

黄豆酱油与黑豆酱油抗氧化活性及风味物质的比较

张欢欢, 耿予欢, 李国基

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文研究了相同工艺下, 黄豆、黑豆两种蛋白原料制备传统高盐稀态酱油的差异。比较两种酱油基本成分及抗氧化活性的差异, 并利用顶空-固相微萃取 (HS-SPME) 和气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 分析两种酱油挥发性风味物质。结果表明, 黑豆酱油总氮、氨基态氮、还原糖等显著高于黄豆酱油 ($p<0.05$), 黄豆酱油鲜味氨基酸含量更高。黑豆酱油抗氧化活性高于黄豆酱油, 相关性分析表明总酚、总黄酮及类黑精是酱油抗氧化活性的重要物质基础。两种酱油挥发性风味物质种类及含量差异显著 ($p<0.05$), 共鉴定出 98 种物质, 黄豆酱油、黑豆酱油总风味物质种类分别有 63 种、59 种, 总峰面积分别为 297.6×10^7 、 213.6×10^7 。综合分析表明黄豆酱油醇香突出, 黑豆酱油醇、酯及醛酮类主要挥发性成分较均衡, 风味协调。

关键词: 黄豆; 黑豆; 酱油; 营养; 抗氧化活性; 风味

文章编号: 1673-9078(2018)06-97-106

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.6.014

Comparison of Antioxidant Activities and Flavor Compounds of Soy Sauces Prepared with Yellow Soybean and Black Soybean

ZHANG Huan-huan, GENG Yu-huan, LI Guo-ji

(College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The differences of Chinese traditional high-salt diluted soy sauce prepared with two kinds of protein raw materials, including soybean and black bean were studied under the same process in this study. We compared the characteristics of the two kinds of soy sauces, including basic components, antioxidant activity as well as the volatile flavor components extracted by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that total nitrogen, amino nitrogen, reducing sugar in black bean soy sauce were significantly higher than those in soybean soy sauce ($p<0.05$), while soy sauce contained more umami amino acid. Besides, the antioxidant activity of black bean soy sauce was higher than that of soy sauce. Correlation analysis indicated that the total phenolics, total flavonoids and melanoidins could be inferred as the main antioxidant substances in soy sauce. There were significant differences in the types and content of volatile flavors in the two soy sauces ($p<0.05$), and a total of 98 substances were identified. There were 63 kinds and 59 kinds of total flavor substances in soybean sauce and black bean soy sauces, respectively, and their total peak area were 297.6×10^7 and 213.6×10^7 , respectively. Comprehensive analysis showed that soy sauce was mellow and prominent, while black bean soy sauce contained more harmonious flavor because its main volatile components were more balanced.

Key words: soybean; black bean; soy sauce; nutrition; antioxidant activity; flavor

以大豆为原料制成传统发酵豆制品, 如酱油、腐乳、豆豉和豆酱等食品, 起源于中国, 距今已有两千多年的历史。其香气浓郁, 滋味鲜美, 营养价值丰富, 且易消化吸收, 并具备一定的保健作用。据《本草纲目》载: “大豆有黑、白、黄、褐、青、斑数色, 黑者入药”^[1]。黄豆、黑豆同属大豆类, 营养价值大同小异, 其中黑豆有药用价值。黄豆、黑豆都含有丰富的蛋白质、微量元素、B 族维生素和异黄酮类物质。黑豆种

收稿日期: 2018-01-05

作者简介: 张欢欢 (1990-), 女, 研究生, 硕士, 研究方向: 食品发酵工程
通讯作者: 耿予欢 (1973-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品发酵工程

皮含原花青素及花色苷类物质, 有研究表明黑豆蛋白质^[2]、维生素、总酚及总花色苷比黄豆高^[3], 故而黑豆营养成分及抗氧化活性更高。

原料是构成酱油成分的物质基础, 滋味好、风味佳的酱油的酿造需要好品质的原料。目前, 生产上普遍以黄豆或黄豆粕为主要蛋白原料来酿造高盐稀态酱油^[4]。关于黄豆、黑豆发酵制品的对比目前多集中在豆豉类产品, 候竹美^[5]等用米曲霉发酵黄豆和黑豆制备豆豉, 发现黑豆豉抗氧化活性比黄豆豉高。而酱油类产品及其功能成分、抗氧化活性、挥发性风味物质的对比尚少见, 梁姚顺^[6]等以黑豆酿造酱油, 发现黑豆酱油品质、风味可与黄豆酱油媲美, 营养价值更胜

黄豆酱油一筹。在满足营养、风味口感前提下,功能性越佳食品更易受到人们的追捧。因此,利用黑豆的营养价值、功能价值来提高酱油的整体质量,可为高品质、高抗氧化活性酱油的制备提供优质资源及新思路。

本研究采用高盐稀态酱油酿造方法,以黄豆、黑豆为蛋白原料来分别制备黄豆酱油、黑豆酱油,比较两种酱油基本营养成分、活性物质及抗氧化活性,并对比分析其挥发性风味物质的差异。同时为探索黑豆酱油理化特性提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄豆(38.52%蛋白质含量、28.77%淀粉含量)、黑豆(42.53%蛋白质含量、30.05%淀粉含量)、面粉(15.54%蛋白质含量、72.82%淀粉含量)、米曲霉(沪酿3.042),均由李锦记(新会)食品有限公司提供。

奎诺二甲基丙烯酸酯(Trolox),阿拉丁公司;2,2'-氮二异丁基脒二盐酸盐(AAPH),阿拉丁公司;2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS),阿拉丁公司;2,2-联苯基-1-苦基肼基(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH),Sigma公司;荧光素钠(FL),阿拉丁公司;18种氨基酸标准品, Sigma公司;福林酚,国药集团;没食子酸、芦丁,其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FE-20 pH计,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;KDN-102F定氮仪,上海纤检仪器有限公司;IKA漩涡混合器、PAL- α Brix计,日本ATAGO公司;UV-2100紫外可见分光光度计,尤尼柯上海仪器有限公司;A300全自动氨基酸分析仪,德国曼默博尔公司;SpectraMax M2多功能酶标仪,美国Molecular公司;固相微萃取头(75 μ m CAR/PDMS),美国色谱科技公司;DSQ II气相色谱-质谱联用仪,美国Thermo公司;三合一自动进样器,澳大利亚SGE公司。

