

## ARTP 和 NTG 诱变选育的解脂耶氏酵母对酸肉风味的影响

郭冰蕊<sup>1</sup>, 蒋翠翠<sup>1</sup>, 张素芳<sup>1</sup>, 梁会朋<sup>1,2</sup>, 纪超凡<sup>1</sup>, 陈映羲<sup>1</sup>, 董亮<sup>1</sup>, 林心萍<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>大连工业大学食品学院 国家海洋食品工程技术研究中心 辽宁大连 116034

<sup>2</sup>华润雪花啤酒(中国)有限公司 北京 100000

**摘要** 采用常压室温等离子体(ARTP)和亚硝基胍(NTG)诱变技术处理解脂耶氏酵母 C11, 研究诱变前、后菌株的酶学性质。最终筛选出 4 株突变菌 A6、A13、A14、N12, 酶活分别为 1.007, 1.554, 1.139, 1.021 U/mL, 是起始菌株的 1.41, 2.17, 1.59, 1.43 倍。4 株突变株的最适温度为 50 ℃、最适 pH 值为 8.0。乙醇对脂肪酶酶活有抑制作用, 最适底物由 C8 酯变化为 C4 酯。将 A13、N12 接种到酸肉发酵中, 采用固相微萃取结合气相色谱-质谱法测定样品中挥发性物质, 结果表明接种突变株能很好地改善酸肉的感官品质, 促进酯类、醛类、醇类等挥发性风味物质的产生, 显著提高丁酸乙酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯、庚醛、壬醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛和 1-辛烯-3-醇的气味活性值(OAV), 赋予酸肉玫瑰香味、蘑菇味、焦香味、水果味等风味。

**关键词** 脂肪酶; 解脂耶氏酵母; 常压室温等离子体; 亚硝基胍; 诱变; 酸肉; 挥发性风味物质

**文章编号** 1009-7848(2024)05-0190-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.05.015

脂肪酶是一类催化甘油三酯水解的酶, 作用于三酰基甘油中的羧基酯键, 还能催化酯类化合物的醇解、酸解、酯交换等反应<sup>[1]</sup>。发酵肉制品独特的风味物质大多来源于脂肪的水解氧化, 而脂肪酶会影响风味物质的产生, 可通过接种脂肪酶产生菌来改善产品风味<sup>[2]</sup>。此外, 为了获得具有更高脂肪酶活性的菌株, 可采用化学诱变、航空诱变、常压室温等离子体诱变等方式, 获得更高产量, 更高酶活, 性状优良的菌株。将所获得的诱变菌株应用于食品, 如腐乳<sup>[3]</sup>、啤酒<sup>[4]</sup>、生抽<sup>[5]</sup>、香醋<sup>[6]</sup>等, 已有广泛报道。

常压室温等离子体(ARTP)诱变技术具有突变迅速、突变率高、安全友好、成本低等优点<sup>[7]</sup>, 已广泛用于细菌、真菌等微生物的育种工作。王犁焱等<sup>[8]</sup>利用 ARTP 诱变技术处理酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*), 获得产酸能力和产酒精能力提高 214% 和 28% 的突变株, 将其接种到葡萄汁中, 可以改善新疆葡萄酒的品质。樊嘉训等<sup>[9]</sup>对米

曲霉(*Aspergillus oryzae*)进行诱变, 得到蛋白酶活力较出发菌提高 145% 的突变株 H34, 将其应用到酱油发酵中, 发现所产酱油在总氮、有机酸、风味物质等方面均优于起始菌株。亚硝基胍(NTG)是一种诱变效果较好的化学超诱变剂, 能与核酸碱基及其它部位发生作用, 致 DNA 分子结构发生改变, 还能阻碍 DNA 双链的解开, 从而导致基因突变<sup>[10]</sup>。通过 NTG 诱变技术获得的突变株在食品中的应用也有报道。例如, 傅力等<sup>[11]</sup>对啤酒酿造酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)进行 NTG 和 EMS 连续诱变, 筛选出蛋白酶 A 活力降低 19% 的突变株 GM235, 将其试用于啤酒发酵中, 降低了双乙酰含量, 使啤酒口感更加协调。

酸肉是流行于我国贵州、湖南等地的特色肉制品, 口感独特, 营养丰富。传统酸肉生产多采用自然发酵方式, 安全性低, 风味品质不稳定<sup>[12]</sup>。实现酸肉生产工业化生产需要优良发酵剂, 酸肉制品中的优势菌有乳酸菌、酵母菌等, 是开发人工发酵剂的重要资源<sup>[13]</sup>。现已有对酸肉产品风味提升的发酵剂研究。例如, 米瑞芳等<sup>[14]</sup>将乳杆菌接种到酸肉中, 结果表明接种乳杆菌后酸肉风味发生显著变化, 杂菌污染情况有所缓解, 酸肉安全性得到提高。Lv 等<sup>[15]</sup>研究了酸肉中的微生物群, 发现乳酸菌酵母菌等在促进酸肉挥发性风味物质的产生方面具有重要作用。蒋翠翠等<sup>[16]</sup>从酸肉中分离出 12

**收稿日期:** 2023-05-02

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(31972204); 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室开放基金项目(NJ2021-01); 辽宁省基本科研项目(J202147)

**第一作者:** 郭冰蕊, 女, 硕士生

**通信作者:** 林心萍 E-mail: yingchaer@163.com

株菌株,其中解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*) C11 所产脂肪酶表现出较高活性,酶活为 0.84 U/mL,接种酸肉后产品的酯类物质含量明显增高。然而,由于酸肉风味中,很大部分的成分为酯类,如何有效地转化肉中大量脂肪酸为酯类,保持产品风味的稳定,提升产品风味,是酸肉工业化生产发酵剂所要解决的关键问题。本研究基于前期获得的具有较好脂肪酶活性的解脂耶氏酵母 C11,以其为起始菌株,采用 ARTP、NTG 诱变技术筛选高产脂肪酶的优良突变菌株,研究诱变后脂肪酶酶学特性的变化情况。最后将其接种到酸肉发酵中,研究对风味物质的影响,以期提升酸肉风味,研究结果为筛选酸肉工业化菌剂提供思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 菌株与试剂 起始菌株采用解脂耶氏酵母 C11,来自中国普通微生物菌种保藏管理中心。

蛋白胨、酵母浸出粉,北京奥博星生物技术有限责任公司;葡萄糖,天津市大茂化学试剂厂;亚硝基胍,上海麦克林生化科技有限公司;三丁酸甘油酯,阿拉丁试剂(上海)有限公司;对硝基苯酚(*p*-NP),美国 Sigma-Aldrich。以上试剂均为分析纯级。

