

## 5 种不同酱油抗氧化活性的对比分析

冯拓<sup>1</sup>, 单培<sup>1</sup>, 盛明健<sup>2</sup>, 王泽建<sup>3</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. 湖州老恒和酿造有限公司, 浙江湖州 313000)

(3. 华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237)

**摘要:** 该研究对比分析了 1 种黑豆酱油和 4 种黄豆酱油中总酚、总黄酮、色深物质、氨基酸态氮、无盐固形物、还原糖、总糖、总酸和游离氨基酸等成分的含量及两类酱油的 DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力、还原力和金属离子螯合能力。此外, 采用相关性分析、聚类分析和主成分分析法分析了 5 种酱油的抗氧化活性成分与抗氧化活性之间的内在联系。结果表明, 除氨基酸态氮、无盐固形物、游离氨基酸外, 黑豆酱油的其他 6 种活性成分含量均显著高于其余 4 种黄豆酱油 ( $p < 0.05$ ); 除金属离子螯合能力外, 黑豆酱油的其他 3 种抗氧化活性均显著高于其余 4 种黄豆酱油 ( $p < 0.05$ ); 相关性分析结果表明酱油中总酚、总黄酮和色深物质是造成 5 种酱油抗氧化活性存在显著差异的主要原因, 聚类分析结果和主成分分析结果均表明黑豆酱油的综合品质高于其余 4 种黄豆酱油。因此黑豆酱油的综合品质显著高于其余 4 种黄豆酱油。上述研究结果可为黑豆酱油抗氧化活性的深入研究和消费者选择合适的酱油提供数据支撑和科学依据。

**关键词:** 酱油; 抗氧化活性; 活性成分; 聚类分析; 主成分分析

文章编号: 1673-9078(2022)03-159-167

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0721

## Comparative Analysis of Antioxidant Activity of Five Kinds of Soy Sauces

FENG Tuo<sup>1</sup>, SHAN Pei<sup>1</sup>, SHENG Mingjian<sup>2</sup>, WANG Zejian<sup>3</sup>, WANG Bo<sup>1</sup>, ZHANG Zhihong<sup>1</sup>, GAO Xianli<sup>1\*</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2. Honworld Group Limited, Huzhou 313000, China) (3. State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** Total phenol, total flavonoid, dark color substance, amino acid nitrogen, salt-free solid, reducing sugar, total sugar, total acid, and free amino acid contents in a black soybean sauce and four other kinds of soy sauces were compared. In addition, DPPH and ABTS radical scavenging activity, reducing power, and metal ion-chelating activity of the selected soy sauces were comparatively analyzed. Correlation, cluster, and principal component analyses were performed to elucidate the internal relationship between antioxidant substances and antioxidant activity in the five soy sauces. The contents of six active ingredients, except for amino acid nitrogen, salt-free solid, and free amino acids, were significantly higher in the black soybean sauce than in the other four kinds of soy sauce ( $p < 0.05$ ). Furthermore, except for metal ion chelation, the antioxidant activity was significantly higher in the black soybean sauce than in the other four soy sauces ( $p < 0.05$ ). Correlation analysis showed that total phenols, total flavonoids, and dark color substances were the main components responsible for the significant difference in antioxidant activity among the five soy sauces. Cluster and principal component analyses indicated that the comprehensive quality of the black soybean sauce was significantly higher than that of the other four kinds of soy sauce. The findings provide supportive data and a scientific basis for further research on the antioxidant activity of black soybean sauce and will help consumers select an appropriate soy sauce.

**Key words:** soy sauce; antioxidant activities; active ingredients; cluster analysis; principal component analysis

引文格式:

冯拓, 单培, 盛明健, 等. 5 种不同酱油抗氧化活性的对比分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3): 159-167, +313

FENG Tuo, SHAN Pei, SHENG Mingjian, et al. Comparative analysis of antioxidant activity of five kinds of soy sauces [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 159-167, +313

收稿日期: 2021-07-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32071471); 阳西市科技创新战略专项 (SDZX2021030); 中山市科技发展专项 (2018A1007)

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

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

酱油是以大豆/豆粕、小麦/面粉、麸皮、食盐等为原料,原料经预处理、制曲、酱醪发酵、淋油及加热配制等程序酿制而成的液态调味品<sup>[1-3]</sup>。酱油特有的香气、滋味和色泽不仅能够改善菜肴的风味,还能赋予菜肴特有的色泽<sup>[3-5]</sup>,经过发酵产生的小分子肽等物质则更有利于人体的吸收与代谢<sup>[6-9]</sup>。大量研究表明,酱油具有抗癌作用<sup>[10-13]</sup>、抗氧化活性<sup>[3,8,14]</sup>、抗过敏活性和低致敏性<sup>[15]</sup>和抗菌活性<sup>[16]</sup>等。因此,酱油是一种具有保健活性的重要调味品。

黑豆和黄豆同属豆科蝶形花亚科大豆属,都含有丰富的蛋白质、脂肪、维生素、矿物质、膳食纤维等营养物质,不同的是黄豆中含有少量的胡萝卜素,而黑豆中含有大量黑色素等花色苷类物质<sup>[11-13]</sup>。黄豆中粗蛋白的含量约为 34%~40%,而黑豆蛋白含量可达 49.8%,明显高于黄豆,黑豆中所含的人体必须氨基酸更加均衡,是优质的膳食蛋白质<sup>[13]</sup>。黑豆中脂肪含量约 16%,不饱和脂肪酸含量 70%以上<sup>[11,13]</sup>,且含有一定量黄豆所不具备的磷脂,有助于降低血液中胆固醇含量<sup>[11]</sup>。黑豆中的铁和硒含量也高于黄豆<sup>[11,12]</sup>。因此,相比于黄豆,黑豆的营养价值更高。此外,《本草纲目》记载“黑豆有补肾养血、清热解毒、活血化痰、乌发明目、延年益寿功效”,表明黑豆还具备药用功效。

