

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2018.01.007

文章编号:2095-6002(2018)01-0053-11

引用格式:王琪,张哲,刘小鸣,等.保加利亚乳杆菌的发酵特性及其在牦牛酸乳中的应用[J].食品科学技术学报,2018,36(1):53-63.



WANG Qi,ZHANG Zhe,LIU Xiaoming, et al. Fermentation characteristics of *Lactobacillus bulgaricus* and application in yak fermented milk[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018,36(1):53-63.

保加利亚乳杆菌的发酵特性及其在牦牛酸乳中的应用

王琪,张哲,刘小鸣*,赵建新,张灏,陈卫

(江南大学食品学院,江苏无锡 214122)

摘要:为了筛选应用于牦牛酸乳发酵的乳杆菌,研究了8株野生乳杆菌在脱脂乳体系中的生长和产酸特性,结合气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析单株发酵脱脂乳酸乳的挥发性风味组成,从中选取了4株既可快速产酸又能产生特色风味酸乳的乳杆菌,并结合感官分析评价单株发酵牦牛酸乳的挥发性风味特性。结果显示,风味喜好度高的牦牛酸乳含有较高的酯类、醛类物质,其中酯类质量比在9.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 左右,醛类物质质量比在174.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 左右;酸类、醚类、醇类物质含量在一定范围内处于较低水平,其中酸类物质质量比在366.51~495.84 $\mu\text{g}/\text{kg}$,醚类物质质量比在5.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及以下,醇类物质质量比在1.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及以下。全脂牦牛乳凝乳时间长,在发酵过程中脂肪易被酯解生成膻味物质即中短链脂肪酸、部分酮类等;因此,产生较高含量的果香类物质如酯类、醛类和较低含量的膻味物质的发酵菌株将有助于提升牦牛酸乳的品质,在牦牛酸乳制品的生产中具有潜在应用价值。

关键词:乳杆菌;牦牛乳;挥发性风味;酯类化合物;感官特性

中图分类号:TS252.54

文献标志码:A

牦牛是生活在海拔3 000~5 000 m的古老牛种,90%以上在我国,其中四川西部-青藏高原一带数量最多^[1]。牦牛乳富含蛋白、脂肪、乳糖,含量远高于普通牛乳,且含有对人体十分有益的共轭亚油酸、必需氨基酸、维生素等^[2]。当地蔬菜、水果等物资缺乏,人们从牦牛乳中获取营养,制作出多种传统牦牛乳制品,包括酸乳、酥油、曲拉等^[3],其中牦牛酸乳是牧民家中常见的一种牦牛乳制品。Chen等^[4-6]研究显示牦牛酸乳中各种营养物质含量均显著高于普通发酵牛乳,另有研究表明,从牦牛酸乳中分离获得的乳酸菌多具有良好的抗氧化活性^[7],且具备降低胆固醇、胆盐高耐受性的潜力^[8]。

虽然牦牛酸乳营养特性优良,但目前产量并不高。中国年产牦牛乳可达4 000万t,但工业生产所消耗的原料乳不及牦牛乳年产量的25%^[9]。一方面,目前牦牛乳制品的研发还处于初级阶段,牦牛乳的凝乳特性与普通牛乳的差异显著,牦牛乳蛋白含量高,凝乳慢^[10-11],且凝乳块硬度大^[12],酸度高^[13],而牦牛乳加工企业的设备较为陈旧,工艺不成熟^[14];另一方面,牦牛乳本身有一定的乳膻味,导致其乳制品风味欠佳^[15]。因此,文章探讨了分离自牦牛酸乳的保加利亚乳杆菌的发酵特性与酸乳的挥发性风味物质组成,及其在牦牛酸乳中的应用,对能够快速发酵牦牛乳且赋予牦牛酸乳特征风味的发酵剂进行了初步的理论与应用研究。

收稿日期:2018-01-05

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31371803);江南大学大学生创新创业训练计划项目(2017180Y)。

作者简介:王琪,女,硕士研究生,研究方向为乳品科学与技术;

*刘小鸣,女,教授,博士,主要从事乳品科学与技术方面的研究,通信作者。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

改良 MRS 培养基(胰蛋白胨、酵母膏、葡萄糖、柠檬酸二铵、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、吐温 80、磷酸二氢钾、硫酸亚铁、蒸馏水)、氢氧化钠、酚酞,均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。癸酸乙酯,色谱纯,购自国药集团化学试剂有限公司。脱脂乳粉购自光明乳业股份有限公司,全脂牦牛乳粉购自西藏高原之宝牦牛乳业股份有限公司。

1.2 仪器与设备

GR60DA 型立式自动压力蒸汽灭菌器,致微(厦门)仪器有限公司;SW-CJ-1FD 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;Thermo-994 型超低温冰箱、1300-ISQ 型气相色谱质谱联用仪(配有电子轰击电离源(EI)及单四极杆检测器),美国赛默飞世尔科技公司;AW500SG 型厌氧工作站,英国依莱泰科公司;HWS-150 型恒温恒湿培养箱,上海森信实验仪器有限公司;DZ400/2D 型真空包装机,上海尤溪机械设备有限公司;C1000 Touch™ 型基因扩增仪,美国 Bio-Rad 公司;DYCP-31DN 型水平电泳仪,北京六一生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株分离

2016 年 6 月采集中国四川阿坝藏族自治州藏南当地传统牦牛酸乳样品 11 份,加入体积分数 40% 无菌甘油,低温运输至实验室,于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保藏。

提前一天从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出酸乳样品,冰上解冻,吸取 0.5 mL 酸乳样品至 4.5 mL 无菌生理盐水中稀释 10 倍,梯度记为 10^{-1} ,以此类推将梯度稀释至 10^{-6} 。从每个稀释梯度的菌悬液中吸取 100 μL 于固体改良 MRS 培养基上,均匀涂布至粗糙,倒置,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧工作站中静置培养 48 h 左右,取出,划线分离,纯化并培养,记录菌落形态。挑取单菌落于液体改良 MRS 培养基中,震荡混匀,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧工作站中静置培养 12~24 h,取菌液离心得菌泥,重悬于等体积终浓度为 30% 的无菌甘油中保藏。

1.3.2 菌株鉴定

提取菌株 DNA 与序列扩增:参照 Hunt 等^[16]采用酚-氯仿法提取菌体 DNA。16S rDNA 序列扩增体系(25 μL)各组分体积:模板量为 1 μL ,Taq 酶

Mix 为 12.5 μL ,27F 为 0.5 μL ,1492R 为 0.5 μL ,ddH₂O 为 10.5 μL 。所用引物为上游引物 27F(AGA GTT TGA TCC TGG CCT CA 20)和下游引物 1492R(GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 19)。扩增条件:预变性温度为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 7 min,变性温度 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 30 s;退火温度为 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 30 s;延伸温度为 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 90 s;循环 33 次,目标片段长度 1 500 bp。0.008 g/mL 琼脂糖凝胶电泳进行核酸鉴定有无目标条带,送予华大基因进行鉴定。

