

乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳风味的影响及应用评价

杨淑娟, 苗壮壮, 史嘉琪, 孙悦欣, 郭帅, 白梅, 王记成, 张和平*

(内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室 农业农村部奶制品加工重点实验室 呼和浩特 010018)

摘要 乳双歧杆菌 Probio-M8 是一株具有优良益生特性的母乳源益生菌。采用固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS), 探究添加乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳挥发性风味物质的影响, 并与乳双歧杆菌 BB-12 比较, 同时评价发酵乳的发酵、贮藏及感官特性。结果显示: 从发酵乳中共检测到酮类、酸类、醛类、酯类等挥发性风味物质 66 种, 其中分别从添加乳双歧杆菌 BB-12 的发酵乳、添加乳双歧杆菌 Probio-M8 的发酵乳及普通发酵乳中检测到 39, 33, 31 种物质。添加 Probio-M8 的发酵乳中, 双乙酰、乙偶姻、癸酸、己酸和 2-戊酮等特征风味物质相对含量升高, 对发酵乳的风味贡献较大。聚类分析结果表明, 与对照组相比, Probio-M8 和 BB-12 两种益生菌发酵乳中的挥发性风味物质相对含量和组成较为相近, 而乙醛、庚醛和月桂酸等物质也存在差别。BB-12 发酵乳和 Probio-M8 发酵乳的感官评分结果差异不大, 均显著高于普通发酵乳 ($P < 0.05$), 说明添加 Probio-M8 的发酵乳风味佳、被认可。另外, 添加 Probio-M8 可使发酵乳的黏度显著增加 ($P < 0.05$), 并缩短了发酵乳的发酵时间, 而对发酵乳贮藏期的滴定酸度、pH 值、持水性无显著影响 ($P > 0.05$)。发酵乳中 Probio-M8 的活菌数经 4 °C 贮藏 28 d 后为 $(4.35 \pm 0.01) \times 10^7$ CFU/mL, 表明该菌株的存活稳定性好, 能有效保证 Probio-M8 益生功效的发挥。结论: 乳双歧杆菌 Probio-M8 赋予发酵乳益生特性的同时兼具良好的特征风味, 为其在实际生产中的应用提供参考。

关键词 乳双歧杆菌 Probio-M8; 益生菌发酵乳; 固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术; 挥发性风味物质

文章编号 1009-7848(2022)07-0256-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.026

益生菌是指足量摄入时对宿主健康有益的活的微生物^[1]。人和动物体内有很多益生菌, 其中双歧杆菌作为肠道菌群中最有代表性的一类益生菌^[2]。早在 1899 年, 法国医生 Henry Tissier 第 1 次在健康婴儿的粪便中分离到双歧杆菌^[3]。许多的动物和临床试验结果显示: 双歧杆菌可以调节肠道菌群微生态的平衡, 增强宿主免疫的能力, 并促进营养物质的代谢及吸收, 改善胃肠道功能健康^[4]。双歧杆菌被添加到发酵乳制品中约有 20 年的历史^[5], 益生菌传递至人体内最理想的载体为发酵乳。

分离于内蒙古呼和浩特市健康妇女母乳, 具有优良益生特性的乳双歧杆菌 Probio-M8 (*Bifidobacterium lactis* Probio-M8, Probio-M8) 为本试验用益生菌。Liu 等^[6]研究发现乳双歧杆菌 Probio-M8 在进入模拟人工胃肠液中 11 h 后, 存活率高达 97.25%, 说明其具备良好的胃肠道消化液耐受

性, 能以活的状态进入人体肠道, 从而发挥益生效用。翟云等^[7]研究发现, 对免疫抑制模型大鼠灌服乳双歧杆菌 Probio-M8 后, 提高了大鼠免疫应答调控能力, 说明该菌株可促进免疫抑制大鼠的免疫调节。母乳源益生菌乳双歧杆菌 Probio-M8 是一株具有自主知识产权的优良菌株, 新菌株的开发有助于我国益生菌发酵乳产品种类和功能的多样化。

在食品风味研究中最广泛使用的技术为气相色谱-质谱联用 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[8]。固相微萃取 (Solid phase microextraction, SPME) 技术的优点多, 如高灵敏度, 低检出限等, 同时与气相色谱-质谱可直接联用^[9]。该技术能快速精确地剖析发酵乳中的痕量物质, 且能同时检测样品中多种不同含量的挥发性成分^[10]。Dan 等^[11]使用 SPME-GC-MS 联用技术, 检测不同比例嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌发酵乳中的挥发性风味物质, 共测出 89 种风味物质, 发现当嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌接菌量之比为 1 000:1 时, 醛、酮类物质含量最高。

益生菌产品品质及其健康功效是影响大众喜

收稿日期: 2021-07-20

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金重大项目 (2019ZD06); 内蒙古自治区科技成果转化专项

作者简介: 杨淑娟 (1997—), 女, 硕士生

通信作者: 张和平 E-mail: lhapingdd@vip.sina.com

好的第 1 要素,其中风味的作用尤其重要。本研究采用 SPME-GC-MS 技术分析添加益生菌乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳中挥发性风味物质的影响,同时评价发酵乳样品的发酵特性及贮藏稳定性,进而对乳双歧杆菌 Probio-M8 在发酵乳中的应用进行综合评估,为其应用于实际生产提供数据支持,这有利于益生菌发酵乳产品多元化开发^[12]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂乳粉,新西兰恒天然公司;白砂糖,广西凤糖生化股份有限公司;MRS 培养基,英国 Oxoid 公司;L-半胱氨酸盐酸盐,北京酷来搏科技有限公司;万古霉素,北京陆桥技术有限公司;C10-C25、C3-C9 正构烷烃混标,USA -AccuStandard;1,2-二氯苯(色谱纯),Sigma-Aldrich;高纯氦(纯度>99.999%);乳双歧杆菌 Probio-M8(*Bifidobacterium lactis* Probio-M8, Probio-M8),金华银河生物科技有限公司;乳双歧杆菌 BB12(*Bifidobacterium lactis* BB12, BB12)、酸奶发酵剂 YF-904,丹麦科汉森(中国)有限公司。

