葛世鹏, 韩丽娟, 王富红, 等. 响应面优化藏羊肉酶解工艺及酶解液呈味特性分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(10): 227−242. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040309

GE Shipeng, HAN Lijuan, WANG Fuhong, et al. Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process for Tibetan Sheep Meat Using Response Surface Methodology and Flavor Characteristics of the Enzymatic Hydrolysate[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(10): 227−242. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040309

· 工艺技术 ·

响应面优化藏羊肉酶解工艺及酶解液呈味特性分析

葛世鹏, 韩丽娟*, 王富红, 张子森, 院珍珍, 桂林生, 侯生珍, 孙胜男
（青海大学农牧学院, 青海西宁 810000）

摘　要: 为探究复配酶法水解藏羊肉最佳工艺及酶解产物的风味特征。本试验以藏羊肉为原料，采用单因素实验及响应面试验优化藏羊肉酶解工艺，并系统分析了酶解液的呈味及风味物质。结果显示，藏羊肉最佳酶解条件为，料液比 1∶2，酶配比 3∶1，酶解时间 3.5 h，加酶量 0.9%，pH8.2，酶解温度 56 ℃，此条件下水解度、多肽得率及整体风味评价分别为 28.08%、81.14% 及 18.00 分。气相色谱-离子迁移谱（Gas chromatography-ion mobility spectrometry，GC-IMS）结果表明，共检测出挥发性风味成分 58 种，且通过多元统计分析确定了己醛单体、己醛二聚体、1-辛烯-3-醇单体、正戊醛单体及正辛醛二聚体为关键风味物质。所制备的酶解产物中鲜味和甜味氨基酸含量占总呈味氨基酸含量的 34.99%，鲜味核苷酸 5'-UMP、5'-GMP 及 5'-IMP 的含量显著高于空白组（P<0.05），且其等效鲜味浓度（Equivalent umami concentration，EUC）较高，鲜味突出。此外，空白组的脂肪酸含量显著高于酶解液组（P<0.05），达到 63.74%。综上，酶解产物的鲜甜味及呈味丰富性较强，风味品质较好，可用于肉类调味品的开发。

关键词: 藏羊肉, 响应面优化, 酶解工艺, 酶解产物, 风味特性
中图分类号: S826.8+3　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)10−0227−16
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040309
本文网刊:

Optimization of Enzymatic Hydrolysis Process for Tibetan Sheep Meat Using Response Surface Methodology and Flavor Characteristics of the Enzymatic Hydrolysate

GE Shipeng, HAN Lijuan*, WANG Fuhong, ZHANG Zisen, YUAN Zhenzhen, GUI Linsheng, HOU Shengzhen, SUN Shengnan

（College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810000, China）

Abstract: To optimize the enzymatic hydrolysis process of Tibetan sheep meat and to characterize the flavor profile of the resulting hydrolysates, using Tibetan sheep meat as the raw material, single-factor experiments combined with response surface methodology were employed to refine the hydrolysis conditions. Flavor compounds and taste characteristics of the hydrolysates were comprehensively analyzed. The optimal enzymatic hydrolysis conditions were determined to be: A solid-to-liquid ratio of 1∶2, an enzyme ratio of 3∶1, a hydrolysis time of 3.5 hours, an enzyme concentration of 0.9%, pH8.2, and a temperature of 56 °C. Under these conditions, the degree of hydrolysis, peptide yield, and sensory evaluation score reached 28.08%, 81.14%, and 18.00, respectively. Gas chromatography–ion mobility spectrometry (GC-IMS) identified 58 volatile compounds, with multivariate statistical analysis highlighting hexanal monomer, hexanal dimer, 1-octen-3-ol monomer, n-pentanal monomer, and n-octanal dimer as key contributors to the flavor profile. Umami and sweet amino acids

收稿日期: 2025−04−25
基金项目: 青海省科技厅帅才科学家负责制项目《藏羊产业提质增效标准化生产体系构建》（2022-NK169）。
作者简介: 葛世鹏（2000−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工, E-mail: 2257597875@qq.com。
*** 通信作者:** 韩丽娟（1988−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品加工, E-mail: hlj880105@163.com。

accounted for 34.99% of total taste-active amino acids in the hydrolysate. Levels of umami nucleotides (5'-UMP, 5'-GMP, and 5'-IMP) were significantly higher than in the control group (P<0.05), resulting in a markedly increased equivalent umami concentration (EUC), indicating enhanced umami taste. In contrast, the control group exhibited a significantly higher fatty acid content (63.74%) than the enzymatic hydrolysate group (P<0.05). Overall, the enzymatic hydrolysate showed a prominent umami and sweet flavor profile, complex aroma composition, and superior sensory characteristics, indicating its potential application in the development of meat-based seasonings.

Key words: tibetan sheep meat; response surface methodology (RSM) optimization; enzymatic hydrolysis process; hydrolysate; flavor characteristics

藏羊作为青藏高原的优势畜种之一, 因其肉质鲜美, 具有高蛋白、低脂肪及风味独特而深受消费者喜爱[1]。近年来由于肉类方便食品的快速发展, 肉类调味料因其良好的风味和营养而受到广泛关注, 如虾粉、鲜肉粉等具有浓郁的鲜味[2−3]。然而, 目前对青海藏羊的开发利用多集中在传统的肉品加工领域, 对于其肉质独特风味物质的深入挖掘和高附加值产品开发仍有待加强。

酶解法是当前鲜味肽制备的主要方法, 与化学水解相比, 酶解条件温和, 副产物少, 选择适当的蛋白酶水解动植物蛋白制备呈味肽成为研究热点[4−5]。蛋白酶解的方式有很多, 如单一酶水解, 复配酶水解等。不同的蛋白酶具有不同的酶解位点, 并直接影响到其酶解的水解度, 可溶性肽的含量及一些呈味物质的产生[5]。Cheung 等[6] 发现复合蛋白酶酶解产物的咸味值最高, 酶解 24 h 得到的产物酸味更明显, 而利用菠萝蛋白酶、风味蛋白酶得到的酶解产物鲜味强度更高。单一酶酶解特异性强, 操作简单, 成本较低, 但酶切位点单一, 酶解效果差, 而复配酶法能够显著提高鲜味, 具有协同增效的作用[7−8]。Zhang 等[9] 研究发现复合蛋白酶和胰蛋白酶同步酶解得到的鸡肉蛋白水解物可用作鸡肉风味的理想前体。曾晨[10] 发现木瓜蛋白酶与风味蛋白酶按 1∶1 分步酶解东海大黄鱼鳌, 酶解产物的水解度和鲜味值达到最高, 分别为 35.05% 和 7.67。李自会等[11] 的研究表明, 复合蛋白酶和风味蛋白酶以 3∶1 复配比同步酶解时, 酶解产物的风味最佳, 且分子量小于 3 kDa, 肽含量可达 93.26%。因此, 复配酶法水解动植物蛋白制备鲜味肽具有明显优势。目前以藏羊肉为原料制备鲜味肽及其风味特征的研究尚不深入。

本研究采用复配酶法对藏羊肉进行酶解制备鲜味肽, 采用高压蒸煮进行预处理, 并以感官指标、水解度及多肽得率为指标, 采用单因素实验考察酶配比、料液比、加酶量、pH、酶解温度及酶解时间对藏羊肉酶解效果的影响, 并以感官指标, 水解度及多肽得率为响应值, 对其进行响应面优化试验, 最终得到最佳的酶解条件, 并结合 GC-IMS 技术, 测定呈味氨基酸、呈味核苷酸、脂肪酸的含量进一步探究酶解产物的呈味特性, 以期为开发高原特色肉类调味品提供理论基础, 并为地方特色资源开发、畜牧业经济链延伸提供新方向。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

藏羊腿肉　青海省海南藏族自治州共和县; 木瓜蛋白酶(800 U/mg)、菠萝蛋白酶(300 U/mg)、中性蛋白酶(100 U/mg)、复合蛋白酶(蛋白内切酶, 外切酶)(120 U/mg)、碱性蛋白酶(200 U/mg)、风味蛋白酶(20 U/mg)、双缩脲试剂、牛血清白蛋白标准品　上海源叶生物科技有限公司; 甲醛、三氯乙酸、甲醇、盐酸、硫酸(均为分析纯)　成都市科隆化学品有限公司; 0.25% 味精、0.5% 氯化钠、5% 蔗糖、0.05% 咖啡因、0.025% 柠檬酸　山东科源生化有限公司; 2-丁酮、2-戊酮、2-己酮、2-庚酮、2-辛酮、2-壬酮(均为分析纯)　阿拉丁公司。

20 mL 顶空瓶　山东海能科学仪器有限公司; MXT-wax 毛细管色谱柱(30 m×0.53 mm, 1.0 μm)　美国 Restek 公司; FlavourSpec® 气相离子迁移谱　G.A.S.公司(德国, Dortmund); LA8080 氨基酸自动分析仪　青岛海泰亿诺科技有限公司; Thermo UltiMate3000 液相色谱仪　美国 Thermo 公司; Agilent 19091S-433UI 毛细管柱、Agilent 5977B MSD 质谱仪　美国安捷伦科技公司; XW-80A 漩涡混合仪　海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1　藏羊肉预处理　本试验前期采用不同蒸煮方式(高压蒸煮、常压蒸煮、高压常压蒸煮、常压高压蒸煮)对藏羊肉风味的影响进行了研究, 发现在高压蒸煮的方式下藏羊肉滋味丰富, 风味更好[12]。因此采用高压蒸煮方式(0.01 MPa、90 min)对藏羊肉进行预处理, 并搅碎成肉糜, 储存于−80 ℃ 冰箱, 备用。

1.2.2　酶解产物的制备　称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中, 按照料液比 1∶2 加入去离子水进行酶解, 调节溶液 pH 至 8.5, 加入 0.2% 的混合酶(以藏羊肉质量计), 在温度为 50 ℃ 的水浴条件下磁力搅拌, 酶解 3 h。酶解完成后, 在 90 ℃ 下灭酶 15 min, 然后冷却离心, 取上清液, 测定其多肽得率、水解度, 滋味评价[11]。

1.2.3　蛋白酶的筛选

1.2.3.1　单一酶的筛选　称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中, 按照料液比 1∶2 添加去离子水。选取木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、中性蛋白酶、复合蛋白酶、碱性蛋

白酶和风味蛋白酶，在各酶适宜的温度和 pH 条件下进行酶解（表 1），考察蛋白酶对水解度、多肽得率及酶解物整体风味的影响[11]。

表 1　不同蛋白酶的温度及 pH
Table 1　Temperature and pH of different proteases

名称	温度（℃）	pH
木瓜蛋白酶	50	6.5
菠萝蛋白酶	50	6.5
中性蛋白酶	50	7.0
复合蛋白酶	50	8.0
碱性蛋白酶	50	8.0
风味蛋白酶	50	8.0

1.2.3.2　复配酶的筛选　根据单一酶筛选结果，选取效果最佳的酶和其他五种蛋白酶分别复配，在料液比为 1∶2 g/mL，总加酶量 0.2%，酶配比为 1∶1（质量比）[13] 及各酶适宜的温度和 pH 条件下酶解，考察复配酶对水解度、多肽得率和酶解物整体风味的影响。

1.2.4　单因素实验

1.2.4.1　酶配比　称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，按照料液比 1∶2 添加去离子水，在温度为 50 ℃，pH 为 8.5，复合蛋白酶与风味蛋白酶配比分别为 3∶1、2∶1、1∶1、1∶2、1∶3 条件下，酶解 3 h。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率、滋味评价，选择最优酶配比。

1.2.4.2　料液比　在最佳酶配比的基础上，称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，按照料液比 1∶1、1∶2、1∶3、1∶4、1∶5（g∶mL）加入去离子水进行酶解，调节溶液 pH 至 8.5，加入 0.2% 的混合酶（以藏羊肉质量计），温度为 50 ℃，酶解 3 h。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率、滋味评价，获得最佳的料液比。

1.2.4.3　酶解时间　在最佳酶配比及料液比的基础上，称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，按照最佳的料液比添加去离子水，灭酶后在温度为 50 ℃ 的水浴磁力搅拌，调节溶液 pH 为 8.5，分别加入 0.2% 的混合酶，酶解 1、2、3、4、5 h。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率、滋味评价，获得最佳的酶解时间。