目标序列的鉴定:将拼接好的 16S rDNA 序列导入 NCBI 在线平台上的 BLAST 功能项目区,与数据库进行比对,选取相似度最高的比对结果。

实验所用的 9 株菌株信息如表 1。

表 1 实验菌株信息

Tab.1 Information of *Lactobacillus* strains used in this study

菌株编号	种属	分离源
C1	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	市售发酵剂
D-2-A49	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	牦牛酸乳 TB1
D-8-S180-1	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	牦牛酸乳 TD3
D-10-A169	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	牦牛酸乳 TE1
D-11-A188	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	牦牛酸乳 TE2
D-9-A28	<i>Lactobacillus helveticus</i>	牦牛酸乳 TA4
D-4-A98	<i>Lactobacillus helveticus</i>	牦牛酸乳 TC1
D-5-A108	<i>Lactobacillus helveticus</i>	牦牛酸乳 TC2
D-6-A122	<i>Lactobacillus helveticus</i>	牦牛酸乳 TD1

1.3.3 脱脂乳发酵乳的制备

从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出保菌管,置于冰上解冻,以体积分数 2% 的比例接入改良 MRS 培养基中,活化 2 代,再在脱脂乳中活化至菌株对数末期,调整活菌数在 10^6 CFU/mL。按体积分数 2% 的比例接入质量分数 11% 的巴氏杀菌脱脂乳中,从 0 h 开始每隔 2 h 取样,平行取出 3 份样品,冷藏待用。

1.3.4 牦牛乳发酵乳的制备

配置质量分数 11% 的全脂牦牛乳发酵液,并按体积分数 2% 的比例接种发酵,待凝乳完成后从发酵培养箱转移至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏待用,其余同方法 1.3.3。

1.3.5 生长速率测定

将每隔 2 h 取出的发酵乳进行 10 倍稀释至 10^{-6} ,涂布计数。

1.3.6 产酸能力测定

将供试菌株在改良 MRS 培养基中活化 3 代至对数末期,以 2% 的比例接种至改良 MRS 培养基,振荡混匀后置于 37 °C 厌氧培养箱生长 18 h,从 0 h 开始每隔 2 h 取出相同体积的菌液,测定 pH 值。

另参照 GB 5009.239—2016^[17] 中乳及其他乳制品的酸度测定方法,取出 10 mL 脱脂乳发酵液,加入 20 mL 新煮沸冷却至室温的去离子水稀释,滴加 2 mL 酚酞,混匀后用标定好的 0.1 mol/L NaOH 滴定至溶液微红色且半小时内不褪色,滴定终止,记录消耗的滴定体积。

1.3.7 凝乳能力测定

随着发酵的进行,从 0 h 开始每隔 2 h 观察发酵液的流动性,至发酵液凝固且无乳清析出时,转移发酵乳至 4 °C 冷藏 24 h,待用。

1.3.8 GC-MS 法检测挥发性风味物质

参照 Zhang 等^[18] 的方法测定挥发性风味物质,并稍有改动。室温下取 6 g 酸乳于 20 mL 的萃取小瓶中,同时加入 1 g 氯化钠,采用固相微萃取 (SPME) 方法对各酸乳进行风味成分的提取。自动进样装置将萃取头 CAR/PDMS (涂抹厚度为 85 μm) 插入密封的萃取瓶中,萃取头暴露在样品上部的空气中,50 °C 下萃取 30 min。

气谱条件:Rtx-WAX 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 mm),进口温度 240 °C,分流比 5,柱流速 1 mL/min,载气为氦气。程序升温:初始温度 30 °C,保持 3 min;15 °C/min 升温至 225 °C,保持 5 min。

质谱条件:离子化方式 EI,发射能量为 70 eV,发射电流为 200 μA,检测器电压为 1.4 kV,离子源温度 250 °C,接口温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,质荷比 30~500。化合物检索结果与 NIST 和 Varian 2 个标准谱库进行匹配,相似度达到 80% 以上确认为目的化合物。以 2 μL 的 0.05 mg/mL 癸酸乙酯为内标,计算各风味物质的含量。

1.3.9 感官品评

采用 GB/T 29605—2013^[19] 制定了酸乳感官品评的指标^[20-21],组成一支 10 人感官小组,经培训后进行感官品评与打分。表格采用九分制,1~3 分代表强度较弱,4~6 分代表强度适中,7~9 分代表强度强。

1.4 数据处理与分析

应用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行所有数据的统计分析,数据间的比较采用 Tukey 模型进行

显著性分析,显著性水平为 $p < 0.05$;应用 GraphPad Prism 5 进行散点图的绘制;应用 XLSTAT 分析软件对挥发性风味物质和感官数据进行主成分分析 (PCA),相关性分析采用偏最小二乘法分析 (PLS)。

2 结果与讨论

2.1 基于发酵特性的乳杆菌的筛选

2.1.1 菌株在改良 MRS 中的产酸能力分析

对 9 株乳杆菌在改良 MRS 中的发酵液进行了 pH 值测定,结果如图 1。发酵液的起始 pH 值为 5.51,乳杆菌 C1 和 D-8-S180-1 的产酸能力较弱,发酵 18 h 后 pH 值在 5.2 至 5.3,其余 7 株乳杆菌在发酵 18 h 后发酵液的 pH 值在 4.5~4.7,并趋于稳定。因此 8 株野生乳杆菌均具备一定的产酸能力。

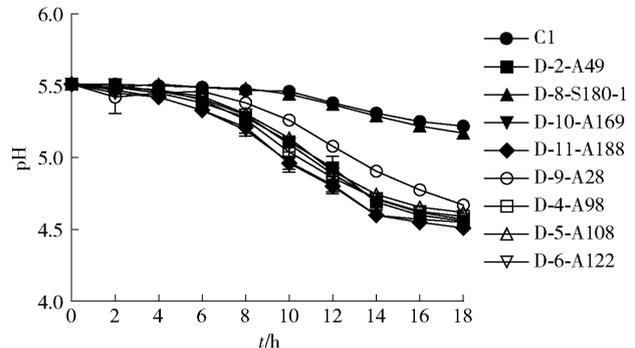


图 1 乳杆菌在改良 MRS 中的产酸能力

Fig. 1 Acid producing ability of *Lactobacillus* in modified MRS broth

2.1.2 菌株在脱脂乳中的生长速率分析

对 9 株乳杆菌在脱脂乳中的生长进行了活菌量的统计,以便于选择数量级高且能够在乳体系中快速生长的乳杆菌,应用于发酵牦牛乳。9 株乳杆菌均可在脱脂乳中生长,其中 5 株保加利亚乳杆菌和 2 株瑞士乳杆菌发酵脱脂乳 6 h 时活菌数量可达 $1 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$ CFU/mL,野生菌株 D-8-S180-1 生长最快,6 h 内活菌量增加了近 200 倍,2 株瑞士乳杆菌发酵脱脂乳时生长缓慢,最高活菌量低于 1×10^8 CFU/mL (见图 2)。因此除瑞士乳杆菌 D-9-A28 和 D-4-A98 以外,其余 6 株野生乳杆菌均具备发酵牦牛乳的潜力。

