

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20210255

HPLC 法测定不同来源低聚肽粉中 4 种呈味有机酸含量

石可歆¹, 张伟伟^{1,2}, 马跃欣¹, 张紫艺¹, 杨晨¹, 汪建明¹

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457; 2. 山东天博食品配料有限公司, 济宁 272000)

摘要: 为分析比较不同来源低聚肽中呈味有机酸含量的差别, 建立了可以同时测定鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中 4 种呈味有机酸含量的高效液相色谱方法. 色谱条件: Zorbax Eclipse XDB C18 色谱柱, 柱温 25 °C, 流动相为体积比 5:95 的甲醇与磷酸二氢钾溶液 (0.01 mol/L, pH 2.8) 的混合溶液, 流量 1 mL/min, 进样量 5 μL, 等度洗脱, 紫外检测器检测波长 210 nm. 在此条件下, 苹果酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸这 4 种呈味有机酸可以进行有效分离, 在 0.01~5.00 mg/mL 线性范围内, 相关系数为 0.999 41~1.000 00, 检出限为 0.4~0.9 μg/mL, 定量限为 2.9~5.4 μg/mL, 加标回收率为 86.25%~94.36%, 且相对标准偏差 (RSD) 均小于 5%. 结果表明: 鸡肉低聚肽粉中乳酸含量最高 (4.32%), 不含柠檬酸, 而大豆低聚肽粉中柠檬酸 (1.91%) 则是含量最高的呈味有机酸. 该高效液相色谱检测方法高效快捷、定量准确、灵敏度高, 适用于不同来源低聚肽中 4 种不同呈味有机酸含量的测定.

关键词: 高效液相色谱; 有机酸; 鸡肉低聚肽; 大豆低聚肽

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2022)03-0021-07

Determination of Four Flavor Organic Acids in Oligopeptide Powders from Different Sources by HPLC

SHI Kexin¹, ZHANG Weiwei^{1,2}, MA Yuexin¹, ZHANG Ziyi¹, YANG Chen¹, WANG Jianming¹

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. Shandong Tianbo Food Ingredients Co., Ltd., Jining 272000, China)

Abstract: In order to analyze and compare the differences in the content of flavored organic acids in oligopeptides from different sources, a HPLC method was developed for the determination of four flavorful organic acids in chicken oligopeptide powder and soybean oligopeptide powder. Chromatographic conditions are: ZORBAX Eclipse XDB C18 column was used for separation; column temperature was 25 °C; the mobile phase was $V(\text{methanol}) : V(\text{KH}_2\text{PO}_4, 0.01 \text{ mol/L, pH } 2.8) = 5 : 95$; the flow rate was 1 mL/min; the injection volume was 5 μL, and the detection wavelength was 210 nm. Under these conditions, the four flavor organic acids (i.e., malic acid, lactic acid, succinic acid, citric acid) could be effectively separated; in the linear range of 0.01-5.00 mg/mL, the correlation coefficient was between 0.999 41-1.000 00; the detection limit was 0.4-0.9 μg/mL; the limit of quantification was 2.9-5.4 μg/mL; the recovery rate was 86.25%-94.36%, and the RSD was less than 5%. The results showed that the lactic acid content in chicken oligopeptide powder was the highest (4.32%), while no citric acid was found in chicken oligopeptide powder; the highest content of flavoring organic acid in soybean oligopeptide powder was citric acid (1.91%). The HPLC method has proved efficient, rapid, accurate and sensitive. Therefore, it is suitable for the determination of four different organic acids in oligopeptides from different sources.

Key words: high performance liquid chromatography; organic acids; chicken oligopeptides; soybean oligopeptides

有机酸是食品中重要的风味组成成分, 能有效改善食品风味, 防止或减缓食品酸败和褐变反应. 有机

酸通常包括乙酸、乳酸、苹果酸、琥珀酸、柠檬酸等, 其中琥珀酸在与味精 (MSG) 结合时有强烈的增香作

收稿日期: 2021-11-20; 修回日期: 2022-01-28

基金项目: 天津市合成生物技术创新能力提升行动重大科技攻关任务 (TSBICIP-KJGG-004-09); 山东省自然科学基金项目 (ZR2020KC029)

作者简介: 石可歆 (1997—), 女, 河北唐山人, 硕士研究生; 通信作者: 汪建明, 教授, wangjianming@tust.edu.cn

用^[1-2]. 研究^[3]表明, 鱼类中乳酸的含量普遍较高, 而水果中含有较多的柠檬酸.

