

菌藻混合发酵对豆渣中 B 族维生素含量和风味成分的影响

王静, 刘宇, 马银花, 卢存龙, 董德武, 刘爱民

(安徽师范大学生命科学学院, 生物环境与生态安全安徽省高校省级重点实验室, 重要生物资源保护与利用研究安徽省重点实验室, 安徽芜湖 241000)

摘要: 黄豆豆渣的营养价值较高, 往往被直接丢弃, 小球藻富含单细胞蛋白, 具有很大的开发和利用价值, 将酵母菌和小球藻混合发酵豆渣是很好的资源利用方式。本试验以新鲜豆渣为原料, 接入酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)、葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*) (按 1:1:1) 和小球藻, 在 25 °C 进行厌氧半固态发酵 5 d。采用高效液相色谱(HPLC)测定豆渣发酵前后维生素 B₂ (VB₂) 和维生素 B₁₂ (VB₁₂) 含量, 采用液液萃取法结合气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术对豆渣发酵前后风味成分进行分析。结果表明, 豆渣经发酵后, VB₂ 和 VB₁₂ 含量分别增长约 0.5 倍和 5.9 倍; 经 GC-MS 分析, 共鉴定出 47 种风味物质, 醇类 (8.26%)、酯类 (4.84%)、醛类 (19.24%) 和酮类 (3.01%) 相对含量较高, 是豆渣发酵产物的特征性风味成分。

关键词: 豆渣; 混合发酵; 维生素; 风味成分

文章编号: 1673-9078(2018)01-75-82

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.1.013

Effects of Mixed Fermentation by Yeast and *Chlorella vulgaris* on B-Vitamin Content and Flavor Ingredients in Soybean Residue

WANG Jing, LIU Yu, MA Yin-hua, LU Cun-long, DONG De-wu, LIU Ai-min

(College of Life Sciences, Anhui Normal University; Provincial Key Laboratories of Biotic Environment and Ecological Safety; Provincial Key Laboratory of Conservation and Utilization for Important Biological Resource in Anhui, Wuhu 241000, China)

Abstract: Soybean residue had high nutritional value and was often discarded directly. *Chlorella vulgaris* was rich in single cell protein, which had a great value of development and utilization. Mixed fermented soybean residue, prepared with yeast and chlorella, was a good way of resource utilization. In this experiment, fresh soybean residue was used as the raw materials, which was inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula glutinis*, *Hanseniaspora uvarum* (1:1:1) and *Chlorella vulgaris* for anaerobic semi-solid fermentation 5 days at 25 °C. The content of vitamin B₂ (VB₂) and B₁₂ (VB₁₂) in soybean residue before and after fermentation was determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and the flavor components before and after fermentation were analyzed by liquid-liquid extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the content of VB₂ and VB₁₂ in soybean residue increased by about 0.5 times and 5.9 times, respectively after fermentation. In addition, 47 flavor components were identified by GC-MS, and the content of alcohols (8.26%), esters (4.84%), aldehydes (19.24%) and ketones (3.01%) were in relatively high levels, which were the characteristic flavor components of fermented soybean residue.

Key words: soybean residue; mixed fermentation; vitamin; flavor components

黄豆豆渣是大豆制品加工过程中的副产物, 富含

收稿日期: 2017-06-28

基金项目: 安徽省自然科学基金项目 (1408085MC53); 安徽高校科研平台创新团队和安徽师范大学分子生物学及生物技术研究所资助; 国家级大学生校外实践教育基地大学生创新训练计划项目资助

作者简介: 王静 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物与生物技术
通讯作者: 刘爱民 (1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 微生物发酵与生物技术

粗蛋白、粗脂肪、淀粉、膳食纤维、氨基酸和 B 族维生素等营养成分^[1]。我国每年约产 2000 万吨湿豆渣, 但由于其含水量大, 不易贮存, 且口感粗糙, 通常只用作饲料或废弃, 造成了资源浪费^[2]。随着人们对新型资源的研究与开发, 提高了豆渣的可利用性和功能性^[3], 如发酵豆渣制成功能性饲料^[4]、饼干^[5]、面包^[6]和饮料^[7]等产品。小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 是一种单细胞淡水藻类, 因含有单细胞蛋白、维生素、核酸和

矿物质等营养成分而成为动物性饲料和保健品的重要原料^[8], 所以, 将小球藻和酵母菌混发酵豆渣是一种较好的资源利用方式。维生素B₂ 又称核黄素, 以辅酶形式参与脑的能量和物质代谢, 若摄入不足可能会出现“地图舌”等口腔疾病^[9]; 维生素B₁₂ 又称钴胺素, 作为红血球生成必需的重要元素, 一般消化道疾病者容易缺乏, 可导致恶性贫血病^[10]。风味是衡量发酵产品品质的重要指标之一, 在豆渣的微生物发酵过程中, 一般会产生丰富的风味物质^[11]。目前, 国内学者对有益菌种发酵豆渣产物中B族维生素和风味成分有所研究, 如曹蕾^[12]对少孢根霉发酵腐乳的研究中发现, 经微生物发酵后的维生素B₂ 和B₁₂ 含量有所增多, 宋昊等^[13]检测出黄豆豆渣的阿舒假囊酵母固态发酵产物中关键风味成分为醇类、萜类和酸类化合物; 姚英政^[14]研究出豆渣经毛霉发酵后风味成分发生变化, 醇类和醛酮类是其主要风味成分, 但目前菌藻混合发酵对豆渣中B族维生素和风味成分影响的研究还属空白。

