

乳酸菌、酵母菌的筛选鉴定及其在米发糕中的应用

Screening and identification of lactic acid bacteria and yeasts and its application in fermented rice cake

李美伦 姜萌艺 龚川杰 何利

LI Mei-lun JIANG Meng-yi GONG Chuan-jie HE Li

(四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014)

(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

摘要:为得到适合米发糕发酵的发酵剂,对传统发酵米浆中的乳酸菌和酵母菌进行分离,通过对其菌落、菌株形态特征及生长性能的测定,筛选得到 1 株乳酸菌和 2 株酵母菌,分别经 16S rDNA 和 26S rDNA 鉴定,确定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、矮小假丝酵母菌(*Candida humilis*)和酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)。将 3 株优良发酵菌株复配应用于米发糕中,通过对其发酵所得产品的感官品质及质构特性进行分析,确定出最佳复配菌比。结果表明:当植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和矮小假丝酵母(*Candida humilis*)的复配体积比为 1:3:6 时,所得米发糕的感官品质和质构特性最好,且由 GC-MS 检测到 29 种挥发性风味物质,其中与市售米发糕和双菌复合发酵得到的米发糕共同检出 5 种风味物质,分别是苯乙醛、苯甲醛、苯乙醇、十四烷和棕榈酸乙酯,其特有的风味物质有 12 种,其中 9 种为酯类物质。该种复合发酵剂发酵得到的米发糕具有较好的品质,有望应用于米发糕的发酵生产。

关键词:乳酸菌;酵母菌;米发糕;复合发酵剂;应用

Abstract: In order to obtain starter cultures with good performance for fermented rice cake, lactic acid bacteria strains and yeast strains were isolated from traditional fermented rice slurry. Through the investigation of colonies, morphological characteristics and growth properties one strain of lactic acid bacteria and two strains of yeasts were screened. According to the 16S rDNA and 26S rDNA sequence analysis, they were identified as *Lactobacillus plantarum*, *Candida humilis* and *Saccharomyces cerevisiae*.

基金项目: 国家级大学生创新训练计划项目(编号: 201710626043)

作者简介: 李美伦,女,四川农业大学在读本科生。

通信作者: 何利(1984—),女,四川农业大学副教授,博士。

E-mail: helifood@163.com

收稿日期: 2018-11-09

siae. Remixing three superior fermentation strains in fermented rice cake, the optimum bacteria ratio was determined by analyzing the sensory quality and texture characteristics of the fermented products. The results showed that when the proportion of *actobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida humilis* was 1:3:6, the sensory quality and texture property of fermented rice cake were the best and 29 kinds of volatile flavor substances were detected by GC-MS. Five kinds of flavor substances were detected together with the commercial rice cake and the double bacteria compound starter, such as phenylacetaldehyde, benzaldehyde, phenylethyl alcohol, tetradecane and ethyl palmitate. And 12 kinds of unique flavor substances were detected. Among them, nine of which were esters. The rice cake produced by the fermentation of the compound starter had better quality, which was expected to be applied to the fermentation production of rice cake.

Keywords: lactic acid bacteria; yeast; fermented rice cake; compound starter culture; application

米发糕的传统生产方式是在新鲜米浆中接入老浆进行发酵^[1-2],发酵过程中微生物体系的菌种比例和活性难以控制,会导致其生产周期延长且产品质量不稳定^{[3][4]9}。

在淀粉食物原料的发酵过程中,优势菌主要为酵母菌和乳酸菌,两者可进行协同发酵并对产品的风味和营养成分的形成起着重要作用^[1,3,5-6]。目前,对米发糕发酵剂的研究多为双菌发酵剂^{[7-8][9]32-42},该种发酵剂与老浆发酵相比仍有一定差距,因而米发糕发酵剂的菌种组成还有待进一步优化。发酵制品中的微生物组成与地理位置有很大联系^[10],目前尚未见有关中国四川地区米发糕的研究报道。本试验拟以四川雅安地区的传统发酵米浆为研究对象,对其中具有良好发酵性能的乳酸菌和酵母菌进行筛选,并用作米发糕的复合发酵剂,以期米发

糕的标准化、规模化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

传统发酵米浆:采自四川省雅安市雨城区消费者评价较好的米发糕作坊,共5份;

早籼米、白砂糖:均购于四川省雅安市吉选超市;

