

# 蛋白酶对排骨汤风味香精滋味的影响

肖隽霏, 黄岩, 乔凯娜, 张玉玉\*, 孙宝国, 章慧莹

(北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 食品质量与安全北京实验室, 北京市食品风味化学重点实验室, 北京工商大学, 北京 100048)

**摘要:** 为探究蛋白酶对热反应排骨汤风味香精滋味的影响, 采用 HPLC 分析猪肉酶解液中游离氨基酸的含量, 并结合感官评价和电子鼻分析技术对香精样品进行风味分析。得到制备排骨汤风味香精较优的蛋白酶复配条件为:  $m(\text{木瓜蛋白酶}) : m(\text{菠萝蛋白酶}) = 2 : 1$ , 加酶量 0.2% (酶质量占肉质量的百分数); 优化后的酶解液中鲜味氨基酸总量最高, 为 26.70 g/L。利用电子鼻和感官评价指标进行主成分分析, 可以对不同蛋白酶复配的香精进行较好的区分。

**关键词:** 排骨汤风味香精; 酶解; 游离氨基酸; 感官评价; 电子鼻

**中图分类号:** TS207.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2020) 05-0982-07

## Effect of proteases on the taste of sparerib soup flavoring

XIAO Junfei, HUANG Yan, QIAO Kaina, ZHANG Yuyu\*, SUN Baoguo, ZHANG Huiying

(Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** The content of free amino acids in pork enzymatic hydrolysate was analyzed by HPLC in order to explore the effect of proteases on sparerib soup flavoring. Sensory analysis and electronic nose were used to analyze the flavor of flavoring samples. The results showed that the best way to make the sparerib soup flavoring was that  $m(\text{papain}) : m(\text{pineapple protease}) = 2 : 1$ , and addition of enzyme 0.2% (based on the mass of meat, the same below). The total content of umami amino acids in the optimized hydrolysate was the highest (26.70 g/L). The correlation analysis of sensory evaluation and electronic nose indicated that the samples prepared by different proteases could be distinguished from each other by principal component analysis.

**Key words:** sparerib soup flavoring; hydrolysis; free amino acids; sensory evaluation; electronic nose

猪肉是人们最常食用的肉类之一, 不仅含有大量水分且含有丰富的蛋白质、脂肪及矿物质、维生素等, 在中国食品市场上占据重要地位<sup>[1-3]</sup>。利用蛋白酶对猪肉蛋白进行水解后产生的高营养价值的小分子肽和有生物活性的 L 型游离氨基酸, 溶解性好, 易于人体消化吸收<sup>[4]</sup>, 且经美拉德反应可制备香味自然醇厚、滋味逼真的猪肉调味品<sup>[5]</sup>。

目前, 国内关于排骨汤制备工艺以及风味分析的研究较多。刘树萍等<sup>[6]</sup>利用电子鼻和电子舌对排骨汤的风味变化进行研究, 通过单因素实验和正交

实验优化得到排骨汤煮制最佳工艺条件; 刘达玉等<sup>[7]</sup>通过感官评定、挥发性物质检测, 结合基本成分含量分析, 对比分析不同工艺制备骨汤的差异; 赵静等<sup>[8]</sup>对肋排汤、棒骨汤、脊骨汤以及扇骨汤 4 种猪骨汤的游离氨基酸进行研究, 结合电子舌分析其滋味轮廓。而目前关于猪肉风味香精制备工艺以及风味分析研究相对较少。实验室前期以猪骨泥和猪肉为主要原料, 采用逐级正交优化法得到排骨汤风味香精制备最佳工艺条件<sup>[9]</sup>, 以及以中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶制备的猪肉酶解液为原料,

研究热反应过程中压力及加热方式对猪肉香精挥发性风味成分的影响<sup>[10-11]</sup>。电子鼻作为20世纪90年代发展起来的仿生嗅觉模拟技术<sup>[12]</sup>, 近年来在食用香精中的研究比较活跃。陈晓婷等<sup>[13]</sup>基于电子舌和电子鼻对蓝圆鲟酶解工艺条件进行优化研究, 制备品质和风味较好的蓝圆鲟调味基料; 王玉芬等<sup>[14]</sup>采用感官评价与电子鼻相结合, 对鸡肉香精美拉德反应条件进行优化研究, 制作出与添加天然鸡汤风味相近的鸡肉香精。目前, 通过对比电子鼻与感官评价的结果, 优化酶解条件的研究较少。

为进一步系统地研究不同蛋白酶制备的排骨汤风味香精滋味变化, 本实验以感官评价得分作为评价指标, 得到制备热反应型排骨汤风味香精所用酶解液的最佳蛋白酶复配方式, 利用高效液相色谱对酶解液中游离氨基酸进行测定, 结合电子鼻对香精风味进行分析, 旨在为开发风味逼真的热反应型排骨汤香精、实现排骨汤相关产品工业化生产提供理论基础。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与试剂