农学著作《齐民要术》(公元 420-589 年)中记载中国最早的酱油是以黑豆为主要原料制成的<sup>[17]</sup>。目前,在中国、日本、韩国和东南亚国家,酱油主要是以大豆或脱脂豆粕为主要原料生产的,根据生产工艺、含盐量、发酵时间的不同可分成不同的种类<sup>[17]</sup>。近年来,随着人们对黑豆营养和功能活性的深入认识及健康意识和生活水平的提高,以黑豆为主要原料生产的黑豆酱油已成为高端酱油市场的新宠。与黄豆酱油相比,国内外对黑豆酱油的研究和报道较少。最近, Gao 等<sup>[17]</sup>对黑豆酱油关键香气活性化合物进行了分离、鉴定和验证,共从黑豆酱油中鉴定出 41 种关键香气化合物,其中 40 种与黄豆酱油中的关键香气化合物相同,但两种酱油中部分关键香气化合物的含量存在显著差异,这是导致两种酱油香气存在差异的主要原因。前期研究表明黄豆酱油具有显著的清除 DPPH、ABTS 自由基的能力及良好的金属离子螯合力和还原力<sup>[14]</sup>,但有关黑豆酱油抗氧化活性的研究很少见到系统报告。

因此,本研究首先系统分析了黑豆酱油和黄豆酱油的活性成分和抗氧化活性,然后对酱油的活性成分和抗氧化活性进行相关性分析以阐明酱油中抗氧化活性物质与抗氧化活性之间的内在关系,最后采用聚类分析和主成分分析来对 5 种酱油的综合品质进行评

价,以期对酱油抗氧化机制的深入研究和消费者选择合适的酱油提供数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

黑豆酱油、黄豆生抽、黄豆老抽、太油和无盐酱油,均由湖州老恒和酿造有限公司提供,具体样品信息见表 1。

福林酚、三氯乙酸、2,2'-联苯基-1-苦基肼基(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氨-双二胺盐(2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, ABTS)、没食子酸、铁氰化钾、菲咯嗪、芦丁和奎诺二甲基丙烯酸酯(水溶性维生素 E, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Trolox),购自美国 Sigma 公司;其他化学药品为分析纯,购自国药集团有限公司。

表 1 酱油样品信息

Table 1 Information of soy sauce samples

样品编号	样品名称	发酵方法	质量等级	类型	产地
1	黑豆酱油	高盐稀态	一级	生抽	浙江
2	黄豆生抽	高盐稀态	一级	生抽	浙江
3	黄豆老抽	高盐稀态	一级	老抽	浙江
4	太油	高盐稀态	一级	生抽	浙江
5	无盐酱油	高盐稀态	一级	生抽	浙江

### 1.2 仪器与设备

EX223型电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;HWS26型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;电子万用炉,通州实验仪器厂;MD SpectraMax M2型多功能酶标仪, Molecular Devices; pH计, METTLER TOLEDO; 高效液相色谱仪,美国Agilent公司; 78-1型磁力加热搅拌器,常州国华电器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 基本活性成分的测定

##### 1.3.1.1 总酚的测定

参照 Xu 等<sup>[18]</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  $\mu\text{g gallic acid equivalent/mL}$  酱油 ( $\mu\text{g GAE/mL}$  酱油)表示。

##### 1.3.1.2 总黄酮的测定

使用芦丁作为标准品,采用亚硝酸钠-硝酸铝显色

法测定酱油中总黄酮的含量。根据芦丁标准曲线计算酱油中的总黄酮含量,该结果以  $\mu\text{g rutin equivalent/mL}$  酱油 ( $\mu\text{g RE/mL}$  酱油) 表示。

### 1.3.1.3 氨基酸态氮与总酸的测定

氨基酸态氮与总酸的测定方法参照 GB/T 5009.40-2003。

### 1.3.1.4 还原糖的测定

还原糖的测定方法参照 GB/T 5009.7-2003。

### 1.3.1.5 总糖的测定

取一定量的酱油于 250 mL 锥形瓶中,加水 10 mL, 6 mol/L HCl 2 mL, 70 °C 水浴加热 15 min。冷却后加入甲基红指示液 2~3 滴,用 NaOH 溶液(5 mol/L)滴定至红色消失,冷却后备用。其他步骤参照还原糖的测定方法。

### 1.3.1.6 色深物质的测定

根据 Gao 等<sup>[14]</sup>的方法略作修改以测定酱油中色深物质的相对含量,用蒸馏水将酱油样品稀释 100 倍及以上,再用 0.45  $\mu\text{m}$  孔径的微孔过滤器过滤后,于 420 nm 处测定其吸光度  $A_{420\text{nm}}$ ,稀释倍数为 k,以  $A_{420\text{nm}} \times k$  来表示酱油中色深物质的相对含量。

### 1.3.1.7 无盐固形物的测定

无盐固形物的测定方法参照 GB 18186-2000 方法,将酱油样品置于烘箱中,在 105 °C 下烘干至恒重,计算出酱油样品的总固形物含量,将总固形物含量减去酱油中所含的氯化钠含量即为无盐固形物的含量。

### 1.3.1.8 游离氨基酸的测定

根据 Gao 等<sup>[7]</sup>的方法来测定游离氨基酸。将酱油样品用 10 g/100 mL 三氯乙酸等体积稀释,再用 0.45  $\mu\text{m}$  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 $\times$ 150 mm),测定波长为 254 nm,温度为 38 °C,洗脱液流速为 1.0 mL/min,进样量为 10  $\mu\text{L}$ ,用氨基酸标准样品来定量。

## 1.3.2 抗氧化活性的测定

### 1.3.2.1 DPPH 自由基清除能力

在 Brand-Williams 等<sup>[19]</sup>的方法基础上稍加修改用以测定酱油对 DPPH 自由基清除能力。并使用以下公式计算酱油对 DPPH 自由基清除能力:

$$\text{DPPH 自由基清除率} / \% = \frac{A_0 - (A_1 - A_s)}{A_0} \times 100\%$$

式中:

$A_0$ ——仅含 DPPH 的空白溶液的吸光度;

$A_1$ ——含 DPPH 的酱油的吸光度;

