

臭豆腐卤水发酵过程中微生物变化及 风味成分研究

李雨枫^{1,2}, 徐睿烜^{1,2}, 蒋立文^{2,3*}, 李明明^{2,4}

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 长沙 410128; 2. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 长沙 410128;
3. 湖南省发酵食品工程技术研究中心, 长沙 410128; 4. 湖南农业大学东方科技学院, 长沙 410128)

摘要: **目的** 探索臭豆腐卤水标准化生产的可能性。**方法** 试验了六种不同的发酵配方, 采用混合培养法研究了不同阶段微生物变化, 利用固相微萃取——气质联机的方法测定发酵终了卤水中挥发性成分的差异性。

结果 卤水中微生物的生长由迅速到缓慢, 在发酵成熟阶段相对稳定, 不同配方的卤水中主要微生物指标如细菌总数、酵母菌的数量增长不尽相同。如黄豆加老卤水配方中的酵母菌达到 2.4×10^{13} CFU/mL, 细菌总数为 1.1×10^{14} CFU/mL; 但酸菜水中酵母菌最终仅有 2×10^5 CFU/mL, 细菌总数为 4×10^{13} CFU/mL。而发酵卤水主要气味成分均有吲哚、醇类、酮类、酸类、酯类和少数几种酚类、硫醚类, 6种配方中酯类有5种化合物相同, 酸类4种, 醇类4种, 酮类6种。**结论** 利用传统自然发酵方式发酵的卤水, 在发酵过程中微生物彼此消长的变化规律, 可能为纯种发酵控制提供依据。臭豆腐的主要气味物质包括酯类、酸类、醇类、酮类、酚类以及吲哚、二甲基二硫、二甲基三硫以及2,3,5,6-四甲基吡嗪等。本实验中的臭豆腐卤水与传统卤水中风味成分相似性说明了达到规范符合大生产要求卤水的可能性, 本实验在加工上的差异性有待进一步探究。

关键词: 臭豆腐卤水; 微生物; 微固相萃取; 风味成分

Study on microbial quantity and flavor components in stinky tofu brine

LI Yu-Feng^{1,2}, XU Rui-Xuan^{1,2}, JIANG Li-Wen^{2,3*}, LI Ming-Ming^{2,4}

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;
2. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, Changsha 410128, China;
3. Hunan Provincial Research Center of Engineering and Technology for Fermented Food, Changsha 410128, China;
4. Oriental Science & Technology College of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

ABSTRACT: Objective To explore the possibility of stinky tofu brine standardization production. **Methods** Six different fermentation formulas were conducted. The variation microorganisms in different stages were investigated by using mixed culture. The volatile components of brine were detected in the end of fermentation by using solid phase micro-extraction. **Results** The growth rate of microorganisms in the brine changed from fast to slow and relatively remained stable in fermentation mature stage, and the main microorganisms population such as bacteria, lactic acid bacteria and yeast was not the same in different formula of brine, the number of yeast reached 2.4×10^{13} CFU/mL in the soy plus old brine formula, and total bacterial number was 1.1×10^{14} CFU/mL, but the

基金项目: 国家自然科学基金项目(21105125)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21105125)

*通讯作者: 蒋立文, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: hndjw@163.com

*Corresponding author: JIANG Li-Wen, Professor, College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China. E-mail: hndjw@163.com

yeast number was only 2×10^5 CFU/mL in sauerkraut water eventually, and total bacterial number was 4×10^{13} CFU/mL. the main odor components in fermentation brine were indole, alcohols, acids, esters, ketones and a handful of phenol, sulfide, 5 kinds of compounds were the same in esters of 6 different formulas, and 4 kinds were the same in acids, 4 kinds in alcohols and 6 kinds in ketones. **Conclusion** There is a shift change rule of microbial quantity in the traditional natural fermentation brine during fermentation. This may provide the basis for controlling pure breed fermentation. The main smell of stinky tofu substances including esters, acids, alcohols, ketones, phenols and indole, dimethyl disulfide, dimethyl 3 s and 2,3,5,6 - tetramethyl pyrazine, etc. The similarity of flavor composition between stinky tofu brine in the experiment and the traditional brine illustrates the possibility to reach the specifications conform and the requirements for mass production, the differences of the experiment on the processing needs to be further explored.

KEY WORDS: stinky tofu brine; microorganisms; solid-phase microextraction; flavor components

1 引言

在我国, 由于地域不同, 臭豆腐的制作工艺差异较大。臭豆腐可分为发酵型与半发酵型两种。发酵型臭豆腐需要经过严格的前期发酵, 终产品豆腐表面呈现青色, 又名“青方腐乳”。南方臭豆腐则是半发酵型产品, 采用浏阳黑豆豉、香菇、苋菜^[1]等长期发酵制成的“臭卤水”, 再将豆腐浸泡, 油炸时“闻着臭, 吃着香”, 又名“臭干子”。研究表明, 臭豆腐含有丰富的蛋白质和氨基酸^[2,3], V_{B12} 含量较高, 对老年痴呆症有良好的预防效果^[4-7]。本文针对南方的臭干子卤水发酵过程中微生物变化及风味成分进行探讨。