1.3 方法

1.3.1 酱油的工艺流程及制作方法

精选的大豆(黄豆和黑豆)→浸泡→蒸料→冷却→加辅料面粉→接种米曲霉制曲→翻曲→成曲→制醪发酵→滤油→头抽

按照黄豆/黑豆:面粉=7:3(m/m)的配比将原料混

合均匀,置于压力为1.0~1.5 kg/cm²蒸球中保压10~15 min,控制熟料水分在48wt%~53wt%,冷却至35℃以下,按4%比例接种沪酿3.042米曲霉。通风制曲,时间控制在36~48 h,温度控制在30~35℃。制曲结束后,按添加量为成曲的2.3倍左右添加盐水,采用高盐稀态酱油发酵方法酿造,常温发酵150 d,过滤得头油。每个样品平行发酵3缸。

1.3.2 基本理化指标分析

中性蛋白酶活根据SB/T 10317-1999测定,采用福林酚法。淀粉酶活根据GB 8276-2016测定,采用还原糖法。氨基态氮根据GB/T 5009.235-2016测定,采用甲醛滴定法。总氮根据GB 18186-2000测定,采用凯氏定氮法。还原糖根据GB/T 5009.7-2016测定,采用直接滴定法。总酸根据GB/T 12456-2008测定,采用酸碱滴定法。氯化钠根据GB 18186-2000测定,采用直接滴定法。固形物用Brix计测定。

1.3.3 游离氨基酸的测定

游离氨基酸样品前处理使用磺基水杨酸法。

4 mL样品与1 mL 15%的磺基水杨酸溶液混合沉淀样品中大分子的蛋白和多肽,4℃下反应1 h,4℃ 10000 r/min离心15 min。过滤,样品经过微滤膜(0.22 μ mol)处理。用液相离子交换柱(分离柱TS263, membra Pure)分离氨基酸,茚三酮显色,流速为60 μ L/min,除脯氨酸检测波长为440 nm,其余均在570 nm处检测。各氨基酸浓度采用外标计算。

1.3.4 总酚、总黄酮含量测定

样品经滤纸过滤,稀释成一定浓度。总酚的定量参考Xu和Chang^[7]的方法,略有修改。以没食子酸为标准品,绘制标准曲线,得到回归方程: $y=0.116x-0.003(R^2=0.999)$;酱油总黄酮的定量参考Dewanto等^[8]的方法,略有修改。以芦丁为标准品,绘制标准曲线,得到回归方程: $y=0.811x+0.006(R^2=0.999)$ 。

1.3.5 美拉德中间产物及后期产物^[9]

样品经滤纸过滤,稀释成一定浓度,采用紫外可见分光光度计分别测定稀释液在294 nm和420 nm处吸光值,以 A_{294nm} 表征美拉德中间产物及以 A_{420nm} 表征美拉德末期产物类黑精。

1.3.6 酱油抗氧化活性测定

样品经滤纸过滤,稀释成一定浓度,DPPH自由基清除能力参考李莹^[10]的方法测定;ABTS自由基清除能力参考李莹^[10]的方法有所改进;还原力测定参考李丹^[11]的方法;OARC值根据曹亚兰^[12]的方法有所改进。

1.3.7 酱油风味物质的测定

1.3.7.1 挥发性化合物的萃取

参考蔡宇^[13]的方法萃取挥发性成分。样品的准备和固相微萃取的方法如下：8 mL 酱油装进 20 mL 气质瓶中并加入 1 g 氯化钠使其盐浓度达到饱和，加 20 μ L 的 2-甲基-3-庚酮甲醇溶液(1.724 mg/L)作为内标。在 45 $^{\circ}$ C 下保温 20 min 后，酱油样品采用 CAR/PDMS 萃取头在 45 $^{\circ}$ C 下萃取 40 min，待萃取结束后，萃取头插入进样口解析 3 min。

1.3.7.2 GC-MS 条件^[14]

色谱柱：TR-5 ms 弹性石英毛细柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m)；升温程序：40 $^{\circ}$ C 作为起始温度，以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 120 $^{\circ}$ C，再以 7 $^{\circ}$ C/min 升至 220 $^{\circ}$ C，保持 5 min；载气(He)流速 1.0 mL/min；分流比：10:1。

质谱条件：电子轰击离子源；电子能量 70 eV；电子倍增器电压 350 V；传输线温度 250 $^{\circ}$ C；离子源温度 230 $^{\circ}$ C；质量扫描范围 m/z 35~350；扫描速度 3.00 scans/s。

1.3.8 统计分析

用 Origin 9.0 软件对数据进行处理和图表的绘制，数据代表平均值 \pm 标准差。用 SPSS 19.0 软件进行 ANOVA 差异性分析及相关性分析，同列不同小写字母表示同一列数据差异显著($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 黄豆酱油和黑豆酱油成曲蛋白酶活、淀粉酶活的比较

表 1 成曲中性蛋白酶活及淀粉酶活

Table 1 Protease activity and amylase activity of soybean koji

	中性蛋白酶活/(U/g)	淀粉酶活/(U/g)
黄豆成曲	817 \pm 6 ^a	53 \pm 2 ^a
黑豆成曲	1043 \pm 18 ^b	59 \pm 2 ^b

注：结果为平均值 \pm 标准差(n=3)；同列不同小写字母表示同一列数据的显著性差异($p < 0.05$)。

由表 1 可知，相同制曲条件下，黑豆成曲中性蛋白酶活、淀粉酶活均比黄豆成曲高。已知黑豆蛋白质含量为 42.53%、淀粉含量为 30.05%，黄豆蛋白质含量为 38.52%、淀粉含量为 28.77%，黑豆原料较黄豆原料能提供更高的蛋白质、淀粉含量，而相同制曲条件下，提供的底物碳源、氮源越多，米曲霉生长越旺盛，酶活相对较高^[15]。酱油酿造中蛋白酶、淀粉酶起主要作用，酶活高低直接影响原料转化利用率、发酵速率等。依据黑豆成曲酶活高，其原料转化利用率较黄豆高。

