

传统发酵大豆食品中乳酸菌的分布、功能和应用

梁恒宇, 邓立康, 林海龙

(中粮营养健康研究院生物技术中心, 北京 100020)

摘要: 目前, 在豆酱、酱油、腐乳和豆豉等传统发酵大豆食品中共发现10个属约32种乳酸菌。在发酵豆制品酿造过程中, 乳酸菌具有提升风味、维持色泽、拮抗杂菌、促进酵母生长和提高产品功能性等作用。本文对乳酸菌在传统发酵大豆食品中的分布、功能和应用情况进行了综述。

关键词: 传统发酵大豆食品; 乳酸菌; 分布; 功能; 应用

Distribution, Functions and Applications of Lactic Acid Bacteria in Traditional Fermented Soybean Foods

LIANG Heng-yu, DENG Li-kang, LIN Hai-long

(Biotechnology Center, COFCO Nutrition & Health Research Institute, Beijing 100020, China)

Abstract: Up to now, approximately 32 species of lactic acid bacteria (LAB) belonging to 10 genus were identified in traditionally fermented soybean foods such as soybean paste, soy sauce, sufu and dochi. Lactic acid bacteria play important roles in enhancing flavor, maintaining color, antagonizing harmful bacteria, promoting yeast growth and improving product functionality during fermentation process. In this article, the distribution, function and application of LAB in traditionally fermented soybean foods have been discussed.

Key words: traditional fermented soybean foods; lactic acid bacteria (LAB); distribution; function; application

中图分类号: TS264.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)19-0381-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201319077

随着人们生活水平的提高, 消费者对传统发酵大豆食品的品质越来越关注。发酵大豆食品是指以大豆或大豆制品为发酵基质经微生物作用所形成的产品, 主要包括豆酱、酱油、腐乳和豆豉^[1]。

传统发酵大豆食品风味纯正、独特, 营养丰富, 过去以手工作坊生产为主。这种生产方式存在发酵周期长、安全隐患大、偶然因素多和生产规模小等缺点^[2]。为扩大传统食品生产规模, 稳定和提高产品质量, 必须了解其中微生物的分布规律和功能特性, 然后从中筛选出适合工业发酵的优良菌株。

乳酸菌是能发酵糖类大量生成乳酸的一类革兰氏阳性细菌, 是发酵大豆食品中重要的天然菌群。乳酸菌在发酵食品加工过程中产生的代谢物不仅影响产品的风味、色泽和品质, 而且能抑制腐败微生物(如乳酸、H₂O₂和乳酸菌素等), 从而延长产品保质期^[3]。某些具有益生作用的菌株, 对人体具有一定的保健功能^[1]。随着科学技术和认识水平的提高, 人们对乳酸菌在传统发酵大豆食品中的分布、功能及其应用开展了广泛研究, 取得许多有价值的科研成果, 对稳定和提高产品品质、促进产业发展起到了积极的促进作用。

1 传统发酵大豆食品中乳酸菌的分布

发酵大豆食品含质量分数6%~18%的NaCl, 其中的乳酸菌分嗜盐(halophilic)和耐盐(halotolerant)两大类群: 嗜盐乳酸菌可以在含15g/100mL NaCl的培养液中生长, 一定的NaCl是其生长的必要条件; 而耐盐类群也称非嗜盐类群(non-halophilic), 不能在含15g/100mL NaCl的培养液中生长, NaCl不是其生长的必要条件^[4-5]。在嗜盐类群中嗜盐四联球菌(*Tetragenococcus halophilus*)是日本、韩国、中国及东南亚各国传统发酵豆制品中的优势种^[6-10]; 而非嗜盐类群中肠球菌属(*Enterococcus* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)和片球菌属(*Pediococcus* sp.)的某些种分布较为广泛^[10-15]。

1.1 豆酱

豆酱在日本叫做Miso(味噌), 在韩国则叫做Doenjang。豆酱酿造分为制曲、发酵和后熟3个相互独立又密切关联的阶段。不同类群的微生物分别在不同阶段处于优势地位, 对豆酱品质产生不同的影响^[2]。在制曲阶段, 霉菌和细菌数量较大, 但只有少数乳酸菌可在曲块上生存。在发酵阶段需按适当比例添加一定的NaCl (12%

