

DOI: 10.20098/j.cnki.1001-5132.2023.0702

基于 ROAV 法确定雪菜不同发酵条件下的关键挥发性风味物质

陈淑钧, 吴祖芳*, 刘亚楠, 翁佩芳
(宁波大学 食品科学与工程学院, 浙江 宁波 315832)

摘要: 采用顶空固相微萃取-气质联用技术(Head Space Solid Phase Microextraction, Gas Chromatography-Mass, HS-SPME-GC-MS)检测不同发酵条件(氧气暴露程度、用盐量)下雪菜成品中的挥发性风味物质, 并结合相对气味活度值(Relative Odor Activity Value, ROAV)确定关键风味物质。结果表明: 在采用密闭发酵雪菜成品中, 不同用盐量对挥发性风味物质总量无显著性影响; 而在采用半开放发酵的雪菜成品中, 7.0%用盐量的雪菜成品中挥发性风味物质总量显著高于5.5%用盐量的雪菜成品。基于 ROAV 法确定了 6 种关键风味物质, 分别为 2-甲基丁酸乙酯、柠檬醛、大马酮、 β -紫罗酮、二甲基三硫醚和 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪; 4 种修饰风味物质, 分别为 1-辛烯-3-醇、芳樟醇、十一醛和 4-乙基-2-甲氧基苯酚。

关键词: 雪菜; 发酵; 顶空固相微萃取-气质联用; 相对气味活度值

中图分类号: TS255.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2024) 02-0018-10

雪菜(*Brassica juncea* var.)是江浙地区传统发酵蔬菜的主要原料, 其腌制产品滋味咸鲜、口感酸爽, 深受当地居民的喜爱^[1]。为了顺应绿色健康饮食理念, 传统高盐(13%~15%)腌制的发酵工艺逐渐被低盐化(<10%)取代^[2], 但用盐量的减少会降低渗透压对腐败菌等的抑制作用^[3], 因此需要采用其他工艺来控制低盐化发酵产品的品质, 人工接种外源乳酸菌是有效应对此问题的方法之一^[4]。而大众质疑开放式土坑腌菜等存在食用安全隐患, 该方法易存在亚硝酸盐超标、杂菌污染等问题, 亟需改进工艺。发酵工艺的改进会对发酵蔬菜的风味产生一定的影响^[5]。Lee 等^[6]将低盐泡菜与传统高盐泡菜进行感官分析, 发现低盐泡菜的整体味道与其咸味和鲜味呈正相关, 用盐量是决定整体味道的关键因素。Zhang 等^[7]研究发现, 与高盐泡菜相比, 低盐泡菜的成熟期较短, 且在感官品质上易被接受。Rao 等^[8]研究发现, 密闭环境下发酵的泡菜

呈现良好的香气和质地, 间歇性氧气暴露的泡菜则会产生以 S-甲基硫代乙酸酯为特征物质的令人不愉快的味道。Xing 等^[9]采用密相二氧化碳处理新鲜泡菜, 发现能显著降低挥发性风味物质的总量。

相对气味活度值(Relative Odor Activity Value, ROAV)法常与气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)结合, 用来确定食品中的关键风味物质。汤海昆等^[10]以此分析了不同红茶的香气成分, 发现醇类物质的相对含量均为最高, 其中芳樟醇是关键风味物质之一。Xu 等^[11]对不同品种的佛手采用 HS-SPME-GC-MS 检测, 共测出 68 种挥发性风味物质, 其中 ROAV 大于 1 的关键风味物质 16 种。Wang 等^[12]研究发现, β -紫罗兰酮和乙酸苯乙酯对云南多依果的香气贡献最大。在腌制蔬菜挥发性风味物质分析中, ROAV 法也有应用。云琳^[13]对不同发酵方式下萝卜泡菜的挥发性风味物质进行了分析, 确定二甲基三硫醚是对泡菜风味贡献最大的风味

收稿日期: 2023-07-04.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.g.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波市重点研发计划项目(2022Z176)。

第一作者: 陈淑钧, 硕士研究生, 主要研究方向: 食品生物技术. E-mail: ccsj27@163.com

*通信作者: 吴祖芳, 教授, 主要研究方向: 食品生物技术. E-mail: wzfwpf@163.com

物质(定义其 ROAV 为 100). 李丛聪^[14]在不同食盐浓度湿腌的油菜苔中共检测出 128 种风味物质, 其中酮类和醇类相对含量较高, 均值分别为 25.31% 和 22.70%; 对风味影响较大的主要成分依次为 2-癸酮、呋喃和 β -紫罗兰酮.

本文采用顶空固相微萃取-气质联用技术(HS-SPME-GC-MS)^[15], 对不同发酵条件(氧气暴露程度、用盐量)下接种植物乳杆菌发酵的雪菜成品中的挥发性风味物质进行检测和差异分析, 结合 ROAV 法筛选, 确定不同发酵条件下的关键风味物质, 以期为腌制雪菜低盐发酵工艺的优化提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雪菜和食用盐购于宁波鄞州市场; MRS 肉汤培养基购于杭州微生物试剂有限公司; 植物乳杆菌 01(*Lactobacillus plantarum* 01)保存于宁波大学食品生物技术实验室.

1.2 仪器与设备

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), 7890B-7000C 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司); 泡菜坛(用于密闭发酵)和塑料桶(用于半开放发酵)均购于宁波本地市场.

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理

菌种培养: 挑取试管斜面保存的 *Lactobacillus plantarum* 01 接种于 MRS 肉汤培养基, 经活化后扩大培养备用.

雪菜腌制: 新鲜雪里蕻修整→称重→入坛脱水(加入食盐)→翻缸→分坛→接种乳酸菌(接种量体积比为 1:50)→压实, 在室温条件下发酵, 发酵时间 25 d.