臭干子的品质取决于卤水的品质, 所以臭豆腐卤水制作最为关键。研究和实践表明, 卤水漫长的发酵过程是多种作用相互交叉的结果, 既有原料自源酶的作用, 也有相关微生物以及各类物质之间相互作用。郭华等^[4]、黄香华等^[5]、卢义伯等^[8]均从臭豆腐卤液中分离得到了优势微生物。但是, 对于臭豆腐的挥发性成分, 目前只有亓顺平等^[9]、郑小芬^[10]分别就臭豆腐坯子和臭豆腐卤水进行了分析研究, 他们鉴定出的这些挥发性成分大都具有美国食用香料与提取物制造者协会(FEMA)对外公布的一般公认安全(GRAS)的 FEMA 编号, 大部分是我国 GB2760^[11]中规定允许使用的食用香料。

本研究的目的是对臭豆腐卤水标准化生产的可能性的一种尝试。结合文献, 试验 6 种不同的制作配方, 采用菌落总数培养法^[12]和微固相萃取——气质联用仪^[13]的方法测定发酵不同阶段微生物变化及最

终的挥发性成分的差异性, 探索不同配方卤水中的主要气味物质成分, 为臭豆腐卤水加工工艺标准化提供参考。

2 材料与方法

2.1 实验材料

本实验所使用的材料有干浏阳豆豉、干香菇、邵阳大曲、食盐、黄豆、新鲜冬笋, 均采购于长沙市马王堆批发市场。老卤水来自于火宫殿, 发酵时间 1 年以上。

酸菜采用新鲜蔬菜稍微晾晒、清洗、开水漂烫, 迅速冷却, 用冷开水浸泡自然酸化 3~5 d, 制成酸菜水, 备用; 黄豆清洗后加水熬煮制成黄豆水, 备用; 豆豉水为将浏阳豆豉煮沸冷却过滤取汁, 备用。

2.2 试剂和仪器

孟加拉红培养基(AR, 广东环凯微生物科技有限公司); 营养琼脂培养基(AR, 北京陆桥技术有限责任公司); 乙醇(AR, 安徽安特生物化学有限公司)。

集热式磁力加热搅拌器 DF-101S(金坛市医疗仪器厂); 超声波清洗器 KQ3200E(昆山市超声仪器有限公司); 气质联用分析仪 QP20109(日本岛津公司); 固相微萃取(SPME)装置 ZX21(美国 Supelco 公司); 万用电炉 DL-1(中兴伟业仪器有限公司); 电子天平 TP-620A(郑州时代仪器设备有限公司); 电子显微镜 BA200(北京中西远大科技有限公司)。

2.3 培养基的配制

0.8%的生理盐水、营养琼脂培养基和孟加拉红培养基, 参照标准^[14]制备。

2.4 实验方法

实验样品总量为 2.5 kg, 香菇和冬笋直接浸入发酵, 入广口瓷桶内, 纱布封桶, 恒温 30 °C 发酵。卤水发酵所用主要原料的配方为(百分比均相对于最终体积): 浏阳豆豉 16.6%、香菇 0.6%、邵阳大曲 8%、冬笋 10%、食盐 0.3%, 只有最终溶液的差异。配方如下:

配方 1(简称 1): 冷开水 2.5 kg;

配方 2(简称 2): 在配方 1 的基础上接种 200 mL 老卤水发酵;

配方 3(简称 3): 黄豆水 2.5 kg;

配方 4(简称 4): 在配方 3 的基础上接种 200 mL 老卤水发酵;

配方 5(简称 5): 酸菜水 2.5 kg;

配方 6(简称 6): 在配方 5 的基础上接种 200 mL 老卤水发酵。

将上述卤水制备好后, 用陶瓷桶装好, 表面用纱布裹好, 定期进行搅拌, 确保好氧发酵状态。从 0 d 开始计时, 每隔 8 d 取样分析其中的细菌总数、酵母菌数量; 发酵 60 d 后, 对每一种卤水进行气味物质分析(以老卤水进行对照)。

2.5 分析测定方法

2.5.1 细菌总数、酵母菌数量测定

采用混菌法对酵母菌、细菌总数进行培养计数。细菌总数测定参照 GB 4789.2-2010^[15]方法进行, 酵母菌检测参照 GB 4789.15-2010 方法进行, 每个样品重复 3 次。

2.5.2 气质联用(GC-MS)分析臭豆腐卤水气味物质^[16,17]

色谱条件: 色谱柱为 DB-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 载气为高纯(99.999%)氦气, 氦气流速 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C; 不分流进样。程序升温: 柱温 45 °C, 保持 1 min, 以

5 °C/min 升温至 290 °C, 保持 2 min。

质谱条件: 离子源为 EI 源, 离子源温度 200 °C; 电子能量 70 eV; 发射电流 150 μA; 倍增器电压 1037 V; 接口温度 220 °C; 质量扫描范围 m/z 45~500。

总离子流色谱图分析: 总离子流色谱图经 Nist 标准谱库检索定性鉴定出成分, 采用面积归一法进行定量分析, 得到各成分在臭豆腐卤水挥发性风味物质中的相对含量。

3 结果与分析

3.1 臭豆腐卤水发酵过程中主要微生物变化

6 种卤水中菌落总数的检测结果见表 1。

根据表 1 可以看到细菌总数的生长速率基本呈指数增长, 并没有明显降低或变缓, 配方 5 中由于酸度相对较高, 细菌总数要少些。

由表 2 可得知酵母菌数量变化各配方之间差异较大, 除配方 1 外, 其他配方酵母菌数量在 60 d 培养过程中有显著增加、回落, 这与发酵过程中环境变化有关。

从上述结果分析可以看出, 卤水发酵过程中实际上是各类微生物相互消长协调、共同作用的结果。随着培养时间的延长, 环境中各类微生物之间的变化有所不同, 但这些微生物交替变化为卤水特殊风味的形成提供了坚实的基础。