目前检测呈味有机酸含量的方法主要有毛细管电泳法^[4]、气相色谱法^[5]、离子色谱法^[6]及高效液相色谱法(HPLC)^[7-8]等. 毛细管电泳法重现性较差; 气相色谱法操作比较复杂, 安全性较低; 离子色谱法检测耗时较长; 高效液相色谱法操作简单、重现性好、准确性高, 目前已经大范围应用到食品中呈味有机酸的检测. 丁奇^[9]确定了一种利用高效液相色谱检测鸡汤中呈味有机酸的方法, 并检测出鸡汤中只含有乳酸和琥珀酸两种有机酸. Xiao 等^[10]利用 HPLC 法在四川泡菜中检测出 6 种有机酸(乳酸、甲酸、乙酸、柠檬酸、苹果酸和丁酸), 并发现乙酸和乳酸是发酵过程中的主要酸产物. 但是, 目前尚未见到利用高效液相色谱法检测低聚肽(由 2~10 个氨基酸组成的肽)中的有机酸含量的研究. 利用高效液相色谱检测呈味有机酸的方法中, 不同的液相色谱条件(如缓冲液浓度、流动相流量、色谱柱等)会明显影响检测的分离度、检测限、精密度等. 对于不同的食品原料, 其呈味有机酸检测的最适色谱条件需要进一步研究确定. 因此, 本实验拟对低聚肽中呈味有机酸的高效液相色谱检测方法进行探究.

前期研究表明, 鸡肉经蛋白酶酶解得到的低聚肽^[11-12]具有抗氧化^[13-14]、降血压^[15-16]、抗疲劳^[17]、调节免疫力^[18-19]等作用, 且具有良好的呈味特性^[20-21]. 经过酶解得到的鸡肉低聚肽与大豆蛋白的氨基酸组成相同^[22], 且具有促进矿物质吸收、降低胆固醇、降血压、抗疲劳、增强肌肉力量、提高免疫力等多种生理功能^[23]. 鸡肉低聚肽^[24]和大豆低聚肽^[25-26]都具有良好的呈鲜特性, 能在一定程度上改善食品风味. 而其中含有的呈味有机酸虽然含量低, 却能够显著提高食品的滋味, 且不会改变食品的酸度^[24,27]. 然而, 现阶段对低聚肽中呈味有机酸的检测方法尚未见报道. 因此, 利用高效液相色谱法测定鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中呈味有机酸的含量, 对深入了解呈味有机酸的呈味特征具有重要意义, 可以为开发营养型鲜味调味品提供新思路, 弥补普通调味品营养成分含量不高、鲜味较为单一的不足.

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与仪器

鸡肉低聚肽粉、大豆低聚肽粉是由鸡肉、大豆原料经复合蛋白酶酶解制备而成, 相对分子质量小于 3 000, 山东天博食品配料有限公司生产.

甲醇(色谱纯)、磷酸二氢钾(分析纯)、磷酸(分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 苹果酸标准品(98.7%, BePure)、乳酸标准品(90.2%, BePure)、柠檬酸标准品(99.9%, BePure)、琥珀酸标准品(99.0%, BePure), 北京振翔科技有限公司; 实验用水为超纯水.

e2695 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; ME204 型分析电子天平、FE28 型 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; KQ-300VDE 型双频数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司.

1.2 方法

1.2.1 样品基本成分检测

粗蛋白含量按照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法进行测定. 粗脂肪含量按照 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》中的索氏抽提法进行测定. 灰分含量按照 GB 5009.4—2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》中的干法灰化法进行测定. 碳水化合物含量按照 GB/T 9695.31—2008《肉制品 总糖含量测定》进行测定. 氨基酸态氮含量按照 GB 5009.235—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》进行测定.

1.2.2 有机酸检测的色谱条件

有机酸检测的色谱条件根据丁奇^[9]、苏国万^[28]、Fang 等^[29]的方法加以改进. 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB C18 色谱柱, 柱温 25 °C, 流动相为体积比 5 : 95 的甲醇与磷酸二氢钾溶液(0.01 mol/L, pH 2.8)的混合溶液, 流量 1 mL/min, 进样量 5 μL, 等度洗脱, 紫外检测器检测波长 210 nm.

