

基于 HS - GC - IMS 和 HS - SPME - GC - MS 的 蛋白酶对豆粕挥发性风味的影响分析

齐宝坤¹ 刘雨雯¹ 姚玉雪¹ 吴思雨¹ 孙树坤^{1,2} 陈昊²

(1. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 哈尔滨 150028)

摘要: 为研究不同蛋白酶酶解对豆粕挥发性风味成分的影响, 选用4种蛋白酶(碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶)对豆粕进行酶解, 采用顶空-气相色谱-离子迁移谱(Headspace - gas chromatography - ion mobility spectroscopy, HS - GC - IMS)和顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(Headspace solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry, HS - SPME - GC - MS)联用技术分析不同豆粕酶解物(Soybean meal hydrolysates, SMH)的挥发性风味成分, 并结合主成分分析(Principal component analysis, PCA)、热图聚类 and 正交偏最小二乘判别法(Orthogonal partial least squares - discriminant analysis, OPLS - DA)对不同 SMH 进行分析。结果表明: 碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶酶解豆粕的挥发性风味成分存在较大差异。HS - GC - IMS 鉴定出 84 种挥发性成分, 筛选得到 33 种差异风味物质, 发现酶解后酮类物质显著降低而醛类、醇类和酯类物质含量明显增加。PCA 结果表明不同 SMH 之间的风味存在显著差异。最终通过 OPLS - DA 筛选出贡献较大的挥发性化合物, 同时构建出可靠的用以鉴别 SMH 的模型。HS - SPME - GC - MS 检测出 103 种差异风味物质, 可用于区分不同 SMH, 被检出的挥发性组分中醛类、醇类和酮类等化合物为 SMH 风味的形成做出主要贡献, 明晰了部分风味化合物形成的原因。PCA 和聚类热图结果表明不同蛋白酶酶解对豆粕的挥发性风味物质的种类和含量有显著影响, 其中, 风味蛋白酶和木瓜蛋白酶对豆粕的风味改善最为显著。

关键词: 豆粕; 酶解; 顶空-气相色谱-离子迁移谱; 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2024)04-0352-16

OSID: 

Analysis of Effects of Proteases on Volatile Flavor of Soybean Meal Based on HS - GC - IMS and HS - SPME - GC - MS

QI Baokun¹ LIU Yuwen¹ YAO Yuxue¹ WU Siyu¹ SUN Shukun^{1,2} CHEN Hao²

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

2. Heilongjiang Green Food Science Research Institute, Harbin 150028, China)

Abstract: To investigate the effect of enzymatic digestion of different proteases on the volatile flavor components of soybean meal, four proteases (alkaline protease, neutral protease, papain, flavor protease) were selected to enzyme soybean meal, using a headspace - gas chromatography - ion mobility spectroscopy (HS - GC - IMS) and headspace solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry (HS - SPME - GC - MS) to analyze volatile flavor composition of different soybean meal hydrolysates (SMH), combined with the principal component analysis (PCA), heatmap clustering, and orthogonal partial least squares - discriminant analysis (OPLS - DA) to analyze the different SMH. The results showed that the volatile flavor components of alkaline protease, neutral protease, papain and flavor protease were quite different. HS - GC - IMS identified 84 volatile components, and screened 33 differential flavor substances, which found that the content of ketones and aldehyde, alcohols and esters were increased significantly after enzymatic digestion. The PCA results indicated significant differences in flavor between different SMH. Finally, volatile compounds with large contributions were selected by

收稿日期: 2023 - 08 - 16 修回日期: 2023 - 09 - 28

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2020ZX08B01 - 3)、黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZKYF2021 - 2 - B020)和黑龙江省自然科学基金项目(LH2022C085)

作者简介: 齐宝坤(1986—),男,副教授,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白质工程研究,E-mail: qibaokun22@163.com

通信作者: 陈昊(1979—),男,工程师,主要从事大豆精深加工研究,E-mail: chh_301@163.com

OPLS-DA, and reliable models used to identify SMH were constructed. HS-SPME-GC-MS detected 103 different flavor substances that could be used to distinguish different SMH. The volatile compounds such as aldehyde, alcohols, and ketones made major contributions to the formation of SMH flavor, which clarified the reasons for the formation of some flavor compounds. PCA and cluster heat map results showed that the enzyme digestion of different proteases had a significant influence on the type and content of volatile flavor substances of soybean meal, among which, flavor protease and papain showed the most significant flavor improvement of soybean meal.

Key words: soybean meal; hydrolysates digestion; headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry; headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

0 引言

豆粕是豆油生产过程中的主要副产物,富含蛋白质和必需氨基酸,然而豆粕制品保留了由醛、酮和胺类等挥发性化合物产生的大豆特有的豆腥味,降低了风味品质^[1]。生物酶解技术是天然调味基料生产的常用方法,具有反应条件温和、耗能低、污染少、反应定向可控等诸多优点,是目前提高豆粕利用率的重要手段之一^[2]。豆粕在酶解过程中,催化分解蛋白质肽键,将大分子蛋白降解成小分子蛋白、小肽、氨基酸等,提高豆粕的营养价值,产生更多的挥发性风味物质,改善豆粕风味^[3]。由于蛋白酶具有底物专一性,不同蛋白酶作用于肽链的位点不同,对酶解物的风味成分也有重要影响^[4]。例如,文献[5]通过 α -淀粉酶、普鲁兰聚糖酶、 α -淀粉酶和普鲁兰酶双酶酶解分析苦荞麦中挥发性风味化合物的组成和含量,结果发现双淀粉酶水解对苦荞麦的营养成分和风味的改善最为明显。文献[6]为了制备具有较好功能特性和低苦味的蛋白质酶解物,用 7 种蛋白酶酶解大豆粉,结果发现风味蛋白酶酶解物不仅具有最好的乳化活性和乳化稳定性,并且降低了苦味值。然而,豆粕与不同蛋白酶酶解产生的风味成分之间的关系仍不清晰,因此,本文通过顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(Headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry,HS-SPME-GC-MS)和顶空-气相色谱-离子迁移谱(Headspace-gas chromatography-ion mobility spectroscopy,HS-GC-IMS)研究不同蛋白酶酶解对豆粕挥发性风味成分的影响。

目前,在挥发性风味成分检测中多采用 HS-SPME-GC-MS 技术^[7]。文献[8]采用 HS-SPME-GC-MS 评估酿酒酵母和植物乳杆菌对豌豆蛋白豆腥味的影 响,发现酿酒酵母和植物乳杆菌发酵可以去除豌豆蛋白中的豆腥味。文献[9]采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术对低孢根霉发酵的甘薯渣的挥发性风味进行分析,发现发酵可以增强甘薯

渣的香气。HS-SPME-GC-MS 是食品中分离和定量挥发性化合物的常用方法,但此技术无法分析鉴定出一些含量少但对风味至关重要的物质^[10]。HS-GC-IMS 是近年来新兴的一种分析方法,该技术基于离子迁移分离原理能够高效分离化合物中的同分异构体,具有灵敏度高、分析速度快、操作简单等优点,且样品几乎不需要任何前处理^[11]。由于 HS-GC-IMS 技术相对于传统分析技术具有诸多优势,其在挥发性有机化合物(Volatile organic compounds,VOCs)分析中具有较大的应用潜力^[12]。但应用此技术检测豆粕风味成分的研究较少。因此,本文采用 HS-SPME-GC-MS 和 HS-GC-IMS 两种技术结合的方法对不同豆粕酶解物(Soybean meal hydrolysates,SMH)挥发性风味成分进行研究。

本文采用碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和风味蛋白酶对豆粕进行单酶酶解,通过 HS-GC-IMS 和 HS-SPME-GC-MS 对不同 SMH 中风味物质进行检测,并结合主成分分析(Principal component analysis,PCA)、聚类热图和正交偏最小二乘判别法(Orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)对不同 SMH 中风味物质进行分析,比较挥发性香气成分的差异,旨在为豆粕的酶解及深加工利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆,黑龙江省九三粮油工业集团;碱性蛋白酶(200 000 U/g),中性蛋白酶(50 000 U/g),木瓜蛋白酶(100 000 U/g),风味蛋白酶(酶活力 500 U/g 以上),北京索莱宝科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

AL204 型分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;HP-5MS 型色谱柱和气相色谱质谱联用仪,美国 Agilent 公司;MXT-5 型色谱柱和

FlavourSpec 型 GC - IMS 联用仪,德国 Gesellschaft für Analytische Sensorsystem(G. A. S)公司;20 mL 顶空样品瓶,美国 Supelco 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 豆粕酶解物制备

参考文献[13]的酶解方法选取4种蛋白酶的最佳酶解条件,大豆经清选、干燥、脱皮后,将其输送到榨油机内,于40℃、3 MPa 压榨提取油脂,经分离得到冷榨豆饼,对冷榨后形成的豆饼进行粉碎过80目筛即得豆粕。将豆粕样品用蒸馏水配制成8%的豆粕悬浊液,于121℃灭菌15 min,冷却至室温(20℃),利用1 mol/L NaOH 或1 mol/L HCl 溶液调节酶解体系至蛋白酶最适pH值,加入适量蛋白酶后放入摇床振荡,防止豆粕样品产生聚沉,温度保持在蛋白酶最适酶解温度,利用1 mol/L NaOH 溶液调节酶解体系使pH值保持不变,酶解一定时间后,取出酶解液,沸水浴10 min 灭酶。以8 000 r/min 离心15 min,取上清液,即为豆粕酶解液。蛋白酶最佳酶解条件及水解度见表1。

表 1 蛋白酶最佳酶解条件和水解度
Tab.1 Optimal enzymatic conditions and hydrolysis of proteases

参数	数值			
	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
pH 值	10.0	5.8	5.8	5.8
温度/℃	50	50	50	53
时间/h	3.0	5.0	5.5	2.5
酶底比	1:500	1:100	1:50	1:20
水解度/%	23.76	18.51	15.72	14.04

注:表中酶底比指所用酶质量与豆粕质量的比。

1.3.2 HS - GC - IMS 测定

样品预处理条件^[9]:将10 mL 样品置于80℃下,孵化15 min,孵化转速为500 r/min。顶空进样针温度80℃,进样量为0.2 mL,不分流模式,清洗时间30 s。

GC 检测条件:MXT - 5 型色谱柱(15 m × 0.53 mm × 1 μm);柱温60℃,载气为高纯氮气(纯度99.999%以上);色谱柱1流速150 mL/min,色谱柱2流速2 mL/min 保持2 min,10 min 内线性增至10 mL/min,20 min 内线性增至100 mL/min。

IMS 检测条件:漂移管长度为5 cm,漂移管温度45℃,漂移气为高纯氮气(纯度99.999%以上),流速为150 mL/min,探测器温度为45℃。

1.3.3 HS - SPME - GC - MS 测定

根据文献[8]的方法并稍作修改。

(1) 萃取:称取8 mL 样品于顶空瓶中,添加

20 mL 内标(2-甲基-3-庚酮甲醇溶液),用 PTFE - silicone 瓶盖密封。置于80℃水浴中平衡20 min,再将已老化完成的DVB/CAR/PDMS 型固相微萃取萃取头(美国 Agilent 公司)刺入顶空瓶中,在80℃水浴下萃取30 min。进样温度设为250℃,解析5 min。

(2) GC 条件:选用 HP - 5MS 型色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);初始柱温设为50℃,保持2 min,以5℃/min 升至180℃,保持5 min,再以10℃/min 升至250℃,保持5 min;进样口温度250℃,传输线温度280℃;载气(He)流速1.0 mL/min;不分流模式。

(3) MS 条件:离子源温度为230℃;四级杆温度为150℃;电子能量为70 eV;采用电子轰击电离源(EI),扫描范围为40 ~ 600(质荷比)。

1.3.4 数据处理

酶解物中挥发性成分采用 NIST 11/Wiley 7.0 谱库进行定性分析;使用 LAV (Laboratory Analytical Viewer) 软件、Reporter 插件、Gallery Plot 插件处理 HS - GC - IMS 数据;采用 Origin 2022 软件绘制雷达图、PCA 图、聚类热图;SIMCA 14.1 软件进行 PCA 和 OPLS - DA 分析,计算预测变量重要性投影(Variability importance in projection, VIP);结合 IBM SPSS Statistics 25.0 进行数据处理及显著性检验。

