

老香黄贮藏过程中微生物群落与挥发性风味物质的变化

郭敏婷¹, 陈淇¹, 丁洁¹, 陈奕东⁴, 杨应楷^{4*}, 陈旭彬⁴, 魏先领^{1,2,3}, 董浩^{1,2,3*}

(¹仲恺农业工程学院 轻工食品学院 广州 510225

²广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室 广州 510225

³农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室 广州 510225

⁴广东济公保健食品有限公司 广东潮州 515600)

摘要 本研究旨在系统解析老香黄在长期贮藏过程中微生物群落结构与挥发性风味物质的动态变化规律及其关联性。采用高通量测序技术对贮藏 4 年、7 年、10 年及 12 年的样本进行微生物群落分析,并利用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(HS-SPME-GC-MS)测定挥发性成分。结果表明,在门水平上,所有样本均以厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门为优势菌门。挥发性物质分析共鉴定出 9 类共 287 种关键风味成分,其中,2014 年样本以酯类(相对含量约 35%)和烃类(约 30%)为主;2017 年样本中烯类化合物上升至约 40%;至 2020 年,烃类含量下降至约 12%,而酯类与醇类占比增加。综上,老香黄在长期贮藏过程中,微生物群落结构保持基本稳定,而挥发性风味物质组成发生显著演变,二者变化趋势具有明显相关性。本研究从微生物与风味代谢关联的角度,揭示了老香黄风味形成与转化的潜在机制,为其工艺优化与品质控制提供了理论依据。

关键词 老香黄; 微生物群落; 挥发性风味物质; 贮藏; 变化规律

文章编号 1009-7848(2026)01-0362-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2026.01.032

老香黄(*Citrus medical* L. var. *sarcodatyli*), 又称老香橼或佛手香黄, 是广东省潮汕地区特有的传统岭南特产, 以芸香科佛手柑果实为原料制成。它是潮汕地区的一种传统食品, 且兼具显著的保健功效与药用价值^[1-2]。老香黄以其独特的开胃理气、化痰生津的功效而著称, 广泛应用于胃痛、腹胀、呕吐、咳喘等病症的治疗^[3]。近年来, 随着人们对营养健康食品需求的增加, 老香黄的市场需求逐年上升, 成为潮汕地区重要的经济支柱之一。值得注意的是, 随着贮藏时间的延长, 老香黄的风味和药用价值进一步提升。贮藏过程中老香黄的风味变化和微生物群落动态, 是衡量品质的关键指标。老香黄独特的制作工艺和风味, 使其在食品加工、医药保健等领域具有广泛的应用前景。

近年来, 关于老香黄特征风味的研究取得显著进展。例如, 林良静等^[4]利用气相色谱-离子迁移

谱(GC-IMS)结合相对气味活度值(ROAV)分析, 明确佛手香黄的特征性风味成分主要由甲硫基丙醛和烯萜类物质组成, 呈现出果香、花香的风味特征。Liu 等^[5]采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术(SPME-GC-MS)结合化学计量学方法, 评估发酵时间对老香黄成分、风味和功能的影响, 结果发现发酵时间对老香黄的风味和功能有显著影响。阳丹等^[6]利用电子鼻、顶空气相色谱-离子迁移谱联用技术(HS-GC-IMS)、顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用(HS-SPME-GC-MS)技术联用, 分析不同发酵年份老香黄挥发性成分差异, 发现发酵 3 年和 4 年的风味成分最为相似, 而其余发酵年份风味存在较大差异。这些研究结果为深入解析老香黄的风味特征提供了参考。近年来, 学者们不仅致力于老香黄特征风味的深度解析, 更将研究视角拓展至微生物群落组成与其品质的关联性方面。戈子龙等^[7]通过菌相分析结合高通量测序技术, 揭示了新鲜佛手与老香黄中的细菌多样性差异, 发现贮藏过程中微生物群落结构发生显著改变, 与老香黄的品质形成密切相关。在贮藏过程中, 老香黄的风味会经历显著变化, 尤其是随着贮藏时间的延长, 其香气变得更加令人愉悦且持久^[7]。

收稿日期: 2025-02-16

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2022B0202040001);
广东省农村科技特派员团队项目(KTP20240272)

第一作者: 郭敏婷, 女, 硕士生

通信作者: 董浩 E-mail: donghao@zhku.edu.cn

杨应楷 E-mail: 49499997@qq.com

目前,关于老香黄的微生物群落组成与挥发性成分变化之间关系鲜见研究报道。本研究以老香黄为对象,旨在探究其在贮藏过程中微生物群落结构和挥发性风味物质的变化规律,并通过相关性分析,揭示二者间的关联及相互影响机制。



图 1 不同贮藏年份的老香黄样品

Fig.1 *Citrus medical* L. var. *sarcodatylys* samples of different storage

1.2 仪器与设备

电子天平(HE-66),青岛汉尚电器有限公司;SPME 固相微萃取头(65 μm PDMS/DVB),美国 Supelco 公司;气相色谱离子迁移谱(FlavourSpec[®]),德国 G.A.S.公司;气相色谱质谱联用仪(6890N-5973N)、DB-wax 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)、电感耦合等离子质谱(Agilent 7900),美国安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 基于高通量测序的微生物多样性分析