3.2 老卤水与 6 种配方的卤水中挥发性物质的结果分析

图 1~图 7 分别为老卤水和另外 6 种配方卤水的气质联用分析结果图。

由表 3、表 4 分析可知, 老卤水和 6 种配方中卤水在被测的 45 min 内共测出 47 种气味物质, 包括丁酸、乙酸、丙酸在内的 7 种酸, 7 种醇类, 10 种酮类, 6 种酯类与少数几种酚类、硫醚类以及醛类、烷烃类。

表 1 不同发酵时间细菌总数的变化

Table 1 Change of bacteria count in difference fermentation time

单位: (CFU/mL)

时间(d)	0	8	16	24	32	40	48	56
1	4×10^4	1.6×10^5	2.8×10^7	3.2×10^8	2.7×10^9	2.3×10^{11}	1×10^{12}	1.1×10^{14}
2	2×10^4	3×10^4	1.3×10^7	2.5×10^8	1.7×10^9	2.6×10^{12}	1.6×10^{12}	3.7×10^{13}
3	9.7×10^4	1.4×10^5	9.8×10^6	1.7×10^8	2.2×10^9	2.4×10^{11}	5.7×10^{11}	3.5×10^{11}
4	2×10^4	2.7×10^5	9.2×10^6	1.1×10^8	2.6×10^9	1.4×10^{12}	9×10^{11}	4×10^{13}
5	1.8×10^4	2.9×10^5	8.2×10^6	1.9×10^8	1.5×10^9	7.5×10^{11}	6×10^{11}	2×10^{11}
6	2.4×10^4	3×10^4	1.7×10^7	8.9×10^7	1.3×10^9	1.3×10^{12}	5.5×10^{11}	2.1×10^{12}

表 2 不同发酵时间酵母菌数量的变化

Table 2		Change of yeast in difference fermentation time							单位: (CFU/mL)
时间(d)	0	8	16	24	32	40	48	56	
1	< 10	< 10	1.5×10^6	1.8×10^6	3×10^7	4.1×10^9	1.2×10^{12}	2.4×10^{13}	
2	< 10	< 10	< 10	1.2×10^7	1.8×10^9	3.4×10^{11}	4.5×10^{11}	7×10^{10}	
3	< 10	2.2×10^5	4×10^6	9.8×10^6	1.6×10^9	5×10^8	1×10^7	1.2×10^6	
4	< 10	< 10	3×10^5	1.7×10^7	7×10^8	1×10^8	1×10^7	2×10^5	
5	< 10	2.8×10^5	4×10^5	5.3×10^6	3.3×10^8	1×10^8	1×10^7	1.4×10^5	
6	< 10	< 10	1.1×10^6	1.9×10^7	5.9×10^8	1×10^8	1×10^7	1.6×10^5	