MRS培养基:蛋白胨10 g,牛肉膏10 g,酵母粉5 g,磷酸氢二钾2 g,柠檬酸二铵2 g,乙酸钠5 g,葡萄糖20 g,吐温-80 1 mL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.58 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g,蒸馏水1 000 mL, pH (6.2±0.2), 固体培养基加琼脂15~20 g, 碳酸钙15 g, 121 °C 灭菌20 min;

麦芽汁培养基:麦芽浸出粉130 g, 氯霉素0.1 g, 蒸馏水1 000 mL, pH (6.0±0.2), 固体培养基加琼脂15~20 g, 121 °C 灭菌20 min^[11];

蛋白胨、牛肉膏、酵母粉、麦芽浸粉:生物试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司;

PCR反应试剂、DNA Marker:生工生物工程(上海)股份有限公司;

其他试剂:分析纯,雅安市万科化学试剂公司。

1.1.2 主要仪器设备

PCR仪:C1000型,美国Bio-Rad公司;

冷冻离心机:D-37520型,美国Thermo公司;

物性分析仪:TA-XT plus型,英国Stable Micro systems公司;

气相色谱—质谱联用仪:7890A-5975C型,美国Agilent公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株筛选

(1) 分离:取米浆样品进行梯度稀释并分别涂布于MRS培养基和麦芽汁培养基, MRS培养基于37 °C(麦芽汁培养基于28 °C)培养48 h。分别挑取具有溶钙圈及不同菌落特征的疑似乳酸菌菌落和具有不同菌落特征的疑似酵母菌菌落进行划线纯化。

(2) 筛选:对疑似乳酸菌进行革兰氏染色和菌株形态观察,选择具有典型乳酸菌特征的菌株进行斜面保藏和甘油管冷冻保藏(菌液和60%甘油按1:1的体积比接入甘油管内并置于实验室-80 °C冰箱内)。对疑似酵母菌进行水浸片镜检,选择具有典型酵母菌特征和良好产气性能的菌株进行斜面保藏和甘油管冷冻保藏(与乳酸菌菌种保藏方法一致)。

1.2.2 分子生物学鉴定 将筛得的乳酸菌划线至MRS培养基,37 °C培养24 h,酵母菌划线至麦芽汁培养基,28 °C培养24~48 h。乳酸菌16S rDNA鉴定选用细菌通用引物27F和1492R^[12],酵母菌26S rDNA鉴定选用

真菌通用引物NL1和NL4^[13],均以挑取单菌落至7 μL无菌水中得到的菌液为模板进行扩增。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将所得序列在NCBI数据库中进行Blast比对,选择相似度较高的序列,采用MEGA 5.0软件构建菌株的系统发育树。

1.2.3 菌株生长性能测定 将活化后的乳酸菌菌液按2%的接种量接入MRS液体培养基(酵母菌菌液按同样接种量接入麦芽汁培养基),在0~24 h时,每隔2 h测定菌液在600 nm处的OD值,以空白培养基为对照。

1.2.4 液体复合发酵剂的制备 将培养至对数生长末期的菌液(乳酸菌浓度为 10^8 CFU/mL,酵母菌浓度为 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL),离心(4 000 r/min,30 min),用0.9%的生理盐水使菌体复悬,备用^{[9]22-23}。经预试验确定出植物乳杆菌分别与酿酒酵母菌、矮小假丝酵母菌的复配体积比为1:9时,发酵得到的米发糕具有良好的感官和质构特性。因此在已经确定植物乳杆菌与酵母菌比例的基础上,确定植物乳杆菌、酿酒酵母和矮小假丝酵母菌悬液体积比为1.0:1.8:7.2,1.0:3.0:6.0,1.0:4.5:4.5,1.0:6.0:3.0,1.0:7.2:1.8(依次对应1~5号)的比例进行复配,制备液体复合发酵剂。

1.2.5 米发糕的制作 根据文献[4]³⁶修改如下:早籼米在30 °C下浸泡21 h,沥水后磨成米粉并过60目筛,将所得米粉与水按8:2的质量比混匀得到米浆。以米浆量为基准,接入体积分数为5%的复合发酵剂和6 g/100 mL的白砂糖后搅匀,于35 °C发酵12 h,发酵结束后,再加入14 g/100 mL的白砂糖进行调味,得到发酵米浆。将米浆定量盛入模具内,沸水蒸20 min,得到米发糕。

