

方格星虫酶解液 Maillard 反应条件优化及理化特性变化

牛改改^{1,2}, 游刚^{1,2,*}, 王培^{1,2}, 宋秋漫¹, 苏海媚¹, 莫维维¹, 梁樱莲¹

(1. 北部湾大学食品工程学院, 广西钦州 535011;

2. 广西高校北部湾特色海产品资源开发与高值化利用重点实验室, 北部湾大学, 广西钦州 535011)

摘要:以方格星虫酶解液(SEH)为原料,以褐变度与感官评分为评价指标,通过单因素实验和正交试验设计优化 Maillard 反应工艺,并对 Maillard 反应前后色泽参数、游离氨基酸和总氨基酸含量、荧光强度进行了对比分析。结果表明:最佳 Maillard 反应工艺条件为半乳糖添加量 4%、pH9.0、反应温度 130 °C 和反应时间 60 min,在该条件下感官评定达到 13.77 分。Maillard 反应产物(MRPs-SEH)较 SEH 亮度变暗,色泽加深且更加饱满。MRPs-SEH 中的 17 种氨基酸含量较 SEH 均显著降低($p < 0.05$)。MRPs-SEH 中总氨基酸含量为 279.729 mg/g,较 SEH 降低 60.27%,其中 Tyr 和 Met 含量较 SEH 分别减少 73.84%、72.98%,说明这两种氨基酸参与 Maillard 反应的程度较大,His(含量减少 44.85%)参与 Maillard 反应的活性相对较低。MRPs-SEH 中鲜味氨基酸在总游离氨基酸中的比例较 SEH 增加 8.26%。Maillard 反应改变了 SEH 中肽链的结构。综合来看, Maillard 反应改善了酶解液的色泽与风味,为新型方格星虫调味品的开发提供理论参考。

关键词:方格星虫酶解液, Maillard 反应, 色泽, 氨基酸, 荧光强度

Optimization of Maillard Reaction Conditions and Changes of Physicochemical Properties of Enzymatic Hydrolysate of *Sipunculus nudus*

NIU Gai-gai^{1,2}, YOU Gang^{1,2,*}, WANG Pei^{1,2}, SONG Qiu-man¹, SU Hai-mei¹, MO Wei-wei¹, LIANG Ying-lian¹

(1. College of Food Engineering, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China;

2. Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory of Development and High-value Utilization of Beibu Gulf Seafood Resources, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China)

Abstract: The enzyme hydrolysate (SEH) was used as raw material, on the basis of browning intensity and sensory scores, single-factor experiments and orthogonal experiments were employed to optimize the Maillard reaction conditions, the color parameters, contents of free amino acids and total amino acids and fluorescence intensity before and after Maillard reaction were compared and analyzed. The results showed that the optimized conditions for Maillard reaction were as follows: galactose addition 4%, pH9.0, temperature 130 °C and reaction time 60 min, under which the sensory score reached 13.77. Compared with SEH, MRPs-SEH became darker, deeper and fuller in color. The contents of seventeen kinds of amino acids in MRPs-SEH were significantly lower than those in SEH ($p < 0.05$). The contents of total amino acids in MRPs-SEH were 279.729 mg/g, 60.27% lower than that in SEH, and the contents of Tyr and Met were 73.84% and 72.98% lower than that in SEH, respectively. This indicated that the two kinds of amino acids participated in Maillard reaction to a greater extent, whereas His (content reduction 44.85%) showed relatively low activity in Maillard reaction. The proportion of delicious amino acids in total free amino acids in MRPs-SEH was 8.26% higher than that in SEH. Maillard reaction changed the structure of peptide chain in SEH. Overall, Maillard reaction improved the color and flavor of SEH, which provided a theoretical reference for the development of new condiments of *Sipunculus nudus*.

Key words: enzymatic hydrolysate of *Sipunculus nudus*; Maillard reaction; color; amino acids; fluorescence intensity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)11-0108-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.11.019

收稿日期: 2018-10-09

作者简介: 牛改改(1989-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 水产品加工与利用, E-mail: gaigainiu@163.com。

* 通讯作者: 游刚(1989-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 水产品加工与利用, E-mail: yougang8901@163.com。

基金项目: 广西高校中青年教师基础能力提升项目资助(2017KY0810, 2018KY0606); 广西高校北部湾特色海产品资源开发与高值化利用重点实验室(钦州学院)项目资助(2016ZB06, 2016ZB07); 广西壮族自治区级大学生创新创业训练计划项目(201811607043, 201711607099); 北部湾大学校级科研项目(2018KYQD59)。

引文格式:牛改改,游刚,王培,等.方格星虫酶解液 Maillard 反应条件优化及理化特性变化[J].食品工业科技,2019,40(11):108-114.