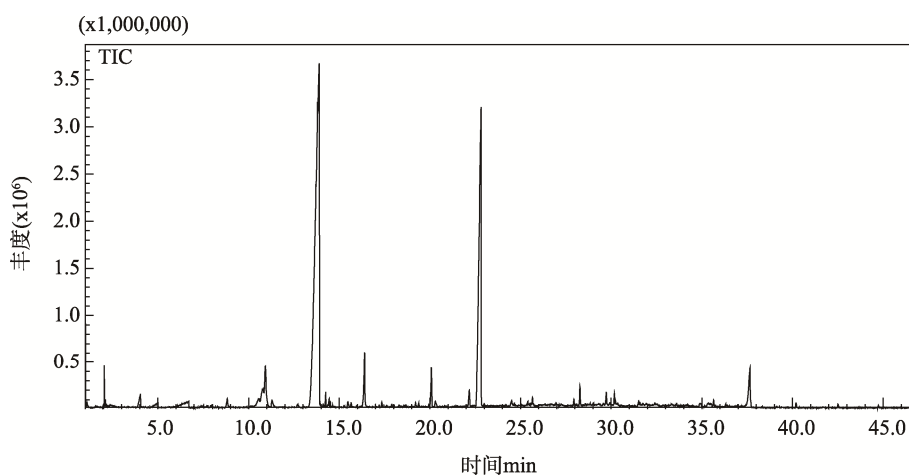


图 1 老卤水气质联用分析结果图
Fig. 1 GC-MS analysis result for old brine

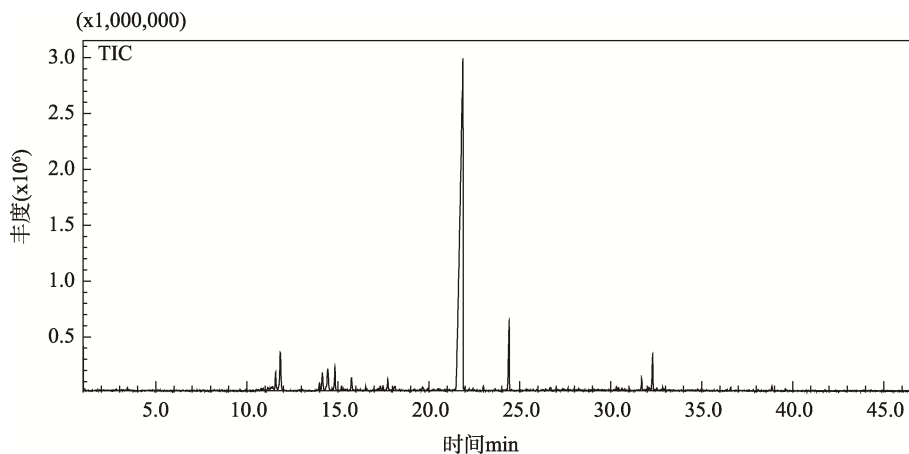


图 2 配方 1 气质联用分析结果图
Fig. 2 GC-MS analysis result for formula 1

结合文献报道发现^[17], 从非发酵型臭豆腐中鉴定出的挥发性风味成分与本实验中利用卤水鉴定出的成分差异较大, 但醇类和酯类均较多, 这可能与地

域不同、配方差异有关。刘玉平等^[18]利用同时蒸馏萃取法(simultaneous distillation and solvent extraction, SDE)和固相微萃取(solid-phase microextraction,

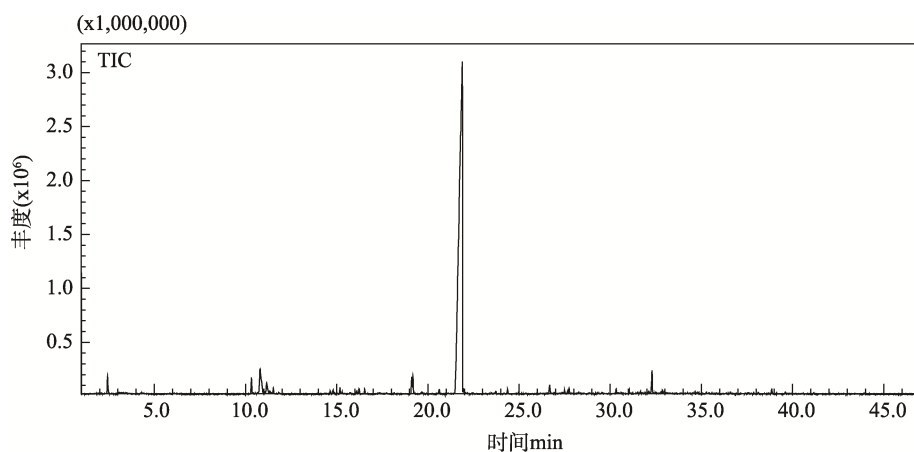


图 3 配方 2 气质联用分析结果图
Fig. 3 GC-MS analysis result for formula 2

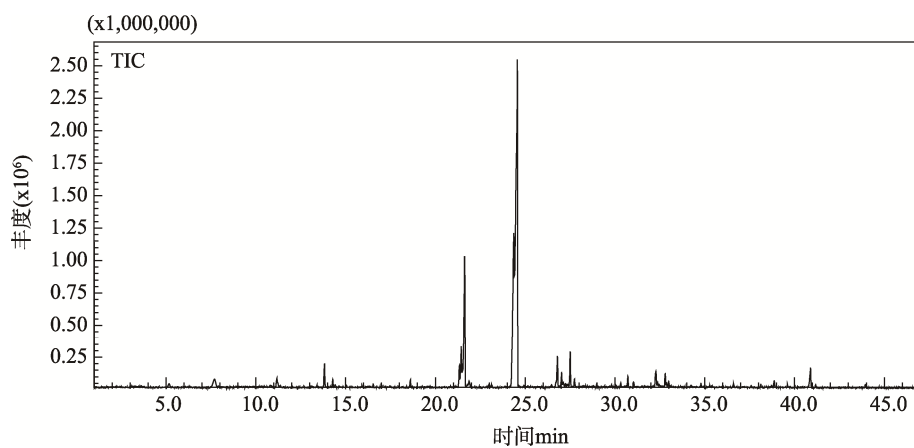


图 4 配方 3 气质联用分析结果图
Fig. 4 GC-MS analysis result for formula 3

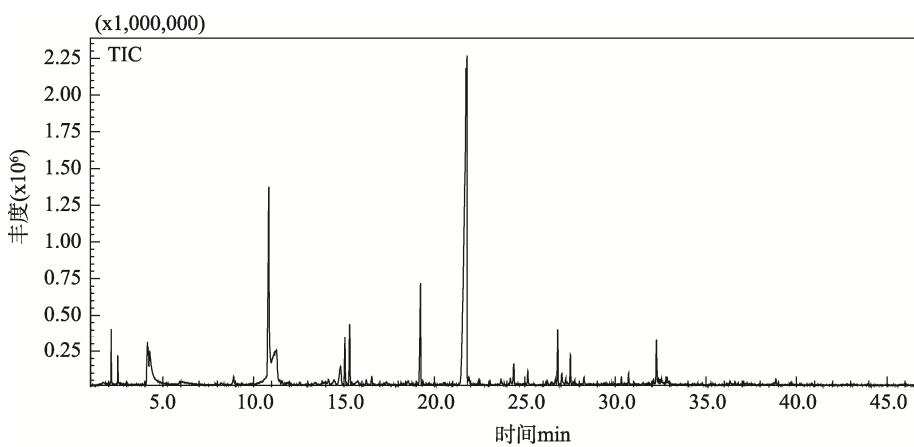


图 5 配方 4 气质联用分析结果图
Fig. 5 GC-MS analysis result for formula 4

SPME) 两种萃取方法结合气质联用仪对老才臣臭豆腐中的挥发性成分进行提取分析, 检出的含硫化合物如二甲基二硫与二甲基三硫、吲哚、3-甲基吲哚、2-戊基呋喃、2-戊基噻吩等物质也均在本实验中检出, 这说明发酵型臭豆腐和臭豆腐卤水臭味成分有相似性。

