

3 种传统发酵介质对细菌型豆豉风味形成的影响

苏凤¹, 黄治国^{1,2}, 卫春会^{1,2}, 邓杰^{1,2}, 谢军^{1,2}, 任志强^{1,2*}

(1. 四川轻化工大学酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川宜宾 644000)

(2. 中国轻工业酿酒生物技术及智能制造重点实验室, 四川宜宾 644000)

摘要: 为研究传统发酵介质对细菌型豆豉风味形成及细菌群落结构的影响, 该研究以稻壳、豆豉叶和香樟叶构建不同的传统发酵介质, 分析发酵后豆豉的理化特性及风味物质组成, 并利用高通量测序技术分析豆豉中细菌群落结构。结果显示, 由稻壳、豆豉叶、香樟叶发酵的豆豉分别含有 13、14、23 种风味物质, 且豆豉微生物均分布于 20 个属, 其中芽孢杆菌属和乳杆菌属与豆豉叶发酵豆豉的独特风味物质吡嗪类化合物的含量呈正相关; 克雷伯杆菌属和葡萄球菌属与香樟叶发酵豆豉的独特风味物质桉叶油醇的含量呈现正相关, 肠杆菌属和芽孢杆菌属与稻壳发酵豆豉的独特风味物质苯酚和对乙基酚的含量呈现负相关。结果表明, 不同的发酵介质赋予了细菌型豆豉不同的细菌群落, 进而引起豆豉的风味的改变。因此, 控制发酵介质可以影响豆豉的质量。

关键词: 细菌型豆豉; 传统发酵; 理化指标; 细菌群落; 风味物质

文章编号: 1673-9078(2023)06-263-269

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0792

Effects of Three Traditional Fermentation Mediums on the Flavor Formation of Bacterial Douchi

SU Feng¹, HUANG Zhiguo^{1,2}, WEI Chunhui^{1,2}, DENG Jie^{1,2}, XIE Jun^{1,2}, REN Zhiqiang^{1,2*}

(1. Sichuan Key Laboratory of Brewing Biotechnology and Application, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, China)

(2. China Key Laboratory of Light Industry Brewing Biotechnology and Intelligent Manufacturing, Yibin 644000, China)

Abstract: To study the effects of traditional fermentation mediums on the flavor formation and bacterial community structures of bacterial Douchi, analysis of Douchi fermented in three traditional mediums—rice husk, Douchi leaves, and camphor leaves - was conducted to ascertain the physicochemical properties and flavor substance composition of the ferment. The different bacterial community structures were determined by high-throughput sequencing. The fermentation in rice husk, Douchi leaves, and camphor leaves resulted in 13, 14, and 23 different flavor substances, respectively. A total of 20 microorganism genera were obtained. *Bacillus* and *Lactobacillus* were positively correlated with pyrazine compounds, which are unique flavor substances obtained under fermentation with Douchi leaves and *Klebsiella* and *Staphylococcus* were positively correlated with cineole, which is unique to Douchi fermented with camphor leaves. In contrast, *Enterobacter* and *Bacillus* were negatively correlated with phenol and p-ethylphenol, which is unique to Douchi fermented in rice husk. The results reveal that different fermentation mediums provide different bacterial communities, resulting in different flavors, and indicate that the use of different fermentation mediums can affect the quality and flavor of Douchi.

Key words: bacterial Douchi; traditional fermentation; physicochemical indexes; bacterial community; flavor substances

引文格式:

苏凤, 黄治国, 卫春会, 等. 3 种传统发酵介质对细菌型豆豉风味形成的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(6): 263-269.

SU Feng, HUANG Zhiguo, WEI Chunhui, et al. Effects of three traditional fermentation mediums on the flavor formation of bacterial Douchi [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 263-269.

收稿日期: 2022-06-23

基金项目: 成都海关技术中心食品安全检测四川省重点实验室开放课题 (2021FSD001); 四川轻化工大学泸州老窖研究生创新基金 (LJXC2022-4)

作者简介: 苏凤 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 应用微生物学, E-mail: 1589197768@qq.com

通讯作者: 任志强 (1985-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 应用微生物学, E-mail: zhiqren@foxmail.com

黄豆经过发酵后形成的豆豉具有独特的口感, 因此受到广大消费者的喜爱^[1]。豆豉作为我国传统的发酵食品, 较好地保留了大豆原有的营养^[2], 且豆豉大体可以分为细菌型和霉菌型两类, 而细菌型豆豉在中国的西南地区较为常见^[3]。有研究指出^[4], 霉菌型豆豉的主要挥发性风味成分含量依次为酸类、醛类和酯类。近来特征风味研究更是结合气味活度值 (Odor Activity

