

前期发酵温度对甜面酱挥发性成分的形成及品质的影响

孟 鹭¹, 乔 宇², 刘彩香¹, 康 旭¹, 李冬生^{1,3}, 胡建中¹, 黄红霞^{1,*}

(1.湖北工业大学生物工程学院, 湖北 武汉 430068; 2.湖北省农科院农产品加工与核农技术研究所, 湖北 武汉 430064; 3.湖北省食品发酵工程技术研究中心, 湖北 武汉 430068)

摘 要: 采用顶空固相微萃取和气质联用方法, 测定前期在不同发酵温度(20、30、40、50℃)条件下酿制的甜面酱成品挥发性成分。结果表明: 随着发酵温度升高, 酯类、醇类、酸类含量逐渐降低, 醛类含量逐渐增多, 酮类、酚类含量在 40℃时最高, 而低温发酵时挥发性化合物种类少于高温发酵。结合 pH 值、总酸、氨基态氮及还原糖含量等理化指标的分析, 确定前期最适发酵温度为 40℃。

关键词: 甜面酱; 温度; 挥发性成分; 理化指标; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱法

Effect of Primary Fermentation Temperature on Volatile Compounds and Quality of Sweet Flour Paste

MENG Yuan¹, QIAO Yu², LIU Cai-xiang¹, KANG Xu¹, LI Dong-sheng^{1,3}, HU Jian-zhong¹, HUANG Hong-xia^{1,*}
(1. College of Bioengineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China; 3. Research Center of Food Fermentation Engineering and Technology of Hubei, Wuhan 430068, China)

Abstract: Volatile compounds in sweet flour paste in the early period of fermentation at different temperatures were extracted using head space solid-phase microextraction (HS-SPME) apparatus and analyzed by GC-MS. Results showed that increased fermentation temperature could result in a gradual decrease in the contents of esters, alcohols and acids, and gradual increase in the content of aldehydes. The highest contents of ketones and phenols were observed at the fermentation temperature of 40℃. However, less species of volatile compounds was identified in sweet flour paste prepared by low-temperature fermentation. Based on the comprehensive analysis of pH, total acids, amino nitrogen and reducing sugars, the optimal fermentation temperature in the early stage was 40℃.

Key words: sweet flour paste; fermentation temperature; volatile component; physico-chemical index; HS-SPME; GC-MS
中图分类号: TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2010)23-0248-05

甜面酱是我国传统的发酵调味品, 主要以面粉为原料, 经过微生物长期发酵而形成的具有浓郁酱香和兼具鲜、甜、咸等口感的佐菜佳品。由于微生物发酵的复杂和独特性, 为保持甜面酱独特的口感和风味, 国内甜面酱生产仍以自然接种发酵的传统工艺酿造, 造成成本高、规模小、生产周期过长、产品质量不稳定及卫生条件不达标等现状。尽管已有采用人工接种、酶法制酱等新工艺出现, 但产品的口感及风味远不及传统甜面酱。甜面酱特殊的风味是由各种霉菌如米曲霉及酵母菌, 乳酸菌等多种微生物共同发酵形成, 其种类繁多、

形成途径复杂。

随着分析方法的不断创新, 人们开始重视风味的研究, 自近 20 年以来, 对于传统发酵调味品风味的研究也逐渐丰富, 如酱油、豆豉、日本的纳豆酱、泰式酱油、酱等^[1-6]。金华勇等^[7]采集 3 个不同地方的传统甜面酱进行挥发性物质分析; 赵建新等^[8]使用 GC-MS 联合 GC-O 分析豆酱的挥发性物质成分, 确定豆酱中的特征风味物质; 秦礼康等^[9]对比传统陈窖豆豉和霉菌型豆豉挥发性风味化合物的差异。本研究采用气相色谱-质谱法分析发酵前期不同温度对于甜面酱挥发性成分及理

收稿日期: 2010-08-14

基金项目: 湖北省科技厅项目(鄂财企发[2007]119 号)

作者简介: 孟鹭(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: hugongdaxue@163.com

* 通信作者: 黄红霞(1976—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: huang760814@163.com

化指标的影响,为甜面酱风味产生的机理及工艺改进提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

按照实验室自制甜面酱工艺流程制作甜面酱,分别选取前期发酵温度为20、30、40、50℃的4个样品;NaOH、甲醛、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸、苯酚、无水乙醇(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;乙酸正戊酯(色谱纯) Alfa Aesar 公司。