$A_s$ ——不含 DPPH 的酱油的吸光度。

### 1.3.2.2 ABTS 自由基清除能力

参照 Lee 等<sup>[20]</sup>的方法略作修改用以测定酱油对 ABTS 自由基清除能力,使用 Trolox 为标准品,该结果以  $\mu\text{mol Trolox equivalent/mL}$  酱油 ( $\mu\text{mol TE/mL}$  酱油) 表示。

### 1.3.2.3 还原力测定

根据 Tchabo 等<sup>[21]</sup>的方法稍加修改用以测定酱油的还原力,使用抗坏血酸为标准品,该结果以  $\mu\text{g ascorbic acid equivalent/mL}$  酱油 ( $\mu\text{g AAE/mL}$  酱油) 表示。

### 1.3.2.4 金属离子螯合能力测定

参照 Zheng 等<sup>[22]</sup>的方法稍加修改用以测定酱油的金属离子螯合能力,使用乙二胺四乙酸(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, EDTA)为标准品,该结果以  $\mu\text{g EDTA equivalent/mL}$  酱油 ( $\mu\text{g EE/mL}$  酱油) 表示。

## 1.4 数据分析

所有实验数据均测定 3 次,以平均值 $\pm$ 标准偏差的形式表示各测定数据。运用 SPSS 18.0 软件(SPSS 公司,美国)进行单因素方差分析、相关性分析(相关系数为 Pearson)、聚类分析(采用的聚类方法为组间联接;度量标准下区间采用的平方 Euclidean 距离)以及主成分分析(采用因子分析)。

## 2 结果与分析

### 2.1 基本活性成分的比较

#### 2.1.1 总酚和总黄酮

总酚分析结果如表 2 所示,各酱油样品的总酚含量范围为 4.69 mg GAE/mL(无盐酱油)~16.23 mg GAE/mL(黑豆酱油),且各样品间均有显著差异( $p < 0.05$ )。张欢欢等<sup>[23]</sup>研究表明经过 150 d 的发酵,黑豆酱油的总酚含量能够达到 550.75 mg/100 mL,黄豆酱油的总酚含量为 344.22 mg/100 mL,两种酱油的总酚含量均低于本研究所测酱油的多酚含量,而 Gao 等<sup>[14]</sup>也测定了发酵酱油中的总酚含量,结果发现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,同样也低于本研究所测酱油的总酚含量,一方面可能因为本研究所选择的是工厂所生产的产品酱油,而张欢欢等<sup>[23]</sup>与 Gao 等<sup>[14]</sup>所用的是在实验室条件下所酿造的酱油,成曲条件、不同的大曲盐水比例以及酿造环境等可能会影响豆类中总酚物质的溶出率,另一方面可能由于本研究所选择的酱油中有更多除酚类化合物外含酚羟基的物质,例如酪氨酸,从而导致采用 Folin-Ciocalteu 法测得的酱油总

酚含量更高<sup>[23]</sup>。

总黄酮分析结果如表 2 所示, 各酱油样品的总黄酮含量范围为 0.31 mg RE/mL (无盐酱油)~1.25 mg RE/mL (黑豆酱油), 除黄豆老抽与黄豆生抽间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。Gao 等<sup>[14]</sup>测定的未经过超声处理与经过超声处理的酱油的总黄酮含量分别为 0.17、0.19 mg rutin/mL, 明显低于本研究所测酱油的总黄酮含量, 而张欢欢等<sup>[23]</sup>测定的黑豆酱油与黄豆酱油的总黄酮含量分别为 57.32、38.21 mg/100 mL, 显著高于本研究所测酱油的总黄酮含量, 3 项研究所测酱油的总黄酮含量差异性显著, 造成这一现象的原因在于较长的发酵周期、较高的温度以及光照等因素容易使黄酮类化合物趋于不稳定, 继而降解<sup>[24]</sup>。

### 2.1.2 色深物质

色深物质分析结果如表 2 所示, 各样品的色深物质范围为 33.61 (无盐酱油)~160.68 (黑豆酱油), 除太油与黄豆老抽间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。黑豆酱油的色深物质显著多于其他酱油, 甚至于黄豆老抽酱油, 一方面可能是因为在发酵中后期, 黑豆酱油中含有更多的氨基化合物和羰基化合物, 它们通过羰胺反应生成了更多的棕色、黑色的美拉德反应产物, 使酱油的颜色加深, 另一方面可能在于黑豆含有远高于黄豆的花色苷类物质<sup>[11-13]</sup>, 并且黑豆的主要着色成分是矢车菊素-3-半乳糖苷, 属于黑豆红色素的其中一种 (另外两种分别为矢车菊素-3-葡萄糖苷、飞燕草素-3-葡萄糖苷), 而花色苷作为一类水溶性色素, 能够在一定程度上使酱油的颜色加深<sup>[25,26]</sup>。

### 2.1.3 氨基酸态氮、还原糖、总糖和总酸

氨基酸态氮分析结果如表 2 所示, 各样品的氨基酸态氮范围为 1.23 g/100 mL (黄豆生抽)~1.71 g/100 mL (黑豆酱油), 均高于酿造酱油的特级酱油标准

(0.80 g/100 mL), 除黑豆酱油与太油、黄豆老抽与黄豆生抽间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。还原糖分析结果如表 2 所示, 各样品的还原糖范围为 2.53 g/100 mL (太油)~6.43 g/100 mL (黑豆酱油), 除无盐酱油与黄豆老抽、黄豆生抽与太油间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。总糖分析结果如表 2 所示, 各样品的总糖范围为 3.80 g/100 mL (黄豆生抽)~8.85 g/100 mL (黑豆酱油), 除黄豆老抽与太油间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。总酸分析结果如表 2 所示, 各样品的总酸范围为 0.88 g/100 mL (太油)~2.93 g/100 mL (黑豆酱油), 除黄豆生抽与黄豆老抽间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。

