



纯豆渣酱的酿制工艺研究

苟婷婷, 彭 荣, 殷钟意, 段松林, 丁 倩, 郑旭煦, 王 莹, 陈吉双

(重庆工商大学 环境与资源学院, 重庆 400067)

摘 要:为解决大量豆渣因营养丰富易腐败变质而造成的资源浪费问题,本文以纯豆渣为原料,以毛霉为发酵菌种,以中性蛋白酶活力为指标,采用单因素和响应面试验设计方法优化前发酵工艺;通过考察不同温度下纯豆渣酱中粗蛋白、可溶性蛋白、总酸和氨基酸态氮含量随时间的变化来确定后发酵所需的时间和温度。结果表明,前发酵的最优工艺条件为:水分含量 62.20%、pH7.5、蒸煮时间 20 min、培养时间 64.5 h,在该工艺条件下,中性蛋白酶活力达 $175.655 \pm 0.765 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,与模型预测值基本一致;在后发酵过程中,40 和 28 ℃、室温下豆渣酱中的粗蛋白、可溶性蛋白、总酸、氨基酸态氮含量均随发酵时间的增加而呈现先增大后逐渐趋于平稳的变化趋势,但在 40 ℃下的可溶性蛋白和氨基酸态氮含量更高,并在 40 d 后趋于稳定,而 28 ℃和室温下的各种营养成分含量要在 50 d 后才趋于稳定,说明提高温度可以提高可溶性蛋白和氨基酸态氮含量并缩短纯豆渣酱酿制所需的时间;3 种温度下酿制的纯豆渣酱中的氨基酸态氮含量均能满足酿造酱中氨基酸态氮含量 $\geq 3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的要求,说明利用纯豆渣酿制豆渣酱是可行的。

关键词:豆渣,酿制工艺,纯豆渣酱;品质分析

Study on the Brewing Technology of Pure Bean Dregs Sauce

GOU Ting-ting, PENG Rong, YIN Zhong-yi, DUAN Song-lin, DING Qian, ZHENG Xu-xu, WANG Ying, CHEN Ji-shuang

(College of Environment and Resources, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: In order to solve the problem of resource waste caused by bean dregs which by-product of bean products enterprises easy to corrupt for its abundant nutrition. This study took pure bean dregs as raw material, mucor as fermentation strain and neutral protease activity as indicator, and the single factor experiment and response surface method were applied to optimize the pre-fermentation process. Then, the time and temperature of post-fermentation were determined by examining the changes of crude protein, soluble protein, total acid and amino acid nitrogen content with time in soybean dregs sauce at different temperatures. The results showed that the optimum conditions of the pre-fermentation were: Moisture content 62.20%, pH7.5, cooking time 20 min, culture time 64.5 h. In this condition, the neutral protease activity reached $175.655 \pm 0.765 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, it is basically consistent with the predicted value of the model. In the post-fermentation process, the contents of crude protein, soluble protein, total acid and amino acid nitrogen in the bean dregs at 40 and 28 ℃, and the room temperature all showed a trend of increasing firstly and then becoming stable gradually with the increasing of fermentation time, but at 40 ℃, soluble protein and amino acid nitrogen content were higher than that at 28 ℃, and the room temperature and the content of various nutrient tent to be stable after 40 d. At 28 ℃ and room temperature they were stable after 50 d. It indicates that increasing temperature can improve soluble protein and amino acid at the same time and shorten the time required for the production of pure bean dregs. The content of amino acid nitrogen in the pure bean dregs after post-fermentation at three temperatures can meet the requirement that the amino acid nitrogen content in the brewed sauce should $\geq 3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. It indicated that it is feasible to brew bean dregs with pure bean dregs.

Keywords: Bean dregs; Brewing process; Pure bean dregs sauce; Quality analysis

我国是豆制品生产大国,而豆渣是豆制品企业加工大豆的主要副产物,每年的产量巨大^[1]。由于新鲜豆渣中含有充足的水分和丰富的营养物质^[2],堆积 6~8 h 后便开始滋生细菌,继而腐败变质,因此豆制品企业副产的大量豆渣需要及时处理,而大量豆渣高效及时处理的方式主要为直接发酵酿制豆渣酱。豆渣酱的酿制过程分为前发酵和后发酵

两个阶段,前发酵阶段为培菌阶段,在此阶段,微生物在豆渣上大量生长繁殖并代谢积累一系列酶系;而后发酵阶段主要是利用前发酵培养积累的酶系协同微生物发生复杂的生化反应^[3],它们共同作用形成豆渣酱的风味和营养物质,这说明微生物在豆渣酱酿制中是必不可缺的^[4]。据报道,豆渣酱酿制所用微生物主要有毛霉、酵母菌、米曲霉等菌种,其

收稿日期:2019-06-18

基金项目:重庆市高层次人才特殊支持计划(科技创新领军人才)(渝委组[2013]139号)。

第一作者简介:苟婷婷(1994-),女,硕士,主要从事生物化工研究。E-mail:gtt18883176382@163.com。

通讯作者:彭荣(1978-),男,博士,助理研究员,主要从事应用微生物和发酵工程研究。E-mail:47513433@qq.com。

中毛霉产酶能力强,产酶种类多,可产蛋白酶、脂肪酶、纤维素酶等酶系^[5]。因豆渣酱中的多肽、氨基酸态氮等小分子易消化的营养成分主要来源于豆渣中蛋白质的水解^[6],所以蛋白酶在毛霉发酵产生的各类酶系中至关重要,说明前发酵阶段蛋白酶的高低会直接影响后期产品的品质。