1) 老香黄样品总 DNA 提取 采用 1%琼脂糖凝胶电泳对提取的基因组 DNA 进行质量检测。针对目标测序区域,设计并合成带有特异性 barcode 的引物。将同一样本的多重 PCR 扩增产物进行混合,通过 2%琼脂糖凝胶电泳验证扩增效果。使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒对目标条带进行纯化,并以 Tris-HCl 缓冲液进行洗脱。基于凝胶电泳的初步定量分析,采用 QuantiFluor[™]-ST 蓝色荧光定量系统对纯化后的 PCR 产物进行精确浓度测定。依据各样本的测序需求,按预设比例进行混合。最终,将相同浓度的混合扩增产物在 Illumina MiSeq 测序平台上进行高通量测序分析。

2) 基因组数据处理 处理过程包括 DNA 片段统计和拼接、生物信息学数据分析。

1.3.2 挥发性化合物分析 采用 Thermo Trace 1300 气相色谱-ISQ7000 质谱联用系统,配备 CTC 三位一体自动进样器,对老香黄挥发性成分进行分析。选用 65 μm PDMS/DVB 固相微萃取头,将

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

老香黄样品由广东某食品公司提供,图 1 为不同贮藏年份的老香黄样品。无水乙醇(98%,分析纯级),天津市津东天正精细化学试剂厂。

1.5 g 老香黄样品置于 20 mL 螺旋盖样品瓶中,在自动进样器加热装置中 50 $^{\circ}\text{C}$ 预热 10 min,搅拌速度设置为 250 r/min。萃取过程采用顶空固相微萃取法,萃取时间 30 min,随后在 230 $^{\circ}\text{C}$ 下解析 5 min,采用无分流进样模式。色谱分离使用 DB-wax 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm),载气为高纯氦气,流速 1.0 mL/min。程序升温条件为:初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 6 min,以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 180 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 12 min。质谱检测采用电子轰击电离源,电离能量 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,质量扫描范围 33~550 m/z 。通过对比 NIST 2017 质谱库和保留指数对挥发性成分进行定性分析。

1.4 数据处理

采用 SPSS 22 软件对数据进行分析,采用 Origin2022 软件作图。使用 SIMCA14.1 软件进行主成分分析(PCA)、Spearman 相关性分析,采用 R 语言和 Picrust2 进行生物信息学数据分析。高通量测序和 HS-SPME-GC-MS 代谢组学试验均做 3 次平行。

2 结果与分析

2.1 微生物群落多样性分析

对 Illumina NovaSeq 测序得到的下机数据进行质控得到有效数据。其中,共有 4 组样品分别是 2014,2017,2020,2022 年 4 个年份的老香黄。2014 的序列数目为 158 508~160 262 条,2017 的序列数目为 150 418~152 032 条,2020 的序列数

目为 81 602~81 698 条,2022 的序列数目为 157 898~158 102 条。结果由表 1 可知,老香黄的多样性根据 Shannon 指数和 Simpson 指数的变化趋势为 2017 年>2014 年>2020 年>2022 年 ($P<0.05$),故 2017 年的老香黄样品中的微生物群落多样性最高^[8]。随着贮藏时间的延长,老香黄样品的微生物群落丰富度表现出显著差异。其中,2020

样品的 Chao1 指数显著高于其它样品 ($P<0.05$),表明其微生物群落的潜在物种丰富度更高。此外,老香黄样品的 ACE 指数变化趋势为 2017 年>2022 年>2014 年>2020 年,说明 2017 年样品的微生物群落多样性和丰富度最高,且物种总数最多。这些结果表明,贮藏时间对老香黄微生物群落的多样性和丰富度具有显著影响。

表 1 老香黄不同贮藏年份的高通量测序及多样性分析

Table 1 High-throughput sequencing and diversity analysis of *Citrus medical* L. var. *sarcodatyli* with different storage

贮藏年份	序列数目/条	多样性指数		丰富度指数	
		Shannon	Simpson	Chao1	ACE
2014	158 508~160 262 ^a	10.30 ^b	0.9962 ^b	24.17 ^d	29.26 ^e
2017	150 418~152 032 ^c	10.82 ^a	0.9982 ^a	26.01 ^c	30.61 ^a
2020	81 602~81 698 ^d	9.16 ^c	0.9936 ^c	36.53 ^a	29.18 ^d
2022	157 898~158 102 ^b	8.76 ^d	0.9932 ^d	33.69 ^b	29.65 ^b