2.1.3 菌株在脱脂乳中的产酸能力

通过测定菌株发酵脱脂乳时的 pH 值和滴定酸度可知菌株利用脱脂乳的能力强弱 (见图 3)。从图 3 可以看出,5 株保加利亚乳杆菌和 2 株瑞士乳杆菌发酵脱脂乳 6 h 时酸度可上升至 50~70 °T, pH 值可

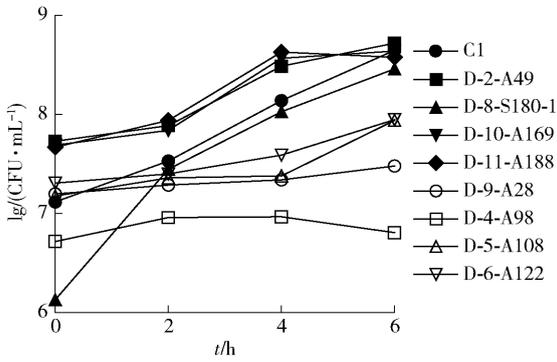


图2 乳杆菌在脱脂乳中的生长速率

Fig.2 Growth rate of *Lactobacillus* in skim milk

从6.5下降至4.7~5.2。其余2株瑞士乳杆菌D-9-A28和D-4-A98的脱脂乳发酵液酸度上升和pH值下降较慢,与2.1.2节结果一致。

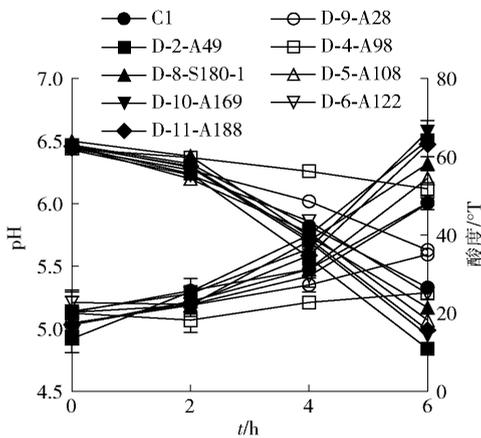


图3 乳杆菌在脱脂乳中的pH值与滴定酸度

Fig.3 pH and acidity value of *Lactobacillus* in skim milk

2.1.4 菌株在脱脂乳中的凝乳能力分析

观察发酵液的凝乳时间可以快速判断菌株是否具备发酵脱脂乳的能力,一般工业发酵时凝乳时间在4~6h。除D-4-A98以外,其余菌株均能够在6h时凝乳完成,达到发酵终点(见表2)。

2.1.5 主成分分析单菌发酵脱脂乳的挥发性风味组成差异

Cheng^[22]论述了酸乳中的挥发性风味物质所对应的气味属性,可知酮类、醛类物质能够赋予酸乳甜味、青草香、果香味、奶油味、花香味等风味,醇类物质使酸乳带有酒味,酯类物质可使酸乳带有各种水果的香味例如菠萝味、苹果味、香蕉味等等,酸类物质会带来酸味、羊膻味、腐臭味等,醚类物质主要会挥发出生成味和硫味等。

选取发酵终点的单菌发酵脱脂乳测定挥发性风味物质,酸乳样品经SPME法萃取后进行GC/MS测

表2 实验菌株在脱脂乳中的凝乳情况

Tab.2 Coagulation of experimental strains in skim milk

菌株编号	0 h	2 h	4 h	6 h
C1	-	-	微凝	凝乳
D-2-A49	-	-	微凝	凝乳
D-8-S180-1	-	-	微凝	凝乳
D-10-A169	-	-	微凝	凝乳
D-11-A188	-	-	微凝	凝乳
D-9-A28	-	-	微凝	凝乳
D-4-A98	-	-	-	-
D-5-A108	-	-	微凝	凝乳
D-6-A122	-	-	微凝	凝乳

“-”表示未凝乳。

定,结果如表3。一共检测出24种挥发性风味物质,包括醛、酮、酯、醚和酸5类化合物,其中酸类7种,酮类8种,醛类5种,酯类2种,醚类2种。对整体风味贡献最大的组分是酸类、酮类、酯类,不同菌株发酵的酸乳样品的风味组成中除壬酸、癸酸外其余风味物质的含量均差异显著($p < 0.05$)。对照菌株C1含有较高含量的酯类、酸类和醛类化合物,其中 w (乙酸乙酯)为223.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w (酸)为86.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w (醛)为44.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$,酮类化合物含量较低,为7.54 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。野生保加利亚乳杆菌D-8-S180-1高产乙酸乙酯,6h可达165.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$,能够赋予酸乳较浓的果香味;野生保加利亚乳杆菌D-10-A169产酸类和酮类物质最高,6h时 w (酸)可达195.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w (酮)为86.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在带来果香味的同时还会有较重的酸味和刺激味。

对发酵脱脂乳样品的挥发性风味数据做主成分分析(PCA),结果如图4。不同菌株发酵乳的风味差异显著,按风味物质的组成及含量可分为2大类,一类是包括对照菌株C1在内的5株保加利亚乳杆菌产生的发酵乳,第二类是4株野生瑞士乳杆菌产生的风味特征相似的发酵乳,且两类区别显著。

结合风味化合物的余弦平方值(表4)来看,主成分一所对应的风味化合物主要包括2,3-丁二酮、2-庚酮、乙偶姻、壬酮、乙酸、甲基正壬酮、丁酸、己酸和辛酸,主成分二所对应的风味化合物主要是乙醛、戊酮和戊醛,主成分三对应的风味物质主要是壬酸,主成分四对应的风味物质主要是苯甲醛。

