

羊肚菌酶解工艺优化及酶解液挥发性风味物质分析

曾小峰, 颜蜜, 盖智星, 高伦江, 尹旭敏, 刁源, 商桑, 曾顺德

Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process of *Morchella esculenta* and Analysis of Volatile Flavor Compounds in Enzymatic Hydrolysate

ZENG Xiaofeng, YAN Mi, GE Zhixing, GAO Lunjiang, YIN Xumin, DIAO Yuan, SHANG Sang, and ZENG Shunde

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024030400>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

鸡骨液酶解工艺优化及其酶解前后风味物质分析

Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process of Chicken Bone Homogenate and Its Flavor Components Analysis before and after Enzymatic Hydrolysis

食品工业科技. 2022, 43(10): 206-215 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080186>

虾蟹漂烫汁酶解液美拉德反应工艺优化及其挥发性物质分析

Optimization of Maillard Reaction Process for Enzymatic Hydrolysate from Shrimp and Crab Boiled Juice and Analysis of Its Volatile Flavor Components

食品工业科技. 2020, 41(16): 140-149 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.023>

基于电子鼻和顶空气相色谱-离子迁移谱分析不同干燥方式对羊肚菌挥发性化合物的影响

Analysis the Effects of Different Drying Methods on the Volatile Compounds in *Morchella esculenta* Based on Electronic Nose and Headspace Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry

食品工业科技. 2024, 45(7): 261-269 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050088>

鱼骨泥酶解工艺优化及酶解液呈味特性研究

Study on Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Bone Paste and Flavor Characteristics of Hydrolysates

食品工业科技. 2021, 42(23): 218-227 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040030>

响应面优化羊肚菌多糖提取工艺及抗氧化性

Extraction Optimization of *Morchella esculenta* Polysaccharides by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(6): 179-185,192 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.030>

发酵牡蛎酶解液的工艺探究及其风味成分分析

Process Exploration and Flavor Analysis of Oyster Enzymatic Hydrolysates by *Lactiplantibacillus pentosus* Fermentation

食品工业科技. 2024, 45(12): 169-178 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023070222>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

曾小峰, 颜蜜, 盖智星, 等. 羊肚菌酶解工艺优化及酶解液挥发性风味物质分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(4): 147-154. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030400

ZENG Xiaofeng, YAN Mi, GE Zhixing, et al. Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process of *Morchella esculenta* and Analysis of Volatile Flavor Compounds in Enzymatic Hydrolysate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(4): 147-154. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030400

· 生物工程 ·

羊肚菌酶解工艺优化及酶解液挥发性 风味物质分析

曾小峰¹, 颜蜜¹, 盖智星², 高伦江¹, 尹旭敏¹, 刁源¹, 商桑¹, 曾顺德^{1,*}

(1.重庆市农业科学院, 重庆 401329;

2.陕西省产品质量监督检验研究院, 陕西西安 710048)

摘要:为优化羊肚菌酶解工艺, 探究酶解液挥发性风味物质, 研究采用响应面设计优化酶解工艺, 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (Headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS) 结合香气活性值 (Odor activity value, OAV) 分析鉴定关键风味物质。结果表明, 加酶量 5000 U/g、pH6.7、酶解温度 44 °C、酶解时间 2 h 为最佳酶解工艺, 此条件下水解度达 34.11%; GC-MS 分析共鉴定出挥发性风味物质 23 种, 其中空白组 17 种, 酶解组 21 种, 酶解后风味物质含量增加了 203.71%, 醛类是最主要的挥发性风味物质, 占整个风味物质的 78.50%。进一步分析 OAV \geq 1 的化合物, 空白组 7 种, 酶解组 9 种, 并确定异戊醛、苯乙醛、正己醛、苯甲醛、壬醛、芳樟醇、2-戊基呋喃、柠檬烯、萜为羊肚菌酶解液的关键风味化合物。该研究表明酶解可促进风味物质的释放, 为羊肚菌的风味利用、调味料深加工开发提供数据基础。

关键词:羊肚菌, 酶解工艺, 响应面法, 风味, 香气活性值 (OAV)

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)04-0147-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030400



本文网刊:

Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process of *Morchella esculenta* and Analysis of Volatile Flavor Compounds in Enzymatic Hydrolysate

ZENG Xiaofeng¹, YAN Mi¹, GE Zhixing², GAO Lunjiang¹, YIN Xumin¹, DIAO Yuan¹,
SHANG Sang¹, ZENG Shunde^{1,*}

(1.Chongqing Academy of Agricultural Science, Chongqing 401329, China;

2.Shaanxi Institute of Supervision & Testing on Product Quality, Xi'an 710048, China)

Abstract: To optimize the enzymatic hydrolysis process of *Morchella esculenta* and explore the volatile flavor compounds in its enzymatic hydrolysate, the enzymatic hydrolysis was optimized by response surface design, and the key flavor compounds were identified by headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) combined with the odor activity value (OAV). Results indications were as follows: enzyme addition amount of 5000 U/g, pH6.7, enzymolysis temperature at 44 °C for 2 h, the hydrolysis degree was 34.11% under the above mentioned conditions and a total of 23 volatile flavor compounds were identified by GC-MS analysis, among which 17 were in blank group and 21 in enzymatic group. After enzymatic hydrolysis process, the content of flavor compounds increased by 203.71%. Aldehydes were the main volatile flavor compounds, accounting for 78.50% of the whole flavor compounds. Compounds with OAV \geq 1 were further analyzed, including 7 in the blank group and 9 in the enzymatic group. Isovaleraldehyde, phenylacetaldehyde, hexenal, benzaldehyde, nonanal, linalool, 2-amylfuran, limonene and naphthalene were identified as the key flavor compounds in the enzymatic hydrolysate of *Morchella esculenta*. Enzymatic hydrolysis

收稿日期: 2024-03-26

基金项目: 重庆市农业科学院市级财政科研项目 (cqas2023sjczqn014); 重庆市现代农业产业技术体系 (CQMAITS202306-5)。

作者简介: 曾小峰 (1989-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 果蔬贮藏与精深加工, E-mail: xndzxf@126.com。

* 通信作者: 曾顺德 (1968-), 男, 本科, 研究员, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: 870176127@qq.com。

can promote the release of flavor compounds, thus providing data basis for the flavor utilization, the deep processing and development of seasoning for *Morchella esculenta*.

