

低盐接种发酵辣椒对其风味品质的提升作用

贺子玉¹, 黄娇丽¹, 易有金^{1*}, 夏菠^{1*}, 胡楠¹, 朱树清², 朱利红³, 朱妮娜⁴

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128) (2. 汝城县繁华食品有限公司, 湖南郴州 424100)
(3. 汝城县鑫利食品有限公司, 湖南郴州 424100) (4. 张家界洞溪七姊妹辣椒开发有限公司, 湖南张家界 427209)

摘要: 由于高盐辣椒加工脱盐后产生大量的盐渍辣椒水, 不仅污染了环境, 还造成了辣椒本身营养物质的损失, 中低盐度发酵辣椒是辣椒加工技术发展的方向和重点。该实验选用植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 和季也蒙迈耶氏酵母 (*Meyerozyma guilliermondii*) 进行低盐发酵 8% (*m/m*) 盐度, 测定 pH 值、总酸、还原糖、氨基酸态氮等理化指标和感官评价, 利用高效液相色谱测定发酵后的有机酸含量, 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术测定挥发性物质, 运用聚类分析和主成分分析对室温自然发酵辣椒、32 °C 自然发酵辣椒、X 公司提供的发酵辣椒产品 18% (*m/m*) 盐度、32 °C 接种发酵辣椒的风味品质进行差异性分析。结果表明, X 公司发酵辣椒和接种发酵辣椒整体感官评分较高, 分别为 90.81、88.80 分, 它们的总酸分别达 0.62、0.74 g/100 g, X 公司发酵辣椒产品中有机酸含量较低, 接种发酵辣椒中乳酸含量较高。不同发酵辣椒之间挥发性物质存在较大差异 ($P<0.05$), 自然发酵组中含量占比最高的是烷烃类 (31%)、酯类 (16.29%~18.10%), X 公司发酵辣椒中是酯 (33.46%)、酸类 (51.62%), 接种发酵辣椒中是酯 (40.77%)、酸 (19.84%)、醇类 (12.75%)。主成分分析发现, 接种发酵辣椒的关键香气物质最多, 主要体现在乳酸香和花果香, 可作为发酵剂应用于低盐接种发酵辣椒。

关键词: 发酵辣椒; 理化指标; 感官评价; 有机酸; 挥发性香气成分; 主成分分析

文章编号: 1673-9078(2024)02-273-283

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0227

Flavor Quality Improvement by Low-salt Inoculation Fermentation of Chili Peppers

HE Ziyu¹, HUANG Jiaoli¹, YI Youjin^{1*}, XIA Bo^{1*}, HU Nan¹, ZHU Shuqing², ZHU Lihong³, ZHU Nina⁴

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)
(2. RuchengFanhua Food Co. Ltd., Chenzhou 424100, China) (3. Rucheng Xinli Food Co. Ltd., Chenzhou 424100, China)
(4. Zhangjiajie DongxiQizimei Pepper Development Co. Ltd., Chenzhou 427209, China)

Abstract: A large amount of salted chili pepper water is produced after desalination in high-salt chili pepper processing. This pollutes the environment and causes loss of nutrients from the chili peppers themselves. Medium- or low-salt chili pepper fermentation is considered the future direction and focus of the development of chili pepper processing technology. In this study, *Lactobacillus plantarum* and *Meyerozyma guilliermondii* were used for low-salt fermentation at a salinity of 8% (*m/m*). The physical and chemical indices, such as pH and total acid, reducing sugar, and amino acid nitrogen content

引文格式:

贺子玉, 黄娇丽, 易有金, 等. 低盐接种发酵辣椒对其风味品质的提升作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 273-283.

HE Ziyu, HUANG Jiaoli, YI Youjin, et al. Flavor quality improvement by low-salt inoculation fermentation of chili peppers [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 273-283.

收稿日期: 2023-02-27

基金项目: 湖南省重点研发计划项目 (2021NK2014); 长沙市自然科学基金资助项目 (kq2202224); 湖南农业大学第三批重大科研项目 (创新团队培育工程 2019); 湖南农业大学“双一流”学科建设项目 (SYL2019061)

作者简介: 贺子玉 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 2311091206@qq.com; 并列第一作者: 黄娇丽 (1988-), 女, 讲师, 研究方向: 果蔬贮藏与加工, E-mail: 52505524@qq.com

通讯作者: 易有金 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 微生物资源开发与利用, E-mail: yiyoujin@163.com; 共同通讯作者: 夏菠 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 微生物源天然产物开发与利用, E-mail: julinomber2@sina.com

were determined, as well as the sensory evaluation scores. The organic acid content was determined using high performance liquid chromatography. The volatile aromatic substances were determined using headspace solid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry. The flavor quality of chili peppers naturally fermented at room temperature, naturally fermented at 32 °C, fermented at a salinity of 18% (m/m) (supplied by company X), and subjected to inoculated fermentation at 32 °C were compared and analyzed using cluster analysis and principal component analysis. The results show that the overall sensory scores of the fermented chili peppers provided by company X and the inoculated fermented chili peppers were 90.81 and 88.80 points, respectively, and their total acid content was 0.62 and 0.74 g/100 g, respectively. The fermented chili pepper products of Company X contained low organic acid content, and the lactic acid content in the inoculated fermented peppers was higher. There were significant differences in the volatile aromatic substances among the different fermented peppers ($P<0.05$). Specifically, acids (51.62%) and esters (33.46%) accounted for the highest proportion of volatile aromatic substances in the fermented chili peppers from company X. Meanwhile, esters (40.77%), acids (19.84%), and alcohols (12.75%) accounted for the highest proportion of volatile aromatic substances in the inoculated fermented chili peppers. Alkanes (31%) and esters (16.29%~18.10%) accounted for the highest proportion in the natural fermentation groups. Principal component analysis revealed that the inoculated fermented peppers contained the most key aromatic substances, mainly providing lactic acid and floral-fruity flavors. The stains used in this study can be used as a basis for low-salt inoculated fermentation of chili peppers.

