

# 加盐量对人工发酵豆豉后发酵中理化特性 及抗氧化活性的影响

Effect of salt content on physicochemical properties and  
antioxidant activity during post-fermentation of douchu

万俊<sup>1</sup> 程伟伟<sup>2</sup> 沈小璐<sup>3</sup> 蒋爱民<sup>3</sup>

WAN Jun<sup>1</sup> CHENG Wei-wei<sup>2</sup> SHEN Xiao-lu<sup>3</sup> JIANG Ai-min<sup>3</sup>

(1. 广东农工商职业技术学院热作系, 广东 广州 510507; 2. 河南科技大学食品与生物工程学院,  
河南 洛阳 471023; 3. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(1. Guangdong AIB Polytechnic College, Guangzhou, Guangdong 510507, China;

2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China;

3. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

**摘要:**在人工多菌种发酵豆豉后发酵阶段,添加8%,10%,12%的食盐后发酵30 d。结果显示:随着盐度的增加,豆豉的总酸减少、pH值降低;盐度越大,硬度和咀嚼性越大,口感下降;含盐量越低,豆豉的色泽越暗;高盐不利于氨基态氮和 $\gamma$ -PGA的生成,并且对豆豉的抗氧化活性有抑制作用,最终确定8%为较适宜的加盐量,但在风味上有待进一步优化提高。

**关键词:**盐;豆豉;后发酵;抗氧化活性;理化特性

**Abstract:** The impact of salt content on post-fermentation of douchu was studied. In the post-fermentation stage, 8%, 10%, 12% of salt were added for 30 days fermentation. The results showed that, with the increase of salinity, the total acids and pH decreased, the hardness and chewiness increased, which shallowed the color and declined the taste of douchu. The high salinity was bad for producing the total amino acid nitrogen and  $\gamma$ -PGA, and also inhibited the antioxidant activity of douchu. Finally, 8% of salt was considered to be the best, but the flavor remained to be improved.

**Keywords:** salt; douchu; post-fermentation; antioxidant activity; physicochemical property

中国豆豉生产历史悠久,主要采用传统的自然发酵方式,生产周期较长,菌种种类不清,产品质量不稳定,存在安全隐患等问题。而且企业规模较小,无系统的工业化生产。对此,中国研究人员也开展了一系列的工作,如:张建华<sup>[1]</sup>系

统探究了浏阳豆豉发酵的机理,对其优良菌种进行选育并且进行发酵工艺的优化改良;吴拥军等<sup>[2]</sup>强化了RH3519菌株纯种发酵细菌型豆豉的研究,促进了其工业化生产;谢亮等<sup>[3]</sup>为了克服纯种发酵带来的风味和功能营养方面的不足,采用纳豆菌和曲霉混菌的方式对豆豉的发酵工艺进行研究及优化;刘锦绣等<sup>[4]</sup>在菌种选育鉴定、纯种/混菌发酵工艺及条件优化方面做了很大的努力。

本试验拟将实验室前期从阳江豆豉里分离筛选出的菌株,剔除致病菌群,在研究单一纯种发酵豆豉成品品质及抗氧化功能特性不理想的基础上,以阳江豆豉为阳性对照,进行人工多菌种发酵,测定后发酵时通过添加不同的食盐量,研究含盐量对豆豉硬度、色泽、氨基态氮、成品感官等指标以及抗氧化活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌种与原料

黑豆、豆豉:由阳江阳帆豆豉厂惠赠,分包真空包装于-18℃以下保存;

菌种:由广东省畜禽产品加工工程技术研究开发中心实验室前期从阳江豆豉中分离冷冻保存;

食盐:购于华南农业大学三角市。

#### 1.1.2 主要试剂

平板计数琼脂(PCA)、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA):生化试剂,广东环凯微生物科技有限公司;

氢氧化钠:分析纯,广州化学试剂厂;

中性甲醛溶液:分析纯,天津化学试剂厂;

