

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.12.022

豆豉返霜过程中基本理化特性及微生物多样性差异分析

Variation in physicochemical properties and microbial diversity during the progression of efflorescence on the surface of Douchi

朱敏方^{1,2} 张露^{1,2} 叶云花^{1,2} 廖卉^{1,2}

ZHU Min-fang^{1,2} ZHANG Lu^{1,2} YE Yun-hua^{1,2} LIAO Hui^{1,2}

(1. 江西师范大学国家淡水鱼加工技术研发专业中心, 江西 南昌 330022;

2. 江西省淡水鱼高值化利用工程技术研究中心, 江西 南昌 330022)

(1. National Research and Development Center of Freshwater Fish Processing, College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang, Jiangxi 330022, China; 2. Engineering Research Center of Freshwater Fish High-value Utilization of Jiangxi Province, Nanchang, Jiangxi 330022, China)

摘要:通过测定豆豉在返霜过程中水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、总糖、还原糖、总酸、氨基态氮含量、氨基酸组成以及返霜前后微生物的变化,研究返霜前后其基本理化特性和微生物组成的变化规律。结果表明,随着返霜的进行,豆豉中灰分和总糖含量基本保持不变,粗脂肪、还原糖、总酸含量整体呈下降趋势,水分含量先增加后基本保持稳定;氨基态氮含量在贮藏前 6 d 内与粗蛋白含量变化趋势相反,且氨基酸评分结果显示,返霜后豆豉中蛋白质营养价值降低。Illumina Miseq 测序结果表明,返霜后,豆豉的细菌和真菌 OTUs 都有所降低,细菌芽孢杆菌属增加,真菌曲霉属减少。因此,返霜会降低豆豉的营养价值及细菌群落多样性,增加真菌群落多样性,破坏豆豉原有的特色菌群组成结构。

关键词:豆豉;返霜;营养成分;氨基酸组成;微生物多样性

Abstract: The changes in basic physicochemical properties and microbial diversity of Douchi before and after efflorescence of the surface were evaluated. The physicochemical properties were investigated via determining the content of moisture, ash, crude protein, crude fat, total sugar, reducing sugar, total acid, and amino nitrogen, along with the amino acid composition. The mi-

crobial diversity was measured by Illumina Miseq sequencing. The results showed that, with the progress of efflorescing, the ash and total sugar content of Douchi exhibited insignificant changes, and the crude fat, reducing sugar and total acid content showed a downward trend as a whole. The moisture content increased first and then kept stable. An adverse trend was observed on amino nitrogen content as compared to that of the crude protein content between 0~6 days. The amino acid score illustrated that the nutritional value of protein decreases after efflorescing. According to the results of Illumina Miseq sequencing, the bacteria and fungi OTUs of Douchi were all reduced after efflorescing, and the ratio of Bacillus in bacteria was increased, with the ratio of Aspergillus in fungi reduced. Therefore, the efflorescing would reduce the nutritional value of Douchi and decrease the diversity of bacterial community. However, the diversity of fungal community could be increased, with the destroy of the original flora composition.

Keywords: Douchi; efflorescing; nutrients; amino acid composition; microbial diversity

豆豉是中国的传统发酵豆制品,是大豆经过浸泡、蒸煮、摊凉、制曲、发酵等一系列工艺处理后制成的一种营养丰富、风味独特的调味副食品。豆豉中含有多种有益成分如大豆多肽、大豆异黄酮、大豆低聚糖、大豆皂苷、类黑精类、豆豉溶栓酶等^[1]。国内外研究发现豆豉具有抗氧化^[2-3]、降血糖^[4]、降血压^[5-7]、抗老年痴呆症^[8]等多种保健功能。

稻香园豆豉是通过“沪酿 3.042 米曲霉”发酵制得,其

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项基金项目(编号: CARS-45);江西省科技计划项目(编号: 20141BBF60043);江西师范大学青年英才计划项目

