

文章编号:1001-6880(2018)9-1509-07

郫县豆瓣中一株耐盐酵母菌的分离鉴定及其发酵性能

张倩^{1,2#},杨涛^{1#},姚灿^{1,2},李国友¹,吴林蔚¹,方冬梅¹,黄田钫^{1*},陈晓珍^{*}¹中国科学院成都生物研究所,成都 610041; ²中国科学院大学,北京 100049

摘要:为研究酵母菌对郫县豆瓣风味与品质的影响,筛选具有生产应用潜能的酿造功能菌株,从郫县豆瓣中分离筛选到一株耐盐酵母 HJ-7Y.1,经形态生理生化特征和 ITS rDNA 序列鉴定为鲁氏接合酵母。耐盐性测试显示 HJ-7Y.1 在含 260 g/L NaCl 培养基中生长良好,表明其具良好的耐盐性能。通过气相色谱(gas chromatography GC)和顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)气质联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)方法,对菌株发酵液中乙醇的含量和挥发性成分进行了检测。实验结果表明,HJ-7Y.1 在高盐浓度下仍具有较好的产乙醇能力,同时能代谢产生苯乙醇、乙酸乙酯、3-甲基丁醇、乙酸苯乙酯等多种香气成分,这些呈香物质的存在能为豆瓣具有的特色风味奠定良好的物质基础,因此,HJ-7Y.1 具有应用于郫县豆瓣生产的开发潜力。

关键词:郫县豆瓣;鲁氏接合酵母;耐盐;乙醇;香气成分

中图分类号:Q936

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.9.006

Isolation and Identification of a Salt-tolerant Yeast in Pxiandouban and Its Fermentation Characteristics

ZHANG Qian^{1,2#}, YANG Tao^{1#}, YAO Chan^{1,2}, LI Guo-you¹, WU Lin-wei¹,FANG Dong-mei¹, HUANG Tian-fang^{1*}, CHEN Xiao-zhen^{1*}¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Chengdu 610041, China;²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: A salt-tolerant yeast strain HJ-7Y.1 was isolated from Pxiandouban which was identified as *Zygosaccharomyces rouxii* by morphological, physiological, biochemical and ITS rDNA analysis. The salt tolerance test was found that HJ-7Y.1 grew well in medium containing 260 g/L NaCl, which showed HJ-7Y.1 had high salt tolerance. The gas chromatography(GC) and headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry(HS-SPME/GC-MS) techniques were used to determine the content of ethanol and the volatile aroma compounds in the fermentation broth of the strain. The results showed that HJ-7Y.1 had good ethanol production ability under high salt concentration, and could produce various aromatic components, such as phenyl ethanol, ethyl acetate, isoamyl alcohol and phenylethyl acetate, which could bring positive effects to the characteristic flavor of Pxiandouban. Therefore, this strain of *Zygosaccharomyces rouxii* has potential further application in Pxiandouban production.

Key words: Pxiandouban; *Zygosaccharomyces rouxii*; salt tolerance; ethanol; aroma components

郫县豆瓣是我国传统发酵调味品,有“川菜之魂”之称,其制作采用独特的特殊工艺:红辣椒盐渍制成辣椒醅;蚕豆制曲发酵 6 个月以上制成豆瓣子;二者按比例混合均匀,经翻、晒、露等工艺发酵 3 个月以上。在日晒夜露的环境中,多种微生物共同生长,通过发酵、后熟等阶段,形成了郫县豆瓣特

有的风味。

酵母菌是发酵食品酿造中的重要微生物,其代谢产物是呈味和呈香物质的主要组分^[1]。酵母菌将糖发酵成乙醇和二氧化碳,乙醇既参与酯类的合成,也能被氧化成有机酸类,在风味形成中发挥重要作用,同时乙醇还具有抑制杂菌作用,利于食品的保存。酵母菌还能产生甘油、高级醇、芳香杂醇及酚类、呋喃酮类化合物等,赋予发酵食品特殊的甜香、果香等风味。郫县豆瓣的酿造在高盐环境中进行,国标中郫县豆瓣的含盐量规定为 150 ~ 220 g/L,这

收稿日期:2018-01-24 接受日期:2018-05-03

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0400500)

