

## 酱香风味传统发酵食品中微生物与风味形成的相关性

董玺梅<sup>1</sup>, 阮志强<sup>1</sup>, 蒋雪薇<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>长沙理工大学食品与生物工程学院 长沙 410114

<sup>2</sup>湖南省调味品发酵工程技术研究中心 长沙 410600)

**摘要** 酱香风味传统发酵食品的风味物质构成复杂,涉及微生物种类及其代谢途径繁多,而发酵过程中微生物的演替对其特征风味的形成及质量安全影响显著,阐释微生物与风味物质形成的相关性,有利于明晰酱香风味发酵食品品质变化的影响因素。本文综述几种典型酱香风味传统发酵食品中微生物多样性及其演替规律,以及对酱香特征风味形成的影响,为酱香风味传统发酵食品品质提升提供理论参考。

**关键词** 酱香风味传统发酵食品; 微生物多样性; 微生物演替规律; 特征风味

**文章编号** 1009-7848(2022)07-0397-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.039

传统发酵食品历史悠久且种类丰富,其中大多数发酵食品已从传统作坊式发酵向工业化生产发展,如酱油、豆酱、食醋、白酒、米酒、泡菜、火腿等。传统发酵食品风味特征各异,包括酱香型、清香型、鲜香型等,这与发酵原料、工艺、微生物等多重因素有关。传统发酵食品多为复杂的微生物菌群混合发酵而成,其特殊风味的形成与微生物菌群利用原料进行复杂的代谢过程密切相关。发酵过程中,复杂的微生物通过各自的代谢作用改变发酵体系的环境而相互影响,微生物菌群结构的动态演替影响物质代谢,从而影响发酵食品的特征风味。合理的优势菌群结构及适宜风味形成的演替过程有利于发酵食品形成良好的风味,紊乱的菌群结构及腐败菌的污染易导致生物胺<sup>[1]</sup>、亚硝酸盐<sup>[2]</sup>等物质的产生,败坏发酵食品的风味,甚至带来食品质量安全问题。由此可见,阐明传统发酵食品中微生物多样性及其演替规律,发现其与风味形成的相关性,有利于复杂菌群发酵的传统食品安全及品质提升。

随着生物化学及分子生物学技术的发展,以及风味物质分析技术的不断更新,高通量测序技术、宏基因组学<sup>[3-4]</sup>、代谢组学技术<sup>[5]</sup>及风味物质的

色谱-质谱联用分析技术<sup>[6]</sup>被广泛应用于传统发酵食品研究中。近年来,许多研究聚焦于传统发酵食品微生物多样性、菌群结构演替规律以及与风味的相关性<sup>[7-12]</sup>,为探明传统发酵食品的风味形成奠定基础。酱香风味是我国传统发酵食品中非常有特色的一类,主要代表是酱油、豆(瓣)酱、豆豉、酱香型白酒等,其风味物质除有传统发酵食品中的苯乙醇、乳酸乙酯、乙酸乙酯等花果香、甜香风味化合物外,还包括愈创木酚、2,5-二甲基吡嗪、糠醛及 HDMF 等典型的酱香风味物质。过去的研究认为酱香风味物质主要由美拉德反应产生,目前研究发现微生物的代谢作用对其形成也有重要影响。本文综述酱油、豆酱及酱香型白酒等酱香风味发酵食品的微生物多样性及其演替规律,以及对其特征风味形成的影响,为酱香风味发酵食品品质进一步提升提供理论依据。

### 1 酱香风味传统发酵食品中的微生物

传统发酵食品酿造微生物包括霉菌、酵母菌及细菌。其中,霉菌为主要发酵微生物,酵母菌及细菌中的大部分微生物为风味菌。这些微生物各具代谢功能,促进了发酵食品风味的形成及品质的提升。

酱油、豆酱、白酒等酱香风味传统发酵食品中主要的霉菌包括米曲霉、红曲霉、毛霉、根霉、青霉等(表 1)。霉菌具有丰富的酶系,能有效分解淀粉及蛋白质原料,一方面,能为其它微生物的生长代

收稿日期: 2021-07-14

基金项目: 湖南省自然科学基金面上项目(2021JJ30700);  
湖南省教育厅重点项目(21A0197)

作者简介: 董玺梅(1996—),女,硕士生

通信作者: 蒋雪薇 E-mail: jxw\_72@sina.com

表1 酱香风味传统发酵食品微生物及其作用

Table 1 Microorganisms and their function in traditional fermentation foods with Jiang-flavor

类别	菌种	相关发酵食品	作用
霉菌	米曲霉	酱油 <sup>[3]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[13-14]</sup>	产淀粉酶、蛋白酶、谷氨酰胺酶、果胶酶等
	红曲霉	豆酱 <sup>[15]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[13]</sup>	产酯酶、糖化酶、红曲色素,提升色泽
	毛霉	豆酱 <sup>[15]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[16]</sup>	产蛋白酶
酵母菌	毕赤酵母	酱油 <sup>[17]</sup> 、豆豉 <sup>[18]</sup> 、豆瓣酱 <sup>[19]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[20]</sup>	降解糖苷键,促进苯乙醇、乙酸乙酯、乙酸苯乙酯的生成
	酿酒酵母	酱香型白酒 <sup>[21]</sup>	产淀粉酶、酸性蛋白酶及 $\beta$ -葡萄糖苷酶产葡萄糖苷酶,有利于淀粉的降解以及后期酒精发酵
	球拟酵母	酱油 <sup>[22]</sup>	产酯酶,提升酯类风味
	汉逊酵母	豆酱 <sup>[23]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[13]</sup>	产葡萄糖苷水解酶、阿拉伯糖苷酶和木糖苷酶,促进香气物质形成
细菌	乳杆菌	豆酱 <sup>[24]</sup> 、豆豉 <sup>[25]</sup> 、豆瓣酱 <sup>[19]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[26]</sup>	产乳酸、柠檬酸、琥珀酸等有机酸
	魏斯氏菌	酱油 <sup>[27]</sup> 、豆豉 <sup>[25]</sup> 、豆瓣酱 <sup>[19]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[26]</sup>	代谢葡萄糖生成乳酸等有机酸,提高酯类、酮类、醛类含量
	芽胞杆菌	酱油 <sup>[27]</sup> 、豆酱 <sup>[28]</sup> 、豆豉 <sup>[25]</sup> 、豆瓣酱 <sup>[19]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[26]</sup>	产蛋白酶、淀粉酶、 $\alpha$ -乙酰乳酸合成酶和 $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶
	葡萄球菌	酱油 <sup>[27]</sup> 、豆酱 <sup>[24]</sup> 、豆瓣酱 <sup>[19]</sup> 、酱香型白酒 <sup>[26]</sup>	产蛋白酶和淀粉酶