2.2 黄豆酱油和黑豆酱油基本成分比较

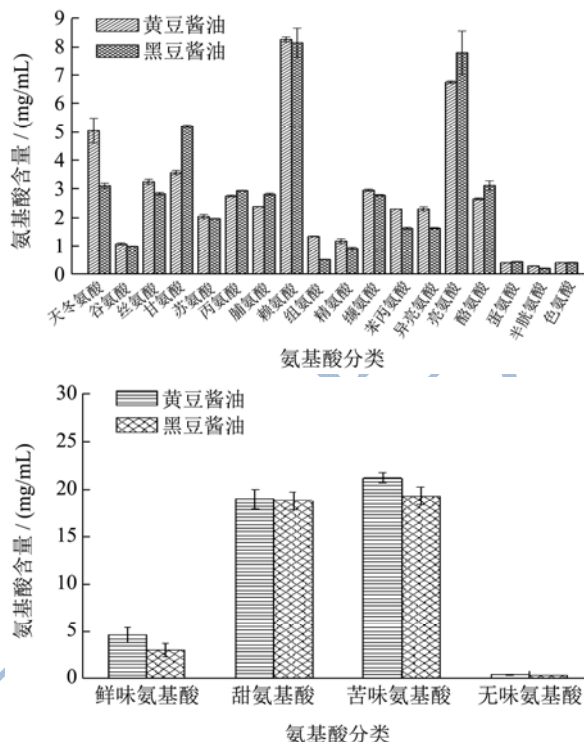


图 1 两种酱油氨基酸含量的比较

Fig.1 Comparison of amino acids content in two kinds of soy sauces

如表 2 所示，黑豆酱油氨基态氮、总氮、还原糖、总酸及固形物含量均显著高于黄豆酱油 ($p < 0.05$)，氯化钠含量无显著性差异。黄豆酱油、黑豆酱油氨基态氮和总氮分别为 0.91 g/100 mL、1.07 g/100 mL；1.41 g/100 mL、1.56 g/100 mL，其中氨基态氮含量均高于特级酱油标准(0.80 g/100 mL)，说明原料蛋白质含量越多，蛋白酶活越高，最终酱油含可溶性含氮化合物越多，这与王猛^[16]研究结果一致。黑豆酱油还原糖达 5.55 g/100 mL，显著高于黄豆酱油还原糖 2.10 g/100 mL ($p < 0.05$)，部分原因是由于黑豆淀粉含量高、黑豆成曲淀粉酶活高，即酶作用底物多、酶活高，故黑豆酱油含还原糖多，可推断黑豆酱油甜味口感比黄豆酱油重。还原糖经微生物代谢逐渐转化为有机酸，伴随美拉德反应缓慢进行，pH 下降，总酸上升，其中黄豆酱油总酸较低，应是其有机酸类物质缓慢转化为醇、醛和酯类等物质的速度超过酸的积累速度^[17]。

两种酱油 18 种氨基酸含量如图 1 所示，黄豆酱油、黑豆酱油氨基酸总量分别为 48.75 mg/mL、45.91 mg/mL。依 Kato^[18]和 Schoenberger^[19]对氨基酸呈味描述及分类可知，酱油中呈味氨基酸可分为鲜味、甜味、苦味及无味氨基酸。研究表明酱油的鲜味主要由鲜味氨基酸谷氨酸、天冬氨酸和一些甜味氨基酸贡献。如

图 1 所示, 黄豆酱油鲜味氨基酸总量 (9.37%) 显著高于黑豆酱油 (5.66%)。甜味氨基酸包括丝氨酸、甘氨酸、脯氨酸、赖氨酸、苏氨酸及丙氨酸, 两种酱油总量无显著性差异 ($p>0.05$)。因此黄豆酱油鲜味相对更重。苦味氨基酸有 8 种, 分别占总氨基酸含量 43.04%

(黄豆酱油) 及 41.89% (黑豆酱油), 虽然其含量远高于鲜味、甜味氨基酸, 但苦味呈味效果受氯化钠、糖、酸的抑制^[20,21]及酱油中鲜味肽、鲜味协同物质影响^[22,23], 两种酱油主导滋味是鲜味、咸味。

表 2 两种酱油基本营养成分的比较

Table 2 Comparison of basic nutritional content in two kinds of soy sauces

	总氮/(g/100 mL)	氨基酸氮/(g/100 mL)	还原糖/(g/100 mL)	总酸/(g/100 mL)
黄豆酱油	1.41±0.07 ^a	0.91±0.04 ^a	2.10±0.12 ^a	1.42±0.09 ^a
黑豆酱油	1.56±0.03 ^b	1.07±0.06 ^b	5.55±0.12 ^b	1.75±0.29 ^b
	氯化钠/%	pH 值	固形物含量/%	
黄豆酱油	15.81±0.91 ^a	5.03±0.55 ^b	31.2±2.01 ^a	
黑豆酱油	15.55±1.27 ^a	4.63±0.30 ^a	34.7±0.92 ^b	