方格星虫(*Sipunculus nudus*),俗称“沙虫”,又叫海人参,在我国沿海区域分布广泛,其中以广西北部湾海域分布量最为丰富^[1-2]。方格星虫味道鲜美,风味独特,且具有较高的食用与药用价值^[3-4],广受消费者喜爱。目前方格星虫加工产品主要为冻制品与干制品,而相关的一些罐头制品、调味料等加工品比较少见。美拉德(Maillard)反应又称“非酶棕色化反应”,是一种羰氨缩合的非酶褐变反应,广泛应用于食品的加工过程^[5]。Maillard 反应会产生许多香气化合物与呈色物质^[6],从而赋予产品特殊的色泽与风味,已广泛应用于虾副产物^[7]、鲍鱼蒸煮液^[8]、贻贝煮汁^[9]、牡蛎酶解液^[10]、鱼蛋白^[11]等水产品水解液风味的改善,而关于方格星虫酶解液 Maillard 反应工艺优化的研究未见报道。

本实验以方格星虫酶解液(*Sipunculus nudus* enzymatic hydrolysate, SEH)为原料进行 Maillard 反应,以褐变度和感官评分为评价指标,在单因素实验的基础上,通过正交试验优化 Maillard 反应工艺条件,得到方格星虫酶解液美拉德反应产物(Maillard reaction products of *sipunculus nudus* enzymatic hydrolysate, MRPs-SEH);另对 SEH 与 MRPs-SEH 的色泽参数、游离氨基酸与总氨基酸含量、荧光强度进行对比分析,研究 SEH Maillard 反应前后理化特性的变化,为方格星虫调味料的研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜方格星虫(体长 (10 ± 1.6) cm,体宽 (1 ± 0.3) cm,体质量 (9 ± 1.8) g) 采自钦州市茅尾海海域;胰蛋白酶(4000 U/g) 南宁东恒华道生物科技有限责任公司;D-半乳糖 食品级,浙江一诺生物科技有限公司;无水葡萄糖 食品级,天津市科密欧化学试剂有限公司;麦芽糖 食品级,上海润捷化学试剂有限公司; α -乳糖 食品级,西陇化工股份有限公司;蔗糖 食品级,天津市华东试剂厂;盐酸、三氯乙酸等 均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

分光测色计 CM-3600d 日本柯尼卡·美能达公司;L-8900 氨基酸分析仪 日本 Hitachi 公司;RF-5301PC 荧光分光光度计 日本岛津公司;DS-1 高速组织捣碎机 上海标本模型厂;DB-4 不锈钢电热板 常州国华电器有限公司;840-210800 紫外-可见分光光度计 上海美普达仪器有限公司;H1850 台式离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;ST5000 pH 计 奥豪斯仪器(常州)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SEH 的制备 参考文献[10],并稍作修改。将新鲜方格星虫去除内脏,清洗后沥干,以 1:5 (w/v) 的比例加水后,用组织捣碎机在 10000 r/min 下进行破碎打浆 10 min,按底物质量加入 8% (w/w) 的胰蛋白酶,调整 pH7.5,53 °C 酶解 2 h 后于 90 °C 灭酶 10 min,酶解产物 9000 r/min 离心 20 min,所得上清液即

为 SEH。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 糖种类的选择 取一定体积的 SEH,分别添加 3% (w/v) 的葡萄糖、麦芽糖、乳糖、半乳糖和蔗糖,搅拌使其溶解,调节体系的 pH 为 8.0,于 120 °C 热反应 60 min 后冷却,8000 r/min 离心 10 min,取上清液进行褐变度测定与感官评定,每组实验重复三次,结果取平均值。

1.2.2.2 糖添加量的影响 取一定体积的 SEH,分别添加 1%、2%、3%、4% 和 5% (w/v) 的半乳糖,搅拌使其溶解,调节体系的 pH 为 8.0,于 120 °C 热反应 60 min 后冷却,8000 r/min 离心 10 min,取上清液进行褐变度测定与感官评定,每组实验重复三次,结果取平均值。

1.2.2.3 pH 的影响 取一定体积的 SEH,添加 3% (w/v) 的半乳糖,搅拌使其溶解,分别调节体系的 pH 为 6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0,于 120 °C 热反应 60 min 后冷却,8000 r/min 离心 10 min,取上清液进行褐变度测定与感官评定,每组实验重复三次,结果取平均值。

1.2.2.4 反应温度的影响 取一定体积的 SEH,添加 3% (w/v) 的半乳糖,搅拌使其溶解,调节体系的 pH 为 8.0,分别于 100、110、120、130 和 140 °C 下热反应 60 min。冷却后,8000 r/min 离心 10 min,取上清液进行褐变度测定与感官评定,每组实验重复三次,结果取平均值。

1.2.2.5 反应时间的影响 取一定体积的 SEH,添加 3% (w/v) 的半乳糖,搅拌使其溶解,调节体系的 pH 为 8.0,于 120 °C 温度下分别反应 30、45、60、75、90 min。冷却后,8000 r/min 离心 10 min,取上清液进行褐变度测定与感官评定,每组实验重复三次,结果取平均值。

1.2.3 正交试验 在单因素实验基础上,以感官评分为评价指标,以糖添加量、pH、反应温度和反应时间四个因素进行四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交优化试验,各因素水平设计如表 1 所示。

表 1 正交试验的因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A 糖添加量 (%)	B pH	C 反应温度 (°C)	D 反应时间 (min)
1	3	8	120	45
2	4	9	130	60
3	5	10	140	75