注:同列不同字母表示不同年份间差异显著($P<0.05$)。

2.2 微生物群落结构与组成分析

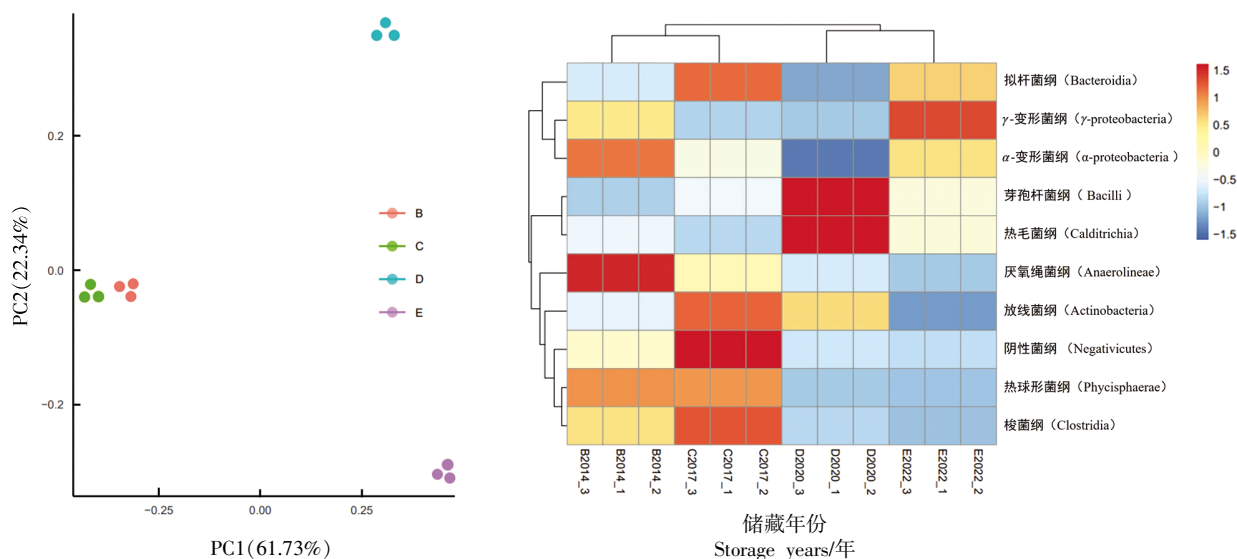
随着测序技术和生物信息学分析方法的快速发展,用于基因组分析的高通量测序技术已成为分析复杂分类组成的一种经济有效的方法^[9]。通过高通量测序技术分析老香黄在贮藏过程中的微生物群落变化,如图 2a 所示,B、C、D、E 分别代表贮藏 4、7、10、12 年的老香黄样本,4 个年份的老香黄微生物群落结构显著分离。第 1 主成分和第 2 主成分的贡献率分别为 61.73%和 22.34%,明显观察到不同年份的微生物群落分布广泛且群落结构存在差异性。群落结构相似度高的样品倾向于聚类在一起,差异较大的样品会相距甚远,其中,2014 年与 2017 年的老香黄具有较强的群落结构相似性,而 2020 年与其它年份的群落结构相似性较大。

如图 2b 所示,热图直观地展示了老香黄在贮藏过程中微生物群落的动态变化。热图通过颜色梯度的变化和相似性程度,反映了不同年份样品中微生物群落的组成差异。其中,红色区域表示细菌群落的相对丰度较高,而蓝色区域则表示细菌群落的相对丰度较低。这种可视化方法为研究不同贮藏年份老香黄样品中微生物群落的演替规律提供了重要依据。研究结果显示,不同年份的老香黄样品中优势微生物菌群的组成存在显著差异。

2014 年组样品中的优势微生物菌群主要包括厌氧绳菌纲 (Anaerolineae)、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria)、浮霉状菌属 (*Phycisphaerae*)、未分类菌。这些菌群的存在可能与老香黄在贮藏初期的特定环境条件有关,尤其是厌氧绳菌纲的丰度较高,表明在贮藏初期可能存在较为明显的厌氧环境。2017 年组样品中的优势微生物菌群则发生了显著变化,主要包括放线菌门 (Actinobacteria)、梭菌 (*Clostridia*)、拟杆菌属 (*Bacteroidia*)、浮霉状菌 (*Phycisphaerae*)、未分类菌。放线菌门和梭菌的出现可能反映了贮藏过程中环境条件的变化,尤其是放线菌门的增加可能与老香黄中某些代谢产物的积累有关,这些代谢产物为放线菌的生长提供了适宜的条件。2020 年组样品中的优势微生物菌群进一步演替,主要包括芽孢杆菌属 (*Bacilli*)、暖绳菌纲 (*Calditrichia*)、放线菌门。芽孢杆菌属的出现可能表明老香黄在贮藏过程中经历了某些环境压力,促使这些具有较强抗逆能力的菌群成为优势菌群。此外,暖绳菌纲 (*Calditrichia*) 的丰度增加可能暗示了贮藏过程中新的代谢途径的出现。2022 年组样品中的优势微生物菌群则主要包括 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria)、拟杆菌属 (*Bacteroidia*)、 α -变形菌。 γ -变形菌纲的丰度较高可能反映了老香黄在长期贮藏过程中,环境条件

进一步变化,尤其是氧化还原电位的改变,促使这些菌群成为优势菌群。总体而言,不同贮藏年份的老香黄样品在微生物群落组成上表现出明显的差异,这种差异可能与贮藏时间、环境条件以及老香

黄内部代谢产物的变化密切相关。通过 PCA 和热图分析,能够清晰地展示这些微生物群落的演替规律^[10],为进一步研究老香黄的贮藏机制及其微生物生态学特性提供了重要参考。



