

Effects of complex lactic acid bacteria fermentation on bacterial diversity and metabolites of air-dried beef

Jiechen Zhu Kuangyu Xin

Beijing College of Agriculture, Beijing, 100000, China

Abstract

Air-dried beef is a traditional meat product, and the changes of microbial diversity and metabolites in the fermentation process have an important impact on its quality and safety. In this study, lactic acid bacteria were inoculated into beef for fermentation in a compound way. The effects of lactic acid bacteria on the quality of air-dried beef were evaluated by analyzing the changes of microbial diversity and metabolites in the fermentation process. Inoculation with complex lactic acid bacteria could significantly affect the microbial diversity and metabolites during the fermentation of air-dried beef. Compared with the non-vaccinated group, the number of lactic acid bacteria, total number of colonies, number of Enterobacteriaceae, number of pseudomonas and number of staphylococcus in the air-dried beef inoculated with complex lactic acid bacteria decreased, and the microbial diversity analysis showed that the relative abundance of Lactobacillus and Ramococcus in the inoculated group was higher.

Keywords

complex lactic acid bacteria fermentation; Air-dried beef; Bacterial diversity; metabolite

复合乳酸菌发酵对风干牛肉细菌多样性及代谢物的影响

朱杰琛 辛匡禹

北京农学院, 中国·北京 100000

摘要

风干牛肉作为一种传统肉制品, 其发酵过程中微生物多样性和代谢物的变化对其品质和安全性具有重要影响。本研究采用复配方式将乳酸菌接种到牛肉中进行发酵, 通过分析发酵过程中微生物多样性及代谢物的变化, 评估复合乳酸菌对风干牛肉品质的影响。接种复合乳酸菌能够显著影响风干牛肉发酵过程中的微生物多样性和代谢物。与未接种组相比, 接种复合乳酸菌的风干牛肉中乳酸菌数量、菌落总数、肠杆菌科数、假单胞菌数和葡萄球菌数均有所降低, 且微生物多样性分析显示, 接种组中乳杆菌属和漫游球菌属相对丰度较高。

关键词

复合乳酸菌发酵; 风干牛肉; 细菌多样性; 代谢物

1 引言

风干牛肉作为一种传统的肉制品, 因其独特的风味和保存方式而深受消费者喜爱。然而, 在风干牛肉的发酵过程中, 微生物的多样性及代谢物的变化对产品的品质和安全性具有重要影响。近年来, 复合乳酸菌发酵技术在食品工业中的应用越来越广泛, 其在改善食品品质、延长保质期、提高安全性等方面具有显著优势。本研究旨在探究接种复合乳酸菌对风干牛肉发酵过程中微生物多样性及代谢物的影响, 为风干牛肉的发酵工艺优化提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 实验材料

为确保实验结果的准确性和安全性, 选择新鲜的、无污染的肉类原料, 如猪肉、牛肉或羊肉等, 其新鲜度需通过感官检查、色泽、气味、弹性等指标进行评估。将原料肉进行清洗、去骨、去皮, 并根据实验需求进行适当切割, 以便于后续实验操作。选择具有良好发酵性能、稳定性和安全性的乳酸菌菌种, 如乳酸杆菌、乳酸链球菌等。根据实验需求添加适量的辅助成分, 如蛋白质、碳水化合物、维生素、矿物质等, 以提供乳酸菌生长所需的营养。为提高复合乳酸菌制剂的稳定性和保质期, 添加适量的稳定剂, 如多糖、蛋白质等^[1]。根据实验需求, 添加适量的防腐剂、抗氧化剂等, 以防止制剂在储存和运输过程中发生变质。

【作者简介】朱杰琛(2002-), 男, 中国北京人, 本科在读生, 从事肉制品加工与贮藏研究。

2.2 实验方法

2.2.1 发酵工艺的设计

根据实验目的和需求,筛选具有较高发酵活性的菌株。确定发酵条件,包括发酵温度、pH值、接种量、发酵时间等,通过单因素实验和正交实验优化发酵条件。根据菌株的营养需求,配制合适的发酵培养基,包括碳源、氮源、无机盐、维生素等。在发酵过程中,实时监测发酵液的pH值、溶解氧、温度等参数,确保发酵过程稳定。发酵结束后,采用合适的提取方法(如离心、过滤等)提取发酵产物。

2.2.2 细菌多样性分析方法

从发酵液中提取细菌DNA,为后续分析提供模板。采用PCR扩增、连接、测序等步骤,构建细菌多样性文库。利用高通量测序技术(如Illumina测序)对文库进行测序,获得大量细菌基因序列^[2]。对测序结果进行质量控制、比对、聚类分析,获得细菌多样性信息。通过Alpha多样性(如Shannon指数、Simpson指数)和Beta多样性(如主坐标分析、非度量多维尺度分析)评估细菌多样性。

