

植物乳杆菌PJ4-2发酵对南瓜汁发酵前后品质的影响

李娅馨^{1,2}, 邓岚¹, 王秀静¹, 杨双双¹, 李文媛¹, 胡宏¹, 赵雅冉^{1,2}, 赵强^{1,2}, 李华敏^{1,2*}, 刘文丽^{1,2*}

(1. 鲁东大学食品工程学院, 山东烟台 264025)

(2. 鲁东大学生物纳米技术研究院, 烟台市绿色食品加工与质量控制工程研究中心, 山东烟台 264025)

摘要: 利用植物乳杆菌 PJ4-2 发酵蜜本南瓜汁, 以未发酵的南瓜汁为对照, 分析利用植物乳杆菌 PJ4-2 发酵后南瓜汁理化指标、挥发性风味物质及感官品质的变化。结果表明: 经过 12 h 发酵, 南瓜汁 pH 值下降至 4.52, 酸度上升至 10.70 mg/g, 有机酸含量上升至 11.64 mg/g。利用顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术 (HS-SPME-GC-MS) 从发酵前后的南瓜汁中共鉴定出 40 种挥发性风味物质, 包括 11 种醛、9 种酮、11 种醇、4 种烯烃、1 种酚、1 种酯、1 种酸和 2 种其他物质, 发酵后挥发性风味物质浓度增加了 67.60%, 植物乳杆菌 PJ4-2 对增加南瓜汁风味有重要贡献。结合香气活性值 (OAV) 分析以及偏最小二乘回归分析 (PLS-DA) 可知, 南瓜汁发酵后香气差异的特征性潜在标记物为 2,3-丁二酮 (OAV=175.10, VIP=1.51) 和 3-羟基-2-丁酮 (OAV=10.18, VIP=1.40), 赋予发酵南瓜汁黄油香气。结果表明, 植物乳杆菌 PJ4-2 在南瓜汁具有较好活性, 发酵后南瓜汁香味浓郁、酸甜适中, 整体接受度更高, 植物乳杆菌 PJ4-2 适用于发酵南瓜汁。

关键词: 植物乳杆菌; 蜜本南瓜; 理化性质; 气相色谱-质谱; 香气活性值; 偏最小二乘回归分析

文章编号: 1673-9078(2024)06-124-132

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.6.0702

Effect of Fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* PJ4-2 on the Quality of Pumpkin Juice Before and After Fermentation

LI Yaxin^{1,2}, DENG Lan¹, WANG Xiujing¹, YANG Shuangshuang¹, LI Wenyuan¹, HU Hong¹,

ZHAO Yaran^{1,2}, ZHAO Qiang^{1,2}, LI Huamin^{1,2*}, LIU Wenli^{1,2*}

(1. School of Food Engineering, Ludong University, Yantai 264025, China) (2. Yantai Key Laboratory of Nanoscience and Technology for Prepared Food, Ludong University, Yantai Engineering Research Center of Green Food Processing and Quality Control, Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: *Cucurbita maxima* pumpkin juice was fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* PJ4-2, and the unfermented pumpkin juice was used as the control. The changes in physicochemical indexes, volatile flavor substances and sensory quality of the pumpkin juice after fermentation with *L. plantarum* PJ 4-2 were analyzed. The results showed that after a 12-h fermentation, the pH value of the pumpkin juice decreased to 4.52, the acidity increased to 10.70 mg/g, and the content of organic acid increased to 11.64 mg/g. A total of 40 volatile flavor compounds were identified from the unfermented

引文格式:

李娅馨, 邓岚, 王秀静, 等. 植物乳杆菌 PJ4-2 发酵对南瓜汁发酵前后品质的影响 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(6): 124-132.

LI Yaxin, DENG Lan, WANG Xiujing, et al. Effect of fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* PJ4-2 on the quality of pumpkin juice before and after fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 124-132.

收稿日期: 2023-06-10

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目 (ZR2021MC153); 烟台市科技计划项目 (2022XDRH013)

作者简介: 李娅馨 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: 994681444@qq.com

通讯作者: 李华敏 (1982-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品微生物学, E-mail: hmli@ldu.edu.cn; 共同通讯作者: 刘文丽 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: wlliu@ldu.edu.cn

and fermented pumpkin juices by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS), including 11 aldehydes, 9 ketones, 11 alcohols, 4 olefins, 1 phenol, 1 ester, 1 acid and 2 other compounds. The concentration of volatile flavor substances increased by 67.60% after fermentation, and *L. plantarum* PJ 4-2 made an important contribution to the increase of pumpkin juice flavor. The odor activity value (OAV) analysis combined with the partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) revealed that 2,3-butanedione (OAV=175.10, VIP=1.51) and 3-hydroxy-2-butanone (OAV=10.18, VIP=1.40) were the potential characteristic markers for the aroma differences of pumpkin juice before and after fermentation, giving the fermented pumpkin juice a buttery aroma. The results showed that *L. plantarum* PJ4-2 had a good activity in pumpkin juice, and the resulting fermented pumpkin juice was rich in fruity aroma, had moderate sweetness and sourness, and gained higher overall acceptance, indicating that *L. plantarum* PJ4-2 was suitable for fermentation of pumpkin juice.

