

利用富硒双孢菇粉提升酱油有机硒含量 和改善酱油风味

陈静如¹, 胡锋², 符姜燕², 刘占^{2*}, 宋超³, 卜丽丽³, 王博¹, 张智宏¹, 高献礼^{1*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 广东厨邦食品有限公司, 广东阳江 529899)

(3. 江苏裕灌现代农业科技有限公司, 江苏连云港 222599)

摘要: 该研究利用临期和损伤富硒双孢菇制备富硒双孢菇粉, 以其替代 15% 质量分数的面粉, 按照高盐稀态工艺生产富硒酱油 (样品酱油)。结果显示, 样品酱油总硒和有机硒含量分别达到 134.65 和 122.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 比对照酱油提高 5.70 倍和 5.85 倍, 有机硒转化率为 91.00%, 符合富硒酱油标准。理化分析结果表明样品酱油总氮、氨基酸态氮和无盐固形物含量为 1.72、1.03 和 22.56 $\text{g}/100\text{ mL}$, 比对照酱油提高 9.55%、19.77% 和 5.13%。此外, 样品酱油蘑菇香、麦芽香、醇香和果香香气强度比对照酱油提高了 5 837.17%、15.62%、20.15% 和 15.88%。添加富硒双孢菇粉显著提高了大曲和酱醪中蛋白酶酶活, 这是富硒双孢菇粉提高酱油滋味物质含量的原因。富硒双孢菇粉中的 1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇、3-辛醇和 3-辛酮赋予了样品酱油蘑菇香。此外, 富硒双孢菇粉促进了酱醪中产香微生物的繁殖, 进而提高了样品酱油中麦芽香、醇香和果香香气强度。该研究利用临期和损伤富硒双孢菇开发了一种风味良好的富硒酱油, 可为双孢菇和酱油生产企业提高产品附加值提供技术参考。

关键词: 酱油; 双孢菇; 硒; 风味

文章编号: 1673-9078(2023)05-217-224

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0662

Enhancing the Organic Selenium Content in Soy Sauce and Improving the Soy Sauce Flavor using Selenium-enriched *Agaricus bisporus* Powder

CHEN Jingru¹, HU Feng², FU Jiangyan², LIU Zhan^{2*}, SONG Chao³, BU Lili³, WANG Bo¹, ZHANG Zhihong¹, GAO Xianli^{1*}

(1.School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2.Guangdong Chubang Food Co. Ltd., Yangjiang 529899, China)

(3.Jiangsu Yuguan Modern Agricultural Technology Co. Ltd., Lianyungang 222599, China)

Abstract: In this research, selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder was prepared by the expiring and damaged selenium-enriched *Agaricus bisporus*, which was used to replace 15% of wheat flour to produce selenium-enriched soy sauce (soy sauce sample) according to the high-salt diluted state process. Results showed that the contents of total selenium and organic selenium in the soy sauce sample reached 134.65 and 122.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively, which were 5.70- and 5.85-fold higher than those of the control soy sauce, with the conversion rate of organic selenium being 91.00% (which met the standard of selenium-enriched soy sauce). The results of physiochemical analyses showed that the contents of total nitrogen, amino acid nitrogen and salt-free solids in the soy sauce sample were 1.72, 1.03 and 22.56 $\text{g}/100\text{ mL}$, respectively, which were 9.55%, 19.77% and 5.13% higher than those in the control soy sauce. In addition, the intensities of mushroom, malty, alcoholic and

引文格式:

陈静如,胡锋,符姜燕,等.利用富硒双孢菇粉提升酱油有机硒含量和改善酱油风味[J].现代食品科技,2023,39(5):217-224.

CHEN Jingru, HU Feng, FU Jiangyan, et al. Enhancing the organic selenium content in soy sauce and improving the soy sauce flavor using selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(5): 217-224.

收稿日期: 2022-05-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301537); 阳江市科技创新战略专项 (SDZX2021030)

作者简介: 陈静如 (2001-), 女, 本科生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2290795424@qq.com

通讯作者: 刘占 (1982-), 女, 正高级工程师, 研究方向: 食品工程, E-mail: 191103455@qq.com; 共同通讯作者: 高献礼 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: gaoxianli@ujs.edu.cn

fruity aromas of the soy sauce sample were 5 837.17%, 15.62%, 20.15% and 15.88%, respectively, higher than those of the control soy sauce. The addition of selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder significantly increased the protease activities in *Daqu* and moromi, which was the reason why the selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder increased the contents of flavor substances in soy sauce. 1-Octene-3-one, 1-octene-3-alcohol, 3-octanol and 3-octanone of selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder endowed the soy sauce sample with mushroom aroma. Moreover, selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder promoted the proliferation of aroma-producing microorganisms in moromi, which in turn increased the intensities of malty, alcoholic and fruity aromas in soy sauce sample. In this research, a selenium-enriched soy sauce with good flavor was developed using the expiring and damaged selenium-enriched *Agaricus bisporus*, which provides a technical reference for *Agaricus bisporus* and soy sauce manufacturing to increase the added value of products.