Key words: *Morchella esculenta*; enzymatic hydrolysis process; response surface methodology; flavor; odor activity value (OAV)

羊肚菌(*Morchella esculenta*)肉质脆嫩,风味独特,富含丰富的矿物质、维生素、蛋白质等人体必需的营养物质,同时还含有多糖、多酚、生物碱、黄酮、甾醇等生物活性成分,使其具有显著的药用及生物学特性,如抗氧化^[1]、抗菌^[2]、抗肿瘤^[3]、调节免疫^[4]、保护心血管系统^[5]、养肠胃等^[6]诸多功效,深受消费者喜爱。随着人工栽培技术的日趋成熟,羊肚菌产量逐年增加,据中国食用菌协会统计,2022年全国羊肚菌产量达到247780吨,较2021年91081吨增加了172%^[7],因此,在采摘及初加工干制过程必然会产生大量的次品菇、菇柄等,而羊肚菌菇柄氨基酸种类齐全,符合FAO/WHO提出的理想蛋白质条件,且其不饱和脂肪酸含量高于对应的全剪柄精品菇^[8],因此,利用此类菇进行精深加工研发,可极大地降低原料成本,提高羊肚菌的附加值。

食用菌是生产天然调味料的优质原材料,但在加工过程中,蛋白质、氨基酸、风味前体物和多糖等难以被充分分解和反应,导致风味释放不完全,口感不及预期。而酶解技术可以很大程度解决以上问题,尤其生物蛋白酶可以促进呈味活性低甚至无味的大分子转化成小分子味觉活性物质^[9],溶出细胞中更多的呈味成分,逐渐取代传统方法,成功运用于风味物质的提取,为天然调味料的开发提供技术支持。

目前,已有不少利用生物酶解技术提升食用菌风味的研究,但羊肚菌的研究主要集中在种质资源、遗传多样性、人工栽培、生物活性及营养等方面^[10],整体研究起步晚、产品单一,极其缺乏精深加工技术和产品,而羊肚菌因富含蛋白质和氨基酸,味道鲜美,具有风味产品加工的潜力。因此,本研究以羊肚菌为对象,采用生物酶解技术,通过单因素实验和响应面优化酶解工艺,以期通过酶解促进羊肚菌风味物质释放,为后期羊肚菌风味调味料的开发提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

羊肚菌次品菇干品(七妹羊肚菌) 重庆市璞琢农业开发有限责任公司;中性蛋白酶(100 U/mg)、复合蛋白酶(120 U/mg)、风味蛋白酶(20 U/mg)、木瓜蛋白酶(10 U/mg)、菠萝蛋白酶(300 U/mg) 上海源叶生物科技有限公司;甲醛、氢氧化钠、盐酸 分析纯,重庆川东化工(集团)有限公司。

TG-1850 离心机 四川蜀科仪器有限公司; FA2004 电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; HH-4 恒温水浴锅 国华电器有限公司; YL-BS22 粉碎机 广东德玛仕智能厨房设备有限公司;

FE20K pH 计 梅特勒-托利多仪器有限公司; LC-MS-M2 磁力搅拌器 上海力辰邦西仪器科技有限公司; 7890A/5975C 气相色谱-质谱仪 美国 Agilent 公司; DVB/CAR/PDMS 50/30 μm 萃取头 美国 Supelco 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 羊肚菌酶解液的制备 将羊肚菌机械粉碎后过 60 目筛,混匀,密封袋保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,待用。取 2 g 羊肚菌粉于 150 mL 具塞三角瓶,按料液比 1:20(g/mL)加入纯净水,氢氧化钠和盐酸溶液调节 pH 值,加入适量蛋白酶在一定温度下酶解一定时间,酶解完成后 100 $^{\circ}\text{C}$ 沸水浴灭酶 10 min,冷水冷却至室温,8000 r/min 离心 10 min,取上清液得到羊肚菌酶解液。

1.2.2 蛋白酶的筛选 按照表 1 中各蛋白酶的最适推荐温度和 pH,在相同加酶量的条件下酶解 2.5 h,灭酶、离心取上清液,以水解度为指标,筛选羊肚菌粉酶解最佳蛋白酶。

表 1 不同蛋白酶酶解条件
Table 1 Condition for hydrolysis of different proteases

酶种类	酶解温度($^{\circ}\text{C}$)	pH	加酶量(U/g)	酶解时间(h)
中性蛋白酶	40	7.5	5000	2.5
复合蛋白酶	45	7.0	5000	2.5
木瓜蛋白酶	50	7.0	5000	2.5
风味蛋白酶	50	7.5	5000	2.5
菠萝蛋白酶	50	7.0	5000	2.5

1.2.3 单因素实验 选取最佳蛋白酶,对加酶量、酶解 pH、酶解温度、酶解时间四个因素进行单因素实验,以水解度作为评价指标。

选取最佳蛋白酶,调节 pH7.5、温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、酶解时间 2.5 h 的条件下,研究加酶量(100、1000、2000、3000、4000、5000 U/g)对羊肚菌粉水解度的影响;选取最佳蛋白酶,在加酶量 4000 U/g、温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、酶解时间 2.5 h 的条件下,研究 pH(4.5、5.5、6.5、7.5、8.5)对羊肚菌粉水解度的影响;选取最佳蛋白酶,调节 pH 6.5、加酶量 4000 U/g、酶解时间 2.5 h 的条件下,研究温度(30、40、50、60、70 $^{\circ}\text{C}$)对羊肚菌粉水解度的影响;选取最佳蛋白酶,调节 pH 6.5、温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 、加酶量 4000 U/g,研究酶解时间(1、1.5、2、2.5、3 h)对羊肚菌粉水解度的影响。

1.2.4 响应面试验 在单因素实验的基础上,固定酶解时间 2 h,以加酶量、pH、温度作为自变量,根据 Box-Behnken 中心组合设计三因素三水平的响应面

试验,进一步确定最佳的酶解工艺条件。各因素水平见表 2。

表 2 响应面试验因素水平设计
Table 2 Factors and levers design of response surface experiment

水平	因素		
	A: 加酶量(U/g)	B: pH	C: 温度(°C)
-1	3000	5.5	30
0	4000	6.5	40
1	5000	7.5	50

1.2.5 水解度的测定 氨基酸态氮含量测定采用 GB 5009.235-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》^[11] 中甲醛滴定法进行测定;总氮含量测定采用 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》^[12] 凯氏定氮法测定;根据下式计算水解度(DH):

$$DH(\%) = \frac{\text{氨基酸态氮含量}}{\text{总氮含量}} \times 100$$

1.2.6 挥发性风味物质测定

1.2.6.1 顶空-固相微萃取条件 参考付瑞青等^[13]的方法,取 5 mL 酶解前后样品于 20 mL 螺口样品瓶中,加入 5 μ L 质量浓度为 100 mg/L 的 2-辛醇作为内标物,用聚四氟乙烯隔垫密封,于 60 °C 磁力搅拌器上加热平衡 20 min。用萃取头顶空吸附 30 min 后,将萃取头插入 GC 进样,解析 5 min。