实验分组: 以氧气暴露程度及用盐量为因素, 设置分组实验, 具体分组见表 1.

实验共分 4 组, 每组设 3 个平行. 将发酵成熟(第 25 天)的腌制雪菜作为研究对象, 采集所得样品, 冻藏于-80 °C 冰箱中备用.

表 1 分组实验设置

分组 编号	因素	
	氧气暴露程度	用盐质量占比/%
A ₁ B ₁	密闭	5.5
A ₁ B ₂	密闭	7.0
A ₂ B ₁	半开放	5.5
A ₂ B ₂	半开放	7.0

1.3.2 顶空固相微萃取-气质联用

色谱柱: DB-WAXETR, 30 m×0.25 mm×0.25 μ m, 美国安捷伦科技有限公司.

萃取条件: 采用 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS 萃取头, 于 60 °C 萃取 20 min.

GC 条件: 进样采用不分流模式, 柱温箱起始温度 35 °C, 保持 2 min; 以 15 °C·min⁻¹ 升温至 125 °C, 保持 1 min; 以 2 °C·min⁻¹ 升温至 200 °C, 保持 12 min. 载气为高纯氦气, 流速为 1.6 mL·min⁻¹, 进样口温度 210 °C. MS 条件(EI)离子源: 电子能量为 70 eV; 离子源温度为 230 °C; 扫描质量范围为 m/z 40~400.

1.3.3 关键风味物质的确定

参照刘登勇等^[16]方法, 计算各挥发性风味物质的 ROAV. 将风味贡献最大物质的 ROAV 定义为 100, 其余物质 ROAV 的计算公式为:

$$P_{\text{ROAV}} \approx 100 \times \frac{C}{C_{\text{stan}}} \times \frac{T_{\text{stan}}}{T},$$

式中: P_{ROAV} 为物质 ROAV; C 与 T 分别为挥发性风味物质的相对含量和感觉阈值, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 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, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

1.4 统计方法

用 Origin 2022 软件进行方差分析, 绘制堆积图; 用 SPSSAU 软件进行主成分分析, 绘制载荷图.

2 结果与分析

2.1 不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质分析

图 1 为不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质的种类和相对含量. 从图 1 可见, 各组差异显著($P < 0.05$). A₂B₂ 组挥发性风味物质总含量显著高于其他组别($P < 0.05$), 为(90.747±0.016)%, 其中杂环类含量占比最高(40.149±0.565)%; A₁B₂ 组总含量为(84.639±2.895)%, 其中杂环类含量同样占比最高

(34.905±2.859)%; A₁B₁ 组总含量(83.739±0.039)%, 未与 A₁B₂ 组呈现显著差异($P>0.05$); A₂B₁ 组总含量显著低于其他组别($P<0.05$), 为(74.798±3.183)%, 且占比最高的为酚类(29.348±0.955)%。

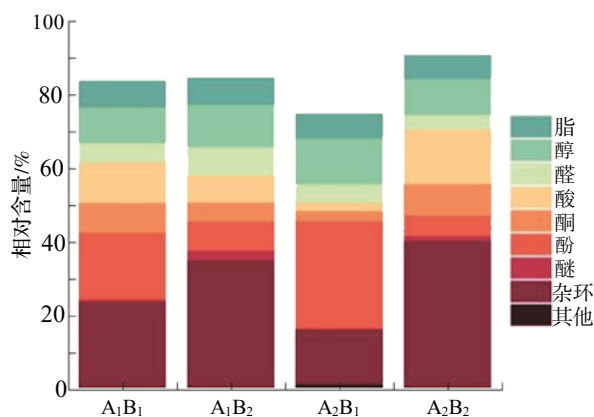


图1 不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质的相对含量

表2为不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质, 从表2可见, 不同发酵条件下4组雪菜成品中共检测出84种挥发性风味物质. A₁B₁组检测出42种, 其中酯类12种、醇类5种、醛类5种、酸类5种、酮类6种、酚类4种、醚类1种、杂环类3种、其他化合物1种; A₁B₂组检测出54种, 其中酯类14种、醇类8种、醛类6种、酸类5种、酮类8种、酚类5种、醚类3种、杂环类4种、其他化合物1种; A₂B₁组检测出43种, 其中酯类9种、醇类9种、醛类6种、酸类4种、酮类5种、酚类4种、杂环类3种、其他化合物3种; A₂B₂组检测出40种, 其中酯类10种、醇类5种、醛类4种、酸类5种、酮类5种、酚类4种、醚类3种、杂环类3种、其他化合物1种。

酯类物质主要由酸类物质和醇类物质发生酯化反应产生^[17], 能够带来令人愉快的香气^[18], 在不同发酵条件下, A₁B₁、A₁B₂、A₂B₁、A₂B₂四组雪菜成品中的相对含量分别为(7.071±0.020)%、(7.328±0.163)%、(6.634±0.019)%和(6.396±0.031)%, 其中采用密闭腌制的(A₁B₁组和A₁B₂组)雪菜成品中的相对含量差异不显著($P>0.05$), 但显著($P<0.05$)高于采用半开放腌制的组别(A₂B₁组和A₂B₂组). 顺式-3-己烯醇乳酸酯、2-甲基丁酸乙酯和异硫氰酸苯乙酯在各组中均被检出, 其具有果香香气. 在雪菜茎叶中存在硫代葡萄糖苷(Glucosinolates, GS)能够在硫苷酶的作用下产生异硫氰酸酯^[19], 该物是

十字花科类植物中的辛辣风味物质^[20].

