

## 自然发酵豆酱的滋味特性与微生物多样性分析

安飞宇 姜 静 武俊瑞 赵 越 张 妍 穆德伦 乌日娜\*

(沈阳农业大学食品学院 沈阳 110866)

**摘要** 为探究自然发酵豆酱的滋味特性及微生物多样性,采用第 2 代测序技术及电子舌分析自然发酵豆酱在发酵过程中菌群结构与滋味特性的变化。结果表明,在豆酱发酵过程中主要形成鲜味、咸味及复合滋味,而酸味、苦味和涩味的成分较少。主成分分析表明,豆酱在不同发酵阶段滋味品质的信息主要集中在前两个主成分,累计贡献率为 99.54%,即:第 1 主成分中的后味-A、丰度和咸味呈负相关,后味-B、鲜味和苦味呈正相关;第 2 主成分酸味和涩味呈正相关。豆酱发酵过程中微生物多样性在门水平上,优势细菌为厚壁菌门,优势真菌为子囊菌门;在属水平上,主要细菌为乳杆菌属和四联球菌属,主要真菌为青霉菌属和异常威克汉姆酵母菌属。对豆酱发酵过程中滋味特性和微生物多样性的相关性分析可知相同风味也可由不同菌群代谢产生。

**关键词** 自然发酵豆酱;滋味特性;微生物多样性;相关性分析

**文章编号** 1009-7848(2020)07-0207-09 **doi:** 10.16429/j.1009-7848.2020.07.025

豆酱是以大豆和面粉为主要原料,在霉菌、酵母菌和乳酸菌等微生物作用下,将碳水化合物和蛋白质等大分子物质分解为小分子物质,自然发酵而成的半固体粘稠状的调味品<sup>[1-2]</sup>。作为一种传统的发酵食品,豆酱浓厚的酱香味和适宜的口感深受广大消费者喜爱。有研究表明豆酱具有多种有益人体健康的生理活性物质,具有一定的保健功能,包括抗氧化,溶解纤维蛋白,抗突变和抗癌特性<sup>[3-6]</sup>等。

自然发酵的豆酱在微生物作用下产生特有的色、香、味、体,其中咸味和鲜味在豆酱的 5 种滋味(酸、甜、苦、鲜、咸)中尤其突出,苦味虽不明显,但可以提升豆酱的口感度,其苦味主要来自于一些呈苦味的氨基酸,例如精氨酸<sup>[7]</sup>;其鲜味主要来自于谷氨酸钠<sup>[8]</sup>;其甜味主要来自于淀粉糖化产生麦芽糖、葡萄糖和一些醇类物质<sup>[9]</sup>;豆酱的盐浓度在 12%~14%左右,是咸味的来源,这种咸味与其它

化学成分的相互作用,使豆酱的口感绵柔;豆酱中的有机酸赋予豆酱清爽的酸味,国标要求豆酱中的有机酸含量不应大于 2%<sup>[10]</sup>,若超标会导致豆酱品质下降。

目前高通量测序技术被广泛应用于豆酱发酵过程中微生物的检测。崔梦君等<sup>[11]</sup>采用高通量测序技术分析农家酱中的微生物群落,发现主要的细菌属有芽孢杆菌属(*Bacillus*)、棒状杆菌(*Corynebacterium*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)和乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)等。Li 等<sup>[12]</sup>利用高通量测序技术检测豆瓣酱酱醅发酵过程中群落演替,结果表明,在发酵 35 d 后,除乳杆菌属和不运动细菌属(*Acinetobacter*)外,其余细菌群落直至发酵结束都维持相对稳定,优势细菌主要有四联球菌属(*Tetragenococcus*)、乳杆菌属、葡萄球菌属、不动细菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和链球菌属(*Streptococcus*)。

本研究以自然发酵豆酱为研究对象,采用电子舌分析豆酱滋味特性,利用高通量测序技术分析豆酱发酵过程中微生物多样性,为工业制得高品质豆酱及开发利用微生物资源提供依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

样品采自辽中地区(M 家)自然发酵的豆酱,

**收稿日期:** 2019-07-23

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(31972047);“兴辽英才计划”青年拔尖人才计划项目(XLYC1807040);辽宁省教育厅科学研究项目(LSNJC201902);辽宁省高等学校创新人才支持计划项目(LR2019065)

**作者简介:** 安飞宇(1994—),男,博士生

**通讯作者:** 乌日娜 E-mail: wm6956@163.com

样品总发酵时间为49 d,每隔7 d取样,编号为M1~M8,并于-80℃储存备用。

## 1.2 仪器与设备

电子舌(SA402B),日本 Insent 公司;MiSeq 测序仪,美国 Illumina 公司;琼脂糖凝胶电泳仪(DYCP-31BN),中国深华生物技术有限公司;PCR 仪(ABI GeneAmp® 9700 型),北京卓悦联合生物科技有限公司;TransStart Fastpfu DNA 聚合酶,北京金全生物技术有限公司;TruSeq™ 试剂盒,上海美吉生物医药科技有限公司;AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒,美国 AXYGEN 公司;QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统,北京普洛麦格生物技术有限公司;NanoDrop 2000C 微量分光光度计,北京凯慕生物技术有限公司。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 应用电子舌对豆酱滋味特性进行测定

