

文章编号: 1000-8551(2020) 04-0770-09

鱼粉加工压榨液经酶解发酵后的风味变化

李丝丝¹ 曹少谦¹ 孟珂¹ 马丹妮¹ 刘亮² 戚向阳^{1,*}(¹浙江万里学院生物与环境学院, 浙江 宁波 315100; ²浙江医药高等专科学校食品学院, 浙江 宁波 315100)

摘要:为实现鱼粉加工副产物的高值化利用,本研究对鱼粉加工压榨液经酶解发酵后的挥发性风味及游离氨基酸含量进行了分析。结果表明,鱼粉加工压榨液经酶解发酵后,其滋味成分、游离氨基酸含量、呈味强度和呈鲜能力明显增加,且其牛磺酸含量高达 $0.263\text{ g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$,远高于市售鱼露。挥发性风味分析表明,酶解和发酵显著改善了鱼粉加工压榨液的风味,其醛醇类化合物、吡嗪类以及含硫类化合物含量均有所增加,酮类物质含量下降,其风味与市售鱼露相当。本研究为鱼粉加工压榨液或其他水产品下脚料的综合利用提供了有效手段。

关键词: 鱼粉加工压榨液; 酶解; 发酵; 滋味; 挥发性风味物质

DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2020.04.0770

鱼粉加工压榨液是鱼粉加工过程中大量产生的一种加工副产物,含有丰富的可溶性蛋白质、无机盐和微量元素等营养物质^[1]。但由于其回收再利用工序耗时费力,除少部分被回收再制备成低级鱼粉外,大部分直接作为废弃物排放,造成了极大的资源浪费和环境污染^[2-3]。目前,水产品加工副产物蛋白资源回收再利用较为有效的手段主要是酶解和发酵,这种方法也同样适用于鱼粉加工压榨液蛋白资源的再利用,且酶解和发酵在降解蛋白的基础上,也会促进风味物质的形成,有利于改变产品风味,分析酶解发酵后鱼粉加工压榨液风味的变化对实现其高值化利用具有重大意义。

目前有关水产品加工副产物酶解或发酵的风味研究较多,主要集中在水产内脏、头尾等副产物。如董志俭等^[4]以鱿鱼内脏蛋白为原料,经酶解和美拉德反应结合制备了一种鱿鱼味香精,其香气和滋味均显著提高,整体风味得到很大提升;付光中等^[5]应用顶空固相微萃取-气质联用技术(headspace solid-phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry, SPME-GC-MS)分析虾头酶解产物接种肉制品发酵剂混合发酵前后的风味变化,结果表明经混合发酵后,虾头酶解

产物的部分刺激性气味大大减弱,且有助于原有虾风味的保留。但关于酶解和发酵对鱼粉加工压榨液风味影响的研究鲜有报道。因此,本试验在分析鱼粉加工压榨液酶解发酵前后的感官特性和游离氨基酸等滋味成分变化的基础上,结合电子鼻和 SPME-GC-MS 技术探讨其挥发性风味物质的变化,以期鱼粉加工压榨液的高值化利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鱼粉加工压榨液(蛋白质含量 10.1%,氨基酸态氮含量 $0.27\text{ g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$),宁波裕天海洋生物科技有限公司;市售鱼露购于沃尔玛超市;豆粕、麸皮购于宁波钟公庙农贸市场;木瓜蛋白酶($800\ 000\text{ U}$)、复合蛋白酶 A-1($1\ 500\text{ U}$),广西南宁庞博生物工程有限公司;米曲霉(沪酿 3.042),上海佳民酿造食品有限公司;Type H 型混合氨基酸标准溶液,日本和光纯药工业株式会社;牛磺酸标准品(HPLC $\geq 98\%$),上海源叶生物科技有限公司;浓盐酸、柠檬酸钠、氢氧化钠、氯化钠、柠檬酸等为优级纯,中国医药(集团)上海化学试剂公

收稿日期: 2018-08-27 接受日期: 2018-12-04

基金项目: 浙江省基础公益研究项目(LGN18C200002), 十三五海洋经济创新发展示范项目(NBHY-2017-S2), 浙江省重点研发项目(2019C02071) 宁波市惠民项目(2017C10005)