Key words: *Lactiplantibacillus plantarum*; *Cucurbita moschata* Duch.; physicochemical properties; gas chromatography-mass spectrometry; odor activity value; partial least squares discriminant analysis

南瓜为葫芦科 (*Cucurbitaceae*) 南瓜属 (*Cucurbita* Linn.), 果肉含有丰富的蛋白质、游离氨基酸、脂肪酸以及矿物质^[1], 具有降血糖、抗氧化、吸附毒素等生理功能^[2]。中国是世界第二大南瓜生产国, 南瓜产量高, 精深加工产品以南瓜果泥、果汁和干燥南瓜等产品为主^[1,2], 发酵型的南瓜深加工产品并不多见。乳酸菌广泛存在于自然界中, 可发酵碳水化合物产生乳酸, 其产生的有机酸等代谢产物对人类健康、食品品质等具有显著影响^[3], 被广泛应用于发酵果汁、酸奶、泡菜等食品^[4]。南瓜富含天然糖、维生素和膳食纤维等, 适宜乳酸菌生长^[5]。Sun 等^[2]研究发现副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌可利用南瓜中的碳源进行发酵, 提高南瓜汁中乳酸、苹果酸、柠檬酸和琥珀酸的含量, 有效提升南瓜汁的稳定性和感官品质。瑞士乳杆菌发酵可将醛类和醇类物质转化成酮类和酸类物质, 且发酵 12 h 的南瓜汁评分最高^[6]。Dimitrovski 等^[7]研究发现干酪乳杆菌利用南瓜汁中的葡萄糖和果糖进行发酵, 乳酸含量升高, 发酵南瓜汁呈现甜味、果味和宜人的气味。

植物乳杆菌是发酵果蔬产品中常用的乳酸菌。研究发现植物乳杆菌可以有效改善草莓汁的色泽, 提高草莓汁中酚类物质含量及抗氧化能力^[8]。通过植物乳杆菌对百香果果汁进行发酵, 生成了具有脂肪香气和水果香气的 1-十二醇和 2,6-辛二烯-1-醇, 提高了百香果汁的感官品质^[9]。植物乳杆菌发酵后的柠檬汁对鼠伤寒沙门氏菌具有更高的抗菌性能^[10]。将植物乳杆菌接种于南瓜汁中发酵, 得到的发酵液酸度适中, 乳酸菌生长良好^[11]。然而, 利用植物乳杆菌发酵南瓜汁的风味研究尚且不足。

本研究以蜜本南瓜为原料, 利用传统发酵蔬菜

中分离筛选的植物乳杆菌 PJ4-2 为发酵菌株, 研究植物乳杆菌 PJ4-2 对南瓜汁发酵特性的影响。采用顶空固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术 (Headspace Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry, HS-SPME-GC-MS) 对发酵南瓜汁的挥发性风味物质进行检测, 结合香气活性值 (Odor Activity Value, OAV) 分析与偏最小二乘回归分析 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA), 明确植物乳杆菌发酵南瓜汁中的特征风味物质, 为生产南瓜汁发酵饮品提供理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蜜本南瓜 (*Cucurbita moschata* Duch.) 购于烟台当地市场。

植物乳杆菌 PJ4-2 (*Lactiplantibacillus plantarum* PJ4-2) 分离自辣白菜。

蛋白胨、胰蛋白胨、酵母浸粉、牛肉浸膏和琼脂均为生物试剂, 北京奥博星生物技术有限公司; 无水葡萄糖、柠檬酸氢二铵、硫酸镁、硫酸锰、磷酸氢二钾、碳酸钙、乙酸钠和氯化钠均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 正构烷烃 (C₇~C₃₀)、有机酸标准品 (草酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸) 和 3-辛醇均为色谱纯, 美国 Sigma 公司; 乙腈, 色谱纯, 德国 Merck 公司。

1.2 仪器与设备

A-45-24-11 九阳破壁机, 九阳股份有限公司; TDL-50B 台式高速冷冻离心机, 上海隆拓仪器设备

有限公司; PB-10 pH 计, 烟台新锐仪表仪器有限公司; CR-400 色差仪, 日本柯尼卡美能达有限公司; CT-3 质构仪, 美国 Brookfield 公司; 1260 Infinity II 高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; HC-C₁₈ 色谱柱 (250 单位 ×4.6 mm, 内径 5 μm), 昭和电工科学仪器 (上海) 有限公司; 57330-U 型固相微萃取手柄, 美国 Supelco 公司; 57328-U 型固相微萃取头 (配有 50/30 μm, DVB/CAR/PDMS, Stableflex), 美国 Supelco 公司; DB-WAX 型熔融石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 内径 0.25 μm), 安捷伦科技 (中国) 有限公司; GCMS-QP2020NX 单四极杆型气相色谱质谱联用仪, 日本岛津公司。

1.3 实验方法

1.3.1 南瓜汁发酵

根据彭兴兴等^[6]的方法, 将南瓜洗净后去皮去籽切成薄片, 以 1:1 (*m/V*) 加水用破壁机制浆, 加质量分数为 5% 的蔗糖, 熬煮至沸腾再煮 20 min, 冷却至室温备用。植物乳杆菌 PJ4-2 接种于 MRS 培养基中, 30 °C 培养 24 h, 于 4 °C, 8 000 r/min 离心 10 min。将菌体洗涤两次并悬浮在质量分数为 0.85% 的生理盐水中, 接种于南瓜汁中, 起始浓度为 1.0×10^7 CFU/mL, 30 °C 发酵。

1.3.2 理化指标测定

乳酸菌计数: 参考 GB 4789.35-2016 《食品安全国家标准食品微生物学检验乳酸菌检验》, 采用平板计数法进行测定。

pH 值: 采用 pH 计进行测定。

总酸: 参考 GB 12456-2021 《食品安全国家标准食品中总酸的测定》中第二法 -pH 计电位滴定法进行测定。

1.3.3 色度的测定

使用色差仪对发酵南瓜汁的 *L**、*a** 和 *b** 进行测定。*L** 表示明亮度, *a** 表示红绿, *b** 表示黄蓝。

1.3.4 有机酸的测定

参考 Zhang 等^[12]的方法测定有机酸。采用高效液相色谱仪测定发酵南瓜汁中 5 种有机酸的含量。样品经 8 000 r/min 离心 10 min 得到上清液, 用 0.22 μm 滤膜过滤。

