

# 青年人肠道中双歧杆菌的分离及其在发酵羊乳中的应用

许小玲<sup>1</sup>, 董 蕴<sup>1</sup>, 单春会<sup>2</sup>, 蔡文超<sup>2</sup>, 张振东<sup>1</sup>, 郭 壮<sup>1</sup>

(1.湖北文理学院食品科学技术学院, 鄂西北传统发酵食品研究所, 襄阳 441053;

2.石河子大学食品学院, 石河子 832003)

**摘要:** 在对湖北省襄阳地区青年人肠道中双歧杆菌进行分离鉴定的基础上, 采用电子舌和电子鼻技术对其在羊乳中的发酵特性进行了评价。结果表明: 分离出的20株双歧杆菌菌株, 共鉴定为*Bifidobacterium longum*(长双歧杆菌)、*B. breve*(短双歧杆菌)、*B. bifidum*(两歧双歧杆菌)、*B. pseudocatenulatum*(假链状双歧杆菌)、*B. adolescentis*(青春双歧杆菌)和*B. faecale*(粪便双歧杆菌)6个种, 其中11株为*B. longum*(长双歧杆菌)。通过电子舌分析发现, 不同双歧杆菌制备的发酵羊乳在后味A(涩味的回味)上的差异最大, 极差值为24.52。通过高效液相色谱法分析发现, 乳酸和乙酸为双歧杆菌制备发酵羊乳中的主要有机酸。通过电子鼻分析发现, 传感器W6S、W1W和W5S对不同双歧杆菌菌株制备发酵羊乳响应值差异较大, 其变异值分别为35.56%、23.32%和17.20%。通过主成分分析发现, *B. longum* HBUAS55095和*B. longum* HBUAS55100具有良好的羊乳发酵特性。由此可见, *B. longum*(长双歧杆菌)为襄阳地区青年人肠道中双歧杆菌类群的优势种, 且不同双歧杆菌制备的发酵羊乳品质差异主要体现在滋味上。

**关键词:** 双歧杆菌; 分离鉴定; 发酵羊乳; 品质评价

中图分类号: TS 201.2

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2019)02-0006-07

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2019.02.002

## Isolation and identification of *Bifidobacteria* from feces of young volunteers and their application in the fermented goat milk

XU Xiaoling<sup>1</sup>, DONG Yun<sup>1</sup>, SHAN Chunhui<sup>2</sup>, CAI Wenchao<sup>2</sup>, ZHANG Zhendong<sup>1</sup>, GUO Zhuang<sup>1</sup>

(1.Northwest Hubei Research Institute of Traditional Fermented Food, College of Food Science and Technology, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053;

2.Food College, Shihezi University, Shihezi 832003)

**Abstract:** In this study, the *Bifidobacterial* strains were isolated and identified from feces of young volunteers recruited from Xiangyang Hubei province, and their fermentation characteristic were evaluated by electronic tongue and electronic nose technologies. The results indicated that 20 *Bifidobacterial* strains, were identified as *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. pseudocatenulatum*, *B.*

收稿日期: 2018-09-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31501455); 湖北省自然科学基金计划项目(2016CFB527); 新疆生产建设兵团重点领域创新团队建设计划项目(2017CB012); 湖北文理学院学科开放基金项目(XK2018012)。

作者简介: 许小玲(1997—), 女, 研究方向为食品生物技术。



*adolescentis* and *B. faecale*, respectively. It was worth mentioning that 11 isolates were identified as *B. longum*. The testing of electronic tongue indicated that there was greater difference in sourness among fermented goat milk samples with range values of 24.52. The composition of organic acid was determined by High performance liquid chromatography (HPLC) method, and the result shown that lactic acid and acetic acid were majority organic acids in fermented goat milk samples. The testing of electronic nose indicated that the response value of sensor W6S, W1W and W5S were greater differences among fermented goat milk samples with variation value of 35.56%, 23.32% and 17.20%. The result of principal component analysis indicated that the fermented goat milk samples fermented by *B. longum* HBUAS55095 and *B. longum* HBUAS55100 with better quality. Thus, *B. longum* was domain *Bifidobacterial* species in young volunteers recruited from Xiangyang, and the differences among fermented goat milk fermented by *Bifidobacterial* strains were major in taste indexes.

