## 豆豉纯种发酵过程中蛋白水解物与黑色素形成的关系

王雪蒙<sup>1</sup>,马良<sup>1,2,3</sup>,于玮<sup>1</sup>,郭雪霞<sup>4</sup>,张雨浩<sup>1</sup>,张宇昊<sup>1,2,3</sup>

- (1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400716)(2. 西南大学国家食品科学与工程实验教学中心, 重庆 400716)
- (3. 农业部农产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 重庆 400716)(4. 农业部规划设计院, 北京 100125)

摘要:由于豆豉传统自然发酵过程中微生物区系复杂,深入分析豆豉蛋白水解物与黑色素形成的关系存在一定难度,本试验以毛霉型豆豉自然发酵过程中四种主要毛霉(总状毛霉 PR9.00140、雅致毛霉 PR9.0018、腐乳毛霉 PR9.00148 和五通桥毛霉 PR9.00151)为发酵菌种,通过分析豆豉纯种发酵过程中颜色变化和各种蛋白水解产物含量的变化趋势的关系,得出三种蛋白水解产物与颜色的相关性依次为多肽>游离氨基酸>大分子可溶性蛋白,其中多肽和游离氨基酸含量变化与豆豉颜色变化高度相关。对豆豉纯种发酵过程中各个相对分子质量段多肽的含量变化与豆豉颜色变化相关性分析表明:相对分子质量为 500~200 u 的多肽更多的参与了豆豉黑色素的形成。因此,本研究结果为完善豆豉质量控制与评价体系以及豆豉快速生产工艺的研发构建奠定了理论基础。

关键词: 豆豉; 蛋白质; 水解; 多肽; 黑色素

文章篇号: 1673-9078(2015)8-110-116

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.019

## Relationship between Protein Hydrolysate and the Formation of Melanin

## during Pure-breed Fermentation of Douchi

WANG Xue-meng<sup>1</sup>, MA Liang<sup>1,2,3</sup>, YU Wei<sup>1</sup>, GUO Xue-xia<sup>4</sup>, ZHANG Yu-hao<sup>1</sup>, ZHANG Yu-hao<sup>1,2,3</sup>

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China) (2.National Food Science and Engineering Experimental Teaching Center, Southwest University, Chongqing 400716, China) (3.Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products on Storage and Preservation (Chongqing), Ministry of Agriculture, Chongqing 400716, China) (4.Chinese Academy of Agricultural Engineering, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

**Abstract:** The complex microbial flora during traditional fermentation of douchi makes it a challenge to conduct in-depth analysis of the correlation between douchi protein hydrolysate and the formation of melanin. In this study, four main *Mucor* species from naturally *Mucor*-fermented douchi, namely *Mucor* racemosa PR9.00140, *Actinomucor* elegans PR9.00018, *Mocor* sufu PR9.00148, and *Mucor* wutongqiao PR9.00151, were used and the correlation between changes in the content of protein hydrolysates and color of douchi during pure-breed fermentation was studied. The results showed that the degree of correlation between three protein hydrolysates and color was in the following order: polypeptides > free amino acids > macromolecular soluble proteins, while the changes in the content of polypeptides and free amino acids significantly correlated with changes in the douchi color. The correlation evulation between polypeptides in different relative molecular mass ranges and color change of douchi during pure-breed fermentation of douchi indicated that polypeptides with a relative mass of 500 to 200 were more involved in the formation of melanin. Therefore, these results provide data for the development of improved quality control and evaluation system as well as rapid production of douchi.