在分析维生素和风味成分的方法中, 高效液相色谱法(HPLC)因处理样品方便快捷, 且能同时测定多种维生素而被广泛应用^[15], 气相色谱-质谱联用(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)是最常用的风味成分鉴定方法, 利用GC进行风味物质的预分离, MS对气相色谱流出的物质通过质谱库检索进行分子量和分子结构鉴定, 从而对色谱柱分离出的化合物进行定性分析^[16]。

本研究采用新鲜黄豆豆渣为原料, 利用酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粘红酵母(*Rhodotorula glutinis* 31229)、葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)和小球藻进行厌氧半固态发酵。采用高效液相色谱法测定豆渣发酵前后VB含量的变化, 样品经液液萃取法结合GC-MS联用技术, 通过质谱库检索对样品中挥发性风味物质进行定性, 分析发酵前后风味物质成分及含量变化, 以期对菌藻混合发酵豆渣的工艺改进提供理论参考, 同时为豆渣发酵产品品质的评价奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验原料

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粘红酵母(*Rhodotorula glutinis* 31229)和葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum* B404); 本实验室提供。

将保存菌种从斜面转接到PDA液体培养基, 于

25℃、180 r/min 条件下培养48 h。

蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*): 采用HB-4培养基进行扩大培养, 培养条件为温度25℃、光照度 2.4×10^3 hl进行扩培, 光照周期12 h/12 h, 每天摇动6次。

黄豆豆渣: 学校豆浆销售处提供, 新鲜豆渣(含水量约85%), 储存于-4℃备用。

1.1.2 主要试剂

标准品维生素B₂和维生素B₁₂, 纯度≥98%。

乙腈、甲醇、二氯甲烷, 均为色谱纯, 阿拉丁试剂(上海)有限公司。氮气, 气相级。冰乙酸、庚烷磺酸钠、三乙胺、3-壬酮、无水硫酸钠, 均为分析纯。

1.1.3 主要仪器

水浴氮吹仪, 无锡沃信仪器有限公司; 高效液相色谱仪和2010 PLUS气相色谱-质谱联用仪, 岛津分析技术研发(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌藻混合发酵豆渣工艺

新鲜豆渣→纱布挤压→称重装瓶(30 g)→高压灭菌→接入三种酵母菌(各4 mL, 浓度均约为 5.0×10^6 个/mL)和小球藻(21 mL, 浓度约为 5.0×10^6 个/mL)→厌氧半固态发酵(25℃, 5 d)→取样测其VB₂、VB₁₂及挥发性风味成分。

1.2.2 维生素B₂和维生素B₁₂测定

1.2.2.1 萃取液配制

150 mL乙腈+15 mL冰乙酸, 混合后加超纯水定容至1000 L。

1.2.2.2 标准工作溶液制备

分别准确称取维生素B₂和维生素B₁₂标准品各10 mg, 放于25 mL棕色容量瓶中, 用萃取液溶解并定容, 经0.22 μm微孔滤膜过滤于4℃冰箱避光贮存。取维生素B₂和维生素B₁₂标准储备溶液, 梯度稀释, 取20 μL进行HPLC测定, 以峰面积(Y)和浓度(X)进行回归计算。

1.2.2.3 样品溶液制备

分别准确称取新鲜豆渣和发酵豆渣约4.0 g(精确至0.0001 g), 放于100 mL棕色容量瓶中, 加入约80 mL萃取液在45~60℃超声水浴中振荡萃取1 h, 取出冷却至室温, 用萃取液定容, 混合均匀后离心分离(8000 r/min, 10 min), 取上清液用旋转蒸发仪蒸干, 4 mL萃取液溶解, 经0.22 μm微孔滤膜过滤后为样品液, HPLC上机测定, 外标法计算含量^[17]。