1.2 仪器与设备

SPME 手动进样手柄、50/30μmDVB/CAR/PDMS 萃取头 美国 Supelco 公司;Agilent GC-MS7890A 气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;DF-101S 集热式恒温磁力搅拌器 巩义市予华仪器有限责任公司;FE20 型 pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;HH-4 水浴锅 常州国华电器有限公司;UV-2000 型可见分光光度计 尤尼柯仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 甜面酱制作工艺

面粉→添加酵母发酵→蒸煮粉碎→拌面接种→通风制曲2d→加12%的盐水→搅拌均匀→密封放入温度不同的培养箱发酵7d→全部放入温度相同的培养箱发酵23d→甜面酱成品

1.3.2 理化指标测定

pH 值测定:称取5g溶于50mL水,加热沸腾3min,搅拌均匀后用 pH 计测定 pH 值;总酸测定:按中华人民共和国专业标准 ZB X 66037—87《总酸测定法》要求测定;氨基态氮测定:按中华人民共和国专业标准 ZB X 66038—87《氨基态氮测定法》要求测定;还原糖测定:3,5-二硝基水杨酸比色法。

1.3.3 挥发性成分鉴定

1.3.3.1 样品前处理条件

将50/30μmDVB/CAR/PDMS 固相萃取头在GC进样口于270℃进行老化5min,插入装有3g甜面酱和5mL水的样品瓶中,于65℃水浴中平衡5min,保温51min,加盐量为0.9g,搅拌转速900r/min,再将萃取头插入GC-MS 仪器进样口于250℃条件下解析5min。

1.3.3.2 色谱条件

色谱柱:Agilent DB-5 非极性毛细管柱(60m×0.25mm,0.25μm);升温程序:初温40℃以2.5℃/min的速率升温到130℃,保持1min,再以8℃/min的速率升温到250℃保持1min;载气(He)流速:1.0mL/min,进样口温度:250℃,不分流。

1.3.3.3 质谱条件

电子轰击(EI)离子源;电子能量:70eV;电压:350V;质量扫描范围 m/z 35~395;化合物定性方法:经NIST07 数据库检索定性;化合物定量方法:根据各组分峰面积和内标峰面积之比计算。

2 结果与分析

2.1 前期不同发酵温度条件下样品总酸及 pH 值变化

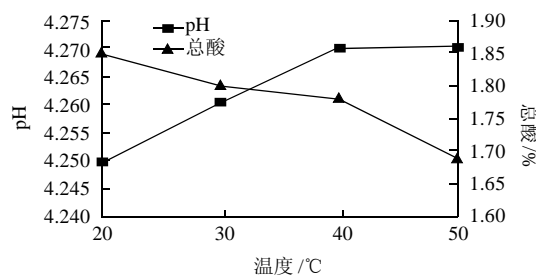


图1 前期不同发酵温度条件下样品总酸及 pH 值变化

Fig.1 Changes of total acids and pH in sweet flour paste prepared at different fermentation temperatures in the early stage

如图1所示,随着前期发酵温度的升高,pH 值逐渐升高及总酸含量逐渐下降。说明前期发酵温度较低的发酵过程中乳酸菌等微生物生长更加旺盛,能更有利地利用原料中的糖类产生酸,使总酸含量增加。

2.2 前期不同发酵温度条件下样品氨基态氮和还原糖含量变化

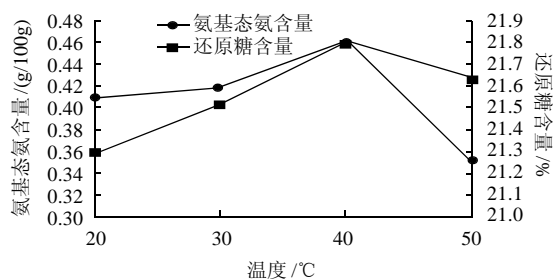


图2 前期不同发酵温度条件下样品氨基态氮及还原糖含量变化

Fig.2 Changes of amino nitrogen and reducing sugar in sweet flour paste prepared at different fermentation temperatures in the early stage

如图2所示,在不同温度下,微生物利用原料中的有机碳、可溶性糖和蛋白质等,在发酵体系中形成还原糖和氨基态氮。在40℃时,还原糖和氨基态氮的含量达到最高值。

2.3 前期不同发酵温度条件下样品挥发性成分的变化

经检索整理及计算,分离鉴定出的挥发性化合物的种类和含量见表1。发酵食品风味化合物的形成,与许多因素有关,如原材料组成、热处理工艺,发酵的目的是借助微生物产酶,大分子在酶的作用下降解从而产生风味和营养物质,因此微生物对于发酵食品风味影响

