

腐乳发酵过程中微生物种群结构研究进展

阙云飞, 杨昌彪, 朱平, 申鹰, 杨久玲, 黄坤宁, 李占彬*

(贵州省检测技术研究应用中心, 贵阳 550002)

摘要: 腐乳是传统发酵型豆类食品, 有其独特的风味和营养, 发酵过程中微生物种群结构是其品质形成的重要因素。基因测序、变性梯度凝胶电泳等分子生物学技术的发展, 有着传统培养鉴定法无可比拟的优势, 为微生物种群结构研究提供了先进技术; 根霉和毛霉是腐乳发酵中常见的真菌, 而芽孢杆菌、乳杆菌、不动杆菌等则是发酵过程中的优势细菌; 紫外诱变和混合发酵技术可以改善腐乳发酵条件和品质; 微生物种群在腐乳发酵过程中的代谢作用, 可提高腐乳脂类、脂肪酸类、游离氨基酸、乙酸乙酯等物质的含量。本文阐述了腐乳发酵过程中微生物种群结构的研究方法、常见发酵菌株生理特点和应用、发酵过程微生物种群结构演替, 展望了腐乳食品未来发展方向, 以为腐乳发酵科学研究及工艺探索提供理论依据。

关键词: 腐乳; 发酵; 微生物; 种群结构

Research progress on microbial population structure in fermented sufu

QUE Yun-Fei, YANG Chang-Biao, ZHU Ping, SHEN Ying, YANG Jiu-Ling,
HUANG Kun-Ning, LI Zhan-Bin*

(Guizhou Testing Technology Research and Application Center, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT: Sufu is a traditional fermented soybean food, which has its unique flavor and nutrition. Microbial population structure during fermentation is an important factor in its quality formation. The development of molecular biology techniques such as gene sequencing and denaturing gradient gel electrophoresis has incomparable advantages over traditional culture identification methods, which provides advanced technologies for the study of microbial population structure. *Rhizopus* and *Mucor* are common fungi in fermented sufu, while *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Acinetobacter*, etc. are dominant bacteria in fermentation process. UV mutagenesis and mixed fermentation technology can improve the fermentation conditions and quality of sufu; the metabolism of microbial population in the process of sufu fermentation can improve the content of lipids, fatty acids, free amino acids, ethyl acetate and other substances. In this paper, the research methods of microbial population structure in the fermentation process of sufu, the physiological characteristics and application of common fermentation strains, and the succession of microbial population structure in the fermentation process were expounded. The future development direction of sufu food was prospected, in order to provide theoretical basis for scientific research and process exploration of sufu

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2019MK142)、中央引导地方科技发展资金项目(黔科中引地[2021]4026)、贵州省科学院青年基金项目(黔科院 J 字[2021]35 号)、贵州省科学院青年基金项目(黔科院 J 字[2021]36 号)

Fund: Supported by the Project of State Administration for Market Regulation (2019MK142), the Central Funding Project for Guiding Local Science and Technology Development (Qiankezhong Citation [2021]4026), the Youth Fund Project of Guizhou Academy of Sciences (Qiankeyuan J [2021] No.35), and the Youth Fund Project of Guizhou Academy of Sciences (Qiankeyuan J [2021] No.36)

*通信作者: 李占彬, 博士, 主要研究方向为食品安全检测与分析评估。E-mail: zhanbin823@126.com

*Corresponding author: LI Zhan-Bin, Ph.D, Guizhou Testing Technology Research and Application Center, Guiyang 550002, China. E-mail: zhanbin823@126.com

fermentation.

KEY WORDS: sufu; fermentation; microorganisms; population structure

0 引言

腐乳是我国食用历史悠久的传统发酵型豆类食品, 经过不断探索和发展已形成众多具有民族特色的制作工艺。按腐乳的色香味品质, 主要分为红方、青方、花方、白方及酱腐乳等^[1]。制作中不同环境条件及工艺导致发酵过程优势微生物种群结构的变化, 又主要分为根霉、毛霉及细菌 3 种发酵菌种^[2]。微生物发酵主要是将大豆中蛋白质水解的过程^[3], 不同种植地的大豆品种、品质不一, 导致腐乳中营养物质也各具特色, 包含蛋白质、氨基酸、糖类、植酸、游离脂肪酸及维生素等^[4-6]。同时, 腐乳对人体健康也有着不可小觑的作用, 它能降低血清和胆固醇、预防心血管疾病、哮喘合并症及改善机体神经机能等^[7-10]。无论制作何种腐乳, 其风味、品质都离不开微生物种群结构及发酵环节的影响, 发酵过程的重要性不亚于大豆原料的筛选。已有众多学者对腐乳发酵过程做了相关试验研究, 取得不少的成果^[11-15]。本文着重从微生物研究技术和种群结构演替出发, 综述现有研究进展, 探讨未来发展, 旨在为腐乳发酵过程的基础研究及工艺的深度研发提供理论依据。