从对发酵乳样品分析而得的因子得分表(表5)来看,主成分一对应的主要发酵乳样品有C1、D-8-

表3 单菌发酵脱脂乳的挥发性风味组成

Tab.3 Volatile flavor composition of experimental strains in fermented skim milk

<i>w</i>	C1	D-2-A49	D-8-S180-1	D-10-A169	D-11-A188	D-9-A28	D-4-A98	D-5-A108	D-6-A122
乙酸	18.55 ± 0.07 ^{abc}	39.83 ± 0.10 ^{de}	21.30 ± 0.42 ^{bcd}	51.81 ± 0.45 ^e	46.21 ± 1.12 ^e	0.00 ± 0.00 ^a	3.59 ± 0.15 ^{ab}	34.74 ± 0.48 ^{cde}	13.83 ± 0.54 ^{ab}
丁酸	9.62 ± 0.07 ^b	21.65 ± 0.11 ^{cd}	11.12 ± 0.13 ^b	25.47 ± 0.27 ^d	18.66 ± 0.15 ^c	3.48 ± 0.10 ^a	1.83 ± 0.11 ^a	7.39 ± 0.18 ^{ab}	2.81 ± 0.08 ^a
己酸	36.38 ± 0.57 ^{cd}	71.37 ± 0.55 ^{ef}	34.90 ± 0.83 ^{bcd}	84.04 ± 0.66 ^f	57.34 ± 1.09 ^{de}	12.89 ± 0.22 ^{ab}	4.71 ± 0.38 ^a	25.20 ± 0.03 ^{abc}	9.65 ± 0.06 ^a
辛酸	14.93 ± 0.58 ^{ab}	26.72 ± 0.56 ^{ab}	13.06 ± 0.23 ^{ab}	27.67 ± 0.02 ^{ab}	27.90 ± 1.68 ^b	10.07 ± 0.25 ^{ab}	2.68 ± 0.18 ^a	13.00 ± 0.17 ^{ab}	7.95 ± 0.04 ^{ab}
壬酸	1.10 ± 0.03 ^a	1.46 ± 0.04 ^a	1.20 ± 0.06 ^a	1.92 ± 0.07 ^a	1.53 ± 0.06 ^a	2.77 ± 0.07 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	1.05 ± 0.02 ^a	2.53 ± 0.26 ^a
癸酸	2.69 ± 0.08 ^a	4.60 ± 0.13 ^a	3.38 ± 0.00 ^a	4.12 ± 0.07 ^a	6.53 ± 0.47 ^a	5.06 ± 0.16 ^a	1.28 ± 0.07 ^a	2.60 ± 0.08 ^a	3.99 ± 0.16 ^a
苯甲酸	3.06 ± 0.08 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	6.26 ± 0.16 ^d	0.00 ± 0.00 ^a	0.44 ± 0.04 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	2.54 ± 0.02 ^{bc}	0.00 ± 0.00 ^a
酸类化合物	86.33 ± 0.06	165.63 ± 0.21	91.22 ± 0.14	195.03 ± 0.07	158.61 ± 0.13	34.27 ± 0.10	14.09 ± 0.05	83.52 ± 0.14	40.76 ± 0.04
丙酮	0.00 ± 0.00 ^a	0.98 ± 0.03 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a	2.45 ± 0.00 ^b	0.60 ± 0.02 ^{ab}	0.77 ± 0.06 ^{ab}	2.55 ± 0.12 ^b	1.04 ± 0.06 ^{ab}	0.72 ± 0.02 ^{ab}
丁酮	0.00 ± 0.00 ^a	1.78 ± 0.05 ^{abc}	2.85 ± 0.07 ^{bc}	3.60 ± 0.03 ^c	2.17 ± 0.03 ^{bc}	2.21 ± 0.03 ^{bc}	3.46 ± 0.07 ^c	1.33 ± 0.03 ^{ab}	1.59 ± 0.02 ^{ab}
戊酮	4.74 ± 0.07 ^d	2.41 ± 0.02 ^c	4.71 ± 0.04 ^d	2.15 ± 0.00 ^{bc}	1.59 ± 0.00 ^{abc}	0.77 ± 0.00 ^{ab}	1.60 ± 0.07 ^{abc}	1.12 ± 0.02 ^{abc}	0.49 ± 0.03 ^a
2,3-丁二酮	0.00 ± 0.00 ^a	1.74 ± 0.01 ^e	0.38 ± 0.00 ^{ab}	2.36 ± 0.00 ^f	1.32 ± 0.01 ^{de}	1.06 ± 0.01 ^{cd}	1.81 ± 0.02 ^c	0.65 ± 0.02 ^{bc}	0.76 ± 0.00 ^{bc}
2-庚酮	0.00 ± 0.00 ^a	20.13 ± 0.06 ^{cd}	4.94 ± 0.00 ^{ab}	29.05 ± 0.27 ^d	13.77 ± 0.55 ^{bc}	11.84 ± 0.10 ^{abc}	8.44 ± 0.30 ^{abc}	13.16 ± 0.62 ^{bc}	5.72 ± 0.07 ^{ab}
乙偶姻	0.00 ± 0.00 ^a	2.72 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	3.99 ± 0.04 ^d	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.56 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.00 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a
壬酮	2.80 ± 0.05 ^a	26.86 ± 0.34 ^d	3.83 ± 0.01 ^a	35.88 ± 0.14 ^e	21.57 ± 0.06 ^{cd}	5.46 ± 0.00 ^a	2.87 ± 0.02 ^a	19.49 ± 0.24 ^c	11.78 ± 0.13 ^b
甲基正壬酮	0.00 ± 0.00 ^a	5.19 ± 0.08 ^{de}	2.52 ± 0.00 ^{bc}	6.66 ± 0.10 ^e	4.23 ± 0.00 ^{cd}	1.99 ± 0.01 ^b	1.89 ± 0.03 ^{ab}	2.68 ± 0.05 ^{bc}	3.23 ± 0.05 ^{bc}
酮类化合物	7.54 ± 0.02	61.81 ± 0.08	19.23 ± 0.02	86.14 ± 0.01	45.25 ± 0.04	24.10 ± 0.01	23.18 ± 0.09	39.65 ± 0.10	24.29 ± 0.07
乙醛	7.11 ± 0.02 ^b	11.24 ± 0.05 ^c	17.22 ± 0.04 ^e	14.46 ± 0.12 ^d	11.95 ± 0.05 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.52 ± 0.02 ^a
戊醛	2.79 ± 0.01 ^d	0.99 ± 0.00 ^b	2.10 ± 0.02 ^c	1.37 ± 0.02 ^b	0.91 ± 0.00 ^b	1.07 ± 0.00 ^b	0.28 ± 0.00 ^a	0.13 ± 0.00 ^a	0.92 ± 0.03 ^b
己醛	5.24 ± 0.02 ^f	0.72 ± 0.00 ^{abc}	3.43 ± 0.07 ^e	1.43 ± 0.07 ^{bc}	0.75 ± 0.01 ^{abc}	2.87 ± 0.01 ^{de}	0.00 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.01 ^{ab}	1.75 ± 0.00 ^{cd}
辛醛	0.86 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.50 ± 0.01 ^b
苯甲醛	28.53 ± 0.15 ^b	13.38 ± 0.18 ^a	17.34 ± 0.09 ^a	15.59 ± 0.10 ^a	13.57 ± 0.06 ^a	15.44 ± 0.35 ^a	15.90 ± 0.30 ^a	41.88 ± 0.20 ^c	14.82 ± 0.00 ^a
醛类化合物	44.53 ± 0.03	26.33 ± 0.10	40.09 ± 0.05	32.85 ± 0.03	27.18 ± 0.02	19.38 ± 0.13	16.18 ± 0.09	42.37 ± 0.07	18.51 ± 0.01
乙酸乙酯	223.71 ± 7.12 ^b	7.31 ± 0.53 ^a	165.59 ± 0.35 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
苯甲酸甲酯	5.09 ± 0.02 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	3.64 ± 0.03 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
酯类化合物	228.80 ± 1.33	7.31 ± 0.23	169.23 ± 0.14	0.00 ± 0.04	0.00 ± 0.03	0.00 ± 0.17	0.00 ± 0.10	0.00 ± 0.08	0.00 ± 0.00
二甲基二硫醚	7.11 ± 0.04 ^e	7.02 ± 0.04 ^c	2.26 ± 0.06 ^{ab}	13.43 ± 0.18 ^d	9.65 ± 0.00 ^{cd}	6.55 ± 0.14 ^c	1.49 ± 0.00 ^a	8.48 ± 0.06 ^c	5.88 ± 0.19 ^{bc}
二甲基三硫醚	5.38 ± 0.05 ^{bc}	4.47 ± 0.02 ^{ab}	1.92 ± 0.01 ^a	7.99 ± 0.24 ^c	3.58 ± 0.03 ^{ab}	2.49 ± 0.00 ^{ab}	1.25 ± 0.04 ^a	3.95 ± 0.02 ^{ab}	2.65 ± 0.05 ^{ab}
醚类化合物	12.49 ± 0.04	11.49 ± 0.03	4.18 ± 0.03	21.42 ± 0.22	13.23 ± 0.02	9.04 ± 0.06	2.74 ± 0.02	12.43 ± 0.04	8.53 ± 0.11

