

渥堆期间水分对浏阳豆豉微生物 及品质风味的影响

The effects of moisture on microorganisms, quality, and flavor of
Liuyang douchi during the pile fermentation period

蒋立文¹ 张浩东¹ 覃业优² 胡嘉亮² 刘洋¹

JIANG Liwen¹ ZHANG Haodong¹ QIN Yeyou² HU Jialiang² LIU Yang¹

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南坛坛香食品科技有限公司, 湖南长沙 410128)

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China;

2. Hunan Tantanxiang Food Technology Co., Ltd., Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:目的:通过调控渥堆期间水分提高浏阳豆豉的品质风味。方法:采用宏基因组测序技术,结合顶空固相萃取—气质联用(HS-SPME-GC-MS)技术,研究了曲料不同水分(低 35%、中 42%、高 50%)对渥堆期间浏阳豆豉的细菌群落变化及挥发性组成的影响。结果:渥堆水分对渥堆过程中细菌多样性具有明显的影响;第一次渥堆发酵、第二次渥堆发酵两个阶段棒状杆菌的相对丰度与渥堆水分呈正相关,第一次渥堆发酵阶段葡萄球菌相对丰度与渥堆水分呈负相关,且第二次渥堆发酵阶段中未分类的葡萄球菌和片球菌与渥堆水分呈负相关。中水分渥堆豆豉的挥发性物质种类最丰富,且吡嗪类物质比其他水分渥堆豆豉高,但醛类、酸类含量较低。进一步的相关性分析显示葡萄球菌属对差异性挥发性物质的影响最大,与 6 种差异性挥发性物质如 2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、愈创木酚等显著正相关;其次是海洋芽孢杆菌属。结论:渥堆水分通过改变细菌多样性影响浏阳豆豉的品质。

关键词:浏阳豆豉;渥堆;水分;挥发性成分;细菌多样性

Abstract: Objective: Pile fermentation is an important process for the formation of Liuyang Douchi flavor, the initial moisture of the douchi qu during pile fermentation could induce the temperature changes which might further affected the microbial community and flavor compounds formation. **Methods:** In this paper, metagenomic sequencing, combined with headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS), was used to investigate the effects of

different moisture (low 35%, medium 42%, high 50%) of the douchi qu on the bacterial community changes and volatile composition of Liuyang Douchi during pile fermentation. **Results:** The results showed that bacteria in high moisture douchi qu proliferated faster due to the lower center temperature. In detail, the relative abundance of *Corynebacterium* during the first and second stages of pile-fermentation was positively correlated with pile fermentation moisture, while *Staphylococcus* during the first stage of pile-fermentation was negatively correlated with pile fermentation moisture; *Staphylococcus* and *Pediococcus* during the second stage of pile-fermentation were also negatively correlated with pile fermentation moisture. For volatile compounds, the Douchi pile-fermented with medium moisture had the richest variety of volatile substances, especially pyrazine, but the content of aldehydes and acids were lower. Further correlation analysis showed that *Staphylococcus* had the greatest impact on differential volatile substances and was significantly positively correlated with six differential volatile substances such as 2, 3, 5-trimethylpyrazine and 2-ethyl-3, 5, 6 - Trimethylpyrazine, guaiacol, etc. are significantly positively correlated, followed by *Oceanobacillus* which was significantly positively correlated with five differential volatile substances. **Conclusion:** The moisture content of pile fermentation affects the quality of Liuyang Douchi by altering bacterial diversity.

Keywords: Liuyang Douchi; pile fermentation; moisture; volatile components; bacterial diversity

豆豉是一种中国传统的发酵调味品,最常见的类型有曲霉型、毛霉型、根霉型、细菌型^[1]。浏阳豆豉是曲霉型豆豉的典型代表,具有独特的风味和品质。黑豆经清洗、浸泡、蒸煮、摊凉、制曲、凉曲、洗曲、渥堆、拌或不拌盐翻曲、发酵成熟、干燥后即可制得浏阳豆豉,其发酵工艺

基金项目:湖南省自然科学基金项目(编号:2023JJ30289)

作者简介:蒋立文(1968—),男,湖南农业大学教授,博士。

E-mail: 1024305380@qq.com

收稿日期:2023-12-05 **改回日期:**2024-04-30

简单,一般发酵时间为 12~15 d。其中渥堆是浏阳豆豉独有的工艺,即将洗曲并沥干的豆豉曲进行堆积发酵。渥堆期间的较高水分(>35%)、低盐度(<3%)的发酵环境促使酶发挥作用并使得细菌类微生物代谢旺盛。前期研究^[2]发现,渥堆阶段是有机酸、游离氨基酸及挥发性物质大量积累的主要阶段。因此,研究渥堆期间水分对浏阳豆豉风味品质形成的相关性具有重要意义。

通常,微生物是发酵食品风味形成的决定性因素,而特定渥堆工序不仅影响酶活性释放,更主要影响微生物群落变化。任婷婷等^[3]研究发现,在洞口酱香酒堆积发酵到 72~96 h 时细菌群落结构受水分、酸度、温度影响较大,大部分的优势菌属与水分、温度、酸度和还原糖呈显著负相关。许蒙蒙等^[4]在研究不同发酵水分及菌酶协同发酵对豆粕品质的影响时发现,随着料水比的适度增加,能显著增加菌的活性和发酵效率。

谢靓等^[5]发现浏阳豆豉的发酵过程中,菌落总数最高可达 3.8×10^{11} CFU/g,显著高于霉菌数量。而陈怡^[6]在研究浏阳豆豉发酵微生物及物质成分变化时发现,与风味物质具有相关性的真菌有 5 种,细菌则有 18 种,说明细菌对豆豉风味物质的形成具有重要作用。张芄芄等^[7]在研究蚕豆豆瓣酱发酵微生物群落与风味物质的相关性时发现,葡萄球菌在后酵过程中有助于改善豆瓣酱的风味。

研究拟采用传统培养法结合宏基因组学技术对不同节点豆豉样品的细菌群落结构变化进行测定,利用 GC-MS 对比分析不同渥堆水分浏阳豆豉挥发性物质的差异,进一步探讨“水分—微生物群落—风味物质”之间的相关性,以期对浏阳豆豉生产的品质风味调控提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

浏阳豆豉样品:湖南坛坛香食品科技有限公司;

甲醛:分析纯,西陇科学股份有限公司;

氢氧化钠、福林试剂、碳酸钠、三氯乙酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

葡萄糖、酚酞:分析纯,天津市化学试剂研究所有限公司;

DP712-02 磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒:天根生化科技(北京)有限公司;

测序试剂盒 NovaSeq 6000 SP Reagent Kit v1.5 (20028400):美国 Illumina 公司;

DNS 溶液:纯度 99% 以上,福州飞净生物科技有限公司;

PCA 培养基:广东环凯微生物科技有限公司;

57330-U 型聚二甲基硅氧烷萃取头(50/30 μm DCB/CARR/PDM):美国 Supelco 公司。

1.2 仪器与设备

超净工作台:SW-CJ-1FD 型,苏州净化设备有限

公司;

恒温培养摇床:SKY-200B 型,上海苏坤实业有限公司;

冷冻干燥机:SCIENTZ-10N 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

恒温水浴锅:HH-6D 型,上海比朗仪器制造有限公司;

梯度 PCR 仪:MG96G 型,朗基科学仪器有限公司;

气质联用仪:7890B5977 型,美国 Agilent 公司;

分析天平:BSa224S 型,德国 Sartorius 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制作流程

