

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250127001

引用格式: 胡晓冉, 何晓伟, 曹晓萱, 等. Viili 源发酵菌种筛选及其复配发酵剂发酵特性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 23–32.

HU XR, HE XW, CAO XX, *et al.* Screening of fermentation strains from Viili source and analysis of fermentation characteristics of compound starter cultures [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 23–32. (in Chinese with English abstract).

# Viili 源发酵菌种筛选及其复配发酵剂发酵特性分析

胡晓冉, 何晓伟, 曹晓萱, 王佳祎, 高洁\*, 桑亚新\*

(河北农业大学食品科技学院, 保定 071000)

**摘要:** **目的** 筛选 Viili 发酵乳中的乳酸菌, 探讨复配发酵剂中菌种比例。**方法** 通过平板划线分离筛选其微生物, 根据 16S rRNA 序列构建系统发育树确定菌株的种属。并结合 Viili 发酵乳中细菌的丰度对复配比例进行设计, 对复配发酵剂的酸度、胞外多糖含量、质构、挥发性风味物质进行综合分析。**结果** 多样性结果显示检测出 4 个细菌属, 其中乳球菌属(*Lactococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、明串珠菌属(*Leucanostoc*)作为优势细菌属, 占比分别为 49.12%、40.67%、10.21%。分离筛选得到乳酸乳球菌 H2、嗜热链球菌 H17、肠膜明串珠菌 H30、副干酪乳杆菌 H33。通过复配设计 20 组不同比例的发酵实验, 综合评估 pH、凝乳时间、质构特性、胞外多糖含量及风味等指标, 结果表明, 复配组 S13(活菌数之比为 H2:H17:H30:H33=11:4:4:1)和 S17(活菌数之比为 H2:H17:H30:H33=30:35:16:19)在各项性能上与 Viili 发酵乳最为接近。**结论** 复配组 S13 (H2:H17:H30:H33=11:4:4:1)和 S17 (H2:H17:H30:H33=30:35:16:19)具有作为复合发酵剂的应用价值。本研究为 Viili 发酵乳复配发酵剂提供了理论基础。

**关键词:** Viili 发酵乳; 复配发酵剂; 发酵特性

## Screening of fermentation strains from Viili source and analysis of fermentation characteristics of compound starter cultures

HU Xiao-Ran, HE Xiao-Wei, CAO Xiao-Xuan, WANG Jia-Yi, GAO Jie\*, SANG Ya-Xin\*

(College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

**ABSTRACT: Objective** To screen lactic acid bacteria from Viili fermented milk and explore the proportion of bacteria in the compound starter cultures. **Methods** Lactic acid bacteria were isolated using streak plating, and their taxonomic classification was determined through phylogenetic analysis based on 16S rRNA sequences. The composition of strain ratios in mixed cultures was designed with reference to the bacterial abundance observed in

收稿日期: 2025-01-27

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目(246Z2814G)

第一作者: 胡晓冉(2002—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: 18132624523@163.com

\*通信作者: 高洁(1983—), 女, 教授, 主要研究方向为乳酸菌、益生菌资源开发利用。E-mail: gaojiehu@163.com

桑亚新(1972—), 男, 教授, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: sangyx1418@163.com

Viili fermented milk. Comprehensive analyses were performed to evaluate the acidity, exopolysaccharide production, textural properties and volatile flavor compounds of the mixed fermentation groups. **Results** Diversity analysis identified 4 bacterial genera, among which *Lactococcus*, *Streptococcus* and *Leuconostoc* were the dominant genera, comprising 49.12%, 40.67% and 10.21% of the total bacterial composition, respectively. *Lactococcus lactis* H2, *Streptococcus thermophilus* H17, *Leuconostoc mesenteroides* H30 and *Lactobacillus paracasei* H33 were isolated and screened. A total of 20 fermentation trials with different strain compositions were designed to conduct a comprehensive assessment of key parameters, including pH, coagulation time, textural properties, exopolysaccharide content and flavor profile. The results indicated that formulations S13 (H2:H17:H30:H33=11:4:4:1) and S17 (H2:H17:H30:H33=30:35:16:19) demonstrated the highest similarity to Viili fermented milk in terms of physicochemical and sensory properties. **Conclusion** The blended formulations S13 (H2:H17:H30:H33=11:4:4:1) and S17 (H2:H17:H30:H33=30:35:16:19) exhibit promising potential as compound starter cultures. This study provides a theoretical basis for developing compound starter cultures in Viili fermented milk production.

**KEY WORDS:** Viili fermented milk; compound starter cultures; fermentation properties

## 0 引言

Viili 是一种北欧传统的常温发酵乳,因其黏稠的质地和适宜的口感受到消费者的关注<sup>[1]</sup>。研究表明,Viili 独特的黏稠质地主要归因于乳酸菌在发酵过程中大量合成胞外多糖(exopoly saccharides, EPS),这些多糖有效提升了发酵乳的黏稠性,并且可以有效防止乳清析出<sup>[2]</sup>。Viili 中乳酸菌产生的胞外多糖被证明具有提高免疫力、抗疲劳等功效,并且有研究筛选自 Viili 的副干酪乳杆菌可以与益生元协同干预结肠炎,证实了 Viili 源乳酸菌具有良好的益生潜质<sup>[3-5]</sup>。

传统天然发酵食品中蕴藏着丰富的菌种资源,通过分离筛选优良的微生物,可用于提升食品的风味及功能性。目前,已有多项研究表明传统乳制品、泡菜、食醋等天然发酵食品中菌种具有良好的发酵性能以及益生特性。刘春芳<sup>[6]</sup>从开菲尔发酵乳中分离筛选出两株发酵性能好、具有潜在益生特性菌株,并通过复配开发出风味良好发酵特性稳定的发酵剂。孙悦欣等<sup>[7]</sup>将分离自不同地区的天然发酵乳的嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌进行复配,得出发酵特性和贮藏特性良好的组合。这些研究表明,从传统发酵食品中筛选优良微生物用于发酵剂的开发可以提升发酵产品的品质。

