

不同 pH 值条件下木糖-鳕鱼肽-二氢杨梅素美拉德反应体系的风味比较

林旖晗^{1,2}, 张友胜², 赵甜甜², 肖性龙^{1*}, 焦文娟^{2*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 该研究通过美拉德反应制备了鳕鱼肽-木糖-二氢杨梅素产物。通过紫外-可见光谱、荧光光谱、游离氨基酸、气相色谱-质谱分析、电子鼻检测, 探究了二氢杨梅素对不同 pH 值条件下呈味基料风味的影响。结果表明, pH 值越高, 越能推进美拉德反应进程。二氢杨梅素的添加一定程度上减少了反应体系呋喃、吡嗪类挥发性物质的生成, 并促进清香型挥发性化合物如 1-十二烯、D-柠檬烯、异龙脑等物质的形成。同时, 在二氢杨梅素的干预下, 木糖/鳕鱼肽反应体系的游离氨基酸总量降低, 且呈味氨基酸占比发生变化。当 pH 值为 9 时, 体系中游离氨基酸总量达到最小值 55.95 mg/L, 苦味、鲜味和甜味氨基酸占比分别为 4.01%、14.84% 和 46.44%, 苦味氨基酸占比最低, 而鲜味氨基酸占比最高。呈味基料夹带植物清香, 呈现相对较低的苦味, 鲜味足, 各滋味之间协调性好。总体而言, 二氢杨梅素的添加能很好地掩盖呈味基料产生的腥味, 可为开发清香型降苦增鲜的呈味基料提供指导。

关键词: 美拉德反应; 鳕鱼肽; 呈味基料; 二氢杨梅素

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.1028

Flavor Comparison of Xylose-Cod Peptide-Dihydromyricetin Reaction System Under Different pH Values

LIN Yihan^{1,2}, ZHANG Yousheng², ZHAO Tiantian², XIAO Xinglong^{1*}, JIAO Wenjuan^{2*}

(1.School of Food Science and Engineering, Guangzhou, 510640, China)(2.Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou, 510610, China)

Abstract: In this study, Maillard reaction products were prepared using cod peptides, D-xylose, and dihydromyricetin (DMY). The effects of DMY on the flavor profile of the reaction products under different pH conditions were investigated using UV-Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, free amino acid analysis, GC-MS, and electronic nose detection. The results indicated that higher pH values promote the Maillard reaction process. The addition of DMY reduced the reactivity between D-xylose and cod peptides, decreasing the formation of furan and pyrazine volatile compounds, while promoting the formation of fresh-smelling volatile compounds such as 1-Dodecene, D-limonene and isoborneol. Furthermore, under the influence of DMY, the total amount of free amino acids in the D-xylose/cod peptide reaction system decreased, and the proportion of flavor amino acids changed. At pH values of 9, the total amount of free amino acids in the system reached the minimum value of 55.95 mg/L, and the proportion of bitter, umami and sweet amino acids was 4.01%, 14.84% and 46.44%, respectively, the proportion of bitter amino acids was the lowest, whereas the proportion of umami amino acids was the highest. And flavored base exhibited a fresh plant aroma, relatively lower bitterness, sufficient umami, and good harmony among the various flavors. In general, the addition of dihydromyricetin can well mask the fishy smell of the flavor base, which

收稿日期: 2024-07-17; 修回日期: 2024-08-28; 接受日期: 2024-09-06

基金项目: 广州市科技计划项目(202206010079); 广东省科技创新战略专项项目(STKJ202209027); 广东省农业科学院科技人才引进专项资金项目(R2021YJ-YB3005); 2020 年青年导师制项目(R2020QD-041)

作者简介: 林旖晗(2000-), 女, 硕士, 研究方向: 食品风味化学, E-mail: 871972958@qq.com

通讯作者: 肖性龙(1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全与控制, E-mail: fexxl@scut.edu.cn; 共同通讯作者: 焦文娟(1988-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 油脂营养与化学, E-mail: jiaowenjuan@gdaas.cn

can provide guidance for the development of flavor base materials that reduce bitterness and increase freshness.

Key words: maillard reaction; cod peptides; flavor base; dihydromyricetin

我国水产资源丰富,但大多为腥味浓郁的低值水产品,腥味是限制这些水产品进一步被利用的主要因素。鳕鱼味道鲜美,但除少量可切片烹调食用外,其他部分难以利用,附加值低。研究发现,经酶解得到的鳕鱼肽不仅保留了鳕鱼蛋白原有的优良性质,还具备抗氧化、抗高血压、抗菌和免疫活性等功效^[1-3]。然而,作为蛋白酶解物,鳕鱼肽在酶解过程中末端疏水性氨基酸暴露,难免具有苦味,同时还含有鳕鱼所固有的腥味,严重制约其商业应用。

为改善鳕鱼肽的风味,已有研究将鳕鱼排酶解并进行美拉德反应,发现反应产物肉味突出,一定程度上能削减鳕鱼肽的土腥味,同时生成美拉德特有的肉香味^[4]。美拉德反应虽能生成香味浓郁的产物,但总体呈味趋向焦香味、肉香味,风味单一。食品酚类物质已被反复证明能够通过与美拉德反应(Maillard Reaction, MR)底物、中间体和最终美拉德反应产物(Maillard Reaction Product, MRP)相互作用来影响食品的风味、感官、营养和安全性^[5,6]。酚类可以有效结合氨基酸,捕获 α -二羰基,并捕获Amadori重排产物^[6,7],且酚类苯环上羟基的数量和位置,会影响其在美拉德反应中与其他基团的结合活力^[8]。可见,酚类物质苯环羟基的位置会影响其对美拉德反应的干预效果,造成挥发性产物的差异,进而改变风味。二氢杨梅素(Dihydromyricetin, DMY)大多从天然藤茶中提取而来,来源安全,具备邻苯三羟基结构,其药理活性广泛,具有抗炎、抗氧化、调节代谢、抗肿瘤等诸多生物学功效^[9]。此外,Chen等^[10]通过感官评价和电子舌评价藤茶中主要成分对其回甘风味的贡献度,发现二氢杨梅素是造成藤茶回甘绵长的物质之一。综上所述,二氢杨梅素具有特殊的回甘风味,且羟基位点较多,用于干预糖/肽美拉德反应,有望减轻糖类和肽类反应带来的一些不良风味,并且赋予反应液些许回甘味,丰富滋味。

基于此,以木糖-鳕鱼肽作为美拉德反应底物模型,探究二氢杨梅素对美拉德反应产物风味的影响,控制反应时间1 h,反应温度100 °C,通过测定晚期糖基化终末产物(Advanced Glycation End products, AGEs)生成含量、美拉德反应进程、游离氨基酸、挥发性物质、气味分布趋势等,研究不同pH值条件下二氢杨梅素的加入对木糖-鳕鱼肽美拉德反应体系的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鳕鱼排,购自当地盒马生鲜超市;木瓜蛋白酶、2,2-二(4-叔辛基苯基)-1-苦肟基自由基,麦克林试剂有限公司;无水乙醇,上海阿拉丁生化科技有限公司;D-木糖,上海源叶科技有限公司;二氢杨梅素,实验室提取纯化(浓度大于95%);磺基水杨酸,武汉吉业升化工有限公司;实验用水为Million-Q超纯水。