注: 结果为平均值±标准差 (n=3); 同列小写字母不同表示同一列数据的差异性显著 ($p<0.05$)。

2.3 发酵过程中黄豆酱油、黑豆酱油总多酚和美拉德产物的变化

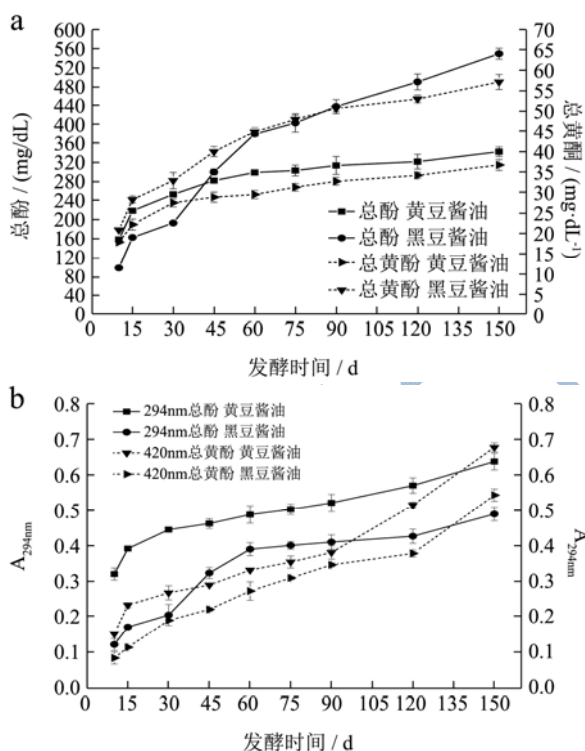


图 2 发酵过程中两种酱油总多酚与总黄酮 (a)、美拉德产物 (b) 的变化

Fig.2 Changes of total phenolics, total flavonoids(a) and Maillard products (b) in two kinds of soy sauces during fermentation

多酚类化合物由于酚羟基的作用, 具有较强的抗氧化能力以及清除自由基的能力, 是高效天然抗氧化剂^[24,25], 主要包括酚酸、黄酮和单宁类物质等^[26]。Xu^[3]和 Takahashi^[27]等研究表明, 黑豆和黄豆中含有大量的

多酚类化合物, 并具有较高的抗氧化能力。如图 2 (a) 所示, 黑豆酱油总酚、总黄酮随发酵时间的增长呈持续上升的趋势, 黄豆酱油呈先上升后平缓的趋势。发酵 150 d, 黑豆酱油总酚、总黄酮含量显著高于黄豆酱油 ($p<0.05$), 其中黑豆酱油总酚达 550.75 mg/dL, 为黄豆酱油的 1.6 倍; 黑豆酱油总黄酮达 57.32 mg/dL, 为黄豆酱油的 1.5 倍。应是黑豆原料总酚、总黄酮含量比黄豆高, 或是黑豆淀粉酶活高有利于原料中多酚类物质的释放^[28]。由于酱油中酪氨酸含酚羟基, 福林酚法测得的酱油总酚含量稍有偏高。

美拉德反应能赋予酱油独特的风味和色泽, 有研究表明美拉德后期产物类黑精等美拉德产物是酱油抗氧化物质重要组分^[9]。分别以 294 nm 和 420 nm 处吸光值表征美拉德反应中间产物和后期产物的生成量, 探究美拉德反应产物变化规律。如图 2 (b) 所示, 294 nm 和 420 nm 吸光值随发酵时间延长明显增加, 说明美拉德中间产物不断形成, 并进一步生产美拉德后期阶段产物。整个发酵过程, 黑豆酱油 A_{294nm}、A_{420nm} 值均比黄豆酱油低, 说明黑豆酱油中大量积累的还原糖及氨基化合物转化为美拉德产物效率比黄豆酱油低。

2.4 黄豆酱油和黑豆酱油发酵过程中抗氧化活性的比较及相关性分析

采用 DPPH 法、还原力、ABTS 及 ORAC 法来评价酱油的抗氧化活性, 发现酱油的抗氧化活性随发酵时间延长显著上升 ($p<0.05$), 主要是因为原料中酚类、多肽类等活性物质不断溶出, 美拉德产物、呋喃酮等活性物质也不断生成^[29]。如图 3 所示, 发酵前期 (30 d) 黄豆酱油抗氧化活性显著高于黑豆酱油, 应是发酵

前期黄豆酱油总酚含量及美拉德产物含量更高 ($p<0.05$)。发酵 60 d, 黑豆酱油抗氧化活性已赶超黄豆酱油, 其还原力、TEAC 及 ORAC 值随发酵时间延长显著高于黄豆酱油 ($p<0.05$), 清除 DPPH 自由基能力两者相差不大, 并无显著性差异。总体来看, 发酵完全的黑豆酱油抗氧化活性比黄豆酱油强。

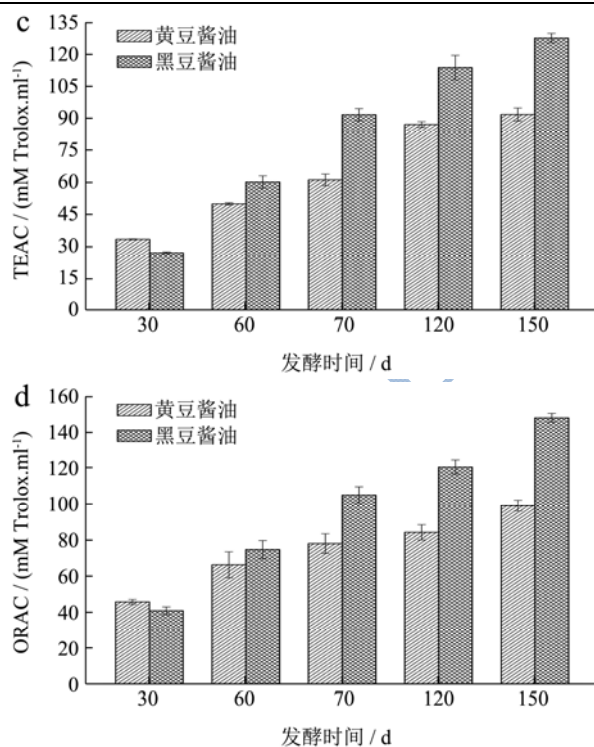
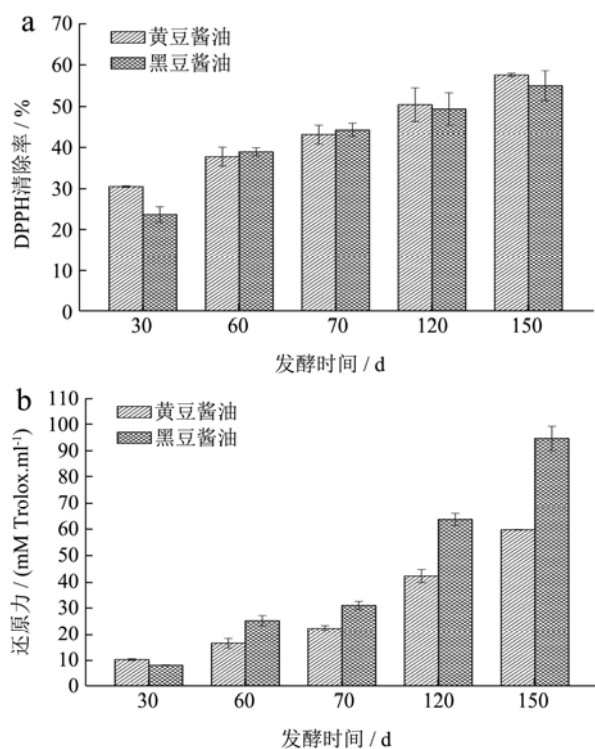


