

## 贻贝豆酱发酵工艺对其挥发性风味物质及抗氧化性的影响

郭丽平<sup>1</sup>, 闫文<sup>1,2</sup>, 戴志远<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>浙江工商大学海洋食品研究院 杭州 310035

<sup>2</sup>浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室 杭州 310035

<sup>3</sup>海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 辽宁大连 116000

**摘要** 为充分利用贻贝资源,创新贻贝食品种类,以贻贝、黄豆和大米为原料,采用米曲霉制曲后混合发酵,研制贻贝豆酱产品,并对其挥发性风味物质和体外抗氧化性进行评价。通过单因素实验,确定贻贝豆酱的发酵工艺条件是:食盐添加量 14%,曲贝质量比 1:1,发酵温度 40 ℃,发酵时间 24 d。在此条件下,贻贝豆酱的感官评分最高 92 分,氨基酸态氮含量为 0.84 g/100 g。与未发酵样品相比,经米曲霉发酵的贻贝豆酱的挥发性风味物质更丰富,醛类、酯类等特征性风味物质相对含量分别增加了 11%,19.4%,总抗氧化能力和羟自由基清除能力均显著增强。采用米曲霉发酵工艺制备贻贝豆酱,为丰富贻贝产品种类提供了新途径。

**关键词** 贻贝豆酱; 发酵; 氨基酸态氮; 挥发性风味物质; 抗氧化性

**文章编号** 1009-7848(2023)02-0154-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.02.015

贻贝是一种分布广泛的海洋双壳贝类,又叫青口,被誉为“海上鸡蛋”,富含蛋白质、维生素、微量元素和牛磺酸等成分,营养和药用价值极高<sup>[1-2]</sup>。贻贝的养殖成本低,生命力强,我国海水养殖贻贝产量居世界前列<sup>[3]</sup>。然而,贝类的采捕期短,目前主要以鲜销和干制品为主,产品形式单一,限制了贻贝产业的可持续发展<sup>[4]</sup>。

近年来,随着人们对食品的需求由安全营养型到风味型、天然型和功能型的转变,充分利用水产品资源生产高品质复合天然系调味料越来越重要<sup>[5]</sup>。典型的水产调味料有蚝油、鱼露、蟹酱、虾酱等,除了种类齐全、配比合理的氨基酸,贝类牛磺酸和活性肽有助于人体健康<sup>[6]</sup>。目前,对水产调味料的开发,大部分集中在酶解和发酵两种手段,酶解工艺虽简单,但产品腥味难以消除,市场接受度较低<sup>[7]</sup>。发酵能够产生丰富酶系,且有一定的脱腥效果,但利用贻贝发酵的相关报道较少。

本文以冷冻贻贝肉、黄豆、大米为原料,采用米曲霉制曲后混合发酵,通过单因素实验确定贻贝豆酱的适宜发酵条件,并对发酵前、后挥发性风

味物质及抗氧化性变化进行评价,旨在为开发贻贝发酵产品提供参考。对于提高贻贝资源利用水平,增加其附加值具有重要意义。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料与试剂

黄豆、大米、食盐,杭州市教工路物美超市;酱油曲精,久微食品科技(上海)有限公司;冷冻贻贝肉,浙江省嵊泗县华利水产有限公司。

甲醛水溶液、0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液、2-甲基-3-庚酮(分析纯级)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2,4,6-三(2-吡啶基)三嗪、邻-羟基苯甲酸、四水合氯化亚铁、乙氧烷,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.2 仪器与设备

MLS-3781L-PC 高压蒸汽灭菌器,松下健康医疗器械株式会社;BSA124S-CW 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;HS-1300U 型超净工作台,苏州净化设备有限公司;Bluepard 恒温恒湿箱、电热培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;ST3100/F 台式 PH 计,奥豪斯仪器(常州)有限公司;SPECTRA MAX 190 酶标仪,美国分子仪器有限公司;紫外-可见分光光度计、Trace GC ultra 气相色谱-DSQ II 质谱联用仪,美国 Thermo Fisher

收稿日期: 2022-02-22

基金项目: 浙江省重点研发计划项目(2018C02038)

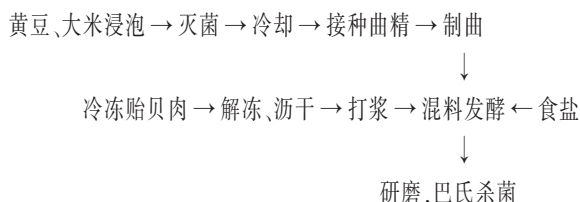
第一作者: 郭丽平,女,硕士

通信作者: 戴志远 E-mail: dzy@zjsu.edu.cn

Scientific 公司;DP-5MS 石英毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 固相微萃取头,上海安谱实验科技股份有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 贻贝豆酱的制备方法 贻贝豆酱的制备方法如下:



操作要点如下:先分别制豆曲和米曲,曲精接种温度 40 ℃,接种量为原料质量的 0.01%,在恒温 31 ℃、湿度 ≥85% 的条件下培养,至表面呈嫩黄绿色收曲。后加入贻贝肉和食盐,拌匀后恒温混料发酵一定时间,经研磨和巴氏杀菌后成贻贝豆酱成品。