作者简介: 李丝丝,女,主要从事水产品加工及利用研究。E-mail: 645788900@qq.com

* 通讯作者: 戚向阳,女,教授,主要从事食品化学及农副产品的高值化利用研究。E-mail: qixiangyang85@sina.com

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

司; 茚三酮、磺基水杨酸, 分析纯, 购自中国医药(集团) 上海化学试剂公司。

1.2 主要仪器与设备

YXQ-LS-18SI 自动手提式灭菌器, 上海东亚压力容器制造有限公司; PEN3 便携式电子鼻系统, 德国 Aisense 公司; DNP-9272A 电热恒温培养箱, 上海贺德实验设备有限公司; 5804R 高速离心机, 德国 Eppendorf; L-8900 全自动氨基酸分析仪, 日本日立公司; UGC-12C 氮吹仪, 北京优晟联合科技有限公司; 75 μm CAR/PDMS 萃取头, 美国 Supelco 公司; 7890B-7000C 气相色谱-三重四级杆质谱联用仪, 美国安捷伦科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 制曲 将豆粕、麸皮、水按 3:2:5 (m:m:m) 的比例混合均匀, 浸泡 5 h, 于 121 $^{\circ}\text{C}$ 高温高压蒸煮灭菌 40 min, 冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 加入千分之二米曲霉沪酿 3.042 混合均匀。将加曲混合后的物料转移至上下各铺一层灭菌纱布的筛子, 物料厚度约 2 cm, 置于温度 33 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 80% 的生化培养箱培养 24 h, 待物料长满白色曲后翻曲一次, 继续培养 12 h, 曲有黄绿色后即结束培养, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用^[6-7]。经测定自制曲中性蛋白酶活力达 1 796 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$, 含水量 26.53%。

1.3.2 鱼粉加工压榨液的酶解和发酵 取适量鱼粉加工压榨液, 添加 0.2% (加酶量: 原料蛋白质含量, m:m) 的木瓜蛋白酶和 0.3% 的复合蛋白酶 A-1 (加酶量: 原料蛋白质含量, m:m), 自然 pH 值, 60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温酶解 5 h, 酶解结束后立即添加 9% (曲: 酶解液, m:v) 的曲, 18% (食盐: 酶解液, m:v) 的食盐, 密闭 40 $^{\circ}\text{C}$ 恒温发酵 18 d, 即得酶解和发酵后的样品。

1.3.3 感官评价 采用定量描述分析法 (quantitative descriptive analysis, QDA) 分析样品的感官特性^[8]。由经过感官培训的 10 名研究人员 (5 男 5 女, 年龄 20~35 岁) 组成感官评定小组, 对酸味、苦味、腥味、咸味、鲜味、肉味等滋味指标进行评分, 采用 7 分制^[9]。根据滋味的强烈程度评分, 如“0”表示不能感觉到该风味, “4”表示该风味强烈, “6”表示该风味非常强烈, 分数与该滋味的强烈程度成正比。结果以平均值表征。

1.3.4 游离氨基酸测定 游离氨基酸样品前处理: 取 1 mL 样品和 9 mL 2% 磺基水杨酸溶液混匀, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 22 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 除去样品中残余的蛋白质和多肽, 取适量上清液, 用 0.02 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释 20 倍, 取适量溶液过 0.22 μm 滤膜, 待上机分析^[10]。

色谱条件: 分离柱 (内填日立专用离子交换树脂,

4.6 mm ID $\times$ 60 mm $\times$ 3 μm), 分离柱柱温 57 $^{\circ}\text{C}$, 梯度洗脱 (洗脱液为 pH 值分别为 1、2、3、4 的柠檬酸钠缓冲溶液), 洗脱液流速 0.35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 反应柱 (内填金刚砂惰性材料, 4.6 mm ID $\times$ 40 mm) 柱温 135 $^{\circ}\text{C}$, 反应液茚三酮流速 0.35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长 570 nm 和 440 nm, 进样量 20 μL , 样品分析周期 53 min。

试样测定: 将混合氨基酸标准溶液、牛磺酸标准溶液和样品待测液分别以相同体积注入氨基酸分析仪, 每个样品分别做 3 次平行。以外标法通过峰面积计算样品中氨基酸含量。

1.3.5 滋味强度值 (taste active value, TAV) TAV 表示各呈味物质的含量与其阈值的比值^[11], 当 TAV 大于 1 时, 认为该物质对呈味有贡献; 当 TAV 小于 1 时认为该物质对呈味没有贡献。按照公式计算呈味物质的 TAV:

$$\text{TAV} = \frac{\text{样品中呈味物质浓度}}{\text{呈味物质阈值}} \quad (1)$$

1.3.6 电子鼻分析 量取 3 mL 样品置于 10 mL 顶空瓶中, 加盖密封一段时间, 利用电子鼻的传感器系统对样品顶空气体进行分析, 将各样品的不同气味分子在传感器表面的化学作用转化为电信号, 以响应值的形式表征分析结果^[12]。测定参数: 清洗时间 60 s, 零点调节时间 5 s, 连接样品时间 5 s, 测量时间 120 s, 进样流量 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 每个样品做 4 次平行。测得各组响应值数据后, 采用 WinMuster 软件对稳定后 111~112 s 数据进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)^[13]。每个传感器对应的挥发性风味物质见表 1^[13]。

表 1 PEN3 电子鼻传感器性能描述

Table 1 Sensor properties of PEN3 electronic nose

序号 Serial number	传感器名称 Sensor name	性能描述 Performance description
1	W1C	对芳香成分灵敏
2	W5S	对氮氧化合物很灵敏, 灵敏度大
3	W3C	对氨类、芳香成分很灵敏
4	W6S	主要对氢气有选择性
5	W5C	对短链烷烃、芳香成分灵敏
6	W1S	对甲烷灵敏
7	W1W	对无机硫化物灵敏
8	W2S	对醇类、醛酮类灵敏
9	W2W	对芳香成分、有机硫化物灵敏
10	W3S	对长链烷烃灵敏

