

乳酸菌接种发酵对腌制雪菜挥发性风味的影响

陈淑钧, 刘亚楠, 翁佩芳, 吴祖芳*, 刘连亮
(宁波大学食品科学与工程学院 浙江宁波 315200)

摘要 以同型发酵的植物乳杆菌(Lp01)和异型发酵的发酵乳杆菌(Lf01)为腌制雪菜发酵菌株,通过 16S rDNA 测序和顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术分析不同乳酸菌接种发酵(Lp01 单菌、Lf01 单菌及 Lp01 复合 Lf01)对雪菜细菌群落结构和挥发性风味物质的影响。结果表明:经 Lp01 复合 Lf01 接种组发酵启动快,在第 5 天 pH 值即下降到 4.05,并且发酵成品感官综合得分显著高于其它组别,为 85.40。不同乳酸菌接种对发酵雪菜细菌群落结构的影响显著,其中 Lf01 单菌接种组及其复合 Lp01 接种组在发酵 1 d 时大量繁殖乳酸菌,丰度显著高于其它组别,丰富了微生物多样性。此外,不同乳酸菌接种发酵虽然对雪菜成品的挥发性风味物质总量影响不显著,但在各种具体化合物含量上存在显著差异,其中 Lf01 单菌接种组及其复合 Lp01 接种组的酯类、醇类化合物含量高于 Lp01 单菌接种组和自然发酵组。相对气味活性值(ROAV)计算表明,2-甲基丁酸乙酯、 β -紫罗酮、大马酮、2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪和二甲基三硫是腌制蔬菜中的关键风味物质。Spearman 相关性分析表明,优势菌属与多种关键风味物质呈正相关关系。结论:Lf01 单菌接种及其复合 Lp01 接种在发酵前期能够改善细菌群落结构,且有多种关键风味物质与优势菌属呈相关性。

关键词 雪菜; 乳酸菌; 细菌群落; 高通量测序; 气相色谱-质谱联用

文章编号 1009-7848(2024)11-0310-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.11.029

雪菜(*Brassica juncea* var.)属十字花科芸薹属,是芥菜的变种^[1]。在我国江浙一带,多采用高盐腌制雪菜,腌制雪菜因具有爽脆口感、浓郁香气而常作为家庭腌菜,深受人们的喜爱。然而,传统的高盐腌制工艺容易使蔬菜原料中的营养成分在脱盐清洗等加工过程中大量流失,并由此产生的腌渍废水会对环境造成污染,不符合可持续发展的需求^[2]。腌制雪菜低盐化已逐渐成为工业生产的趋势。然而,仅在腌制工艺上减少用盐量会降低渗透压对有害微生物的抑制作用,使得雪菜成品受到有害微生物的侵染,从而影响食用品质^[3]。基于当前对腌制蔬菜工艺的研究,发现接种外源乳酸菌可以使乳酸菌在腌制体系中快速增殖成为优势菌群^[4],抑制杂菌的生长。此方法目前得到广泛的认可。

乳酸菌作为日常生活中常见的一种益生菌,能够作为食品或食品补充剂,有效改善人体的健康状态,提高机体免疫力^[5]。接种外源乳酸菌不仅能够改变发酵腌制蔬菜体系的细菌群落结构,丰

富微生物群落多样性,还能够改善感官品质^[6]。此外,将不同乳酸菌复合接种于腌制泡菜,能够显著增加挥发性风味物质含量^[7]。本课题组在早期对低盐腌制雪菜发酵前、后期菌群展开研究,发现前期主要优势菌属为肠杆菌属(*Enterobacter*)和欧文菌属(*Erwinia*),中、后期主要优势菌属为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)^[8]。然而,该研究报道仅围绕自然发酵情况下的微生物群落多样性展开,尚未结合乳酸菌接种技术作进一步的研究。在发酵蔬菜体系中,除植物乳杆菌丰度占优以外,发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)和戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosaceus*)同样也是主要的发酵菌群^[9]。不同类型的乳酸菌应用于腌制蔬菜的发酵会产生不同的菌落结构和代谢产物^[10]。目前,以植物乳杆菌和发酵乳杆菌为发酵菌株应用于发酵蔬菜的研究较少。开展相应乳酸菌接种对发酵蔬菜微生物菌群组成及挥发性风味物质影响的研究具有重要意义。

本研究以雪菜为蔬菜原料,分析不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜 pH 值、总酸等理化指标随发酵进程的动态变化,结合 16S rDNA 测序分析和 GC-MS 技术分析腌制雪菜的细菌群落结构、多样性和挥发性风味物质,为乳酸菌发酵腌制雪菜

收稿日期: 2023-11-21

基金项目: 宁波市重点研发计划项目(2022Z176)

第一作者: 陈淑钧,女,硕士生

通信作者: 吴祖芳 E-mail: wzfpf@163.com

的实际应用和工业化生产提供新思路。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

雪菜购于宁波本地市场;植物乳杆菌 01 (Lp01)、发酵乳杆菌 01(Lf01)保存于宁波大学食品生物技术实验室。

MRS 肉汤培养基,杭州微生物试剂有限公司;琼脂粉,大连美仑生物技术有限公司;吐温-80、氯化钠、酚酞、氢氧化钠均为分析纯级,国药化学试剂有限公司。

MagPure Soil DNA LQ Kit (DNA 抽提试剂盒, Cat. No.D6356-02),广州美基生物科技有限公司;Tks Gflex DNA Polymerase 酶试剂盒(Takara, Cat. No.R060B),上海金畔生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

7890B-7000C 气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦科技有限公司;SW-CJ-2D 型超净工作台,苏州净化设备有限公司;LD2F-50L- II 型立式高压蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;5804R 型高速大容量冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;PHS-3C 型 pH 计,上海圣科仪器设备有限公司;泡菜坛(4 L),宁波本地市场。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理 雪菜的腌制方法如下:新鲜雪菜修整→称重→(加入质量分数 5%食盐)入坛脱水→翻缸→分坛(接种)→压实,按体积分数 2%分别接种 Lp01 单菌、Lf01 单菌和复合菌(Lp01 与 Lf01 体积比 1:1),在室温条件下进行发酵,发酵时间为 25 d。综上共分为 4 组,每组设置 3 平行重复组,根据接种菌种分别命名为 Lp01、Lf01、Lp01_Lf01 和自然发酵(CK)。将发酵第 0,1,5,15,25 天的腌制雪菜作为研究对象,采集所得样品冻藏于-80℃冰箱备用。

1.3.2 pH 值及总酸含量的测定 使用 PHS-3C 型 pH 计直接测定腌制雪菜的 pH 值;参照《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》(GB 12456-2021)中的酸碱指示剂滴定法测定腌制雪菜的总酸(以乳酸计)含量。

1.3.3 感官评定方法 选取 5 名有食品感官评定经验的人员参与腌制雪菜成品的感官评定。参考《酱腌菜》(SB/T 10439-2007)中感官特性规定设计的感官评分标准表(表 1),分别从色泽、香气、滋味、体态及质地这 5 项进行打分,每项最高得分 20 分(满分 100 分),综合得分即为 5 项分数之和。

表 1 腌制雪菜感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria for pickled potherb mustard

项目	评分标准/分		
	1~6	7~14	15~20
色泽	各部分色泽均暗淡	各部分具有相应颜色(菜杆部分无明黄色)	各部分具有相应颜色(菜杆部分呈现明黄色)
香气	有些许异味	具有应有香气,无不良气味	具有应有的香气且香气浓郁,无不良气味
滋味	无明显酸味	酸味一般,无不良异味	酸味明显,无不良异味
体态	菜体部分皱缩,卤水浑浊	菜体未充分饱满,卤水无浑浊	菜体饱满无皱缩,卤水无浑浊
质地	产品脆、嫩差	产品脆、嫩一般	具有产品特有的脆、嫩质地

1.3.4 宏基因组文库的提取 采用 MagPure Soil DNA LQ Kit 试剂盒对腌制雪菜样品的基因组 DNA 进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 检测 DNA 的浓度。以基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 barcode 的特异引物,Tks Gflex DNA Polymerase 试剂盒进行 PCR,确保扩增效率和准确性。

