

直投式发酵剂的优化及其对火腿风味的影响

母雨, 苏伟, 母应春

(贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 本文以木糖葡萄糖球菌 (*Staphylococcus xylosus*, SX) 和植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, LP) 为研究对象, 考察不同发酵剂 (SX; SX+LP) 对火腿风味的影响。通过单因素和响应面试验优化了木糖葡萄糖球菌 (脱脂乳 8.05%、蔗糖 8.83%、山梨糖醇 7.78%) 和植物乳杆菌 (脱脂乳 6.43%、蔗糖 7.91%、山梨糖醇 4.28%) 的冻干保护剂配方, 并制备 SX 和 LP 直投式发酵剂用于火腿发酵。将 SX 和 SX+LP 接种于发酵火腿中, 研究不同发酵剂对其风味品质的影响。应用 HS-SPME-GC-MS (head space-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry) 技术, 从 SX+LP、SX 和对照样品中分别检出 53、52 和 31 种挥发性风味物质。在接种发酵样品中, 阈值较低的醛类物质含量大幅增加, 而阈值较高的烃类物质含量下降。SX+LP 样品的主体风味物质最多, 其次为 SX 和对照样品。同时, PCA 双图显示 11 种主体风味物质在可在 PC1 上判别 SX+LP 样品, 4 种主体风味物质在可在 PC2 上区分 SX 样品, 而对照样品仅有 1 种特征风味物质。以上结果表明木糖葡萄糖球菌和植物乳杆菌均能改善发酵火腿的风味品质, 且复合发酵剂效果优于单菌种发酵剂。

关键词: 木糖葡萄糖球菌; 植物乳杆菌; 响应面; PCA; 风味品质

文章编号: 1673-9078(2019)11-212-222

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.030

Preparation of Direct Vat Starter and Its Effect on Flavor Quality of Fermented Ham

MU Yu, SU Wei, MU Ying-chun

(School of Liquor and Food engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: *Staphylococcus xylosus* (SX) and *Lactobacillus plantarum* (LP) were used as research objects to investigate the effects of different starter cultures (SX; SX+LP) on ham flavor. The cryoprotectant formula of SX (8.05% skim milk, 8.83% sucrose, 7.78% sorbitol) and LP (6.43% for skim milk, 7.91% for sucrose, 4.28% for sorbitol) were optimized by single-factor and response surface tests. Direct vat starter of SX and LP was prepared for ham fermentation. SX and SX+LP were inoculated into fermented ham to study the effect of different starter cultures on the flavor quality of fermented ham. The HS-SPME-GC-MS technique was used to detect the type and content of volatile flavor compounds in SX+LP, SX and control sample, 53, 52 and 31 volatile flavor substances were detected, respectively. In samples with starter culture, the content of aldehydes with lower odor thresholds increased, while the content of hydrocarbons with higher odor thresholds decreased. The amount of the main flavor substance in the SX+LP sample was the most, followed by the SX and the control sample. At the same time, the PCA biplot showed that SX+LP sample can be discriminated by 11 main flavor substances on PC1, SX sample can be distinguished on PC2 by four main flavor substances, and only one characteristic flavor substance can be used to identify control sample. This result indicated that both SX and LP can improve the flavor quality of fermented ham, and the mixture culture starter is better than the single culture starter.

Key words: *Staphylococcus xylosus*; *Lactobacillus plantarum*; response surface; PCA; flavor quality

火腿作为我国传统发酵肉制品之一, 具有独特的质地和风味, 深受世界各地消费者的喜爱。但是, 传统发酵火腿的生产周期长达一年, 且发酵期间易受杂菌污染, 导致产品质量下降。自从 Padock 和 Jemen 在 1940 年提出乳酸菌在发酵香肠中的应用以来^[1], 欧

收稿日期: 2019-06-09

基金项目: 贵州大学博士基金 (贵大人基合字 (2017) 43 号)

作者简介: 母雨 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程

通讯作者: 苏伟 (1974-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品酿造

洲大多数肉制品企业改用接种发酵代替传统自然发酵。由此, 适用于发酵肉制品工业化生产的直投式发酵剂应运而生, 其具有活菌数高、有效期长、运输方便等特点^[2]。采用真空冷冻干燥技术制备直投式发酵剂会导致细胞死亡或蛋白质变性等不良影响^[3]。因此, 需在冻干过程添加冷冻保护剂, 以提高细胞的稳定性及菌体存活率, 并保持其原有特性^[4]。

随着我国食品工业的不断发展, 寻找合适的发酵剂已成为肉类行业的研究热点。木糖葡萄糖球菌和植物

乳杆菌作为各类发酵肉制品中的优势菌,对香肠、酸肉等发酵肉制品的色泽、风味及营养品质起着重要的作用^[5,6]。近年来,它们已成功应用于改善我国传统发酵肉制品的品质及风味^[7,8]。同样地,植物乳杆菌和葡萄球菌也备受国外学者的欢迎,如 Ba 等^[9]人比较了商业发酵剂和植物乳杆菌的发酵性能,结果表明植物乳杆菌能显著提高发酵香肠的食用品质;而 Bosse (née Danz)等^[10]人发现接种不同葡萄球菌对腌制火腿的色泽和安全性有重要影响。风味是发酵肉制品最重要的质量指标之一,其形成途径主要有两条:一是肉制品中的脂肪、蛋白质等物质在内源酶的作用下产生风味物质;二是微生物的生长繁殖产生大量风味代谢产物^[11]。葡萄球菌具有较高的蛋白酶和脂肪酶活性,有助于发酵肉制品风味的形成^[12];而乳酸菌在发酵过程中可促进美拉德反应、脂质降解或氧化^[13]及蛋白质水解^[14],并产生与肉制品相关的风味^[15]。

本研究将木糖葡萄球菌和植物乳杆菌制备为直接式发酵剂,并按不同组合(SX; SX+LP)接种于火腿,探究不同发酵剂对火腿风味品质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

木糖葡萄球菌、植物乳杆菌,中国工业微生物菌种保藏管理中心(China Center of Industrial Culture Collection, CICC),编号分别为 21445 和 20265;MSA、MRS 培养基,上海博微生物科技有限公司;脱脂乳、蔗糖、山梨糖醇及甘露醇,河南明瑞食品添加剂有限公司;新鲜猪后腿,贵州省盘州市红果新区农贸市场。