1.2.2.4 色谱条件

Diamonsil C18色谱柱(柱长250 mm×柱子口径4.6 mm, 分析柱粒径5 μm); 流动相为0.005 mol/L庚烷

磺酸钠溶液^[18](含 0.5%冰乙酸和 0.005%三乙胺)-甲醇 (V/V, 72:28) 等度洗脱; 柱温 35 °C, 流速为 0.8 mL/min。

维生素 B₂ 检测波长 265 nm; 维生素 B₁₂ 检测波长 361 nm, 进样体积为 20 μL。

1.2.3 风味成分分析

1.2.3.1 样品萃取

萃取过程中所用实验器材均用色谱级甲醇 45 °C 浸泡过夜, 再用超纯水清洗烘干。

3-任酮内标配制: 称取 3-任酮样品 0.100 g 溶于 100 mL 的二氯甲烷中, 配成 1 mg/mL 的溶液。

分别准确称取新鲜豆渣和发酵豆渣各 10 g (精确至 0.0001 g), 置于 100 mL 锥形瓶中, 加入内标 3-任酮 40 μL, 再加入二氯甲烷 20 mL 后密封, 在摇床 (35 °C, 200 r/min) 保持 20 min, 之后于 4.5 °C 冰箱内静置 15 min, 再转移至 50 mL 离心管中 (5000 r/min, 10 min) 离心, 取下层液体。三次萃取, 合并有机相, 加入 5 g 无水硫酸钠, 置于 4.5 °C 冰箱保存 24 h, 再氮吹至 1 mL, 取液体于色谱瓶中, 供 GC-MS 分析^[19]。

1.2.3.2 GC-MS 分析条件

岛津 GC/MS2010 PLUS 测定, 分析柱子 RTX-5 (柱长 30.0 m×内径 0.25 mm×膜厚 0.25 μm)。

GC 条件: 以氦气为载体, 柱内流量为 1 mL/min, 进样口温度为 250 °C, 分流比为 20:1; 升温程序: 起始温度为 30 °C, 保持 1 min; 以 1 °C/min 升温至 35 °C, 保持 3 min; 以 2 °C/min 升温至 54.5 °C, 以 4 °C/min 升温至 60 °C, 以 5 °C/min 升温至 88 °C; 以 6 °C/min 升到 130 °C, 保留 2 min; 以 5 °C/min 升温至 230 °C, 保持 2 min; 再以 3 °C/min 升温至 250 °C, 保留 5 min。

