

乳酸菌与酵母菌对牦牛酸乳品质形成的影响

Effects of lactic acid bacteria and yeast on fermented yak milk quality

喻铭佳^{1,2,3} 索化夷^{1,2} 李 键⁴ 谢 婕^{1,2}

YU Ming-jia^{1,2,3} SUO Hua-yi^{1,2} LI Jian⁴ XIE Jie^{1,2}

赵 欣³ 蹇 宇³ 丁阳平¹ 张 玉^{1,2}

ZHAO Xin³ QIAN Yu³ DING Yang-ping¹ ZHANG Yu^{1,2}

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 西南大学重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715;
3. 重庆第二师范学院功能性食品协同创新中心, 重庆 400067; 4. 西南民族大学生命科学与技术学院, 四川 成都 610041)

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Chongqing Engineering Research Center of Regional Food, Chongqing 400715, China; 3. Chongqing Collaborative Innovation Center for Functional Food, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China; 4. College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu, Sichuan 610041, China)

摘要:为明确乳酸菌和酵母菌在牦牛酸乳品质形成中发挥的作用,以牦牛乳粉为原料、牦牛酸乳为发酵剂发酵酸乳,在发酵过程中分别抑制乳酸菌和酵母菌的活性,测定并比较正常发酵、抑制乳酸菌发酵、抑制酵母菌发酵酸乳的风味、口感、质构等相关指标。结果表明,乳酸菌和酵母菌对牦牛酸乳品质形成均起到关键作用,乳酸菌对酸乳酸度、质构、氨基酸态氮、有机酸、V_{B1}及酮类和酸类风味物质的贡献较大,酵母菌对乙醇、V_{B2}及醇类和酯类风味物质的贡献较大。

关键词:发酵牦牛酸乳;乳酸菌;酵母菌;理化性质;挥发性风味物质

Abstract: In order to clarify the role of lactic acid bacteria and yeast in the yak yogurt quality formation, by using the yak milk powder as the raw material, the yak yogurt as the fermentation agent, and inhibiting the yeast and lactic acid bacteria in fermentation, respectively, the indexes, for the flavor, taste and texture, were determined, and compared in the ordinary fermentation, inhibition of lactic acid bacteria, inhibition of yeast fermentation yogurt. The results showed that lactic acid bacteria and yeast had a key role in the formation of yak

yogurt quality. The lactic acid bacteria had a great contribution to acidity, texture, amino acid nitrogen, organic acid, V_{B1}, ketones and acid flavor compounds, and yeast has a greater contribution to ethanol, V_{B2}, alcohol and ester flavor compounds. Through exploiting the fermentation agents, mixed the lactic acid bacteria and yeast strains, it will help produce high quality yak yogurt.

Keywords: fermented yak milk; Lactic acid bacteria; Yeast; physico-chemical property; volatile flavor compounds

牦牛乳富含蛋白质、必需氨基酸、多不饱和脂肪酸、维生素和多种微量元素^[1]。牦牛乳发酵制得的牦牛酸乳具有调节人体肠道菌群、促进肠道蠕动,调节血压、降低胆固醇等保健功效^[2-3]。目前,牦牛酸乳的生产以自然发酵为主,产品品质不稳定,筛选牦牛酸乳发酵菌种、开发稳定的牦牛酸乳发酵剂以实现产品质量标准化是当前需要解决的问题。

乳酸菌和酵母菌是传统发酵牦牛酸乳的优势菌种^[4-5]。已有学者就酸乳中乳酸菌和酵母菌共生特性展开了一些研究。余兰等^[6]在驼乳发酵中添加东方伊莎酵母菌,发现东方伊莎酵母菌能促进乳酸菌的生长,提高酸乳的活菌数;Cheirsilp等^[7]在牛乳中共同培养乳酸菌与酵母菌,发现乳酸菌可将乳糖分解为半乳糖和葡萄糖,为酵母菌提供碳源;Mendes等^[8]采用酿酒酵母和保加利亚乳杆菌共生发酵,发现酿酒酵母通过酒精发酵增加了CO₂浓度并产生丙氨酸,从而促进保加利亚乳杆菌生长;吕雪峰等^[9]研究发现,有酿酒酵母存在时,乳酸菌能产生更多乳酸,促进酸乳凝乳;田裕春等^[10]研究发现,加入酵母菌组合发酵的酸乳硬度和黏聚性

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(编号:201303085);重庆市社会民生科技创新专项(编号:cstc2015shmszx80021);重庆市特色食品工程技术研究中心能力提升项目(编号:cstc2014ptgc8001);重庆市功能性食品协同创新中心建设项目(编号:167001);中央高校基本科研业务费专项资金(编号:XDJK2017D133)

作者简介:喻铭佳,女,西南大学在读硕士研究生。

通信作者:索化夷(1978—),男,西南大学副教授,博士。

E-mail: birget@swu.edu.cn

收稿日期:2017-08-16

上升,酸乳风味物质的含量提高;闫彬等^[11]发现混合培养明串珠菌和克勒克酵母菌有利于甲酸、乙酸等风味物质的产生。综上,酸乳中的乳酸菌和酵母菌具有一定的共生特性,但乳酸菌和酵母菌在牦牛酸乳发酵过程中发挥的作用,目前还未见报道。