1.1.2 培养基 YPD 液体培养基:酵母浸出粉 10 g/L,蛋白胨 10 g/L,葡萄糖 20 g/L,去离子水 1 000 mL,pH 6.0,121 °C 下灭菌 15 min。

筛选培养基:酵母浸出粉 5 g/L,蛋白胨 10 g/L,琼脂 13 g/L,去离子水 1 000 mL,121 °C 下灭菌 15 min。灭菌后待温度降至 60 °C 时加入三丁酸甘油酯乳化液 40 mL。

发酵培养基:葡萄糖 5 g/L,蛋白胨 10 g/L,橄榄油乳化液 20 mL,(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 g/L,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g/L,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.0 g/L。

### 1.2 设备与仪器

SX-500 灭菌锅,日本 TOMY 公司;DRP9162 培养箱,上海森信实验仪器有限公司;Infinite M200 多功能酶标仪,瑞士 Tecan 公司;Five Easy Plus FE28 pH 计,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;7890A/5975C 气相色谱-质谱仪,美国 Agilent 公司;CF16RXII 冷冻离心机,日本 Hitachi 公

司;ARTP-IIS 诱变育种仪,清华大学无锡应用技术研究院生物育种研究中心。

### 1.3 方法

1.3.1 菌悬液的制备 活化解脂耶氏酵母 C11 菌株,按 2% 体积分数接种到 YPD 液体培养基中,培养 24 h 至对数期。4 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,菌体沉淀用无菌生理盐水洗涤,调整菌悬液 OD<sub>600nm</sub> 为 0.6~0.8。

1.3.2 ARTP、NTG 诱变致死率曲线的绘制 移取 10 μL 菌液于载片上,将载片缓慢移动至载台并固定。ARTP 诱变仪工作参数:处理功率 120 W、处理距离 2 mm、载气流量 10 L/min,分别处理 0,10,15,20,25,30,35,40 s,处理完毕后洗脱菌体,重悬稀释,涂布培养计数<sup>[17]</sup>。

取 0.5 mL 质量浓度为 50,100,150,200,300,400,500 μg/mL 的 NTG 溶液(10 mg NTG 粉末用 1 mL 丙酮助溶),加入 0.5 mL 重悬后的菌液,28 °C 振荡培养 0.5 h,加入 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 溶液 9 mL,离心,收集菌体洗涤后重悬,梯度稀释,涂布培养并计数<sup>[18]</sup>。设未诱变组为对照,按式(1)计算致死率。

致死率(%)=

$$\frac{\text{对照组菌落数}-\text{诱变组菌落数}}{\text{对照组菌落数}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3 生长曲线的绘制 将菌株接种于 YPD 液体培养基中,15 °C,180 r/min,摇床培养 24 h,期间每隔 2 h 测定菌液在波长 600 nm 处的光密度,记录并绘制生长曲线。

1.3.4 产脂肪酶突变菌株的筛选

1.3.4.1 突变菌株的初筛 将处理好的菌液梯度稀释至 10<sup>-4</sup>,分别取 100 μL 涂布到三丁酸甘油酯平板上,28 °C 下培养 2 d。游标卡尺测量水解圈直径与菌落直径,并计算其比值,选择比值大于起始菌株的突变株进行下一步筛选。

1.3.4.2 突变菌株的复筛 根据起始菌株和初筛获得的突变菌株的生长曲线,选择生长较起始菌株快的突变株进行酶活测定。活化筛选出的菌株,2% 体积分数接种于发酵培养基中,15 °C、200 r/min 条件下培养 28 h。收集发酵液离心,取上清测定酶活。

1.3.5 酶活测定 采用对硝基苯酚法测脂肪酶酶活<sup>[19]</sup>。以对硝基苯酚丁酸酯(*p*-NPB)为底物,产物

为对硝基苯酚,通过测定  $OD_{410nm}$ ,可间接测得酶活。酶活力定义为:30℃、pH 8.0 反应条件下,1 min 内生成 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚所消耗的酶量。

*p*-NP 标准曲线的测定 配制 *p*-NP 标准溶液(2.0 mmol/L),分别取不同体积的原液和异丙酮使溶液中 *p*-NP 总量为 0.04,0.06,0.08,0.10,0.12,0.14,0.16  $\mu\text{mol}$ 。30℃水浴 15 min,无水乙醇终止,离心,测上清液的  $OD_{410nm}$ ,绘制吸光度-*p*-NP 总量标准曲线。

样品酶活测定:取 100  $\mu\text{L}$  上清液,加入 1.9 mL 底物缓冲液(含 1 mL 10 mmol/L 的 *p*-NPB 溶液)、19 mL Tris-HCL 缓冲液,相同条件下测定  $OD_{410nm}$ 。100  $\mu\text{L}$  缓冲液为对照,按式(2)计算酶活。

$$\text{酶活力(U/mL)} = \frac{[k \times (A - A_0) + b] \times n}{V \times t} \quad (2)$$

式中, $k$ ——标准曲线截距; $b$ ——标准曲线截距; $A$ ——样品溶液吸光度; $A_0$ ——对照组吸光度; $n$ ——稀释倍数; $V$ ——酶液体积,mL; $t$ ——反应时间,min。

表 1 酸肉感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria for sour meat

评分	7~9 分	4~6 分	1~3 分
色泽	肉呈暗红色,富有光泽,比较诱人	肉颜色较浅不均匀,光泽不明显	肉白发灰,暗淡无光
组织形态	肉质紧密软嫩,富有弹性	肉质略有松散,弹性一般	肉质松散或发硬,弹性差
滋味	酸味独特浓郁,味道醇厚可口	酸香味适中,滋味一般	有酸败味,口感较差
气味	有浓厚的发酵香气,酯香、醇香浓郁,无异味	发酵香气略有不足,稍有刺激气味	发酵味不足,异味明显
可接受度	可以接受	一般	不能接受

1.3.10 酸肉中挥发性物质检测 参考 Zhong 等<sup>[20]</sup>的方法检测挥发性风味物质。萃取瓶中加入 2 g 处理好的样品和 20  $\mu\text{L}$  环己酮,60℃条件下保持 0.5 h,萃取吸附 40 min 后,迅速将萃取头插入气相色谱进样口中进行检测分析。

GC-MS 条件:起始温度 35℃,然后分别以 3, 5, 20℃/min 的速率升温到 50, 150, 250℃,持续 5 min。色谱柱:19091S-433HP-5MS(30 m $\times$ 250  $\mu\text{m}$  $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ),高纯氦气,流速 1.0 mL/min。EI 源,离子源温度 230℃,电子能 70 eV,采用全扫描模式。