Value, OVA) 分析^[5]进一步发现细菌型豆豉的风味则是以酸类含量最高, 其他依次是醇类、醛类、酮类、吡嗪类等。

四川地区豆豉的传统发酵方法多采用稻壳、豆豉叶或香樟叶等材料作为不同的发酵介质对煮熟的黄豆进行包埋式发酵^[6]。Rhyu 等^[7]和窦珺等^[8]认为黄豆基本成分的改变可以引起其质地和风味的改变。例如食品质地和结构的改变大多由其蛋白质、脂肪、淀粉结构的降解所引起, 从而使食品口感变得更加细腻绵软^[9]。蛋白质可以被降解成多肽和氨基酸, 因此在一定程度上也提高了食品的营养价值^[10]。另外, 多肽和游离氨基酸的种类及含量还在一定程度上决定了发酵食品的风味特征。传统的发酵介质体现了古人的智慧, 虽然不了解微生物, 但微生物确能为古人所用。且目前的研究大多集中于豆豉发酵过程中微生物群落结构与风味物质的动态变化, 针对于传统发酵介质对豆豉风味影响的研究甚少。

因此本研究以稻壳、豆豉叶、香樟叶作为 3 种传统的发酵介质, 测定发酵后豆豉的理化指标, 挥发性风味物质和微生物群落结构。通过相关性分析, 以阐明豆豉的发酵介质、微生物群落结构与其风味形成的内在联系, 从而为后续优化细菌型豆豉的发酵工艺以及提高细菌型豆豉的品质提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氯化钠、甲醛、氢氧化钠、干酪素、盐酸、三氯乙酸、柠檬酸、硫酸、乙醇均为分析纯, 成都市科隆化学品有限公司; 磷酸二氢钾、硫酸镁、氯化锌、磷酸氢二钠、氯化钙、硫酸亚铁、硫酸铜、硫酸钾、蛋白胨、酵母粉、琼脂、大豆均为分析纯, 成都市科龙化工试剂厂; 大豆, 购于宜宾市古塔农贸市场。

1.2 仪器与设备

LRH-150-B 电热恒温培养箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; GI54DS 立式自动压力蒸汽灭菌器, 致微厦门仪器有限公司; PiCo21 台式高速离心机, 赛默飞世尔科技公司; 7890A 气相色谱仪, 上海安捷伦科技有限公司; SW-CJ-1F 超净工作台, 上海博讯实业有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 豆豉制备

挑选黄豆 3 kg, 去杂, 加水浸泡 8 h, 蒸煮黄豆 4 h, 捞出并沥干水分。试验组一: 于保温桶内加入 0.35 kg 稻壳, 将两层纱布包裹的 1 kg 黄豆放入其中,

再次加入 0.35 kg 稻壳将其完全覆盖发酵; 试验组二: 于保温桶内加入 0.35 kg 豆豉叶 (采于 2021 年 6 月四川省宜宾市), 将两层纱布包裹的 1 kg 黄豆放入其中, 再次加入 0.35 kg 豆豉叶将其完全覆盖发酵; 试验组三: 于保温桶内加入 0.35 kg 香樟叶 (采于 2021 年 6 月四川省宜宾市), 将两层纱布包裹的 1 kg 黄豆放入其中, 再次加入 0.35 kg 香樟叶将其完全覆盖发酵。每个试验组做三个平行, 每组均置于 24 °C 下发酵 7 d。

1.3.2 理化指标测定

蛋白质含量检测参照 GB/T 5009.5-2016《食品中蛋白质的测定》中凯氏定氮法测定蛋白质含量; 氨基酸态氮含量检测采用甲醛滴定法^[11]测定氨基酸态氮含量; 总酸含量检测采用酸碱滴定法^[11]测定总酸含量 (乳酸计); 含水量检测参照 GB/T 5009.3-2016《食品中水分的测定》中直接干燥法测定含水量。蛋白酶活力检测采用福林酚法^[12]测定豆豉蛋白酶活力。豆豉蛋白酶活力定义: 在 40 °C、pH 值 6.0 条件下, 每分钟水解酪蛋白产生 1 μg 酪氨酸的酶量, 定义为 1 个蛋白酶活力单位, 以 U/g 表示^[13]。