不同字母表示同一行数据之间存在显著性差异($p < 0.05$)。

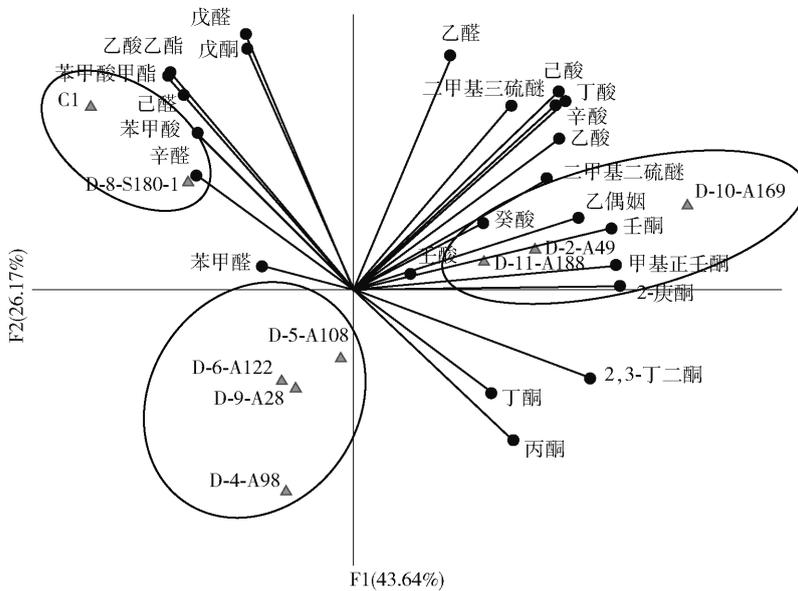


图4 单菌发酵脱脂乳挥发性风味组成的主成分分析

Fig. 4 PCA of volatile flavor composition among experimental strains

表4 PCA中风味化合物的余弦平方值

Tab. 4 Squared cosines of variables

	F1	F2	F3	F4
乙醛	0.123 1	0.592 2	0.120 1	0.129 5
丙酮	0.335 6	0.247 5	0.178 6	0.062 8
丁酮	0.249 7	0.118 3	0.340 8	0.153 4
乙酸乙酯	0.446 3	0.505 1	0.040 4	0.000 1
戊酮	0.146 9	0.635 6	0.206 0	0.002 2
戊醛	0.154 3	0.707 8	0.000 0	0.037 4
2,3-丁二酮	0.738 8	0.085 6	0.075 7	0.007 2
二甲基二硫醚	0.486 9	0.132 5	0.193 8	0.102 6
己醛	0.378 5	0.410 0	0.033 7	0.022 8
2-庚酮	0.934 8	0.000 1	0.003 1	0.005 0
乙偶姻	0.666 6	0.054 7	0.062 0	0.016 3
辛醛	0.324 9	0.141 2	0.131 8	0.071 4
二甲基三硫醚	0.323 1	0.362 3	0.021 3	0.183 5
壬酮	0.874 8	0.040 3	0.012 7	0.043 7
乙酸	0.553 1	0.250 4	0.000 0	0.050 4
苯甲醛	0.111 0	0.005 6	0.005 1	0.683 3
甲基正壬酮	0.907 1	0.006 7	0.001 1	0.017 1
丁酸	0.586 1	0.382 6	0.010 7	0.001 0
苯甲酸甲酯	0.456 1	0.495 9	0.036 2	0.000 4
己酸	0.552 9	0.424 5	0.006 4	0.000 1
辛酸	0.537 7	0.365 2	0.017 5	0.002 1
壬酸	0.042 5	0.002 7	0.605 5	0.148 5
癸酸	0.222 0	0.049 4	0.343 6	0.288 8
苯甲酸	0.320 5	0.264 0	0.126 3	0.000 5

S180-1、D-2-A49、D-10-A169、D-11-A188, 主成分二对应的主要发酵乳样品是 D-9-A28、D-4-A98, 主成分三对应的样品是 D-6-A122, 主成分四对应的样品是 D-5-A108。因此根据 2,3-丁二酮、2-庚酮、乙偶姻、壬酮、乙酸、甲基正壬酮、丁酸、己酸和辛酸的含量高低可区分出样品 C1、D-8-S180-1、D-2-A49、D-10-A169、D-11-A188; 根据乙醛、戊酮和戊醛的含量可区分样品 D-9-A28、D-4-A98, 根据壬酸含量可区分样品 D-6-A122, 另外根据苯甲醛的含量可区分样品 D-5-A108。

综上, 由9株实验乳杆菌的发酵筛选实验得知, 保加利亚乳杆菌 C1、D-8-S180-1、D-2-A49、D-10-A169、D-11-A188 和瑞士乳杆菌 D-5-A108、D-6-A122 能够在乳体系中快速生长并产酸, 6 h 使脱脂乳凝固, 达到发酵终点 pH 值 4.7。经酸乳的挥发性风味测定实验分析得知, 保加利亚乳杆菌 C1、D-8-S180-1、D-10-A169 和瑞士乳杆菌 D-5-A108、D-6-A122 发酵的酸乳中的挥发性风味特征显著, 其中保加利亚乳杆菌 C1、D-8-S180-1 的酸乳以果香味呈味物质即酯类和醛类最为突出, 瑞士乳杆菌 D-5-A108、D-6-A122 的酸乳以酸味呈味物质、硫味呈味物质较为突出。因此, 结合对照菌株 C1, 选用风味物质存在差异的德氏乳杆菌保加利亚亚种 C1、D-8-S180-1、D-10-A169 和瑞士乳杆菌 D-5-A108、D-6-A122 发酵牦牛乳, 并进行发酵乳样品的挥发性风味测定与感官品评, 以研究发酵牦牛乳的风味特征及

表5 PCA中各因子得分
Tab.5 Factor scores of PCA

	C1	D-2-A49	D-8-S180-1	D-10-A169	D-11-A188	D-9-A28	D-4-A98	D-5-A108	D-6-A122
F1	0.537 3	0.773 0	0.369 7	0.835 3	0.451 6	0.088 2	0.054 0	0.004 3	0.148 6
F2	0.365 1	0.059 8	0.219 2	0.077 2	0.031 9	0.329 4	0.628 7	0.142 5	0.317 0
F3	0.007 5	0.002 5	0.186 5	0.011 9	0.085 9	0.261 0	0.269 5	0.009 8	0.359 5
F4	0.046 9	0.006 1	0.138 8	0.007 9	0.092 5	0.160 4	0.002 8	0.557 1	0.018 5