2 结果与分析

2.1 HS - GC - IMS 分析

2.1.1 HS - GC - IMS 三维光谱及指纹图谱分析

为探究4种SMH的风味差异,利用HS - GC - IMS 对不同样品进行了分析。图1a中X、Y、Z轴分别表示离子漂移时间、气相色谱保留时间和离子峰强度^[14]。每个点即样品中的一种挥发性成分,物质浓度越高则对应的点颜色越深,红色较高,蓝色较低^[15]。由图1a、1b可知,绝大多数VOCs的保留时间都在100 ~ 700 s 范围内、漂移时间都在0.5 ~ 1.0 ms 之间^[16]。其中,碱性蛋白酶酶解物所含的挥发性化合物较多。如图1b所示,比较了豆粕与其他SMH的风味差异,A区域的VOCs在碱性蛋白酶酶解物中数量最多且含量高,B区域的VOCs在其余3种SMH中含量较高并存在细微差异,说明了不同SMH的VOCs的组成和含量都存在差异。

从图1d可以看出,豆粕及4种SMH中所含具体VOCs的含量信息,可以更加直观地体现不同SMH间挥发性化合物的差异。以豆粕为对照将指纹图谱分为A、B、C、D、E、F6个区域。A、B、C、D分别为4种SMH的特征峰区。E区为碱性蛋白酶和风味蛋白酶SMH共有的VOCs,F区为风味蛋白酶、

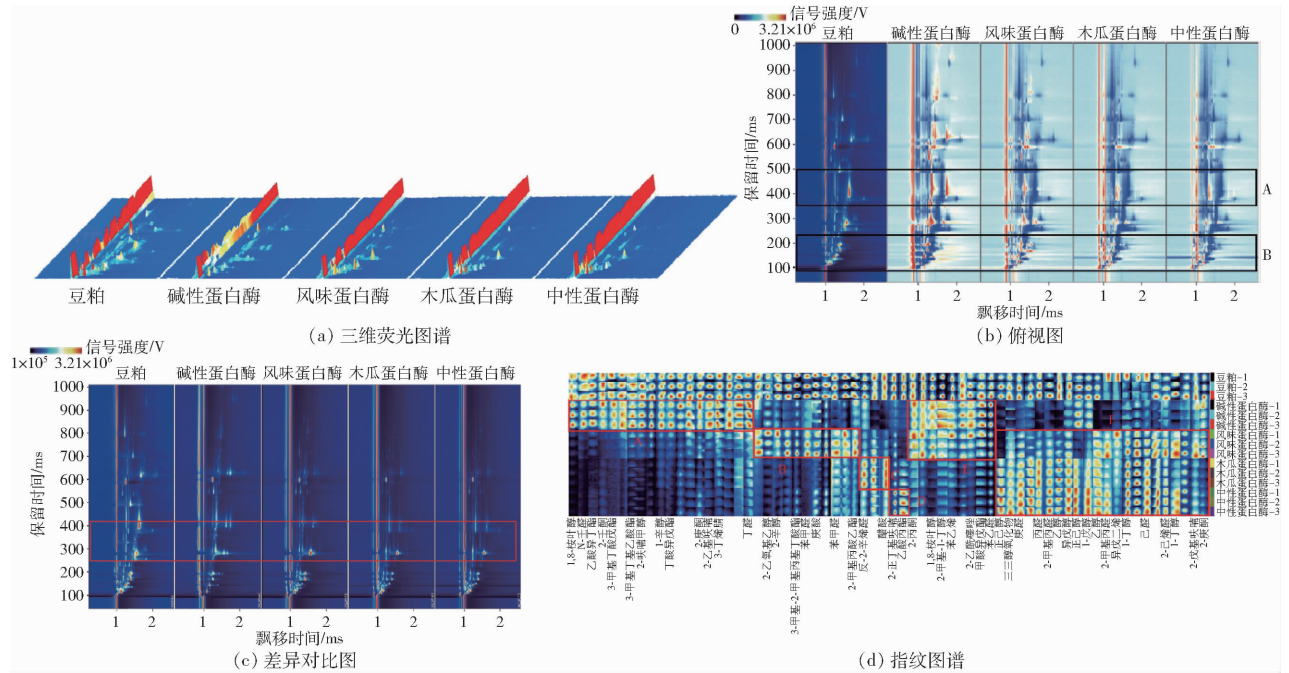


图 1 豆粕及不同 SMH 中 VOCs 的 HS-GC-IMS 三维荧光光谱、俯视图、差异对比图和指纹图谱

Fig. 1 Three-dimensional spectrum, difference spectrum, qualitative analysis and fingerprint in HS-GC-IMS spectra of VOCs in soybean meal and different SMH

木瓜蛋白酶和中性蛋白酶 SMH 共有的 VOCs。碱性蛋白酶 SMH 中共有 19 种 VOCs 是其特有的物质，主要是酯类。风味蛋白酶 SMH 中特有的 VOCs 有 11 种。木瓜蛋白酶 SMH 中特有的 VOCs 有 3 种，分别为反-2-辛烯醛、2-丁酮、醋酸。中性蛋白酶 SMH 中特有的 VOCs 为 2-正丁基呋喃和乙酸丙酯。由图 1d 可知，4 种 SMH 与豆粕相比特征风味差异明显，在 HS-GC-IMS 指纹图谱中 4 种 SMH 各有其特征区域，其中风味蛋白酶 SMH 的特征峰区域包含的 VOCs 显著多于其它样品，这些特征区域中所含的挥发性化合物可能是因为风味蛋白酶是内切酶和外切酶的混合物，外切酶可有效地将大豆多肽端基的疏水性氨基酸切除，降解苦味肽，产生特殊的风味物质^[17]。该结果与文献[6]用风味蛋白酶酶解大豆蛋白的研究结果类似，即风味蛋白酶酶解大豆蛋白产生的特殊风味物质有掩盖苦味的作用。

2.1.2 HS-GC-IMS 主成分分析

采用主成分分析(PCA)的方法分析风味与不同 SMH 之间的关系,通过主成分分析得到图 2。PC 累计比值越接近 1,表示 PCA 模型的可靠性越强^[18]。从图 2 中可以看出,第 1 主成分(PC1)和第 2 主成分(PC2)的贡献率分别为 43% 和 32.7%,累计贡献率达到 75.7%,表明这两个主成分能够代表原始数据的绝大部分有效信息,分析所得数据能够反映出不同 SMH 的挥发性风味的总体特征。在 PCA 中样品之间距离近则代表差异小,距离远则代表差异明

显。同一样品组内圆点呈现相互聚集,说明本次数据重复度好,数据结果准确。而不同 SMH 组间呈现相对分散状,图中豆粕主要在第三象限,风味蛋白酶组主要分布在第一象限,中性蛋白酶和木瓜蛋白酶组主要在第二象限,碱性蛋白酶组主要在第四象限,表明 5 组样品之间的挥发性风味物质存在明显差异。该结果与指纹图谱分析规律一致,表明本研究采用 HS-GC-IMS 对不同 SMH 的 VOCs 分析结果具有可行性。

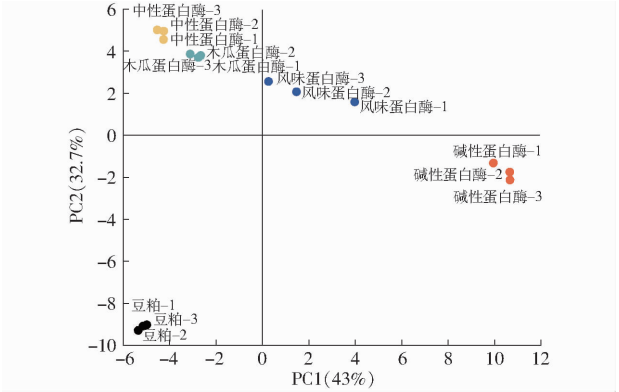


图 2 豆粕及不同 SMH 中 VOCs 的 HS-GC-IMS 主成分分析

Fig. 2 HS-GC-IMS principal component analysis plot of VOCs in soybean meal and different SMH

2.1.3 不同酶解物的挥发性化合物含量及 OPLD-SA 分析

HS-GC-IMS 能够对 VOCs 进行可视化分析,可以快速检出较多分子小且含量较低的 VOCs。因

此,为进一步明晰 4 种 SMH 中的 VOCs,利用 HS - GC - IMS 结合 OPLD - SA 对豆粕及 4 种 SMH 的挥发性化合物进行了分析。表 2 为 HS - GC - IMS 检测到的 84 种共有香气成分。以 84 个共有香气组分作为因变量,不同 SMH 作为自变量,通过 OPLS - DA(图 3a)可以实现 4 种 SMH 样品有效区分。本次分析中的自变量拟合指数 R_x^2 为 0.983,因变量拟合指数 R_y^2 为 0.997,模型预测指数 Q^2 为 0.989, R^2 和 Q^2 超过 0.5 表示模型拟合结果可接受。经过 200 次置换检验,如图 3b 所示, Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0,说明模型不存在过拟合,模型验证有效^[19],该结果可用于 SMH 香气的不同蛋白酶鉴别分析。

为了进一步分析不同 VOCs 对豆粕及不同 SMH 的贡献率,根据 $P < 0.05$ 且 VIP 值大于 1 的标准,筛选出 33 种不同 SMH 的差异香气物质(图 3c),这些差异香气物质可能对分析不同 SMH 香气特征具有重要作用。4 种 SMH 的香气组分种类与豆粕相似,但各类物质总含量有差异。豆粕中含量最高的风味

物质是酮类(1-辛烯-3-酮、2-丁酮、2,3-戊二酮等),醛类(苯乙醛、己醛、3-甲基-2-丁烯醛等),其次是醇类(1,8-桉叶醇、2-呋喃甲硫醇和 2-甲基-1-丁醇等)。文献[20]研究证明,酮类物质是大豆榨油产出豆粕过程中残余油脂的氧化和美拉德反应的产物,一般对风味具有修饰作用,而醛类物质是豆粕中脂质氧化降解产生异味的主要物质,具有难闻的油腻味。醇类物质是在豆粕的加工和储存期间,由于压榨后豆粕中的油脂不能完全去除,残余油脂中的不饱和脂肪酸被氧化酶(Lox1、Lox2、Lox3)氧化成氢过氧化物,再被氢过氧化物裂解酶或氧化还原酶催化产生的,使豆粕产生特殊风味^[21]。经蛋白酶酶解后,酮类物质显著降低而醛类、醇类和酯类物质明显增加,酯类物质是在酶解过程中通过酸和醇的酯化反应形成的,是 SMH 中的主要致香物质,具有水果香味,能保持较长时间,是不可缺少的香气和风味成分^[5],说明酶解可以显著改善豆粕的不良风味,赋予豆粕特殊的风味,有利于对豆粕的再加工。

表 2 豆粕及不同 SMH 中 VOCs 的 HS - GC - IMS 分析结果

Tab.2 Results of HS - GC - IMS analysis of VOCs in soybean meal and different SMH

