田罗, 王翔宇, 陈炼红, 等. 高转化共轭亚油酸乳酸菌发酵对牦牛 Emmental 干酪品质及脂肪氧化的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(14): 155−166. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060073
TIAN Luo, WANG Xiangyu, CHEN Lianhong, et al. Changes in Quality and Lipid Oxidation of High-conversion Conjugated Linoleic Acid Lactic Acid Bacteria-fermented Yak Emmental Cheese[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(14): 155−166. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060073

· 生物工程 ·

高转化共轭亚油酸乳酸菌发酵对牦牛 Emmental 干酪品质及脂肪氧化的影响

田　罗[1], 王翔宇[2], 陈炼红[1], 李　静[1], 双维明[1], 任秀梅[3,*]
（1.西南民族大学药学与食品学院, 四川成都 610000;
2.四川省食品检验研究院, 四川成都 610000;
3.甘孜州畜牧业科学研究所, 四川甘孜 626000）

摘　要: 本研究旨在研发富含共轭亚油酸（Conjugated linoleic acid，CLA）的牦牛乳 Emmental 干酪，通过添加高转化 CLA 乳酸菌，评估该干酪品质及脂肪氧化特性的变化。模拟 Emmental 干酪成熟环境，筛选最优菌株制备直投式附属发酵剂，添加直投式附属发酵剂干酪为实验组，未添加为空白组。干酪成熟 1、25、50、75、100 d 时通过感官评价、扫描电镜、顶空固相微萃取气质联用技术（Headspace solid-phase microextraction-mass spectrometry coupled with gas chromatography-mass spectrometry，HS-SPME-GC-MS）、索氏抽提、气相色谱-质谱（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）比较实验组和空白组干酪的微观结构、挥发性物质、脂肪降解、脂肪酸组成及变化。结果表明：发酵乳杆菌 S57 和德氏乳杆菌 S60（CLA 转化率分别为 15.27% 和 15.82%）为最优菌株；实验组干酪检出 2-壬酮和乳酸乙酯为高转化 CLA 乳酸菌特有的风味物质；实验组酪蛋白胶束较对照组更纤细且间隙更大；随着成熟时间延长，三组干酪脂肪含量先升高后下降，100 d 时高于发酵初期；酸价（Acid degree value，ADV）和硫代巴比妥酸值（Thiobarbituric acid value，TBA）均随成熟时间延长而逐渐升高，且实验组 TBA 值低于 0.5 mg/kg，未产生不良风味；发酵乳杆菌 S57 组和德氏乳杆菌 S60 组干酪的 CLA 转化率最高可达 6.09%、7.06%，均高于空白组。在成熟 25、50、100 d 时，实验组与空白组干酪的健康促进指数存在显著差异（$P<0.05$），实验组的健康促进水平高于空白组。因此，高转化 CLA 乳酸菌应用于牦牛乳 Emmental 干酪能提升其品质及改善脂肪氧化，具有开发和应用价值。

关键词: 共轭亚油酸, 乳酸菌, 牦牛乳, Emmental 干酪, 脂肪酸, 顶空固相微萃取气质联用技术（HS-SPME-GC-MS）
中图分类号: TS252.53　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)14−0155−12　　本文网刊:
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060073

Changes in Quality and Lipid Oxidation of High-conversion Conjugated Linoleic Acid Lactic Acid Bacteria-fermented Yak Emmental Cheese

TIAN Luo[1], WANG Xiangyu[2], CHEN Lianhong[1], LI Jing[1], SHUANG Weiming[1], REN Xiumei[3,*]
（1.College of Pharmacy and Food Science, Southwest Minzu University, Chengdu 610000, China;
2.Sichuan Provincial Food Inspection Institute, Chengdu 610000, China;
3.Ganzi Prefecture Institute of Animal Husbandry Sciences, Ganzi 626000, China）

Abstract: This study aimed to develop yak milk Emmental cheese enriched with conjugated linoleic acid (CLA) by incorporating high-CLA-converting lactic acid bacteria and to evaluate the resulting changes in cheese quality and lipid oxida-

收稿日期: 2025−06−09
作者简介: 田罗（1999−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: tianluo2023@126.com。
*** 通信作者:** 任秀梅（1974−）, 女, 本科, 研究方向: 畜产品加工与安全, E-mail: 505403777@qq.com。

tion characteristics. The ripening environment of Emmental cheese was simulated to screen optimal bacterial strains for preparing a direct-to-vat set adjunct culture. Cheese with the adjunct culture served as the experimental group, while cheese without it served as the control group. At 1, 25, 50, 75, and 100 days of ripening, the microstructure, volatile compounds, lipolysis, and fatty acid composition of the cheeses were compared using sensory evaluation, scanning electron microscopy, headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS), Soxhlet extraction, and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). Results showed that *Lactobacillus fermentum* S57 and *Lactobacillus delbrueckii* S60, with CLA conversion rates of 15.27% and 15.82%, respectively, were selected as the optimal strains. 2-Nonanone and ethyl lactate were identified as characteristic flavor compounds produced by the high-CLA-converting LAB in the experimental cheese. The casein micelles in the experimental group were finer and had larger gaps compared to those in the control group. As ripening progressed, the fat content in all cheese groups first increased and then decreased, remaining higher at 100 days than at the initial stage. Acid degree value (ADV) and thiobarbituric acid (TBA) value gradually increased with ripening time, and the TBA value of the experimental group remained below 0.5 mg/kg, without producing any off-flavor. The CLA conversion rates in cheeses made with *L. fermentum* S57 and *L. delbrueckii* S60 reached up to 6.09% and 7.06%, respectively, both higher than that of the control group. At 25, 50, and 100 days of ripening, significant differences (P<0.05) in the health promotion index were observed between the experimental and control groups, with the experimental group showing a higher level of health promotion. Therefore, the application of high-CLA-converting lactic acid bacteria in yak milk Emmental cheese improves cheese quality and enhances lipid oxidation profiles, indicating promising potential for development and application.

Key words: conjugated linoleic acid; lactic acid bacteria; yak milk; Emmental cheese; fatty acids; headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry technology (HS-SPME-GC-MS)

共轭亚油酸(Conjugated linoleic acid, CLA)是一种必需脂肪酸, 在人体内起着各种益生元作用, 然而, 人类和哺乳动物都无法独立合成 CLA。反刍动物乳制品和肉制品是人类饮食中 CLA 的主要来源[1]。CLA 是含有共轭双键(-C=C-C=C-)的十八碳二烯酸(C18:2)的所有位置和几何异构体的混合物[2], 目前至少有 28 种已知的基于双键在碳链上不同位置的 CLA 异构体[3], 使 CLA 具有多种健康效应, 如免疫调节、促进肝脏代谢和降低血糖等。研究表明, 乳酸菌的某些菌株能够将培养基或牛奶中的亚油酸转化为 CLA[1,4–5]。Emmental 干酪, 源自瑞士埃门塔尔山区, 故也称为瑞士干酪, 是一种广受欢迎的硬质干酪, 以其坚果味、甜味和樱桃到核桃大小的气孔为特色[6]。通常 Emmental 干酪中的脂肪分解程度很低, 即脂肪的 1%~2%[7], 但其对于良好的风味平衡至关重要。牦牛乳中不饱和脂肪酸含量和比例高于普通牛乳, 其中人体必需脂肪酸亚油酸和亚麻酸共占总脂肪酸 3.88%, 并含有共轭亚油酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸等功能性脂肪酸[8–9], 适合用作功能性干酪的原料乳。

目前, 国内外关于 Emmental 干酪的研究多见于用普通牛乳作为原料乳探究加工技术对其品质及化学特性的影响, 或采用新技术对其进行检测。如 Michalski 等[10] 发现在生产牛乳 Emmental 干酪时, 使用较小的天然乳脂肪球比控制生牛奶中的天然乳脂肪球, 能带来更好的功能和感官品质。Sulaiman 等[11] 使用瞬时控制压降工艺膨化牛乳 Emmental 干酪, 以获得膨胀和酥脆的零食。González 等[12] 使用声学技术监测牛乳 Emmental 干酪中的气孔形成, 结果表明, 声学参数能够探测出不同阶段的气孔形成情况。然而, 以牦牛乳 Emmental 干酪为模型, 探究牦牛乳源的高转化 CLA 乳酸菌对其品质和脂肪氧化影响还未见报道。

本实验以牦牛乳为原料, 添加高转化 CLA 的乳酸菌, 开发一款新型牦牛乳 Emmental 干酪, 成熟时间 100 d, 每 25 d 测定一次牦牛乳 Emmental 干酪的理化特性、挥发性物质组成、蛋白质降解、脂肪氧化及脂肪酸组成, 旨在为研发富含共轭亚油酸的牦牛乳 Emmental 干酪提供理论依据, 同时促进牦牛乳资源的开发利用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

25 株产 CLA 乳酸菌　由实验室前期从高原牧区传统牦牛发酵酸乳中筛选分离保藏; 新鲜牦牛乳　采自四川省(脂肪 5.19%、亚油酸 1.35%、蛋白质 3.54%、乳糖 5.37%、乳密度 1.035); TCC-3 发酵剂(德氏乳杆菌、嗜热链球菌)、小牛皱胃酶(酶活力≥15000 IMCU/g)　丹麦科汉森公司; 十一碳酸甘油三酯内标溶液　上海阿拉丁生化科技有限公司; 混合脂肪酸甲酯标准溶液　北京索莱宝科技有限公司; 共轭亚油酸(纯度≥99%)　美国 Nu-Chek-prep 公司; 亚油酸(纯度≥95%)　山东西亚化学股份有限公司。

