

嗜热链球菌与瑞士乳杆菌发酵乳关键代谢通路解析

严鹏扬, 刘梓璇, 孙颖, 杨波, 周鹏, 刘小鸣*
(江南大学食品学院 江苏无锡 214122)

摘要 嗜热链球菌 CCFM1095 与瑞士乳杆菌 CCFM1263 复配可显著提升发酵效率, 然而其互作机制尚未明确。本文分析复配发酵乳的代谢组学特征, 解析关键代谢产物对发酵特性的影响。代谢组学分析表明, 两菌复配可显著促进丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路、赖氨酸降解通路、TCA 循环、丙酮酸代谢、烟酸和烟酰胺代谢通路等通路的富集, 增加菌株对柠檬酸和烟酰胺的利用, *L*-谷氨酸、延胡索酸、 α -酮戊二酸和 4-三甲氨基丁酸酯的生产, 显著促进两株菌株的生长。复配发酵乳发酵特性得到显著改善, 菌株活菌数达 10^8 CFU/mL。本研究为进一步解析嗜热链球菌和瑞士乳杆菌间的互作机制提供了理论依据。

关键词 嗜热链球菌; 瑞士乳杆菌; 发酵乳; 感官评价; 挥发性物质; 非挥发性物质

文章编号 1009-7848(2026)01-0223-11 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2026.01.020

嗜热链球菌是一种常用的工业发酵菌株, 被广泛应用于酸奶、干酪等发酵类^[1]食品生产。近年来, 关于嗜热链球菌的益生特性也被广泛关注, 研究表明, 嗜热链球菌具有缓解乳糖不耐症^[2]、肠胃道疾病^[3]、代谢类疾病^[4-5]等功能。嗜热链球菌 CCFM1095 是一株被证实具有生理调节功能的专利菌株, 它能够调控小鼠谷氨酸、色氨酸、精氨酸等多种氨基酸代谢, 具有缓解衰老导致的认知衰退、肌肉萎缩症状等^[6]。然而, CCFM1095 缺乏胞壁蛋白酶以及对酪蛋白等氮源的利用^[7]能力, 在牛乳中发酵性能差, 24 h 内无法达到发酵终点, 且其发酵乳存在质构稀薄等缺陷^[8], 亟需提升其产品品质。

工业上常使用菌株复配的方式来改善发酵乳的发酵与品质特性^[9]。常见的复配菌株有德氏乳杆菌保加利亚亚种^[10]、瑞士乳杆菌^[11]等, 乳杆菌富含的胞壁蛋白酶^[12]可助力缩短发酵时间^[13], 提升发酵乳风味^[14-15]。研究表明市售嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种菌株之间存在相互作用^[16]。嗜热链球菌快速利用乳糖产酸的能力, 为德氏乳杆菌保加利亚亚种创造了所需要的酸性环境^[17]。德氏

乳杆菌保加利亚亚种产生的氨基酸, 可以促进嗜热链球菌进一步生长^[18], 从而缩短发酵时间^[19], 提升发酵乳风味。本团队前期研究表明: 与德氏乳杆菌保加利亚亚种菌株的复配并未有效实现对 CCFM1095 的快速增殖, 两株菌株间不存在互作。鉴于此, 本研究拟将瑞士乳杆菌 CCFM1263 与嗜热链球菌 CCFM1095 进行复配发酵, 测定其生长产酸能力特性, 发酵乳的挥发性物质, 非挥发性物质与感官评价特性, 旨在解析两株菌株在牛乳中的互作机制及对发酵乳品质提升的关键代谢通路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 嗜热链球菌 CCFM1095 (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CCFM1095)、瑞士乳杆菌 CCFM1263 (*Lactobacillus helveticus* CCFM1263), 由江南大学食品生物技术中心食品微生物菌种保藏中心提供。

1.1.2 试剂 乳粉: 全脂牛奶, 光明乳品股份有限公司。

试剂: 大豆蛋白胨、酵母粉、胰蛋白胨、牛肉膏、七水硫酸锰 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)、葡萄糖、盐酸、磷酸氢二钾 (K_2HPO_4)、柠檬酸氢二氨、无水乙酸钠、一水硫酸锰 ($MnSO_4 \cdot H_2O$)、吐温、氢氧化钠, 国药集团化学试剂有限公司。

收稿日期: 2025-01-17

基金项目: 江苏省科技计划专项“一带一路”创新合作项目 (BZ2024045)

第一作者: 严鹏扬, 男, 硕士

通信作者: 刘小鸣 E-mail: liuxm@jiangnan.edu.cn

培养基:M17培养基、LBS培养基,上海泰坦科技股份有限公司。MRS培养基:胰蛋白胨 10 g/L;葡萄糖 20 g/L;酵母浸粉 5 g/L;牛肉浸膏 10 g/L;无水乙酸钠 5 g/L;七水硫酸镁 0.15 g/L;硫酸锰 0.1 g/L;柠檬酸氢二铵 2 g/L;磷酸氢二钾 2 g/L;吐温80 1 mL/L。加入去离子水并添加培养基总量 1.8%的琼脂搅拌至完全溶解后调整 pH 值在 6.2~6.4 之间,115 °C 灭菌 20 min 后备用。

1.1.3 仪器与设备 R60DA 型高压蒸汽灭菌器,美国 ZEALWAY 公司;超净工作台,北京鑫瑜佳创工程科技有限公司;pH 计,奥豪斯仪器有限公司;台式高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;隔水式恒温培养箱,上海森信实验仪器有限公司;电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多公司;高效液相色谱仪,Waters Acquity UPLCHSS 反相 T3 柱,沃特世公司;气相色谱-质谱联用仪,UH-Mate3000HPLC 系统串联 Q-Exactive 质谱仪,赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 发酵乳的制备 按 15%的质量比配制复原全脂乳,乳粉中加入去离子水搅拌至完全溶解,置于 4 °C 冰箱中水合 12 h 以上,105 °C 灭菌 10 min;将配制好的菌株冻干加入 1 mL 无菌水中溶解,将嗜热链球菌 CCFM1095 与瑞士乳杆菌 CCFM1263 按照接种总量 2×10^6 CFU/mL 以 1:1 的体积比接种至牛乳中,同时两菌株分别按照 2×10^6 CFU/mL 的接菌量接入牛乳中。将接菌后的牛乳放置在 42 °C 培养箱中,定时测定发酵乳的 pH 值,滴定酸度。待样品的 pH 值到达发酵终点(pH 4.5~4.7)时,终止发酵。将其放入 4 °C 冰箱中保存,待后续研究使用。

