

# 豆渣不同菌种发酵后成分变化的研究

王慧<sup>1,2</sup>, 刘莹<sup>1,3</sup>, 胡博涵<sup>4</sup>, 刘素纯<sup>1,5</sup>

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128) (2. 湖南生物机电职业技术学院, 湖南长沙 410127)  
(3. 湖南省发酵食品工程技术研究中心, 湖南长沙 410128) (4. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)  
(5. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 用根霉、毛霉、米曲霉菌分别对一定量的豆渣进行发酵, 对发酵前后6个时期豆渣的营养成分、酶活力进行分析, 结果表明, 发酵后豆渣的品质明显提高。豆渣中氨基酸态氮的含量均升高; 豆渣中的可溶性总糖含量也明显提高, 脂肪含量有所降低。豆渣中蛋白酶活力及淀粉酶活力在发酵前期为最大值, 随着时间的延长逐步降低, 且毛霉产蛋白酶能力较强, 最大值达到96.4 U/g, 而根霉产淀粉酶能力较强, 最大值达到13.2 U/g。

**关键词:** 根霉; 毛霉; 米曲霉; 豆渣; 发酵; 成分

**文章编号:** 1673-9078(2013)6-1277-1280

## Changes of Nutrition Components of Bean Residue Fermented by Different Fungus

WANG Hui<sup>1,2</sup>, LIU Ying<sup>1,3</sup>, HU Bo-han<sup>4</sup>, LIU Su-chun<sup>1,5</sup>

(1. College of Food Science and technology Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China) (2. Hunan biological and electromechanical polytechnic college, Changsha 410127, China) (3. Hunan Provincial Research Center of Engineering and Technology for Fermented Food, Changsha 410128, China) (4. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou, 510640, China) (5. Hunan Key Laboratories of Food Science and Biotechnology, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Bean dregs were fermented by using three kinds of fungus (*Rhizopus*, *Mucor*, and *Aspergillus oryzae*). The nutritional ingredients, protease and amylase activity of the bean dregs during 6 periods of fermentation were determined. The results showed that the quality of fermented bean dregs was improved obviously after the fermentation. The amino nitrogen content and total soluble sugar content of bean dregs increased significantly after fermentation, but the fat content decreased. Protease and amylase activities of bean dregs rose gradually in the initial stage of fermentation. The maximum of protease activity of fermented bean dregs by *Mucor* and *Rhizopus* reached 96.4 U/g and 13.2 U/g, respectively.

**Key words:** *rhizopus*; *mucor*; *Aspergillus oryzae*; bean dregs; fermentation; compositions

豆制品是我国的传统健康食品, 而豆渣是加工豆浆、豆腐等豆制品的副产物, 我国作为豆制品加工和消费大国, 目前国内每年约排放1500万吨豆渣, 但由于其能量含量低、口感粗糙等原因, 被人们长期忽视而作为废渣或饲料处理<sup>[1-3]</sup>。经研究分析, 豆渣中富含蛋白质、脂肪、纤维质成分、维生素、微量元素、磷脂类化合物与甾醇类化合物等<sup>[4]</sup>, 尤其是经过发酵后的豆渣具有抗氧化、降血压、抑制糖尿病和降低胆固醇等多种功能, 是老年人、高血压和心脏病患者的理想食品。而毛霉、米曲霉和根霉是传统发酵豆制品的生产菌种, 如毛霉是生产腐乳、腊八豆、豆豉等风味

食品的主要菌种, 米曲霉则是豆酱、酱油等的生产菌种, 根霉是印尼天培的主要生产菌种, 这3个菌种都具有很强的产蛋白酶、淀粉酶等的的能力, 并能产生各自独特的风味。本作者拟以毛霉、米曲霉和根霉3个菌种发酵豆渣为试材, 对发酵过程中主要营养成分及蛋白酶活力、淀粉酶活力进行测定分析与比较, 旨在对提高豆渣综合利用的营养价值提供理论依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

