

怀集黄菜发酵微生物群落与理化品质相关性分析

杨晓¹, 李汴生^{1,2*}, 阮征^{1,2}, 张德润¹, 李丹丹¹, 雷略焕³

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东广州 510640) (3. 怀集县雷氏食品有限公司, 广东肇庆 526432)

摘要: 怀集黄菜是肇庆怀集的一种特色发酵萝卜叶菜, 仍采用步骤繁琐、耗时长的传统发酵工艺。为改进怀集黄菜传统工艺和提高产品质量, 揭示自然发酵黄菜的微生物群落结构以挖掘其菌种资源, 论文选取了当地四种具有代表性的自然发酵黄菜, 采用扩增子测序分析其微生物多样性, 并通过冗余分析、Spearman 相关性分析确定影响黄菜品质的关键微生物, 为黄菜的产业化提供理论指导。结果表明, 自然发酵黄菜具有丰富的微生物多样性, 主要细菌属包括乳杆菌属、魏斯氏菌属、片球菌属、甲基杆菌属、假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属和 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, 丰度最高的主要菌种为植物乳杆菌植物亚种 (*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*)、消化乳杆菌 (*Lactobacillus alimentarius*)、食窦魏斯氏菌 (*Weissellacibaria*)、乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactis*)、莫氏土壤杆菌 (*Agrobacterium larrymoorei*)、人参皂苷乳杆菌 (*Lactobacillus ginsenosidimitans*) 和偶氮假单胞菌 (*Pseudomonas azotoformans*)。盐度、pH 值、水分活度、总酸是影响黄菜细菌群落组成的主要因素, 乳杆菌属、片球菌属、魏斯氏菌属为促进黄菜品质的关键菌属, 种水平则体现在植物乳杆菌植物亚种、乳酸片球菌、食窦魏斯氏菌对促进黄菜酸味、色泽和质构的保持作用。研究结果表征了自然发酵黄菜的微生物群落结构和主导菌属与品质之间的关系, 有助于实现黄菜发酵过程的品质控制。

关键词: 怀集黄菜; 发酵萝卜叶; 高通量测序; 微生物群落; 相关性分析

文章编号: 1673-9078(2023)01-75-81

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.1.0230

Microbial Community Structure of Huaiji Huangcai and Its Correlations with Physicochemical Properties and Quality

YANG Xiao¹, LI Biansheng^{1,2*}, RUAN Zheng^{1,2}, ZHANG Derun¹, LI Dandan¹, LEI Luehuan³

(1.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Product Safety, Guangzhou 510640, China) (3.Huaiji Lei's Food Co. Ltd., Zhaoqing 526432, China)

Abstract: Huaiji Huangcai is a fermented radish greens product unique to Huaiji County in Zhaoqing City of Guangdong Province, China. It is produced through a meticulous, time-consuming, traditional fermentation process. Herein, we aimed to improve the traditional processing method to enhance Huaiji Huangcai quality and to elucidate the microbial community structure of naturally fermented Huangcai for the exploitation of its microbial resources. Four naturally fermented Huangcai products representative of the region were selected for microbial diversity analysis using amplicon sequencing. The core microorganisms affecting the quality of Huangcai were identified through redundancy and Spearman's correlation analysis, with the aim of providing theoretical guidance for future industrialization of Huangcai production. The results indicate that naturally fermented Huangcai had high microbial diversity, with *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, and *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium* being the main bacterial genera. Bacterial species with the highest abundances included *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Weissella cibaria*, *Pediococcus*

引文格式:

杨晓,李汴生,阮征,等.怀集黄菜发酵微生物群落与理化品质相关性分析[J].现代食品科技,2023,39(1):75-81

YANG Xiao, LI Biansheng, RUAN Zheng, et al. Microbial community structure of Huaiji Huangcai and its correlations with physicochemical properties and quality [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 75-81

收稿日期: 2020-03-03

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (2019B020212002)

作者简介: 杨晓 (1997-), 女, 硕士, 研究方向: 食品加工保藏, E-mail: 1014156170@qq.com

通讯作者: 李汴生 (1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工保藏, E-mail: febskli@scut.edu.cn

acidilactici, *Agrobacterium larrymoorei*, *Lactobacillus ginsenosidimitans*, and *Pseudomonas azotoformans*. Salinity, pH, water activity, and total acidity were the main factors affecting the bacterial community composition of Huangcai. *Lactobacillus*, *Pediococcus*, and *Weissella* were essential bacterial genera that enhanced Huangcai quality; at the species level, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, and *Weissella cibaria* contributed to the improvement of sour taste and color as well as maintaining Huangcai texture. Our study enabled the characterization of the microbial community structure of naturally fermented Huangcai and elucidated the relationships between the dominant bacteria and Huangcai quality, which is beneficial to quality control during Huangcai fermentation.