1.2.3 标准溶液制备

精确称取适量苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸标准品(按纯度计算), 用超纯水超声溶解, 分别配制成质量浓度为 25 mg/mL 的有机酸标准储备液, 4 °C 储存备用. 分别取上述储备液, 用超纯水稀释成质量浓度为 5 mg/mL 的有机酸标准混合使用液.

1.2.4 标准曲线绘制

分别取有机酸标准混合使用液, 用超纯水稀释, 配制成质量浓度为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00 mg/mL 的有机酸混合标准溶液. 分别用 0.22 μm 滤膜过滤后连续进样进行测定. 以有机酸混合标准溶液的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 对结果进行线性回归分析, 得到标准曲线.

1.2.5 样品处理

精确称取鸡肉低聚肽粉 2.00 g, 用超纯水超声溶

解并定容至 100 mL,配制成 20 mg/mL 的鸡肉低聚肽样品溶液.精确称取大豆低聚肽粉 5.00 g,用超纯水超声溶解并定容至 100 mL,配制成 50 mg/mL 的大豆低聚肽样品溶液.样品溶液用 0.22 μm 滤膜过滤后置于样品瓶中,用于呈味有机酸含量的测定.

1.3 数据处理

采用 Origin 8.0、SPSS 21.0 软件进行数据分析.每组平行检测 3 次,结果以“平均值 \pm 标准差”表示.

2 结果与分析

2.1 样品基本组成成分

对鸡肉低聚肽粉和 大豆低聚肽粉中的粗蛋白、粗脂肪、灰分、碳水化合物、氨基酸态氮进行测定,并与鸡肉和 大豆原料中的基本成分进行对比(以干质量计),结果见表 1.

表 1 样品的基本组成成分
Tab. 1 Basic components of samples

样品	鸡肉低聚肽粉	大豆低聚肽粉	鸡肉	大豆
粗蛋白/%	75.3 \pm 0.68	53.1 \pm 0.42	62.1 \pm 0.65	44.3 \pm 0.46
粗脂肪/%	6.9 \pm 0.19	2.1 \pm 0.11	30.3 \pm 0.52	24.7 \pm 0.31
灰分/%	9.7 \pm 0.19	10.0 \pm 0.20	3.2 \pm 0.12	5.0 \pm 0.08
碳水化合物/%	7.9 \pm 0.09	34.3 \pm 0.59	4.2 \pm 0.15	25.7 \pm 0.54
氨基酸态氮/%	3.5 \pm 0.09	1.1 \pm 0.06	1.6 \pm 0.02	0.2 \pm 0.01

由表 1 可知:两种低聚肽样品中的粗蛋白含量皆大于 50%,且远高于其原料(鸡肉/大豆)中的粗蛋白含量,其他基本成分相对较少.这是由于两种低聚肽样品都是原料(鸡肉/大豆)经特定方法酶解后的肽提取物,同时将酶解后的两种原料酶解液分别经 500 nm 的陶瓷膜纯化,以除去脂肪、多糖等大分子.相较于大豆低聚肽粉,鸡肉低聚肽粉中的粗蛋白含量更高,超过了 75%,而大豆低聚肽粉中除了粗蛋白,还含有约 30% 的碳水化合物,且大多为不可溶性膳食纤维^[29].由此可以推断,利用大豆制备大豆低聚肽的酶解方法还有待进一步改善.另外,虽然两种低聚肽样品中的粗脂肪和氨基酸态氮含量都很少,但是鸡肉低聚肽粉中的粗脂肪含量(6.9%)和氨基酸态氮含量(3.5%)约为大豆低聚肽粉(粗脂肪含量 2.1%,氨基酸态氮含量 1.1%)的 3 倍.

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 检测波长的选择

分别对 4 种呈味有机酸标准品在 200 ~ 300 nm 处进行全波长扫描(图 1),发现各种有机酸在 210 nm 处均有较大的吸收峰,故采用 210 nm 作为检测波长.