1.3.1.1 豆酱样品的预处理 准确称取 10.0 g 用研钵研磨均匀的样品,将其定容至 100 mL,以 10 000 r/min 离心 10 min,过滤,取澄清液备用。

1.3.1.2 SA402B 电子舌分析 此电子舌设备有 CTO、AEI、AAE、COO 和 CAO 5 个测试传感器,分别测试咸味、涩味、鲜味、苦味和酸味;并配有 2 个参比传感器。

1.3.1.3 传感器活化 活化测试传感器方法:将 Ag/AgCl 电极从测试传感器中取出,加入内部溶液,将传感器重新组装,置于参比溶液中,活化 1 d,备用。

活化参比传感器方法:将电极从参比传感器中取出,加入内部溶液,将传感器重新组装,置于 3.33 mol/L KCl 溶液中,活化 1 d,备用<sup>[13-14]</sup>。

1.3.1.4 样品测定 电子舌系统完成自检操作后,将澄清液等量倒入到 2 个电子舌配备的烧杯中。首先将 CTO 等 6 个测试传感器在阳离子溶液或阴离子溶液中浸泡(目的是清洗传感器),之后用参比溶液 1 和 2 清洗传感器,后用参比溶液 3 清洗,得到参比溶液电势  $V_r$ ,后将传感器置于样品杯中浸泡,得到样品电势  $V_s$ ,用 2 个电势的差值可以对 5 种滋味进行评估;之后依次采用参比溶液 4 和 5 进行清洗,后放入溶液 6 中浸泡,回味测出电势为  $V_r'$ ,通过  $V_r'$  和  $V_r$  的差值计算出涩味、鲜味以及苦味的回味。重复 4 次,选取后 3 次

的数据作为原始数据<sup>[13-14]</sup>。

### 1.3.2 应用高通量测序对豆酱微生物进行检测

1.3.2.1 基因组 DNA 提取 采用试剂盒提取 DNA,再用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA。DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 检测。

1.3.2.2 PCR 扩增 细菌的 16S rDNA 的 V4-V5 区 PCR 反应,以 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和 907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')为引物进行细菌 16S rDNA 的 V4-V5 区域扩增。

真菌的 ITS 区的 PCR 反应,以 ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')为引物进行真菌 ITS1 区域扩增<sup>[15]</sup>。

PCR 条件是 95℃,3 min;95℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,27 个循环;最后 72℃延伸 10 min。

1.3.2.3 Miseq 测序 将 PCR 产物用蓝色荧光定量系统检测定量,使用凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物,Miseq 测序仪双端测序。

1.3.2.4 数据统计分析 Miseq 测序结果为双端测序得到的正反向 reads,首先进行两两组装连接,过滤拼接结果中含有 N 的序列,保留序列长度大于 200 bp 的序列。经质量过滤,去除嵌合体序列,得到的序列用于 OTU 分析,使用 VSEARCH(1.9.6)进行序列聚类(序列相似性设为 97%),比对的 16S rRNA 参考数据库是 Silva 119。用 RDP classifier 贝叶斯算法对 OTU 的代表性序列进行物种分类学分析,并在不同物种分类水平下统计每个样品的群落组成。基于 OTU 分析结果,采用样本序列进行随机抽样的方法,分别计算 Shannon、Chao 等  $\alpha$  多样性指数,并绘制稀释曲线<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 豆酱发酵过程中滋味特性分析

2.1.1 豆酱发酵过程中滋味品质相关性分析 如表 1 所示,传感器响应值之间的相关性结果。

表 1 为电子舌传感器所产生的各个响应值之间的皮尔森相关系数,由表中的数据可知,酸味的响应值和其它 5 个响应值(如后味-B 等的响应值)呈极显著负相关,其中与丰度的响应值呈极显



表 1 传感器响应值相关性分析表  
Table 1 Correlation analysis table of sensor response value

项目	酸味	苦味	涩味	后味-B	后味-A	鲜味	丰度	咸味
酸味	1.000	-0.645	0.996**	-0.892**	-0.993**	-0.999**	-0.786*	-0.987**
苦味		1.00	-0.595	0.911**	0.600	0.664	0.052	0.516
涩味			1.00	-0.859**	-0.988**	-0.994**	-0.815**	-0.993**
后味-B				1.00	0.867**	0.904**	0.454	0.813**
后味-A					1.00	0.993**	0.822**	0.991**
鲜味						1.00	0.774*	0.983**
丰度							1.00	0.873**
咸味								1.00

