doi:10.12301/j.issn.2095-6002.2021.01.012 文章编号:2095-6002(2021)01-0104-13
引用格式:步营,何玮,胡显杰,等. 超高压对蓝蛤酶解液风味及其蛋白质结构的影响[J]. 食品科学技术学报,2021,39(1):104-116.
BU Ying, HE Wei, HU Xianjie, et al. Effects of ultra-high pressure on flavor and protein structure of enzymatic hydrolysates of *Aloididae aloidi*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021,39(1):104-116.

超高压对蓝蛤酶解液风味及其蛋白质结构的影响

步 营[1], 何 玮[1], 胡显杰[1,2], 朱文慧[1,*], 李学鹏[1,*],
刘 贺[1], 毕 蕾[3], 季广仁[4]

(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, 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. 抚顺独凤轩骨神生物技术股份有限公司, 辽宁 抚顺 113122;
4. 锦州笔架山食品有限公司, 辽宁 锦州 121007)

摘 要: 以蓝蛤为原料,研究了经超高压处理后蓝蛤酶解液中游离氨基酸、核苷酸和有机酸等含量的变化,同时分析了挥发性风味物质、蛋白质结构和外源添加酶活性的变化。结果表明:超高压处理对风味蛋白酶和复合风味蛋白酶有激活作用,且对风味蛋白酶激活作用更强;超高压处理蓝蛤酶解液中游离氨基酸、琥珀酸及味精当量高于常压处理的酶解液;超高压处理酶解液鲜味及整体滋味更好,主要挥发性物质种类和含量增加,不良风味物质种类和含量减少,改变了其挥发性物质的组成,从而达到增香的作用。超高压能破坏蛋白质结构,促进了呈味氨基酸的释放,改善了酶解液的风味,提高了蛋白质利用率。超高压处理是通过提高蛋白酶活性特别是风味蛋白酶活性,破坏蛋白质结构,从而增加了蛋白质水解度,促进了呈味氨基酸、核苷酸、有机酸等的释放,改善了酶解液的风味。

关键词: 蓝蛤; 超高压; 酶解; 风味; 蛋白质结构
中图分类号: TS254.4; TS251.1 **文献标志码:** A

我国是世界上最大的贝类养殖国,贝类养殖已经成为沿海海水养殖业的支柱之一。据统计,2018年我国海水养殖贝类总产量 1 463.51 万 t,占贝类总产量的 91.93%,其中,蛤类占海水养殖贝类总产量的 27.88%[1]。蓝蛤(*Aloididae aloidi*)是盛产于我国沿海的一种低值海洋贝类,隶属于软体动物门瓣鳃纲(Lamellibranchia)、海螂目(Myoida)、蓝蛤科(*Aloidiidae*),在我国南北方均有分布[2]。蓝蛤个体较小,食用价值不大,常被作为一种很好的对虾活饵料。蓝蛤肉营养丰富,粗蛋白含量较高,是制备海鲜调味料的优质原料[3]。

生物酶解技术反应温和、过程可控,通过该技术获得蛋白水解物,已经成为开发海鲜调味料的关键技术。普通酶解法存在着酶解时间较长、效率低、酶解液苦腥味重且鲜味不足等问题,Cheret 等[4]研究发现,超高压处理对海鲈鱼中的钙蛋白酶活性存在双重作用。Giannoglou 等[5]研究发现,超高压处理(100~450 MPa,20~40 ℃)能够改变酶活性,影响

收稿日期: 2020-02-08
基金项目:"十三五"国家重点研发计划项目(2016YFD0400705);辽宁兴辽英才项目(XLYC1807133)。
第一作者: 步 营,男,工程师,硕士,主要从事水产品加工及贮藏方面的研究。
*通信作者: 朱文慧,女,副教授,博士,主要从事水产品加工及贮藏方面的研究;
李学鹏,男,教授,博士,主要从事水产品加工及贮藏方面的研究。

蛋白酶的二、三级结构。这些研究说明：高压处理对蛋白质水解的影响与处理压力和酶二者都存在着关联，高压处理后的酶解产物在产物的种类与数量上都和常压酶解条件下的不同[6]。所以利用超高压技术处理改良酶解产物，可以实现有目标的定性改良产品风味的目的。但目前关于超高压酶解如何影响酶解液风味、蛋白质结构和外源蛋白酶酶活的相关研究鲜有报道。

鉴于此，通过研究超高压处理对蓝蛤酶解液风味和蛋白质结构的影响，分析超高压处理与蓝蛤酶解液风味物质、蛋白质结构之间的内在关联，研究结果希望能为高品质海鲜调味料的生产提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

蓝蛤（鲜活），锦州市林西水产市场；风味蛋白酶（500MG）、复合风味蛋白酶（11039），均为食品级，北京市诺维信投资有限公司；0.05 mol/L 氢氧化钠、标准滴定溶液，天津市光复精细化工研究所；柠檬酸（分析纯），福晨（天津）化学试剂有限公司；乳酸（分析纯）、L-苹果酸（分析纯），阿拉丁试剂（上海）有限公司；丁二酸（分析纯）、十二烷基磺酸钠（SDS）（分析纯），北京索莱宝科技有限公司。

1.2　仪器与设备

HPP. L 2-600/0.6 型超高压设备，天津华泰森淼公司；HH-4 型数显恒温水浴锅，常州国华电器有限公司；Biofuge stratos 型台式冷冻高速离心机，美国 Thermo Fisher 公司；Kjeltec 8400 型全自动定氮仪，瑞典 Foss 公司；SA 402B 型电子舌，日本 Insent 公司；7890N-5975C 型气相色谱-质谱联用仪、1100 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 公司；固相微萃取装置、固相微萃取手柄、20 mL 顶空样品瓶，美国 Supelco 公司；970CRT 型荧光分光光度计，上海精密科学仪器有限公司；S-4800 型场发射扫描电镜，日本日立公司；UV-2550 型紫外可见光分光光度计，岛津仪器（苏州）有限公司；IRTRACE-100 型傅里叶变换红外光谱仪，日本岛津公司。

1.3　实验方法

1.3.1　样品制备

1.3.1.1　酶解液的制备

不同压力处理酶解液的制备：取一定量的蓝蛤肉，按质量比 1∶1加水，用 0.2 mol/L NaOH 溶液调 pH 值至 7.0，按蓝蛤肉质量的 0.2% 添加复合蛋白酶和风味蛋白酶（质量比 1∶1），分别在 150、200、250、300 MPa 的压力下给压 60 min（分别以 UP150、UP200、UP250、UP300 表示），然后 50 ℃水浴加热，酶解 4 h 后 100 ℃灭酶 10 min，冷却过滤，离心（8 178 r/min，20 min）取上清液，-40 ℃冷冻，备用。

常压处理酶解液的制备：原料不经过超高压处理，其他同上。

1.3.1.2　蓝蛤蛋白的提取

将蓝蛤肉（常压处理、超高压处理）搅碎，加入 2 倍体积的 20 mmol/L 的 Tris-HCl（pH 值 7.2），高速均质 1 次（5 500 r/min，90 s），在 5 000 r/min 条件下离心 15 min。取上清液按高速均质离心过程反复 2 次，在最后一次沉淀中加入 2 倍体积 20 mmol/L Tris-HCl-NaCl 缓冲液（含 0.6 mol/L NaCl，pH 值 7.2），高速（5 500 r/min）均质 30 s 之后，5 000 r/min 离心 15 min，取上清液置于 -80 ℃冰箱冷冻备用（整个提取过程在 0～4 ℃条件下进行）[7]。

1.3.2　酶处理及酶活的测定

1）酶液的配置：参照曹辉[8]和 Hernández-Ledesma 等[9]的方法并改进，准确称取复合蛋白酶和风味蛋白酶各 0.50 g，用磷酸缓冲溶液（pH 值 7.0）溶解，然后定容至 100 mL（0～4 ℃下进行），装入高压蒸煮袋中，密封，冷藏备用。