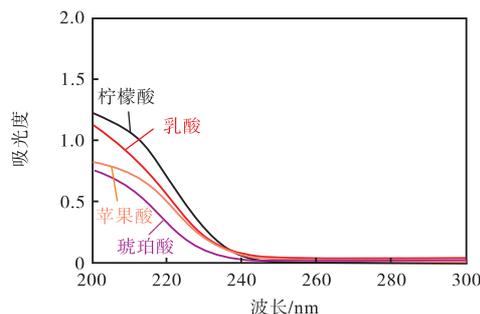
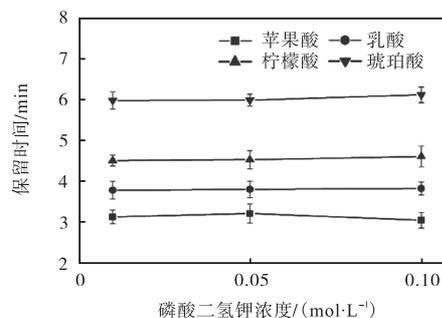


图 1 有机酸全波段扫描结果

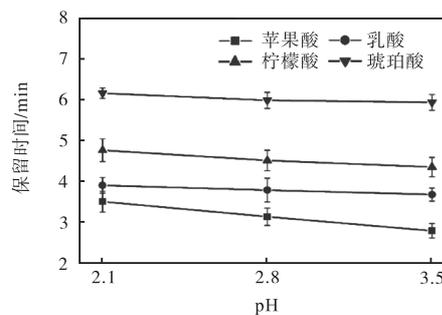
Fig. 1 Full band scanning results of organic acid

2.2.2 流动相的选择

流动相的组成影响 HPLC 检测结果的峰形和分离效果.研究^[9,29-31]表明,用甲醇和磷酸二氢钾溶液混合后的流动相可以实现待测物的分离.流动相的磷酸二氢钾浓度及 pH 对保留时间的影响如图 2 所示.



(a) 磷酸二氢钾浓度



(b) pH

图 2 流动相的磷酸二氢钾浓度及 pH 对保留时间的影响
Fig. 2 Influence of mobile phase concentration and pH on retention time

磷酸二氢钾由于水溶性好且是一种弱酸电离抑制剂,在紫外光区几乎无吸收,所以常被用作缓冲溶液;用其作为检测有机酸的流动相,有利于有机酸的分离且不影响检测结果,但其浓度过高易造成仪器的腐蚀并且清洗困难.本实验分别比较了 0.01、0.05、0.1 mol/L 的磷酸二氢钾溶液对 4 种呈味有机酸分离效果的影响,结果如图 2(a)所示.随着磷酸二氢钾浓

度的增大,4种有机酸的分离效果稍有增强.在磷酸二氢钾浓度为0.01 mol/L、流动相甲醇与磷酸二氢钾溶液的体积比为5:95时,4种有机酸的分离度皆大于1.5.由于磷酸盐浓度过高会对仪器及色谱柱造成损害,所以选用浓度为0.01 mol/L的磷酸二氢钾溶液进行后续实验.

由于有机酸为弱酸,极性较大,大部分以解离形式或结合态形式存在,只有少部分以分子形式存在,而较低pH的流动相可以抑制有机酸解离,促进其向分子形式转换.本实验分别比较了在流动相pH 2.1、pH 2.8、pH 3.5时4种呈味有机酸的分离效果,结果如图2(b)所示.随着流动相pH的升高,各组分出峰时间变短,且对苹果酸的影响最大,但pH的降低会增加色谱柱的损伤.当流动相的pH为2.8时,4种有机酸的保留时间较短、分离度较好,所以选用流动相的pH为2.8进行后续实验.

2.3 有机酸标准曲线及方法检出限、定量限

取质量浓度分别为0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00 mg/mL的有机酸混合标准溶液上样检测,以有机酸混合标准溶液的浓度为自变量,色谱峰面积为因

变量,对结果进行线性回归分析.此外,将有机酸混合标准溶液稀释后上样检测,以3倍信噪比(S/N)作为各有机酸的检出限(LOD),以10倍信噪比作为各有机酸的定量限(LOQ),测定仪器所能检出和定量的最低质量浓度.4种1 mg/mL呈味有机酸混合对照品溶液的高效液相色谱图如图3所示,其中富马酸为苹果酸标准品中的杂质.线性回归方程、决定系数、线性范围、检出限和定量限见表2.