Key words: soy sauce; *Agaricus bisporus*; selenium; flavor

硒 (Se) 是人类生长发育不可缺少的类金属微量元素, 通常以辅酶因子或辅基的形式存在于脱碘酶、蛋氨酸硫酸氧化物还原酶、谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧环蛋白还原酶中^[1,2]。上述酶可清除人体内活性氧自由基 (ROS), 对维护人体免疫和心血管系统健康及预防癌症发生发挥着重要作用^[3]。由于硒在陆地上的分布不均匀, 全世界数十亿人硒摄入量低于推荐量的下限值 (成人 55 $\mu\text{g}/\text{d}$)^[2]。我国东北部分地区成年人每日硒摄入量甚至低于 25 μg , 这是当地心脏病、克山病和大脖子病高发的原因^[4,5]。因此, 开发经济实惠的富硒食品, 改善贫硒地区硒缺乏症具有重要意义。

双孢菇 (*Agaricus bisporus*) 是营养丰富、味道鲜美、色白质嫩的药食两用蔬菜, 被称为“世界菇”, 深受消费者青睐^[5,6]。前期研究表明双孢菇富硒能力强, 可将无机硒、纳米硒转化为易吸收、易代谢和无毒的有机硒^[6]。如 Cremades 等^[7]研究发现利用浓度为 100 mg/kg 的亚硒酸钠灌溉双孢菇, 可使干双孢菇硒含量达到 3.12 $\mu\text{g}/\text{g}$, 其中 86% 的硒为有机硒, 比对照双孢菇硒含量提高 4.2 倍。本实验室前期在培养基中添加纳米硒 (0.5~2.5 mg/kg) 生产富硒双孢菇, 富硒双孢菇子实体中硒含量达到 0.19~0.90 mg/kg 干物质, 比对照双孢菇硒含量提高 2.38~11.25 倍^[5]。富硒食品价格一般是同类普通食品价格的数倍, 因此富硒双孢菇具有良好的市场前景。

富硒双孢菇水分含量高、保质期短 (5~7 d), 临期产品色泽褐变速度快。双孢菇褐变不但影响其外观品质, 而且导致其商业价值和营养价值下降^[8]。富硒双孢菇采收和包装过程中产生大量损伤菇, 其保质期更短。目前企业主要将临期和损伤双孢菇作为培养基再次利用, 给企业带来较大的经济损失, 处理不及时也易造成环境污染。因此合理利用富硒蘑菇中的临期产品和损伤品具有重要的经济价值。

目前我国人均酱油消费量已达到 7 L/年, 接近日本人均酱油消费量的 70%, 国内酱油市场接近饱和。同时国产酱油同质化严重, 企业利润率逐年下降。因

此, 开发有特色或具有功能性的酱油新产品可能是破解酱油市场当前局面的一种可行策略。临期和损伤富硒双孢菇不但含有丰富的有机硒, 而且含有丰富的蛋白质和核苷酸等物质, 可用作生产富硒酱油的原料。利用临期和损伤双孢菇生产富硒酱油不但可以解决富硒双孢菇产业临期和损伤品的再利用问题, 而且还可以开发出具有功能性的酱油新产品, 提升酱油附加值和企业市场竞争力。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

采用 As2796 (福建省农业科学院食用菌研究所) 为菌种生产富硒双孢菇。硒标准溶液、18 种氨基酸标准品、抗坏血酸、表 3 中挥发性化合物标准品和 C₆-C₃₃ 烷烃标准品购自 Aladdin (上海) 或 Sigma-Aldrich (上海)。苯酚、三氯乙酸、亚硒酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、葡萄糖、石油醚等其他化学药品购自国药集团有限公司, 均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DFY1000 型摇摆式粉碎机, 温州顶历医疗器械有限公司; 电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; EX223 型电子天平, 奥豪斯仪器 (上海) 有限公司; K1100F 型全自动凯氏定氮仪, 济南海能仪器股份有限公司; 原子吸收光谱仪, 美国 PerkinElmer PinAAcle™; 原子荧光光谱仪, 北京海光仪器有限公司; SH220F 型石墨消解仪, 济南海能仪器股份有限公司; Agilent 1260 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; MD SpectraMax M2 型多功能酶标仪, 美国 Molecular Devices; Trace 1310-ISQ LT 气质色谱仪, 美国马萨诸塞州赛默飞世尔科学公司。

1.3 富硒双孢菇和富硒双孢菇粉的制备

在培养基中添加纳米硒 (2.5 mg/kg) 制备富硒双

孢菇,具体方法参照陈静如等^[5]的方法。收集临期和损伤双孢菇制备富硒双孢菇粉。富硒双孢菇粉的护色处理参照专利方法(CN:202111415242.3),将上述富硒双孢菇清洗后浸泡在护色液中(1:5, *m/m*),护色液由L-抗坏血酸、L-半胱氨酸、柠檬酸和水组成,其质量比为0.25:0.25:0.25:100。同时进行超声处理(45 kHz、125 W/L、10 min),超声结束后取出上述富硒双孢菇淋干,真空干燥(0.070 MPa、70 °C)后将其粉碎,粉碎的双孢菇过筛网(55目)过滤得到富硒双孢菇粉,密封后备用。