**Key words:** *Bifidobacterium*; isolation and identification; fermented goat milk; quality evaluation

在现代食品加工产业中,双歧杆菌是生产发酵乳常用的发酵剂菌种之一,加之其具有调整肠道菌群、改善过敏和乳糖不耐症状等诸多作用<sup>[1]</sup>,因而在婴幼儿配方乳粉和保健食品中亦有着广泛的应用<sup>[2]</sup>。双歧杆菌在自然界中广泛地分布于人肠道、动物肠道、口腔、污水、血液和食品中,而有研究认为后3种生态环境中的双歧杆菌主要是由于人或动物粪便污染的结果<sup>[3]</sup>。虽然人体肠道中栖息着数量超过1000万亿的共生菌群,然而在健康的成年人肠道内双歧杆菌属于优势菌群,其含量大于1%<sup>[4]</sup>,且目前市面上销售的益生菌产品中的双歧杆菌如*B. animalis subsp lactis* BB12和V9等均分离自人体肠道<sup>[5-6]</sup>,因此从健康人肠道中分离双歧杆菌,从而为后续商业化双歧杆菌的开发利用提供菌株支持具有积极的意义。

较之牛乳,羊乳脂肪球颗粒小且短链脂肪酸比例高,具有蛋白含量高和营养全面的优点<sup>[7]</sup>。双歧杆菌能够进行异型乳酸发酵,通过产生乳酸和乙酸进而改善发酵羊乳的口感<sup>[8]</sup>,同时赋予其一定的益生特性<sup>[9]</sup>。作为新兴的仿生设备,电子舌和电子鼻实现了乳制品滋味和风味指标的数字化评价,在乳酪<sup>[10]</sup>、牛乳<sup>[11]</sup>和酸乳<sup>[12]</sup>品质鉴评中有着广泛的应用。通过色谱柱高效的分离作用,高效液相色谱法(High performance liquid chromatograph, HPLC)可对发酵乳中有机酸的种类和含量进行解析<sup>[13]</sup>,具有分离效率高且选择性好的优点。

本研究在对湖北省襄阳地区青年人肠道中双歧杆菌进行分离鉴定的基础上,采用电子舌和电子鼻技术从滋味和气味2个维度,评价了双歧杆菌分离株在羊乳中的发酵特性,同时采用HPLC技术

对其有机酸种类和含量进行了解析,通过本研究的实施,以期为后续商业化发酵羊乳用双歧杆菌的开发利用提供菌株支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

MRS培养基、半胱氨酸盐酸盐溶液、莫匹罗星锂盐:青岛海博生物技术有限公司;马血清:浙江天杭生物科技股份有限公司;全脂羊乳粉:陕西红星美羚乳业股份有限公司;白砂糖:市售;三羟甲基氨基甲烷、十六烷基三甲基溴化铵(Hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)、氯仿、十二烷基硫酸钠、乙二胺四乙酸、乙醇、偏重亚硫酸钾、异戊醇、醋酸钠、葡萄糖、酚、碳酸钙、浓硝酸、磷酸二氢钾:国药集团化学试剂有限公司;引物27F/1495R:武汉天一辉远生物技术有限公司;DNA聚合酶、dNTP、10×PCR buffer、蛋白酶K、溶菌酶、2×PCR mix、T-载体:北京全式金生物技术有限公司;苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸:西陇科学股份有限公司;阴离子溶液、阳离子溶液、内部溶液、参比溶液:日本Insent公司;中速滤纸:泰州市中泰教学装备有限公司。

DG250厌氧工作站:英国DWS公司;ECLIPSE Ci生物显微镜:日本Nikon公司;Vetri梯度基因扩增仪:美国AB公司;DYY-12电泳仪:北京六一仪器厂;FluorChem FC3化学发光凝胶成像系统:美国FluorChem公司;SA-402B电子舌:日本Insent公司;Inertsil C18液相色谱柱和LC-20ADXR高效液相色谱仪:日本岛津公司;PEN3电子鼻:德国Airsense公司;LC-85LC真空

