

益生性植物乳杆菌对切达干酪挥发性风味形成的影响

郝晓娜¹, 张 健¹, 杨亚威¹, 余志坚², 曹永强², 杨贞耐^{1,*}

(1.北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京工商大学, 北京 100048;

2.东君乳业(禹城)有限公司, 山东 德州 253000)

摘 要: 将分离自西藏灵菇的益生性植物乳杆菌1-2通过在杀菌乳中添加活菌数8.0、9.0 (lg (CFU/mL))和在排乳清后添加于凝乳块8.0 (lg (CFU/g))的方式分别加入到切达干酪中, 考察植物乳杆菌活菌数量、添加方式和成熟时间对干酪挥发性风味物质组成的影响。利用固相微萃取和气相色谱-质谱联用技术检测出对照组干酪的风味物质26种, 益生菌干酪组风味物质30种, 添加植物乳杆菌1-2可产生乙苯、十二烷、己醇和丙酮4种挥发性风味物质。成熟时间对干酪风味的影响最大, 随成熟时间的延长, 益生菌干酪组中苯含量显著增加, 而对照组干酪在成熟12周时才检测到苯。益生菌添加量和添加方式对干酪挥发性风味的影响相似, 丁酸受益生菌活菌数和添加方式的影响最大, 益生菌干酪组成熟12周时, 丁酸含量最高达对照组的3.96倍 ($P < 0.05$)。在杀菌乳中添加益生菌活菌数8.0 (lg (CFU/mL))组和9.0 (lg (CFU/mL))组干酪中挥发性风味物质含量有显著差异, 但在杀菌乳中添加高活菌数9.0 (lg (CFU/mL))和在排乳清后添加低活菌数8.0 (lg (CFU/g))于凝乳块中对干酪挥发性风味的形成具有相似的影响。本研究结果为改进益生菌干酪的加工工艺和风味品质提供了实验依据。

关键词: 益生性植物乳杆菌; 切达干酪; 风味

Effect of Probiotic *Lactobacillus plantarum* on Volatile Flavor Formation in Cheddar Cheese

HAO Xiaona¹, ZHANG Jian¹, YANG Yawei¹, YU Zhijian², CAO Yongqiang², YANG Zhenai^{1,*}

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China; 2. Dongjun (Yucheng) Dairy Co. Ltd., Dezhou 253000, China)

Abstract: This study examined the effect of probiotics on flavor formation in cheese. *Lactobacillus plantarum* 1-2, isolated from Tibetan kefir, was added at a level of 8.0 (lg(CFU/mL)) or 9.0 (lg(CFU/mL)) to pasteurized milk and added at 8.0 (lg(CFU/g)) to milk curds after whey draining, separately, which were then processed into Cheddar cheese. The aim was to determine the effect of inoculation methods, inoculum size and ripening time on the volatile flavor composition of cheese. By using solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS), a total of 26 and 30 flavor compounds were detected in the control and probiotic cheeses, respectively. Addition of the probiotic *L. plantarum* 1-2 resulted in the formation of four unique volatile flavors, namely ethylbenzene, dodecane, hexanol and acetone. Ripening time had the greatest effect on cheese flavor. Benzene content in the probiotic cheese group was increased significantly with ripening time, but in the control group, benzene was not detected until after 12 weeks of ripening. The viable count of *L. plantarum* 1-2 also had a significant impact on cheese volatile flavor. Different addition methods and quantities of the probiotic strain had similar effects on the volatile flavor compounds in cheese, with the largest effect being observed on butyric acid. In the probiotic cheese group, butyric acid content reached the maximum after 12 weeks of maturation, showing a 3.96-fold increase compared with the control group. Cheeses made from pasteurized milk with different quantities of *L. plantarum* 1-2 added had different compositions of volatile compounds. However, addition of the probiotic strain at 9.0 (lg(CFU/mL)) to pasteurized milk and at 8.0 (lg(CFU/g)) to milk curds after whey draining had a similar effect on the composition of volatile compounds ($P < 0.05$). These results can provide an experimental basis for improving the processing and flavor quality of probiotic cheese.

收稿日期: 2017-05-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371804); 2017年度北京工商大学青年教师科研启动基金项目(QNJJ2017-11)

第一作者简介: 郝晓娜(1992—), 女, 硕士, 研究方向为乳品生物技术。E-mail: bjhaoxiaona@163.com

*通信作者简介: 杨贞耐(1965—), 男, 教授, 博士, 研究方向为乳品生物技术。E-mail: yangzhennai@th.btbu.edu.cn

Keywords: probiotics; *Lactobacillus plantarum*; Cheddar cheese; flavor

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201804009

中图分类号: TS252.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 04-0049-10

引文格式:

郝晓娜, 张健, 杨亚威, 等. 益生性植物乳杆菌对切达干酪挥发性风味形成的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(4): 49-58.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201804009. <http://www.spkx.net.cn>

HAO Xiaona, ZHANG Jian, YANG Yawei, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* on volatile flavor formation in Cheddar cheese[J]. Food Science, 2018, 39(4): 49-58. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201804009. <http://www.spkx.net.cn>

益生菌干酪是指在原料乳杀菌处理后将益生菌以辅助发酵剂的形式与主发酵剂一起添加到乳中或在排除乳清后添加到凝乳块中, 经压榨成型、成熟或不经成熟而制成的有益于人体健康的功能性干酪产品^[1]。干酪是益生菌的良好载体, 其弱酸性pH值环境和营养基质使益生菌能在其中长时间保持较高活性, 同时为益生菌在通过消化道时提供良好的保护作用^[2-5]。益生菌干酪除了含有丰富的蛋白质、钙、脂肪、磷和维生素等营养成分外, 还具有调节肠道菌群平衡^[6]、增强肠道黏膜抗病能力^[7]、增强免疫力^[8]、降低胆固醇^[9]等生理功能。

挥发性风味是干酪的重要品质特征^[10], 也是影响消费者选择功能性食品的重要因素。益生菌干酪在漫长的成熟期间(3~24个月), 其高活性的益生菌(>6 lg(CFU/g))对干酪风味物质的形成具有重要的影响。例如, 益生性乳酸杆菌会增加切达干酪的苦味^[11]; 嗜温乳杆菌能促进切达干酪蛋白质的水解而增加谷氨酸和亮氨酸的含量, 从而增强干酪的鲜味^[12]; 短小乳杆菌在干酪中会产生洋葱样的不良风味^[13]; 鼠李糖乳杆菌DSA LR1能影响酸奶的芳香风味^[14]; 明串珠菌能产生高芳香度的伯醇、仲醇和酯^[15]。通过对干酪乳杆菌的遗传学、酶和其他代谢产物的分析, 表明该益生菌能促进多样化风味的形成^[16]。

植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)是革兰氏阳性菌, 在天然发酵食品中广泛存在, 是葡萄酒^[17]、面包^[18]、馒头^[19]、泡菜^[20]和肉类^[21]等发酵食品挥发性风味形成的重要菌株。研究发现, 植物乳杆菌能够产生有机酸、细菌素、过氧化氢、双乙酰等多种天然活性物质, 具有维持肠道内菌群平衡, 降低胆固醇水平, 提高机体免疫力, 促进营养物质吸收等多种益生菌功能^[22]。但是, 关于益生性植物乳杆菌及其添加方式对干酪挥发性风味形成的影响研究较少。

本研究将分离自西藏灵菇, 具有耐酸、耐胆盐、抑菌和降胆固醇等生物活性的益生性产胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)植物乳杆菌1-2(*L. plantarum* 1-2)^[23], 分别通过在杀菌乳中接种发酵和凝乳后添加菌粉的方式应用于切达干酪的加工中, 考察益生性植物乳杆菌