吴星茹等<sup>[27]</sup>对其所挑选的 26 种老抽酱油样品进行了各种理化指标的测定, 结果发现各样品的氨基酸态氮含量范围为 0.28~1.00 g/100 mL, 还原糖含量范围为 2.20~9.64 g/100 mL, 总酸含量范围为 0.78~1.80 g/100 mL, 可以很明显发现黑豆酱油在氨基酸态氮、还原糖和总酸等基本活性成分方面均优于其他酱油样品, 根据张欢欢等<sup>[23]</sup>的研究结果发现, 在制曲阶段, 相同条件下黑豆成曲中的中性蛋白酶活约为黄豆成曲的 1.28 倍, 淀粉酶活约为黄豆成曲的 1.11 倍, 更高的蛋白酶活及淀粉酶活更有利于大分子蛋白质和淀粉向小分子肽、氨基酸、寡糖、单糖等小分子物质转化, 另外, 黑豆中更多的蛋白质和淀粉为各种蛋白酶和淀粉酶提供更多的作用底物, 从而使黑豆酱油中氨基酸态氮、还原糖和总糖含量显著高于其他以黄豆为原料酿造的酱油。另外, 黑豆酱油的总酸含量显著高于其他酱油样品, 可能原因是在发酵中后期, 黑豆酱油中有机酸类物质的生成速度是要快于其转化为醇等其他物质的速度。

### 2.1.4 无盐固形物

表 2 5 种酱油活性成分的比较

Table 2 Comparison of active ingredients in five kinds of soy sauces

活性成分	黑豆酱油	黄豆生抽	黄豆老抽	太油	无盐酱油
总酚/(mg GAE/mL)	16.23±0.47 <sup>a</sup>	6.13±0.16 <sup>d</sup>	6.82±0.13 <sup>c</sup>	8.15±0.24 <sup>b</sup>	4.69±0.12 <sup>e</sup>
总黄酮/(mg RE/mL)	1.25±0.04 <sup>a</sup>	0.47±0.01 <sup>c</sup>	0.50±0.02 <sup>c</sup>	0.75±0.02 <sup>b</sup>	0.31±0.01 <sup>d</sup>
色深物质(A <sub>420nm</sub> ×k)	160.68±5.13 <sup>a</sup>	49.51±1.50 <sup>c</sup>	90.88±2.70 <sup>b</sup>	93.39±3.65 <sup>b</sup>	33.61±0.97 <sup>d</sup>
氨基酸态氮/(g/100 mL)	1.71±0.08 <sup>a</sup>	1.23±0.05 <sup>c</sup>	1.28±0.03 <sup>c</sup>	1.64±0.04 <sup>a</sup>	1.50±0.07 <sup>b</sup>
无盐固形物/(g/100 mL)	29.11±1.40 <sup>a</sup>	26.44±1.01 <sup>b,c</sup>	27.92±0.81 <sup>a,b</sup>	28.66±1.11 <sup>a</sup>	25.06±0.75 <sup>c</sup>
还原糖/(g/100 mL)	6.43±0.28 <sup>a</sup>	2.65±0.07 <sup>c</sup>	3.06±0.11 <sup>b</sup>	2.53±0.08 <sup>c</sup>	3.32±0.14 <sup>b</sup>
总糖/(g/100 mL)	8.85±0.24 <sup>a</sup>	3.80±0.13 <sup>d</sup>	4.45±0.12 <sup>c</sup>	4.28±0.20 <sup>c</sup>	5.43±0.19 <sup>b</sup>
总酸/(g/100 mL)	2.93±0.06 <sup>a</sup>	1.65±0.05 <sup>c</sup>	1.60±0.03 <sup>c</sup>	0.88±0.04 <sup>d</sup>	1.96±0.06 <sup>b</sup>

注: 结果为平均值±标准差 (n=3); 同一行数值上标注不含有相同小写字母表示数据之间存在显著性差异 ( $p<0.05$ )。表 3、4 同。

表 3 5 种酱油游离氨基酸组成的比较

Table 3 Comparison of free amino acid compositions in five kinds of soy sauces

游离氨基酸含量/(mg/mL)	黑豆酱油	黄豆生抽	黄豆老抽	太油	无盐酱油
天冬氨酸	4.84±0.14 <sup>a</sup>	4.40±0.11 <sup>b</sup>	4.01±0.10 <sup>c</sup>	4.80±0.19 <sup>a</sup>	4.44±0.09 <sup>b</sup>
谷氨酸	6.68±0.23 <sup>c</sup>	7.96±0.38 <sup>a</sup>	6.89±0.28 <sup>b,c</sup>	7.23±0.20 <sup>b</sup>	6.12±0.25 <sup>d</sup>
丝氨酸	3.32±0.13 <sup>a</sup>	1.80±0.07 <sup>d</sup>	1.56±0.05 <sup>e</sup>	2.92±0.09 <sup>b</sup>	2.36±0.10 <sup>c</sup>
甘氨酸	3.04±0.10 <sup>b</sup>	2.76±0.13 <sup>c</sup>	2.97±0.15 <sup>b,c</sup>	3.20±0.14 <sup>b</sup>	4.08±0.16 <sup>a</sup>
苏氨酸	2.24±0.11 <sup>a</sup>	1.48±0.03 <sup>d</sup>	1.56±0.05 <sup>c,d</sup>	2.02±0.09 <sup>b</sup>	1.64±0.08 <sup>c</sup>
丙氨酸	2.96±0.06 <sup>b,c</sup>	3.28±0.15 <sup>a</sup>	3.14±0.16 <sup>a,b</sup>	3.30±0.11 <sup>a</sup>	2.76±0.06 <sup>c</sup>
赖氨酸	2.92±0.13 <sup>a</sup>	2.00±0.06 <sup>c</sup>	2.21±0.05 <sup>b</sup>	2.75±0.12 <sup>a</sup>	2.32±0.08 <sup>b</sup>
脯氨酸	4.72±0.22 <sup>a</sup>	3.72±0.09 <sup>b</sup>	3.74±0.15 <sup>b</sup>	4.60±0.19 <sup>a</sup>	4.64±0.21 <sup>a</sup>
组氨酸	1.88±0.06 <sup>a</sup>	0.80±0.02 <sup>d</sup>	0.78±0.02 <sup>d</sup>	1.21±0.05 <sup>b</sup>	1.00±0.03 <sup>c</sup>
精氨酸	3.40±0.16 <sup>a</sup>	1.20±0.02 <sup>d</sup>	1.75±0.08 <sup>c</sup>	2.51±0.06 <sup>b</sup>	1.32±0.03 <sup>d</sup>
酪氨酸	0.92±0.04 <sup>a</sup>	0.48±0.01 <sup>d</sup>	0.60±0.02 <sup>c</sup>	0.71±0.03 <sup>b</sup>	0.44±0.01 <sup>d</sup>
缬氨酸	2.32±0.09 <sup>a,b</sup>	2.08±0.05 <sup>c</sup>	2.19±0.05 <sup>b,c</sup>	2.44±0.11 <sup>a</sup>	2.32±0.10 <sup>a,b</sup>
蛋氨酸	0.73±0.03 <sup>a</sup>	0.60±0.02 <sup>c</sup>	0.61±0.01 <sup>c</sup>	0.70±0.02 <sup>a,b</sup>	0.68±0.01 <sup>b</sup>
苯丙氨酸	2.12±0.11 <sup>a</sup>	1.56±0.04 <sup>c</sup>	1.68±0.06 <sup>c</sup>	1.99±0.05 <sup>a,b</sup>	1.92±0.08 <sup>b</sup>
异亮氨酸	1.96±0.10 <sup>b,c</sup>	1.88±0.08 <sup>c</sup>	1.85±0.06 <sup>c</sup>	2.43±0.12 <sup>a</sup>	2.12±0.10 <sup>b</sup>
亮氨酸	3.64±0.16 <sup>b,c</sup>	3.56±0.07 <sup>c</sup>	3.50±0.17 <sup>c</sup>	3.85±0.15 <sup>a,b</sup>	3.92±0.11 <sup>a</sup>
半胱氨酸	0.08±0.01 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>
色氨酸	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>b</sup>	0.10±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>b</sup>
总计	47.89	39.70	39.19	46.85	42.21