##### 1.1.1 试验原料

麸皮, 市购; 新鲜豆渣, 购于湖南农业大学滨湖市场。

收稿日期: 2013-01-16

通讯作者: 刘素纯, 副教授

### 1.1.2 菌种

根霉、毛霉、米曲霉由湖南农业大学食品科技学院微生物教研室提供。

### 1.1.3 培养基

①菌种斜面活化培养基: PDA培养基。②菌种扩大培养基: 每个容积为300 mL的三角瓶加入干麸皮10 g, 按麸皮:水=1:1~1.2比例加水调配均匀, 在121 °C条件下灭菌30 min, 冷却备用。

## 1.2 方法

### 1.2.1 发酵剂的制备

①斜面菌种活化, 在无菌条件下, 将根霉、毛霉、米曲霉分别接种于PDA斜面培养基中, 于28 °C条件下培养2~3 d, 即为固体试管菌种, 备用。

②麸曲发酵剂制备 从试管斜面中接取2~3环霉菌孢子至装有已灭菌麸皮的三角瓶中, 在28 °C下培养2~3 d, 期间扣瓶, 待其长满孢子后, 用牛皮纸包好整块麸皮至于45~50 °C的烘箱中烘干24 h, 即可制得发酵剂备用。

### 1.2.2 豆渣发酵

#### ①豆渣发酵工艺流程

斜面菌种→麸曲

↓

原料豆渣→挑选→灭菌→冷却→接种→拌匀→前发酵→后发酵→成品

#### ②操作技术要点

a.前发酵: 将灭完菌的豆渣放置木盘中, 厚度为2~3 cm, 待其冷却后接种, 即将一定量的曲子均匀地撒入豆渣, 拌匀后用牛皮纸包住置于28~30 °C条件下培养3 d, 待其长满菌丝即可将豆渣进入后发酵阶段。

b.后发酵: 采用坛腌法, 按照豆渣总重量的5%称取食盐, 取其3/4与豆渣混合均匀, 入坛, 装完后在霉豆渣表面撒入剩余的食盐铺面。

c.根据以上工艺分别以发酵0 d、发酵3 d(前发酵)、发酵10 d(后发酵)、发酵15 d(后发酵)、发酵20 d(后发酵)、发酵30 d(后发酵)等不同时期取样进行理化分析。

### 1.2.3 理化指标测定

①氨基酸态氮的测定参照电位滴定法<sup>[5]</sup>。②可溶性总糖的测定参照直接滴定法<sup>[6]</sup>。③脂肪的测定参照浸提法<sup>[7]</sup>。④水分含量的测定参照直接干燥法<sup>[8]</sup>。⑤蛋白酶活力测定参照福林试剂法<sup>[9]</sup>: 样品制备即称取充分研细的成曲5 g, 加水至100 mL, 在40 °C水浴内间断搅拌1 h, 过滤, 滤液用0.1 mol pH 7.2磷酸盐缓冲液稀释到一定倍数。⑥淀粉酶活力测定参照DNS试剂法<sup>[10]</sup>: 样品制备即称取1 g样品研磨成匀浆, 取10

mL 蒸馏水用以研磨和洗刷研钵, 移入离心管后在室温下放置15~20 min, 每隔数分钟搅动1次, 使其充分提取。在3000 r/min转速下离心5 min, 取上清液倒入50 mL容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 即为淀粉酶原液。吸取上述淀粉酶原液5 mL, 放入50 mL容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度摇匀, 即为淀粉酶稀释液。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同菌种发酵后豆渣中氨基酸态氮含量及蛋白酶活力的变化

#### 2.1.1 发酵前后氨基酸态氮含量的变化

分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣的氨基酸态氮含量进行测定, 试验结果见表1。

表1 3种霉菌发酵后豆渣氨基酸态氮含量的变化 (10<sup>-2</sup>g/g)  
Table 1 The amino nitrogen content of bean dregs fermented by 3 strains

霉菌	时间/d					
	0	3	10	15	20	30
根霉	0.063	0.282	0.477	0.535	0.532	0.527
毛霉	0.063	0.348	0.502	0.559	0.544	0.533
米曲霉	0.063	0.256	0.506	0.537	0.534	0.530