1.3.2 单因素实验设计 以氨基酸态氮含量及感官评分作为评价指标,分别考察食盐添加量、曲贝质量比、发酵温度和发酵时间 4 个因素对贻贝豆酱品质的影响。

1.3.2.1 食盐含量对贻贝豆酱品质的影响 在曲贝质量比 1:1、发酵温度 40 ℃、发酵时间 21 d 的

条件下,设定不同的食盐添加量(10%,12%,14%,16%,18%)。

1.3.2.2 曲贝质量比对贻贝豆酱品质的影响 在食盐添加量 14%、发酵温度 40 ℃、发酵时间 21 d 的条件下,设定不同的曲贝质量比(1:4,1:2,1:1,2:1,4:1)。

1.3.2.3 发酵温度对贻贝豆酱品质的影响 在曲贝质量比为 1:1、食盐添加量 14%、发酵时间 21 d 的条件下,设置不同的发酵温度(30,35,40,45,50 ℃)。

1.3.2.4 发酵时间对贻贝豆酱品质的影响 在曲贝质量比为 1:1,食盐添加量 14%,发酵温度 40 ℃的条件下,设置不同的发酵时间(15,18,21,24,27 d)。

1.3.3 氨基酸态氮含量的测定 采用 GB 5009.235-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》<sup>[8]</sup>中酸度计法。

1.3.4 感官评定 采用感官量化描述分析法(Quantitative description analysis, QDA),挑选 8 名经过训练的食品专业研究生组成的感官评定小组进行测评,对贻贝豆酱的感官特性进行评价。贻贝豆酱的感官指标主要从色泽、体态、气味、滋味 4 个方面来评定,评分标准见表 1。

表 1 贻贝豆酱感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of mussel bean paste

项目	评分标准	得分/分
色泽(20分)	黄棕色,有光泽	15~20
	黄棕色,无光泽	10~14
	黄绿色或灰褐色,无光泽甚至发黑	0~9
外观(20分)	黏稠适中,细腻均匀	15~20
	偏稀或偏稠,均匀,偶有豆瓣或碎米颗粒	10~14
	偏稀或偏稠,不均匀	0~9
气味(30分)	香味浓郁,气味协调性好,无不良气味	24~30
	香味浓,气味协调性好,无不良气味	17~23
	香味淡,气味协调性差,有异味	9~16
	腥臭、酸苦或焦糊味	0~8
滋味(30分)	味鲜醇厚,咸甜适中,无腥味、酸苦及焦糊等异味	24~30
	鲜味淡,咸甜适度,无腥味、酸味等异味	17~23
	鲜味淡,稍咸,有轻微腥味	9~16
	无鲜味,咸味和腥味重	0~8

1.3.5 挥发性风味物质的测定

1.3.5.1 顶空固相微萃取条件 研磨贻贝豆酱进

样量 4 g, 培育温度 70 ℃保持 40 min,50/30 μm

DVB/CAR/PDMS 萃取纤维头,老化温度 250 ℃,解

吸时间 10 min, 自动进样。

1.3.5.2 气相色谱条件 进样口温度 250 ℃; 进样方式: 不分流; 载气: 氮气(纯度 99.99%); 流速 1.0 mL/min; 色谱柱: DP-5MS 石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 程序升温条件: 40 ℃保持 2 min; 以 4 ℃/min 升至 92 ℃, 保持 2 min; 5 ℃/min 升至 200 ℃, 保持 0 min; 6 ℃/min 升至 240 ℃, 保持 6 min。

1.3.5.3 质谱条件 电子轰击离子源, 电离电压 70 eV, 传输线温度 250 ℃, 离子源温度 250 ℃, 质量扫描范围 33~450 u。

1.3.5.4 定性与定量分析 采用 NIST 质谱数据库检索, 选择正反匹配度大于 750 的化合物进行定性分析; 依据化合物峰面积比值与质量浓度呈正比的原理, 计算每一种化合物相对于内标化合物的质量浓度。未知挥发性化合物含量按下式计算。

$$C_x(\text{g/kg}) = \frac{C_o \times V_o \times S_x}{S_o \times m}$$

式中,  $C_x$ ——未知挥发性化合物含量, g/kg;  $C_o$ ——内标化合物质量浓度, g/μL;  $V_o$ ——内标化合物进样体积, μL;  $S_x$ ——未知挥发性化合物的峰面积, AU·min;  $S_o$ ——添加的内标化合物峰面积, AU·min;  $m$ ——样品质量, kg。

1.3.6 体外抗氧化性的测定 参照赵晓娟<sup>[9]</sup>的方法, 分别称取 5.0 g 发酵前、后贻贝豆酱样品, 加入 100 mL 60%乙醇溶液均质后浸提 30 min, 并用 60%乙醇溶液稀释成 10, 20, 30, 40 mg/mL 的质量浓度, 分别测定总抗氧化能力、羟自由基(·OH)清除率。

1.3.7 数据处理 每个试验重复 3 次, 利用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计处理和显著性分析, 利用 Origin 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 贻贝豆酱发酵工艺单因素实验

2.1.1 食盐添加量对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响 氨基酸态氮是指以氨基酸形式存在的氮元素, 是判定发酵产品发酵程度的特性指标, 该指标越高, 产品鲜味越好, 品质越高<sup>[10]</sup>。由图 1 可知, 随着食盐添加量由 10% 上升到 18%, 贻贝豆