酯类主要是在发酵后期由酸类和醇类通过化学反应或酶反应而得, 三者共同构成臭豆腐卤水的酯香、酸味、醇香的风味特色。酯类化合物相对阈值较低, 因此卤水的香气贡献较大。吲哚是一种具有强烈

臭味的物质, 实验中吲哚的相对含量均在 30%以上, 它对臭豆腐的臭香味起到重要作用。除老卤水外, 其他 6 种配方中均检出二甲基二硫、二甲基三硫等含硫化合物, 其本身阈值就低, 浓度高时具有强烈的臭萝卜、臭洋葱气^[10], 使得臭豆腐的特征香气增强, 香气更透发, 给人留下臭豆腐很臭的感觉。苯酚对臭豆腐的香气起到增强作用, 并且具有防腐和杀菌的作用, 它的存在对产品的稳定性起到了一定作用^[13]; 2,3,5,6-四甲基吡嗪是一种含氮杂环化合物, 具有坚果香、霉味、可可、花生、咖啡样香气, 蒋立文等^[19]

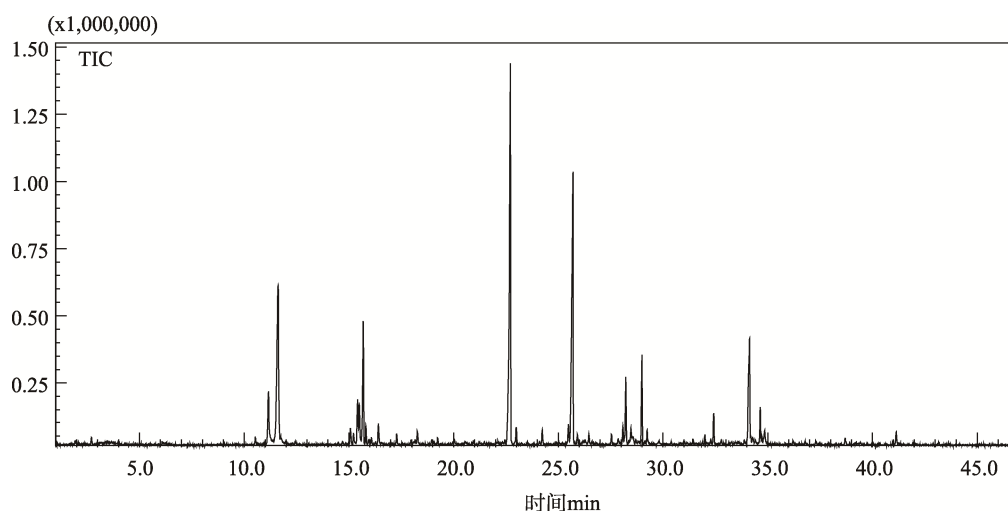


图 6 配方 5 气质联用分析结果图

Fig. 6 GC-MS analysis result for formula 5

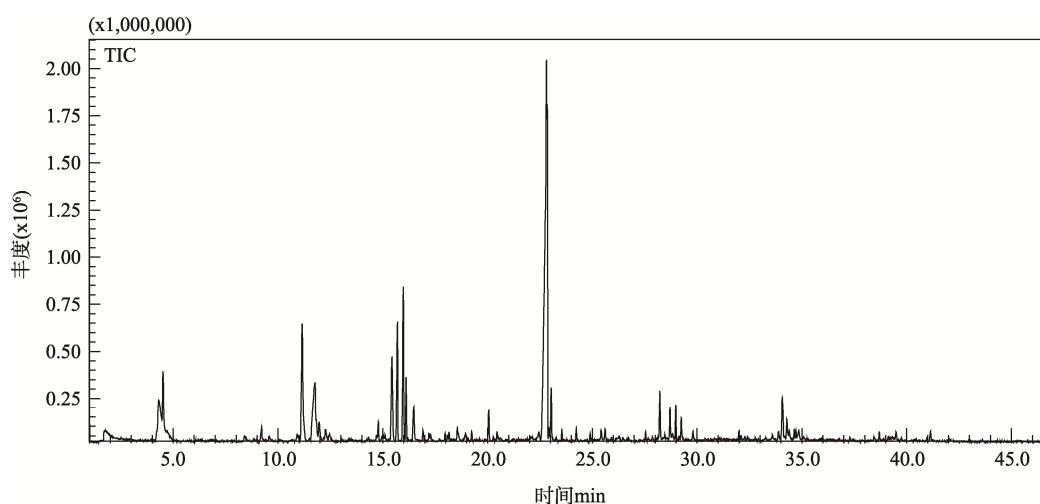


图 7 配方 6 气质联用分析结果图

Fig. 7 GC-MS analysis result for formula 6

表3 臭豆腐卤水挥发性组分的GC-MS鉴定结果
Table 3 GC-MS identification results of stinky tofu by SPME-GC-MS