收稿日期: 2012-09-28

基金项目: 2012年中粮集团应用基础研究项目(2012-C3-P004)

作者简介: 梁恒宇(1980—), 男, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: lianghengyu@cofco.com

左右)进行稀醪发酵。霉菌在高盐缺氧的条件下停止生长,不耐盐杂菌也大量减少。乳酸菌在该阶段逐渐占据优势并发挥作用,一些主要风味前体物质在此时得到积累^[5]。后熟是风味物质形成的关键阶段,时间较长。乳酸等代谢物积累产生的弱酸性环境可促进酵母增殖并生成醇类物质。多数乳酸菌此时生长受到抑制,但如果乳酸片球菌(*P. acidilactici*)、植物乳杆菌(*L. plantarum*)和食果糖乳杆菌(*L. fructivorans*)等耐酸性较强的细菌继续旺盛生长可能对酱的风味造成不利影响^[6]。

Onda等^[6]在日本山梨县产味噌中分离到101株嗜盐四联球菌,在非嗜盐乳酸菌中坚强肠球菌(*E. durans*)246株、屎肠球菌(*E. faecium*)179株、粪肠球菌(*E. faecalis*)54株、戊糖片球菌(*P. pentosus*)65株、乳酸片球菌40株、植物乳杆菌39株、混淆魏斯氏菌(*Weissella confusa*)9株。嗜盐四联球菌从发酵初期的 10^3 CFU/g逐渐增殖到 10^6 CFU/g。非嗜盐乳酸菌的变化较复杂:它们在发酵的第1周适度上升,达到一个峰值后急剧下降,然后从第4周到第6周又迅速增加,二次达到峰值后又逐渐减少。梁恒宇^[10]在国内研究中也发现类似规律。豆酱中非嗜盐乳酸菌这种变化意味着至少两种乳酸菌优势位置的演替^[6]。Onda等^[11]在味噌中分离到乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)GM005,该菌株产生约2.4kD的细菌素能抑制枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、乳酸片球菌和食果糖乳杆菌等可能对产品品质造成不利影响的细菌,而不抑制嗜盐四联球菌。豆酱中广泛分布着可以产细菌素的乳酸菌(如屎肠球菌和坚强肠球菌),但乳球菌十分罕见^[11-12]。日本学者还从味噌中分离出一株高产 γ -氨基丁酸(GABA)的凝乳酶乳杆菌(*L. rennini*)^[13]。

在韩国传统豆酱中除嗜盐四联球菌外,肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)和清酒乳杆菌(*L. sakei*)也在一些产品中占优势^[14]。Yoon等^[15]还从清麴酱中分离到安全的益生性屎肠球菌。

我国近年来也有人在豆酱中分离到一些乳酸菌。梁恒宇^[10]在黑龙江省不同地区产黄豆酱中发现嗜盐四联球菌是优势种,非嗜盐乳酸菌为粪肠球菌、屎肠球菌、坚强肠球菌、鸟肠球菌(*E. avium*)、食果糖乳杆菌、植物乳杆菌、戊糖乳杆菌(*L. pentosus*)、牛粪乳杆菌(*L. vaccinostrercus*)、德氏乳杆菌德氏亚种(*L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*)、丘状乳杆菌(*L. collinoides*)和戊糖片球菌;Zhao Jianxin等^[16]也分离到植物乳杆菌和发酵乳杆菌;贡汉坤^[17]在自酿豆酱中分离出嗜盐四联球菌和德氏乳杆菌;高秀芝等^[18]利用PCR-DGGE法在山东产豆酱中发现乳酸乳球菌、明串珠菌为优势种,而且存在魏斯氏菌属的近缘种;陈浩等^[19]利用构建16S rRNA 基因文库的方法对2份豆酱样品进行分析发现优势乳酸菌为食蜜魏斯氏菌(*W. cibaria*)、混淆魏斯氏菌、类肠膜魏斯氏菌(*W. paramesenteroides*)和嗜盐四联球菌。