ZWY-100H 型恒温培养振荡器　上海智城分析仪器制造有限公司; UV-1900 紫外可见分光光度计　翱艺仪器(上海)有限公司; ISQ7610 GC-MS 联用仪(配置 Triplus 自动进样器)　美国 Thermo Fisher 公司; Sigma 500 扫描电子显微镜　德国 ZEISS 集团; E-816 索氏抽提仪　瑞士 BUCHI 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 乳酸菌的活化　以 2% 的接种量将乳酸菌接

种于灭菌 MRS 肉汤培养基，恒温培养箱中 37 ℃ 培养 24 h，得到 1 代菌悬液。以 10% 的接种量将 1 代菌悬液接种于 MRS 肉汤培养基，重复以上步骤，活化三代备用。

1.2.2　耐受干酪成熟环境乳酸菌的筛选　参考江丽红[13] 的方法并修改，接种 2% 活化的菌液于模拟干酪成熟环境的 MRS 肉汤培养基（4% NaCl 调节 pH 为 5.0），于 14 ℃ 静置培养 72 h，测定 OD_{600} 值，考察菌株同处在低温（14 ℃）、高盐（4% NaCl）及酸性（pH5.0）环境下的生长情况。

共轭亚油酸标准曲线的制作：CLA 标准曲线根据夏艳等[14] 的方法稍作修改，将 50 mg CLA 标准品用正己烷定容至 50 mL，配成标准溶液；从标准溶液中分别吸取 0.125、0.250、0.375、0.500、0.750、1000 μL 定容至 25 mL，以正己烷作为参比物质，用紫外可见分光光度计在 233 nm 处测定吸光度；以 CLA 的质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制 CLA 的标准曲线，其线性回归方程为 y=0.0445x+0.0044（x 为 CLA 质量浓度，y 为 OD_{233}），拟合度 R^2=0.9982，用于测定 CLA 转化率。

CLA 转化率：取 1 g 样品，用正己烷定容到 25 mL。以正己烷为参比，测定其在 233 nm 处的吸光度。利用标准曲线计算样品的含量，并按式（1）计算 CLA 转化率：

$$\text{CLA 转化率}(\%) = \frac{\text{CLA含量}(mg/g)}{m_1 \times m_2} \times 100 \quad \text{式（1）}$$

式中：m_1 为乳脂肪总质量，g；m_2 为乳脂肪中亚油酸的百分比，%。

1.2.3　直投式附属发酵剂制备与检验　实验菌株活化后，接种于 MRS 肉汤培养基中，37 ℃ 培养 24 h。4 ℃、2000×g 离心 15 min 收集菌体，用无菌生理盐水洗涤 3 次，菌泥以 1∶10（m/v）比例悬浮于低温冻干保护剂中；置于−80 ℃ 预冻 5 h 后，−55 ℃、0.08 MPa 冷冻干燥 24 h，得到直投式附属发酵剂。冻干保护剂的制备参考 Gul 等[15] 的方法，110 ℃ 灭菌 10 min 冷却至室温备用。直投式附属发酵剂活菌数检验参考 GB 4789.35-2023《食品微生物学检验 乳酸菌检验》于 37 ℃ 培养 24 h 进行计数，并按式（2）计算存活率：

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{直投式附属发酵剂活菌数}}{\text{菌悬液活菌数}} \times 100 \quad \text{式（2）}$$

1.2.4　牦牛 Emmental 干酪制备　原料乳→过滤（原料乳缓缓倒入 3~4 层灭菌的医用纱布除去杂质）→巴氏灭菌（63 ℃，30 min）→冷却（37 ℃）→添加发酵剂/附属发酵剂→调节酸度至 5.8→添加凝乳酶（添加量为 0.005%）→凝乳（35 ℃，30~40 min）→切割（1 cm^3 左右方块）→保温搅拌（50~60 min）→升温搅拌（30 min 内 37~52 ℃）→排出乳清→压榨成型（15 cm×12 cm）→盐渍（4 ℃、21%~23% 盐水浸渍 48 h）→成熟（真空包装干酪于 8~12 ℃ 预成熟 3 周，22~25 ℃ 发酵 6 周以产气孔；4~5 ℃ 成熟 3 周）。空白组（KB）添加 TCC-3 发酵剂（德氏乳杆菌、嗜热链球菌），实验组添加等量 TCC-3 发酵剂和直投式附属发酵剂（发酵黏液乳杆菌 57、德式乳杆菌 60），添加量参考 Shuang 等[16] 的试验结果，0.006% TCC-3 和 0.018% 直投式附属发酵剂。将三组干酪置于恒温恒湿（相对湿度 85%）箱中成熟，分别于 1、25、50、75、100 d 取样。

1.2.5　指标检测方法

1.2.5.1　理化指标的测定　水分含量根据 GB 5009.3-2016《食品中水分的测定》中的直接干燥法测定；pH 根据 GB 5009.237-2016《食品 pH 值的测定》测定。测定三次取平均值。

1.2.5.2　微生物指标的测定　乳酸菌活菌数测定：参考 GB 4789.35-2023《食品微生物学检验 乳酸菌检验》于 37 ℃ 培养 48 h，进行活菌计数。菌落总数的测定：采用 1.2.2 中的方法培养24 h，每个稀释度做三组平行。

1.2.5.3　感官评价　参考 GB 5420-2021《干酪》感官要求制定检验方法和 Emmental 干酪感官评价表（见表 1）。

表 1　Emmental 干酪感官评价标准

Table 1　Emmental cheese sensory evaluation criterion

项目	特征	评分（分）
色泽	颜色呈干酪特有的颜色，均匀，表面有光泽	9~10
	颜色略有变化，表面有光泽	7~8
	颜色稍有不均，表面光泽差	5~6
	颜色不均，表面光泽极差	3~4
	颜色有明显变化，不均匀，表面缺少光泽感	0~2
滋味气味	有良好的干酪味，香味浓郁，咸味合适	16~20
	有良好的干酪味，风味较好，咸味适中	11~15
	气味良好，干酪香味偏淡，稍带咸味	6~10
	气味合格，干酪香味较淡，无咸味或咸味过重	3~5
	香味较淡或没有，伴有其他杂味	0~2
组织状态	质地紧密、硬度适中，成熟后韧性好，黏度适中，稍带有弹性，小气孔分布合理	16~20
	质地较均匀、稍软或稍硬，成熟后有韧性，黏度适中，稍带有弹性，有气孔分布	11~15
	质地基本均匀，组织状态一般，成熟后韧性、粘度、弹性一般，无气孔分布	6~10
	组织状态疏松，成熟后无韧性，弹性差	3~5
	组织状态粗糙，粉粒状，成熟后无韧性，较硬，无弹性	0~2

1.2.5.4　挥发性风味物质的测定　采用顶空固相微萃取富集方法检测挥发性风味物质。SPME 条件：称取 5 g 样品于 20 mL 顶空瓶中，将已老化的萃取头插入顶空瓶 80 ℃ 吸附 30 min，进样口 220 ℃ 解吸 15 min。

GC-MS 检测条件：TG-WAXMSB 色谱柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）。升温程序：初始温度

40 ℃ 维持 3 min; 3 ℃/min 升至 100 ℃, 维持 2 min; 再以 4 ℃/min 升至 220 ℃, 维持 5 min。载气(He)流速 1 mL/min。

MS 条件: 接口温度 210 ℃, 传输线温度 230 ℃, 电压 1.2 kV, 电子源: EI 源, 离子源温度 250 ℃, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围 40~650 u; 全扫描模式。

定性定量分析: 化合物通过 NIST17 标准谱库(匹配度>80%)定性, 面积归一法定量, 根据式(3)计算挥发性成分相对含量。

$$\text{挥发性成分相对含量}(\%) = \frac{\text{化合物峰面积}}{\text{总峰面积}} \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.5.5 脂肪分解指标的测定 粗脂肪含量根据 GB 5009.6-2016《食品中脂肪的测定》, 采用索氏抽提法测定; 酸价根据 GB 5009.229-2016 第一法测定; 硫代巴比妥酸值根据李昂等[17] 的方法测定。

1.2.5.6 扫描电镜观察微观结构 参考李红娟等[18] 方法并加以修改, 干酪采用离子溅射的方法喷金, 置于 20.0 kV、5000 倍电镜下扫描。

1.2.5.7 牦牛 Emmental 脂肪酸的测定 干酪样品处理、脂肪提取和脂肪酸甲酯化参照国标 GB 5009.168-2016《食品中脂肪酸的测定》。

GC-MC 条件: 取单脂肪酸甲酯标准溶液及脂肪酸甲酯混合液分别通入气相色谱仪中, 对脂肪酸甲酯混合液的气相色谱峰进行定性分析, 根据面积归一法定量。毛细管色谱柱: 聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相(100 m×0.25 mm, 0.2 μm)。进样器温度: 270 ℃。检测器温度: 280 ℃。升温程序: 初始温度 100 ℃, 持续 13 min; 10 ℃/min 升至 180 ℃, 保持 6 min; 1 ℃/min 升至 200 ℃, 保持 20 min; 4 ℃/min 升至 230 ℃, 保持 10.5 min。载气: 氮气。分流比: 100∶1, 进样体积: 1.0 μL。