1.2.2 发酵乳中菌株生长及产酸特性测定 按照《食品国家安全标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》(GB 4789.35—2016)中乳酸菌的检验方法测定取出样品中的总活菌数,其中使用 M17 测定嗜热链球菌的活菌数,使用 LBS 测定瑞士乳杆菌的活菌数。参考《食品国家安全标准 乳和乳制品酸度的测定》(GB 5009.239—2016)中酸度的测定方法,略微修改后进行发酵牛乳酸度的测定,称取 2 g(精确到 0.001 g)样品置于锥形瓶中,加入 4 mL

无菌水后混匀,滴入 2 滴酚酞指示剂并再次混匀,用氢氧化钠标准溶液进行滴定,至溶液呈微粉红色,且 5 s 内不消退,控制整个滴定过程在 45 s 内完成;记录消耗氢氧化钠标准溶液的毫升数,换算为吉尔涅尔度,每个样品平行滴定 3 次。

1.2.3 发酵乳的感官评价 参考耿明雪等^[20]的感官评定方法,选定 15 名感官评价员对发酵乳进行感官评定。对发酵牛乳的感官指标由表观、气味、滋味、余味和口感 5 个方面进行评价,表观属性有色泽、乳清析出、保持能力和均匀性;气味属性有酸味、发酵味、干酪味、黄油味和硫味;滋味属性有酸味、甜味、奶香味、发酵味、果香味、硫味和酸腐味;口感属性有颗粒感、涩感、黏附性、分散性和稀稠度;余味属性有酸味、甜味、发酵味和不良后味。感官评定打分标准为:0 表示无,1~3 分表示弱,4~6 分表示中等,7~9 分表示强。

1.2.4 发酵乳挥发性风味物质测定 参考杨宇^[21]的方法,称取 6.0 g 达到发酵终点的样品置于 20 mL 萃取瓶中,再加入 1.0 g 氯化钠粉末。仪器测定条件:萃取头类型是涂抹厚度为 85 μ m 的 CAR/PDMS,50 °C 萃取 30 min,解吸 5 min 后进行 GC-MS 分析。选用 Rtx-WAX 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 mm),使用高纯氦作为载气,以 1 mL/min 流速进样。最后用 NIST2001 库比对各峰图,用面积归一化法对物质进行相对定量。每个样品平行测定 3 次。

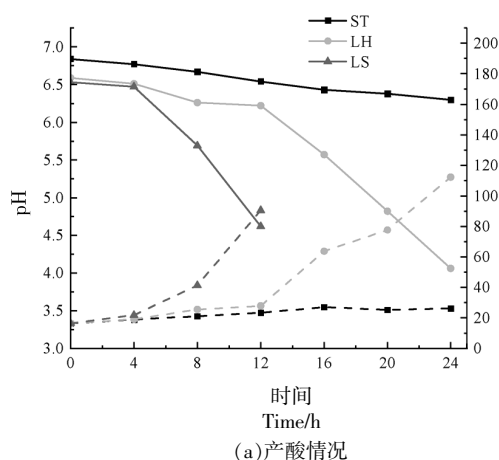
1.2.5 发酵乳非挥发性风味物质测定 取 100 μ L 样品加入 400 μ L 甲醇溶液沉淀蛋白,涡旋 30 s,再冰水浴超声 10 min,置于 -20 °C 冰箱中 1 h,取出后在 4 °C,15 000 r/min 条件下离心 15 min,取上清液用旋转蒸发仪蒸发至干,加入 100 μ L 乙腈:水(1:1,V/V)后涡旋 30 s,再在 4 °C,15 000 r/min 条件下离心 15 min,取上清过 0.22 μ m 滤膜后,加入样品内进行 LC-MS 分析。参考于朋^[22]的方法,采用相同的色谱柱和质谱条件进行代谢物的色谱分离和质谱数据处理。每个样品平行测定 3 次。

1.2.6 数据分析 采用 Excel、Compound Discovery3.3、Origin 2024b 和 GraphPad Prism 软件进行数据分析和统计作图。

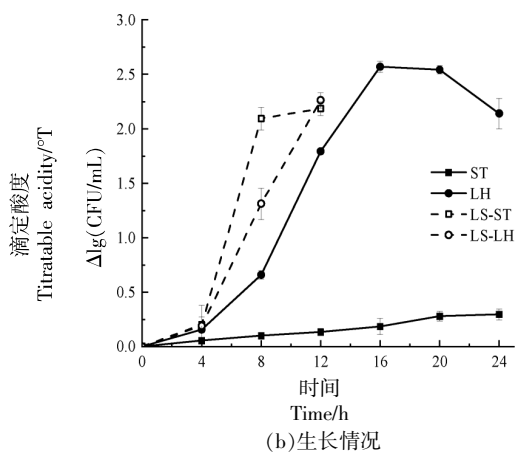
2 结果与分析

2.1 嗜热链球菌和瑞士乳杆菌发酵牛乳菌株体系的生长及产酸特性

发酵期间发酵乳的 pH 值和滴定酸度变化如图 1a 所示,嗜热链球菌 CCFM1095 在乳中产酸能力差,发酵 24 h 后 pH 值降至 6.25,滴定酸度为 26.17 °T。瑞士乳杆菌 CCFM1263 具有一定的产酸能力,发酵 20 h 后 pH 值降至 4.82,产酸量达到 77.58 °T。两菌株复配发酵可显著提高发酵效率,在 12 h 时发酵乳的 pH 值降至 4.62,产酸量达到 90.47 °T。由此可见,两菌混合发酵能显著缩短发酵时长,且增加产酸量。