Viili 作为一种天然多菌种协同发酵的传统乳制品,不仅富含多样的微生物资源,还具有独特的风味和质地<sup>[8]</sup>。在发酵过程中,乳酸菌与真菌通过代谢产物的积累和互作,动态调控了 Viili 的风味形成和质地特性。白地霉作为 Viili 中的特征真菌,可以分解乳中的蛋白质和脂肪,赋予发酵乳独特的风味,并在发酵乳表面生长,促进乳酸菌等微生物的共生长<sup>[9]</sup>。因此,筛选优良的 Viili 源发酵菌种可以为国内发酵乳提供新的可用菌种,推动国内发酵乳产品的创新。通过研究 Viili 复合发酵剂,可以丰富国内发酵剂的种类,并为开发具有更高附加值和功能性的乳制品提供

新的思路。本研究通过分离筛选 Viili 源微生物,并优化乳酸菌添加比例,以期为 Viili 复配发酵剂开发和产业化提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

Viili 发酵乳(购于芬兰);脱脂奶粉(内蒙古伊利有限公司);白地霉(*Geotrichum candidum*, 实验室保藏)。

MRS 培养基(北京奥博星生物技术有限公司);三氯乙酸、苯酚、浓硫酸、无水乙醇(分析纯)、琼脂粉、透析袋(北京索莱宝科技有限公司);细菌基因组提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司);E.Z.N.A. Soil 试剂盒(美国 Omega 公司);FastPfu Polymerase(北京全式金生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

SU8010 光学显微镜(日本日立公司);DH3600 生化培养箱(天津泰斯特仪器有限公司);SW-CJ-1FD 超净工作台(苏州净化有限公司);Centrifuge 5424 R 低温离心机(德国海蒂诗有限公司);T100 Thermal Cycler 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 BIO-RAD 公司);JY600C 电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司);FE28 pH 计(美国梅特勒-托利多仪器有限公司);TMS-Rro 质构仪(美国 FTC 公司);FlavourSpec 气相色谱-离子迁移谱联用仪(gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)(山东海能科学仪器有限公司);MXT-WAX 毛细管柱(15 m×0.53 mm, 1 μm)(日本岛津公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样本制备

将从-80℃冰箱中取出的 Viili 发酵乳以 5% (V/V) 的接种量接种至经灭菌的 12% (m/V) 脱脂乳培养基中,连续传

代活化 3 代后备用。

### 1.3.2 菌株的分离与纯化

移取 Viili 发酵乳 1 mL 于 9 mL 生理盐水中进行梯度稀释, 选取  $10^{-1}$ ~ $10^{-7}$  梯度的稀释液 100  $\mu$ L 涂布与 MRS 琼脂培养基平板上。倒置平板于 37 °C 培养箱中培养 24~48 h。取梯度适宜的平板, 使用接种环挑取菌落形态不同的菌落, 划线于 MRS 平板上, 倒置平板于 37 °C 培养箱中培养 24~48 h 后, 挑取单菌落重复划线步骤直至菌落形态一致。将单菌落接种至 MRS 液体培养基中扩大培养。

### 1.3.3 菌种鉴定

接菌环挑菌涂布于载玻片上, 使用革兰氏染色试剂盒染色后, 油镜观察菌种形态。取 1 mL 菌液, 使用细菌基因组提取试剂盒提取 DNA。使用正向引物 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG)、反向引物 1492R (TACGGYTACCTTGTTACGACTT) 对提取的 DNA 进行扩增, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳验证后, 送至苏州金唯智生物科技有限公司进行测序分析。将测序序列上传至美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)进行同源比对, 下载对比同源性大于 99% 标准菌株序列, 使用 MEGA 11 软件进行系统发育树的构建。

### 1.3.4 发酵乳的制备

所用菌种活化 3 代后, 乳酸菌按照  $1 \times 10^7$  CFU/mL, 白地霉按照  $1 \times 10^5$  CFU/mL, 接入灭菌后的脱脂乳中, 30 °C 发酵。

### 1.3.5 微生物高通量测序分析

使用采用 E.Z.N.A. Soil 试剂盒提取发酵乳中微生物总 DNA, PCR 扩增细菌与真菌的 V3-V4 可变区和 ITS1 区并使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物。根据荧光定量检测结果建库后, 利用 Illumina Nextseq 2000 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

### 1.3.6 酸度以及 pH 测定

参照 GB 5009.239—2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》对发酵乳的酸度测定。pH 使用 pH 计进行测定。

### 1.3.7 胞外多糖的提取

参照 TIAN 等<sup>[10]</sup>的方法, 取 10 mL 发酵乳, 95 °C 除酶活 5 min, 8000 r/min 离心 10 min, 取上清。在上清中加入 5 mL 三氯乙酸(12%), 搅拌处理后静止 1 h, 8000 r/min 离心 15 min, 去除溶液中的蛋白质。加入上清 4 倍体积的 95% 乙醇溶液, 静止 12 h。8000 r/min 离心 15 min, 取沉淀, 将沉淀置于 8000~14000 kDa 透析袋中, 每隔 8 h 换水一次, 透析处理 2 d。

参照王萍<sup>[11]</sup>的方法, 使用苯酚-硫酸法对所得胞外多糖溶液含量进行测定。

### 1.3.8 质构测定

质构仪设置回升参数 20 mm, 形变百分量 50%, 检测速度 60 mm/min, 起始力 1 N。对发酵乳的硬度、内聚性、黏度、弹性进行测定。

### 1.3.9 挥发性风味物质测定

参照李晏蝶<sup>[12]</sup>的方法略有修改, 称取 2 g 发酵乳样本放入 20 mL 顶空瓶中, 40 °C 孵育 20 min, 孵育转速 500 r/min, 设置进样量为 500  $\mu$ L。

GC-IMS 设置: IMS 温度: 45 °C; 分析时间: 30 min; 进样针温度: 85 °C; 柱温: 40 °C, 载气设置见表 1。

表 1 载气设置参数  
Table 1 Carrier gas setting parameters

时间 /min	载气在色谱柱中的流速 (E1)/(mL/min)	载气在迁移管中的流速 (E2)/(mL/min)
0	150	2
2	150	2
10	150	10
15	150	100
20	150	150
30	150	150

## 1.4 数据处理

实验均设计 3 组平行, 使用 SPSS 26、Origin 2021、MEGA 11、Grand Pad Prism 10 以及美吉生物云平台对数据进行处理分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 Viili 中微生物的菌群结构分析