1.2 主要仪器与设备

FE28 型 pH 计,上海梅特勒有限公司;雷磁连续 pH 计(pHSJ-3F),上海精密科学仪器有限公司;Brookfield DV-2T 型黏度计,美国 Brookfield 公司;恒温水浴锅、DHP-9272 型生化培养箱,上海一恒科技有限公司;SRH60-70 型高压均质机,上海申鹿均质机有限公司;7890B GC-5977A MSD 型气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司;手动固相微萃取进样手柄、50/30 μm 萃取头,美国 Supelco 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 发酵乳的制备 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 的蒸馏水中加入全脂乳粉(11.5%),加热至 60 $^{\circ}\text{C}$ 时加入蔗糖(6.5%),搅拌 15 min 后,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中静置水合 30 min,水合后再次加热到 65 $^{\circ}\text{C}$,20 MPa 均质,之后在 95 $^{\circ}\text{C}$ 杀菌 5 min,杀菌后立即在冰水浴中降温,冷却到 42 $^{\circ}\text{C}$ 接种发酵。恒温发酵(42 $^{\circ}\text{C}$),pH 值为 4.50 时为发酵终点,水浴冷却后破乳无菌分装,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 28 d。

试验分组及接种情况如表 1 所示。

表 1 试验分组明细

分组	Probio-M8/ CFU·mL ⁻¹	BB-12/ CFU·mL ⁻¹	YF-904/%
Probio-M8 组	1×10 ⁷	-	0.03
BB12 组	-	1×10 ⁷	0.03
对照组	-	-	0.03

注:-,未添加。

1.3.2 pH 值的测定 在发酵过程中对发酵乳样品的 pH 值变化跟踪测定,每 5 min 测定 1 次。

1.3.3 挥发性风味物质的测定^[13-14] 利用 SPME-GC-MS 技术测定发酵乳样品在发酵完成时的挥发性代谢物质情况。

样品前处理:萃取头在进样口 250 $^{\circ}\text{C}$ 老化 5 min 后,垂直插入样品瓶,萃取发酵乳的风味化合物。萃取条件为温度 50 $^{\circ}\text{C}$,时间 50 min,磁力搅拌器的转速 300 r/min。最后插入到气相色谱仪进样口中,于 250 $^{\circ}\text{C}$ 解吸 3 min。

气相色谱(GC)条件:开始温度 35 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min;然后以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 上升至 140 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 2 min;以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 250 $^{\circ}\text{C}$ 。试验采用载气为高纯氦气(He),载气流速 1.0 mL/min。进样模式为不分流进样。

质谱(MS)条件:电子能量 70 eV;离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;电离方式 EI;质量扫描范围 m/z 35~500;发射电流 100 μA ,检测电压 1.4 kV。

定性与定量分析^[15]:运用随机携带的 Masshunter 工作站 NIST11 标准库自动检索各组分的质谱数据,根据保留时间计算保留指数(Retention index, RI),将保留指数(RI)值代入公式(1)。

$$RI=100\times\left[Z+\frac{RT_{(X)}-RT_{(Z)}}{RT_{(Z+1)}-RT_{(Z)}}\right] \quad (1)$$

式中,RT——保留时间(min)。正构烷烃碳原子数的保留时间依据 $RT_{(Z+1)}>RT_{(X)}>RT_{(Z)}$ 顺序。1,2-二氯苯溶液作为内标物质加入发酵样品中。各组分的相对峰面积比利用峰面积归一化法计算。风味物质质量浓度代入公式(2)。

$$C_i=\frac{A_i}{A_s}\times C_s \quad (2)$$

式中, A_s ——内标色谱峰面积; A_i ——样品中待测的物质对应色谱峰面积; C_s ——1,2-二氯苯

的质量浓度($\mu\text{g/L}$); C_i ——样品中各挥发性风味化合物的质量浓度($\mu\text{g/L}$)。

1.3.4 贮藏稳定性评价

1.3.4.1 酸度的测定 pH值采用FE28型pH计直接测定;滴定酸度的测定使用GB 5009.239-2016《食品安全国家标准食品酸度的测定》中的“酚酞指示剂法”,每个样品测定3组平行。

1.3.4.2 黏度的测定 将发酵乳置于室温(25℃)一段时间后,采用Brookfield DV-2T黏度仪测定发酵乳的黏度,4号转子浸没于样品中测定,扭矩为64%,时间为30s,转速为100 r/min,每个样品平行测定3次^[16]。

1.3.4.3 持水性的测定 将发酵乳样品称取20g后,倒入装有滤纸的玻璃漏斗中,室温放置120

min后称量滤液的质量。持水性的计算公式见式(3)^[17]:

$$\text{持水性}(\%)=1-\{(\text{滤液质量 g}/\text{发酵乳样品质量 g})\times 100\} \quad (3)$$

1.3.4.4 活菌数的测定 发酵乳样品用灭菌后的生理盐水进行梯度稀释,选择不同梯度,利用倾注平板法在ML琼脂培养基上进行计数,培养条件为(36±1)℃厌氧培养(72±2)h。

1.4 感官评定

根据国家标准GB 19302-2010《发酵乳》,评价小组由7名研究食品相关专业的学生组成,从口感、色泽和滋味、组织状态3个方面评定发酵乳的感官质量。

感官评分标准如表2所示。

表2 感官评分标准

Table 2 The sense evaluation standard

评价项目	评价标准	分值
口感(30分)	细腻润滑,味道柔和,爽口,酸甜适中	20~30
	较为细腻润滑,味道较淡,酸甜适中	10~20
	较为粗糙,有粒状或沙状口感	0~10
色泽和滋味(40分)	色泽十分均匀,呈乳白色或微黄色;有醇香酸奶气味,无其它异味	30~40
	色泽比较均匀,呈淡黄色或浅灰色;酸甜较适宜,酸奶香气平淡,无异味	20~30
	色泽灰暗,不均匀,出现异常颜色;酸甜失衡,无酸奶香味,有异味	0~20
组织状态(30分)	状态均匀细腻,不分层,无或少量气泡,无或有少量乳清析出	20~30
	状态较均匀,基本不分层,有少量乳清析出	10~20
	存在凝乳块或颗粒,明显分层,有大量的乳清析出	0~10

1.5 数据分析

本试验样品每组均至少测定3次平行,以“均值±标准差”表示。采用SPSS分析各样本间的差异, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 SPME-GC-MS 检测结果