(a)不同贮藏年份老香黄样本群落组成的 PCoA 分析结果图

(b)不同贮藏年份老香黄微生物群落之间的相关性分析

注: 分图 a 中图例 B、C、D、E 分别表示 2014、2017、2020、2022 年份的老香黄。

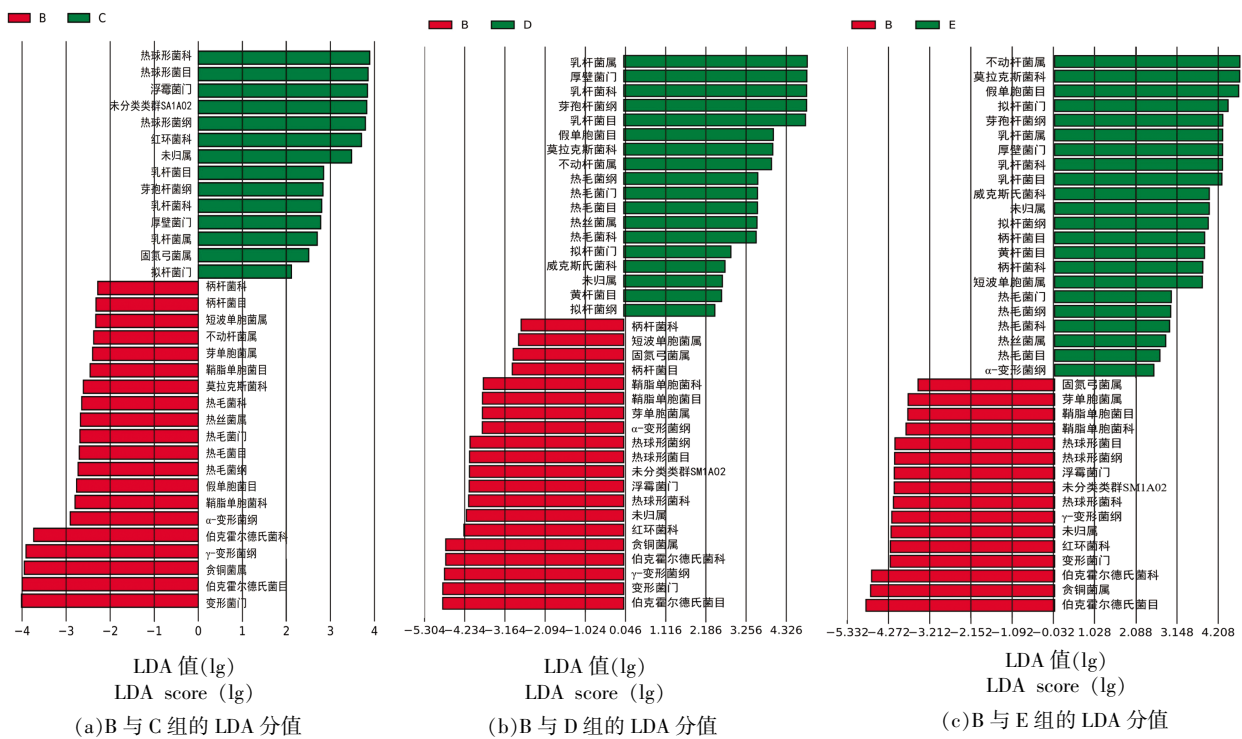
图 2 不同储藏年份老香黄样品的微生物群落组成

Fig.2 The microbial community composition of *Citrus medical* L. var. *sarcodatylys* samples from different storage years

接下来,通过线性判别分析(LDA)进一步量化了不同贮藏年份老香黄样品中微生物群落组成的丰度差异及其对整体差异的贡献程度。如图 3 所示,在 LDA 阈值为 1 的条件下,2014 年的老香黄样品中共检测到 9 个细菌分类群存在显著差异 ($LDA > 1$),包括柄杆菌属 (*Caulobacterales*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、赤杆菌属 (*Sphingomonadales*)等。这些菌群的显著差异可能与 2014 年老香黄贮藏初期的特定环境条件有关,尤其是柄杆菌属和赤杆菌属的存在,可能反映了该阶段老香黄中特定代谢产物的积累。2017 年的老香黄样品中,有 4 种细菌类群的丰度显著偏高 ($LDA > 2$),包括浮霉状菌属 (*Phycisphaerae*)、红环菌属 (*Rhodocyclaceae*)、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)等。其中,乳杆菌属的丰度显著增加,可能与老香黄在贮藏过程中益生菌的富集有关。乳杆菌属作为一类重要的益生菌,不仅能够通过发酵作用产生有机酸和风味物质,还在维持老香黄品质和延长贮藏

期方面发挥了重要作用。2020 年的老香黄样品中,有 9 种细菌类群的丰度显著偏高 ($LDA > 2$),包括乳杆菌属、假单胞菌属 (*Pseudomonadales*)、莫拉氏菌属 (*Moraxellaceae*)等。假单胞菌属和莫拉氏菌属的富集可能反映了老香黄在贮藏中期环境条件的变化,尤其是氧化还原电位的改变以及代谢产物的积累,为这些菌群的生长提供了适宜的条件。2022 年的老香黄样品中,有 12 种细菌类群的丰度显著偏高 ($LDA > 3$),包括不动杆菌属、莫拉氏菌属、假单胞菌属等。不动杆菌属的显著富集可能与老香黄在长期贮藏过程中植物生长促进物质的积累有关,这些物质能够通过产生吲哚酸、生长素等化合物,进一步影响老香黄的品质和风味。

进一步结合图 4a 和 4b 的分析结果,在门水平上,4 个年份的老香黄样品均以厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 和放线菌门 (*Actinobacteriota*) 为主要富集菌群。这些菌群的存在表明,老香黄在贮藏



