

郫县豆瓣自然与恒温后熟发酵工艺对比分析

谢 思¹, 赵晓燕¹, 杨舒郁¹, 刘 庆¹, 吉 礼², 刘 平¹, 林洪斌¹, 车振明¹, 丁文武^{1,*}
(1. 西华大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610039; 2. 四川省食品生产安全协会, 四川 成都 610056)

摘 要: 设计郫县豆瓣半封闭发酵系统, 并利用该系统进行为期90 d的郫县豆瓣后熟恒温40 ℃发酵实验, 同时与传统自然后熟发酵进行对比分析。发酵结束时自然与恒温发酵总酸质量分数分别为1.13%与0.78%, 氨基酸态氮质量分数分别为0.27%与0.20%, 还原糖质量分数分别为2.81%与2.12%, 游离氨基酸含量分别为19.68 mg/g与16.11 mg/g, 水分质量分数分别为48.80%与60.21%, 色价分别为0.784与1.025。结果表明, 恒温模式下郫县豆瓣能正常发酵, 产品符合有关标准, 自然发酵模式下各个指标变化量均较高, 其各种物理和生化反应进行的更加剧烈, 温度的时空多维分布和水分含量变化对发酵过程具有重要影响; 对比分析表明2种发酵工艺各有优势, 可以借鉴自然发酵的重要工艺条件优化恒温发酵工艺。

关键词: 郫县豆瓣; 发酵; 恒温; 对比分析

Comparative Analysis of Natural and Thermostatic Post-fermentation Processes for Pixian Broad-bean Paste

XIE Si¹, ZHAO Xiaoyan¹, YANG Shuyu¹, LIU Qing¹, JI Li², LIU Ping¹, LIN Hongbin¹, CHE Zhenming¹, DING Wenwu^{1,*}
(1. College of Food and Bio-engineering, Xihua University, Chengdu 610039, China;
2. Sichuan Food Production Safety Association, Chengdu 610056, China)

Abstract: Post-fermentation of Pixian broad-bean paste was conducted for 90 days at a constant temperature in a semi-closed system designed by the authors, and this was compared with the tradition natural post-fermentation process. The contents of total acid, amino nitrogen, reducing sugar, free amino acids and moisture and chromaticity at the end of traditional natural fermentation were 1.13%, 0.27%, 2.81%, 19.68 mg/g, 48.80%, and 0.784 while those at the end of constant temperature fermentation were 0.78%, 0.20%, 2.12%, 16.11 mg/g, 60.21% and 1.025, respectively. The results showed that the fermentation of Pixian broad-bean paste proceeded normally in the semi-closed system and the product was in accordance with the quality criteria. All quality parameters evaluated changed more greatly during the traditional fermentation process and more violent physical and biochemical reactions took place. The spatiotemporal distribution of temperature and change in moisture content had a great influence on the fermentation process. Both fermentation processes had their own advantages, and the constant-temperature fermentation process should be optimized by referring to the important conditions for traditional natural fermentation.

Keywords: Pixian broad-bean paste; fermentation; constant temperature; comparison and analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190324-299

中图分类号: TS264.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 10-0138-07

引文格式:

谢思, 赵晓燕, 杨舒郁, 等. 郫县豆瓣自然与恒温后熟发酵工艺对比分析[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 138-144.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190324-299. <http://www.spkx.net.cn>

XIE Si, ZHAO Xiaoyan, YANG Shuyu, et al. Comparative analysis of natural and thermostatic post-fermentation processes for Pixian broad-bean paste[J]. Food Science, 2020, 41(10): 138-144. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190324-299. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2019-03-24

基金项目: 四川省科技厅应用基础项目 (2019YJ0390); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201810623014);

教育部“春晖计划”合作科研项目 (Z2017058); 四川省教育厅项目 (15ZB0126);

西华大学校重点科研基金项目 (z1420523); 四川省高校重点实验室开放项目 (szjj2015-001);

西华大学研究生创新基金项目 (ycjj2018198); 四川省科技计划资助项目 (2019JDRC0120)

第一作者简介: 谢思 (1994—) (ORCID: 0000-0002-7633-8505), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品发酵。

E-mail: 277965415@qq.com

*通信作者简介: 丁文武 (1980—) (ORCID: 0000-0003-0527-0109), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品发酵。

E-mail: swgc@mail.xhu.edu.cn

郫县豆瓣属中国传统发酵食品,以其味辣香醇、黏稠绒实、红棕油亮、酱香浓郁等特点在我国酱类产品中独树一帜^[1],是川菜制作过程中不可或缺的一种调味品,因此对郫县豆瓣进行相关研究具有非常重要的意义。对于郫县豆瓣已进行的研究主要包括发酵过程中风味物质的形成以及影响因素^[2-3]、后发酵过程中菌落变化和相关微生物分析^[4-7]以及有害物质如黄曲霉毒素变化与关键控制点分析等^[8],然而对后熟发酵工艺的研究却鲜有相关深入的探讨。

