

耐盐酵母菌对鳕鱼骨酶解液风味的改善作用

朱文慧¹ 胡显杰¹ 步 营^{1*} 李学鹏¹ 徐永霞¹ 沈 琳² 牟伟丽³ 励建荣¹

(¹渤海大学食品科学与工程学院

辽宁省高校重大科技平台“食品贮藏加工及质量安全控制工程技术研究中心” 辽宁锦州 121013

²大连东霖食品股份有限公司 辽宁大连 116000

³蓬莱京鲁渔业有限公司 山东蓬莱 265600)

摘要 以鳕鱼骨为原料制备酶解液,研究发酵时间、发酵温度、加盐量对酶解液氨基酸态氮含量和感官品质的影响。利用电子鼻结合顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析酶解液发酵前、后挥发性风味物质。结果表明,酶解液的最佳发酵温度为 35℃、发酵时间 12 h、加盐量 15%。在此发酵条件下,酶解液的氨基酸态氮含量为 0.2685 g/100 mL,氨基酸总量为 6 177.28 mg/100 g,其中鲜味氨基酸谷氨酸和天冬氨酸含量较高。通过电子鼻主成分分析(PCA)可以很好地区分发酵前、后酶解液的风味。用 SPME/GC-MS 检测发酵后酶解液中香气活性化合物明显增加,从发酵液中共检测到 18 种香气活性化合物,其中醇类 6 种、醛类 4 种、吡嗪类 3 种、酮类 2 种、呋喃类 2 种、酚类 1 种。

关键词 鳕鱼骨;酶解液;鲁氏结合酵母;发酵;风味

文章编号 1009-7848(2020)03-0140-09 **doi:** 10.16429/j.1009-7848.2020.03.018

鳕鱼(Pollock)俗称明太鱼,是全世界年捕捞量最大的鱼类之一。鳕鱼在加工生产过程中会产生大量的废弃物,其中鱼骨占鳕鱼整体质量的 15%^[1-3]。我国水产品加工率不到 30%,远远低于发达国家(>80%),对下脚料的利用更少,多数企业将其作为固体废弃物处理,造成了资源浪费和环境污染^[4]。水产品普遍存在腥味等不良风味,水产酶解液通常亦具有苦腥味,苦腥味的存在已成为水产酶解液在食品行业应用的主要限制因素^[5]。目前,酵母发酵法常被用于水产品的脱腥、脱苦。付湘晋等^[6]发现酵母发酵脱腥的机理之一是把醛类、醇类转化成相应的酸。耐盐酵母常被用于改善酱油的风味物质,在水产脱腥、脱苦方面还未见报道。

针对水产酶解液中存在的苦腥味问题,本文以鳕鱼骨酶解液为对象,利用耐盐酵母对其进行脱腥苦的研究,旨在创新和丰富水产调味料的基础理论,为鱼骨酶解液后续的加工利用提供理论依据。

收稿日期:2019-02-27

基金项目:“十三五”重点研发计划项目(2017YFD0400106)

作者简介:朱文慧(1982—),女,博士,副教授

通讯作者:步营 E-mail: buying130@126.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鳕鱼骨,大连天宝绿色食品股份有限公司;食盐、葡萄糖均为食品级,购于锦州市万维超市;AP-2002 碱性蛋白酶、FF104 中性蛋白酶、耐盐酵母为鲁氏结合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*, *Z. rouxii*),安琪酵母股份有限公司;甲醛,分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;氢氧化钠(标准滴定溶液),天津市光复精细化工研究所。

1.2 设备与仪器

LY-380D 隆粤商用多功能破壁料理机,中山市隆粤电器厂;HH-4 数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;Biofugestratos 台式冷冻高速离心机,美国 Thermo Fisher 公司;DL-1 万用电炉,北京中兴伟业仪器有限公司;LRH-150 生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;PEN 3 便携式电子鼻(传感器阵列由 10 个金属氧化物传感器组成),德国 Aisense 公司;Orion Star 系列手持式便携 pH 计,Thermo 公司;Agilent 7890N-5975C 气相色谱-质谱联用仪,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;全自动氨基酸分析仪,日本日立

公司。

1.3 鳕鱼骨酶解液的制备

将鱼骨化冻,清洗,以料液比1:1的添加量,放入破碎机,打碎。置于85℃水浴锅中灭菌10 min 冷却。后加入鱼骨质量0.3%的碱性蛋白酶和0.1%的风味蛋白酶,在55℃条件下,搅拌酶解3 h后置于95℃的水浴锅中灭酶15 min。过滤离心,取上清液,冷藏待用。