1.2 设备与仪器

MA104/A分析天平,METTLER TOLEDO(上海)公司;SCI340-Pro加热磁力搅拌器,SCILOGEX(上海)公司;SHA-B水浴振荡器,上海力辰仪器科技有限公司;SuPerMax 2500L型酶标仪,上海闪谱科技有限公司;6890N-5975B气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司;固相微萃取装置50/30 μ m DVB/CAR/PDMS萃取头,美国Sigma-Aldrich公司;L-8900全自动氨基酸分析仪,日本Hitachi公司;HM-6300全自动智能均质仪,莱谱(北京)科技有限公司;PB-10台式pH计,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;德国AIRSENSE PEN3电子鼻,北京盈盛恒泰科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鳕鱼肽制备

参考栾俊家等^[11]的方法并稍作修改,将洗净并切碎的鳕鱼排以料液比1:2与超纯水均匀混合后打浆,将所得浆液于优化后的酶解条件,即55 °C下添加木瓜蛋白酶保温酶解4 h,酶解结束后100 °C加热15 min进行灭酶,100目过滤纸抽滤,得到鳕鱼酶解液。通过旋蒸浓缩鳕鱼酶解液,而后进行冻干,得到粗鳕鱼多肽粉。

1.3.2 美拉德反应产物制备

准备10支35 mL耐压高温反应管,从中选取5支反应管为A组,在A组的每支管内加入10 mL超纯水,并称取0.5 g粗鳕鱼多肽粉(由1.3.1制得)溶于超纯水,按肽糖质量比5:2加入D-木糖。调整A组5支管的待反应液初始pH值分别为3、5、7、9、11,而后置于100 °C下加热1 h,时间一到立马转入冰水中预冷,得到5管不同的鳕鱼肽-木糖美拉德反应液,分别命名为CP-DX 3、CP-DX 5、CP-DX 7、CP-DX 9、CP-DX 11。

剩下另5支反应管作为B管,分别在5支管内加入10 mL超纯水,按照肽糖质量比5:2加入0.5 g鳕鱼肽和0.2 g D-木糖,同时加入质量分数为0.05%的二氢杨梅素,调整待反应液初始pH值分别为3、5、7、9、11,在100 °C下反应1 h,反应结束后立即转入冰水中预冷,得到5管不同的CP-DX-DMY美拉德反应液,分别命名为CP-DX-DMY 3、CP-DX-DMY 5、CP-DX-DMY 7、CP-DX-DMY 9、CP-DX-DMY 11。

1.3.3 美拉德反应终pH值测定

在室温25 °C下,用pH计测量A组、B组结束加热并预冷好的反应液pH值。

1.3.4 反应产物光谱测定

1.3.4.1 紫外可见光谱测定

将A组、B组反应液稀释50倍,使用多功能酶标仪对稀释液进行紫外特定波长段扫描,设定扫描波长为200~600 nm,间隔为1 nm。

1.3.4.2 荧光光谱测定

根据刘芸萃等^[12]的方法略作修改,测定反应产物中的荧光性 AGEs 含量。将A组、B组反应液稀释100倍,得到稀释待测液。将待测液于380 nm激发波长,450 nm发射波长下测定荧光光谱,每个样品做三组平行实验。

1.3.5 挥发性风味物质测定

参照文献方法并作修改^[13],吸取3 mL稀释一定倍数的A组、B组反应液加入15 mL顶空瓶中,将老化完成的萃取头扎进顶空中,对每个样品进行SPME萃取。

气相色谱条件:色谱柱型号DB-5MS;氦气作为载气,流速设置为1.0 mL/min,不分流进样;进样口温度为250 °C,色谱柱升温程序:0~2 min,40 °C,40~200 °C以6 °C/min的速率升高,保持3 min,200~250 °C以10 °C/min的速率上升,保持3 min。

质谱条件:电子能量70 eV;四极杆温度150 °C;离子源温度230 °C;质量扫描范围35~350 *m/z*,全扫描模式。

定性和定量分析:与NIST11检索谱库匹配选取相似度≥80%的挥发性物质成分结合文献进行定性。根据与内标峰面积比值计算出各挥发性风味物质的含量,结果采用μg/kg表示。

1.3.6 电子鼻测定

将A、B组美拉德反应液稀释4倍,取20 mL待测稀释液于50 mL烧杯中,密封条件下60 °C保温静置平衡30 min,采用顶空吸气法进行检测,设定检测条件:清洗时间120 s,准备时间5 s,测试时间120 s,内部流量300 mL/min,平行测定3次,取80~90 s的响应数据进行后续分析。

1.3.7 游离氨基酸(FAA)测定

根据袁静宇等^[14]的方法,并稍加修改。称取1 mL稀释10倍的A、B组美拉德反应液和4 mL质量分数为10%的磺基水杨酸涡旋混匀,将混匀后的混合液于4 °C、10 000 r/min离心15 min,将离心所得上清液过0.22 μm水相滤膜,取1 mL滤液于进样瓶中,用全自动氨基酸分析仪进行测定。

1.3.8 数据处理

采用SPSS 27.0软件进行数据方差分析和显著性检验,采用Origin 2023软件作图。

2 结果与讨论

2.1 美拉德反应 pH 值变化分析

体系酸碱度对美拉德反应有显著影响,碱性条件有利于希夫碱(Schiff base)的形成^[15],促进美拉德反应。如图1所示,在中碱性环境(pH值为7、9、11)下,反应终pH值都较初始值更低,这说明在碱性环境中,美拉德反应速率被加快,体系中肽链或氨基酸上的氨基消耗快,羧基基团相对含量增加,因此反应终pH值呈现

下降趋势。相比于CP-DX组,添加了DMY的CP-DX-DMY组反应体系具有更低的pH值,之所以出现这样的结果,可能是由于CP-DX-DMY组反应物在碱性环境体系中除了发生羰基和氨基之间的缩合反应,还会发生二氢杨梅素的自氧化反应。二氢杨梅素自氧化反应会改变自身结构,处于不稳定状态,结合体系中的氢氧根离子,并释放超氧阴离子^[16-19]。前述两者协同作用,使得体系中的pH值大幅降低。因此,氨基消耗导致的羧基相对含量增加以及二氢杨梅素在自氧化阶段对氢氧根离子的结合可能是该研究中CP-DX-DMY组体系pH值大幅下降的机制。

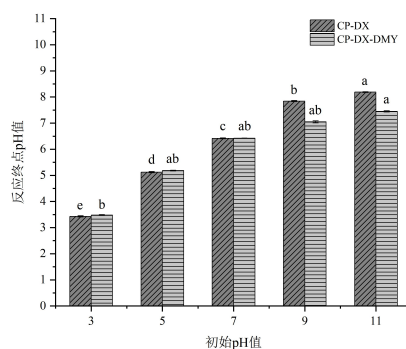


图1 不同初始 pH 值条件下的美拉德反应产物最终 pH 值变化情况

Fig.1 Changes in final pH values of Maillard reaction products under different initial pH conditions

注: 不同小写字母表示不同 pH 值下制得的同一组别产物之间反应终 pH 值具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 反应产物紫外全波长扫描分析