Key words: fermented chili pepper; physical and chemical index; sensory evaluation; organic acids; volatile aromatic components; principal component analysis

发酵辣椒分为自然发酵和接种发酵两种, 由于传统自然发酵过程中的菌群不明、易产生不良风味物质、发酵结果不可控等因素, 需要加入大量食盐防腐, 造成了发酵辣椒风味和营养物质的损失^[1]。另外, 工业上高盐腌渍的辣椒经水洗脱盐后风味物质损失严重, 还需要再次使用添加剂调配风味^[2]。因此, 在保护环境、节约成本和保证风味品质的基础上, 选择中低盐度发酵辣椒是辣椒加工技术发展的方向和重点。

虽然国内对发酵辣椒中的微生物多样性及其风味物质进行了研究, 但目前发酵辣椒主要集中在传统手工制作或工业化风味调配、高盐发酵辣椒(微发酵辣椒)的生产, 接种发酵暂未大规模生产。近年来, 为了提高发酵辣椒风味和改善发酵品质, 学者们围绕乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌等菌种发酵对辣椒风味的影响开展了研究^[3,4]。人工接种可以有效避免杂菌的污染, 使发酵菌种快速成为优势菌^[5]。发酵辣椒中的挥发性风味物质主要来源于辣椒原料以及菌种的代谢产物^[6]。相关研究表明, *Meyerozyma guilliermondii* 其可以参与各种代谢产物的合成、功能蛋白的生产等^[7]。杨阳等^[8]筛选的酵母菌株 *M. guilliermondii* 3-J15 能够通过代谢产生 2-苯基乙醇、3-甲基-1-丁醇、丁酸乙酯等香气成分, 发酵液具有花草香味和瓜果气息。吴旋等^[9]接种了 6% 的植物乳杆菌发酵小米椒, 醇类和酯类物质含量显著增加, 在第 15 天达到最大值, 且亚硝酸盐

含量显著降低, 达到安全食用标准。陈怡等^[10]利用废弃盐渍辣椒水接入植物乳杆菌和鲁氏接合酵母为发酵剂进行干辣椒发酵, 产酸量在 15 d 时达到最大值, 酸度比未接菌的提高两倍以上, 为辣椒强化发酵提供了参考。

综上, 本文选用实验室提供的植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) 和季也蒙迈耶氏酵母 (*Meyerozyma guilliermondii*) 进行低盐接种发酵 (8% (m/m) 盐度) 15 d, 以室温自然发酵、32 °C 自然发酵辣椒、X 公司提供的发酵辣椒产品 (18% (m/m) 高盐度) 作对比, 测定 pH 值、总酸、还原糖、氨基酸态氮、有机酸等指标, 并进行感官评价, 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (Headspace-Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry, HS-SPME-GC-MS) 对其风味品质进行比较分析, 同时采用聚类分析和主成分分析方法对它们的特征和差异性风味物质进行甄别, 以期对后续发酵辣椒工业化生产提供数据支撑和理论参考。

1 材料与方法

1.1 原料、菌种与试剂

朝天椒、食盐等购于湖南农业大学东之源农贸市场。

植物乳杆菌 *Lactiplantibacillus plantarum* (GenBank 登陆号为 OQ847791)、季也蒙迈耶氏酵

母 *Meyerozyma guilliermondii* (GenBank 登陆号为 OQ851829) 由湖南农业大学食品科技学院微生物实验室提供。

MRS 肉汤培养基、YPD 液体培养基, 广东环凯微生物科技有限公司; 氢氧化钠、葡萄糖、亚铁氰化钾、乙酸锌、酒石酸钾钠、硫酸铜、甲醛、草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、丁二酸(分析纯)、甲醇, (色谱纯), 国药集团化学试剂有限公司; 磷酸, 色谱纯, 天津科密欧试剂有限公司; 2-辛醇, 色谱纯, 上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

超净化工作台, 上海新苗医疗器械制造有限公司; 7200 分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; LRH-25 智能生化培养箱, 上海飞跃实验仪器有限公司; HR/T16M 台式高速冷冻离心机, 湖南赫西仪器装备有限公司; ZNCL-B140×140 恒温加热磁力搅拌器, 巩义市中天仪器科技有限公司; PHS-3BW pH 计, 上海般特仪器制造有限公司; Agilent TC-C18 液相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 美国 Agilent 公司; Waters E2695Alliance 高效液相色谱仪, 美国沃特斯公司; 57330-U 手动 SPME 进样器, 美国 Supelco 公司; 50/30 μm DVB/CAR PDMS 萃取纤维头, 美国 Supelco 公司; DB-5MS 气相色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); QP2010 Ultra 气相色谱一质谱联用仪, 日本岛津色谱仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 发酵辣椒的制备

菌悬液的制备: 挑取乳酸菌单菌落至 MRS 肉汤, 37 °C 静置培养 24 h, 酵母菌单菌落至 YPD 液体

培养基, 28 °C 静置培养 24 h, 活化两次。活化后, 4 °C、8 000 r/min 离心 10 min, 收集菌体, 用 0.85% (m/m) 无菌生理盐水冲洗两遍后, 采用麦氏比浊法调整细菌液浓度, 为 1×10^9 CFU/mL, 采用血球计数法来调整酵母菌数量, 为 1×10^8 CFU/mL, 4 °C 保存备用。

处理组: 原料选择鲜红脆嫩, 无腐烂、发霉, 无机械损伤, 无病虫害的朝天椒, 去蒂后用蒸馏水洗 3 遍, 阴凉通风处晾干, 切成 1~2 cm 的小段, 加入 8% (m/m) 食用盐, 分装于 100 g 高温煮沸灭菌过的玻璃瓶中, 然后接入 6% (m/m) 的植物乳杆菌和季也蒙迈耶氏酵母菌 (1:1) 拌匀, 命名为 R₃:J₁, 密封后 32 °C 发酵 15 d, 进行指标测定及感官评价, 并分析挥发性风味物质。

对照组: 不接菌室温自然发酵辣椒 (CK₁)、不接菌 32 °C 自然发酵辣椒 (CK₂)、湖南 X 公司提供的发酵辣椒产品为 (CK₃) (18% (m/m) 高盐度, 室温自然发酵 15 d 后经脱盐、风味调配而成)。

1.3.2 指标测定

(1) pH 测定: GB/T 5009.237-2016 《食品安全国家标准食品 pH 值的测定》;

(2) 总酸测定: GB/T 12456-2021 《食品安全国家标准食品中总酸的测定》;

(3) 还原糖测定: GB/T 5009.7-2016 《食品安全国家标准食品中还原糖的测定》;

(4) 氨基酸态氮测定: GB/T 5009.235-2016 《食品安全国家标准食品中氨基酸态氮的测定》;