本研究拟以牦牛乳粉为原料,以采集到的牦牛酸乳为发酵剂,在牦牛乳传统发酵过程中用放线菌酮和青链霉素分别抑制酵母菌和乳酸菌活性,通过对牦牛酸乳滴定酸度、乙醇含量、质构、有机酸等理化指标的测定,比较牦牛酸乳在正常发酵、抑制酵母菌发酵、抑制乳酸菌发酵3种发酵方式下的品质差异,总结出乳酸菌、酵母菌分别对传统发酵牦牛酸乳品质形成的影响,为牦牛酸乳发酵剂的研发提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

发酵剂:采自云南香格里拉的传统发酵牦牛酸乳;

牦牛乳粉:红原三千三乳业有限公司;

青链霉素混合液(100×):北京索莱宝生物科技有限公司;

甲醇:色谱纯,河北四友卓越科技有限公司;

其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

酸度计:PHS-3C型,成都世纪方舟科技有限公司;

高效液相色谱仪:LC-20A型,日本岛津公司;

高效液相色谱柱:Agilent XDB-C₁₈型,安捷伦科技有限公司;

质构仪:TA-XT2i型,英国SMS公司;

气相色谱质谱联用仪:Trace DSQ型,美国Thermo公司。

1.2 方 法

1.2.1 传统发酵牦牛酸乳制作工艺 以牦牛乳粉为原料,牦牛酸乳为发酵剂发酵牦牛酸乳。牦牛乳粉按120 g/L与水充分混匀,得牦牛复原乳,杀菌条件95℃,5 min^[12],牦牛酸乳接种量5%,前发酵条件37℃,10 h,后发酵条件4℃,24 h。

1.2.2 乳酸菌、酵母菌抑制试验 在牦牛酸乳发酵过程中,分别加入放线菌酮和青链霉素抑制酵母菌和乳酸菌的生长。分别取0.001,0.002,0.004,0.006 g放线菌酮和稀释100倍的青链霉素混合液0.1,0.3,0.5,0.7 mL溶解于100 mL原料乳中,按1.2.1发酵10 h,分别对酸乳中的酵母菌和乳酸菌计数^[13-14],分别按式(1)、(2)计算酵母菌和乳酸菌的抑制率。

$$I_1 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

$$I_2 = \frac{A_2 - A_3}{A_2} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

I_1 ——酵母菌抑制率,%;

I_2 ——乳酸菌抑制率,%;

A_0 ——正常发酵酸乳的酵母菌数,CFU/mL;

A_1 ——添加放线菌酮酸乳的酵母菌数,CFU/mL;

A_2 ——正常发酵酸乳的乳酸菌数,CFU/mL;

A_3 ——添加青链霉素酸乳的乳酸菌数,CFU/mL。

1.2.3 取样方法 将3种发酵方式(正常发酵、抑制酵母菌发酵、抑制乳酸菌发酵)的牦牛酸乳按不同时间点取样进行各项指标的测定。

1.2.4 滴定酸度的测定 称取10 g酸乳于150 mL锥形瓶中,与20 mL新煮沸冷却至室温的水混匀,根据文献^[15]测定滴定酸度。

1.2.5 乙醇含量测定 称取25 g酸乳至1 000 mL蒸馏烧瓶中,根据文献^[16]测定乙醇含量。

1.2.6 质构特性 选用A/BE探头对酸乳进行硬度、稠度、黏聚性和黏性指数测定^[17]。探头直径为35 mm压力盘,下降速度为10 mm/s,测试和提升速度为1 mm/s,测试深度为发酵酸乳总高度的70%,质构仪数据采集速率为200脉冲数/秒。

1.2.7 氨基酸态氮的测定 称取2 g酸乳于烧杯中,加入18 mL蒸馏水,超声5 min。根据文献^[18]测定氨基酸态氮含量。

1.2.8 有机酸的测定 根据文献^[19],修改如下:取5 g酸乳于50 mL容量瓶中,超纯水定容,超声5 min,摇匀,过滤,吸取滤液过0.45 μm滤膜,待测。

色谱条件:Agilent XDB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5-μm);流动相为甲醇和磷酸二氢铵溶液;流速为甲醇0.03 mL/min,磷酸二氢铵溶液0.57 mL/min;检测波长220 nm;柱温35℃,进样量10 μL。

1.2.9 维生素B₁含量的测定 参照文献^[20]。

1.2.10 维生素B₂含量的测定 参照文献^[21]。

1.2.11 挥发性风味物质的测定 取5 g酸乳样品于顶空进样瓶中,加入2 g氯化钠混匀,密封,70℃恒温水浴10 min,盐析45 min,参照文献^[22]进行固相微萃取处理。

(1) 色谱条件:DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱初温40℃,保持3 min,以10℃/min升至180℃,保持2 min,以5℃/min升至230℃,保持6 min^[23]。

(2) 质谱条件:检测器电压830 eV,溶剂延迟时间1 min;质量扫描范围 m/z 33~440^[24]。

1.2.12 数据处理 对样品挥发性化合物的气相色谱-质谱联用图谱进行计算机和人工识谱,同时将每个峰与NIST library和Wiley library检索谱库进行匹配和比较,以相似度>800(最大值1 000)的原则作为鉴定结果。采用校正面积归一法得出各成分的峰面积。主成分分析采用SPSS 17.0软件,作图采用Origin 8.5软件。

2 结果与分析

2.1 酵母菌和乳酸菌的抑制率

正常发酵酸乳的酵母菌菌落数为 3.2×10^6 CFU/mL,添加0.004 g/100 mL放线菌酮酸乳的酵母菌菌落数为 2.0×10^5 CFU/mL(表1),酵母菌抑制率为93.8%,该浓度下放线菌酮对乳酸菌无明显抑制作用;正常发酵酸乳的乳酸菌菌落数为 3.0×10^7 CFU/mL,添加0.5 mL/100 mL青链霉

