

永川豆豉发酵过程中总糖和氨基酸变化与滋味的形成

索化夷^{1,2}, 赵欣³, 蹇宇³, 陈娟⁴, 李键⁴, 张玉^{1,2}, 王远微¹, 阚建全^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715;

3.重庆第二师范学院生物与化学工程系, 重庆 400067; 4.西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041)

摘要: 通过采集传统发酵过程中的永川豆豉样本, 对其总糖、还原糖、糖化酶活性、总氨基酸、游离氨基酸构成进行测定。结果表明, 在成品豆豉游离氨基酸中, 鲜味氨基酸占总游离氨基酸的23.98%, 鲜味风味突出。豆豉中甜味氨基酸和还原糖共同构成了其回甜的滋味特点。豆豉中短链脂肪酸和乳酸使其呈现一定的酸味, 酚类物质和苦味氨基酸呈现一定的苦味。这些最终决定了永川毛霉型豆豉的特有的咸鲜回甘风味特点。

关键词: 永川豆豉; 总糖; 氨基酸; 滋味形成

Changes in Total Sugar and Amino Acids, and Formation of Taste Compounds in Yongchuan Douchi during Fermentation

SUO Huayi^{1,2}, ZHAO Xin³, QIAN Yu³, CHEN Juan⁴, LI Jian⁴, ZHANG Yu^{1,2}, WANG Yuanwei¹, KAN Jianquan^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Engineering Research Center of Regional Food, Chongqing 400715, China;

3. Department of Biological and Chemical Engineering, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China;

4. Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

Abstract: Yongchuan Douchi, a typical representative of *Mucor*-type Douchi, is popular among consumers due to its tasty flavor. In this study, the contents of total sugar, reducing sugar, total amino acids and free amino acids and glucoamylase activity in Douchi samples from the traditional fermentation process were determined. The results suggested that the delicious amino acids responsible for the distinct flavor accounted for 23.98% of total free amino acids in refined Douchi. The sweet aftertaste of Douchi mainly was attributed to the combination of the sweet amino acids and reducing sugar. The short-chain fatty acids and lactic acid in Douchi contributed to its sour taste, while phenolic compounds and bitter amino acids were responsible for its bitter taste. All these factors determine the unique flavor and sweet aftertaste of Yongchuan *Mucor*-type Douchi.

Key words: Yongchuan Douchi; total sugar; amino acids; formation of taste compounds

中图分类号: TS214.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2015) 21-0100-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201521020

豆豉是我国西南地区的一种集营养与风味为一体的传统大豆发酵食品, 颇受人民群众的喜爱。豆豉中含有大豆多肽、大豆皂苷、大豆低聚糖、大豆异黄酮、褐色色素和溶栓酶等功能性物质。研究发现豆豉具有抗氧化^[1-2]、降压^[3-5]、降血糖^[6]等多种保健功能。

大豆经过发酵后往往会具有更优良的口感、质地和风味, 从而受到广大消费者的喜爱^[7-9]。这种质地和风味的改变与其基本成分的改变有着密切的关系^[10]。蛋白质、脂肪、淀粉结构的降解会引起食品品质构发生改变, 使食品

口感更加细腻绵软。另外, 蛋白质降解成多肽和氨基酸, 不但提高了食品的营养价值^[10-12], 而且多肽和游离氨基酸的构成还决定了发酵食品的滋味^[9,13-16]。永川豆豉作为四大豆豉品系之一的毛霉型豆豉, 以色泽晶莹、光滑黝黑、清香散粒、入口化渣回甜、豉香浓郁等特点著称。但其目前存在生产过程缺少科学的控制标准、产品质量不稳定等问题。对于永川毛霉型豆豉总糖和氨基酸成分在发酵过程的变化规律和特点的研究有利于分析其滋味形成机理。目前, 永川毛霉型豆豉滋味形成机理还未见报道。

收稿日期: 2014-12-11

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31201411)

作者简介: 索化夷 (1978—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为发酵微生物。E-mail: birget@swu.edu.cn

*通信作者: 阚建全 (1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品科学。E-mail: ganjq1965@163.com

本研究对永川毛霉型豆豉传统发酵过程中总糖、还原糖、糖化酶活性、总氨基酸、游离氨基酸构成进行测定,研究评价豆豉基本成分的变化规律,以期对永川毛霉型豆豉的生产工艺优化、产品质量控制奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