作者简介:朱敏方,女,江西师范大学在读硕士研究生。

通信作者:叶云花(1968—),女,江西师范大学高级工程师,学士。

E-mail: yeyunhua373@sohu.com

收稿日期:2019-09-04

传统发酵工艺中的洗曲仅洗掉了豆豉表面曲霉菌分生孢子和菌丝体,而基质菌丝可能继续生长引起返霜。经前期预试验模拟货架期豆豉储存条件(温度约为 20 ℃,相对湿度约为 50%),大约贮藏 90 d 时豆豉开始出现返霜;而通过恒温恒湿培养箱(温度 37 ℃,相对湿度 75%)进行加速返霜寿命试验,第 5 天就开始出现明显的返霜,且两者最终返霜豆豉在感官评价上是一致的。返霜后豆豉色泽上,表面由褐色变成白色,出现霜状颗粒;气味上,出现不符合豆豉香气的异味;黏度上,由外表微湿润不粘手转变为表面干燥或粘手。返霜极大地影响了外观,也会使消费者对返霜豆豉的营养安全性产生质疑。曾小飞^[9]对返霜后豆豉表面白色物质进行涂布培养,发现细菌为引起豆豉返霜的主要微生物,其次为酵母菌和霉菌。但目前未见关于豆豉在返霜过程中基本营养成分和返霜前后微生物多样性差异的相关报道。

试验拟以豆豉为研究对象,对贮藏 0,3,6,9,12,15,18,21 d 的豆豉进行取样测定水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、总糖、还原糖、总酸、氨基态氮含量,研究其基本成分变化规律;前期预试验测得贮藏前 3 d 豆豉的氨基酸含量变化不大,综合考虑选取贮藏 0,6,15,21 d 的豆豉进行氨基酸组成的测定,通过氨基酸评分对豆豉的蛋白质营养价值进行评价;通过 Illumina Miseq 测序分析豆豉返霜前后微生物群落多样性差异,为豆豉的加工储藏以及食用安全性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

干豆豉(未添加面粉发酵):利用沪酿 3.042 米曲霉发酵制成,南昌稻香园调味品有限公司;

硫酸钾、五合水硫酸铜、氢氧化钠、浓硫酸、石油醚(沸程 30~60 ℃)、甲醛溶液:天津市大茂化学试剂有限公司;

葡萄糖:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

DNS 试剂:北京索莱宝生物科技有限公司;

各试剂如无特别说明均为分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

高速中药粉碎机:DFY-500 型,温岭市林大机械有限公司;

恒温恒湿培养箱:LRHS-200-A 型,山东博科生物产业有限公司;

红外智能消化炉:SKD-08S2 型,上海沛欧分析仪器有限公司;

自动凯氏定氮仪:SKD-800 型,上海沛欧分析仪器有限公司;

限公司;

电子分析天平:FA1104N 型,上海丙林电子科技有限公司;

多参数测试仪:S220 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

紫外分光光度计:N-2000 型,日本日立公司;

氨基酸分析仪:L-8900 型,日本 Hitach 公司;

PCR 仪:GeneAmp® 9700 型,美国爱普拜斯公司。

1.2 方法

1.2.1 样品的制备 将适量豆豉样品平铺于 37 ℃,湿度 75% 的恒温恒湿培养箱中进行返霜。前期预试验结果显示,从第 5 天开始豆豉表面长出白斑,出现返霜现象,第 20 天 90% 以上豆豉都出现返霜,因此选取试验周期为 21 d,从 0 d 开始每隔 3 d 取一次样,共取样 8 次,取样时采取五点取样法进行取样后真空包装,于 -80 ℃ 冻存备用。测定各理化指标时,将豆豉粉碎至无肉眼可见颗粒后进行测定。

1.2.2 水分及灰分百分比的测定 参照 GB 5009.3—2016 中的直接干燥法测定豆豉中水分百分比。参照 GB 5009.4—2016 测定豆豉中灰分百分比。

1.2.3 粗蛋白及粗脂肪百分比的测定 粗蛋白含量测定使用凯氏定氮法,具体操作参照 GB 5009.5—2016;粗脂肪含量测定使用索氏抽提法,称取充分粉碎混匀后的试样 3.500 g,移入滤纸筒中进行索氏抽提,具体操作参照 GB 5009.6—2016,以上试验重复 3 次。

1.2.4 总酸和氨基态氮含量的测定 总酸含量测定使用 pH 电位法,具体参照 GB/T 12456—2008;氨基态氮含量测定使用甲醛滴定法,具体操作参照 GB 5009.235—2016,试验重复 3 次。

1.2.5 还原糖和总糖含量的测定 参照文献^[10]。

1.2.6 氨基酸含量分析

(1) 氨基酸含量测定:称取粉碎均匀的豆豉粉末 0.5 g,加入 8% TCA 溶液,充分混匀后 47 ℃ 超声提取 1 h,20 000 r/min 离心 30 min,取 5 mL 上清液用 8% 的 TCA 溶液定容后,20 000 r/min 离心 30 min,取 2 mL 滤液,蒸干后加入 2 mL 6 mol/L 盐酸溶液,抽真空后置于 110 ℃ 的环境中水解 24 h,过滤后蒸干,加入 2 mL 0.02 mol/L 盐酸溶液溶解,用活性炭柱对溶液脱色后再经 0.22 μm 滤膜过滤后上机测定^[11-12]。