(5) 感官评价: 参照 NY/T 1711-2020 《绿色食品辣椒制品》并改进, 10 名食品专业的人员进行感官评价, 评分标准如表 1 所示;

表 1 发酵辣椒感官质量评价标准

Table 1 Sensory evaluation standard of fermented pepper

感官评分/分	感官指标及权重			
	色泽 (20%)	滋味 (30%)	香气 (20%)	脆度 (30%)
90~100	色泽红艳不发暗	酸味柔和鲜美, 咸鲜适口	有典型的发酵的香气	脆嫩, 巧嚼性好, 没皮肉分离的现象
80~89	色泽相对较红, 不发暗	酸味柔和鲜美	有较淡的发酵的香气	较脆嫩, 咀嚼性好, 没有皮肉分离的现象
60~79	色泽相对较红, 稍暗	酸味适中	有挥发性成分, 但不是典型发酵的挥发性成分	较脆嫩, 咀嚼性一般, 没有皮肉分离的现象
30~59	色红但偏暗	酸味过浓或没有酸味	没有发酵的挥发性成分, 有轻微不愉快的味道	软绵, 咀嚼性差, 但没有皮肉分离的显现
10~29	色泽暗红	酸味过浓或没有酸味	没有发酵的挥发性成分, 有生味或不愉快的气味	软绵, 咀嚼性差, 有皮肉分离的显现

(6) 有机酸的测定: 参考 GB 5009.157-2016《食品中有机酸的测定》并稍作修改。

样品处理: 将发酵辣椒样品打成匀浆, 称取 1.50 g 置于 50 mL 容量瓶中, 定容。然后于 70 °C 水浴提取 20 min, 冷却至室温。随后过滤掉辣椒渣, 滤液经 4 000 r/min 离心 15 min, 取上层清液经 0.22 μm 水系滤膜过滤, 后注入液相进样瓶, 用于高效液相色谱仪分析。

标准曲线制备: 分别配制草酸质量浓度为 500 μg/mL、酒石酸 12 500 μg/mL、苹果酸 25 000 μg/mL、乳酸 25 000 μg/mL、乙酸 25 000 μg/mL、柠檬酸 25 000 μg/mL、丁二酸 62 500 μg/mL 的标品溶液, 用 0.1% 磷酸溶液分别将其稀释 25、50、125、250、500 倍, 得到不同浓度的有机酸标准溶液, 经 0.45 μm 水系滤膜过滤后注入液相进样瓶, 用于高效液相色谱仪分析。

色谱条件: 流动相为 0.1% 磷酸溶液: 甲醇 = 97.5:2.5 (V/V); 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 40 °C; 进样量为 20 μL; 检测波长为 210 nm。

定性定量: 以有机酸标准溶液的保留时间作为定性标准, 对发酵辣椒中的有机酸进行鉴定分析。以有机酸标准溶液的浓度为横坐标, 色谱峰的面积作为纵坐标绘制标准曲线, 利用标准曲线方程计算发酵辣椒中有机酸的含量。

(7) 挥发性风味物质分析: 参照唐鑫等^[11]的方法, 采用 HS-SPME-GC-MS 测定发酵结束后辣椒中的挥发性风味物质 (Volatile Aroma Components, VOC)。

萃取方法: 每组称取 3 g 辣椒样品于 20 mL 顶空瓶中, 加入 3 mL 饱和 NaCl 溶液、10 μL 内标物 2-辛醇 (0.16 mg/mL), 于 80 °C 恒温水浴锅平衡 15 min, 继续水浴, 将萃取头推至距液面约 1 cm, 恒温吸附 40 min 后迅速拔出, 置于进样口, 250 °C 解析 5 min。

气相色谱条件: 升温程序: 起始温度 40 °C (保持 3 min) 以 5 °C/min 升温至 220 °C, 再以 10 °C/min 升至 250 °C (保持 3 min); 高纯氮气流速为 1 mL/min。

质谱条件: EI 离子源, 电子能量和温度为 70 eV 和 230 °C; 接口温度 250 °C; 质量扫描范围 m/z 35~400, 不分流进样。

1.3.3 挥发性成分定性定量和相对气味活度值计算

香气物质的质谱数据经 NIST 14、NIST 17 等谱库检索比对, 查询文献资料^[12-14], 对发酵辣椒中各

挥发性物质进行核对和确认, 匹配度 ≥ 85% 作为物质定性鉴定标准。采用内标法^[4], 以上述试验添加的 2-辛醇为内标物, 已知内标物的质量浓度、体积及峰面积, 然后根据各成分与内标物的质谱峰面积比值计算其相对含量, 具体按下式 (1) 计算。再根据每个挥发性香气成分的相对含量计算相对气味活度值 (Relative Odor Activity Values, rOAVs), 按式 (2) 计算:

$$C = \frac{A_1 \times (C_1 \times V_1)}{A_2 \times M} \quad (1)$$

$$B = \frac{C}{T} \quad (2)$$

式中:

C ——各挥发性成分相对含量, μg/kg;

A_1 ——各成分峰面积;

A_2 ——内标物峰面积;

V_1 ——内标物体积, mL;

M ——样品质量, kg;

C_1 ——内标物质量浓度, μg/mL;

B ——相对气味活度值 (rOAVs);

T ——该挥发性成分在水中的香气阈值浓度, μg/kg。

1.3.4 数据分析

采用 SPSS 26 进行单因素方差分析 (LSD 法和 Duncan 法) 及显著性差异比较, $P < 0.05$ 为差异显著, 对挥发性风味物质进行主成分分析, 使用 Excel 进行数据处理和 Origin 2022 作图。每个实验重复 2 次。

2 结果与分析

2.1 发酵辣椒理化指标分析

pH 值、总酸、还原糖、氨基酸态氮分别反映了辣椒发酵后的酸、甜、鲜度^[15]。乳酸菌在发酵辣椒中生长代谢会产生各种酸类物质, 使得酸味成为发酵辣椒的特色风味之一, 其中 pH 值和总酸为重要指标^[16]。由表 2 可知, pH 值可以直观反映出菌种发酵产酸量的高低, CK_1 和 CK_2 的 pH 值与初始值没有显著性差异 ($P > 0.05$), $R_3:J_1$ 的 pH 值最低, 达 3.77。与 pH 值变化相应, CK_1 和 CK_2 的总酸含量较低, $R_3:J_1$ 的总酸最高, 达 0.74 g/100 g, 显著高于 CK_1 和 CK_2 ($P < 0.05$), 说明低盐接种发酵的乳酸菌生长代谢旺盛, 产酸能力较好。 CK_3 的总酸达 0.62 g/100 g, pH 值为 3.82, 可能原因是发酵后经过加入酸味剂调配所致。32 °C 自然发酵组 CK_2 的还原