定性定量:对比 NIST 11.LMS 标准图库,结合保留指数,对风味物质进行定性分析<sup>[21]</sup>,通过比较峰面积进行定量分析。通过计算挥发性物质含量与其风味阈值之比(气味活性值 OAV)确定风

1.3.6 突变菌株脂肪酶酶学性质 研究突变菌株脂肪酶的最适温度、最适 pH 值及乙醇体积分数对酶活的影响。设置温度(20~80℃)、pH 值(6.0~9.0)、乙醇体积分数(4%~16%)梯度,以 *p*-NPB 为底物,测定上述不同反应条件下脂肪酶的酶活。

1.3.7 突变菌株脂肪酶底物特异性分析 以不同碳原子的对硝基苯酚酯(C4、C8、C12、C14、C16)为底物研究突变菌株脂肪酶对不同底物的特异性。

1.3.8 酸肉的制备 五花肉洗净切成大小均匀的片状,按肉质量的 3%,10%加入盐和米粉拌匀,装罐密封,设一组为自然发酵,另一组接入诱变后的高产脂肪酶菌株(按每克肉接入  $10^7$  CFU),25℃恒温发酵 28 d。发酵结束后,取样品进行下一步分析。

1.3.9 酸肉的感官评定 参考蒋翠翠等<sup>[6]</sup>的方法对发酵后酸肉进行感官评定。取适量发酵样品,蒸熟,请 15 位专业感官评定人员按评分表对样品进行评定。评分标准如表 1 所示。

味物质的呈香能力。

## 1.4 数据处理

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析,采用 Origin 8.5 软件绘制折线图和柱状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 ARTP 和 NTG 诱变致死率曲线

经 ARTP 和 NTG 诱变后菌株的致死率如图 1 所示。由图 1a 可知,菌株致死率随 ARTP 处理时间的延长而不断上升,处理 10 s 以后,致死率增长缓慢。处理时间为 15 s 时,菌株致死率已达 95% 以上;处理 40 s,致死率达 100%。由图 1b 可知,随着 NTG 质量浓度的增加,菌株致死率变化趋势与 ARTP 诱变结果大致相同。当处理质量浓度为 100



$\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 菌株致死率达 90% 以上, 处理质量浓度为  $150 \mu\text{g}/\text{mL}$  时, 致死率高达 98%, 处理质量浓度为  $400 \mu\text{g}/\text{mL}$  时, 致死率达到 100%。ARTP 和 NTG 诱变是 2 种较为高效的诱变方式, 由图可知 2 种方式处理菌株后都取得了较为明显的效果。活性粒子和烷化剂会导致菌株死亡, 经诱变处理

后未死亡的菌株遗传物质可能已发生改变<sup>[21]</sup>, 有研究表明, 诱变后致死率  $\geq 95\%$  时, 有可能获得突变效果最好的菌株<sup>[22]</sup>, 因此选择 ARTP 处理 15 s 和 NTG 质量浓度为  $150 \mu\text{g}/\text{mL}$  的平板进行下一步研究。

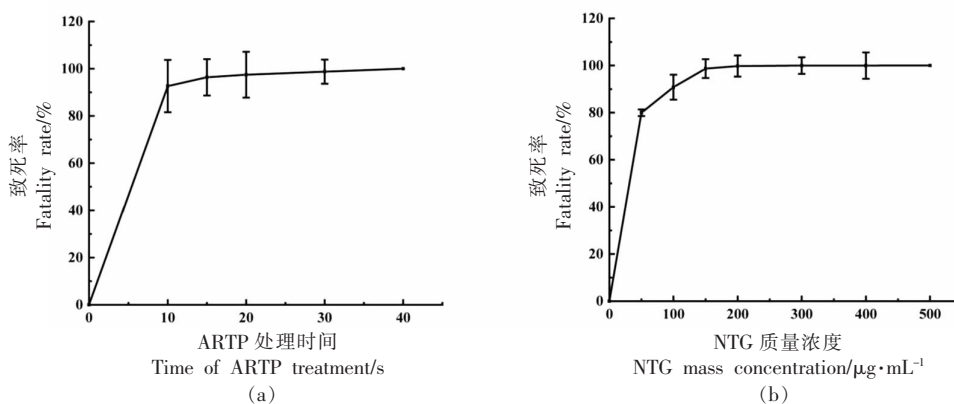


图 1 ARTP(a)和 NTG(b)下的致死率曲线图

Fig.1 Fatality curves of ARTP (a) and NTG (b) mutagenesis

## 2.2 起始菌株和诱变菌株的生长曲线

根据菌株周围水解圈直径的大小, 从致死率达 95% 的平板中挑取水解圈直径大于起始菌株水解圈直径的菌落, 按照 1.3.3 节所述方法进行生长曲线的测定, 同时测定解脂耶氏酵母 C11 的生长曲线, 结果如图 2 所示。ARTP 组一共测定了 14

株突变菌的生长曲线, 分别命名为 A1~A14。由图 2a 知, 14 株诱变后的菌株中共有 7 株比起始菌株生长情况好, 分别为 A4、A6~A8、A12~A14。NTG 诱变组共测定了 16 株菌, 分别命名为 N1~N16, 其中共有 6 株生长情况优于起始菌株, 为 N9、N12~N16。测定以上 13 株菌株的酶活力。

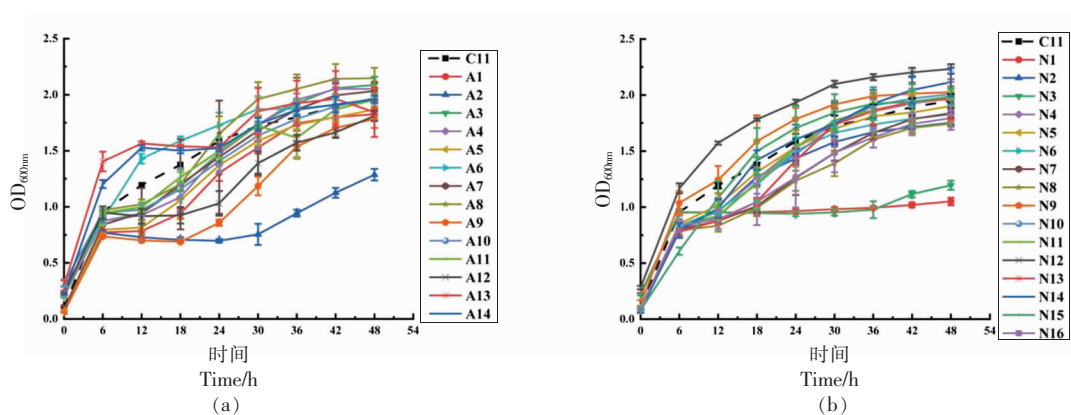


图 2 ARTP(a)和 NTG(b)诱变菌株生长曲线图

Fig.2 Growth curves of ARTP(a) and NTG (b) mutated strains

## 2.3 突变菌株脂肪酶酶活

按照 1.3.5 节所述方法计算脂肪酶酶活, 并以起始菌株酶活力为对照, 计算突变株酶活的提高

倍数, 结果如表 2 所示。经 ARTP 诱变后, 7 株突变菌脂肪酶酶活力均有提高, 其中以 A13 菌株提高最多, 酶活力是起始菌株的 2.17 倍。NTG 诱变组