黑豆→筛选→洗涤→浸泡→沥干→蒸煮(100 $^{\circ}\text{C}$, 40 min)→冷却→制曲(温度 25~30 $^{\circ}\text{C}$, 7 d)→洗曲→第一次渥堆发酵(2 d)→转桶加盐(2.5%)→第二次渥堆发酵(1.5 d)→自然晒干→成品

1.3.2 样品采集 通过不同洗曲工艺调节洗曲后豆豉曲料水分为 35%(低水分)、42%(中水分)和 50%(高水分)。不同曲料水分的样品分别在单独的发酵桶中进行渥堆发酵 84 h,每隔 12 h 从发酵桶中取出 200 g 样品,共计 24 个样品进行菌落总数分析。

分别于洗曲后(渥堆 0 h)、转桶前(渥堆 48 h)和渥堆 84 h 3 个关键节点各取 500 g 样品,共计 9 个样品。所有采集的样品用自封袋密封,并立即冷冻保存在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中,以备分析。

1.3.3 测定方法

(1) 菌落总数:按 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》执行。

(2) 总酸:按 GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》中的 pH 计电位滴定法执行。

(3) 氨基酸态氮:按 GB 5009.235—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》中的酸度计法执行。

(4) 中心温度测量:使用电子温度探针深入渥堆豆豉中心,自洗曲后每隔 2 h 测定 1 次。

1.3.4 微生物多样性测定方法

(1) 基因组提取及宏基因组测序:使用磁珠法粪便基因组 DNA 提取试剂盒,对总样品的 DNA 进行分离和纯化。然后用 Qubit 1X dsDNA HS Assay Kits 检测 DNA 浓度。取 200 ng 符合 QC 要求的 DNA 到 0.6 mL 低吸附离心管中,补水到 52 μL ,调整打断仪参数,对 DNA 进行打断,使用 TruSeq 文库试剂盒磁珠纯化回收打断产物,使用 Agilent 2100 Bioanalyzer (HighSensitivity DNA Reagents, Agilent, 5067-4627) 检测片段化产物大小是否符合要求,对不符合片段范围要求的样本重新取样片段化。使用 TruSeq Nano DNA LT Library Preparation Kit 对片段产物进行基因组文库构建,经过末端修复、接头连接、index PCR 扩增及纯化完成基因组文库构建。使用

Qubit 1X dsDNA HS Assay Kits 对文库进行定量, 最后, 使用 Illumina Novaseq 6000 对其进行 2×250 bp 的双端测序, 测序模式为 PE150。

(2) 宏基因组数据分析: 将测序得到的原始数据进行去接头 cutadapt(v1.9)、去低质量序列 fqtrim(v0.94)。当已知宿主的情况下, 需要去除宿主序列 bowtie2(v2.2.0), 保证后续组装以及分析结果均为微生物的序列。得到有效数据后, 按照样本分别进行组装 megahit(v1.2.9), 将组装好的 contigs 进行 CDS 预测 MetaGeneMark(v3.26), 随后根据预测结果进行聚类 and 去冗余 CD-HIT(v4.6.1); 通过 bowtie2(v2.2.0) 比对每个样本的 read, 并进行 TPM 丰度计算; 过滤低丰度表达后获得 Unigenes; 将 Unigenes 与 NR_mate 库进行比对, 获得物种注释信息; 将 Unigenes 与 GO, KEGG, eggnoG, CAZy, CARD, PHI, MGEs, VFDB 数据库进行比对及功能注释; 统计 unigene 进行差异比较分析: 在物种、功能、基因水平进行丰度统计分析 & 差异比较分析。

1.3.5 顶空固相微萃取 (SPME) 结合 GC-MS 测定挥发性成分

(1) 挥发性物质提取方法: 将 DVB/CAR/PDMS 萃取头插入气相色谱进样口, 在 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下老化 25 min; 与此同时称取研磨后豆豉样品 2 g 置于 15 mL 顶空进样瓶中, 加 7 mL 饱和食盐水, 再加入质量浓度为 $1.7\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 二甲基-3 庚酮 $20\text{ }\mu\text{L}$ 作为内标物, 置于恒温水浴磁力搅拌锅中在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下平衡 15 min, 将老化完毕的萃取头穿过密封垫插入顶空进样瓶内后推出纤维头 (距离样品表面约 10 mm), 顶空吸附 40 min 后插入气相色谱进样口解吸 5 min。

(2) 挥发性物质检测方法: 参考吴梓仟等^[8]的检测方法, 使用安捷伦气质联用仪开展气相色谱-质谱分析法 (GC-MS) 分析, 每个样品设置 3 组重复。数据通过 Qualitative Analysis B.07.00 软件经由 NIST20.L 数据库进行处理分析。

GC 条件: CD-WAX 石英毛细管柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$); 载气高纯氦气 (He), 流量 $1\text{ mL}/\text{min}$; 进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 不分流进样。程序升温: 起始柱温为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min 后, 以 $3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 再以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 10 min, 最后以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min。

MS 条件: 电子离子 (EI); 接口温度 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$, 离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围 $45\sim 500\text{ (m/z)}$ 。

1.4 数据处理

每个数据均为 3 次测定的平均值, 采用 Excel、SPSS 26.0 统计分析软件分析试验数据, 用均值 \pm 标准差 (s.d) 方法表示, 偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 通过用联川生物云平台计算分析, Origin 2023 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 不同渥堆水分豆豉中心温度的变化

如图 1 所示, 第一次渥堆发酵期间 ($0\sim 48\text{ h}$) 渥堆豆豉样品中心温度迅速提升至 $48.2\sim 57.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 直至渥堆 48 h 温度保持稳定; 转桶时进行了翻曲、加盐混合导致曲料快速放热, 至第二次渥堆发酵阶段豆豉的中心温度降低至 $38.1\sim 43.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。此外, 由于转筒时食盐的加入, 微生物的生长代谢作用被抑制, 因此第二次渥堆发酵期间温度增速较第一次缓慢, 且最高温度只达到了 $50.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

第一次渥堆发酵期间, 35% 水分渥堆豆豉样品温度提升快, 16 h 达最高温度 $57.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 然后缓慢下降, 发酵至 46 h 达到 $52.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。而 42% 水分渥堆豆豉样品和 50% 水分渥堆豆豉样品均呈上升趋势, 前 26 h 增速较快, 分别增加了 $27.6, 19.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 至 46 h 达最高温度 $54.0, 46.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。第一次渥堆发酵期间 ($48\sim 84\text{ h}$), 35% 水分渥堆豆豉样品和 50% 水分渥堆豆豉样品随着发酵时间的延长而增加至 $50.9\sim 50.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, 而 42% 水分渥堆豆豉样品在转桶渥堆期间温度变化较小。渥堆前期豆豉中心温度升高主要依靠酶反应和细菌的作用, 且随着曲料水分的减少而升温迅速, 其原因可能是随着水分的减少渥堆曲料间隙填充多为空气, 而空气相对于水比热容小、导热性能差^[9]。第二次渥堆发酵阶段温度的缓慢回升可能与微生物继续缓慢生长和缓慢的酶水解反应有关。

2.2 不同水分豆豉渥堆菌落总数的变化

由图 2 可知, 渥堆期间各样品中的细菌总数均呈先上升后下降趋势。其中, 第一次渥堆发酵期间, 42% 和 50% 水分渥堆豆豉样品细菌菌落总数上升最快, 在发酵到 12 h 时达到最高值, 50% 水分渥堆豆豉样品菌落总数上升最多, 达到了 $9.2\text{ lg}(\text{CFU}/\text{g})$, 42% 水分渥堆豆豉样品达到了 $8.9\text{ lg}(\text{CFU}/\text{g})$; 相比之下 35% 水分样品细菌菌落总数上升较慢, 在 24 h 达到最高值 $8.8\text{ lg}(\text{CFU}/\text{g})$ 。细菌菌落总数在达到最高值后, 逐步下降, 可能是由于渥堆期间过高的温度抑制了细菌的生长^[10]。转桶渥堆后

