

DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2024.03.025

引文格式:王凤杰,吕伟,黄一承,等.3个品牌毛豆腐风味成分对比研究[J].中国调味品,2024,49(3):150-156.

WANG F J, LYU W, HUANG Y C, et al. Comparative study on flavor components of three brands of Mao-tofu[J].
China Condiment, 2024, 49(3): 150-156.

3个品牌毛豆腐风味成分对比研究

王凤杰,吕伟,黄一承,段翠翠,马福敏,李晓磊*,李丹*

(长春大学农产品加工吉林省普通高等学校重点实验室,长春 130022)

摘要:毛豆腐的风味决定了消费者的喜好程度。以3个品牌的毛豆腐为研究对象,对比分析了它们的非挥发性成分和挥发性成分。结果表明,采用高效液相色谱法共检测出7种有机酸,其中琥珀酸含量最高,其次是乳酸,含量范围分别为1.77~7.47 mg/mL,2.46~3.20 mg/mL;共检测出21种游离氨基酸,其中含量最高的氨基酸分别为谷氨酰胺、苏氨酸和精氨酸,在品牌A、B、C中含量分别为2 566.55, 1 282.69, 1 465.81 mg/g;采用气相色谱-质谱法共检测出61种挥发性风味物质,品牌A、B、C中分别检测出41,38,33种;电子鼻分析显示,毛豆腐在气味上的差异主要体现在硫化物、芳香成分和氮氧化合物方面,能整体显著区分挥发性成分。OAV $\geq$ 1的挥发性风味物质共15种。正交偏最小二乘判别分析表明,9种VIP $>$ 1的挥发性成分为主要差异性成分。结论:3个品牌毛豆腐风味物质之间存在显著性差异。

关键词:毛豆腐;有机酸;游离氨基酸;非挥发性风味;挥发性风味

中图分类号:TS214.2

文献标志码:A

文章编号:1000-9973(2024)03-0150-07

Comparative Study on Flavor Components of Three Brands of Mao-Tofu

WANG Feng-jie, LYU Wei, HUANG Yi-cheng, DUAN Cui-cui,

MA Fu-min, LI Xiao-lei*, LI Dan*

(Key Laboratory of Agricultural Product Processing in Regular Institutions of Higher Education in Jilin Province, Changchun University, Changchun 130022, China)

Abstract: The flavor of Mao-tofu determines consumers' degree of preference. With three brands of Mao-tofu as the research objects, their non-volatile and volatile components are compared. The results show that a total of seven organic acids are detected by high performance liquid chromatography, among which, succinic acid content is the highest, followed by lactic acid, with the content range of 1.77~7.47 mg/mL and 2.46~3.20 mg/mL respectively. A total of 21 free amino acids are detected, among which, the amino acids with the highest content are glutamine, threonine and arginine respectively, and the content is 2 566.55, 1 282.69, 1 465.81 mg/g in brand A, B, C respectively. A total of 61 volatile flavor substances are detected by gas chromatography-mass spectrometry, and 41, 38, 33 volatile flavor substances are detected by brands A, B, C respectively. Electronic nose analysis shows that the difference in the flavor of Mao-tofu is mainly reflected in sulfides, aromatic components and nitrogen oxides, which could significantly distinguish volatile components as a whole. There are a total of 15 volatile flavor substances with OAV $\geq$ 1. Orthogonal partial least squares discriminant analysis shows that nine volatile components with VIP $>$ 1 are the main differential components. Conclusion: There are significant differences among the flavor substances in the three brands of Mao-tofu.

Key words: Mao-tofu; organic acids; free amino acids; non-volatile flavor; volatile flavor

收稿日期:2023-07-08

基金项目:吉林省教育厅科学研究项目(JJKH20220609KJ);长春大学“长大学者攀登计划”项目(ZKP202006,ZKP202016)

作者简介:王凤杰(1998—),女,硕士,研究方向:功能性食品的研究与开发。

* 通信作者:李晓磊(1978—),女,教授,博士,研究方向:发酵食品 and 食品风味;

李丹(1972—),男,教授,博士,研究方向:食品生物技术。

大豆中含有多种多样的营养物质和生物活性物质^[1],但是经过简单加工方式制作的大豆食品中会存在血球凝集素、胰蛋白酶抑制剂、植酸等抗营养因子,导致很多营养物质难以被吸收,并且伴有豆腥味。发酵大豆制品的品质与原材料的产地、生产加工环境、微生物的种类和含量等因素相关,这些差异使不同产品形成各具特色的风味^[2-3]。大豆经过发酵后不仅抗营养因子含量下降,能够增强人体对营养物质的消化和吸收,风味有所改善,而且多种生物活性物质也有所增加,因此发酵豆类食品在亚洲国家十分受欢迎^[4]。