1 发酵微生物研究方法

随着科学技术的飞速发展, 生物和食品等学科得到了长足的进步, 同时科学基础研究方法、仪器不断更新, 掀起了微生物学研究的热潮。

1.1 培养鉴定法

过去常见的发酵微生物种群结构研究方法还依赖培养鉴定法, 主要是预测微生物种属筛选合适的培养基进行培养, 然后根据其菌落特征挑选纯化出单一菌落并置于显微镜下观察, 依据其菌落特征和镜检结果对其进行种属判断; 如需再细化分类, 还可继续进行生理生化鉴定试验^[16]。研究人员在酱香大曲发酵过程中, 培养分离出微生物菌种 200 余株, 根据其菌落形态特征和生化鉴定实验, 发现优势菌属为芽孢杆菌(*Bacillus*)、曲霉属(*Aspergillaceae*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)^[17]。由于微生物生长繁殖对营养和环境组成的选择性较强, 在微生物分离培养过程中, 选择不同的培养基和培养条件, 可能得到不同的结果。袁华伟等^[18]运用培养法从四川腐乳中分离出一株毛霉 SH12, 同时探明其最适培养温度 26 °C、pH 为 7.5 及产蛋白酶活力。在腐乳发酵过程中, 微生物种群并非一成不变, 需要通过多次培养基、培养条件筛选及生化鉴定等试验探究其变化规律。许家威等^[19]利用培养鉴定法研究发现, 在牟定天台阳泉腐乳前酵过程晾晒期时, 其霉菌和酵母、菌落总数

及芽孢杆菌数量最高, 分别为 7.77、9.11 和 8.87 CFU/g, 腌坯期乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)数量为 8.28 CFU/g。在研究微生物多样性时, 传统培养鉴定法工作量大、试验成本高、试验耗时长、误差大等缺点便显现出来; 同时自然界能够通过培养得到的微生物种群并不多, 所以培养法在实际应用过程中的局限性便可想而知。

1.2 分子生物学方法

分子生物学是近代以来发展迅猛的基础学科之一, 是生物学研究从宏观到微观的一大步。从揭示 DNA 双螺旋结构至今, 分子生物学已经诠释了众多生物学、医学中的难题, 其研究技术也在向更多的学科方向发展, 食品发酵微生物便是其中之一。分子生物学有方法操作简便、快捷、重复性好、结果准确可靠等优点, 还能探究基因表达调控、功能基因组等, 有着传统方法无可比拟的优势, 也是目前相关研究可选的最佳方法之一。

基因测序技术的发展, 带领生物、医学、食品等相关研究领域向前迈进了一大步, 通过基因序列分析就能够得到研究所需要的遗传、病理、代谢、进化等信息^[20-22]; 它是将 4 种碱基标记上不同的荧光信号, 在合成过程去捕捉光信号, 从而得到基因中碱基排列信息, 如今已发展到第三代测序技术, 而且芯片技术也开始运用到其中。胡旺等^[23]利用 Illumina MiSeq 测序平台探究了霉豆腐发酵过程中 5 个步骤微生物种群变化, 发酵 48 h 时, 微生物多样性最高; 优势属包括: 明串珠菌属(*Leuconostoc*)、泛菌属(*Pantoea*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)。

真菌 ITS (internal transcribed spacer) 序列是真菌 rRNA 基因转录区或对应多顺反子 rRNA 前体中大、小亚基 rRNA 之间的核酸序列, 有广泛的序列多态性; 细菌 16S rRNA 基因存在于所有细菌的基因组中, 具有高度的保守性和特异性以及该基因序列足够长; 上述两种序列在利用分子生物学方法鉴定微生物种属中有着极为重要的作用^[24-26]。赵恒等^[1]选择真菌 ITS 和细菌 16S rRNA 通用引物, 对茨河腐乳中真菌和细菌 DNA 进行扩增测序; 结果表明, 假单胞菌属为优势细菌, 且占比超一半, 青霉(*Penicillium* spp.)、红酵母(*Rhodotorula* spp.) 及毛霉(*Mucor* spp.) 为优势真菌, 均占 10% 以上; 同时还分析了茨河腐乳品质与微生物的相关性。

变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction -denatured gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)是根据 DNA 在不同浓度的变性剂中解链行为不同, 导致其电泳迁移率发生变化, 从而将片段大小相同碱基组成不同的 DNA 序列分开, 再通过分析从而得到优势种群组成, 该技术已经发展成为微生物种群结构研究的重要方法之一^[27-30]。李娜等^[31]运用