无盐固形物分析结果如表 2 所示, 各样品的无盐固形物范围为 25.06 (无盐酱油)~29.11 g/100 mL (黑豆酱油), 除黑豆酱油, 太油与黄豆老抽、黄豆老抽与黄豆生抽、黄豆生抽与无盐酱油间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。吴星茹等<sup>[27]</sup>测定 26 种酱油样品的可溶性无盐固形物含量范围为 15.16~44.89 g/100 mL, 本研究所测 5 种酱油样品的无盐固形物含量均在其中, 即与吴星茹等<sup>[27]</sup>研究结果不冲突。另外, 无盐固形物主要包括酱油中蛋白质、氨基酸、肽、糖类等基本营养成分, 除去人为加入的添加剂, 无盐固形物含量越高, 酱油的综合品质也就越高, 如表 2 所示, 无盐固形物含量的顺序依次为黑豆酱油>太油>黄豆老抽>黄豆生抽>无盐酱油, 据此大体可以判断出这 5 种酱油的品质顺序依次为黑豆酱油>太油>黄豆老抽>黄豆生抽>无盐酱油。

### 2.1.5 游离氨基酸

5 种酱油游离氨基酸组成如表 3 所示, 黑豆酱油、黄豆生抽、黄豆老抽、太油和无盐酱油中的总游离氨基酸含量分别为 47.89、39.70、39.19、46.85 和 42.21 mg/mL, 黑豆酱油的总游离氨基酸含量高于其他酱油, 原因可能在于制曲阶段黑豆大曲中更高的蛋白酶活<sup>[23]</sup>以及黑豆含有更多可用于蛋白酶作用的底物-蛋白质<sup>[13]</sup>, 使得更多的蛋白质被酶活更高的蛋白酶快速降解

成更多的氨基酸。冯云子等<sup>[28]</sup>研究了日式酱油和中式酱油 (特级酿造酱油味极鲜) 的游离氨基酸组成, 结果显示日式酱油和中式酱油的总游离氨基酸含量分别为 5579.69 mg/100 mL 和 394.54 mg/100 mL, 与本研究的結果有所差异, 可能原因在于尽管这些酱油样品都是采用高盐稀态工艺酿造出来的, 但是不同厂家对于酿造原料 (黄豆/脱脂豆粕、面粉/小麦等) 的选择与要求大体上是不同的, 酿造工艺上的细分之处 (酿造温度、盐水比例、酱丕制作等) 可能也不尽相同。

### 2.2 黑豆酱油和黄豆酱油抗氧化活性的比较

DPPH 自由基清除能力分析结果如表 4 所示, 在所有酱油样品均稀释 1600 倍的情况下, DPPH 自由基的清除能力在 9.23% (无盐酱油)~36.60% (黑豆酱油) 之间, 除黄豆老抽与太油间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。Gao 等<sup>[14]</sup>测定了发酵酱油对 DPPH 自由基的清除能力, 结果发现稀释 100 倍后未经过超声处理与经过超声处理的酱油对 DPPH 自由基的清除能力分别为 63.20%、72.61%, 与本研究结果存在显著差异, 可能原因是在测试过程中对酱油的稀释倍数不同, 但黄豆老抽对 DPPH 自由基的清除能力显著高于黄豆生抽, 这与李莹等<sup>[29]</sup>研究结果相符。

ABTS 自由基清除能力分析结果如表 4 所示, 各酱油样品的 ABTS 自由基清除能力的范围为 98.72  $\mu\text{mol TE/mL}$  (无盐酱油) ~278.87  $\mu\text{mol TE/mL}$  (黑豆酱油), 除黄豆老抽与黄豆生抽间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。李莹等<sup>[29]</sup>测定了 41 种酱油样品的 ABTS 自由基清除能力, 结果发现各酱油样品对 ABTS 自由基清除能力的范围为 102.55~636.76  $\text{mmol trolox/mL}$ , 这与本研究结果存在显著差异, 可能是由于两项研究对于 ABTS 自由基清除能力的计算标准不同, 从而导致最终的结果差异显著。另外, 黄豆老抽与黄豆生抽在 ABTS 自由基清除能力方面没有显著差异, 这与李莹等<sup>[29]</sup>研究结果相符; 黑豆酱油对 ABTS 自由基清除能力显著高于其余黄豆酱油, 这与张欢欢等<sup>[23]</sup>研究结果相符。