原料大豆产地吉林省。

1.2 试剂

葡萄糖、酚酞、硫酸、氢氧化钠、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)、硫酸钾、盐酸、无水乙醇、甲醛、硼酸均为分析纯 成都市科龙化工试剂厂。

1.3 仪器与设备

JH-722分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司; eLIX10 Millipore超纯水系统 美国密理博公司; H-2050R台式高速冷冻离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司; L-8800全自动氨基酸分析仪 日本日立公司。

1.4 方法

1.4.1 永川毛霉型豆豉的制备

工艺流程:大豆筛选→浸泡→沥干→常压蒸汽料→冷却→自然发酵制曲→翻曲→拌和(食盐含量13~14 g/100 g、白酒、醪糟)→入罐发酵后熟→成品。

样本采集后,检测酶活的样品立即检测,其余样品封入自封袋-20℃冻存,S1~S16分别代表了不同发酵时期的永川豆豉样品。详见表1。

表1 实验样品的编号

Table 1 Numbering of different experimental samples

代号	样品状态	代号	样品状态
S1	原料大豆(东北大豆)	S9	制曲第10天
S2	浸泡4 h后大豆	S10	后发酵第10天
S3	蒸煮后大豆制曲第0天	S11	后发酵第25天
S4	制曲第2天	S12	后发酵第45天
S5	制曲第4天	S13	后发酵第75天
S6	制曲第5天	S14	后发酵第105天
S7	制曲第7天	S15	后发酵第165天
S8	制曲第9天	S16	后发酵第225天

1.4.2 永川毛霉型豆豉总糖和还原糖含量的测定^[17-18]

1.4.2.1 葡萄糖标准曲线的制备

吸取0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL葡萄糖标准溶液(1 mg/mL),分别置入25 mL比色管中,并补水至2 mL,加1.5 mL DNS溶液,摇匀后于沸水浴中加热5 min,取出,冷却至室温,用水稀释至25 mL,于540 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,葡萄糖的含量为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $Y=0.612X+0.0103$,相关系数 $R^2=0.9991$ 。

1.4.2.2 样品中还原糖的浸提

称取5 g冷冻样品于研钵中研磨均匀,从中取约3 g,放入100 mL的三角瓶中,先以少量蒸馏水搅拌成糊状,然后加入蒸馏水50 mL,搅拌均匀,于50℃水浴20 min,浸提。滤纸过滤,用蒸馏水清洗滤渣,收集滤液,用蒸馏水定容至100 mL,即为样品还原糖待测液。

1.4.2.3 样品中总糖的水解和提取

称取5 g冷冻样品研钵研磨均匀,从中取约1 g,于100 mL的三角瓶中,加入10 mL 6 mol/L的盐酸及15 mL蒸馏水,置于沸水浴中水浴30 min。取出,待三角瓶中水解液冷却后加入一滴酚酞指示剂,以6 mol/L NaOH中和至微红色,过滤,用蒸馏水清洗残渣,后将滤液定容至100 mL,待用。

1.4.2.4 还原糖含量及总糖含量测定

取样品溶液1 mL置于25 mL比色管中,补水至2 mL,加1.5 mL DNS溶液,摇匀后于沸水浴加热5 min,取出,冷却至室温,用水稀释至25 mL,波长540 nm,试剂空白,测定吸光度,根据下式算出样品的糖含量。

$$\text{还原糖含量}/\% = \frac{C \times V_1}{m \times V_2} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{总糖含量}/\% = \frac{C \times V_1}{m \times V_2} \times 0.9 \times 100 \quad (2)$$

式中: C为查标准曲线所得水解后还原糖含量/mg; V_1 为提取液总体积/mL; V_2 为测定时取用液体积/mL; m为样品质量/mg。

1.4.3 永川毛霉型豆豉中糖化酶活性的测定

参照GB 8276—2006《食品添加剂 糖化酶制剂》^[19]的方法测定。

1.4.4 永川毛霉型豆豉总氨基酸和游离氨基酸测定

采用氨基酸自动分析仪法^[20]测定。

1.4.4.1 样品总氨基酸测定前处理

准确称取样品200 mg于试管中,向试管中加入14 mL 6 mol/L盐酸,振荡混匀。用酒精喷灯把试管口下端1/3处拉细到4~6 mm,抽真空10 min后封管。处理过的试管置(110±1)℃恒温烘箱中沙浴水解22 h,取出冷却至室温,摇匀过滤,取1 mL滤液于50 mL烧杯中,用60℃恒温水浴蒸干滤液,用0.02 mol/L盐酸稀释4.5倍,用0.45 μm滤膜过滤后上机测定。