糖含量较低, 可能是因为 32 °C 自然发酵有利于杂菌大量生长, 导致还原糖消耗过多。氨基酸态氮是评价辣椒发酵程度的重要指标^[17], 其中接种发酵组中氨基酸态氮含量最高, 含量增加至 0.323 g/100 g。

表 2 基本理化指标测定结果

Table 2 Basic physical and chemical index measurement results

样品	pH 值	总酸 (g/100 g)	还原糖 (g/100 g)	氨基酸态氮 (g/100 g)
初始值	4.44±0.01 ^a	0.30±0.006 ^d	3.65±0.11 ^a	0.232±0.008 ^c
CK ₁	4.36±0.02 ^a	0.35±0.015 ^c	1.42±0.01 ^d	0.295±0.110 ^b
CK ₂	4.37±0.01 ^a	0.34±0.015 ^c	1.18±0.02 ^e	0.299±0.010 ^b
CK ₃	3.82±0.10 ^b	0.62±0.006 ^b	1.59±0.08 ^c	0.245±0.015 ^c
R ₃ :J ₁	3.77±0.02 ^b	0.74±0.020 ^a	1.72±0.02 ^b	0.323±0.004 ^a

注: 同一列不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$), 反之, 则无显著性差异 ($P > 0.05$); CK₁ 为不接种室温自然发酵辣椒, CK₂ 为不接种 32 °C 自然发酵辣椒, CK₃ 为 X 公司提供的 18% (m/m) 高盐度自然发酵辣椒产品, R₃:J₁ 为植物乳杆菌和季也蒙迈耶氏酵母菌 32 °C 混合接种发酵辣椒, 下同。

2.2 发酵辣椒感官评价

根据表 1 评分, 由图 1 可知, CK₃ 和 R₃:J₁ 组整体评分较高, 分别为 90.81、88.80 分, CK₃ 在滋味和香气上比 R₃:J₁ 组略高, R₃:J₁ 组的色泽较好, CK₃ 的香气主要体现为酸鲜香, 香气浓郁; 而 R₃:J₁ 有典型的乳酸发酵香味、花果香等, 香气独特复杂, 滋味酸咸感适中。两者风味各有特色, 滋味曼妙。其次 CK₁ 的感官评分为 75.19, CK₁ 的脆度较好, 但没有发酵的乳酸香气, 略带生味, 在色泽、滋味和香气上比 R₃:J₁ 组差, 可能对于自然发酵辣椒发酵 15 d 的时间过短, 说明接种发酵可以缩短发酵的时间, 提升风味。而 CK₂ 可能因为有利的温度条件, 杂菌的生长使得辣椒中果胶被大量分解, 32 °C 自然发酵的辣椒脆度下降, 总体感官评分较低, 与 2.1 中还原糖测定结果相符, 说明了感官评价试验在反映发酵辣椒品质好坏上具有一定的参考价值。综上所述, 接种发酵可快速降低 pH 值, 抑制杂菌的生长, 显著提高发酵辣椒的感官得分 ($P < 0.05$)。

2.3 发酵辣椒中的有机酸分析

草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、丁二酸等有机酸赋予了发酵辣椒独特的酸感, 不同有机酸的组成及比例之间的差异导致了酸味的异同。采用外标法定量, 根据各种有机酸的峰面积与浓度之间的关系建立标准曲线方程, 见表 3, 相

关系系数满足线性分析要求。再根据每个样品色谱图的出峰时间和峰面积, 计算各个样品中有机酸的含量, 结果见表 4。可以看出, 鲜辣椒中以柠檬酸含量最高, 未检测出草酸、酒石酸、乳酸, 可能是含量较低或被其他物质干扰无法检出。发酵后的辣椒有机酸总量增加, 室温自然发酵 CK₁ 的有机酸增量较少, CK₂ 中有机酸含量比 CK₁ 高, 说明 32 °C 可以提升发酵进程, 增加有机酸含量。CK₃ 的有机酸含量比其他三组低, 可能是食盐质量分数高会抑制乳酸菌和酵母菌的发酵, 导致酸味物质产量下降。R₃:J₁ 中乳酸含量最高, 其中乳酸含量高达 84.74 g/kg, 说明接种植物乳杆菌发酵可以产生更多的乳酸。此外, 发酵后的辣椒中柠檬酸含量均降低, R₃:J₁ 的柠檬酸含量最低。柠檬酸作为产生青气味的主要来源之一, 在自然发酵辣椒中因为发酵迟缓较高, 接种发酵过程中被微生物代谢而降低, 从而使得辣椒熟化^[18]。

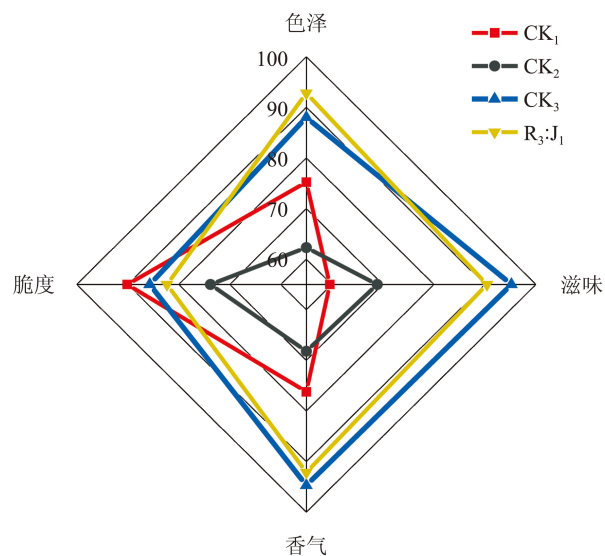


图 1 发酵辣椒感官评分雷达图

Fig.1 Sensory score radar chart of fermented pepper

表 3 有机酸的保留时间与标准曲线方程

Table 3 Regression analysis and retention time of organic acids

有机酸	保留时间/min	标准曲线方程	相关系数 (R^2)
草酸	3.308	$y=46.046x+27.465$	0.999 4
酒石酸	3.468	$y=360.01x+4.315.2$	0.997 4
苹果酸	3.879	$y=970.82x-969.57$	0.999 9
乳酸	4.571	$y=239.3x+2.053.1$	0.999 9
乙酸	4.776	$y=811.03x+20.796$	0.996 8
柠檬酸	5.621	$y=1.271.7x-690.18$	1.000 0
丁二酸	6.250	$y=678.24x-1.518.8$	1.000 0