还原力分析结果如表 4 所示, 各酱油样品的还原力的范围为 4.39  $\text{mg AAE/mL}$  (无盐酱油) ~12.08  $\text{mg AAE/mL}$  (黑豆酱油), 除黄豆老抽与黄豆生抽、黄豆生抽与无盐酱油等样品间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。黑豆酱油的还原力显著高于其余黄豆酱油, 这与张欢欢等<sup>[23]</sup>研究结果相符。Gao 等<sup>[14]</sup>也研究了超声处理酱油对酱油还原力的影响, 结果表明经过超声处理的酱油还原力显著高于未作超声处理的酱油, 且经过超声处理与未经超声处理的酱油还原力分别为 2783.97、2239.87  $\mu\text{g AAE/mL}$  酱油, 与本研究结果有所差异, 可能原因是所测试的酱油种类不同, 还原力也会有所差异。

金属离子螯合能力分析结果如表 4 所示, 各酱油

样品的金属离子螯合能力的范围为 53.61  $\mu\text{g EE/mL}$  (无盐酱油) ~3433.24  $\mu\text{g EE/mL}$  (太油), 且各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。太油的金属离子螯合能力最强, 约为黑豆酱油的 1.35 倍, 黄豆老抽的 6.12 倍, 黄豆生抽的 12.10 倍, 无盐酱油的 64.04 倍, 这可能要归因于恒和太油特殊的酿造工艺, 太油一般需要经过长达五年时间的精心酿造, 每年将上一年酿造出来的头伏酱油替代盐水加到新一年的酱丕中, 重新酿造, 如此反复四次后方能灌瓶出厂, 长时间的酿造及特殊的工艺使恒和太油富含具有强金属离子螯合能力的物质, 从而使恒和太油的金属离子螯合能力显著高于其他酱油样品。黑豆酱油的金属离子螯合能力仅次于太油, 是黄豆老抽的 4.55 倍, 黄豆生抽的 8.99 倍, 无盐酱油的 47.59 倍, 黑豆酱油能够具备如此优异的金属离子螯合能力可能要归因于其含有远高于黄豆的花色苷类物质, 袁利鹏等<sup>[30]</sup>研究表明南方地区的黑豆总花色苷含量比黄豆高 42.5 倍, 北方地区的黑豆总花色苷含量比黄豆高 57.8 倍, 并且曹柏营等<sup>[31]</sup>通过优化黑豆花青素提取工艺条件使黑豆花青素得率达到了 1.101  $\text{mg/g}$ , 同时测定了黑豆花青素的体外抗氧化活性, 结果表明当黑豆花青素浓度为 50  $\mu\text{g/mL}$  时, 其对铁离子螯合能力能够达到 93.09%, 对 DPPH 自由基的清除能力能够达到 84.32%, 综合上述研究, 黑豆含有更多具备优异铁离子螯合能力和强 DPPH 自由基清除能力的花青素等花色苷类物质, 以致于黑豆酱油在金属离子螯合能力和 DPPH 自由基的清除能力方面显著高于其他黄豆酱油。

表 4 5 种酱油抗氧化活性的比较

Table 4 Comparison of antioxidant activities in five kinds of soy sauces

项目	DPPH 自由基清除能力/%	ABTS 自由基清除能力/ $(\mu\text{mol TE/mL})$	还原力/ $(\text{mg AAE/mL})$	金属离子螯合能力/ $(\mu\text{g EE/mL})$
黑豆酱油	36.60±1.42 <sup>a</sup>	278.87±7.24 <sup>a</sup>	12.08±0.60 <sup>a</sup>	2551.55±89.88 <sup>b</sup>
黄豆生抽	16.60±0.44 <sup>c</sup>	107.73±3.54 <sup>c</sup>	4.79±0.14 <sup>c,d</sup>	283.73±10.35 <sup>d</sup>
黄豆老抽	20.13±0.70 <sup>b</sup>	115.86±5.40 <sup>c</sup>	4.95±0.14 <sup>c</sup>	560.78±16.83 <sup>c</sup>
太油	18.82±0.70 <sup>b</sup>	153.34±4.30 <sup>b</sup>	5.79±0.15 <sup>b</sup>	3433.24±103.76 <sup>a</sup>
无盐酱油	9.23±0.29 <sup>d</sup>	98.72±2.03 <sup>d</sup>	4.39±0.09 <sup>d</sup>	53.61±1.76 <sup>e</sup>

### 2.3 相关性分析结果

大量研究表明, 多酚类化合物具有较好的抗氧化活性以及清除各种自由基的能力<sup>[23]</sup>, 大豆异黄酮具有较强的抗氧化能力, 且游离型的异黄酮强于糖苷型的异黄酮<sup>[3]</sup>。李莹等<sup>[32]</sup>研究结果表明, 对 41 种市售酱油样品的抗氧化活性起主要贡献的两个指标是酱油总固形物和褐变指数, Gao 等<sup>[14]</sup>研究表明在酱醪发酵过程中, 进行超声处理释放的更多游离氨基酸显著增强了

酱油对 DPPH 自由基的清除能力 (尤其是丙氨酸、亮氨酸和苏氨酸) 和金属离子螯合能力 (尤其是精氨酸、亮氨酸和赖氨酸)。综合上述研究结果, 本研究选用总酚、总黄酮、色深物质和游离氨基酸作为 5 种不同酱油中的主要抗氧化活性成分。

对 5 种酱油样品的抗氧化活性 [DPPH 自由基清除能力 (DPPH radical scavenging activity, DRSA)、ABTS 自由基清除能力 (ABTS radical scavenging activity, ARSA)、还原力 (reducing power, RP) 和

金属离子螯合能力 (metal ion chelating activity, MICA)] 与抗氧化活性成分 (总酚、总黄酮、色深物质和游离氨基酸) 之间进行相关性分析, 结果见表 5 所示。