1.3.5 PCR 扩增及 16S rDNA 测序 送样至上海欧易生物医学科技有限公司进行测序。采用细菌 16S rDNA 的 V3-V4 区域作为目标 DNA 序列进行 PCR 扩增。以前端引物 343F (5'-TACG-GRAGGCAGCAG-3') 和后端引物 798R (5'-AGGGTATCTAATCCT-3') 为基础,对各发酵时期腌制雪菜中细菌的 16S rDNA 的 V3-V4 区域进

行扩增后,在Illumina-HiSeq平台上进行高通量测序。

1.3.6 顶空固相微萃取-气质联用

1.3.6.1 色谱柱 DB-WAXETR, 30 m×0.250 mm×0.25 μm, 美国安捷伦科技有限公司。

1.3.6.2 萃取条件 采用50/30 μm DVB/CAR on PDMS萃取头, 萃取温度:60℃, 萃取时间:20 min。

1.3.6.3 GC条件 进样采用不分流模式,柱温箱起始温度35℃保持2 min,以15℃/min,升温至125℃保持1 min,以2℃/min,升温至200℃保持12 min。载气(He)为高纯氦气,流速为1.6 mL/min;进样口温度210℃。

1.3.6.4 MS条件(EI)离子源 电子能量70 eV;离子源温度为230℃;扫描质量范围 m/z 40~400。

1.3.7 关键风味物质的确定 参照刘登勇等^[11]的方法计算各挥发性风味物质的ROAV值。将风味贡献最大物质的ROAV定义为100,其余物质的ROAV值如式计算。

$$ROAV \approx 100 \times C/C_{stan} \times T_{stan}/T$$

式中: C 与 T 分别为挥发性风味物质的相对含量和感觉阈值(μg/kg); C_{stan} 与 T_{stan} 分别为风味贡献最大挥发性风味物质相对含量和感觉阈值(μg/kg)。

1.4 数据统计分析

使用基迪奥生物(Gene Denovo)工具绘制PCA主成分分析图及相关性热图;使用Origin 2022做ANOVA分析并绘制散点图和堆积图;使用图云平台处理alpha多样性指数并绘制稀释曲线及箱型图。

2 结果与分析

2.1 不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜品质的影响

2.1.1 不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜理化品质的影响 pH值和总酸是评价腌制蔬菜理化品质的重要指标^[12]。分析不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜的pH值及总酸含量随发酵进程的变化趋势,其结果如图1所示。从图1a可以看出,腌制雪菜pH值总体呈现下降趋势,其中在发酵第1~5天即有明显下降,显著低于起始数值,说明雪菜发酵已快速启动;在发酵第5~15天下降趋势虽然减

缓,但仍有明显下降;在发酵第15~25天趋于平缓,说明雪菜发酵已基本定型^[13]。结合不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜总酸含量(图1b),发现Lf01单菌接种组和其复合Lp01接种组的发酵速度明显快于Lp01单菌接种组。在发酵第5天,经Lp01_Lf01复合菌接种的腌制雪菜pH值即下降到4.05,总酸为0.93 g/100 g;Lf01单菌接种的腌制雪菜pH值下降到4.16,总酸为0.99 g/100 g;Lp01单菌接种的接种的腌制雪菜pH值则下降到4.24,总酸为0.87 g/100 g;自然发酵组(CK)的pH值为4.46,显著高于其它组别($P < 0.05$),总酸为0.77 g/100 g。在发酵第15天后,各组别腌制雪菜的pH值差异较小,而总酸含量变化明显,Lf01单菌接种组最高(1.30 g/100 g),Lp01单菌接种组次之(1.17 g/100 g)并超过Lp01_Lf01复合菌接种组(1.10 g/100 g)。自然发酵组(CK)的总酸含量在发酵第15天达到1.01 g/100 g、第25天达到1.36 g/100 g,整个发酵过程均未超出《泡菜》(SB/T 10756-2012)中规定的1.50 g/100 g标准。

外源乳酸菌的接种,使得乳酸菌在蔬菜发酵的早期快速繁殖为优势菌群,从而快速启动蔬菜的发酵^[14]。使用不同种类的乳酸菌进行接种发酵,会对发酵蔬菜中的代谢产物类型及浓度产生极大的影响^[15]。在自然发酵泡菜中主要产酸的菌株是植物乳杆菌、发酵乳杆菌和嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*),并且植物乳杆菌在发酵中后期起主要作用^[16]。植物乳杆菌和发酵乳杆菌分别是典型的同型乳酸发酵菌株和异型乳酸发酵菌株,异型乳酸发酵菌株在发酵蔬菜早期酸化的速度快于同型乳酸发酵菌株^[17]。因此,Lf01单菌接种和其复合Lp01接种的腌制雪菜pH值下降更快,并且在发酵前期累计总酸含量更多。

2.1.2 不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜感官品质的影响 对不同乳酸菌接种发酵下的腌制雪菜成品进行感官评定,各组综合评价及得分如表2所示。参照《泡菜》(SB/T 10756-2012),各组腌制雪菜成品基本符合该标准中对感官品质的要求。乳酸菌接种组的感官品质明显优于自然发酵组,主要体现在色泽方面菜体各部分具有相应颜色,菜杆部分呈现明黄色;在滋味方面,入口无刺激感,酸味更为明显;在体态方面,菜体饱满无皱缩,说

明接种外源乳酸菌能有效改善腌制发酵蔬菜的感官品质^[7]。此外,经 Lp01_Lf01 复合菌接种的腌制雪菜成品感官优于单菌接种组,主要体现在色泽

方面相较更有光泽;在香气方面更为浓郁,说明混合发酵能够有效改善产品的感官特性^[6],这为发酵蔬菜工艺的优化提供了新的思路。

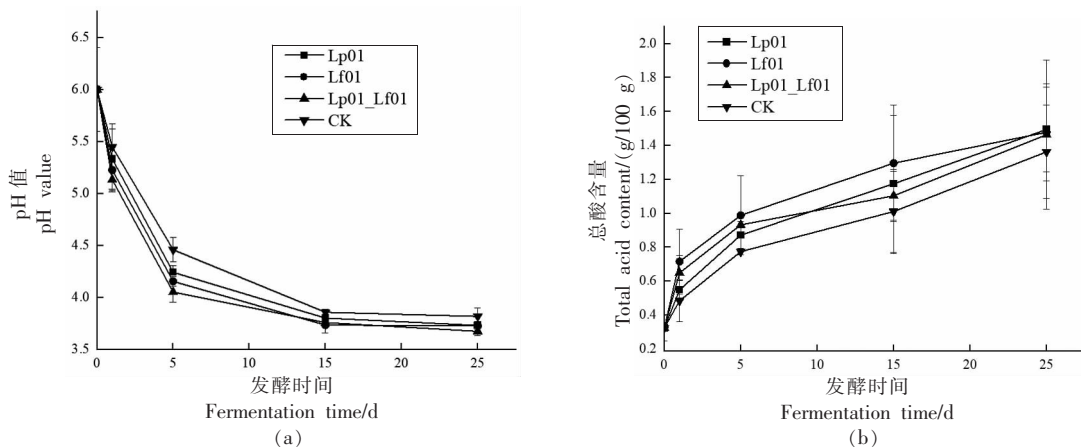


图 1 不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜 pH 值及总酸含量的影响

Fig.1 Effects of different lactic acid bacteria inoculation and fermentation on the pH value and total acid content of pickled potherb mustard

