

多组学技术解析发酵水产食品风味形成机理研究进展

陈 剑¹, 王婉婉¹, 李 欢¹, 王飞飞¹, 傅玲琳¹, 董 科², 贾临宇², 王彦波^{1,*}

(1.浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310018; 2.浙江工商大学东亚研究院 日本研究中心, 浙江 杭州 310018)

摘 要: 发酵水产食品风味形成机制复杂, 制备和发酵过程中的原料、所用发酵剂以及设备和加工工艺中的多种微生物相互作用, 导致形成的风味成分种类多样, 从单一层面面对不同发酵水产食品风味成分解析较为困难。近年来, 通过利用对不同层面准确解析的组学技术, 研究基因表达调控、蛋白质转录翻译及相互作用, 并对代谢物进行定性及定量分析, 可用于明确特征风味成分, 揭示风味形成机制。因此, 多组学技术可以用于动态检测发酵过程中水产品风味成分变化并解析风味形成机制、构建风味化合物代谢网络, 探究风味相关微生物及酶作用关系。本文综述水产品发酵中风味形成的主要代谢途径、多组学技术应用于解析水产品发酵过程中风味形成的研究进展, 以及多组学技术在发酵水产品风味研究中的重要作用。

关键词: 多组学技术; 水产品; 发酵水产食品; 风味形成; 机理

Progress in Multi-omics Research on Flavor Formation Mechanism in Fermented Aquatic Foods

CHEN Jian¹, WANG Wanwan¹, LI Huan¹, WANG Feifei¹, FU Linglin¹, DONG Ke², JIA Linyu², WANG Yanbo^{1,*}

(1.School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China;

2.Center for Japanese Studies, Institute of East Asian Studies, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The mechanism of flavor formation in fermented aquatic foods is complex. The microbial interactions during the fermentation process leads to the formation of a variety of flavor components, so it is difficult to analyze the flavor components of fermented aquatic foods from a single perspective. In recent years, multiple-level omics which researches the regulation of gene expression, protein transcription and translation, protein-protein interactions, and the qualitative and quantitative analysis of metabolites has been applied to determine the characteristic flavor components and the mechanism of flavor formation in fermented aquatic foods. More broadly, omics can be used to build the metabolic network of flavor compounds and explore the relationship between flavor-related microorganisms and enzymes. This article reviews the main metabolic pathways involved in flavor formation in fermented aquatic products and recent progress in the application of multi-omics technology for analyzing flavor formation in aquatic products during fermentation and highlights its important role in the study of the flavor of fermented aquatic products.

Keywords: multi-omics techniques; aquatic foods; fermented aquatic foods; flavor formation; mechanism

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20220609-067

中图分类号: TS254.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-8123 (2022) 09-0043-08

引文格式:

陈剑, 王婉婉, 李欢, 等. 多组学技术解析发酵水产食品风味形成机理研究进展[J]. 肉类研究, 2022, 36(9): 43-50.

DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20220609-067. <http://www.rlyj.net.cn>

CHEN Jian, WANG Wanwan, LI Huan, et al. Progress in multi-omics research on flavor formation mechanism in fermented aquatic foods[J]. Meat Research, 2022, 36(9): 43-50. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20220609-067. <http://www.rlyj.net.cn>

收稿日期: 2022-06-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32072290); 浙江省基础公益研究计划项目 (LGN21C200014);

浙江省“三农九方”科技协作计划项目 (2022SNJF069)

第一作者简介: 陈剑 (1988—) (ORCID: 0000-0003-0961-7317), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品质量与安全。

E-mail: chenjian@mail.zjgsu.edu.cn

*通信作者简介: 王彦波 (1978—) (ORCID: 0000-0002-9598-1432), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品质量与安全。

E-mail: wyb1225@163.com

发酵水产食品是指以鱼类、虾类、蟹类和贝类等水产品为原料,在微生物和酶的作用下,通过传统发酵技术或现代发酵技术制得的具有特殊风味的食物,目前研究较多的有虾酱、鱼露、蟹酱等。发酵水产食品风味物质(滋味和挥发性风味化合物)是水产品品质和消费者购买导向的重要指标^[1]。但发酵过程中微生物代谢途径多样、风味形成机制复杂、风味化合物成分组成多样,传统研究手段难以对发酵水产食品风味进行准确解析与表征。近些年,以不同组学技术为代表的系统生物学可从整体水平,通过不同结构和功能的各种分子及其相互作用,研究食品发酵过程中微生物群落代谢和功能对发酵产品的影响,并表征香气成分和相关风味因子^[2]。例如,基于代谢组学的色谱、质谱技术以其高灵敏度、高分辨率等特点已经用于分离检测发酵水产品中的风味物质;基于新一代高通量技术的宏基因组学已成为揭示复杂微生物群落的强大技术,可对水产品发酵过程中微生物进行准确、快速分析,推动对水产品发酵机理的研究^[3]。因此,基于多组学技术检测得到的大量数据可阐明食品中微生物组成对发酵风味品质的形成机理,解析其中优势微生物菌相变化与特征风味的响应机制^[4]。

1 发酵水产食品主要风味成分及形成途径

1.1 发酵水产食品中主要风味成分

传统发酵水产食品一般是将新鲜鱼、虾、蟹等水产品 and 较高含量的食盐混合,其中的微生物会自发发酵产生各种酶分解蛋白质和脂肪,从而产生复杂的代谢产物,具有独特的风味^[5]。发酵水产品的风味成分由滋味化合物(游离氨基酸、呈味核苷酸)和挥发性化合物(醛类、醇类、酸类等)组成^[6]。不同种类水产品经发酵后主

