

3种干腌火腿中细菌群落结构和风味的差异及相关性分析

徐荟¹, 邓洁莹^{1,2}, 李小敏¹, 吴莹¹, 李沛军^{1,2}, 徐宝才^{1,2*}

(1. 合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230009; 2. 合肥工业大学 肉类微生物控制与利用轻工部重点实验室, 安徽 合肥 230009)

摘要: 为比较不同产地干腌火腿微生物多样性对风味的影响, 对3种火腿(金华、宣威和如皋火腿)中的游离氨基酸、挥发性风味物质及微生物群落结构进行比较分析。结果表明, 金华火腿中鲜味和甜味氨基酸含量显著高于宣威火腿($P<0.05$), 风味物质中壬醛和苯甲醛的含量高于宣威火腿, 己醛含量低于宣威火腿; 金华火腿中优势微生物为葡萄球菌属和四联球菌属, 如皋火腿中科贝特氏菌属和宣威火腿中盐单胞菌属相对丰度高于金华火腿。葡萄球菌属与谷氨酸、蛋氨酸等游离氨基酸的产生呈显著正相关($P<0.05$), 且葡萄球菌属和四联球菌属有利于壬醛和苯甲醛等风味物质的产生, 盐单胞菌属与己醛含量的变化呈正相关。该研究阐明了3种火腿中微生物菌群结构差异以及与风味相关的主要微生物, 为后续筛选功能微生物与提升火腿品质提供理论基础。

关键词: 火腿; 氨基酸; 风味物质; 微生物; 关联分析

Comparative Analysis of Correlation Between Microbial Community and Flavor in Three Dry-Cured Hams

XU Hui¹, DENG Jie-ying^{1,2}, LI Xiao-min¹, WU Ying¹, LI Pei-jun^{1,2}, XU Bao-cai^{1,2*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, Anhui, China;
2. China Light Industry Key Laboratory of Meat Microbial Control and Utilization, Hefei University of Technology, Hefei 230009, Anhui, China)

Abstract: The free amino acids, volatile flavor substances and microbial community structure in Jinhua, Xuanwei and Rugao hams were compared and analyzed to investigate the effect of microbial diversity on the flavor of dry-cured hams from different origins. The results showed that the content of umami and sweet amino acids in Jinhua ham was higher than that in Xuanwei ham ($P<0.05$). The content of nonaldehyde and benzaldehyde in flavor substances was higher than that in Xuanwei ham, and the content of hexanal was lower than that in Xuanwei ham. The dominant microorganisms in Jinhua ham were *Staphylococcus* and *Tetragenococcus*. The relative abundances of *Cobetia* in Rugao ham and *Halomonas* in Xuanwei ham were higher than those in Jinhua ham. There was a significant positive correlation between *Staphylococcus* and the production of glutamic acid (Glu), methionine (Met), and other free amino acids ($P<0.05$). *Staphylococcus* and *Tetragenococcus* were beneficial to the production of nonaldehyde and benzaldehyde, and *Halomonas* was positively correlated with the change in hexanal content. In this study, the differences in microbial community structure in the three types of hams and the main microorganisms related to flavor substances were clarified, which provided a theoretical basis for the subsequent screening of functional microorganisms and the improvement in the quality of hams.

Key words: ham; amino acids; flavor substance; microorganisms; correlation analysis

基金项目: 安徽省自然科学基金(2108085QC148); 中央高校基本科研业务费专项资金(JZ2021HGQA0242); 安徽省科技重大专项(2021d06050001)

作者简介: 徐荟(1997—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 肉品微生物。

* 通信作者: 徐宝才(1973—), 男(汉), 教授, 研究方向: 肉品加工与质量控制。

引文格式:

徐荟,邓洁莹,李小敏,等.3种干腌火腿中细菌群落结构和风味的差异及相关性分析[J].食品研究与开发,2022,43(21):14-22.

XU Hui, DENG Jieying, LI Xiaomin, et al. Comparative Analysis of Correlation Between Microbial Community and Flavor in Three Dry-Cured Hams[J]. Food Research and Development, 2022, 43(21): 14-22.

干腌火腿是发酵肉制品中具有代表意义的一类产品,是以猪后腿为原料,经过腌制、晾晒和长时间地发酵、后熟而制成的。除了被称为中国三大火腿的金华、宣威和如皋火腿,意大利的 Parma 和 Speck Alto Adige 火腿、西班牙的 Iberian 和 Serrano 火腿、法国的 Bayonne 火腿等都是世界上广受好评的火腿产品^[1]。由于原料、加工工艺和地理环境等条件的不同,不同地区火腿的风味、质地和色泽均有明显差异^[2]。

微生物和内源酶是决定火腿品质和风味的重要因素^[3-4],在发酵过程中使原料肉发生一系列物理及生化反应,进而形成特殊的风味并能够长期保存^[5]。不同产地的火腿由于采用的原料、加工工艺和环境等条件不同,其发酵过程中的微生物群落结构也不同,这对其风味和营养价值有直接的影响^[6]。

随着组学技术的发展,高通量测序技术被广泛用于发酵食品的微生物多样性研究中^[7-9]。Lin 等^[10]结合宏基因组和代谢组学分析,阐明不同成熟阶段的老挝火腿的微生物群和代谢谱,并对优势微生物与代谢物进行相关性分析。Wang 等^[4]探究发酵过程中金华火腿的优势菌群与主要挥发性化合物的关系,发现葡萄球菌与醛类物质的生成有关。Zhu 等^[5]基于高通量测序和代谢组学证实了微生物和代谢物之间存在正相关关系,微生物发酵可以促进火腿的口感和风味。研究表明,火腿发酵过程中的微生物多样性对其风味和品质有重要影响^[11]。然而,关于比较不同火腿产品中微生物的差异及其与风味差异的相关性研究鲜见报道。本文采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(headspace-solid phase microextraction-gas chromatograph-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)测定金华、如皋和宣威3种传统干腌火腿的挥发性风味物质,同时利用高通量测序技术研究3种火腿微生物的群落结构,将优势菌群信息与风味物质信息关联,探讨微生物对风味产生的影响,为分析微生物与火腿风味之间的关系提供参考,对火腿生产过程中稳定和改善火腿品质具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金华火腿、如皋火腿、宣威火腿:市售。每组火腿取平行样品3份。金华火腿、如皋火腿、宣威火腿分别标记为 JH、RG、XW,置于冻存管中-80℃冰箱保存用于高通量测序试验,剩余样品储存于-20℃冰箱进行后续风味物质分析。