及其添加方式对切达干酪挥发性风味形成的影响, 为提高益生菌干酪的品质, 开发益生菌干酪产品提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

发酵剂: 乳酸乳球菌*Lactococcus lactis* XZ3303和*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* QH27-1由内蒙古农业大学提供, *L. plantarum* 1-2由本实验室冻干保藏(活菌数11.0 lg(CFU/g)) ; 商品凝乳酶: Stamix 1150NB德国科汉森股份有限公司; 脱脂乳粉 新西兰恒天然集团有限公司。

1.2 仪器与设备

705型-80℃超低温冰箱 美国Thermo Electron公司; 50 L干酪槽 上海浦丽盛三环食品设备工程有限公司; MLS-3750高压蒸汽灭菌锅 日本Sanyo公司; BCN-1360B超净工作台 北京东联哈尔仪器制造有限公司; DVB-CAR-PDMS手动固相微萃取进样器 美国Supelco公司; 7890A-7000 气相色谱-质谱联用仪 美国Agilent公司; CP124S分析天平 德国Sartorius公司; HZQ-Q恒温培养箱 上海一恒实验设备有限公司; CT3质构仪 美国Brookfield公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵菌株活化与接种

乳酸乳球菌XZ3303、QH27-1分别按体积分数3%接种于12 g/100 mL脱脂乳中, 30℃培养6~8 h, 活化3代后用作干酪的生产发酵剂, 接种量为1.5% (体积分数, 下同)。

1.3.2 实验分组及益生菌的添加

益生菌添加方式实验分组如表1所示。益生菌干酪1和益生菌干酪2分别向100 mL巴氏杀菌乳中添加0.1、1 g *L. plantarum* 1-2冻干粉, 至乳中益生菌*L. plantarum* 1-2活菌数分别为8.0 lg(CFU/mL)和9.0 lg(CFU/mL)。益生菌干酪3在排乳清后向100 g凝乳中拌入0.1 g的*L. plantarum* 1-2冻干粉, 至凝乳中*L. plantarum* 1-2活菌数为8.0 lg(CFU/g)。

表1 干酪制作实验分组
Table 1 Experimental groups of cheeses

| 实验分组 | 发酵剂 | 益生菌菌株 | 益生菌添加量 | 益生菌添加方式 |
|--------|---------------|-------------------------|-------------------|----------|
| 对照组干酪 | XZ3303+QH27-1 | | | |
| 益生菌干酪1 | XZ3303+QH27-1 | <i>L. plantarum</i> 1-2 | 8.0 (lg (CFU/mL)) | 与发酵剂同时添加 |
| 益生菌干酪2 | XZ3303+QH27-1 | <i>L. plantarum</i> 1-2 | 9.0 (lg (CFU/mL)) | 与发酵剂同时添加 |
| 益生菌干酪3 | XZ3303+QH27-1 | <i>L. plantarum</i> 1-2 | 8.0 (lg (CFU/g)) | 排乳清后添加 |

1.3.3 干酪制作流程

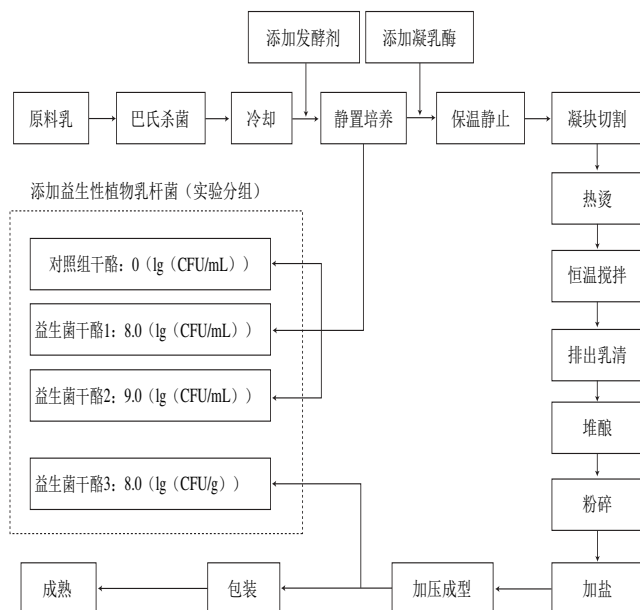


图1 切达干酪制作流程图

Fig. 1 Schematic illustration of Cheddar cheese production

干酪制作过程如图1所示。对照组干酪（未添加益生菌）的制作：鲜牛乳经65℃、30 min巴氏杀菌后，冷却至31℃，添加发酵剂（添加量体积分数1.5%）；31℃保温发酵45 min，添加凝乳酶，静置40 min待乳凝固，用干酪刀切割成约长8 mm的立方块，缓慢搅拌以防止凝块黏连，凝块升温至38℃（每5 min升高1℃），当pH值降到6.1~6.2时，排除乳清，并于38℃堆酿。pH值降至5.4~5.5时，揉碎凝块，添加质量分数2%食盐，然后装入干酪模具压榨。真空包装，并于4℃条件下成熟0、4、8、12周^[9]。

益生菌干酪1、2的制作：按照上述对照组干酪的工艺流程，原料乳灭菌后添加发酵剂，同时按照图1添加益生菌*L. plantarum* 1-2。益生菌干酪3的制作与对照组干酪的工艺流程相似，仅在向凝块中添加食盐后添加益生菌*L. plantarum* 1-2于凝块中，混匀。

1.3.4 干酪的理化及微生物指标测定

1.3.4.1 干酪得率的测定

在干酪制作过程中，准确称量并记录原料乳、发酵剂、食盐的用量以及干酪成品的产量，用于干酪得率计算。干酪得率是干酪加工过程中的重要参数之一，可反

映工艺参数的经济合理性，评定干酪的生产效益，衡量产率提高工艺改进的有效性。干酪得率计算方法如下式：

$$\text{干酪得率}/\% = \frac{\text{干酪产量}}{\text{原料乳用量} + \text{发酵剂用量} + \text{食盐用量}} \times 100$$

1.3.4.2 干酪含水量的测定

依据GB 5009.003—2010《食品中水分的测定》中的方法测定干酪含水量。

1.3.4.3 干酪pH值的测定

称取10 g干酪样品，磨碎后加入12 mL 50℃蒸馏水，匀浆处理1 min，样品充分匀浆后，将样品放置于50℃水浴中保温处理30 min，5 000×g、20℃条件下离心15 min，去除上层脂肪，取下层溶液测定pH值。

1.3.4.4 干酪微生物指标的测定

分别在干酪成熟的第0、4、8、12周取样，平板涂布测定干酪样品中*L. plantarum* 1-2的活菌数。准确称取11 g干酪加入99 mL 2 g/100 mL柠檬酸钠溶液（40℃），匀浆处理2 min，用生理盐水将样品稀释到适当倍数，吸取50 μL稀释液均匀涂布于M17培养基上，培养24 h，计算益生菌*L. plantarum* 1-2的活菌数。

1.3.5 干酪质构指标的测定

质构仪测定干酪硬度、内聚性和弹性3个指标。去掉干酪样品上下及边缘约5 mm的部分，将干酪样品切成1.5 cm×1.5 cm×1.5 cm大小的样品。将样品在室温条件下放置30 min，使其温度均衡，并避免样品在测试过程中发生温度变化。质构仪参数设定如下：测试前速度2.0 mm/s，测试速度0.4 mm/s，返回速度0.4 mm/s，循环2次，数据频率20点/秒，触发点负载5 g，压缩比50%，探头型号TA11/1000。

1.3.6 干酪挥发性风味物质的测定

通过气相色谱-质谱联用法分析对比干酪风味成分。称取5 g干酪样品，磨碎后加入到30 mL萃取瓶中，将萃取瓶加盖密封，置于50℃水浴锅中平衡20 min，固相微萃取50℃吸附40 min后插入气相色谱进样口，250℃条件下解吸5 min。