1.4 耐盐酵母发酵脱苦腥条件的确定

分别按酶解液质量分数的0.1%和2%添加耐盐酵母和葡萄糖。酵母在加入酶解液前,需先用酶解液质量10%,35~40℃的水活化5~10 min。

1.4.1 单因素试验 取一定量的鱼骨酶解液,选取时间、温度、加盐量这3个因素进行单因素试

验,测定电子鼻,并进行感官评定。

1.4.1.1 发酵时间单因素试验 添加酶解液质量10%的食用盐。在35℃下分别发酵6,12,18,24 h,以未添加酵母的酶解液作对照。

1.4.1.2 发酵温度单因素试验 添加酶解液质量10%的食用盐。分别在30,35,40,45℃下发酵12 h,以未添加酵母的酶解液作对照。

1.4.1.3 加盐量单因素试验 分别添加酶解液质量5%,10%,15%,20%的食用盐。在40℃下发酵12 h,以未添加酵母的酶解液作对照。

1.4.2 正交试验的设计 在单因素试验基础上进行 $L_9(3^3)$ 正交试验,因素水平设计见表1,通过氨基酸态氮含量测定,选择最优水平组合。

表1 正交试验因素与水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels

水平	因素		
	A(脱腥时间)/h	B(脱腥温度)/℃	C(加盐量)/%
1	6	35	10
2	12	40	15
3	18	45	20

1.5 测定方法

1.5.1 氨基酸态氮、总酸和氨基酸的测定 采用甲醛滴定法,参考王琳等^[6]的方法进行氨基酸态氮的测定;参考GB/T 12456-2008《食品中总酸的测定》中的酸碱中和滴定法^[7]进行总酸的测定;采用氨基酸自动分析仪进行氨基酸的测定。

1.5.2 电子鼻分析 根据样品顶空挥发物通过传感器的电阻值 G 与基准气体通过传感器的电阻值 G_0 的比值而进行数据处理和模式识别^[8]。传感器由10种金属氧化物半导体型(Metal oxide semiconductor, MOS)化学传感元件组成,每型传感元件对应的主要敏感物质见表2。

表2 化学传感器及其对应的敏感物质类型

Table 2 Chemical sensors corresponding to different types of volatile substances

阵列序号	金属氧化物传感器名称	性能描述
MOS 1	W1C	芳香成分
MOS 2	W5S	灵敏度大,对氮氧化合物很灵敏
MOS 3	W3C	氨水,对芳香成分灵敏
MOS 4	W6S	主要对氢气有选择性
MOS 5	W5S	烷烃芳香成分
MOS 6	W1S	对甲烷灵敏
MOS 7	W1W	对硫化物灵敏
MOS 8	W2S	对乙醇灵敏
MOS 9	W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏
MOS 10	W3S	对烷烃灵敏

用 50 mL 的烧杯,称量 5 g 左右的待测样品,并用保鲜膜封口。25 ℃环境中运用电子鼻传感器对样品进行检测。检测时间 120 s,进样流量和内部流量均为 300 mL/min,数据采集时间为 90 s 和 95 s^[9]。

1.5.3 感官评定 发酵脱腥液的风味能综合反映产品的感官质量,绝大多数消费者认为发酵脱腥

液的腥味、苦味、涩味、咸味决定着香气和滋味,因此本试验选择这 4 个指标作为评定对象,采用 5 级标度法和发酵脱腥液的质量等级评定标准(表 3)进行感官评价。参加品评的人员由 20 位食品专业品评师组成,按照标准,分别对发酵脱腥液的各项指标进行等级评定并打分,记录评定结果^[10-13]。

表 3 酶解液感官质量评定标准

Table 3 Evaluation criteria of sensory quality of enzymatic hydrolysate

项目权重	质量等级	评价标准	评分
腥味(30%)	1(很好)	没有鱼腥味	25~30
	2(好)	有淡淡的鱼腥味	19~24
	3(一般)	能接受的鱼腥味	13~18
	4(差)	不太可以接受的鱼腥味	7~12
	5(很差)	难以忍受的鱼腥味	0~6
苦味(30%)	1(很好)	没有苦味	25~30
	2(好)	带点微苦,而且不影响整体感官	19~24
	3(一般)	带点苦味,但可以接受	13~18
	4(差)	有苦味,勉强接受,对品质有影响	7~12
	5(很差)	有明显的苦味,完全不能接受	0~6
涩味(20%)	1(很好)	无涩味	17~20
	2(好)	微涩,入口几乎没感觉	13~16
	3(一般)	入口有涩感,但可以接受	9~12
	4(差)	入口有较重的涩感,影响品质	5~8
	5(很差)	有强烈的涩感,无法接受	0~4
咸味(20%)	1(很好)	咸味适中,感觉很舒服	17~20
	2(好)	较咸,可以接受	13~16
	3(一般)	很咸,但没有苦涩感	9~12
	4(差)	咸到发苦,之后有点涩感	5~8
	5(很差)	咸到发苦发涩	0~4