1.2 酱油

对酱油中微生物分布的研究有力地促进了行业的发展。酱油生产工艺同豆酱相似,也是用不同微生物协同酿造,但其中乳酸菌种类不如豆酱丰富,这是因为酱油NaCl质量浓度较高(15~18g/100mL)^[14]。

嗜盐四联球菌也是酱油中起主要作用的乳酸菌^[7-9]。Röling等^[7]证明嗜盐四联球菌是印度尼西亚酱油中的优势乳酸菌。在韩国传统酱油中,嗜盐四联球菌约占细菌总数的12.5%,此外发酵乳杆菌(*L. fermentum*)也占一定优势^[14]。Ansah^[20]发现酱油中除优势种嗜盐四联球菌外,乳酸乳球菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*)也有分布。在低盐酱油中经常发现植物乳杆菌和德氏乳杆菌乳酸亚种,这些细菌过旺生长可能导致成品变质^[20]。而谢小保等^[21]发现高盐稀醪酱油发酵原油含肠球菌属、气球菌属(*Aerococcus* sp.)和乳杆菌属的乳酸菌,其中肠球菌(主要是屎肠球菌)和气球菌分别占耐盐细菌总数的58.5%和2.4%。泰国酱油中的嗜盐四联球菌利用L-阿拉伯糖的能力明显有别于中、日两国,耐盐乳酸菌主要是植物乳杆菌、蓓渔乳杆菌(*L. acidipiscis*)、戊糖乳杆菌和香肠乳杆菌(*L. farciminis*)^[22]。

1.3 腐乳

腐乳是我国特有的食品,大体上可分为红、白、青、酱及花色腐乳。大多数腐乳是用豆腐接种真菌进行固态发酵(克东腐乳用藤黄微球菌),然后腌制并配入辅料进行后熟制成的。

许多品牌的腐乳中都能发现较高数量的嗜盐四联球菌和耐盐乳酸菌^[23]。尽管在有些白腐乳上含 10^6 CFU/g的乳酸菌,但并未造成腐败^[24]。有些腐乳中耐盐乳酸菌主要是弯曲乳杆菌(*L. curvatus*)和干酪乳杆菌(*L. casei*)^[25]。Shi等^[26]对比不同后熟阶段自酿腐乳和商品腐乳中菌相发现,前者含有69.6%的肠球菌,而后者仅含6.7%的坚强肠球菌。鲁绯等^[27]从青方腐乳中分离到植物乳杆菌和短小奇异菌(*Atopobium parvulum*)。邹家兴等^[28]对广东省某厂生产腐乳中检测到混淆魏斯氏菌、马肠链球菌(*Streptococcus equinus*)、牛链球菌(*S. bovis*)和屎肠球菌。徐寅等^[29]对8个地区青方腐乳进行分析发现优势乳酸菌包括乳杆菌、乳球菌和肠球菌,其中2株耐酸性最强的菌株经鉴定为植物乳杆菌和屎肠球菌。王夫杰等^[30]从白方腐乳中分离到鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*)和清酒乳杆菌,从青方腐乳中分到植物乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和清酒乳杆菌。

乳酸菌在低盐和高盐腐乳中的生长态势不同。Han等^[24-25]研究发现,在盐含量为8%和11%的红腐乳和白腐乳酿造过程中,乳酸菌从 10^5 CFU/g和 10^6 CFU/g分别降到 10 CFU/g和 10^2 CFU/g。然而在盐和乙醇都为5%的红乳腐和白腐乳中,乳酸菌数在后熟的前30d持续增加并维持在 10^9 CFU/g,说明5%的盐含量不足以抑制乳酸菌的生长。

1.4 豆豉

豆豉是一种将泡透的黄豆或黑豆蒸(煮)熟后加15%~18%的NaCl发酵制成的食品,按发酵剂不同分为毛霉型、曲霉型和细菌型。日本的纳豆和印尼的天培都起源于豆豉。乳酸菌在豆豉生产过程中不是关键微生物,但对其风味具有一定作用。