1.4 富硒酱油的制备

大豆常温浸泡10 h后于140 °C蒸煮3 min、冷却,同时将面粉与上述富硒双孢菇粉混合,面粉和富硒双孢菇粉混合物接种米曲霉,接种后的混合物与上述冷却的大豆混合。其中大豆(干质量)、面粉和富硒双孢菇粉重量比例为70:15:15,米曲霉曲精占原料混合物(大豆(干质量)、面粉和富硒双孢菇粉)质量百分比为0.1%,制曲温度、相对湿度和时间分别为30 °C、95%和44 h。大曲成熟后与2.2倍质量的盐水(20%, *m/V*)混合后落罐,参照高盐稀态酱油生产工艺发酵、淋油、过滤、杀菌(135 °C/30 s)和包装。以大豆和面粉(70:30, *m/m*)为原料制备的大曲和酱油为对照大曲和酱油。

1.5 富硒双孢菇粉对酱油理化指标的影响

1.5.1 富硒双孢菇粉和酱油中硒含量测定

根据 Zhao 等^[9]的方法利用原子吸收光谱法(AAS)和原子荧光光谱法(AFS)测定富硒双孢菇粉和酱油中的无机硒和总硒含量。

$$C_{有}=C_{总}-C_{无} \quad (1)$$

式中:

$C_{有}$ ——富硒双孢菇粉或酱油中的有机硒含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$;

$C_{总}$ ——富硒双孢菇粉或酱油中的总硒含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$;

$C_{无}$ ——富硒双孢菇粉或酱油中的无机硒含量, $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.5.2 添加富硒双孢菇粉对酱油滋味物质的影响

根据 Gao 等^[10]方法测定样品和对照酱油中的总氮、总糖和还原糖含量。采用酸碱滴定法测定样品和对照酱油中总氮和氨基酸态氮^[11]。

$$F = \frac{D_1}{D_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

F ——氨基酸转化率, %;

D_1 ——氨基酸态氮含量, $\text{g}/100 \text{ mL}$;

D_2 ——总氮含量, $\text{g}/100 \text{ mL}$ 。

采用烘干法(105 °C烘干至恒重)测定样品和对照

酱油的总固形物含量。采用 AgNO_3 滴定法测定样品和对照酱油的 NaCl 含量^[12]。

$$E = E_1 - E_2 \quad (3)$$

式中:

E ——酱油中非盐溶性固形物含量, $\text{g}/100 \text{ mL}$;

E_1 ——酱油中总固形物含量, $\text{g}/100 \text{ mL}$;

E_2 ——酱油中 NaCl 含量, $\text{g}/100 \text{ mL}$ 。

1.5.3 富硒双孢菇粉对大曲和酱醪酶活的影响

分别测定样品和对照大曲及发酵至1、5、10、15、20、25和30 d时样品和对照酱醪的中性蛋白酶、酸性蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶酶活,具体测定方法参照 Gao 等^[10]的方法。

1.5.4 富硒双孢菇粉对酱油关键香气化合物的影响

采用顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用法分析富硒双孢菇粉对酱油香气化合物的影响。将10 mL食盐过饱和的样品和对照酱油分别密封在20 mL顶空样品瓶中,在磁力搅拌下加热至50 °C。采用顶空固相微萃取(HS-SPME)方法萃取样品和对照酱油挥发性物质,萃取头为85 μm 碳氧-聚二甲基硅氧烷(美国Supelco),萃取时间40 min。采用配备TG Wax柱(60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ,美国马萨诸塞州赛默飞世尔科学公司)的气相色谱-质谱仪对挥发性香气化合物进行分离和鉴定。气相色谱-质谱仪操作条件及关键香气化合物的定量和香气活力值(Odor Activity Value, OAV)计算参照 Feng 等^[13]方法。

1.6 富硒双孢菇粉对酱油风味的影响

采用定量描述分析法(QDA)分析富硒双孢菇粉对酱油滋味和香气的影响,具体方法参照 Gao 等^[11]方法。

1.7 数据分析

所有实验数据均测定3次(感官评价除外),以平均值 \pm 标准偏差的形式表示。运用 SPSS 18.0 软件(美国 SPSS 公司)进行单因素显著性方差分析。

2 结果与讨论

2.1 护色液和超声对双孢菇粉色泽的影响

双孢菇在采收贮藏和加工过程中易发生褐变,组织受到损伤的双孢菇更容易发生褐变,褐变不仅影响产品外观品质,而且会降低其感官品质和内在营养价值^[8]。由于双孢菇保质期仅有5~7 d^[5]。因此,在临期和损伤双孢菇发生严重褐变前将其干燥和储存具有重要意义。



图1 护色和超声处理剂对双孢菇粉色泽的影响

Fig.1 Effect of color protectant and sonication on the color of *Agaricus bisporus* powder

图 1a 为富硒双孢菇经护色液浸泡和超声处理后生产的富硒双孢菇粉，色泽比未经护色和超声处理的富硒双孢菇粉（图 1b）色泽明显浅，说明采用 L-抗坏血酸、L-半胱氨酸、柠檬酸结合超声处理可以显著抑制双孢菇发生褐变，保证富硒双孢菇粉质量稳定，为后续生产富硒酱油提供质量稳定的富硒原料。