醇类物质在不同发酵条件下, A₁B₁、A₁B₂、A₂B₁、A₂B₂四组雪菜成品中的相对含量分别为(9.735±0.144)%、(11.433±0.064)%、(12.310±0.005)%和(9.714±0.043)%, A₂B₁组显著高于其他组别($P<0.05$), A₁B₂组次之, A₁B₁组与A₂B₂组未呈现显著差异($P>0.05$). 苯乙醇、1-辛烯-3-醇和芳樟醇在各组中均被检出. 苯乙醇是主要的醇类物质, 提供玫瑰香气. 其中A₁B₂组含量最高, 为(8.972±0.051)%; A₂B₁组次之, 为(8.618±0.015)%. 1-辛烯-3-醇在A₁B₂组中相对含量最高, 为(1.237±0.010)%, 提供青香香气. 芳樟醇在A₂B₁组中相对含量最高, 为(1.702±0.028)%, 提供木香香气. 罗文珊等^[21]同样认为芳樟醇等是发酵芥菜中的主要醇类物质。

醛类物质主要由不饱和脂肪酸氧化形成^[22], 在不同发酵条件下4组雪菜成品中的相对含量分别为(5.214±0.010)%、(7.782±0.173)%、(4.971±0.008)%和(4.038±0.009)%, 其中采用密闭腌制的雪菜成品中的相对含量显著高于采用半开放腌制的组别($P<0.05$). 苯甲醛和柠檬醛在各组中均被检出. 苯甲醛是主要的醛类物质, 由乳酸菌代谢氨基酸生成^[23], 提供杏仁香气, 其中A₁B₂组最高为(6.141±0.117)%, A₁B₁组次之为(4.386±0.016)%, 显著高于A₂B₁组(3.782±0.009)%和A₂B₂组(3.745±0.016)%。

酸类物质是发酵蔬菜中重要的呈味物质, 主要与乳酸发酵、糖类代谢等有关^[24]. 在不同发酵条件下, A₁B₁、A₁B₂、A₂B₁、A₂B₂四组雪菜成品中的相对含量分别为(11.022±0.360)%、(7.296±0.054)%、(2.358±0.138)%和(14.731±0.273)%. 3-苯基丙酸在A₁B₂组、A₂B₁组和A₂B₂组中被检出, 其中A₂B₂组中的相对含量最高, 为(12.256±0.253)%, 提供甜香香气和脂香香气. 棕榈酸仅在采用密闭腌制的雪菜成品中被检出, 说明氧气暴露程度会对棕榈酸的形成产生一定的影响. 刘大群等^[25]在厌氧环境下的雪菜样品中同样检出该物质. 硬脂酸仅在A₁B₁组中被检出, 为(5.823±0.189)%, 提供脂香香气。

酮类物质是不饱和脂肪酸氧化形成的产物^[26], 香气阈值较低, 对风味形成影响较大. 在不同发酵条件下, A₁B₁、A₁B₂、A₂B₁、A₂B₂四组雪菜成品中的相对含量分别为(8.063±0.079)%、(5.133±0.108)%、(2.727±0.021)%、(8.652±0.170)%. 苯乙酮在各组

表 2 不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质

序类 号别	化合物名称	化学式	CAS	相对含量/%			
				A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
1 酯	苯乙酸异戊酯	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	102-19-2	0.305±0.007	ND	ND	ND
2	丙位壬内酯	C ₉ H ₁₆ O ₂	104-61-0	0.142±0.003 ^b	0.182±0.001 ^a	ND	ND
3	(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醇 3-甲基丁酸酯	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	109-20-6	0.067±0.000 ^b	0.106±0.007 ^a	ND	ND
4	油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	111-62-6	0.295±0.021 ^a	0.257±0.001 ^b	ND	ND
5	甲酸庚酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	112-23-2	0.516±0.006 ^b	ND	0.753±0.003 ^a	ND
6	乙酸芳樟酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	115-95-7	ND	ND	ND	0.019±0.000
7	萘萘酸甲酯	C ₈ H ₉ NO ₂	134-20-3	2.041±0.113 ^a	0.472±0.011 ^c	ND	0.696±0.007 ^b
8	3-甲硫基丙酸甲酯	C ₅ H ₁₀ O ₂ S	13532-18-8	ND	0.451±0.000	ND	ND
9	乙酰乙酸乙酯	C ₆ H ₁₀ O ₃	141-97-9	0.073±0.001 ^b	ND	0.181±0.003 ^a	ND
10	丙酸芳樟酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	144-39-8	ND	ND	0.016±0.000 ^b	0.166±0.008 ^a
11	异硫氰酸苯乙酯	C ₉ H ₉ NS	2257-09-2	0.776±0.011 ^c	0.961±0.006 ^b	0.475±0.007 ^d	2.197±0.110 ^a
12	二氢茉莉酮酸甲酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₃	24851-98-7	ND	0.033±0.001	ND	ND
13	丁位十四内酯	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	2721-22-4	ND	ND	0.139±0.001	ND
14	顺式-3-己烯酸顺式-3-己烯酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	61444-38-0	0.108±0.010	ND	ND	ND
15	顺式-3-己烯醇乳酸酯	C ₉ H ₁₆ O ₃	61931-81-5	1.941±0.043 ^d	2.943±0.140 ^b	3.622±0.012 ^a	2.600±0.076 ^c
16	水杨酸己酯	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	6259-76-3	ND	0.070±0.000	ND	ND
17	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	628-97-7	ND	0.076±0.001 ^a	0.043±0.000 ^b	0.025±0.000 ^c
18	格蓬酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	67634-00-8	ND	0.066±0.001 ^a	ND	0.058±0.000 ^b
19	10-十一烯酸乙酯	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	692-86-4	ND	0.307±0.008	ND	ND
20	丙位癸内酯	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	706-14-9	ND	ND	0.116±0.006 ^b	0.180±0.001 ^a
21	2-甲基丁酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	7452-79-1	0.760±0.004 ^c	1.378±0.021 ^a	1.288±0.021 ^b	0.440±0.004 ^d
22	乙酸柏木酯	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	77-54-3	0.047±0.000	ND	ND	ND
23	琥珀酸单薄荷酯	C ₁₄ H ₂₄ O ₄	77341-67-4	ND	0.026±0.000	ND	ND
24	苯甲酰乙酸乙酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	94-02-0	ND	ND	ND	0.016±0.000
			小计	7.071±0.020 ^a	7.328±0.163 ^a	6.634±0.019 ^b	6.396±0.031 ^c
25 醇	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	100-51-6	ND	ND	0.422±0.008	ND
26	α-戊基肉桂醇	C ₁₄ H ₂₀ O	101-85-9	ND	0.049±0.001	ND	ND
27	茴香醇	C ₈ H ₁₀ O ₂	105-13-5	0.069±0.001 ^b	ND	0.090±0.001 ^a	ND
28	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	106-24-1	ND	0.015±0.000 ^b	0.136±0.001 ^a	ND
29	3-苯丙醇	C ₉ H ₁₂ O	122-97-4	ND	ND	0.169±0.001	ND
30	1-辛烯-3-醇	C ₈ H ₁₆ O	3391-86-4	0.732±0.003 ^b	1.237±0.010 ^a	0.438±0.001 ^d	0.603±0.012 ^c
31	辛醇	C ₈ H ₁₈ O	589-98-0	0.352±0.003 ^b	0.248±0.001 ^c	0.615±0.007 ^a	ND
32	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	60-12-8	8.165±0.138 ^d	8.972±0.051 ^a	8.618±0.015 ^b	8.487±0.058 ^c
33	1-戊烯-3-醇	C ₅ H ₁₀ O	616-25-1	ND	0.128±0.001 ^b	ND	0.132±0.002 ^a
34	橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	7212-44-4	ND	0.036±0.001 ^b	0.120±0.010 ^a	0.134±0.002 ^a