环己酮标准品(分析纯):美国 Sigma 公司;17种氨基酸(天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、脯氨酸)标准品:德国 Sykam 公司;其它试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

全自动氨基酸分析仪(S-433D):德国 Sykam 公司;气质联用仪(CMS-QP2010):日本岛津公司;固相微萃取针(50/30DVB/CAR/PDMS)、固相微萃取手柄(57330U):美国 Supelco 公司。

1.3 游离氨基酸的测定

取适量火腿样品于121℃下烘干油脂和水分后,称取0.1g,加入4mL 4%磺基水杨酸溶液,超声辅助提取30min^[12]。浸提结束后静置10min,取1.5mL上清液于2mL离心管中,离心30min(8000×g,4℃);移取1mL上清液过0.22μm水相滤膜,所得溶液采用全自动氨基酸分析仪检测,同时检测17个游离氨基酸的标准混合溶液。引用味觉活性值(taste activity value, TAV)来评价物质的味觉活性强度^[13]。

1.4 挥发性风味物质的测定

采用固相顶空微萃取法萃取风味化合物,气相色谱串联质谱法测定^[14]。取火腿肉样切碎,称取(4.0±0.2)g样品,加入环己酮标准品,于55℃下加热吸附40min。

色谱条件:色谱柱为DB-5MS毛细管柱(60m×0.25mm×0.25μm),柱箱初始温度40℃持续3min,然后以5℃/min升温至180℃,再以10℃/min升温至240℃并持续3min。载气为氦气,纯度≥99.999%,流速为1.0mL/min,选择不分流模式。质谱条件:离子

源温度 230 ℃、接口温度 250 ℃、扫描质量范围 m/z 30~500。

将获得的 GC-MS 图谱与 NIST 和 WILEY 数据库对比检索,选择结果中相似度 $\geq 80\%$ 的化合物。采用面积归一化法^[15]计算每种物质的相对含量,进行定量分析。引用气味活度值(odor activity value, OAV)来判定所测定的金华火腿风味物质中的主要活性物质。

1.5 高通量测序

火腿样品中微生物 DNA 的提取、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增、纯化和测序方法按照试剂公司提供的试验操作指南进行。

1.6 数据处理

本试验中数据处理主要使用 Excel 及 SPSS 进行统计分析,以平均值 $\pm$ 标准差表示。两组数据间比较采用 t 检验法,以 $P<0.05$ 表示差异显著。相关性分析利用 spearman 系数进行分析,使用 Origin 及 Graphpad prism 8 作图。

2 结果与分析

2.1 不同干腌火腿中游离氨基酸含量及 TAV 值

游离氨基酸是反映干腌火腿滋味的重要指标,其测定结果与 TAV 值见表 1。

表 1 干腌火腿中游离氨基酸含量及 TAV 值
Table 1 Content of free amino acids and TAV value in dry-cured hams

呈味特性	氨基酸	阈值/(mg/100 g)	金华火腿		如皋火腿		宣威火腿	
			含量/(mg/100 g)	TAV 值	含量/(mg/100 g)	TAV 值	含量/(mg/100 g)	TAV 值
鲜味	天冬氨酸	100	238.74 $\pm$ 24.73 ^b	2.39	248.71 $\pm$ 3.43 ^b	2.49	307.80 $\pm$ 30.45 ^a	3.08
	谷氨酸	30	507.98 $\pm$ 26.51 ^b	16.90	549.28 $\pm$ 2.84 ^a	18.30	338.84 $\pm$ 1.35 ^c	11.20
	总鲜味氨基酸		746.72 $\pm$ 20.56 ^b		797.99 $\pm$ 2.37 ^a		646.64 $\pm$ 9.58 ^c	
甜味	苏氨酸	260	208.39 $\pm$ 11.59 ^b	0.80	215.40 $\pm$ 1.37 ^b	0.83	499.23 $\pm$ 6.57 ^a	1.92
	丝氨酸	150	185.15 $\pm$ 38.98 ^b	1.23	253.71 $\pm$ 1.16 ^a	1.69	177.89 $\pm$ 0.47 ^c	1.20
	甘氨酸	130	175.45 $\pm$ 21.88 ^b	1.35	185.97 $\pm$ 0.69 ^a	1.43	135.82 $\pm$ 6.60 ^c	1.04
	丙氨酸	60	406.21 $\pm$ 29.00 ^b	6.77	421.65 $\pm$ 1.42 ^a	7.03	160.83 $\pm$ 15.53 ^c	2.68
	脯氨酸	300	230.35 $\pm$ 60.46 ^b	0.77	220.40 $\pm$ 0.65 ^a	0.73	245.47 $\pm$ 0.44 ^b	0.80
	总甜味氨基酸		1 205.55 $\pm$ 55.74 ^c		1 297.13 $\pm$ 33.81 ^a		1 219.71 $\pm$ 14.63 ^b	
苦味	缬氨酸	40	267.88 $\pm$ 1.61 ^b	6.70	241.73 $\pm$ 2.04 ^a	6.04	213.25 $\pm$ 17.30 ^b	5.33
	蛋氨酸	30	168.29 $\pm$ 15.98 ^b	5.61	112.25 $\pm$ 0.54 ^a	3.74	84.19 $\pm$ 4.76 ^b	2.81
	异亮氨酸	90	264.96 $\pm$ 1.93 ^a	2.94	196.47 $\pm$ 0.61 ^c	2.18	241.49 $\pm$ 3.91 ^b	2.68
	亮氨酸	190	408.78 $\pm$ 3.98 ^a	2.15	334.75 $\pm$ 0.08 ^b	1.76	316.65 $\pm$ 15.39 ^c	1.67
	酪氨酸	ND	206.47 $\pm$ 32.13 ^a		160.42 $\pm$ 0.56 ^b		170.88 $\pm$ 5.93 ^{ab}	
	苯丙氨酸	90	278.43 $\pm$ 11.17 ^a	3.09	157.66 $\pm$ 1.39 ^c	1.75	172.56 $\pm$ 10.24 ^b	1.92
	组氨酸	50	242.34 $\pm$ 1.79 ^c	4.85	252.01 $\pm$ 1.13 ^b	5.04	264.14 $\pm$ 25.10 ^a	5.28
	赖氨酸	20	346.14 $\pm$ 0.51 ^a	17.31	339.55 $\pm$ 6.15 ^b	17.00	251.55 $\pm$ 20.85 ^c	12.50
	精氨酸	50	203.02 $\pm$ 96.52 ^c	4.06	247.52 $\pm$ 3.21 ^b	4.95	403.01 $\pm$ 21.39 ^a	8.06
	总苦味氨基酸		2 386.15 $\pm$ 75.23 ^a		2 042.29 $\pm$ 70.15 ^c		2 117.16 $\pm$ 56.79 ^b	
无味	半胱氨酸	ND	15.13 $\pm$ 7.82 ^a		7.87 $\pm$ 0.52 ^b		6.56 $\pm$ 0.44 ^b	
	总游离氨基酸		4 355.02 $\pm$ 39.31 ^a		4 144.60 $\pm$ 10.36 ^b		3 930.62 $\pm$ 36.18 ^c	