2）超高压处理：压力分别为 150、200、250、300 MPa，给压时间为 60 min；水相保压，内腔温度保持在 0～4 ℃（冰水混合物）。

3）酶液的制备：将处理好的酶液，在 50～55 ℃的温度下加热 30 min，过滤，冷藏待测，以不经超高压处理的样品为对照组。

4）酶活测定：参考肖丽[10]方法进行。

1.3.3　游离氨基酸的测定

参考 GB 5009.124—2016《食品中氨基酸的测定》[11]。对游离氨基酸的味道强度值（TAV）[12]进行计算，见式（1）。

$$TAV = C/T \quad。\qquad (1)$$

式（1）中，C，滋味物质的绝对质量分数值，mg/100g；T，滋味物质的味道阈值，mg/100g。

1.3.4　核苷酸的测定

色谱条件[13]：C18 柱（5 μm，4.6 mm × 250 mm）；流动相 0.05 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇溶液（pH 值 4.5），临用前超声脱气；流速 0.8 mL/min；进样量 20 μL；紫外检测器波长 254 nm；时间 20 min。

洗脱程序：0 ~ 7 min，体积分数 100% 甲醇；7 ~ 10 min，体积分数 100% 甲醇；10 ~ 17 min，体积分数 85% 甲醇–体积分数 25% 磷酸二氢钾；17 ~ 20 min，体积分数 100% 甲醇。

标准曲线的绘制：取腺嘌呤核糖核苷酸（AMP）、5′-肌苷酸（IMP）各 0.01 g，用超纯水溶解，定容到100 mL，得到质量浓度为 100 μg/mL 的标准使用液。取标准使用液 1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 mL，加入超纯水定容至 10 mL，混匀，配制质量浓度梯度分别为 10、20、40、60、80、100 μg/mL 的标准液。进样20 μL，于 254 nm 处测量峰高和峰面积，每个质量浓度重复进样 3 次，取平均值。以质量浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

样品处理：称取 5 g 蓝蛤酶解液加入 15 mL 质量分数为 5% 的高氯酸，匀浆后于 4 ℃、8 674 r/min 离心 10 min，取上清液。沉淀中加入 10 mL 质量分数为 5% 的高氯酸，相同条件匀浆离心。合并 2 次上清液，用 5 mol/L KOH 调 pH 值至 6.75，超纯水定容至 50 mL，吸取 1 mL 样品稀释液，0.22 μm 滤膜过滤。

1.3.5 鲜味评价方法

味精当量（EUC）[14]的计算见式(2)。

$$w(\mathrm{EUC}) = \sum w(\mathrm{ai})\mathrm{bi} + 1\,218\left[\sum w(\mathrm{ai})\mathrm{bi}\right]\left[\sum w(\mathrm{aj})\mathrm{bj}\right]。\quad(2)$$

式(2)中，w(EUC)，味精当量，g/100g；w(ai)，鲜味氨基酸（Asp、Glu）的质量分数，g/100g；bi，鲜味氨基酸相对于味精的相对鲜度系数（Glu 为 1.000，Asp 为 0.077）；w(aj)，呈味核苷酸（IMP、AMP）的质量分数，g/100g；bj 呈味核苷酸相对于 IMP 的相对鲜度系数（IMP 为 1.00，AMP 为 0.18）；1 218，协同作用系数。

1.3.6 有机酸的测定

色谱条件[15]：C18 柱（5 μm，4.6 mm × 250 mm）；流动相为 0.01 mol/L 磷酸二氢钾水溶液（pH 值 2.8）、甲醇（体积比 95∶5），临用前超声波脱气；流速 0.5 mL/min；进样量 10 μL；紫外检测器波长205 nm；时间 15 min。

标准曲线的绘制：取琥珀酸、苹果酸、柠檬酸、乳酸各 0.01 g，溶于超纯水，定容到 100 mL。取标准使用液 0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 mL，加入超纯水定容至 10 mL，混匀。进样 10 μL，于 205 nm 处测量峰高和峰面积，每个质量浓度重复进样 3 次，取平均值。以有机酸质量浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

样品处理：取 5 g 样品加入 0.25 mL 质量分数 5% 高氯酸，混匀静置 20 min，9 143 r/min 冷冻离心 10 min，吸取 1 mL 上清液，用 0.45 μm 滤膜过滤。

1.3.7 电子舌测定

参照吴浩等[16]方法并改进。将蓝蛤酶解液按体积比稀释 10 倍，0.45、0.22 μm 的滤膜过滤，取 80 mL 样液置于电子舌测试杯中，对苦、鲜及其回味进行测定。以参比液（30 mmol/L KCl 和 0.3 mmol/L 酒石酸）为空白对照。

1.3.8 GC–MS 测定

样品萃取[17]：取 5 mL 样液，装入固相微萃取小瓶，加入转子，密封，50 ℃ 水浴平衡 10 min，插入固相微萃取针头，推动手柄，纤维头为顶空状态，吸附 30 min，进样。

色谱条件：Agilent 7890N 型气相色谱仪，HP–5MS 毛细管柱（30 m × 0.25 mm × 0.25 μm）；进样口温度为 250 ℃；载气为氦气，流速 1.5 mL/min；不分流模式进样；升温程序为起始温度 40 ℃，保持 4 min，以 5 ℃/min 的速率上升至 90 ℃，保持 5 min，再以升温速率 5 ℃/min 上升至 230 ℃，保持 3 min。

质谱条件：电离方式为电子轰击（EI 源），电子能量 70 eV；色谱–质谱接口温度 280 ℃，离子源温度 230 ℃，四极杆温度 150 ℃；质量扫描范围 m/z 30 ~ 550 u。

1.3.9 蓝蛤蛋白 SDS–PAGE 测定

参考秦军委等[18]的方法改进后进行 SDS–PAGE 分析。

1.3.10 蓝蛤蛋白内源荧光测定

用 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液（含 0.6 mol/L NaCl，pH 值 7.2）将样品质量浓度调整到 0.25 mg/mL，采用荧光分光光度计测定荧光强度。测定条件：激发波长 295 nm，狭缝均为 5 nm，扫描速度 1 000 nm/min，扫描范围 250 ~ 350 nm，灵敏度为 2，以缓冲溶液为空白对照。

1.3.11 蓝蛤蛋白紫外光谱测定

用 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液（含 0.6 mol/L NaCl，pH 值 7.2）将样品质量浓度调整到 0.1 mg/mL，采用紫外可见光分光光度计测定光谱。测定条件：扫描范围 200 ~ 340 nm，以缓冲溶液为空白对照[19]。

1.3.12　蓝蛤蛋白傅里叶变换红外光谱测定

取适量样品(冻干粉末)与 100 mg KBr(质量比 1∶100)混合,研磨,压片。使用傅里叶变换红外光谱仪在 4 000 ~ 400 cm^{-1}进行检测,分辨率 4 cm^{-1},室温 20 ℃,累计扫描 10 次,记录数据[19]。

1.3.13　蓝蛤蛋白扫描电镜观察

取适量蓝蛤蛋白粉粘贴在样品铜台(铜台事先贴好 5 mm × 3 mm × 1 mm 电镀胶),离子溅射仪镀膜喷金,电镜观察。测试条件为加速电压 10 kV,能量分辨率 Mn Kα 132 eV[20]。