注：\*，表示在 0.05 水平上显著相关；\*\*，表示在 0.01 水平上显著相关。

著负相关，与涩味呈极显著正相关；苦味的响应值与后味-B 的响应值呈极显著正相关；而涩味与其它 5 个响应值(后味-B、后味-A、鲜味、丰度、咸味)呈极显著负相关；后味-B、后味-A、鲜度以及咸度呈极显著正相关；后味 A、鲜味、丰度和咸度呈极显著正相关；鲜味和咸味呈极显著正相关，与丰度呈显著正相关；丰度与咸味呈极显著正相关。分析数据可知，提取响应值的各信息间具有较高的相关性。

2.1.2 豆酱发酵过程中雷达图分析 不同发酵时间豆酱在酸味、苦味、涩味、后味-B、后味-A、鲜味、丰度和咸味的分布雷达图见图 1。

由图 1 可知，咸味、丰度和鲜味的响应信号值较高，而苦味、涩味、后味-B、后味-A 和酸味的响应信号值较低。这表明豆酱的发酵过程中主要形成鲜味、咸味以及复合滋味，而酸味、苦味和涩味

的成分较少。

2.1.3 不同发酵时期豆酱滋味品质总体变化 如图 2 所示，主成分分析表明，豆酱在不同发酵阶段滋味品质的信息主要集中在前两个主成分，其中累计贡献率为 99.54%。第一主成分的贡献率为 84.99%，第二主成分的贡献率为 14.55%，根据计算样本相关矩阵的特征向量得出主成分的函数式为：

$$Y_1 = -0.147X_1 + 0.098X_2 - 0.146X_3 + 0.034X_4 + 0.146X_5 + 0.147X_6 + 0.144X_7 + 0.144X_8$$

$$Y_2 = 0.024X_1 + 0.640X_2 + 0.075X_3 + 0.352X_4 - 0.073X_5 - 0.003X_6 - 0.038X_7 - 0.186X_8$$

由函数式可以看出，在第一主成分中  $X_1$ 、 $X_3$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ 、 $X_7$ 、 $X_8$  的系数绝对值最大；在第二主成分中  $X_2$ 、 $X_4$  的系数绝对值最大。结果表明，滋味品质的 8 个指标可以分成两类，第一主成分由苦味、后

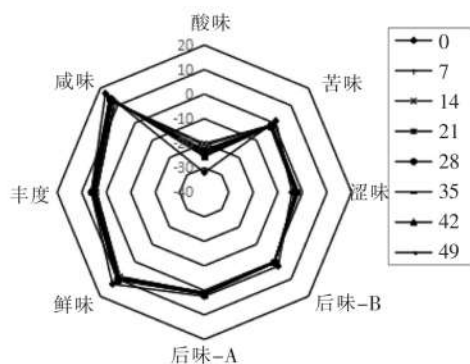


图 1 不同发酵时间豆酱电子舌检测结果

Fig.1 Determination results of soybean paste with different aging time by electronic tongue

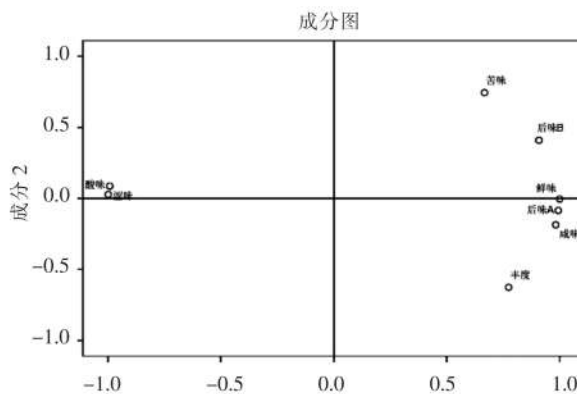


图 2 主成分分析载荷图

Fig.2 Principal component analysis load diagram

味-A(涩味的回味)、后味-B(苦味的回味)、咸味、丰度和鲜味等6个滋味品质指标构成;第二主成分由酸味和涩味两个滋味品质指标构成。由图2可知,第一主成分中的后味-A、丰度和咸味呈负相关,第二主成分各指标呈正相关,相关性还需采用 person 相关性分析进行验证。

综上所述,在豆酱的发酵过程中主要形成鲜味、咸味以及复合滋味,而酸味、苦味和涩味的成分较少。曾有报道指出豆酱中各种味道相互协调,

而鲜味和咸味尤为突出<sup>[7]</sup>,而本研究也显示相似结果。

## 2.2 豆酱发酵过程中微生物多样性分析

2.2.1 Alpha 多样性分析 如表2所示,ACE和Chao指数均用来计算菌群丰度,数值越大表明群落的丰富度越高;Shannon与Simpson指数表示菌群多样性,Shannon指数越高表示群落多样性越大,Simpson指数越高表示群落多样性越小。