图3 发酵过程中两种酱油 DPPH 清除率 (a)、还原力 (b)、TEAC 值 (c)、ORAC 值 (d) 的比较

Fig.3 Comparison of DPPH scavenging capacity (a), reducing power (b), TEAC value (c) and ORAC value (d) in two kinds of soy sauces during fermentation

表3 成品酱油活性物质与抗氧化活性之间的相关性

Table 3 Correlation among the active components in soy sauce and their antioxidant activity

	总酚	总黄酮	420 nm (类黑精)	DPPH	还原力	TEAC	ORAC
总酚	1	0.918**	-0.985**	-0.69	0.983**	0.994**	0.968**
总黄酮		1	-0.93**	-0.506	0.975**	0.873*	0.969**
420 nm (类黑精)			1	0.757	-0.977**	-0.981**	-0.987**
DPPH				1	-0.607	-0.751	-0.696
还原力					1	0.957**	0.986**
TEAC						1	0.949**
ORAC							1

注: *显著相关 ($p<0.05$); **极显著相关 ($p<0.01$)。

酱油具有一定的抗氧化性, 主要来源于蛋白质降解产生的小分子活性肽、类黑精、酚类物质及呋喃酮类物质等^[29], 因此选取总酚、总黄酮及美拉德产物作为酱油抗氧化活性成分进行分析。

对两种成品酱油活性物质与抗氧化活性进行相关性分析, 结果如表 3 所示, 还原力、TEAC 及 ORAC 值分别与总酚、总黄酮含量呈极显著性正相关 ($p<0.01, r>0.8$), 因此可推断总酚、总黄酮是赋予酱油抗氧化能力的重要因子。还原力、TEAC、ORAC

值与类黑精呈极显著性负相关 ($p<0.01, r<-0.9$), 而 DPPH 清除率与类黑精存在一定正相关性 ($r=0.757$), 说明类黑精也是影响酱油抗氧化能力的因子, 因此需采取多种抗氧化方法来评价, 而不能通过单一的抗氧化方法来评价酱油的抗氧化活性。这主要因为不同抗氧化评价方法的原理不同, 不同的抗氧化活性物质对不同的抗氧化能力评价方法的响应因而不同^[30]。

2.5 黄豆酱油与黑豆酱油风味物质的比较

表4 两种酱油主要挥发性成分的比较

Table 4 Comparison of main volatile components in two kinds of soy sauces

分类	编号	保留时间/min	化合物	黄豆酱油	黑豆酱油
				峰面积 (AU×10 ⁶)	峰面积 (AU×10 ⁶)
酯类	1	4.76	甲酸乙酯	2.6	2
	2	4.89	乙酸甲酯	3.2	12.4
	3	6.15	乙酸乙酯	356.8	485.3
	4	9.32	丁酸甲酯	-	1.4
	5	12.52	丁酸乙酯	-	1.3
	6	14.72	2-甲基-丁酸乙酯	1.5	-
	7	15.88	乙酸-1-乙基丙酯	4.9	-
	8	21.43	原甲酸-三异丁基酯	-	17.3
	9	23.77	2-羟基-4-甲基-戊酸乙酯	4.1	1.9
	10	24.25	苯甲酸辛酯	1.8	-
	11	28.66	苯甲酸乙酯	3.4	-
	12	28.81	丁二酸二乙酯	7.4	-
	13	31.31	苯乙酸乙酯	12	5.9
	14	32.78	壬酸乙酯	4.4	-
	15	33.56	螺内脂	120.2	86.2
	16	35.43	癸酸乙酯	0.8	-
	17	36.12	十六酸乙酯	-	7.8
	18	39.63	月桂酸乙酯	0.9	-
	19	39.86	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	4.1	-
	20	43.19	十四酸乙酯	1.3	-
	21	44.97	邻苯二甲酸二丁酯	1.4	-
醇类	22	4.31	乙醇	1042.1	616.5
	23	6.43	2-甲基丙醇	16.4	-
	24	9.67	3-甲基-丁烯醇	-	0.1
	25	9.76	3-甲基丁醇	56.1	11.8
	26	9.9	2-甲基丁醇	48	6.3
	27	11.48	3-甲基-2-丁烯醇	-	0.7
	28	11.65	2,3-丁二醇	16.7	-
	29	12.07	(R,R)-2,3-丁二醇	17.8	-
	30	14.94	糠醇	28.4	66.5
	31	15.56	己醇	-	2.9
	32	20.44	3-甲硫基丙醇	22.9	29.8
	33	22.55	2-乙基-己醇	4.7	7.3
	34	22.86	苯甲醇	2.9	-
	35	25.46	2-壬醇	11.9	-
	36	26.2	苯乙醇	464.5	-
	37	26.79	2-(硫代异丁基)乙醇	1.7	-
	38	31.65	乙基苯乙醇	29.7	-
	39	40.42	雪松醇	1.2	-