表 2 腌制雪菜的感官综合得分表

Table 2 Sensory comprehensive score table of pickled potherb mustard

项目	感官评定			
	Lp01	Lf01	Lp01_Lf01	自然发酵(CK)
色泽	各部分具有相应颜色 菜杆部分呈现明黄色	各部分具有相应颜色 菜杆部分呈现明黄色	各部分具有相应颜色 菜杆部分呈现明黄色 光泽明显	菜叶部分具有相应颜色 菜杆部分呈现灰黄色
香气	具有发酵雪菜应有香气 一般	具有发酵雪菜应有香气 香气一般	具有发酵雪菜应有香气 香气浓郁	具有发酵雪菜应有香气 香气一般
滋味	入口无异味 酸味较弱	入口无异味 酸味适中	入口无异味 酸味适中	入口有一定刺激感 酸味一般
体态	菜体饱满无皱缩 卤水轻微浑浊、呈现深黄色	菜体饱满无皱缩 卤水清澈、呈现深黄色	菜体饱满无皱缩 卤水清澈、呈现淡黄色	菜杆部分皱缩 卤水浑浊、呈现深黄色
质地	咀嚼性强、嫩脆	咀嚼性强、嫩脆	咀嚼性强、嫩脆	咀嚼性一般、稍软
总分/分	76.80 ^b	78.00 ^b	85.40 ^a	66.40 ^c

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

2.2 不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜的微生物多样性分析

2.2.1 腌制雪菜 Alpha 多样性分析

对不同乳酸菌接种发酵下的腌制雪菜进行细菌 16S rDNA 微生物多样性测序,经过质控且去除嵌合体后得到 valid tags(即最终用于分析的数据),数据量分布在 31 217~57 795 之间,各样本扩增子序列变异(Amplicon sequence variant, ASV)个数分布在

73~491 之间。基于 ASV 的 Shannon 指数稀释曲线的结果如图 2 所示,随着测序量的逐渐增加,稀释曲线趋于平缓达到平台期,更多的随机抽样深度仅产生少量新的 ASV,说明各样本的测序数据量合理,且已覆盖该样本微生物体系内所有类群^[18]。

由图 3 可知,在发酵启动(第 1 天)时,腌制雪菜的 Shannon 指数大小顺序为 Lf01 单菌接种组 (3.64 ± 0.07) > Lp01 单菌接种组 (3.24 ± 0.04) >

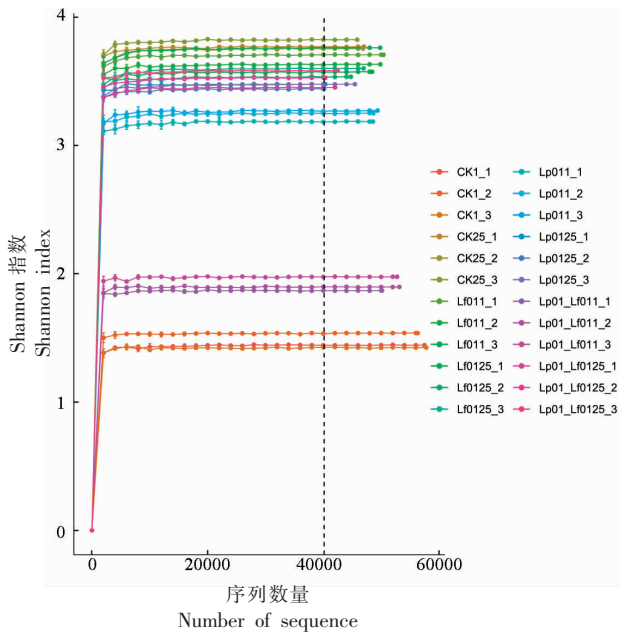


图2 基于ASV的Shannon指数稀释曲线

Fig.2 Dilution curves of Shannon index based on ASV

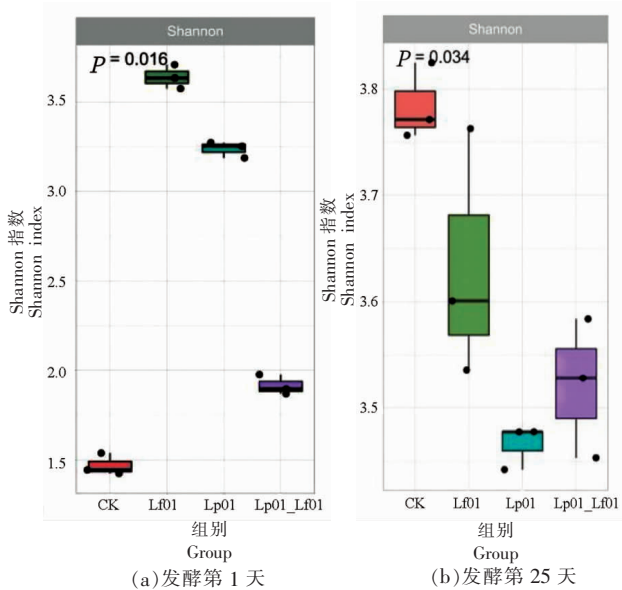


图3 发酵第1天和第25天的腌制雪菜Shannon指数

Fig.3 Shannon index of pickled potherb mustard on the first and 25th day of fermentation

Lp01_Lf01 组 (1.91 ± 0.06) > 自然发酵组 (1.47 ± 0.06), 提示通过接种外源乳酸菌, 丰富了腌制雪菜中微生物的多样性。这是因为接种的外源乳酸菌会与原材料自身所携带的微生物群落建立竞争或合作的关系, 从而产生腌制发酵体系中的优势

菌群^[19]。Lp01_Lf01 接种的腌制雪菜中微生物多样性明显低于单菌接种组, 可能是因为乳酸菌大量繁殖产酸, 使得体系酸度上升, 从而抑制了部分不适应酸环境的菌的生长^[20]。随着发酵的进行, 在发酵结束(第25天)时, 腌制雪菜的 Shannon 指数大小顺序为自然发酵组 (3.78 ± 0.04) > Lf01 单菌接种组 (3.63 ± 0.12) > Lp01_Lf01 组 (3.52 ± 0.07) > Lp01 单菌接种组 (3.47 ± 0.02), 各组别之间呈现显著差异 ($P < 0.05$)。与发酵启动时(第1天)相比, 除 Lf01 单菌接种组外, 其余组别的微生物多样性均有显著上升 ($P < 0.05$)。这可能是因为优势菌群确定之后, 腌制发酵蔬菜微生物体系基本不发生变化^[21]; 接种外源乳酸菌的组别菌群优势明显, 并且乳酸菌具有抑菌特性^[22-23], 从而使得体系微生物多样性较自然发酵低。

2.2.2 腌制雪菜微生物群落结构分析 根据腌制雪菜理化指标变化趋势, 选取发酵启动(第1天)和发酵结束(第25天)2个时间点, 在属水平上分析不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜的 TOP10 细菌群落结构分布, 其结果如图4所示。在发酵的前、后期, 腌制雪菜中各菌属的丰度发生了明显变化^[24]。其中乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、普雷沃菌属 (*Prevotella*)、片球菌属 (*Pediococcus*)、Clade_III 丰度随着发酵进行显著上升 ($P < 0.05$), 弧菌属 (*Vibrio*)、果胶杆菌属 (*Pectobacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*) 则显著下降 ($P < 0.05$); 魏斯氏菌属 (*Weissella*) 在不同组别变化趋势不同。Liang 等^[25]同样在腌制蔬菜发酵过程中检测到乳酸杆菌属、片球菌属、弧菌属、魏斯氏菌属等9个菌属, 其中乳酸杆菌属的相对丰度有明显的增加。普雷沃菌属是人类口腔和肠道中的重要微生物之一^[26], 通常被认为是有益菌, 可以利用来自膳食植物的多糖组, 与新陈代谢有密切的关系^[27]。魏斯氏菌属^[28]、片球菌属^[29]、Clade_III^[30]均具有良好的发酵产酸能力, Song 等^[31]将片球菌与植物乳杆菌复合应用于提升酸菜品质。弧菌属、果胶杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌属、欧文氏菌属等通常被认为是造成腌制发酵蔬菜腐败的菌属或致病菌^[32], 其丰度下降有助于品质的保证。