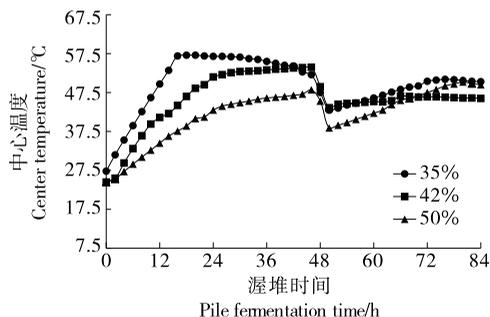


图 1 渥堆期间不同水分浏阳豆豉中心温度的变化
Figure 1 The changes of center temperature in Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

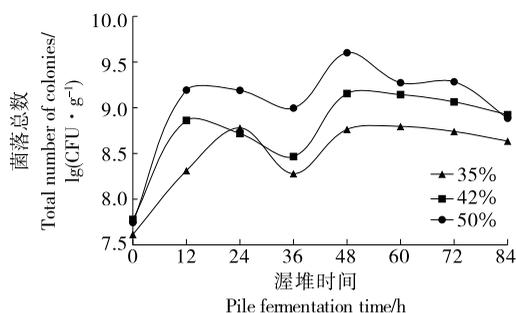


图 2 渥堆期间不同水分浏阳豆豉菌落总数的变化

Figure 2 The changes of the total number of colonies in Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

(48 h), 由于降低了曲料的温度及环境中微生物的引入, 豆豉细菌菌落总数上升; 而第二次渥堆发酵期间, 由于加盐环境细菌的繁殖受到了抑制, 导致渥堆豆豉菌落总数随着发酵时间的延长而下降至 8.6~8.9 lg(CFU/g), 其中 50% 渥堆水分豆豉下降得最多, 为 0.8 lg(CFU/g)。

2.3 不同水分渥堆豆豉发酵阶段细菌菌落多样性分析

2.3.1 门水平的多样性分析 各组水分间以及同水分不同时间的门水平相对丰度存在明显差异, 具体结果见图 3。其中渥堆 0 h 样品中优势菌门以变形菌门和厚壁菌门为主, 二者在 3 种渥堆水分豆豉中差异不大, 其中变形菌门的平均相对丰度为 87.3%, 显著高于其他细菌门 ($P < 0.05$)。

渥堆 48 h 时的样品中主要的优势菌门仍为变形菌门和厚壁菌门, 但厚壁菌门的相对丰度迅速上升, 变形菌门相对减少。且随着水分含量的增加, 变形菌门的相对丰度呈上升趋势, 在 35% 水分渥堆豆豉样品中的相对丰度

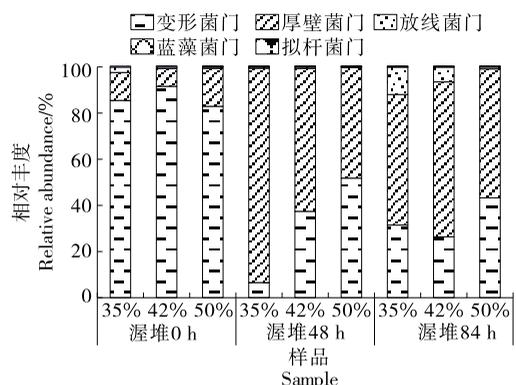


图 3 渥堆期间不同水分浏阳豆豉在不同阶段细菌在门水平的相对丰度变化

Figure 3 The changes in the relative abundance of bacteria at the Phylum level in different stages of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

增加了 80.8%, 厚壁菌门的相对丰度呈下降趋势, 在 35% 水分渥堆豆豉样品中相对减少了 78.9%。厚壁菌门是一类具有芽孢形成能力的细菌门^[11], 其在渥堆 2 d 后占据优势地位, 与此时较高的温度 (48.6~54.0 °C) 适宜其生长和芽孢萌发有关。

渥堆 84 h 时, 3 种不同水分的样品中的厚壁菌门和变形菌门的相对丰度逐渐接近, 分别占相对丰度的 55.9%~67.1% 和 26.4%~43.2%。相对于前两个发酵节点, 放线菌门的相对丰度有所上升, 且随着水分的降低而增加, 在 35% 水分渥堆豆豉样品中达到 11.9%。放线菌门是一类嗜热性细菌, 可以在高温条件下分解有机物^[12], 从图 3 可知, 在第二次渥堆发酵期间随着发酵的进行渥堆豆豉温度逐渐增加, 且 35% 水分渥堆豆豉样品的温度始终在最高水平, 较高的温度有利于放线菌门的生长和活性, 而水分的减少也会降低其他微生物的竞争力, 使放线菌门占据优势。

2.3.2 属水平的多样性分析 不同水分豆豉属水平多样性的相对丰度变化如图 4 所示。

渥堆 0 h 的样品中主要优势菌属为克雷伯氏菌和泛菌属, 其相对丰度最高分别达到了 46.6% 和 30.5%。随着水分含量的增加, 克雷伯氏菌和肠球菌属的相对丰度也呈上升趋势, 在 50% 水分渥堆样品中其含量分别为 46.6% 和 14.0%, 而泛菌属及肠杆菌属随着洗曲进行而分别减少至 0.7% 和 5.0%。

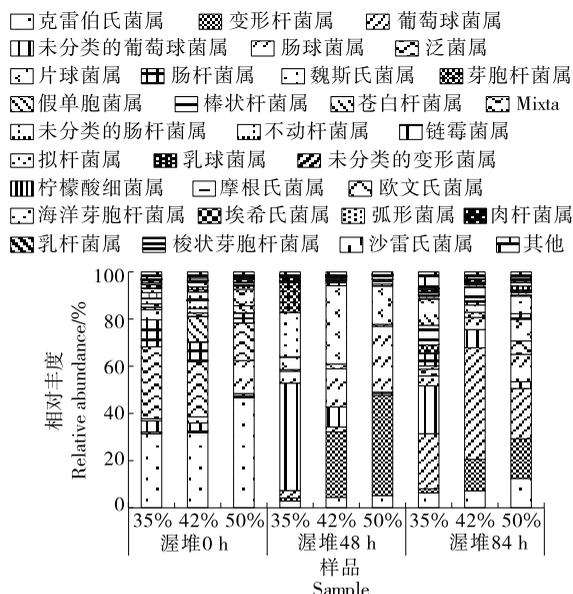


图 4 渥堆期间不同水分浏阳豆豉在不同阶段的细菌属水平的相对丰度变化

Figure 4 The changes in the relative abundance of bacteria at the genus level in different stages of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

渥堆 48 h 的样品中优势菌群主要为肠球菌、片球菌和变形杆菌,其相对丰度分别在 50%,42%,50% 水分渥堆豆豉中达到了最高值。此外,葡萄球菌和未分类的葡萄球菌的相对丰度也呈上升趋势,其中 35% 水分渥堆豆豉中相对丰度最高,达到了 48.6%。相反,泛菌属和克雷伯氏菌的相对丰度则呈显著下降趋势,分别降低至 0.7%~0.9% 和 2.8%~5.2%。说明在渥堆过程中豆豉渥堆的环境更适合肠球菌、片球菌和变形杆菌等耐酸性细菌的生长繁殖,而不利于泛菌属、克雷伯氏菌属等细菌的生长繁殖。