1.2.4 感官评定 通过感官评定对 MRPs-SEH 进行风味评价。请经过培训且具有感官评定经验的 10 名(5 男 5 女)食品专业本科生组成感官评价小组,进行感官评定。参照文献[9-10]制定感官评价标准,见表 2。

1.2.5 褐变度的测定 将 MRPs-SEH 稀释 10 倍,在

表2 感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation criteria

感官评分(15分)	感官描述	得分(分)
色泽(6分)	溶液颜色黯淡或发黑	0~2
	溶液呈浅棕色或棕黑色,色泽较均匀	3~4
	溶液呈棕红色或深棕色,色泽均匀,深浅适中	5~6
	溶液有腥臭味(或焦苦味),难接受	0~1
气味(9分)	溶液腥臭味(或焦苦味)较淡,无海鲜味(或焦糖香气),较难接受	2~3
	溶液腥臭味(或焦苦味)不明显,有稍微的海鲜味(或焦糖香气),可以接受	4~5
	溶液腥臭味(或焦苦味)不明显,有明显的海鲜味(或焦糖香气),可以接受	6~7
	溶液腥臭味(或焦苦味)不明显,有浓郁的海鲜味(或焦糖香气),可以接受	8~9

420 nm处测定吸光值,以其表示 Maillard 反应的褐变程度^[12]。

1.2.6 反应前后色泽的测定 参考 Huang 等^[13]的方法。分光测色计开机预热 30 min 后,分别用标准黑板和标准白板进行校准,取 5 mL 样品溶液于玻璃皿中,测定 SEH 与 MRPs-SEH(最佳 Maillard 反应条件下制备)颜色参数 L^* (亮度)、 a^* (红绿值)、 b^* (黄蓝值)、 C^* (色度)和 ΔE^* (总色差)的变化,其中 $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, $\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$;采用去离子水作为参比对照。

1.2.7 反应前后总氨基酸和游离氨基酸含量的测定 总氨基酸(Total amino acid, TAA)含量的测定参考 Liu 等^[14-15]的方法,并稍作修改。分别取 1 mL SEH 与 MRPs-SEH(最佳 Maillard 反应条件下制备)于水解管中,加入 8 mL HCl(6 mol/L)于 110 °C 水解 22 h 后冷却至室温。将消解液定容至 50 mL 后,取 1 mL 于 50 mL 烧杯中,60 °C 水浴赶酸完全后定容至 10 mL,过 0.22 μm 膜后采用自动氨基酸分析仪测定。Maillard 反应前后 TAA 含量的变化率 X_1 计算方法如下: $X_1 = (\text{MRPs-SEH 中 TAA 含量} - \text{SEH 中 TAA 含量}) / (\text{SEH 中 TAA 含量})$ 。

游离氨基酸(Free amino acid, FAA)含量的测定参考 Liu 等^[14-15]的方法,并稍作修改。分别取 10 mL SEH 与 MRPs-SEH(最佳 Maillard 反应条件下制备)于 100 mL 烧杯中,加入 10 mL 10% 的三氯乙酸沉淀 2 h, 8000 r/min 离心 15 min 后取 2 mL 上清液,过 0.22 μm 膜,采用自动氨基酸分析仪测定。Maillard 反应前后 FAA 含量的变化率 X_2 计算方法如下: $X_2 = (\text{MRPs-SEH 中 FAA 含量} - \text{SEH 中 FAA 含量}) / (\text{SEH 中 FAA 含量})$ 。

1.2.8 反应前后内源性荧光发射光谱扫描 参考 Huang 等^[13]的方法。采用荧光分光光度计扫描 SEH 与 MRPs-SEH(最佳 Maillard 反应条件下制备)内源性荧光强度的变化。扫描参数设定为:激发波长 298 nm,发射光谱扫描范围 309~450 nm,狭缝宽度 5 nm,扫描温度 25 °C。

1.3 数据处理

实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,结果使用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;采用 T-检验进行差异显著性分析,显著性水平为 $p < 0.05$,采用 Origin 9.0 作图。

2 结果与分析

2.1 糖种类的选择

糖的种类是影响 Maillard 反应强度的关键性因素^[16]。由图 1 可知,蔗糖、麦芽糖和乳糖反应体系的褐变程度与感官评分均小于葡萄糖体系和半乳糖体系,说明双糖与 SEH 发生 Maillard 反应的活性较弱,产生的焦糖风味成分较少,这与 Benjakul 等^[17]的研究结果 Maillard 反应速度己醛糖 > 二糖一致。半乳糖与 SEH 反应体系的褐变度和感官评分均显著大于葡萄糖反应体系($p < 0.05$),马振龙等^[18]的研究结果显示猪骨蛋白水解物-半乳糖反应体系的褐变程度大于葡萄糖体系,与本研究结果一致;牛改改等^[19]发现半乳糖-牡蛎蛋白肽 Maillard 反应产物的功能特性与抗氧化性均显著大于葡萄糖体系,说明半乳糖较葡萄糖具有更强的 Maillard 反应活性,支持了本研究结果。故后续实验选用半乳糖作为 Maillard 反应的糖基供体。

