基于 LC-MS/MS 分析不同菌剂接种发酵泡青菜非挥发性代谢物的差异

杨小云[1]，李艾蒙[1]，张春容[2]，贾利蓉[1*]

（1.四川大学轻工科学与工程学院,四川成都 610065）（2.宜宾四川大学产业技术研究院,四川宜宾 644000）

摘要：为了探究不同菌剂接种发酵对泡青菜品质的影响，该研究以小叶芥菜为原料，设置三组接种发酵：LPMA（植物乳植杆菌+肠膜明串珠菌+乳酸片球菌）、LPA（植物乳植杆菌+乳酸片球菌）、LP（植物乳植杆菌），与 NF（自然发酵）对照，采用 LC-MS/MS 技术分析非挥发性代谢物差异。结果表明，LPMA 组感官评分最高（82.86 分），4 组样品共鉴定 257 种化合物，涵盖有机酸、类黄酮、维生素等 11 类成分，接种发酵组（LPMA、LPA、LP）与 NF 代谢轮廓显著分离。筛选出 67 种差异代谢物，其中有机酸（丁二酸等）、鲜味氨基酸（L-谷氨酸等）、酯类（乙酸苯酯等）及功能活性物质（绿原酸等）在接种组中显著富集，而 NF 中苦味物质（4-氧代脯氨酸）、生物胺（苯乙胺）及潜在风险成分（植烷酸）含量较高。LPMA 表现出最优特性，其染料木素、甜橙黄酮、*β*-胡萝卜素及维生素 B_2 含量较高，同时抑制了植烷酸等风险物质。研究证实，复合菌剂接种可优化泡青菜的风味、功能活性及食用安全性，为进一步开发兼具品质稳定性和风味协调性的发酵剂提供理论参考。

关键词：泡青菜；接种发酵；代谢组学；差异分析

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.8.0672

Differences Analysis of Non-volatile Metabolites of Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains Based on LC-MS/MS

YANG Xiaoyun[1], LI Aimeng[1], ZHANG Chunrong[2], JIA Lirong[1*]

(1.College of Biomass Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

(2.Institute of Industrial Technology, Sichuan University, Yibin 644000, China)

Abstract: To investigate the effects of different starter cultures on the quality of fermented mustard, *Brassica juncea* was used as the raw material, and three inoculated fermentation groups were established: LPMA (comprising *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, and *Lactobacillus pentosus*), LPA (*L. plantarum*, and *L. pentosus*), and LP (*L. plantarum* alone), with a natural fermentation group (NF) serving as the control. Non-volatile metabolites were analyzed using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The LPMA group had achieved the highest sensory score (82.86). A total of 257 compounds were identified across the four groups, encompassing 11 major categories such as organic acids, flavonoids, and vitamins. Principal component analysis revealed a clear metabolic distinction between the inoculated groups (LPMA, LPA, LP) and the NF. Sixty-seven key differential metabolites were identified. Organic acids (e.g., succinic acid), umami amino acids (L-glutamic acid), esters (e.g., phenylacetic acid ethyl ester), and bioactive compounds (e.g., chlorogenic acid) were significantly enriched in the inoculated groups. In contrast, the NF exhibited higher levels of bitter compounds (4-oxoproline), biogenic amines (phenylethylamine), and potentially harmful substances (phytanic acid). Among the inoculated groups, the LPMA demonstrated the most favorable metabolic profile, with significantly higher levels of daidzein, hesperetin, *β*-carotene, and vitamin B2, while effectively suppressing the accumulation of phytanic acid. These findings confirm that the application of compound starter cultures can enhance the flavor, functional activity, and food safety of fermented mustard, providing theoretical support for the development of fermentation agents with improved stability and flavor harmony.

Key words: fermented mustard; inoculated fermentation; metabolomics; differential analysis

收稿日期：2025-05-15；修回日期：2025-07-24；接受日期：2025-07-28

基金项目：成都市科技局重点研发支撑计划项目（2024-YF05-00383-SN）

作者简介：杨小云（1999-），女，硕士研究生，研究方向：食品工程，E-mail：xyunyxy@163.com

通讯作者：贾利蓉（1972-），女，博士，教授，研究方向：农产品贮藏与加工，E-mail：jialirong@scu.edu.cn

泡青菜是以十字花科植物芥菜（*Brassica juncea (*L.*) Czern.*）为核心原料，经乳酸菌主导的微生物发酵过程加工而成的传统蔬菜发酵制品[1]，该发酵体系不仅保留了植物原料的膳食纤维与活性物质，更通过代谢转化产生特征性风味化合物。川渝地区泡青菜的传统制作工艺主要依赖于自然发酵，其主要利用环境中自然存在的乳酸菌进行发酵，然而，这种工艺存在清洁度不足、发酵周期长、产品质量不可控等问题[2]。近年来，随着食品工业技术的发展，人工接种发酵的工艺逐渐应用于泡青菜生产。乳酸菌接种发酵可以使发酵体系迅速酸化，抑制腐败及致病微生物的生长[3]，还可以降解泡菜发酵过程中产生的亚硝酸盐，增强泡菜食用的安全性[4]。隋明等[5]发现接种植物乳植杆菌与鼠李糖乳杆菌发酵的甘蓝泡菜口感更加细腻，品质更加稳定；朴泓洁等[6]研究证实，接种肠膜明串珠菌可显著缩短四川泡菜的发酵周期，同时增强产品的食用安全性；经骐源等[7]发现，布氏乳杆菌、植物乳植杆菌与毛榛毕赤酵母的复合菌剂可显著提升泡萝卜的营养价值与风味层次。目前经过研究并报道的泡菜优势乳酸菌属包括：明串珠菌属、片球菌属、链球菌属、乳杆菌属和片球菌属[8]；菌种主要有：干酪乳杆菌、戊糖乳杆菌、肠膜明串珠菌、嗜酸乳杆菌、鼠李唐乳杆菌、植物乳植杆菌、戊糖片球菌和乳酸片球菌[9]。其中，肠膜明串珠菌与植物乳植杆菌等菌株常被选作核心发酵剂。

泡菜发酵作为多阶段的生物化学转化过程，能够带来独特的风味特征和营养价值。发酵产物的化学组成具有高度多样性，这些成分在泡菜品质的构建中起到关键作用[10]。运用代谢组学技术追踪发酵体系中的小分子代谢产物，能够有效解析食品的品质形成机制。例如，马敬宜等[11]通过非靶向代谢组学分析发现，信阳红茶发酵过程中儿茶素、氨基酸、醇类等成分的代谢转化，直接驱动了其滋味与香气的形成。Xiao 等[12]整合转录组与代谢组学技术，阐明了四川泡菜风味形成的分子机制，指出含硫化合物、氨基酸和有机酸，是赋予泡菜酸鲜风味的关键代谢物。研究证实，代谢组学技术能够系统揭示发酵食品中风味物质的动态变化及其调控路径，然而结合代谢组学分析接种发酵对于泡菜品质影响的研究还较少。在前期实验中通过对 5 种常用于泡青菜发酵的乳酸菌（植物乳植杆菌、肠膜明串珠菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌、乳酸乳球菌）进行不同菌种组合和配比试验，筛选出了发酵周期最短且感官品质最佳的菌剂配方，即植物乳植杆菌:乳酸片球菌:肠膜明串珠菌=4:1:1。为进一步明确不同菌剂对泡青菜发酵的影响，本研究以小叶芥菜为原料，复配植物乳植杆菌、肠膜明串珠菌及乳酸片球菌作为接种菌剂，通过 LC-MS/MS 技术，分析单菌及多菌组合接种发酵泡青菜的非挥发性代谢产物差异，以探究不同菌剂对泡青菜质量、风味、安全性及健康价值的影响，为进一步开发兼具品质稳定性和风味协调性的发酵剂提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小叶芥菜、无碘食盐、多晶冰糖、芹菜、辣椒、大蒜、香辛料、泡菜坛（8 L），市售；植物乳植杆菌、乳酸片球菌（均为直投式菌粉，活菌数约 1×10^{10} CFU/g），山东中科嘉亿生物工程有限公司；肠膜明串珠菌（直投式菌粉，活菌数约 1×10^{10} CFU/g），维益肽（广东）生物科技有限公司；甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯），赛默飞世尔科技公司；甲酸（色谱纯），梯希爱(上海)化成工业发展有限公司。

1.2 仪器与设备

H1850-R 冷冻离心机，湘潭湘仪仪器有限公司；MB-96 组织研磨器，浙江美壁仪器有限公司；0.22 μm PTFE 滤膜，天津市津腾实验设备有限公司；Vanquish 液相色谱仪、Q Exactive 质谱仪，赛默飞世尔科技公司。