MS 条件: 接口温度 220 ℃, 离子源温度 220 ℃。电子源: EI 源, 电子能量 70 eV。全扫描状态, 扫描范围: m/z 为 50.0~400.0。脂肪酸的相对含量按式(4)计算:

$$\text{脂肪酸相对含量}(\%) = \frac{\text{脂肪酸峰面积}}{\text{脂肪酸峰面积的总和}} \times 100 \quad \text{式(4)}$$

1.2.6 健康促进指数评估 根据杨静[19] 和 Hanuš 等[20] 的方法计算健康促进指数, 公式如下:

$$\text{HPI} = \frac{\text{MUFA} + \text{PUFA}}{\text{C12:0} + 4 \times \text{C14:0} + \text{C16:0}} \quad \text{式(5)}$$

式中: MUFA 为单不饱和脂肪酸总质量, g; PUFA 为多不饱和脂肪酸总质量, g; C12:0 为月桂酸总质量, g; C14:0 为肉豆蔻酸总质量, g; C16:0 为棕榈酸总质量, g。

1.3 数据处理

每个实验做 3 个重复, 结果以平均值±标准差表示, 用 SPSS22 软件进行数据统计, Origin2022 软件作图, 显著差异水平取为 $P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 高转化 CLA 乳酸菌的筛选

在干酪 5~15 ℃ 的成熟温度条件下, 对 25 株乳酸菌在高盐、低温、酸性环境中的生长情况进行了实验。结果见图 1 所示, 综合 OD_{600} 值和 CLA 转化率筛选, 以双指标加权排序(OD_{600} 权重 40%, CLA 转化率权重 60%), 发酵乳杆菌 S57(OD_{600}=0.268, CLA 转化率=15.27%)与德氏乳杆菌 S60(OD_{600}=0.270, CLA 转化率=15.82%)表现最优, 故被选为附属发酵剂用于后续试验。

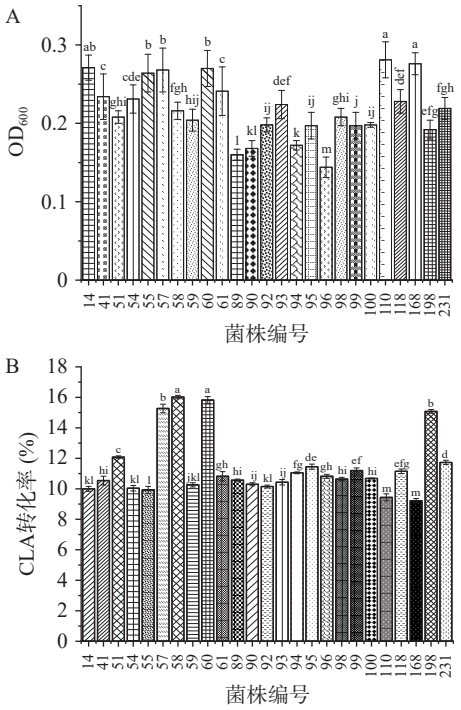


图 1 25 株高转化 CLA 乳酸菌同处在高盐、低温级酸性环境下的生长情况及 CLA 转化率

Fig.1 Growth and CLA conversion rate of 25 strains of CLA-producing lactic acid bacteria with high conversion capability under combined stress conditions of high salt, low temperature, and acidic environment

注: 不同小写字母表示不同菌株的生长情况有显著差异($P<0.05$)。

2.2 直投式附属发酵剂活菌数检验

由表 2 可知, 经过冷冻干燥后制备的发酵乳杆菌 S57 和德氏乳杆菌 S60 直投式附属发酵剂活菌存

表 2 各菌种活菌数检验结果

Table 2 Results of viable bacteria count test for each species

菌种名称	活菌数(lg CFU·g^{-1})	存活率(%)
TCC-3	11.02±0.05	−
发酵乳杆菌S57菌悬液	10.98±0.06	−
发酵乳杆菌S57直投式附属发酵剂	10.67±0.04	97.07±2.34
德氏乳杆菌S60菌悬液	10.88±0.06	−
德氏乳杆菌S60直投式附属发酵剂	10.58±0.10	95.23±1.05

注: “−”表示无数据。

活率达 97.07%、95.23%，能够较好维持发酵剂的活性，可用于实际干酪的制作。

2.3　理化指标分析

2.3.1　水分和 pH 分析　牦牛 Emmental 干酪的理化指标如图 2 所示。水分含量如图 2A 所示，随着成熟时间延长，KB、S57、S60 三组干酪的水分含量均呈先下降后上升再下降的趋势。成熟 1 d 时，干酪的网状结构空隙较小，水分不易流失，故水分含量较高；随着时间延长，酪蛋白的分解导致结构空隙增大，水分流失；成熟 25 d 时，水分明显流失。成熟 25 d 后，水分含量出现短暂回升，可能与脂肪和蛋白质分解过程中产生的水分有关[21]。成熟 50 d 后，蛋白质分解基本完成，干酪网状结构趋于稳定，水分流失速率得到减缓。整个成熟期间除了 50 d 时，实验组 S57、S60 水分含量显著高于 KB 组（P<0.05），说明高转化 CLA 乳酸菌有利于延缓干酪硬度的上升。

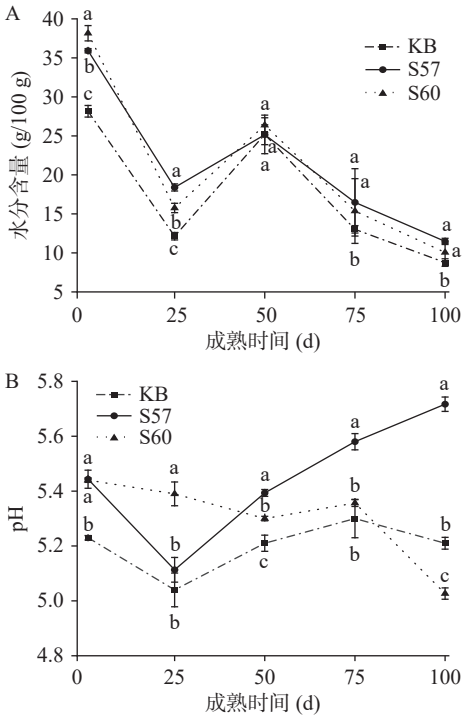


图 2　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪水分含量（A）和 pH（B）的影响

Fig.2　Effects of highly transformed CLA lactic acid bacteria on the water content (A) and pH (B) of yak Emmental cheese

注：A 为水分变化情况；B 为 pH 变化情况；不同小写字母表示相同时间不同组别差异显著（P<0.05）；图 3 同。

如图 2B 所示，三组干酪 pH 在 5.2~5.7 之间。成熟 25 d 时，三组干酪的 pH 均有所降低，这是由于乳糖被乳酸菌降解生成乳酸。成熟 50 d 时，三组干酪的蛋白质显著水解使碱性产物积累，中和了部分乳酸，使干酪 pH 快速上升；S57 组干酪在成熟 100 d 时随着成熟温度降至 4~5 ℃，微生物代谢速率降低[21]，pH 上升稍缓达到 5.7 左右，且 S57 组干酪的 pH 显著高于 KB 组和 S60 组（P<0.05），说明发酵乳杆菌 S57 可以缓解干酪的酸味。

2.3.2　微生物指标结果分析　干酪中的乳酸菌数生长情况如图 3A 所示，三组干酪中乳酸菌数随成熟时间呈先上升后下降的变化。各组在成熟 25 d 达到最大值，且实验组乳酸菌数始终高于空白组。干酪中的菌落总数生长情况如图 3B 所示，菌落总数的变化趋势与乳酸菌数相似，同在 25 d 时达到最大值。在成熟 100 d 时，S60 组的菌落总数最高为 8.25（lg CFU/g）。菌落总数的变化趋势与范敏[22] 在稀奶油干酪发酵过程中菌落总数变化趋势相同。贮藏期内奶酪中乳酸菌活菌数持续降低，可能是由于奶酪贮藏期间乳糖降解导致酸度增加，从而抑制乳酸菌的生长，并且随贮藏时间延长奶酪中营养物质被消耗，乳酸菌可利用的碳源减少，生存受限[23]。

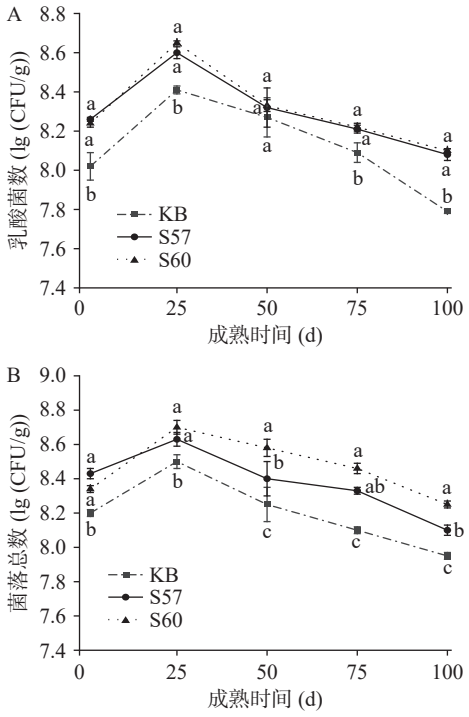


图 3　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪微生物指标的影响

Fig.3　Effects of highly transformed CLA lactic acid bacteria on microbiological indicators of yak Emmental cheese