1.2.6 感官评定 感官评定小组由10人组成。感官评价标准参考文献[4]²¹制订,见表1。

1.2.7 质构特性测定 采用P/36 R探头对样品进行TPA测定,参数设置参考文献[14]。

1.2.8 米发糕风味物质的测定 色谱条件根据文献[9]⁴³⁻⁴⁴进行设定,定量定性分析:将GC-MS图谱用NIST.11谱库进行检索,仅报告匹配度>80%的鉴定结果并采用面积归一化法计算样品中各组分的相对含量。

1.2.9 数据处理 用Excel 2010绘制图表,用SPSS 19.0进行数据分析,显著性分析采用Duncan检验, $P < 0.05$ 判定为显著性变化。

2 结果与分析

2.1 鉴定结果

2.1.1 菌落及菌株形态特征 对米浆样品中的疑似乳酸菌进行分离纯化获得12株具有溶钙圈的纯菌株,其中2株为革兰氏阳性菌且具有典型的乳酸菌菌落及菌株形态

表 1 感官评价表

Table 1 The table of sensory evaluation

类别	评分标准	评分
形态 (20 分)	表面不粘,断面孔洞细密均匀,蓬松	16~20
	表面不粘,断面孔洞基本均匀,较蓬松	11~15
	表面稍粘,断面孔洞基本均匀,基本蓬松	6~10
	表面较粘,断面孔洞不均匀,不蓬松	0~5
色泽 (20 分)	颜色均匀洁白,色泽晶莹剔透	16~20
	颜色较均匀,色泽晶莹	11~15
	颜色基本均匀,色泽较晶莹	6~10
	颜色不均匀,色泽暗淡	0~5
香味 (20 分)	香气适宜,有柔和的发酵味及酒精味	16~20
	香气稍浓或稍淡,发酵味及酒精味不柔和或过淡	11~15
	香气较浓或较淡,发酵味及酒精味过浓或过淡	6~11
	香气太浓或太淡,发酵味及酒精味很浓或很淡	0~5
	有嚼劲,不粘牙	16~20
	较有嚼劲,稍粘牙	11~15
口感 (20 分)	无嚼劲,粘牙	6~10
	很粘牙	0~5
	酸甜适中,回味长	16~20
	酸甜较适中,回味较好	11~15
滋味 (20 分)	稍酸或稍甜,基本无回味	6~10
	较酸或较甜,无回味	0~5

特征,将其分别编号为 R-1a、R-2b。对米浆样品中的疑似酵母菌进行分离纯化获得 7 株纯菌株,其中 5 株具有酵母菌典型的菌落、菌株形态特征且在培养过程中发现其均具有良好的产气性能,将其分别编号为 J-1a、J-2a、J-3a、J-4a、J-5a。菌落及菌株形态特征见表 2。

2.1.2 分子生物学鉴定 经 Blast 相似性检测发现,R-1a 和 R-2b 与植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)的同源性均为 99%,故将其鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),但 R-1a 和 R-2b 的基因序列有所不同;J-1a、J-4a 和 J-5a 与矮小假丝酵母菌(*Candida humili*)的同源性均为 99%且基因序列相同,故将其鉴定为矮小假丝酵母菌(*Candida humili*);J-2a 和 J-3a 与酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)的同源性均达 100%且基因序列相同,故将其鉴定为酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)。菌株的系统发育树见图 1。根据菌落、菌株形态特征及鉴定结果,选择 R-1a、R-2b 和 J-1a、J-2a 进行后续试验。

2.2 菌株生长特性

菌株 24 h 内的生长曲线见图 2。R-1a 和 R-2b 在 24 h

表 2 乳酸菌、酵母菌菌落及菌株形态特征

Table 2 Colonial and morphological characteristics of lactic acid bacteria and yeast

菌株	菌落特征	菌株形态特征
R-1a	菌落直径 0.8~1.0 mm,乳白色,表面光滑,凸起,圆形,有明显溶钙圈	G ⁺ ,短杆状
R-2b	菌落直径 0.5~0.8 mm,乳白色,表面光滑,凸起,圆形,有明显溶钙圈	G ⁺ ,短杆状
J-1a	菌落直径 1.0~2.0 mm,有淡淡的酒香味,表面光滑,乳白色,圆形	菌体卵圆,芽殖
J-2a	菌落直径 0.8~1.0 mm,有较浓郁的酒香味,表面光滑,乳白色,圆形	菌体卵圆,芽殖
J-3a	菌落直径 1.0~1.5 mm,有较浓郁的酒香味,表面光滑,乳白色,圆形	菌体卵圆,芽殖
J-4a	菌落直径 1.0~1.5 mm,有适宜的酒香味,表面光滑,乳白色,圆形	菌体卵圆,芽殖
J-5a	菌落直径 1.0~1.5 mm,有较淡的酒香味,表面光滑,乳白色,圆形	菌体卵圆,芽殖

