

毛霉型豆豉功能性成分的研究进展

杨伊磊¹, 青文哲¹, 陈力力^{2,3*}

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 长沙 410128; 2. 食品科技和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)

摘要: 毛霉型豆豉是我国传统的大豆发酵制品之一。它是以大豆为原料, 利用毛霉所产的酶系分解原料中的蛋白质、淀粉类等物质, 当达到适宜的程度时, 再添加食盐、酒等辅料, 抑制酶的活力, 延缓发酵过程, 让原料中的部分蛋白质及其分解的产物在特定条件下保存下来, 从而制得的风味独特的调味品。毛霉型豆豉深受人们喜爱, 因为它不仅含有丰富的基本营养成分, 而且含有多种生理活性物质, 它们通过各自或彼此之间的协同作用, 构成了大豆发酵食品独特的保健功能, 如抗氧化、减缓衰老、降血糖等。本文对近年来毛霉型豆豉中的大豆异黄酮、活性多肽、 γ -亚麻酸、黑色素等功能性成分以及某些酶的功能研究进展进行了综述, 并进一步对毛霉型豆豉的深入研究和前景进行了分析与展望。

关键词: 毛霉型豆豉; 功能性成分; 发展前景

Advance of research on functional components of *Mucor*-type Douchi

YANG Yi-Lei¹, QING Wen-Zhe¹, CHEN Li-Li^{2,3*}

(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 Biotechnology for Fermentative Food, Changsha 410128, China)

ABSTRACT: *Mucor*-type Douchi is one of the traditional fermented soybean products in China. It used enzyme from *Mucor* to decompose the substances such as protein and starch in soybeans at appropriate time, and was added salt, wine and other accessories to inhibit the enzyme activity and delay the fermentation process, and let the part of protein and decomposition product in materials preserved under specific conditions, thus made the unique flavor of the spices. *Mucor*-type Douchi is very popular for it contains abundant basic nutrition as well as the various active components. These components through synergy forming the unique health care function of soybean fermentation food, such as antioxidant, slow aging and hyperglycemic. In this article, the present situation of soybean isoflavones, activity peptide, gamma-linolenic acid, melanin and activity enzyme in Douchi is summarized, and the analysis and development of Douchi in the future is discussed.

KEY WORDS: *Mucor*-type Douchi; functional component; prospect

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371828)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31371828)

*通讯作者: 陈力力, 教授, 主要研究方向为食品微生物及生物技术。E-mail: chenlili001@tom.com

*Corresponding author: CHEN Li-Li, Professor, College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, No.1, Nongda Road, Furong District, Changsha 410128, China. E-mail: chenlili001@tom.com

1 引言

豆豉是我国传统的发酵豆制品, 古代称豆豉为“幽菽”, 也叫“嗜”, 根据豆豉制曲的主导微生物种类的不同可将豆豉分为: 曲霉型豆豉、毛霉型豆豉、根霉型豆豉、细菌型豆豉及脉孢菌型豆豉等五大类^[1]。其中, 毛霉型豆豉色黑、油润有光泽、具有浓郁的醇香和酯香、成品油润化渣、散籽成型, 是各类豆豉中的佳品, 深受人们的喜爱。它以品味优、质量佳而闻名于世, 经久不衰。最富盛名的当数于成都的“太和豆豉”、三台的“潼川豆豉”和永川的“永川豆豉”^[2-4]。

豆豉发酵生产过程中, 在微生物及酶的作用下, 对大豆原料中的大分子有机物分解和重组, 同时经过复杂的生化作用, 形成的代谢产物和变异物质, 不仅使豆豉含有丰富的蛋白质、可溶性糖、可溶性氮、维生素 B、维生素 A、维生素 E 等基本营养成分^[5,6], 还含有大豆异黄酮、乙酰胆碱酯酶抑制剂、大豆多肽、 γ -亚麻酸、活性酶、大豆低聚糖等多种功能因子, 具有抗变异原、抗癌、抗氧化、降血压、调理肠胃和抗菌等生理功能^[7-9]。

2 大豆异黄酮

大豆异黄酮(soybean isoflavones)是大豆生长过程中次生代谢产生的含 3-苯基色酮结构的化合物, 目前大豆及其发酵制品中最引人注目的一种功能性成分。大豆异黄酮分为糖苷型异黄酮(结合型糖苷 glucosides)如大豆苷、大豆黄苷及染料木苷等以及游离型异黄酮(游离型苷元 aglycons)如大豆素、大豆黄素及染料木素等两类, 糖苷型异黄酮由游离型异黄酮与一分子的葡萄糖以 7-位氧苷键结合而成。天然存在的大豆异黄酮中 95%以上是糖苷型形式, 必须被转化为游离型异黄酮才能在肠道内直接吸收, 才能发挥生物活性作用。

人们对传统毛霉型豆豉发酵过程中的大豆异黄酮总量和构成进行研究, 发现在发酵前后, 大豆异黄酮总含量基本上不变, 但构型有明显变化。采用高效液相色谱技术测定发酵过程中的大豆异黄酮, 其游离型大豆异黄酮的含量迅速增加, 由起始的 3.2%上升到了 95.7%, 结合糖苷型大豆异黄酮含量迅速降低^[10]。进一步发现大豆异黄酮在大豆原料和发酵初期以糖苷型异黄酮染料木苷和大豆苷为主, 而成熟豆豉中以游离型异黄酮染料木素和大豆苷元为主。研究认为毛霉型豆豉中大豆异黄酮构型的变化是因为毛霉 β -葡萄糖苷酶催化反应的结果, β -葡萄糖苷酶作用于糖苷型异黄酮分子中的氧苷键, 使其脱掉葡萄糖基团供微生物代谢利用, 从糖苷型异黄酮转化为游离型异黄酮, 即结合型糖苷转化为游离型苷元。豆豉发酵中不同盐添加量对大豆异黄酮含量及组成具有影响, 研究结果表明, 当盐浓度为 10%时, 原料大豆中 61%的糖苷型异黄酮转化为游离型异黄酮, 其中前发酵转化 43%, 后发酵转化 18%,