注：A 为乳酸菌数变化情况；B 为菌落总数变化情况。

2.4　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪品质及挥发性物质的影响

2.4.1　感官评价　牦牛 Emmental 干酪感官评价如表 3 所示，随着成熟时间的增加，三组干酪感官评分均有所增加，S60 组在 75 d 时的滋味气味显著优于其余两组（P<0.05），除此以外，各实验组与空白组干酪在色泽、滋味气味、组织形态等各项感官指标上均无显著差异（P>0.05），说明添加 S57 和 S60 作为直投式附属发酵剂，并未对牦牛 Emmental 干酪的传统感官品质产生负面影响。成熟 25 d 时，干酪开始具有发酵香味；三组干酪感官评分均提高，这是在酶促反应的作用下，脂肪被水解为脂肪酸，脂肪酸与干酪中的醇类物质发生酯化反应，生成具有特征性香气的

表 3 干酪感官评价结果

Table 3 Sensory evaluation results of cheeses

样品	色泽	滋味气味	组织状态	总分
1 d-KB	7.50±1.00^{Aa}	13.75±3.66^{Aa}	10.50±0.58^{Aa}	31.75±3.09^{Aa}
1 d-S57	8.00±0.82^{Aa}	12.63±2.98^{Aa}	10.25±1.71^{Ab}	30.88±3.13^{Ab}
1 d-S60	7.75±1.26^{Aa}	11.38±2.93^{Ab}	10.75±1.71^{Ab}	29.88±2.84^{Ab}
25 d-KB	9.00±1.41^{Aa}	15.00±2.16^{Aa}	13.75±1.89^{Aa}	37.75±1.3^{Aa}
25 d-S57	8.63±1.11^{Aa}	15.00±2.04^{Aa}	13.00±1.41^{Aab}	36.63±1.82^{Aab}
25 d-S60	8.63±0.48^{Aa}	14.38±2.29^{Aa}	13.50±2.65^{Aa}	36.50±2.37^{Aa}
50 d-KB	8.50±1.91^{Aa}	13.00±2.16^{Aa}	11.50±1.29^{Aa}	33.00±2.55^{Aa}
50d-S57	7.75±1.26^{Aa}	14.50±2.61^{Aa}	12.50±1.29^{Aab}	34.75±3.82^{Aab}
50 d-S60	8.13±0.63^{Aa}	13.13±0.85^{Aab}	12.75±0.50^{Aab}	34.00±1.22^{Aa}
75 d-KB	8.13±1.75^{Aa}	12.63±0.48^{Ba}	13.00±3.37^{Aa}	33.75±4.71^{Aa}
75 d-S57	8.63±1.11^{Aa}	12.75±0.50^{Ba}	13.50±2.28^{Aa}	34.88±2.88^{Aab}
75 d-S60	8.13±1.75^{Aa}	15.63±0.48^{Aa}	13.75±1.89^{Aa}	37.50±3.02^{Aa}
100 d-KB	8.00±1.41^{Aa}	13.88±1.44^{Aa}	12.75±3.59^{Aa}	34.63±5.24^{Aa}
100 d-S57	9.25±0.96^{Aa}	15.38±1.11^{Aa}	14.75±2.22^{Aa}	39.38±2.48^{Aa}
100 d-S60	8.88±0.85^{Aa}	13.75±0.29^{Aab}	15.00±0.82^{Aa}	37.63±1.02^{Aa}

注: 不同小写字母表示相同组别不同时间差异显著(P<0.05); 不同大写字母表示相同时间不同组别差异显著(P<0.05); 表5同。

酯类物质, 从而赋予干酪特有的芳香特性[24]。此外, 在酶催化作用下, 大分子肽逐步降解为小分子肽, 并进一步水解生成氨基酸及其副产物, 从而改善干酪的细腻度。在整个成熟期间内, 实验组干酪未出现明显苦味, 说明直投式附属发酵剂未造成过度水解。结果表明, 添加高转化 CLA 发酵乳酸菌 57 和德氏乳杆菌 S60 有利于牦牛 Emmental 干酪风味的生成。

2.4.2 挥发性成分结果分析 利用 HS-SPME-GC-MS 分别对不同成熟时间的三组干酪挥发性风味物质进行检测, 结果如表 4 所示。从第 1 d 到第 100 d 的 KB 组共鉴定出 60 种风味化合物, 包括醛类 6 种、醇类 17 种、烷烃类 9 种、酮类 11 种、酯类 6 种、酸类 9 种及其他类 2 种; S57 组鉴定出 56 种, 包括醛类 6 种、醇类 18种、烷烃类 7 种、酮类 8 种、酯类 5 种、酸类 9 种及其他类 3 种; S60 组鉴定出 58 种, 包括醛类 5 种、醇类 18 种、烷烃类 8 种、酮类 9 种、酯类 7 种、酸类 9 种及其他类 2 种。

表 4 牦牛 Emmental 干酪挥发性物质相对含量(%)

Table 4 Yak Emmental cheese volatile matter relative content (%)

序号	名称	气味[25−29]	1 d			25 d			50 d			75 d			100 d		
			KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60
	醛类(7种)																
1	苯甲醛	坚果味	0.20	0.40	0.20	0.40	0.60	0.50	1.80	1.10	1.80	1.10	1.00	1.50	0.40	0.40	0.70
2	正己醛	水果味	/	0.40	/	/	0.50	0.30	3.80	1.10	1.10	1.10	1.40	0.60	0.30	0.20	/
3	3-甲基丁醛	坚果味	/	0.40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
4	戊醛	苦杏仁味	/	6.60	/	/	4.80	5.40	6.10	8.80	/	7.60	7.20	8.40	/	/	/
5	异戊醛	香蕉味	/	/	/	/	0.30	/	1.90	/	2.20	1.50	1.20	1.30	3.60	2.90	2.80
6	庚醛	泥土味	/	/	/	/	/	/	0.50	/	/	/	/	/	/	/	/
7	壬醛	青草香	1.30	1.30	1.30	/	/	/	0.50	/	/	/	/	/	/	/	0.40
	醇类(19种)																
8	乙醇	酒精味	/	3.20	3.00	/	0.90	2.30	/	0.70	/	/	/	7.50	3.10	4.20	3.10
9	异戊醇	干酪香	/	4.80	1.90	/	2.20	1.20	/	2.00	0.30	2.40	0.80	1.20	2.90	2.40	2.40
10	正戊醇	霉味	3.10	5.10	1.60	3.80	2.80	4.40	5.20	5.70	5.30	4.50	3.90	5.60	1.90	3.20	0.90
11	正己醇	青草香	/	/	/	/	/	/	1.00	0.80	/	0.80	0.60	0.60	0.60	0.50	/
12	正庚醇	青草香	/	0.20	0.10	/	/	/	/	/	/	/	/	0.40	/	/	/
13	1-丁醇	水果味	/	0.50	0.10	0.10	0.30	0.20	0.60	0.40	0.30	0.30	0.30	0.50	0.10	0.10	/
14	1-壬醇	蜡味	0.70	0.50	/	/	0.20	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	/	0.40	/	/	/
15	1-戊烯-3-醇	果香	/	/	/	/	/	/	0.50	0.30	0.20	0.20	/	/	0.10	/	/
16	2-庚醇	柠檬香	/	/	0.20	/	0.30	0.50	0.50	0.70	/	0.50	0.30	/	0.50	0.50	0.40
17	2-己醇	干酪味	/	/	/	/	/	0.50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
18	内消旋-3,4-己二醇	/	/	0.60	/	2.00	/	0.50	/	0.50	1.5	/	0.50	0.50	0.4	/	0.20
19	2-乙基己醇	苹果味	2.00	0.30	0.10	0.30	0.70	0.40	1.00	0.90	0.5	0.50	0.70	0.30	0.10	0.10	0.10
20	2,3-丁二醇, [S(R*, R*)]-	黄油味	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6.90	1.25	0.70	2.70	1.10	/
21	2,3-丁二醇, [R-(R*, R*)]-	黄油味	/	/	/	/	/	/	0.10	/	/	0.30	0.30	/	/	/	/
22	2,3-丁二醇	黄油味	/	0.40	0.10	/	12.80	9.90	0.70	0.60	/	/	/	0.10	0.10	/	/
23	苯甲醇	烧焦味	/	/	0.10	/	0.10	0.10	0.10	0.10	/	0.10	/	/	/	0.10	0.10
24	苯乙醇	玫瑰味	0.50	0.80	0.30	/	0.50	0.20	0.60	0.60	0.90	0.20	0.50	0.80	0.20	0.20	0.30
25	二乙二醇	威士忌香	/	/	/	0.10	/	0.10	/	0.20	9.50	0.20	0.60	0.10	0.20	0.10	/
26	2-甲基-3-戊醇	霉味	/	/	0.60	/	0.50	/	0.50	/	/	0.50	/	/	/	0.20	/
	烷烃类(9种)																
27	癸烷	干酪味	/	/	1.00	/	/	/	1.60	1.40	/	/	/	/	0.50	0.30	0.60