高速冷冻离心机(GL-20G-11),上海安亭科学仪器有限公司;真空冷冻干燥机(CTFD-12S),青岛永合创信电子科技有限公司;超低温冰箱(DW-HL398),中科美菱低温科技股份有限公司;气相色谱-质谱联用仪(7980GC-700MS),美国安捷伦公司;萃取头(75 μ m CAR/PDMS),上海洽姆仪器科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 保护剂制备

将脱脂乳和蔗糖分别配制为 2%、4%、6%、8%、10% (W/V) 5 个浓度;山梨糖醇配制为 3%、4.5%、6%、7.5%、9% (W/V) 5 个浓度;甘露醇配制为 4%、6%、8%、10%、12% (W/V) 5 个浓度。灭菌条件为 121 °C 下 15 min。

1.2.2 菌悬液制备

木糖葡萄球菌和植物乳杆菌按说明书活化 3 次,

将活化好的菌种按 2% 的接种量转接于 MSA 和 MRS 液体培养基中,37 °C 培养 24 h,6000 r/min 低温离心 15 min,去上清液后用生理盐水清洗菌泥并重复离心 3 次,加入无菌水,调整活菌数为 10⁷ cfu/mL。

1.2.3 冻干保护剂优化试验

以菌体冻干存活率为指标,采用单因素试验探究不同保护剂对木糖葡萄球菌和植物乳杆菌的冷冻干燥保护作用,在此基础上利用响应面中心法则进行配方优化试验。菌体冻干存活率计算公式如下:

$$\text{冻干存活率} = \frac{\text{冻干后的活菌数}}{\text{冻干前的活菌数}} \times 100\%$$

1.2.4 发酵火腿制备

以当天屠宰的盘州坪地猪新鲜猪后腿为原料,参考刘晓强等^[16]人的方法制备发酵火腿,工艺流程如下:

原料选择→修整→腌制→注射接种→滚揉→发酵→烘烤→真空包装→成品

1.2.5 挥发性风味成分检测

1.2.5.1 顶空固相微萃取(head space-solid phase microextraction, HS-SPME)

准确称取 5.00 g 样品并加入 20 mL 顶空瓶中,在 40 °C 条件下插入已提前老化的萃取头,萃取 30 min 后取出萃取头,插入气质连用仪于 250 °C 解吸 5 min,然后进行检测分析。

1.2.5.2 气相色谱质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)检测条件

色谱条件:DB-WAX 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μ m);恒定流量模式;柱升温程序:起始温度 40 °C,保持 15 min,然后以 3 °C/min 升到 160 °C,保持 0 min,再以 4 °C/min 升到 230 °C,保持 5 min。载气:He;流量:0.8 mL/min。

质谱条件:电子轰击离子源(electron impact, EI);电子能量 70 eV;离子源温度 230 °C;传输线温度 250 °C;扫描范围 25~400 ms。

1.2.5.3 定性及定量方法

定性方法:实验数据与数据库 NIST 和 WILEY 中的图谱进行对比分析,相似指数(similar index, SI) 800 以上为确认化合物(最大值为 1000)。

定量方法:采用峰面积归一化法。

1.2.5.4 主体风味评价方法

采用相对气味活度值(relative odor activity value, ROAV)对火腿的主体风味成分进行评价,各挥发性风味化合物的 ROAV 值按下式计算:

$$\text{ROAV}_i = 100 \times \frac{C_{ri}}{C_{\max}} \times \frac{T_{\max}}{T_i}$$

式中: C_n 和 T_n 为某挥发性风味化合物的相对含量和嗅觉阈值。 C_{max} 和 T_{max} 分别代表 ROAV 值最大的风味物质相对含量及嗅觉阈值。

1.3 数据分析

采用 Design-Expert V 8.06 对数据进行二次多项回归拟合; SPSS 22.0 用于数据单因素方差分析, 以确定具有统计学意义的显著性差异 ($p < 0.05$); Origin 2018 用于图形的绘制及主成分分析。

2 结果与讨论

2.1 冷冻保护剂对木糖葡萄糖球菌和植物乳杆菌冻干存活率的影响

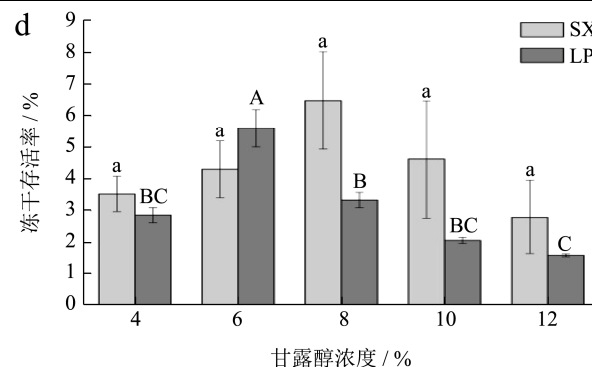
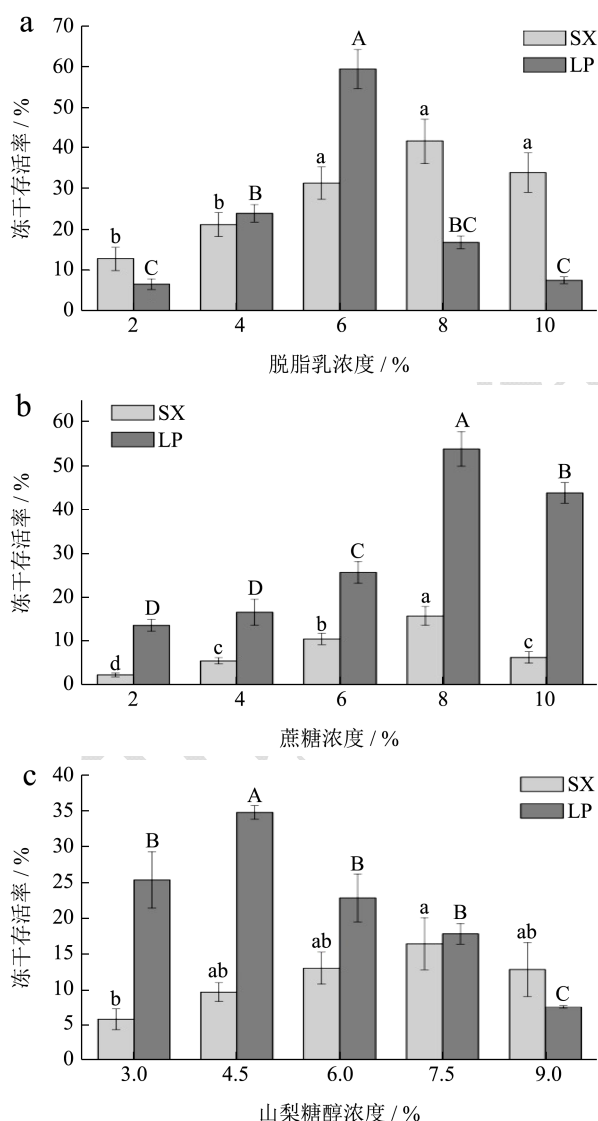