Key words: douchi; protein; hy drolysis; polypeptides; melanin

豆豉是大豆原料经过润水蒸煮、制曲发酵、加盐、加酒或干燥等措施制成的干态或半干态的颗粒状发酵 收稿日期: 2014-11-13

基金项目: 中央高校基本科研业务费重点项目(XDJK2011B001-2362014xk11); 国家自然科学基金项目(31301425); 中国博士后科学基金面上项目(2014M562267); 第四批重庆市高等学校优秀人才支持计划作者简介: 王雪蒙(1991-), 女,硕士研究生,研究方向: 谷物科学与技术通讯作者: 张宇昊(1978-), 男,博士,副教授,主要从事蛋白和生物活性肽研究

豆制品,以其豉香诱人、风味独特、易于消化、具有特殊功效而深受消费者欢迎,在世界饮食文化中具有特殊的地位。永川豆豉作为毛霉型豆豉的典型代表,更是受到重庆地区乃至全国的赞誉。永川豆豉的生产工艺起源于家庭作坊,目前其生产主要采用传统自然发酵工艺,生产周期通常长达半年以上,极大的限制了永川豆豉产业的发展,究其根本原因在于其发酵过程中基础研究不够深入。对于永川豆豉的研究现在主要集中在优化豆豉发酵微生物[1]、降低产品含盐量<sup>2]</sup>、

缩短生产周期[3]、豆豉功能活性成分[4]等方面。

豆豉在发酵阶段颜色由黄绿色到暗黄色直至成 熟为黑褐色,因此豆豉颜色可以作为评价其成熟标志 的指标。研究发现,豆豉颜色的形成主要发生在成熟 期,并认为豆豉在成熟时急剧褐变的原因是豆豉产品 成熟期间大豆蛋白水解参与 Maillard 反应,为其提供 反应底物[5~8]。因此,蛋白的水解作用对于豆豉颜色品 质的形成具有重要影响。目前,对于永川豆豉发酵过 程中颜色形成与蛋白水解之间的关系尚缺乏深入研 究。本课题组前期研究了传统永川豆豉动态发酵过程 中蛋白水解物含量以及豆豉颜色变化规律,并在此基 础上分析了蛋白质水解与黑色素形成的关系,结果表 明,永川豆豉发酵过程中黑色素主要形成于后发酵阶 段,其中后发酵前 10 d 是黑色素快速形成阶段<sup>[6]</sup>。在 后发酵过程中,多肽含量与颜色形成相关性最高,其 次是游离氨基酸含量。这一结果与 Fan<sup>[9]</sup>等研究结果一 致,他们发现后发酵时期多肽含量显著下降,并可能 参与了类黑精的形成。但由于传统自然发酵的微生物 区系复杂,进一步深入研究豆豉蛋白水解物与黑色素 形成的关系存在很大难度。

本研究拟采用豆豉自然发酵过程中的四种主要 微生物分别进行纯种发酵,重点研究发酵过程中黑色 素快速上升阶段豆豉蛋白水解物与黑色素形成的关系,旨在进一步验证分析参与黑色素形成的主要蛋白 水解物,为建立与完善豆豉质量控制与评价体系、豆豉快速生产工艺提供理论基础,使未来豆豉走向系统 化、标准化、产业化。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

表 1 不同发酵阶段豆豉样品的编号

Table 1 IDs of douchi samples at different fermentation stages

			_
时间编号	对应样品	时间编号	对应样品
S1	蒸煮的黄豆	S6	后发酵 4 d
S2	前发酵 8 d	S7	后发酵 5 d
S3	后发酵 1 d	S8	后发酵 10 d
S4	后发酵 2 d	<b>S</b> 9	后发酵 20 d
S5	后发酵 3 d	S10	后发酵 100 d

纯种发酵豆豉的菌种分别是总状毛霉(Mucor racemosus PR9.00140)、雅致毛霉(Actinomucor elegans PR9.00018)、腐乳毛霉(Mucor sufu PR9.00148)和五通桥毛霉(Mucor wutungkiao PR9.00151),为豆豉自然发酵的四种主要毛霉。豆豉发酵过程中不同阶段的样品编号如表 1 所示。发酵豆豉所用大豆,购于重庆市北

碚区天生丽街永辉超市。

硫酸铜、酒石酸钠、碳酸钠、氢氧化钠、亮氨酸、茚三酮和三氟乙酸均为分析纯,购于成都市科龙化工试剂厂;牛血清蛋白为分析纯,上海生工试剂厂产品;福林酚试剂为生化试剂,美国 Sigma 公司产品;乙腈为色谱纯,成都市科龙化工试剂厂产品。