不同发酵乳中挥发性代谢物质测定结果如表3所示,将萃取头带入的一些少许硅氧烷类杂质峰去掉,本试验中发酵乳样品在发酵终点时共检测出66种挥发性风味物质,包括酯类、酮类、醛类、酸类、醇类、烷烃类和其它化合物七大类。其中,发酵乳样品中挥发性风味物质种类最多的是酮类化合物,这些挥发性风味物质大部分是乳酸

菌发酵牛乳中原料的代谢产物,还有一部分是来自于原料。由此可见,虽然发酵乳中的基础发酵剂相同,但添加的益生菌不同,导致挥发性风味物质的含量和组成也不相同。

发酵乳中挥发性代谢物质测定结果如表3所示。

2.1.1 酸类化合物 酸奶中的重要显味物质是酸类化合物,主要通过脂肪分解和微生物发酵产生^[18],对发酵乳风味的形成有着重要影响。由表3可知,3组发酵乳在发酵终点时共检测到10种酸类化合物,Probio-M8组、BB-12组和对照组分别鉴定到了6种、7种、6种酸类物质。该类物质的组成略有差异,但Probio-M8组和BB-12组的挥发性酸类化合物的构成差异不明显,其中,在3组发

表3 不同发酵乳中挥发性代谢物质测定结果

Table 3 Determination results of volatile metabolites in different fermented milk

挥发性物质	中文名称	分子式	保留时间/ min	相对含量/%		
				A	B	C
醛类化合物						
1	3-甲基-2-丁烯醛	C ₅ H ₈ O	6.03	0.09	0.31	-
2	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	21.54	-	-	0.24
3	乙醛	C ₂ H ₄ O	1.38	1.81	-	3.71
4	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	12.70	0.1	0.31	-
5	2,4-二甲基苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O	21.11	-	0.22	-
6	3-羟基丁醛	C ₄ H ₈ O ₂	2.87	-	-	1.06
7	庚醛	C ₇ H ₁₄ O	10.57	-	0.11	-
8	甲基乙二醛	C ₃ H ₄ O ₂	7.01	-	-	0.93
9	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	17.73	-	0.09	-
10	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	17.42	-	-	0.66
酮类化合物						
1	1,2-环戊烷二酮	C ₅ H ₆ O ₂	11.85	-	-	0.28
2	2,3-丁二酮(双乙酰)	C ₄ H ₆ O ₂	2.27	2.47	3.68	-
3	2,3-戊二酮	C ₅ H ₈ O ₂	3.34	0.92	1.53	2.46
4	3-甲基-2-丁酮	C ₅ H ₁₀ O	2.23	-	-	0.71
5	2-庚酮	C ₇ H ₁₄ O	10.14	4.47	6.90	10.30
6	3,3-二甲基-2-己酮	C ₈ H ₁₆ O	2.30	-	0.38	-
7	2-羟基-3-戊酮	C ₅ H ₁₀ O ₂	6.94	0.19	-	-
8	2-壬酮	C ₉ H ₁₈ O	17.33	1.33	2.29	3.14
9	2-戊酮	C ₅ H ₁₀ O	3.20	0.29	0.40	-
10	羟基丙酮	C ₃ H ₆ O ₂	4.51	-	-	0.48
11	甲基正壬酮	C ₁₁ H ₂₂ O	23.36	0.24	0.49	0.61
12	二氢-2-甲基-3(2H)-噻吩酮	C ₅ H ₈ OS	13.69	0.28	0.54	-
13	3,5-辛二烯-2-酮	C ₈ H ₁₂ O	16.65	0.17	0.37	-
14	3-羟基-2-丁酮(乙偶姻)	C ₄ H ₈ O ₂	4.09	0.73	0.47	0.34
酸类化合物						
1	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	2.65	1.69	3.21	2.85
2	乙醇酸	C ₂ H ₄ O ₃	1.47	14.08	-	-
3	丁酸	C ₄ H ₈ O ₂	6.70	0.73	0.77	-
4	月桂酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	30.60	-	0.12	-
5	甲酸	CH ₂ O ₂	3.34	-	-	0.91
6	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	14.17	2.19	2.39	1.84
7	L-乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	10.73	-	-	0.98
8	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	25.35	0.26	0.49	0.24
9	正辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	20.06	1.11	1.84	1.07
10	丙基丙二酸	C ₆ H ₁₀ O ₄	6.58	-	0.74	-
醇类化合物						
1	3,7,11-三甲基-1-十二醇	C ₁₅ H ₃₂ O	34.26	0.07	-	-
2	1-庚醇	C ₇ H ₁₆ O	13.19	0.20	0.40	-
3	1-己醇	C ₆ H ₁₄ O	9.37	0.22	0.47	-
4	2-丁基-1-辛醇	C ₁₂ H ₂₆ O	33.03	-	0.15	-
5	1-戊醇	C ₅ H ₁₂ O	5.39	0.61	1.69	-

(续表 3)

挥发性物质	中文名称	分子式	保留时间/ min	相对含量/%		
				A	B	C
6	(S)-(+)-2-氨基-1-丙醇	C ₃ H ₉ NO	2.77	0.28	55.05	79.26
7	2-丁醇	C ₄ H ₁₀ O	7.00	0.14	-	-
8	2-咪喃乙醇	C ₅ H ₆ O ₂	9.46	-	-	0.70
9	R-(-)-1,2-丙二醇	C ₃ H ₈ O ₂	10.80	-	-	0.30
酯类化合物						
1	γ-二甲基丁内酯	C ₆ H ₁₀ O ₂	29.08	-	-	0.29
2	苯甲酸 N-琥珀酰亚胺酯	C ₁₁ H ₉ NO ₄	12.70	0.15	0.81	-
3	丁位十二内酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	29.08	0.24	0.21	-
4	乙醛酸甲酯	C ₃ H ₄ O ₃	3.62	-	-	0.37
5	甲酸乙烯酯	C ₃ H ₄ O ₂	2.08	2.56	-	-
烷烃化合物						
1	正壬烷	C ₉ H ₁₆	16.68	-	0.29	-
2	2,3-环氧丁烷	C ₄ H ₈ O	2.24	-	-	8.46
3	十二烷	C ₁₂ H ₂₆	20.66	-	0.20	-
4	2-乙酰基环氧乙烷	C ₄ H ₆ O ₂	2.26	0.49	-	-
5	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	31.36	-	0.16	-
6	反-2,3-环氧丁烷	C ₄ H ₈ O	3.58	-	-	9.07
7	十四烷	C ₁₄ H ₃₀	26.19	0.09	0.23	-
其它化合物						
1	2-脱氧-D-半乳糖	C ₆ H ₁₂ O ₅	27.01	-	-	0.61
2	丁基羟基甲苯	C ₁₅ H ₂₄ O	29.54	0.26	1.04	2.11
3	氨基甲酸铵盐	CH ₆ N ₂ O ₂	1.29	-	-	10.61
4	乙二醇单己醚	C ₈ H ₁₈ O ₂	2.28	-	7.38	-
5	胍甲酰胺	CH ₅ N ₃ O	1.28	5.87	1.41	-
6	叔己基过氧化氢	C ₆ H ₁₄ O ₂	9.42	-	0.60	0.60
7	甲氧基苯基丙酮脒	C ₈ H ₉ NO ₂	11.09	1.83	3.16	14.89
8	对二甲苯	C ₈ H ₁₀	9.19	-	0.14	-
数量共计(种)				33	39	31