最大。而发酵温度直接影响微生物生理代谢,进而影响风味的形成。

发酵阶段的前期主要是乳酸菌作用,本研究通过对比前期的发酵温度分别为20、30、40、50℃的条件下的发酵成品,分析发酵温度对甜面酱挥发性物质产生

表1 前期不同温度发酵甜面酱的挥发性化合物及含量

Table 1 Volatile compounds and corresponding contents in sweet flour paste prepared at different fermentation temperatures in the early period

保留时间/min	化合物名称	含量/(10 ⁻² μg/g)			
		20℃	30℃	40℃	50℃
酯类化合物(19 种)					
9.234	甲酸异戊酯Isopentyl formate		0.0706		
17.26	乙酸正戊酯 Amyl acetate	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
22.297	正己酸乙酯 Ethyl caproate	0.3501		0.6776	
28.27	庚酸乙酯 Ethyl heptanoate	0.0729	0.1293	0.2385	
32.804	苯甲酸乙酯 Ethyl benzoate	0.8572	0.7610	0.3821	0.1507
33.517	富马酸二乙酯 Diethyl fumarate		0.2883	0.1643	0.2468
34.139	辛酸乙酯 Ethyl caprylate	1.6705	1.2872	1.8689	0.5099
36.922	苯乙酸乙酯Phenylacetic acid ethyl ester	0.1962	0.3060	0.3359	0.1487
37.095	2-辛烯酸乙酯Ethyl ester-2-Octenoic acid			0.1151	
37.626	乙酸苯乙酯Phenethyl acetate	0.1807		0.1385	
38.628	壬酸乙酯 Ethyl nonanoate	0.4744	0.2122		0.1530
39.506	癸酸乙酯 Ethyl caprate	6.3637	0.7287	1.1069	0.2741
42.058	椰子醛 Cocoanut aldehyde		0.6602	0.7346	0.3675
47.622	月桂酸乙酯 Ethyl laurate	2.6318	2.1125	1.7181	0.7623
49.349	三癸酸乙酯 Ethyl tridecanoate	0.3648	0.4067	0.3875	
50.734	癸二酸二乙酯Diethyl sebacate		0.5940		
50.883	肉豆蔻酸乙酯 Ethyl myristate	17.5961	16.0605		4.7973
51.456	十一烯酸乙酯 Ethyl undecylenate	0.0868			
52.276	十五酸乙酯Pentadecyl acetate	16.9727	13.8519	13.9188	4.7223
醇类化合物(7 种)					
9.106	异戊醇 Isoamyl alcohol		0.1711		
26.472	反式-2-辛烯-1-醇 <i>trans</i> -2-Octen-1-ol	1.5302		2.1843	
26.687	正辛醇 Capryl alcohol		0.8340		
29.428	苯乙醇 Phenethyl alcohol	12.5231	2.1916	1.0031	0.4566
33.298	<i>L</i> -薄荷醇 <i>L</i> -Menthol				0.1180
34.803	9-十烯-1-醇 9-Decen-1-ol	0.2568			
45.165	月桂醇 Dodecyl alcohol		0.3031		
醛类化合物(15 种)					
7.194	异戊醛 Isovaleraldehyde			0.0435	
13.175	糠醛 Furfural			0.5517	1.7794
20.31	苯甲醛 Benzaldehyde	0.9424	0.4588	0.5844	0.5065
22.651	正辛醛 Octanal				0.1788
25.223	苯乙醛 Phenylacetaldehyde	1.7814	1.3504	2.5612	2.6855
26.003	反-2-辛烯醛(E)-2-Octenal	2.0721	1.6442	3.2137	2.9137
26.691	对甲基苯甲醛 p-Tolualdehyde		0.2831		0.4382
29.226	2,4-辛二烯醛(2E,4E)-2,4-Octadienal				0.0156
32.107	反式-2-壬醛 <i>trans</i> -2-Nonenal			0.2859	0.1215
34.794	癸醛 Decanal		0.2346		
35.417	2,4-壬二烯醛 <i>Trans,trans</i> -2,4-Nonadienal				0.0355
38.434	A-亚乙基-苯乙醛 2-Phenyl-2-butenal			0.6352	0.5795
40.565	反式-2,4-癸二烯醛 <i>Trans,trans</i> -2,4-Decadien-1-al		0.1880	0.1880	0.4239
42.251	A-(2-甲基亚丙基)苯乙醛4-Methyl-2-phenyl-2-pentenal				0.3999
45.524	可卡醛 Cocal			1.6731	4.8967
酮类化合物(5 种)					
21.085	1-辛烯-3-酮 1-Octen-3-one			3.3856	