表 4 发酵辣椒中有机酸的含量

Table 4 The content of organic acids in fermented pepper (g/kg)

有机酸种类	辣椒样品				
	初始值	CK ₁	CK ₂	CK ₃	R ₃ :J ₁
草一酸	—	0.059±0.002 ^c	0.076±0.001 ^b	0.069±0.001 ^b	0.415±0.007 ^a
酒石酸	—	1.65±0.08 ^b	21.63±1.09 ^a	21.25±1.07 ^a	23.30±1.19 ^a
苹果酸	18.97±0.20 ^b	15.38±0.15 ^d	18.99±0.20 ^b	16.66±0.17 ^c	26.05±0.32 ^a
乳酸	—	14.57±2.72 ^b	15.51±0.29 ^b	8.27±2.01 ^c	84.74±0.94 ^a
乙酸	7.30±0.24 ^a	2.92±0.27 ^c	2.65±0.30 ^{cd}	2.16±0.36 ^d	4.03±0.14 ^b
柠檬酸	13.09±1.38 ^a	11.98±0.03 ^a	8.93±0.02 ^b	8.49±0.01 ^b	1.50±0.03 ^c
丁二酸	3.37±0.05 ^e	6.37±0.04 ^d	7.27±0.03 ^c	10.58±0.02 ^b	18.47±0.01 ^a
总计	42.73±1.29 ^c	52.93±2.98 ^d	74.85±1.25 ^b	67.47±0.45 ^c	158.50±0.74 ^a

注: 同一行不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$), 反之, 则无显著性差异 ($P > 0.05$)。"—" 表示未检出。

2.4 挥发性香气成分分析

2.4.1 不同发酵辣椒挥发性香气成分分析

由图 2 可知, 四组发酵辣椒共检测出 116 种 VOC, 包括 28 种酯、24 种醇、20 种酸、14 种醛、11 种烷烃、6 种酮类、4 种烯炔和 9 种其他化合物; CK₁ 有 71 种, CK₂ 有 78 种, CK₃ 有 60 种, R₃:J₁ 有 92 种, 其中共有成分 35 种。R₃:J₁ 的挥发性香气种类最多, CK₁、CK₂ 种类数大于 CK₃。图 3 可看出不同发酵辣椒 VOC 含量差异较大, R₃:J₁ 中含量较高的是酯、酸和醇类, CK₃ 含量占比高的是酯类、酸类, CK₁、CK₂ 含量最高的是烷烃、酯类。该结果说明, 接种发酵对发酵辣椒的风味影响很大, 酯类和酸类、醇类是发酵辣椒的主要特征香气物质。

四组发酵辣椒中酯类的含量和种类均较多, 这与史婷等^[19]的研究结果相一致。壬酸乙酯、癸酸异戊酯、油酸甲酯、反油酸乙酯、亚油酸乙酯、水杨酸甲酯、水杨酸乙酯、棕榈酸乙酯、棕榈酸己酯、乙酸十四酯、9-十六碳烯酸乙酯等在四组发酵辣椒中都有检测到。CK₁ 中酯类占比 18.10%、CK₂ 中酯类占比 16.29%, CK₁、CK₂ 中酯类在种类和含量上差异不大, 其中己酸己酯、异戊酸己酯、油酸甲酯、水杨酸甲酯、棕榈酸己酯的含量较高。与 CK₁、CK₂ 相比, R₃:J₁ 中酯类总含量显著升高 ($P < 0.05$), 占比 40.77%, 乙酸己酯、顺-3-己烯基丁酯、顺-7-十四碳乙酸酯仅在 R₃:J₁ 中检测到, 壬酸乙酯、癸酸乙酯、癸酸异戊酯、反油酸乙酯、乙酸十四酯等含量明显增高, 分别达 162.19、158.52、3 407.07、1 865.68、2 485.89 μg/kg。CK₃ 中酯类占 33.46%, 月桂酸乙酯、山梨酸乙酯、亚麻酸甲酯、苯甲酸乙

酯等香气成分仅在 CK₃ 中检测到。

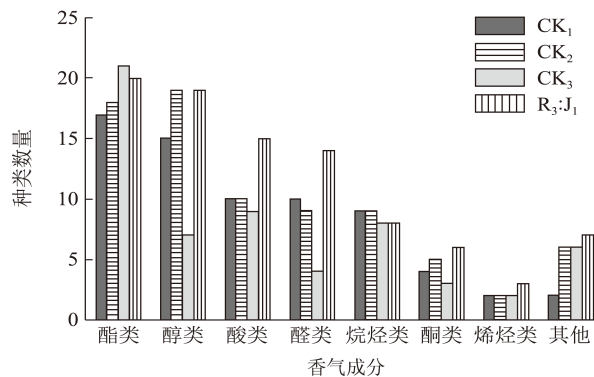


图 2 不同发酵辣椒挥发性香气成分种类

Fig.2 Variations of volatile aroma components in different fermented peppers

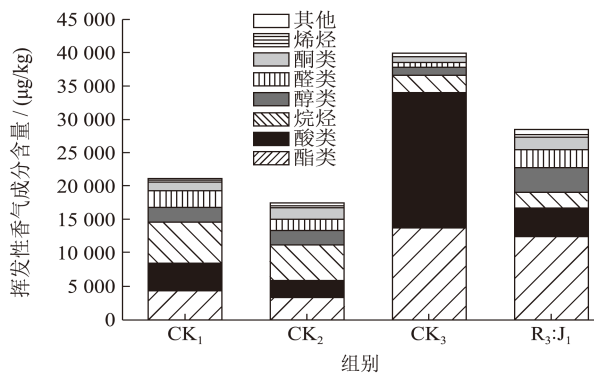


图 3 不同发酵辣椒的挥发性香气成分含量

Fig.3 Contents of volatile aroma components of different fermented peppers

醇类主要由发酵中的微生物利用糖、氨基酸等物质代谢产生^[20]。油醇、 α -松油醇、硬脂醇在所有组中都有检出; R₃:J₁ 中醇的种类增多, 可能是因为接种了酵母菌的缘故, 糖酵解反应产生了醇类。不同