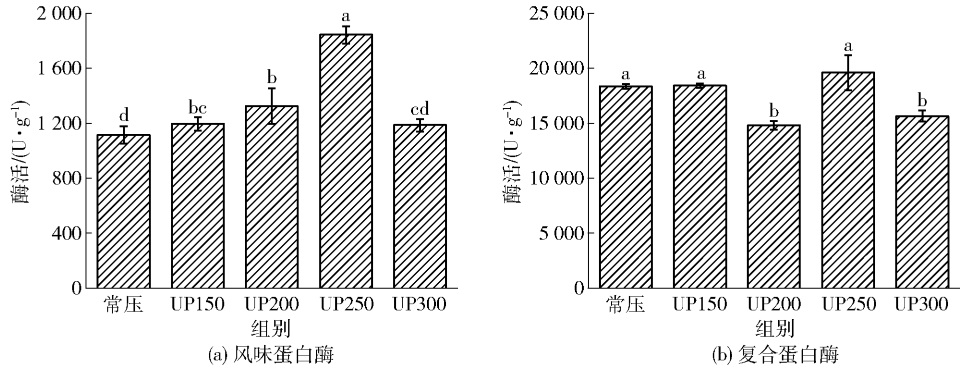
1.4　数据处理

每个处理进行 3 次重复,采用软件 SPSS 19.0 进行 ANOVA 分析和正交试验数据分析,$P < 0.05$ 为差异显著,采用 Origin 9.1 软件绘图。

2　结果与分析

2.1　不同超高压处理对酶活的影响

图 1 表示不同压力处理后风味蛋白酶和复合蛋白酶酶活的变化。风味蛋白酶在压力 250 MPa (60 min)的条件下酶活最高,其酶活力为 1 843.95 U/g,比常压增大了 728.66 U/g,是常压的 1.65 倍,结果差异显著;复合蛋白酶在压力 250 MPa(60 min)条件下酶活虽然与常压相比差异不显著,但其酶活力却为最高(19 615.59 U/g),是常压的 1.07 倍,说明超高压处理能改变风味蛋白酶和复合蛋白酶酶活。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 1　不同压力处理对风味蛋白酶和复合蛋白酶酶活的影响

Fig. 1　Effects of different pressure treatments on activities of flavor protease and compound proteinase

由图 1 可知,随着压力的增大,风味蛋白酶酶活呈先上升后下降的趋势,尤其在 300 MPa 时,其活性迅速下降,低于常压酶活。进一步证明:在一定的压力范围内可以激活酶的活性,但是高于一定的压力又会抑制酶的活性。施加压力,风味蛋白酶三级结构可能被改变,酶活性中心暴露,其物化特性和化学反应速度被激活或抑制[21]。

综合来看,在 250 MPa、60 min 的条件下可提高复合蛋白酶和风味蛋白酶的酶活。较之复合蛋白酶,超高压对风味蛋白酶的酶活激活作用更强(差异显著),这也可能会改善酶解液的风味。

2.2　不同超高压处理对游离氨基酸的影响

表 1 是不同压力处理条件下酶解液的游离氨基酸组成及质量分数。由表 1 可知,超高压处理后的酶解液中游离氨基酸质量分数都要高于常压处理组,且绝大多数游离氨基酸质量分数在 200 MPa(60 min)时有最大值。对比常压酶解液和不同超高压处理的酶解液可知,不同压力处理组总游离氨基酸(TAA)质量分数和必需氨基酸(EAA)质量分数均大于常压酶解液,而 EAA/TAA 几乎无变化。这说明超高压处理可以提高酶解液中氨基酸质量分数,而不改变其比例。

结合 TAV 值可知,当 TAV > 1 时,表示该物质对样品的呈味起主要贡献,且数值越大,影响越显著[22]。各处理组除 Gly、Ser、Thr、Pro 和 Leu 外,其他游离氨基酸 TAV 均大于 1,其中鲜味氨基酸(Glu、Ala)TAV 均大于 6;因此,Glu 和 Ala 对酶解液的呈味有重要影响,且影响显著[23]。苦味氨基酸(Lys、Met、Val、Ile、Leu、His、Phe)TAV 均小于 4。Ala 的 TAV 大于 6,是甜味氨基酸中 TAV 值最大的,Ala 作为提鲜的协同游离氨基酸,也有重要贡献。根据测定结果,可以推测超高压处理可能使酶切位点暴露,增加水解度,从而提高酶解液中的游离氨基酸质量分数,改善酶解液的风味。

表 1 不同压力处理对蓝蛤酶解液游离氨基酸质量分数的影响

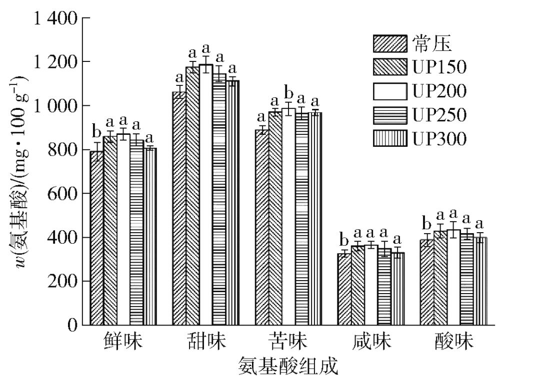
Tab. 1 Effects of different pressure treatments on free amino acid mass fraction of *Aloididae aloidi* hydrolysates

mg/100 g

种类	呈味阈值[24]/(mg·100 mL^{-1})	常压		UP150		UP200		UP250		UP300	
		w	TAV	w	TAV	w	TAV	w	TAV	w	TAV
Glu	30	226 ± 11^{b}	7.53	247 ± 13^{a}	8.23	249 ± 12^{a}	8.30	246 ± 11^{a}	8.20	229 ± 9^{b}	7.63
Asp	100	104 ± 6^{b}	1.04	117 ± 6^{a}	1.17	120 ± 5^{a}	1.20	121 ± 6^{a}	1.21	108 ± 5^{b}	1.08
Gly	130	96 ± 2^{b}	0.74	108 ± 5^{a}	0.83	110 ± 6^{a}	0.85	108 ± 5^{a}	0.83	98 ± 7^{ab}	0.75
Ala	60	367 ± 19^{b}	6.12	390 ± 23^{a}	6.50	394 ± 25^{a}	6.57	385 ± 28^{a}	6.42	374 ± 23^{b}	6.23
Ser	150	118 ± 2^{b}	0.79	133 ± 7^{a}	0.89	135 ± 4^{a}	0.90	133 ± 5^{a}	0.89	126 ± 3^{b}	0.84
Thr*	260	202 ± 10^{b}	0.78	220 ± 11^{a}	0.85	224 ± 13^{a}	0.86	219 ± 7^{a}	0.84	212 ± 12^{ab}	0.82
Pro	300	110 ± 8^{b}	0.37	139 ± 6^{a}	0.46	138 ± 8^{a}	0.46	130 ± 7^{ab}	0.43	120 ± 9^{b}	0.40
Lys*	50	173 ± 7^{b}	3.46	192 ± 8^{a}	3.84	194 ± 10^{a}	3.88	190 ± 5^{a}	3.80	182 ± 12^{ab}	3.64
Met*	30	71 ± 4^{a}	2.37	78 ± 5^{a}	2.60	76 ± 5^{a}	2.53	79 ± 6^{a}	2.63	79 ± 3^{a}	2.63
Val*	40	124 ± 4^{b}	3.10	134 ± 8^{a}	3.35	134 ± 7^{a}	3.35	133 ± 8^{a}	3.33	136 ± 5^{a}	3.40
Arg	50	170 ± 10^{b}	3.40	186 ± 9^{a}	3.72	186 ± 7^{a}	3.72	181 ± 9^{a}	3.62	182 ± 11^{a}	3.64
Ile*	90	110 ± 6^{b}	1.22	123 ± 5^{a}	1.37	122 ± 4^{a}	1.36	120 ± 6^{a}	1.33	124 ± 5^{a}	1.38
Leu*	190	181 ± 9^{b}	0.95	200 ± 11^{a}	1.05	195 ± 12^{a}	1.03	192 ± 12^{a}	1.01	200 ± 10^{a}	1.05
Try	ND	70 ± 3^{bc}		69 ± 4^{bc}		90 ± 5^{a}		66 ± 2^{c}		74 ± 7^{b}	
His	20	63 ± 4^{a}	3.15	69 ± 4^{a}	3.45	69 ± 6^{a}	3.45	69 ± 7^{a}	3.45	66 ± 4^{a}	3.30
Phe*	90	100 ± 6^{a}	1.11	107 ± 5^{a}	1.19	108 ± 5^{a}	1.20	103 ± 6^{a}	1.14	110 ± 3^{a}	1.22
EAA		961		1054		1053		1036		1043	
TAA		2290		2512		2544		2475		2420	
EAA/TAA		0.42		0.42		0.41		0.42		0.43	

