

甜面酱的鲜味成分分析

黄明泉¹, 王璐¹, 张璟琳², 孙宝国¹

(1.北京市食品风味化学重点实验室和食品添加剂与配料北京高校工程研究中心(北京工商大学),北京100048)

(2.北京工商大学理学院,北京100048)

摘要:采用国标方法分别对7种市售甜面酱样品的水分、粗脂肪、总氮和粗蛋白的含量进行了测定,利用氨基酸自动分析仪、高效液相色谱仪分别对甜面酱中的游离氨基酸及核苷酸含量进行了测定,利用凝胶色谱柱对甜面酱中小分子肽的分子量分布进行了测定,同时分析计算了甜面酱的水解度、平均肽链长度和氨基酸味道强度值,及其对呈味的贡献。研究表明:7种市售甜面酱的水分、粗脂肪、总氮和粗蛋白等平均含量分别为51.42%,1.84%,1.284%和7.32%;甜面酱中游离氨基酸总含量为1.55~2.78 g/100 g,含量相对较高的为脯氨酸、谷氨酸、亮氨酸、天门冬氨酸,其中谷氨酸的味道强度值(TAV值)最高(7.00~25.67),对鲜味具有重要的贡献;甜面酱中的核苷酸主要为次黄嘌呤(3.19~4.87 mg/100 g),但其TAV值均小于0.5,对甜面酱的滋味没有直接影响;甜面酱中小分子肽的含量为0.55~3.31 g/100 g,平均肽链长度为2~4,分子量主要分布于221~445 u之间,且对鲜味具有一定的贡献。

关键词:甜面酱;游离氨基酸;核苷酸;小分子肽;味道强度值

文章编号:1673-9078(2015)2-285-293

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.2.045

Analysis of Umami Components in Sweet Bean Sauce

HUANG Ming-quan¹, WANG Lu¹, ZHANG Jing-lin², SUN Bao-guo¹

(1.Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry and Beijing Laboratory of Food quality and safety, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

(2.School of Science, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: The methods described in GB/T were used to measure the moisture, crude fat, total nitrogen, and crude protein contents in seven commercially available samples of sweet bean sauce. An automatic amino acid analyzer and high performance liquid chromatography were employed to analyze the free amino acids and nucleotides in the sweet bean sauces, respectively. The molecular weight distribution of small peptides in the sweet bean sauces was determined by size exclusion chromatography (SEC), and the degree of hydrolysis, average peptide chain length, and taste activity value (TAV) of amino acids in sweet bean sauce, as well as their contributions to the taste were calculated and analyzed. The experimental results showed that the moisture, crude fat, total nitrogen, and crude protein contents in seven commercially available samples of sweet bean sauce were 51.42%, 1.84%, 1.284%, and 7.32%, respectively. The total free amino acid contents in the seven pastes ranged from 1.55~2.78 g/100 g, and the most abundant amino acids were proline, glutamic acid, leucine, and aspartic acid. Among them, glutamic acid had the highest TAV (7.00-25.67) and had an important contribution to the taste of umami. Hypoxanthine (Hx) was the dominant nucleotide in sweet bean sauce (3.19~4.87 mg/100 g), but did not have a direct impact on the taste (TAV < 0.5). The small peptide content in sweet bean sauce was in the range of 0.55~3.31 g/100 g; the average peptide chain length (PCL) was between 2 and 4, and the molecular weight distribution was in the range of 221~445 u. Additionally, these small peptides contributed to the taste of umami to some extent.

Key words: sweet bean sauce; free amino acids; nucleotides; small peptides; taste activity value

甜面酱(亦称面酱)是我国的传统调味品。甜面酱是以面粉为主要原料,经制曲和保温发酵制成的一种酱状调味品^[1]。甜面酱成品呈现黄褐色或红褐色,

收稿日期:2014-07-14

基金项目:国家自然科学基金青年基金(31101350);北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划项目(CIT&TCD201404034);2012年北京市新世纪百万人才工程培养经费资助项目(19000550064)

作者简介:黄明泉(1977-),男,博士,副教授,研究方向为香料香精、食品分析检测

其滋味以甜为主,略带鲜咸味。甜面酱既可作为美味的菜点直接食用,又可用于酱爆、酱烧和凉拌等多种烹饪方式,同时也是酱制各种酱腌菜的主要辅料,是餐桌上必不可少的调味品。

近几年对甜面酱的风味研究逐步增多。Chung^[2]在三种豆酱中共检测出111种挥发性成分。Lee和Ahn^[3]在9种面酱中共检测出91种挥发性物质。ZhangYY等^[4]对自制的甜面酱进行同时蒸馏萃取,分析并检测出84种挥发性物质。黄明泉等对甜面酱的水

解氨基酸、有机酸等非挥发性成分进行了分析,发现水解氨基酸中谷氨酸和脯氨酸含量最高^[5],同时分离并鉴定出37种非挥发性有机酸^[6]。黄明泉等^[7]将理化指标和电子舌结合分析甜面酱的滋味口感,结果表明电子舌给出的滋味评分与理化指标有一定的相关性。

本实验首先采用国标方法对市售7种甜面酱的水分、粗脂肪、总氮和粗蛋白的含量进行了分析比较,然后进一步采用氨基酸自动分析仪,高效液相色谱对甜面酱中的游离氨基酸,核苷酸进行定量分析,并利用TAV值和EUC值探讨各物质对甜面酱滋味的贡献