目前郫县豆瓣后熟发酵大多采用原始的传统工艺进行生产,即成熟的甜瓣子与辣椒按一定比例混合后进入发酵池,经过充分的“日晒夜露”完成发酵,这也成为郫县豆瓣发酵工艺的独特之处,使其成为自身品质的保证。但此发酵方式缺陷也日益凸显,如发酵周期较长,一般在6个月至1a以上,食品安全卫生控制难度大,机械自动化控制水平低,人工费用和生产成本高,生产规模难以扩大。随着我国劳动力成本的增加和科技的飞速发展,工业生产已逐渐进入智能时代,因此,根据郫县豆瓣传统后熟发酵生产工艺的特点,设计新型现代化生产工艺和设备,提高自动化生产水平,促进该产业升级已成为郫县豆瓣生产行业的迫切需求。

新型设备与生产工艺的设计离不开豆瓣发酵的基础理论技术,绝大多数的传统发酵食品采用固态发酵技术生产^[9],如醋、酒、郫县豆瓣等,随着人们对固态发酵技术的深入研究,国内外对其在食品工业中的应用也逐渐增多,如酶制剂^[10-14]、有机酸^[15-17]、食用菌^[18]等,为实现固态发酵技术的多元化发展,满足现代化生产需求,更多新型的工业化固态发酵反应器被开发出来,并且投入生产,这对郫县豆瓣固态发酵反应器的设计具有重要的借鉴意义。

温度是反应过程中极为重要的工艺条件,合适的温度条件将加快反应速率,提高生产效率,因此,温度选择是工艺设计的一个重要部分,也是反应器设计的关键问题之一。恒温反应不仅能够实现稳态生产过程,使反应过程易操控,并且能避免能源的浪费,提高生产过程的经济性;同时恒温发酵工艺相对简单,可避免传统工艺发酵温度过高或过低,影响微生物生长和酶的活性,从而出现发酵周期较长的问题,因此在对郫县豆瓣后熟发酵工艺改进的探索中,恒温成为工艺设计和选择的首选控温方式。

本研究设计并建立郫县豆瓣的罐式发酵生产系统,并进行半封闭式恒温后熟发酵实验,同时与传统自然后熟发酵进行对比分析,以期对郫县豆瓣的现代化生产工艺设计和改进提供借鉴和理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甜瓣子与辣椒均购于四川郫县豆瓣股份有限公司,购回后立即按一定比例混合,分别置于自然与恒温发酵装置中进行发酵。

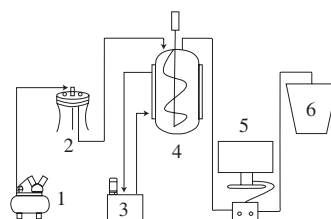
氢氧化钠、亚硫酸钠、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖、甲醛、酚酞、乙醇、邻苯二甲酸氢钾、丙酮、三氯乙酸、盐酸、17种氨基酸标样、茚三酮(均为分析纯) 成都市科龙化工厂。

1.2 仪器与设备

30+氨基酸自动分析仪 英国Biochrom公司;
SpectraMax i3x酶标仪 美国Molecular Devices LLC公司;
磁力搅拌器 常州越新仪器制造有限公司;
BS110S型电子天平 福州科锡仪器设备有限公司;
7200可见分光光度计 上海尤尼柯仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 郫县豆瓣自然与恒温发酵工艺



1.压缩机; 2.空气过滤装置; 3.自动控温装置;
4.恒温发酵装置; 5.测温装置; 6.自然发酵装置。

图1 郫县豆瓣自然与恒温后熟发酵装置图
Fig. 1 Schematic illustration of natural and thermostatic post-fermentation systems for Pixian broad-bean paste

郫县豆瓣发酵实验装置如图1所示。整套装置由空气过滤装置、自动控温装置、恒温发酵装置、测温装置、自然发酵装置组成,自动控温装置为采用机械制冷降温、电加热升温的液体循环设备,本次实验中加入循环液体水对恒温发酵装置进行控温;恒温发酵装置为50 L带夹套的玻璃发酵罐,用纱布将封头上的管口封住,形成半封闭的发酵环境;自然发酵装置为豆瓣厂常用的晒缸;测温装置采用多路温度巡检仪对两个不同发酵装置里郫县豆瓣的实时温度进行测定。

在发酵罐与晒缸里都平均分布有上、中、下3层,每层平均5个测温点,测温装置对每点每隔2 min进行一次温度记录,在整个发酵期间全程不间断记录。发酵开始时,将从工厂取回的成熟甜瓣子与成熟辣椒立即以质量比1:3混匀后,分别置入自然发酵装置与恒温发酵装置中进行发酵。自然发酵工艺采取传统工艺“日晒夜露”模式,不进行人工控温,每天早上8点搅拌一次;恒温发酵工艺的发酵温度为40℃,发酵过程中每隔3 d搅拌一

次。2种工艺发酵过程中,当豆瓣中的水分质量分数降至50%以下时进行适量补水,使其维持在50%~60%之间。取样时,2种发酵工艺均为搅拌后立即取样,每隔6d取样一次,整个发酵时间为90d。