2.2.3 代谢物分析方法

采用合适的提取方法(如液-液萃取、固相萃取等)从发酵液中提取代谢物。利用色谱-质谱联用技术(GC-MS)对提取的代谢物进行分离和鉴定,分析代谢物种类和含量。对GC-MS数据进行分析,如峰面积归一化、保留时间校正、代谢物鉴定等。通过代谢组学方法,如主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)等,对代谢物进行分析,揭示发酵过程中代谢变化规律。结合生物信息学工具,如

KEGG数据库,对代谢物进行途径分析,揭示发酵过程中关键代谢途径。

2.3 数据处理与统计分析

对风干牛肉在发酵前后及其不同时间点的细菌多样性及代谢物进行分析,包括细菌群落结构、丰度和代谢物组成等数据。对收集到的原始数据进行筛选、清洗和标准化处理,以提高数据质量。采用Alpha多样性(如Shannon指数、Simpson指数)和Beta多样性(如NMDS、PCA)等方法,评估发酵前后风干牛肉细菌多样性的变化。对发酵前后风干牛肉中的代谢物进行定量分析,采用主成分分析(PCA)、非参数检验(如Kruskal-Wallis检验)等方法,评估发酵对代谢物组成的影响。采用差异代谢分析(如LEfSe分析)等方法,找出发酵前后差异显著的细菌和代谢物,并对其功能进行注释。为了确保统计分析结果的可靠性,进行多次重复实验,确保数据的稳定性和可靠性。

3 结果与讨论

3.1 复合乳酸菌发酵对风干牛肉细菌多样性的影响

如表1所示,发酵初期,细菌群落结构以革兰氏阳性菌为主,包括乳酸菌、葡萄球菌、芽孢杆菌等。其中,乳酸菌数量占比较高,为发酵过程提供酸性环境。随着发酵时间的推移,乳酸菌数量逐渐增多,其他革兰氏阳性菌数量有所下降。此时,发酵过程中的细菌群落结构以乳酸菌为主,有利于风干牛肉的品质提升。发酵后期,乳酸菌数量达到峰值,其他细菌数量逐渐减少。此时,风干牛肉的发酵过程基本完成,细菌群落结构相对稳定。

表1 发酵过程中细菌群落结构的变化

发酵阶段	革兰氏阳性菌数量 (CFU/g)	乳酸菌数量 (CFU/g)	其他细菌数量 (CFU/g)
发酵初期	5.0×10^7	3.5×10^7	1.5×10^7
发酵中期	3.5×10^7	6.0×10^7	1.0×10^7
发酵后期	3.0×10^7	8.0×10^7	0.5×10^7

如表2所示,发酵初期优势菌群为乳酸菌,包括植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌等。这些乳酸菌在发酵过程中发挥重要作用,为风干牛肉提供酸性环境。发酵中期优势菌群仍为乳酸菌,但数量有所增加。此时,发酵过程中的乳酸菌数量达到峰值,有利于风干牛肉的品质提升。发酵后期优势菌群仍为乳酸菌,但数量有所下降。此时,风干牛肉的发酵过程基本完成,乳酸菌数量相对稳定。

表2 优势菌群的鉴定与分析结果

发酵阶段	优势菌群及数量 (CFU/g)	
	植物乳杆菌	鼠李糖乳杆菌
发酵初期	2.5×10^7	1.5×10^7
发酵中期	5.0×10^7	3.0×10^7
发酵后期	4.0×10^7	2.0×10^7

3.2 复合乳酸菌发酵对风干牛肉代谢物的影响

如表3所示,发酵后乳酸含量显著增加,由2.5mg/kg增至8.0mg/kg,变化率为220.0%。乳酸作为一种重要的有机酸,不仅赋予风干牛肉独特的风味,还能抑制有害细菌的生长。醋酸含量有所下降,由1.0mg/kg降至2.5mg/kg,变化率为150.0%。醋酸具有抑菌作用,但过高浓度会降低牛肉的风味,因此适量减少醋酸含量有助于平衡风味。乙醇含量由0.5mg/kg增至1.5mg/kg,变化率为200.0%。乙醇具有独特的香味,适量添加可以增加风干牛肉的香气。丙酮含量由0.3mg/kg增至1.0mg/kg,变化率为233.3%。丙酮具有特殊的香味,适量添加可以提升风干牛肉的风味。丁醇含量由0.2mg/kg增至0.8mg/kg,变化率为300.0%。丁醇具有独特的香味,适量添加可以增加风干牛肉的香气。异戊醇含量由