图1 冷冻保护剂对木糖葡萄糖球菌和植物乳杆菌冻干存活率的影响

Fig.1 Effect of different cryoprotectant on the survival rate of *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus plantarum*

注: “a~d”表示同一保护剂的不同浓度对木糖葡萄糖球菌冻干存活率有显著差异 ($p < 0.05$); “A~D”表示同一保护剂的不同浓度对植物乳杆菌冻干存活率有显著差异 ($p < 0.05$)。

冻干过程会对微生物细胞造成严重损伤, 进而影响其存活率。添加保护剂能从多方面减少细胞损伤, 提高冻干存活率。

由图1可知, 木糖葡萄糖球菌和植物乳杆菌的冻干存活率均随着保护剂浓度的增加呈先上升后下降的趋势。这可能是由于高质量浓度的保护剂会加速细胞内的蛋白质聚合, 形成较强的玻璃化结构, 反而不利于细胞的保存, 且复水效果不好^[17]。当脱脂乳、蔗糖和山梨糖醇浓度分别为8%、8%和7.5%时, 木糖葡萄糖球菌冻干存活率达到最大值, 分别为41.67%、15.83%和16.47%。而当脱脂乳、蔗糖和山梨糖醇浓度分别为6%、8%和4.5%时, 植物乳杆菌冻干存活率达到最大值, 分别为59.52%、53.81%和34.76%。图1所示的4种保护剂中, 甘露醇对木糖葡萄糖球菌和植物乳杆菌的冻干保护效果最差, 各浓度下菌体存活率均低于10%, 且不同甘露醇浓度对木糖葡萄糖球菌的保护作用无显著差异 ($p > 0.05$)。因此, 选择脱脂乳、蔗糖和山梨糖醇进行响应面优化。

2.2 响应面结果与分析

2.2.1 木糖葡萄糖球菌冻干保护剂的优化

木糖葡萄糖球菌的响应面试验结果见表1, 方差分析结果见表2。

以冻干存活率 (Y) 为响应值的二次多项式回归方程为:

$$Y = -88.39875 + 17.65038A - 1.42962B + 28.98000C +$$

$0.47687AB+0.40500AC+0.97167BC-1.55319A^2-0.56444B^2-2.62456C^2$ 。

表 1 木糖葡萄球菌响应面试验结果

Table 1 Response surface design arrangement and experimental results of *Staphylococcus xylosus*

序号	因素			存活率/%	
	A/%	B/%	C/%	实测值	预测值
1	0	1	1	84.92	85.65
2	0	0	0	89.24	88.54
3	0	-1	-1	81.94	81.21
4	-1	1	0	80.56	80.28
5	0	-1	1	75.69	77.25
6	0	0	0	88.88	88.54
7	1	-1	0	76.04	76.32
8	1	0	1	79.86	78.02
9	0	0	0	87.15	88.54
10	1	0	-1	73.26	73.71
11	0	0	0	88.19	88.54
12	-1	0	-1	75.69	77.53
13	-1	-1	0	82.64	81.53
14	0	0	0	89.93	88.54
15	0	1	-1	79.51	77.95
16	1	1	0	81.59	82.70
17	-1	0	1	77.43	76.98

由表 2 可知，模型差异显著 ($p<0.05$)，表明试验结果可信度高。失拟项差异不显著 ($p>0.05$)，表明回归方程拟和性较好。相关系数 $R^2_{Adj}=0.8995$ ，说明该模型能较好地描述 89.95% 的响应值结果，可用于木糖葡萄球菌冻干保护剂的优化。 A^2 和 C^2 的 F 值较大，表明脱脂乳和山梨糖醇对木糖葡萄球菌的冻干存活率有较大影响。 BC 的 F 值较大且 $p<0.05$ ，表明蔗糖和山梨糖醇间的交互作用强，对模型的贡献值较大，蔗糖和山梨糖醇对菌体存活率交互影响的三维曲面和等高

线图如图 2 所示。

因素间交互作用的强弱与等高线形状密切相关，椭圆形表示交互作用强，而圆形表示交互作用弱，图 2 中所示结果与表 2 一致。利用 Design-Expert 软件对数据进行分析优化后得到木糖葡萄球菌最优冻干保护剂配方为：脱脂乳 8.05%、蔗糖 8.83%、山梨糖醇 7.78%，菌体存活率达 89.02%。根据此配比进行 3 次验证试验，测得平均冻干存活率为 88.43%，高于贾娜^[18]等人报道的 81.42%，这可能是因为不同保护剂对菌体的保护机制不同，进而导致保护效果存在差异。

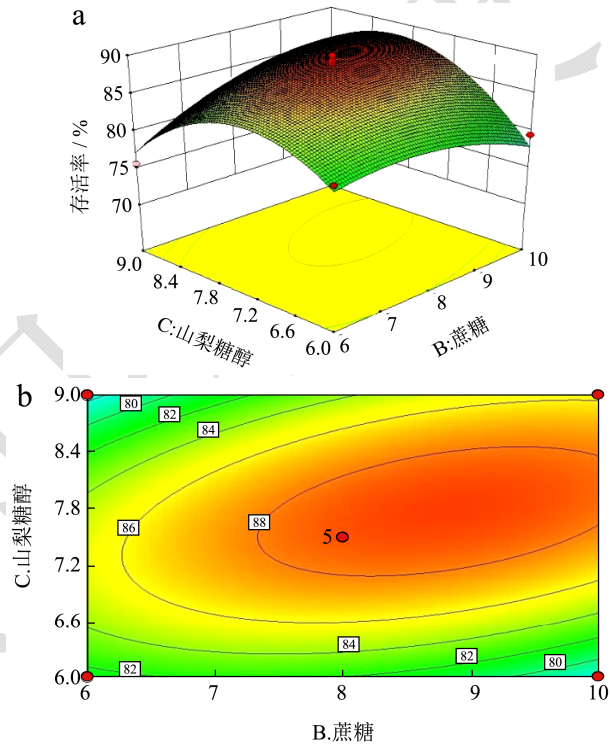


图 2 蔗糖和山梨糖醇对木糖葡萄球菌存活率交互影响的三维曲面 (a) 和等高线图 (b)