*通信作者 Tel:86-28-82890324; E-mail:chenxz@ib.ac.cn, huangtf@ib.ac.cn

#共同第一作者

种环境下生长的酵母菌主要是耐盐酵母。耐盐酵母是在高盐环境中长期进化而来的一类具广泛应用前景的极端环境微生物,对高盐发酵食品的风味和质量有明显的改善作用。目前,关于耐盐酵母在发酵食品中的作用及应用主要集中在酱油酿造^[2-5],而豆瓣酿造中耐盐酵母的研究与应用相对较少。

本研究从郫县豆瓣中分离纯化得到一株耐盐酵母菌,采用形态理化特征和 ITS rDNA 序列分析对其进行鉴定,通过耐盐性能测试和挥发性代谢产物分析对其发酵性能进行了探究,旨在筛选郫县豆瓣酿造功能菌株,为研究酵母菌对郫县豆瓣风味与品质的影响奠定基础,同时为实现郫县豆瓣传统发酵与现代工艺的产业化结合提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

豆瓣样品:采集自郫县当地某郫县豆瓣生产企业的后发酵瓣醅;酵母膏、蛋白胨、葡萄糖、琼脂粉等购自成都市科龙化工试剂厂。

1.1.2 培养基

富集培养基:麸皮 200 g,葡萄糖 20 g,水 1 000 mL, pH 4.5, 121 °C 灭菌 30 min。

YPD 琼脂培养基:酵母膏 10 g,蛋白胨 20 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,水 1 000 mL, pH 5.5, 121 °C 灭菌 30 min。

豆芽汁液体培养基:黄豆芽 100 g,葡萄糖 40 g, pH 5.0,水 1 000 mL, 121 °C 灭菌 30 min。

发酵培养基:蚕豆粉 15 g,面粉 20 g,NaCl 150 g,葡萄糖 20 g,水 1 000 mL, 121 °C 灭菌 30 min。

麦芽汁培养基、糖发酵基础培养基、无碳基础培养基、YPD 液体培养基、尿素液体培养基、5% 葡萄糖液体培养基,用于形态和生理生化特征鉴定。

1.2 仪器与设备

BPMJ-250F 型生化培养箱:上海一恒科学仪器有限公司;ZHWY-2102 型振荡培养箱:上海智诚分析仪器制造有限公司;SW-CJ-2FD 型超净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;A200 型 PCR 仪:德国 Eppendorf 公司;DYCP-32B 型核酸电泳仪:北京六一生物科技有限公司;bioscreen C MBR 全自动微生物生长分析仪:芬兰;GC9790 II 型气相色谱仪:浙江福立分析仪器有限公司;HP 6890 / 5973 气相色谱质谱联用仪:美国 Agilent 公司。

1.3 方法

1.3.1 耐盐酵母菌的分离纯化

取 10 g 样品,放于 90 mL 含 150 g/L NaCl 的富集培养基中,28 °C 富集培养 96 h,取富集液 1 mL 稀释成适当浓度,取 0.2 mL 稀释液涂布于含 180 g/L NaCl 的 YPD 培养基平皿上,挑取镜检为酵母菌的单菌落划线纯化,直至得到纯种单菌落。菌株接种于含 50 g/L NaCl 的 YPD 斜面培养基,4 °C 保存备用。

1.3.2 菌种鉴定

1.3.2.1 形态、生理生化特征鉴定

参照文献^[6]方法进行。分别采用麦芽汁琼脂和麦芽汁液体培养基培养,观察菌落形态和细胞形态;糖发酵实验采用杜氏小管法,发酵用糖类包括葡萄糖、乳糖、半乳糖、麦芽糖、蔗糖、棉子糖等;碳源同化实验采用生长图谱法,同化实验用碳源包括蜜二糖、木糖、乳糖、L-阿拉伯糖、麦芽糖、蔗糖、半乳糖、纤维二糖、棉子糖、海藻糖等;重氮基蓝 B (DBB) 实验采用 YPD 液体培养基培养 10 天,用 DBB 试剂检测,观察培养物是否变成暗红色;产生类淀粉化合物实验采用 YPD 液体培养基培养 21 天,加入碘液 1 ~ 2 滴,观察培养液是否变蓝或紫;尿素分解实验采用尿素液体培养基培养,每 30 min 观察培养液是否变红,观察至 4 h。