续表 4

序号	名称	气味[25−29]	1 d			25 d			50 d			75 d			100 d		
			KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60	KB	S57	S60
28	十一烷	干酪味	/	0.50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.20	/	0.30
29	正十一烷	汽油味	1.60	0.70	0.20	/	/	/	/	0.30	/	/	/	1.00	0.10	0.10	0.30
30	正十二烷	汽油味	0.30	0.30	/	/	/	/	/	0.20	0.10	/	/	/	/	/	/
31	十五烷	蜡味	1.80	/	/	/	/	/	/	0.40	0.30	/	/	/	/	/	0.10
32	3-甲基十一烷	/	/	0.60	0.30	/	/	/	/	0.50	/	/	/	0.60	0.10	0.10	0.30
33	3-甲基十三烷	/	0.60	0.20	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
34	4-甲基十四烷	/	0.30	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.4	/	/	/
35	2,3,6,7-四甲基辛烷	/	0.30	/	0.40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	酮类(13种)																
36	2-丁酮	奶香	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.10	/	/
37	2-壬酮	奶油味	1.70	1.10	0.50	0.80	0.70	0.90	1.10	1.50	1.10	1.10	1.50	0.90	0.50	0.40	1.00
38	2-庚酮	热牛奶味	/	/	/	0.20	0.30	0.30	0.30	0.30	0.10	0.70	0.60	0.50	0.60	0.50	0.50
39	2-戊酮	果香	/	/	1.40	/	/	1.8	/	/	/	1.00	/	/	/	/	/
40	2-十一酮	柑橘味	0.90	/	0.20	0.10	/	/	/	/	0.20	/	/	/	/	/	0.60
41	2-十三酮	水果味	0.40	0.10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.10
42	2,3-戊二酮	奶油味	/	/	/	0.90	/	/	0.80	0.70	0.80	0.40	0.50	0.90	0.20	0.10	/
43	3-己酮	果香、蜡香	/	0.30	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
44	2-羟基-3-戊酮	柑橘味	1.60	/	/	1.90	/	/	/	/	1.30	/	/	/	/	/	/
45	3-羟基-2-丁酮	黄油味	12.30	6.00	6.00	18.00	4.10	3.20	2.20	2.50	/	1.60	2.30	1.70	6.40	0.80	0.20
46	5-甲基-2-己酮	干酪味	/	/	/	0.10	/	/	1.30	/	/	1.10	/	/	0.40	/	/
47	环己酮	水果味	/	0.10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
48	苯乙酮	金合欢味	/	/	/	/	0.30	/	0.50	0.50	0.30	0.30	0.50	/	/	/	/
	酯类(11种)																
49	甲酸庚酯	黄瓜味	0.80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
50	乙酸丁酯	香蕉味	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.20	0.20	/	/	/	/
51	己酸乙酯	水果味	/	0.30	/	0.10	/	/	/	/	/	/	/	/	0.20	0.20	0.30
52	乳酸乙酯	甜香	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.20	0.10
53	正己酸乙烯酯	水果味	/	/	/	/	/	/	/	/	0.20	/	/	/	/	/	/
54	乙酸乙烯酯	/	/	/	0.80	8.70	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
55	丁位己内酯	椰子香	/	0.20	/	0.10	0.20	0.10	/	/	0.10	/	0.20	/	/	/	0.10
56	丁位辛内酯	可可味, 椰子味	/	0.10	0.10	/	0.10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
57	丁位癸内酯	水果味	/	/	/	/	/	/	/	/	0.40	/	/	/	/	/	/
58	2-甲基戊酸甲酯	菠萝味	/	/	/	/	/	/		/	/	/	/	/	/	/	/
59	2-羟基丙酸乙酯	椰子味	2.30	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.10	/	/
	酸类(9种)																
60	乙酸	醋酸味	/	/	/	/	/	/	4.80	2.00	1.10	0.90	5.00	3.80	2.60	6.20	3.50
61	丙酸	汗味	/	0.20	/	0.10	0.20	0.20	/	2.20	0.20	0.30	0.20	/	0.10	0.20	0.20
62	丁酸	酸败味	/	/	/	/	/	/	11.50	14.20	14.80	17.0	15.50	9.30	29.70	21.9	14.00
63	戊酸	腐臭味	/	3.00	0.30	0.30	0.20	0.30	0.40	0.60	0.40	0.50	0.40	0.30	0.30	0.30	0.90
64	己酸	奶香味	/	/	/	/	/	/	6.20	8.10	3.80	4.20	4.60	1.10	3.50	3.30	6.00
65	庚酸	哈喇味	/	0.20	0.10	0.10	0.10	0.10	0.40	0.20	0.20	0.20	0.30	0.10	0.10	0.10	0.10
66	辛酸	霉味	/	/	/	/	/	/	9.50	8.50	6.60	6.40	6.90	6.00	3.80	4.90	17.20
67	异丁酸	酸败味	/	0.90	/	/	1.10	0.50	/	/	/	/	/	0.90	0.40	0.30	/
68	3-甲基丁酸	汗脚味	/	3.10	0.30	0.20	3.60	1.60	2.20	1.90	0.30	1.50	1.30	2.60	1.20	0.80	0.70
	其他(3种)																
69	对二甲苯	化学溶剂味	0.50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.30	0.30	/	/	/
70	乙基苯	油漆味	/	/	/	/	0.20	/	/	/	/	0.10	/	/	/	/	/
71	二甲基砜	/	/	/	/	/	/	0.20	/	/	/	/	/	/	/	0.10	0.10

注: “/”表示未查到或未检出。

醛类物质的识别阈值较低，主要由酮酸脱氢酶作用形成[30]，在微生物和适宜温度、低氧的条件下容易还原成相应的醇类物质，对干酪整体风味具有积极作用。三组干酪成熟过程中苯甲醛与正己醛含量呈现先升高后降低的趋势，其中苯甲醛赋予干酪坚果与苦杏仁香气[31]，正己醛则贡献脂肪与果香风味。具有

青草与霉腐气味的壬醛在所有样品中均保持低相对含量，未对产品感官品质产生负面影响。

醇类物质多由脂肪酶和蛋白水解酶降解产生，其生成与乳酸、氨基酸及脂肪酸代谢密切相关。其作为成熟干酪中普遍存在的挥发性组分，对产品整体风味特征的形成具有重要贡献[32]。乙醇、异戊醇、正戊醇在三组干酪中的相对含量均较高，尤其是 S57 组和 S60 组干酪的乙醇和异戊醇在整个成熟期间的相对含量都很高，而 KB 组只有在成熟后期才检出这两种风味物质；KB 组的正戊醇相对含量先升高后降低，S57 组的正戊醇在发酵 1 d 时较高，后降低，50 d 时最高，成熟后期降低且低于 KB 组，S60 组的正戊醇相对含量先升高后降低，在 1 d 和 100 d 时低于 KB 组。S60 组干酪在成熟 50 d 时二乙二醇相对含量最高且明显高于其余两组，呈现出特殊的威士忌风味。

烷烃类化合物的阈值高，风味贡献小，不具备活性，不在发酵过程产生风味，更多来自原料本身，适当浓度有利于改善干酪风味，对干酪整体风味影响小[33]。

酮类化合物作为脂肪降解的产物，具有显著的风味特性，其感知浓度阈值较低，对干酪香气轮廓的形成贡献显著，能够赋予干酪独特的花香型、果香型以及乳脂型风味特征[34]。2-壬酮在三组干酪成熟 50 d 后的相对含量较高，赋予干酪香甜的奶油风味。3-羟基-2-丁酮呈现黄油香气，其在 KB 组干酪中的相对含量在成熟早期（1 d、25 d）及 100 d 时高于实验组，但在 50 d 和 75 d 时低于实验组。2-戊酮给干酪带来果香，其仅在成熟 25 d 前的 S60 组和成熟 75 d 时的 KB 组中检出，且 S60 组干酪的含量高于 KB 组。

酯类化合物在干酪中含量较低，但其嗅觉阈值低，也属于干酪关键风味化合物[35]，且酯类化合物可有效减少干酪中游离脂肪酸产生的臭味，从而改善干酪的品质[36]。乳酸乙酯、丁位癸内酯、正己酸乙烯酯等是高转化 CLA 乳酸菌特有的风味物质，仅在实验组 S57 和 S60 干酪中检出，其中丁位癸内酯呈现水果甜味[37]。

酸类化合物是甲基酮、内酯和醛类等风味物质的前体物质，对于奶酪风味的形成有着重要影响[38]。三组干酪均在成熟 50 d 后检出主要酸类化合物，包括乙酸、丁酸、己酸、辛酸和 3-甲基丁酸，这些中、短碳链的酸类化合物具有较低的阈值，并在较高水平上产生特殊的乳白色、酸败和其他刺激性风味[39]。此外，S57 组干酪在 100 d 时和 S60 组在 25、100 d 时均检出二甲基砜，其为奶油与椰香风味。

综合以上分析，添加发酵黏液乳杆菌 57 和德氏乳杆菌 S60 对牦牛乳 Emmental 干酪风味形成具有积极作用。实验组在成熟前期即检出高含量的乙醇与异戊醇；贡献了独特的风味化合物，如 S60 组的二乙二醇（威士忌风味）及实验组特有的乳酸乙酯、丁位癸内酯（水果甜味），这些均为空白组所缺乏，且减少了正戊醇等可能带来负面风味的物质含量，从而提升了干酪的整体风味品质与感官接受度。

2.5 高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪脂肪氧化的影响

随成熟时间和温度的变化，三组干酪的脂肪含量呈现出先上升后下降再上升的趋势。如图 4（A），1~25 d 时，水分流失速率大于脂肪分解速率导致脂肪占比迅速上升；25~50 d 时，发酵温度升高，酶解作用增强，脂肪含量降低；50 d 后，脂肪含量回升，可能是水分仍持续流失，成熟前期酶解已消耗大量脂肪，使得脂肪分解速率大幅减缓而小于水分流失速率，三组干酪脂肪含量暂时升高。成熟 75 d 后，水分含量趋于稳定，随着干酪中微生物的不断增长，脂肪酶的含量也逐渐增多，脂肪分解加快，因此脂肪含量再次下降[21]。结果表明，成熟 50 d 后 S57 组与 KB 组干