要风味特征及风味化合物含量有很大差异。就微生物作用而言,风味形成过程中具有重要作用的微生物对关键特征风味及大多数风味物质形成起主导作用,具有较强的相关性^[7]。发酵水产食品中的菌群结构随着发酵进行不断变化,鱼露、虾酱、蟹酱3种水产发酵制品中的优势微生物及主要风味成分如表1所示。3种产品中优势门水平微生物均有变形菌门及厚壁菌门;主要风味特征主要由各种具有香气特征的小分子物质交互融合形成,造成产品风味特征有较大差异。

表1 发酵水产品优势微生物及主要风味成分

Table 1 Dominant microorganisms and main flavor components of fermented aquatic products

发酵水产品种类	优势微生物	主要风味成分	参考文献
鱼露	门水平:厚壁菌门、变形菌门; 属水平:希瓦氏菌属、盐氏菌属、嗜盐四联球菌属、假单胞菌属、嗜冷杆菌属、泰氏菌属、肉食杆菌属	3-甲硫基丙醛(鱼腥味)、壬醛(鱼腥味)、苯甲醛(坚果和杏仁香气); 2-丁酮(乳香味)	[8-9]
虾酱	门水平:厚壁菌门、变形菌门、蓝细菌门、拟杆菌门、放线菌门; 属水平:盐氏菌属、乳杆菌属、链球菌属、海洋乳杆菌属	肉豆蔻酸乙酯(蜂蜜香气)、十六烷酸甲酯(奶油味、蜡香气)、2-甲基丁酸乙酯(牛乳香和果香)、苯甲醛(坚果和杏仁香气)、戊二烯-3-酮和苯己酮(腥味)	[10]
蟹酱	门水平:厚壁菌门、变形菌门、绿弯菌门;属水平:乳杆菌属、葡萄球菌属、魏氏氏菌属	1-辛烯-3-醇(蘑菇、薰衣草、干草味)、异戊醇(苹果、辛辣味)、苯甲醛(坚果和杏仁香气)、壬醛(玫瑰、柑橘味)	[11-12]

1.2 风味主要形成途径

水产品原料中的大分子物质在微生物及原料中内源酶作用下分解氧化^[13],产生糖类、氨基酸、脂肪酸等初级代谢产物。这些初级代谢产物为微生物的生长和新陈代谢提供原料,进一步产生具有挥发性的次级代谢产物^[14]。如图1所示,次级代谢产物的代谢途径可以分为3条。第1条途径是氨基酸代谢转化为各种醇类、醛类、酸类、酯类和含硫化合物,是产生特征风味的重要途

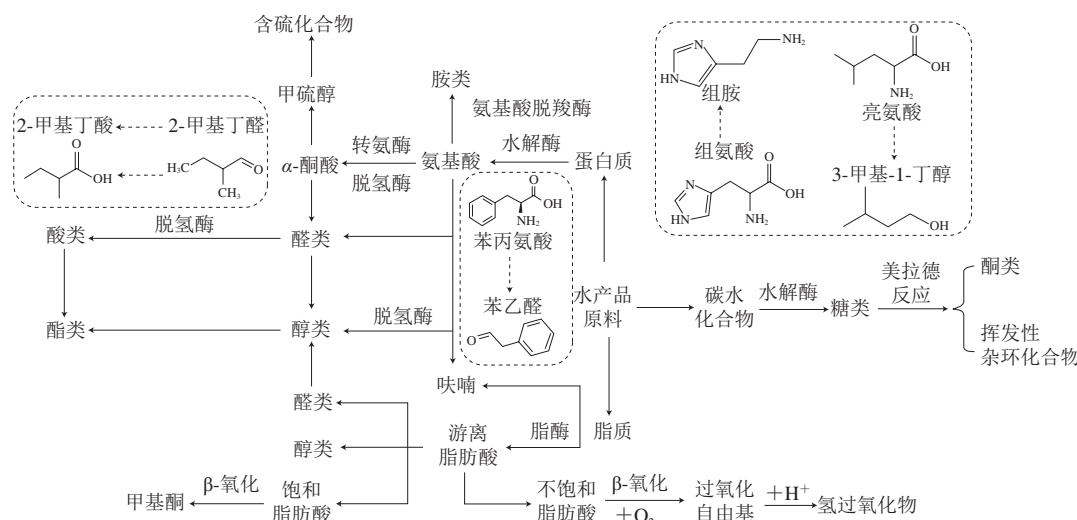


图1 水产品发酵过程中风味形成的主要途径

Fig. 1 Main pathways of flavor formation during fermentation of aquatic products

径,由转氨基作用形成的 α -酮酸是氨基酸次级代谢途径的重要产物。 α -酮酸可以转化为醛或甲硫醇,醛类化合物在各种氨基酸脱羧酶的作用下进一步还原为相应的醇类化合物,而在脱氢酶的作用下,醛类又可生成酸类化合物;由甲硫氨酸转氨作用生成的甲硫醇则被分解为各种含硫化合物^[15]。第2条途径是脂肪酶催化脂肪酸水解生成醛、醇、饱和及不饱和脂肪酸。不饱和脂肪酸氧化生成氢过氧化物需要过氧化自由基的催化,饱和脂肪酸经过 β -氧化生成乙酰辅酶A, β -酮酸脱羧生成甲基酮^[16]。第3条途径是糖类(葡萄糖和半乳糖)通过美拉德反应生成呋喃、酮类和酸类等挥发性风味成分。