谢提供物质基础;另一方面,分解蛋白质产生的氨基酸、多肽以及分解淀粉产生的麦芽糖、葡萄糖等代谢产物,可为发酵食品特征风味的形成奠定基础<sup>[29-30]</sup>。

酵母菌是传统发酵食品酿造过程中重要的微生物,其对发酵食品风味及品质具有重要影响。毕赤酵母、酿酒酵母、球拟酵母、汉逊酵母、假丝酵母等酵母菌在酱油、豆酱及酱香型白酒等酱香风味发酵食品中应用较为广泛(表1)。根据功能差异,可将其分为产醇酵母和产酯酵母两种类别。酿酒酵母是典型的产醇酵母,可分泌淀粉酶、酸性蛋白酶和 $\beta$ -葡萄糖苷酶,有利于后期的酒精发酵及高级醇的生成。球拟酵母属于产酯酵母,能提升发酵食品的香气,主要作用于发酵后期。球拟酵母能分泌酯酶,提升酯类风味,且能将木质素、阿魏酸等中间代谢产物转化成4-乙基苯酚和苯乙醇。此外,在发酵后期,部分酵母菌发生自溶,菌体内核酸类物质释放,有助于提升发酵食品的鲜味<sup>[22]</sup>。

传统发酵食品中细菌种类丰富,包括多种乳酸菌,如乳杆菌、魏斯氏菌、四联球菌,以及葡萄球菌和芽胞杆菌等,广泛存在于酱油、豆酱、豆瓣酱及酱香型白酒等酱香风味发酵食品中,其作用见

表1。乳酸菌能产生乳酸、富马酸、琥珀酸等多种有机酸,为发酵食品增添香气和滋味的同时,还能为发酵体系提供酸性环境,在一定程度上抑制杂菌的污染。葡萄球菌具有较高的蛋白酶和淀粉酶活性,能高效水解蛋白质原料及淀粉质原料产生氨基酸、单糖及寡糖等,影响发酵食品的风味和色泽。芽胞杆菌能分泌多种胞外酶如蛋白酶、淀粉酶等,以及丙酮酸、酒石酸、维生素等代谢产物,此外,芽胞杆菌可以产生吡嗪类物质,赋予发酵食品酱香风味,其中四甲基吡嗪还具有保健功能<sup>[31-32]</sup>。

## 2 酱香风味传统发酵食品风味物质及其形成途径

微生物在发酵食品酿造过程中通过代谢活动降解原料中蛋白质、淀粉、脂质等大分子物质,生成氨基酸、小肽、单糖、寡糖、脂肪酸等,这些物质经进一步的代谢作用,可产生醇类、有机酸、醛类、酮类、酯类、含氮化合物、芳香族化合物等,构成传统发酵食品复杂的风味。

### 2.1 酱香风味传统发酵食品的感官评价

传统发酵食品的风味复杂,仪器及理化检测虽能对其中的各组分进行表征,但无法分析组分

之间的协同作用及其产生的感官刺激,从而无法对发酵食品的风味做出综合评价。感官评价作为许多食品质量标准中的重要内容,是食品综合质量评价的常用方法<sup>[33]</sup>。传统发酵食品的感官评价主要包括色泽、香气、滋味、体态 4 项评分指标。酱油、黄豆酱、酱香型白酒等酱香风味发酵食品的感

官评价如表 2 所示。其中酱油、黄豆酱、威宁豆酱、豆豉酱的滋味感官评分权重最高,均为 40 分,香气评分均为 30 分,两者的总评分达 70 分。从酱香型白酒的风味轮廓描述来看,其香气和滋味的权重也较高。酱香传统发酵食品风味的优劣在很大程度上取决于滋味和香气。

表 2 酱香风味传统发酵食品感官评价

Table 2 Sensory evaluation of traditional fermentation foods with Jiang-flavor

发酵食品种类	香气/分	滋味/分	色泽/分	体态/风格/分
酱油 <sup>[34]</sup>	30	40	20	10
黄豆酱 <sup>[35]</sup>	30	40	20	10
威宁豆酱 <sup>[36]</sup>	30	40	20	10
豆豉酱 <sup>[37]</sup>	30	40	30	-
酱香型白酒 <sup>[38-39]</sup>	酱香突出、优雅细腻、酒体醇厚、回味悠长、空杯留香持久		微黄透明	风格典型