表2 样品Alpha多样性指数表

Table 2 The Alpha of samples

样品编号	细菌				真菌			
	Chao	ACE	Simpson	Shannon	Chao	ACE	Simpson	Shannon
M1	242.75	242.09	0.11	2.70	46.00	44.78	0.45	1.35
M2	114.00	161.29	0.48	0.88	48.00	48.28	0.24	1.96
M3	88.67	114.63	0.47	0.96	43.50	44.35	0.41	1.40
M4	107.00	211.03	0.45	1.03	44.25	45.26	0.48	1.20
M5	68.14	71.77	0.47	1.02	40.00	39.95	0.38	1.43
M6	124.50	200.83	0.41	1.18	42.00	50.80	0.36	1.45
M7	93.00	90.03	0.40	1.18	44.14	48.07	0.49	1.14
M8	68.00	74.49	0.44	1.04	42.75	48.69	0.44	1.27

通过Chao和ACE指数对样品丰度的比较可知,真菌的Chao和ACE指数明显低于细菌的Chao和ACE指数,说明豆酱样品中细菌的丰富度比真菌高。在豆酱发酵过程中,菌群丰富度每阶段都在变化,从整体趋势来看,菌群丰度上下波动,说明菌群在豆酱发酵过程中变化明显;通过Simpson和Shannon指数对样品多样性的比较可知,在豆酱发酵过程中,样品中的菌群多样性均比下酱当天多样性减少。豆酱发酵过程中细菌的波动性远大于真菌,说明细菌在豆酱发酵过程中变化更大。

2.2.2 稀释曲线 稀释曲线主要利用各样本的测序量在不同测序深度时的微生物多样性指数构建曲线,来反应不同测序数量时的微生物多样性。

如图3、图4所示,在序列数比较少时,多样性指数随序列数的增加而迅速增加,当序列数达到一定值时,多样性指数随着序列数的增加而缓慢增加,渐渐趋于饱和状态,说明测序结果可靠,可以充分反映样品的多样性。具体变化如下:当序

列数小于10000时,多样性指数随序列数的增加而迅速增加,当序列数在10000~20000之间时,多样性指数随序列数的增加而缓慢增加,当序列数大于20000时,多样性指数不随序列数的增加而增长,说明多样性指数趋于饱和,测序结果可以充分反应样品的多样性。通过真菌和细菌稀释曲线纵坐标的对比可知,真菌丰富度明显低于细菌。

### 2.2.3 不同发酵时期豆酱菌群门水平结构分析

图5为真菌和细菌在门水平的分布图,豆酱整个发酵阶段共鉴定出3个已知真菌门,分别为子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和接合菌门(*Zygomycota*)。优势真菌门均为子囊菌门,并且占有绝对优势,所占比例在90.36%~96.47%之间,担子菌门和接合菌门所占比例较小分别在1.59%~7.32%、1.09%~6.4%之间。

豆酱在整个发酵阶段共鉴定出3个已知细菌门,分别为厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteria*)。优势细菌门为厚壁菌门,除M1中厚壁菌门占比为85.79%,



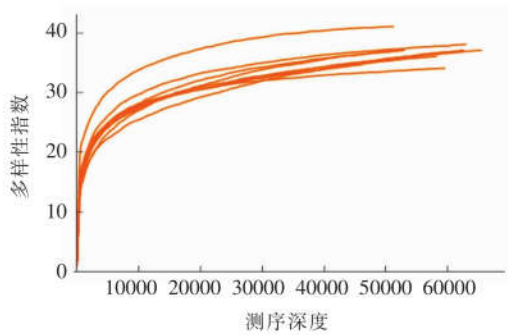


图3 真菌稀释曲线

Fig.3 The dilution curve of fungi

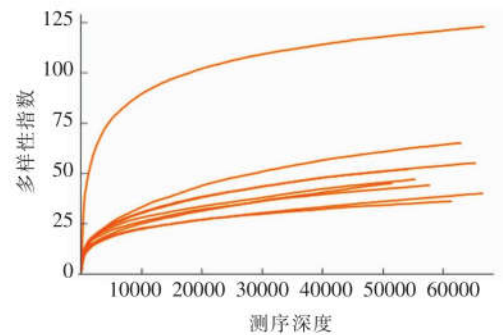


图4 细菌稀释曲线

Fig.4 The dilution curve of bacteria

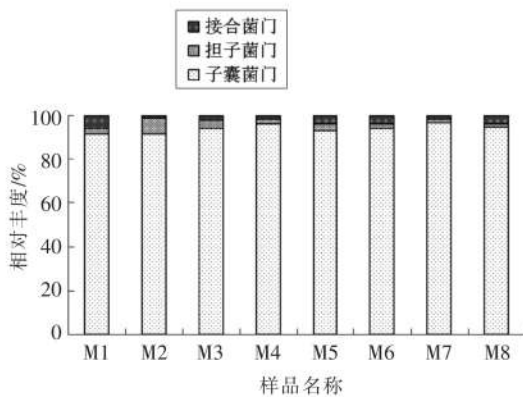


图5 豆酱发酵过程中真菌在门水平的分布

Fig.5 Distribution of fungi at the phyla level during the fermentation of soybean paste