#### 2.1.1 细菌菌群结构分析

在本研究中, 采用高通量 16S rRNA 对 Viili 样品的微生物多样性进行分析。Viili 样品中含有较为丰富的细菌, 共检测出 4 个细菌属, 其中乳球菌属(*Lactococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、明串珠菌属(*Leucanostoc*)作为优势细菌属, 占比分别为 49.12%、40.67%、10.21%。在发酵过程中, 乳酸菌作为关键菌种, 利用发酵环境的糖类等营养物质, 通过糖酵解等生化过程转化为乳酸、乙醇、维生素以及风味物质, 赋予乳制品特殊的质地和风味<sup>[13]</sup>。

#### 2.1.2 真菌的菌群结构分析

对 Viili 发酵乳中的真菌多样性进行分析, 检测出的均为真菌 Saccharomycetes(酵母纲)。在属水平上, 共检测到 2 个真菌属, 分别为地霉属(*Geotrichum*)、双足囊菌属(*Dipodascaceae*), 其中地霉属的相对丰度高, 为优势真菌属。地霉属中的代表菌种白地霉是奶酪以及多种天然发酵食品中存在的真菌, 并且白地霉提供了 Viili 发酵乳表面特殊的质地, 是 Viili 发酵乳中的重要真菌<sup>[14-15]</sup>。

### 2.2 Viili 中微生物的筛选及鉴定

#### 2.2.1 菌种形态观察

革兰氏染液染色后使用光学显微镜观察菌体形态, 对筛选得到的菌种进行初步鉴定。部分微生物镜检结果见图 1, 筛选得到的微生物有球状、杆状、链球状, 存在形态差异。

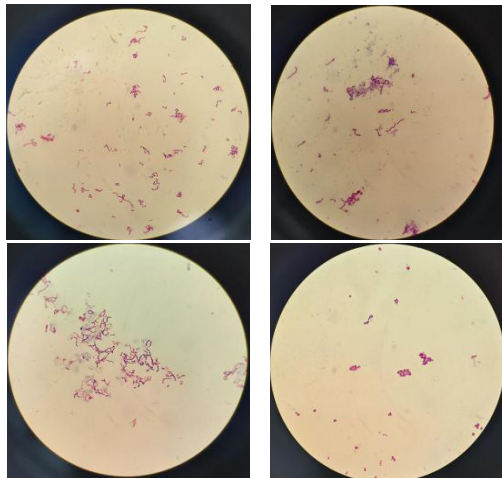


图 1 部分微生物革兰氏染色结果

Fig.1 Gram staining results of selected microorganisms

### 2.2.2 16S rRNA 进化树构建

将初步分离纯化筛选所得菌种 16S rRNA 基因序列上传至 NCBI 数据库进行比对分析, 选用序列同源性大于 99% 标准菌株序列为参照。根据细菌多样性分析, 优选各属中生长性能最佳的菌株进行复合发酵培养。通过 MEGA 11 软件构建系统发育树构建菌种同源进化树<sup>[16]</sup>, 结果如图 2 所示, 最终确定分离筛选菌株乳酸乳球菌 H2、嗜热链球菌 H17、肠膜明串珠菌 H30、副干酪乳杆菌 H33 作为发酵菌种。

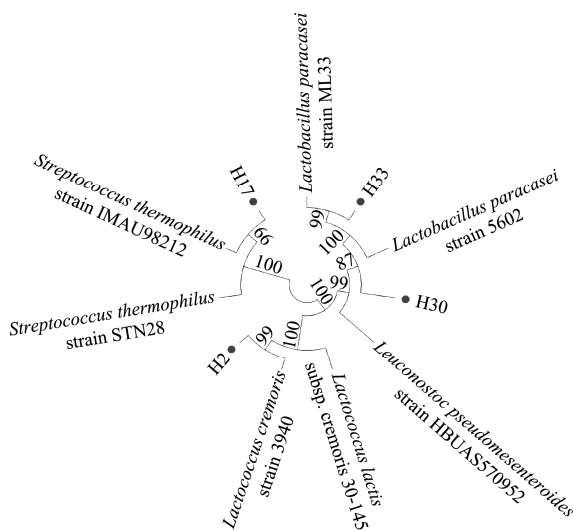


图 2 分离株系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of the isolated strains

### 2.3 发酵剂混菌配比结果

使用 Design Expert 13 软件中的混料设计, 模拟 Viili 发酵乳中细菌添加的最佳配比。根据微生物多样性测定结果中的相对丰度确定不同种细菌在发酵剂体系中添加范围<sup>[17]</sup>。设定不同菌比例总和和 100%, 确定乳酸乳球菌 H1、

嗜热链球菌 H2、肠膜明串珠菌 H3、副干酪乳杆菌 H4 添加比例分别为 30%~60%、20%~50%、10%~30%、5%~20%。混料设计结果如表 2 所示。将 4 株细菌在适宜培养基和培养条件下培养至对数期时, 调整为  $1 \times 10^9$  CFU/mL 的菌悬液。将各复配发酵菌种按比例混合后, 接种至脱脂乳中进行发酵, 初始接种量为  $1 \times 10^7$  CFU/mL。

表 2 不同菌复配发酵占比设计(%)  
Table 2 Design of fermentation ratio for different strain combinations (%)

组别	乳酸乳球菌 H2	嗜热链球菌 H17	肠膜明串珠菌 H30	副干酪乳杆菌 H33
S1	38	41	10	11
S2	47	20	20	13
S3	53	32	10	5
S4	40	29	26	5
S5	30	33	27	10
S6	38	41	10	11
S7	47	20	20	13
S8	37	23	20	20
S9	30	35	16	19
S10	44	34	17	5
S11	30	50	15	5
S12	45	20	30	5
S13	55	20	20	5
S14	60	23	10	7
S15	45	25	10	20
S16	35	40	20	5
S17	30	35	16	19
S18	47	20	20	13
S19	30	20	30	20
S20	30	33	27	10

### 2.4 发酵特性分析

#### 2.4.1 pH 测定

同时发酵, 测定发酵终点 Viili 发酵乳与复配发酵乳的 pH。如图 3 所示, Viili 发酵乳在 18 h 达到发酵终点时 pH 为 4.78, 滴定酸度为 136 °T, 达到酪蛋白的等电点范围。如图 4 所示, 所有复配组合在 24 h 的 pH 均能达到 4.7 左右。复配组与 Viili 发酵乳相比, 发酵终点时 pH 均无显著差异。说明复配组中的微生物有良好的代谢活力, 可以达到与 Viili 发酵乳相当的酸度水平。