转下页

接上页					
	40	4.07	乙醛	25.1	-
	41	5.22	2-甲基-丙醛	5.3	27.7
	42	7.1	3-甲基-丁醛	33.6	-
	43	7.37	2-甲基-丁醛	25.1	148.3
	44	10.11	2-甲基-2-丁烯醛	2.3	15.1
醛类	45	11.82	3-甲基-2-丁烯醛	-	2.4
	46	16.99	庚醛	-	1.9
	47	17.21	3-甲硫基丙醛	16.3	57.4
	48	19.72	苯甲醛	39.1	80.5
	49	23.28	苯乙醛	103.2	100.9
	51	24.87	4-甲基-苯甲醛	-	26.8
	51	25.64	壬醛	-	3.1
	52	30.46	2,4-二甲基-苯甲醛	5.5	-
	53	32.3	2-苯基巴豆醛	-	3.4
	54	37.81	5-甲基-2-苯基-2-己烯醛	-	1.3
	55	4.56	丙酮	13.9	46.2
	56	5.81	2-丁酮	-	28.9
	57	8.09	2-戊酮	4.6	5
	58	8.3	2,3-戊二酮	-	4.8
	59	8.85	羟基丁酮	-	2.3
酮类	60	16.51	2-庚酮	32.9	-
	61	19.1	2,6-二甲基-3-庚酮	-	9.4
	62	19.39	6-甲基-2-庚酮	7	-
	63	20.94	4,6-二甲基-2-庚酮	-	7.4
	64	23.63	2-壬酮	-	3.3
	65	24.24	苯乙酮	-	12
	66	34.17	3,4,4-三甲基-2-环戊烯酮	-	2.4
	67	8.74	2,5-二甲基-咪喃	2.2	1.2
	68	12.57	2-氟基咪喃	-	1.8
咪喃(酮)	69	26.99	4-羟基-2-乙基-5-甲基-3(2H)-咪喃酮(HEMF-1)	28.3	-
	70	27.3	4-羟基-5-乙基-2-甲基-3(2H)-咪喃酮(HEMF-2)	50.8	-
	71	29.49	2-甲基-3-甲氧基-4(H)咪喃酮	1.3	1.6
	72	30.67	3-苯基咪喃	2.5	2.7
	73	34.79	5-戊基-2(3H)-咪喃酮	4.2	2.2
	74	13.6	2-甲基吡嗪	4.4	-
	75	17.53	2,6-二甲基吡嗪	21	-
吡嗪(5)	76	21.32	2-乙基-6-甲基吡嗪	9.4	-
	77	22.09	2-乙基-6-甲基吡嗪	6.8	1.7
	78	24.71	2,6-二乙基吡嗪	4.7	-
	79	25.17	愈创木酚	10.4	7.1
	80	26.1	麦芽酚	-	30.7
酚类	81	28.36	4-乙基苯酚	47.2	12.7
	82	32.47	4-乙基愈创木酚	4.2	26.6

转下页

接上页					
	83	38.15	2,4-二叔丁基苯酚	7.3	2.4
酸类	84	5.88	乙酸	142.6	11
	85	10.64	2-甲基-丙酸	-	3.7
	86	14.29	3-甲基-丁酸	3.6	15.7
	87	15.87	4-庚酮乙酸	-	3.3
其它物质	88	6.32	2-乙基-2-甲基丙烷	-	3.5
	89	11.07	甲苯	-	4.4
	90	14.29	2,4-二甲基-2-庚烯	-	8.7
	91	15.26	1,3-二甲苯	-	2.7
	92	16.6	苯乙烯	-	14.8
	93	17.57	2,5-二甲基嘧啶	-	7.4
	94	20.07	3-甲基-丁基羟胺	-	6.2
	95	23.94	乙酰基吡咯	13.8	-
	96	25.16	十一烷	-	5.5
	97	31.66	1,3-二叔丁基苯	-	4.7
	98	37.93	苯基十一烷	2	-

注：“-”表示未检出。

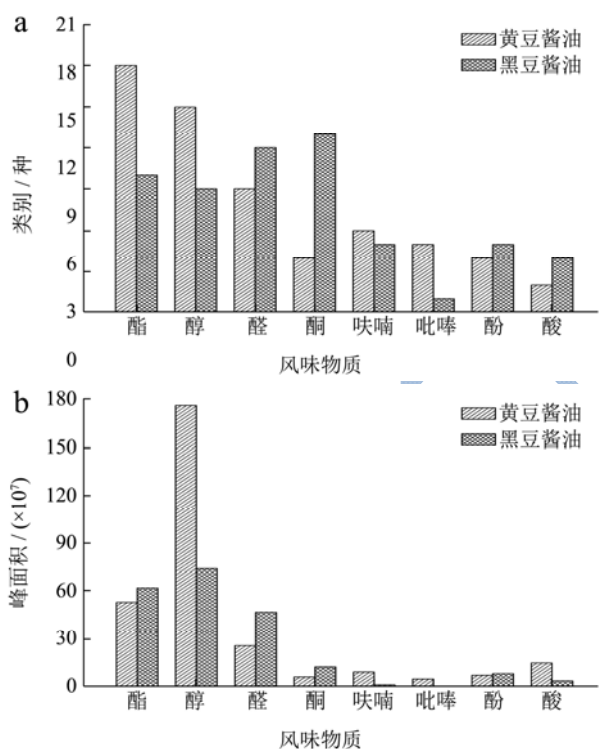


图4 两种酱油风味物质种类 (a) 和总峰面积 (b) 的对比
Fig.4 Comparison of types (a) and total peak area (b) of flavor compounds in two kinds of soy sauces

根据表4及图4可知,相同发酵工艺条件下,不同原料酿造的酱油风味物质种类及总峰面积差异显著。黄豆酱油、黑豆酱油的总风味物质种类分别有63种、59种;总峰面积分别为 297.6×10^7 、 213.6×10^7 。两种酱油酯、醇、醛种类及含量相对最多,推断酯类、醇类及醛类是酱油中的主要挥发性成分。其中黄豆酱