1.2.4.4　加酶量　在最佳酶配比、料液比、最佳酶解时间、最佳 pH、最佳酶解温度基础上，称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，灭酶后按照最佳料液比，酶解时间，pH，酶解温度，分别加入 0.2%（以藏羊肉匀浆计）、0.4%、0.6%、0.8%、1.0% 混合酶进行酶解。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率、滋味评价，获得最佳的加酶量。

1.2.4.5　酶解 pH　在最佳酶配比、料液比、最佳酶解时间基础上，称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，灭酶后按照最佳的料液比和酶解时间，在温度为 50 ℃ 的水浴条件下磁力搅拌，分别调节溶液 pH 至 6.5、7、7.5、8、8.5，分别加入 0.2% 的混合酶进行酶解。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率、滋味评价，获得最佳的 pH。

1.2.4.6　酶解温度　在最佳酶配比、料液比、最佳酶解时间、最佳 pH 基础上，称取藏羊肉糜 30 g 于烧杯中，灭酶后按照最佳料液比，酶解时间，pH，在温度为 45、50、55、60、65 ℃ 的水浴条件下磁力搅拌，加入 0.2% 的混合酶进行酶解。酶解完成后，在 90 ℃ 下灭酶 15 min，并测水解度，多肽得率，滋味评价，获得最佳的酶解温度。

1.2.5　响应面设计　在单因素实验基础上，对藏羊肉酶解效果影响较显著的因素为：酶解时间（A）、pH（B）、加酶量（C）、酶解温度（D）为自变量，多肽得率、水解度和整体风味为响应值，设计 4 因素 3 水平的 Box-Benhnken 试验。响应面试验因素水平见表 2。

表 2　响应面试验因素水平
Table 2　Levels of response surface test factors

水平	因素			
	A酶解时间（h）	B 加酶量（%）	C pH	D酶解温度（℃）
1	2	0.6	7.5	50
0	3	0.8	8	55
−1	4	1	8.5	60

1.2.6　感官评定　由 8 位经培训的食品专业人员对蛋白酶解物的滋味进行整体风味（表 3）。标准品分别为 0.25% 味精、0.5% 氯化钠、5% 蔗糖、0.05% 咖啡因、0.025% 柠檬酸，滋味标准品记为 20 分。取 1 g 冻干后的酶解物，加入 100 mL 纯净水混合均匀，与 4 种标准品分别进行比较打分。取评分的平均值作为滋味评价结果[13]。

表 3　酶解产物评分标准
Table 3　Scoring criteria of enzymatic hydrolysates

名称	S（分数）			
	0<S≤5	5<S≤10	10<S≤15	15<S≤20
鲜味	较弱	一般	偏重	很重
咸味	较弱	一般	偏重	很重
甜味	较弱	一般	偏重	很重
苦味	较弱	一般	偏重	很重
酸味	较弱	一般	偏重	很重
整体风味	厌恶	一般	喜欢	非常喜欢

1.2.7　多肽得率的测定　多肽得率测定参考鲁伟等[14] 的方法，取 2.5 mL 样品溶液，加入 2.0 mL 10% 三氯乙酸（Trichloroacetic acid，TCA），于漩涡混合仪上混合均匀，静置 10 min，然后在 4000 r/min 下离心 15 min，上清液转移到 50 mL 容量瓶中，用 5% 的 TCA 定容后摇匀。然后取上述溶液 6.0 mL 置于 10 mL 比色管中，加入双缩脲试剂 4.0 mL，混匀，静置 10 min 后 2000 r/min 下离心 10 min，取上清液于 540 nm 下测定吸光度。以牛血清白蛋白标准品做标

准曲线(回归方程为 Y=0.0007X+0.12, R^2=0.998。式中: Y 为吸光度; X 为蛋白质含量, mg/mL), 对照标曲获得溶液中的多肽浓度(mg/mL), 按下式计算多肽得率。

$$DT(\%)=\frac{A\times V\times 5}{S\times 1000}\times 100 \quad \text{式（1）}$$

式中: DT 为多肽得率, %; A 为酶解液多肽含量, mg/mL; V 为酶解液总体积, mL; S 为原料总蛋白含量, g。

1.2.8 水解度测定 采用甲醛滴定法对氨基酸态氮含量进行测定[15]; 采用 GB 5009.5-2025 中的方法测定总氮含量。按式(2)计算藏羊肉蛋白的水解度。

$$\text{水解度}(\%)=\frac{\text{酶解液中氨基酸态氮}}{\text{原料中总氮含量}}\times 100 \quad \text{式（2）}$$

1.2.9 酶解液风味特征

1.2.9.1 GC-IMS 检测条件 样品处理和测定条件: 称量 1 g 酶解液的冻干粉, 置于 20 mL 顶空瓶中, 孵育 15 min。每个样本进行 3 个重复。顶空进样条件: 孵育温度 50 ℃, 孵育时间 20 min, 进样量 500 μL, 孵化速度 500 r/min, 进样针温度 85 ℃。GC-IMS 条件: 色谱柱温度: 60 ℃; 载气: 高纯氮气(纯度≥99.999%); 程序升压: 初始流量 2.0 mL/min 保持 2 min, 在 8 min 内线性增至 10.0 mL/min, 在 10 min 内线性增至 100.0 mL/min, 在 10 min 保持 100.0 mL/min。色谱运行时间: 20 min; 进样口温度: 80 ℃。电离源: 氚源(3H); 电场强度: 500 V/cm; 迁移管温度: 45 ℃; 流速: 75 mL/min; 正离子模式[16]。定性定量分析: 使用 VOCal 软件内置的 GC 保留指数(NIST 2020)数据库和 IMS 迁移时间数据库检索和比对, 对目标物进行定性分析。根据目标物峰体积与内标化合物峰体积的比值定量。

1.2.9.2 相对气味活度值 参考刘登勇等[17] 确定的关键风味物质的计算方法。首先通过顶空固相微萃取(HS-SPME)富集样品中的挥发性成分, 再利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)或气相色谱-离子迁移谱(GC-IMS)进行分离鉴定。最后, 引入感觉阈值计算相对气味活度值(ROAV), 将 ROAV≥1 的物质确定为特征风味物质。计算方法如下:

$$ROAV=\frac{C_A}{C_{max}}\times\frac{T_{max}}{T_A}\times 100 \quad \text{式（3）}$$

式中: C_A: 为挥发性成分 A 的相对百分含量(%); T_A: 为化合物 A 的香气阈值(μg/kg); C_{max} 和 T_{max}: 为对藏羊肉整体风味贡献最大的香气成分的相对百分含量(%)和香气阈值(μg/kg)。

1.2.9.3 游离氨基酸的测定 首先, 称取 1 g 酶解液的冻干粉加入 50 mL 0.01 mol/L 盐酸浸提 30 min 后过滤; 取 2 mL 滤液于离心管中, 加入 2 mL 8% 磺基水杨酸混合均匀, 在 4 ℃ 条件下静置 15 min; 最后在 10000 r/min 转速下离心 10 min, 上层清液二次离心 5 min, 以 pH 为 2.2 的柠檬酸缓冲液 1∶4 稀释上层清液, 经 0.22 μm 过滤器过滤, 转入进样瓶中通过氨基酸自动分析仪分析测定[13]。

1.2.9.4 呈味核苷酸的测定 参照纪晓萌等[18] 的方法稍作修改, 将酶解液的冻干粉和超纯水按料液比 1∶40 进行配比, 在 25 ℃ 的室温下浸泡 1 h 后用 100 ℃ 水煮 90 min, 冷却至室温, 在 4 ℃ 下以 8000 r/min, 离心 20 min 后取上清液, 旋转蒸发仪浓缩, 使用 50 mL 容量瓶定容后过 0.45 μm 滤膜, 取滤液待测。色谱条件: 色谱柱 C_{18} 柱, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm; 流动相: 0.01 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇(98∶2, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 进样量: 20 μL。

1.2.9.5 等效鲜味浓度与滋味活度的计算 等效鲜味浓度(EUC)用味精(MSG)的量来衡量 100 g 干物质中呈鲜物质的总量, 可用来评价食品中鲜味物质的呈味强度, 计算公式如下:

$$Y=\sum a_i b_i+1218\left(\sum a_i b_i\right)\times\left(\sum a_j b_j\right) \quad \text{式（4）}$$

式中: Y 表示待测样品的等效鲜味浓度(g MSG/100 g); a_i 表示样品中鲜味氨基酸的量(g/100 g); b_i 表示鲜味氨基酸相对谷氨酸的值(Glu=1、Asp=0.077); a_j 表示样品中风味核苷酸的量(g/100 g); b_j 表示风味核苷酸相对于 5'-肌苷酸的值(5'-AMP=0.18、5'-GMP=2.3、5'-IMP=1); 1218 为协同作用常数。

采用滋味活度值(Taste activity values, TAV)来评价游离氨基酸、呈味核苷酸以及等效鲜味浓度对滋味的影响, 按式计算滋味活度值。

$$TAV=\frac{T_i}{C_i} \quad \text{式（5）}$$

式中, TAV 表示滋味活力值; C_i 表示测得物质的浓度, mg/100 g; T_i 表示该物质阈值, mg/100 g。

1.2.9.6 脂肪酸的测定 参考 Zhang 等[19] 的方法修改, 本研究采用 GC-MS 方法。称取 50 mg 样品, 并使用氯仿-甲醇(2∶1, v/v)混合物提取脂质。萃取前, 用硫酸-甲醇溶液对样品进行甲基化 30 min。然后用正己烷萃取混合物, 并用 5 mL 纯水和 25 μL 水杨酸甲酯(内标)洗涤。收集上清液用于进一步分析。使用 Agilent 19091S-433UI 毛细管柱分离样品。初始温度在 40 ℃ 维持 5 min, 然后以 10 ℃/min 的速率升至 220 ℃, 并在 220 ℃ 下保持 5 min。使用氦气作为载气, 流速为 1.0 mL/min。采用 5977B MSD 质谱仪进行质谱分析。5977B MSD 条件如下: 进样口温度 280 ℃; 离子源温度 230 ℃; 传输线温度 250 ℃。电子轰击电离(EI)源, 电子能量 70 eV; 采用 SCAN/SIM 模式检测待测物。

1.3 数据处理

每组试验均重复三次, 结果表示为平均值±SD 值, 采用 IBM SPSS Statistics 20 进行方差分析和显

著性检验，Origin8.5 作图。利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行响应面试验设计与分析，并通过 SIMCA 软件进行正交偏最小二乘判别分析图。

2　结果与分析

2.1　蛋白酶的筛选

2.1.1　单一酶的筛选　不同蛋白酶对水解度，多肽得率及整体风味的影响见图 1。酶的特异性往往会影响水解产物的特性，即所产生肽的组成和氨基酸序列[20]。如图 1a 所示，不同蛋白酶酶解液的水解度和多肽得率差异显著（P<0.05），相比于其他蛋白酶，经复合蛋白酶酶解后的水解度和多肽得率都较高，分别为 15.52% 和 77.68%。而中性蛋白酶酶解产物的水解度和多肽得率都较低，这是由于中性蛋白酶是由枯草芽孢杆菌发酵提取的一种内切酶，具有严格的切割位点，从而使其水解位点相对局限[21]。此外，由图 1b 所知，经复合蛋白酶和风味蛋白酶酶解后的酶解产物，其鲜味、甜味、整体风味都较高，且酸味、苦味并不明显。同时，有研究发现，复合蛋白酶通过多种蛋白酶之间的协同作用，如内切酶打开空间结构，端肽酶深度水解并脱苦，从而提高水解度及多肽得率，且精准调控产物分子量分布和氨基酸组成，从而同步提升酶解产物的功能活性，风味品质及营养价值[22]。因此，选用复合蛋白酶与其他五种酶进行复配。