注:ND 表示阈值过大未测出;同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

由表 1 可知,在金华、如皋和宣威 3 种干腌火腿中共检测出 17 种游离氨基酸。金华火腿中总游离氨基酸含量最高,达到 4 355.02 mg/100 g;宣威火腿中总游离氨基酸含量最低,为 3 930.62 mg/100 g。3 种火腿中,TAV 值大于 1 的氨基酸包括天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸等;如皋火腿中 TAV 值最大的是谷氨酸,金华火腿和宣威火腿中 TAV 值最大的是赖氨酸。谷氨酸是食品中常见的鲜味物质,赖氨酸对火腿的特

殊滋味具有重要作用^[16]。

游离氨基酸是影响火腿风味的重要物质,按照呈味特性可分类为鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸和无味氨基酸^[17]。丙氨酸是 3 种火腿中的主要甜味氨基酸,金华和如皋火腿中丙氨酸含量均显著高于宣威火腿($P<0.05$),分别为 406.21 mg/100 g 和 421.65 mg/100 g。丙氨酸在甜味氨基酸中阈值最低,且后期可以转化为醛类化合物促进火腿的风味^[18],对火腿的滋味具有重

要作用。天冬氨酸和谷氨酸是鲜味物质,3种火腿中谷氨酸含量均高于天冬氨酸,且其阈值更低、TAV值更高,说明谷氨酸是主要的呈鲜物质。如皋火腿和金华火腿中谷氨酸含量较高,分别为549.28 mg/100 g和507.98 mg/100 g,宣威火腿中鲜味氨基酸的总含量显著低于金华火腿和如皋火腿($P<0.05$),为646.64 mg/100 g。

总体上,金华火腿和如皋火腿的氨基酸组成结构相似,与宣威火腿相比,其主要呈味氨基酸中鲜味

和甜味氨基酸较为突出。肉制品的发酵及成熟过程中,蛋白质在微生物酶和内源酶的作用下分解产生游离氨基酸^[9],而不同种类的火腿中微生物群落结构的差异会使氨基酸含量不同,最终导致滋味和风味的不同。

2.2 不同干腌火腿中的挥发性风味物质

金华、如皋、宣威火腿中的挥发性风味物质含量及OAV值见表2。

表2 干腌火腿中挥发性风味物质含量及OAV值
Table 2 Content of volatile flavor substances and OAV value in dry-cured hams