1.3.2 温度变化测定

自然发酵模式下,处理温度数据时,随着每天太阳的升起落下对晒缸日照方位的不断变化,将晒缸分成左中右3层,分别对应为日出面、正照面和日落面,再每隔3d分别取日出面、正照面和日落面的最高温度和最低温度作图;恒温发酵模式下直接每隔3d取数据作图。

1.3.3 理化指标的测定

水分测定:采用GB 5009.3—2010《食品中水分的测定》^[19]中直接干燥法;总酸与氨基酸态氮测定:采用GB 5009.235—2016《食品中氨基酸态氮的测定》^[20]中酸度计法;还原糖测定:采用3,5-二硝基水杨酸法^[21];色价测定:采用GB 1886.34—2015《食品添加剂 辣椒红》^[22]中分光光度法;氨基酸测定:采用GB/T 30987—2014《植物中游离氨基酸的测定》^[23]中全自动氨基酸分析仪法。

1.4 数据处理

采用Excel和Origin 8.5对实验数据进行处理与分析以及相关图表的绘制。

2 结果与分析

2.1 豆瓣发酵过程中温度随时间的变化

自然发酵模式下日出面、日落面和正照面各点分别为晒缸内中间层的两端和中心3个测温点随时间变化测得的数据值,反映容器内温度随时间变化的整体情况。本研究中,恒温发酵采取40℃,主要根据微生物和酶的作用温度以及前期自然发酵时测得的容器内能够达到的最高温度而设定。从图2可以看出,恒温发酵模式下,发酵容器内温度没有发生变化,说明发酵系统在发酵过程中性能稳定,能够满足郫县豆瓣半封闭发酵的初步实验;而自然发酵最高温度和最低温度均随时间在不断起伏变化并逐渐降低,且自然发酵日出面和日落面能达到的最高温度均大于正照面,最低温度均小于正照面,即端面的最高温度均高于中心温度,而最低温度则低于中心温度,说明缸体边缘的温度变化更为剧烈,而中心温度相对稳定,这也为自然发酵工艺提供了温度的多样性,从而为微生物和酶的多样性及其作用的发挥提供了有利条件,进而增加了郫县豆瓣中营养物质和风味物质的丰富性,最终成为自然发酵的优势。在自然发酵过程中,温度在空间和时间上都为非稳态复杂分布,因而温度对郫县豆瓣自然发酵过程的影响极为复杂,将在后续研究中对此问题进一步深入讨论。

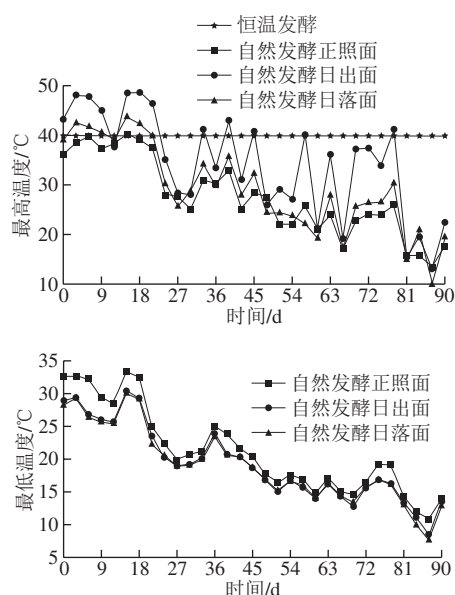


图2 2种发酵模式下豆瓣温度的变化

Fig. 2 Changes in temperature of broad-bean paste in two post-fermentation modes

2.2 豆瓣发酵过程中水分的变化

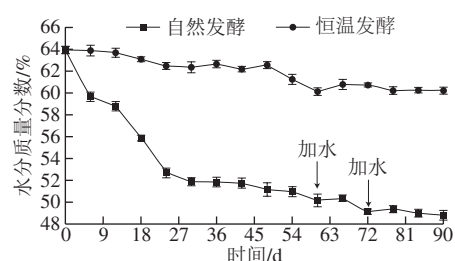


图3 2种发酵模式下豆瓣水分质量分数的变化

Fig. 3 Changes in moisture content of broad-bean paste in two post-fermentation modes

从图3可知,2种发酵豆瓣中的水分都随着时间延长而逐渐降低,主要是由于随着发酵时间的延长,发酵基质中的水分不断向外界挥发所致,同时微生物利用发酵基质中的游离水进行生命活动也是导致豆瓣中水分不断下降的可能原因之一;比较2种工艺的水分变化可知,自然与恒温发酵实验结束时水分质量分数分别为48.80%、60.21%,自然发酵水分更容易散失,产品含量更低,这主要是由于自然发酵采取日晒夜露的开放式发酵,导致其水分比恒温发酵更容易挥发到空气中;发酵过程中,恒温发酵的水分变化速率相对不变,而自然发酵则是先快后慢,主要是由于自然发酵易受环境温度以及空气湿度等因素的影响,发酵过程中,自然发酵前期温度较高,局部温度可达到50.0℃,而后期局部温度最低只有6.0℃,而且后期温度与水分的降低,抑制了微生物的生命活动,降低了水分的利用速率^[24],因而造成了自然发酵水分变化的复杂性。