注:\*. 酱香型白酒无评分体系,只有风味轮廓描述。

## 2.2 酱香风味传统发酵食品特征风味的物质基础及其形成途径

传统发酵食品中的糖类、氨基酸、醇类、酯类、酸类、醛类、酚类、吡嗪类、呋喃(酮)类等化合物构成其风味形成的物质基础。这些物质的生成受发酵原料、工艺条件、微生物代谢和美拉德反应的综合影响。传统发酵食品的滋味和香气对整体风味的影响较大,下面阐述滋味和香气相关的风味物质及其形成途径。

传统发酵食品的滋味包括鲜味、甜味、苦味、酸味。鲜味和苦味主要源自鲜味氨基酸和苦味氨基酸,滋味相关的风味物质如表 3 所示。谷氨酸、天冬氨酸和肌苷酸贡献鲜味,缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸提供苦味<sup>[50]</sup>。这些氨基酸主要来源于微生物代谢过程中多肽经氨肽酶分解生成游离氨基酸和小肽,以及转氨酶、脱羧酶、脱氢酶和裂解酶等酶的协同作用下进行的一系列转氨、脱氨以及脱羧反应。甜味主要由淀粉原料分解成的葡萄糖、果糖、麦芽糖等组成。酸味主要由发酵过程中乳酸菌代谢及 TCA 循环产生的各种有机酸组成,包括乳酸、富马酸、苹果酸、柠檬酸等。

传统发酵食品中风味物质各具香气特征(表 3),包括醇香、果香、花香、甜香、焦香、烘烤香、烟熏香,赋予发酵食品独特风味。醇类物质是发酵食品中醇香风味的主要来源,构成酱香型白酒的基

础香气。醇类物质主要来源于米曲霉及酵母菌的代谢作用,包括糖酵解途径、Ehrlich 途径,以及醛类、酮类化合物的氧化反应。此外,醇类物质也是酯类化合物形成的物质基础。酯类化合物是发酵食品中果香、花香及甜香的主要贡献者,也是发酵食品中种类最丰富的一类物质。酯类物质主要由产酯酵母分泌的酯酶催化酸类物质和醇类物质反应生成。部分酯类物质通过醇解反应及非酶促反应生成。部分醇类、酸类、醛类物质也赋予发酵食品果香、花香及甜香。其中苯乙醇具有玫瑰花香,是酱油<sup>[42]</sup>和酱香型白酒<sup>[44]</sup>中的典型香气成分,主要来源于 Ehrlich 途径。苯乙醛具有蜂蜜香气,对发酵食品整体香气具有调和作用,其主要产生途径包括氨基酸的降解及微生物转化。呋喃酮类、吡嗪类及酚类化合物是酱香风味发酵食品中典型的酱香物质。HDMF 和 HEMF 赋予酱油、豆酱及酱香型白酒焦香,主要由鲁氏接合酵母代谢 D-木酮糖-5-磷酸产生。吡嗪类物质具有烘烤香气,主要来源于美拉德反应及微生物代谢过程中氨基酸和糖类反应。吡嗪类物质的前体物质是 2,3-丁二酮,有研究发现芽胞杆菌能产生 2,3-丁二酮,认为芽胞杆菌是吡嗪类物质的主要贡献者<sup>[51,52]</sup>。4-乙烯基愈创木酚、4-乙基愈创木酚、4-乙基苯酚赋予酱油、酱香型白酒烟熏风味,其形成途径包括发酵原料木质素降解,酵母菌分泌脱羧酶,还原酶促进阿魏

表3 酱香风味传统发酵食品的风味物质及其形成途径

评价要素		风味特征		风味物质		形成途径	
滋味	鲜味	来源	风味特征	风味物质	形成途径	来源	风味特征
	鲜味	酱油、豆豉、豆瓣酱、酱香型白酒	谷氨酸、天冬氨酸、肌苷酸	多肽经微生物氨肽酶分解为游离氨基酸;转氨酶、脱羧酶、脱氢酶和裂解酶等酶的协同作用下进行一系列的转氨、脱氨以及脱羧反应 <sup>[40-41]</sup>			
	苦味	酱油、豆豉、豆瓣酱、酱香型白酒	亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸	同上			
	甜味	酱油、豆豉、酱香型白酒	丙氨酸、甘氨酸、色氨酸、赖氨酸、葡萄糖、麦芽糖、果糖	多肽经微生物氨肽酶分解为游离氨基酸;转氨酶、脱羧酶、脱氢酶和裂解酶等酶的协同作用下进行一系列的转氨、脱氨以及脱羧反应 <sup>[40-41]</sup> ;糖酵解途径 <sup>[42]</sup>			
香气	酸味	酱油、豆豉、豆瓣酱	乳酸、乙酸、戊酸、琥珀酸、柠檬酸、富马酸	TCA 循环、乳酸菌代谢 <sup>[43]</sup>			
	醇香	酱油、豆豉、酱香型白酒	乙醇、丙醇、2,3-丁二醇、异丁醇	糖酵解途径 <sup>[42]</sup>			
	果香	酱油、酱香型白酒	辛酸、壬醛、异戊醛	TCA 循环、乳酸菌代谢 <sup>[43]</sup> ;氨基酸降解、微生物转化及美拉德反应 <sup>[43]</sup>			
花香	花香	酱油、豆豉、酱香型白酒	乙酸乙酯、乙酸异戊酯、丁酸乙酯、月桂酸乙酯、癸酸乙酯、辛酸乙酯、2,3-丁二醇	酸类物质和醇类物质的非酶促反应,产酯酵母分泌酯化酶催化的酯化反应、醇解反应 <sup>[34,43]</sup> ;糖酵解途径 <sup>[42]</sup>			
	甜香	酱油、豆豉、酱香型白酒	苯乙醇、苯甲醇、苯乙醛、乙酸苯乙酯	Ehrlich 途径 <sup>[42]</sup> ;氨基酸降解、微生物转化 <sup>[43-44]</sup>			
焦香	焦香	酱油、豆豉、酱香型白酒	乳酸乙酯、苯乙酸乙酯、苯甲酸乙酯、 $\gamma$ -壬内酯、异戊酸、2-甲基丁酸	酸类物质和醇类物质的非酶促反应,产酯酵母分泌酯化酶催化的酯化反应、醇解反应 <sup>[34,43-44]</sup> ;TCA 循环、乳酸菌代谢 <sup>[43]</sup>			
	焦香	酱油、豆豉、酱香型白酒	HDMF、HEMF、糠醛、苯甲醛、糠醇	微生物代谢、美拉德反应 <sup>[45-46]</sup>			
烘烤香	烘烤香	酱油、豆豉、酱香型白酒	2,3,5,6-四甲基吡啶、2,3,5-三甲基吡啶、2-乙基-3,6-二甲基吡啶、2,5-二甲基吡啶、3-甲基丁醇	美拉德反应,微生物代谢过程中氨基酸与糖类反应 <sup>[47]</sup>			
	烟熏香	酱油、豆豉、酱香型白酒	愈创木酚、4-乙炔基愈创木酚、4-乙基愈创木酚、4-乙基苯酚	原料中木质素降解,酵母菌产脱羧酶促进阿魏酸、肉桂酸等的脱羧反应 <sup>[48-49]</sup>			