素酸乳的乳酸菌菌落数为 2.4×10^6 CFU/mL(表 2), 乳酸菌抑制率为 92%, 该浓度下青链霉素对酵母菌无明显抑制作用。因此选择 0.004 g/100 mL 的放线菌酮抑制酵母菌, 0.5 mL/100 mL 的青链霉素抑制乳酸菌。

表 1 添加放线菌酮发酵酸乳的菌落计数

Table 1 Colony count add cycloheximide fermented yoghurt

| 放线菌酮添加量/ (10^{-2} g · mL $^{-1}$) | 菌落数/(CFU · mL $^{-1}$) | |
|--|-------------------------|-------------------|
| | 乳酸菌 | 酵母菌 |
| 0.000 | 多不可数 | 3.2×10^6 |
| 0.001 | 多不可数 | 2.4×10^6 |
| 0.002 | 多不可数 | 1.2×10^6 |
| 0.004 | 多不可数 | 2.0×10^5 |
| 0.006 | 多不可数 | 2.1×10^5 |

表 2 添加青链霉素发酵酸乳的菌落计数

Table 2 Colony count add mycillin fermented yoghurt

| 青链霉素添加量/ (10^{-2} mL · mL $^{-1}$) | 菌落数/(CFU · mL $^{-1}$) | |
|---|-------------------------|---------------------|
| | 乳酸菌 | 酵母菌 |
| 0.0 | 3.0×10^7 | 2.5×10^6 |
| 0.1 | 2.4×10^7 | 2.3×10^6 |
| 0.3 | 1.1×10^7 | 2.1×10^6 |
| 0.5 | 2.4×10^6 | $< 2.0 \times 10^6$ |
| 0.7 | 2.4×10^6 | $< 2.0 \times 10^6$ |

2.2 不同方式发酵过程中牦牛酸乳滴定酸度的变化

由图 1 可知, 牦牛酸乳的滴定酸度在发酵 0~10 h 上升迅速, 10 h 后上升缓慢。这是因为前发酵期微生物生长迅速, 分解乳糖产生乳酸等酸性物质, 因此酸乳酸度急剧上升; 过高的酸度和低温使微生物生长受到抑制, 乳糖的分解随之减缓, 所以发酵后期酸乳酸度趋于稳定。对比 3 种发酵方式酸乳酸度的变化, 正常发酵和抑制酵母菌发酵的牦牛酸乳滴定酸度由 23 °T 增加至 140 °T, 而抑制乳酸菌发酵后, 酸乳仅由 23 °T 增加至 48 °T, 酸度明显降低。可见乳酸菌是提高牦牛酸乳酸度的主要微生物。酸度较高是牦牛酸乳区别

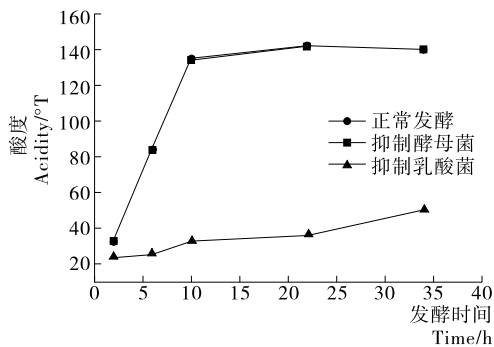


图 1 不同方式发酵过程中牦牛酸乳滴定酸度的变化

Figure 1 Titratable acidity change of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

于普通酸乳的一个特征^[25], 可能与传统发酵牦牛酸乳中含有的一些耐酸性菌(如嗜酸乳杆菌、双歧杆菌)在较低 pH 下仍能继续代谢产生有机酸^[26]有关。

2.3 不同方式发酵过程中牦牛酸乳乙醇含量的变化

牦牛酸乳特有的醇香可能来自于酸乳发酵过程中产生的乙醇^[27]。由图 2 可知, 3 种发酵方式的牦牛酸乳乙醇含量均有所上升, 发酵至终点时, 正常发酵、抑制乳酸菌、抑制酵母菌发酵的牦牛酸乳乙醇含量分别为 3.8、2.8、1.2 g/kg, 可见抑制酵母菌发酵后乙醇含量明显降低, 说明牦牛酸乳中的乙醇主要来源于酵母菌发酵。抑制乳酸菌发酵后乙醇含量略低于正常发酵, 可能是乳酸菌为酵母菌乙醇发酵提供碳源, 从而促进酵母菌产生更多乙醇。

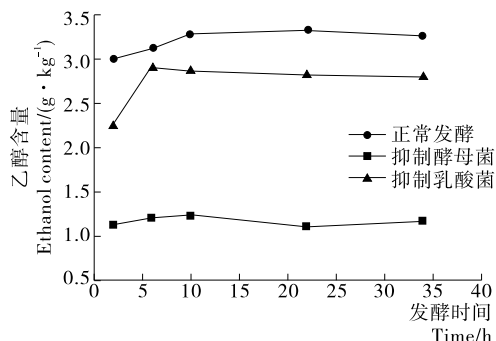


图 2 不同方式发酵过程中牦牛酸乳乙醇含量的变化

Figure 2 The alcohol content of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