1.2.6.2 色谱条件 色谱柱:DB-5MS 石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m);采取程序升温,35 °C 保持 5 min,以 3 °C/min 升至 180 °C 保持 2 min,再以 5 °C/min 升至 250 °C,保持 2 min;进样口温度,250 °C;不分流进样,载气为高纯氦气(纯度均 \geq 99.999%),流量:1.0 mL/min。

1.2.6.3 质谱条件 离子化方式是 EI,电子能量 70 eV;传输线温度 280 °C;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;质量扫描范围 35~450 m/z。

1.2.6.4 定性和半定量分析 利用 Flavour 2.0 和 NIST 08 质谱库,结合标准物质保留时间进行定性分析。用内标物 2-辛醇对挥发性成分进行半定量,半定量计算公式为:

$$RC(\mu\text{g/L}) = \frac{A_x \times M_{2\text{-辛醇}}}{A_{2\text{-辛醇}} \times V_{\text{样品}}}$$

式中:RC 为目标物的相对含量, $\mu\text{g/L}$; A_x 和 $A_{2\text{-辛醇}}$ 分别为目标物和 2-辛醇的峰面积; $M_{2\text{-辛醇}}$ 为 2-辛醇的质量, μg ; $V_{\text{样品}}$ 为酶解液的体积, L。

1.2.7 香气活性值计算 参考 Erten 等^[14]的方法, OAV 通过将其浓度除以其在水或其他介质中公布的气味检测阈值计算。根据下式计算 OAV 值:

$$OAV = \frac{C_2}{Z_2}$$

式中: C_2 为某个挥发性化合物含量, mg/kg; Z_2 为其化合物对应的气味阈值, mg/kg。

1.3 数据处理

使用 Excel 进行实验数据分析,试验结果以平均值 \pm 标准差表示。采用 SPSS 25.0 软件对数据进行方差分析和显著性检验, $P < 0.05$ 表示差异显著, Design-Expert 8.0 软件进行响应面设计, Origin 9.0 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 最佳蛋白酶筛选

采用不同蛋白酶对羊肚菌粉进行酶解,蛋白质水解度是反应酶解程度的一个重要指标,因此,以水解度作为评价指标。由图 1 可知,水解度排序为风味蛋白酶>复合蛋白酶>中性蛋白酶>菠萝蛋白酶>木瓜蛋白酶,各蛋白酶组间具有显著性差异($P < 0.05$)。主要是酶具有高效性和专一性,不同蛋白酶的酶切位点不同,导致蛋白的水解能力也不同,该结果与姜旭等^[15]研究单酶酶解时,风味蛋白酶的水解度最高一致。

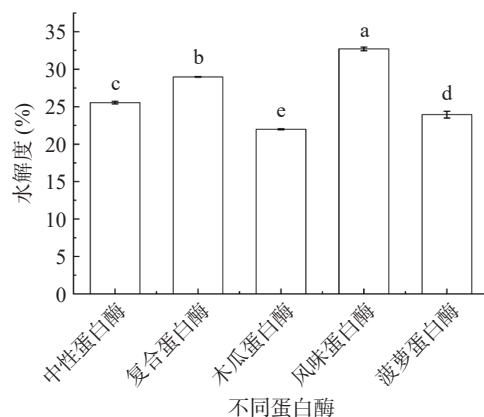


图 1 不同蛋白酶对水解度的影响

Fig.1 Effect of different proteases on the degree of hydrolysis
注:不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$),图 2~图 5 同。

2.2 单因素实验结果分析

2.2.1 加酶量对水解度的影响 如图 2 所示,水解度随着加酶量的增加呈先快速上升后逐渐趋于平稳的

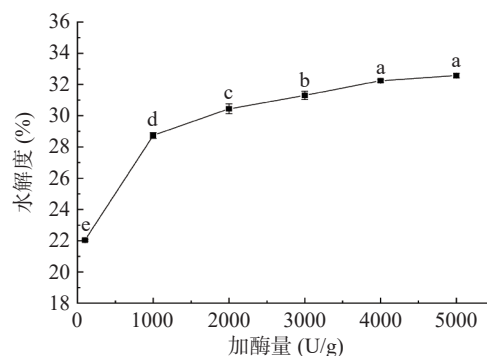


图 2 加酶量对水解度的影响

Fig.2 Effect of enzyme addition amount on the degree of hydrolysis

趋势,当加酶量超过 4000 U/g 时,水解度增加不显著 ($P>0.05$)。可能是随着加酶量的增大,酶与底物接触点增多,反应速度加快,导致水解度快速增加,但由于酶具有专一性,只能与特定的位点相结合,当底物反应完全时,水解度增加不再显著^[16]。同时,考虑酶的经济成本,选择 4000 U/g 为响应面优化中心点。

2.2.2 pH 对水解度的影响 大部分酶制剂对 pH 较敏感,它能够影响酶分子活性基团与底物的解离, pH 过高或过低会改变酶的空间构象,从而使酶活性降低甚至失活^[17]。如图 3 所示,随着 pH 的增加,水解度呈先增加后降低的趋势,在 pH6.5 时达到最大水解度,且与其他组具有显著性差异 ($P<0.05$)。pH 过高和过低时,改变酶与底物的带电状态,影响两者结合。因此,选择 pH6.5 为响应面优化中心点。

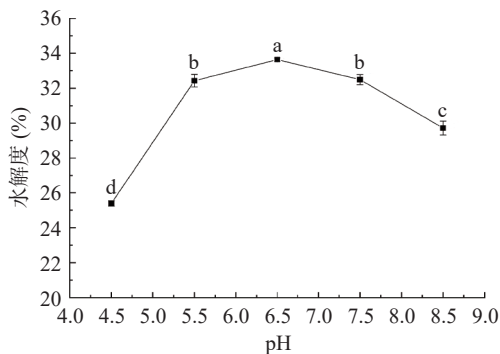


图 3 酶解 pH 对水解度的影响

Fig.3 Effect of enzymolysis pH on the degree of hydrolysis

2.2.3 温度对水解度的影响 如图 4 所示,温度对酶的影响较大,酶的最适催化活性只能维持在一定的温度范围。随着温度的增加,酶促反应速率逐渐增大,当温度超过 50 °C 时,水解度随温度的增加而大幅降低。这是因为在低于最适温度时,蛋白酶未达到最佳酶活,而高于最适温度后,过高的温度对酶产生了破坏作用,引起了蛋白质的变性,蛋白酶活性逐渐降低,从而水解能力降低。40 °C 和 50 °C 不具有显著性差异 ($P>0.05$),从节约能源上考虑,选择 40 °C 为响应面优化中心点。