PCR-DGGE 技术结合 Miseq 高通量测序技术, 探明了自然发酵腐乳中鞘氨醇杆菌属(*Spingobacterium*)、布丘氏菌属(*Buttiauxella*)、绿脓杆菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter oryzae*)和草螺菌属(*Herbaspirillum*)为优势属。

2 腐乳发酵微生物多样性

在腐乳发酵过程中, 随微生物种群结构的改变, 腐乳的色香味也随之改变。微生物不仅分解大豆制品中的蛋白质、糖类、脂肪酸等, 同时促进自身代谢产物的合成和释放, 因此发酵微生物种群结构不同也决定着腐乳的品质和风味特色。探究腐乳中发酵微生物种群结构的组成和变化, 对腐乳品质控制、特色产品开发及食品安全监控都有着重要的意义。

2.1 腐乳中微生物种群

2.1.1 根霉

华根霉(*Rhizopus chinensis*)、少根根霉(*Rhizopus arrhizus*)及米根霉(*Rhizopus oryzae* Went et Pr.Geerl.)等是食品发酵工业中常用的根霉菌种, 其中又数米根霉最多。根霉菌落黏稠或疏松, 白色菌丝体, 成熟后为褐色、灰褐色或黑褐色^[32]; 其生长所适应的环境温度范围大, 40 °C 以上也能够正常生长, 所以较其他发酵微生物来说, 受温度的影响小, 无季节性限制^[32-33]。米根霉在发酵初期, 脂肪酶、糖化酶、淀粉酶活力较高, 发酵时间短, 最适发酵温度为 32 °C^[34]。此外, 根霉后发酵还能产生较少的乳酸和乙醇, 可增添腐乳发酵风味^[35], 但根霉型腐乳方形较塌, 是由于其菌丝粗糙、蛋白酶活力较低导致^[36]。

2.1.2 毛霉

毛霉是腐乳制作工艺中使用最多的发酵微生物, 占九成以上^[37]。毛霉生长温度普遍在 30 °C 以下, 季节限制性较强, 菌丝呈白色或是浅黄色, 能在腐乳表面形成薄的菌丝膜, 保持了腐乳方形。毛霉能分泌多种酶, 特别是蛋白酶

活性较根霉强, 可将腐乳中苦味肽水解, 因此毛霉型腐乳风味普遍比根霉型受欢迎^[38-40]。由于各地区环境因素和民族特色的差异化, 导致了腐乳发酵菌种选择上的不同, 国内常用的发酵毛霉有腐乳毛霉(*Mucor sufu*)、雅致放射毛霉(*Actinomucor elegans*)、五通桥毛霉(*Mucor wutungkiao*)和总状毛霉(*Mucor racemosus*)^[41]。

2.1.3 细菌

细菌常作为黑龙江、武汉等地腐乳制作工艺中前发酵菌种, 以克东腐乳最为有名^[41], 其发酵用的藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*), 生长温度为 26 °C 左右, pH 为 8.0^[42]。细菌型腐乳方形与根霉类似, 较为塌陷。目前, 从腐乳发酵过程中分离得到的细菌菌种较多, 常见的有枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、吉氏库特菌(*Kurthia gibsonii*)、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)等^[43-45]。腐乳发酵主要菌种及其生长特点如表 1 所示。

2.2 微生物种群结构变化

腐乳发酵中微生物种群结构是动态变化的过程, 不同优势种群不断交替, 分解大豆中各种有机物, 丰富了腐乳的营养、风味、外形、色泽等。不同腐乳品种由于工艺差异, 其微生物种群结构也有所不同。红腐乳后酵期 10、30 和 60 d 中 *Bacillus* 种群丰度逐渐降低, *Acinetobacter* 种群丰度逐渐升高; 在后酵期微生物优势种群由 *Bacillus* 演替为 *Acinetobacter*, 此外 *Lactococcus*、*Enhydrobacter*、*Pantoea*、*Leuconostoc* 等种群丰度也都在不断变化; 同时腐乳后酵期风味物质、氨基酸等有机物含量的变化与微生物种群优势交替相关^[46]; 东北地区红腐乳中芽孢杆菌属和盐厌氧菌属为优势菌属, 华北地区红腐乳中明串珠菌属、乳球菌属及四联球菌属为优势菌属^[47]。白腐乳豆腐坯中优势种群为乳杆菌, 毛坯中优势种群为不动杆菌, 后熟 45 d 优势种群为明串珠菌(*Leuconostoc*), 后熟 180 d 优势种群为四联球菌(*Tetragenococcus*), 在白腐乳发酵过程中共检测到

表 1 腐乳发酵主要菌种及其生长特点
Table 1 Main strains of fermented sufu and growth characteristics