表 5 不同发酵辣椒挥发性物质的rOAVs值

Table 5 rOAVs values of volatile substances in different fermented pepper

类别	序号	香气物质	香气阈值 ^[30-32] /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	香气描述 ^[32,33]	rOAVs			
					CK ₁	CK ₂	CK ₃	R ₃ :J ₁
醛类	A1	乙酸己酯	2	梨样酸甜气味	—	—	—	9.87
	A2	异戊酸己酯	2.2	辣的生果实气味	121.40	110.33	—	62.58
	A3	癸酸乙酯	23	有椰子香味	3.53	3.42	—	6.89
	A4	苯甲酸乙酯	60	冬青油和依兰油香气	—	—	0.79	—
	A5	水杨酸甲酯	40	具有冬青叶香气	6.17	4.80	9.58	2.92
	A6	水杨酸乙酯	84	呈淡的冬青油香气	0.34	0.16	0.06	0.12
	A7	棕榈酸乙酯	2 000	奶油和果香气	0.31	0.21	1.80	1.10
	A8	月桂酸乙酯	10	花生香、果香气味	—	—	16.80	—
醇类	B1	正己醇	250	淡的嫩枝叶气息	0.53	0.43	—	0.69
	B2	1- 壬醇	1 000	玫瑰和橙香气	0.03	0.03	—	0.05
	B3	1- 辛醇	110	橙皮和玫瑰样气息	1.10	1.46	—	—
	B4	苯甲醇	10 000	稍有芳香气味	—	—	—	0.02
	B5	苯乙醇	86	柔和清甜的玫瑰香	—	—	—	2.76
	B6	β - 柠檬醇	300	新鲜玫瑰的香甜气	0.11	0.14	—	0.18
	B7	香叶醇	40	温和、甜的玫瑰香	22.62	22.71	13.39	1.51
	B8	α - 松油醇	330	紫丁香、铃兰般清鲜香气	0.32	0.29	1.13	0.33
	B9	芳樟醇	6	具有似铃兰香气	—	—	—	40.96
	B10	4- 甲基-1- 戊醇	820	苦杏仁气和烘烤味	0.34	0.43	—	0.57
酸类	C1	戊酸	3 000	具有果香气	—	—	—	0.01
	C2	辛酸	3 000	呈水果香气	—	0.01	—	0.01
	C3	壬酸	3 000	淡的脂肪和椰子香气	0.13	0.16	0.01	0.24
	C4	正癸酸	10 000	具有难闻的气 S 味	0.01	—	—	—
	C5	肉豆蔻酸	10 000	蜡香和奶香香气	—	—	—	0.01
	C6	棕榈酸	10 000	具有酸奶香味	0.16	0.07	0.13	0.22
	C7	3- 甲基丁酸	120	有令人不愉快的酸败气味	0.40	0.66	—	—
	C8	4- 甲基戊酸	810	呈酸的刺鼻味	0.03	—	—	0.01
醛类	D1	正己醛	4.5	呈青草果香	—	—	—	12.99
	D2	壬醛	1	油脂和甜橙气息	—	—	—	224.12
	D3	苯甲醛	350	类似苦杏仁的香味	0.29	0.17	—	0.27
	D4	苯乙醛	4	呈强烈风信子花香	53.62	40.18	3.94	59.41
	D5	十一醛	5	带有木香橙皮香	—	—	—	3.90
	D6	反式-2- 辛烯醛	3	呈脂肪和肉类香气	32.37	21.87	—	27.66
	D7	3- 甲硫基丙醛	0.2	酱香、洋葱香气	101.16	—	—	150.87
酮类	E2	香叶基丙酮	60	具有木兰香气	10.49	10.83	10.76	14.77
烯烃	F1	石竹烯	64	具有淡的丁香香味	—	—	3.12	—
	F2	D- 柠檬烯	15	柠檬香	—	—	—	2.01
酚类	G1	愈创木酚	21	有特殊芳香气味	1.93	1.41	—	1.26
	G2	4- 乙基苯酚	21	呈香甜气	—	1.25	1.25	3.59
	G3	4- 乙基-2- 甲氧基苯酚	50	温和、甘甜草药似香气	—	2.30	0.21	1.66
	G4	4- 乙烯基愈创木酚	3	丁香和发酵似香气	—	25.15	26.25	121.96
其他	O1	2- 乙酰基呋喃	10 000	甜的焦糖似香气	—	—	0.001	0.001
	O2	2- 甲氧基-3- 异丁基吡嗪	2	青椒和青豌豆香气	58.68	21.32	—	9.21
共计			42 种		24 种	25 种	15 种	36 种

注：“—”表示未检出。

醇类有令人愉快的香味,对辣椒风味的贡献较大。四组辣椒样品都检测出香叶醇,且rOAVs均大于1,除此之外,1-辛醇是CK₁、CK₂的关键香气物质,主要呈甜橙香、玫瑰香气。R₃:J₁中芳樟醇和苯乙醇较为突出,具有甜嫩新鲜的花香、玫瑰香气,可能是酵母菌发酵产生醇类等关键香气物质;苯甲醇、1-壬醇、正己醇、β-柠檬醇等在R₃:J₁中起到协调风味的作用。CK₃中只检测出两种rOAVs>1的醇类,为香叶醇和α-松油醇,检测出的醇类较CK₁、CK₂、R₃:J₁少。

醛类参与众多芳香化合物的合成,从而影响发酵辣椒的风味^[29]。R₃:J₁组中呈青草香的正己醛、甜橙皮香气的壬醛和十一醛rOAVs分别达12.99、224.12、3.90,而CK₁、CK₂、CK₃中未检出,可能为接种发酵辣椒特有的香气物质。

酮类物质感官阈值较大,香味持久。香叶基丙酮在四组辣椒中的rOAVs均大于1,其中R₃:J₁最高,为14.77,赋予了发酵辣椒紫罗兰香和木兰花香气。R₃:J₁中还检测出D-柠檬烯,具有柠檬香气味。4-乙基愈创木酚在R₃:J₁中的rOAVs达121.96,具有丁香和发酵似气味。CK₃中存在具有丁香气味的石竹烯,rOAVs为3.12,是CK₃的关键香气物质。此外,CK₁检测出少量具有难闻气味的正癸酸,CK₂中含有3-甲基丁酸(令人不愉快的气味),CK₁、CK₂中2-甲氧基-3-异丁基吡嗪的rOAVs达58.68、21.32,具有青椒和青豌豆香气味。

