

# 乳酸菌消除不同特点酵母抽提物中酵母味分析

仇 帅<sup>1</sup>, 利佳炜<sup>1</sup>, 马春蕾<sup>1,2</sup>, 李 沛<sup>2</sup>, 陈 雄<sup>1</sup>, 李 欣<sup>1,\*</sup>

(1.湖北工业大学生物工程与食品学院, 工业发酵省部共建协同创新中心, 发酵工程教育部重点实验室, 湖北省工业微生物重点实验室, 湖北 武汉 430068; 2.安琪酵母股份有限公司 酵母功能湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443000)

**摘要:**以风味物质和氨基酸为重点,对8种不同特征的酵母提取物(FG10、FM88、FM31、KU012、FIG12LS、F58、FIG03、KA02)进行基于乳酸乳球菌和乳酸链球菌混合生物转化体系(*Lactococcus lactis* and *Streptococcus lactis* biotransformation system, LSBT)去除酵母风味的研究,并对该微生物转化体系的适应性和广泛性进行评价。5种酵母抽提物经转化后不再具有酵母味,而且FG10和FM88还具有发酵酱风味。没有吲哚的产生是LSBT成功的关键之一。同时,转化后的酵母抽提物中乳酸质量浓度不应低于10.00 g/L。原材料的差异在LSBT中起着重要作用,特别是原料中天冬氨酸的缺乏和苏氨酸的过量很可能是LSBT转化不成功的原因。总体而言,LSBT适用于大多数型号酵母提取物,但对于某些特定型号的酵母提取物(如F58、FIG03和KA02),还需要探索其他微生物组合技术或发酵条件。

**关键词:**乳酸菌;酵母抽提物;适应性;生物转化;酵母味

## Eliminating Yeasty Flavor of Yeast Extracts with Different Characteristics by Using Lactic Acid Bacteria

QIU Shuai<sup>1</sup>, LI Jiawei<sup>1</sup>, MA Chunlei<sup>1,2</sup>, LI Pei<sup>2</sup>, CHEN Xiong<sup>1</sup>, LI Xin<sup>1,\*</sup>

(1. Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation of Ministry of Education & Hubei Province,

Key Laboratory of Fermentation Engineering of Ministry of Education, Key Laboratory of Industrial Microbiology of Hubei Province,

College of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

2. Yeast Function Hubei Provincial Key Laboratory, Angel Yeast Co. Ltd., Yichang 443000, China)

**Abstract:** A biotransformation system (LSBT) consisting of *Lactococcus lactis* and *Streptococcus lactis* was used to eliminate the yeasty odor of eight yeast extracts with different characteristics (FG10, FM88, FM31, KU012, FIG12LS, F58, FIG03 and KA02) with a focus on flavor substances and amino acids. Meanwhile, the applicability and universality of LSBT were evaluated. All yeast extracts had no longer any yeasty flavor after being treated with LSBT, and FG10 and FM88 were provided with a fermented sauce flavor. Producing no indole was found to be one of the key factors for the success of LSBT. At the same time, the lactic acid content of the transformed yeast extract should not be less than 10.00 g/L. The difference of raw materials played an important role in the LSBT. In particular, the deficiency of aspartic acid and excessive accumulation of threonine in raw materials were likely reasons for the unsuccessful conversion of LSBT. Overall, LSBT is applicable to most yeast extracts, but other microbial combination techniques or fermentation conditions need to be explored for specific yeast extracts such as F58, FIG03 and KA02.

**Keywords:** lactic acid bacteria; yeast extract; applicability; biotransformation; yeasty flavor

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230411-102

中图分类号: TS264

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2024)02-0064-08

引文格式:

仇帅, 利佳炜, 马春蕾, 等. 乳酸菌消除不同特点酵母抽提物中酵母味分析[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 64-71.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230411-102. <http://www.spkx.net.cn>

QIU Shuai, LI Jiawei, MA Chunlei, et al. Eliminating yeasty flavor of yeast extracts with different characteristics by using

lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2024, 45(2): 64-71. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-

20230411-102. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2023-04-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31871789); 湖北省工业发酵协同创新中心资助项目(2022KF26)

第一作者简介: 仇帅(1997—)(ORCID: 0009-0004-7071-1921), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品微生物酿造。

E-mail: 502399166@qq.com

\*通信作者简介: 李欣(1980—)(ORCID: 0000-0002-5425-4431), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品风味调控。

E-mail: 51545530@qq.com

酵母抽提物是在酵母酶或附加食品级酶的共同作用下,通过酶水解和自溶得到的产物<sup>[1]</sup>,它含有丰富的氨基酸、肽、多肽等可溶性成分<sup>[2]</sup>。酵母抽提物也是一种天然的营养鲜味剂和增味剂,被广泛用作调味剂<sup>[3-4]</sup>。然而酵母提取物中的酵母风味并没有得到普遍接受,这在一定程度上影响了酵母提取物的广泛应用<sup>[5]</sup>。许多研究表明,酵母抽提物中的酵母风味主要由挥发性风味化合物引起,如甲酚、吡啶、乙酸、丙酸、丁酸、异戊酸、正辛醛、苯乙烯、邻二甲苯、糠醇、3-甲基吡啶<sup>[6-12]</sup>等。酵母抽提物中酵母风味的强弱与微生物种类、水解程度和产品形态有关<sup>[13]</sup>,复杂的水解过程和粉末状会导致酵母浸膏的酵母风味更强<sup>[14]</sup>。在过去,除了对工艺进行适当的调整和优化(如热处理、高压均质化、添加氨基酸和铵盐)<sup>[15-18]</sup>,以减少酵母风味的形成,还可以添加一些有机溶剂(乙酸乙酯、氯仿和石油醚)掩盖气味,并使用热处理(100~140℃高压处理1h)除臭<sup>[19]</sup>,但效果并不大,且操作复杂、不经济、不卫生。作为一种新的探索,基于乳酸菌和酵母的混合发酵体系被建立,并有效地应用于酵母提取物FG10<sup>[20]</sup>。