ND:未检出或低于检测限;$n = 3$;* 为必需氨基酸。同行不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

氨基酸通常呈现鲜味、甜味、苦味和硫味等不同滋味。图 2 表示不同压力处理对蓝蛤酶解液中 5 类呈味氨基酸质量分数的影响。从图 2 可以看出,鲜味、甜味、苦味、咸味、酸味氨基酸质量分数均呈先上升后下降的趋势,在 200 MPa(60 min)出现峰值,分别为 873、1 187、988、369、438 mg/100 g,占总游离氨基酸质量分数的 34.32%、46.66%、38.84%、14.50%、17.22%。其中鲜味、甜味、苦味氨基酸质量分数较高,咸味、酸味氨基酸质量分数较低,且超高压处理组的 5 类呈味氨基酸质量分数均高于常压处理组。由此推断,相较于常压酶解,超高压处理对酶解液滋味成分的贡献较大,可改善酶解液滋味。



鲜味氨基酸:Glu、Asp、Gly、Ala;甜味氨基酸:Gly、Ala、Ser、Thr、Pro、Arg;苦味氨基酸:Lys、Met、Val、Ile、Leu、Try、His、Phe;咸味氨基酸:Glu、Asp;酸味氨基酸:Glu、Asp、His。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 2 不同压力处理蓝蛤酶解液中游离氨基酸的质量分数变化

Fig. 2 Changes of mass fraction of free amino acids in *Aloididae aloidi* hydrolysates treated with different pressures

2.3 不同超高压处理对核苷酸质量分数的影响

表 2 是不同压力处理下酶解液中 IMP 和 AMP 的质量分数。IMP 一般与其他物质起协同增鲜、增香的作用[25]。由表 2 可知,5 种酶解液中 IMP 质量分数在 250 MPa 最高,为 176.30 μg/100 g,说明超高

压处理可以改善酶解液风味。对比超高压处理组和常压处理组，随着压力的增加，IMP 质量分数呈先下降后上升的趋势；UP250 和 UP300 组 IMP 质量分数远高于常压处理组，差异显著（$P<0.05$）。

表 2　不同压力处理对蓝蛤酶解液核苷酸质量分数的影响

Tab. 2　Effects of different pressure treatments on nucleotides mass fraction of *Aloididae aloidi* hydrolysates

组别	IMP/(μg·100g^{-1})	TAV	AMP/(mg·100g^{-1})	TAV
常压	92.60 ± 1.90^{c}	3.70×10^{-3}	2.88 ± 0.03^{c}	0.06
UP150	89.70 ± 1.00^{c}	3.50×10^{-3}	2.58 ± 0.00^{d}	0.05
UP200	87.70 ± 4.50^{c}	3.50×10^{-3}	3.38 ± 0.01^{b}	0.07
UP250	176.30 ± 3.70^{a}	7.00×10^{-3}	4.03 ± 0.00^{a}	0.08
UP300	174.30 ± 4.00^{b}	6.90×10^{-3}	2.48 ± 0.02^{e}	0.05

同列不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

酶解液中 AMP 质量分数高于 IMP，各处理组差异显著（$P<0.05$）。其中 250 MPa 时质量分数最高，为 4.03 mg/100 g。在 300 MPa 时 AMP 质量分数最小，且小于常压，为 2.48 mg/100 g。这可能是高压抑制酶活，蛋白质结构被严重破坏导致。

2.4　不同超高压处理对 EUC 的影响

呈味氨基酸与呈味核苷酸可产生协同效应，显著提高食品的鲜味，为了更加全面地评价蓝蛤酶解液的鲜味，可采用 EUC 评价鲜味强度[26]。常压、UP150、UP200、UP250、UP300 组的 EUC 值大小分别为 0.41、0.43、0.47、0.53、0.44 g/100 g。味精呈味阈值为 0.03 g/100 g，各组酶解液 EUC 值均高于味精呈味阈值，且超高压处理组大于常压组。因此，可利用超高压酶解工艺提取蓝蛤中的呈味物质，为后期生产味精替代品提供了一定的理论支撑。

2.5　不同超高压处理对有机酸质量浓度的影响

表 3 表示不同压力处理对蓝蛤酶解液中有机酸质量浓度的影响，差异显著（$P<0.05$）。从表 3 可以看出，与常压组相比，乳酸质量浓度随着压力的增大而减少，在 150 MPa 出现最大值（3.75 mg/mL）；琥珀酸质量浓度随着压力的增大而增加，在 300 MPa 出现最大值（8.77 mg/mL），即施加不同压力，乳酸质量浓度减少，琥珀酸质量浓度增加。结合 TAV 值可得，乳酸和琥珀酸 TAV 值均大于 1，说明有机酸单独存在时，在酶解液中呈味贡献大，尤其是琥珀酸。琥珀酸及其钠盐（如琥珀酸二钠，又称干贝素），是海产品中重要的呈鲜物质。琥珀酸二钠是被批准的唯一的有机酸类增味剂，已被广泛使用[27]。结合游离氨基酸和核苷酸结果可得，蓝蛤酶解呈味物质为有机酸和游离氨基酸，其中琥珀酸 TAV 值远大于游离氨基酸和核苷酸，说明在贝类酶解液中琥珀酸为主要呈味物质。有研究表明：低质量浓度的琥珀酸对谷氨酸钠有相乘作用，并且可以提高产品喜好度[28]，本研究酶解液中谷氨酸和琥珀酸相互作用，可以提高酸解液的鲜味值并提高产品喜好度。超高压酶解可能是通过增加酶解液中的琥珀酸含量来提高酶解液的鲜味值。

表 3　不同压力处理对蓝蛤酶解液有机酸质量浓度的影响

Tab. 3　Effects of different pressure treatments on mass concentration of organic acids in *Aloididae aloidi* hydrolysates

组别	ρ(乳酸)/(mg·mL^{-1})	TAV	ρ(琥珀酸)/(mg·mL^{-1})	TAV
常压	3.33 ± 0.05^{b}	2.64	7.33 ± 0.03^{e}	69.11
UP150	3.75 ± 0.03^{a}	2.97	7.77 ± 0.07^{d}	73.26
UP200	3.25 ± 0.04^{c}	2.58	8.13 ± 0.03^{c}	76.69
UP250	2.97 ± 0.03^{e}	2.35	8.25 ± 0.05^{b}	77.80
UP300	2.60 ± 0.02^{d}	2.06	8.77 ± 0.03^{a}	82.77

同列不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

2.6　电子舌结果分析

电子舌通过模拟人的味觉识别系统，可以在量化感官数据的基础上评价体系的一致性，更能具体地反映蓝蛤酶解液的滋味轮廓。图 3 表示不同压力对蓝蛤酶解液电子舌鲜味值影响的雷达图。从图 3 可以看出，超高压处理组的鲜味值要大于常压组，且随着压力的增大，电子舌鲜味值呈先上升后下降的趋势，且在 250 MPa（60 min）时出现最大值，为 13.64，进一步证明超高压对改善水产品酶解液风味有显著效果。

表 4 表示 UP250 超高压处理组与常压处理组的蓝蛤酶解液苦味、鲜味及其回味值差异。从表 4 可以看出，经过超高压处理后，酶解液苦味及其回味

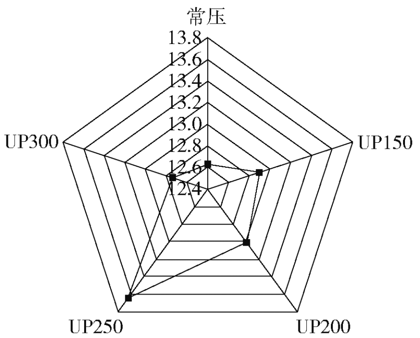


图 3 不同压力处理蓝蛤酶解液的鲜味雷达图

Fig. 3 Radar diagram of umami values of *Aloididae aloidi* hydrolysates treated with different pressures