1.3 试验方法

1.3.1 泡青菜样品的制作

将新鲜的小叶芥菜除去杂质和不可食用部分，对半切开，清洗、沥干，晾晒至萎焉后称重入坛，按菜水比 1:3 加入纯净水，同时加入菜水总质量 4.5 wt.%的食盐、1.5 wt.%多晶冰糖、4 wt.%辣椒大蒜及芹菜混合蔬菜、0.15 wt.%混合香辛料和 0.2 wt.%直投式乳酸菌，菌粉溶解于无菌生理盐水中，于 37 ℃恒温培养箱中预先活化 30 min，发酵环境中活菌数约为 2×10^{7} CFU/g。根据接入菌种的不同，分为 LPMA（植物乳植杆菌:肠膜明串珠菌:乳酸片球菌=4:1:1）、LPA（植物乳植杆菌:乳酸片球菌=2:1）、LP（植物乳植杆菌单菌种）和 NF（自然发酵）4 个实验组，于室温下（25~30 ℃）、自然湿度环境下密封发酵 15 d。

1.3.2 感官评价

挑选 10 名经过培训的评价员（男女各半）组成感官评价小组，对发酵成熟的泡青菜进行感官评价，具体评分标准及分数如表 1 所示。

表 1 泡青菜感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria for fermented mustard

评分指标	评分标准	分值/分
色泽（25 分）	色泽黄亮、有光泽、不发黑	20~25
	色泽暗淡，无光泽	10~20
	色泽发黑或发白	0~10
香气（25 分）	无生青味，具有泡菜清香和发酵香气	20~25
	泡菜清香和发酵香气较淡	10~20
	有异味，缺乏泡菜香气	0~10
质地（25 分）	菜体脆嫩，汁液饱满，不发硬或发软	20~25
	菜体较脆，肉质较为饱满	10~20
	菜体绵软，缺乏泡青菜口感	0~10
滋味（25 分）	酸咸适中，风味鲜美，无苦味或涩味	20~25
	酸咸适中，具有泡菜风味	10~20
	缺乏泡菜应有滋味	0~10

1.3.3 非挥发性风味物质的测定

非挥发性代谢物通过液相色谱-串联质谱联用系统（LC-MS/MS）进行非靶向分析。样品预处理如下：取发酵 15 d 的成熟泡青菜样本 1.0 g，加入 5 mL 预冷的 80%（体积分数，下同）甲醇水溶液，冰浴条件下匀浆 2 min，静置提取 1 h 后离心取上清液，经 0.22 μm 有机系滤膜过滤，取 100 μL 过滤后上清液，加入 5 μL 内标溶液，充分混匀后转移至 LC 进样小瓶待测。色谱参数：柱温 40 ℃，流量 0.25 mL min^{-1}，进样量 2 μL；正离子模式下流动相为 0.1%甲酸乙腈（B2）和 0.1%甲酸水（A2），梯度洗脱程序为 0~1 min（2% B2）、1-9 min（2%~50% B2）、9~12 min（50%~98% B2）、12~13.5 min（98% B2）、13.5~14 min（98%~2% B2）、14~20 min（2% B2）；负离子模式下流动相为乙腈（B3）和 5 mmol L^{-1} 甲酸铵水（A3），梯度程序与正离子模式一致。质谱条件：正/负离子喷雾电压分别为 3.50 kV 和-2.50 kV，鞘气 30 mL min^{-1}，辅助气 10 mL min^{-1}，毛细管温度 325 ℃；一级全扫描分辨率 70 000（质荷比 *m/z* 100~1 000），二级裂解采用 HCD（碰撞能量 30 eV，分辨率 17 500），动态排除冗余 MS/MS 信号。为评估仪器稳定性和数据重复性，将等体积的所有样品提取液混合制备成质控（QC）样品，通过监控 QC 样品中特征离子色谱峰的保留时间漂移和峰强度相对标准偏差（RSD%）来评估系统稳定性。

1.3.4 数据质控

进行峰检测、峰过滤、峰对齐处理，得到物质定量列表，参数设置有 bw=2，ppm=15，peakwidth=c(5,30)，mzwid=0.015，mzdiff=0.01，method=centWave。采用公共数据库 HMDB、massbank、LipidMaps、mzcloud、KEGG 等进行物质的鉴定，参数设置为 ppm<30 ppm[13]。使用总峰归一化，即基于样本中单一代谢物定量值与所有代谢物的定量值总和的比例换算，实现归一化，进行数据矫正，消除系统误差。

1.4 数据分析

每个实验重复 3 次平行，基于所测定到物质的相对质量进行数据分析，使用 SIMCA-P 14.1 进行偏最小二乘判别分析（Partial Least Squares Discriminant Analysis，PLS-DA）、主成分分析（Principal Component Analysis，PCA）、层次聚类分析（Hierarchical Cluster Analysis，HCA）、变量投影重要性分析（Variable Importance in Projection，VIP），使用 IBM SPSS Statistics 26 进行方差分析和显著性分析，OriginPro 2021 进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 不同菌剂接种发酵泡青菜的感官评分差异

对发酵 15 d 的泡青菜进行感官评价，将每一项得分分值与该项满分相除，绘制雷达图（图 1）。结果表明，LPMA 组的香气评分（21.30）显著高于其他实验组（P<0.05），这可能由于肠膜明串珠菌能够快速启动发酵，加速泡青菜成熟和产香速率，同时肠膜明串珠菌的酯酶活性能够催化生成己酸乙酯和苯乙醇，降低壬醛等异味物质[14]。LPMA 和 LPA 组的色泽和滋味评分显著高于 LP 和 NF 组（P<0.05），这可能与多菌种复配发酵导致类胡萝卜素、氨基酸等代谢物含量较高，同时植烷酸等异味物质含量较低有关。LPMA 组感官总分最高达到 82.86 分，与 Luo 等[15]在复合菌剂泡菜研究中的结论相近，验证了多菌种协同对传统发酵食品品质提升的可行性。

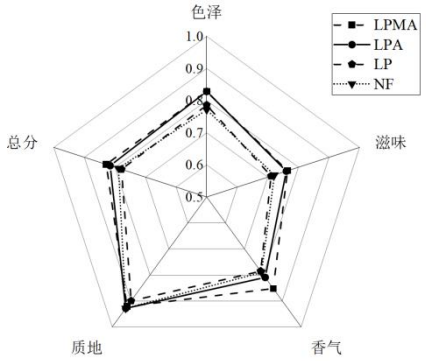


图 1 不同菌剂对泡青菜成品感官评分的影响

Fig.1 Effect of different strains of bacteria on sensory scores of finished fermented mustard

2.2 不同菌剂接种发酵泡青菜的代谢轮廓差异

为了准确、客观地对 3 组菌剂接种发酵和自然发酵泡青菜的内质成分进行表征，基于 LC-MS/MS 技术对泡青菜中的非挥发性代谢产物进行鉴定。如图 2A、B 所示，代谢物在 ESI（+）、ESI（−）模式下均较好地分离。根据 m/z、二级质谱和保留时间（Retention Time，RT）共鉴定出 257 种非挥发性化合物，包括有机酸 65 种、脂质和类脂分子 62 种、糖类 23 种、类黄酮 22 种、酚类 14 种、核苷酸及其衍生物 13 种、氨基酸及其衍生物 13 种、类胡萝卜素 8 种、吲哚及其衍生物 8 种、维生素及其衍生物 7 种和其他化合物 23 种（图 2C）。上述代谢物在质控样本中的 RSD 均小于 20%，且 RSD＜10%的样本占总样本数量的 90.66%，表明该研究中代谢组学分析稳定可靠。

4 组样品各类代谢物的相对含量如图 3 所示，由图可知，4 种菌剂接种发酵泡青菜的各类代谢物含量存在差异。具体而言，有机酸、类黄酮、类胡萝卜素和核苷酸、氨基酸、维生素及其衍生物在接种发酵组中的含量较高，其中类黄酮在 LPMA 组中的含量显著高于其他 3 组，维生素及其衍生物在 LPMA 和 LPA 组中含量较高；糖类、脂质和类脂分子、酚类、吲哚及其衍生物在 NF 组中的含量整体高于接种发酵组，其中 LPMA 组的糖类和酚类物质显著低于其他 3 组（P<0.05）。