目前,对豆渣发酵产品尤其是豆渣酱的研究,多停留在前发酵阶段或制曲阶段^[7-9],缺少对后发酵过程中豆渣酱的各种营养成分的关注及研究,虽然也有少数研究以开发产品为出发点,同时关注前发酵工艺和后发酵中的营养成分,但多限于豆渣部分替代黄豆酿制豆渣酱的研究^[10];含豆渣的黄豆酱虽然品质与黄豆酱相差无几,但这种以少量豆渣替代黄豆的方式不能很好地实现大量快速处理豆渣的目的。基于此,本文以纯豆渣为原料,以毛霉为发酵菌种,以中性蛋白酶活力为指标,采用单因素和响应面试验优化前发酵工艺;再将前发酵之后的曲料与食盐水混合后净水封坛,在不同温度下进入后发酵,通过跟踪考察后发酵体系中的总酸、粗蛋白、氨基酸态氮和可溶性蛋白含量的变化规律,确定后发酵所需时间和温度条件,以期在得到质量较佳的纯豆渣酱的同时,为豆制品企业提供一种既简便快捷又高值化完全利用新鲜豆渣的新技术,解决了豆制品企业目前存在的新鲜豆渣大量堆积易腐败变质和低值化利用问题。

1 材料与方法

1.1 材料

豆渣:重庆奇爽责任有限公司;麦麸:市售;雅致毛霉(*Actinomucor elegans*):玉园生物科技有限公司;Folin-酚试剂:鼎瑞化工(上海)有限公司;Casein:广州赛国生物科技有限公司;酪氨酸标准品:Sigma-Aldrich 公司;氢氧化钠、盐酸、三氯乙酸、碳酸

钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、95% 乙醇等均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热搅拌器:上海龙跃仪器设备有限公司;TDZ5-WS 型离心机:湘仪离心机仪器公司;Infinite-M200 型酶标仪:上海安景科技有限公司;LRH-250F 型生化培养箱:上海齐欣科学仪器有限公司;DSX-280A 型手提式压力蒸汽灭菌器:上海三申医疗器械有限公司;RT-15 多点磁力搅拌器:艾卡(广州)仪器设备有限公司。

1.3 试验设计

1.3.1 纯豆渣酱前发酵工艺研究

(1)前发酵试验方法:将新鲜豆渣置于 60 ℃ 的烘箱中烘干至恒重,粉碎后过 60 目筛备用。向豆渣粉中按 0.5% 的比例加入麦麸(为毛霉的生长提供碳源)后复水,于 121 ℃ 蒸煮灭菌,冷却至室温,接种雅致毛霉,在 28 ℃ 的恒温恒湿培养箱中培养,待基料上长满白毛后取出,测定中性蛋白酶的活力,3 次重复,取均值。

(2)单因素试验:分别考察基料水分含量在 55%、60%、65%、70%、75%、80%,pH 为 3.5、4.5、5.5、6.5、7.5 和 8.5,蒸煮时间为 10、20、30、40 和 50 min,培养时间为 36、48、60、72 和 84 h 时中性蛋白酶的活力,3 次重复取均值,筛选得出最优工艺条件。

(3)响应面试验:在单因素试验得到的适宜工艺条件基础上,采用 Central Composite Design 响应面中心设计四因素五水平的响应面试验(表 1),以中性蛋白酶活力(Y)为响应值,考察基料水分含量(A)、pH(B)、蒸煮时间(C)和培养时间(D)对中性蛋白酶活力的影响,进行回归分析、方差分析和交互作用分析,得到最佳工艺条件,开展验证试验。

表 1 中心组合设计因素水平表
Table 1 Factor level table of center combination design

符号 Symbol	因素 Factor	水平编码 Horizontal coding				
		- 1. 414	- 1	0	1	1. 414
A	水分含量	60. 00	62. 20	67. 50	72. 80	75. 00
	Moisture content/ %					
B	pH	5. 00	5. 44	6. 50	7. 56	8. 00
C	蒸煮时间	15. 00	19. 39	30. 00	40. 61	45. 00
	Cooking time/min					
D	培养时间	48. 00	53. 27	66. 00	78. 37	84. 00
	Culture time/h					

1.3.2 纯豆渣酱后发酵试验工艺研究 将前发酵结束的基料与15%的食盐水按照1.0:1.2的比例混合均匀,分别于28和40℃、室温下净水封坛保存60 d。间隔一定时间,测定不同温度下发酵的纯豆渣酱中的粗蛋白、可溶性蛋白、总酸和氨基酸态氮含量,探讨不同发酵时间和温度对后发酵过程中豆渣酱的粗蛋白、可溶性蛋白、总酸和氨基酸态氮含量的影响,3次重复取均值。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 中性蛋白酶活力 待测酶液的制备:用玻璃棒将发酵结束后的曲料搅拌均匀,精确称取5.00 g曲料于小烧杯中,加入20 mL pH7.2的磷酸缓冲溶液,40℃下水浴提取30 min,4 500 r·min⁻¹离心15 min,取上清液备用。