由表1得出, 根霉、毛霉、米曲霉分别作为发酵剂时, 在其主要发酵阶段, 豆渣中氨基酸态氮的含量都呈上升趋势, 在后发酵阶段氨基酸态氮的含量较为稳定, 进入20 d后含量稍下降, 但与原豆渣中氨基酸态氮的含量相比较, 都有所上升。这是由于随着发酵的进行, 豆渣中的粗蛋白被霉菌所产生的蛋白酶分解, 游离氨基酸含量增高, 而毛霉的产蛋白酶能力强, 且在pH=3~6的条件下都有很强的产酶能力, 所以由其发酵的豆渣, 氨基酸态氮的含量增长迅速。在后发酵阶段, 氨基酸态氮含量增长缓慢且含量趋于平缓, 是因为食盐的加入, 食盐会影响菌种的生长代谢, 抑制其产蛋白酶的能力, 导致蛋白酶活力减弱, 蛋白质分解速度减慢, 并且食盐溶液也会使得豆渣中一部分的蛋白质溶出至发酵液中, 从而使得豆渣干基中的含氮物质减少。

#### 2.1.2 不同菌种发酵后豆渣中的蛋白酶活力变化

分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣这6个时期的豆渣进行蛋白酶活力测定, 比较3个菌种产蛋白酶能力。不同菌种发酵豆渣中蛋白酶的活力见图1。

由图1可看出, 新鲜豆渣中蛋白酶活力接近零, 因为微生物还没有生长。在发酵时期, 前发酵阶段的产

蛋白酶能力高于后发酵阶段,是因为随着食盐的加入,抑制了蛋白酶的活力。3种菌种发酵豆渣蛋白酶活力有差异,其中毛霉产蛋白酶能力较强,其最大值达到96.4 U/g。由于本试验是在28℃、pH=5.5~6.5的条件下进行,而毛霉的最适生长温度为28~30℃,能产酸性蛋白酶、中性蛋白酶、碱性蛋白酶,蛋白酶系在pH=5.0~9.0的广泛pH范围内有活力;根霉的最适生长温度为32℃,主要产生酸性蛋白酶,蛋白酶系在pH=5.0时活力最强;米曲霉最适生长温度为28~32℃,在酸性条件下能产酸性蛋白酶,在中性条件下能产中性蛋白酶,在碱性条件下能产碱性蛋白酶,蛋白酶系在pH=6~8条件下酶活力较稳定<sup>[1]</sup>,因此,由毛霉发酵的豆渣中蛋白酶活力较其它两种发酵豆渣的强。但由于毛霉蛋白酶是诱导性很强的酶类,少量的氨基酸小分子含氯化物等,对蛋白酶的合成有阻碍作用<sup>[12]</sup>,因此随着发酵的进行,毛霉的生长代谢减慢,产酶能力减弱,酶活力降低得很快。

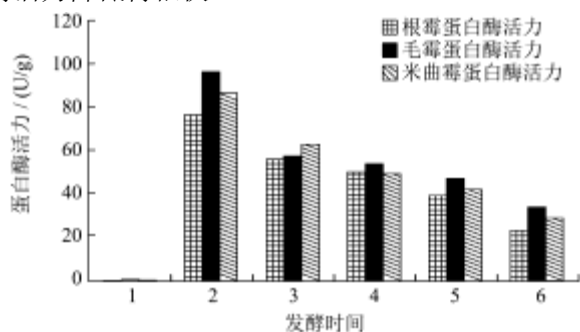


图1 不同菌种发酵后豆渣蛋白酶活力的变化

Fig.1 Change of proteinase activity of the bean residues by different strains

注: 1、2、3、4、5、6分别代表发酵时间0 d、3 d、10 d、15 d、20 d、30 d。

## 2.2 不同菌种发酵后豆渣中总糖及淀粉酶活力的变化

### 2.2.1 不同菌种发酵后豆渣中总糖的变化

表2 3种霉菌发酵后豆渣总糖的变化 (10<sup>-2</sup>g/g)

Table 2 Total sugar content of bean residues by three strains

霉菌	时间/d					
	0 d	3 d	10 d	15 d	20 d	30 d
根霉	4.46	4.16	5.18	5.68	5.96	6.09
毛霉	4.46	3.10	4.60	4.89	4.95	4.98
米曲霉	4.46	3.84	3.99	5.24	5.47	5.61