乳酸菌作为一种益生菌,被广泛应用于各种发酵食品的生产中<sup>[21-23]</sup>。不同的产品使用不同的乳酸菌,如植物乳杆菌主要用于乳制品,乳酸链球菌和乳酸乳球菌主要用于奶酪<sup>[24-27]</sup>。可见乳酸菌的特性需要与原料相匹配才能发挥其功能,此外乳酸菌还可以作为食品发酵剂<sup>[28]</sup>,因此可应用于去除酵母味。

本研究将乳酸乳球菌和乳酸链球菌混合生物转化体系(*Lactococcus lactis* and *Streptococcus lactis* biotransformation system, LSBT)应用于不同类型的酵母抽提物(FG10、FM88、FA31、KU012、FIG12LS、F58、FGI03和KA02),并对其风味、感官和代谢成分进行分析比较。评价LSBT对多种型号酵母抽提物去除酵母风味和提高品质的效果及差异,旨在为后期开发更多无酵母风味的酵母抽提物奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

菌株为乳酸链球菌AL03和乳酸乳球菌CICC 23609分别来自功能酵母与酿造实验室和中国工业微生物菌种保藏管理中心;8种酵母抽提物的型号分别是FG10、FM88、FA31、KU012、FIG12LS、F58、FGI03和KA02,均来自安琪酵母股份有限公司。

蛋白胨、牛肉浸膏、吐温-80、三水磷酸氢二钾、乙酸钠、七水硫酸镁、一水硫酸锰、蔗糖、氢氧化钠、氯化钠、磷酸二氢铵 国药集团化学试剂有限公司;葡萄糖、柠檬酸三铵、邻二氯苯、乙酸苯乙酯 上海麦克林

生化科技有限公司;琼脂粉 武汉市华顺生物科技有限公司;甲醇 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;轻质碳酸钙 福建浦城绿康生化有限公司;氯仿 北京兰杰柯科技有限公司;酵母粉 安琪酵母股份有限公司。

### 1.2 仪器与设备

SPX-150D型恒温生化培养箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂;CJ-2D型无菌操作台 天津市泰斯特仪器有限公司;HNY-211B恒温培养振荡器 天津市欧诺仪器仪表有限公司;7890B气相色谱-氢火焰电离检测器、DB-5毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm)、HP-INNOWAX柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)、HP6890/5975C气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;Ultimate 3000高效液相色谱仪、Adalink C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 美国赛默飞世尔科技公司;Purelab Option-Q超纯水系统 威立雅水处理技术(上海)有限公司;S-10生物传感分析仪 深圳市希尔曼科技有限公司;Delta320 pH计 瑞士梅特勒-托利多仪器公司;57330-U Supelco固相微萃取手动手柄 广州市锦卓仪器设备有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 菌株活化及培养条件

首先,从冰箱-80℃保存的甘油管中分别取出1 mL乳酸乳球菌和乳酸链球菌菌液接种到装有50 mL MRS培养基<sup>[29]</sup>的三角瓶中,在37℃、150 r/min恒温培养振荡器中培养24 h,然后再取2.5 mL培养后的菌液转移到新的种液培养基中进行二级活化,得到种子液。

#### 1.3.2 发酵培养基及发酵条件

以酵母抽提物为主要营养成分,转化发酵培养基成分为酵母抽提物50 g/L、蔗糖30 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2 g/L。用0.1 mol/L NaOH溶液将pH值调至7.00±0.05后于115℃高压灭菌20 min。

发酵体系为LSBT,活化培养基为MRS。两种菌接种方式为同步接种,且接种比为1:1。接种量控制为二级活化种子菌液OD<sub>600nm</sub>在0.2左右接入发酵培养基中。

发酵条件参数为:装液量50 mL/250 mL、发酵温度30℃、发酵转速200 r/min、发酵周期24 h,取样点0、6、12、24 h。

#### 1.3.3 感官评价

感官评价由湖北工业大学功能酵母与酿酒微生物团队10名感官评价员完成(其中男5名、女5名,年龄均在20~30岁之间),均在感官室(室温(25±2)℃)<sup>[30]</sup>中接受过培训,并在酵母提取物的感官评价方面有1 a以上的经验。经过锻炼后感官评价员共同提出了对酵母提取物的特性描述<sup>[31]</sup>,感官评定结果主要为异味、酸味、酵母味、发酵酱味。根据GB 10221.4—2012《感官分析词汇》<sup>[32]</sup>建立了一套评价标准,评价员采用10分制

(0~3分:弱;4~6分:中;7~10分:强)通用强度量表表征嗅觉等级的强度。所有的样品都由10名评估员打分,一式3份,并将其平均值作为风味感官评估的最终结果。

### 1.3.4 风味物质测定

样品处理方法:在顶空瓶中加入转子和1.5 g氯化钠,吸取发酵液5 mL,最后加入1  $\mu$ L内标邻二氯苯,密封后将顶空瓶置于50  $^{\circ}$ C的恒温磁力搅拌器中旋转加热孵化30 min后,再将萃取纤维头(Supelco 57330-U、Supelco 57348-U SPEM Fiber Assembly 50/30  $\mu$ m; Stableflex 2 cm; 24 ga)插入顶空瓶中,萃取30 min。萃取完后,将萃取纤维头插入气相色谱仪进样口解吸5 min<sup>[33]</sup>,然后进行气相色谱-质谱分析。

气相色谱条件:色谱柱采用HP-INNOWAX柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25  $\mu$ m),以高纯度He(99.999%)为载气,柱流速为15 mL/min。初始温度为40  $^{\circ}$ C,保持2 min。然后以2  $^{\circ}$ C/min速率升到150  $^{\circ}$ C,再以10  $^{\circ}$ C/min速率升到250  $^{\circ}$ C,保持2 min。气化室温度为250  $^{\circ}$ C。

质谱条件:质谱的离子源温度为230  $^{\circ}$ C,电子电离模式,四极杆温度为150  $^{\circ}$ C,电子能量为70.007 eV,激活电压为1.6 V,质谱扫描模式为49~500 Da<sup>[34]</sup>。

### 1.3.5 pH值、乳酸、谷氨酸、核苷酸测定

pH值用pH计测定;乳酸和谷氨酸的测定采用S-10生物传感分析仪;核苷酸(肌苷酸+鸟苷酸)的测定参照GB/T 23530—2009《酵母抽提物》<sup>[35]</sup>。采用高效液相色谱、254 nm二极管阵列检测器和Adalink C<sub>18</sub>柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu$ m),以95% 0.1 mol/L NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>溶液和5%甲醇溶液为流动相,流速0.5 mL/min进行30 min等速洗脱。样品用0.45  $\mu$ m微孔水膜过滤稀释。