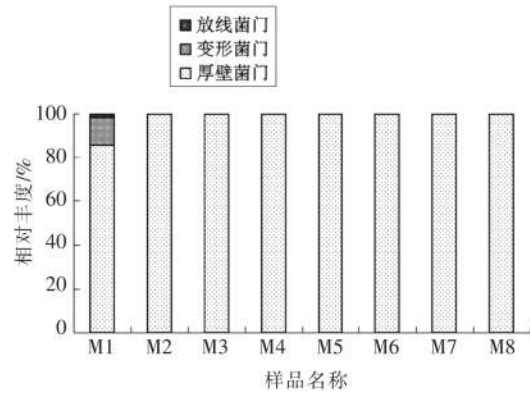


图6 豆酱发酵过程中细菌在门水平的分布

Fig.6 Distribution of bacteria at the phyla level during the fermentation of soybean paste

其余发酵阶段厚壁菌门占比均在99%以上，变形菌门在M1中占13.03%，在之后的发酵过程中所占比例均在1%以下。

豆酱整个发酵阶段共鉴定出9个已知真菌属，其中占30%以上的优势菌属为青霉属(*Penicillium*)和异常威克汉姆酵母属(*Wickerhamomyces*)，其次还有德巴利氏酵母菌属(*Debaryomyces*)、毛霉菌属(*Mucor*)和兰久浩酵母菌属(*Guehomyces*)等。

豆酱整个发酵阶段共鉴定出7个已知细菌属，豆酱发酵前期优势菌属为乳杆菌属(*Lactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)和明串珠菌属(*Leuconostoc*)，随着发酵时间的延长，四联球菌属(*Tetragenococcus*)变为优势菌属，占77.98%~96.03%，在整个发酵过程中乳杆菌属为主要菌属，占比在1.98%~14.96%之间。

在发酵的中后期，四联球菌属成为绝对优势

的菌属，研究表明该菌属是一种对健康有益的益生菌，在许多发酵食品中均可检测到，酵母菌在参与代谢反应之后可产生醇类和醛类等代谢物，然而四联球菌属在参与完代谢反应之后则主要产生乳酸等有机酸类，因此两者共同反应可明显提高豆酱等产品中的酯类含量。由此可知，在豆酱发酵过程中，四联球菌属对其风味的形成起着至关重要的作用<sup>[15,18]</sup>。武俊瑞等<sup>[19]</sup>初步推断嗜盐四联球菌(*Tetragenococcus halophilus*)和植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)是黑龙江传统发酵豆酱中的优势乳酸菌菌群。植物乳杆菌广泛存在于酱油和豆酱中，它是FDA批准使用的安全菌株<sup>[20]</sup>。

植物乳杆菌为豆酱中最主要的乳杆菌类型，也是发酵食品中不可或缺的菌种。植物乳杆菌可以将发酵食品中的糖转化为乳糖，也可以通过代谢生成多种氨基酸，如天冬氨酸、组氨酸以及精氨酸等，这几种氨基酸可有效改善豆酱的风味。并且

该菌在人体内可以作为有益菌株调节机体,起到改善、调节肠道微生物菌群平衡,有效降低血液中

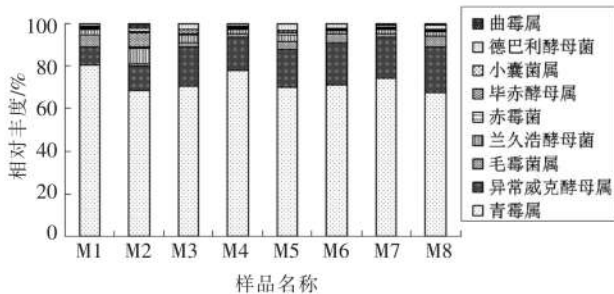


图7 豆酱发酵过程中真菌在属水平的分布  
Fig.7 Distribution of fungi at the genus level during the fermentation of soybean paste

的胆固醇含量以及缓解乳糖不耐症等作用<sup>[21-23]</sup>。

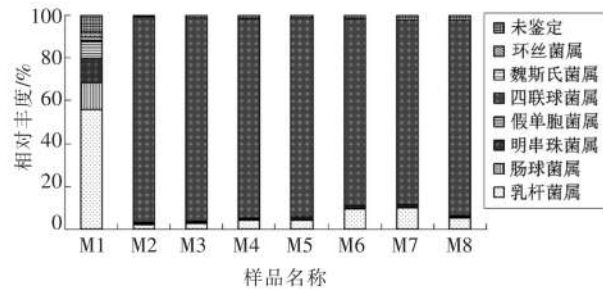


图8 豆酱发酵过程中细菌在属水平的分布  
Fig.8 The distribution of bacteria at the genus level during the fermentation of soybean paste