台湾产黑豆豆豉中屎肠球菌在数量上占优势,这主要是由于许多屎肠球菌可以产生细菌素^[31-32]。此外类肠膜魏斯氏菌只在发酵前14d出现,乳酸片球菌和盐水四联球菌(*T. muriticae*)有少量分布^[32]。对云南省30个豆豉样品研究后发现4属10种49株乳酸菌,包括植物乳杆菌、短乳杆菌、发酵乳杆菌、消化乳杆菌(*L. alimentarius*)、食窦魏斯氏菌、混淆魏斯氏菌、类肠膜魏斯氏菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌和粪肠球菌,并从中筛选出高产GABA的植物乳杆菌^[33-34]。熊骏等^[35]在玉溪市豆豉样品中分离到植物乳杆菌、食窦魏斯氏菌、戊糖片球菌和乳酸片球菌,并从中筛选得到16株具有抑菌活性的菌株,其中植物乳杆菌YM-4-3的抑菌效果最佳。宋园亮等^[36]从云南豆豉中筛选产 β -半乳糖苷酶的短乳杆菌,并对其产酶条件进行研究。

2 乳酸菌在传统发酵大豆食品中的功能

2.1 提升产品风味

嗜盐四联球菌等乳酸菌利用糖生成乳酸等小分子有机酸,进而与酵母产生的醇类生成酯类物质并赋予豆酱独特的香气,掩蔽产品中令人不愉快的霉味和豆腥味^[37]。同时乳酸可掩蔽酱油刺激的咸味,使酱油滋味圆润、醇厚^[38]。耐盐乳酸菌在腐乳和豆豉的发酵过程中起促进风味物质和香气成分形成的作用^[24]。

2.2 维持产品色泽

发酵过程中添加乳酸菌可使酱油色泽更加鲜艳、红亮^[8]。嗜盐四联球菌和肠球菌都有抑制酱体着色并保持其明艳色泽的功能^[12]。不同乳酸菌在发酵过程中的代谢差异会影响产品中糖和氨基酸的组成,进而改变美拉德反应的方式和程度^[38]。而这种非酶促褐变会影响产品色泽。

2.3 拮抗有害杂菌

传统发酵豆制品中广泛分布着乳酸菌素产生菌(如屎肠球菌、坚强肠球菌、植物乳杆菌、乳酸乳球菌),对抑制杂菌和防止腐败起到关键作用^[11-12]。利用产乳酸菌素乳酸菌作为发酵剂符合目前人们天然防腐的要求^[11]。Chen等^[32]发现豆豉中产细菌素屎肠球菌可以抑制许多杂菌的生长。

2.4 促进酵母生长

酱油发酵初始阶段产生的乳酸对酵母菌普遍具有不同程度的拮抗作用^[10]。然而到了后熟阶段,乳酸积累使

酱醪pH值降至4.8左右,使乳酸菌自身生长受到抑制并促进适宜在酸性环境下生长的有益酵母(如鲁氏酵母)的繁殖^[38]。

2.5 乳酸菌的益生功能

许多传统发酵食品中的乳酸菌对人体具有功能性。针对大豆发酵食品中乳酸菌对人体保健作用的研究目前主要有以下四点:

2.5.1 降低血压

Yamakoshi等^[13]用从味噌中分离出的高产GABA凝乳酶乳杆菌生产低盐酱油,并对自发性高血压大鼠进行饲喂,发现富含GABA的低盐酱油可以明显降低大鼠血压。Yoon等^[39]在天培中发现粪肠球菌BRCA-5能产生极强的溶血栓物质,其培养清液的纤维蛋白溶解活力比商业纤溶酶和溶栓酶高出1.5~3.0倍。

2.5.2 吸附有毒物质

利用德氏乳杆菌同寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)共同发酵酱油时,黄曲霉毒素B₁产量明显降低^[40]。这是因为乳酸菌的细胞壁多糖和肽聚糖可以结合黄曲霉毒素B₁^[41]。Rajendran等^[41]从味噌中分离出25株乳酸菌,所有菌株细胞经过冻干处理后均对3-氨基-1,4-二甲基-5H-吡啶[4,3-b]吡啶(Trp-P-1)、3-氨基-1-甲基-5H-吡啶[4,3-b]吡啶(Trp-P-2)、2-氨基-3-甲基-9H-吡啶并[2,3-b]吡啶(MeAaC)和2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶(PhIP)等杂环胺有极强的结合作用,对2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(MeIQ)、2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-f]喹啉(MeIQx)也有结合作用。研究结果还显示乳酸片球菌纯细胞壁和肽聚糖对以上杂环胺的结合能力比整细胞更强。