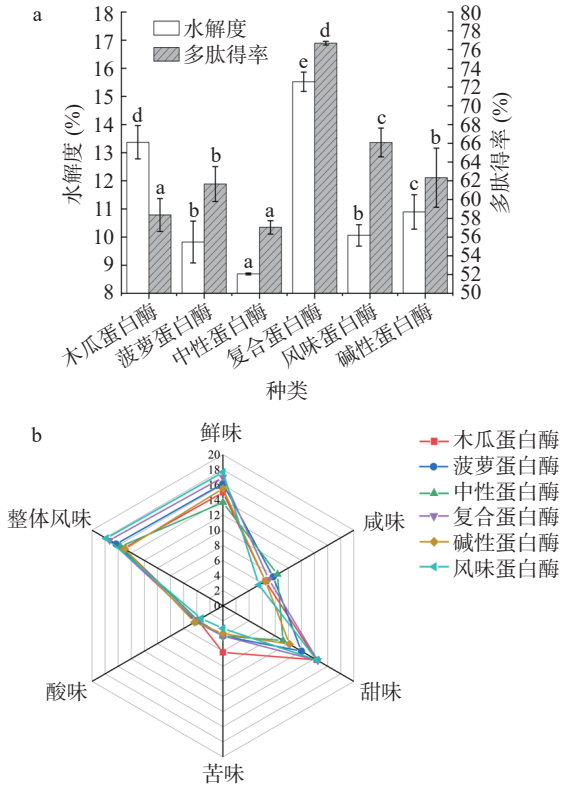


图 1　不同蛋白酶对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.1　Effect of different proteases on degree of hydrolysis, peptide yield, and sensory evaluation

注：不同字母表示组间差异显著（P<0.05），图 2~图 8 同。

2.1.2　复配蛋白酶的筛选　如图 2 所示，整体而言，相比与单一酶水解，两种酶的酶解使酶切位点增多，从而使复配酶水解后酶解产物的水解度、多肽得率及整体风味明显升高。如图 2a 所示，不同复配酶酶解液的水解度和多肽得率差异显著（P<0.05），而 CB 的水解度和多肽得率都较高，分别为 15.02% 和 81.58%。而 CN 的水解度和多肽得率是最低的，可能是因为酶切位点重叠、缺乏外切酶接力，这也进一步证实了单一酶筛选中水解度和多肽得率较低的原因。此外，相比于 CA、CP 及 CB，CF 的水解度和多肽得率均较低，为 13.69% 和 63.30%。可能是因为风味蛋白酶是一种外切酶，其从肽链末端逐个切割氨基酸的效率远低于内切酶在内部随机切断肽键的方式，导致水解度偏低。唐霄等[23] 的研究发现，鹅肉酶解过程中，木瓜蛋白酶（内切酶）水解度达到 29.69%，而风味蛋白酶只有 7.97%。同时，风味蛋白酶能够有效改善酶解产物的风味[24]，如图 2b 所示，CF 的鲜味、甜味和整体风味都较突出，且苦味和酸味不明显。综上所述，选用复合蛋白酶和风味蛋白酶作为复配的两种蛋白酶。

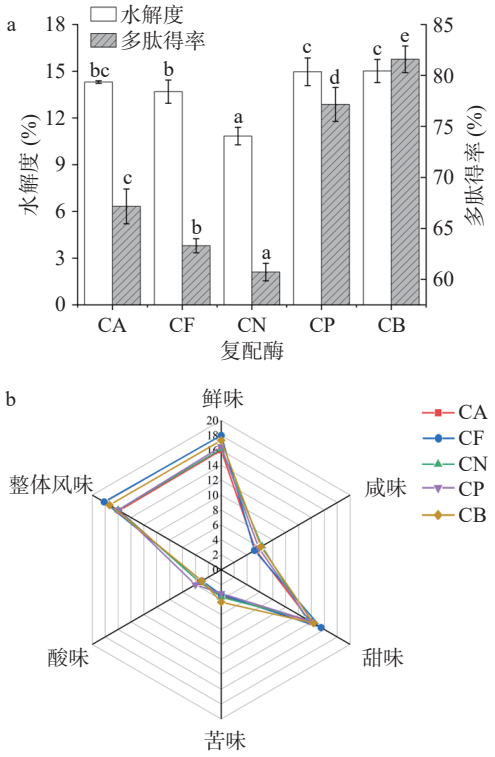


图 2　不同复配蛋白酶对水解度、多肽得率及感官评价的影响

Fig.2　Effects of different proteases on hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

注：a. 水解度和多肽得率；b. 整体风味；CA：复合蛋白酶+碱性蛋白酶；CF：复合蛋白酶+风味蛋白酶；CN：复合蛋白酶+中性蛋白酶；CP：复合蛋白酶+木瓜蛋白酶；CB：复合蛋白酶+菠萝蛋白酶。

2.2　单因素实验结果分析

2.2.1　酶配比的选择　酶配比是通过协同效应提升水解度与多肽得率，同时精准调控氨基酸组成，从而决定最终产品的风味轮廓与品质[25]。由图 3 可知，整体而言，不同酶配比下的酶解液的水解度、多肽得

率及整体风味差异显著(P<0.05)。其次,当复合蛋白酶和风味蛋白酶复配比为 3∶1 时,水解度和多肽得率较高,分别为 17.48% 和 80.41%,且整体风味较好,肉味醇厚,味道鲜美,这与李自会等[11] 的研究结果相似。而酶配比为 1∶3 时,水解度和多肽得率最低,分别为 15.02% 和 66.41%,可能是因为复合蛋白酶与风味蛋白酶酶切位点不同有关,此外,复配比为 1∶2 时,其多肽得率最高,但其水解度较低,整体风味较差,故选用复配比 3∶1 为最佳酶配比。

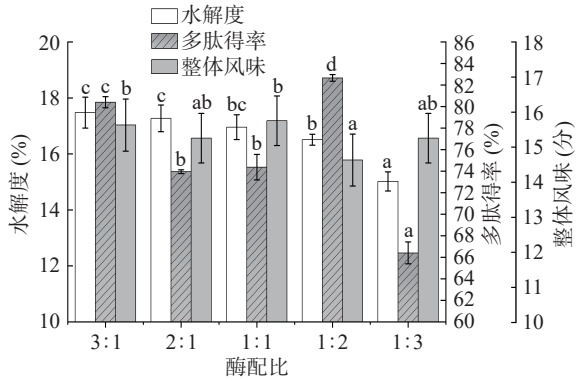


图 3 不同酶配比对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.3 Effects of different enzyme ratios on the degree of hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

2.2.2 料液比的选择 料液比的不同会直接影响酶与底物接触与反应程度[26]。由图 4 可知,整体而言,不同料液比下的酶解液的水解度,多肽得率及整体风味差异显著(P<0.05)。其次,经复合蛋白酶和风味蛋白酶复配酶解后,酶解产物的水解度和多肽得率随着料液比的增加呈下降趋势,分别由 19.93% 和 89.62% 下降到 4.88% 和 37.16%,可能是因为随着料液比的增加,底物浓度也随之降低,故水解度、多肽得率及整体风味随之降低[27]。此外,由整体风味可知,相比于 1∶2,在 1∶1 时,酶解产物的整体风味较低,因此选用料液比 1∶2 作为酶解的最佳条件。

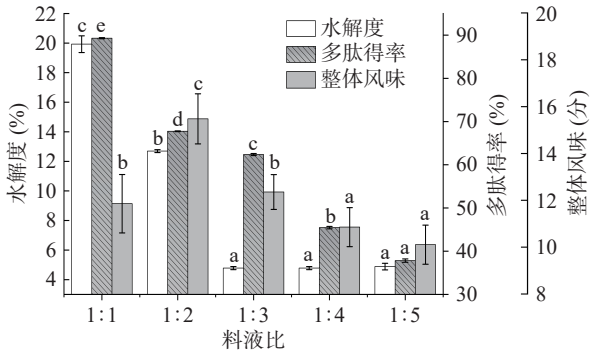


图 4 不同料液比对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.4 Effects of different solid-liquid ratios on degree of hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

2.2.3 酶解时间的选择 由图 5 可知,整体而言,不同酶解时间下的酶解液的水解度,多肽得率及整体风味差异显著(P<0.05)。另外,酶解时间为 3 h 时其多肽得率最高,可达 76.28%,而酶解时间为 4 h 时其水解度和整体风味最高。但整体而言,随着酶解时间的延长,其水解度,多肽得率及整体风味呈先上升后下降的趋势,可能是因为随着反应的进行,酶的活性逐渐降低,进而导致酶解能力下降,使水解度、多肽得率及整体风味下降[27]。故选酶解时间 2、3、4 h 进行响应面优化。

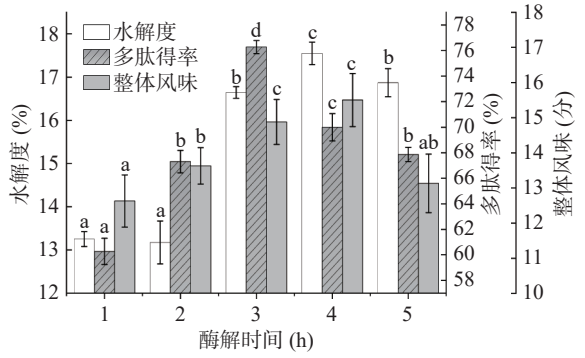


图 5 不同酶解时间对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.5 Effects of different enzymatic hydrolysis times on degree of hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

2.2.4 加酶量的选择 由图 6 可知,不同加酶量下的酶解液的水解度,多肽得率及整体风味差异显著(P<0.05)。另外,随着加酶量的增加,酶解产物的水解度、多肽得率呈上升趋势,特别是水解度从 16.58% 上升到 22.72%,而多肽得率最高可达 82.24%。由整体风味可知,随着加酶量的增加,整体风味逐渐上升,在加酶量为 0.8% 时达到最高,而加酶量为 1% 时,整体风味有所下降,可能是因为随着水解度的增加,一些疏水性的苦味肽及苦味氨基酸被逐渐释放出来,导致整体风味较差[28],且为了降低成本,故选用 0.6%、0.8% 和 1% 进一步进行响应面优化试验。

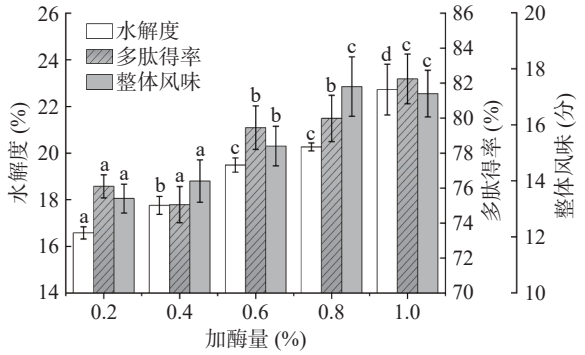


图 6 不同加酶量对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.6 Effects of different enzyme dosages on degree of hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

2.2.5 pH 的选择 由图 7 可知,整体而言,不同 pH 条件下酶解液的水解度、多肽得率及整体风味表现出显著的差异(P<0.05)。随着 pH 的增加,酶解产物的水解度和多肽得率呈先上升后下降的趋势,在 pH8.0 时达到高,可能是因为复合蛋白酶和风味蛋白酶的最适 pH 范围在 8.0 左右,而随着 pH 的升高,偏

离此范围则酶活性下降[29]。此外，酶解产物的整体风味在 pH 为 8.0 时较好，鲜味较突出，肉香味醇厚。故选择 pH7.5、pH8.0 和 pH8.5 进行后续响应面优化试验。

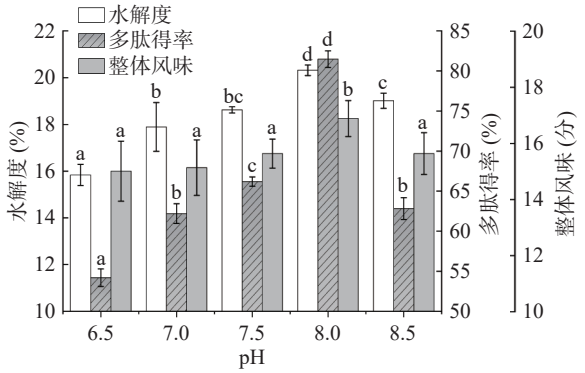


图 7　不同 pH 对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.7　Effects of different pH on degree of hydrolysis, peptide yield and sensory evaluation