Fig.2 Surface (a) and contour plots (b) of mutual-influence for sucrose and sorbitol on staphylococcus xylosus survival rate

表 2 二次多项模型方差分析

Table 2 Analysis of variance for the fitted regression quadratic model

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	R^2_{Adj}
模型	441.44	9	49.05	16.92	0.0006	**	0.8995
A-脱脂乳	3.88	1	3.88	1.34	0.2854		
B-蔗糖	13.18	1	13.18	4.55	0.0704		
C-山梨糖醇	7.03	1	7.03	2.43	0.1634		
AB	14.55	1	14.55	5.02	0.06		
AC	5.90	1	5.90	2.04	0.1966		
BC	33.99	1	33.99	11.72	0.0111	*	
A^2	162.52	1	162.52	56.05	0.0001	**	

转下页

接上页						
B ²	21.46	1	21.46	7.40	0.0297	*
C ²	146.83	1	146.83	50.64	0.0002	**
残差	20.30	7	2.90			
失拟项	15.80	3	5.27	4.68	0.0849	
纯误差	4.50	4	1.12			
总差	461.73	16				

注：“*”差异显著 ($p<0.05$)；“**”差异极显著 ($p<0.01$)。

2.2.2 植物乳杆菌响应面结果与分析

植物乳杆菌的响应面试验结果见表 3，方差分析见表 4。

表 3 植物乳杆菌响应面试验结果

Table 3 Response surface design arrangement and experimental results of *Lactobacillus plantarum*

序号	因素			存活率/%	
	A/%	B/%	C/%	实测值	预测值
1	0	1	1	75.38	75.98
2	0	0	0	73.27	74.30
3	0	-1	-1	78.85	79.28
4	-1	1	0	92.69	91.46
5	0	-1	1	75.78	76.45
6	0	0	0	82.11	80.84
7	1	-1	0	81.35	80.68
8	1	0	1	93.08	91.46
9	0	0	0	91.53	91.46
10	1	0	-1	85.38	83.68
11	0	0	0	80.58	82.28
12	-1	0	-1	79.42	78.99
13	-1	-1	0	88.85	91.46
14	0	0	0	74.23	73.20
15	0	1	-1	81.92	81.32
16	1	1	0	91.15	91.46
17	-1	0	1	85.19	86.46

以冻干存活率 (Y) 为响应值的二次多项式回归方程为:

$$Y=-127.04750+20.12875A+17.67750B+39.35667C+0.54125AB-1.65000AC-0.095000BC-1.34938A^2-1.31188B^2-3.27222C^2。$$

由表 4 可知,模型差异极显著 ($p<0.01$),说明该模型准确可靠。失拟项差异不显著 ($p>0.05$),表明标准回归方程拟和度较好。相关系数 $R^2_{Adj}=0.9211$,说明该模型能较好地描述 92.11%的响应值结果,可用于

植物乳杆菌复合冻干保护剂的优化。根据表 4 中各项 F 值的大小,脱脂乳、蔗糖和山梨糖醇在植物乳杆菌冻干过程中均有明显保护作用,且脱脂乳和山梨糖醇之间存在较强的交互作用,见图 3。根据软件预测得到植物乳杆菌最优冻干保护剂配方为:脱脂乳 6.43%、蔗糖 7.91%、山梨糖醇 4.28%,菌体存活率达 91.75%。应用该配方进行 3 次验证试验,测得平均冻干存活率为 92.05%,优于仅用山梨糖醇和脱脂乳复配对植物乳杆菌的保护效果^[19],除菌体差异外,还可能是因为蔗糖的添加进一步减少了细胞损伤^[20],从而提高菌体冻干存活率。

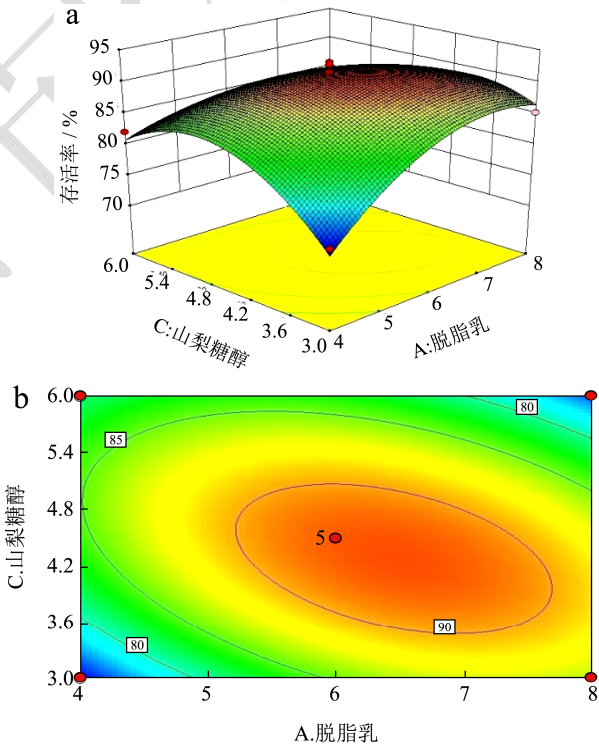


图 3 脱脂乳和山梨糖醇对植物乳杆菌存活率交互影响的三维曲面 (a) 和等高线图 (b)

Fig.3 Surface (a) and contour plots (b) of mutual-influence for skim milk and sorbitol on *Lactobacillus plantarum* survival rate