注:-, 未检出。

酵乳中鉴定到的共有酸类物质分别为己酸、乙酸、癸酸和正辛酸等。

添加 Probio-M8 的发酵乳与对照组相比,部分酸类化合物的含量增加,如己酸、乙酸、癸酸和正辛酸,说明添加益生菌使酸类物质含量发生变化。己酸在 Probio-M8 组的相对含量是 2.19,在另外 2 组发酵乳中的相对含量分别是 2.39,1.84,发酵乳中重要的酸类化合物也包括己酸,它有着香甜的干酪香气^[19];有清新水果和焦糖香味的是正辛酸^[15],在 3 组发酵乳中的相对含量分别是 1.11,1.84,1.07;在 Probio-M8 组、BB12 组和对照组中乙酸的相对含量分别为 3.09,3.21,2.85,添加益生菌后会使得乙酸的相对含量增加。若乙酸为高浓度

则对发酵乳的品质及口感有影响,因为该物质有刺激性的尖酸味^[15];Chammas 等^[20]在“Labin”发酵乳中也检测到了己酸、丁酸和乙酸等化合物,这个结果与本研究结果相似。除上述几种酸类化合物外,还检测出乙醇酸、丁酸、月桂酸等,这些物质共同为发酵乳的风味组成做出贡献^[21]。

2.1.2 醛类化合物 醛类物质是发酵乳风味物质中的微量香气成分,阈值低,对发酵乳风味的构成有重要影响^[8]。Probio-M8 组、BB-12 组和对照组发酵乳中共检测到乙醛、苯甲醛等 10 种醛类化合物。由表 3 可知,Probio-M8 组发酵乳中检测到乙醛的相对含量是 1.81,而 BB-12 组发酵乳中未检出,说明乳双歧杆菌 Probio-M8 的添加会促进乙

醛产生。以乙醛为主的醛香型发酵乳是我国生产的主要发酵乳,因为乙醛对发酵乳的风味构成贡献极大^[21]。Probio-M8 组和 BB-12 组的发酵乳均检测到了苯甲醛,相对含量分别是 0.10 和 0.31,而对照组中未检出。高浓度的苯甲醛具有水果香气,同时低浓度的苯甲醛可给予酸奶杏仁的香味^[15]。仅在 BB-12 组检测到了庚醛,可使酸奶具有脂肪香味^[22],除以上醛类化合物外,在 Probio-M8 组和 BB-12 组鉴定到的醛类物质还包括 3-甲基丁醛,该物质具有麦芽香味^[23]。正壬醛阈值较低,赋予发酵乳柑橘香与脂肪香^[13]。仅在对照组发酵乳中发现了化学性质不稳定的 3-羟基丁醛,该醛类易被还原成醇类和酸类物质^[24],相对含量为 1.06。

2.1.3 酮类化合物 酮类化合物是不饱和脂肪酸经氧化、热降解等化学反应后生成的物质^[15],一般呈奶油味或果香味。由表 3 可知,3 组发酵乳中共鉴定到了 14 种酮类化合物,是种类最多的挥发性风味物质。其中乙偶姻和双乙酰是具有代表性的酮类物质。双乙酰可使发酵乳具有奶油风味,是发酵乳风味形成的关键性风味物质^[25]。除对照组外,Probio-M8 组和 BB12 组发酵乳中都检出了双乙酰,相对含量分别为 2.47,3.68,再次说明了益生菌的添加可丰富发酵乳的风味。3 组发酵乳中都检出了乙偶姻,可赋予发酵乳浓郁的奶油香味,由表可知,Probio-M8 组、BB-12 组、对照组中乙偶姻相对含量分别为 0.73,0.47,0.34,添加乳双歧杆菌 Probio-M8 的乙偶姻含量最高。发酵乳风味中的重要风味物质还有 2-壬酮、2-庚酮,由表可知,3 组发酵乳中都检测到了这两种酮类,可使发酵乳风味更丰富^[26]。

2.1.4 醇类化合物 醇类化合物的生成与亚油酸、亚麻酸降解,以及乳糖和氨基酸代谢相关^[27]。在几组发酵乳中共发现了 9 种醇类物质。Probio-M8 组、BB-12 组、对照组的醇类物质分别有 6,5,3 种,其中在益生菌组共有的醇类物质有 1-庚醇、1-己醇、(S)-(+)-2-氨基-1-丙醇、1-戊醇。醇类化合物一般都有较高的感觉阈值,在牛乳发酵过程中,醇类化合物的浓度、峰面积都较低^[28],因此一般来说它们对发酵乳的风味贡献很小,而醇类物质最终会反应成酸类物质,因此也是必不可少的。

2.1.5 酯类化合物 酯类化合物是由发酵或脂质代谢生成的羧酸类、醇类酯化后的产物^[29]。本试验发酵乳中共鉴定到了 5 种酯类物质,在益生菌组共有的酯类物质为苯甲酸 *N*-琥珀酰亚胺酯和丁位十二内酯。其中,Probio-M8 组的发酵乳中检测到的甲酸乙烯酯的相对含量最高为 2.56。发酵终点时酯类化合物的含量低,这可能是由于酯类化合物通过微生物代谢及脂肪酸水解生成,因此在发酵终点时微生物的代谢相对缓慢,从而导致酯类化合物含量低^[30]。