#### 2.4.2 凝乳时间

Viili 发酵乳在 18 h 时出现凝乳现象, 复配发酵组别均在 24 h 左右凝乳, 复配组凝乳时间无显著差异, 与 Viili 发酵乳相比, 达到凝乳所需的时间更长, 说明复配组中菌群具有较好的发酵能力但产酸能力与 Viili 发酵乳中菌群相比较差, 可能由于复配组微生物菌株数量没有 Viili 发酵乳中丰富。

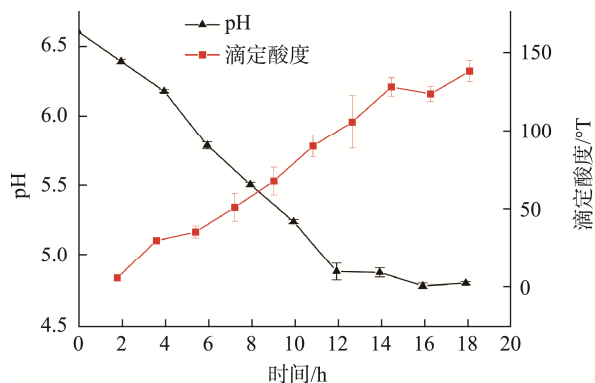
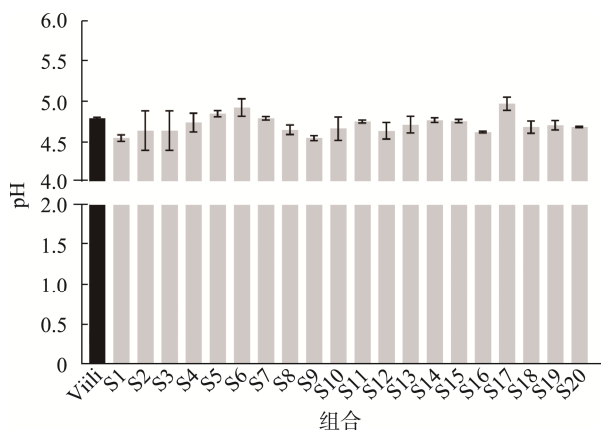


图 3 Viili 发酵过程中酸度变化

Fig.3 Changes in acidity during the Viili fermentation process



注: 组别之间无显著差异( $P>0.05$ )。

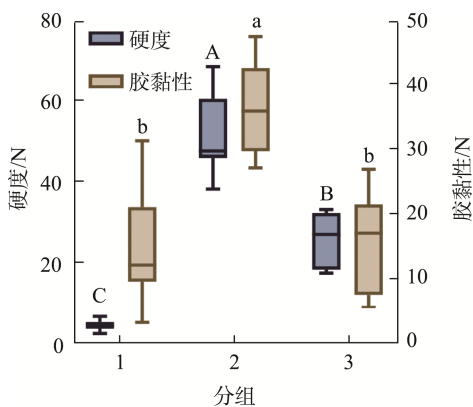
图 4 发酵终点 pH

Fig.4 Final pH of fermentation

### 2.5 发酵品质分析

#### 2.5.1 质构测定

发酵乳的质地是决定产品质量和口感的重要因素, 适宜的口感不仅会提升消费者对产品的喜爱度, 更能保证产品在储存和运输阶段具有稳定性<sup>[18]</sup>。对 Viili 发酵乳和复



注: 图中不同字母分别表示各指标在不同组别间的显著性差异( $P<0.05$ ); 横坐标数字表示质构聚类结果中划分的不同簇。

图 6 不同簇质构结果差异分析

Fig.6 Differential analysis of texture results between different clusters

配发酵组的硬度、黏度、内聚性、弹性进行测定。将质构的数据上传至美吉生物云平台, 采用 Bray-curtis 聚类方法进行层级聚类分析, 结果如图 5 所示。根据分支间的距离与分支的长度, 将 21 个实验组划分为 3 个簇。层级聚类树状图可以清晰的反映复配发酵组与 Viili 发酵组之间的质构的相似度, 结果表明复配组中编号为 S2、S4、S6、S8、S13、S17、S18 的组合与 Viili 发酵乳的质构更相似。将 Viili 发酵乳所在的分支划分为最小的簇, 可以进一步筛选出复配组 S4、S13、S17, 这 3 组在质构上与 Viili 发酵乳相似度更高。

为寻找不同簇之间质构的差异, 对上述 3 簇中个组合的质构数据进行差异分析。由图 6 可知, 其他两簇与 Viili 发酵乳所在簇(第 3 簇)的硬度有明显差异, 簇 2 硬度与胶黏值显著高于簇 3。内聚性与弹性是衡量酸奶结构稳定性的重要指标, 其数值越接近 1, 说明发酵乳的质地越均匀, 凝胶结构越稳定<sup>[19-20]</sup>。结果说明复配组与 Viili 发酵乳的内聚性与弹性相似。

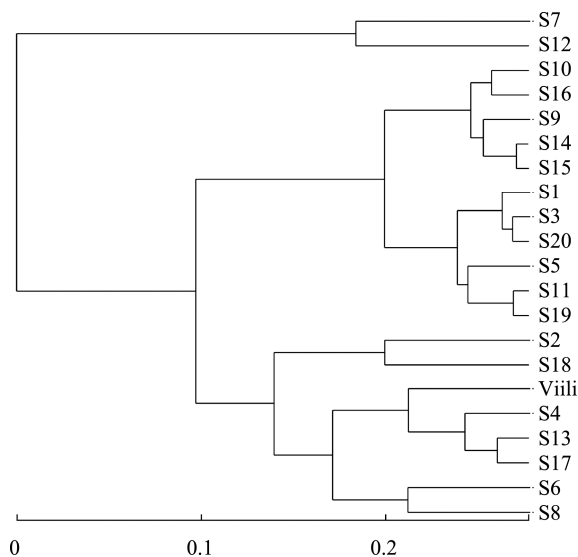
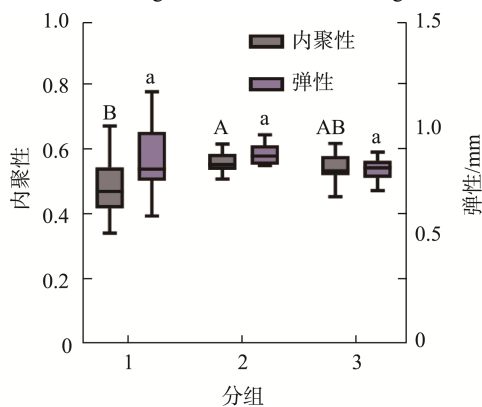