不同菌株发酵牦牛乳样品的风味差异。

2.2 乳杆菌发酵牦牛酸乳的特性研究

2.2.1 牦牛酸乳的挥发性风味组成差异分析

牦牛酸乳经4℃冷藏1d后的挥发性风味组成结果如表6,共检测出27种化合物,包括酸类、酮类、醛类、酯类、醚类、醇类的6大类物质,其中酸类物质9种,酮类物质9种,醛类物质5种,酯类物质1种,醚类物质2种,醇类物质1种。对照菌株C1的牦牛酸乳含有495.84 μg/kg的酸类化合物、405.89 μg/kg的酮类化合物、210.36 μg/kg的醛类化合物、5.05 μg/kg醚类化合物、5.92 μg/kg的酯类化合物以及6.18 μg/kg的醇类化合物。野生菌株D-8-S180-1、D-10-A169的牦牛酸乳样品的酸类物质含量与C1相近,酮类物质含量较低,约为C1样品的62%~73%,醛类、醚类、醇类物质含量均较低,其中菌株D-8-S180-1样品的酯类物质含量最高,为9.82 μg/kg。Imhof等^[23]在1995年研究单菌发酵实验时列举了各种发酵菌株的风味组成及其特征,其中保加利亚乳杆菌在38℃下经30h发酵后最高可产6.17 μg/kg的乙酸乙酯。野生菌株D-5-A108、D-6-A122的牦牛酸乳样品的酸类物质含量最高,超过C1样品的2倍,酮类物质含量与C1样品相近,高于D-8-S180-1、D-10-A169的牦牛酸乳样品,另外所含醛类、醚类物质也较高,其中菌株D-6-A122的样品中醛类物质含量最高,为228.42 μg/kg。

2.2.2 牦牛酸乳的感官评价

牦牛酸乳样品的感官评价结果如表7、表8。在气味上,品评员的感官评定词确定为总体气味、甜味、酸味、奶香味、乳脂味、果香味、膻味、硫味、浓厚感以及喜好度;在滋味上,品评员的感官评定词确定为总体滋味、甜味、酸味、涩味、奶香味、果香味、乳脂味、不自然感、膻味、硫味、喜好度。通过比较发现,在气味上,菌株D-8-S180-1发酵的牦牛酸乳的喜好度最高,以果香味最为突出,同时膻味、酸味、乳脂味、硫味较弱;菌株C1、D-10-A169、D-5-A108、D-6-

A122发酵的牦牛酸乳在气味的喜好度上的趋势较为相近,其中菌株D-6-A122的样品呈酸味和奶香味最强。在滋味上,菌株D-8-S180-1发酵的牦牛酸乳的喜好度仍保持最高,C1样品喜好度最差,其余三者除酸味以外其他各物质的呈味强度均相近,受品评者喜好的程度优于C1牦牛酸乳,不及D-8-S180-1的牦牛酸乳。

2.2.3 牦牛酸乳的风味组成和感官的相关性分析

基于2.2.1的挥发性风味物质组成和2.2.2的气味感受值,利用偏最小二乘回归方程(PLS)分析两者的相关性,结果如图5。图中有2个相关变量,一是挥发性风味物质组成,二是气味感受值。变量之间的距离越近,说明呈正相关的可能性越大;距离越远,说明呈负相关的可能性越大。2个变量距离轴心的距离代表相关性的显著程度,距离越远,显著性越强。由图5可知,乙醛、辛醛、酯类以及2,3-丁二酮的含量与气味中的果香味、浓厚感及喜好度呈显著正相关,大部分酸类物质、醚类物质以及一部分酮类物质、醛类物质的含量对膻味、乳脂味、硫味、奶香味等也有较显著的贡献。

3株保加利亚乳杆菌发酵的牦牛乳的气味感官特征呈现出2种不同的趋势,2株瑞士乳杆菌发酵的牦牛乳气味感官特征相似,呈现出第3种趋势。2株野生保加利亚乳杆菌D-8-S180-1、D-10-A169的牦牛酸乳的特征风味物质为2,3-丁二酮、辛醛、癸酸辛酯和乙醛,含量均高于其他牦牛酸乳样品,其中2,3-丁二酮、癸酸乙酯、乙醛是酸乳的典型风味物质,能够赋予酸乳果香味^[24]。其中保加利亚乳杆菌D-8-S180-1的牦牛酸乳是气味上最受品评员欢迎的样品,从挥发性风味物质组成及含量来看,该样品的 $w(\text{酸})$ 为366.51 μg/kg, $w(\text{酮})$ 为294.54 μg/kg, $w(\text{醛})$ 为174.64 μg/kg,在所有牦牛酸乳样品中均处于中等水平,另外较为突出的是 $w(\text{酯})$ 为9.82 μg/kg,远高于其他牦牛酸乳样品,这与该菌株发酵脱脂乳时高产酯类物质的情况保持一致,同时醚类