2.2.6　酶解温度的选择　由图 8 可知，随着酶解温度的升高，酶解产物的水解度呈先上升后下降的趋势，在 55 ℃ 时最高，为 22.11%，这与安攀宇等[27] 的研究结果相似。这是因为复合蛋白酶和风味蛋白酶对温度变化敏感，且两种蛋白酶的温度范围均在 50~55 ℃，低于或高于酶的最适温度，都会影响水解度、多肽得率及整体风味。然而除了 50 ℃，其他温度条件下酶解液多肽得率差异不显著（P>0.05）。此外，酶解产物的整体风味在酶解温度为 55 ℃ 时达到最高，而在 65 ℃ 时最低。故选择 50、55 和 60 ℃ 进行响应面优化。

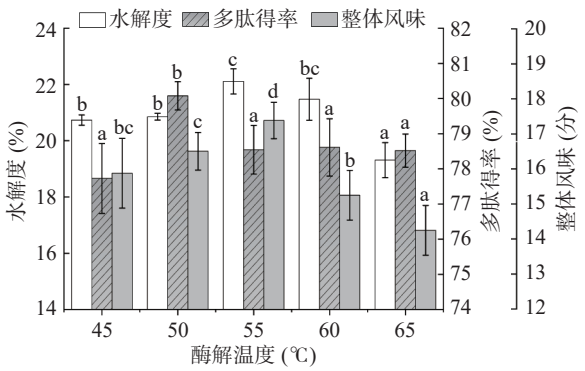


图 8　不同酶解温度对水解度、多肽得率及整体风味的影响

Fig.8　Effects of different enzymatic hydrolysis temperatures on hydrolysis degree, peptide yield and sensory evaluation

2.3　响应面设计试验分析

2.3.1　响应面试验结果　在单因素实验的基础上，选择酶解时间、pH、酶解温度、加酶量为自变量，以水解度、多肽得率、整体风味为响应值，根据 Box-Behnken 法设计原理，采用 Design-Expert13 软件进行试验设计，优化藏羊肉酶解工艺，确定最佳工艺参数，Box-Behnken 试验设计与结果见表 4。

表 4　Box-Behnken 试验设计及结果

Table 4　Design and results of the Box-Behnken experiment

实验号	A	B	C	D	水解度(%)	多肽得率(%)	整体风味(分)
1	−1	−1	0	0	16.05±0.79	73.44±0.63	17.00±0.75
2	1	1	0	0	25.10±1.70	78.15±1.41	18.57±0.55
3	0	0	1	−1	22.30±0.39	74.74±1.38	16.86±0.75
4	1	0	1	0	19.14±0.26	75.60±1.37	17.71±0.41
5	0	−1	−1	0	20.91±0.52	72.94±0.17	17.00±0.63
6	0	1	1	0	21.53±1.07	76.30±0.29	18.14±0.75
7	0	0	0	0	28.90±0.34	81.13±1.42	18.57±0.52
8	0	1	0	1	18.40±0.34	73.30±0.25	18.14±0.63
9	0	1	−1	0	22.38±1.09	77.26±0.87	18.14±0.41
10	1	0	−1	0	23.23±0.51	75.50±0.27	17.14±0.98
11	−1	0	0	1	17.98±0.70	68.09±1.29	17.00±0.75
12	0	0	0	0	29.38±1.64	81.57±0.68	18.57±0.52
13	1	0	0	−1	25.47±0.45	77.22±1.96	18.29±0.52
14	1	0	0	1	21.18±2.04	74.56±0.31	17.57±0.82
15	0	1	0	−1	24.01±1.07	79.17±0.20	18.57±0.52
16	1	−1	0	0	19.64±0.98	74.52±0.20	17.71±0.52
17	−1	0	0	−1	19.50±1.10	71.00±0.39	17.00±0.63
18	0	0	1	1	21.44±1.16	75.07±1.63	17.57±0.55
19	−1	0	1	0	19.20±0.22	68.26±0.98	16.00±0.41
20	0	0	−1	1	19.87±0.22	70.58±1.28	16.57±0.52
21	0	0	0	0	29.11±0.35	83.19±2.83	18.57±0.52
22	0	0	−1	−1	21.77±1.28	77.79±0.35	17.57±0.52
23	0	0	0	0	29.50±0.22	82.76±1.15	18.14±0.63
24	0	−1	0	−1	19.70±0.89	74.64±0.35	17.57±1.05
25	0	−1	1	0	19.79±1.01	74.29±0.57	16.86±0.75
26	−1	1	0	0	17.95±0.52	71.94±0.62	17.57±0.55
27	0	−1	0	1	20.62±0.47	73.68±0.86	17.43±0.52
28	−1	0	−1	0	18.67±0.39	67.45±0.66	16.57±0.55
29	0	0	0	0	27.67±1.19	82.07±0.66	18.43±0.52

2.3.2　以水解度为响应值的响应面分析结果　运用 Design-Expert 13 软件对数据进行统计分析，并进行多元回归拟合，得到二次回归方程 Y1=28.91+2.03A+1.05B−0.20C−1.02D+0.64AB−1.40AC−0.69AD+0.07BC−1.88BD+0.26CD−4.77A^2−4.15B^2−4.00C^2−3.50D^2。

回归模型方差分析结果如表 5 所示，模型的 F=21.11，R^2=0.9548，差异极显著（P<0.0001）。一次项酶解时间（A）、加酶量（B）、酶解温度（D），及二次项 A^2、B^2、C^2 和 D^2 都极显著（P<0.01），表明该模型拟合度高，能够准确描述各因素与响应值之间的关系，该模型可靠。

2.3.3　以多肽得率为响应值的响应面分析结果　对试验得到的数据进行响应面回归分析，得到了酶解时间、酶解温度、加酶量、pH 对多肽得率的影响，其二次多项回归方程为 Y2=82.21+2.95A+1.05B−0.12C−1.27D+1.28AB−0.18AC+0.07AD−0.58BC−1.23BD+2.88CD−5.45A^2−2.47B^2−4.70C^2−4.19D^2。

如表 6 所知，回归模型为 P<0.01，表明差异极显著，失拟项 P>0.05，表明该模型可靠性良好。回归系数 R^2=0.9632，说明该模型与试验拟合良好。通过方差分析可以发现，A、B、D、AB、CD、A^2、B^2、C^2、D^2 均对多肽得率影响显著（P<0.05），表明酶解时间、加酶量、pH 及酶解温度均对藏羊肉多肽得率有一定的影响。

表 5 水解度的响应面模型方差分析

Table 5 Analysis of variance of the response surface model for the degree of hydrolysis

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	387.43	14	27.67	21.11	<0.0001	**
A-酶解时间	49.65	1	49.65	37.88	<0.0001	**
B-加酶量	13.36	1	13.36	10.19	0.0065	**
C-pH	0.49	1	0.49	0.38	0.5499	
D-酶解温度	12.53	1	12.52	9.56	0.0080	**
AB	1.64	1	1.64	1.25	0.2824	
AC	7.90	1	7.90	6.02	0.0278	*
AD	1.92	1	1.92	1.46	0.2464	
BC	0.12	1	0.02	0.01	0.9078	
BD	14.18	1	14.18	10.81	0.0054	**
CD	0.27	1	0.27	0.21	0.6566	
A^2	147.49	1	147.49	112.53	<0.0001	**
B^2	111.57	1	111.57	85.12	<0.0001	**
C^2	103.97	1	103.97	79.32	<0.0001	**
D^2	79.56	1	79.56	60.70	<0.0001	**
残差	18.35	14	1.31			
失拟项	16.20	10	1.62	3.02	0.1492	不显著
纯误差	2.15	4	0.54			
总偏差	405.78	28				
R^2=0.9548						

注: *为差异显著(*P*<0.05); **为差异极显著(*P*<0.01), 表6~表7同。

表 6 多肽得率的响应面模型方差分析

Table 6 Analysis of variance of the response surface model for peptide yield

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	514.99	14	36.78	26.14	<0.0001	**
A-酶解时间	104.43	1	104.43	74.22	<0.0001	**
B-加酶量	13.25	1	13.25	9.42	0.0083	**
C-pH	0.1344	1	0.1344	0.0955	0.7618	
D-酶解温度	19.41	1	19.41	13.79	0.0023	**
AB	6.58	1	6.58	4.68	0.0484	*
AC	0.126	1	0.126	0.0896	0.7691	
AD	0.0196	1	0.0196	0.0139	0.9077	
BC	1.33	1	1.33	0.9481	0.3467	
BD	6.03	1	6.03	4.28	0.0575	
CD	33.24	1	33.24	23.62	0.0003	**
A^2	192.59	1	192.59	136.88	<0.0001	**
B^2	39.42	1	39.42	28.02	0.0001	**
C^2	143.14	1	143.14	101.74	<0.0001	**
D^2	113.68	1	113.68	80.8	<0.0001	**
残差	19.7	14	1.41			
失拟项	16.1	10	1.61	1.79	0.3018	不显著
纯误差	3.6	4	0.899			
总偏差	534.69	28				
R^2=0.9632						

2.3.4 以整体风味为响应值的响应面分析结果 运用 Design-Expect 8.0.6 软件对表 7 整体风味的数据进行统计分析, 并进行多元回归拟合, 得到二次回归方程 $Y3=18.46+0.49A+0.46B+0.01C-0.13D+0.07AB+0.28AC-0.18AD+0.04BC-0.07BD+0.43CD-0.65A^2-0.08B^2-0.90C^2-0.40D^2$。

整体风味回归方程方差分析结果如表 7 所示, 方程因变量与自变量之间的线性关系明显, 回归模型极显著(P<0.01), 失拟项不显著(P>0.05), 且 R^2=0.9717, 表明该模型可靠且不存在过拟合现象。以整体风味为响应值所建立的酶法制备藏羊肉呈味肽的模型是合理的。通过方差分析结果显示, A、B、D、AC、CD、A^2、C^2 及 D^2 均对整体风味影响显著(P<0.05), 表明酶解时间、加酶量、pH 及酶解温度均对酶法制备藏羊肉呈味肽的整体风味有一定的影响。

表 7 整体风味评价的响应面模型方差分析

Table 7 Analysis of variance of the response surface model for overall flavor evaluation

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	14.11	14	1.01	34.38	<0.0001	**
A-酶解时间	2.85	1	2.85	97.31	<0.0001	**
B-加酶量	2.58	1	2.58	87.9	<0.0001	**
C-pH	0.0019	1	0.0019	0.064	0.804	
D-酶解温度	0.208	1	0.208	7.1	0.0185	*
AB	0.021	1	0.021	0.7174	0.4112	
AC	0.3249	1	0.3249	11.09	0.005	**
AD	0.1296	1	0.1296	4.42	0.054	
BC	0.0049	1	0.0049	0.1672	0.6888	
BD	0.021	1	0.021	0.7174	0.4112	
CD	0.731	1	0.731	24.94	0.0002	**
A^2	2.75	1	2.75	93.89	<0.0001	**
B^2	0.0416	1	0.0416	1.42	0.2533	
C^2	5.27	1	5.27	179.8	<0.0001	**
D^2	1.04	1	1.04	35.43	<0.0001	**
残差	0.4103	14	0.0293			
失拟项	0.2708	10	0.0271	0.7764	0.6619	不显著
纯误差	0.1395	4	0.0349			
总偏差	14.52	28				
R^2=0.9717						

2.3.5 验证实验 综上所述, 根据响应面试验数据可知, 复配酶酶解藏羊肉得到的预测条件为酶解时间 3.5 h, 加酶量 0.9%, pH8.2, 酶解温度 56 ℃, 预测最优条件下水解度、多肽得率及整体风味评价分别为25.49%±0.89%、80.52%±1.28% 及18.66±0.46 分。为证明预测的准确性, 对其进行验证实验, 最终得到的实际值为水解度为 28.08%±0.35%, 多肽得率为 81.14%±0.52% 及整体风味评价为 18.00±0.57 分, 与预测值相近, 表明该酶解工艺可靠, 可为复配酶法制备藏羊肉呈味肽提供理论指导。

2.4 酶解液风味特征

2.4.1 酶解前后藏羊肉挥发性物质图谱分析 通过 GC-IMS 技术对酶解前后藏羊肉挥发性成分进行检测所得到的三维谱图见图 9a。酶解前后挥发性物质之间存在一定差异。如图 9a 所示, 很明显酶解液组信号峰值较多, 且浓度较高。为进一步分析酶解前后藏羊肉挥发性成分之间的差异, 见图 9b 所示。以未酶解液组为参比对象, 如果目标样品和参比中的挥发性有机物含量一样, 则扣减后的背景为白色, 而红色代表该物质的浓度在目标样品中高于参比, 蓝色代表该物质的浓度在目标样品中低于参比。如图 9b 所示, 目标样品中红色的点较多, 说明 EH 组中的挥发