渥堆 84 h 的样品中不同水分渥堆豆豉葡萄球菌是各样品中最主要的优势菌,其相对丰度最高达到了 55.1%; 肠球菌、变形杆菌、片球菌含量显著降低,分别在 42%, 50%,42% 水分渥堆豆豉中下降得最大,分别下降了 25.6%,16.3%,30.2%; 葡萄球菌是一种耐盐性较强的细菌^[13],可以分解食品中的糖类、蛋白质和脂肪,产生乙醇、乳酸、乙酸、丁酸等有机酸和挥发性化合物,如乙醛、丙醇、异戊醇等,这些物质可以改善食品的风味和口感^[14]。

2.4 不同渥堆水分豆豉总酸和氨基酸态氮含量变化

由图 5 可知,3 种不同水分渥堆豆豉的总酸含量在渥堆发酵过程中呈先增后减的变化规律,而氨基酸态氮含量则呈逐步上升的趋势。

在第一次渥堆发酵期间,渥堆发酵到 48 h 时,42% 和 50% 水分渥堆豆豉样品总酸含量上升最多,42% 水分渥堆豆豉样品达到了 2.3%,35% 水分渥堆豆豉样品最低,仅为 0.6%;42% 和 50% 水分渥堆豆豉样品的总酸均有不同程度的下降,但 35% 水分渥堆豆豉样品总酸略有增加。

从结果可以看出,不同水分渥堆豆豉中氨基酸态氮的含量与豆豉水分含量呈正相关,至渥堆 84 h 时达到最大值,其中 50% 水分渥堆豆豉样品最高,为 2.7%,而 35%

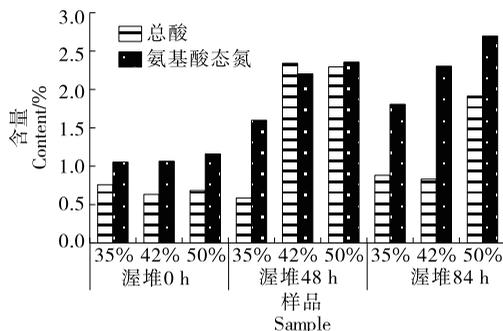


图 5 渥堆期间不同水分浏阳豆豉总酸和氨基酸态氮含量变化

Figure 5 The changes in the content of total acid and amino acid nitrogen of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

水分渥堆豆豉样品最低,为 1.8%。结合图 2 菌落总数变化发现发酵程度与微生物的数量密切相关,说明在豆豉渥堆发酵过程中,随着发酵的进行,豆豉中的蛋白质逐渐被分解,且随着渥堆水分的增加分解更彻底。

2.5 不同渥堆水分豆豉挥发性成分的变化

不同水分渥堆豆豉样品中共鉴定出 7 类化合物,共 65 种物质(表 1),分别为醛类(7)、醇类(9)、酸类(11)、酯类(14)、酚类(6)、吡嗪类(12)酮类(6)。根据图 6 可知,随着渥堆时间延长,挥发性物质种类及含量均呈上升趋势。其中 42% 水分渥堆豆豉样品增加最为明显。渥堆 48 h,不同水分渥堆豆豉样品中醛类/酯类物质明显增加,二者在 42% 水分渥堆豆豉样品中增加最为明显,醛类物质从 1.35 mg/kg 增加到了 8.62 mg/kg,酯类物质从 0.66 mg/kg 增加到了 13.20 mg/kg;渥堆 84 h,吡嗪类/酚类物质明显增加,其中吡嗪类物质在 42% 水分渥堆豆豉样品中增加最为明显,较渥堆 48 h 豆豉样品增加了 32.39 mg/kg;而酚类物质在 50% 水分渥堆豆豉样品中增加最多,较第二次渥堆发酵阶段样品增加了 12.42 mg/kg;而醛类物质明显减少,特别是 42% 渥堆豆豉样品减少幅度最大,从渥堆 48 h 的 8.62 mg/kg 减少到了 1.09 mg/kg。

吡嗪类化合物大多具有令人愉悦的坚果、烘烤以及酱香香气,且普遍阈值较低^[15],一般来源于蛋白质/氨基酸的热分解以及其与糖类发生美拉德反应^[16]。吡嗪类化合物随着渥堆发酵时间的增加而呈上升趋势,并且于渥堆 84 h 达到顶峰,推测为温度的增加促进了美拉德反应的进行,有利于产生和积累吡嗪类物质,此趋势与王继刚^[17]对浏阳豆豉后发酵挥发性化合物检测结果一致。其中 42% 水分豆豉的吡嗪化合物上升趋势最为显著,武顺等^[18]对产吡嗪类细菌的麸曲制作工艺优化结果亦显示中间水分的麸曲吡嗪类物质含量最高。其中,呈现谷物气息的 2,3,5-三甲基吡嗪为吡嗪类中含量最高,且于 42% 豆豉中尤为高,为 20.07 mg/kg。2-乙基-3,5,6-三甲基吡

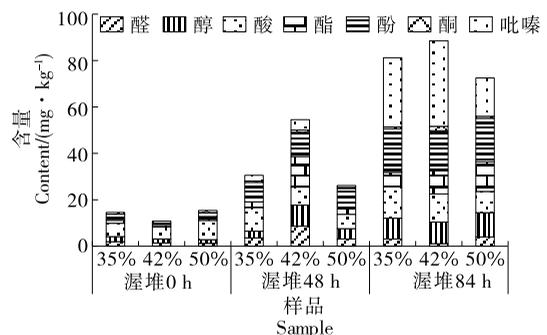


图 6 不同水分浏阳豆豉在不同渥堆阶段挥发性成分含量变化

Figure 6 Changes of volatile components of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

表 1 渥堆期间不同水分浏阳豆豉在不同阶段挥发性成分含量*

Table 1 Volatile components of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation mg/kg