泵：力辰科技公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 青年志愿者的招募 本研究从湖北文理学院招募健康襄阳籍大一学生8名，男女各半，年龄在18~19岁，身体质量指数(Body mass index, BMI)在18.7~21.3之间，近一个月无服用或注射药物且未食用含有双歧杆菌的乳制品或微生物制剂。于实验楼卫生间进行志愿者晨便样品采集活动，样品采集前便池使用清水冲洗干净，便池底部覆盖洁净保鲜膜。样品采集后立即进行双歧杆菌的分离。

1.2.2 青年志愿者粪便样品中双歧杆菌的分离鉴定 将粪便样品用无菌生理盐水进行倍比稀释后，分别选取稀释度为 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 和 $10^{-7}$ 梯度的稀释液于含有1.0%碳酸钙的BSM培养基(MRS培养基基础上每升添加0.5 g半胱氨酸盐酸盐、50 mg莫匹罗星锂盐和50 mL马血清)上涂布，并置于厌氧工作站(85% $N_2$ ，5% $CO_2$ 及10% $H_2$ )中37℃恒温培养72 h。选取过氧化物酶阴性，革兰氏染色阳性的菌株暂定为双歧杆菌，采用CTAB法提取分离株的基因组DNA<sup>[14]</sup>，并进行16S rDNA PCR扩增，扩增体系(25  $\mu$ L)为：正向引物和反向引物各0.5  $\mu$ L，DNA模板1  $\mu$ L，10 $\times$ PCR Buffer 2.5  $\mu$ L，dNTP Mix 2  $\mu$ L，rTaq酶：0.2  $\mu$ L，超纯水18.3  $\mu$ L。扩增条件为：94℃预变性4 min；94℃变性30 s，55℃退火1 min，72℃延伸1 min，重复30次；72℃延伸7 min<sup>[15]</sup>。经产物纯化、连接和转化后，挑选阳性克隆子寄往南京市金斯瑞生物科技有限公司进行16S rDNA基因测序分析，通过基因同源性比对和系统发育树的构建进行种属鉴定。

1.2.3 发酵羊乳的制备 将羊乳粉、蔗糖、葡萄糖和去离子水按照11.5:5.5:1.0:82的质量比进行混合，常温水合30 min后，加热至60℃后2段均质，其中一段为20 MPa，二段为4 MPa。将200 mL均质后的复原乳置于250 mL蓝盖瓶中，95℃5 min杀菌冷却至40℃，按照 $5 \times 10^6$  CFU/mL复原乳的比例接入双歧杆菌分离株菌悬液，置于厌氧工作站(85% $N_2$ ，5% $CO_2$ 及10% $H_2$ )中42℃恒温培养36 h，发酵结束后于4℃后熟24 h。

1.2.4 双歧杆菌分离株制备发酵乳滋味品质的评价 取50 g发酵羊乳加入150 mL去离子水，震荡均匀后10000 r/min离心5 min，取上清液装入100 mL量筒中置于4℃过夜，去除上层油脂后使用中

速滤纸抽滤备用。参照王玉荣对米酒滋味品质测定的方法<sup>[16]</sup>，对发酵羊乳酸味、苦味、涩味、鲜味、咸味、后味A(涩味的回味)、后味B(苦味的回味)和丰度(鲜味的回味)进行测定。

1.2.5 发酵羊乳中有机酸含量的测定 参照田辉的方法进行样品的预处理，并做适当修改<sup>[17]</sup>。将2 g发酵羊乳与50  $\mu$ L 68%的浓硝酸装入10 mL容量瓶中，使用0.01 mol/L的磷酸二氢钾流动相(pH值为2.30)定容后，10000 r/min离心10 min，上清液121℃15 min高压处理后，再次10000 r/min离心10 min取上清液过0.22  $\mu$ m滤膜备用。在拟合苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸浓度与峰面积回归方程的基础上进行样品中有机酸的检测，流动相为0.01 mol/L磷酸二氢钾，流动相pH值为2.30，流动相流速为1.0 mL/min，柱温为30℃，进样量为25  $\mu$ L，检测波长为215 nm<sup>[18]</sup>。