续表

序 类 号 别	化合物名称	化学式	CAS	相对含量/%			
				A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
35	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	78-70-6	0.416±0.007 ^c	0.748±0.002 ^b	1.702±0.028 ^a	0.358±0.001 ^d
			小计	9.735±0.144 ^c	11.433±0.064 ^b	12.310±0.005 ^a	9.714±0.043 ^c
36 醛	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	100-52-7	4.386±0.016 ^b	6.141±0.117 ^a	3.782±0.009 ^c	3.745±0.016 ^d
37	α-甲基肉桂醛	C ₁₀ H ₁₀ O	101-39-3	0.277±0.007	ND	ND	ND
38	桃醛	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	104-67-6	ND	0.340±0.019	ND	ND
39	2,6-二甲基-5-庚烯醛	C ₉ H ₁₆ O	106-72-9	ND	0.045±0.002 ^b	0.133±0.001 ^a	0.028±0.001 ^c
40	十一醛	C ₁₁ H ₂₂ O	112-44-7	ND	ND	0.771±0.002	ND
41	月桂醛	C ₁₂ H ₂₄ O	112-54-9	ND	ND	0.137±0.002	ND
42	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	124-19-6	0.045±0.001 ^b	ND	0.085±0.001 ^a	ND
43	2-苯基-2-丁烯醛	C ₁₀ H ₁₀ O	4411-89-6	ND	0.638±0.018	ND	ND
44	4-乙基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	4748-78-1	0.147±0.002 ^b	0.199±0.001 ^a	ND	0.061±0.001 ^c
45	柠檬醛	C ₁₀ H ₁₆ O	5392-40-5	0.359±0.001 ^b	0.420±0.018 ^a	0.062±0.001 ^d	0.204±0.007 ^c
			小计	5.214±0.010 ^b	7.782±0.173 ^a	4.971±0.008 ^c	4.038±0.009 ^d
46 酸	正壬酸	C ₉ H ₁₈ O ₂	112-05-0	0.491±0.002 ^b	0.761±0.001 ^a	ND	ND
47	10-十一烯酸	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	112-38-9	ND	ND	ND	0.039±0.001
48	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	112-80-1	0.019±0.000 ^d	0.163±0.003 ^b	0.103±0.006 ^c	1.822±0.002 ^a
49	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	124-07-2	ND	ND	0.183±0.006 ^b	0.413±0.011 ^a
50	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	142-62-1	0.071±0.001 ^c	0.183±0.001 ^b	ND	0.201±0.008 ^a
51	正癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	334-48-5	ND	ND	0.044±0	ND
52	3-苯基丙酸	C ₉ H ₁₀ O ₂	501-52-0	ND	4.087±0.023 ^b	2.027±0.126 ^c	12.256±0.253 ^a
53	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	57-10-3	4.617±0.174 ^a	2.103±0.072 ^b	ND	ND
54	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	57-11-4	5.823±0.189	ND	ND	ND
			小计	11.022±0.360 ^b	7.296±0.054 ^c	2.358±0.138 ^d	14.731±0.273 ^a
55 酮	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	106-68-3	ND	0.151±0.001	ND	ND
56	环己酮	C ₆ H ₁₀ O	108-94-1	ND	ND	0.125±0.015	ND
57	甲基庚烯酮	C ₈ H ₁₄ O	110-93-0	0.733±0.020 ^b	1.256±0.042 ^a	ND	ND
58	仲辛酮	C ₈ H ₁₆ O	111-13-7	ND	1.051±0.113	ND	ND
59	苯亚甲基丙酮	C ₁₀ H ₁₀ O	122-57-6	ND	ND	ND	0.840±0.020
60	紫罗兰酮	C ₁₃ H ₂₀ O	127-41-3	0.849±0.002	ND	ND	ND
61	甲基紫罗兰酮	C ₁₄ H ₂₂ O	1335-46-2	ND	ND	ND	2.299±0.191
62	2-十五烷酮	C ₁₅ H ₃₀ O	2345-28-0	ND	0.010±0.001 ^b	ND	0.020±0.001 ^a
63	大马酮	C ₁₃ H ₁₈ O	23696-85-7	0.089±0.001 ^b	0.123±0.002 ^a	0.130±0.011 ^a	ND
64	香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	3796-70-1	0.108±0.010 ^b	0.110±0.009 ^b	0.540±0.018 ^a	ND
65	麝香酮	C ₁₆ H ₃₀ O	541-91-3	ND	ND	ND	0.019±0.001
66	β-紫罗酮	C ₁₃ H ₂₀ O	79-77-6	5.930±0.103 ^a	0.012±0.001 ^c	0.478±0.011 ^b	ND