2.3 豆瓣发酵过程中总酸随时间的变化

在GB/T 20560—2006《地理标志产品 郫县豆瓣》^[25]中,合格的成品豆瓣总酸质量分数上限为2.00%,从图4可看出,在整个发酵过程中自然与恒温发酵总酸质量分数最高分别为1.15%、0.86%,均满足产品标准。

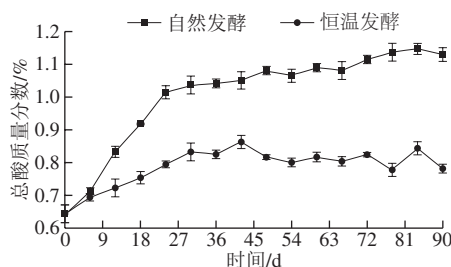


图4 2种发酵模式下豆瓣总酸质量分数的变化

Fig. 4 Changes in total acid content of broad-bean paste in two post-fermentation modes

2种工艺条件下,发酵开始时总酸质量分数为0.64%,之后自然发酵的豆瓣酱总酸质量分数快速上升到第24天的1.02%,上升幅度为59.38%;恒温发酵的豆瓣酱总酸质量分数上升到第30天的0.83%,上升幅度为29.69%,2种工艺上升幅度均较大,为总酸质量分数快速增长的阶段,Shukla等^[26]认为在韩国豆酱发酵过程中乳酸菌等微生物作用可以产生有机酸,柴洋洋等^[27]认为在豆酱发酵过程中酵母菌可以利用糖类产酸。本实验中乳酸菌、酵母菌等微生物分解利用豆瓣中的碳水化合物、脂肪等,也可以产生乳酸、乙酸等小分子有机酸使总酸质量分数升高,并且降解蛋白质又会产生游离氨基酸使得总酸增加;同时自然发酵工艺下的总酸质量分数上升幅度明显高于恒温发酵,这可能是由于自然发酵下温度变化复杂,一天中有高有低且持续时间都不长,导致可适应发酵条件的微生物种类和数量都更多,各种生化反应更剧烈,从而造成了总酸增长速率更快;随后自然与恒温发酵增长速率都减缓,这可能是由于在发酵后期,豆瓣中可被乳酸菌、酵母菌快速降解的成分含量下降,并且受环境等因素的影响,致使乳酸菌等的生长代谢变得缓慢甚至停止^[28],导致总酸增长速率减缓。有研究^[29]发现在豆酱发酵过程中酵母菌与乳酸菌的代谢产物乳酸和乙醇会相互作用产生乳酸乙酯,这也是郫县豆瓣发酵后期总酸变化趋缓的原因之一,即豆瓣中的酵母菌产生的醇类物质也会与酸结合形成中性的酯类。

2.4 豆瓣发酵过程中氨基酸态氮随时间的变化

由图5可知,2种发酵模式下,发酵开始时氨基酸态氮质量分数为0.14%,发酵结束时自然发酵氨基酸态氮质量分数为0.27%,上升幅度92.86%,恒温发酵为0.20%,上升幅度42.86%,自然发酵上升幅度约为恒温发酵的2倍,增长速率更快,这与总酸情况类似,可能

和自然发酵温度有关,并且水分差异也是影响上升幅度的因素之一。

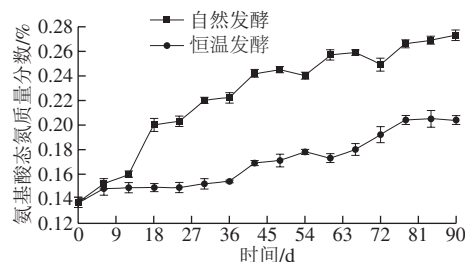


图5 2种发酵模式下豆瓣氨基酸态氮质量分数的变化

Fig. 5 Changes in amino nitrogen content of broad-bean paste in two post-fermentation modes

自然发酵下氨基酸态氮变化趋势呈现先上升后趋于平缓,这与贡汉坤^[30]对豆酱自然发酵过程中氨基酸态氮变化趋势研究结果一致,这是由于在开始阶段温度有高有低,温度较高时蛋白酶活力较好,温度较低时能促进微生物的生长代谢以及蛋白酶的产生,从而有利于促进蛋白质水解,进而使得氨基酸态氮增长速度较快,随着发酵的进行,温度的降低以及各种成分的积累使微生物分泌的蛋白酶减少并且蛋白酶活力降低,从而使得氨基酸态氮增速变缓^[31]。

恒温发酵模式下,氨基酸态氮质量分数先基本不变后快速增加,这可能是恒温发酵前期温度较高,导致适应高温发酵的微生物数量减少,进而使得微生物分泌的蛋白酶减少,造成与原料物中所带入的蛋白酶含量之和不高,使得产物的生成与微生物生长繁殖对氨基酸态氮的消耗达到一种平衡^[32],最终导致发酵前期氨基酸态氮的含量几乎不变,随着发酵时间的推移,适应高温发酵的微生物数量增加,其分泌的蛋白酶含量也增加,进而加快了蛋白质水解生成氨基酸态氮速率,因而出现氨基酸态氮快速增长的现象。