1.4.4.2 样品游离氨基酸测定前处理

准确取样品500 mg,于10 mL塑料离心管中,加入2 mL 4 g/100 mL磺基水杨酸溶液振荡摇匀。将离心管于16 000 r/min离心5 min。稀释后用0.45 μm滤膜过滤后上机分析。

1.4.4.3 分析条件

洗脱液经泵1流过,泵压10.622 kPa,流速0.45 mL/min;茚三酮经泵2流过,泵压0.980 kPa,流速0.35 mL/min。分离柱柱温70℃;反应柱柱温135℃。

1.5 数据处理

实验重复测定3次, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据用Excel进行分析。

2 结果与分析

2.1 永川毛霉型豆豉在发酵过程中总糖和还原糖含量变化规律

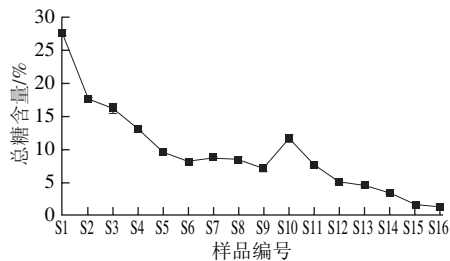


图1 豆豉发酵过程中总糖含量的变化

Fig.1 Change in total sugar content in Douchi at different fermentation stages

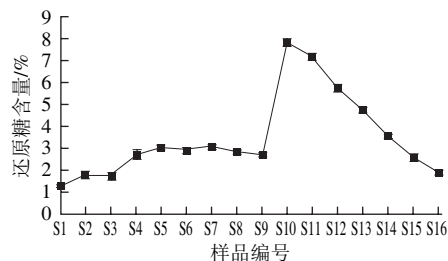


图2 豆豉发酵过程中还原糖含量的变化

Fig.2 Change in reducing sugar content in Douchi at different fermentation stages

由图1可知, 大豆样品的总糖含量经浸泡和蒸煮后含量下降。主要有两方面原因, 一方面是损失一部分, 另一方面是水分含量增加, 总糖含量由27%下降到16%。在以后的制曲及后发酵过程中, 由于其水解的单糖被微生物利用, 总糖含量一直保持下降的趋势。由于在拌料(S10)时加入醪糟, 总糖含量提高到11.6%, 同时继续保持下降趋向, 最终成品的含量只有1.35%。由图1、2可知, 在制曲过程中由于糖化酶活性高, 还原糖的生成量略高于消耗量, 所以还原糖含量在制曲阶段缓慢上升。还原糖在拌料(S10)后明显增加, 这主要是由于拌料加入了醪糟等配料含有大量还原糖导致提高显著, 随着后发酵进行, 还原糖被微生物利用而逐渐下降^[21]。

2.2 永川毛霉型豆豉在发酵过程中糖化酶活性变化规律

糖化酶又称葡萄糖淀粉酶, 它可以作用于淀粉非还原性末端, 水解 α -1,4葡萄糖苷键产生葡萄糖, 同时也能缓慢水解 α -1,6葡萄糖苷键转化成葡萄糖。所以糖化酶的活性直接关系到淀粉分解成葡萄糖的程度^[22]。由图3

可知, 糖化酶在制曲过程中活性逐渐增加并在制曲后期达到最大值76.17 U/g, 在后发酵阶段由于拌料食盐的添加, 微生物活动受到抑制, 糖化酶活性逐渐降低, 最后在35 U/g左右保持稳定。永川毛霉型豆豉糖化酶活性较高, 使淀粉水解充分, 有利于后发酵过程中微生物对葡萄糖的利用和转化。