由图 1b 可知,在牛乳发酵过程中 CCFM1095 的生长速度缓慢,经过 24 h 发酵仅增长 0.29 个数量级。CCFM1263 则能在 16 h 内达到 10^8 CFU/mL 以上。经过复配后,CCFM1095 菌株增长速度显著加快,在 12 h 内可达到 10^8 CFU/mL,符合《食品用益生菌通则》中对活菌数达到 10^8 CFU/mL 的规定^[23]。复配也显著促进了 CCFM1263 的增长速度,使其达到 10^8 CFU/mL 所需时间比单菌发酵缩短了 4 h。因此,嗜热链球菌 CCFM1095 和瑞士乳杆菌 CCFM1263 的复配组合可以显著提升发酵效率。



注:ST 为 CCFM1095,LH 为 CCFM1263,LS 为 CCFM1095 和 CCFM1263,为便于书写,下文中皆用此代替。

图 1 嗜热链球菌和瑞士乳杆菌及其复配体系的牛乳发酵特性

Fig.1 Fermentation characteristics of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* in fermented milk

2.2 发酵乳中的非挥发性物质组成分析

使用主成分分析(Principal component analysis,PCA)比较了嗜热链球菌 CCFM1095 单菌和瑞士乳杆菌 CCFM1263 单菌以及复配发酵乳中到达发酵终点时非挥发性物质的差异,结果如图 2 所示。3 组发酵乳样品与原乳样品都无重叠,这表明 3 组样品与原乳相比,物质变化较大。同时 3 组样品之间互不重叠,这表明 3 组样品间的代谢情况也有较大差别。

为了探究 CCFM1095 和 CCFM1263 在乳中是否进行了物质交换,分别将发酵终点时 ST 组和 LH 组中的差异性物质与 LS 组中的差异性物质进行比较,结果如图 3 所示。由图可知,经过复

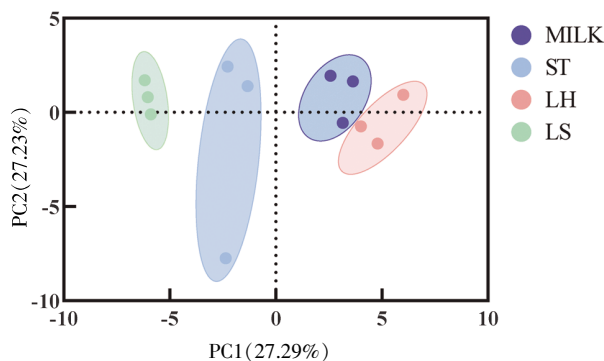


图 2 原乳及发酵乳样品的非挥发性物质主成分分析得分图

Fig.2 Score plot of principal component analysis of non-volatile substances for raw and fermented milk samples

配后,ST组相对于LS组下调了26个物质,LH组相对于LS组下调了41个物质,这可以推测出

CCFM1095和CCFM1263发生了物质上的交换,且CCFM1263提供给CCFM1095的物质更多。

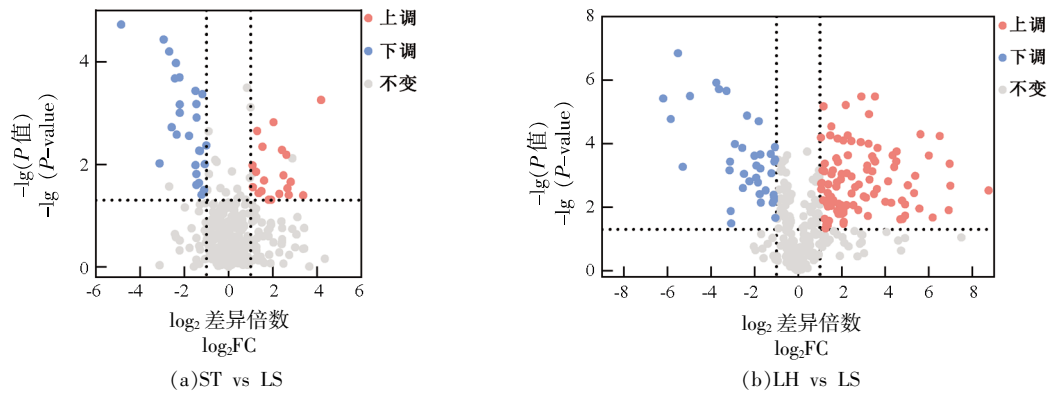


图3 ST组和LH组相对LS组差异性物质分布情况火山图

Fig.3 Volcano plots of the distribution of differential substances in the ST and LH groups relative to the LS group

为了进一步探究CCFM1095与CCFM1263间的互作机制,对12h的发酵乳中差异性代谢物进行富集分析,结果如图4所示。此时,LS组引起了最多的代谢通路的富集,有19条;ST组富集通路数目次之,共有13条;LH组最少,仅引起了嘌呤代谢、赖氨酸降解、果糖和甘露糖代谢、TCA循环、氨基酸糖和核苷酸糖代谢通路的富集。数据表明LS组样品中的菌株在该时刻代谢活跃,这与其在该时刻下活菌数生长迅速相匹配;LH组在该时刻涉及的代谢通路虽较少,但其生长处于快速增长期;ST组涉及的代谢通路虽多于LH组,但活菌数

增长缓慢。裴志雯等^[24]发现嗜热链球菌CCFM1095缺乏spekB(精氨酸和脯氨酸代谢)、sdaA(丝氨酸代谢)、cysK、cysE和metC(半胱氨酸和甲硫氨酸代谢)、lysA(赖氨酸合成)、gadB(丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢)基因,同时在合成缬氨酸、精氨酸、半胱氨酸、组氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、赖氨酸和异亮氨酸的基因上也存在缺失。经过复配后,LS组能引起相对ST组更显著的丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路、赖氨酸降解通路的富集,这表明,CCFM1263能够促进CCFM1095的代谢活跃程度,弥补其在多种氨基酸上的代谢缺陷。同时