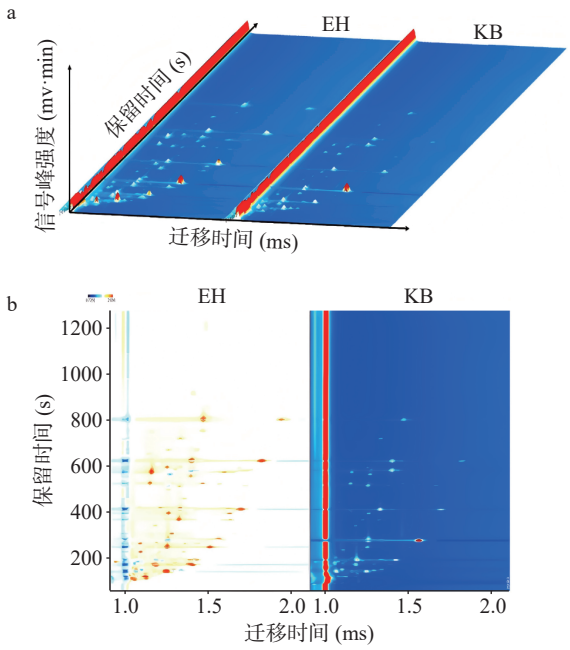


图 9　酶解前后藏羊肉挥发性成分三维谱图(a)和差异谱图(b)

Fig.9　Three-dimensional spectra (a) and difference spectra (b) of volatile compounds in Tibetan sheep meat before and after enzymatic hydrolysis

注：EH：藏羊肉酶解液；KB：藏羊肉未酶解液；图 10 同。

性化合物的浓度高于 KB 组。

进一步对 2 种不同样品中挥发性物质进行比较，对所有挥发性物质进行指纹图谱分析，见图 10。2 组的挥发性物质的差异较大（P<0.05）。如图 10 中 A 区域物质在 EH 组中浓度更高，主要有：(E)-2-庚烯醛、(E)-2-辛烯醛、(E)-2-戊烯醛、(Z)-4-庚醛、庚醇、己醇、辛醇等。图 10 中 B 区域物质在 KB 组中浓度最高，主要有：1-辛烯-3-酮、4-庚酮、乙酸乙酯和噻吩等。

2.4.2　酶解前后藏羊肉挥发性物质定性定量分析

酶解前后藏羊肉挥发性化合物如表 8 所示。酶解前后藏羊肉中共检测出 58 种挥发性物质（包含单体和二聚体），其中醛类 30 种，醇类 12 种，酮类 9 种，酯类 5 种及其他类 2 种，故醛类物质为酶解前后藏羊肉的主要挥发性物质，这与曾小峰等[30] 的研究结果相似。如表 8 可知，整体而言，EH 组中的挥发性成分的浓度显著高于 KB 组（P<0.05），尤其是醛类、醇类和酮类的浓度较高，而酯类和其他类物质的浓度差异不显著。

醛类物质是由氨基酸和脂肪酸经过一系列的化学反应产生的，此类化合物能够产生清香和花果香味，且阈值较低，对酶解液的整体风味具有较大的贡

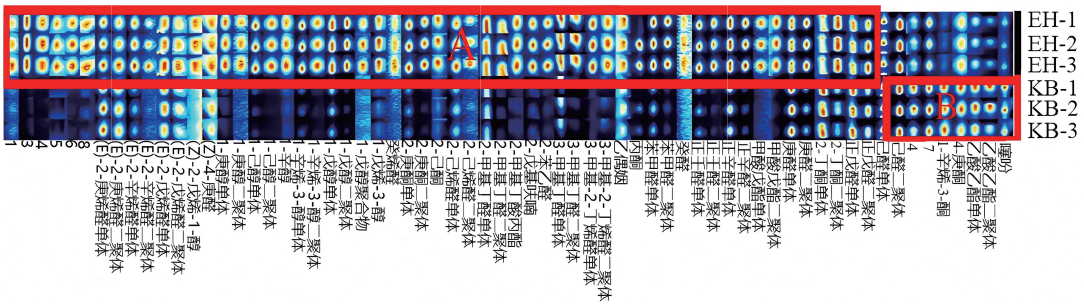


图 10　酶解前后藏羊肉挥发性成分指纹图谱

Fig.10　Fingerprint of volatile components of Tibetan sheep before and after enzymatic hydrolysis

表 8　酶解前后藏羊肉挥发性成分组成及含量

Table 8　Composition and content of volatile components of Tibetan mutton before and after enzymatic hydrolysis

中文名称	CAS号	峰体积(mv·min)		气味特征
		EH	KB	
		醛类30种		
(E)-2-庚烯醛D	C18829555	99.26±11.43^{a}	96.79±1.42^{a}	辛辣的，青香蔬菜，新鲜，脂肪
(E)-2庚烯醛M	C18829555	621.88±46.70^{a}	705.63±8.30^{b}	辛辣的，青香蔬菜，新鲜，脂肪
(E)-2-辛烯醛D	C2548870	79.97±7.76^{b}	45.89±3.32^{a}	新鲜黄瓜，脂肪，青香草药，香蕉
(E)-2-辛烯醛M	C2548870	468.62±38.50^{b}	224.58±9.65^{a}	新鲜黄瓜，脂肪，青香草药，香蕉
(E)-2-戊烯醛D	C1576870	45.53±3.34^{b}	36.38±2.20^{a}	土豆，豌豆
(E)-2-戊烯醛M	C1576870	273.70±12.25^{b}	240.89±14.66^{a}	土豆，豌豆
(Z)-4-庚醛	C6728310	136.77±6.10^{b}	117.38±5.73^{a}	青草，油脂味
2-癸烯醛	C3913711	207.89±7.65^{b}	127.31±8.58^{a}	甜橙香气，带脂蜡样气息
2-己烯醛D	C505577	34.40±3.87^{b}	23.62±1.57^{a}	甜杏仁，果味，绿叶，苹果，李子，蔬菜
2-己烯醛M	C505577	244.35±16.78^{b}	145.01±7.23^{a}	甜杏仁，果味，绿叶，苹果，李子，蔬菜
2-甲基丁醛D	C96173	656±29.06^{b}	80.83±13.49^{a}	苦杏仁味，可可，麦芽
2-甲基丁醛M	C96173	1084.52±25.31^{b}	550.63±51.43^{a}	苦杏仁味，可可，麦芽
3-甲基丁醛D	C590863	1009.13±92.65^{b}	120.50±22.80^{a}	巧克力，脂肪味
3-甲基丁醛M	C590863	1512.93±1.55^{b}	723.02±57.26^{a}	巧克力，脂肪味

续表 8

中文名称	CAS号	峰体积(mv·min)		气味特征
		EH	KB	
3-甲基-2-丁烯醛D	C107868	114.97±3.68[b]	33.74±1.00[a]	果香
3-甲基-2-丁烯醛M	C107868	498.60±3.79[b]	127.56±8.01[a]	果香
正壬醛M	C124196	2919.3±90.88[b]	1148.83±73.22[a]	柑橘香, 有强的油脂气味
癸醛	C112312	91.16±6.60[b]	62.04±1.87[a]	甜香, 花香, 柑橘香, 醛香
庚醛D	C111717	2775.9±70.46[b]	1036.44±101.63[a]	新鲜, 脂肪, 酒, 果香
庚醛M	C111717	2096.85±9.63[b]	1720.2±56.97[a]	新鲜, 脂肪, 酒, 果香
己醛D	C66251	6624.88±42.12[b]	5630.09±143.47[a]	新鲜的, 青香, 水果味
己醛M	C66251	2326.58±19.20[b]	2198.16±25.78[a]	新鲜的, 青香, 水果味
正壬醛D	C124196	1024.56±52.15[b]	244.58±16.50[a]	柑橘香, 有强的油脂气味
正辛醛D	C124130	2399.22±95.31[b]	458.06±42.43[a]	蜡味, 柑橘, 果香, 脂肪
正辛醛M	C124130	2932.36±8.43[b]	1646±80.53[a]	蜡味, 柑橘, 果香, 脂肪
正戊醛D	C110623	2037.77±179.56[b]	1460.27±155.76[a]	青草味, 带微弱香蕉味, 味刺激
正戊醛M	C110623	2167.96±52.89[a]	2378.49±9.77[b]	青草味, 带微弱香蕉味, 味刺激
2-苯乙醛	C122781	169.79±8.68[b]	47.10±3.16[a]	水果甜香, 杏仁, 樱桃, 三叶草蜜
苯甲醛D	C100527	440.55±10.09[b]	96.53±11.56[a]	苦杏仁, 樱桃及坚果香
苯甲醛M	C100527	1403.24±7.78[b]	636.99±61.32[a]	苦杏仁, 樱桃及坚果香
∑醛类	–	36498.65±697.65[b]	22163.55±900.21[a]	–
醇类12种				
1-庚醇D	C111706	40.66±0.50[b]	17.93±3.20[a]	葡萄味果香, 酒香
1-庚醇M	C111706	434.68±12.14[b]	94.04±14.79[a]	葡萄味果香, 酒香
1-己醇D	C111273	210.51±1.80[b]	27.86±4.52[a]	清新的, 果味, 酒精, 甜
1-己醇M	C111273	1228.42±23.43[b]	230.45±36.75[a]	清新的, 果味, 酒精, 甜
1-辛醇	C111875	177.63±4.13[b]	61.85±6.59[a]	香甜, 略带药草味, 蜡味
1-辛烯-3-醇D	C3391864	425.00±19.03[b]	63.40±3.75[a]	蘑菇, 熏衣草, 玫瑰
1-辛烯-3-醇M	C3391864	2821.24±62.57[b]	748.69±68[a]	蘑菇, 熏衣草, 玫瑰
1-戊烯-3-醇	C616251	725.58±24.99[b]	261.11±18.23[a]	绿色, 果香
(Z)-2-戊烯-1-醇	C1576950	126.49±6.19[b]	47.41±1.07[a]	绿色, 塑料, 橡胶
1-戊醇D	C71410	1311.36±18.33[b]	138.03±19.62[a]	香膏
1-戊醇M	C71410	2194.51±12.03[b]	733.12±91.81[a]	香膏
1-戊醇聚合物	C71410	76.21±4.36[b]	26.03±2.18[a]	香膏
∑醇类	–	9772.30±160.86[b]	2449.90±246.85[a]	–
酮类9种				
1-辛烯-3-酮	C4312996	132.60±5.23[a]	393.01±12.25[b]	蔬菜香韵, 有很淡的鱼和鸡肉的香气
2-丁酮D	C78933	4971.55±17.54[b]	2266.78±364.06[a]	果香
2-丁酮M	C78933	1570.83±86.81[a]	1838.71±36.41[b]	果香
2-庚酮D	C110430	385.76±22.1[b]	59.31±0.28[a]	梨, 香蕉似的果香
2-庚酮M	C110430	1114.79±33.45[b]	400.62±24.65[a]	梨, 香蕉似的果香
2-己酮	C591786	215.67±7.59[b]	126.24±7.95[a]	果香, 黄油
4-庚酮	C123193	117.17±8.90[a]	118.80±14.48[a]	果香
乙偶姻	C513860	641.18±29.26[b]	493.53±49.52[a]	黄油味, 奶油味
丙酮	C67641	1510.44±891.72[b]	488.03±228.79[a]	清新, 苹果, 梨
∑酮类	–	10659.99±848.56[b]	6185.03±444.06[a]	–
酯类5种				
乙酸乙酯D	C141786	153.85±3.78[a]	367.71±81.14[b]	清新的, 果味, 甜味, 草味
乙酸乙酯M	C141786	449.07±15.80[a]	787.91±58.97[b]	清新的, 果味, 甜味, 草味
甲酸戊酯D	C638493	53.52±1.48[b]	17.03±2.47[a]	果香
甲酸戊酯M	C638493	447.49±6.74[b]	80.03±5.25[a]	果香
2-甲基丁酸丙酯	C539902	255.97±8.54[b]	65.42±2.77[a]	苹果, 菠萝
∑酯类	–	1359.9±10.16[a]	1318.09±146.77[a]	–
其他类2种				
2-戊基呋喃	C3777693	636.44±34.92[b]	176.49±11.43[a]	豆香, 果香, 青香
噻吩	C110021	524.46±52.51[a]	969.29±76.64[b]	坚果, 硫
∑其他类		1160.90±23.62[a]	1145.79±86.21[a]	–