通过以上对比分析可以看出,氨基酸态氮在2种发酵模式下的变化趋势并不相同,且微生物可能是促进氨基酸态氮生成的一个不可忽略的因素,而自然发酵温度的时空多维分布则是造成微生物变化的重要因素。

2.5 豆瓣发酵过程中还原糖随时间的变化

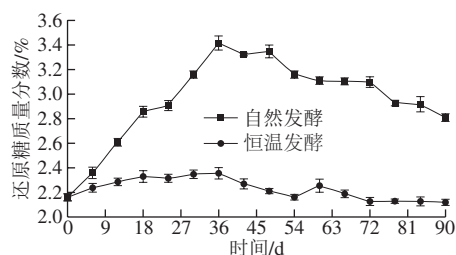


图6 2种发酵模式下豆瓣还原糖质量分数的变化

Fig. 6 Changes in reducing sugar content of broad-bean paste in two post-fermentation modes

由图6可知,发酵开始时还原糖质量分数为2.16%,自然发酵条件下,到36 d还原糖质量分数上升至最大值3.42%,为初始含量的1.58倍,随后开始下降,直至发酵结束还原糖质量分数下降到2.81%,为最大值的82.16%;恒温发酵条件下,到36 d还原糖质量分数上升至最大值2.36%,为初始值的1.09倍,随后开始下降,直至发酵结束还原糖质量分数下降到2.12%,为最大值的89.83%。由以上数据可知发酵初期2种模式下的还原糖质量分数都呈上升趋势,这可能是因为霉菌产生的淀粉酶和糖化酶将原料中的淀粉快速水解产生还原糖,水解生成还原糖的速率远大于还原糖的利用速率,使得还原糖总量快速增加;随后还原糖质量分数都逐渐下降,一方面是由于还原糖被豆瓣中的微生物快速利用和消耗,为微生物的生长提供碳源,发酵产生乳酸、乙酸等小分子有机物^[28],另一方面,还原糖还参与诸如美拉德反应等多种化学反应生成其他物质,并且累积到一定程度的还原糖对淀粉酶生成有抑制作用^[33],最终导致还原糖质量分数下降。

同时,自然发酵下还原糖质量分数上升幅度与下降幅度均大于恒温发酵,因为还原糖与微生物的生长相关,还原糖质量分数变化幅度越大,微生物生命活动越强烈,所以自然发酵下的各种生化反应更加强烈,这也从另一方面印证了此次实验中总酸、氨基态氮等由于自然发酵下各种生化反应更加强烈导致其变化量更大的实验结论。

2.6 豆瓣发酵过程中色价的变化

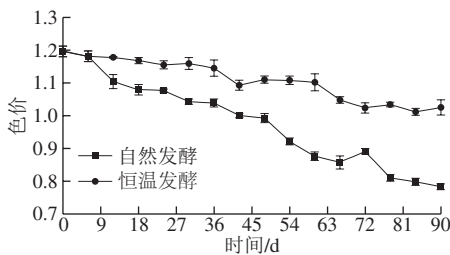


图7 2种发酵模式下豆瓣色价的变化
Fig. 7 Changes in chromaticity of broad-bean paste in two post-fermentation modes

由图7可知,2种发酵模式下,豆瓣色价都随时间延长逐渐下降,这是因为辣椒红色素在存放过程中,极易受到温度、光照以及油脂中的水分和金属离子等的作用,从而发生复杂的化学反应被破坏,导致色价损失^[34]。2种工艺相比,自然发酵下色价下降更快,实验结束时,自然与恒温发酵色价分别为0.784、1.025,两者差异较大,由前面分析可知,自然发酵模式下温度、水分变化量均较大,相比于恒温发酵半封闭式发酵罐受到的光照也更强烈,从而导致色价损失较多。由于颜色的变化是能直接反映豆瓣品质的一项重要指标,色价越高,颜色越油润有光泽^[35],产品质量越好,因此保护色价是郫县豆瓣的一个重要研究方向,通过对比2种后熟发酵工艺可知,恒温发酵更有利于保持郫县豆瓣的色价。

2.7 豆瓣发酵过程中游离氨基酸随时间的变化

表1 豆瓣自然发酵过程中游离氨基酸的组成与含量
Table 1 Change in free amino acid composition of broad-bean paste during natural post-fermentation