毛豆腐起源于中国,以安徽黄山徽州毛豆腐最有名。毛豆腐表面有白色绒毛,具有柔软的质地,味道鲜美,风味独特^[5]。毛豆腐是腐乳发酵前期的产物,因为生产模式开放,所以参与毛豆腐发酵的微生物种类繁多,但最主要的菌种为毛霉菌^[6-7]。在豆腐上接种毛霉菌,经过一段时间的培养,豆腐表面形成致密的菌丝,在发酵过程中产生了蛋白酶,蛋白酶将蛋白质分解成氨基酸和多肽,活性肽中的抗氧化肽在清除自由基、减少因自由基引发的慢性疾病、抑制脂质过氧化、抵抗机体衰老等方面具有重要作用。其中含有的抑制血管紧张素转换酶抑制肽可以有效地抑制血压的升高。毛豆腐也有较好的免疫活性,可体外激活淋巴细胞和巨噬细胞,通过激活细胞免疫应答方式增强正常小鼠的免疫功能,同时对于免疫抑制的小鼠可以通过调节细胞免疫应答方式改善其免疫功能。除此之外,毛豆腐还具有调节胰岛素、降低炎症、抗癌等生物活性作用^[8-9]。发酵成熟的毛豆腐营养价值较高,富含有机酸、游离脂肪酸、氨基酸、维生素和矿物质^[10]。已有研究表明,毛豆腐经过发酵后醋酸含量最高,其次是丁酸和丙酸,游离氨基酸以谷氨酸和天冬氨酸为主,这两种氨基酸是毛豆腐风味的主要来源。有机酸和游离氨基酸的种类和含量对毛豆腐的滋味影响较大。毛豆腐主要挥发性化合物为醇类,醇类以 1-辛烯-3-醇、苯乙醇和庚醇最常见。各种挥发性成分含量的不同赋予了毛豆腐别样的香气^[11]。

因为毛豆腐具有地域特色,并且贮存时间较短,所以针对毛豆腐的研究较少,本文通过探究 3 种不同厂家毛豆腐中有机酸、游离氨基酸的种类和含量与挥发性风味之间的差异,为毛豆腐生产加工中技术的改良提供了一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

3 个品牌毛豆腐购自安徽省黄山市和河北省廊坊市,分别标记为品牌 A、品牌 B、品牌 C。

有机酸标准品乳酸、乙酸和琥珀酸等(均为色谱

纯);美国 Sigma 公司;2-辛醇(98%);德国 Dr. 试剂公司;正构烷烃(C₇~C₄₀);上海安谱公司。

21 种氨基酸对照品 L-天冬氨酸、L-谷氨酸、L-天冬酰胺等(纯度均≥98%);北京索莱宝科技有限公司;15 mL 顶空萃取瓶、DVB/CAR/PDMS 萃取纤维头(50/30 μm) 美国 Supelco 公司;QP 2010 Ultra 气相色谱-质谱联用仪 日本 Shimadzu 公司;Centrifuge 5430 离心机 德国 Eppendorf 公司;Summit P680 高效液相色谱仪 德国 Dionex 公司;DB-5MS UI 毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm) 美国 Agilent 公司;Acclaim OA 色谱柱(4.0 mm×250 mm, 5 μm) 美国 Thermo Fisher Scientific 公司;便携式 PEN3 电子鼻 德国 Airsense 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 HS-SPME-GC-MS 分析挥发性风味物质

通过气相色谱-质谱联用仪并结合嗅闻仪对毛豆腐中挥发性风味物质进行分析。

HS-SPME 条件:称取样品 1 g,加入 1 mL 饱和 NaCl 溶液,再加入 10 μL 200 mg/mL 2-辛醇,于 60 ℃、200 r/min 条件下预平衡 10 min,用已活化好的 DVB/CAR/PDMS 萃取纤维头顶空吸附 30 min,将萃取头插入 GC 进样口解吸 5 min。

GC 条件:进样口温度 250 ℃,分流比 1:3;载气 He,流速 11.6 mL/min;升温程序:毛细管柱初温 40 ℃,保持 2 min;以 65 ℃/min 升至 180 ℃,保持 3 min;再以 8 ℃/min 升至 260 ℃,保持 3 min。

MS 条件:GC-MS 接口温度 250 ℃,离子源温度 230 ℃;离子化方式:电子电离源;电子能量 70 eV;质量扫描范围(m/z):35~600 amu。

定性方法:通过对比软件标准谱库 NIST 11,保留相似度大于 80%的化合物。

定量方法:以 2-辛醇为内标半定量化合物。

所测风味化合物的 OAV 按下式计算:

$$OAV = \frac{C_1}{T}$$

式中:C₁ 为挥发性化合物浓度,μg/g;T 为对应挥发性化合物的感觉阈值。化合物的 OAV 越大表示其对总体风味的贡献越大,一般认为 OAV≥1 的挥发性化合物是对整体风味起关键作用的化合物。

1.2.2 电子鼻测定

精确称取 1 g 样品于 15 mL 顶空瓶中,压盖密封,常温静置 5 min 后进行检测。

电子鼻参数设置:检测时间 560 s,清洗时间 50 s,预进样时间 5 s,进样流量 200 mL/min,载气流速 200 mL/min,每个样品平行测定 3 次。

1.2.3 HPLC 测定有机酸含量

样品前处理:取 1 g 样品用蒸馏水定容至 10 mL,温度 50 ℃,频率 20 kHz,超声 30 min,然后置于 4 000 r/min 的离心机中离心 5 min 后取上清液过 0.45 μm 尼龙膜,待测。

HPLC 条件:Acclaim OA 色谱柱(4.0 mm×250 mm, 5 μm),流动相:0.1 mol/L Na₂SO₄ (pH 2.65);检测波长:UV 210 nm;流速:0.5 mL/min;进样量:10 μL。