1.2.6 双歧杆菌分离株制备发酵羊乳风味品质的评价 取15 g发酵羊乳于样品瓶中，55℃保温10 min后插入探头进行顶空进样测试，测试条件为：测试时间60 s；自动调零时间5 s；进样流量120 mL/min；内部流量120 mL/min；清洗时间150 s；样品间测试间隔2 min；取49、50、51 s时的平均值为测试数据<sup>[19]</sup>。

1.2.7 统计分析 使用主成分分析(Principal component analysis, PCA)对双歧杆菌分离株制备的发酵羊乳品质进行评价。使用MEGA7.0软件绘制系统发育树，其他的箱型图和散点图均使用Origin软件绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 双歧杆菌16S rDNA序列同源性比对结果

本研究共从8个襄阳市区青年人肠道中分离得到20株疑似双歧杆菌菌株，所有菌株在含有碳酸钙的培养基上均能形成透明圈、显微镜下均呈杆状、革兰氏染色均为阳性而过氧化氢酶试验均呈现阴性。20株疑似双歧杆菌16S rDNA序列比对结果如表1所示。

由表1可知，20株双歧杆菌被鉴定为6个种，其中分离株HBUAS55081、HBUAS55085和HBUAS55086与*Bifidobacterium faecale* CU3-7的同源性为99%，鉴定为*B. faecale*(粪便双歧杆菌)；分离株HBUAS55080和HBUAS55094与*B. bifidum* KCTC3202的同源性为99%，鉴定为*B.*

表1 20株疑似双歧杆菌16S rDNA序列比对结果

分离株编号	模式株	相似度	鉴定结果
HBUAS55080	<i>Bifidobacterium bifidum</i> KCTC3202	99%	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
HBUAS55081	<i>Bifidobacterium faecale</i> CU3-7	99%	<i>Bifidobacterium faecale</i>
HBUAS55085	<i>Bifidobacterium faecale</i> CU3-7	99%	<i>Bifidobacterium faecale</i>
HBUAS55086	<i>Bifidobacterium faecale</i> CU3-7	99%	<i>Bifidobacterium faecale</i>
HBUAS55088	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55089	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	100%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55090	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55091	<i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM1200	99%	<i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i>
HBUAS55093	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55094	<i>Bifidobacterium bifidum</i> KCTC3202	99%	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
HBUAS55095	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55096	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703	100%	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
HBUAS55099	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55100	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55101	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703	99%	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
HBUAS55102	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	100%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55103	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55105	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55106	<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC15707	99%	<i>Bifidobacterium longum</i>
HBUAS55107	<i>Bifidobacterium breve</i> DSM20213	100%	<i>Bifidobacterium breve</i>

*bifidum*(两歧双歧杆菌); 分离株HBUAS55096和HBUAS55101与*B. adolescentis* ATCC15703的同源性为99%, 鉴定为*B. adolescentis*(青春双歧杆菌); 分离株HBUAS55107与*B. breve* DSM20213的同源性为100%, 鉴定为*B. breve*(短双歧杆菌); 分离株HBUAS55091与*B. pseudocatenulatum* JCM1200的同源性为99%, 鉴定为*B. pseudocatenulatum*(假链状双歧杆菌); 其余11株分离株与*B. longum* ATCC15707的同源性均 $\geq 99\%$ , 因而鉴定为*B. longum*(长双歧杆菌)。为明确各分离株之间的亲缘进化关系, 本研究进一步构建了双歧杆菌分离株与模式株的系统发育树, 其结果如图1所示。

由图1可知, 隶属于*B. longum*(长双歧杆菌)、*B. breve*(短双歧杆菌)和*B. bifidum*(两歧双歧杆菌)的分离株和模式株聚为一大类, 隶属于*B. pseudocatenulatum*(假链状双歧杆菌)、*B. adolescentis*(青春双歧杆菌)和*B. faecale*(粪便双歧杆菌)的分离株和模式株聚为一大类, 且同源性均 $\geq 99\%$ , 因而本研究结果具有较高的准确性和可信度。值得一提的是, 20株分离株中11株鉴定为

