

# 基于电子鼻和 TAV 对菌骨酶解液美拉德反应前后风味差异分析

李泽林,王秋婷,桂海佳,谷大海,王雪峰,肖智超,王桂瑛,普岳红,范江平\*

(云南农业大学 食品科学技术学院,昆明 650201)

**摘要:**为制备风味良好的菌骨酶解调味基料,以虎掌菌和鸡骨为原材料,在单因素试验的基础上进行正交试验设计,优化菌骨酶解液美拉德反应工艺;然后结合味觉活性值(taste activity value, TAV)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)对反应前后酶解液的游离氨基酸和电子鼻结果进行风味差异评估。结果表明,最佳工艺条件为 pH 4.5、温度 110 °C、酶解液比例 1:1、时间 90 min、还原糖添加量 3%、硫胺素添加量 3%、L-半胱氨酸盐酸盐添加量 2%,验证得到的反应液感官评分为(12.5±2.3)分,褐变程度 OD 值为 0.132±0.041。美拉德反应后,甜味和苦味氨基酸含量增加,鲜味氨基酸含量减少,其中反应前后样品中共有 13 个游离氨基酸的 TAV>1,对滋味贡献最大的均为谷氨酸, TAV 分别为 112.35 和 41.96。电子鼻结果表明,美拉德反应前后样品均对 W1W、W2S 和 W5S 传感器敏感,表明两者风味物质主要是硫化物、氮氧化合物和醇类等挥发性物质,但是美拉德反应后风味轮廓明显增大。该研究结果为菌骨调味基料的开发提供了一定的理论依据。

**关键词:**鸡骨;虎掌菌;美拉德反应;风味;味觉活性值

中图分类号:TS202.3

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1000-9973.2022.08.003

文章编号:1000-9973(2022)08-0011-07

## Analysis of the Flavor Differences of Fungus-Bone Enzymatic Hydrolysate Before and After Maillard Reaction Based on the Electronic Nose and TAV

LI Ze-lin, WANG Qiu-ting, GUI Hai-jia, GU Da-hai, WANG Xue-feng, XIAO Zhi-chao,

WANG Gui-ying, PU Yue-hong, FAN Jiang-ping\*

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** In order to prepare fungus-bone enzymatic hydrolysate seasoning with good flavor, *Sarcodon imbricatus* and chicken bones are used as the raw materials in this experiment. On the basis of single factor experiment, the Maillard reaction process of *Sarcodon imbricatus*-chicken bone enzymatic hydrolysate is optimized by orthogonal experiment, and then taste activity value (TAV), principal component analysis (PCA) and linear discriminant analysis (LDA) are combined to evaluate the flavor differences of free amino acids and electronic nose results of enzymatic hydrolysate before and after the reaction. The results show that the optimal processing conditions are as follows: pH is 4.5, temperature is 110 °C, enzymatic hydrolysate ratio is 1:1, time is 90 min, reducing sugar additive amount is 3%, thiamine additive amount is 3%, L-cysteine HCl additive amount is 2%. The sensory score of the reaction solution obtained by validation test is (12.5±2.3) points, and the OD value of browning degree is 0.132±0.041. After Maillard reaction, the content of sweet and bitter amino acids increases, but the content of umami amino acids decreases. TAV of 13 free amino acids is >1 among samples before and after the reaction, and glutamate contributes the most to taste, the TAVs are 112.35 and 41.96 respectively. Electronic nose results show that the samples are sensitive to W1W, W2S and W5S sensors before and after Maillard reaction, indicating that the flavor substances in both samples are mainly volatile substances such as sulfides, nitrogen oxides and alcohols, but the flavor profile increases significantly after Maillard reaction. The results of this study have provided a certain theoretical basis for the development of fungus-bone seasoning.

**Key words:** chicken bone; *Sarcodon imbricatus*; Maillard reaction; flavor; taste activity value

收稿日期:2022-02-06

基金项目:云南省院士专家工作站项目(202005AF150016)

作者简介:李泽林(1995-),男,云南临沧人,博士研究生,主要从事食品科学与工程方面的研究。

\*通讯作者:范江平(1972-),男,湖南汝城人,教授,博士,主要从事食品科学与功能性食品方面的研究。

引文格式:李泽林,王秋婷,桂海佳,等.基于电子鼻和 TAV 对菌骨酶解液美拉德反应前后风味差异分析[J].中国调味品,2022,47(8):11-17.

虎掌菌又名枣翅鳞肉齿菌(*Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst.),属于伞菌纲(Agaricomycetaceae)、革菌目(Thelephoraceae)、齿菌科(Bankeraceae),因菌盖有块状鳞片,形状像虎爪而得名,呈黑褐色<sup>[1]</sup>。虎掌菌菌肉味道醇厚芳香,矿质元素丰富,蛋白含量高,脂肪含量低,含有比例适宜的多种人体必需氨基酸与非必需氨基酸,含有一定浓度的呈味氨基酸等,可入药,具有抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、增强免疫力等功能<sup>[2-3]</sup>。鸡骨是鸡肉加工中产生的一大副产物,在我国年产生近 2000 万吨的各类畜禽骨中占很大的比重,含有丰富的蛋白质(含量可达 16.3%,与等量鸡肉相似),有机物约 16%~33%,无机物约 25%~26%,脂肪含量约 8%~12%和水分含量约 58%~62%<sup>[4-5]</sup>。但是,鸡骨利用率比较低,酶解和发酵是目前可利用处理的主要方法手段。

