

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.05.002

# 食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 对泡菜代谢物及风味的影响

## Effects of *Weissella cibaria* NCU034005 and *Leuconostoc citreum* NCU027003 on paocai metabolites and flavor

徐亚洲 熊涛 谢书虎 肖阳生 刘长根

XU Ya-zhou XIONG Tao XIE Shu-hu XIAO Yang-sheng LIU Zhang-gen

(南昌大学生命科学与食品工程学院食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Life Science and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China)

**摘要:**在灭菌后的泡菜原材料中分别接种食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003, 室温纯种发酵 7 d, 期间检测泡菜液中挥发性物质与非挥发性物质(葡萄糖、有机酸、氨基酸等)、pH、风味物质香气活度值。结果表明:食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜中 pH 不同程度下降, 两株乳酸菌对碳水化合物、有机酸与氨基酸的代谢能力不同; 主成分分析表明食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜中的代谢物与风味存在显著差异, 且有自身的代表性标志代谢物与风味因子。食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 对泡菜代谢物与风味有显著影响。

**关键词:**食窦魏斯氏菌; 柠檬明串珠菌; 泡菜; 代谢物; 风味

**Abstract:** The raw materials of Paocai after sterilization were inoculated with *Weissella cibaria* NCU034005 and *Leuconostoc citreum* NCU027003, and fermented for 7 days at room temperature. The volatile and non-volatile substances (glucose, organic acids, amino acids, etc.), pH, and odor activity value in the Paocai liquid were detected during the fermentation. The results showed that the pH value of Paocai inoculated with *W. cibaria* NCU034005 and *L. citreum* NCU027003 dropped to varying degrees, and two strains of lactic acid bacteria have different metabolic capacity for carbohydrates, organic acids and amino acids.

**基金项目:**国家自然科学基金地区科学基金项目(编号: 31760457)

**作者简介:**徐亚洲,男,南昌大学在读硕士研究生。

**通信作者:**熊涛(1970—),男,南昌大学教授,博士。

E-mail: xiongtao0907@163.com

**收稿日期:**2020-04-08

Principal component analysis (PCA) showed that metabolites and flavors in Paocai inoculated with NCU034005 were significantly different from that inoculated with NCU027003, and different lactobacillus species had their own representative metabolites and flavor factors. This study showed that *W. cibaria* NCU034005 and *L. citreum* NCU027003 had significant effects on Paocai metabolites and flavor.

**Keywords:** *Weissella cibaria*; *Leuconostoc citreum*; Paocai; metabolites; flavor

泡菜发酵过程中的乳酸菌直接或者间接影响泡菜的风味代谢物质以及泡菜品质<sup>[1-4]</sup>, 已有研究<sup>[5]</sup>发现乳酸菌发酵泡菜卤水中风味代谢物与泡菜品质的差异, 然而目前研究还未考虑到泡菜原材料携带的乳酸菌对泡菜品质的影响, 缺乏乳酸菌泡菜发酵过程中组成风味物质的碳水化合物、有机酸、氨基酸以及挥发性物质动态变化的考察以及对风味成分的联合分析, 尚未考虑基于感觉阈值差异的风味代谢物质对泡菜品质的贡献。试验拟对泡菜原材料灭菌处理后, 以食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 作为起始发酵菌株纯种发酵泡菜, 监测食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜及自然发酵泡菜中的代谢物的动态变化, 通过风味物质的香气活度值与主成分分析考察不同发酵方式泡菜中代谢物与风味的特点, 以期对泡菜品质改良与泡菜产业化发展提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、培养基与试剂

新鲜圆白菜、冰糖、碘盐、辣椒、姜、大蒜、花椒: 市售; MRS 培养基: 美国 Sigma 公司;

蔗糖、果糖、葡萄糖、乙酸、乙醇、乳酸;分析标准品,美国 Sigma 公司;

浓硫酸、无水乙醇、氢氧化钠、氯化铁、氯化钠:分析纯,上海国药集团化学试剂公司。

## 1.2 仪器与设备

pH 计:pHS-25 型,上海精密科学仪器有限公司;

液相色谱仪:Agilent 1260 型,美国安捷伦公司;

气质联用仪:Agilent7820A 气相-5977B 型,美国安捷伦公司;

氨基酸分析仪:S-433D 型,北京捷盛依科科技发展有限公司;

生化培养箱:DNP-9272 型,上海精宏实验设备有限公司。

## 1.3 方法

1.3.1 乳酸菌培养与发酵菌剂的制备 从传统四川发酵泡菜中分离得到食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003,转接于 MRS 液体培养基中,37 °C 培养 48 h 后离心(5 000 r/min,10 min,4 °C),用 0.85% NaCl 溶液洗涤两次,最后使用 0.85% 的 NaCl 溶液调节菌体浓度至 9 lg (CFU/mL)。

### 1.3.2 泡菜的制备与取样

(1) 泡菜配方<sup>[6]</sup>:每 100 mL 水中,添加白菜 50 g,冰糖 4 g,碘盐 4 g,辣椒 4 g,大蒜 3 g,生姜 2 g,花椒 1.5 g。

(2) 样品制备:泡菜原料混合均匀后分为 4 组,分别为食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵组,自然对照组与空白组,每个批次 3 个重复,自然发酵组不进行灭菌处理,室温下自然发酵,食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵组灭菌(105 °C,25 min)后接入食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵,空白组原材料灭菌后不接入其他菌株,室温放置 7 d。