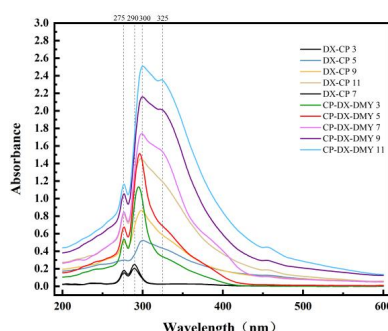


图2 二氢杨梅素对不同 pH 值条件下反应产物紫外全波长扫描图

Fig.2 UV full-wavelength scans of reaction products before and after DMY addition at different pH

美拉德反应过程连续且复杂,中间有多个阶段,涉及到多类中间产物的生成和消耗^[15],应用精密仪器对产物进行定量难度较大,紫外全波长扫描可以通过出峰波长和吸光度对体系中各类物质进行初步区分和定量,可用于表征美拉德反应进程。如图2所示,在250~300 nm之间,DX-CP组所有样品都有两个吸收峰,对应的吸收波长分别为275 nm和290 nm,275 nm处峰的吸收强度随着pH值的升高而增加,表明有新物质生成且不断累积。Brands等^[20]认为,280~290 nm波长处出现吸收峰是由于美拉德反应在高级阶段产生酮、醛等无色小分子中间物,为类黑精形成的前体物质,主要为呋喃、吡喃、糠醛及吡啶等及其衍生物。

加入二氢杨梅素后,同样出现两个吸收峰,第二个峰的位置较DX-CP组出现略微右移,当控制pH值条件为7、9、11时,在325 nm处出现肩峰。周向军等^[21]以精氨酸/赖氨酸-麦芽糖、壳聚糖-果糖/阿拉伯糖为模式制备美拉德反应产物,并考察4种体系紫外可见光谱随加热时间的变化,结果发现在330 nm处出现肩峰,认为肩峰的出现是由于糖降解产生的各种小分子发色团和赖氨酸活性侧链共价结合,是各种发色团最大吸收波长的综合表现。以此类推,在碱性条件下添加二氢杨梅素,反应产物在330 nm处出现肩峰,这可能是由于二氢杨梅素与糖的降解物或氨基相互作用生成了新的一些复合物,没有特征峰,但有较高的吸收强度。

就目前方法而言,可以通过测定420 nm或470 nm处的吸光值大小来确定类黑精的相对含量。随着波长不

断增加，即使升高pH值，吸光强度差异也不是很大。当pH值继续增大，小分子消除速率与生成速率接近，峰强度不变，甚至有所下降，这与孙丽平^[22]、Hofmann^[23]认为的无特征性吸收峰、随波长增加吸光度降低是类黑精的典型表现和Cark^[24]提出的“尾巴模式”观点一致，即波长越短，吸光度越大。

2.3 反应产物荧光光谱分析

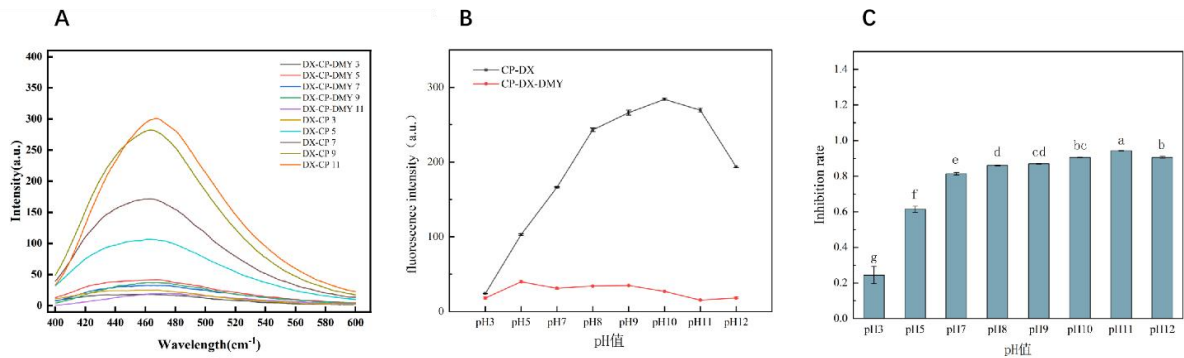


图 3 二氢杨梅素对不同 pH 值条件下反应产物 AGEs 的抑制作用

Fig.3 Inhibition of dihydromyricetin on reaction products AGEs under different pH conditions

注：A：不同组别产物的荧光光谱；B：不同 pH 值下 CP-DX 组、CP-DX-DMY 组产物荧光性 AGEs 含量；C：不同 pH 值下 DMY 对荧光性 AGEs 的抑制率）。不同小写字母表示不同 pH 值下二氢杨梅素对 AGEs 抑制率具有显著性差异（ $P<0.05$ ）。

美拉德反应总会伴随着AGEs的产生，利用多酚类物质抑制AGEs生成已成为近年来的研究热点。利用AGEs具有荧光性的特性，测定添加DMY前后的反应产物荧光光谱，以此初步评估二氢杨梅素对鳕鱼肽/木糖反应体系AGEs的抑制效果。如荧光光谱所示，在380 nm波长激发下，CP-DX组反应产物都在450~600 nm处出现吸收峰，且荧光吸收强度随着pH值的升高而显著增加，每个样品间的荧光吸收强度有明显差异。在酸性条件下N-葡萄糖胺容易被水解，不利于美拉德反应的进行，正如图3B所示，酸性条件下CP-DX组产物仅检测到少量荧光性AGEs，这与张懿铭^[25]的研究结果一致。调整初始反应pH值为9和11，反应体系产生的荧光性AGEs含量相近，说明在碱性环境下继续升高pH值对AGEs的生成没有很大影响，且可能会加速荧光性AGEs向类黑素转换。往CP-DX体系中加入二氢杨梅素，原有的荧光吸收峰急速趋于平缓，荧光吸收强度大幅度下降，这说明二氢杨梅素对荧光性AGEs的生成起到一定阻碍作用。

为了进一步探究二氢杨梅素对荧光性AGEs的抑制效果，选取460 nm为最大吸收波长，研究该波长下不同pH值美拉德反应产物的荧光吸收强度，并以此推算二氢杨梅素对其抑制率。由图3C可看出，当体系pH值从3增加到11时，二氢杨梅素对AGEs抑制率逐渐增强，当pH值大于7时二氢杨梅素抑制率大于80%，抑制效果显著（ $P<0.05$ ）。在碱性且有氧条件下，二氢杨梅素易发生自氧化开环形成查尔酮，而后转变成结构较为稳定的杨梅素^[16]。Yang等^[26]发现查尔酮可以有效捕获反应中间体羰基化合物，从而达到抑制AGEs的效果。