所测样品有机酸含量按下式计算:

$$X = \frac{A \times C}{A_0}$$

式中: X 为有机酸样品的质量浓度,mg/L; A 为测得有机酸样品的峰面积; A_0 为测得有机酸标准品的峰面积; C 为有机酸标准品的质量浓度,mg/L。

1.2.4 游离氨基酸含量的测定

氨基酸标准溶液的制备:准确称取 21 种氨基酸标准品各 0.5 mg 于 10 mL 离心管中,用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液配制质量浓度为 500 mg/L 的氨基酸标准溶液。于 4 ℃ 保存,待衍生化。

待测溶液的制备:准确称取 3 种不同生产厂家的毛豆腐各 1 g 于离心管中,加入 10 mL 超纯水,于 50 ℃ 超声(400 W,20 kHz)30 min,以 5 000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 膜,得待测液。

衍生化操作:准确吸取样液/标液 1 mL 于 10 mL 离心管中,分别加入 14% 三乙胺-乙腈溶液和 1.2% PITC-乙腈溶液各 0.5 mL,涡旋 10 s,室温下静置 30 min,加入 2 mL 正己烷,涡旋 60 s,室温下静置 10 min,以 10 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液。再次加入 2 mL 正己烷重复后续操作,取下层清液经 0.45 μm 有机滤膜过滤后上 HPLC 进行分析。

色谱条件: C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相 A:0.1 mol/L 醋酸钠溶液(用乙酸调节 pH 至 6.5);流动性 B:乙腈-水(4:1);流速 0.8 mL/min;检测波长 254 nm;柱温 36 ℃;进样量 10 μL;洗脱程序:0~2 min,100% A;2~15 min,100%~90% A;15~25 min,90%~70% A;25~33 min,70%~55% A;33~43 min,0% A;43~53 min,100% A。

1.3 数据处理

每组样品均做 3 次平行,通过 Microsoft Office Excel 2016 软件对所得数据进行整理计算,采用 IBM SPSS Statistics 20.0 分析软件对数据进行 Duncan 检验($P < 0.05$ 表示差异显著),通过 TBtools 制作热图,通过 SIMCA 14.1 进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),采用 Origin 2018 软件对电子鼻数据进行图像化处理。

2 结果分析

2.1 有机酸 HPLC 分析

适量的酸可以为毛豆腐提供适宜的口感,在毛豆

腐发酵过程中,微生物利用原料中的糖分代谢形成酸类物质^[12]。有机酸不仅可以使毛豆腐具有独特的风味,而且可以转化为酯类进一步增加毛豆腐的风味。在毛豆腐中共检测出 7 种酸类物质,样品中均含有草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸和富马酸,见表 1。其中乳酸、琥珀酸含量最高,乳酸可以赋予毛豆腐圆润和绵长的口感。琥珀酸具有酸味和鲜味的呈味作用,还可以延长食品的保质期^[13]。在品牌 B 中琥珀酸含量最高,为 7.47 mg/mL。在品牌 A 和品牌 C 中乳酸含量最高,分别为 3.20、2.46 mg/mL。适量的酸可以改善毛豆腐的风味,但是过多的酸则不利于毛豆腐的贮存。像毛豆腐这样的发酵豆腐最大可接受酸度为 1.30 g/100 g^[14]。有机酸的存在抑制了污染细菌的生长,并增强了发酵产品的风味^[15]。

表 1 有机酸含量分析

Table 1 Analysis of organic acid content

名称	mg/mL		
	品牌 A	品牌 B	品牌 C
草酸	0.220 95±0.004 47 ^b	0.354 65±0.006 85 ^c	0.170 76±0.005 25 ^a
酒石酸	0.830 87±0.508 58 ^a	1.564 1±0.049 95 ^a	0.888 19±0.045 15 ^a
苹果酸	0.780 46±0.254 9 ^{bc}	1.913 19±0.143 64 ^{bc}	0.839 4±0.028 37 ^a
乳酸	3.204 16±0.219 45 ^{ab}	2.666 26±0.305 74 ^{abc}	2.459 07±0.147 03 ^{bc}
柠檬酸	0.113 66±0.020 5 ^a	0.289 46±0.215 59 ^a	0.064 47±0.001 19 ^a
琥珀酸	2.516 49±0.022 12 ^{bc}	7.467 63±0.785 41 ^{bc}	1.771 38±0.032 21 ^a
富马酸	0.000 57±0.000 04 ^a	0.000 61±0.000 17 ^a	0.000 44±0.000 03 ^a