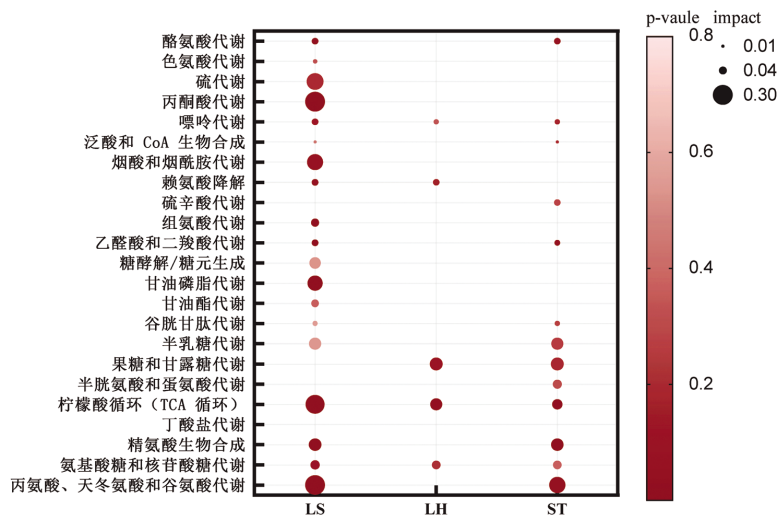


图4 3组发酵乳样品12h代谢物富集分析

Fig.4 Analysis of metabolite enrichment at 12 h in three groups of fermented milk samples

LS 组能引起更为显著的 TCA 循环、丙酮酸代谢、烟酸和烟酰胺代谢通路的富集,表现出更强的能量产生与代谢能力,这说明 CCFM1095 和 CCFM1263 的共生加快了能量的利用与生成。仅 LS 组引起了组氨酸代谢的富集,经 KEGG 基因组分析发现 CCFM1263 中缺乏组氨酸代谢的基因,CCFM1095 虽具有该基因但在实际生长过程中并不表达^[24],因此可以推测,CCFM1263 能帮助 CCFM1095 激活组氨酸代谢通路。此外,LS 组也引起了硫代谢通路和甘油磷脂代谢通路的显著富集,其特征分别是合成含硫氨基酸,促进能量代谢以及合成和降解脂质。

选取图 4 中具有差异性代谢通路的物质,分析其在发酵过程中的代谢情况,结果如图 5 所示。*L*-谷氨酸属于丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢和组氨酸代谢通路产物;柠檬酸、延胡索酸和 α -酮戊二酸属于丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路和三羧酸循环代谢产物;4-三甲基氨基丁酸酯属于赖氨酸降解代谢通路的产物;烟酰胺属于烟酸和烟酰胺代谢的产物。研究表明,在发酵过程中,菌株 CCFM1263 在生长前期能够合成并积累 *L*-谷氨酸,而在生长后期则会代谢消耗该物质;相

比之下,菌株 CCFM1095 在整个发酵周期内均呈现出对 *L*-谷氨酸的缓慢消耗趋势。当 CCFM1095 与 CCFM1263 进行混合发酵时,在发酵前期两菌株对 *L*-谷氨酸的代谢情况并无显著差异,然而在发酵终点时却能大量合成 *L*-谷氨酸。这表明,在混合发酵体系中,CCFM1263 在前期为 CCFM1095 提供了 *L*-谷氨酸以满足其代谢需求,而 CCFM1095 生长至一定阶段后,又能反向为 CCFM1263 提供 *L*-谷氨酸,从而促进 CCFM1263 的生长。

此外,在 CCFM1095 与 CCFM1263 共生长的条件下,两菌株对柠檬酸和烟酰胺的消耗量显著增加。这说明复配后的两菌株增强了对这两种代谢物的利用效率,进而促进了下游代谢过程,为菌株的生长提供了更多的能量。同时,共生长体系还显著提高了延胡索酸、 α -酮戊二酸以及 4-三甲基氨基丁酸酯的产量。其中,延胡索酸和 α -酮戊二酸的积累反映了三羧酸循环的加强,为菌株的生长提供了充足的能量;而 4-三甲基氨基丁酸酯产量的提升则表明 CCFM1095 促进了 CCFM1263 的赖氨酸降解过程,增强了 CCFM1263 在赖氨酸降解代谢通路上的代谢活性。综上所述,菌株

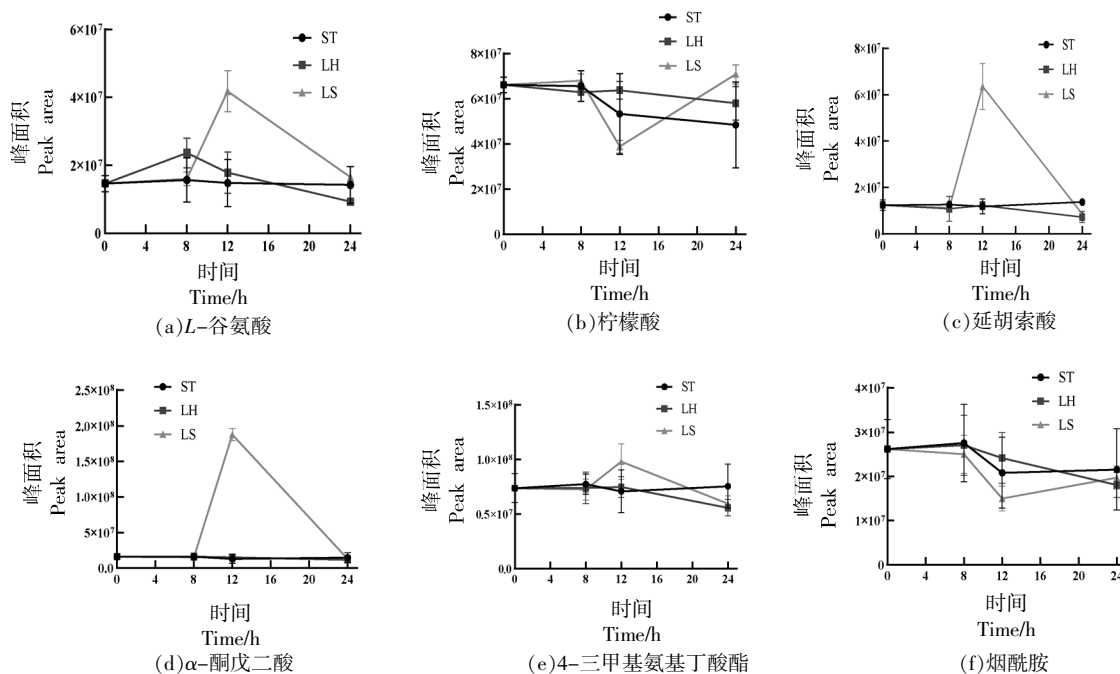


图 5 3 组发酵乳样品关键非挥发性物质代谢变化

Fig.5 Changes in metabolism of key non-volatile substances in three groups of fermented milk samples