1.3.7 挥发性风味物质的测定 准确量取 5 mL 样品置于 15 mL 顶空样品瓶中, 加盖密封, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下平

衡 16 h, 将老化好的 75 μm CAR/PDMS 萃取头插入样品瓶中, 50℃ 吸附 40 min, 210℃ 解吸 7 min, 用于 GC-MS 分析检测, 每个样品做 3 次平行。

GC 条件: Vocol 24217-U 色谱柱(60 m $\times$ 320 μm $\times$ 1.8 μm); 程序升温: 柱初温 35℃, 保持 3 min, 以 3℃ $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 40℃, 保持 1 min, 再以 5℃ $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 200℃ 保持 20 min; 不分流进样; 载气为氦气, 体积流量 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 。

MS 条件: 采用全扫描模式采集信号, 电离方式 EI, 电子轰击能量 70 eV; 接口温度 220℃; 离子源温度 230℃; 四级杆温度 150℃; 扫描质量范围 40~600 m/z, 扫描频率 3.68 scans $\cdot\text{s}^{-1}$ 。

化合物鉴定: 采用 Qualitative Analysis B.07 软件检索数据, 与 NIST 和 WLIBY 标准谱库相匹配, 并参照文献[14], 取相似度大于 80 的化合物为定性分析结果;

采用峰面积归一化法进行定量分析, 计算各化合物的相对百分含量。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Office Excel 2016 整理数据; 采用 SPSS Statistics 17.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 鱼粉加工压榨液酶解发酵后的滋味感官特性评价结果

由表 2 可知, 鱼粉加工压榨液经酶解发酵后, 苦味和腥味大幅度降低, 肉味和鲜味仍很浓郁, 咸味增强, 整体滋味得到较大提升, 几乎与市售鱼露相当。表明酶解发酵能有效改善鱼粉加工压榨液的不良风味, 并形成与市售鱼露较为相似的滋味。

表 2 各样品的感官评价平均得分

Table 2 The average sensory scores of every samples

样品 Sample	苦味 Bitter	腥味 Fishy mell	咸味 Salty taste	鲜味 Umami	肉味 Meaty taste
鱼粉加工压榨液 Pressed liquor in the processing of fish meal	3.4	4.2	4.0	3.4	3.6
酶解发酵后压榨液 Pressed liquor after enzymatic hydrolysis and fermentation	1.6	2.2	6.0	3.8	3.8
市售鱼露 Marketed fish sauce	1.2	1.6	6.6	4.2	3.4

2.2 鱼粉加工压榨液酶解发酵后的滋味成分分析

游离氨基酸是呈游离态的单个氨基酸分子, 在海鲜调味料及其基料中多由原料蛋白降解而来, 被认为是鱼露类调味料滋味的主要来源之一, 其中天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸作为呈味氨基酸是其滋味的主要贡献体^[15]; 而必需氨基酸和牛磺酸具备一定的生理功能, 可提高其营养价值。由图 1、表 3 可知, 酶解发酵前后的鱼粉加工压榨液及市售鱼露分别检测出 16、15 种氨基酸, 种类相同, 但含量差异较大。经酶解发酵后压榨液的游离氨基酸含量增加 2 倍以上, 尤其是呈味氨基酸和必需氨基酸含量明显增加, 虽低于市售鱼露, 但其牛磺酸含量高达 0.263 g $\cdot$ 100mL⁻¹, 远高于市售鱼露。表明酶解发酵在一定程度上改进了鱼粉加工压榨液的滋味和营养价值。

根据游离氨基酸的 TAV(表 3) 进一步分析其游离氨基酸的呈味特性, 发现鱼粉加工压榨液中 TAV 最大的是呈苦味的组氨酸, 经酶解发酵后, 其 TAV 较大的是天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、赖氨酸和缬氨酸, 其中天

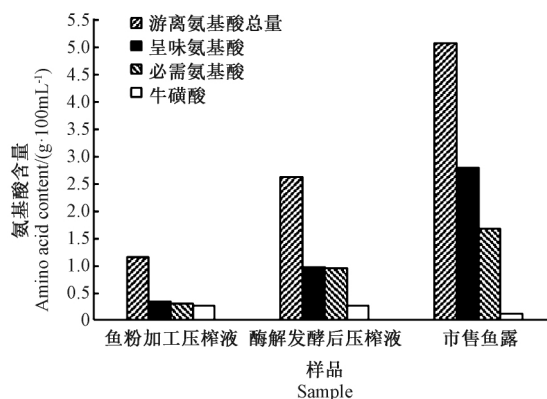


图 1 游离氨基酸总量及各类氨基酸含量

Fig.1 Total contents of free amino acids and contents of various amino acids

冬氨酸、谷氨酸和丙氨酸这几种呈味氨基酸对酶解发酵后压榨液整体滋味贡献较为明显, 这与市售鱼露中的主要滋味物质是天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸的分析结果一致。表示酶解发酵后压榨液的呈味特性发生了改变, 苦味降低, 鲜味增强。

