

# 高盐稀态酱油二次沉淀预测模型的构建和验证

冯拓<sup>1</sup>, 单培<sup>1</sup>, 林虹<sup>2</sup>, 徐婷<sup>2</sup>, 王博<sup>1</sup>, 张智宏<sup>1</sup>, 高献礼<sup>1\*</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 广东美味鲜调味食品有限公司, 广东中山 528401)

**摘要:** 为构建高盐稀态酱油二次沉淀预测模型, 该研究对比分析了与酱油二次沉淀形成相关的理化指标, 包括 pH 值及铁离子、亚铁离子、多酚、多糖、氯化钠、乙醇、谷氨酸和温度等指标。利用 SPSS 软件分析了酱油二次沉淀生成量与各指标之间的相关性, 并以此为基础建立与二次沉淀相关的多元线性回归预测模型。结果表明, 高盐稀态酱油二次沉淀生成量 ( $Y$ , g/L) 与 pH 值 ( $X_1$ ) 极显著相关 ( $p < 0.01$ )、与铁离子 ( $X_2$ , mg/L)、多酚 ( $X_4$ , g/100 mL) 和氯化钠含量 ( $X_6$ , g/100 mL) 均显著相关 ( $p < 0.05$ ), 并成功构建了它们之间的多元线性回归方程。验证实验结果表明, 高盐稀态酱油二次沉淀的多元线性回归方程预测值与存放 3 个月后的实测值具有良好的相关性 ( $R^2 = 0.8517$ )。该预测模型有助于提前发现会产生严重二次沉淀的酱油, 避免其流入市场和给企业造成经济和声誉损失, 具有重要的应用价值。

**关键词:** 酱油; 二次沉淀; 预测模型; pH 值; 多酚

文章编号: 1673-9078(2022)04-129-139

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0782

## Establishment and Validation of Prediction Model for the Secondary Precipitate in High-salt Diluted-state Soy Sauce

FENG Tuo<sup>1</sup>, SHAN Pei<sup>1</sup>, LIN Hong<sup>2</sup>, XU Ting<sup>2</sup>, WANG Bo<sup>1</sup>, ZHANG Zhihong<sup>1</sup>, GAO Xianli<sup>1\*</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2. Guangdong Meiweixian Flavoring Foods Co. Ltd., Zhongshan 528401, China)

**Abstract:** In order to establish the prediction model of secondary precipitate of high-salt dilute-state soy sauce, the physicochemical indexes related to the formation of secondary precipitate of soy sauce were comparatively analyzed, including pH value, iron ion, ferrous ion, polyphenol, polysaccharide, sodium chloride, ethanol, glutamic acid and temperature. SPSS software was used to analyze the correlation between the amount of secondary precipitate and each index, a multiple linear regression prediction model based on the correlation analyses was established. The results showed that the amount of secondary precipitate ( $Y$ , g/L) was significantly correlated with pH value ( $X_1$ ) ( $p < 0.01$ ), iron ion ( $X_2$ , mg/L), polyphenol ( $X_4$ , g/100 mL) and sodium chloride contents ( $X_6$ , g/100 mL) ( $p < 0.05$ ), and the multiple linear regression equation amongst them was successfully established. The results showed that there was a good correlation between the predicted value of multiple linear regression equation and the measured value after 3 months storage ( $R^2 = 0.8517$ ). The prediction model is helpful to find the soy sauce that will produce serious secondary precipitate in advance, and avoid its inflow into the market and cause economic and reputation losses to enterprises, thus it has important application value.

**Key words:** soy sauce; secondary precipitate; prediction model; pH value; polyphenol

引文格式:

冯拓, 单培, 林虹, 等. 高盐稀态酱油二次沉淀预测模型的构建和验证[J]. 现代食品科技, 2022, 38(4): 129-139

FENG Tuo, SHAN Pei, LIN Hong, et al. Establishment and validation of prediction model for the secondary precipitate in high-salt diluted-state soy sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 129-139

收稿日期: 2021-07-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301537); 中山市科技专项 (2018A1007); 阳西市科技创新战略专项 (SDZX2021030)

作者简介: 冯拓 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2211918008@stmail.ujs.edu.cn; 共同第一作者: 单培 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2211918004@stmail.ujs.edu.cn

通讯作者: 高献礼 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: gaolianli@ujs.edu.cn

酱油是起源于我国的一种传统调味品,具有悠久历史,其独特的风味有助于增添和改善菜肴的味道,深受众多消费者的青睐<sup>[1-4]</sup>。2020年我国酱油产量 $7.8 \times 10^6$  t,较2019年( $6.8 \times 10^6$  t)增长14.62%,酱油产销量恢复强劲。目前国外先进生产设备和工艺不断被国内酱油企业采用(如圆盘制曲、高压短时蒸煮),企业生产效率和酱油品质得到了一定的提升,但国产酱油二次沉淀问题仍然未得到较好解决<sup>[5]</sup>。酱油的二次沉淀是指经过滤和包装后的酱油在存储和销售的过程中在瓶底形成的一层泥土状的沉淀<sup>[6]</sup>。通过实验室前期研究、超市调研和酱油生产企业反馈信息等得出酱油在自然存放3个月后二次沉淀生成量基本不再增加。二次沉淀虽然不是酱油质量的硬性指标,但其严重降低了酱油的外观品质,影响酱油的销售,导致国产酱油在国际市场上竞争力下滑,是困扰我国酱油行业发展的重要质量问题<sup>[5,7]</sup>。高献礼等<sup>[5]</sup>统计分析了日本和市售国产酱油二次沉淀,研究发现国产酱油二次沉淀含量比日本酱油二次沉淀含量高64%~94%。由于专利和技术保密的原因,国内对日本酱油二次沉淀去除技术了解不多<sup>[7]</sup>。

目前,国内研究人员已对酱油二次沉淀的组成成分进行了初步研究。曾新安等<sup>[6]</sup>研究表明酱油二次沉淀主要由氯化钠、蛋白质和总糖组成,陈有容等<sup>[8]</sup>研究表明酱油二次沉淀主要由蛋白质、灰分和总糖组成,高献礼等<sup>[9]</sup>研究表明酱油二次沉淀主要由氯化钠、蛋白质和总糖组成,张志航等<sup>[10]</sup>研究表明酱油二次沉淀主要由灰分、蛋白质和总糖组成,由此判断国产酱油二次沉淀的形成可能与蛋白质、氯化钠和总糖等物质相关。曾新安等<sup>[6]</sup>、高献礼等<sup>[9]</sup>、张志航等<sup>[11]</sup>和孙鹏飞等<sup>[12]</sup>研究表明谷氨酸是国产酱油二次沉淀蛋白质中含量最高的氨基酸,由此推测谷氨酸可能参与了酱油二次沉淀的形成。Tomita等<sup>[13]</sup>研究显示日式酱油在60℃加热杀菌过程中可形成促沉因子-谷氨酸丁酯,该酯可促进日式酱油形成沉淀,这说明谷氨酸和温度可能均与酱油二次沉淀形成有关。乙醇可以使蛋白质间正负电荷结合力增加,形成厌水性胶体,使蛋白质和水间作用力降低,从而使敏感蛋白沉淀;pH值也是影响蛋白质溶解度的重要因素,因此,乙醇和pH值可能也与二次沉淀的形成相关。另外,敏感蛋白和敏感多酚被认为是黄酒产生二次沉淀的关键原因,其中敏感蛋白和敏感多酚在铁离子的催化下形成的敏感蛋白- $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ -敏感多酚复合物是黄酒二次沉淀的主要成分<sup>[14]</sup>。酱油中同样也存在较多的 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、蛋白质和多酚类物质,那么酱油中的敏感多酚和敏感蛋白是否也会在铁离子的催化下形成类似的复合物?因