**作者简介:**万俊,男,广东农工商职业技术学院讲师,硕士。

**通信作者:**蒋爱民(1957—),男,华南农业大学教授,博士。

E-mail:1279246584@qq.com

**收稿日期:**2018-05-08

二苯代苦味基肼自由基(DPPH·):分析纯,百灵威公司。

### 1.1.1.3 主要仪器

恒温恒湿培养箱:HPX-160BS-III型,上海新苗医疗器械有限公司;

超净工作台:SW-CJ-2FD型,苏州安泰空气技术有限公司;

手提式高压蒸汽灭菌锅:YD-280型,合肥华泰医疗设备有限公司;

精密pH计:pHS-3型,上海精密科学仪器有限公司;

质构仪:TA-XT plus型,英国SMS公司;

生化培养箱:SPX-80BS-II型,上海新苗医疗器械有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 人工多菌种发酵豆豉的制备 将从阳江豆豉里分离筛选出的14株有效菌株:5种酵母(11101,11602,11701,11301,11102)、2种霉菌(10501,11604)、7种细菌(10601,10901,11702,11703,11704,11302)分别接至酵母、细菌、霉菌的3个液体培养基扩大培养,按照2%的接种量接种(接种比例霉菌:细菌:酵母=10:1:1,后发酵开始时再加入酵母菌)。制作工艺:

黑豆→筛选→浸豆→蒸煮→冷却→接种(霉菌和细菌)30℃制曲5d→洗曲→拌盐(8%,10%,12%)→加酵母(35℃后期发酵30d)→55℃鼓风干燥即得成品

1.2.2 后发酵过程中pH值的测定 称取5.00g样品,用蒸馏水定容至50mL,高速匀浆机中打浆,静置30min,测定pH值。

1.2.3 后发酵过程中总酸的测定 称取打碎后的样品5g,加水定容于100mL,高速匀浆机打浆;4℃静置1h后,取上清液20mL置于200mL烧杯中,加60mL水,开启磁力搅拌器,用0.1mol/L NaOH溶液滴定至酸度8.2,记录消耗的NaOH溶液的量,用直接加80mL蒸馏水做空白,按式(1)计算总酸含量(以乳酸计,10<sup>-3</sup>mol的NaOH相当于0.09g乳酸)。

$$\omega = (V_1 - V_2) \times C \times 9, \quad (1)$$

式中:

$\omega$ ——总酸含量,g乳酸/100g;

$V_1$ ——滴定消耗氢氧化钠的体积,mL;

$V_2$ ——空白消耗氢氧化钠的体积,mL;

$C$ ——滴定用氢氧化钠的浓度,mol/L。

1.2.4 后发酵过程中不同时期硬度和咀嚼性的测定 原料处理:1颗豆/次;平行测15次,取平均值。

参考Li等<sup>[6]</sup>的方法,略有修改。采用TPA(Texture Profile Analysis)质地剖面分析法,使用质构仪测定。测定参数:探头类型P36R;测前速度2mm/s,测中速度1mm/s,测后速度10mm/s;压缩比70%;负重5g。

1.2.5 后发酵过程中色泽的测定 取一定量发酵过程中的豆豉,在高速匀浆机中打碎,平铺在平板的背面。

采用Lab值系统。 $L=0$ 表示黑色, $L=100$ 表示白色; $a$

值越大,越接近纯红, $a$ 值越小,越接近纯绿; $b$ 值越大,越接近纯黄, $b$ 值越小越接近纯蓝。采用X-Rite SP62型色差仪进行测定,测6次取平均值。

1.2.6 后发酵过程中Fe<sup>3+</sup>还原能力的测定 取一定量打碎后的样品粉末,加蒸馏水配成5mg/mL溶液,高速匀浆机匀浆,抽滤后待用。

参考Oyaizu的方法<sup>[7]</sup>。取0.5mL处理好的样品,加入0.2mol/L磷酸盐缓冲液(pH6.6)和1%的铁氰化钾溶液各0.5mL,50℃保温20min后再加入10%的三氯乙酸溶液0.5mL,混合后加入蒸馏水2mL以及0.1%三氯化铁溶液0.4mL,室温反应10min后,测定其在700nm处的吸光值A。

