

四川腊肉中酵母菌多样性及其特性研究

王松^{1,2}, 唐林¹, 郭柯宇¹, 刘书亮^{1*}, 杨勇¹

(¹四川农业大学食品学院 四川雅安 625014

²宜宾学院固态发酵资源与利用四川省重点实验室 四川宜宾 644000)

摘要 从四川不同区域采集 39 份农家腊肉,测定其微生物类群数量和 pH、 a_w 值。分离纯化酵母菌菌株,采用形态、生化特征结合 26S rDNA D1/D2 区序列进行鉴定,并对其中部分酵母菌的生物学和产香特性进行分析。结果显示,除少数样品外,四川腊肉 a_w 0.8~0.9, pH 5.0~6.0, 乳酸菌和葡萄球菌是其优势菌群,山地丘陵区样品酵母菌数量均超过 4 lg (CFU/g)。从四川腊肉中共分离获得 113 株酵母菌,主要包括季也蒙毕赤酵母、汉逊德巴利酵母、胶红酵母、诞沫假丝酵母、浅白隐球酵母和 *Naganishia diffluens*, 其中季也蒙毕赤酵母和汉逊德巴利酵母是优势菌种,分别占总数的 28.3%和 23.9%。大多数试验菌株具有对低温、高盐、偏酸环境的良好耐受性,广泛的胞外脂肪酶和过氧化氢酶活性,接种模拟肉汤发酵后可显著提高 3-甲基丁醇和苯乙醇的含量,减少糠醛、苯甲醛和二甲基苯甲醛的生成。四川腊肉酵母菌具有丰富的多样性和良好的应用特性,以及较好的开发前景。

关键词 四川腊肉; 酵母菌; 多样性; 特性; 脂肪酶

文章编号 1009-7848(2023)04-0334-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.04.031

四川腊肉是国内市场非常受欢迎的中式传统肉制品之一,其中小型生产企业众多且产量巨大^[1]。与农家自制腊肉相比,工厂化产品生产时间缩短,生产工艺有微调,如添加亚硝酸盐,成熟期温度提高^[2-3],导致产品特征香味和风格被弱化,消费者接受度降低^[4]。采用人工发酵剂应用于工业化生产是改善产品风味、质构、色泽,安全且最有效的策略^[5]。乳酸菌和凝固酶阴性葡萄球菌是目前最常用的人工发酵剂。乳酸菌如清酒乳杆菌(*Lactobacillus sakei*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)能快速降低肉基质的 pH 值,确保后续一系列生化反应正常进行和产品微生物安全^[6]。凝固酶阴性葡萄球菌,如肉葡萄球菌(*Staphylococcus carnosus*)、木糖葡萄球菌(*S. xylosum*)在蛋白质水解、脂肪分解和颜色形成等重要生化反应中发挥作用^[7]。

除了以上两类微生物,酵母菌在肉制品成熟过程中也扮演着重要的角色。研究发现^[8]肉制品中酵母菌表现出广泛的胞外脂肪酶和蛋白酶活性,可促进肉中脂肪和蛋白质降解,其初级和次生代

谢产物有助于产品特征香气和滋味的形成。目前意大利、西班牙、土耳其等欧洲国家已普遍将汉逊德巴利酵母(*Debaryomyces hansenii*)作为肉品发酵剂^[9],可以减少肉制品中氧化产物的形成,促进香气成分如乙基酯的形成^[10]。近年来,国外研究者对酵母菌在西式传统肉制品中的多样性^[11],对风味、质构及产品可接受度的影响^[12],抑制霉菌及霉菌毒素产生^[13]等方面进行了广泛的研究,而对四川腊肉等中国传统肉制品的相关研究很少。本研究对四川农家腊肉中酵母菌进行分离鉴定和多样性分析,测定部分酵母菌株的生物学和产香特性。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、培养基与试剂