酶促褐变和非酶促褐变是双孢菇褐变的主要原因，双孢菇组织损伤后氧气进入细胞内激活多酚氧化酶酶原，活化的多酚氧化酶将双孢菇中的酚类物质氧化为褐色醌类物质^[8]。L-抗坏血酸、L-半胱氨酸、柠檬酸具有抑制多酚氧化酶活性的功能，而超声可以促进护色剂快速进入双孢菇细胞与多酚氧化酶结合，进

而抑制多酚氧化酶活性^[14]。超声（125 W、10 min）产生的自由基和热效应也可能导致多酚氧化酶失活。这是本研究采用护色剂结合超声可以有效抑制富硒双孢菇粉褐变的原因。

由表 1 可知，富硒双孢菇粉总硒、有机硒和无机硒含量分别达到 1 822.67、1 603.95 和 218.72 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。陈静如等^[5]分析结果显示普通双孢菇中硒含量约为 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （DW），本研究生产的富硒双孢菇粉总硒含量比普通双孢菇总硒含量提高约 21 倍。值得注意的是本研究生产的富硒双孢菇粉有机硒转化率达到 88.00%，和 Cremades 等^[6]报道的双孢菇有机硒转化率基本一致。与无机硒相比，有机硒具有更高的安全性、生物利用率和生理活性。因此，利用本研究生产的富硒双孢菇粉具有硒含量和安全性高的特点。此外，富硒双孢菇粉总氮和氨基酸态氮含量达到 5.51% 和 0.72%，说明富硒双孢菇粉含有丰富的蛋白质和游离氨基酸。酱油发酵过程主要是利用米曲霉分泌的蛋白酶将大豆蛋白质降解成呈味游离氨基酸和小分子量肽，赋予酱油特有的滋味。综上可知，富硒双孢菇粉可作为酱油发酵良好的蛋白质原料。由表 1 可知，富硒双孢菇总糖和还原糖含量较低，对酱油甜味贡献不大。

表 1 富硒双孢菇粉理化指标

Table 1 Physicochemical indices of Se-enriched *Agaricus bisporus* powder

总硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	有机硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	无机硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总氮/(g/100 g)	氨基酸态氮/(g/100 g)	总糖/(g/100 g)	还原糖/(g/100 g)
1 822.67 \pm 98.32	1 603.95 \pm 85.15	218.72 \pm 11.72	5.51 \pm 0.13	0.72 \pm 0.03	3.31 \pm 0.09	0.28 \pm 0.02

注：上述数值为干燥富硒双孢菇中各指标的含量。

2.2 富硒双孢菇粉对酱油硒含量的影响

表 2 富硒和对照酱油理化指标

Table 2 Physicochemical indices of selenium-enriched soy sauce and its control

理化指标	样品酱油	对照酱油
总硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	134.65 \pm 7.96 ^a	20.11 \pm 1.18 ^b
有机硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	122.53 \pm 7.36 ^a	17.90 \pm 0.97 ^b
无机硒/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	12.12 \pm 1.73 ^a	2.21 \pm 1.16 ^b
总氮/(g/100 mL)	1.72 \pm 0.05 ^a	1.57 \pm 0.04 ^b
氨基酸态氮/(g/100 mL)	1.03 \pm 0.04 ^a	0.86 \pm 0.03 ^b
氨基酸转化率/%	59.88 \pm 4.07 ^a	54.78 \pm 3.31 ^a
总酸/(g/100 mL)	1.34 \pm 0.06 ^a	1.19 \pm 0.05 ^b
总糖/(g/100 mL)	6.48 \pm 0.17 ^a	6.39 \pm 0.15 ^a
还原糖/(g/100 mL)	5.10 \pm 0.15 ^a	4.93 \pm 0.12 ^a
NaCl/(g/100 mL)	15.29 \pm 0.41 ^a	15.26 \pm 0.40 ^a
无盐固形物/(g/100 mL)	22.56 \pm 0.47 ^a	21.46 \pm 0.47 ^b

注：结果为平均值 \pm 标准差（ $n=3$ ）；同一行右上标不含相同字母表示数据之间存在显著性差异（ $P<0.05$ ）；下表同。

由表 2 可知，样品酱油总硒、有机硒和无机硒含量分别达到 134.65、122.53 和 12.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，显著高于对照酱油（ $P<0.05$ ）。样品酱油总硒和有机硒含量分别比对照酱油提高 5.70 倍和 5.85 倍，富硒酱油有机硒转化率为 91.00%，说明添加的富硒双孢菇粉中的有机硒全部转化为酱油中的有机硒。根据陕西省地方标准（DB61/T 556-2018）规定，硒含量大于 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的酱油可视作富硒酱油。因此，利用富硒双孢菇粉生产的酱油是一种富硒酱油。