表 4 苦味、鲜味及其回味结果

Tab. 4 Results of bitter, fresh and aftertaste

组别	苦味	苦味回味	鲜味	鲜味回味
常压	17.01 ±0.00	5.08 ±0.00	12.63 ±0.00	2.42 ±0.00
UP250	12.50 ±0.22	0.90 ±0.30	13.64 ±0.04	2.60 ±0.13

降低,鲜味及其回味增加,进一步证明超高压对改善水产品酶解液风味有显著效果。

2.7 GC-MS 结果分析

不同压力处理组和常压组的挥发性成分及相对含量如表 5。由表 5 可知,鉴定出 48 种挥发性物质,分别是醇类、醛类、酮类、酯类、酚类、芳烃类、烷烃类和其他类。其中常压处理组检测出 35 种挥发性化合物,UP150 组有 35 种,UP200 组有 28 种,UP250 组有 30 种,UP300 组有 31 种。

由表 5 可以看出,超高压处理后,芳烃类化合物的种类和相对含量明显增加,其中在超高压处理组检测到具有芳香气味的苯乙烯。醛类阈值较低,具有清香、果香和坚果香等特征风味,是食品中重要的挥发性成分[29]。醛类物质在超高压处理前后数量减少,其中有恶臭的 3-甲硫基丙醛变成了癸醛,苯甲醛含量减少,说明超高压处理使得酶解液风味得到改善。醛是脂肪热降解的产物,醛类物质种类与含量的减少可能是由于醛属于不稳定的中间体化合物,在施加不同压力时,蓝蛤肉和酶的结构被破坏及分子内部化学环境改变导致的。酮类作为另一种重要的呈味物质,具有水果、草、油和花的香味,在水解产物也起着重要作用,主要是脂肪酸的自动氧化或由 Strecker 反应产生的氨基酸降解形成的[30],适量的酮类贡献甜的花香和果香风味,而过量的酮类则会产生不良气味。

表 5 不同压力处理蓝蛤酶解液 GC-MS 结果分析

Tab. 5 Analysis of GC-MS results of *Aloididae aloidi* hydrolysates treated with different pressures

物质种类	t(保留)/min	化合物	相对含量/%				
			常压	UP150	UP200	UP250	UP300
醇类	5.40	戊醇	ND	0.80	ND	0.74	0.80
	14.00	2-乙基己醇	0.56	0.77	0.89	1.01	0.53
	16.68	芳樟醇	ND	ND	0.43	ND	0.35
	34.51	9-十八烯-1-醇	ND	ND	ND	ND	0.44
合计			0.56	1.57	1.32	1.75	2.12
醛类	3.55	戊醛	0.32	0.68	0.24	0.44	0.48
	4.30	反-2-戊烯醛	0.31	0.57	0.35	ND	0.52
	6.23	正己醛	0.71	1.11	0.65	0.75	0.78
	9.65	庚醛	1.19	1.37	0.66	1.18	1.35
	9.89	3-甲硫基丙醛	0.71	1.28	0.60	0.73	0.38
	11.72	苯甲醛	1.73	1.58	1.26	1.15	0.73
	13.08	正辛醛	3.81	4.08	2.67	4.03	4.06
	14.56	苯乙醛	1.53	1.37	1.25	1.19	1.56
	14.96	反-2-辛烯醛	1.83	1.93	1.20	1.59	2.23
	16.83	壬醛	4.24	3.83	2.67	4.75	3.33
	22.02	癸醛	2.21	1.42	1.30	3.79	1.19
	24.35	反-2-癸烯醛	1.71	1.59	0.81	1.56	1.88
	29.20	十二醛	3.47	4.74	ND	ND	ND
	36.78	肉豆蔻醇	1.52	ND	ND	ND	ND
合计			25.29	25.55	13.66	21.16	18.49

续表 5

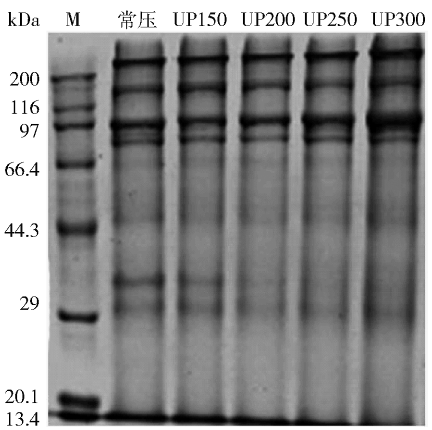
物质种类	t(保留)/min	化合物	相对含量/%				
			常压	UP150	UP200	UP250	UP300
芳烃类	5.22	甲苯	0.81	0.80	0.57	0.42	0.53
	8.50	对二甲苯	0.09	0.14	ND	0.13	ND
	9.29	苯乙烯	ND	0.76	0.11	0.84	0.65
	11.91	1,2,3-三甲苯	0.53	1.10	ND	0.61	1.37
	13.68	1,2,4-三甲苯	ND	0.61	0.21	ND	ND
	13.70	苯	ND	ND	0.68	1.18	ND
	20.91	萘	0.04	0.05	ND	0.22	ND
合计			1.47	3.46	1.57	3.40	2.55
酚类	25.88	香芹酚	ND	ND	ND	1.71	ND
	25.90	百里酚	3.27	1.05	3.00	4.09	2.14
	25.99	4-叔丁基苯酚	ND	2.18	ND	ND	ND
	32.19	2,4-二叔丁基苯酚	0.97	ND	ND	ND	0.83
合计			4.24	3.23	3.00	5.80	2.97
酮类	10.94	4-甲基-2-庚酮	0.14	0.19	ND	0.33	0.19
	11.49	6-甲基-2-庚酮	0.08	0.17	0.13	ND	ND
	11.92	苯乙酮	1.15	ND	1.46	ND	ND
	12.47	2,3-辛二酮	0.81	ND	ND	ND	ND
	16.30	2-壬酮	0.67	0.73	0.66	0.89	0.91
	25.53	甲基壬基甲酮	ND	0.69	ND	1.26	0.97
合计			2.85	1.78	2.25	2.48	2.07
酯类	3.98	乙酸乙酯	0.68	ND	ND	ND	ND
	6.74	乙酸丁酯	2.25	2.28	0.71	1.73	2.05
	30.64	酞酸二甲酯	0.41	1.00	0.56	0.91	0.36
	39.18	邻苯二甲酸二戊酯	ND	ND	ND	0.11	ND
合计			3.34	3.28	1.27	2.75	2.41
烷烃类	21.68	十二烷	0.34	0.74	0.22	0.96	ND
	25.68	十三烷	0.73	0.90	0.96	1.04	ND
	28.88	十四烷	0.26	0.43	ND	ND	ND
	40.57	正十九烷	0.27	ND	ND	ND	ND
合计			1.60	2.07	1.18	2.00	0.00
其他	9.05	三溴甲烷	0.05	0.10	0.09	ND	0.04
	13.46	2,5-二甲基苯胺	ND	ND	ND	ND	0.53
	13.88	双戊烯	ND	0.65	ND	ND	0.40
	25.39	茴香烯	0.99	0.78	1.11	1.92	0.55
	26.33	吲哚	ND	ND	ND	ND	0.12
合计			1.04	1.53	1.20	1.92	1.64

ND 表示未检出。

2.8　超高压处理蓝蛤蛋白 SDS-PAGE 分析

图 4 为不同压力处理蓝蛤肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 分析。200、100、50、43、35～38、32、18 kDa 分别为重链肌球蛋白、副肌球蛋白、肌间线蛋白、肌动