类别	序列	化合物名称	气味阈值/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	金华火腿		如皋火腿		宣威火腿	
				物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值	物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值	物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值
醛类	1	己醛	45.0	157.58 $\pm$ 9.62 ^b	3.51	178.23 $\pm$ 23.25 ^b	4.00	279.7 $\pm$ 14.49 ^a	6.20
	2	庚醛	14.0	25.09 $\pm$ 3.63 ^a	1.80	29.81 $\pm$ 4.11 ^a	2.10	23.33 $\pm$ 2.55 ^a	1.70
	3	苯甲醛	6.0	22.86 $\pm$ 6.47 ^a	3.81	9.02 $\pm$ 2.04 ^b	1.50	—	—
	4	正辛醛	32.0	59.13 $\pm$ 11.28 ^a	1.85	63.81 $\pm$ 4.47 ^a	2.00	25.05 $\pm$ 0.95 ^b	0.80
	5	苯乙醛	40.0	35.77 $\pm$ 4.20 ^a	0.89	15.16 $\pm$ 1.40 ^b	0.40	3.83 $\pm$ 0.97 ^c	0.10
	6	壬醛	10.0	173.28 $\pm$ 7.86 ^a	17.33	166.29 $\pm$ 5.48 ^a	16.60	150.09 $\pm$ 28.33 ^a	15.00
	7	癸醛	65.0	9.08 $\pm$ 1.59 ^b	0.14	20.03 $\pm$ 4.03 ^a	0.30	—	—
	8	十四烷醛	140.0	32.16 $\pm$ 7.71	0.23	—	—	—	—
	9	(Z)-2-庚烯醛	4.2	—	—	—	—	5.93 $\pm$ 0.35	1.40
	10	(E,E)-2,4-癸二烯醛	0.7	—	—	—	—	1.76 $\pm$ 0.44	2.50
	11	(E)-2-壬烯醛	1.0	—	—	—	—	2.63 $\pm$ 0.51	2.60
	12	(E)-2-癸烯醛	3.0	—	—	—	—	2.93 $\pm$ 0.25	0.90
酸类	13	异戊酸	ND	57.04 $\pm$ 0.68 ^a	—	35.14 $\pm$ 0.25 ^b	—	—	—
	14	2-甲基丁酸	ND	15.78 $\pm$ 4.04 ^b	—	—	—	27.38 $\pm$ 10.28 ^a	—
	15	3-甲基-丁酸	ND	—	—	—	—	56.34 $\pm$ 2.91	—
	16	己酸	ND	17.10 $\pm$ 4.92	—	—	—	—	—
	17	辛酸	ND	35.09 $\pm$ 1.84 ^a	—	36.47 $\pm$ 1.05 ^a	—	24.18 $\pm$ 3.62 ^b	—
	18	癸酸	10 000.0	28.05 $\pm$ 0.42 ^a	—	24.99 $\pm$ 2.47 ^a	—	5.31 $\pm$ 0.91 ^b	—
	19	丁酸	ND	—	—	34.49 $\pm$ 2.25	—	—	—
	20	戊酸	ND	—	—	—	—	4.14 $\pm$ 1.31	—
	21	壬酸	ND	—	—	—	—	2.92 $\pm$ 0.54	—
	22	月桂酸	ND	—	—	—	—	0.19 $\pm$ 0.01	—
醇类	23	3-辛醇	10	26.16 $\pm$ 4.86	2.61	—	—	—	—
	24	正辛醇	ND	13.51 $\pm$ 2.56 ^{ab}	—	7.67 $\pm$ 3.12 ^b	—	7.68 $\pm$ 1.81 ^b	—
	25	正己醇	—	—	—	25.39 $\pm$ 5.65 ^a	—	7.94 $\pm$ 0.31 ^b	—
	26	1-辛烯-3-醇	10.0	—	—	—	—	49.71 $\pm$ 3.96	4.90
	27	(E)-2-辛烯-1-醇	ND	—	—	—	—	3.49 $\pm$ 1.17	—
	28	正癸醇	ND	—	—	—	—	2.39 $\pm$ 0.72	—
	29	烯丙基正戊基甲醇	ND	—	—	4.92 $\pm$ 1.35	—	—	—
	30	4-乙基环己醇	ND	—	—	—	—	1.59 $\pm$ 0.40	—
	31	月桂醇	ND	—	—	—	—	0.83 $\pm$ 0.02	—
	32	十八醇	ND	—	—	19.82 $\pm$ 0.34	—	—	—
酯类	33	3-甲基丁酸乙酯	ND	21.43 $\pm$ 2.74	—	—	—	—	—
	34	己酸乙酯	30 000.0	23.74 $\pm$ 0.81 ^a	—	6.91 $\pm$ 0.47 ^b	—	2.60 $\pm$ 0.67 ^c	—
	35	己酸乙酯	ND	5.21 $\pm$ 2.13 ^b	—	7.29 $\pm$ 0.06 ^a	—	—	—

续表2 干腌火腿中挥发性风味物质含量及OAV值

Continue table 2 Content of volatile flavor substances and OAV value in dry-cured hams

类别	序列	化合物名称	气味阈值/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	金华火腿		如皋火腿		宣威火腿	
				物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值	物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值	物质含量/ ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	OAV 值
酯类	36	辛酸乙酯	ND	25.55±8.13 ^a	—	1.44±0.59 ^b	—	2.57±1.63 ^b	—
	37	癸酸乙酯	ND	19.36±0.31 ^a	—	5.37±0.31 ^b	—	2.25±0.59 ^b	—
	38	邻苯二甲酸二异丁酯	ND	4.70±1.34 ^a	—	3.69±0.64 ^a	—	—	—
	39	丙位壬内酯	ND	4.74±0.81	—	—	—	—	—
	40	4-羟基-4-甲基己酸内酯	ND	—	—	3.87±0.08 ^a	—	3.60±1.53 ^a	—
	41	桃醛	ND	—	—	—	—	2.18±0.42	—
酮类	42	2-庚酮	60.0	14.02±2.55 ^b	0.23	23.89±3.58 ^a	0.40	8.91±0.59 ^c	0.15
	43	2,3-辛二酮	29.0	20.85±3.97	0.72	—	—	—	—
	44	3-壬烯-2-酮	ND	—	—	—	—	—	—
	45	3-辛烯-2-酮	ND	—	—	7.15±3.56	—	—	—
	46	2-甲基-3-辛酮	ND	—	—	—	—	38.59±5.03	—
	47	2,6-二甲基辛烷	ND	12.13±1.74	—	—	—	—	—
烃类	48	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	ND	84.74±0.42 ^a	—	—	—	—	—
	49	1-癸炔	ND	14.97±3.31	—	—	—	—	—
	50	2,2,4,4-四甲基辛烷	ND	18.44±6.31 ^a	—	—	—	—	—
	51	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	ND	—	—	—	—	15.93±2.92	—
	52	3-甲基十一烷	ND	8.71±0.84 ^a	—	—	—	3.49±1.09 ^b	—
	53	十二烷	ND	18.16±7.58 ^b	—	40.47±6.63 ^a	—	5.08±0.96 ^b	—
	54	十三烷	ND	—	—	8.89±2.24	—	—	—
	55	十四烷	30 000.0	14.00±1.58 ^a	—	17.70±4.14 ^a	—	—	—
	56	十五烷	ND	10.98±0.39 ^b	—	15.89±6.21 ^a	—	3.59±0.04 ^c	—
	57	十六烷	ND	9.03±1.97	—	—	—	1.21±0.18	—
	58	十七烷	ND	—	—	38.72±2.65 ^a	—	1.18±0.19 ^b	—
	59	十九烷	ND	67.08±4.46	—	—	—	—	—
	60	2,6,10,14-四甲基-十六烷	ND	1.77±0.26	—	—	—	—	—
	61	癸烷	ND	—	—	—	—	5.25±1.32	—
	62	(D)-柠檬烯	340.0	—	—	19.59±1.41	0.06	—	—
	63	3,8-二甲基癸烷	ND	—	—	—	—	4.07±0.50	—
	64	3-亚甲基-十一烷	ND	—	—	—	—	1.01±0.05	—
其它	65	3-甲基硫基丙醛	2.0	6.77±3.58	3.39	—	—	—	—
	66	2,6-二甲基吡嗪	1 500.0	34.88±12.86 ^a	0.02	36.69±4.21 ^a	—	11.93±1.64 ^b	—
	67	1-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯	ND	21.26±3.78	—	—	—	—	—
	68	N,N-二丁基-甲酰胺	ND	3.39±1.02 ^a	—	—	—	1.75±0.71 ^a	—
	69	四甲基吡嗪	ND	—	—	4.31±0.00	—	—	—
	70	茴香脑	1.0	—	—	30.29±6.25 ^a	30.29	2.05±0.66 ^b	2.05
	71	2-正戊基呋喃	ND	—	—	15.86±0.16	—	—	—
	72	川芎嗪	ND	—	—	—	—	2.41±0.11	—
	总含量			1 173.56±21.33 ^a		959.26±35.01 ^b		808.99±11.89 ^c	