有机酸色谱条件: 以 0.1% 磷酸溶液和甲醇 (97.5:2.5, *V/V*) 为流动相, 流速为 1 mL/min, 柱温 30 °C。分析时间为 20 min。检测器为二极管阵列检测器。

1.3.5 挥发性风味物质分析

(1) 顶空固相微萃取: 3 g 南瓜汁样品置于 15 mL 顶空进样瓶中, 分别加入 0.5 g 氯化钠和 4 μL 3- 辛醇 (0.01 mg/mL) 内标溶液。于 5 °C, 300 r/min 搅拌平衡 10 min, 吸附 40 min。将萃取头插至 GC-MS 进样口, 解析 5 min。

(2) GC-MS 条件: 采用 Yuan 等^[13]的方法。

(3) 挥发性物质定性分析: 挥发性化合物的质谱图与 NIST17 谱库进行比较, 并与质谱库记录的保留指数 (Retention Index, RI) 进行比对, 对挥发性化合物进行定性。

(4) 挥发性物质半定量分析: 挥发性物质含量采用内标半定量法, 根据化合物与内标物峰面积的比值进行计算。

(5) 香气活性值分析: 香气活性值是挥发性化合物的含量与其气味阈值 (Odor Threshold, OT) 的比率, 芳香化合物的 OAV ≥ 1 被认为是主要香气化合物, 其 OAV 越大, 对香气的贡献越大^[14]。

OAV 计算如下:

$$A = \frac{C_i}{O_i} \quad (1)$$

式中:

A——香气活性值 (OAV);

C_i——待测样品中各风味化合物含量, μg/kg;

O_i——该物质在水中的风味阈值 (OT), μg/kg。

1.4 感官评定

感官评估团队由 7 名女性和 6 名男性组成, 从色泽、甜味、酸味、南瓜味、发酵味、黏稠感和整体接受度 7 个方面对发酵前后的南瓜汁进行评分。评价强度从 1 分 (不可感知) 到 9 分 (强烈可感知) 进行。

1.5 数据分析

每组数据测量三次, 使用“平均数 ± 标准差”表示。利用 Excel 2021 以及 Origin 2021 进行数据处理及图表绘制。采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析验证数据间的显著性差异, 使用 www.metaboanalyst.ca 对 GC-MS 数据进行偏最小二乘回归分析 (PLS-DA) 分析, 确定发酵南瓜汁中的差异风味化合物。

2 结果与讨论

2.1 乳酸菌菌数及理化指标变化

如图 1 所示, 发酵 12 h, 南瓜汁中植物乳杆菌

从 6.97 lg CFU/g 达到 8.68 lg CFU/g；pH 值从 6.05 下降至 4.52；酸度从发酵初的 4.64 mg/g 增加到 10.70 mg/g。发酵前 3 h，由于植物乳杆菌处于增殖初期，南瓜汁酸度和 pH 值变化相对平缓。随发酵时间推移，植物乳杆菌 PJ4-2 快速生长，南瓜汁 pH 值的变化显示出相反的趋势，说明在此期间乳酸菌代谢产物可快速积累，发酵产生大量的有机酸，降低了南瓜汁的 pH 值并提高酸度，这与 Sun 等^[2]研究植物乳杆菌发酵南瓜汁具有相同的变化趋势。发酵前后南瓜汁的 L^* 、 a^* 以及 b^* 无显著性差异 ($P>0.05$ ，数据未列出)，表明植物乳杆菌 PJ4-2 发酵南瓜汁后未有显著褐变现象发生。但在 Sun 研究中，在乳酸菌发酵过程中，由于南瓜汁中类胡萝卜素发生氧化， a^* 值和 b^* 下降，对比可说明植物乳杆菌 PJ4-2 发酵后南瓜汁存在一定抗氧化能力。

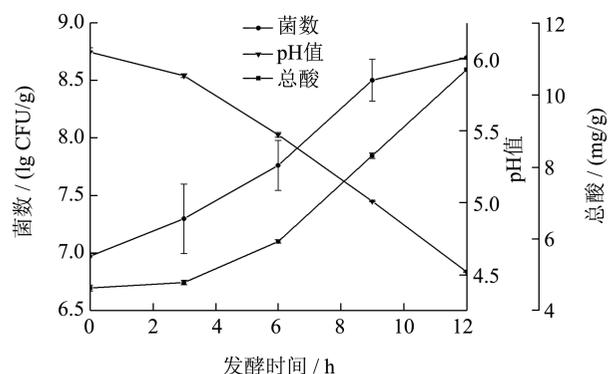


图 1 发酵南瓜汁的乳酸菌数及理化指标变化

Fig.1 Changes in lactic acid bacteria counts and physicochemical indexes of fermented pumpkin juice