表 3 游离氨基酸的滋味强度值
Table 3 TAV of free amino acids

氨基酸 Amino acid	味感 Taste	呈味阈值 Threshold ($\text{g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$)	鱼粉加工压榨液 Pressed liquor in the processing of fish meal	酶解发酵后压榨液 Pressed liquor after enzymatic hydrolysis and fermentation	市售鱼露 Marketed fish sauce
天冬氨酸 Asp [*]	鲜味	0.10	0.42	1.34	3.62
谷氨酸 Glu [*]	鲜味	0.03	2.50	8.80	53.50
甘氨酸 Gly [*]	甜味	0.13	0.23	0.73	1.78
丙氨酸 Ala [*]	甜味	0.06	1.55	4.18	6.32
苏氨酸 Thr ^{**}	甜味	0.26	0.13	0.38	1.02
丝氨酸 Ser	甜味	0.15	0.23	0.69	1.35
赖氨酸 Lys ^{**}	甜苦味	0.05	1.38	4.34	9.02
脯氨酸 pro	甜苦味	0.30	0.09	0.29	0
缬氨酸 Val ^{**}	苦味	0.04	1.13	3.60	6.28
蛋氨酸 Met	苦味	0.03	1.07	2.73	4.37
异亮氨酸 Ile ^{**}	苦味	0.09	0.38	1.31	2.23
亮氨酸 Leu ^{**}	苦味	0.19	0.36	1.18	1.84
酪氨酸 Tyr [*]	苦味	0.09	0.62	0.90	0.48
苯丙氨酸 Phe ^{*/**}	苦味	0.09	0.54	1.71	1.83
组氨酸 His	苦味	0.02	8.10	8.40	6.00
精氨酸 Arg	苦味	0.05	0.62	3.02	4.04

注: * 表示呈味氨基酸, ** 表示必需氨基酸。

Note: * means delicious amino acid, ** means essential amino acid.

2.3 鱼粉加工压榨液酶解发酵后的风味成分分析

2.3.1 电子鼻分析挥发性风味成分 由图 2 可知,第一和第二主成分的贡献率分别为 92.57%、6.82%,2 个主成分贡献率之和达 99.39%,说明这 2 个主成分几乎涵盖了样品的所有风味信息,可用于表征鱼粉加工压榨液、酶解发酵后压榨液和市售鱼露的整体风味特征。酶解发酵后压榨液和市售鱼露的 PCA 图出现部分重叠,表明电子鼻无法明确区分酶解发酵后压榨液和市售鱼露的风味,也说明酶解发酵后压榨液和市售鱼露的风味差异不明显。但鱼粉加工压榨液与酶解发酵后压榨液、市售鱼露的 PCA 图均无交叉重叠现象,表明鱼粉加工压榨液与酶解发酵后压榨液、市售鱼露的风味差异明显。

2.3.2 GC-MS 分离鉴定挥发性风味成分 由表 4 可知,酶解发酵后鱼粉加工压榨液的醛醇类物质种类变化不大,但其总含量明显增加,醛类物质中主要是异戊醛、苯甲醛和反式 2-壬醛含量增加,壬醛含量明显降低,此类物质风味阈值较低,能赋予产品清香、果香、脂香、坚果香、肉香和海鲜味等特殊风味^[16],是呈味的关键挥发性风味物质。醇类物质含量的增加则主要体现在酶解发酵后产生了高含量的 1-辛烯-3 醇; 1-辛烯-

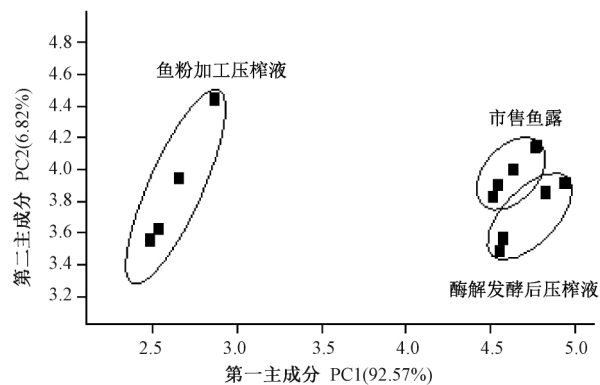


图 2 各样品的 PCA 图

Fig.2 PCA graphs of the every samples

3-醇是不饱和烯醇,不同于其他高阈值的饱和醇类物质难以成为风味的主要贡献物质,其阈值很低,只有 $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,能赋予压榨液蘑菇香、清香等风味^[17]。经酶解发酵后,压榨液中酮类物质的含量明显下降,且种类变化较大,产生了新的酮类物质,如仲辛酮、苯乙酮、3-辛酮等,它们主要由不饱和脂肪酸氧化、氨基酸降解以及微生物氧化作用等产生^[18],其风味阈值远高于醛类,对主体风味贡献不大。也有相关报道指出这些酮