目前,调味基料的风味优劣判别大多还是直接通过感官评价进行评估和判定,有一定的主观性和局限性,且易受测评人员个人喜好的影响<sup>[6]</sup>。电子鼻是通过传感器阵列的响应强度大小来分析评估样品中的挥发性气味,不仅可判别气味差异,而且可对被测样品中的成分进行定性分析,结果更客观,在食品风味分析中得到广泛应用<sup>[7-8]</sup>。郑舒文等<sup>[9]</sup>通过电子鼻和电子舌技术精确评定了鲑鱼的鲜度。Tian Huaixiang 等<sup>[10]</sup>运用电子鼻技术分析评价了酸奶基质中双乙酰、乙醛和乙酰乙素的协同嗅觉效应。

因此,本研究拟在单因素试验基础上进行正交试验设计,优化虎掌菌-鸡骨酶解液美拉德反应工艺,制作风味优良的菌骨调味基料;然后结合 TAV、PCA 和 LDA 对反应前后酶解液的游离氨基酸和电子鼻结果进行风味差异评估,以期对菌骨调味料的研发提供一定的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鸡骨(白羽肉鸡):由云南农业大学实验鸡场提供;虎掌菌:新鲜、无病虫害、无瑕疵,购于云南省易门县,用鼓风机干燥箱烘干,用打粉机粉碎,放置于干燥器中备用。

动物蛋白水解酶(食品级,40000 U/g)、风味蛋白酶(食品级,50000 U/g):浙江一诺生物科技有限公司;木糖(食品级):上海源叶生物科技有限公司;葡萄糖(食品级):中国医药集团化学试剂公司;硫酸素(食品级):上海曙光生物化学制品厂;L-半胱氨酸盐酸盐(食品级):Biosharp 生物科技公司。

### 1.2 设备

PL303 型分析天平 梅特勒-托利多仪器有限公司;PHS-3C 型雷磁 pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司;S-433(D)型氨基酸自动分析仪 德国 Sykam 公司;T6 型新世纪紫外可见分光光度计 北京普

析通用仪器有限责任公司;PG-150 型碎骨机 诸城市广优机械科技有限公司;PEN3 型电子鼻 德国 Airsense 公司。

### 1.3 工艺流程

鸡骨→加水匀浆→调节 pH 至 7.0→加入动物蛋白酶、风味蛋白酶→55 °C 水浴酶解 4.4 h→煮沸灭酶 30 min→5000 g 离心 15 min→取上清液备用。

虎掌菌→加水匀浆→调节 pH 至 7.0→加入木瓜蛋白酶、风味蛋白酶→50 °C 水浴酶解 5.1 h→煮沸灭酶 30 min→5000 g 离心 15 min→取上清液备用。

复合的酶解液→加入还原糖、硫酸素、L-半胱氨酸盐酸盐→调节 pH→充分混匀→美拉德反应→冷却。

### 1.4 单因素试验

以褐变度和感官评分为指标,分别选取复合酶解液(鸡骨酶解液:虎掌菌酶解液)比例(3:2、2:3、1:1、1:4)、pH(4,5,6,7)、温度(90,100,110,120 °C)、时间(50,70,90,110 min)、还原糖添加量(1%、2%、3%、4%)、葡萄糖与木糖比例(1:0、1:1、0:1、3:1)、硫酸素添加量(1%、2%、3%、4%)、L-半胱氨酸盐酸盐添加量(1%、2%、3%、4%)进行单因素试验。

### 1.5 响应面试验

根据单因素试验结果,设计正交试验,其因素水平表见表 1。

表 1 正交试验设计表  
Table 1 Design of orthogonal test

水平	因素						
	A pH	B 温度/°C	C 液体比	D 时间/min	E 还原糖添加量/%	F 硫酸素添加量/%	G L-半胱氨酸盐酸盐添加量/%
1	4.5	100	2:3	80	2	2	1
2	5.5	110	1:1	90	3	3	2
3	6.0	120	1:4	100	4	4	3

### 1.6 褐变程度检测

根据刘培基等<sup>[11]</sup>的方法并稍加修改,检测菌骨酶解液美拉德反应褐变程度;将 1 mL 的美拉德反应液稀释至 100 mL,以未反应的酶解液为参比,用紫外分光光度计于 420 nm 处测定吸光值。

### 1.7 感官评价

选 10 名食品专业的研究生按照评分表进行感官评分,将美拉德反应产物于 50 °C 预热 10 min 后进行评定。满分为 15 分,评分标准见表 2。

表 2 感官评分标准  
Table 2 Sensory scoring criteria

指标	5分	4分	3分	2分	1分
滋味	鲜甜醇香,口感好	较为鲜香,无异味	滋味一般	鲜味不突出,伴有异味	糊味或焦苦味
气味	香气浓郁,肉香浓郁	香气较浓	香气较淡,肉香不突出	香气很淡,伴有异味	鱼腥味,伴有硫臭
色泽	色泽诱人	色泽较好	色泽一般	色泽难看	色泽难以接受