### 1.3.6 氨基酸的测定

样品处理方法:500  $\mu$ L发酵上清液中加入45  $\mu$ L 7 mol/L的NaOH溶液,再加入500  $\mu$ L无水乙醇与吡啶的混合液(4:1, V/V),振荡均匀;加入100  $\mu$ L氯甲酸乙酯(ethyl chloroformate, ECF),超声波处理1 min后,再加入100  $\mu$ L ECF,超声波处理1 min;加入500  $\mu$ L含5  $\mu$ L氯甲酸乙酯和50  $\mu$ L内标(0.2%乙酸苯乙酯)的氯仿溶液及200  $\mu$ L饱和NaHCO<sub>3</sub>溶液,剧烈振荡1 min,3 000 r/min离心5 min;取下层溶液至已添加无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的2 mL离心管中,3 000 r/min离心1 min<sup>[36]</sup>。

采用气相色谱-氢火焰电离检测器和DB-5毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m)测定氨基酸含量。柱温箱设置为70  $^{\circ}$ C,持续5 min,然后以5  $^{\circ}$ C/min速率上升至280  $^{\circ}$ C,持续5 min,进样口温度设置为280  $^{\circ}$ C,探测器温度设置为300  $^{\circ}$ C,采用高纯度He(99.999%)作为载气。

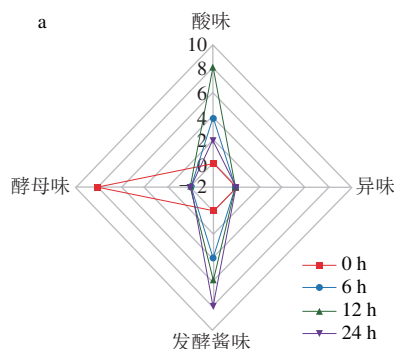
## 1.4 数据分析

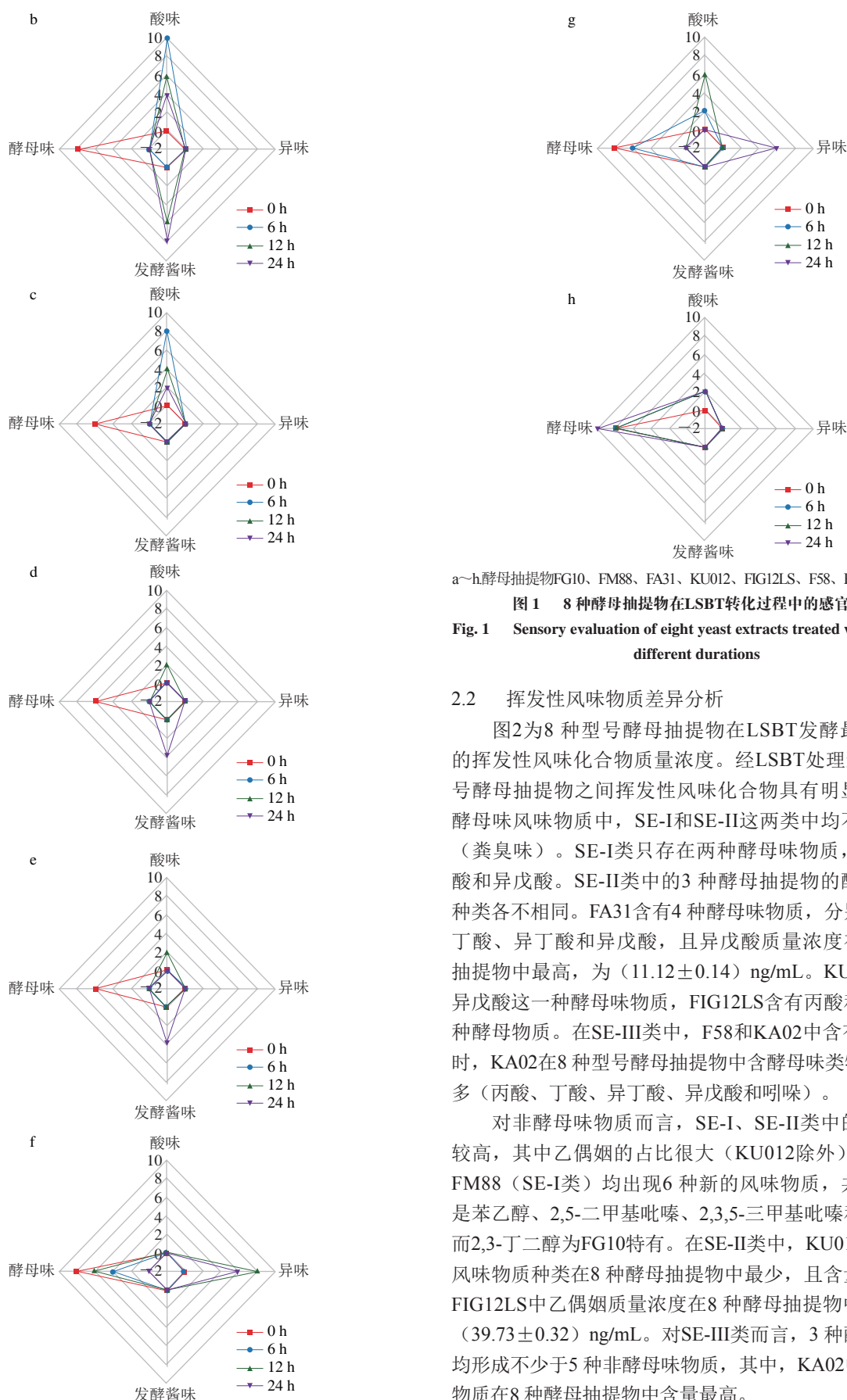
每个实验进行3次平行重复。通过比较标准品和样品中物质的保留时间,完成代谢物的定性测定。定量分析中,风味物质和氨基酸采用内标法,核苷酸采用外标法。图像制作使用Origin软件,使用SPSS Statistics 23.0软件确定差异显著性,进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官评价