2 发酵水产食品风味形成主要影响因素

2.1 发酵微生物

水产品发酵过程中,微生物的繁殖代谢及密切相互作用是促进发酵水产食品风味物质形成的重要影响因素,可以说,微生物是发酵水产食品的核心。原料中的微生物能自发富集,以不同的原料进行物质代谢,促进食品特殊风味及品质的形成。葡萄球菌可将支链氨基酸分解形成具有风味的醛和羧酸^[17],酵母菌厌氧发酵可以产生醇类,也可促进水产品中碳水化合物代谢产生的醇类和酸类反应形成酯类等风味物质,同时代谢所产生小分子物质可以促进乳酸菌的活动;另外,在肽聚糖水解酶作用下细胞裂解促进发酵水产品中细胞质酶的释放,进一步水解蛋白质、寡肽、脂质和脂肪酸等风味前体物质,也可通过氨基酸的降解及一系列反应生成3-甲基丁酸及果酸酯等特征风味物质^[18];而乳酸菌所产生的乳酸和4-羟基苯乳酸对酵母菌的生长有一定的抑制作用。这些微生物在水产品中会形成共栖发酵,因此,通过对微生物多样性、基因和代谢水平差异的多组学分析,鉴定出与特征风味成分形成相关的微生物及其基因的转录和表达,可调控发酵风味代谢过程中的关键“生物标志物”^[19]。

2.2 酶活性

水产品发酵是一个复杂的动态过程,微生物酶与内源性酶在促进风味前体物质蛋白质、脂质和碳水化合物的分解中通常发挥不同作用,分工明确,协调发挥作用。因此,相关内源酶活性与风味形成密切相关。蛋白质首先在蛋白酶作用下水解成寡肽,寡肽经微生物产生的酶分解生成对关键特征风味具有重要贡献作用的小肽和游离氨基酸^[20]。脂质在脂肪氧合酶的作用下被氧化,而水解则是通过脂肪水解酶催化的。同样,在磷酸果糖激酶、己糖激酶和丙酮酸激酶作用下,碳水化合物分解代谢产生重要的中间风味物质丙酮酸。

为改善水产发酵制品风味,可以选择分泌高活性脂肪酶和蛋白酶的微生物作为发酵剂或直接添加合适的

酶增强发酵机制。但是,外源添加酶制剂促进蛋白质水解成本较高,目前已有学者通过接种能产生蛋白酶的菌株达到间接添加外源酶的目的,并应用于水产品发酵。

Liu Xueqin等^[21]从虾酱中分离能够产生蛋白酶的耐盐菌株卤化硝化弧菌ST-1,分离得到的蛋白酶活性较为稳定,可以水解各种天然蛋白质底物,并优先水解产生谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸和亮氨酸等风味氨基酸以及具有抗氧化活性的肽,提高虾酱品质风味。由此表明可以通过外源调整相关微生物的数量和种类对酶活性进行调控。

2.3 发酵工艺

目前,传统的高盐发酵工艺和接种发酵剂或酒曲低盐低温快速发酵工艺是发酵制备水产品的主要工艺,发酵过程的不同条件决定了发酵系统中的微生物菌群和生态体系的变化方式不同,最终影响发酵水产品的口感和产品质量。在常规传统发酵过程中,加入较高含量的食盐会抑制水解酶活性,减弱微生物的生长繁殖活动,使完成发酵所需时间较长,同时摄入较高含量的食盐有害人体健康,不符合当前低盐饮食的趋势。在降低盐含量的情况下,由于渗透压的降低和微生物生长速率的增加,发酵时间将缩短,但低盐环境通常会导致腐败微生物的快速生长繁殖,导致产品风味大打折扣^[22]。王炳华等^[23]采用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分别测定由传统发酵法和2种不同的快速发酵法制备鲢鱼鱼露的挥发性成分,综合感官评价结果表明,传统发酵法制备的鱼露风味成分丰富,综合指标优于其他2种发酵鱼露。因此,在现代发酵设备及智能技术手段支持下,寻找最佳发酵工艺条件提升水产品发酵风味是当前的研究热点。

采用低盐条件下通过外部添加有益微生物来加快水产品的发酵技术已成为提升水产品发酵风味的有效手段。王悦齐等^[24]以腌干带鱼为研究对象,对比接种3种不同抗氧化乳酸菌和不接种任何发酵剂进行发酵,测定产品的抗氧化指标及不同发酵时间带鱼中游离脂肪酸含量和挥发性物质正己醛含量,主成分分析结果表明,抗氧化乳酸菌可抑制不饱和脂肪酸的氧化,减少正己醛的产生,避免正己醛含量过高产生哈喇味,影响产品风味。Li Chunsheng等^[25]从传统鱼露中分离出1株耐盐菌株鼠疫四联球菌YL9-5(*Tetragenococcus muriaticus* YL9-5)并接种于低盐鱼露中发酵,与未添加发酵剂相比,接种*T. muriaticus* YL9-5发酵的低盐鱼露中挥发性风味化合物含量更高,中后期占据优势地位的四联球菌属微生物代谢导致腐败微生物的相对丰度较低,同时促进了低盐鱼露挥发性风味化合物含量的升高。表明添加有效发酵剂对低盐条件下发酵水产品风味改善具有重要促进作用。

3 解析发酵水产食品风味形成的组学技术

近几年,基于高通量基因测序扩增子分析,组学技术在探索传统发酵食品中微生物群落动力学和功能表征中发挥了重要作用,多组学技术联用已成为更深入研究发酵食品潜在分子机制的重要手段(图2)^[26]。