在发酵启动(第1天)时, 经 Lf01 单菌接种和

其复合 Lp01 接种的腌制雪菜中的乳杆菌属丰度分别为 38.36% 和 28.78%, 明显高于 Lp01 单菌接种组 (6.68%), 说明其大量繁殖使自身成为优势菌群, 快速启动腌制蔬菜的发酵, 即在发酵蔬菜的早期, 异型乳酸发酵菌株在物种丰度上占据优势^[33]。自然发酵组 (CK) 中弧菌属丰度占比高达 80.84%, 而乳杆菌属丰度仅为 5.74%, 主要来源于原材料自身携带的微生物群落^[34]。在发酵结束 (第 25 天) 时, 经 Lp01_Lf01 接种的腌制雪菜中乳杆菌属丰度与其它组相比最高, 为 65.89% ($P < 0.05$), 而弧菌属、果胶杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌属丰度均最低 ($P < 0.05$), 说明复合接种能有效地抑制腐败菌或致病菌的生长。Lp01 单菌接种组乳杆菌属丰度为 62.38%, 高于 Lf01 单菌接种组 (60.39%), 说明在发酵后期 Lp01 占据优势, 与前文结果一致, 植物乳杆菌主导后期的蔬菜发酵。比较发酵起、止 2 个时间点, 魏斯氏菌属在 Lf01 单菌接种和其复合 Lp01 接种组丰度下降, 在 Lp01 单菌接种组和自然发酵组 (CK) 丰度上升, 这可能是由于蔬菜发酵初期优势乳杆菌属的繁殖产酸, 为其提供了一个适合的生长环境^[35]; 而 Lp01 单菌接种组和自然发酵组 (CK) 的酸度上升较慢。

2.3 不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜的挥发性风味物质分析

对不同乳酸菌接种发酵下发酵结束 (第 25 天) 时的腌制雪菜挥发性风味物质进行 PCA 分析, 结果如图 5 所示, 共有 78.4% 累计差异被描述, 其中主成分 1 的贡献率为 57.6%、主成分 2 的贡献率为 20.8%; 各组分布在不同区域, 说明腌制雪菜的挥发性风味物质受乳酸菌接种条件影响, 存在较大差异^[36]。

如表 3 所示, 通过对不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜挥发性风味物质进行筛选, 共得到 82 种与产品风味形成可能相关的化合物, 其中 Lp01 单菌接种组 50 种 (含 11 种酯、7 种醇、7 种醛、6 种酸、7 种酮、1 种烯炔、1 种醚、4 种酚、3 种杂环和 3 种其它物质), 峰面积占比 (79.32±4.04)%; Lf01 单菌接种组 49 种 (含 15 种酯、8 种醇、6 种醛、3 种酸、4 种酮、1 种烯炔、3 种醚、4 种酚、4 种杂环和 4 种其它物质), 峰面积占比 (79.62±1.80)%; Lp01_Lf01 接种组 44 种 (含 11 种酯、9 种醇、6 种

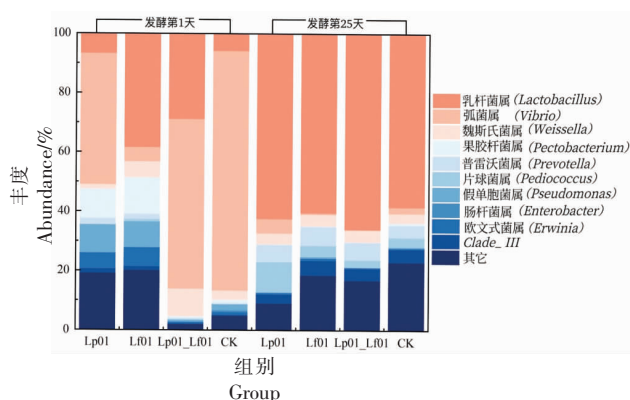


图 4 属水平上的 TOP10 物种丰度图

Fig.4 Abundance maps of the TOP10 species at the genus level

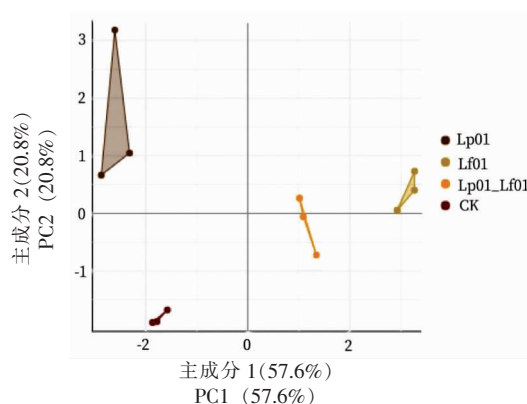


图 5 不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜挥发性风味物质 PCA 图

Fig.5 PCA diagram of volatile flavor compounds in pickled potherb mustard under different lactic acid bacteria inoculation and fermentation

醛、3 种酸、4 种酮、1 种烯炔、1 种醚、3 种酚、5 种杂环和 1 种其它物质), 峰面积占比 (84.36±1.38)%; 自然发酵 (CK) 组 51 种 (含 17 种酯、8 种醇、5 种醛、5 种酸、5 种酮、1 种烯炔、4 种酚、3 种杂环和 3 种其它物质), 峰面积占比 (81.77±2.86)%。

通过 ANOVA 单因素方差分析, 不同乳酸菌接种发酵虽然对腌制雪菜与风味相关的挥发性风味物质总量影响不明显 ($P > 0.05$), 但对各类化合物的含量影响明显。不同接种组的酯类、醛类、酸类、酮类、烯炔类、酚类、杂环类和其它类化合物含量存在显著差异 ($P < 0.05$), 醇类与醚类化合物含量差异则不显著 ($P > 0.05$)。乳酸菌接种组与自然

表3 不同乳酸菌接种发酵下腌制雪菜挥发性风味物质
Table 3 Volatile flavor compounds in pickled potheb mustard with different lactic acid bacteria inoculation

序号	种类	化合物名称	化学式	CAS 编号	峰面积/%				
					Lp01	Lf01	Lp01_Lf01	CK	CK
1	酯	顺式-3-己烯醇乳酸酯	C ₉ H ₁₆ O ₃	61931-81-5	3.71 ± 0.34	4.06 ± 0.15	4.85 ± 0.05	3.93 ± 0.50	3.93 ± 0.50
2		2-甲基丁酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	7452-79-1	1.08 ± 0.09	3.63 ± 0.14	1.41 ± 0.04	1.21 ± 0.21	1.21 ± 0.21
3		丙位壬内酯	C ₉ H ₁₆ O ₂	104-61-0	0.42 ± 0.01	—	0.52 ± 0.05	0.55 ± 0.02	0.55 ± 0.02
4		乙酸诺卜酯	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	128-51-8	0.39 ± 0.01	—	—	0.31 ± 0.09	0.31 ± 0.09
5		2-苯基乙基异硫代羧酸酯	C ₉ H ₉ NS	2257-09-2	0.19 ± 0.06	0.45 ± 0.04	0.36 ± 0.08	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02
6		十六酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	628-97-7	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.03
7		(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醇	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	109-20-6	0.09 ± 0.01	—	0.07 ± 0.02	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
8		3-甲基丁酸酯	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	2021-28-5	0.09 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.28 ± 0.14	0.21 ± 0.05	0.21 ± 0.05
9		3-苯丙酸乙酯	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	111-80-8	0.23 ± 0.29	—	—	—	—
10		2-壬炔酸甲酯	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	105-86-2	0.02 ± 0.00	—	—	—	—
11		甲酸香叶酯	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	2050-08-0	0.02 ± 0.00	—	—	—	—
12		水杨酸戊酯	C ₉ H ₁₀ O ₂	140-11-4	—	0.98 ± 0.02	—	—	—
13		乙酸苄酯	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	78-36-4	—	0.62 ± 0.08	—	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.05
14		丁酸芳樟酯	C ₈ H ₁₀ NO ₂	134-20-3	—	0.38 ± 0.29	2.68 ± 0.89	—	—
15		氯萜酸甲酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	112-23-2	—	0.51 ± 0.04	—	—	—
16		甲酸庚酯	C ₆ H ₁₀ O ₂	502-44-3	—	0.27 ± 0.04	—	—	—
17		6-己内酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	706-14-9	—	0.13 ± 0.04	0.27 ± 0.08	—	—
18		丙位癸内酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₃	24851-98-7	—	0.16 ± 0.02	—	—	—
19		二氢茉莉酮酸甲酯	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	6259-76-3	—	0.13 ± 0.03	—	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
20		水杨酸乙酯	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	2721-22-4	—	0.07 ± 0.01	0.34 ± 0.05	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02
21		丁位十四内酯	C ₈ H ₁₀ O ₃	141-97-9	—	0.06 ± 0.01	—	—	—
22		乙酰乙酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂ S	22014-48-8	—	—	0.73 ± 0.11	—	—
23		4-甲硫基丁酸乙酯	C ₅ H ₁₀ O ₂ S	13532-18-8	—	—	—	1.25 ± 0.58	1.25 ± 0.58
24		3-甲硫基丙酸甲酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	111-62-6	—	—	—	0.41 ± 0.07	0.41 ± 0.07
25		油酸乙酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	105-90-8	—	—	—	0.35 ± 0.07	0.35 ± 0.07
26		丙酸叶醇酯	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	122-67-8	—	—	—	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.03
27		桂酸异丁酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	61444-38-0	—	—	—	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.03
28		顺式-3-己烯酸顺式-3-己烯酯	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	17092-92-1	—	—	—	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
		二氢猕猴桃内酯	Σ	Σ	6.36 ± 0.30 ^a	11.82 ± 0.56 ^a	11.64 ± 0.89 ^a	9.39 ± 0.21 ^b	9.39 ± 0.21 ^b