1.3.2.2 ITS rDNA 序列分析

采用 CTAB 法^[7]提取菌株总 DNA,以总 DNA 为模板,ITS1 和 ITS4 (ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAAC-CTGCGG-3'; ITS4: 5'-TCCTCGCTTATTGATATGC-3') 分别为正反向引物,PCR 体系 (25 μL): 10 × PCR buffer (MgCl2) 2.5 μL, Taq DNA 聚合酶 0.5 μL, 正向引物 1 μL, 反向引物 1 μL, 模板 2 μL, dNTP 2 μL, 无菌超纯水 16 μL。反应条件:94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 次循环,之后 72 °C 延伸 10 min。扩增后的片段送华大基因测序后采用美国国家生物技术信息中心的 BLAST 搜索程序,将实验中得到的序列信息与基因库中的基因序列进行比较而获得同源性分析结果。

1.3.3 菌株耐盐性测试

菌株活化后接入豆芽汁液体培养基中,28 °C、140 rpm 振荡培养 18 ~ 24 h,调整菌液浓度为 10⁶ CFU/mL,取菌悬液 25 μL 接种于 250 μL NaCl 质量浓度分别为 0、50、100、150、180、220、260 g/L 的豆

芽汁液体培养基中,置于全自动生长分析仪中测定生长曲线,参数设置为:温度28℃;波长600 nm;振幅最大;每10 min测定一次。

1.3.4 菌株在不同盐浓度下产乙醇测试

菌株活化后接入豆芽汁液体培养基中,28℃、140 rpm振荡培养18~24 h,调整菌液浓度为10⁶ CFU/mL,取菌悬液5 mL接种于50 mL NaCl质量浓度分别为0、50、100、150、180、220、260 g/L的豆芽汁液体培养基中,28℃静置培养96 h。发酵液离心过滤后气相色谱(gas chromatography, GC)分析乙醇的含量。

分析方法:进样量:1 μL;色谱柱:CB-1701,30 m × 0.32 mm × 0.50 μm;程序升温:43℃(4 min,以4℃/min速度升温)→120℃(0 min,以10℃/min速度升温)→210℃(3 min);分流比1:20;进样口温度:220℃;检测器:FID,温度:240℃。

1.3.5 菌株代谢产物挥发性成分分析

菌株活化后接入豆芽汁液体培养基中,28℃、140 rpm振荡培养18~24 h,调整菌液浓度为10⁶ CFU/mL,取菌悬液5 mL,接种于50 mL发酵培养基中,28℃静置培养120 h,顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用(HS-SPME/GC-MS)分析挥发性成分。

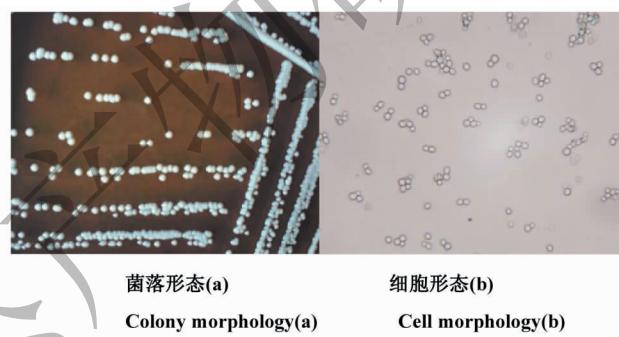


图1 菌株HJ-7Y.1菌落形态和细胞形态

Fig. 1 Colony morphology and cell morphology of strain HJ-7Y.1

表1 菌株HJ-7Y.1生理生化特征
Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain HJ-7Y.1

| 碳源发酵 Carbon source fermentation | 结果 Result | 碳源同化 Carbon source assimilation | 结果 Result | 其它 Other feature | 结果 Result |
|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|--------------|
| 葡萄糖 Glucose | + | 木糖 Xylose | - | DBB | - |
| 半乳糖 Galactose | - | 半乳糖 Galactose | + | 淀粉形成 Starch formation | - |
| 麦芽糖 Maltose | V | 麦芽糖 Maltose | V | 分解尿素 Decomposition of urea | - |
| 乳糖 Lactose | - | 乳糖 Lactose | - | 产酯 Production of esters | + |
| 蔗糖 Sucrose | V | 蔗糖 Sucrose | V | | |

分析方法:色谱柱:HP-INNOWax 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm;离子源:电子轰击离子源;电子能量:70 eV;汽化室:250℃;质谱接口:260℃;四极杆温度:150℃;离子源温度:230℃;质量扫描范围m/z 20~450;程序升温:50℃(3 min,以6℃/min速度升温)→130℃(0 min,以10℃/min速度升温)→260℃(10 min);分流比:2:1;萃取头:75 μm CAR/PDMS;萃取温度:80℃;平衡时间:40 min。