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	相对含量/%				
								豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
1	1,8-桉叶醇 ^M	C470-82-6	桉树、草药、樟脑	154.3	1 027.3	636.931	1.292 82	(1.06 ± 0.08) ^e	(7.23 ± 0.64) ^a	(0.75 ± 0.02) ^b	(1.02 ± 0.12) ^b	(1.36 ± 0.18) ^b
2	1,8-桉叶醇 ^D	C470-82-6	桉树、草药、樟脑	154.3	1 023.7	629.019	1.749 29	0.09 ^e	(0.23 ± 0.02) ^b	0.11 ^c	(0.12 ± 0.01) ^c	(0.31 ± 0.04) ^a
3	1-丁醇 ^M	C71-36-3	甜、醋、威士忌	74.1	645.9	196.482	1.174 75	(1.18 ± 0.18) ^c	(1.08 ± 0.09) ^c	(2.42 ± 0.09) ^a	(2.20 ± 0.06) ^a	(1.48 ± 0.18) ^b
4	1-丁醇 ^D	C71-36-3	甜、醋、威士忌	74.1	643.2	195.119	1.386 02	(0.19 ± 0.08) ^c	0.12 ^c	(0.60 ± 0.01) ^a	(0.42 ± 0.01) ^b	(0.45 ± 0.08) ^b
5	1-庚醇	C111-70-6	发霉的、绿叶、木本、牡丹	116.2	970.2	522.443	1.377 28	(0.07 ± 0.05) ^d	(0.52 ± 0.05) ^a	(0.11 ± 0.01) ^c	(0.15 ± 0.01) ^c	(0.27 ± 0.05) ^b
6	1-辛醇	C111-87-5	蜡质、橙子、玫瑰	130.2	1 064.8	727.47	1.466 59	(0.06 ± 0.03) ^d	(0.52 ± 0.04) ^a	(0.16 ± 0.02) ^c	(0.29 ± 0.03) ^b	(0.23 ± 0.03) ^{bc}
7	1-戊醇	C71-41-0	刺鼻的、发酵、酒精	88.1	749.4	259.651	1.253 71	(0.27 ± 0.08) ^d	(0.70 ± 0.01) ^c	(1.29 ± 0.04) ^a	(0.90 ± 0.03) ^b	(0.53 ± 0.08) ^d
8	1-戊烯-3-醇	C616-25-1	辣根、萝卜、菊花	86.1	720.6	239.423	1.36023	(0.07 ± 0.02) ^b	(0.06 ± 0.01) ^b	(0.14 ± 0.01) ^a	(0.11 ± 0.01) ^a	(0.11 ± 0.02) ^a
9	1-丙硫醇 ^M	C107-03-9	卷心菜、天然气、洋葱	76.2	614.2	181.758	1.166 19	(1.09 ± 0.14) ^b	(0.36 ± 0.02) ^c	(1.70 ± 0.01) ^a	(1.22 ± 0.05) ^b	(1.19 ± 0.14) ^b
10	1-丙硫醇 ^D	C107-03-9	卷心菜、天然气、洋葱	76.2	616.8	182.894	1.359 95	(0.18 ± 0.04) ^d	(0.28 ± 0.01) ^c	(0.56 ± 0.01) ^a	(0.31 ± 0.01) ^c	(0.48 ± 0.04) ^b
11	2-乙基-1-己醇	C104-76-7	柑橘、花卉、清新	130.2	1 028.7	640.081	1.391 33	1.49 ^a	(1.76 ± 0.15) ^a	(1.09 ± 0.03) ^b	(1.02 ± 0.03) ^b	1.79 ^a
12	2-呋喃甲硫醇 ^M	C98-02-2	咖啡、脂肪	114.2	911.2	428.542	1.092 46	(1.09 ± 0.18) ^{ab}	(0.95 ± 0.05) ^b	(1.22 ± 0.03) ^{ab}	(1.43 ± 0.20) ^a	(1.25 ± 0.18) ^{ab}

续表 2

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	相对含量/%				
								豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
13	2-呋喃甲硫醇 ^D	C98－02－2	咖啡、烘焙、脂肪	114. 2	908. 7	425. 033	1. 345 75	(3. 66 ± 0. 12) ^b	(7. 25 ± 1. 12) ^a	(3. 04 ± 0. 22) ^b	(3. 43 ± 0. 28) ^b	(3. 90 ± 0. 86) ^b
14	2-呋喃甲醇	C98－00－0	酒精、发霉的、甜味、焦糖	98. 1	855. 5	357. 829	1. 356 93	(0. 48 ± 0. 13) ^b	(1. 43 ± 0. 12) ^a	(0. 26 ± 0. 02) ^c	(0. 34 ± 0. 02) ^c	(0. 70 ± 0. 13) ^b
15	2-甲基-1-丁醇	C137－32－6	酒精、脂肪	88. 1	777. 7	281. 933	1. 465 62	(0. 67 ± 0. 13) ^c	(1. 46 ± 0. 06) ^a	(1. 00 ± 0. 23) ^b	(1. 04 ± 0. 07) ^b	(0. 90 ± 0. 13) ^b
16	乙醇 ^M	C64－17－5	酒精	46. 1	427. 1	124. 228	1. 040 09	(0. 69 ± 0. 23) ^b	(0. 34 ± 0. 17) ^c	(2. 14 ± 0. 08) ^a	(2. 23 ± 0. 09) ^a	(0. 95 ± 0. 23) ^b
17	乙醇 ^D	C64－17－5	酒精	46. 1	432. 7	125. 408	1. 149 22	(1. 18 ± 0. 11) ^c	(0. 13 ± 0. 02) ^d	1. 90 ^b	(2. 19 ± 0. 03) ^a	(1. 48 ± 0. 11) ^c
18	2-乙氧基乙醇	C110－80－5	－	90. 1	706. 5	230. 265	1. 093 74	0. 12 ^{bc}	(0. 18 ± 0. 05) ^b	(0. 09 ± 0. 01) ^c	(0. 12 ± 0. 02) ^{bc}	0. 36 ^a
19	异丙醇 ^M	C67－63－0	酒精、发霉的、木本	60. 1	500. 5	141. 909	1. 208 96	(0. 11 ± 0. 02) ^c	(0. 42 ± 0. 02) ^{ab}	(0. 46 ± 0. 04) ^a	(0. 38 ± 0. 07) ^{ab}	(0. 32 ± 0. 02) ^b
20	异丙醇 ^D	C67630	酒精、发霉的、木本	60. 1	482. 4	137. 063	1. 090 6	(0. 02 ± 0. 01) ^c	(0. 19 ± 0. 01) ^a	(0. 16 ± 0. 01) ^b	0. 14 ^b	(0. 19 ± 0. 01) ^a
21	异戊醇	C123－51－3	酒精、威士忌、果味	88. 1	768. 9	274. 744	1. 251 79	(0. 12 ± 0. 02) ^c	0. 20 ^b	(0. 54 ± 0. 04) ^a	(0. 48 ± 0. 02) ^a	(0. 26 ± 0. 02) ^b
22	正己醇 ^M	C111－27－3	酒精、脂肪	102. 2	879. 6	386. 524	1. 330 75	(0. 38 ± 0. 05) ^d	(1. 44 ± 0. 18) ^b	(2. 10 ± 0. 06) ^a	(1. 61 ± 0. 12) ^b	(0. 60 ± 0. 10) ^c
23	正己醇 ^D	C111－27－3	酒精、脂肪	102. 2	875. 5	381. 445	1. 626 93	0. 09 ^d	(0. 23 ± 0. 01) ^c	(2. 26 ± 0. 06) ^a	(1. 78 ± 0. 11) ^b	(0. 18 ± 0. 04) ^c
24	2-辛醇	C123－96－6	清新、辛辣、木本、草药	130. 2	1 004. 9	589. 05	1. 440 01	(1. 18 ± 0. 18) ^a	(0. 71 ± 0. 10) ^b	(0. 36 ± 0. 02) ^b	(0. 42 ± 0. 03) ^b	(1. 29 ± 0. 28) ^a
25	3-辛醇	C589－98－0	泥土、蘑菇、草药、柑橘	130. 2	996. 7	572. 517	1. 384 18	(0. 19 ± 0. 02) ^a	(0. 20 ± 0. 02) ^a	(0. 21) ^a	(0. 24 ± 0. 02) ^a	(0. 25 ± 0. 04) ^a
醇类合计(25 种)								15. 73	27. 99	24. 67	23. 59	20. 83
26	1-辛烯-3-酮	C4312－99－6	草药、蘑菇、泥土	126. 2	985. 6	550. 846	1. 283 34	(5. 54 ± 0. 45) ^a	(5. 32 ± 0. 54) ^b	(1. 45 ± 0. 07) ^d	(1. 15 ± 0. 11) ^d	(3. 25 ± 0. 68) ^c
27	2,3-丁二酮	C431－03－8	黄油、甜味、焦糖	86. 1	585. 2	169. 833	1. 162 88	(2. 12 ± 0. 65) ^a	(0. 66 ± 0. 13) ^c	(1. 88 ± 0. 05) ^b	(1. 54 ± 0. 03) ^b	(0. 40 ± 0. 02) ^d
28	2,3-戊二酮	C600－14－6	刺鼻的、甜味、黄油	100. 1	705. 8	229. 851	1. 206 57	(4. 18 ± 0. 46) ^a	(0. 28 ± 0. 04) ^b	(0. 20 ± 0. 10) ^b	(0. 17 ± 0. 02) ^b	(0. 53 ± 0. 10) ^b
29	2-丁酮	C78－93－3	类似丙酮、果味、樟脑	72. 1	627. 5	187. 704	1. 073 32	(5. 13 ± 0. 34) ^a	(0. 06 ± 0. 01) ^b	0. 13 ^b	(0. 14 ± 0. 01) ^b	(0. 12 ± 0. 02) ^b
30	丁酮	C78－93－3	类似丙酮、果味、樟脑	72. 1	548. 3	156. 508	1. 043 14	(3. 58 ± 0. 56) ^c	(0. 69 ± 0. 18) ^c	(4. 69 ± 0. 17) ^b	(5. 37 ± 0. 12) ^a	(2. 87 ± 0. 61) ^d
31	2-庚酮 ^M	C110－43－0	果味、辣的、草药、椰子	114. 2	902. 4	416. 245	1. 257 48	(2. 31 ± 0. 05) ^d	(3. 86 ± 0. 62) ^c	(3. 42 ± 0. 05) ^c	(2. 72 ± 0. 01) ^d	(5. 00 ± 0. 70) ^b
32	2-庚酮 ^D	C110－43－0	果味、辣的、草药、椰子	114. 2	901. 7	415. 367	1. 631 09	(4. 14 ± 0. 02) ^a	(3. 98 ± 0. 61) ^b	(2. 68 ± 0. 02) ^b	(1. 59 ± 0. 13) ^c	(2. 45 ± 0. 46) ^{bc}
33	2-壬酮	C821－55－6	清新、甜味、草药	142. 2	1087. 4	789. 007	1. 404 58	(4. 18 ± 0. 02) ^a	(0. 40 ± 0. 03) ^b	(0. 16 ± 0. 02) ^b	(0. 14 ± 0. 01) ^b	(0. 12 ± 0. 02) ^b
34	2-丙酮	C67－64－1	苹果、梨	58. 1	498. 8	141. 43	1. 110 34	(2. 17 ± 0. 01) ^a	(0. 09 ± 0. 03) ^c	(0. 40 ± 0. 02) ^b	(0. 48 ± 0. 03) ^b	(0. 32 ± 0. 06) ^b
35	4,5-二氢-3(2H)-苯噻酮	C1003－04－9	蒜、肉、蔬菜	102. 2	955. 1	496. 369	1. 177 2	2. 19 ^a	0. 05 ^c	0. 08 ^b	0. 07 ^b	(0. 05 ± 0. 01) ^c
36	异亚丙基丙酮	C141－79－7	刺鼻的、蔬菜	98. 1	808. 4	309. 162	1. 453 66	(4. 12 ± 0. 03) ^a	(0. 37 ± 0. 06) ^c	(1. 37 ± 0. 08) ^b	(1. 27 ± 0. 08) ^b	(0. 88 ± 0. 12) ^b