种类	名称	渥堆 0 h			渥堆 48 h			渥堆 84 h		
		35%	42%	50%	35%	42%	50%	35%	42%	
醛类	2,2-二甲基戊醛	0.56±0.12	—	—	—	—	—	—	—	
	苯甲醛	0.34±0.18	0.65±0.19	0.56±0.18	1.82±0.31	4.50±0.19	1.44±0.02	1.62±0.11	0.23±0.13	
	苯乙醛	1.03±0.17	0.70±0.40	0.67±0.14	0.76±0.29	1.71±0.34	0.74±0.02	1.49±0.12	0.49±0.27	
	异丁醛	—	—	—	0.25±0.03	—	0.29±0.05	—	0.36±0.06	
	2-苯基巴豆醛	—	—	—	0.56±0.29	2.40±0.47	—	—	—	
	可卡醛	—	—	—	0.22±0.05	—	—	—	—	
	α-亚乙基-苯乙醛	—	—	—	—	—	0.70±0.15	—	—	
醇类	异戊醇	0.41±0.28	0.18±0.02	—	—	0.99±0.02	0.43±0.09	1.21±0.17	1.60±0.12	
	蘑菇醇	0.59±0.03	1.08±0.27	0.58±0.20	0.43±0.05	2.95±0.31	1.85±0.12	1.30±0.35	2.14±0.41	
	苯乙醇	1.01±0.18	0.54±0.13	0.86±0.37	2.23±0.23	4.43±0.18	1.69±0.29	5.17±0.37	5.04±0.27	
	(-)-异雪松醇	0.18±0.04	—	0.16±0.06	0.22±0.04	—	—	0.72±0.09	0.34±0.19	
	alpha-松油醇	—	—	—	—	—	—	0.56±0.24	—	
	2,3-丁二醇	—	—	—	—	0.32±0.12	—	—	—	
	(2S, 3S)-(+) -2, 3-丁二醇	—	—	—	—	0.40±0.25	0.43±0.04	—	—	
	DL-β-乙基苯乙醇	—	—	—	—	—	—	—	0.20±0.07	
	苏合香醇	—	—	—	—	—	—	—	—	
	酸类	(E)-十六碳-7-烯酸	0.22±0.09	—	—	—	—	—	—	—
棕榈酸		3.94±0.73	1.55±0.06	4.70±0.55	4.16±0.16	4.90±0.67	3.17±0.45	9.86±0.68	5.00±0.36	
共轭亚油酸		1.58±0.13	—	1.89±0.39	—	—	—	—	1.82±0.41	
甲酸		—	—	1.12±0.08	3.69±0.31	—	1.03±0.36	—	4.28±0.12	
乙酸		—	—	—	0.38±0.09	1.96±0.35	—	—	0.27±0.04	
肉豆蔻酸		—	—	0.38±0.08	0.58±0.16	—	—	0.94±0.05	—	
十五酸		—	—	—	0.45±0.13	0.34±0.06	—	0.61±0.12	0.25±0.07	
顺式-11-十六碳二烯酸		—	—	0.38±0.04	0.92±0.16	0.54±0.07	0.61±0.29	1.12±0.26	0.49±0.12	
2-甲基丁酸		—	—	—	—	—	—	1.04±0.09	—	
十五烷酸		—	—	0.22±0.03	—	—	0.27±0.07	—	—	
冰醋酸		—	—	—	—	—	0.72±0.25	—	—	
酯类		棕榈酸乙酯	0.49±0.15	0.25±0.05	—	0.85±0.31	3.85±0.91	—	2.21±0.24	1.98±0.31
		亚油酸乙酯	0.74±0.21	1.28±0.16	2.95±0.57	1.28±0.16	5.26±0.12	2.16±0.31	2.75±0.56	2.16±0.15
		乙酸乙烯酯	—	—	—	0.32±0.02	—	—	—	—
	苯乙酸乙酯	—	—	—	—	0.72±0.06	0.31±0.16	0.67±0.15	2.05±0.17	
	甲氧基肉桂酸乙酯	—	—	—	—	—	—	0.54±0.02	—	
	乙酸乙酯	—	—	—	—	0.81±0.17	—	—	—	
	苯甲酸乙酯	—	—	—	—	0.36±0.04	—	—	—	
	反油酸乙酯	—	—	—	—	2.20±0.13	0.86±0.24	—	1.17±0.25	
	乙酸异戊酯	—	—	—	—	—	—	—	0.61±0.24	
	安息香酸乙酯	—	—	—	—	—	—	—	0.20±0.05	
	乙酸苯乙酯	—	—	—	—	—	—	—	0.43±0.07	
	对甲氧基肉桂酸乙酯	—	—	—	—	—	—	—	0.43±0.16	
	水杨酸苄酯	—	—	—	—	—	—	—	0.20±0.03	
十六酸乙酯	—	—	0.68±0.17	—	—	1.48±0.31	—	—		

续表 1

种类	名称	渥堆 0 h			渥堆 48 h			渥堆 84 h	
		35%	42%	50%	35%	42%	50%	35%	42%
酚类	愈创木酚	0.25±0.05	—	—	4.32±0.16	6.79±0.56	4.00±0.71	12.01±0.58	6.03±0.65
	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	2.38±0.82	1.04±0.41	—	4.10±0.33	3.26±0.43	—	6.84±0.17	—
	对乙基苯酚	—	—	—	—	0.41±0.05	—	—	—
	苯酚	—	—	—	—	—	0.58±0.24	—	0.63±0.11
	4-乙基苯酚	—	—	—	—	—	0.36±0.09	—	0.38±0.06
	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚	—	—	1.73±0.07	—	—	1.39±0.32	—	10.22±0.76
	吡嗪类	2,3,5-三甲基吡嗪	—	—	—	1.87±0.23	—	—	—
	2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪	—	—	—	0.56±0.08	—	0.38±0.14	3.04±0.80	5.40±0.14
	2,5-二甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	4.55±0.38	6.08±0.56
	2-乙烯基-6-甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	0.88±0.18	—
	2,3,5,6-四甲基吡嗪	—	—	—	—	4.48±0.56	—	10.57±0.86	—
	2-乙酰基-3-5-二甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	0.94±0.35	—
	2-异丁基-3,5,6-三甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	2.95±0.07	1.62±0.57
	2-乙基-6-甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	—	0.67±0.04
	2-甲基-6-乙烯基吡嗪	—	—	—	—	—	—	—	0.40±0.01
	2-乙基-3,6-二甲基吡嗪	—	—	—	—	—	—	—	1.96±0.27
	3,5-二甲基-2-(2-甲基丙基)吡嗪	—	—	—	—	—	—	—	0.68±0.16
	8-Methyl-[1,2,4] triazolo [4,3-b] pyridazine	—	—	—	—	—	—	6.88±0.66	—
酮类	4-辛酮	0.36±0.09	0.31±0.12	0.36±0.08	0.25±0.01	0.29±0.11	0.29±0.07	—	0.29±0.09
	2,3-丁二酮	—	—	—	0.34±0.15	—	—	0.76±0.24	—
	3,4-二甲基-2-己酮	—	0.50±0.24	0.54±0.04	—	—	—	—	—
	2-丁酮	—	—	—	—	—	0.20±0.06	—	0.20±0.05
	3-辛酮	—	—	—	—	0.18±0.06	0.86±0.25	—	0.86±0.22
	苯乙酮	—	—	—	—	—	0.50±0.23	—	0.50±0.13

† “—”为未检出。

噻、2,5-二甲基吡嗪及 2-异丁基-3,5,6-三甲基吡嗪为 3 个水分渥堆 84 h 后样品中的共有化合物,其中 2,5-二甲基吡嗪具有明显的酱香香气^[19],在 42% 水分豆豉中含量最高(6.08 mg/kg),而 50% 水分豆豉中仅含有 0.79 mg/kg。2,3,5,6-四甲基吡嗪具有烘焙、烧烤、坚果香味^[20],但仅存在于 35% 水分与 42% 的豆豉中,推测原因可能为水分过高而不利于产 2,3,5,6-四甲基吡嗪细菌生长。烤香味以及坚果香味的 2-乙基-6-甲基吡嗪、2-甲基-6-乙烯基吡嗪及 3,5-二甲基-2-(2-甲基丙基)吡嗪为 42% 豆豉的特有香味,共同赋予了 42% 豆豉的独特风味^[21]。综上,42% 水分豆豉整体酱香风味浓郁且丰富,其次为 35% 豆豉,而 50% 水分较次。

酯类化合物具有花果香、酒香等香气特征^[22],主要来

源于醇和羧酸的酯化反应^[23],酯类化合物在渥堆阶段有明显增加,渥堆 84 h 的样品中 50% 水分渥堆豆豉样品酯类物质含量最高,42% 水分渥堆豆豉样品酯类物质种类最丰富,共有 9 种;35% 水分渥堆豆豉样品酯类物质含量最低且种类最少。此外,在渥堆 84 h 样品中亚油酸乙酯、苯乙酸乙酯为 3 个样品中共有的化合物,其中亚油酸乙酯具有蜡香和甜香气息^[24],在 50% 水分渥堆豆豉样品中含量最高,有 4.68 mg/kg;苯乙酸乙酯具有香甜的蜂蜜香、玫瑰花香和果香气味^[25],在 42% 水分渥堆豆豉样品中含量最高,有 2.05 mg/kg;具有玫瑰花香^[26]的乙酸苯乙酯、甜香气息^[27]的对甲氧基肉桂酸乙酯、琥珀香气^[28]的水杨酸苄酯是 42% 水分渥堆豆豉样品特有的酯类物质,说明 42% 水分渥堆豆豉样品的香气相较于其他两种