续表 8

中文名称	CAS号	峰体积(mv·min)		气味特征
		EH	KB	
∑挥发性物质	–	59451.70±2380.09[b]	33262.36±2248.19[a]	–

注：EH：藏羊肉酶解液；KB：藏羊肉未酶解液；M：挥发性物质单体；D：挥发性物质二聚体；“–”表示无内容；气味特征来自气味描述数据库Flavornet and human odor space；同行不同字母之间差异显著（P<0.05）；表9~表12同。

献[30]。KB 组与 EH 组的醛类物质浓度分别占整个风味物质的 66.63% 和 61.39%。经酶解后风味物质含量大幅度增加，说明藏羊肉酶解后会释放大量的挥发性化合物。如表 8 所示，与 KB 组相比，EH 组醛类物质己醛 (D、M)、2-甲基丁醛 D、3-甲基丁醛(D、M)、3-甲基-2-丁烯醛(D、M)、苯甲醛(D、M)、庚醛(D、M)、正壬醛(D、M)及正辛醛 D 的含量较高，使酶解液具有苦杏仁味，巧克力味、果香味及较强的油脂气味。而 (E)-2-庚烯醛 M 和正戊醛 M 在 KB 组中的浓度较高，使其赋予辛辣味和青草味。Jin 等[31] 研究发现，1-辛烯-3 醇和己醛是鸡肉的主要风味物质。本研究中己醛含量是酶解液最高的，占整个醛类物质的 21.44%，是酶解液的主要风味物质。

此外，EH 组和 KB 组中挥发性物质最多的是醛类物质，其次是醇类物质，分别占整个风味物质的 16.43% 和 7.36%，是羊肉主要的挥发性成分之一，其主要是由脂肪酸降解产生的，阈值仅次于醛类物质，对酶解液的风味具有重要作用[32]。1-辛烯-3-醇(D、M)和 1-戊醇(D、M)在酶解液中含量较高，分别占整个风味物质的 5.46% 和 5.90%，1-辛烯-3-醇具有令人愉悦的蘑菇味和青草味，有助于形成肉香味[33]。虽然酮类物质种类少于醛类和醇类物质，但其挥发性成分的含量在 EH 组和 KB 组中的占比较高，分别占 17.93% 和 18.58%。其中 2-丁酮(M)在 KB 组中含量较高，使其赋予樟脑香味及果香味。酯类物质主要来自醇和脂肪酸的综合作用。本研究共检出 5 种酯类物质，包括 2-甲基丁酸丙酯、乙酸乙酯 D、乙酸乙酯 M、甲酸戊酯 D 及甲酸戊酯 M。其中乙酸乙酯相对含量较高，使其具有果香味。同时，噻吩含量较高，使未酶解液具有芳香气味。

2.4.3　酶解前后藏羊肉挥发性物质的相对气味活度值(ROVA)分析　为进一步明确酶解前后藏羊肉的气味成分，通过计算 ROVA 值来评价各挥发性物质对藏羊肉的贡献程度。即 ROVA 值越大，对样品的贡献率就越大[34]。其中，ROVA 值>1 的组分为样品的关键风味物质，而 0.1<ROVA 值<1 的组分为重要的挥发性物质。由于己醛的阈值较低，相对含量较高，对藏羊肉的风味贡献率最大，故将己醛的 ROVA 值设定为 100。如表 9 所示，ROVA 值>1 的挥发性物质有 16 种，包括己醛、(E)-2-庚烯醛、(E)-2-辛烯醛、(Z)-4-庚醛、1-辛烯-3-醇、1-辛烯-3-酮、2-癸烯醛、2-甲基丁醛、2-戊基呋喃、2-苯基乙醛、3-甲基丁醛、癸醛、庚醛、正壬醛、正辛醛及正戊醛。其中，除了 (E)-2-庚烯醛、1-辛烯-3-酮及正戊醛外，EH 组其他挥发性成分的 ROVA 值显著高于 KB 组(P<0.05)。此外，0.1<ROVA 值<1 的风味物质有 2-庚酮、2-己烯醛、4-庚酮、苯甲醛及噻吩。其中，KB 组 4-庚酮和噻吩的 ROVA 值显著高于 EH 组(P<0.05)，其具有果香及硫味，使藏羊肉 KB 组具有独特的味道。

表 9　酶解前后藏羊肉相对气味活度值

Table 9　Relative odor activity value of Tibetan mutton before and after enzymatic hydrolysis

名称	阈值 (mg/kg)[35]	ROVA值		气味特征
		EH	KB	
己醛	0.005	100	100	新鲜的，青香，脂肪味，水果味
(E)-2-庚烯醛	0.013	3.09	3.95	辛辣的，青香蔬菜，新鲜，脂肪
(E)-2-辛烯醛	0.003	10.20	5.76	新鲜黄瓜，脂肪，青香草药
(Z)-4-庚醛	0.0008	9.54	9.37	青草，油脂味
1-辛烯-3-醇	0.01	18.12	5.18	蘑菇，熏衣草，玫瑰和干草香气
1-辛烯-3-酮	0.0005	14.81	50.29	强烈的壤香，蘑菇香气，有很淡的鱼和鸡肉的香气
2-癸烯醛	0.001	11.60	8.12	甜橙香气，带脂蜡样气息
2-庚酮	0.14	0.60	0.21	梨，香蕉似的果香，轻微的药香
2-己烯醛	0.017	0.91	0.63	甜杏仁，果味，绿叶，苹果，蔬菜
2-甲基丁醛	0.003	32.40	13.41	苦杏仁味，可可，麦芽
2-戊基呋喃	0.006	5.92	1.88	豆香，果香，泥土，青香
2-苯基乙醛	0.004	2.37	0.75	风信子香气，水果甜香，杏仁
3-甲基丁醛	0.0024	58.66	22.39	巧克力，脂肪味
4-庚酮	0.0082	0.80	0.92	果香
苯甲醛	0.35	0.29	0.13	苦杏仁，樱桃及坚果香
癸醛	0.0001	50.98	39.66	甜香，蜡香，花香，脂肪
庚醛	0.003	90.70	58.62	新鲜，醛，脂肪，青香草药，酒
正壬醛	0.008	27.52	11.11	玫瑰香气，有强的油脂气味
正辛醛	0.0031	96.03	43.30	醛，蜡味，柑橘，果香，脂肪
正戊醛	0.012	19.56	20.43	青草气味，带微弱香蕉味
噻吩	0.084	0.35	0.74	坚果，硫

2.4.4　酶解前后藏羊肉挥发性成分 OPLS-DA 分析　正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)是一种用来识别不同类别样品之间差异的方法[36]。为进一步分析两种样品中的香气特征变化，采用 OPLS-DA 对酶解前后藏羊肉进行差异性分析。如图 11a 所示，两种样品组内之间较聚集，组间之间较分离，表明两样品之间差异显著(P<0.05)。经过两百次置换检验，如图 11b 所示，R^2=0.9999，Q^2=0.9985，且截距为负值，表明该模型可靠，拟合良好，不存在过拟合现象。

为了进一步区分不同风味物质对酶解前后藏羊肉的贡献率，使用变量投影重要性进行表征[37]。如图 11c 所示，两种样品中 VIP>1.5 的风味物质有 7 种，包括己醛 D、正戊醛 M、2-丁酮 M、己醛 M、正辛醛 D、1-辛烯-3-醇 M 及噻吩。

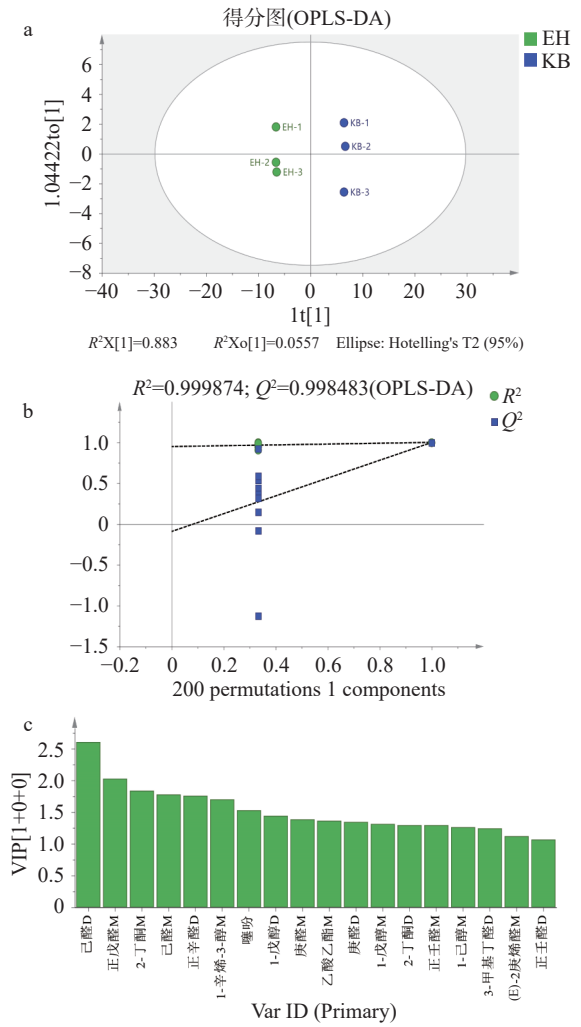


图 11　酶解前后藏羊肉挥发性成分得分图(a)、置换检验图(b)及 VIP 图(c)

Fig.11　Scores of volatile components (a), displacement test (b) and VIP (c) of Tibetan mutton before and after enzymatic hydrolysis

2.4.5　酶解前后藏羊肉呈味核苷酸组成分析　呈味核苷酸是一种风味增强剂，能与其他呈味物质有协同增鲜的作用，且能显著增强食品的风味，特别是 GMP、IMP 和 AMP[24,37]。两种样品的核苷酸含量如表 10 所示。由表 10 所知，两种样品中均检出尿苷酸(5'-UMP)、鸟苷酸(5'-GMP)、肌苷酸(5'-IMP)及腺苷酸(5'-AMP)。其中，EH 组的 5'-UMP、5'-GMP 及 5'-IMP 的含量显著高于 KB 组(P<0.05)，其中，5'-IMP 的 TAV 值>1，对酶解液的呈味具有重要贡献。而 AMP 的含量酶解后明显降低，可能是在酶解过程中发生了降解，但这有利于挥发性风味物质的形成[38]。

表 10　酶解前后藏羊肉呈味核苷酸组成及含量

Table 10　Composition and content of flavor nucleotides in Tibetan mutton before and after enzymatic hydrolysis

名称	阈值(mg/100 g)[39]	味道特征	含量(μg/mL)		TAV	
			EH	KB	EH	KB
5'-UMP	–	鲜味	3.97±0.02^b	3.48±0.02^a	–	–
5'-GMP	12.5	鲜味	10.42±0.04^b	6.94±0.01^a	0.08	0.06
5'-IMP	25	鲜味	287.75±0.02^b	222.98±0.03^a	1.15	0.89
5'-AMP	50	鲜味/甜味	16.59±0.02^a	37.5±0.01^b	0.030	0.075

2.4.6　酶解前后藏羊肉呈味氨基酸组成分析及鲜味评价　酶解前后藏羊肉呈味氨基酸见表 11 所示。如表 11 所示，从两种样品中共检出 29 种呈味氨基酸，即两种样品中呈味氨基酸含量差异显著(P<0.05)。整体而言，HE 组的鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸和总游离氨基酸的含量显著高于 KB 组(P<0.05)，且 Guo 等[40]观察到，酶解过程增强了鸡胸肉水解物中游离氨基酸的释放，这与本研究结果相似。其中，与 KB 组相比，鲜味氨基酸中谷氨酸的含量较高，是酶解液的主要鲜味物质，而甜味氨基酸占总游离氨基酸的 31.47%，且赖氨酸和丙氨酸的含量较高，是酶解液的主要甜味氨基酸。同时，苦味氨基酸是鸡肉酶解物中的主要氨基酸，占总游离氨基酸的一半以上[41]。本研究发现酶解液苦味氨基酸占总游离氨基酸的 65.00%，与其结果相一致，且研究发现芳香族氨基酸在低浓度阈值下能够显著提高甜味