MS 条件: 离子原温度 250 °C, 采用 scan 扫描方式: 0~1.9 min 和 2.1~51 min。

1.2.4 数据统计分析

测定数据的方差分析、数据差异性分析、相关性分析利用 SPASS 19.0 统计软件、origin 绘图软件和 Excel 软件进行。

2 结果与分析

2.1 菌藻混合发酵对豆渣中维生素 B₂ 和维生

素 B₁₂ 含量的影响

2.1.1 定性分析

通过标样和未发酵、已发酵样品中维生素 B₂ 和 B₁₂ 在色谱柱中的保留时间进行定性, 其色谱图见图 1 至图 3 所示。

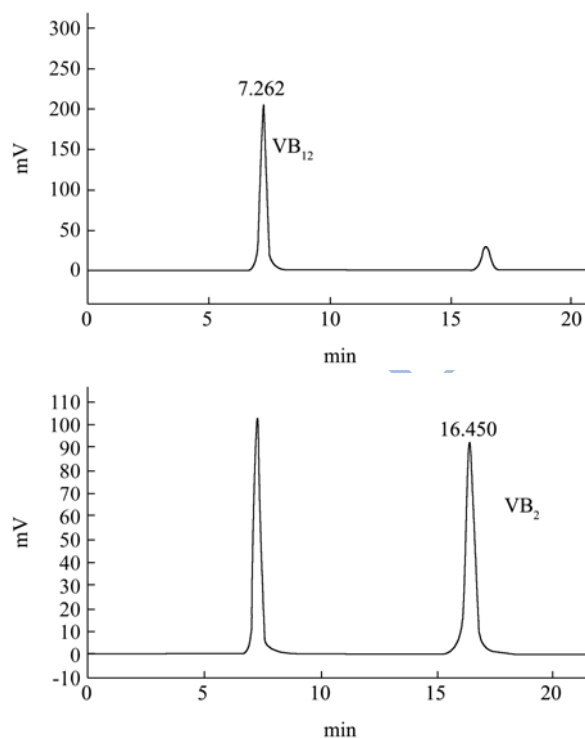


图 1 标准品 VB₂ 和 VB₁₂ 色谱图

Fig.1 Chromatogram of standard VB₂ and VB₁₂

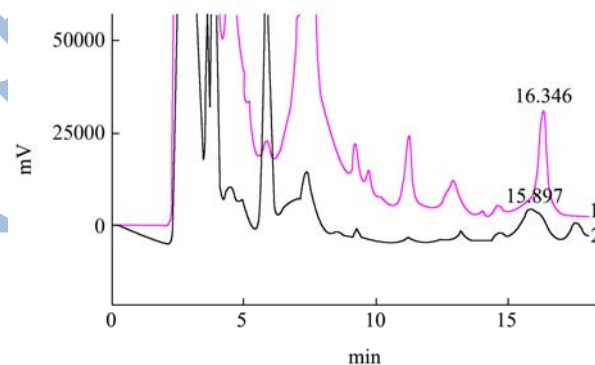


图 2 未发酵和已发酵豆渣中 VB₂ 色谱图

Fig.2 VB₂ chromatogram of unfermented and fermented soybean residue

注: 1-已发酵; 2-未发酵。

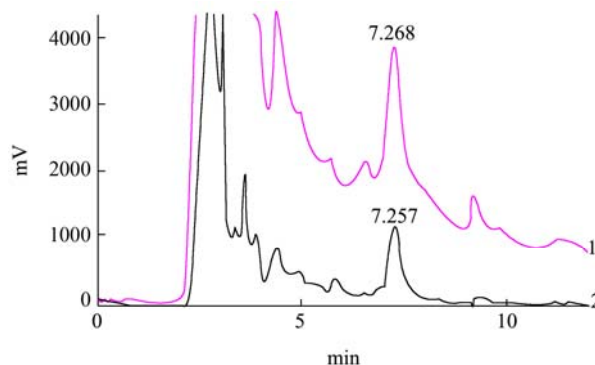


图 3 未发酵和已发酵豆渣中 VB₁₂ 色谱图

Fig.3 VB₁₂ chromatogram of unfermented and fermented soybean residue

注: 1-已发酵; 2-未发酵。

2.1.2 定量分析

VB₂ 和 VB₁₂ 回归方程和相关系数分别为:

$$VB_2 Y = 5 \times 10^7 X + 2369, r = 0.993;$$

$$VB_{12} Y = 1 \times 10^7 X + 4688, r = 0.994.$$

样品含量计算结果见表 1。

表 1 豆渣发酵前后的维生素 B₂ 和 B₁₂ 含量变化

Table 1 Content of VB₂ and VB₁₂ before and after fermentation

| 样品 | VB ₂ /(mg/100 g) | VB ₁₂ /(mg/100 g) |
|-----|-----------------------------|------------------------------|
| 发酵前 | 1.25 ± 0.56 | 0.29 ± 0.10 |
| 发酵后 | 1.90 ± 0.25 | 1.99 ± 0.15 |

由表 1 可知, 经微生物发酵后, 豆渣中的维生素 B₂ 和 B₁₂ 含量均有一定程度的增长, 分别由发酵前的 1.25 mg/100 g、0.29 mg/100 g, 增至 1.90 mg/100 g、1.99 mg/100 g, 各增长了约 0.5 倍和 5.9 倍。根据相关研究^[20], 很多微生物可合成维生素 B₂, 如工业生产常用的阿舒假囊酵母, 此外多种假丝酵母、细菌和霉菌也能少量形成维生素 B₂, 所以维生素 B₂ 含量增高的原因可能是酵母菌产生了维生素 B₂, 豆渣中含有的脂肪和碳水化合物可作为碳源, 酵母菌经厌氧发酵后产生维生素 B₂ 从而使其含量增高。维生素 B₁₂ 主要存在于动物性食品中, 植物中较缺乏, 所以发酵前豆渣中维生素 B₁₂ 含量较低。放线菌和细菌是合成维生素 B₁₂ 的主要微生物, 少量酵母和霉菌也具有合成维生素 B₁₂ 的能力^[21], 在发酵过程中, 酵母菌可能产生了维生素 B₁₂。此外, 由于小球藻中含有丰富的维生素 B₂ 和 B₁₂, 故此也可能是维生素 B₂ 和 B₁₂ 含量增高的原因。

2.2 菌藻混合发酵对豆渣中风味成分的影响

2.2.1 定性分析

对未发酵和已发酵豆渣样品进行 GC-MS 测定, 得到的风味成分总离子图见图 4 和图 5。未知化合物经计算机检索, 与质谱库对比, 选取高度相关的检测数据进行质谱定性。

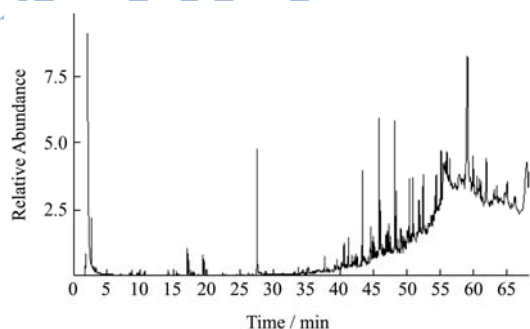


图 4 未发酵豆渣中风味成分的总离子色谱图

Fig.4 Total ion chromatogram of flavor components of unfermented soybean residue

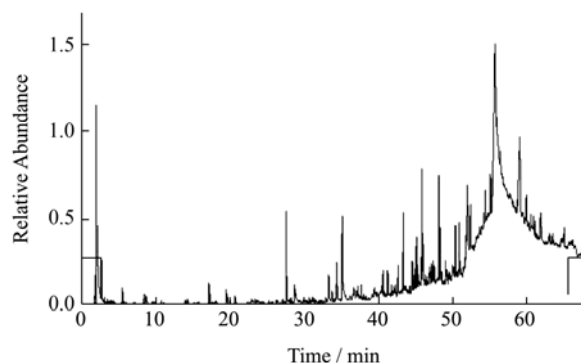


图 5 已发酵豆渣中风味成分的总离子色谱图

Fig.5 Total ion chromatogram of flavor components of fermented soybean residue

2.2.2 定量分析

3-壬酮是用来定量, 样品中添加 3-壬酮计算提取率和指引作用, 根据各风味成分在总离子图谱的峰面积与内标 3-壬酮的峰面积进行比较, 确定其绝对含量, 用峰面积归一化法计算其风味物质相对含量, 结果见表 2 和表 3。

