

曲霉型豆豉后发酵过程的初步研究

管泳宇, 于海, 葛庆丰, 吴满刚, 汪志君*

(扬州大学 食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要: 作者就曲霉型豆豉在其后发酵阶段中微生物总数与酶活性、还原糖与脂肪及挥发性风味物含量、总酸与氨基酸氮等品质指标的变化进行了研究。结果为微生物总数下降, 蛋白酶活性下降, 纤维素酶活力下降, 还原糖含量下降, 脂肪含量下降, 总酸含量上升, 氨基酸氮含量上升, 挥发性风味物中脂类、酸类、吡嗪类物质增多, 而烃类、酮类物质发生降低。表明微生物直接作用于豆豉的发酵过程, 改变其内在组成、品质风味。

关键词: 豆豉; 曲霉; 菌数; 酶活; 品质分析

中图分类号: TS 251.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)02—0212—07

Analysis of Microbe on Later Fermentation Process of *Aspergillus*-Type- Douchi

GUAN Yong-yu, YU Hai, GE Qing-feng, WU Man-gang, WANG Zhi-jun*

(College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: This study dynamically analyzed physical and chemical character, cellulose activity and protease activity, volatile components in the process of fermentation. It showed that the amino acid nitrogen, acid was higher than before. The number of microbe cell, the activity of cellulases and protease, the concentration of deoxidize sugar, lipid, total acid decreased during later fermentation. Acid, lipid and pyrazine were increased significantly during the former and the later fermentation while macromolecular hydrocarbon and macromolecular ketone were decreased obviously. We could know that the influence of microbe affects the progress of the fermentation, and it changes the internal composition, the quality and the flavor.

Keywords: Dou-chi, *Aspergillus*, colony, activity of enzyme, quality analysis

豆豉是我国传统的调味品, 不仅具有良好的风味, 而且含有降血压、抗氧化成分^[1]。发酵豆豉主要利用微生物发酵作用, 使其产生特殊风味、色泽和质地^[2]。豆豉发酵过程会发生一系列的反应, 根据菌

种、工艺的不同, 影响豆豉的理化性质并产生大量不同的挥发性风味物质^[3]。豆豉可分为: 细菌型、曲霉型、毛霉型、根霉型豆豉。曲霉型豆豉的发酵分为前发酵与后发酵两部分, 之间存在洗霉、添加香料

收稿日期: 2012-04-10

* 通信作者: 汪志君(1949—), 男, 江苏江阴人, 工学博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事食品微生物资源开发利用及肉制品加工方面的研究。E-mail: zjwang@yzu.edu.cn

的过程。传统发酵豆豉加工周期较长、加工过程难以控制,添加人工发酵剂能够缩短生产周期,控制产品质量、提高产品质量稳定性^[4]。作者旨在研究微生物作用对豆豉后发酵期间理化性质及风味的影响,为人工发酵剂的研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆:超市购买。NaOH、NaCO₃、甲醛、三氯乙酸、苯酚、麝香草酚酞、3,5-二硝基水杨酸、羧甲基纤维素钠、酒石酸钾钠、石油醚等:均为分析纯,蛋白胨、牛肉膏、酵母膏:生化纯。

1.2 仪器与设备

WFJ2000 分光光度计:尤尼柯(上海)仪器有限公司;755S 紫外-可见分光光度计:上海棱光技术有限公司;蛋白质测定仪 KDN-04A:上海贝特仪器设备有限公司;高速冷冻离心机 5804R:北京艾泽信科技有限公司;索氏抽提器 SXT-06 型:上海洪纪仪器设备有限公司;Trace GC/MS:Finnigan。

1.3 方法

1.3.1 微生物菌相分析 取曲样 2.0 g,加入 20 mL 灭菌生理盐水(内含体积分数 0.1%吐温 80,置于 140 r/min 摇床 30 min,取上述液体 200 μ L 注入无菌试管,经稀释后分别作细菌、耐盐酵母、霉菌计数^[5]。取样液 1 mL 置于沸水浴中,煮沸 10 min,冷却,经稀释后作芽孢菌计数。挑取单菌落培养物进一步作分离纯化,经革兰氏染色、镜检和生化试验,作出鉴定。以溶血性实验和小鼠腹腔注射试验剔除病原菌。

