发酵时间对安岳坛子肉风味及坛内细菌菌群结构的影响

肖 岚，安攀宇，杨 芳，何 莲，杜双巧，曾小婷，刘 威
（四川旅游学院 食品学院，四川 成都 610100）

摘要：为了解发酵时间对安岳坛子肉风味及坛内细菌菌群结构的影响，采集坛内发酵 20、40、60、75、90、105、120、135 d 的坛子肉和萝卜丝作为样品，利用 Illumina MiSeq 测序平台以及电子鼻、电子舌对样品的细菌菌群结构、风味进行检测分析。结果发现，16 组样品获得有效序列数平均为 38 247 条，发酵 60 d 时，坛内细菌菌群结构的多样性最高；发酵 75 d 时，坛内菌群多样性开始下降，且在随后的发酵时间内呈波动下降趋势；乳酸杆菌在坛内占有绝对优势，坛子肉发酵 90 d 后若再继续发酵，其细菌菌群组成会发生较大变化。电子鼻及电子舌检测发现，在气味上，135 d 坛子肉、75 d 坛子肉与其他坛子肉的差异较大（P<0.01）；在滋味上，60 d 坛子肉与其他坛子肉差异较大（P<0.01）。

关键词：安岳坛子肉；细菌菌群；指纹图谱；发酵时间；风味
中图分类号：TQ 92　**文章编号**：1673-1689(2021)02-0103-09　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.02.014

Effects of Fermentation Time on Flavor and Bacterial Community Structure of Anyue Ceramic-Pot Sealed Meat

XIAO Lan, *AN Panyu*, *YANG Fang*, *HE Lian*, *DU Shuangqiao*, *ZENG Xiaoting*, *LIU Wei*
(College of Food Science, Sichuan Tourism University, Sichuan 610100, China)

Abstract: To study the effect of fermentation time on the flavor and bacterial community structure of Anyue ceramic-pot sealed meat. The samples of ceramic-pot sealed meat and shredded radish in the ceramic pot were collected on the 20, 40, 60, 75, 90, 105, 120, 135 days. The bacterial community structure and flavor of the samples were analyzed by Illumina MiSeq sequencing platform, electronic nose and electronic tongue. Results found the average number of effective sequences obtained from 16 groups of samples was 38 247. The diversity of bacterial community structure in the ceramic-pot of 60 d fermentation was highest. The diversity of bacterial community in the ceramic pot began to decline after 75 d fermentation and then showed a downward trend in the following fermentation time.Lactobacillus occupied an absolute advantage in the ceramic pot and the composition of bacterial community would be greatly changed if the ceramic-pot sealed meat continued to ferment after 90 d fermentation. According to the analysis of electronic nose and electronic tongue, there was a significant difference between 135, 75 d ceramic-pot sealed meat and other ceramic-pot sealed meat in odor (P<0.01), and between 60 d ceramic-pot sealed meat and other ceramic-pot sealed meat in taste(P<0.01).

收稿日期：2020-03-30
基金项目：四川省科技计划项目(2020YFN0022)；四川省大学生创新项目(S202011552051)。
作者简介：肖 岚(1981—)，女，博士，副教授，主要从事畜产品加工与质量安全方面的研究。E-mail：30430664@qq.com

Keywords: Anyue ceramic-pot sealed meat, bacterial community, fingerprint, fermentation time, flavor

四川安岳坛子肉是将油炸之后的猪五花肉用香辛料调味,然后与萝卜丝一起入坛发酵而形成的发酵肉制品,因入陶坛中发酵而成名,故名坛子肉。坛子肉的酱香风味浓郁,这应该与其入坛发酵密切相关,陶坛内特有的细菌菌群结构通过自身新陈代谢对坛子肉进行发酵,发酵过程中产生各种风味物质,如酯类、烷烃类、醇类、醛类、酮类、酚类等化合物[1],形成了坛子肉的特殊风味。目前,国内学者对发酵肉制品的微生物菌群结构变化与风味关系的研究主要集中在湖南坛子肉[2]、汉源罐罐肉[3]、发酵火腿[4-5]、发酵香肠[6-7]、发酵腊肉[8-9]、发酵鱼[10]。在本研究的前期实验中,关于发酵温度对坛子肉挥发性风味物质的影响进行了研究[11-12],萝卜丝入坛发酵对坛内细菌菌群结构演替变化的影响[13]、发酵终点对坛子肉细菌群落结构的影响也进行了研究[1]。然而,发酵终点前以及发酵终点后的坛内细菌菌群结构变化、坛子肉风味变化暂未有系统研究。在坛子肉的实际生产中,坛子肉发酵终点的确定是根据有经验的老师傅进行感官评价的结果,不同季节、不同陶坛制备的坛子肉的发酵终点差异较大,比如坛子肉冬季发酵终点一般在 60~80 d 内,夏季发酵终点一般在 45~60 d 内。生产企业为了提高生产效率,只要达到坛子肉风味的基本要求,企业即会停止其发酵,关于延长发酵时间的坛子肉的风味轮廓以及坛内细菌菌群结构变化暂未有报道。因此,为系统了解发酵时间对安岳坛子肉风味以及坛内细菌菌群结构的影响,作者制备了发酵时间长达 135 d 的坛子肉样品以进行动态研究,利用 Illumina MiSeq 高通量测序平台对坛内的坛子肉、萝卜丝的细菌菌群结构进行检测,并使用电子鼻、电子舌对不同发酵时间节点的坛子肉的风味轮廓进行比较分析,获得不同发酵时间节点的坛子肉风味以及坛内细菌菌群结构的差异关系,为详尽了解发酵时间与坛子肉风味、坛内细菌菌群结构的关系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