度,最后利用高效液相色谱对甜面酱中的小分子肽的分子量进行分析,并探究其分子量主要分布与甜面酱呈味的关系。目前,这些有关甜面酱的研究内容未见相关报道。

1 材料与方法

1.1 主要材料及仪器

甜面酱样品来自市售的7种不同品牌,首次采样前未打开包装,样品信息详见表1。

表1 7种甜面酱信息表

Table 1 Information regarding seven kinds of sweet bean sauce

编号	品牌	生产厂家	原料及配料信息	生产地
1	李锦记	李锦记食品有限公司	面豉(小麦粉、水、食用盐、大豆)、果葡糖浆、水、食品添加剂(焦糖色、谷氨酸钠、山梨酸钾、5'-GMP、5'-IMP)、酱油、白砂糖、芝麻酱、赤砂糖、食用盐	广东
2	天源酱园	六必居食品有限公司天源酱园食品厂	面粉、水、食盐、山梨酸钾	北京
3	王致和	北京二商王致和食品有限公司	面粉、水、食盐、山梨酸钾	北京
4	葱伴侣	山东欣和食品工业有限公司	面粉、水、食盐、山梨酸钾、大豆	山东
5	六必居	六必居食品有限公司	面粉、水、食盐、山梨酸钾	北京
6	金狮	北京二商金狮龙门食品有限公司	面粉、水、食盐、山梨酸钾	北京
7	龙菲	北京龙菲业食品有限公司	面粉、水、食盐、山梨酸钾	北京

磺基水杨酸、高氯酸均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;16种氨基酸标准品:天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸、脯氨酸(纯度均 $\geq 98\%$),6种呈味核苷酸标准品:5'-鸟苷酸二钠盐(5'-GMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)、5'-腺苷酸(5'-AMP)、5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-尿苷酸(5'-UMP)、次黄嘌呤(Hx)(纯度均 $\geq 99\%$),细胞色素C(纯度 $\geq 95\%$)、抑肽酶(纯度 $\geq 98\%$)、甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(纯度 $\geq 99\%$),美国Sigma公司;杆菌肽(纯度 $\geq 99\%$)、甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸(纯度 $\geq 98\%$),百灵威科技有限公司。

电子分析天平(BS 224S,精确到0.1 mg),德国Sartorius公司;漩涡振荡混匀器(Vortex Mixers-SA8),英国Stuart公司;台式离心机(TGL-16B),上海安亭科学仪器厂;Agilent 1200高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;L-8900氨基酸自动分析仪,日本日立公司;快速水分测定仪(IR35),美国Denver Instrument公司;半自动凯氏定氮仪(KDY-9820),北京通润源机电技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 常规指标测定方法

水分含量用快速水分含量测定仪测定,粗脂肪含量用索氏抽提法(GB/T 14772-2008),总氮含量用凯氏定氮法(GB/T 5009.5-2010),粗蛋白含量用总氮含量乘面粉蛋白换算系数5.70^[8]。

1.2.2 游离氨基酸测定方法

准确称取5.00 g甜面酱,加入3%磺基水杨酸溶液25 mL于漩涡混匀器混匀,溶解并定容于50 mL容量瓶中。定容后样品溶液用定性滤纸过滤,吸取滤液1.0 mL离心10 min(转速为10000 r/min),上清液过0.45 μm 滤膜后,上机检测。

氨基酸自动分析仪测定条件:分析柱 树脂2619,4.6 \times 60 mm;除氨柱 树脂2650,4 \times 50 mm;流速A泵0.400 mL/min,B泵0.350 mL/min;分析柱柱温57 $^{\circ}\text{C}$;反应柱温度135 $^{\circ}\text{C}$;进样体积20.0 μL ;检测波长 脯氨酸为440 nm,其它氨基酸为570 nm。

1.2.3 核苷酸测定方法

准确称取5.00 g甜面酱,加25 mL的5%高氯酸于漩涡混匀器混匀,匀浆液离心15 min(转速为6000

r/min), 吸取上清液, 沉淀物用 10 mL 的 5% 高氯酸洗涤, 再离心, 合并两次上清液。上清液用定性滤纸过滤后, 用 5 mol/L NaOH 溶液调至 pH=6.75, 蒸馏水定容 50 mL, 摇匀备用, 溶液过 0.45 μm 滤膜后, 上机检测。

液相色谱条件: 色谱柱 Zorbax SB-C18 (4.6 mm×75 mm×3.5 μm) 和 Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 mm×50 mm×1.8 μm) 双柱串联; 流动相为 0.05 mol/L KH₂PO₄ 缓冲溶液 (pH=4.81); 柱温 30 °C; 流速 1.0 mL/min; 进样体积 10.0 μL; 紫外检测器波长 260 nm。

1.2.4 小分子肽测定方法

高分子蛋白质在酸性条件下易被沉淀, 相对分子质量较小的蛋白质水解物 (酸溶蛋白质) 可溶于酸性溶液, 其中包含小分子肽及游离氨基酸。因此, 样品经酸化后, 滤液中的酸溶蛋白质含量减去游离氨基酸含量即为小分子肽含量。游离氨基酸的含量由 1.2.2 测定。

酸溶性蛋白测定: 称取 5.00 g 甜面酱, 加入 25 mL 的 15% 三氯乙酸于旋涡混匀器混合均匀, 静置 2 h, 用定性滤纸过滤, 取滤液 20 mL 离心 10 min (转速为 10000 r/min), 收集上清液备用。取上清液 10 mL, 后操作同 GB/T 5009.5-2010 中凯氏定氮法。

小分子肽排阻色谱分析: 称取甜面酱 5.00 g 于 50 mL 去离子水中超声振荡 10 min, 提取液离心 20 min (转速为 10000 r/min), 吸取 2 mL 上清液用去离子水定容至 10 mL, 上机前用 0.45 μm 滤膜过滤。

