

# 陈窖豆豉粬传统工艺剖析及优势菌群鉴定

秦礼康<sup>1,2</sup>, 曾海英<sup>2</sup>, 丁霄霖<sup>1,\*</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 贵州大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:** 工艺独特的贵州黔西、大方两地陈窖豆豉粬微生物区系分离鉴定结果表明, 黔西陈窖豆豉粬以泛酸芽胞杆菌(*B. pantothenicus*)、蜂房芽胞杆菌(*B. alvei*)、坚强芽胞杆菌(*B. firmus*)等芽胞杆菌为优势菌群, 为细菌发酵型产品, 而大方陈窖豆豉粬则是爪哇毛霉(*M. javanicus* Wehmer)、鲁氏毛霉(*M. rouxians* (Calmette) Wehmer)、总状毛霉(*M. racemosus* Fres.)、坚强芽胞杆菌、革兰氏阳性无芽胞杆菌等霉菌和细菌共存发酵的复合发酵型产品, 同时两地产品的后期陈窖阶段, 均有球菌(*Staphylococcus*或*Pediococcus*)和酵母菌(*Hansenula anomala* H. et p. Sydow var. *anomala*)富集, 可能对产品的风味和营养起着一定作用。

**关键词:** 陈窖豆豉粬; 传统工艺; 优势菌群

## Study on Traditional Household Methods and Identifications of Dominant Microflora for Processing Long-ripened *Douchi ba* (DCB)

QIN Li-kang<sup>1,2</sup>, ZENG Hai-yi ng<sup>2</sup>, DING Xiao-lin<sup>1,\*</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. College of Life Science, Gui Zhou University, Gui yang 550025, China)

**Abstract:** Microflora of typical samples taken in different stages of fermentation for the long-ripened *Douchi ba* (DCB), a traditional soy-fermented appetizer produced by unique methods in *Qinxie* and *Dafan* (two counties in West China's *Guizhou*), were isolated and identified. The results indicated that *Qinxie's* DCB is a bacteria-fermented product dominated by *B. pantothenicus*, *B. alvei* and *B. firmus*, but *Dafan's* DCB is a mould- and bacteria-fermented product coexisting with *M. javanicus* Wehmer, *M. rouxians* (Calmette) Wehmer, *M. racemosus* Fres., *B. firmus* and Gram-positive asporogenous *Bacilli*. Simultaneously, coccus (*Staphylococcus* or *Pediococcus*) and yeast (*Hansenula anomala* H. et p. Sydow var. *anomala*) propagate prosperously during ripening of DCB from the two locations, which may gift the long-ripened *Douchi ba* special flavors and nutrients.

**Key words:** long-ripened *Douchi ba* (DCB); traditional processing technology; dominant microflora

中图分类号: TS214

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)06-0118-06

发酵食品现已占世界人口膳食供给的 30%~40%<sup>[1]</sup>, 作为其主要构成的大豆发酵调味品(酱油、腐乳、豆豉和豆酱), 因微生物发酵作用和酶系生化改良, 产品货架期延长, 营养价值提高, 风味质地改善, 功能活性加强, 抗营养因子和难消化糖类降低。因此, 日益引起了世界各国食品界和医学界的高度重视<sup>[1]</sup>。

豆豉(*Douchi* 或 *Toushi*), 源于中国(B.C. 206), 不仅营养丰富, 滋味鲜美, 而且自古入药, 可治病疗疾, 在历代医籍名方(如“栀子豉汤”、“葱豉汤”、“桑菊饮”、“银翘解毒片”)中均有应用<sup>[2]</sup>, 并且作为发酵性中药, 淡豆豉早已列入了《中华人民共和国药典》