此, $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 和多酚也可能是国产酱油产生二次沉淀的重要原因。

目前,国内对影响中式高盐稀态酱油二次沉淀形成的因素及其形成机制尚未进行深入研究。Gao等<sup>[15]</sup>分析了国产高盐稀态酱油二次沉淀蛋白的主要成分,结果发现中式高盐稀态酱油二次沉淀蛋白的主要成分为大豆11S球蛋白G4蛋白中的 $\text{B}_3$ 亚基(76%)和G1蛋白中的 $\text{A}_{1a}$ 亚基(19%),这两种亚基高比例的“有序”二级结构和强疏水性导致其溶解度低,这是导致酱油形成二次沉淀的诱因。酱油二次沉淀中还含有大量的多糖、NaCl、多酚和少量氨基酸,说明酱油二次沉淀成分和形成机制比较复杂,其具体形成机制仍需深入研究。

由于酱油中 $\text{B}_3$ 亚基的定性和定量测定需要电泳、质谱等高档设备和有毒试剂(如巯基乙醇),且测定过程耗时。因此直接建立 $\text{B}_3$ 亚基与酱油二次沉淀形成量的关系在具体操作上存在困难。本研究基于软测量思路,通过保持使用同种酱油且不加大豆蛋白以保证酱油中 $\text{B}_3$ 亚基的量恒定,对各种预处理后酱油二次沉淀生成量及与二次沉淀生成量相关指标的分析,构建一种具有实际应用价值的酱油二次沉淀预测模型,以期帮助酱油企业提前发现二次沉淀生成量多的酱油,避免其流入市场,也为解决高盐稀态酱油二次沉淀问题提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

高盐稀态酱油由广东美味鲜调味食品有限公司提供(使用日期与生产日期间隔不超过一周),酱油瓶底均无肉眼可见的二次沉淀。

可溶性大豆多糖购于河南万邦实业有限公司。三氯化铁、二氯化亚铁、亚铁氰化钾、三氯乙酸、邻菲罗啉、盐酸羟胺、甲醛、乙醇、氯化钠、没食子酸、盐酸、硫酸、硼酸、硫酸铜、硝酸银、氢氧化钠、磷酸氢二钠等均为分析纯,购自中国医药集团上海化学试剂公司。

### 1.2 仪器与设备

pH计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;EX223型电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;HWS26型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;ULTS1368超低温冰箱,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;气相色谱仪,美国安捷伦公司;5415D高速离心机,德国艾本德股份公司;冷冻干燥机,北京

博医康实验仪器有限公司; WFZ UV-2100 紫外分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; 高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品的预处理

通过对同一种酱油样品(广东美味鲜调味食品有限公司提供, 理化指标见表1)调节不同的pH值(使用0.01 mol/L HCl和0.01 mol/L NaOH调节)和温度, 外加三氯化铁、二氯化亚铁、可溶性大豆多糖、没食子酸、氯化钠、乙醇、谷氨酸改变酱油中铁离子、亚铁离子、多糖、多酚、氯化钠、乙醇和谷氨酸的浓度, 每个变量分别设置4~5个梯度, 共38种样品。

#### 1.3.2 二次沉淀的收集和制备

参照文献<sup>[9]</sup>的方法收集和制备酱油二次沉淀, 并做如下修改: 经过处理结束后的酱油在0℃和5000 r/min条件下离心15 min, 采用虹吸法移除上清, 收集沉淀; 将收集的沉淀冷冻干燥后计算出酱油二次沉淀生成量。

#### 1.3.3 高盐稀态酱油常规理化指标的测定

##### 1.3.3.1 pH的测定

pH采用pH计直接测定。

##### 1.3.3.2 铁离子和亚铁离子的测定

根据王迁<sup>[16]</sup>的方法稍加修改, 将酱油样品适当稀释以使其中总铁离子含量小于1 mg/L后, 采用邻菲罗啉分光光度法测定其中的亚铁离子含量; 用10%盐酸羟胺将稀释样品中的铁离子还原成亚铁离子, 即可测定其中的总铁离子含量, 用总铁离子含量减去亚铁离子含量即为铁离子含量, 使用具有标准物质证书的铁标准溶液进行定量。

##### 1.3.3.3 多酚的测定

参照 Xu 等<sup>[17]</sup>的方法略作修改用以测定酱油中的总酚含量。使用没食子酸作为标准品, 并根据没食子酸标准曲线计算酱油中的总酚含量, 该结果以 g gallic acid equivalent/100 mL (g GAE/100 mL) 酱油表示。

##### 1.3.3.4 多糖的测定

参照吴清吟<sup>[18]</sup>的方法稍加修改, 采用Sevage法脱除酱油中的蛋白, 进而醇沉得到沉淀物, 将沉淀物冷冻干燥后得到粗多糖, 将其配制成粗多糖溶液后, 采用苯酚-硫酸法测定其中的多糖含量, 使用葡萄糖作为标准品来对多糖进行定量。

##### 1.3.3.5 氯化钠的测定

参照 GB/T 5009.39-2003, 采用酱油卫生标准的分析方法中的沉淀滴定法来测定酱油中氯化钠的含量。

##### 1.3.3.6 乙醇的测定

在 Liu 等<sup>[19]</sup>的方法基础上稍加修改, 采用气相色谱法来测定酱油中乙醇的含量, 该结果以 g/100 mL 酱油表示。

##### 1.3.3.7 谷氨酸的测定

根据 Gao 等<sup>[20]</sup>的方法稍加修改来测定酱油中谷氨酸的含量。将酱油样品用10 g/100 mL三氯乙酸等体积稀释, 再用0.45 μm孔径的微孔过滤器过滤, 通过柱前衍生化后上机分析。采用PICO-TAG氨基酸分析柱(3.9 mm×150 mm), 测定波长为254 nm, 温度为38℃, 洗脱液流速为1.0 mL/min, 进样量为10 μL, 采用外标法对谷氨酸进行定量。

#### 1.3.4 二次沉淀模型的构建和验证

以同一种酱油为研究对象, 经由不同预处理后, 测得处理后各样品的各项理化指标和存放3个月后的二次沉淀生成量, 利用SPSS 18.0软件对多样品的各项理化指标和二次沉淀生成量进行Person相关性分析, 得出与酱油二次沉淀生成量显著相关的指标。基于软测量思想(应用软件等计算机技术对暂时不能测量或难以测量的重要变量, 选择另外一些相对容易测量的变量, 通过构成某种数学关系来估计或推断<sup>[21]</sup>), 对与二次沉淀生成量显著相关的指标进行多元线性回归分析, 得出方程, 以此构建酱油二次沉淀预测模型。选取20种不同酱油测定其最初理化指标(pH值、铁离子、亚铁离子、多酚、多糖、氯化钠、乙醇、谷氨酸和温度)和存放3个月的二次沉淀生成量以验证模型的准确性。