味感	氨基酸	游离氨基酸含量/(mg/g)						
		0 d	15 d	30 d	45 d	60 d	75 d	90 d
鲜味	天冬氨酸	1.607	1.731	2.242	2.216	2.323	2.333	2.403
	谷氨酸	2.243	2.410	3.114	3.064	3.193	3.206	3.304
	合计	3.850	4.141	5.356	5.280	5.516	5.539	5.707
甜味	苏氨酸	0.596	0.676	0.870	0.888	0.945	0.933	0.949
	丝氨酸	0.656	0.745	0.956	0.954	1.008	0.999	1.017
	甘氨酸	0.285	0.322	0.416	0.422	0.438	0.438	0.454
	丙氨酸	0.704	0.770	0.980	1.006	1.048	1.045	1.086
	合计	2.241	2.513	3.222	3.270	3.439	3.415	3.506
	缬氨酸	0.758	0.840	1.063	1.079	1.126	1.120	1.158
	甲硫氨酸	0.175	0.179	0.208	0.219	0.210	0.204	0.187
	异亮氨酸	0.593	0.674	0.844	0.885	0.917	0.912	0.912
苦味	亮氨酸	0.998	1.122	1.403	1.428	1.483	1.469	1.494
	酪氨酸	0.598	0.614	0.712	0.744	0.746	0.739	0.742
	苯丙氨酸	0.741	0.738	0.858	0.900	0.938	0.943	0.946
	组氨酸	0.292	0.324	0.411	0.417	0.431	0.423	0.432
	精氨酸	1.154	1.335	1.744	1.652	1.662	1.677	1.808
	合计	5.309	5.826	7.243	7.324	7.513	7.487	7.679
无味	胱氨酸	—	—	—	—	—	0.010	0.014
	赖氨酸	0.892	0.968	1.268	1.262	1.332	1.320	1.369
	脯氨酸	1.007	1.020	1.263	1.333	1.395	1.362	1.404
	合计	1.899	1.988	2.531	2.595	2.727	2.692	2.787

注:—未检出,下同。

表2 豆瓣恒温发酵过程中游离氨基酸的组成与含量
Table 2 Change in free amino acid composition of broad-bean paste during thermostatic post-fermentation

味感	氨基酸	游离氨基酸含量/(mg/g)						
		0 d	15 d	30 d	45 d	60 d	75 d	90 d
鲜味	天冬氨酸	1.607	1.701	1.765	1.771	1.814	1.900	2.003
	谷氨酸	2.243	2.377	2.409	2.373	2.372	2.435	2.539
	合计	3.850	4.078	4.174	4.144	4.186	4.335	4.542
甜味	苏氨酸	0.596	0.666	0.667	0.662	0.690	0.713	0.733
	丝氨酸	0.656	0.730	0.749	0.763	0.764	0.807	0.839
	甘氨酸	0.285	0.317	0.331	0.333	0.340	0.353	0.374
	丙氨酸	0.704	0.754	0.755	0.761	0.779	0.820	0.851
	合计	2.241	2.467	2.502	2.519	2.573	2.693	2.797
	缬氨酸	0.758	0.816	0.833	0.846	0.863	0.910	0.949
	甲硫氨酸	0.175	0.179	0.171	0.187	0.176	0.173	0.208
	异亮氨酸	0.593	0.662	0.669	0.705	0.720	0.736	0.788
苦味	亮氨酸	0.998	1.079	1.099	1.173	1.181	1.227	1.275
	酪氨酸	0.598	0.553	0.600	0.608	0.603	0.635	0.653
	苯丙氨酸	0.741	0.662	0.692	0.727	0.743	0.795	0.798
	组氨酸	0.292	0.324	0.335	0.334	0.338	0.356	0.370
	精氨酸	1.154	1.159	1.323	1.179	1.218	1.280	1.466
	合计	5.309	5.434	5.722	5.759	5.842	6.112	6.507
无味	胱氨酸	—	—	—	0.008	—	—	0.006
	赖氨酸	0.892	0.969	0.977	1.003	0.992	1.030	1.082
	脯氨酸	1.007	0.955	1.108	0.984	1.024	1.175	1.174
	合计	1.899	1.924	2.085	1.995	2.016	2.205	2.262

由表1、2可知,在2种发酵工艺下,17种氨基酸含量均在发酵结束时达到最大值,说明氨基酸的生成是一个累积增多的过程,这是由于在豆瓣的后熟过程中,一部分蛋白质在酶的催化作用下水解为低分子肽类和氨基酸使得氨基酸含量增加^[36];自然发酵过程中氨基酸总量呈先快速上升后趋于平缓趋势,恒温发酵过程中氨基酸总量呈不断缓慢上升趋势,到发酵结束时自然发酵下每种氨基酸含量的最大值均高于恒温发酵,其中最高含量的谷氨酸在自然与恒温发酵中分别为3.304、2.539 mg/g,最低含量的胱氨酸分别为0.014、0.006 mg/g,这与氨基态氮生成情况类似,都是由于自然发酵条件下温度的不断变化造成晒缸内各种生化反应更加剧烈,从而导致氨基酸含量增加更快。武俊瑞等^[37]研究发现豆酱在自然发酵过程中组氨酸仅在发酵45 d有检出,含量为0.07 mg/g,精氨酸只在发酵0~55 d有检出,平均值为0.29 mg/g,说明豆酱在发酵生成氨基酸的过程中某些氨基酸只在一段时间里产生,且含量较低,在本实验中也出现了类似结果,胱氨酸只在自然发酵中的75~90 d有检出,仅在恒温发酵中的45 d与90 d有检出,说明胱氨酸的生成主要在后熟发酵的中后期,同时恒温发酵比自然发酵提前了30 d检出胱氨酸,恒温发酵能更早生成胱氨酸,由于氨基酸的积累可以促进生成郫县豆瓣特殊的香味物质从而提高产品质量,并且郫县豆瓣特殊的滋味是由多种呈味氨基酸的协同作用形成的,每一种氨基酸都有其不可或缺的作用,因此豆瓣形成完整的特殊风味恒温发酵比自然发酵所用时间可能会更短。