(续表 3)

序号	种类	化合物名称	化学式	CAS 编号	峰面积/%				
					I _{p01}	I _{L01}	I _{p01} I _{L01}	CK	—
29	醇	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	60-12-8	6.15 ± 0.60	8.22 ± 0.54	9.41 ± 0.99	6.40 ± 0.65	—
30		檀香醇	C ₁₅ H ₂₄ O	11031-45-1	1.96 ± 0.31	0.50 ± 0.04	0.51 ± 0.03	1.26 ± 0.15	—
31		3-苯丙醇	C ₉ H ₁₂ O	122-97-4	1.21 ± 0.25	0.34 ± 0.06	0.21 ± 0.08	0.13 ± 0.05	—
32		芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	78-70-6	0.80 ± 0.03	0.31 ± 0.05	0.93 ± 0.34	—	—
33		茴香醇	C ₈ H ₁₀ O ₂	105-13-5	0.14 ± 0.01	—	0.09 ± 0.00	0.16 ± 0.02	—
34		1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	3391-86-4	0.11 ± 0.02	—	0.08 ± 0.01	0.98 ± 0.01	—
35		橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	7212-44-4	0.06 ± 0.00	0.17 ± 0.03	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	—
36		苯甲醇	C ₇ H ₈ O	100-51-6	—	1.07 ± 0.04	—	—	—
37		正辛醇	C ₈ H ₁₈ O	111-87-5	—	0.39 ± 0.09	—	0.85 ± 0.04	—
38		3-甲基硫基丙醇	C ₄ H ₁₀ OS	505-10-2	—	0.30 ± 0.04	—	—	—
39		白檀醇	C ₁₄ H ₂₄ O	28219-61-6	—	—	0.28 ± 0.10	—	—
40		十二醇/月桂醇	C ₁₂ H ₂₆ O	112-53-8	—	—	0.06 ± 0.01	—	—
41		1-戊烯-3-醇	C ₅ H ₁₀ O	616-25-1	—	—	—	0.29 ± 0.09	—
		Σ			10.42 ± 0.61	11.31 ± 0.59	11.62 ± 1.27	10.12 ± 0.92	—
42	醛	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	100-52-7	4.36 ± 0.58	4.16 ± 0.72	4.61 ± 0.27	3.62 ± 0.17	—
43		苯甲醛二甲缩醛	C ₉ H ₁₂ O ₂	1125-88-8	1.17 ± 0.11	—	—	—	—
44		柠檬醛	C ₁₀ H ₁₆ O	5392-40-5	0.46 ± 0.02	0.29 ± 0.05	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.10	—
45		葵醛	C ₁₀ H ₂₀ O	112-31-2	0.22 ± 0.01	0.05 ± 0.01	—	—	—
46		(E,E)-2,4-壬二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	5910-87-2	0.09 ± 0.00	0.14 ± 0.03	—	0.01 ± 0.00	—
47		2-甲基-2-戊烯醛	C ₆ H ₁₀ O	623-36-9	0.07 ± 0.00	—	—	—	—
48		2,6-二甲基-5-庚烯醛/甜瓜醛	C ₉ H ₁₆ O	106-72-9	0.03 ± 0.00	—	0.71 ± 0.04	0.18 ± 0.01	—
49		苯乙醛	C ₈ H ₈ O	122-78-1	—	2.99 ± 0.47	—	—	—
50		十二醛/月桂醛	C ₁₂ H ₂₄ O	112-54-9	—	0.19 ± 0.04	0.26 ± 0.02	—	—
51		壬醛	C ₉ H ₁₈ O	124-19-6	—	ND	0.13 ± 0.05	—	—
52		桃醛	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	104-67-6	—	ND	0.09 ± 0.01	0.17 ± 0.01	—
		Σ			6.39 ± 0.67 ^a	7.83 ± 1.11 ^a	6.02 ± 0.29 ^a	4.19 ± 0.28 ^b	—
53	酸	4-甲基辛酸	C ₉ H ₁₈ O ₂	54947-74-9	0.63 ± 0.00	—	—	0.84 ± 0.07	—
54		辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	124-07-2	0.39 ± 0.12	0.53 ± 0.07	0.09 ± 0.00	—	—
55		2-甲基丁酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	116-53-0	0.33 ± 0.01	0.63 ± 0.08	—	0.27 ± 0.02	—
56		10-十一烯酸	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	112-38-9	0.15 ± 0.01	—	—	0.12 ± 0.01	—
57		油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	112-80-1	0.23 ± 0.30	—	0.28 ± 0.01	0.08 ± 0.00	—
58		亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	60-33-3	0.03 ± 0.00	—	—	—	—
59		己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	142-62-1	—	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.1 ± 0.01	—
		Σ			1.76 ± 0.35 ^a	1.32 ± 0.07 ^a	0.54 ± 0.01 ^b	1.42 ± 0.08 ^a	—

(续表 3)