但是随着盐浓度增加, 由于高盐浓度抑制了 β -葡萄糖苷酶活性, 使得糖苷型异黄酮转化为游离型异黄酮的转化率降低^[11]。另外大豆浸泡和蒸煮等豆豉发酵生产工艺过程都影响游离型异黄酮的形成^[12-15]。比较中国 19 种曲霉型、毛霉型和细菌型豆豉游离型异黄酮含量, 曲霉型的最高、毛霉型的第二, 细菌型的最少^[16]。采用高效液相法测定豆豉及纳豆中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆甙元、黄豆黄素、染料木素 6 种大豆异黄酮含量表明, 豆豉中大豆甙元、染料木素的含量高, 分别为 320 $\mu\text{g/g}$ 和 380 $\mu\text{g/g}$, 纳豆中大豆苷、染料木苷的含量高, 分别为 330 $\mu\text{g/g}$ 和 410 $\mu\text{g/g}$ ^[17]。

豆豉大豆异黄酮具有抗氧化、预防癌症、心血管疾病、骨质疏松症和更年期障碍等生理功能^[18,19]。研究报道豆豉提取物能抑制乙酰胆碱酯酶活性^[20], 由于乙酰胆碱酯酶(AChE)催化乙酰胆碱的裂解反应, 导致大脑内神经递质——乙酰胆碱的缺失, 神经信号传递失败, 而引起老年痴呆症(AD), 因此 AChE 抑制剂是目前治疗老年性痴呆症最有效的方法。采用豆豉提取物进行乙酰胆碱酯酶抑制试验, 其抑制率为 40%-80%, 进行提取温度、时间、乙醇浓度等工艺参数优化可提高豆豉乙酰胆碱酯酶抑制剂的溶出^[21,22], 进一步对永川豆豉提取物进行多级柱层析分离纯化, 结合高速逆流色谱(HSCCC)最终分离得到 3 个化合物, 根据 MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱图分析结果表明 3 种化合物为染料木素、大豆素和山奈酚^[23,24]。目前美国 FDA 允许作为治疗老年痴呆症的 AChE 抑制剂药物为 Tacrine(他克林)、Donepezil(多奈哌齐)、Rivastigmine(里斯的明)、Galantamine(加兰他敏)^[25], 而这 4 种药物应用于临床都存在半衰期短、较严重的外周胆碱能系统副作用等缺点, 不利于患者长期服用。因此认为直接食用豆豉或从豆豉中分离提取具乙酰胆碱酯酶抑制活性的大豆异黄酮防治老年痴呆症, 将具有更高的安全性。另外, 提取市售永川豆豉大豆异黄酮中的大豆黄素和染料木素, 按一定剂量灌胃四氧嘧啶糖尿病模型小鼠, 检测其血糖(GLU)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)4 项指标, 观察小鼠肝脏和肾脏的病理切片, 结果表明, 豆豉中的大豆异黄酮及苷元不仅可以明显降低四氧嘧啶糖尿病模型小鼠的血糖水平, 改善由糖尿病引起的高血脂症, 而且对小鼠的肝脏和肾脏具有一定的修复作用^[26]。

3 毛霉型豆豉的活性多肽

大豆蛋白经微生物蛋白酶或其他作用可分解得到的低聚肽混合物即大豆多肽, 这些蛋白降解产物不仅有利于直接被人体肠道吸收, 而且具有独特的抗氧化、防癌症、降血脂、调节胰岛素等生理活性功能^[27]。研究发现发酵豆豉中大豆多肽含量明显高于原料大豆, 对天津市售的四川潼川毛霉型豆豉的分析表明, 大豆经微生物发酵后, 低分子与中分子肽的含量提高了 3 倍^[28]; 测定比较原料黑豆和

豆豉的多肽含量,发现黑豆经过自然发酵和纯种发酵成豆豉后,小分子多肽的含量增加了1.5%~1.6%^[29];采用雅致放射毛霉3.2778液态发酵大豆分离蛋白,发酵液中的大豆多肽含量为3.115 mg/mL^[30]。并且发现多肽的生成量与发酵期间乙醇添加量、盐浓度等工艺参数控制有关^[31]。人们对传统永川豆豉发酵过程中颜色与蛋白及其水解物的相关性进行了研究与分析,发现颜色主要是在后发酵时期产生,且多肽与颜色形成相关性最高,Pearson 相关系数达到了0.985^[32]。

人们对豆豉抗氧化多肽进行了大量研究,在比较15种不同类型豆豉的抗氧化特性的研究结果表明,样品ABTS 自由基清除活性范围为37.3~188 mg trolox eq/g, DPPH 自由基清除活性范围为1.6~10.03 mg trolox eq/g,其中两种四川潼川豆豉(毛霉型)ABTS 自由基、DPPH 自由基清除活性分别为80 mg trolox eq/g、70 mg trolox eq/g 和4.5 mg trolox eq/g、5.5 mg trolox eq/g,对豆豉提取物进行蛋白电泳没有观察到7s 和11s 蛋白,说明大分子蛋白在豆豉发酵中得到降解,发挥抗氧化作用的是大豆抗氧化多肽。分别采用豆豉提取物饲喂胆固醇模型小鼠,测定其肝肾组织的SOD, CAT, GSH-Px 活性和TBARS 值,结果表明豆豉提取物可使肝肾组织 SOD 活性明显提高,肝脏 CAT 活性提高而肾脏的无明显变化,肾脏 GSH-Px 活性提高而肝脏的无明显变化,肝肾组织的TBARS 值都明显下降^[33]。