由表 2 可知, 豆渣发酵前后的风味成分数量、组成和相对含量有所变化。在未发酵豆渣中主要风味成分共有 39 种, 其相对含量总计占总挥发性物质的 56.49%, 发酵豆渣中主要风味成分共有 47 种, 其相对含量总计占总挥发性物质的 45.14%。豆渣在发酵后, 醇类、醛类、酸类及含氮化合物的数量都各有所增加, 酯类和烃类的数量有所减少, 其中变化较大的是醇类和醛类, 发酵前各有 13 种和 2 种, 发酵后增至 18 种和 7 种。

发酵前豆渣中相对含量较高的风味成分主要是醇类、酯类、酸类及含氮化合物。而在发酵后豆渣中醇类、酯类、醛类和酮类的相对含量较高, 一般醇类具有芳香和植物香气, 酯类是脂肪氧化产生的醇和游离脂肪酸相互作用形成的, 主要呈水果香味, 醛类来源于脂肪氧化及氨基酸直接经 Strecker 降解, 酮类主要由氨基酸分解或者是美拉德反应产生^[22], 这几类物质可能对发酵豆渣风味的形成贡献较大。烷烃类物质对风味贡献较弱, 而烯和炔类对风味影响尚不明确^[23]。

由表 3 可知, 豆渣发酵后, 风味成分中有 3,3-二甲基-2-戊醇、14-甲基十五烷酸甲酯、癸二酸二异辛酯、反式-2,4-癸二烯醛、1-(1-甲基环己基)乙酮和亚硫酸己基辛酯等物质的含量明显增加, 其中, 反式-2,4-癸二烯醛具有桔子和新鲜甜橙香气, 亚硫酸己基辛酯是黄牡丹(荷花的一个品种)中特有的香味成分之一^[24]。发酵后产生新的风味成分主要有活性戊醇、苯乙醇、2-丁基辛醇、2-乙基己基草酸戊酯、E-14-十六碳烯醛、桃醛、(Z)-7-十六碳烯醛、异佛尔酮、2,2,4,6-四甲基-3,5-

庚二酮、3-庚烯酸、月桂酸等物质,其中苯乙醇、2-乙基己基草酸戊酯、E-14-十六碳烯醛、(Z)-7-十六碳烯醛、异佛尔酮的含量均大于0.01 μg/g。苯乙醇具有清甜的玫瑰样花香味;2-乙基己基草酸戊酯是铁观音中特有的风味物质之一,具有茶香味^[25];桃醛又称γ-十一内酯,并不是真正意义上的醛,而是属于内酯化

合物,具有强烈的桃子香气,可作为重要的香料;异佛尔酮又称1,1,3-三甲基环己烯酮,带有薄荷香或樟脑香味;月桂酸又称十二烷酸,属于饱和脂肪酸,微有月桂油香味。这些物质对发酵豆渣特殊风味的构成具有重要作用^[26],也有助于发酵产品风味的改善和适口性。

表2 豆渣发酵前后风味成分及其相对含量比较

Table 2 Comparison of flavor components and their relative content in soybean residue before and after fermentation

| 种类 | 发酵前 | | 发酵后 | |
|-------|-------|--------|-------|--------|
| | 化合物数量 | 相对含量/% | 化合物数量 | 相对含量/% |
| 醇类 | 13 | 30.85 | 18 | 8.26 |
| 酯类 | 8 | 3.14 | 6 | 4.84 |
| 醛类 | 2 | 0.46 | 7 | 19.24 |
| 酮类 | 3 | 0.54 | 3 | 3.01 |
| 酸类 | 3 | 4.59 | 4 | 2.41 |
| 酚类 | 1 | 0.86 | 1 | 0.93 |
| 烃类 | 6 | 2.33 | 4 | 2.34 |
| 含氮化合物 | 2 | 13.53 | 3 | 1.37 |
| 含硫化合物 | 1 | 0.19 | 1 | 2.74 |
| 总计 | 39 | 56.49 | 47 | 45.14 |