(2) 营养评价:将所测得的豆豉中必需氨基酸含量换算成每克蛋白质中含氨基酸的毫克数,按式(1)、(2)计算氨基酸评分(AAS)和必需氨基酸指数(EAAI)^[13]。

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{m_1 \text{ 赖氨酸}}{m_2 \text{ 赖氨酸}} \times 100 \times \frac{m_1 \text{ 苏氨酸}}{m_2 \text{ 苏氨酸}} \times 100 \times \dots \times \frac{m_1 \text{ 组氨酸}}{m_2 \text{ 组氨酸}} \times 100}, \quad (1)$$

式中:

n ——比较的氨基酸数;

m_1 ——试验蛋白质的氨基酸含量, mg/g;

m_2 ——鸡蛋蛋白质的氨基酸含量, mg/g。

$$AAS = \frac{m_3}{m_4}, \quad (2)$$

式中:

m_3 ——试验蛋白质的氨基酸含量, mg/g;

m_4 ——FAO/WHO 模式中氨基酸含量, mg/g。

1.2.7 微生物分析

(1) DNA 抽提和 PCR 扩增: 总 DNA 抽提通过使用 E.Z.N.A.[®] soil 试剂盒进行, 使用微量紫外分光光度计检测抽提出的 DNA 浓度和纯度, 同时对 DNA 提取质量进行检测; 细菌采用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAG-CAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物对 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 真菌基因组 DNA 采用真菌通用引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCT-TCATCGATGC-3'), 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 μ L, 4 μ L 5 \times FastPfu 缓冲液, 2 μ L 2.5 mmol dNTPs, 0.8 μ L

5 μ mol 引物, 0.4 μ L FastPfu 聚合酶; 10 ng DNA 模板。

(2) Miseq 高通量测序: PCR 产物通过 2% 琼脂糖凝胶回收, 利用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒 (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测并利用 QuantiFluor[™]-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega, USA) 进行检测定量后根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE 2 \times 300 的文库后进行测序。

(3) 生物信息分析: 基于上海美吉生物医药科技有限公司旗下 I-Sanger 生信云平台 (<https://www.isanger.com/index.html>) 进行所有的生物信息分析。

