

浏阳豆豉生产过程中理化性质的变化研究

谢靓^{1,2}, 蒋立文^{2,3}, 龚彩姣¹, 周辉^{2,3}, 周红丽^{2,3}

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128) (2. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128) (3. 湖南省发酵食品工程技术研究中心, 湖南长沙 410128)

摘要: 本文主要对浏阳豆豉自然发酵工艺过程中豆豉的理化、微生物指标、滋气味的变化规律进行研究。在湖南某豆豉厂取样, 采用可培养方法测定细菌和真菌数量的变化, 并检测不同阶段的总酸、氨基酸态氮、蛋白质及水分的变化、电子舌测定滋气味变化。结果表明: 在浏阳豆豉生产过程中, 制曲时细菌总数在发酵 4 d 达到最大值 3.8×10^{11} CFU/g, 霉菌总数的最大值为 1.5×10^5 CFU/g, 总酸和氨基酸态氮的变化趋势相似, 成品中总酸达到 2.15%, 氨基酸态氮到 1.37%。总氮在发酵过程中变化不大, 水分变化与工艺有关。成品中蛋白质含量达到 40.08%, 水分含量在发酵过程中一直在减少, 成品中只有 14.30%。电子鼻的主成分分析图能显著区分发酵过程中各组分样品; 电子舌稳定有效地检测出不同发酵阶段豆豉的味觉差异, 主要体现在苦味、鲜味、丰富度和咸味上。发酵 17 d 苦味、鲜味强度最大, 堆积发酵 4 d 咸味和丰富度强度最大。

关键词: 浏阳豆豉; 自然发酵; 微生物; 理化指标; 电子舌

文章编号: 1673-9078(2016)8-225-232

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.8.034

Changes of Physicochemical Property during Liuyang Douchi Fermentation

XIE Jing^{1,2}, JIANG Li-wen^{2,3}, GONG Cai-jiao¹, ZHOU Hui^{2,3}, ZHOU Hong-li^{2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China) (2. Hunan Province Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha 410128, China) (3. Fermented Food Engineering and Technology Research Center of Hunan Province, Changsha 410128, China)

Abstract: Dynamic changes in physicochemical indexes, microbiological indicators, and flavor during natural fermentation of Liuyang douchi were studied. Samples were obtained from the Liuyang Tianmashan Lobster Sauce Factory. Culture-based methods were used to determine changes in the bacterial and fungal counts, and total acid, amino acid nitrogen, protein, and water content were measured. The results indicated that during the production of Liuyang douchi, the total bacterial count reached a maximum (3.8×10^{11} CFU/g) on the fourth day, and the maximum fungal count was 1.5×10^5 CFU/g. Changes in total acid and amino acid nitrogen showed similar trends, and the content of total acid and amino acid nitrogen in the finished product were 2.15% and 1.37%, respectively. The total nitrogen content changed slightly during the fermentation process. The protein content in the finished product was 40.08%. The moisture content showed a downward trend during the fermentation and reached 14.30% in the finished product. Principal component analysis of the data obtained using an electronic nose could distinguish samples taken at different stages of the fermentation process. The electronic tongue could stably and efficiently detect differences in taste of the lobster sauce at various stages of the fermentation, mainly reflected in the bitterness, umami, richness and saltiness. The maximum intensities of bitterness and umami were found after 17 d of fermentation, and the maximum intensities of saltiness and richness were found after four days of fermentation.

Key words: Liuyang douchi; natural fermentation; microorganism; physicochemical index, electronic tongue

豆豉起源于我国先秦时代, 已有两千多年的历史^[1], 含丰富的营养成分和多种功能因子。具有解毒、除烦、宣郁的功效^[2], 常吃豆豉还可预防老年痴呆症、

高血压等老年多发病。浏阳豆豉属曲霉型豆豉, 曲霉型豆豉有良好的葡糖苷酶抑制作用, 可稳定餐后血糖, 药食兼用^[3]。

浏阳豆豉是一种典型的多菌种混合发酵制品, 但从生产工艺要求来看, 自然发酵, 生产条件粗放, 产品的质量难以保证^[4-5]。目前国内对浏阳豆豉系统研究的不多。蒋立文等^[6]利用平板稀释法初步分析了浏阳

收稿日期: 2015-08-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 31571819

作者简介: 谢靓 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 蒋立文 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

豆豉自然发酵曲料微生物菌相及其组成发现成熟曲料中的主要微生物是霉菌类和细菌类。张建华^[7]以浏阳豆豉中的天马山牌和一品香牌为研究材料观察两种豆豉中的微生物分布,发现其主要发酵微生物为曲霉菌。黄欣^[8]对浏阳豆豉自然发酵曲过程中的微生物进行分离鉴定,分析其菌相组成及其动态变化,发现浏阳豆豉自然发酵是由细菌和霉菌混合发酵的,主要发酵微生物为曲霉菌。电子鼻是利用气体传感器阵列的响应图案来识别气味的电子系统,它可以在几小时、几天甚至数月的时间内连续地、实时地监测特定位置的气味状况,特别适合于发酵食品发酵过程的跟踪^[9]。电子舌作为一种新型的现代化分析检测仪器,是依赖于生物味觉的客观感受系统,与感官评定、化学分析方法相比,具有重复性好,测量快速,操作简单等优点^[10]。电子舌检测无需样品前处理,对样品不存在破坏,现已广泛应用在茶类、酒类、饮料、肉制品、乳制品^[11~12]等食品整体品质质量分析检测、食品质量安全检测等多个方面。