(3) 取样:泡菜从入坛开始发酵 7 d,期间每隔 24 h 于超净工作台内取样。

1.3.3 乳酸菌计数 取 1 mL 泡菜液加入到 9 mL 无菌生理盐水中,适当稀释后选择 3 个合适的梯度稀释液,分别取 100 μL 涂布于 MRS 固体培养基,每个梯度做 3 次平行涂布,37 °C 培养 48 h。

1.3.4 pH 值测定 采用 pH 计。

1.3.5 总酸含量测定 按 GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》执行,总酸含量以乳酸计。

1.3.6 糖和有机酸含量测定 泡菜液于 4 °C,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 滤膜过滤,滤液用于高效液相色谱分析。色谱条件:进样量 20 μL,流动相 5 mmol/L 硫酸溶液,流速 0.5 mL/min,柱温 35 °C,紫外检测器检测波长 210 nm。选用示差折光检

测器检测糖(蔗糖、葡萄糖、果糖)含量,紫外检测器检测有机酸(柠檬酸、乳酸、乙酸、琥珀酸、酒石酸、苹果酸、丁酸)含量。

1.3.7 游离氨基酸含量测定 取 2 mL 泡菜液,离心(3 000 r/min,5 min,4 °C),取上清液 1 mL,用 2% 磺基水杨酸稀释 5 倍,漩渦震荡 30 s,静置 15 min;离心(10 000 r/min,10 min,4 °C);上清液用 0.22 μm 滤膜过滤,滤液用于氨基酸分析仪分析。

1.3.8 挥发性物质检测 泡菜中挥发性成分由 GC-MS 分离鉴定,色谱柱为 HP-5MS 毛细管柱(30 m × 0.25 mm,膜厚度 0.25 μm)。纯度 99.999% 的氦气作为载气,载气流速 1.2 mL/min。烤箱温度起始为 40 °C 保持 1 min,以 16 °C/min 的速度升至 175 °C 并保持 1 min,以 2 °C/min 的速度升至 95 °C 并保持 1 min,以 2 °C/min 的速度升至 110 °C 并保持 1 min,以 3 °C/min 的速度升至 150 °C 并保持 1 min,以 6 °C/min 的速度升至 200 °C 并保持 8 min。质谱离子源电压 70 eV,离子源和传输线温度分别为 230,250 °C。质量扫描范围为  $m/z$  35~350。

1.3.9 代谢物香气活度值分析 泡菜中代谢成分决定着泡菜的感官风味,但是人类对风味代谢物质感官不仅取决于风味物质的相对含量,同时取决于风味物质的感觉阈值,而采用感官评定的方式误差较大,故依据泡菜风味代谢成分的香气活度值<sup>[7]</sup>评价不同发酵方式的泡菜风味。

$$O = \frac{C}{T}, \quad (1)$$

式中:

$O$ ——香气活度值;

$C$ ——物质的绝对浓度;

$T$ ——感觉阈值。

由于  $S_i = f_i \times C_i$ ,所以

$$\frac{O_A}{O_B} = \frac{f_2}{f_1} \times \frac{T_2 \times S_1}{T_1 \times S_2}, \quad (2)$$

式中:

$O_A, O_B$ ——组分 A、B 的香气活度值;

$f_1, f_2$ ——气相色谱中组分 A、B 的峰面积的相对校正因子;

$S_i$ ——组分  $i$  的峰面积;

$T_i$ ——组分  $i$  的感觉阈值。

风味物质的  $O$  值越高,则该风味组分对泡菜整体风味的贡献越大,结合主成分分析,对泡菜风味物质进行降维,乳酸菌纯种发酵泡菜过程中含量变化较大且不同发酵方式泡菜中差异较大的风味组分可作为泡菜风味的特征风味物质。

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 与酸度

如图 1 所示,总体来说,纯种发酵泡菜的 pH 值高于自然发酵泡菜,酸度低于自然发酵泡菜,可能是高温灭菌处理使原材料中的物质进入卤水中导致的<sup>[6]</sup>,空白组中较高的 pH 值也从侧面证实了这一点。自然发酵泡菜的酸度大于纯种发酵泡菜,表明试验筛选的两株异型发酵乳酸菌产乳酸能力低于自然发酵泡菜中的多菌种发酵,Xiong 等<sup>[8]</sup>对泡菜中乳酸菌的研究也得到了相似的结论。食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜的 pH 值高于柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜,酸度小于柠檬明串珠菌 NCU027003 接种泡菜,说明食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵产乳酸能力小于柠檬明串珠菌 NCU027003,该结果与图 4(g)中显示的乳酸含量动态变化一致。自然发酵泡菜与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜发酵后期

盐水中的 pH 值变化趋于平缓,且 pH 值相差不大。柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜与食窦魏斯氏菌 NCU034005 纯种发酵泡菜的酸度相近,而自然发酵泡菜的酸度大于接种发酵泡菜,自然发酵泡菜是多菌种协同发酵,发酵后期,同型发酵菌株作为优势菌产乳酸<sup>[1]</sup>,使自然发酵泡菜中的酸度较高,而食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 是异型发酵菌株,产酸与耐酸能力相对较弱,使泡菜发酵后期 pH 值趋于平缓<sup>[9]</sup>。柠檬明串珠菌 NCU027003 与食窦魏斯氏菌 NCU034005 对泡菜酸度的贡献较小,自然发酵泡菜中多菌种协同发酵有利于泡菜 pH 值迅速下降,致使泡菜迅速成熟,有研究<sup>[10-11]</sup>表明泡菜发酵前期以耐酸性较弱的球菌属为主,发酵中后期主要是耐酸性较强的同型发酵乳酸菌(如植物乳杆菌),与试验结果一致。