1) 腊肉样品 样品采集情况见表 1。

2) 主要培养基 PCA、MRS、PDA (0.01% 氯霉素)、VRBGA、WL 营养培养基:青岛海博有限公司。

酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YEPD):20 g 葡萄糖,10 g 酵母粉,20 g 蛋白胨,溶于 1 000 mL 双蒸水,121 °C 灭菌 15 min; 添加 2% 琼脂即 YPD 培养基。

蛋白酶检测培养基:YPD 培养基添加 1% 酪蛋白,121 °C 灭菌 15 min。

收稿日期:2022-04-18

基金项目:成都市重大科技应用示范项目(2019YF0900050SN)

第一作者:王松,男,博士,讲师

通信作者:刘书亮 E-mail: lsliang999@163.com

表 1 腊肉样品信息

Table 1 Information of samples			
地理环境	样品来源地	样品编号	样品数量/个
盆地平原区	成都	CD1~CD5	5
	乐山	LS1~LS5	5
	遂宁	SN1~SN4	4
山地丘陵区	宜宾	YB1~YB5	5
	雅安	YA1~YA5	5
	西昌	XC1~XC5	5
高原高寒区	甘孜州	GZ1~GZ5	5
	阿坝州	AB1~AB5	5

脂肪酶检测培养基: YPD 培养基 121 °C 灭菌 15 min, 冷却至 80 °C, 在超净工作台中加入 1% 灭菌后的三丁酸甘油酯混匀。

模拟肉汤培养基: 将猪瘦肉 1 000 g 切成小丁, 加 1 000 mL 蒸馏水, 加热沸腾后继续煮制 20 min, 纱布过滤, 添加 3% 食盐和 150 mg/kg 亚硝酸钠, 蒸馏水补足到 1 000 mL, 分装到 50 mL 三角瓶, 每瓶 20 mL, 121 °C 灭菌 15 min。

3) 主要试剂 氯化钠、明胶、过氧化氢、三氯乙酸、盐酸、葡萄糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、棉子糖均为分析纯级, 成都市科隆化学品有限公司; 亚硝酸盐, 四川金山制药有限公司。

1.2 主要仪器与设备

PHSJ-3F 酸度计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; 气相色谱(7890A)-质谱(5795C)联用仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; HD-3A 智能水分活度测量仪, 无锡华科仪器仪表有限公司; ZWY-2102C 恒温震荡培养箱, 上海智城分析仪器制造有限公司; XFK 高速匀浆机, 方科仪器(常州)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 腊肉样品微生物计数及理化指标测定 参照柴子惠等^[14]的方法对样品中菌落总数、乳酸菌、葡萄球菌进行计数; 酵母菌按《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》(GB 4789.15-2016)^[15]方法计数; 肠杆菌科细菌按《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验》(GB 4789.41-2016)^[16]方法计数; 参照吉莉莉等^[1]的方法测定腊肉样品的 pH 值和 a_w 。

1.3.2 腊肉中酵母菌的分离和纯化 挑取 1.3.1

节中 PDA 计数平板上具有典型形态的单菌落转移到 YPD 平板上划线培养, 反复几次纯化后, 用接种环挑取单菌落接种于 YPD 斜面试管, 28 °C 培养 48 h, 编号, 于 4 °C 保存。

1.3.3 酵母菌的形态及生化鉴定 形态试验参照刘晓柱等^[17]的方法; 糖发酵试验参照乌日娜等^[18]的方法。

1.3.4 酵母菌 26S rDNA D1/D2 区序列同源性及其系统发育树构建 按照酵母 DNA 基因组提取试剂盒(TIANGEN)操作说明书提取菌株 DNA, PCR 扩增 26S rDNA D1/D2 区序列, 上游引物为 NL-1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3', 下游引物为 NL-4: 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 56 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 2 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 低温运送至成都擎科梓熙生物技术有限公司测序。测序结果提交 GenBank 数据库进行同源基因搜索比对, 用 MEGA 5.1 软件进行序列分析, 采用 Neighbor-Joining 法进行 1 000 次 Bootstrap 检验后构建系统发育树。