续表 2

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	相对含量/%				
								豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
酮类合计(11 种)								39.66	15.76	16.46	14.64	15.99
37	2-己烯醛	C505-57-7	甜味、杏仁、果味、苹果	98.1	846	347.293	1.175 53	(0.58 ± 0.01) ^a	(0.22 ± 0.04) ^c	(0.60 ± 0.01) ^a	(0.51 ± 0.01) ^{ab}	(0.43 ± 0.10) ^b
38	2-甲基丙醛 ^M	C78-84-2	清新、花卉	72.1	531.4	151.03	1.097 36	(0.42 ± 0.03) ^a	(0.05 ± 0.01) ^c	(0.45 ± 0.03) ^a	(0.27 ± 0.01) ^b	(0.36 ± 0.08) ^{ab}
39	2-甲基丙醛 ^D	C78-84-2	清新、花卉	72.1	535.1	152.204	1.281 92	(1.12 ± 0.03) ^a	(0.24 ± 0.02) ^d	(1.14 ± 0.03) ^a	(1.00 ± 0.04) ^b	(0.54 ± 0.08) ^c
40	反-2-辛烯醛	C2548-87-0	清新、黄瓜、脂肪	126.2	1064.5	726.743	1.337 46	(0.24 ± 0.01) ^b	(0.15 ± 0.01) ^c	(0.28 ± 0.01) ^b	(0.36 ± 0.02) ^a	(0.16 ± 0.02) ^c
41	3-甲基-2-丁烯醛 ^M	C107-86-8	甜味、果味、刺鼻的、坚果	84.1	798.5	300.036	1.10835	(0.62 ± 0.04) ^a	(0.86 ± 0.04) ^a	(0.69 ± 0.04) ^a	(0.76 ± 0.05) ^a	(0.74 ± 0.13) ^a
42	3-甲基-2-丁烯醛 ^D	C107-86-8	甜味、果味、刺鼻的、坚果	84.1	795.9	297.67	1.33688	(2.23 ± 0.15) ^b	(5.63 ± 0.78) ^a	(2.25 ± 0.15) ^b	(3.06 ± 0.18) ^b	(3.31 ± 1.07) ^b
43	苯甲醛 ^M	C100-52-7	甜味、苦杏仁、樱桃	106.1	983.1	546.136	1.149 46	(2.74 ± 0.35) ^a	(1.81 ± 0.21) ^b	(2.77 ± 0.35) ^a	(1.45 ± 0.02) ^b	(2.94 ± 0.35) ^a
44	苯甲醛 ^D	C100-52-7	甜味、苦杏仁、樱桃	106.1	982.9	545.864	1.466 12	(0.92 ± 0.03) ^a	(0.71 ± 0.11) ^b	(1.00 ± 0.03) ^a	(0.54 ± 0.02) ^b	(1.17 ± 0.19) ^a
45	丁醛 ^M	C123-72-8	刺鼻的、可可、发霉的	72.1	584.5	169.542	1.126 7	(0.02 ± 0.01) ^b	(0.48 ± 0.02) ^a	(0.09 ± 0.01) ^b	(0.16 ± 0.01) ^b	(0.16 ± 0.09) ^b
46	丁醛 ^D	C123-72-8	刺鼻的、可可、发霉的	72.1	587.7	170.781	1.262 29	(1.87 ± 0.15) ^b	(3.65 ± 0.13) ^a	(2.16 ± 0.15) ^b	(3.07 ± 0.14) ^{ab}	(2.35 ± 0.67) ^b
47	庚醛	C111-71-7	脂肪、清新	114.2	907.8	423.795	1.320 82	(2.23 ± 0.03) ^a	(0.73 ± 0.02) ^c	(2.87 ± 0.03) ^a	(2.75 ± 0.16) ^a	(1.96 ± 0.16) ^b
48	己醛 ^M	C66-25-1	脂肪、草木	100.2	792.2	294.387	1.245 36	(2.44 ± 0.05) ^a	(0.86 ± 0.07) ^c	(2.87 ± 0.05) ^a	(2.80 ± 0.09) ^a	(1.67 ± 0.25) ^b
49	己醛 ^D	C66-25-1	脂肪、草木	100.2	786.5	289.444	1.565 04	(15.42 ± 0.24) ^a	(7.24 ± 1.04) ^b	(15.88 ± 0.24) ^a	(16.95 ± 0.33) ^a	(16.06 ± 2.23) ^a
50	N-壬醛	C124-19-6	玫瑰、清新、橙皮	142.2	1087.6	789.506	1.478 55	0.14 ^b	(0.97 ± 0.14) ^a	0.17 ^b	(0.18 ± 0.01) ^b	(0.20 ± 0.01) ^b
51	苯乙醛	C122-78-1	甜味、花卉、风信子	120.2	1 010.9	601.31	1.257 16	(6.92 ± 0.11) ^b	(8.85 ± 0.23) ^a	(7.05 ± 0.11) ^b	(6.38 ± 0.18) ^c	(8.71 ± 0.35) ^a
52	丙醛	C123-38-6	酒精、威士忌、可可	58.1	478.9	136.164	1.048 35	(1.19 ± 0.01) ^b	(0.18 ± 0.04) ^d	(1.29 ± 0.01) ^b	(1.55 ± 0.06) ^a	(0.58 ± 0.13) ^c
醛类合计(16 种)								39.10	41.56	41.56	41.79	41.34
53	2-甲基丙基丁酸酯	C539-90-2	甜味、果味、甜酒	144.2	956.9	499.322	1.342 98	(0.13 ± 0.01) ^d	(0.64 ± 0.04) ^a	(0.62 ± 0.03) ^a	(0.51 ± 0.04) ^b	(0.32 ± 0.01) ^c
54	3-甲基丁基乙酸酯	C123-92-2	果味、香蕉	130.2	848.8	350.355	1.297 81	(0.23 ± 0.01) ^c	(2.18 ± 0.32) ^a	(0.54 ± 0.02) ^b	(0.65 ± 0.06) ^b	(0.91 ± 0.22) ^b
55	3-甲基-2-甲基丙基丁酸酯	C589-59-3	甜味、苹果	158.2	1 005	589.275	1.374 61	(0.32 ± 0.01) ^b	(0.33 ± 0.01) ^b	(0.41 ± 0.01) ^b	(0.38 ± 0.03) ^b	(0.88 ± 0.11) ^a
56	2-甲基丁酸丁酯	C15706-73-7	果味、草药	158.2	1 045.3	678.805	1.372 56	(0.02 ± 0.01) ^c	(0.27 ± 0.03) ^a	(0.11 ± 0.01) ^b	(0.11 ± 0.02) ^b	(0.15 ± 0.01) ^b
57	2-甲基丙酸乙酯	C97-62-1	甜味、果味、酒精	116.2	762.1	269.389	1.184 82	(0.32 ± 0.02) ^b	(0.28 ± 0.05) ^b	(0.46 ± 0.02) ^a	(0.30 ± 0.01) ^b	(0.43 ± 0.02) ^a
58	3-甲基丁酸乙酯	C108-64-5	果味、甜味、菠萝	130.2	856.1	358.525	1.253 24	(0.22 ± 0.03) ^c	(0.42 ± 0.05) ^b	(0.52 ± 0.03) ^{ab}	(0.45 ± 0.01) ^b	(0.67 ± 0.09) ^a
59	丁酸乙酯	C105-54-4	果味、菠萝	116.2	454.4	130.201	1.193 49	(0.43 ± 0.05) ^c	(0.53 ± 0.09) ^b	(1.43 ± 0.15) ^a	(1.44 ± 0.10) ^a	(1.73 ± 0.19) ^a
60	丁酸异戊酯	C106-27-4	果味、杏、梨	158.2	1 052.6	696.699	1.420 78	(0.13 ± 0.01) ^c	(0.50 ± 0.04) ^a	(0.23 ± 0.01) ^b	(0.29 ± 0.03) ^b	(0.26 ± 0.06) ^b

续表 2

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	相对含量/%				
								豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
61	乙酸异丁酯	C110－19－0	甜味、果味、香蕉	116. 2	760. 4	268	1. 636 76	0. 02 ^c	(0. 22 ± 0. 02) ^a	0. 07 ^b	0. 05 ^b	(0. 08 ± 0. 02) ^b
62	甲酸异戊酯	C110－45－2	李子、醋栗	116. 2	776. 1	280. 615	1. 657 95	(0. 46 ± 0. 02) ^d	(3. 85 ± 0. 02) ^a	(2. 46 ± 0. 04) ^c	(3. 06 ± 0. 08) ^b	(4. 19 ± 0. 43) ^a
63	3-甲基丁酸戊酯	C25415－62－7	果味、苹果	172. 3	1 157. 6	1 015. 504	1. 474 52	0. 02 ^d	(0. 54 ± 0. 01) ^a	0. 18 ^{ab}	(0. 19 ± 0. 01) ^b	(0. 15 ± 0. 02) ^c
64	乙酸丙酯	C109－60－4	芹菜、果味、树	102. 1	706. 9	230. 521	1. 163 88	0. 03 ^b	(0. 18 ± 0. 10) ^a	(0. 09 ± 0. 10) ^a	(0. 06 ± 0. 01) ^{ab}	(0. 06 ± 0. 01) ^{ab}
65	乙酸丙酯 ^D	C109－60－4	芹菜、果味、树	102. 1	703. 3	228. 294	1. 496 93	(0. 14 ± 0. 02) ^c	(0. 09 ± 0. 01) ^c	(0. 67 ± 0. 03) ^a	(0. 45 ± 0. 03) ^b	(0. 09 ± 0. 01) ^c
酯类合计(13 种)								2. 47	10. 03	7. 79	7. 94	9. 92
66	2-甲基丁酸	C116－53－0	酸味、芝士、奶酪	102. 1	865. 8	369. 718	1. 217 44	(0. 13 ± 0. 01) ^c	(0. 23 ± 0. 01) ^b	(0. 44 ± 0. 01) ^a	(0. 42 ± 0. 01) ^a	(0. 24 ± 0. 01) ^b
67	2-甲基丙酸 ^M	C79－31－2	－	88. 1	744. 1	255. 735	1. 153 24	(0. 23 ± 0. 04) ^b	(0. 63 ± 0. 22) ^a	(0. 20 ± 0. 01) ^b	(0. 25 ± 0. 04) ^b	(0. 30 ± 0. 09) ^b
68	2-甲基丙酸 ^D	C79－31－2	－	88. 1	737. 4	250. 919	1. 372 78	0. 02 ^c	0. 06 ^b	(0. 18 ± 0. 02) ^a	(0. 17 ± 0. 01) ^a	(0. 08 ± 0. 01) ^b
69	醋酸	C64－19－7	酸味、醋	60. 1	621. 8	185. 109	1. 047 2	(0. 15 ± 0. 04) ^d	(0. 22 ± 0. 03) ^d	(0. 93 ± 0. 02) ^b	(1. 57 ± 0. 03) ^a	(0. 42 ± 0. 06) ^c
70	丁酸	C107－92－6	醋酸、奶酪、黄油	88. 1	831. 2	331. 632	1. 164 61	(0. 03 ± 0. 04) ^b	(0. 18 ± 0. 06) ^a	(0. 14 ± 0. 02) ^a	(0. 13 ± 0. 01) ^a	(0. 11 ± 0. 02) ^{ab}
71	庚酸	C111－14－8	腐臭、酸味	130. 2	1 111. 8	861. 537	1. 379 34	(0. 05 ± 0. 01) ^c	(0. 18 ± 0. 01) ^b	(0. 15 ± 0. 01) ^b	(0. 17 ± 0. 01) ^b	(0. 44 ± 0. 07) ^a
72	丙酸	C79－09－4	乳品、果味	74. 1	723. 7	241. 472	1. 108 14	(0. 02 ± 0. 01) ^c	(0. 15 ± 0. 05) ^b	(0. 19 ± 0. 01) ^b	(0. 13 ± 0. 03) ^b	(0. 30 ± 0. 02) ^a
酸类合计(7 种)								0. 63	1. 65	2. 23	2. 84	1. 89
73	2,6-二甲基吡嗪	C108－50－9	可可、坚果、烤肉	108. 1	924. 6	448. 046	1. 135 11	(0. 03 ± 0. 01) ^c	(0. 10 ± 0. 01) ^d	(0. 22 ± 0. 01) ^b	0. 24 ^a	(0. 19 ± 0. 01) ^c
74	2-乙基-5-甲基吡嗪	C13360－64－0	－	122. 2	1023. 6	628. 773	1. 669 86	(0. 39 ± 0. 07) ^c	(2. 93 ± 0. 41) ^a	(1. 81 ± 0. 19) ^b	(1. 94 ± 0. 15) ^b	(1. 39 ± 0. 17) ^b
75	三甲基吡嗪	C14667－55－1	坚果、可可、榛子	122. 2	1005. 9	591. 001	1. 159 79	(0. 23 ± 0. 04) ^c	(0. 33 ± 0. 04) ^b	(0. 48 ± 0. 02) ^a	(0. 36 ± 0. 01) ^b	(0. 37 ± 0. 03) ^b
吡嗪类合计(3 种)								0. 65	3. 36	2. 51	2. 54	1. 95
76	茨烯	C79－92－5	木本、草药、冷杉针	136. 2	939. 9	471. 573	1. 215 22	(0. 03 ± 0. 01) ^c	0. 08 ^b	(0. 09 ± 0. 01) ^b	0. 08 ^b	(0. 11 ± 0. 01) ^a
77	异戊二烯	C78－79－5	－	68. 1	530. 9	150. 882	1. 210 6	(0. 31 ± 0. 05) ^c	(0. 33 ± 0. 02) ^c	(0. 51 ± 0. 05) ^{bc}	(0. 90 ± 0. 01) ^{ab}	(1. 04 ± 0. 31) ^a
78	苯乙烯	C100－42－5	甜味、醋、花卉、塑胶	104. 2	905. 2	420. 076	1. 400 22	(0. 23 ± 0. 03) ^b	(0. 95 ± 0. 12) ^a	(0. 70 ± 0. 06) ^a	(1. 02 ± 0. 04) ^a	(1. 17 ± 0. 35) ^a
烯类合计(3 种)								0. 57	1. 36	1. 3	2	2. 32
79	2-乙基呋喃	C3208－16－0	可可、麦芽	96. 1	764. 5	271. 216	1. 289 85	(0. 24 ± 0. 03) ^c	(0. 85 ± 0. 03) ^a	(0. 21 ± 0. 04) ^c	(0. 30 ± 0. 04) ^{bc}	(0. 41 ± 0. 12) ^b
80	2-正丁基呋喃	C4466－24－4	果味、酒精、辛辣	124. 2	890. 4	400. 267	1. 182 82	(0. 23 ± 0. 02) ^c	(0. 27 ± 0. 02) ^c	(0. 43 ± 0. 01) ^a	(0. 35 ± 0. 02) ^b	(0. 38 ± 0. 02) ^b
81	2-戊基呋喃	C3777－69－3	果味、泥土、蔬菜	138. 2	971. 7	525. 156	1. 257 84	(0. 03 ± 0. 01) ^c	(0. 18 ± 0. 03) ^b	(0. 26 ± 0. 01) ^a	(0. 24 ± 0. 01) ^{ab}	(0. 27 ± 0. 04) ^a
呋喃类合计(3 种)								0. 51	1. 3	0. 9	0. 89	1. 06