图 5 质构结果层级聚类

Fig.5 Hierarchical clustering of texture data



注: 图中不同字母分别表示各指标在不同组别间的显著性差异( $P<0.05$ ); 横坐标数字表示质构聚类结果中划分的不同簇。

图 6 不同簇质构结果差异分析

Fig.6 Differential analysis of texture results between different clusters

### 2.5.2 胞外多糖含量

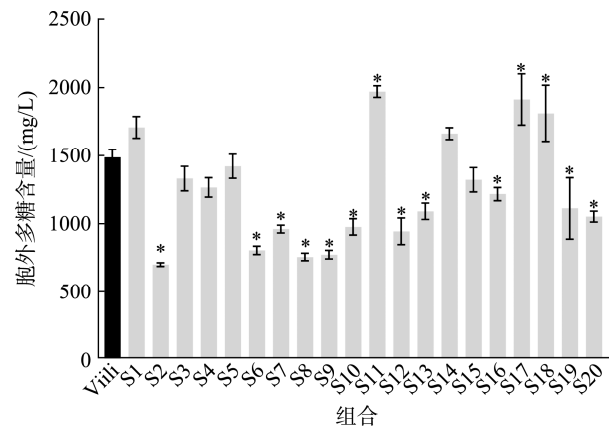
黏稠的质地是 Viili 发酵乳的特征, 并与其他发酵乳相比, Viili 发酵乳具有独特的丝滑感和延展性。胞外多糖分子通常具有长链结构, 可以在水中形成高度交联的网络结构, 从而限制水分子的流动, 防止乳中的蛋白质沉降, 为发酵乳提供黏稠的质地和顺滑的口感<sup>[21-22]</sup>。有研究表明, 发酵乳中微生物产生的胞外多糖具有抗氧化、提高免疫力、抑制癌细胞增殖的作用<sup>[23]</sup>。

对实验组的胞外多糖含量进行提取测定, 结果如图 7 所示, 复配组中胞外多糖的含量差异较大, 其中 S11、S17、S18 的胞外多糖含量显著高于 Viili 发酵乳组( $P<0.05$ )。这也解释了质构的结果, 胞外多糖含量增加, 会提升发酵乳的黏度, 可以更好地维持发酵乳的稳定性<sup>[24]</sup>。

### 2.5.3 风味分析

风味是决定发酵产品的关键性因素, 发酵食品中多种挥发性风味物质协同作用塑造了特有的整体风味, 发酵乳中的风味物质的形成与原料乳中蛋白质、糖类、脂类被微生物分解转化有关, 乳酸菌和真菌通过代谢途径生成了特定的风味化合物<sup>[25-27]</sup>。本研究采用 GC-IMS 对比复配组发酵乳和 Viili 发酵乳中的挥发性风味物质, 并对两组所检测出的风味物质进行分析。21 组样品中共鉴定出 44 种挥发性化合物如表 3 所示, 其中包含 14 种酯类、3 种酸类、

5 种醇类、8 种醛类、5 种酮类、4 种酚类及 5 种其他类型的风味物质。酯类物质在所检测出的挥发性风味物质中所占比重高, 这可能与白地霉能够产生脂肪酶与酯化酶有关<sup>[28]</sup>。此外, 酯类物质种类的多样性也是 Viili 发酵乳呈现复杂风味的重要原因之一。除了酯类物质外, 还检测到了多种挥发性, 包括醇类、醛类、酸类、酮类和酚类等。这些挥发性风味物质共同作用, 赋予了 Viili 发酵乳独特的风味和香气<sup>[29-30]</sup>。



注: \*表示不同组别间的显著性差异( $P<0.05$ )。

图 7 胞外多糖含量

Fig.7 Concentration of exopolysaccharide

表 3 挥发性风味物质

Table 3 Volatile flavor compounds

	编号	化合物名称	CAS 编号	分子式	气味描述
酯类	1	甲酸香叶酯	C105862	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	嫩叶味
	2	葫芦巴内酯	C28664359	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	焦糖味
	3	丙位庚内酯	C3301904	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	焦糖味
	4	正戊酸正戊酯	C2173560	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	果味
	5	水杨酸甲酯	C119368	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	薄荷味
	6	乙酸苜酯	C140114	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	花果香味
	7	庚酸乙酯	C106309	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	菠萝香味
	8	丙酸己酯	C2445763	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	梨香、果香
	9	乙酸橙花酯	C141128	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	花香味
	10	水杨酸乙酯	C118616	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	冬青油香
	11	庚酸甲酯	C106730	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	花浆果香
	12	己酸丙酯	C626777	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	甜果味
	13	3-羟基丁酸乙酯	C5405414	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	葡萄味
	14	反式-2-己烯酸乙酯	C27829727	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	蔬菜味
酸类	15	己酸	C142621	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	椰子油味
	16	二乙基丙二酸	C510203	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	-
	17	正戊酸	C109524	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	腐败味
醇类	18	正癸醇	C112301	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O	酒味
	19	反式-2-己烯-1-醇	C2305217	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	蘑菇味
	20	3-呋喃甲醇	C4412913	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	香甜气味
	21	芳樟醇	C78706	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	柑橘花香
	22	3-辛醇	C589980	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	玫瑰香

表 3(续)

	编号	化合物名称	CAS 编号	分子式	气味描述	
醛类	23	2-十一烯醛	C2463776	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O	醛味	
	24	癸醛	C112312	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	柑橘皮味	
	25	紫苏醛	C18031408	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	柑橘味	
	26	反-2-辛烯醛	C2548870	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	黄瓜味	
	27	庚醛	C111717	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	果香	
	28	5-甲基糠醛	C620020	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	甜香、焦糖香	
	29	十二醛	C112549	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O	花香	
	30	水杨醛	C90028	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	苦杏仁味	
	酮类	31	2-癸酮	C693549	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	橙色花香
		32	左旋薄荷酮	C14073973	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	薄荷味
33		呋喃酮	C3658773	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	烤香面包、焦糖香气	
34		6-甲基-3,5-庚二烯-2-酮	C1604280	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	肉桂、椰子味	
35		仲辛酮	C111137	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	泥土味	
酚类	36	间甲酚	C108394	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	木质皮革味	
	37	乙基麦芽酚	C4940118	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	焦糖味	
	38	甲基丁香酚	C93152	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	甜味	
	39	甲基麦芽酚	C118718	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	甜焦糖味	
	40	吡嗪	C120729	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N	-	
其他	41	邻苯二甲醚	C91167	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	甜奶油香	
	42	十一烷	C1120214	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	-	
	43	月桂烯	C123353	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	胡椒萜烯辣香	
	44	乙二醇单丁醚	C111762	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	-	