由表 5 可知, 5 种酱油中总酚含量与 DRSA、ARSA 和 RP 呈极显著性正相关 ( $p < 0.01$ ), 相关系数分别为 0.972、0.995 和 0.992。总黄酮含量与 ARSA 和 RP 呈极显著性正相关 ( $p < 0.01$ ), 相关系数分别为 0.953、0.984、0.960; 与 DRSA 呈显著性正相关 ( $p < 0.05$ ), 相关系数为 0.953。色深物质含量与 DRSA 呈极显著性正相关 ( $p < 0.01$ ), 相关系数为 0.968; 与 ARSA 和 RP 呈显著性正相关 ( $p < 0.05$ ), 相关系数分别为 0.933、0.909。仅游离氨基酸含量与 DRSA、ARSA 和 RP 均无显著相关性。表 5 结果表明酱油中总酚、总黄酮和

色深物质是造成 5 种酱油抗氧化活性存在显著差异的主要原因, 影响大小的顺序依次为总酚>总黄酮>色深物质, 并且总酚和色深物质具有极强的 DPPH 自由基清除能力, 总酚和总黄酮具有极强的 ABTS 自由基清除能力和还原力, 而游离氨基酸仅与 4 种抗氧化活性呈正相关性, 与 Gao 等<sup>[14]</sup>的研究结果有所不同, 可能原因在于 Gao 等<sup>[14]</sup>主要研究了超声处理对酱油抗氧化活性的影响, 结果表明超声处理显著促进了游离氨基酸和总酚的释放, 而对总黄酮的释放和色深物质的生成没有显著影响, 所以游离氨基酸和总酚是造成经超声处理与未经超声处理酱油的抗氧化活性存在显著差异的主要原因, 与本研究的研究结果不冲突。另外, 对于酱油中具备极强金属离子螯合能力的具体物质尚不明确, 还有待进一步的研究。

表 5 酱油中抗氧化活性成分与抗氧化活性之间的相关性

项目	总酚	总黄酮	色深物质	游离氨基酸	DRSA	ARSA	RP	MICA
总酚	1	0.984**	0.950*	0.735	0.972**	0.995**	0.992**	0.628
总黄酮		1	0.954*	0.804	0.953*	0.984**	0.960**	0.752
色深物质			1	0.677	0.968**	0.933*	0.909*	0.695
游离氨基酸				1	0.592	0.795	0.732	0.878
DRSA					1	0.943*	0.943*	0.572
ARSA						1	0.992**	0.664
RP							1	0.564
MICA								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。

## 2.4 聚类分析结果

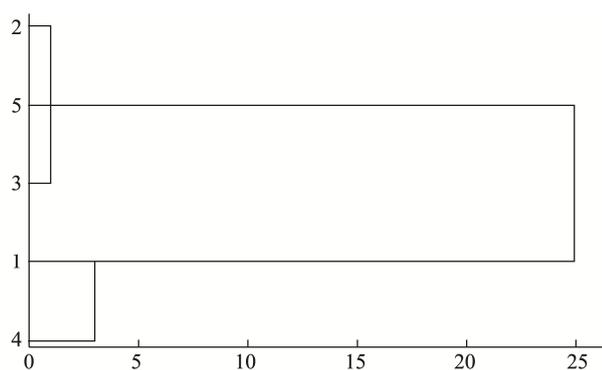


图 1 5 种酱油样品的聚类分析树状图

Fig.1 Tree diagram of cluster analysis of five soy sauce samples

对 5 种酱油样品的 4 种抗氧化活性 (DRSA、ARSA、RP 和 MICA) 和 4 种抗氧化活性成分 (总酚、总黄酮、色深物质和游离氨基酸) 进行系统的聚类分析, 采用平方 Euclidean 距离为度量准则, 得到聚类分析如图 1 所示。

当距离大于 5 小于 25 时, 可将 5 种酱油样品很好

地分为 2 大类, 其中黑豆酱油和太油为第 1 类, 黄豆老抽、黄豆生抽和无盐酱油为第 2 类。结合具体数据与分析所得可知, 根据综合的抗氧化能力和抗氧化活性成分进行排序为: 第 1 类>第 2 类, 也即黑豆酱油和太油这两种酱油的综合抗氧化能力较好, 综合抗氧化活性成分较多。

## 2.5 主成分分析结果

对测定所得到的包括抗氧化活性 (DRSA、ARSA、RP 和 MICA) 和抗氧化活性成分 (总酚、总黄酮、色深物质和游离氨基酸) 这 8 个变量的原始数据进行主成分分析, 为了保证信息的完整性和可靠性, 累计方差贡献率应该达到 80% 以上, 结果见表 6、表 7、表 8。

由表 6 可知, 第 1 个主成分的特征值大于 1, 方差贡献率达到了 86.603%, 其余主成分的特征值均小于 1。毫无疑问, 第 1 主成分 (PC1) 是最重要的, 特征值是 6.928, 解释了 86.603% 的变异。如表 7 所示, 总酚、总黄酮、色深物质、游离氨基酸、DRSA、ARSA、RP、MICA 在 PC1 上有较高的载荷, 说明第 1 主成分

基本反映了这些指标的信息。由于提取第 1 个主成分可以基本反映全部指标的信息, 因此决定用 1 个新变量 (PC1) 来代替原来的 8 个变量 (总酚、总黄酮、色深物质、游离氨基酸、DRSA、ARSA、RP、MICA)。通过计算得出 PC1 得分, 也即综合得分, 如表 8 所示, 结果表明, 黑豆酱油综合得分排名第一, 其次是太油、黄豆老抽、黄豆生抽、无盐酱油。

表 6 主成分的初始特征值及累积方差贡献率

Table 6 Initial eigenvalue and cumulative variance contribution rate of principal components

主成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	6.928	86.603	86.603
2	0.814	10.171	96.773
3	0.231	2.888	99.661
4	0.027	0.339	100.000
5	4.258E-16	5.322E-15	100.000
6	1.453E-16	1.816E-15	100.000
7	3.473E-17	4.341E-16	100.000
8	-1.789E-16	-2.236E-15	100.000

表 7 第 1 主成分的变异来源

Table 7 Source of variation for the first principal component (PC1)

项目	第 1 主成分 PC1
总酚	0.983
总黄酮	0.997
色深物质	0.958
游离氨基酸	0.824
DRSA	0.944
ARSA	0.988
RP	0.962
MICA	0.759