对 4 组泡青菜样品的代谢组学数据进行多元统计分析。如图 4A 所示，4 组样本整体表现为组内聚集和组间离散，NF 组样本在 PC1 轴上平均得分为 12.53，而接种发酵组样本在 PC1 轴上的平均得分分别为-6.05、-1.48 和-4.99，表明两者代谢轮廓存在显著差异；LPMA 组、LPA 组和 LP 组在 PC2 轴上明显区分，LPMA 组在 PC2 轴上的平均得分最高（7.40），LPA 组次之（2.34），LP 组最低（-9.14），表明不同菌剂接种发酵对泡青菜的代谢产物存在显著影响；同时 LPMA 组和 LPA 组组内聚集程度更高，LP 组和 NF 组相对离散，表明多种菌种混合发酵有利于提高泡青菜品质的稳定性。PLS-DA 模型参数 R^2X=0.663，R^2Y=0.987，Q^2=0.807（图 4B），证明该模型的解释及预测能力较强，进一步显示了 4 组样本代谢产物之间的差异。PLS-DA 置换检验图可对 PLS-DA 模型的可靠性进行检验，基于 200 次检验的结果显示，截距参数 R^2 为 0.59、Q^2 为-0.528（图 4C），证明了 PLS-DA 模型具有较高的可靠性。HCA 结果表明，4 组样品被明显地区分开，其中 LPMA 组和 LPA 组差异相对较小，NF 组与其他 3 组的差异较大（图 4D）。

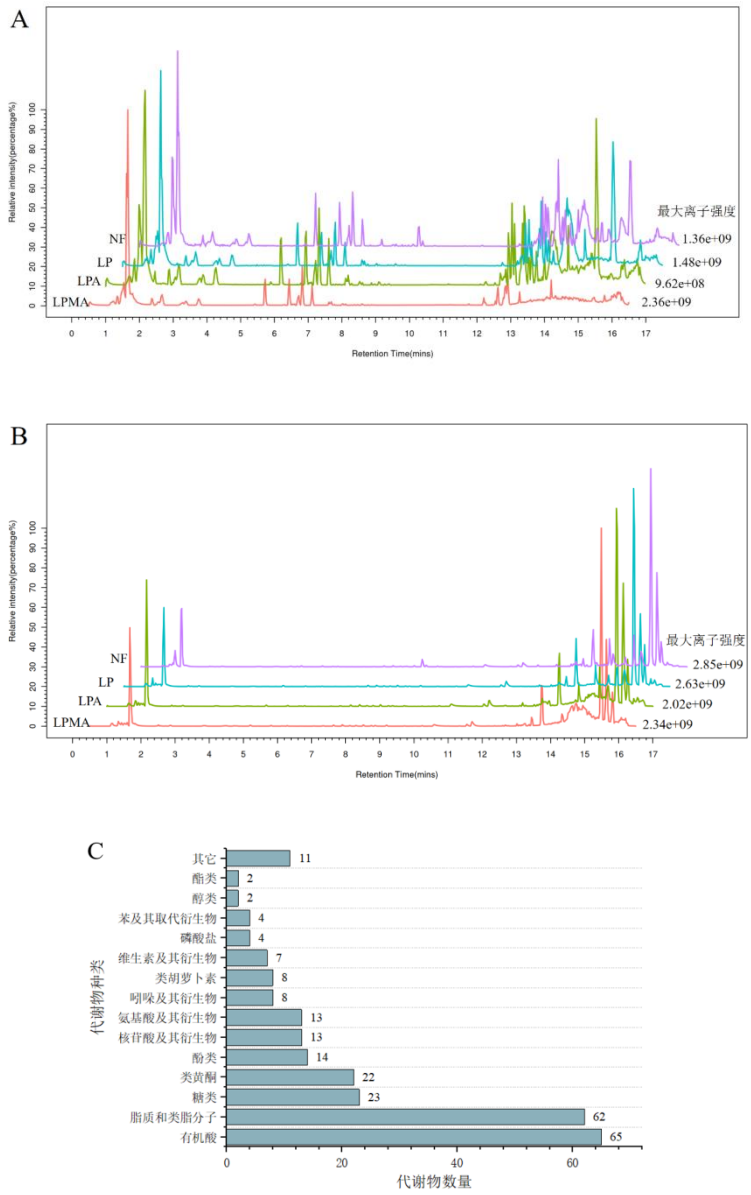
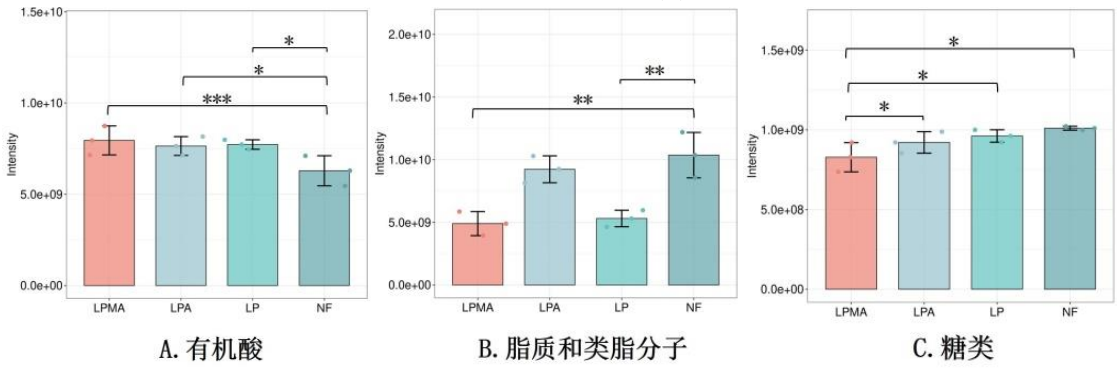


图 2 ESI（+）（A）和 ESI（−）（B）模式下典型样本基峰色谱图和鉴定代谢物分类（C）

Fig.2 Base Peak Chromatograms (BPCs) of Representative Samples in ESI(+) (A) and ESI(−) (B) Modes, and Classification of Identified Metabolites (C)



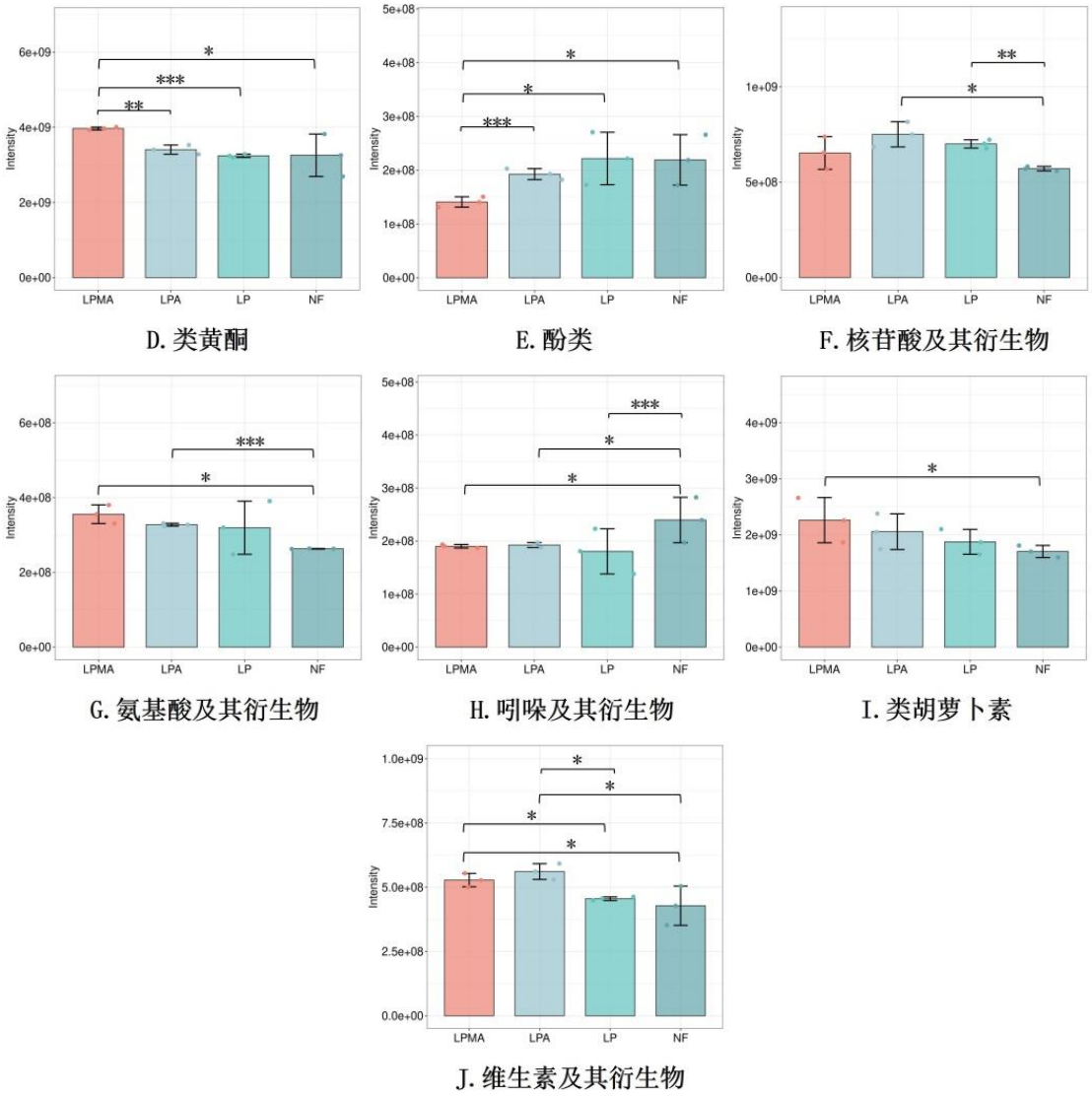
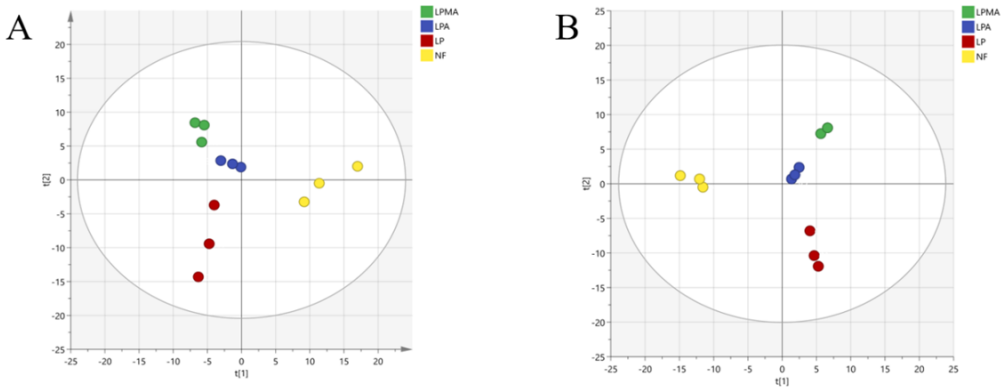