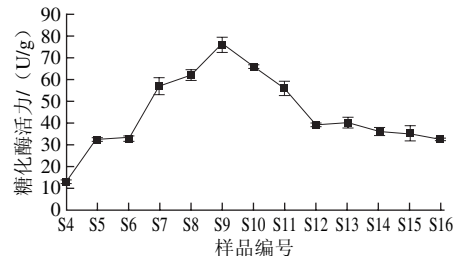


图3 豆豉发酵过程中糖化酶活性的变化

Fig.3 Change in cellulase activity in Douchi at different fermentation stages

2.3 永川毛霉型豆豉发酵过程中总氨基酸变化规律

表2 豆豉发酵过程中总氨基酸含量的变化

Table 2 Change in total amino acid content in Douchi at different fermentation stages

氨基酸名称	S1	S3	S5	S7	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S16
天冬氨酸 (Asp)	2.734	1.767	2.223	2.429	2.722	1.700	1.203	1.782	1.786	1.655	1.669
苏氨酸 (Thr)	0.837	0.540	0.678	0.756	0.899	0.568	0.412	0.578	0.592	0.557	0.594
丝氨酸 (Ser)	0.821	0.547	0.686	0.815	0.981	0.631	0.445	0.611	0.629	0.609	0.638
谷氨酸 (Glu)	4.126	2.812	3.443	3.766	4.051	2.555	1.794	2.655	2.647	2.457	2.850
甘氨酸 (Gly)	1.114	0.711	0.893	0.986	1.099	0.676	0.456	0.713	0.700	0.654	0.736
半胱氨酸 (Cys)	1.160	0.743	0.940	1.072	1.186	0.718	0.481	0.764	0.754	0.710	0.944
丙氨酸 (Ala)	0.236	0.140	0.195	0.222	0.272	0.190	0.161	0.191	0.198	0.198	0.194
缬氨酸 (Val)	1.329	0.874	1.093	1.223	1.332	0.835	0.562	0.872	0.877	0.821	0.877
蛋氨酸 (Met)	0.262	0.252	0.202	0.251	0.298	0.166	0.123	0.186	0.170	0.181	0.168
异亮氨酸 (Ile)	1.344	0.863	1.096	1.204	1.348	0.839	0.549	0.884	0.870	0.820	0.856
亮氨酸 (Leu)	2.124	1.374	1.742	1.941	2.147	1.320	0.850	1.373	1.351	1.275	1.351
酪氨酸 (Tyr)	0.751	0.532	0.613	0.703	0.801	0.508	0.338	0.512	0.504	0.493	0.509
苯丙氨酸 (Phe)	1.279	0.865	1.070	1.198	1.309	0.813	0.552	0.834	0.841	0.790	0.818
赖氨酸 (Lys)	1.558	0.950	1.221	1.377	1.457	0.905	0.601	0.894	0.884	0.828	0.711
组氨酸 (His)	0.642	0.464	0.549	0.621	0.647	0.439	0.340	0.367	0.370	0.343	0.420
精氨酸 (Arg)	1.871	1.181	1.483	1.603	1.760	1.111	0.694	1.038	1.011	0.936	0.807
脯氨酸 (Pro)	1.170	0.768	0.833	1.292	1.155	0.781	0.521	0.860	0.852	0.802	0.862
总量	23.358	15.385	18.960	21.459	22.310	14.753	10.082	15.113	15.036	14.129	15.003

由表2可知, 黄豆经浸泡后由于水分含量增加, 总氨基酸含量由23.358 g/100 g下降到15.385 g/100 g, 随着制曲过程水分的蒸发, 总氨基酸含量逐渐增加到22.310 g/100 g。当拌料后, 由于拌入醪糟、食盐、白酒总氨基酸含量下降到14.753 g/100 g, 后发酵过程变化不大。成品豆豉中含有成人必需的除色氨酸外的7种必需氨基酸: 赖氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸。其中含量最高的前5种氨基酸为谷氨酸(2.850 g/100 g)、天冬氨酸(1.669 g/100 g)、亮氨酸(1.351 g/100 g), 半胱氨

酸(0.944 g/100 g)和缬氨酸(0.877 g/100 g)。它们占豆豉总氨基酸的51.26%。成品豆豉的主要氨基酸构成与大豆主要氨基酸构成相似。

2.4 永川毛霉型豆豉发酵过程中游离氨基酸含量的变化

表3 豆豉发酵过程中游离氨基酸含量的变化
Table 3 Change in free amino acid content in Douchi at different fermentation stages