2.4 不同方式发酵过程中牦牛酸乳质构特性的变化

抑制乳酸菌发酵的酸乳在整个发酵过程中均未凝乳, 因此未对其进行质构测定。由图 3 可知, 抑制酵母菌发酵和正常发酵的酸乳在硬度、稠度、黏聚性和黏性指数上均呈相同的变化趋势, 说明乳酸菌对牦牛酸乳的质构形成起主要作用。抑制乳酸菌发酵后, 牦牛酸乳的 pH 达不到酪蛋白的等电点, 凝胶结构无法形成。同时, 乳酸菌分泌的胞外多糖可增加酸乳的黏稠度, 强化酸乳咀嚼性和黏弹性^[28-29]。从图 3 可以看出, 抑制酵母菌后酸乳在各项质构指标上均有所下降, 说明酵母菌对牦牛酸乳质构的形成也有一定的促进作用。研究^[30]表明, 酵母菌有氧呼吸会消耗牦牛乳中溶解的氧气, 加快乳酸菌的产酸速度, 增加酸乳的硬度。因此抑制酵母菌发酵后, 牦牛酸乳硬度降低。

2.5 不同方式发酵过程中牦牛酸乳氨基酸态氮含量的变化

氨基酸态氮含量反映了酸乳中氨基酸和小分子肽的总体水平, 用于评价酸乳的发酵程度。由图 4 可知, 牦牛酸乳发酵过程中氨基酸态氮含量增加, 抑制酵母菌发酵酸乳的氨基酸态氮含量变化与正常发酵基本一致, 而抑制乳酸菌发酵后氨基酸态氮含量仅为正常发酵的 30%。由此可见, 乳酸菌是影响牦牛酸乳氨基酸态氮生成的主要因素。这可能与乳酸菌能产生更多蛋白酶, 促进酸乳氨基酸和肽的生成有关。发酵前期, 随着乳酸菌的生长氨基酸态氮含量快速增加; 发酵后期, 氨基酸态氮含量增长缓慢, 可能是菌体的生长会消耗部分氨基酸^[31], 使氨基酸态氮的生成速率降低。

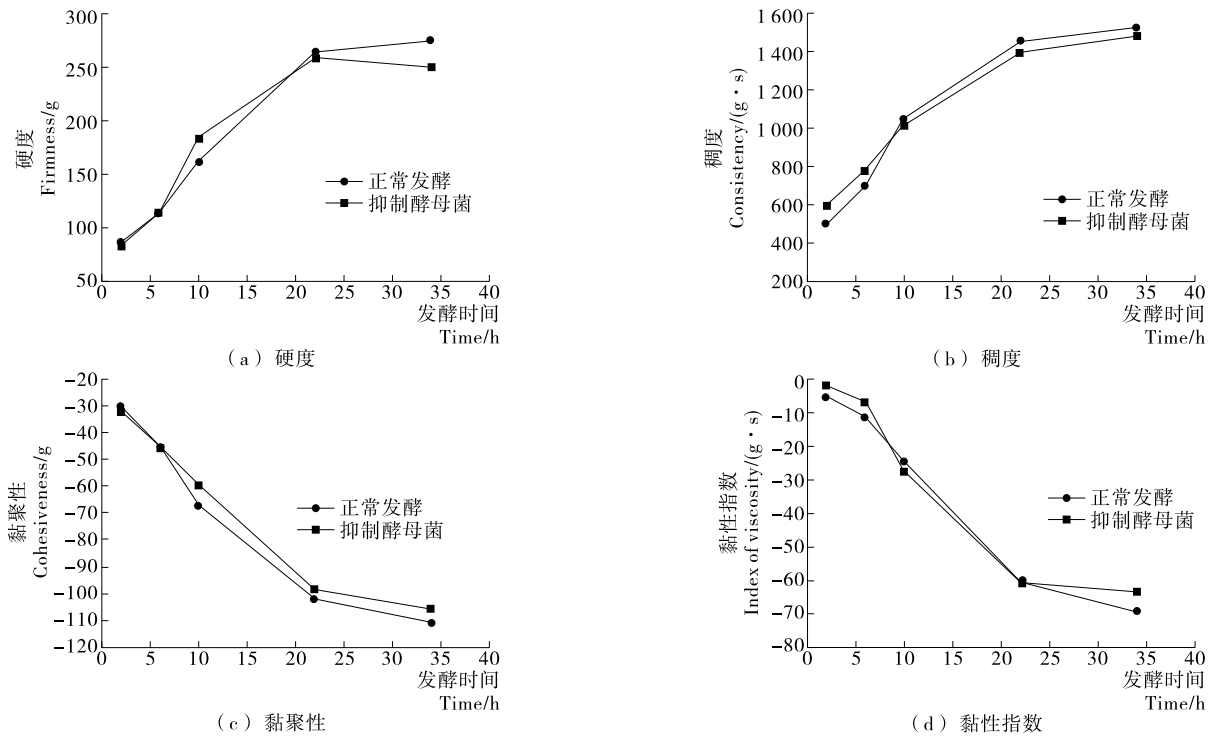


图3 不同方式发酵过程中牦牛酸乳质构指标的变化

Figure 3 Index of Texture changes of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

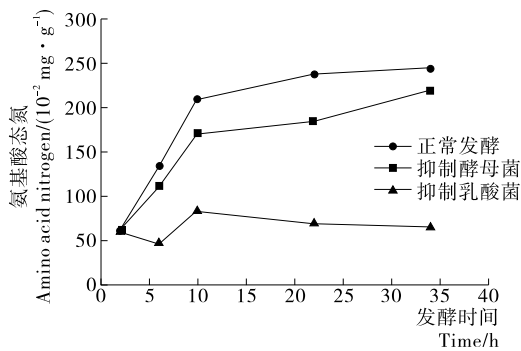


图4 不同方式发酵过程中牦牛酸乳氨基酸态氮含量的变化

Figure 4 The nitrogen amino acid changes of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