本文分析浏阳豆豉自然发酵曲过程中微生物的动态变化。对浏阳豆豉自然发酵过程中总酸、氨基酸态氮、蛋白质和水分的变化进行分析,并结合电子鼻电子舌对发酵过程中风味成分变化进行检测。本研究使用的 TS-SOOOZ 味觉分析系统,便可以对酸、甜、苦、咸、鲜、涩及苦味回味、涩味回味和鲜味回味(即丰富度)等味觉指标分别进行量化,为浏阳豆豉提高品质提供有力的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

样品取自浏阳天马山豆豉厂。考虑加工工艺的特殊性,豆豉非连续取样。样品和编号见表 1。

表 1 浏阳豆豉样品和编号

Table 1 Liuyang douchi samples and their sample numbers

编号	样品名	编号	样品名
1	原料黑豆	8	洗霉
2	蒸煮	9	后发酵第 1 d
3	前发酵第 1 d	10	后发酵第 2 d
4	前发酵第 2 d	11	后发酵第 3 d
5	前发酵第 3 d	12	后发酵第 4 d
6	前发酵第 4 d	13	成品
7	前发酵第 5 d		

1.2 仪器与设备

SW-CJ 系列净化工作台,上海新苗医疗器械制造

有限公司; DHP120 恒温培养箱,上海实验仪器厂有限公司; MJ-250BS- II 霉菌培养箱,上海新苗医疗器械制造有限公司; LRH-250 型智能生化培养箱,上海飞越实验仪器有限公司; SPX-250BIII 生化培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司; SB-5200DT 超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司; DL-1 万用电炉,北京中兴伟业仪器有限公司; HSJ 通风柜,深圳市嘉鸿顺实业有限公司; LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂; 101-2AB 型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司; DK-98-11A 电热恒温水浴,天津市泰斯特仪器有限公司; PEN3 电子鼻,德国 AIRSENSE 公司,TS-5000Z 电子舌,日本 Insent 公司。

1.3 主要试剂

营养琼脂培养基,杭州市微生物试剂有限公司; 孟加拉红培养基,北京奥博星生物技术有限公司; 氢氧化钠,广东汕头市西陇化工厂; 盐酸,上海振兴化工二厂。

2 浏阳豆豉自然发酵试验设计

2.1 工艺流程

黑豆选料→浸泡、清洗→蒸煮→冷却→自然制曲、发酵→晾霉→洗霉→后发酵→出晒、成品

2.2 试验设计

表 2 浏阳豆豉取样编号表

Table 2 List of Liuyang douchi sample numbers

序号	名称	称取量/g	加水量/mL
1	蒸豆	20	80
2	发酵 1 d	25	100
3	发酵 2 d	25	100
4	发酵 3 d	25	100
5	发酵 4 d	25	100
6	发酵 5 d	25	100
7	发酵 17 d	25	100
8	洗霉	25	100
9	堆积发酵 1 d	20	80
10	堆积发酵 2 d	20	80
11	堆积发酵 3 d	20	80
12	堆积发酵 4 d	20	80
13	成品	25	100

结合企业实际情况,按照表 1 的取样时间,检测表中每个样品的微生物(菌落总数、霉菌数量)、酸度、

氨基酸态氮、蛋白质、水分、游离氨基酸等指标的动态变化,利用电子鼻、电子舌测定滋味成分变化。

2.2.1 电子舌测定发酵过程中滋味变化

本试验运用了酸味、鲜味、咸味、涩味和苦味传感器 5 种不同类型的传感器来检测样品,各种传感器的特点及性能见表 3。

表 3 TS-5000Z 电子舌的传感阵列

Table 3 TS-5000Z electronic nose sensor array

传感器名称	可评价的味道	
	基本味(相对值)	回味(CPA 值)
鲜味传感器(AAE)	氨基酸、核酸等引起的鲜味	可持续感知的鲜味
咸味传感器(CT0)	食盐等无机盐引起的咸味	无
酸味传感器(CA0)	醋酸、柠檬酸、酒石酸等引起的酸味	无
苦味传感器(C00)	咖啡因、奎宁等生物碱	苦味物质残留而感知的味道
涩味传感器(AE1)	单宁、茶多酚等引起的涩味	涩味物质残留而感知的味道

2.2.2 电子鼻测试方法

直接将进样针头插入含豆豉的密封塑料杯中,电子鼻进行测定。测定条件:采样时间为 1 s/组;传感器自清洗时间为 60 s;传感器归零时间为 10 s;样品准备时间为 5 s;进样流量为 300 mL/min;分析采样时间为 90 s。

2.2.3 电子舌取样方法

先将样品在粉碎机中打碎,称取相应的量,取对应的蒸馏水搅拌均匀,超声波清洗机中加入约 40 ℃ 的水,超声波处理 1 h,冷却至室温,四层纱布过滤,取滤液,测试。

2.2.4 电子舌测试方法

TS-SOOOZ 味觉分析系统测量程序:首先在清洗液中清洗 90 s,接着用参比液清洗 120 s,继续用另一参比液清洗 120 s,传感器在平衡位置归零 30 s,达到平衡条件后,开始测试,测试时间 30 s;在两组参比液中分别短暂清洗 3 s,传感器插入新的参比液中测试回味 30 s。循环测试四次,去掉第一循环,取后三次平均数据作为测试结果。每次清洗、平衡和测试回味的液体均分布在不同样品杯中。