注:图例 B、C、D、E 分别表示 2014、2017、2020、2022 年份的老香黄。

图 3 不同储藏年份老香黄中微生物类群的 LDA 值分布图

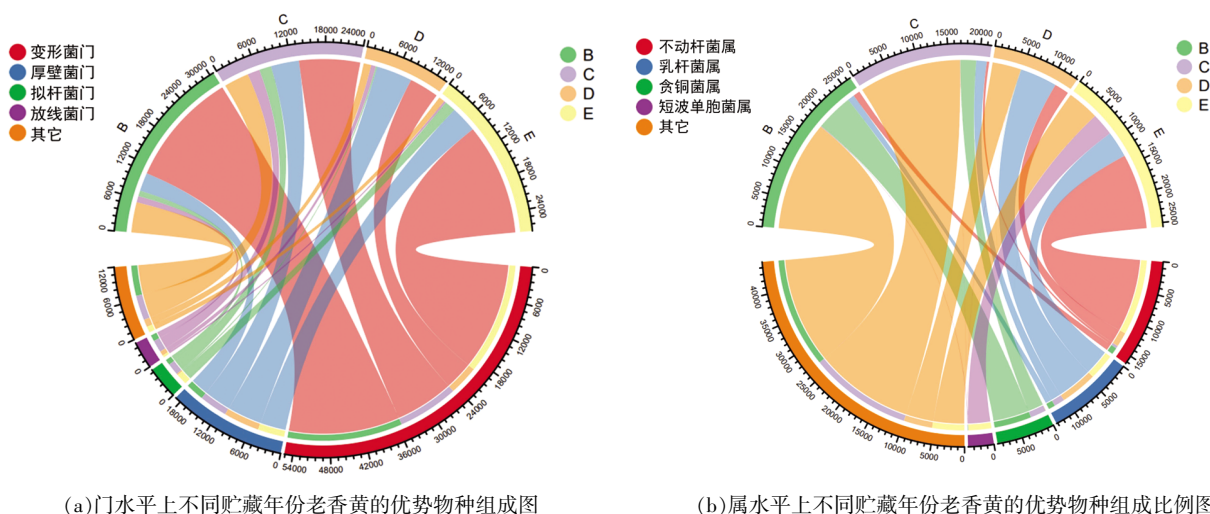
Fig.3 Distribution of LDA scores for microbial taxa in *Citrus medica* L. var. *sarcodatyli* across different storage years

过程中微生物群落的组成具有一定的稳定性^[11],同时也反映了不同贮藏阶段环境条件的变化对微生物群落结构的影响。在属水平上,2014年和2017年的老香黄样品中均以不动杆菌属、贪铜菌属(*Cupriavidus*)和乳杆菌属为主要富集菌群。值得注意的是,贪铜菌属是2014年和2017年样品中独有的微生物,其可能在老香黄的发酵过程中发挥了重要作用。贪铜菌属不仅可能参与特定风味的形成,还可能作为生物控制剂抑制不期望的微生物生长,从而维持老香黄的品质^[12]。此外,2017年老香黄中乳杆菌属的相对丰度显著高于2014年,表明老香黄在贮藏过程中益生菌的富集程度逐渐增加。乳杆菌属作为一类重要的益生菌,不仅能够通过分解大分子蛋白产生风味活性脂肪酸,还能通过乳酸和异乳酸发酵产生有机酸,从而为老香黄提供独特的风味和酸味^[13]。这些特性使得乳杆菌属在食品加工领域(如泡菜制作)中得到广泛应用。在2020年和2022年的老香黄样品中,不动杆菌属和乳杆菌属仍然是主要的富集菌

群^[14],而2022年的样品中单独富集了短波单胞菌属(*Brevundimonas*)。不动杆菌属作为一类革兰氏阴性细菌^[15],不仅能够产生多种有益物质(如吡啶酸、生长和抗生素),还可能通过促进植物生长间接影响老香黄的品质。短波单胞菌属的富集则可能反映了老香黄在长期贮藏过程中环境条件的进一步变化,尤其是某些特定代谢产物的积累为该菌群的生长提供了适宜的条件。综上所述,老香黄在贮藏过程中微生物群落的组成存在显著差异,这些差异不仅与贮藏时间、环境条件密切相关,还可能对老香黄的品质、风味和功能性产生重要影响。

2.3 挥发性风味物质分析

挥发性风味成分是评价食品质量和消费者接受度的重要特征之一^[16],其中香气特征对食品感官品质的形成尤为关键^[17]。本研究采用HS-SPME-GC-MS对2014、2017、2020、2022年4个年份的老香黄样品进行挥发性成分分析,结果如图5所示。通过分析发现,老香黄在贮藏过程中产



(a) 门水平上不同贮藏年份老香黄的优势物种组成图 (b) 属水平上不同贮藏年份老香黄的优势物种组成比例图

注: 图例 B、C、D、E 分别表示 2014、2017、2020、2022 年份的老香黄。

图 4 贮藏过程中老香黄微生物群落在门及属水平的优势类群结构

Fig.4 Dominant microbial composition at phylum and genus levels in *Citrus medical* L. var. *sarcodatyilis* across different storage years

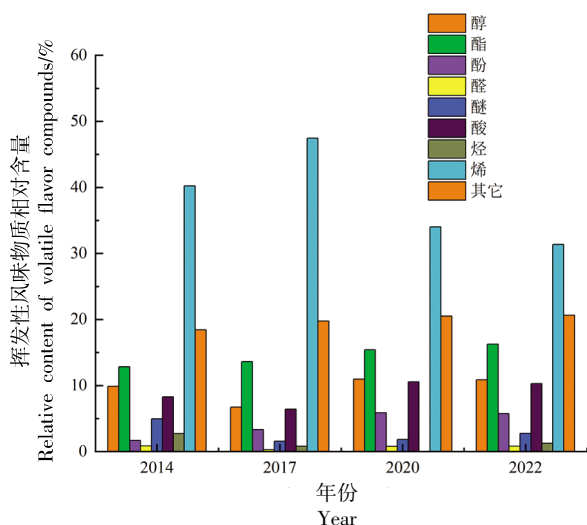


图 5 老香黄在不同贮藏年份的挥发性风味物质分类

Fig.5 Classification of volatile flavor compounds in *Citrus medical* L. var. *sarcodatyilis* at different storage