菌种类别	菌种名称	生长温度及菌落特征
根霉	华根霉	生长温度为 28~30 °C, 耐高温; 菌落初期为白色, 后期变为黑色或褐色; 菌落直径 3.5~4 cm。
	少孢根霉	生长温度为 20~40 °C, 最适生长温度为 28 °C, 32~36 °C 时其生长受到抑制; 菌落初期为白色, 后期变为褐色。
	米根霉	最适生长温度为 30 °C, 当温度为 40 °C 时仍能生长; 菌落生长快, 菌落质地疏松, 边缘较整齐, 菌落直径 4~5 cm, 菌落初期为白色, 后期变为黑色或褐色。
毛霉	总状毛霉	其在 4 °C 以下、37 °C 以上均不生长, 最适生长温度为 23 °C; 其菌落的质地疏松, 菌丝的高度一般在 1 cm 以内, 菌丝颜色为灰色或浅褐色。
	雅致放射毛霉	其在 25~30 °C, 湿度为 97%, 可较好生长; 最适生长温度为 30 °C, 最适 pH 为 5.5; 其菌丝高度约 1 cm, 菌丝颜色为白色或浅黄色。
	五通桥毛霉	其生长温度为 10~25 °C, 4 °C 生长缓慢, 37 °C 不能生长; 其最适 pH 为 5.5; 菌丝高度为 15~30 mm, 菌丝洁白但老后稍黄。
细菌	藤黄微球菌	最适生长温度为 25~27 °C, 最适 pH 为 8.0。菌落呈浅金黄色, 圆形菌落直径为 1.0~1.5 mm; 菌体细胞为球形, 直径为 0.5~2 μm。

细菌 75 株^[48]。青腐乳发酵前期 *Lactobacillus*、*Chishuiella*、*Empedobacter* 种群丰度较高, 发酵末期 *Lactobacillus*、*Chishuiella*、*Tetragenococcus* 种群丰度较高, 虽然 *Lactobacillus*、*Chishuiella* 在发酵前、末期都是优势种群, 但其含量却有所降低, 而且与腐乳中酯类、酮类、醇类有极大的相关性^[49]。不同地区的腐乳发酵过程, 其微生物种群结构变化也不一致; 江西永丰腐乳发酵的前酵期微生物丰度高、多样性较低; 腌坯期有大量细菌繁殖, 同时分泌了丰富的酶, 促进了腐乳风味形成; 后酵期真菌丰度及多样性均降低; 芽孢杆菌、阿式肠杆菌(*Enterobacter asburiae*)、乳酸乳球菌、嗜盐四链球菌(*Tetragenococcus halophilus*)、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、芽孢杆菌是前酵后期、腌坯后期及后酵期(15、30、45、60 d)中 6 个时间点的优势种群^[50]。广州腐乳生产的前酵期优势菌群为链球菌属(*Streptococcus*), 盐胚期优势菌群为不动杆菌属, 盐水浸泡期优势菌群为球菌(*Coccus/Cocci*)、志贺(氏)菌(*Shigella castellani*)、乳杆菌(*Lactobacillus*)、不动杆菌(*Acinetobacter*)^[51]。不难得知, 无论是何品种、风味、产地的腐乳, 芽孢杆菌、乳杆菌、不动杆菌、明串珠菌分别在发酵的某个阶段为优势微生物种群, 也说明是腐乳发酵的主要微生物种群。随食品工业的不断发展, 人们便不再拘泥于传统食品风味。利用新的研究方法、试验技术开始探索不同于甚至是优于传统风味的产品。通过紫外线诱变这一常用有效的物理手段来选育微生物优良株, 用于腐乳发酵过程, 可拓宽发酵温度、缩短发酵时间、增添腐乳风味^[52]; 此外, 混合发酵技术也能提升腐乳品质^[53]。

2.3 微生物种群与风味物质

腐乳发酵过程中乳杆菌属、假单胞菌属为优势种群时, 其代谢可产生较多乳酸、乙酸、丙酸等物质, 进而合成酯类和脂肪酸类物质; 乳杆菌属还有较强的糖分解能力, 消耗果糖和葡萄糖并产生有机酸, 且与乳酸含量呈正相关, 同时酸性发酵环境可抑制腐败性菌生长。呈香物质乙酸乙酯和乳酸乙酯等, 是酵母菌、乳杆菌代谢了较多糖类, 通过糖酵解产生乳酸、乙酸、乙醇等前体物质进而合成。霉菌分泌蛋白酶和肽酶水解大豆中丰富的蛋白质, 得到多种氨基酸; 而脂肪酶水解脂肪得到油酸和亚油酸等, 氨基酸和有机酸共同代谢产生己酸乙酯、丁酸乙酯、辛酸乙酯等物质^[44]。另外, 总状毛霉、雅致放射毛霉及五通桥毛霉与游离氨基酸的含量呈正相关, 并且低盐发酵环境可促进腐乳成熟, 提高脂肪酶、蛋白酶活性, 增加游离氨基酸含量^[54]。随着基因组学与代谢组学研究技术的发展, 研究人员能够更清晰地了解发酵菌株的代谢特征、潜在的益生功能与应用方向, 同时更准确地探究发酵菌株的遗传、进化、分类及安全性^[55-56]。