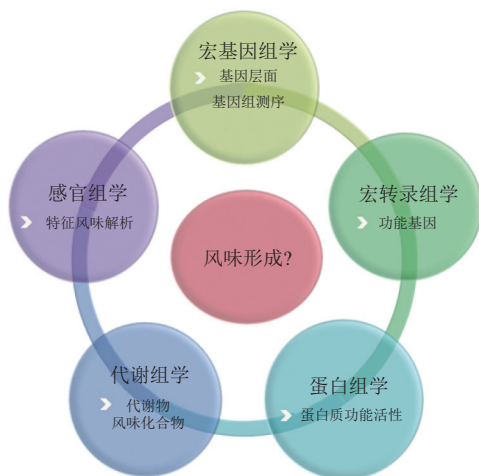


图2 多组学技术在解析发酵水产食品风味中的作用

Fig. 2 Role of multi-omics in analyzing the flavor of fermented aquatic foods

3.1 宏基因组学

目前对发酵食品微生物群落研究已经逐渐由实验室条件下传统方法的分离培养等手段转为广泛采用宏基因组测序技术,通过对微生物基因组和功能基因信息重建可以对微生物在物种水平上实现准确分类,从而更加全面地研究微生物群落结构和功能基因多样性^[27]。

Zang Jinhong等^[28]利用宏基因组测序对酸鱼发酵过程中特征风味化合物的形成途径及与风味形成相关的关键微生物进行研究,结果表明,糖酵解是产生丙酮酸的主要途径,催化相关酶的微生物各不相同;乙酰辅酶A有4条主要产生途径,主要相关微生物包括肠球菌、乳酸杆菌及片球菌等;乳酸菌、葡萄球菌等促进乳酸形成,而假单胞菌和酵母菌则会消耗乳酸;有9种与乙酸形成相关的催化酶,酸鱼发酵过程中具有完整的 β -氧化和脂氧合酶途径;苯乙醇、苯甲醛和3-甲基-1-丁醇是特征风味中含量较高的醇、醛类物质;酯类主要由羧基酯酶、醇脱氢酶和醇酰基转移酶催化合成,与风味形成相关的酶丰度较高的微生物主要是细菌属,表明细菌在发酵酸鱼风味形成中具有重要作用,基于宏基因组数据表明,特征风味的产生是各种微生物协同作用的结果。

3.2 宏转录组学

宏转录组学可以揭示特定时间和空间下的活跃菌群和筛选高表达活性功能基因,关联代谢组学可以表明发酵食品中的风味有关形成因子。Duan Shan等^[29]利用宏转

录组测序揭示发酵虾酱中各种细菌的基因表达水平,在目、科、属和种水平上,代谢最活跃的分类群为乳酸杆菌目、肠球菌科、四联球菌属和嗜盐菌,宏转录组测序确定的主要KEGG代谢途径,除了全局代谢途径外,磷酸戊糖途径最为活跃,其次是嘌呤和嘧啶代谢途径,另外,甘油酯代谢、在细菌各种代谢中起关键作用的丙酮酸代谢和与氨基酸向葡萄糖的主动转化有关的糖异生途径也非常活跃,这表明嗜盐菌可能主要通过有氧代谢参与虾酱的发酵。然而,由于细胞活性调节通常发生在蛋白质水平,因此,宏转录组通常和蛋白质组结合,用于研究微生物群落的功能及活动。

3.3 蛋白质组学

现代蛋白质组学用于在发酵水产食品的整体水平上收集蛋白质组成信息,结合基因组信息从氨基酸序列中识别编码相关蛋白质的基因,并预测蛋白质的功能,可研究微生物代谢机制和生化反应途径,调节生物体生命活动规律^[30-31]。因此,蛋白质组学可以全面分析水产食品不同加工条件过程中品质的变化^[32-33]。Ji Chaofan等^[34]采用基于高效液相色谱-串联质谱的蛋白质组学方法将鱼露发酵过程中生理和代谢特征与系统发育多样性联系起来,共鉴定出2 175种蛋白质,主要由变形菌门、厚壁菌门和放线菌门产生,其中有600多种蛋白质与基础代谢有关;在链球菌、芽孢杆菌、埃希氏菌和假交替单胞菌中鉴定出63个与氨基酸降解相关的蛋白,这表明这些菌株在发酵过程中促进特殊风味的形成;鉴定出转氨酶主要来自链球菌属和酸性硫杆菌属,醇脱氢酶主要来自葡萄球菌,醛脱氢酶主要来自芽孢杆菌属。蛋白质组的信息促进了微生物代谢模式的表征。

3.4 代谢组学

水产品中的挥发性成分具有成分组成多样、各组分含量低、相互间易发生生化反应等特点,对水产品质量和整体风味有重要影响。自20世纪末提出以来,代谢组学以捕捉不同因子导致的生物过程中细微变化的能力而被广泛应用,近年来已经快速发展的有营养代谢组学^[35]、微生物代谢组学^[36]、环境代谢组学^[37]等。代谢组学可研究发酵过程中挥发性成分的变化规律、动态检测发酵过程中产生的风味物质,可以反映相关微生物的新陈代谢及发酵工艺条件对食品感官、风味的影响。同时也可对生物胺、亚硝酸盐等有害物质及其他有益物质进行监控和分析,为水产品发酵产物的质量和安全性提供参考依据。

代谢组学可以动态检测发酵过程中产生的风味物质。李春生等^[38]采用GC-MS技术对传统发酵0、1、3、6、12个月的鱼露挥发性成分进行研究,共检测到54种挥发性化合物,除了酮类化合物含量呈下降趋势,其他类化合物含量总体呈现逐渐上升趋势,而含氮化合物的