8种酵母抽提物在LSBT转化过程中,根据酵母味的轻重其感官评价可大致分为3类。第一类是在去除酵母味的同时还能形成良好风味的酵母抽提物(简称SE-I),包括FG10和FM88两种(图1a、b)。FG10发酵结束后具有良好的发酵酱风味的同时还具有微弱的酸味,但FM88发酵结束后酸味明显高于发酵酱风味;第2类是能去除酵母味但未形成良好风味的酵母抽提物(简称SE-II),包括FA31、KU012和FIG12LS 3种(图1c、d、e);第3类的感官评价最差(图1f、g、h),包括F58、FIG03和KA02 3种酵母抽提物(简称SE-III),酵母味依然存在。KA02型号酵母抽提物中酵母味并未除,甚至发酵结束后酵母味加重,而FM58和FIG03两种型号酵母抽提物会产生异味。由此可见,在同一种发酵体系条件下,不同型号酵母抽提物中酵母味的去除效果与原料有关。此外,不同型号酵母抽提物去除酵母味所需时间存在差异。FG10、FM88、KU012、FIG12LS、F58这5种型号酵母抽提物在24 h转化效果最好,剩余3种型号酵母抽提物FA31、FIG03和KA02在12 h转化效果最好。可见,除原料差异外,转化时间也是处理酵母抽提物时必须关注的关键参数之一。为进一步研究转化差异的来源,选取8种型号酵母抽提物感官评价各自最佳的时间点做代谢产物分析,即FG10、FM88、FA31、KU012、FIG12LS、F58、FIG03、KA02的最佳时间点分别为24、24、12、24、24、24、12、12 h。





a~h.酵母抽提物FG10、FM88、FA31、KU012、FIG12LS、F58、FIG03、KA02。

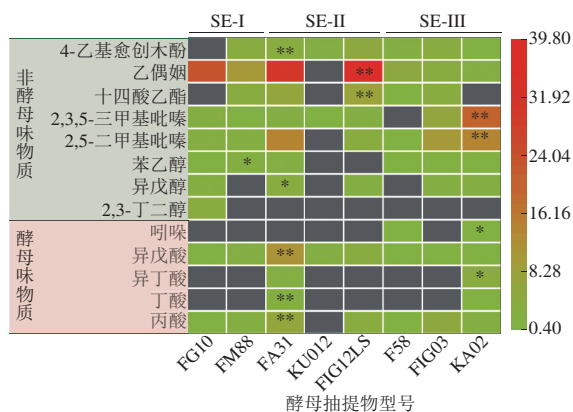
图1 8种酵母抽提物在LSBT转化过程中的感官评价

Fig. 1 Sensory evaluation of eight yeast extracts treated with LSBT for different durations

## 2.2 挥发性风味物质差异分析

图2为8种型号酵母抽提物在LSBT发酵最佳时间点的挥发性风味化合物质量浓度。经LSBT处理过的8种型号酵母抽提物之间挥发性风味化合物具有明显差异。在酵母味风味物质中, SE-I和SE-II这两类中均不含有吡嗪(粪臭味)。SE-I类只存在两种酵母味物质, 分别是丙酸和异戊酸。SE-II类中的3种酵母抽提物的酵母味物质种类各不相同。FA31含有4种酵母味物质, 分别为丙酸、丁酸、异丁酸和异戊酸, 且异戊酸质量浓度在8种酵母抽提物中最高, 为 $(11.12 \pm 0.14)$  ng/mL。KU012只含有异戊酸这一种酵母味物质, FIG12LS含有丙酸和异戊酸两种酵母物质。在SE-III类中, F58和KA02中含有吡嗪, 同时, KA02在8种型号酵母抽提物中含酵母味类物质种类最多(丙酸、丁酸、异丁酸、异戊酸和吡嗪)。

对非酵母味物质而言, SE-I、SE-II类中的含量相对较高, 其中乙偶姻的占比很大(KU012除外)。FG10和FM88(SE-I类)均出现6种新的风味物质, 共有的物质是苯乙醇、2,5-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪和乙偶姻, 而2,3-丁二醇为FG10特有。在SE-II类中, KU012的非酵母风味物质种类在8种酵母抽提物中最少, 且含量也不高, FIG12LS中乙偶姻质量浓度在8种酵母抽提物中最高, 为 $(39.73 \pm 0.32)$  ng/mL。对SE-III类而言, 3种酵母抽提物均形成不少于5种非酵母味物质, 其中, KA02中的吡嗪类物质在8种酵母抽提物中含量最高。



黑色表示未检测到；单位ng/mL。同一物质最大值与最小值显著性分析，\*  $P < 0.05$ ，差异显著；\*\*  $P < 0.01$ ，差异极显著；表1、2同。

图2 LSBT下8种酵母提取物最佳时间点风味热图

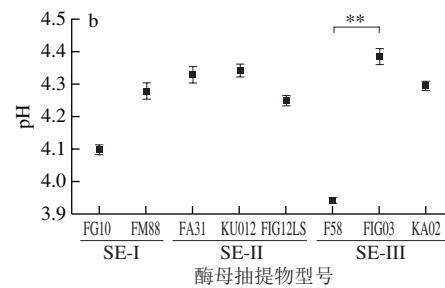
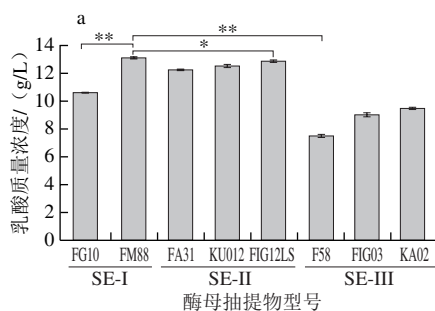
Fig. 2 Heatmap of the flavor contents of eight yeast extracts with optimal duration of LSBT treatment

总体来看，感官评定受到酵母味物质和非酵母味物质含量和种类的双重影响。感官评价不好的F58和KA02两种酵母抽提物都存在具有粪臭味的吡嗪，其中KA02型号酵母抽提物发酵后吡嗪类物质占比最大，占总风味物质的71.22%，这也可能是导致酵母味加重的主要原因。转化后的FG10和FM88不含有吡嗪，且FG10中乙偶姻（奶油香）占其总风味物质含量的62.87%。没有吡嗪产生和特定风味物质比例增加是LSBT有效转化的基础。