猪后尖肉、腔排、大葱、生姜、花椒、八角、桂皮、红梅味精、食用盐, 购于北京永辉超市; 蛋白酶(种类汇总如表1所示), 食品级, 广西南宁庞博生物工程有限公司; D-葡萄糖、D-木糖、L-谷氨酸、L-精氨酸、L-脯氨酸、L-半胱氨酸、硫胺素(VB<sub>1</sub>), 食品级, 河南兴源化工产品有限公司; 呈味核苷酸二钠(Disodium inosine-5'-monophosphate + Disodium guanosine-5'-monophosphate, I+G), 食品级, 广东肇庆星湖生物科技有限公司; 酵母膏, 食品级, 广东一品鲜生物科技有限公司; 植物蛋白水解液(Hydrolyzed vegetable protein, HVP)、猪骨油, 食品级, 北京味食源食品科技有限责任公司; 盐酸, 分析纯, 北京化工厂; 十二水合磷酸氢二钠, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 十水合四硼酸钠, 分析纯, 美国Alfa Aescar公司; 5-磺基水杨酸, 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 甲醇、乙腈, 色谱纯, 飞赛尔科技(中国)有限公司; Durashell AA分析试剂盒, 天津博纳艾杰尔科技有限公司; 超纯水, 杭州娃哈哈集团有限公司。

### 1.2 仪器与设备

RZ-218A绞肉机, 合肥市荣事达小家电有限公司; DGD40-40DWG微电脑蒸炖盅, 广东天际电器股份有限公司; DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; JJ-1精密定时电动搅拌器, 金坛市荣华仪器制造有限公司;

TGL16M台式高速冷冻离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; Agilent 1260高效液相色谱仪(HPLC), 安捷伦科技有限公司; PEN3电子鼻, 德国Airsense公司。

表1 蛋白酶种类及编号  
Table 1 Type and number of protease

编号	蛋白酶种类	英文简写
ENZ1	中性蛋白酶	Neu
ENZ2	风味酶	Fla
ENZ3	木瓜蛋白酶	Pap
ENZ4	动物蛋白水解酶	Ani
ENZ5	碱性蛋白酶	Alk
ENZ6	胰酶	Pan
ENZ7	菠萝蛋白酶	Pin

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 猪肉酶解液制备

猪后尖肉去除可见脂肪后绞成肉馅。将肉馅和自来水以料液质量比1:1加入四口烧瓶中, 水浴加热并持续搅拌, 待温度升至50℃后加入蛋白酶, 恒温酶解1h。反应结束后水浴迅速升温至90℃, 恒温10min灭酶活, 制得猪肉酶解液, 冷却至室温备用。

#### 1.3.2 排骨汤风味香精制备

称取酶解液30.00g, D-葡萄糖5.00g, D-木糖1.00g, L-半胱氨酸0.70g, L-谷氨酸0.70g, L-精氨酸0.70g, L-脯氨酸0.70g, VB<sub>1</sub>0.30g, I+G0.20g, 猪骨油10.00g, 酵母膏2.00g, HVP液2.00g, 八角0.02g, 花椒0.02g, 桂皮0.02g, 姜0.20g加入四口烧瓶中在95℃下反应45min后制得热反应香精。

#### 1.3.3 感官评价方法

选取10名经验丰富者对热反应型排骨汤香精进行感官评价<sup>[15]</sup>。评价指标包括: 排骨汤特征风味、鲜味、整体可接受度、异味, 加权系数分别为0.4、0.3、0.2、0.1。评价采用线性标度法<sup>[16]</sup>, 每项指标评价分为5个等级, 根据指标评价程度进行打分, 其中, 0~3分为不强、4~6分为轻微强、7~9分为较强、10~12分为强、13~15分为很强。

以质量分数为0.5%的味精水溶液为鲜味评价参照物, 对应鲜味分值10分<sup>[17]</sup>。以实验室自制排骨汤(150.0g腔排、0.8g大葱、0.5g姜、2.0g食盐、1.0g味精、200.0g水, 隔水炖煮2h)作为特征风味评价参照物, 对应排骨汤特征风味分值为10分。将香精、食盐、热水(100℃)以4:1:200的质量比冲调后进行感官评价, 最终根据加权总分大小

判断样品风味。

### 1.3.4 游离氨基酸含量测定方法

上样前处理：取 5 mL 猪肉酶解液样品加入适量质量分数为 20% 的 5-磺基水杨酸水溶液，在 4 °C、10000 r/min 下离心 15 min，取全部上清液并用 0.1 mol/L 盐酸溶液定容至 25 mL，过 0.22 μm 尼龙滤膜后加入内标（正缬氨酸和肌氨酸），待仪器检测。平行进样 3 次，结果以“平均值 ± 标准偏差”表示。

HPLC 进样条件参考文献[18]设定：色谱柱为 Durashell AA (4.6 mm×150 mm×3 μm)；流动相 A（缓冲盐溶液，磷酸氢二钠和四硼酸钠浓度均为 0.025 mol/L，pH 为 8.2）和流动相 B〔有机溶剂，体积分数：甲醇=45%、乙腈=45%〕洗脱梯度及流速如表 2 所示；柱温 45 °C；进样量 2 μL；检测波长分别为 338 和 262 nm。