样品酯类物质香气更为丰富。

酚类物质具有陈酿气息^[29],在不同水分湿堆 84 h 的样品中含量差异不大(17.26~18.84 mg/kg)。醛类物质多表现为甜香和花果香^[30],湿堆 84 h 样品中含量较低且种类较少(3 种),醇类物质和酸类物质在湿堆 84 h 阶段样品种类没有较大差异,提示这几种物质可能并不是构成不同水分豆豉香气差异的主要因素。

2.6 不同水分湿堆豆豉在不同湿堆阶段细菌与挥发性物质之间的相关性分析

为了明确豆豉湿堆发酵过程中细菌和风味物质之间的关联性,对不同样品的挥发性物质组成进行 PLS-DA 分析,结果如图 7。其中 35%水分发酵 0 h 样品、42%水分发酵 0 h 样品、50%水分发酵 0 h 样品之间的距离较近,表明洗曲后样品的挥发性物质组成相似,发酵 48 h 和发酵 84 h 不同水分样品之间的距离变大,说明洗曲后随着发酵的进行,水分的不同对豆豉湿堆发酵的挥发性物质形成的影响逐渐增大。PLS-DA 结果中 VIP ≥ 1 的物质共有 11 种,包含了 5 种吡嗪类物质、1 种醇类物质、1 种酸类物质、1 种酯类物质、2 种酚类物质。

进一步分析差异挥发性成分与微生物的相关性(图 8)

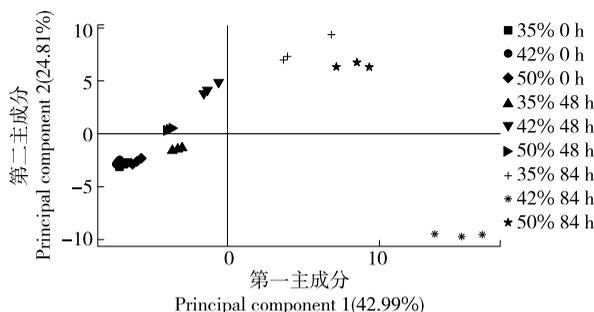


图 7 湿堆期间不同水分浏阳豆豉挥发性物质 PLS-DA 分析图

Figure 7 PLS-DA analysis of volatile substances of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

可知,葡萄球菌对 6 种关键差异性挥发性物质的形成具有明显贡献,如 2,3,5-三甲基吡嗪、2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、愈创木酚、2-异丁基-3,5,6-三甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、棕榈酸。于美娟等^[31]研究发现,葡萄球菌是传统发酵鲑鱼发酵过程中的主要微生物且与吡嗪类化合物存在显著正相关。与葡萄球菌类似,海洋芽孢杆菌亦与 5 种

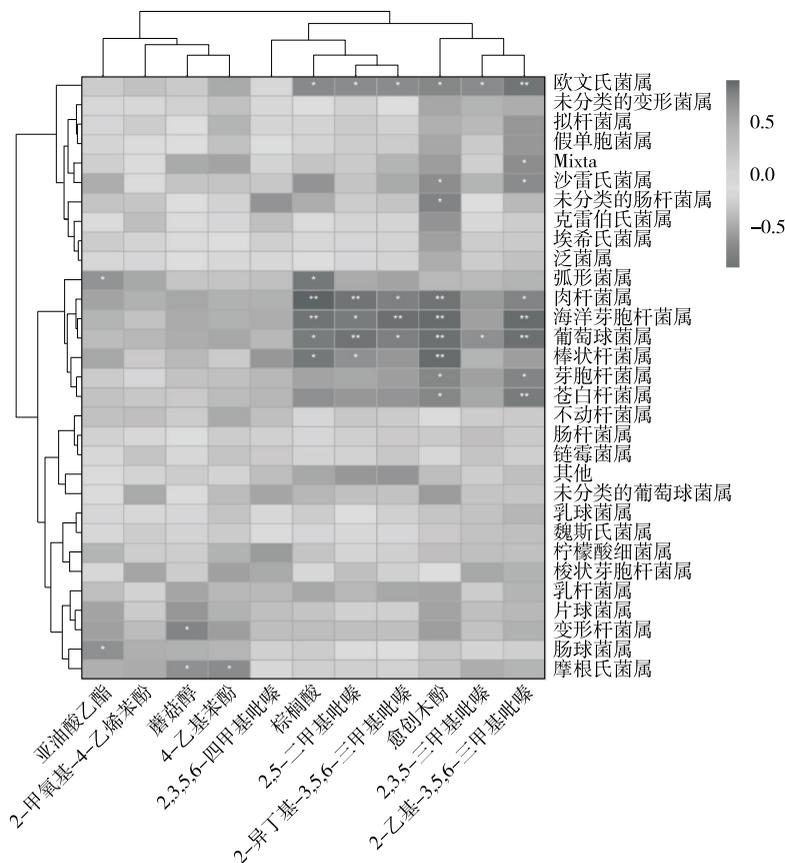


图 8 湿堆期间不同水分浏阳豆豉细菌和挥发性物质相关性聚类标记热图

Figure 8 Cluster marked heat map of the correlation between bacteria and flavor substances of Liuyang Douchi at different moisture content during pile fermentation

关键差异性挥发性物质显著正相关,如 2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、愈创木酚、2-异丁基-3,5,6-三甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、棕榈酸。海洋芽孢杆菌在其他的发酵食品和发酵设备中也有发现,张春林等^[32]研究发现,海洋芽孢杆菌在高温大曲第二次翻曲阶段为主要菌属且与酒醅中的 10 种风味物质之间显著相关。与海洋芽孢杆菌类似,棒状杆菌属与亚油酸乙酯显著正相关^[33]。芽孢杆菌是一种被广泛用于食品发酵的菌属,但在试验中,芽孢杆菌属仅与 2-乙基-3,5,6-三甲基吡嗪、愈创木酚显著正相关。张盼文等^[34]在利用地衣芽孢杆菌纯种发酵豆豉时亦发现,地衣芽孢杆菌对吡嗪类风味物质有重要贡献,与试验结果一致。

3 结论

对不同湿堆水分豆豉在湿堆过程中基本理化指标、细菌群落多样性及挥发性成分进行了联合分析。研究发现,随着湿堆水分的增加,湿堆温度降低,因而有利于细菌的生长和代谢,酯类物质含量明显增加而酸类物质减少。然而,从挥发性物质总量上来说,过高和过低的水分都不利于豆豉中挥发性物质的生成,特别是吡嗪类物质在 42% 水分湿堆豆豉中含量最高(36.9 mg/kg)。此外,转桶前,35% 水分豆豉中主要优势菌为葡萄球菌,而 42% 水分豆豉中以形杆菌和片球菌为主,50% 水分豆豉中则以变形杆菌和肠球菌相对丰度最大。转桶后由于食盐的加入,其他不耐盐的微生物被抑制,葡萄球菌成为各水分豆豉中的优势菌。进一步分析细菌多样性和差异性挥发性物质的相关性发现,吡嗪类物质是主要的差异性挥发性物质,其形成与葡萄球菌、海洋芽孢杆菌等具有显著的相关性。后续可基于不同水分湿堆浏阳豆豉中细菌和挥发性物质相关性分析结果指导关键功能细菌的筛选,并通过进一步的强化发酵印证其对挥发性物质的影响。

参考文献

[1] 刘迎涛,余玲,廖柯,等. 曲霉豆豉和毛霉豆豉理化指标和风味物质差异分析[J]. 中国调味品, 2023, 48(11): 164-170.
LIU Y T, YU L, LIAO K, et al. Analysis of physicochemical indexes and difference of flavor substances of *Aspergillus*-type Douchi and *Mucor*-type Douchi[J]. China Condiment, 2023, 48(11): 167-170.