### 1.8 游离氨基酸测定

菌骨酶解液美拉德反应前后游离氨基酸的测定：根据 GB 5009.124—2016《食品中氨基酸的测定》的方法使用氨基酸自动分析仪进行检测。

### 1.9 味觉活性值计算

参考 Zhou Fen 等<sup>[12]</sup>的方法，使用菌骨酶解液中游离氨基酸的味觉活性值 (taste activity value, TAV) 评价各呈味氨基酸对美拉德反应前后菌骨酶解液滋味的贡献。按下式计算 TAV：

$$TAV = \text{样品浓度} / \text{味觉阈值}$$

### 1.10 电子鼻检测

参考 Tian Huaixiang 等<sup>[13]</sup>的方法并稍加修改，对美拉德反应前后菌骨酶解液进行检测。预热 PEN3 型电子鼻仪器 30 min，启动自动清洗传感器，清洗时间 2 min，采用 10 个传感器对样品进行检测。吸取 20 mL 的样液置于待测容器瓶中，密封静置 20 min 后，以 300 mL/min 的流速对样品进行检测。传感器的识别性能见图 1。

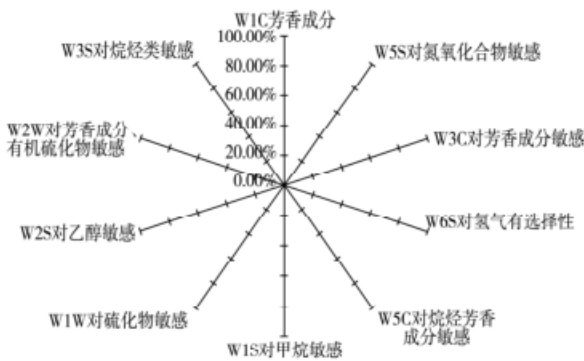


图 1 电子鼻传感器性能

Fig. 1 The performances of electronic nose sensors

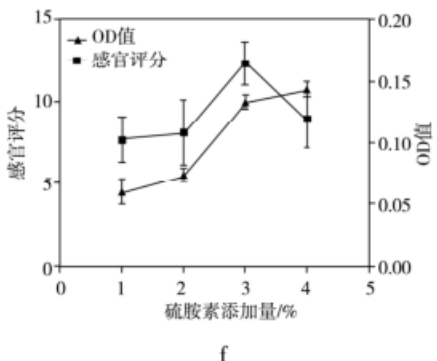
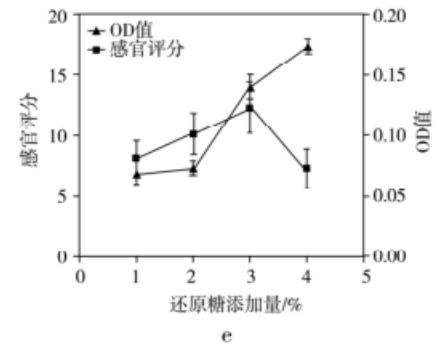
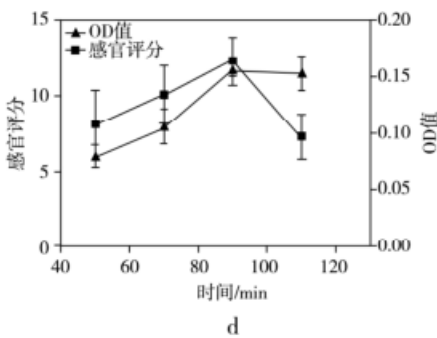
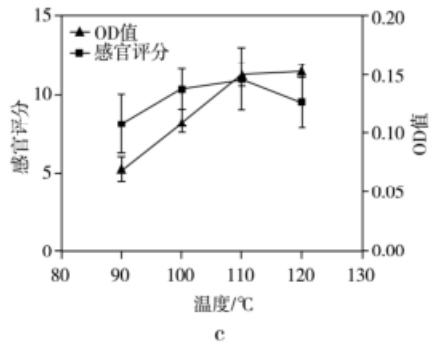
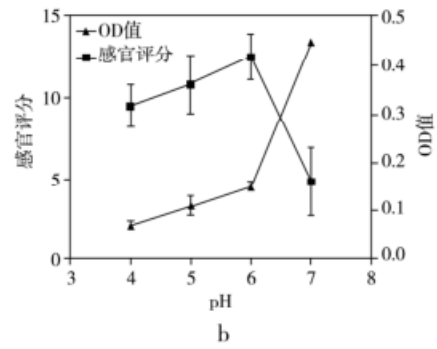
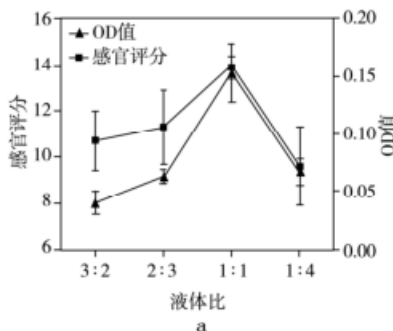
### 1.11 数据分析

采用电子鼻 Winmuster 软件进行相应 PCA 和 LDA 分析，香味雷达图谱通过 Winmuster 获取响应值后使用 Excel 2016 制作。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果分析