*B. longum*(长双歧杆菌), 占分离株总数的55%。由此可见, *B. longum*(长双歧杆菌)为襄阳地区青年人肠道中双歧杆菌类群的优势种。

## 2.2 双歧杆菌分离株制备发酵乳滋味品质的评价

根据卫生部印发的《可用于食品的菌种名单》(2016版)规定, 可以在食品中使用的双歧杆菌主要包括*B. adolescentis*(青春双歧杆菌)、*B. animalis subsp lactis*(动物双歧杆菌乳酸亚种)、*B. bifidum*(两歧双歧杆菌)、*B. breve*(短双歧杆菌)、*B. infantis*(婴儿双歧杆菌)和*B. longum*(长双歧杆菌)等6个种或者亚种, 因而本研究从20株分离株中选择了16株双歧杆菌进行了发酵羊乳制备, 因*B. breve* HBUAS55107制备的发酵乳无法凝乳, 因而最终对15株双歧杆菌在羊乳中的发酵特性进行了评价。

由图2可知, 不同双歧杆菌制备的发酵羊乳在后味A(涩味的回味)上的差异最大, 极差值为24.52; 其次为后味B(苦味的回味)、涩味、苦味、酸味、鲜味和咸味, 极差值依次为18.65、16.42、12.95、12.36、9.06和8.70; 而在丰度(鲜味的回味)