注: -表示该风味物质在文献或数据库中无明确记录的气味特征。

GC-IMS 指纹图谱可以展示样本组别中挥发性成分的分布以及相对含量<sup>[12]</sup>。通过将所有实验组的挥发性风味物质导出并生成指纹图谱, 可以直观地揭示复配组与 Viili 发酵乳之间的风味差异。图 8 中每点化合物的相对浓度用不同的颜色

代表, 白色代表相对浓度低, 红色代表相对浓度高。分析可得, 多数复配组检测出与 Viili 发酵乳相近的挥发性风味物质, 其中 S2、S3 等检测出挥发性风味物质较 Viili 组数量多, 说明复配组可以达到 Viili 的特征风味。

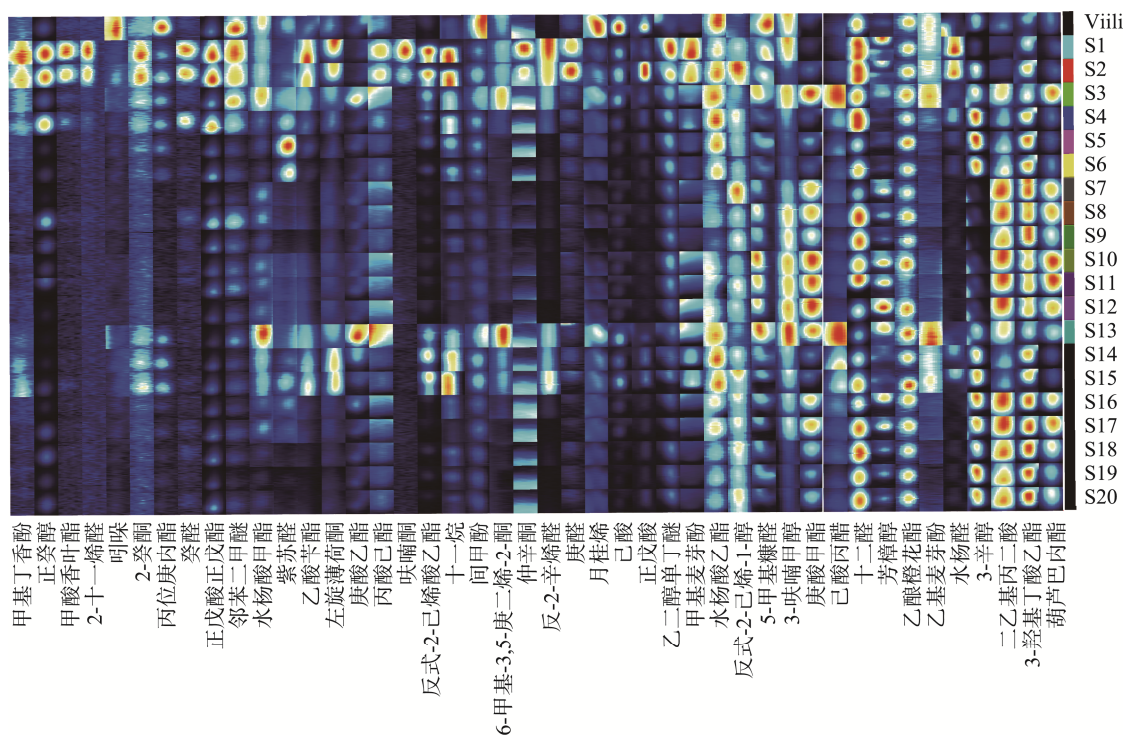


图 8 挥发性风味物质指纹图谱  
Fig.8 Fingerprint of volatile flavor compound

为比较复配组与 Viili 发酵乳风味的相似性, 基于风味物质的相对定量数据上传至美吉生物云平台进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 结果如图 9 所示。主成分分析结果中, 样本之间距离远近代表风味的整体相似度, 组别之间分离程度越大, 差异越大<sup>[31]</sup>。分析结果表明, 复配组的整体风味差异明显, 其中 S1、S2、S3、S13 和 S14 的风味与 Viili 发酵乳相似。其余复配组虽然风味较为集中, 但组间仍存在一定差异。

将所有组检测出的挥发性风味物质的相对含量标准化后上传至美吉生物云平台, 采用 Bray-curtis 的行列距离算法绘制成聚类热图。每一行代表不同的挥发性成分, 每一列代表不同组别。热图中的颜色代表相对含量, 红色代表含量高的物质, 蓝色表示含量较低。由图 10 可知, 复配组 S1、S2、S3、S4、S13、S14、S15 中多数挥发性风味物质的相对含量高于其他复配组, 并与 Viili 发酵乳聚在同一簇, 风味相近。