(1985)和卫生部首批药食兼用的中药名单<sup>[2]</sup>。同时, 因佛教传播和移民迁居, 中国豆豉还繁衍出了大量各具特色的区域性嗜好调味品, 如日本 *Natto* 和 *hamanatto*、印尼 *Tempeh* 和 *tao-tji*、韩国 *Chungkookjang*、印度 *Kinema*、非洲 *Soumbala* 等, 其中 *Natto* 和 *Tempeh* 已日显全球化食品趋势。目前, 国外学者不仅深度剖析了这些产品的优势发酵菌群和产业化生产工艺, 而且对 products 中的异黄酮、纳豆激酶(NK)、血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂、-葡萄糖苷酶抑制剂、类黑精(蛋白黑素)、活性肽、低聚糖、皂甙、亚油酸、VK、VE、VB<sub>12</sub> 等生理活性物质在抗癌、抗氧化、溶血栓、降血

收稿日期: 2005-07-29

\*通讯作者

基金项目: 贵州省自然科学基金项目(黔科合 2005-2023); 贵州省教育厅自然科学基金项目(黔教科 2004-204)

作者简介: 秦礼康(1965-), 男, 副教授, 在职博士生, 研究方向为食品科学与工程。

压、降血糖、促双歧、抗致病菌、抗诱变、防骨质疏松等方面的生理功能进行了大量研究,开发了临床应用的“NK溶栓胶囊”和降血糖的“食前粒”营养补品<sup>[3-11]</sup>。

陈窖豆豉粬,作为贵州独有的传统豆豉类发酵调味品,已具几百年的生产历史,享有“清朝贡品”的美誉。因产地特殊的地域环境和生态条件所孕育的优质大豆原料丰富的微生物菌群,再加上特有的捣泥、晾晒、整型和陈窖(>1年)等工艺,为体系微生物发酵和生化反应营造了丰富的基质和适宜的环境,形成了产品浓郁持久的滋香味和黑亮油润的外观色泽,尤其近年来,历经有识民营企业的挖掘与发展,市场需求量急剧上升,同时还引起了国内外学者和商家极大的关注。但是,目前陈窖豆豉粬仍沿用传统的家制工艺,生产规模小,劳动强度大,工序多,周期长,季节限制严重,产品质量极难保证。更重要的是,作为工艺独特的陈窖豆豉粬,其益酵菌群、特征风味以及生理活性物质,至今仍属研究空白。因此,本文在剖析陈窖豆豉粬独特传统工艺基础上,首次对发酵过程中的微生物区系进行分离鉴定,以期陈窖豆豉粬实施产业化工艺改进(如纯菌接种或菌群强化发酵等)提供优良菌株和解决技术关键。

## 1 材料与方法

### 1.1 陈窖豆豉粬传统工艺剖析

#### 1.1.1 工艺流程(见图1)

原料大豆 水 (豆豉叶) 盐

去杂 清洗/浸泡 蒸/煮 培菌 配曲 发酵 豆豉 日晒 捣泥  
整型 复晒 豆豉粬 陈窖 陈窖豆豉粬

图1 陈窖豆豉粬生产工艺流程

Fig.1 Schematic diagram of *Douchiba*(DCB) production

#### 1.1.2 操作要点

1.1.2.1 原料选择,以贵州本地黄豆为宜,其成型性和产品质量(风味、色泽)明显优于东北大豆。

1.1.2.2 将原料大豆清洗,浸泡1~2d,使其充分吸水膨胀。

1.1.2.3 浸泡好的大豆放入蒸锅或木甑常压蒸煮,直到指压豆粒软烂。

1.1.2.4 家庭小量自制时,将竹萝先垫白(纱)布,再四周铺满豆豉叶(一种本地野生或栽种的植物),然后将蒸熟的大豆趁热(大方县)或摊凉(黔西县)后入萝,密封并压实顶部,让其自然(<15)培菌15d左右(大方县)或置于35~40的环境中培菌5~6d(黔西县)。但厂家批量生