从表2得出,发酵后的豆渣总糖含量都明显提高,分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣这6个时期豆渣的总糖进行测定,试验结果见表2。

由毛霉发酵的豆渣其总糖含量提高12%,由米曲

霉发酵的豆渣总糖含量提高26%,由根霉发酵的豆渣总糖含量提高36%。在前发酵阶段,由于菌体要消耗一部分碳水化合物满足自身生长代谢需要,因此总糖的含量首先要降低,到后发酵时期,菌体产生代谢产物,其中包含淀粉酶、纤维素酶等将豆渣中的大分子物质分解成单糖等,所以豆渣中的总糖含量不断上升,但由于食盐的加入,对酶的活力产生一定影响,加之纤维素酶分解所产生的单糖可能会有一部分合成异黄酮糖苷物质<sup>[13]</sup>,所以可溶性总糖的增长速度变缓。

### 2.2.2 不同菌种发酵后豆渣中的淀粉酶活力变化

分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣这6个时期的豆渣进行淀粉酶活力测定,比较3个菌种产淀粉酶能力。不同菌种发酵豆渣中淀粉酶的活力见图2。

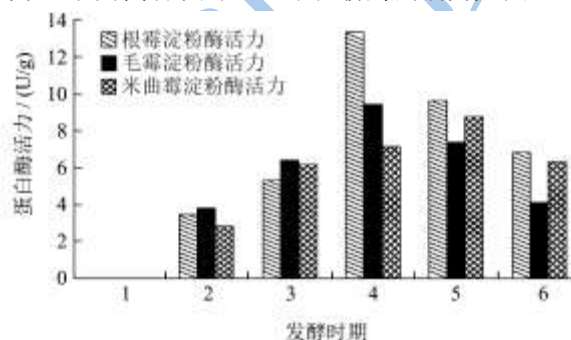


图2 不同菌种发酵后豆渣淀粉酶活力的变化

Fig.2 Amylase activity of the bean residues by different strains

注: 1、2、3、4、5、6分别代表发酵时间0 d、3 d、10 d、15 d、20 d、30 d。

从图2得出,随着发酵的进行,菌体产淀粉酶的能力先增大后减弱,在发酵15~20 d左右淀粉酶活力达到最大值,且根霉发酵的豆渣其淀粉酶活力最大值达13.2 U/g。根霉的产淀粉酶能力很强,产酶最适条件为28~30℃,pH=5.5,而本试验在28℃,偏酸性条件下进行,因此根霉能很好地进行代谢,有利于豆渣中碳水化合物的分解。后期淀粉酶活力的下降原因可能是因为食盐的抑制、菌体生长代谢减弱以及蛋白酶、脂肪酶等酶的活力相对增加而抑制了淀粉酶的活力等。

### 2.3 不同菌种发酵后豆渣中粗脂肪含量的变化

分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣这6个时期豆渣的粗脂肪含量进行测定,试验结果见表3。

从表3中得出,在前发酵阶段,脂肪含量是降低的,到后发酵时期脂肪的含量有所上升直至平缓状态,但较新鲜的豆渣,粗脂肪的含量是减少的,是由于豆渣发酵时菌体产生了脂肪酶,对粗脂肪进行分解,将其分解成游离脂肪酸,粗脂肪含量减少,但在后发酵阶段,豆渣中的营养成分分解后可能会产生一些小分子

物质,如醇和酸,它们发生酯化反应,产物被乙醚浸提出来,使得被乙醚所提取的物质总量增加,导致粗脂肪的含量相对增加。

表3 3种霉菌发酵后粗脂肪含量的变化 ( $10^{-2}g/g$ )

Table 3 The crud fat content of the fermented bean residues by different strains

霉菌	时间/d					
	0 d	3 d	10 d	15 d	20 d	30 d
根霉	6.3	3.89	3.85	5.32	5.34	4.58
毛霉	6.3	3.73	3.51	4.80	4.94	4.33
米曲霉	6.3	4.01	3.79	5.10	5.55	5.21

## 2.4 不同菌种发酵后豆渣中水分含量的变化

分别对发酵0 d豆渣、发酵3 d豆渣、发酵10 d豆渣、发酵15 d豆渣、发酵20 d豆渣、发酵30 d豆渣这6个时期豆渣的水分含量进行测定,试验结果见表4。

表4 3种霉菌发酵后水分含量的变化 ( $10^{-2}g/g$ )