注:同行不同小写字母表示不同处理组间差异显著($P < 0.05$)。

2.2 游离氨基酸 HPLC 分析

毛豆腐的鲜味主要是因为发酵过程中蛋白质易分解产生游离氨基酸,不同的氨基酸组成和含量赋予毛豆腐鲜美、醇厚、浓郁的滋味和丰富的味觉层次^[16]。其中精氨酸属于苦味氨基酸,天冬氨酸和谷氨酸属于鲜味氨基酸。3 个品牌毛豆腐样品中含有丰富的游离氨基酸,其中含量最高的为谷氨酰胺,在检测的 21 种氨基酸中,脯氨酸和组氨酸未检测到,见表 2。谷氨酸和天冬氨酸是毛豆腐风味的主要来源,在 L 型氨基酸中,若 R 基属于酸性集团,以酸味为主,谷氨酸还能抑制苦味,钠盐呈现鲜味^[17]。天冬酰胺在品牌 B 和品牌 C 中均有检测到,丙氨酸只在品牌 B 中检测到。苏氨酸在品牌 B 中含量最高,为 1 282.69 mg/g,谷氨酰胺在品牌 A 中含量最高,为 2 566.55 mg/g,这两种氨基酸都呈现出鲜味和甜味。精氨酸在品牌 C 中含量最高,为 1 465.81 mg/g,略有苦味和甜味。其余氨基酸在每个品牌中都有检测到。3 个品牌中品牌 B 的 γ-氨基丁酸含量高于其他两个品牌。γ-氨基丁酸(GABA)是一种在自然界中广泛分布的非蛋白质氨基酸,它是通过谷氨酸脱羧酶(GAD)对谷氨酸进行不可逆的 α 脱羧反应产生的,可以降低患心血管疾病的风险,减轻焦虑和疼痛^[18]。

表 2 游离氨基酸含量分析
Table 2 Analysis of free amino acid content

名称	含量/(mg/g)		
	品牌 A	品牌 B	品牌 C
天冬氨酸	1 483.99±13.79 ^a	480.56±15.50 ^a	742.88±13.20 ^b
谷氨酸	40.79±8.78	—	—
天冬酰胺	—	252.14±15.31	394.88±12.14
谷氨酰胺	2 566.55±84.3 ^a	940.48±25.12 ^{bc}	906.92±25.34 ^{bc}
丝氨酸	368.41±9.61 ^c	761.31±20.74 ^a	483.97±13.52 ^b
甘氨酸	179.99±8.37 ^{ab}	201.89±10.97 ^{ab}	80.38±11.09 ^c
组氨酸	—	—	—
γ-氨基丁酸	40.07±1.00 ^c	808.83±22.20 ^a	152.66±50.66 ^b
精氨酸	141.44±5.69 ^a	88.97±1.92 ^{bc}	1 465.81±356.44 ^{bc}
苏氨酸	1 405.41±37.75 ^{ab}	1 282.69±23.64 ^{ab}	424.8±229.22 ^c
丙氨酸	—	1 045.77±19.77	—
脯氨酸	—	—	—
半胱氨酸	301.86±1.74 ^a	123.87±5.16 ^c	233.95±18.81 ^b
酪氨酸	555.65±33.76 ^{ab}	539.11±13.83 ^{ab}	388.91±55.79 ^c
缬氨酸	774.69±14.36 ^a	526.05±7.13 ^b	388.91±55.79 ^c
甲硫氨酸	217.05±15.76 ^a	147.83±4.83 ^{bc}	148.06±0.83 ^{bc}
胱氨酸	7.51±0.33 ^{bc}	233.84±23.08 ^a	37.74±20.28 ^{bc}
异亮氨酸	580.09±10.41 ^a	310.45±25.11 ^{bc}	280.02±4.62 ^{bc}
亮氨酸	650.11±200.9 ^{ab}	281.31±4.99 ^{bc}	541.67±15.69 ^{abc}
苯丙氨酸	627.35±8.26 ^a	31.08±1.43 ^c	864.03±26.13 ^a
色氨酸	134.09±72.33 ^c	819.35±13.79 ^{ab}	864.03±26.13 ^{ab}

注:“—”表示未检测出,同行不同小写字母表示不同处理组间差异显著($P<0.05$),下表同。

2.3 挥发性成分 SPME-GC-MS 分析

对 3 个厂家的毛豆腐挥发性风味物质采用 SPME-GC-MS 进行检测,通过与质谱数据库进行比较,保留相似度超过 80% 的组分,共鉴定出 61 种风味物质,主要包括酯类、醇类、酮类、烯类、醛类,这些化合物共同构成了毛豆腐的独特风味。其中,品牌 A 毛豆腐鉴定出 37 种挥发性风味物质,品牌 B 毛豆腐鉴定出 36 种挥发性风味物质,品牌 C 毛豆腐鉴定出 29 种挥发性风味物质,这些风味物质构成了毛豆腐特有的风味。

表 3 挥发性物质含量分析
Table 3 Analysis of volatile substances' content

名称	保留 指数	含量/(μg/L)		
		品牌 A	品牌 B	品牌 C
酮类 3-羟基-2-丁酮	655	6 682.56± 95.00	—	1 226.55± 17.75
		—	—	510.53± 164.48
2,3-庚烷二酮	752	—	—	—
2-庚酮	805	770.56± 53.70	553.51± 5.47	1 979.45± 243.58
		4 472.89± 1 015.77	5 776.56± 326.55	8 688.16± 1 404.66
3-辛酮	901	—	—	—