产时,用竹盘装料(未用豆豉叶),在温湿控制的曲室中进行培菌。值得一提的是,该培菌工序所富集的微生物区系,直接影响豆豉粬产品质量,以冬至到春节期间制作的最佳。

1.1.2.5 当鼓曲豆粒粘连、拉长丝且散发臭香时,出料加入适量精盐或其它调料,置于瓷坛或大缸中密封发酵,到第二年桃花盛开至夏季伏天之间取出,进行翻曲晾晒(约15~30d)以减少水分含量,然后用木(石)制工具或者机子捣成泥状。该工序不仅能降低体系水分活度,有利于成色产香的Maillard反应,同时有利于菌体酶与基质的接触催化,加速其陈窖发酵。

1.1.2.6 将晒好的棕褐色糊状豆泥再次舂茸,计量(500g)切分,用木板拍压成长方条。拍压时需在木板上抹上醪糟汁或熟菜油,使条面光洁油润。

1.1.2.7 将拍打成的长方条豆豉粬半成品再反复续晒(约7d左右)。注意晾晒过程中每天多次拍打,以防开裂。

1.1.2.8 对晒好的长方条豆豉粬,用陶瓷坛密封陈窖(黔西县)或用豆豉叶包裹置于阴凉通风处悬挂(大方县),经0.5~1年的“二次发酵”后即成为滋香味浓郁、色泽黑亮油润的陈窖豆豉粬成品(见图2)。因此,催陈技术的研究已成为陈窖豆豉粬产业化发展的关键。



图2 贵州豆豉粬不同陈窖期产品的外观和切面图

Fig.2 Appearances (1) and cross-sections (2) of 1-months-ripening (A) and 18-months-ripening (B) *Douchiba* (DCB) produced domestically in Guizhou (West China)

## 1.2 陈窖豆豉微生物区系分离和鉴定

## 1.2.1 菌样来源

1.2.1.1 豉曲：QDC-1 和 QDC-2 均取自黔西县城农户，培菌时未用豆豉叶，培菌期分别为 3d (起“大汗”，料堆中心温度 38℃) 和 5d (已接近成熟，有“拉丝”现象，温度 32℃)；DDC-1 和 DDC-2 分别取自大方县城厂家和农户，前者无豆豉叶培菌，培菌期 6d，无“拉丝”现象，后者用豆豉叶培菌，有“拉丝”现象，但培菌结束后已原样室温贮存 20 多天。

1.2.1.2 豆豉泥：DDCN 取自大方厂家，豆豉培菌结束后机子捣泥，塑缸发酵 1 个月。

1.2.1.3 豆豉粬(半成品)：DDCB 取自大方厂家，为 DDCN 经一周日晒后刚成型的豆豉粬。

1.2.1.4 陈窖豆豉粬(成品)：QDCB 取自黔西县城农户，已完成所有培菌、瓷坛密封发酵(6 个月)和陈窖(6 个月)等工序的陈窖豆豉粬成品。

1.2.1.5 豆豉叶：DDCY 取自大方栽培的冬季(5~8 月)紫根豆豉叶叶片。

## 1.2.2 微生物菌落总数的测定

无菌采集的各种菌样分别取 25g 混匀于 225ml 生理盐水中得 10 倍级稀释菌液，再取该稀释菌液 1ml 混匀于 9ml 生理盐水中得 10<sup>2</sup> 倍级稀释菌液，按此 10 倍级递增直至 10<sup>5</sup> 倍稀释，取各种菌样的最后两个稀释菌液 1ml，分别加入无菌空平皿中并倾注冷至 45℃ 的营养琼脂培养

基、孟加拉红培养基和高盐查氏培养基与样液混匀(每个稀释梯度作 3 个重复)，待凝固后置恒温箱中培养 24~72h，进行菌落总数测定、霉菌和酵母计数。其中菌落总数测定参照 GB/T4789.2-2003 执行，霉菌和酵母菌计数参照 GB/T4789.15-2003。检测中使用的培养基和试剂参照 GB/T4789.28-2003 配制。