Key words: Huangcai; fermented radish greens; high-throughput sequencing; microbial community; correlation analysis

怀集黄菜是广东省肇庆市怀集县的一种特色农产品,由独特的金黄色泽而得名“黄菜”,又因其以生长期约六十日的萝卜苗为原料,故得名“六十日”^[1]。

调研发现,目前黄菜的生产尚未规模化,仍以小型加工厂和家庭作坊生产为主。黄菜的生产制作沿袭传统工艺,其流程为:萝卜叶采收→整叶→清洗→晾晒→烫漂→沥水→两轮重石压榨→加盐装坛→入埋压实→自然发酵,其制作工艺繁琐、耗时较长,生产效率低下。由于发酵微生物菌系不一,黄菜产品品质不稳定。而目前国内外鲜有对怀集黄菜的研究,其自然发酵过程形成的微生物群落组成尚未被揭示,黄菜的菌种资源也未被利用,传统制作工艺如何影响发酵品质的原理也并不清晰,限制了其规模化和产业化。

怀集黄菜在我国传统发酵蔬菜中独树一帜^[2],与韩国马尾萝卜泡菜(*Chonggak Kimchi*)^[3]、印度腌蔬菜(*Gundruk*)^[4]、日本野沢菜(*Nozawana*)^[5]等国外萝卜叶腌菜相比具有地域特色。具体体现在原料和制作工艺上,怀集黄菜以绿色叶菜为主要原料,盐为唯一配料且用量较低,的条件下,经干态常温自然发酵,其色泽金黄、口感韧脆,使其从其他发酵叶菜中脱颖而出,其中的菌种资源有待开发。朱琳等^[6]对萝卜泡菜微生物菌群的研究显示,在发酵后期,厚壁菌门为主要优势菌门,明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、魏斯氏菌属(*Weissella*)和片球菌属(*Pediococcus*)为主要菌属。

随着下一代高通量测序技术的发展,食品组学突破了传统培养方法无法展现微生物组全貌的局限^[7],成为解析复杂微生物群落的有力工具,尤其是扩增子测序被广泛应用于发酵菜制品的研究中^[8,9]。本文采用16S rRNA扩增子测序,以揭示四种代表性的自然发酵黄菜中微生物群落组成,并与理化、质构、色度和感官特性进行相关性分析,初步探究影响成品品质的关键微生物菌种,为黄菜发酵传统工艺的改进和发酵菌种的筛选奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

样品:黄菜样品取自当地规模化的黄菜生产区:甘洒镇、怀城镇、凤岗镇,选取四种由代表性加工厂生产的样品,分别为燕王(YW)、燕都(YD)、绿凤(LF)、酸趣(SQ)。

试剂:孟加拉红琼脂、平板计数琼脂,广东环凯微生物科技有限公司;磷酸氢二钾、铬酸钾、硝酸银、亚硝酸钠、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺等,均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

752N 紫外可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TA-XT2 物性测试仪,英国 Stable Micro Systems 公司;CR-400 便携式色差仪,日本美能达公司;Aqua Lab 水分活度仪,美国 Decagon 公司;DYCP-32C 型琼脂糖水平电泳仪,北京市六一仪器厂;Qubit 2.0 荧光定量仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;T100 PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 理化指标测定

pH 值:酸度计法;水分含量:GB 5009.3-2016《食品安全国家标准食品中水分的测定》的直接干燥法,水分活度:AquaLab 水分活度仪检测;盐度:GB 5009.44-2016《食品安全国家标准食品中氯化物的测定》的银量法;亚硝酸盐:GB 5009.33-2016《食品安全国家标准食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》中的分光光度法;总酸和氨基酸态氮:GB 5009.235-2016《食品安全国家标准食品中氨基酸态氮的测定》中的酸度计法。