1.3.2 微生物酶活力测定 取 5.0 g 样品,用研钵研碎,匀浆,加水定容至 100 mL,抽滤,滤液用 0.1 mol/L pH 7.2 磷酸盐缓冲液适当稀释。蛋白酶活力测定采用 Folin 法^[6],纤维素酶活力测定使用 Matsuura 和 Obata 的方法^[7]。

1.3.3 理化指标测定 豆豉曲样总酸测定使用碱滴定法,参照 GB12456-2008 进行;氨基酸氮测定使用甲醛滴定法,参照 GB/T12143.2-89 进行;还原糖测定使用 DNS 法,参照 GB/T15038-2006 进行;总脂肪测定使用索氏抽提法,参照 GB/T14772-1993 进行。

1.3.4 豆豉挥发性风味物测定

1)样品处理:取样于-20 $^{\circ}$ C 保藏备用,准确称取 4.0 g 放入 15 mL 萃取瓶,密封备用。测定使用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法。

2)微萃取条件:载气体积流量 0.8 mL/min,分流比为 50:1。萃取头为复合式 75 μ m Car/PDMS 型;萃取条件为 60 $^{\circ}$ C 保持 90 min;解吸条件为 250 $^{\circ}$ C 解吸 2 min^[7]。

3)气相色谱条件:毛细管色谱柱为 DB-5MS 型,长 60 m,内径 0.32 mm,涂层厚 1 μ m。载气为 He,不分流,恒流 12 mL/min;进样口温度为 250 $^{\circ}$ C,解析 2 min。程序升温为起始温度 40 $^{\circ}$ C 保持 1 min,以 50 $^{\circ}$ C/min 升至 130 $^{\circ}$ C,80 $^{\circ}$ C/min 升至 200 $^{\circ}$ C,12 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 10 min,GC 与 MS 接口温度为 250 $^{\circ}$ C。

4)质谱条件:离子源为 EI 源,温度为 200 $^{\circ}$ C,接口温度为 250 $^{\circ}$ C,检测器电压 350 V,发射电流 150 μ A,扫描范围 33~500 AMU。化合物经计算机检索,与 NIST library(170 k compounds)相匹配,相似指数(SI)800 以上为确认化合物(最大值为 1000)。相对百分含量按峰面积归一化计算。用 SAS9.1.3 软件对试验数据进行分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 微生物总数与酶活性的测定

2.1.1 微生物分离与菌相分析 从发酵豆豉后发酵过程中分离得到乳酸菌 39 株、葡萄球菌 7 株、芽孢菌 2 株、酵母 2 株。葡萄球菌经革兰氏染色和显微镜观察筛选出革兰氏阳性的纯菌株 5 株,不产生溶血圈、血浆凝固酶阴性的菌株 3 株。注射菌液的实验小鼠无不良反应,表明所筛选葡萄球菌为非致病性菌株,芽孢菌鉴定为枯草芽孢杆菌。发酵过程菌相变化见图 1。