生了丰富的挥发性风味物质,共鉴定出 9 大类化合物:醇类、酯类、酚类、醛类、醚类、酸类、烃类、烯类和其它物质。其中,2014 年样品中醚类和烃类物质占比最高,2017 年样品中烯类物质显著增加,而 2020 年样品中烃类物质含量最低。值得注意的是,2022 年样品的挥发性成分总含量最高,其中醇类、烯类、酸类和酯类物质是 4 个年份中占比最高的成分。

检测到的挥发性成分包含烯萜类化合物。这类化合物主要来源于植物本身,具有多种典型香气特征,包括清新的柠檬香、甜美的柑橘香、辛辣的胡椒香、清新的药草香、浓郁的辛香和沉稳的木香等。研究表明,新鲜佛手中烯萜类物质的含量可高达 80%,其中柠檬烯作为主要成分,占比可达 50%左右^[18]。在贮藏过程中,醇类和酯类物质也呈现出显著的变化规律,其含量分别维持在 6%~11%和 12%~17%之间,而其它类物质的百分含量相对较低。醇类物质主要由氨基酸通过脱羧、脱氨等生化反应产生,是佛手腌制过程中形成的主要风味物质,其特有的柑橘香、木兰香和苹果香等香气特征,是老香黄腌制后风味变得浓郁醇厚的重要原因^[19]。值得注意的是,2017 年老香黄样品中的醇类物质含量是 4 个年份中最低的,这可能与当年的贮藏条件或原料特性有关。在醇类物质中,(-)-4-萜品醇是一个值得关注的成分,它是在发酵过程中由 α -蒎烯在微生物作用下转化生成,虽然含量较低,但研究表明其对多种食源性病原菌具有显著的抑菌活性,这一特性使其在食品加工领域具有潜在的应用价值^[20]。酯类物质在不同年份的老香黄中呈现出明显的上升趋势,其中茴香脑因其类似甘草和茴香的愉悦香气而备受关注。此外,检测到的杂环化合物主要包括 2,5-二甲酰

myces)呈高度正相关;茨烯和反-菖蒲烯与短波单胞菌属(*Brevundimonas*)呈高度正相关;亚油酸与热丝菌属(*Calorithrix*)呈高度正相关;而 β -红没药烯则与贪铜菌属(*Cupriavidus*)呈高度负相关。进一步对不同年份老香黄中的优势菌群进行分析发现,贪铜菌属是2014年和2017年老香黄样品中独有的微生物,而短波单胞菌属则仅在2022年样品中检测到。值得注意的是,2017年老香黄样品中乳杆菌属(*Lactobacillus*)的相对丰度较2014年有显著提升,这可能与老香黄样品中烯类物质含量的增加存在关联。在挥发性成分方面,2014年老香黄样品中以醚类和烃类物质为主,2017年样品中烯类物质含量最为丰富,而2020年样品中烃类物质的相对含量则显著降低。这些发现进一步说明微生物群落结构的动态变化与挥发性风味物质的形成密切相关,不同菌群通过特定的代谢途径产生特征性风味化合物^[30]。例如,乳酸菌通过糖酵解途径产生乳酸等有机酸,同时生成多种酯类和醇类物质;而放线菌则可能通过萜类代谢途径产生特征性萜烯类化合物^[31]。这些代谢产物不仅贡献了老香黄的独特风味,还可能影响其贮藏稳定性和功能特性。

3 结论

随着贮藏年份的延长,微生物群落组成发生了演变,这种演变不仅体现在菌群多样性的变化上,更反映在特定功能菌群的更替上。在发酵期间,不同微生物类群的相对丰度呈现出明显的时序性变化特征。通过对不同贮藏年份老香黄样本的系统分析,鉴定出多种关键挥发性风味物质,其中包括25种烯类、23种醇类、17种酯类、4种醛类以及其它类化合物。这些风味物质在整个贮藏周期内呈现出独特的动态变化规律,这种变化规律与微生物群落的演替过程存在显著的相关性。通过Spearman相关性分析发现,有9种关键挥发性风味物质与4种核心微生物属之间存在显著的相关性。具体而言,普雷沃菌属、放线菌属、短波单胞菌属和热丝菌属与烯类化合物及高级醇类物质表现出正相关,而 β -红没药烯则与贪铜菌属呈负相关。这些发现充分证实了不同贮藏年份老香黄特征风味的形成是多种微生物协同作用的结果。

研究结果不仅深化了对不同贮藏年份老香黄风味特征形成机制的理解,而且为老香黄品质提升策略的制定提供了重要的科学参考。具体而言,这些发现为通过调控关键微生物群落来实现老香黄风味的定向调控提供了理论支撑,同时也为优化传统发酵工艺、提升产品品质提供了新的思路。未来研究可进一步结合多组学技术,深入解析关键微生物代谢网络及其对风味形成的贡献机制,为传统发酵食品的现代化生产提供更全面的理论指导。