续表 2

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对分子质量	保留指数	保留时间/s	迁移时间/ms	相对含量/%				
								豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶
82	2-乙酰噻唑	C24295-03-2	坚果、爆米花、榛子	127.2	1 025.6	633.209	1.464 99	(0.32 ± 0.02) ^c	(1.13 ± 0.11) ^a	(0.40 ± 0.02) ^b	(0.52 ± 0.06) ^b	(1.00 ± 0.21) ^a
83	3-丁烯腈	C109-75-1	-	67.1	652.2	199.633	1.265 63	(0.23 ± 0.07) ^d	(4.43 ± 0.17) ^a	(1.80 ± 0.17) ^c	(2.89 ± 0.20) ^{bc}	(3.19 ± 0.78) ^b
84	二丙基二硫醚	C629-19-6	泥土、洋葱	150.3	1 095	810.902	1.472 28	(0.13 ± 0.03) ^c	(0.37 ± 0.03) ^{ab}	(0.29 ± 0.05) ^b	(0.29 ± 0.04) ^b	(0.44 ± 0.08) ^a
其他(3种)								0.68	5.93	2.49	3.7	4.63
总计(84种)								100	100	99.91	99.93	99.93

注:M、D 分别代表物质的单体、二聚体;“-”代表无明显特征气味;空白代表未检出;数据表示为平均值±标准偏差,n=3;同列数据不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

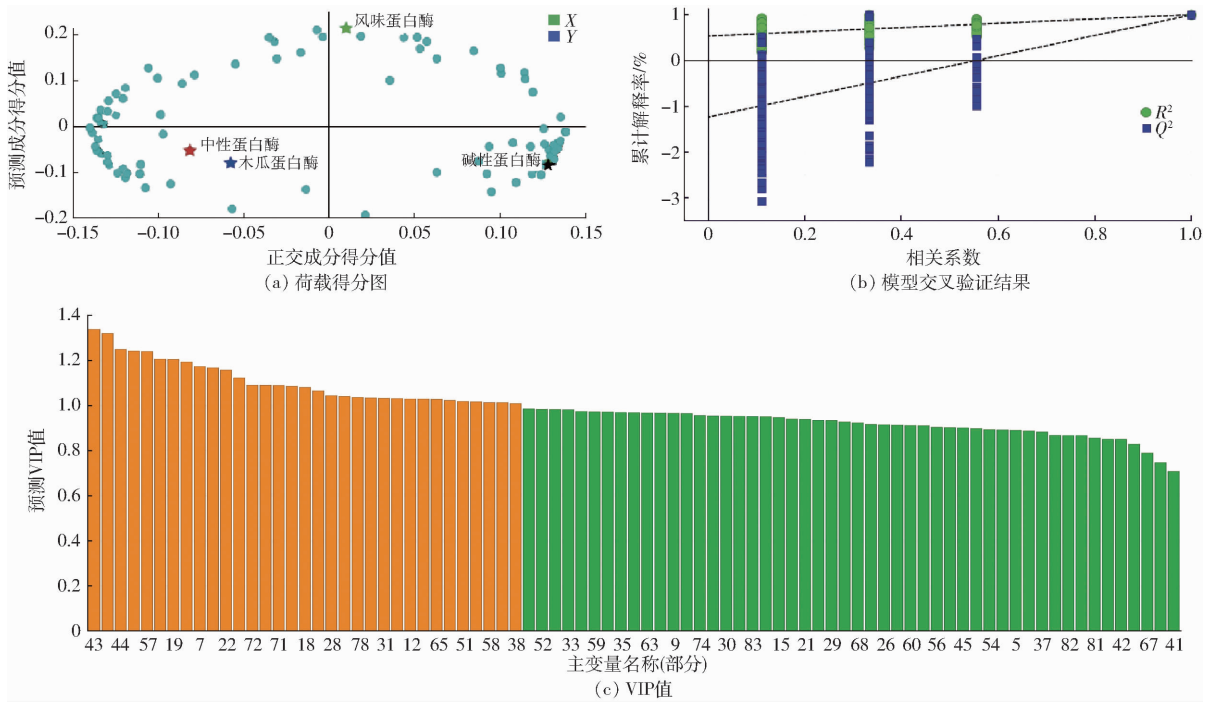


图3 豆粕及不同SMH中VOCs的HS-GC-IMS载荷得分图、模型交叉验证结果和VIP值

Fig.3 OPLS-DA, permutation test and VIP predictive in HS-GC-IMS spectra of VOCs in soybean meal and different SMH

2.2 HS-SPME-GC-MS 分析

2.2.1 HS-SPME-GC-MS 聚类热图

利用HS-SPME-GC-MS对豆粕以及不同SMH进行检测,鉴定出VOCs共103种,具体结果见表3。HS-SPME-GC-MS鉴定出的化合物主要包括酮类、醇类、醛类等物质。实验中共检测到17种酮类物质,相对含量变化范围为1.07%~7.56%,其中木瓜蛋白酶组中酮类物质的总相对含量显著高于豆粕。3-辛烯-2-酮(1.71%)、3,5-辛二烯-2-酮(1.14%)和3-羟甲基壬烷-2-酮(0.74%)具有果香和木香等香味^[22],以上物质在木瓜蛋白酶组中相对含量最高,对风味的形成和增强有一定的贡献^[23]。文献[20]研究木瓜蛋白酶酶解豆粕过程中的挥发性风味物质中产生的酮类化合物与本研究结果相

似,酮类化合物是酶解过程中由多不饱和脂肪酸热氧化、氨基酸降解产生的,一般对风味具有修饰作用。3,5-辛二烯-2-酮具有水果香,仅在中性蛋白酶和木瓜蛋白酶组中检出,该物质的存在对SMH的风味产生较好影响^[24]。文献[25]研究发现醇类物质一般具有独特的清香、果香、花香和甜味等令人愉悦的风味,其中不饱和醇的阈值相对较低,可能对SMH风味的形成具有一定的作用。实验中共检测到23种醇类物质,相对含量变化范围为0.36%~18.9%。与豆粕相比SMH的醇类物质含量有显著变化,其中风味蛋白酶组中检出的醇类物质相对含量最多,2-乙基己醇(2.41%)、肉豆蔻醇(0.75%)和十四烷醇(0.76%)具有泥土气味,以上物质在风味蛋白酶组中相对含量最高,可增强SMH的脂肪香

表 3 豆粕及不同 SMH 中 VOCs 的 HS-SPME-GC-MS 分析结果

Tab.3 HS-SPME-GC-MS analysis of soybean meal and VOCs of different SMH

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对含量/%					P	VIP 值
				豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶		
1	壬醛	124-19-6	蜡质、玫瑰、橙皮	(1.69 ± 0.03) ^b	-	(1.59 ± 0.06) ^b	(0.94 ± 0.02) ^c	(4.62 ± 0.09) ^a	0.01	1.02
2	2,4-二甲基苯甲醛	15764-16-6	樱桃、杏仁、香料、香草	-	-	-	(0.61 ± 0.01) ^b	(1.04 ± 0.04) ^a	0.01	1.04
3	癸醛	112-31-2	蜡质的橙皮,柑橘类的花香	-	-	(0.74 ± 0.033) ^b	-	(2.62 ± 0.04) ^a	0.04	1.03
4	1H-1,2,3-噻唑-5-甲 醛	16681-68-8	-	-	-	0.38 ± 0.01	-	-	<0.01	1.04
5	正己醛	66-25-1	草叶、果味	(4.01 ± 0.08) ^a	-	-	-	(2.73 ± 0.04) ^b	0.01	1.05
6	戊二醛	111-30-8	草药味	-	-	-	-	1.76 ± 0.53	<0.01	1.00
7	十二醛	112-54-9	蜡质、柑橘、花香	-	-	-	-	0.84 ± 0.04	0.03	1.05
醛类合计(7 种)				5.70	-	2.71	1.55	13.61		
8	肉豆蔻醇	112-72-1	果香味、鸢尾花、椰子	-	(0.36 ± 0.03) ^b	-	-	(0.75 ± 0.02) ^a	0.02	1.05
9	2-乙基环丁醇	35301-43-0	-	-	-	-	2.01 ± 0.02	-	<0.01	1.02
10	2-[(2R,5S)-5-乙 基-5-甲基氧杂环戊 烷-2-基]丙醇	5989-33-3	泥土味	-	-	-	0.94 ± 0.04	-	<0.01	1.02
11	1,2-庚二醇	3710-31-4	-	-	-	-	0.93 ± 0.02	-	0.01	1.02
12	1,1-二烯丙基乙醇	25201-40-5	-	-	-	-	0.63 ± 0.01	-	<0.01	1.02
13	1-(2-甲氧基苯基)乙 醇	7417-18-7	-	-	-	-	0.62 ± 0.01	-	<0.01	1.02
14	1,2-二甲基-3-(1-甲基 乙 烯 基)-[1R-(1α, 2β,3α)]-环戊醇	803-35-5	-	-	-	-	0.73 ± 0.01	-	<0.01	1.02
15	环十二烷甲醇	1892-12-2	-	-	-	-	0.52 ± 0.02	-	<0.01	1.02
16	2-异丙基-5-甲基-1- 庚醇	91337-07-4	-	-	-	(1.08 ± 0.07) ^a	(0.52 ± 0.02) ^b	-	<0.01	1.02
17	2-氨基-1-甲基-4-(1- 甲基乙基)环己醇	6756-99-6	-	-	-	-	(2.53 ± 0.06) ^a	(0.56 ± 0.04) ^b	0.03	1.02
18	2,2,4,4-四甲基-1,3- 环丁二醇	3010-96-6	-	-	-	1.12 ± 0.06	-	-	0.01	1.04
19	反式-2-己烯-1-醇	928-95-0	果味、未成熟的香蕉	-	-	1.23 ± 0.06	-	-	<0.01	1.04
20	2,3-二甲基-3-己醇	4166-46-5	-	-	-	0.73 ± 0.01	-	-	<0.01	1.04
21	2-乙基己醇	104-76-7	柑橘、新鲜花香	-	-	(2.07 ± 0.10) ^b	-	(2.41 ± 0.09) ^a	0.02	1.00
22	1,3-二氧杂烷-2-甲醇	5694-68-8	-	-	-	0.36 ± 0.01	-	-	<0.01	1.04
23	反式-2-十二烯-1-醇	69064-37-5	油性脂肪	-	-	0.54 ± 0.04	-	-	0.02	1.04
24	2,4-二甲基-2-噻唑 烷-4-甲醇	39986-37-3	-	-	-	-	-	1.92 ± 0.07	<0.01	1.05
25	2-甲基环庚醇	16240-38-3	-	-	-	-	-	0.55 ± 0.04	<0.01	1.05
26	2-异丙基-5-甲基环己 烷-1-醇	490-99-3	-	-	-	-	-	0.56 ± 0.04	<0.01	1.05
27	癸醛-4a-醇	3574-58-1	-	(0.82 ± 0.02) ^a	-	-	-	(0.54 ± 0.04) ^b	<0.01	1.05