2.4.3 主成分分析

结合上述分析,对rOAVs大于1的香气物质进行主成分分析。如图5所示,可以更加直观的看出,不同颜色的点代表不同发酵辣椒样品,点之间的距离代表样品之间特征差异的大小,这些成分指标在不同点之间有明显的区域分布,主成分PC1和主成分PC2的方差贡献率分别为56.6%和33.70%,累计方差贡献为90.3%,能够反映发酵辣椒之间的主要特征。CK₁和CK₂均分布在PC1和PC2的负半轴,表明室温自然发酵辣椒(CK₁)和32℃自然发酵辣椒(CK₂)之间没有太大的差异性,温度对挥发性香气物质的影响较小。异戊酸己酯、1-辛醇、愈创木酚、香叶醇、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪在PC2的负半轴有较高的载荷,说明在自然发酵组CK₁、CK₂中含量较高。CK₃分布在PC1的负半轴和PC2的正半轴,月桂酸乙酯、水杨酸甲酯、石竹烯、α-松油醇在PC1的负半轴有较高的载荷,

说明在CK₃中含量较高。PC1和PC2的正半轴分布的是R₃:J₁组,乙酸己酯、芳樟醇、苯乙醇、正己醛、十一醛、壬醛、4-乙基苯酚、4-乙基愈创木酚、香叶基丙酮、D-柠檬烯等物质主要集中在PC1和PC2的正半轴,说明在R₃:J₁中含量较高。可见,不同发酵辣椒的香气物质存在差异,与上述挥发性成分及rOAVs分析一致,R₃:J₁的关键挥发性香气物质更多,表明了主成分分析可以侧面反映出发酵辣椒的风味品质。

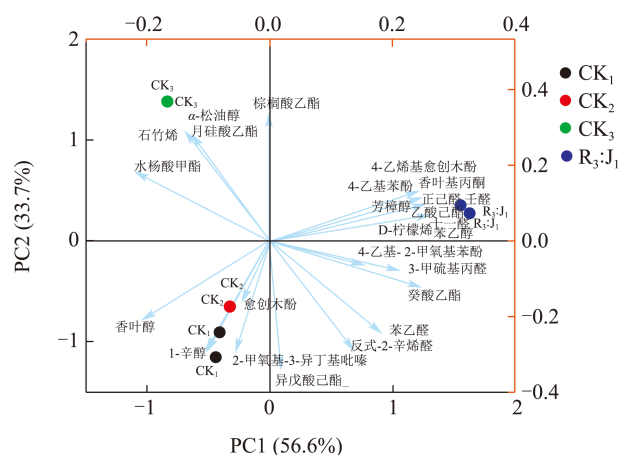


图5 不同发酵辣椒的PCA图

Fig.5 PCA diagram of fermented peppers

3 结论

测定室温自然发酵、32℃自然发酵辣椒、X公司提供的发酵辣椒产品18%(m/m)高盐度、32℃接种发酵辣椒8%(m/m)低盐度的理化指标、有机酸、感官评价和挥发性成分,通过分析发现,低盐接种发酵比自然发酵的风味品质较好,产生的挥发性香气物质最多。主要结论为:(1)接种植物乳杆菌和季也蒙迈耶氏酵母发酵显著增加了总酸、有机酸、氨基酸态氮等的含量。(2)经感官分析得,四组发酵辣椒感官评分从大到小为CK₃>R₃:J₁>CK₁>CK₂,CK₃和R₃:J₁组感官评分较高,分别为90.81、88.80分。(3)利用液相色谱测定四组发酵辣椒中有机酸,含量从高到低为R₃:J₁>CK₂>CK₃>CK₁,CK₃中由于盐度较高测得的有机酸含量较低,R₃:J₁中以乳酸含量最高,发酵后柠檬酸含量降低。(4)四组辣椒样品中,CK₁有71种挥发性成分,CK₂有78种,CK₃有60种,R₃:J₁有92种,其中共有成分有35种。酯类和酸类、醇类是发酵辣椒的主要特征香气物质,发酵成熟后烷烃类物质明显减少。(5)结合rOAVs分析和主成分分析发现,

自然发酵组中以 1-辛醇、香叶醇、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪为关键香气物质,还检测出少量具有难闻气味的正癸酸和 3-甲基丁酸;月桂酸乙酯、水杨酸甲酯、石竹烯、 α -松油醇等物质是 CK₃ 的特征香气物质,具有丁香、铃兰花清香味;乙酸己酯、乳酸、乙酸、芳樟醇、苯乙醇、正己醛、十一醛、壬醛、4-乙基愈创木酚、D-柠檬烯等是 R₃:J₁ 的特征香气物质,主要体现了甜果香、花香。

CK₁、CK₂ 的 pH 值和总酸含量较低,可能是自然发酵辣椒内的乳酸菌数量过少,无法快速启动发酵。还原糖在四组发酵辣椒中有不同程度的下降,是因为微生物在发酵过程中以还原糖为主要碳源。氨基酸态氮总体含量较低,可能是因为辣椒原料中本身蛋白质含量仅 1.9% 左右,且乳酸菌和酵母菌在发酵过程中主要利用糖类物质产生酸和醇,对蛋白质的分解能力较弱,需要依赖于现成的氨基酸作为氮源。CK₁、CK₂ 由于发酵时间过短、发酵方向不可控等原因导致风味不佳,CK₁ 主要体现在发酵缓慢,生青味明显。CK₂ 的感官评分最低,原因是在低盐度下 32 °C 发酵使得杂菌生长,导致还原糖消耗过多,脆度明显下降。R₃:J₁ 和 CK₃ 在风味上各有特色,高盐发酵辣椒 CK₃ 通过自然发酵后再进行风味调配,其中含有较多的酸类物质,但 rOAVs 值 < 1,起到协调香气的作用,主要体现在酸辣鲜香,口感更浓烈。R₃:J₁ 发酵后不需要经过再次加工调配,发酵后的低酸度可以抑制杂菌、延长储藏期,且风味品质较好,香气复杂,主要以乳酸和芳香气味突出,为应用植物乳杆菌和季也蒙迈耶氏酵母接种发酵辣椒提供一定的参考。