## 1.2.3 微生物的分离及纯化

取菌落总数测定中万倍及十万倍稀释菌液用营养琼脂培养基、孟加拉红培养基和 PDA 琼脂培养基进行平板涂布或划线，并分别置于 37、25℃ 恒温培养箱中培养 24~72h，长出菌落后再反复划线分离纯化培养 3~4 次。分离菌株反复纯化至纯检合格后进行形态学观察，并据此将其分成不同生理类群，即细菌、霉菌、酵母菌等。同类群中根据形态学观察结果相似性进行归类，并选取代表株进行相应的分类鉴定。

## 1.2.4 纯化菌株的鉴定

细菌鉴定参照《伯杰细菌鉴定手册》第八版(Bergey's Manual of Determinative Bacteriology)<sup>[12]</sup>和《微生物实验教程》<sup>[13]</sup>将其鉴定到属种；霉菌鉴定按 Ainsworth (1973) 分类系统，参照《常见与常用真菌》<sup>[14]</sup>进行鉴定；酵母菌鉴定按 Lodder 分类系统，参照《常见与常用真菌》<sup>[14]</sup>将其鉴定到属，然后再依据其生理生化试验结果将其鉴定到种。所有鉴定用试剂均为化学纯。

## 2 结果与分析

## 2.1 不同工艺阶段陈窖豆豉粬的菌落总数及菌相组成

表 1 不同工艺阶段陈窖豆豉粬的菌落总数(CFU/g)变化

Table 1 Changes in total colony count (CFU/g) of the microflora at different stages for preparing long-ripened DCB

菌样	豉曲				豆豉泥 DDCN	豆豉粬半成品 DDCB	陈窖豆豉粬成品 QDCB
	QDC-1	QDC-2	DDC-1	DDC-2			
细菌	3.8 × 10 <sup>6</sup>	3.1 × 10 <sup>6</sup>	5.0 × 10 <sup>6</sup>	2.4 × 10 <sup>6</sup>	1.2 × 10 <sup>7</sup>	1.6 × 10 <sup>7</sup>	2.2 × 10 <sup>6</sup>
酵母	-	-	-	-	-	1.2 × 10 <sup>6</sup>	2.0 × 10 <sup>4</sup>
霉菌	-	-	+	-	+	2.2 × 10 <sup>6</sup>	-

注：“-”不得检出；“+”多不可计。

表 2 不同工艺阶段陈窖豆豉粬检出的微生物菌株

Table 2 Isolates from different stages for preparing long-ripened DCB

菌样	细菌(株)			霉菌(株)	酵母(株)	小计(株)
	芽胞杆菌	无芽胞杆菌	球菌			
QDC-1	2(B1、B2)	-	-	-	-	2
QDC-2	3(B3、B4、B5)	-	-	-	-	3
QDCB	2(B6、B7)	-	1(C1)	-	1(Y1)	4
DDC-1	1(B8)	-	1(C2)	1(M1)	-	3
DDC-2	1(B9)	1(NB1)	-	-	-	2
DDCN	-	2(NB2、NB3)	1(C3)	1(M2)	-	4
DDCB	1(B10)	-	1(C4)	2(M3、M4)	1(Y2)	5
DDCY	-	2(NB4、NB5)	-	-	-	2
小计(株)	10	5	4	4	2	25