蛋白、原肌球蛋白、肌钙蛋白和轻链肌球蛋白[31]。蓝蛤蛋白主要由重链肌球蛋白、副肌球蛋白和肌钙蛋白组成。随着压力的增大,重链肌球蛋白、副肌球蛋白条带在 300 MPa 时变粗;肌钙蛋白条带变浅,并消失。这是因为大分子蛋白质不能进入分离胶,经高压长时间处理,内源酶被激活,蓝蛤蛋白三、四级结构逐渐被破坏,加速蛋白质降解,出现大分子的肽键断裂及小分子化合物的降解,使大分子变小,小分子进一步解离,进而重链肌球蛋白、副肌球蛋白等蛋白质的含量增大,条带逐渐变粗,肌钙蛋白含量减小,条带变浅、消失[20]。结果表明:超高压处理可以改变蓝蛤蛋白三、四级结构,使蛋白质氢键、二硫键、疏水作用和静电作用发生变化,二聚酪氨酸聚集,从而蛋白质发生聚集、交联或解离。



M:标准蛋白。

图 4 不同压力处理蓝蛤肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 分析

Fig. 4 SDS-PAGE analysis of myofibrillar protein of *Aloididae aloidi* treated with different pressures

2.9 不同超高压处理对蓝蛤蛋白紫外光谱的影响

为了解不同压力处理后蓝蛤蛋白相关基团的空间位置变化和推测分子的构象变化,本研究进行了紫外光谱测定,如图 5。结果表明:不同压力处理后,蓝蛤蛋白在 200 ~ 340 nm,经过 150 ~ 250 MPa 处理后的蛋白质吸收峰减小;在 300 MPa 处理后,吸收峰增加。该现象发生的原因可能是当压力超过 250 MPa 时,蛋白质结构被破坏,暴露在分子内的基团和区域增加,发色基团暴露,所以紫外吸收峰增强[32-34]。此外,蛋白质的最大吸收峰出现蓝移。这些变化表明:超高压处理后,蛋白质的微环境和结构发生了变化,可能导致蛋白质向负向移动或变性,使蛋白质的吸收低于对照组。其次,与对照组相比,在超高压处理期间,由于色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸被破坏,导致蛋白质空间结构变化,使其在 250 ~ 280 nm 处几乎没有出峰。

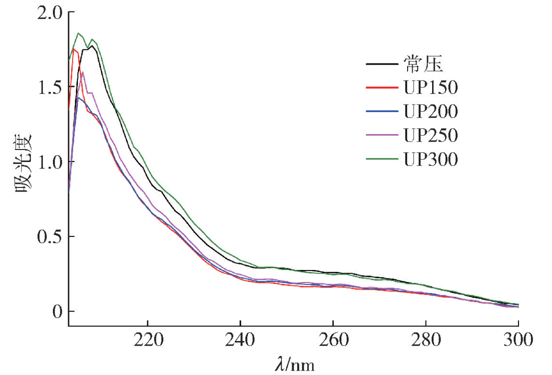


图 5 不同压力处理对蓝蛤蛋白紫外吸收光谱的影响

Fig. 5 Effects of different pressure treatments on ultraviolet absorption spectrum of *Aloididae aloidi* protein

2.10 不同超高压处理对蓝蛤内源荧光的影响

芳香族氨基酸链在特定的激发光下发出荧光,是一种内部荧光物质,对过渡过程中的微环境极敏感,如图 6。图 6 中色氨酸的特征吸收峰位于 298 nm 左右。结果表明:随着压力的增加,色氨酸的吸收波长呈上升的趋势,荧光强度明显增强,在 150 ~ 200 MPa 时上升缓慢,250 ~ 300 MPa 时上升迅速。内源荧光结果证明:超高压处理后,色氨酸残基被疏水环境包围,引起色氨酸暴露,使蓝蛤蛋白表面色氨酸的数量增加。研究表明:超高压导致蛋白质结构发生了不同的构象变化,增加了疏水微环境中色氨酸的残留量。同时,超高压可以改变蛋白质分子空间排列,破坏疏水蛋白分子间的相互作用,导致疏水基团暴露[34],进而促进了蛋白质的水解。

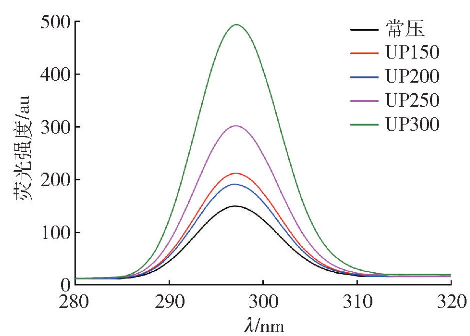


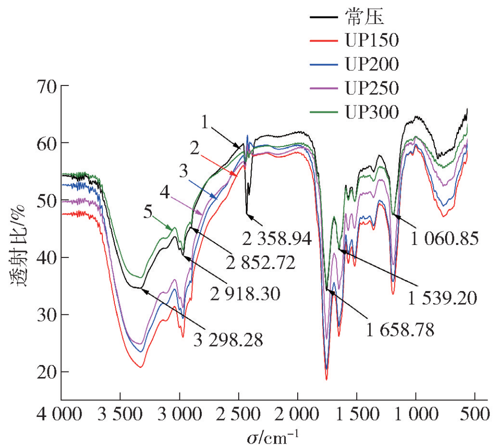
图 6 不同压力处理对蓝蛤蛋白内源荧光强度的影响

Fig. 6 Effects of different pressure treatments on endogenous fluorescence intensity of *Aloididae aloidi* protein

2.11 不同超高压处理对蓝蛤蛋白红外光谱的影响

不同压力处理 60 min 后的蓝蛤蛋白傅里叶红外光谱如图 7。样品在红外区出现若干个特征吸收峰,蓝蛤蛋白在 3 298.28 cm^{-1}(酰胺 A 带)、

2 918.30 cm^{-1}(酰胺 B 带)、1 658.78 cm^{-1}(酰胺Ⅰ带)、1 539.20 cm^{-1}(酰胺Ⅱ带)处都有吸收峰出现[35]。随着压力的增大，酰胺 A 带(3 298.28 cm^{-1})峰值在 150～250 MPa 增强，300 MPa 减弱，并且峰值向长波数发生偏移，说明不同压力处理使蓝蛤蛋白质在 3 298.28 cm^{-1}左右的氢键发生了变化。1 658.78 cm^{-1}处吸收峰随着压力增加而增强，这说明碳氧双键(—C ═O)的结构或所处的化学环境发生了改变，可能是因为碳原子周围的电负性强的原子减少，使—C ═O 上面的电子云密度增加，导致吸收峰增强。在超高压处理过程中可能是因为水分子在高压的作用下，进入蛋白质分子中，使大分子内部结构发生了一系列的变化[36]，进而导致蛋白质二级结构发生变化。



1. 常压；2. 150 MPa；3. 200 MPa；4. 250 MPa；5. 300 MPa。

图 7　不同压力处理对蓝蛤蛋白 FT-IR 的影响

Fig. 7　Effects of different pressure treatments on FT-IR of *Aloididae aloidi* protein

2.12　扫描电镜结果分析

图 8 表示不同压力处理后蓝蛤蛋白的扫描电镜结果。由图 8 可知，经过不同压力处理后蛋白质的微观结构存在显著差异。不经超高压处理的蛋白质表面结构致密，颗粒按大小分布，紧密连接，且大颗粒数量少，粒径偏小。施加一定压力后，蛋白质表面小颗粒结构消失，大颗粒结构出现，蛋白质颗粒出现粘连，孔洞消失，裂纹出现，说明超高压处理改变了蛋白质结构，蛋白质发生聚集、交联、解离，这与 SDS-PAGE 和红外光谱结果一致。