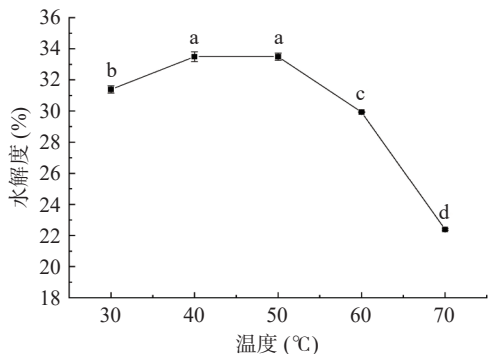


图 4 酶解温度对水解度的影响

Fig.4 Effect of enzymolysis temperature on the degree of hydrolysis

2.2.4 酶解时间对水解度的影响 如图 5 所示,随着酶解时间的增加,水解度呈逐渐增大后趋于平缓的状态,当酶解超过 2 h,水解度的增加不具有显著性 ($P>0.05$)。这是因为刚加入蛋白酶时,底物充足,酶解速度较快,水解度随时间增加而增大;随着酶解时间的足够延长,底物逐渐被酶解,浓度降低,酶解过程逐渐趋于平稳,另外,产物的累积也会对酶解反应产生竞争性抑制^[18],因此,选择 2 h 作为最适酶解时间。

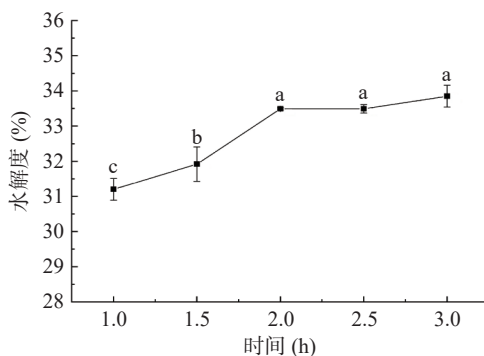


图 5 酶解时间对水解度的影响

Fig.5 Effect of enzymolysis time on the degree of hydrolysis

2.3 响应面优化试验结果

应用 Design-Expert8.0 软件对表 3 试验结果进行回归拟合,得到的回归方程如下: $Y=33.37+1.01A+0.30B+1.36C+0.37AB-0.31AC-0.048BC-0.020A^2-1.89B^2-1.22C^2$ 。

对模型进行方差分析,由表 4 可知响应值模型的 $P<0.01$,判断模型极显著;模型失拟项误差大于 0.05,说明模型失拟项不显著,水解度决定系数 $R^2=0.991$,校正决定系数 $R^2=0.978$,说明此试验模型与真实数据的拟合程度较高,方程能较好地反映响应值与自变量的关系。一次项温度(C)、加酶量(A)对水解度具有极显著 ($P<0.01$)影响, pH(B)具有显著 ($P<0.05$)影响;二次项中温度(C^2)和 pH(B^2)对水解

表 3 响应面设计与结果

Table 3 Design and results of response surface

试验号	A: 加酶量	B: pH	C: 温度	Y: 水解度(%)
1	0	0	0	33.42±0.21
2	-1	0	1	32.72±0.17
3	-1	0	-1	29.72±0.39
4	0	0	0	33.30±0.16
5	0	-1	1	31.60±0.17
6	0	1	-1	29.01±0.28
7	-1	1	0	30.34±0.48
8	1	0	1	33.92±0.22
9	-1	-1	0	30.38±0.20
10	1	-1	0	31.84±0.00
11	1	0	-1	32.16±0.22
12	0	0	0	33.64±0.15
13	0	0	0	33.29±0.23
14	1	1	0	33.28±0.76
15	0	0	0	33.21±0.18
16	0	-1	-1	28.43±0.67
17	0	1	1	31.99±0.26

表 4 响应面回归模型方差分析
Table 4 Variance analysis of response surface regression model

方差来源	平方和	自由度	方差	F值	P值	显著性
模型	47.21	9	5.25	81.77	<0.0001	**
A	8.08	1	8.08	125.94	<0.0001	**
B	0.70	1	0.70	10.94	0.0130	*
C	14.88	1	14.88	231.9	<0.0001	**
AB	0.55	1	0.55	8.54	0.0223	*
AC	0.38	1	0.38	5.99	0.0443	*
BC	9.025E-003	1	9.025E-003	0.14	0.7187	
A ²	1.642E-003	1	1.642E-003	0.026	0.8774	
B ²	15.08	1	15.08	234.99	<0.0001	**
C ²	6.29	1	6.29	98.04	<0.0001	**
残差	0.45	7	0.064			
失拟项	0.34	3	0.11	4	0.1069	
纯误差	0.11	4	0.028			
合计	47.66	16				

注: *表示显著($P<0.05$); **表示极显著($P<0.01$)。

度影响极显著($P<0.01$); 在交互作用中, AB 和 AC 项表现为对水解度具有显著影响($P<0.05$); 从各因素对水解度的影响显著性可知, 工艺条件对水解度的影响大小顺序为: 酶解温度>加酶量>pH。

在图 6 的曲线图中, 响应曲面越陡峭, 等高线的形状越接近椭圆形, 表明自变量的交互作用越强, 等高线越接近圆形, 则交互作用越弱。可以看到交互项 BC 等高线接近圆形, 说明温度和 pH 之间的交互作用不显著, 该结果与表 4 所述一致。