### 2.3 滋味特性与微生物多样性的相关性分析

在豆酱发酵过程中,不同滋味的变化是各种微生物相互作用代谢的结果,研究微生物与滋味间的相关性对改善豆酱滋味有着重要作用。

对豆酱发酵过程中的滋味与微生物变化进行相关性分析(表3),其中微生物在豆酱中所占比例均在1%以上。

表3 细菌与滋味特性相关性分析

Table 3 Correlation analysis of bacteria and taste characteristics

项目	乳杆菌属	四联球菌属	肠球菌属	明串珠菌属	魏斯氏菌属	假单胞菌属
酸味	0.927**	0.897**	0.839**	0.879**	0.855**	-0.843**
苦味	0.841**	-0.869**	0.967**	0.912**	0.945**	0.921**
涩味	-0.887**	-0.879**	-0.821**	-0.798**	-0.812**	-0.803**
后味-B	0.986**	-0.981**	0.997**	0.988**	0.987**	0.954**
后味-A	0.920**	-0.891**	0.798**	0.843**	0.834**	0.803**
鲜味	0.958**	-0.913**	0.836**	0.847**	0.878**	0.844**
丰度	0.567	-0.489	0.378	0.365	0.355	0.387
咸味	0.774*	0.702*	0.588	0.567	0.568	0.593

注:\*.表示在0.05水平上显著相关;\*\*表示在0.01水平上显著相关。

由表3数据可知,乳杆菌属等5种菌属与涩味呈极显著负相关,与酸味、苦味、后味-B、后味-A以及鲜度呈极显著正相关;乳杆菌属与咸味响应值呈负相关,而四联球菌和酸味的响应值呈极显著正相关,与咸味呈显著正相关。有研究表明细菌中的乳酸菌是促进豆酱风味物质形成的重要微生物,可以改善豆酱的风味品质<sup>[24]</sup>,本研究发现与豆酱滋味品质呈正相关的微生物均为乳酸菌,验证了此结果。

由表4可知,异常威克酵母属与苦味呈显著负相关;毕赤酵母属与丰度呈显著负相关;毛霉菌

属、酸味以及涩味呈显著负相关,而与后味-A、鲜味、丰度以及咸味所呈显著正相关。

通过相关性分析可以看出,大多数的细菌都对M家豆酱风味的形成具有重要影响。真菌方面,毛霉菌属对M家豆酱风味的影响相对较大。毛霉菌属可以分泌处理不同的酶,所分泌的酶有如下作用:1)蛋白酶通过水解蛋白质生成呈味的氨基酸;2)淀粉酶水解淀粉产生糖类物质,其中一部分的糖类被细菌和酵母菌所利用,从而可以形成有机酸和酯类等相关的呈味物质;3)毛霉分解果胶酶以及纤维素酶,对豆酱风味的形成有着至



关重要的作用<sup>[25]</sup>;4)毕赤酵母属与丰度呈显著负相关,可能由于毕赤酵母菌在豆酱发酵过程中产

生酸,分解豆酱中的有机成分,从而降低豆酱的风味<sup>[26]</sup>。

表4 真菌与滋味特性相关性分析

Table 4 Correlation analysis of fungi and taste characteristics

项目	青霉菌属	异常威克汉姆酵母属	兰久浩酵母属	毛霉菌属	毕赤酵母属	德巴利氏酵母属	赤霉菌属
酸味	-0.31	0.203	0.384	0.745*	0.466	0.459	-0.148
苦味	0.603	-0.780*	0.169	0.315	0.108	-0.533	-0.234
涩味	-0.246	0.178	0.439	-0.733*	0.521	0.421	-0.138
后味-B	0.496	-0.549	-0.148	0.508	-0.209	-0.542	-0.049
后味-A	0.183	-0.156	-0.409	0.779*	-0.482	-0.452	0.201
鲜味	0.289	-0.204	-0.390	0.738*	-0.468	-0.483	0.134
丰度	-0.178	0.399	-0.650	0.793*	-0.734*	-0.158	0.401
咸味	0.177	-0.044	-0.495	0.775*	-0.524	-0.423	0.198

注:\*.表示在0.05水平上显著相关;\*\*表示在0.01水平上显著相关。

### 3 讨论

本研究应用电子舌和高通量测序技术对自然发酵豆酱发酵过程中的滋味特性和微生物多样性进行分析。结果表明,在豆酱发酵过程中,不同发酵体系可能含有相同的微生物菌群,而相同的风味也可由不同菌群代谢产生。