酱氨基酸态氮含量从 0.86 g/100 g 逐渐降低至 0.53 g/100 g。各组氨基酸态氮含量均符合不低于 0.3g/100 g 的国家标准<sup>[11]</sup>。随着食盐添加量的增加, 贻贝豆酱的感官评分呈先升高后降低的趋势。食盐在发酵过程中既可防腐抑菌保证产品质量, 也可筛选对发酵有益的嗜盐或耐盐微生物, 影响水解酶活性, 从而影响发酵进程<sup>[12]</sup>。食盐添加量较低时, 贻贝豆酱的氨基酸态氮含量虽然较高, 但有酸味, 这可能是因为添加的食盐较少, 未能有效抑制腐败或产酸微生物<sup>[13]</sup>, 而过高的食盐添加量使水分活度降低, 抑制了微生物代谢以及水解酶活性, 氨基酸态氮含量减少。在食盐添加量为 14% 时, 贻贝豆酱无酸败气味, 海鲜香气协调, 且咸甜适中, 口感醇厚, 呈黄棕褐色且透亮有光泽, 体态黏稠适中, 均匀细腻, 感官评分最高。因此, 确定食盐添加量为 14%。

2.1.2 曲贝质量比对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响 由图 2 可知, 随着曲贝质量比增大, 贻贝豆酱的氨基酸态氮含量由 0.68 g/100 g 逐渐下降至 0.45 g/100 g, 感官评分则呈现倒“V”型趋势。各组感官评分差异显著的原因在于贝肉与曲料在发酵过程中的作用不一, 且二者成分差异较大。贝肉主要提供发酵原料蛋白质等, 其水分含量高; 而曲料主要作为发酵剂的载体, 身上附着大量酶系与少量微生物<sup>[14]</sup>, 其水分含量较低。曲贝质量比为 1:4, 1:2 时, 发酵剂不足, 发酵不完全, 发酵后贻贝豆酱较稀不成型, 色泽偏向黄绿色, 腥味浓郁, 感官不可接受。曲贝质量比为 2:1, 4:1 时, 贻贝豆酱体态黏稠, 呈黑棕色且无光泽, 发酵海鲜香味淡。因此, 确定曲贝质量比为 1:1, 此时贻贝豆酱的氨基酸态氮含量适中, 感官评分达 89 分。

2.1.3 发酵温度对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响 由图 3 可知, 随着温度上升, 贻贝豆酱的氨基酸态氮含量呈先升高后降低又回升, 各组氨基酸态氮含量均远超过酱类国家最低氨基酸态氮限量标准; 感官评分则呈现明显的先上升后下降的趋势, 在 40 ℃时感官评分最高。温度不仅是保证微生物生长及酶系作用的重要前提<sup>[15]</sup>, 还与氧化反应、Strecker 降解和美拉德反应、酯化反应及微生物代谢等生成风味物质的生化反应有关<sup>[16]</sup>。综上, 40 ℃是贻贝豆酱最适宜的发酵温度条件。

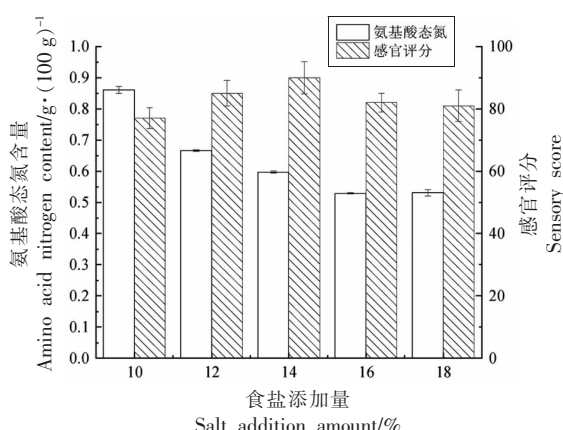


图 1 食盐添加量对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响

Fig.1 Effects of salt content on sensory and amino acid nitrogen contents of mussel bean paste

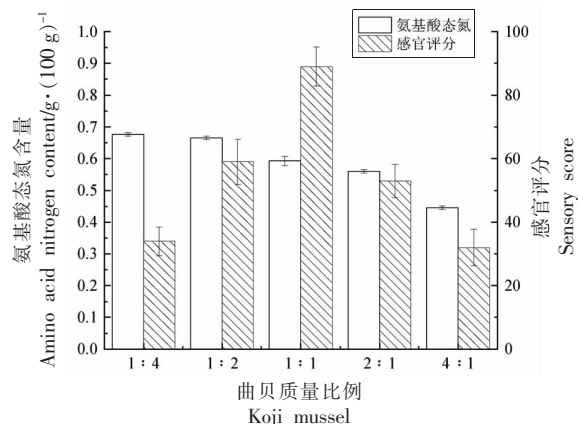


图 2 曲贝质量比对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响

Fig.2 Effect of trabecula proportion on sensory and amino acid nitrogen contents of mussel bean paste

2.1.4 发酵时间对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响 由图 4 可知,随着发酵时间的延长,贻贝豆酱的感官评分与氨基酸态氮含量均呈先升高后降低的趋势。发酵过程中,微生物产生的酶系水解原料,积累风味前体物质的水解反应与生成风味物质的复杂生化反应持续进行<sup>[17]</sup>。发酵第 15 天时,氨基酸态氮含量较低,总体感官不可接受,可能是处于风味前体物质已经积累,而大量的风味

物质还未形成的阶段。发酵进行到第 24 天时,氨基酸态氮含量达到最高为 0.84 g/100 g,感官评分也达到最高。继续发酵至第 27 天时,数值略有下降。推测原因是受到蛋白酶活力下降,微生物代谢及美拉德等反应的影响,氨基酸态氮及风味物质积累的速度低于分解的速度有关,这与王沛<sup>[18]</sup>、王雪梅<sup>[19]</sup>的研究结果一致。故确定发酵终点时间为 24 d。