2.1.6 烃类化合物 烃类化合物主要来源于烷基自由基的脂肪酸自氧化过程,拥有较高阈值的烃类化合物一般对发酵乳的风味贡献很小^[28],而一定浓度的烃类化合物可能会使发酵乳有更饱满的口感。发酵乳样品中共检测到 7 种烃类化合物,分别为正壬炔、2,3-环氧丁烷、十二烷、2-乙酰基环氧乙烷、十六烷、反-2,3-环氧丁烷、十四烷,其中十四烷为益生菌组所共有。

2.1.7 其它化合物 其它化合物中主要包括含氮化合物,一些多肽物质能够使乳酸菌更好的生长,从而促进风味化合物形成,因此发酵乳的风味形成和氨基酸的分解代谢有着密切联系^[8]。由表 3 可知共鉴定到的含氮化合物有 6 种,3 组共有的含氮物质有丁基羟基甲苯、甲氧基苯基丙酮肟,益生菌组共有的含氮物质是胍甲酰胺。仅在对照组中发现了 2-脱氧-D 半乳糖,在 BB-12 组发现了对二甲苯。

2.2 热聚类分析

发酵乳样品的挥发性风味物质的热聚类分析结果见图 1,Probio-M8 组、BB-12 组和对照组的差异明显,对照组的挥发性风味物质含量相对较低,单独聚为一类,而添加益生菌的 Probio-M8 组和 BB-12 组挥发性风味物质含量明显较高,且共有物质多,存在个别物质含量相似,因此聚为一类,而个别成分如庚醛、月桂酸和乙醛等也存在差别。在含有乳双歧杆菌 Probio-M8 的发酵乳中,己酸、双乙酰、乙偶姻、2-戊酮、癸酸等重要的特征风味物质的相对含量高于对照组。由此可见,益生菌的添加与否对发酵乳的挥发性代谢物质的种类和含量产生不同影响。结果说明添加了乳双歧杆菌 Probio-M8 的发酵乳,丰富了其挥发性风味物质,

这些特征风味物质有助于发酵乳产生更醇香的风味。

2.3 发酵特性评价

发酵乳酸度的变化可反映益生菌在牛乳中的生长状态和活力,适合的酸度变化对成品的接受度有积极影响。发酵过程中 pH 值的变化如图 2 所示,发酵乳到达发酵终点的时间由快到慢分别是 BB12 组(6.65 h)、Probio-M8 组(6.8 h)、对照组(7.1 h)。从发酵时间可知,添加益生菌株的发酵乳明显缩短了发酵时间,Probio-M8 组与 BB12 组的发酵时间接近,表明乳双歧杆菌 Probio-M8 具备良好的发酵性能。发酵过程中各组 pH 值均显著降低($P<0.05$)。0~2 h 为菌株延滞生长期,pH 值的变化小,2 h 到凝乳点,pH 值迅速降低,从 6 h 起直至发酵终点 pH 值缓慢降低直到发酵停止。总体看来,乳双歧杆菌 Probio-M8 的添加加快了产酸速率,缩短了发酵时间^[12],非常适宜在发酵牛乳中使用。

2.4 贮藏稳定性

2.4.1 贮藏期间酸度、黏度、持水性的变化 产酸是酸奶发酵剂的主要功能,pH 值和滴定酸度影响益生菌在发酵及贮藏过程中的生存能力和发酵乳的品质^[30]。黏度和持水性与发酵乳的组织状态有关,黏度高,持水能力强,则发酵乳的组织状态好,可以防止乳清析出。发酵乳的贮藏特性如表 4 所示,在贮藏期间,3 组发酵乳样品的持水性、pH 值、TA 值的组间差异不显著。贮藏 28 d 时,pH 值在 4.26 左右,滴定酸度均大于 92 °T。Probio-M8 组的黏度显著高于对照组和 BB12 组($P<0.05$),在 1~14 d 黏度持续上升,可能是因为乳双歧杆菌 Probio-M8 保持较高的活菌数,代谢产酸,从而导致酪蛋白凝固使发酵乳样品的黏度增大。在发酵乳中添加乳双歧杆菌 Probio-M8,对发酵乳的酸度和持水性影响不显著,而黏度高于其余两组发酵乳样品。该产品表现出较好的贮藏稳定性,说明益生菌 Probio-M8 的添加提高了发酵乳产品品质。

2.4.2 贮藏期间活菌数的变化 欧盟规定在货架期内益生菌产品中益生菌的活菌数必须维持在 10^6 CFU/mL 以上^[31]。将发酵乳样品在 4 °C 贮藏 1, 7, 14, 21, 28 d 的活菌数进行统计,分析发酵乳样品在贮藏期间活菌数的变化,从而衡量其贮藏稳