根据Tseng等^[38]对氨基酸滋味的描述,将其分为鲜味、甜味、苦味和无味,由表1、2可知,在2种工艺发酵过程中,4类氨基酸之间的比例都基本保持不变,这与赵建新^[28]对豆酱氨基酸研究结果一致,并且都是苦味氨基酸所占比例最高,依次降低分别为鲜味、甜味和无味,同时自然与恒温发酵工艺间4类氨基酸所占比例也基本相同,并没有被温度等其他因素影响而产生差异,推测这是由于蚕豆蛋白中各种氨基酸含量决定的。

3 结 论

本研究设计了一套郫县豆瓣半封闭发酵系统,并利用该系统进行为期90 d的郫县豆瓣后熟恒温发酵实验,由实验结果可知半封闭式系统的温度保持40℃不变,发酵系统在发酵过程中性能稳定,能够满足郫县豆瓣罐式发酵的初步实验。

发酵实验结束时自然与恒温发酵总酸质量分数分别为1.13%与0.78%,氨基酸态氮质量分数分别为0.27%与0.20%,还原糖质量分数分别为2.81%与2.12%,游离氨基酸含量分别为19.68 mg/g与16.11 mg/g,水分质量分数分

别为48.80%与60.21%,色价分别为0.784与1.025。结果表明,自然发酵模式下的总酸、氨基态氮、还原糖和游离氨基酸的最终含量均比恒温发酵高,水分质量分数和色价均比恒温发酵低,自然发酵下各种物理和生化反应进行的更加剧烈,而温度的时空多维分布和水分质量分数的变化则有可能是造成其差异的主要原因。

通过对比分析可知,自然发酵和恒温发酵都可以正常发酵,发酵产品也都符合国家相关产品质量标准,2种工艺也各有优势,然而自然发酵的指标多数优于恒温发酵,究其原因因为自然发酵虽然发酵手段原始,但这种落后的发酵工艺也为发酵过程提供了温度、水分、溶氧等复杂多样的工艺条件,进而为产品质量的提高提供了更大的可能性,因此,在本实验基础上分析自然发酵的影响因素,对进一步改进恒温发酵工艺具有非常重要的意义,这也是今后即将进行的一个重要工作。

参考文献:

- [1] 赵红宇,徐炜桢,杨国华,等.基于高通量测序的郫县豆瓣后发酵期细菌多样性研究[J].食品科学,2017,38(10):117-122. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201710020.
- [2] 罗静,赵红宇,徐炜桢,等.郫县豆瓣后发酵过程中挥发性呈香物质测定及主成分分析[J].食品科学,2018,39(18):209-216. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201818033.
- [3] LIN H B, YU X Y, FANG J X, et al. Flavor compounds in Pixian broad-bean paste: non-volatile organic acids and amino acids[J]. Molecules, 2018, 23(6): E1299. DOI:10.3390/molecules23061299.
- [4] 关统伟,向慧平,王鹏昊,等.基于高通量测序的郫县豆瓣不同发酵期细菌群落结构及其动态演替[J].食品科学,2018,39(4):106-111. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201804016.
- [5] 朱永清,李治华,李华佳,等.基于PCR-DGGE分析不同品牌郫县豆瓣酱真菌多样性[J].食品科学,2017,38(2):104-108. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201702017.
- [6] 赵红宇,徐炜桢,杨国华,等.基于高通量测序的郫县豆瓣后发酵期真菌演替变化分析[J].食品科学,2017,38(16):57-62. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201716008.
- [7] LI X Y, ZHAO C S, ZHENG C, et al. Characteristics of microbial community and aroma compounds in traditional fermentation of Pixian broad bean paste as compared to industrial fermentation[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20: S2520-S2531. DOI:10.1080/10942912.2017.1373358.
- [8] 汪先丁,刘敏,高鹏,等.郫县豆瓣自然发酵过程中真菌群落的演替及黄曲霉毒素B₁的消长[J].食品科学,2012,33(11):142-146.
- [9] 陈志远.传统固态发酵生产自动化若干关键问题研究[D].杭州:浙江大学,2016.
- [10] HASHEMI M, MOUSAVI S M, RAZAVI S H, et al. Comparison of submerged and solid state fermentation systems effects on the catalytic activity of *Bacillus* sp. KR-8104 α -amylase at different pH and temperatures[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 43: 661-667. DOI:10.1016/j.indcrop.2012.08.002.
- [11] VISWANATHAN P, SURLIKAR N R. Production of α -amylase with *Aspergillus flavus* on *Amaranthus* grains by solid-state fermentation[J]. Journal of Basic Microbiology, 2015, 41(1): 57-64. DOI:10.1002/1521-4028(200103)41:1<57::AID-JOBM57>3.0.CO;2-S.