### 1.4 数据分析

所有实验数据均测定3次, 以平均值±标准偏差的形式表示各测定数据。利用SPSS 18.0软件进行Person相关性分析和多元线性回归分析以建立高盐稀态酱油二次沉淀预测模型。

## 2 结果讨论

### 2.1 预处理前高盐稀态酱油理化指标的测定

#### 结果

由表1可知, 在进行处理前, 该高盐稀态酱油的pH值为4.56, 铁离子浓度为26.03 mg/L, 亚铁离子浓度为25.86 mg/L, 多酚浓度为0.28 g/100 mL, 多糖浓度为6.11 g/100 mL, 氯化钠浓度为16.20 g/100 mL, 乙醇浓度为0.31 g/100 mL, 谷氨酸浓度为0.56 g/100 mL, 温度为16.2℃。

林耀盛等<sup>[22]</sup>测定了30种市售酱油的pH值, 结果

显示 30 种市售酱油的 pH 值范围为 4.01~5.18, 本研究测 pH 值在其中, 且符合中式高盐稀态酱油正常的 pH 值范围。

郭壮等<sup>[23]</sup>从市场上挑选了 33 种生抽酱油, 并测定了其中的氯化钠含量, 结果发现 33 种酱油样品的氯化钠含量在 3.79~19.03 g/100 mL, 本研究所测氯化钠含量在此范围内, 中式高盐稀态酱油在发酵阶段时酱醪的盐浓度一般在 17%~18%, 使酱醪中的多种微生物更好地生长代谢, 在出油阶段, 一部分盐会随着酱油渣从酱油中分离出来, 从而使酱油中的盐分含量降低, 本研究所测的高盐稀态酱油的氯化钠含量为 16.20 g/100 mL, 符合中式高盐稀态酱油正常的氯化钠含量范围。

吴清吟<sup>[18]</sup>采用低盐固态发酵方式酿造含海带的酱油, 测得其中粗多糖含量的均值为 0.473 g/100 mL, 远低于本研究的 6.11 g/100 mL, 可能原因在于本研究所选的酱油采用的是高盐液态发酵方式, 且发酵周期一般为 3~6 个月, 但吴清吟<sup>[18]</sup>采用的是低盐固态发酵方式, 发酵 30 d, 发酵周期的缩短以及较低的液料比可能不利于多糖的溶出及淀粉的转化, 从而导致其所酿造酱油中多糖含量偏低。

蒋瑾华等<sup>[24]</sup>测定了强化酱油(添加了铁的营养强化剂的酱油)样品中的铁含量, 结果显示强化酱油中铁含量的范围为 120~230 mg/kg, 远高于本研究所测总铁离子含量, 原因可能是本研究所选的高盐稀态酱油没有额外添加铁的营养强化剂, 其中的铁离子和亚铁离子仅来源于酿造原料, 从而导致所测得的铁含量较低。

Gao 等<sup>[25]</sup>测定了发酵酱油中的总酚含量, 结果显示未经过超声处理与经过超声处理的酱油的总酚含量分别为 1.61、2.04 mg GAE/mL, 张欢欢等<sup>[26]</sup>研究表明经过 150 d 的发酵的黑豆酱油和黄豆酱油的总酚含量分别为 550.75、344.22 mg/100 mL, 本研究所测多酚含量介于 Gao 等<sup>[25]</sup>和张欢欢等<sup>[26]</sup>所测多酚含量之间, 可能是由于酱油种类及盐水比例不同而导致测量结果的差异。

刘晓艳等<sup>[27]</sup>采用气相色谱法测定了 5 种市售酱油中的乙醇含量, 结果显示 5 种酱油样品中乙醇含量在 479.60~4809.33 mg/L 之间, 莫允焕等<sup>[28]</sup>采用了 3 种分析方法测定酱油样品中的乙醇含量, 结果发现采用分光光度法、气相色谱法和蒸馏测相对密度法所测酱油样品中乙醇含量范围分别为 0.65%~2.17% (日式酱油)、0.60%~2.10% (日式酱油) 和 0.59%~2.09% (日式酱油), 可以看出中式酱油中乙醇含量均显著低于日式酱油, 原因可能在于在酱醪发酵阶段, 日式酱油会

人为添加酵母菌, 而传统中式酱油不人为添加酵母菌, 而酵母菌会在无氧的环境下将葡萄糖分解为乙醇和 CO<sub>2</sub>, 从而导致日式酱油的乙醇含量显著高于中式高盐稀态酱油<sup>[29-31]</sup>。

Gao 等<sup>[31]</sup>测定了发酵酱油中的谷氨酸含量, 结果发现经过超声处理与未经过超声处理的酱油中谷氨酸含量分别为 5.75、5.95 g/L, 与本研究所测谷氨酸含量基本相当。

## 2.2 预处理后高盐稀态酱油理化指标的测定

### 结果

由表 2 可知, 高盐稀态酱油二次沉淀生成量随 pH 值的升高而下降, 说明高盐稀态酱油中可能含有较多“酸不稳定性物质”或“酸不溶性物质”, 随着酱油 pH 值的降低, 这些物质可能会越来越不稳定, 进而析出并与其他物质聚合形成二次沉淀。

高盐稀态酱油二次沉淀生成量随温度的升高呈现先下降(20 °C)后上升(60 °C)的趋势, 并在温度达到 60 °C 时有显著的上升, 原因在于温度上升到 60 °C 后, 中式高盐稀态酱油中可能也生成了类似于谷氨酸丁酯的促沉因子, 促使中式高盐稀态酱油形成沉淀<sup>[13]</sup>。

乙醇含量在 0.31~2.13 g/100 mL 时对高盐稀态酱油二次沉淀的生成无显著影响, 日式酱油的乙醇含量能够达到 1.5%~2.1%, 中式酱油的乙醇含量一般低于 0.5%, 但中式酱油二次沉淀含量比日式酱油二次沉淀含量高 64%~94%, 显然, 低浓度的乙醇可能不是造成高盐稀态酱油二次沉淀生成的主要因素, 相反, 低浓度的乙醇能够与其他醇类共同赋予酱油醇香的味道。同时乙醇在微生物和氧气作用下可转化为多种酸、酮、醛、醇等物质, 从而形成酱油独特的风味<sup>[3,5]</sup>。

此外, 高盐稀态酱油二次沉淀生成量均随铁离子、亚铁离子、多酚、多糖、氯化钠和谷氨酸含量的升高而增加, 其中铁离子比亚铁离子对酱油二次沉淀生成量的影响更大, 多项研究表明, 国产酱油二次沉淀主要由蛋白质、氯化钠和总糖等物质构成<sup>[6,8-10]</sup>, 且二次沉淀蛋白质中均含谷氨酸<sup>[6,9,11,12]</sup>, 另外, 铁离子和多酚含量会影响黄酒二次沉淀的生成<sup>[14]</sup>, 而酱油也是发酵产品的一种, 同是胶体溶液, 同样含有较多的亚铁离子、铁离子和多酚, 且亚铁离子会在氧气的影响下会生成铁离子, 使酱油中的铁离子含量升高, 由此可以推断出酱油中二次沉淀生成量可能与其中多糖、氯化钠、谷氨酸、亚铁离子、铁离子和多酚含量有关。

