

不同结构改性与美拉德反应前后鲜味二肽 (Asn-Pro 和 Ala-His) 呈味特性的对比分析

赵炫¹, 苏国万², 赵亚琦², 华彦涛¹, 李宝玉¹, 尹凯丹¹

(1. 广东农工商职业技术学院热带农林学院, 广东广州 510507)

(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文为了探讨不同结构改性(氨基酸顺序改变、增加鲜味氨基酸、串联肽)与美拉德反应对鲜味二肽(Asn-Pro 和 Ala-His)鲜味与增鲜效果的影响, 利用电子舌分析了 Asn-Pro 和 Ala-His 及其结构改性后获得的新肽和美拉德反应产物的呈味特性, 评价了 Asn-Pro 和 Ala-His 结构改性前后以及美拉德反应对味精(MSG)和酱油的增鲜效果。结果表明, Ala-His 序列改性后获得的新二肽 His-Ala 的鲜味评分由 4.09 分上升到 5.08 分, 对 MSG 和酱油具有明显的增鲜作用, 其鲜味评分分别提高了 1.40 分和 0.48 分, 而其他结构改性获得的 9 条新肽(Pro-Asn、Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro、Asn-Pro-Asp、Asn-Pro-Asn-Pro、Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Ala-His 和 Ala-His-Asn-Pro)相对于原二肽的鲜味均有所下降, 对 MSG 和酱油具有明显的鲜味抑制作用。美拉德反应可显著提升 Asn-Pro 和 Ala-His 的鲜味特性, 其鲜味评分分别由 7.65 分和 4.09 分上升到 9.48 分和 6.37 分, 美拉德反应产物对 MSG 和酱油具有明显的增鲜作用, MSG 的鲜味评分分别提高了 3.96 分和 2.29 分, 酱油的鲜味评分分别提高了 3.77 分和 1.49 分。氨基酸序列改变、增加鲜味氨基酸以及串联肽能显著影响多肽鲜味及增鲜效果, 美拉德反应是提升多肽鲜味与增鲜效果的有效途径。

关键词: 结构改性; 电子舌; 鲜味肽; 呈味特性; 美拉德反应

文章编号: 1673-9078(2021)03-241-249

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0850

Comparative Analysis for the Taste Characteristics of the Umami Dipeptides (Asn-Pro and Ala-His) before and after Structural Modifications and Maillard Reaction

ZHAO Xuan¹, SU Guo-wan², ZHAO Ya-qi², HUA Yan-tao¹, LI Bao-yu¹, YIN Kai-dan¹

(1.College of Tropical Agriculture and Forestry, Guangdong AIB Polytechnic, Guangzhou 510507, China)

(2.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510640, China)

Abstract: The effects of different structural modifications (the change of amino acid sequences, adding umami amino acid residues, cross-connection of the two dipeptides) and Maillard reaction for dipeptides (Asn-Pro and Ala-His) on umami intensities and umami-enhancing effect were investigated. Electronic tongue was used to evaluate the taste characteristics and the umami-enhancing effects on MSG and soy sauce. The results showed that, compared to Ala-His, the umami score of the new dipeptide His-Ala increased from 4.09 to 5.08. His-Ala had a significant umami-enhancing effect on MSG and soy sauce and their umami scores increase by 1.40 and 0.48, respectively. However, compared to Asn-Pro and Ala-His, the umami intensities of the other 9 new peptides (Pro-Asn, Glu-Asn-Pro, Asn-Pro-Glu,

引文格式:

赵炫, 苏国万, 赵亚琦, 等. 不同结构改性与美拉德反应前后鲜味二肽 (Asn-Pro 和 Ala-His) 呈味特性的对比分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(3): 241-249

ZHAO Xuan, SU Guo-wan, ZHAO Ya-qi, et al. Comparative analysis for the taste characteristics of the umami dipeptides (Asn-Pro and Ala-His) before and after structural modifications and Maillard reaction [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 241-249

收稿日期: 2020-09-10

基金项目: 国家科技部星火计划项目 (2015GA780077); 广东省教育厅特色创新项目 (2019GKTSX054)

作者简介: 赵炫 (1995-), 男, 助教, 研究方向: 食品生物技术、食品风味化学

通讯作者: 尹凯丹 (1966-), 女, 教授, 研究方向: 农产品加工与质量检测技术

Asp-Asn-Pro, Asn-Pro-Asp, Asn-Pro-Asn-Pro, Ala-His-Ala-His, Asn-Pro-Ala-His and Ala-His-Asn-Pro) decreased, and they had significant umami-inhibiting effects on MSG and soy sauce. Maillard reaction could significantly improve the umami intensities of Asn-Pro and Ala-His. The umami scores of Asn-Pro and Ala-His increased from 7.65 and 4.09 to 9.48 and 6.37, respectively. In addition, Maillard reaction products of Asn-Pro and Ala-His had significant umami-enhancing effects on MSG and soy sauce, and their umami scores of MSG increased by 3.96 and 2.29, the umami scores of soy sauce increased by 3.77 and 1.49, respectively. The change of amino acid sequences, adding umami amino acid residues and cross-connection of the two dipeptide could significantly affect the umami taste and umami-enhancing effect of peptides. Maillard reaction could be an effective way to enhance the umami taste and umami-enhancing effect of peptides.