CCFM1095 与 CCFM1263 之间存在着相互作用,这种相互作用不仅提升了两菌株本身具有的代谢通路的效率,还促使在单菌生长时未表达的基因得以表达,从而实现了两菌株在代谢层面的协同增效。

2.3 发酵乳的感官特性

复配发酵乳相对单菌发酵乳可能会发生发酵乳风味和质构上的变化,影响食用者的体验。为了判断本研究中的发酵乳是否在品质上发生了变化,对其进行感官评定,结果如表 1 所示。在表观得分上,ST 组获得了最低的均匀性得分,仅有 3.58 ± 1.19 ,LH 和 LS 组则无显著性差异。其它表观特性上 3 组发酵乳样品的得分无显著差异。在

口感上,ST 组获得了最高的颗粒度评分,达到了 5.92 ± 2.18 ,LH 和 LS 组均低于 ST 组且无显著性差异。其它口感特性上 3 组发酵乳无显著差异。

从对发酵乳的气味、滋味和余味评价上看,ST 组的硫气味、硫味和酸腐味评分最低,奶香气味和奶香味评分最高,甜味评分最高,酸味和后酸味评分最低。相比之下,LH 组具有最高的硫气味、硫味和不良后味的评分,最高的酸味评分,达到了 8.00 ± 2.08 ,后酸味达到了 7.17 ± 2.44 ,同时拥有最低的甜味、奶香气味和奶香味评分。LS 组的评分兼具 ST 组与 LH 组的特点,在奶香气味、奶香味、甜味和后酸味评分与 ST 组无显著性差异。此外,本试验记录了评价员对 3 组产品的喜好度,ST 组

表 1 发酵乳感官评价结果

Table 1 Sensory evaluation results of fermented milk

		ST	LH	LS	
表观	颜色	5.25 ± 0.92^a	4.92 ± 1.75^a	5.42 ± 0.76^a	
	光泽	5.25 ± 1.42^a	5.17 ± 1.82^a	5.67 ± 1.65^a	
	乳清析出	4.92 ± 1.80^a	5.75 ± 1.23^a	5.25 ± 1.23^a	
	保型能力	4.92 ± 1.80^a	4.75 ± 1.59^a	6.50 ± 1.89^a	
	均匀性	3.58 ± 1.19^b	5.17 ± 1.95^a	6.25 ± 1.16^a	
口感	颗粒感	5.92 ± 2.18^a	4.00 ± 1.78^b	4.25 ± 1.36^{ab}	
	涩感	5.17 ± 1.82^a	6.92 ± 2.14^a	5.08 ± 1.75^a	
	黏附性	3.42 ± 1.32^a	3.92 ± 1.66^a	3.33 ± 1.25^a	
	分散性	3.58 ± 1.61^a	4.17 ± 1.82^a	4.75 ± 1.96^a	
	稀稠度	5.25 ± 1.48^a	5.17 ± 2.03^a	4.42 ± 1.50^a	
	气味	酸味	4.08 ± 1.32^a	5.67 ± 2.72^a	5.58 ± 1.32^a
		发酵味	5.50 ± 1.61^a	6.42 ± 2.43^a	6.00 ± 1.87^a
奶香味		5.50 ± 1.80^a	3.33 ± 1.49^b	5.08 ± 1.71^a	
干酪味		3.58 ± 1.26^a	4.08 ± 2.66^a	4.17 ± 1.77^a	
黄油味		3.67 ± 1.70^a	3.33 ± 2.09^a	3.42 ± 1.55^a	
硫味		1.33 ± 1.18^b	3.25 ± 1.64^a	1.83 ± 1.40^{ab}	
滋味	酸味	3.67 ± 1.37^c	8.00 ± 2.08^a	5.67 ± 1.43^b	
	甜味	3.83 ± 1.82^a	1.58 ± 0.95^b	2.67 ± 1.37^{ab}	
	发酵味	5.33 ± 1.65^a	5.75 ± 2.83^a	6.17 ± 1.91^a	
	奶香味	5.50 ± 1.66^a	2.50 ± 1.50^b	4.25 ± 1.59^a	
	果味	2.58 ± 0.95^a	2.42 ± 2.14^a	2.50 ± 1.32^a	
	干酪味	4.33 ± 1.49^a	4.17 ± 2.79^a	4.83 ± 2.37^a	
	硫味	1.00 ± 0.41^b	2.83 ± 1.46^a	2.83 ± 2.44^a	
	酸腐味	1.42 ± 0.76^b	4.17 ± 2.03^a	2.58 ± 1.89^{ab}	
余味	酸味	3.75 ± 1.48^b	7.17 ± 2.44^a	4.83 ± 1.28^b	
	甜味	2.83 ± 1.95^a	1.50 ± 0.87^a	2.17 ± 1.28^a	
	发酵味	3.67 ± 1.31^a	5.00 ± 2.55^a	4.92 ± 2.06^a	
	不良后味	1.83 ± 1.07^b	5.00 ± 3.24^a	3.33 ± 2.05^{ab}	
总评	喜好度	3.36 ± 1.75^a	1.42 ± 0.86^b	3.50 ± 1.32^a	

注:小写字母表示各产品间存在统计学差异, $P < 0.05$ 。

和LS组获得了更高的喜好度评分,分别是 3.36 ± 1.75 和 3.50 ± 1.32 。以上数据表明,经过与CCFM1263的复配,发酵乳保留了ST组的奶香味、甜味等气味,在表观和口感上,颗粒感降低,均匀性提升。这说明复配不仅保留了ST组原有的优秀风味特性,同时在表观和口感上改善了ST组的缺陷。

2.4 发酵乳中的挥发性物质组成分析

使用主成分分析(Principal component analysis, PCA)比较了唾液链球菌 CCFM1095 单菌和瑞士乳杆菌 CCFM1263 单菌以及复配发酵乳中挥发性物质的差异,结果如图6所示。3组发酵乳样品和原乳组都没有重叠,表明两菌株发酵乳的挥发性物质各有特色。ST组和LS组有部分重叠,这表明两组发酵乳样品之间既有相同的挥发性物质,又存在一定的差异性,而LH组与其它3组都无重叠部分,这表明LH组产生的挥发性物质与其它组别差异性大。