Table 4 The water content of the bean residues fermented by different strains

霉菌	时间/d					
	0	3	10	15	20	30
根霉	71.4	63.7	65.3	68.2	72.9	74.1
毛霉	71.4	60.2	62.7	67.3	71.6	73.2
米曲霉	71.4	63.1	66.4	69.1	71.3	71.9

由表4得出,与新鲜豆渣相比较而言,经过发酵后的豆渣水分都有所上升,根霉发酵后的豆渣水分提高3.7%,毛霉发酵后的豆渣水分提高2.5%,米曲霉发酵后的豆渣水分提高0.7%。前发酵时期,由于菌体的生长,温度升高,水分有所蒸发,且为了满足自身生长代谢,也要消耗一部分的水分,因此前期发酵豆渣水分有所降低,后发酵时期,由于食盐的加入,食盐的渗透作用使得豆渣的持水力降低,这是致使部分结合水转变为游离水的原因<sup>[14-15]</sup>,且此时蛋白质、脂肪、还原糖的分解也会产生一定量的水,同时,产生的小分子物质在发生一系列反应时,也会产生一部分的水。因此,在后发酵时期,豆渣的水分含量有所升高。

## 3 结论

利用根霉、毛霉、米曲霉分别对新鲜豆渣进行发酵,并对发酵不同时期的豆渣进行营养成分及酶活力的测定,结果表明,发酵后的豆渣,品质都明显提高。

粗蛋白被分解,游离氨基酸的含量提高,其中毛霉的产蛋白酶能力较强。发酵后的豆渣可溶性总糖含量也增加,且根霉发酵的豆渣可溶性总糖含量较高,因为发酵时产淀粉酶强,因此其发酵的豆渣可溶性总糖含量增长迅速;粗脂肪含量有所降低,由此可见,通过发酵后的豆渣其营养价值得到明显的提高,主要营养成分也明显改善,可将其直接应用于食品的深加工,有利于提高豆渣的利用率。

## 参考文献

- [1] Golbitz P. Traditional soy foods: processing and products [J]. *Journal of nutrition*, 1995, 125(3Suppl): S570-S572
- [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
- [3] 张振山,叶素萍,李泉,等.豆渣的处理与加工利用[J].*食品科学*,2004,25(10):400-406
- [4] 夏岩石,夏延斌,蒋立文.利用毛霉与根霉共生发酵生产腊八豆的研究[J].*食品工业科技*,2005,26(1):96-98
- [5] 中华人民共和国国家标准GB/T5009.40-2003 酱卫生标准的分析方法[S]
- [6] 中华人民共和国国家标准GB/T5009.7-2008食品中还原糖的测定[S]
- [7] 中华人民共和国国家标准GB/T5009.6-2003食品中脂肪的测定[S]
- [8] 中华人民共和国国家标准GB/T5009.3-2010食品中水分的测定[S]
- [9] 中华人民共和国国家标准GB/T23527-2009蛋白酶制剂[S]
- [10] 中华人民共和国国家标准GB/T5521-2008粮油检验 谷物及其制品中 $\alpha$ -淀粉酶活性的测定比色法[S]
- [11] 钟晓敏,付静,蓝嘉,等. *Actinomucor elegans*, *Aspegillus oryzae*和*Rhizopus oligosporus*产蛋白酶条件及蛋白酶性质的比较[J].*食品与发酵工业*,2009,35(5):40-45
- [12] 呼晴,殷丽君,邹磊,等.黄色毛霉腐乳发酵过程主要成分的变化[J].*食品工业科技*,2006,27(9):85-87
- [13] 谢婧.毛霉发酵豆渣过程中主要营养成分变化的研究[J].*保鲜与加工*,2010,56(10):35-37
- [14] 鲁绯,孙君社.对腐乳后酵过程中一些成分变化的研究[J].*中国酿造*,2003,129(6):14-17
- [15] Jens Adler Nissen. *Enzymic hydrolysis of food proteins* [M]. London:Elsevier Applied Science Publishers, 1986