续 表

名称	保留 指数	含量/(μg/L)		
		品牌 A	品牌 B	品牌 C
2-壬酮	1 005	1 061.90± 161.70	—	—
醇类 异戊醇	662	—	8 726.20± 1 170.36	5 317.88± 1 321.26
		—	—	—
2-甲基-1-丁醇	665	1 238.69± 179.86	1 714.10± 383.28	879.73± 226.11
2,3-丁二醇	708	—	—	740.37± 71.31
正己醇	784	1 350.41± 24.25	1 164.64± 122.24	1 218.57± 264.42
1-辛烯-3-醇	895	10 309.64± 1 530.96	13 786.58± 1 651.93	13 769.94± 372.90
3-辛醇	912	959.31± 224.88	648.11± 15.52	1 169.20± 194.64
苯乙醇	1 031	9 263.86± 2 977.46	2 198.45± 61.92	1 633.20± 168.10
庚醇	884	219.34± 30.78	—	—
反-2-十一烯醇	982	195.62± 16.55	—	—
正辛醇	985	151.97± 40.45	—	—
2-苯异丙醇	1 003	186.44± 37.01	—	—
仲辛醇	1 082	65.70± 2.14	—	—
1-壬醇	1 086	316.00± 24.92	256.42± 86.87	—
反-2-辛烯-1-醇	982	—	133.76± 8.27	—
2-甲基-十一烷醇	1 006	—	—	1 686.15± 319.13
1-辛醇	986	—	178.86± 45.53	—
烯类 环庚三烯	687	—	533.94± 36.64	1 183.88± 212.98
		—	—	—
环辛四烯	808	1 226.16± 18.09	2 464.64± 129.73	2 152.85± 278.31
2-辛烯	720	142.55± 9.96	—	—
二氧化乙烯基环己烯	1 241	96.49± 16.82	—	—
3-乙基-2-甲基-1,3-己二烯	949	—	247.08± 63.58	—
3-乙基-1,5-辛二烯	852	—	—	294.35± 56.61
1-烯丙基环己烯	1 237	—	—	993.54± 29.77
醛类 己醛	716	2 470.56± 497.05	1 988.83± 214.34	2 587.00± 429.84
		—	—	—

续 表				
名称	保留 指数	含量/($\mu\text{g/L}$)		
		品牌 A	品牌 B	品牌 C
庚醛	818	—	134.18 $\pm$ 7.43	189.50 $\pm$ 25.26
(E)-2-庚烯醛	873	413.64 $\pm$ 75.05	380.27 $\pm$ 50.44	353.63 $\pm$ 56.24
正辛醛	919	151.97 $\pm$ 40.45	87.07 $\pm$ 7.98	131.20 $\pm$ 18.03
反-2-辛烯醛	974	593.20 $\pm$ 84.02	512.62 $\pm$ 42.42	577.31 $\pm$ 42.05
壬醛	1 021	693.82 $\pm$ 174.32	579.75 $\pm$ 54.90	564.65 $\pm$ 65.59
癸醛	1 122	207.35 $\pm$ 10.67	131.63 $\pm$ 0.41	229.24 $\pm$ 53.53
苯甲醛	879	1 563.78 $\pm$ 266.18	1 252.75 $\pm$ 40.95	—
苯乙醛	962	1 858.02 $\pm$ 549.87	2 198.45 $\pm$ 61.92	—
反-2-己烯醛	768	296.99 $\pm$ 19.45	155.80 $\pm$ 1.10	—
反-2-壬烯醛	1 076	296.99 $\pm$ 19.45	133.94 $\pm$ 13.49	—
2,4-癸二烯醛	1 236	996.20 $\pm$ 175.33	—	—
2-十一烯醛	1 281	225.45 $\pm$ 35.17	147.15 $\pm$ 42.67	—
反-2,4-癸二烯醛	1 237	—	971.54 $\pm$ 328.82	—
酯类	2-甲基丁酸乙酯	763	—	228.29 $\pm$ 23.91
	异戊酸乙酯	768	—	261.65 $\pm$ 73.58
	2-甲基丁烯酸甲酯	780	—	491.66 $\pm$ 6.33
	(E)-2-甲基-2-丁烯酸乙酯	853	—	1 219.77 $\pm$ 333.58
	异戊酸甲酯	695	147.00 $\pm$ 27.93	—
	乙酸异戊酯	792	677.20 $\pm$ 63.47	127.97 $\pm$ 17.08
	异丁酸异戊酯	927	243.67 $\pm$ 99.05	—
	2-甲基丁酸-3-甲基丁酯	1 014	304.44 $\pm$ 52.10	—
	乙酸苯乙酯	1 172	3 231.01 $\pm$ 725.34	16 342.78 $\pm$ 3 533.57
	乙酸丙酯	645	—	309.36 $\pm$ 240.38

续 表				
名称	保留 指数	含量/($\mu\text{g/L}$)		
		品牌 A	品牌 B	品牌 C
乙酸庚酯	927	—	372.45 $\pm$ 107.55	—
丁酸异戊酯	971	—	127.97 $\pm$ 17.08	—
其他	二甲基-2-(2-甲基-2-丙烯-1-基)	859	—	464.17 $\pm$ 52.30
2-正戊基呋喃	906	16 439.22 $\pm$ 4 009.25	—	21 023.51 $\pm$ 2 960.49
乙基苯	776	—	1 351.95 $\pm$ 48.42	—
1,2-二甲苯	786	—	4 519.04 $\pm$ 281.31	—
环烷	1 107	1 089.92 $\pm$ 143.75	—	—