#### 2.1.1 虎掌菌和鸡骨酶解液液体比例对美拉德反应的影响



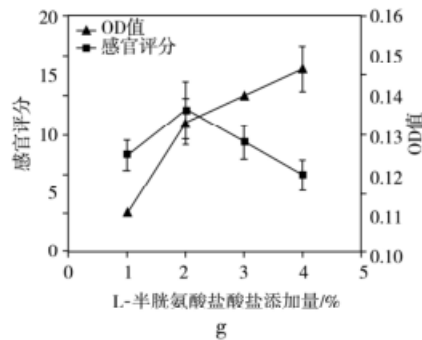


图 2 单因素试验结果

Fig. 2 The results of single factor experiment

在 pH 6.0、温度 110 °C、时间 90 min、还原糖添加量 3%、液体比例 1 : 1、硫酸素添加量 3%、L-半胱氨酸盐酸盐添加量 2% 的条件下,由图 2 中 a 可知,复合液体不同的比例对褐变程度具有一定影响,当二者比例为 1 : 1 时,酶解液褐变颜色效果最好,并且风味感官评分达到 13.9 分,有浓郁的肉香味,含有较强鲜味。因此,选择 1 : 1 为最适比例。

#### 2.1.2 pH 对美拉德反应的影响

控制液体比例为 1 : 1,其他条件不变。由图 2 中 b 可知,随着 pH 的上升,褐变程度  $OD_{420\text{nm}}$  值明显上升,反应液的颜色逐渐加深且感官评分逐渐增加;但当 pH 增加至 7.0 时,美拉德反应剧烈,颜色变黑,出现严重的难以接受的糊臭味。因此,选择 pH 6.0 为最优值。

#### 2.1.3 温度对美拉德反应的影响

控制 pH 为 6.0,其他条件不变。由图 2 中 c 可知,随着温度不断升高,褐变程度  $OD_{420\text{nm}}$  值也逐渐上升,当温度为 110 °C 时,感官评分较高;这是因为适当的高温会刺激反应物,反应速率加快,释放调味基料的香气。当温度超过 110 °C 时,虽然褐变程度  $OD_{420\text{nm}}$  值较高,但样品风味较差。因此,综合感官评定,选择 110 °C 为最适温度。

#### 2.1.4 时间对美拉德反应的影响

控制温度为 110 °C,其他条件不变。由图 2 中 d 可知,随着反应时间的增加,褐变程度  $OD_{420\text{nm}}$  值呈上升趋势,反应液颜色加深;结合感官评价,当时间为 90 min 时,反应液颜色较好,产生的风味也较好,香味浓郁,并且含有鲜味;随着时间的延长,反应液褐变程度加深,但是出现了较重的糊味。因此,选择 90 min 为最适时间。

#### 2.1.5 还原糖添加量对美拉德反应的影响

设定反应时间为 90 min,其他条件不变。由图 2 中 e 可知,随着还原糖含量的不断增加,反应液褐变程度呈现上升的趋势,但当还原糖含量过高时,由于在高温下长时间反应,液体出现了糊味以及苦味,颜色变深,感官评分降低。因此,选择 3% 为最适还原糖添加量。

#### 2.1.6 硫酸素添加量对美拉德反应的影响

由图 2 中 f 可知,随着硫酸素添加量的不断增加,褐变程度  $OD_{420\text{nm}}$  值增大,当硫酸素添加量为 3% 时,感官评分最高,达到了 12.3 分,继续增加硫酸素添加量,反应液出现糊臭味。因此,确定硫酸素最适添加量为 3%。

#### 2.1.7 L-半胱氨酸盐酸盐添加量对美拉德反应的影响

控制硫酸素添加量为 3%,其他条件不变。由图 2 中 g 可知,随着 L-半胱氨酸盐酸盐添加量的增加,反应液的褐变程度呈现先上升后趋于平缓的趋势;反应液的感官评分在其添加量为 2% 时达到最大值,当超过 2% 时反应液开始出现硫臭味,肉香味变淡,同时开始出现苦味,破坏了原有的味道。综合考虑,选择最适 L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 2%。

### 2.2 正交试验结果分析

美拉德反应是一个复杂的反应过程,各种因素或反应条件都能够影响该反应,所以需要在单因素试验结果的基础上进一步优化设计并进行验证。基于单因素试验的结果,通过正交试验进一步优化工艺条件,得到的正交试验设计及结果见表 3。影响美拉德反应液褐变程度 ( $OD_{420\text{nm}}$ ) 变化的主次顺序为:酶解温度 > 酶解时间 > 硫酸素添加量 > 还原糖添加量 > pH > L-半胱氨酸盐酸盐添加量 > 液体比;其中,影响最显著的因素是酶解温度,影响最小的是液体比。根据 R 值可知,影响反应液感官评分变化的主次顺序为时间 > 温度 > L-半胱氨酸盐酸盐添加量 > 硫酸素添加量 > 液体比 > pH > 还原糖添加量;其中,时间对感官分数的影响最显著,还原糖添加量对感官分数的影响最小。

在正交试验中, $OD_{420\text{nm}}$  表示褐变程度,其值越高反应液颜色越深;感官分数表示反应液的风味。因此,综上所述,本研究以感官分数为主要指标, $OD_{420\text{nm}}$  为次指标,根据正交试验结果,得到最佳工艺参数为:  $A_1B_2C_2D_2E_2F_2G_2$ ,即 pH 为 4.5,温度为 110 °C,液体比例为 1 : 1,时间为 90 min,还原糖添加量为 3%,硫酸素添加量为 3%,L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 2%。在此工艺条件下得到的反应液感官评分为 13.6,褐变度 OD 值为 0.1,香味浓郁,色泽诱人。