中性蛋白酶活力的测定:根据GB/T28715-2012

中的方法测定中性蛋白酶活力^[11]。

1.4.2 粗蛋白及可溶性蛋白 使用凯氏定氮法^[12]测定总氮及可溶性蛋白的含量。

1.4.3 总酸及氨基酸态氮 采用甲醛滴定法^[13]测定总酸及氨基酸态氮的含量。

1.5 数据分析

采用OriginPro 9.0及Design-Expert. v8.0.6进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 纯豆渣酱前发酵工艺优化

2.1.1 单因素试验 由图1可知,当基料水分含量为65%、pH7.5、蒸煮时间为30 min、培养时间为60 h时,中性蛋白酶活力最高,为最适培养条件。

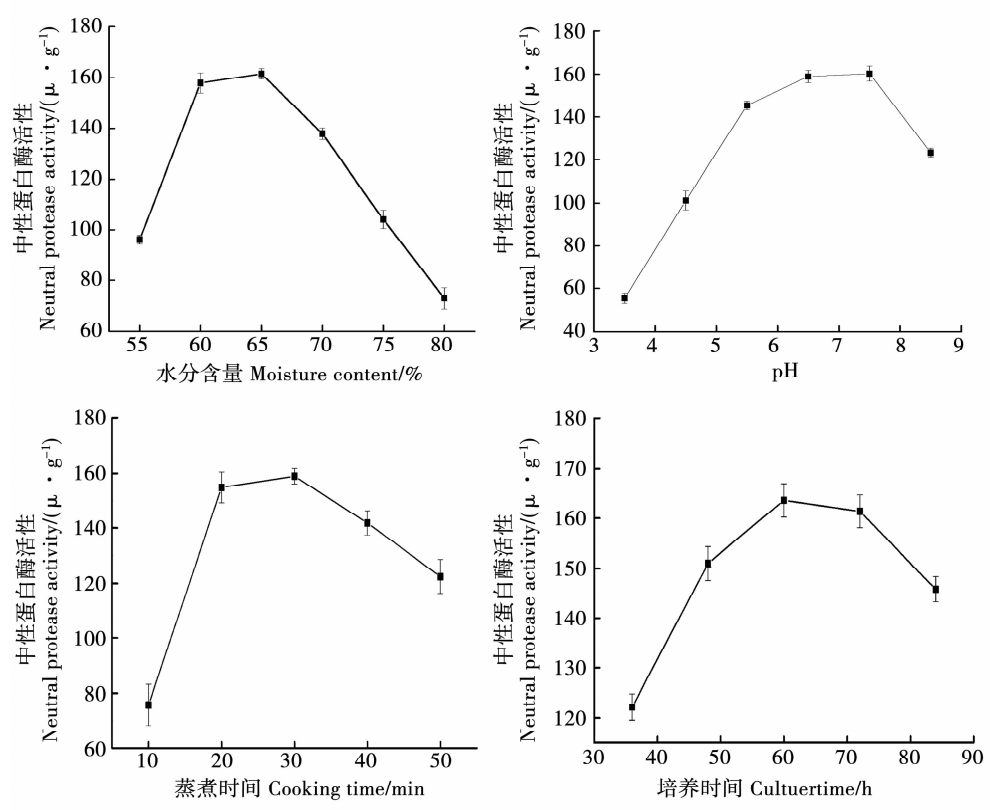


图1 单因素试验结果
Fig.1 Results of single factor experiment

2.1.2 响应面试验

(1)回归分析:对表2中的响应面试验数据进行回归分析,得到的回归方程为:

$$Y = 160.17 - 27.58A + 0.86B + 0.44C - 3.70D - 4.51AB + 1.43AC + 0.087AD - 0.39BC - 0.17BD - 1.71CD - 13.27A^2 - 3.04B^2 - 0.53C^2 - 5.40D^2 + 2.68ABC + 3.79ACD + 2.89BCD$$

式中Y为中性蛋白酶活力的大小,A为水分含量,B为pH值,C为蒸煮时间,D为培养时间。从此回归方程可以看出,A系数的绝对值>D系数的绝对值>B系数的绝对值>C系数的绝对值,说明各因素对模型的影响顺序为水分含量>培养时间>pH>蒸煮时间。