2.5.3 免疫调节

从酱油中分离到的嗜盐四联球菌Th221在NaCl质量浓度大于10g/100mL的培养基中产白细胞介素-12的能力很强,对实验动物有良好的免疫调节和缓解过敏症状的作用^[42]。

2.5.4 其他益生作用

Yoon等^[15]在韩国清麴酱中发现两株可以耐受胃酸和胆盐的屎肠球菌,能抑制单增李斯特氏菌的生长,可用于生产功能性发酵剂。

2.6 非嗜盐乳酸菌生长失控对产品品质的不利影响

在发酵大豆制品生产过程中较差的环境卫生或工艺控制会导致乳杆菌、片球菌过旺繁殖而大量产酸产气,破坏成品品质^[7]。在低盐腐乳中生长失控的乳酸菌会引起腐败^[24]。许多发酵食品中的乳酸菌(如肠球菌和乳杆菌的某些种株)可以产生生物胺,在发酵豆制品中也检测到了不同含量的生物胺^[43]。低盐条件下(<8g/100mL)生产的酱油容易检测出酪胺和组胺^[43-44]。虽然其中生物胺含量不足以使人产生不良症状,但避免加工过程中乳酸菌生长失控,或选育不产生物胺的乳酸发酵菌株仍是相关研究人员应重视的问题^[44]。

3 乳酸菌在发酵大豆食品中的应用

著名微生物学家方心芳院士指出:不少发酵食品,用多菌种联合发酵才能达到理想的效果^[10]。嗜盐四联球菌是全世界范围内高盐发酵食品(如豆酱、酱油、腌鱼及鱼酱)乳酸发酵的主要菌种^[9]。日本在生产味噌或酱油时一般添加活细胞数为 10^6 CFU/g的嗜盐四联球菌或耐盐乳酸杆菌进行发酵^[37]。Abe等^[45]对嗜盐四联球菌进行诱变,得到即使葡萄糖含量很高仍能优先利用木糖和阿拉伯糖的变异株,以减少戊糖与酱油中的氨基酸发生美拉德反应而褐变,提高了产品色泽和货架期。利用从味噌中分离出的产GABA凝乳酶乳酸杆菌生产降血压低盐酱油已获得成功^[13]。

培养条件对嗜盐四联球菌在酱油乳酸发酵过程中有重要作用。Röling等^[7]发现在含10g/100mL NaCl而葡萄糖受限的培养基中,在30℃连续和黏附厌氧培养,可降低嗜盐四联球菌的生长速率。这很像自然条件下该菌在酱醪中的生长情况。而且因葡萄糖受限导致的生长速率下降,可使嗜盐四联球菌这种典型的同型发酵菌变为异型混合发酵,代谢产物从乳酸变成乙醇、乙酸和甲醛。然而后续研究证明虽然酱醪中葡萄糖含量低导致嗜盐四联球菌生长速率缓慢,但并没有转化为异型混合发酵^[46]。这意味着在酱醪中生长的嗜盐四联球菌并非碳源受限^[47]。

酿造淡色酱油时添加嗜盐四联球菌能使产品色泽稳定,风味浓郁^[8]。将固定化嗜盐四联球菌和酵母菌分别放在分开的发酵罐中对加快酱油生产十分有效。固定化材料可选用多孔氧化铝陶瓷颗粒,灭菌后在减压条件下浸泡在乳酸菌浆液中。料液则是经过压榨后通过0.2μm滤膜加压过滤除去微生物的酱油醪。从反应器底部加入料液,从顶部流出产品,反应器温度控制在(30±0.5)℃。固定化嗜盐四联球菌在酱醪滤液中可以连续进行乳酸发酵80d以上^[48]。