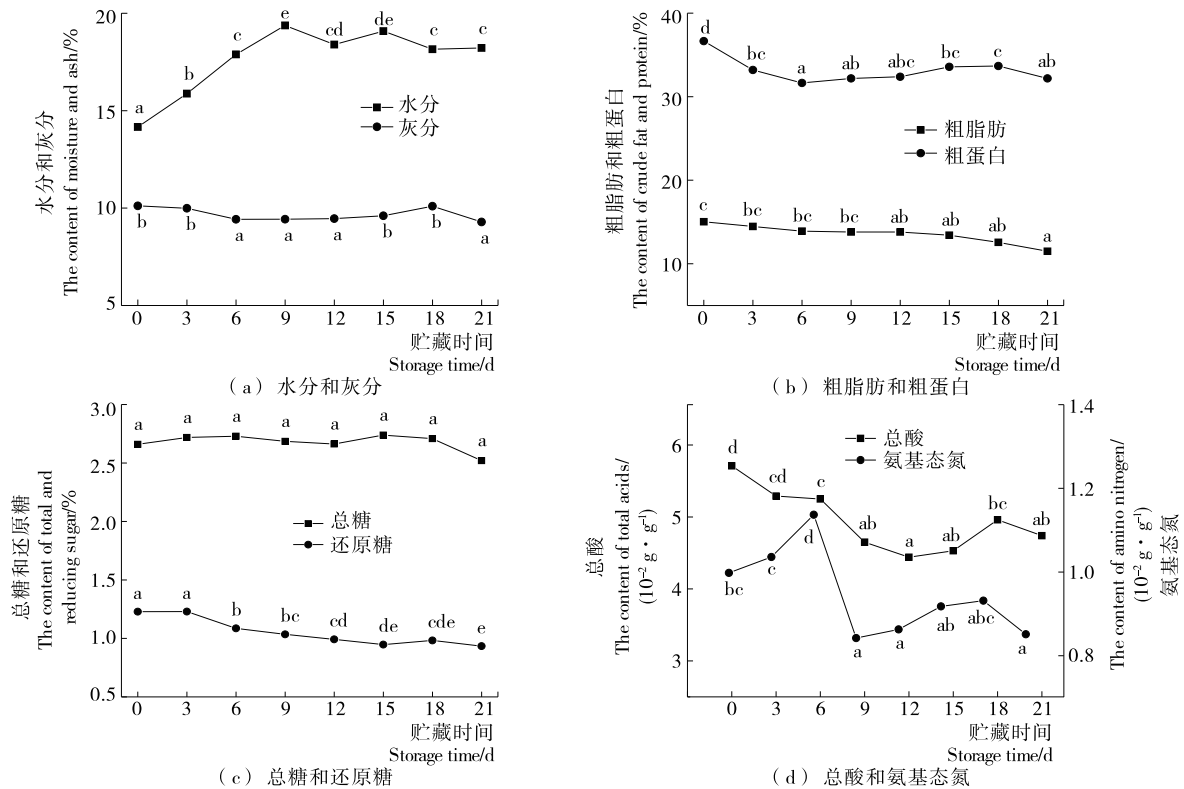
1.3 数据处理

所有试验均重复 3 遍, 采用 Origin 8.6 进行作图, SPSS 22.0 软件分析数据间的显著性差异, $P < 0.05$ 则认为样品间具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 返霜过程中基本理化特性变化

返霜过程中豆豉水分和灰分的含量变化如图 1(a) 所示, 在试验范围内豆豉水分含量呈现先上升后逐渐稳定的趋势, 在第 9 天达到最大值 (19.38%)。贮藏 9 d 后豆



字母不同表示组间具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 1 豆豉返霜过程中基本理化特性的变化

Figure 1 Changes in physicochemical properties during the progression of efflorescence on the surface of Douchi

豉水分含量略有下降,但基本保持稳定,可能与微生物在代谢过程中消耗了水分和产生的生物热有关^[14]。豆豉在贮藏过程中灰分含量变化较小,可能是因为在返霜过程中,微生物代谢产物积累的程度略有不同^[10]。

返霜过程中豆豉粗脂肪和粗蛋白的含量变化如图 1(b)所示,在试验范围内豆豉的粗脂肪含量逐渐下降,第 21 天时粗脂肪含量由最初的 15.01%降至 11.48%。粗蛋白含量也整体呈下降趋势且前 6 d 变化显著,之后粗蛋白含量为 32.18%~33.67%。蛋白质含量整体下降的原因可能是返霜过程中微生物代谢产生相关的酶,将蛋白质分解为氨基酸供自身代谢所用。

由图 1(c)可知,在试验范围内豆豉各阶段的总糖含量都无显著性差异。这是因为出厂前的灭酶处理使糖化酶失活,抑制了淀粉的分解。还原糖含量在返霜期间呈下降趋势,到第 21 天时由最初的 1.23%降至 0.93%,这是由微生物代谢导致的^[10]。

返霜过程中豆豉总酸和游离氨基态氮含量变化如图 1(d)所示,在返霜前期豆豉的总酸含量降低,是由于培养湿度过大,豆豉吸收空气中水分导致本身水分含量升高,酸度下降。贮藏 12~21 d 时酸度略有升高,可能是微生物代谢产生了有机酸。贮藏 0~6 d 时豆豉中氨基态

氮含量上升,与粗蛋白含量变化趋势相反,说明蛋白质不断被微生物分解为氨基酸。

2.2 氨基酸含量分析

由表 1 可知,除色氨酸未测定外(由于测定氨基酸含量时采用酸水解法,会破坏色氨酸),共检测到 17 种氨基酸。返霜过程中豆豉的氨基酸含量为 229.624~251.379 mg/g。其中必需氨基酸总量由第 0 天的 97.19 mg/g 降低至第 21 天的 88.21 mg/g,非必需氨基酸由 154.19 mg/g 减少至 141.42 mg/g。但是,必需氨基酸占总氨基酸的比例(EAA/TAA)以及非必需氨基酸占总氨基酸的比例(EAA/TAA)均变化不大,说明豆豉返霜过程中各氨基酸含量均匀减少。贮藏 21 d 时豆豉中鲜味氨基酸(Asp、Thr、Ser、Glu、Gly、Ala)和苦味氨基酸占总氨基酸的比例相比于 0 d 时均变化不大。贮藏 15 d 时各氨基酸含量有所回升,可能是后期微生物分解蛋白质产生氨基酸的含量大于其代谢所消耗的氨基酸含量。

2.3 必需氨基酸组成评价

食物蛋白质的营养价值评价,不仅要考虑其必需氨基酸含量,同时还要考虑必需氨基酸之间的比例要与人体必需氨基酸含量模式是否接近^[15]。由表 2 可知,未返霜豆豉中亮氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸含量高于FAO/WHO