图 3 不同菌剂接种发酵泡青菜的各类代谢物总量比较

Fig.3 Comparison of Total Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains



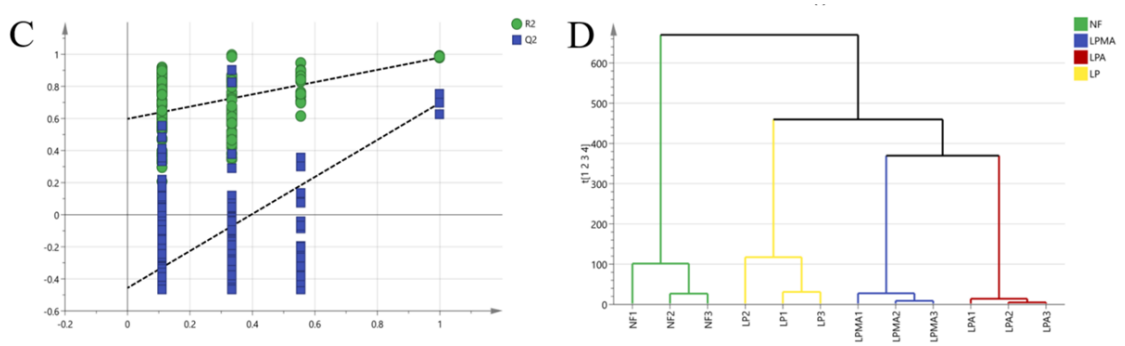


图 4 不同菌剂接种发酵泡青菜代谢物多元统计分析

Fig.4 Multivariate Statistical Analysis of Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

注：A：PCA 得分图；B：PLS-DA 得分图；C：PLS-DA 置换检验图；D：层次聚类分析（HCA）。

2.3 差异代谢物筛选及聚类分析

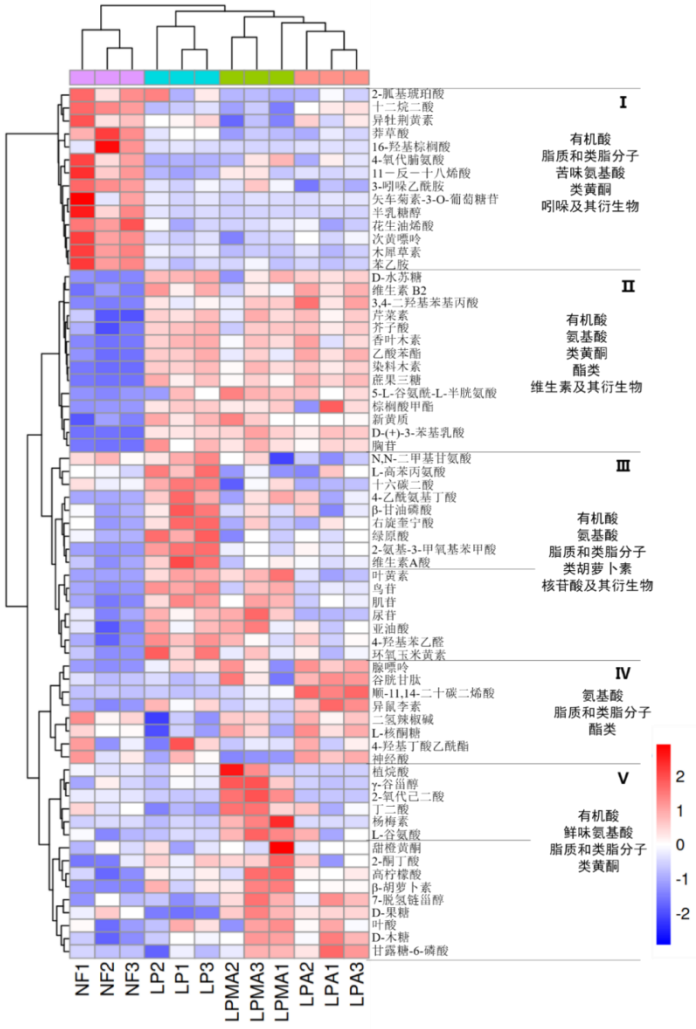


图 5 不同菌剂接种发酵泡青菜的差异代谢物聚类热图

Fig.5 Clustering Heatmap of Differential Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

基于 PLS-DA 模型，筛选出 67 种 VIP 值>1 且 P<0.05 的物质（图 5），包括 12 种有机酸、6 种氨基酸及其衍生物、11 种脂质和类脂分子、4 种类胡萝卜素、9 种类黄酮、6 种糖类、6 种核苷酸及其衍生物和 13 种其他类物质，其 VIP 值及差异分析如表 2 所示。

为了更直观地展示 4 组样本中代谢物的差异，通过热图对筛选出的 67 种关键差异化合物的含量进行可视化。红色代表化合物含量高于平均水平，蓝色代表低于平均水平，如图 5 所示，67 个差异化合物明显地分为 5 个聚类，在聚类I中，苦味氨基酸（4-氧代脯氨酸）、吲哚及其衍生物（3-吲哚乙酰胺）和部分有机酸（2-胍基琥珀酸、莽草酸）、脂质和类脂分子（十二烷二酸、16-羟基棕榈酸、11－反－十八烯酸、花生油烯酸）等在 NF 组中含量较高。在聚类II中，部分香味酯类（4-羟基丁酸乙酰酯）、维生素及其衍生物（维生素 B2）、有机酸（3,4-二羟基苯基丙酸、D-(+)-3-苯基乳酸）等在 LPMA、LPA、LP 组中含量较高。在聚类III中，部分氨基酸及其衍生物（N,N-二甲基甘氨酸、L-高苯丙氨酸）、类胡萝卜素（环氧玉米黄素、*β*-胡萝卜素）、有机酸（2-氨基-3-甲氧基苯甲酸、右旋奎宁酸、4-乙酰氨基丁酸）、核苷酸及其衍生物（鸟苷、肌苷、腺嘌呤）等在 LP 组或 LP 与 LPMA 组中含量较高。在聚类IV中，部分氨基酸（谷胱甘肽）、脂质和类脂分子（神经酸、顺-11,14-二十碳二烯酸）、酯类（4-羟基丁酸乙酰酯）等在 LPA 组中含量较高。在聚类V中，鲜味氨基酸（L-谷氨酸）、部分有机酸（2-氧代己二酸、丁二酸、叶酸、2-酮丁酸、高柠檬酸）、糖类（D-果糖、D-木糖）等在 LPMA 组或 LPMA 和 LPA 组中含量较高。