参 考 文 献

- [1] 戈子龙. 佛手和老香黄的菌相分析以及佛手货架期预测模型的建立[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
GE Z L. Microbial diversity analysis of the fingered citron and Laoxianghuang and shelf-life predictive model of fingered citron[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020.
- [2] 李素芬, 王琴, 胡晖亮, 等. 佛手瓜复配柚子果酱的工艺研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(8): 98-104.
LI S F, WANG Q, HU H L, et al. Study on the technology of compound jam with chayote and pomelo[J]. China Condiment, 2020, 45(8): 98-104.
- [3] 王雅倩, 安可婧, 黄桂颖, 等. 不同年份老香黄活性成分、抗氧化活性及挥发性成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(21): 221-232.
WANG Y Q, AN K J, HUANG G Y, et al. Analysis of active components, antioxidant activity, and volatile components of Laoxianghuang in different years[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(21): 221-232.
- [4] 林良静, 蔡惠钿, 包涵, 等. 潮汕特色佛手香黄的特征挥发性风味成分分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(7): 238-249.
LIN L J, CAI H D, BAO H, et al. Analysis of the characteristic volatile flavor components of preserved Lao-Xiang-Huang of Chaozhou[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 238-249.
- [5] LIU Y Q, LIU H X, LIN W L, et al. SPME-GC-MS combined with chemometrics to assess the impact of fermentation time on the components, flavor,

- and function of Laoxianghuang[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 915776.
- [6] 阳丹, 陈小爱, 杨玉洁, 等. 基于电子鼻、HS-GC-IMS、HS-SPME-GC-MS 技术联用分析不同发酵年份老香黄挥发性成分差异[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(11): 313-323.
- YANG D, CHEN X A, YANG Y J, et al. Using e-nose, HS-GC-IMS, and HS-SPME-GC-MS to differentiate the volatile components of LaoXianghuang fermented for different years[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(11): 313-323.
- [7] 戈子龙, 张泽金, 周爱梅, 等. 基于高通量测序与培养方法分析新鲜佛手与老香黄中的细菌多样性[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(3): 250-256.
- GE Z L, ZHANG Z J, ZHOU A M, et al. Analysis of bacteria diversity in fresh fingered citron and Laoxianghuang based on high throughput sequencing and culture methodology[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(3): 250-256.
- [8] 宋相宇, 李鸣, 王虎虎, 等. 高通量测序分析白切鸡菌群多样性[J]. *食品科学*, 2020, 41(17): 246-252.
- SONG X Y, LI M, WANG H H, et al. Analysis of bacterial community diversity of soft-boiled chicken by high-throughput sequencing[J]. *食品科学*, 2020, 41(17): 246-252.
- [9] ZHENG X J, LIU F, SHI X W, et al. Dynamic correlations between microbiota succession and flavor development involved in the ripening of Kazak artisanal cheese[J]. *Food Research International*, 2018, 105: 733-742.
- [10] LIN L J, CHEN X, CAI H T, et al. Dynamic changes of microbial flora in the pickled bergamot (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*)-LaoXiangHuang (LXH) during aging[J]. *Food Science And Technology*, 2022, 42: 113521.
- [11] 陈磊. 泡姜关键挥发性风味物质的鉴定及形成机理研究[D]. 成都: 西华大学, 2021.
- CHEN L. Identification and formation mechanism of key volatile flavor compounds in pickled ginger[D]. Chengdu: Xihua University, 2021.
- [12] 霍珊珊. 玉米储藏污染优势真菌的防控及真菌毒素的生物消减研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.
- HUO S S. The control of contaminated dominant fungi and biodegradation of mycotoxins during corn-storage process[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2022.
- [13] SHANG Z X, YE Z, LI M Q, et al. Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties of pickled chayote during an industrial-scale natural fermentation: Correlation between microorganisms and metabolites [J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 132004.
- [14] 姚凯, 刘志忠, 穆雪峰, 等. 乳双歧杆菌 LGG-08 发酵酸奶润肠通便和调节肠道菌群的作用[J]. *中国奶牛*, 2021(7): 49-53.
- YAO K, LIU Z Z, MU X F, et al. Effect of *Bifidobacterium lactis* LGG-08 fermented yoghurt on boweldefecation and regulation of intestinal flora[J]. *China Dairy Cattle*, 2021(7): 49-53.
- [15] AHMED M, KIBRET M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective[J]. *Journal of King saud University-science*, 2014, 26(1): 1-20.
- [16] 魏俊桃, 纪晓梅, 胡君景, 等. 火锅蘸料贮藏过程中挥发性成分变化研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(7): 144-147.
- WEI J T, JI X M, HU J J, et al. Research on changes of volatile components in hotpotdipping seasoning during storage[J]. *China Condiment*, 2020, 45(7): 144-147.
- [17] 蔡惠钿, 林良静, 陈曦, 等. 不同陈化时间老香黄的差异物质识别及变化研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(15): 5070-5078.
- CAI H D, LIN L J, CHEN X, et al. Study on identification and change of different substances in Laoxianghuang at different aging time[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 13(15): 5070-5078.
- [18] 杨君, 郜海燕, 储国海, 等. 基于 GC-MS 和 GC-O 联用法分析佛手精油关键香气成分[J]. *食品科学*, 2015, 36(20): 194-197.
- YANG J, GAO H Y, CHU G H, et al. Characterization of volatile constituents and odorous compounds in essential oil of finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) by GC-MS and GC-O[J]. *Food Science*, 2015, 36(20): 194-197.
- [19] CHEN X A, CHEN H Q, XIAO J, et al. Variations of volatile flavour compounds in finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) pickling process revealed by e-nose, HS-SPME-GC-MS and HS-GC-IMS[J]. *Food Research International*, 2020, 138: 109717.