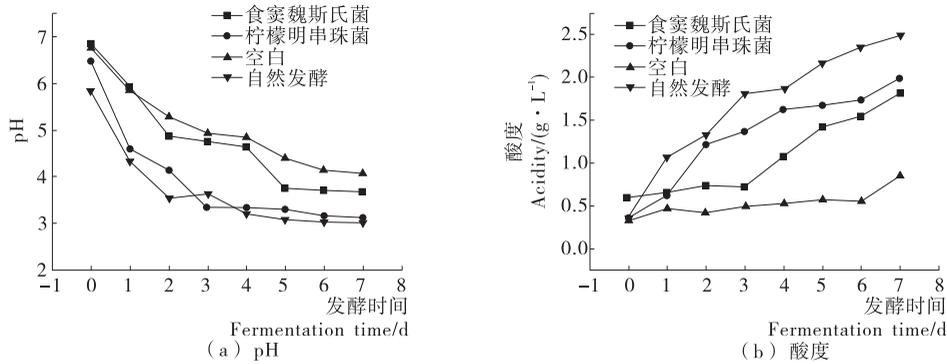


图 1 发酵过程中泡菜 pH 与酸度的动态变化

Figure 1 Dynamic changes of pH and acidity of paocai during the fermentation

### 2.2 乳酸菌纯种发酵泡菜过程中菌系的动态变化

如图 2 所示,泡菜发酵起始阶段纯种发酵泡菜卤水中乳酸菌数约为  $10^6 \sim 10^7$  CFU/mL,自然发酵活菌总数为  $10^3 \sim 10^4$  CFU/mL,而空白组卤水乳酸菌含量几乎为 0 CFU/mL,且在整个发酵过程乳酸菌含量未有显著变化,说明灭菌效果良好,有效地排除了原材料表面附着的微生物对试验结果的干扰。乳酸菌纯种发酵泡菜中乳酸菌含量先上升后下降,可能是泡菜接种乳酸菌的作用,纯种发酵泡菜中食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 的乳酸菌数在早期迅速上升,有研究<sup>[9]</sup>表明异型发酵菌株耐酸性弱,导致了纯种发酵泡菜中乳酸菌数逐渐下降。自然发酵泡菜中后期乳酸菌含量高于纯种发酵泡菜,表明泡菜中耐酸能力较好的同型发酵乳酸菌逐渐增殖,与其他研究<sup>[12]</sup>结果相似,试验中筛选得到的食窦魏斯氏菌 NCU034005 耐酸性弱于柠檬明串珠菌 NCU027003。

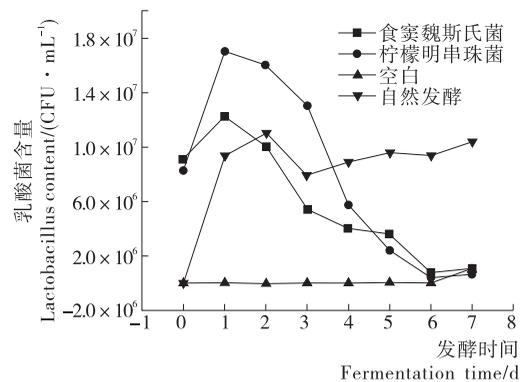


图 2 发酵过程中泡菜乳酸菌活菌数的动态变化

Figure 2 Dynamic changes of viable lactic acid bacteria of paocai during the fermentation

### 2.3 乳酸菌纯种发酵泡菜过程中代谢物的动态变化

2.3.1 碳水化合物 由图 3 可知,蔗糖含量逐渐下降,果糖与葡萄糖含量逐渐上升,与 Jeong 等<sup>[13]</sup>的试验显示的

游离糖含量均上升及 Choi 等<sup>[14]</sup>的试验显示所有的游离糖均下降有所不同,可能是试验所用的乳酸菌与原材料差异导致的。

如图 3(a)所示,几种泡菜中蔗糖含量均在 0~1 d 中小幅上升,可能是泡菜原材料中的营养物质渗透进入卤液中导致的。自然发酵泡菜中的蔗糖含量低于纯种发酵泡菜,且食窦魏斯氏菌 NCU034005 纯种发酵泡菜中的蔗糖含量下降速度小于柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜,说明自然发酵多菌种协同发酵对蔗糖的利用率高于食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵,柠檬明串珠菌 NCU027003 对蔗糖利用率高于食窦魏斯氏菌 NCU034005,与其他研究<sup>[15-16]</sup>结果一致。

如图 3(b)所示,空白样品中的葡萄糖含量基本不变,略有起伏,泡菜发酵过程中葡萄糖含量在 0~1 d 小幅下降,与图 3(a)中蔗糖含量的动态变化一致,与其他研究<sup>[8,17]</sup>比较,泡菜中葡萄糖含量较低,可能由于泡菜发酵前期乳酸菌适应泡菜环境,乳酸菌活动消耗葡萄糖与原材料中蔗糖转化成葡萄糖的效率低于乳酸菌生成葡萄糖的效率。发酵前期,柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜与自然发酵泡菜中的葡萄糖含量逐渐上升,且柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜中的葡萄糖上升速度大