2.2.5 数据统计

使用 SPSS 17.0 对感官评价数据进行录入和分析,通过 F 检验判断评价员对所有样品味觉指标的区分性,TS-SOOOZ 所测味觉指标的图形及数据处理均在仪器终端管理服务服务器的数据库中完成。

2.3 主要指标的测定方法

微生物的培养、计数:细菌计数。细菌总数测定采用 GB 4789.2-2010 平板菌落计数法;霉菌、酵母菌总数测定:采用 GB 4789.15-2010 平板菌落计数法;总酸和氨基酸态氮的测定:采用 GB/T 5009.39-2003 甲醛值法;蛋白质的测定:采用 GB/T 5511-2008 微量凯氏定氮法;水分的测定:采用 GB 5009.3-2010 直接

干燥法;游离氨基酸测定:采用日立-8800 氨基酸自动分析仪测定。

3 结果与分析

3.1 微生物的分布及动态变化

对自然发酵过程中浏阳豆豉样品进行微生物的测定,样品中细菌、霉菌的变化情况如图所示。

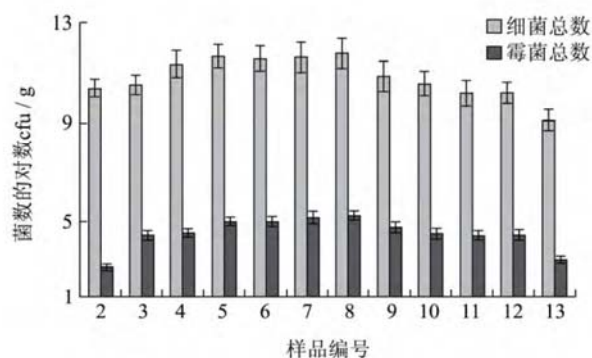


图 1 浏阳豆豉自然发酵过程中细菌、霉菌的变化

Fig.1 Changes in bacterial and fungal counts throughout the Liuyang douchi natural fermentation

从图中可看出,在浏阳豆豉自然发酵过程中,发酵前 7 d 为前发酵过程,此阶段微生物大量繁殖,前发酵第 1 d 到第 4 d 霉菌数量快速增加,从生长期到对数期,而细菌值先升后降,原因可能是:霉菌的生长较慢,细菌的增殖速度快,制曲温度较高环境中水分的持续降低使得细菌增殖受到抑制。洗酶时细菌、霉菌均累计达到最大值,经洗酶之后显著减少。后发酵阶段菌数趋于稳定。成品经晒制后细菌、霉菌数量水分含量大幅度下降而明显降低。

3.2 主要化学成分的变化

对自然发酵过程中浏阳豆豉样品进行总酸、氨基酸态氮、蛋白质、水分的测定,浏阳豆豉不同发酵时

期主要理化指标变化情况如图所示。

从表4可以看出,在浏阳豆豉自然发酵过程中前发酵阶段,随着发酵时间的延长,样品中总酸的含量在逐渐增加。微生物分泌大量的淀粉酶和或脂肪酶,使大豆中的碳水化合物和脂肪分解成有机酸或脂肪酸,使总酸含量增加。第8 d洗酶后,进入后发酵阶段,总酸开始下降,降幅不大,但成品中总酸含量达最大值,因为经过晒干工序,水分大量减少所致。

表4 浏阳豆豉自然发酵过程中各种化学成分的变化% (m/m)

Table 4 Changes in main chemical constituents throughout the Liuyang douchi natural fermentation

样品	总酸	氨基酸态氮	蛋白质	水分
1	0.07±0.01	0.19±0.01	40.51±0.03	11.20±0.02
2	0.40±0.01	0.30±0.01	26.21±0.03	45.30±0.03
3	0.38±0.01	0.27±0.01	25.65±0.03	42.30±0.03
4	0.54±0.01	0.29±0.01	23.85±0.03	41.30±0.03
5	0.77±0.02	0.31±0.01	20.95±0.02	41.20±0.03
6	0.89±0.02	0.40±0.01	21.31±0.03	34.20±0.02
7	0.93±0.01	0.44±0.02	21.77±0.03	31.70±0.02
8	1.32±0.03	0.57±0.01	21.33±0.03	35.10±0.03
9	1.28±0.03	0.76±0.01	20.91±0.03	42.60±0.03
10	1.21±0.03	1.01±0.02	21.33±0.01	44.60±0.03
11	1.15±0.02	0.94±0.02	22.76±0.03	41.90±0.02
12	1.11±0.03	0.88±0.01	23.07±0.03	40.50±0.03
13	2.15±0.03	1.37±0.03	40.08±0.03	14.30±0.01

氨基酸态氮在前发酵阶段,随着发酵时间的延长,样品中的含量在逐渐增加。对应的蛋白质含量在逐渐减少,前期蛋白酶活较高,分解蛋白质作用加强;在堆积发酵阶段,氨基酸态氮的含量先增加后又呈下降趋势。与之相反,蛋白质含量先减少,后增加,后期经过洗酶、食盐加入工序,酶活性降低;在成品豆豉中蛋白质含量达到40.08%。蛋白质和氨基酸态氮此消彼长的状态,恰好反映发酵期间在细菌霉菌的共同

作用下相互转化的关系。前发酵阶段主要是霉菌蛋白酶的作用,堆积发酵温度较高,有利于蛋白酶的水解作用,有利于后酵风味物质的生成。

由表可以看出浏阳豆豉自然发酵过程中前发酵阶段水分在一直减少,浸泡完成后的黑豆含水量是40%~50%,蒸煮后的黑豆含水量达到58%左右。在自然发酵阶段发酵温度较高,水分减少,水分含量在30%左右,洗霉后豆粒上吸收了一定的水份,堆积发酵时水分有所增加。在发酵完成后,水分在40%左右。在发酵后将豆粒晒干,最终豆豉成品的水分含量为14%左右,这有利于豆豉的保存。