续表 3

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对含量/%					<i>P</i>	VIP 值
				豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶		
28	3,5-二甲基吡唑-1-甲 醇	85264-33-1	-	-	-	-	-	0.85±0.03	<0.01	1.05
29	十四烷醇	112-44-7	蜡质、肥皂、花、柑橘 类	-	-	-	-	0.76±0.03	<0.01	1.05
30	1-丁基-3-甲基-2-环 己烯-1-醇	122364-47-0	-	-	-	-	-	0.55±0.02	<0.01	1.05
	醇类合计(23种)			0.82	0.36	7.13	9.43	18.9		
31	1,1-二甲基环己烷	590-66-9	-	-	-	-	0.65±0.04	-	0.03	1.02
32	3-(2-羟丙基)-5-甲 基-2-恶唑烷	3375-84-6	-	-	-	-	0.69	-	<0.01	1.02
33	异壬烷	16747-26-5	-	-	-	(1.31± 0.08) ^a	(0.67± 0.03) ^b	-	0.01	1.02
34	2-甲基-2-乙烯基-1, 3-二氧戊烷	26924-35-6	-	-	-	0.46±0.03	-	-	<0.01	1.04
35	二羟甲基氨基甲烷	561-77-3	-	(0.29± 0.05) ^b	-	(0.62± 0.01) ^a	-	-	<0.01	1.04
36	1,5-二氮杂环 [3.1.0]己烷	13090-31-8	-	-	-	2.80±0.07	-	-	<0.01	1.04
37	1,3-二甲氧基丙烷	17081-21-9	-	-	-	-	-	0.46±0.03	<0.01	1.05
	烷烃类合计(7种)			0.29	-	5.19	2.01	0.46		
38	2-异丙基-2,3-二甲基 丁酸	23119-04-2	-	-	-	-	0.62±0.01	-	<0.01	1.02
39	正癸酸	334-48-5	脂肪、柑橘	-	-	-	(0.55± 0.02) ^b	(0.84± 0.03) ^a	0.01	1.04
40	乙基异丙基硼酸	98544-74-2	-	-	-	0.37±0.02	-	-	0.01	1.04
41	月桂酸	143-07-7	脂肪味	-	-	(0.63± 0.02) ^a	-	0.61 ^a	<0.01	1.00
	羧酸类合计(4种)			-	-	1.00	1.17	1.45		
42	3-辛烯-2-酮	1669-44-9	草本植物、甜蘑菇、蓝 莓	-	(0.54± 0.03) ^c	(0.83± 0.02) ^b	(1.71± 0.08) ^a	-	0.03	1.03
43	6,10-二甲基-5,9-十 一双烯-2-酮	689-67-8	花香	-	(0.53± 0.03) ^b	-	(0.66± 0.03) ^a	-	0.01	1.01
44	3-甲氧基-5-甲基-2- 环戊烯-1-酮	7180-60-1	-	-	-	-	0.37±0.02	-	0.01	1.02
45	5-(环己基甲基)吡咯 烷-2-酮	14293-08-4	-	-	-	-	0.53±0.04	-	0.01	1.02
46	3-羟甲基壬烷-2-酮	67801-33-6	杂草、泥土、草药	-	-	-	0.74±0.03	-	<0.01	1.02
47	3,5-辛二烯酮,3,5- 辛二烯-2-酮	38284-27-4	果味、蘑菇	(6.05± 0.11) ^a	-	(0.55± 0.03) ^c	(0.74± 0.01) ^b	-	<0.01	1.01
48	3,5-辛二烯-2-酮	30086-02-3	果香、绿草味	-	-	(0.93± 0.02) ^b	(1.14± 0.07) ^a	-	0.01	1.01
49	2-丁基环己酮	1126-18-7	花果果味	-	-	-	0.73±0.03	-	<0.01	1.02
50	4'-羟基-2'-甲基苯乙 酮	875-59-2	-	-	-	-	0.94±0.02	-	<0.01	1.02
51	2",4"-二羟基-3"-甲基 丁苯酮	93970-93-5	-	-	-	0.52±0.01	-	-	0.05	1.04
52	1H-吡咯并[3,2-d] 嘧啶-2,4(3H,5H)- 二酮	65996-50-1	-	-	-	0.52±0.01	-	-	<0.01	1.04

续表 3

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对含量/%					P	VIP 值
				豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶		
53	6-甲基-2-庚-4-酮	49852-35-9	-	-	-	0.47±0.01	-	-	<0.01	1.04
54	2,2-双乙酰氧基-苯乙酮	5062-30-6	-	-	-	-	-	0.56±0.03	<0.01	1.05
55	2,4,6-环庚三烯-1-酮	539-80-0	-	-	-	-	-	0.55±0.04	0.02	1.05
56	4-[吡咯烷-2-酮-5-基]丁烷-2-酮	117155-74-5	-	-	-	-	-	0.74±0.03	<0.01	1.05
57	2,6-二(叔丁基)-4-羟基-4-甲基-2,5-环己烯-1-酮	10396-80-2	-	-	-	-	-	0.46±0.04	<0.01	1.05
58	2,3-庚烷二酮	351-6-3	黄油	-	-	-	-	1.42±0.05	<0.01	1.05
酮类合计(17 种)				6.05	1.07	3.82	7.56	3.73		
59	S-(4-氰基苯基)N,N-二甲基硫代氨基甲酸酯	19290-43-8	-	-	-	-	0.46±0.04	-	0.01	1.02
60	1,5-二甲基-1-乙炔基-4-己烯基丁酸酯	78-36-4	佛手柑、果味、香蕉、浆果	-	-	-	1.01±0.02	-	<0.01	1.02
61	4,6-二甲基壬酸甲酯	55955-66-3	-	-	-	-	1.42±0.06	-	0.01	1.02
62	2-乙基庚酸甲酯	816-63-7	-	-	-	-	0.72±0.01	-	<0.01	1.02
63	异硫氰酸苄酯	622-78-6	豆瓣菜	-	-	-	6.39±0.11	-	0.02	1.02
64	甲基硫代乙酸甲酯	16630-66-3	硫磺味、熟土豆、烤坚果、热带水果	-	-	0.56±0.04	-	-	<0.01	1.04
65	2-甲基辛酸甲酯	2177-86-8	-	-	-	(0.75±0.04) ^b	-	(0.85±0.03) ^a	0.01	1.00
66	2,4-二甲基-己酸甲酯	14251-44-6	-	-	-	2.40±0.06	-	-	<0.01	1.04
67	2,2,-二甲基乙酰乙酸甲酯	38923-57-8	-	-	-	1.07±0.08	-	-	0.02	1.04
68	2-甲基-丙酸 3-羟基-2,2,4-三甲基戊基酯(1R,2S,5R)-(-)-	77-68-9	-	-	-	0.47±0.02	-	-	0.01	1.04
69	薄荷基(S)-对甲苯亚磺酸酯	1517-82-4	-	-	-	0.72±0.01	-	-	<0.01	1.04
70	马来酸二丁酯	105-76-0	-	-	-	0.73±0.01	-	-	<0.01	1.04
71	2-甲氧基乙基-2-乙基己酸酯	205983-99-9	-	-	-	0.75±0.04	-	-	0.02	1.04
72	邻苯二甲酸二乙酯	84-66-2	-	-	-	0.51±0.01	-	-	<0.01	1.04
73	乙基己酸乙基己酯	7425-14-1	果味	-	-	0.63±0.02	-	-	0.01	1.04
74	二氢茉莉酮酸甲酯	24851-98-7	花香、茉莉花	-	-	0.85±0.03	-	-	<0.01	1.04
75	四氢糠醇丙酸酯	637-65-0	油漆、果味、紫罗兰叶	-	-	0.46±0.02	-	-	0.01	1.04
76	邻苯二甲酸二异丁酯	84-69-5	-	-	-	(1.70±0.06) ^a	-	(0.94±0.02) ^b	0.01	1.01
酯类合计(18 种)				-	-	11.60	10.00	1.79		
77	异麦芽酚	3420-59-5	焦糖味	-	-	-	0.45±0.04	-	0.03	1.02
78	4-叔丁基-2-甲基噻酚	15570-10-2	-	-	-	-	0.63±0.02	-	<0.01	1.02
79	2-(2-甲基烯丙基)苯酚	20944-88-1	-	-	-	-	0.75±0.02	-	<0.01	1.02
80	羟基二氢麦芽酚	28564-83-2	-	-	-	-	-	0.45±0.04	0.03	1.05
81	2-甲氧基-4-乙烯苯酚	7786-61-0	丁香、康乃馨、胡椒味、烟熏、木本	-	-	-	-	0.54±0.03	<0.01	1.05

续表 3

序号	挥发性化合物	CAS 号	气味特征	相对含量/%					<i>P</i>	VIP 值
				豆粕	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	木瓜蛋白酶	风味蛋白酶		
82	4-丙基甲苯	1074-55-1	-	-	-	-	-	0.53±0.04	<0.01	1.05
	酚类合计(6种)			-	-	-	1.83	1.52		
83	N,N-二丁基甲酰胺	761-65-9	-	-	-	(0.53±0.02) ^a	-	(0.45±0.03) ^b	<0.01	1.05
84	烯丙基胺	107-11-9	-	-	-	-	-	1.71±0.08	<0.01	1.05
85	N-乙基异丙基胺	19961-27-4	-	-	-	-	-	0.53±0.02	0.01	1.05
86	2-(1 <i>h</i> -咪唑-4-基)-1-甲基-乙胺 2 <i>hcl</i>	6986-90-9	-	-	-	-	-	1.51±0.06	<0.01	1.05
87	正丁胺	109-73-9	氨状腥味	-	-	0.94±0.01	-	-	<0.01	1.04
88	3-甲基环己胺	6850-35-7	-	(0.14±0.01) ^b	-	-	(0.53±0.01) ^a	-	<0.01	1.02
89	庚酰胺	628-62-6	-	-	-	-	2.48±0.05	-	0.03	1.02
	胺类合计(7种)		-	0.14	-	1.47	3.01	4.57		
90	4-甲氧基-1-戊烯	98386-09-5	-	-	-	-	0.53±0.03	-	<0.01	1.02
91	2-环戊烯-1-基醚	15131-55-2	-	-	-	-	0.53±0.04	-	0.01	1.02
92	2-癸基吡啶	74421-02-6	-	-	-	-	(0.66±0.02) ^a	(0.65±0.03) ^a	0.02	1.03
93	去乙基-去异丙基-2-羟基阿特拉津	645-92-1	-	-	-	-	0.55±0.03	-	<0.01	1.02
94	1,1-二丙基肼	4986-50-9	-	-	-	-	2.63±0.08	-	<0.01	1.02
95	2,4,6-三氨基嘧啶	1004-38-2	-	-	-	-	0.54±0.03	-	<0.01	1.02
96	2-叔丁基-4-羟基茴香醚	88-32-4	微焦味、微酸味	-	-	-	0.74±0.04	-	<0.01	1.02
97	2-叔丁基-2-甲基-1,3-二氧戊环	6135-54-2	-	-	-	0.45±0.02	-	-	<0.01	1.04
98	3,5-二氨基-1,2,4-三氮唑	1455-77-2	-	-	-	0.44±0.03	-	-	<0.01	1.04
99	3-甲基吡唑	1453-58-3	-	-	-	0.64±0.03	-	-	<0.01	1.04
100	2-甲基-5-氨基-2 <i>H</i> -四氮唑	1553-84-0	-	-	-	-	-	0.64±0.02	0.01	1.05
101	3-羟基吡啶	109-00-2	-	-	-	-	-	1.05±0.05	0.01	1.05
102	2-甲基-2-(4-甲基-3-亚甲基戊基)-1,3-二氧戊环	66972-05-2	-	-	-	-	-	2.42±0.05	0.02	1.05
103	4,4-二甲基-2-咪唑并咪	2305-59-1	-	-	-	-	-	0.36±0.04	<0.01	1.05
	其他(14种)			-	-	1.53	6.18	5.12		