类物质能赋予食品果香、甜香、类乳酪香等香气^[19],加强了食品的主体风味。

由图 3-A 可知,鱼粉加工压榨液、酶解发酵后压榨液和市售鱼露分别检测出 33、31、32 种挥发性风味物质,其中种类及相对含量较高的挥发性风味物质均是

醛类、醇类及酮类。鱼粉加工压榨液中醛、醇、酮类物质相对含量分别是 23.79%、9.59% 和 23.46%(图 3-B)。经酶解发酵后,醛醇类物质有所增加,分别为 31.46%和 35.34%,酮类物质下降至 11.54%。

表 4 各样品的挥发性风味化合物及其相对含量
Table 4 Volatile flavor compound and their relative contents in the every samples /%

化合物种类及名称 Compound type and name		鱼粉加工压榨液 Pressed liquor in the processing of fish meal	酶解发酵后压榨液 Pressed liquor after enzymatic hydrolysis and fermentation	市售鱼露 Marketed fish sauce
醛类 Aldehydes	异戊醛	3.02	4.39	7.33
	2-甲基丁醛	2.27	1.44	3.20
	正己醛	0.63	—	—
	甲硫基丙醛	1.86	1.70	7.70
	正辛醛	0.90	—	—
	苯甲醛	2.86	3.77	5.57
	4-乙基苯甲醛	0.24	—	—
	反-2-辛烯醛	—	0.45	—
	壬醛	10.23	6.99	23.11
	α-亚乙基-苯乙醛	—	—	0.81
	反,顺-2,6-壬二烯醛;	—	1.18	9.21
	反式肉桂醛	—	—	0.41
	4-庚烯醛	0.93	—	—
	反式 2-壬醛	—	11.55	0.61
	癸醛	0.59	—	0.37
	小计 Total	23.79	31.46	58.34
呋喃类 Furans	2-乙基呋喃	11.94	—	—
	2-正戊基呋喃	1.23	—	—
	顺式 2-(2-戊烯基)呋喃	6.88	0.41	—
	2-甲氧基呋喃	—	—	—
小计 Total		20.06	0.41	—
酯类 Esters	己酸己烯基酯	1.03	—	0.84
	正己酸乙酯	2.47	—	—
	N-己酸乙烯酯	—	2.06	—
小计 Total		3.50	2.06	0.84
醇类 Alcohols	3-呋喃甲醇	4.42	0.72	12.20
	桃金娘烯醇	3.71	0.57	—
	1-辛烯-3-醇	—	34.04	—
	芳樟醇	0.37	—	—
	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳烯-1-醇	1.09	—	—
	1-甲基环己醇	—	—	0.41

表 4(续)

化合物种类及名称 Compound type and name		鱼粉加工压榨液 Pressed liquor in the processing of fish meal	酶解发酵后压榨液 Pressed liquor after enzymatic hydrolysis and fermentation	市售鱼露 Marketed fish sauce
小计 Total		9.59	35.34	12.60
酮类 Ketones	2-庚酮	0.92	0.57	—
	仲辛酮	—	0.31	—
	2,6-三甲基-2,4-环庚二烯-1-酮	21.70	0.97	5.06
	苯乙酮	—	0.37	1.00
	甲基壬基甲酮	—	0.50	2.43
	6-辛烯-2-酮	0.84	0.79	0.44
	3-辛酮	—	5.97	—
	2-羟基-5-甲基苯乙酮	—	2.06	—
	5-乙基-5H-呋喃-2-酮	—	—	0.71
	小计 Total	23.46	11.54	9.64
苯及苯衍生物 Benzene and benzene derivatives	1,2,3-三甲苯	1.48	—	—
	萘	0.63	0.48	—
	1,3-二叔丁基苯	—	—	0.75
	均三甲苯	4.04	—	—
	1,2,4,5-四甲基苯	0.24	—	—
小计 Total		6.40	0.48	0.75
酚类 Phenols	4-乙基苯酚	0.65	—	—
	2,4-二叔丁基苯酚	0.83	0.65	2.50
小计 Total		1.48	0.65	2.50
烷烃类 Alkanes	正十五烷	3.93	—	—
	2,6,10,14-四甲基十五烷	1.35	—	—
	正十七烷	2.77	—	—
	2-(1,1-二甲基乙基)-3-甲基环氧乙烷	—	8.82	—
	氯代叔丁烷	—	—	0.43
小计 Total		8.05	8.82	0.43
烯烃类 Alkenes	2,3-二甲基-1-庚二烯	—	—	0.43
	6,6-二甲基庚烷-2,4-二烯	—	—	1.88
小计 Total		—	—	2.74
酸类 Acids	异戊酸	—	0.63	2.33
	2-甲基丁酸	—	—	1.10
小计 Total		—	0.63	3.42
吡嗪类 Pyrazines	2,5-二甲基吡嗪	—	4.13	0.81
	2,3,5-三甲基吡嗪	—	1.08	—
	2-甲基-3-异丙基吡嗪	—	0.47	0.25
	2-甲基吡嗪	—	—	0.52
小计 Total		—	5.69	1.58
含硫类 Sulfur-containing compounds	二甲基二硫	—	0.39	0.87
	二甲基三硫	—	1.98	4.84