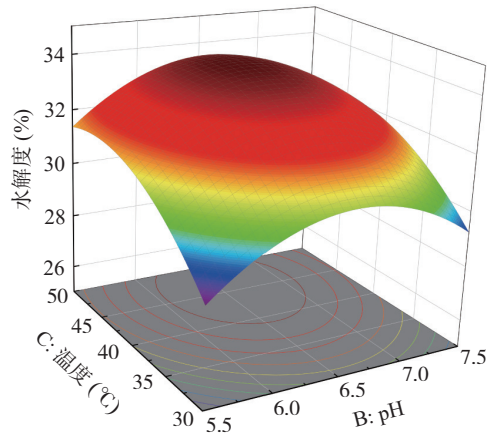
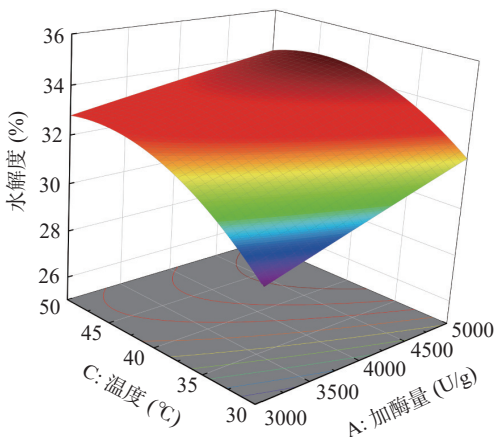
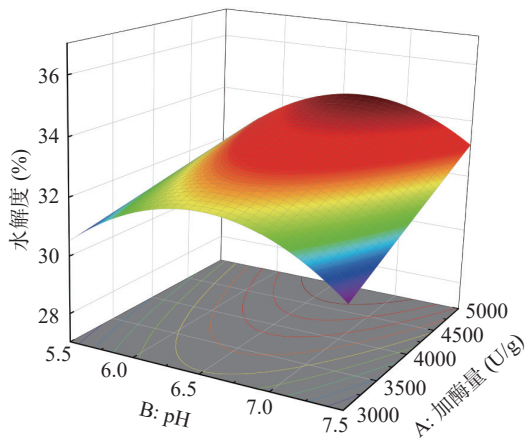


图 6 响应面交互作用曲线图

Fig.6 Graph of response surface interaction

2.4 模型验证

协同考虑各因素之间的交互作用, 经 Design-Expert 软件进行分析, 确定了最佳酶解工艺条件为: 加酶量 5000 U/g, pH6.67, 温度 44.28 °C, 在此最大理论条件下水解度为 34.64%。根据模型预测结合实际工艺操作, 取加酶量 5000 U/g, 温度 44 °C, pH6.7 的条件下水解 2 h 进行试验验证, 测得水解度为 34.11%±0.20%, 与模型预测结果接近, 具有良好的拟合性, 表明该响应面模型分析羊肚菌酶解工艺有效可行。

2.5 酶解前后羊肚菌挥发性风味物质分析

将响应面试验最优工艺: 加酶量 5000 U/g, 温度 44 °C, pH 6.7、水解 2 h 后的酶解液进行挥发性风味物质测定, 同时进行空白试验(即未加酶, 不调 pH, 44 °C 水浴 2 h)。测定结果如表 5、图 7 所示。

羊肚菌酶解组与空白组共检测出 23 种挥发性风味物质, 空白组 17 种, 其中醛类 6 种、烃类 7 种、酮类 2 种、杂环类 2 种, 总含量为 331.02 μg/L; 酶解组 21 种, 包括醛类 7 种、醇类 1 种、烃类 10 种、酮类 1 种、杂环类 2 种, 总含量为 1005.35 μg/L。酶解后总含量增加了 203.71%, 其中正己醛含量稍有下降, 3-乙基-2-甲基-1,3-己二烯和 3-辛烯-2-酮未检测到, 其他风味物质含量均增加, 整体风味成分主要以醛类为主, 醛类是羊肚菌酶解液最主要的挥发性风味物质。

醛类物质主要来源于食物中脂肪酸的氧化和氨基酸的降解反应, 能够产生清香和花果香味, 这类化合物阈值较低, 对酶解液的整体气味贡献较大。空白组和酶解组醛类化合物含量分别占整个风味物质的 85.67%、78.50%, 是含量最高的风味物质, 这与谢丽源等^[19] 研究不同生态环境对羊肚菌挥发性风味物质的影响结果相同, 其醛类物质相对含量占比最高, 在 37.95%~82.25% 之间。由图 7 可知, 经过酶解后醛类物质含量大幅增加, 由 283.57 μg/L 升高到 789.18 μg/L, 提高了 178.30%, 说明羊肚菌经酶解后释放了更多的特征风味物质, 主要为异戊醛、苯乙

表5 羊肚菌酶解前后挥发性风味物质比较

Table 5 Comparison of volatile flavor components of *Morchella esculenta* before and after enzymatic hydrolysis

种类	化合物	CAS号	空白组(μg/L)	酶解组(μg/L)
醛类	异戊醛	590-86-3	99.19±20.92	429.29±43.15
	正己醛	66-25-1	86.51±17.53	69.83±10.10
	苯甲醛	100-52-7	6.57±0.77	46.65±3.97
	苯乙醛	122-78-1	86.17±11.75	215.62±49.02
	壬醛	124-19-6	2.96±0.74	10.91±0.85
醇类	2-丁基-2-辛烯醛	13019-16-4	2.17±0.51	12.20±4.10
	可卡醛	21834-92-4	-	4.68±0.39
	芳樟醇	78-70-6	-	116.04±2.54
	柠檬烯	138-86-3	3.14±0.72	3.67±0.01
	p-伞花烃	535-77-3	-	6.84±2.75
烃类	2-乙基对二甲苯	1758-88-9	-	4.91±1.97
	均四甲苯	95-93-2	2.18±0.08	7.15±2.07
	连四甲苯	488-23-3	3.21±0.12	9.71±2.58
	萘	91-20-3	3.05±0.93	9.87±2.24
	5-甲基茛满	874-35-1	-	3.45±0.33
	2,4-二甲基-1(1-甲基乙基)苯	4706-89-2	-	1.08±0.09
	4-甲基茛满	824-22-6	0.75±1.06	6.11±0.39
	1-乙基-2,4-二甲基苯	874-41-9	2.26±0.40	8.31±1.75
	3-乙基-2-甲基-1,3-己二烯	61142-36-7	2.72±0.10	-
	2-壬酮	821-55-6	3.46±1.02	4.11±0.39
酮类	3-辛烯-2-酮	1669-44-9	0.88±0.30	-
	2,6-二叔丁基苯醌	719-22-2	1.81±0.79	3.77±1.53
杂环类	2-戊基呋喃	3777-69-3	23.99±2.78	31.15±1.73

注：“-”为未检测到,表6同。

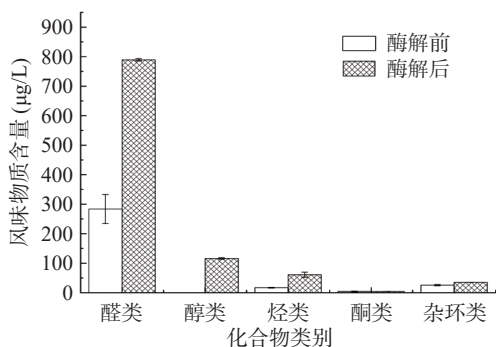


图7 羊肚菌酶解前后挥发性风味物质含量

Fig.7 Contents of volatile flavor components of *Morchella esculenta* before and after enzymatic hydrolysis