1.5.4 气相色谱-质谱条件 参考文献 [3,14-17] 并适当改进如下:量取 5 mL 待测液,装入固相微萃取小瓶,加入转子,密封,45 ℃水浴平衡 10 min,然后将固相微萃取针头插入小瓶中,推动手柄使纤维头处于顶空状态,吸附 30 min,进样。

色谱条件:Agilent 7890N 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 1.0 mL/min;不分流模式进样;程序升温:起始温度 40 ℃,保持 2 min,以 3 ℃/min 的速率上升至 120 ℃再以升温速率 5 ℃/min 上升至 230 ℃,保持 5 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 30~550(m/z)。

1.5.5 数据分析 使用软件 SPSS 19.0 进行正交试验数据分析,Origin 9.1 作图;电子鼻数据处理:每个处理进行 3 次重复,结果利用电子鼻自带软件对测试结果进行主成分分析(Principal component analysis,PCA);GC-MS 数据处理:样品中的挥发性成分经气相色谱分离,用质谱进行分析鉴定。分析结果利用计算机谱库(Nist/Wiley)进行初

步检索及定性分析。

2 结果分析

2.1 发酵时间对脱腥苦效果的影响

不同发酵时间下发酵脱腥液 PCA 分析和感官评价结果如图 1 和图 2 所示。由图 1 可知,不同发酵时间下样品第 1 主成分(PC1)的贡献率为 82.06%,第 2 主成分(PC2)的贡献率为 15.30%,总贡献率为 97.36%,大于 95%,说明所受干扰很小。由图可知,12 h 的发酵脱腥液第一主成分贡献率

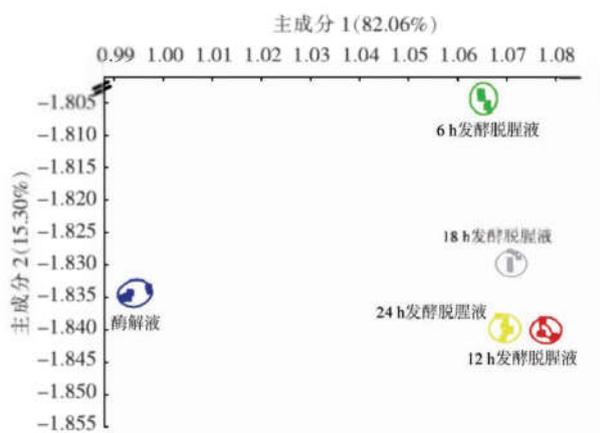


图 1 不同发酵时间酶解液的 PCA 图

Fig.1 PCA diagram of enzymatic hydrolysate at different fermentation time

2.2 发酵温度对脱腥苦效果的影响

不同发酵温度下发酵脱腥液的 PCA 和感官评价结果如图 3 和图 4。由图 3 可知,不同发酵温度下样品 PC1 的贡献率达到 98.67%,PC2 的贡献率为 0.98%,总贡献率为 99.65%,大于 95%,说明所受干扰很小。酶解液和发酵脱腥液相比,PC1 变化很大。而不同发酵温度的发酵脱腥液 PC1 变化不明显。酶解液与 30、40 °C 发酵脱腥液 PC2 变化差异不明显,45 °C 和 35 °C 的发酵脱腥液与其它样品之间风味变化差异明显。发酵脱腥液的香气成分与酶解液相比有明显变化,说明耐盐酵母发酵可以很明显的改善酶解液的风味^[8]。由图 4 可以看出,30 °C 发酵脱腥液有较明显的苦涩腥味;35 °C 发酵脱腥液苦涩味很淡,但腥味比较明显;45 °C 发酵脱腥液较 30 °C 和 35 °C 口感好,但与 40 °C 相比,还有苦涩腥味;40 °C 发酵脱腥液效果最佳、分值最