利用Nisin产生菌乳酸乳球菌乳酸亚种(*La. lactis* subsp. *lactis*)IFO12007对含11% NaCl的味噌进行协同发酵,仍能产生6400IU/g的Nisin,完全抑制枯草芽孢杆菌的生长^[49]。12周后pH值趋于稳定并完成成熟,得到优质的产品。利用食品级产细菌素乳酸菌抑制发酵豆制品中腐败细菌和病原菌,为传统发酵食品行业开辟了一个解决微生物污染问题的新途径^[11-12]。

细菌发酵容易污染噬菌体(bacteriophage),造成发酵迟缓或停滞,使企业蒙受巨大损失。Uchida等^[50]从150000株嗜盐四联球菌中筛选出两株噬菌体抗性株,并成功应用于曾爆发四联球菌噬菌体的酱油厂使之未再爆发噬菌体^[51]。

贡汉坤^[17]采用米曲霉101、酱油曲霉302双菌种制曲,前期添加植物乳杆菌710和具有增香作用的鲁氏酵母

638进行发酵,使传统豆酱生产时间缩短2/3,产品质量符合国家标准。

鲁维^[52]利用从青方腐乳中分离到的乳酸菌接种青方腐乳进行乳酸发酵,结果表明乳酸菌对青方腐乳的成熟和风味均有一定的促进作用,改变了腐乳中游离氨基酸的含量和呈味特点,并促进大豆蛋白质的水解,使腐乳的感官品质得到改善。

4 结 语

对于发酵豆制品中微生物种群分布、功能和应用的研究还很少,这在一定程度上限制了我国发酵豆制品行业的发展。作为发酵大豆食品中的重要菌群,乳酸菌在调控复杂菌系、稳定产品质量、提升产品风味和附加保健功能等方面都起着不可替代的作用。这其中嗜盐四联球菌在日本、韩国和东南亚部分国家生产的豆酱和酱油中得到广泛的应用,而在我国相关应用研究仍然较少。

近年越来越多的研究表明,非嗜盐乳酸菌在发酵豆制品中不仅分布广泛,而且对产品品质也有较大影响,很多菌株还具有防腐和益生功能。但是如果非嗜盐乳酸菌中的某些种类生长失控,则会引起胀袋、酸败等质量问题。因此,应该加大对这一类群乳酸菌的研究,以提升产品的功能性和货架期。

研究传统大豆发酵食品,对弘扬我国饮食文化和促进传统食品产业发展都具有积极的现实意义。探索其发酵机理、代谢变化和保健功能,不断深入研究其生产技术,将传统工艺与现代食品加工技术紧密结合起来,正是摆在科研工作者面前的重要课题。

参考文献:

- [1] 范俊峰,李里特,张艳艳,等.传统大豆发酵食品的生理功能[J].食品科学,2005,26(1):250-254.
- [2] 梁恒宇,程建军,马莺.中国传统大豆发酵食品中微生物的分布[J].食品科学,2004,25(11):401-404.
- [3] RHEE S J, LEE J E, LEE C H. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10(1): 1-13.
- [4] MARGESIN R, SCHINNER F. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology[J]. Extremophiles, 2001, 5(2): 73-83.
- [5] CUI Yanhua, QU Xiaojun, LI Haimei, et al. Isolation of halophilic lactic acid bacteria from traditional Chinese fermented soybean paste and assessment of the isolates for industrial potential[J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(5): 797-806.
- [6] ONDA T, YANAGIDA F, UCHIMURA T, et al. Analysis of lactic acid bacterial flora during Miso fermentation[J]. Food Science and Technology Research, 2003, 9(1): 17-24.
- [7] RÖLING W F M, van VERSEVELD H W. Growth, maintenance and fermentation pattern of the salt-tolerant lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophila* in anaerobic glucose limited retention cultures[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of