醛、正己醛、苯甲醛、壬醛等,其中异戊醛含量最高,达到 429.29 μg/L,占到整个风味物质的 42.70%,谢丽源等^[20]研究不同品种羊肚菌,其异戊醛(3-甲基丁醛)基本也表现为含量最高的风味化合物,说明异戊醛是羊肚菌的特征风味物质。但与潘红英等^[21]的研究结果不同,在四川、新疆、吉林三个地区中几乎无醛类化合物,只在新疆羊肚菌中检测到正己醛。这可能是栽培方法、采收时间、品种等差异引起。另外,不同提取和定量方法也会造成差异^[22]。如徐晓东^[23]采用顶空-固相微萃取和溶剂辅助风味蒸发萃取草菇,极性柱和非极性柱检测到风味化合物的数量和种

类具有明显差异。

醇类物质仅检测到 1 种化合物,空白组无醇类物质检出,酶解后芳樟醇大幅增加,含量为 116.04 μg/L,占整个风味物质的 11.54%,其可能是酶解过程多不饱和脂肪酸的降解或羰基化合物的还原^[24]。而具有浓郁的蘑菇气味,存在于大多数食用菌中被称为蘑菇醇的 1-辛烯-3-醇,在羊肚菌空白组和酶解液中均未检出,该结果与付瑞青等^[13]的检测结果一致。可能是因为 1-辛烯-3-醇和其他醇类的稳定性较差,在烘干阶段随干燥温度升高已被分解^[25]。

烃类物质是羊肚菌酶解液中种类最多的化合物,其主要来自脂肪酸烷氧基的均裂,其大多数呈现较为愉快的风味,如甜香味。烃类物质的香味阈值高,对香气贡献较小,但它能提升其他香味物质对整体风味的贡献。根据检测结果,烃类化合物是羊肚菌酶解液中第三大挥发性物质,占整个风味物质的 6.08%,空白组含量 17.31 μg/L,酶解组为 61.10 μg/L,增加了 252.98%,其中,柠檬烯等烯烃化合物具有果香和花香,对风味具有重要作用。

酮类物质可能由脂肪酸氧化降解和氨基酸降解产生,一般具有甜的花香和果香风味^[26],整体含量较低,对风味影响较小。

杂环类物质由 25.80 μg/L 增加到 34.92 μg/L,酶解后占整个风味物质的 3.47%,其中,2-正戊基呋喃含量相对较高,可以增加酶解液的烤香味。

2.6 关键挥发性香气成分分析

香味物质浓度与其芳香贡献之间没有相关性^[27],OAV 是将挥发性化合物浓度与每种挥发性化合物对应的嗅觉阈值相结合分析,可有效评估每个挥发性化合物对样品香气轮廓的贡献大小。通过查阅相关文献,查到有感觉阈值的化合物有 11 种,因此,本文只对查到阈值的挥发性成分进行分析。OAV 值越大,表明该化合物对整体风味贡献越大,OAV 大于 1 被认为是关键风味贡献化合物,0.1 ≤ OAV < 1 的化合物对风味有重要的修饰作用。

由表 6 可知,羊肚菌空白组 OAV 大于 1 的化合物有 7 种,其中醛类 5 种,烃类 1 种、杂环类 1 种;酶解后 OAV 大于 1 的化合物有 9 种,其中醛类化合物 5 种、醇类 1 种、烃类 2 种、杂环类 1 种。酶解后关键风味化合物增加了 2 种,分别是芳樟醇和萘,且酶解后的 OAV 值较空白组增大,说明酶解有助于关键风味物质的溶出。

本研究中,异戊醛的 OAV 值高达 1073.23,显著高于其他化合物,它是一种天然存在于水果中,常用于食品和香精中增强香味的添加剂,可贡献坚果香、青香、麦芽香的风味;苯乙醛、正己醛、苯甲醛、壬醛的 OAV 值均大于 1,提供药草香、果香、花香、脂肪香、蜜甜香等,其中,苯甲醛已被证明有助于蘑菇的香气,是苯丙氨酸典型分解产物之一。醛类大量产生的原因,可能是脂肪的氧化降解,或是当美拉德

表 6 羊肚菌酶解前后挥发性风味物质的 OAV
Table 6 OAV of volatile flavor compounds of *Morchella esculenta* before and after enzymatic hydrolysis

序号	化合物	阈值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	空白组 OAV值	酶解组 OAV值	气味特征
1	异戊醛	0.4 ^[28]	247.98	1073.23	麦芽香、坚果香、青香 ^[28-29]
2	正己醛	4.5 ^[28]	19.22	15.52	药草香、苹果香、果香味、脂肪味 ^[28]
3	苯甲醛	3.5 ^[30]	1.88	13.33	果香 ^[30]
4	苯乙醛	4.0 ^[31]	21.54	53.91	花香味、蜜甜香味 ^[31]
5	壬醛	1.0 ^[31]	2.96	10.91	脂肪香、柑橘味 ^[31]
6	芳樟醇	6 ^[31]	-	19.34	浆果、玫瑰香气 ^[31]
7	柠檬烯	10 ^[30]	3.14	3.67	柠檬香气 ^[30]
8	萘	6 ^[20]	0.51	1.65	樟脑丸气味 ^[32]
9	2-壬酮	5 ^[28]	0.69	0.82	青草 ^[28]
10	3-辛烯-2-酮	140 ^[33]	0.01	-	-
11	2-戊基呋喃	6 ^[30]	4.00	5.19	烘烤香 ^[30]

反应生成含有羰基的戊糖和丁糖时,进一步发生 Strecker 降解反应生成^[34]。其次是醇类化合物,主要是芳樟醇,是酶解后新生成的关键香气物质,OAV 值为 19.34,其具有浆果、玫瑰香气,在食品加工中常用作增香剂和调味剂。酶解后醛类和醇类对风味的贡献最大,构成酶解液的风味主体,这与王秋婷等^[30]研究虎掌菌的结果一致。柠檬烯、萘、2-戊基呋喃的 OAV 值均大于 1,它们与醛类、醇类共同成为羊肚菌酶解液的关键芳香物质,而 2-壬酮的 OAV 值在 0.1~1 之间,对羊肚菌酶解液的风味具有修饰作用。