Key words: structural modifications; electronic tongue; umami peptide; taste characteristic; Maillard reaction

鲜味肽是一类能够弥补或强化食品原有风味的肽,它可以改善食品品质、提高味觉感知以及增进消费者食欲,可通过动植物蛋白酶解或发酵获得^[1]。最早 Yamasaki 等^[2]从木瓜蛋白酶水解牛肉产物中分离得到一种风味美味的组分(Lys-Gly-Asp-Glu-Ser-Leu-Leu-Ala),并将其命名为美味肽(BMP)。随后,鲜味肽引起了研究者的广泛关注和研究,如 Rhyu 等^[3]研究发现韩国豆酱水提取物中相对分子量在 500~1000 u 的小分子肽组分具有较强的鲜味;Su 等^[4]从花生粕酶解产物中分离纯化鉴定出 2 条具有鲜味和增鲜作用的肽;Zhang 等^[5]在花生分离蛋白酶解液中分离纯化得到 6 条鲜味肽等。但是这些研究主要集中在酶解液中鲜味肽的分离纯化和鉴定方面,对于鲜味肽的构效关系的研究尚且不明晰。而呈味肽的结构对其呈味特性具有至关重要的影响,呈味肽的呈味特性与氨基酸性质、氨基酸组成、氨基酸序列以及肽的空间结构等密切相关^[6],因此,研究鲜味肽的结构与呈味特性的关系对于丰富呈鲜机理具有及其重要的意义。

美拉德反应是羰基化合物(还原糖类、醛类、酮类)与氨基化合物(蛋白质、肽、游离氨基酸、胺等)之间发生一系列复杂化学反应最终生成类黑精物质的一种反应^[7]。有研究表明,肽和还原糖发生美拉德反应后可提升其鲜味特性,如康乐^[8]通过对牛肉中具有美拉德反应风味活性的肽进行分离鉴定,发现 Glu-Cys-Gly、Leu-Cys、Val-Met 和 Cys-Gly-Val 美拉德反应产物具有肉香、鲜味、醇厚感,同时对鸡汤溶液的鲜味和醇厚感提升效果十分明显;张佳男^[9]研究发现花生鲜味肽与木糖进行美拉德反应可进一步提升其鲜味强度;刘平^[10]研究发现大豆肽的美拉德反应产物可使鸡汤呈现更好的鲜味、醇厚味和持续感,且减弱其焦甜味、酸味和苦味,并且使得鸡汤整体风味更协调。

电子舌是一种模拟人的舌头对液体样品进行分析、识别和判断的一种味觉智能识别检测仪器,与传统的感官评价结果相比,电子舌检测结果具有更加快

速、稳定和标准等优点^[11]。近些年来,电子舌已广泛应用于呈味肽的研究,如苗晓丹等^[12]在利用酶水解养殖暗纹东方鲀肌肉制备呈味肽的研究中,发现电子舌能够明确区分出不同蛋白酶解液;惠延波等^[13]利用电子舌对大豆肽溶液进行定性分析,发现判别因子分析法(DFA)对不同大豆肽样品的区分效果好,区分指数 DI=100,并能准确对未知样品进行呈味预测,识别率为 100%;刁静雯等^[14]通过电子舌检测与人工感官评价对甲鱼肉酶解液滋味分析,发现两者间具有较为一致的评定效果,而电子舌在对每种滋味强弱的评价上更为灵敏。

鲜味肽 Asn-Pro 和 Ala-His 是两条从酱油中分离鉴定得到的具有明显鲜味和鲜味增强作用的肽^[15],为了进一步研究结构改性(氨基酸顺序改变、增加鲜味氨基酸、串联肽)以及美拉德反应对其呈味特性的影响,在前期研究的基础上,定向合成 Asn-Pro、Ala-His、Pro-Asn、His-Ala、Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro、Asn-Pro-Asp、Asn-Pro-Asn-Pro、Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Ala-His 和 Ala-His-Asn-Pro,并利用电子舌分析其呈味特性的差异。

1 材料与方法

1.1 原料

酱油由海天调味食品股份有限公司提供;柠檬酸、蔗糖、咖啡因、食盐、味精、葡萄糖均为食品级,由广东天企生物科技有限公司提供;合成肽 Asn-Pro、Ala-His、Pro-Asn、His-Ala、Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro、Asn-Pro-Asp、Asn-Pro-Asn-Pro、Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Ala-His 和 Ala-His-Asn-Pro 购买于上海吉尔生化有限公司;氯化钾、酒石酸、无水乙醇、氢氧化钾、盐酸、氯化银、三氟乙酸(TFA)均为分析纯;乙腈和甲醇为色谱级。

1.2 主要仪器设备

AL204 电子天平,瑞士梅特勒-托利多集团;

TS-5000Z 电子舌, 日本 Insent 公司; Waters600 高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; DF-101S 磁力加热搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; Milli-Q 超纯水仪, 美国 Millipore 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 合成肽的纯度检测

采用高效液相色谱 (HPLC) 对合成肽进行纯度检测, 将合成肽配置成 5 mg/mL 的溶液, 色谱柱为 Welch CX-C18 (4.6×250 mm, 5 μm), 流动相为 A: 0.1% TFA 乙腈溶液; B: 0.1% TFA 水溶液。采用梯度洗脱: 0~0.1 min, 0~3% A, 100%~97% B; 0.1~25 min, 3%~28% A, 97%~72% B; 25~25.1 min, 28%~100% A, 72%~0% B; 25.1~30 min, 100% A。进样体积为 10 μL, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 220 nm。

1.3.2 味觉传感器和参比电极的活化

用超纯水配制味觉传感器基准液 (30 mM KCl+0.3 mM 酒石酸) 和内部液 (3.3 M KCl+饱和氯化银), 在味觉传感器探头内加入 200 μL 内部液, 并将味觉传感器置于装有基准液的烧杯内, 用保鲜膜密封烧杯口, 25 °C 活化 24 h 待用; 用超纯水配制参比电极内部液 (3.3 M KCl+饱和氯化银) 和 3.3 M KCl 溶液, 在参比电极探头内加入 200 μL 内部液, 直至液面距离玻璃管顶部约 5 mm 的位置, 并将参比电极置于装有 3.3 M KCl 溶液的烧杯内, 液面距离电极头约 15 mm, 用保鲜膜密封烧杯口, 25 °C 活化 24 h 待使用。