### 2.3 乳酸和pH值分析

经LSBT转化过的不同型号酵母抽提物中乳酸含量具有差异，从图3a可知，FM88、FA31、KU012和FIG12LS 4种型号酵母抽提物发酵后乳酸生成量较高，为12.00 g/L左右。FG10、FIG03和KA02 3种型号酵母抽提物发酵后乳酸生成量中等，为10.00 g/L左右；F58型号酵母抽提物发酵后的乳酸生成量最低，为 $(7.47 \pm 0.10)$  g/L。结合感官评价结果，SE-I和SE-II类中的乳酸质量浓度都高于10.00 g/L，而SE-III类中的质量浓度低于10.00 g/L。可见，经LSBT转化后的酵母抽提物中的乳酸质量浓度的阈值有可能在10.00 g/L左右。

从图3b可知，F58酵母抽提物（SE-III类）pH值最低，为 $3.94 \pm 0.01$ ，且乳酸含量最低；FIG03型号酵母抽提物的pH值最高，为 $4.38 \pm 0.02$ ，但乳酸含量并不是最高。因此，pH值并不是单一由乳酸的含量决定，还受发酵体系中各种成分的综合影响。



\*  $P < 0.05$ ，差异显著；\*\*  $P < 0.01$ ，差异极显著。下同。

图3 8种酵母提取物在LSBT条件下最佳时间点的乳酸含量(a)和pH值(b)

Fig. 3 Lactic acid contents (a) and pH (b) of eight yeast extracts with optimal duration of LSBT treatment

综上可知，不同型号酵母抽提物在同一发酵体系中，乳酸的生成能力不同，其中F58型号酵母抽提物生成能力最弱，FM88型号酵母抽提物生成能力最强。乳酸含量不足可能无法达到消除酵母味的效果，因此一定量的乳酸含量有助于消除酵母味。

### 2.4 谷氨酸、核苷酸分析

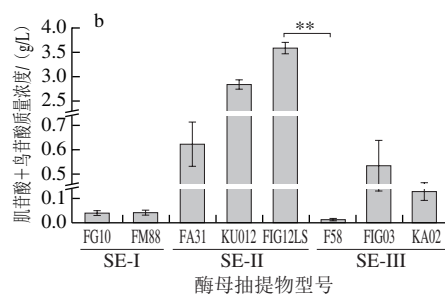
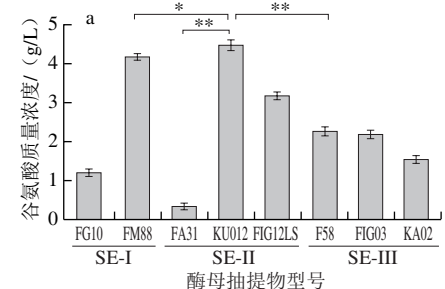


图4 8种酵母提取物在LSBT条件下最佳时间点的谷氨酸(a)和核苷酸(b)含量

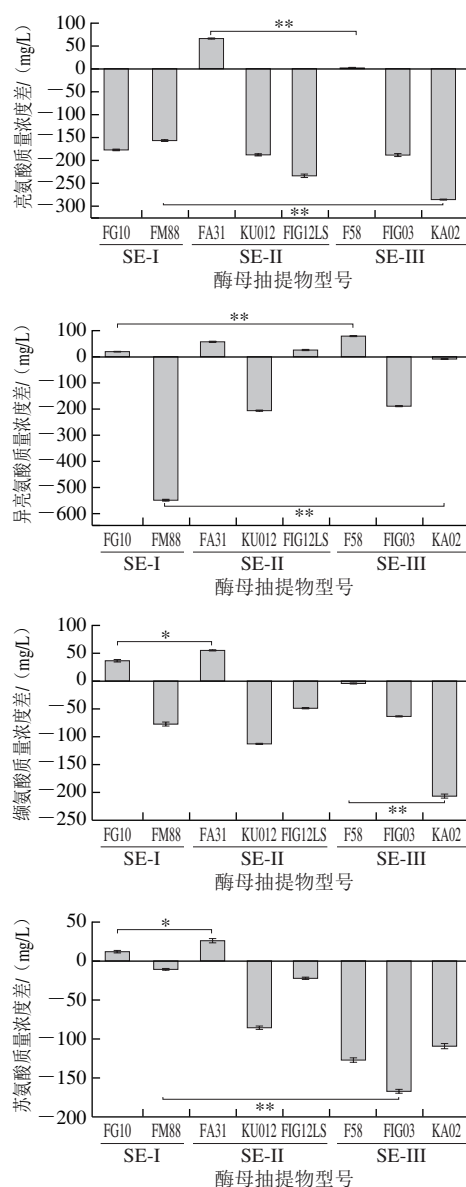
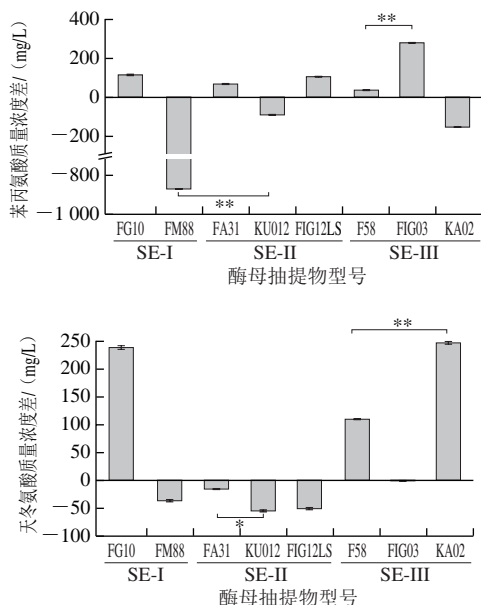
Fig. 4 Glutamic acid (a) and nucleotide (b) contents in eight yeast extracts with optimal duration of LSBT treatment