的6株突变株酶活力也均有所增强,以N12突变株酶活最高,是起始菌株酶活的1.43倍。现有报道的解脂耶氏酵母所产脂肪酶酶活为0.84 U/mL,本研究中通过以上2种诱变方式得到的脂肪酶酶活分别是其1.85,1.26倍<sup>[16]</sup>。孙家正等<sup>[23]</sup>从豆豉中筛选高产脂肪酶菌株,经ARTP诱变处理后酶活

提高了25.98%,王兴吉等<sup>[24]</sup>采用ARTP、NTG复合诱变方式处理产脂肪酶黑曲霉AG007,使脂肪酶活力提高了1.2倍。以上结果表明可以通过诱变提高脂肪酶酶活,且对比2种诱变方式,可以看出ARTP诱变效果略好一些,突变株脂肪酶酶活更高。

表2 解脂耶氏酵母C11菌株和突变株菌酶活测定结果

Table 2 Assay results of enzyme activity of *Y. lipolytica* C11 strain and mutant strain

菌株	诱变方式	酶活力/U·mL <sup>-1</sup>	提高倍数/倍
起始菌株解脂耶氏酵母C11	-	0.715 ± 0.058 <sup>c</sup>	-
A4	ARTP	0.847 ± 0.042 <sup>d</sup>	1.18
A6	ARTP	1.007 ± 0.044 <sup>c</sup>	1.41
A7	ARTP	0.841 ± 0.038 <sup>d</sup>	1.18
A8	ARTP	0.952 ± 0.061 <sup>c</sup>	1.33
A12	ARTP	0.961 ± 0.068 <sup>c</sup>	1.34
A13	ARTP	1.554 ± 0.061 <sup>a</sup>	2.17
A14	ARTP	1.139 ± 0.117 <sup>b</sup>	1.59
N9	NTG	0.779 ± 0.024 <sup>dk</sup>	1.09
N12	NTG	1.021 ± 0.044 <sup>c</sup>	1.43
N13	NTG	0.847 ± 0.026 <sup>d</sup>	1.18
N14	NTG	0.830 ± 0.036 <sup>d</sup>	1.16
N15	NTG	0.803 ± 0.019 <sup>dk</sup>	1.12
N16	NTG	0.842 ± 0.054 <sup>d</sup>	1.18

注:不同小写字母表示突变菌株胞外脂肪酶酶活具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

## 2.4 突变菌株脂肪酶酶学性质

以筛选出来的脂肪酶酶活较高的A6、A13、A14、N12菌株和起始菌株为对象,研究突变株脂肪酶的最适温度、最适pH值、乙醇体积分数对酶活的影响及脂肪酶底物特异性,结果如图3所示。

来源于微生物的脂肪酶最适温度大多在30~60℃<sup>[25]</sup>,由图3a可知,4株突变菌脂肪酶最适温度均为50℃。当温度为20~50℃时,菌株脂肪酶酶活呈上升趋势,温度为50℃时,酶活力迅速增加达到最高,随后逐渐下降。当温度为80℃时,4株突变株脂肪酶仍有20%以上的相对酶活。起始菌株脂肪酶在不同温度下的酶活变化趋势与4株突变菌大致相同,且相对酶活都在50℃时达到100%,经诱变后脂肪酶最适反应温度没有发生变化。

由图3b可知,起始菌株和突变菌株脂肪酶在pH值为5.0~7.0时相对酶活较低,均低于20%,pH 5.0时几乎没有酶活,说明脂肪酶不耐酸。随

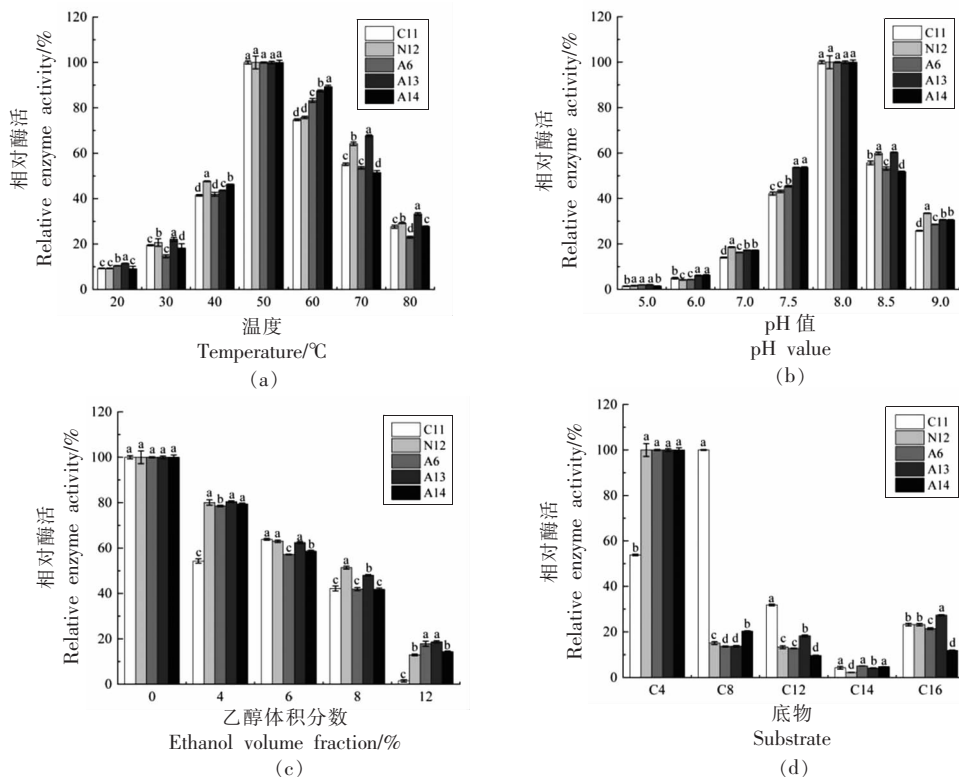
着pH值的增加,脂肪酶酶活随之变高,pH 8.0时,相对酶活达到100%,随后酶活逐渐下降。从图中可以看出,脂肪酶在弱碱环境下的酶活相对高于酸性环境下,起始菌株和突变菌株脂肪酶酶活随pH值的变化趋势基本一致,最适pH值均为8.0。