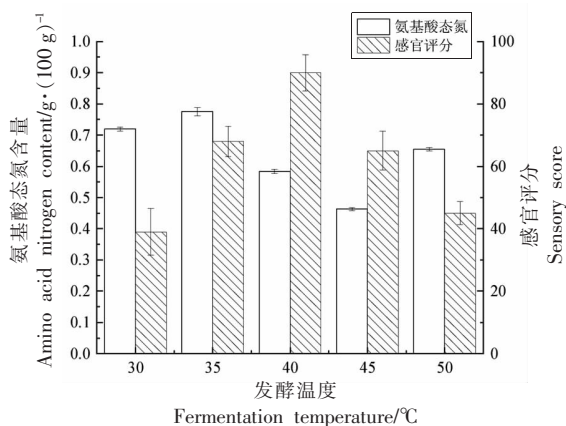


图 3 发酵温度对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响

2.2 发酵对贻贝豆酱挥发性风味成分及含量的影响

发酵前、后共检测到 71 种挥发性风味物质,包括芳香化合物类、醇类、酯类、醛类、酚类、含氮

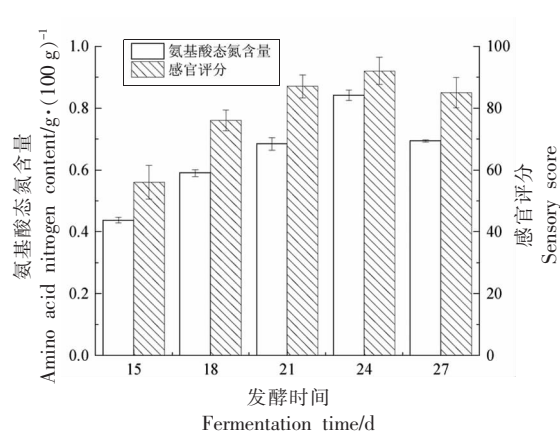


图 4 发酵时间对贻贝豆酱感官及氨基酸态氮含量的影响

化合物、含硫化合物和烃类共 8 个种类。发酵前挥发性物质共 34 种,总含量为 4 633.48 μg/kg,发酵后挥发性物质共 55 种,总含量为 6 397.01 μg/kg,发酵前后挥发性成分差异显著( $P < 0.05$ )。

醇类一般是与脂肪酸的氧化或羰基化合物还原相关,低碳醇挥发性好,对风味贡献较大<sup>[20]</sup>。检测到发酵前、后醇类物质种类均为5种,经过发酵,贻贝豆酱醇类物质相对含量12.7%下降至5.8%。醇类是醛酮类的前体物质,对贻贝豆酱的风味具有加和作用<sup>[21]</sup>。

醛类挥发性物质涉及到化学变化主要是发酵过程中的脂肪酸氧化反应以及氨基酸代谢反应<sup>[20]</sup>。醛类的阈值低于醇类,且具有重叠风味的效应<sup>[22]</sup>。发酵前检测到贻贝豆酱醛类物质4种,发酵后增加了4种,含量是发酵前的3.6倍。主要增加的风味物质异戊醛、2-甲基丁醛、10-十八碳烯醛、苯甲醛、苯乙醛、硬脂烷醛的特征香气分别是酱油味和苹果香、麦芽香、水果香、杏仁香、花香及水果香气<sup>[23]</sup>。醛类占总挥发性风味物质相对含量由发酵前的7.5%升高到发酵后18.5%,对贻贝豆酱风味有重要贡献。发酵后异戊醛、2-甲基丁醛、苯乙醛的含量都远远超过其气味阈值0.25,0.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及9

$\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[24]</sup>,是贻贝豆酱特征性风味的主要成分。

酯类物质主要由微生物利用醇和酸进行酯化作用产生,挥发性强且气味阈值低,短链酯通常具有水果和花香等令人愉悦的气味,长链酯通常具有油脂味<sup>[25]</sup>。经米曲霉发酵处理后,贻贝豆酱中酯类物质的相对含量由26.5%增至45.9%,种类由13种增至20种。其中,肉豆蔻酸乙酯、癸酸癸酯、棕榈酸甲酯、棕榈酸乙酯、油酸乙酯等酯类物质使贻贝豆酱香气醇厚。此外,贻贝豆酱中还检测到亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯以及二十碳五烯酸甲酯。

芳香化合物是食用香料的重要来源,主要由芳香族氨基酸降解产生,气味阈值一般较高<sup>[26]</sup>。发酵后芳香化合物的种类由3种增至13种,相对含量从13.6%下降至12.3%。贻贝豆酱中的芳香化合物大部分归属于苯类、萜烯类及杂环化合物(吡啶、唑)类芳香化合物<sup>[27]</sup>。烃类物质主要来源于脂肪或者氨基酸的氧化,是肉类风味物质的中间体,基本无香气<sup>[28]</sup>。

表2 贻贝豆酱发酵前、后挥发性风味物质的组成与含量占比

Table 2 Composition and content of volatile compounds before and after fermentation of mussel bean paste