2.4 SPME/GC-MS 挥发性化合物测定

表 1 二氢杨梅素对不同 pH 值下制备的产物挥发性物质分析

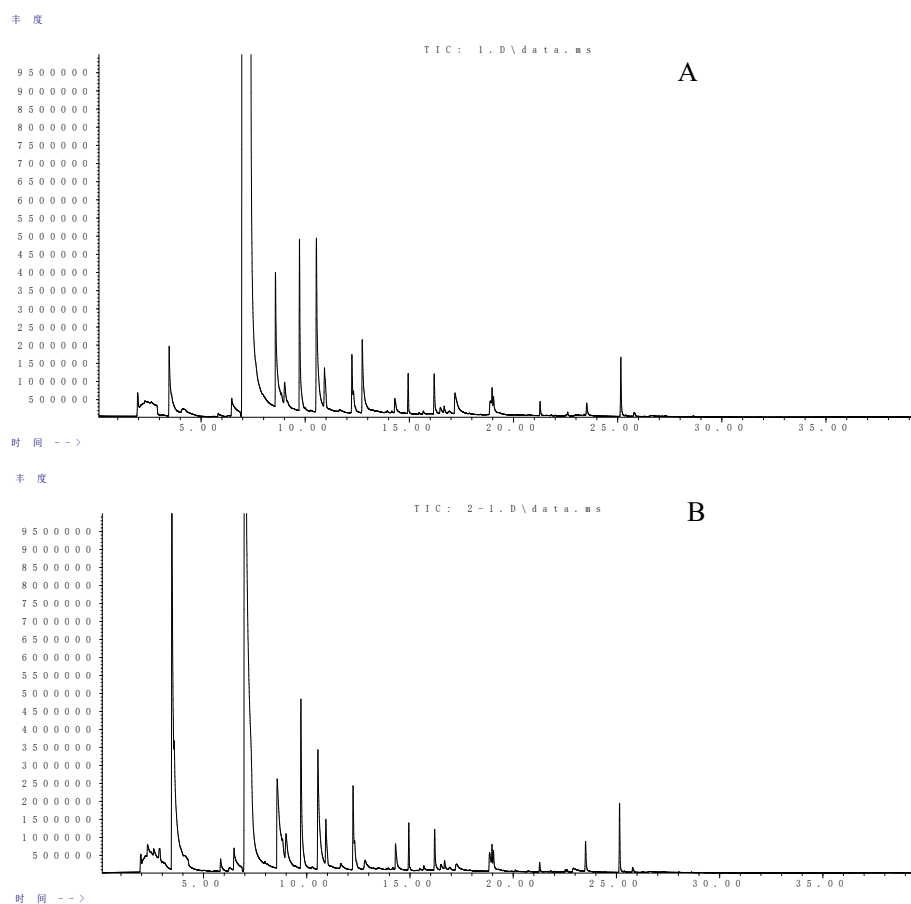
Table 1 Analysis of volatile compounds prepared at different pH by addition of dihydromyricetin

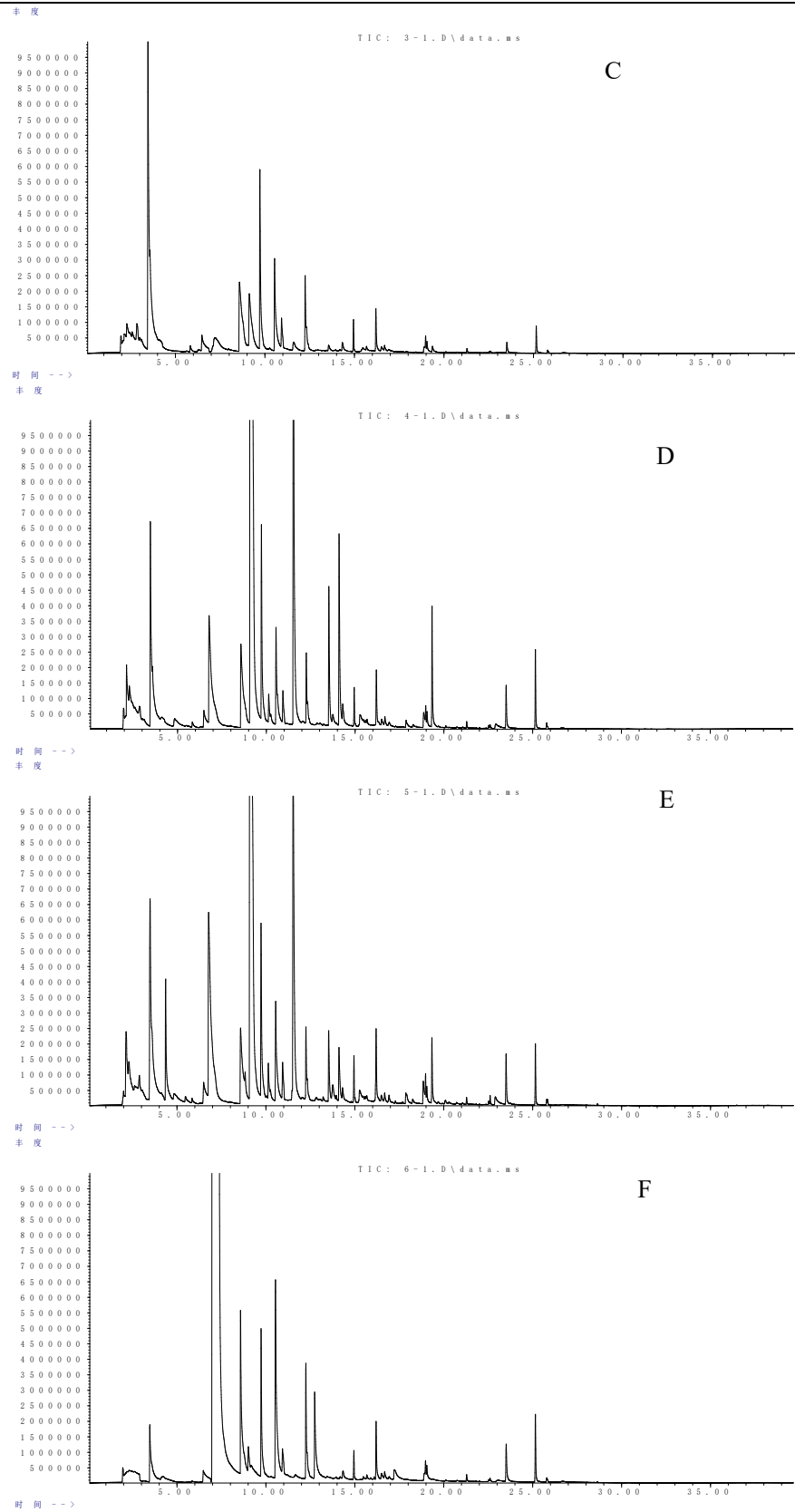
编号	保留时间/s	名称	化学式	Concentration/(ug/kg)										
				CK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2.153	三甲胺	C ₃ H ₉ N	ND	ND	ND	ND	37.4	71.64	ND	ND	ND	ND	ND
2	3.469	3-甲基丁醛	C ₅ H ₁₀ O	ND	76.72	417.24	359.16	179.92	271.24	47.92	34.68	12.72	28.96	36.12
3	3.608	氯仿	CHCl ₃	1.96	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	4.849	吡嗪	C ₄ H ₄ N ₂	ND	ND	ND	ND	ND	34.4	ND	ND	ND	ND	ND
5	4.854	嘧啶	C ₄ H ₄ N ₂	ND	ND	ND	ND	32.44	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	6.603	己醛	C ₆ H ₁₂ O	13.84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