表 11　酶解前后藏羊肉呈味氨基酸组成及 TAV

Table 11　Tibetan mutton showed flavor amino acid composition and TAV before and after enzymatic hydrolysis

氨基酸	呈味特征	阈值(mg/100 g)[39]	含量(mg/100 g)		TAV	
			HE	KB	HE	KB
			鲜味氨基酸			
谷氨酸Glu	鲜味	30	66.55±5.00^b	14.95±0.71^a	2.22	1.10
天冬氨酸ASP	甜/鲜味	100	6.18±0.45^a	10.02±0.88^b	0.06	0.35
	∑鲜味氨基酸		72.73±5.28^b	24.97±1.55^a	–	–
			甜味氨基酸			
丝氨酸Ser	甜味	150	37.79±3.13^b	14.05±0.93^a	2.52	1.23
甘氨酸Gly	甜味	130	44.54±0.76^a	62.55±3.74^b	3.43	1.56
苏氨酸Thr	甜味	260	103.26±8.03^b	7.06±1.45^a	3.97	1.71
丙氨酸Ala	甜味	60	122.01±9.39^b	83.40±4.56^a	2.03	1.02
脯氨酸Pro	甜/苦味	300	4.16±0.25^a	5.33±0.06^b	0.01	0.34
赖氨酸Lys	甜/苦味	50	337.77±21.62^b	11.32±1.27^a	6.76	2.63
	∑甜味氨基酸		649.52±40.93^b	183.72±9.54^a	–	–

续表 11

氨基酸	呈味特征	阈值（mg/100 g）[39]	含量（mg/100 g）		TAV	
			HE	KB	HE	KB
			苦味氨基酸			
精氨酸Arg	苦/甜味	50	131.59±4.96^{b}	43.49±1.14^{a}	2.63	1.23
酪氨酸Tyr	苦/甜味	91	94.19±9.22^{b}	9.98±0.65^{a}	1.04	0.68
缬氨酸Val	苦/甜味	40	269.93±20.72^{b}	16.78±1.59^{a}	6.75	2.64
组氨酸His	苦味	20	105.14±2.76^{b}	59.53±1.38^{a}	5.26	2.17
异亮氨酸Ile	苦味	90	195.74±9.34^{b}	3.60±0.31^{a}	2.17	1.07
亮氨酸Leu	苦味	190	26.02±0.56^{b}	15.39±0.74^{a}	0.14	0.38
苯丙氨酸Phe	苦味	90	361.66±31.96^{b}	15.11±0.17^{a}	4.02	1.69
甲硫氨酸Met	苦/甜/硫	30	154.81±14.79^{b}	5.78±0.20^{a}	5.16	2.11
胱氨酸Cys	苦/甜/硫	–	2.30±0.09^{b}	1.08±0.04^{a}	–	–
	∑苦味氨基酸		1341.38±88.53^{b}	170.74±5.82^{a}	–	–
	∑AA		2063.64±133.98^{b}	379.42±16.80^{a}	–	–
	EUC（g MSG/100 g）		2.64±0.20^{b}	0.49±0.02^{a}	–	–

和鲜味[42]，而本研究中发现酶解后苯丙氨酸和酪氨酸的含量显著增加（P<0.05）。此外，为了客观评价呈味氨基酸对样品的贡献程度，采用滋味活度值的方法对酶解前后藏羊肉进行评价。TAV>1，说明这些氨基酸对样品的呈味有显著的影响（P<0.05）。就鲜味氨基酸而言，谷氨酸在两种样品中 TAV 都大于 1。就甜味氨基酸而言，丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、苏氨酸及赖氨酸在两种样品中 TAV 都大于 1，而脯氨酸在酶解前后 TAV 均小于 1，对样品甜味没有显著的影响（P>0.05）。就苦味氨基酸而言，除了亮氨酸，异亮氨酸、精氨酸、酪氨酸、缬氨酸、组氨酸、苯丙氨酸及甲硫氨酸均对样品的苦味有重要贡献。

呈味氨基酸和呈味核苷酸具有协同效应，能够显著影响酶解前后藏羊肉的呈味强度[43–44]。因此，采用等效鲜味浓度（EUC）来比较鲜味强度。如表 11 所示，HE 组的鲜味强度显著高于 KB 组（P<0.05），为 2.64 g MSG/100 g，是酶解前的 5.38 倍，呈鲜效果较好。

2.4.7　酶解前后藏羊肉脂肪酸组成及含量分析　脂肪酸的组成及含量直接影响酶解前后藏羊肉的营养价值和风味品质[44]。如表 12 所示，在两种样品中共检测出 40 种脂肪酸，其中包含 17 种饱和脂肪酸（SFA）和 23 种不饱和脂肪酸（UFA）。整体而言，KB 组的总脂肪酸含量显著高于 EH 组（P<0.05），表明藏羊肉在酶解过程中脂质发生了氧化，导致挥发性化合物含量的增加[45–46]，这与本研究结果一致，EH 组的挥发性成分的含量显著高于 KB 组。研究发现饱和脂肪酸具有提高人体内低密度脂蛋白胆固醇含量的作用，会引起心血管疾病[46]。而 SFA 含量在 KB 组中含量较高。此外，两种样品中共检出 8 种单不饱和脂肪酸（MUFA）和 15 种多不饱和脂肪酸（PUFA）。Lü等[47] 研究发现脂质氧化降解的主要是不饱和脂肪酸，如油酸，亚油酸及亚麻酸。本研究中，相比于酶解前，油酸降低了 22.57%，亚油酸降低

表 12　酶解前后藏羊肉脂肪酸组成及含量

Table 12　Fatty acid composition and content of Tibetan mutton before and after enzymatic hydrolysis

名称	英文简写	含量（μg/mL）	
		EH	KB
己酸	C6:0	0.02±0.00^{a}	0.01±0.00^{a}
辛酸	C8:0	0.12±0.00^{b}	0.08±0.00^{a}
癸酸	C10:0	0.36±0.00^{a}	1.66±0.01^{b}
十一烷酸	C11:0	0.02±0.00^{a}	0.06±0.00^{b}
月桂酸	C12:0	1.83±0.01^{a}	8.96±0.01^{b}
十三烷酸	C13:0	0.07±0.00^{a}	0.32±0.00^{b}
肉豆蔻酸	C14:0	25.02±0.09^{a}	89.44±0.50^{b}
肉豆蔻烯酸	C14:1 N-5	0.94±0.00^{a}	5.23±0.01^{b}
十五烷酸	C15:0	2.65±0.03^{a}	10.10±0.04^{b}
十五碳烯酸	C15:1n5 cis	3.31±0.01^{b}	2.56±0.04^{a}
棕榈酸	C16:0	154.35±0.87^{a}	277.34±1.60^{b}
棕榈油酸	C16:1 N-7 cis	18.13±0.10^{a}	73.65±0.27^{b}
十七烷酸	C17:0	6.61±0.03^{a}	23.58±0.03^{b}
十七碳烯酸	C17:1 N-7 cis	6.19±0.09^{a}	18.18±0.15^{b}
硬脂酯酸	C18:0	127.40±0.90^{b}	251.46±1.00^{a}

续表 12

名称	英文简写	含量(μg/mL)	
		EH	KB
反油酸	C18:1 N-9T	4.75±0.05[a]	13.31±0.18[b]
油酸	C18:1 N-9	298.53±1.65[a]	472.58±0.89[b]
反亚油酸	C18:2 N-6,9 all-trans	0.52±0.00[b]	0.48±0.00[a]
亚油酸	C18:2 N-6,9 all-cis	77.61±0.38[a]	84.68±0.49[b]
γ-亚麻酸	C18:2 N-6,9,12 all-cis	0.66±0.00[a]	1.09±0.00[b]
亚麻酸	C18:3 N-3,6,9 all-cis	6.15±0.07[a]	13.35±0.08[b]
花生酸	C20:0	1.74±0.00[a]	3.96±0.01[b]
二十碳烯酸	C20:1 N-9 cis	2.52±0.02[a]	5.61±0.06[b]
二十碳二烯酸	C20:2 N-6,9 all-cis	6.36±0.09[b]	4.18±0.01[a]
二十碳三烯酸	C20:3 N-6,9,12 all-cis	3.18±0.01[b]	2.29±0.00[a]
二十碳三烯酸	C20:3 N-3,6,9 all-cis	0.17±0.00[a]	0.20±0.00[b]
花生四烯酸	ARA	30.35±0.16[b]	19.43±0.05[a]
二十碳五烯酸	EPA	4.15±0.03[b]	3.03±0.01[a]
二十一烷酸	C21:0	0.06±0.00[a]	0.12±0.00[b]
山嵛酸	C22:0	0.21±0.00[a]	0.24±0.00[b]
芥酸	C22:1 N-9	0.65±0.00[a]	1.33±0.02[b]
二十二碳二烯酸	C22:2 N-6,9 cis	0.76±0.01[a]	0.87±0.02[b]
肾上腺酸/二十二碳四烯酸	C22:4 N-6,9,12,15 cis	1.78±0.01[b]	1.27±0.01[a]
二十二碳五烯酸	DPA	6.59±0.05[b]	5.67±0.04[a]
二十二碳五烯酸	DPA	0.41±0.00[b]	0.34±0.00[a]
二十二碳六烯酸	DHA	1.11±0.01a	1.10±0.04[a]
二十三烷酸	C23:0	0.01±0.00a	0.04±0.00[b]
木蜡酸	C24:0	0.04±0.00a	0.05±0.00[a]
神经酸	C24:1 N-9 cis	0.03±0.00a	0.51±0.01[b]
总饱和脂肪酸	Total_SFA	320.50±1.80[a]	667.41±3.03[b]
总单不饱和脂肪酸	Total_MUFA	335.05±1.75[a]	592.96±0.79[b]
总多不饱和脂肪酸	Total_PUFA	139.81±0.15[b]	137.98±0.46[a]
总n-3多不饱和脂肪酸	Total_N3	18.17±0.14[a]	23.34±0.04[b]
总n-6多不饱和脂肪酸	Total_N6	121.64±0.27[b]	114.63±0.50[a]

了 4.36%, 亚麻酸降低了 36.93%。例如, 油酸形成 8-、9-、10-和 11-氢过氧化物, 进一步产生许多挥发性化合物, 如戊醛、辛醛、己醛和庚醛等[48]。而亚油酸在氧气存在下产生 9-和 13-氢过氧化物, 及亚麻酸产生 9-和 10-及 16-氢过氧化物, 最后产生各种挥发物, 包括 2,4-癸二烯醛、2-辛烯醛和己醛等[48]。油酸含量在两种样品中是最高的, 分别占总脂肪酸含量的 37.53% 和 33.80%, 是两种样品的主要脂肪酸。

3 结论

本研究通过单因素实验结合响应面试验得出了藏羊肉最佳酶解条件为酶配比 3∶1、料液比 1∶2、加酶量 0.9%、酶解时间 3.5 h、pH8.2 及酶解温度 56 ℃, 在该条件下水解度、多肽得率及整体风味分别为 28.08%、81.14% 及 18.00 分。通过对酶解前后藏羊肉挥发性物质分析发现, EH 组的挥发物质浓度显著高于 KB 组(P<0.05), 尤其是醛类、醇类和酮类物质, 使酶解液具有较高的果香味和青草味。同时通过多元统计分析确定了己醛单体、己醛二聚体、1-辛烯-3-醇单体、正戊醛单体及正辛醛二聚体等为两样品的特征风味物质。此外, 所制备的酶解产物中鲜味和甜味氨基酸含量占总呈味氨基酸含量的 34.99%, 5'-UMP、5'-GMP 及 5'-IMP 含量显著高于 KB 组(P<0.05), 且 EUC 含量较高, 鲜味突出。同时, KB 组的脂肪酸含量显著高于 EH 组(P<0.05), 达到 63.74%。这为后期开发调味基料提供了数据支持和理论参考。

© The Author(s) 2026. 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] MA Ying, HAN Lijuan, HOU Shengzhen, et al. Fatty acids and volatile flavor components of adipose tissue from local Tibetan sheep in Qinghai with dietary supplementation of palm kernel meal (PKM)[J]. Animals, 2024, 14(14): 2113.