表 8 酱油样品主成分得分和综合得分

Table 8 Main component score and comprehensive score of soy sauce samples

编号	样品名称	PC1 得分	综合得分	综合得分排名
1	黑豆酱油	4.27297	4.27297	1
2	黄豆生抽	-1.65439	-1.65439	4
3	黄豆老抽	-1.06348	-1.06348	3
4	太油	0.70172	0.70172	2
5	无盐酱油	-2.25682	-2.25682	5

### 3 结论

本研究通过对 5 种酱油进行活性成分和抗氧化活性测定, 发现除氨基酸态氮、无盐固形物、游离氨基酸外, 黑豆酱油的总酚、总黄酮、色深物质、还原糖、

总糖和总酸等活性成分含量均显著高于其余 4 种黄豆酱油 ( $p < 0.05$ ); 除金属离子螯合能力外, 黑豆酱油的 DPPH 自由基清除能力、ABTS 自由基清除能力和还原力等抗氧化活性均显著高于其余 4 种黄豆酱油 ( $p < 0.05$ ); 相关性分析结果表明酱油中总酚、总黄酮和色深物质是造成 5 种酱油抗氧化活性存在显著差异的主要原因, 其影响抗氧化活性大小的顺序依次为总酚 > 总黄酮 > 色深物质, 并且总酚和色深物质具有极强的 DPPH 自由基清除能力, 总酚和总黄酮具有极强的 ABTS 自由基清除能力和还原力; 聚类分析结果和主成分分析结果均表明黑豆酱油的综合品质高于其余 4 种黄豆酱油。本研究证明了黑豆酱油的抗氧化能力和活性成分基本都显著高于其余 4 种黄豆酱油, 并阐明了 5 种酱油的抗氧化活性成分与抗氧化活性之间的内在关系, 可为黑豆酱油抗氧化活性的深入研究和消费者选择合适的酱油提供数据支撑和科学依据。

### 参考文献

- [1] Gao X L, Liu E M, Zhang J K, et al. Accelerating aroma formation of raw soy sauce using low intensity sonication [J]. Food Chemistry, 2020, 329: 127118
- [2] Devanthi P V P, Linforth R, Onyeaka H, et al. Effects of co-inoculation and sequential inoculation of *Tetragenococcus halophilus* and *Zygosaccharomyces rouxii* on soy sauce fermentation [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 1-8
- [3] 邹阳, 崔春, 赵谋明. 不同原料对比对酱油成曲抗氧化活性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(7): 1-5
- [4] ZOU Yang, CUI Chun, ZHAO Mouming. Effects of different ratio of raw materials on antioxidant activity of soy sauce kojis [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(7): 1-5
- [5] 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
- [6] 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
- [7] 李莹. 传统发酵酱油生理活性成分的分鉴定及作用机制研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2011
- [8] LI Ying. Isolation, identification and mechanistic action of bioactive compounds in traditional fermented soy sauce [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011
- [9] 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
- [8] 钟小廷,吕杰,易谦武,等.不同原料酱油抗氧化活性生物测试及风味分析[J].中国酿造,2020,39(9):69-74  
ZHONG Xiaoting, LYU Jie, YI Qianwu, et al. Analysis of antioxidant activity and flavor substances in soy sauce with different materials [J]. China Brewing, 2020, 39(9): 69-74
- [9] Gao X L, Yin Y Y, Yan J K, et al. Separation, biochemical characterization and salt-tolerant mechanisms of alkaline protease from *Aspergillus oryzae* [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(7): 3359-3366
- [10] Tasdemir S S, Sanlier N. An insight into the anticancer effects of fermented foods: a review [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 75: 104281
- [11] 秦琦,张英蕾,张守文.黑豆的营养保健价值及研究进展[J].中国食品添加剂,2015,7:145-150  
QIN Qi, ZHANG Yinglei, ZHANG Shouwen. The nutritional value and research progress of black soybean [J]. China Food Additives, 2015, 7: 145-150
- [12] 王雅洁,陈新,贾艾玲,等.黑豆与黄豆成分对比[J].中国民族民间医药,2017,26(14):24-26  
WANG Yajie, CHEN Xin, JIA Ailing, et al. Comparative study on the contents of black soybean and soybean [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2017, 26(14): 24-26
- [13] 徐飞,葛阳阳,刘新春,等.黑豆营养成分及生物活性的研究进展[J].中国食物与营养,2019,25(9):55-61  
XU Fei, GE Yangyang, LIU Xinchun, et al. Research progress on nutritional components and biological activity of black soybean [J]. Food and Nutrition in China, 2019, 25(9): 55-61
- [14] 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
- [15] Kobayashi M. Immunological functions of soy sauce: hypoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(2): 144-151
- [16] Kataoka S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce (shoyu) and its components [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(3): 227-234
- [17] 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
- [18] 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
- [19] Brand-williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. LWT - Food Science and Technology, 1995, 28(1): 25-30
- [20] Lee J H, Hwang C E, Son K S, et al. Comparisons of nutritional constituents in soybeans during solid state fermentation times and screening for their glucosidase enzymes and antioxidant properties [J]. Food Chemistry, 2019, 272: 362-371
- [21] Tchabo W, Ma Y K, Kwaw E, et al. Effects of ultrasound, high pressure, and manosonication processes on phenolic profile and antioxidant properties of a sulfur dioxide-free mulberry (*Morus nigra*) wine [J]. Food and Bioprocess Technology, 2017, 10(7): 1210-1223
- [22] Zheng L, Zhao Y J, Dong H Z, et al. Structure-activity relationship of antioxidant dipeptides: dominant role of Tyr, Trp, Cys and Met residues [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 21: 485-496
- [23] 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
- [24] Chai C, Ju H K, Kim S C, et al. Determination of bioactive compounds in fermented soybean products using GC/MS and further investigation of correlation of their bioactivities [J]. Journal of Chromatography B, 2012, 880: 42-49
- [25] 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
- [26] 刘杰,张英蕾,张守文.黑豆多酚类物质研究进展[J].中国食品添加剂,2016,7:207-212  
LIU Jie, ZHANG Yinglei, ZHANG Shouwen. Research progress on black soybean polyphenols [J]. China Food Additives, 2016, 7: 207-212

(下转第 313 页)