现代食品科技			Modern Food Science and Technology								2025, Vol.41, No.10				
7	6.785	甲基吡嗪	C ₅ H ₆ N ₂	ND	ND	ND	ND	199.64	338.6	ND	ND	ND	31.32	107.92	
8	7.352	糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	ND	5269.48	1060.4	76.96	ND	ND	6995.28	1021.44	ND	ND	ND	
9	8.582	苯乙烯	C ₈ H ₈	159.96	82.48	91.32	119.32	108	104.04	185.32	151.68	103.04	ND	ND	
10	8.748	苯并环丁烯	C ₈ H ₈	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.44	447.16	388.44	
11	9.138	2,5-二甲基吡嗪	C ₆ H ₈ N ₂	ND	ND	ND	114.2	1207.24	35.72	ND	ND	ND	561.92	1123.36	
12	9.240	甲氧基苯基胍	C ₇ H ₇ NO	176.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4384.88	ND	ND	
13	10.272	3-糠醛	C ₅ H ₄ O ₂	ND	5.68	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
14	10.540	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	ND	146.28	ND	ND	ND	ND	236.48	12.72	93.56	ND	ND	
15	10.668	2-甲基-3-庚醇	C ₈ H ₁₈ O	58.16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
16	11.534	2,3,5-三甲基吡嗪	C ₇ H ₁₀ N ₂	ND	ND	ND	24.88	319.32	293.16	ND	ND	ND	ND	ND	
17	12.246	2-乙基-1-己醇	C ₈ H ₁₈ O	43.16	64.6	65.88	66.56	62.8	53.6	103.84	38.04	32.6	44.96	45	
18	12.438	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	21.2	
19	12.850	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	ND	76.76	18.72	ND	ND	ND	116.52	18.8	49.12	17.32	37.76	
20	13.535	3-乙基-2,5-二甲基吡嗪	C ₈ H ₁₂ N ₂	ND	ND	ND	8.84	66.56	40.16	ND	ND	ND	61.8	88.44	
21	14.348	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	12.28	ND	ND	ND	ND	17.56	ND	ND	4.4	14.16	ND	
22	15.289	苯乙腈	C ₈ H ₇ N	ND	ND	ND	8.92	36.8	31.12	ND	44.72	9.76	5.56	18.48	
23	15.482	樟脑（酮）	C ₁₀ H ₁₆ O	ND	ND	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
24	15.674	L-薄荷酮	C ₁₀ H ₁₈ O	1.96	2.63	4.04	5.72	ND	ND	5.72	ND	2.53	2.29	6.04	
25	16.123	异龙脑（醇）	C ₁₀ H ₁₈ O	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.33	ND	
26	16.193	DL-薄荷醇	C ₁₀ H ₂₀ O	50.08	21.36	ND	19.04	25.08	35.72	33.24	ND	26.76	25.48	50.88	
27	16.493	萘	C ₁₀ H ₈	10.08	6.36	5.44	5.56	8.2	6.64	10.28	10.56	5.96	10.24	16.8	
28	16.503	甘菊蓝	C ₁₀ H ₈	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16.8	
29	16.674	十二烷	C ₁₂ H ₂₆	ND	5.6	5.44	10.6	8.88	6.96	8.96	6.48	ND	7.08	11.24	
30	17.193	3,4-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	ND	37.28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
31	17.231	3,5-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	ND	ND	ND	ND	ND	ND	41.12	16.6	ND	ND	ND	
32	17.258	2,6-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	ND	ND	10.92	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
33	18.263	2-丁基-3-甲基吡嗪	C ₉ H ₁₄ N ₂	ND	ND	ND	ND	ND	3.56	ND	ND	ND	ND	5.36	
34	18.840	百里酚	C ₁₀ H ₁₄ O	20	12.32	13.04	ND	7.2	12.2	ND	11.64	5.2	12.08	21.12	
35	19.044	十三烷	C ₁₃ H ₂₈	6.88	11.92	ND	8.88	9.76	10.4	10.88	6.2	ND	8.44	11.84	
36	19.338	2,5-二甲基-3-(3-甲基丁基)吡嗪	C ₁₁ H ₁₈ N ₂	ND	ND	ND	6.88	49.84	29.44	ND	ND	ND	45.2	47.8	
37	21.280	十四烷	C ₁₄ H ₃₀	6	5.6	4.28	2.21	3.43	2.22	4.6	4.6	3.6	3.61	2.66	
38	21.820	alpha-柏木烯	C ₁₅ H ₂₄	ND	ND	0.54	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
39	22.521	2,6-二叔丁基对甲酚	C ₁₅ H ₂₄ O	ND	ND	ND	0.9	1.14	1.17	1.4	1.21	ND	1.09	1.16	
40	22.879	1-十二烯	C ₁₂ H ₂₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.44	ND	ND	
41	22.900	1-癸烯	C ₁₀ H ₂₀	ND	ND	12.52	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
42	22.938	环十二烷	C ₁₂ H ₂₄	278.2	ND	ND	ND	5.32	ND	12.44	11.36	ND	10.72	14.88	

43	22.981	1-十四醇	C ₁₄ H ₃₀ O	ND	ND	ND	ND	ND	7.72	ND	ND	ND	ND	ND
44	23.387	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	ND	0.95	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
45	23.516	2,4-二叔丁基苯 酚	C ₁₄ H ₂₂ O	15.52	14.2	16.56	9.84	11.64	14.76	28.44	24.96	26.64	23.8	22.32
46	25.158	2,2,4-三甲基 -1,3-戊二醇二异 丁酸酯	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	51.04	51.88	32.48	22.84	36.6	19.08	48.08	33.52	72.36	41.96	39.32
47	25.388	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	ND	ND	0.88	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.51
48	25.789	柏木脑(醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	ND	2.8	3.11	4.48	3.61	2.54	3.52	3.2	5	5.12	3.4
49	26.500	戊二酸丁基 2-氯 丙酯	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9.44	9.88	5.6
50	27.271	2-甲基二十四烷	C ₂₅ H ₅₂	1.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
51	30.287	邻苯二甲酸二异 丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.61	1.71	1.93	ND
52	32.523	邻苯二甲酸二丁 酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.09

注: ND 表示该物质未检出。表中序号 1-10 号样品分别为 CP-DX 3、CP-DX 5、CP-DX 7、CP-DX 9、CP-DX 11、CP-DX-DMY 3、CP-DX-DMY 5、CP-DX-DMY 7、CP-DX-DMY 9、CP-DX-DMY 11。