续表 1

保留时间/min	化合物名称	含量/(10 ⁻² μg/g)			
		20℃	30℃	40℃	50℃
21.53	5-甲基-3-庚酮 5-Methyl-3-heptanone	3.6363			
27.919	2-壬酮 2-Nonanone			0.1103	
39.432	2-十一酮 2-Undecanone			0.1613	0.2280
44.522	顺式香叶基丙酮 Cis-Geranylacetone	0.2832	0.2161	0.2726	
酸类化合物(2种)					
33.298	17-十八炔酸 17-Octadecynoic acid	0.0712			
52.474	亚油酸 Linoleic acid	0.2508	0.2305	0.1275	0.1167
酚类化合物(3种)					
38.628	4-乙基愈创木酚 4-Ethyl guaiacol	0.0439	0.2843	0.1677	0.0497
40.277	4-乙烯基愈创木酚 4-Hydroxy-3-methoxystyrene		0.1206	0.2028	0.2087
45.912	2,6-二叔丁基对甲酚 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol		1.4913	1.6419	1.0492
烃类化合物(9种)					
16.18	苯乙烯 Styrene	2.5299	3.0547	1.9578	2.2279
33.867	萘 Naphthalene	0.3645	0.4145	0.3172	0.3296
43.071	β-榄香烯 β-Elemen			0.1134	
43.22	十四烷 Tetradecane	1.7957		1.0493	0.5334
43.624	1,6-二甲基萘 1,6-Dimethyl-naphthalen		0.0205		
44.02	2,7-二甲基萘 2,7-Dimethyl-naphthalen	0.1315			0.0633
45.813	β-瑟林烯 β-selinene			0.3954	
45.866	杜松烯 cadinene			0.4757	
46.278	β-新丁香三环烯 β-neoclovene	0.1000			
其他化合物(2种)					
21.831	2-正戊基呋喃 2-Pentylfuran			1.0435	0.9077
46.831	癸醚 Di-N-decyl ether		0.4629		

的影响。如表 1 和图 3 所示, 4 种甜面酱的挥发性化合物含量最高的均是酯类, 分别为 48.8179×10^{-2} 、 38.4691×10^{-2} 、 22.7868×10^{-2} 、 $13.1326 \times 10^{-2} \mu\text{g/g}$, 随着发酵温度的升高, 酯类含量逐渐降低, 酯类物质是酱制品挥发性成分的主体, 能赋予食品甜香味和果香味, 结合图 1 推测, 可能在低温条件下乳酸菌等产酸菌产酸能力较强, 从而使通过非酶催化的酯化反应形成的酯类含量更多。另外, 发酵温度的升高引起醇类含量逐渐下降而醛类含量逐渐增多。虽然醇类物质阈值普遍较高, 对风味的影响不大, 但醇类物质与香气的组成关系密切, 能与有机酸形成酯类, 而且部分醇类具有使人愉快的气味, 如正辛醇具有干甜而尖锐的脂蜡香气, 又带有柑橘、橙皮和玫瑰样的气息以及油脂果香、甜而微有草香味。醛类的阈值较低, 对风味影响比较大, 能给予酱制品果香和清香。如糠醛带有苦杏仁气味, 结合图 1、2 可知, 戊糖在酸性条件下加热分解成糠醛, 而后通过缩合等反应生成深褐色的色素, 由此, 醛类与甜面酱色泽深浅有一定关系。但醛类含量较高会给甜面酱带来一种焦糖味, 而且含量过多会产生过多的辛辣味, 刺激性大。在 50℃ 条件下发酵而成的甜面酱不论从醛类的种类或是含量上看都多于低温条件下, 这