油醇香突出,黑豆酱油醇香、酯香等香味均衡。呋喃、吡嗪类物质含量虽不高,但风味阈值低,对酱油风味影响大^[31],是酱油中特有的香气成分^[32]。

黄豆酱油与黑豆酱油醇类物质含量最高,分别占挥发性物质总量的59.30%、34.73%,主要来源于酵母转化醛类物质、氨基酸与糖类物质的有氧反应^[33],是形成酱油香气成分的重要来源^[31]。其中乙醇(59.04%)、苯乙醇(26.32%)是黄豆酱油中含量最高醇类物质;乙醇(83.09%)、糠醇(8.96%)是黑豆酱油中含量最高醇类物质。只在黄豆酱油中检测到的苯乙醇是酱油中的关键风味物质^[34],能够赋予花香、甜香。具有刺激性酸香的乙酸是酱油香气的主成分之一,对酱油的风味起到积极作用^[13],黄豆酱油乙酸显著高于黑豆酱油($p < 0.05$),促使黄豆酱油味感协调,风味丰满。通过比较分析两种酱油发现,黄豆酱油呋喃及吡嗪类物质种类、含量更多,因此能够获得较多焙烤或坚果等风味^[35]。另外,HEMF作为酱油焦糖香的主要来源,只在黄豆酱油中检测到。

此外,酯类、醛酮类及酚类物质是酱油香气组成的重要成分,通过分析发现黑豆酱油含量均高于黄豆酱油。酯类物质广泛存在于发酵食品中,其挥发性高、阈值较低^[36],具有果香并使酱油呈浓郁的酯香,能起到掩盖不良风味或减淡咸味的作用^[37]。

研究表明^[38],醛类物质可由游离氨基酸脱氨、去羧基反应或美拉德反应生成,黑豆酱油氨基酸底物高可促进醛类物质的生成量。愈创木酚、4-乙基愈创木酚等能为酱油带来烟熏味或熏烤味,调节咸味、增强

酱油圆润感,虽然在酱油中含量很低,但通常被认为是酱油中较为重要的香气组分^[39]。值得注意的是,麦芽酚是一种风味活性物质,伴有浓郁的果香及焦糖风味,只在黑豆酱油中检测到。

3 结论

采用高盐稀态酱油制备法,以黄豆、黑豆为原料来制备黄豆酱油、黑豆酱油。测定酱油基本营养成分,发现黑豆酱油的总氮、氨基态氮、还原糖、总酸、总固形物含量均显著高于黄豆酱油 ($p<0.05$)。此外,黄豆酱油总氨基酸及鲜味氨基酸稍高于黑豆酱油。经4种抗氧化评价方法分析,发现发酵1个月以上成品黑豆酱油抗氧化活性比黄豆酱油强。通过相关性分析,表明总酚、总黄酮及类黑精是赋予酱油抗氧化能力的影响因子。采用HS-SPME-GC-MS技术分析酱油风味物质,发现两种酱油风味物质种类及含量差异显著 ($p<0.05$),其中黄豆酱油主要挥发性化合物为醇类59.30%、酯类17.83%、醛酮类10.54%、酸类4.91%、呋喃类3.00%,黑豆酱油主要挥发性化合物为醇类34.73%、酯类28.67%、醛酮类27.64%、酸类3.72%。综合分析表明黄豆酱油醇香突出,黑豆酱油主要挥发性成分较均衡,风味协调。

参考文献

- [1] 周三,关崎春雄,岳旺,等.野生大豆、黑豆和大豆的异黄酮类成分比较[J].大豆科学,2008,27(2):315-319
ZHOU San, GUANQI Chun-xiong, YUE Wang, et al. Comparison of isoflavones among wild, black and yellow soybean [J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 315-319
- [2] 罗诗茹,蔡玉莲,朱冠琳,等.黑豆、黄豆、红豆、绿豆中的蛋白质含量比较[J].科技视界,2014,20:69
LUO Shi-ru, CAI Yu-lian, ZHU Guan-lin, et al. Comparison of protein content in black beans, soyabean, red bean and mung bean [J]. Science and Technology Vision, 2014, 20: 69
- [3] Xu B, Chang S K C. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(18): 8365-8673
- [4] 何诚诚.豌豆蛋白造粒制曲和用于酱油酿造性能的研究[D].广州:华南农业大学,2012
HE Cheng-cheng. Study on the pea protein pelletizing and its application to soy sauce brewing [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2012
- [5] 侯竹美,王凤舞.黄豆豉和黑豆豉在发酵过程中的抗氧化性[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2016,33(1):45-48
HOU Zhu-mei, WANG Feng-wu. The antioxidant properties of fermented soy bean and black bean [J]. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science Edition), 2016, 33(1): 45-48
- [6] 梁姚顺,吕东津,朱明军,等.黑豆保健酱油高盐稀态工艺酿造试验[J].中国调味品,2005,8:20-22
LIANG Yao-shun, LV Dong-jin, ZHU Ming-jun, et al. High salt liquid brewing technology of black bean soy sauce [J]. Chinese Condiment, 2005, 8: 20-22
- [7] Xu B J, Chang S K C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(2): S159
- [8] Zhong Z. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(10): 3010
- [9] 沈军卫,樊金玲,朱文学,等.模式美拉德反应产物的抗氧化性与反应进程的关系研究[J].食品科技,2010,3:253-257
SHEN Jun-wei, FAN Jin-ling, ZHU Wen-xue, et al. Antioxidant activity of maillard reaction products as related to the processing of maillard reaction [J]. Food Science, 2010, 3: 253-257
- [10] 李莹,刘敏,崔春,等.酱油抗氧化能力评价及聚类分析[J].食品与发酵工业,2008,34(1):14-19
LI Ying, LIU Min, CUI Chun, et al. Antioxidant activity assessment and cluster analysis of retail soy sauce products [J]. Food and Fermentation Industry, 2008, 34(1): 14-19
- [11] 李丹,李莹,赵谋明.酱油生产中的头油、二油和三油组分分析及抗氧化活性评价的研究[J].中国调味品,2009,9:64-68
LI Dan, LI Ying, ZHAO Mou-ming. Study on analyzing the component and evaluating on the antioxidative activity of the first, secondary and third filtrate in brewing of soy sauce [J]. China Condiment, 2009, 9: 64-68
- [12] 曹亚兰,赵谋明,郑赛晶,等.以ORAC法为评价指标优化制备大豆抗氧化肽[J].食品与发酵工业,2011,37(10):73-77
CAO YA-lan, ZHAO Mou-ming, ZHENG Sai-jing, et al. Optimization of preparation of soybean antioxidant peptides by using ORAC as evaluation index [J]. Food and Fermentation Industry, 2011, 37(10): 73-77
- [13] 赵谋明,蔡宇,冯云子,等.HS-SPME-GC-MS/O联用分析酱油中的香气活性化合物[J].现代食品科技,2014,11:204-212
ZHAO Mou-ming, CAI Yu, FENG Yun-zi, et al.