表 4(续)

化合物种类及名称 Compound type and name		鱼粉加工压榨液 Pressed liquor in the processing of fish meal	酶解发酵后压榨液 Pressed liquor after enzymatic hydrolysis and fermentation	市售鱼露 Marketed fish sauce
小计 Total			2.37	5.68
其他 Other compounds	羟基嘌呤	—	—	0.48
	4,6-二甲基嘧啶	—	0.55	1.42
	甲氧基苯基肼	1.97	—	—
	2-乙酰基噻唑	1.70	—	—
小计 Total		3.67	0.55	1.90

注 “—”表示该阈值未找到或该化合物未检出。
Noté ‘—’ means the flavor threshold was not consulted or the compound was not detected.

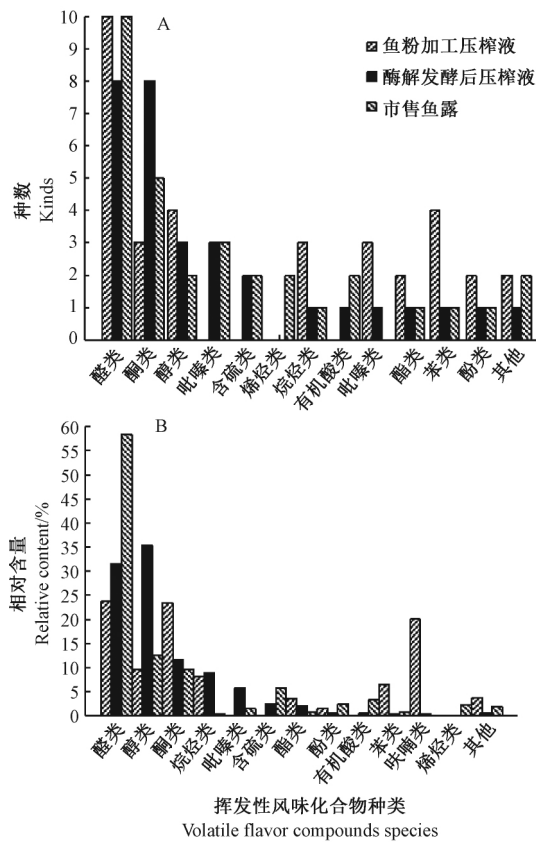


图 3 各样品挥发性风味化合物的种类(A)
和相对含量(B)

Fig.3 Species(A) and relative contents(B) of volatile
flavor compound in the every samples

此外,酶解发酵还促成了鱼粉加工压榨液吡嗪类和含硫类挥发性风味物质生成,虽其含量占比不高,但因其风味阈值较低,对主体风味仍有较大贡献。含硫类物质多由含硫氨基酸降解而成,其浓度过高时会呈现出不良气味,浓度低时呈现鱼香、类蟹香等风味^[20]。经酶解发酵后压榨液和市售鱼露中均检测出少量二甲基二硫、二甲基三硫,这些物质有助于海鲜风味的释放

或加成。

鱼粉加工压榨液中还检测出较高含量的烃类物质,此类物质多源于脂肪酸烷氧自由基的断裂,通常具有清香和甜香,但其阈值较高,难以作为风味的主要贡献成分^[21-22]。一些含苯环的烃类,如萘、三甲苯等往往具有刺激性气味^[23],压榨液经酶解发酵后,这类物质含量大幅度减少,几乎与市售鱼露相当。

3 讨论

滋味特性分析结果显示,经酶解发酵后,鱼粉加工压榨液的游离氨基酸含量明显增加,但仍低于市售鱼露,这主要归因于市售鱼露是以蛋白含量远高于鱼粉加工压榨液的海鱼为原料,并经过近 2 年的自然发酵,其蛋白降解更完全。同时游离氨基酸的呈味特性分析结果显示,酶解发酵后鱼粉加工压榨液的主要滋味物质由苦味氨基酸(组氨酸)转变为谷氨酸、天冬氨酸等呈鲜氨基酸,形成了与市售鱼露相似的滋味,但其整体 TVA 仍低于市售鱼露,尤其是谷氨酸的 TAV 远不及市售鱼露,这可能是由于谷氨酸作为一种普遍的鲜味剂,被广泛用于调味品,以致市售鱼露谷氨酸含量偏高。由此可知,酶解和发酵能通过降解原料蛋白,有效改善鱼粉加工压榨液的滋味,提高其营养价值和呈味效能。

电子鼻分析结果显示,鱼粉加工压榨液经酶解发酵后,风味发生了较大改变,形成的风味接近于市售鱼露,这主要是由于酶解发酵改变了鱼粉加工压榨液原有的风味,并产生了新的风味物质。同时酶解发酵后鱼粉加工压榨液和市售鱼露的主要原料均为蛋白质,这也是两者风味存在一定相似性的原因之一。