表 2 不同菌剂接种发酵泡青菜中鉴定的差异化合物

Table 2 Identified Differential Compounds in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

种类	代谢物	*m/z*	RT/s^{-1}	VIP 值	*P* 值
有机酸	2-氨基-3-甲氧基苯甲酸	168.065 2	456.5	1.298 12	<0.001
	2-氧代己二酸	158.976 1	171.4	1.289 73	<0.01
	丁二酸	118.021 2	76.1	1.263 33	<0.01
	叶酸	441.249 7	812.2	1.200 66	<0.05
	莽草酸	173.044 5	81.7	1.195 67	<0.01
	D-(+)-3-苯基乳酸	165.053 1	348.7	1.156 27	<0.01
	2-胍基琥珀酸	174.955	129.2	1.126 23	<0.001
	3,4-二羟基苯基丙酸	181.048 6	160.8	1.098 84	<0.05
	右旋奎宁酸	191.055 1	81.7	1.065 24	<0.05
	2-酮丁酸	101.022 9	93.9	1.026 67	<0.05
	4-乙酰氨基丁酸	145.031 3	191.3	1.022 09	<0.01
	高柠檬酸	207.052 2	451.8	1.016 26	<0.05
氨基酸及其衍生物	N,N-二甲基甘氨酸	102.054 6	80.5	1.067 56	<0.01
	L-谷氨酸	128.034 5	231.9	1.184 15	<0.05
	5-L-谷氨酰-L-半胱氨酸	250.143 8	896.4	1.182 48	<0.001
	L-高苯丙氨酸	179.091 5	802	1.150 75	<0.01
	谷胱甘肽	307.079 2	384.9	1.119 7	<0.001
	4-氧代脯氨酸	130.047 8	714.4	1.071 23	<0.05
脂质和类脂分子	神经酸	366.357 8	905.5	1.355 82	<0.01
	十六碳二酸	269.211 2	650.9	1.317 06	<0.01
	亚油酸	280.235 5	796.2	1.294 44	<0.01
	十二烷二酸	229.143 8	470.1	1.239 64	<0.001
	7-脱氢链甾醇	383.313 6	729.4	1.183 39	<0.01
	11－反－十八烯酸	282.262 4	777.2	1.152 24	<0.01
	16-羟基棕榈酸	272.229 7	928.9	1.115 1	<0.001
	顺-11,14-二十碳二烯酸	308.278 1	916	1.106 67	<0.001
	花生油烯酸	310.294 5	922.6	1.041 14	<0.001
	β-甘油磷酸	171.005 2	77.2	1.037 95	<0.05
	γ-谷甾醇	397.367 4	890.6	1.015 52	<0.01
类胡萝卜素	环氧玉米黄素	567.403 5	903.3	1.316 46	<0.05
	叶黄素	568.412 1	818.8	1.290 07	<0.001

种类	代谢物	*m/z*	RT/s^{-1}	VIP 值	*P* 值
	新黄质	600.410 8	837.2	1.261 99	<0.01
	β-胡萝卜素	536.176 8	966.3	1.140 68	<0.05
类黄酮	异鼠李素	315.048	745.8	1.559 39	<0.05
	染料木素	270.048 5	680.8	1.245 01	<0.001
	芹菜素	269.045 6	680.7	1.242 77	<0.001
	木犀草素	285.040 3	628.7	1.224 67	<0.05
	杨梅素	319.054 5	159	1.223 94	<0.01
	香叶木素	299.055 8	693.4	1.215 61	<0.01
	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	449.096 2	405.3	1.158 38	<0.05
	异牡荆黄素	431.096 1	489.2	1.144 85	<0.05
	甜橙黄酮	373.117 4	874.4	1.141 29	<0.05
糖类	D-果糖	163.058 9	729.1	1.358 53	<0.001
	蔗果三糖	503.166 2	101.9	1.261 66	<0.01
	L-核酮糖	133.043 3	86.1	1.164 6	<0.05
	D-水苏糖	665.219 1	147.1	1.149 67	<0.001
	D-木糖	151.094 5	34.9	1.130 47	<0.05
	半乳糖醇	182.073 8	91.6	1.121 47	<0.05
核苷酸及其衍生物	乌苷	282.084 2	288.4	1.215 7	<0.01
	肌苷	268.088	246.7	1.206 14	<0.05
	胸苷	223.027 8	745.7	1.192 74	<0.001
	腺嘌呤	134.046 6	337.3	1.169 39	<0.01
	次黄嘌呤	135.029 7	157.5	1.169 24	<0.01
	尿苷	243.060 6	176.6	1.102 44	<0.001
维生素及其衍生物	维生素 B2	375.130 3	448	1.261 88	<0.001
	维生素 A 酸	299.139 4	637.6	1.212 06	<0.01
酚类	二氢辣椒碱	306.206	817.3	1.381 19	<0.01
	绿原酸	353.094 4	411	1.254 03	<0.01
	芥子酸	223.060 5	358.5	1.169 15	<0.01
吲哚及其衍生物	3-吲哚乙酰胺	174.055	629.3	1.305 75	<0.01
酯类	乙酸苯酯	135.043 4	613.6	1.269 16	<0.05
	4-羟基丁酸乙酰酯	104.056 2	90.5	1.175 13	<0.05
	棕榈酸甲酯	270.263 7	752.6	1.052 56	<0.01
异戊二烯脂类	植烷酸	312.310 1	948.3	1.260 08	<0.001
磷酸盐	甘露糖-6-磷酸	261.042	103.7	1.239 44	<0.05
胺类	苯乙胺	120.994 9	398.5	1.216 77	<0.05
苯及其取代衍生物	4-羟基苯乙醛	136.044 9	324.8	1.011 09	<0.05

注：表中 *P* 值为 4 组样本配对检验的最小值。

2.4 关键差异代谢物 KEGG 代谢通路分析

将 67 种关键差异代谢物输入 MetaboAnalyst 6.0 中进行代谢通路富集分析，结果如图 6 所示，气泡越大表示信号通路影响（Pathway Impact，PI）越大（基于拓扑分析），颜色越深表示 P 值越小（富集分析），该途径的富集程度越显著。结果表明，3 组菌剂接种发酵和自然发酵泡青菜中的重要差异代谢物主要涉及半乳糖代谢途径，谷胱甘肽代谢途径，视黄醇代谢途径，果糖和甘露糖代谢途径，核黄素代谢途径，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径、苯丙氨酸代谢途径，与 Xiao 等[12]富集到的泡菜关键风味形成途径相似。表明不同菌剂接种发酵对泡青菜

的代谢网络具有显著影响，进而调控泡青菜中单糖类（D-水苏糖、D-果糖、半乳糖醇）、氨基酸类（L-谷氨酸、5-L-谷氨酰-L-半胱氨酸、L-高苯丙氨酸）、辅因子类（谷胱甘肽、*β*-胡萝卜素）和维生素类（维生素 B2）等物质的含量。

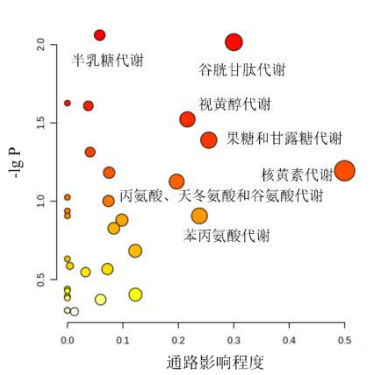


图 6 不同菌剂接种发酵泡青菜的差异代谢物 KEGG 通路富集分析

Fig.6 KEGG Pathway Enrichment Analysis of Differential Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

2.5 关键差异代谢物的功能属性分析

为进一步对比不同菌剂接种发酵对泡青菜品质的影响，本研究针对表 2 所列差异代谢物，系统筛选出与泡青菜风味特征、功能活性和食用安全性及健康价值密切相关的化合物进行归类解析。