- Identification of aroma-active compounds in soy sauce by HS-SPME-GC-MS/O [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 11: 204-212
- [14] Feng Y, Cai Y, Su G, 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(145C): 126-134
- [15] 邹阳,崔春,赵谋明.不同原料配比对酱油成曲抗氧化活性的影响[J].*食品与发酵工业*,2010,7:1-5
ZHOU Yang, CUI Chun, ZHAO Mou-ming. Effect of different raw material ratio on antioxidant activity of soy sauce Koji [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2010, 7: 1-5
- [16] 王猛.黑豆酱油的初步研发[D].天津:天津科技大学,2013
WANG Meng. Preliminary research and development of black soy sauce [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2013
- [17] 张海.大豆酱发酵过程中乳酸菌和酵母菌的作用[J].*中国调味品*,1993,6:5-8
ZHANG Hai. Effect of lactic acid bacteria and yeast on soybean paste fermentation [J]. *Chinese Condiment*, 1993, 6: 5-8
- [18] Hiromichi K, Mee R R, Nishimura T. Role of Free Amino Acids and Peptides in Food Taste [M]. *Flavor chemistry trends and developments*, Washington, DC: American Chemical Society, 1989
- [19] Schoenberger C, Krottenthaler M, Back W. Sensory and analytical characterization of nonvolatile taste-active compounds in bottom-fermented beers [J]. *Master Brewers Association of the Americas*, 2002, 39: 210-217
- [20] Breslin P a S. Interactions among salty, sour and bitter compounds [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 1996, 7(12): 390-399
- [21] Rsj K, Pas B. An overview of binary taste-taste interactions [J]. *Food Quality and Preference*, 2003, 14(2): 111-124
- [22] Ogasawara M, Yamada Y, Egi M. Taste enhancer from the long-term ripening of miso (soybean paste) [J]. *Food Chemistry*, 2006, 99(4): 736-741
- [23] Ogasawara M, Katsumata T, Egi M. Taste properties of Maillard-reaction products prepared from 1000 to 5000 Da peptide [J]. *Food Chemistry*, 2006, 99(3): 600-604
- [24] Tabart J, Kevers C, Pincemail J, et al. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests [J]. *Food Chemistry*, 2009, 113(4): 1226-1233
- [25] Liu R H. Health Benefits of Whole Grain Phytochemicals [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2010, 50(3): 193-208
- [26] 朱怡霖,张海生,杨淑芳,等.18种大豆多酚含量组成及抗氧化活性分析[J].*食品与发酵工业*,2017,43(1):241-245
ZHU Yi-lin, ZHANG Hai-sheng, YANG Shu-fang, et al. Comparisons of phenolic composition and antioxidant activity in 18 different varieties of soybean [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2017, 43(1): 241-245
- [27] Rie T, Reiko O, Chikako K, et al. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(11): 4578
- [28] Lertsiri S, Maungma R, Assavanig A, et al. Roles of the maillard reaction in browning during moromi process of thai soy sauce [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2001, 25(2): 149-162
- [29] 李莹.传统发酵酱油生理活性成分的分离鉴定及作用机制研究[D].广州:华南理工大学,2011
LI Ying. Isolation, identification and mechanistic action of bioactive compounds in traditional fermented soy sauce [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011
- [30] Zhou K, Yu L. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2004, 37(7): 717-721
- [31] 包启安.酱油科学与酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2011
BAO Qi-an. *Soy Sauce Science and Brewing Technology* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011
- [32] 李学伟,朱新贵,梁姚顺,等.全大豆和脱脂大豆酿造酱油的差异化研究[J].*中国酿造*,2015,34(1):22-26
LI Xue-wei, ZHU Xin-gui, LIANG Yao-shun, et al. Study on the difference of soy sauce made from soybean and skimmed soybean [J]. *Chinese Brewing*, 2015, 34(1): 22-26
- [33] Shu Y S, Wen G J, Yu P Z. Profile of volatile compounds in 12 Chinese soy sauces produced by a high-salt-diluted state fermentation [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2010, 116(3): 316-328
- [34] Lee S M, Seo B C, Kim Y S. Volatile compounds in fermented and acid-hydrolyzed soy sauces [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 71(3): C146-C156
- [35] 赵国忠,姚云平,曹小红,等.2种米曲霉发酵酱油风味物质比较[J].*食品科学*,2014,35(24):249-253
ZHAO Guo-zhong, YAO Yun-ping, CAO Xiao-hong, et al. Comparison of flavor compounds in soy sauces fermented by two aspergillus oryzae strains [J]. *Food Science*, 2014, 35(24): 249-253

- [36] Zhao J, Dai X, Liu X, et al. Comparison of aroma compounds in naturally fermented and inoculated Chinese soybean pastes by GC-MS and GC-Olfactometry analysis [J]. Food Control, 2011, 22(6): 1008-1013
- [37] Pmg C, Bosset J O. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry [J]. International Dairy Journal, 2002, 12(12): 959-984
- [38] And P S, Schieberle P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(15): 6262-6269
- [39] Zhang Y F, Tao W Y. Flavor and taste compounds analysis in Chinese solid fermented soy sauce [J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(4): 673-681

现代食品科技