GC-MS 分析结果显示,鱼粉加工压榨液酶解前后的主要挥发性风味物质基本未发生变化,仍为醛、酮、醇三类,与市售鱼露相同,但它们的种类、含量变化较

大。鱼粉加工压榨液经酶解发酵后其异戊醛、苯甲醛等醛类物质含量明显增加,其中异戊醛具有水果样香气,常用于食品香精香料的生产,多用于修饰可可、坚果等食品^[24];苯甲醛与甜味、果味、坚果味和焦糖样气味有关^[25],它们在市售鱼露中含量也很高,是鱼露肉香的主要贡献物质;而构成水产品土腥味的主要成分之一壬醛含量有所减少^[26]。此外,酶解发酵后新生成的1-辛烯-3-醇,主要由亚油酸降解产生,是大豆的特征风味物质^[27],可能是发酵所用曲中的豆粕带来的。同样新生成的3-辛酮具有蘑菇、草本、树脂样香气^[28]。表明酶解发酵能有效减弱压榨液原有的腥味,并增强其肉香风味,赋予其新的风味。

酶解发酵后产生的吡嗪类物质,一般是由热加工过程中热解反应或美拉德反应生成^[29],它们作为含氮化合物,也是鱼露炙烤味、氨味的重要来源^[30]。如2,5-二甲基吡嗪能赋予食品烤坚果香气、炙烤味等风味^[31]。而且酶解发酵后鱼粉加工压榨液的吡嗪类化合物含量高于市售鱼露,这可能是由于压榨液是采用40℃恒温发酵工艺,发酵过程一直处于较高温度,发生了一系列的热解反应或美拉德反应,从而生成了较多吡嗪类化合物,而市售鱼露采用传统发酵工艺,发酵温度相对较低,形成的吡嗪类化合物相对较少。此外,具有刺激性气味或其他不良风味的苯及其衍生物类物质在酶解发酵后均有不同程度地减少,表明酶解发酵在赋予产品新风味的同时,还能在一定程度上掩盖或改善不良风味,但其作用机理尚不明确,有待进一步研究。

综上,鱼粉加工压榨液经酶解发酵后形成了更多有助于良好风味形成的挥发性风味物质,加强了其肉香、氨香和海鲜香等主体风味,减弱了腥味等不良风味的影响。且其挥发性风味物质种类和含量分布接近于市售鱼露,表明酶解发酵能有效改善鱼粉加工压榨液的风味,并为鱼粉加工压榨液的高值化利用和海鲜调味料及其基料的研究与开发提供理论依据。

4 结论

经酶解发酵后,鱼粉加工压榨液的风味发生了较大改变,滋味得到明显提升,其原有的腥苦味大大减弱,且天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸等呈味氨基酸大幅度增加;同时其挥发性风味也发生了明显改变,醛醇类物质含量增加,酮类物质下降,并生成了吡嗪类、含硫类化合物,其中表征腥味的壬醛含量减少,而具有水果样香气的异戊醛、苯甲醛含量增加,整体风味趋于市售鱼

露。综上,酶解发酵能有效改善鱼粉加工压榨液的不良风味,并加强其肉香、氨香和海鲜香等主体风味,可进一步应用于海鲜调味料及基料的研究与开发。另外,鱼粉加工压榨液的风味物质复杂,除氨基酸、挥发性风味物质外,后续研究可进一步分析其有机酸、甜菜碱、ATP 关联物、呈味肽等风味物质,以便更全面地探讨酶解发酵对其风味品质的影响。

参考文献:

- [1] 朱碧英,吴友吕.鱼粉废弃榨液及其浓缩液成分分析研究[J].饲料研究,1996,18(4):7-8
- [2] 付晚涛,孙红,吴敦虎.从鱼粉废水中回收鱼粉[J].大连铁道学院学报,2000,21(2):93-95
- [3] 张博.鱼粉加工废水综合利用与处理技术研究[D].济南:山东大学,2011:14
- [4] 董志俭,李冬梅,牛思思,刘佳玲,钟克利,励建荣.鲑鱼内脏蛋白酶解液制备鲑鱼味香精[J].中国食品学报,2014,14(12):57-64
- [5] 付光中,章超桦,吉宏武,解万翠,高加龙,卢虹玉.虾头酶解产物混合发酵前后挥发性成分分析[J].食品工业科技,2010,31(11):65-67,71
- [6] 张杰,熊文,崔成斌,张国财.米曲霉沪酿3.042发酵酱油制曲的条件优化[J].中国调味品,2015,40(8):48-53
- [7] 孟甜,黄韬睿,李玉锋.响应面法优化郫县豆瓣制曲工艺[J].食品科学,2014,35(15):193-197
- [8] 赵镭,李志,汪厚银,史波林,支瑞聪.食品感官分析术语及描述词的良好释义与表达范式[J].标准科学,2014(8):64-66
- [9] 魏永义,韩豪敏.酱油滋味的感官剖面分析研究[J].中国调味品,2017,42(9):125-127
- [10] 洪炳财.蚕蛹蛋白水解液中游离氨基酸测定方法初探[J].食品工程,2013(1):11-14
- [11] Rotzoll N, Dunkel A, Hofman N. Quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments on the key taste compounds in morel mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(7): 2705-2711
- [12] 梅卡琳,李高尚,陈燕婷,张进杰,徐大伦,楼乔明,杨文鸽.电子束辐照对蟹肉嗅感及其关键气味物质的影响[J].2018,39(24):203-208
- [13] 明庭红,裘迪红,周君,李晔,张春丹,张迪骏,苏秀榕.基于植物乳杆菌发酵草鱼脱腥增香的研究[J].中国食品学报,2017,17(10):202-210
- [14] 黄忠白,丁媛,黄健,张迪骏,孙婷婷,何珊,周君,李晔,张春丹,苏秀榕.栉孔扇贝柱和扇贝裙边中挥发性物质的比较分析[J].食品科学,2016,37(4):98-102
- [15] 江津津,曾庆孝,朱志伟,张立彦.发酵鲢制鱼露的理化与感官性质的变化[J].食品与发酵工业,2007,33(5):64-67
- [16] Shahidi.肉制品与水产品的风味[M].李洁,朱国斌,译.北京:轻工业出版社,2001:154-155
- [17] 孙宝国.食用调香术[M].北京:化学工业出版社,2003
- [18] Matiella J E, Tey H. Analysis of crabmeat volatile compounds [J].