3 总结与展望

发酵型食品是世界范围内均受欢迎的种类, 也是微生物造福人类的有效证明。泡菜、腐乳、酒等都是历经人

类不断探索得来, 也许发现的开始都是偶然, 但是后续的发展便是智慧的结晶。腐乳作为我国传统发酵型食品之一, 早已被各族人民发展得多姿多彩; 红方、白方、青方、辣味、甜味等都各具特色, 也都离不开人们对微生物的利用。从传统的毛霉、根霉等, 到筛选出更多优良诱变株, 从基础而繁复的培养鉴定法到高效精确的分子生物学技术, 使人们更清晰地了解和认识腐乳发酵过程微生物种群结构的演替及功能; 特别是近年来热门的组学技术, 在白葡萄酒、食品营养及肠道菌群等研究中已取得较多成果, 但在腐乳发酵微生物工业应用遗传稳定性、代谢工程及安全性评价等方面应用较少, 相信通过不断探索, 未来的腐乳产品会更安全、更营养、更丰富。

现代食品工业发展迅猛, 让更多的风味进入人们的口中, 突破传统制作工艺, 腐乳应朝着更安全健康和风味多变的方向发展。微生物发酵有利有弊, 它带来更丰富的食品的同时, 也带来危害; 筛选更安全的发酵菌株, 制作出更安全健康的产品是腐乳食品甚至发酵型食品不可忽视的问题; 从原料到成品, 直至消费者口中, 任一环节都不能有差错。更多风味腐乳产品也应以人们喜闻乐见的形式出现和被接受, 运用菌株诱变技术、基因编辑技术等选育新型发酵菌株, 接种混合型菌株, 与其他风味原料共发酵等都是新式腐乳的探索方向。本文对有关腐乳发酵微生物种群结构研究现状进行了总结, 以期对腐乳深入研究及产品研发提供理论依据。

参考文献

- [1] 赵恒, 陈富安, 赵慧君, 等. 茨河腐乳细菌与真菌多样性及其功能关联分析[J]. 食品与发酵工业, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029240
ZHAO H, CHEN FAN, ZHAO HJ, et al. Diversity and functional correlation analysis of bacteria and fungi in huase sufu [J]. Food Ferment Ind, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029240
- [2] 张兰威. 发酵食品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.
ZHANG LW. Fermentation food technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011.
- [3] 石黎琳. 自然发酵腐乳微生物多样性及其品质的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
SHI LL. Study on the microbial diversity and quality of natural fermented sufu [D]. Chongqing: Southwest University, 2021.
- [4] 徐磊. 杂豆腐乳微生物群落结构及风味品质研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2021.
XU L. Study on microbial community structure and flavor quality of bean curd [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021.
- [5] 解春芝, 曾海英, 宋杰, 等. 不同种类腐乳游离脂肪酸组成分析及营养评价[J]. 中国酿造, 2018, 37(2): 39-44.
XIE CZ, ZENG HY, SONG J, et al. Free fatty acid composition analysis and nutrition evaluation of different sufu varieties [J]. Chin Brew, 2018, 37(2): 39-44.
- [6] 董爽, 陶杰, 汪建明. 酶促腐乳生产过程中各种理化性质的变化研究[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(5): 23-26.
DONG S, TAO J, WANG JM. Study on change of physical and chemical properties during enzyme-ripened sufu production process [J]. Food Ferment Technol, 2014, 50(5): 23-26.
- [7] WANG J, LIN Q, WANG Y, et al. Research on soybean curd coagulated