序号	种类	化合物名称	化学式	CAS 编号	峰面积/%			
					L _p 01	L _f 01	L _p 01_L _f 01	CK
60	酮	甲基紫罗兰酮	C ₁₄ H ₂₂ O	1335-46-2	5.55 ± 4.11	4.06 ± 0.65	5.94 ± 0.21	6.85 ± 0.05
61		β-紫罗酮	C ₁₃ H ₂₀ O	79-77-6	2.44 ± 0.05	0.49 ± 0.21	1.50 ± 0.05	3.20 ± 0.10
62		大马酮	C ₁₃ H ₁₈ O	23696-85-7	0.92 ± 0.01	0.21 ± 0.05	0.82 ± 0.11	0.13 ± 0.04
63		己基茉莉酮	C ₁₂ H ₂₂ O ₃	18871-14-2	0.37 ± 0.00	—	—	—
64		苯乙酮	C ₈ H ₈ O	98-86-2	0.17 ± 0.00	0.20 ± 0.06	0.04 ± 0.01	—
65		BETA-二氢紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₂ O	17283-81-7	0.14 ± 0.01	—	—	—
66		3-壬烯-2-酮	C ₉ H ₁₆ O	14309-57-0	0.15 ± 0.20	—	—	—
67		甲基庚烯酮	C ₈ H ₁₄ O	110-93-0	—	—	—	1.07 ± 0.11
68		环己酮	C ₆ H ₁₀ O	108-94-1	—	—	—	0.08 ± 0.00
69	烯烃	茴香烯	C ₁₀ H ₁₂ O	Σ 4180-23-8	9.73 ± 3.95 ^a 1.50 ± 0.30	4.96 ± 0.75 ^b 0.42 ± 0.05	8.31 ± 0.36 ^a 0.87 ± 0.06	11.33 ± 0.29 ^a 1.29 ± 0.02
70	醚	邻苯二甲醚	C ₈ H ₁₀ O ₂	91-16-7	1.50 ± 0.30 ^b 0.15 ± 0.20	0.42 ± 0.05 ^c 0.07 ± 0.01	0.87 ± 0.06 ^b 0.05 ± 0.01	1.29 ± 0.02 ^a —
71	酚	4-乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	123-07-9	0.15 ± 0.20	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.01	—
72		4-乙基-2-甲氧基苯酚	C ₉ H ₁₂ O ₂	Σ 2785-89-9	16.59 ± 0.45 6.39 ± 0.20	15.82 ± 1.05 3.36 ± 0.71	12.57 ± 1.15 8.92 ± 0.36	16.25 ± 1.00 10.12 ± 0.28
73		麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	89-83-8	0.14 ± 0.04	0.39 ± 0.07	0.34 ± 0.08	0.06 ± 0.00
74		丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	97-53-0	0.02 ± 0.00	—	—	0.05 ± 0.01
75	杂环	4-甲基噻唑	C ₄ H ₃ NS	Σ 693-95-8	23.14 ± 0.62 ^b 14.64 ± 0.87	19.57 ± 0.35 ^c 20.74 ± 0.58	21.82 ± 0.95 ^b 20.48 ± 0.99	26.47 ± 1.23 ^a 15.91 ± 0.19
76		3-甲基咪唑	C ₃ H ₃ N	83-34-1	0.33 ± 0.05	0.62 ± 0.06	0.74 ± 0.07	—
77		2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	C ₉ H ₁₄ N ₂ O	24168-70-5	0.14 ± 0.02	0.28 ± 0.08	0.21 ± 0.03	0.28 ± 0.03
78		咪唑	C ₃ H ₇ N	120-72-9	—	0.04 ± 0.02	0.07 ± 0.00	0.03 ± 0.01
79		2-正戊基呋喃	C ₉ H ₁₄ O	3777-69-3	—	—	0.10 ± 0.04	—
80	其它	香叶油	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	Σ 8000-46-2	15.11 ± 0.86 ^b 0.28 ± 0.34	21.68 ± 0.67 ^b 0.04 ± 0.01	21.6 ± 1.07 ^a —	16.22 ± 0.21 ^b 0.01 ± 0.00
81		二甲基三硫	C ₂ H ₆ S ₃	3658-80-8	4.47 ± 0.50	0.52 ± 0.05	1.89 ± 0.03	1.33 ± 0.05
82		檀香	C ₁₄ H ₂₄ O	Σ 28219-61-6	— 4.75 ± 0.16 ^c	0.07 ± 0.01 0.63 ± 0.04 ^d	— 1.89 ± 0.03 ^b	— 1.34 ± 0.05 ^c

注：“—”表示未检出。

发酵组(CK)在酯类、醛类、酚类、其它类化合物存在显著差异,其中醛类化合物含量显著上升、酚类化合物显著下降,说明接种外源乳酸菌能够对腌制发酵蔬菜产品的风味产生一定的影响^[37]。对乳酸菌接种组组内进行比较,Lf01单菌接种组及其复合Lp01接种组的酯类($P<0.05$)、醇类、杂环类($P<0.05$)化合物含量高于Lp01单菌接种组,酸类、烯烃类、其它类化合物含量则低于Lp01单菌接种组;对比Lf01单菌接种组及其复合Lp01接种组,Lp01_Lf01接种组的酮类、酚类和其它类化

合物含量均显著高于Lf01单菌接种组($P<0.05$)。综上,说明复合菌接种能够有效提高腌制发酵蔬菜的风味^[15]。

酯类化合物中,Lf01单菌接种组及其复合Lp01接种组中顺式-3-己烯醇乳酸酯(果香)、2-甲基丁酸乙酯(苹果香)含量显著高于其它组别($P<0.05$);Lp01_Lf01接种组中检出较高含量($>1%$)的氨基甲酸酯(橙花果香)。醇类化合物中,苯乙醇(花香)在所有组别中被检出,且Lf01单菌接种组及其复合Lp01接种组中含量显著高于其它

表4 腌制雪菜挥发性风味物质的ROAV值

Table 4 ROAV of volatile flavor substances of pickled potherb mustard

序号	化合物名称	CAS 编号	香气阈值 ^[41] ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ROAV 值			
				Lp01	Lf01	Lp01_Lf01	CK
2	2-甲基丁酸乙酯	7452-79-1	0.100	1.21	12.96	3.44	2.65
3	丙位壬内酯	104-61-0	65.000	<0.01	—	<0.01	<0.01
6	十六酸乙酯	628-97-7	>2 000.000	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
17	丙位癸内酯	706-14-9	11.000	—	<0.01	0.01	—
23	3-甲硫基丙酸甲酯	13532-18-8	180.000	—	—	—	<0.01
25	丙酸叶醇酯	105-90-8	10.000	—	—	—	0.01
29	苯乙醇	60-12-8	750.000	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
32	芳樟醇	78-70-6	6.000	0.01	0.02	0.04	—
34	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	1.000	0.01	—	0.02	0.21
36	苯甲醇	100-51-6	10 000.000	—	<0.01	—	—
37	正辛醇	111-87-5	110.000	—	<0.01	—	<0.01
41	1-戊烯-3-醇	616-25-1	400.000	—	—	—	<0.01
42	苯甲醛	100-52-7	350.000	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
45	癸醛	112-31-2	0.1000	0.25	0.18	—	—
46	(<i>E,E</i>)-2,4-壬二烯醛	5910-87-2	0.090	0.11	0.56	—	0.02
49	苯乙醛	122-78-1	4.000	—	0.27	—	—
50	十二醛/月桂醛	112-54-9	2.000	—	0.03	0.03	—
51	壬醛	124-19-6	1.000	—	—	0.03	—
54	辛酸	124-07-2	3 000.000	<0.01	<0.01	<0.01	—
59	己酸	142-62-1	3 000.000	—	<0.01	<0.01	<0.01
61	β -紫罗酮	79-77-6	0.007	38.99	25.00	52.26	100.00
62	大马酮	23696-85-7	0.002	51.45	37.50	100.00	14.22
64	苯乙酮	98-86-2	65.000	<0.01	<0.01	<0.01	—
67	甲基庚烯酮	110-93-0	50.000	—	—	—	<0.01
72	4-乙基-2-甲氧基苯酚	2785-89-9	50.000	0.01	0.02	0.04	0.04
74	丁香酚	97-53-0	6.000	0	—	—	0
77	2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	24168-70-5	0.001	15.66	100.00	51.22	61.25
78	吡嗪	120-72-9	140.000	—	<0.01	<0.01	<0.01
79	2-正戊基呋喃	3777-69-3	6.000	—	—	<0.01	—
81	二甲基三硫	3658-80-8	0.005	100.00	37.14	92.20	58.19

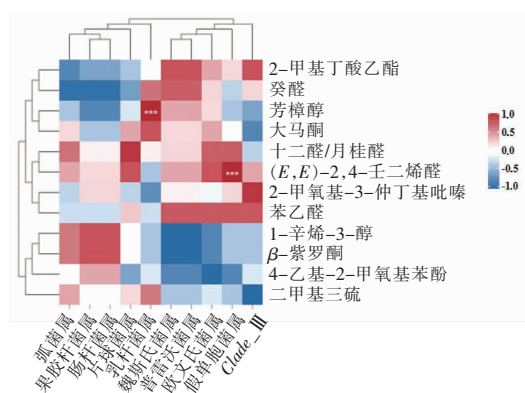
注:本表序号与表3序号一致;“—”表示未检出。

组别($P<0.05$)。醛类化合物阈值较低,对腌制发酵蔬菜的风味有较大的影响^[38],苯甲醛(杏仁香)虽然在所有组别中被检出,但未呈现显著差异($P>0.05$)。酸类化合物中,Lp01_Lf01 接种组含量显著低于其它组别($P<0.05$),这可能是由于其乳酸菌含量较高,在代谢过程中较多产生短链脂肪酸^[39]。酚类化合物和杂环类化合物在各组中占比均处于前列,其中 4-乙基苯酚^[40](木香)、4-甲基噻唑(坚果、青菜香)含量显著高于其它挥发性风味物质($P<0.05$)。