注:ND表示阈值过大未测出;—表示未检测出;同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

由表2可知,在金华、如皋、宣威3种干腌火腿中共检测出醛类、酸类、醇类、酯类、酮类、烃类和其它共7类、72种挥发性风味物质。金华火腿中的挥发性风味物质的总含量最高,达到1 173.56 $\mu\text{g}/100\text{ g}$,如皋火腿

和宣威火腿中挥发性风味物质含量较低,分别为959.26 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 和808.99 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。3种火腿中醛类化合物在所有挥发性风味物质中所占比例最大,这一结果与Huan等^[20]的研究一致。本研究中华火腿的酯类、

烃类化合物的含量显著高于如皋和宣威火腿($P<0.05$)。

己醛和壬醛是3种干腌火腿中含量较高的醛类化合物,其含量远高于其它醛类化合物。宣威火腿中的己醛含量显著高于金华和如皋火腿($P<0.05$),己醛通常被认为是干腌肉制品中的主要氧化产物,可能会产生蔬菜和水果味。金华火腿中壬醛含量最高为173.28 $\mu\text{g}/100\text{g}$,其次是如皋火腿中166.29 $\mu\text{g}/100\text{g}$,宣威火腿中壬醛含量最低为150.09 $\mu\text{g}/100\text{g}$,壬醛具有甜味和果味^[21]。苯甲醛有一种宜人的杏仁味,是由Strecker反应产生的^[22],只在金华和如皋火腿中被检测出。

壬醛的OAV值大于10,是干腌火腿的主要挥发性风味物质。本文中检测到的醛类化合物也是国内外其它火腿中常见的风味物质^[23]。由于醛类化合物的含量高且阈值较低,一般被认为对干腌火腿风味具有重

要贡献^[24]。

金华火腿中酸类化合物的总含量高于如皋和宣威火腿中酸类化合物的含量。酸类化合物是金华火腿的重要标志,可能是由微生物发酵产生^[25],但其较高的阈值对火腿的风味贡献值不大。金华火腿中检测到的醇类化合物种类和含量较少,宣威火腿的中1-辛烯-3-醇是其主要醇类化合物,也是肉制品中常见的醇类化合物,但在另外两种火腿中未检测到,其OAV值大于1,对宣威火腿的风味有重要作用。茴香脑一般来源于植物香料中,如皋火腿中茴香脑含量较高,而金华火腿中未检测到,可能是不同火腿腌制过程中添加的配料不同导致的。

2.3 不同干腌火腿微生物群落组成

对3种干腌火腿微生物的高通量测序结果见图1。

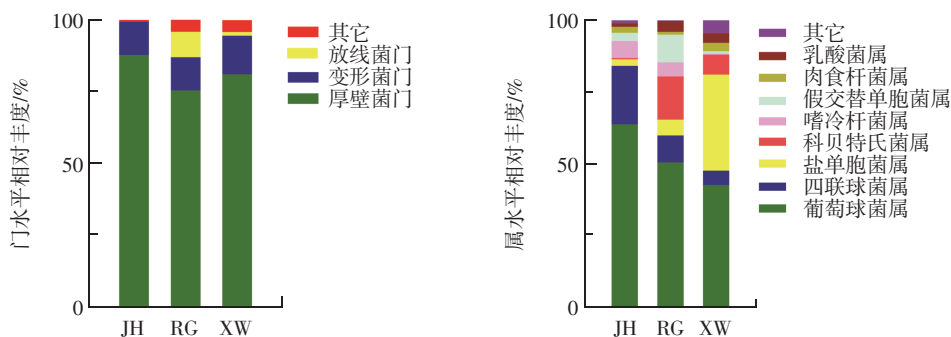


图1 不同干腌火腿微生物群落组成

Fig.1 Microbial community composition of different dry-cured hams

由图1可知,3种火腿注释到细菌门水平上主要有厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota)。其中厚壁菌门占据主要地位,金华火腿中的厚壁菌门所占比例要大于如皋火腿和宣威火腿,相对丰度达到87%。与葛庆丰^[26]的研究一致,厚壁菌门是所有火腿中绝对优势的细菌门。如皋火腿中放线菌门相对丰度明显高于金华火腿和宣威火腿。