续表

序 号	类 别	化合物名称	化学式	CAS	相对含量/%			
					A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
67	酚	苯乙酮	C ₈ H ₈ O	98-86-2	0.354±0.003 ^d	2.421±0.042 ^b	1.454±0.017 ^c	5.475±0.042 ^a
		小计			8.063±0.079 ^b	5.133±0.108 ^c	2.727±0.021 ^d	8.652±0.170 ^a
68		苯酚	C ₆ H ₆ O	108-95-2	ND	0.029±0.001 ^b	ND	0.220±0.001 ^a
69		4-乙基苯酚	C ₈ H ₁₀ O	123-07-9	5.828±0.036 ^c	6.296±0.012 ^b	21.984±1.004 ^a	5.001±0.011 ^d
70		特丁基对苯二酚	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	1948-33-0	ND	0.315±0.014	ND	ND
71		4-乙基-2-甲氧基苯酚	C ₉ H ₁₂ O ₂	2785-89-9	1.940±0.098 ^b	0.951±0.016 ^c	6.848±0.053 ^a	0.072±0.001 ^d
72		麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	89-83-8	0.374±0.004 ^b	0.305±0.014 ^c	0.396±0.006 ^a	0.178±0.000 ^d
73		愈创木酚	C ₇ H ₈ O ₂	90-05-1	ND	ND	0.118±0.009	ND
74		甲基丁香酚	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	93-15-2	9.995±0.895	ND	ND	ND
		小计			18.137±0.953 ^b	7.896±0.001 ^c	29.348±0.955 ^a	5.471±0.013 ^d
75	醚	甲基烯丙基三硫醚	C ₄ H ₈ S ₃	34135-85-8	ND	0.458±0.017 ^a	ND	0.210±0.001 ^b
76		二甲基三硫醚	C ₂ H ₆ S ₃	3658-80-8	0.613±0.005 ^c	2.157±0.106 ^a	ND	1.080±0.082 ^b
77		邻苯二甲醚	C ₈ H ₁₀ O ₂	91-16-7	ND	0.034±0.000 ^a	ND	0.020±0.001 ^b
		小计			0.613±0.005 ^c	2.649±0.088 ^a	ND	1.310±0.082 ^b
78	杂环	2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	C ₉ H ₁₄ N ₂ O	24168-70-5	0.147±0.002 ^b	0.174±0.004 ^a	0.113±0.005 ^c	0.177±0.002 ^a
79		1,4-二噻烷	C ₄ H ₈ S ₂	505-29-3	ND	0.412±0.011	ND	ND
80		4-甲基噻唑	C ₄ H ₅ NS	693-95-8	23.310±1.296 ^c	33.929±2.848 ^b	14.171±2.081 ^d	39.546±0.578 ^a
81		3-甲基吡啶	C ₉ H ₉ N	83-34-1	0.407±0.017 ^b	0.390±0.003 ^b	0.677±0.004 ^a	0.426±0.015 ^b
		小计			23.864±1.311 ^c	34.905±2.859 ^b	14.961±2.081 ^d	40.149±0.565 ^a
82	其他	茴香脑	C ₁₀ H ₁₂ O	104-46-1	ND	0.217±0.015 ^c	0.616±0.019 ^a	0.286±0.015 ^b
83		香叶油	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	8000-46-2	0.021±0.001 ^b	ND	0.449±0.029 ^a	ND
84		甜橙油	C ₁₅ H ₂₄ O	8008-57-9	ND	ND	0.425±0.014	ND
		小计			0.021±0.001 ^d	0.217±0.015 ^c	1.490±0.062 ^a	0.286±0.015 ^b
		总计			83.739±0.039 ^b	84.639±2.895 ^b	74.798±3.183 ^c	90.747±0.016 ^a

注: ND 表示未检出; 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$); CAS 为化学物质的数字识别号.

中均被检出, 提供甜香香气. β -紫罗酮是 A₁B₁ 组中的主要酮类物质, 含量为(5.930±0.103)%; 甲基紫罗兰酮仅在 A₂B₂ 组中被检出, 含量为(2.299±0.191)%, 提供紫罗兰花香香气.

酚类物质中 4-乙基苯酚、4-乙基-2-甲氧基苯酚和麝香草酚在各组中均被检出, 其中 4-乙基苯酚是 A₁B₂ 组、A₂B₁ 组和 A₂B₂ 组中的主要酚类物质, 相对含量分别为(6.296±0.012)%、(21.984±1.004)%和(5.001±0.011)%, 提供木香香气和轻微的甜香香气; 甲基丁香酚是 A₁B₁ 组的主要酚类物质, 且仅

在 A₁B₁ 组中被检出, 提供丁香香气.