1.3.3 电子舌的数据采集

电子舌能感知液体环境中的不同味感 (酸、甜、苦、咸、鲜味), 将待测样品的化学信号转化为电信号, 电信号通过信号采集单元和模式识别系统转化成电势差, 其输出值即为电子舌评分。根据待测样品的化学成分不同, 电子舌评分存在差异, 可以用来判断其呈味特性。首先将传感器于浸泡液中稳定 90 s 进行初步清洗以除去膜表面杂质, 其中鲜、咸、酸传感器使用阴离子浸泡液 (0.1 M HCl+300 mL 无水乙醇), 甜、苦传感器使用阳离子浸泡液 (0.1 M KCl+10 mM KOH+300 mL 无水乙醇), 然后将各传感器于基准液中分别清洗 2 min, 即可用来测定样品的电子舌评分。公式如下:

$$V=V_s-V_r$$

式中: V : 电势差输出值, 即为电子舌评分; V_s : 传感器在样品溶液中稳定 30 s 测得的电势值; V_r : 传感器在基准液中稳定 30 s 测得的电势值。

1.3.4 合成肽的基本呈味特性评价

参照李露芳等^[16]的方法, 利用电子舌对合成肽的滋味进行评价分析。用超纯水配置 1 mg/mL 的合成肽样品, 置于电子舌样品盘中, 于室温条件下进行数据采集, 每个样品每次数据采集时间为 2 min, 共采集 4 次, 每个样品数据采集完后, 探头需用味觉标准溶液和洗脱剂进行两步清洗干净后才能进行下一个样品的测定。评价指标包括酸、甜、苦、咸、鲜味, 其标准品分别是 0.03 mg/mL 的柠檬酸、300 mg/mL 的蔗糖、0.03 mg/mL 的咖啡因、1 mg/mL 的食盐和 1 mg/mL 的味精。

1.3.5 合成肽对 MSG 的增鲜效果评价

以 1 mg/mL 的 MSG 作为鲜味标准品, 向 100 mL 的 1 mg/mL MSG 溶液中加入 100 mg 合成肽, 鲜味的评价方法同 1.3.4。

1.3.6 合成肽对酱油的增鲜效果评价

以稀释 30 倍的酱油作为标准品, 向 100 mL 稀释 30 倍的酱油溶液中加入 100 mg 合成肽, 鲜味的评价方法同 1.3.4。

1.3.7 合成肽的美拉德反应

精确称取 100 mg 合成肽和 100 mg 葡萄糖加入到 100 mL 超纯水中, 置于 95 °C 的磁力搅拌加热器中反应 30 min, 室温冷却得到美拉德反应产物。

1.3.8 数据分析

所有测试均重复三次, 单因素方差分析采用 SPSS 14.0 软件的 one-way ANOVA (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 统计分析软件进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 不同氨基酸序列合成肽的呈味特性

经 HPLC 检测, 十二条合成肽的纯度均大于 95%, 满足实验要求。首先采用电子舌测定了 Asn-Pro、Pro-Asn、Ala-His 和 His-Ala 四条肽的基本滋味以及对 MSG 和酱油的增鲜效果。由表 1 可知, 相比于 Asn-Pro, Pro-Asn 的酸、苦味上升明显, 而甜、咸和鲜味下降明显, 其中酸味评分提高了 19.26 分, 咸味评分降低了 31.03 分, 变化幅度较大; 相比于 Ala-His, His-Ala 酸、咸和鲜味上升明显, 而甜、苦味下降明显, 其中咸味评分提高了 12.14 分, 甜味评分降低了 13.53 分。同样地, 肽对 MSG 和酱油的增鲜效果可由鲜味评分体现, 由图 1a 和图 1b 可知, Asn-Pro 对 MSG 和酱油具有明显的增鲜作用, 其鲜味评分分别为 11.75 分和 11.96 分 (MSG 和酱油标准品的鲜味评分分别为 9.97 分和 11.29 分), 而 Pro-Asn 对 MSG 和酱油具有

明显的抑鲜作用，其鲜味评分分别为 8.57 分和 10.27 分；Ala-His 和 His-Ala 仅对 MSG 的增鲜效果上存在显著性差异，鲜味评分分别为 10.50 分和 11.37 分，结果表明其中 His-Ala 增鲜作用更强，但两者对酱油的增鲜效果差异较小，鲜味评分分别为 11.47 分和 11.77 分。

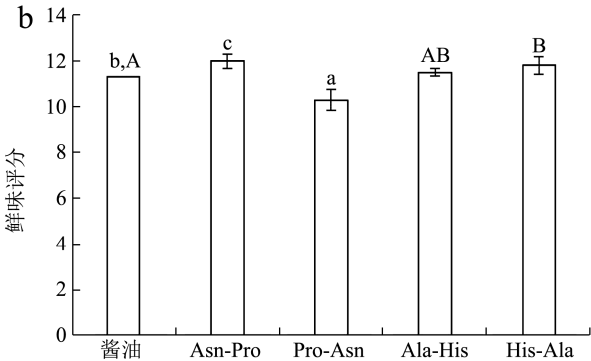
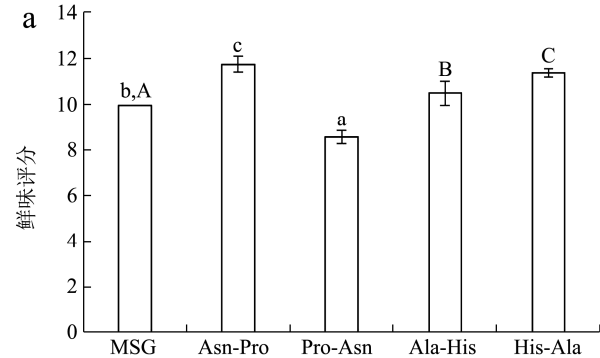


图1 不同氨基酸序列合成肽对 MSG (a) 和酱油 (b) 增鲜效果电子舌评分图

Fig.1 Electronic tongue score of umami-enhancing effect of synthetic peptides composed by different amino acid sequence on MSG (a) and soy sauce (b)

注：不同大小写不同字母标注表示有显著差异 ($p<0.05$)。

表 1 不同氨基酸序列合成肽的电子舌评分表

Table 1 Electronic tongue score of synthetic peptides composed by different amino acid sequences