与酶解液相比,变化最大。12 h 和 24 h 在第 1 主成分轴上分布较为靠近,18 h 和 24 h 在第二主成分上分布较为集中。12、18 和 24 h 的 3 组样品在 PCA 图上较为集中。各组数据区域间没有重叠,说明不同发酵时间酶解液的风味成分可以通过 PCA 很好地区分开来^[8]。由图 2 可以看出,发酵 12 h 的发酵脱腥液苦涩味轻,且具有海鲜的香味,与其它 4 组相比更受欢迎,因此整体分值较高。综合电子鼻和感官评价结果,最适脱腥时间为 12 h。

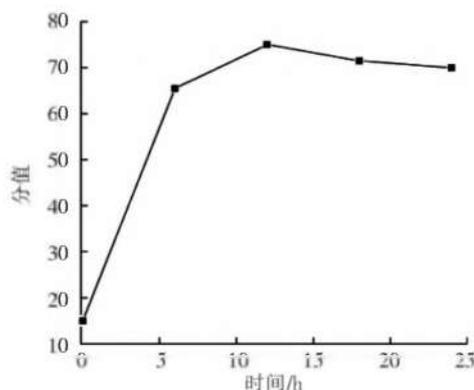


图 2 不同发酵时间酶解液的感官评价

Fig.2 The sensory evaluation of enzymatic hydrolysate at different fermentation time

高,最受欢迎,因此选择 40 °C 为最适脱腥温度。

2.3 加盐量对脱腥苦效果的影响

不同加盐量发酵脱腥液的 PCA 和感官评价结果如图 5 和图 6 所示。由图 5 可知,不同加盐量样品 PC1 的贡献率达到 86.35%,PC2 的贡献率为 9.94%,总贡献率为 96.29%,大于 95%,说明所受干扰很小。PC1 相对稳定,与酶解液相比都有明显的变化,在加盐量为 10% 出现了最大值。PC2 则随着加盐量的增加,逐渐下降,呈减少的趋势。各组数据区域间没有重叠,说明不同发酵时间的酶解液的风味成分可以通过 PCA 很好的区分开来。综合评定,酶解液和发酵脱腥液比较,前后的风味成分有明显的变化,说明发酵能改善酶解液的风味^[8]。从气味上来说,每组的发酵味都相对较淡;从滋味上来说,加盐量为 5% 的入口很淡,加盐量为 10% 和 20% 的开始尝不出苦涩腥味,但后续就

会有较明显的苦涩腥味,且20%加盐量咸味过重,加盐量为15%时分值最高,最容易被人接受。因

此,15%的加盐量最佳。

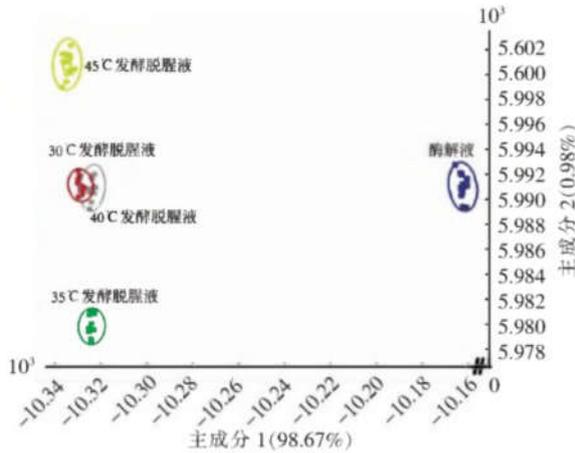


图3 不同发酵温度酶解液的PCA图

Fig.3 PCA diagram of enzymatic hydrolysate at different fermentation temperature

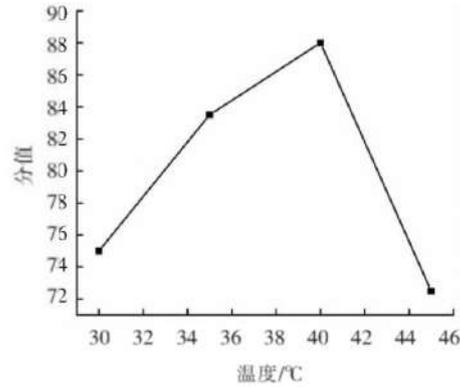


图4 不同发酵温度对酶解液的感官评价

Fig.4 The sensory evaluation of enzymatic hydrolysate at different fermentation temperature