- by lactic acid bacteria [J]. Springer Plus, 2013, 2(1): 250.
- [8] TETSUJI T, YOSHIMASA I, MASAFUMI S, *et al.* Nattokinase, profibrinolytic enzyme, effectively shrinks the nasal polyp tissue and decreases viscosity of mucus [J]. Allergol Int, 2017, 66(4): 594–602.
- [9] YIN L, LI L, LI Z, *et al.* Changes in isoflavone contents and composition of sufu (fermented tofu) during manufacturing [J]. Food Chem, 2004, 87(4): 587–592.
- [10] 马艳莉, 卢亿, 张晓阳, 等. 腐乳发酵过程中 γ -氨基丁酸变化规律研究 [J]. 中国食物与营养, 2013, 19(5): 27–30.
MA YL, LU Y, ZHANG XY, *et al.* Changes in γ -aminobutyric acid content during sufu production process [J]. Food Nutr China, 2013, 19(5): 27–30.
- [11] 杨久玲, 张焱, 黄坤宁, 等. 贵阳市售腐乳蜡样芽孢杆菌污染研究分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2876–2880.
YANG JL, ZHANG Y, HUANG KN, *et al.* Investigation of contaminated *Bacillus cereus* in sufu sold in Guizhou [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(7): 2876–2880.
- [12] 赵丹, 罗俏俏, 王欣, 等. 汤汁辅料对腐乳发酵过程中单胺氧化酶活性及生物胺积累的影响 [J]. 食品科学技术学报, 2021, 1: 1–10.
ZHAO D, LUO QQ, WANG X, *et al.* The influence of soup accessories on the activity of monoamine oxidase and accumulation of biogenic amines during in sufu fermented [J]. J Food Sci Technol, 2021, 1: 1–10.
- [13] 马艳莉, 段哲, 梁静静, 等. 青方腐乳中丁酸杆菌分离鉴定及与乳酸菌共培养研究 [J]. 中国调味品, 2020, 45(9): 64–68.
MA YL, DUAN Z, LIANG JJ, *et al.* Isolation and identification of *Clsotridium but yricum* in grey sufu and its co-culture with lactic acid bacteria [J]. Chin Cond, 2020, 45(9): 64–68.
- [14] 万红芳, 汪立平, 赵勇, 等. 基于高通量测序分析 2 种夹江腐乳中的微生物 [J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 278–285.
WAN HF, WANG LP, ZHAO Y, *et al.* Analysis of microorganism in two kinds of Jiayang fermented bean curd by high-throughput sequencing [J]. J Chin Institute Food Sci Technol, 2020, 20(8): 278–285.
- [15] 刘力, 周其洋. 白腐乳中一株腐生葡萄球菌 ZH910 的分离鉴定 [J]. 中国酿造, 2019, 38(10): 44–48.
LIU L, ZHOU QY. Isolation and identification *Staphylococcus saprophyticus* ZH910 from white sufu [J]. Chin Brew, 2019, 38(10): 44–48.
- [16] 于坚, 孙嘉笛, 孙秀兰, 等. 发酵类食品中微生物鉴定方法及功能研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050244
YU J, SUN JD, SUN XL, *et al.* Research progress of microorganism identification methods and functional in fermented food [J]. Sci Technol Food Ind, 2021. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050244
- [17] WANG CL, SHI DJ, GONG GL. Microorganisms in Daqu: A starter culture of Chinese Maotai-flavor liquor [J]. World J Microb Biot, 2008, 24: 2183–2190.
- [18] 袁华伟, 闵小兰, 陆巧玲, 等. 腐乳毛霉 SH12 生长性能及产酶特性研究 [J]. 中国调味品, 2017, 42(11): 69–73.
YUAN HW, MIN XL, LU QL, *et al.* Study on growth performance and enzyme production property of *Mucor* SH12 form sufu [J]. Chin Cond, 2017, 42(11): 69–73.
- [19] 许家威, 李一红, 叶芒, 等. 腐乳前酵期微生物与理化成分的动态分析 [J]. 中国酿造, 2019, 38(1): 84–88.
XU JW, YE YH, YE M, *et al.* Dynamic analysis of microorganisms and physical and chemical components during sufu pre-fermentation [J]. China Brew, 2019, 38(1): 84–88.
- [20] YUAN JM, WANG ZJ, WANG B, *et al.* Non-specific immunity associated gut microbiome in *aristichthys nobilis* under different rearing strategies [J]. Genes, 2021, 12(6): 916.
- [21] ZHAO LJ, JIA LR, MA BC, *et al.* Heat-resistant bacteria contamination investigation in Chinese soybean curd industrial processing using high-throughput gene sequencing and MALDI-TOF-MS [J]. LWT, 2021. DOI: 10.1016/J.LWT.2021.111618