内生长速率相当,将其分别与筛得的酵母菌复配进行发酵预试验发现,发酵得到的米发糕的感官品质差异不明显,因此选用其中 1 株乳酸菌作为米发糕发酵剂复配菌株之一。在 0~10 h 时 J-2a 生长速率明显快于 J-1a、2 株酵母菌大致在 10 h 后进入稳定期,其中 J-2a 在稳定期内的 OD 值高于 J-1a。虽然矮小假丝酵母菌常存在于发酵食品中且被认为是酸面团中较为常见的一种酵母菌^[15],但在中国诸多发酵米浆中微生物菌系的研究中未见报道。有研究^[16]表明矮小假丝酵母和酿酒酵母均具有较快的产气速率,但两者单独发酵所得馒头的主要挥发性成分种类不同。因此选择 R-2b(植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum*)、J-1a(矮小假丝酵母 *Candida humilis*)及 J-2a(酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*)复配制作米发糕三菌复合发酵剂。

2.3 复配菌比对米发糕感官品质的影响

5 组不同复配菌比所得米发糕的感官评价结果见图 3、4。在形态方面,2 号米发糕内部孔洞细密均匀,其他 4 组米发糕内部孔洞大小及分布不均且都不如 2 号米发糕蓬松;在香气和滋味方面,2 号米发糕相较于其他 4 组米发糕,具有柔和的发酵风味和醇香且酸甜适中;在口感和色泽方面,5 组米发糕差异不明显。可能是不同复配菌比会影响酵母菌的产气能力,使得米发糕的内部组织产生差异,同时不同复配菌比会影响到微生物产生的酶及代谢产物对大米淀粉、蛋白质等成分的作用,导致米发糕在气味、滋味方面有较大变化^[17]。综合感官评价各项指标可得到 2 号复配体积比 R-2b:J-2a:J-1a=1:3:6 得到的米发糕的感官得分最高。

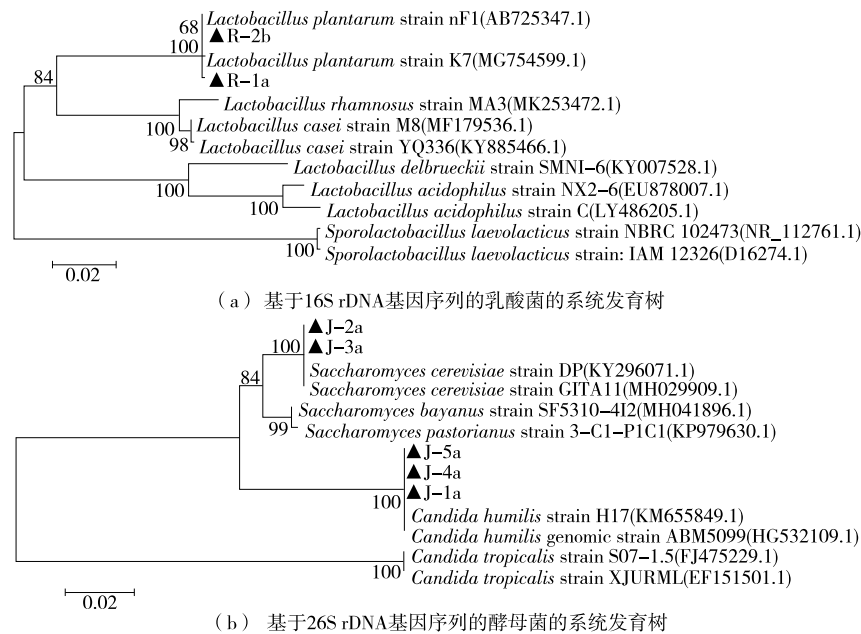


图1 乳酸菌及酵母菌的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic trees of lactic acid bacteria and yeast strains