注：“B”芽胞杆菌；“NB”无芽胞杆菌；“C”球菌；“Y”酵母菌；“M”霉菌；“-”不得检出。

由表 1、2 可见,不同工艺阶段陈窖豆豉粬样品中,细菌菌落总数均为较高数量级( $10^6 \sim 10^7$ ),且黔西豆豉曲(QDC-1、2)和陈窖豆豉粬成品(QDCB)多为芽胞杆菌(B1~B7),仅 1 株球菌(C1)在成品中检出,而大方样品中除自 DDC-1、2 和 DDCB 中分离到 3 株芽胞杆菌(B8~B10)外,还在 DDC-2 和 DDCN 中检出 3 株无芽胞杆菌(NB1~NB3),在 DDC-1、DDCN 和 DDCB 中检出 3 株球菌(C2~C4);从霉菌菌落总数看,大方豆豉粬半成品(DDCB)为  $2.2 \times 10^6$ ,而豉曲(DDC-1)和豆豉泥(DDCN)则在  $10^5$  稀释倍数上为多不可计,并且 4 株霉菌(M1~M4)均源于大方样品,黔西样品中未检出;就酵母菌而言,仅大方豆豉粬半成品(DDCB)和黔西陈窖豆豉粬成品(QDCB)中共检出 2 株酵母菌(Y1、Y2),其菌落总数为  $10^4 \sim 10^6$  数量级。另外,陈窖豆豉粬加工中培菌常用的

豆豉叶仅分离到 2 株无芽胞杆菌(NB4~NB5),与陈窖豆豉粬发酵体系微生物来源似无多大联系。

## 2.2 陈窖豆豉粬菌群鉴定

### 2.2.1 细菌的鉴定

分离的 19 株细菌经形态学观察归类(表 2),10 株为芽胞杆菌,5 株为无芽胞杆菌,4 株为球菌。进一步的菌落、菌体形态及生理生化实验(表 3~7)表明,芽胞杆菌中 B1、B2、B4 为泛酸芽胞杆菌(*Bacillus pantothenicus*),B3、B5、B7 为蜂房芽胞杆菌(*Bacillus alvei*),B6、B8、B9、B10 为坚强芽胞杆菌(*Bacillus firmus*);无芽胞杆菌中,NB1、NB4、NB5 为革兰氏阴性菌,NB2、NB3 为革兰氏阳性菌;球菌中,C1 为葡萄球菌属(*Staphylococcus*),C2、C3、C4 为足球菌属(*Pediococcus*)。

表 3 陈窖豆豉粬分离的芽胞杆菌形态学特征  
Table 3 Morphological characteristics of *Bacillus* isolated from the long-ripened DCB

菌株	菌落形态	菌体形态	
		(37 ℃, 24h培养)	(37 ℃, 72h培养)
B1、B2、B4	白色,边缘不整齐,表面干燥,无光泽,有皱折。	细长杆菌,多数单在,有的双在,无芽胞。	长杆菌,菌体呈中等大小单在、双在或少数链状,偶有芽胞,顶生,比菌体稍大,有丝状物。
B3	白色,直径 1~5mm,表面干燥,隆起,边缘不整齐。	微长杆菌,无芽胞,有的呈链状,双在或单在。	微长杆菌,有的呈链状,有的双在,有的单在,偶有芽胞,有的顶生,比菌体大,有的芽胞在细胞中部,呈椭圆形,比菌体小。
B5	白色,表面干燥,成棉丝状,边缘不整齐。	长杆菌,菌体较粗,单在和双在,有的呈“八”字形,有较多的丝状物,有一芽胞顶端内生。	几乎都是芽胞杆菌,芽胞有的顶生,多为中间芽胞,芽胞比菌体稍大,有的芽胞呈链状,多为单个存在,偶有游离芽胞。
B7	隆起,白色,边缘不整齐。	长杆菌,多为链状和双在,少数为单在,无芽胞。	长杆菌,单在,双在和链状,菌体中等偏小,有几个芽胞。
B6、B8、B9	表面绒状,白色,呈延伸性生长。	细长杆菌,链状,少数单在,无芽胞。	长杆菌,菌体较细,单在、双在或链状,有少量的芽胞。
B10	白灰色,直径 3mm,表面中央皱折。	长杆菌,多为双在,有的呈链状,有单在,菌体较粗,长柱形,有丝状物,无芽胞。	杆菌,菌体细长,呈链状,有较多的芽胞,芽胞有的顶生,有的在中央,芽胞比菌体稍长。

表 4 陈窖豆豉粬分离的芽胞杆菌生理生化特性  
Table 4 Phenotypic properties of *Bacillus* isolated from the long-ripened DCB