1.4 质构测定

选择成熟度相同,最靠近萝卜苗植株根部、粗细均匀、剔除菜叶的黄菜菜茎(宽 3 mm,压实厚度为 1.5 mm),切成 4 cm 长的长条,每种黄菜成品平行测定五次。采用 TA.XT2i 质构仪 HDP/BS 探头进行剪切力试验,参数设置为:测前速度 5.0 mm/s,测试速度 1 mm/s,测后上行速度 10.0 mm/s,压缩比为 60%,触发力为 5 g,

以最大剪切力 (PPF) 及剪切力做功 (WS) 为黄菜质构特性指标。

1.5 色度测定

黄菜样品的色度采用便携式色差仪测定, 以白板校正, 菜茎和菜叶分别测量, 以 L^* 、 a^* 、 b^* 和总色差值表征^[10], 分别代表亮度值、红绿度、黄蓝度。

1.6 微生物群落表征

1.6.1 总 DNA 提取和测序

样品使用无菌袋采集, 每份样品包含三个生物学重复。样品在冷藏条件送往实验室, 在无菌条件下于磷酸缓冲液中混合均匀, 经 100 μm 滤器去除植物组织, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min 的条件下进行冷冻离心 5 min, 取离心沉淀采用改良后的 CTAB 法提取黄菜微生物总 DNA, 并通过 $m=1\%$ 琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 的纯度和完整性, 使用 Qubit 2.0 荧光定量仪精确测定 DNA 浓度。使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物对细菌 16S rRNA 基因的 V3~V4 可变区进行扩增, 使

用 Illumina MiSeq 2500 平台进行双端测序。

1.6.2 微生物群落结构分析

使用 QIIME2 的 DADA2 方法对原始测序数据进行过滤处理, 后进行 OTU 聚类, 与 silva138/16sbacteria 数据库进行比对获得物种注释信息并进行后续分析, Alpha 多样性分析、微生物群落与环境因子的冗余分析通过 <https://www.bioincloud.tech/> 网站完成。

1.7 感官分析

采用定量描述分析法^[11]对黄菜进行感官评定, 黄菜性状呈固态不均匀物料, 特征感官品质包括外观 (色泽、灰度、茎叶的对比度), 气味 (醇香、酯香、酸香), 质构 (脆度、硬度、弹性), 滋味 (酸味、咸味、鲜味)^[12]。选择评定论域 $U = (\text{外观、气味、质构、滋味、整体可接受度})$, 感官描述定义及标度如表 1 所示。整体可接受度由各特征按以下权重计算: $X = (0.25, 0.25, 0.25, 0.15, 0.10)$, 喜好强度采用十分制评分。

在感官分析实验室进行样品制作、样品呈递和评分, 由 5 名感官评审员与 5 名消费者代表组成感官品评小组, 每位评审员均评价 4 种样品, 试验轮数为 2。

表 1 黄菜感官指标定义及标度

Table 1 Definition of sensory property and preference of Huangcai

感官特性	定义	强度标尺				
		1~3	4~6	7~9	10	
外观	色泽	由视觉反映的光感知, 表现为单色或者复合色及颜色的灰度, 包括菜茎和菜叶的颜色, 如黄色、褐色、棕色、黄褐色等	色泽不明显, 灰度高	色泽较明显, 灰度一般	色泽明显, 灰度较低	色泽鲜艳, 几乎无灰度
	对比度	菜茎与菜叶色泽差异的明显程度	色泽相似	对比较强	对比强烈	对比极强
气味	醇香	与乙醇溶液相关的气味, 低浓度表现为清冽的气味, 高浓度表现为刺激性的气味				
	酸香	与乙酸、乳酸、柠檬酸等有机酸相关的气味, 柔和或有刺激性的酸性气味	几乎无香	香味一般	香味较浓	香味浓郁
	酯香	香甜、怡人的综合水果香气或花香				
质构	弹性	拿捏和咀嚼过程中, 菜茎在一定的压力作用下变形后恢复的能力	弹性差	弹性一般	弹性较好	弹性好
	脆度	拿捏两侧同时施加相反作用力和咀嚼过程中的剪切作用下, 发生变形的程度及发出的声响, 直至断裂, 主要指菜茎的脆度	脆性差	脆性一般	脆性较好	脆性好
	硬度	拿捏和咀嚼过程中菜茎抵抗压力的最大值	软烂	硬度一般	硬度较高	硬度高
滋味	酸味	与乳酸相关的柔和、清香的味感				
	咸味	与氯化钠溶液相关的清淡至咸涩的味感	几乎无味	滋味一般	滋味较浓	滋味浓郁
整体可接受度	鲜味	与谷氨酸钠溶液相关的鲜美、醇厚的味感				
		涵盖个人偏好的整体感觉, 由外观、质构、气味、滋味表现的总体评价				
喜好标度		无法接受~ 较难以接受	稍难以接受 ~一般喜爱	稍微喜爱~ 非常喜爱	极其喜爱	