氨基酸名称	S1	S3	S5	S7	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S16	风味
甘氨酸(Gly)	0.038	0.050	0.023	0.097	0.169	0.497	0.690	0.748	0.884	0.919	1.095	甜味
丝氨酸(Ser)	0.016	0.052	0.042	0.185	0.355	1.013	1.468	1.608	1.900	1.991	2.390	甜味
苏氨酸(Thr)	0.021	0.079	0.103	0.410	0.722	0.830	1.183	1.274	1.491	1.577	1.933	甜味
丙氨酸(Ala)	0.018	0.053	0.070	0.140	0.209	0.182	0.247	0.219	0.266	0.256	0.278	甜味
精氨酸(Arg)	0.332	2.191	0.316	0.703	1.007	1.095	1.980	2.273	2.713	2.952	2.632	苦味
异亮氨酸(Ile)	0.010	0.026	0.017	0.124	0.306	1.077	1.620	1.799	2.100	2.223	2.700	苦味
缬氨酸(Val)	0.021	0.051	0.047	0.206	0.378	1.240	1.782	1.958	2.253	2.393	2.856	苦味
蛋氨酸(Met)	0.009	0.019	0.026	0.101	0.200	0.169	0.257	0.274	0.453	0.506	0.683	苦味
亮氨酸(Leu)	0.022	0.043	0.045	0.284	0.583	1.761	2.765	3.067	3.658	3.880	4.641	苦味
酪氨酸(Tyr)	0.037	0.092	nd	0.419	0.652	1.325	1.806	2.101	2.440	2.400	2.549	苦味
苯丙氨酸(Phe)	0.072	0.185	0.522	0.814	1.115	1.901	2.533	2.694	3.079	3.165	3.386	苦味
组氨酸(His)	0.029	0.126	0.075	0.149	*	*	*	*	0.584	*	*	苦味
谷氨酸(Glu)	0.314	0.642	0.340	0.994	1.744	3.796	5.416	5.907	6.901	7.150	8.232	鲜味
天冬氨酸(Asp)	0.181	0.215	0.123	0.268	0.479	1.215	1.772	1.975	2.396	2.626	2.370	鲜味
赖氨酸(Lys)	0.028	0.070	0.083	0.384	0.568	0.469	1.187	1.153	1.525	1.657	2.142	无味
半胱氨酸(Cys)	0.088	0.204	0.185	0.387	0.703	1.303	1.811	1.966	2.287	2.426	3.923	无味
脯氨酸(Pro)	0.035	0.050	0.194	0.286	0.472	1.033	1.327	1.345	1.628	1.741	2.403	无味
总量	1.268	4.145	2.204	5.952	9.661	18.903	27.841	30.359	36.556	37.861	44.212	

注: nd. 未检出; *. 部分样品组氨酸由于氮含量过高, 从而掩盖组氨酸, 使其不能被测定。

由表3可知, 游离氨基酸在豆豉发酵过程中发生了显著的变化, 游离氨基酸与豆豉风味形成密切相关。游离氨基酸由原料黄豆的1.268 mg/g增加到成品豆豉的44.212 mg/g, 增加了33.9倍。成品豆豉的游离氨基酸按含量递减顺序确定的前5个主要特征氨基酸谱为Glu+Leu+Cys+Phe+Val。

3 讨论

豆豉中蛋白质水解成短肽与豆豉滋味形成有一定关系, 大量研究已表明, 蛋白质水解常引起苦味的产生, 这是因为蛋白水解自然形成强烈疏水的肽和氨基酸等降解产物^[23], 同时也会形成鲜味肽和甜味肽而弱化苦味。不同口味的多肽与鲜味、苦味、甜味氨基酸配合实现了永川毛霉型豆豉独特的滋味。

在永川毛霉型豆豉发酵过程中, 游离氨基酸由原料黄豆的1.268 mg/g增加到成品豆豉的44.212 mg/g, 增加了33.9倍, 其游离氨基酸占总氨基酸29.5%。根据Tseng^[24]、吕雪娟^[25]、武彦文^[26]等对滋味特征的描述, 将氨基酸分为鲜味(Asp、Glu)、甜味(Ala、Gly、Ser、Thr)、苦味(Arg、His、Ile、Trp、Tyr、Val、Leu、