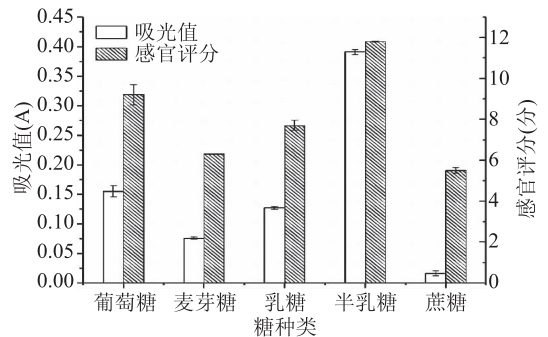


图1 糖种类对 Maillard 反应褐变度与感官评分的影响
Fig.1 Effects of sugar types on browning degree and sensory score of Maillard reaction

2.2 糖添加量的影响

Maillard 反应程度会随着还原糖添加量的增加而增加^[20]。糖添加量对 MRPs-SEH 褐变度与感官评分的影响如图 2 所示。随着半乳糖添加量的增加,MRPs-SEH 的褐变度与感官评分不断增加,说明 Maillard 反应程度在持续加深,褐色物质不断生成。当糖添加量达到 3% 后,褐变程度趋于平缓,相对稳定,并在 4% 时达到最大。感官评分在糖添加量 4% 时达到最大值,随后呈下降趋势;这是由于增大半乳糖添加量加快了 Maillard 反应速度,丰富了挥发性物质种类,增强了 MRPs-SEH 的整体风味^[21],但糖添加

量过大时,会发生焦糖化反应,使反应体系色泽加深的同时产生焦苦味,感官评分下降^[22]。因此,半乳糖的适宜添加量为4%。

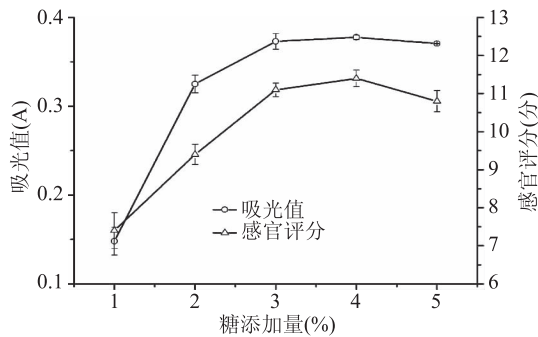


图2 糖添加量对 Maillard 反应褐变度与感官评分的影响

Fig.2 Effects of sugar content on browning degree and sensory score of Maillard reaction

2.3 pH 的影响

pH 可直接影响 Maillard 反应进程,由图 3 可知,随着 pH 增加,褐变度增大。Ajondouz 等^[23]的研究结果显示偏碱性的条件可促进 Maillard 反应,且碱性越强,反应越强烈,与本研究结果一致。但随着 pH 增加感官评分先增大后减小,在 pH9.0 时,感官评分最高,这是由于 pH 较小时,氨基呈质子化,以 $-NH_3^+$ 形式存在,阻碍羰氨缩合^[24],进而降低了 Maillard 反应程度,减少了芳香类物质生成;随着 pH 增大,反应速率增加,感官风味得到明显改善;当 pH 过高时,反应速率过快,产生明显的焦糊味,感官评分下降。故在 pH9.0 时 Maillard 反应最佳。

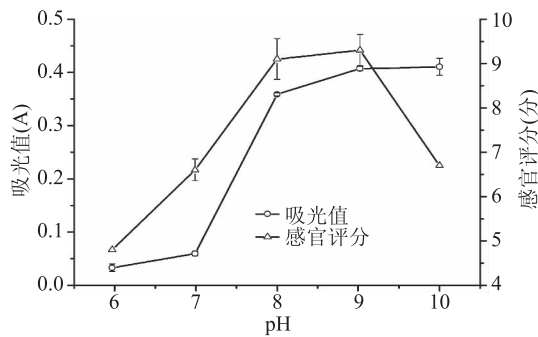


图3 pH 对 Maillard 反应褐变度与感官评分的影响

Fig.3 Effects of pH on browning degree and sensory score of Maillard reaction

2.4 反应温度的影响

由图 4 可知,随着反应温度的升高,褐变程度逐渐加深,表明高温可促进 Maillard 反应。相关文献研究结果^[15,25]表明,在一定反应时间内,温度越高, Maillard 反应速度越快,每升高 10 °C,反应速度增加 3~5 倍。MRPs-SEH 的感官评分随着温度的升高先增加后减小,在 130 °C 时达到最大值,这是由于反应温度过高时,产物会发生碳化,产生较强烈的焦糊味,因此,适宜的反应温度为 130 °C。

2.5 反应时间的影响

从图 5 可以看出,随着反应时间的延长,褐变度先快速上升后趋于平缓,这主要是因为反应初期

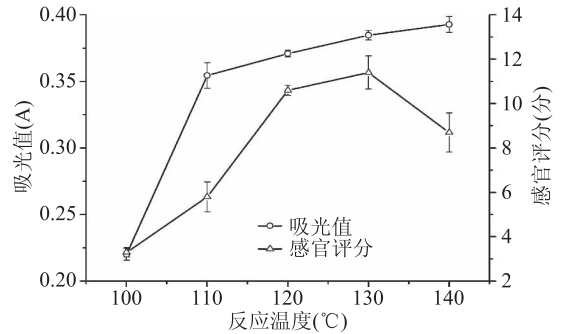


图4 反应温度对 Maillard 反应褐变度与感官评分的影响

Fig.4 Effects of reaction temperature on browning degree and sensory score of Maillard reaction