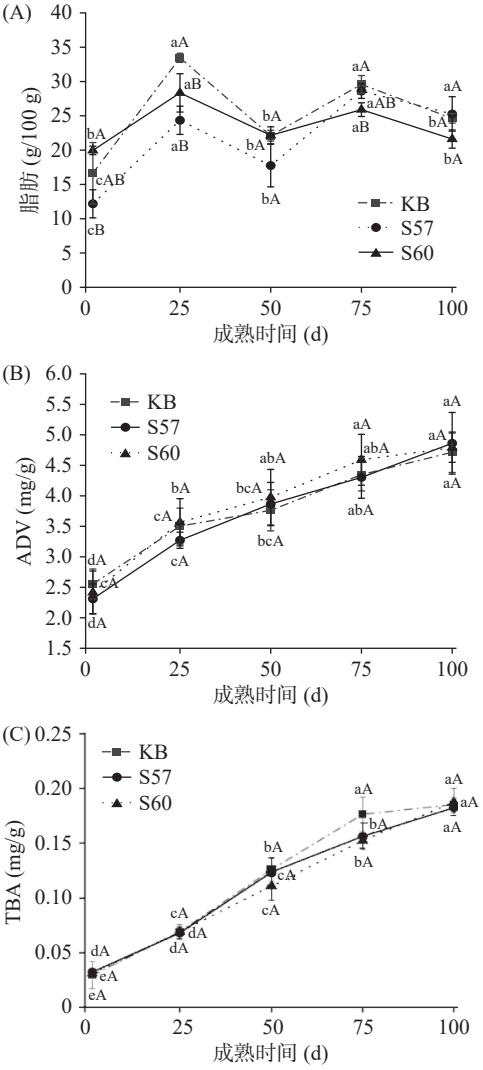


图 4 高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪脂肪的影响

Fig.4 Effect of high-conversion CLA lactic acid bacteria on the fat of yak Emmental cheese

注：A 为脂肪变化情况；B 为 ADV 值变化情况；C 为 TBA 值变化情况。不同小写字母表示相同组别不同时间差异显著（P<0.05）；不同大写字母表示相同时间不同组别差异显著（P<0.05）。

酪的脂肪含量没有显著性差异(P>0.05)，说明发酵乳杆菌 S57 对干酪的脂肪氧化没有负面影响。

脂肪降解程度通过酸价(ADV)反映，ADV 值越高，游离脂肪酸含量越高。如图 4B 所示，三组干酪的 ADV 值随成熟时间延长逐步上升，1~25 d 上升迅速，25 d 后增速减缓，可能与脂肪酶活性变化有关。100 d 时 KB 组、S57 组、S60 组干酪的 ADV 值较 1 d 时分别增长 45.86%、52.70% 和 49.69%(P<0.05)。

硫代巴比妥酸值(TBA)是通过将脂肪过氧化物丙二醛着色，再评估其相对含量的变化，从而可知干酪脂肪氧化程度。如图 4C 所示，三组干酪的 TBA 值随成熟时间逐渐上升，50 d 前增速较快，50 d 后趋于平缓。KB 组、S57 组、S60 组干酪的 TBA 值在 100 d 时分别增至 0.1852、0.1822 和 0.1813 mg/kg，1 d 和 100 d 的 TBA 值差异显著(P<0.05)。研究表明，TBA 值大于 0.5 mg/kg 会产生不良风味，而三组干酪 TBA 值均低于此阈值，表明其具有良好的食用品质，且三组干酪的 ADV 值和 TBA 值在相同成熟时间时均无显著性差异(P>0.05)。

2.6　微观结构结果分析

不同成熟期牦牛 Emmental 干酪的微观结构如图 5 和图 6 所示，1 d 至 100 d 三组干酪的微观结构发生变化。成熟 1 d 时，三组干酪呈蜂窝状，空隙较大；100 d 时，蛋白质和脂肪被微生物分解，酪蛋白结构改变，表面粗糙。S57 组和 S60 组的酪蛋白胶束较 KB 组更纤细且间隙更大，这是肽酶持续分解酪蛋白，释放小分子物质，导致酪蛋白胶束逐渐变细窄[33]。这种结构变化显著影响干酪的品质和口感，其中孔隙的大小和形状是决定干酪口感与气味的关键因素之一。

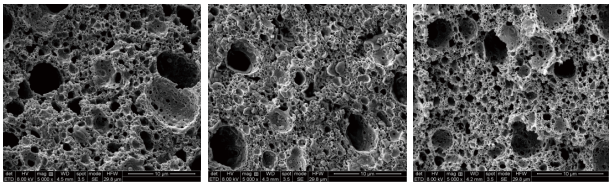


图 5　牦牛 Emmental 干酪成熟 1 d 时 KB、S57、S60 的微观结构(10 μm)

Fig.5　Microstructure of yak Emmental cheese at 1 d of ripening KB, S57, S60 (10 μm)

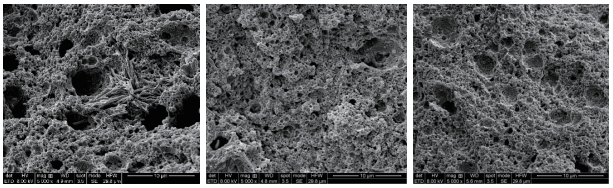


图 6　牦牛 Emmental 干酪成熟 100 d 时 KB、S57、S60 的微观结构(10 μm)

Fig.6　Microstructure of yak Emmental cheese at 100 d of ripening KB, S57, S60 (10 μm)

2.7　CLA 转化率结果分析

由表 5 可知，1~25 d 时 CLA 转化率上升较为缓慢，1 d 时，KB、S57、S60 组的 CLA 转化率分别为 1.99%、2.11%、2.04%；CLA 转化率在 25 d 后迅速上升，可能是发酵温度升高，亚油酸异构酶活性增强。成熟 75 d 后，三组干酪的转化率上升减缓，可能是由于亚油酸底物减少和成熟温度下降使亚油酸异构酶的活性减弱[4]。三组干酪在 100 d 时表现出最高的 CLA 转化效率(P<0.05)，S60 组转化率可达 7.06%，S57 组达到 6.09%，且实验组干酪的转化率显著高于 KB 组(P<0.05)。表明德氏乳杆菌 S60 在成熟阶段具有显著的亚油酸转化潜力。

表 5　CLA 转化率

Table 5　CLA conversion rate

组别	CLA转化率(%)	组别	CLA转化率(%)
1 d-KB	1.99 ± 0.02^{Bd}	75 d-KB	4.4 ± 0.1^{Ca}
1 d-S57	2.11 ± 0.01^{Ac}	75 d-S57	5.98 ± 0.2^{Ba}
1 d-S60	2.04 ± 0.05^{Ad}	75 d-S60	6.51 ± 0.16^{Ab}
25 d-KB	2.18 ± 0.01^{Ac}	100 d-KB	4.44 ± 0.02^{Ca}
25 d-S57	2.19 ± 0.01^{Ac}	100 d-S57	6.09 ± 0.08^{Ba}
25 d-S60	2.22 ± 0.04^{Ad}	100 d-S60	7.06 ± 0.03^{Aa}
50 d-KB	3.34 ± 0.05^{Bb}		
50 d-S57	3.73 ± 0.02^{Ab}		
50 d-S60	3.77 ± 0.2^{Ac}		

2.8　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪脂肪酸含量和健康指数的影响

2.8.1　牦牛 Emmental 脂肪酸组成和含量结果分析

游离脂肪酸是衡量干酪成熟期间脂解程度的关键指标。在牦牛 Emmental 干酪贮藏过程中，游离脂肪酸的种类和相对含量呈现动态变化(图 7)。KB、S57 和 S60 组在 1 d 时均检测到 36 种脂肪酸，100 d 后分别减少至 32、34 和 33 种，可能与微生物竞争及代谢反应有关。过高的脂肪酸含量可能产生不良气味。C12:0(月桂酸)、C16:0(棕榈酸)、C18:0(硬脂酸)和 C18:1n9c(油酸)在成熟期间始终为主要游离脂肪酸。

共检出 17 种饱和脂肪酸，其中 C14:0(肉豆蔻酸)、棕榈酸和硬脂酸在 KB、S57 和 S60 组中的相对含量丰富，且 S57 和 S60 组的相对含量高于 KB 组。

单不饱和脂肪酸共检出 6 种，占总脂肪酸的 28.14%，其是健康饮食的重要组成部分，适量摄入对心血管健康、血糖控制、体重管理、大脑功能和整体健康有显著益处[40]。在本实验结果中油酸占比超过 90%，其相对含量在 KB 组从 10.40% 增至 13.98%，S57 和 S60 组分别从 13.47% 增至 18.18%、12.72% 增至 16.09%。添加高转化 CLA 发酵剂的 S57 和 S60 组游离脂肪酸含量高于 KB 组，其中棕榈酸和油酸占比最高。

多不饱和脂肪酸占总脂肪酸的 31.75%，其中富含 ω-6 多不饱和脂肪酸，例如 C18:2n6c(亚油酸)、C18:3n6(γ-亚油酸)和 C20:4n6(花生四烯酸)，具有抗炎、抗氧化和免疫调节作用[41]；以及 ω-3 多不饱和脂