同时人们研究发现毛霉型豆豉对血管紧张素转化酶(ACE)活性有抑制作用,测得IC₅₀为0.204 mg/mL,并且从毛霉型豆豉中分离出了抑制ACE活性的多肽即ACE抑制剂,通过埃德曼降解,此纯化肽的氨基酸序列为His-Leu-Pro,由于这种多肽阻碍ACE酶催化水解血管紧张素I成为血管紧张素II,起到降血压,防治老年人高血压、高胆固醇、心脑血管疾病的作用,被称为降血压肽^[34]。最近报道了五通桥毛霉豆豉发酵中,美拉德反应对ACE抑制剂活性的影响,在前发酵和后发酵的前两周,豆豉中ACE抑制剂的活性增高,随后有所下降,而发酵期间肽的含量是一直上升的。根据豆豉的颜色变化,认为ACE抑制剂活性下降的原因是美拉德反应中消耗了部分ACE抑制剂肽^[35]。因此认为豆豉发酵生产中,工艺过程对ACE抑制剂的活性和含量有明显的影响^[36,37]。以永川豆豉为材料,分离纯化制备了具有胰蛋白酶抑制剂作用的活性多肽类物质,用抑制剂提取液给四氧嘧啶糖尿病模型小鼠连续灌胃4 d,发现其血糖值明显降低,病理切片观察发现对胰腺组织有修复作用,并且发现这种抑制剂提取液对 α -葡萄糖苷酶无抑制活性,说明其降糖机制可能是豆豉提取液中胰蛋白酶抑制剂对胰腺产生一定作用,促进胰岛素的释放,从而降低血糖中葡萄糖的浓度^[38]。

4 毛霉型豆豉的 γ -亚麻酸

γ -亚麻酸(GLA)是一种人体必需的多不饱和脂肪酸,

作为人体前列腺素E₁(PGE₁)、白三烯(LT)、前列环素等生理活性物质的前提物质,可以降低血脂,抗血栓性心脑血管疾病,预防和治疗高血压、动脉粥样硬化。同时又能够抗菌,抗炎,抗肿瘤,抗糖尿病,抗HIV感染等^[39],具有广泛的生理活性和明显的药理作用。

由于从植物中提取 γ -亚麻酸受到诸多因素的限制,远远不能满足市场的需求,目前采用微生物发酵法来生产 γ -亚麻酸得到了广泛的重视^[40],通过微生物发酵生产获得多不饱和脂肪酸后,分离、提取 γ -亚麻酸添加到食品中,目前发现能积累 γ -亚麻酸的微生物主要是一些真菌和微藻,其中对真菌中研究较多的是毛霉属(*Mucor*),如总状毛霉(*M. racemosus*)、高大毛霉(*M. mucedo*)、卷枝毛霉(*M. circinelloides*)、冻土毛霉(*M. hiemalis*)、鲁氏毛霉(*M. rouxianus*)等均能产GLA^[41]。近年来研究发现接种总状毛霉,进行毛霉型豆豉纯种发酵过程中有 γ -亚麻酸积累,而且前发酵期调整温度(26℃)和制曲时间(72-96 h)可促进 γ -亚麻酸含量增加,虽然后发酵随时间延长, γ -亚麻酸含量有所下降,但优化生产工艺可使 γ -亚麻酸GLA的含量达到4.68%,然而其形成机制有待进一步研究^[42]。

5 毛霉型豆豉的黑色素

豆豉黑色素是发酵后期形成的一类棕褐色、结构复杂的大分子化合物。研究表明,黑色素具有一定的抗氧化、抗诱变和消除活性氧等性能。它具有很强抗氧化活性作用,主要是由于其分子内保持有稳定的自由基结构,此结构能捕集溶液中自由基。同时,它还会与铁、铜等金属离子相结合,形成不溶化合物析出。黑色素还有类似膳食纤维功能、调节血糖及抑制ACE活性等功能。

体外试验表明毛霉型豆豉非透析类黑精具有较强消除自由基能力,并且随着豆豉非透析类黑精浓度的增加对自由基的消除能力也增强;在干燥体系中对猪油有较明显的抗氧化作用,1.0%的添加量与0.2%的BHT作用相当;豆豉非透析类黑精MRP-7在pH 4.0时对N-二甲基亚硝胺合成有很强的抑制作用,甚至高于抗坏血酸。另外测得重庆永川豆豉中类黑精含量为3.61%,因此认为这种类黑精成分能对人体产生一定的生理功能^[43]。通过对霉菌性豆豉的成分分析和其抗氧化活性的研究,发现黑豆经过发酵成豆豉之后,类黑精含量增加1.7%~2.0%,抗氧化活性增强,且自然发酵豆豉的抗氧化效果高于黑豆^[44]。

6 毛霉的功能酶

毛霉是生产发酵豆制品的主要菌种之一,由于长期受到高蛋白环境条件的驯化,具有合成及分泌多种胞外蛋白酶的能力,其胞外蛋白酶系由多种不同类型的蛋白酶构成复杂的体系,同时产生纤维素酶系、果胶酶系等形成复合酶系统,催化多种生物化学反应,使发酵产物具有独特