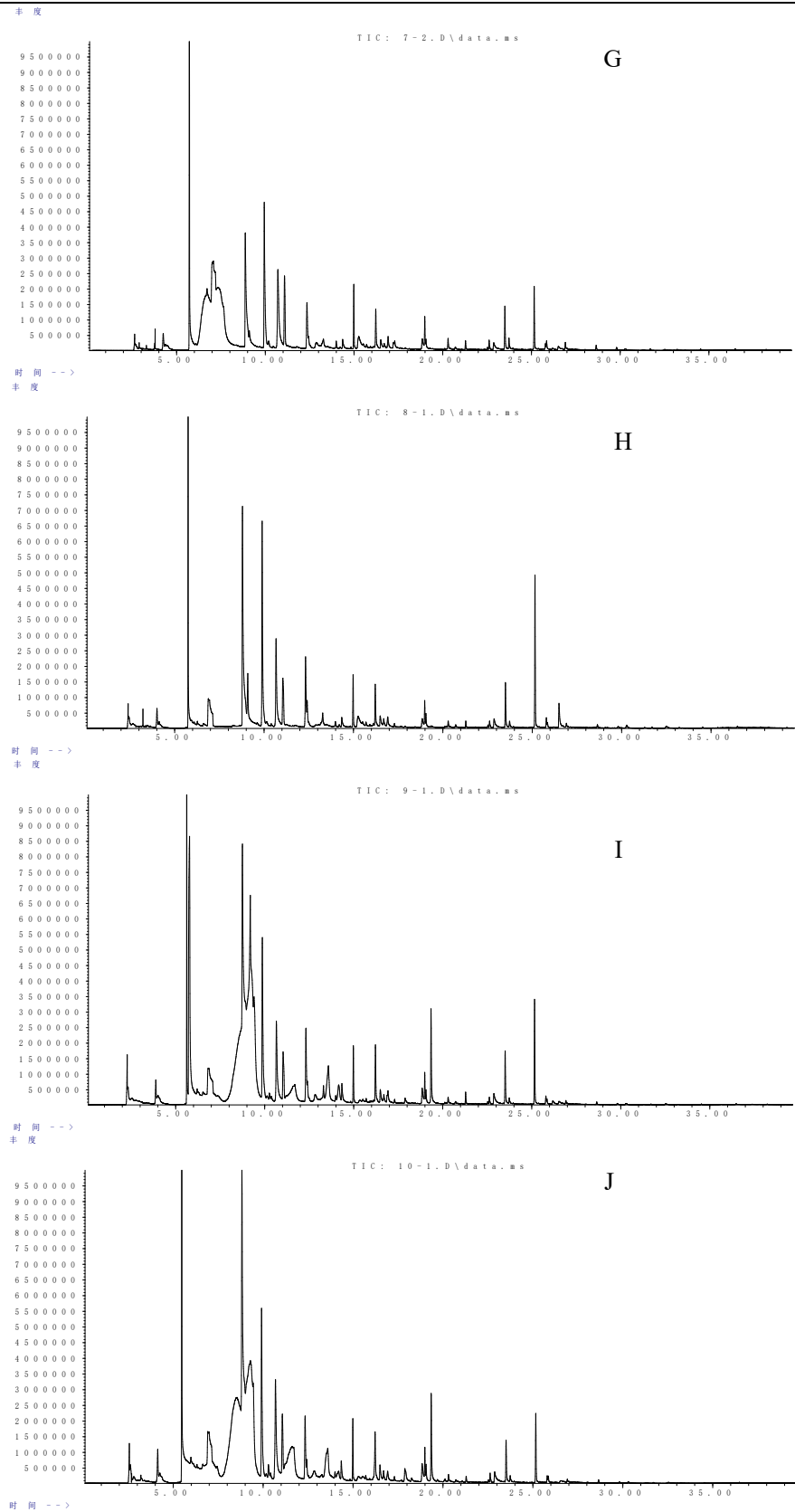


图 4 不同 pH 值条件下添加二氢杨梅素的反应产物 GC-MS 缩略图谱

Fig.4 GC-MS thumbnails of reaction products with dihydromyricetin at different pH values

注：A:CP-DX 3 图谱；B:CP-DX 5 图谱；C:CP-DX 7 图谱；D:CP-DX 9 图谱；E:CP-DX 11 图谱；F:CP-DX-DMY 3 图谱；G:CP-DX-DMY 5 图谱；H:CP-DX-DMY 7 图谱；I:CP-DX-DMY 9 图谱；J:CP-DX-DMY 11 图谱。

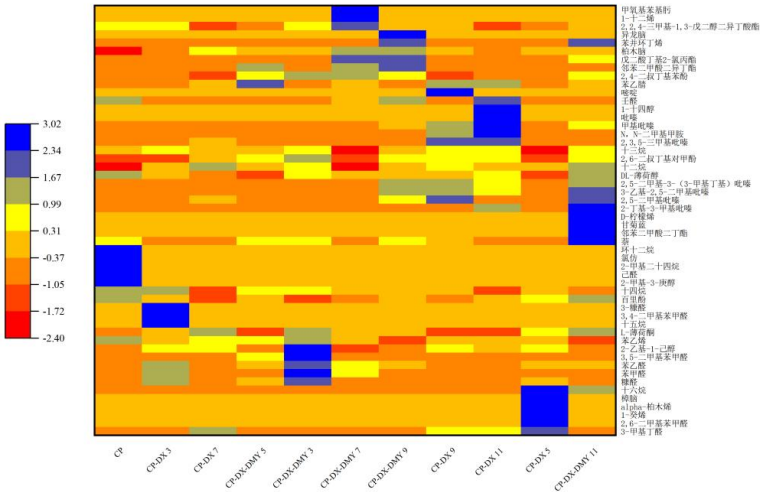


图 5 二氢杨梅素在不同 pH 值下生成产物的挥发性物质聚类热图

Fig.5 Cluster heatmap of volatile compounds generated by dihydromyricetin at different pH values

结合表1和图4、5，可得出通过GC-MS分析共鉴定出52种挥发性风味物质，主要包括碳环化合物、长链烷烃、烯烃、醛、醇、吡嗪、吡啶、吩噻嗪以及氮氧化合物，这些化合物都是典型的焦糖化和美拉德反应产物^[27]。从表1中明显可看出，将CP-DX组待反应物初始pH值从3提高到11，生成的挥发性化合物不同，低pH值有利于呋喃（如3-糠醛和糠醛）的形成，而吡嗪类物质更易在高pH值条件下生成。经过美拉德反应后，鳕鱼肽液中原有的主要腥味物质己醛、壬醛、2-甲基-3-庚醇含量很难以被检测到，去腥效果显著，同时形成了具有浓郁果香味、坚果味的苯乙醛、苯甲醛、酮类物质、吡嗪类物质^[28]。

当添加二氢杨梅素后，产生了具有特殊植物清香的1-十二烯、苯并环丁烯、D-柠檬烯、异龙脑等烯烃^[29]，阈值分布范围较大，具有植物香味和芳香味等，赋予反应产物令人愉悦的香味。美拉德反应和二氢杨梅素的添加也会使得反应产物中的清新味酮类物质，如L-薄荷酮、樟脑含量增加。酮类物质主要由脂肪分解和醇类氧化形成，具有一定的坚果香、水果香，其阈值高于醛类物质，可以使食品整体风味得到增强，醛酮类物质的交互作用在鱼、肉制品形成独特风味的过程中发挥了巨大的作用^[4]。

2.5 电子鼻测定

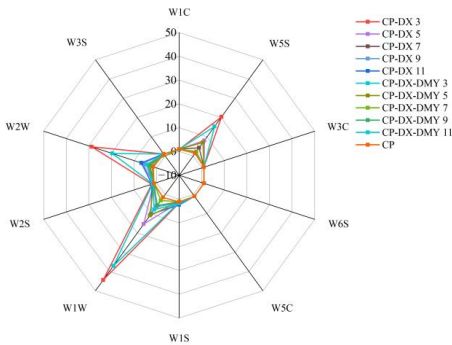


图 6 二氢杨梅素对不同 pH 值下反应产物电子鼻雷达图

Fig.6 Radar diagram of electron-nose distribution of dihydromyricetin reaction products at different pH