项目	B1、B2、B4	B3	B5	B7	B6、B8、B9	B10
D-葡萄糖	+	+	+	+	+	+
L-阿拉伯糖	+	-	-	-	+	+
D-木糖	-	-	-	-	-	-
D-甘露醇	-	-	-	-	+	+
NaCl 5%	+	+	+	+	+	+
NaCl 10%	-	-	-	-	-	-
30	+	+	+	+	+	+
50	-	-	-	-	-	-
从 GS 中产气	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 酶	+	+	+	+	+	+
尿素	+	-	-	-	+	+
V.P. 试验	-	-	-	-	-	-
厌氧生长	+	+	+	+	+	+
淀粉水解	+	+	+	+	+	+
拟鉴定结果	泛酸芽胞杆菌 <i>Bacillus pantothenicus</i>		蜂房芽胞杆菌 <i>Bacillus alvei</i>		坚强芽胞杆菌 <i>Bacillus firmus</i>	

表6 陈窖豆豉粬分离的革兰氏阳性无芽胞杆菌(NB2、NB3)生理生化特性

项目	结果	项目	结果	项目	结果	项目	结果
阿拉伯糖	+	葡萄糖酸盐	-	甘露糖	-	蔗糖	+
七叶苷	-	乳糖	+	棉子糖	+	木糖	+
半乳糖	+	麦芽糖	+	鼠李糖	-	精氨酸产氨	-
葡萄糖	+	甘露醇	-	山梨醇	-	接触酶	-
鉴定结果: 发酵乳杆菌 <i>Lactobacillus fermentum</i>							

表5 陈窖豆豉粬分离的无芽胞杆菌形态学特征及革兰氏染色反应

Table 5 Morphological and Gram-staining traits of asporogenous *Bacilli* isolated from the long-ripened DCB

菌株	菌落形态	菌体形态	革兰氏染色
NB1、NB5	圆形, 2 mm, 中间突隆, 边缘整齐, 表面湿润。	微杆菌, 双在。	阴性
NB2、NB3	白色, 边缘不整齐, 菌落小。	均为粗大杆菌。	阳性
NB4	乳白色, 4~5 mm, 有黄绿色素形成, 隆起, 边缘整齐, 表面湿润。	杆菌。	阴性

表7 陈窖豆豉粬分离的球菌形态学特征及生理生化特性

Table 7 Morphological and phenotypic traits of coccus isolated from the long-ripened DCB

菌株	菌落形态	菌体形态	生理生化试验	鉴定结果
C1	乳黄色, 呈球状, 隆起, 表面光滑。	球菌。	在无氮培养基上生长不旺盛, 革兰氏阳性, 产乳酸接触酶阴性, 能发酵葡萄糖。	葡萄糖菌属
C2、C3、C4	黄红色, 圆形, 2 mm, 表面湿润, 稍微隆起, 边缘整齐。	球菌, 细胞排列不呈链状, 呈四联状。	在无氮培养基上生长不旺盛, 革兰氏阳性, 产乳酸接触酶阴性, 发酵葡萄糖不产气。	足球菌属

表8 陈窖豆豉粬分离的霉菌形态学特征及产孢结构

Table 8 Morphological characteristics and sporogenous glabe of moulds isolated from the long-ripened DCB

菌株	菌落形态	菌体形态	鉴定结果
M1	菌落呈蔓延性生长, 菌落起初白色, 产黑色孢子, 后期呈淡黄色, 菌丛初期直立, 后期成菌膜贴于培养基表面。	孢子球形, 孢囊呈椭圆形, 老后菌丝上有很多无色的厚垣孢子, 形状大小不一, 囊轴球形。配囊柄对生, 异宗配合。	爪哇毛霉
M3	菌落呈蔓延性生长, 菌丝白色, 产黑色孢子, 在蔡氏培养基上呈黄色, 在米饭上略带黄红色。	孢囊孢子呈椭圆形, 囊轴球形、孢囊(近)球形、卵形, 菌丝体上有很多厚垣孢子, 孢囊柄上具有许多分枝。	鲁氏毛霉
M2、M4	菌落呈蔓延性生长, 菌落质地疏松, 菌丝先是白色, 产黑色孢子, 后期菌落呈黄褐色。	孢囊孢子球形、椭圆形, 孢囊椭圆形、球形, 囊轴近球形, 菌丝体和孢囊梗上具有许多无色的厚垣孢子, 大小形状不一。	总状毛霉