DNA 提取试剂盒(E.Z.N.A.® Stool DNA Kit):上海哈研生物科技有限公司;坛子肉:由四川安岳县普州坛子肉食品有限公司代生产(按照冬季生产工艺生产[1],分别在入坛发酵第 20、40、60、75、90、105、120、135 天进行取样,经真空包装后保存于-80 ℃,备用);萝卜丝:在发酵第 20、40、60、75、90、105、120、135 天时与坛子肉一起从坛内取出,经真空包装后保存于 -80 ℃,备用;MiSeq Reagent Kit V3:美国 Illumina 公司。

1.2 仪器与设备

MiSeq 测序仪:美国 Illumina 公司;α-Astree 型电子舌:法国 Alpha MOS 公司;AUW220D 电子天平(精度为 0.1 mg):日本岛津公司;FOX4000 系统电子鼻:法国 Alpha MOS 公司。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取和测序 参考肖岚[1]等的方法提取坛子肉、萝卜丝样品中细菌的总 DNA,并对 DNA 纯度、DNA 浓度进行检测、扩增(扩增的目标区域是 16S rDNA 基因的 V3+V4 区域)[14]、测序。

1.3.2 坛子肉风味属性的感官评定 感官评定参考美国化学协会规定的方法[15]。评定小组由受过专业培训的感官评定人员组成,共 10 人,男女各半,分别从酱香、肉鲜、肉酸、余味残留、整体风味 5 个角度打分,具体标准如下:风味特别强烈(9~10 分);风味强烈(6~8 分);风味中等(4~6 分);风味较弱(2~4 分);风味可无可有(0~2 分)[16]。

1.3.3 坛子肉电子舌和电子鼻测定 电子鼻分析:参照易宇文[17]等的方法,准确称量 2.0 g 坛子肉并充分切碎,置于顶空瓶,密封,用于电子鼻测试。

电子舌分析:参照范文教[18]等的方法,将 20.0 g 坛子肉充分切碎,置于锥形瓶中并加入 200 mL 蒸馏水,超声波处理 10 min,经普通滤纸过滤去上清液,收集 80 mL 用于电子舌测试。

1.3.4 数据处理 试验数据经 3 次平行试验后得到。电子鼻、电子舌检测数据采用 Alpha MOS 公司配套统计分析软件进行判别因子分析[19]。坛内细菌菌群 Miseq 测序完成后,利用 overlap 对数据进行处理,获得最终的 OTU 丰度及代表序列,并进一步进行多样性分析、物种分类注释和差异分析[20]。

2 结果与分析

2.1 坛内细菌 Alpha 多样性分析

为了解在发酵过程中坛内的细菌变化规律，对不同发酵时间的坛子肉、萝卜丝细菌菌群结构进行了分析。不同发酵时间的各样品的 Alpha 多样性指数见表 1。菌群覆盖度指数(Goods coverage)反映测序量相对于整体样本的覆盖程度[21]。本次 16 组样品的菌群覆盖度指数均能达到 98% 以上。Chao1 指数用于估计样品中所含 OTU 数目，OTUs (Operational Taxonomic Units) 是将 16 组样品获得的有效序列数(38 247 条)按照 97% 的序列相似度进行聚类[22]，得到每个 cluster 的序列及其代表序列即为 OTU。

发酵 60 d 坛子肉、萝卜丝的平均 Chao1 指数均最高，分别为 596.35、585.05，说明其含有的稀有群落的丰富度最高，发酵 105 d 坛子肉的稀有群落的丰富度也较高(Chao1 搦数 596.10)。坛子肉、萝卜丝的 observed species 指数随发酵时间延长呈先上升后下降的变化趋势，其中，发酵 60 d 坛子肉、萝卜丝的平均 observed species 指数均最高，分别为 412.33 和 345.33，样品中含有的物种数目最多。Simpson 指数越高反映样品物种多样性越高，发酵 90 d 坛子肉、发酵 120 d 萝卜丝的 Simpson 指数最高；Shannon 指数越高反映 OTU 出现的紊乱和不确定性越高，发酵 60 d 坛子肉、萝卜丝的 Shannon 指数均最高。由以上结果可知，发酵 60 d 的坛内样品(包括坛子肉和萝卜丝)的细菌菌群丰富度和多样性高于其他发酵时间样品，说明发酵促进了坛内细菌的生长繁殖；发酵 75 d 时，坛内菌群丰富度和多样性开始下降，且在随后的发酵时间内呈波动下降趋势。