谷氨酸、肌苷酸和鸟苷酸是重要的呈味物质<sup>[37]</sup>。如图4所示，经LSBT发酵后，最佳时间点下的8种酵母抽提物之间的谷氨酸和核苷酸含量差异均较大。FM88 (SE-I)和KU012 (SE-II)中的谷氨酸质量浓度最高，为4.00 g/L左右，而FA31 (SE-II)中的谷氨

酸质量浓度最低, 为  $(0.35 \pm 0.07)$  g/L。从图4b可知, FIG12LS (SE-II) 的核苷酸含量最高, 肌苷酸和鸟苷酸的总质量浓度达  $(3.59 \pm 0.11)$  g/L, 其次为 KU012 ( $(2.69 \pm 0.09)$  g/L)。剩余6种酵母抽提物 (FG10、FM88、FA31、F58、FIG03和KA02) 的核苷酸质量浓度均低于1.00 g/L, 其中F58型号酵母抽提物核苷酸总含量最低, 为0.02 g/L。需要注意的是, 谷氨酸和核苷酸含量与LSBT消除酵母味的效果并没有直接关联。SE-I (FG10和FM88) 的谷氨酸和核苷酸含量并不是最高, 而SE-III (F58、FIG03、KA02) 中的两者含量也不是最低。

### 2.5 风味前体氨基酸变化分析

如图5所示, LSBT体系对不同酵母抽提物不同氨基酸的影响差异巨大。对苯丙氨酸而言, LSBT体系对FM88的消耗最多 ( $(866.72 \pm 5.79)$  mg/L), 但会导致FIG03积累最多 ( $(279.43 \pm 3.84)$  mg/L)。对天冬氨酸而言, LSBT的处理导致KU012消耗了 ( $(54.62 \pm 2.39)$  mg/L), 而FG10积累了 ( $(238.48 \pm 3.47)$  mg/L)。LSBT使KA02中的亮氨酸被大量消耗 ( $(285.88 \pm 1.68)$  mg/L), 但在FA31中被积累 ( $(66.56 \pm 2.69)$  mg/L)。FM88是LSBT所消耗异亮氨酸最多的酵母抽提物 ( $(552.72 \pm 4.70)$  mg/L), 而积累最多的酵母抽提物是F58 ( $(80.42 \pm 2.00)$  mg/L)。LSBT处理会导致FA31积累最多的缬氨酸 ( $(54.23 \pm 2.00)$  mg/L) 和苏氨酸 ( $(25.57 \pm 3.02)$  mg/L), 而消耗缬氨酸和苏氨酸最多的酵母抽提物分别是KA02 ( $(206.78 \pm 3.56)$  mg/L) 和 FIG03 ( $(167.70 \pm 2.27)$  mg/L)。



质量浓度差=最佳时间点下的质量浓度-初始质量浓度。

图5 6种风味氨基酸在LSBT条件下最佳时间点的含量差

Fig. 5 Differences in concentrations of six flavor amino acids before and after optimal period of treatment with LSBT

与谷氨酸和核苷酸相似, 虽然氨基酸是重要的风味前体物和调味料中的重要组分之一, 但氨基酸的变化与LSBT消除酵母味能力没有直接和紧密的关联。比如, 在SE-I中, 除亮氨酸是相同的变化趋势外, FG10中的氨基酸都被积累, 而FM88中氨基酸都被消耗。唯一值得关注的氨基酸是苏氨酸, 在SE-III类中都被大量消耗。鉴于前述分析, 原料差异可能在LSBT中具有十分重要的影响。

### 2.6 8种型号酵母抽提物的化学成分差异

8种型号酵母抽提物总共检测到3种酵母风味物质分别为丙酸、异戊酸和正辛醛 (表1)。丙酸在8种酵母抽提物中都存在, 异戊酸只有FIG12LS型酵母抽提物中没有, 正辛醛只在KU012、FIG12LS、KA02 3种

型号酵母抽提物中出现。结合感官评价可知, 酵母抽提物中丙酸的含量高于3.00 ng/g时, 将会呈现出较重的酵母味; 低于3.00 ng/g时, 呈现出轻的酵母味。FG10 (SE-I) 和KA02 (SE-III) 酵母抽提物中酵母味含量较高, 分别为(17.70±2.48) ng/g和(12.79±1.54) ng/g, 而FIG12LS (SE-II) 中只含有(2.12±0.61) ng/g。可见, 不同型号酵母抽提物的酵母味物质种类和含量均有差异, 且酵母味浓度和酵母味风味物质的种类多少并不是影响LSBT转化效果的关键因素, 但低水平的酵母味物质有利于消除酵母味。

表1 不同类型酵母提取物中酵母味风味物质含量

Table 1 Contents of yeast flavor substances in different yeast extracts

| 酵母味物质 | SE-I         |           | SE-II     |             |           | SE-III    |           |            |
|-------|--------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|------------|
|       | FG10         | FM88      | FA31      | KU012       | FIG12LS   | F58       | FIG03     | KA02       |
| 丙酸    | 13.48±1.63** | 7.00±0.55 | 2.46±0.38 | 1.70±0.12   | 1.67±0.53 | 3.01±0.10 | 5.18±0.11 | 9.10±1.01  |
| 异戊酸   | 4.22±0.85**  | 1.11±0.02 | 1.14±0.04 | 1.71±0.12   | ND        | 1.59±0.28 | 1.14±0.16 | 2.78±0.39  |
| 正辛醛   | ND           | ND        | ND        | 1.56±0.26** | 0.45±0.08 | ND        | ND        | 0.91±0.14  |
| 总计    | 17.70±2.48** | 8.12±0.57 | 3.59±0.42 | 4.97±0.50   | 2.12±0.61 | 4.60±0.38 | 6.32±0.27 | 12.79±1.54 |

注: ND.未检测到。

与酵母味物质相似, 不同型号酵母抽提物的风味前体氨基酸和呈鲜味物质含量均具有明显的差异(表2)。氨基酸总含量最高的酵母抽提物是FM88, 为(163.69±6.39) mg/g, 其次是KU012, 为(112.92±4.56) mg/g; 但FA31中只含有(24.93±3.97) mg/g。与各种氨基酸相比, 呈味物质谷氨酸在8种酵母抽提物中的占比都是最高的。FIG12LS中核苷酸总含量最高((71.83±4.73) mg/g), 而FA31中核苷酸总含量仅为FIG12LS的2.66%。结合感官评价结果可知, FA31、KU012和FIG12LS 3种酵母抽提物的酵母味评分相同, 因此酵母味的轻重与6种风味前体氨基酸总量和核苷酸总量之间没有直接关联。重要的是, SE-III类的酵母抽提物(F58、FIG03、KA02)中都不含天冬氨酸, 且苏氨酸含量也相对于其他型号酵母抽提物较高。这表明这两种氨基酸可能对LSBT转化有重要的影响。