挥发性风味物质对于发酵腌制蔬菜风味特征贡献的大小主要由其相对含量和感觉阈值决定。对于查询到香气阈值的 30 种挥发性风味物质计算 ROAV 值,其中 $ROAV \geq 1$ 为关键风味物质, $0.1 \leq ROAV < 1$ 为修饰风味物质^[41]。如表 4 所示,在各组腌制雪菜中,共有 6 种关键风味物质,分别为 2-甲基丁酸乙酯(苹果香)、 β -紫罗酮(紫罗兰香)、大马酮(花香)、2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪(蔬菜香、坚果香)和二甲基三硫(油菜类蔬菜香),其中在 Lf01 单菌接种组有 5 种 $ROAV > 10$ 的风味物质;在其余组别均有 4 种。此外,在 Lp01 单菌接种组有 2 种修饰风味物质,癸醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛等主要提供甜香、花果和油脂香;在 Lf01 单菌接种组有 3 种,苯乙醛等主要提供风信子香气,稀释后具有水果甜香;在自然发酵组(CK)有 1 种,1-辛烯-3-醇等主要提供蘑菇、玫瑰和干草香。

2.4 腌制雪菜的细菌群落与挥发性风味物质相关性分析

对不同乳酸菌接种发酵下第 25 天时的腌制雪菜的优势细菌群落与重要挥发性风味物质做相关性分析,基于 Spearman 系数的相关性热图如图 6 所示。在相对丰度 $>1\%$ 的菌属中,乳杆菌属相对丰度与芳樟醇、大马酮、十二醛、二甲基三硫及癸醛含量呈现正相关关系,其中与芳樟醇呈现极显著正相关性($P<0.001$);而与 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪、1-辛烯-3-醇、(E,E)-2,4-壬二烯醛及 β -紫罗酮等呈现负相关性。魏斯氏菌属、普雷沃菌属对风味贡献作用基本一致,与 1-辛烯-3-醇、 β -紫罗酮、4-乙基-2-甲氧基苯酚和二甲基三硫呈现负相关性,而与其它风味物质呈现正相关性。片球菌属与癸醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛、大马酮、苯乙醛



注“***”表示极显著正相关性($P<0.001$)。

图 6 腌制雪菜的细菌群落与挥发性风味物质相关性热图
Fig.6 Heatmap of correlation between bacterial community structure and volatile flavor compounds of pickled potherb mustard

和二甲基三硫呈现正相关性,而与芳樟醇、2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪、2-甲基丁酸乙酯、4-乙基-2-甲氧基苯酚及十二醛呈现负相关性。Clade_III 与 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪、2-甲基丁酸乙酯、苯乙醛、(E,E)-2,4-壬二烯醛及十二醛呈现正相关性。在相对丰度 $<1\%$ 的菌属中,假单胞菌属和(E,E)-2,4-壬二烯醛呈现极显著正相关性($P<0.001$),弧菌属、果胶杆菌属、肠杆菌属及欧文氏菌属均与风味物质有相关性,说明它们对腌制雪菜风味的形成具有潜在的影响。微生物之间能够相互作用,从而对风味物质产生影响,不同菌属也可能会与同一风味物质有关^[42]。

3 结论

不同乳酸菌接种发酵对腌制雪菜品质、微生物多样性及挥发性风味物质组成有明显的影响。经异型乳酸发酵的 Lf01 单菌接种组及其复合 Lp01 接种组中的乳杆菌属能够在发酵前期快速繁殖,从而大量产酸使得发酵体系的 pH 值迅速下降并增加总酸含量。同型乳酸发酵的 Lp01 单菌接种组中的乳杆菌属在发酵后期增殖明显,在发酵结束时其丰度高于 Lf01 单菌接种组。在发酵结束时,由于乳酸菌接种组中的乳杆菌属大量繁殖成为优势菌群,抑制了致病菌等的生长,使得腌制雪菜体系中的微生物多样性指数低于自然发酵组。同时,Lp01 复合 Lf01 接种能够有效增加腌制

雪菜中的挥发性风味物质含量,在感官上香气更为浓郁。2-甲基丁酸乙酯、 β -紫罗酮、大马酮、2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪和二甲基三硫是腌制蔬菜中的主要风味物质,主要提供果香、花香及蔬菜香等。乳杆菌属、魏斯氏菌属、普雷沃菌属及片球菌属与多种重要风味物质呈现正相关关系,优势菌属能够对腌制雪菜风味的形成产生一定的影响。本研究主要针对不同乳酸菌接种条件下腌制雪菜的微生物多样性及挥发性风味物质组成展开,后续可对不同乳酸菌接种量等的影响做进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] ZHANG C C, CHEN J B, LI X Q, et al. Bacterial community and quality characteristics of the fermented potherb mustard (*Brassica juncea* var. *multi-ceps*) under modified atmospheres[J]. Food Research International, 2019, 116: 266-275.
- [2] 方俊, 蒋立文, 邓放明, 等. 不同盐度盐渍的雪菜化学及挥发性成分的分析[J]. 中国酿造, 2018, 37(11): 76-81.
FANG J, JIANG L W, DENG F M, et al. Analysis of chemical and volatile components of pickled potherb mustard with different salinity [J]. China Brewing, 2018, 37(11): 76-81.
- [3] WU J L, YANG L, WU Z Y, et al. Kinetic modeling the survival of *Escherichia coli* in pickled radish fermentation with different salt concentrations [J]. Journal of Food Process Engineering, 2023, 46(2): e14241.
- [4] YU Y Y, XU Y J, LI L, et al. Isolation of lactic acid bacteria from Chinese pickle and evaluation of fermentation characteristics [J]. LWT, 2023, 180: 114627.
- [5] ORISAKWE O E, AMADI C N, FRAZZOLI C, et al. Nigerian foods of probiotics relevance and chronic metal exposure: A systematic review[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(16): 19285-19297.
- [6] LUO Y L, LIU Y L, REN T, et al. Sichuan paocai fermented by mixed-starter culture of lactic acid bacteria [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(10): 5402-5409.
- [7] 张楠笛, 祝林, 许琴, 等. 食窦魏斯氏菌协同植物乳杆菌改善四川泡菜风味[J]. 食品科学, 2020, 41(14): 102-108.
ZHANG N D, ZHU L, XU Q, et al. Improvement of the flavor of Sichuan pickle by co-fermentation with *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Science, 2020, 41(14): 102-108.
- [8] 陈希, 沈锡权, 翁佩芳, 等. 应用 16S rDNA 克隆文库法分析雪菜低盐腌制过程微生物群落的多样性[J]. 中国食品学报, 2012, 12(7): 205-211.
CHEN X, SHEN X Q, WENG P F, et al. The diversity of microbial community during low-salting process of pickled potherb mustard was analyzed by 16S rDNA clone library method[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(7): 205-211.
- [9] PENG Q N, JIANG S M, CHEN J L, et al. Unique microbial diversity and metabolic pathway features of fermented vegetables from Hainan, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 3389.
- [10] SEO H, BAE J H, KIM G, et al. Suitability analysis of 17 probiotic type strains of lactic acid bacteria as starter for kimchi fermentation [J]. Foods, 2021, 10(6): 1435.
- [11] 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法:“ROAV”法[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 370-374.
LIU D Y, ZHOU G H, XU X L. 'ROAV' method: A new method for determining key odor compounds of rugao ham[J]. Food Science, 2008, 29(7): 370-374.
- [12] SUI M, ZHANG Y, RONG J C, et al. Study on fermentation process of lactic acid bacteria inoculated with kimchi[J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2019, 612(2): 022041.
- [13] 章金梅, 唐云, 刘仁杰. 杨庙雪菜低盐发酵工艺探究[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(1): 8-11.
ZHANG J M, TANG Y, LIU R J. Study on low-salt fermentation technology of Yangmiao potherb mustard[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2022, 63(1): 8-11.
- [14] MOON S H, KIM C R, CHANG H C. Heterofermentative lactic acid bacteria as a starter culture to control kimchi fermentation [J]. LWT, 2018, 88: 181-188.
- [15] LEE J J, CHOI Y J, LEE M J, et al. Effects of