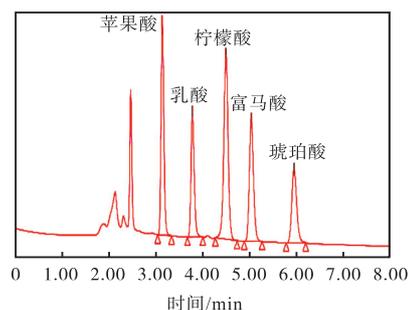


图3 1 mg/mL呈味有机酸混合对照品溶液的高效液相色谱图

Fig. 3 High performance liquid chromatography of 1 mg/mL of flavor organic acid mixed reference solution

表2 4种呈味有机酸回归方程、线性范围、检出限和定量限

Tab. 2 Regression equation, linear range, limit of detection and limit of quantification of four flavor organic acids

呈味有机酸	线性回归方程	决定系数 R^2	保留时间/min	线性范围/(mg·mL ⁻¹)	检出限/(μ g·mL ⁻¹)	定量限/(μ g·mL ⁻¹)
苹果酸	$y = 262\ 073x + 62.596$	1.000 00	3.136	0.01 ~ 5.00	0.7	4.8
乳酸	$y = 77\ 241x + 200.5$	0.999 91	3.780	0.01 ~ 5.00	0.9	5.4
柠檬酸	$y = 329\ 961x + 5\ 079.3$	0.999 41	4.496	0.01 ~ 5.00	0.5	2.9
琥珀酸	$y = 164\ 314x - 269.63$	0.999 99	5.951	0.01 ~ 5.00	0.4	3.2

由表2可知:4种呈味有机酸在0.01~5.00 mg/mL线性范围内,回归方程的决定系数(R^2)在0.999 41~1.000 00之间,表明各有机酸标准品均具有良好的线性关系.同时,4种呈味有机酸的LOD在0.4~0.9 μ g/mL之间,LOQ在2.9~5.4 μ g/mL之间.现有的色谱条件下,各有机酸的LOD与LOQ均在线性范围内,说明各有机酸在0.01~5.00 mg/mL

的范围内可被准确定量.

2.4 方法精密度

对质量浓度100 μ g/mL的呈味有机酸混合标准溶液分别连续进样6次,计算其精密度(表3).由表3可知,各标准溶液的相对标准偏差(RSD)在0.51%~0.89%之间,表明该方法的精密度达到分析要求.

表3 测定方法的精密度

Tab. 3 Precision of the determination method

有机酸名称	测定结果/(μ g·mL ⁻¹)						RSD/%
	第1次	第2次	第3次	第4次	第5次	第6次	
苹果酸	100.59	101.22	100.98	101.09	99.83	100.12	0.51
乳酸	100.15	101.02	98.99	99.72	100.78	99.08	0.78
柠檬酸	101.05	99.23	101.16	100.19	98.92	99.29	0.89
琥珀酸	99.36	100.42	101.52	100.21	101.18	99.99	0.72

2.5 加标回收率

准确量取按照1.2.5节方法配制的鸡肉低聚肽样

品溶液25 mL(含鸡肉低聚肽粉0.50 g)和大豆低聚肽样品溶液10 mL(含大豆低聚肽粉0.50 g),向其中分

别加入不同浓度的有机酸混合标准溶液,进行呈味有机酸的3水平6平行加标回收实验.分别选取低、中、高3个加标水平(2.50%、5.00%、7.50%),结果见表4.鸡肉低聚肽和大豆低聚肽样品中4种呈味有机

酸的加标回收率分别在88.69%~94.36%之间和86.25%~92.19%之间,且RSD均小于5%,表明方法回收率较好、准确度高.

表4 有机酸加标回收率($n=6$)Tab. 4 Standard recovery rate of organic acids ($n=6$)

样品 基质	组分	加标水平1		加标水平2		加标水平3		平均回收率/%	RSD/%
		加标量/%	回收率/%	加标量/%	回收率/%	加标量/%	回收率/%		
鸡肉 低聚肽	苹果酸	2.50	95.26	5.00	89.63	7.50	98.19	94.36	3.84
	乳酸	2.50	93.49	5.00	88.00	7.50	96.71	92.73	3.94
	柠檬酸	2.50	86.17	5.00	91.77	7.50	88.12	88.69	2.68
	琥珀酸	2.50	85.54	5.00	96.01	7.50	91.39	90.98	4.77
大豆 低聚肽	苹果酸	2.50	86.27	5.00	82.36	7.50	90.12	86.25	3.74
	乳酸	2.50	89.30	5.00	85.83	7.50	96.61	90.58	4.98
	柠檬酸	2.50	89.18	5.00	86.81	7.50	90.33	88.78	1.95
	琥珀酸	2.50	93.35	5.00	96.61	7.50	86.62	92.19	4.55

2.6 呈味有机酸含量

按1.2.2节有机酸检测色谱条件及1.2.5节原料制备方法对鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中的4种呈味有机酸含量进行检测,结果如图4所示.