原乳及发酵乳中的挥发性物质结果如图7所示。在原乳及3组发酵乳样品中共检测出54种挥发性物质,包括14种烃类化合物,13种酮类化合物,11种酸类化合物,6种醇类化合物,5种醛类化合物,2种酯类化合物,2种醚类化合物和1种酚类化合物。经过发酵后,ST、LH和LS组的挥发性物质总体丰度都得到了显著提升。其中,醇类、酮类和烃类化合物在ST和LS组中的总体丰度显著高于LH组,酸类化合物则在LH和LS组中的总体丰度显著高于ST组,而醛类化合物则在LH组中显著升高。

为进一步验证感官评价的结果与挥发性物质间的联系,选取挥发性物质中差异性较大的几种风味化合物进行比对,结果如图8所示。ST组和LS组中2,3-丁二酮、2,3-戊二酮和乙偶姻含量较高,这3种物质都表现出一定的奶油味、奶香^[25]气味,是发酵乳中重要的风味来源^[26],同时该结果与感官评价结果中这两组奶香气味及滋味分数较高可以对应。LH组和LS组中的丁酸和乙酸含量较高,乙酸表现为清爽酸味^[27],丁酸则表现出酸腐的气味^[28],这与感官评定结果中LH组和LS组更高的酸味得分和酸腐味得分对应。而LH组中显著多产的2-戊酮会产生刺激性气味,这体现在其最

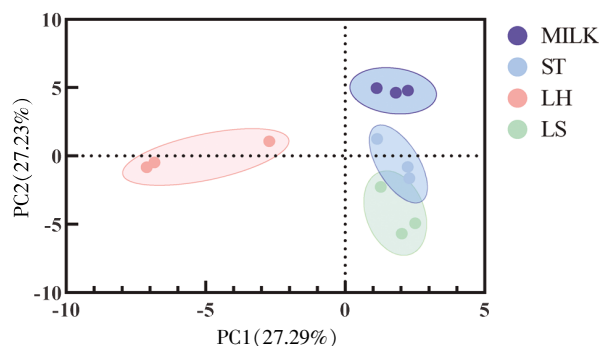


图6 原乳及发酵乳样品的挥发性物质主成分分析得分图
Fig.6 Score plot of principal component analysis of volatile substances for raw and fermented milk samples

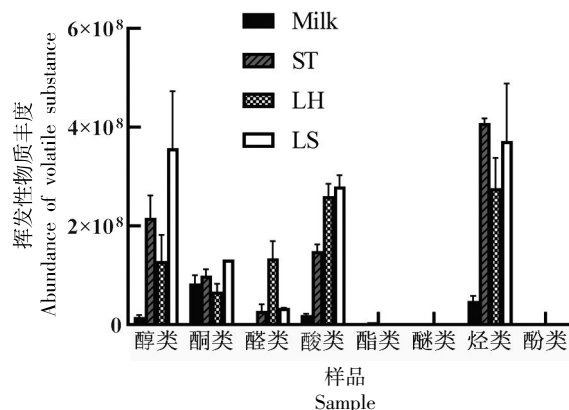
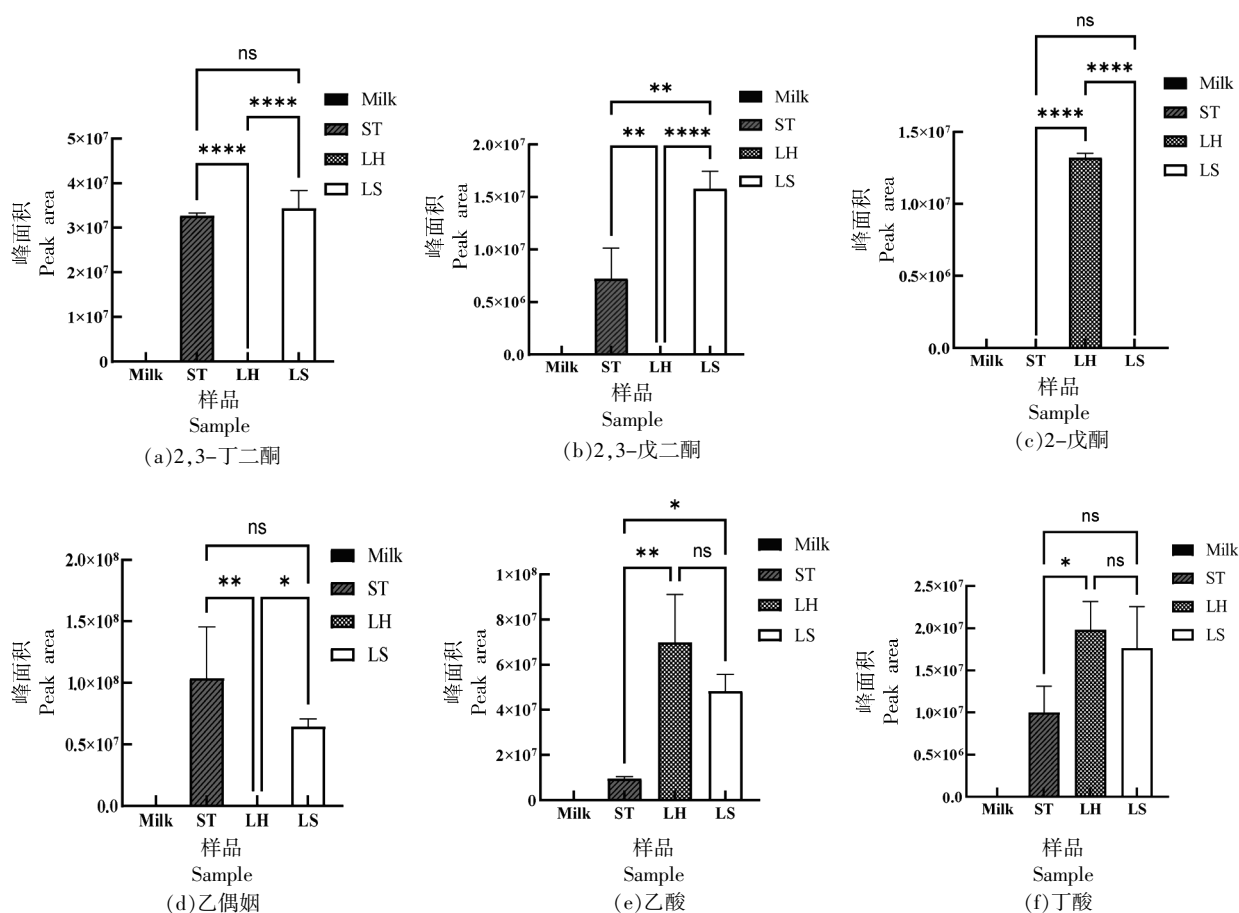