表1 预处理前酱油理化指标的测定结果

Table 1 Determination results of physicochemical indexes in soy sauce before pretreatment

项目	pH 值	铁离子/(mg/L)	亚铁离子/(mg/L)	多酚/(g GAE/100 mL)	多糖/(g/100 mL)	氯化钠/(g/100 mL)	乙醇/(g/100 mL)	谷氨酸/(g/100mL)	温度/°C
中式高盐稀态酱油	4.56±0.02	26.03±0.80	25.86±0.55	0.28±0.01	6.11±0.16	16.20±0.34	0.31±0.01	0.56±0.02	16.20±0.10

注: 结果为平均值±标准差 (n=3)。表 2 同。

表2 预处理后酱油中理化指标的测定结果

Table 2 Determination results of physicochemical indexes in soy sauce after pretreatment

编号	pH 值	铁离子/(mg/L)	亚铁离子/(mg/L)	多酚/(g GAE/100 mL)	多糖/(g/100 mL)	氯化钠/(g/100 mL)	乙醇/(g/100 mL)	谷氨酸/(g/100 mL)	温度/°C	二次沉淀生成量/(g/L)
1	2.52±0.02	26.18±0.73	26.11±0.65	0.27±0.01	6.17±0.20	16.41±0.57	0.33±0.02	0.51±0.01	16.20±0.10	5.10±0.32
2	3.51±0.01	26.01±0.78	26.25±0.76	0.28±0.01	6.22±0.15	16.27±0.39	0.31±0.01	0.48±0.01	16.20±0.10	4.65±0.28
3	4.54±0.02	25.97±0.93	25.38±0.96	0.28±0.02	6.19±0.25	15.98±0.62	0.28±0.01	0.50±0.02	16.20±0.10	3.24±0.23
4	5.50±0.01	25.88±0.67	24.92±0.80	0.29±0.01	5.89±0.13	17.12±0.65	0.29±0.01	0.49±0.02	16.20±0.20	2.95±0.18
5	6.57±0.01	26.21±0.84	26.21±0.84	0.26±0.01	5.93±0.18	16.45±0.46	0.30±0.01	0.52±0.01	16.20±0.10	2.27±0.15
6	4.52±0.01	26.02±1.01	26.15±0.68	0.28±0.01	6.45±0.30	16.13±0.48	0.32±0.01	0.51±0.01	16.20±0.10	2.69±0.22
7	4.56±0.01	66.16±2.25	25.69±0.64	0.28±0.01	6.04±0.17	15.44±0.56	0.30±0.01	0.50±0.01	16.20±0.20	3.58±0.29
8	4.54±0.02	106.25±4.04	26.06±0.89	0.29±0.01	6.21±0.28	16.38±0.46	0.31±0.01	0.52±0.03	16.20±0.10	4.43±0.35
9	4.51±0.01	146.08±5.26	26.37±1.03	0.30±0.02	5.95±0.16	16.09±0.58	0.31±0.01	0.51±0.01	16.20±0.10	4.95±0.34
10	4.50±0.01	26.53±0.74	24.08±0.72	0.25±0.01	6.06±0.29	17.03±0.70	0.28±0.01	0.49±0.02	16.20±0.10	2.74±0.18
11	4.53±0.01	26.44±1.24	66.04±2.51	0.26±0.01	6.11±0.23	16.26±0.39	0.29±0.02	0.51±0.01	16.20±0.20	3.20±0.22
12	4.57±0.01	25.87±1.03	106.62±3.84	0.29±0.02	5.98±0.17	16.63±0.50	0.29±0.01	0.51±0.01	16.20±0.10	4.04±0.29
13	4.54±0.02	25.79±0.83	146.11±4.38	0.30±0.02	5.99±0.24	16.75±0.35	0.31±0.01	0.52±0.01	16.20±0.10	4.67±0.35
14	4.51±0.02	26.02±0.78	26.20±0.79	0.28±0.02	6.03±0.29	16.23±0.62	0.31±0.01	0.48±0.01	16.20±0.10	2.71±0.21
15	4.60±0.02	25.90±1.01	26.42±0.82	0.59±0.02	6.12±0.28	16.87±0.73	0.30±0.01	0.53±0.03	16.20±0.10	3.41±0.24
16	4.58±0.01	26.25±0.55	26.71±1.26	0.87±0.03	6.04±0.13	16.56±0.45	0.29±0.01	0.52±0.01	16.20±0.10	4.38±0.29
17	4.49±0.02	27.01±0.70	24.54±0.98	1.18±0.03	5.89±0.18	16.39±0.48	0.28±0.02	0.51±0.02	16.20±0.20	5.27±0.41
18	4.53±0.01	24.89±0.57	25.68±0.74	0.27±0.01	6.20±0.14	16.50±0.66	0.30±0.02	0.51±0.01	16.20±0.20	2.75±0.21
19	4.48±0.01	25.98±0.94	24.99±0.77	0.29±0.01	9.16±0.22	16.47±0.56	0.30±0.01	0.51±0.02	16.20±0.10	2.85±0.17
20	4.62±0.02	26.13±0.65	26.03±0.73	0.28±0.01	12.01±0.32	16.29±0.47	0.33±0.01	0.50±0.01	16.20±0.10	3.27±0.25
21	4.56±0.02	26.22±0.60	23.91±0.77	0.28±0.01	15.22±0.34	16.61±0.38	0.31±0.02	0.52±0.01	16.20±0.10	3.63±0.23
22	4.58±0.02	25.44±0.81	27.18±1.09	0.28±0.01	6.14±0.22	16.09±0.51	0.30±0.01	0.49±0.01	16.20±0.20	2.76±0.19
23	4.55±0.02	26.17±0.73	26.43±0.61	0.26±0.01	5.87±0.18	21.14±0.63	0.29±0.01	0.51±0.01	16.20±0.10	3.20±0.24
24	4.66±0.02	26.22±0.99	26.19±0.73	0.26±0.01	5.90±0.25	26.22±0.87	0.32±0.02	0.51±0.01	16.20±0.20	3.79±0.27
25	4.45±0.02	25.77±0.72	25.88±1.01	0.28±0.01	6.21±0.16	31.06±0.78	0.32±0.01	0.52±0.02	16.20±0.20	5.68±0.43