味^[26]。2-乙基己醇具有淡花香和甜味,在中性蛋白酶组中也被检出且含量较高,可能对 SMH 的风味有一定影响^[27]。醇类化合物主要来源于酶解过程中氨基酸的转化,由醛进一步分解形成,大部分都具有令人愉快的花香和草本香特征^[28]。实验中共检出 7 种醛类物质,相对含量变化范围为 1.55% ~ 13.61%。只有风味蛋白酶 SMH 醛类物质含量升高,其余均降低,壬醛(4.62%)、癸醛(2.62%)和正己醛(2.73%)在风味蛋白酶组中相对含量最高,主要呈现出清香的风味^[29],一般来源于酶解过程中氨基酸的施特雷克尔降解反应或脂肪的氧化降解,其

中 C₆ ~ C₉ 的饱和醛和不饱和醛具有清香、果香和脂香味,且阈值很低,对酶解物的整体气味特征具有重要贡献^[30]。

为观察到豆粕及不同 SMH 之间的差异对其进行聚类分析。以 *P* < 0.05 且 VIP 值大于 1 的标准,筛选出 103 种差异风味物质的相对含量作为变量,得到聚类热图。结果如图 4 所示,4 种 SMH 与豆粕做对照差异明显,可聚为 3 类,使其特征性物质可视化,碱性蛋白酶和中性蛋白酶组聚为一类,风味蛋白酶和木瓜蛋白酶组各为一类。结合图 4 和表 3 可以看出,碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶组中的烷烃类、酮类

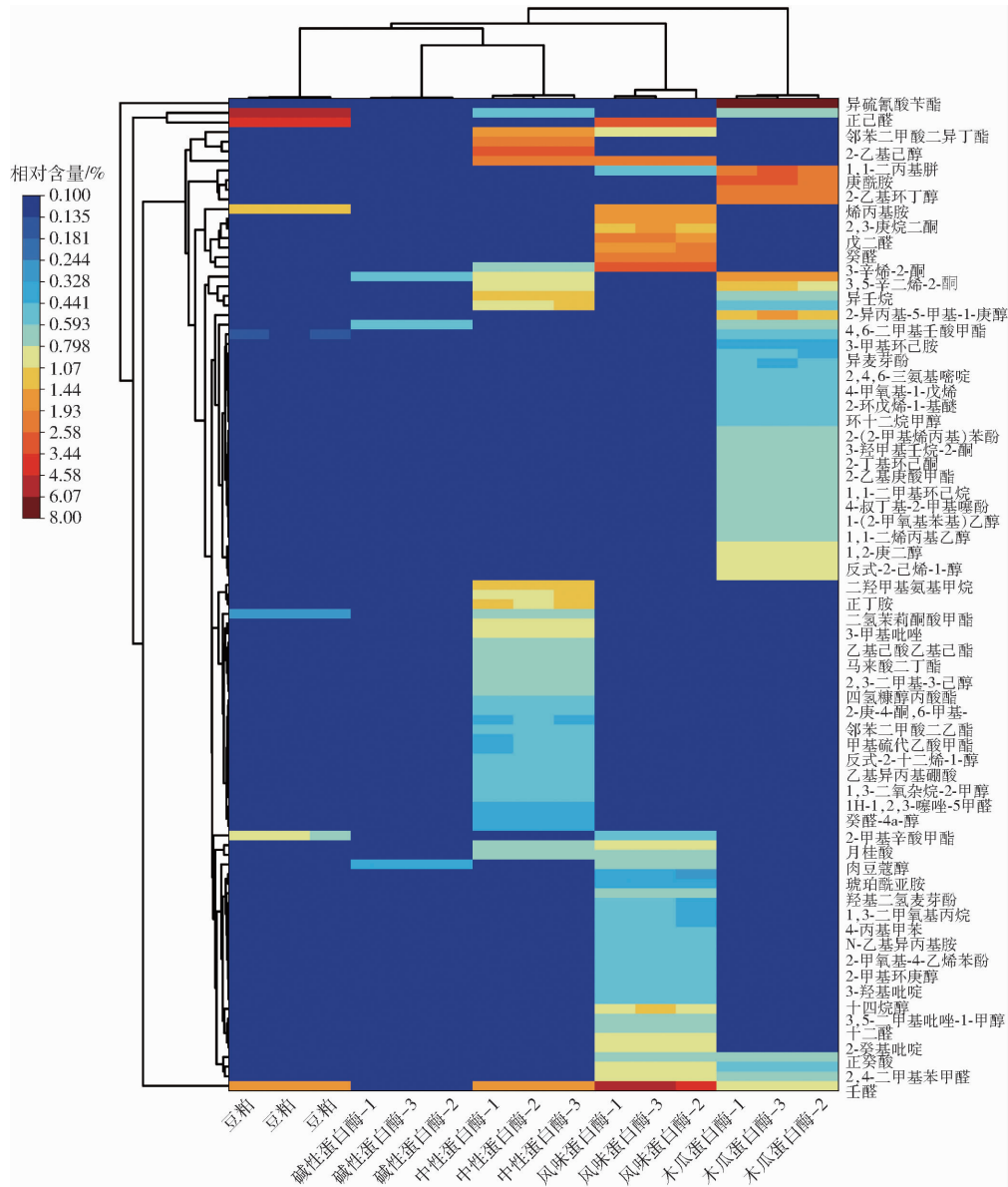


图 4 豆粕及不同 SMH 中差异风味成分聚类热图

Fig. 4 Heatmap of clustering of differential flavor components in soybean meal and different SMH

和胺类化合物种类较多,而仅有 3-辛烯-2 酮、6,10-2 甲基-5,9-十一双烯-2-酮和肉豆蔻醇 3 种物质为碱性蛋白酶组的差异风味物质。风味蛋白酶组的差异风味物质中醛类和醇类化合物种类较多且相对含量较高,主要是因为风味蛋白酶同时具有内切蛋白酶与外切肽酶两种活性,会更大程度地将豆粕中的蛋白质和多肽降解为游离氨基酸,游离氨基酸可作为重要的风味物质和风味前体物质^[31],在酶解过程中经一系列反应生成醛类和醇类化合物^[32]。木瓜蛋白酶组的差异风味物质中吡啶类、呋喃类和胺类化合物种类较多且相对含量较高,可能是由于木瓜蛋白酶内切产生大量多肽片段,在酶解过程中经热降解会产生大量氨基,这些氨基经美拉德反应可以生成吡嗪、吡咯、吡啶等风味物质^[33]。综合分析表明,风味蛋白酶和木瓜蛋白酶与豆粕相比相差最大,风

味改善效果明显。

2.2.2 HS-SPME-GC-MS 主成分分析

通过 HS-SPME-GC-MS 结果结合 PCA 分析,能够方便快捷地对不同 SMH 进行区分,其结果如图 5 所示。其中 PC1 和 PC2 的累计方差贡献率为 78.5%,可反映数据的绝大部分信息。由图 5 可知,豆粕与碱性蛋白酶组在图中相距较近,其余样品在图中间隔较大、且不交叉重叠,表明豆粕与碱性蛋白酶酶解物的挥发性风味特征具有一定相似性,其余样品之间风味具有明显差异。以上结果良好地验证了聚类热图的结果,即风味蛋白酶和木瓜蛋白酶酶解物与豆粕相比相差最大,风味改善效果明显。

2.3 HS-GC-MIS 和 HS-SPME-GC-MS 韦恩图

由表 2 可知,不同 SMH 采用 GC-IMS 检测出

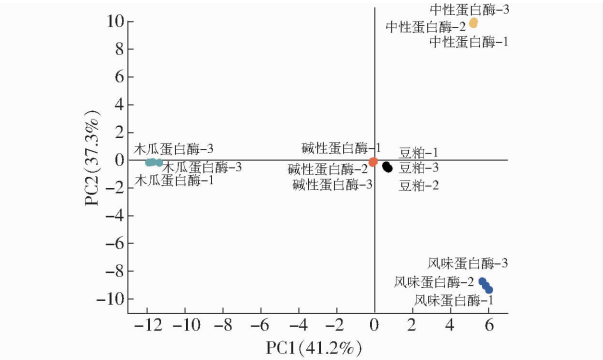


图 5 豆粕及不同 SMH 中 VOCs 的 HS-SPME-GC-MS 主成分分析图

Fig. 5 HS-SPME-GC-MS principal component analysis plot of VOCs in soybean meal and different SMH

84 个共有香气成分,其中醇类化合物 25 种、醛类化合物 16 种、酮类化合物 11 种、酯类化合物 13 种、酸类化合物 7 种、吡嗪类化合物 3 种、烯烴类化合物 3 种、呋喃类化合物 3 种和其他类化合物 3 种。这些有机物分子 C 链大多在 C2 ~ C10 之间,醛类化合物是 SMH 主要的挥发性成分,相对含量为 39.10% ~ 41.79%。由表 3 可知,不同 SMH 采用 GC-MS 共检测出 103 种挥发性成分,包括醛类 7 种、醇类 23 种、烷烴类 7 种、酸类 4 种、酮类 17 种、酯类 18 种、酚类 6 种、胺类 7 种以及其他类化合物 14 种。GC-MS 和 GC-IMS 两种检测方法检出的基础风味物质种类基本一致,由图 6 可知,SMH 共有风味物质为 4 ~ 10 种,多为 2,3-戊二酮、2-乙基-1-己醇、2-庚酮、2-壬酮、2-戊基呋喃、苯甲醛、庚酸、己醛、壬醛、乙酸丙酯。其中 HS-SPME-GC-MS 法检测出的挥发性风味化合物数量更多而 HS-GC-IMS 法可以检

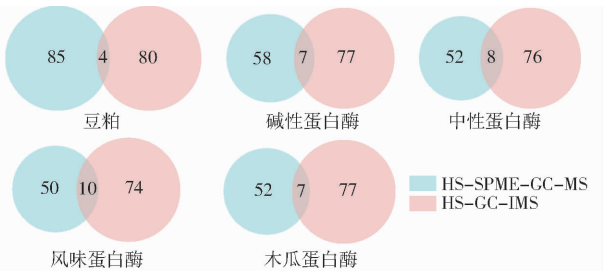


图 6 豆粕及不同 SMH 的 HS-GC-IMS 和 HS-SPME-GC-MS 韦恩图

Fig. 6 Soybean meal and different SMH HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS VENN diagram

测出更多类型的化合物,是因为 HS-SPME-GC-MS 的数据库比 HS-GC-IMS 更加成熟,但是使用 HS-SPME-GC-MS 法样品前处理比较繁琐且容易失真^[34]。而 HS-GC-IMS 法样品无需复杂的浓缩、富集,有利于保持风味物质的稳定,可广泛应用于不同挥发性成分和同分异构体区分以及对痕量物质检测具有高灵敏性^[35]。因此两者结合取长补短,通过 HS-GC-IMS 和 HS-SPME-GC-MS 相结合的分析方法可以更加方便、快捷、准确研究不同样品间的挥发性风味成分的差异。

3 结束语

采用 HS-GC-IMS 和 HS-SPME-GC-MS 两种技术研究了碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶以及风味蛋白酶酶解对豆粕挥发性风味成分的影响,并结合 PCA、聚类热图和 OPLS-DA 分析不同 SMH 之间的风味差异。HS-GC-IMS 定性检出 84 种已知挥发性组分,不同 SMH 在指纹图谱中各有特征峰区域,其中风味蛋白酶组的特征峰区域最大。PCA 结果表明不同 SMH 之间的风味存在显著差异。偏最小二乘结果揭示了酶种类与挥发性化合物之间的相关性,基于 P 值与 VIP 值,筛选得到 33 种不同 SMH 的差异香气物质,发现经蛋白酶酶解后,酮类物质显著降低而醛类、醇类和酯类物质明显增加,说明酶解显著改善了豆粕的不良风味。HS-SPME-GC-MS 鉴定出挥发性化合物 103 种,主要包括酮类、醇类、醛类等物质。筛选出差异风味物质进行聚类分析发现,碱性蛋白酶组的差异风味物质仅有 3-辛烯-2 酮、6,10-2 甲基-5,9-十一双烯-2-酮和肉豆蔻醇 3 种。风味蛋白酶组的差异风味物质中醛类和醇类化合物种类较多且相对含量较高,木瓜蛋白酶组的差异风味物质中吡啶类、呋喃类和胺类化合物种类较多且相对含量较高。PCA 和聚类热图结果表明不同蛋白酶酶解对豆粕的挥发性风味物质的种类和含量有显著影响,其中,风味蛋白酶和木瓜蛋白酶对豆粕的风味改善最为显著。综合韦恩图结果说明 HS-SPME-GC-MS 和 HS-GC-IMS 联合使用,可以弥补各自的局限性,更全面地描述样品风味特征,为不同蛋白酶酶解豆粕风味成分分析提供了客观依据。

参 考 文 献

[1] AMUTIA F, BINNER E, WILLIAMS P, et al. Oilseeds beyond oil: press cakes and meals supplying global protein requirements[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 100: 88-102.