3.3 感官变化

挑选具有代表性的样品,对自然发酵过程中浏阳豆豉样品进行感官评价,感官变化情况如表5所示。从表中可以看出,感官变化与发酵程度、水分变化、理化指标变化密切相关。

表5 浏阳豆豉自然发酵过程中的感官变化

Table 5 Changes in taste during the Liuyang douchi natural fermentation

样品	外观形态	气味	质感
1	圆润	无气味	很硬
2	圆润	豆清香味	硬
3	圆润,饱满	豆香味浓	偏硬
6	表皮起皱,表面有菌丝	霉豆味	偏硬
8	豆粒瘪,表面布满菌丝	霉豆味重	偏软
10	表面发粘	略有豉香	偏软
12	表面发粘	豉香浓郁	软
13	干瘪	有豉香	很硬

3.4 发酵过程中游离氨基酸变化

对自然发酵过程中浏阳豆豉样品进行游离氨基酸和黑豆原料氨基酸组成进行了测定,结果见表6。

表6 豆豉不同发酵阶段的氨基酸含量及占总游离氨基酸比例

Table 6 Amino acid content and proportions of total free amino acids at different stages of the Liuyang douchi natural fermentation

氨基酸种类	黑豆		前发酵5 d		前发酵17 d		洗酶样	
	含量 (g/100 g)	占总氨基酸比例	含量	占总氨基酸比例	含量	占总氨基酸比例	含量	占总氨基酸比例
门冬氨酸 Asp	4.11	11.69	2.68	5.70	2.43	4.63	5.21	5.74
苏氨酸 Thr	1.45	4.13	2.45	5.21	2.99	5.70	4.27	4.71
丝氨酸 Ser	1.82	5.18	2.31	4.91	2.57	4.90	4.22	4.65
谷氨酸 Glu	6.37	18.12	9.16	19.48	9.60	18.30	15.83	17.45
甘氨酸 Gly	1.59	4.52	1.32	2.81	1.49	2.84	2.12	2.34
丙氨酸 Ala	1.62	4.61	3.78	8.04	4.46	8.50	6.11	6.73

转下页

接上页								
胱氨酸 Cys	0.43	1.22	0.28	0.60	0.28	0.53	0	0
缬氨酸 Val	1.72	4.89	2.71	5.76	2.9	5.53	5.08	5.60
蛋氨酸 Met	0.19	0.54	0.73	1.55	0.86	1.64	1.24	1.37
异亮氨酸 Ile	1.70	4.84	1.63	3.47	1.98	3.77	3.52	3.88
亮氨酸 Leu	3.18	9.05	3.78	8.04	4.59	8.75	8.24	9.08
酪氨酸 Tyr	1.12	3.19	2.16	4.59	2.56	4.88	4.43	4.88
苯丙氨酸 Phe	1.89	5.38	0.93	1.98	1.59	3.03	2.36	2.60
赖氨酸 Lys	2.53	7.20	3.76	7.99	3.98	7.59	6.71	7.39
组氨酸 His	0.92	2.62	0.88	1.87	0.97	1.85	1.57	1.73
精氨酸 Arg	2.64	7.51	4.06	8.63	3.60	6.86	8.60	9.48
脯氨酸 Pro	1.87	5.32	4.41	9.38	5.61	10.69	11.23	12.38
鲜味氨基酸	10.48	16.87	11.84	25.18	12.03	22.93	21.04	23.19
芳香族氨基酸	1.12	12.57	8.73	6.57	11.63	7.91	9.07	7.48
总量	35.15	100	47.03	100	52.46	100	90.74	100
氨基酸种类	堆积发酵 1 d		堆积发酵 4 d		豆豉成品			
	含量(g/100 g)	占总氨基酸比例	含量	占总氨基酸比例	含量	占总氨基酸比例		
门冬氨酸 Asp	7.10	7.43	8.65	9.53	4.24	4.65		
苏氨酸 Thr	4.58	4.80	4.08	4.50	2.18	2.39		
丝氨酸 Ser	4.03	4.22	3.71	4.09	1.59	1.75		
谷氨酸 Glu	20.13	21.08	18.4	20.28	8.65	9.50		
甘氨酸 Gly	2.49	2.61	2.62	2.89	3.90	4.28		
丙氨酸 Ala	7.69	8.05	8.95	9.86	17.74	19.47		
胱氨酸 Cys	0.56	0.59	0.37	0.41	8.01	8.79		
缬氨酸 Val	6.48	6.78	7.24	7.98	7.35	8.07		
蛋氨酸 Met	1.51	1.58	1.37	1.51	1.46	1.60		
异亮氨酸 Ile	4.47	4.68	4.95	5.46	5.83	6.40		
亮氨酸 Leu	9.52	9.97	9.03	9.95	10.66	11.70		
酪氨酸 Tyr	2.25	2.36	2.16	2.38	0.99	1.09		
苯丙氨酸 Phe	2.39	2.50	1.65	1.82	0.88	0.97		
赖氨酸 Lys	7.38	7.73	6.24	6.88	4.28	4.70		
组氨酸 His	1.76	1.84	1.25	1.38	1.70	1.87		
精氨酸 Arg	4.48	4.69	0.92	1.01	1.15	1.26		
脯氨酸 Pro	8.69	9.10	9.15	10.08	10.49	11.51		
鲜味氨基酸	27.23	28.51	27.05	29.81	12.89	14.15		
芳香族氨基酸	4.64	4.86	3.81	4.20	1.87	2.05		
总量	95.51	100	90.74	100	91.10	100		