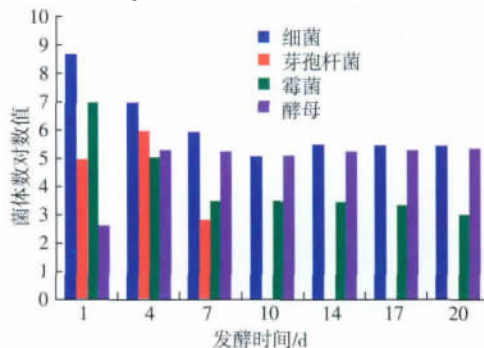


图 1 后发酵过程菌相变化

Fig. 1 Changes of microbial flora during the later process of fermentation

由图 1 看出,微生物菌落总数从制曲末期的 2.1×10^9 cfu/mL 迅速下降至 2.5×10^5 cfu/mL。可能由

于发酵罐中添加大量食盐,渗透压快速升高,大部分非耐盐细菌生长受到抑制,大量死亡。4~7 d期间,非耐盐细菌因恶劣环境加剧继续死亡,而此时耐盐菌适应了高盐环境而存活,细菌死亡速度明显下降。10 d开始,细菌菌落总数无明显变化。可能的原因是耐盐菌^[9]适应高盐环境,继续缓慢生长;非耐盐菌基本死亡。枯草芽孢杆菌转入后发酵后4 d大量繁殖,而后迅速下降。可能由于此菌为耐盐需氧菌,后发酵初期豆豉曲中氧气充足,该菌生长旺盛,随后豆豉曲中氧气消耗殆尽,该菌死亡。酵母在整个过程中数量有所上升,可能因为其具有耐盐性且随着发酵的进行,豆豉曲有利于酵母生长^[10]。

2.1.2 后发酵过程蛋白酶活力变化 后发酵过程蛋白酶活力变化见图2。

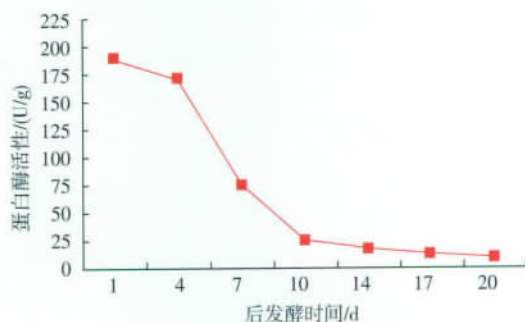


图2 后发酵过程蛋白酶活力变化

Fig. 2 Changes of proteinase activity during the later process of fermentation

如图2可知,蛋白酶活性自初始的190.24 U/g下降到1.58 U/g,主要因为制曲过程黄曲霉产生大量的蛋白酶同样作用于后发酵,这些蛋白酶分解豆豉中的蛋白质,形成氨基酸、糖类等豆豉固有的风味物质。随着后发酵的进行,蛋白酶在高渗下大量失活,乳酸菌、酵母无法产生大量蛋白酶,蛋白酶活力加速降低。

2.1.3 后发酵过程纤维素酶活力变化 后发酵过程纤维素酶活力变化见图3。由图3可知,1~4 d时,纤维素酶酶活由初始0.16 U/g上升到0.23 U/g,4~20 d,酶活下降到0.15 U/g。制曲过程的主要菌种为黄曲霉,而黄曲霉产生的纤维素酶量很小,初始酶活很小。随着发酵的进行,芽孢杆菌迅速生长,纤维素酶明显增加,4 d时达到最大。之后伴随着芽孢杆菌的死亡、纤维素酶失活,酶活力总体呈下降趋势。

2.2 还原糖与脂肪及挥发性风味物质质量分数的变化

2.2.1 后发酵过程还原糖变化 后发酵过程还原

糖变化见图4。由图4可知,在1~7 d时,还原糖初始质量分数为74.65 mg/g,随着发酵的进行,上升到86.79 mg/g;7~20 d时还原糖质量分数下降至60 mg/g。这主要可能由于后发酵开始阶段,微生物的生长需要分解部分碳水化合物生成还原糖,导致还原糖质量分数上升。7 d后,由于乳酸菌的生长和酵母的厌氧发酵都需要消耗还原糖^[11],还原糖质量分数逐渐下降。