1.2.7 豆豉中 $\gamma$ -聚谷氨酸( $\gamma$ -PGA)含量的测定 取1mL豆豉提取液与3mL的乙醇混合(1:3),4500r/min离心10min。去上清液,沉淀添加5mL蒸馏水、2.5%的CET(溴化十六烷基三甲铵)1.0mL,静置20min,于400nm下测吸光度,蒸馏水做空白。 $\gamma$ -PGA含量按式(2)计算:

$$m = (A - B) \times 0.125 \times 0.8776, \quad (2)$$

式中:

$m$ —— $\gamma$ -PGA含量,g乳酸/100g;

$A$ ——样品的吸光度;

$B$ ——空白测定的吸光度。

1.2.8 感官评定 参考孙森等<sup>[8]</sup>的方法。豆豉的感官指标主要从色泽、香气、滋味、形态四方面考虑,每个指标满分5分。评分标准见表1,评分越高,总体越好。

表1 豆豉感官品质评定标准

Table 1 Sensory quality assessment of douche

项目	评分标准
色泽	黑色光亮5~3分,黑色发暗3~1分
香气	豆豉香浓郁5~4分,有豆豉香4~3分,无豆豉香或生豉香3~1分
滋味	风味好5~4分,有苦味4~3分,风味不足3~1分
形态	软硬适度,颗粒状5~3分,软烂或者太硬3~1分

## 2 结果与分析

### 2.1 对豆豉pH值和总酸的影响

不同盐度发酵豆豉的pH值与总酸的变化见图1。方差分析结果表明:含盐量对豆豉pH值的影响显著( $P < 0.05$ ),对总酸的影响极显著( $P < 0.01$ )。由图1可知,在后发酵过程中,不同盐度豆豉的pH值随着发酵的进行都有减小的趋势。起初,3种含盐量的豆豉pH值差异不大,最终8%含盐量的豆豉pH值最大,为7.08。总酸在后发酵过程中逐渐增加,且后期增长较缓慢。10%和12%含盐量的豆豉发酵过程中总酸含量及变化相差不大,随着加盐量的减少,总酸含量最低,与pH值结果相一致。分析原因可能是,高盐环境中乳酸菌等耐盐厌氧菌生长繁殖比较旺盛,产酸较多,酸度较大<sup>[9]</sup>。

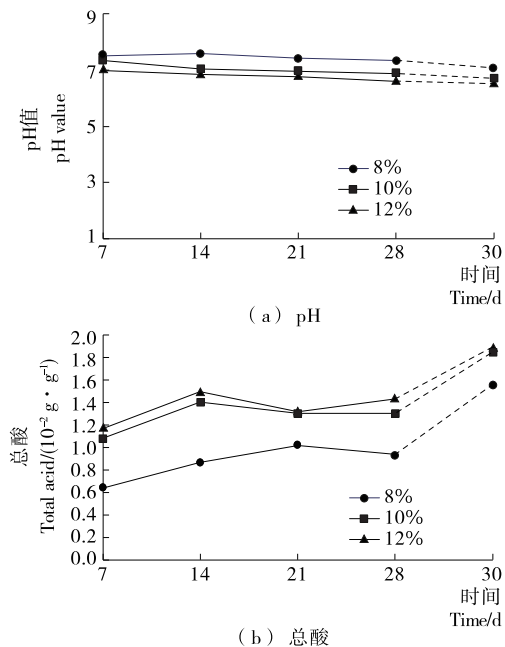


图 1 后发酵过程中加盐量对豆豉 pH、总酸的影响  
Figure 1 Effect of salt content on pH and total acid during post-fermentation of douchi