2.5.1 风味特性物质

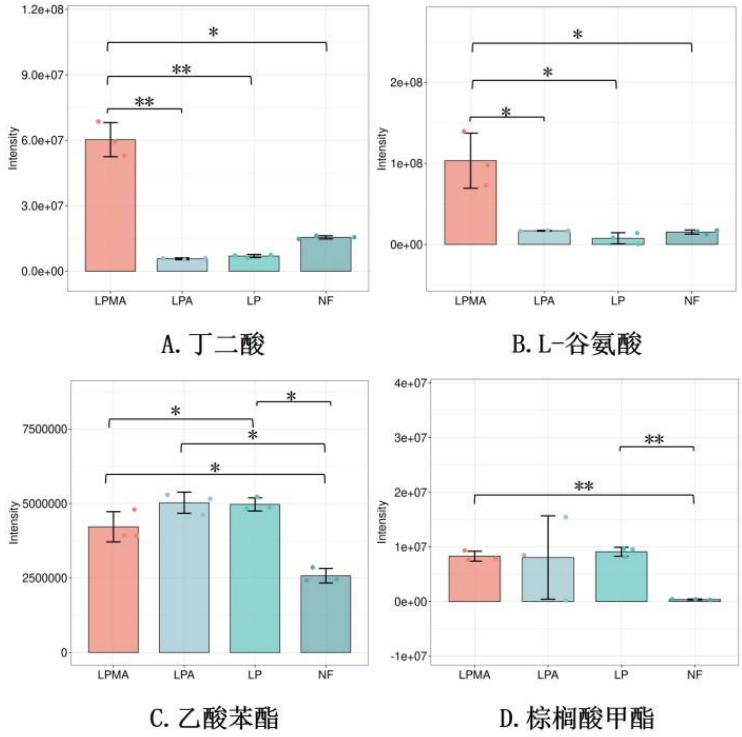


图 7 具有风味特性的差异代谢物相对含量

Fig.7 Relative Content of Flavor-Related Differential Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

在 4 组样品中鉴定到与风味相关的差异代谢物主要有丁二酸、L-谷氨酸、乙酸苯酯和棕榈酸甲酯（图 7）。其中丁二酸作为有机酸类物质，其主要来源于乳酸菌的还原性 TCA 途径，对泡青菜的酸味特征和鲜味呈现具有重要贡献[16]，其在 LPMA 组中含量最高，这可能源于三株菌的代谢互补。肠膜明串珠菌作为异型发酵菌，在发酵初期能迅速利用糖类产生乳酸、乙酸和二氧化碳，快速降低体系 pH 并形成厌氧环境。这种环境为植物乳植杆菌和

乳酸片球菌这两种同型发酵菌的生长创造了绝佳条件。在微酸性及厌氧条件下，植物乳植杆菌和乳酸片球菌的部分代谢流会从乳酸途径转向，通过三羧酸循环的替代途径或苹果酸-乳酸途径，将芥菜中固有的苹果酸、柠檬酸等前体物转化为丁二酸[17,18]。L-谷氨酸作为鲜味氨基酸的核心成分[19]，主要来源于微生物对芥菜蛋白质的分解。其含量在 LPMA 组中最高（72.28%），LPA 组次之（11.79%），与 Luo 等[15]的研究结果相似，这主要归因于复合菌剂高效的协同蛋白水解作用。植物乳植杆菌以其强大的胞外蛋白酶系统而闻名，能将芥菜中的大分子蛋白质降解为多肽[20]。而肠膜明串珠菌和乳酸片球菌则拥有不同特异性的肽链内切酶和氨肽酶，能够进一步将这些多肽水解为包括 L-谷氨酸在内的游离氨基酸[21]，LP 组中含量最低 5.27%，表明单一菌种接种发酵对底物转化效率存在局限。乙酸苯酯作为酯类化合物，赋予泡青菜果香和花香特征，其阈值较低，少量即可显著增强风味的复杂性[22]，在 3 个接种发酵组中含量较高（较 NF 组提升 1.64~1.95 倍）；棕榈酸甲酯作为长链脂肪酸甲酯，呈现淡油脂味，适量存在可丰富泡菜的风味层次[23]，其在 LP 组中相对含量最高 35.28%，LPMA、LPA 组次之。接种发酵组能够产生乙醇等醇类前体，同时积累的乙酸等有机酸也为酯化提供了底物。相比之下，NF 组的微生物群落复杂，产醇产酸过程不可控，可能导致风味失衡。结果表明：LPMA 组通过多菌种代谢互补能够显著提升鲜味氨基酸和特征酸类物质含量（P<0.05），同时优化酯类物质组成；LPA 组与 LPMA 组类似，但由于缺乏肠膜明串珠菌启动发酵，其特征酸类物质合成受限；NF 组因微生物多样性导致的代谢复杂性，可能产生不良风味前体物质，Zhao 等[24]研究表明乳酸菌接种发酵能减少发酵过程中不良风味的产生；LP 组的单一菌种接种发酵虽能强化特定代谢途径，但可能存在风味物质组成单一化的局限。

2.5.2 功能活性物质

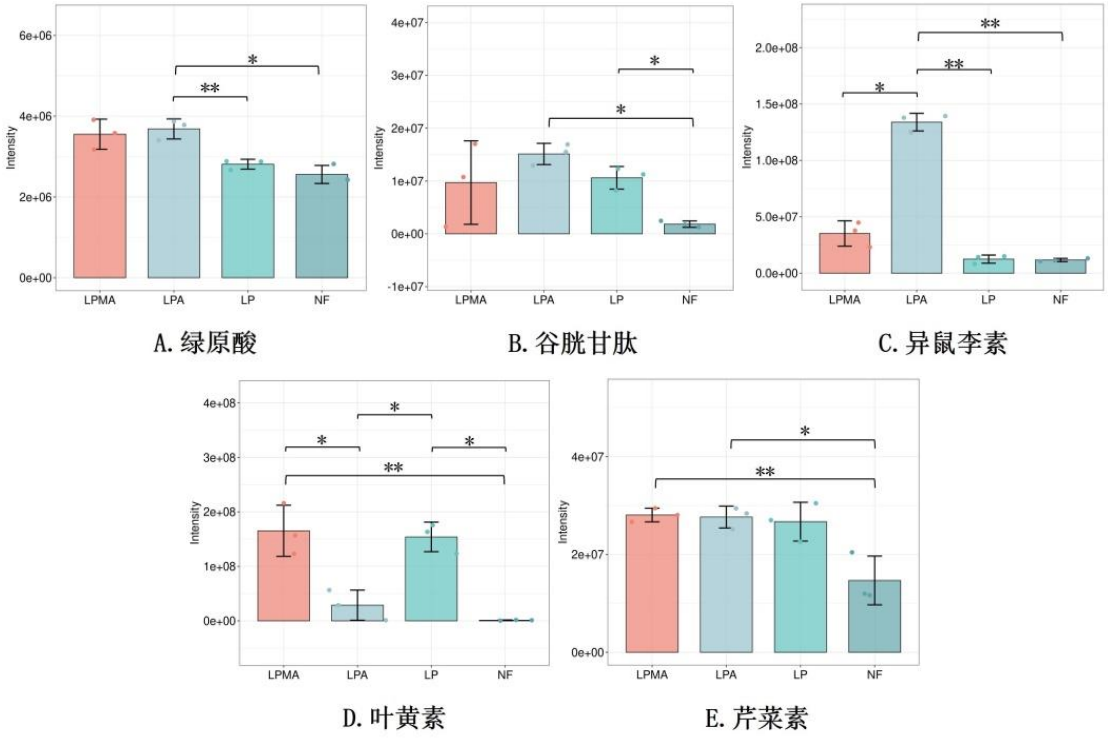


图 8 具有功能活性的差异代谢物相对含量

Fig.8 Relative Content of Bioactive Differential Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

在 4 组样品中鉴定到具有功能活性的差异代谢物主要有绿原酸、谷胱甘肽、异鼠李素、叶黄素和芹菜素（图 8）。绿原酸作为多酚类化合物，可有效清除自由基，延缓泡青菜中脂质氧化，抑制腐败菌[25]；谷胱甘肽作为内源性抗氧化剂，可以维持泡青菜体系中的氧化还原平衡，防止活性氧（ROS）导致的细胞损伤，稳定发酵进程，同时可以通过与酚类物质结合，抑制褐变反应，保持蔬菜色泽[26,27]；异鼠李素可以通过激活 Nrf2/ARE 通路增强抗氧化酶表达[28]，与绿原酸、谷胱甘肽等协同提升整体抗氧化能力；叶黄素可以通过淬灭单线态氧和自由基，保护光敏感成分[29]，与叶绿素协同维持蔬菜绿色，延缓褐变；芹菜素可以干扰腐败菌生物膜的形成，防止发酵液浑浊或泡青菜腐败[30]。以上各种具有功能活性的物质均在接种发酵组（尤其 LPMA 和 LPA 组）中含量较高，在 NF 组中含量最低（P<0.05）。一方面，芥菜等植物原料中的多酚和类黄酮（如染料木素、芹菜素）常以糖苷形式存在，