表3 豆渣发酵前后风味物质含量

Table 3 Content of flavor compounds in soybean residue before and after fermentation

| 物质名称 | 绝对含量/(μg/g) | | 相对含量/% | |
|----------------|-------------|------|--------|------|
| | 发酵前 | 发酵后 | 发酵前 | 发酵后 |
| 醇类 | | | | |
| 1-甲基环丙烷甲醇 | - | 0.00 | - | 0.01 |
| 2-乙基环丁醇 | - | 0.00 | - | 0.21 |
| 正戊醇 | - | 0.01 | - | 0.50 |
| 活性戊醇 | - | 0.00 | - | 0.34 |
| 1,4-丁烯二醇 | 0.17 | - | 0.12 | - |
| 1-十四炔-4-醇 | 0.00 | - | 0.16 | - |
| 1,2-环戊二醇 | 0.01 | 0.01 | 0.82 | 1.00 |
| (±)-菊醇 | 0.01 | 0.01 | 0.47 | 0.50 |
| 3,3-二甲基-2-戊醇 | 0.00 | 0.01 | 0.09 | 0.71 |
| 苯乙醇 | - | 0.01 | - | 1.16 |
| 2-丁基辛醇 | - | 0.01 | - | 0.43 |
| 4-乙基-1-辛炔-3-醇 | 0.13 | - | 0.09 | - |
| 2-乙基-1-十二醇 | 0.01 | 0.01 | 0.57 | 0.42 |
| 2-乙基己醇 | 0.00 | - | 0.11 | - |
| 2,7-二甲基-1-辛醇 | - | 0.01 | - | 0.62 |
| 2-乙基-2-甲基-十三烷醇 | 0.01 | 0.01 | 0.85 | 0.45 |
| 2-己基-1-辛醇 | - | 0.00 | - | 0.29 |
| 植物醇 | 0.01 | 0.01 | 0.88 | 0.41 |
| 环十二烷甲醇 | - | 0.00 | - | 0.38 |

转下页

| 接上页 | | | | |
|-------------------------------|------|------|-------|-------|
| 1-十六烷醇 | 0.01 | 0.00 | 0.70 | 0.16 |
| 法呢醇 | 0.04 | 0.00 | 25.25 | 0.22 |
| 2-己基-1-癸醇 | 0.01 | 0.01 | 0.73 | 0.45 |
| 酯类 | | | | |
| 碳酸二异戊酯 | 0.01 | - | 0.59 | - |
| 新戊酸异己酯 | 0.01 | - | 0.38 | - |
| 甲氧基乙酸-2-十五烷基酯 | 0.01 | - | 0.42 | - |
| 二十二烷酸二十二烷基酯 | - | 0.00 | - | 0.17 |
| 14-甲基十五烷酸甲酯 | 0.05 | 0.02 | 0.31 | 1.90 |
| 棕榈酸异丙酯 | 0.01 | 0.00 | 0.09 | 0.26 |
| 2-乙基己基草酸戊酯 | - | 0.01 | - | 0.95 |
| 硬脂酸甲酯 | 0.00 | - | 0.14 | - |
| 癸二酸二异辛酯 | 0.00 | 0.01 | 0.21 | 0.48 |
| 邻苯二甲酸二正辛酯 | 0.01 | 0.01 | 0.99 | 1.089 |
| 醛类 | | | | |
| 己醛 | - | 0.01 | - | 0.42 |
| E-2-庚烯醛 | - | 0.01 | - | 0.46 |
| 反式-2,4-癸二烯醛 | 0.00 | 0.05 | 0.19 | 4.32 |
| 2-十一烯醛 | - | 0.00 | - | 0.19 |
| 十一醛 | 0.00 | - | 0.27 | - |
| E-14-十六碳烯醛 | - | 0.03 | - | 2.19 |
| 桃醛 | - | 0.05 | - | 0.37 |
| (Z)-7-十六碳烯醛 | - | 0.14 | - | 11.29 |
| 酮类 | | | | |
| 5-(2-甲基-3-亚甲基-4-丁基)-2(5H)-咪喃酮 | 0.00 | - | 0.11 | - |
| 1-(1-甲基环己基)乙酮 | 0.00 | 0.01 | 0.14 | 0.51 |
| 异佛尔酮 | - | 0.03 | - | 2.00 |
| 2,2,4,6-四甲基-3,5-庚二酮 | - | 0.01 | - | 0.50 |
| 5-癸酮 | 0.00 | - | 0.29 | - |
| 酸类 | | | | |
| 壬酸 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | 0.22 |
| 3-庚烯酸 | - | 0.01 | - | 0.44 |
| 月桂酸 | - | 0.01 | - | 0.40 |
| 棕榈酸 | 0.02 | 0.02 | 1.41 | 1.34 |
| 亚油酸 | 0.04 | - | 2.98 | - |
| 酚类 | | | | |
| 3,5-二叔丁基苯酚 | 0.01 | 0.01 | 0.86 | 0.93 |
| 烯烃 | | | | |
| 2-十一烯 | - | 0.00 | - | 0.24 |
| 4-甲基-1-十一碳烯 | 0.00 | - | 0.12 | - |
| 烷烃 | | | | |
| 3,3-二甲基己烷 | 0.01 | - | 0.50 | - |