表 4 二次多项模型方差分析

Table 4 Analysis of variance for the fitted regression quadratic model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	R ² _{Adj}
模型	677.51	9	75.28	21.76	0.0003	**	0.9211
A-脱脂乳	22.65	1	22.65	6.55	0.0376		
B-蔗糖	7.76	1	7.76	2.24	0.1778		
C-山梨糖醇	10.22	1	10.22	2.95	0.1294		
AB	18.75	1	18.75	5.42	0.0528		
AC	98.01	1	98.01	28.34	0.0011	**	
BC	0.32	1	0.32	0.094	0.7681		
A ²	122.67	1	122.67	35.46	0.0006	**	
B ²	115.94	1	115.94	33.52	0.0007	**	
C ²	228.24	1	228.24	65.99	< 0.0001	**	
残差	24.21	7	3.46				
失拟项	13.16	3	4.39	1.59	0.3248		
纯误差	11.05	4	2.76				
总差	701.72	16					

注：“*”差异显著 ($p<0.05$)；“**”差异极显著 ($p<0.01$)。

表 5 发酵火腿中挥发性风味种类及相对含量

Table 5 Types and relative content of volatile flavor in fermentation hams with different starter culture

样品	类别	烃	醛	醇	酮	酸	酚	酯	醚	其他	合计
对照	种类数	11	8	6	3	0	1	1	0	1	31
	相对含量/%	35.67	23.69	5.06	5.94	0	0.79	27.01	0	1.84	100
SX	种类数	7	10	9	6	8	6	2	1	3	52
	相对含量/%	14.51	37.79	10.16	12.11	12.56	6.42	3.79	0.72	1.94	100
SX+LP	种类数	13	11	9	5	4	6	0	1	4	53
	相对含量/%	15.41	53.51	9.77	3.78	2.13	3.05	0	8.78	3.57	100

2.3 发酵火腿风味分析

采用 HS-SPME-GC-MS 方法对三组火腿的挥发性风味物质进行分析，结果如表 5 所示。

对照样品、SX 样品、SX+LP 样品检出的风味物质数量分别为 31、52 和 53 种，表明单菌种发酵剂和复合发酵剂均能明显增加挥发性风味物质的种类。该结果与李志敏^[21]的研究一致，他将木糖葡萄球菌和植物乳杆菌以 3:1 的比例接种于马氏珠母贝肉中，显著改善了整体风味并赋予其特殊发酵香气。与对照样品相比，SX+LP 和 SX 样品的醛类、醇类、酸类、酚类、醚类及其他类物质在种类和含量上均增加，而烃类和酯类物质的含量有所下降。在 SX+LP 样品中，醛类物质含量最高，达到 53.51%，意味着接种 SX+LP 发酵剂的火腿可能有着更佳的风味。在发酵火腿中，醛类物质是最重要的一类挥发性风味化合物，因为其嗅闻阈值普遍较低，即使含量很低也能对整体风味产生较大贡献。这类物质大部分来源于不饱和脂肪酸的氧

化，少部分由美拉德反应生成^[22]，如支链醛 3-甲基丁醛就来自于亮氨酸的 Strecker 降解。此外，虽然烃类物质在对照样品中的含量高达 35.67%，但其对发酵火腿的整体风味几乎无贡献，因为烷烃类物质的阈值普遍较高，对风味的改善作用很小^[23]。

2.4 主体风味分析

为进一步筛选出对三组火腿风味具有重要贡献的主体风味成分，根据所有物质的取值范围需满足 $0<ROAV\leq 100$ ^[24]，定义 3-甲基丁醛的 ROAV 值为 100，并以此计算其他物质的 ROAV 值，结果如表 6 所示。

从三组火腿中共得到 14 种 $ROAV\geq 1$ 的风味物质，对照样品 9 种、SX 样品 9 种、SX+LP 样品 11 种。三组火腿中共有的 6 种主体风味物质为 D-柠檬烯、2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、己醛、辛醛和壬醛，其中 3-甲基丁醛几乎是所以干腌火腿中的关键风味化合物，而辛醛和壬醛是金华火腿的主体风味成分，己醛则是如皋火腿的主体风味物质^[27]。此外，每个样品均存在独

有的主体风味物质。对照样品中是庚醛，其具有油脂香味，与伊比利亚的独特风味密切相关^[28]。SX 样品中为 2-壬酮，它是一种具有花香、果香及奶酪香的甲基酮，在伊斯特拉火腿中大量存在，有助于火腿风

味的形成^[29]。SX+LP 样品中为戊醛、(E)-2-辛烯醛和 2-壬烯醛，其中戊醛具有杏仁香和麦芽香，而 (E)-2-辛烯醛和 2-壬烯醛是伊比利亚火腿风味的重要组成部分^[30]。

表 6 发酵火腿中挥发性风味物质的相对含量与 ROAV 值

Table 6 Relative content and ROAV of volatile flavor in fermented hams with different starter culture

序号	RT	物质名称	阈值/ (µg/kg) ^[25,26]	对照		SX		SX+LP	
				相对含 量/%	ROAV	相对含 量/%	ROAV	相对含 量/%	ROAV
烃类									
1	4.87	戊烷	N.F	3.77		-		-	
2	5.19	正己烷	N.F	2.42		-		0.71	
3	5.91	庚烷	47000.0	4.20	<0.1	2.39	<0.1	1.66	<0.1
4	7.57	辛烷	N.F	5.93		2.83		1.96	
5	9.61	六甲基环三硅氧烷	N.F	5.50		1.47		0.41	
6	18.29	2,5,9-三甲基癸烷	N.F	1.52		-		-	
7	21.01	八甲基环硅氧烷	N.F	0.80		-		1.58	
8	37.10	溴甲烷	N.F	0.65		-		-	
9	40.15	D-柠檬烯	10.0	7.57	1.79	4.18	1.97	4.45	5.71
10	40.41	癸基-环戊硅氧烷	N.F	2.74		-		-	
11	40.42	十甲基环戊硅氧烷	N.F	-		2.05		0.21	
12	41.08	十一烷	N.F	-		0.65		1.34	
13	50.38	十二甲基环六硅氧烷	N.F	-		-		0.52	
14	57.87	十二甲基五硅氧烷	N.F	-		-		0.12	
15	58.29	苯基-戊甲基二硅氧烷	N.F	0.56		0.95		0.35	
醛类									
16	4.86	乙醛	15.0	-		0.61	<0.1	-	
17	11.99	2-甲基丁醛	1.0	1.34	3.16	1.56	7.34	0.52	6.66
18	12.27	3-甲基丁醛	0.2	8.47	100.00	4.25	100.00	1.56	100.00
19	16.31	戊醛	12.0	2.83	0.56	-		5.99	6.40
20	28.15	己醛	5.0	4.63	2.19	11.10	10.45	21.49	55.10
21	39.52	5-甲基己醛	N.F	-		3.65		11.75	
22	39.53	庚醛	3.0	2.67	2.10	-		-	
23	47.02	辛醛	0.7	1.74	5.87	10.38	69.78	4.52	82.78
24	48.99	(E)-2-庚烯醛	13.0	-				0.29	0.29
25	52.94	壬醛	1.0	1.64	3.87	2.79	13.13	6.31	80.90
26	54.67	(E)-2-辛烯醛	3.0	-		-		0.40	1.71
27	55.94	甲硫基丙醛	N.F	-		-		0.20	
28	59.09	苯甲醛	350.0	0.38	<0.1	1.78	<0.1	1.98	<0.1
29	59.63	2-壬烯醛	0.1	-		-		0.32	41.03
30	64.22	苯乙醛	4.0	-		0.65	0.76	-	
31	68.44	2-十一碳烯醛	N.F	-		-		0.26	
32	80.04	十五醛	N.F	-		1.01		-	