高效液相色谱分析: 色谱柱 TSKgelG2000 SWXL (7.8 mm×300 mm×5 μm); 流动相: 乙腈:水:三氟乙酸=45:55:0.1(体积比); 流速 0.5 mL/min; 柱温 25 °C; 进样体积为 10.0 μL; 检测波长 220 nm。

1.3 分析方法

1.3.1 TAV 和 EUC 的计算方法

味道强度值 (taste active value, TAV) = 滋味物质的浓度/该物质的阈值。通常认为, TAV 值大于 1 时, 该物质能够对该样品的呈味有贡献, 且数值越大, 贡献越大。相反, 当比值小于 1 时, 说明该物质对呈味贡献不大, 呈味作用不显著。这种分析方法较客观, 已成功用于大闸蟹肉^[9], 水产品中甜菜碱^[10]的呈味研究中。

味精当量 (Equivalent Umami Concentration, EUC) 表示鲜味氨基酸与呈味核苷酸混合物协同作用所产生的鲜味强度相当于多少浓度的单一的味精所产生的鲜味强度。它们之间的关系是由日本科学家 Yamaguchi 和 Yoshikawa 等^[11]所提出的, 可以用公式

(1-1) 表示:

$$EUC = \sum a_i b_i + 1218 (\sum a_i b_i) (\sum a_j b_j) \quad (1)$$

式中: EUC 是味精当量 MSG, g/100 g; a_i 是鲜味氨基酸 (Asp 或 Glu) 的浓度, g/100 g; b_i 是鲜味氨基酸相对于 MSG 的相对鲜度系数 (Glu=1, Asp=0.077); a_j 是呈味核苷酸 (5'-IMP、5'-GMP、5'-AMP、5'-XMP) 的浓度, g/100 g; b_j 是呈味核苷酸相对于 IMP 的相对鲜度系数 (5'-IMP=1, 5'-GMP=2.3, 5'-AMP=0.18, 5'-XMP=0.61); 1218 是协同作用常数。

1.3.2 水解度及水解物平均肽链长度 (APL) 的估计

根据 J. Adler-Nissen^[12]对平均肽链长度 (Peptide Chain Long, PCL) 与水解度 (Degree of Hydrolysis, DH) 及平均相对分子质量 (M_w) 的推导, 其公式分别为 (1-2)、(1-3)。

$$PCL = \frac{1}{DH} \quad (2)$$

$$M_w = 110 \times PCL + 18 \quad (3)$$

水解度 DH 的测定按计算公式 (1-4) 所示^[13]:

$$DH = \frac{\alpha\text{氨基态氮的含量}(g/100g)}{\text{总氮的含量}(g/100g)} \quad (4)$$

1.4 试验结果统计分析方法

本试验结果用 SPSS18.0 统计软件进行分析, 描述性统计值使用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 常规指标分析

7 种甜面酱的水分、粗脂肪、氨基态氮、总氮及粗蛋白等分析结果如表 2 所示, 同时采用 SPSS 统计软件中的最小显著差异法 (LSD) 对 7 种不同品牌甜面酱的基本成分含量结果进行一元方差 (ANOVA) 分析。

如表 2 所示, 甜面酱中水分含量大约是总质量的一半, 使甜面酱呈半固态。甜面酱中脂肪、氨基态氮、蛋白及总氮的平均含量分别为 1.84%、0.5%、7.32% 及 1.284%。甜面酱中的水分和氨基态氮含量较日本麦酱^[15] (44.0% 和 0.357%) 略高; 而日本麦酱的脂肪和蛋白质含量 (分别为 10.6%、9.7%) 则高于甜面酱的含量。

样品 2 与样品 5 在水分、粗脂肪含量上没有显著性差异。样品 3 与样品 6 的粗脂肪含量在 0.05 水平上差异不显著。7 种不同品牌甜面酱在多种常规组分均

有显著性差异, 这与各品牌甜面酱加工时的工艺差异有关, 而这种差异也导致各品牌甜面酱滋味的不同。

表 2 甜面酱常规指标结果 (g/100g)

Table 2 General composition of seven kinds of sweet bean sauce (g /100 g)

常规指标	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7	平均
水分	49.77±0.02 ^a	51.57±0.03 ^b	51.07±0.02 ^c	53.84±0.02 ^d	51.59±0.02 ^b	53.38±0.03 ^c	48.75±0.03 ^f	51.42
粗脂肪	2.17±0.02 ^a	1.59±0.01 ^b	1.80±0.02 ^c	2.54±0.01 ^d	1.56±0.01 ^b	1.79±0.01 ^c	1.46±0.01 ^e	1.84
氨基态氮 ^[14]	0.238±0.002 ^a	0.543±0.002 ^b	0.537±0.004 ^c	0.502±0.004 ^d	0.536±0.002 ^c	0.517±0.002 ^e	0.627±0.002 ^f	0.50
总氮	0.811±0.005 ^a	1.146±0.009 ^b	1.333±0.004 ^{de}	1.553±0.046 ^e	1.311±0.019 ^d	1.351±0.002 ^e	1.481±0.011 ^f	1.284
粗蛋白	4.62±0.03 ^a	6.53±0.05 ^b	7.60±0.02 ^{de}	8.85±0.26 ^e	7.47±0.11 ^d	7.70±0.01 ^e	8.44±0.06 ^f	7.32