褐色物质生成相对较少,吸光值较低,随反应进行,褐色产物累积, Maillard 反应逐渐趋向完全^[26]。反应时间在 30~60 min 时,MRPs-SEH 风味随着反应的充分进行而浓郁,当反应时间超过 60 min 时,焦糊味和硫味越来越浓,掩盖了方格星虫原有的鲜味,感官评分下降,这可能与过量生成的类黑精色素被环化产生一系列吡嗪、吡啶等含氮杂环化合物有关^[27]。故反应时间选择 60 min。

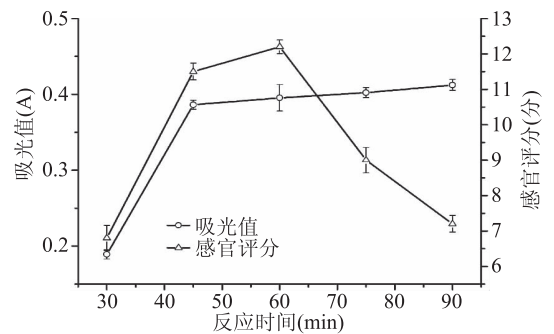


图5 反应时间对 Maillard 反应褐变度与感官评分的影响

Fig.5 Effects of reaction time on browning degree and sensory score of Maillard reaction

2.6 正交试验

感官评价可直接反映 Maillard 反应对 SEH 风味的改善情况,而褐变度反映的是 Maillard 反应的程度,褐变度过大时,MRPs-SEH 风味反而会变差,故正交试验以感官评价为指标,优化 Maillard 反应条件,结果见表 3。从表 3 可知影响感官评分结果的因素主次顺序为 D(反应时间) > C(反应温度) > B(pH) > A(糖添加量),最优组合是 $A_2B_2C_2D_2$,即 4% 的半乳糖添加量、pH9.0、130 °C 的反应温度和 60 min 的反应时间。由于正交实验中没有 $A_2B_2C_2D_2$ 组合,故在该条件下进行 3 次验证实验,感官评定结果为 (13.77 ± 0.47) 分,高于正交实验的任一组,说明该组合为 MRPs-SEH 风味改善的最佳条件。

2.7 反应前后色泽参数的变化

SEH 与 MRPs-SEH 的颜色参数如表 4 所示,由表 4 可知, Maillard 反应前后颜色差异显著 ($p < 0.05$)。MRPs-SEH 较小的 L^* 与较大的 ΔE^* 说明 Maillard 反应使酶解液亮度变暗,颜色加深。 a^* 、 b^* 和 C^* 增大,表明 MRPs-SEH 颜色更加偏红与偏黄,

表4 Maillard 反应前后颜色参数的变化

Table 4 Changes of color parameters before and after Maillard reaction

样品名称	L^*	a^*	b^*	C^*	ΔE^*
SEH	79.313 ± 0.126 ^a	0.829 ± 0.021 ^b	21.136 ± 0.020 ^b	21.152 ± 0.021 ^b	1.552 ± 0.097 ^b
MRPs-SEH	54.275 ± 0.016 ^b	24.425 ± 0.014 ^a	72.989 ± 0.009 ^a	76.967 ± 0.012 ^a	62.692 ± 0.017 ^a

注:同列数据肩标不同小写字母表示存在显著性差异, $p < 0.05$ 。

表3 正交试验设计与结果

Table 3 Design and results of orthogonal tests

实验号	A	B	C	D	感官评分 (分)
1	1	1	1	1	10.00
2	1	2	2	2	12.63
3	1	3	3	3	10.75
4	2	1	2	3	11.00
5	2	2	3	1	12.33
6	2	3	1	2	12.00
7	3	1	3	2	11.75
8	3	2	1	3	10.33
9	3	3	2	1	11.75
k_1	11.127	10.917	10.777	11.36	
k_2	11.777	11.763	11.793	12.127	
k_3	11.277	11.5	11.61	10.693	
R	0.650	0.846	1.016	1.434	
因素主次	D > C > B > A				
最优组合	$A_2B_2C_2D_2$				

色泽更加饱满;这是因为 Maillard 反应的终产物褐色色素类黑精使体系颜色加深。Jonathan 等^[28]的研究结果表明, Maillard 反应产物 L^* 减小, a^* 与 b^* 增大, 颜色加深, 与本研究结果一致。