于自然发酵泡菜,食窦魏斯氏菌 NCU034005 纯种发酵泡菜中葡萄糖含量低于其他 3 种泡菜,由图 2 可知,纯种发酵泡菜中的柠檬明串珠菌 NCU027003 菌数在 1~3 d 高于自然发酵中乳酸菌数,食窦魏斯氏菌 NCU034005 转换蔗糖生成葡萄糖的能力远低于自然发酵,可能导致了不同发酵泡菜中葡萄糖含量的不同。泡菜发酵后期,4 种泡菜中的葡萄糖含量动态变化趋于平缓,可能是泡菜中乳酸菌消耗葡萄糖的量与生成葡萄糖的量相当导致的。泡菜中球菌属乳酸菌一般可产生葡萄糖蔗糖酶将蔗糖转换成葡萄糖<sup>[9,18]</sup>,加上泡菜酸环境以及乳酸菌自身活力的综合作用,导致了不同乳酸菌发酵泡菜中葡萄糖含量的差异。

如图 3(c)所示,泡菜中的果糖含量动态变化趋势相似,发酵前期小幅下降,发酵中期逐渐上升,发酵末期趋于稳定。而自然发酵泡菜中果糖的含量总体低于纯种发酵泡菜,试验结果表明,食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 可代谢蔗糖生成果糖,转换效率相近。有研究<sup>[9]</sup>表明,球菌属特别是肠膜明串珠菌属是自然发酵过程中生成果糖的主要菌株。空白样品中果糖含量的变化可能是原材料中的果糖渗透进入泡菜液中导致的。

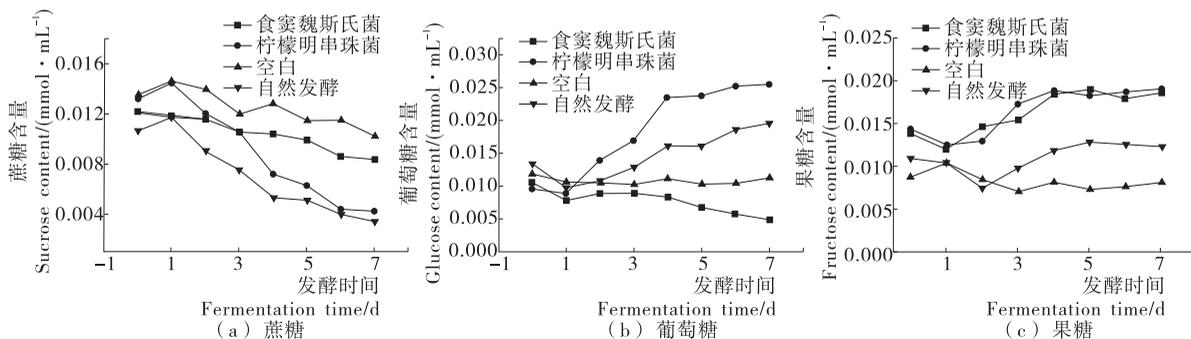


图 3 发酵过程中泡菜蔗糖、葡萄糖与果糖含量的动态变化

Figure 3 Dynamic changes of sucrose, glucose and fructose content of paocai during the fermentation

不同异型发酵菌株代谢糖能力不同,冰糖的添加使泡菜中蔗糖含量增加,蔗糖作为冰糖中主要的糖类可以被蔗糖水解酶水解为果糖与葡萄糖,可能也是纯种发酵泡菜中糖含量不同的原因之一,乳球菌属尤其是柠檬明串珠菌 NCU027003 可分泌蔗糖转化酶将蔗糖转化成葡萄糖与果糖<sup>[9,19]</sup>,且柠檬明串珠菌 NCU027003 可高效利用蔗糖与葡萄糖<sup>[20-21]</sup>。

2.3.2 有机酸 如图 4 所示,泡菜发酵过程中 7 种有机酸总体上升,柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜液中除苹果酸外的有机酸含量都高于其他发酵泡菜。柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜与食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜中丁酸、琥珀酸、酒石酸含量高于自然发酵,而自然发酵泡菜中柠檬酸、乳酸、乙酸的含量介于柠檬明串

珠菌 NCU027003 发酵泡菜与食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜之间,发酵中后期苹果酸含量略高于柠檬明串珠菌 NCU027003。发酵过程中酒石酸含量变化不大,可能是由于酒石酸不参与乳酸菌的生长代谢。柠檬酸含量在发酵中后期增长趋势趋于平缓,Koduru 等<sup>[22-23]</sup>发现柠檬酸和葡萄糖与果糖、乳糖或木糖通过乙酸激酶途径代谢,泡菜中乳酸菌代谢柠檬酸,泡菜发酵中后期,柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜与食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜中的乳酸菌数降低,导致柠檬酸增长速度逐渐减慢。泡菜发酵过程中乳酸菌可以生成苹果酸,一些乳酸菌可以通过苹果酸乳酸酶将 L-苹果酸脱羧为 L-乳酸和 CO<sub>2</sub><sup>[24]</sup>,导致了不同乳酸菌发酵泡菜中的苹果酸含量不同。