表9 陈窖豆豉粬分离的酵母菌形态学特征

Table 9 Morphological characteristics of yeasts isolated from the long-ripened DCB

菌株	菌落形态	菌体形态
Y1	菌落呈不规则的圆形, 表面皱褶, 边缘不整齐, 呈丝状, 有隆起, 在PCA培养基上呈乳白色至乳黄色, 在琥红培养基上呈粉红色, 前期较有光泽, 后期无光泽, 且菌落变成棕褐色, 干燥。	菌体呈柠檬形, 腊肠形, 柱形, 菌体细胞较大, 多极出芽, 无子囊孢子, 能形成假菌丝。
Y2	菌落呈圆形, 有光泽, 表面光滑, 边缘整齐, 有隆起, 不干燥, 菌落大小约为2~3mm。在PCA培养基上呈乳白色至乳黄色, 在琥红培养基上呈粉红色。	菌体呈球形或椭圆形, 一端出芽, 有子囊孢子, 子囊孢子多为肾形, 不形成假菌丝。

9) 归类为汉逊氏酵母属, 其生理生化试验(表10)鉴定结果为异常汉逊氏酵母异常变种(*Hansenula anomala* H. et p. *sydow* var. *anomala*)。

## 2.2.2 霉菌的鉴定

分离的4株霉菌以菌落、菌体形态及菌丝产孢结构(表8)作为主要分类依据, 其鉴定结果: M1为爪哇毛霉(*Mucor javanicus* Wehmer); M3为鲁氏毛霉(*Mucor rouxi* (Calmette) Wehmer); M2、M4为总状毛霉(*Mucor racemosus* Fres.)。

## 2.2.3 酵母菌的鉴定

分离的2株酵母菌(Y1、Y2)按菌落、菌体形态学(表

## 3 讨论

上述研究结果表明, 黔西、大方两地陈窖豆豉

表 10 陈窖豆豉分离的酵母菌生理生化特性  
Table 10 Phenotypic properties of yeasts isolated from the long- ripened DCB

发酵糖类	Y1	Y2	同化碳源	Y1	Y2	同化碳源	Y1	Y2	同化氮源	Y1	Y2
葡萄糖	+	+	L-山梨糖	+	+	乳酸	-	-	硫酸铵	+	+
蔗糖	+	+	纤维二糖	+	+	甲醇	+	+	硝酸钾	+	+
乳糖	-	-	D-蜜二糖	+	+	丙三醇	+	+			
半乳糖	+	+	L-鼠李糖	+	+	葡萄糖	+	+			
棉子糖	+	-	菊糖	+	+	可溶性淀粉	+	+			
木糖	+	+	柠檬酸	+	-	琥珀酸	+	+			
阿拉伯糖	+	+	肌醇	+	+						

鉴定结果:异常汉逊氏酵母异常变种(*Hansenula anomala* H. et p. *sydow* var. *anomala*)