[2] CHEN Y, LI P, LIAO L, et al. Characteristic fingerprints and volatile flavor compound variations in Liuyang Douchi during fermentation via HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130055.

[3] 任婷婷,苏伟,母应春,等. 洞口酱香酒第一轮次堆积发酵过程中微生物群落结构及其与理化因子关联性分析[J]. 食品与发酵科技, 2023, 59(1): 30-38, 54.
REN T T, SU W, MU Y C, et al. Analysis of microbial community structure and its correlation with physicochemical properties during

the first round of stacking fermentation of the Dongkou sauce-flavor Baijiu [J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2023, 59(1): 30-38, 54.

[4] 许蒙蒙,罗怡,王顺洋,等. 不同发酵水分及菌酶协同发酵对豆粕品质的影响[J]. 畜牧与饲料科学, 2022, 43(6): 22-29.
XU M M, LUO Y, WANG S Y, et al. Effects of initial water content and co-fermentation with probiotics and protease on quality of soybean meal[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2022, 43(6): 22-29.

[5] 谢靓,蒋立文,龚彩蛟,等. 浏阳豆豉生产过程中理化性质的变化研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(8): 225-232, 122.
XIE J, JIANG L W, GONG C J, et al. Changes of physicochemical property during Liuyang Douchi fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(8): 225-232, 122.

[6] 陈怡. 浏阳豆豉发酵过程微生物及物质成分变化研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021: 37.
CHEN Y. Study on the changes of microorganisms and substances in the fermentation process of Liuyang Douchi [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021: 37.

[7] 张芑芑,王世乐,陈福生. 蚕豆瓣酱发酵过程中微生物群落与挥发性风味物质的相关性[J]. 中国酿造, 2023, 42(5): 41-49.
ZHANG P P, WANG S L, CHEN F S. Correlation of microbial community and volatile flavor components of broad bean paste during fermentation process[J]. China Brewing, 2023, 42(5): 41-49.

[8] 吴梓仟,刘晶晶,邓高文,等. 曲霉强化发酵对浏阳豆豉风味品质的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(22): 267-275.
WU Z Q, LIU J J, DENG G W, et al. Effect of enhanced fermentation with *Aspergillus* on the flavor quality of Liuyang Douchi, a traditional Chinese soybean product[J]. Food Science, 2023, 44(22): 267-275.

[9] 马朋,黄茵,郑华,等. 低温低气流冷却对冷鲜鸡品质的影响[J]. 肉类研究, 2023, 37(7): 22-27.
MA P, HUANG Y, ZHENG H, et al. Effect of low-temperature and low-air flow cooling on quality of chilled chicken [J]. Meat Research, 2023, 37(7): 22-27.

[10] 周晓,尹含靓,谭益升,等. 肉枣加工过程中细菌群落消长规律[J]. 食品与机械, 2023, 39(12): 109-116.
ZHOU X, YIN H L, TAN Y S, et al. The growth and decline of bacterium during the processing of meat jujube [J]. Food & Machinery, 2023, 39(12): 109-116.

[11] 毛海艳. 西太平洋和印度洋海底沉积物中产芽孢细菌及细菌芽孢的定性和定量研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020: 79.
MAO H Y. Qualitative and quantitative studies on spore producing bacteria and bacterial spores in seabed sediments of the Western Pacific and Indian Oceans [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020: 79.

[12] 蔡露阳,王科堂,陈雪峰,等. 猕猴桃果粉的体外消化、酵解特性及对肠道微生物菌群的影响[J]. 食品科技, 2024, 49(2): 72-81.

- CAI L Y, WANG K T, CHEN X F, et al. Characteristics of in vitro digestion and fermentation of kiwi fruit powder and its effects on intestinal flora[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(2): 72-81.
- [13] 周旭, 曾涛, 王洪伟, 等. 不同制曲工艺对速成永川豆豉后发酵过程和产品品质的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(6): 2 385-2 400.
- ZHOU X, ZENG T, WANG H W, et al. Effect of different koji-making processes on the post-fermentation process and product quality of rapid Yongchuan Douchi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(6): 2 385-2 400.
- [14] DONG C, SHI S, PAN N, et al. Inhibitory mechanism of tyramine-degrading strains on reducing tyramine accumulation in Harbin dry sausage during fermentation[J]. Food Control, 2022, 137: 108952.
- [15] 李峥, 孙冰华, 钱晓洁, 等. 不同炒制时间对燕麦挥发性风味物质形成的影响[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(1): 91-101.
- LI Z, SUN B H, QIAN X J, et al. Effect of different frying time on formation of volatile flavor substances in oats[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(1): 91-101.
- [16] 张奥. 榛子碎制备工艺及货架期预测模型的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2021: 63.
- ZHANG A. Research on the preparation process and shelf life prediction model of hazelnut shreds [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2021: 63.
- [17] 王继刚. 浏阳豆豉优势微生物分离及其豆豉制备工艺优化[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021: 56.
- WANG J G. Isolation of dominant microorganisms in Liuyang Douchi and optimization of douchi preparation process [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021: 56.
- [18] 武顺, 王德良, 闫寅卓. 产吡嗪类细菌的麸曲制作工艺优化[J]. 中国酿造, 2016, 35(2): 13-17.
- WU S, WANG D L, YAN Y Z. Optimization of processing technology of Fuqu with pyrazine-producing bacteria [J]. China Brewing, 2016, 35(2): 13-17.
- [19] 李国萍, 李家锋, 朱海燕. 盈江大理茶种与凤庆大叶种芽茶香气差异分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(5): 281-291.
- LI G P, LI J F, ZHU H Y. Analysis of aroma differences between Yingjiang camelliatensiensis and Fengqing large-leaved species bud tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(5): 281-291.
- [20] 陈思佳, 杜艳红, 谭昊, 等. 红星兼香型白酒香气成分的分析研究[J]. 酿酒科技, 2023(5): 137-144.
- CHEN S J, DU Y H, TAN H, et al. Characterization of flavor substances of red star Jianxiang Baijiu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2023(5): 137-144.
- [21] 于梓芃, 李宁阳, 弓志青, 等. 食用菌呈味物质及其检测技术、应用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 373-379.
- YU Z P, LI N Y, GONG Z Q, et al. Research progress on edible fungus flavor substances and their detection technology and application[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 373-379.
- [22] 张芬, 陈家献, 袁冬寅, 等. 3 种新式茉莉花茶饮基底茶品质分析[J]. 食品与机械, 2023, 39(11): 186-191, 210.
- ZHANG F, CHEN J X, YUAN D Y, et al. Analysis on quality in three kinds of basal tea of noval-jasmine tea beverage[J]. Food & Machinery, 2023, 39(11): 186-191, 210.
- [23] 王兆明, 马云昊, 浦馨源, 等. 基于 GC-IMS 的符离集烧鸡挥发性物质指纹图谱分析[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11): 343-354.
- WANG Z M, MA Y H, PU X Y, et al. The fingerprint analysis of violate flavor compounds in Fuliji-braised chicken by gas chromatography-ion mobility spectroscopy[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(11): 343-354.
- [24] 赵玉轩, 周胜, 朱丛戎, 等. 潮汕特色老香黄提取物风味品质的分析[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(4): 259-268.
- ZHAO Y X, ZHOU S, ZHU C R, et al. Analysis of flavor quality of fermented citron extract with Chaoshan characteristics[J]. China Food Additives, 2023, 34(4): 259-268.
- [25] 韦璐, 孙钦菊, 杨昌鹏, 等. 香蕉果醋连续固定化发酵过程中挥发性香气成分含量变化[J]. 食品与机械, 2021, 37(3): 22-28, 35.
- WEI L, SUN Q J, YANG C P, et al. The change of volatile flavor substances in the processing of continuous immobilization of banana vinegar[J]. Food & Machinery, 2021, 37(3): 22-28, 35.
- [26] 仲美桥, 韩妍, 黄一承, 等. 松子酒香气组成及关键香气物质间的协同作用[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(14): 179-188.
- ZHONG M Q, HAN Y, HUANG Y C, et al. Aroma composition and synergistic effect among key aroma substances of pine wine[J]. Food Research and Development, 2022, 43(14): 179-188.
- [27] 郭明逸, 邓艳, 杜前红, 等. 青李薄荷酒发酵工艺优化及风味成分分析[J]. 食品与机械, 2023, 39(6): 201-209.
- GUO M Y, DENG Y, DU Q H, et al. Fermentation process optimization and flavor composition analysis of plum peppermint wine[J]. Food & Machinery, 2023, 39(6): 201-209.
- [28] 李成果, 李娟, 王迎宾, 等. 酯交换法合成水杨酸苯酯[J]. 精细与专用化学品, 2014, 22(10): 39-41.
- LI C G, LI J, WANG Y B, et al. Synthesis of benzyl salicylate[J]. Fine and Speciality Chemicals, 2014, 22(10): 39-41.
- [29] 王莉. 贵州茅台酒五维品质表达体系构建的案例研究[J]. 宏观质量研究, 2023, 11(4): 1-11.
- WANG L. Preliminary study on the construction of scientific expression technology system of Jiang-flavor Baijiu quality [J]. Journal of Macro-Quality Research, 2023, 11(4): 1-11.
- [30] 范海英, 袁灿, 蔡雪梅, 等. 炸制过程中糖醋脆皮鱼风味物质的变化[J]. 食品与机械, 2023, 39(11): 29-37.
- FAN H Y, YUAN C, CAI X M, et al. The changes of flavor substances of sweet and sour crispy fish during the deep-frying process[J]. Food & Machinery, 2023, 39(11): 29-37.