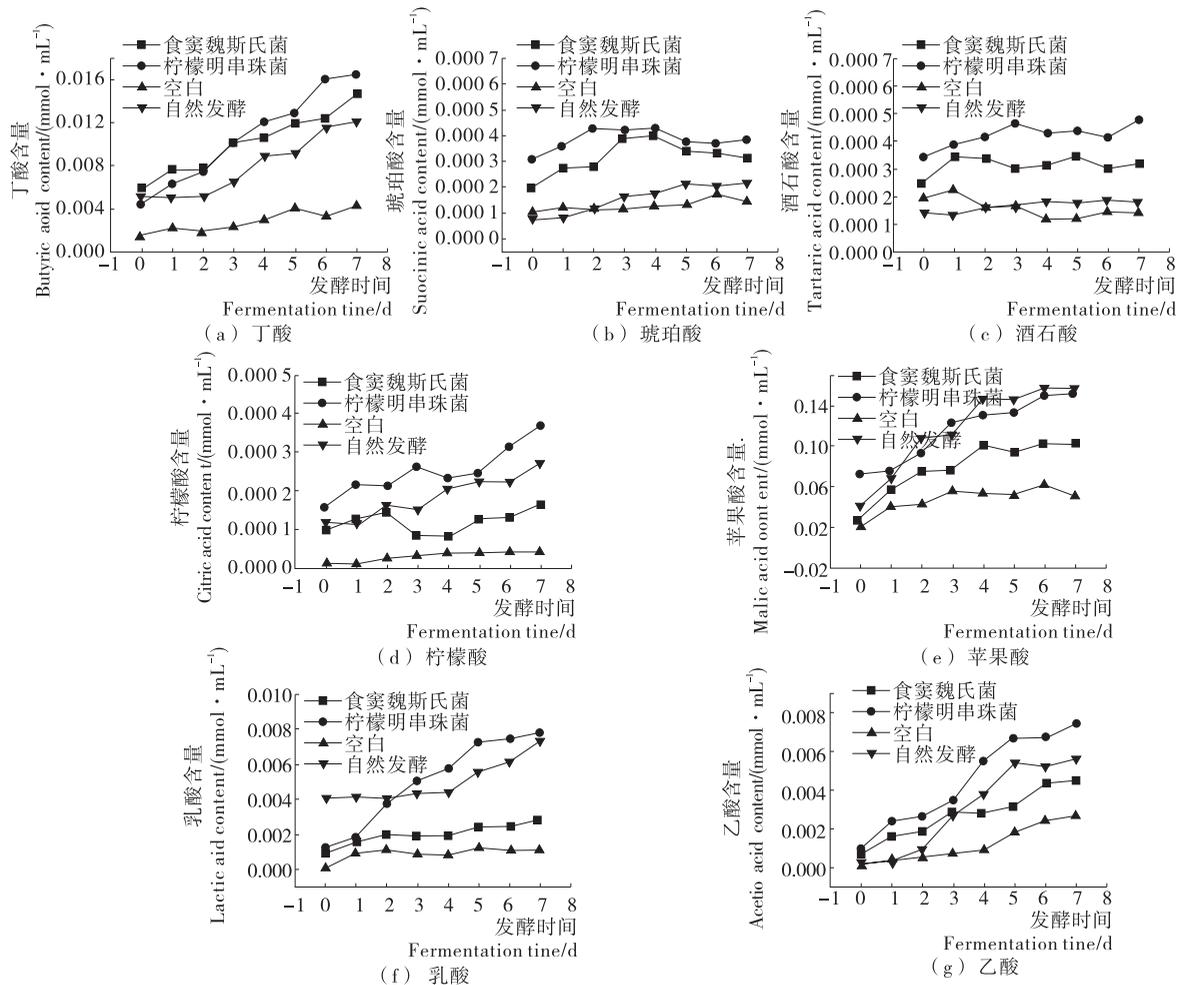


图4 发酵过程中泡菜有机酸含量的动态变化

Figure 4 Dynamic changes of organic acid content of paocai during fermentation

由图4(f)可知,柠檬明串珠菌 NCU027003 代谢产乳酸能力高于食窦魏斯氏菌 NCU034005。泡菜发酵前期,接种乳酸菌使得纯种发酵泡菜中乳酸菌含量较高,导致了纯种发酵泡菜中乳酸迅速累积。研究<sup>[25]</sup>表明,同型发酵乳酸菌产乳酸能力高于异型发酵乳酸菌,自然发酵是多菌种协同发酵,发酵后期自然发酵泡菜中同型发酵菌是优势菌株,使得自然发酵泡菜中的乳酸含量逐渐接近柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜。

图4(g)中,柠檬明串珠菌 NCU027003 泡菜发酵过程中乙酸含量迅速增长,且高于自然发酵,可能是由异型发酵乳酸菌产乙酸较多,自然发酵泡菜中同型发酵乳酸菌产生乙酸含量较少导致的。有研究<sup>[25]</sup>表明,同型发酵乳酸菌代谢主要产乳酸,而异型发酵主要产乙醇、二氧化碳等物质。食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜中乙酸含量最少但高于空白样,结合图2可知,食窦魏斯氏菌 NCU034005 泡菜中的乳酸菌含量较低,故可能食窦魏斯氏菌 NCU034005 生成乙酸能力相对较弱导致的结果。