表 1 豆豉储存过程中不同样品氨基酸含量的变化[†]

Table 1 Changes in total amino acid content of Douchi

mg/g

储存时间/d	Asp	Thr*	Ser	Glu	Gly	Ala	Cys*	Val*	Met*	Ile*	Leu*
0	32.67	10.81	13.05	51.88	9.58	10.02	0.82	14.17	2.88	12.78	23.97
6	30.83	10.21	12.27	47.87	9.01	9.80	0.82	13.57	2.88	12.21	22.73
15	31.63	10.51	12.62	49.29	9.12	10.02	0.82	13.97	2.88	12.55	23.41
21	30.14	10.00	12.10	47.10	8.61	9.45	0.72	12.98	2.62	11.65	21.94
储存时间/d	Tyr*	Phe*	Lys*	His	Arg	Pro	鲜味	苦味	EAA	NEAA	总量
0	7.99	13.38	13.71	5.48	14.99	13.20	128.01	106.47	97.19	154.19	251.38
6	7.83	12.79	12.94	5.07	14.21	12.71	119.99	101.35	92.41	145.36	237.76
15	7.83	12.94	13.07	5.21	14.67	12.81	123.20	103.65	94.54	148.82	243.36
21	7.34	12.06	12.30	4.66	13.74	12.23	117.40	96.66	88.21	141.42	229.62

† “*”代表必需氨基酸,“EAA”代表必需氨基酸含量,“NEAA”代表非必需氨基酸含量,“TAA”代表总氨基酸含量。

表 2 返霜过程中豆豉必需氨基酸组成变化

Table 2 Changes in essential amino acid composition of Douchi

贮藏时 间/d	Thr/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Val/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Met+Cys/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Ile/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Leu/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Phe+Tyr/ (mg · g ⁻¹ · Pro)	Lys/ (mg · g ⁻¹ · Pro)
0	32.27	42.28	11.06	38.13	71.54	63.78	40.90
6	30.46	40.50	11.06	36.45	67.83	61.54	38.61
15	31.36	41.69	11.06	37.46	69.85	61.98	38.99
21	29.85	38.73	9.97	34.76	65.47	57.89	36.70
FAO/WHO	40.00	50.00	35.00	40.00	70.00	60.00	55.00

模式,其余必需氨基酸含量均低于FAO/WHO模式。贮藏6,15,21 d的豆豉中所有必需氨基酸含量均低于FAO/WHO模式,且均低于贮藏0 d时的,说明返霜会导致豆豉中各必需氨基酸的流失,与氨基酸含量变化的结果一致。

氨基酸评分越高,其蛋白质营养价值越高,当氨基酸

评分越接近100,说明其蛋白质氨基酸组成与FAO/WHO模式氨基酸组成一致^[15-16]。由表3可知,豆豉在返霜过程中第一限制氨基酸为甲硫氨酸+半胱氨酸,第二限制氨基酸为赖氨酸。氨基酸评分最高的是苯丙氨酸+酪氨酸,贮藏0,9,15,21 d的必需氨基酸指数(EAAI)分别为77.47,74.33,75.69,70.32。

表3 返霜过程中豆豉氨基酸评分表
Table 3 Amino acid scores of Douchi

贮藏时间/d	Thr	Val	Met+Cys	Ile	Leu	Phe+Tyr	Lys	EAAI
0	80.66	84.55	31.61	95.33	102.20	106.30	74.37	77.47
6	76.14	81.00	31.61	91.12	96.90	102.57	70.20	74.33
15	78.40	83.37	31.61	93.65	99.79	103.30	70.89	75.69
21	74.63	77.46	28.49	86.90	93.53	96.48	66.72	70.32

2.4 返霜前后微生物组成差异分析

2.4.1 OTU及其丰度分析 为研究各样本的物种组成,对所有样本的有效Tags,以97%的一致性进行可操作分类单元(Operational Taxonomic Units,OTUs)聚类,然后对OTUs的代表序列进行物种注释。贮藏0 d豆豉样品(Y)与贮藏21 d后的返霜豆豉样品(F)共得到细菌及真菌的有效序列分别为112 334,142 460个,经聚类分析后得到返霜前后细菌OTUs分别是365和267,真菌OTUs分别是122和111。由图2可知,返霜前后豆豉细菌共有OTU数为226个,约占总OTU数的35.76%;而真菌共有OTU数为41个,占总OTU数的17.60%。后续数据分析,以最小样本序列数对原始OTU数据进行抽平后再进行分析。