1.3.6.1 色谱条件

程序升温：初始温度为40℃，在此温度下保持3 min，然后以5℃/min的速度升温至200℃，保持0 min，再以10℃/min的速度升温到250℃，保持3 min，后运行3 min。载气(He)恒定流速为1.2 mL/min，进样口温度250℃，分流比为5:1。

1.3.6.2 质谱条件

电子电离源，电子能量70 eV，传输线温度280℃，离子源温度230℃，四极杆温度150℃，质量扫描范围m/z 40~250。

1.3.6.3 干酪风味物质的数据分析

质谱图经计算机检索同时与NIST08质谱图相匹配，

并结合人工图谱解析及相关资料分析, 确认挥发性物质的各个化学成分, 根据化合物的峰面积, 按面积归一化法计算出各成分的相对含量。

挥发性化学成分作为变量, 成熟时间、益生菌添加量和益生菌添加方式作为环境因子, 每个样品不同成熟期的干酪作为一个样本, 应用CANOCO 4.5统计分析软件对数据进行分析。首先, 根据梯度长度分析结果, 确定冗余分析模型的适用性。之后, 依次设置软件分析参数: Available Data=Species and environment data available, Scaling: Linear Methods=Do not post-transform, Transformation of Species D=Log transformation, 对风味物质进行冗余分析, 研究环境因子、变量、样本之间的相互关系。

应用Cluster 3.0对风味物质和样品进行聚类。导入文本文件至Cluster 3.0软件, 设置软件分析参数: Adjust Data=Log transform data, 选择Hierarchical=Genes和Arrays下的Cluster, 点击Average linkage对挥发性物质和样本进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 干酪理化及微生物指标测定结果

2.1.1 干酪得率分析

表2 干酪得率
Table 2 Cheese yield

| 组别 | 对照组干酪 | 益生菌干酪1 | 益生菌干酪2 | 益生菌干酪3 |
|------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 得率/% | 7.91±0.21 ^a | 8.29±0.32 ^b | 8.34±0.27 ^b | 8.53±0.35 ^b |

注: 不同小写字母表示数据间存在显著差异 ($P<0.05$)。

由表2可知, 对照组干酪得率显著低于添加了益生菌 *L. plantarum* 1-2的干酪组, 益生菌干酪1、2、3三组干酪得率无显著差异。这可能是因为 *L. plantarum* 1-2为产EPS的益生菌, 能够有效结合干酪中游离的水分, 从而提高干酪得率。Dabour等^[24]研究发现, 与不添加产EPS发酵剂生产的低脂切达干酪相比, 添加了产黏液多糖或产荚膜多糖发酵剂生产的低脂切达干酪的水分含量增加量分别为3.6%和4.8%, 干酪得率分别增加了0.28%和1.19%。

2.1.2 干酪含水量分析

干酪含水量不仅会影响干酪得率, 还会对干酪的品质产生重要影响。因此, 在干酪的成熟过程中, 加强对干酪含水量的检测和控制有重要意义。从图2可以看出, 在干酪成熟的过程中, 4种干酪含水量随着成熟时间的延长而下降, 下降趋势缓慢; 且不添加益生菌 *L. plantarum* 1-2的对照组干酪变化较为明显, 而益生菌干酪1、2、3组含水量下降相对缓慢, 差异性小。可能是干酪成熟期间, 酶和微生物水解蛋白质

使干酪的网状结构遭到破坏, 产生大量游离水, 游离水造成干酪成熟期间水分下降^[25]。益生菌干酪含水量下降慢的原因可能是益生菌 *L. plantarum* 1-2产生EPS结合更多的水。Costa等^[26]分别利用产EPS的 *L. lactis* ssp. *cremoris* DPC6532及其不产EPS的同基因型变种菌株 *L. lactis* ssp. *cremoris* DPC6533作为发酵剂生产低脂切达干酪, 结果发现添加了产EPS发酵剂生产出的干酪含水量和干酪得率显著高于不产EPS组的干酪。

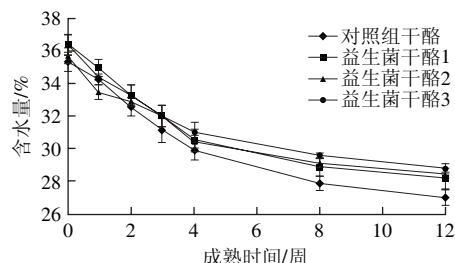


图2 干酪成熟期间含水量的变化

Fig. 2 Changes in moisture content during cheese ripening

2.1.3 干酪pH值分析

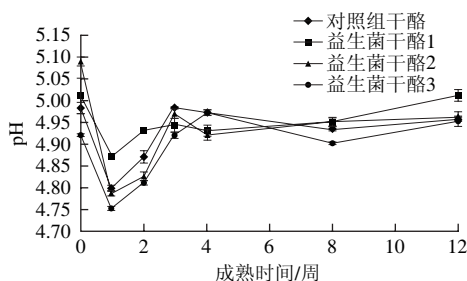


图3 干酪成熟期间pH值的变化

Fig. 3 Changes in pH during cheese ripening

由图3可知, 4组干酪在成熟前期pH值下降速度较快, 并达到最小值。这是由于在成熟前期, 大量乳酸菌分解利用干酪中残留的乳糖生成乳酸, 使得干酪pH值迅速下降。而干酪在成熟的中后期乳糖被慢慢耗尽, 随着干酪成熟时间的延长, 蛋白质发生水解游离出的 NH_4^+ 与乳酸中和, 导致pH值在成熟中期有小幅上升^[27]。在干酪成熟后期pH值趋于平稳。但益生菌干酪组和对照组干酪pH值无显著差异 ($P>0.05$), 说明益生菌 *L. plantarum* 1-2的加入不会使干酪质量发生明显偏差, 这对标准化生产干酪至关重要。

2.1.4 干酪微生物指标分析

对各组干酪成熟过程中 *L. plantarum* 1-2的存活情况进行测定。由表3可知, 随着干酪成熟时间的延长, 干酪中的 *L. plantarum* 1-2活菌数量降低。尽管益生菌干酪2中的 *L. plantarum* 1-2添加量最多, 其活菌数量下降显著, 这可能由于其在杀菌乳中添加, 凝乳切割处理后排乳清时, 大量菌体随乳清排出而造成有效添加量降低。益生

菌干酪1和益生菌干酪2中*L. plantarum*1-2的添加量不同,其成熟过程中活菌数变化表现出差异性。何志刚等^[28]发现植物乳杆菌R23在枇杷酒中的菌体生物量总体也呈下降趋势。益生菌干酪3中*L. plantarum* 1-2在排除乳清之后添加,减少了菌种随乳清排出时的损失。益生菌干酪2和益生菌干酪3成熟12周时,益生菌*L. plantarum* 1-2活菌数无显著性差异,表明益生菌*L. plantarum* 1-2以 $9.0(\lg(\text{CFU/mL}))$ 添加量与主发酵同时添加到杀菌乳中与排除乳清后添加 $8.0(\lg(\text{CFU/g}))$ 对切达干酪成熟12周后益生菌*L. plantarum* 1-2的活菌数无显著影响。