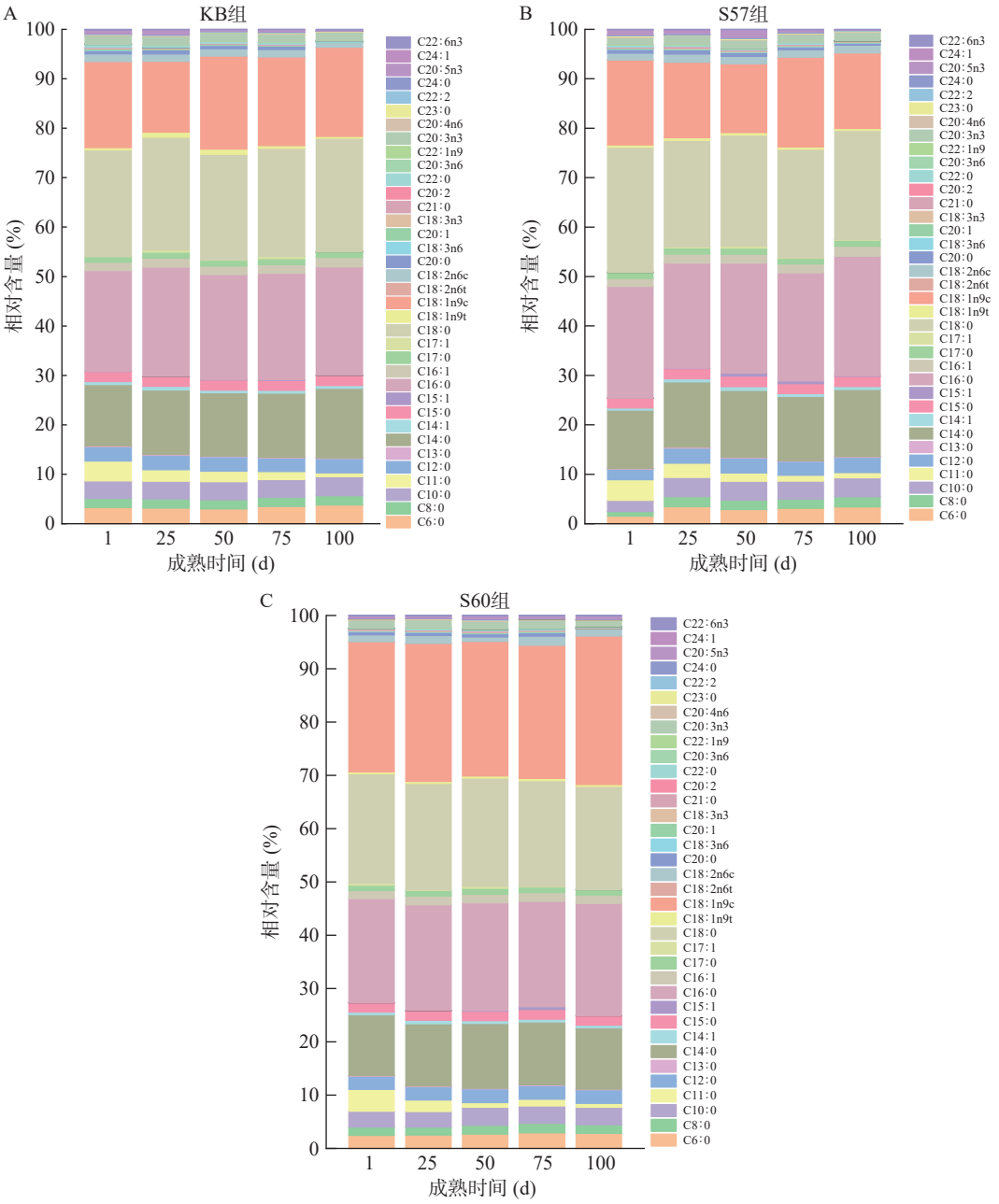


图 7　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪贮藏期间脂肪酸组成与相对含量的影响

Fig.7　Effects of highly transformed CLA lactic acid bacteria on fatty acid composition and relative content of yak Emmental cheese during storage

肪酸如 C18:3n3(亚麻酸)、C20:5n3(EPA)、C22:6n3(DHA),能调节人体的脂质代谢,能促进婴幼儿的脑部和视力的机能发育,有利于智力、学习和记忆能力的提高[42]。因此,食用牦牛 Emmental 干酪可有效补充人体必需脂肪酸,有益健康。

2.8.2　健康促进指数评估结果分析　健康促进指数(HPI)是单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸与月桂酸、肉豆蔻酸及棕榈酸的比值,可作为评估膳食健康效益的重要指标,HPI 值越高越有利于健康[43]。由图 8 所示,三组干酪的 HPI 值随成熟时间呈先下降后上升的趋势。100 d 较 1 d 时,KB 组降至 0.50(降低 6%),S57 组降至 0.52,但差异不明显,S60 组升至 0.54(升高 1.85%)。在成熟 25、50 d 时,S57 组

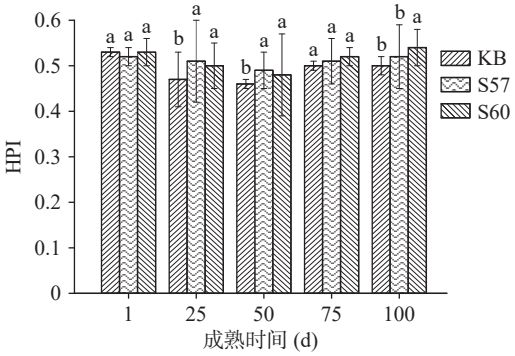


图 8　高转化 CLA 乳酸菌对牦牛 Emmental 干酪 HPI 指数的影响

Fig.8　Effect of highly transformed CLA lactic acid bacteria on HPI index of yak Emmental cheese

注:不同字母表示数据差异显著,$P<0.05$。

和 S60 组与 KB 组干酪存在显著差异（$P<0.05$），且实验组干酪的健康指数水平高于 KB 组干酪。

3　结论

本研究以高原牧区牦牛乳为原料，开发了富含 CLA 的牦牛 Emmental 奶酪。研究表明，添加发酵黏液乳杆菌 57 和德氏乳杆菌 S60 作为附属发酵剂，可提升牦牛乳 Emmental 干酪的功能性与风味品质，且不影响其传统感官特性。S60 组 CLA 转化率最高达 7.06%，显著高于空白组（$P<0.05$），体现出优异的亚油酸异构化能力。实验组在挥发性风味物质组成上更具优势，生成如乳酸乙酯、丁位癸内酯等特有酯类及二乙二醇，赋予干酪更丰富的甜香、果香与酒香风味。在保持脂肪氧化稳定性（ADV、TBA 无显著差异）的同时，实验组干酪具有更高的健康促进指数（HPI），表明其更利于人体健康。本研究为开发富含 CLA 的牦牛乳 Emmental 干酪提供理论依据，同时促进牦牛乳资源的开发利用。

然而，菌株在干酪复杂体系中的代谢调控机制尚不明确，尤其是亚油酸转化与风味形成的耦合关系需进一步解析。未来可结合多组学技术，揭示关键酶基因表达与代谢物积累的关联；优化菌株复配与发酵工艺以进一步提升产率，并开展长期体内实验验证其实际健康效益。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

［1］ LI Yufang, HE Jinze, WEI Guangqiang, et al. Metabolomics-based insights into the mechanism of quorum sensing-enhanced conjugated linoleic acid production in *Limosilactobacillus* fermentum L1[J]. LWT, 2025, 218: 117477.

［2］ DU Meijun, JIN Jun, WEI Wei, et al. Research and development of methods for simultaneous separation and purification of two isomers of conjugated linoleic acid based on enzyme-assisted combined technologies[J]. Food Bioscience, 2025, 65: 106024.

［3］ den HARTIGH L J. Conjugated linoleic acid effects on cancer, obesity, and atherosclerosis: A review of pre-clinical and human trials with current perspectives[J]. Nutrients, 2019, 11(2): 370.

［4］ NASROLLAHZADEH A, MOLLAEI TAVANI S, ARJEH E, et al. Production of conjugated linoleic acid by lactic acid bacteria; important factors and optimum conditions[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100942.

［5］ RENES E, LINARES D M, GONZÁLEZ L, et al. Production of conjugated linoleic acid and gamma-aminobutyric acid by autochthonous lactic acid bacteria and detection of the genes involved [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 34: 340−346.

［6］ LOPEZ C, MAILLARD M B, BRIARD-BION V, et al. Lipolysis during ripening of Emmental cheese considering organization of fat and preferential localization of bacteria[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(16): 5855−5867.

［7］ CHAMBA J F, PERREARD É. Contribution of propionic acid bacteria to lipolysis of Emmental cheese[J]. Le Lait, 2002, 82(1): 33−44.

［8］ 喻峰, 熊华, 吕培蕾. 西藏牦牛酥油脂肪酸成分分析及功能特性评价[J]. 中国油脂, 2006, 31(11): 35−38. ［YU Feng, XIONG Hua, LÜ Peilei. Fatty acid composition and function evaluation of Tibet yak butter[J]. China Oils and Fats, 2006, 31(11): 35−38.］

［9］ 喻峰, 熊华, 吕培蕾. 牦牛乳脂肪酸结构与功能特性分析[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 311−315. ［YU Feng, XIONG Hua, LÜ Peilei. Study on the structure and speciality of fatty acids of yak milk[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(1): 311−315.］

［10］ MICHALSKI M C, CAMIER B, GASSI J Y, et al. Functionality of smaller vs control native milk fat globules in Emmental cheeses manufactured with adapted technologies[J]. Food Research International, 2007, 40(1): 191−202.