1.8 数据统计与分析

使用 SPSS 17.0 进行数据统计, 采用 Origin Pro 2018C 进行绘图。在 Python 3.9 中进行 Spearman 相关性分析和 p 值计算, $p < 0.05$ 认为具有显著性差异, 使用 Cytoscape 3.9.0 软件可视化微生物群落和代谢物的相关性。

2 结果与讨论

2.1 自然发酵黄菜物种组成分析

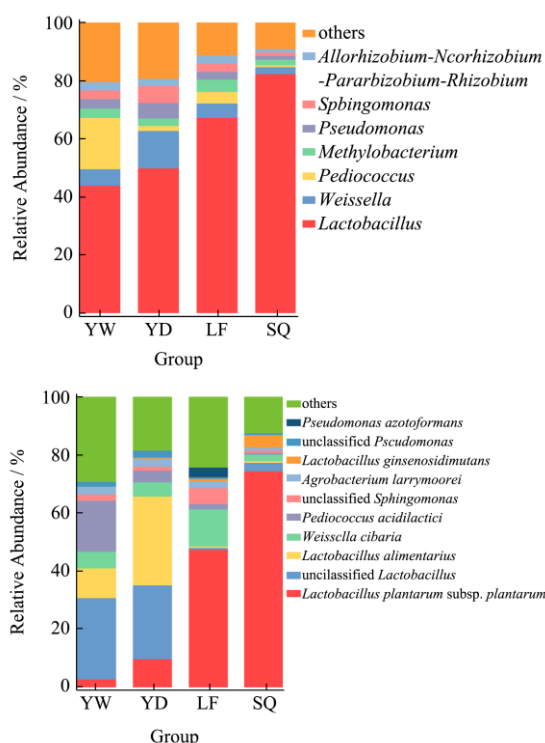


图1 四种黄菜样品中细菌在属、种水平的菌群分布

Fig.1 Bacterial community of genera and species level in four Huangcai samples

4 组样品获得优化序列平均数为 229 007 条, 按照 97% 的序列相似度归类为可操作分类单元。4 种自然发酵黄菜样品中, 共检出 292 个 OTUs, 14 个细菌门和 197 个细菌属。门水平上, 厚壁菌门(Firmicutes, 75.48%) 占据主导地位, 与其他泡菜研究一致^[13], 其次是变形菌门(Proteobacteria, 20.75%)、放线菌门(Actinobacteria, 1.92%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 1.71%)。黄菜样品中丰度最高的三种优势菌属为乳杆菌属(*Lactobacillus*, 64.18%)、魏斯氏菌属(*Weissella*, 6.09%)、片球菌属(*Pediococcus*, 4.64%), 而高苏敏等^[14]采用超声、低盐处理发酵的萝卜泡菜中, 乳杆菌属、明串珠菌属和假单胞菌属丰度最高; 朱琳等^[6]发现亚硝酸盐回落期, 明串珠菌属、乳球菌属、魏斯氏菌属和片球菌属为优