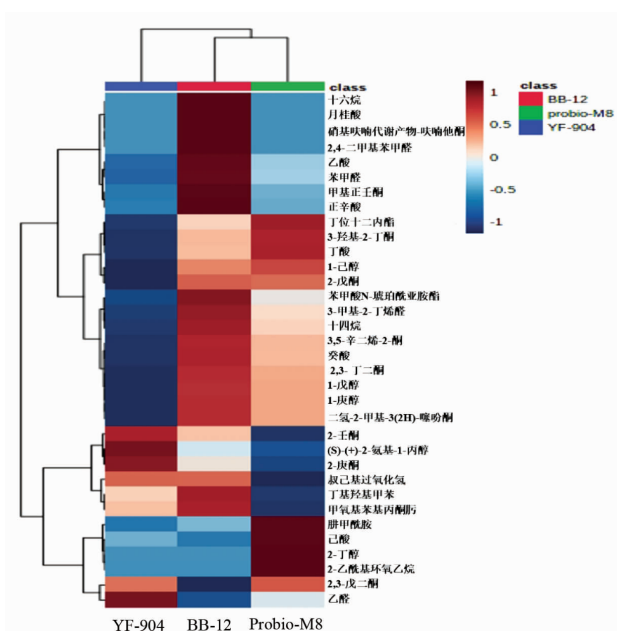


图 1 挥发性代谢物质的聚类分析

Fig.1 Cluster analysis of volatile metabolites

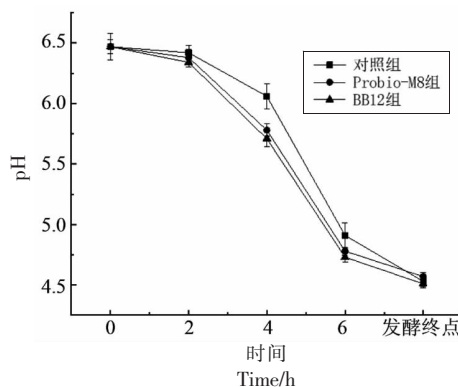


图 2 发酵过程中 pH 值的变化

Fig.2 Changes of pH value during fermentation

定性。贮藏期间发酵乳的活菌数变化如图 3 所示,贮藏期间活菌数均呈下降趋势($P<0.05$)。因为双歧杆菌为严格厌氧菌,所以贮藏过程中活菌数在一定范围内下降为正常现象。贮藏时期乳双歧杆菌 Probio-M8 的活菌数显著高于乳双歧杆菌 BB12,在贮藏 1~14 d 时,活菌数基本保持不变,14 d 后呈下降趋势($P<0.05$),乳双歧杆菌 Probio-M8 在贮藏 28 d 时活菌数是 $(4.35\pm 0.01)\times 10^7$ CFU/mL,达到了益生菌产品活菌数的标准。结果表明将乳双歧杆菌 Probio-M8 应用于发酵乳中能够保持益生菌的活力,说明该产品具备一定的稳定性,

表 4 发酵乳的贮藏特性

Table 4 Storage characteristics of fermented milk

	分组	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
pH 值	对照组	4.50 ± 0.01 ^a	4.29 ± 0.03 ^a	4.27 ± 0.02 ^b	4.25 ± 0.01 ^a	4.26 ± 0.02 ^a
	Probio-M8 组	4.50 ± 0.02 ^a	4.32 ± 0.01 ^a	4.30 ± 0.02 ^a	4.26 ± 0.01 ^a	4.26 ± 0.03 ^a
	BB-12 组	4.51 ± 0.01 ^a	4.31 ± 0.03 ^a	4.33 ± 0.01 ^a	4.27 ± 0.02 ^a	4.25 ± 0.01 ^a
TA/°T	对照组	81 ± 1.41 ^a	82 ± 1.35 ^a	82 ± 1.00 ^a	83 ± 1.41 ^a	92 ± 1.65 ^a
	Probio-M8 组	80 ± 0.01 ^a	81 ± 1.41 ^a	82 ± 2.84 ^a	82 ± 1.41 ^a	92 ± 1.33 ^a
	BB-12 组	80 ± 1.00 ^b	81 ± 1.36 ^a	82 ± 1.21 ^a	83 ± 1.37 ^a	93 ± 1.14 ^a
黏度/Pa·s	对照组	746 ± 14.90 ^b	750 ± 2.55 ^c	816 ± 14.70 ^c	830 ± 17.20 ^c	890 ± 14.70 ^a
	Probio-M8 组	878 ± 14.66 ^a	1 088 ± 9.61 ^a	1 138 ± 20.40 ^a	994 ± 14.14 ^a	924 ± 20.40 ^a
	BB-12 组	882 ± 12.96 ^a	1 026 ± 2.83 ^b	972 ± 12.96 ^b	872 ± 24.99 ^b	906 ± 18.55 ^b
持水性/%	对照组	54 ± 0.2 ^a	56 ± 0.3 ^a	57 ± 0.1 ^a	48 ± 0.2 ^b	46 ± 0.3 ^b
	Probio-M8 组	55 ± 0.3 ^a	56 ± 0.3 ^a	54 ± 0.4 ^a	55 ± 0.1 ^a	52 ± 0.3 ^a
	BB-12 组	57 ± 0.1 ^a	54 ± 0.2 ^a	57 ± 0.3 ^a	53 ± 0.4 ^{ab}	51 ± 0.1 ^a

注：不同小写字母代表组间具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

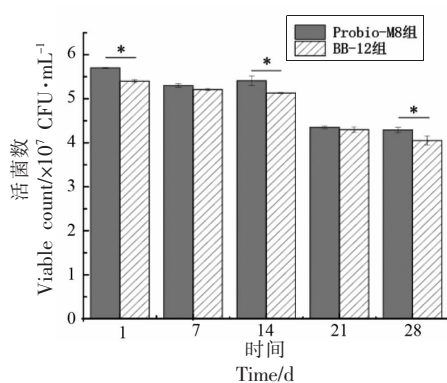


图 3 贮藏过程中发酵乳活菌数的变化

Fig.3 Viable count changes of fermented milk during storage

表 5 发酵乳感官评定结果

Table 5 Sensory evaluation results of fermented milk

分组	口感	色泽和滋味	组织状态	总分
Probio-M8 组	25.89 ± 0.12 ^a	37.37 ± 0.63 ^a	28.42 ± 0.62 ^{ab}	91.68 ± 0.46 ^a
BB-12 组	26.47 ± 0.35 ^b	36.29 ± 0.63 ^a	26.35 ± 0.39 ^b	89.11 ± 0.45 ^a
对照组	23.12 ± 0.09 ^b	33.57 ± 0.90 ^a	23.57 ± 0.67 ^b	80.27 ± 0.55 ^b

注：不同小写字母代表组间具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

3 结论

采用 SPME-GC-MS 方法检测乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳挥发性风味物质的影响,并对发酵乳的发酵、贮藏及感官特性进行评价。结果表明：本研究发酵乳中检测到的挥发性风味物质均由酮类、酸类、醛类、酯类、醇类、氮类及烷烃类化合物组成,共计 66 种。添加乳双歧杆菌 Probio-M8

可充分保证益生菌益生功效的发挥。

2.5 感官评定

发酵乳感官评定结果见表 5,感官评价小组成员对 Probio-M8 组和 BB-12 组的感官评分较高,且评分较为接近,这两组发酵乳的组织状态均匀,酸奶醇香,口感顺滑细腻,受到小组成员好评。对照组在评价指标和总分上明显低于 2 个益生菌株组,差异显著 ($P < 0.05$)。结果表明在发酵过程中添加益生菌乳双歧杆菌 Probio-M8 能够丰富发酵乳的风味,使发酵乳具有更佳的口感。