电子鼻系统内部设置了10个传感器，分别标记为W1C、W5S、W3C、W6S、W5C、W1S、W1W、W2S、W2和W3S，当气体被采集接触到传感器时，每个传感器都会产生相关电压信号，对于不同类型气味传感器会有不同的响应值。如图6所示，不同pH值下制备所得的CP-DX复合物大体表现为在W1W和W2W中有响应值，在酸性介质中W5S处出现特有响应值，同时W1W和W2W响应值更为显著。以上结果表明，木糖与鳕鱼肽之间的美拉德反应有利于含硫化合物的形成，如噻吩、噻唑、硫醇和硫化物等^[30]，在pH值较低的情况下还会有

特殊产物，如氮氧化物的生成。另外，如图所示，CP-DX和CP-DX-DMY在W3C、W6S或W5C处几乎都没有响应值，证明了二氢杨梅素在不同pH值条件下对芳香族化合物的生成没有促进作用。出现上述差异可能是由于电子鼻中检测含硫化合物的传感器响应灵敏度更高，存在某些小分子挥发性化合物对反应体系风味具有贡献，但电子鼻对这些小分子物质不敏感，因此出现的响应值不高。

控制pH值条件一致，添加二氢杨梅素对反应体系生成物的种类几乎没有影响，电子鼻检测结果表明CP-DX-DMY组产物的响应值主要出现在W1W、W2W和W5S处，和CP-DX组电子鼻响应点几乎一致，但响应值却有所减小。这可能归因于二氢杨梅素对肽段氨基位点的竞争性结合，阻碍了木糖与肽段反应特征产物的生成，从而导致挥发性物质含量减小。由此可推断，体系中电子鼻所能检测到的挥发性物质主要由二氢杨梅素的加入会争夺挥发性物质的前体物质，造成挥发性物质生成量减少。

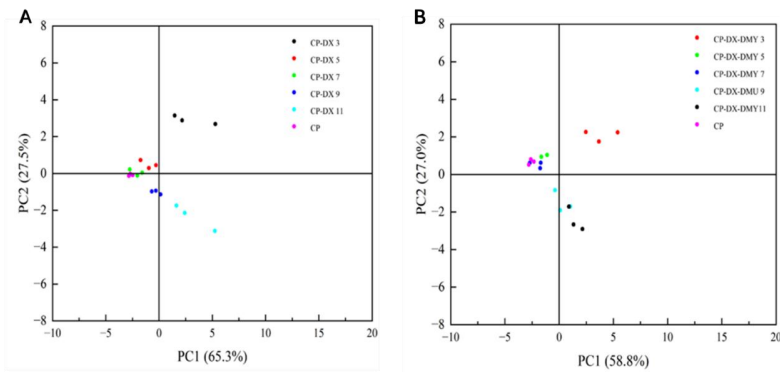


图 7 二氢杨梅素对不同 pH 值下反应产物电子鼻 PCA 主成分分析结果

Fig.7 Principal component analysis of dihydromyricetin on electronic nose PCA reaction products at different pH

注：A：CP-DX 组主成分分析图；B：CP-DX-DMY 组主成分分析图。

主成分分析（PCA）可以高效地找出数据中的主要部分，将原有的复杂数据降维处理，并对降维后的特征向量进行线性分类，最后以二维散点图显示。当某一成分在两轴上的比例越大，表明该主成分对模型的贡献越大。在图7A、B中，总贡献率分别为92.8%和85.8%，都大于80%，表明该模型能很好地反应原始数据，可充分反映各样品之间的区别。图7B为二氢杨梅素干预下的美拉德产物电子鼻结果主成分分析图，与无干预组产物分析图相似，说明添加二氢杨梅素几乎不改变体系的挥发性产物种类，这和电子鼻雷达图结果一致。

从PC1来看，pH值为3、11条件下制得的美拉德反应产物CP-DX 3和CP-DX 11分布在轴右侧，鳕鱼肽液和pH值为5、7、9条件下制得的美拉德产物CP-DX 5、CP-DX 7、CP-DX 9分布在轴左侧且和空白组分布位置有部分重叠。从PC2来看，酸性和碱性下得到的美拉德产物分别在轴上下侧，能很好地区分开，说明酶解液和美拉德反应液之间的差别主要由第二主成分决定。以上结果表明，美拉德反应能改变鳕鱼肽的风味，但只有在强酸和强碱条件下才能对体系挥发性物质种类有明显调控作用。

2.6 游离氨基酸（FAA）分析

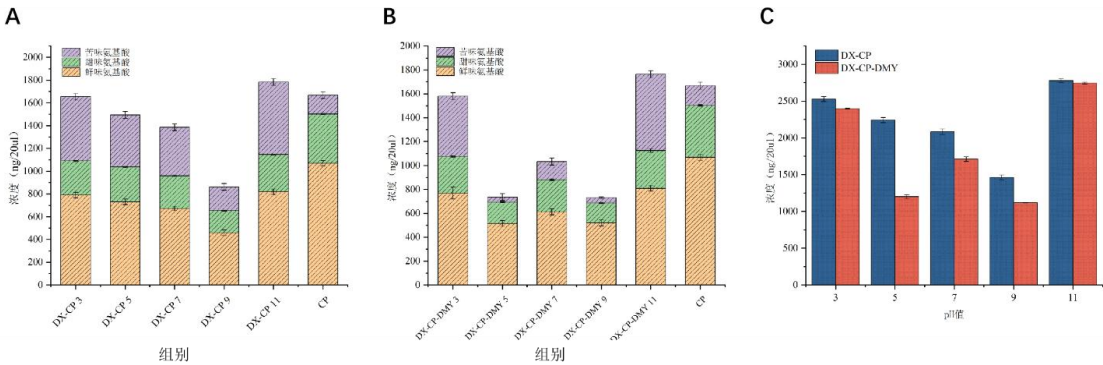


图 8 二氢杨梅素对不同 pH 值条件下反应产物游离氨基酸分布情况

Fig.8 Distribution of free amino acids of dihydromyricetin reaction products under different pH conditions

注: A:CP-DX 组游离氨基酸分布情况; B:CP-DX-DMY 组游离氨基酸分布情况; C:CP-DX 组、CP-DX-DMY 组总游离氨基酸分布情况。

如图8C所示,相较于DX-CP组,二氢杨梅素参与的DX-CP-DMY组游离氨基酸总量更少,在pH值为9的时候,游离氨基酸总量达到最小值55.95 mg/L。这主要是由于碱性环境有利于美拉德反应的进行,氨基被消耗,体系中检测到的游离氨基酸总量下降。将pH值控制在5、7、9,CP-DX-DMY体系中的苦味氨基酸含量更少,含量明显低于呈味阈值,对其他甜味氨基酸和鲜味氨基酸有呈味增效作用^[31]。游离氨基酸除了参与美拉德反应被消耗,还会因为肽链裂解或其他酰胺转化而得到补充。在pH值为11的美拉德反应环境中,DX-CP-DMY组的游离氨基酸总量达到最高值137.27 mg/L,同时鲜味氨基酸量达到40.48 mg/L,也较同组别其他样品更高。鲜味氨基酸主要包括天冬酰胺和谷氨酸,天冬氨酸可由丙氨酸转化而来,而谷氨酸可由甘氨酸或谷氨酰胺转化而来,或者寡肽裂解产生^[32]。综上可得,美拉德反应能有效降低体系中的苦味氨基酸含量,加入二氢杨梅素且控制体系pH值为9,可以使苦味氨基酸在总游离氨基酸中达到最低占比4.01%,而甜味和鲜味氨基酸占比较高,分别为14.84%和46.44%,使得体系整体呈味趋向甜味和鲜味。