表 2 流动相洗脱梯度及流速  
Table 2 Elution gradient and flow rate of mobile phase

保留时间/min	流动相 B 的 体积分数/%	流速/(mL/min)
0	6	1.6
6	10	1.6
8	10	1.6
10	16	1.3
23	40	1.0
30	50	1.6
31	100	1.6
34	100	1.6
35	6	1.6
38	6	1.6

采用液相色谱分析 17 种游离氨基酸，通过内标法定量，计算公式如下：

$$C_i = [A_i/A_0] \times A_i \times [C_i'/A_i'] / 5 \quad (1)$$

式中： $C_i$  为某氨基酸在酶解液中的含量，g/L； $A_0$  为内标物在标品色谱图中的峰面积，mAU×s； $A_i$  为内标物在酶解液色谱图中的峰面积，mAU×s； $A_i'$  为某氨基酸在酶解液色谱图中的峰面积，mAU×s； $C_i'$  为某氨基酸在混标中的含量，g/L； $A_i'$  为某氨基酸在样品液相色谱图中的峰面积，mAU×s。

### 1.3.5 电子鼻分析方法

本文所使用的电子鼻含有 10 支不同的金属氧化物传感器，对不同的化学成分有不同的响应值<sup>[19]</sup>。传感器 1 (W1C) 对芳香成分敏感；传感器 2 (W5S) 对氮化合物成分敏感；传感器 3 (W3C) 对氨类、芳香型化合物敏感；传感器 4 (W6S) 主要对氢气有选择性；传感器 5 (W5C) 对烷烃芳香型化合物敏感；传感器 6 (W1S) 对短链烷烃敏感；传感器 7 (W1W) 对硫化物、萜烯类敏感；传感器 8 (W2S) 对醇醚醛酮类气体敏感；传感器 9 (W2W) 对有机

硫化物、芳香成分敏感；传感器 10 (W3S) 对烷烃敏感。

取 5 g 热反应型香精置于顶空瓶中，在室温下平衡 30 min 后进行电子鼻分析。进样条件为：传感器清洗时间 300 s，传感器归零时间 10 s，样品准备时间 5 s，进样流量 300 mL/min，采样时间 150 s，样品平行进样 6 次。采用分析统计软件 XLSTAT 将电子鼻 10 根传感器信号值 (E-1~E-10) 和感官评价 4 个特征值进行主成分分析。

## 1.4 数据处理方法

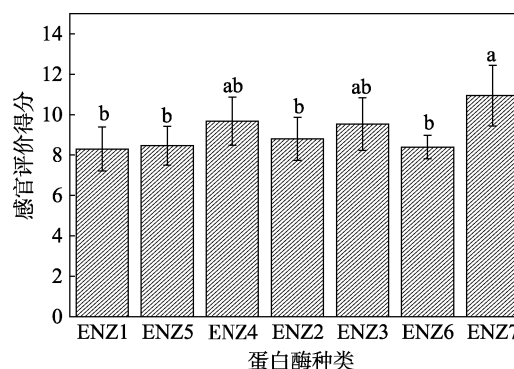
采用 SPSS Statistics 17.0 软件对感官评分和氨基酸含量数据进行显著性分析，通过单因素方差分析和 Duncan 检验法计算样品之间的差异 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 制备排骨汤风味香精酶解方式筛选结果

#### 2.1.1 最适蛋白酶单因素实验

分别选取 ENZ1、ENZ2、ENZ3、ENZ4、ENZ5、ENZ6、ENZ7（加酶量为 0.3%）对猪后尖肉进行酶解制备热反应型排骨汤风味香精，感官评价得分如图 1 所示。由图 1 可知，ENZ7 制备的香精感官评价得分最高且与其他样品之间显著性差异较大，其次是 ENZ3 和 ENZ4。综上，选取菠萝蛋白酶 ENZ7 进行加酶量优化实验。



注：不同小写字母表示差异显著，下同。 $P < 0.05$

图 1 不同蛋白酶制备排骨汤风味香精感官评价得分  
Fig. 1 Scores of sensory evaluation about the sparerib soup flavoring by different protease

#### 2.1.2 最适加酶量单因素实验

考察 ENZ7 添加量分别为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%（占肉质量）对排骨汤风味香精滋味的影响，感官评价得分如图 2 所示。由图 2 可知，加酶量为 0.1% 和 0.2% 时与其他样品之间显著性差异较大，其中加酶量为 0.2% 时香精感官评价得分最高。随着加酶量的增加，评分呈下降趋势，可能与蛋白水解释放出苦味肽导致样品出现异味有关<sup>[20]</sup>。综上，最适加酶量为 0.2%。