2 结果与讨论

2.1 耐盐酵母菌的分离纯化

分离纯化后获得15株菌,合并菌落和细胞形态相同的菌株,得到三株能在含180 g/L NaCl培养基中生长的菌株,其中编号为HJ-7Y.1的菌株生长较其它菌株旺盛,确定其为目标菌株。

2.2 菌株鉴定

2.2.1 形态、生理生化特征鉴定结果

由图1可知,菌株HJ-7Y.1菌落小,圆形,光滑,湿润,边缘整齐。麦芽汁液体培养基中培养3天后,细胞小圆形或卵圆形,不形成菌膜,出芽生殖,产生子囊,子囊含有1~4个子囊孢子,不形成假菌丝(图1)。发酵葡萄糖,同化山梨醇、甘露醇等(见表1)。

续表 1(Continued Tab. 1)

| 碳源发酵 Carbon source fermentation | 结果 Result | 碳源同化 Carbon source assimilation | 结果 Result | 其它 Other feature | 结果 Result |
|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|---------------------|--------------|
| 海藻糖 Trehalose | V | 海藻糖 Trehalose | V | | |
| 棉子糖 Raffinose | - | 棉子糖 Raffinose | - | | |
| 菊糖 Inulin | - | 菊糖 Inulin | - | | |
| 纤维二糖 Celllobiose | - | 纤维二糖 Celllobiose | - | | |
| 松三糖 Matsutan | - | 松三糖 Matsutan | - | | |
| 蜜二糖 Melibiose | - | 蜜二糖 Melibiose | - | | |
| 山梨醇 Sorbitol | - | 山梨醇 Sorbitol | V | | |
| 甘露醇 Mannitol | - | 甘露醇 Mannitol | V | | |
| 淀粉 Starch | - | L-阿拉伯糖 L-arabinose | - | | |

注：“+”表示反应阳性，“-”表示反应阴性，“V”表示反应可变。

Note: "+" Means positive reaction, "-" means negative reaction, "V" means variable reaction.

上述形态生理特征与文献[6]中描述的接合酵母属的特征相符。

2.2.2 ITS rDNA 序列分析

采用 ITS1/ITS4 进行 PCR 扩增,扩增后的 DNA 片段经琼脂糖凝胶电泳,得到一条长度 700 bp 左右的条带,PCR 扩增图谱见图 2。

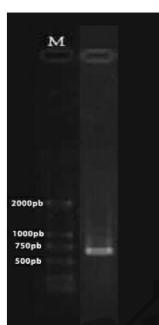


图 2 菌株 HJ-7Y.1 的 ITS rDNA 扩增片段凝胶电泳图

Fig. 2 Gel electrophoretogram of ITS rDNA amplification of strain HJ-7Y.1

扩增后的片段测序后应用 BLAST 程序与 NCBI-GenBank 数据库中的已知酵母菌序列进行同源性比对分析,发现与该菌株序列通用性最高的绝大多数为鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*),以 ITS rDNA 序列同源性为基础构建系统发育树,HJ-7Y.1 与 *Zygosaccharomyces rouxii* CBS732 处于同一分支上,见图 3。

综合形态生理生化特征鉴定结果和 ITS rDNA 序列分析结果,HJ-7Y.1 为鲁氏接合酵母(*Zygosaccharomyces rouxii*)。

2.3 菌株耐盐性测试

以培养时间(h)为横坐标,OD600 为纵坐标作图,得到 HJ-7Y.1 在不同 NaCl 浓度下的生长曲线,

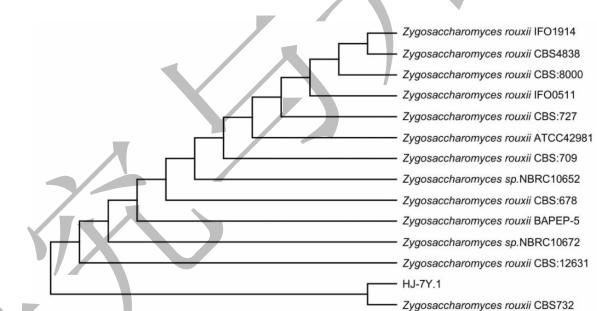


图 3 菌株 HJ-7Y.1 以 ITS rDNA 序列为基本的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain HJ-7Y.1 based on ITS rDNA sequence