表 3 正交试验设计结果

Table 3 The design results of orthogonal test

编号	因素							评价指标	
	A pH	B 温度 /°C	C 液体比	D 时间 /min	E 还原糖 /%	F 硫酸素 /%	G L-半胱氨酸盐酸盐 /%	$OD_{420\text{nm}}$	感官评分
1	1	1	1	1	1	1	1	0.023	8.4
2	1	2	2	2	2	2	2	0.100	13.6
3	1	3	3	3	3	3	3	0.189	9
4	2	1	1	2	2	3	3	0.103	12.2
5	2	2	2	3	3	1	1	0.123	10.2
6	2	3	3	1	1	2	2	0.114	11.3
7	3	1	2	1	3	2	3	0.045	12

续表

编号	因素								评价指标	
	A pH	B 温度 /℃	C 液体 比	D 时间 /min	E 还原 糖/%	F 硫酸 素/%	G L-半胱氨 酸盐酸盐/%	OD <sub>420 nm</sub>	感官 评分	
8	3	2	3	2	1	3	1	0.083	9.9	
9	3	3	1	3	2	1	2	0.131	10.2	
10	1	1	3	3	2	2	1	0.068	9.4	
11	1	2	1	1	3	3	2	0.098	11	
12	1	3	2	2	1	1	3	0.118	10.7	
13	2	1	2	3	1	3	2	0.107	11	
14	2	2	3	1	2	1	3	0.113	10	
15	2	3	1	2	3	2	1	0.167	12.1	
16	3	1	3	2	3	1	2	0.098	11.5	
17	3	2	1	3	1	2	3	0.136	10.1	
18	3	3	2	1	2	3	1	0.178	10.5	
K <sub>1</sub>	0.099	0.074	0.109	0.095	0.097	0.101	0.107			
K <sub>2</sub>	0.121	0.109	0.112	0.115	0.115	0.105	0.108			
K <sub>3</sub>	0.112	0.149	0.110	0.125	0.120	0.126	0.117			
R	0.022	0.075	0.003	0.030	0.023	0.025	0.010			
K <sub>1</sub> '	10.350	10.750	10.666	10.530	10.233	10.166	10.083			
K <sub>2</sub> '	11.133	10.800	11.333	11.667	10.983	11.416	11.433			
K <sub>3</sub> '	10.700	10.633	10.183	9.983	10.966	10.600	10.666			
R'	0.783	0.167	1.15	1.684	0.750	1.250	1.35			

2.3 验证试验

基于正交试验最优结果,进行 3 次重复验证试验,得到最优条件下美拉德反应后的菌骨酶解液感官评分为(12.5±2.3)分,褐变程度 OD 值为 0.132±0.041,与正交试验结果相近且无显著性差异,证明此优化工艺可行。

2.4 美拉德反应前后菌骨酶解液中游离氨基酸含量及 TAV 的差异分析

表 4 菌骨酶解液美拉德反应前后游离氨基酸含量、阈值、呈味特性及 TAV 值

Table 4 The free amino acids' content, thresholds, flavor characteristics and TVAs in fungus-bone enzymatic hydrolysate before and after Maillard reaction

编号	名称	滋味阈值/(mg/kg) <sup>[14-15]</sup>	检测浓度/(mg/kg)		TAV 值		呈味特性 <sup>[16]</sup>
			反应前	反应后	反应前	反应后	
1	天门冬氨酸(Asp)	100	691.99	720.28↑	6.92	7.20	鲜味
2	苏氨酸(Thr)	260	488.93	413.10*↓	1.88	1.59	甜味
3	丝氨酸(Ser)	150	176.01	348.74*↑	1.17	2.56	甜味
4	谷氨酸(Glu)	30	3370.37	1258.81*↓	112.35	41.96	鲜味
5	甘氨酸(Gly)	130	660.33	554.77*↓	5.08	4.27	甜味
6	丙氨酸(Ala)	60	683.20	535.53*↓	11.39	8.93	甜味
7	半胱氨酸(Cys)	-	8.72	852.46*↑	-	-	-
8	缬氨酸(Val)	40	568.21	632.82*↑	14.21	15.82	苦味
9	蛋氨酸(Met)	30	398.43	307.64*↓	13.28	10.25	苦味
10	异亮氨酸(Ile)	90	643.71	532.51*↓	7.15	5.92	苦味
11	亮氨酸(Leu)	190	1126.26	942.36*↓	5.93	4.96	苦味
12	酪氨酸(Tyr)	-	89.37	238.80*↑	-	-	-
13	苯丙氨酸(Phe)	90	509.30	416.44*↓	5.66	4.63	苦味
14	组氨酸(His)	-	497.92	1403.96*↑	-	-	-