2.6 不同方式发酵过程中牦牛酸乳有机酸的变化

有机酸是酸乳风味的重要来源。由图5可知,乳酸与滴定酸度的变化基本一致,柠檬酸含量呈先增后减的趋势,整个发酵过程中乙酸含量呈下降趋势。这是因为乳酸是酸乳的主体酸,柠檬酸和乙酸是许多风味物质的前体,在发酵后期柠檬酸和乙酸被不断转化为双乙酰、乙酸乙酯等风味物质^[32]。抑制乳酸菌发酵的酸乳在整个发酵过程中几乎不产乳酸、柠檬酸,表明牦牛酸乳中乳酸和柠檬酸主要由乳酸菌合成。3种方式发酵过程中乙酸的含量都有所减少,但无明显差异。抑制酵母菌发酵的牦牛酸乳与正常发酵相比,乳酸含量略有降低,可能是酵母菌对乳酸菌产乳酸具有一定促进作用^[33]。

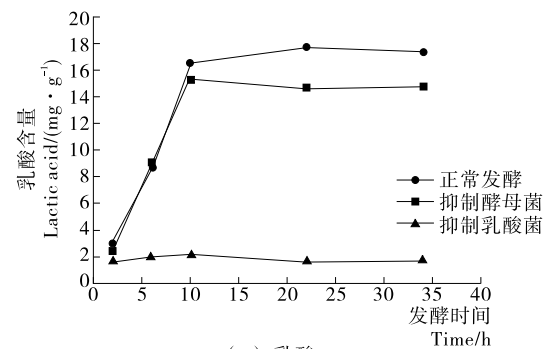
2.7 不同方式发酵过程中牦牛酸乳维生素 V_{B1}、V_{B2} 的变化

由图6可知,正常发酵牦牛酸乳中的 V_{B1}、V_{B2} 含量都在增加,说明发酵酸乳能丰富牦牛乳中 V_{B1} 和 V_{B2} 的含量。抑制酵母菌后酸乳的 V_{B1} 含量变化不大,而抑制乳酸菌后 V_{B1} 急剧下降,说明牦牛酸乳中 V_{B1} 的合成主要与乳酸菌有关。抑制乳酸菌后,酸乳 V_{B1} 合成速率不仅降低,同时见光分解和菌体代谢消耗会加速 V_{B1} 的损失。由图6(b)可知,3种发酵方式的酸乳 V_{B2} 含量均在上升,但抑制乳酸菌、酵母菌后酸乳 V_{B2} 含量均低于正常发酵酸乳,其中抑制酵母菌后酸乳的 V_{B2} 含量最低,说明乳酸菌、酵母菌的代谢活动均能产生 V_{B2},但由于酵母菌自身含有丰富的 V_{B2}^[34],抑制酵母菌后酸乳 V_{B2} 含量损失更大。

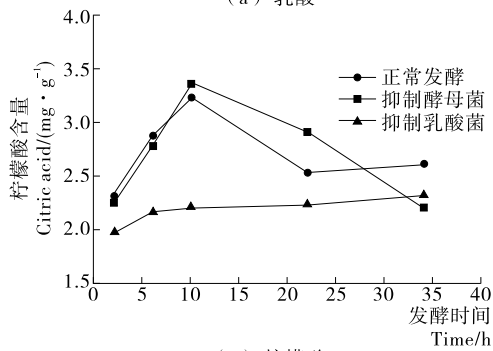
2.8 不同发酵方式发酵过程中牦牛酸乳挥发性风味物质的变化

运用主成分分析法对牦牛酸乳中风味物质进行分析,可将多种风味物质转化为几个综合性指标(即主成分)。通过比较3种发酵方式下牦牛酸乳主成分含量的变化差异,可以更直观地总结出乳酸菌、酵母菌对牦牛酸乳风味的影响。根据廉桂芳等^[35]的研究结果,牦牛酸乳主体风味物质可提取5个主成分,其中第一主成分为乙醛、乙醇、乙酸乙酯、3-甲基丁醇、2-甲基丁醇、丁酸乙酯;第二主成分为3-羟基-2-丁酮、3-甲基丁酸、己酸、2-壬酮;第三主成分为乙醛、丙酮、2-庚酮;第四主成分为乙酸;第五主成分为2,3-丁二酮。

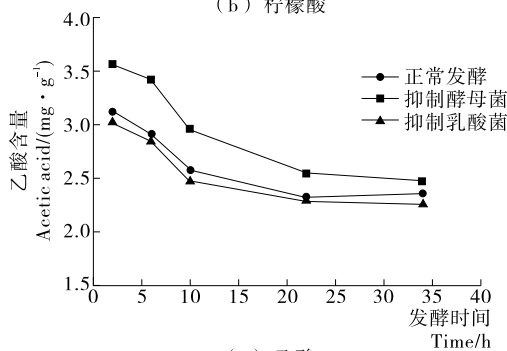
3种发酵方式牦牛酸乳发酵过程中主成分含量的变化见表3。抑制乳酸菌发酵的酸乳第一主成分含量变化与正常发酵基本一致,而抑制酵母菌发酵的酸乳第一主成分含量逐



(a) 乳酸



(b) 柠檬酸



(c) 乙酸

图 5 不同发酵方式传统发酵牦牛酸乳发酵过程中有机酸的变化

Figure 5 The organic acids changes of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