从图 8 可得，150 MPa 时，颗粒聚集，小颗粒开始消失，结构间隙被填充。200 MPa 时，小颗粒进一步消失，蛋白质表面有平整区域和孔洞出现。250 MPa 时，大颗粒蛋白质结构也开始消失，蛋白质呈片状出现，并有部分凸起颗粒。300 MPa 时，所有颗粒消失，融合，形成不光滑的片状。证明蛋白质微观结构的变化，可能是由于一定的压力条件下，蛋白质分子内和分子间作用力改变，破坏了蛋白质结构[37]，使蛋白质表面接触面积增加，引起大量氨基酸残基的化学环境发生改变，增大了蛋白质分子内部疏水性位点的暴露程度，影响了蛋白质结构的稳定性，维持蛋白质 α-螺旋结构的羰基(—C ═O)和氨基(—NH_2)之间的氢键被破坏，羰基与水分子形成新的氢键，可见压力对蛋白质的结构影响较大[38]。

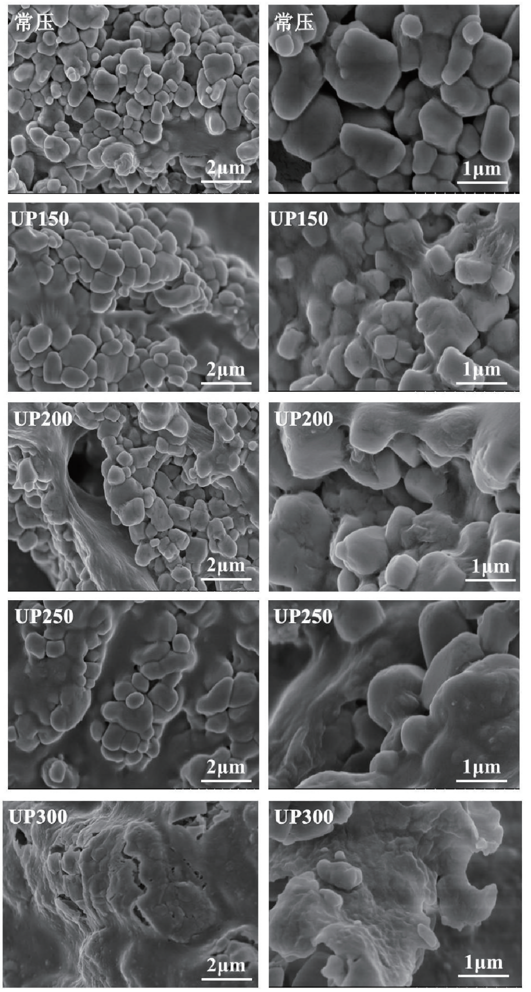


图 8　不同压力处理蓝蛤蛋白扫描电镜照片

Fig. 8　Scanning electron micrograph of *Aloididae aloidi* protein treated with different pressures

3　结　论

酶活研究发现：压力 150～250 MPa 对风味蛋白酶和复合风味蛋白酶有激活作用，而 300 MPa 时则表现为抑制作用。通过对蓝蛤酶解液滋味、气味成

分分析发现:超高压酶解可提高蓝蛤酶解液的鲜味,降低苦腥味,改变挥发性物质的组成,从而达到增香的作用。蛋白质结构分析发现:超高压能破坏蓝蛤蛋白质三、四级结构,导致蛋白质空间结构变化。因此推测,超高压处理可能是通过提高蛋白酶活性,破坏蛋白质结构,增加了蛋白质水解度,促进了呈味氨基酸、核苷酸、有机酸等的释放,改善了酶解液的风味。

参考文献:

[1] 周婷婷, 郑荣泉, 林志华, 等. 光滑河蓝蛤对净化养殖废水的净化效果[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(32):57 - 60.
ZHOU T T, ZHENG R Q, LIN Z H, et al. Purification effect of *Potamocorbula laevis* on aquaculture wastewater [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(32):57 - 60.

[2] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019:5 - 35.

[3] 肖如武, 赵谋明. 蓝蛤蛋白酶解液超滤分离特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(5): 23 - 27.
XIAO R W, ZHAO M M. Effects of ultrafiltration separation on characteristics of *Aloididae aloidi* protein enzymatic hydrolysates [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(5): 23 - 27.

[4] CHERET R, CHAPLEAU N, DELBARRELADRAT C, et al. Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) fillets [J]. Journal of Food Science, 2010, 70(8): 477 - 483.

[5] GIANNOGLOU M, ALEXANDRAKIS Z, STAVROS P, et al. Effect of high pressure on structural modifications and enzymatic activity of a purified X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase from *Streptococcus thermophiles*[J]. Food Chemistry, 2018, 248(15): 304 - 311.

[6] 王章存, 徐贤. 超高压处理对大豆蛋白酶解物的影响[J]. 中国酿造, 2009, 28(2): 132 - 134.
WANG Z C, XU X. Effects of ultrahigh pressure on enzymolysis of soybean protein [J]. China Brewing, 2009, 28(2): 132 - 134.

[7] 闫春子, 夏文水, 许艳顺. 超高压对草鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 217(37): 94 - 98.
YAN C Z, XIA W S, XU Y S. Effect of high hydrostatic pressure processing on myofibril protein structure of grass carp fillets [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 217(37): 94 - 98.

[8] 曹辉. 大米蛋白酶法制备抗氧化肽的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2008: 31.
CAO H. Study on preparation of anti-oxidant peptides by hydrolysis of rice protein [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2008: 31.

[9] HERNÁNDEZ-LEDESMA B, DÁVALOS A, BARTOLOMÉ B, et al. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α-lactalbumin and β-lactoglobulin identification of active peptides by HPLC-MS/MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(3):588 - 593.

[10] 肖丽. 巴西松子蛋白酶分离纯化及蛋白质提取[D]. 杭州: 浙江大学, 2012: 17.
XIAO L. Study on isolation and purification of chilgoza pine nut and its protein extraction [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012: 17.

[11] RAMAKRISHNAN V, GHALY A, BROOKS M, et al. Enzymatic extraction of amino acids from fish waste for possible use as a substrate for production of jadomycin [J]. Enzyme Engineering, 2013, 2(2): 112.

[12] 刘晏玮. 预处理方式对蓝蛤酶解特性及酶解液呈味特性的影响[D]. 锦州:渤海大学, 2019: 1 - 2.
LIU Y W. Effects of different pretreatment methods on enzymatic hydrolysis of *Aloididae aloidi* and taste characteristics of its hydrolysates [D]. Jinzhou: Bohai University, 2019: 1 - 2.

[13] YOKOYAMA Y, SAKAGUCHI M, KAWAI F, et al. Change in concentration of ATP-related compounds in various tissues of oyster during ice storage [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58(11): 2125 - 2136.

[14] 龚骏, 陶宁萍, 钱晓明, 等. 长江刀鲚、黄河刀鲚与东海刀鲚熟制肉的滋味成分差异[J]. 食品工业科技, 2014, 35(20): 182 - 185.
GONG J, TAO N P, QIAN X M, et al. Differences among taste compounds of cooked meat from Yangtze river, Yellow river and Seawater *Coilia ectenes* Jordan [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(20): 182 - 185.

[15] 任世英, 秦鹏, 陈国清, 等. 河蚬肉酶解液的活性炭脱腥脱苦条件优化[J]. 粮食与饲料工业, 2018(12): 38 - 41.
REN S Y, QIN P, CHEN G Q, et al. Optimization of absorbing conditions of activated carbon on *Corbicula fluminea*'s hydrolysate [J]. Cereal & Feed Industry, 2018(12): 38 - 41.

[16] 吴浩, 刘源, 顾赛麒, 等. 电子鼻、电子舌分析和感官评价在鱼糜种类区分中的应用[J]. 食品工业科技, 2013, 34(18): 80 - 82.
WU H, LIU Y, GU S Q, et al. Category distinction of different surimis by electronic nose, electronic tongue

and sensory evaluation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(18): 80 – 82.