- General and Molecular Microbiology, 1997, 72(3): 239-243.
- [8] HANAGATA H, SHIDA O, TAKAGI H. Taxonomic homogeneity of a salt-tolerant lactic acid bacteria isolated from shoyu mash[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 2003, 49: 95-100.
- [9] SITDHIPOL J, TANASUPAWAT S, TEPKASIKUL P, et al. Identification and histamine formation of *Tetragenococcus* isolated from Thai fermented food products[J]. Annals of Microbiology, 2012, 52(9): 1-5.
- [10] 梁恒宇. 自然发酵黄豆酱中乳酸菌的分离、鉴定和筛选[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006: 27-39.
- [11] ONDA T, YANAGIDA F, TSUJI M, et al. Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. strain GM005, isolated from Miso-paste[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 87(12): 153-159.
- [12] ONDA T, YANAGIDA F, UCHIMURA T, et al. Widespread distribution of the bacteriocin-producing lactic acid cocci in Miso-paste products[J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 92(4): 695-705.
- [13] YAMAKOSHI J, FUKUDA S, SATOH T. Antihypertensive and natriuretic effects of less-sodium soy sauce containing γ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71(1): 165-173.
- [14] CHO K M, SEO W T. Bacterial diversity in a Korean traditional soybean fermented foods (Doenjang and Ganjang) by 16S rRNA gene sequence analysis[J]. Food Science and Biotechnology, 2007, 16 (2): 320-324.
- [15] YOON M Y, KIM Y J, HWANG H J. Properties and safety aspects of *Enterococcus faecium* strains isolated from Chungkukjang, a fermented soy product[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(5): 925-933.
- [16] ZHAO Jianxin, DAI Xiaojun, LIU Xiaoming, et al. Changes in microbial community during Chinese traditional soybean paste fermentation[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009, 44(12): 2526-2630.
- [17] 贡汉坤. 传统豆酱自然发酵的动态分析及人工接种多菌种发酵分析[D]. 无锡: 江南大学, 2004: 17-21.
- [18] 高秀芝, 王小芬, 李献梅, 等. 传统发酵豆酱发酵过程中养分动态及细菌多样性[J]. 微生物学通报, 2008, 35(5): 748-753.
- [19] 陈浩, 樊游, 陈源源, 等. 传统发酵豆制品中原核微生物的研究[J]. 食品工业科技, 2011(9): 230-232.
- [20] ANSAH H K. Characterization of microorganisms involved in the second stage of soy sauce fermentation (moromi) and studies on the shelf life of soy sauce[D]. Kumasi: Kwame Nkrumah University of Science and Technology, 2011: 52-61.
- [21] 谢小保, 欧阳友生, 曾海燕, 等. 高盐稀醪酱油发酵原液中微生物区系研究[J]. 微生物学通报, 2007, 34(3): 504-507.
- [22] TANASUPAWAT S, THONGSANIT J, OKADA S, et al. Lactic acid bacteria isolated from soy sauce mash in Thailand[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 2002, 48(4): 201-209.
- [23] HAN B Z, ROMBOUITS F M, NOUT M J R. A Chinese fermented soybean food[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 65(12): 1-10.
- [24] HAN B Z, CAO C F, ROMBOUITS F M, et al. Microbial changes during the production of Sufu: a Chinese fermented soybean food[J]. Food Control, 2004, 15(4): 265-270.
- [25] HAN B Z, BEUMER R R, ROMBOUITS F M, et al. Microbiological safety and quality of commercial Sufu: a Chinese fermented soybean food[J]. Food Control, 2001, 12(8): 541-547.
- [26] SHI X R, FUNG D Y C. Control of foodborne pathogens during Sufu fermentation and aging[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, 40(5): 399-425.
- [27] 鲁绯, 张京生, 刘子鹏, 等. 青方腐乳中乳酸菌的分离鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(4): 38-41.
- [28] 邹家兴, 李国基, 耿予欢, 等. 腐乳发酵过程中细菌种群变化的鉴定与分析[J]. 现代食品科技, 2008, 24(5): 424-438.
- [29] 徐寅, 陈霞, 顾瑞霞. 臭豆腐乳酸菌多样性及耐酸乳酸菌的筛选分离[J]. 中国酿造, 2010, 29(2): 22-24.
- [30] 王夫杰, 鲁绯, 渠岩, 等. 腐乳中乳酸菌的分离与鉴定[J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 98-101.
- [31] CHEN Y S, WU H C, LIU C H, et al. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from jiang-sun (fermented bamboo shoots), a traditional fermented food in Taiwan[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90: 1977-1982.