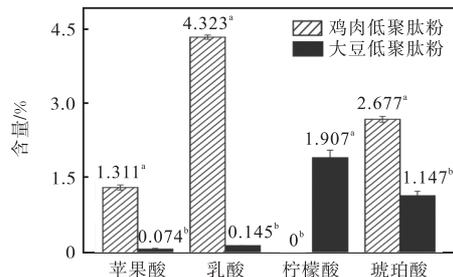


图4 鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉的呈味有机酸含量

Fig. 4 Organic acid content of chicken and soybean oligopeptide powder

鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中都只有极少量的呈味有机酸.鸡肉低聚肽粉中4种呈味有机酸含量在0.00%~4.32%之间(苹果酸1.31%、乳酸4.32%、柠檬酸0.00%、琥珀酸2.68%).大豆低聚肽粉中4种呈味有机酸含量在0.07%~1.91%之间(苹果酸

0.07%、乳酸0.15%、柠檬酸1.91%、琥珀酸1.15%).两种样品中的呈味有机酸总含量存在明显差异,鸡肉低聚肽粉中虽然不含有柠檬酸,但其4种呈味有机酸的总含量却远大于大豆低聚肽粉的.与此同时,两种样品中占主导地位的呈味有机酸也完全不同,鸡肉低聚肽粉中乳酸的含量最高(4.32%),琥珀酸次之(2.68%),不含柠檬酸;而大豆低聚肽粉中柠檬酸(1.91%)则是含量最高的呈味有机酸,苹果酸含量最少(0.07%).这可能与鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉分别是动物性食品和植物性食品有关.

不同食品中的有机酸含量见表5.有报道指出:鱼类、鸡肉中乳酸含量普遍较高,是最主要的呈味有机酸,乳酸本身就是一种酸味柔和的调味剂^[32-33];水果中常常含有较多的柠檬酸或苹果酸,柠檬酸有温和而爽快的酸味^[34],而苹果酸相较于柠檬酸的酸味更强却具有特殊的、令人愉悦的香味^[30-31];腌制品中起到助鲜作用的则是乳酸和琥珀酸,琥珀酸具有一种类似于贝类的鲜味^[35-36].这些研究结果与本实验结果基本一致.

表5 不同食品中有机酸含量

Tab. 5 Contents of organic acids in different foods

食品名称	苹果酸/%	乳酸/%	柠檬酸/%	琥珀酸/%
鸡肉 ^[9]	0.02 ± 0.00	2.03 ± 0.02	—	0.53 ± 0.02
酱油 ^[37]	1.39 ± 0.04	0.88 ± 0.04	0.25 ± 0.02	0.16 ± 0.01
苹果 ^[38]	1.80 ± 0.05	0.89 ± 0.05	0.03 ± 0.00	0.09 ± 0.01
蓝莓 ^[39]	0.09 ± 0.01	0.01 ± 0.00	2.26 ± 0.05	0.01 ± 0.00
大枣 ^[31]	0.99 ± 0.04	—	0.15 ± 0.01	—
泡菜 ^[40]	0.11 ± 0.01	2.41 ± 0.09	0.48 ± 0.02	0.97 ± 0.05
虾 ^[2]	0.06 ± 0.00	—	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00
河豚 ^[27]	—	1.23 ± 0.08	—	—

注:—表示未检出

此外,研究^[41]表明,虽然有机酸在食品中的含量极低,但在很低的浓度下,有机酸仍能显著提高食品的滋味强度。同时,本实验结果显示,鸡肉低聚肽和大豆低聚肽溶液的 pH 都接近于中性,由此可以得出,这些含量极少的有机酸在食品体系中主要起到提高风味质量的作用,并不会导致食品产生酸味,这与文献^[42-43]报道的结果一致。

3 结 论

本研究建立了一种利用高效液相色谱测定鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中 4 种呈味有机酸(苹果酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸)含量的方法。该高效液相色谱方法分离度较好,4 种呈味有机酸在 0.01 ~ 5.00 mg/mL 线性范围内具有良好的线性关系,各有机酸的检出限为 0.4 ~ 0.9 $\mu\text{g/mL}$,定量限为 2.9 ~ 5.4 $\mu\text{g/mL}$,该方法可准确定量。对鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉样品各平行测定 6 次,各呈味有机酸含量的 RSD 均小于 1%;3 水平 6 平行加标回收实验结果显示,两种样品的呈味有机酸加标回收率为 86.25% ~ 94.36%,且 RSD 均小于 5%,该方法具有较高的精密度和准确度。