渐降低。在第二、三、四、五主成分含量上,抑制酵母菌的酸乳与正常发酵酸乳有相同变化趋势,而抑制乳酸菌发酵的酸乳含量逐渐降低。因此,牦牛酸乳中 3-羟基 2-丁酮、2,3-二酮、2-庚酮、2-壬酮、丙酮、3-甲基丁酸、己酸、乙酸、乙醛的合成与乳酸菌有关,其中酮类物质赋予酸乳奶香,酸类物质赋予酸乳清爽的口感。乙醛是酸乳的主要风味物质,其含量与乳酸菌和酵母菌的代谢有关,乳酸菌能利用苏氨酸产生乙醛,而酵母菌的代谢产物可能促进酸乳中乙醛含量的升高,与 Gadaga 等^[36]的研究结果相一致。此外,牦牛酸乳中乙酸乙酯、丁酸乙酯、乙醇、3-甲基丁醇、2-甲基丁醇的合成与酵母菌有关,其中乙醇及其它醇类物质可能来源于酵母菌对乳糖、氨基酸和脂肪的发酵作用^[37]。酸乳中乙醇与脂肪酸反应可生成乙酸乙酯等酯类^[22],使酸乳具有一定的果香。雷华威等^[38]发现市售酸乳主要风味物质为酮类和酸类,不含醇类和酯类物质。因此,酵母菌发酵产生的醇、酯增加了酸乳的醇香和果香,与酸味搭配实现了牦牛酸乳独特的风味。

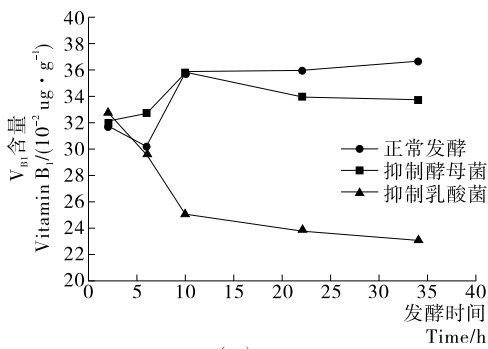
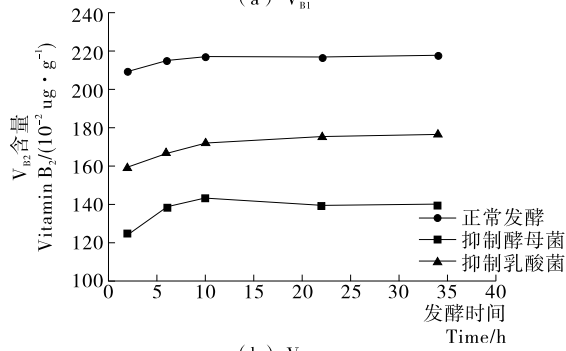
(a) V_{B1}(b) V_{B2}

图 6 不同发酵方式传统发酵牦牛酸乳发酵过程中维生素 B 的变化

Figure 6 The Vitamin B changes of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

表 3 不同发酵方式传统发酵牦牛酸乳发酵过程中主成分变化[†]

Table 3 The principal component changes of different ways of fermentation yak yogurt during the process of fermentation

| 样品编号 | 第一主成分 | 第二主成分 | 第三主成分 | 第四主成分 | 第五主成分 |
|------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 8.5E+07 | 2.6E+08 | 4.4E+07 | 1.9E+07 | 8.1E+07 |
| 2 | 3.4E+08 | 6.0E+08 | 8.5E+07 | 1.3E+08 | 1.2E+08 |
| 3 | 9.1E+08 | 7.2E+08 | 1.6E+08 | 3.2E+08 | 2.6E+07 |
| 4 | 7.2E+08 | 1.6E+09 | 3.1E+07 | 2.9E+08 | 7.7E+07 |
| 5 | 6.3E+08 | 1.8E+09 | 2.9E+07 | 3.1E+08 | 9.3E+07 |
| 6 | 7.8E+07 | 3.0E+08 | 3.2E+07 | 0.0E+00 | 6.9E+07 |
| 7 | 3.4E+07 | 2.3E+08 | 4.8E+07 | 3.7E+07 | 1.2E+08 |
| 8 | 0.0E+00 | 3.3E+08 | 7.2E+07 | 1.8E+08 | 2.3E+07 |
| 9 | 0.0E+00 | 1.0E+09 | 5.1E+07 | 1.7E+08 | 6.0E+07 |
| 10 | 0.0E+00 | 1.5E+09 | 3.3E+07 | 1.9E+08 | 4.0E+07 |
| 11 | 7.5E+07 | 2.5E+08 | 2.8E+07 | 0.0E+00 | 2.6E+07 |
| 12 | 5.0E+08 | 2.1E+08 | 2.8E+07 | 0.0E+00 | 3.6E+07 |
| 13 | 3.1E+08 | 6.4E+07 | 1.6E+07 | 1.4E+07 | 1.1E+07 |
| 14 | 4.3E+08 | 0.0E+00 | 0.0E+00 | 2.7E+07 | 0.0E+00 |
| 15 | 7.7E+08 | 0.0E+00 | 0.0E+00 | 3.8E+07 | 0.0E+00 |

[†] 样品编号 1~5 表示正常发酵 2,6,10,22,34 h; 编号 6~10 表示抑制酵母菌发酵 2,6,10,22,34 h; 编号 11~15 表示抑制乳酸菌发酵 2,6,10,22,34 h。