表3 益生性*L. plantarum* 1-2分别在干酪成熟0、4、8、12周过程中的存活情况

Table 3 Viable count of *L. plantarum* 1-2 in probiotic cheese after 0, 4, 8, and 12 weeks of ripening

| 分组 | <i>L. plantarum</i> 1-2活菌数 (lg(CFU/g)) | | | |
|--------|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0周 | 4周 | 8周 | 12周 |
| 益生菌干酪1 | 7.94 ± 0.21^a | 7.49 ± 0.18^a | 7.45 ± 0.12^a | 7.31 ± 0.08^a |
| 益生菌干酪2 | 8.73 ± 0.17^b | 8.02 ± 0.13^b | 7.34 ± 0.09^b | 7.11 ± 0.11^b |
| 益生菌干酪3 | 7.99 ± 0.23^a | 7.23 ± 0.19^c | 7.17 ± 0.16^c | 7.12 ± 0.14^b |

注:同列不同小写字母表示存在显著差异($P < 0.05$)。

2.2 干酪质构指标测定结果

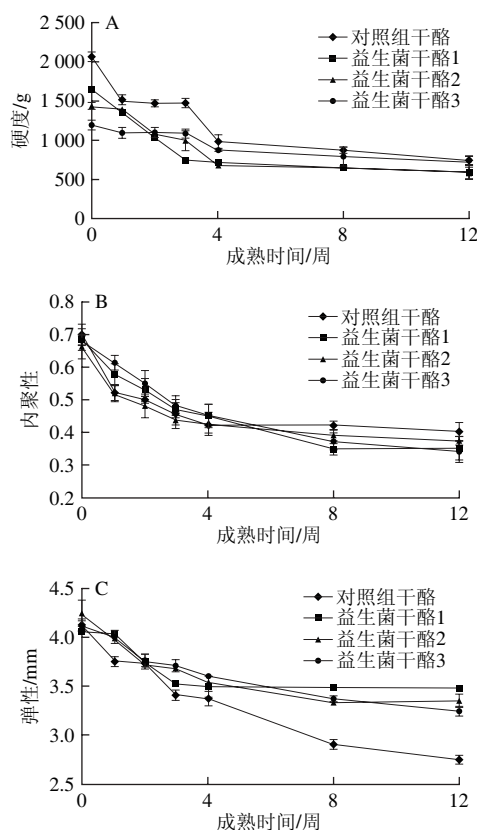


图4 干酪成熟过程中硬度(A)、内聚性(B)、弹性(C)的变化
Fig. 4 Changes in hardness (A), cohesiveness (B), and elasticity (C) during cheese ripening

由图4可知,随着干酪成熟时间的延长,4组干酪的质构参数均呈现下降趋势。在干酪成熟的1~4周内,干酪的硬度、内聚性和弹性迅速下降,这是由于干酪在成熟过程中,酪蛋白被干酪中残余的凝乳酶及发酵剂菌株继续水解,产生大量水溶性物质,酪蛋白的空间网状结构遭到破坏,从而导致干酪体系变得松散。而在干酪成熟中期和后期(4~12周),下降有所减缓。由图4A可以看出,在整个成熟期内,对照组干酪的硬度始终高于益生菌干酪组,但差异并不显著($P > 0.05$)。推测是由于*L. plantarum* 1-2产生的EPS破坏了蛋白质的网状结构,使其空间结构变得疏松,从而导致硬度下降。张卓丹等^[29]研究发现,EPS在干酪凝乳过程中,干扰蛋白质之间的相互作用,导致干酪凝块变软。

内聚性用于表征干酪在机械作用下裂解的速率,其外在表现是抗拉强度。由图4B可知,在干酪成熟前期,4组干酪内聚性均呈下降趋势,但差异不显著($P > 0.05$);在干酪成熟后期,对照组干酪内聚性显著高于益生菌干酪($P < 0.05$)。干酪在成熟过程中,干酪内部原有化学键的完整性遭到破坏,蛋白质间的相互作用发生变化,在外力的作用下容易发生永久性变形,导致内聚性下降,因此干酪的内部结合力会随着时间的延长而降低。

弹性参数用于表征干酪在外力作用后形状的复原能力。由图4C可以看出,干酪的弹性随成熟时间的延长而呈现下降趋势,4周后下降速度趋于平缓。随着干酪蛋白水解加快,干酪中长链的结构蛋白逐渐变短,酪蛋白网络结构坍塌,从而导致干酪质地变得柔软,弹性变差。对照组干酪的弹性在整个干酪成熟期间均低于3个益生菌干酪,在干酪成熟前期差异不显著($P > 0.05$);在干酪成熟后期,即第8~12周,对照组干酪的弹性显著低于益生菌干酪组($P < 0.05$),推测是由于EPS破坏了蛋白质的空间网络结构,使干酪质地变得松软,但益生菌干酪之间差异并不明显($P > 0.05$)。

2.3 干酪成熟期间的风味物质分析

由表4可知,4组干酪在不同的成熟时期(0、4、8、12周)特征性风味物质的变化,对照组干酪和益生菌干酪组的风味物质的种类和相对含量均存在较大差异。对照组干酪共检测出风味物质26种,其中烃类化合物6种、醇类化合物6种、醛类化合物2种、酮类化合物4种、脂肪酸类化合物5种、酯类化合物3种;益生菌干酪1、2、3中除上述26种风味物质外,还检测出乙苯、十二烷、己醇和丙酮4种挥发性风味物质。Salmeron等^[30]在植物乳杆菌发酵谷物中也鉴定到上述风味物质如乙醛、乙醇、丙酮、乙酸乙酯等。由图5可知,各组干酪中不同种类风味物质的分布及相对含量具有一定的相似性,其中醇类物质的相对含量最高,醛类物质的相对含量最低;随着成熟时间的延长,醇类和酯类