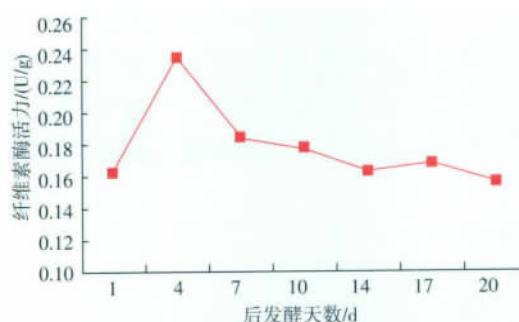


图3 后发酵过程纤维素酶活性变化

Fig. 3 Changes of cellulase activity during the later process of fermentation

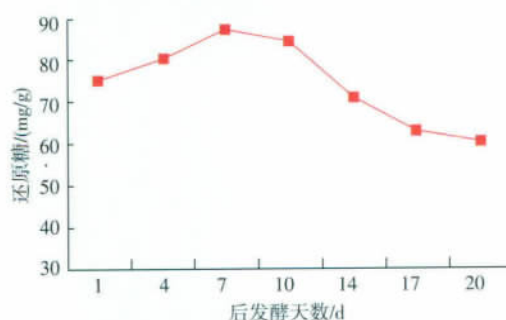


图4 后发酵过程还原糖变化

Fig. 4 Changes of reducing sugar during the later process of fermentation

2.2.2 后发酵过程脂肪变化 后发酵过程脂肪变化见图5。

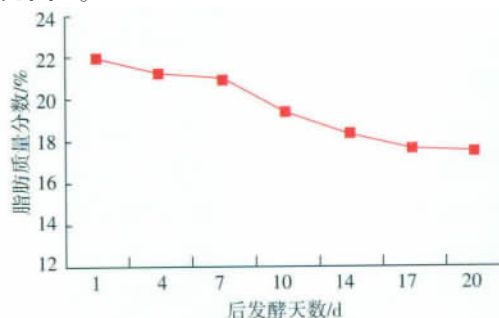


图5 后发酵过程脂肪变化

Fig. 5 Changes of fat during the later process of fermentation

微生物分解脂肪产生大量小分子物质,同时微生物利用脂肪合成有机体,脂肪被氧化产生酮类等风味物质^[12]。由图 5 可知,总脂肪质量分数呈下降趋势,初始为 21.92%,而后下降至 17.54%。前 7 天,脂肪含量下降趋势较慢,可能由于发酵过程中微生物大量死亡,利用小分子碳水化合物与脂肪合成有机体且脂肪分解能力降低,只进行脂肪的自动氧化^[13]。

7~17 d,脂肪含量下降趋势加快,此过程乳酸菌与酵母适应了高渗环境开始生长,利用脂肪合成有机体、分解脂肪。17 d 以后,脂肪含量未发生明显变化,乳酸菌在高酸环境与酵母抑制下生长趋于停滞,酵母菌生长缓慢,脂肪分解程度减少。

2.2.3 后发酵过程风味物质变化 后发酵过程风味物质变化见表 1。

表 1 不同发酵过程挥发性成分质量分数比较

Table 1 Identified volatile compounds and their relative contents in different fermentation process