续表

编号	名称	滋味阈值/(mg/kg) <sup>[14-15]</sup>	检测浓度/(mg/kg)		TAV 值		呈味特性 <sup>[16]</sup>
			反应前	反应后	反应前	反应后	
15	赖氨酸(Lys)	20	657.86	382.19*↓	32.86	19.11	苦味
16	精氨酸(Arg)	50	77.72	218.28*↑	1.55	4.37	甜味
17	脯氨酸(Pro)	-	124.22	5137.0*↑	-	-	甜味
	游离氨基酸总量		10772.6	14895.7*↑	-	-	-
	∑鲜味氨基酸		4062.36	1979.09*↓	119.27	49.16	鲜味
	∑甜味氨基酸		1421.25	2070.42*↑	21.07	21.72	甜味
	∑苦味氨基酸		3393.14	3452.76↑	79.09	60.69	苦味

注:“-”表示未检测到;“\*”表示 P<0.01;“↑”表示上升;“↓”表示下降。

游离氨基酸是美拉德反应的主要前体物,酶解可释放样品中的游离氨基酸<sup>[17]</sup>;美拉德反应的过程中会消耗氨基酸,合成新的风味物质,但是因 Strecker 降解、肽的降解和糖与氨基酸的交联反应的存在也会增加美拉德反应液中游离氨基酸含量<sup>[18]</sup>。根据游离氨基酸的呈味特性分类,可将其分为鲜味、甜味和苦味氨基酸三大类。由表 4 可知,美拉德反应后游离氨基酸的总含量显著增加(P<0.05);其中,鲜味氨基酸含量从 4062.36 mg/kg 显著减少至 1979.09 mg/kg,甜味和苦味氨基酸含量在反应后均呈现上升趋势,且三者终含量以苦味氨基酸含量最高,为 3452.76 mg/kg,含量差距比反应前小。

化合物对滋味的贡献可采用 TAV 进行量化评估,一般认为当 TAV>1 时,该化合物对样品滋味有贡献;当 TAV<1 时,对样品滋味贡献小或者无贡献<sup>[19]</sup>。由表 4 可知,菌骨液美拉德反应前后所有阈值参考的游离氨基酸的 TAV 均大于 1,表明这些氨基酸对菌骨液滋味贡献较大,其中反应前后对滋味贡献最大的均为谷氨酸,TAV 分别为 112.35 和 41.96,其次为呈苦味的赖氨酸,TAV 分别为 32.86 和 19.11。但是有研究表明,呈苦味的氨基酸不具备味觉活性,容易使甜味和鲜味物质被掩盖,而且谷氨酸可以提供强烈的鲜味、精氨酸与谷氨酸协同作用具有令人愉快的整体味道<sup>[20-21]</sup>,这可以使菌骨液中含量较高的苦味氨基酸呈味减弱。此外,美拉德反应后鲜味氨基酸天门冬氨酸(TAV:7.20)和甜味氨基酸丝氨酸(TAV:2.56)、精氨酸(TAV:4.37)的味觉活性值均有不同程度的增加。菌骨酶解液美拉德反应前后 TAV>1 的氨基酸含量的变换情况见图 3。



图 3 菌骨酶解液反应前后游离氨基酸含量变化热图  
Fig. 3 Heat map of free amino acids' content in fungus-bone enzymatic hydrolysate before and after Maillard reaction