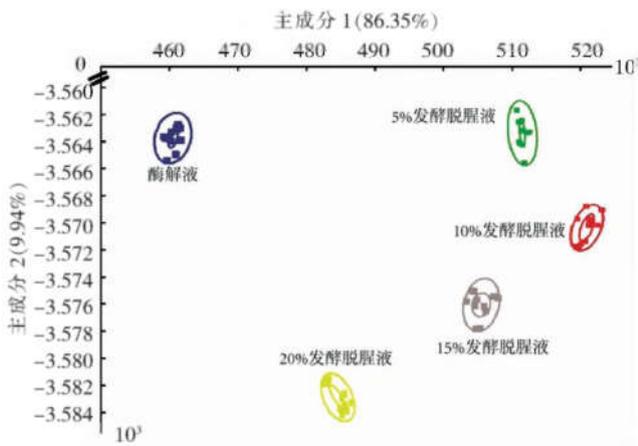


图5 不同加盐量酶解液的PCA图

Fig.5 PCA diagram of enzymatic hydrolysate with different amounts of salt

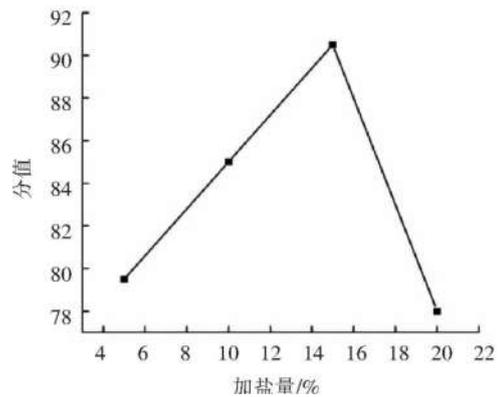


图6 不同加盐量酶解液的感官评价

Fig.6 The sensory evaluation of enzymatic hydrolysate with different amounts of salt

2.4 酶解工艺正交试验结果及条件验证

2.4.1 酶解工艺参数优化正交试验结果 发酵工艺参数优化的正交试验设计及结果见表4。由极差分析可知,经 $L_9(3^3)$ 正交试验后,得到最优组合条件为脱腥时间12h、脱腥温度35℃、加盐量15%,其顺序为 $C_2B_1A_2$ 。

2.4.2 最优组合条件验证 称取一定量的酶解液,按其质量的2%,15%和0.1%添加葡萄糖、盐和酵母,于35℃下恒温培养12h后,制备得到发酵脱腥液,测得发酵脱腥液氨基酸态氮含量为

0.2685 g/100 mL,高于正交试验中的所有组分测得的氨基酸态氮值,说明试验具有可靠性。

2.5 酶解液电子鼻分析

对鳕鱼骨的酶解液和脱腥液电子鼻分析结果如图7所示。由图可知,PC1的贡献率达到100%,第2主成分的贡献率为0%,总贡献率为99.996%,大于95%,说明所受干扰很小,表明2个主成分已经基本代表了样品的主要信息特征。图中,酶解液与脱腥液PC1变化稳定,有明显的上升趋势,PC2基本没变化,但其所占面积较广,呈椭圆形,说明

表4 正交试验设计及结果

Table 4 Orthogonal array design and results

试验号	A(时间)/h	B(温度)/ $^{\circ}$ C	C(加盐量)/%	氨基酸态氮值/ $\text{g}\cdot(100\text{mL})^{-1}$
1	18	45	10	0.1833
2	6	40	20	0.1840
3	18	35	20	0.1782
4	6	45	15	0.1993
5	12	45	20	0.1519
6	18	40	15	0.1828
7	12	40	10	0.2051
8	12	35	15	0.2475
9	6	35	10	0.2147
K_1	0.5981	0.6405	0.6031	
K_2	0.6045	0.5718	0.6326	
K_3	0.5443	0.5346	0.5142	
k_1	0.1994	0.2135	0.2010	
k_2	0.2015	0.1906	0.2109	
k_3	0.1814	0.1782	0.1714	
R	0.0201	0.0353	0.0395	