续表 2

编号	pH 值	铁离子/(mg/L)	亚铁离子/(mg/L)	多酚/(g GAE/100 mL)	多糖/(g/100 mL)	氯化钠/(g/100 mL)	乙醇/(g/100 mL)	谷氨酸/(g/100 mL)	温度/°C	二次沉淀生成量/(g/L)
26	4.52±0.01	27.00±1.05	25.76±0.77	0.29±0.02	5.99±0.19	16.78±0.57	0.31±0.01	0.50±0.02	16.20±0.10	2.70±0.17
27	4.56±0.02	26.14±0.91	26.03±0.73	0.29±0.01	6.00±0.23	16.57±0.46	0.90±0.03	0.49±0.01	16.20±0.10	2.65±0.21
28	4.59±0.01	25.88±0.62	26.54±0.85	0.26±0.01	6.21±0.18	16.39±0.52	1.52±0.04	0.52±0.02	16.20±0.10	2.71±0.18
29	4.51±0.01	26.27±0.74	26.11±0.65	0.28±0.01	6.03±0.27	16.40±0.66	2.13±0.07	0.51±0.03	16.20±0.10	2.80±0.22
30	4.51±0.02	25.75±0.75	29.18±1.05	0.28±0.02	6.17±0.19	16.22±0.58	0.33±0.01	0.51±0.01	16.20±0.20	2.74±0.17
31	4.56±0.01	25.63±0.82	26.12±1.10	0.25±0.01	5.86±0.17	16.18±0.52	0.33±0.02	0.82±0.03	16.20±0.10	3.02±0.20
32	4.59±0.01	26.90±0.72	26.25±1.05	0.28±0.01	6.22±0.18	16.15±0.39	0.31±0.01	1.09±0.05	16.20±0.10	3.37±0.26
33	4.62±0.01	24.69±0.94	25.93±0.72	0.30±0.01	6.19±0.16	15.99±0.58	0.30±0.01	1.43±0.06	16.20±0.20	3.75±0.27
34	4.48±0.01	28.01±1.09	26.82±0.80	0.28±0.01	6.08±0.20	16.43±0.46	0.31±0.01	0.50±0.01	-20.00±0.10	3.07±0.24
35	4.57±0.01	26.14±0.78	26.14±1.29	0.29±0.01	6.02±0.24	16.05±0.51	0.31±0.01	0.51±0.01	0.00±0.10	2.86±0.19
36	4.58±0.02	26.09±0.81	25.99±0.70	0.28±0.01	5.79±0.14	16.59±0.48	0.30±0.01	0.52±0.02	20.00±0.20	2.63±0.20
37	4.55±0.01	25.69±0.67	26.23±0.76	0.26±0.02	5.90±0.24	16.28±0.37	0.29±0.02	0.52±0.01	40.00±0.10	2.99±0.18
38	4.44±0.02	25.51±0.97	26.09±0.81	0.28±0.01	5.92±0.18	16.35±0.33	0.30±0.01	0.54±0.02	60.00±0.10	4.02±0.25

表3 二次沉淀生成量与各变量之间的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of secondary precipitation production and variables

	Y	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>
Y	1	-0.454**	0.341*	0.232	0.396*	-0.021	0.381*	-0.221	0.029	0.101
X <sub>1</sub>		1	-0.008	0.001	-0.005	-0.011	-0.010	-0.010	0.039	-0.011
X <sub>2</sub>			1	-0.073	-0.044	-0.072	-0.090	-0.069	-0.074	-0.024
X <sub>3</sub>				1	-0.059	-0.093	-0.030	-0.073	-0.062	-0.015
X <sub>4</sub>					1	-0.078	-0.043	-0.090	-0.050	-0.022
X <sub>5</sub>						1	-0.038	-0.059	-0.055	-0.029
X <sub>6</sub>							1	-0.047	-0.077	-0.009
X <sub>7</sub>								1	-0.067	-0.019
X <sub>8</sub>									1	0.015
X <sub>9</sub>										1

注: \*表示在 $p<0.05$ 水平下显著相关; \*\*表示在 $p<0.01$ 水平下极显著相关。

## 2.3 二次沉淀生成量与各变量之间的相关性

### 分析结果

对测定所得到的 38 种酱油样品的二次沉淀生成量 (Y, g/L) 与各理化指标 [pH 值 (X<sub>1</sub>)、铁离子含量 (X<sub>2</sub>, mg/L)、亚铁离子含量 (X<sub>3</sub>, mg/L)、多酚含量 (X<sub>4</sub>, g GAE/100 mL)、多糖含量 (X<sub>5</sub>, g/100 mL)、氯化钠含量 (X<sub>6</sub>, g/100 mL)、乙醇含量 (X<sub>7</sub>, g/100 mL)、谷氨酸含量 (X<sub>8</sub>, g/100 mL)、温度 (X<sub>9</sub>, °C)] 之间进行 Person 相关性分析, 结果如表 3 所示。

由表 3 可知, 与二次沉淀生成量相关性最显著的是 pH 值, 呈现极显著负相关 ( $r=-0.454$ ,  $p<0.01$ ), 其次依次为多酚含量 ( $r=0.396$ ,  $p<0.05$ ), 氯化钠含量 ( $r=0.381$ ,  $p<0.05$ ) 和铁离子含量 ( $r=0.341$ ,  $p<0.05$ ), 均呈现为显著正相关; 而二次沉淀生成量与亚铁离子含量、多糖含量、乙醇含量、谷氨酸含量和温度之间的相关性不显著。冯拓等<sup>[32]</sup>研究发现除乙醇 (<1.8%) 外, pH、Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>、多酚、大豆多糖、大豆蛋白酶解物、NaCl 和温度均对中式高盐稀态酱油二次沉淀生成量具有显著影响 ( $p<0.05$ ), 与本研究结果有所差异, 一方面, 由于本研究为保证酱油中 B3 亚基的量恒定而没有外加大豆蛋白或大豆蛋白酶解物, 故二次沉淀生成量与大豆蛋白酶解物含量之间的相关性没有体现出来; 另一方面, 由于冯拓等<sup>[32]</sup>对酱油的处理方式 (将酱油样品预处理后置于摇床中, 在 200 r/min、50 °C 的条件下震荡 7 d, 使潜在的“二次沉淀”快速形成) 与本研究的 (将酱油样品预处理后自然存放 3 个月) 有所不同, 从而导致二次沉淀生成量与亚铁离子含量、多糖含量和温度之间的关系有所差异。

高献礼等<sup>[5]</sup>研究发现酱油二次沉淀的生成与酱油

中总糖含量呈显著正相关, 与酱油的 pH 值、还原糖、氯化钠、氨基酸态氮含量无统计学意义上的相关性, 可能在于高献礼等<sup>[5]</sup>并未对 25 种市售酱油进行相应的预处理, 以致于这些酱油的 pH 值、氯化钠含量、多糖含量和相关氨基酸含量均保持在不足以使酱油产生大量二次沉淀的范围内。

林峰等<sup>[33]</sup>研究表明黄酒中二次沉淀生成的机理主要有铁沉淀、蛋白质沉淀和氧化沉淀, 其中参与沉淀的物质主要有多酚、蛋白质和多糖等物质以及铁等金属元素。Prakash 等<sup>[34]</sup>研究了波尔多红酒沉淀的基本组成及形成机制, 结果发现波尔多红酒沉淀的主要成分包括酒石酸钾、多酚、多糖、有机酸和游离氨基酸, 且酒石酸钾很容易在葡萄酒沉淀的早期阶段结晶析出, 而多酚、多糖、氨基酸和甘油则参与了进一步沉淀的形成。由此, 不难看出同为发酵产品的黄酒和葡萄酒在二次沉淀的形成上有诸多相似之处。