反应体系中有乙醇的存在,故考虑乙醇体积分数对酶活的影响。由图3c知,乙醇抑制脂肪酶酶活。随着乙醇体积分数的增加,脂肪酶相对酶活逐渐降低。当乙醇体积分数为8%时,相对酶活降至55%以下,乙醇体积分数为12%时,相对酶活均不足20%。当乙醇体积分数较高时,突变株脂肪酶酶活相对起始菌株酶活较高,说明诱变后脂肪酶对高体积分数的乙醇有一定的抵抗能力。

由图3d知,突变菌株脂肪酶在底物为C4酯条件下相对酶活达100%,在底物为C8~C16时,脂肪酶相对酶活较低,说明突变株脂肪酶对C4底物较为敏感。起始菌株脂肪酶在C8底物条件下相

对酶活最高达 100%，在其它底物下酶活较低，林霞<sup>[26]</sup>的研究也发现解脂耶氏酵母脂肪酶 Lip8 适宜水解中链酯(C8)。经诱变后，脂肪酶对不同碳原子

底物的特异性发生了变化。此外，脂肪酶对碳原子为 12 以上的底物均表现出较低的活性，说明其不易水解长链酯。



注:不同小写字母表示不同突变菌株所产胞外脂肪酶在不同温度、pH 值、乙醇体积分数、底物下酶活力有显著性差异( $P<0.05$ )。

图 3 温度(a)、pH 值(b)、乙醇体积分数(c)和底物(d)对突变菌株酶活性的影响

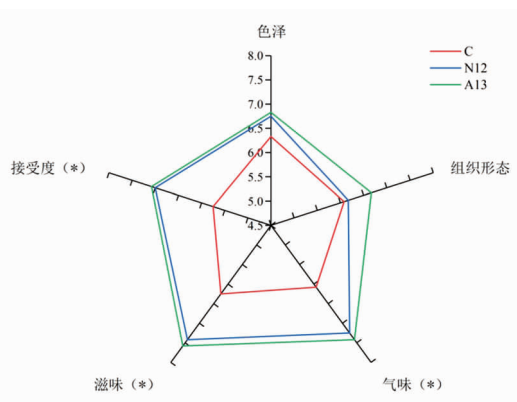
Fig.3 Effect of temperature(a), pH value (b), ethanol volume fraction (c) and substrate (d) on enzyme activity of mutant strains

## 2.5 酸肉样品感官分析

取诱变后脂肪酶酶活较高的突变株 N12、A13 为发酵剂,自然发酵为对照,分析 3 组酸肉样品的感官特性,结果如图 4 所示。接种 N12 和 A13 菌株的 2 组雷达图外形轮廓大致相同,各项评分比较接近,且在评分标准的 5 个方面上均优于自然发酵组,其中在酸肉气味、滋味、接受度方面与对照组有明显差异,评分显著高于对照组( $P<0.05$ ),说明接种诱变菌株的样品具有更好的风味,更高的接受度,添加诱变后菌株可以很好的改善酸肉样品的感官品质。

## 2.6 酸肉样品挥发性化合物的分析

采用 SPME-GC-MS 法测定酸肉样品中的挥发性风味物质,结果如表 2 所示。3 组样品一共检



注:C 为对照组;N12 和 A13 为接种解脂耶氏酵母 C11 突变株;(\*)表示对照组与 N12 和 A13 组有显著性差异( $P<0.05$ )。

图 4 发酵结束时酸肉的感官评价

Fig.4 The sensory evaluation of sour meats at the end of fermentation

测出 44 种挥发性物质,以酯类物质种类最多为 16 种,醛类次之为 13 种,醇类 4 种,酸类 2 种,其它物质 9 种。自然发酵组挥发性化合物种类最少为 20 种,接入诱变菌株后挥发性物质数目明显增加,N12 组为 29 种,A13 组为 32 种,且酯类、醛类、醇类物质总量也有较高提升,说明接种诱变菌株可以促进发酵过程中风味物质的形成。

酯类物质在种类与含量上自然发酵组与接菌组之间存在较大差异,自然发酵组只有 2 种酯类,而接菌组(N12、A13)分别增加到了 9 种和 14 种,且酯类总量达 417.55  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、1 626.35  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,分别是对照组的 12.2、47.7 倍。其中丁酸乙酯、丁酸丁酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯含量变化较大,说明接种突变菌可以促进酯类化合物的产生。A13 组在相同酯类物质含量上明显高于 N12 组,A13 组中丁酸乙酯含量高达 798.48  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、辛酸乙酯 132.62  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、癸酸乙酯 197.63  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,说明突变株 A13 有更强的产酯能力。

醛类物质虽然在种类上变化不大,但在含量

上对照组与接菌组存在明显差异。接菌组均检测出未在自然发酵组出现的苯甲醛,含量分别为 9.52、2.15  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,苯甲醛具有令人愉悦的玫瑰香味。陈曦等<sup>[27]</sup>也在添加乳杆菌发酵的香肠中检测出苯甲醛,可能是添加菌种发酵剂能影响氨基酸代谢途径产物苯甲醛的产生。此外,辛醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛含量有较大的提高,其具有干酪味、油香味,进一步丰富了酸肉的风味。壬醛、十六醛在 3 组样品中均有较高含量。

醇类酸类物质种类较少,可能是两者在发酵过程中发生了酯化反应,其中含量变化最为明显的是 1-辛烯-3-醇,含量分别是对照组的 3.05、3.24 倍。其它类物质各组变化情况不太一致,对照组与接菌组检测到的物质不尽相同,而总体上接菌组挥发性化合物种类有所增加。3 组样品中均检测出 2-戊基呋喃,其中对照组和 N12 组含量较高,呋喃类化合物主要来源于羰氨反应,气味阈值较低,对酸肉风味物质有一定的贡献能力<sup>[28]</sup>。