生物活性较低，植物乳植杆菌等乳酸菌能分泌高活性的 β-葡萄糖苷酶以水解糖苷键，将无活性或低活性的前体（如大豆苷）转化为高活性的苷元（如芹菜素）[31]。LPMA 组中多菌种的酶系可能具有更宽的底物谱和更高的总酶活，从而更高效地释放出多种类的活性苷元；另外，绿原酸、β-胡萝卜素和叶黄素等物质对氧气和光照敏感，极易氧化降解[32]。接种发酵，特别是 LPMA 组，通过肠膜明串珠菌的产气作用快速建立厌氧环境，同时整个菌群的代谢活动消耗了残余氧气，从而有效保护了这些不稳定化合物。结果表明接种发酵能够显著提升泡青菜功能活性物质的生物合成与稳定性。

2.5.3 食用安全性及健康价值类物质

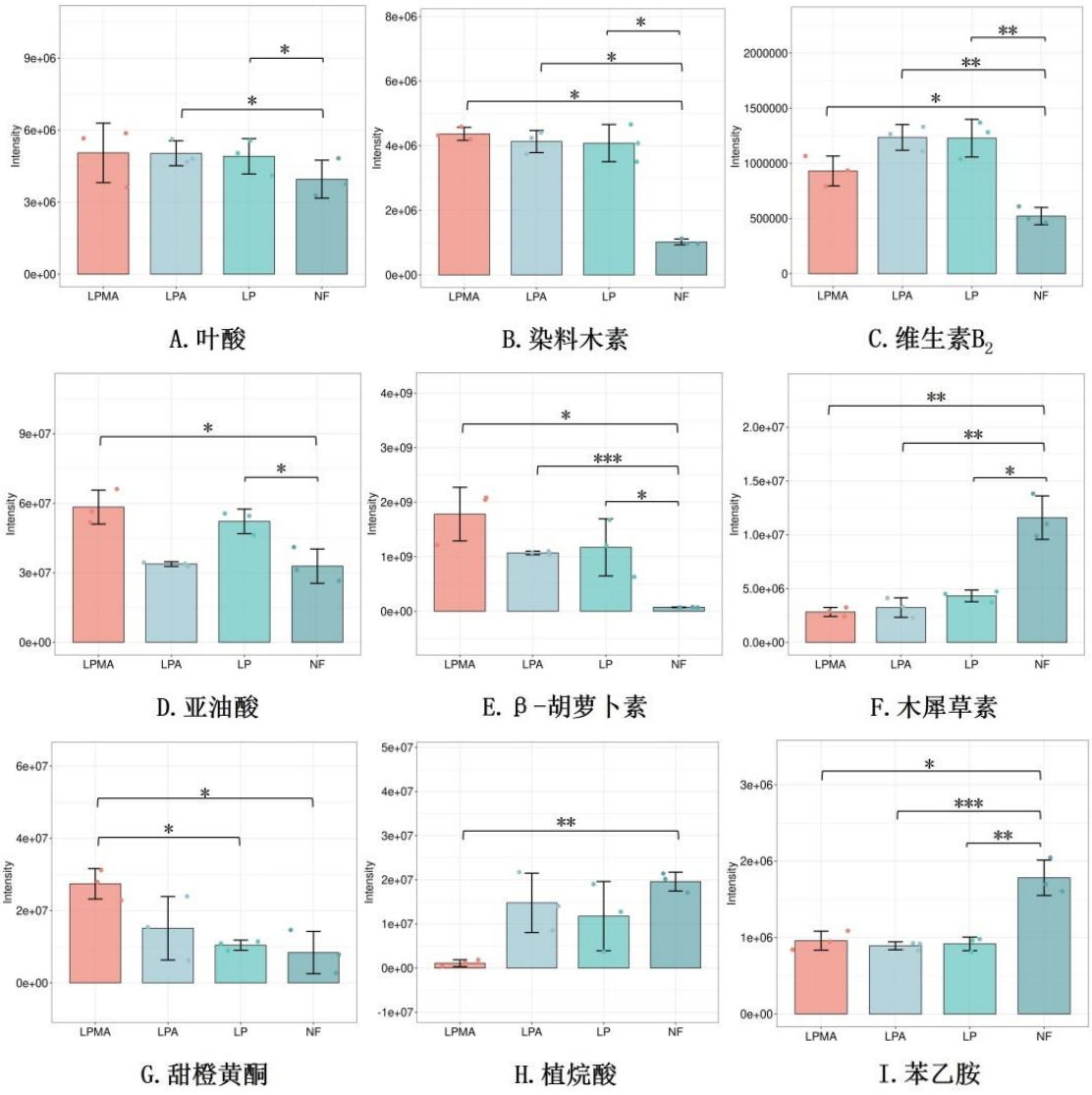


图 9 关于食用安全性和具有健康价值的差异代谢物相对含量

Fig.9 Relative Content of Food Safety-Related and Health-Beneficial Differential Metabolites in Fermented Mustard Inoculated with Different Microbial Strains

在 4 组样品中鉴定到与食用安全性有关和具有健康价值的差异代谢物主要有叶酸、染料木素、维生素 B_2、亚油酸、β-胡萝卜素、木犀草素、甜橙黄酮、植烷酸和苯乙胺（图 9），其中维生素 B_2 和苯乙胺由微生物合成，其余物质均来源于芥菜原料或辣椒等辅料，由微生物经过代谢途径分解或合成。叶酸、染料木素、维生素 B_2、亚油酸、β-胡萝卜素、甜橙黄酮在接种发酵组中的含量显著高于 NF 组（P<0.05）。叶酸作为水溶性维生素，可以参与 DNA 合成与修复，维持造血功能[33]；染料木素具有抗氧化、抗肿瘤（抑制酪氨酸激酶活性）和改善骨质疏松的功能[34]；维生素 B_2 有利于维持黏膜完整性及视觉功能[35]；亚油酸是人体必需脂肪酸，可以调节胆固醇代谢，维持细胞膜流动性，降低心血管疾病风险[36]；β-胡萝卜素作为维生素 A 前体，具有抗氧化，保护视力及免疫功能[37]；甜橙黄酮具有抗炎、抗肥胖，调节脂代谢的功能[38]。木犀草素、植烷酸和苯乙胺在 NF 组中含量显著高于接种发酵组（P<0.05）。

木犀草素可以抑制病毒包膜蛋白与宿主细胞结合，降低食源性病原体风险，减少组胺释放，缓解潜在致敏性[39]；植烷酸可能诱导氧化应激，促进炎症因子释放[40]；苯乙胺作为生物胺类，过量可引发头痛和高血压[41]，生物胺主要是由杂菌（如肠杆菌科细菌）产生的氨基酸脱羧酶催化而成[42]。接种的乳酸菌通过快速增殖、抢占营养和空间，并迅速降低 pH，强烈抑制了这些腐败菌和有害菌的生长，从源头上切断了生物胺的生成途径。在接种发酵组中，LPMA 组与 LPA、LP 组具有较大差异，具体表现为其染料木素（32.12%）、β-胡萝卜素（43.52%）和甜橙黄酮（44.71%）的相对含量显著高于其它两组，同时植烷酸（2.35%）的相对含量显著较低。结果表明：接种发酵组（尤其 LPMA 组）中具有健康价值的成分含量更高，同时具有食用安全性风险的物质含量更低，乳酸菌接种发酵可以提高泡青菜的安全性和营养价值。

3 结论

本研究通过 LC-MS/MS 代谢组学技术揭示了不同菌剂接种发酵对泡青菜品质的影响，结果表明：3 菌种复合发酵组（LPMA）感官评分最高（82.86 分），其香气、滋味及色泽评分均优于自然发酵（NF）及单菌接种组（LP）（P<0.05）；接种发酵组（尤其 LPMA、LPA 组）通过菌群协同作用显著提升有机酸、鲜味氨基酸、酯类及功能活性物质（如绿原酸、谷胱甘肽）含量，优化风味与抗氧化能力；NF 组因菌群和代谢的复杂性，积累苦味物质（4-氧代脯氨酸）及风险成分（苯乙胺、植烷酸），存在风味劣变与安全隐患。其中 LPMA 组通过多菌协同代谢，显著富集类黄酮（染料木素、甜橙黄酮）、β-胡萝卜素及维生素 B_2，同时抑制植烷酸生成，体现菌群复配对代谢网络调控的显著优势。接种发酵通过激活谷胱甘肽代谢、核黄素代谢等通路，增强抗氧化、抗炎及营养功能（如叶酸、亚油酸），并降低生物胺及氧化应激风险；NF 组中木犀草素与植烷酸的积累提示自然发酵的代谢不可控性。研究证实接种复合菌剂（如 LPMA）可调控泡青菜代谢物谱，平衡风味、功能与安全性，未来可结合宏基因组学技术，进一步解析复合菌剂的协同机制，为工业化生产高品质发酵蔬菜提供了菌剂优化策略及理论支撑。

参考文献

[1] 王玉红.芥菜（*Brassica juncea coss*.）遗传多样性及亲缘关系的研究[D].福州:福建农林大学,2016.