2.2 有机酸分析

乳酸菌可以通过发酵代谢糖，导致有机酸增加，这些酸的增加有益于抑制腐败微生物的生长，提高产品的安全性^[15]。如表 1 所示，发酵 12 h 后，南瓜汁中有机酸的含量由 4.80 mg/g 上升至 11.64 mg/g，其中在未发酵南瓜汁检出有机酸主要为柠檬酸 (2.79 mg/g) 和苹果酸 (1.76 mg/g)，苹果酸为南瓜果实中的主要有机酸，而柠檬酸与南瓜品种有关^[16]。发酵后南瓜汁中苹果酸、乳酸和琥珀酸含量显著升高 ($P<0.05$)，分别达到 3.95、3.16 和 1.63 mg/g。苹果酸味道接近天然果汁，具有天然风味，产生的热量少^[17]，使发酵后南瓜汁风味更佳。乳酸是同型发酵乳酸菌代谢产生的主要最终代谢物^[18]，乳酸含

量积累主要取决于乳酸菌和发酵底物的糖代谢^[19]。琥珀酸味道复杂，含量提高可有助于发酵南瓜汁生成相应的酯，从而赋予发酵产品醇厚的口感^[20]。

表 1 南瓜汁中有机酸含量

Table 1 Contents of organic acids in pumpkin juice

有机酸	CK/(mg/g)	PJ4-2/(mg/g)
草酸	0.25 ± 0.02 ^a	0.19 ± 0.04 ^b
苹果酸	1.76 ± 0.11 ^b	3.95 ± 0.08 ^a
乳酸	—	3.16 ± 0.02 ^a
柠檬酸	2.79 ± 0.14 ^a	2.71 ± 0.01 ^a
琥珀酸	—	1.63 ± 0.21 ^a
总量	4.80	11.64

注：同行右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)；CK: 未发酵南瓜汁；PJ4-2: 植物乳杆菌 PJ4-2 发酵的南瓜汁；“—”: 未检出。

2.3 特征风味物质分析

如图 2 和表 2 所示，CK 与 PJ4-2 组中共鉴定出 40 种挥发性化合物，包括 11 种醛、9 种酮、11 种醇、4 种烯烃、1 种酚、1 种酯、1 种酸和 2 种其他物质。如图 4 所示，发酵后南瓜汁中的风味物质组成和含量出现较大变化，发酵后挥发性风味物质含量增加了 67.60%，相较于植物乳杆菌发酵后南瓜汁中挥发性风味物质含量增加了 51.56% 的研究^[2]，说明植物乳杆菌 PJ4-2 不仅对增加发酵南瓜汁风味具有较大贡献，还更适宜用于发酵南瓜汁。CK 中挥发性风味物质主要是醛类、醇类以及酮类，发酵后南瓜汁中的醛类物质含量降低，酮、醇、烯烃和酸类物质含量出现不同程度上升，其中醇类物质上升尤为明显，与 Xu 等^[21]的研究结果相似。

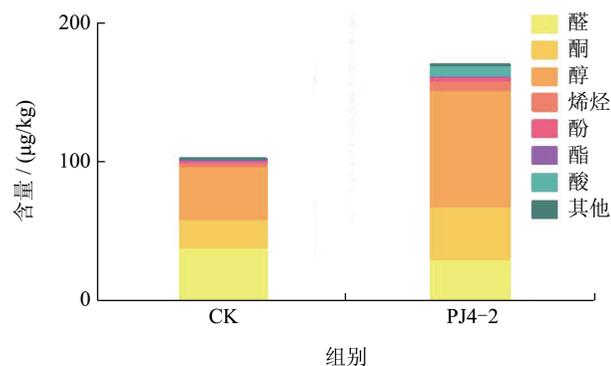


图 2 发酵前后南瓜汁中不同种类挥发性风味物质的含量

Fig.2 Composition and concentration of volatile flavor compounds in pumpkin juice before and after fermentation