表 3 酸肉样品中挥发性化合物的含量

Table 3 The content of volatile compounds in sour meat samples

挥发性化合物	含量/ $\mu\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}$		
	C-28 d	N12-28 d	A13-28 d
酯类(16)			
丁酸乙酯	ND	96.85 $\pm$ 136.97	798.48 $\pm$ 126.91
丁酸-3-甲基乙酯	ND	ND	16.82 $\pm$ 23.79
丁酸丙酯	ND	16.72 $\pm$ 3.62	18.72 $\pm$ 4.62
丁酸-1-甲基丙酯	ND	ND	108.14 $\pm$ 93.41
4-乙基苯甲酸环己酯	ND	30.08 $\pm$ 42.54	ND
丁酸丁酯	ND	141.28 $\pm$ 4.99	161.28 $\pm$ 6.99
己酸乙酯	ND	27.06 $\pm$ 5.96	37.06 $\pm$ 9.96
丁酸-3-甲基丁基酯	ND	ND	3.87 $\pm$ 5.47
己酸-2-十四烷基酯	ND	ND	20.79 $\pm$ 29.40
丁酸己酯	ND	ND	19.68 $\pm$ 10.89
辛酸乙酯	20.08 $\pm$ 8.05	54.63 $\pm$ 0.18	132.62 $\pm$ 9.44
丁酸 2-乙基己酯	ND	8.90 $\pm$ 12.59	58.98 $\pm$ 11.36
2-甲基丁基-8-甲基壬-6-烯酸酯	ND	3.14 $\pm$ 4.44	ND
9-癸烯酸乙酯	ND	ND	47.35 $\pm$ 8.81
己酸-1-甲基己酯	ND	ND	4.93 $\pm$ 6.98
癸酸乙酯	14.01 $\pm$ 0.13	38.89 $\pm$ 0.03	197.63 $\pm$ 27.13
总量	34.09 $\pm$ 8.18	417.55 $\pm$ 211.32	1626.35 $\pm$ 375.16
醛类(13)			
己醛	21.39 $\pm$ 4.28	147.14 $\pm$ 111.27	36.35 $\pm$ 20.60
庚醛	3.08 $\pm$ 2.93	6.58 $\pm$ 9.31	10.65 $\pm$ 15.06

(续表 3)

挥发性化合物	含量/ $\mu\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}$		
	C-28 d	N12-28 d	A13-28 d
(Z)-2-庚醛	11.17 ± 7.96	58.65 ± 11.37	ND
苯甲醛	ND	9.52 ± 13.47	2.15 ± 3.05
辛醛	26.58 ± 11.93	62.66 ± 26.72	63.88 ± 23.41
5-乙基环戊-1-烯甲醛	6.82 ± 6.02	21.49 ± 10.00	ND
苯乙醛	5.80 ± 5.75	1.71 ± 2.42	20.22 ± 9.55
(E)-2-辛烯醛	51.01 ± 8.22	106.87 ± 15.45	ND
壬醛	113.08 ± 14.15	188.78 ± 3.20	109.78 ± 4.21
(E)-2-癸烯醛	17.30 ± 24.46	63.19 ± 27.33	3.16 ± 4.47
(E,E)-2,4-癸二烯醛	64.61 ± 27.70	138.32 ± 94.44	158.05 ± 5.31
十六醛	75.17 ± 26.57	73.58 ± 29.47	129.24 ± 68.26
十八醛	2.21 ± 3.13	ND	9.07 ± 5.58
总量	398.22 ± 143.10	878.49 ± 354.45	542.55 ± 159.50
醇类(4)			
1-辛烯-3-醇	53.52 ± 21.54	163.29 ± 13.72	173.29 ± 13.72
2-乙基-1-己醇	36.33 ± 19.65	35.41 ± 14.83	40.67 ± 57.52
6-甲基-1-庚醇	ND	ND	29.41 ± 41.21
4,8-二甲基-1-壬醇	6.85 ± 9.69	ND	ND
总量	96.70 ± 50.88	198.70 ± 28.55	243.37 ± 112.45
酸类(2)			
丁酸	ND	ND	0.65 ± 0.92
辛酸	6.42 ± 0.12	24.40 ± 27.42	ND
总量	6.42 ± 0.12	24.40 ± 27.42	0.65 ± 0.92
其它(9)			
6-甲基-1-辛烯	ND	ND	12.69 ± 13.99
1-(乙氧甲基)-吡啶	ND	13.66 ± 19.32	ND
3-胍基-1-丙醇单硝酸盐	ND	ND	6.43 ± 9.10
2-甲基-3-辛酮	ND	18.86 ± 26.67	ND
3-硝基-1-丙胺	ND	19.08 ± 26.67	ND
2,3-辛二酮	22.62 ± 31.99	ND	ND
2-戊基呋喃	85.59 ± 12.68	167.31 ± 19.72	5.83 ± 8.24
1-(2-氯乙基)硫代-2-甲氧基乙烷	ND	7.58 ± 10.71	ND
1-氯-4-十七炔	ND	ND	8.54 ± 12.08
总量	108.21 ± 44.67	226.49 ± 103.09	33.49 ± 43.41

注:数据为平均值±标准差;ND表示未检测到。

## 2.7 关键性风味物质分析

通过气味活性值(OAV)评估挥发性化合物的呈香能力,OAV $\geq 1$ 的化合物在风味物质中起主要作用,OAV值越大,对整体风味贡献越大,从而确定酸肉发酵后的关键性风味物质<sup>[29]</sup>,结果如表4所示。一共检测出15种OAV值较大的化合物,主要为酯类、醛类和醇类。自然发酵组仅检测出2种主要酯类物质,而接菌组检测出6种,其中己酸乙酯、丁酸乙酯、辛酸乙酯、癸酸乙酯的OAV值较

高,酯类物质通常具有果香、酒香、酯香等香气,这些酯类进一步丰富了酸肉风味。庚醛、壬醛、(E,E)-2,4-癸二烯醛和1-辛烯-3-醇的气味活性值显著高于其它化合物,对酸肉风味起主要作用,且接菌组OAV值明显高于对照组。大部分醛类是脂质氧化的产物,含量高,气味阈值低,对总体风味贡献程度大,且醛类一般拥有较好的气味<sup>[30]</sup>,壬醛具有焦香味,(E,E)-2,4-癸二烯醛具有油香味,己醛具有苹果香味,辛醛具有水果香味。1-辛烯-



3-醇来自不饱和脂肪酸的氧化分解, 具有较好的蘑菇香气、甘草香气<sup>[1]</sup>。以上结果表明, 以诱变后

菌株 A13、N12 为发酵剂, 可以增加酸肉样品的主要挥发性物质, 进一步提高酸肉风味。

表 4 发酵后样品中关键挥发性风味物质的 OAV 值

Table 4 The OAV values of key volatile flavor substances in fermented samples

挥发性化合物	气味阈值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	OAV		
		C-28 d	N12-28 d	A13-28 d
丁酸乙酯	0.900	0.00	1 076.12	8 871.97
丁酸丙酯	18.000	0.00	9.29	10.40
丁酸丁酯	110.000	0.00	12.84	14.66
乙酸乙酯	1.000	0.00	270.60	370.60
辛酸乙酯	5.000	40.16	109.25	265.24
癸酸乙酯	5.000	28.02	77.79	394.86
乙醛	2.500	85.56	588.57	145.38
庚醛	0.009	3 426.33	7 313.73	11 829.59
(Z)-2-庚醛	2.200	50.79	266.61	0.00
苯甲醛	0.850	0.00	112.04	25.34
辛醛	0.587	452.85	1 067.43	1 088.25
(E)-2-癸烯醛	0.300	576.61	2 106.32	105.28
壬醛	0.020	13 291.03	31 329.09	31 940.00
(E,E)-2,4-癸二烯醛	0.023	28 090.09	60 139.46	68 715.42
1-辛烯-3-醇	0.027	19 824.01	60 476.11	64 179.82