物质相对含量有所下降，醛类和脂肪酸类物质的相对含量有所上升。

表4 干酪中挥发性风味物质相对含量
Table 4 Volatile flavor compounds in cheese

| 风味物质 | 保留时间/min | 相对含量/% | | | | | | | | | | | |
|------------------|----------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| | | 对照组干酪 | | | | 益生菌干酪1 | | | | 益生菌干酪2 | | | |
| | | 0周 | 4周 | 8周 | 12周 | 0周 | 4周 | 8周 | 12周 | 0周 | 4周 | 8周 | 12周 |
| 烷烃类 | | 11.61 | 13.36 | 13.13 | 10.12 | 12.71 | 15.67 | 15.45 | 12.64 | 13.44 | 16.47 | 20.07 | 11.85 |
| 苯 | 6.31 | — | — | — | 3.11 | — | — | 1.51 | 2.52 | — | 0.21 | 1.53 | 2.71 |
| 癸烷 | 7.59 | 0.24 | 0.40 | 0.85 | 0.29 | 0.36 | 0.66 | 0.53 | 0.46 | 0.52 | 1.23 | 0.82 | 0.78 |
| 甲苯 | 8.65 | 10.67 | 11.69 | 10.32 | 6.13 | 11.27 | 12.70 | 10.34 | 7.44 | 11.25 | 12.15 | 12.92 | 6.04 |
| 十一烷 | 10.12 | 0.11 | 0.16 | 0.19 | 0.12 | — | 0.39 | 0.40 | 0.30 | 0.67 | 0.55 | 0.60 | 0.41 |
| 乙苯 | 10.94 | — | — | — | — | — | 0.10 | 0.26 | 0.20 | — | 0.21 | 0.11 | 0.17 |
| 对二甲苯 | 11.35 | 0.37 | 0.75 | 0.89 | 0.18 | 0.42 | 0.91 | 1.25 | 0.85 | 0.41 | 1.12 | 2.56 | 0.81 |
| 十二烷 | 13.06 | — | — | — | — | 0.41 | 0.62 | 0.64 | 0.47 | 0.35 | 0.67 | 0.91 | 0.73 |
| 十三烷 | 15.84 | 0.21 | 0.37 | 0.88 | 0.29 | 0.25 | 0.29 | 0.52 | 0.41 | 0.25 | 0.32 | 0.61 | 0.19 |
| 醇类 | | 32.75 | 32.01 | 30.99 | 29.96 | 31.48 | 30.92 | 29.90 | 27.09 | 33.88 | 33.47 | 27.07 | 25.59 |
| 乙醇 | 6.22 | 22.44 | 18.60 | 16.43 | 16.60 | 20.75 | 16.05 | 14.12 | 11.15 | 21.98 | 19.35 | 12.23 | 10.21 |
| 3-甲基-1-丁醇 | 13.41 | 7.57 | 8.51 | 9.32 | 10.74 | 8.35 | 8.76 | 10.85 | 12.32 | 8.96 | 9.48 | 10.32 | 11.28 |
| 甲基丁烯醇 | 16.52 | — | — | 0.15 | 0.21 | 0.16 | 0.22 | 0.25 | 0.28 | 0.26 | 0.33 | 0.30 | 0.30 |
| 己醇 | 17.37 | — | — | — | — | 0.16 | 0.28 | 0.35 | 0.39 | 0.31 | 0.30 | 0.52 | 0.89 |
| 2-乙基-1-己醇 | 20.85 | 1.73 | 3.62 | 4.07 | 1.89 | 1.21 | 4.60 | 2.78 | 1.17 | 1.51 | 2.75 | 1.88 | 1.04 |
| 十六醇 | 23.30 | 0.57 | 0.71 | 0.22 | 0.12 | 0.36 | 0.51 | 0.42 | 0.37 | 0.19 | 0.33 | 0.55 | 0.41 |
| 苯乙醇 | 30.28 | 0.45 | 0.56 | 0.80 | 0.39 | 0.48 | 1.03 | 1.12 | 1.41 | 0.67 | 0.93 | 1.26 | 1.45 |
| 醛类 | | 0.32 | 0.34 | 0.64 | 0.93 | 0.39 | 0.67 | 0.91 | 0.96 | 0.54 | 0.59 | 0.88 | 1.14 |
| 己醛 | 9.68 | 0.16 | 0.16 | 0.24 | 0.34 | 0.15 | 0.17 | 0.22 | 0.25 | 0.26 | 0.27 | 0.37 | 0.32 |
| 壬醛 | 18.43 | 0.16 | 0.18 | 0.40 | 0.59 | 0.25 | 0.50 | 0.69 | 0.70 | 0.28 | 0.32 | 0.51 | 0.81 |
| 酮类 | | 13.81 | 13.36 | 11.85 | 11.22 | 10.38 | 12.31 | 15.41 | 12.20 | 15.33 | 13.11 | 14.29 | 15.29 |
| 丙酮 | 4.08 | — | — | — | — | — | — | 0.21 | 0.32 | — | 0.12 | 0.35 | 0.74 |
| 2-庚酮 | 12.65 | 0.36 | 0.50 | 0.40 | 0.22 | — | 0.68 | 0.61 | 0.41 | 0.79 | 0.75 | 0.61 | 0.58 |
| 3-羟基丁二酮 | 15.55 | 5.32 | 5.43 | 4.30 | 3.32 | 4.93 | 5.12 | 8.12 | 7.45 | 5.22 | 5.19 | 6.56 | 7.98 |
| 2-壬酮 | 18.32 | 0.12 | 0.14 | 0.23 | 0.51 | 0.13 | 0.42 | 0.81 | 0.63 | 0.19 | 0.20 | 0.73 | 0.42 |
| 27-二甲基-5-羟基-4-辛酮 | 20.47 | 8.01 | 7.29 | 6.91 | 7.16 | 5.32 | 6.09 | 5.65 | 3.38 | 9.13 | 6.85 | 6.77 | 5.56 |
| 脂肪酸类 | | 5.01 | 6.59 | 10.19 | 16.91 | 6.31 | 10.01 | 14.74 | 18.71 | 10.10 | 13.33 | 16.76 | 21.09 |
| 乙酸 | 19.76 | 1.77 | 2.22 | 3.21 | 3.35 | 1.87 | 3.79 | 3.92 | 3.44 | 2.91 | 3.77 | 3.57 | 4.17 |
| 丁酸 | 24.09 | 0.37 | 0.40 | 0.85 | 1.44 | 1.32 | 1.56 | 2.54 | 3.57 | 2.05 | 3.40 | 3.73 | 5.71 |
| 己酸 | 28.85 | 1.52 | 1.70 | 2.56 | 4.79 | 1.84 | 2.24 | 3.28 | 4.70 | 3.20 | 3.75 | 4.25 | 5.08 |
| 辛酸 | 33.09 | 0.99 | 1.53 | 2.36 | 4.47 | 0.86 | 1.67 | 3.46 | 4.35 | 1.42 | 1.59 | 3.64 | 3.68 |
| 癸酸 | 36.75 | 0.36 | 0.73 | 1.22 | 2.88 | 0.42 | 0.75 | 1.54 | 2.66 | 0.51 | 0.83 | 1.57 | 2.46 |
| 酯类 | | 17.91 | 17.35 | 15.16 | 12.54 | 19.50 | 15.27 | 11.76 | 13.20 | 18.80 | 16.94 | 14.34 | 11.92 |
| 乙酸乙酯 | 5.24 | 17.45 | 16.79 | 11.70 | 7.77 | 18.64 | 13.45 | 7.83 | 8.08 | 16.85 | 13.85 | 10.76 | 8.54 |
| 乙酸乙酯 | 7.07 | 0.46 | 0.56 | 3.20 | 4.39 | 0.73 | 1.56 | 3.63 | 4.74 | 0.98 | 2.81 | 3.33 | 3.04 |
| 己酸乙酯 | 14.11 | — | — | 0.26 | 0.38 | 0.13 | 0.26 | 0.30 | 0.39 | 0.17 | 0.28 | 0.25 | 0.35 |

注：—未检出。

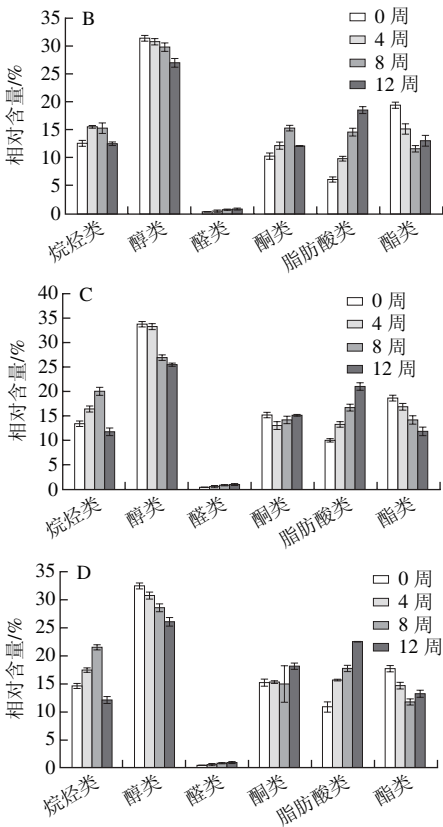
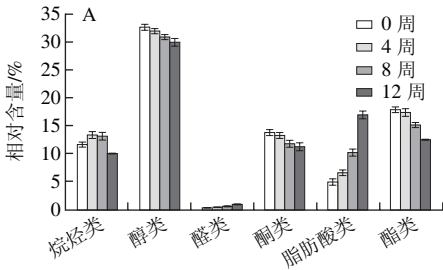


图5 干酪成熟期间对照组干酪(A)、益生菌干酪1(B)、益生菌干酪2(C)和益生菌干酪3(D)风味化合物的相对含量

Fig. 5 Changes in flavor compound contents of control cheese (A), probiotic cheese 1 (B), probiotic cheese 2 (C) and probiotic cheese 3 (D) during cheese ripening