1.3.3 风味物质测定

1.3.3.1 样品处理

称取 3 g 豆豉样品粉碎, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加入 3 g NaCl, 密闭后于加热套中以 50 °C 加热平衡 20 min, 同时使用老化后的 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头插入瓶中, 推出纤维头, 50 °C 恒温吸附 30 min, 插入气相色谱进样口解析 5 min。

1.3.3.2 色谱条件

色谱柱 DB-WAX (60.0 m×0.25 mm×0.25 μm) 毛细管柱; 载气为氦气, 流速 1 mL/min, 不分流进样; 程序升温: 柱初温 55 °C 保持 1 min, 升温速率: 6 °C/min, 终温 230 °C 保持 5 min。电离方式: 电子电离; 电离能: 70 eV; 电压: 350 V; 接口温度: 230 °C; 扫描范围: 35~400 u^[14]。

1.3.4 细菌计数

称取 10 g 豆豉样品, 粉碎后加入 90 mL 无菌水, 利用破壁机对试样进行匀质处理。采用稀释涂布法对细菌总数计数, 具体方法为: 10 倍梯度稀释至 10⁻⁷, 每个稀释梯度取 0.1 mL 试样涂布于 LB 固体培养基, 37 °C 培养 24 h 后进行菌落计数^[15]。

1.3.5 细菌群落结构

称取 10 g 豆豉, 粉碎后加入 90 mL 无菌生理盐水, 搅拌混匀浸泡 3 h 过滤, 滤液以 8 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液获得菌体。根据试剂盒说明书进行总 DNA 抽提, DNA 含量采用 NanoDrop 2000 进行检测, DNA 纯度采用 1% (m/m) 琼脂糖凝胶电泳检

测；用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增，扩增程序为：95 °C 预变性 3 min，27 个循环 (95 °C 变性 30 s，55 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 30 s)，最后 72 °C 延伸 10 min。扩增体系为 20 μL，4 μL 5*FastPfu 缓冲液，2 μL 2.5 mmol/L dNTPs，0.8 μL 引物 (5 μmol/L)，0.4 μL FastPfu 聚合酶；10 ng DNA 模板。利用 Illumina 公司的 Miseq PE 300 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控，使用 FLASH 软件进行拼接；使用的 UPARSE 软件 (version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>)，根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类，并在聚类的过程中去除单序列和嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释，比对 Silva 数据库，设置比对阈值为 70%。

1.3.6 数据分析

数据结果采用 $X \pm SD$ 表示。GC-MS 检测数据采用 NIST 8.0 谱库进行风味物质检索，采用 Origin 2018 软件绘制柱状图，Canoco 5 绘制 RDA 图进行冗余分析，SPSS 23 分析数据显著差异性。

2 结果分析

2.1 不同介质发酵得到的细菌型豆豉理化特性分析

性分析

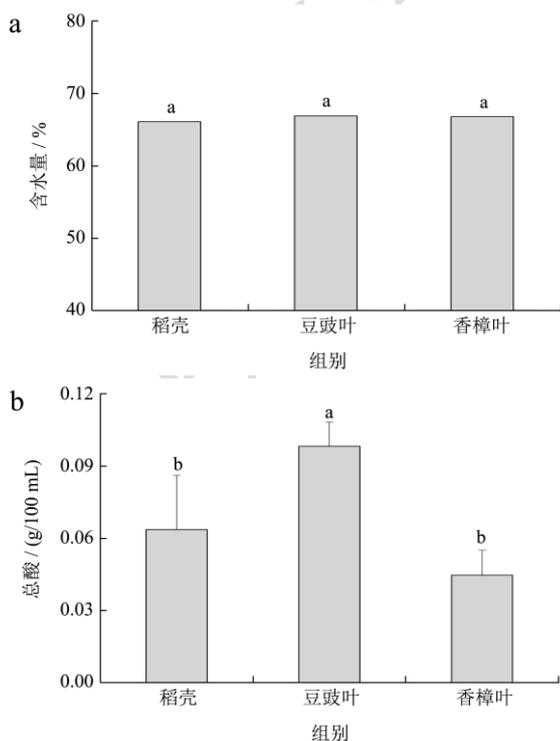


图 1 不同介质发酵豆豉理化指标

Fig.1 Physical and chemical indexes of douchi fermented in different medium

注：a-不同介质发酵豆豉含水量，b-不同介质发酵豆豉总酸含量，c-不同介质发酵豆豉蛋白酶活，d-不同介质发酵豆豉氨基酸态氮，e-不同介质发酵豆豉蛋白质含量。图中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