甲基含硫类化合物是发酵蔬菜的特征化合物, 发酵过程中芥子苷被芥子苷酶分解成二甲基二硫醚、二甲基三硫醚等硫醚化合物^[27]. 二甲基三硫醚是 A₁B₁ 组、A₁B₂ 组和 A₂B₂ 组中的主要醚类物质, 相对含量分别为(0.613±0.005)%、(2.157±0.106)%和(1.080±0.082)%, 提供薄荷香气和辛香香气. 4-甲基噻唑是主要的杂环类物质, 在各组中均被检出, A₁B₁、A₁B₂、A₂B₁、A₂B₂ 四组相对含量分别为(23.310±1.296)%、(33.929±2.848)%、(14.171±2.081)%、

(39.546±0.578)%, 提供热带水果香气. 在雪菜成品中检出的其他物质主要是茴香脑, 提供茴香香气.

2.2 不同发酵条件下雪菜关键风味物质的确定

除了相对含量, 挥发性风味物质对于雪菜成品风味的贡献还与香气阈值有关^[28]. 对能够查询到香气阈值的 34 种挥发性风味物质计算 ROAV, ROAV 大于 1 为关键风味物质, ROAV 在 0.1 至 1 之间为修饰风味物质.

表 3 为不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质的 ROAV. 从表 3 可见, 在不同发酵条件下 4 组雪菜成品中 ROAV 大于 1 的挥发性风味物质共 6 种, 分别为酯类(2-甲基丁酸乙酯)、醛类(柠檬醛)、酮类(大马酮、β-紫罗酮)、醚类(二甲基三硫醚)和杂环类(2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪), 其中 A₁B₁ 组、A₁B₂ 组、A₂B₁ 组均为 5 种, A₂B₂ 组 4 种. 柠檬醛和 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪是 4 组雪菜成品中共同的关键

风味物质. 柠檬醛可以通过香叶醇和橙花醇氧化形成, 提供柠檬香气, 具有抑菌谱广、无毒或低毒的特性^[29]. 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪提供蔬菜香气. 此外, A₁B₁ 组有关键风味物质 β-紫罗酮、大马酮和二甲基三硫醚; A₁B₂ 组有大马酮、二甲基三硫醚和 2-甲基丁酸乙酯; A₂B₁ 组有 β-紫罗酮、大马酮和 2-甲基丁酸乙酯; A₂B₂ 组有二甲基三硫醚和 2-甲基丁酸乙酯.

ROAV 在 0.1 至 1 之间的挥发性风味物质共 4 种, 分别为醇类(1-辛烯-3-醇、芳樟醇)、醛类(十一醛)和酚类(4-乙基-2-甲氧基苯酚). 1-辛烯-3-醇是 A₁B₂ 组、A₂B₁ 组和 A₂B₂ 组的修饰风味物质, 提供蘑菇香气, 可以抑制真菌的生长和孢子的萌发, 且对革兰氏阳性细菌具有较强的抗菌能力^[30]. 芳樟醇、十一醛和 4-乙基-2-甲氧基苯酚仅是 A₂B₁ 组的修饰风味物质, 分别提供木香、玫瑰香和香辛料香

表 3 不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质的 ROAV^[31]

序号	类别	化合物名称	CAS	香气阈值/(μg·kg ⁻¹)	ROAV			
					A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
2	酯	丙位壬内酯	104-61-0	65	< 0.01	< 0.01	—	—
8		3-甲硫基丙酸甲酯	13532-18-8	180	—	< 0.01	—	—
17		棕榈酸乙酯	628-97-7	2 000	—	< 0.01	< 0.01	< 0.01
20		丙位癸内酯	706-14-9	11	—	—	< 0.01	< 0.01
21		2-甲基丁酸乙酯	7452-79-1	0.1	0.90	3.19	11.41	2.03
25	醇	苯甲醇	100-51-6	10 000	—	—	< 0.01	—
28		香叶醇	106-24-1	40	—	< 0.01	< 0.01	—
30		1-辛烯-3-醇	3391-86-4	1	0.09	0.29	0.39	0.28
32		苯乙醇	60-12-8	750	< 0.01	< 0.01	0.01	< 0.01
33		1-戊烯-3-醇	616-25-1	400	—	< 0.01	—	0
35	醛	芳樟醇	78-70-6	6	< 0.01	0.03	0.25	0.03
36		苯甲醛	100-52-7	350	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0
40		十一醛	112-44-7	5	—	—	0.14	—
41		月桂醛	112-54-9	2	—	—	0.06	—
42		壬醛	124-19-6	1	< 0.01	—	0.08	—
45	酸	柠檬醛	5392-40-5	0.04	1.06	2.43	1.37	2.36
46		正壬酸	112-05-0	3 000	< 0.01	< 0.01	—	—
49		辛酸	124-07-2	3 000	—	—	< 0.01	< 0.01
50		己酸	142-62-1	3 000	< 0.01	< 0.01	—	< 0.01
51		正癸酸	334-48-5	10 000	—	—	< 0.01	—