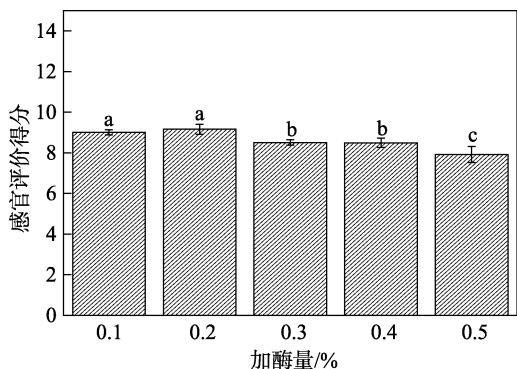
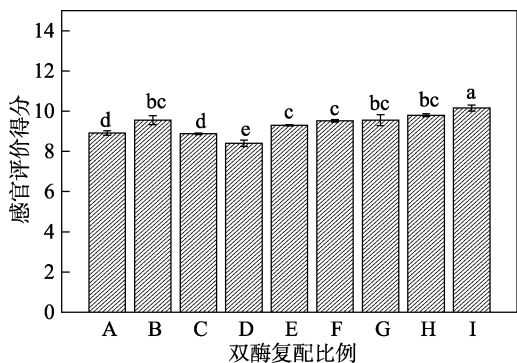


图 2 不同加酶量制备排骨汤风味香精感官评价得分 ( $P < 0.05$ )

Fig. 2 Scores of sensory evaluation about the sparerib soup flavoring by different protease dosages ( $P < 0.05$ )

2.1.3 最适双酶复配比单因素实验

考察 ENZ3、ENZ4、ENZ7 两两分别以 1 : 1、1 : 2、2 : 1 比例复配 (加酶量为 0.2%) 时对排骨汤风味香精的影响, 感官评价得分如图 3 所示。由图 3 可知, 当  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$  时制备的香精感官评价得分最高, 且与其他样品之间存在显著性差异。木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶水解蛋白产生对肉味形成具有贡献作用的含硫氨基酸<sup>[21-22]</sup>, 在合适比例下可以促进热反应排骨汤香精风味的释放。综上, 采用双蛋白酶水解时  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$  制备的排骨汤风味香精滋味效果最好。



A:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 1$ ; B:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 2$ ; C:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 2 : 1$ ; D:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$ ; E:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ ; F:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$ ; G:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$ ; H:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ ; I:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$

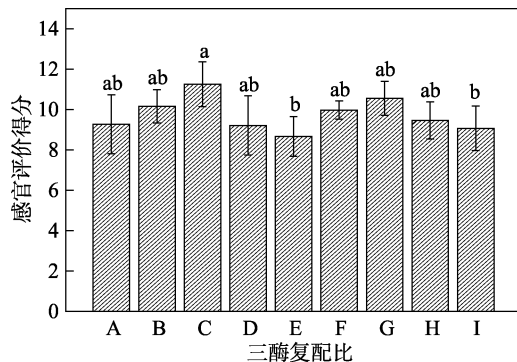
图 3 双酶复配制备排骨汤风味香精感官评价得分

Fig. 3 Scores of sensory evaluation about the sparerib soup flavoring by two protease ratio

2.1.4 最适三酶复配比单因素实验

ENZ4 作为一种复合蛋白酶, 在与 ENZ3 和 ENZ7 复配使用时能降低酶解液产生的苦味, 因此, 通过正交设计分别考察 ENZ3、ENZ4 和 ENZ7 以 9 个不同比例复配 (加酶量为 0.2%) 酶解对排骨汤风

味香精滋味的影响, 感官评价得分如图 4 所示。由图 4 可知, 当  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$  时制备的香精感官得分最高, 且与其他样品之间显著性差异明显。疏水氨基酸隐藏于蛋白质内部, 当蛋白被水解时被暴露出来并表现出苦味, 而动物蛋白酶能内切蛋白质肽链和外切肽链末端, 使得疏水氨基酸被进一步的水解<sup>[23]</sup>。综上, 采用三蛋白酶水解时  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$  制备的排骨汤风味香精滋味效果最好。



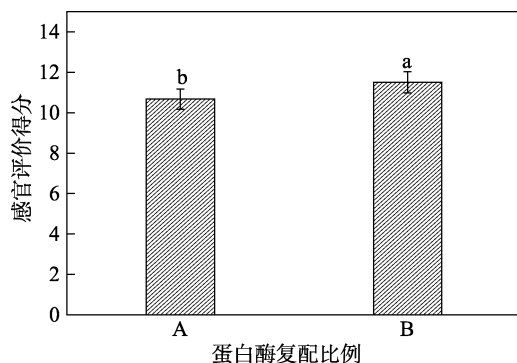
A:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1 : 1$ ; B:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2 : 2$ ; C:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$ ; D:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1 : 2$ ; E:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 2 : 3$ ; F:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 3 : 1$ ; G:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 1 : 3$ ; H:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 2 : 1$ ; I:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 3 : 2$

图 4 三酶复配制备排骨汤风味香精感官评价得分

Fig. 4 Scores of sensory evaluation about the sparerib soup flavoring by three protease ratio

2.1.5 蛋白酶复配方式筛选

为对比双酶和三酶的复配效果 (加酶量为 0.2%), 将两组实验中最优样品进行感官评价, 感官评价最终得分如图 5 所示。



A:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$ ; B:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$