- [32] CHEN Y S, YANAGIDA F, HSU J S. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from dochi (fermented black beans), a traditional fermented food in Taiwan[J]. Letters in Applied Microbiology, 2006, 43(2): 229-235.
- [33] LIU Chenjian, GONG Fuming, LI Xiaoran. Natural populations of lactic acid bacteria in douchi from Yunnan province, China[J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine and Biotechnology), 2012, 13(4): 298-306.
- [34] 龚福明. 云南传统发酵豆豉中乳酸菌多样性及高产 γ -氨基丁酸乳酸菌研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2010.
- [35] 熊骏, 韩瑞娜, 张忠华, 等. 豆豉中高效抑菌活性乳酸菌的筛选及其抑菌研究[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(6): 485-489.
- [36] 宋园亮, 殷建忠, 张忠华, 等. 云南传统发酵豆豉中产 β -半乳糖苷酶乳酸菌的筛选及其产酶条件的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(5): 398-403.
- [37] 刘春风, 刘金霞, 蒋立胜, 等. 传统发酵成熟期豆瓣酱醅中的微生物群落分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(13): 122-126.
- [38] TA Y W, MUN S K, LEE F S. Effect of temperature on moromi fermentation of soy sauce with intermittent aeration[J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(5): 702-706.
- [39] YOON S J, YU M A, SIM G S, et al. Screening and characterization of microorganisms with fibrinolytic activity from fermented foods[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2002, 12(4): 649-656.
- [40] MAING L Y, AYRES J C, KOEHLER P E. Persistence of aflatoxin during the fermentation of soy sauce[J]. Applied Microbiology, 1973, 25(6): 1015-1017.
- [41] RAJENDRAN R, OHTA Y. Binding of heterocyclic amines by lactic acid bacteria from miso, a fermented Japanese food[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1998, 44 (2): 109-115.
- [42] MASUDA S, YAMAGUCHI H, KUROKAWA T, et al. Immunomodulatory effect of halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* Th221 from soy sauce moromi grown in high-salt medium[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 121: 245-252.
- [43] IBE A, TABATA S, SADAMASU Y, et al. Production of tyramine in "Moromi" mash during soy sauce fermentation[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2003, 44(5): 220-226.
- [44] STUTE R, PETRIDIS K, STEINHART H, et al. Biogenic amines in fish and soy sauces[J]. European Food Research and Technology. 2002, 215(2): 101-107.
- [45] ABE K, HIGUCHI T. Selective fermentation of xylose of *Tetragenococcus halophila* defective in phosphoenolpyruvate: mannose phosphofructokinase, and glucokinase[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1998, 62(10): 2062-2064.
- [46] RÖLING W F M, PRASETYO A B, STOUTHAMER A H. Note: Physiological aspects of the growth of the lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophila* during Indonesian soy sauce (kecap) production[J]. Journal of Applied Microbiology, 1999, 86(2): 348-352.
- [47] HIGUCHI T, UCHIDA K, ABE K. Aspartate decarboxylation encoded on the plasmid in the soy sauce lactic acid bacterium, *Tetragenococcus halophila* D10[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1998, 62(8): 1601-1603.
- [48] IWASAKI K I, NAKAJIMA M, SASAHARA H. Rapid continuous lactic acid fermentation by immobilised lactic acid bacteria for soy sauce production[J]. Process Biochemistry, 1994, 28 (1): 39-45.
- [49] KATO T, INUZUKA L, KONDO M, et al. Growth of nisin-producing lactococci in cooked rice supplemented with soybean extract and its application to inhibition of *Bacillus subtilis* in rice miso[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2001, 65(2): 330-337.
- [50] UCHIDA K, KANBE C. Occurrence of bacteriophages lytic for *Pediococcus halophilus*, a halophilic lactic-acid bacterium, in soy sauce fermentation[J]. Journal of General Applied Microbiology, 1993, 39(4): 429-437.
- [51] HIGUCHI T, UCHIDA K, ABE K. Preparation of phage-insensitive strains of *Tetragenococcus halophila* and its application for soy sauce fermentation[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1999, 63(2): 415-417.
- [52] 鲁绯. 乳酸菌在青方腐乳中的应用研究[J]. 中国酿造, 2006, 25(6): 29-32.