样品	酸味	甜味	苦味	咸味	鲜味
标准品	6.63	25.85	30.22	20.16	9.97
Asn-Pro	-30.41±0.50 ^a	10.64±0.34 ^a	6.76±0.06 ^a	12.17±0.15 ^a	7.65±0.15 ^a
Pro-Asn	-11.15±0.23 ^b	7.58±0.71 ^b	8.31±0.37 ^b	-18.86±0.08 ^b	1.56±0.57 ^b
Ala-His	-17.58±0.41 ^A	18.56±0.39 ^A	8.07±0.23 ^A	-5.30±0.57 ^A	4.09±0.24 ^A
His-Ala	-9.21±0.67 ^B	5.03±0.48 ^B	5.45±0.26 ^B	6.84±0.39 ^B	5.28±0.28 ^B

注：同列不同大小写不同字母标注表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

表 2 不同鲜味氨基酸组成的合成肽电子舌评分表

Table 2 Electronic tongue score of synthetic peptides composed by different umami amino acids

样品	酸味	甜味	苦味	咸味	鲜味
标准品	6.63	25.85	30.22	20.16	9.97
Asn-Pro	-30.41±0.50 ^a	10.64±0.34 ^a	6.76±0.06 ^a	12.17±0.15 ^a	7.65±0.15 ^a
Glu-Asn-Pro	1.75±0.41 ^b	-4.74±0.57 ^b	4.94±0.23 ^b	8.29±0.20 ^b	2.96±0.32 ^b
Asn-Pro-Glu	1.83±0.34 ^b	-3.74±0.42 ^c	4.94±0.46 ^b	7.38±0.38 ^c	2.77±0.67 ^c
Asp-Asn-Pro	-8.60±0.46 ^c	5.89±0.48 ^d	6.50±0.31 ^a	-22.99±0.45 ^d	-0.20±0.21 ^d
Asn-Pro-Asp	2.30±0.22 ^d	-4.73±0.51 ^b	4.95±0.27 ^b	7.69±0.32 ^c	2.67±0.34 ^c

注：同列不同字母标注表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

类似的有，Tamura 等^[17]研究发现 Orn-Asp、Lys-Asp、Orn-Glu 和 Lys-Glu 几乎无味，而 Asp-Orn 和 Asp-Lys 具有酸味，Glu-Orn 和 Glu-Lys 却具有显著的鲜味和酸味。研究表明氨基酸序列与呈味肽的鲜味强度密切相关，鲜味肽的鲜味来源于酸性基团与碱性基团的相互作用，只有这两种基团的处于合适位置时才会使人感受到鲜味^[18]，这说明氨基酸序列的不同对鲜味肽的呈味特性具有重要影响。

2.2 不同鲜味氨基酸组成的合成肽的呈味特性

由表 2 可知，在 Asn-Pro 两端分别引入鲜味氨基

酸（Glu 和 Asp）后，Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro 和 Asn-Pro-Asp 相比于 Asn-Pro 酸味明显，酸味评分分别提高了 32.16 分、32.24 分、21.81 分和 32.71 分，而甜味和鲜味较弱，甜味评分分别降低了 15.38 分、14.38 分、4.75 分和 15.37 分，鲜味评分分别降低了 4.69 分、4.88 分、7.85 分和 4.98 分。值得注意的是，Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu 和 Asn-Pro-Asp 三条肽在酸、甜、苦、咸和鲜味评分上较为接近，而 Asp-Asn-Pro 与这三条肽的呈味特性差异较大。同时由图 2a 和 b 可知，Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro、Asn-Pro-Asp 对 MSG 和酱油的鲜味均

具有明显的抑制作用,使得 MSG 鲜味评分分别降低了 4.92 分、4.64 分、5.19 分和 4.04 分以及酱油鲜味评分分别降低了 3.21 分、2.99 分、3.35 分和 2.51 分,只有 Asn-Pro 能显著地提升 MSG 和酱油的鲜味。

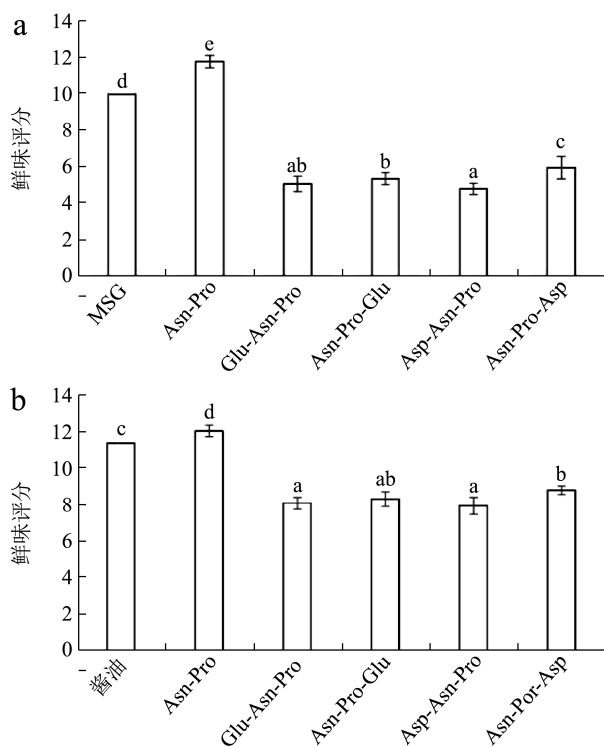


图2 不同鲜味氨基酸组成的合成肽对 MSG (a) 和酱油 (b) 增鲜效果电子舌评分图

Fig.2 Electronic tongue score of umami-enhancing effect of synthetic peptides composed by different umami amino acids on MSG (a) and soy sauce (b)