的营养保健功能。从目前的研究报道来看,对于豆豉发酵中毛霉酶系的研究主要在毛霉的粗蛋白酶组成及含量变化方面,毛霉型豆豉发酵过程中,毛霉所产生的酶系的组成以及酶系的变化规律尚不清楚,其催化特性、生成产物的生理功能、单个组分分析等需要进一步研究。

6.1 转化苷元型异黄酮的 β -葡萄糖苷酶

β -葡萄糖苷酶(β -Glucosidase, EC 3.2.1.21)属于纤维素酶类,能参与生物体的糖代谢,对维持生物体的正常生理功能起着重要作用。在豆豉发酵中,不利于人体的消化吸收的大豆异黄酮经 β -葡萄糖苷酶催化水解可转化成为高活性的大豆异黄酮苷元^[45,46]。

在研究毛霉型豆豉传统发酵过程中的大豆异黄酮变化时,发现微生物在豆豉上迅速繁殖时 β -葡萄糖苷酶的活性增强,豆豉中具有生物活性的苷元型异黄酮含量也随之增高,后发酵期间高盐浓度以及高乙醇浓度使得苷元型异黄酮转化率下降,实际上是这些因素影响了 β -葡萄糖苷酶活性造成的。在以毛霉(*Mucor flavus*)为菌种的腐乳生产中,同样发现 15%盐浓度、低温发酵条件下, β -葡萄糖苷酶活性高,苷元型异黄酮含量高达 99.4%^[47]。人们从酿造大曲样品中分离筛选获得产 β -葡萄糖苷酶的真菌菌株 D8,并对其进行了生物学鉴定,发现该菌株属于毛霉科丝状真菌^[48]。因此选育高产 β -葡萄糖苷酶毛霉菌种进行毛霉型豆豉生产,可增加苷元型异黄酮含量,提高豆豉的品质和保健功能。然而目前对发酵豆制品中真菌 β -葡萄糖苷酶产生菌深入研究的主要为曲霉属,对其固态发酵生产 β -葡萄糖苷酶的条件进行了优化以及生物转化糖苷型异黄酮成为苷元型异黄酮的特性进行了评价^[49,50],而对毛霉 β -葡萄糖苷酶的研究却很少。

6.2 脱苦作用的外肽酶

蛋白水解物的苦味问题由来已久,这一问题也是蛋白水解物开发应用的最大障碍之一。在以往众多的研究中,已经从各种不同蛋白水解物中分离得到多种苦味肽,认为其苦味主要与构成肽链的疏水性氨基酸密切相关,蛋白质肽链中疏水性氨基酸含量越高,水解产生苦肽的可能性就越大。毛霉发酵豆制品中的蛋白质主要是以多肽形式存在,通常不具有蛋白水解物所特有的苦味,因此认为部分毛霉外肽酶具有脱苦效果^[51,52]。利用多种层析相结合的方法从毛霉的发酵麸曲中分离纯化出一氨肽酶组分,对其性质及脱苦效果进行分析,结果表明该酶是一种亮氨酸氨肽酶;在 40 °C、pH 6.5 有最大催化活性,在 40 °C 以内, pH 5.0 ~ 8.0 有很好的稳定性;该氨肽酶对小肽 N 端的疏水性氨基酸(如 Leu、Ile、Phe 等)有很强的水解活性,而对小肽 N 端非疏水性氨基酸的水解活性较弱;脱苦实验结果表明,毛霉这种亮氨酸氨肽酶对大豆多肽有很明显的脱苦效果。在 3 g/100 mL 的大豆多肽溶液中,按 3000 U/g 加

入毛霉氨肽酶处理 4 h 可以消除大豆多肽的苦味^[53]。毛霉亮氨酸氨肽酶与毛霉脯氨酸氨肽酶之间存在一定的底物选择互补性,两者共同作用于多肽可以实现各自优势互补,提高脱苦效率^[54,55]。另有研究报道羧肽酶也能切除苦味肽羧基末端的疏水性氨基酸,引起肽的疏水性降低,苦味随之减弱。并且研究证实固态发酵雅致放射毛霉菌株 3.2778 得到羧肽酶粗酶液,能够明显除去大豆蛋白水解产物的苦味,具有很强的脱苦能力^[56]。

6.3 增鲜作用的谷氨酰胺酶

谷氨酰胺酶(glutaminase, GA, EC 3.5.1.2)是催化谷氨酰胺水解生成谷氨酸和氨的一种酶,广泛分布于细菌、酵母和真菌等微生物中^[57,58]。谷氨酸的浓度愈大,味道也就愈加鲜美,所以谷氨酰胺酶在酱油、豆酱、豆豉、腐乳等大豆发酵食品的酿造过程中有着重要的作用。然而,目前对产谷氨酰胺酶的细菌研究较多,通过从豆豉样品中分离鉴定的芽孢杆菌中筛选出高活性谷氨酰胺酶菌株,同源克隆 *glsA* 基因,获得了发酵性能优越、高产谷氨酰胺酶的改良菌株,从而大大提升了豆豉调味品的风味品质^[59]。采用离子交换层析和凝胶过滤层析等方法,分离纯化硝基还原假单胞菌(*Pseudomonas nitroreducens*)SK16.004 所产的谷氨酰胺酶,并对该酶的酶学性质进行了进一步的研究^[60]。关于毛霉产谷氨酰胺酶的研究有少量报道,如人们采用 Nessler 法对高大毛霉 MHC-7 胞内谷氨酰胺酶进行了测定,发现谷氨酰胺酶的峰值时间为 48 h^[61]。