酸、肉桂酸等有机酸的转化。

传统发酵食品酿造过程中,复杂微生物通过多种代谢途径及生物转化生成一系列风味物质,这些风味化合物各具风味特征,其协同作用构成发酵食品的特殊风味。同时,也反映发酵过程中微生物菌群结构的动态演替与其风味形成密切相关。

### 3 酱香风味传统发酵食品中微生物多样性及其对风味形成的影响

#### 3.1 微生物多样性

传统发酵食品是复杂微生物共同作用的结果,原料中丰富的营养物质以及开放或半开放的发酵环境,共同促成发酵食品中微生物的复杂性和多样性。

不同酱香风味发酵食品的微生物多样性存在差异。Mao 等<sup>[52]</sup>利用变性梯度凝胶电泳(Polymerase chain reaction-denatured gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术研究甜面酱发酵过程中的微生物多样性,结果显示,芽胞杆菌、葡萄球菌及乳酸菌为优势细菌,米曲霉、鲁氏接合酵母、粉状毕赤酵母及康普茶接合酵母(*Zygosaccharomyces kombuchaensis*)为优势真菌。An 等<sup>[24]</sup>以豆酱为研究对象,通过高通量测序得出主要的细菌为四联球菌属、乳酸菌属、芽胞杆菌属及肠球菌属,主要优势真菌为曲霉属、毛霉属及根霉属。Liu 等<sup>[19]</sup>用高通量测序技术解析郫县豆瓣酱发酵过程中的微生物多样性,结果显示,共检测到 36 个属,包括 27 个细菌属,9 个真菌属,其中明串珠菌属、乳酸菌属、魏斯氏菌属及葡萄球菌属为主要的细菌,真菌属以曲霉属、接合酵母属、毕赤酵母属居多。Ito 等<sup>[53]</sup>通过传统培养法揭示酱油中的主要微生物为嗜盐四联球菌、鲁氏接合酵母、埃切假丝酵母及皱状假丝酵母。相对传统培养法,用高通量测序鉴定到的微生物种类多。胡传旺<sup>[54]</sup>通过高通量测序华南地区高盐稀态酱油酿造过程中的微生物多样性,结果显示,所有样品中丰度 $\geq 0.01$ 的细菌属和真菌属的数量均为 15 个,其中,魏斯氏菌属、葡萄球菌属、片球菌属、乳酸菌属、芽胞杆菌属为主要优势细菌,曲霉属、假丝酵母属、接合酵母属为主要优势真菌。与笔者研究的华中地区高盐稀

态酱油酿造过程中微生物群落结构相比,两地区酿造酱油的优势微生物相同,而其丰度存在差异<sup>[55]</sup>;此外,华南地区的微生物组成较华中地区更为丰富<sup>[54]</sup>。这说明地区差异引起的环境变化是导致微生物群落结构不同的主要原因。酱香型白酒中的微生物多样性也是如此。Huang 等<sup>[56]</sup>采用高通量测序技术分析酱香型白酒酿造过程中细菌和真菌的平均 OTU 数分别为 389 和 398,其中主要细菌属为醋酸菌属、乳杆菌属、魏斯氏菌属、明串珠菌属、芽胞杆菌属及高温放线菌属;毕赤酵母属、假丝酵母属、覆膜孢酵母属为优势真菌属;曲霉、青霉等常见霉菌较少,然而随着温度的升高,嗜热真菌属的丰度有所上升。沈毅等<sup>[57]</sup>通过高通量测序发现片球菌属和魏斯氏菌属为酱香型白酒优势细菌,其次为芽胞杆菌属和乳杆菌属。