注: 不同字母标注表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

目前研究发现的鲜味肽一般具有鲜味氨基酸 (Asp 和 Glu) 的一种或两种^[19], 如 Noguchi 等^[20]从鱼肉蛋白中分离得到多条含有 Glu 的鲜味肽 (Thr-Glu、Glu-Glu、Glu-Asp、Glu-Asp-Glu 和 Glu-Gln-Glu); Matsushita 等^[21]从啤酒酵母调味料中分离得到由 4 个 Asp 组成的鲜味肽 Asp-Asp-Asp-Asp; Schlichtherle-Cerny 等^[22]从小麦面筋蛋白酶解产物中分离得到四条具有鲜味的焦谷氨酸的寡肽, 分别为 pGlu-Pro、pGlu-Pro-Gln、pGlu-Pro-Ser 和 pGlu-Pro-Glu。但也有学者研究发现具有鲜味氨基酸 (Asp 和 Glu) 的肽并不一定具有鲜味, 如 Kim 等^[23]发现 Glu-Gln-Pro-Gln-Gln-Asn-Glu 和 Asn-Asn-Glu-Asp-Thr 呈现出明显的苦味; Cho 等^[24]发现 Glu-Tyr-Phe-Leu 和 Phe-Ile-Glu-Gly-Val 苦味较为突出; 宋雪梅等^[25]在干酪中分离出多条苦味肽, 如 His-Gln-Gly-Leu-Pro-Gln-Glu 和 Ser-Asp-Ile-Pro-Asn-Pro-Ile-Gly-Ser-Glu-Asn-Ser-Gly 等均含有鲜味氨基酸

但无鲜味。此外, 也有研究报道了不含鲜味氨基酸 (Asp 和 Glu) 但具有显著鲜味的多肽, 如 Cys-Cys-Asn-Lys-Ser-Val、Ala-His-Ser-Val-Arg-Phe-Tyr^[26]、Val-Pro-Tyr、Thr-Ala-Tyr、Ala-Ala-Pro-Tyr、Gly-Phe-Pro^[27]和 Tyr-Gly-Gly-Thr-Pro-Pro-Phe-Val^[28]。

本研究中 Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro、Asn-Pro-Asp 与 Asn-Pro 的呈味特性存在极大差异的原因可能与寡肽存在空间构效有关, 肽链的长度会导致结构和电荷分布的差异, 从而影响呈味肽的呈味特性, 如 Yu 等^[29]通过构建 3D-QSAR 模型研究鲜味六肽与受体间的相互作用表明, 在特定区域引入适当电荷和适当大小的基团可能会改善六肽的鲜味特性; Dang 等^[30]研究发现只有当鲜味肽的带正电基团、带负电基团以及疏水性基团分别连接到相对应的鲜味受体上, 才能使人感受到鲜味。该研究提示 Glu 和 Asp 残基对多肽呈鲜与增鲜特性可能存在抑制效应。

2.3 不同 Asn-Pro 和 Ala-His 串联肽的呈味特性

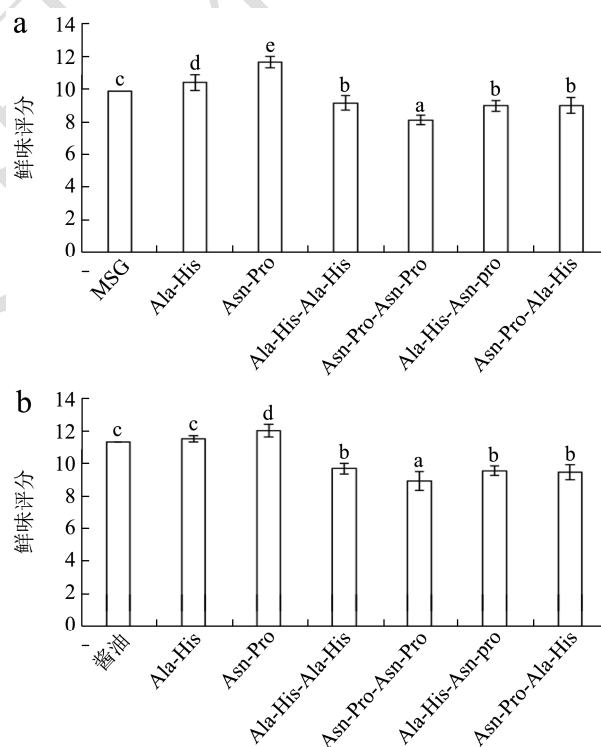


图3 不同 Asn-Pro 和 Ala-His 串联肽对 MSG (a) 和酱油 (b) 增鲜效果电子舌评分图

Fig.3 Electronic tongue score of umami-enhancing effect of synthetic peptides composed by Asn-Pro and Ala-His on MSG (a) and soy sauce (b)

注: 不同字母标注表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

由表 3 可知, 相比于 Ala-His 和 Asn-Pro, Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Asn-Pro、Ala-His-Asn-Pro 和 Asn-Pro-Ala-His 四条肽酸味明显, 酸味评分分别为

0.11 分、2.43 分、0.81 分和 1.02 分,而甜味较弱,甜味评分分别为-5.51 分、-5.39 分、-4.06 分和-4.42 分,同时苦味和鲜味均有所降低。值得注意的是,Ala-His-Asn-Pro 和 Asn-Pro-Ala-His 咸、鲜味差异较小,但酸、甜和苦味具有显著性差异;而 Ala-His-Ala-His 和 Ala-His,以及 Asn-Pro-Asn-Pro 和 Asn-Pro 之间酸、甜、苦、咸和鲜味差异明显。同时由图 3a 和 b 可知,Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Asn-Pro、Ala-His-Asn-Pro、Asn-Pro-Ala-His 对 MSG 和酱油的鲜味均具有明显的抑制作用,其中 Asn-Pro-Asn-Pro 的抑鲜作用最强,分别使得 MSG 和酱油的鲜味评分降低了 1.74 分和 2.38 分。

有文献报道 Asp-Asp^[31]和 Asp-Asp-Asp^[21]之

表 3 不同 Asn-Pro 和 Ala-His 串联肽电子舌评分表

Table 3 Electronic tongue score of synthetic peptides composed by Asn-Pro and Ala-His