## 2.2 对豆豉硬度和咀嚼性的影响

不同盐度的豆豉后发酵过程中硬度和咀嚼性的变化见图 2。方差分析表明,盐度对豆豉硬度和咀嚼性的影响极显著 ( $P < 0.01$ )。由图 2 可知,硬度和咀嚼性在后发酵的过程中都逐渐减小,成品烘干后水分大量散失,使其数值骤然增大。随着盐度的增加,硬度和咀嚼性越来越大,含盐量 10%, 12% 的豆豉硬度和咀嚼性显著大于含盐量 8% 的。主要原因是高盐度对酶的活性有抑制作用,另外,盐度越高水分散失越多<sup>[10]</sup>。

## 2.3 对豆豉色泽的影响

不同含盐量的豆豉后发酵过程中  $L$ 、 $a$ 、 $b$  值见图 3。第 2 周之后,逐渐出现差异,随着盐度的降低,  $L$  值变小;含盐量 8% 的豆豉  $a$  值显著高于 10%, 12% 的 ( $P < 0.05$ )。这与 Wang 等<sup>[9]</sup>的研究具有一致性。据报道,  $L$  值和  $a$  值与美拉德反应有显著的负相关性<sup>[11]</sup>, 盐浓度与美拉德反应的产物呈负相关<sup>[12]</sup>。因而,低盐会使  $a$  值增高,颜色变暗,即  $L$  值越小。不同盐度的豆豉  $b$  值在后发酵过程中无明显差异 ( $P > 0.05$ ),最终成品烘干 8% 的豆豉  $b$  值最小。

## 2.4 对豆豉 $\text{Fe}^{3+}$ 还原能力的影响

后发酵过程中,不同加盐量的豆豉对  $\text{Fe}^{3+}$  还原能力的大小变化见图 4。方差分析结果表明,不同盐度对豆豉  $\text{Fe}^{3+}$  还原力的影响显著 ( $P < 0.05$ )。3 种含盐量豆豉对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原力大小随着发酵的进行,都有增大的趋势。并且低含盐量 8% 的豆豉样品增大的最快,最终还原力最大达到 0.402 1。综合以上指标变化可以看出,后发酵阶段加盐量越高其抗氧化能力越低<sup>[13]</sup>。分析原因可能是,高盐抑制了发酵过程中一些物质的生化反应,使生成的抗氧化活性物质减少;盐度过高对微生物的生长产酶及酶活有抑制作用。因而,选择合适的盐度和发酵时间是十分必要的。

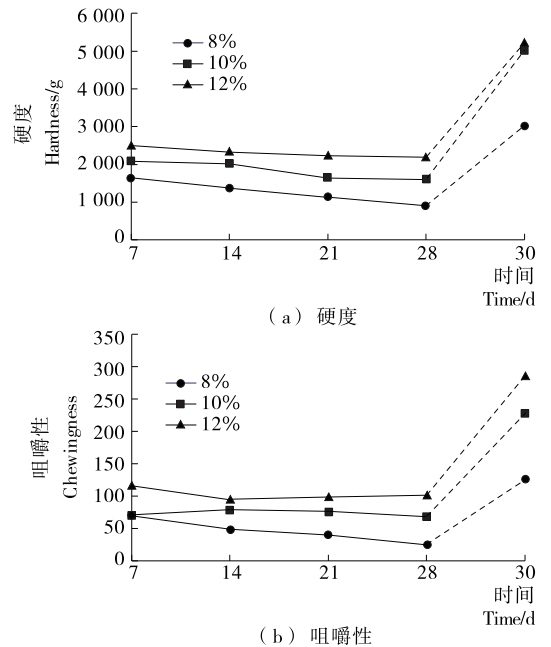


图 2 后发酵过程中加盐量对豆豉硬度、咀嚼性的影响  
Figure 2 Effect of salt content on hardness and chewingness during post-fermentation of douchi