此外,不同类型的同种发酵食品的微生物菌群结构也存在差异,这可能与发酵工艺及酿造环境有关。Yang 等<sup>[25]</sup>通过高通量测序技术得出江西某公司豆豉发酵过程中细菌和真菌的平均 OTU 数分别为 115 和 22,其中葡萄球菌属和魏斯氏菌属为优势细菌,曲霉属和横梗霉属(*Lichtheimia*)为优势真菌。李薇等<sup>[58]</sup>以永州毛霉型豆豉为研究对象,通过高通量测序技术得出发酵过程中相对丰度 $>5\%$ 的细菌属和真菌属数量分别为 25 个和 17 个,主要细菌为芽胞杆菌属、代尔夫特菌属和根瘤菌属,真菌则以曲霉属、毛霉属、青霉属为主。随着分子生物学技术的发展,微生物多样性研究方法从传统微生物培养技术发展到了 PCR-DGGE 技术,现已发展到高通量测序技术。高通量测序技术是目前的主流表征技术,实现了对环境中 89%~99%不可培养微生物的检测。然而,基于二代测序方法的高通量测序技术只能鉴定到属水平的微生物,且分析结果存在无法分类的微生物。随着微生物多样性研究领域的不断扩大,更高水平、更精准的微生物多样性研究技术将得到发展。另外,微生物多样性与地区、原料、发酵工艺、酿造环境等因素密切相关。以华南地区高盐稀态酿造酱油为例,该地区气候湿润,环境中的微生物多样性丰富,导致该地区酱油酿造微生物较华中地区更为复杂。酱香型白酒采用开放式-半开放式发酵,环境中复杂的微生物导致酿造过程中微生物的多样性。不

同地区酱香型白酒酿造微生物也存在差异,相对其它酱香风味发酵食品而言,酱香型白酒的微生物丰富度较大。此外,高温制曲是酱香型白酒风味形成的重要工序<sup>[59]</sup>,其发酵过程包括芽胞杆菌、高温放线菌等多种嗜热菌。酱油、豆瓣酱等含盐发酵食品的微生物多样性相对较低。豆瓣酱酿造体系的含盐量在8%左右,比高盐稀态酱油酿造体系的含盐量稍低,其微生物群落多样性更为丰富。

### 3.2 微生物群落演替规律及其对风味的影响

传统食品发酵是一个连续过程,微生物在这一过程发生有序演替。复杂的微生物通过代谢作用形成发酵食品丰富的物质构成,改变了发酵体系的环境,最终形成发酵食品的特征风味。

胡传旺<sup>[54]</sup>研究了酱油酿造过程中微生物演替及其对风味轮廓形成的影响,将酱油发酵过程分为乳酸发酵、乙醇发酵及后熟阶段3个阶段。乳酸发酵阶段的微生物以米曲霉和乳酸菌为主,米曲霉通过酶的水解作用降解原料中的蛋白质及淀粉,乳酸菌进一步代谢米曲霉的水解产物产生大量有机酸;发酵体系中酸含量的增加改变了发酵体系的pH值,从而影响微生物的生长及生物酶的活性,同时为后续微生物的代谢作用提供了底物。乙醇发酵阶段温度升高细菌量减少,鲁氏酵母迅速生长成为优势菌,利用还原糖大量积累醇类物质,间接促进了有机酸及酯类物质的产生。发酵后期,酱油发酵体系中微生物结构及其初级代谢产物含量达到动态平衡,耐盐生香酵母菌发挥作用,发酵前期积累的酸和醇发生反应生成酯类物质,这一过程既积累并提高了酱油香气,又降低了酱油中的酸类物质含量,赋予酱油合适的酸感。此外,部分微生物不适应高盐环境而发生自溶,释放出核苷酸、杂环化合物等物质,共同构成酱油的独特风味。

不同发酵食品微生物及其与风味相关性研究结果不尽相同。自然豆酱酿造过程中微生物群落演替相对简单,细菌中的四联球菌属及乳杆菌属为豆酱发酵绝对优势菌。发酵前期,细菌以四联球菌属为绝对优势菌,还包括少量海洋杆菌属、芽胞杆菌属及肠球菌属;真菌以毛霉菌属、根霉菌属和曲霉菌属等为主。发酵中期,乳杆菌的丰度迅速升高,与四联球菌属一起成为绝对优势菌,其它微

生物的丰度大幅度降低,微生物群落结构趋于基本稳定。发酵末期,高耐盐的四联球菌和乳杆菌成为主要微生物,两者相互作用呈现此消彼长的状态。豆酱酿造微生物与风味物质相关性分析表明:发酵前期,霉菌利用其发达的酶系和较强的分解活性,降解原料中的大分子物质形成氨基酸、多糖等物质,酵母菌生成了醇类物质,高丰度的四联球菌通过糖酵解和糖异生途径产生大量乙酸和乙醇,为后期微生物的生长代谢提供物质基础;发酵中后期,肠球菌、乳杆菌、四联球菌与其它微生物的协同作用促进亚油酸乙酯、油酸乙酯等酯类香气物质的生成;此外,芽胞杆菌与A-姜黄烯及6-戊基-2H-吡喃-2-酮呈正相关<sup>[60]</sup>。

高温制曲是酱香型白酒风味形成的重要工序<sup>[58]</sup>。酱香型白酒制曲过程中,大曲首先进入低温培霉阶段,该阶段霉菌大量生长,分泌了丰富的酶系。随着发酵的进行,品温逐渐升高,发酵进入高温阶段,此时,霉菌及酵母菌的生长受到抑制,芽胞杆菌等耐高温细菌逐渐增多。原料中的蛋白质经低温培霉阶段富集的蛋白酶降解成各种氨基酸,为吡嗪类物质的形成提供物质基础;同时,高温加快了微生物的代谢作用及美拉德反应,促进糠醛、呋喃酮类化合物等香气成分的产生及酱香风味的形成<sup>[61-62]</sup>。

综上可知,霉菌、酵母菌、细菌在各类酱香味传统食品发酵过程中形成不同的菌群结构及演替规律,不同发酵阶段的优势菌对物质代谢有较大的影响,并进一步影响发酵食品的整体风味。合理调节发酵过程,形成有利于酱香味物质积累的优势菌群,对发酵食品优良风味的形成具有重要的作用。