2.2 坛内细菌菌群结构差异的比较

不同颜色的树枝代表不同样品组，如图 1 所示，不同发酵时间的坛子肉以及萝卜丝在细菌菌群结构上有较大差异。大部分坛子肉样品与大部分萝卜丝样品分别位于两个不同的分支，然而，发酵 60、120 d 萝卜丝在坛子肉分支中，发酵 75 d 坛子肉在

表 1　坛内细菌菌群丰富度和多样性指数

Table 1　Bacterial Community Richness and Diversity Index in the Tank

坛内样品	Observed species	Shannon	Simpson	Chao1	Goods coverage
发酵 20 d 坛子肉 TZR_20 d	258.67	2.06	0.61	491.84	0.99
发酵 40 d 坛子肉 TZR_40 d	237.00	2.15	0.64	466.93	0.99
发酵 60 d 坛子肉 TZR_60 d	412.33	3.13	0.69	596.35	0.98
发酵 75 d 坛子肉 TZR_75 d	194.00	1.56	0.38	390.03	0.99
发酵 90 d 坛子肉 TZR_90 d	380.67	2.93	0.70	591.1	0.98
发酵 105 d 坛子肉 TZR_105 d	291.00	2.31	0.65	596.10	0.98
发酵 120 d 坛子肉 TZR_120 d	237.67	2.00	0.56	496.66	0.99
发酵 135 d 坛子肉 TZR_135 d	330.33	2.52	0.68	582.56	0.98
发酵 20 d 萝卜丝 GC_20 d	138.33	1.80	0.47	254.57	0.99
发酵 40 d 萝卜丝 GC_40 d	154.67	1.33	0.35	338.36	0.99
发酵 60 d 萝卜丝 GC_60 d	345.33	2.53	0.66	585.05	0.98
发酵 75 d 萝卜丝 GC_75 d	124.67	0.91	0.26	311.92	0.99
发酵 90 d 萝卜丝 GC_90 d	196.67	1.46	0.40	408.69	0.99
发酵 105 d 萝卜丝 GC_105 d	183.00	1.56	0.45	390.39	0.99
发酵 120 d 萝卜丝 GC_120 d	190.00	2.21	0.68	379.99	0.99
发酵 135 d 萝卜丝 GC_135 d	173.00	1.49	0.43	411.01	0.99