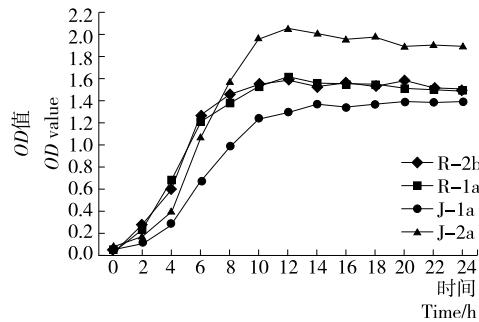
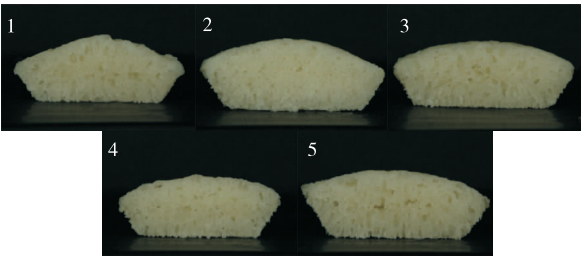


图2 乳酸菌、酵母菌生长曲线

Figure 2 Growth curve of lactic acid bacteria and yeast strains



1~5 对应复配菌比组号 1~5 号

图4 米发糕内部组织结构图

Figure 4 Internal organization chart of fermented rice cake

仅3号和5号有显著性差异($P < 0.05$),因此选择硬度、胶着性和咀嚼性评价米发糕的质构品质。米发糕的硬度、胶着性和咀嚼性与米发糕的品质呈负相关^[18]。随着酿酒酵母占比的增加,米发糕的硬度、胶着性和咀嚼性先减小后增大,当植物乳杆菌、酿酒酵母和矮小假丝酵母的体积比为1:3:6时,米发糕的硬度、胶着性和咀嚼性均最小,说明该复配菌比有利于菌株间协同发酵作用,可以改善米发糕的质构品质。

2.5 发酵剂对米发糕挥发性风味物质的影响

采用 HS-SPME-GC-MS 法分析 4 种米发糕的挥发性风味物质(样品 1:发酵剂为植物乳杆菌与矮小假丝酵母按 1:9 的体积比复配;样品 2:发酵剂为植物乳杆菌与酿酒酵母按 1:9 的体积比复配;样品 3:发酵剂为植物乳杆菌、酿酒酵母和矮小假丝酵母按 1:3:6 的体积比复配;样品 4:市售老浆发酵米发糕)。

由表4、5可知,4种米发糕中共同检出的风味物质有

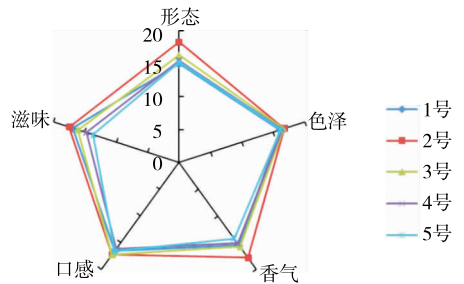


图3 三菌复配米发糕感官评价单项指标评分

Figure 3 The singer index score of the rice steamed sponge cake by three strains compounded

2.4 复配菌比对米发糕质构特性的影响

根据表3可知,5组不同复配菌比发酵得到的米发糕在回复性上无显著性差异($P > 0.05$),在弹性和内聚性上

表 3 不同菌比米发糕的质构及感官评价结果[†]
Table 3 The result of TPA and sensory evaluation

菌比	硬度/g	弹性	内聚性	胶着性	咀嚼性	回复性	感官评分
1 号	4 624.362±16.19 ^c	0.802±0.05 ^{ab}	0.663±0.02 ^{ab}	3 033.494±11.21 ^c	2 543.627±26.68 ^c	0.34±0.01 ^a	80.2±1.55 ^{ab}
2 号	3 124.398±15.25 ^a	0.868±0.05 ^{bc}	0.650±0.01 ^{ab}	2 036.881±10.58 ^a	1 524.938±32.20 ^a	0.314±0.01 ^a	87.7±1.34 ^c
3 号	3 552.802±56.93 ^b	0.756±0.01 ^a	0.632±0.03 ^a	2 294.254±19.01 ^b	1 817.463±43.86 ^b	0.31±0.03 ^a	82.1±0.88 ^b
4 号	4 153.473±10.16 ^d	0.895±0.02 ^{bc}	0.669±0.02 ^{ab}	2 644.076±65.99 ^c	2 358.026±14.63 ^c	0.331±0.04 ^a	78.0±1.25 ^{ab}
5 号	3 981.609±77.52 ^c	0.948±0.01 ^c	0.687±0.02 ^b	2 735.787±8.75 ^d	2 744.153±55.43 ^d	0.353±0.01 ^a	75.6±0.97 ^a