注：鲜味氨基酸为 Glu 和 Asp 含量之和，芳香族氨基酸为 Tyr 和 Phe 含量之和；黑豆原料采用的是水解法测定的氨基酸组成，其余样品为游离氨基酸测定。

由表 6 可见，黑豆在发酵过程中各阶段含量和组成来看，堆积发酵第一天氨基酸含量最高，成品中氨基酸总量 91.1，总体后发酵阶段样品中氨基酸含量都达 90%，因微生物代谢将蛋白质分解。鲜味氨基酸赋予豆豉独特的口感，是重要的呈味物质，在发酵过程

中鲜味氨基酸含量排序为：堆积发酵 1 d>堆积发酵 4 d>洗酶样>黑豆豆豉成品>发酵 17 d>发酵 5 d>黑豆。堆积发酵过程中鲜味氨基酸比原料高出一倍多，这是低盐发酵酶水解作用的结果，但成品中只含 12.89，可能与细菌转化有关。由于食品风味挥发性化合物中，

芳香族化合物往往是关键化合物,所以特别比较芳香族氨基酸的含量。芳香族氨基酸的含量由大到小的顺序为:发酵 17 d>洗酶样>发酵 5 d>堆积发酵 1 d>堆积发酵 4 d>豆豉成品>黑豆。前发酵阶段芳香族氨基酸含量颇高,而成品中含量较低,这可能与风味物质形成有关。

3.5 电子鼻测定发酵过程主成分分析 (PCA)

本试验提取 10 个传感器的特征值,然后采用主成分分析法(PCA),和传感器区别贡献率分析法(Loadings)作为主要区别分析方法。在用 PCA 进行分析时,可以查看在每个主成分下样品区分的状况,并可以分析样品之间主要是由哪一类组分起主要区分作用;Loadings 分析与 PCA 是相关的,它们都基于同一种算法,但不同的是,本试验中 Loadings 算法主要是对传感器进行研究,利用该方法可以确认特定实验样品下各传感器对样品区分的贡献率大小,从而可以考察在这个样品区分过程中哪一类气体起了主要区分作用。电子鼻主成分检测结果如下:

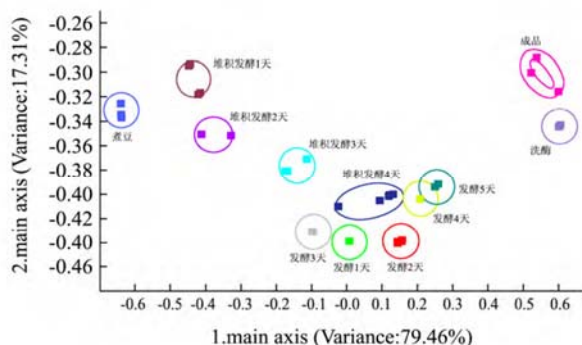


图2 不同发酵阶段浏阳豆豉的 PCA 分析图

Fig.2 PCA plot of Liuyang douchi samples taken at different fermentation stages

不同发酵阶段豆豉的挥发物 PCA 分析结果如图 2: 第一主成分贡献率为 79.46%, 两个主成分累积区分贡献率为 96.77%, 所以这两个主成分已经完全代表了样品的主要信息特征。由以上两图可以看出, 堆积发酵 4 d 与发酵 1、2、3、4、5 d 差异不特别显著, 与 1、2、3 d 的差异主要体现在第二主成分上, 而与发酵 4 d 和 5 d 的差异主要体现在第一主成分上。豆豉发酵阶段与洗酶、堆积发酵阶段在第一和第二主成分上都有明显的差异, 成品与洗酶样品最大的差异体现在第二主成分。主成分分析图较好的说明了样品间的差异性。

LOADING 分析 PCA 在 CORRELATION 相关性矩阵模式中得出: 烷烃芳香成分传感器对第一主成分区分贡献率最大, 氨水传感器(对芳香成分灵敏)对第二主成分区分贡献率最大, 第一、二主成分的累积

方差贡献率达到了 99.92%, 完全涵盖了样品的原始信息。

3.6 电子舌测定发酵过程滋味成分变化

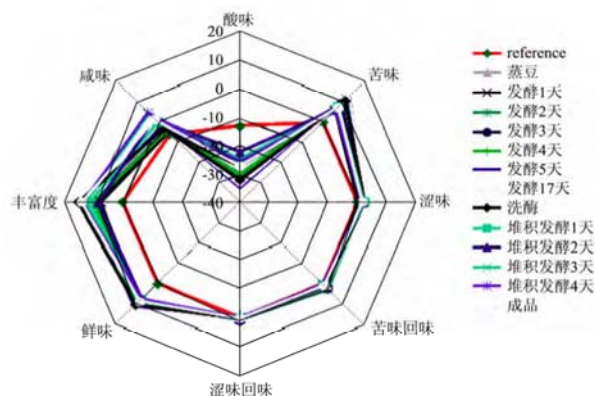


图3 以 RefSol 参比溶液为基准的样品雷达图

Fig.3 Radar chart of the samples with RefSol solution as a reference

注: 所有数据均是以蒸豆为标准的相对输出值。

以基准溶液(人工唾液)的输出为无味点, 除了酸味和咸味, 其他指标的无味点均为 0, 我们通常将大于无味点的味觉项目作为评价对象。因为基准溶液中含有少量的酸和盐, 酸味和咸味的无味点分别为-13和-6。无味点以下的项目可以认为是该样品没有的味道, 从图 3 可以看出, 无味点以下的项目是酸味, 即酸味不能被人体感知, 而其他味觉指标可作为有效的味觉评价指标。