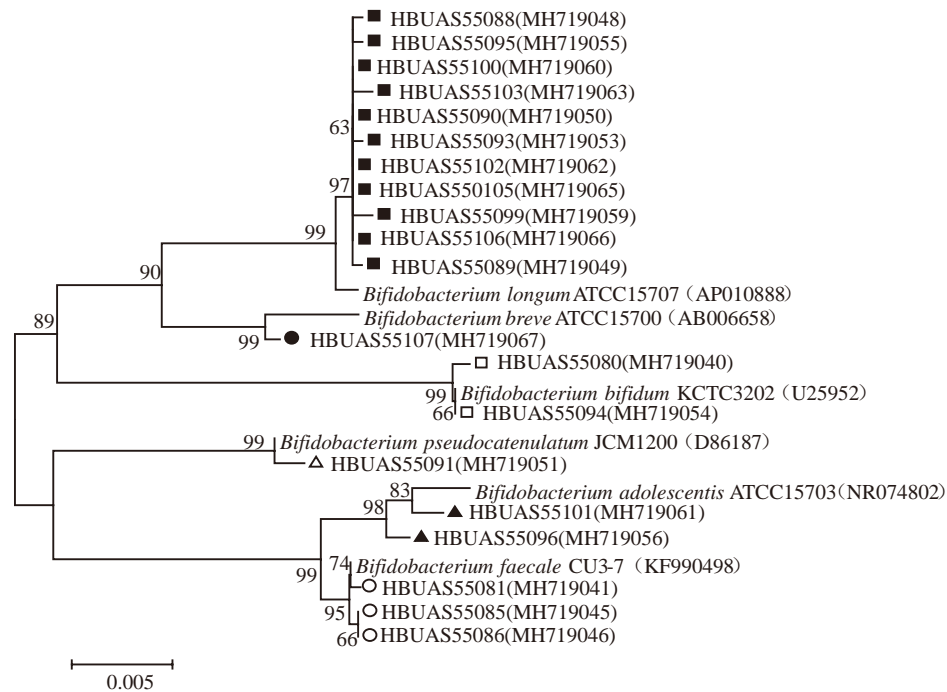


图1 双歧杆菌分离株和模式株16S rDNA序列系统发育树

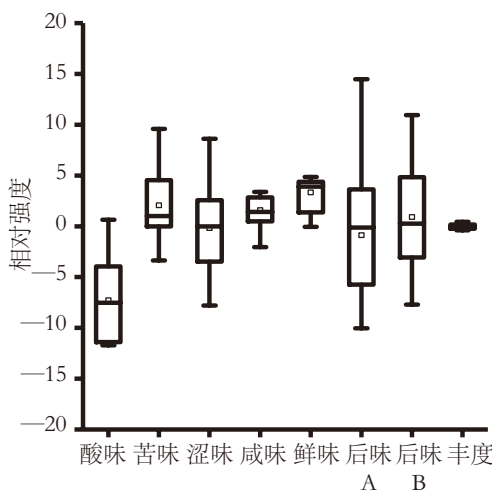


图2 不同双歧杆菌制备发酵羊乳各滋味指标相对强度的箱形图

上的差异较小,极差值仅为1.32。由此可见,不同双歧杆菌分离株在羊乳中的发酵特性存在较大差异,在后续研究中积极开展具有良好羊乳发酵特性双歧杆菌菌株的筛选具有积极的意义。本研究进一步使用HPLC对不同发酵羊乳的有机酸构成进行了分析,结果如表2所示。

由表2可知,除乳酸外,其他4类有机酸拟合回归方程的相关系数均在0.999以上,因而本研究测定有机酸的方法具有较高的准确性。由表2亦可知,乳酸和乙酸为双歧杆菌制备发酵羊乳中的主要有机酸,平均含量分别为6.08 mg/g和3.59 mg/g。值得一提的是,虽然发酵羊乳中苹果酸的平均

表2 发酵羊乳中有机酸含量的比较分析

指标	回归方程	相关系数(R <sup>2</sup> )	含量/(mg/g)	变异值/%
苹果酸	y=528.0x-9931.8	0.9996	0.22(0.66, 0.00~2.09)	228.36
乳酸	y=1027.7x-1912.7	0.9967	6.08(5.84, 1.96~13.19)	37.04
乙酸	y=458.6x-433.5	0.9999	3.59(1.40, 0.00~13.84)	130.11
柠檬酸	y=523.3x-9594.8	0.9998	2.31(2.32, 1.77~3.03)	17.03
琥珀酸	y=1867.9x-21227.8	0.9998	1.14(0.87, 0.13~5.40)	111.1

注: 0.22(0.66, 0.00~2.09): 中位数(平均值, 最小值~最大值)。

含量较低,仅为0.22 mg/g,但在不同样品间的差异最大,变异值高达228.36%。

### 2.3 双歧杆菌分离株制备发酵乳风味品质的评价

在对15株双歧杆菌制备的发酵羊乳滋味品质和有机酸种类及含量进行解析的基础上,本研究进一步采用电子鼻技术对其风味品质进行了评价,各传感器对发酵羊乳响应值的比较分析如表3所示。

由表3可知,传感器W6S、W1W和W5S对不同双歧杆菌菌株制备发酵羊乳响应值差异较大,其变异值分别为35.56%、23.32%和17.20%,而传感器W1C、W5C、W3C和W3S响应值差异较小,分别为4.97%、4.46%、4.23%和2.42%。由此

表3 各传感器对发酵羊乳响应值的比较分析

指标	性能描述	平均值	中位数	最小值	最大值	极差	变异值/%
W1C	对芳香类物质灵敏	0.40	0.40	0.37	0.45	0.08	4.97
W5S	对氢氧化物灵敏	4.98	4.66	4.12	7.00	2.88	17.20
W3C	对芳香类物质灵敏	0.51	0.51	0.48	0.56	0.08	4.23
W6S	对氢气有选择性	1.25	1.06	0.94	2.56	1.62	35.56
W5C	对芳香类物质灵敏	0.59	0.60	0.56	0.66	0.10	4.46
W1S	对甲烷灵敏	13.24	13.32	10.35	15.11	4.76	9.17
W1W	对有机硫化物、萜类物质灵敏	11.81	10.58	9.24	18.32	9.08	23.32
W2S	对乙醇灵敏	4.86	4.76	3.91	5.57	1.66	9.19
W2W	对有机硫化物灵敏	5.80	5.50	5.15	7.38	2.23	12.20
W3S	对烷烃类物质灵敏	1.21	1.22	1.15	1.24	0.09	2.42

可见,不同双歧杆菌制备的发酵羊乳挥发性风味物质中氢氧化物和有机硫化物的含量存在较大差异,而芳香类物质差异较小。值得一提的是,发酵羊乳各风味品质指标的变异值明显小于各滋味品质指标,因而不同双歧杆菌制备的发酵羊乳品质差异主要体现在滋味上。