表 2 响应面试验设计结果

Table 2 Results of response surface experiment

序号 Sequence Number	A 水分含量 Moisture content/%	B pH	C 蒸煮时间 Cooking time/min	D 培养时间 Culture time/h	中性蛋白酶活性 Neutral protease activity/(U·g ⁻¹)
1	62. 20	5. 44	40. 61	53. 27	174. 677
2	72. 80	5. 44	19. 39	78. 37	115. 938
3	67. 50	5. 00	30. 00	66. 00	145. 888
4	72. 80	5. 44	19. 39	53. 27	113. 931
5	72. 80	7. 56	19. 39	78. 37	88. 416
6	75. 00	6. 50	30. 00	66. 00	93. 728
7	62. 20	5. 44	40. 61	78. 37	154. 475
8	62. 20	7. 56	19. 39	53. 27	172. 256
9	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	162. 904
10	67. 50	6. 50	30. 00	84. 00	143. 563
11	72. 80	7. 56	40. 61	53. 27	107. 968
12	72. 80	7. 56	40. 61	78. 37	114. 144
13	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	161. 585
14	72. 80	7. 56	19. 39	53. 27	114. 645
15	67. 50	6. 50	45. 00	66. 00	153. 621
16	62. 20	7. 56	19. 39	78. 37	176. 843
17	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	166. 755
18	67. 50	6. 50	30. 00	48. 00	149. 835
19	72. 80	5. 44	40. 61	53. 27	122. 208
20	62. 20	7. 56	40. 61	78. 37	158. 443
21	60. 00	6. 50	30. 00	66. 00	168. 192
22	72. 80	5. 44	40. 61	78. 37	108. 416
23	62. 20	7. 56	40. 61	53. 27	176. 843
24	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	163. 326
25	67. 50	6. 50	15. 00	66. 00	159. 243
26	67. 50	8. 00	30. 00	66. 00	156. 928
27	62. 20	5. 44	19. 39	78. 37	159. 584
28	62. 20	5. 44	19. 39	53. 27	158. 795
29	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	161. 439
30	67. 50	6. 50	30. 00	66. 00	155. 731

(2)方差分析:由表 3 可知,响应面回归模型表现为极显著 ($P < 0.000\ 1$);失拟项不显著 ($P = 0.079\ 5 > 0.05$),表示该模型可以对本试验进行有效的分析和预测^[14-16];相关系数 $R^2 = 0.979\ 2$,表明该回归方程拟合度好,能解释 97.92% 响应值的变化; $CV = 4.03\%$ ($< 10\%$),表明其置信度高。由 F 值可知,4 个因素对响应值(中性蛋白酶活力)的影响大小顺序为:水分含量(A) > 培养时间(D) > pH(B) > 蒸煮时间(C)。模型中,AB、A² 对中性蛋白酶的活力影响极显著,D²、ACD、BCD 影响显著,其余项影响不显著。

表 3 方差分析表
Table 3 Table of variance analysis

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Df	均方 Mean square	F 值 F Value	P 值 P Value	显著性 Significance
模型 Model	19425. 78	17	1142. 69	33. 23	<0. 0001	**
A	15210. 83	1	15210. 83	442. 32	<0. 0001	**
B	14. 70	1	14. 70	0. 43	0. 5255	
C	3. 89	1	3. 89	0. 11	0. 7425	
D	273. 33	1	273. 33	7. 95	0. 0155	*
AB	325. 54	1	325. 54	9. 47	0. 0096	**
AC	32. 63	1	32. 63	0. 95	0. 3493	
AD	0. 12	1	0. 12	0. 003	0. 9538	
BC	2. 48	1	2. 48	0. 072	0. 7930	
BD	0. 44	1	0. 44	0. 013	0. 9114	
CD	46. 82	1	46. 82	1. 36	0. 2965	
A ²	1643. 05	1	1638. 68	47. 78	<0. 0001	**
B ²	86. 48	1	77. 49	2. 51	0. 1388	
C ²	2. 64	1	2. 64	0. 077	0. 7864	
D ²	272. 03	1	272. 03	7. 91	0. 0157	*
ABC	114. 92	1	114. 92	3. 34	0. 0925	
ACD	229. 42	1	229. 42	6. 67	0. 0240	*
BCD	133. 45	1	133. 45	3. 88	0. 0724	*
残差 Residual	412. 66	12	34. 39			
失拟项 Lack of fit	347. 70	7	49. 67	3. 82	0. 0795	
纯误差 Pure error	64. 96	5	12. 99			
总差 Cor total	19838. 44	29				

* 代表各组间存在显著性差异 ($P < 0.05$), ** 代表各组间存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。
* represents significant difference between groups ($P < 0.05$), ** represents extremely significant difference between groups ($P < 0.01$).

(3)交互作用分析:由表 3 可知,AB、A² 对毛霉的中性蛋白酶活力影响显著,在两两交互作用中,仅 AB 具有显著性,其响应曲面和等高线图如图 2,在固定水分含量(A)、pH 值(B)、蒸煮时间(C)和培养时间(D)中任意两个因素的条件下,中性蛋白酶的活力分别随各因素的增加而增加,达到最大值后随各因素的增加而降低。等高线图可直观的反应各因素对毛霉的中性蛋白酶活力的影响,若等高线呈圆形,表明交互作用不显著;若等高线为椭圆形,表明交互作用显著,且等高线的排列越密集交互作用越显著^[17]。由图 2 可知,当 pH 不变时,毛霉的中性蛋白酶活力随着水分含量的增加呈现先增加后降低的变化趋势,当水分含量达到 62% 时,毛霉的中性蛋白酶活力达到最大值。同理,当水分含量不变时,毛霉的中性蛋白酶活力有类似变化,当 pH7.5 时,毛霉的中性蛋白酶活力达到最大值。

(4)验证试验:通过 Design Expert 8.0 获得的最优工艺参数为水分含量 62.2%、pH7.56、蒸煮时间 19.39 min、培养时间 64.44 h,此条件下毛霉的中性