基于 2.2, 并结合上述研究, 酱油二次沉淀形成的机制可能是随着存放时间的延长, 酱油的 pH 值显著改变, 酱油原本稳定的体系被打破, 同时酱油中存在的溶解氧化亚铁离子生成铁离子从而使酱油中的铁离子含量显著上升, 而酱油中富含的蛋白和多酚在铁离子的催化下生成类似于黄酒中敏感蛋白-Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>-敏感多酚的复合物, 而该复合物在沉降的过程中可能会由于共沉淀效应而吸附氯化钠等物质, 从而形成二次沉淀, 当酱油中的这些物质达到一定浓度后, 二次沉淀基本无法继续产生, 这可能也是酱油在自然存放 3 个月后二次沉淀生成量基本不再增加的主要原因。

因此选取与二次沉淀生成量极显著相关的 pH 值以及显著相关的多酚含量、氯化钠含量和铁离子含量为相关指标, 建立预测酱油存放 3 个月后二次沉淀生成量的模型。

## 2.4 高盐稀态酱油二次沉淀多元线性回归预测模型的建立

表4 模型的方差分析

**Table 4 Variance analysis of the model**

模型	平方和	自由度	均方	F	P
回归	18.751	4	4.688	16.761	0.000
残差	9.230	33	0.280		
总计	27.980	37			

表5 建立模型的回归参数分析

**Table 5 Coefficient analysis of the regression model**

模型	非标准化系数		标准化系数	检验 (T)	P
	B	标准误差			
(常量)	3.120	0.996		3.132	0.004
pH值 (X <sub>1</sub> )	-0.734	0.165	-0.444	-4.443	0.000
铁离子 (X <sub>2</sub> )	0.014	0.004	0.395	3.933	0.000
多酚 (X <sub>4</sub> )	2.086	0.488	0.429	4.280	0.000
氯化钠 (X <sub>6</sub> )	0.150	0.035	0.430	4.283	0.000

注: B 为回归系数值; T 为对回归系数的 t 检验结果。

表6 高盐稀态酱油二次沉淀预测模型的验证

**Table 6 Validation of predictive model for the secondary precipitate in high-salt diluted-state soy sauce**

编号	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>6</sub>	二次沉淀量 实际所测值/(g/L)	二次沉淀量 预测值/(g/L)	二次沉淀程度
1	4.98±0.01	21.23±0.59	0.18±0.01	16.16±0.52	2.22	2.56	严重
2	5.36±0.01	16.10±0.40	0.15±0.01	14.01±0.43	1.32	1.82	可见明显二次沉淀
3	4.88±0.01	26.14±0.91	0.24±0.02	16.21±0.45	2.99	2.84	严重
4	5.48±0.02	14.70±0.53	0.15±0.02	15.02±0.53	1.45	1.87	可见明显二次沉淀
5	4.56±0.01	29.21±1.05	0.28±0.01	18.01±0.50	3.91	3.47	非常严重
6	4.67±0.01	21.12±0.63	0.24±0.01	17.33±0.61	3.71	3.09	非常严重
7	5.45±0.01	17.08±0.48	0.17±0.01	14.07±0.34	1.65	1.83	可见明显二次沉淀
8	5.09±0.02	23.43±0.87	0.20±0.02	15.73±0.60	2.12	2.48	严重
9	4.49±0.01	22.62±0.79	0.19±0.01	18.23±0.73	3.05	3.27	非常严重
10	4.83±0.01	25.75±0.93	0.21±0.01	16.41±0.41	2.40	2.82	严重
11	4.91±0.01	24.11±0.65	0.18±0.01	15.88±0.46	2.21	2.60	严重
12	5.34±0.01	22.21±0.47	0.17±0.01	17.00±0.66	2.02	2.41	严重
13	5.01±0.02	26.15±0.84	0.30±0.02	16.35±0.47	2.43	2.88	严重
14	5.49±0.02	18.09±0.51	0.19±0.01	13.59±0.41	1.39	1.77	可见明显二次沉淀
15	5.12±0.02	20.15±0.71	0.21±0.02	15.74±0.44	2.05	2.44	严重
16	4.67±0.01	26.56±0.85	0.19±0.01	19.05±0.76	3.04	3.32	非常严重
17	6.00±0.01	11.01±0.26	0.10±0.01	7.88±0.27	0.22	0.26	无明显二次沉淀
18	4.98±0.01	21.21±0.83	0.19±0.01	16.72±0.48	2.25	2.67	严重
19	4.69±0.02	25.11±0.95	0.22±0.02	16.11±0.60	2.37	2.90	严重
20	4.75±0.01	27.23±0.65	0.18±0.01	19.10±0.46	3.98	3.25	非常严重

注: 结果为平均值±标准差 (n=3); 将 X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>4</sub> 和 X<sub>6</sub> 的平均值代入式 (1) 得到二次沉淀量预测值, 将实际测得的二次沉淀量的 3 次测量结果平均值作为二次沉淀量实际所测值, 以便于对酱油二次沉淀程度进行分类及使验证结果更为简明清晰。

通过对酱油样品二次沉淀生成量与各常规指标之间的相关性进行分析, 选取与二次沉淀生成量显著相关的指标, 采用 SPSS 软件进行多元线性回归分析, 建立预测酱油存放 3 个月后二次沉淀生成量的模型。模型的方差分析结果如表 4 所示, 模型的 F 检验值为 16.761, p=0.000<0.01, 呈极显著水平, 即符合统计学中的要求。

根据上文对经过各种预处理后酱油的二次沉淀生成量与各理化指标之间的相关性分析结果, 选取与二

次沉淀生成量极显著相关的 pH 值以及显著相关的多酚含量、氯化钠含量和铁离子含量为模型自变量, 以存放 3 个月后的酱油二次沉淀生成量为因变量, 建立多元线性回归方程, 预测存放 3 个月后酱油的二次沉淀生成量, 模型的回归参数如表 5 所示, 常量为 3.120, X<sub>1</sub> 的系数为-0.734, X<sub>2</sub> 的系数为 0.014, X<sub>4</sub> 的系数为 2.086, X<sub>6</sub> 的系数为 0.150。最终模型的回归方程如下式 (1) 所示。

$$Y=3.120-0.734X_1+0.014X_2+2.086X_4+0.150X_6 \quad (1)$$

式中:

$Y$ ——二次沉淀生成量, g/L;

$X_1$ ——pH 值;

$X_2$ ——铁离子, mg/L;

$X_4$ ——多酚, g GAE/100 mL;

$X_6$ ——氯化钠, g/100 mL。

### 2.5 高盐稀态酱油二次沉淀模型的验证

选取 20 种市售酱油(生产时间和使用时间不超过一周), 并对其中部分酱油进行处理, 使其在 pH 值、铁离子含量、多酚含量和氯化钠含量等指标在一定的合理范围内有较大的差异。由表 6 可知, 在存放 3 个月, 20 种酱油样品的二次沉淀程度不尽相同: 5% 的酱油样品无明显二次沉淀, 20% 的酱油样品可见明显二次沉淀, 50% 的酱油样品有严重的二次沉淀, 25% 的酱油样品有非常严重二次沉淀。上述结果意味着在酱油存放 3 个月, 约 75% 的酱油瓶底会出现较多泥土状的沉淀, 严重降低了酱油的外观品质, 影响酱油的销售。