类别	序号	分子式	CAS号	中文名	0 d 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	24 d 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
醇类	1	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$	123-51-3	异戊醇	200.20	-
	2	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	3391-86-4	1-烯-3-辛醇	155.85	55.45
	3	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	1119-38-6	反-(+)-橙花叔醇	19.18	-
	4	$\text{C}_{16}\text{H}_{34}\text{O}$	14852-31-4	2-十六烷醇	22.78	12.6
	5	$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_5$	47676-48-2	5beta-胆烷酸-3alpha, 7alpha, 12alpha-三醇乙酯	191.81	234.41
	6	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	5353-25-3	2-[(Z)-十八碳-9-烯氧基]乙醇	-	30.25
	7	$\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_4$	2716-53-2	单反油酸甘油酯	-	60.49
	醛类	1	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}$	590-86-3	异戊醛	112.69
2		$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}$	96-17-3	2-甲基丁醛	-	292.38
3		$\text{C}_4\text{H}_8\text{OS}$	56554-92-8	10-十八碳烯醛	56.35	133.59
4		$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	3268-49-3	3-甲硫基丙醛	-	28.99
5		$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$	100-52-7	苯甲醛	-	54.19
6		$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}$	122-78-1	苯乙醛	-	100.82
7		$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}$	56554-89-3	14-十八碳烯醛	27.57	113.42
8		$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2$	638-66-4	硬脂烷醛	151.05	238.19
酚类	1	$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_2$	2444-28-2	2,6-二叔丁基对苯二酚	58.74	30.25
	2	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_2$	103-86-6	4-(2-氨基丙基)苯酚	523.89	92.00
	3	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_4$	500-67-4	5-庚基间苯二酚	-	70.57
酯类	1	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	18202-24-9	10,13-十八碳二炔酸甲酯	25.18	-
	2	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	6846-50-0	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯	249.36	-

(续表 2)

类别	序号	分子式	CAS 号	中文名	0 d 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	24 d 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
	3	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_3$	5129-58-8	12-甲基三癸酸甲酯	-	25.20
	4	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$	124-06-1	肉豆蔻酸乙酯	-	81.92
	5	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$	1654-86-0	癸酸癸酯	205.00	189.04
	6	$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_2$	101434-22-4	14-氧代戊酸乙酯	-	22.68
	7	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$	55044-52-5	[4-(甲氧羰基)苯基]甲基对甲苯甲酸酯	17.98	15.12
	8	$\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{O}_8$	1120-25-8	棕榈油酸甲酯	-	22.68
	9	$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_4$	56051-53-7	环丙烷丁酸甲酯	23.98	-
	10	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	112-39-0	棕榈酸甲酯	-	117.20
	11	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	28474-90-0	抗坏血酸二棕榈酸酯	-	61.75
	12	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$	8050-30-4	三松香酸甘油酯	80.32	-
	13	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$	54546-22-4	9-十六碳烯酸乙酯	-	177.69
	14	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$	628-97-7	棕榈酸乙酯;十六酸乙酯	44.36	753.63
	15	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	2239-78-3	十六烷酸丙酯	-	118.46
	16	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_5$	84-75-3	邻苯二甲酸二己酯	291.32	-
	17	$\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_4$	4376-20-9	邻苯二甲酸单乙基己基酯	127.08	-
	18	$\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$	56554-24-6	(7E,10E)-十八碳-7,10-二烯酸甲酯	-	167.61
	19	$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$	23042-04-8	6-乙氧基吩嗪-1-碳酸酯	16.78	-
	20	$\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_2$	18465-99-1	甘油亚麻酸酯	-	22.68
	21	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$	111-62-6	油酸乙酯	-	234.41
	22	$\text{C}_{35}\text{H}_{68}\text{O}_5$	7619-08-1	十八碳-9,12-二烯酸乙酯	86.32	651.55
	23	$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4$	17364-34-0	甲基(6E,9E,12E,15E)-6,9,12,15-二十二四烯酸酯	26.37	26.47
	24	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$	1191-41-9	亚麻酸乙酯	-	99.56
	25	$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$	761-35-3	(±)-1,2-二棕榈精	-	117.2
	26	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}$	2277-28-3	1-单壬烷-rac-甘油	-	88.22
	27	$\text{C}_{17}\text{H}_{36}$	55724-48-6	达西卡宾-1-甲醇醋酸酯	34.77	-
	28	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}$	2734-47-6	二十碳五烯酸甲酯	-	118.46
烃类	1	$\text{C}_7\text{H}_5\text{N}_5\text{O}_3$	19870-75-8	8-丙氧基柏木烷	21.58	-
	2	$\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_7\text{O}_2$	14905-56-7	2,6,10-三甲基十四烷	-	56.71
芳香化合物	1	$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_6$	1188412-81-8	(S)-1-甲基-2-邻甲苯基乙胺	567.05	-
	2	$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_9$	14051-53-7	2-苯基铬苯基	-	115.94
	3	$\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$	948-60-7	蝶呤-6-羧酸	-	76.88
	4	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$	65917-27-3	5-[2-(2-甲基-5-硝基咪唑-1-基)-乙基]-1H-四唑	-	22.68
	5	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}$	719278-42-9	1H-吡咯-2,5-二甲酰胺	-	56.71
	6	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}$	105735-75-9	环己烷羧酸	-	99.56
	7	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$	22260-47-5	2,4-二羟基-1,4-苯并恶唑-3-酮葡萄糖苷	-	163.83
	8	$\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{NO}_7$	127692-23-3	2-庚基-2-甲基-6-硝基-3H-咪唑[2,1-b][1,3]恶唑	-	15.12
	9	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}$	108010-93-1	2,5,5,8a-四甲基-3,5,6,7,8,8a-六氢-1(2H)-萘酮	-	39.07

(续表 2)