#### 1.2 仪器

ALPAAI-4LSC 真空冷冻干燥机,德国 Christ 公司;UltraScan PRO 测色仪,美国 HunterLab 公司;5810型高速离心机,德国 Eppendorf 公司;QL-901漩涡震荡仪,海门市其林贝尔仪器制造公司;JA50002、JA2003A电子分析天平,上海精天电子仪器有限公司;pHS-3C 酸度计,成都世纪方舟科技有限公司;H-22恒温水浴锅,金坛市富华仪器有限公司;LC-20A 高效液相色谱仪,日本岛津公司;SHZ-B水浴震荡摇床,上海将任实验设备有限公司。

#### 1.3 方法

#### 1.3.1 豆豉样品制作制备

用四种纯种毛霉进行发酵豆豉,所有样品经冷冻干燥打粉过筛(20目筛),密封存放于低温冰箱中。 豆豉生产工艺流程如下:

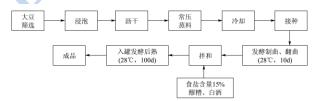


图 1 豆豉发酵工艺流程图

## Fig.1 Process flow diagram of douchi fermentation

#### 1.3.2 颜色测定

将粉末状豆豉样品置于标准比色皿中,采用L\*a\*b\*颜色系统记录数值。以煮过的黄豆S1为空白,所以其dE\*值空缺。在L\*a\*b\*系统中,L\*表示亮度,颜色要素 a\*表示由绿色(-a)到红色(+a),颜色要素b\*表示由蓝色(-b)到黄色(+b),dE\*表示样品总颜色差异。色差计用标准白色平板校准(L\*=96.82,a\*=0.65,b\*=2.32)。综合考虑,可用dE\*的变化趋势来反映发酵过程中豆豉的颜色变化。颜色计算公式:

$$dE_{ab}^{*2} = (L^* - L_t^*)^2 + (a^* - a_t^*)^2 + (b^* - b_t^*)^2$$

其中  $L^*_t$  、 $a^*_t$ 、 $b^*_t$ 代表蒸煮大豆的颜色值, $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 代表其他阶段样品的颜色值 $^{[10]}$ 。

## 1.3.3 可溶性蛋白的测定

采用福林酚法[11]测定。

## 1.3.4 游离氨基酸的测定 采用茚三酮比色法<sup>[12]</sup>测定。

#### 1.3.5 多肽的测定

准确吸取处理后的可溶性蛋白的样液 1.0 mL,加入 9.0 mL 质量分数为 10%的三氯乙酸(TCA)溶液,在室温下静置 2 h,然后离心 30 min(8000 r/min),保留上清液备用。取上清液 1.0 mL,然后按可溶性蛋白测定方法<sup>[11]</sup>进行测定。

#### 1.3.6 大分子可溶性蛋白的测定

大分子可溶性蛋白(g/100 g)=可溶性蛋白(g/100 g)-多肽(g/100 g)-游离氨基酸(g/100 g)

#### 1.3.7 豆豉的多肽组分分析

准确称量 0.500 g 纯种发酵豆豉粉末,加入 10 mL水,在漩涡振荡器上振荡 10 s 后,超声提取 10 min,移入水浴振荡摇床振荡 2 h。然后离心 10 min(5000 r/min),取上清液,上清液与乙腈按 60:40 的比例混合,然后用 0.22  $\mu$ m 有机滤膜过滤,保存在 10mL 进样瓶中备用。采用 HPLC 分析,条件为色谱柱:TSK gel2000 SWXL(300 mm×7.8 mm);流动相:乙腈:水:三氟乙酸(45:55:0.1, V/V);检测波长:UV 220 nm;流速:0.6 mL/min;柱温:30 °C;进样量 10  $\mu$ L。

根据 HPLC 图计算出各相对分子质量段多肽的组分相对含量,以各组分相对含量 area%为纵坐标(y),以后发酵天数(S3-S8)为横坐标(x)做图,分析各组分变化趋势。