势菌属。黄菜样品中丰度最高的菌种分别为植物乳杆菌植物亚种(*Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum*, 37.50%)、消化乳杆菌(*Lactobacillus alimentarius*, 10.96%)、食窦魏斯氏菌(*Weissellacibaria*, 5.98%)、乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*, 4.64%)。其余菌属包括甲基杆菌属(*Methylobacterium*, 2.97%)、假单胞菌属(*Pseudomonas*, 2.97%)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*, 2.97%)、以及 2.26% 的 *Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*, 对应到种水平上为莫氏土壤杆菌(*Agrobacterium larrymoorei*, 2.14%)、人参皂苷乳杆菌(*Lactobacillus ginsenosidimitans*, 1.66%)、偶氮假单胞菌(*Pseudomonas azotoformans*, 0.78%), 为水体、土壤常见菌属和植物内生菌属^[15]。

2.2 自然发酵黄菜菌群多样性分析

各个样品的 Alpha 多样性指数见表 2, 反映各个样品的物种丰富度、均匀度和测序深度。所有样品的覆盖率(Coverage)均在 0.99 以上, 说明测序对样品菌群的覆盖程度较高, 能完整反映黄菜细菌菌群的组成。YD 黄菜具有最高的 ace 和 chao1 指数, 说明其物种丰富度最高, 物种数量最多。所有样品中, LF 黄菜的 simpson 指数最低而其 shannon 指数最高, 说明其物种多样性最高。其他发酵食品的研究, 如坛子肉^[16]、萝卜泡菜^[6,13]等, 均发现在发酵后期, 优势菌群逐渐形成规模而抑制其他微生物生长, 样品的物种丰富度和多样性均下降。YD、LF 黄菜中的菌群结构多样, 主导菌属未形成垄断局面, 可能由于发酵程度与其他黄菜相比较低, 或原料带入的微生物多样性较高。

表 2 四种黄菜样品细菌 Alpha 多样性指数分析

Table 2 Alphadiversity of the bacterial community in four Huangcai samples

样品名称	Ace	Chao1	Coverage	Shannon	Simpson
YW	166.73	163.55	0.99	1.52	0.48
YD	240.65	234.56	0.99	1.81	0.35
LF	196.19	202.17	0.99	2.11	0.26
SQ	201.35	207.47	0.99	1.47	0.38

2.3 自然发酵黄菜菌群与环境因子间的冗余分析

以理化、质构指标为环境因子, 对菌属进行冗余分析。如图 2 所示, 各个圆点代表菌属, 丰度最高的十种菌属以红色标识, 圆点大小与菌属丰度正相关, 可见乳杆菌属 *Lactobacillus* 为主导菌属。箭头表示的环境因子的长度越长, 表示该环境因子对微生物群落的重要性越高, 因此盐度、pH 值、水分活度、总酸是影响黄菜微生物种群结构的主导因素, 而水分含量则

影响较小,与张倩等^[17]的研究结果一致。pH 值、水分活度是影响微生物生长的重要因素,总酸则常与泡菜产品的风味、稳定性相关^[9],过高的酸度意味着过熟和酸败,SB/T 10756-2012《中华人民共和国国内行业标准-泡菜》中规定泡菜酸度不得超过 1.5 g/100 g(以乳酸计),所有样品中总酸含量均在标准范围内。

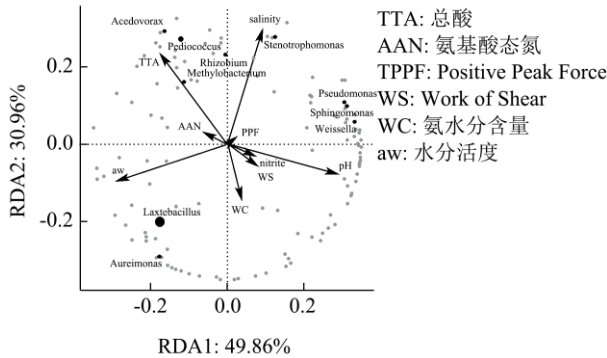


图2 属水平上菌群与环境因子的 RDA 分析

Fig.2 Redundancy analysis between bacterial genres and physiochemical factors

由各环境因子箭头之间的夹角余弦值、以及物种点在环境因子的投影可推断,pH 值和亚硝酸盐含量显著正相关,而乳杆菌属、片球菌属与 pH 值和亚硝酸

盐含量负相关。Patra 等^[18]、Shang 等^[19]的研究也发现,非乳酸菌常为硝酸还原菌,在初始发酵阶段丰度较高,导致了泡菜生产前期亚硝峰形成,而乳杆菌属在发酵后期 pH 值下降至一定程度后占据主导地位,并抑制硝酸还原菌增殖、降解亚硝酸盐从而降低其含量^[20],为泡菜生产的关键菌属。魏斯氏菌属、乳杆菌属与剪切力做功呈正相关关系,说明其对黄菜质构特性有潜在的促进作用。总体来说,乳杆菌属、片球菌属、魏斯氏菌属是影响黄菜品质的主导菌属。