注：数据为相同发酵时间点 3 个样品测序结果的平均值。

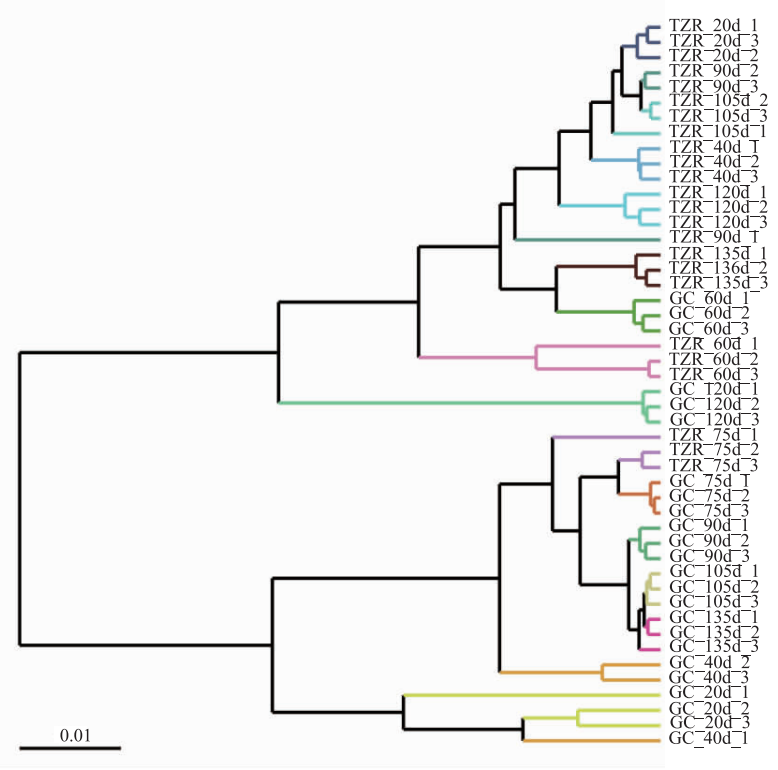


图 1　UPGMA 层次聚类分析

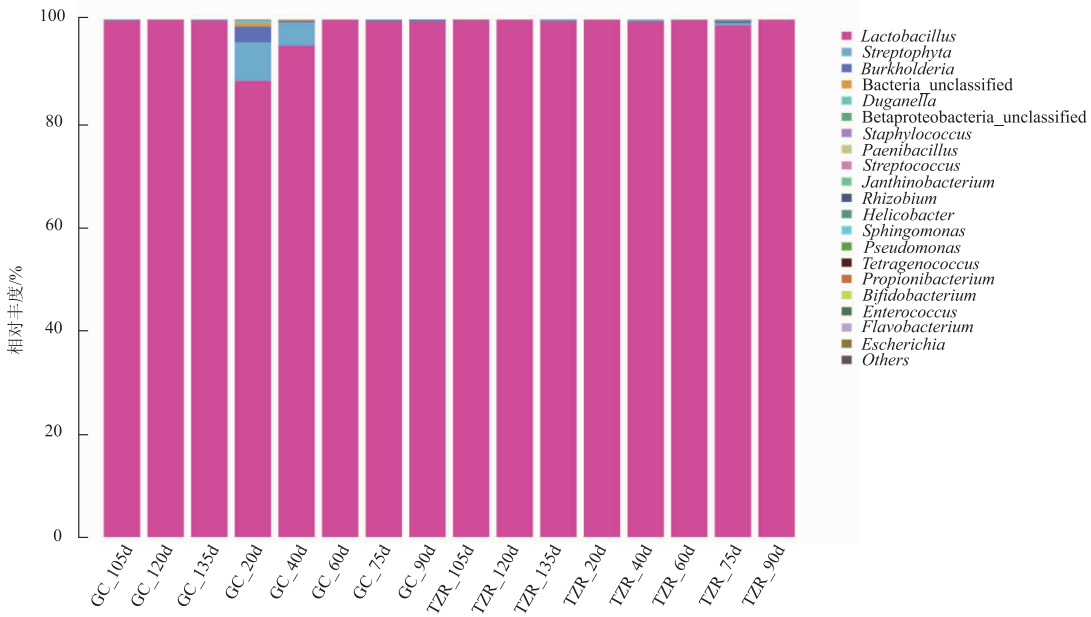
Fig. 1　UPGMA Hierarchical Clustering Analysis

萝卜丝分支中，说明发酵 60、120 d 的萝卜丝与其他发酵时间的萝卜丝在细菌菌群结构上有较大差异，发酵 75 d 坛子肉与其他发酵时间的坛子肉在细菌菌群结构上有较大差异。另外，60 d 坛子肉与其他发酵时间的坛子肉不在一个分支，说明 60 d 坛子肉与其他发酵时间的坛子肉在细菌菌群组成上存在差异；20 d 萝卜丝与其他发酵时间的萝卜丝不在一个分支，说明 20 d 萝卜丝与其他发酵时间的萝卜丝在细菌菌群组成上存在差异。综上，发酵时间少于或多余 60 d 的坛子肉与发酵 60 d 的坛子肉在细菌菌落组成上差异较大，而坛子肉生产企业在冬季的生产发酵时间一般控制在 60 d 左右，说明 60 d 发酵时间是坛子肉风味质变的一个关键节点。

2.3　坛内细菌菌群的物种注释

为了直观展现物种分类及样品距离之间的关系，对丰度前 20 的物种进行 Bray-Curtis 距离聚类，如图 2 所示[1]。细菌菌群在种水平相对丰度最高的是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)，各发酵时间的坛子肉相对丰度均达到 99%以上；然而在发酵 20、40 d 的萝卜丝中，乳酸杆菌属的相对丰度较低，分别为 88.17% 和 94.97%，但随发酵时间的延长，乳酸杆菌丰度增加(P>0.05)，萝卜丝发酵 60 d 后的乳酸杆菌相对丰度均达到 99% 以上。蓝细菌属(*Streptophyta*)在发酵 20 d 萝卜丝中的相对丰度达到 7.47%，40 d 萝卜丝中的相对丰度是 4.50%，其他各发酵时间的萝卜丝以及所有发酵时间的坛子肉中的相对丰度均未超过 1%。伯克氏菌属(*Burkholderia*)仅在发酵 20 d 萝卜丝中的相对丰度超过 1%。其他各菌属的相对丰度在各样品中均不超过 1%。以上结果提示，乳酸杆菌属是安岳坛子肉中第一优属，然而前人多报道葡萄球菌[8]、乳球菌属[9-10]也是发酵肉制品常见的优势菌属，这可能与安岳坛子肉独特的加工工艺有关，即坛子肉、萝卜丝混合入坛发酵，因此坛子肉具有独特的酱香风味。

为了更直观反映多个样品在各分类水平上组成的相似性和差异性，根据各样品相对丰度表对相对丰度最高 20 个的菌群组成数据的相似度加以聚类，见图 3[1]。从图 3 可以看出，60 d 坛子肉与 40 d 坛子肉聚类最近，说明其菌群组成较为相似；另外，



数据为相同发酵时间点样品测序结果的平均值

图 2　各样品在属水平的丰度柱状图

Fig. 2　Abundance histogram of each sample at genus level

60 d 坛子肉与 90 d 坛子肉、75 d 坛子肉虽在同一分支，但是聚类较远，特别是与 75 d 坛子肉的聚类更远。此外，105 d 坛子肉与 105 d 萝卜丝的聚类最近，90 d 坛子肉与 120 d 萝卜丝的聚类最近，说明其菌群组成最相似。以上结果提示，40、60、75、90 d 坛子肉在属水平上聚类较近，特别是 60 d 坛子肉与 40 d 坛子肉；随着发酵时间的延长，坛子肉在属水平上聚类变远；另外，随着发酵时间延长，坛子肉与萝卜丝在属水平聚类上趋于稳定，也就是陶坛中的坛子肉、萝卜丝所携带的细菌菌群结构趋于一致。