总含量随着发酵时间延长无明显变化。Zhu Wenhui等^[39]对发酵1、2、3年的虾酱中气味物质变化进行分析,共检测出89种挥发性化合物,发酵时间对氮、无机硫化物以及醇的芳香族成分有显著影响,但对氢化物、烷烃和有机硫化物影响不大,不同发酵时间的虾酱样品整体香气不同。Kleekayai等^[40]对不同发酵时间下2种泰国传统虾酱Kapi Ta Dam和Kapi Ta Deang发酵过程中的挥发性成分进行研究,在Kapi Ta Dam和Kapi Ta Deang中分别检测到56、54种挥发性化合物,在所鉴定的挥发性物质中,含氮化合物、芳香族化合物和醇类是发酵虾酱中的主要挥发性物质,其中含氮化合物中吡嗪含量最为丰富,对于香气和味道的形成非常重要。同样,代谢组学可揭示不同发酵剂引起的风味物质变化。Zhou Yueqi等^[41]将从传统发酵产品中分离得到的清酒乳杆菌LS1 (*Latilactobacillus sakei* LS1)、植物乳杆菌LP1 (*Lactiplantibacillus plantarum* LP1)和食蜜魏斯氏菌WC1 (*Weissella cibaria* WC1) 3种菌株用于鲭鱼低盐发酵生产鱼露,通过固相微萃取-GC-MS (solid phase microextraction-GC-MS, SPME-GC-MS) 技术结合相对气味活度值检测分析发酵过程中的关键风味化合物,发现多不饱和脂肪酸氧化降解产物醇类和脂质氧化产物醛类是乳酸菌发酵生产鱼露中的主要挥发性化合物。Wang Yueqi等^[42]使用基于超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱法的比较性代谢组学方法结合等效定量和味觉活性值评估传统发酵鱼露的味道及风味品质,表征发酵过程中代谢物特征,46种代谢物被确定为鱼露营养和感官品质的关键因素,该研究表明代谢组学方法对鱼露风味品质的表征是可靠的,有助于从新的视角扩大对鱼露品质的研究。Chen Daian等^[43]利用核磁共振技术代谢组学结合多元数据分析,系统分析蟹酱发酵过程中代谢物随时间的变化,三甲胺产量可以作为蟹酱的新鲜度指标,也表明基于核磁共振的代谢组学方法与多元数据分析相结合,可以为蟹酱发酵提供有效的重要参考信息。

3.5 感官组学

简单的定性及定量分析难以准确描述各种具有感官属性的香气物质对水产品特征香气的贡献。分子感官科学又称为感官组学,可以在分子水平上利用多学科交叉技术对食品中滋味物质进行精确定性及定量分析,对水产品风味品质及感官特点给予客观评价,有效从复杂的混合物中选择和评价关键气味活性物质,并通过模型体系和描述性分析验证对整体滋味进行重现^[44-45]。Wang Yueqi等^[46]利用GC-MS技术分析表明,发酵过程中羰基化合物和醇类是鱼露中主要的挥发性化合物,并利用分子感官组学气味活度值筛选出12种关键风味物质;同时对发酵过程中微生物进行宏基因组分类,门水平

上,变形菌门和厚壁菌门在发酵过程中起主导作用,盐球菌属、盐厌氧菌属、盐单胞菌属和黄曲霉属是属水平上的优势菌,微生物与风味物质间的相关性分析表明,盐球菌属、盐厌氧菌属、盐单胞菌属和黄曲霉属也是与风味形成相关的核心微生物;结合多组学数据建立挥发性风味物质代谢通路图,各种转氨酶参与鱼露发酵过程中微生物代谢,产生醇类和其他挥发性化合物,鱼露中的酯类化合物主要来自有机酸和醇类在羧酸酯酶和三酰基甘油脂肪酶作用下缩合而成,增加了鱼露的果香味和甜味。

3.6 多组学技术联用

仅应用基因组学或转录组学不能完全描述生命活动规律,因为即使来自DNA的信息被转录成mRNA,蛋白质也可能不具有生物活性。另一方面,产生的代谢物或蛋白质可以来自微生物或食品成分,性质高度不稳定,需要特定的收集、处理或保存方法来保持其完整性。因此,至少需要2种组学技术才能更全面反映生物系统信息^[47]。多组学技术已经应用于医学领域研究单基因遗传病^[48]、肿瘤药物敏感性预测^[49]及抑郁症^[50]等疾病,可以深入探索生命过程和疾病形成机制,并识别与疾病发展相关的分子标志物^[51]。在食品领域中,多组学技术已经应用于白酒酿造发酵中微生物基因表达、调控、代谢物间的关系研究^[52]、解析酱香型大曲风味物质的形成^[53]等,对于发酵水产类食品,多组学技术联用追踪并表征风味成分,探究风味形成机制,对促进产品品质定向调控研究起到了重要作用。

3.6.1 研究优势微生物关联特征风味变化

多组学数据得到的结果维度差异较大,整合和计算高通量数据是多组学技术分析的关键,整合分析模型主要可分为线性模型、树模型和网络模型^[54]。多组学数据整合分析主要有基于统计方法的数据整合分析,包括双向正交偏最小二乘(two-way orthogonal partial least squares, O2PLS)、偏最小二乘(partial least squares, PLS)法等。在数量一致、样本一一对应的情况下,与发酵水产品风味相关的组学数据矩阵通常利用O2PLS进行建模分析,通过对有潜在关联的微生物和代谢物数据集进行预测,可探究微生物群落与风味物质的相互关系。Lü Xinran等^[55]使用高通量测序检测锦州虾酱发酵过程中细菌群落变化,SPME-GC-MS用于检测挥发性化合物的变化,并建立关于虾酱发酵过程中细菌属与挥发性化合物之间的O2PLS关系模型,结果表明,假交替单胞菌属、葡萄球菌属和海洋杆菌属是虾酱发酵过程中风味化合物形成的3个重要属,不同发酵阶段的整体风味特征也不同;假交替单胞菌属与酮类、醇类和酯类等挥发性化合物呈正相关;葡萄球菌属与醛类和酸类呈正相关;海洋杆菌属与醛类和吡嗪类呈正相关。假交替单胞菌属主