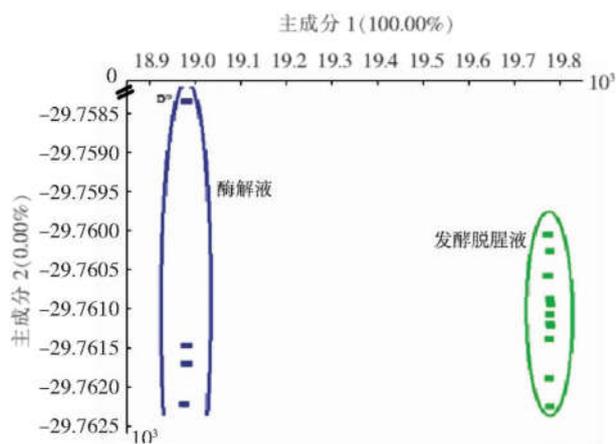


图7 脱腥反应前、后酶解液的PCA图

Fig.7 PCA diagram of the enzymatic hydrolysate before and after deodorization

数据信息比较分散,测定存在误差。其次,脱腥前后样品的挥发性风味差异明显,而此差异能在PC1、PC2构建的平面上充分展示,并且在平面上分布很有规律性,随着温度的升高,样品沿PC1轴向右分布。各组数据区域间没有重叠,说明酶解液与脱腥液的风味成分可以通过PCA很好的区分开来^[18]。

2.6 酶解液 SPME/GC-MS 分析

酶解液和发酵脱腥液的GC-MS结果见表5。从表可知,酶解液发酵前后挥发性风味成分发生了变化,酶解液中共检测到9种香气活性化合物,其中包括醛类4种、酮类2种、醇类1种、醚类1种、吡嗪类1种。经过发酵脱腥后,发酵脱腥液香气活性化合物明显增多,检测到18种香气活性化合物,其中包括醇类6种、醛类4种、吡嗪类3种、酮类2种、呋喃类2种、酚类1种。

如表5所示,发酵前后醛类物质数量无变化,其中有恶臭的3-甲硫基丙醛变成了癸醛,有苦杏仁味的苯甲醛含量减少,说明在发酵过程中,醛类物质含量的减少可能是因为醛属于不稳定的中间体化合物,容易在发酵过程中被氧化和还原形成相应的酸或醇^[19]。醛类具有较低的阈值,能给予清香、果香和坚果香的芳香特质,是食品中重要的挥发性成分^[20]。

醇类通常具有植物香、芳香气味,是发酵过程中的主要成分。醇类化合物的阈值较高,对整体风味贡献较小^[21]。经发酵后,一是醇类物质种类明显增多,占总量的77.80%。可能是由脂肪酸的次级氢过氧化物的分解^[22]、脂质氧化酶对脂肪酸的作

表5 酶解液 GC-MS 测定结果
Table 5 The results of GC-MS determination of enzymatic hydrolysate

分类	化合物	相对含量/%		气味描述
		发酵脱腥液	酶解液	
醇类	乙醇	13.8666	-	有酒的气味和刺激性辛辣味
	异戊醇	13.1277	-	有苹果白兰地香气和辛辣味
	正己醇	1.5268	-	有淡青的嫩枝叶气息,微带酒香、果香
	2-乙基己醇	2.1752	4.3514	有甜味和淡淡的花香
	苯乙醇	0.4819	-	有玫瑰香气
	桃金娘烯醇	0.2611	-	有草香、木香香气
醛类	庚醛	0.8243	0.8774	有果子香味
	戊醛	0.2928	0.7962	有特殊香味
	苯甲醛	0.2535	1.8944	具有苦杏仁味
	3-甲硫基丙醛	-	0.0753	有恶臭气味
	癸醛	0.2099	-	有似甜橙油与柠檬油及玫瑰样和蜡香的后韵
吡嗪类	2,5-二甲基吡嗪	0.1167	-	呈刺鼻的炒花生香气和巧克力、奶油风味
	2,6-二甲基吡嗪	0.0969	-	具有咖啡和炒花生的气味
	2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	-	1.4458	坚果味
	2-乙酰基-3-乙基吡嗪	0.0689	-	呈果仁、爆米花香,有霉香和土豆香
酮类	2-壬酮	0.2274	0.4866	呈水果、花、油脂和药草香气
	苯乙酮	0.2502	0.4267	呈强烈金合欢甜香气
呋喃类	2-乙基呋喃	4.6724	-	呈强烈焦香香气,低浓度呈甜香和咖啡香
	2-正戊基呋喃	1.6552	-	豆香、果香、青香
酚类	间甲酚	0.3013	-	有特殊臭味和燃烧味,极稀的溶液具有甜味
醚类	4-烯丙基苯甲醚	-	0.2330	呈大茴香香气

注:“-”表示该物质未检出。

用^[23]、脂肪的氧化分解生成或由羰基化合物还原生成醇^[24],脱氢酶也可以将由脂肪酸和氨基酸生成的醛还原成相应的醇^[25]。其次,醇类物质可能来源于酵母发酵过程中有氧呼吸和无氧呼吸时产生。