3 讨论与结论

呈味物质的提取有热水浸提法、酶法、发酵法、超声辅助等,刘建峰^[35]采用多菌种分段发酵法,豆粕蛋白水解度为 22.3%;沈健等^[36]采用超声辅助水法提取香菇呈味物质,水解度为 27.48%,其水解度均低于本研究,而酶解技术反应条件温和、可控制,无有害副产物生成^[37],也是当前采用最多的方法。水解度是评价蛋白质水解效果的一个重要指标,它能够反应蛋白质降解程度,通常情况,通过添加外源蛋白酶将食物中的蛋白质水解成多肽或游离氨基酸可以提高呈味物质的释放,本研究与王秋婷等^[30]研究结果一致,均通过酶解极大地促进了风味物质释放。但酶解是一个复杂体系,尤其针对风味成分,可产生新物质,也可使某些风味消失,而李延年^[38]针对香菇复配草菇的研究中,酶解后风味物质含量和种类并未增加,但可以提高酶解后游离氨基酸和核苷酸含量,增加酶解液鲜味。因此,针对羊肚菌酶解,需进一步研究每种酶对酶解液滋味(包括氨基酸、核苷酸、有机酸、可溶性糖等)和风味的综合影响,采用不同酶复配或联合超声、超高压等现代辅助提取技术等,提高水解度的同时,使酶解液的滋味和风味达到最佳。

本研究通过比较不同蛋白酶,筛选确定风味蛋白酶作为羊肚菌最适水解蛋白酶,并采用单因素实验及响应面试验优化,确定酶解最优工艺为:加酶量

5000 U/g,酶解温度 44 °C, pH 6.7、酶解时间 2 h,可使水解度达到 34.11%。采用 GC-MS 进行挥发性风味物质分析,酶解后风味化合物种类增加,含量显著提高,其中醛类是最主要的挥发性风味物质,其次是醇类,含量分别占整个风味化合物的 78.50%、11.54%。进一步通过 OAV 值分析,确定异戊醛、苯乙醛、正己醛、苯甲醛、壬醛、芳樟醇、2-戊基呋喃、柠檬烯、萘为羊肚菌酶解液的关键风味化合物。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] ZHANG Q, WU C E, SUN Y J, et al. Cytoprotective effect of *Morchella esculenta* protein hydrolysate and its derivative against H₂O₂-induced oxidative stress[J]. *Polish Journal of Food and Nutritional Sciences*, 2019, 69(3): 255-265.
- [2] CANLI K, BENEK A, ŞENTURAN M, et al. *In vitro* antimicrobial activity of *Morchella esculenta* and *trametes versicolor*[J]. *The Journal of Fungus*, 2019(10): 28-33.
- [3] WANG Z, WANG H L, KANG Z L, et al. Antioxidant and anti-tumour activity of triterpenoid compounds isolated from *Morchella mycelium*[J]. *Archives of Microbiology*, 2020, 202(7): 1677-1685.
- [4] ZHANG N N, MA H, ZHANG Z F, et al. Characterization and immunomodulatory effect of an alkali-extracted galactomannan from *Morchella esculenta*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 278: 118960.
- [5] WANG D D, YIN Z Q, MA L K, et al. Polysaccharide MCP extracted from *Morchella esculenta* reduces atherosclerosis in LDLR-deficient mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(11): 4842-4854.
- [6] XU Y Y, XIE L Y, TANG J, et al. *Morchella importuna* flavones improve intestinal integrity in dextran sulfate sodium challenged mice[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 742033.
- [7] 中国食用菌协会. [DB/OL]. 2024.3.25. <https://bigdata.cefa.org.cn>. [China edible fungi association, CEFA[DB/OL]. 2024.3.25. <https://bigdata.cefa.org.cn>.]
- [8] 张楠, 叶晶晶, 廖春华, 等. 羊肚菌菌柄营养成分的分析与评价[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(17): 335-342. [ZHANG N, YE J J, LIAO C H, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in stipe of *Morchella esculenta*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(17): 335-342.]
- [9] 高娟. 羊肚菌调味基料的制备及其风味特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020. [GAO J. Preparation and flavor characterization of seasoning base derived from *Morchella Sextelata*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.]
- [10] 赵耀, 张强. 羊肚菌的营养成分和药理作用研究进展[J]. *中国林副特产*, 2022, 176(1): 71-74. [ZHAO Y, ZHANG Q. Research progress on nutritional components and pharmacological effects of *Morchella esculenta*[J]. *Forest by-Product and Speciality in China*, 2022, 176(1): 71-74.]
- [11] GB 5009.235-2016, 食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [National standard for food safety determination of amino acid nitrogen in food[S]. Beijing: Standard Press, 2016.]
- [12] GB 5009.5-2016, 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [GB 5009.5-2016, 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. Beijing: Standard Press, 2016.]