总体来说,泡菜发酵过程中有机酸含量动态变化依赖于乳酸菌的活动,且乳酸菌发酵过程中乳酸含量高于乙酸含量,乳酸是造成泡菜酸环境的重要因素,与其他研究<sup>[25]</sup>结果一致。

2.3.3 氨基酸 如图5所示,泡菜发酵过程中谷氨酸(Glu)与天冬氨酸(Asp)含量逐渐上升,丝氨酸(Ser)与丙氨酸(Ala)逐渐减少。脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、天冬氨酸(Asp)是发酵泡菜中含量较高的氨基酸,丙氨酸(Ala)在自然发酵泡菜中含量较高,其他种类游离氨基酸趋于稳定状态,总体变化不显著,而其他研究<sup>[13]</sup>发现发酵过程中氨基酸含量迅速增加,可能是由泡菜原材料、制作工艺、发酵菌株等因素导致的。

2.3.4 挥发性成分 如图6所示,在不同乳酸菌发酵泡菜过程中共检测出153种挥发性成分,包含32种醇、17种烯、15种酮、13种酯、10种生物胺与芳香化合物等挥发性物质,其中10种生物胺成分含量相对较低,主要存在于空白样中,且在泡菜发酵后期生物胺含量逐渐为0。

不同发酵泡菜中的挥发性物质组成有显著差别,食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜共检测出 93 种挥发性成分,柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜共检测出 55 种挥发性成分,自然发酵泡菜共检测出 43 种挥发性成分,空白原材料共检测出了 71 种挥发性成分,食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 可显著提高泡菜挥发性成分的种类。桉树醇、松油醇、乙酸是 3 种发酵泡菜中主要的共有挥发性成分,樟树醇是食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜中独有的含量较高的挥发性成分,Jeong 等<sup>[26]</sup>发现作为泡菜中重要的硫化物在试验中也被检测到。不同乳酸菌发酵泡菜产生的风味物质不同,而泡菜中多样的乳酸菌与其各自的代谢产物丰富了泡菜风味<sup>[27]</sup>。

### 2.4 代谢物的主成分分析

为了比较两种乳酸菌纯种发酵泡菜的代谢物的差异,对不同发酵方式泡菜中的代谢产物进行主成分分析,

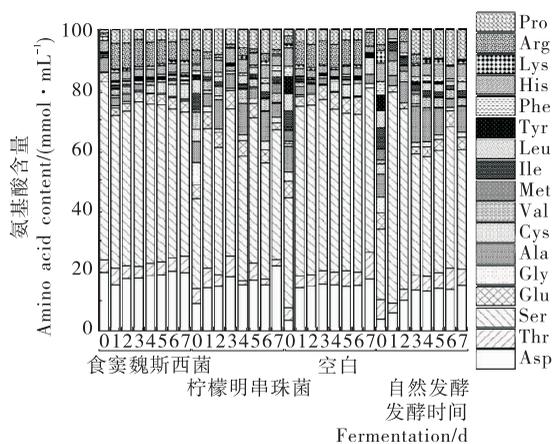


图 5 发酵过程中泡菜氨基酸含量的动态变化

Figure 5 Dynamic changes of amino acid content during fermentation of paocai by different fermentation methods

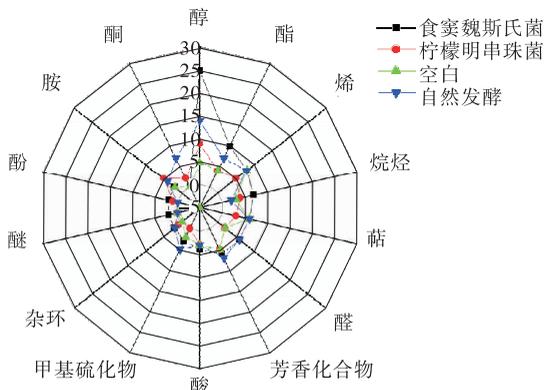


图 6 不同方式发酵泡菜中的挥发性成分

Figure 6 Volatile components of paocai fermented by different fermentation methods

主成分 1 的方差贡献率为 33.95%,主成分 2 的方差贡献率为 50.91%。如图 7 所示,主成分分析载荷得分图表明不同乳酸菌发酵泡菜的代谢物有良好的分离效果,分别聚集在 3 个不同区域,在乳酸菌发酵泡菜过程中,泡菜中代谢产物发生了显著变化,空白组和食窦魏斯氏菌 NCU034005 泡菜的代谢物在发酵末期相近,柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜中的代谢物与自然发酵泡菜代谢物距离相近。说明异型发酵菌株柠檬明串珠菌 NCU027003 比食窦魏斯氏菌 NCU034005 对泡菜发酵代谢风味贡献更大。由图 7(b)可知,A81(龙脑)、A22(樟脑)、A57( $\alpha$ -异松油烯)、A204(4-乙酸松油烯酯)、A33(醋酸)、A31(左旋香芹酮)、A91(桉树醇)、A153(3,7,7-三甲基二环[4.1.0]庚-3-烯)与苹果酸、蔗糖等是区分几种发酵泡菜差异的标志代谢物质。Nsogning 等<sup>[28]</sup>也发现泡菜发酵过程中产生的醋酸是泡菜呈酸味的重要原因,而 Hong 等<sup>[29]</sup>发现泡菜发酵过程中形成的硫的衍生物在试验中不是区分柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜与食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜的标志代谢物,可能是使用的菌株不同导致的。不同发酵泡菜代谢物差异显著,柠檬明串珠 NCU027003 与食窦魏斯氏菌 NCU034005 以及自然发酵中的多种乳酸菌决定了风味各异的泡菜,不同乳酸菌有望产生品质各异的发酵泡菜。