[2] ZHANG Jingcheng, ZHANG Jincheng, LIANG Li, et al. Identification and virtual screening of novel umami peptides from chicken soup by molecular docking[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134414.

[3] 王帅, 王颖, 贺羽. 超微虾粉的制备及其在提鲜调味料中的应用[J]. 中国调味品, 2024, 49(11): 136−139,157. [WANG Shuai, WANG Ying, HE Yu. Preparation of ultrafine shrimp powder and its application in umami-enhancing seasoning[J]. China Condiment, 2024, 49(11): 136−139,157.]

［4］ 温志鹏. 海带鲜味肽的分离纯化、鉴定及性质研究[D]. 广州：华南理工大学, 2019. ［WEN Zhipeng. Researches on isolation, purification, identification and properties of umami peptides from kelp[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.］
［5］ ZHANG Junwei, TU Zongcai, HU Zizi, et al. Efficient preparation of oyster hydrolysate with aroma and umami coexistence derived from ultrasonic pretreatment assisted enzymatic hydrolysis[J]. Food Chemistry, 2024, 437: 137881.
［6］ CHEUNG I W Y, LI-CHAN E C Y. Application of taste sensing system for characterisation of enzymatic hydrolysates from shrimp processing by-products[J]. Food Chemistry, 2014, 145: 1076−1085.
［7］ CHEN Tianyu, ZHANG Fanxin, CHEN Shengjun, et al. Improvement mechanism of umami peptides in oyster juice by cooperative enzymolysis of alcalase and trypsin based on peptidomics and molecular docking[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 132: 106326.
［8］ CHEN Daoyou, RONG Mingli, TANG Shuting, et al. A novel directed enzymolysis strategy for the preparation of umami peptides in *Stropharia rugosoannulata* and its mechanism of taste perception[J]. Food Chemistry, 2025, 468: 142385.
［9］ ZHANG Yongsheng, WANG Yanping, JIANG Fang, et al. Sensory characteristics of Maillard reaction products from chicken protein hydrolysates with different degrees of hydrolysis[J]. CyTA - Journal of Food, 2019, 17(1): 221−227.
［10］ 曾晨. 东海大黄鱼鲞鲜味肽的分离鉴定及呈味特性研究[D]. 舟山：浙江海洋大学, 2022. ［ZENG Chen. Isolation, identification, and taste characteristics of umami peptides from dry-cured large yellow croaker from the East China Sea[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2022.］
［11］ 李自会, 段晓杰, 刘昆仑, 等. 鸡骨架和鸡胸肉复合底物酶解工艺优化及产物呈味特性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 184−192. ［LI Zihui, DUAN Xiaojie, LIU Kunlun, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of chicken skeleton and chicken breast composite substrate and flavor properties of hydrolysates[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 184−192.］
［12］ GE Shipeng, HAN Lijuan, HOU Shengzhen, et al. Influence of cooking methods on flavor parameters and sensory quality of Tibetan sheep meat examined using an electronic nose, an electronic tongue, GC-IMS, and GC-MS[J]. Foods, 2025, 14(13): 2181.
［13］ 李自会. 鸡肉风味基料的酶解制备及其呈味机理研究[D]. 郑州：河南工业大学, 2023. ［LI Zihui. Preparation of chicken flavor base by enzymatic hydrolysis and its flavor formation mechanism[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.］
［14］ 鲁伟, 任国谱, 宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 169−171. ［LU Wei, REN Guopu, SONG Junmei. Determination of content of peptides in protein hydrolysates[J]. Food Science, 2005, 26(7): 169−171.］
［15］ 周慧江, 朱振宝, 易建华. 核桃蛋白水解物水解度测定方法比较[J]. 粮食与油脂, 2012, 25(2): 28−30. ［ZHOU Huijiang, ZHU Zhenbao, YI Jianhua. Various methods available for determination of hydrolyzed degree of walnut protein[J]. Cereals & Oils, 2012, 25(2): 28−30.］
［16］ HUANG Yongji, WANG Ling, LI Yulang, et al. Comparative analysis of key flavor compounds in various Baijiu types using E- nose, HS-SPME-GC–MS/MS, and HS-GC-IMS technologies[J]. Food Chemistry: X, 2025, 29: 102689.
［17］ 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法：“ROAV”法[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 370−374. ［LIU Dengyong, ZHOU Guanghong, XU Xinglian. “ROAV” method: A new method for determining key odor compounds of Rugao ham[J]. Food Science, 2008, 29(7): 370−374.］
［18］ 纪晓萌, 王真, 任南, 等. 高效液相色谱法测定肉制品中多种游离核苷酸[J]. 食品科学, 2025, 46(13): 341−350. ［JI Xiaomeng, WANG Zhen, REN Nan, et al. Determination of multiple free nucleotides in meat products by high performance liquid chromatography[J]. Food Science, 2025, 46(13): 341−350.］
［19］ ZHANG Xue, HAN Lijuan, HOU Shengzhen, et al. Effects of different feeding regimes on muscle metabolism and its association with meat quality of Tibetan sheep[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131611.
［20］ TAN Xiaoyi, QI Libo, FAN Fengjiao, et al. Analysis of volatile compounds and nutritional properties of enzymatic hydrolysate of protein from cod bone[J]. Food Chemistry, 2018, 264: 350−357.
［21］ 徐永霞, 曲诗瑶, 李涛, 等. 不同蛋白酶对蓝蛤酶解液风味特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(4): 190−196. ［XU Yongxia, QU Shiyao, LI Tao, et al. Effects of different proteases on the flavor characteristics of Aloididae aloidi muscle hydrolysates[J]. Food Science, 2021, 42(4): 190−196.］
［22］ 阿丽耶·司马义, 热伊汉古丽·萨地克, 黄蓉, 等. 羊肉蛋白酶解工艺优化及酶解液中氨基酸含量分析[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(1): 92−98. ［［ALIYA Simayil, REYIHANGUL Sadik, HUANG Rong, et al. Optimization of mutton protein enzymatic hydrolysis process and analysis of amino acid content in the hydrolysate[J]. Food Research and Development, 2024, 45(1): 92−98.］
［23］ 唐霄, 孙杨赢, 江雪婷, 等. 不同蛋白酶制备鹅肉呈味肽的对比分析[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 141−146. ［TANG Xiao, SUN Yangying, JIANG Xueting, et al. Comparative analysis of flavor peptides prepared by enzymatic hydrolysis of goose meat with different proteases[J]. Food Science, 2019, 40(22): 141−146.］
［24］ CHIANG J H, LOVEDAY S M, HARDACRE A K, et al. Effects of enzymatic hydrolysis treatments on the physicochemical properties of beef bone extract using endo- and exoproteases[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(1): 111−120.
［25］ RUNGCHANG S, SRINGARM C, NUMTHUAM S, et al. Hydrolysis kinetics amino acid profiling and antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from desalted egg white[J]. Scientific Reports, 2025, 15: 44270.
［26］ 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 Yu, CAO Wenhong, CHEN Zhongqin, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis process of *Monetaria moneta* and flavor characteristics of its products[J]. China Condiment, 2023, 48(3): 11−17.］
［27］ 安攀宇, 赵珊, 张森, 等. 响应面法优化鸡胸肉蛋白酶解工艺[J]. 肉类研究, 2018, 32(11): 22−29. ［AN Panyu, ZHAO Shan, ZHANG Miao, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of chicken breast proteins by response surface methodology[J]. Meat Research, 2018, 32(11): 22−29.］
［28］ 邬威, 王瑾, 付余. 牛心肌蛋白酶解物的呈味特性与其结构关系研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(8): 15−21. ［WU Wei, WANG Jin, FU Yu. Protein hydrolysates from bovine cardiac muscle: Structure-taste relationship[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(8): 15−21.］
［29］ 杨杰. 鱼骨营养成分分析及鱼骨休闲食品的研制[D]. 石河

子: 石河子大学, 2018. [YANG Jie. Analysis of nutritional components on fishbone and development on fishbone snack food[D]. Shihezi: Shihezi University, 2018.]
[30] 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. [ZENG Xiaofeng, YAN Mi, GAI 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.]
[31] JIN Yuxi, CUI Huanxian, YUAN Xiaoya, et al. Identification of the main aroma compounds in Chinese local chicken high-quality meat[J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129930.
[32] CAI Luyun, LI Dongmei, DONG Zhijian, et al. Change regularity of the characteristics of Maillard reaction products derived from xylose and Chinese shrimp waste hydrolysates[J]. LWT, 2016, 65: 908−916.
[33] 张婷, 祁路路, 潘道东, 等. 基于 SPME-GC-MS 和电子舌制备羊肉复合调味料[J]. 食品科学, 2021, 42(10): 225−234. [ZHANG Ting, QI Lulu, PAN Daodong, et al. Preparation of compound seasoning from lamb meat: Analysis of characteristic flavor compounds by SPME-GC-MS and electronic tongue[J]. Food Science, 2021, 42(10): 225−234.]
[34] 严林, 宋亚南, 贾哲, 等. HS-GC-IMS 结合化学计量学分析栀子炭炮制过程中挥发性成分的变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(14): 190−197. [YAN Lin, SONG Yanan, JIA Zhe, et al. Analysis of volatile component changes during processing of gardeniae fructus carbonisata by HS-GC-IMS combined with chemometrics[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2025, 31(14): 190−197.]
[35] 里奥·范海默特. 化合物嗅觉阈值汇编(原书第二版)[M]. 刘强, 冒德寿, 汤峨, 译. 北京: 科学出版社, 2018. [VAN GEMERT L J. Compilations of odour threshold values (second enlarged and revised edition)[M]. LIU Q, MAO D S, TANG E,translated. Beijing: Science Press, 2018.]
[36] CAI Ting, WU Haizhen, QIN Jialiang, et al. *In vitro* evaluation by PCA and AHP of potential antidiabetic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food[J]. LWT, 2019, 115: 108455.
[37] ZHANG Busheng, SUN Zhongguan, LIN Liangcai, et al. Analysis of the effect of mixed fermentation on the quality of distilled jujube liquor by gas chromatography-ion mobility spectrometry and flavor sensory description[J]. Foods, 2023, 12(4): 795.
[38] ZHANG Man, CHEN Xiao, HAYAT K, et al. Characterization of odor-active compounds of chicken broth and improved flavor by thermal modulation in electrical stewpots[J]. Food Research International, 2018, 109: 72−81.
[39] LIU Tiantian, XIA Ning, WANG Qinzhi, et al. Identification of the non-volatile taste-active components in crab sauce[J]. Foods, 2019, 8(8): 324.
[40] GUO Jing, CHEN Li, ZHOU Cunshan, et al. Preparation of umami peptides from chicken breast by batch coupled enzymatic hydrolysis and membrane separation mode and the taste mechanism of identified umami peptides[J]. Food Chemistry, 2024, 456: 139963.
[41] KONG Yan, YANG Xiao, DING Qi, et al. Comparison of non-volatile umami components in chicken soup and chicken enzymatic hydrolysate[J]. Food Research International, 2017, 102: 559−566.
[42] CHEN Dewei, ZHANG Min. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200−1205.
[43] WANG Sijia, DERMIKI M, METHVEN L, et al. Interactions of umami with the four other basic tastes in equi-intense aqueous solutions[J]. Food Quality and Preference, 2022, 98: 104503.
[44] JACHIMOWICZ K, WINIARSKA-MIECZAN A, TOMASZEWSKA E. The impact of herbal additives for poultry feed on the fatty acid profile of meat[J]. Animals, 2022, 12(9): 1054.
[45] WU Taoying, WANG Guangqiang, XIONG Zhiqiang, et al. Probiotics interact with lipids metabolism and affect gut health[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 917043.
[46] BRYL A, MRUGACZ M, FALKOWSKI M, et al. The effect of hyperlipidemia on the course of diabetic retinopathy-literature review[J]. Journal of Clinical Medicine, 2022, 11(10): 2761.
[47] LÜ Mingzhe, FANG Lei, YU Heping, et al. Discoloration mechanisms of natural rubber and its control[J]. Polymers, 2022, 14(4): 764.
[48] SHAHIDI F, HOSSAIN A. Role of lipids in food flavor generation[J]. Molecules, 2022, 27(15): 5014.