- Journal of Food Science, 2010, 55(4): 926-966
- [19] Tanchaikui U, Hsieh T C Y. Analysis of volatile flavor compounds in steamed rangia clam by dynamic headspace sampling and simultaneous distillation and extraction[J]. Journal of Food Science, 1991, 2: 327-331
- [20] 王蔚新. 酸鱼发酵过程中蛋白质降解及其风味形成机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017
- [21] 杨文鸽, 徐大伦, 张春芳, 楼乔明, 欧昌荣. 响应面法优化美国红鱼肉挥发性风味物质 SPME 萃取条件[J]. 中国食品学报, 2012, 12(9): 87-95
- [22] 麦雅彦, 杨锡洪, 连鑫, 吉宏武, 刘书成, 毛伟杰, 解万翠. SDE/GC-MS 测定南美白对虾的挥发性香气成分[J]. 现代食品科技, 2014, 30(1): 206-210
- [23] Habu T, Flath R A, Mon T R. Volatile components of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, 33(2): 249-254
- [24] 金洋, 步婷婷, 李密, 郑丽, 宋正规, 李和生. 电子鼻结合顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术对干制乌贼挥发性成分分析[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 75-80
- [25] Pham A J, Schilling M W, Yoon Y. Characterization of fish sauce aroma-impact compounds using GC-MS, SPME-Osme-GCO, and 'Stevens' power law exponents[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(4): 268-274
- [26] 杜国伟, 夏文水. 鲢鱼糜脱腥前后及贮藏过程中挥发性成分的变化[J]. 食品工业科技, 2007(9): 76-80
- [27] Lee K G, Shibamoto T. Antioxidant properties of aroma compounds isolated from soybeans and mung beans [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 4290-4293
- [28] 江航, 王锡昌. 顶空固相微萃取与 GC-MS 联用的鱼露挥发性风味成分分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(23): 9838-9841
- [29] 张怡洁. 酱油的风味及其生理活性的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2012: 65
- [30] 肖宏艳, 曾庆孝. 潮汕鱼露发酵过程中挥发性风味成分分析[J]. 中国调味品, 2010, 35(2): 92-96
- [31] Fox P F, Wallace J M. Formation of misvor compounds in cheese [J]. Advances in Applied Microbiology, 1997, 45(8): 17-86

Flavor Change of Pressed Liquor in the Processing of Fish Meal After Enzymatic Hydrolysis and Fermentation

LI Sisi¹ CAO Shaoqian¹ MENG Ke¹ MA Danni¹ LIU Liang² QI Xiangyang^{1,*}

(¹ College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo, Zhejiang 315100;

² Faculty of Food Science, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo, Zhejiang 315100)

Abstract: In order to realize the high value utilization of pressed liquor in the processing of fish meal, the volatile flavor and free amino acid content of pressed liquor in the processing of fish meal after enzymatic hydrolysis and fermentation were analyzed. After enzymatic hydrolysis and fermentation, the content of free amino acid, the taste intensity and fresh capacity increased obviously, and its taurine content was as high as $0.263 \text{ g} \cdot 100\text{mL}^{-1}$, which was much higher than the marketed fish sauce. Volatile flavor analysis showed that the flavor of pressed liquor in the processing of fish meal was improved obviously after enzymatic hydrolysis and fermentation, the contents of aldehydes, alcohols, pyrazines and sulfur compounds increased, whereas ketones decreased, and its flavor was similar to the marketed fish sauce. The results indicated that the enzymatic hydrolysis and fermentation could effectively improve the flavor characteristics, nutritional value and flavor intensity of pressed liquor in the processing of fish meal, which would become an effective means of comprehensive utilization of liquor in the processing of fish meal.

Keywords: pressed liquor in the processing of fish meal, enzymatic hydrolysis, fermentation, taste, volatile flavor substance