蛋白酶活力的理论值为 180.411 U·g⁻¹。实际条件将最优工艺修正为:水分含量 62.2%、pH7.5、蒸煮时间 20 min、培养时间 64.5 h,在此工艺条件下做 3 次平行试验,得到毛霉的中性蛋白酶活力为 175.655 ± 0.765 U·g⁻¹,与模型预测值基本一致。这说明利用该模型预测豆渣毛霉发酵的中性蛋白酶活力是可行的。

2.2 纯豆渣后发酵试验结果分析

2.2.1 粗蛋白含量的变化 由图 3 可知,3 种温度下,纯豆渣后发酵体系中的粗蛋白含量随时间的变化趋势基本一致,均是随着发酵时间的增加而呈现先增大、后降低、再略微增大、最后趋于平稳的变化趋势。这是因为在后发酵初期,微生物代谢活动旺盛,糖类物质被微生物分解利用,导致粗蛋白含量增加,在后发酵过程的后期,发酵体系中复杂的生理生化反应使粗蛋白含量先波动后趋于稳定,最终粗蛋白含量表现为稳定的状态^[18]。另外,3 种温度下的粗蛋白含量相差不大,这是因为粗蛋白含量是所有含氮物质的总和,发酵温度对其影响不大。

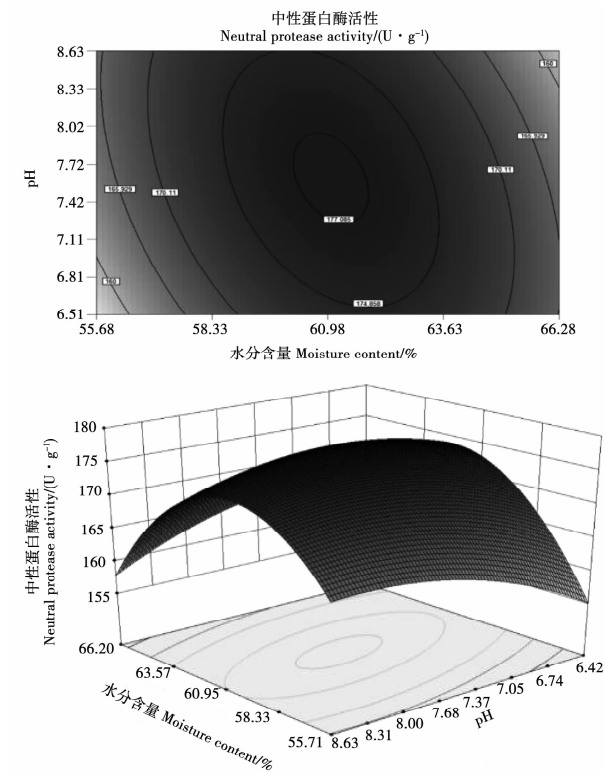


图2 水分含量和pH的交互作用

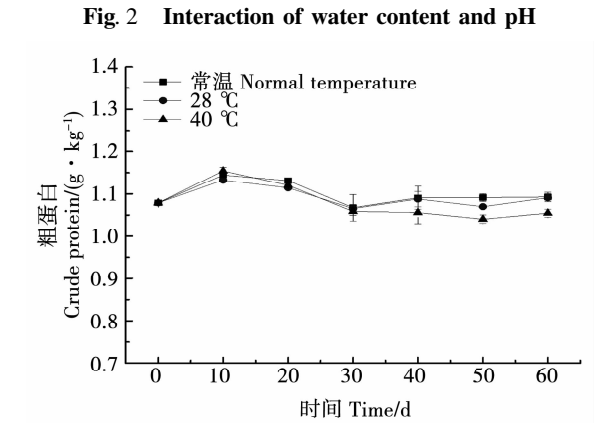


图3 纯豆渣后发酵过程中粗蛋白含量的变化

Fig. 3 Change of crude protein content during the fermentation process of bean dregs

2.2.2 可溶性蛋白含量的变化 由图4可知,3种温度下,纯豆渣后发酵体系中的可溶性蛋白含量均是随着发酵时间的增加而呈现先缓慢增大、后较快增大、最后趋于平稳的变化趋势。这是因为在后发酵初期,发酵体系中蛋白不断水解,而可溶性蛋白的含量与蛋白质的水解关系紧密,水解后的蛋白的表面疏水性会降低,溶解度随着水解度的增大而增大^[19],所以可溶性蛋白含量在后发酵初期随时间的增加呈不断增加的趋势;在后发酵过程后期,引起蛋白质水解的酶活力降低,蛋白水解速度放缓,所以可溶性蛋白含量表现为缓慢上升直至平稳。另外,40℃下的可溶性蛋白含量一直高于28℃和室温

下的可溶性蛋白含量,且40℃下的可溶性蛋白含量在40d趋于平稳,而28℃和室温下的可溶性蛋白含量在50d趋于平稳。这是因为随着发酵温度的升高,中性蛋白酶的活性增大,蛋白质的水解速度加快,可溶性蛋白的溶解度也随着温度的升高而增大,所以40℃下的可溶性蛋白含量一直高于28℃和室温下的可溶性蛋白含量,以至于更早时间趋于平稳状态。