1.3.5 酵母菌生物学特性分析

1.3.5.1 酵母菌对温度、pH、盐、亚硝酸钠的耐受性试验 将保存于冰箱的酵母菌在 YEPD 中活化 2 次, 调整细胞浓度 1×10^8 CFU/mL, 按体积分数 1% 接种于 YEPD 试管中, 随后在 15, 30 °C 和 37 °C 培养 3 d, 以不接种 YEPD 试管为对照, 在波长 600 nm 处测定 OD 值, 判定其对温度的耐受性(本试验条件下 $OD_{600nm} \geq 0.3$ 判定为酵母菌明显生长, 下同)。

同理, 分别用食盐调整 YEPD 中 NaCl 含量为 5%, 10% 和 15%, 用亚硝酸钠调整 YEPD 中 $NaNO_2$ 含量为 50, 100 mg/kg 和 150 mg/kg, 用 3 mol/L HCl 调整 YEPD 中 pH 值为 1.5, 3.0, 4.5。将前述活化调整后的菌液 1% (体积分数) 分别接种于以上备好的 YEPD 试管中, 在 28 °C 培养 3 d, 以相应培养基不接种为空白对照, 在波长 600 nm 处测定 OD 值, 分别判定酵母菌对食盐浓度、亚硝酸钠浓度和 pH 的耐受性。

1.3.5.2 酵母菌产胞外酶活性测定 脂肪酶和蛋白酶活性检测参考 Mendoza 等^[11]的方法并略作修

改。将新鲜斜面培养物以点种法接种于蛋白酶和脂肪酶检测平板上,25℃培养5d,观察菌落周围透明圈的大小和清晰度。蛋白酶检测平板滴加10%三氯乙酸后观察,用游标卡尺记录透明圈(D)和菌落(d)直径, $D/d > 2$ 表示酶活性强“++”, $1 < D/d \leq 2$ 表示有酶活性“+”, $D/d \leq 1$ 表示无酶活性“-”。明胶液化试验和过氧化氢酶活性参考 Ozturk 等^[19]的方法,“+”表示有酶活性,“-”表示无酶活性。

1.3.6 酵母菌产香性能的 GC-MS 分析 模拟肉汤发酵试验:将筛选的酵母菌在 YEPD 中活化2次,调整细胞浓度 1×10^8 CFU/mL,按 1%(体积分数)接种于装有模拟肉汤培养基三角瓶中,120 r/min,25℃摇床培养5d,发酵液用 GC-MS 检测。

GC-MS 分析:参考 Andrade 等^[20]的方法并略作修改。取 4 mL 发酵液置于 20 mL 顶空瓶中,加入 1 g NaCl,将老化后的萃取头(75 μ m,CAR/PDMS,Supelco)插入样品瓶顶空部分,于 60℃吸附 30 min,吸附后的萃取头取出,插入气相色谱进样口,于 250℃解吸 3 min。

程序升温条件:柱初温 40℃,维持 3 min,然后以 4℃/min 的速率升温至 80℃,保持 1 min,以 5℃/min 升到 150℃,保持 2 min,再以 10℃/min 的升温速率升至 230℃,保持 1 min。

毛细管柱 DB-WAX (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),以氦气为载气,流速 1 mL/min。电离方式为

EI,电子能量 70 eV,离子源温度 230℃,接口温度 280℃,四极杆温度 150℃,扫描范围 30~550 m/z 。

各组分经谱库检索确定,选择匹配度大于 80%的组分,各挥发组分的含量(内标物为 2,4,6-三甲基吡啶)计算公式:

$$C_x = \frac{C_0 \times V_0 \times S_x}{V \times S_0} \quad (1)$$

式中, C_x ——未知挥发性化合物含量(μ g/L); C_0 ——内标化合物质量浓度(μ g/ μ L); V_0 ——内标化合物进样体积(μ L); S_x ——未知挥发性化合物峰面积(AU \cdot min); S_0 ——添加内标化合物峰面积(AU \cdot min); V ——试样总体积(L)。