水分、总酸、氨基酸态氮、蛋白酶活都是豆豉的重要理化因子。由图 1a~1e 可知，三种传统发酵介质下的豆豉含水量均大于 66%；豆豉叶发酵豆豉的总酸含量显著高于由稻壳与香樟叶发酵出的豆豉，这可能是因为豆豉叶发酵的豆豉中产酸微生物的生物量更高；由香樟叶发酵出的豆豉氨基酸态氮含量与蛋白酶活力显著高于由稻壳与豆豉叶发酵出的豆豉。蛋白酶将大豆蛋白降解为氨基酸、多肽等小分子物质。因此，使得不同介质发酵的豆豉氨基酸态氮含量不同。同时氨基酸态氮的含量也可以在一定程度上反映出蛋白质的水解程度^[16]。不同介质发酵的细菌型豆豉氨基酸态

氮的含量在 5.18~12.88 mg/g 内变化,与谭小琴^[17]的研究结果重庆地区细菌型豆豉的氨基酸态氮含量为 5.50~16.10 mg/g 的结果较为相符。

2.2 不同介质发酵得到的细菌型豆豉挥发性风味物质分析

2.2.1 风味物质种类分析

用气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪对细菌型豆豉样品的挥发性风味物质进行分析鉴定,不同组分将会形成其各自的色谱峰^[18]。据表 1 可知,香樟叶发酵豆豉的挥发性风味物质种类有 23 种,多于稻壳发酵豆豉的 13 种与豆豉叶发酵豆豉的 14 种风味物质,且香樟叶发酵出的豆豉具有更多的脂类风味物质。三

种环境发酵出的豆豉均有其独特的挥发性风味物质,稻壳发酵豆豉的独特风味物质为苯酚和对乙基酚,豆豉叶发酵豆豉的独特风味物质为吡嗪类物质,这类物质是决定豆豉风味的主要成分之一,主要通过影响硫代谢、氨基酸代谢从而产生烤面包香气及令人愉悦的烤花生香气从而对豆豉风味产生影响。香樟叶发酵豆豉的独特风味物质为桉叶油醇与 2-甲基丁酸乙酯、丁酸乙酯、2-甲基丁酸丁酯等多种酯类,桉叶油醇具有清凉的草药味道,可以赋予豆豉独特的香味^[19]。大多数酯类物质不仅可以增强豆豉的风味,还可以产生令人愉快的香气^[20]。而醇类、酮类物质对豆及豉风味的影响也是极大的,例如醇类物质赋予了豆豉典型的酱香风味,其中异戊醇对豆豉形成特有酱香风味有显著贡献^[21]。

表 1 不同介质发酵豆豉风味物质

Table 1 Flavor substances of douchi fermented in different medium

挥发性风味物质	稻壳		豆豉叶		香樟叶	
	相对含量/%	保留时间/min	相对含量/%	保留时间/min	相对含量/%	保留时间/min
2,4-双(1,1-二甲基乙基)-苯酚	29.47	31.67	18.62	31.66	16.87	31.67
(2R,3R)-(-)-2,3-二乙醇	5.54	18.91	5.03	18.91	4.54	18.120
2,3-丁二醇	6.40	18.19	ND	-	4.78	18.92
3-羟基-2-丁酮	11.09	12.91	5.88	12.89	5.79	12.89
4-甲基-1-戊醇	3.91	5.43	ND	-	0.70	5.20
苯酚	0.36	26.96	ND	-	ND	-
苯乙醇	6.88	25.50	3.00	25.51	5.57	25.52
丁酸	6.28	19.95	22.87	19.96	21.89	19.94
对乙基酚	0.42	29.70	ND	-	ND	-
乙醇	9.28	6.20	22.52	6.22	21.89	6.22
乙酸	8.35	17.61	7.02	16.25	8.63	16.26
异戊醇	4.93	10.99	1.89	10.95	1.99	10.95
正丁醇	3.78	9.69	8.23	9.62	19.24	9.64
3-羟基丁酸乙酯	ND	-	0.66	17.85	0.60	17.85
麦芽醇	ND	-	0.68	26.57	0.62	26.58
乙酸丁酯	ND	-	0.57	8.28	0.82	8.28
2,5-二甲基吡嗪	ND	-	1.39	13.78	ND	-
2,3,5-三甲基吡嗪	ND	-	1.38	15.59	ND	-
桉叶油醇	ND	-	ND	-	4.77	11.32
三甲胺	ND	-	ND	-	1.62	4.40
2-甲基丁酸乙酯	ND	-	ND	-	1.51	7.94
丁酸乙酯	ND	-	ND	-	1.18	7.70
二氧化碳	ND	-	ND	-	1.22	4.14
乙酸乙酯	ND	-	ND	-	1.13	5.74
2-甲基丁酸丁酯	ND	-	ND	-	0.96	11.58