7 其他

国内外研究发现豆豉的生理活性物质还有大豆磷脂、大豆低聚糖、大豆皂甙等。大豆磷脂是由卵磷脂、脑磷脂、磷脂肌醇和磷脂酸等成分组成的混合物,含有大豆磷脂的大豆制品,可延长寿命,对各种老年病和老年性痴呆、脑血管系统疾病均有不同程度的缓解和治疗作用^[62]。大豆低聚糖能促进双歧杆菌生长繁殖,改善肠内菌群结构;降低血清胆固醇、血压和血脂;抑制肠内腐败产物生成,保护肝脏;提高机体免疫力;防癌防衰老等^[63]。近年来国内外研究表明大豆皂甙具有以下许多生理功能:降脂减肥、抗凝血、抗血栓、抗糖尿病、抑制过氧化脂质生成及分解、抗病毒、免疫调节、抑制或延缓肿瘤等作用^[64]。

8 展望

毛霉型豆豉是我国传统的发酵豆类食品之一,它的价值已经被人们认同。长期以来,我们在毛霉型豆豉生产工艺上进行了不断改进,比如调整盐分,生产出淡豆豉、高盐豆豉、低盐豆豉;选育菌种,实现工厂化常年生产;同时在深加工方面将豆豉加上辣椒制成辣豆豉,将豆豉用油炸制成风味豆豉等等,使人们在较高营养价值得到满足的情

况下,同时也增加了花色品种,满足了不同口味。在提高生产技术的同时,我们应该更深入研究发酵过程中毛霉的作用机制、酶的种类及酶系的变化对豆豉生理活性物质形成的影响;分离、提取毛霉豆豉活性成分;确定其结构、理化特性和保健功能;结合现代人的饮食习惯、毛霉豆豉各种生理活性物质的功能特点,在保留传统发酵调味品独特风味的基础上,开发出具有高营养价值和保健功能的新型豆豉和保健品,实现产品多元化,提高产品的档次和市场竞争力。

参考文献

- [1] 胡会萍,李秀娟,黄贤刚.传统豆豉微生物学研究综述[J].中国调味品,2012,(6):4-7+13.
Hu HP, Li XJ, Huang XG. Research of traditional Douchi microbiology [J]. Chin Condiment, 2012, (6): 4-7+13.
- [2] 李幼筠,周邈.中国独具特色的发酵豆制品[J].中国酿造,2010,(4):12-16.
Li YJ, Zhou L. Chinese distinctive fermented soybean food [J]. Chin Brewing, 2010, (4): 12-16.
- [3] 周玉兰,陈延祺.毛霉豆豉生产工艺过程及营养价值分析[J].中国调味品,2009,34(5):89-93.
Zhou YL, Chen YZ. Analyses on production engineering and nutrition of Mucor-fermented soybeans [J]. Chin Condiment, 2009, 34(5): 89-93.
- [4] 杜木英.毛霉型豆豉生物速成发酵技术的研究[D].重庆:西南农业大学,2001.
Du MY. Research on microorganism quickly-fermented technology of Mucor-type Douchi[D]. Chongqing: Southwest Agricultural University, 2001.
- [5] 杨勇,詹永,李征,等.快速发酵豆豉关键技术及问题讨论[J].现代食品科技,2008,(8):87-89.
Yang Y, Zhan Y, Li Z, *et al.* Discussion of key technologies of quickly fermented Douchi [J]. Mod Food Sci Tech, 2008, (8): 87-89.
- [6] 吴海兰,吴春生,丁晓雯.日本传统发酵食品味噌与中国豆豉的比较[J].中国调味品,2014,39(2):134-138.
Wu HL, Wu CS, Ding XW. Comparison of Japanese traditional fermented food Miso and Douchi[J]. Chin Condiment, 2014, 39(2): 134-138.
- [7] Chen KI, Erh MH, Su NW, *et al.* Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 96: 9-22.
- [8] Liu YQ, Wang LJ, Cheng YQ, *et al.* Isoflavone Content and Anti-acetylcholinesterase Activity in Commercial Douchi (a Traditional Chinese Salt-fermented Soybean Food) [J]. Japan Agr Res Q, 2009, 43(4): 58-63.
- [9] 穆慧玲,李里特.豆豉的保健功能及开发价值[J].农产品加工·学刊,2008,(11):30-35.
Mu HF, Li LT. Health Function and Developing Value of Lobster Sauce [J]. Acad Periodical Farm Prod Proces, 2008, (11): 30-35.
- [10] 索化夷,霁宇,卢露,等.永川豆豉传统发酵过程中的大豆异黄酮变化[J].食品科学,2012,33(8):270-273.
Suo HY, Qian Y, Lu L, *et al.* Change in soybean Isoflavone of Yongchuan Douchi at Different stages during traditional fermentation [J]. Food Sci, 2012, 33(8): 270-273.