续表

序号	类别	化合物名称	CAS	香气阈值/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	ROAV			
					A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂
53	酮	棕榈酸	57-10-3	10 000	< 0.01	< 0.01	—	—
54		硬脂酸	57-11-4	20 000	< 0.01	—	—	—
55		3-辛酮	106-68-3	28	—	< 0.01	—	—
57		甲基庚烯酮	110-93-0	50	< 0.01	0.01	—	—
58		仲辛酮	111-13-7	50	—	< 0.01	—	—
63	酚	大马酮	23696-85-7	0.002	5.27	14.25	57.40	—
64		香叶基丙酮	3796-70-1	60	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
66		β -紫罗酮	79-77-6	0.007	100.00	0.38	60.47	—
67		苯乙酮	98-86-2	65	< 0.01	< 0.01	0.02	0.04
68		苯酚	108-95-2	5 900	—	< 0.01	—	< 0.01
71	醚	4-乙基-2-甲氧基苯酚	2785-89-9	50	< 0.01	< 0.01	0.12	< 0.01
73		愈创木酚	90-05-1	3	—	—	0.03	—
76		二甲基三硫醚	3658-80-8	0.005	14.46	100.00	—	100.00
78	杂环	2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	24168-70-5	0.001	17.38	40.22	100.00	81.84

注：“—”表示未检出无法计算。

气。有研究表明^[32]，多种细菌和真菌能够将阿魏酸脱羧转化为 4-乙基-2-甲氧基苯酚，从而影响风味的形成。

2.3 不同发酵条件下雪菜挥发性风味物质主成分分析

对不同发酵条件下 4 组雪菜成品中 10 种 ROAV 大于 0.1 的挥发性风味物质进行主成分分析，结果如图 2 所示。

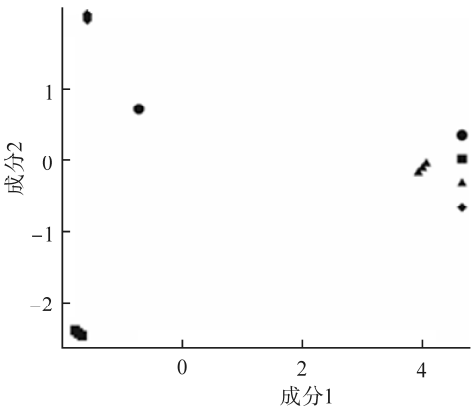


图 2 雪菜挥发性风味物质主成分分析结果

从图 2 可见，主成分 1(58.5%)和主成分 2 (26.9%)累计方差贡献率为 85.4%，能够反映大部分样本信息。4 组雪菜成品分布在三个象限中，未

出现重叠现象，说明不同发酵条件对整体风味形成有明显影响。其中 A₁B₁ 组和 A₂B₂ 组位于同一象限，说明具有一定的相似性。A₂B₁ 组与其余 3 组位于不同侧，且样本距离较远，说明该组与其他组别相似性较小。

主成分所含有的因子载荷系数能够反映挥发性风味物质对各主成分的影响^[33]，分析结果如图 3 所示。

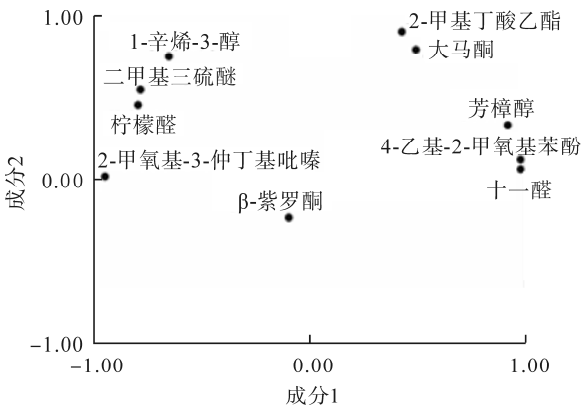


图 3 雪菜主要挥发性风味物质载荷

从图 3 可见，与主成分 1 呈现高度正相关的是 4-乙基-2-甲氧基苯酚、十一醛和芳樟醇，与主成分 1 呈现高度负相关的是 2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪；与

主成分2呈现高度正相关的是2-甲基丁酸乙酯。结合ROAV计算结果,2-甲基丁酸乙酯和2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪对雪菜成品整体风味形成影响较大,分别提供水果香气(类似苹果、覆盆子等)和蔬菜香气(类似土豆、人参等)。