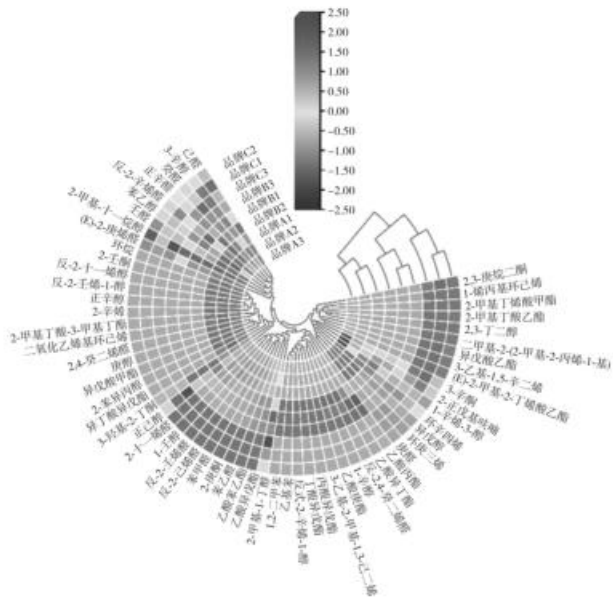


图 1 挥发性成分聚类热图

Fig. 1 Clustering heat map of volatile components

由图 1 可知不同厂家毛豆腐挥发性物质的含量和种类的差别。由表 3 可知,每个厂家毛豆腐中检测出的挥发性化合物种类、含量和数目均存在差异,可能是发酵环境条件和发酵时间不同造成的。发酵过程中产生的主要挥发性成分是醇类、醛类、酯类。醇类物质共检测出 16 种,醛类和酯类物质类都检测出 14 种。醇类物质可能是发酵代谢过程中产生的脂肪酶将大豆中的脂类物质降解产生的^[5]。

酯类物质可能是酸类和醇类物质发生酯化反应生成的,从而赋予毛豆腐特有的风味^[19]。酯类物质中,乙酸异戊酯和乙酸苯乙酯是品牌 A 和品牌 B 所共有的,含量分别为 677.2、127.97 $\mu\text{g/L}$ 和 3 231.01、16 342.78 $\mu\text{g/L}$ 。乙酸异戊酯具有蜂蜜和香蕉的气味^[20],是毛豆腐主要的气味物

质之一。2-甲基丁酸乙酯是品牌 C 所特有的风味物质,其含量为 228.29 $\mu\text{g/L}$,具有苹果的香气。

醛类物质可能是由发酵过程中醇氧化、氨基酸脱氨脱羧等反应生成的^[21-22]。3 个品牌毛豆腐中共有的醛类是己醛、(E)-2-庚烯醛、正辛醛、反-2-辛烯醛、壬醛、癸醛。醛类物质一般具有青草香和油脂的香气^[23]。2,4-癸二烯醛是品牌 A 中特有的,低浓度时具有油脂芳香味,高浓度时会有不愉快的气味^[24],但在品牌 A 中因其含量低,对毛豆腐风味的影响不大。

2.4 挥发性化合物的 OAV、OPLS-DA 及电子鼻分析

OA_V 可以评价每种香气成分对毛豆腐香气的贡献程度^[25]。OA_V ≥ 1 表明对整体风味的贡献较大^[26],结合气相色谱-嗅味计(gas chromatography olfactometry, GC-O)检测毛豆腐中 OA_V ≥ 1 的化合物共检测出 15 种挥发性风味物质,品牌 A、B、C 分别检测出 8、9、5 种。

表 4 OA_V ≥ 1 的挥发性风味物质

Table 4 Volatile flavor substances with OA_V ≥ 1

名称	阈值/ (mg/kg)	风味描述	风味强度			OA _V		
			品牌 A	品牌 B	品牌 C	品牌 A	品牌 B	品牌 C
异戊酸乙酯	25	水果香气	—	—	3.33	—	—	10.466
正己醇	284	青草气味	0	0	2.33	0	0	4.290 7
1-辛烯-3-醇	25	蘑菇气味	2.667	3	2.67	412	551.463	550.8
3-辛酮	28	蘑菇气味	—	—	3	—	—	310.29
苯乙醇	390	蜂蜜气味	3	2.333	3.67	108	43.972	14.664
庚醇	70	芳香气味	1.667	—	—	3.13	—	—
2-正戊基呋喃	6	黄油气味	3	—	—	2.740	—	—
苯乙醛	4	山楂气味	3	3.333	—	465	15.703	—
环烷	500	黄瓜气味	2.333	—	—	2.18	—	—
乙酸苯乙酯	19	玫瑰气味	2	1.667	—	170	68.094	—
己醛	350	脂肪气味	—	1.333	—	—	5.682	—
乙酸异戊酯	64	香蕉气味	—	1.667	—	—	91.748	—
乙酸庚酯	87	玫瑰气味	—	3	—	—	4.281	—
1-壬醇	200	脂肪气味	—	3	—	—	1.282	—
反-2-壬烯醛	209	黄瓜气味	2	2	—	7.74	4.320	—

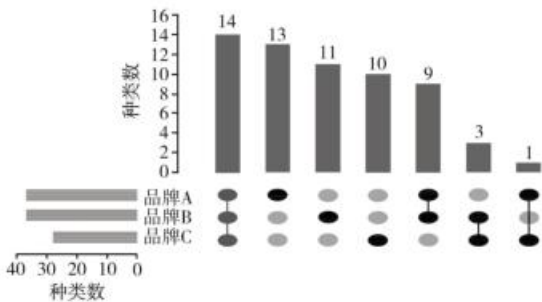


图 2 不同品牌毛豆腐中 OA_V ≥ 1 的香气物质种类韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of aroma substances with OA_V ≥ 1 in different brands of Mao-tofu