图 5 三酶和双酶复配制备排骨汤风味香精感官评价得分  
Fig. 5 Scores of sensory evaluation about the sparerib soup flavoring by different protease ratio

由图 5 可知, 双蛋白酶复配制备的排骨汤风味

香精口感明显优于三蛋白酶复配。综上，最优蛋白酶复配比例为  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$ 。

### 2.2 酶解液中游离氨基酸含量分析

酶解液中游离氨基酸的组成及含量对其制备的香精滋味起关键作用。通过 HPLC 对酶解液中 17 种游离氨基酸含量进行测定，根据 4d 检验法舍去离异值<sup>[24]</sup>，得到酶解液中游离氨基酸含量。王全利等<sup>[25]</sup>研究发现，猪肉中总游离氨基酸和必需氨基酸含量远远高于肉汤。

对单酶、双酶和三酶制备香精滋味最优的酶解液中游离氨基酸含量进行测定，结果如表 3 所示。

表 3 制备排骨汤风味香精酶解液中游离氨基酸含量的对比结果

Table 3 Analysis of free amino acids in hydrolysate about the sparerib soup flavoring

滋味	名称	含量/(g/L)		
		ENZ7	$m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$	$m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$
鲜味	门冬氨酸	14.02±2.67 <sup>c</sup>	25.18±0.04 <sup>b</sup>	18.19±0.34 <sup>a</sup>
	谷氨酸	0.67±0.02 <sup>c</sup>	1.52±0.01 <sup>a</sup>	1.23±0.03 <sup>b</sup>
	总计	14.69±2.69	26.70±0.05	19.42±0.37
甜味	丝氨酸	0.37±0.01 <sup>c</sup>	1.06±0.01 <sup>a</sup>	0.92±0.02 <sup>b</sup>
	脯氨酸	0.88±0.18 <sup>c</sup>	0.85±0.25 <sup>b</sup>	0.20±0.17 <sup>a</sup>
	甘氨酸	0.45±0.02 <sup>c</sup>	7.65±0.19 <sup>a</sup>	4.95±0.56 <sup>b</sup>
	苏氨酸	11.62±0.15 <sup>a</sup>	2.76±0.01 <sup>b</sup>	2.44±0.02 <sup>b</sup>
	丙氨酸	1.29±0.05 <sup>a</sup>	3.12±0.03 <sup>b</sup>	1.97±0.08 <sup>c</sup>
	总计	14.61±0.41	15.44±0.49	10.48±0.85
	苦味	缬氨酸	0.38±0.01 <sup>c</sup>	1.00±0.01 <sup>a</sup>
甲硫氨酸		0.93±0.02 <sup>c</sup>	1.34±0.02 <sup>b</sup>	1.42±0.08 <sup>a</sup>
异亮氨酸		0.38±0.01 <sup>b</sup>	0.56±0.01 <sup>b</sup>	0.94±0.03 <sup>a</sup>
苯丙氨酸		1.69±0.03 <sup>c</sup>	3.99±0.14 <sup>b</sup>	5.22±0.40 <sup>a</sup>
赖氨酸		1.44±0.07 <sup>b</sup>	2.43±0.05 <sup>a</sup>	3.50±0.07 <sup>a</sup>
亮氨酸		0.33±0.01 <sup>c</sup>	0.13±0.02 <sup>b</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>
精氨酸		1.36±0.03 <sup>b</sup>	1.03±0.01 <sup>a</sup>	0.77±0.01 <sup>a</sup>
组氨酸		2.91±0.01 <sup>c</sup>	5.73±0.03 <sup>b</sup>	13.81±0.13 <sup>a</sup>
酪氨酸		0.55±0.01 <sup>a</sup>	1.03±0.01 <sup>b</sup>	2.77±0.04 <sup>a</sup>
总计		9.97±0.20	17.24±0.30	29.87±0.82
无味	胱氨酸	0.43±0.04 <sup>a</sup>	1.04±0.03 <sup>a</sup>	2.10±0.25 <sup>b</sup>
	汇总	39.69±0.74	60.41±1.33	61.87±2.32

注：不同的小写字母上标表示不同样品之间含量存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )

从表 3 中可看出，采用单酶水解猪肉释放的总游离氨基酸含量最低，为 39.69 g/L；采用三酶水解猪肉释放的总游离氨基酸含量最高，为 61.87 g/L，其中苦味氨基酸含量也最高，为 29.87 g/L；双酶复配产生鲜味氨基酸含量最多，为 26.70 g/L，且其苦味氨基酸含量较少。结合感官评价结果，制备排骨

汤风味香精的最优酶解方式为：加酶量为 0.2% (占肉质量)，其中  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$ ，在此条件下制备出的排骨汤风味香精比较接近排骨汤菜肴风味。