烃类化合物主要来源于原料乳本身^[31]，而不是在干酪成熟过程中产生，它们的阈值相对较高，因此对干酪整体风味的贡献较小^[32]。烃类化合物在干酪中普遍存在，且种类较多，以C₁₀~C₂₂的烷烃和一些支链烯烃为主。与益生菌干酪组相比，对照组仅检测出6种烃类化合物（苯、癸烷、甲苯、十一烷、对二甲苯和十三烷），而在3个益生菌干酪组中均检测出8种烃类化合物（还包括乙苯和十二烷），乙苯等杂环类化合物可赋予干酪坚果味和杏仁味，使干酪风味更加饱满。

醇类化合物通常具有芳香味和植物香味，但因醇类化合物阈值较高，因此对干酪整体风味贡献不大。醇类化合物通常存在于干酪的水溶性成分中，可以与脂肪酸进一步反应形成酯，因此可间接影响干酪风味。此外，通过氨基酸代谢、乳糖代谢以及甲基酮的还原等代谢途径也可生成相应的醇类。对照组干酪中检测出6种醇类化合物，即乙醇、3-甲基-1-丁醇、甲基丁烯醇、2-乙基-1-己醇、十六醇和苯乙醇，益生菌干酪1、2和3中还检测出了己醇，己醇具有树脂、花、植物的风味。3-甲基-1-丁醇可赋予干酪水果香味和酒香味，从而对改善干酪风味起到重要作用。在整个干酪成熟期内，益生菌干

酪中3-甲基-1-丁醇含量均高于对照组,表明*L. plantarum* 1-2的添加对干酪风味有贡献作用。此外,正己醇仅在益生菌干酪中检测到,说明此风味物质由*L. plantarum* 1-2代谢产生。在切达干酪中,醇类的过度积累会造成风味缺陷^[33]。本研究中,醇类化合物含量随干酪成熟时间延长呈现下降趋势,有利于减少干酪的酸败风味。

醛类化合物是脂肪酸和游离脂肪酸发生自动氧化而生成。在对照组干酪和益生菌干酪中均检测出2种醛类化合物,即己醛和壬醛。其中己醛能赋予干酪新鲜味和青草味,壬醛具有板油气味,这2种物质在干酪中普遍存在。醛类化合物的化学性质比较活泼,属于不稳定的中间体化合物,在一定条件下易被还原成相应的醇,因此通常而言这类化合物在乳制品中的含量都不高。醛类物质主要参与酸类物质和酯类物质间的相互转化,能够引起干酪不洁风味的苯乙醛在本实验中未检测出。

酮类化合物由多不饱和脂肪酸氧化、热降解、氨基酸降解和微生物代谢产生,其感知阈值低,风味独特,可赋予干酪水果香味、花香和霉味^[34-35],并随着碳链的增加香气更加浓郁^[36]。本实验在对照组中共检测出4种酮类化合物,包括2-庚酮、3-羟基丁二酮、2-壬酮和2,7-二甲基-5-羟基-4-辛酮;在益生菌干酪组中还检测出丙酮。由图5可知,与对照组相比,益生菌干酪中酮类物质含量较高,尤其是3-羟基丁二酮,该化合物由干酪的柠檬酸代谢所产生的二乙酸转化而来,赋予干酪清新的奶油香气,使干酪风味变得更为饱满,进一步提高干酪的感官品质^[37]。2-壬酮呈果香、甜香、青香及椰子、奶油的气味^[38]。2-庚酮是亚油酸的氧化产物,能赋予干酪水果香味。

脂肪酸类化合物是由乳脂肪经脂肪酶水解形成的,有显著的特征气味,而且还是烷烃类、酯类和甲基酮等风味物质的前体。低碳数脂肪酸较低的阈值保证了干酪的典型发酵风味^[39]。在4组干酪中均检测出了乙酸、丁酸、己酸、辛酸和癸酸。其中乙酸是由乳酸或柠檬酸在发酵菌株的作用下生成,赋予干酪醋味;丁酸可赋予干酪多汁味、奶油味;己酸具有油脂味;其他饱和脂肪酸主要贡献干酪的水果酸味和油酸味。辛酸具有清香和微弱的水果酸气味、淡酸味^[40]。本实验检测到的酸类化合物均为直链脂肪酸,为脂肪的水解产物,含量随成熟时间的延长而增加,对酯类化合物的形成具有很大贡献,表明随着干酪成熟时间的延长脂肪的水解作用逐渐加强。

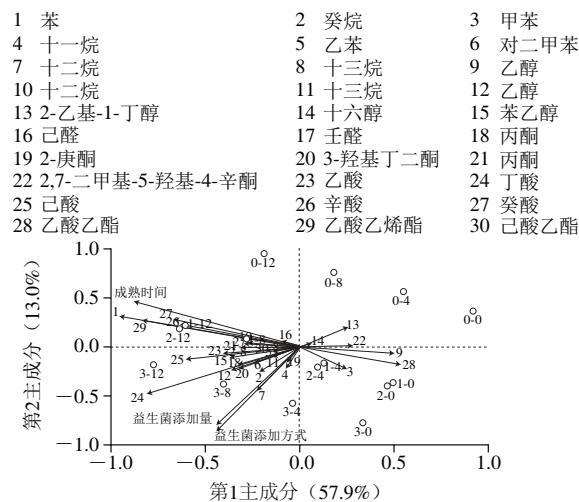
酯类化合物具有较低的阈值,通常提供甜味和水果味^[41],可以缓解短链酯类化合物带来的尖刺感,使干酪的整体风味更加柔和,然而过多的酯类化合物则容易引起干酪偏水果味的缺陷^[42]。短链酯类化合物在常温下挥发性较强,并且具有较低的阈值,因此具有较大的风味贡献潜力。本实验中,这类化合物相对含量均随干酪成熟时间延长而下降,避免了水果味缺陷的产生。在4组干

酪中共检测出3种酯类化合物,分别为乙酸乙酯、乙酸乙酯和己酸乙酯。其中乙酸乙酯含量较高,赋予干酪水果香味,随干酪成熟时间的延长含量逐渐下降。在干酪成熟初期(0周),乙酸乙酯便大量存在,第12周时,对照组干酪中乙酸乙酯相对含量为7.77%,低于益生菌干酪1(8.08%)、益生菌干酪2(8.54%)和益生菌干酪3(9.65%),说明*L. plantarum* 1-2的添加对干酪风味具有积极作用。

2.4 冗余分析益生菌*L. plantarum* 1-2对切达干酪成熟过程中挥发性风味含量和种类的影响

2.4.1 干酪成熟时间的影响

为了进一步研究干酪成熟时间、益生菌活菌数和添加方式对干酪风味形成的影响,对干酪的风味物质进行统计学分析。去趋势对应分析(detrended correspondence analysis, DCA)结果显示梯度长度最大值为0.703,依据Šmilauer等^[43]方法,统计分析梯度长度小于3,适于线性分析模型,采用RDA线性模型分析。



0-0、0-4、0-8、0-12.对照组干酪成熟0、4、8、12周样品; 1-0、1-4、1-8、1-12.益生菌干酪1成熟0、4、8、12周样品; 2-0、2-4、2-8、2-12.益生菌干酪2成熟0、4、8、12周样品; 3-0、3-4、3-8、3-12.益生菌干酪3成熟0、4、8、12周样品。下图同。

图6 干酪风味物质的冗余分析

Fig. 6 Redundancy analysis of cheese flavor substances

如图6所示,第1、2主成分对风味物质的影响所能解释的比例为70.9%。干酪成熟时间和横轴的相关系数为0.867 3。箭头代表不同的影响因素,其方向代表该因素对干酪风味影响的取向,长短代表对风味影响的大小。干酪成熟时间射线最长且沿着各组干酪成熟时间的方向,说明成熟时间与干酪挥发性风味物质含量呈正相关,且影响最大,这是因为无论是益生菌还是干酪中的酶类,其水解和产生挥发性风味物质都是复杂的生化反应,部分物质互为前体和产物,其形成需要较长的时间。