注:表中 ND 表示低于检出限,未检出。

豆豉风味物质的形成十分复杂，主要由大豆中的蛋白质与淀粉等大分子物质经生物酶水解后生产的各种次级产物^[22]。各种化合物的存在都会影响食品的风味物质，例如醇类、醛类、酯类、酮类、吡嗪类、酸类和萜烯类等化合物，且每种化合物对整体的香气都有不同的贡献^[23]。

2.3 不同介质发酵得到的细菌型豆豉细菌群落结构分析

2.3.1 细菌生物量分析

根据稀释涂布分离计数结果可知，香樟叶发酵豆豉的细菌生物量>豆豉叶发酵豆豉的细菌生物量>稻壳发酵豆豉的细菌生物量。细菌型豆豉的独特复杂风味是多种微生物共同作用的结果，传统发酵豆豉是基于微生物对发酵基质的代谢形成的食品^[4]。因此，香樟叶发酵的豆豉具有更高的生物量可能是由香樟叶本身赋予了豆豉更多的生物量，从而造成由香樟叶发酵的豆豉具有更多种类风味物质。

表 2 不同介质发酵豆豉细菌计数

Table 2 Bacterial count of douchi fermented in different medium

medium	
组别	检测计数/($\times 10^9$ CFU/g)
稻壳	1.00 \pm 0.11 ^c
豆豉叶	1.50 \pm 0.40 ^b
香樟叶	7.90 \pm 0.47 ^a

注：上表结果为三组平行样品三次检测的平均值。同列右肩不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

2.3.2 不同介质发酵豆豉细菌门水平丰度分析

利用高通量测序技术对豆豉的细菌群落结构进行了研究，客观反映样品中微生物群落结构和组成^[24,25]。结果发现，三种发酵介质的豆豉细菌均隶属于厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)。发酵介质的不同，导致豆豉细菌在门水平上变形菌门与厚壁菌门细菌的相对含量不同，变形菌门细菌的生物量普遍高于厚壁菌门的细菌，且香樟叶发酵豆豉的细菌生物量显著高于稻壳与豆豉叶发酵豆豉的细菌生物量。

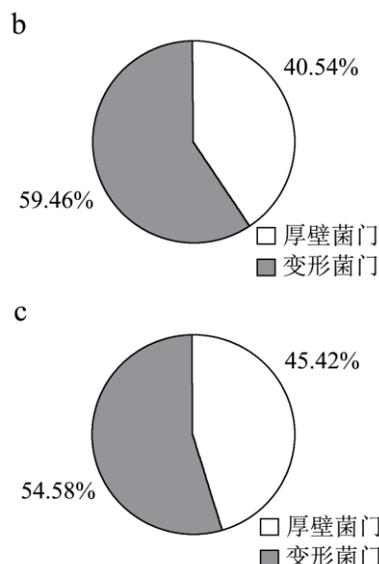
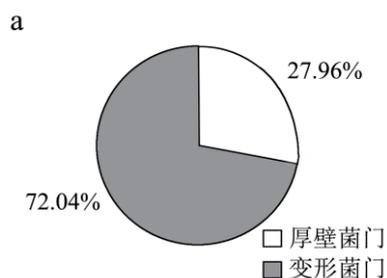


图 2 不同介质豆豉细菌门水平相对含量

Fig.2 Relative content of bacterial phylum in fermented in different medium of douchi

注：a-稻壳发酵豆豉细菌，b-豆豉叶发酵豆豉细菌，c-香樟叶发酵豆豉细菌。

表 3 门水平细菌计数

Table 3 Bacterial count at phylum level

组别	厚壁菌门/(CFU/g)	变形菌门/(CFU/g)
稻壳	2.80 $\times 10^8$ ^c	7.20 $\times 10^8$ ^c
豆豉叶	6.10 $\times 10^8$ ^b	8.90 $\times 10^8$ ^b
香樟叶	3.60 $\times 10^9$ ^a	4.30 $\times 10^9$ ^a