［11］ SULAIMAN I, KRÁTKÝ L, ALLAF K, et al. Expansion of Emmental cheese and tofu using instant controlled pressure drop (DIC) process[J]. Food and Bioproducts Processing, 2022, 131: 1−12.

［12］ GONZÁLEZ M, BUDELLI E, PÉREZ N, et al. Acoustic techniques to detect eye formation during ripening of Emmental type cheese[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 59: 102270.

［13］ 江丽红. 切达奶酪附属发酵剂的筛选及其在促熟中的应用[D]. 无锡：江南大学, 2014. ［JIANG Lihong. Research on the screening of adjunct culture of cheddar cheese and application in accelerating of aging[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.］

［14］ 夏艳, 杨善彬, 廖友林, 等. 偏铁酸钠催化合成共轭亚油酸[J]. 广东化工, 2022, 49(3): 24−28. ［XIA Yan, YANG Shanbin, LIAO Youlin, et al. Synthesis of conjugated linoleic acid catalyzed by sodium ferrate[J]. Guangdong Chemical Industry, 2022, 49(3): 24−28.］

［15］ GUL L B, CON A H, GUL O. Storage stability and sourdough acidification kinetic of freeze-dried *Lactobacillus curvatus* N19 under optimized cryoprotectant formulation[J]. Cryobiology, 2020, 96: 122−129.

［16］ SHUANG W, ZENG X, LI T, et al. Screening, safety assessment, and process optimization of lactic acid bacteria from traditional yak yogurt as adjunct cultures[J]. Microorganisms, 2026, 14(3): 630.

［17］ 李昂, 陈炼红, 李键, 等. 雅致放射毛霉添加量对牦牛霉菌奶酪品质的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(24): 120−125. ［LI Ang, CHEN Lianhong, LI Jian, et al. Effect of addition amount of *Actinomucor elegans* on quality of yak mold cheese[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(24): 120−125.］

［18］ 李红娟, 刘燕, 李洪波, 等. 脂肪替代物对 Mozzarella 干酪流变学特性影响研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 788−793. ［LI Hongjuan, LIU Yan, LI Hongbo, et al. Effect of fat replacements on the rheological characteristics of Mozzarella cheese [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(4): 788−793.］

［19］ 杨静. 牦牛乳制品氧化稳定性和脂肪酸动态变化研究[D]. 兰州：甘肃农业大学, 2021. ［YANG Jing. Study on oxidative stability and dynamic changes of fatty acids in yak dairy products[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2021.］

［20］ HANUŠ O, SAMKOVÁ E, KŘÍŽOVÁ L, et al. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability: A review[J]. Molecules, 2018, 23(7): 1636.

［21］ 王泽, 张岩, 陈炼红. Edam 耗牛干酪成熟过程中品质变化及蛋白质降解[J]. 食品科学, 2023, 44(2): 116−124. ［WANG Ze, ZHANG Yan, CHEN Lianhong. Quality changes and protein degra-

dation in Edam yak cheese during ripening[J]. Food Science, 2023, 44(2): 116−124.]
[22] 范敏. 稀奶油干酪发酵过程中肽类物质变化及其对挥发性化合物形成的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2023. [FAN Min. Changes in peptides during the fermentation of cream cheese and their effects on the formation of volatile compounds[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2023.]
[23] 杨万龄, 沈兴旺, 崔凤怡, 等. 蓝纹牦牛干酪成熟特性及其风味分析[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(6): 52−64. [YANG Wanling, SHEN Xingwang, CUI Fengyi, et al. Analysis of ripening characteristics and flavor of blue style-yak milk cheese[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(6): 52−64.]
[24] VOIGT D D, CHEVALIER F, QIAN M C, et al. Effect of high-pressure treatment on microbiology, proteolysis, lipolysis and levels of flavour compounds in mature blue-veined cheese[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010, 11(1): 68−77.
[25] 田怀香, 黄宁炜, 葛畅, 等. 高产脂肪酶乳酸菌的筛选及其对切达干酪内酯类化合物形成的影响[J]. 食品科学, 2025, 46(7): 11−22. [TIAN Huaixiang, HUANG Ningwei, GE Chang, et al. Screening of high lipase-producing lactic acid bacteria strains and their effects on the formation of lactone compounds in cheddar cheese[J]. Food Science, 2025, 46(7): 11−22.]
[26] 吉思茹, 王锡昌, 施祁燕. GC-O 对水产品气味活性物质的鉴定及其应用[J]. 中国食品学报, 2015, 15(8): 185−195. [JI Siru, WANG Xichang, SHI Qiyan. The identification and application of odor-active compounds in aquatic products using gas chromatography-olfactometry(GC-O)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(8): 185−195.]
[27] 钟敏, 张健. 原料糯高粱对酱香型白酒品质影响的研究现状[J]. 中国酿造, 2022, 41(1): 32−36. [ZHONG Min, ZHANG Jian. Research status of effect of raw glutinous sorghum on quality of sauce-flavor Baijiu[J]. China Brewing, 2022, 41(1): 32−36.]
[28] 吕世懂, 孟庆雄, 徐咏全, 等. 普洱茶香气分析方法及香气活性物质研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 292−298. [LÜ Shidong, MENG Qingxiong, XU Yongquan, et al. Recent progress in aroma analysis methods and aroma active compounds in Pu-erh tea[J]. Food Science, 2014, 35(11): 292−298.]
[29] 高佳嘉. 乳酸菌发酵大豆杏仁混合干酪类似物凝胶机理及风味特征研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2024. [GAO Jiajia. Study on gel mechanism and flavor characterization of soy-almond mixed cheese analogues fermented with lactic acid bacteria[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2024.]
[30] 杨阳, 郭帅, 武婷, 等. 益生菌在发酵乳中的氨基酸代谢特征、发酵特性和贮藏特性[J]. 中国食品学报, 2023, 23(7): 45−55. [YANG Yang, GUO Shuai, WU Ting, et al. Amino acid metabolism, fermentation and storage characteristics of probiotics in fermented milk[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(7): 45−55.]
[31] 范敏, 王梦松, 刘慧, 等. 不同成熟期稀奶油干酪中蛋白质降解及关键风味物质产生的研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(16): 174−181. [FAN M, WANG M S, LIU H, et al. Proteolysis and production of key flavor substances of cream cheese at different maturing stages[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(16): 174−181.]
[32] TYAGI A, KUMAR A, MOHANTY A K, et al. Expression of buffalo chymosin in *Pichia pastoris* for application in mozzarella cheese[J]. LWT, 2017, 84: 733−739.
[33] 商行, 石艳, 关婷婷, 等. 羊奶高达干酪工艺优化及风味变化分析[J]. 中国乳品工业, 2025, 53(10): 73−80. [SHANG Hang, SHI Yan, GUAN Tingting, et al. Process optimization and flavor change analysis of goat's milk Gouda cheese[J]. China Dairy Industry, 2025, 53(10): 73−80.]
[34] MATERA J, LUNA A S, BATISTA D B, et al. Brazilian cheeses: A survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile compounds[J]. Food Research International, 2018, 108: 18−26.
[35] AVSAR Y K, KARAGUL-YUCEER Y, DRAKE M A, et al. Characterization of nutty flavor in cheddar cheese[J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(7): 1999−2010.
[36] CHEN Chen, LIU Zheng, YU Haiyan, et al. Flavoromic determination of lactones in cheddar cheese by GC–MS–olfactometry, aroma extract dilution analysis, aroma recombination and omission analysis[J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130736.
[37] 刘同吉, 王艺会, 薛瑞, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 YH-1 凝乳酶对切达干酪成熟特性及生物活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 8−17. [LIU Tongji, WANG Yihui, XUE Rui, et al. Effect of milk-clotting enzyme from *Bacillus velezensis* YH-1 on ripening properties and bioactivity of Cheddar cheese[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(8): 8−17.]
[38] BERGAMASCHI M, BITTANTE G. From milk to cheese: Evolution of flavor fingerprint of milk, cream, curd, whey, ricotta, scotta, and ripened cheese obtained during summer Alpine pasture[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 3918−3934.
[39] WANG Yadong, WANG Ying, QIU Sizhe, et al. Metagenomic and flavoromic profiling reveals the correlation between the microorganisms and volatile flavor compounds in *Monascus*-fermented cheese[J]. Food Research International, 2024, 188: 114483.
[40] 陈涵, 任薇, 孙玲云, 等. 风味组学技术在乳及其制品中应用的研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(5): 290−298. [CHEN Han, REN Wei, SUN Lingyun, et al. Research progress on the application of flavoromics technology in dairy and its products[J]. Modern Food Science & Technology, 2024, 40(5): 290−298.]
[41] MÉNDEZ L, MEDINA I. Polyphenols and fish oils for improving metabolic health: A revision of the recent evidence for their combined nutraceutical effects[J]. Molecules, 2021, 26(9): 2438.
[42] 张士龙, 王鑫, 把宗国. 脂肪酶法制备富含 DHA 甘油酯的研究[J]. 粮食与食品工业, 2024, 31(1): 6−8,11. [ZHANG Shilong, WANG Xin, BA Zongguo. Research progress in preparation of DHA-rich glycerides by lipase method[J]. Cereal & Food Industry, 2024, 31(1): 6−8,11.]
[43] ZONGO K, KRISHNAMOORTHY S, MOSES J A, et al. Total conjugated linoleic acid content of ruminant milk: The world status insights[J]. Food Chemistry, 2021, 334: 127555.