挥发性风味物质与成熟时间射线的夹角及投影反映

了成熟时间因素对该挥发性风味物质影响的相关性和大小。2,7-二甲基-5-羟基-4-辛酮、2-乙基-1-己醇、乙醇、十六醇、甲苯、乙酸乙酯含量与成熟时间之间为钝角,所以呈负相关关系。苯的含量与成熟时间呈正相关,且在成熟时间射线上的投影最长,说明苯与成熟时间相关性最强,对照组干酪随着干酪成熟时间的延长实现从无到有的变化。其次是癸酸、丁酸和乙酸乙酯。

2.4.2 *L. plantarum* 1-2活菌数的影响

从图6可知,相比干酪成熟时间对干酪挥发性风味的影响,益生菌活菌数对干酪挥发性风味的影响要小一些。各组干酪在益生菌添加量射线上的投影一致,说明模型的合理性。

丁酸在益生菌添加量射线上的投影最长,说明丁酸受益生菌活菌数的影响最大,其次是乙酸。赖氨酸可生成丁酸和乙酸,这2种物质是切达干酪中重要的物质,丁酸表现出汁味和干酪味,乙酸表现出蜡味^[43]。乙醇、2,7-二甲基-5-羟基-4-辛酮、十六醇、2-乙基-1-己醇与益生菌添加量的射线呈钝角,说明这4种挥发性风味物质与活菌数呈负相关。

2.4.3 *L. plantarum* 1-2添加方式的影响

干酪的加工过程中,排乳清过程降低了干酪的水分含量,一定量的微生物和酶随乳清一同排出,此过程也会影响干酪成熟过程和产品的稳定性^[44]。益生菌添加方式对干酪挥发性风味的影响与益生菌添加量对干酪挥发性风味物质的影响相似。由图6可知,丁酸受益生菌添加方式的影响最大,其次是乙酸。乙醇、2,7-二甲基-5-羟基-4-辛酮、十六醇、2-乙基-1-己醇与益生菌添加方式呈负相关。益生菌干酪成熟12周,丁酸含量最高达对照组的3.96倍($P<0.05$)。

各组干酪在益生菌添加方式射线上的投影一致,并且益生菌干酪1和益生菌干酪2距离接近,这是因为益生菌干酪1和益生菌干酪2添加菌种的方式一致。对照组干酪和益生菌干酪3分布在益生菌干酪1和益生菌干酪2的两侧。

益生菌添加量和添加方式射线之间的夹角为锐角,说明两者呈正相关关系,相关系数为0.778 9。两者与干酪成熟时间的相关系数为0.000 0。说明两者与成熟时间因素相互独立。为了研究益生菌添加量和益生菌添加方式之间的相关性,以干酪中风味物质种类和含量为指标聚类分析干酪样品。由图7可知,甲苯、乙醇、乙酸乙酯、2,7-二甲基-5-羟基-4-辛酮、3-甲基-1-丁醇、3-羟基丁二酮呈上调的趋势,说明干酪的风味以这6种风味物质贡献为主。3种益生菌干酪按成熟时间(0、4、8、12周)分布于4个区域,但对照组干酪不同,成熟4周的样品和益生菌干酪成熟0周的样品聚为一类;成熟8周的样品和益生菌干酪成熟4周的样品聚为一类;成熟12周的样品和益生菌干酪成熟8周的样品聚为一类。说明添加益生菌

L. plantarum 1-2促进了干酪的成熟。周蕊等^[45]同样得到植物乳杆菌可促进干酪的成熟。不同成熟时期的益生菌干酪2和益生菌干酪3样品都聚为一类,说明在杀菌乳中添加9($\lg(\text{CFU/mL})$)益生菌*L. plantarum* 1-2与排乳清后在凝乳中添加8($\lg(\text{CFU/g})$)*L. plantarum* 1-2,对干酪风味的影响一致。

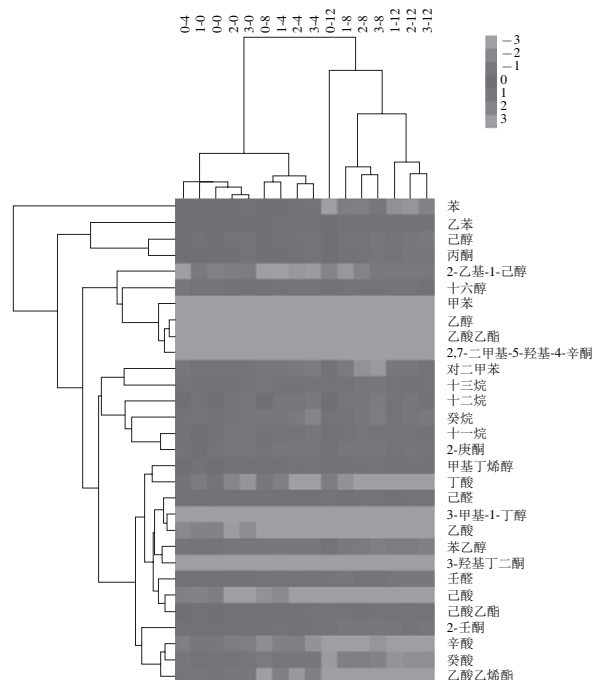


图7 干酪样品中挥发性风味物质含量的热图

Fig. 7 Heat map from cluster analysis of volatiles in cheese sample

3 结论

本研究考察了益生菌*L. plantarum* 1-2活菌数及其添加方式、干酪成熟时间对切达干酪挥发性风味形成的影响。气相色谱-质谱检测出30种挥发性风味物质,添加益生菌改变了干酪中风味物质的种类和含量,与对照组相比增加了乙苯、十二烷、己醇和丙酮4种风味物质。成熟时间对干酪风味的影响最大,苯随干酪成熟时间的延长实现了从无到有的变化。另外,风味物质中丁酸受益生菌活菌数和添加方式的影响最大。益生菌活菌数与干酪挥发性风味物质含量呈正相关;相同成熟时间,活菌数越高,挥发性风味物质含量显著增加或减少。在排乳清后添加益生菌(8($\lg(\text{CFU/g})$))获得了与在杀菌乳中添加高活菌数益生菌(9($\lg(\text{CFU/mL})$))相似的挥发性风味物质种类与组成,表明适宜的添加方式可以降低益生菌用量、节约成本并获得相似的产品品质。本研究结果为在益生菌干酪加工中选择适宜的益生菌添加方式及用量,提高益生菌干酪的品质提供了理论支持。

参考文献:

- [1] 王辑, 杨贞耐. 益生菌干酪成熟过程中微生态变化的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014(4): 990-994.
- [2] ROSS R P, FITZGERALD G, COLLINS K, et al. Cheese delivering biocultures-probiotic cheese[J]. Australian Journal of Dairy Technology, 2002, 57: 71-78.
- [3] KAILASAPATHY K, CHIN J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.[J]. Immunology & Cell Biology, 2000, 78(1): 80-88.
- [4] TINDALL B J. The type strain of *Lactobacillus casei* is ATCC 393, ATCC 334 cannot serve as the type because it represents a different taxon, the name *Lactobacillus paracasei* and its subspecies names are not rejected and the revival of the name '*Lactobacillus zae*' contravenes Rules 51b (1) and (2) of the International Code of Nomenclature of Bacteria. Opinion 82[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2008, 58(7): 1764. DOI:10.1099/ijs.0.2008/005330-0.
- [5] PHILLIPS M, KAILASAPATHY K, TRAN L. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in Cheddar cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 108(2): 276-280. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.12.009.
- [6] MADUREIRA A R, AMORIM M, GOMES A M, et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 465-470. DOI:10.1016/j.foodres.2010.09.010.
- [7] 王一博, 张昊, 郭慧媛, 等. 益生菌干酪的研究进展[J]. 中国乳业, 2012(12): 46-49. DOI:10.16172/j.cnki.114768.2012.12.004.
- [8] IBRAHIM F, RUVIO S, GRANLUND L, et al. Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier[J]. Fems Immunology & Medical Microbiology, 2010, 59(1): 53. DOI:10.1111/j.1574-695X.2010.00658.x.
- [9] ZHANG L, ZHANG X, LIU C, et al. Manufacture of Cheddar cheese using probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 and its cholesterol-lowering effects in a mice model[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2013, 29(1): 127-135. DOI:10.1007/s11274-012-1165-4.
- [10] OZTURKOGLU-BUDAK S, GURSOY A, AYKAS D P, et al. Volatile compound profiling of Turkish Divle Cave cheese during production and ripening[J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(7): 5120. DOI:10.3168/jds.2015-10828.
- [11] SODA M E, MADKOR S A, TONG P S. Adjunct cultures: recent developments and potential significance to the cheese industry 1[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(4): 609. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(00)74920-4.
- [12] LYNCH C M, PLH M S, FOX P F, et al. Manufacture of Cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions[J]. International Dairy Journal, 1996, 6(8/9): 851-867. DOI:10.1016/0958-6946(96)00019-2.
- [13] PUCHADES R, LEMIEUX L, SIMARD R E. Evolution of free amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains[J]. Journal of Food Science, 2010, 54(4): 885-888. DOI:10.1111/j.1365-2621.1989.tb07905.x.
- [14] INNOCENTE N, BIASUTTI M, RITA F, et al. Effect of indigenous lactobacillus *rhamnosus* isolated from bovine milk on microbiological characteristics and aromatic profile of traditional yogurt[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 158-164. DOI:10.1016/j.lwt.2015.10.031.
- [15] POGAČIĆ T, MAILLARD M B, LECLERC A, et al. *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2016, 100(5): 1-12. DOI:10.1007/s00253-015-7227-4.
- [16] STEFANOVIĆ E, KILCAWLEY K N, REA M C, et al. Genetic, enzymatic and metabolite profiling of the *Lactobacillus casei* group reveals strain biodiversity and potential applications for flavour diversification[J]. Journal of Applied Microbiology, 2017, 122(5): 1245-1261. DOI:10.1111/jam.13420.
- [17] IORIZZO M, TESTA B, LOMBARDI S J, et al. Selection and technological potential of *Lactobacillus plantarum* bacteria suitable for wine malolactic fermentation and grape aroma release[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 73: 557-566. DOI:10.1016/j.lwt.2016.06.062.
- [18] HAFNER S D, WINDLE M, MERRILL C, et al. Effects of potassium sorbate and *Lactobacillus plantarum* MTD1 on production of ethanol and other volatile organic compounds in corn silage[J]. Animal Feed Science & Technology, 2015, 208: 79-85. DOI:10.1016/j.anifeeds.2015.07.007.
- [19] 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. DOI:10.7506/spkx.1002-6630-201512016.
- [20] TOCMO R A N L. Organosulphide profile and hydrogen sulphide-releasing activity of garlic fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 30: 254-259. DOI:10.1016/j.jff.2017.01.001.
- [21] KLEEKAYAI T, PINITKLANG S, LAOHAKUNJIT N, et al. Volatile components and sensory characteristics of Thai traditional fermented shrimp pastes during fermentation periods[J]. Journal of Food Science & Technology, 2016, 53(3): 1399-1410. DOI:10.1007/s13197-015-2142-3.
- [22] 王水泉, 包艳, 董喜梅, 等. 植物乳杆菌的生理功能及应用[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(4): 49-55.
- [23] 杨亚威, 赵爱梅, 王辑, 等. 传统奶豆腐中产胞外多糖乳酸菌的分离筛选及其潜在益生菌特性[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(12): 8-13.
- [24] DABOUR N, KHEADR E, BENHAMOU N, et al. Improvement of texture and structure of reduced-fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing lactococci[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(1): 95-110. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72073-2.
- [25] JENNESS R. Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979[J]. Journal of Dairy Science, 1980, 63(10): 1605-1630.
- [26] COSTA N E, HANNON J A, GUINEE T P, et al. Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese[J]. Journal of Dairy Science, 2010, 93(8): 3469-3486. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(08)83125-0.
- [27] 梅俊. 西藏开菲尔干酪的风味变化及可食膜包装研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2015: 52-53.
- [28] 何志刚, 梁璋成, 任香芸, 等. 植物乳杆菌R23在枇杷酒中生长及苹果酸乳酸发酵特性研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(4): 36-41. DOI:10.16429/j.1009-7848.2011.04.025.
- [29] 张卓丹. 嗜热链球菌ST1的益生特性及其在低脂发酵乳中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2012: 31-32.
- [30] SALMERÓN I, LOEZA-SERRANO S, PÉREZ-VEGA S, et al. Headspace gas chromatography (HS-GC) analysis of imperative flavor compounds in *Lactobacilli*-fermented barley and malt substrates[J]. Food Science & Biotechnology, 2015, 24(4): 1363-1371. DOI:10.1007/s10068-015-0175-z.
- [31] 艾对, 张富新, 李延华, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法分析羊乳和牛乳中挥发性化合物[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(10): 189-193.
- [32] 衣宇佳. 国产类契达干酪的风味研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008: 43-46.
- [33] 郭本恒. 乳品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 65-87.

- [34] 李青. 酶法改性干酪风味剂的制备及应用的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2012: 44-46.
- [35] WOLF I V, PEROTTI M C, ZALAZAR C A. Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(2): 385-393. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(80)83125-0.
- [36] 舒宏福. 新合成食用香料手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 23-30.
- [37] MCSWEENEY P L H, FOX P F. Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate[J]. Cheese Chemistry Physics & Microbiology, 2004(4): 361-371. DOI:10.1016/S1874-558X(04)80074-5.
- [38] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 55-59.
- [39] PRICE E J, LINFORTH R S, DODD C E, et al. Study of the influence of yeast inoculum concentration (*Yarrowia lipolytica* and *Kluyveromyces lactis*) on blue cheese aroma development using microbiological models[J]. Food Chemistry, 2014, 145(4): 464-472. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.08.081.
- [40] 牛婕, 甘伯中, 乔海军, 等. 牦牛乳软质干酪成熟期挥发性风味成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 278-282.
- [41] YEE A L, MAILLARD M B, ROLAND N, et al. Great interspecies and intraspecies diversity of dairy propionibacteria in the production of cheese aroma compounds[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 191: 60. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.001.
- [42] THOMSEN M, GOURRAT K, THOMAS-DANGUIN T, et al. Multivariate approach to reveal relationships between sensory perception of cheeses and aroma profile obtained with different extraction methods[J]. Food Research International, 2014, 62(8): 561-571. DOI:10.1016/j.foodres.2014.03.068.
- [43] SINGH T K, DRAKE M A, CADWALLADER K R. Flavor of Cheddar cheese: a chemical and sensory perspective[J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2010, 2(4): 166-189. DOI:10.1111/j.1541-4337.2003.tb00021.x.
- [44] 杨贞耐, 张健. 干酪质量安全问题与控制技术[J]. 食品科学技术学报, 2015, 33(6): 11-17. DOI:10.3969/j.issn.2095-6002.2015.06.003.
- [45] 周蕊, 李晓东, 潘超. 促熟干酪的非发酵剂乳酸菌筛选及其对干酪浆模型蛋白质降解的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(1): 131-135.