前发酵					后发酵				
序号	分子式	相对分子质量	名称	相对质量分数/%	序号	分子式	相对分子质量	名称	相对质量分数/%
烷烃类(4)					烯烃类(3)				
1	C ₁₇ H ₃₆	240	2,6,10-三甲基-十四烷	1.12	1	C ₉ H ₁₈ O	138	1-丙醛环己烯	0.28
2	C ₁₉ H ₄₀	268	6-甲基十八烷烃	1.94	2	C ₁₅ H ₂₄	204	雪松烯	0.12
3	C ₁₆ H ₃₄	226	5,8-二乙基十二烷烃	0.55	3	C ₁₅ H ₂₄	204	3-(1,5-二甲基-4-乙烯基)-6-亚甲基-环己烯	0.39
4	C ₁₂ H ₂₆	170	2,3-二甲基癸烷	2.4	4	C ₁₀ H ₁₆	136	罗勒烯	0.24
烯烃类(7)					芳香族类(4)				
5	C ₁₉ H ₃₂	260	ZZZ-1,4,6,9-十九碳四烯	1.45	5	C ₇ H ₈ O ₂	124	2-甲氧基苯酚	3.19
6	C ₉ H ₁₈	142	1-羟基-2-壬烯	0.79	6	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	4-乙烷基-2-甲氧基苯酚	0.46
7	C ₁₅ H ₂₄	204	古巴烯	0.68	7	C ₇ H ₆ O	106	苯甲醛	0.41
8	C ₁₅ H ₂₄	204	雪松烯	1.01	8	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178	2-苯甲酰基-R-丙醛	0.32
9	C ₁₅ H ₂₄	204	3-(1,5-二甲基-4-乙烯基)-6-亚甲基-环己烯	0.87	9	C ₁₅ H ₂₂	202	1-(1,5-二甲基-4-乙烯基)-4-甲基苯	0.22
10	C ₁₅ H ₂₄	204	顺式-甜没药烯	0.87	醇类(5)				
11	C ₈ H ₁₂	108	2-羟基-2-乙烷基-二环[2.1.1]己烷	0.19	10	C ₂ H ₆ O	46	乙醇	1.43
芳香族类(4)					11	C ₁₅ H ₃₂ O	228	3,7,11-三甲基十二醇	3.82
12	C ₈ H ₁₀	106	乙苯	0.19	12	C ₈ H ₁₆ O	128	1-辛烯-3-醇	1.52
13	C ₈ H ₁₀	106	1,3-二甲基苯	0.19	13	C ₃ H ₈ O ₂	76	丙二醇	0.44
14	C ₈ H ₈	104	苯乙烯	0.55	14	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	362	五乙酰氧基阿拉伯糖醇	0.15
15	C ₁₅ H ₂₂	202	1-(1,5-二甲基-4-乙烯基)-4-甲基苯	1.8	醛类(1)				
醇类(5)					15	C ₅ H ₄ O ₂	96	糠醛	0.32
16	C ₁₅ H ₃₂ O	228	3,7,11-三甲基十二醇	1.82	酮类(1)				
17	C ₁₇ H ₃₆ O	256	2-甲基十六醇	1.59	16	C ₁₀ H ₁₄ O	150	2-(2-丁酰)-环己酮	0.16
18	C ₁₇ H ₃₆ O	256	2-硬脂酸氧乙醇	0.24	酸类(7)				
19	C ₉ H ₁₅ NO ₃	185	1-(环丙基-硝基-甲基)-环戊醇	0.19	17	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	亚油酸	22.75
20	C ₁₅ H ₂₂ O ₁₀	362	阿拉伯糖醇	0.71	18	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	亚麻酸	13.35
醛类(4)					19	C ₂ H ₄ O ₂	60	乙酸	5.58
21	C ₆ H ₁₂ O	100	己醛	1.31	20	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	3-甲基丁酸	1.23