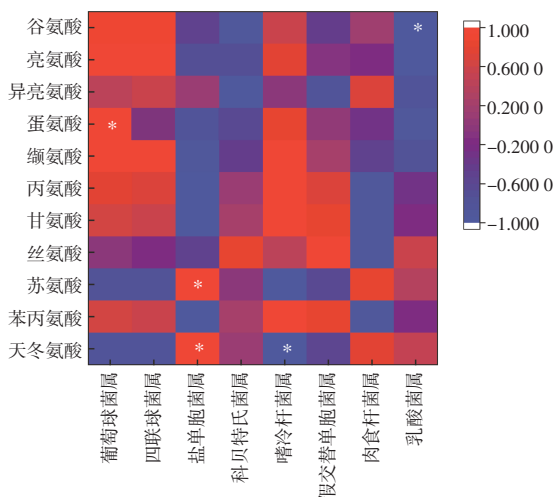
在细菌属水平上,金华火腿中的优势菌属为葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、四联球菌属(*Tetragenococcus*)和嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)。如皋火腿中的优势菌属为葡萄球菌属、四联球菌属和科贝特氏菌属(*Cobetia*)。宣威火腿中的优势菌属为葡萄球菌属、盐单胞菌属(*Halomonas*)和科贝特氏菌属。葡萄球菌属在3种干腌火腿的微生物群落中均占据主要地位,与Wang等^[4]的研究一致。葡萄球菌属在金华火腿中的相对丰度为63.77%,明显高于如皋火腿和宣威火腿。四联球菌属和盐单胞菌属等均属于耐盐性细菌,可以在盐含量较高的火腿产品中生存,是成品中较为优势的细菌属。

3种干腌火腿中的葡萄球菌属在各自微生物群落结构中相对丰度均最大,金华火腿中葡萄球菌属、四联球菌属相对丰度明显高于如皋、宣威火腿,而如皋火腿中的科贝特氏菌属和宣威火腿中的盐单胞菌属要高于金华火腿。有研究表明,宣恩火腿表面细菌主要为葡萄球菌属、沙雷氏菌属等^[27],盘县火腿中的优势细菌属为葡萄球菌属和盐单胞菌属^[28]。葛庆丰^[26]对不同金华火腿成熟车间的微生物多样性的研究发现,车间微生物群落结构的差异会导致火腿肉样中微生物的不同。因此,火腿菌落结构的差异可能由原料、制作工艺、产地、工厂环境等因素的不同导致,而不同的微生物组成可能使发酵产品的风味不同。

2.4 主要呈味氨基酸与优势菌属的相关性分析

在比较不同干腌火腿氨基酸和微生物群落差异的基础上,利用相关性分析火腿主要细菌属与TAV>1的呈味氨基酸可能的相关作用,通过相关性热图表示。干腌火腿主要氨基酸与优势菌属相关性热图见图2。

由图2可知,火腿中的葡萄球菌属与谷氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸和丙氨酸均呈显著正相关($P<0.05$)。



* 为相关系数接近 1, 表示极显著 ($P < 0.01$)。

图2 干腌火腿主要氨基酸与优势菌属相关性热图

Fig.2 Heat map of correlation between main amino acids and dominant bacterial genera in dry-cured hams

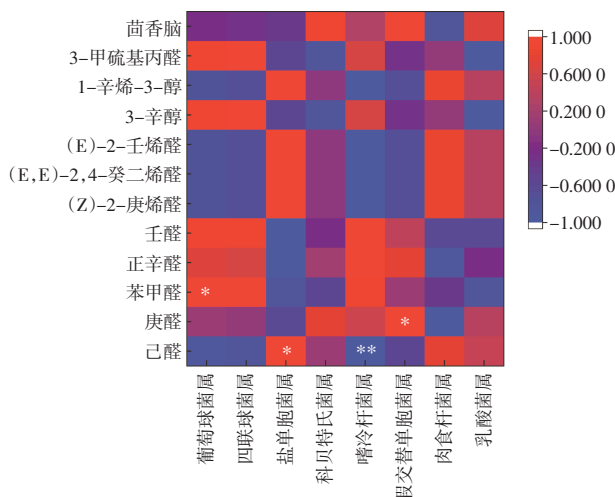
金华火腿和如皋火腿中的葡萄球菌属比例较高,同时谷氨酸、缬氨酸等鲜味苦味氨基酸含量较高,表明干腌火腿中 TAV>1 的主要呈味氨基酸的变化与优势菌属存在一定的相关作用。

盐单胞菌属与火腿中天冬氨酸和苏氨酸的含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$),而宣威火腿中盐单胞菌属的比例、天冬氨酸和苏氨酸的含量要高于如皋火腿和金华火腿,可能是盐单胞菌属的存在促进了宣威火腿中蛋白质水解生成天冬氨酸和苏氨酸。嗜冷杆菌属、假单胞菌属与缬氨酸和蛋氨酸等部分苦味氨基酸呈正相关,且有利于甘氨酸和丝氨酸等甜味氨基酸的产生。干腌火腿中的微生物与游离氨基酸的产生具有一定的相关性,可能是由于蛋白质在内源酶的作用下被分解成小分子肽,被微生物酶进一步水解成游离氨基酸,从而影响游离氨基酸的组成和含量及火腿的滋味^[29]。

2.5 关键挥发性风味物质与优势菌属的相关性分析

将干腌火腿中 OAV 值>1 的挥发性风味物质与主要细菌属进行 Spearman 关联分析,并通过相关性热图表示,结果见图 3。

由图 3 可知,葡萄球菌属、四联球菌属、盐单胞菌属、嗜冷杆菌属与火腿中的主要醛类物质有一定的正相关性。葡萄球菌属与四联球菌属有利于苯甲醛、壬醛、3-辛醇和 3-甲硫基丙醛的产生。葡萄球菌属在其它类型的火腿制品中也占主导地位^[30],如中国盘县火腿^[31]和西班牙伊比利亚火腿^[32],因此葡萄球菌属可能是干腌火腿风味产生的重要贡献者。苯甲醛含量变化