注: 不同系列的字母表示具有显著性差异。

2.2 游离氨基酸组成分析

采用 Sigma 公司 16 种氨基酸标准混合溶液定性, 外标法定量, 分析结果如表 3 所示。相应甜面酱样品 1 的游离氨基酸的 HPLC 图谱如图 1 所示, 由于篇幅限制未将其他样品的谱图列出。

由表 3 可知, 甜面酱游离氨基酸总含量为 1.55~2.78 g/100g, 样品 1 含量最低, 样品 7 含量最高。在 7 种不同品牌甜面酱中游离氨基酸含量较高的四种氨基酸依次为谷氨酸、亮氨酸、脯氨酸和天门冬氨酸。总的来说, 7 种样品氨基酸平均含量最多的为谷氨酸和脯氨酸, 最低的为蛋氨酸和组氨酸。面粉中的蛋白质主要由麦谷蛋白和麦醇溶蛋白组成, 约占总蛋白的 80%, 两者的氨基酸组成相近, 都是富含谷氨酸和脯

氨酸的蛋白质^[16], 这可能是谷氨酸和脯氨酸含量较高的原因。

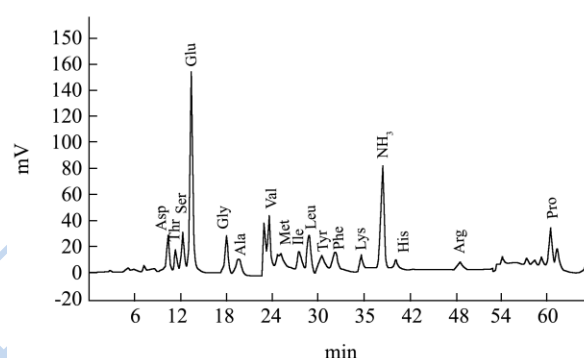


图 1 甜面酱样品 1 游离氨基酸 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of 16 amino acids in sweet bean sauce sample No 1

表 3 7 种甜面酱游离氨基酸定量结果

Table 3 Amino acid composition of seven kinds of sweet bean sauce

序号	氨基酸名称	含量/(mg/100g)							
		样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7	平均值
1	天冬氨酸 Asp	0.10±0.002	0.11±0.001	0.13±0.002	0.26±0.003	0.13±0.001	0.13±0.001	0.15±0.002	0.14
2	苏氨酸 Thr	0.04±0.001	0.07±0.002	0.08±0.002	0.08±0.002	0.07±0.002	0.07±0.002	0.13±0.005	0.08
3	丝氨酸 Ser	0.04±0.001	0.15±0.008	0.18±0.014	0.16±0.005	0.15±0.007	0.16±0.005	0.22±0.002	0.15
4	谷氨酸 Glu	0.77±0.011	0.22±0.001	0.23±0.006	0.42±0.002	0.21±0.008	0.25±0.009	0.26±0.008	0.34
5	甘氨酸 Gly	0.04±0.001	0.07±0.003	0.08±0.003	0.08±0.002	0.07±0.002	0.07±0.001	0.11±0.004	0.07
6	丙氨酸 Ala	0.09±0.003	0.14±0.007	0.17±0.007	0.19±0.003	0.15±0.004	0.15±0.007	0.18±0.003	0.15
7	缬氨酸 Val	0.06±0.002	0.12±0.002	0.15±0.007	0.13±0.002	0.13±0.002	0.13±0.005	0.16±0.007	0.13
8	蛋氨酸 Met	0.01±0.001	0.02±0.001	0.04±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001	0.03±0.001	0.04±0.001	0.03
9	异亮氨酸 Ile	0.06±0.002	0.11±0.004	0.12±0.005	0.12±0.006	0.11±0.006	0.12±0.007	0.15±0.007	0.11
10	亮氨酸 Leu	0.10±0.005	0.22±0.009	0.25±0.008	0.21±0.009	0.22±0.008	0.23±0.006	0.28±0.009	0.22
11	酪氨酸 Tyr	0.07±0.002	0.13±0.004	0.15±0.007	0.13±0.007	0.12±0.006	0.13±0.006	0.15±0.005	0.13
12	苯丙氨酸 Phe	0.04±0.001	0.10±0.002	0.11±0.005	0.08±0.002	0.10±0.002	0.11±0.004	0.13±0.002	0.10
13	赖氨酸 Lys	0.06±0.003	0.07±0.001	0.08±0.002	0.14±0.007	0.08±0.002	0.07±0.002	0.10±0.002	0.09
14	组氨酸 His	0.01±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001	0.01±0.001	0.02±0.001	0.03±0.001	0.02
15	精氨酸 Arg	0.02±0.002	0.07±0.002	0.09±0.004	0.09±0.003	0.09±0.004	0.09±0.003	0.13±0.008	0.08
16	脯氨酸 Pro	0.04±0.002	0.50±0.023	0.47±0.010	0.18±0.003	0.41±0.021	0.47±0.011	0.56±0.023	0.38
	总氨基酸	1.55	2.12	2.35	2.31	2.07	2.23	2.78	2.22

甜面酱样品 1 和 4, 与其他品牌的甜面酱氨基酸成分大小有较大差异, 原因可能是由于这两种甜面酱原料中都添加了大豆, 以及生产工艺的差别所引起的。大豆蛋白中谷氨酸和天门冬氨酸含量丰富, 同时原料中大豆和面粉的比例可能影响了氨基酸成分的含量。

2.3 游离氨基酸 TAV 值分析

游离氨基酸是食品中的主要呈味基础物质之一, 不同氨基酸呈现不同的风味特征。本实验根据 Katekan Dajanta^[17]的分类方法将氨基酸分为甜味、鲜味、苦味和无味四大类, 并计算其 TAV 值, 结果如表 4 所示。