转下页

接上页

| | | | | |
|----------------|------|------|-------|------|
| 十一烷基环己烷 | 0.00 | 0.00 | 0.22 | 0.27 |
| 十六烷 | 0.00 | - | 0.04 | - |
| 2-甲基十七烷 | - | 0.00 | - | 0.29 |
| 正二十烷 | 0.02 | 0.02 | 1.39 | 1.54 |
| 含氮化合物 | | | | |
| 3,4-二脱氢-DL-脯氨酸 | - | 0.01 | - | 0.60 |
| 芥酸酰胺 | 0.19 | 0.01 | 13.07 | 0.57 |
| 油酸酰胺 | 0.01 | 0.00 | 0.47 | 0.20 |
| 含硫化合物 | | | | |
| 亚硫酸己基辛酯 | 0.00 | 0.03 | 0.19 | 2.74 |

注：“-”表示未检出。

3 结论

本试验以酵母菌和蛋白核小球藻混合发酵豆渣，对豆渣发酵前后 VB₂、VB₁₂ 及风味成分进行分析，结果表明，发酵后的豆渣中 VB₂ 和 VB₁₂ 含量均比发酵前明显增多。豆渣发酵前后风味物质数量、组成和含量均发生变化，根据相对含量的高低，醇类、酯类、醛类和酮类是发酵产物的主要风味成分，苯乙醇、2-乙基己基草酸戊酯、亚硫酸己基辛酯、反式-2,4-癸二烯醛、桃醛、异佛尔酮和月桂酸可能是发酵豆渣的关键风味物质。豆渣发酵前后风味成分的变化说明微生物起到了一定的作用，微生物发酵过程中会释放多种胞外酶，将豆渣中的蛋白、脂肪和多糖等降解成小分子物质，作为风味物质的前体，再经各种复杂的生化反应合成多种风味化合物，形成豆渣发酵产物的特征风味。探究豆渣发酵产物中 VB₂、VB₁₂ 含量及风味成分变化，为提高发酵产品 VB₂、VB₁₂ 含量和改善风味提供基础依据，同时为发酵工艺的优化提供参考，具有重要的理论意义和实践价值。

参考文献

- [1] 赵影,韩建春,郑环宇,等.豆渣深加工及综合利用的研究现状[J].大豆科学,2013,32(4):555-560
ZHAO Ying, HAN Jian-chun, ZHENG Huan-yu, et al. Research of further processing and comprehensive utilization of soybean dregs [J]. Soybean Science, 2013, 32(4): 555-560
- [2] 夏剑秋,江连洲,王喜泉,等.国内外大豆加工业生产现状与发展趋势[J].中国油脂,2003,28(9):8-15
XIA Jian-qiu, JIANG Lian-zhou, WANG Xi-quan, et al. Present situation and development trend of soybean processing industry at home and abroad [J]. China Oils and Fats, 2003, 28(9): 8-15
- [3] 朱运平,程永强,汪丽君,等.发酵豆渣的功能性及应用研究现状[J].食品科学,2008,29(5):475-478
ZHU Yun-ping, CHENG Yong-qiang, WANG Li-jun, et al. Overview on functionality and application researching situation of fermented soybean dregs [J]. Food Science, 2008, 29(5): 475-478
- [4] 张文佳.产朊假丝酵母和白地霉混合固态发酵豆渣生产反刍动物饲料的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2015
ZHANG Wen-jia. Study on solid-state fermented bean dreg by *Candida Utilis* and *Geotrichum Candidum* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015
- [5] 赵功玲,方军伟,邓清伟.豆渣小米纤维饼干的研制[J].食品工业,2004,6(9):31-32
ZHAO Gong-ling, FANG Jun-wei, DENG Qing-wei. The development of millet bean dregs fiber biscuit [J]. Food Industry, 2004, 6(9): 31-32
- [6] 王亚伟,张一鸣,申晓琳,等.大豆膳食纤维在面包中的应用[J].郑州粮食学院学报,2000,21(3):75-77
WANG Ya-wei, ZHANG Yi-ming, SHEN Xiao-lin, et al. The Application of soybean dietary fiber in bread [J]. Journal of Zhengzhou Grain College, 2000, 21(3): 75-77
- [7] 姚顺宇,王春霞.发酵型豆渣纤维饮料的研制[J].饮料工业,2014,17(3):29-33
YAO Shun-yu, WANG Chun-xia. Preparation of fermented beverage of soybean fiber [J]. The Beverage Industry, 2014, 17(3): 29-33
- [8] Spolaore P, Joannis-Cassanb C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae [J]. Journal of Bioscience and Bio-Engineering, 2006, 101(2): 87-96
- [9] 刘景民.维生素 B₂ 在人体中的作用[J].实用中西医结合杂志,1996,9(12):720-722
LIU Jing-min. The role of vitamin B₂ in the body [J]. Practical Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 1996, 9(12): 720-722