要通过产生脂肪氧合酶促进不饱和脂肪酸氧化,最终产生短链的醛、酮、酸等小分子化合物^[56]。葡萄球菌属,如木糖葡萄球菌也可以促进鱼肉蛋白质降解,产生大量小分子肽和氨基酸,并促进脂肪氧化产生酸类^[57]。Yao Yunping等^[10]基于宏基因组学对由不同部位发酵的北塘虾酱(Beitang shrimp paste, BSP)的微生物多样性进行研究,结果表明,BSP的微生物群落在属水平上以四联球菌为主,虾肉发酵而成的BSP微生物多样性最低;采用电子鼻对BSP进行香气判别,结果表明,长链烷烃和氮氧化物是重要的香气成分;通过GC-MS代谢组学共检测到65种挥发性化合物,吡嗪、苯甲醛和苯乙醛是主要风味物质;由全虾发酵的BSP风味物质最丰富,主要是由于盐厌氧菌属、链球菌属、短波单胞菌属和乳酸菌属与2,5-二甲基吡嗪和2,3,5-三甲基吡嗪的特征香气呈正相关,对香气形成具有促进作用;四联球菌属与虾肉发酵中的乙酸、癸酸、棕榈酸等酸性成分呈正相关,并构成独特的风味成分;短单胞菌属和利诺杆菌属与虾肉发酵的BSP香气成分呈负相关,导致香气较弱。

3.6.2 定向调控风味物质及产品品质

多组学技术可对风味形成相关因子进行追踪和表征,通过对数据的整合分析可以有目的地调整相关微生物及酶的含量,或添加增强风味的物质,实现定向提升发酵水产品品质。Tepkasikul等^[58]从传统鱼露中筛选出1株具有较强生物胺降解能力的芽孢杆菌(*Bacillus piscicola* FBU1786),经鉴定属于嗜盐乳酸菌属,基因组测序表明,存在Cu²⁺结合氧化酶编码基因,将该菌株接种于模拟鱼露中发酵,结果表明,添加Cu²⁺可以提高*B.piscicola* FBU1786对组胺的分解能力。Zhou Xuxia等^[59]将大蒜、生姜、肉桂和八角4种香料的乙醇提取物接种到鲭鱼中发酵制备鱼露,研究4种香料对鱼露发酵生物胺积累的影响,大蒜和八角乙醇提取物显著降低了鱼露中生物胺含量,并对产胺菌活性具有较强抑制能力。Gao Ruichang等^[60]从传统虾酱中分离出1株具有高蛋白酶活性的菌株,并鉴定命名为海洋扁平球菌XJ2(*Planococcus maritimus* XJ2),*P. maritimus* XJ2在低温条件下具有较高的酶活性,接种*P. maritimus* XJ2提高了发酵鱼露的氨基态氮含量,减少了鱼腥味,促进了鱼露风味的形成。

4 结 语

发酵水产食品的风味形成主要来自于体系内多种微生物及酶的作用。在水产品发酵体系中,表型信息从核酸转移到蛋白质和代谢物。从定量角度来看,蛋白质和代谢物丰度是基因丰度和转录活性共同作用的结果。然而,使用单一的组学技术并不能保证准确概述水产品

发酵过程。多组学技术可研究发酵水产食品的风味代谢过程中起到关键作用的功能微生物,涉及从基因组学到转录组学到蛋白质组学到代谢组学的发酵机制,以此研究发酵水产食品风味化合物的形成及代谢途径;另外,通过代谢组学、多肽组学等分析发酵水产品的营养、感官、功能及安全特性;最终通过数据整合建立这2个部分之间的联系,以反映生物体和环境在特定阶段的相互作用结果。目前的研究主要集中在鱼露、虾酱等产品的传统发酵工艺和现代发酵工艺对比上,产品种类较少;多组学得到的数据具有高维度、数据稀疏、异质性的特点,会影响算法模型的精确度。未来需要采用有效、高效的整合方法或算法模型对组学数据进行统一整合,挖掘多组学数据中隐含的知识和规律;同时在对水产发酵食品风味研究中可结合人工智能及机器学习算法提高风味检测灵敏度及准确性。多组学技术联用和新兴学科的发展将是发酵水产食品研究的趋势。

参考文献:

- [1] 李春萍. 臭鳊鱼发酵中营养和风味变化的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2014: 1-7.
- [2] RIZO J, GUILLÉN D, FARRÉS A, et al. Omics in traditional vegetable fermented foods and beverages[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(5): 791-809. DOI:10.1080/10408398.2018.1551189.
- [3] 蓝蔚青, 孙雨晴, 谢晶. 高通量测序技术在水产品加工贮藏中的应用[J]. 包装工程, 2020, 41(21): 11-17. DOI:10.19554/j.cnki.1001-3563.2020.21.002.
- [4] 周钺, 李键, 张玉, 等. 多组学技术联用在传统发酵乳品风味代谢调控中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 238-243. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.019661.
- [5] 解万翠, 尹超, 宋琳, 等. 中国传统发酵食品微生物多样性及其代谢研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(10): 253-259. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.017390.
- [6] 姜璐, 宫璇, 郭梦雪, 等. 不同加工方式对水产品挥发性风味物质影响的研究现状[J]. 广州化工, 2020, 48(5): 37-41. DOI:10.3969/j.issn.1001-9677.2020.05.018.
- [7] 陈倩, 李永杰, 扈莹莹, 等. 传统发酵食品中微生物多样性与风味形成之间关系及机制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(9): 412-419. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020070365.
- [8] DU Fangmin, ZHANG Xiaoyong, GU Huarong, et al. Dynamic changes in the bacterial community during the fermentation of traditional Chinese fish sauce (TCFS) and their correlation with TCFS quality[J]. Microorganisms, 2019, 7(9): 371. DOI:10.3390/microorganisms7090371.
- [9] 江津津, 严静, 郑玉玺, 等. 不同产地传统鱼露风味特征差异分析[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 206-214. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200825-335.
- [10] YAO Yunping, ZHOU Xinyun, HADIATULLAH H, et al. Determination of microbial diversities and aroma characteristics of Beitang shrimp paste[J]. Food Chemistry, 2020, 344: 128695. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128695.
- [11] 马臣臣, 姜帅铭, 彭倩楠, 等. 海南黎族发酵海产品中微生物多样性分析[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 270-277. DOI:10.16429/j.1009-7848.2020.08.033.