- [11] Wang L, Yin L, Li D, *et al.* Influences of processing and NaCl supplementation on isoflavone contents and composition during douchi manufacturing [J]. Food Chem, 2007, 101(3): 1247-1253.
- [12] Wardhani DH, Vázquez JA, Pandiella SS. Kinetics of daidzin and genistin transformations and water absorption during soybean soaking at different temperatures [J]. Food Chem, 2008, 111(1): 13-19.
- [13] Xu Z, Wu Q, Godber JS. Stabilities of daidzin, glycitin, genistin, and generation of derivatives during heating [J]. J Agri Food Chem, 2002, 50(25): 7402-7406.
- [14] Ribeiro MLL, Mandarino JMG, CARRÃO - PANIZZI MC, *et al.* β -Glucosidase activity and isoflavone content in germinated soybean radicles and cotyledons [J]. J Food Biochem, 2006, 30(4): 453-465.
- [15] Toda T, Sakamoto A, Takayanagi T, *et al.* Changes in Isoflavone Compositions of Soybean during Soaking in Water [J]. Food Sci Technol Res, 2001, 7(2): 171-175.
- [16] Liu Y, Wang L, Cheng Y, *et al.* Isoflavone content and anti-acetylcholinesterase activity in commercial Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food) [J]. JARQ, 2009, 43: 301-7.
- [17] 毛勇,邓媛,汪大敏,等.霉菌型豆豉和纳豆中异黄酮含量的比较研究[J].中国调味品,2010,35(2):97-99.
Mao Y, Deng Y, Wang DM, *et al.* Comparative study of isoflavone contents in mold Lobster sauce and Natto kinase [J]. Chin Cond, 2010, 35(2): 97-99.
- [18] 蔡曼儿,孙翰,薄芯.中国传统发酵大豆制品的营养[J].中国酿造,2010,(2):11-16.
Cai ME, Sun H, Bo X. The nutrition of Chinese traditional fermented soybean products [J]. Chin Brewing, 2010, (2): 11-16.
- [19] Villares A, Rostagno MA, García-Lafuente A, *et al.* Content and profile of isoflavones in soy-based foods as a function of the production process [J]. Food Bioproc Tech, 2011, 4(1): 27-38.
- [20] 邹磊,汪立君.豆豉提取物对乙酰胆碱酯酶的抑制能力[J].食品科学,2006,3(27):87-89.
Zou L, Wang LJ. Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Douchi, a Traditional Chinese Food [J]. Food Sci, 2006, 3(27): 87-89.
- [21] 宋庆,张赟彬.豆豉中乙酰胆碱酯酶抑制剂的提取与富集工艺研究[J].食品工业科技,2011,(3):285-288.
Song Q, Zhang YB. Extraction and enrichment technique of acetylcholinesterase inhibitor from Douchi [J]. Sci Tech Food Ind, 2011, (3): 285-288.
- [22] 李刚,梁永红,苏明声,等.淡豆豉提取物抑制乙酰胆碱酯酶活性的研究[J].江西中医药大学学报,2014,(1):64-66.
Li G, Liang YH, Su MS, *et al.* Inhibitory ability of the extractive of fermented soybean to Acetylcholinesterase [J]. J Jiangxi Uni TCM, 2014, (1): 64-66.
- [23] 张赟彬,戴妙妙,宋庆,等.薄层色谱生物自显影法检测豆豉中乙酰胆碱酯酶抑制剂的提取[J].食品工业,2010,(6):89-92.
Zhang YB, Dai MM, Song Q, *et al.* Detection of Acetylcholinesterase inhibitors from Lobster Sauce using TLC-bioautography assay [J]. Food Ind, 2010, (6): 89-92.
- [24] 张赟彬,宋庆,黄琴琴.豆豉中乙酰胆碱酯酶抑制剂的分离及结构鉴定[J].中国调味品,2010,35(11):66-69.