酮类另一种重要的呈味物质对溶液风味变化也起着重要作用。如表所示酮类物质种类无变化,但含量减少,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。酮类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^[21]。另外,呋喃作为肉制品中的重要杂环,也可能影响鱼骨酶解液的香气。

2.7 发酵脱腥液氨基酸分析

最优组发酵脱腥液氨基酸组成及主要呈味特性^[26-27]见表6,测得氨基酸总量为 6 177.28 mg/100 g。

由表6可知,谷氨酸、脯氨酸和天冬氨酸这3种氨基酸的含量明显高于其它氨基酸,而甘氨酸、赖氨酸等必需氨基酸的含量也较高,酪氨酸含量最低,它们分别占总量的 14.23%,11.06%,9.19%,8.26%,7.81%,2.20%。发酵液呈鲜、甜氨基酸占总量的 58.2%,产品鲜味突出,可能是酶解液中的小分子多肽起了主要鲜味作用或产生的醇厚感肽对鲜味起了增强作用,同时说明耐盐酵母发酵对改善脱腥液风味有着较大的作用。

3 结论

通过正交试验确定了鳕鱼骨酶解液脱腥苦的最佳工艺:发酵温度 35 ℃、发酵时间 12 h、加盐量 15%。电子鼻的 PCA 图说明发酵前后风味物质有很明显的变化,可以很好地区分发酵前后的酶解

表6 氨基酸成分含量表
Table 6 Amino acid content

主要呈味特性	名称	含量/ mg·(100g) ⁻¹	百分比/%
鲜味	谷氨酸	878.84	14.23
	天冬氨酸	567.69	9.19
甜味	脯氨酸	683.26	11.06
	甘氨酸	510.54	8.26
	丙氨酸	406.40	6.58
	丝氨酸	278.13	4.50
	苏氨酸	270.51	4.38
苦味	赖氨酸	482.60	7.81
	亮氨酸	436.88	7.07
	精氨酸	361.95	5.86
	缬氨酸	247.65	4.01
	异亮氨酸	226.06	3.66
	苯丙氨酸	199.39	3.23
	蛋氨酸	191.77	3.10
	组氨酸	161.29	2.61
	羟脯氨酸	138.43	2.24
	酪氨酸	135.89	2.20

液风味。通过 SPME/GC-MS 对脱腥反应前后香气化合物成分进行分析,发现通过脱腥反应可以明显增加酶解液的风味成分,尤其是香气活性化合物明显增多,挥发性风味物质主要为醛类、酮类、酚类、醇类、呋喃等化合物。氨基酸的测定结果表明:谷氨酸、脯氨酸和天冬氨酸这3种氨基酸的含量明显高于其它氨基酸,而它们分别代表鲜味和甜味,充分说明发酵对酶解液脱腥起着重要的作用。本研究建立了酶解液脱腥工艺,为其深加工及高值化利用提供一定的理论依据和技术支持。