从表 4 可知, 7 种甜面酱中平均 TAV 值最大的 5 种氨基酸依次为谷氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸和天门冬氨酸。

表 4 甜面酱氨基酸呈味分析

Table 4 Taste activity value analysis of seven kinds of sweet bean sauce

呈味	氨基酸	阈值 ^[9] (mg/L)	TAV 值								
			样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7	均值	
鲜味	天冬氨酸 (Asp)	1	1.00	1.10	1.30	2.60	1.30	1.30	1.50	1.44	
	谷氨酸 (Glu)	0.3	25.67	7.33	7.67	14.00	7.00	8.33	8.67	11.2	
	总含量(g/100g)		0.87	0.33	0.36	0.68	0.34	0.38	0.41	0.48	
	相对含量/%		56.13	15.57	15.32	29.44	16.43	17.04	14.75	21.72	
甜味	丙氨酸 (Ala)	0.6	1.50	2.33	2.83	3.17	2.50	2.50	3.00	2.55	
	甘氨酸 (Gly)	1.3	0.31	0.54	0.62	0.62	0.54	0.54	0.85	0.57	
	丝氨酸 (Ser)	1.5	0.27	1.00	1.20	1.07	1.00	1.07	1.47	1.01	
	苏氨酸 (Thr)	2.6	0.15	0.27	0.31	0.31	0.27	0.27	0.50	0.30	
	总含量(g/100g)		0.21	0.43	0.51	0.51	0.44	0.45	0.64	0.46	
	相对含量/%		13.55	20.28	21.70	22.08	21.26	20.18	23.02	20.81	
	精氨酸 (Arg)	0.5	0.40	1.40	1.80	1.80	1.80	1.80	2.60	1.66	
苦味	组氨酸 (His)	0.2	0.50	1.00	1.00	1.00	0.50	1.00	1.50	0.93	
	异亮氨酸 (Ile)	0.9	0.67	1.22	1.33	1.33	1.22	1.33	1.67	1.25	
	亮氨酸 (Leu)	1.9	0.53	1.16	1.32	1.11	1.16	1.21	1.47	1.14	
	蛋氨酸 (Met)	0.3	0.33	0.67	1.33	0.67	0.67	1.00	1.33	0.86	
	苯丙氨酸 (Phe)	0.9	0.44	1.11	1.22	0.89	1.11	1.22	1.44	1.06	
	缬氨酸 (Val)	0.4	1.50	3.00	3.75	3.25	3.25	3.25	4.00	3.14	
	总含量(g/100g)		0.30	0.66	0.78	0.67	0.68	0.73	0.92	0.68	
	相对含量/%		19.35	31.13	33.19	29.00	32.85	32.74	33.09	30.77	
	无味	赖氨酸 (Lys)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		酪氨酸 (Tyr)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脯氨酸 (Pro)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
总含量(g/100g)			0.17	0.70	0.70	0.45	0.61	0.67	0.81	0.59	
相对含量/%			10.97	33.02	29.79	19.48	29.47	30.04	29.14	26.70	

7 种甜面酱样品中, 样品 1 鲜味氨基酸相对含量最大为 56.13%, 而多数样品的鲜味氨基酸相对含量约为 15%。不过, 鲜味氨基酸在这些样品中含量虽少, 但其 TAV 值较甜味及苦味氨基酸大, 即鲜味氨基酸对滋味的贡献大。两种鲜味氨基酸中谷氨酸含量最高, 且其 TAV 值也最大 (平均值为 11.2), 对甜面酱的鲜味具有重要的贡献, 其中样品 1 和样品 4 的谷氨酸 TAV 值远大于其他几种样品。

甜味氨基酸中丙氨酸和丝氨酸具有较高的 TAV 值, 分别是 2.55 和 1.01, 他们对甜面酱的甜味具有一

定的贡献, 样品 7 的甜味氨基酸含量最高, 而样品 1 的含量最低。丙氨酸是略带苦味的甜味氨基酸, 甜味氨基酸在浓度稍高于阈值时, 能对 IMP 产生鲜味增强作用^[18]。

苦味氨基酸中, 精氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸的 TAV 值均大于 1, 但甜面酱中却没有产生明显的令人不愉悦的苦味, 这可能是由于复杂的基质中呈味物质的相互作用产生了消杀现象 (即一种物质减弱或抑制另一物质味感的现象), 使其他化合物的存在掩盖或抑制了苦味的呈现。此外, Lioe 等^[18]

发现一些苦味氨基酸在低于它们阈值的浓度时，可以增强其他氨基酸的甜味和鲜味，如在谷氨酸钠和盐的混合溶液中，添加 0.5 mmolL 的苯丙氨酸可以显著提高其溶液的鲜味。由此可见呈味物质之间的相互作用对食物整体滋味口感具有复杂而重要的影响。