转下页

接上页

醇类

33	5.66	甲硫醇	N.F	0.88	-	-	0.63		
34	38.29	1-戊烯-3-醇	400.0	0.40	<0.1	1.90	<0.1	0.24	<0.1
35	42.08	3-甲基-1-丁醇	170.0	-	-	0.74	<0.1	-	
36	45.06	1-戊醇	4000.0	0.50	<0.1	1.79	<0.1	0.73	<0.1
37	51.04	1-己醇	250.0	0.92	<0.1	2.46	<0.1	1.54	<0.1
38	55.83	1-辛烯-3-醇	1.0	1.95	4.60	-	-	2.37	30.38
39	56.13	1-庚醇	3.0	0.40	0.31	1.00	1.57	1.14	4.87
40	60.01	1-环己醇	N.F	-	-	0.64	-	-	
41	60.02	4-乙基环己醇	N.F	-	-	-	-	0.32	
42	60.68	1-辛醇	110.0	-	-	0.53	<0.1	0.84	<0.1
43	61.49	2,3-丁二醇	4500.0	-	-	0.47	<0.1	-	
44	64.22	二甲基硅烷二醇	N.F	-	-	-	-	1.96	
45	64.84	2-呋喃甲醇	N.F	-	-	0.63	-	-	

酮类

46	11.37	2-丁酮	50000.0	-	-	1.64	<0.1	-	
47	39.34	2-庚酮	9.0	3.82	1.00	6.61	3.46	-	
48	46.75	2-辛酮	50.0	-	-	-	-	1.65	<0.1
49	47.61	1-羟基-2-丙酮	N.F	-	-	0.62	-	-	
50	49.16	2,5-己二酮	N.F	-	-	-	-	0.98	
51	49.20	3,6-庚二酮	N.F	-	-	0.67	-	-	
52	49.89	6-甲基-5-庚烯-2-酮	50.0	-	-	-	-	0.50	<0.1
53	52.71	2-壬酮	5.0	1.74	0.82	1.66	1.56	0.38	0.97
54	55.42	8-壬烯-2-酮	N.F	0.37	-	0.91	-	0.27	

酸类

55	55.77	乙酸	22000.0	-	-	5.18	<0.1	-	
56	63.54	丁酸	240.0	-	-	2.34	<0.1	0.82	<0.1
57	63.67	4-羟基丁酸	N.F	-	-	0.36	-	-	
58	65.24	3-甲基丁酸	130.0	-	-	1.09	<0.1	-	
59	71.68	己酸	3000.0	-	-	1.18	<0.1	0.81	<0.1
60	78.08	辛酸	3000.0	-	-	1.23	<0.1	0.34	<0.1
61	80.86	壬酸	3000.0	-	-	0.46	<0.1	-	
62	83.43	癸酸	10000.0	-	-	0.72	<0.1	0.17	<0.1

酚类

63	72.21	2-甲氧基苯酚	N.F	-	-	0.75	-	0.37	
64	75.21	2-甲氧基-5-甲基苯酚	N.F	-	-	0.43	-	0.30	
65	76.46	2-甲基苯酚	N.F	-	-	0.57	-	0.33	
66	76.57	苯酚	5900.0	0.79	<0.1	2.47	<0.1	1.13	<0.1
67	78.67	3-甲基苯酚	N.F	-	-	1.65	-	0.60	
68	78.88	对甲酚	18.0	-	-	0.56	<0.1	0.31	<0.1

酯类

69	46.79	2-甲氧基乙酸乙酯	N.F	-	-	1.07	-	-	
70	72.47	2-甲基丙酸酯	N.F	-	-	2.72	-	-	

转下页

接上页							
71	86.98	油酸 3-羟丙基酯	N.F	27.01	-	-	
醚类							
72	13.83	二甲醚	N.F	-	0.72	-	
73	87.45	辛二甘醇单十二烷基醚	N.F	-	-	8.78	
其他类							
74	4.66	二氧化碳	N.F	-	0.91	1.72	
75	4.68	一氧化二氮	N.F	1.83	-	-	
76	9.85	环十四酮肟	N.F	-	-	0.78	
77	49.47	2,6-二甲基吡嗪	1500.0	-	0.63	<0.1	
78	53.28	O-癸基-羟胺	N.F	-	-	0.45	
79	68.34	甲氧基苯基肟	N.F	-	-	0.62	
80	81.93	己内酰胺	N.F	-	0.39	-	

注：“N.F”即“Not Found”，表示未查到该物质的阈值；“-”表示未检测到该物质。

为进一步可视化不同发酵剂对火腿风味品质的影响，以 ROAV≥1 的 14 种物质进行主成分分析（PCA），结果如图 4 所示。

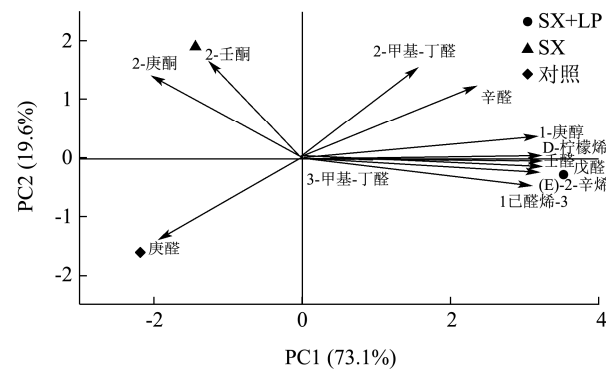


图 4 三种火腿主体风味主成分双图

Fig.4 Principal component analysis biplot for selected volatile of three kinds fermented ham