类别	序号	分子式	CAS 号	中文名	0 d 含量/ μg·kg <sup>-1</sup>	24 d 含量/ μg·kg <sup>-1</sup>
	10	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	3910-35-8	1,3,3-三甲基-1-苄基茛菪满	46.75	34.03
	11	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>	22768-22-5	2,4-二苄基-4-甲基-2-(E)-戊烯	17.98	15.12
	12	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	107964-72-7	邻苯二甲酸 1-苄基酯 2-(4-乙基-1-异丁基-辛基)酯	-	114.68
	13	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO	149342-15-4	苄基 4,6-O-苄叉-2-脱氧-2-邻苯二甲酰亚胺-β-D-吡喃葡萄糖苷	-	54.19
	14	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	125796-72-7	1-丁基-4-[[4-(2-乙基丁基) 苄氧基] 甲基]苄	-	27.73
含氮化合物	1	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	24397-89-5	放线菌素	435.18	-
	2	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4025-37-0	2-(氮丙啶-1-基)乙胺	-	434.78
	3	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>	29427-58-5	o-甲基异尿素硫酸氢盐	-	54.19
	4	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO	5350-97-0	1,3-二苄基-3-哌啶-1-基丙烷-1-酮	-	16.38
	5	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	4303-95-1	3-(3-羧基-4-羟基苄基)丙氨酸	50.35	36.55
	6	C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	86723-69-5	4,5-二苄氧基苄-1,2-二胺	38.36	13.86
	7	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	1174672-66-2	[(S)-2-(5-甲基-7-硝基-1H-咪唑-2-基)-4,5-二氢恶唑-4-基]-乙酸异丙酯	37.16	-
	8	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	52-31-3	环己巴比妥	11.99	-
含硫化合物	1	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>	3658-80-8	二甲基三硫	43.16	35.29

注：“-”表示未检测到。

### 2.3 发酵对贻贝豆酱体外抗氧化性的影响

FRAP 法可以体现体系内的总抗氧化能力<sup>[29]</sup>, 是常用的评估体系抗氧化能力的指标。由图 5 所示, 随着质量浓度的增加, 贻贝豆酱发酵前后的总抗氧化能力均不断上升, 未发酵贻贝豆酱的总抗氧化能力由 7.54 mmol FeSO<sub>4</sub>/g 上升至 42.39 mmol FeSO<sub>4</sub>/g, 发酵后贻贝豆酱总抗氧化能力由 26.71 mmol FeSO<sub>4</sub>/g 升高至 129.52 mmol FeSO<sub>4</sub>/g。同一质量浓度下, 发酵后贻贝豆酱的总抗氧化能力是未发酵组的 3 倍左右, 二者呈明显的正相关, 这说明发酵能够使贻贝豆酱体系中的抗氧化物质增多, 总抗氧化能力增强。

羟自由基被认为是目前已知的氧化能力最强和危害性最大的活性氧之一, 与机体衰老、肿瘤发生发展有关<sup>[30]</sup>。由图 6 可知, 发酵前、后贻贝豆酱均有一定的清除羟自由基的能力, 说明贻贝豆酱中含有能够阻止羟自由基产生的物质。随质量浓度的增大, 发酵前、后两组贻贝豆酱羟自由基清除

率分别由 7.4% 和 16.2% 增大至 32.6% 和 74.0%。同一质量浓度下, 发酵组羟自由基清除率均是未发酵组的 3 倍左右。以上结果表明羟自由基清除率与质量浓度线性相关, 且发酵可以大大增强贻贝豆酱的羟基自由基清除能力。此结论与武悦等<sup>[31]</sup>关于黑豆丹贝抗氧化性的研究结果一致。

### 3 结论

利用贻贝、黄豆等为主要原料, 酱油曲精为发酵剂, 混料发酵制备贻贝豆酱, 并探究了发酵前、后贻贝豆酱的挥发性风味物质及体外抗氧化性的变化。通过单因素实验确定发酵条件为: 食盐含量为 14%, 曲贝质量比 1:1, 发酵温度 40 ℃, 发酵 24 d。制得的贻贝豆酱氨基酸态氮含量高达 0.84 g/100 g, 感官品质较好。经过发酵, 贻贝豆酱的香气种类及相对含量更为丰富。原料的贻贝原料腥味以及豆腥味减轻, 海鲜风味、豆酱香味得到丰富。发酵使贻贝豆酱的羟自由基清除能力、FRAP