## 4 展望

酱香味传统发酵食品风味特征独特,其酿造过程中的微生物组成繁多、微生物群落演替多样、代谢通路复杂。目前,对酱油、豆酱、酱香型白酒等发酵食品酿造过程中的微生物多样性及其与风味物质形成的相关性已开展一些研究,然而,微生物菌群的构成受哪些环境因素(如季节更替、气候变化、地域变化等)的影响尚未系统研究;另外,与风味物质形成相关的优势菌,关键风味物质的

微生物积累机制还需深入研究。基于此,今后可关注以下几个研究方向:1) 运用更精确的微生物多样性表征技术(如第三代测序技术等)探明菌群信息;2)联合运用基因组学、蛋白质组学、转录组学、代谢组学等多组学技术,探明发酵过程中复杂菌群物质代谢的途径及代谢流的方向;3)探明发酵食品菌群结构演替与风味物质形成的互作关系,实现对传统发酵食品酿造过程的智能化精准控制,以生产出更加质优味美的食品。

### 参 考 文 献

- [1] EKICI K, OMER A K. Biogenic amines formation and their importance in fermented foods[J]. BIO Web of Conference, 2020, 17: 00232.
- [2] HUANG T, WU Z, ZHANG Q. Effects of garlic addition on bacterial communities and the conversions of nitrate and nitrite in a simulated pickle fermentation system[J]. Food Control, 2020, 113: 107215.
- [3] JOANITA S, HANMING G, WAIFONG Y, et al. Microbial succession and the functional potential during the fermentation of Chinese soy sauce brine [J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5(3): 556–565.
- [4] BORA S S, KEOT J, DAS S, et al. Metagenomics analysis of microbial communities associated with a traditional rice wine starter culture (*Xaj-pitha*) of Assam[J]. Biotech, 2016, 6(2): 1–13.
- [5] EMILIA P, TILMANN W. Omics and multi-omics approaches to study the biosynthesis of secondary metabolites in microorganisms[J]. Current Opinion in Microbiology, 2018, 45: 109–116.
- [6] WANG S, CHEN H, SUN B. Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS)[J]. Food Chemistry, 2020, 315: 126158.
- [7] NIE Z, ZHENG Y, XIE S, et al. Unraveling the correlation between microbiota succession and metabolite changes in traditional Shanxi aged vinegar [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 9240.
- [8] XIAO Y, XIONG T, PENG Z, et al. Correlation between microbiota and flavours in fermentation of Chinese Sichuan Paocai [J]. Food Research International, 2018, 114: 123–132.
- [9] ZHU Y, ZHANG F, ZHANG C, et al. Dynamic microbial succession of Shanxi aged vinegar and its correlation with flavor metabolites during different stages of acetic acid fermentation[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 8612.
- [10] CAI H, ZHANG T, ZHANG Q, et al. Microbial diversity and chemical analysis of the starters used in traditional Chinese sweet rice wine[J]. Food Microbiology, 2018, 73: 319–326.
- [11] LI Z, RUI J, LI X, et al. Bacterial community succession and metabolite changes during doubanjiang-meju fermentation, a Chinese traditional fermented broad bean (*Vicia faba* L.) paste [J]. Food Chemistry, 2017, 218: 534–542.
- [12] HU Y, ZHANG L, LIU Q, et al. The potential correlation between bacterial diversity and the characteristic volatile flavour of traditional dry sausages from Northeast China[J]. Food Microbiology, 2020, 91: 103505.
- [13] WANG M, YANG J, ZHAO Q, et al. Research progress on flavor compounds and microorganisms of Maotai Flavor Baijiu[J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1): 6–18.
- [14] CHEN B, WU Q, XU Y. Filamentous fungal diversity and community structure associated with the solid state fermentation of Chinese Maotai-flavor liquor[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 179: 80–84.
- [15] JUNG J Y, LEE S H, JEON C O. Microbial community dynamics during fermentation of doenjang-meju, traditional Korean fermented soybean[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 185(1): 112–120.
- [16] 孙剑秋, 刘雯雯, 臧威, 等. 酱香型白酒酒醅中霉菌群落组成与功能酶活性[J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 239–247.
- [17] SUN J Q, LIU W W, ZANG W, et al. Community composition of moulds from fermented grains of maotai-flavor liquor and their enzyme activities[J]. Journal Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 239–247.
- [18] YAO S, ZHOU R, JIN Y. Effect of co-culture with *Tetragenococcus halophilus* on the physiological characterization and transcription profiling of *Zygosaccharomyces rouxii*[J]. Food Research International, 2019, 121(7): 348–358.
- [18] 樊敏, 杨萍, 胡萍, 等. 贵州豆豉耙中微生物多样