3 结论

通过比较3种发酵方式牦牛酸乳品质相关指标的差异,得出乳酸菌和酵母菌发酵对牦牛酸乳的品质形成均起到关键作用。

(1) 乳酸菌在牦牛酸乳发酵过程中起主导作用。乳酸菌发酵产酸使酸乳凝乳,同时代谢产生氨基酸态氮和 V_{B1} , 提高了酸乳的营养价值。乳酸菌发酵产生的有机酸和酮类物质,使酸乳呈现出典型的酸味和奶香。

(2) 酵母菌有助于牦牛酸乳独特风味的形成。酵母菌发酵主要产生醇和酯类物质,醇类赋予牦牛酸乳典型的醇香,乙酸乙酯和丁酸乙酯使牦牛酸乳呈现甜润的水果香气。此外,酵母菌的存在提高了牦牛酸乳的 V_{B2} 含量。

(3) 乳酸菌和酵母菌混合发酵可提高牦牛酸乳的品质,发酵过程中,乳酸菌促进酵母菌产乙醇,酵母菌促进乳酸菌产乳酸,促进质构的形成。二者混合发酵使酸乳的风味成分更加复杂,酸乳呈现特有的感官风味。该研究的结果可为开发乳酸菌和酵母菌混合菌种发酵剂、生产高品质的牦牛酸乳提供理论依据,但牦牛酸乳发酵剂的研发及其在生产中的应用尚需进一步研究。

参考文献

[1] 吴春生,李键,骞宇,等. 牦牛乳及牦牛酸乳营养价值的研究现状[J]. 乳业科学与技术, 2012, 35(3): 43-46.

[2] 吴均. 牦牛酸乳中优良乳酸菌的筛选鉴定及发酵酸乳抗氧化特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014: 2-5.

[3] 蒋菁莉. 牦牛乳酪蛋白降血压肽酶法制备及功能评价[D]. 北京: 中国农业大学, 2007: 80-81.

[4] WU Xiao-he, LUO Zhang, YU Li, et al. A survey on composition and microbiota of fresh and fermented yak milk at different Tibetan altitudes[J]. Dairy Science and Technology, 2009, 89(2): 201-209.

[5] BAI Mei, QING Man-jun, GUO Zhuang, et al. Occurrence and dominance of yeast species in naturally fermented milk from the Tibetan Plateau of China[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2010, 56(9): 707-714.

[6] 余兰,塔布斯·马那尔,新华·那比. 新疆传统发酵乳品中乳酸菌与酵母菌生长的相互影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(3): 186-189.

[7] CHEIRSILP B, SHIMIZU H, SHIOYA S. Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 100: 43-53.

[8] MENDES F, SIEUWERTS S, DE HULSTER E, et al. Transcriptome-based characterization of interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in lactose-grown chemostat cocultures[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 5 949-5 961.

[9] 吕雪峰, 闵伟红, 陈历俊, 等. 酿酒酵母对贮存期发酵乳特性的影响[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(7): 20-23.

[10] 田裕春, 柴溢, 李安然, 等. 酵母菌对发酵乳风味物质和质构特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2014(16): 26-29.

[11] 闫彬, 贺银凤. 酸马奶中一株乳酸菌与一株酵母菌共生关系和风味代谢产物的研究[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(11): 10-15.

[12] 白永亮, 陈庆发, 杜冰, 等. 香蕉抗性淀粉保健酸奶的研制[J]. 食品科学, 2012, 33(16): 318-323.

[13] 中华人民共和国卫生部. GB 4789.15—2010 食品微生物学检验霉菌和酵母计数[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-3.

[14] 中华人民共和国卫生部. GB 4789.35—2010 食品微生物学检验乳酸菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-5.

[15] 中华人民共和国卫生部. GB 5413.34—2010 乳和乳制品酸度的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 3-4.

[16] 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. GB/T 12143—2008 饮料通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 9.

[17] BEDANI R, CAMPOS M, CASTRO I, et al. Incorporation of soybean by-product okara and inulin in a probiotic soy yoghurt: texture profile and sensory acceptance [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(1): 119-125.

[18] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.39—2003 酱油卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 319-320.

[19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2007—2007 进出口果汁中乳酸、柠檬酸、富马酸含量检测方法高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-2.

[20] 中华人民共和国卫生部. GB 5413.11—2010 婴幼儿食品和乳制品中的维生素 B_1 的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-3.

[21] 中华人民共和国卫生部. GB 5413.12—2010 婴幼儿食品和乳制品中的维生素 B_2 的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-3.

[22] 郭婷, 郝一江, 张健, 等. 传统藏灵菇发酵乳挥发性风味特征研究[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(1): 8-11, 24.

[23] 岳华. 益生菌复合发酵乳发酵工艺优化及相关代谢成分研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2014: 14-15.

[24] 孙宁. 紫甘薯酸奶挥发性风味成分及花青素稳定性研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2014: 17-18.

[25] ZHANG He-ping, XU Jie, WANG Jun-guo, et al. A survey on chemical and microbiological composition of kurut, naturally fermented yak milk from Qinghai in China[J]. Food Control, 2008, 19(6): 578-586.

[26] 田芬, 陈俊亮, 粘靖祺, 等. 嗜酸乳杆菌和双歧杆菌益生特性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 139-142.

[27] 郭本恒, 刘振民. 发酵乳[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016: 220-225.

[28] PRASANNA P, GRANDISON A, CHARALAMPOPOULOS D. Microbiological, chemical and rheological properties of low fat set yoghurt produced with exopolysaccharide (EPS) producing Bifidobacterium strains[J]. Food Research International, 2013, 51(1): 15-22.

[29] 曾令鹤, 钱方, 姜淑娟, 等. 酸乳体系中乳酸菌胞外多糖与蛋白相互作用研究进展[J]. 食品与机械, 2013, 29(2): 246-249.