由表 4 和图 2 可知,3 个品牌毛豆腐中共同含有

的挥发性风味物质有 3 种,分别是苯乙醇、庚醛和 1-辛烯-3-醇,其中苯乙醇具有蜂蜜、玫瑰的香气,1-辛烯-3-醇具有蘑菇、草木的味道^[27],是影响毛豆腐风味的关键物质之一。庚醛具有脂肪和柑橘的气味,因为 OA_V < 1 ,因此庚醛的气味对毛豆腐风味的影响不大。乙酸苯乙酯和反-2-壬烯醛存在于除品牌 C 外的毛豆腐中,且 OA_V > 1 ,所以这两种挥发性成分对毛豆腐风味的贡献较大^[28]。品牌 A 中 2-正戊基呋喃的 OA_V 与其他两种品牌具有显著性差异($P < 0.05$),其值为 2 739.87,具有黄油、青豆的气味,是品牌 A 中主要的风味物质。3 个品牌毛豆腐中挥发性风味物质的种类和浓度不同,从而导致它们之间风味的差异^[29]。

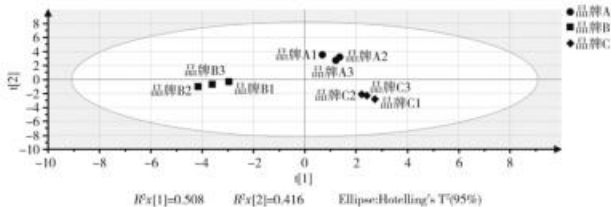


图 3 3 个品牌毛豆腐挥发性香气物质 OPLS-DA 的分数散点情况

Fig. 3 OPLS-DA score scattering conditions of volatile aroma substances in three brands of Mao-tofu

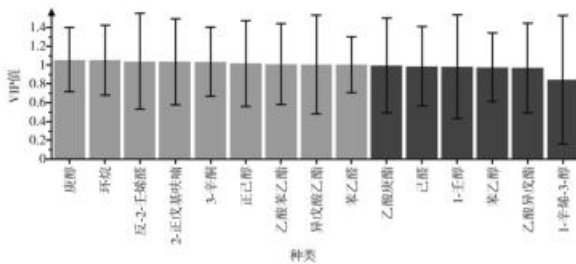


图 4 挥发性风味物质 VIP 值

Fig. 4 VIP value of volatile flavor substances

由图 3 可知, $R^2X=0.980$, $R^2Y=0.988$, $Q^2=0.979$ 。 $R^2X=0.980$ 表明该模型能反映 98% 数据的变化, $R^2Y=0.988$,接近 1.0,表明该模型具有良好的可解释性, $Q^2=0.979$ 表明该模型的拟合度较好^[30]。3 个品牌的毛豆腐在得分图上组内差异性小、聚类良好,3 种样品之间实现分离,说明风味之间存在一定差异性。通常认为 VIP > 1 的物质是导致组间存在差异的因素,是常见的差异代谢物筛选标准。由图 4 可知,VIP > 1 的化合物有 6 种,最高的为庚醇,在腐乳中也有检出^[30]。

为进一步分析主要的风味特征,对 3 个品牌的毛豆腐进行电子鼻气味分析,电子鼻雷达图见图 5。W1W (硫化物)在所有品种中的响应值均最高,其次为 W2W (芳香成分、有机硫化物)。品牌 C 与其他两个品牌的差异在于对 W5S(氮氧化合物)也有一定的响应。电子鼻分析结果表明毛豆腐的主要风味成分为硫化物、芳香成分。

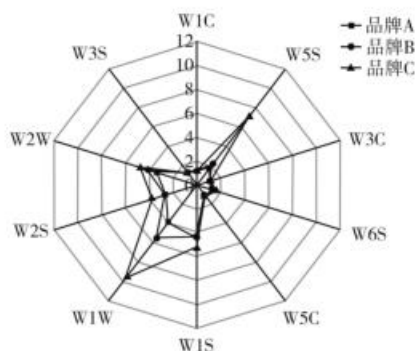


图5 3个品牌电子鼻雷达图

Fig. 5 Electronic nose radar diagram of three brands

3 结论

本试验研究了3个不同品牌毛豆腐之间风味和滋味的差异。3个品牌毛豆腐中有机酸和游离氨基酸含量的不同是味道存在差异的原因之一。通过HPLC检测毛豆腐中有机酸含量发现,琥珀酸含量最高且不同品牌毛豆腐之间存在显著性差异,3个品牌毛豆腐中琥珀酸含量分别为2.52,7.47,1.77 mg/mL。对游离氨基酸的检测发现品牌A、B、C的主要呈味物质分别为谷氨酰胺、苏氨酸和精氨酸,含量分别为2566.55,1282.69,1465.81 mg/g,通过HS-SPME-GC-MS从3个品牌毛豆腐中检测出61种挥发性化合物,其中醇类物质种类最多,起到助香呈味的作用。醇类物质含量占比26.22%,醛类和酯类含量各占22.95%;结合嗅闻仪及OAV确定出15种关键风味化合物,并通过OPLS-DA和电子鼻进一步分析了3个品牌毛豆腐之间风味的差异,发现3个品牌毛豆腐因风味物质种类和含量的不同,风味也有较大差异。