结果如图 4 所示:从生长速度上看,50 g/L NaCl 培养基中的生长速度高于不含 NaCl 的培养基,100 g/L NaCl 培养基中的生长速度与不含 NaCl 的培养基相当,150、180 g/L NaCl 培养基中菌株进入对数生长期的时间与不含 NaCl 的培养基相比延迟了 4 h,220、260 g/L NaCl 培养基中菌株进入对数生长期的时间与不含 NaCl 的培养基相比延迟了 35 h;从达到稳定期的生长量看,50、100 g/L NaCl 的培养基高于

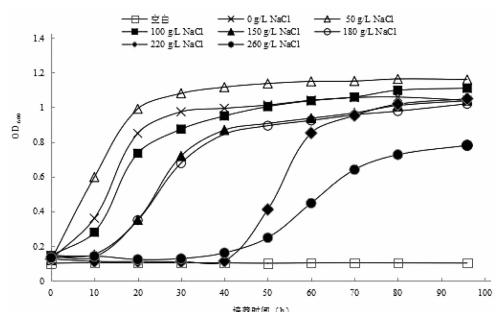


图 4 不同 NaCl 浓度条件下菌株 HJ-7Y.1 生长曲线

Fig. 4 Growth curve of the strain HJ-7Y.1 with different concentration of NaCl

不含 NaCl 的培养基, 150、180、220 g/L NaCl 的培养基与不含 NaCl 的培养基相当, 260 g/L NaCl 培养基是不含 NaCl 培养基中生物量的 70%。这表明 HJ-7Y.1 具良好的耐盐性能, 适当的盐浓度能促进 HJ-7Y.1 的生长, 高盐度虽然对菌株起始的生长速度有抑制作用, 但对菌株的最大生长量影响较小, 同时, HJ-7Y.1 在低盐或不含盐的培养基中也能良好地生长。

2.4 菌株在不同盐浓度下产乙醇测试

乙醇是郫县豆瓣酿造中的重要物质, 张玉玉等^[8]对不同发酵时间的郫县豆瓣酱分析发现辣椒醅、甜瓣子及发酵 1 年的瓣醅中乙醇均占总挥发性成分的 30% 以上, 是挥发性成分中含量最高的物质。乙醇可抑制细菌繁殖, 有利于郫县豆瓣的保存, 乙醇及乙醇参与形成的酯可赋予郫县豆瓣愉悦的酒香和酯香, 对郫县豆瓣香气的形成具有重要作用。乙醇主要通过酵母菌发酵形成, 因此酵母菌产乙醇能力是评价其在酿造中作用的主要指标之一。将 HJ-7Y.1 在含 40 g/L 葡萄糖和不同盐浓度的豆芽汁液体培养基中发酵后检测发酵液中乙醇的含量, 结果如图 5 所示: 在盐浓度低于 150 g/L 时, 发酵液中乙醇的含量与不含 NaCl 培养基中乙醇的含量相当, 均保持在 17.5 g/L 左右, 盐浓度大于 150 g/L 后, 虽然菌株产乙醇的能力开始下降, 但仍保持较高的产乙醇能力, 当盐浓度为 260 g/L 时发酵液中乙

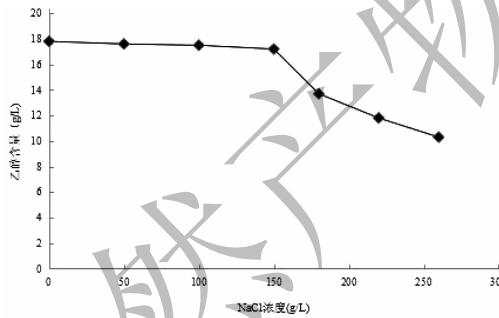


图 5 菌株 HJ-7Y.1 在不同盐浓度下产乙醇能力

Fig. 5 Ethanol production ability at different salt concentrations of strain HJ-7Y.1