序号	挥发性香气成分	相对含量%						
		老卤水	1	2	3	4	5	6
酯类								
1	丙位壬内酯	1.35	-	-	-	-	0.14	-
2	丙位十二内酯	1.15	0.63	3.68	0.08	1.12	5.51	2.12
3	棕榈酸乙酯	0.40	0.27	0.28	0.27	0.27	0.12	0.24
4	丙位癸内酯	0.42	0.44	0.30	0.42	0.37	0.89	0.18
5	十二烯酸内酯	-	1.54	-	-	-	-	-
6	邻苯二甲酸二异丁酯	0.23	0.43	0.10	0.37	0.20	0.31	0.45
7	邻苯二甲酸二丁酯	0.18	0.13	0.14	0.21	0.09	0.53	0.19
8	乙酸丁香酚酯	-	-	0.22	-	-	-	-
9	醋酸(Z)-7-十四烯酯	-	-	0.08	0.39	-	-	-
10	2-丙烯酸十三烷酯	-	-	0.07	-	-	-	-
11	异硫氰酸烯丙酯	-	-	-	-	0.08	-	-
12	甲基硫代磷酸二乙酯	-	-	-	-	0.27	-	-
13	乙酸(Z)-5-十二烯醇酯	-	-	-	-	0.75	-	-
14	正己酸乙酯	-	-	-	-	-	0.08	-
15	丁位辛内酯	-	-	-	-	-	0.16	-
16	硬脂酸乙烯酯	-	-	-	-	-	0.05	-
17	硬脂酸乙酯	-	-	-	-	-	0.12	-
18	硝酸异山梨酯	-	-	-	-	-	-	0.26
酸类								
1	乙酸	1.09	0.68	0.77	1.12	0.18	0.18	0.24
2	丁酸	0.54	-	-	-	-	-	-
3	异戊酸	0.19	-	-	-	-	-	-
4	2-甲基丁酸	0.17	-	-	-	-	-	-
5	丙酸	0.42	0.07	0.24	0.25	0.16	0.23	0.18
6	苯甲酸	-	-	-	-	-	1.40	-
7	棕榈酸	0.24	0.64	0.75	0.64	0.33	0.68	0.56
8	氨基磺酸	-	-	0.21	-	-	-	-
9	9-癸烯醋酸	-	-	0.08	-	-	-	-
10	肉豆蔻酸	0.42	0.35	0.24	0.50	0.06	0.19	0.25
11	(E)-5-癸烯基乙酸	-	-	-	-	-	0.08	-
12	2-氨基-4-甲基苯甲酸	-	-	-	-	-	-	0.71
13	二十碳三烯酸	-	-	-	-	-	-	0.23
醇类								
1	6-甲基-3-庚醇	0.54	5.09	0.22	-	-	-	-
2	1-丙醇	0.71	0.22	0.21	0.31	0.25	0.26	0.15
3	辛二烯-3-醇	0.45	-	-	-	-	-	-
4	2-丙醇	0.40	0.35	0.30	0.33	0.20	0.44	0.16
5	甲基苯甲醇	-	0.16	-	-	-	-	-

续表 1

序号	挥发性香气成分	相对含量%						
		老卤水	1	2	3	4	5	6
醇类								
6	2-壬醇	0.33	0.15	1.44	0.18	0.17	0.38	3.26
7	苯乙醇	-	1.82	0.18	0.10	0.24	1.13	0.14
8	1-壬醇	-	0.63	0.17	-	-	-	0.61
9	辛烯醇	-	0.18	53.83	-	-	-	-
10	3-苯丙醇	-	0.43	0.30	0.06	-	-	-
11	2-十二醇	-	0.18	0.21	-	0.34	0.12	-
12	百秋李醇	-	0.12	-	-	-	-	-
13	庚醇	-	-	0.10	-	-	-	-
14	3-苯丙醇	-	0.43	0.30	0.27	-	0.13	-
15	2-三癸醇	-	-	0.86	0.80	0.27	-	1.11
16	顺-4-癸烯-1-醇	-	-	0.12	-	-	-	-
17	十一烷-8-醇	1.64	0.25	0.12	0.14	0.07	0.25	0.18
18	2-十四烷醇	-	-	0.31	0.39	-	0.71	-
19	3,3,5-三甲基环己醇	-	-	-	0.25	-	-	-
20	反-5-癸烯醇	-	-	-	0.34	0.34	0.24	1.64
21	2-三癸醇	-	-	0.86	0.80	0.27	0.15	1.11
22	十一烷-8-醇	1.64	0.25	0.12	0.14	0.07	0.25	0.18
23	环己基丙二醇	-	-	-	0.11	-	-	-
24	2-十四烷醇	-	-	0.31	0.36	-	0.71	-
25	2-十二醇	-	0.18	0.21	-	0.34	0.12	-
26	2-三癸醇	-	-	0.86	0.80	0.07	0.67	1.08
27	环十二醇	-	-	-	-	0.36	-	0.40
28	顺-9-十四碳烯醇	-	-	-	-	6.91	-	-
29	4-甲基-2-戊醇	-	-	-	-	-	0.17	0.46
30	2,4-二甲基-3-庚醇	-	-	-	-	-	-	0.23
31	1,7-辛二烯-3-醇	-	-	-	-	-	-	0.12
32	2-癸醇	-	-	-	-	-	-	0.33
33	3-正癸醇	-	-	-	-	-	-	0.09
34	糠(基)硫醇	-	-	-	-	-	-	0.10
35	香茅醇	-	-	-	-	-	-	0.16
36	红没药醇	-	-	-	-	-	-	0.11
37	金合欢醇	-	-	-	-	-	-	0.13
38	亚麻醇	-	-	-	-	-	-	0.14
39	油醇	-	-	-	-	-	-	0.20
酮类								
1	2-庚酮	0.18	-	-	-	-	-	0.24
2	3-辛酮	3.43	0.47	0.32	0.17	0.24	0.14	1.12
3	2-壬酮	1.30	0.15	0.20	2.32	3.26	0.15	6.14
4	2-癸酮	0.18	0.24	0.19	0.11	0.20	0.35	0.49

