*) and flavor characteristics of hydrolysates[J]. Food Science, 2020, 41(2): 133–140.]
- [21] BEZERRA M A, SANTELLI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. Talanta, 2008, 76(5): 965–977.
- [22] 闫子茹, 岳盈肖, 赵江丽, 等. 基于电子鼻分析 1-MCP 对‘香红’梨后熟进程的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 271–275, 281. [YAN Ziru, YUE Yingxiao, ZHAO Jiangli, et al. Effect of 1-MCP on the ripening process of ‘xianghong’ pears based on the electronic nose analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 271–275, 281.]
- [23] 代媛媛, 孟兰奇, 李美莹, 等. 热加工程度对不同部位牛肉食用品质的影响[J/OL]. 保鲜与加工: 1–13[2021-03-30]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1330.S.20210310.0910.004.html>.
- [24] DAI Yuanyuan, MENG Lanqi, LI Meiyang, et al. Effect of degree of heat processing on eating quality of beef from different parts [J]. Storage and Process: 1–13[2021-03-30]
- [24] 乐彩虹, 陶宁萍, 徐道. 暗纹东方鲀鱼皮胶原蛋白肽脱苦前后苦味物质的变化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 87–95. [LE Caihong, TAO Ningping, XU Xiao. Changes of bitter substances of collagen peptide in *Takifuguobscurus* skin before and after debittering[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 87–95.]
- [25] TAMURA M, OKAI H. L-ornithyltaurine, a new salty peptide[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1984, 38(10): 992–996.
- [26] SCHINDLER A, DUNKEL A, STÄHLER F, et al. Discovery of salt taste 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.

[27] 王媛媛, 李学鹏, 王金厢, 等. 蒸煮方式对鲳鱼头汤呈味特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 59(23): 12578–88. [WANG Yuanyuan, LI Xuepeng, WANG Jinxiang, et al. Effects of cooking method on the flavor characteristics of *Pacific cod* head soup[J]. Food Science, 2021, 59(23): 12578–88.]

[28] TAO N P, WU R, ZHOU P G, et al. Characterization of odor-active compounds in cooked meat of farmed obscure puffer (*Takifugu obscurus*) using gas chromatography–mass spectrometry–olfactometry[J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2014, 22(4): 431–438.

[29] YAO W, SONG H, YU Z, et al. Determination of aroma compounds in pork broth produced by different processing methods[J]. Flavour & Fragrance Journal, 2016, 31(4): 319–328.

[30] ZHANG M, CHEN X, HAYAT K, et al. Characterization of odor-active compounds of chicken broth and improved flavor by thermal modulation in electrical stewpots[J]. Food Research International, 2018, 109: 72–81.

[31] WU N, GU S Q, TAO N P, et al. Characterization of important odorants in steamed male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) using gas chromatography–mass spectrometry–olfactometry[J]. Journal of Food Science, 2014, 79(7-8-9): C1250–C1259.

[32] RABIE M A, PERES C, MALCATA F X. Evolution of amino acids and biogenic amines throughout storage in sausages made of horse, beef and turkey meats[J]. Meat Science, 2014, 96(1): 82–87.

[33] 王未, 任晓镭, 鲍英杰, 等. 花椒叶提取物对烤牛肉饼杂环胺形成的影响[J/OL]. 食品科学: 1–12[2021-01-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201228.1711.052.html>.

[WANG Wei, REN Xiaopu, BAO Yingjie, et al. Effects of *Zanthoxylum bungeanum* maxim. leaf extract on heterocyclic amines formation of roast beef patties [J/OL] Food Science: 1–12[2021-01-

03]

[34] 卢晓烁, 张毅航, 方东路, 等. 香菇真空冷冻干燥过程中滋味物质动态变化及鲜味评价[J/OL]. 食品科学: 1–10[2021-01-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20201228.1539.008.html>.

[LU Xiaoshuo, ZHANG Yihang, FANG Donglu, et al. Dynamic changes of taste compounds and evaluation on umami during vacuum freeze-drying of *lentinula edodes*[J]. Food Science: 1–10[2021-01-03]

[35] 周常义, 沈会玲, 江锋, 等. 鱼腐乳发酵过程中游离氨基酸含量及抗氧化活性的变化[J]. 中国酿造, 2020, 39(12): 42–45.

[ZHOU Changyi, SHEN Huiling, JIANG Feng, et al. Changes of free amino acid contents and antioxidant activity during fermentation process of fish sufu[J]. China Brewing, 2020, 39(12): 42–45.]

[36] LAO Y, ZHANG M, LI Z, et al. A novel combination of enzymatic hydrolysis and fermentation: Effects on the flavor and nutritional quality of fermented *Cordyceps militaris* beverage[J]. LWT- Food Science and Technology, 2019, 120: 108934.

[37] CARERI M, MANGIA A, BARBIEIR G, et al. Sensory property relationshipstochemicaldataof Italian-type dry-cured ham[J]. Journal of Food Science, 1993, 58(5): 968–972.

[38] 林洪斌, 方佳兴, 毕小鹏, 等. 响应面法优化郫县豆瓣游离氨基酸的提取工艺及呈味特性分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 56–63. [LIN Hongbin, FANG Jiaxing, BI Xiaopeng, et al. Optimization of the extraction technique of free amino acids from pixian board-bean paste by response surface methodology and analysis of their taste characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(17): 56–63.]

[39] 陈怡颖, 张玥琪, 孙颖, 等. 鸡肉及其酶解液挥发性风味成分的对比分析[J]. 精细化工, 2015, 32(4): 426–433. [CHEN Yiyang, ZHANG Yueqi, SUN Ying, et al. Comparison of volatile compounds in chicken and enzymatic hydrolysate[J]. Fine Chemicals, 2015, 32(4): 426–433.]