(下转第 136 页)

与机械, 2022, 38(11): 149-154.

WANG L M, JIANG Y. Automatic classification of banana ripeness based on deep learning[J]. Food & Machinery, 2022, 38(11): 149-154.

[18] KRIZHEVSKY A, SUTSKEVER I, HINTON G E. ImageNet classification with deep convolutional neural networks [J]. Communications of the ACM, 2017, 60(6): 84-90.

[19] 孙道宗, 丁郑, 刘锦源, 等. 基于改进 SqueezeNet 模型的多品种茶树叶片分类方法[J]. 农业机械学报, 2023, 54(2): 223-230, 248.

SUN D Z, DING Z, LIU J Y, et al. A multi variety tea tree leaf classification method based on improved SqueezeNet model[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2023, 54(2): 223-230, 248.

[20] 李阳德, 马晓慧, 王骥. 基于轻量级 MobileNet V3-YOLOv4 的生长期菠萝成熟度分析[J]. 智慧农业(中英文), 2023, 5(2): 35-44.

LI D Y, MA X H, WANG J. Analysis of pineapple maturity during growth period based on lightweight MobileNet V3-YOLOv4[J]. Smart Agriculture, 2023, 5(2): 35-44.

[21] 吕金锐, 付燕, 倪美玉, 等. 基于改进 YOLOv4 模型的番茄成熟度检测方法[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 134-139.

LU J R, FU Y, NI M Y, et al. Research on tomato maturity detection method based on improved YOLOv4 model[J]. Food & Machinery, 2023, 39(9): 134-139.

[22] 李志臣, 凌秀军, 李鸿秋, 等. 基于改进 ShuffleNet 的板栗分级方法[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2023, 54(2): 299-307.

LI Z C, LING X J, LI H Q, et al. Chestnut grading method based on improved ShuffleNet[J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2023, 54(2): 299-307.

[23] ZHOU Z, SONG Z, FU L, et al. Real-time kiwifruit detection in orchard using deep learning on Android™ smartphones for yield estimation[J]. Comput Electron Agric, 2020, 179: 105856.

[24] GENAEV M A, KOMYSHEV E G, SHISHKINA O D, et al. Classification of fruit flies by gender in images using smartphones and the YOLOv4-tiny neural network[J]. Mathematics, 2022, 10(3): 295.

[25] ZENG T, LI S, SONG Q, et al. Lightweight tomato real-time detection method based on improved YOLO and mobile deployment[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2023, 205: 107625.

[26] ELWIREHARDJA G N, PRAYOGA J S. Oil palm fresh fruit bunch ripeness classification on mobile devices using deep learning approaches[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2021, 188: 106359.

(上接第 20 页)

[31] 于美娟, 杨慧, 黄绿红, 等. 传统鲈鱼固态发酵过程中细菌群落与挥发性风味物质的相关性[J]. 食品与机械, 2023, 39(3): 1-10.

YU M J, YANG H, HUANG L H, et al. The potential correlation between bacterial community and the characteristic volatile flavour of traditional fermented fish during solid fermentation[J]. Food & Machinery, 2023, 39(3): 1-10.

[32] 张春林, 杨亮, 李喆, 等. 酱香型白酒酒醅堆积微生物多样性及其与风味物质的关系[J]. 食品科技, 2022, 47(4): 111-118.

ZHANG C L, YANG L, LI Z, et al. Microbial community and its relationship with volatile compounds in Moutai-flavor Baijiu stacking fermentation process[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(4): 111-118.

[33] 于倩倩, 李聪, 周辉, 等. 发酵肉制品风味分析及形成途径研究[J]. 肉类工业, 2019(11): 52-58.

YU Q Q, LI C, ZHOU H, et al. Study on flavor analysis of fermented meat product and its forming way[J]. Meat Industry, 2019(11): 52-58.

[34] 张盼文, 李浩, 徐钰红, 等. 一株来源于豆豉的地衣芽孢杆菌全基因组学及其风味物质形成分析[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(19): 36-44.

ZHANG P W, LI H, XU Y H, et al. Whole genome and flavor formation analysis of a *Bacillus licheniformis* strain from Douchi [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(19): 36-43.

(上接第 42 页)

[20] XU P C, QIAN Y X, WANG R, et al. Entrapping curcumin in the hydrophobic reservoir of rice proteins toward stable antioxidant nanoparticles[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132906.

[21] LI Z P, LIN Q Q, MCCLEMENTS D J, et al. Curcumin-loaded core-shell biopolymer nanoparticles produced by the pH-driven method: Physicochemical and release properties [J]. Food Chemistry, 2021, 355: 129686.

[22] LI M L, LIU Y B, LIU Y, et al. pH-driven self-assembly of alcohol-free curcumin-loaded zein-propylene glycol alginate complex nanoparticles [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 213: 1 057-1 067.

[23] JOG R, BURGESS D J. Pharmaceutical amorphous nanoparticles [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 106(1): 39-65.

[24] ZHANG D C, JIANG F Y, LING J H, et al. Delivery of curcumin using a zein-xanthan gum nanocomplex: Fabrication, characterization, and in vitro release properties[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2021, 204: 111827.