1.3.7 数据统计 每个数据重复测定 3 次,用 Excel 2019 对数据进行处理(计算平均值及标准差)和绘制表格;采用 MEGA 5.1 绘制系统发育树;采用 SPSS 22.0 统计分析软件做单因素方差分析(Duncan)。

2 结果与分析

2.1 四川腊肉微生物类群数量与理化性质分析

根据不同地理环境,从四川省 8 个市、州(表 1)共随机采集 39 份农家腊肉样品,盆地平原区、山地丘陵区 and 高原高寒区的样品数量分别为 14、15 和 10 份。所有样品生产时间[(40 \pm 3)d]基本保持一致,其微生物计数和理化分析结果见表 2。

表 2 四川腊肉微生物计数与理化指标测定结果

Table 2 Results of physicochemical and microbiological measuring of Sichuan bacon

样品编号	a_w	pH	微生物计数/ lg (CFU \cdot g ⁻¹)				
			菌落总数	乳酸菌	葡萄球菌	酵母菌	肠杆菌科
SN-1	0.804 \pm 0.002	5.07 \pm 0.03	6.56 \pm 0.12	5.97 \pm 0.09	6.11 \pm 0.08	3.29 \pm 0.03	<1
SN-2	0.812 \pm 0.003	5.02 \pm 0.04	6.27 \pm 0.08	6.06 \pm 0.08	5.58 \pm 0.11	2.98 \pm 0.02	<1
SN-3	0.924 \pm 0.008	5.15 \pm 0.03	6.82 \pm 0.14	6.35 \pm 0.11	6.04 \pm 0.07	3.29 \pm 0.02	1.34 \pm 0.02
SN-4	0.833 \pm 0.006	5.11 \pm 0.04	6.52 \pm 0.05	6.37 \pm 0.09	5.66 \pm 0.06	3.57 \pm 0.03	<1
LS-1	0.827 \pm 0.002	5.65 \pm 0.05	7.06 \pm 0.17	6.69 \pm 0.14	6.54 \pm 0.13	4.81 \pm 0.05	3.87 \pm 0.06
LS-2	0.818 \pm 0.004	5.62 \pm 0.02	7.15 \pm 0.22	6.74 \pm 0.12	6.66 \pm 0.15	4.69 \pm 0.06	3.63 \pm 0.03
LS-3	0.795 \pm 0.006	5.68 \pm 0.06	5.99 \pm 0.11	5.65 \pm 0.09	5.16 \pm 0.06	2.14 \pm 0.02	<1
LS-4	0.831 \pm 0.008	5.28 \pm 0.03	5.75 \pm 0.11	5.41 \pm 0.04	4.98 \pm 0.04	2.26 \pm 0.02	<1
LS-5	0.792 \pm 0.005	5.85 \pm 0.05	6.39 \pm 0.13	6.32 \pm 0.13	5.98 \pm 0.12	2.62 \pm 0.03	<1
CD-1	0.801 \pm 0.003	5.94 \pm 0.04	6.61 \pm 0.18	6.25 \pm 0.13	6.34 \pm 0.15	4.12 \pm 0.07	<1
CD-2	0.791 \pm 0.002	6.03 \pm 0.03	6.73 \pm 0.15	6.42 \pm 0.17	5.53 \pm 0.07	4.29 \pm 0.06	2.91 \pm 0.03
CD-3	0.761 \pm 0.002	5.03 \pm 0.02	6.21 \pm 0.11	5.88 \pm 0.03	6.08 \pm 0.12	3.72 \pm 0.07	2.48 \pm 0.02

(续表 2)