- [22] EDUARDO FF, VICTOR MG, ANGEL MM, *et al.* Analysis of bacterial communities by 16S rRNA gene sequencing in a melon-producing agro-environment [J]. Microb Ecol, 2021, 82(3): 1–10.
- [23] 胡旺, 陈梦娟, 尹含靓, 等. 利用 Illumina Miseq 测序技术分析浏阳霉豆腐制作过程中微生物变化 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(24): 1–10.
HU W, CHEN MJ, YIN HL, *et al.* The microbial changes in the fermentation process of Liuyang sufu based on Illumina Miseq sequencing technology [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(24): 1–10.
- [24] HU S, HE C, LI YC, *et al.* Changes of fungal community and non-volatile metabolites during pile-fermentation of dark green tea [J]. Food Res Int, 2021, 147: 110472.
- [25] AN FY, SUN HJ, WU JR, *et al.* Investigating the core microbiota and its influencing factors in traditional Chinese pickles [J]. Food Res Int, 2021, 147: 110543.
- [26] 李思佳. 16S rRNA 分子生物学方法探究牛奶中的细菌菌群 [J]. 中国食品, 2021, (21): 132–133.
LI SJ. Study on bacterial community in milk by 16S rRNA molecular biological method [J]. Chin Food, 2021, (21): 132–133.
- [27] 江汶钰, 张明星, 李洁, 等. 豉香型白酒酒丸、酒饼及酒醪中微生物群落多样性研究 [J]. 中国酿造, 2021, 40(7): 33–37.
JIANG WY, ZHANG MX, LI J, *et al.* Microbial community diversity in Jiuwan, Jiubing and Jiulao of Chi-flavor Baijiu [J]. Chin Brew, 2021, 40(7): 33–37.
- [28] NDOYE B, YANG XQ, GUAN LL, *et al.* Diversity of microflora surviving decontamination treatments of pasteurized meat carcasses assessed using cultivation-based and nested PCR-DGGE fingerprinting methods poblational study [J]. J Food, 2021, 6(4): 1–10.
- [29] VESNA M, ANDREA O, CRISTIANA G, *et al.* Profiling white wine seed vinegar bacterial diversity through viable counting, metagenomic sequencing and PCR-DGGE [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 286: 66–74.
- [30] 吴昭庆, 胡萍, 程华, 等. 基于 PCR-DGGE 技术对糍粑辣椒腐败过程细菌多样性动态研究 [J]. 中国调味品, 2021, 46(3): 50–55.
WU ZQ, HU P, CHENG H, *et al.* Dynamic study on bacterial diversity in the spoilage process of ciba pepper based on PCR-DGGE technology [J]. China Cond, 2021, 46(3): 50–55.
- [31] 李娜, 崔梦君, 马佳佳, 等. 自然发酵腐乳中细菌多样性评价 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(16): 165–171.
LI N, CUI MJ, MA JJ, *et al.* Evaluation of bacterial diversity in natural fermented sufu [J]. Food Res Devel, 2019, 40(16): 165–171.
- [32] 李顺. 总状毛霉和米根霉混合发酵腐乳研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.
LI S. Study on mixed fermentation of sufu with *Mucor racemosus* and *Rhizopus oryzae* [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2017.
- [33] 张金兰, 鲁绯, 纪凤娣, 等. 大豆发酵食品中根霉的研究进展 [J]. 中国酿造, 2010, (9): 1–4.
ZHANG JL, LU F, JI FD, *et al.* Research advance of *Rhizopus* in the fermented soybean food [J]. Chin Brew, 2010, (9): 1–4.
- [34] 李顺, 顾永忠, 杨英, 等. 八公山腐乳酿制过程中毛霉和根霉的前期发酵比较研究 [J]. 食品科学, 2016, 37(17): 163–168.
LI S, GU YZ, YANG Y, *et al.* Comparative study of pre-fermentation with *Mucor racemosus* and *Rhizopus oryzae* in Bagongshan sufu during fermentation [J]. Food Sci, 2016, 37(17): 163–168.
- [35] 马德懿. 不同霉对腐乳及全豆腐乳前发酵影响的研究 [J]. 现代食品, 2020, (6): 53–56.
MA SY. Study on the effect of different molds on the pre-fermentation of fermented bean curd and whole bean curd [J]. Mod Food, 2020, (6): 53–56.