[30] HORIUCHI H, INOUE N, LIU E, et al. A Method for Manufacturing Superior Set Yogurt under Reduced Oxygen Conditions[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92(9): 4 112-4 121.

3 结论

BD3900 是一株新近分离自健康人体口腔的唾液链球菌,其最适的培养介质与培养温度分别为:M17 培养基、42 ℃。该菌株在血平板上呈 γ -型溶血,即无溶血圈出现,表明 BD3900 侵染宿主的风险较低。同时,该菌具有较强的疏水作用和静电作用,具有较好的口腔黏膜黏附能力。该菌对溶菌酶有一定耐受性,保证其在口腔环境中具有一定的存活性能。

BD3900 具有较强的自聚能力,可以避免在摄食后被唾液或者食物冲刷,提高其在口腔的定殖能力;与 *S. mutans* 共培养时,BD3900 表现出与 *S. mutans* 强烈的共聚作用,通过共聚体的形成,增加 *S. mutans* 随食物、唾液从口腔移除的几率;同时,BD3900 可以有效降低 *S. mutans* 生物膜的生成量,从而减少 *S. mutans* 的定殖作用与牙菌斑的形成,进而达到防龋、治龋的目的。因此,BD3900 具有作为口腔益生菌应用的潜力。

参考文献

[1] DYE B A, RAYMER R N, BARKER L K, et al. Overview and quality assurance for the oral health component of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2005-08 [J]. *Community Dentistry & Oral Epidemiology*, 2007, 35(2): 140-151.

[2] MARIGO A, MAREGA C, ZANNETTI R, et al. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age[J]. *Caries Research*, 2014, 48(2): 111-117.

[3] 郭夏蕾, 张健, 杨贞耐. 抑制口腔变异链球菌的乳酸菌筛选及其抑菌机理[J]. *食品科学*, 2016, 37(19): 117-122.

[4] KACI G, GOUDERCOURT D, DENNIN V, et al. Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2014, 80(3): 928-934.

[5] PERES C M, ALVES M, HERNANDEZ-MENDOZA A, et al. Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 234-246.

[6] 姚沛琳. 乳酸菌抑制变异链球菌生物膜形成的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 10.

[7] ISLAM B, KHAN S N, HAQUE I, et al. Novel anti-adherence activity of mulberry leaves: inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm by 1-deoxynojirimycin isolated from *Morus alba* [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, 62(4): 751-757.

[8] STENFANI S. Use of streptococcus salivarius in the treatment of chronic infections of the respiratory tract; Italy, 20130095044 2011[P]. 2013-04-18.

[9] HANDLEY P S, HARTY D W, WYATT J E, et al. A comparison of the adhesion, coaggregation and cell-surface hydrophobicity properties of fibrillar and fimbriate strains of *Streptococcus salivarius*[J]. *Journal of General Microbiology*, 1987, 133(11): 3 207-3 217.

[10] 高景. 溶菌酶与口腔常见疾病关系研究进展[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2012, 5(9): 570-574.

[11] ANGMO K, KUMARI A, SAVITR I, et al. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 66: 428-435.

[12] ZHOU Ju-fen. The level of lysozyme in saliva in the patients with oral candidosis[J]. *Beijing Journal of Stomatology*, 2003, 11(2): 97-103.

[13] LANG C, BÖTTNER M, HOLZ C, et al. Specific *Lactobacillus/Mutans Streptococcus* co-aggregation[J]. *Journal of Dental Research*, 2010, 89(2): 175-179.

[14] TANZER J M, THOMPSON A, LANG C, et al. Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671[J]. *Journal of Dental Research*, 2010, 89(9): 921-926.

[15] TWETMAN L, LARSEN U, FIEHN N E, et al. Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains; an in vitro study[J]. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2009, 67(5): 284-288.

[16] PERES C M, ALVES M, HERNANDEZ-MENDOZA A, et al. Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics[J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 2014, 59(1): 234-246.

[17] TSUMORI H, KURAMITSU H. The role of the *Streptococcus mutans* glucosyltransferases in the sucrose-dependent attachment to smooth surfaces: essential role of the GtfC enzyme[J]. *Oral Microbiology & Immunology*, 2010, 12(5): 274-280.

(上接第 12 页)

[31] 黄敏欣, 洪泽淳, 赵文红, 等. 红曲对广东客家黄酒发酵及产 γ -氨基丁酸的影响[J]. *中国酿造*, 2016(10): 46-50.

[32] 田辉, 孙懿琳, 等. 高效液相色谱法测定酸奶中的四种有机酸 [J]. *食品与机械*, 2012, 28(5): 87-90, 158.

[33] 贾磊. 酵母与乳酸菌发酵特性研究及混合乳开菲尔的研制[D]. 天津: 天津科技大学, 2011: 29-30.

[34] 王定昌. 浅谈食品酵母的营养与生产应用[J]. *粮油食品科技*, 2010, 18(2): 65-67.

[35] 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.

[36] GADAGA H, MUTUKUMIRA A, NARVHUS J A. The growth and interaction of yeasts and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT milk[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 68(1/2): 21-32.

[37] HAUCK T, BRUHLMANN F, SCHWAB W. Formation of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3[2H]-furanone by *Zygosaccharomyces rouxii*; identification of an inter-mediate[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(7): 3 911-3 918.

[38] 雷华威, 陈晓红, 李伟, 等. 赛里木酸乳原籍菌种发酵乳主体风味成分分析[J]. *食品科学*, 2013(20): 127-130.