- 性研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(3): 81-88.
- FAN M, YANG P, HU P, et al. Microbial diversity in Douchiba from Guizhou [J]. China Brewing, 2019, 38(3): 81-88.
- [19] LIU P, XIANG Q, SUN W J, et al. Correlation between microbial communities and key flavors during postfermentation of *Pixian* broad bean paste [J]. Food Research International, 2020, 137: 10913.
- [20] WU Q, CHEN L Q, XU Y. Yeast community associated with the solid state fermentation of traditional Chinese *Maotai*-flavor liquor [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 166: 323-330.
- [21] WU Q, XU Y, CHEN L. Diversity of yeast species during fermentative process contributing to Chinese *Maotai*-flavour liquor making [J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 55: 301-307.
- [22] FENG J, ZHAN X, WANG D, et al. Identification and analysis of the metabolic functions of a high-salt-tolerant halophilic aromatic yeast *Candida etchellsii* for soy sauce production [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2012, 28: 1451-1458.
- [23] 安飞宇, 姜静, 武俊瑞, 等. 自然发酵豆酱的滋味特性与微生物多样性分析 [J]. 中国食品学报, 2020, 20(7): 207-215.
- AN F Y, JIANG J, WU J R, et al. Analysis of taste characteristics and microbial diversity of naturally fermented soybean paste [J]. Journal Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(7): 207-215.
- [24] AN F, LI M, ZHAO Y, et al. Metatranscriptome-based investigation of flavor-producing core microbiota in different fermentation stages of dajiang, a traditional fermented soybean paste of Northeast China [J]. Food Chemistry, 2021, 343: 128509.
- [25] YANG L, YANG H, TU Z, et al. High-throughput sequencing of microbial community diversity and dynamics during *Douchi* fermentation [J]. Plos One, 2016, 11(12): e168166.
- [26] ZUO Q C, HUANG Y G, GUO M. Evaluation of bacterial diversity during fermentation process: A comparison between handmade and machine-made high-temperature Daqu of *Maotai*-flavor liquor [J]. Annals of Microbiology, 2020, 70(1): 57.
- [27] 胡传旺, 李巧玉, 周朝晖, 等. 酱醪细菌菌株的分离及功能分析 [J]. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1899-1907.
- HU C W, LI Q Y, ZHOU C H, et al. Functional analysis of bacteria isolated from soy sauce moromi [J]. Microbiology China, 2017, 44(8): 1899-1907.
- [28] JUNG W Y, JUNG J Y, LEE H J, et al. Functional characterization of bacterial communities responsible for fermentation of Doenjang: A traditional Korean fermented soybean paste [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 827.
- [29] 包启安. 酱油科学与酿造技术 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 107-127.
- BAO Q. Soy sauce science and brewing technology [M]. Beijing: China Light Industry Press Ltd., 2011: 107-127.
- [30] 马岳. 发酵食品微生物的多样性 [J]. 食品安全导刊, 2017(15): 126-127.
- MA Y. Microbial diversity of fermented foods [J]. China Food Safety Magazine, 2017(15): 126-127.
- [31] HE G, DONG Y, HUANG J, et al. Alteration of microbial community for improving flavor character of Daqu by inoculation with *Bacillus velezensis* and *Bacillus subtilis* [J]. LWT - Food Science and Technology, 2019, 111: 1-8.
- [32] 王和玉, 杨帆, 林琳, 等. 地衣芽孢杆菌固态发酵代谢产物分析 [J]. 酿酒科技, 2011(9): 32-34, 37.
- WANG H Y, YANG F, LIN L, et al. Analysis of the metabolites of *Bacillus licheniformis* by solid fermentation [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2011(9): 32-34, 37.
- [33] 刘兆宏. 食品感官评价技术在山西省食品行业中的应用及前景展望 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2014.
- LIU Z H. Application and prospect of food sensory evaluation technology in food industry in Shanxi Province [D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2014.
- [34] JIANG X, PENG D, ZHANG W, et al. Effect of aroma-producing yeasts in high-salt liquid-state fermentation soy sauce and the biosynthesis pathways of the dominant esters [J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128681.
- [35] 刘丹, 葛予宁, 徐晗, 等. 混菌制曲和酱渣添加对黄豆酱理化指标动态变化的影响 [J]. 中国酿造, 2020, 39(7): 125-130.
- LIU D, GE Y N, XU H, et al. Effects of mixed starter-making and sauce residue addition on the dynamic changes of physical and chemical indexes of soybean paste [J]. China Brewing, 2020, 39(7):



- 125-130.
- [36] 张问平, 黄晓润, 郭娅, 等. 威宁豆酱中主酵菌株的分离与鉴定[J]. 中国酿造, 2019, 38(6): 24-29.  
ZHANG W P, HUANG X R, GUO Y, et al. Isolation and identification of main fermentation strains in Weining soybean paste[J]. China Brewing, 2019, 38(6): 24-29.
- [37] 张倩, 孟凡冰, 熊杨洋, 等. 川味豆豉酱的制备及保藏工艺研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(9): 110-115.  
ZHANG Q, MENG F B, XIONG Y Y, et al. Study on the preparation and preservation technology of Sichuan-flavor fermented soybean paste[J]. China Condiment, 2020, 45(9): 110-115.
- [38] 刘明, 钟其顶, 熊正河, 等. 酒类“风味轮”及在白酒感官描述分析技术上的应用前景[J]. 酿酒, 2011, 38(2): 15-21.  
LIU M, ZHONG Q D, XIONG Z H, et al. The flavour wheel of alcoholic drink and its application prospect in Chinese liquors sensory descriptive analysis[J]. Liquor Making, 2011, 38(2): 15-21.
- [39] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中国国家标准化管理委员会. 酱香型白酒: GB/T 26760-2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011: 1-3.  
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Standardization Administration of the People's Republic of China. Jiang-flavor liquor: GB/T 26760-2011[S]. Beijing: China Standards Press, 2011: 1-3.
- [40] YLVA A. Flavour formation by amino acid catabolism[J]. Biotechnology Advances, 2006, 24: 238-242.
- [41] ZHANG Y F, TAO W Y. Flavor and taste compounds analysis in Chinese solid fermented soy sauce[J]. African J Biotechnol, 2009, 8(4): 673-681.
- [42] ZHAO G Z, DING L L, HADIATULLAHA H, et al. Characterization of the typical fragrant compounds in traditional Chinese-type soy sauce[J]. Food Chemistry, 2020, 312: 126054.
- [43] 冯云子. 高盐稀态酱油关键香气物质的变化规律及形成机理的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.  
FENG Y Z. The evolution and formation mechanism of key aroma compounds during the process of high-salt liquid fermentation soy sauce[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.
- [44] NIU Y W, CHEN X M, XIAO Z B, et al. Characterization of aroma-active compounds in three Chinese Moutai liquors by gas chromatography-olfactometry, gas chromatography-mass spectrometry and sensory evaluation[J]. Natural Product Research, 2016, 31(8): 938-944.
- [45] DZIALO M C, PARK R, STEENSELS, J, et al. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41(1): S95-S128.
- [46] 赵书圣, 范文来, 徐岩, 等. 酱香型白酒生产酒醅中呋喃类物质研究[J]. 中国酿造, 2008(21): 10-13.  
ZHAO S S, FAN W L, XU Y, et al. Study on furans in the fermented grains of sauce-flavor liquor[J]. China Brewing, 2008(21): 10-13.
- [47] MÜLLER R, RAPPERT S. Pyrazines: Occurrence, formation and biodegradation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 85: 1315-1320.
- [48] VANBENEDEN N, GILS F, DELVAUX F, et al. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad 1-activity among brewing yeasts[J]. Food Chemistry, 2008, 107(1): 221-230.
- [49] COGHE S, BENOOT K, DELUAVX F, et al. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: Indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2004, 52(3): 602-608.
- [50] 耿瑞蝶, 王金水. 呈味氨基酸和肽对发酵食品中风味的作用[J]. 中国调味品, 2019, 44(7): 176-183.  
GENG R D, WANG J S. Effect of flavored amino acids and peptides on the flavor of fermented foods[J]. China Condiment, 2019, 44(7): 176-183.
- [51] WANG P, WU Q, JIANG X J, et al. *Bacillus licheniformis* affects the microbial community and metabolic profile in the spontaneous fermentation of Daqu starter for Chinese liquor making[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 250: 59-67.
- [52] MAO P, HU Y L, LIAO T T, et al. Microbial diversity during fermentation of sweet paste, a Chinese traditional seasoning, using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis[J]. J Microbiol Biotech-