注:由浅色到深色表示游离氨基酸含量逐渐增加。

### 2.5 电子鼻结果分析

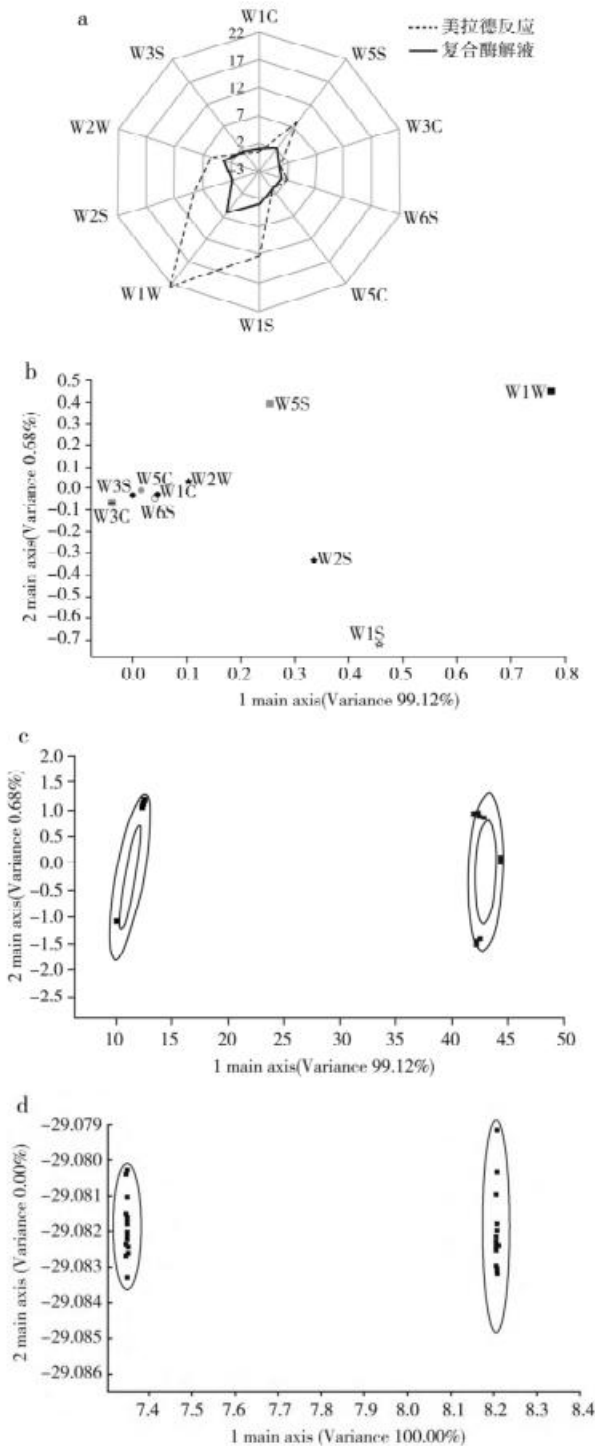


图 4 菌骨酶解液美拉德反应前后电子鼻分析

Fig. 4 Electronic nose analysis of fungus-bone enzymatic hydrolysate before and after Maillard reaction

由图 4 中雷达图(a)和载荷图(b)可知,美拉德反应前后的菌骨酶解液均对无机硫化物敏感的 W1W、对乙醇敏感的 W2S、对氮氧化合物敏感的 W5S、对芳香成分及有机硫化物敏感的 W2W 传感器的响应值较高,且美拉德反应后的样品对所有传感器的敏感度均

超过反应前;反应后的样品对无机硫化物的 W1W 传感器敏感度迅速增加,响应值达到了最大值 22。由图 4 中 b 可知,距离(x=0,y=0)最远的传感器是 W1W,说明此传感器在第一和第二主成分的贡献率最大;距 y=0 最远的是传感器 W5S,说明此传感器对第二主成分的贡献率最大。结合图 4 中 a 可以看出,美拉德反应后,风味轮廓明显增加且图中部分信号重合,说明两个样品之间的气味特征存在相似<sup>[22]</sup>;W1W 的响应值提高,说明美拉德反应产生了硫化物,一些硫化物可提供肉香风味<sup>[23]</sup>;美拉德反应过程中硫化物一部分来自硫胺素和 L-半胱氨酸盐酸盐,但是它们的存在可以催化酶解液中含硫氨基酸的反应与分解,本研究中蛋氨酸的含量在美拉德反应后显著降低( $P<0.05$ )且半胱氨酸的含量由 8.72 mg/kg 显著( $P<0.05$ )增加至 852.46 mg/kg,充分说明了美拉德反应后硫化物的产生绝大多数来自于游离氨基酸的反应与分解,这与左勇等<sup>[24]</sup>的研究结果类似。此外,W2S 和 W5S 的响应值提高,说明美拉德反应后产生醇类和含氮化合物,与美拉德反应机理相一致。表明两个菌骨酶解液样品风味物质主要是醇类、硫化物和氮氧化合物等挥发性物质。

主成分分析法(PCA)是一种比较常用的数据统计分析方法,是能够降低数据矩阵的维数,保留原始数据集的大部分信息并解释各变量之间的相关性多元统计分析方法<sup>[25]</sup>。由图 4 中 c 可知,美拉德反应前后的样品第一主成分(PC1)的贡献率为 99.12%,第二主成分(PC2)的贡献率为 0.68%,两个主成分的总贡献率为 99.8%,远大于 80%,说明该模型能够充分反映样品的整体信息,且差异主要在第一主成分上。美拉德反应后,主要沿 PC1 方向变化,说明其反应产生的挥发性风味物质变得丰富,美拉德反应前后的数据采集点所在的椭圆形区域分布在特定的区域中,说明反应前后它们之间存在一定的差别<sup>[26]</sup>。线性判别(LDA)与主成分分析相比,更加注重样品在空间分布状态及各品种间的距离,可进一步分类<sup>[27]</sup>。由图 4 中 d 可知,两判别式的总贡献率达到了 100%,说明两者间有明显差异,能够完全被区分;美拉德反应前后数据点分布在不同区域,没有重叠现象,说明 LDA 能够很好地区分反应前后的变化。综上所述,无论 PCA 分析还是 LDA 分析,都能够很好地将反应前后的香气区分开,证明美拉德反应前后样品的挥发性香气有一定区别。

### 3 结论

虎掌菌味道鲜美,含有较多的游离呈味氨基酸,鸡骨是鸡肉生产中的一大副产物,也含有大量的蛋白质,



两者酶解后会释放更多的游离氨基酸,可为美拉德反应提供前体物,用来制作调味基料。因此,本研究以虎掌菌和鸡骨为原材料,在单因素试验的基础上进行正交试验设计,优化菌骨酶解液美拉德反应工艺。得到最佳工艺条件为:pH为4.5,温度为110℃,液体比例为1:1,时间为90min,还原糖添加量为3%,硫酸素添加量为3%,L-半胱氨酸盐酸盐添加量为2%。在此工艺条件下验证得到的反应液感官评分为(12.5±2.3)分,褐变程度OD值为0.132±0.041,香味浓郁,色泽诱人,与模型值差异小。然后取美拉德反应前后的菌骨混合液进行游离氨基酸及电子鼻分析,结果表明,与反应前相比,反应后样品鲜味氨基酸含量显著从4062.36 mg/kg减少至1979.09 mg/kg,甜味和苦味氨基酸含量在反应后均呈现上升趋势,且三者终含量以苦味氨基酸含量最高,为3452.76 mg/kg,其中反应前后样品中共有13个游离氨基酸的TAV>1,对滋味贡献最大的均为谷氨酸,TAV分别为112.35和41.96。电子鼻结果表明,美拉德反应前后样品均对W1W、W2S和W5S传感器敏感,表明两者风味物质主要是硫化物、氮氧化合物和醇类等挥发性物质,但是美拉德反应后风味轮廓明显增大。