发酵乳中的双乙酰、乙偶姻、癸酸、己酸和 2-戊酮等特征风味物质相对含量较高,对发酵乳的风味贡献较大,赋予发酵乳良好的风味;聚类分析结果表明,与对照组相比,Probio-M8 和 BB-12 益生菌发酵乳中挥发性风味物质组成及相对含量更为相近,因此聚为一类,而乙醛、月桂酸和庚醛等成分存在差别。2 种益生菌发酵乳感官评分结果无差

异,均显著高于普通发酵乳($P<0.05$),说明乳双歧杆菌 Probio-M8 发酵乳风味整体较佳。另外,将乳双歧杆菌 Probio-M8 应用到发酵乳中,缩短了发酵乳的发酵时间,使发酵乳的黏度显著增加($P<0.05$),而发酵乳贮藏期的持水性、滴定酸度和 pH 值无显著影响($P>0.05$)。4 °C 贮藏 28 d 后乳双歧杆菌 Probio-M8 的活菌数为 $(4.35\pm 0.01)\times 10^7$ CFU/mL,说明具备良好的稳定性并最大程度保证了其益生功效的发挥。综上所述,乳双歧杆菌 Probio-M8 赋予发酵乳益生特性的同时兼具较好的特征风味,将其应用于益生菌发酵乳中具备一定的经济价值和良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 中国食品科学技术学会. 科学解读益生菌[J]. 中国食品, 2019(12): 3.
Chinese Institute of Food Science and Technology. Scientific interpretation of probiotics[J]. China Food, 2019(12): 3.
- [2] 朱军伟, 杭锋, 王钦博, 等. 双歧杆菌在乳制品中研究与应用进展[J]. 广东农业科学, 2015, 42(2): 98-103.
ZHU J W, HANG F, WANG Q B, et al. Research and application progress of *Bifidobacterium* in dairy products[J]. Guangdong Agricultural Tural Science, 2015, 42(2): 98-103.
- [3] SAIASSEN E E, HJERDE E, CAVANAGH J P, et al. *Bifidobacterium* bacteremia: Clinical characteristics and a genomic approach to assess pathogenicity [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2017, 55(7): 2234.
- [4] 王元弛, 姚国强, 张文羿, 等. 乳双歧杆菌 Probio-M8 氧气耐受性驯化研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 1-7.
WANG Y C, YAO G Q, ZHANG W Y, et al. Studies on oxygen-tolerant domestication of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Probio-M8 [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(12): 1-7.
- [5] 揭良, 苏米亚. 功能性乳制品及其功能性原料研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(2): 43-47.
JIE L, SU M Y. Recent progress in functional dairy products and functional ingredients for them[J]. Dairy Science and Technology, 2021, 44(2): 43-47.
- [6] LIU W, CHEN M, DUO L, et al. Characterization of potentially probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from human colostrum[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 4013-4025.
- [7] 翟云, 王雅菲, 托娅. 乳双歧杆菌 M8 对免疫抑制模型大鼠免疫功能的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2020, 46(3): 582-588.
ZHAI Y, WANG Y F, TUO Y. Effect of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 on immune function of immunosuppressive model rats[J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2020, 46(3): 582-588.
- [8] 周亭亭, 王丹, 陈永福, 等. 基于 SPME-GC-MS 法分析发酵乳中挥发性风味物质[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(3): 4-8.
ZHOU T T, WANG D, CHEN Y F, et al. Volatile compounds analysis in fermented milk by GC-MS and SPME[J]. China Dairy Industry, 2017, 45(3): 4-8.
- [9] 文鹏程, 曹磊, 杨敏, 等. 牦牛曲拉源乳酸菌的产香性能比较[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 99-105.
WEN P C, CAO L, YANG M, et al. Comparison of the aroma-producing performance of lactic acid bacteria from Qula as the residue of yak milk after ghee making[J]. Food Science, 2020, 41(12): 99-105.
- [10] 尹国伟. 基于 SPME-GC-MS 技术的沉香品质鉴定 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
YIN G W. The quality evaluation of agarwood based on the technology of SPME-GC-MS[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016.
- [11] DAN T, WANG D, WU S, et al. Profiles of volatile flavor compounds in milk fermented with different proportional combinations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *Streptococcus thermophiles* [J]. Molecules, 2017, 22(10): 1420-3049.
- [12] 杨淑娟, 苗壮壮, 史嘉琪, 等. 基于 SPME-GC-MS 分析乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳风味的影响及应用评价[C]. 苏州: 第十六届益生菌与健康国际研讨会摘要集, 2021: 117-118.
YANG S J, MIAO Z Z, SHI J Q, et al. Effect of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 on flavor of fermented milk based on SPME-GC-MS and its application evaluation[C]. Suzhou: The Abstracts of the