- [12] 黄鹤. 调味蟹酱发酵过程品质变化及成品抗氧化作用的研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2018: 27-36.
- [13] NAGANO H, IZUMI Z, UEHARA A, et al. Chemical characteristics and microbial diversity of ayu-narezushi from Gifu[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2020, 67(3): 101-108. DOI:10.3136/nskkk.67.101.
- [14] MEIRA C, NOVAES C G, NOVAIS F C, et al. Application of principal component analysis for the evaluation of the chemical constituents of *Mimosa tenuiflora* methanolic extract by DLLME/GC-MS[J]. Microchemical Journal, 2020, 152: 104284. DOI:10.1016/j.microc.2019.104284.
- [15] FENG Lin, TANG Nianchu, LIU Ruijie, et al. The relationship between flavor formation, lipid metabolism, and microorganisms in fermented fish products[J]. Food and Function, 2021, 12(13): 5685-5702. DOI:10.1039/d1fo00692d.
- [16] 葛芮茵, 罗玉龙, 剧柠. 传统发酵肉制品中微生物菌群对风味形成的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2295-2307. DOI:10.13344/j.microbiol.china.210563.
- [17] BECK H C, HANSEN A M, LAURITSEN F R. Catabolism of leucine to branched-chain fatty acids in *Staphylococcus xylosus*[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 96(5): 1185-1193. DOI:10.1111/j.1365-2672.2004.02253.x.
- [18] SMID E J, KLEEREBEZEM M. Production of aroma compounds in lactic fermentations[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2014, 5(1): 313-326. DOI:10.1146/annurev-food-030713-092339.
- [19] 马海霞, 张丽丽, 孙晓萌, 等. 基于宏组学方法认识微生物群落及其功能[J]. 微生物学通报, 2015, 42(5): 902-912. DOI:10.13344/j.microbiol.china.140965.
- [20] HAKIMI S, KARI N M, ISMAIL N, et al. Evaluation of taste active peptides and amino acids from anchovy proteins in fish sauce by *in silico* approach[J]. Food Science and Biotechnology, 2022, 31(7): 767-785. DOI:10.1007/s10068-022-01097-w.
- [21] LIU Xueqin, FENG Yanli, LAI Xiaohua, et al. *Virgibacillus halodenitrificans* ST-1 for fermentation of shrimp paste and hydrolysates of its protease[J]. Food Science and Nutrition, 2020, 8(10): 5352-5361. DOI:10.1002/fsn3.1777.
- [22] LI Wenya, MI Si, LIU Xiaochang, et al. Variations in the physicochemical properties and bacterial community composition during fermentation of low-salt shrimp paste[J]. Food Research International, 2022, 154: 111034. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111034.
- [23] 王炳华, 严利强, 胡建国. 不同方法制备鳀鱼鱼露风味物质比较[J]. 中国调味品, 2019, 44(12): 85-89; 98. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2019.12.018.
- [24] 王悦齐, 吴燕燕, 李来好, 等. 抗氧化乳酸菌对发酵腌干带鱼脂肪氧化的影响及其主成分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(8): 231-238. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201708036.
- [25] LI Chunsheng, LI Wenjing, LI Laihao, et al. Microbial community changes induced by a newly isolated salt-tolerant *Tetragenococcus muriaticus* improve the volatile flavor formation in low-salt fish sauce[J]. Food Research International, 2022, 156: 111153. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111153.
- [26] CHEN Gu, CHEN Congcong, LEI Zhonghua. Meta-omics insights in the microbial community profiling and functional characterization of fermented foods[J]. Trends in Food Science and Technology, 2017, 65: 23-31. DOI:10.1016/j.tifs.2017.05.002.
- [27] 朱允华, 李俭, 方俊, 等. 宏基因组技术在开发极端环境未培养微生物中的应用[J]. 生物技术通报, 2011(9): 52-58. DOI:10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2011.09.024.
- [28] ZANG Jinhong, YU Dawei, LI tingren, et al. Identification of characteristic flavor and microorganisms related to flavor formation in fermented common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Food Research International, 2022, 155: 111128. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111128.
- [29] DUAN Shan, HU Xiaoxi, LI Mengru, et al. Composition and metabolic activities of bacterial community in shrimp sauce at the flavor forming stage of fermentation as revealed by metatranscriptome and 16S rRNA gene sequencing[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(12): 2591. DOI:10.1021/acs.jafc.5b05826.
- [30] 杨海焱, 陈宏. 牛肉品质蛋白质组学研究进展[J]. 中国牛业科学, 2021, 47(3): 52-55. DOI:10.3969/j.issn.1001-9111.2021.03.014.
- [31] 张素红, 孙术国, 罗章, 等. 基因组学和蛋白质组学在肉品质研究中的应用研究进展[J]. 肉类研究, 2016, 30(12): 28-34. DOI:10.15922/j.cnki.rlyj.2016.12.006.
- [32] 王延丽, 杨震. 蛋白质组及其在食品科学研究中的应用[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2017, 33(17): 12-13. DOI:10.13398/j.cnki.issn1673-260x.2017.17.005.
- [33] 剧柠, 苟萌, 张彤彤. 蛋白质组学技术及其在乳及乳制品中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(3): 245-251. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024032.
- [34] JI Chaofan, ZHANG Jingbo, LIN Xinping, et al. Metaproteomic analysis of microbiota in the fermented fish, *Siniperca chuatsi*[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 80: 479-484. DOI:10.1016/j.lwt.2017.03.022.
- [35] COLLINO S, MARTIN F P J, KOCHHAR S, et al. Nutritional metabonomics: an approach to promote personalized health and wellness[J]. CHIMIA International Journal for Chemistry, 2011, 65(6): 396-399. DOI:10.2533/chimia.2011.396.
- [36] 席晓敏, 张和平. 微生物代谢组学研究及应用进展[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 283-289. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201611049.
- [37] 耿柠波, 张海军, 王菲迪, 等. 代谢组学技术在环境毒理学研究中的应用[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(3): 26-35. DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20160118001.
- [38] 李春生, 王悦齐, 李来好, 等. 传统鱼露发酵过程中细菌群落演替及其挥发性风味形成的影响分析[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 85-92. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201824014.
- [39] ZHU Wenhui, LUAN Hongwei, BU Ying, et al. Flavor characteristics of shrimp sauces with different fermentation and storage time[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 110: 142-151. DOI:10.1016/j.lwt.2019.04.091.
- [40] KLEEKAYAI T, PINITKLANG S, LAOHAKUNJIT N, et al. Volatile components and sensory characteristics of Thai traditional fermented shrimp pastes during fermentation periods[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(3): 1399-1410. DOI:10.1007/s13197-015-2142-3.
- [41] ZHOU Yueqi, WU Shumeng, PENG Yulu, et al. Effect of lactic acid bacteria on mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) seasoning quality and flavor during fermentation[J]. Food Bioscience, 2021, 41: 100971. DOI:10.1016/j.fbio.2021.100971.
- [42] WANG Yueqi, LI Chunsheng, LI Laihao, et al. Application of UHPLC-Q/TOF-MS-based metabolomics in the evaluation of metabolites and taste quality of Chinese fish sauce (Yu-lu) during fermentation[J]. Food Chemistry, 2019, 296: 132-141. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.043.
- [43] CHEN Daian, YE Yangfang, CHEN Juanjuan, et al. Evolution of metabolomics profile of crab paste during fermentation[J]. Food chemistry, 2016, 192: 886-892. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.07.098.
- [44] 刘源, 崔智勇, 周雪珂, 等. 水产品滋味研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(1): 22-29. DOI:10.12301/spxb202200047.