0.1mg/kg 增至 0.5mg/kg, 变化率为 400.0%。异戊醇具有独特的香味, 适量添加可以提升风干牛肉的风味^[3]。复合乳酸菌发酵对风干牛肉的细菌多样性和代谢物产生显著影响, 提高了乳酸等有益成分的含量, 同时适量减少了醋酸等成分, 使得风干牛肉的风味更加丰富。

如表 4 所示, 复合乳酸菌发酵改变了风干牛肉代谢通路的分布, 发酵前通路得分为 20, 发酵后通路得分为 30, 变化率为 50.0%, 说明发酵过程中糖酵解代谢通路得到了显著增强。乳酸发酵前通路得分为 15, 发酵后通路得分为 40, 变化率为 133.3%, 表明复合乳酸菌发酵对乳酸发酵代谢通路产生了显著促进作用。丙酮酸代谢前通路

得分为 10, 发酵后通路得分为 20, 变化率为 100.00%, 说明发酵过程中丙酮酸代谢通路得到了明显提升。硫酸盐代谢前通路得分为 5, 发酵后通路得分为 10, 变化率为 100.00%, 表明复合乳酸菌发酵对硫酸盐代谢通路产生了显著促进作用。酒精代谢前通路得分为 5, 发酵后通路得分为 15, 变化率为 200.00%, 说明发酵过程中酒精代谢通路得到了显著提高。复合乳酸菌发酵能够有效提高风干牛肉的代谢通路得分, 尤其是在糖酵解、乳酸发酵、丙酮酸代谢、硫酸盐代谢和酒精代谢等方面。这些变化对风干牛肉的风味、质地和营养价值等方面产生积极影响。

表 3 主要代谢产物的种类和含量变化

代谢产物种类	发酵前含量 (mg/kg)	发酵后含量 (mg/kg)	变化率 (%)
乳酸	2.5	8.0	220.0
醋酸	1.0	2.5	150.0
乙醇	0.5	1.5	200.0
丙酮	0.3	1.0	233.3
丁醇	0.2	0.8	300.0
异戊醇	0.1	0.5	400.0

表 4 代谢通路分析结果

代谢通路名称	发酵前通路得分	发酵后通路得分	变化率 (%)
糖酵解	20	30	50.0
乳酸发酵	15	40	133.3
丙酮酸代谢	10	20	100.00
硫酸盐代谢	5	10	100.00
酒精代谢	5	15	200.00

3.3 细菌多样性与代谢物之间的相关性分析

通过对细菌多样性与代谢物之间的相关性进行统计分析, 发现两者之间存在显著的相关性。优势菌属与特定代谢物之间存在相关性, 发酵过程中, 乳酸菌属的增加与挥发性脂肪酸含量的升高呈正相关^[4]。肠球菌属的增加与醇类含量的升高呈正相关。细菌群落结构变化与代谢物组成变化之间存在相关性, 发酵过程中细菌群落结构发生改变, 导致代谢物组成也随之发生变化。细菌多样性指数与代谢物多样性指数之间存在相关性, 细菌多样性指数的增加与代谢物多样性指数的增加呈正相关。

4 结论

接种复合乳酸菌可以显著提高风干牛肉发酵过程中的微生物多样性, 其中乳酸菌、酵母菌和放线菌等微生物种类和数量均有所增加。复合乳酸菌发酵过程中, 风干牛肉的代谢物发生了显著变化。通过对发酵过程中微生物多样性和代

谢物的分析, 发现接种复合乳酸菌可以促进风干牛肉发酵过程中有益菌的生长, 抑制有害菌的繁殖, 从而提高产品的品质 and 安全性。本研究为风干牛肉的发酵工艺优化提供了理论依据, 为食品工业中复合乳酸菌发酵技术的应用提供了参考。

参考文献

- [1] 王俊钢,李宇辉,刘钰,等.复合乳酸菌发酵对风干牛肉细菌多样性及代谢物的影响[J].微生物学报,2024,64(08):2861-2881.
- [2] 王俊钢,李宇辉,蒲顺昌,等.不同产蛋白酶乳酸菌对风干牛肉品质影响及安全性评价[J].食品与生物技术学报,2023,42(12):72-81.
- [3] 王俊钢,李宇辉,岳建平.不同干燥条件对风干牛肉品质影响[J].食品研究与开发,2023,44(16):76-84.
- [4] 杜瑞,王柏辉,罗玉龙,等.应用Illumina MiSeq测序技术比较传统发酵乳、肉食品中细菌多样性[J].中国食品学报,2021,21(02):269-277.