醇的含量仍在 10 g/L 以上, 这表明 HJ-7Y.1 在郫县豆瓣酿造的高盐环境下具有较好的产乙醇能力。

2.5 菌株代谢产物挥发性香气成分分析

菌株发酵后采用 HS-SPME/GC-MS 分析其代谢产物中的挥发性成分, 鉴定出的主要化合物种类及其相对含量见表 3, 总离子流图见图 6。

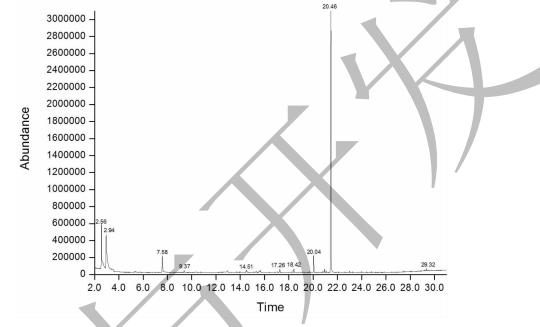


图 6 菌株 HJ-7Y.1 发酵液中挥发性成分的 GC-MS 总离子流图

Fig. 6 Total ion current chromatogram of volatile composition in the broth of strain HJ-7Y.1 analyzed by GC-MS

由表 3 可以看出: HJ-7Y.1 可代谢产生多种香气成分, 包括醇(77.34%)、酯(19.02%)、酮(0.73%)、酸(0.77%)、醛(0.78%)、酚(0.17%)和含氮化合物(0.2%)等。其中含量最高的是苯乙醇, 占挥发性成分含量的一半以上(59.85%), 苯乙醇为常用的食用香料, 有清甜的玫瑰样花香, 广泛用于调配玫瑰香型花精油和各种花香型香精。其它含量较高的为乙醇(15.10%)、乙酸乙酯(12.36%)、3-甲基丁醇(3.88%)、乙酸苯乙酯(3.24%)等, 乙酸乙酯气味清灵, 可赋予郫县豆瓣略带果香的酒香, 3-甲基丁醇有苹果白兰地香气和辛辣味, 可赋予郫县豆瓣特殊的辛辣味, 乙酸苯乙酯具有甜蜜香味, 并带有可可和威士忌样的香韵。其它一些含量稍低的如苯甲醛(0.78%)具苦杏仁、樱桃及坚果香, 3-羟基丁酮(0.47%)具强烈的奶油、脂肪、白脱样香气等。

表 3 菌株 HJ-7Y.1 发酵液中挥发性成分的 GC-MS 分析结果

Table 3 GC-MS analysis of volatile composition in the broth of HJ-7Y.1

| 序号 No. | 保留时间 Time | 化合物名称 Compound | 分子式 Formula | 相对分子质量 Relative molecular mass | 相对含量 Relative content (%) | 匹配度 Suitability (%) |
|-----------|--------------|------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------|------------------------|
| 1 | 2.56 | 乙酸乙酯 Ethyl acetate | C ₄ H ₈ O ₂ | 88 | 12.36 | 91 |
| 2 | 2.95 | 乙醇 Ethanol | C ₂ H ₆ O | 46 | 15.10 | 91 |
| 3 | 7.58 | 3-甲基丁醇 3-methylbutanol | C ₅ H ₁₂ O | 88 | 3.88 | 86 |

续表3(Continued Tab. 3)

| 序号 No. | 保留时间 Time | 化合物名称 Compound | 分子式 Formula | 相对分子质量 Relative molecular mass | 相对含量 Relative content (%) | 匹配度 Suitability (%) |
|-----------|--------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 4 | 8.93 | 2-甲基吡嗪 2-methyl pyrazine | C ₅ H ₆ N ₂ | 94 | 0.20 | 83 |
| 5 | 9.38 | 3-羟基丁酮 3-hydroxybutanone | C ₄ H ₈ O ₂ | 88 | 0.47 | 80 |
| 6 | 13.68 | 2-乙基己醇 2-ethylhexanol | C ₈ H ₁₈ O | 130 | 0.21 | 86 |
| 7 | 14.51 | 苯甲醛 Benzaldehyde | C ₇ H ₆ O | 106 | 0.78 | 94 |
| 8 | 16.98 | 苯乙酮 Acetophenone | C ₈ H ₈ O | 120 | 0.26 | 76 |
| 9 | 18.26 | 3-甲基硫丙醇 3-methylthiopropanol | C ₄ H ₁₀ OS | 106 | 0.25 | 94 |
| 10 | 20.04 | 乙酸苯乙酯 Phenethyl acetate | C ₁₀ H ₁₂ O ₂ | 164 | 3.24 | 78 |
| 11 | 20.46 | 己酸 Hexanoic acid | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 0.19 | 93 |
| 12 | 20.94 | 苯甲醇 Benzyl alcohol | C ₇ H ₈ O | 108 | 0.59 | 87 |
| 13 | 21.07 | 2-甲基丁酸苯乙酯 Phenethyl 2-methylbutyrate | C ₁₃ H ₁₈ O ₂ | 206 | 0.41 | 90 |
| 14 | 21.46 | 苯乙醇 Phenethyl alcohol | C ₈ H ₁₀ O | 122 | 59.85 | 95 |
| 15 | 23.01 | γ-壬内酯 γ-nonalactone | C ₉ H ₁₆ O ₂ | 156 | 0.27 | 83 |
| 16 | 23.25 | 辛酸 Bitter | C ₈ H ₁₆ O ₂ | 144 | 0.21 | 93 |
| 17 | 24.01 | α-雪松醇 α-cedar alcohol | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.20 | 95 |
| 18 | 24.41 | 壬酸 Nonanoic acid | C ₉ H ₁₈ O ₂ | 158 | 0.15 | 94 |
| 19 | 24.81 | 4-乙烯基愈创木酚 4-vinyl guaiacol | C ₉ H ₁₀ O ₂ | 150 | 0.17 | 87 |
| 20 | 27.41 | 月桂酸 Lauric acid | C ₁₂ H ₂₄ O ₂ | 200 | 0.22 | 99 |