2.4　发酵时间对坛子肉特殊风味的影响

如表 2 所示，各坛子肉样品的酱香味非常浓郁，其中 90 d 坛子肉酱香味的评分最高，为 9.75；各坛子肉样品的鲜味不明显，可能是浓郁的酱香味掩盖了其鲜味，60 d 坛子肉的鲜味评分最高，为 5.92；各坛子肉样品的酸味似有似无，可能正是酸味使坛子肉吃起来肥而不腻，135 d 坛子肉的酸味评分最高，为 3.04；试验中评定的酱香味、鲜味、酸味以及整体风味都是坛子肉的头香，而余味残留是指品尝完坛子肉后嘴里余留的香味，60 d 坛子肉余味残留评分最高，为 7.43。风味与风味之间会发生相互作用从而相互影响，这就需要对坛子肉的风味进行综合评价，即整体风味。整体风味评分最高的是 60 d 发酵坛子肉，发酵时间不足以及过度发酵都会影响坛子肉的整体风味，其中，发酵时间超过 90 d 的坛子肉的整体风味评分较低（P<0.01），且发酵时间越长风味越差。感官评价受品评员主观以及环境客观因素的影响较大，且目前暂时未有生产企业结束发酵后的坛子肉的风味研究数据。作者将采用电子鼻、电子舌客观评价 60、75、90、105、120、135 d 发酵的坛子肉的风味，见图 3。

2.5　坛子肉电子舌、电子鼻风味指纹图谱分析

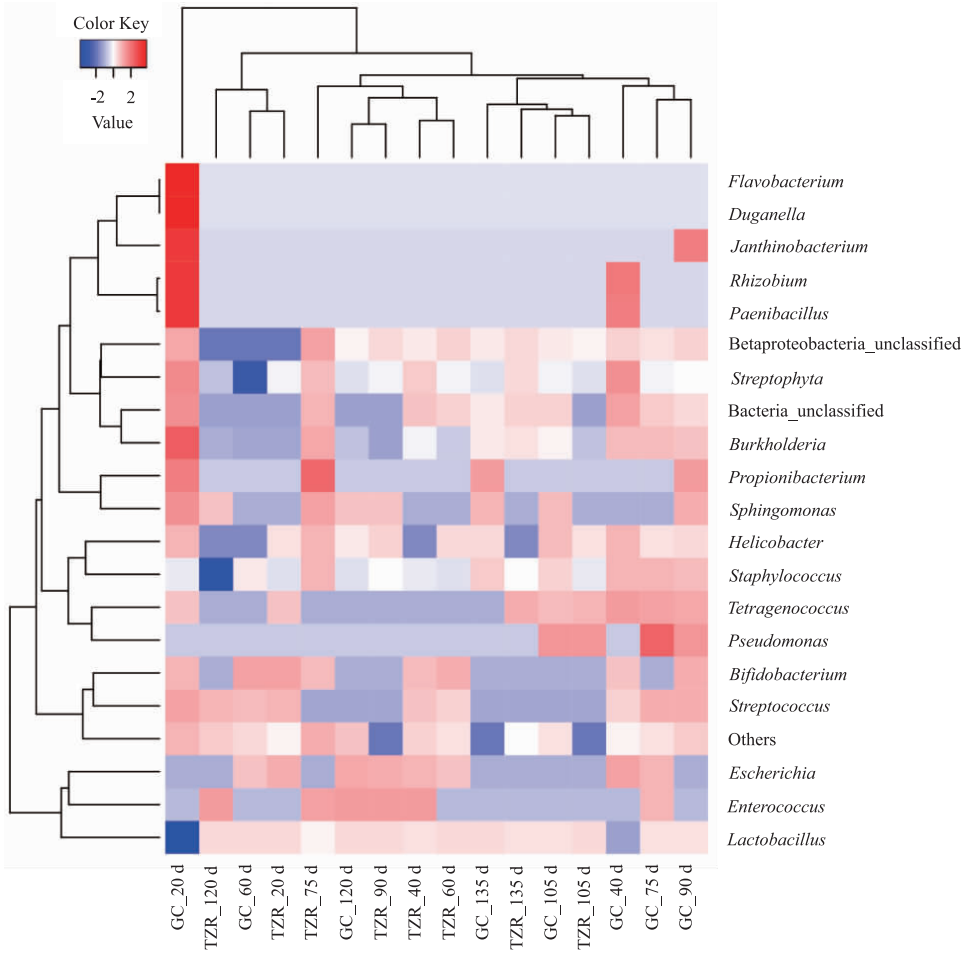
判别因子分析（discriminant factorial analysis，DFA）[16] 是将电子鼻、电子舌的传感器数据重新组合，缩小组内样品变量差距，而组间样品变量差距尽可能扩大，达到区分各组样品的目的[23-25]。各坛子肉样品的 DFA 分析图见图 4。在 DFA（左）中 60 d 坛子肉与 90 d 坛子肉在气味上的距离最近，经多元方差分析（MANOVA）发现两者差异不显著（P>0.05）；105 d 坛子肉与 120 d 坛子肉在气味上的距离最近，差异不显著（P>0.05）；其余各组间均有明显的离散趋势，各组间差异显著（P<0.05），特别是 135 d 坛子肉离散最远，75 d 坛子肉次之。以上结果说明，发酵时间会对坛子肉的气味产生影响，长时间发酵的坛子肉（105 d 坛子肉与 120 d 坛子肉）