Met、Phe)和无味(Cys、Lys、Pro)4种。游离呈味氨基酸的构成在发酵食品的滋味形成中发挥了重要作用。根据游离氨基酸的构成, 将前5种含量最高的呈味氨基酸依次排列就构成风味特征谱带。秦礼康^[27]在陈窖豆豉的研究中发现其谱带为Arg、Glu、Phe、Leu、Lys。Fan Junfeng等^[28]在对细菌型豆豉的研究中发现其谱带为Glu、Leu、Phe、Val、Pro。Li Hua等^[29]在对腐乳研究中发现腐乳呈味氨基酸谱带为Glu、Pro、Asp、Leu、Alu。永川毛霉型豆豉的游离氨基酸按含量递减顺序确定的前5个主要特征氨基酸谱为Glu、Leu、Cys、Phe、Val。这5种氨基酸占总游离氨基酸的52.11%。可以发现不同大豆发酵食品中氨基酸构成不一致, 这与发酵菌群不同有关。其中Glu、Leu是大豆发酵食品中主要游离氨基酸。

在成品豆豉游离氨基酸中, 鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸分别占总游离氨基酸的23.98%、12.88%和43.99%。苦味游离氨基酸占总游离氨基酸的43.99%, 但在人们日常的消费中并没有感到永川豆豉有明显的苦味。其表现的主要风味是咸味和鲜味, 略带酸味、苦味或涩味, 这与豆豉中高食盐含量有关。永川豆豉中食盐含量在13%~15%, 远远高于其感觉阈值 $1.3 \times 10^3 \text{ mg/L}$ ^[30], 所以咸味特征明显。成品豆豉游离氨基酸中谷氨酸含量最高达到8.232 mg/g, 鲜味特征明显^[25,31]。同时谷氨酸在酸性条件下可以与钠离子结合形成鲜味浓郁的谷氨酸钠, 鲜味特征得到加强, 从而掩盖了苦味特征, 仅仅感觉到味鲜。永川毛霉型豆豉中甜味氨基酸和还原糖及淀粉共同构成了其回甜的滋味特点。永川豆豉总酸含量在后发酵初期增加较快后期较慢, 最终达到豆豉成熟时的2.12 g/100 g(以乳酸计)^[32], 豆豉中短链脂肪酸和乳酸使其呈现一定的酸味, 酚类物质呈现一定的苦味。这些最终决定了永川毛霉型豆豉特有的咸鲜回甜风味特点。

4 结论

糖化酶主要来源于制曲过程中的毛霉等真菌, 其将淀粉转化为还原糖为后发酵过程中细菌所利用, 同时对豆豉回甘滋味产生发挥了重要作用。

在豆豉发酵过程中, 总氨基酸含量呈下降趋势。游离氨基酸增加了33.9倍, 其游离氨基酸占总氨基酸29.5%。成品豆豉的游离氨基酸按含量递减顺序确定的前5个主要特征氨基酸谱为Glu+Leu+Cys+Phe+Val, 这5种氨基酸占总游离氨基酸的52.11%。在成品豆豉游离氨基酸中, 鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸分别占总游离氨基酸的23.98%、12.88%和43.99%。永川豆豉鲜味主要来源于鲜味氨基酸和呈味肽, 食盐也发挥了呈鲜的作用, 同时构成了豆豉咸鲜的滋味特点。

参考文献:

- [1] WANG Lijun, LI Dong, ZOU Lei, et al. Antioxidative activity of douchi (a Chinese traditional salt-fermented soybean food) extracts during its processing[J]. International Journal of Food Properties, 2007, 10(2): 385-396.
- [2] WANG Dong, WANG Lijun, ZHU Fengxue, et al. *In vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food)[J]. Food Chemistry, 2008, 107(4): 1421-1428.
- [3] ZHANG Jianhua, TATSUMI E, DING Changhe, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in douchi, a Chinese traditional fermented soybean product[J]. Food Chemistry, 2006, 98(3): 551-557.
- [4] LI Fengjuan, YIN Lijun, LU Xin, et al. Changes in angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities during the ripening of douchi (a Chinese traditional soybean product) fermented by various starter cultures[J]. International Journal of Food Properties, 2010, 13(3): 512-524.
- [5] WANG Hui, LI Yongyu, CHENG Yongqiang, et al. Effect of the maillard reaction on angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of douchi during fermentation[J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(1): 297-301.
- [6] CHEN Jing, CHENG Yongqiang, YAMAKI K, et al. Anti-alpha-glucosidase activity of Chinese traditionally fermented soybean (douchi)[J]. Food Chemistry, 2007, 103(4): 1091-1096.
- [7] BEAUMONT M. Flavouring composition prepared by fermentation with *Bacillus* spp.[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 75(3): 189-196.
- [8] CAMPBELL-PLATT G. Fermented foods: a world perspective[J]. Food Research International, 1994, 27(3): 253-257.
- [9] 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.
- [10] FERNÁNDEZ-GARCÍA E, CARBONELL M, GAYA P, et al. Evolution of the volatile components of ewes raw milk Zamorano cheese. Seasonal variation[J]. International Dairy Journal, 2004, 14(8): 701-711.
- [11] KIRIMURA J, SHIMIZU A, KIMIZUKA A, et al. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1969, 17(4): 689-695.
- [12] MORI M, KAWADA T, ONO T, et al. Taste preference and protein nutrition and L-amino acid homeostasis in male Sprague-Dawley rats[J]. Physiology & Behavior, 1991, 49(5): 987-995.
- [13] NISHIMURA T, KATO H. Taste of free amino acids and peptides[J]. Food Reviews International, 1988, 4(2): 175-194.
- [14] PRIETO B, FRANCO I, FRESNO J M, et al. Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of León cow milk cheese[J]. Food Chemistry, 2004, 85(3): 389-398.
- [15] RHYU M, KIM E. Umami taste characteristics of water extract of Doenjang, a Korean soybean paste: low-molecular acidic peptides may be a possible clue to the taste[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3): 1210-1215.
- [16] 窦君, 孙君社, 鲁绯, 等. 腐乳滋味物质的研究[J]. 中国调味品, 2004, 26(12): 10-12.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 184-196; 261-262.
- [18] 朱利泉. 基础生物化学实验原理与方法[M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1997: 147-151.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 8276—2006 食品添加剂糖化酶制剂[S]. 北京: 中国标准出版社出版, 2006: 1-3.
- [20] 张建华. 曲霉型豆豉发酵机理及其功能性的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [21] 何国庆, 贾英民, 丁立孝. 食品微生物学[M]. 2版. 北京: 中国农业大学出版社, 2009: 105-108.
- [22] 潘丽军, 张志英, 姜绍通, 等. 米根霉葡萄糖淀粉酶的分离纯化及特性研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 27-30.
- [23] KUKMAN I L, ZELENIK-BLATNIK M, ABRAM V. Isolation of low-molecular-mass hydrophobic bitter peptides in soybean protein hydrolysates by reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1995, 704(1): 113-120.
- [24] TSENG Y, LEE Y, LI R, et al. Non-volatile flavour components of *Ganoderma tsugae*[J]. Food Chemistry, 2005, 90(3): 409-415.
- [25] 吕雪娟, 梁兰兰. 游离氨基酸含量对食品风味特征的影响[J]. 食品科学, 1996, 17(3): 10-12.
- [26] 武彦文, 欧阳杰. 氨基酸和肽在食品中的呈味作用[J]. 中国调味品, 2001, 26(1): 19-22.
- [27] 秦礼康. 陈窖豆豉益生菌菌、风味物及黑色物质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [28] FAN Junfeng, ZHANG Yanyan, CHANG Xiaojie, et al. Changes in the radical scavenging activity of bacterial-type douchi, a traditional fermented soybean product, during the primary fermentation process[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2009, 73(12): 2749-2753.
- [29] LI Hua, FENG Fengqin, SHEN Lirong, et al. Nutritional evaluation of different bacterial douchi[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2007, 16(1): 215-221.
- [30] SALLES C, HERVE C, SEPTIER C, et al. Evaluation of taste compounds in water-soluble extract of goat cheeses[J]. Food Chemistry, 2000, 68(4): 429-435.
- [31] LIOE H N A. Umami taste enhancement of MSG/NaCl mixtures by subthreshold L- α -aromatic amino acids[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(7): 401-405.
- [32] 索化夷, 卢露, 吴佳敏, 等. 永川豆豉在传统发酵过程中基本成分及蛋白酶活性变化[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 177-180.