### 2.5 泡菜风味的 PCA 分析

为了准确评估不同发酵方式泡菜的风味代谢物,找

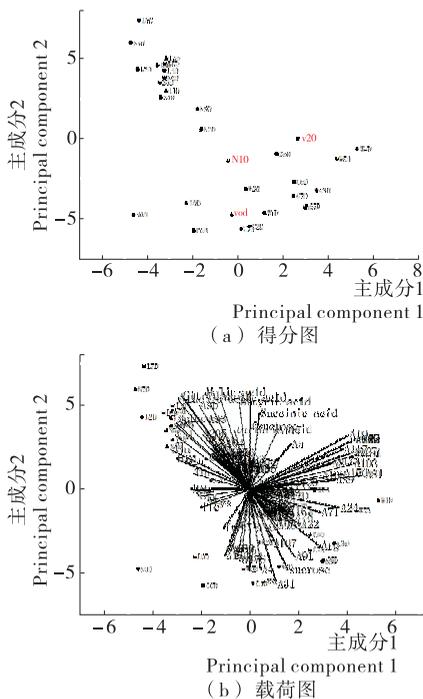


图 7 不同方式发酵泡菜代谢物的 PCA 分析

Figure 7 PCA analysis of metabolites of paocai fermented by different fermentation methods

出乳酸菌纯种发酵泡菜过程中的特征风味物质,以自然发酵泡菜为标准,计算不同代谢物的香气活度值,评价食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 纯种发酵泡菜的风味,对乳酸菌纯种发酵泡菜中不同香气活度值的风味物质进行主成分分析,主成分 1 的方差贡献率为 38.45%,主成分 2 的方差贡献率为 48.94%。如图 8 所示,不同乳酸菌发酵泡菜风味物质显示了良好的分离效果,纯种发酵泡菜的风味与自然发酵泡菜有显著差异,食窦魏斯氏菌 NCU034005 发酵泡菜风味空白中风味相近,食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 对泡菜风味影响显著且具有不同的影响,A8(*d*-柠檬烯)、A1( $\alpha$ -松油醇)、精氨酸、醋酸与乳酸、酸度、果糖等风味物质是可显著区分泡菜风味差异的物质,不同发酵方式的泡菜中的酸度也有明显的区别,纯种发酵泡菜与自然发酵泡菜风味差异显著,这是由于自然发酵泡菜风味是多菌种共同作用的结果。泡菜中乳酸菌的活动产生了泡菜独特的风味,不同乳酸菌发酵泡菜的风味与品质差异明显<sup>[30-31]</sup>,有研究<sup>[32]</sup>表明泡菜中风味的差别是由乳酸菌与酵母代谢产物引起的,还有研究<sup>[9]</sup>发现 *Leu.mesenteroides* 作为发酵剂可生产酸度更低、口味清爽的发酵泡菜,而试验中的食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 也可作为泡菜风味改良的菌种资源,但作为异型发酵乳酸菌产酸能力较弱,不能迅速使泡菜成熟。

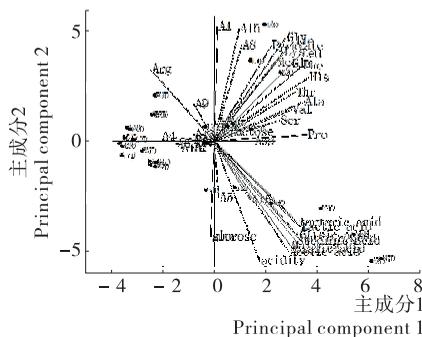


图 8 不同方式发酵泡菜风味的 PCA 分析

Figure 8 PCA analysis of kimchi flavor fermented by different fermentation methods

### 3 结论

异型发酵乳酸菌食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 的耐酸性以及产酸能力较弱,两株乳酸菌对碳水化合物、有机酸与氨基酸的代谢能力不同,而食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 发酵泡菜各具有独特的风味,且与自然发酵泡菜风味差异显著,可认为是影响泡菜风味品质的重要菌种,其中龙脑、樟脑、 $\alpha$ -异松油烯、4-乙酸松油烯酯、醋酸、左旋香芹酮、桉树醇等风味物质是泡菜中的特征风味

因子,可作为监测泡菜品质的重要参考。食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 可作为泡菜风味改良的菌种资源。后续可进一步探究食窦魏斯氏菌 NCU034005 与柠檬明串珠菌 NCU027003 产特征风味物质的动力学关系以及其他种类乳酸菌纯种发酵泡菜的风味差异,探究乳酸菌发酵泡菜风味产生机理。