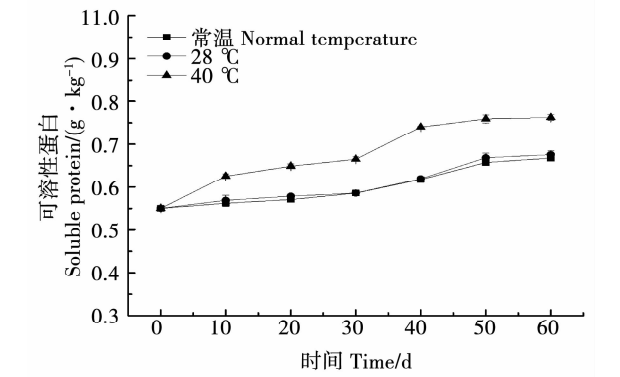


图4 纯豆渣酱发酵过程中可溶性蛋白含量的变化

Fig. 4 Change of soluble protein content during the fermentation process of bean dregs

2.2.3 总酸含量的变化 由图5可知,3种温度下,纯豆渣后发酵体系中的总酸含量随时间增加呈先上升再平稳的趋势。这是因为,接种毛霉进行前发酵,能够产酸的菌种较少,所以在后发酵之前体系总酸含量较低;随着后发酵时间的增加,产酸菌利用发酵体系中的还原糖不断生长繁殖,代谢产酸,导致总酸含量直线上升^[20];随着发酵体系中的酸不断积累,盐分充分渗透基料,发酵体系中不耐酸和盐的微生物被抑制甚至死亡,导致产酸的速率降低,总酸含量曲线呈现出趋于平稳的变化趋势。另外,发酵30d后,40℃下的总酸含量低于28℃和室温的总酸含量,这是因为在室温和28℃下发酵时,温度较温和,产酸菌大量快速生长繁殖,代谢产酸,造成总酸含量不断增大^[21];而40℃下发酵时,由于温度较高,抑制了产酸菌的代谢活动,使总酸含量控制在较低含量范围^[22]。

2.2.4 氨基酸态氮含量的变化 由图6可知,氨基酸态氮的含量随发酵时间的增加呈先增加后平稳的趋势。这是因为,在后发酵初期,蛋白酶活力处于较高水平,可以将大分子蛋白质逐步水解为小分子^[23],使氨基酸态氮含量不断增加;随着发酵时间的延长,发酵体系酸度不断升高,蛋白酶活力受其影响不断下降,造成氨基酸态氮含量的增速不断放缓。另外,40℃下的氨基酸态氮含量一直高于28℃和室温下的氨基酸态氮含量且较28℃和室温更早趋于平稳。这是因为,随着温度的升高,中性蛋白酶的活性增大^[24],能够快速地将发酵体系中的蛋白

质水解为氨基酸态氮等小分子,所以 40 ℃ 下的氨基酸态氮含量较高,以至于更早时间趋于平稳状态。

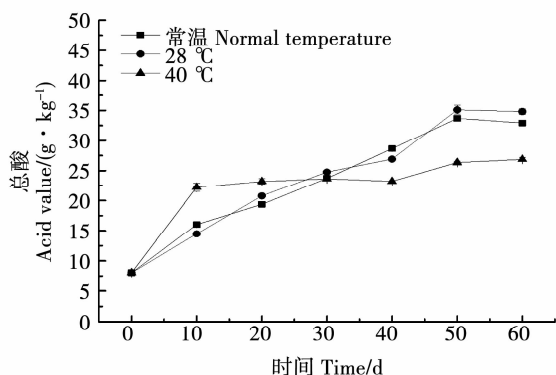


图5 纯豆渣后发酵过程中总酸含量的变化曲线

Fig. 5 Change of total acid content during the fermentation process of bean dregs

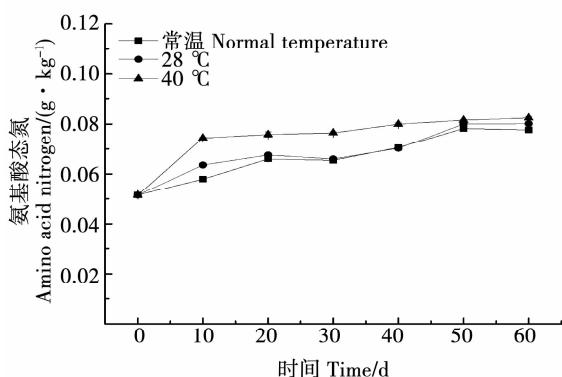


图6 纯豆渣后发酵过程氨基酸态氮含量的变化曲线

Fig. 6 Change of amino nitrogen content during the fermentation process of bean dregs

3 讨论

毛霉产酶能力强,产酶种类多,其产出的主要生物酶为中性蛋白酶,中性蛋白酶在纯豆渣酱的酿制过程中起着至关重要的作用。本研究以毛霉中性蛋白酶的活力为前发酵工艺优化的考察指标,抓住影响纯豆渣酱酿制品质的主要问题,使前发酵工艺的优化工作变得简便有效。

后发酵过程中纯豆渣酱的粗蛋白、可溶性蛋白、总酸和氨基酸态氮含量均随着发酵时间的增加而呈现先增大后逐渐趋于平稳的变化趋势,这些变化与后发酵体系中生物酶的活性高低和微生物的代谢活动强弱有关。在后发酵阶段的前期,后发酵体系中的生物酶活性处于较高水平,微生物代谢活动旺盛,使体系中各种营养成分含量出现上升趋势;而在后发酵阶段的后期,生物酶活性和微生物代谢活动减弱,各种营养成分含量上升速率变慢直至达到平稳状态^[25-27]。本研究在较高温度 40 ℃、毛霉最适生长温度 28 ℃ 及自然发酵状态下的室温这 3 种温度下进行后发酵阶段,发现在高温条件下