- [45] 解万翠, 卢宽, 于靖, 等. 水产品香气研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(1): 11-21. DOI:10.12301/spxb202100404.
- [46] WANG Yueqi, LI Chunsheng, ZHAO Yongqiang, 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. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126839.
- [47] FERROCINO I, RANTSIOU K, COCOLIN L. Microbiome and -omics application in food industry[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 377: 109781. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109781.
- [48] 宋正阳, 蒋春明. 多组学技术在单基因遗传病临床诊断中的应用展望[J]. 浙江医学, 2022, 44(4): 427-431. DOI:10.12056/j.isn.1006-2785.2022.44.4.2021-3286.
- [49] 杨晨雨, 刘振浩, 代培斌, 等. 基于多组学数据的肿瘤药物敏感性预测[J]. 生物工程学报, 2022, 38(6): 2201-2212. DOI:10.13345/j.cjb.210676.
- [50] 王力文, 黄德华, 秦雪梅, 等. 基于PBMCs多组学技术的抑郁症发病机制研究进展[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(3): 206-212. DOI:10.13412/j.cnki.zyy.20220228.001.
- [51] 王昕玥, 渠鸿竹, 方向东. 组学大数据和医学人工智能[J]. 遗传, 2021, 43(10): 930-937. DOI:10.16288/j.yczz.21-215.
- [52] 余晶晶, 黄永光. 基因组学及其在白酒酿造基础研究领域中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 278-284. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025942.
- [53] 柳习月, 朱琪, 杨帆, 等. 多组学解析酱香型大曲风味物质的形成[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(22): 35-41. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.027425.
- [54] 沈思鹏, 张汝阳, 魏永越, 等. 多组学数据整合分析的统计方法研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 22(8): 763-765; 771. DOI:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.08.001.
- [55] LÜ Xinran, LI Ying, CUI Tianqi, et al. Bacterial community succession and volatile compound changes during fermentation of shrimp paste from Chinese Jinzhou region[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 122: 108998. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108998.
- [56] CASABURI A, MONACO R D, CAVELLA S, et al. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits[J]. Food Microbiology, 2008, 25(2): 335-347. DOI:10.1016/j.fm.2007.10.006.
- [57] 高继庆, 赵云平, 秦华伟, 等. 木糖葡萄球菌发酵对海鲈鱼鱼肉质理化性质的影响[J]. 农产品加工, 2018(6): 1-5. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2018.06.033.
- [58] TEPKASIKUL P, SANTIYANONT P, BOONCHAROEN A, et al. The functional starter and its genomic insight for histamine degradation in fish sauce[J]. Food Microbiology, 2022, 104: 103988. DOI:10.1016/j.fm.2022.103988.
- [59] ZHOU Xuxia, QIU Mengting, ZHAO Dandan, et al. Inhibitory effects of spices on biogenic amine accumulation during fish sauce fermentation[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(4): M913-M920. DOI:10.1111/1750-3841.13255.
- [60] GAO Ruichang, ZHOU Jing, LENG Weijun, et al. Screening of a *Planococcus* bacterium producing a cold-adapted protease and its application in low-salt fish sauce fermentation[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 44(8): e14625. DOI:10.1111/jfpp.14625.