图7 原乳及3组发酵乳样品中挥发性物质总体丰度
Fig.7 Abundances of volatile compounds in milk and 3 fermented milk samples

高的酸腐味和硫味得分上。目前,已有大量研究聚焦于利用瑞士乳杆菌复配以增强发酵剂的发酵效率。Zhou等^[29]使用瑞士乳杆菌H9与市售发酵剂复配,成功加快了发酵乳pH值下降的速率。张臣臣等^[30]发现嗜热链球菌427和瑞士乳杆菌LH-3混合发酵能缩短发酵时长,还能显著提升产品的感官特性和质构品质。王竹青^[31]发现嗜热链球菌S10与瑞士乳杆菌H11复配发酵能显著缩短发酵时间,提高发酵豆乳的发酵特性。在本研究中,采用瑞士乳杆菌与嗜热链球菌的混合发酵模式,结果与张臣臣等^[30]的结论一致。综上所述,复配发酵能显著影响发酵乳的风味,且能结合嗜热链球菌CCFM1095和瑞士乳杆菌CCFM1263单菌发酵乳中优秀的风味特性,同时减轻单菌发酵乳中的一些不良风味。



注: * 表示样品间存在统计学差异($P < 0.05$), ** 表示样品间存在统计学差异($P < 0.01$), **** 表示样品间存在统计学差异($P < 0.001$), ns 表示样品间不存在统计学差异。

图 8 原乳及 3 组发酵乳样品中关键挥发物质含量

Fig.8 Content of key volatile substances in milk and 3 groups of fermented milk samples

3 结论

本研究探究了嗜热链球菌 CCFM1095 与瑞士乳杆菌 CCFM1263 在牛乳中的互作关系。结果显示,当两菌株复配后,发酵乳的发酵进程显著加速,12 h 可达到发酵终点。在此过程中,CCFM1095 与 CCFM1263 的活菌数均能达到 10^8 CFU/mL 的水平。通过代谢组学分析发现,CCFM1095 与 CCFM1263 复配后的发酵乳引发了更多代谢通路的显著富集。TCA 循环和烟酸及烟酰胺代谢通路在两菌共生状态下呈现出更高、更显著的富集。此外,CCFM1095 还促进了 CCFM1263 在赖氨酸降解代谢通路上的表达活性。复配后的发酵乳在感官品质上得到了显著提升,表现为更高的奶香味和甜味评分。综上所述,嗜热链球菌 CCFM1095 与瑞士乳杆菌 CCFM1263 在牛乳中共生时,存在着

复杂的物质交换和代谢协同作用,其复配组合不仅显著提升了发酵效率,还改善了发酵乳的品质。关于两菌株之间具体的互作机制,仍有待进一步验证与完善。

参 考 文 献

- [1] TI N H, LING H, HUO G, et al. Research progress on the property and application of *Streptococcus thermophilus*[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(9): 38.
- [2] 孙思霖. 可代谢半乳糖嗜热链球菌 IMAU80285 的诱变筛选及其应用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
SUN S L. Mutagenesis screening of metabolizable galactose *Streptococcus thermophilus* IMAU80285 and

- its application research[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
- [3] RODRIGUEZ C, MEDICI M, RODRIGUEZ A V, et al. Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains [J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92(6): 2423–2434.
- [4] 赵锦程, 罗雅亭, 李亚彭, 等. 热灭活嗜热链球菌 MN002 调节肠道菌群结构和胆汁酸改善高脂饲料诱导的肥胖小鼠脂代谢[J]. 卫生研究, 2023, 52(2): 259–264.
- ZHAO J C, LUO Y T, LI Y P, et al. Heat-inactivated *Streptococcus thermophilus* MN002 alleviate lipid metabolism of high fat diet-fed induced obese mice through modulating gut microbiota structure and bile acids[J]. Journal of Hygiene Research, 2023, 52(2): 259–264.
- [5] VITETTA L, LLEWELLYN H, OLDFIELD D. Gut dysbiosis and the intestinal microbiome: *Streptococcus thermophilus* a key probiotic for reducing uremia [J]. Microorganisms, 2019, 7(8): 228.
- [6] PAN Y Q, YU P, JIANG Y, et al. The protective effect of lactose on the bile salt stress response of *Streptococcus thermophilus* is strain dependent [J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102560.
- [7] 裴志雯. 唾液链球菌嗜热亚种基因与发酵特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2024.
- PEI Z W. Research on the genetic and fermentation characteristics of *Streptococcus thermophilus* [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2024.
- [8] YU P, LI N, GENG M X, et al. Lactose utilization of *Streptococcus thermophilus* and correlations with β -galactosidase and urease[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(1): 166–171.
- [9] 黄艳娜, 游春苹, 刘振民. 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌相互作用的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2016, 39(6): 25–28.
- HUANG Y N, YOU C P, LIU Z M. Progress in understanding of the interaction between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2016, 39(6): 25–28.
- [10] SAVAIANO D A, HUTKING R W. Yogurt, cultured fermented milk, and health: A systematic review[J]. Nutrition Reviews, 2021, 79(5): 599–614.
- [11] GAO S M, JIANG Y, ZHANG X Y, et al. Comparative peptide mics analysis of milk fermented by *Lactobacillus helveticus*[J]. Foods, 2022, 11(23): 3885.
- [12] VUKOTIĆ G, STRAHINIĆ I, BEGOVIĆ J, et al. Survey on proteolytic activity and diversity of proteinase genes in mesophilic *Lactobacilli*[J]. Microbiology, 2016, 85(1): 33–41.
- [13] HATI S, PATEL N, MANDAL S. Comparative growth behavior and biofunctionality of lactic acid bacteria during fermentation of soy milk and bovine milk[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2018, 10: 277–283.
- [14] 赵晓鑫, 葛媛媛, 于学健, 等. 嗜热链球菌和瑞士乳杆菌复配发酵牛乳中挥发性风味物质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(21): 301–308, 315.
- ZHAO X X, GE Y Y, YU X J, et al. Investigation of volatile flavor compounds in fermented milk with synergistic combination of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(21): 301–308, 315.
- [15] FANG X, GUO L W, CHEN H, et al. Characteristics of volatile flavor components in traditional fermented yak milk produced in different ecoregions of the Qinghai-Tibetan plateau[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(1): 191–200.
- [16] CHAMINDA S R, NENAD N, SAID A. Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: Recent developments and innovations[J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 22: 109–114.
- [17] YILMAZ C, GOKMEN V. Formation of tyramine in yoghurt during fermentation—interaction between yogurt starter bacteria and *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Research International, 2017, 97: 288–295.
- [18] MARKAKIOU S, GASPAR P, JOHANSEN E, et al. Harnessing the metabolic potential of *Streptococcus thermophilus* for new biotechnological applications[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2020, 61: 142–152.
- [19] 官雪芳, 郑怡, 徐庆贤, 等. 一株酸奶发酵嗜热链球菌的选育研究[C]//第十一届乳酸菌与健康国际研讨会. 北京: 中国食品科学技术学会, 2016: 97.
- GUAN X F, ZHENG Y, XU Q X, et al. Selection and breeding of a strain of yoghurt-fermenting