2.8 反应前后游离氨基酸和总氨基酸含量变化

在 Maillard 反应过程中, 一方面, FAA 或肽中的氨基与糖分子结构中的羰基共价连接形成糖蛋白, 另一方面, 大分子肽分解成氨基酸和小分子肽, 说明在反应进程中 FAA 含量变化是一个动态过程^[15,29], 因此 Maillard 反应的程度需由 TAA 含量表示。Maillard 反应前后 TAA 含量变化如表 5 所示。由表 5 可知, Maillard 反应产物中 TAA 含量较 SEH 显著降低 ($p < 0.05$), 其中 SEH 中 TAA 含量为 703.987 mg/g, MRPs-SEH 中 TAA 含量较 SEH 降低 60.27%, 这是由于 Maillard 反应消耗的氨基酸大于肽分解生成的氨基酸, 且 Strecker 降解、热分解、以及糖和氨基酸或肽结合形成 Maillard 产物使得 TAA 含量降低, 与 Liu 等^[14]的研究结果一致。Tyr 与 Met 含量较 SEH 分别减少 73.84%、72.98%, 说明这两种氨基酸参与 Maillard 反应的程度较大, 而 His (含量降低 44.85%) 参与 Maillard 反应的活性相对较低。

Maillard 反应前后 FAA 含量变化结果见表 6。由表 6 可知, MRPs-SEH 中 FAA 组成与 SEH 相同, 除色氨酸被酸处理破坏未检出外, 均检测出 17 种常见的氨基酸。各氨基酸含量和 TFAA 含量均有不同程度减少, MRPs-SEH 中 TFAA 含量为 124.682 mg/g, 较

表5 Maillard 反应前后总氨基酸含量变化

Table 5 Changes of total amino acids content before and after Maillard reaction

总氨基酸	SEH (mg/g)	MRPs-SEH (mg/g)	变化率 X_1 (%)
Asp	55.182 ± 0.707	23.032 ± 0.707	-58.26
Thr	27.841 ± 0.212	11.700 ± 0.424	-57.98
Ser	28.627 ± 0.354	12.036 ± 0.141	-57.96
Glu	105.941 ± 2.121	44.700 ± 1.697	-57.81
Gly	48.689 ± 1.414	20.177 ± 1.414	-58.56
Ala	47.549 ± 0.566	19.718 ± 0.389	-58.53
Cys	6.348 ± 0.283	2.659 ± 0.212	-58.11
Val	66.583 ± 0.707	28.906 ± 1.556	-56.59
Met	22.511 ± 0.424	6.083 ± 0.162	-72.98
Ile	21.336 ± 1.414	8.968 ± 0.423	-57.97
Leu	38.795 ± 0.283	16.061 ± 0.315	-58.60
Tyr	33.526 ± 0.707	8.771 ± 0.780	-73.84
Phe	31.638 ± 0.354	13.728 ± 0.223	-56.61
Lys	61.551 ± 1.414	18.930 ± 0.853	-69.25
His	13.821 ± 0.707	7.622 ± 0.511	-44.85
Arg	39.665 ± 0.460	13.741 ± 0.429	-65.36
Pro	54.385 ± 1.311	22.897 ± 0.956	-57.90
总和	703.987 ± 11.548 ^a	279.729 ± 8.351 ^b	-60.27

注:数据肩标不同小写字母表示存在显著性差异, $p < 0.05$; 变化率数值中的“-”表示 MRPs-SEH 中氨基酸的含量较 SEH 减少。

SEH 降低 51.12%。MRPs-SEH 中的苦味氨基酸 Val、Leu、Ile、Met、Phe、Ser、Arg、His 与鲜味氨基酸 Asp、Glu、Gly、Ala 含量较 SEH 均降低, 而 TUAA/TFAA 与 TBAA/TFAA 则大于 SEH, 其中 TUAA/TFAA 较 SEH 增加了 8.26%, 大于 TBAA/TFAA 的增加率(1.90%), 表明 Maillard 反应减少了 SEH 中的苦味, 同时使鲜味氨基酸在总游离氨基酸中的比例增加。

2.9 反应前后内源性荧光强度变化

Maillard 反应前后酶解肽结构的变化可由内源性荧光强度变化来评价^[30]。图 6 显示了 SEH 和 MRPs-SEH 的内源性荧光光谱图。当激发波长在 298 nm 时, SEH 的最大荧光强度峰位于 368 nm。SEH 与半乳糖发生 Maillard 反应后, 产物的荧光强度明显降低, 荧光吸收峰几乎消失, 这与 SEH 和半乳糖发生 Maillard 反应形成了屏蔽效应有关^[13,31]。Huang 等^[13]和 Corzo-Martínez 等^[31]分别发现卵清蛋白和 β -乳球蛋白与还原糖发生 Maillard 反应降低了产物的荧光强度, 引起蛋白质围绕色氨酸残基构象的变化; Corzo-Martínez 等^[31]进一步比较了不同温度(40、

表6 Maillard 反应前后游离氨基酸含量变化
Table 6 Changes of free amino acids content before and after Maillard reaction