### 2.3 排骨汤风味香精感官评价和电子鼻数据 PCA 分析

目前已有学者采用感官评价与仪器分析数据相结合的方法对食物风味进行对比分析，Michishita 等<sup>[26]</sup>将浓缩咖啡的 GC-O 数据和电子鼻数据与感官评价相结合进行线性判别分析，建立一种客观评估浓缩咖啡香气的方法；TIAN 等<sup>[27]</sup>采用 GC-MS、电子鼻和感官评价对来自不同花源的蜂蜜香气特征进行分析，研究发现每种感官属性都与特定的气味活性化合物有关。

#### 2.3.1 蛋白酶种类对排骨汤风味香精的感官评价和电子鼻数据 PCA 分析

不同蛋白酶制备排骨汤风味香精的电子鼻和感官评价相关性如图 6 所示。由图 6 可知，ENZ1、ENZ2、ENZ6 分布在第一主成分的正半轴，ENZ7 分布在第一主成分的负半轴；ENZ3 分布在第二主成分的正半轴，ENZ4 和 ENZ5 位于第二主成分负半轴，且顺着第一主成分方向能够很好地区分 7 种不同蛋白酶制备的样品。80% 的电子鼻传感器信号都分布于第一主成分的正半轴，与异味这一感官指标呈正相关，与排骨汤特征风味、可接受度这 2 种感官指标呈负相关，与鲜味的相关性不强。ENZ7 制备的香精在 PCA 图上与排骨汤风味呈现较大相关性，结合感官评价结果，表明其更接近排骨汤特征风味。

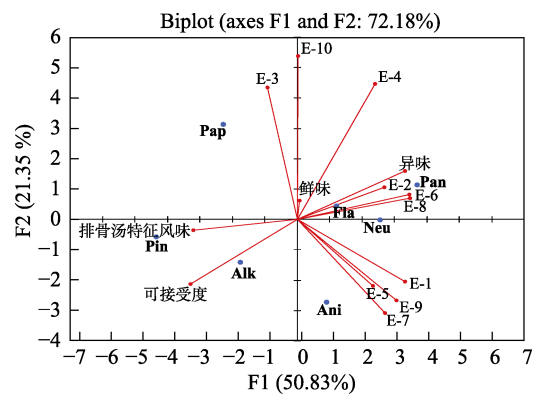


图 6 蛋白酶种类对排骨汤风味香精的电子鼻数据和感官评价相关性图

Fig. 6 Correlation analysis of sensory evaluation and electronic nose of the sparerib soup flavoring by different protease

#### 2.3.2 加酶量对排骨汤风味香精的感官评价和电子鼻数据 PCA 分析

不同加酶量制备排骨汤风味香精的电子鼻和感官评价相关性如图 7 所示。由图 7 可知，加酶量为

0.1%和 0.2%的样品分布在第一主成分的正半轴,加酶量为 0.4%和 0.5%对应的样品位于第一主成分的负半轴,加酶量为 0.3%的样品分布在第二主成分的正半轴,顺着第一主成分方向能很好地区分 5 种不同加酶量制备的样品。50%的电子鼻传感器信号都分布于第一主成分的正半轴,50%的电子鼻传感器信号都分布于第二主成分的正半轴,与异味呈负相关,与其他 3 种感官指标呈正相关。

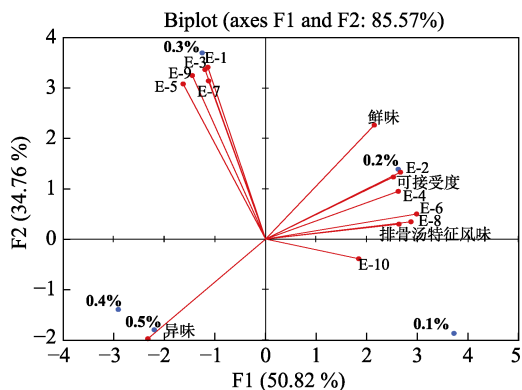
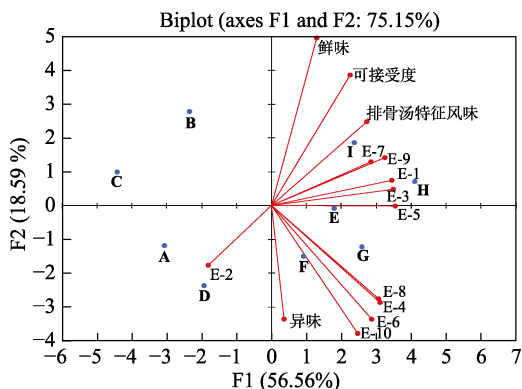


图 7 加酶量对排骨汤风味香精的电子鼻数据和感官评价相关性图

Fig. 7 Correlation analysis of sensory evaluation and electronic nose of the sparerib soup flavoring by different protease dosage

2.3.3 双酶复配比例对排骨汤风味香精的感官评价和电子鼻数据 PCA 分析

双酶复配制备排骨汤风味香精的电子鼻和感官评价相关性如图 8 所示。



- A:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 1$ ; B:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 2$ ;
- C:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 2 : 1$ ; D:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$ ;
- E:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ ; F:  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$ ;
- G:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$ ; H:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ ;
- I:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$