3 结论

综上所述,二氢杨梅素会影响不同pH值条件下的鳕鱼肽-木糖体系美拉德反应进程,从而改变终产物中AGEs含量、挥发性物质生成、游离氨基酸分布和风味形成。若不考虑二氢杨梅素的干预,随着pH值升高,美拉德反应会被不断推进,体系内的美拉德中间小分子产物也会处于动态平衡,最终转变成类黑精物质。通过美拉德反应,鳕鱼肽中的不良风味物质如己醛、壬醛等物质减少,同时形成了具有浓郁果香味、坚果味的苯乙醛、苯甲醛、酮类物质、吡嗪类物质。从电子鼻风向图和主成分分析图可看出,DP-CX组与DP-CX-DMY组体系产生的挥发性物质种类相似,主要为酮、醛类物质还有吡嗪类化合物。通过GC-MS检测,发现二氢杨梅素的加入会使体系生成其他特有清香类物质,例如1-十二烯、苯并环丁烯、D-柠檬烯、异龙脑等烯烃,阈值分布范围较大,具有植物香味和芳香味等。游离呈味氨基酸的含量在一定程度上可以反应呈味特性,在美拉德反应与二氢杨梅素的共同作用下,反应产物呈现苦味氨基酸占比低,而鲜味氨基酸和甜味氨基酸占比较高的趋势,可以为开发清香型降苦增鲜的呈味基料提供指导。

参考文献

- [1] 赵玲,李亚,刘淇,等.鳕鱼骨胶原蛋白肽的抗氧化活性[J].食品与生物技术学报,2013,32(4):425-429.
- [2] JENSEN I J, EYSTURSKARE J, MADETOJA M, et al. The potential of cod hydrolyzate to inhibit blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. Nutrition Research, 2014, 34(2): 168-173.
- [3] BROEKMAN D C, ZENZ A, GUDMUNDSDOTTIR B K, et al. Functional characterization of cod cath, the mature cathelicidin antimicrobial peptide from Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. Peptides, 2011, 32(10): 2044-2051.
- [4] SUN A, WU W, SOLADOYE O P, et al. Maillard reaction of food-derived peptides as a potential route to generate meat flavor compounds: A review [J]. Food Research International, 2022, 151: 110823.
- [5] NOOR-SOFFALINA S S, JINAP S, NAZAMID S, et al. Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 44(1): 168-180.
- [6] SYEUNDA C O, AWIKA J. Effect of cereal bran phenolic profile on Maillard reaction products formation during hydrothermal treatment [J]. Food chemistry, 2023, 423: 136320.
- [7] LUND M N, RAY C A. Control of maillard reactions in foods: strategies and chemical mechanisms [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2017, 65(23): 4537.
- [8] SHAO X, CHEN H, ZHU Y, et al. Essential structural requirements and additive effects for flavonoids to scavenge methylglyoxal [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(14): 3202-3210.
- [9] 罗非君,丁锦屏.藤茶及二氢杨梅素的生物学功能研究进展[J].食品与生物技术学报,2022,41(2):8-21.
- [10] CHEN L, YIN S, DONG S, et al. A new insight into the key matrix components for aftertaste in *Ampelopsis grossedentata* (vine tea) infusion: from the intensity and duration of taste profiles using non-targeted metabolomics and molecular simulation [J]. Food Chemistry, 2024, 450: 139236.

- [11] 栾俊家,张尚悦,李昂达,等.响应面法优化秋刀鱼酶解制备抗氧化活性肽的工艺[J].食品工业科技,2022,43(5):172-181.
- [12] 刘荟萃,李巨秀.麻花加工与贮藏过程中晚期糖基化末端产物(AGEs)的形成及抑制研究[J].现代食品科技,2014,30(12):30-36+84.
- [13] LIU J, SHEN S, XIAO N, et al. Effect of glycation on physicochemical properties and volatile flavor characteristics of silver carp mince [J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132741.
- [14] 袁静宇,张毅.不同干制方式对鸡肉干品质及风味的影响[J].食品科技,2023,48(2):130-135.
- [15] HODGE J E. Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1953, 1(15): 625-651.
- [16] 姚元勇,石宝国,陈仕学,等.碱性水溶液条件下二氢杨梅素合成杨梅素作用机制研究[J].分子科学学报,2019,35(1):62-70.
- [17] 张友胜,宁正祥,杨书珍,等.显齿蛇葡萄中二氢杨梅树皮素的抗氧化作用及其机制[J].药学学报,2003,38(4):241-244.
- [18] 林淑英,高建华,郭清泉,等.二氢杨梅素的稳定性及其影响因素[J].食品与生物技术学报,2004,23(2):17-20.
- [19] 何桂霞,裴刚,李斌,等.二氢杨梅素的稳定性研究[J].中国新药杂志,2007,16(22):1888-1890.
- [20] BRANDS C M, ALINK G M, VAN BOEKEL M A, et al. Muta genicity of heated sugar-casein systems: Effect of the mail lard reaction [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(6): 2271-2275.
- [21] 周向军,周健,冯进兵,等.4种模式美拉德反应条件及其产物抗氧化作用[J].食品与发酵工业,2014,40(6):27-36.
- [22] 孙丽平,庄永亮,张莉,等.酶解小麦蛋白产物-还原糖美拉德反应的光谱研究[J].分析化学,2009,37(9):1359-1362.
- [23] HOFMANN T. Studies on the relationship between molecular weight and the color potency of fractions obtained by thermal treatment of glucose/amino acid and glucose/protein solutions by using ultracentrifugation and color dilution techniques [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1998, 46(10): 107-118.
- [24] CLARK A V, TANNENBAUM S R. Isolation and characterization of pigments from rotein-carbonyl browning systems.models for two insulin-glucose pigments [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1974, 22(6): 1089-1093.
- [25] 张懿铭.二氢槲皮素对晚期糖基化终末产物的抑制作用及机制研究[D].南昌:江西中医药大学,2023.
- [26] YANG X Y, CHRISTOPHE B, LIU H, et al. Effect of plant polyphenols with different m-hydroxy and o-hydroxy groups on the inhibition of heterocyclic amines formation in roasted meat [J]. Food Control, 2023, 153: 109963.
- [27] 张懿,张璐,李凤,等.油炸食品中挥发性风味物质的研究进展[J].食品科技,2024,49(4):124-132.
- [28] SHAKOOR A, ZHANG C, XIE J, et al. Maillard reaction chemistry in formation of critical intermediates and flavour compounds and their antioxidant properties [J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133416.
- [29] 黄海涛,敖存,郭敏明,等.花香与清香绿茶的香气组分及品种相关性分析[J].浙江农业科学,2018,59(5):738-741+771.
- [30] 刘美娇,黎铸毅,陈秋翰,等.酶解-美拉德反应制备金鲳鱼调味基料的工艺研究及风味分析[J].中国调味品,2024,49(6):83-90+118.
- [31] HUANG W J, LU G F, DENG W W, et al. Effects of different withering methods on the taste of Keemun black tea [J]. LWT, 2022, 166: 113791.
- [32] 钟斌,徐雅莹,万娅琼,等.酿造酱油呈味物质及其来源分析研究进展[J].中国调味品,2023,48(4):200-204.