在 PC1 上，SX+LP 样品位于正半轴，SX 样品和对照样品位于负半轴，表明 SX+LP 样品的风味与 SX 样品和对照样品存在显著差异，而 SX 样品和对照样品风味类似。同时，绝大部分主体风味物质在 PC1 上载荷较大，可用于判别 SX+LP 样品；仅 2-庚酮、2-壬酮和庚醛的载荷为负，2-庚酮、2-壬酮可用于区分 SX 样品，而庚醛可区分对照样品。在 PC2 上，除 2-庚酮和 2-壬酮外，2-甲基-丁醛和辛醛同样可用于 SX 样品的区分，而仍仅有庚醛可区分对照样品。该结果与表 6 存在一致性，更加明确三种火腿风味品质的优劣顺序为：SX+LP 样品>SX 样品>对照样品。

3 结论

研究首先采用单因素试验和响应面中心组合设计，以真空冷冻干燥菌体存活率为评价指标，对木糖葡萄球菌和植物乳杆菌的冻干保护剂配方进行优化。

然后利用气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）分析接种不同发酵剂的火腿风味组成。结果显示，木糖葡萄球菌的最优冻干保护剂配方为：脱脂乳 8.05%、蔗糖 8.83%、山梨糖醇 7.78%；植物乳杆菌冻干保护剂配方为脱脂乳 6.43%、蔗糖 7.91%、山梨糖醇 4.28%。SX 发酵剂和 SX+LP 发酵剂火腿中醛、醇、酸、酚类物质的种类和含量均明显提高，而烃类和醚类物质的含量显著降低。对风味物质进行 ROAV 分析共发现 14 种主体风味，三组火腿共有的为：D-柠檬烯、2-甲基丁醛、3-甲基丁醛、己醛、辛醛和壬醛，且 SX+LP 样品的主体风味数量最多。以主体风味进行 PCA 分析，进一步表明木糖葡萄球菌和植物乳杆菌均能改善发酵火腿的风味品质，且复合发酵剂效果优于单菌种发酵剂。

参考文献

[1] 蔡鲁峰,邓高毅,黄亚芳,等.肉品发酵剂及肉品发酵技术优化的研究现状[J].食品与发酵工业,2014,40(9):134-138
CAI Lu-feng, DENG Gao-yi, HUANG Ya-fang, et al. Meat starter cultures and the research status of meat fermentation technology optimization [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(9): 134-138

[2] 颜巧丽,邓福明,陈卫军,等.直接式木葡萄糖醋酸杆菌发酵剂的保护剂筛选研究[J].广东农业科学,2014,41(18):105-109
YAN Qiao-li, DENG Fu-ming, CHEN Wei-jun, et al. Research on screening of freeze-dried protectants for DVS *Gluconacetobacter xylinum* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(18): 105-109

[3] 陈延,应铁进,萧山萝卜干发酵乳酸菌冻干保护剂的优化研究[J].中国食品学报,2018,18(7):164-170

- CHEN Yan, YING Tie-jin. Optimization of stabilizer for lyophilization of *Leuconostoc lactis* from Xiaoshan pickle radish [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(7): 164-170
- [4] Jagannath A, Raju P S, Bawa A S. Comparative evaluation of bacterial cellulose (nata) as a cryoprotectant and carrier support during the freeze drying process of probiotic lactic acid bacteria [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(8): 1197-1203
- [5] 舒艳丽.木糖葡萄球菌在肉制品及其生产过程中的适应机制研究进展[J].食品安全导刊,2018,3:67-68
- SHU Yan-li. Advances in research on adaptation mechanism of *Staphylococcus aureus* in meat products and their production process [J]. China Food Safety Magazine, 2018, 3: 67-68
- [6] 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 Rui-fang, CHEN Xi, QI Biao, et al. Effect of *Lactobacillus* starter cultures on the volatile flavor components of sour meat [J]. Meat Research, 2018, 32(4): 48-55
- [7] 郭瑞,石晶红,朱效兵,等.植物乳杆菌发酵风干牛肉干与传统风干牛肉干品质对比分析[J].肉类工业,2018,8:33-34,40
- GUO Rui, SHI Jing-hong, ZHU Xiao-bing, et al. Comparative analysis of the quality of fermented air-dry dried beef of *Lactobacillus plantarum* and traditional air-dry dried beef [J]. Meat Industry, 2018, 8: 33-34, 40
- [8] 王萧,袁星露,许慧卿,等.木糖葡萄球菌对发酵香肠挥发性风味化合物的影响[J].科技创新导报,2011,3:208
- WANG Xiao, YUAN Xing-lu, XU Hui-qing, et al. Effect of *Staphylococcus xylosus* on volatile flavor compounds in fermented sausage [J]. Science and Technology Innovation Herald, 2011, 3: 208
- [9] Ba H V, Seo H W, Seong P N, et al. *Lactobacillus plantarum* (KACC 92189) as a potential probiotic starter culture for quality improvement of fermented sausages [J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2018, 38(1): 189-202
- [10] Bosse (née Danz) R, Gibis M, Schmidt H, et al. Nitrate reductase activity of *Staphylococcus carnosus* affecting the color formation in cured raw ham [J]. Food Research International, 2016, 85: 113-120
- [11] 张新亮,徐幸莲.干腌火腿风味研究进展[J].食品科学,2007, 8:510-513
- ZHANG Xin-liang, XU Xing-lian. Research development of dry-cured ham flavor [J]. Food Science, 2007, 8: 510-513
- [12] Papamanoli E, Kotzekidou P, Tzanetakis N, et al. Characterization of *Micrococcaceae* isolated from dry fermented sausage [J]. Food Microbiology, 2002, 19(5): 441-449
- [13] Barbieri G, Bolzoni L, Parolari G, et al. Flavor compounds of dry-cured ham [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1992, 40(12): 2389-2394
- [14] Perez-santaescolastica C, Carballo J, Fulladose E, et al. Effect of proteolysis index level on instrumental adhesiveness, free amino acids content and volatile compounds profile of dry-cured ham [J]. Food Research International, 2018, 107: 559
- [15] 索效军,张年,李晓峰,等.羊肉风味物质及影响因素的研究进展[J].湖北农业科学,2012,51(23):5259-5263
- SUO Xiao-jun, ZHANG Nian, LI Xiao-feng, et al. Research progress in mutton flavor substances and influencing factors [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2012, 51(23): 5259-5263
- [16] 刘晓强,刘金玉,逯家富.单一菌种和混合菌种发酵对发酵火腿品质的影响[J].食品工业,2012,33(9):64-66
- LIU Xiao-qiang, LIU Jin-yu, LU Jia-fu. Influence to fermentation ham quality by the sole microbial starter and the mix microbial starter [J]. The Food Industry, 2012, 33(9): 64-66
- [17] 熊涛,黄锦卿,宋苏华,等.植物乳杆菌真空冷冻干燥保护剂配方优化[J].南昌大学学报(理科版),2010,34(6):561-565
- XIONG Tao, HUANG Jin-qing, SONG Su-hua, et al. Formulation of *Lactobacillus plantarum* vacuum freeze-drying protectant [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2010, 34(6): 561-565
- [18] 贾娜,马宏慧,刘登勇,等.干酪乳杆菌-木糖葡萄球菌直投式复合发酵剂的制备[J].中国食品学报,2015,15(8):115-120
- JIA Na, MA Hong-hui, LIU Deng-yong, et al. Preparation of direct vat starter culture of *Lactobacillus casei* and *Staphylococcus xylosus* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(8): 115-120
- [19] Lee S B, Kim D H, Park H D. Effects of protectant and rehydration conditions on the survival rate and malolactic fermentation efficiency of freeze-dried *Lactobacillus plantarum*, JH287 [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(18): 7853-7863
- [20] Raquel F S, Elizabeth H N, Beatriz T I, et al. Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents [J]. Food Research International, 2019,