参考文献

- [1] 吴凯,覃业优,蒋立文,等.不同质量分数食盐腌渍艳红辣椒的风味物质分析[J].食品科学,2021,42(24):175-182.
- [2] 肖龙泉,王新惠,张雅琳,等.低盐低硝辣椒酱的研发及理化性质研究[J].中国调味品,2019,44(11):98-100.
- [3] CHEN M, QIN Y, DENG F, et al. Illumina MiSeq sequencing reveals microbial community succession in salted peppers with different salinity during preservation [J]. Food Research International, 2021, 143: 110234.
- [4] LI M, XU X, BI S, et al. Identification and validation of core microbes associated with key aroma formation in fermented pepper paste (*Capsicum annum* L.) [J]. Food Research International, 2023, 163: 112194.
- [5] XU X, WU B, ZHAO W, et al. Shifts in autochthonous microbial diversity and volatile metabolites during the fermentation of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) [J]. Food Chemistry, 2021, 335: 127512.
- [6] 尹小庆,汤艳燕,阚建全,等.小米辣鲜辣椒发酵过程中风味物质及微生物多样性的变化[J].食品与发酵工业,2020,46(5):74-82.
- [7] 藏伟,刘叶,刘宇,等.本土季也蒙毕赤酵母在干红葡萄酒中试生产中的应用潜力[J].食品科学,2023,44(18):117-125.
- [8] 杨阳,邓岳,刘彦希,等.一株酱醅中耐盐酵母 *Meyerozyma guilliermondii* 的分离鉴定及其挥发性香气成分分析[J].中国测试,2016,42(11):55-59.
- [9] 吴旋,阚晓波,徐怀德,等.植物乳杆菌发酵的不同地区辣椒品质分析[J].中国食品学报,2022,22(7):319-327.
- [10] 陈怡,方俊,覃业优,等.以腌渍辣椒水作为发酵剂发酵干辣椒的微生物筛选[J].中国酿造,2020,39(10):109-113.
- [11] 唐鑫,张艺馨,刘卫红,等.外源接菌对发酵辣椒微生物群落和挥发性风味化合物的影响[J].食品科学,2023,44(10):132-141.
- [12] WANG J, WANG R, XIAO Q, et al. SPME/GC-MS characterization of volatile compounds of Chinese traditional-chopped pepper during fermentation [J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 1863-1872.
- [13] 张群,郑井元,郑金玉,等.顶空固相微萃取-气相色谱联用质谱法分析“三味”剁辣椒和原料的挥发性成分[J].食品安全质量检测学报,2018,9(21):5678-5687.
- [14] 葛可达.“三味”剁辣椒贮藏过程中细菌菌群多样性和挥发性成分分析[D].长沙:湖南大学,2020.
- [15] RYU J, KIM E, KIM M, et al. Physicochemical characteristics and microbial communities in Gochujang, a traditional Korean fermented hot pepper paste [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11: 620478.
- [16] WANG C, SONG X, LI C, et al. Mixed fermentation with *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Candida utilis* improves the fermentation quality of Hong Suan Tang [J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134488.
- [17] LI X, CHENG X, YANG J, et al. Unraveling the difference in physicochemical properties, sensory, and volatile profiles of dry chili sauce and traditional fresh dry chili sauce fermented by *Lactobacillus plantarum* PC8 using electronic nose and HS-SPME-GC-MS [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102057.
- [18] 贺子玉,何心,胡楠,等.发酵辣椒中的微生物及其风味物质研究进展[J].现代食品科技,2023,39(8):334-342.
- [19] 史婷,高甜甜,刘伟,等.不同发酵剂对剁辣椒品质的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(15):144-153.
- [20] 蒋立文,石聪,覃业优,等.高盐辣椒坯的品质研究[J].食品与生物技术学报,2020,39(7):91-98.
- [21] WATTS E G, JANES M E, PRINYAWIWATKUL W, et al. Microbiological changes and their impact on quality characteristics of red hot chilli pepper mash during natural fermentation [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(8): 1816-1823.

- [22] 王新惠,夏艳丽,张雅琳,等.植物乳酸杆菌对辣椒酱品质的影响[J].中国调味品,2020,45(4):44-46.
- [23] LEE S M, LEE J Y, CHO Y J, et al. Determination of volatiles and carotenoid degradation compounds in red pepper fermented by *Lactobacillus parabuchneri* [J]. Journal of Food Science, 2018, 83(8): 2083-2091.
- [24] YANG Q, YAO H, LIU S, et al. Interaction and application of molds and yeasts in Chinese fermented foods [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 664850.
- [25] 罗凤莲.湖南剁椒腌制过程中风味及品质变化规律研究[D].长沙:湖南农业大学,2014.
- [26] YE Z, SHANG Z, ZHANG S, et al. Dynamic analysis of flavor properties and microbial communities in Chinese pickled chili pepper (*Capsicum frutescens* L.): A typical industrial-scale natural fermentation process [J]. Food Research International, 2022, 153: 110952.
- [27] YE Z, SHANG Z, LI M, et al. Effect of ripening and variety on the physiochemical quality and flavor of fermented Chinese chili pepper (Paojiao) [J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130797.
- [28] CHEN Y, XU H, DING S, et al. Changes in volatile compounds of fermented minced pepper during natural and inoculated fermentation process based on headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(7): 3362-3379.
- [29] WANG Y, ZHOU H, DING S, et al. Changes in free amino acids of fermented minced peppers during natural and inoculated fermentation process based on HPLC-MS/MS [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(9): 2803-2811.
- [30] 肖何,王蓉蓉,陈梦娟,等.湖南不同地区农家剁辣椒风味成分比较分析[J].食品工业科技,2022,43(22):310-318.
- [31] 崔璨,高哲,李喜悦,等.枣烘焙挥发性组分的GC-MS鉴定和主成分分析[J].食品工业科技,2015,36(12):65-69.
- [32] DEVARI S, JAGLAN S, KUMAR M, et al. Capsaicin production by *Alternaria alternata*, an endophytic fungus from *Capsicum annum*; LC-ESI-MS/MS analysis [J]. Phytochemistry, 2014, 98: 183-189.
- [33] XU X, WU B, ZHAO W, et al. Correlation between autochthonous microbial communities and key odorants during the fermentation of red pepper (*Capsicum annum* L.) [J]. Food Microbiology, 2020, 91: 103510.