进行后发酵可以缩短豆渣酱成熟所需要的时间及提高产品品质。这是因为在高温条件下,发酵体系中的生理生化反应活跃,产品能较快达到较稳定的状态。

影响后发酵过程的因素有盐水浓度、水分含量、发酵温度和发酵时间等,本研究只对后发酵温度和发酵时间和进行了考察,若再对盐水浓度和水分含量等因素进行优化选择,可能会使纯豆渣酱的风味和品质达到更佳。

4 结论

前发酵的最优工艺条件为:新鲜豆渣水分含量 62.20%、pH7.5、蒸煮时间 20.00 min、培养时间 64.50 h,在该工艺条件下,中性蛋白酶活力达 $175.655 \pm 0.765 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,与模型预测值基本一致。在后发酵过程中,40 和 28 ℃、室温下豆渣酱中的粗蛋白、可溶性蛋白、总酸、氨基酸态氮含量均随发酵时间的增加而呈现先增大后逐渐趋于平稳的变化趋势,但 40 ℃ 下的可溶性蛋白和氨基酸态氮含量更高,并在 40 d 后趋于稳定。而 28 ℃ 和室温下的各种营养成分含量要在 50 d 后才趋于稳定,说明提高温度可以提高可溶性蛋白和氨基酸态氮含量并缩短纯豆渣酱酿制所需的时间,且可得出:在 40 ℃ 下进行后发酵所需的发酵时间为 40 d 和 28 ℃ 和室温下后发酵所需的后发酵时间为 50 d。40 和 28 ℃、室温下酿制的纯豆渣酱的氨基酸态氮含量分别达 3.117、3.046、3.003 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,均能满足 GB 2718 - 2014 酿造酱中氨基酸态氮含量应 $\geq 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的要求,说明利用纯豆渣酿制豆渣酱是可行的。

参考文献

- [1] 王慧. 豆渣发酵成分分析及其产品开发的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2014. (Wang H. Study on fermentation composition analysis and product development of bean dregs [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.)
- [2] 段松林,彭荣,殷钟意,等. 基于综合酶活力优化的豆渣酱油曲制备工艺[J]. 大豆科学,2018,37(6):955-960,974. (Duan S L, Peng R, Yin Z Y, et al. Preparation of soybean soy sauce koji based on comprehensive enzyme activity optimization [J]. Soybean Science, 2018, 37 (6):955-960,974.)
- [3] 蒋丽婷. 白腐乳物化性质与感官品质的相关性研究[D]. 广州:华南理工大学,2012. (Jiang L T. Correlation between physical properties and sensory quality of white bean curd [D]. Guangzhou:South China University of Technology, 2012.)
- [4] 孙常雁. 自然发酵黄豆酱中主要微生物酶系的形成及作用[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2007. (Sun C Y. Formation and function of main microbial enzymes in naturally fermented soybean paste [D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2007.)
- [5] 郑晓婷,赵新淮. 毛霉的产蛋白酶发酵条件优化[J]. 微生物学通报,2009,36(2):193-197. (Zheng X T, Zhao X H. Optimiza-