样品编号	a_w	pH	微生物计数/ lg (CFU·g ⁻¹)				
			菌落总数	乳酸菌	葡萄球菌	酵母菌	肠杆菌科
CD-4	0.788 ± 0.004	5.28 ± 0.03	6.25 ± 0.14	5.93 ± 0.09	5.65 ± 0.09	3.33 ± 0.08	2.18 ± 0.04
CD-5	0.814 ± 0.002	5.65 ± 0.06	6.86 ± 0.15	6.67 ± 0.14	6.25 ± 0.13	4.01 ± 0.08	<1
YB-1	0.836 ± 0.003	5.74 ± 0.05	7.13 ± 0.23	6.76 ± 0.12	6.67 ± 0.22	4.18 ± 0.11	3.29 ± 0.06
YB-2	0.868 ± 0.004	6.48 ± 0.04	7.04 ± 0.23	6.59 ± 0.15	6.41 ± 0.19	4.01 ± 0.11	3.26 ± 0.06
YB-3	0.839 ± 0.004	5.56 ± 0.06	6.93 ± 0.24	6.47 ± 0.09	6.48 ± 0.17	4.38 ± 0.10	3.21 ± 0.08
YB-4	0.863 ± 0.007	5.31 ± 0.03	6.77 ± 0.17	6.49 ± 0.09	6.45 ± 0.21	4.13 ± 0.09	3.17 ± 0.04
YB-5	0.912 ± 0.004	5.82 ± 0.01	6.60 ± 0.17	6.48 ± 0.22	6.17 ± 0.14	4.24 ± 0.09	3.14 ± 0.05
YA-1	0.839 ± 0.002	5.27 ± 0.01	7.29 ± 0.28	6.41 ± 0.13	6.59 ± 0.14	5.34 ± 0.16	4.02 ± 0.11
YA-2	0.837 ± 0.002	5.72 ± 0.02	6.78 ± 0.16	5.96 ± 0.07	6.28 ± 0.16	4.54 ± 0.13	2.83 ± 0.03
YA-3	0.825 ± 0.004	5.43 ± 0.03	6.81 ± 0.21	5.91 ± 0.09	6.50 ± 0.23	4.45 ± 0.07	3.37 ± 0.03
YA-4	0.834 ± 0.003	5.86 ± 0.03	6.87 ± 0.22	5.94 ± 0.14	6.38 ± 0.16	4.31 ± 0.08	3.62 ± 0.08
YA-5	0.869 ± 0.005	5.98 ± 0.05	6.61 ± 0.19	5.83 ± 0.05	6.31 ± 0.22	4.10 ± 0.07	3.37 ± 0.05
XC-1	0.871 ± 0.005	5.69 ± 0.06	6.92 ± 0.16	6.23 ± 0.13	6.57 ± 0.20	4.47 ± 0.03	2.58 ± 0.03
XC-2	0.876 ± 0.007	5.49 ± 0.02	6.80 ± 0.19	5.91 ± 0.13	6.35 ± 0.11	4.73 ± 0.03	1.49 ± 0.02
XC-3	0.844 ± 0.002	5.68 ± 0.01	6.53 ± 0.13	5.72 ± 0.06	6.20 ± 0.15	4.75 ± 0.08	1.38 ± 0.02
XC-4	0.842 ± 0.003	5.62 ± 0.03	6.84 ± 0.21	5.59 ± 0.08	6.48 ± 0.24	4.71 ± 0.08	2.36 ± 0.03
XC-5	0.871 ± 0.006	5.56 ± 0.01	6.54 ± 0.11	5.62 ± 0.10	6.23 ± 0.14	5.01 ± 0.10	2.15 ± 0.04
GZ-1	0.837 ± 0.004	5.69 ± 0.02	6.29 ± 0.09	6.11 ± 0.09	5.86 ± 0.05	3.80 ± 0.06	2.18 ± 0.03
GZ-2	0.832 ± 0.004	5.87 ± 0.07	6.28 ± 0.09	6.10 ± 0.08	5.78 ± 0.09	3.37 ± 0.08	2.32 ± 0.03
GZ-3	0.862 ± 0.006	5.59 ± 0.03	6.47 ± 0.12	6.29 ± 0.13	6.01 ± 0.09	3.42 ± 0.03	3.59 ± 0.06
GZ-4	0.915 ± 0.006	6.06 ± 0.06	6.34 ± 0.11	6.06 ± 0.09	6.16 ± 0.13	3.41 ± 0.06	2.81 ± 0.03
GZ-5	0.881 ± 0.008	6.44 ± 0.04	6.34 ± 0.08	6.17 ± 0.19	5.93 ± 0.13	3.10 ± 0.03	2.77 ± 0.02
AB-1	0.828 ± 0.004	5.95 ± 0.05	6.38 ± 0.09	6.08 ± 0.12	5.67 ± 0.06	4.85 ± 0.08	2.23 ± 0.02
AB-2	0.836 ± 0.006	6.06 ± 0.06	6.31 ± 0.11	6.11 ± 0.14	5.43 ± 0.09	4.34 ± 0.07	3.19 ± 0.04
AB-3	0.914 ± 0.008	6.06 ± 0.04	6.53 ± 0.16	6.20 ± 0.21	6.17 ± 0.13	4.06 ± 0.07	3.27 ± 0.03
AB-4	0.944 ± 0.009	5.64 ± 0.02	6.59 ± 0.14	6.15 ± 0.16	6.37 ± 0.16	4.38 ± 0.09	3.63 ± 0.09
AB-5	0.911 ± 0.011	5.81 ± 0.03	6.72 ± 0.19	5.81 ± 0.09	6.55 ± 0.21	4.13 ± 0.06	4.34 ± 0.09