以上结果表明,HJ-7Y.1 在高盐环境下生长良好且能代谢产生乙醇和其它多种提升风味的香气成分,基于这些特性,该菌株在传统郫县豆瓣酿造的高盐环境中具有较大的应用潜力,同时 HJ-7Y.1 在低盐或不含氯化钠的环境中也能很好的生长,可适应传统食品低盐化趋势的需求,因此,HJ-7Y.1 值得进一步开发利用。

3 结论

以郫县豆瓣瓣醅为材料,通过高盐培养基筛选到 1 株酵母菌株 HJ-7Y.1,经形态生理生化特征鉴定和 ITS 序列分析,该菌株为鲁氏接合酵母。以不同盐浓度的培养基进行生长曲线的测定,适量的盐度可促进 HJ-7Y.1 的生长,高盐度虽然使生长延滞期增加,但对稳定期时的生物量影响不大,表明 HJ-7Y.1 具良好的耐盐性能,同时 HJ-7Y.1 在低盐或不含氯化钠的环境中也能很好的生长。以不同盐浓度的培养基发酵后检测发酵液中乙醇的含量, HJ-7Y.1 在高盐浓度下具有良好的产乙醇能力。HS-SPME/GC-MS 分析结果表明, HJ-7Y.1 代谢产生乙醇、苯乙醇、乙酸乙酯、3-甲基丁醇、乙酸苯乙酯等多种香味成分,在豆瓣酿造中,这些化合物的形成将赋

予豆瓣独特的风味。因此,HJ-7Y.1 具有良好的应用于郫县豆瓣生产的开发潜力。

参考文献

- 1 Fu JS(付俊淑),Zhuang SW(庄世文),Xu DD(徐丹丹), et al. Free volatile compounds analysis and molecular identification of different yeast isolates[J]. *Food & Ferm Ind*(食品与发酵工业),2010,36(2):44-48.
- 2 Xu GD(徐高丹),Chen M(陈敏),Jiang YJ(蒋予箭). The effect of yeasts for the flavor of brewing soy sauce[J]. *Chin Condi*(中国调味品),2011,36(1):28-32.
- 3 Chen Q(陈强),Zhu XG(朱新贵),Zeng XB(曾小波). Isolation of the aroma-producing yeast from soy sauce mash and its application for improving the flavor of low-salt-solid-fermentation soy-sauce[J]. *Chin Bro*(中国酿造),2011,6:42-45.
- 4 Wang Z(王志),Xie T(谢婷),Liu F(刘飞),et al. Identification and screening of β-glucanase-producing, salt-tolerant *Zygosaccharomyces rouxi*[J]. *Mod Food Sci Tech*(现代食品科技),2015,31:120-125.
- 5 Yang Y(杨阳),Deng Y(邓岳),Liu YY(刘彦希),et al. Molecular identification and analysis of volatile aroma components of a halotolerant yeast, *Meyerozyma guilliermondii* isolated from soy mash[J]. *Chin Meas & Test*(中国测试),2016,42(11):55-59.

(下转第 1520 页)