2.4 核苷酸含量分析

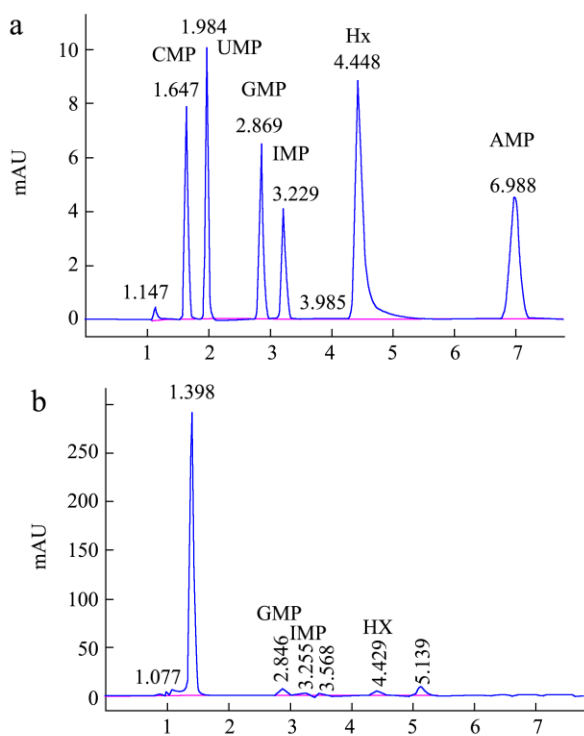


图 2 (a) 核苷酸标准混合溶液 HPLC 图谱, (b) 样品 1 核苷酸 HPLC 图谱

Fig.2. HPLC chromatograms of nucleotide standards (a) and sweet bean sauce sample No 1 (b)

本实验对甜面酱中的 5'-鸟苷酸二钠盐(5'-GMP)、5'-肌苷酸(5'-IMP)、5'-腺苷酸(5'-AMP)、5'-胞苷酸(5'-CMP)、5'-尿苷酸(5'-UMP)、次黄嘌呤(Hx)进行了检测,结果在样品 1 中检测出 5'-GMP、5'-IMP、Hx,而在其他六种样品中仅检测出 Hx,其标准品和样品 1 的核苷酸 HPLC 谱图如图 2 所示。

通过核苷酸混合标准溶液的测定得到各种呈味核苷酸成分的标准曲线方程(如表 5 所示),从而计算得到样品核苷酸成分的含量,7 种甜面酱核苷酸成分含量结果见表 6。

表 5 核苷酸成分的线性方程及相关系数
Table 5 Linear equation and correlation coefficient of nucleotide contents

核苷酸	线性回归方程	相关系数 R ²
5'-GMP	A=16.197X+0.1361	1.0000
5'-IMP	A=10.798X+0.1180	0.9999
5'-CMP	A=12.930X+0.1754	0.9999
5'-UMP	A=18.487X+0.0443	0.9998
5'-AMP	A=23.570X+0.2246	0.9999
Hx	A=41.700X-0.6000	0.9999

注: *: A表示峰面积, C表示核苷酸的浓度, mg/mL。

如表 6 所示,7 种甜面酱都检测出次黄嘌呤(Hx),但除样品 1 外,其余样品中其他几种呈味核苷酸均未检出,而样品 1 中检测出的 5'-IMP 和 5'-GMP 可能来源于作为添加剂的 5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠(见表 2.1 中样品 1 的添加剂信息),而不是由原料面粉发酵生成。这一检测结果与酱油中的核苷酸组成成分相同^[19]。另外,一般认为酱油中的 Hx 来源于 ATP 代谢的最终产物^[20],这可能也是面酱中 Hx 的主要来源。

表 6 甜面酱核苷酸成分含量结果

Table 6 Nucleotide composition of seven kinds of sweet bean sauce

核苷酸(mg/100g)	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7
5'-GMP	5.00±0.15	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5'-IMP	3.77±0.26	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5'-CMP	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5'-UMP	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5'-AMP	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Hx	4.22±0.02 ^{a*}	3.19±0.18 ^b	4.87±0.15 ^c	3.85±0.08 ^d	4.42±0.09 ^e	3.82±0.03 ^d	4.30±0.05 ^{ae}

注: N.D: 该化合物在样品中未被检出, *:显著性水平p=0.05, n=3, 不同系列的字母表示具有显著性差异。

2.5 核苷酸 TAV 值与味精当量 (EUC) 分析

7 种甜面酱中仅李锦记甜面酱含有 5'-IMP、5'-GMP, 根据公式 (1-1) 计算得到样品 1 的 EUC 值为 15.24g MSG/100g, 即每克甜面酱所具有的鲜味强度相当于 0.152 g 味精所产生的鲜味。而味精的阈值为

0.03 g/100mL^[9], 因此, 样品 1 的味精当量 TAV 值高达 508, 说明样品 1 具有非常强烈的鲜味。研究发现, 甜面酱中含量最高的 Hx 具有一定的苦味^[21], Hx 的阈值为 0.01 g/100g^[22], 由计算可知甜面酱中 Hx 的 TAV 值均小于 0.5, 可以认为 Hx 虽呈现苦味, 但对甜面酱的滋味没有直接的影响。

2.6 小分子肽含量及平均肽链长度分析

甜面酱小分子肽含量及平均肽链长度 PCL 的测定结果见表 7。

表 7 甜面酱小分子肽含量及平均肽链长度结果

	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7
酸溶性蛋白 g/100g	2.10	4.56	4.88	4.39	5.24	5.49	6.09
小分子肽 g/100g	0.55	2.44	2.53	2.08	3.17	3.26	3.31
DH/%	29.35	47.38	40.30	32.34	40.93	39.69	42.32
PCL	3.4	2.1	2.5	3.1	2.4	2.5	2.4
Mw/u	392.82	250.15	290.96	358.18	286.77	295.18	277.90

高分子蛋白质在酸性条件下易被沉淀，相对分子质量较小的蛋白质水解物（酸溶蛋白质）可溶于酸性溶液，其中包含小分子肽和游离氨基酸。因此，样品经酸化后，滤液中的酸溶蛋白质含量减去游离氨基酸含量即为小分子肽含量。游离氨基酸的含量由 1.2.2 测定。