表 7 酱油二次沉淀程度分类

Table 7 Classification of secondary precipitate degree in soy sauce

二次沉淀量/(g/L)	二次沉淀程度
$Y < 0.5$	无明显二次沉淀
$0.5 < Y < 2$	可见明显二次沉淀
$2 < Y < 3$	严重
$Y > 3$	非常严重

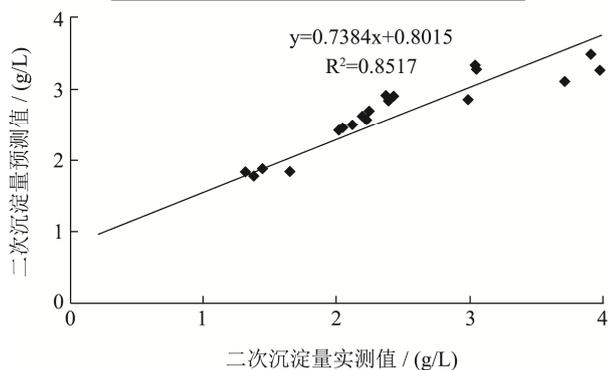


图 1 存放 3 个月后二次沉淀实测值与模型预测值偏差

Fig.1 Deviation between measured values and model predicted values of secondary precipitate after 3 months of storage

在本研究中, 将高盐稀态酱油二次沉淀程度共分为 4 个等级: 无明显二次沉淀、可见明显二次沉淀、严重二次沉淀及非常严重二次沉淀。为了更好地将二次沉淀生成量与二次沉淀的程度情况对应起来, 对表 6 中二次沉淀生成量进行统计分类, 结果见表 7 所示。

将各数据代入高盐稀态酱油二次沉淀模型给出的

回归方程, 计算出酱油存放 3 个月二次沉淀量的预测值, 与实际测得的二次沉淀生成量进行分析比较, 以验证模型的准确程度。由图 1 可知, 酱油存放 3 个月的二次沉淀生成量的预测值与实测值具有较好的对应性 ( $R^2=0.8517$ )。

### 3 结论

本研究通过对同一种酱油进行预处理, 测定处理之后的 38 种酱油样品的 pH 值、铁离子、亚铁离子、多酚、多糖、乙醇、谷氨酸、温度等常规指标, 利用 SPSS 18.0 软件分析酱油二次沉淀生成量与各指标之间的相关性, 发现二次沉淀生成量 ( $Y$ , g/L) 与 pH 值 ( $X_1$ ) 极显著相关, 与铁离子含量 ( $X_2$ , mg/L)、多酚含量 ( $X_4$ , g GAE/100 mL) 和氯化钠含量 ( $X_6$ , g/100 mL) 显著相关, 并以此为基础利用 SPSS 18.0 软件构建了它们之间的多元线性回归方程, 方程为  $Y=3.120-0.734X_1+0.014X_2+2.086X_4+0.150X_6$ 。该方程用于预测存放 3 个月后酱油二次沉淀生成量的结果表明, 预测值与实测值具有较好的对应性 ( $R^2=0.8517$ )。该预测模型有助于提前发现会产生严重二次沉淀的酱油, 避免其流入市场, 这对酱油企业的长远发展及提高国产酱油在国际市场上竞争力具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Gao X L, Feng T, Sheng M J, et al. Characterization of the aroma-active compounds in black soybean sauce, a distinctive soy sauce [J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130334
- [2] Zhao G Z, Ding L L, Hadiatullah H, et al. Characterization of the typical fragrant compounds in traditional Chinese-type soy sauce [J]. Food Chemistry, 2020, 312: 126054
- [3] Feng Y Z, Cai Y, Su G W, et al. Evaluation of aroma differences between high-salt liquid-state fermentation and low-salt solid-state fermentation soy sauces from China [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 126-134
- [4] Wang X J, Guo M Y, Song H L, et al. Characterization of key aroma compounds in traditional Chinese soy sauce through the molecular sensory science technique [J]. LWT - Food Science and Technology, 2020, 128: 109413
- [5] 高献礼, 闫爽, 陈燕斌, 等. 基于统计学方法的酱油二次沉淀形成的初步研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3): 188-191
- [6] GAO Xianli, YAN Shuang, CHEN Yanbin, et al. Preliminary study on secondary sediment formation of soy sauces based on statistics methods [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(3): 188-191
- [6] 曾新安, 李国基, 于淑娟. 酱油沉淀成分研究[J]. 食品科学,

- 2002,23(11):32-34  
ZENG Xinan, LI Guoji, YU Shujuan. Study on the precipitate composition of soy sauce [J]. Food Science, 2002, 23(11): 32-34
- [7] 杨明泉,高献礼,刘占,等.国产酱油二次沉淀研究进展和展望[J].食品与发酵工业,2019,45(10):250-255  
YANG Mingquan, GAO Xianli, LIU Zhan, et al. Research progress and prospect of secondary precipitate in domestic soy sauce [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(10): 250-255
- [8] 陈有容,刘庆玮.酱油中沉淀及混浊物产生的原因初探[J].天津微生物,1989,2:32-37  
CHEN Yourong, LIU Qingwei. Preliminary study on the cause of precipitate and turbidity in soy sauce [J]. Tianjin Microbiology, 1989, 2: 32-37
- [9] 高献礼,孙鹏飞,闫爽,等.酱油二次沉淀制备方法的对比[J].食品与发酵工业,2013,39(1):46-50  
GAO Xianli, SUN Pengfei, YAN Shuang, et al. Comparison of preparation methods for secondary precipitate of soy sauce [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(1): 46-50
- [10] 张志航,李国基,于淑娟,等.酱油沉淀物的溶解性能[J].华南理工大学学报(自然科学版),2000,28(11):59-63  
ZHANG Zhihang, LI Guoji, YU Shujuan, et al. Solubility of soy sauce precipitate [J]. Journal of South China University of Technology (Nature Science Edition), 2000, 28(11): 59-63
- [11] 张志航,李国基,于淑娟,等.酱油二次沉淀物氨基酸组分分析[J].齐齐哈尔大学学报,2000,16(3):4-7  
ZHANG Zhihang, LI Guoji, YU Shujuan, et al. Analysis of amino acid components in the secondary precipitate of soy sauce [J]. Journal of Qiqihar University, 2000, 16(3): 4-7
- [12] 孙鹏飞,高献礼,闫爽,等.酱油二次沉淀蛋白质的分离、鉴定及氨基酸分析[J].食品工业科技,2014,35(5):87-90  
SUN Pengfei, GAO Xianli, YAN Shuang, et al. Distribution, identification and amino acid composition analysis of proteins in the secondary precipitate of soy sauce [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(5): 87-90
- [13] Tomita M, Motomura Y, Kitahara H, et al. Purification and identification of the promoter of precipitate formation from raw soy sauce by heating [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 86(4): 373-378
- [14] 谢广发,陆健,孙军勇,等.黄酒非生物稳定性的预测模型[J].食品科学,2020,41(5):31-38  
XIE Guangfa, LU Jian, SUN Junyong, et al. Predictive modeling of the nonbiological stability of Chinese yellow wine [J]. Food Science, 2020, 41(5): 31-38
- [15] Gao X L, Sun P F, Lu J, et al. Characterization and formation mechanism of proteins in the secondary precipitate of soy sauce [J]. European Food Research and Technology, 2013, 237: 647-654
- [16] 王迁.邻菲罗啉分光光度法测定畜禽肉中的铁元素含量[J].贵州农业科学,2020,48(6):85-88  
WANG Qian. Iron content in livestock and poultry meat determined by o-phenanthroline spectrophotometric method [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2020, 48(6): 85-88
- [17] Xu L, Du B, Xu B J. A systematic, comparative study on the beneficial health components and antioxidant activities of commercially fermented soy products marketed in China [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 202-213
- [18] 吴清吟.含海带的酱油酿造工艺关键技术[D].福州:福建农林大学,2015  
WU Qingyin. The key processing technologies for the brewing soy sauce contain kelp [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015
- [19] Liu M R, Li H L, Zhan H Y. A novel method for the determination of the ethanol content in soy sauce by full evaporation headspace gas chromatography [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(5): 1043-1046
- [20] Gao X L, Cui C, Ren J Y, et al. Changes in the chemical composition of traditional Chinese-type soy sauce at different stages of manufacture and its relation to taste [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2011, 46: 243-249
- [21] 郑蓉建.谷氨酸发酵过程的软测量建模研究[D].无锡:江南大学,2020  
ZHENG Rongjian. Research on soft sensor modelling of the glutamate fermentation process [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020
- [22] 林耀盛,刘学铭,于丰玺,等.30种酱油中基本成分和呈味核苷酸的高效液相色谱法分析研究[J].中国调味品,2012,37(10):69-73  
LIN Yaosheng, LIU Xueming, YU Fengxi, et al. Study of main composition and IMP & GMP in 30 kinds of soy sauce with HPLC [J]. China Condiment, 2012, 37(10): 69-73
- [23] 郭壮,凌霞,王念,等.市售生抽酱油品质评价[J].中国调味品,2017,42(8):90-94  
GUO Zhuang, LING Xia, WANG Nian, et al. Quality evaluation of commercial light soy sauce samples [J]. China Condiment, 2017, 42(8): 90-94
- [24] 蒋瑾华,刘江晖,陈斌,等.强化酱油中铁含量的快速测定[J].食品科学,2003,4(4):124-125