表2 不同酵母菌提取物中风味前体氨基酸和鲜味物质的含量

Table 2 Contents of flavor precursor amino acids and umami substances in different yeast extracts

| 物质   | SE-I       |               | SE-II      |              |              | SE-III     |              |              |
|------|------------|---------------|------------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|
|      | FG10       | FM88          | FA31       | KU012        | FIG12LS      | F58        | FIG03        | KA02         |
| 氨基酸  |            |               |            |              |              |            |              |              |
| 苯丙氨酸 | 0.54±0.03  | 22.54±1.28**  | 5.05±0.54  | 2.11±0.09    | 3.32±0.83    | 2.01±0.49  | 8.78±0.71    | 14.17±1.03   |
| 天冬氨酸 | 0.97±0.05  | 0.72±0.08     | 0.31±0.01  | 1.09±0.25**  | 1.01±0.14    | ND         | ND           | ND           |
| 亮氨酸  | 5.64±0.88  | 15.82±1.01    | 7.42±0.92  | 7.74±0.84    | 9.17±0.12    | 1.80±0.03  | 11.37±0.54   | 16.23±0.56** |
| 异亮氨酸 | 4.23±0.25  | 23.91±1.32**  | 3.31±0.64  | 7.99±0.57    | 5.93±0.78    | 1.92±0.08  | 13.98±0.86   | 10.13±0.79   |
| 缬氨酸  | 0.49±0.01  | 10.82±0.48    | 2.36±0.09  | 4.58±0.05    | 4.31±0.12    | 1.50±0.12  | 6.60±0.63    | 11.38±0.86** |
| 苏氨酸  | 0.42±0.03  | 6.88±0.64     | 0.48±0.03  | 5.41±0.99    | 4.29±0.74    | 8.95±0.54  | 12.07±1.03** | 8.05±0.41    |
| 谷氨酸  | 33.00±1.34 | 83.00±1.58    | 6.00±1.74  | 84.00±1.77** | 70.00±1.56   | 70.00±1.89 | 50.00±1.78   | 34.00±1.23   |
| 总计   | 45.29±2.39 | 163.69±6.39** | 24.93±3.97 | 112.92±4.56  | 98.03±4.29   | 86.18±3.15 | 102.8±5.55   | 93.96±4.88   |
| 核苷酸  |            |               |            |              |              |            |              |              |
| 鸟苷酸  | 0.45±0.01  | 1.03±0.12     | 1.00±0.21  | 24.04±0.95   | 29.90±0.89** | 0.08±0.01  | 11.53±0.25   | 1.42±0.04    |
| 肌苷酸  | 0.21±0.01  | 0.27±0.03     | 0.91±0.08  | 29.79±1.63   | 41.93±3.84** | 0.75±0.04  | 14.89±1.63   | 0.34±0.05    |
| 总计   | 0.66±0.02  | 1.30±0.15     | 1.91±0.29  | 53.83±2.58   | 71.83±4.73** | 0.83±0.05  | 26.42±1.88   | 1.76±0.09    |

### 3 结论

本实验评价了乳酸菌复合发酵技术应用于不同型号酵母抽提物中的酵母味去除效果, 探究了该技术的适应性和应用规律。8种酵母抽提物中的5种经乳酸菌复合发酵处理后不再具有酵母味, 而且FG10和FM88还具有发酵酱风味。发酵后不同酵母抽提物之间的风味化合物具有较大的差异。没有吡啶产生是LSBT转化成功的关键之一。作为乳酸菌的典型产物, 转化后的酵母抽提物中乳酸需要达到一定水平(不低于10.00 g/L)。同时, 发酵液中谷氨酸、核苷酸和氨基酸的含量与LSBT消除酵母味的效果没有直接的关联。然而, 原料差异在LSBT转化中十分重要。虽然原料中酵母味浓度和酵母味风味物质的种类多少并不是影响LSBT转化效果的关键因素, 但天冬氨酸的缺失和过高浓度苏氨酸却很可能是乳酸菌体系转化不成功的原因。原料差异所导致的营养不同使得转化体系中两种乳酸菌的相互作用和代谢发生改变。总体而言, LSBT适应大多数酵母抽提物, 但针对某些特定的酵母抽提物, 如F58、FIG03和KA02, 还需要探索其他微生物组合技术和/或发酵条件。

### 参考文献:

- IN M J, KIM D C, CHAE H J, et al. Downstream process for the production of yeast extract using brewer yeast cells[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2005, 10(1): 85-90. DOI:10.1007/bf02931188.
- LIU J B, SONG H L, LIU Y, et al. Discovery of kokumi peptide from yeast extract by LC-Q-TOF-MS/MS and sensomics approach[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95(15): 3183-3194. DOI:10.1002/jsfa.7058.
- 许维娜. 啤酒酵母自溶评价及机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014: 2-3.
- 赵文素. 酵母抽提物在方便面调味中的应用[J]. *天津科技*, 2014, 41(6): 110-112. DOI:10.14099/j.cnki.tjkj.2014.06.037.
- 石拓, 刘晓倩, 徐庆阳. 酵母抽提物生产工艺的研究进展[J]. *发酵科技通讯*, 2019, 48(1): 5-8. DOI:10.16774/j.cnki.issn.1674-2214.2019.01.002.
- 刘建彬, 宋焕禄, 李沛, 等. 商品化酵母抽提物中风味活性化合物的综合定量分析及其应用特性研究[J]. *中国调味品*, 2015, 40(7): 1-10. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2015.07.00.
- WANG Z L, XIAO Q, ZHUANG J D, et al. Characterization of aroma-active compounds in four yeast extracts using instrumental and sensory techniques[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 68(1): 267-278. DOI:10.1021/acs.jafc.9b06751.
- 张亚, 宋焕禄, 李沛, 等. 酵母抽提物中香气活性化合物与前驱物-氨基酸之间关系研究[J]. *食品科技*, 2016, 41(2): 2-8. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2016.02.001.
- ALIM A, SONG H L, LIU Y, et al. Flavour-active compounds in thermally treated yeast extracts[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(10): 3774-3783. DOI:10.1002/jsfa.8891.
- 郑莹莹. 酵母抽提物中异味化合物和咸味肽的研究[D]. 北京: 北京工商大学, 2020: 7-8.
- ZHANG Y Y, YANG P, CHEN E B, et al. Investigating characteristics and possible origins of off-odor substances in various yeast extract