研究显示豆酱在发酵过程中微生物多样性在门水平上,优势细菌为厚壁菌门,真菌为子囊菌门;在属水平上,主要细菌为乳杆菌属和四联球菌属,主要真菌为青霉菌属和异常威克汉姆酵母菌属。张颖等<sup>[27]</sup>通过PCR-DGGE技术结合微生物多样性测序方法分析东北豆酱自然发酵过程中细菌的多样性,发现肠球菌属(*Enterococcus*)、四联球菌属(*Tetragenococcus*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)为不同发酵阶段豆酱样品的优势细菌属,该结果与本研究结果相近。Kim等<sup>[28]</sup>对韩国的10份豆酱采用DGGE技术分析微生物多样性,细菌对16S rRNA V3区采用通用引物,结果表明,乳酸菌如肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroide*)、嗜盐四联球菌(*Tetragenococcus halophilus*)和屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)为优势菌株;真菌的分析结果表明毛霉菌(*Mucor plumbeus*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)和汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)是豆酱样本中最常见的真菌。而本研究中发现的真菌与上述结果略有不同,可能由于温度、水分等环境因素不同导致<sup>[16,29]</sup>。

此外,本研究结果显示不同属的细菌对豆酱的同一风味均有贡献。安飞宇等<sup>[29]</sup>利用宏转录组学技术对豆酱自然发酵过程中的活性菌群及风味物质的关联分析表明嗜盐四联球菌(*Tetragenococcus halophilus*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、酸鱼乳杆菌(*Lactobacillus acidipiscis*)、蛋白原酶乳杆菌(*Lactobacillus rennini*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)及粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)与风味物质呈显著正相关,故将其定义为对风味物质合成有重要影响的核心发酵微生物种。该结果与本试验的研究结论一致,进一步说明不同发酵体系可能含有相同的微生物菌群,同时这些“共同”的核心菌群对发酵食品独特风味的形成也起到至关重要的作用。

### 参 考 文 献

- [1] 赵建新, 顾小红, 刘杨岷, 等. 传统豆酱挥发性风味化合物的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 684-687.
- [2] 汤慧娟, 韩翠萍, 刘洋, 等. 传统发酵豆酱的养分变化分析[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(2): 64-67.
- [3] KATAOKA S. Functional effects of Japanese style fermented soy sauce and its components[J]. Journal Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(3): 227-234.

- [4] KIM T W, LEE J H, KIM S E, et al. Analysis of microbial communities in doenjang, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *International Journal of Food Microbiol*, 2009, 131(2): 265-271.
- [5] SHIN H C, CHO J Y, LEE K H, et al. Diterpene glycosides from Korean fermented red pepper paste (gochujang) and their origin [J]. *Food Chemistry*, 2012, 130(4): 1024-1030.
- [6] BYUN M W, SON J H, YOON H S, et al. Effect of gamma irradiation on the physiological activity of Korean soybean fermented foods, Chungkookjang and Doenjang [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2002, 64(3): 245-248.
- [7] CHEN D, YE Y, CHEN J, et al. Evolution of metabolomics profile of crab paste during fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 886-892.
- [8] 张洪丽. 调味和诱食物质-谷氨酸钠 [J]. *中国饲料添加剂*, 2016, 176(12): 15-17.
- [9] 欧伶, 俞建瑛. 应用生物化学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 15-39.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 酱卫生标准: GB 2718-2003 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 1-8.
- [11] 崔梦君, 张振东, 万舒曼, 等. 农家豆瓣酱细菌多样性及其对品质影响的评价 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(5): 68-73.
- [12] LI Z H, RUI J P, LI X Z, et al. Bacterial community succession and metabolite changes during doubanjiang-meju fermentation, a Chinese traditional fermented broad bean paste [J]. *Food Chemistry*, 2017, 218: 534-542.
- [13] 姜静, 郭晶晶, 安飞宇, 等. 豆酱自然发酵过程中理化指标与滋味特性分析 [J]. *食品科技*, 2018, 43(11): 319-325.
- [14] 解梦汐, 乌日娜, 姜静, 等. 基于电子舌技术探讨自然发酵豆酱滋味与微生物的关系 [J]. *现代食品科技*, 2019, 35(1): 37-43.
- [15] 张鹏飞, 乌日娜, 张平, 等. 酱醅与豆酱微生物关系研究 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(7): 101-106, 113.
- [16] 姜静, 解梦汐, 安飞宇, 等. 应用 MiSeq 测序分析自然发酵豆酱酱块中微生物的多样性 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39(16): 92-97.
- [17] 殷勇光, 刘静波. 大豆食品工艺学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 77-78.
- [18] 王博, 周朝晖, 李铁桥, 等. 嗜盐四联球菌及其在发酵食品中的应用 [J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(8): 267-272.
- [19] 武俊瑞, 张苗, 岳喜庆, 等. 黑龙江传统发酵豆酱中乳酸菌的分离鉴定 [J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(3): 83-86.
- [20] TANASUPAWAT S, THONGSANIT J, OKADA S, et al. Lactic acid bacteria isolated from soy sauce mash in Thailand [J]. *Journal of General & Applied Microbiology*, 2002, 48(4): 201-209.
- [21] MUROSAKI S, MUROYAMA K, YAMAMOTO Y, et al. Antitumor effect of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 through restoration of impaired interleukin-12 production in tumor-bearing mice [J]. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2000, 49(3): 157-164.
- [22] KINGAMKONO R, SGOGREN E, SVANBERG U. Enteropathogenic bacteria in faecal swabs of young children fed on lactic acid-fermented cereal gruels [J]. *Epidemiology and Infection*, 1999, 122(1): 23-32.
- [23] WANG Y, XU N, XI A, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 84(2): 341-347.
- [24] 辛星, 宋刚, 周晓杭, 等. 传统发酵豆酱中乳酸菌的分离、筛选及鉴定 [J]. *中国食品学报*, 2014, 14(9): 202-207.
- [25] 卢璐, 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.
- [26] 张海. 大豆酱发酵过程中乳酸菌和酵母菌的作用 [J]. *中国调味品*, 1993(6): 5-8.
- [27] 张颖, 孙慧君, 武俊瑞, 等. 豆酱不同发酵阶段细菌群落多样性及动态变化分析 [J]. *食品科学*, 2017, 38(14): 30-35.
- [28] KIM T W, LEE J H, KIM S E, et al. Analysis of microbial communities in doenjang, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *International Journal of Food Microbiol*, 2009, 131(2): 265-271.
- [29] 安飞宇, 武俊瑞, 刘一鸣, 等. 土壤环境对传统豆酱制酱过程中细菌群落演替的影响 [J]. *食品科学*, 2019, 40(22): 96-102.
- [30] 安飞宇. 豆酱自然发酵过程中菌群结构及其代谢功能的宏转录组学分析 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.