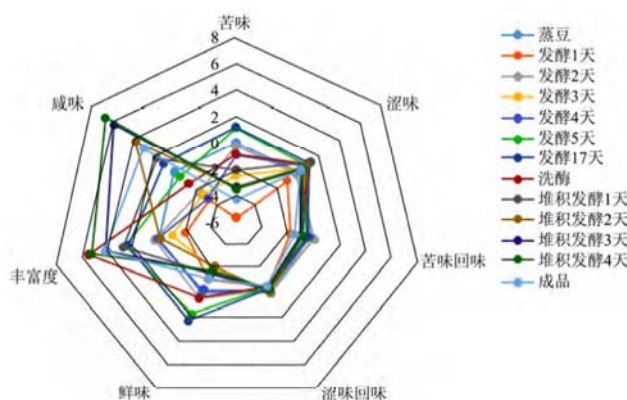


图4 有效评价指标雷达图

Fig.4 Radar chart for effective evaluation indexes

由图 4 可见, 13 个样品之间存在着显著的差异, 可以通过电子舌区分不同发酵时间样品气味之间的差异。不同发酵阶段豆豉的味觉差异主要体现在苦味、鲜味、丰富度和咸味上。涩味、涩味回味以及苦味回味差别较小。发酵 17 d 苦味、鲜味强度最大, 苦味是因为发酵过度, 成品中苦味强度较低, 是因为霉菌产生的亮氨酸氨肽酶对大豆多肽有很明显的脱苦效果,

并且与毛霉脯氨酸氨肽酶之间存在一定的底物选择互补性,两者共同作用于多肽可以实现各自优势互补,提高脱苦效率;堆积发酵第4 d 咸味和丰富度强度最大,因为堆积发酵过程中加入食盐进行调味,渗透压快速升高,在一定程度上抑制了微生物的生长代谢作用,降低酶活,也抑制了脂肪、氨基酸、多肽等呈味物质的降解;利于滋味物质积累。

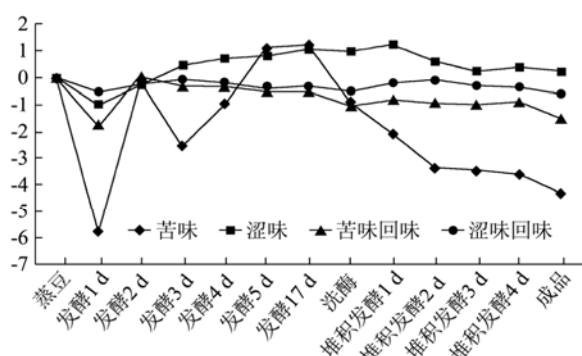


图5 整个发酵过程中涩味、涩味回味、苦味和苦味回味的变化
Fig.5 Changes in astringency, astringency aftertaste, bitterness, and bitterness aftertaste throughout the Liuyang douchi natural fermentation

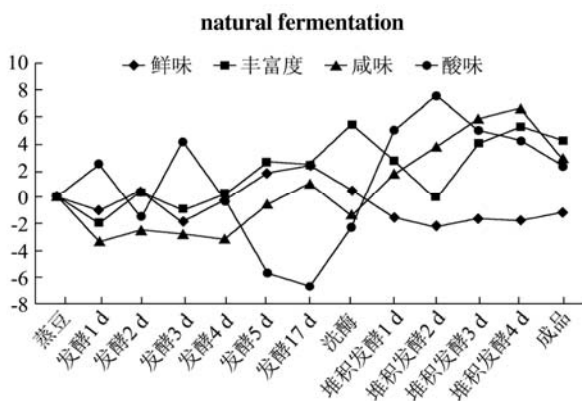


图6 整个发酵过程中鲜味、丰富度、咸味和酸味的变化
Fig.6 Changes in umami, richness, saltiness, and sourness throughout the Liuyang douchi natural fermentation

整个发酵过程中,苦味变化波动大,发酵过程中起伏大,洗酶前达最大值,之后呈直线趋势下降,成品中苦味改变4个刻度。定义味道的变化容许范围为 ± 1 以内(呈味物质的浓度变化20%,味强度变化1个

单位)。一般来说,样品之间产生1个刻度以上的变化,普通人能感知味道的区别^[13]。对应的苦味回味变化表现平缓,下降幅度较小。在豆豉的涩味回味变化不大,涩味在洗酶后达到顶峰,随着堆积发酵的进行,涩味略有下降。综合分析苦味和涩味及其回味,成品中苦味能被感知,而涩味、苦味回味口感微弱,涩味回味对味觉几乎无影响。

在发酵阶段,鲜味和丰富度都有增大的趋势,鲜味在发酵17 d后达到最大;之后缓慢下降,堆积发酵中的鲜味迅速下降且波动较小,堆积发酵2 d鲜味最低,成品中鲜味较后发酵阶段有所上升;丰富度在洗酶后达峰值,堆积发酵阶段先降低,到3 d又逐渐回升,堆积发酵3 d和成品的丰富度相差在1个刻度内,差异不明显。成品中丰富度和洗酶后的相当,达到最大值;发酵前4 d咸味处最低值,咸味在堆积发酵阶段呈段线性增长,成品的咸味与堆积发酵2 d的相差不大。酸味在发酵过程中变化呈S形,发酵17 d达最低值,洗酶后呈上升趋势,堆积发酵2 d达峰值,成品中酸味再降到1刻度,人体感知度较微弱。