游离氨基酸	SEH(mg/g)	MRPs-SEH(mg/g)	变化率 X_2 (%)
# Asp	8.614 ± 0.318	4.320 ± 0.113	-49.85
Thr	7.808 ± 0.479	4.309 ± 0.229	-44.81
* Ser	5.635 ± 0.166	3.688 ± 0.411	-34.55
# Glu	15.450 ± 0.908	10.516 ± 0.934	-31.94
# Gly	15.389 ± 1.322	7.182 ± 0.176	-53.33
# Ala	15.752 ± 1.227	7.193 ± 0.834	-54.34
* Val	2.359 ± 0.035	1.187 ± 0.014	-49.68
Cys	20.943 ± 1.766	13.366 ± 1.348	-36.18
* Met	11.425 ± 0.151	4.604 ± 0.141	-59.70
* Ile	10.548 ± 0.120	4.717 ± 0.187	-55.28
* Leu	29.714 ± 0.331	13.412 ± 1.424	-54.86
Tyr	24.564 ± 2.505	8.611 ± 0.283	-64.94
* Phe	20.958 ± 1.549	11.770 ± 1.319	-43.84
Lys	23.932 ± 1.049	8.606 ± 0.354	-64.04
* His	5.707 ± 0.304	4.428 ± 0.212	-22.41
* Arg	30.608 ± 2.414	14.439 ± 1.380	-52.83
Pro	5.697 ± 0.421	2.334 ± 0.129	-59.03
TFAA	255.103 ± 9.372	124.682 ± 5.136	-51.12
TUAA	55.205 ± 2.011	29.211 ± 1.077	-47.09
TBAA	116.954 ± 5.112	58.245 ± 2.042	-50.20
TUAA/TFAA (%)	21.640	23.428	8.26
TBAA/TFAA (%)	45.846	46.715	1.90

注: * 表示苦味氨基酸; #表示鲜味氨基酸; TFAA 表示总游离氨基酸; TBAA 表示总苦味氨基酸; TUAA 表示总鲜味氨基酸; 变化率数值中的“-”表示 MRPs-SEH 中氨基酸的含量较 SEH 减少。

50 °C) 下 Maillard 反应产物最大荧光发射波长变化, 发现 40 °C 条件下还原糖影响 β -乳球蛋白侧链结构, 仅引起 β -乳球蛋白三级结构变化而没有破坏原有结构, 在 50 °C 条件下 β -乳球蛋白结构受还原糖影响较大, 但未能确定是几级结构变化。本研究结果发现 Maillard 反应降低了产物荧光强度, 引起 SEH 中多肽的结构变化, 但尚不能确定是几级结构发生变化, 后续实验将进一步利用圆二色谱和荧光光谱法探讨其结构变化。

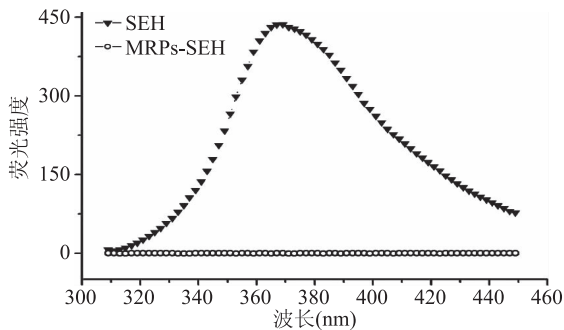


图6 Maillard 反应前后内源性荧光光谱变化
Fig.6 Changes in intrinsic fluorescence intensity before and after Maillard reaction

3 结论

方格星虫酶解液 Maillard 反应的最佳工艺条件为: 半乳糖添加量 4%、pH9.0、反应温度 130 °C 和反应时间 60 min, 在该条件下感官评定达到 13.77 分。

与 SEH 相比, MRPs-SEH 的 L^* 减小, a^* 、 b^* 、 C^* 和 ΔE^* 均增大, Maillard 反应使得酶解液亮度变暗, 色泽加深且更加饱满。MRPs-SEH 中的 17 种氨基酸含量较 SEH 均显著降低 ($p < 0.05$), 其中 Tyr 和 Met 参与 Maillard 反应的较大, 分别减少 73.84%、72.98%, 而 His (含量减少 44.85%) 参与 Maillard 反应活性相对较低; 另外, MRPs-SEH 中鲜味氨基酸在总游离氨基酸中的比例较 SEH 增加 8.26%。Maillard 反应引起 SEH 肽链结构变化。后续实验将进一步采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用定性定量分析 SEH 与 MRPs-SEH 的挥发性风味成分变化, 分析并找出主要风味贡献成分, 为研发新型方格星虫调味品提供理论参考。

参考文献

[1] 陈细香, 林秀雁, 卢昌义, 等. 方格星虫属动物的研究进展 [J]. 海洋科学, 2008, 32(6): 66-70.
 [2] 游刚, 牛改改. 水煮或油煎对方格星虫肉挥发性风味物质成分变化的影响 [J]. 食品科学, 2016, 37(18): 120-125.
 [3] Zhang Q, Wang Q, Yu H, et al. Optimal dietary protein to energy ratio for juvenile peanut worm *Sipunculus nudus* Linnaeus [J]. Fisheries Science, 2015, 81(4): 713-722.
 [4] 张桂和, 李理, 赵谋明, 等. 方格星虫营养成分分析及抗疲劳作用研究 [J]. 营养学报, 2008, 30(3): 318-320.
 [5] Chandra R, Bharagava R N, Rai V. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its