稀释曲线趋于平缓,说明测序数据量合理,再增加测序量已不太可能检测到新的微生物种属,同时微生物的多样性已经不再有显著变化^[17]。由图3可知,无论是细菌还是真菌样品的稀释曲线随测序数据量的增加,逐渐趋于平缓,说明本次测序数据量合理。

2.4.2 返霜前后微生物多样性变化 返霜前后豆豉样品微生物多样性系数如表4所示。返霜后,细菌的Sobs、Chao、Ace和Shannon指数均低于原样,说明随着返霜的进行豆豉样品的细菌物种丰富度降低;真菌Ace、Chao、

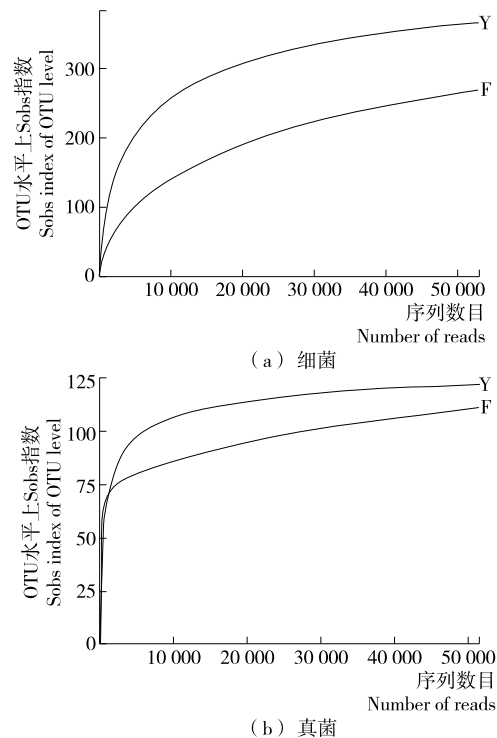


图3 细菌和真菌稀释曲线图
Figure 3 Rarefaction curve of bacteria and fungi

Shannon指数增加以及Simpson指数的减少,说明返霜后豆豉的真菌物种丰富度增加。

2.4.3 物种注释 由图4(a)可知,返霜前后豆豉样品中细菌主要由厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)组成,且返霜后拟杆菌门比例下降。由图5(a)、(b)可知,返霜后芽孢杆菌属(*Bacillus*)占比由68.95%增加至85.54%,还含有0.04%的乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、0.24%的埃希氏菌—志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、0.50%的 *unclassified_f_Peptostreptococcaceae*、5.46%的 *Lentibacillus* 以及4.82%

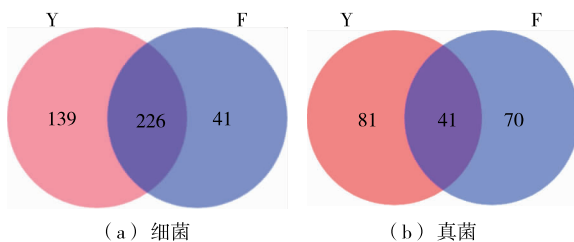


图2 豆豉返霜前后细菌和真菌OTU数目的差异
Figure 2 The OTUs changes of bacteria and fungi of Douchi

表 4 返霜前后豆豉 OTU 水平 Alpha 多样性统计表
Table 4 Alpha diversity statistics of Douchi on OTU level

样品	Sobs 指数		Shannon 指数		Simpson 指数		Ace 指数		Chao 指数	
	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌
原样	365	122	1.92	2.33	0.46	0.24	392.11	126.61	389.64	124.63
返霜样	267	111	1.14	3.58	0.62	0.05	331.74	154.41	335.05	132.11