- [10] Crane M G, Sample G, Pathcet S, et al. Vitamin B₁₂ studies in total vegetarians [J]. Journal of Nutritional Medicine, 2009, 4(4): 419-430
- [11] 汪立君,李里特,齐藤昌义,等.大豆发酵食品风味物质的研究[J].食品科学,2004,25(S1):68-71
WANG Li-jun, LI Li-te, QI Teng-changyi, et al. Study on the flavor components of fermented soybean foods [J]. Food Science, 2004, 25(S1): 68-71
- [12] 曹蕾蕾.少孢根霉发酵腐乳过程中主要营养成分变化的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2014
CAO Lei-lei. Study on the main of nutrition of fermented sufu during fermentation by *Rhizopus oligosporus* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014
- [13] 宋昊,郑玉芝.黄豆豆渣发酵产物中挥发性风味化合物成分分析[J].食品科学,2016,37(10):176-182
SONG Hao, ZHENG Yu-zhi. Analysis of volatile components in metabolites from Okara fermentation [J]. Food Science, 2016, 7(10): 176-182
- [14] 姚英政.霉豆渣发酵过程中的变化及风味成分分析[D].武汉:华中农业大学,2010
YAO Ying-zheng. Study on the changes in nutrition and flavor ingredients during soybean residue cakes fermentation [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010
- [15] 常相娜,黄荣清,王正平,等.B族维生素测定方法研究进展[J].科学技术与工程,2004,4(4):312-315
CHANG Xiang-na, HUANG Rong-qing, WANG Zheng-ping, et al. Research progress in determination methods of B vitamins [J]. Science Technology and Engineering, 2004, 4(4): 312-315
- [16] Magnus J, Bienvenido O J, Peter S. Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2006, 50(5): 1101-1105
- [17] 张高旗,梁焯琼.预混合饲料中多种水溶性维生素的快速测定[J].广东饲料,2003,12(3):39-40
ZHANG Gao-qi, LIANG Zhi-qiong. Rapid determination of a variety of water soluble vitamins in pre mixed feed [J]. Guangdong Feed, 2003, 12(3): 39-40
- [18] 刘敏,郑伟涛.HPLC法测定功能性饮料中多种B族维生素的含量[J].监测与分析,2006,9(1):39-41
LIU Min, ZHENG Wei-tao. Determination of several Vitamins B in functional drinks by HPLC [J]. Detection and Analysis, 2006, 9(1): 39-41
- [19] Kang H R, Hwang H J, Lee J E, et al. Quantitative analysis of volatile favor components in Korean alcoholic beverage and Japanese sake using SPEM-GC/MS [J]. Food Science & Biotechnology, 2016, 25(4): 979-985
- [20] Stahmann K P, Revuelta J L, Seulberger H M, et al. Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2002, 53(5): 509-516
- [21] 宋晓伟,黄勋.维生素 B₁₂ 的发酵生产及应用[J].产业与科技论坛,2015,14(3):50-52
SONG Xiao-wei, HUANG Xun. Fermentation and application of vitamin B₁₂ [J]. Industrial & Science Tribune, 2015, 14(3): 50-52
- [22] Dajanta K, Apichartsrangkoon A, Chukeatirote E. Volatile profiles of thua nao, a thai fermented soy product [J]. Food Chemistry, 2011, 125(2): 464-470
- [23] 秦礼康,丁霄霖.传统陈蓉豆豉和霉菌型豆豉挥发性风味化合物研究[J].食品科学,2005,26(8):275-280
QIN Li-kang, DING Xiao-lin. Investigations on the Volatile Flavor Compounds in the Traditional Long-ripened *Douchiba* (DCB) and the Mold-fermented *Douchi* (DC) [J]. Food Science, 2005, 26(8): 275-280
- [24] 徐双双,赵先恩,刘玉芹,等.顶空固相微萃取-气质联用技术分析5种荷花的挥发性成分[J].分析试验室,2011,30(6):54-56
XU Shuang-shuang, ZHAO Xian-en, LIU Yu-qin, et al. Analysis of volatile components from the petals of five varieties of *Nelumbo nucifera* by HS-SPME-GC-MS [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2011, 30(6): 54-56
- [25] 陈峥,刘波,唐建阳,等.3种茶叶丙酮提取物的气相色谱质谱联用分析[J].福建农业学报,2010,25(3):356-362
CHEN Zheng, LIU Bo, TANG Jian-yang, et al. GC/MSD analysis on three varieties of tea acetone extracts [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2010, 25(3): 356-362
- [26] 陈清婵.米曲霉发酵豆豉挥发性风味成分及其在加工过程中变化研究[D].武汉:华中农业大学,2011
CHEN Qing-chan. Studies on the volatile flavor compounds of *Aspergillus oryzae* fermented douche and its changes during the processing [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011