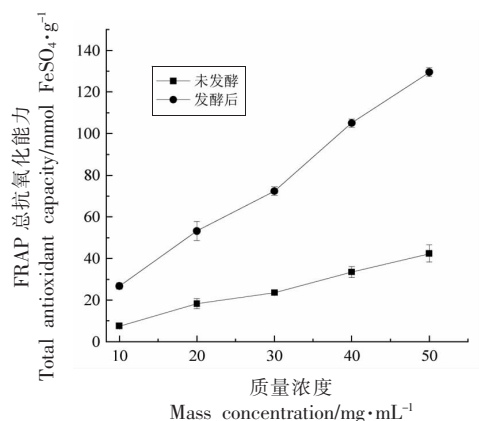


图 5 贻贝豆酱浸提液的总抗氧化能力

Fig.5 Effect of mussel bean paste extracts on total antioxidant capacity

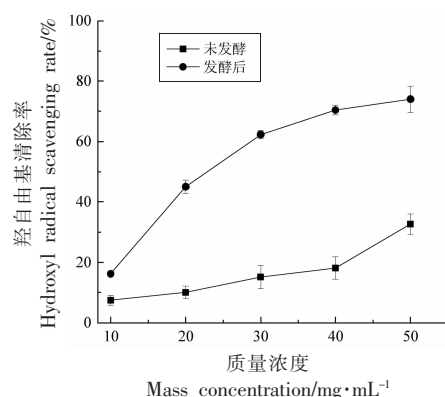


图 6 贻贝豆酱浸提液的羟自由基清除率

Fig.6 Effect of mussel bean paste extracts on hydroxyl radical scavenging rate

总抗氧化能力显著增强。后续应进一步研究贻贝豆酱发酵过程中的生化动态及风味物质变化,以期为贻贝豆酱的深度开发提供理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] 滕瑜, 王桂宾, 王本新, 等. 贻贝的食品物性及产业可持续发展简析[J]. 食品安全导刊, 2020, 264(3): 89.  
TENG Y, WANG G B, WANG B X, et al. Brief analysis on food physical properties of mussel and sustainable development of industry[J]. China Food Safety Magazine, 2020, 264(3): 89.
- [2] 于江红. 紫贻贝高鲜调味料的制备技术研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.  
YU J H. Study on preparation technology of purple mussel high fresh seasoning[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [3] 程海, 袁跃峰, 李德然. 贻贝养殖及加工综述[J]. 农村经济与科技, 2019, 30(17): 81-85.  
CHENG H, YUAN Y F, LI D R. Summary of mussel culture and processing[J]. Rural Economy and Science and Technology, 2019, 30(17): 81-85.
- [4] VIJAYKRISHNARAJ M, ROOPA B S, PRABHASANKAR P. Preparation of gluten free bread enriched with green mussel (*Perna canaliculus*) protein hydrolysates and characterization of peptides responsible for mussel flavour[J]. Food Chemistry, 2016, 211: 715-725.
- [5] 廖新荣, 谢秋亭, 陈鸿鑫. 复合调味料研发的措施与对策[J]. 现代食品, 2019, 8(15): 73-75.  
LIAO X R, XIE Q T, CHEN H X. Measures and countermeasures for research and development of compound seasoning[J]. Modern Food, 2019, 8(15): 73-75.
- [6] 杨晋, 陶宁萍, 王锡昌. 水产调味料的研究现状和发展趋势[J]. 食品科技, 2006(11): 51-54.  
YANG J, TAO N P, WANG X C. Research status and development trend of aquatic seasoning[J]. Food Technology, 2006(11): 51-54.
- [7] 高婧昕, 李天歌, 郭凯睿, 等. 乳酸菌发酵对乳清蛋白酶解物风味和免疫调节活性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 258-264.  
GAO J X, LI T G, GUO K R, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on flavor and immunomodulatory activity of whey protease hydrolysate [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(8): 258-264.
- [8] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 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.  
National Health and Family Planning Commission of China. National food safety standard, determination of amino acid nitrogen in food: GB 5009.235-2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [9] 赵晓娟. 苦荞纳豆酱发酵工艺及抗氧化特性的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2014.  
ZHAO X J. Study on fermentation technology and antioxidant properties of Tartary Buckwheat natto sauce[D]. Chongqing: Southwest University, 2014.
- [10] 叶茂, 邓毛程, 林凯旋, 等. 黑曲霉固态发酵产羧



- 肽酶条件优化及在酱油酿造中的应用[J]. 中国酿造, 2021, 40(7): 83-88.
- YE M, DENG M C, LIN K X, et al. Optimization of solid state fermentation conditions for carboxypeptidase production by *Aspergillus niger* and its application in soy sauce brewing [J]. China Brewing, 2021, 40(7): 83-88.
- [11] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 酿造酱: GB 2718-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- National Health and Family Planning Commission of China. National food safety standard, brewing sauce: GB 2718-2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014.
- [12] 范智义, 邓维琴, 李恒, 等. 传统发酵调味品低盐化的研究进展[J]. 中国调味品, 2020, 45(7): 194-200.
- FAN Z Y, DENG W Q, LI H, et al. Research progress on low salinity of traditional fermented condiments[J]. China Condiment, 2020, 45(7): 194-200.
- [13] 周雯君. 工厂化条件下豆酱品质监测与鲁氏酵母增香技术研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2016.
- ZHOU W J. Study on quality monitoring of soybean paste and aroma enhancement technology of Luzhou yeast under industrialized conditions [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2016.
- [14] 臧金红. 酸鱼发酵过程中特征风味形成与微生物的关系研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
- ZANG J H. Study on the relationship between characteristic flavor formation and microorganisms in sour fish fermentation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [15] 严超, 牟建楼, 王颢, 等. 扇贝豆酱发酵工艺条件的研究[J]. 食品科技, 2016, 41(12): 245-249.
- YAN C, MOU J L, WANG Z, et al. Study on fermentation conditions of scallop bean paste[J]. Food Technology, 2016, 41(12): 245-249.
- [16] 解春芝. 基于氨基酸代谢的腐乳酱风味促熟及机理研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.
- XIE C Z. Study on flavor ripening and mechanism of fermented bean curd sauce based on amino acid metabolism[D]. Guiyang: Guizhou University, 2019.
- [17] 柯泽华. 臭鳊鱼风味物质鉴定及优选菌株对其风味的影响研究[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2021.
- KE Z L. Identification of flavor compounds of *Siniperca chuatsi* and effects of optimized strains on its flavor[D]. Handan: Hebei Engineering University, 2021.
- [18] 王沛. 甜面酱的风味提升工艺研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2020.
- WANG P. Study on flavor enhancement technology of sweet noodle sauce[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2020.
- [19] 王雪梅. 外源氨基酸对郫县豆瓣风味品质的影响及感官评定方法的建立[D]. 成都: 西华大学, 2020.
- WANG X M. Effect of exogenous amino acids on flavor quality of Pixian Douban and establishment of sensory evaluation method[D]. Chengdu: Xihua University, 2020.
- [20] 李瑞英, 吉艳莉, 王泽琳, 等. 基于GC-MS和感官评价筛选蛋腐乳的最适菌种[J]. 中国食品学报, 2021, 21(5): 238-249.
- LI R Y, JI Y L, WANG Z L, et al. Screening the optimum strains of egg curd based on GC-MS and sensory evaluation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(5): 238-249.
- [21] 胡冠华, 王德宝, 赵丽华, 等. 成熟时间对羊肉发酵香肠品质及风味的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 194-202.
- HU G H, WANG D B, ZHAO L H, et al. Effect of ripening time on quality and flavor of mutton fermented sausage[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 194-202.
- [22] 刘建林, 孙学颖, 张晓蓉, 等. GC-MS结合电子鼻/电子舌分析发酵羊肉干的风味成分[J]. 中国食品学报, 2021, 21(5): 348-354.
- LIU J L, SUN X Y, ZHANG X R, et al. Analysis of flavor components of fermented dried mutton by GC-MS combined with electronic nose / electronic tongue[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(5): 348-354.
- [23] 方卉, 罗瑞明, 李亚蕾. 无菌真空包装酱羊脊骨可挥发性香气成分分析[J]. 肉类研究, 2020, 34(12): 55-60.
- FANG H, LUO R M, LI Y L. Analysis of volatile aroma components of sheep spine in aseptic vacuum packaging sauce[J]. Meat Research, 2020, 34(12): 55-60.
- [24] LI W, WANG J B, CHEN W C, et al. Analysis of volatile compounds of *Lentinula edodes* grown in different culture substrate formulations[J]. Food Re-