### 1.3.8 豆豉蛋白水解成分与黑色素相关性分析

利用 SPSS 17.0 数据统计软件分别对发酵过程中豆豉颜色和几种蛋白质水解物含量进行相关性分析。利用 Pearson 相关系数对各指标与颜色间的相关性进行评价,并利用双尾检验法评价其显著水平。其中Pearson 相关系数的计算是为了总体估计蛋白质水解物的含量和豆豉的颜色变化值之间的相关性。变量之间的相关性强度是用 Cohen 所提出的效应值<sup>[13]</sup>来估计的。相关性大小分为三个层次:低度相关(0.1~0.3),中度相关(0.3~0.5),和高度相关(>0.5)。

#### 表 2 豆豉多肽相对分子质量段的划分编号

 $Table\ 2\ IDs\ of\ the\ polypeptides\ with\ different\ relative\ molecular$ 

mass ranges in douchi			
编号	相对分子质量/u		
组分1	3000~1000		
组分 2	1000~500		
组分3	500~200		

此外,为了便于寻找与颜色相关的多肽相对分子 质量,对发酵过程中豆豉颜色和不同相对分子质量段 多肽相对含量进行相关性分析,多肽分子划分如表 2 所示,方法同上。

#### 1.3.9 数据分析

数据分析处理采用 Microsoft excel 2010 和 SPSS 17.0 软件。每次试验设置三个平行实验,数据以平均值±标准偏差表示。

#### 2 结果与讨论

#### 2.1 纯种发酵过程中颜色的变化趋势

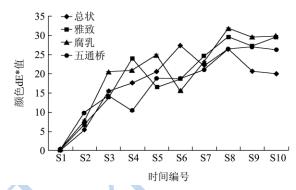


图 2 不同菌种发酵过程中豆豉颜色变化

Fig.2 Changes in color of douchi during fermentation with different strains

由图 2 可见,在不同菌种纯种发酵过程中,后发酵前 10 d(S2-S8)豆豉颜色均处于快速上升趋势,四种纯种毛霉发酵豆豉颜色均处于快速上升趋势,四种纯种毛霉发酵豆豉颜色 dE\*值分别达到26.40±0.01(总状毛霉)、29.59±0.15(雅致毛霉)、31.83±0.11(腐乳毛霉)、26.53±0.08(五通桥毛霉)。在其后的发酵过程中(S9,S10),豆豉的颜色基本不再加深,说明豆豉的色泽品质主要在后发酵前期形成,这一结果与传统发酵过程中豆豉颜色变化规律一致[14]。这是由于豆豉发酵初期是毛霉大量繁殖的时期,此时的毛霉代谢旺盛,产生的蛋白酶活性较高,催化蛋白质降解,产生了大量的水解产物,为美拉德反应生成呈色物质提供了充分的底物,促使黑色素大量生成。

#### 2.2 纯种发酵过程中可溶性蛋白含量的变化

#### 趋势

不同菌种发酵过程中,豆豉的可溶性蛋白含量变化如图 3 所示。发酵前期到后发酵 3 d,可溶性蛋白一直处于上升趋势,后酵 3 d 含量达到高值,四种纯种毛霉发酵豆豉可溶性蛋白含量分别为 13.23±0.20(总状毛霉)、12.54±0.36(雅致毛霉)、12.31±0.32(腐乳毛霉)、11.23±0.31(五通桥毛霉)g/100g;后发酵 3 d到 10 d,可溶性蛋白含量没有显著差异(P<0.05),处

于相对稳定状态;后发酵10d到100d,可溶性蛋白含 量均显著下降(P<0.05),四种纯种毛霉发酵豆豉可溶 性蛋白含量的范围在 7.49~8.43 g/100 g 之间。这一趋 势与传统豆豉发酵过程中可溶性蛋白变化趋势类似 [15],这可能是因为进入后发酵期后,毛霉产生大量蛋 白酶, 使不可溶性蛋白大量水解, 转化为可溶性蛋 白,导致可溶性蛋白在前发酵到后发酵 3 d 含量上 升,之后随着蛋白酶活性逐渐减弱,可溶性蛋白生成 量开始降低,同时大量可溶性蛋白参与美拉德反应或 被微生物消耗,导致可溶性蛋白消耗和产生处于平衡 状态,表现为后发酵 3~10 d 内可溶性蛋白含量保持稳 定;后酵10 d后,随着蛋白酶活力进一步减弱,可溶 性蛋白消耗大于生成, 使其含量呈现下降趋势。为了 进一步分析豆豉颜色与蛋白水解物的关系,将可溶性 蛋白分为游离氨基酸、多肽和大分子可溶性蛋白三部 分进行研究。