### 参考文献

- [1] 燕平梅, 张小冰, 柴政, 等. 基于 DGGE 方法分析低氯化钠浓度对发酵白菜原核微生物群落结构的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 144-151.
- [2] PARAMITHIOTIS S, KOURETAS K, DROSINOS E H. Effect of ripening stage on the development of the microbial community during spontaneous fermentation of green tomatoes[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2014, 94(8): 1 600-1 606.
- [3] PENG Zhen, XIAO Yang-sheng, XIONG Tao, et al. Correlation between microbiota and flavours in fermentation of Chinese Sichuan Paocai[J]. Food Research International, 2018, 114: 123-132.
- [4] LEE M, SONG J H, JUNG M Y, et al. Large-scale targeted metagenomics analysis of bacterial ecological changes in 88 kimchi samples during fermentation[J]. Food Microbiology, 2017, 66: 173-183.
- [5] 罗心欣, 成雨阳, 王周利, 等. 益生菌发酵猕猴桃汁工艺优化及香气成分动态解析[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 168-175.
- [6] 熊涛, 李军波, 彭飞, 等. 食盐质量浓度对传统自然发酵圆白菜的菌系结构和代谢的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(11): 172-176.
- [7] 刘登勇. 气味指纹技术的建立及其在腌腊肉制品中的应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2008: 60-70.
- [8] XIONG Tao, LI Xiao, GUAN Qian-qian, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses[J]. Food Control, 2014, 41(1): 122-127.
- [9] JUNG J Y, LEE S H, LEE H J, et al. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 153(3): 378-387.
- [10] WOUTERS D, BERNAERT N, CONJAERTS W, et al. Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of spontaneous leek fermentations[J]. Food Microbiology, 2013, 33(2): 185-196.
- [11] 马欢欢, 吕欣然, 白凤翎, 等. 传统中韩泡菜乳酸菌菌相分

- 析与风味物质组成的比较[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(12): 184-190.
- [12] SEO S H, PARKS E, KIM P E J, et al. A GC-MS based metabolomics approach to determine the effect of salinity on Kimchi[J]. Food Research International, 2018, 105(3): 492-498.
- [13] JEONG S H, LEE S H, JUNG J Y, et al. Microbial succession and metabolite changes during long-term storage of kimchi[J]. Journal of Food Science, 2013, 78(5): M763-M769.
- [14] 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-Food Science and Technology, 2019, 105(3): 118-126.
- [15] BEGANNOVI J, KOS B, LEBO Pavunc A, et al. Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures[J]. Microbiological Research, 2014, 169(7/8): 623-632.
- [16] JUNG J Y, LEE S H, LEE H J, et al. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 153(3): 378-387.
- [17] GONZALEZ C F, KUNKA B S. Evidence for plasmid linkage of raffinose utilization and associated  $\alpha$ -galactosidase and sucrose hydrolase activity in *Pediococcus pentosaceus*[J]. Appl Environ Microbiol, 1986, 51(1): 105-109.
- [18] ANSHULA S, GAGANJOT G, TAWSEEF A, et al. Tailoring cellular metabolism in lactic acid bacteria through metabolic engineering[J]. Journal of Microbiological Methods, 2020, 170(3): 105862.
- [19] ANGELIS M D, CAMPANELLA D, COSMAIL, et al. Microbiota and metabolome of un-started and started Greek-type fermentation of Bella di Cerignola table olives[J]. Food Microbiology, 2015, 52(1): 18-30.
- [20] HONG S W, CHOI Y J, LEE H W, et al. Microbial community structure of korean cabbage kimchi and ingredients with denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Journal of Microbiology & Biotechnology, 2016, 26(6): 1 057.
- [21] DOLS M, CHRAIBI W, REMAUD-SIMEON M, et al. Growth and energetics of *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299 during metabolism of various sugars and their consequences for dextransucrase production[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(6): 2 159-2 165.
- [22] KODURU L, KIM Y, BANG J, et al. Genome-scale modeling and transcriptome analysis of *Leuconostoc mesenteroides* unravel the redox governed metabolic states in obligate heterofermentative lactic acid bacteria[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 15 721.
- [23] VAN MASTRIGT O, MAGER EE, JAMIN C, et al. Citrate, low pH and amino acid limitation induce citrate utilization in *Lactococcus lactis biovar diacetylactis* [J]. Microbial Biotechnology, 2018, 11(2): 369-380.
- [24] DU Toit. Malolacticfermentation: The ABC's of MLF[J]. South African Journal of Enology & Viticulture, 2010, 31(2): 186-212.
- [25] ÖZCELIK S, KULEY E, ÖZOGUL F. Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 73: 536-542.
- [26] JEONG H S, KO Y T. Major odor components of raw kimchi materials and changes in odor components and sensory properties of kimchi during ripening[J]. Korean J Food Culture, 2010, 25(5): 607-614.
- [27] PEYER L C, ZANNINI E, ARENDT E K, et al. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 54(4): 17-25.
- [28] NSOGNING Dongmo S, PROCOPIO S, SACHER B, et al. Flavor of lactic acid fermented malt based beverages: Current status and perspectives[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 54(8): 37-51.
- [29] 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): C2 623-C2 629.
- [30] MOON S H, KIM C R, CHANG H C. Heterofermentative lactic acid bacteria as a starter culture to control kimchi fermentation[J]. LWT-Food Science & Technology, 2018, 88(2): 181-188.
- [31] MOON S W, PARK S H, KANG B S, et al. Fermentation characteristics of low-salt kimchi with starters on fermentation temperature and salt concentration[J]. Korean Journal of Food Science & Technology, 2014, 27(5): 785-795.
- [32] HWANG Y S, LEE H W, CHANG J Y, et al. Characterization of kimchi flavor with preconcentration by head space solid-phase microextraction and stir barsorptive extraction and analysis by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical Letters, 2019, 52(8): 1 247-1 257.