- combining two lactic acid bacteria as a starter culture on model kimchi fermentation[J]. *Food Research International*, 2020, 136: 109591.
- [16] 乌日娜, 于美玲, 孟令帅, 等. PCR-DGGE 分析东北自然发酵酸菜中的微生物多样性[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(10): 6.
- WU R N, YU M L, MENG L S, et al. PCR-DGGE analysis of the microbial diversity in naturally fermented suan-cai from Northeast China[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(10): 6.
- [17] XIONG T, LI X, GUAN Q Q, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses[J]. *Food Control*, 2014, 41: 122-127.
- [18] KIM E, CHO E J, YANG S M, et al. Novel approaches for the identification of microbial communities in kimchi: MALDI-TOF MS analysis and high-throughput sequencing[J]. *Food Microbiology*, 2021, 94: 103641.
- [19] SONG H S, WHON T W, KIM J, et al. Microbial niches in raw ingredients determine microbial community assembly during kimchi fermentation[J]. *Food Chemistry*, 2020, 318: 126481.
- [20] JUNG M J, KIM J, LEE S H, et al. Role of combined lactic acid bacteria in bacterial, viral, and metabolite dynamics during fermentation of vegetable food, kimchi[J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111261.
- [21] PARK S E, SEO S H, KIM E J, et al. Changes of microbial community and metabolite in kimchi inoculated with different microbial community starters [J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 558-565.
- [22] ZANGENEH M, KHORRAMI S, KHALEGHI M. Bacteriostatic activity and partial characterization of the bacteriocin produced by *L. plantarum* sp. isolated from traditional sourdough [J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8(11): 6023-6030.
- [23] 高兆建, 张艳秋, 宋玉林, 等. 筛选自泡菜的发酵乳杆菌细菌素纯化及抑菌特性分析[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(3): 201-207.
- GAO Z J, ZHANG Y Q, SONG Y L, et al. Purification and antibacterial properties of bacteriocin produced by *Lactobacillus fermentum* isolated from pickled vegetables[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(3): 201-207.
- [24] ZHANG F, TANG Y, REN Y, et al. Microbial composition of spoiled industrial-scale Sichuan paocai and characteristics of the microorganisms responsible for paocai spoilage[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 275: 32-38.
- [25] LIANG H P, CHEN H Y, ZHANG W X, et al. Investigation on microbial diversity of industrial Zha-cai paocai during fermentation using high-throughput sequencing and their functional characterization [J]. *LWT -Food Science and Technology*, 2018, 91: 460-466.
- [26] PRECUP G, VODNAR D C. Gut *Prevotella* as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: A comprehensive literature review[J]. *British Journal of Nutrition*, 2019, 122(2): 131-140.
- [27] FEHLNER-PEACH H, MAGNABOSCO C, RAGHAVAN V, et al. Distinct polysaccharide utilization profiles of human intestinal *Prevotella copri* isolates [J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(5): 680-690.
- [28] MAŚLAK E, ZŁOCH M, ARENDOWSKI A, et al. Isolation and identification of *Lactococcus lactis* and *Weissella cibaria* strains from fermented beetroot and an investigation of their properties as potential starter cultures and probiotics[J]. *Foods*, 2022, 11(15): 2257.
- [29] AHMED S, ASHRAF F, TARIQ M, et al. Aggrandizement of fermented cucumber through the action of autochthonous probiotic cum starter strains of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*[J]. *Annals of Microbiology*, 2021, 71(1): 33.
- [30] 姜杨. 瑞士乳杆菌功能基因组解析及其生物学作用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- JIANG Y. Characterization of functional genomics and biological function of *Lactobacillus helveticus*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [31] SONG G, HE Z, WANG X Y, et al. Improving the quality of Suancai by inoculating with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* [J]. *Food Research International*, 2021, 148: 110581.
- [32] AO X L, YAN J L, CHEN C, et al. Isolation and identification of the spoilage microorganisms in Sichuan homemade Paocai and their impact on quality and safety [J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(9): 2939-2947.

- [33] YANG X Z, HU W Z, XIU Z L, et al. Microbial dynamics and volatile profiles during the fermentation of Chinese northeast sauerkraut by *Leuconostoc mesenteroides* ORC 2 and *Lactobacillus plantarum* HBUAS 51041 under different salt concentrations[J]. Food Research International, 2020, 130: 108926.
- [34] 张锡茹, 关慧, 邢少华, 等. 泡菜微生物演替与风味物质变化的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(23): 294–305.
- ZHANG X R, GUAN H, XING S H, et al. Advances in research on microbial succession and flavor changes in pickles[J]. Food Science, 2021, 42(23): 294–305.
- [35] 李巧玉, 方芳, 堵国成, 等. 魏斯氏菌在发酵食品中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(10): 241–247.
- LI Q Y, FANG F, DU G C, et al. Application of *Weisseria* in fermented food[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(10): 241–247.
- [36] LIU Z G, XIAO M Y, XU Y Z, et al. Effect of homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria on physicochemical properties, amino acid, and volatile flavor compounds during paocai fermentation by pure culture[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(12): e17052.
- [37] CHOI Y J, YONG S, LEE M J, et al. Changes in volatile and non-volatile compounds of model kimchi through fermentation by lactic acid bacteria[J]. LWT, 2019, 105: 118–126.
- [38] HONG S P, LEE E J, KIM Y H, et al. Effect of fermentation temperature on the volatile composition of kimchi[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(11): C2623–C2629.
- [39] HADINIA N, EDALATIAN DOVOM M R, YAVARMANESH M. The effect of fermentation conditions (temperature, salt concentration, and pH) with *Lactobacillus* strains for producing short chain fatty acids[J]. LWT, 2022, 165: 113709.
- [40] ZHAO Y, SUYAMA T, WU Z, et al. Characterization of variations and correlations between flavor metabolites and microbial communities of industrial paocai brine during fermentation[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(10): e16859.
- [41] HELMERT L V. Compilations of odour threshold values in air, water and other media[M]. Beijing: Science and Technology of China Press, 2018: 1–648.
- [42] TANG Q X, HE G Q, HUANG J, et al. Characterizing relationship of microbial diversity and metabolite in Sichuan xiaocu [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 00696.

Effects of Lactic Acid Bacteria Inoculation and Fermentation on Volatile Flavor of Pickled Potherb Mustard

Chen Shujun, Liu Yanan, Weng Peifang, Wu Zufang*, Liu Lianliang
(College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315200, Zhejiang)

Abstract Using the *Lactobacillus plantarum* 01 (Lp01) and *Lactobacillus fermentatum* 01 (Lf01) as the fermentation strain of pickled potherb mustard, the effects of different lactic acid bacteria inoculation conditions (Lp01 single bacteria, Lf01 single bacteria and Lp01 complex Lf01) on bacterial community structure and volatile flavor compounds of pickled potherb mustard were studied by 16S rDNA sequencing and headspace solid phase microextraction combined with GC. The results showed that the group inoculated with Lp01 combined with Lf01 started quickly, the pH dropped to 4.05 on day5, and the sensory synthesis score of pickled potherb mustard was significantly higher than that of other groups (85.40). Different lactic acid bacteria inoculation had significant effects on the bacterial community structure changes before and after fermentation. The Lf01 single bacteria inoculation group and its complex Lp01 inoculation group immediately multiplied lactic acid bacteria after fermentation for 1 day, and the abundance was significantly higher than other groups, which enriched the microbial diversity. In addition, different lactic acid bacteria inoculation had no significant effect on the total amount of volatile flavor compounds, but the contents of different types of compounds were significant-

ly different. The contents of esters and alcohols in Lf01 single bacteria inoculation group and its compound Lp01 inoculation group were higher than those in Lp01 single bacteria inoculation group and natural fermentation group. ROAV showed that ethyl 2-methylbutyrate, β -ionone, damascenone, 2-methoxy-3-sec-butyl pyrazine and dimethyl trisulfide were the key flavor substances in pickled potherb mustard. Spearman correlation analysis showed that dominant bacteria were positively correlated with many key flavor substances. In conclusion, the single Lf01 inoculation and its complex Lp01 inoculation could improve the bacterial community structure in the early fermentation stage, and many key flavor substances were correlated with the dominant strains.

Keywords potherb mustard; lactic acid bacteria; bacterial community; high-throughput DNA sequencing; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)