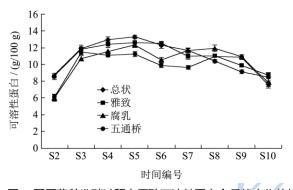


图 3 不同菌种发酵过程中豆豉可溶性蛋白含量的变化趋势

Fig.3 Changes in soluble protein content of douchi during the fermentation with different strains

#### 2.3 纯种发酵过程中游离氨基酸含量的变化

#### 趋势

不同菌种发酵过程中,豆豉的游离氨基酸含量的变化见图 4,随着后发酵时间的延长四种豆豉中游离氨基酸都有不同程度的增加,至后发酵 10 d,四种纯种毛霉发酵豆豉游离氨基酸含量分别达到 3.46±0.08(总状毛霉)、3.20±0.12(雅致毛霉)、3.50±0.10(腐乳毛霉)、3.06±0.10(五通桥毛霉)g/100g,后发酵10 d 后,游离氨基酸含量开始呈现上升趋势放缓或下降趋势,后发酵 20 d 后,全部呈现下降趋势,至后酵100 d,四种纯种毛霉发酵豆豉游离氨基酸含量较后发酵10 d 均有所下降,幅度范围为 0.61~1.18 g/100 g。这与细菌型豆豉<sup>[8]</sup>和曲霉型豆豉<sup>[16]</sup>游离氨基酸变化趋势一致,但同传统毛霉型豆豉变化趋势不同,传统毛霉型豆豉后发酵过程中,游离氨基酸始终呈现上升趋

势<sup>[17]</sup>,这可能是因为传统毛霉型豆豉发酵过程中,微生物区系较曲霉型和细菌型豆豉丰富,致使后期厌氧菌活性迅速升高,产生大量蛋白酶,继续维持游离氨基酸含量的上升。本实验采用人工接种,纯种发酵毛霉型豆豉,微生物区系较为单一,缺乏厌氧菌,因此导致后期游离氨基酸消耗大于生产,含量下降。

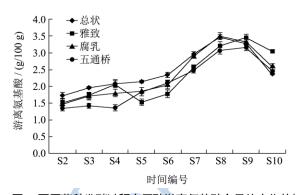


图 4 不同菌种发酵过程中豆豉游离氨基酸含量的变化趋势 Fig.4 Changes in free amino acid content of douchi during the fermentation with different strains

#### 2.4 纯种发酵过程中多肽含量的变化趋势

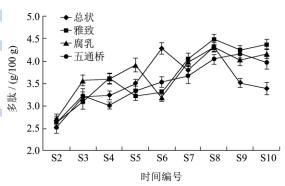


图 5 不同菌种发酵过程中豆豉多肽含量的变化趋势 Fig.5 Changes in polypeptides content of douchi during the fermentation with different strains

不同菌种发酵过程中,豆豉多肽的含量变化见图 5,从前酵 8 d 到后发酵 10 d 多肽含量总体呈上升趋势,四种 纯种 毛霉 发酵 豆豉 多肽含量分别上升到 4.32±0.10 (总状毛霉)、4.48±0.11 (雅致毛霉)、4.32±0.12(腐乳毛霉)、4.04±0.12(五通桥毛霉)g/100 g。后酵 10 d 到后酵 100 d 期间除总状毛霉外,其他菌种发酵豆豉多肽含量无显著差异(P>0.05),与传统毛霉型豆豉多肽变化趋势相似[17]。这可能是因为在前酵 8 d 到后发酵 10 d 期间,蛋白质在较高活性中碱性蛋白酶的作用下,产生大量多肽。但随着后酵时间的延长,氧气消耗致使毛霉活性降低,同时有机酸慢慢积累,体系里 pH 值逐渐降低,使得蛋白酶活力大大降低[18],致使多肽的产生和消耗基本达到平衡。