2.3.3 不同介质发酵豆豉细菌属水平丰度分析

不同发酵介质的豆豉细菌在属水平上，优势细菌属类似，但每种菌属的生物量不同。其中肠杆菌属 (*Enterobacter*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 为三种发酵介质豆豉共有的优势菌属 (>1%的菌属为优势菌属)，但每种菌属在不同发酵介质的豆豉中生物量不同。稻壳发酵豆豉的肠杆菌属相对含量较多，超过 60%；而由香樟叶发酵的豆豉乳杆菌属相对含量较多，超过 30%。董蕴等^[26]认为芽孢杆菌属、葡萄球菌属和乳杆菌属与豆豉酸味的形成均呈正相关。且葡萄球菌属有着优异的蛋白质和脂肪代谢能力^[27]，有助于发酵过程中低级醛类，酯类，醇类等物质的生成^[28]，生成的风味物质可以在发酵介质的催化下进一步形成更为丰富，结构复杂的风味物质^[4]。Liu 等^[27]在云南细菌型豆豉中发现大量乳酸菌，且乳酸菌是该地区豆豉发酵风味形成的主要贡献者。本研究发现不同的传统介质发酵出的豆豉均含有芽孢杆菌属、葡萄球菌属和乳杆菌属，这些菌属对于丰富豆豉的风味均有一定的作用。

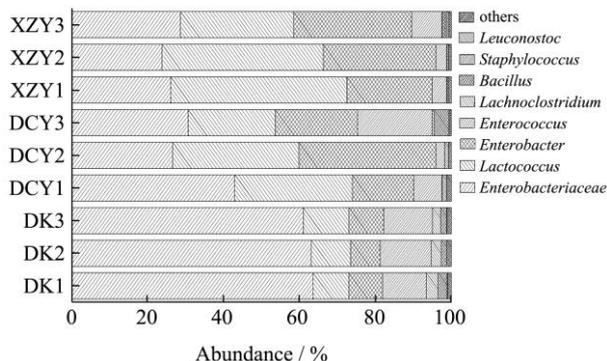


图3 豆豉细菌群落的相对丰度分布

Fig.3 Relative abundance distribution of bacterial community in douchi

2.3.4 不同介质发酵豆豉风味物质与细菌相关性分析

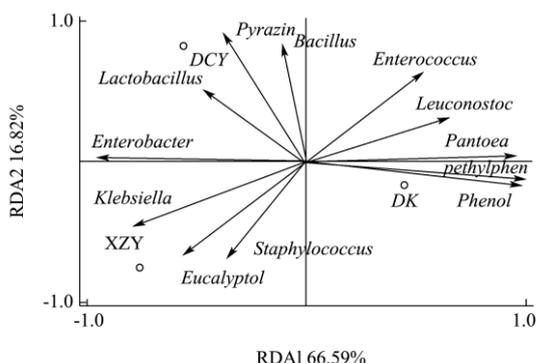


图4 豆豉独特风味物质与细菌优势属的RDA

Fig.4 RDA of the unique flavor substances and bacterial dominant genera in Douchi

注: DK 为稻壳发酵豆豉, DCY 为豆豉叶发酵豆豉, XZY 为香樟叶发酵豆豉, 数字 1、2、3 表示三个平行。

将细菌型豆豉的风味物质与其细菌群落进行冗余分析后发现, 香樟叶发酵豆豉的特有风味物质桉叶油醇与克雷白杆菌属和葡萄球菌属的箭头呈锐角, 而与明串珠菌属和肠球菌属的箭头呈钝角, 说明桉叶油醇的含量与克雷白杆菌属和葡萄球菌属呈现正相关, 与明串珠菌属和肠球菌属呈现负相关; 豆豉叶发酵豆豉的特有风味物质吡嗪类化合物与芽孢杆菌属和乳杆菌属的箭头呈现锐角, 说明吡嗪类化合物与芽孢杆菌属和乳杆菌属呈现正相关; 稻壳发酵豆豉的特有风味物质苯酚和对乙基酚与肠杆菌属、芽孢杆菌属和葡萄球菌属的箭头呈钝角, 而与明串珠菌属呈锐角, 说明苯酚和对乙基酚与肠杆菌属、芽孢杆菌属和葡萄球菌属呈现负相关, 与明串珠菌属呈现正相关。细菌型豆豉香味主要来源于挥发性风味物质, 这些挥发性风味物质决定了豆豉的市场^[4]。豆豉的挥发性风味物质中酸类物质大多由乳酸菌属发酵产生, 吡嗪类化合物主要是由枯草芽孢杆菌产生的^[28]。此外醇类、酯类等大部