#### 2.4 基于PCA的双歧杆菌分离株制备发酵乳品质的评价

以8个滋味和10个气味指标为研究对象,本研究进一步使用PCA对不同双歧杆菌制备发酵羊乳的品质进行了评价,基于PCA评价因子的累计贡献率如表4所示。

表4 基于PCA评价因子的累计贡献率

主成分	特征值	差异值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	7.95	4.66	44.15	44.15
2	3.29	0.53	18.25	62.40
3	2.76	1.14	15.31	77.71
4	1.62	0.36	0.09	86.71
5	1.26	0.73	6.98	93.69
6	0.52	0.24	2.91	96.60
7	0.28	0.10	1.56	98.16
8	0.18	0.10	0.99	99.15
9	0.07	0.03	0.41	99.56
10	0.04	0.02	0.25	99.81
11	0.02	0.02	0.13	99.95
12	0.01	0.00	0.04	99.98
13	0.00	0.00	0.02	100.00

由表4可知,当主成分因子数为4时,累计贡献率的值为86.71%,即前4个因子累计贡献

率已经高于85%,说明这4个主成分(Principal component, PC)已基本包含样本的全部信息,其中PC1由W1C、W5S、W3C、W5C、W1S、W1W、W2S和W2W 8个风味指标构成,PC2由W6S、酸味、咸味和酸味4个指标构成,PC3由涩味、后味A(涩味的回味)和后味B(苦味的回味)3个指标构成,PC4由W3S、苦味和丰度(鲜味的回味)3个指标构成。基于PCA双歧杆菌制备发酵羊乳品质的因子载荷图如图3所示。

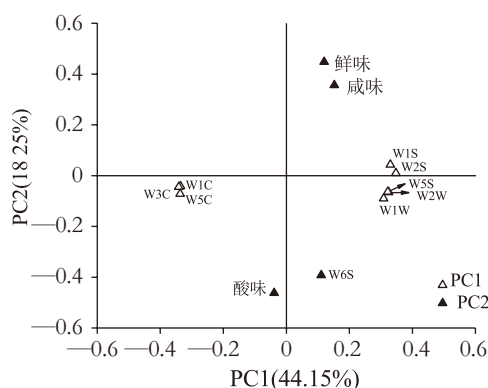


图3 基于PCA双歧杆菌制备发酵羊乳品质的因子载荷图

由图3可知,越偏向X轴负方向,电子鼻传感器W1C、W3C和W5C对不同双歧杆菌制备发酵羊乳的响应值越大,越偏向Y轴负方向,电子鼻传感器W6S对发酵羊乳的响应值亦越大,同时发酵羊乳的酸味亦越大。由此可见,在因子得分图中发酵羊乳样品的空间排布越偏向第3象限,则其对应的双歧杆菌菌株发酵特性越好。基于PCA的双歧杆菌制备发酵羊乳品质的因子得分图如图4所示。

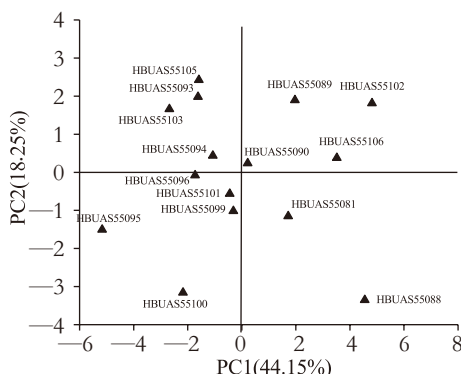


图4 基于PCA的双歧杆菌制备发酵羊乳品质的因子得分图

由图4可知, *B. adolescentis* HBUAS55096、*B. adolescentis* HBUAS55101、*B. longum* HBUAS55095、*B. longum* HBUAS55099和*B.*

*longum* HBUAS55100制备的发酵羊乳位于第3象限,其中*B. longum* HBUAS55095制备的发酵羊乳具有最佳的风味品质,而*B. longum* HBUAS55100制备的发酵羊乳酸味最为浓郁且风味较佳。由此可见,*B. longum* HBUAS55095和*B. longum* HBUAS55100具有良好的羊乳发酵特性。