[†] 同列数据后无相同小写字母的进行表示差异显著(P<0.05)。

5 种,包括苯甲醛、苯乙醛、苯乙醇、十四烷和棕榈酸乙酯。4 种样品中相对含量最多的均为醇类,主要是苯乙醇,这与吴鹏^[9]研究的结果一致,苯乙醇具有新鲜面包香及玫瑰香,是米发糕、馒头的重要呈香物质^[19-20]。

样品 1、2、3 及 4 中分别检出 16、17、29、13 种挥发性风味物质,不同样品中的风味物质有所差异,主要表现在酸类、醇类、醛类、酯类等物质上。样品 1 中酸类和醛类的相对含量明显高于样品 2 中的,但其醇类物质的相对含量明显低于样品 2 的,其中乙酸、苯乙醛以及样品 2 中特有的 2,3-丁二醇是造成差异的主要原因,可能是发酵所用的酵母菌不同引起的。尽管样品 1、2 中醇类和酸类的相对含量都较高,但酯类物质的含量均较低,由此可知醇类与酸类物质的含量并不与酯类物质的含量呈正比^[21]。与样品 1、2 相比,样品 3 中酸类和醇类物质的相对含量明显减少,但酯类物质相对含量和种类显著增加,可能是矮小假丝酵母菌和酿酒酵母菌之间存在协同作用促进了酯类物质的生成。酯类物质的阈值较低是影响食品风味的重要成分^[22],样品 1、2 和 3 中共同检出了 4 种酯类物质,包括乙酸苯乙酯(玫瑰香和果香^[22])、癸酸乙酯(葡萄香气)、辛酸乙酯和棕榈酸乙酯(花果香、奶香^[23])。此外,样品 3 中还检出 9 种特有的酯类物质,包括棕榈酸甲酯(微弱的蜡香、果香和奶油香^[23])、油酸甲酯、亚油酸甲酯和亚油酸乙酯(均具有油脂香气^[23])以及 α -戊基- γ -丁内酯(果香)等。这些酯类物质可赋予米发糕果香和奶香。

与样品 3 相比,市售米发糕中醛类和呋喃类物质的相对含量更多,但酸类和酯类物质的种类和相对含量明显减少,可能是 2 种样品发酵时微生物体系有较大差异(如菌种组成及菌比的不同)造成的。此外,对样品 3、4 进行感官评价,结果见表 6。样品 3 的感官得分高于样品 4,同时受试人员反映三菌复合发酵得到的米发糕酸甜适宜并有回味,香气适宜且具有柔和的发酵味和醇香味,而市售米发糕的滋味略偏酸,香气较淡。结合 GC-MS 测定结果可知,与其他 3 种米发糕相比,三菌复合发酵剂得到的米发糕所含的挥发性风味物质种类更为丰富,但这些风味物质与产品香气、滋味的关系还有待进一步研究。

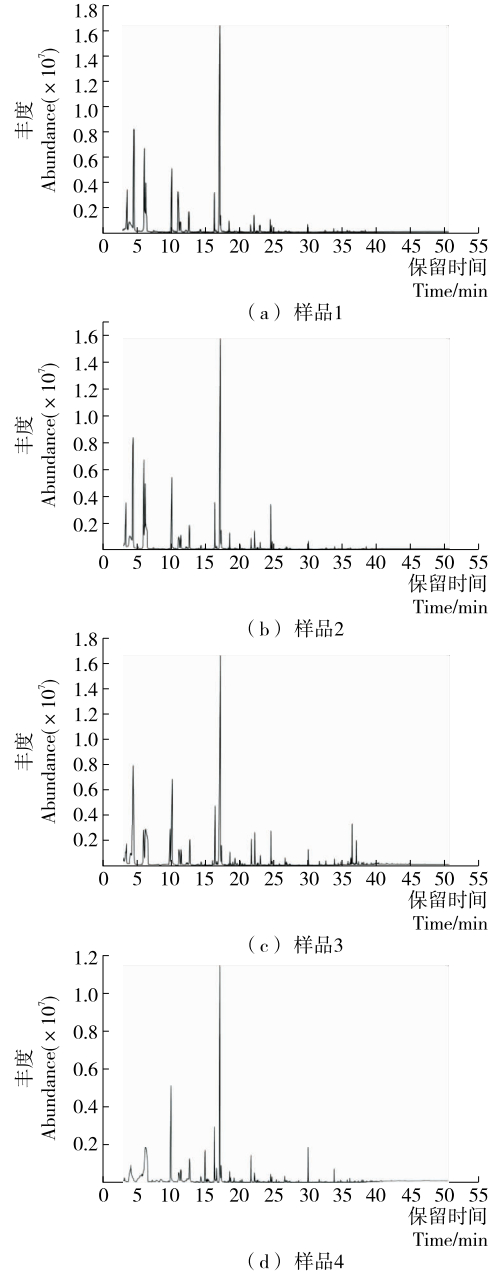


图 5 4 种米发糕 GC-MS 总离子流图
Figure 5 Total ion current map of volatile components of four kinds of fermented rice cake