- [36] 万红芳, 赵勇, 王正全, 等. 生产菌种及环境微生物与腐乳品质关系研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(6): 255–261.
WANG HF, ZHAO Y, WANG ZQ, *et al.* Research progress on the relationship between sufu quality and microorganisms from starters and environment [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(6): 255–261.
- [37] 涂婧, 李笑梅. 腐乳相关研究及开发进展[J]. 大豆科技, 2016, (4): 39–44.
TU J, LI XM. Related research and development progress in fermented bean curd [J]. Soybean Sci Technol, 2016, (4): 39–44.
- [38] 徐海帝, 程永强, 徐永伟, 等. 发酵菌种对低盐白腐乳感官品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(10): 16–22.
XU HD, CHENG YQ, XU YW, *et al.* The influence of fermentative strain on the sensory quality of low-salt white sufu [J]. Food Ferment Ind, 2007, 33(10): 16–22.
- [39] 李理, 杨晓泉, 赵谋明. 毛霉蛋白酶在腐乳成熟中的作用[J]. 中国酿造, 2005, (4): 18–21.
LI L, YANG XQ, ZHAO MM. Contribution of *Mucor* proteases to sufu maturation [J]. Chin Brew, 2005, (4): 18–21.
- [40] TAKAHASHI K, CHANG WJ, ARIMA K. The structure and function of acid proteases: IV. Inactivation of the acid protease from *Mucor pusillus* by acid protease-specific inhibitors [J]. J Biochem, 1976, 80(1): 61–67.
- [41] 杨智慧. 总状毛霉接种发酵对云南低盐素腐乳品质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
YANG ZH. Effect of inoculation and fermentation by *Mucor racemosum* on quality of yunnan low-salt sufu [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [42] RE 布坎南, NE 吉木斯. 伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984.
BUCHANAN RE, JIMUS NE. Berger manual on identification of bacteria (eighth edition) [M]. Beijing: Science Press, 1984.
- [43] HUANG XN, YU SZ, HAN BZ, *et al.* Bacterial community succession and metabolite changes during sufu fermentation [J]. LWT Food Sci Technol, 2018, 97: 537–545.
- [44] 张雅婷, 孙娜, 于寒松, 等. 红腐乳发酵过程中菌群结构与风味相关性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(1): 287–294.
ZHANG YT, SUN N, YU HS, *et al.* Advances in research on correlation between flora structure and product flavor during red sufu fermentation [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(1): 287–294.
- [45] 廖新浴, 陈信贤, 刘东红, 等. 不同种类腐乳产品中优势菌种的分离与鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3755–3759.
LIAO XY, CHEN XX, LIU DH, *et al.* Isolation and identification of dominant bacteria in different types of sufu products [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(14): 3755–3759.
- [46] 陈卓, 吴学凤, 穆冬冬, 等. 红腐乳后酵期风味物质与细菌菌群分析[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 118–125.
CHEN Z, WU XF, MU DD, *et al.* Determination and correlation analysis of flavor components with bacterial community in post-fermented red sufu [J]. Food Sci, 2021, 42(6): 118–125.
- [47] 徐琼, 刘洋, 曲勤凤, 等. 高通量测序分析不同地区红腐乳细菌多样性[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 110–116.
XU Q, LIU Y, QU QF, *et al.* High-throughput sequencing analysis of bacterial diversity in red sufu from different regions [J]. Food Sci, 2020, 41(10): 110–116.
- [48] 周小虎, 李理. 白腐乳发酵过程中细菌群落演替规律研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(5): 168–172.
ZHOU XH, LI L. Succession regulations of bacterial community in the fermentation process of white sufu [J]. Chin Brew, 2020, 39(5): 168–172.
- [49] 孙娜, 张雅婷, 于寒松, 等. 发酵型青腐乳菌群结构与风味物质及其相关性分析[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 177–183.
SUN N, SUN YT, YU HS, *et al.* Microflora structure and flavor components and correlation between them in fermented stinky tofu [J]. Food Sci, 2020, 41(22): 177–183.
- [50] 陶康. 基于高通量基因测序鉴定腐乳发酵微生物及创新复合发酵腐乳研制[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
TAO K. Identification of fermented bean curd microorganisms based on highthroughput gene sequencing and development of innovative compound fermented bean curd [D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.
- [51] 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, (5): 424–427, 438.
ZOU JX, LI GJ, GENG YH, *et al.* Analysis and identification of bacteria population in sufu fermentation [J]. Mod Food Sci Technol, 2008, (5): 424–427, 438.
- [52] 刘芳, 曹新志, 方春玉, 等. 腐乳毛霉蛋白酶菌株紫外线诱变育种[J]. 生物技术, 2009, 19(5): 50–52.
LIU F, CAO XZ, FANG CY, *et al.* UV Breeding by induced mutation of *Mucor* protease strain from sufu [J]. Biotechnology, 2009, 19(5): 50–52.
- [53] 胡永金, 任淑娟, 王知荣, 等. 毛霉 40899 和毛霉 M/T 混合发酵腐乳的研究[J]. 轻工学报, 2019, 34(1): 1–10.
HU YJ, REN SD, WANG ZR, *et al.* Study on sufu fermented by *Mucor* 40899 and *Mucor* M/T [J]. J Light Ind, 2019, 34(1): 1–10.
- [54] 魏冠棉. 油腐乳发酵过程中质地与风味的变化及其形成路径分析[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
WEI GM. Study on the changes of texture and flavor of oil furu and their formation pathways during fermentation [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [55] 张彦位, 杨玲, 路江浩, 等. 乳酸菌全基因组测序的应用进展[J]. 食品工业科技, 2022. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080128
ZHANG YW, YANG L, LU JH, *et al.* Application progress of lactic acid bacteria whole genome sequencing [J]. Sci Technol Food Ind, 2022. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021080128
- [56] 席晓敏, 张和平. 微生物代谢组学研究及应用进展[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 283–289.
XI XM, ZHANG HP. Progress in microbial metabolomics and its application [J]. Food Sci, 2016, 37(11): 283–289.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



阙云飞, 硕士, 主要研究方向为细胞代谢与调控、食品微生物检测。
E-mail: yfque@foxmail.com

李占彬, 博士, 主要研究方向为食品安全检测与分析评估。
E-mail: zhanbin823@126.com