续表 1

前发酵					后发酵				
序号	分子式	相对分子质量	名称	相对质量分数/%	序号	分子式	相对分子质量	名称	相对质量分数/%
22	C ₈ H ₁₆ O	128	辛醛	2.9	21	C ₃ H ₅ ClO ₃	124	1-氯-2-羟基-丙酸	0.15
23	C ₉ H ₁₈ O	142	壬醛	4.25	22	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	棕榈酸	7.32
24	C ₁₀ H ₂₀ O	156	癸醛	2.28	23	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	戊酸	0.20
25	C ₇ H ₁₂ O	112	2-庚烯醛	0.19	脂类(11)				25.09
酮类(3)				3.12	24	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	棕榈酸乙酯	5.01
26	C ₁₁ H ₂₀ O	168	4-戊烷基环几酮	1.23	25	C ₃ H ₄ O ₂	88	甲酸醋酸酐酯	4.02
27	C ₁₀ H ₁₈ O	154	2-烯-葵酮	0.6	26	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	亚麻酸甲酯	4.24
28	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	236	紫堇酮	1.29	27	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	204	E-2-乙烯苯甲酸酯	0.89
酸类(4)				50.15	28	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	亚麻酸乙酯	10.12
29	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	8-炔-10-烯十六酸	0.37	29	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	352	2,3-二羟基丙基-9,12,15-十八碳三烯酸酯	0.28
30	C ₁₆ H ₃₂ O ₁	256	棕榈酸	9.1	30	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176	3-苯甲基丙烯酸甲酯	0.17
31	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	亚油酸	22.82	31	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182	乙酸二环[2.2.1]庚烷-2-羟基,7,7-二甲基酯	0.12
32	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	亚麻酸	17.86	32	C ₁₇ H ₃₄ O ₃	286	甲氧基乙酸十四烷基酯	0.12
脂类(11)				6.55	33	C ₂₃ H ₃₈ O ₂	346	6,9,12,15-二十二碳四烯酸甲酯	0.12
33	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂	166	胍羧酸苯甲酯	0.18	胺类(3)				3.86
34	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220	己酸苯乙酯	1.64	34	C ₄ H ₉ NOS	119	乙酰胺	3.19
35	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	204	E-2-乙烯基苯甲酸酯	1.1	35	C ₉ H ₁₃ NO	151	去甲麻黄碱	0.55
36	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	240	丙烯酸-2-乙基十二酯	0.83	36	C ₉ H ₁₇ N	139	1-(5-双环[2.2.1]庚基)乙胺	0.12
37	C ₁₆ H ₃₄ O ₂	254	丙烯酸-2-乙基十三酯	0.52	胍类(2)				2.29
38	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	亚油酸甲酯	0.36	37	C ₂ H ₈ N ₂	60	1,2-二甲基胍	0.93
39	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	200	4-羟基-4-甲基-5-烯己酸异丁酯	1.14	38	C ₂ H ₈ N ₂	60	乙胍	1.36
40	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	烯丙酸-2-乙基十五酯	0.25	吡嗪类(3)				3.47
41	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238	香叶基异戊酸酯	0.3	39	C ₆ H ₈ N ₂	108	2,5-二甲基吡嗪	0.42
42	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290	2,5-二炔十六酸甲酯	0.23	40	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	2,3,5-三甲基吡嗪	1.30
其他(4)				2.57	41	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2,3,5,6-四甲基吡嗪	1.75
43	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂	269	N-[(4-羟基)苯丙基]-苯乙胺	0.74	其他(3)				0.58
44	C ₆ H ₆ O ₃	126	麦芽酚	0.19	42	C ₁₈ H ₃₂ O	264	8-丙氧基柏木烷	0.16
45	C ₁₅ H ₂₄ O	220	8,14-环氧柏木烷	0.42	43	C ₆ H ₆ O ₃	126	麦芽酚	0.13
46	C ₁₅ H ₂₄ O	220	环氧化白菖油萜	1.22	44	C ₈ H ₁₂ O	124	1-(1-环己二烯-1-基)-乙酰	0.29
总和				98.85	总和				99.54

由表 1 可知,后发酵挥发性成分主要有酸类(50.58%)、脂类(25.09%)、芳香族类(4.61%)、烯烃类(1.23%)、醇类(5.93%)、吡嗪类(3.42%)。前发酵挥发性成分主要有酸类(50.15%)、醛类(10.66%)、脂类(6.55%)、烷烃类(6.01%)、烯烃类(5.86%)、醇类(4.55%)、酮类(3.12%)、芳香族类(2.73%)。

后发酵期间脂类物质、酸类物质、醇类物质、吡嗪类物质、芳香族类物质明显增多,烃类物质、酮类物质明显降低。这可能由于黄曲霉能够分泌大量的蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等酶系,大豆中蛋白质、脂肪含量较高,分解产生氨基酸、脂肪酸、酮类等风味物质^[13]。后发酵期间乳酸菌进一步分解大分子物质,产生小分子风味物质,仍以酸类居多。酵母菌无氧发酵分解大分子物质的同时产生乙醇,乙醇能够与酸类物质产生酯类物。Berdague 等^[14]研究表明,一些酯类物质如丙酸乙酯、醋酸丙酯、丁酸乙酯来自碳水化合物代谢的发酵过程。吡嗪类物质是美拉德反应的中间产物之一,对风味有重要作用。