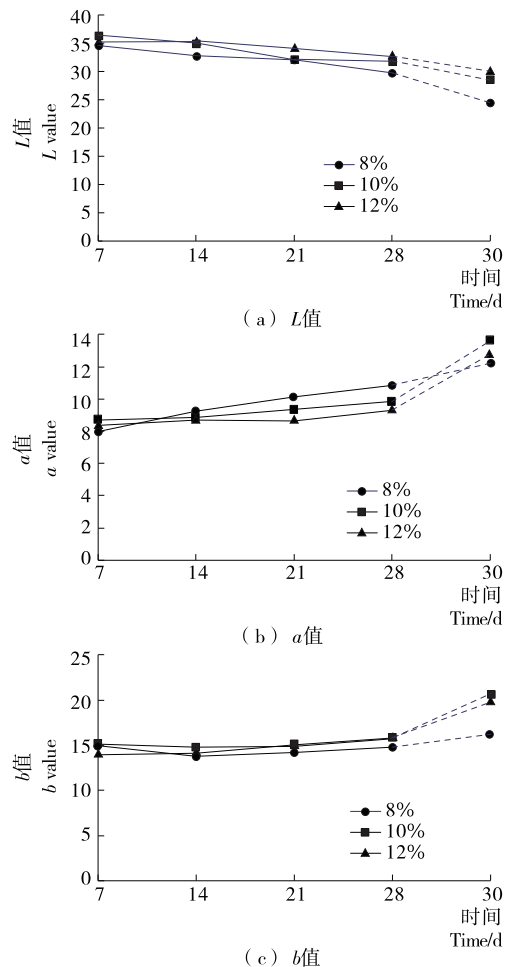


图 3 后发酵过程中含盐量对豆豉色泽的影响  
Figure 3 Effect of salt content on color during post-fermentation of douchi

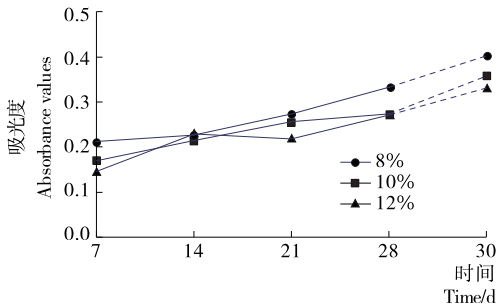


图4 后发酵过程中加盐量对豆豉 Fe<sup>3+</sup> 还原力的影响  
Figure 4 Effect of salt content on Fe<sup>3+</sup> reducing power during post-fermentation of douchi

### 2.5 对成品豆豉 $\gamma$ -PGA 含量的影响

$\gamma$ -PGA 是一种由 L-谷氨酸和/或 D-谷氨酸通过  $\gamma$ -酰胺键结合形成的阴离子聚合物/多肽,具有极强的保湿能力,被广泛用在食品工业、化妆品、保健、废水处理、卫生用品、医疗以及水凝胶等领域<sup>[14]</sup>。表2 经过方差分析得,盐度对豆豉  $\gamma$ -PGA 含量的影响极显著( $P < 0.01$ )。随着盐度增到 12%,对  $\gamma$ -PGA 的生成有抑制作用,但 3 种成品均大于阳江豆豉。主要原因是阳江豆豉含盐量较高(16%~18%)且为传统的霉菌型豆豉, $\gamma$ -PGA 是细菌发酵大豆产生的黏性物质的主要成分。试验豆豉制曲阶段用霉菌、细菌混菌发酵也有利于  $\gamma$ -PGA 的生成。

### 2.6 感官评定

由图5可以看出,后发酵过程中不同的加盐量对豆豉的色泽、香气等都有影响。8%含盐量的豆豉色泽、滋味比较好,但是香气不够;12%含盐量的豆豉香气不错,但是滋味过咸,口感过硬,总体的感官评价相差不大。由此,可以得到,

表2 不同盐度豆豉及阳江豆豉  $\gamma$ -PGA 含量的比较

Table 2 Effect of salt content on  $\gamma$ -PGA during post-fermentation of douchi