### 3 结论

襄阳地区青年人肠道中的双歧杆菌多样性较高,*B. longum*(长双歧杆菌)为双歧杆菌类群的优势种。乳酸和乙酸为双歧杆菌制备发酵羊乳中的主要有机酸,且不同双歧杆菌制备的发酵羊乳品质差异主要体现在滋味上,其中*B. longum* HBUAS55095和*B. longum* HBUAS55100具有良好的羊乳发酵特性,可用于后续商业化发酵羊乳用双歧杆菌的筛选。

#### 参考文献:

- [1] Lee J H, O'Sullivan D J. Genomic insights into bifidobacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews,2010,74(3):378-416.
- [2] Liu Y, Chen W, Yu Y, et al. Identification and characterisation of bifidobacteria in infant formula milk powder obtained from the Chinese market[J]. International Dairy Journal,2018,80(5):8-16.
- [3] Sun Z, Zhang W, Guo C, et al. Comparative genomic analysis of 45 type strains of the genus Bifidobacterium: a snapshot of its genetic diversity and evolution[J]. PLoS One,2015,10(2):e0117912.
- [4] Ventura M, Canchaya C, Tauch A, et al. Genomics of actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews,2007,71(3):495-548.
- [5] Mantziari A, Aakko J, Kumar H, et al. The impact of storage conditions on the stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 in human milk[J]. Breastfeeding Medicine,2017,12(9):566-569.
- [6] Sun Z, Chen X, Wang J, et al. Complete genome sequence of probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain V9[J]. Journal of Bacteriology,2010,192(15):4080-4081.
- [7] 高佳媛,邵玉宇,王毕妮,等.羊奶及其制品的研究进展[J]. 中国乳品工业,2017,45(1):34-38.
- [8] 陈合,王娟,季丽媛,等.接种量对嗜酸乳杆菌和长双歧杆菌发酵羊乳的影响[J].食品科技,2013,38(5):14-17.
- [9] 曹吉利,谭源,惠翌昕,等.发酵羊乳产抗氧化肽益生乳杆菌的筛选[J].食品科技,2017,42(12):6-10.
- [10] Valente N, Rudnitskaya A, Oliveira J, et al. Cheeses made from raw and pasteurized cow's milk analysed by an electronic nose and an electronic tongue[J]. Sensors, 2018,18(8):2415.
- [11] Hu G, Zheng Y, Liu Z, et al. Effects of UV-C and single- and multiple-cycle high hydrostatic pressure treatments on flavor evolution of cow milk: gas chromatography-mass spectrometry, electronic nose, and electronic tongue analyses[J]. International Journal of Food Properties,20(7):1677-1688.
- [12] Wei Z, Zhang W, Wang Y, et al. Monitoring the fermentation, post-ripeness and storage processes of set yogurt using voltammetric electronic tongue[J]. Journal of Food Engineering,2017,203(6):41-52.
- [13] Tian H, Shen Y, Yu H, 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.
- [14] 龚虹,刘斌,冯谦,等.鄂尔多斯婴儿粪便中动物双歧杆菌的分离鉴定与特性研究[J].中国微生物学杂志,2014,26(4):416-419.
- [15] 张秋雪,刘晓婵,朱宗涛,等.婴儿粪便长双歧杆菌的分离与多样性分析[J].食品科学,2017,38(24):8-14.
- [16] 王玉荣,张俊英,胡欣洁,等.湖北孝感和四川成都地区来源的曲霉对米酒滋味品质影响的评价[J].食品科学,2015,36(16):207-210.
- [17] 田辉,孙懿琳,周元良,等.高效液相色谱法测定酸乳中四种有机酸[J].食品与机械,2012,28(5):87-90.
- [18] 杨成聪,沈馨,马雪伟,等.高效液相色谱法测定米酒中有机酸的含量[J].食品研究与开发,2018,39(10):116-123.
- [19] 杨成聪,刘丹丹,葛东颖,等.基于气相色谱-质谱联用技术结合电子鼻评价浸米时间对黄酒风味品质的影响[J].食品与发酵工业,2018,44(8):265-270.