- tion of protease fermentation conditions of *Mucor* [J]. Bulletin of Microbiology, 2009, 36(2): 193-197.)
- [6] 陶瑞霄,贾冬英,姚开,等. 豆渣毛霉发酵条件的研究[J]. 中国调味品,2013,38(4):57-60,64. (Tao R X, Jia D Y, Yao K. Study on fermentation conditions of mulberry mold[J]. China Condiment, 2013, 38(4): 57-60, 64.)
- [7] 肖少香. 豆渣发酵技术的研究[J]. 食品科技, 2007(7): 72-75. (Xiao S X. Research on the fermentation technology of bean dregs [J]. Food Science and Technology, 2007(7): 72-75.)
- [8] 管瑛,汪瑄芃,李文,等. 豆渣固态发酵过程中主要营养成分及抗氧化特性变化[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 189-194. (Guan Y, Wang J P, Li W. Changes of main nutrients and antioxidant properties during solid fermentation of bean dregs [J]. Food Science, 2016, 37(21): 189-194.)
- [9] 刘晓庆,殷丽君,鲁绯,等. 豆渣酱制曲工艺条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2008(7): 111-114. (Liu X Q, Yin L J, Lu F, et al. Optimization of process conditions for bean curd sauce [J]. Food and Fermentation Industries, 2008(7): 111-114.)
- [10] 赵爽. 大豆豆渣替代部分黄豆发酵豆酱的研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(3): 116-118, 166. (Zhao S. Study on the replacement of some soybean bean fermented soybean paste with soy bean dregs [J]. Food Research and Development, 2019, 40(3): 116-118, 166.)
- [11] 中华人民共和国国家标准. 饲料添加剂酸性、中性蛋白酶活力测定分光光度法:GB/T28715-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013. (National Standard of the People's Republic of China. Determination of acidity and neutral protease activity of feed additives by spectrophotometry: GB/T28715-2012[S]. Beijing: China Standard Press, 2013.)
- [12] 中华人民共和国国家标准. 酱卫生标准的分析方法:GB 5009. 39—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003. (National Standard of the People's Republic of China. Analytical method for sanitary standards of sauce: GB 5009. 39—2003 [S]. Beijing: China Standard Press, 2003.)
- [13] 中华人民共和国国家标准. 食品中蛋白质的测定:GB/T 5009. 5—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010. (National Standard of the People's Republic of China. determination of protein in food: GB/T 5009. 5-2010 [S]. Beijing: China Standard Press, 2010)
- [14] 谢洋,李鹏,隋新,等. 响应面优化细叶杜香提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 1-12. (Xie Y, Li P, Sui X, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of *Eucalyptus urophylla* L. by response surface [J]. Research and Development of Natural Products, 2019, 1-12.)
- [15] 张笑菊,蔡逸安,李昕悦,等. 响应面法优化紫甘蓝中花色苷提取工艺及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(1): 85-91. (Zhang X J, Cai Y A, Li Y Y, et al. Optimization of anthocyanin extraction process and antioxidant activity in purple cabbage by response surface methodology [J]. Food Research and Development, 2019, 40(1): 85-91.)
- [16] 闫明,韦迎春,杨晶,等. 响应面法优化茯苓多糖提取工艺[J]. 药学与临床研究, 2016, 24(5): 365-367. (Yan M, Wei Y C, Yang J, et al. Optimization of extraction process of *Lyciumbarbarum polysaccharides* by response surface methodology [J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2016, 24(5): 365-367.)
- [17] 陈燕,王文平,邱树毅,等. 响应面法优化超声波强化提取薏苡仁酯[J]. 食品科学, 2010, 31(8): 46-50. (Chen Y, Wang W P, Qiu S Y, et al. Optimization of ultrasonic enhanced extraction of coix seed ester by response surface methodology [J]. Food Science, 2010, 31(8): 46-50.)
- [18] 姜静,郭晶晶,安飞宇,等. 豆酱自然发酵过程中理化指标与滋味特性分析[J]. 食品科技, 2018, 43(11): 319-325. (Jiang J, Guo J J, An F Y. Analysis of physical and chemical indicators and taste characteristics in natural fermentation process of bean paste [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(11): 319-325.)
- [19] 孙永才,孙京新,王宝维,等. 纳地青霉发酵高温灭菌鸭血质构、可溶性蛋白、游离氨基酸以及挥发性物质变化研究[J]. 食品工业科技, 2017, 39(10): 160-164. (Sun Y C, Sun J X, Wang B W. Study on the changes of blood structure, soluble protein, free amino acids and volatile substances in high temperature sterilized ducks fermented by *Penicillium natto* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 39(10): 160-164.)
- [20] 黄治国,侯海波,罗惠波. 浓香型酒酯发酵过程中乙醇和总酸变化规律研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(6): 53-56. (Huang Z G, Hou H B, Luo H B. Study on the change law of ethanol and total acid in the fermentation process of Liuzhou-flavored wine cellar [J]. China Brewing, 2012, 31(6): 53-56.)
- [21] 李芳. 桑椹果醋的发酵技术及其化学成分变化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009. (Li F. Fermentation technology and chemical composition changes of mulberry vinegar [D]. Southwest University, 2009.)
- [22] 张春岭,刘慧,刘杰超,等. 响应面试验优化红枣乳酸发酵饮料工艺[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(1): 39-42, 57. (Zhang C L, Liu H, Liu J C, et al. Optimization of red jujube lactic acid fermented beverage process by response surface test [J]. Chinese Food and Nutrition, 2019, 25(1): 39-42, 57.)
- [23] 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. (Zhang Y H, Ma L, Zhou M R. The relationship between proteolysis and melanin formation during fermentation of Yongchuan soybean meal [J]. Food Science, 2013, 34(19): 195-199.)
- [24] 刘颖,孙冰玉,刘琳琳,等. 毛霉高产中性蛋白酶发酵培养条件的优化[J]. 大豆科技, 2013(5): 33-39. (Liu Y, Sun B Y, Liu L L, et al. Optimization of fermentation conditions for high-yield neutral protease of *Mucor* [J]. Soybean Science and Technology, 2013(5): 33-39.)
- [25] 姜静,郭晶晶,安飞宇,等. 豆酱自然发酵过程中理化指标与滋味特性分析[J]. 食品科技, 2018, 43(11): 319-325. (Jiang J, Guo J J, An F Y. Analysis of physical and chemical indicators and taste characteristics in natural fermentation process of bean paste [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(11): 319-325.)
- [26] 高秀芝,王小芬,李献梅,等. 天源酱园豆酱发酵过程中营养及理化指标动态[J]. 食品科学, 2008(9): 352-354. (Gao X Z, Wang X F, Li X M. Dynamics of nutrition and physical and chemical indicators in fermentation process of Taiyuan Sauce Garden [J]. Food Science, 2008(9): 352-354.)
- [27] 晏丽,张银志,王森,等. 自然发酵黄豆酱生产过程中理化及微生物指标的动态分析[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(3): 271-275. (Yan L, Zhang Y Z, Wang M. Dynamic analysis of physicochemical and microbial indicators in the production of naturally fermented soybean paste [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2012, 31(3): 271-275.)