3.7 稳定性试验数据分析

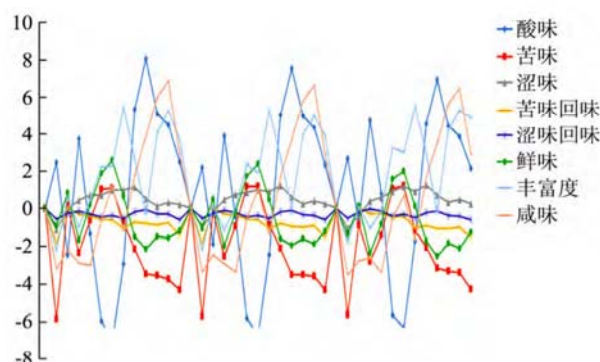


图7 所有样品三次循环测试的响应折线图

Fig.7 Response line chart for three cycles of all samples

由图7可知,每个样品做了4次循环,去掉第一次循环取后三次,从图中看出,传感器响应稳定,有较好的重现性,可以认为数据有效。

表7 测量数据的统计分析

Table7 Statistical analysis of the data

味觉指标	酸味	苦味	涩味	苦味回味	涩味回味	鲜味	丰富度	咸味
g: 误差的平均值	0.42	0.18	0.07	0.06	0.03	0.22	0.27	0.15
s ₁ : 样品的平均值	4.29	2.81	0.71	0.91	0.35	1.5	2.99	3.31
s ₂ : 样品的标准误差	4.16	2.05	0.58	0.53	0.18	1.4	2.37	3.26
m ₁ : g/s ₁ ×100(%)	9.88	6.49	10.01	6.92	9.06	14.58	8.98	4.54
m ₂ : g/s ₂ ×100(%)	10.19	8.9	12.28	11.89	17.75	15.61	11.35	4.62

3.8 传感器分辨能力分析

表 7 中, 误差率 m_1 指同种样品的不同浓度对侧定的影响, 误差率 m_2 指不同样品对侧定的影响, “平均值”指均方根, 留指所有样品的偏差, g 为重复测定的误差平均值, 误差率=测定误差平均/样品整体偏差 $\times 100(\%)$, 误差率=20(%)指样品最大可识别为 5 组, 误差率=50(%)指样品最大可识别为 2 组, 误差率=100(%)指 $g=S_2$, 不能有效识别。因此, 我们一般认为 $m_2 \leq 50$ 时, 传感器能有效区分样品中的味觉指标, 否则判定测试数据无效。本试验对不同阶段豆豉进行的味觉统计分析显示每个味觉指标的 m_2 指均小于 50, 说明了传感器对样品进行了非常有效地区分。

4 结论

4.1 通过对浏阳豆豉生产过程中微生物的分布进行分析, 发现发酵过程中主要微生物是细菌和霉菌, 而酵母菌没有检测出。说明浏阳豆豉在自然发酵过程中是混合发酵过程。细菌的数量在自然发酵初期迅速增加, 再逐渐减少, 在后发酵阶段细菌数量先增加后逐步减少; 霉菌的数量在发酵初期迅速增加, 在后发酵阶段霉菌数量在逐步减少趋于平稳。在发酵前期总酸含量快速增加, 到第 3 d 后增加缓慢。在后发酵阶段, 总酸含量逐渐减少。在发酵前期氨基酸态氮含量逐渐增加, 在后发酵阶段氨基酸态氮的含量先增加后又呈下降趋势。蛋白质的含量在发酵过程中先逐渐减少, 到末期稍有增加。自然制曲阶段水分在一直减少, 浸泡完成后的黑豆含水量是 40%~50%, 蒸煮后的黑豆含水量达到 58%左右。在发酵末期, 水分含量在 30%左右, 微生物的生长受到了抑制。后发酵阶段水分先增加后减少。

4.2 电子鼻的主成分分析图能显著区分发酵过程中各组分样品; 电子舌稳定有效的检测出发酵过程中豆豉滋味变化, 不同发酵阶段豆豉的味觉差异主要体现在苦味、鲜味、丰富度和咸味上。涩味、涩味回味以及苦味回味差别较小。发酵 17 d 苦味、鲜味强度最大, 堆积发酵第 4 d 咸味和丰富度强度最大。

参考文献

- [1] 吴兰芳, 蒋爱民, 曲直, 等. 霉菌型黑豆豆豉的主要成分及其抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 51-54
WU Lan-fang, JIANG Ai-min, QU Zhi, et al. Study on the main components and antioxidant activity of *Aspergillus*-type fermented soybean [J]. Modern Food Science and