样品	酸味	甜味	苦味	咸味	鲜味
标准品	6.63	25.85	30.22	20.16	9.97
Ala-His	-17.58±0.41 ^a	18.56±0.39 ^a	8.07±0.23 ^a	-5.30±0.57 ^a	4.09±0.24 ^a
Asn-Pro	-30.41±0.50 ^b	10.64±0.34 ^b	6.76±0.06 ^b	12.17±0.15 ^b	7.65±0.15 ^b
Ala-His-Ala-His	0.11±0.32 ^c	-5.51±0.23 ^c	6.36±0.25 ^c	10.72±0.22 ^c	4.04±0.33 ^a
Asn-Pro-Asn-Pro	2.43±0.44 ^d	-5.39±0.32 ^c	5.11±0.37 ^d	6.95±0.29 ^d	2.55±0.19 ^c
Ala-His-Asn-Pro	0.81±0.37 ^e	-4.06±0.39 ^d	5.40±0.17 ^e	8.78±0.41 ^e	3.50±0.37 ^d
Asn-Pro-Ala-His	1.02±0.19 ^f	-4.42±0.41 ^e	5.82±0.10 ^f	8.99±0.32 ^e	3.41±0.22 ^d

注:同列不同字母标注表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

表 4 合成肽美拉德反应物的电子舌评分表

Table 4 Electronic tongue score of synthetic peptide Maillard products

样品	酸味	甜味	苦味	咸味	鲜味
标准品	6.63	25.85	30.22	20.16	9.97
Asn-Pro	-30.41±0.50 ^a	10.64±0.34 ^a	6.76±0.06 ^a	12.17±0.15 ^a	7.65±0.15 ^a
Asn-Pro-M	4.50±0.29 ^b	-6.69±0.43 ^b	2.20±0.19 ^b	7.94±0.39 ^b	9.48±0.33 ^b
Ala-His	-17.58±0.41 ^A	18.56±0.39 ^A	8.07±0.23 ^A	-5.30±0.57 ^A	4.09±0.24 ^A
Ala-His-M	1.92±0.32 ^B	-6.75±0.21 ^B	3.92±0.40 ^B	10.90±0.42 ^B	6.37±0.30 ^B

注:同列不同大小写不同字母标注表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

2.4 Asn-Pro 和 Ala-His 美拉德反应产物的呈味特性

由表 4 可知,Asn-Pro 和 Ala-His 与葡萄糖发生美拉德反应后,其美拉德反应产物酸味和鲜味明显增强,其中酸味分别上升 34.91 分和 19.50 分,鲜味分别提高了 1.83 分和 2.28 分,而甜味与苦味明显减弱,甜味分别降低了 17.33 分和 25.31 分,苦味分别降低了 4.56 分和 4.15 分。由图 4a 和 b 可知,在对 MSG 和酱油的增鲜效果上,Asn-Pro 和 Ala-His 的美拉德产物增鲜效果也比 Asn-Pro 和 Ala-His 强,其中 Asn-Pro

间、Gly-Gly^[23]、Gly-Glu^[32]和 Gly-Gly-Gly-Glu^[33]之间的呈味也存在巨大差异。一方面,鲜味肽的肽链长度在一定程度上影响着其鲜味强度,鲜味肽氨基酸骨架一般结构式为-O(C)_n(O-, n 介于 3~9 之间,当 n 取值为 4~6 之间时鲜味最强,因此随着分子量的增加,碳链的延长,导致合成肽的鲜味下降,这是 Ala-His-Ala-His 和 Ala-His 以及 Asn-Pro-Asn-Pro 和 Asn-Pro 呈味特性之间存在巨大差异的重要原因;另一方面,当氨基酸组成相同时,改变肽的序列,如氨基酸在肽链中的位置,也会引起呈味性质的改变^[18],造成 Asn-Pro-Ala-His 和 Asn-Pro-Ala-His 之间呈味特性存在差异。

的美拉德产物分别使 MSG 和酱油的鲜味评分提高了 3.96 分和 3.77 分,Ala-His 的美拉德产物分别使 MSG 和酱油的鲜味评分提高了 2.29 分和 1.49 分。

由于 Asn-Pro 和 Ala-His 的氨基和葡萄糖的羰基在高温下会发生亲核加成生成席夫碱,然后经不同途径降解生成具有特殊滋味的化合物,从而影响美拉德反应产物滋味。有研究表明,在美拉德反应过程中,氨基和羰基会发生缩合反应,脱去一分子水生成 Schiff 碱,随后发生环化生成 N-糖基胺,并发生 Amadoria 重排。Amadoria 重排产物一方面可经 2,3-烯醇化反应,生成还原酮类如二氢呋喃等,还原酮脱氢后可生成脱氢还原酮,酮类在一定条件下反应可生

成醛类；另一方面，Amadoria 产物可裂解生成酮、酮醇、酮醛等产物，裂解产物中的 α -二羰基化合物可以和 α -氨基酸反应，发生 Strecker 降解，形成 α -氨基酮和醛类，其中许多酮醛类等化合物是许多风味物质前体^[34]。

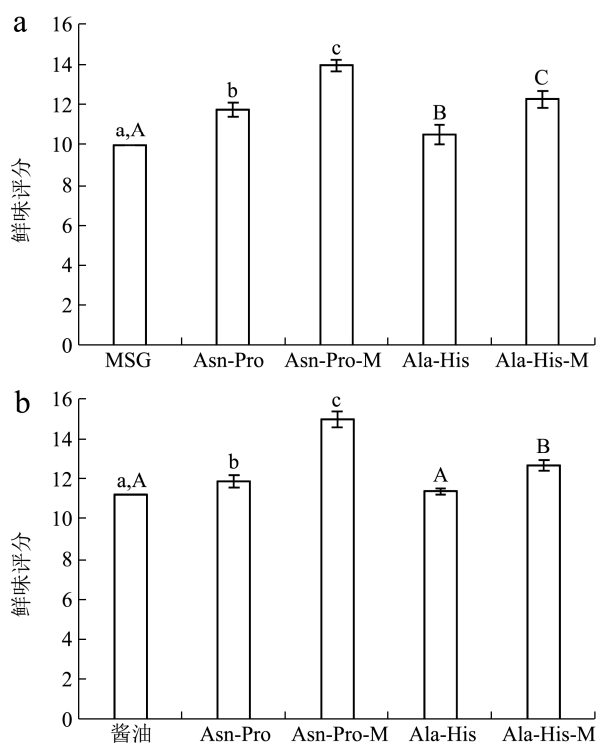


图4 合成肽美拉德反应物对MSG (a)和酱油 (b) 增效效果电子舌评分图

Fig.4 Electronic tongue score of umami-enhancing effect of synthetic peptide Maillard products on MSG (a) and soy sauce (b)