# 2.5 纯种发酵过程中大分子可溶性蛋白含量的变化趋势

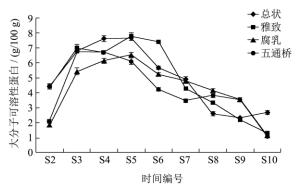


图 6 不同菌种发酵过程中豆豉大分子可溶性蛋白含量的变化 趋势

#### Fig.6 Changes in macromolecular soluble protein content of douchi during the fermentation with different strains

不同菌种发酵过程中,豆豉的大分子可溶性蛋白含量的变化见图 6。大分子可溶性蛋白含量在后发酵前期上升,在后发酵前3 d 内,其含量最高值分别为7.61±0.14(总状毛霉)、7.79±0.21(雅致毛霉)、6.55±0.10(腐乳毛霉)、6.09±0.22(五通桥毛霉)g/100g。后发酵3d后均呈现下降趋势,到后酵100d,四种纯种毛霉发酵豆豉大分子可溶性蛋白含量明显下降,与胡鹏<sup>[19]</sup>等研究一致,其研究表明前发酵及后发酵前期大分子可溶性蛋白含量明显增多,后发酵一段时间后,随着蛋白酶催化蛋白质水解为多肽和氨基酸等较低分子物质,大部分大分子可溶性蛋白被降解为多肽和氨基酸,所以含量出现了下降趋势。

#### 2.6 豆豉蛋白水解物与黑色素关系拟合

#### 表 3 豆豉蛋白质水解物与豆豉颜色的相关性

Table 3 Correlation between protein hydrolysates and color of

douchi					
Pearson	P				
0.245	-				
-0.307	-				
0.969**	0.01				
0.800**	0.01				
	Pearson 0.245 -0.307 0.969**				

注: -, 不具相关性; \*\*, 相关系数在 0.01 水平显著。

相关性分析表明,多肽与颜色的皮尔逊相关系数为 0.969,双尾检验显著性值为 0.000,因而多肽与颜色高度相关,在 0.01 水平上具有极显著相关性。游离氨基酸与颜色的皮尔逊相关系数为 0.800,双尾检验显著性值为 0.000,说明豆豉游离氨基酸与颜色高度相

关,在0.01水平上具有极显著相关性。

综上所述,四种纯种发酵豆豉的蛋白质水解物中,可溶性蛋白与豆豉颜色变化低度相关,组成可溶性蛋白的游离氨基酸、多肽与大分子可溶性蛋白与颜色的相关性依次为多肽>游离氨基酸>大分子可溶性蛋白。其中多肽和游离氨基酸与颜色高度相关,而大分子可溶性蛋白与颜色无相关性。可溶性蛋白包含多肽和游离氨基酸,且可溶性蛋白与颜色的相关性不如多肽和游离氨基酸,说明并非所有的可溶性氮都与豆豉颜色形成有关。可以确定参与豆豉颜色黑色素形成的主要是多肽,其次是游离氨基酸,进一步证明了以前的研究结果[14]。

## 2.7 多肽的相对分子质量与黑色素形成关系

以上通过对豆豉蛋白水解成分与黑色素形成关系拟合研究得出,参与豆豉颜色黑色素形成的主要是多肽,根据豆豉发酵过程中各相对分子质量段多肽的组分相对含量,分析其变化趋势,从而确定参与黑色素形成的主要多肽的相对分子质量段。四种纯种毛霉发酵豆豉多肽相对分子质量分布变化如图7所示。在各纯种毛霉发酵豆豉颜色快速变化阶段,组分1和组分3均保持上升趋势,如雅致毛霉发酵豆豉后发酵1d到10d,其组分1与组分3相对含量分别增加了2.36%、2.56%,与豆豉颜色变化趋势[14]类似,另外,除五通桥毛霉发酵豆豉外,其余三种纯种毛霉发酵豆豉的组分2在该过程中保持下降趋势,其中雅致毛霉纯种发酵豆豉的组分2相对含量在后发酵1d到10d下降了12.40%,可能是因为更多的被降解或被毛霉利用。