- degradation [J] . Bioresource Technology, 2008, 99 (11) : 4648-4660.
- [6] Wijewickreme A N, Kitts D D, Durance T D. Reaction conditions influence the elementary composition and metal chelating affinity of nondialyzable model Maillard reaction products.[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1997, 45 (12) : 4577-4583.
- [7] Cai L, Li D, Dong Z, et al. Change regularity of the characteristics of Maillard reaction products derived from xylose and Chinese shrimp waste hydrolysates [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 65: 908-916.
- [8] 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.
- [9] 罗伟, 段振华, 刘小兵. 贻贝煮汁酶解液美拉德反应条件优化及其产物氨基酸组成分析 [J]. 食品科学, 2014, 35 (24) : 40-44.
- [10] 袁林, 查锋超, 姚焯, 等. 牡蛎酶解产物与还原糖美拉德反应工艺优化及挥发性风味物质分析 [J]. 食品科学, 2015, 36 (24) : 1-9.
- [11] Yang S Y, Kim S W, Kim Y, et al. Optimization of Maillard reaction with ribose for enhancing anti - allergy effect of fish protein hydrolysates using response surface methodology [J]. Food Chemistry, 2015, 176 (176) : 420-425.
- [12] Eric K, Raymond L V, Huang M, et al. Sensory attributes and antioxidant capacity of Maillard reaction products derived from xylose, cysteine and sunflower protein hydrolysate model system [J]. Food Research International, 2013, 54 (2) : 1437-1447.
- [13] Huang X, Tu Z, Xiao H, et al. Characteristics and antioxidant activities of ovalbumin glycated with different saccharides under heat moisture treatment [J]. Food Research International, 2012, 48 (2) : 866-872.
- [14] Liu P, Huang M, Song S, et al. Sensory characteristics and antioxidant activities of Maillard reaction products from soy protein hydrolysates with different molecular weight distribution [J]. Food & Bioprocess Technology, 2012, 5 (5) : 1775-1789.
- [15] Lan X, Liu P, Xia S, et al. Temperature effect on the non-volatile compounds of Maillard reaction products derived from xylose - soybean peptide system: Further insights into thermal degradation and cross - linking [J]. Food Chemistry, 2010, 120 (4) : 967-972.
- [16] Delphine L, Claude I, Céline B, et al. Kinetic study on the Maillard reaction consideration of sugar reactivity [J]. Food Chemistry, 2008, 111 (4) : 1032-1042.
- [17] Benjakul S, Lertittikul W, Bauer F. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein - sugar model system [J]. Food Chemistry, 2005, 93 (2) : 189-196.
- [18] 马振龙, 李菁, 刘骞, 等. 猪骨蛋白水解物与 3 种还原糖美拉德反应产物的理化特性及抗氧化活性的研究 [J]. 食品科技, 2013 (4) : 31-36.
- [19] 牛改改, 游刚, 李京丽. 还原糖对牡蛎蛋白肽糖基化反应产物功能特性与抗氧化性的影响 [J]. 食品工业科技, 2018, 39 (8) : 44-49.
- [20] 童彦, 雒莎莎, 应铁进. 鱼蛋白水解液美拉德反应条件优化及反应前后氨基酸组成变化 [J]. 中国食品学报, 2011, 11 (8) : 101-106.
- [21] 张迪, 吉薇, 吉宏武, 等. 模糊数学优化南极磷虾酶解液美拉德反应的工艺条件 [J]. 食品工业科技, 2016, 37 (24) : 297-302.
- [22] 王茵, 郭书悦, 吴靖娜, 等. 美拉德反应制备花蛤海鲜调味基料的工艺优化 [J]. 福建农业学报, 2017, 32 (4) : 435-439.
- [23] Ajandouz E H, Tchiakpe L S, Ore F D, et al. Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose - lysine model systems [J]. Journal of Food Science, 2010, 66 (7) : 926-931.
- [24] 田爱民, 李东华, 周小敏, 等. 响应面法优化鱿鱼内脏酶解液与还原糖美拉德反应工艺 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40 (35) : 17294-17297.
- [25] 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.
- [26] 孙方达, 孔保华, 韩齐, 等. 反应初始 pH 和加热时间对猪骨蛋白水解物美拉德产物特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2013, 34 (22) : 106-110.
- [27] 罗伟, 段振华, 刘小兵. 贻贝煮汁酶解液美拉德反应条件优化及其产物氨基酸组成分析 [J]. 食品科学, 2014, 35 (24) : 40-44.
- [28] Jonathan O, Daniel M. Preparation, characterisation and selected functional properties of sodium caseinate - maltodextrin conjugates [J]. Food Chemistry, 2009, 115 (4) : 1257-1267.
- [29] Wooster T J, Augustin M A. Rheology of whey protein - dextran conjugate films at the air/water interface [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21 (7) : 1072-1080.
- [30] Bosch L, Alegria A, Farre R, et al. Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk - cereal based infant foods during storage [J]. Food Chemistry, 2007, 105 (3) : 1135-1143.
- [31] Corzo - Martínez M, Moreno F J, Olano A, et al. Structural characterization of bovine beta - lactoglobulin - galactose/tagatose Maillard complexes by electrophoretic, chromatographic, and spectroscopic methods [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56 (11) : 4244-4252.

权威 · 核心 · 领先 · 实用 · 全面