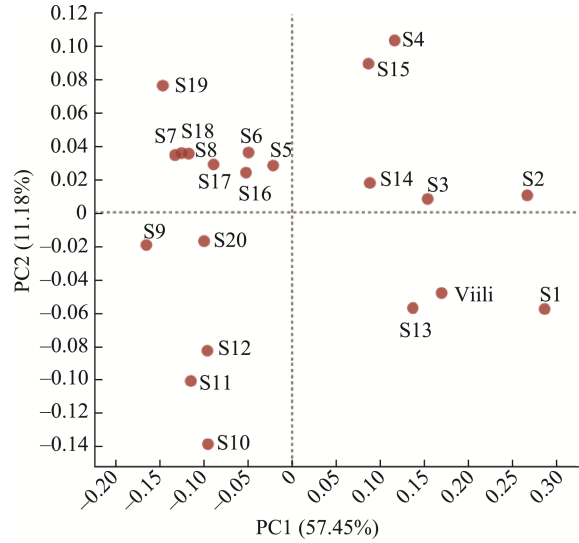


图 9 挥发性风味物质 PCA  
Fig.9 PCA of volatile flavor compounds

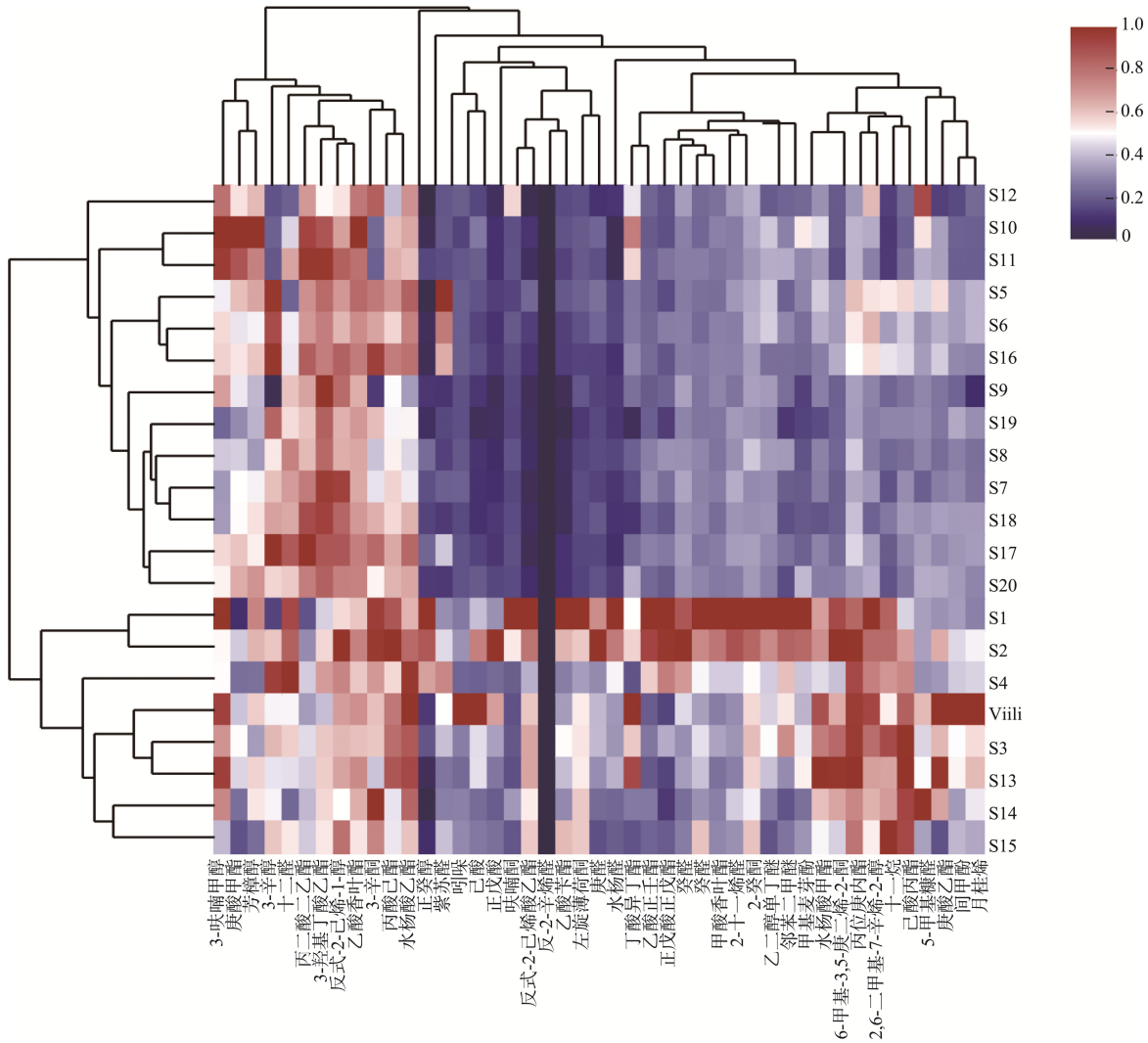


图 10 挥发性风味物质聚类热图  
Fig.10 Heat map of volatile flavor compounds clusters

### 3 结 论

本研究从 Viili 中筛选出具有良好发酵能力的, 乳酸乳球菌、肠膜明串珠菌、副干酪乳杆菌、嗜热链球菌, 通过不同组合探究复合发酵剂中 4 中乳酸菌添加的比例。综合分析表明, 复配组 S13 (活菌数之比为 H2:H17:H30:H33=11:4:4:1)在质地和风味方面均接近 Viili 发酵乳, 复配组 S17 (活菌数之比为 H2:H17:H30:H33=30:35:16:19)胞外多糖含量高并与 Viili 发酵乳相似质地, 具有作为发酵剂开发的潜力。后续研究中可以进一步分析 Viili 发酵乳中微生物复杂的相互作用, 对发酵剂的配比进一步优化, 为国内发酵乳发酵剂提供新选择。