表 4 米发糕挥发性风味成分及含量[†]
Table 4 Volatile flavor composition and relative content of rice cake

化合物 种类	保留时间/ min	化合物名称	相对含量/%			
			样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
酸类	3.491	乙酸	8.67	4.86	4.18	—
	23.123	壬酸	0.98	—	—	—
	26.178	癸酸	0.09	—	—	—
醇类	4.088	异戊醇	8.37	8.51	4.35	—
	6.026	2,3-丁二醇	—	15.29	8.66	—
	17.230	苯乙醇	56.82	46.51	48.80	66.35
	19.262	正壬醇	—	—	—	1.08
醛类	11.161	苯甲醛	13.84	4.09	4.23	6.44
	14.408	苯乙醛	0.81	0.84	0.65	2.28
	16.698	壬醛	—	0.48	0.63	4.14
	20.758	3,4-二甲基苯甲醛	—	—	0.20	—
烷烃类	20.177	十二烷	—	—	—	0.53
	26.939	十四烷	0.10	0.14	0.17	0.28
	32.585	十六烷	0.23	0.16	0.45	—
	34.380	十七烷	0.13	—	0.14	—
	34.470	十九烷	—	—	0.04	—
	35.819	十八烷	0.19	0.10	0.28	—
酯类	15.405	乳酸异戊酯	—	—	—	1.06
	20.128	辛酸乙酯	0.31	0.56	0.56	—
	22.231	乙酸苯乙酯	2.41	2.55	3.55	—
	23.573	壬酸乙酯	—	—	—	0.11
	25.807	α -戊基- γ -丁内酯	—	—	0.19	—
	26.845	癸酸乙酯	0.20	0.31	0.38	—
	34.013	14-甲基十六烷酸甲酯	—	—	0.16	—
	36.236	亚油酸甲酯	—	—	0.67	—
	36.412	油酸甲酯	—	—	4.60	—
	37.042	硬脂酸甲酯	—	—	2.67	—
	37.364	棕榈酸甲酯	—	0.04	0.22	0.15
	38.106	棕榈酸乙酯	0.11	0.08	0.17	0.20
	38.421	棕榈酸异丙酯	0.11	0.16	—	—
	39.434	16-甲基十七烷酸甲酯	—	—	0.08	—
	39.797	亚油酸乙酯	—	—	0.21	—
	39.996	11-甲基十八碳酸甲酯	—	—	0.30	—
	40.288	二十碳酸甲酯	—	—	0.20	—
呋喃类	12.372	2-戊基呋喃	—	0.44	0.57	1.82
其他类	13.752	右旋萜二烯	—	—	—	0.32
	23.048	4-乙基愈创木酚	—	—	1.46	—
风味物质种类总计			16 种	17 种	29 种	13 种

[†] “—”为未检出。

表 5 不同米发糕样品中挥发性风味物质类别统计结果
Table 5 The result of volatileflavor substances in different rice cake samples

样品	相对含量/%						
	酸类	醇类	醛类	烷烃类	酯类	呋喃类	其他类
样品 1	9.74	65.19	14.65	0.65	3.14	—	—
样品 2	4.86	70.31	5.41	0.40	3.70	0.44	—
样品 3	4.18	61.81	5.71	1.08	13.96	0.57	1.46
样品 4	—	67.43	12.86	0.81	1.52	1.82	0.32

表 6 与市售样品的感官品质对比

Table 6 Sensory evaluation results of two samples

样品	形态	色泽	香味	口感	滋味	感官得分
三菌复合发酵	17.50±0.52	17.00±0.41	18.67±0.82	16.83±0.63	17.50±0.52	87.50±1.38
市售	18.83±0.63	18.67±0.82	14.50±0.55	17.33±0.52	15.33±0.75	84.67±0.82