表6 单菌发酵牦牛乳的挥发性风味组成

Tab.6 Volatile flavor composition of experimental strains in fermented yak milk

 $\mu\text{g}/\text{kg}$

<i>w</i>	C1	D-8-S180-1	D-10-A169	D-5-A108	D-6-A122
乙酸	58.16 ± 0.45 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	108.98 ± 2.11 ^a	555.44 ± 9.41 ^c	313.14 ± 0.00 ^b
丁酸	42.81 ± 0.17 ^a	40.69 ± 0.98 ^a	45.15 ± 0.13 ^a	65.33 ± 0.93 ^a	86.53 ± 4.06 ^a
己酸	169.14 ± 2.66 ^a	151.20 ± 3.40 ^a	166.67 ± 0.71 ^a	196.69 ± 3.45 ^a	272.30 ± 10.92 ^a
庚酸	7.12 ± 0.37 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a	4.89 ± 0.00 ^{ab}	9.86 ± 0.07 ^b	8.63 ± 0.35 ^{ab}
辛酸	82.38 ± 0.74 ^a	50.63 ± 0.49 ^a	78.00 ± 0.39 ^a	55.03 ± 0.48 ^a	76.26 ± 3.49 ^a
壬酸	10.29 ± 0.17 ^b	4.80 ± 0.23 ^{ab}	3.24 ± 0.13 ^a	4.19 ± 0.04 ^a	5.32 ± 0.00 ^{ab}
癸酸	23.23 ± 0.22 ^a	22.28 ± 1.61 ^a	13.74 ± 0.05 ^a	12.09 ± 0.25 ^a	18.46 ± 0.68 ^a
苯甲酸	102.71 ± 2.82 ^a	93.13 ± 5.46 ^a	34.86 ± 0.39 ^a	193.30 ± 4.11 ^a	253.58 ± 11.06 ^a
棕榈酸	0.00 ± 0.00 ^a	3.78 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	1.60 ± 0.00 ^a	1.34 ± 0.00 ^a
酸类化合物	495.84 ± 1.21	366.51 ± 1.34	455.53 ± 1.01	1093.53 ± 3.06	1035.56 ± 3.22
丙酮	90.66 ± 0.97 ^b	54.31 ± 0.39 ^a	43.34 ± 1.14 ^a	32.08 ± 0.03 ^a	47.13 ± 1.29 ^a
戊酮	25.33 ± 0.86 ^a	17.68 ± 0.05 ^a	11.48 ± 0.36 ^a	11.33 ± 1.30 ^a	16.18 ± 0.62 ^a
2,3-丁二酮	0.00 ± 0.00 ^a	45.57 ± 0.33 ^b	8.60 ± 0.41 ^a	1.82 ± 0.04 ^a	1.74 ± 0.14 ^a
2-庚酮	186.12 ± 9.56 ^a	123.51 ± 3.54 ^a	112.12 ± 0.44 ^a	234.46 ± 2.97 ^a	220.82 ± 9.38 ^a
乙偶姻	5.11 ± 0.02 ^a	5.92 ± 0.08 ^a	10.94 ± 0.05 ^{ab}	4.41 ± 0.02 ^a	21.07 ± 0.70 ^b
壬酮	51.18 ± 0.84 ^a	22.44 ± 0.00 ^a	39.68 ± 0.00 ^a	62.84 ± 1.29 ^a	60.41 ± 3.31 ^a
甲基正壬酮	22.84 ± 0.73 ^a	11.72 ± 0.10 ^a	12.39 ± 0.19 ^a	12.01 ± 0.20 ^a	17.24 ± 0.73 ^a
十三烷酮	18.85 ± 0.41 ^a	10.03 ± 0.03 ^a	9.43 ± 0.10 ^a	11.01 ± 0.13 ^a	13.70 ± 0.42 ^a
十九烷酮	5.80 ± 0.05 ^a	3.36 ± 0.02 ^a	3.25 ± 0.02 ^a	3.42 ± 0.14 ^a	4.79 ± 0.05 ^a
酮类化合物	405.89 ± 0.94	294.54 ± 0.07	251.23 ± 0.03	373.38 ± 0.41	403.08 ± 1.15
乙醛	44.01 ± 1.23 ^{bc}	71.89 ± 1.67 ^c	24.45 ± 0.92 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^a	35.33 ± 0.00 ^{abc}
戊醛	51.69 ± 0.66 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	7.26 ± 0.06 ^a	12.88 ± 1.51 ^a	19.54 ± 0.53 ^a
己醛	71.75 ± 0.49 ^c	57.67 ± 0.47 ^{bc}	15.80 ± 0.11 ^a	13.49 ± 0.21 ^a	40.93 ± 1.52 ^{ab}
辛醛	0.00 ± 0.00 ^a	16.47 ± 2.13 ^a	16.96 ± 2.21 ^a	2.88 ± 0.10 ^a	4.87 ± 0.06 ^a
苯甲醛	42.91 ± 0.47 ^a	28.61 ± 0.49 ^a	14.86 ± 0.12 ^a	72.03 ± 0.49 ^{ab}	127.75 ± 3.62 ^b
醛类化合物	210.36 ± 0.48	174.64 ± 0.62	79.33 ± 0.77	101.28 ± 0.53	228.42 ± 1.34
二甲基二硫醚	5.05 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	5.76 ± 0.11 ^a	3.78 ± 0.03 ^a	7.44 ± 0.43 ^a
二甲基三硫醚	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	3.75 ± 0.00 ^a	2.81 ± 0.00 ^a
醚类化合物	5.05 ± 0.01	0.00 ± 0.00	5.76 ± 0.03	7.53 ± 0.02	10.25 ± 0.26
癸酸辛酯	5.92 ± 0.15 ^a	9.82 ± 0.73 ^a	5.04 ± 0.15 ^a	3.60 ± 0.00 ^a	6.49 ± 0.01 ^a
酯类化合物	5.92 ± 0.07	9.82 ± 0.35	5.04 ± 0.08	3.60 ± 0.01	6.49 ± 0.11
正戊醇	6.18 ± 0.00 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	1.72 ± 0.12 ^a	1.42 ± 0.00 ^a
醇类化合物	6.18 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.72 ± 0.12	1.42 ± 0.00

不同字母表示同一行数据之间存在显著性差异($p < 0.05$)。

表7 牦牛酸乳气味感官品评结果

Tab.7 Results of descriptive aroma attribute of fermented yak milk

编号	总体气味	甜味	酸味	奶香味	乳脂味	果香味	膻味	硫味	浓厚感	喜好度
C1	7.42 ± 0.51 ^a	1.28 ± 0.43 ^a	1.14 ± 0.95 ^a	3.00 ± 0.94 ^a	5.85 ± 0.54 ^b	2.14 ± 1.46 ^a	5.85 ± 0.19 ^a	5.71 ± 0.30 ^b	3.85 ± 0.86 ^a	1.85 ± 0.95 ^a
	8.14 ± 0.57 ^a	1.71 ± 0.21 ^a	1.00 ± 0.16 ^a	2.57 ± 0.44 ^a	3.57 ± 0.15 ^a	5.00 ± 0.65 ^b	4.57 ± 1.72 ^a	3.14 ± 0.34 ^a	7.28 ± 0.38 ^c	4.00 ± 0.83 ^b
D-8-S180-1	9.00 ± 0.41 ^a	1.57 ± 0.07 ^a	4.00 ± 0.41 ^b	6.42 ± 0.94 ^b	5.14 ± 1.27 ^b	4.28 ± 0.50 ^b	5.85 ± 3.24 ^a	6.85 ± 1.95 ^b	6.71 ± 0.11 ^b	1.57 ± 1.72 ^a
	9.00 ± 0.29 ^a	1.28 ± 0.06 ^a	3.71 ± 0.14 ^a	4.85 ± 0.48 ^b	3.85 ± 0.34 ^a	2.28 ± 1.60 ^a	8.42 ± 0.37 ^b	4.85 ± 0.13 ^b	5.85 ± 0.21 ^b	1.71 ± 0.06 ^a
D-5-A108	9.71 ± 0.60 ^a	1.14 ± 0.95 ^a	4.28 ± 2.56 ^b	7.71 ± 0.56 ^c	8.71 ± 0.29 ^c	1.42 ± 0.81 ^a	7.42 ± 0.44 ^b	7.00 ± 0.58 ^c	1.14 ± 0.86 ^a	1.14 ± 2.11 ^a

不同字母表示同一列数据之间存在显著性差异($p < 0.05$)。

质含量的降低将有助于提高产品的喜好度。

3 结果与讨论

能够发酵脱脂乳且能产生差异显著的挥发性风味的乳杆菌在发酵牦牛乳后,牦牛酸乳之间也呈现出显著的差异性。经过对冷藏1 d后的牦牛酸乳进行感官品评后,发现品评员对牦牛酸乳的喜好度依次受总体强度、不自然感、硫味、酸味、奶香味、果香味、乳脂味、膻味、涩味影响较大,结合挥发性风味物质的测定,可以看出喜好度高的产品含有较高的酯类、醛类物质,其中酯类质量比在 $9.82 \mu\text{g}/\text{kg}$ 左右,醛类物质质量比在 $174.64 \mu\text{g}/\text{kg}$ 左右,而酸类、醚类、醇类物质含量在一定范围内处于较低水平,其中酸类物质质量比在 $366.51 \sim 495.84 \mu\text{g}/\text{kg}$,醚类物质质量比在 $5.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 及以下,醇类物质质量比在 $1.42 \mu\text{g}/\text{kg}$ 及以下,这种风味组合的牦牛酸乳更受人喜爱。

我国牦牛数量众多,牦牛乳及其乳制品是当地人民极其重要的营养和经济来源,牦牛乳的生产和利用是亟需解决的问题。牦牛乳制品的风味是吸引消费者的首要因素,研究筛选出可应用于发酵牦牛乳并产生特色果香味的野生菌株,将来可在单菌发酵的基础上优化菌株组合和生产工艺,进一步改善牦牛酸乳的品质。

参考文献:

[1] SILK T M, GUO M, HAENLEIN G F W, et al. Yak Milk[M]. New Jersey: Blackwell Publishing, 2008.