### 参考文献

- [1] 刘晶, 杨森, 陈扬扬, 等. 副干酪乳杆菌 VL8 产胞外多糖条件优化及其抗氧化性质[J]. 中国食品学报, 2017, 17(5): 82–89.  
LIU J, YANG S, CHEN YY, *et al.* Optimized condition and antioxidant properties of exopoly saccharides by *Lactobacillus paracasei* VL8 [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(5): 82–89.
- [2] ZHANG K, TANG H, FARID MS, *et al.* Effect of *Lactobacillus helveticus* exopolysaccharides molecular weight on yogurt gel properties and its internal mechanism [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 130006.
- [3] ZHANG T, CHENG T, GENG S, *et al.* Synbiotic combination between *Lactobacillus paracasei* VL8 and mannan-oligosaccharide repairs the intestinal barrier in the dextran sulfate sodium-induced colitis model by regulating the intestinal stem cell niche [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(4): 2214–2228.
- [4] YAMANE T, HANDA S, IMAI M, *et al.* Exopolysaccharides from a Scandinavian fermented milk viili increase butyric acid and Muribaculum members in the mouse gut [J]. Food Chemistry: Molecular Sciences, 2021, 3: 100042.
- [5] 陈扬扬, 刘坤娜, 李云皎, 等. 副干酪乳杆菌 VL8 胞外多糖协同 ConA 对小鼠脾淋巴细胞增殖及细胞因子分泌的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 302–305, 310.  
CHEN YY, LIU KN, LI YJ, *et al.* Effect of exopolysaccharides from *Lactobacillus paracasei* VL8 cooperated with ConA on spleen lymphocyte proliferation and induction of cytokine in mice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(15): 302–305, 310.
- [6] 刘春芳. 开菲尔中乳酸菌的分离鉴定及其发酵特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.  
LIU CF. Study on isolation identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria in Kefir [D]. Huhehaote: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
- [7] 孙悦欣, 史嘉琦, 李璟, 等. 不同保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 复配对发酵乳特性的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(10): 206–215.  
SUN YX, SHI JQ, LI J, *et al.* Effects of different combinations of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* S10 on the properties of fermented milk [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 206–215.
- [8] RAMPANTI G, CANTARINNI A, CARDINALI F, *et al.* Technological and enzymatic characterization of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Viili natural starters [J]. Foods, 2024, 13(7): 1115.
- [9] 杜佳峰, 李琪, 高洁, 等. Viili 直投式发酵剂复配及发酵性能研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(7): 70–75.  
DU JF, LI Q, GAO J, *et al.* Composition and fermentation performance of Viili direct-vat-set culture [J]. China Brewing, 2019, 38(7): 70–75.
- [10] TIAN H, GU Y, LV Z, *et al.* The exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides* XR1 and its effect on silk drawing phenomenon of yoghurt [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 129952.
- [11] 王萍. 罗勒多糖的分离纯化、结构鉴定及其生物活性研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.  
WANG P. Study on isolation, purification, structure identification and biological activity of basil polysaccharide [D]. Ji'nan: Shandong University of Traditional Chinese, 2019.
- [12] 李晏蝶. 乳酸菌与酵母菌混合发酵对奶酪风味的影响[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.  
LI YD. Effect of mixed fermentation of lactic acid bacteria and yeast on cheese flavor [D]. Shihezi: Shihezi University, 2022.
- [13] UNNO R, SUZUKI T, MATSUTANI M, *et al.* Evaluation of the relationships between microbiota and metabolites in soft-type ripened cheese using an integrated omics approach [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 681185.
- [14] CHEN J, LI Q, WANG J, *et al.* Comparative analysis of aroma components and quality of *Geotrichum candidum* after space mutation breeding [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 908329.
- [15] KAMILARI E, STANTON C, REEN FJ, *et al.* Uncovering the biotechnological importance of *Geotrichum candidum* [J]. Foods, 2023, 12(6): 1124.
- [16] 程天天, 李佳乐, 付梦琪, 等. 雪莲菌中产 S 层蛋白乳酸杆菌的筛选及黏附性能[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11): 32–39.  
CHEN TT, LI JL, FU MQ, *et al.* Screening and adhesion properties of S-layer protein producing *Lactobacillus* from Tibet Kefir [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(11): 32–39.
- [17] 施小玉. 功能性羊乳开菲尔直投式发酵剂制备及应用[D]. 西安: 陕西科技大学, 2019.  
SHI XY. Preparation and application of functional Direct-Vat-Set (DVS) Kefir starter cultures for goat milk [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology, 2019.
- [18] 吴文芳, 李宝磊, 侯保朝, 等. 发酵乳稳定性及其影响因素研究进展[J]. 中国乳品工业, 2024, 52(8): 46–53.  
WU WF, LI BL, HOU BZ, *et al.* Research progress on the stability of fermented milk and its influencing factors [J]. China Dairy Industry, 2024, 52(8): 46–53.
- [19] 陈丽斐. 凝固型酸奶继代发酵剂性能稳定性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2022.

- CHEN LF. Study on stability of the Backslop-Starter of traditional set yoghurt [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022.
- [20] 李培培. 乳酸乳球菌乳亚种 BL19 对双歧杆菌发酵乳的品质改善研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2024.
- LI PP. Study on the improvement of quality of *Bifidobacterium* fermentation milk by *Lactococcus lactis* BL19 [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2024.
- [21] ZHANG K, LIU S, TANG H, *et al.* Effect of exopolysaccharides yield and addition concentration of *Lactobacillus helveticus* on the processing characteristics of fermented milk and its mechanism [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 260: 129480.
- [22] PRETE R, ALAM MK, PERPETUINI G, *et al.* Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: A sustainable tool for functional foods [J]. Foods, 2021, 10(7): 1653.
- [23] LI F, JIAO X, ZHAO J, *et al.* Antitumor mechanisms of an exopolysaccharide from *Lactobacillus fermentum* on HT-29 cells and HT-29 tumor-bearing mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209: 552–562.
- [24] NEMATI V, MOZAFARPOUR R. Exopolysaccharides isolated from fermented milk-associated lactic acid bacteria and applied to produce functional value-added probiotic yogurt [J]. LWT-Food Science and Technology, 2024, 199: 116116.
- [25] 常旭龙, 周青霞, 马文聪, 等. 不同发酵剂发酵酸奶的风味及理化特性的研究 [J/OL]. 食品工业科技, 1-14. [2025-01-26]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040391
- CHANG XL, ZHOU QX, MA WC, *et al.* Research on the flavor and physicochemical characteristics of yogurt fermented by different starter cultures [J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 1-14. [2025-01-26]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040391
- [26] 赵晨辉. 馒头用酿酒酵母与乳酸菌的筛选及复合发酵剂的制备[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2024.
- ZHAO CH. Screening of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria for steamed bread and preparation of compound starter [D]. Alaer: Tarim University, 2024.
- [27] SUI Y, LI X, GAO Y, *et al.* Effect of yeast inoculation on the bacterial community structure in reduced-salt Harbin dry sausages: A perspective of fungi–bacteria interactions [J]. Foods, 2024, 13(2): 307.
- [28] BAMBA T, HORI Y, UMEBAYASHI K, *et al.* Comprehensive metabolic profiling of *Geotrichum candidum* and comparison with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2024, 137(1): 9–15.
- [29] 郝秋月, 岳旭良, 樊凡, 等. 发酵乳风味物质生成机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(20): 157–166.
- HAO QY, YUE XL, FAN F, *et al.* Research progress on the formation mechanism of flavor substances in fermented milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(20): 157–166.
- [30] 陈苗苗, 朱睿妍, 文缘, 等. 开菲尔发酵过程中菌系多样性及其风味物质的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2024, 47(4): 25–30.
- CHEN MM, ZHU RY, WEN Y, *et al.* Research progress on microbial diversity and flavor compounds during Kefir fermentation [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2024, 47(4): 25–30.
- [31] 沈棚, 薛红玮. 基于 GC-IMS 不同年份黄酒挥发性风味物质分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 237–243.
- SHEN P, XUE HW. Analysis of volatile flavor substances in Huangjiu with different years based on GC-IMS [J]. China Brewing, 2023, 42(12): 237–243.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)