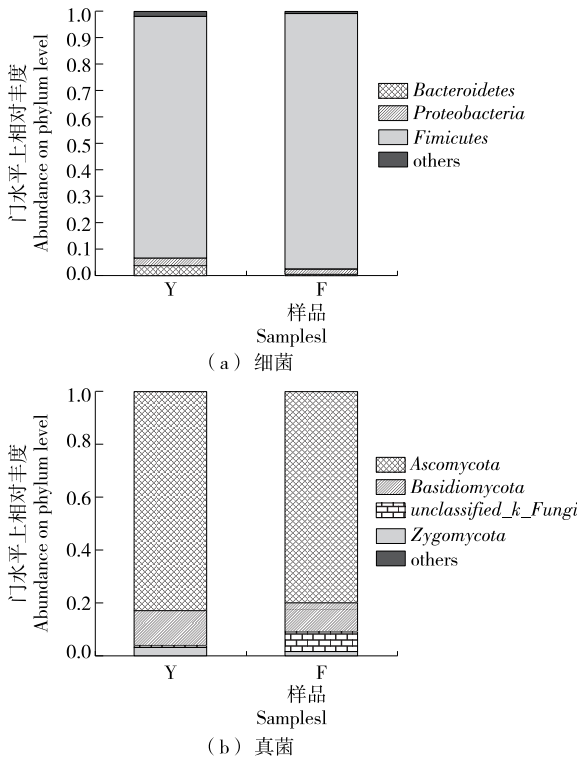


图 4 返霜前后豆豉细菌和真菌门的水平分布柱形图
Figure 4 Relative abundance columnar chart of bacteria and fungi on phylum-level of Douchi

的 others(others 代表丰度小于 0.01 的菌属集合,可以忽略不计)。相比于返霜前,除 *norank_f_Bacillaceae* 占比基本没有变化外,其他细菌含量占比均降低,说明返霜有利于芽孢杆菌属微生物的繁殖且芽孢杆菌属在返霜前后均占绝对优势。

由图 4(b)可知,豆豉真菌组成主要为子囊菌门(*Ascomycota*)、接合菌门(*Zygomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)、Uclassified_k_Fungi,返霜后 Uclassified_k_Fungi 比例上升而担子菌门比例下降。由图 5(c)、(d)可知,曲霉属(*Aspergillus*)变化最大,其占比由 66.28%下降至 25.40%。返霜前豆豉真菌组成主要是曲霉属、毛孢子菌属(*Trichosporon*)、Unclassified_f_norank、隐球菌属(*Cryptococcus*)、根霉属(*Rhizomucor*)、横梗霉属(*Lichtheimia*)以及 others 等。返霜后含量 >5% 的真菌除了曲霉属外还有热子囊菌属(*Thermoascus*)、Unclasi-

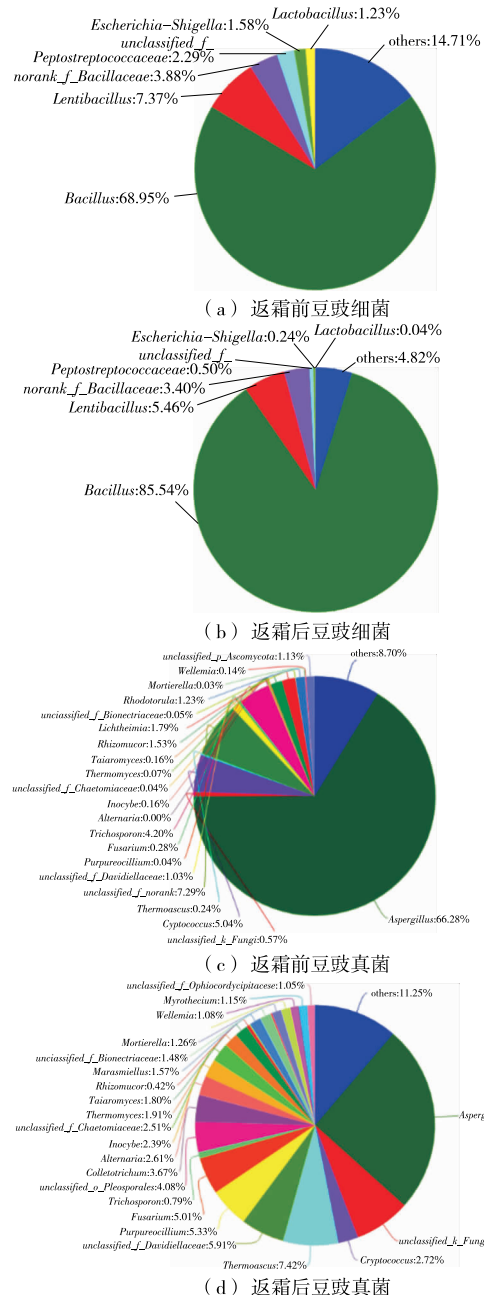


图 5 返霜前后豆豉细菌和真菌属的水平分布饼图
Figure 5 Relative abundance pie chart of bacteria and fungi on Genus level of Douchi

fied_f_Davidiellaceae、Unclassified_f_Fungi、Purpureocillium、镰孢菌属(*Fusarium*)。返霜后豆豉样品出