参 考 文 献

- [1] 王珊珊. 鳕鱼骨胶原肽与活性钙的制备及其抗骨质疏松活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [2] 丁利君, 钟森辉. 鳕鱼蛋白酶解工艺优化及其酶解液抗氧化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 398-401.
- [3] 丛艳君, 苘钰婷, 易红. 草鱼内脏蛋白酶解产物美拉德反应制备调味基料[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 6-10.
- [4] ZHOU X X, CHONG Y Q, DING Y T, et al. Determination of the effects of different washing processes on aroma characteristics in silver carp mince by MMSE-GC-MS, e-nose and sensory evaluation [J]. Food Chemistry, 2016(207): 205-213.
- [5] 付湘晋, 许时婴, KIM J. 酸碱法提取鳕鱼蛋白脱腥及酵母脱腥机理[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 57-62.
- [6] 王琳, 曹雁平, 张单单, 等. 真空包装麻酱中腐败菌的分离鉴定及对麻酱品质的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(6): 187-194.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 中国国家标准化管理委员会. 食品中总酸的测定: GB/T 12456-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [8] 高利萍, 王俊, 崔绍庆. 不同成熟度草莓鲜榨果汁的电子鼻和电子舌检测[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2012, 38(6): 715-724.
- [9] 王瑞花, 田金虎, 姜万舟, 等. 基于电子鼻和气相色谱联用仪分析葱姜蒜复合物对炖煮猪肉风味物质的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(4): 209-218.
- [10] 廖兰, 谢赠林, 倪莉. 小麦面筋蛋白肽促酸奶发酵特性的研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(8): 126-131.
- [11] 倪萍, 沈群. 杂豆同熟米的工艺研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(8): 140-146.
- [12] 胡璇, 夏延斌. 基于模糊数学的剁椒感官综合评价方法[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 95-96.
- [13] 张瑶, 张沙沙, 王承明. 花生粕酿酒工艺及花生发酵酒风味物质和营养成分分析[J]. 中国油脂, 2016, 41(11): 100-104.
- [14] 刘滢. 基于风味特性的冷藏大菱鲆品质变化研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2015.
- [15] 贾春晓, 张西安, 孙晓丽, 等. 顶空-固相微萃取法并气相色谱-质谱法测定八角茴香挥发性成分[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科版), 2009, 24(2): 21-26.
- [16] 刘昌华, 王艳, 章建浩, 等. 固相微萃取-气质联用法测定鲈鱼风干成熟工艺过程中的挥发性化合物变化[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 250-254.
- [17] 钱攀, 马旭婷, 许刚, 等. 美国鲢鱼挥发性成分和脱腥方法研究[J]. 中国食品学报, 2016, 16(2): 169-176.
- [18] 朱丹实, 吴晓菲, 王立娜, 等. 电子鼻结合气相色谱-质谱联用技术分析冷藏真鲷挥发性风味物质变化[J]. 中国食品学报, 2016, 16(12): 227-234.

- [19] 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): 701-707.
- [20] WARINDA VEJAPHAN, THOMAS C Y. Volatile flavor components from boiled crayfish (*Procambarus clarkii*) tail meat[J]. Food Science, 1988, 6(53): 1666-1670.
- [21] 孟凌玉. 虾头酶解产物微生物混合发酵工艺及其风味成分的变化[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013.
- [22] TANEHOTIKUL U, HSIEH T C Y. Volatile flavor components in the crayfish waste[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(6): 1515-1520.
- [23] SUZUKI J, ICHIMURA N ETOH T. Volatile components of boiled scallop[J]. Food Reviews International, 1990, 6(4): 537-552.
- [24] PNA B S, KOU J M. Flavor of shellfish and Kam-abokoflavours[M]// Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality. Shahid I F and Botta J R(Eds.) Blackie Academic and Professional, New York, 1994: 85-114.
- [25] GERMANA B, LUCIANA B, GIOVANNI P, et al. Flavor compounds of dry-cured ham[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(12): 2389-2394.
- [26] 高加龙, 沈建, 章超桦, 等. 美拉德反应对牡蛎酶解产物风味物质的影响[J]. 食品科技, 2015(6): 169-174.
- [27] 姚玉静, 杨昭, 黄佳佳, 等. 复合酶深度酶解牡蛎制备呈味基料的研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(6): 180-184, 206.
- [28] 刘辉鸿. 功能型海鲜调味基料研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.

Improving Flavour of Cod Bone Enzymatic Hydrolysate by Salt-tolerant Yeast

Zhu Wenhui¹ Hu Xianjie¹ Bu Ying^{1*} Li Xuepeng¹ Xu Yongxia¹ Shen Lin² Mou Weili³ Li Jianrong¹

¹Engineering and Technology Research Center of Food Preservation, Processing and Safety Control of Liaoning Province, College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

²Dalian Dong Lin Food Co., Ltd., Dalian 116000, Liaoning

³Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd., Penglai 265600, Shandong

Abstract The effects of fermentation time, fermentation temperature and salt content on amino acid nitrogen content and sensory quality of the cod bone hydralysate were studied. The volatile components of hydralysate were analyzed using electronic nose combined with headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the optimum fermentation temperature, fermentation time and salt content were 35 °C, 12 h and 15% respectively. The content of amino acid nitrogen and amino acid were 0.2685 g/100mL and 6 177.28 mg/100 g respectively, meanwhile the glutamic acid and aspartic acid which were umami amino acid were higher. The volatile compounds of hydralysate could be distinguished well by principal component analysis (PCA); The aroma active compounds of the fermentation hydrolyzate were significantly increased by SPME/GC-MS and 18 kinds of aroma active compounds were detected, including 6 kinds of alcohols, 4 kinds of aldehydes, 3 kinds of pyrazines, 2 kinds of ketones, 2 kinds of furans and 1 kind of phenols.

Keywords Cod bone; hydrolsate; *Zygosaccharomyces rouxii*; fermentation; flavor