利用该方法有效测定了鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉中 4 种呈味有机酸的含量,结果表明两种样品的呈味有机酸总含量存在明显差别。值得注意的是,鸡肉低聚肽粉中不含有柠檬酸,但其 4 种呈味有机酸的总含量远大于大豆低聚肽粉的。鸡肉低聚肽粉中各呈味有机酸含量由高到低依次为乳酸、琥珀酸、苹果酸,而大豆低聚肽粉中各呈味有机酸含量由高到低则依次为柠檬酸、琥珀酸、乳酸、苹果酸。这些差别可能与鸡肉低聚肽粉和大豆低聚肽粉分别是动物性食品和植物性食品有关。食品中呈味有机酸含量对食品的呈味效果有显著影响,是决定食品风味和品质的重要因素。因此,对食品中各呈味有机酸含量的测定及其对食品风味的影响机理仍有待进一步的研究。本研究为其他种类食品中呈味有机酸含量检测提供参考,同时为进一步研究不同食品中有机酸含量、代谢与食品风味品质变化的关系提供了基础的技术手段。

致谢:本研究为基于 2021 年天津市教育科学规划(重点)课题校企深度融合的路径创新研究(BIE210023)的研究成果,引导本科生参与了课题实践。

参考文献:

- [1] 马艺荧. 东北酸菜发酵过程中细菌多样性及有机酸的变化规律[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2019.
- [2] 李婉君. 南极磷虾与南美白对虾营养与滋味成分比较[D]. 上海:上海海洋大学,2015.
- [3] MAEHASHI K, MATSUZAKI M, YAMAMOTO Y, et al. Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties[J]. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1999, 63(3): 555-559.
- [4] 李永库, 刘衣南, 吕琳琳, 等. 毛细管电泳-质谱联用法测定葡萄酒中 8 种有机酸含量[J]. *质谱学报*, 2013, 34(5): 288-293.
- [5] 袁华伟, 杨泽刚, 兰著玺, 等. 气相色谱法测定己酸菌发酵液中的己酸等有机酸含量[J]. *酿酒科技*, 2018(3): 102-105.
- [6] 李红蕊, 杨念. 离子色谱法在食品检测中的应用进展[J]. *粮食与食品工业*, 2018, 25(3): 64-66.
- [7] RODRIGUES C I, MARTA L, MAIA R, et al. Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC[J]. *Journal of food composition and analysis*, 2007, 20(5): 440-448.
- [8] SCHERER R, RYBKA A C P, BALLUS C A, et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices[J]. *Food chemistry*, 2012, 135(1): 150-154.
- [9] 丁奇. 鸡汤及鸡肉酶解液中鲜味成分的测定与对比分析[D]. 北京:北京工商大学,2017.
- [10] XIAO Y, XIONG T, PENG Z, et al. Correlation between microbiota and flavours in fermentation of Chinese Sichuan Paocai[J]. *Food research international*, 2018, 114: 123-132.
- [11] BHAT Z F, KUMAR S, BHAT H F. Bioactive peptides of animal origin: a review[J]. *Journal of food science and technology*, 2015, 52(9): 5377-5392.
- [12] PRZYBYLSKI R, FIRDAOUS L, CHÂTAIGNÉ G, et al. Production of an antimicrobial peptide derived from slaughterhouse by-product and its potential application on meat as preservative[J]. *Food chemistry*, 2016, 211: 306-313.
- [13] 俞媛瑞, 王雪峰, 王桂瑛, 等. 鸡肉中生物活性肽的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(22): 220-224.
- [14] 曾卓, 王金水, 付雅丽. 鸡肉蛋白的酶解特性及酶解产物的抗氧化性研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(6): 126-128.
- [15] LEE S Y, HUR S J. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants[J]. *Food chemistry*, 2017, 228: 506-517.
- [16] 梁婷婷, 佟立涛, 蒲华寅, 等. 动植物源蛋白体外消化