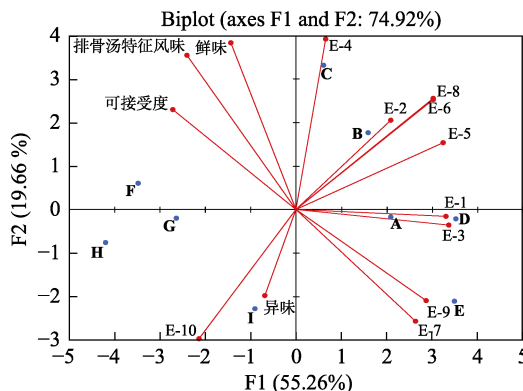
图 8 双酶复配比例对排骨汤风味香精的电子鼻数据和感官评价相关性图

Fig. 8 Correlation analysis of sensory evaluation and electronic nose of sparerib soup flavoring by two protease ratio

由图 8 可知,  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 1$ 、 $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 1 : 2$ 、 $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ3}) = 2 : 1$ 、 $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$  位于第一主成分的负半轴,  $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ 、 $m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$ 、 $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1$ 、 $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$ 、 $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$  位于第一主成分的正半轴,与排骨汤香精的 4 个感官指标呈正相关;且这 9 个样品分散于不同的 4 个象限。90%的电子鼻传感器信号都分布于第一主成分的正半轴,与感官指标呈正相关。 $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2$  和  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1$  制备的样品排骨汤特征风味和鲜味感官属性较强,因此感官评价得分较高。

2.3.4 三酶复配比例对排骨汤风味香精的感官评价和电子鼻数据 PCA 分析

三酶复配比例对排骨汤风味香精的电子鼻和感官评价相关性图如图 9 所示。由图 9 可知, ENZ3、ENZ4、ENZ7 复配质量比为 1 : 1 : 1、1 : 2 : 2、1 : 3 : 3、2 : 1 : 2、2 : 2 : 3 制备的样品位于第一主成分的正半轴,以 2 : 3 : 1、3 : 1 : 3、3 : 2 : 1、3 : 3 : 2 比例制备的样品位于第一主成分的负半轴;9 个不同复配比分散位于 4 个象限,说明香精样品之间有显著性差异。90%的电子鼻传感器信号都分布于第一主成分的正半轴,与 4 种感官指标呈负相关。 $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 3 : 1$  制备的样品其排骨汤特征风味、鲜味和可接受度这 3 个感官指标较为接近,与电子鼻信号值相关性不强。



- A:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 1 : 1$ ; B:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 2 : 2$ ; C:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 1 : 3 : 3$ ; D:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 1 : 2$ ;
- E:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 2 : 3$ ; F:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 2 : 3 : 1$ ; G:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 1 : 3$ ; H:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 2 : 1$ ;
- I:  $m(\text{ENZ3}) : m(\text{ENZ4}) : m(\text{ENZ7}) = 3 : 3 : 2$

图 9 三酶复配比例对排骨汤风味香精的电子鼻数据和感官评价相关性图

Fig. 9 Correlation analysis of sensory evaluation and electronic nose of sparerib soup flavoring by three protease ratio

### 3 结论

排骨汤风味香精较优的加酶方式为采用双酶复配, 加酶量为 0.2% (占肉质量), 其中,  $m$ (木瓜蛋白酶):  $m$ (菠萝蛋白酶)=2:1。对其酶解液进行游离氨基酸检测及分析, 结果发现鲜味氨基酸含量较高, 其中门冬氨酸含量最高。在此条件下可制备出滋味饱满的排骨汤风味香精。通过对电子鼻和感官评价进行 PCA 分析可知, 在两个主成分下能够很好地将各因素对应下的排骨汤风味香精区分开。本研究可为改善排骨汤香精风味及排骨汤类产品工业化生产提供理论依据。