### 3 结论

以解脂耶氏酵母 C11 为起始菌株, 利用 ARTP 和 NTG 进行诱变处理, 通过三丁酸甘油酯平板法和对硝基苯酚法筛选出 4 株酶活较高的突变株 A6、A13、A14、N12, 酶活分别是诱变前的 1.41、1.34、2.17、1.43 倍。研究诱变前、后菌株酶学性质的变化情况, 结果为 C11 和突变株的最适温度、最适 pH 值诱变后未发生改变均为 50 ℃、8.0, 乙醇对脂肪酶酶活有抑制作用。起始菌株脂肪酶易水解中链酯(C8), 而经 2 种诱变方式处理后, 4 株突变株脂肪酶对短链酯(C4)底物较为敏感, 对长链酯底物活性较低。以筛选出的酶活提高较多的突变株 A13、N12 为发酵剂, 发酵结束后进行感官评定和挥发性风味物质检测, 结果表明与自然发酵相比, 接菌组酸肉样品的气味、滋味、可接受度明显得到改善, 挥发性风味物质种类与总量大幅度增加, 酸肉风味得到进一步丰富。以上表明可通过诱变方式选育优良的酸肉发酵剂。

### 参 考 文 献

[1] TREICHEL H, OLIVEIRA D D, MAZUTTI M A,

et al. A review on microbial lipases production[J]. Food and Bioprocess Technology, 2009, 3(2): 182-196.

[2] 张开屏, 田建军, 景智波, 等. 产脂肪酶乳酸菌对羊肉发酵香肠脂肪酸的影响[J]. 农业工程学报, 2020, 36(12): 310-320.

ZHANG K P, TIAN J J, JING Z B, et al. Influences of lactic acid bacteria producing lipase on fatty acids of mutton fermented sausage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(12): 310-320.

[3] 马丽, 魏海霞, 汪倩倩, 等. 航天诱变毛霉 ZY-3 在腐乳生产中的应用研究[J]. 中国酿造, 2015, 34(4): 62-65.

MA L, WEI H X, WANG Q Q, et al. Application of space mutation strain *Mucor* ZY-3 in sufu production[J]. China Brewing, 2015, 34(4): 62-65.

[4] 蔡洋, 靳华荣, 周广田. 空间诱变优良上面啤酒酵母发酵性能研究[J]. 酿酒科技, 2014(11): 44-47.

CAI Y, JIN H R, ZHOU G T. The fermenting performance of top-fermenting mutant strains by space mutation[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2014(11): 44-47.

[5] 陈志梅, 张宗舟, 薛林贵, 等. 航天诱变混菌生抽

- 发酵研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2011, 46(3): 104-108.
- CHEN Z M, ZHANG Z Z, XUE L G, et al. Mixed fermentation of soy sauce with space mutant strains[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2011, 46(3): 104-108.
- [6] 张宗舟, 巩晓芳, 薛林贵. 航天香醋发酵工艺研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(2): 63-65.
- ZHANG Z Z, GONG X F, XUE G L, et al. Study on fermentation process of the aerospace vinegar[J]. China Brewing, 2012, 31(2): 63-65.
- [7] WANG X B, LU M S, WANG S J, et al. The atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) method on the dextranase activity and structure[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 70: 284-291.
- [8] 王犁焯, 王浩臣, 马珊, 等. 常压室温等离子体选育高产酒精及酸的酿酒酵母[J]. 食品与机械, 2019, 35(5): 26-31.
- WANG L Y, WANG H C, MA S, et al. Breeding of *Saccharomyces cerevisiae* high-yield of alcohol and acid by atmospheric room temperature plasma[J]. Food & Machinery, 2019, 35(5): 26-31.
- [9] 樊嘉训, 刘松, 陆信曜, 等. 高产蛋白酶米曲霉菌株的选育及对酱油风味生成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 1-8.
- FAN J X, LIU S, LU X Y, et al. Breeding *Aspergillus oryzae* with high-productive protease and its influence on soy sauce fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(21): 1-8.
- [10] 张春玲. 紫外线与亚硝基胍复合诱变选育高产海藻糖菌株的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 188-191.
- ZHANG C L. UV/NTG mutagenesis for breeding of a high trehalose-producing strain of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Science, 2009, 30(21): 188-191.
- [11] 傅力, 张卓, 王德良, 等. 低产蛋白酶A啤酒酵母的诱变选育及在啤酒中试发酵中应用的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(8): 213-215, 218.
- FU L, ZHANG Z, WANG D L, et al. Mutation breeding of brewing yeast with lower-level protease A and pilot scale fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(8): 213-215, 218.
- [12] 卫飞, 赵海伊, 余文书. 酸肉的营养价值及安全性研究[J]. 粮食科技与经济, 2011, 36(4): 54-56.
- WEI F, ZHAO H Y, YU W S. Study on the nutrition value and safety of sour salt meat[J]. Grain Science and Technology and Economy, 2011, 36(4): 54-56.
- [13] 李宗军, 江汉湖. 中国传统酸肉发酵过程中微生物的消长变化[J]. 微生物学通报, 2004, 31(4): 9-13.
- LI Z J, JIANG H H. Alteration of microbes flora of Chinese traditional sour meat during fermentation[J]. Microbiology China, 2004, 31(4): 9-13.
- [14] 米瑞芳, 陈曦, 戚彪, 等. 乳杆菌发酵剂对酸肉挥发性风味成分的影响[J]. 肉类研究, 2018, 32(4): 48-55.
- MI R F, CHEN X, QI B, et al. Effect of *Lactobacillus* starter cultures on the volatile flavor components of sour meat[J]. Meat Research, 2018, 32(4): 48-55.
- [15] LV J, XU W H, JI C F, et al. Relationships between the bacterial diversity and metabolites of a Chinese fermented pork product, sour meat[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2020, 56(6): 2742-2750.
- [16] 蒋翠翠, 尚昊, 张素芳, 等. 产脂肪酶菌株的筛选、酶学特性及其接种对酸肉风味物质的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 106-113.
- JIANG C C, SHANG H, ZHANG S F, et al. Screening of lipase-producing strains, enzymatic properties and effects of inoculation on flavor compounds of fermented sour meat[J]. Food Science, 2023, 44(10): 106-113.
- [17] 季亚美, 王立梅, 齐斌. 常压室温等离子体诱变选育高产脂肪酶解脂耶氏酵母[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 10-15.
- JI Y M, WANG L M, QI B. Breeding of *Yarrowia lipolytica* with lipase production by atmospheric room temperature plasma mutagenesis[J]. Food & Machinery, 2020, 36(11): 10-15.
- [18] 田雪娇, 张丽萍. 亚硝基胍法诱变选育高产苯乳酸菌株[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4): 104-110.
- TIAN X J, ZHANG L P. Screening of high-yield phenyllactic acid strains by NTG mutation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(4): 104-110.
- [19] DONG J, GASMALLA M A A, ZHAO W, et al. Characterization of a cold-adapted esterase and mutants from a psychotolerant *Pseudomonas* sp. strain