3 结论

本试验从四川雅安地区的传统发酵米浆中筛选得到 3 株能够复配用于米发糕发酵的菌株,经测序分析确定分别为植物乳杆菌、酿酒酵母菌和矮小假丝酵母菌。研究发现当三菌复配体积比为 R2-b:J-2a:J-1a=1:3:6 时,发酵得到的米发糕具有最优的感官品质和质构特性,并由 GC-MS 检测到 29 种挥发性风味物质,与双菌复合发酵剂和老浆发酵的米发糕相比,该种米发糕所含的风味物质更为丰富,尤其是酯类物质,同时与市售米发糕相比,其还具有更优的感官品质。基于以上研究,植物乳杆菌、酿酒酵母菌及矮小假丝酵母菌作为复合发酵剂可用于米发糕的生产。

本试验还对比分析了 2 种酵母菌对米发糕风味的影响,补充了矮小假丝酵母菌在米发糕中应用的研究。但植物乳杆菌、酿酒酵母菌及矮小假丝酵母菌对米发糕风味物质影响的机理,还有待进一步研究。

参考文献

[1] 吴鹏, 沈伊亮, 陈清婵, 等. 传统米发糕发酵剂中乳酸菌和酵母菌的分离鉴定[J]. 食品科学, 2009, 30(13): 171-173.

[2] 王玉芳, 赵思明, 陈勉, 等. 中国传统米发糕的现代加工技术[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(12): 115-118.

[3] 刘贞, 刘小翠, 赵思明, 等. 发酵米浆中高发酵性能酵母菌和乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 232-235.

[4] 刘小翠. 米发糕发酵剂及复配粉的研发[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.

[5] 李芸. 发酵米粉生产过程中的菌相变化及发酵对米粉品质的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2015: 41-43.

[6] 王雪婷, 廖钰婷, 何瑞, 等. 传统酸面团中优良菌种的筛选、鉴定及在苦荞麸皮馒头中的应用[J]. 食品科技, 2017, 42(2): 156-164.

[7] 王玉芳, 刘小翠, 鲍方芳, 等. 米发糕的双菌发酵剂工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(8): 88-92.

[8] 阳盈盈. 自然发酵米发糕微生物分析及其优势菌的应用[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014: 31-33.

[9] 吴鹏. 米发糕发酵菌株筛选、发酵条件优化及香气成分研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.

[10] 张国华, 何国庆. 我国传统馒头发酵剂的研究现状[J]. 中国食品学报, 2012, 12(11): 115-120.

[11] 李平兰, 贺稚非. 食品微生物学实验原理与技术[M]. 2 版.

北京: 中国农业出版社, 2011: 34-44.

[12] DOMINGOSLOPES M F P, STANTON C, ROSS P R, et al. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese[J]. Food Microbiology, 2017, 63: 178-190.

[13] OSBUM K, AMARAL J, METCALF S R, et al. Primary souring: A novel bacteria-free method for sour beer production[J]. Food Microbiology, 2018, 70: 76-84.

[14] 沈伊亮. 米发糕品质评价与加工工艺的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009: 25-26.

[15] VUYST L D, HARTH H, KERREBROECK S V, et al. Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 239: 26-34.

[16] LIU Tong-jie, LI Yang, SADIQ F A, et al. Predominant yeasts in Chinese traditional sourdough and their influence on aroma formation in Chinese steamed bread[J]. Food Chemistry, 2018, 242: 404-411.

[17] 熊青, 范露, 鲍方芳, 等. 米发糕的风味形成及特征分析[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 232-236.

[18] 祁攀, 鲁静, 刘英. 大米基本成分与米发糕品质间相关性探讨[J]. 粮食与饲料工业, 2012(3): 25-29.

[19] 陈芳溶. 米发糕储藏保鲜技术与风味分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011: 36-37.

[20] 程晓燕, 孙银凤, 刘娜, 等. 传统酸面团中植物乳杆菌发酵馒头抗氧化特性及挥发性风味物质特征[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 87-92.

[21] 杨秀琴, 邹奇波, 黄卫宁, 等. 酵母菌对自然发酵酸面团面包中风味物质影响的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 37-40, 43.

[22] 蒋慧, 吴玉新, 庄靓, 等. 融合魏斯氏菌和异常威克汉姆酵母混菌发酵荞麦酸面团馒头的香气物质特征[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 234-241.

[23] 孙洁雯, 李燕敏, 刘玉平. 固相微萃取结合气-质分析东北大酱的挥发性成分[J]. 中国酿造, 2015, 34(8): 139-142.