参考文献:

[1] 杨旭. 不同加工和储藏方法对食品原材料营养素的影响[J]. 现代食品, 2022, 28(19): 73-75, 92.
[2] 李婷婷, 程江华, 张焕焕, 等. 现代传统发酵豆制品中微生物资源的挖掘与应用[J]. 农产品加工, 2021(6): 63-69.
[3] 庞春霞, 李艺, 虞任莹, 等. 基于Illumina MiSeq技术比较不同地区传统发酵大豆制品细菌多样性[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 133-140.
[4] CAO Z H, GREEN-JOHNSON J M, BUCKLEY N D, et al. Bioactivity of soy-based fermented foods: a review[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(1): 223-238.
[5] 张继辉, 赵丹丹. 传统发酵毛豆腐的研究进展[J]. 现代食品, 2022, 28(20): 32-36.
[6] 李顺, 顾永忠, 杨英, 等. 八公山腐乳酿制过程中毛霉和根霉的前期发酵比较研究[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 163-168.
[7] 万红芳, 赵勇, 王正全, 等. 生产菌种及环境微生物与腐乳品质关系研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(6): 255-261.
[8] 郑晓婷, 赵新淮. 毛霉蛋白酶的特性研究[J]. 食品工业科技, 2008(9): 156-158.
[9] 杭梅. 毛豆腐提取物的ACE抑制和抗氧化活性[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.

[10] LIU X, ZHAO X H. Effect of fermentation times and extracting solvents on the *in vitro* immune potentials of the soluble extracts of *Mucor*-fermented Mao-tofu[J]. Food Science and Biotechnology, 2017, 26(3): 707-714.
[11] YAN S, DONG D. Main parameters and the dynamics of volatile compounds during the fermentation of Chinese Mao-tofu from Huangshan region[J]. Food Science and Biotechnology, 2019, 28(5): 1315-1325.
[12] 周雯君, 周亚男, 李志江, 等. 工厂化条件下酱曲中性蛋白酶活性监控及豆酱品质分析[J]. 食品工业, 2016, 37(12): 153-157.
[13] 史海慧, 孙洪蕊, 范杰英, 等. 原料熟化工艺对油莎豆品质及风味影响[J]. 中国调味品, 2023, 48(2): 150-155.
[14] 中华人民共和国商务部. 腐乳: SB/T 10170—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
[15] LEDAUPHIN J, GUICHARD H, SAINT-CLAIR J F, et al. Chemical and sensorial aroma characterization of freshly distilled Calvados. 2. Identification of volatile compounds and key odorants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 433-442.
[16] 樊艳, 李浩丽, 郝怡宁. 基于电子舌与SPME-GC-MS技术检测腐乳风味物质[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 222-229.
[17] 杨婉秋, 雷淑婷, 肖涵. 不同生长季节大叶种茶叶中氨基酸含量的变化特征[J]. 昆明学院学报, 2022, 44(6): 24-30.
[18] SARASA S B, MAHENDRAN R, MUTHUSAMY G, et al. A brief review on the non-protein amino acid, γ -amino butyric acid (GABA): its production and role in microbes[J]. Current Microbiology, 2020, 77(4): 534-544.
[19] 冯俏, 孙京格, 李婉宁, 等. 耐高温酵母对黄豆酱品质的提升[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(6): 193-203.
[20] 梅璐, 陈新, 周悦, 等. 米浆水对黑米料酒发酵的影响[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2022, 45(9): 1257-1263.
[21] MO X, FAN W, XU Y. Changes in volatile compounds of Chinese rice wine wheat Qu during fermentation and storage[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2009, 115(4): 300-307.
[22] 闵宇航, 岳清洪, 李航, 等. 我国白酒食品安全风险分析及防控建议[J]. 中国酿造, 2023, 42(3): 13-17.
[23] 白万明, 王菊花, 马赛买, 等. 基于GC-IMS分析陇南主栽品种初榨橄榄油的风味特征成分[J/OL]. 中国油脂: 1-13[2024-02-06]. <https://doi.org/10.19902/j.cnkizgyz.1003-7969.220666>.
[24] 冯宇隆, 谢明, 闻治国, 等. 鸭胸肉肌内脂肪的替代对其挥发性风味化合物的影响[J]. 中国饲料, 2014(12): 25-29.
[25] 刘梦溪, 林绍艳, 曾其龙, 等. 3个南高丛蓝莓品种果实主要风味品质比较[J]. 中国果树, 2023(3): 54-59.
[26] 李春燕, 王瑜, 杨莹, 等. 凤冈锌硒夏秋茶发酵饮品发酵过程动态评价[J]. 食品科技, 2023, 48(2): 68-76.
[27] 李晶, 辛广, 张博, 等. 同时蒸馏萃取和固相微萃取分析卤水干豆腐挥发性成分比较[J]. 大豆科学, 2010, 29(3): 502-505.
[28] 吕伟, 许文琪, 黄一承, 等. 三种热加工方式对猪肉风干肠理化和感官特性影响的研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(16): 196-205.
[29] 陈卓, 吴学风, 穆冬冬, 等. 红腐乳后酵期风味物质与细菌菌群分析[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 118-125.
[30] 李顺. 总状毛霉和米根霉混合发酵腐乳研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.