表 2　不同发酵阶段的坛子肉的风味感官评定

Table 2　Flavor sensory evaluation of Anyue ceramic-pot sealed meat at different fermentation stages

不同季节生产的坛子肉	酱香味	鲜味	酸味	余味残留	整体风味
20 d 坛子肉	4.75±1.07^{bB}	3.42±1.05^{bAB}	0.72±0.47^{aAB}	3.51±1.43^{bAB}	3.50±1.33^{bAB}
40 d 坛子肉	5.26±0.92^{bB}	4.51±1.03^{bB}	1.07±0.79^{aA}	5.85±1.09^{bB}	5.53±1.04^{bB}
60 d 坛子肉	9.14±0.41^{cdC}	5.92±0.74^{bB}	1.46±1.17^{aA}	7.43±1.16^{bcBC}	9.53±0.32^{dC}
75 d 坛子肉	9.02±0.63^{dC}	5.40±0.83^{bB}	1.31±1.41^{aA}	7.19±1.04^{cBC}	9.07±0.48^{dC}
90 d 坛子肉	9.75±0.08^{dC}	4.92±0.84^{bB}	1.73±1.21^{aA}	6.14±1.42^{bcB}	8.14±1.73^{cbc}
105 d 坛子肉	7.27±0.22^{dC}	3.40±1.03^{abAB}	1.97±1.05^{aA}	4.13±1.03^{bcAB}	5.64±1.37^{cdBC}
120 d 坛子肉	6.04±0.71^{bB}	2.92±1.38^{aAB}	2.31±1.29^{aA}	3.15±1.47^{aAB}	4.25±1.48^{abAB}
135 d 坛子肉	5.37±1.43^{bB}	1.21±1.13^{aA}	3.04±1.30^{abAB}	2.47±1.65^{aAB}	3.68±1.24^{abAB}

注：同列各组之间相比，不同小写字母表示差异显著（P<0.05），不同大写字母表示差异极显著（P<0.01）。



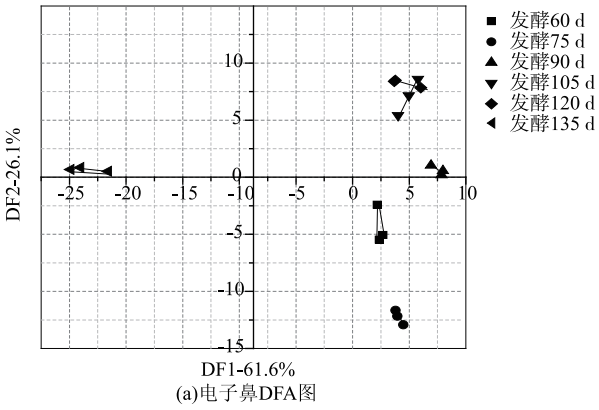
数据为相同发酵时间点样品测序结果的平均值

图 3　各样品在属水平的热图

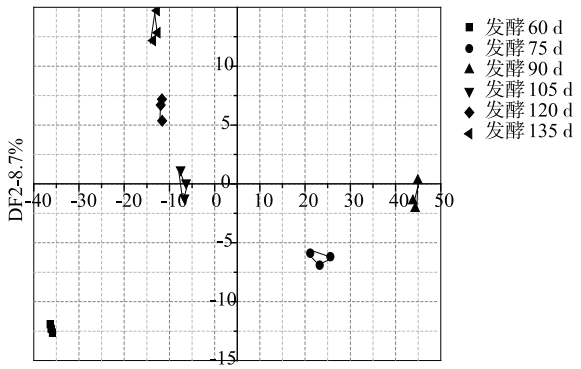
Fig. 3　Thermogram of each sample at genus level

气味较为接近，适度发酵坛子肉（60 d 坛子肉与 90 d 坛子肉）气味较为接近；135 d 坛子肉、75 d 坛子肉与其他坛子肉的气味差异较大[26]。

在 DFA（右）中，60 d 坛子肉与其他坛子肉在滋味上有明显的离散趋势，差异极显著（P<0.01）；105 d 坛子肉与 120 d 坛子肉在滋味上的距离最近



(a)电子鼻DFA图



(b)电子舌DFA图

图 4　不同发酵时间的坛子肉的 DFA 分析图

Fig. 4　DFA analysis of ceramic –pot sealed meat had different fermentation time

(P>0.05)；其余各组间均有明显的离散趋势，各组间差异显著(P<0.05)。以上结果显示，发酵时间也会对坛子肉的滋味产生较大影响。

综上，发酵时间会对坛子肉的风味产生较大影响，长时间发酵的坛子肉的风味较为接近，短时间发酵的坛子肉的风味较为接近。在气味上，135 d 坛子肉、75 d 坛子肉与其他坛子肉的差异较大(P<0.01)；在滋味上，60 d 坛子肉与其他坛子肉差异较大(P<0.01)。