注：Asn-Pro-M 代表 Asn-Pro 的美拉德产物；Ala-His-M 代表 Ala-His 的美拉德产物，不同大小写不同字母标注表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

3 结论

本文对比分析了不同结构改性和美拉德反应对鲜味二肽 (Asn-Pro 和 Ala-His) 的鲜味强度以及对 MSG 和酱油的增效效果的影响。不同结构改性结果表明，氨基酸顺序改变后，Asn-Pro 和 Ala-His 呈味特性显著改变，其中 Pro-Asn 较 Asn-Pro 鲜味降低，对 MSG 和酱油的鲜味具有抑制作用；而 His-Ala 较 Ala-His 鲜味增加，对 MSG 和酱油具有更好的增效效果。在 Asn-Pro 两端增加鲜味氨基酸 (Glu 和 Asp)，获得的三肽 (Glu-Asn-Pro、Asn-Pro-Glu、Asp-Asn-Pro 和 Asn-Pro-Asp) 的鲜味显著降低，对 MSG 和酱油具有明显的抑制鲜味作用。Asn-Pro 和 Ala-His 相互串联获得的四肽 (Ala-His-Ala-His、Asn-Pro-Asn-Pro、

Ala-His-Asn-Pro 和 Asn-Pro-Ala-His) 降低了原二肽的鲜味，对 MSG 和酱油具有明显的抑制鲜味作用。该研究为鲜味肽构效关系研究提供了样本。美拉德反应结果表明，Asn-Pro 和 Ala-His 与葡萄糖进行美拉德反应后能显著提高其鲜味，且能明显提升 MSG 和酱油的鲜味。因此美拉德反应是较好地提升多肽鲜味与增效效果的策略。

参考文献

- [1] 张梅秀,王锡昌,刘源.食品中的呈味肽及其呈味机理研究进展[J].食品科学,2012,33(7):320-326
ZHANG Mei-xiu, WANG Xi-chang, LIU Yuan. Research progress in flavor peptides in foods and corresponding taste mechanisms [J]. Food Science, 2012, 33(7): 320-326
- [2] Yamasaki Y, Maekawa K. A peptide with delicious taste [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 1978, 42(9): 1761-1766
- [3] Rhyu M R, Kim E Y. Umami taste characteristics of water extract of doenjang, a Korean soybean paste: low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste [J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1210-1215
- [4] Su G W, Cui C, Zheng L, et al. Isolation and identification of two novel umami and umami-enhancing peptides from peanut hydrolysate by consecutive chromatography and MALDI-TOF/TOF MS [J]. Food Chemistry, 2012, 135(2): 479-485
- [5] Zhang J N, Zhao M M, Su G W, et al. Identification and taste characteristics of novel umami and umami-enhancing peptides separated from peanut protein isolate hydrolysate by consecutive chromatography and UPLC-ESI-QTOF-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2019(278): 674-682
- [6] 苗晓丹,刘源,仇春洪,等.呈味肽构效关系研究进展[J].食品工业科技,2014,35(6):357-363
MIAO Xiao-dan, LIU Yuan, QIU Chun-yang, et al. Research progress in the structure-activity relationship of flavor peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(6): 357-363
- [7] Yang Y, Cui S W, Gong J, et al. A soy protein-polysaccharides Maillard reaction product enhanced the physical stability of oil-in-water emulsions containing citral [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 48: 155-164
- [8] 康乐.牛肉中 Maillard 反应风味前体肽的鉴定及其产物形成机理的研究[D].北京:北京工商大学,2017
KANG Le. Identification of Maillard reactive peptides in beef and deducing the mechanism of its flavor products