- [20] 田雪, 赵丽君, 莫晓慧, 等. (+)-4-萜品醇对蜡样芽孢杆菌混菌生物膜的清除及与微酸性电解水协同作用研究[J]. 中国调味品, 2022, 47(4): 14-20.
TIAN X, ZHAO L J, MO X H, et al. Removal of mixed biofilms of *Bacillus cereus* by (+)-4-terpineol and its synergistic effect with slightly acidic electrolytic water[J]. China Condiment, 2022, 47(4): 14-20.
- [21] SONG S Q, TONG Y Z, FENG T, et al. Multi-analysis of odorous compounds in finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) and certification of key compounds. journal of essential oil bearing plants[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2018, 21(3): 600-613.
- [22] 陈小爱, 蔡惠钿, 刘静宜, 等. 基于电子鼻、GC-MS和GC-IMS技术分析老香黄发酵期间的挥发性成分变化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 70-80.
CHEN X A, CAI H D, LIU J Y, et al. Analysis of volatile components in Laoxianghuang during fermentation by electronic nose, GC-MS and GC-IMS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 70-80.
- [23] 宋诗清, 童彦尊, 冯涛, 等. 金佛手香气物质的多维分析及其特征香气物质的确定[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 94-100.
SONG S Q, TONG Y Z, FENG T, et al. Multidimensional analysis of odorous compounds in finger citron fruit (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) and identification of key aroma compounds[J]. Food Science, 2017, 38(24): 94-100.
- [24] 宋依亭, 康峻, 朱燕莉, 等. 基于SPME-GC-MS的卤牛肉贮藏过程中挥发性风味物质的变化规律研究[J]. 中国调味品, 2024, 49(4): 54-59.
SONG Y T, KANG J, ZHU Y L, et al. Change rule of volatile flavor substances of braised beef during storage based on SPME-GC-MS[J]. China Condiment, 2024, 49(4): 54-59.
- [25] XIAO Y Q, LIU Y N, CHEN C G, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on flavour development and bacterial communities in Chinese dry fermented sausages[J]. Food Research International, 2020, 135: 109247.
- [26] XUE B J, YOU Y M, DU M Y, et al. Metagenomic analysis of *Lactobacillus plantarum* DACN768 inoculation effects on volatile flavor compounds, microbial succession, and flavor metabolic network in suansun[J]. Food Research International, 2025, 199: 115382.
- [27] LIANG J Q, WANG Y F, WANG T, et al. Enhancing fermented vegetable flavor with *Lactobacillus plantarum* and *Rhodotorula mucilaginosa* [J]. Food Research International, 2025, 200: 115500.
- [28] CHEN X L, XIANG M, HU Q, et al. Profile of the volatile aroma in bergamot by comprehensive two-dimensional gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry/olfactometry[J]. Analytical Letters, 2024, 57(3): 368-382.
- [29] 郭舒臣, 郑玉忠, 郭瑞, 等. 不同年份老香黄定量分析及其化学模式识别研究[J]. 分析测试学报, 2021, 40(1): 10-18.
GUO S C, ZHENG Y Z, GUO R, et al. Quantitative analysis and chemical pattern recognition of Lao-Xiang-Huang preserved in different years[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2021, 40(1): 10-18.
- [30] 郭建华, 赵晓旭, 蒋海娇, 等. 玉米黄酒发酵过程中微生物菌群结构与挥发性风味物质的相关性分析[J]. 中国调味品, 2023, 48(11): 84-89.
GUO J H, ZHAO X X, JIANG H J, et al. Correlation analysis between microflora structure and volatile flavor substances during fermentation of corn yellow wine[J]. China Condiment, 2023, 48(11): 84-89.
- [31] 王玉荣, 马佳佳, 田龙新, 等. 酱香型白酒第六轮次堆积发酵醅堆微生物类群与感官品质的相关性分析[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 107-117.
WANG Y R, MA J J, TIAN L X, et al. Correlation analysis between microbial taxa and sensory quality of the sixth-round of stacking fermentation piles of the Jiang-flavored liquor[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 107-117.

The Changes of Microbial Community and Volatile Flavor Compounds during the Storage of *Citrus medical* L. var. *sarcodatyli*s

GUO Minting¹, CHEN Qi¹, DING Jie¹, CHEN Yidong⁴, YANG Yingkai^{4*}, CHEN Xubin⁴, WEI Xianling^{1,2,3},
DONG Hao^{1,2,3*}

¹College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225

²Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Guangzhou 510225

³Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food, Ministry of Agricultural and Rural Affairs, Guangzhou 510225

⁴Guangdong Jigong Health Food Co., Ltd., Chaozhou 515600, Guangdong)

Abstract This study aimed to systematically investigate the dynamics of microbial community structure and volatile flavor compounds during the long-term storage of *Citrus medical* L. var. *sarcodatyli*s and to elucidate their interrelationships. Microbial communities in samples stored for 4, 7, 10, and 12 years were analyzed using high-throughput sequencing, while volatile components were identified by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). At the phylum level, all samples were predominantly composed of Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Actinobacteria. Analysis of volatile compounds revealed 9 chemical categories encompassing 287 key flavor substances, samples from 2014 were rich in ethers (~35%) and hydrocarbons (~30%); those from 2017 showed a marked increase in alkenes (~40%); by 2020, hydrocarbon content declined to ~12%, whereas esters and alcohols increased significantly. In conclusion, although the microbial community remained relatively stable throughout storage, the volatile flavor profile underwent considerable transformation, and these shifts were closely associated with microbial succession. These findings provide insights into the flavor development of *Citrus medical* L. var. *sarcodatyli*s from a microbial-metabolic perspective and offer a scientific basis for optimizing its production and quality control.

Keywords *Citrus medical* L. var. *sarcodatyli*s; microbial community; volatile flavor compounds; storage; change rule