- [12] SAHNOUN M, KRIAA M, ELGHARBI F, et al. *Aspergillus oryzae* S2 alpha-amylase production under solid state fermentation: optimization of culture conditions[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 75: 73-80. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2015.01.026.
- [13] SINGHANIA R R, SUKUMARAN R K, PATEL A K, et al. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 46(7): 541-549. DOI:10.1016/j.enzmictec.2010.03.010.
- [14] SAITHI S, TONGTA A. Phytase production of *Aspergillus niger* on soybean meal by solid-state fermentation using a rotating drum bioreactor[J]. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 2016, 11: 25-30. DOI:10.1016/j.aaspro.2016.12.005.
- [15] ZHANG Y X, VADLANI P V. Lactic acid production from biomass-derived sugars via co-fermentation of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119(6): 694-699. DOI:10.1016/j.jbiosc.2014.10.027.
- [16] ZHAO K, QIAO Q G, CHU D Q, et al. Simultaneous saccharification and high titer lactic acid fermentation of corn stover using a newly isolated lactic acid bacterium *Pediococcus acidilactici* DQ2[J]. Bioresource Technology, 2013, 135(3): 481-489. DOI:10.1016/j.biortech.2012.09.063.
- [17] JAVED S, ASGHER M, SHEIKH M A, et al. Strain improvement through UV and chemical mutagenesis for enhanced citric acid production in molasses-based solid state fermentation[J]. Food Biotechnology, 2010, 24(2): 165-179. DOI:10.1080/08905436.2010.482014.
- [18] 乔莉. 猴头菌的液态、固态发酵工艺及其多糖含量的测定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [19] 卫生部. 食品中水分的测定: GB 5009.3—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [20] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中氨基酸态氮的测定: GB 5009.235—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [21] 刘永琪. 豆瓣酱发酵的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [22] 国家卫生和计划生育委员会. 食品添加剂 辣椒红: GB 1886.34—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [23] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 植物中游离氨基酸的测定: GB/T 30987—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [24] 吴逸飞, 孙宏, 姚晓红. 棉籽粕固态发酵过程及其动力学模型构建[J]. 农业工程学报, 2012, 28(13): 199-204. DOI:10.3969/j.issn.1002-6819.2012.13.032.
- [25] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 地理标志产品 郫县豆瓣: GB/T 20560—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [26] SHUKLA S, CHOI T B, PARK H K, et al. Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste (Doenjang)[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(8/9): 2005-2010. DOI:10.1016/j.fct.2010.04.034.
- [27] 柴洋洋, 葛菁萍, 宋刚, 等. 传统发酵豆酱中酵母菌的分离、筛选及功能酵母的鉴定[J]. 中国食品学报, 2013(3): 183-188. DOI:10.16429/j.1009-7848.2013.03.034.
- [28] 赵建新. 传统豆酱发酵过程分析与控制发酵的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.
- [29] 武俊瑞, 王晓蕊, 唐筱扬, 等. 辽宁传统发酵豆酱中乳酸菌及酵母菌分离鉴定[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 78-83. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201509015.
- [30] 贡汉坤. 传统豆酱自然发酵的动态分析及人工接种多菌种发酵研究[D]. 无锡: 江南大学, 2004.
- [31] 高秀芝, 艾启俊, 仝其根, 等. 传统豆酱和商品豆酱发酵过程中营养及理化指标动态[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 205-210. DOI:10.16429/j.1009-7848.2013.02.033.
- [32] 张雨浩, 马良, 周梦柔, 等. 永川豆豉发酵过程中蛋白水解作用与黑色素形成关系[J]. 食品科学, 2013, 34(19): 195-199. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201319041.
- [33] SOCCOL C R, MARIN B, RAIMBAULT M, et al. Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1994, 41(3): 330-336. DOI:10.1007/BF00221228.
- [34] TOPUZ A, OZDEMIR F. Influences of gamma irradiation and storage on the capsaicinoids of sun-dried and dehydrated paprika[J]. Food Chemistry, 2004, 86(4): 509-515. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.09.003.
- [35] 马娜, 樊巧, 刘平, 等. “郫县豆瓣”色价和辣度的分析[J]. 食品科学, 2014, 35(6): 152-155. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201406032.
- [36] 张苗. 东北传统发酵豆酱品质分析及酵母菌与乳酸菌分离鉴定[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2013.
- [37] 武俊瑞, 顾采东, 田甜. 豆酱自然发酵过程中蛋白质和氨基酸的变化规律[J]. 食品科学, 2017, 38(8): 147-152. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708022.
- [38] TSENG Y H, LEE Y L, LI R C, et al. Non-volatile flavour components of *Ganoderma tsugae*[J]. Food Chemistry, 2005, 90(3): 409-415. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.03.054.