续表 3

序号	挥发性香气成分	相对含量%						
		老卤水	1	2	3	4	5	6
	含硫化合物							
1	二甲基二硫	-	0.17	0.18	0.30	2.11	0.15	2.09
2	二甲基三硫	-	0.30	0.25	0.15	13.20	0.36	6.04
3	甲基糠基二硫	-	-	-	-	6.91	-	-
	烷烃类							
1	1,1-二苯基乙烷	0.36	-	-	-	-	-	-
2	十五烷	0.18	-	0.28	0.09	0.22	0.15	-
3	十六烷	0.56	0.32	0.70	0.42	0.47	0.52	0.16
4	十七烷	0.36	0.35	0.74	1.24	-	0.38	-
5	十四烷	-	0.14	-	-	-	-	-
6	十八烷	-	0.14	-	0.14	0.18	0.23	0.56
7	二甲硫基甲烷	-	-	-	-	-	-	-
8	二十烷	-	-	0.22	-	0.12	-	-
9	二十一烷	-	0.55	0.27	-	-	-	0.19
10	正十三烷	-	-	-	-	0.40	-	0.62
11	2-溴十四烷	-	-	-	-	0.40	-	-
12	1,2-环氧十六烷	-	-	-	-	-	0.12	-
13	1,1-二甲基环戊烷	-	-	-	-	-	-	0.09
14	1,1,3-三乙氧基丙烷	-	-	-	-	-	-	0.30
	其他							
1	视黄醛	0.40	-	-	-	-	-	-
2	氟乙酰胺	3.43	-	-	-	2.18	-	3.56
3	2,3,5,6-四甲基吡嗪	0.23	0.39	0.63	0.19	1.21	0.67	4.35
4	壬醛	0.19	0.24	-	-	-	-	-
5	3-庚炔	0.13	-	-	-	-	-	-
6	二乙基三硫醚	0.39	-	-	-	-	-	-
7	仲丁基硫醚	0.21	-	-	-	-	-	-
8	吲哚	0.23	45.61	53.83	12.95	22.13	19.71	19.51
9	3-甲基吲哚	25.91	9.49	0.80	3.06	1.38	14.14	0.59
10	甲苯	-	0.33	-	-	-	-	-
11	乙基苯	-	0.13	-	-	-	-	-
12	2,3,5-三甲基吡嗪	-	0.18	-	-	0.11	0.15	0.26
13	2,3,5,6-四甲基吡嗪	0.23	3.26	0.35	0.19	1.21	2.16	4.35
14	2-正戊基噻吩	-	0.53	-	-	0.18	0.12	0.28
15	N-苄基乙二胺	-	0.22	0.12	-	-	-	-
16	1-甲基萘	-	0.18	-	-	-	-	-
17	1-石竹烯	-	0.14	0.15	-	-	-	-
18	十五烯	-	0.18	-	-	-	-	-
19	萘	-	0.53	0.23	-	0.14	0.23	0.32
20	2-正戊基呋喃	-	0.32	-	0.75	0.21	-	0.93
21	苯丙醚	-	-	-	0.21	-	-	-
22	异丁醛二乙缩醛	-	0.63	1.10	0.75	3.26	0.11	7.90
23	二甲基四硫醚	-	0.32	2.79	0.75	6.91	2.23	1.54

表4 不同配方中共有气味物质
Table 4 The same aroma components in different formula

类别	共有物质名称
酯类	丙位十二内酯、丙位癸内酯、邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、棕榈酸乙酯
酸类	乙酸、丙酸、棕榈酸、肉豆蔻酸
醇类	6-甲基-3-庚醇、1-壬醇、2-丙醇、1-丙醇
酮类	2-壬酮、3-辛酮、2-癸酮、2-十九烷酮、2-十五烷酮
酚类	苯酚
含硫化合物	二甲基二硫、二甲基三硫(除老卤水外)
其他	吡嗪、3-甲基吡嗪、十五烷、十七烷、2,3,5,6-四甲基吡嗪、异丁醛二乙缩醛(除老卤外)、二甲基四硫醚(除老卤外)

研究表明这种物质也存在于浏阳豆豉中,是浏阳豆豉的主要香气成分。这些物质共同构成了臭豆腐的特有臭香味。

4 结论

利用传统自然发酵方式发酵的卤水,在发酵过程中微生物彼此消长的变化规律,可能为纯种发酵控制提供依据。从卤水气味物质数据分析结果来看,臭豆腐的主要气味物质包括酯类、酸类、醇类、酮类、酚类以及吡嗪、二甲基二硫、二甲基三硫以及2,3,5,6-四甲基吡嗪等。由于本研究没有添加常用的青矾,卤水呈黄色。考虑到传统发酵卤水制作需要1年以上的时间,而保温发酵使发酵周期缩短,从其风味成分相似性说明了达到规范符合大生产要求卤水的可能性,但仍需要进一步研究和探讨。