表2 发酵南瓜汁中挥发性风味物质
Table 2 Volatile favor compounds in fermented pumpkin juice

类别	物质名称	CAS	化学分子式	阈值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CK		PJ4-2		风味描述
					含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	OAV 值	含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	OAV 值	
醛类	2- 呋喃甲醛	98-01-1	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$	6.2	0.95 ± 0.22	<1	1.21 ± 0.25	<1	木质香、焦糖香
	2- 己烯醛	6728-26-3	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$	17	0.71 ± 0.01	<1	0.73 ± 0.01	<1	草香、果香
	正己醛	66-25-1	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	4.5	4.83 ± 0.16	1.07	0.98 ± 0.08	<1	青草香
	苯甲醛	100-52-7	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	350	2.87 ± 0.42	<1	—	—	杏仁味、甜香
	庚醛	111-71-7	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}$	200	1.04 ± 0.06	<1	—	—	脂肪香、腐臭味
	2- 甲基苯甲醛	529-20-4	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$	—	0.59 ± 0.12	—	—	—	—
	正辛醛	124-13-0	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	0.7	1.56 ± 0.73	2.23	—	—	肥皂香、柠檬香
	壬醛	124-19-6	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	0.086	5.60 ± 1.51	65.11	4.64 ± 0.35	53.98	柑橘香、芳香
	4- 丙基苯甲醛	28785-6-0	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$	—	2.74 ± 0.44	—	5.58 ± 0.79	—	—
	1- 甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯	432-25-7	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	3	8.70 ± 0.39	2.90	8.33 ± 0.38	2.78	玫瑰香、水果香
癸醛	112-31-2	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$	2	8.80 ± 3.55	4.40	8.56 ± 1.05	4.28	柑橘香	
酮类	2,3- 丁二酮	431-03-8	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$	0.05	—	—	8.76 ± 0.40	175.10	黄油香、奶油香
	3- 羟基-2- 丁酮	513-86-0	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	0.8	—	—	8.14 ± 0.54	10.18	清香
	苯乙酮	98-86-2	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$	0.17	0.64 ± 0.12	3.74	0.95 ± 0.08	5.57	甜香
	6- 甲基-5- 庚烯-2- 酮	110-93-0	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}$	1 000	3.73 ± 0.11	<1	5.27 ± 0.38	<1	胡椒味、蘑菇味
	2,2,6- 三甲基环己酮	2408-37-9	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}$	—	1.62 ± 0.11	—	—	—	—
	2,3- 辛二酮	585-25-1	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2$	3	0.51 ± 0.18	<1	—	—	青草味
	2- 戊基环戊酮	4819-67-4	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	7	0.49 ± 0.09	<1	—	—	水果香, 奶酪味
	4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮	14901-07-6	$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}$	0.007	5.08 ± 0.08	725.19	5.60 ± 0.19	799.36	覆盆子香、花香
	3,7- 二甲基-2,6- 辛二烯基丙酮	3796-70-1	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$	60	8.48 ± 0.21	<1	9.34 ± 0.24	<1	花香味、青草味
	醇类	1- 戊醇	71-41-0	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$	4 000	1.52 ± 0.18	<1	2.00 ± 0.10	<1
顺-3- 己烯-1- 醇		928-96-1	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	70	1.84 ± 0.24	<1	24.35 ± 1.33	<1	青草味、清新香
正己醇		111-27-3	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}$	5.6	22.69 ± 0.67	4.05	25.98 ± 1.24	4.64	水果香, 苹果香
苯甲醇		100-51-6	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$	1.2	0.44 ± 0.09	<1	1.56 ± 0.12	1.30	玫瑰香
1- 辛烯-3- 醇		3391-86-4	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	1	1.72 ± 0.06	1.72	1.99 ± 0.22	1.99	蘑菇香
2,6- 二甲基环己醇		5337-72-4	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$	—	1.97 ± 0.40	—	2.52 ± 0.41	—	—
2- 乙基己醇		104-76-7	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$	—	0.84 ± 0.12	—	1.20 ± 0.12	—	—
反, 顺-3,6- 壬二烯-1- 醇		56805-23-3	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}$	—	0.58 ± 0.07	—	13.59 ± 1.72	—	清香、黄瓜香
顺-3- 壬烯-1- 醇		10340-23-5	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	—	5.10 ± 0.21	—	6.10 ± 0.33	—	—
顺-6- 壬烯-1- 醇		35854-86-5	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	—	1.52 ± 0.22	—	—	—	—
烯烃类	1- 壬醇	143-08-8	$\text{C}_9\text{H}_{20}\text{O}$	0.86	—	—	4.60 ± 0.23	5.35	油脂香、青草味
	苯乙烯	100-42-5	C_8H_8	35	—	—	0.77 ± 0.13	<1	香膏味、甜香
	萘	91-20-3	C_{10}H_8	—	1.14 ± 0.16	—	—	—	—
	双环(0.3.5)癸-1,3,5,7,9- 戊烯	275-51-4	C_{10}H_8	—	—	—	3.41 ± 0.54	—	—
	1,2,3,4- 四甲基苯	488-23-3	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}$	—	1.22 ± 0.62	<1	2.54 ± 1.17	<1	—

续表2

类别	物质名称	CAS	化学分子式	阈值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	CK		PJ4-2		风味描述
					含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	OAV 值	含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	OAV 值	
酚类	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$	200	1.78 ± 0.23	<1	2.68 ± 0.20	<1	—
酯类	5,6,7,7a-四氢-4,7,7a-三甲基-2-(4H)-苯并呋喃酮	17092-92-1	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$	3.8	0.56 ± 0.06	<1	0.73 ± 0.04	<1	麝香、木质香
酸类	乙酸	64-19-7	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	34	—	—	7.62 ± 1.33	<1	酸味、发酵味
其他	1,3-硫氮杂茛	95-16-9	$\text{C}_7\text{H}_5\text{NS}$	80	—	—	0.65 ± 0.03	<1	—
	2-正戊基呋喃	3777-69-3	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$	6	0.39 ± 0.01	<1	—	—	绿豆味、黄油味

注：“—”未检出。

2.3.1 OAV分析

根据已报道的香气阈值分析各挥发性风味物质的OAV值见表2,共鉴定出12种OAV ≥ 1 的关键香气物质,对发酵前后的南瓜汁具有较大的贡献。

2.3.1.1 醛类

CK中共检测出11种醛类,醛类含量占总挥发性物质含量的37.55%,其中有4种OAV ≥ 1 的醛类,分别是壬醛(OAV=65.11)、1-甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯(OAV=2.90)、正辛醛(OAV=2.23)以及正己醛(OAV=1.07)。PJ4-2中共检测出7种醛类,占总挥发性物质含量的17.53%,其中鉴定出壬醛(OAV=53.98)、癸醛(OAV=4.28)以及1-甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯(OAV=2.78)3种OAV ≥ 1 的醛类。具有果香味的壬醛在CK和PJ4-2的OAV都远大于1,为南瓜汁的主要香气成分,可为南瓜汁提供良好的果香气,对南瓜汁的风味具有重要贡献。1-甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯可能是南瓜汁在加热的过程中通过美拉德反应产生的,发酵前后含量无显著性差异,发酵作用未减弱1-甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯带有的花果香气^[6]。癸醛仅在PJ4-2中检出OAV>1,表明植物乳杆菌发酵有利于癸醛的产生,增添了南瓜汁的柑橘清香。肥皂味的正辛醛和青草味的正己醛在发酵后的南瓜汁中含量降低或消失,推测是由于醛不稳定,在微生物的作用下被还原为醇或氧化为酸^[22],表明乳酸菌发酵作用可以减少一部分醛类物质带来的不良风味。