从理化指标看,有 28 个样品 a_w 在 0.8~0.9 范围,6 个样品的 $a_w > 0.9$,其中 4 个属于高原高寒区。另有 5 个样品 $a_w < 0.8$,均属于盆地平原区。共有 33 个样品的 pH 值在 5.0~6.0 范围,6 个样品 pH > 6.0,其中 4 个属于高原高寒区;而盆地平原区有 7 个样品的 pH < 5.5。pH 和 a_w 是腌腊肉制品的重要品质指标,不仅对产品的质构、口感和色泽有重要影响,对产品微生物群落结构及安全性也有影响^[21]。本试验中腊肉样品 pH 和 a_w 的波动范围与前人研究结果基本保持一致。如 Guo 等^[22]研究四川、湖南、广东、云南、江西五地的农家腊肉发现,pH 值在 5.0~6.4 之间, a_w 在 0.7~0.9 之间,显示出四川农

家自制腊肉加工的特点。

从微生物计数结果看,除了少数样品外,绝大多数样品的菌落总数在 6.0~7.0 lg (CFU/g)之间,乳酸菌和葡萄球菌的数量范围在 5.5~6.5 lg (CFU/g)之间。各样品之间虽有一定差异,但各区域之间没有明显规律,表明乳酸菌和葡萄球菌是传统四川腊肉的优势菌群。有 33 个样品的酵母菌数量在 3~5 lg (CFU/g)之间,其中山地丘陵区的 15 个样品酵母菌数量均 > 4 lg (CFU/g),另有 4 个样品的酵母菌数量 < 3 lg (CFU/g),却均属于盆地平原区。样品中肠杆菌科细菌数量波动幅度较大,有 26 个样品计数范围在 2~4 lg (CFU/g)之间,另

有8个样品数量 $<1 \lg(\text{CFU/g})$,且均属于盆地平原区。微生物群落受到原辅料、环境条件、加工工艺等多个方面因素的影响^[23],该计数结果在一定程度上显示四川不同区域农家腊肉微生物的菌相特征。本研究中山地丘陵区酵母菌和肠杆菌科细菌数量及高原高寒区肠杆菌科细菌数量均高于盆地平原区可能与此有关,其具体原因待查。