[2] 刘诗美,温岚,林登蕃,等.传统与接种发酵泡菜的微生物菌群及品质差异研究进展[J].中国酿造,2025,44(2):20-25.

[3] CHEN C, CHENG G, LIU Y, et al. Correlation between microorganisms and flavor of Chinese fermented sour bamboo shoot: Roles of *Lactococcus* and *Lactobacillus* in flavor formation [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 101994.

[4] ZHANG X, HAN J, ZHENG X, et al. Use of *Lactiplantibacillus plantarum* ZJ316 as a starter culture for nitrite degradation, foodborne pathogens inhibition and microbial community modulation in pickled mustard fermentation [J]. Food Chemistry: X, 2022, 14: 100344.

[5] 隋明,李俊儒,张凤英,等.接种乳酸菌制作发酵型甘蓝泡菜过程的研究[J].中国调味品,2020,45(5):152-156,162.

[6] 朴泓洁,黄存辉,金清.肠膜明串珠菌发酵对四川泡菜品质的影响[J].食品科技,2018,43(8):31-35.

[7] 经骐源,李婷,曾凡坤,等.发酵剂对泡萝卜品质的影响[J].食品科学,2021,42(22):171-177.

[8] WANG D, CHEN G, TANG Y, et al. Study of bacterial community succession and reconstruction of the core lactic acid bacteria to enhance the flavor of paocai [J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 375: 109702.

[9] ZHAO X, HU R, HE Y, et al. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria from Sichuan pickle for cholesterol lowering property and triglycerides lowering activity [J]. Food Science and Technology, 2022, 42: e09122.

[10] 汪冬冬,唐垚,伍亚龙,等.泡菜细菌多样性和风味成分研究进展[J].食品与发酵工业,2021,47(21):296-302.

[11] 马敬宜,姚衡斌,周琼琼,等.信阳红茶发酵过程中非挥发性和挥发性代谢物的动态变化[J].现代食品科技,2023,39(5):242-251.

[12] XIAO M, PENG Z, HARDIE W J, et al. Exploring the typical flavours formation by combined with metatranscriptomics and metabolomics during Chinese sichuan paocai fermentation [J]. LWT, 2022, 153: 112474.

[13] NAVARRO-REIG M, JAUMOT J, GARC ÍA-REIRIZ A, et al. Evaluation of changes induced in rice metabolome by cd and cu exposure using LC-MS with XCMS and MCR-ALS data analysis strategies [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(29): 8835-8847.

[14] 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.

[15] LUO Y, LIU Y, REN T, et al. Sichuan paocai fermented by mixed-starter culture of lactic acid bacteria [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(10): 5402-5409.

[16] 陆胜勇,肖更生,罗文珊,等.宁夏菜心不同部位发酵理化品质及挥发性风味物质的分析[J].现代食品科技,2022,38(12):364-374.

[17] LI S, TAO Y, LI D, et al. Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles [J]. Chemosphere, 2021, 276: 130090.

[18] LI T, JIANG T, LIU N, et al. Biotransformation of phenolic profiles and improvement of antioxidant capacities in jujube juice by select lactic acid bacteria [J]. Food Chemistry, 2021, 339: 127859.

[19] 谢剑平,毛健,张启东,等.风味科学的研究内涵与前沿挑战[J].食品科学技术学报,2025,43(1):1-16.

[20] MANTZOURANI I, KAZAKOS S, TERPOU A, et al. Potential of the probiotic lactobacillus plantarum ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice [J]. Foods, 2019, 8(1): 4.

[21] 李冬琪.皖北豆酱中氨肽酶产生菌的分离鉴定及其发酵效果研究[D].合肥:安徽农业大学,2023.

[22] BALDERMANN S, YANG Z, KATSUNO T, et al. Discrimination of green, oolong, and black teas by GC-MS analysis of characteristic volatile flavor compounds [J]. American Journal of Analytical Chemistry, 2014, 5(9): 620-632.

[23] 方海仙,赵玉欢,李昕昀,等.气相色谱-串联质谱法测定宝洪红茶、白茶和绿茶中的挥发性物质[J].食品安全质量检测学报,2024,15(16):144-155.

[24] ZHAO N, ZHANG C, YANG Q, et al. Multiple roles of lactic acid bacteria microflora in the formation of marker flavour compounds in traditional Chinese paocai [J]. RSC Advances, 2016, 6(92): 89671-89678.

[25] SHI H, SHI A, DONG L, et al. Chlorogenic acid protects against liver fibrosis in vivo and in vitro through inhibition of oxidative stress [J]. Clinical Nutrition, 2016, 35(6): 1366-1373.

[26] 杨晓庆,孙叶烁,张国新,等.咸水胁迫对黄瓜果实代谢物的影响[J].中国蔬菜,2025,5:70-79.

[27] 黄颖,王晓东,遇文婧.山新杨谷胱甘肽 S-转移酶编码基因 PdbGSTU 功能分析[J].北京林业大学学报,2024,46(8):68-78.

[28] ZHAO T T, YANG T L, GONG L, et al. Isorhamnetin protects against hypoxia/reoxygenation-induced injure by attenuating apoptosis and oxidative stress in H9c2 cardiomyocytes [J]. Gene, 2018, 666: 92-99.

[29] DU S Y, ZHANG Y L, BAI R X, et al. Lutein prevents alcohol-induced liver disease in rats by modulating oxidative stress and inflammation [J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015, 8(6): 8785-8793.

[30] LI C, JIANG C, JING H, et al. Separation of phenolics from peony flowers and their inhibitory activities and action mechanism on bacterial biofilm [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(10): 4321-4332.

[31] CHADHA R, BHALLA Y, JAIN A, et al. Dietary soy isoflavone: A mechanistic insight [J]. Natural Product Communications, 2017, 12(4): 1934578X1701200439.

[32] DOMONKOS I, KIS M, GOMBOS Z, et al. Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis [J]. Progress in Lipid Research, 2013, 52(4): 539-561.

[33] 霍振,庄蕾,周伟,等.叶酸对 1～21 日龄北京鸭生产性能、血浆生化指标和抗氧化能力的影响[J].畜牧兽医学报,202556(7):3327-3334.

[34] YU X, ZHU J, MI M, et al. Anti-angiogenic genistein inhibits VEGF-induced endothelial cell activation by decreasing PTK activity and MAPK activation [J]. Medical Oncology, 2012, 29(1): 349-357.

[35] ASHOORI M, SAEDISOMEOLIA A. Riboflavin (vitamin B2) and oxidative stress: A review [J]. British Journal of Nutrition, 2014, 111(11): 1985-1991.

[36] MARANGONI F, AGOSTONI C, BORGHI C, et al. Dietary linoleic acid and human health: Focus on cardiovascular and cardiometabolic effects [J]. Atherosclerosis, 2020, 292: 90-98.

[37] 杜明青,郭傲然,赵嘉琪,等.膳食脂质介导的类胡萝卜素消化吸收及递送体系研究进展[J/OL].食品工业科技,1-7[2025-05-02].

[38] 燕宪涛.发酵乳杆菌发酵参荷苓的抗肥胖功效及作用机制研究[D].扬州:扬州大学,2024.

[39] HENDRIKS J J A, ALBLAS J, VAN DER POL S M A, et al. Flavonoids influence monocytic GTPase activity and are protective in experimental allergic encephalitis [J]. The Journal of Experimental Medicine, 2004, 200(12): 1667-1672.

[40] ROCA-SAAVEDRA P, MARIÑO-LORENZO P, MIRANDA J M, et al. Phytanic acid consumption and human health, risks, benefits and future trends: A review [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 237-247.

[41] 曾新安,闫冰,李筱晴,等.几种发酵食品生物胺含量检测与食用安全性分析[J].现代食品科技,2024,40(7):236-243.

[42] 邓斯予,曹立民,隋建新.发酵食品加工与贮藏过程中生物胺的控制研究进展[J].食品安全质量检测学报,2023,14(1):156-164.