- 16th International Symposium on Probiotics and Health, 2021: 117-118.
- [13] 李婷, 田佳乐, 刘洋, 等. 保加利亚乳杆菌的筛选及其发酵乳中的风味物质[J]. 中国食品学报, 2021, 21(3): 315-323.
LI T, TIAN J L, LIU Y, et al. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and its flavor substances in fermented milk[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(3): 315-323.
- [14] 丹彤, 田佳乐, 乔少婷. 具有良好风味德氏乳杆菌保加利亚亚种的筛选及其产香性能分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 229-234.
DAN T, TIAN J L, QIAO S T. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with good flavor properties and analysis of its aroma production [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 229-234.
- [15] 李婷, 田佳乐, 刘洋, 等. 基于固相微萃取-气相色谱-质谱与电子鼻技术分析发酵乳中的挥发性风味物质[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 233-241.
LI T, TIAN J L, LIU Y, et al. Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk by SPME-GC-MS and electronic nose technology[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(10): 233-241.
- [16] 曾凤泽. 具有优良发酵特性的德氏乳杆菌保加利亚亚种的筛选[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013.
ZENG F Z. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with superior fermentation characteristics[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2013.
- [17] 白梅, 黄天, 郭帅, 等. 益生菌干酪乳杆菌 Zhang 和乳双歧杆菌 V9 发酵乳胞外多糖含量对流变学特性、质构和稳定性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(4): 193-202.
BAI M, HUANG T, GUO S, et al. Effects of extracellular polysaccharide in yogurt produced by the probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9 on rheological properties, texture and stability[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(4): 193-202.
- [18] CHENG H. Volatile flavor compounds in yogurt: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2010, 50(10): 938-950.
- [19] DOPIERALSKA P, BAROWSKA J, TETER A, et al. Changes in fatty acid and volatile compound profiles during storage of smoked cheese made from the milk of native polish cow breeds raised in the low beskids[J]. Animals, 2020, 10(11): 2103.
- [20] CHAMMAS G I, SALIBA R, CORRIEU G, et al. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk "laban" [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 110(1): 52-61.
- [21] 武士美, 靳汝霖, 任为一, 等. 德氏乳杆菌保加利亚亚种发酵乳中挥发性风味物质的比较分析[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(9): 4-10.
WU S M, JIN R L, REN W Y, et al. Comparison and analysis of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on producing volatile compounds in fermented milk[J]. China Dairy Industry, 2017, 45(9): 4-10.
- [22] ZHA M, YU J, YONG Z, et al. Study on Streptococcus thermophilus isolated from Qula and associated characteristic of acetaldehyde and diacetyl in their fermented milk[J]. Journal of General & Applied Microbiology, 2015, 61(2): 50-56.
- [23] BOK F D, JANSSEN P, BAYJANOV J R, et al. Volatile compound fingerprinting of mixed-culture fermentations[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2011, 77(17): 6233-6239.
- [24] 刘景, 孙克杰, 郭本恒. 成品发酵乳主要风味物质与风味指标的相关性研究[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(12): 17-21.
LIU J, SUN K J, GUO B H, et al. Correlation between main flavor compounds and flavor indices of commercial fermented milk[J]. China Dairy Industry, 2011, 39(12): 17-21.
- [25] 任然, 唐善虎, 李思宁, 等. 四株益生菌对发酵酸奶保质期理化特性和益生菌数的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(18): 85-90.
REN R, TANG S H, LI S N, et al. Effect of four probiotics on the physicochemical properties and probiotics viability of fermented yogurt[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(18): 85-90.
- [26] RUGGIRELLO M, GIORDANO M, BERTOLINO M, et al. Study of *Lactococcus lactis* during advanced ripening stages of model cheeses characterized by GC-MS[J]. Food Microbiology, 2018, 74: 132-142.
- [27] AI S I, H MATSUURA, AI I, et al. Metabolomics analyses of the combined effects of lactic acid bacteria and *Penicillium camemberti* on the generation

- of volatile compounds in model mold-surface-ripened cheeses[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2020, 129(3): 333-347.
- [28] 明庭红, 苏秀榕, 周君, 等. 植物乳杆菌发酵牛乳挥发性风味物质的解析[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(12): 163-171.
- MING T H, SU X R, ZHOU J, et al. Analysis on volatile compounds in milk fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2016, 42(12): 163-171.
- [29] 田维芬, 周君, 明庭红, 等. 基于电子鼻和 GC-MS 的不同品牌橄榄油挥发性风味物质研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(7): 285-292.
- TIAN W F, ZHOU J, MING T H, et al. Analysis of volatile flavor components from different regions of olive oil by electronic nose and gas chromatography[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(7): 285-292.
- [30] MISHRA S, MISHRA H N. Effect of symbiotic interaction of fructooligosaccharide and probiotics on the acidification profile, textural and rheological characteristics of fermented soy milk[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 6(11): 3166-3176.
- [31] 郭帅, 韩之皓, 黄天, 等. *Streptococcus thermophilus* S10 复合 *Lactobacillus plantarum* P-8 在发酵豆乳中的应用[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(3): 7-13.
- GUO S, HAN Z H, HUANG T, et al. Application of *Streptococcus thermophilus* S10 compounded with *Lactobacillus plantarum* P-8 in fermented soybean milk[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(3): 7-13.

Effect of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 on Fermented Milk Flavor and Its Application Evaluation

Yang Shujuan, Miao Zhuangzhuang, Shi Jiaqi, Sun Yuexin, Guo Shuai,
Bai Mei, Wang Jicheng, Zhang Heping*

(Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Key Laboratory of Dairy Products Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018)

Abstract *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 is a milk-derived probiotic with excellent probiotic properties. Solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) was used to investigate the effect of the addition of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 on the volatile flavor substances in fermented milk, and compared with *Bifidobacterium lactis* BB-12, to evaluate the fermentation, storage and sensory characteristics of fermented milk. The results showed that a total of 66 volatile flavor substances such as ketones, acids, aldehydes and esters were detected in the fermented milk, among which 39, 33 and 31 substances were detected in the fermented milk with the addition of *Bifidobacterium lactis* BB-12, the fermented milk with the addition of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 and the ordinary fermented milk, respectively. The relative contents of characteristic flavor substances such as diacetyl, acetoin, decanoic acid, hexanoic acid and 2-pentanone were increased in the fermented milk added with Probio-M8, which contributed significantly to the flavor of the fermented milk. Cluster analysis showed that compared with the control group, the relative content and composition of volatile flavor substances in Probio-M8 and BB-12 fermented milk were similar, while acetaldehyde, heptaldehyde and lauric acid were also different. The sensory scores of the BB-12 fermented milk and the Probio-M8 fermented milk showed no significant difference, both of which were significantly higher than those of the ordinary fermented milk ($P < 0.05$), suggesting that the fermented milk with the addition of Probio-M8 had good flavor and was recognized. In addition, the addition of Probio-M8 could significantly increase the viscosity of the fermented milk ($P < 0.05$) and shorten the fermentation time of the fermented milk, but had no significant effect on the titratable acidity, pH value and water holding capacity of the fermented milk during storage ($P > 0.05$). The viable count of Probio-M8 in fermented milk was $(4.35 \pm 0.01) \times 10^7$ CFU/mL after 28 days of storage at 4 °C, indicating that the strain had good survival stability and could effectively ensure the probiotic efficacy of Probio-M8. Conclusion: *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 endowed fermented milk with probiotic characteristics and good characteristic flavor at the same time, which provided reference for its application in practical production.

Keywords *Bifidobacterium lactis* Probio-M8; probiotic fermented milk; SPME-GC-MS; volatile flavor substances