2.3.1.2 酮类

CK共检测出7种酮类物质,占总挥发性物质浓度的20.09%,其中鉴定出4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮(OAV=725.19)和苯乙酮(OAV=3.74)的OAV ≥ 1 ,PJ4-2中检测

到6种酮,占总挥发性物质含量的22.20%,鉴定出4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮(OAV=799.36)、2,3-丁二酮(OAV=175.10)、3-羟基-2-丁酮(OAV=10.18)以及苯乙酮(OAV=5.57)的OAV ≥ 1 。南瓜汁发酵后酮类物质含量增加,可能是由于乳酸菌对酸的脱羧或氧化作用^[22],使发酵后风味得到加强。4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮是一种具有果香和花香的挥发性风味物质,在CK和PJ4-2中OAV远大于1,是南瓜汁中的主要香气成分之一,发酵后含量的增加使南瓜汁花香、果香更浓郁。苯乙酮在发酵后含量增加,发酵作用保留并增加了南瓜汁的甜香味。具有乳脂香气的2,3-丁二酮和3-羟基-2-丁酮在发酵后的南瓜汁中大量生成,是PJ4-2的特征香气物质之一,增加了发酵南瓜汁的奶油香气。

2.3.1.3 醇类

CK和PJ4-2中均鉴定出10种不完全相同的醇类物质,分别占发酵前后总挥发性风味物质含量的37.38%和48.96%。在CK中共检出正己醇(OAV=4.05)和1-辛烯-3-醇(OAV=1.72)2种OAV ≥ 1 的挥发性醇类物质;PJ4-2组共检出4种OAV ≥ 1 的挥发性醇类物质,分别是1-壬醇(OAV=5.35)、正己醇(OAV=4.64)、1-辛烯-3-醇(OAV=1.99)以及苯甲醇(OAV=1.30)。其中,1-壬醇和正己醇通常来源于脂类物质氧化^[23],1-辛烯-3-醇可能由亚油酸的氧化分解产生^[24],苯甲醇可能由苯甲醛还原得到^[25]。醇类物质是风味形成的关键物质,不仅具有愉人的香味,还是其他香气成分的良好溶剂^[22]。发酵后正己醇和1-辛烯-3-醇含量均呈现不同程度的增加,分别使发酵后南瓜汁的红酒香气和蘑菇香气更加浓郁。发酵后新生成的大量1-壬醇,所呈现的玫瑰和橙子气味丰富了发酵南

瓜汁的混合香气,是发酵后南瓜汁中的特征香气物质之一。具有玫瑰花香气的苯甲醇可能由醛类物质还原得到,发酵后苯甲醇含量升高,与嗜酸乳杆菌发酵南瓜汁的结果相似^[2]。发酵后苯甲醇含量升高且 OAV>1,增添了南瓜汁的花香风味,也是 PJ4-2 发酵南瓜汁的特征香气物质之一。

2.3.1.4 其他

烯烃、酯类和酚类物质在发酵前后含量未发生显著性变化 ($P>0.05$),通常具有芳香味和甜味,但较高的阈值使其对整体风味的贡献很小^[26]。

2.3.2 PLS-DA分析

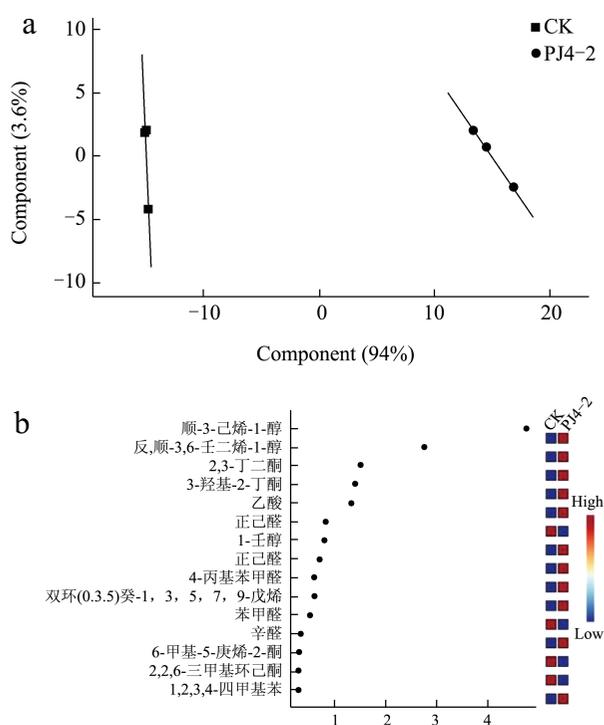


图3 偏最小二乘回归分析评分图 (a) 以及可变影响投影 (VIP) 得分图 (b)

Fig.3 Score chart of partial least squares regression analysis (a) and score chart of VIP (b)

使用偏最小二乘回归分析对发酵前后南瓜汁的挥发性风味物质进行分析,筛选变量重要性投影 (Variable Influence Projection, VIP) 大于1的物质作为差异风味化合物。PLS-DA 评分图表明两个主成分累计方差贡献率为 97.6%,主成分 1 可将 CK 与 PJ4-2 较好的分离 (图 3a)。图 3b 中右侧色块表示挥发性组分在不同组别中的相对浓度,顺-3-己烯-1-醇 (VIP=4.77)、反,顺-3,6-壬二烯-1-醇 (VIP=2.76)、2,3-丁二酮 (VIP=1.51)、3-羟基-2-