- [13] 付瑞青,王娟,郭衍银,等.基于GC-MS和氨基酸分析的羊肚菌汤适宜煮制时间研究[J].食品工业科技,2022,43(16):290-297. [FU R Q, WANG J, GUO Y Y, et al. Suitable cooking time of *Morchella* soup based on GC-MS and amino acid analysis [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 290-297.]
- [14] ERTEN E S, CADWALLADER K R. Identification of predominant aroma components of raw, dry roasted and oil roasted almonds[J]. *Food Chemistry*, 2017, 217: 244-253.
- [15] 姜旭,张倩,张君敏,等.赤松茸肽的酶解制备工艺优化及其抗氧化活性研究[J/OL].吉林农业大学学报. 1-12[2024-03-26]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2023.0125.2024.3.25>. [JIANG X, ZHANG Q, ZHANG J M, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of *Stropharia rugoso-annulata* peptide and study on its antioxidant activity[J/OL]. Journal of Jilin Agricultural University. 1-12 [2024-03-26]. <https://doi.org/10.13327/j.jjlau.2023.0125.2024.3.25>.]
- [16] 邓宇,曹文红,陈忠琴,等.白贝肉酶解工艺的优化及其产物呈味特性研究[J].中国调味品,2023,48(3):11-17. [DENG Y, CAO W H, CHEN Z Q, et al. Optimization enzymatic hydrolysis process of *Monetaria moneta* and flavor characteristics of its products[J]. China Condiment, 2023, 48(3): 11-17.]
- [17] 桂海佳,李江龙,李泽林,等.基于双酶水解优化牛肉酶解液工艺及其呈味成分分析[J].中国调味品,2022,47(10):103-109. [GUI H J, LI J L, LI Z L, et al. Optimization of beef enzymatic hydrolysate technology and analysis of its flavor components based on double enzymes hydrolysis[J]. China Condiment, 2022, 47(10): 103-109.]
- [18] 宋明洋,刘晓兰.双酶法制备豌豆肽及其抗氧化活性[J].食品工业,2020,41(4):108-112. [SONG M Y, LIU X L. Preparation and antioxidant activity of pea peptides by two-stage enzymatic hydrolysis[J]. The Food Industry, 2020, 41(4): 108-112.]
- [19] 谢丽源,许泓引,彭卫红,等.不同生态环境对羊肚菌挥发性物质的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(6):95-100. [XIE L Y, XU Y Y, PENG W H, et al. Effect of differential ecological environments on the composition of volatile substances in *Morchella*[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(6): 95-100.]
- [20] 谢丽源,兰秀华,唐杰,等.不同品种羊肚菌挥发性物质分析及综合评价[J].食品工业科技,2021,42(15):227-233. [XIE L Y, LAN X H, TANG J, et al. Analysis and comprehensive evaluation of volatile substances in different varieties of *Morchella* spp. [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 227-233.]
- [21] 潘红英,刘建军,周颖,等.不同产地羊肚菌风味物质研究[J].安徽农业科学,2023,51(2):192-195. [PAN H Y, LIU J J, ZHOU Y, et al. Study on flavor substances of *Morchella* form different producing areas[J]. Journal of Anhui Agricultural sciences, 2023, 51(2): 192-195.]
- [22] ZHANG H Y, PU D D, SUN B G, et al. Characterization and comparison of key aroma compounds in raw and dry porcini mushroom (*Boletus edulis*) by aroma extract dilution analysis, quantitation and aroma recombination experiments[J]. *Food Chemistry*, 2018, 258(30): 260-268.
- [23] 徐晓东.草菇特征风味物质的鉴定及呈味肽的制备研究[D].上海:上海应用技术大学,2018. [XU X D. Identification of key aroma compounds of straw mushroom and its taste peptides preparation[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2018.]
- [24] 周晓,刘倩倩,伍灵芝,等.不同工艺对石螺肉酶解产物风味物质的影响[J].中国调味品,2024,49(2):137-146. [ZHOU X, LIU Q Q, WU L Z, et al. Effect of different processes on flavor substances of enzymatic hydrolysates of pond snail meat[J]. China Condiment, 2024, 49(2): 137-146.]
- [25] TIAN Y T, ZHAO Y T, HUANG J J, et al. Effects of different drying methods on the product quality and volatile compounds of whole shiitake mushrooms[J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 714-722.
- [26] 刘琳琳,秦小明,刘亚,等.香港牡蛎挥发性成分及其加热处理变化[J].广东海洋大学学报,2018,38(5):41-49. [LIU L L, QIN X M, LIU Y, et al. Analysis of volatile components in Hongkong oyster meat and its changes after heating treatment[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2018, 38(5): 41-49.]
- [27] XU X D, XU R, JIA Q, et al. Identification of dihydro- β -ionone as a key aroma compound in addition to C8 ketones and alcohols in *Volvariella volvacea* mushroom[J]. *Food Chemistry*, 2019, 293: 333-339.
- [28] 刘娜娜,程晓,潘珍珍,等.伏牛山区六妹羊肚菌挥发性呈香物质分析[J].食品研究与开发,2023,44(15):161-167. [LIU N N, CHENG X, PAN Z Z, et al. Volatile aroma components of *Morchella sextelata*(Mel-6)in funiu mountain area[J]. Food Research and Development, 2023, 44(15): 161-167.]
- [29] 谢永恒,卢绍浩,刘崇盛,等.不同品种甜瓜的关键香气成分鉴定及感官特性形成分析[J].现代食品科技,2024,40(3):289-300. [XIE Y H, LU S H, LIU C S, et al. Identification of key aroma compounds and formation of sensory attributes in different varieties of melon[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 289-300.]
- [30] 王秋婷,李泽林,桂海佳,等.虎掌菌的酶解工艺优化及酶解前后风味成分的对比分析[J].现代食品科技,2022,38(9):308-320. [WANG Q T, LI Z L, GUI H J, et al. Optimization of enzymolysis of *sarcodon aspratus* and comparative analysis of its flavor components before and after enzymatic hydrolysis[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 308-320.]
- [31] 姜澳,黎洪霞,刘肇龙,等.飞龙掌叶蜂蜜挥发性物质组成及关键香气物质分析[J].食品科学,2024,45(11):175-185. [JIANG A, LI H X, LIU Z L, et al. Analysis of volatile composition and key aroma compounds in *Toddalia asiatica* Lam honey[J]. Food Science, 2024, 45(11): 175-185.]
- [32] 谢宇.不同产地羊肚菌脂质成分与香味物质分析[D].成都:电子科技大学,2022. [XIE Y. Analysis of lipid components and aroma volatile of morels from different ecological environments [D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2022.]
- [33] 里奥·范海默特.化合物香味阈值汇编[M].第二版.北京:科学出版社,2015. [L J van Gemert. Compilations of flavor threshold values in water and other media[M]. Second Edition. Beijing: Science Press, 2015.]
- [34] 咎学梅,刘明,刘艳香,等.酶解辅助预糊化技术工艺优化及风味物质差异分析[J].食品工业科技,2021,42(8):19-28. [ZAN X M, LIU M, LIU Y X, et al. Process optimization of enzyme-assisted pregelatinization technology and analysis of flavor substance difference[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(8): 19-28.]
- [35] 刘建峰.多菌种分段固态发酵制备高水解度豆粕蛋白饲料的研究[J].饲料工业,2017,38(16):55-59. [LIU J F. High degree of soybean meal protein hydrolysis by multi-strains segmented solid fermentation[J]. Feed Industry, 2017, 38(16): 55-59.]
- [36] 沈健,顾宗珠,王瑶.超声波提取香菇呈味物质的工艺研究[J].食品工业科技,2013,34(19):188-195. [SHEN J, GU Z Z, WANG Y. Study on the ultrasonic extraction of flavor substances from *lentinus edodes*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(19): 188-195.]
- [37] GAO J, FANG D L, KIMATU B M, et al. Analysis of umami taste substances of morel mushroom (*Morchella sextelata*) hydrolysates derived from different enzymatic systems[J]. *Food Chemistry*, 2021, 362: 130192.
- [38] 李延年.香菇复配草菇酶解呈味物质的研究与产品开发[D].泰安:山东农业大学,2021. [LI Y N. Study on flavor substances of the enzymatic hydrolysate of *Lentinus edodes* mixed with *volvaria volvacea* and product development[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.]