- 115: 90-94
- [21] 李志敏.利用木糖葡萄球菌和植物乳杆菌进行液体发酵改良马氏珠母贝酶法提取物的风味研究[D].湛江:广东海洋大学,2010
- LI Zhi-min. Flavor improvement of enzymatic extracts of *Pinctada martensii* entrails by liquid fermentation combination with *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2010
- [22] 赵景丽,赵改名,柳艳霞,等.谷氨酸美拉德反应在金华火腿挥发性风味物质形成中的作用[J].中国食品学报,2014,14(9):110-115
- ZHAO Jing-li, ZHAO Gai-ming, LIU Yan-xia, et al. The role of Maillard reaction about glutamate in the generation of volatile flavor compounds of Jinhua ham [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(9): 110-115
- [23] 王恺,慕妮,李亮,等.不同发酵剂对发酵香肠挥发性风味物质的影响[J].食品工业科技,2013,34(14):177-181,196
- WANG Kai, MU Ni, LI Liang, et al. Analysis of aroma components in fermented sausage with different starter cultures [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(14): 177-181, 196
- [24] 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,2008,7:370-374
- LIU Deng-yong, ZHOU Guang-hong, XU Xing-lian, et al. “ROAV” method: A new method for determining key odor compounds of rugao ham [J]. Food Science, 2008, 7: 370-374
- [25] 孙宝国.食用调香术[M].北京:化学工业出版社,2017
- SUN Bao-guo. The Technology of Food Flavoring [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2017
- [26] John C. Flavor-base 2001 (Demo) [DB/OL]. <http://www.leffingwell.com/flavbase.htm>
- [27] 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
- LIU Deng-yong. Establishment of odor fingerprint technology and its application in dry-cured meat products [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2008
- [28] Coutron-gamboti C, Gros J B. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing [J]. Food Chemistry, 1999, 64: 95-101
- [29] Marušić N, Vidaček S, Janči T, et al. Determination of volatile compounds and quality parameters of traditional Istrian dry-cured ham [J]. Meat Science, 2014, 96(4): 1409-1416
- [30] García-gonzález D L, Tena N, Aparicio-ruiz R, et al. Relationship between sensory attributes and volatile compounds qualifying dry-cured hams [J]. Meat Science, 2008, 80(2): 315-325

(上接第 143 页)

- [19] 王长远,许凤,张敏.超声波处理时间对米糠蛋白理化功能特性的影响[J].中国粮油学报,2014,29(12):43-47
- WANG Chang-yuan, XU Feng, ZHANG Min. Effect of ultrasound time on physicochemical and functional properties of rice bran protein [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2014, 29(12): 43-47
- [20] 王中江,江连洲,魏冬旭,等.pH 值对大豆分离蛋白构象及表面疏水性的影响[J].食品科学,2012,33(11):47-51
- WANG Zhong-jiang, JIANG Lian-zhou, WEI Dong-xu, et al. Effect of pH on conformation and surface hydrophobicity of soybean protein isolate [J]. Food Science, 2012, 33(11): 47-51
- [21] 齐宝坤,江连洲,王欢,等.离子强度对大豆 11S 球蛋白表面疏水性及结构的影响[J].食品科学,2018,39(8):39-44
- QI Bao-kun, JIANG Lian-zhou, WANG Huan, et al. Effect of ionic strength on surface hydrophobicity and structure of 11s glycinin [J]. Food Science, 2018, 39(8): 39-44
- [22] 吴隆坤,江连洲,王丽娟,等.不同模式超声预处理对莲子蛋白酶解物及其结构的影响[J].食品科学,2018,39(23):100-105
- WU Long-kun, JIANG Lian-zhou, WANG Li-juan, et al. Effect of ultrasonic pretreatment with different working modes on enzymatic hydrolysis and structural characteristics of lotus seed protein [J]. Food Science, 2018, 39(23): 100-105
- [23] 毛丽.基于不同工作模式超声预处理的麦胚酶解及其产物活性和稳定性的研究[D].镇江:江苏大学,2016
- MAO Li. Effect of different working mode of ultrasound pretreatment on enzymatic from wheat germ and evaluating the activity and stability of hydrolysates [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016