2.4 自然发酵黄菜色度分析

四种黄菜样品的色度指标如表 3 所示,亮度值 L^* 值越大,说明亮度越高,色泽更鲜艳而灰度较低,其中菜茎的色泽较浅,亮度值较菜叶更容易被感知。YW 黄菜菜茎具有最高的亮度值,同时菜叶和菜茎的总色差差值较大,因此菜茎的色泽较鲜艳、对比度明显,感官评价获得较高的评分。 a^* 值为负值时表示绿度,由于黄菜以黄棕色的色泽为主,红绿色调不容易被辨别,因此对黄菜外观影响较小。 b^* 为正值时表示黄色的饱和度,可见 LF 黄菜具有最高的黄色,但由于其茎、叶的总色差较小,色泽对比度较小,在感官评价中色泽的喜好得分较低。

表 3 四种黄菜样品色度指标

Table 3 Chromaticity of four Huangcai samples

部位	色度指标	YW	YD	LF	SQ
菜茎	L^*	56.07±0.17 ^a	53.40±0.46 ^b	50.93±0.04 ^c	48.14±0.18 ^d
	a^*	-0.63±0.03 ^a	-0.76±0.09 ^a	-0.57±0.06 ^a	-1.26±0.80 ^b
	b^*	11.72±0.19 ^d	17.46±0.20 ^c	20.43±0.18 ^a	18.72±0.15 ^b
	ΔE^*	42.38±0.39 ^d	46.34±0.19 ^c	49.54±0.58 ^a	47.19±0.11 ^b
菜叶	L^*	43.05±0.77 ^b	49.50±0.33 ^a	35.89±0.09 ^c	36.08±0.10 ^c
	a^*	-0.46±0.08 ^a	-0.67±0.02 ^b	-0.74±0.05 ^b	-0.69±0.03 ^b
	b^*	6.60±0.11 ^c	6.15±0.12 ^c	8.43±0.43 ^b	9.65±0.32 ^a
	ΔE^*	54.55±0.59 ^b	52.73±0.09 ^c	61.81±0.10 ^a	61.83±0.09 ^a

注:多重比较基于 Duncan 检验,标有不同字母的样品表示组间差异显著 ($p<0.05$)。

2.5 自然发酵黄菜感官分析

四种黄菜的感官雷达图如图 3 所示,结果显示酸香与黄菜的气味、总体接受度评分正相关 ($p<0.01$),对比度与总体接受度评分正相关 ($p<0.01$),因此酸香较高、色泽鲜艳的 YW 黄菜获得最高的总体接受度。黄菜的香味以酸香、醇香为主,但不同黄菜产品的评分差异较大。感官评价显示,黄菜口感以脆性和内聚力为特色,黄菜菜茎的最大剪切力(179~257 g)远高于韩国泡菜(65.2 g)^[21],质构更为坚韧。由于盐度较高,黄菜的味道以咸味为主,因此针对黄菜的低盐发酵工艺有待改进。

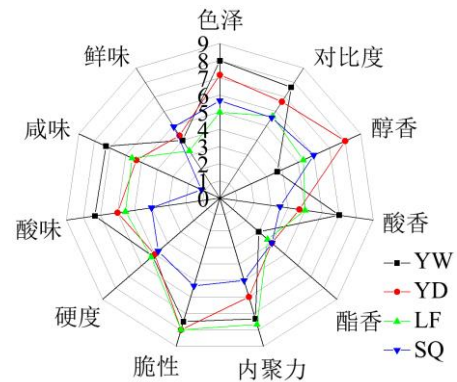


图 3 四种黄菜感官指标强度雷达图

Fig.3 Sensory radar map of four Huangcai samples

2.6 黄菜中种水平群落结构与理化、感官指标相关性

如图4所示,将黄菜种水平中丰度最高的十种菌种与理化、感官指标之间的相关性(Spearman 相关系数, $|r| > 0.6$, $p < 0.05$)以网络图的形式可视化,菌种和各指标以节点组表示,其中不同菌属的菌种以颜色区分。节点间连线表示其相关性。十种菌种均显示出了与理化、感官指标的相关性,其中植物乳杆菌植物亚种(S1)、乳酸片球菌(S5)与水分含量呈负相关