丁酮 (VIP=1.40) 和乙酸 (VIP=1.33) 在 PJ4-2 中相对浓度较高,在 CK 中相对浓度较低,为 CK 和 PJ4-2 两组间的主要差异化合物。发酵南瓜汁中顺-3-己烯-1-醇含量显著高于对照组 CK ($P<0.05$),加强了 PJ4-2 中的花果香气以及香草的风味。反,顺-3,6-壬二烯-1-醇是甜瓜中的关键呈香组分^[27],具有强烈的清香和黄瓜味,赋予发酵后南瓜汁清香的特点。2,3-丁二酮和 3-羟基-2-丁酮均赋予发酵南瓜汁丰富的乳脂香气。乙酸为乳酸菌代谢的主要产物之一,对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌具有一定抑制作用^[28],可为发酵南瓜汁赋予新的风味并抑制产品中腐败微生物的生长,延长发酵南瓜汁货架期。

2.3.3 发酵前后南瓜汁的香气差异特征性标记物

为了更好地确定发酵后南瓜汁中的特征性潜在标记物,采用 OAV 分析 ($OAV\geq 1$) 结合 PLS-DA 分析 ($VIP>1$) 对 40 种挥发性风味物质进行筛选,最终筛选出 2,3-丁二酮 ($OAV=175.10$, $VIP=1.51$) 和 3-羟基-2-丁酮 ($OAV=10.18$, $VIP=1.40$) 作为南瓜汁发酵前后香气差异的特征性潜在标记物。结合 KEGG 通路富集分析以及 Du 等^[29]对植物乳杆菌代谢通路的研究,推测植物乳杆菌以南瓜汁中的碳水化合物为底物产生丙酮酸,丙酮酸经过 α -乙酰乳酸合成酶的作用生成乙酰乳酸,乙酰乳酸脱羧形成 3-羟基-2-丁酮,3-羟基-2-丁酮可氧化为 2,3-丁二酮。研究表明,瑞士乳杆菌发酵南瓜汁中含量较高的物质主要有 3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二酮和乙酸^[6]。利用鼠李糖乳杆菌发酵的南瓜汁中挥发性成分主要是己醛、2,3-丁二酮、棕榈酸和 3-羟基-2-丁酮^[30]。

2.4 感官评价

感官评分结果如图 4 所示,CK 组与 PJ4-2 组的南瓜汁色泽变化不大 (CK=7.54, PJ4-2=7.49),与色度检测结果一致,说明乳酸菌发酵可以较好的保持南瓜汁的颜色与光泽。从黏稠感方面来看,发酵前后没有产生显著性 ($P>0.05$) 变化,在一定程度上保留了南瓜汁本身的浓稠质地。未发酵的南瓜汁具有较高的甜味 (CK=6.85),发酵后甜味下降 (PJ4-2=4.87),酸味增加 (CK=2.31, PJ4-2=6.77),是由于乳酸菌发酵消耗碳源,代谢产生苹果酸、乳酸等有机酸。经植物乳杆菌 PJ4-2 发酵后的南瓜汁不仅保留了南瓜本来的香味还增添了独特的发酵香

气,且香味浓郁、酸甜适中,具有较高的整体接受度(PJ4-2=8.08)。

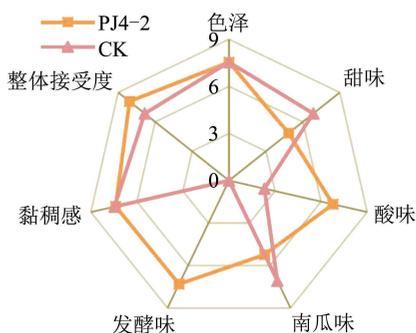


图4 南瓜汁感官评分雷达图

Fig.4 Sensory score radar chart of pumpkin juice

3 结论

本研究采用植物乳杆菌 PJ4-2 作为南瓜汁发酵剂,对其发酵前后南瓜汁的理化指标及风味物质的变化进行分析。研究中发现,利用植物乳杆菌 PJ4-2 发酵南瓜汁 12 h 后,乳酸菌数量可达 8.68 lg CFU/g; pH 值下降至 4.52; 有机酸浓度增加至 11.64 mg/g。另外利用 GC-MS 共鉴定出 40 种挥发性有机物,通过 OAV 分析,共有 12 种 OAV \geq 1 的挥发性有机物被鉴定为南瓜汁中的关键香气物质,包括壬醛、1-甲酰基-2,6,6-三甲基-1-环己烯、癸醛、4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-3-丁烯-2-酮、2,3-丁二酮、3-羟基-2-丁酮、苯乙酮、1-壬醇、正己醇和 1-辛烯-3-醇。通过 PLS-DA 分析,鉴定出 5 种 VIP $>$ 1 的挥发性风味物质,可被认为发酵前后的差异香气化合物。结合 OAV 与 PLS-DA 的分析结果,确定 2,3-丁二酮和 3-羟基-2-丁酮是植物乳杆菌 PJ4-2 发酵前后南瓜汁香气差异的潜在标记物。经植物乳杆菌 PJ4-2 发酵后南瓜汁发酵南瓜汁酸甜适中,口感良好,整体接受度高,该结论对植物乳杆菌发酵植物基饮品提供了参考。此外,本研究所采用的植物乳杆菌 PJ4-2 具有高产胞外多糖以及抑菌等其他功能,将在后续研究中验证在发酵南瓜汁中是否存在协同增效的作用。