分化合物由枯草芽孢杆菌和乳酸菌共同产生的。以往的研究也指出, 细菌型豆豉中的乳酸菌、芽孢杆菌和葡萄球菌均存在风味代谢的通路^[29]。不同的传统发酵介质造成了豆豉微生物菌属的不同, 而不同的微生物菌属经过代谢可以产生不同的风味物质。

2.3.5 不同介质发酵豆豉细菌群落与理化因子关联分析

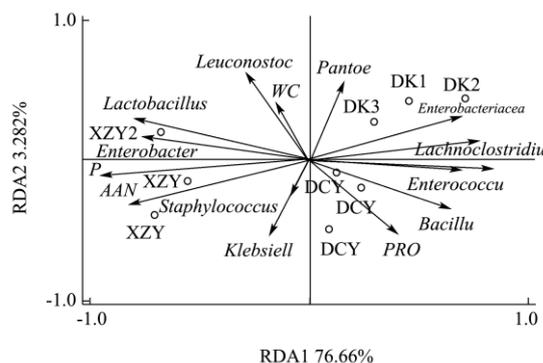


图5 豆豉理化因子与细菌优势属的RDA

Fig.5 Physical and Chemical Factors of Douchi and RDA of Dominant Bacteria

注: WC 为含水量; PRO 为蛋白质; AAN 为氨基酸态氮; TA 为总酸; PA 为蛋白酶活力。

将理化因子与豆豉细菌群落进行冗余分析后发现, 二维排序轴 RDA1 和 RDA2 解释种群与环境的累计变化率分别为 76.66% 和 3.28%, 两轴和为 79.94% (图 5), 说明 RDA1 和 RDA2 较好地反映出豆豉细菌群落与发酵介质之间的内在关联。就主要优势菌属来看, 芽孢杆菌属、肠球菌属和乳杆菌属与总酸含量的箭头基本一致呈锐角, 与含水量、氨基酸态氮和蛋白酶活力的箭头方向呈钝角, 说明这三个菌属与总酸含量存在正相关, 与含水量、氨基酸态氮和蛋白酶活力存在负相关。而肠杆菌属与含水量、氨基酸态氮和蛋白酶活力的箭头方向呈锐角, 与蛋白质和总酸含量的箭头呈钝角, 说明该菌属与含水量、氨基酸态氮及蛋白酶活力存在正相关, 与蛋白质和总酸含量存在负相关。豆豉中的乳酸菌可以代谢产酸使得发酵介质不断变酸, 而愈加酸化的环境则又可能会抑制以乳杆菌属^[30]为代表的乳酸菌的生长。豆豉发酵的许多菌属, 例如肠杆菌属、葡萄球菌属、乳杆菌属以及芽孢杆菌属等对发酵介质的改变较为敏感。因此, 通过标准化细菌型豆豉发酵介质, 对提高豆豉品质具有重要的生产意义。

3 结论

风味是细菌型豆豉制作首要考虑的问题, 其形成与微生物代谢相关, 而豆豉的微生物群落结构又与发

酵介质息息相关。不同的传统介质(稻壳、豆豉叶、香樟叶)下发酵出的细菌型豆豉,其风味物质及细菌群落结构均不同。三种传统发酵介质中由香樟叶发酵的豆豉具有23种风味物质,32株菌,豆豉叶发酵豆豉具有14种风味物质,19株菌,稻壳发酵豆豉具有13种风味物质,15株菌,种类最少。不同的发酵介质赋予了细菌型豆豉不同的细菌群落,进而引起豆豉的风味的改变。因此,控制发酵介质可以影响豆豉的质量。本文利用现代研究手段对传统发酵豆豉进行初探,进一步揭示传统发酵介质对豆豉微生物群落及风味物质的影响。此外,传统的豆豉发酵介质中包含有利于豆豉发酵的微生物,若从这些环境中分离有益微生物,将有可能提升发酵豆豉的品质。