- Zhang YB, Song Q, Huang QQ. Isolation and chemical structure identification of acetylcholine esterase inhibitor from Lobster sauce [J]. *Chin Condiment*, 2010, 35(11): 66–69.
- [25] Ibach B, Haen E. Acetylcholinesterase inhibition in Alzheimer's Disease [J]. *Current pharmaceutical design*, 2004, 10(3): 231–251.
- [26] 郭瑞华, 王和平, 焦丽艳, 等. 豆豉中大豆异黄酮及苜蓿对四氧嘧啶糖尿病模型小鼠血糖及组织的活性作用[J]. *现代预防医学* 2009, 36(20): 3919–3923.
- Guo RH, Wang HP, Liu ZM, *et al.* The lowering effect of hyperglycemia and hyperlipemia and the repairation of tissue of soybean isoflavone from fermented soy beans on alloxan-induced diabetic mice [J]. *Mod Preve Med*, 2009, 36(20): 3919–3923.
- [27] 关晴, 阮长青. 黄豆酱多肽原液脱色及抗氧化活性研究[J]. *中国酿造*, 2012,(6): 91–95.
- Guan Q, Ruan CQ. Decolorization and antioxidant activity of soybean paste peptide solution [J]. *Chin Brewing*, 2012, (6): 91–95.
- [28] 程丽娟, 赵树欣, 曹井国, 等. 对中国传统发酵豆制品中各种含氮组分的分析[J]. *中国酿造*, 2005, (7): 47–50.
- Chen LJ, Zhao SX, Cao JG, *et al.* Analysis on the nitrogen components in Chinese traditional fermented soybean products [J]. *Chin Brewing*, 2005, (7): 47–50.
- [29] 吴兰芳, 蒋爱民, 曲直, 等. 霉菌型黑豆豆豉的主要成分及其抗氧化活性研究[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(1): 51–54.
- Wu LF, Jiang AM, Qu Z, *et al.* Study on the main components and antioxidant activity of *Aspergillus*-type fermented soybean [J]. *Mod Food Sci Tech*, 2013, 29(1): 51–54.
- [30] 汪建明, 李平, 胡峰, 等. 响应面法优化毛霉发酵大豆分离蛋白制备多肽条件的研究[J]. *食品与发酵科技*, 2012, 48(6): 37–40.
- Wang JM, Li P, Hu F, *et al.* Studies on optimizing SPI fermentation conditions to produce soybean peptides by *Actinomucor Elegans* with RSM. [J].*Food Ferment Tech*, 2012, 48(6): 37–40.
- [31] 邹磊, 汪立君, 呼晴, 等. 后发酵过程中乙醇对豆豉抗氧化能力的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32 (12): 28–32.
- Zou L, Wang LJ, Hu Q, *et al.* Effect of ethanol supplement on antioxidant capacity of Douchi during the ripen time [J]. *Food Ferment Ind*, 2006, 32(12): 28–32.
- [32] 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 YH, Ma L, Zhou MR, *et al.* Relationship of proteolysis and Melanin formation during the fermentation process of Yangchuan Douchi [J]. *Food Sci*, 2013, 34(19):195–199.
- [33] Wang D, Wang LJ, Zhu FX, *et al.* In vitro and in vivo studies on the antioxidant of the aqueous extracts of douchi (a Chinese traditional salted-fermented soybean food) [J]. *Food Chem*, 2008, 107(4): 1421–1428.
- [34] Fan J, Hu X, Tan S, *et al.* Isolation and characterisation of a novel angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide derived from Douchi, a traditional Chinese fermented soybean food [J]. *J Sci Food Agri*, 2009, 89(4): 603–608.
- [35] Wang H, Li YY, Cheng YQ. Effect of the Maillard reaction on angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of Douchi During Fermentation [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2013, (6): 297–301.
- [36] Zhang JH, Tatsumi E, Ding CH, *et al.* Antiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in Douchi, a Chinese traditional fermented soybean product [J]. *Food Chem*, 2006, 98(3): 551–557.
- [37] Li FJ, Yin LJ, Lu X, *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]. *Inte J Food Proper*, 2010, 13(3): 512–524.
- [38] 郭瑞华, 王和平, 刘正猛, 等. 永川豆豉胰蛋白酶抑制剂的分离纯化及其降糖活性研究[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(2): 299–302.
- Guo RH, Wang HP, Liu ZM, *et al.* Purification a trypsin inhibitor from Lobster Sauce produced in Yongchuan and Hypoglycemic action of research [J]. *Lishizhen Med Materia Medica Res*, 2007, 18(2): 299–302.
- [39] 陆合, 张碧波, 罗雪莲. 利用总状毛霉生产含 γ -亚麻酸豆豉的初步研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(4): 201–203.
- Lu H, Zhang BB, Luo XL. Study on production of γ -linolenic acid(GLA) by Douchi using *Mucor racemosus* [J]. *Sci Tech Food Ind*, 2011, 32(4): 201–203.
- [40] 黎志勇, 纪晓俊, 丛蕾蕾, 等. 发酵法生产 γ -亚麻酸的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(9): 110–117.
- Li ZY, Ji XC, Cong LL, *et al.* Progresses in Fermentative Production of γ -Linolenic Acid [J]. *Chin Biotech*, 2010, 30(9): 110–117.
- [41] 万红贵, 张建, 袁建锋, 等. 生物制备 γ -亚麻酸研究进展[J]. *中国酿造*, 2012, (2): 12–16.
- Wan HG, Zhang J, Yuan FJ, *et al.* Research progress of biological preparation of gamma linoleic acids [J]. *Chin Brewing*, 2012, (2): 12–16.
- [42] Lu H, Zhang BB, Wu ZH. Studies on *Mucor racemosus* fermentation to manufacture Gamma-linolenic acid functional food Douchi [J]. *Food Sci Tech Res*, 2010, 16(6): 543–548.
- [43] 阚建全, 陈宗道, 石轶松, 等. 豆豉非透析类黑精抗氧化和抑制亚硝酸盐合成的研究[J]. *营养学报*, 1999, 21(3): 349–352
- Kan JQ, Chen ZD, Shi YS, *et al.* Study on antioxidation and inhibition of nitrosamine synthesis by Douchi nondialyzable melanoidin [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 1999, 21(3): 349–352.
- [44] 索化夷, 骞宇, 卢露, 等. 永川豆豉传统发酵过程中的大豆异黄酮变化[J]. *食品科学*, 2012,33(8): 270–273.
- Suo HY, Qian Y, Lu L, *et al.* Change in soybean Isoflavone of Yongchuan Douchi at Different stages during traditional fermentation [J]. *Food Sci*, 2012, 33(8): 270–273.
- [45] 许晶, 张永忠, 孙艳梅. β -葡萄糖苷酶的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2005, 26(6): 183–185.
- Xu J, Zhang YZ, Sun YM. Some research advance of β -Glucosidase [J]. *Food Res Deve*, 2005, 26(6): 183–185.
- [46] 杨守凤, 徐建雄. β -葡萄糖苷酶转化大豆异黄酮及其保健功能的研究进展[J]. *饲料研究*, 2014, (1): 6–12.
- Yang SF, Xu JX. Research advance of β -Glucosidase to convert soybean Isoflavone and its function [J]. *Feed Res*, 2014, (1): 6–12.
- [47] Cheng YQ, Zhu YP, Hu Q, *et al.* Transformation of Isoflavones during Sufu (A Traditional Chinese Fermented Soybean Curd) production by fermentation with *Mucor flavus* at low temperature [J]. *Inter J Food Prope*, 2011, 14(3): 629–639
- [48] 刘德海, 郝益民, 岳丹丹, 等. 一株产 β -葡萄糖苷酶菌株的筛选及酶学性质研究[J]. *中国酿造*, 2013, 32(6): 47–51.