- Streptococcus thermophilus*[C]//The 11th International Symposium on Lactic Acid Bacteria and Health. Beijing: Chinese Society of Food Science and Technology, 2016: 97.
- [20] 耿明雪, 刘小鸣, 赵建新, 等. 基于组学及感官评价的酸奶风味研究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(7): 250-257.
GEN M X, LIU X M, ZHAO J X, et al. Study of yoghurt flavour based on histological and sensory evaluation[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(7): 250-257.
- [21] 杨宇. 基于发酵特性的乳酸乳球菌乳酸亚种基因组分析及应用[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
YANG Y. Genomic analysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* focusing on fermentation characteristics and application in fermentation[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [22] 于朋. 嗜热链球菌的基因组特征及对小鼠生理机能调节能力评价[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
YU P. Genomic characterization and regulatory effect on physiological functions in mice of *Streptococcus thermophilus*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.
- [23] 郭铁. 益生菌团标的定义 不含活菌的不算益生菌食品[J]. 科学大观园, 2022(17): 32-35.
GUO T. Definition of probiotics group standards: Probiotic foods without live bacteria are not considered probiotic foods[J]. Grand Garden of Science, 2022(17): 32-35.
- [24] 裴志雯, 胡炜, 刘梓璇, 等. 唾液链球菌嗜热亚种生长及发酵特性研究[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-11 (2024-05-27) [2025-01-17]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039552>.
PEI Z W, HU W, LIU Z X, et al. Study on growth and fermentation characteristics of *Streptococcus thermophilus* [J]. Food and Fermentation Industries: 1-11 (2024-05-27) [2025-01-17]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039552>.
- [25] DUAN W, GUAN Q, ZHANG H L, et al. Improving flavor, bioactivity, and changing metabolic profiles of goji juice by selected lactic acid bacteria fermentation[J]. Food Chemistry, 2023, 408: 135155.
- [26] TIAN H X, SHEN Y B, YU H Y, et al. Effects of 4 probiotic strains in coculture with traditional starters on the flavor profile of yogurt[J]. Journal of Food Science, 2017, 82(7): 1693-1701.
- [27] 林翔云. 香料香精辞典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 79.
LIN X Y. Dictionary of flavours & fragrances [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 79.
- [28] WANG B, WANG J, XU L Y, et al. Characterization of the key odorants in kurut with aroma recombination and omission studies[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 4164-4173.
- [29] ZHOU T T, HUO R, KWOK L Y, et al. Effects of applying *Lactobacillus helveticus* H9 as adjunct starter culture in yogurt fermentation and storage[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(1): 223-235.
- [30] 张臣臣, 於和飞, 张兆俊, 等. 嗜热链球菌对瑞士乳杆菌发酵乳后酸化的影响[J]. 乳业科学与技术, 2018, 41(5): 1-5.
ZHANG C C, YU H F, ZHANG Z Z, et al. Influence of *Streptococcus thermophilus* on the postacidification of fermented milk containing *Lactobacillus helveticus*[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2018, 41(5): 1-5.
- [31] 王竹青. 瑞士乳杆菌 H11 在发酵豆乳中的特性研究及其产品开发[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
WANG Z Q. Characterization and product development of *Lactobacillus helveticus* H11 in fermented soymilk[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.

Analysis of Key Metabolites of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* Fermented Milk

YAN Pengyang, LIU Zixuan, SUN Ying, YANG Bo, ZHOU Peng, LIU Xiaoming*
(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu)

Abstract *Streptococcus thermophilus* CCFM1095 in combination with *Lactobacillus helveticus* CCFM1263 significantly improves fermentation efficiency, but the mechanism of interaction has not been cleared. Therefore, this paper evaluates

the fermentation characteristics of the complex strains and the metabolomic profiles of the fermented milks, and analyses the effects of key metabolites on fermentation characteristics. Metabolomics analyses showed that compounding significantly promoted the enrichment of pathways such as alanine, aspartate and glutamate metabolic pathways, lysine degradation pathway, TCA cycle, pyruvate metabolism and nicotinic acid and nicotinamide metabolic pathways, and increased the utilisation of citrate and nicotinamide by the strains. Production of *L*-glutamate, fenugreek acid, α -ketoglutarate, and 4-trimethylaminobutyric acid lipids, which significantly promoted the growth of both strains. The fermentation characteristics of the complex fermented milk were significantly improved. The viable bacterial count of the strains could reach 10^8 CFU/mL. This study provides theoretical basis for further analysis of the interaction mechanism between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus*.

Keywords *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus helveticus*; fermented milk; sensory evaluation; volatile compounds; non-volatile compounds