* 为相关系数接近 1, 表示极显著 ($P < 0.01$); ** 为相关系数等于 1, 表示高度显著 ($P < 0.001$)。

图3 干腌火腿中关键挥发性风味物质与优势细菌属的相关性热图

Fig.3 Heat map of correlation between key volatile flavor substances and dominant bacterial genera in dry-cured hams

与葡萄球菌属呈极显著正相关 ($P < 0.01$),苯甲醛可能是由葡萄球菌属的氨基酸代谢产生的^[33]。已有研究表明四联球菌属在发酵食品中可以提高食品中有机酸、醛类和酯类等风味物质含量^[34],因此,在本试验中四联球菌属与庚醛、苯甲醛等物质有显著正相关性,具有一定的产香能力。盐单胞菌属与己醛、(E)-2-壬烯醛、(Z)-2-庚烯醛等主要风味物质的产生呈显著正相关 ($P < 0.05$)。与其它研究相似,葡萄球菌属和盐单胞菌属可能是火腿风味的潜在贡献者^[28]。由此可知,传统发酵火腿独特风味的形成与微生物的生长代谢密切相关^[29],微生物发酵促进了肉类蛋白质和脂质的水解,这可能有助于风味和感官质量的发展^[35]。

3 结论

本文通过高通量测序的方法比较了不同种类干腌火腿的微生物群落结构的差异,并将菌群结构差异与游离氨基酸和挥发性风味变化进行相关性分析,探究可能影响火腿滋味与风味的因素。金华和如皋火腿中呈鲜味的谷氨酸和呈甜味的丙氨酸显著高于宣威火腿,宣威火腿中的天冬氨酸显著高于金华、如皋火腿。己醛和壬醛都是火腿中关键风味物质,宣威火腿中己醛含量最高,而金华火腿中壬醛含量最高。从微生物群落结构来看,金华火腿中的葡萄球菌属、四联球菌属比例较高,而宣威火腿中盐单胞菌属的含量高于另两种火腿。相关性分析表明火腿中的葡萄球菌属与谷氨酸、蛋氨酸等氨基酸的含量呈显著正相关,同时

对壬醛和苯甲醛等风味物质的产生也有着重要的促进作用;盐单胞菌属与己醛、(E)-2-壬烯醛等主要风味物质的产生呈显著正相关。说明主要微生物属对火腿的滋味和风味的形成有重要的相关作用。对火腿中的微生物菌群和优势菌种的研究有利于制备优良的肉品发酵剂以缩短发酵过程的时间、提高干腌发酵火腿的品质。

参考文献:

- [1] PICON A, NUÑEZ M. Volatile compounds in high-pressure-treated dry-cured ham: A review[J]. Meat Science, 2022, 184: 108673.
- [2] 彭金月,姜水,高韶婷,等.基于智能感官与人工感官评价的中国三大干腌火腿风味特性分析[J].食品工业科技,2020,41(17):231-236.
PENG jinyue, JIANG shui, GAO shaoting, et al. Flavor characteristics of three major dry-cured hams in China based on intelligent sensory evaluation and artificial sensory analysis[J]. Food Industry Science and Technology, 2020,41(17):231-236.
- [3] GE Q F, PEI H J, LIU R, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* NJAU-01 from Jinhua ham on the quality of dry-cured fermented sausage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 101: 513-518.
- [4] WANG Y B, LI F, CHEN J, et al. High-throughput sequencing-based characterization of the predominant microbial community associated with characteristic flavor formation in Jinhua ham[J]. Food Microbiology, 2021, 94: 103643.
- [5] ZHU Y Y, GUO Y, YANG F H, et al. Combined application of high-throughput sequencing and UHPLC-Q/TOF-MS-based metabolomics in the evaluation of microorganisms and metabolites of dry-cured ham of different origins[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 359: 109422.
- [6] WANG Y Q, SHEN Y Y, WU Y Y, et al. Comparison of the microbial community and flavor compounds in fermented mandarin fish (*Siniperca chuatsi*): Three typical types of Chinese fermented mandarin fish products[J]. Food Research International, 2021, 144: 110365.
- [7] 张清玫,赵鑫锐,李江华,等.不同香型白酒大曲微生物群落及其与风味的相关性[J].食品与发酵工业,2022,48(10):1-8.
ZHANG Qingmei, ZHAO Xinrui, LI Jianghua, et al. Microbial community of Daqu liquor with different aroma types and its correlation with flavor[J]. Food and Fermentation Industries, 2022,48(10):1-8.
- [8] 黄轲.乳扇中微生物群落结构及其与风味相关性研究[D].上海:上海应用技术大学,2021.
HUANG Ke. Study on microbial community flora and their correlation with flavor in milk fan[D]. Shanghai: Shanghai University of Technology, 2021.
- [9] 徐磊.杂豆腐乳微生物群落结构及风味品质研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学,2021.
XU Lei. Study on microbial community structure and flavor quality of Sufu with mix beans[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021.
- [10] LIN F K, CAI F, LUO B S, et al. Variation of microbiological and biochemical profiles of Laowo dry-cured ham, an indigenous fermented food, during ripening by GC-TOF-MS and UPLC-QTOF-MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(33): 8925-8935.
- [11] SHI Y N, LI X, HUANG A X. A metabolomics-based approach investigates volatile flavor formation and characteristic compounds of the Dahe black pig dry-cured ham[J]. Meat Science, 2019, 158: 107904.
- [12] ZHOU C Y, LE Y, ZHENG Y Y, et al. Characterizing the effect of free amino acids and volatile compounds on excessive bitterness and sourness in defective dry-cured ham[J]. LWT -Food Science and Technology, 2020, 123: 109071.
- [13] CHEN Z Q, GAO H Y, WU W J, et al. Effects of fermentation with different microbial species on the umami taste of Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) [J]. LWT -Food Science and Technology, 2021, 141: 110889.
- [14] GUO X, WANG Y Q, LU S L, et al. Changes in proteolysis, protein oxidation, flavor, color and texture of dry-cured mutton ham during storage[J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 149: 111860.
- [15] 浦馨源,周辉,王兆明,等.不同加工阶段对符离集烧鸡风味影响研究[J].食品工业科技,2021,42(11):89-98.
PU Xinyuan, ZHOU Hui, WANG Zhaoming, et al. Research on the effect of different processing stages on the flavor of Fuliji red-cooked chicken[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(11): 89-98.
- [16] ZHOU C Y, PAN D D, BAI Y, et al. Evaluating endogenous protease of salting exudates during the salting process of Jinhua ham[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 101: 76-82.
- [17] 刘毕琴,王馨蕊,赵文华,等.不同来源和年份诺邓火腿的理化及呈味性质[J].肉类研究,2021,35(8):1-8.
LIU Biqin, WANG Xinrui, ZHAO Wenhua, et al. Physicochemical and taste properties of Nuodeng dry-cured hams from different pig breeds and of different ages[J]. Meat Research, 2021, 35(8): 1-8.
- [18] 赵景丽.金华火腿风味形成过程中游离氨基酸参与的美拉德反应研究[D].郑州:河南农业大学,2013.
ZHAO Jingli. Study of free amino acids participated in Maillard reaction of flavor formation of Jinhua ham[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2013.
- [19] DEMEYER D, RAEMAEEKERS M, RIZZO A, et al. Control of bioflavour and safety in fermented sausages: First results of a European project[J]. Food Research International, 2000, 33(3/4): 171-180.
- [20] HUAN Y J, ZHOU G H, ZHAO G M, et al. Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing[J]. Meat Science, 2005, 71(2): 291-299.
- [21] THÉRON L, TOURNAYRE P, KONDOYAN N, et al. Analysis of the volatile profile and identification of odour-active compounds in Bayonne ham[J]. Meat Science, 2010, 85(3): 453-460.
- [22] WANG Y Q, LI C S, ZHAO Y Q, et al. Novel insight into the formation mechanism of volatile flavor in Chinese fish sauce (Yu-lu) based