[17] 杨召侠，刘洒洒，高宁，等. 臭鳜鱼发酵工艺优化及挥发性风味物质分析[J]. 中国食品学报，2019，19(5)：253 – 262.
YANG Z X, LIU S S, GAO N, et al. Fermentation process optimization and volatile flavor analysis of stink mandarin fish (Chouguiyu) [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(5): 253 – 262.

[18] 秦军委，雷用东，邱恒恒，等. 羟自由基氧化对高白鲑肌原纤维蛋白降解的影响[J]. 食品科学，2019，40(15)：31 – 36.
QIN J W, LEI Y D, QIU H H, et al. Effect of hydroxyl radical oxidation on degradation of myofibrillar proteins from *Coregonus peled* [J]. Food Science, 2019, 40(15): 31 – 36.

[19] MENG H, LI D, ZHU C. The effect of ultrasound on the properties and conformation of glucoamylase [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 113(1): 411 – 417.

[20] 组晓艳，邹开封，叶丽秀，等. 嫩化时间对大口黑鲈半成品品质的影响[J]. 肉类研究，2016，30(7)：1 – 5.
ZU X Y, ZOU K F, YE L X, et al. Effect of tenderization time on the quality of semi-finished products from *Micropterus salmoides* [J]. Meat Research, 2016, 30(7):1 – 5.

[21] 杨新颖，陈刚，杜焕梅，等. 超高压对解脂耶氏酵母脂肪酶酶活的影响[J]. 食品与生物技术学报，2017，36(5)：519 – 523.
YANG X Y, CHEN G, DU H M, et al. Effect of high hydrostatic pressure treatment on the enzyme activity of lipase lip2 from *Yarrowia lipolytica* [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(5): 519 – 523.

[22] 王曜，陈舜胜. 野生与养殖克氏原螯虾游离氨基酸的组成及比较研究[J]. 食品科学，2014，35(11)：269 – 273.
WANG Y, CHEN S S. Comparative composition of free amino acids in wild and cultured *Procambarus clarkia* [J]. Food Science, 2014, 35(11): 269 – 273.

[23] ZHU W, ZHU L, YANG Y, et al. Optimization of the enzymatic hydrolysis assisted by ultra-high pressure processing of Alaska pollock frame for improving flavor[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2020, 29(6): 567 – 576.

[24] SHALLENBERGER R S. Taste chemistry: taste of amino acids[M]. London: Blackie Academic and Professional, 1993:226 – 233.

[25] 赵艳，汪泓吉，张凤枰，等. 反相离子对高效液相色谱法测定猪肉中呈味核苷酸[J]. 食品工业科技，2016，37(2)：64 – 67.
ZHAO Y, WANG H J, ZHANG F P, et al. Determination of five flavor nucleotides in pork by ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(2): 64 – 67.

[26] 陈德慰，苏键，刘小玲，等. 广西北部湾 3 种贝类中主要呈味物质的测定及呈味作用评价[J]. 食品科学，2012，33(10)：165 – 168.
CHEN D W, SU J, LIU X L, et al. Taste evaluation of non-volatile taste compounds in bivalve mollusks from Beibu gluf, Guangxi [J]. Food Science, 2012, 33(10): 165 – 168.

[27] 何炘，杨荣华. 鲜味物质及其在水产调味品中的应用[J]. 中国调味品，2005(4):3 – 8.
HE X, YANG R H. Umami substance and application in spice of seafoods [J]. China Condiment, 2005(4): 3 – 8.

[28] 王晶，李蓓，王文利，等. 琥珀酸二钠与谷氨酸钠相互作用及喜好度分析[J]. 食品科学，2018，39(22):22 – 26.
WANG J, LI B, WANG W L, et al. Interaction between disodium succinate and monosodium glutamate and their hedonic liking [J]. Food Science, 2018, 39(22): 22 – 26.

[29] FERNANDEZ G E, CARBONELL M, GAYA P, et al. Evolution of the volatile components of ewes raw milk Zamorano cheese. Seasonal variation [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(8): 701 – 711.

[30] WARINDA V, THOMAS C Y H, STEPHEN S W. Volatile flavor components from boiled crayfish (*Procambarus clarkii*) tail meat [J]. Food Science, 1988, 53(6): 1666 – 1670.

[31] MA H, HUANG L, JIA J, et al. Effect of energy-gathered ultrasound on alcalase[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(1): 419 – 424.

[32] WANG J, CAO Y, SUN B, et al. Effect of ultrasound on the activity of alliinase from fresh garlic[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(2): 534 – 540.

[33] WANG Z, LIN X, LI P, et al. Effects of low intensity ultrasound on cellulase pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012(117): 222 – 227.

[34] GIANNOGLOU M, KARRA Z, PLATAKOU E, et al. Effect of high pressure treatment applied on starter culture or on semi-ripened cheese in the quality and ripening of cheese in brine[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 28:312 – 320.

［35］ 孔继烈，吴性良. 分析化学原理［M］. 北京：化学工业出版社，2010：10－80.
KONG J L, WU X L. Principles of analytical chemistry［M］. Beijing:Chemical Industry Press, 2010：10－80.

［36］ 张慧恩，张登科，朱艳杰，等. 超高压处理对养殖大黄鱼肌原纤维蛋白结构的影响［J］. 食品科学，2018，40(9)：61－67.
ZHANG H E, ZHANG D K, ZHU Y J, et al. Effect of high hydrostatic pressure treatment on myofibrillar protein structure of cultured large yellow croaker［J］. Food Science, 2018, 40(9)：61－67.

［37］ ONWULATA C I, ISOBE S, TOMASULA P M, et al. Properties of whey protein isolates extruded under acidic and alkaline conditions［J］. Journal of Dairy Science, 2006, 89(1)：71－81.

［38］ 杨华，陆森超，张慧恩，等. 超高压处理对养殖大黄鱼风味及品质的影响［J］. 食品科学，2014，35(16)：244－249.
YANG H, LU S C, ZHANG H E, et al. Effects of high hydrostatic pressure processing on the flavor and quality of cultured yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)［J］. Food Science, 2014, 35(16)：244－249.

Effects of Ultra-High Pressure on Flavor and Protein Structure of Enzymatic Hydrolysates of *Aloididae aloidi*

BU Ying[1], HE Wei[1], HU Xianjie[1,2], ZHU Wenhui[1,*], LI Xuepeng[1,*], LIU He[1], BI Lei[3], JI Guangren[4]

(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, Jinzhou* 121013, *China*;
2. *Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian* 116034, *China*;
3. *Dufengxuan Gushen Biological Technology Co Ltd, Fushun* 113122, *China*;
4. *Jinzhou Bijiashan Food Co Ltd, Jinzhou* 121007, *China*)

Abstract: *Aloididae aloidi* was used as raw materials to study the contents of free amino acids, nucleotides and organic acids, and the changes of volatile flavor substances, protein structure and the exogenous enzyme activity of *Aloididae aloidi* hydrolysates with ultra-high pressure treatment. The results showed that the ultra-high pressure treatment could activate both the flavor protease and compound flavor protease, and the former was activated more strongly. Compared with the normal pressure treatment, ultra-high pressure treatment led to higher contents of free amino acids, succinic acid and monosodium glutamate equivalents in *Aloididae aloidi* hydrolysates. In addition, ultra-high pressure treatment gave enzymatic hydrolysates better umami and overall flavor, more main volatile substances, and less unpleasant flavor substances, which changed the composition of volatile substances to achieve flavor-enhanced effect. Ultra-high pressure destroyed the protein structure, which could promote the release of flavor amino acids, improve the flavor of the enzymatic hydrolysates, and increase the protein utilization rate. Ultra-high pressure treatment could improve the proteolytic degree and promote the release of flavor amino acid, nucleotides and organic acids by improving the protease activity, especially flavor protease activity, and destroying the protein structure.

Keywords: *Aloididae aloidi*; ultra-high pressure; enzymolysis; flavor; protein structure

（责任编辑:张逸群）