2.3 后发酵过程总酸与氨基酸氮的变化

2.3.1 后发酵过程总酸的变化 后发酵过程总酸变化见图 6。由图 6 可知,总酸的质量分数从 0.54% 逐渐增加到 1.57%。1~8 d 期间,因乳酸菌的大量生长产生大量的淀粉酶和脂肪酶,使碳水化合物和脂肪分解成有机酸和脂肪酸^[15],酸度明显增大。8~15 d,随着酸度的增大,乳酸菌自身生长受到抑制,同时高酸度与一定的糖分使得酵母菌增殖,也抑制了乳酸菌的生长。此时乳酸菌繁殖与凋亡达到平衡,表现为乳酸菌质量分数稳定于 1.57%。

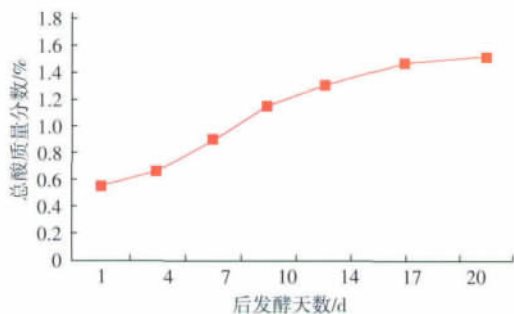


图 6 后发酵过程总酸变化

Fig. 6 Changes of acid during the later process of fermentation

2.3.2 后发酵过程氨基酸氮的变化 后发酵过程氨基酸氮的变化见图 7。氨基酸氮是风味物质的重

要组成,氨基酸氮含量能够反映蛋白质的水解程度,豆豉后发酵进程可以通过氨基酸氮的变化确定^[16]。由图 7 可知,1~11 d,氨基酸氮质量分数变化较快,后期趋平衡于 0.73%,表明豆豉发酵成熟。此外结合图 1 可知,氨基酸氮变化的趋势与菌相变化的趋势基本吻合,后发酵前期微生物数目较多、酶活较高;后期由于微生物数目迅速降低、产酶下降且食盐致酶失活,酶活降低,氨基酸氮质量分数没有明显增加。