不同豆豉	$\gamma$ -PGA/(mg · mL <sup>-1</sup> )
8%盐度豆豉	0.122 ± 0.002
10%盐度豆豉	0.122 ± 0.002
12%盐度豆豉	0.111 ± 0.005
阳江豆豉	0.080 ± 0.002

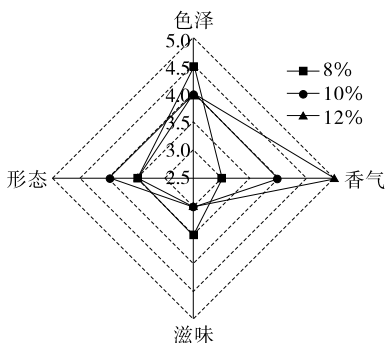


图5 不同含盐量豆豉成品的感官评定

Figure 5 Effect of salt content on sensory evaluation during post-fermentation of douchi

8%含盐量的豆豉虽然感官评定总分不如12%的,但其食盐含量低,且在后发酵过程中各项理化指标和活性都较高,适口性较强。

## 3 结论

盐度对各理化指标有不同程度的影响,盐度过高会降低其口感、活性物质  $\gamma$ -PGA 的含量以及抗氧化能力。从健康和经济的角度考虑,确定 8%含盐量豆豉较好,与传统发酵的 12%~18%含盐量相比降低了不少,其缺陷是风味不足。因此,应继续研究采取一定的措施,在保证盐度相对较低的情况下,提高其风味,使之更好地被消费者接受。

### 参考文献

- [1] 张建华. 曲霉型豆豉发酵机理及其功能性的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003: 35-48.
- [2] 吴拥军, 孟望霓, 李耀中. 纯种强化发酵细菌型豆豉研究[J]. 中国酿造, 2011(9): 56-60.
- [3] 谢亮. 豆豉的人工接种发酵工艺研究[J]. 中国调味品, 2013, 38(11): 40-43.
- [4] 刘锦绣, 陈伟, 程芳. 混合菌种发酵对豆豉抗氧化性影响的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(4): 17-21.
- [5] 庞庆芳, 张炳文, 孙爱东. 中国传统大豆发酵食品-豆豉功能成分的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2006(2): 185-187, 198.
- [6] LI Qing-ming, CAI Xia, JIANG Li-wen, et al. Correlation between Texture and sensory evaluation of labadou [J]. Agricultural Science & Technology, 2014, 15(1): 159-161, 165.
- [7] OYAIZU M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine; antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine[J]. Japanese Journal of Nutrition, 2010, 44(6): 307-316.
- [8] 孙森, 宋俊梅, 曲静然. 盐度对豆豉后发酵周期的影响[J]. 山东食品发酵, 2008(2): 38-41.
- [9] 胡会萍, 程永强, 袁娜, 等. 传统发酵豆豉含盐量及盐度对豆豉品质的影响[J]. 中国调味品, 2011, 36(8): 37-41.
- [10] WANG Hui, YIN Li-jun, CHENG Yong-qiang, et al. Effect of sodium chloride on the color, texture, and sensory attributes of douchi during post-fermentation [J]. International Journal of Food Engineering, 2012, 8(2): 1 168-1 174.
- [11] OLIVER J R, BLAKENEY A B, ALLEN H M. The colour of flour streams as related to ash and pigment contents[J]. Journal of Cereal Science, 1993, 17(2): 169-182.
- [12] THONGRAUNG C, KANGSANAN S. Influence of pH, NaCl and pre-incubation on utilisation of surimi wash water in generation of antioxidative material by using the Maillard reaction[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(8): 1 696-1 702.
- [13] 邹磊, 汪立君, 呼晴, 等. 后发酵过程中乙醇对豆豉抗氧化能力的影响[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 28-32.
- [14] 王国良, 关阳, 张秀荣.  $\gamma$ -聚谷氨酸在食品中的功能性研究进展[J]. 食品工业, 2013, 34(10): 210-213.