[2] PAULINO B N, SALES A, FELIPE L, et al. Recent advances in the microbial and enzymatic production of aroma compounds[J]. Current Opinion in Food Science, 2021, 37: 98-106.

[3] 范海茹, 李淑英, 许斌, 等. 内外切蛋白酶连续酶解制备豆粕鲜味肽的研究[J]. 中国调味品, 2021, 46(1): 77-82. FAN Hairu, LI Shuying, XU Bin, et al. Study on preparation of soybean meal umami peptides by continuous enzymatic hydrolysis[J]. China Condiment, 2021, 46(1): 77-82. (in Chinese)

[4] 王雨生, 陈海华, 王莹钰, 等. 超声波协同酶法制备香菇酶解液及其鲜味物质研究[J]. 中国食品学报, 2015, 15(9): 134-141.
WANG Yusheng, CHEN Haihua, WANG Yingyu, et al. Preparation of mushroom hydrolysate by ultrasonic-enzyme synergistic method and studies on its umami substances[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(9): 134-141. (in Chinese)

[5] LI Meng, ZHANG Jialan, LI Li, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on volatile flavor compounds of *Monascus*-fermented tartary buckwheat based on headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Research International, 2023, 163: 112180.

[6] 江连洲, 佟晓红, 刘宝华, 等. 酶种类对生物解离大豆蛋白酶解物功能性和苦味的影响[J]. 农业机械学报, 2018, 49(8): 368-374.
JIANG Lianzhou, TONG Xiaohong, LIU Baohua, et al. Effect of enzymatic species on function and bitterness of enzyme-assisted aqueous extraction soybean protein hydrolysates[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(8): 368-374. (in Chinese)

[7] ZHENG Li, LI Da, LI Zhuolin, et al. Effects of bacillus fermentation on the protein microstructure and anti-nutritional factors of soybean meal[J]. Letters in Applied Microbiology, 2017, 65(6): 520-526.

[8] XIANG Longbie, ZHU Wenyang, JIANG Bo, et al. Volatile compounds analysis and biodegradation strategy of beany flavor in pea protein[J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134275.

[9] YIN Liqing, LIU Zhihao, LU Xinghua, et al. Analysis of the nutritional properties and flavor profile of sweetpotato residue fermented with *Rhizopus oligosporus*[J]. LWT, 2023, 174: 114401.

[10] 单启梅, 赵晓策, 罗瑞明, 等. 滩羊肌肉在煮制过程中可挥发性化合物的变化[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 165-171.
SHAN Qimei, ZHAO Xiaocai, LUO Ruiming, et al. Change of volatile flavor compounds in Tan sheep muscle during cooking [J]. Food Science, 2021, 42(8): 165-171. (in Chinese)

[11] 王辉, 田寒友, 李文采, 等. 基于顶空气相色谱-离子迁移谱技术的冷冻猪肉贮藏时间快速判别方法[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 269-274.
WANG Hui, TIAN Hanyou, LI Wencai, et al. Fast discrimination of frozen pork stored for different periods using headspace-gas chromatography-ion mobility spectroscopy (HS-GC-IMS)[J]. Food Science, 2019, 40(2): 269-274. (in Chinese)

[12] ARROYO-MANZANARES N, MARTÍN-GÓMEZ A, JURADOCAMPOS N, et al. Target vs spectral fingerprint data analysis of Iberian ham samples for avoiding labelling fraud using headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Food Chemistry, 2018, 246: 65-73.

[13] YU Min, HE Shudong, TANG Mingming, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2018, 243: 249-257.

[14] RODRÍGUEZ-MAECKER R, VYHMEISTER E, MEISEN S, et al. Identification of terpenes and essential oils by means of static headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(28): 6595-6603.

[15] 于怀智, 姜滨, 孙传虎, 等. 顶空气相离子迁移谱技术对不同产地水蜜桃的气味指纹分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(16): 231-235.
YU Huaizhi, JIANG Bin, SUN Chuanhu, et al. Analysis of nectarine odor fingerprints based on headspace-gas chromatography-ion mobility spectroscopy[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(16): 231-235. (in Chinese)

[16] LI Huamin, JIANG Dongqi, LIU Wenli, et al. Comparison of fermentation behaviors and properties of raspberry wines by spontaneous and controlled alcoholic fermentations[J]. Food Research International, 2019, 128: 108801.

[17] MEINLSCHMIDT P, SCHWEIGGERT-WEISZ U, BRODE V, et al. Enzyme assisted degradation of potential soy protein allergens with special emphasis on the technofunctionality and the avoidance of a bitter taste formation[J]. LWT, 2016, 68: 707-716.

[18] LIU Miao, WANG Jun, LI Duo, et al. Electronic tongue coupled with physicochemical analysis for the recognition of orange beverages[J]. Journal of Food Quality, 2012, 35(6): 429-441.

[19] YUN Jing, CUI Chuanjian, ZHANG Shihua, et al. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea[J]. Food Chemistry, 2021, 360: 130033.

[20] WENG Zebin, SUN Lu, WANG Fang, 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.

[21] ZHOU Dan, PAN Yun, YE Jing, et al. Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil[J]. LWT, 2021, 83: 292-297.

[22] ZHOU Y Q, WANG Z J. Extraction and analysis on fishy odor-causing compounds in the different part of carp[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(9): 165-167.

[23] 冯涛, 赵宇, 张治文, 等. L-阿拉伯糖与氨基酸美拉德反应挥发性风味物质分析[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 213-217.
FENG Tao, ZHAO Yu, ZHANG Zhiwen, et al. Analysis and formation mechanism of volatile flavor substances in Maillard reaction products from L-Arabinose and amino acid[J]. Food Science, 2019, 40(8): 213-217. (in Chinese)

[24] 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 aldididae alid muscle hydrolysates[J]. Food Science, 2021, 42(4): 190-196. (in Chinese)

optimization[J]. Applied Soft Computing, 2021, 102: 107122.

[23] 唐可心, 梁晓磊, 周文峰, 等. 具有重组学习和混合变异的动态多种群粒子群优化算法[J]. 控制与决策, 2021, 36(12): 2871–2880.

TANG Kexin, LIANG Xiaolei, ZHOU Wenfeng, et al. Dynamic multi-population particle swarm optimization algorithm with recombined learning and hybrid mutation[J]. Control and Decision, 2021, 36(12): 2871–2880. (in Chinese)

[24] JIANG J J, WEI W X, SHAO W L, et al. Research on large-scale bi-level particle swarm optimization algorithm[J]. IEEE Access, 2021, 9: 56364–56375.

[25] 刘志浩, 刘钊汛, 张亚, 等. 重载轮胎面内柔性环振动建模与试验[J]. 振动与冲击, 2021, 40(23): 134–142, 165.

LIU Zhihao, LIU Yixun, ZHANG Ya, et al. Modeling and tests of in-plane flexible ring vibration of heavy-duty tire[J]. Journal of Vibration and Shock, 2021, 40(23): 134–142, 165. (in Chinese)

[26] 黄通, 刘志浩, 高钦和, 等. 重载车辆轮胎模型参数辨识与灵敏度分析[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 2022, 49(8): 36–44.

HUANG Tong, LIU Zhihao, GAO Qinhe, et al. Parameter identification and sensitivity analysis of heavy-duty vehicle tire model[J]. Journal of Hunan University(Natural Sciences), 2022, 49(8): 36–44. (in Chinese)

(上接第 367 页)

[25] 常钰菲. 鲑鱼蛋白酶解液中风味物质的构成及脱腥方法研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.

CHANG Yufei. Identification of volatile flavor compounds from codfish and study on deodorization methods[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015. (in Chinese)

[26] FRATINI G, LOIS S, PAZOS M, et al. Volatile profile of Atlantic shellfish species by HS–SPME GC/MS[J]. Food Research International, 2012, 48(2): 856–865.

[27] YAO S S, GUO W F, LU Y, et al. Flavor characteristics of lapsang souchong and smoked lapsang souchong, a special Chinese black tea with pine smoking process[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(22): 8688–8693.

[28] 夏晓霞, 薛艾莲, 寇福兵, 等. 枣加工过程中特征香气物质形成机制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 288–297.

XIA Xiaoxia, XUE Ailian, KOU Fubing, et al. Formation mechanism of characteristic aroma substances during jujube processing: a review[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(23): 288–297. (in Chinese)

[29] 徐永霞, 张朝敏, 赵佳美, 等. 牙鲆冷藏过程中肌肉挥发性风味成分的变化[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(1): 219–224.

XU Yongxia, ZHANG Chaomin, ZHAO Jiamei, et al. Changes in volatiles of *Paralichthys olivaceus* muscle during chilled storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(1): 219–224. (in Chinese)

[30] 王福田, 杨冰, 鲁玉凤, 等. 不同蒸煮方式青蟹肌肉感官品质分析和比较研究[J]. 肉类研究, 2021, 35(6): 28–36.

WANG Futian, YANG Bing, LU Yufeng, et al. Analysis and comparative study of sensory qualities of muscle from the mud crab scyllaparamamosain cooked by different methods[J]. Meat Research, 2021, 35(6): 28–36. (in Chinese)

[31] WEN Dongling, LIU Yue, YV Qian. Metabolomic approach to measuring quality of chilled chicken meat during storage[J]. Poultry Science, 2020, 99(5): 2543–2554.

[32] GAO Binghong, HU Xiaobo, XUE Hui, et al. The changes of umami substances and influencing factors in preserved egg yolk: pH, endogenous protease, and proteinaceous substance[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 26(9): 998448.

[33] 施小迪. 豆乳及豆乳发酵液不良风味的形成及改善途径研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.

SHI Xiaodi. Study on the formation and improving methods for off-flavor of soymilk and soymilk fermented liquid[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017. (in Chinese)

[34] 葛武鹏, 李元瑞, 陈瑛, 等. 牛羊奶酸奶挥发性风味物质固相微萃取 GC/MS 分析[J]. 农业机械学报, 2008, 39(11): 64–69, 75.

GE Wupeng, LI Yuanrui, CHEN Ying, et al. Analysis of volatile aromatic compounds from cow's and goat's milk yoghurt by SPME–GC/MS[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(11): 64–69, 75. (in Chinese)

[35] GARRIDO-DELGADO R, DOBAO-PRIETO M, ARCE L, et al. Determination of volatile compounds by GC–IMS to assign the quality of virgin olive oil[J]. Food Chemistry, 2015, 187: 572–579.