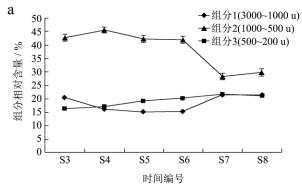
表 4 豆豉颜色与各相对分子质量段肽相关性
Table 4 Correlation between color of douchi and polypeptides

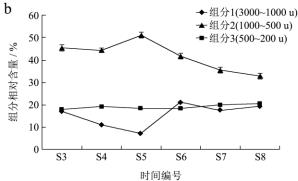
with different relative molecular mass ranges

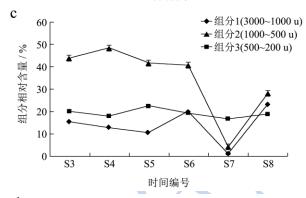
组分	Pearson	P
组分1	0.403*	0.049
组分2	0.142	0.508
组分3	0.577**	0.003

然后对各个相对分子质量段多肽组分与颜色 dE\* 值进行显著性分析和回归方程拟合,确定与颜色形成最相关的多肽相对分子质量,如表 4 所示。组分 3 与颜色的皮尔逊相关系数为 0.577,双尾检验的显著性值为 0.003 (P<0.01),因而组分 3 与颜色高度相关。组分 1 与颜色的相关系数为 0.403,双尾检验的显著性值为 0.049 (P<0.05),所以组分 1 与颜色中度相关。组分 2 与颜色间的相关系数为 0.142,双尾检验的显著性值为 0.508 (P>0.05),故组分 2 与颜色无相关性。所

以进一步证明,组分3(500~200 u)最有可能参与豆豉黑色素的形成,其次是组分1(3000~1000 u)。







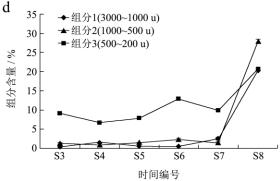


图 7 不同菌种发酵豆豉后发酵过程中多肽相对分子质量分布 变化

 $Fig. 7\ Changes\ in\ relative\ molecular\ mass\ distribution\ of$  polypeptides in douchi the post fermentation with different strains

注: a: 总状毛霉豆豉, b: 毛霉豆豉, c: 腐乳毛霉豆豉, d: 五通桥毛霉豆豉。

#### 3 结论

- 3.1 豆豉发酵过程中蛋白水解成分与黑色素的相关性分析显示,多肽和游离氨基酸的含量变化与豆豉颜色变化高度相关,其中多肽与颜色的Pearson 相关系数最高,达到 0.969,证明豆豉发酵过程中多肽更多的参与了黑色素的形成。
- 3.2 从黑色素快速形成阶段各相对分子质量段多肽含量变化与豆豉颜色变化相关性分析表明,相对分子质量为500~200 u 的组分与颜色变化高度相关,证明该相对分子质量段的多肽更多的参与了豆豉黑色素的形成。

#### 参考文献

- [1] 卢露,郑晓莹.豆豉发酵中微生物及其功能研究进展[J]粮食与食品工业,2011,18(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, 18(1): 42-45
- [2] 李艳.低盐豆制品发酵过程中生理活性成分的变化[D].无锡: 江南大学,硕士学位论文,2008
  - LI Yan. The change of the biological activity ingredient during the fermentation of low-NaCl soy food [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008
- [3] 杜木英,毛霉型豆豉生物速成发酵技术的研究[D].重庆:西南农业大学,2001
  - DU Mu-ying. Research on microorganism quickly-fermented technology of mucor-type douchi [D]. Chongqing: Southwest Agricultural University, 2001
- [4] 尹召军,陈卫平,张凤英.细菌型豆豉生理活性物质的研究进展[J].中国粮油学报,2011,26(3):119-123
  - YIN Zhao-jun, CHEN Wei-ping, ZHANG Feng-ying. Advance of research on functional components of bacteria-fermented douchi [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2011, 26(3): 119-123
- [5] 汪立君,邹磊,李里特,等.豆豉发酵过程中温度、硬度和颜色的变化[J].食品与发酵工业,2005,31(12):42-45
  - WANG Li-jun, ZOU Lei, LI Li-te, et al. Changes on douchi appearance, temperature, hardness and color tone during fermentation [J]. Food and Fermentation Industries, 2005, 31(12):42-45
- [6] 韩佳冬.永川豆豉蛋白水解产物与黑色素形成机理的研究 [D].重庆:西南大学,2013
  - HAN Jia-dong. The research on protein hydrolysate of