[2] 席斌,高雅琴,郭天芬,等. 甘肃牦牛乳的研究进展[J]. 中国草食动物科学,2017,37(3):48-50.
XI B, GAO Y Q, GUO T F, et al. Research progress of yak milk in Gansu[J]. China Herbivore Science, 2017, 37(3):48-50.

[3] 马姝雯,杨旭星. 牦牛乳制品的开发前景[J]. 食品研究与开发,2001,22(12):44-45.

[4] CHEN Y, SUN T, WANG J, et al. Comparison of nutrition and microbiological compositions between two types of fermented milk from Tibet in China[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition,2009,60(s7):243-250.

[5] 廉桂芳,谢婕,赵欣,等. 传统发酵牦牛酸乳的品质形成规律[J]. 食品与发酵工业,2017,43(5):56-63.
LIAN G F, XIE J, ZHAO X, et al. Quality formation of

traditional yak yoghurt[J]. Food and Fermentation Industries, 2017,43(5):56-63.

- [6] 彭豪峰,谈重芳,李宗伟,等. 青海湖地区几种乳制品营养成分的初步研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(8):3234-3235.
RONG H F, TAN C F, LI Z W, et al. Preliminary study on nutrient components of several dairy products from Qinghai lake region[J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2008, 36(8):3234-3235.
- [7] 李银聪. 自然发酵酸牦牛奶的微生物区系及其抗氧化活性研究[D]. 重庆:西南大学,2011.
- [8] 张娟. 青藏高原传统发酵牦牛酸乳中乳酸菌的降胆固醇及体外益生特性研究[D]. 兰州:兰州大学,2017.
- [9] 陆仲璜,何晓林. 牦牛乳的开发利用刍议[J]. 中国牛业科学,2009,35(5):46-48.
LU Z L, HE X L. Humble opinion on development and utilization of yak milk[J]. China Cattle Science,2009, 35(5):46-48.
- [10] BONFATTI V, GERVASO M, ROSTELLATO R, et al. Protein composition affects variation in coagulation properties of buffalo milk[J]. Journal of Dairy Science, 2013,96:4182-4190.
- [11] 冶成君. 凝固型普通酸奶与牦牛乳酸奶的发酵特性[J]. 食品与发酵工业,2014,40(12):106-110.
YE C J. Study on fermentable character of condensation cow yogurt and yak yogurt[J]. Food and Fermentation Industries, 2014,40(12):106-110.
- [12] 李海梅. 牦牛乳的性质及酪蛋白胶束结构特性的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2011.
- [13] 郑玉才,钟光辉,王永,等. 牦牛乳的凝乳性质研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版),2001,27(2):216-220.
ZHENG Y C, ZHONG G H, WANG Y, et al. Coagulation properties of yak milk[J]. Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), 2001,27(2):216-220.
- [14] 阎萍,潘和平. 牦牛乳业的开发与利用[J]. 中国乳业,2004(7):10-12.
- [15] 何胜华. 麦洼牦牛乳自发脂解作用及其对牦牛乳膻味形成的影响[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2012.
- [16] HUNT D J, PARKES H C, LUMLEY I D. Identification of the species of origin of raw and cooked meat products using oligonucleotide probes[J]. Food Chemistry,1997, 60(3):437-442.
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品酸度的测定:GB 5009.239—2016

- [S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [18] ZHANG Z, YANG M J, PAWLISZYN J. Solid-phase microextraction. A solvent-free alternative for sample preparation[J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66(17): 844–853.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 感官分析 食品感官质量控制导则:GB/T 29605—2013[S]. 北京:中国标准出版社, 2013.
- [20] 郭奇慧. 凝固型酸奶感官描述词的建立[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(7): 58–59.
- GUO Q H. Research of establishing sensory evaluation descriptors of stirred yogurt[J]. *China Dairy Industry*, 2016, 44(7): 58–59.
- [21] PENG X, LI X, SHI X, et al. Evaluation of the aroma quality of Chinese traditional soy paste during storage based on principal component analysis[J]. *Food Chemistry*, 2014, 151: 532.
- [22] CHENG H. Volatile flavor compounds in yogurt: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2010, 50: 938–950.
- [23] IMHOF R, GLÄTTLI H, BOSSET J O. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 1995, 28: 78–86.
- [24] 洪青. 类卡门贝尔奶酪的果香风味改善研究[D]. 无锡:江南大学, 2015.
- [25] BASSETTE R, FUNG D Y, MANTHA V R. Off-flavors in milk[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1986, 24: 1–52.
- [26] 吕玉, 史智佳, 曲超, 等. 气相色谱-嗅闻-质谱联用分析牦牛肉的“膻味”成分[J]. *食品科学*, 2014, 35(2): 209–212.
- LYU Y, SHI Z J, QU C, et al. Analysis of odor-active compounds of yak meat by GC-O-MS[J]. *Food Science*, 2014, 35(2): 209–212.
- [27] 薛海晓. 脂肪酶与脂肪酸对羊乳膻味影响的研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2014.

Fermentation Characteristics of *Lactobacillus bulgaricus* and Application in Yak Fermented Milk

WANG Qi, ZHANG Zhe, LIU Xiaoming*, ZHAO Jianxin, ZHANG Hao, CHEN Wei
(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to screen *Lactobacillus* to ferment yak milk rapidly with characteristic flavor, the growth of 8 strains of wild *Lactobacillus* and acid production were studied. The volatile flavor composition of single-strain fermented skim milk was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The 4 wild *Lactobacillus* strains could not only ferment skim milk rapidly but also provide characteristic volatile flavor to fermented yak milk, combined with the sensory analysis to evaluate the volatile flavor characteristics of the yak yogurt. The results showed that yak yogurt with high flavor preference contained higher esters and aldehydes, with esters content of 9.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and aldehydes content of 174.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Acids, sulfur compounds and alcohols were lower in these samples than the others, and the contents of acids were between 366.51 and 495.84 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Meanwhile, the content of sulfur compounds was below 5.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the contents of alcohols were less than 1.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The gelation of whole yak milk took a long time in the fermentation process and the hydrolysis by lipase generated the off-flavor components, most of which are short-chain fatty acids and some ketones, etc. The strains which can result in higher levels of fruity substances such as esters, aldehydes will help to improve the quality of yak yogurt and have potential application for the development of yak dairy products.

Keywords: *Lactobacillus*; yak milk; volatile flavor; esters; sensory characteristic