#### 参考文献:

- [1]王婷婷,邓雅元,杨璐敏,等.热加工方式对黑虎掌菌挥发性风味物质的影响[J].中国调味品,2021,46(7):76-79.
- [2]王婷婷,严明,邓雅元,等.云南黑虎掌菌挥发性成分分析[J].中国食用菌,2020,39(6):17-20.
- [3]蔡超,雷苏炜,陈少丹,等.十七种食药菌提取物抗病毒毒性筛选[J].食用菌学报,2020,27(1):75-84.
- [4]刘安康,卢美珍,陈慧,等.鸡骨泥酶解和发酵产物的成分分析及抗氧化活性比较[J].中国调味品,2017,42(1):72-75.
- [5]CHIANG J H, EYRES G T, SILCOCK P J, et al. Changes in the physicochemical properties and flavour compounds of beef bone hydrolysates after Maillard reaction[J]. Food Research International, 2019, 123: 642-649.
- [6]张秀南,贾亚娟,李光磊.拌面调味汁的研制[J].中国调味品,2021,46(7):116-120.
- [7]步营,栾宏伟,吕月月,等.逐级正交优化复合海参调味料配方及加热对其风味的影响[J].中国调味品,2020,45(11):10-15.
- [8]赵钜阳,王萌,姚恒喆.不同腌制配方对预调理清炸大麻哈鱼品质及风味的影响[J].中国调味品,2021,46(6):60-64.
- [9]郑舒文,陈卫华.基于电子鼻和电子舌技术的鳕鱼鲜度评定[J].中国调味品,2019,44(5):164-169.
- [10]TIAN H X, YU B J, YU H Y, et al. Evaluation of the synergistic olfactory effects of diacetyl, acetaldehyde, and acetoin in a yogurt matrix using odor threshold, aroma intensity, and electronic nose analyses[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(9): 7957-7967.
- [11]刘培基,崔文甲,王文亮,等.美拉德反应改善香菇柄酶解液的风味[J].食品与发酵工业,2020,46(22):71-78.
- [12]ZHOU F, WANG X C. Effect of heat extraction on water-soluble taste substances in processing products of chilled large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(12): 3863-3872.
- [13]TIAN H X, LIU H, HE Y J, et al. Correction to: combined application of electronic nose analysis and back-propagation neural network and random forest models for assessing yogurt flavor acceptability[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 14(4): 2359.
- [14]魏光强,李子怡,黄艾祥,等.基于游离氨基酸、挥发性组分和感官评价的两种酸化技术加工乳饼的滋味特征差异分析[J].食品科学,2021,41(1):1-10.
- [15]翟营营,黄晶晶,张慧敏,等.酵母抽提物主要滋味成分分析及其对鱼糜制品风味的影响[J].华中农业大学学报,2019,38(5):105-113.
- [16]PHAT C, MOON B, LEE C. Evaluation of umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation, and an electronic tongue system[J]. Food Chemistry, 2016, 192(1): 1068-1077.
- [17]陈启航,方旭波,陈小娥,等.鲑鱼蒸煮液美拉德反应优化及氨基酸分析[J].核农学报,2021,35(3):651-659.
- [18]裴继伟,丁连坤,李丽,等.牡蛎酶解液-葡萄糖美拉德反应前后体系的溶解特性及氨基酸组成分析[J].食品与发酵工业,2019,45(20):93-99.
- [19]王天泽,谭佳,杜文斌,等.北京油鸡鸡汤滋味物质分析[J].食品科学,2020,41(8):159-164.
- [20]谷镇,杨焱.食用菌呈香呈味物质研究进展[J].食品工业科技,2013,34(5):363-367.
- [21]石婧,王帅,龚骏,等.不同育肥方式对中华绒螯蟹雄蟹肌肉呈味物质的影响[J].食品工业科技,2015,36(15):347-351.
- [22]赵慧君,胡事成,张振东,等.基于电子鼻和GC-MS技术对山东成武和广西英家大头菜挥发性物质分析[J].中国调味品,2021,46(7):11-16.
- [23]刘彦平,王磊,谢健.一种电子鼻识别模型应用于多味酱油酿造分析[J].中国调味品,2019,44(6):144-146,153.
- [24]左勇,陈静,张晶.甜面酱中挥发性风味物质及游离氨基酸分析[J].中国调味品,2021,46(2):8-12.
- [25]KAYA Z, YILDIZ S, ÜNLÜTÜRK S. Effect of UV-C irradiation and heat treatment on the shelf life stability of a lemon-melon juice blend: multivariate statistical approach[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 29: 230-239.
- [26]吴爽.谷朊粉酶解物美拉德反应生产肉味香精的研究[D].无锡:江南大学,2013.
- [27]马佳佳,乔中英,黄桂丽,等.苏香粳大米的风味特征和品质分析[J].中国粮油学报,2021,36(6):1-16.