甜面酱中小分子肽的含量为 0.55~3.31 g/100g，样品 1 含量最少，样品 7 含量最多。除样品 1 外，其余样品的小分子肽含量约占酸溶性蛋白一半的比例，其在甜面酱中的高含量使其对面酱的滋味可能具有重要的影响。

水解度 DH 在一定程度上反映了甜面酱中蛋白质水解的程度，甜面酱中多肽的水解度为 29.35%~47.38%。根据 Adler Nissen 描述的水解度 DH 与平均肽链长度 PCL 的关系，得到甜面酱的 PCL 为 2.1~3.4，即甜面酱中小分子肽主要是二肽和三肽，其平均分子量在 250~400 u 之间。

2.7 小分子肽分子量分析

分别将标准品细胞色素 C ($M_w=12500$)、抑肽

酶 ($M_w=6500$)、杆菌酶 ($M_w=1450$)、甘氨酸-甘氨酸-酪氨酸-精氨酸 ($M_w=451$)、甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸 ($M_w=189$) 上 TSKgelG2000 SW_{XL} 分子排阻柱，此柱根据化合物的分子量大小进行分离，通常大分子物质比小分子物质先洗脱出。肽分子量分布根据标准品相对分子量对数 Log Mw 对保留时间 T/min 作的标准曲线（见图 3）进行计算。根据面积归一法计算不同分子量分布的肽含量比例，结果如表 8 所示。

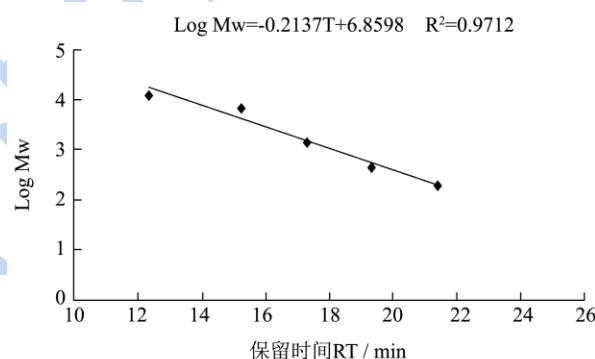


图 3 分子量校正曲线

Fig.3 Calibration curve of molecular weight

表 8 甜面酱小分子肽分布结果

分子量	分布比例/%						
	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7
> 10 ku	0.00	0.45	0.00	0.00	0.54	0.00	0.98
445 u~10 ku	23.31	16.09	18.90	16.36	14.34	20.38	11.44
221 u~445 u	54.31	56.25	56.27	63.01	59.64	56.61	62.12
< 221 u	22.38	27.21	24.82	20.64	25.49	23.00	25.46

从表 8 可见，甜面酱中肽主要分布在 221~445 u，主要包含二肽、三肽和四肽，与上面的计算结果基本一致；其次是相对分子量小于 221 u 的部分，主要是游离的氨基酸化合物。甜面酱的水溶性溶液中，大于 10 ku 的蛋白质含量也基本不存在，这与宋钢^[15]对日本豆酱的研究结果基本一致，但测定的甜面酱蛋白质水解度 DH 约在 30%~50%左右，这可能是由于本实验

中只对水溶性的蛋白质进行分子量分布的测定，对非水溶性的蛋白质并未作研究。小分子的肽与蛋白质和较大分子的肽相比，在肠道更容易被吸收，因此甜面酱中的肽较易被人体吸收利用。

Schlichth -erle Cerny^[23]等人研究发现小麦面筋蛋白中含有许多具有强化呈味（鲜味、咸味、酸味）功能的小肽，这些肽本身可能没有味道或味道很淡，多

半含有酸性氨基酸 Glu 或 Asp, 在适当的浓度下可与其他呈味成分(盐、味精、酸味剂)产生协同效果增强味感。同时, 他们从小麦蛋白的水解液中分离鉴定出 4 种与鲜味贡献有关的小肽, 分别为 Glu-Pro ($M_w=227$)、Glu-Pro-Ser ($M_w=314$)、Glu-Pro-Gln ($M_w=355$)、Glu-Pro-Glu ($M_w=356$), 这些二肽和三肽都含有 Glu 和 Pro。甜面酱中, 平均肽链长度 PCL 为 2.1~3.4, 肽段主要集中在 221~445 u, 且游离氨基酸中 Pro、Glu、Asp 为含量较高的三种氨基酸, 因此可以推断甜面酱中分子量在 221~445 u 的肽段对鲜味具有一定的贡献。有关这些小肽的结构正在进一步研究。

3 结论

3.1 通过采用国标检测方法、氨基酸分析仪、高效液相色谱仪等, 对甜面酱中的各种成分进行了分析, 结果表明 7 种市售甜面酱中的水分、粗脂肪、氨基态氮、总氮和粗蛋白的平均含量分别为 51.42%、1.84%、0.50%、1.284% 和 7.32%; 甜面酱游离氨基酸总含量为 1.55~2.78 g/100g, 样品 1 含量最低, 样品 7 含量最高, 7 种甜面酱中平均 TAV 值最大的 5 种氨基酸依次为谷氨酸、缬氨酸、丙氨酸、精氨酸和天门冬氨酸, 其中谷氨酸的 TAV 值最高, 对甜面酱的鲜味有着重要贡献; 甜面酱中核苷酸主要为次黄嘌呤, 但其 TAV 值小于 0.5 对滋味没有贡献。此外, 李锦记甜面酱还含有 GMP 和 IMP, 其味精当量 EUC 值为 15.24 g MSG/100 g, 具有强烈的鲜味。甜面酱中小分子肽的含量为 0.55~3.31 g/100 g, 平均肽链长度为 2~4, 分子量主要分布于 221~445 u 之间。