Technology, 2013, 29(1): 51-54

- [2] Rocío A, Chávez-Santoscoy, Janet A, et al. Effect of flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris* L) seed coats as cholesterol micelle disruptors [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, 68(4): 416-423
[3] Ana Villares, Mauricio A, Rostagno, Ana, et al. Content and profile of isoflavones in soy-based foods as a function of the production process [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 4(1): 27-38
[4] Xu Zhang, Luo-Jia Yun, Lang-bin Peng, et al. Optimization of douchi fibrinolytic enzyme production by statistical experimental methods [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology (Medical Sciences), 2013, 33(1): 153-158
[5] 曲直, 蒋爱民, 孙韵, 等. 传统阳江豆豉发酵过程中米曲霉的筛选及发酵条件优化[J]. 现代食品科技, 2013, 29(2): 301-305
QU Zhi, JIANG Ai-min, SUN Yun, et al. Screening and optimization of fermentation conditions of *Aspergillus oryzae* isolated from Yangjiang lobster sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(2): 301-305
[6] 蒋立文. 发酵豆豉的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(6): 2-6
JIANG Li-wen. Research progress of Douchi fermentation [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2013, 4(6): 2-6
[7] 张建华. 曲霉型豆豉发酵机理及其功能性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003
ZHANG Jian-hua. Studies on the fermentation mechanism and healthy functions of *Aspergillus*-Type douchi [D]. Beijing: China Agricultural University, 2003
[8] 黄欣. 浏阳豆豉自然发酵菌相分析及人工接种发酵条件的研究[D]. 湖南: 湖南农业大学, 2007
HUANG Xin. Analysis of the microflora in Liuyang fermented soybean nature fermentation and research on the artificial infection fermentation condition [D]. Hunan: Hunan Agricultural University, 2007
[9] 李婷婷, 丁婷, 邹朝阳, 等. 顶空固相微萃取-气质联用技术结合电子鼻分析 4℃冷藏过程中三文鱼片挥发性成分的变化[J]. 现代食品科技, 2015, 31(2): 249-260
LI Ting-ting, DING Ting, ZOU Zhao-yang, et al. Changes on volatile components for salmon slices during refrigerated storage by HS-SPME-GC-MS technology combined with electronic nose [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(2): 249-260

(下转第 122 页)

- Nature Protocols, 2006, 1(5): 2423-2427
- [23] 王娟.酶法制备羊乳酪蛋白 ACE 抑制肽及分离纯化[D].陕西:陕西科技大学,2014
- WANG Juan. Production and purification of ACE inhibitory peptides from goat milk casein enzymatic hydrolysate [D]. Shanxi: Shanxi University of Science and Technology, 2014
- [24] 王双,王昌涛,韩扬.燕麦 ACE 抑制肽的分离纯化及其活性研究[J].食品科学,2010,31(24):222-229
- WANG Shuang, WANG Chang-tao, HAN Yang. Separation, purification and activity of ACE inhibitory peptides from oat [J]. Food Science, 2010, 31(24): 222-229
- [25] Li Guan-hong, Le Guo-wei, Shi Yong-hui, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects [J]. Nutrition Research, 2004, 24(7): 469-486
- [26] Lee D H, Kim J H, Park J S, et al. Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum* [J]. Peptides, 2004, 25(4): 621-627
- [27] 张小丽.酶解鸭骨蛋白制备 ACE 抑制肽的研究[D].成都:四川农业大学,2011
- ZHANG Xiao-li. Preparation of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from duck bone protein by protease hydrolysis [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2011
- [28] 陈胜军,李来好,曾名勇,等.罗非鱼鱼皮胶原蛋白降血压酶解液的制备与活性研究[J].食品科学,2005,26(8):229-233
- CHEN Sheng-jun, LI Lai-hao, ZENG Ming-yong, et al. Study on preparation and activity of lower the blood pressure enzymatic hydrolysate from oreochromis niloticus skin collagen [J]. Food Science, 2005, 26(8): 229-233
- [29] 王海英,宋永相,孙溢.酶解鳕鱼皮制备血管紧张素转化酶以直接 ACEI 的研究[J].现代食品科技,2008,24(10): 987-991
- WANG Hai-ying, SONG Yong-xiang, SUN Mi. Enzymatic hydrolysis of cod skins for ACEI preparation [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(10): 987-991
- [30] Lin Lin, Lv Shun, Li Ba-fang. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2012, 131(1): 225-230
- [31] Roepstorff P, Fohlman J. Proposal for a common nomenclature for sequence ions in mass spectra of peptides [J]. Biomed Mass Spectrom, 1984, 11(11): 601
- [32] 蒋菁莉,徐彦军,娄飞,等.反相高效液相色谱-电喷雾质谱法分析食源血管紧张素转换酶抑制肽[J].分析化学研究简报,2007,35(3): 427-430
- JIANG JING-li, XU Yan-jun, LOU Fei, et al. Analysis of food-derived angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides by reversed phase high performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2007, 35(3): 427-430

(上接第 232 页)

- [10] 黄星奕,戴煌,徐富斌,等.电子舌对橙汁感官品质定量评价研究[J].现代食品科技,2014,30(5):172-177
- HUANG Xing-yi, DAI Huang, XU Fu-bin, et al. Quantitative evaluation of orange juice sensory quality using electronic tongue [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(5): 172-177
- [11] 韩方凯,黄星奕,穆丽君,等.基于电子舌技术的鱼新鲜度定性、定量分析[J].现代食品科技,2014,30(7):247-267
- HAN Fang-kai, HUANG Xing-yi, MU Li-jun, Quantitative and qualitative analysis of fish freshness based on electronic tongue technique [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(7): 247-267
- [12] Hui Wang, Yong-yu Li, Yong-qiang Cheng, et al. Effect of the Maillard reaction on angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of Douchi during fermentation [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(1): 297-301
- [13] 赫君菲,耿利华,陈庆森,等.咖啡味觉量化的初步研究[J].食品工业科技,2014,35(9):307-311
- HE Jun-fei, GENG Li-hua, CHEN Qing-sen, et al. Initial research of quantifying coffee taste evaluation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(9): 307-311