### 参考文献:

- ZHANG Chen (张晨), YAN Pengwei (严鹏伟), YANG Shiqi (杨诗奇). Research progress on nutritional value and processing and utilization of pork[J]. China Food Safety Magazine (食品安全导刊), 2019, 13(12): 130.
- LÜ Zizhi (吕自治). The nutritional value of pork and its scientific consumption[J]. Meat Research (肉类研究), 2003, (2): 49-50.
- VLACHOS A, ARVANITIOYANNIS I S, TSERKEZOU P. An updated review of meat authenticity methods and applications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(7): 1061-1096.
- SUN Ying (孙颖), ZHANG Lili (张莉莉), ZHANG Yuyu (张玉玉), *et al.* Analysis of free amino acids in three kinds of enzymatic hydrolysates[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2018, 35(6): 1004-1008, 1014.
- KHAN M I, JO C, TARIQ M R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors-A systematic review[J]. Meat Science, 2015, 110: 278-284.
- LIU Shuping (刘树萍). Electronic nose and electronic tongue for flavor evaluation of pork chop soup[J]. Meat Research (肉类研究), 2018, (1): 58-63.
- LIU Dayu (刘达玉), XIAO Longquan (肖龙泉), LIU Haiqiang (刘海强), *et al.* Preparation and analysis volatile flavor compounds of fresh bone soup[J]. Food Science and Technology (食品科技), 2015, 41(7): 146-150.
- ZHAO Jing (赵静), DING Qi (丁奇), SUN Ying (孙颖), *et al.* Comparison of free amino acids and taste characteristics in different kinds of pig bone soup[J]. Food Research and Development (食品研究与开发), 2015, 36(18): 1-6.
- ZHANG Yuyu (张玉玉), SUN Ying (孙颖), ZHAO Jing (赵静), *et al.* Sequential orthogonal optimization of thermal reaction technology for pork ribs soup flavoring[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2016, 33(7): 803-810.
- QIAO Kaina (乔凯娜), WANG Linhan (王琳涵), KONG Yan (孔琰), *et al.* Difference of volatile flavor compounds of pork flavor under different pressure[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2018, 35(7): 1188-1195.
- QIAO Kaina (乔凯娜), WANG Linhan (王琳涵), KONG Yan (孔琰), *et al.* Difference analysis of volatile flavors of pork flavoring by two preparations[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2018, 40(19): 258-265, 320.
- XIE Anguo (谢安国), WANG Jinshui (王金水), QU Chenling (渠琛玲), *et al.* Application of electronic nose in food flavor substances analysis[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing [农产品加工(学刊)], 2011, (1): 71-73, 87.
- CHEN Xiaoting (陈晓婷), WU Jingna (吴靖娜), LU Haixia (路海霞), *et al.* Optimization of base seasoning preparation from decapentamer based on electronic nose and electronic tongue[J]. Food Science (食品科学), 2018, 39(4): 282-289.
- WANG Yufen (王玉芬), ZHOU Xiaoru (周晓茹), LIU Xiaochen (刘晓晨), *et al.* Application of electronic tongue on maillard reaction of chicken flavor[J]. Food Research and Development (食品研究与开发), 2016, 37(8): 220-224.
- Standardization Administration of the People's Republic of China (中国国家标准化管理委员会). GB/T 16291. 1—2012: Sensory analysis—General guidance for the selection, training and monitoring of assessors—Part 1: Selected assessors[S]. Beijing: Standards Press of China (中国标准出版社), 2012.
- ZHAO Lei (赵镭), ZHANG Lulu (张璐璐), SHI Bolin (史波林), *et al.* Establishment of self-calibration linear scale for sensory evaluation of the pungency intensity of dry zanthoxylum bungeanum[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2015, 15(10): 211-216.
- Standardization Administration of the People's Republic of China (中国国家标准化管理委员会). GB/T 12312—2012: Sensory analysis—Method of investigating sensitivity of taste[S]. Beijing: Standards Press of China (中国标准出版社), 2012.
- XIAO Junfei (肖隼菲), ZHANG Yuyu (张玉玉), SUN Baoguo (孙宝国), *et al.* Analysis of flavor components in 4 kinds of Suancai[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2019, 36(7): 1395-1400.
- DONG Jie (董捷), ZHANG Hongcheng (张红城), LI Chunyang (李春阳). Pilot study on determination of odor differences among bee propolis samples from different areas by electronic nose to identify the authenticity of propolis based on electronic nose[J]. Food Science (食品科学), 2008, 29(10): 468-470.
- CUI Xiaohong (崔晓红), MA Li (马力), LIU Ping (刘平). Preparation of pork flavor by thermal reaction and analysis of its volatile flavor compounds[J]. China Condiment (中国调味品), 2017, 42(1): 47-51, 56.
- MEZA-JIMÉNEZ M L, POKHREL P R, TORRE R, *et al.* Effect of pulsed electric fields on the activity of food-grade papain in a continuous system[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 109: 336-341.
- SEN C C, Temamogullari F, Yumusak N, *et al.* Bromelain prevented nickel-induced testicular toxicity via suppression of sperm DNA fragmentation and sperm quality alterations in rats[J]. Medycyna Weterynaryjna, 2019, 75(9): 558-563.
- DENG Nan (邓楠). Preparation of meat flavors by waste of seafood by hydrolysis with protease[D]. Qingdao: Ocean University of China(中国海洋大学), 2012.
- LI Yunyan (李云雁), HU Chuanrong (胡传荣). Experiment design and data processing[M]. Beijing: Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2008.
- WANG Quanli (王全利), HE Siyun (何四云), HE Xiyao (贺习耀), *et al.* Changes on free amino acids during cooking pork ribs soup[J]. Hubei Agricultural Sciences (湖北农业科学), 2014, 53(14): 3358-3360.
- MICHISHITA T, AKIYAMA M, HIRANO Y, *et al.* Gas chromatography/olfactometry and electronic nose analyses of retronasal aroma of espresso and correlation with sensory evaluation by an artificial neural network[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(9): 477-489.
- TIAN H X, SHEN Y B, YU H Y, *et al.* Aroma features of honey measured by sensory evaluation, gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose[J]. International Journal of Food Properties, 2016, 21(1): 1755-1768.