参考文献

- [1] Beaumont M D. Flavouring composition prepared by fermentation with *Bacillus* spp [J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 75(3): 189-196.
- [2] 赵文鹏,李浩,杨慧林,等.曲霉型豆豉发酵阶段细菌群落的演替及其与环境因子的关系[J].食品科学,2021,42(4):138-144.
- [3] Ogasawara M, Yamada Y, Egi M. Taste enhancer from the long-term ripening of miso (soybean paste) [J]. Food Chemistry, 2006, 99: 736-741.
- [4] 李浩.传统曲霉型豆豉中微生物与风味形成的关联研究[D].南昌:江西师范大学,2021.
- [5] 何桂强,梁如,黄钧,等.毛霉型和曲霉型豆豉特征风味的研究[J].食品科技,2016,41(4):260-265.
- [6] 余爱农,杨春海,谭志斗,等.细菌型豆豉香气成分的研究[J].食品科学,2002,12:98-100.
- [7] Rhyu M R, Kim E Y. 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.
- [8] 窦珺.腐乳基本滋味及其呈味物质的研究[D].北京:中国农业大学,2005.
- [9] 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: 701-711.
- [10] Nishimura T, Kato H. Taste of free amino acids and peptides [J]. Food Reviews International, 1988, 4: 175-194.
- [11] 房翠兰.豆豉加工过程中蛋白质和膳食纤维生物学变化的研究[D].重庆:西南大学,2007.
- [12] 周涛,廖婷,顾小慧,等.香辛料对豆豉低盐后酵优势菌和蛋白酶活的抑制作用[J].现代食品,2017,17:103-105.
- [13] 张寒俊,刘大川,杨国燕.紫外光谱法定量测定不同种蛋白酶活力的研究[J].粮食与饲料工业,2004,9:44-45.
- [14] 谢兰心,樊晓博.顶空固相微萃取法对两种大豆发酵豆豉挥发性成分的比较[J].中国调味品,2018,43(4):85-89.
- [15] 蒋立文,夏波.浏阳豆豉发酵微生物的初步研究[J].中国酿造,2004,12:11-12,6.
- [16] 杨伊磊,李梦丹,刘金,等.毛霉型豆豉后发酵阶段蛋白质水解产物的生成及影响因素[J].食品科学,2017,38(24):34-39.
- [17] 谭小琴.西南地区传统细菌型豆豉品质特点及微生物群落研究[D].重庆:西南大学,2021.
- [18] 延莎,张红城,董捷.不同地域蜂胶的挥发性成分分析[J].食品科学,2011,32(20):191-196.
- [19] 聂黔丽,王修俊,刘林新,等.遵义细菌型自然发酵干豆豉菌群结构及风味品质分析[J].食品科学,2022,43(14):158-164.
- [20] 赵文鹏.曲霉型豆豉发酵过程中品质特性及微生物变化规律研究[D].南昌:江西师范大学,2020.
- [21] 范琳,陶湘林,欧阳晶,等.曲霉型豆豉后发酵过程中挥发性成分的动态变化[J].食品科学,2012,33(22):274-277.
- [22] 卢露,郑晓莹.豆豉发酵中微生物及其功能研究进展[J].粮食与食品工业,2011,18(1):42-45.
- [23] Aceña L, Vera L, Guasch J, et al. Comparative study of two extraction techniques to obtain representative aroma extracts for being analysed by gas chromatography-olfactometry: application to roasted pistachio aroma [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(49): 7781-7787.
- [24] Wu H, Zhang S Y, Ma Y Y, et al. Comparison of microbial communities in the fermentation starter used to brew Xiaoqu liquor [J]. Journal of The Institute of Brewing, 2017, 123: 113-120.
- [25] Guo M, Huo D, Ghai R, et al. Metagenomics of ancient fermentation pits used for the production of Chinese strong-aroma liquor [J]. Genome Announcements, 2014, 2(5): 32-45.
- [26] 董蕴,许小玲,代凯文,等.基于 Miseq 高通量测序技术对细菌型豆豉细菌类群的评价[J].食品工业科技,2018,39(13): 150-154,247.
- [27] Liu C J, Gong F M, Li X R, et al. Natural populations of lactic acid bacteria in douchi from Yunnan Province, China [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2012, 13: 298-306.
- [28] 李慧.混菌型豆豉发酵及风味物质的研究[D].大连:大连工业大学,2009.
- [29] 汪淼.火腿葡萄球菌产支链氨基酸转氨酶条件优化及支链氨基酸代谢研究[D].扬州:扬州大学,2015.
- [30] Crowley S, Mahony J, Sinderen D V. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives [J]. Trends in Food Science and Technology, 2013, 33: 93-109.