2.3 添加富硒双孢菇粉对酱油滋味物质的影响

由表 2 可知，样品酱油总氮、氨基酸态氮和无盐固形物含量分别达到 1.72、1.03 和 22.56 g/100 mL，显著高于对照酱油（ $P<0.05$ ）。样品酱油总氮、氨基酸态氮和无盐固形物含量分别比对照酱油提高 9.55%、19.77% 和 5.13%。酱油中的总氮主要来源于酱油中各种分子量的肽、游离氨基酸及少量未降解的蛋白质和铵盐，样品酱油中的总氮含量高说明原料中的蛋白质在蛋白酶的作用下降解为具有呈味功能的肽

和游离氨基酸^[15]。酱油中的氨基酸态氮主要由游离氨基酸和少量铵盐组成,样品酱油中氨基酸态含量高,说明样品酱油中生成了更多的游离氨基酸,游离氨基酸是酱油的关键滋味物质^[16],说明添加富硒双孢菇粉可提高酱油滋味强度。由表2可知,样品酱油氨基酸转化率比对照酱油提高9.31%,说明样品酱油具有更强的将蛋白质或多肽降解成游离氨基酸的能力。酱油中的总酸主要来源于酱醪中耐盐微生物分泌产生的有机酸,如嗜盐乳酸菌产生的乳酸、乙酸、异丁酸和异戊酸等^[17]。酱油中存在适量的有机酸(<2 g/100 mL)可以丰富酱油滋味、增加酱油醇厚感。由表2可知,样品酱油中的总酸含量显著高于对照酱油,说明富硒双孢菇粉促进了酱醪中耐盐乳酸菌的繁殖和产酸,提高了样品酱油中总酸含量。无盐固形物含量由蛋白质、肽、游离氨基酸、多糖、单糖及少量脂肪和核苷酸等组成^[12]。样品酱油无盐固形物含量高,说明样品酱油发酵过程中蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等酶活性高,将大豆中更多有机物质降解成可溶性的小分子物质溶于盐水中,形成酱油滋味成分。由表2可知,虽然样品酱油中总糖、还原糖和NaCl含量高于对照酱油,但两种酱油中上述指标之间并不存在显著性差异($P>0.05$),说明添加富硒双孢菇粉对酱油甜味和咸味无显著影响。

2.4 富硒双孢菇粉对大曲和酱醪酶活影响

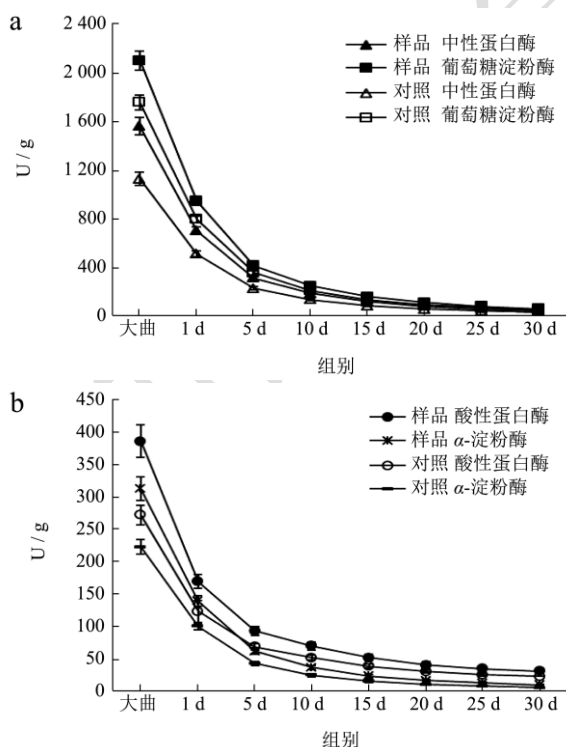


图2 富硒双孢菇粉对大曲和酱醪中酶活影响

Fig.2 Effect of selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder on enzyme activities of Daqu and moromi

由图2可知,添加富硒双孢菇粉大曲中的中性蛋白酶、酸性蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶酶活比对照大曲相应值分别提高了38.07%、41.54%、39.91%和19.48%,方差分析显示达到显著水平($P<0.05$)。样品酱醪的中性蛋白酶、酸性蛋白酶、 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶酶活也显著高于对照酱醪相应值($P<0.05$)。大曲和酱醪中蛋白酶负责将酱醪中蛋白质降解成小分子量肽和游离氨基酸,添加富硒双孢菇粉显著提高了大曲和酱醪中蛋白酶酶活,这是样品酱油中总氮、氨基酸态氮、氨基酸转化率及非盐固形物含量高的原因。Gao等^[2]研究发现富硒大豆可显著提高大曲酸性蛋白酶酶活,进而提高酱油中小分子量肽(≤ 1 ku, 25.40%)和游离氨基酸含量(8.67%),这与本研究结果具有一定的相似性。大曲和酱醪中 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶负责将淀粉和多聚糖降解成小分子聚糖和单糖,虽然样品大曲和酱醪中 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶显著高于对照酱油,但由于样品酱油原料中用15%的富硒双孢菇粉代替了15%的面粉,而富硒双孢菇粉中多糖含量低(表1),因此样品酱油中的总糖和还原糖含量并未显著提高。