3 结论

采用顶空固相微萃取-气质联用技术,在不同发酵条件下4组雪菜成品中共得到84种挥发性风味物质。采用密闭发酵方式,成品雪菜中酯类、醛类物质的相对含量显著高于半开放发酵方式,更具果香和脂香香气。采用7.0%用盐量,成品雪菜中醚类、杂环类物质的相对含量显著高于5.5%用盐量,而酚类物质的相对含量则显著较少。结合ROAV计算可知,6种挥发性风味物质如2-甲基丁酸乙酯、柠檬醛、大马酮、 β -紫罗酮、二甲基三硫醚和2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪是影响雪菜成品风味的关键挥发性风味物质,其中2-甲基丁酸乙酯和2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪被认为对雪菜特征风味的形成有较大贡献。本实验是在固定乳酸菌接种量条件下展开,在低盐发酵条件下乳酸菌接种量不同对雪菜风味的影响则有待后续探究。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] XIONG T, LI J B, LIANG F, et al. Effects of salt concentration on Chinese sauerkraut fermentation[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 69:169-174.
- [3] SAKAI M, OHTA H, NIIDOME T, et al. Changes in microbial community composition during production of takanazuke[J]. Food Science and Technology Research, 2014, 20(3):693-698.
- [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-Food Science and Technology, 2023, 180:114627.
- [5] 胡伯凯,徐俐,吴康云,等.8种芥菜品种腌制适应性及品质评价[J].食品科技,2013,38(8):172-176.
- [6] LEE K E, CHUNG H Y. Taste characteristics of commercial low-salinity kimchi[J]. Food Engineering Progress, 2020, 24(2):99-103.
- [7] ZHANG Q S, CHEN G, SHEN W X, et al. Microbial safety and sensory quality of instant low-salt Chinese Paocai[J]. Food Control, 2016, 59:575-580.
- [8] RAO Y, QIAN Y, TAO Y F, et al. Influence of oxygen exposure on fermentation process and sensory qualities of Sichuan pickle (Paocai)[J]. RSC Advances, 2019, 9(66): 38520-38530.
- [9] XING Y G, YI R M, YUE T Y, et al. Effect of dense phase carbon dioxide treatment on the flavor, texture, and quality changes in new-paocai[J]. Food Research International, 2023, 165:112431.
- [10] 汤海昆,杨方慧,张艳梅,等.基于HS-SPME-GC-MS分析不同茶树品种晒红茶的香气成分[J].食品工业科技,2023,44(7):260-268.
- [11] XU Y, WANG Y, LI R X, et al. Characteristic aroma analysis of finger citron in four different regions based on GC-MS-HS-SPME and ROAV[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(12):e17191.
- [12] WANG Y, HE Y H, LIU Y, et al. Analyzing volatile compounds of young and mature *Docynia delavayi* fruit by HS-SPME-GC-MS and ROAV[J]. Foods, 2022, 12(1): 59.
- [13] 云琳.不同发酵方式的萝卜泡菜风味特征解析及发酵剂菌种的筛选[D].无锡:江南大学,2020.
- [14] 李丛聪.不同食盐浓度腌制油菜苔风味特征及理化品质研究[D].长沙:湖南农业大学,2021.
- [15] 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 bar sorptive extraction and analysis by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical Letters, 2019, 52(8): 1247-1257.
- [16] 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.
- [17] GRABEŽ V, BJELANOVIĆ M, ROHLOFF J, et al. The relationship between volatile compounds, metabolites and sensory attributes: a case study using lamb and sheep meat[J]. Small Ruminant Research, 2019, 181:12-20.
- [18] LIN X N, BAKYRBAY S, LIU L X, et al. Microbiota succession and chemical composition involved in lactic acid bacteria fermented pickles[J]. Fermentation, 2023, 9(4):330.
- [19] BONES A M, ROSSITER J T. The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates[J]. Phytochemistry, 2006, 67(11):1053-1067.
- [20] 巢雨舟,邓放明.腌渍芥菜二次发酵工艺优化及其挥发性成分分析[J].中国酿造,2015,34(4):35-41.
- [21] 罗文珊,张艳,徐玉娟,等.不同芥菜品种对发酵泡菜

- 品质的影响规律[J]. 现代食品科技, 2022, 38(5):43-55.
- [22] 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.
- [23] GOBBETTI M, DE ANGELIS M, CORSETTI A, et al. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2005, 16(1/2/3):57-69.
- [24] BATISTA A L D, SILVA R, CAPPATO L P, et al. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 38:242-250.
- [25] 刘大群, 张程程. 基于厌氧环境的低盐雪菜挥发性风味物质分析[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(22):225-230, 234.
- [26] BEHERA S S, EL SHEIKHA A F, HAMMAMI R, et al. Traditionally fermented pickles: how the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits?[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 70: 103971.
- [27] 曹东, 曹琳, 范林川, 等. 泡菜发酵过程挥发性风味成分的变化[J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(3):45-49.
- [28] 李扬, 李妍, 李栋, 等. 基于 ROAV 和嗅闻技术分析乳脂的关键风味化合物[J]. *食品科学*, 2023, 44(6):262-267.
- [29] 张晶晶, 彭锐, 杜春贵, 等. 柠檬醛抑制真菌作用的研究进展及其在食品防霉中的应用前景[J]. *中国调味品*, 2020, 45(7):186-190, 200.
- [30] XIONG C, LI Q, LI S H, et al. In vitro antimicrobial activities and mechanism of 1-octen-3-ol against food-related bacteria and pathogenic fungi[J]. *Journal of Oleo Science*, 2017, 66(9):1041-1049.
- [31] HELMERT L V. Compilations of odour threshold values in air, water and other media[M]. Beijing: Science and Technology of China Press, 2018.
- [32] 李青卓, 王嘉瑞, 张小龙, 等. 风味物质 4-乙基愈创木酚的研究进展[J]. *中国酿造*, 2021, 40(4):15-19.
- [33] 陈艳, 蒋依琳, 唐玉娟, 等. 大叶芥菜发酵过程中挥发性成分变化研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(11):90-96.

Analysis of key flavor compounds in pickled potherb mustard under different fermentation conditions using relative odor activity value

CHEN Shujun, WU Zufang, LIU Yanan, WENG Peifang

(College of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

Abstract: Using head space solid phase microextraction and, gas chromatography-mass, (HS-SPME-GC-MS), the current study was designed to detect the volatile flavor compounds in the pickled potherb mustard under different fermentation conditions (oxygen exposure degree and salt content). The relative odor activity value (ROAV) was combined to identify the key flavor compounds. The results showed that there was no significant effect on the total amount of volatile flavor compounds in the pickled potherb mustard fermented in the closed fermentation. The total amount of volatile flavor compounds in the pickled potherb mustard with 7.0% salt content was significantly higher than that of the pickled potherb mustard with 5.5% salt content. A total of 6 key flavor compounds (ethyl 2-methylbutyrate, citral, damascenone, β -lone, dimethyl trisulfide and 2-methoxy-3-sec-butyl pyrazine) and 4 modified flavor compounds (1-octene-3-ol, linalool, undecanal and 4-ethyl-2-methoxyphenol) were identified by ROAV.

Key words: potherb mustard; fermentation; head space solid phase microextraction gas chromatography-mass; relative odor activity value

(责任编辑 史小丽)