- products[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(5): e13184. DOI:10.1111/jfbc.13184.
- [12] ZHANG Y, SONG H L, LI P, et al. Determination of potential off-flavour in yeast extract[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 82: 184-191. DOI:10.1016/j.lwt.2017.04.030.
- [13] 张晓桐, 朱萌, 毛志海, 等. 酵母抽提物提取工艺及应用的研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(2): 160-163. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2019.02.036.
- [14] DAI K, ZHANG W, ZENG J X, et al. Production of chemicals in thermophilic mixed culture fermentation: mechanism and strategy[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2020, 50(1): 1-30. DOI:10.1080/10643389.2019.1616487.
- [15] ALIM A, YANG C, SONG H L, et al. The behavior of umami components in thermally treated yeast extract[J]. Food Research International, 2019, 120: 534-543. DOI:10.1016/j.foodres.2018.11.002.
- [16] DIMOPOULOS G, TSANTES M, TAOUKIS P. Effect of high pressure homogenization on the production of yeast extract via autolysis and beta-glucan recovery[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 62: 102340. DOI:10.1016/j.ifset.2020.102340.
- [17] VIDAL V A S, SANTANA J B, PAGLARINI C S, et al. Adding lysine and yeast extract improves sensory properties of low sodium salted meat[J]. Meat Science, 2020, 159: 107911. DOI:10.1016/j.meatsci.2019.107911.
- [18] DZIALO M C, PARK R, STEENSELS J, et al. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41: S95-S128. DOI:10.1093/femsre/fux031.
- [19] AVILA R G, XI B Y, MINOR M, et al. High-pressure-high-temperature processing reduces Maillard reaction and viscosity in whey protein-sugar solutions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(38): 7208-7215. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01955.
- [20] 马春蕾, 汪继伟, 魏杨建, 等. 基于乳酸菌生物转化消除酵母抽提物酵母味能力评价[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 129-135. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211223-270.
- [21] WU C D, HUANG J, ZHOU R Q. Genomics of lactic acid bacteria: current status and potential applications[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2017, 43(4): 393-404. DOI:10.1080/1040841x.2016.1179623.
- [22] WANG C H, SUN J C, LASSABLIERE B J, et al. Coffee flavour modification through controlled fermentation of green coffee beans by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kluyveri*: part II. Mixed cultures with or without lactic acid bacteria[J]. Food Research International, 2020, 136: 109452. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109452.
- [23] 何进, 徐思杨, 刘波, 等. 乳酸菌在农业和食品加工中的应用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(4): 1-11. DOI:10.3396/j.issn.1005-7021.2022.04.001.
- [24] LEE J J, CHOI Y J, LEE M J, et al. Effects of combining two lactic acid bacteria as a starter culture on model kimchi fermentation[J]. Food Research International, 2020, 136: 109591. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109591.
- [25] 罗林根, 朱明扬, 黄谦, 等. 乳酸链球菌素及其在食品中的应用研究进展[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(5): 1003-1005. DOI:10.16178/j.issn.0528-9017.20200562.
- [26] XIAO Y Q, LIU Y N, CHEN C G, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on flavour development and bacterial communities in Chinese dry fermented sausages[J]. Food Research International, 2020, 135: 109247. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109247.
- [27] FILIPPIS D F, ERCOLINI P, ERCOLINI D. The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2020, 44(4): 454-489. DOI:10.1093/femsre/fuaa015.
- [28] GALLI V, VENTURI M, PINI N, et al. Technological feature assessment of lactic acid bacteria isolated from cricket powder's spontaneous fermentation as potential starters for cricket-wheat bread production[J]. Foods, 2020, 9(9): 1322. DOI:10.3390/foods9091322.
- [29] 赵晓慧, 康小红, 陈云. 食品应用型乳酸菌培养基的研究[J]. 食品与发酵科技, 2018, 54(4): 48-54, 101. DOI:10.3969/j.issn.1674-506X.2018.04-009.
- [30] 崔昭伟, 陈建设. 坚果类休闲食品在口腔加工中的感官体验及其评价概述[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 267-275. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210621-240.
- [31] BEGUM N, RAZA A, SONG H L, et al. Effect of thermal treatment on aroma generation from bovine bone marrow extract during enzymatic hydrolysis[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(10): 14105. DOI:10.1111/jfpp.14105.
- [32] 国家市场监督管理总局. 感官分析词汇: GB/T 10221—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021: 1-20.
- [33] MIYAKE D, HAYAKAWA K, NOUMURA T. Analytical method of volatile substances in styrene polymers by head-space gas chromatography using *O*-dichlorobenzene[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2013, 54(5): 374-378.
- [34] CAO P, MOINI M. Quantitative analysis of fluorinated ethylchloroformate derivatives of protein amino acids and hydrolysis products of small peptides using chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 759(1): 111-117. DOI:10.3358/shokueishi.54.374.
- [35] 国家市场监督管理总局. 酵母抽提物: GB/T 23530—2009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009: 1-40.
- [36] SOWERS M L, HERRING J, ZHANG W, et al. Analysis of glucose-derived amino acids involved in one-carbon and cancer metabolism by stable-isotope labeling and gas chromatography mass spectrometry[J]. Analytical Biochemistry, 2019, 556: 1-9. DOI:10.1016/j.ab.2018.10.026.
- [37] JOHAD D, TANJA C W M P, FEIKE R L. Molecular insights into human taste perception and umami tastants: a review[J]. Journal of Food Science, 2022, 87(4): 1449-1465. DOI:10.1111/1750-3841.16101.