- Liu DH, Hao YM, Yue DD, *et al.* Isolation of a strain with β -Glucosidase and its enzymatic properties [J]. *Chin Brewing*, 2013, 32(6): 47–51.
- [49] Handa CL, Couto UR, Ida EI, *et al.* Optimization of soy flour fermentation parameters to produce β -glucosidase for bioconversion into aglycones [J]. *Food Chem*, 2014, 152: 56–65.
- [50] Qian LC, Fu SJ, Zhou HM, *et al.* Optimization of fermentation parameters for β -glucosidase production by *Aspergillus niger* [J]. *J Ani Veter Advances*, 2012, 11(5): 583–591.
- [51] Li L, Yang ZY, Yang XQ, *et al.* Debitting effect of *Actinomucor elegans* peptidases on soybean protein hydrolysates [J]. *J Ind Microbiol Biotech*, 2008, 35(1): 41–47.
- [52] 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): 177–181
- Suo HY, Lu L, Wu JM, *et al.* Changes in basal components and protease activity at different stages of the traditional processing of Yongchuan Douchi [J]. *Food Sci*, 2011, 32(1): 177–181.
- [53] 潘进权. 毛霉亮氨酸氨肽酶的纯化及性质研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(7): 163–167.
- Pan JQ. Purification and characterization of leucine aminopeptidase from *Mucor* [J]. *Food Sci*, 2012, 33(7): 163–167
- [54] 潘进权. 毛霉 AS3.2778 脯氨酸氨肽酶的部分纯化及性质研究[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37, (4): 27–32
- Pan JQ. Partial purification and properties of one prolyl-aminopeptidase from *Mucor* AS3.2778 [J]. *Food Ferment Tech*, 2011, 37(4): 27–32.
- [55] 马晓航, 孙桂芹, 赵宇华, 等. 绮丽刺毛霉的一种新型甘氨酸氨肽酶的研究[J]. *生物工程学报*, 2004, (4): 578–583.
- Ma XH, Sun GZ, Zhao YH, *et al.* Study on the properties of a novel glycine amino peptidase from *Actinomucor elegans*[J]. *Chinese J Biotech*, 2004, (4): 578–583.
- [56] 付静, 杨媚, 李理, 等. 雅致放射毛霉 3.2778 羧肽酶性质及其活性中心结构的研究[J]. *中国酿造*, 2010, (3): 30–33.
- Fu J, Yang M, Li L, *et al.* Enzymatic properties of carboxypeptidase from *Actinomucor elegans* 3.2778. *Chin Brewing*, 2010, (3): 30–33.
- [57] 卢彪, 吴拥军, 吴玉俊, 等. 谷氨酰胺酶基因原核表达载体的构建与表达[J]. *食品科学*, 2013, 34(9): 140–142.
- Lu B, Wu YJ, Wu YJ, *et al.* Cloning and expression of Glutaminase gene glsA2 in prokaryotic System [J]. *Food Sci*, 2013, 34(9): 140–142.
- [58] 何灿, 高红亮. 谷氨酰胺酶的应用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(32): 15883–15885.
- He C, Gao HL. Research progress of Glutaminase application[J]. *J Anhui Agric Sci*, 2012, 40(32): 15883–15885.
- [59] 詹寿年, 吴拥军, 郭倩倩, 等. 高活性谷氨酰胺酶豆豉芽孢杆菌的筛选及 glsA 基因的克隆[J]. *贵州农业科学*, 2011, 39(6): 119–122.
- Zhan SN, Wu YJ, Guo QQ, *et al.* Screening and glsA cloning of Douchi Bacillus with high Glutaminase activity [J]. *Guizhou Agric Sci*, 2011, 39(6): 119–122.
- [60] 杨成, 张涛, 江波, 等. 硝基还原假单胞菌谷氨酰胺酶的分离纯化及酶学性质[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(12): 16–21.
- Yang C, Zhang T, Jiang B, *et al.* Purification and characterization of Glutaminase from *Pseudomonas nitroreducens* [J]. *Food Ferment Ind*, 2012, 38(12): 16–21.
- [61] 龙菊, 吴拥军, 程昌泽. 高大毛霉液体发酵培养基的优化及产酶特性研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(4): 87–90.
- Long J, Wu YJ, Cheng CZ. Study on optimizing the fermentation liquid medium and producing properties of enzyme in *Mucor mucedo*(L.)Fres [J]. *Sci Tech Food Ind*, 2008, 29(4): 87–90.
- [62] Oke M, Jacob J K, Paliyath G. Effect of soy lecithin in enhancing fruit juice/sauce quality[J]. *Food res inter*, 2010, 43(1): 232–240.
- [63] 吴素萍. 大豆低聚糖功能特性在发酵食品中的应用[J]. *中国酿造*, 2013, (7): 11–15.
- Wu SP. Progress On application of soybean oligosaccharide functional properties in fermented food [J]. *Chin Brewing*, 2013, (7): 11–15.
- [64] 刘宏帅, 吴晓俊, 胡之璧. 大豆皂苷药理活性及抗癌机制研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2013, (1): 79–84.
- Liu HS, Wu XJ, Hu ZB. Pharmacological studies and anti-cancer mechanisms of soyasaponins: research advances [J]. *J Int Pharm Res*, 2013, (1): 79–84.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



杨伊磊, 硕士研究生, 主要研究方向为食品微生物及生物技术。

E-mail: 357705175@qq.com



陈力力, 教授, 主要研究方向为食品微生物及生物技术。

E-mail: chenlili001@tom.com