- on molecular sensory and metagenomics analyses[J]. Food Chemistry, 2020, 323: 126839.
- [23] 王藤, 施娅楠, 李祥, 等. 基于气相色谱-质谱技术与多元统计方法分析大河乌猪火腿自然发酵过程中风味特征[J]. 肉类研究, 2021, 35(5): 29-35.
- WANG Teng, SHI Yanan, LI Xiang, et al. Analysis of flavor characteristics of Dahe black pig ham during natural fermentation by gas chromatography-mass spectrometry and multivariate statistical analysis[J]. Meat Research, 2021, 35(5): 29-35.
- [24] SABIO E, VIDAL-ARAGÓN M C, BERNALTE M J, et al. Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries[J]. Food Chemistry, 1998, 61(4): 493-503.
- [25] FLORES M. Understanding the implications of current health trends on the aroma of wet and dry cured meat products[J]. Meat Science, 2018, 144: 53-61.
- [26] 葛庆丰. 金华火腿中抗氧化乳酸菌的筛选及其抗氧化作用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
- GE Qingfeng. The screening and antioxidant study of antioxidant lactic acid bacteria from Jinhua ham[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017.
- [27] 邓祥宜, 李继伟, 何立超, 等. 宣恩火腿发酵过程中表面微生物群落演替规律[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 34-42.
- DENG Xiangyi, LI Jiwei, HE Lichao, et al. Microbial community succession pattern on the surface of Xuanen ham during fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(7): 34-42.
- [28] 母雨, 苏伟, 母应春. 盘县火腿微生物多样性及主体挥发性风味解析[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(15): 77-85.
- MU Yu, SU Wei, MU Yingchun. Analysis of microbial diversity and key volatile flavor compounds of Panxian dry-cured ham[J]. Food Research and Development, 2019, 40(15): 77-85.
- [29] ZHONG A A, CHEN W, DUAN Y F, et al. The potential correlation between microbial communities and flavors in traditional fermented sour meat[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 149: 111873.
- [30] 牛雪峰. 发酵火腿中产香葡萄球菌的筛选及在发酵香肠中的应用[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020.
- NIU Xuefeng. Screening of *Staphylococcus* in fermented ham and its application in fermented sausage[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2020.
- [31] MU Y, SU W, MU Y C, et al. Combined application of high-throughput sequencing and metabolomics reveals metabolically active microorganisms during Panxian ham processing[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3012.
- [32] RORIGUEZ M, NÚÑEZ F, CORDOBA J J, et al. Gram-positive, catalase-positive cocci from dry cured Iberian ham and their enterotoxigenic potential[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62: 1897-1902.
- [33] HU Y Y, CHEN Q, WEN R X, et al. Quality characteristics and flavor profile of Harbin dry sausages inoculated with lactic acid bacteria and *Staphylococcus xylosus*[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 114: 108392.
- [34] 王博, 周朝晖, 李铁桥, 等. 嗜盐四联球菌及其在发酵食品中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(8): 267-272.
- WANG Bo, ZHOU Zhaohui, LI Tieqiao, et al. *Tetragenococcus halophilus* and its application in fermented foods[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(8): 267-272.
- [35] CHEN Q, KONG B H, HAN Q, et al. The role of bacterial fermentation in the hydrolysis and oxidation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins in Harbin dry sausages[J]. Meat Science, 2016, 121: 196-206.

加工编辑: 刘艳美

收稿日期: 2022-03-03