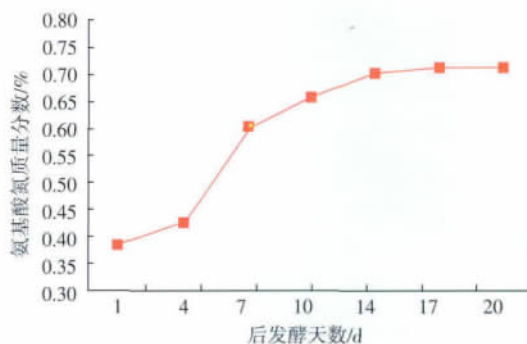


图 7 后发酵过程氨基酸氮变化

Fig. 7 Changes of amino acid nitrogen during the later process of fermentation

3 结 语

豆豉后发酵是多菌联合发酵的过程^[17]。作者初步分析了乳酸菌、芽孢杆菌、酵母菌对豆豉理化性质和风味的影响。芽孢杆菌在后发酵初期消耗氧气制造无氧环境,产纤维素酶发酵产糖,表现为纤维素酶活上升很快、还原糖含量上升、脂肪消耗增多。当体系中氧气消耗完全,芽孢杆菌死亡,乳酸菌开始大量增殖。耐盐性乳酸菌代谢产生乳酸、乙酸等种类丰富的有机酸,从而使整个发酵体系酸度下降。此时,纤维素、蛋白酶均大量失活,体系中还原糖含量继续增加,脂肪加速消耗,氨基酸氮大量产生。当酸度下降到适宜酵母菌生长繁殖的时候,耐盐酵母便开始大量生长。酵母菌在无氧环境中消耗还原糖产生以醇类为主的各种小分子物质,醇类与酸类物质结合产生酯类物质,形成豆豉特有的风味^[18]。同时,乳酸菌的生长受到高酸度与酵母菌的抑制。此时,所测理化因素达到稳定,发酵完成。因此,微生物对于豆豉风味的形成有重要作用,为通过改变发酵菌种比例、完善风味物质提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 张建华,李斯特. 纳豆,天培与豆豉的比较[J]. 中国调味品,2003,5:3-5.
ZHANG Jian-hua, LI Li-te. The comparison of Natto, Tempeh and Douchi[J]. **Chinese Condiment**, 2003, 5: 3-5. (in Chinese)
- [2] 汪梦娟,陈延涛,姜淑英,等. 豆豉发酵中的微生物和功能性组分研究动态[J]. 中国微生物学杂志,2010,1(22):81-84.
WANG Meng-juan, CHEN Yan-tao, JIANG Shu-ying, et al. The progress on the microflora and functional components in Douchi [J]. **Chinese Journal of Microecology**, 2010, 1(22): 81-84. (in Chinese)
- [3] 卢露,郑晓莹. 豆豉发酵中微生物及其功能进展[J]. 粮食与食品工业,2011,1:42-45.
LU Lu, ZHENG Xiao-ying. Research advance on distribution and function of microorganism in douchi fermentation process[J]. **Cereal & Food Industry**, 2011, 1: 42-45. (in Chinese)
- [4] 魏鹏飞,冯杰,王栋,等. 响应面法优化酱油生产用大曲培养基[J]. 食品与生物技术学报,2011,30(3):422-426.
WEI Peng-fei, FENG Jie, WANG Dong, et al. Optimization of Koji medium in soy sauce production using response surface methodology[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 3(30): 422-426. (in Chinese)
- [5] 蒋立文,夏波. 浏阳豆豉发酵微生物的初步研究[J]. 中国酿造,2004,12:11-16.
JIANG Li-wen, XIA Bo. Study on microorganism from Liuyang fermented brown bean [J]. **China Brewing**, 2004, 12: 11-16. (in Chinese)
- [6] ZBX66030-87,蛋白酶活力测定法[S].
- [7] Masaru Matsuura, Akio Obata. β -Glucosidases from soybeans hydrolyze daidzin and genistin [J]. **Food Science**, 1993, 58(1): 144-147.
- [8] 夏文水. 肉制品加工原理与技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [9] WANG Li-jun. Influences of processing and NaCl supplementation on isoflavone contents and composition during douchi manufacturing[J]. **Food Chemistry**, 2007, 3(30): 1247-1253.
- [10] Hsia H S. Nutrition supplement containing *Lactobacillus acidophilus*, yeast and soy protein[P]. US Patent: 6294166, 2001-09-25.
- [11] Carlos Martin, Teresa Fernandez, Ramon Garcia, et al. Preparation of hydrolysates from tobacco stalks and ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2002, 18(9): 54-56.
- [12] 王彦杰. 豆豉发酵工艺条件的优化及品质分析[J]. 食品与机械,2006(22):130-132.
WANG Yan-jie. Study on optimization fermentation technology of douchi and its quality analysis [J]. **Food & Machinery**, 2006 (22): 130-132. (in Chinese)
- [13] 郭月红,李洪军,韩叙. 腊肉加工过程中脂肪氧化分解及其与风味形成的研究进展[J]. 肉类研究,2005,3:33-36.
GUO Yue-hong, LI Hong-jun, HAN Xu. The research progress of flavor formation and the bacon in process of oxidative decomposition[J]. **Meat Research**, 2005, 3: 33-36. (in Chinese)
- [14] Berdague J L, Monteil P. Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausages [J]. **Meat Science**, 1993, 3(3): 275-287.
- [15] Pitipong Wanadachomdrai. Comparison of determination method for volatile compounds in Thai soy sauce[J]. **Food Chemistry**, 2003, 83: 619-629.
- [16] J Z Wang, M Zhang, F Z Ren, et al. Changes of chemical and nutrient composition of porcine blood during fermentation by *Aspergillus oryzae*[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2007, 23(10): 103-108.
- [17] 王璋,葛世军. 酶法豆乳工艺的研究[J]. 食品与生物技术学报,1990,9(4):2-8.
WANG Zhang, GE Shi-jun. The studies on enzymatic processing technology of soymilk [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 1990, 9(4): 2-8. (in Chinese)