- JIANG Jinhua, LIU Jianghui, CHEN Bin, et al. Rapid determination of iron content in fortified soy sauce [J]. *Journal of Food Science*, 2003, 4(4): 124-125
- [25] Gao X L, Liu E M, Zhang J K, et al. Effects of sonication during moromi fermentation on antioxidant activities of compounds in raw soy sauce [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, 116: 108605
- [26] 张欢欢,耿予欢,李国基. 黄豆酱油与黑豆酱油抗氧化活性及风味物质的比较[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(6): 97-106, 229
- ZHANG Huanhuan, GENG Yuhuan, LI Guoji. Comparison of antioxidant activities and flavor compounds of soy sauces prepared with yellow soybean and black soybean [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(6): 97-106, 229
- [27] 刘晓艳,覃旋,钱敏,等. 酱油中微量乙醇的气相色谱分析方法的建立[J]. *中国调味品*, 2020, 45(12): 130-133
- LIU Xiaoyan, QIN Xuan, QIAN Min, et al. Determination of trace ethanol in soy sauce by gas chromatography [J]. *China Condiment*, 2020, 45(12): 130-133
- [28] 莫允焕,薛健长,曾小波. 快速检测技术在酱油发酵中微量乙醇含量测定的应用改进[J]. *中国调味品*, 2018, 43(4): 187-190, 194
- MO Yunhuan, XUE Jianzhang, ZENG Xiaobo. Application of rapid detection technology in determination of trace ethanol in soy sauce fermentation [J]. *China Condiment*, 2018, 43(4): 187-190, 194
- [29] Devanthi P, Gkatzionis K. Soy sauce fermentation: microorganisms, aroma formation, and process modification [J]. *Food Research International*, 2019, 120: 364-374
- [30] 王靖雯,赵谋明,陈涛,等. 高盐稀态酱醪中功能性酵母菌的筛选、鉴定及发酵特性[J]. *食品科学*, 2021, 42(22): 91-97
- WANG Jingwen, ZHAO Mouming, CHEN Tao, et al. Screening, identification and fermentation characteristics of functional yeast from high-salt liquid-state moromi [J]. *Food Science*, 2021, 42(22): 91-97
- [31] Gao X L, Zhang J K, Liu E M, et al. Enhancing the taste of raw soy sauce using low intensity ultrasound treatment during moromi fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 124928
- [32] 冯拓,单培,高献礼,等. 大豆球蛋白 G4 蛋白 B3 亚基导致中式高盐稀态酱油二次沉淀的形成[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(11): 261-269
- FENG Tuo, SHAN Pei, GAO Xianli, et al. B3 subunit in soy globulin G4 protein leads to the formation of secondary precipitation in chinese-type high-salt and diluted-state soy sauce [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(11): 261-269
- [33] 林峰,白少勇. 黄酒非生物浑浊和沉淀的特点与解决方法[J]. *酿酒科技*, 2005, 4(10): 68-74
- LIN Feng, BAI Shaoyong. Non-biological turbidity of yellow rice wine & precipitation characteristics & the solutions [J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2005, 4(10): 68-74
- [34] Prakash S, Iturmendi N, Grelard A, et al. Quantitative analysis of Bordeaux red wine precipitates by solid-state NMR: role of tartrates and polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2016, 199: 229-237

(上接第 181 页)

- [20] Pongpichaiudom A, Songsermpong S. Improvement of microwave-dried, protein-enriched, instant noodles by using hydrocolloids [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(7): 2610-2620
- [21] 梅新,施建斌,隋勇,等. 紫薯全粉面条制作工艺研究[J]. *食品工业*, 2018, 39(5): 38-44
- MEI Xin, SHI Jianbin, SUI Yong, et al. Research on the technology of purple sweet potato flour noodles [J]. *The Food Industry*, 2018, 39(5): 38-44
- [22] 熊添,何建军,蔡芳,等. 谷朊粉对马铃薯热干面品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(2): 205-211
- XIONG Tian, HE Jianjun, CAI Fang, et al. Effect of wheat gluten on the quality of potato hot dry noodles [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(2): 205-211
- [23] 钱小丽. 紫薯面工艺研究[J]. *农产品加工*, 2013, 2: 28-29
- QIAN Xiaoli. Study on the technology of purple sweet potato noodles [J]. *Agricultural Products Processing*, 2013, 2: 28-29
- [24] 苑建伟,谢新华,李巍. 紫薯挂面加工工艺研究[J]. *粮油加工(电子版)*, 2014, 8: 45-47
- YUAN Jianwei, XIE Xinhua, LI Wei. Study on the processing technology of purple sweet potato noodles [J]. *Grain and Oil Processing (Electronic Version)*, 2014, 8: 45-47