2.5 富硒双孢菇粉对酱油香气物质的影响

本研究利用GC-MS共从样品和对照酱油鉴定出122种挥发性化合物,包括28种酯类、23种醛酮、17种醇、12种吡嗪、12种酸、6种含硫化合物、11种呋喃和呋喃酮、7种酚类和6种其他化合物(数据未显示)。由表3可知,样品和对照酱油中分别鉴定出37种和34种关键香气化合物(OAV>1),两种酱油有34种香气化合物相同,其中3-辛酮、1-辛烯-3-酮和3-辛醇是样品酱油中特有的关键香气化合物。由样品和对照酱油关键香气化合物OAV值可知,样品酱油中有17种关键香气化合物OAV值显著高于对照酱油($P<0.05$),样品酱油中具有麦芽香、醇香、果香、花香、焦糖香、烟熏香、酸香和蘑菇香关键香气化合物的总OAV值分别比对照提高15.62%、20.15%、15.88%、4.86%、5.20%、8.13%、7.37%和5 837.17%,说明添加富硒双孢菇粉显著提高了酱油香气强度,特别麦芽香、醇香、果香和蘑菇香强度。1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇、3-辛醇和3-辛酮是蘑菇典型的香气化合物^[18],样品酱油中的上述物质主要来源于富硒双孢菇粉。Gao等^[2]研究发现,与利用普通大豆制备的酱油相比,利用富硒大豆制备的酱油中22种关键香气化合物OAV显著提高($P<0.05$)。富硒大豆提高了酱油发酵过程中产香微生物(鲁氏酵母、嗜盐四联球菌等)的数量是富硒酱油中香气化合物含量提高的原因。这与富硒双孢菇粉提高酱油中关键香气化合物含量的结果基本一致。

表3 富硒双孢菇粉对酱油关键香气化合物的影响

Table 3 Effect of selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder on aroma-active compounds in soy sauce

关键香气化合物	RI	阈值/($\mu\text{g/L}$)	香气活度值(OAV)	
			样品酱油	对照酱油
2-甲基丙醛 2-Methylpropionaldehyde	825	1.5	98.40 \pm 3.80 ^a	86.32 \pm 3.52 ^b
2-甲基丁醛 2-Methylbutyraldehyde	935	4.4	310.23 \pm 11.02 ^a	253.75 \pm 10.23 ^b
3-甲基丁醛 3-Methylbutyraldehyde	925	1.2	396.32 \pm 17.33 ^a	356.14 \pm 16.14 ^b
具有麦芽香化合物 OAV 值			804.95	696.21
乙醇 Ethanol	928	40 000	280.56 \pm 5.10 ^a	215.32 \pm 9.88 ^b
2-甲基丁醇 2-Methylbutanol	1 212	16	46.30 \pm 2.18 ^a	35.43 \pm 1.60 ^b
3-甲基丁醇 3-Methylbutanol	1 206	4	255.82 \pm 13.62 ^a	234.23 \pm 12.36 ^a
具有醇香化合物 OAV 值			582.68	484.98
乙酸乙酯 Ethyl acetate	905	5 000	104.86 \pm 6.23 ^a	89.33 \pm 5.21 ^b
丙酸乙酯 Ethyl propionate	979	10	14.46 \pm 0.92 ^a	11.62 \pm 0.69 ^b
异戊酸乙酯 Ethyl isovalerate	1 061	1.5	210.32 \pm 12 ^a	180.56 \pm 10.91 ^b
苯甲酸 Benzoic acid	2 410	3 000	26.34 \pm 0.96 ^a	25.68 \pm 1.01 ^a
具有果香化合物 OAV 值			355.98	307.19
苯乙醇 Phenylethanol	1 894	564	220.37 \pm 11.35 ^a	210.63 \pm 10.85 ^b
苯乙醛 Phenylacetaldehyde	1 625	10	62.13 \pm 2.53 ^a	58.35 \pm 2.46 ^b
苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	1 609	125	10.44 \pm 0.50 ^a	9.83 \pm 0.46 ^a
(E)- β -大马酮(E)- β -Damascenone	1 815	0.002	82.86 \pm 4.46 ^a	79.67 \pm 4.39 ^a
乙酸 2-苯乙酯 2-Phenylethyl acetate	1 827	250	2.76 \pm 0.18 ^a	2.55 \pm 0.16 ^a
具有花香化合物 OAV 值			378.56	361.03
2-呋喃乙醇 2-Furanethanol	1 125	2 000	2.82 \pm 0.11 ^a	2.65 \pm 0.10 ^a
3-甲硫基丙醇 3-Methylthiopropanol	1 718	856.1	3.61 \pm 0.16 ^a	3.45 \pm 0.15 ^a
3-甲硫基丙醛 3-Methylthiopropional	1 423	0.5	631.23 \pm 32.75 ^a	596.82 \pm 29.65 ^a
2,6-二甲基吡嗪 2,6-Dimethylpyrazine	1 329	0.4	34.56 \pm 1.49 ^a	33.85 \pm 1.41 ^a
三甲基吡嗪 Trimethylpyrazine	1 388	0.8	6.73 \pm 0.33 ^a	6.49 \pm 0.30 ^a
4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H) furanone	2 032	25	70.83 \pm 3.40 ^a	68.20 \pm 3.2 ^a
4-羟基-2(5)-乙基-5(2)-甲基-3(2H)呋喃酮 4-Hydroxy-2(5)-ethyl-5(2)-methyl-3(2H) furanone	2 089	20	112.62 \pm 5.75 ^a	108.30 \pm 5.70 ^a
2-乙酰基吡咯啉 2-Acetylpyrroline	1 396	0.1	13.21 \pm 0.53 ^a	12.59 \pm 0.51 ^a
具有焦糖香化合物 OAV 值			875.61	832.35
4-乙基苯酚 4-Ethylphenol	2 158	140	2.83 \pm 0.16 ^a	2.58 \pm 0.15 ^a
4-乙基愈创木酚 4-Ethylguaiacol	2 016	10	312.84 \pm 18.63 ^a	282.52 \pm 16.85 ^a
4-乙烯基愈创木酚 4-Vinylguaiacol	2 177	12	88.14 \pm 4.36 ^a	88.36 \pm 4.30 ^b
具有烟熏香化合物 OAV 值			403.81	373.46
乙酸 Acetic acid	1 450	10 000	25.56 \pm 1.12 ^a	22.80 \pm 1.09 ^b
2-甲基丙酸 2-Methylpropionic acid	1 543	3 500	15.60 \pm 0.81 ^a	13.62 \pm 0.78 ^b
丁酸 Butyric acid	1 622	173	5.26 \pm 0.16 ^a	5.22 \pm 0.15 ^a
2-甲基丁酸 2-Methylbutyric acid	1 667	225	148.32 \pm 6.82 ^a	137.36 \pm 6.32 ^a
3-甲基丁酸 3-Methylbutyric acid	1 657	540	55.28 \pm 1.95 ^a	53.29 \pm 1.89 ^a
苯乙酸 Phenylacetic acid	2 546	1 000	9.26 \pm 0.51 ^a	9.20 \pm 0.50 ^a
具有酸香化合物 OAV 值			259.28	241.49