- 产物结构性质及 ACE 抑制活性[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 6-12.
- [17] 潘兆广, 陈中, 林伟锋, 等. 鸡肉抗疲劳蛋白肽粉的制备研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(5): 494-497.
- [18] CHALAMAIAH M, YU W, WU J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates(peptides) from food proteins: a review[J]. Food chemistry, 2018, 245: 205-222.
- [19] 魏颖, 谷瑞增, 林峰, 等. 乌鸡肽免疫调节作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(16): 1-5.
- [20] 邓莉, 郝学财, 刘娜. 呈味肽的制备、纯化与鉴定[J]. 中国酿造, 2017, 36(4): 142-148.
- [21] 林荫莉. 鲜味肽功能及制备安全性研究[D]. 北京: 北京理工大学, 2016.
- [22] 武莹浣. 微波法中性蛋白酶酶解大豆分离蛋白的条件研究[J]. 农业机械, 2012(12): 53-55.
- [23] 戴媛, 冷进松. 大豆多肽的功能性质及应用前景[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2019, 40(2): 132-139.
- [24] KONG Y, YANG X, DING Q, et al. Comparison of non-volatile umami components in chicken soup and chicken enzymatic hydrolysate[J]. Food research international, 2017, 102: 559-566.
- [25] DING Y, LI X, KAN J. Isolation and identification of flavor peptides from douchi(traditional Chinese soybean food) [J]. International journal of food properties, 2017, 20: 1982-1994.
- [26] WENG Z, LU S, FANG W, et al. Assessment the flavor of soybean meal hydrolyzed with alcalase enzyme under different hydrolysis conditions by E-nose, E-tongue and HS-SPME-GC-MS[J]. Food chemistry: X, 2021, 12: 100141.
- [27] ZHANG N, WANG W, LI B, et al. Non-volatile taste active compounds and umami evaluation in two aquacultured pufferfish(*Takifugu obscurus* and *Takifugu rubripes*) [J]. Food bioscience, 2019, 32: 100468.
- [28] 苏国万. 花生粕酶解及其产物呈味特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [29] FANG D L, YU K L, DENG Z L, et al. Storage quality and flavor evaluation of *Volvariella volvacea* packaged with nanocomposite-based packaging material during commercial storage condition[J]. Food packaging and shelf life, 2019, 22: 100412.
- [30] 段云飞, 吴光斌, 叶洪, 等. HPLC法同时测定采后莲雾果实7种有机酸的含量[J]. 食品科学, 2021, 42(4): 175-180.
- [31] 关尚玮, 陈恺, 万红艳, 等. 高效液相色谱法测定哈密大枣干制过程中6种有机酸的含量变化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 253-258.
- [32] XIONG T, LI X, GUAN Q, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: growth, acidification and metabolic analyses[J]. Food control, 2014, 41: 122-127.
- [33] 柳建华, 鲍长俊, 常惟丹, 等. 不同发酵方式下泡凉薯的营养成分分析及其风味物质的主成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 212-218.
- [34] ABDEL-RAHMAN M A, TASHIRO Y, SONOMOTO K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits[J]. Journal of biotechnology, 2011, 156(4): 286-301.
- [35] NGUYEN D T L, VAN HOORDE K, CNOCKAERT M, et al. A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam[J]. International journal of food microbiology, 2013, 163(1): 19-27.
- [36] 栾天奇. 酸菜发酵剂的制备及酸菜风味成分分析[D]. 天津: 天津科技大学, 2011.
- [37] 张露, 梁寒峭, 陈建国, 等. 酿造酱油中有机酸种类与含量的检测分析[J]. 食品科技, 2019, 44(3): 295-299.
- [38] 饶静, 李春扬, 张晓磊, 等. 高效液相色谱法同时测定苹果醋及原料中的17种有机酸[J]. 中国酿造, 2018, 37(4): 169-173.
- [39] 徐玉涛, 李珂珂, 王贺新, 等. 高效液相色谱法对蓝莓果实中8个有机酸含量的测定[J]. 食品科学, 2015, 36(18): 127-131.
- [40] 李志华. 泡菜中五种有机酸的高效液相色谱分离分析[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2011.
- [41] KANG M W, CHUNG S J, LEE H S, et al. The sensory interactions of organic acids and various flavors in ramen soup systems[J]. Journal of food science, 2007, 72(9): S639-S647.
- [42] SHIMA K, YAMADA N, SUZUKI E, et al. Novel broth taste modifier isolated from beef broth[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 1998, 46(4): 1465-1468.
- [43] LIOE H N, APRIYANTONO A, TAKARA K, et al. Umami taste enhancement of MSG/NaCl mixtures by subthreshold *L*- α -aromatic amino acids[J]. Journal of food science, 2005, 70(7): 401-405.

责任编辑: 郎婧