- [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2017, 64(5): 686–699.
- [20] ZHONG A A, CHEN W, DUAN Y F, et al. The potential correlation between microbial communities and flavors in traditional fermented sour meat [J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2021, 149(1): 111873.
- [21] 曹茜, 冯凤琴. 产脂肪酶菌株的常压室温等离子体诱变及高通量筛选方法的建立[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(2): 52–57.
- CAO Q, FENG F Q. Mutagenesis of atmospheric and room temperature plasma for lipase-producing strain and establishment of high throughput screening method[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2016, 31(2): 52–57.
- [22] CAO S, ZHOU X, JIN W B, et al. Improving of lipid productivity of the oleaginous microalgae *Chlorella pyrenoidosa* via atmospheric and room temperature plasma (ARTP)[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 244(Pt 2): 1400–1406.
- [23] 孙家正, 王伟明, 郑宏宇, 等. 高脂肪酶活性菌株的选育及其发酵制备豆豉中磷脂类物质含量的变化[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(11): 43–49.
- SUN J Z, WANG W M, ZHENG H Y, et al. High lipase activity strain breeding and content of phospholipids during Douchi fermentation [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(11): 43–49.
- [24] 王兴吉, 贾仁洁, 王克芬, 等. 低温脂肪酶菌株的诱变筛选及酶学特性研究[J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(1): 1–3, 9.
- WANG X J, JIA R J, WANG K F, et al. Study on screening of cold-adapted lipases producing strains and properties of lipase[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(1): 1–3, 9.
- [25] 孙同韦. 耶氏解酯酵母脂肪酶基因 *lipY2* 的高效异源表达及分子改造[D]. 天津: 天津科技大学, 2016.
- SUN T W. Heterologous overexpression and molecule evolution of lipase *lipY2* from *Yarrowia lipolytica*[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2016.
- [26] 林霞. 解脂耶氏酵母胞外脂肪酶性质研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2016.
- LIN X. Study on *Yarrowia lipolytica* extracellular lipases[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2016.
- [27] 陈曦, 许随根, 周彤, 等. 贵州酸肉中的植物乳杆菌对发酵香肠风味和品质特性的影响[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(6): 174–182.
- CHEN X, XU S G, ZHOU T, et al. Effect of autochthonous *Lactobacillus plantarum* from Guizhou fermented meat (Nanx Wudl) on flavor and quality characteristics of fermented sausages[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(6): 174–182.
- [28] 李素, 周慧敏, 张顺亮, 等. 不同加水量腌制酱牛肉中挥发性风味物质变化[J]. *食品科学*, 2019, 40(10): 199–205.
- LI S, ZHOU H M, ZHANG S L, et al. Changes of volatile flavor compounds in spiced beef marinated with different water contents[J]. *Food Science*, 2019, 40(10): 199–205.
- [29] 廖林, 刘悦, 贺稚非, 等. 基于顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱技术的卤烤兔肉丁加工过程中挥发性风味物质变化分析[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(14): 235–243.
- LIAO L, LIU Y, HE Z F, et al. Analysis of volatile flavor substances during processing of halogen roast rabbit meat based on headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(14): 235–243.
- [30] 王德宝, 马文淑, 王柏辉, 等. 成熟时间对燕麦羊肉香肠食用品质, 脂质氧化及风味物质积累的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(11): 191–198.
- WANG D B, MA W S, WANG B H, et al. Effects of ripening time on edible quality, lipid oxidation and flavor accumulation of oat lamb sausage[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(11): 191–198.
- [31] 张旭, 王卫, 白婷, 等. 四川浅发酵香肠加工进程中挥发性风味物质测定及其主成分分析[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(10): 274–283.
- ZHANG X, WANG W, BAI T, et al. Determination and principal component analysis of the volatile flavor substances during the processing of Sichuan light fermented sausage[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(10): 274–283.

## Effects of *Yarrowia lipolytica* by ARTP and NTG Mutagenesis on Flavor of Fermented Sour Meat

Guo Bingrui<sup>1</sup>, Jiang Cuicui<sup>1</sup>, Zhang Sufang<sup>1</sup>, Liang Huipeng<sup>1,2</sup>, Ji Chaofan<sup>1</sup>,  
Chen Yingxi<sup>1</sup>, Dong Liang<sup>1</sup>, Lin Xinping<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>National Engineering Research Center of Seafood, School of Food Science and Technology,  
Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning

<sup>2</sup>China Resources Breweries Company Limited, Beijing 100000)

**Abstract** Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) and nitrosoguanidine (NTG) mutagenesis techniques were used to treat *Yarrowia lipolytica* C11. Enzymatic properties of the strain were studied. Four mutant strains A6, A12, A13 and N12 were screened out, and their enzyme activities were 1.007, 1.554, 1.139 U/mL and 1.021 U/mL, respectively, which were 1.41, 2.17, 1.59 times and 1.43 times of the original strain. The optimal temperature and pH of the four mutant strains were 50 °C and 8.0, respectively. Ethanol could inhibit the activity of lipase, and the optimal substrate was changed from C8 ester to C4 ester. A13 and N12 were inoculated into sour meat fermentation, and the volatile flavor substances were determined by solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that inoculating mutant strains could improve the sensory quality of sour meat and promote the production of volatile flavor substances such as esters, aldehydes and alcohols. The odor activity value (OAV) of ethyl butyrate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, heptanal, nonal, (*E,E*)-2, 4-decanodienal and 1-octene-3-ol were significantly increased, which gave sour meat rose flavor, mushroom flavor, burnt flavor and fruit flavor.

**Keywords** lipase; *Yarrowia lipolytica*; atmospheric and room temperature plasma; nitrosoguanidine; mutagenesis; sour meat; volatile flavor compounds