续表 3

关键香气化合物	RI	阈值/($\mu\text{g/L}$)	香气活度值(OAV)	
			样品酱油	对照酱油
3-辛酮 3-Octanone	1 262	21.5	68.20 \pm 3.11 ^a	<0.1 ^b
1-辛烯-3-酮 1-Octene-3-one	1 290	0.016	1 032.56 \pm 59.26 ^a	<0.1 ^b
3-辛醇 3-Octanol	1 400	35	18.21 \pm 2.03 ^a	<0.1 ^b
1-辛烯-3-醇 1-Octene-3-ol	1 440	1.5	262.61 \pm 12.83 ^a	23.27 \pm 1.73 ^b
具有蘑菇香化合物 OAV 值			1 381.58	23.27
二甲基三硫 Dimethyl trisulfide	1 372	0.01	13.14 \pm 0.75 ^a	12.56 \pm 0.70 ^a
具有其他香化合物 OAV 值			13.14	12.56

注：香气阈值来源于参考文献[2]、[11]和[13]。

2.6 富硒双孢菇粉对酱油滋味和香气的影响

由图 3a 可知,添加富硒双孢菇粉显著提高了酱油鲜味、酸味和醇厚感,而对酱油咸味和甜味无明显影响。鲜味、酸味和醇厚感主要来源于酱油中的游离氨基酸(主要是谷氨酸、天门冬氨酸)和小分子量肽、酸和非盐固形物(游离氨基酸、肽和糖等)^[12,16]。由图 3 和表 2 可知,酱油感官评价结果与酱油理化分析结果基本一致。

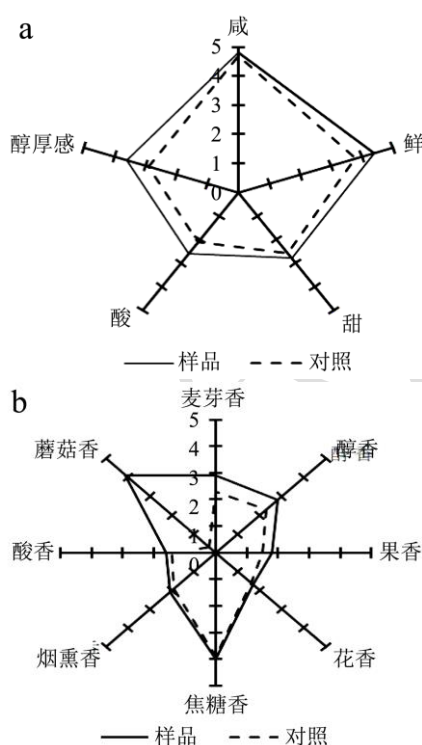


图 3 富硒双孢菇粉对酱油滋味和香气的影响

Fig.3 Effect of selenium-enriched *Agaricus bisporus* powder on taste and aroma of soy sauce

由图 3b 可知,添加富硒双孢菇粉显著提高了酱油麦芽香、醇香和蘑菇香 ($P<0.05$),其中蘑菇香香气强度提高了 12.67 倍,而对酱油其他香气无明显影响。由表 3 可知,样品酱油蘑菇香来源于富硒双孢菇粉中