参考文献

- [1] 顾渭忠. 一种油炸臭豆腐中药卤汁的制作方法[P]. 中国: CN102018215A, 2011-04-20.
Gu WZ. The method of making a type of fried fermented bean curd of strong odour medicine marinades [P]. China: CN102018215A, 2011-04-20.
- [2] 马勇. 青方腐乳酿造技术研究[J]. 中国酿造, 1996, 15(5): 35-36.
Ma Y. The green party fermented bean curd brewing technology research [J]. China Brew, 1996, 15(5): 35-36.
- [3] 吴彩梅, 王静, 曹维强, 等. 臭豆腐的不安全因素及其监控[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(7): 97-103.
Wu CM, Wang J, Cao WQ, *et al.* Gray tofu safety problem and its control [J]. Food Ferment Ind, 2005, 31(7): 97-103.
- [4] 郭华, 廖兴华, 周建平, 等. 臭豆腐菌种分离鉴定与酿造工艺研究[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 109-115.
Guo H, Liao XH, Zhou JP, *et al.* Separating and identifying bacterial strains of fermented bean curd of strong odour and research on ferment technology [J]. Food Sci, 2004, 25(4): 109-115.
- [5] 黄香华, 蒋立文, 易灿, 等. 臭豆腐菌种鉴定、发酵及气味成分分析[J]. 农产品加工, 2009, (4): 76-80.
Huang XH, Jiang LW, Yi C, *et al.* Identifying bacterial strains and fermentation of fermented bean curd of strong odour and odor composition analysis [J]. Agric Prod Process, 2009, (4): 76-80.
- [6] 李幼筠. 腐乳是科学利用大豆的优质食品[J]. 中国酿造, 1997, (4): 1-3.
Li YJ. Fermented bean curd is a science using soybean quality food [J]. China Brew, 1997, (4): 1-3.
- [7] 张刚. 乳酸细菌——基础、技术和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 12.
Zhang G. Lactic acid bacteria - basic, technology and application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 12.
- [8] 卢义伯, 潘超, 祝义亮, 等. 臭豆腐发酵菌种的筛选与鉴定[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 246-249.
Lu YB, Pan C, Zhu YL, *et al.* Bacterium screening and identifying from fermented bean curd of strong odour [J]. Food Sci, 2007, 28(6): 246-249.
- [9] 元顺平, 翁新楚. 非发酵臭豆腐挥发性风味物质的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 400-403.
Yuan SP, Weng XC. Study on volatile flavor compounds of unfermented smelly tofu [J]. Food Sci, 2007, 28(12): 400-403.
- [10] 郑小芬, 苏悟, 蒋立文. 两种臭豆腐卤水中挥发性成分的比较[J]. 中国酿造, 2013, (10): 122-125.
Zheng XF, Su W, Jiang LW. Comparison of volatile components in two kinds of stinky tofu brine [J]. China Brew, 2013, (10): 122-125.
- [11] 吉鹤立. GB2760-2011 食品添加剂使用标准使用指南[M]. 北

- 京: 中国计量出版社, 2011, 10.
- Ji HL. GB2760-2011 Standard guidelines for of using food additives [M]. Beijing: China Metrology Press, 2011, 10.
- [12] 王龙祥. 油炸臭豆腐安全性分析与研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2012.
- Wang LX. Fried stinky tofu analysis and research for safety [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2012.
- [13] 刘玉平, 陈海涛, 孙宝国, 等. 固相微萃取与 GC-MS 法分析发酵型臭豆腐中挥发性成分[J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 403-405.
- Liu YP, Chen HT, Sun BG, *et al.* Solid phase microextraction and GC-MS analysis of volatile components in fermented tofu [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2009, 30(12): 403-405.
- [14] GB1597.9-2002 一次性使用卫生用品卫生标准 [S].
- GB1597.9-2002 Disposable hygiene products health standard [S].
- [15] GB 4789.2-2010, 食品微生物学检验 菌落总数测定 [S].
- GB 4789.2-2010 Food microbiology test Determination of the total number of colonies [S].
- [16] 欧阳晶, 苏悟, 陶湘林, 等. 辣椒发酵过程中挥发性成分变化研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 55-58.
- Ou YJ, Su W, Tao XL, *et al.* Analysis of volatile component in fermented chili [J]. *Food Mach*, 2012, 28(6): 55-58.
- [17] 钟燕青. 自然发酵辣椒中乳酸菌分离筛选及香气成分分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- Zhong YQ. The natural separation of lactic acid bacteria in fermented pepper aroma composition analysis and filtering [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2012.
- [18] 刘玉平, 苗志伟, 黄明泉, 等. 臭豆腐中挥发性香成分提取与分析[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 228-231.
- Liu YP, Miao ZW, Huang MQ, *et al.* Extraction and analysis of volatile flavor constituents of stinky tofu [J]. *Food Sci*, 2011, 32(24): 228-231.
- [19] 蒋立文, 廖卢艳, 刘嘉, 等. 浏阳豆豉挥发性成分的研究[J]. 中国酿造, 2011, (5): 131-133.
- Jiang LW, Liao LY, Liu J, *et al.* Volatile substances in Liuyang douche [J]. *China Brew*, 2011, (5): 131-133.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



李雨枫, 本科, 主要研究方向为食品科学。
E-mail: 332314284@qq.com



蒋立文, 博士, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。
E-mail: hnndjlw@163.com