3 讨　论

Illumina MiSeq 高通量测序检测结果发现，发酵时间对坛内菌相产生较大影响。根据 OUT 丰度、细菌 Alpha 多样性分析发现，60 d 发酵的坛子肉及萝卜丝的细菌菌群丰富度和多样性均高于其他样品，说明发酵促进了坛内细菌的生长繁殖。当发酵 75 d 时，坛子肉、萝卜丝的菌群丰富度及多样性开始下降，且在随后的发酵时间内呈波动下降趋势，这与优势菌群大量繁殖抑制杂菌有密切关系，这在 2.3 的试验结果中得到了证实。

根据 2.2 的试验结果，75 d 坛子肉、40 d 萝卜丝的 3 个样品中均有 1 个样品离散在群体之外，这与试验过程中开坛取样有关。为了确保坛内微生态环境的稳定，在坛子肉生产企业的实际生产中，发酵终止前是不能开坛的。此外，2.2 与 2.3 的试验结果是一致的，即长时间发酵坛子肉(105、120、135 d)在菌群构成上较为相似，适中发酵时间的坛子肉(40、60、90 d)在菌群构成上较为相似，而发酵 75 d 坛子肉与其他坛子肉在菌群构成上存在较大差异，因此推断，坛子肉发酵 75 d 后若再继续发酵，其细菌菌群组成将发生较大变化，并影响其特殊风味的形成，这在 2.4、2.5 的试验结果中得到了证实。

坛肉细菌发酵产生酮醛酯等风味物质，赋予坛子肉特殊的风味。为了解发酵时间对坛子肉风味的影响，首先采用坛子肉生产企业常用的感官评定法对不同发酵时间的坛子肉的风味进行评定，结果与企业的实际情况一致，不同发酵时间坛子肉在酱香味、鲜味、酸味、余味残留、整体风味均有明显差异。整体风味评分最高的是 60 d 发酵坛子肉；超过 90 d 发酵时间的坛子肉的整体风味评分极显著降低(P<0.01)，且发酵时间越长风味越差。结合坛内细菌结构变化进行推断，坛内细菌菌群的改变影响了坛子肉的风味。根据电子鼻、电子舌绘制的不同发酵时间坛子肉的风味指纹图谱，进一步证实了发酵时间对坛子肉风味的影响，即坛内细菌菌群影响坛子肉的风味。在气味上，75 d 坛子肉与其他坛子肉的差异较大(P<0.01)；滋味上，60 d 坛子肉与其他坛子肉差异较大(P<0.01)。综上，本试验结果与坛子肉生产企业的实际情况是相符合的，即坛子肉在冬季的生产发酵时间控制在 60~75 d 内较为适宜。

4 结　语

乳酸杆菌属是坛子肉发酵过程中的优势菌属，始终保持在 99% 以上。坛子肉发酵 60 d 时，坛子肉中细菌菌群结构的多样性最高；发酵 75 d 时，坛子肉菌群多样性开始下降，且在随后的发酵时间内呈波动下降趋势。发酵 75 d 坛子肉与其他发酵时间的坛子肉在细菌菌群结构上有较大差异，随着发酵时间的延长，坛子肉中细菌菌群结构与萝卜丝细菌菌群结构差异变小。

发酵时间不仅坛子肉的细菌菌群结构变化,也会影响坛子肉的风味。根据传统的人工感官评定结果,整体风味评分最高的是 60 d 发酵坛子肉,发酵时间不足以及过度发酵都会影响坛子肉的整体风味。电子鼻及电子舌分析发现,75 d 坛子肉与其他坛子肉在气味上的差异较大(P<0.01),60 d 坛子肉与其他坛子肉在滋味上差异较大(P<0.01)。

综上,坛内细菌菌群结构是与发酵时间密切相关的,细菌菌群结构的变化会影响坛子肉特殊风味的形成。此外,坛子肉发酵过程中风味物质的种类及其含量尚未明确,本团队将继续深入研究,为坛子肉的标准化生产调控提供理论依据和数据支持。

参考文献:

[1] 杜双巧,肖岚,何莲,等. 发酵终点对安岳坛子肉风味物质和细菌群落结构的影响[J]. 保鲜与加工,2020,20(5):195-205.

[2] 汪修意,徐文泱,陈同强,等. 气相色谱 - 质谱联用与相对气味活度值法分析坛子肉风味物质的研究[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(24):8450-8455.

[3] 廖定容. 罐罐肉加工与贮藏过程中风味形成机理的初步研究[D]. 雅安:四川农业大学,2013.

[4] TOLEDANO A, JORDANO R, LPEZ C, et al. Proteolytic activity of lactic acid bacteria strains and fungal biota for potential use as starter cul-tures in dry-cured ham[J]. **Journal of Food Protection**,2011,74(5): 826.