## Analysis of Taste Characteristics and Microbial Diversity of Naturally Fermented Soybean Paste

An Feiyu Jiang Jing Wu Junrui Zhao Yue Zhang Yan Mu Delun Wu Rina\*

(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866)

**Abstract** To explore the taste characteristics and microbial diversity of naturally fermented soybean paste, this paper uses electronic tongue and high-throughput sequencing technology to analyze the microbial community structure and taste characteristics during the fermentation process of naturally fermented bean paste. The results show, in the fermentation process of soybean paste, there are mainly umami, saltiness, and complex flavors, while the sourness, bitterness, and astringency components are less. Principal component analysis shows, the information on the taste quality of soybean paste in different fermentation stages mainly focuses on the first two principal components, the cumulative contribution rate is 99.54%, the aftertaste-A, richness and saltiness in the first principal component showed a negative correlation, the aftertaste-B, umami and bitterness showed a positive correlation, and the second principal component sourness and astringency showed a positive correlation. Microbial diversity in the fermentation process of soybean paste at the phyla level, the dominant bacteria is *Firmicutes*, and fungi is *Ascomycota*. At the genus level, the main bacteria are *Lactobacillus* and *Tetragenococcus*; the main fungi are *Penicillium* and *Wickerhamomyces*. Correlation analysis of taste characteristics and microbial diversity during the fermentation of soybean paste shows that different fermentation systems may contain the same microbial community structure, while the same taste can also be produced by different microbial communities.

**Keywords** natural fermented soybean paste; taste characteristics; microbial diversity; correlation analysis

### 市场动态

#### 上半年我国物价运行总体平稳 市场供应有保障

7月9日,国家统计局公布的数据显示,上半年我国物价运行总体平稳,在面临新冠疫情较强冲击下,重要民生商品供应充足,主要农副食品的生产 and 流通秩序良好,市场需求进一步回升。

今年上半年,全国居民消费价格CPI比去年同期上涨3.8%,从单月看,6月份同比上涨2.5%,呈现出了前高后低的走势。

随着国内疫情形势总体趋于稳定,农副食品市场有效供给明显增加,食品价格稳中回落,CPI呈现出回落态势。6月份,鲜果、鸡蛋的同比和环比价格都继续下降,猪肉和鲜菜价格涨幅也在季节性价格的合理范围内波动。

上半年,非食品价格一直都保持平稳运行状态,交通、通信价格因成品油价调整而有小幅波动,居住和服务价格稳中略降。

从工业品价格看,工业生产者出厂价格指数PPI在经历了4个月环比负增长后,在6月份重回正增长轨道,由上月下降0.4%转为上涨0.4%。随着疫情防控常态化,预计下半年投资和消费需求会进一步回升,从而给PPI筑底企稳带来有力支撑。

(消息来源:央视网)