参考文献

- [1] 杨晓惠,韦云路,李菲,等.南瓜活性成分及其深加工食品研究进展[J].粮食与油脂,2021,34(7):4-7.
- [2] SUN X, ZHANG Y, LI F, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on chemical compounds, antioxidant capacities and hypoglycemic properties of pumpkin juice [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102126.
- [3] RAHBAR SY, YARI K A, POURGHASSEM G B. A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 217: 79-89.
- [4] 杭锋,陈卫.益生乳酸菌的生理特性研究及其在发酵果蔬饮料中的应用[J].食品科学技术学报,2017,35(4):33-41.
- [5] 李小杰,郭怡,马倩,等.植物乳杆菌生物转化南瓜多糖工艺优化[J].食品与机械,2022,38(7):208-12,19.
- [6] 彭兴兴,郭巧云,杨士琳.发酵过程中南瓜汁挥发性成分的变化[J].食品研究与开发,2021,42(15):8-14,9.
- [7] DIMITROVSKI D, DIMITROVSKA-VETADJOKA M, HRISTOV H, et al. Developing probiotic pumpkin juice by fermentation with commercial probiotic strain *Lactobacillus casei* 431 [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(3): e15245.
- [8] CHEN W D, XIE C Y, HE Q Q, et al. Improvement in color expression and antioxidant activity of strawberry juice fermented with lactic acid bacteria: A phenolic-based research [J]. Food Chemistry: X, 2023, 17: 100535.
- [9] FONSECA H C, MELO D D S, RAMOS C L, et al. Sensory and flavor-aroma profiles of passion fruit juice fermented by potentially probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* CCMA 0743 strain [J]. Food Research International, 2022, 152: 110710.
- [10] HASHEMI S M B, MOUSAVI KHANEGHAH A, BARBA F J, et al. Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 38: 409-414.
- [11] 李慧,赵婧,陈超,等.南瓜汁发酵优良乳酸菌的筛选与鉴定[J].食品研究与开发,2014,35(2):99-102.
- [12] ZHANG X R, LI Y X, ZHAO Y R, et al. Effect of *Levilactobacillus brevis* as a starter on the flavor quality of radish paocai [J]. Food Research International, 2023, 168: 112780.
- [13] YUAN L, LIANG X J, PAN X, et al. Effects of high hydrostatic pressure combined with vacuum-freeze drying on the aroma-active compounds in blended pumpkin, mango, and jujube juice [J]. Foods, 2021, 10(12): 3151.
- [14] MA L J, GAO M M, ZHANG L Q, et al. Characterization of the key aroma-active compounds in high-grade Dianhong tea using GC-MS and GC-O combined with sensory-directed flavor analysis [J]. Food Chemistry, 2022, 378: 132058.
- [15] ZHOU M Z, ZHENG X, ZHU H J, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* enriched with organic/inorganic selenium on the quality and microbial communities of fermented pickles [J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130495.
- [16] NAWIRSKA-OLSZAŃSKA A, BIESIADA A, SOKÓŁ-

- ŁĘTOWSKA A, et al. Characteristics of organic acids in the fruit of different pumpkin species [J]. Food Chemistry, 2014, 148: 415-419.
- [17] WANG M, WANG C M, YANG C, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* C7 and *Staphylococcus warneri* S6 on flavor quality and bacterial diversity of fermented meat rice, a traditional Chinese food [J]. Food Research International, 2021, 150: 110745.
- [18] JEONG C H, HWANG H, LEE H J, et al. Enhancement of the functional properties of vegetable sponge beverage fermented with *Lactobacillus plantarum* isolated from Korean dongchimi [J]. LWT, 2022, 165: 113721.
- [19] PEYER L C, ZANNINI E, ARENDT E K. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 54: 17-25.
- [20] LI X, CHENG X Q, 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.
- [21] XU X X, BAO Y J, WU B B, et al. Chemical analysis and flavor properties of blended orange, carrot, apple and Chinese jujube juice fermented by selenium-enriched probiotics [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 250-258.
- [22] QI J, HUANG H, WANG J, et al. Insights into the improvement of bioactive phytochemicals, antioxidant activities and flavor profiles in Chinese wolfberry juice by select lactic acid bacteria [J]. Food Bioscience, 2021, 43: 101264.
- [23] HU Y Y, TIAN Y, ZHU J M, et al. Technological characterization and flavor-producing potential of lactic acid bacteria isolated from traditional dry fermented sausages in northeast China [J]. Food Microbiology, 2022, 106: 104059.
- [24] ZHANG X R, GUAN H, ZHAO Q, et al. Effect of thermal treatment on the flavor quality of Chinese spicy cabbage [J]. Food Control, 2023, 144: 109338.
- [25] XIANG Q, XIA Y X, CHEN L, et al. Flavor precursors and flavor compounds in cheddar-flavored enzyme-modified cheese due to pre-enzymolysis combined with lactic acid bacteria fermentation [J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102698.
- [26] LI Y, YUAN L, LIU H J, et al. Analysis of the changes of volatile flavor compounds in a traditional Chinese shrimp paste during fermentation based on electronic nose, SPME-GC-MS and HS-GC-IMS [J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(1): 173-182.
- [27] 李莉峰, 时月, 李婷, 等. 促生菌剂处理对网纹甜瓜风味的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 108-116.
- [28] LORENZO S, FRANCESCA P, DIANA I S, et al. Determination of antibacterial and technological properties of vaginal *lactobacilli* for their potential application in dairy products [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 166.
- [29] DU L, KUM-SONG R, ZHANG Y J, et al. Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* X7021 on physicochemical properties, purines, isoflavones and volatile compounds of fermented soymilk [J]. Process Biochemistry, 2022, 113: 150-157.
- [30] 彭兴兴, 林伟锋, 陈中. 两株乳杆菌发酵南瓜汁过程中挥发性物质的研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(4): 92-97.