现镰孢菌属、炭疽菌属(*Colletotrichum*)、链格孢属(*Alternaria*)等植物病原菌,存在一定的食品安全问题。镰孢菌属是一类包含许多强破坏性的植物致病真菌且分布广泛的丝状真菌,大都能够产生一些有毒的次生代谢产物,其中真菌毒素就是一种对脊椎动物有毒害作用的次生代谢产物^[18]。链格孢属真菌是一类在许多果蔬中均有报道的优势潜伏侵染菌,能够引起果蔬腐烂,同时还是一种条件致病菌能够引起角膜炎、口腔溃疡、哮喘、皮肤链格孢病等多种疾病^[19]。

3 结论

试验结果表明,返霜过程中豆豉的基本营养成分不断流失。返霜后豆豉蛋白质营养价值降低,细菌物种丰富度减少而真菌物种丰富度增加,且出现植物病原属如镰孢菌属、炭疽菌属、链格孢属等。因此,豆豉在贮藏过程中应尽可能避免高温、阳光直射以及潮湿的环境,同时可以考虑采用真空包装以及充入惰性气体的包装方式。试验虽对豆豉返霜过程中各理化指标、氨基酸含量变化和返霜前后微生物多样性差异进行了研究,但豆豉营养成分与微生物多样性变化之间的相关性,尤其是与优势微生物变化的相关性还有待进一步研究,有效抑制返霜的方法也有待探索。

参考文献

- [1] 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): 30-32.
- [2] WANG Li-jun, LI Dong, ZOU Lei. Antioxidative activity of Douchi (A Chinese traditional salt-fermented soybean food) extracts during its processing[J]. International Journal of Food Properties, 2007, 2(10): 385-396.
- [3] WANG Dong, WANG Li-jun, ZHU Feng-xue, et al. *In vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (A traditional Chinese salt-fermented soybean food)[J]. Food Chemistry, 2008, 107(4): 1 421-1 428.
- [4] CHEN Jing, CHENG Yong-qiang, YAMAKI K, et al. Anti- α -glucosidase activity of Chinese traditionally fermented soybean (Douchi)[J]. Food Chemistry, 2007, 103(4): 1 091-1 096.
- [5] ZHANG Jian-hua, TATSUMI E, DING Chang-he, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in Douchi, a Chinese traditional fermented soybean product [J]. Food Chemistry, 2006, 98(3): 551-557.
- [6] LI Feng-juan, YIN Li-jun, LU Xin, 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]. International Journal of Food Properties, 2010, 3(13): 512-524.
- [7] WANG Hui, LI Yong-yu, CHENG Yong-qiang, et al. Effect of the maillard reaction on angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of Douchi during fermentation[J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(1): 297-301.
- [8] 邹磊, 汪立君, 程永强, 等. 豆豉提取物对乙酰胆碱酯酶的抑制能力[J]. 食品科学, 2006(3): 87-90.
- [9] 曾小飞. 豆豉系列产品开发与关键技术研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2011: 26-27.
- [10] 苏现波, 尚会霞. 不同厂家豆豉理化指标及降血压 ACE 抑制活性的测定与评价[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2016(11): 182-188.
- [11] 武俊瑞, 顾采东, 田甜, 等. 豆酱自然发酵过程中蛋白质和氨基酸的变化规律[J]. 食品科学, 2017(8): 139-144.
- [12] 索化夷, 赵欣, 骞宇, 等. 永川豆豉发酵过程中总糖和氨基酸变化与滋味的形成[J]. 食品科学, 2015(21): 100-104.
- [13] 张璐, 蒲彪, 陈安均, 等. 阿坝大骨节病区青稞中蛋白质营养价值评价[J]. 食品科学, 2013(23): 296-299.
- [14] 周绪霞, 徐潇颖, 韩晓, 等. 真菌固态发酵鱼糜过程中蛋白酶活及生化指标的动态变化[J]. 中国食品学报, 2014(2): 277-282.
- [15] 白露露, 胡文忠, 刘程惠, 等. 不同口味辣椒酱中氨基酸组成分析及营养评价[J]. 食品工业科技, 2014(22): 349-353.
- [16] 张丙青, 陈健. 黑虎掌菌营养成分的测定与评价[J]. 食品科学, 2011(9): 299-302.
- [17] ZHANG Wei-bing, LUO Qiao-qiao, ZHU Yan, et al. Microbial diversity in two traditional bacterial douchi from Gansu province in northwest China using Illumina sequencing[J]. PLoS One, 2018, 13(3): e194876.
- [18] 张晓伟, 张栋. 镰孢菌属真菌次生代谢产物的研究进展[J]. 植物生理学报, 2013, 49(3): 201-216.
- [19] 马腾飞. 上海市进口水果市场病害的检测与病原真菌的鉴定[D]. 上海: 华东师范大学, 2009: 4-5.