- no1, 2017, 27(4): 678–684.
- [53] ITO H, DOU K. Microorganisms of Miso and soy sauce[J]. *Jpn J Food Microbiol*, 1994, 11(3): 151–157.
- [54] 胡传旺. 酱油发酵过程微生物群落解析及功能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.  
HU C W. Dynamics of microbial community during soy sauce fermentation and functional analysis strains isolated from moromi[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [55] 李铃铃, 黄紫璇, 杨潇, 等. 高盐稀态酱醪细菌群落结构季节变化的差异性研究[C]. 中国食品科学技术学会第十八届年会摘要集, 2022: 333–334.  
LI L L, HAUNG Z X, YANG X, et al. Difference analysis of seasonal variation of the bacterial community structure in high-salt liquid-state moromi [C]. Abstracts of the 18<sup>th</sup> Annual Meeting of CIFST, 2022: 333–334.
- [56] HUANG Y H, YI Z L, JIN Y L, et al. New microbial resource: Microbial diversity, function and dynamics in Chinese liquor starter[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14577.
- [57] 沈毅, 陈波, 王西, 等. 酱香型郎酒高温大曲、酒醅和窖泥中细菌群落结构分析[J]. *中国酿造*, 2020, 39(2): 89–93.  
SHEN Y, CHEN B, WANG X, et al. Analysis of bacterial community structure in high temperature Daqu from sauce-flavor Langjiu, fermented grains and pit mud[J]. *China Brewing*, 2020, 39(2): 89–93.
- [58] 李薇, 罗沈斌, 邱泽瑞, 等. 永川毛霉型豆豉传统发酵过程中微生物群落结构及动态演替规律[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23): 60–67.  
LI W, LUO S B, QIU Z R, et al. Microbial community structure and dynamic succession in traditional fermentation of Mucor-type Yongchuan Douchi [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(23): 60–67.
- [59] DENG L, MAO X, LIU D, et al. Comparative analysis of physicochemical properties and microbial composition in high-temperature Daqu with different colors[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 588117.
- [60] 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.  
AN F Y. Metatranscriptome analysis microbial structure and its metabolic function during natural fermentation of soybean paste[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019.
- [61] DAI Y, TIAN Z, MENG W, et al. Microbial diversity and physicochemical characteristics of the *Maotai*-Flavored liquor fermentation process[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, 20(7): 4097–4109.
- [62] JIN Y, LI D, AI M, et al. Correlation between volatile profiles and microbial communities: A metabonomic approach to study Jiang-flavor liquor Daqu[J]. *Food Research International*, 2019, 121: 422–432.

### Correlation between Microbes and Flavor Development in Traditional Fermented Foods with Jiang-flavor

Dong Ximei<sup>1</sup>, Ruan Zhiqiang<sup>1</sup>, Jiang Xuewei<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410114

<sup>2</sup>Hunan Provincial Engineering Technology Research Center for Condiment Fermentation, Changsha 410600

**Abstract** The composition of flavor compounds are complicated in traditional fermentation foods with Jiang-flavor, which involves a variety of microorganisms and metabolism pathways. The succession of microorganisms during fermentation has significant influence on the formation of characteristic flavor and quality safety. Therefore, revealing the relationship between microbes and flavor development is benefit to illustrate the affecting factors of quality change during Jiang-flavored food fermentation process. This paper summarizes the effects of microbial diversity and its succession on the formation of Jiang-flavor in several typical Jiang-flavored traditional fermented foods, which will provide some references for the quality improvement of traditional fermentation foods.

**Keywords** traditional fermentation foods with Jiang-flavor; microbial diversity; succession of microorganisms; characteristic flavor