- search International, 2019, 125(11): 108517.
- [25] 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.
- LUO J, ZHAO H Y, XU W Z, et al. Determination and principal component analysis of volatile aroma compounds during post fermentation of Pixian Douban[J]. Food Science, 2018, 39(18): 209–216.
- [26] 刘方芳. 美国大口胭脂鱼关键挥发性气味物质的分析及脱腥技术研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- LIU F F. Analysis of key volatile odorants and deodorization technology of American Rouge fish [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [27] 王晨. 香料香精的产品与市场[J]. 精细与专用化学品, 2015, 23(8): 1–3.
- WANG C. Products and market of spices and fragrances[J]. Fine and Specialty Chemicals, 2015, 23(8): 1–3.
- [28] 王勇勤, 郭新, 黄笠原, 等. 基于电子鼻和气相色谱-质谱联用技术分析不同贮藏时间羊肉火腿香气成分[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 215–221.
- WANG Y Q, GUO X, HUANG L Y, et al. Analysis of aroma components of mutton ham stored at different times based on electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2019, 40(2): 215–221.
- [29] 陈天. 不同发酵方式对水果酵素发酵特性、贮藏稳定性及其干物质的影响研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2020.
- CHEN T. Effects of different fermentation methods on fermentation characteristics, storage stability and dry matter of fruit enzymes[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2020.
- [30] 许镇坚, 田兵, 华跃进. 不同金属辅基和酶剂量对超氧化物歧化酶抗氧化、促氧化作用的影响[J]. 核农学报, 2006, 37(4): 349–352.
- XU Z J, TIAN B, HUA Y J. Effects of different metal auxiliary groups and enzyme doses on antioxidation and oxidation promotion of superoxide dismutase[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2006, 37(4): 349–352.
- [31] 武悦, 赵婧, 王坤, 等. 黑豆丹贝发酵前后香气、酚类物质及抗氧化活性分析[J]. 核农学报, 2021, 35(2): 396–405.
- WU Y, ZHAO J, WANG K, et al. Analysis of aroma, phenols and antioxidant activity of black bean tempeh before and after fermentation[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(2): 396–405.

## Effects of Fermentation Technology of Mussel Bean Paste on Its Volatile Compounds and Antioxidant Activity

Guo Liping<sup>1</sup>, Yan Wen<sup>1,2</sup>, Dai Zhiyuan<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035

<sup>2</sup>The Joint Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, Hangzhou 310035

<sup>3</sup>Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian 116000, Liaoning)

**Abstract** For further utilization of mussel resources and innovate mussel food types, mussel bean paste products were developed with mussel, soybean and rice as raw materials, *Aspergillus oryzae* koji making and mixed fermentation, and its volatile flavor substances and *in vitro* antioxidant activity were evaluated. Through single factor experiment, the optimal fermentation conditions of mussel bean paste were determined: salt addition 14%, Koji and mussel mass ratio 1:1, fermentation temperature 40 °C, fermentation time 24 d. Under these conditions, the sensory score of mussel bean paste was the highest 92 points, and the content of amino acid nitrogen was 0.84 g/100 g. Compared with the non fermented samples, the mussel bean paste fermented by *Aspergillus oryzae* had more volatile compounds, and the relative contents of aldehydes, esters and other characteristic flavor substances increased by 11% and 19.4%, respectively. FRAP ability and hydroxyl radical scavenging ability of the mussel bean paste were significantly enhanced. The preparation of mussel bean paste by *Aspergillus oryzae* fermentation provides a new way to enrich the variety of mussel products.

**Keywords** mussel bean paste; fermentation; amino acid nitrogen; volatile compounds; antioxidant activity