- formation [D]. Beijing: Beijing Technology and Business University, 2017
- [9] 张佳男.花生鲜味肽的释放及其鲜味强度提升作用研究[D].广州:华南理工大学,2016
- ZHANG Jia-nan. The study of releasing-regulation and umami promotion of peanut umami peptide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016
- [10] 刘平.美拉德肽的形成机理及功能特性研究[D].无锡:江南大学,2012
- LIU Ping. Study on the formation mechanism and functional characteristics of Maillard peptides [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012
- [11] 黄孝闯,张雅玮,任晓璞,等.电子舌与感官评定对咸度评价的比较[J].食品工业科技,2017,38(11):243-248
- HUANG Xiao-chuang, ZHANG Ya-wei, REN Xiao-pu, et al. Comparison of electronic tongue and sensory on evaluation of saltiness [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(11): 243-248
- [12] 苗晓丹,刘源,马垒,等.结合感官评价与电子舌技术优化酶水解养殖暗纹东方鲀肌肉制备呈味肽[J].现代食品科技, 2015,31(8):268-272
- MIAO Xiao-dan, LIU Yuan, MA Lei, et al. Optimized enzymatic hydrolysis for flavor peptide preparation from cultured obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) using sensory evaluation and electronic tongue [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(8): 268-272
- [13] 惠延波,樊留强,陈复生,等.基于电子舌技术的大豆肽区分及苦味评价[J].食品工业科技,2016,37(8):97-99
- HUI Yan-bo, FAN Liu-qiang, CHEN Fu-sheng, et al. Discrimination and bitter flavor characteristics assessments of soybean peptide by intelligent electronic tongue [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(8): 97-99
- [14] 刁静雯,李超敏,赵永敢,等.电子舌在甲鱼酶解液滋味评定中的应用[J].肉类工业,2019,10:23-26
- DIAO Jing-wen, LI Chao-min, ZHAO Yong-gan, et al. Application of electronic tongue in the taste evaluation of enzymatic hydrolysate of turtle [J]. Meat Industry, 2019, 10: 23-26
- [15] 苏国万,赵炫,张佳男,等.酱油中鲜味二肽的分离鉴定及其呈味特性研究[J].现代食品科技,2019,35(5):7-15
- SU Guo-wan, ZHAO Xuan, ZHANG Jia-nan, et al. Isolation, identification and taste characteristics of umami dipeptides from soy sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(5): 7-15
- [16] 李露芳,赵谋明,张佳男,等.不同底物浓度花生粕酶解产物特性的研究[J].现代食品科技,2017,33(11):83-88
- LI Lu-fang, ZHAO Mou-ming, ZHANG Jia-nan, et al. Characteristics of enzymatic hydrolysis of defatted peanut meal with different substrate concentrations [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(11): 83-88
- [17] Tamura M, Nakatsuka T, Tada M, et al. The relationship between taste and primary structure of "delicious peptide" (Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala) from beef soup [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1989, 53(2): 319-325
- [18] 王莺颖,郭兴凤.鲜味肽的呈味机制及制备方法研究进展[J].粮食加工,2016,41(6):36-41
- WANG Ying-ying, GUO Xing-feng. The tasting mechanism and the preparing methods of umami peptides [J]. Grain Processing, 2016, 41(6): 36-41
- [19] Zhang Y. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms: a review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2013, 33(2): 78-92
- [20] Noguchi M, Arai S, Yamashita M, et al. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1975, 23(1): 49-53
- [21] Matsushita A, Ozaki S. Purification and sequence determination of tasty tetrapeptide (Asp-Asp-Asp-Asp) from beer yeast seasoning and its enzymatic synthesis [J]. Pesticide Chemistry, 1994, 32: 249-252
- [22] 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
- [23] Kim M J, Son H J, Kim Y, et al. Umami-bitter interactions: the suppression of bitterness by umami peptides via human bitter taste receptor [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 456(2): 586-590
- [24] Cho M J, Unklesbay N, Hsieh F H, et al. Hydrophobicity of bitter peptides from soy protein hydrolysates [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(19): 5895-5901
- [25] 宋雪梅,张炎,杨敏,等.牦牛乳硬质干酪苦味肽的分离与特征鉴定[J].食品科学,2016,37(15):160-164
- SONG Xue-mei, ZHANG Yan, YANG Min, et al. Separation and characterization of bitter peptides from hard cheese made from yak milk [J]. Food Science, 2016, 37(15): 160-164
- [26] Dang Y L, Gao X C, Ma F M, et al. Comparison of umami

- taste peptides in water-soluble extractions of Jinhua and Parma hams [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1179-1186
- [27] Yu Z, Jiang H, Guo R, et al. Taste, umami-enhance effect and amino acid sequence of peptides separated from silkworm pupa hydrolysate [J]. Food Research International, 2018, 108: 144-150
- [28] Zhang M X, Wang X C, Liu Y, et al. Isolation and identification of flavour peptides from puffer fish (*Takifugu obscurus*) muscle using an electronic tongue and MALDI-TOF/TOF MS/MS [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1463-1470
- [29] Yu X, Zhang L, Miao X, et al. The structure features of umami hexapeptides for the T1R1/T1R3 receptor [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 599-605
- [30] Dang Y L, Hao L, Cao J X, et al. Molecular docking and simulation of the synergistic effect between umami peptides, monosodium glutamate and taste receptor T1R1/T1R3 [J]. Food Chemistry, 2019, 271: 697-706
- [31] Van Den Oord A H A, Van Wassenaar P D. Umami peptides: assessment of their alleged taste properties [J]. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A, 1997, 205(2): 125-130
- [32] Zhang Y, Venkitasamy C, Pan Z, et al. Novel umami ingredients: umami peptides and their taste [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(1): 16-23
- [33] 陈嘉辉. 酱油中呈味肽的分离鉴定及呈味特性的对比分析 [D]. 广州: 华南理工大学, 2018
- CHEN Jia-hui. The purification and identification of flavor peptides from soy sauce and the comparison of its flavor characteristics [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [34] 余敏. 酶解豆粕制备美拉德风味增强肽的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018
- YU Min. Maillard-flavor-enhancing peptide products preparation using the enzymatic soybean meal [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018
-
- (上接第 307 页)
- [25] WU Di, HE Yong, FENG Shui-juan, et al. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 84: 124-131
- [26] Ishida T, Kurihara J, Angelico F, et al. A novel approach for vegetation classification using UAV-based hyperspectral imaging [J]. Computers & Electronics in Agriculture, 2017, 144: 80-85
- [27] Chiang H, Sangaiah A, Chen M, et al. A novel artificial bee colony optimization algorithm with SVM for bio-inspired software-defined networking [J]. International Journal of Parallel Programming, 2020, 48(2): 310-328
- [28] GAO Xiao-ming, YANG Shi-feng, PAN San-bo. Optimal parameter selection for support vector machine based on artificial bee colony algorithm: A case study of gridconnected PV system power prediction [J]. Computational Intelligence and Neuroscience, 2017, 36: 1-14
- [29] YAN Lei, PANG Lei, WANG Hua, et al. Recognition of different Longjing fresh tea varieties using hyperspectral imaging technology and chemometrics [J]. Journal of Food Process Engineering, 2020, 43(4): 1-9
- [30] Panigrahi N, Bhol C S, Das B S. Rapid assessment of black tea quality using diffuse reflectance spectroscopy [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 190: 101-108
- [31] Bian M, Skidmore A K, Schlerf M, et al. Predicting foliar biochemistry of tea (*Camellia sinensis*) using reflectance spectra measured at powder, leaf and canopy levels [J]. Isprs Journal of Photogrammetry and Remote Sensing, 2013, 78: 148-156
- [32] Lee M S, Hwang Y S, Lee J, et al. The characterization of caffeine and nine individual catechins in the leaves of green tea (*Camellia sinensis* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2014, 158: 351-357