粿，因地域环境和培菌工艺的不同，微生物区系存在一定差异。高温培菌(35~40℃)的黔西陈窖豆豉粿，以泛酸芽胞杆菌(*Bacillus pantothenicus*)、蜂房芽胞杆菌(*Bacillus alvei*)、坚强芽胞杆菌(*Bacillus firmus*)等芽胞杆菌作为优势发酵菌群，贯穿整个发酵周期，而自然培菌(<15℃)的大方陈窖豆豉粿，除坚强芽胞杆菌和革兰氏阳性无芽胞杆菌参与前期发酵外，则以爪哇毛霉(*Mucor javanicus* Wehmer)、鲁氏毛霉(*Mucor rouxi*ans (*Calmette*) Wehmer)、总状毛霉(*Mucor racemosus* Fres.)等霉菌作为优势发酵菌群，贯穿整个发酵周期。因此，前者是芽胞杆菌为优势菌群的细菌发酵型，后者则是霉菌和细菌共存的复合发酵型，这些微生物通过一系列的发酵代谢和生化反应，对产品质地、口感以及滋香味的形成起着决定性的作用，从而导致了两地陈窖豆豉粿产品风味上的差异(另文报道)。值得注意的是，无论黔西还是大方豆豉粿，到后期陈窖阶段，均有葡萄糖菌属(*Staphylococcus*)或足球菌属(*Pediococcus*)球菌以及异常汉逊氏酵母异常变种(*Hansenula anomala* H. et p. *sydow* var. *anomala*)酵母菌进行一定富集，作为非主要作用微生物参与发酵，这是否与奶酪后熟中非发酵乳酸菌(NSLAB)一样，对产品最终风味的形成起着关键作用，有待进一步探讨。另需指出的是，本实验因未采用特定分离培养基，分离到的微生物仅是各工艺阶段的优势菌种，实际的菌相组成尚需进一步系统研究，同时对分类鉴定的菌株还应进行发酵性、抗逆性、安全性等比较和评价方可用于生产。

参考文献：

[1] Gibbs B.F. Production and characterization of bioactive peptides from soy fermented foods and their hydrolysates[D]. Macdonald Campus, McGill University, Montreal, Quebec, Canada April, 1999.

[2] 赵德安. 中国豆豉[J]. 中国酿造, 2003, 127(4): 36-40.

[3] 李里特, 张建华, 李再贵, 等. 纳豆、天培与豆豉的比较[J]. 中国调味品, 2003, 291(5): 3-7.

[4] MW Byun, JH Son, HS Yook, et al. Effect of gamma-irradiation on the physiological activity of Korean soybean fermented foods, Chungkookj ang and Doenjang[J]. Radiati on Physics and Chemistry, 2002, 64: 245-248.

[5] P K Sarkar, B Hasenack, M J R Nout. Diversity and functionality of bacillus and related genera isolated from spontaneously fermented soybeans (Indian Kinema) and locust beans (African Soumbala)[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 77: 175-186.

[6] 杜木英, 陈宗道, 阚建全, 等. 豆豉保健功能成分研究进展[J]. 粮食与油脂, 2003, (2): 9-11.

[7] H Tani moto, M Mori, M motoki, et al. Possible anti tumor-promoting activity of components in Japanese soybean fermented food, Natto[J]. Carcinogenesis, 1995, 16(3): 471-476.

[8] B Markus, Hoppe, et al. Structure of an antioxidant from fermented soybeans (*Tempeh*) [J]. JAACS, 1997, 74(4): 477-479.

[9] MFuj i ta, et al. Purification and characterization of a strong fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto, a popular soybean fermented food in Japan[J]. Bi ophy Res Communi, 1993, 197(3): 1340-1347.

[10] H Fuj i ta, K Yokoyama, M Yoshikama. Classification and antihypertensive activity of angiotensin-converting enzyme inhibitor peptides derived from food protein n[J]. Food Sci, 2000, 65(4): 564-569.

[11] H Fuj i ta, T Yamagami. Fermented soybean-derived Touchi-extract with anti-diabetic effect via a  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activity in a long-term administration study with KKAY mice[J]. Life Sci, 2001, 70(2): 219-227.

[12] RE 布坎南, 等. 伯杰氏鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1974. 802-814.

[13] 宋大新, 等. 微生物学实验教程[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1993.

[14] 中国科学微生物研究所. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1978. 89-146.

中国科技核心期刊