- Yongchuan douchi and melanin formation [D]. Chongqing: Southwest University, 2013
- [7] 赵国华,房翠兰.豆豉成熟过程中基本成分及蛋白质体外消 化率变化的研究[J].食品科学,2009,30(1):59-62
  - ZHAO Guo-hua, FANG Cui-lan. Changes of proximate composition and in vitro digestibility of protein association with ripening process of douchi [J]. Food Chemistry, 2009, 30(1): 59-62
- [8] 林榕姗,细菌型豆豉发酵机理及功能性研究[D].青岛:山东 农业大学.2011
  - LIN Rong-shan. Studies on the fermentation mechanism and healthy functions of bacteria-fermented douchi [D]. Qingdao: Shandong Agricultural University, 2011
- [9] FAN Jun-feng, ZHANG Yan-yan, CHANG Xiao-jie. Changes in the radical scavenging activity of bacterial-type douchi, a traditional fermented soybean product, during the primary fermentation process [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2009, 73(12): 2749-2753
- [10] WANG Hui, LI Yong-yu, CHENG Yong-qiang, 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: 297-301
- [11] GB/5009.5-2003.食品中蛋白质的测定[S] GB/5009.5-2003. Determination of protein in foods [S]
- [12] GB/5009.39-2003.酱油卫生标准的分析方法[S] GB/5009.39-2003. Method for analysis of hygienic standard of soybean sauce [S]
- [13] Jacob Cohen. The cost of dichotomization [J]. Applied Psychological Measurement, 1983, 7(3): 249-253
- [14] 张雨浩,马良,周梦柔,等.永川豆豉发酵过程中蛋白水解作用与黑色素形成关系[J].食品科学,2013,34(19):195-199

- ZHANG Yu-hao, MA Liang, ZHOU Meng-rou, et al. Relations of protein proteolysis with the formation of melanin in the fermention process of yongchuan douchi [J]. Food Chemistry, 2013, 34(19): 195-199
- [15] 房翠兰,豆豉加工过程中蛋白质和膳食纤维生物学变化的研究[D].重庆:西南大学,2007
  - FANG Cui-lan. Studies on changes of soybean protein and dietary fiber during the production of douchi [D]. Chongqing: Southwest University, 2007
- [16] 程丽娟,赵树欣,曹井国,等、对中国传统发酵豆制品中各种含 氮组分的分析[J].中国酿造,2005,7:47-49
  - CHENG Li-juan, ZHAO Shu-xin, CAO Jing-guo, et al. Analysis on the nitrogen components in chinese traditional fermented soy bean product [J]. China Brewing, 2005, 7: 47-49
- [17] 张建华,李里特.曲霉型豆豉发酵过程中的成分变化[J].中国调味品,2004,3(3):12-16

  ZHANG Jian-hua, LI Li-te. The component change during aspergillus-type-douchi preparation [J]. China Condiment,

2004, 3(3): 12-16

- [18] 索化夷,卢露,吴佳敏,等.永川豆豉在传统发酵过程中基本成分及蛋白酶活性变化[J].食品科学,2011,32(1):177-180 SUO Hua-yi, LU Lu, Wu Jia-min, et al. Changes in basal components and protease activity at different stages of traditional processing of yongchuan douchi [J]. Food Chemistry, 2011, 32(01): 177-180
- [19] 胡鹏,胡国洲,陈光静,等.永川豆豉制曲过程中基本成分及生物胺含量变化[J].食品与发酵工业,2013,39(3):163-166 HU Peng, HU Guo-zhou,CHEN Guang-jing, et al. Changes of basal components and biogenic amines in the preparation of Yongchuan douchi koji [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(3): 163-166