3.2 本实验主要对甜面酱中的非挥发性呈味物质进行了系统的分析, 同时确定了对鲜味有贡献的氨基酸和核苷酸含量, 并对小分子肽的分子量分布段进行了探讨, 但对小分子肽的结构有待进一步研究。

参考文献

- [1] 金华勇.甜面酱发酵工艺试验研究[D].湖北:湖北工业大学,2009
- [2] JIN Hua-yong.Experimental Study on the Fermentation Process of Sweet Flour Paste[D].Hubei:Hubei University of Technology, 2009
- [3] Chung H Y.Volatile components in fermented soybean (Glycine max) curds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(7): 2690-2696
- [4] Lee S J, Ahn B. Comparison of volatile components in fermented soybean pastes using simultaneous distillation and extraction (SDE) with sensory characterization [J]. Food Chemistry, 2009, 114(2): 600-609
- [5] Zhang Y Y, Huang M Q, Tian H Y, et al.Preparation and aroma analysis of Chinese traditional fermented flour paste [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(1): 49-58
- [6] 黄明泉,张璟琳,王璐,等.不同品牌甜面酱中氨基酸组成分析及营养价值评价[J].食品工业科技,2014,7:330-334
HUANG Ming-quan, ZHANG Jing-lin, WANG Lu, et al. Amino acid composition and nutritional evaluation of 7 brands sweet sauces [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 7: 330-334
- [7] 黄明泉,王璐,孙宝国.甜面酱中非挥发性有机酸成分分析[J].食品科学,2013,34(18):123-130
HUANG Ming-quan, WANG Lu, SUN Bao-guo. Analysis of non-volatile organic acids in sweet sauce [J]. Food Science, 2013, 34(18): 123-130
- [8] Huang M Q, Wang L, Sun B G, et al. Evaluation of sweet sauce characteristic taste based on electronic tongue technology [J]. Advanced Materials Research, 2012, 554: 1593-1601
- [9] Tkachuk R. Nitrogen-to-protein conversion factors for cereals and oil-seed meals [J]. Cereal Chemistry, 1969, 46: 419-423
- [10] 陈德慰.熟制大闸蟹风味及冷冻加工技术的研究[D].无锡:江南大学,2007
CHEN De-wei. Flavour and freezing technology of cooked chinese mitten crab [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007
- [11] 陈德慰,苏键,颜栋美,等.广西北部湾常见水产品中甜菜碱含量测定及呈味效果评价[J].现代食品科技,2011, 27(4): 468-472
CHEN De-wei, SU Jian, YAN Dong-mei, et al. Determination and taste evaluation of betaine present in common aquatic products from beibu gulf in Guangxi [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(4): 468-472
- [12] Yamaguchi S, Yoshikawat, Ikeda S, et al. Measurement of the relative taste intensity of some α -amino acids and 5'-nucleotides [J]. Journal of Food Science, 1971, 36(6): 846-849
- [13] Adler-Nissen J. Enzymic hydrolysis of food proteins [M]. Elsevier Applied Science Publishers, 1986: 13-14
- [14] Schlichtherle-Cerny H, Amadò R. Analysis of taste-active compounds in an enzymatic hydrolysate of deamidated wheat gluten [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1515-1522

- [15] 王璐,黄明泉,孙宝国,等.电子舌技术在甜面酱口感评价中的应用[J].食品科学,2012,33(20):347-351
WANG Lu, HUANG Ming-quan, SUN Bao-guo, et al. Application of electronic tongue technique to taste evaluation of sweet sauce [J]. Food Science, 2012, 33(20): 347-351
- [16] 宋钢.日本酱中氮成分分析[J].中国酿造,2005,2:52-55
SONG Gang. Analysis of nitrogen component in Japanese miso [J]. China Brewing, 2005, 2: 52-55
- [17] 刘文豪.麦谷蛋白源谷氨酰胺肽的制备和肠道营养效果研究[D].武汉:华中农业大学,2008
LIU Win-hao. The preparation of glutenin source of glutamine peptide and the effect research of enteral nutrition [D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2008
- [18] Dajanta K, Apichartsrangkoon A, Chukeatirote E, et al. Free-amino acid profiles of thua nao, a Thai fermented soybean[J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 342-347
- [19] Lioe H N, Apriyantono A, Takara K, et al. Umami taste enhancement of MSG/NaCl mixtures by subthreshold l-a-aromatic amino acids [J]. J. Food Sci., 2005, 70(7): 401-405
- [20] 杨荣华,金燕,赵华杰,等.市售酱油中呈味核苷酸的测定[J].食品与发酵工业,2010,36(7):131-133
YANG Rong-hua, JIN Yan, ZHAO Hua-jie, et al. Determination of flavor nucleotides in commercial soy sauce [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(7): 131-133
- [21] 王福源.现代食品发酵工业[M].北京:中国轻工业出版社,2004
WANG Fu-yuan. Modern food fermentation industry [M]. Beijing:China Light Industry Press, 2004
- [22] Kuda T, Fujita M, Goto H, et al. Effects of retort conditions on ATP-related compounds in pouched fish muscle [J]. LWT-Food Sci. Technol., 2008, 41(3): 469-473
- [23] Spinelli J. Effect of hypoxanthine on the flavor of fresh and stored low-dose-irradiated petrale sole fillets [J]. Journal of Food Science, 1965, 30(6): 1063-1067
- [24] Schlichtherle-Cerny H, Amadò R. Analysis of taste-active compounds in an enzymatic hydrolysate of deamidated wheat gluten [J]. J. Agric. Food Chem., 2002, 50: 1515-1522