[5] FONSECA S, CACHALDORA A, GMEZ M, et al. Monitoring the bacterial population dynamics during the ripening of Galician chorizo,a traditional dry fermented Spanish sau-sage[J]. **Food Microbiology**,2013,33(1) : 77.

[6] 蔡嘉铭,王际辉,陶冶,等. 霉菌发酵剂对干发酵香肠的理化指标、氧化程度及风味的影响[J]. 食品与发酵工业,2020,46(5):17-22.

[7] BLAIOTTA G, PENNACCHIA C, PARENTE E, et al. Design and evaluation of specific PCR primers for rapid and reliable identification of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from dryfermented sausage[J]. **Systematic and Applied Microbiology**, 2003,26(4): 601.

[8] 陈竞适, 刘静, 任海姣, 等. 湘西陈年腊肉微生物菌群分析及高产脂肪酶细菌的筛选[J]. 肉类研究,2017,31(3):1-6.

[9] 李馨蕊, 刘力钰, 杨扬, 等. 传统腊肉的理化、微生物与风味特性[J]. 肉类研究,2020,34(1):22-26.

[10] 于美娟, 谭欢, 马美湖, 等. 传统固态发酵鱼中细菌菌群多样性与品质特征分析[J]. 食品科学,2017,38(8):86-95.

[11] 刘威, 肖岚, 杨芳, 等. 生产季节对安岳坛子肉挥发性风味物质的影响[J]. 食品与机械,2020,36(12):12-17.

[12] 肖岚, 李燮昕, 鲜丹丹, 等. 入坛发酵对安岳坛子肉脂质代谢以及风味物质形成的影响[J]. 食品与发酵工业,2019,45(24):140-147.

[13] 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.

[14] FADROSH D W, MA B, GAJER P, et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform[J]. **Microbiome**, 2014, 2(1):6.

[15] AOOA Chemists. Journal of the association of official analytical chemists[J]. **Ass Off Anal Chem**, 1990, 190(5): 9-12.

[16] 杨长平, 顾思远, 孙俊秀, 等. 宜宾芽菜风味的感官鉴定与电子鼻分析的相关性研究[J]. 中国酿造,2017,36(6):59-62.

[17] 易宇文, 刘阳, 彭毅秦, 等. 东坡肘子风味电子鼻分析与感官评定相关性探究[J]. 食品与发酵工业,2018,44(1):238-244.

[18] 范文教, 易宇文, 徐培, 等. 电子舌技术识别掺假腐肉香肠的研究[J]. 食品工业,2017,38(12):159-163.

[19] XAVIER C, ANDREU G C, CRESPO N, et al. Electronic tongues to assess wine sensory descriptors[J]. **Talanta**, 2017, 162: 218-224.

[20] HUAYING Z, DEHAN L, HAMID G H, et al. Identification of chinese herbal medicines with electronic nose technology: applications and challenges[J]. **Sensors**, 2017(5): 1073.

[21] BOKULICH N A, SUBRAMANIAN S, FAITH J J, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from *Illumina amplicon* sequencing[J]. **Nature Methods**, 2013, 10(1):57-59.

[22] CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms[J]. **ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, 2012, 6(8):1621-1624.

[23] SUL W J, COLE J R, JESUS E D C, et al. Bacterial community comparisons by taxonomy-supervised analysis independent of sequence alignment and clustering[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2011, 108(35):14637-14642.

[24] ZHANG X, WEI W, HU W, et al. Accelerated chemotaxonomic dis-crimination of marine fish surimi based on Tri-step FT-IR spectroscopy and electronic sensory[J]. **Food Control**, 2017, 73: 1124-1133.

[25] PERIS M, ESCUDER-GILABERT L. Electronic noses and tongues to assess food authenticity and adulteration[J]. **Trends in Food Science and Technology**,2016, 58: 40-54.

[26] 肖岚, 唐英明, 张浩, 等. 烹饪方式对安岳坛子肉风味的影响[J]. 核农学报,2020,34(1):104-112.

科 技 信 息

欧盟拟续用大肠肝菌 ATCC 9637 生产的 L-组氨酸盐酸盐-水合物作为饲料添加剂

据欧盟官方公报消息,2020 年 12 月 16 日,欧盟委员会发布法规(EU)2020/2116 号条例,根据欧洲议会和理事会法规(EC) No 1831/2003,拟续用大肠肝菌 ATCC 9637 生产的 L-组氨酸盐酸盐-水合物作为鲑鱼的饲料添加剂。

根据附件中规定的条件,这种添加剂被授权作为动物添加剂的所属类别为“营养添加剂”,功能组别为“氨基酸、氨基酸盐及其类似物”。授权结束日期为 2030 年 1 月 6 日。本条例自发布之日起第 20 天生效。

[信息来源]食品伙伴网. 欧盟拟续用大肠肝菌 ATCC 9637 生产的 L-组氨酸盐酸盐-水合物作为饲料添加剂 [EB/OL]. (2020-12-22).http://news.foodmate.net/2020/12/580665.html