的 3-辛酮、1-辛烯-3-酮、3-辛醇和 1-辛烯-3-醇。Gao 等^[2]前期研究发现富硒大豆提高了酱油中产香气物质微生物(如鲁氏酵母和嗜盐四联球菌)数量,进而提高酱油中关键香气化合物(如 3-甲基丁醛、2-甲基丁醛和乙醇等)含量,改善了酱油香气品质,这与本研究结果基本一致。

3 结论

本研究利用临期和损伤双孢菇制备了富硒双孢菇粉,以其为硒源制备了富硒酱油,富硒酱油中有机硒含量超过 91.00%。添加富硒双孢菇粉同时显著提高了酱油中的滋味物质及香气物质含量,进而改善了酱油风味。在制曲过程中,富硒双孢菇粉促进了米曲霉蛋白酶及 α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶分泌量,将更多蛋白质和淀粉降解成呈味氨基酸和小分子量肽、低聚糖和单糖。同时富硒双孢菇粉提高了酱醪中产香气微生物的繁殖和代谢能力,生成了更多的酱油香气化合物。富硒双孢菇粉特有的香气化合物 1-辛烯-3-酮、1-辛烯-3-醇、3-辛醇和 3-辛酮赋予了酱油蘑菇香。这是富硒双孢菇粉显著改善酱油滋味和香气的原因。本研究将双孢菇产业低价值的临期和损伤富硒双孢菇作为有机硒源,开发成了一种高品质和高附加值的富硒酱油,并阐明了该方法改善酱油风味的初步机制。因此,本研究不但具有重要的应用价值,也具有一定的学术参考价值。

参考文献

[1] Maseko T, Howell K, Dunshea F R, et al. Selenium-enriched *Agaricus bisporus* increases expression and activity of glutathione peroxidase-1 and expression of glutathione peroxidase-2 in rat colon [J]. Food Chemistry, 2014, 146: 327-333.

[2] Gao X L, Feng T, Shan P, et al. Enhancing selenium and key flavor compounds contents in soy sauce using

- selenium-enriched soybean [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 106: 104299.
- [3] Maseko T, Callahan D L, Dunshea F R, et al. Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus* [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141: 3681-3687.
- [4] Dinh Q T, Cui Z W, Huang J, et al. Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: A review [J]. *Environment International*, 2018, 112: 294-309.
- [5] 陈静如,冯拓,单培,等.纳米硒提高双孢菇子实体硒含量和品质[J].*现代食品科技*,2022,10(6):179-190.
- [6] Cremades O, Diaz-Herrero M M, Carbonero-Aguilar P, et al. Preparation and characterisation of selenium-enriched mushroom aqueous enzymatic extracts (MAEE) obtained from the white button mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. *Food Chemistry*, 2012, 133: 1538-1543.
- [7] Xu M M, Song Z, Li Y R, et al. Effect of selenium on mushroom growth and metabolism: A review [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2021, 118: 328-340.
- [8] 孙若兰,肖靓,易有金,等.双孢蘑菇采后贮藏保鲜研究进展[J].*食品科学*,2011,42(1):333-340.
- [9] Zhao X L, Zhao Q, Chen H B, et al. Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean β -conglycinin (7S globulins) under AAPH-induced oxidative stress [J]. *Food Chemistry*, 2019, 272: 201-209.
- [10] Gao X L, Zhao H F, Zhao M M, et al. A comparative study on physicochemical properties of Chinese-type soy sauces prepared using pure koji and mixed kojis [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(40): 6740-6747.
- [11] Gao X L, Zhang J K, Regenstein J M, et al. Characterization of taste and aroma compounds in Tianyou, a traditional wheat flour-fermented condiment [J]. *Food Research International*, 2018, 106: 156-163.
- [12] 冯云子,崔春,高献礼,等.中式酱油与日式酱油非挥发性成分的比较[J].*食品与发酵工业*,2010,36(7):62-66.
- [13] Feng Y Z, Cai Y, Su G W, et al. Evaluation of aroma differences between high-salt liquid-state fermentation and low-salt solid state fermentation soy sauces from China [J]. *Food Chemistry*, 2014, 145: 126-134.
- [14] Jang J H, Moon K D. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid [J]. *Food Chemistry*, 2011, 124(2): 444-449.
- [15] Zhao G Z, Ding L L, Yao Y P, et al. Extracellular proteome analysis and flavor formation during soy sauce fermentation [J]. *Frontier in Microbiology*, 2018, 9: 1-7.
- [16] Gao X L, Zhang J K, Liu E M, et al. Enhancing the taste of raw soy sauce using low intensity ultrasound treatment during moromi fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 124928.
- [17] Devanthi P V P, Linforth R, Onyeaka H, et al. Effects of coinoculation and sequential inoculation of *Tetragenococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii* on soy sauce fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 1-8.
- [18] 邵洋洋,郜海燕,刘瑞玲,等.采收方式对双孢菇采后品质与挥发性风味物质的影响[J].*食品科学*,2022,43(5):218-226.