($p < 0.05$),说明传统生产工艺中对水分的调控能促进其丰度增加,并促进黄菜的酸味和色泽($p < 0.01$),为影响黄菜品质的关键菌种。食窦魏斯氏菌(S4)与黄菜的脆性呈正相关关系($p < 0.05$),与张楠笛等^[22]的报道相反,这可能由菌株差异性导致。国内关于泡菜中消化乳杆菌的研究较少,汤伟等^[23]的研究显示泡菜中分离的消化乳杆菌具有降解亚硝酸盐、清除胆固醇的能力和抗氧化活性,而在黄菜中,消化乳杆菌(S8)与酯香风味正相关,对黄菜的香气产生有一定促进作用,可能为潜在的优良菌种资源。

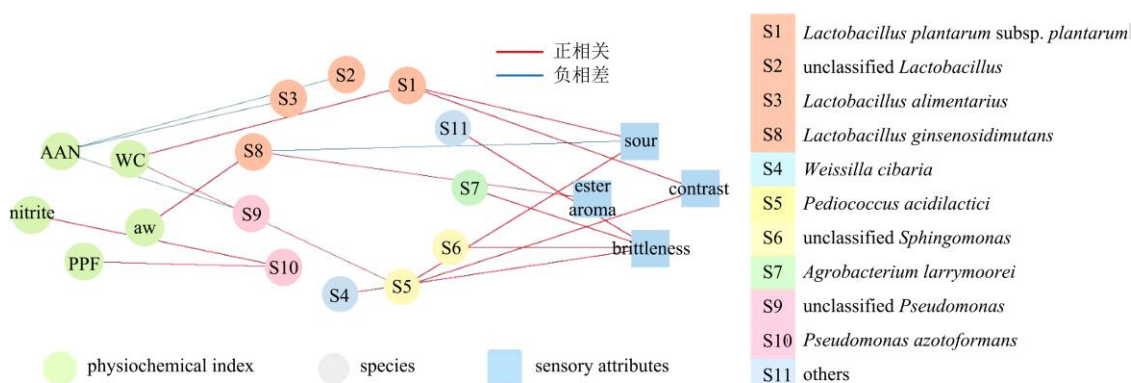


图4 黄菜菌种群落与理化指标、感官强度指标的相关性

Fig.4 Correlations between species community and physiochemical & sensory properties

3 结论

本研究通过 16S rRNA 扩增子测序分析了四种自然发酵怀集黄菜的微生物多样性,并进行了理化、色度、质构和感官特性测定,通过 RDA 分析和 Spearman 相关系数表征分析黄菜中的微生物群落和各个指标之间的相关性。结果显示,黄菜中共检测到 14 个细菌门和 197 个细菌属,厚壁菌门为主要细菌门(Firmicutes, 75.48%),乳杆菌属、魏斯氏菌属、片球菌属、甲基杆菌属、假单胞菌属、鞘氨醇单胞菌和 Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium 为主要细菌属;黄菜样品中丰度最高的菌种为植物乳杆菌植物亚种、消化乳杆菌、食窦魏斯氏菌、乳酸片球菌、莫氏土壤杆菌、人参皂昔乳杆菌和偶氮假单胞菌。

感官评价结果发现黄菜产品以酸香、咸味、良好的脆性为特征,相关性分析结果显示,盐度、pH 值、水分活度、总酸是影响黄菜微生物群落的主要因素,乳杆菌属、片球菌属与 pH 值和亚硝酸盐呈负相关关系,魏斯氏菌属是促进黄菜质构品质的主导菌属,而植物乳杆菌植物亚种、乳酸片球菌为促进黄菜酸味和色泽的关键菌种,食窦魏斯氏菌对黄菜质构的保持具有良好作用。