也与醛类化合物多为加热引起, 经化学反应生成, 或由相应的醇, 酚氧化生成相符^[10]。40℃ 条件下发酵而成的甜面酱酚类含量比 30℃ 条件下发酵而成的甜面酱酚类的含量低, 在检测到的酚类中发现呈强烈香辛料、丁香和发酵似香气的 4-乙基愈创木酚, 此种物质是酱油的特征风味物质之一^[11-12], 经过本研究发现甜面酱中也能检出此物质。4-乙基愈创木酚的含量受温度影响较大, 在前期发酵温度为 30℃ 时的相对含量达到最大, 大约是前期发酵温度为 20℃ 的 6.5 倍。说明发酵温度适度升高会导致酚类总类及含量增多。对于酮类化合物, 20℃ 和 40℃ 条件下酮类含量较高, 两者相比较而言, 20℃ 条件下, 酮类种类少但个体含量多, 如具有水果香味的 5-甲基-3-庚酮含量为 $3.6363 \times 10^{-2} \mu\text{g/g}$, 含量为 5 种酮类中最高的, 而具有青香、果香、蜡香、木香的顺式香叶基丙酮含量差异不大。从温度对酮类的挥发性化合物的影响看, 从 20℃ 到 40℃, 酮类的种类逐渐增多, 与加热生成酮类有关, 而在 50℃ 时酮类化合物急剧减少, 可能是与温度过高对于微生物生长代谢不适有关。另外, 从趋势上可以看出, 在 40℃ 和 50℃ 都产生了低温没有产生的 2-十一酮, 这种化合物具有柑橘类、油脂和芸香似香气, 对于甜面酱的风味有增香作用。

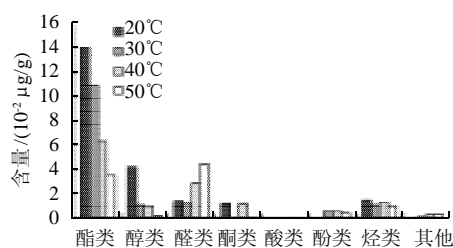


图3 前期不同温度发酵甜面酱的挥发性化合物及含量比较

Fig.3 Comparison on volatile components and corresponding contents in sweet flour paste prepared at different fermentation temperatures in the early period

3 结 论

综合理化指标和产生的挥发性化合物考虑,前期最适发酵温度为40℃,此种条件下,能赋予甜面酱鲜味和甜味的氨基态氮和还原糖含量较高,并且挥发性化合物从种类和含量上都较其余3种全面。微生物发酵产物是风味产生的主要来源,而前期发酵温度对甜面酱挥发性成分的影响仅仅是对风味产生机理的一种初步探索,我们将在本研究的基础上进行一系列更为深入的研究,如后期的温度变化、光照、盐水量等,以期发酵工艺的优化及品质控制提供更多实验依据。

参考文献:

- [1] RAMARATHNAM N, RUBIN L J. The flavour of cured meat[M]// SHAHIDI F. Flavor of meat and meat products. London: Blackie Academic and Professional, 1994: 174-198.
- [2] SUGIYAMA S. Selection of micro-organisms for use in the fermentation of soy sauce[J]. Food Microbiol, 1984(1): 339-347.
- [3] BULL S M, YONG F M, WONG H A. The production of aroma by *Aspergillus oryzae* during the preparation of soy sauce koji[J]. Food Chem, 1985, 17: 251-264.
- [4] WANAKCHAHORNKRAI P, LERTSIRI S. Comparison of determination of method for volatile compounds in Thai soy sauce[J]. Food Chem, 2003, 83: 619-629.
- [5] LEE S M, SEO B C, KIM Y S. Volatile compounds in fermented and acid-hydrolyzed soy sauce[J]. J Food Sci, 2006, 71: 146-156.
- [6] PARK S K, KIM C T, LEE J W, et al. Analysis of ethyl carbamate in Korean soy sauce using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection or tandem mass spectrometry and gas chromatography with mass spectrometry[J]. Science Direct, 2007, 18: 975-982.
- [7] 金华勇, 曾灿伟, 康旭, 等. 顶空固相微萃取-气-质联用技术分析传统甜面酱中挥发性风味成分[J]. 中国酿造, 2009(5): 152-154.
- [8] 赵建新, 戴小军, 田丰伟, 等. 气相-嗅觉法分析传统豆酱风味活性物质[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 394-397.
- [9] 秦礼康, 丁霄霖. 传统陈窖豆豉和霉菌型豆豉挥发性风味化合物研究[J]. 食品科学, 2005, 26(8): 275-280.
- [10] 赵建新, 顾小红, 刘杨岷, 等. 传统豆酱挥发性风味化合物的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 684-687.
- [11] 张秀梅, 王素, 刘瑞钦, 等. 酱油中香气成份的试验研究[J]. 中国调味品, 2003(3): 13-16.
- [12] 济南市轻工研究所. 合成食用香料手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 1985.