参考文献

- [1] 黄剑飞,陈金汉,陈柱荣,等.怀集县“六十日”黄菜的发展现状与对策思考[J].农家科技旬刊,2013,1: 22-23
- [2] 刘长根.我国传统发酵蔬菜微生物多样性比较[D].南昌:南昌大学食品学院,2020
- [3] Jung J Y, Lee S H, Lee H J, et al. Effects of *Leuconostocmesenteroides* starter cultures on microbial communities and metabolites during kimchi fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 153(3): 378-387
- [4] Das G, Patra J K, Singdevsachan S K, et al. Diversity of traditional and fermented foods of the Seven Sister states of India and their nutritional and nutraceutical potential: a review [J]. Frontiers in Life Science, 2016, 9(4): 292-312
- [5] Sandagdorj B, Hamajima C, Kawahara T, et al. Characterization of microbiota that influence immunomodulatory effects of fermented *Brassica rapa* L. [J]. Microbes and Environments, 2019, 34(2): 206-214
- [6] 朱琳,高凤,曾椿淋,等.萝卜泡菜细菌多样性的高通量测序分析[J].现代食品科技,2018,34(2):225-231
- [7] De Filippis F, Parente E, Ercolini D. Recent past, present, and

- future of the food microbiome [J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2018, 9: 589-608
- [8] Liu Z, Li J, Wei B, et al. Bacterial community and composition in Jiang-shui and Suan-cai revealed by high-throughput sequencing of 16S rRNA [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 306: 108271
- [9] An F, Sun H, Wu J, et al. Investigating the core microbiota and its influencing factors in traditional Chinese pickles [J]. *Food Research International*, 2021, 147: 110543
- [10] Zhu N, Zhu Y, Yu N, et al. Evaluation of microbial, physicochemical parameters and flavor of blueberry juice after microchip-pulsed electric field [J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 146-155
- [11] 姚月华,索化夷,赵欣,等. Flash Profile 法和定量描述分析法对市售酸奶和巴氏杀菌酸奶感官性质的分析[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(12): 237-244
- [12] Di Cagno R, Filannino P, Gobbetti M. Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile of pomegranate juice [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 248: 56-62
- [13] Rao Y, Qian Y, Tao Y, et al. Characterization of the microbial communities and their correlations with chemical profiles in assorted vegetable Sichuan pickles [J]. *Food Control*, 2020, 113: 107174
- [14] 高苏敏,吴丹璇,高子武,等. 超声波协同低盐处理对萝卜泡菜水菌群分布和特征风味的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(15): 154-163
- [15] Wemheuer F, Wemheuer B, Daniel R, et al. Deciphering bacterial and fungal endophyte communities in leaves of two maple trees with green islands [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 14114-14183
- [16] 肖岚,何莲,安潘宇,等. 萝卜丝入坛发酵对安岳坛子肉发酵过程中微生物演替变化的影响[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(20): 72-78
- [17] 张倩,韩保林,李子健,等. 浓香型白酒包包曲微生物种群多样性及形成机制[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(18): 99-106
- [18] Patra J K, Das G, Paramithiotis S, et al. Kimchi and other widely consumed traditional fermented foods of Korea: a review [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1-15
- [19] Shang Z, Ye Z, Li M, et al. Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties of pickled chayote during an industrial-scale natural fermentation: Correlation between microorganisms and metabolites [J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 132004
- [20] Huang T, Wu Z, Zhang W. Effects of garlic addition on bacterial communities and the conversions of nitrate and nitrite in a simulated pickle fermentation system [J]. *Food Control*, 2020, 113: 107215
- [21] 刘刚,邓钱江,汪淑芳,等. 发酵过程中韩式泡菜质构变化的研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(15): 112-116
- [22] 张楠笛,祝林,许琴,等. 食窦魏斯氏菌协同植物乳杆菌改善四川泡菜风味[J]. *食品科学*, 2020, 41(14): 102-108
- [23] 汤伟,胡维,王菁蕊,等. 消化乳杆菌泡菜分离株 W369 的鉴定及其益生功能[J]. *微生物学报*, 2016, 56(6): 932-942