2.2 四川腊肉中酵母菌的多样性

2.2.1 酵母菌形态及生化特征

WL培养基是一种非选择性培养基,不同的非酿酒酵母在WL培

养基上的菌落形态和颜色不同。本研究从PDA平板上共分离出113株酵母菌纯培养物,根据其在WL营养培养基上的菌落特征,参考文献[17]将其归类为7种类型,具体特征描述见表3。其中,类型I和类型II分别占总数的28.3%和23.9%,是四川腊肉中酵母菌的优势菌相。糖发酵结果显示,所有类型均不能利用乳糖进行发酵;除了类型VI以外,其余类型均能很好地利用葡萄糖和蔗糖;多数类型中部分菌株可以利用半乳糖、麦芽糖和棉子糖。

表3 不同类型酵母菌的菌落形态及糖代谢情况

Table 3 Colony morphology and sugar metabolism of seven types yeast

菌株类型	数量/株	WL 固体培养基菌落形态	糖代谢					
			葡萄糖	半乳糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	棉子糖
类型 I	32	乳白色,边缘淡绿色;球形突起,奶酪状,表面光滑,不透明	+	+w	+	+w	-	w/-
类型 II	27	乳白色,背面中间墨绿色;中央突起,奶酪状,表面光滑,不透明,菌落较大	+	w	+	+	-	w/-
类型 III	3	黄绿色,球状突起,奶酪状,表面光滑,不透明	+s	-	+	w/-	-	-
类型 IV	21	淡蓝绿色,中部球状突起,奶酪状,表面光滑,不透明	+	w	+	+w	-	w/-
类型 V	22	米黄色,球状突起,奶油状,表面光滑,黏稠,不透明,菌落较小	+	w	+	+w	-	w/-
类型 VI	8	蓝绿色,球状突起,奶油状,表面光滑,黏稠,不透明,菌落较小	w	-	w/-	w/-	-	-
类型 VII	4	浅黄绿色,球状突起,奶油状,表面光滑,黏稠,透明,菌落较小	+	w	+	+w	-	w/-

注:+:强发酵,7d内气体迅速充满倒置管;w:弱发酵,直到发酵完也未充满;+s:缓慢或延迟发酵,7d后才充满气体;-:不发酵,无气体产生。

2.2.2 酵母菌分离株 26S rDNA 鉴定与系统发育树

为了进一步确定WL培养基分类结果,从上述每个类型分别挑选其数量的20%(共24株纯培养物)进行26S rDNA D1/D2区序列鉴定。经测序后上传GenBank序列编号为MT422065~MT422088,系统发育树如图1所示。

24株酵母纯培养物被鉴定为6个种,与WL培养基分类结果基本保持一致,其中类型I(LY010、LY020、LY070、LY150、LY190、LY200、LY240)与模式菌株季也蒙毕赤酵母(*Meyerozyma guilliermondii*) NRRL Y-2075聚为一类;类型II(LY050、LY060、LY090、LY170、LY180)与模式菌株*D. hansenii* NRRL Y-7426聚为一类;类型III

(LY100)与模式菌株*Naganishia diffluens* CBS 160聚为一类;类型IV(LY040、LY140、LY220、LY230)与模式菌株赭沫假丝酵母(*Candida zeylanoides*) CBS 619聚为一类;类型V(LY110、LY120、LY130、LY160)和类型VII(LY210)与模式菌株胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*) CBS 316聚为一类;类型VI(LY030、LY080)与模式菌株浅白隐球酵母(*Cryptococcus albidus*) CBS 5810聚为一类。24株酵母菌和已知模式菌株均以较高的置信度分布于同一分支,同源性在99.83%~100%之间。结合WL培养基分类结果,表明季也蒙毕赤酵母(*M. guilliermondii*)和汉逊德巴利酵母(*D. hansenii*)是四川腊肉的优势酵母菌类群,

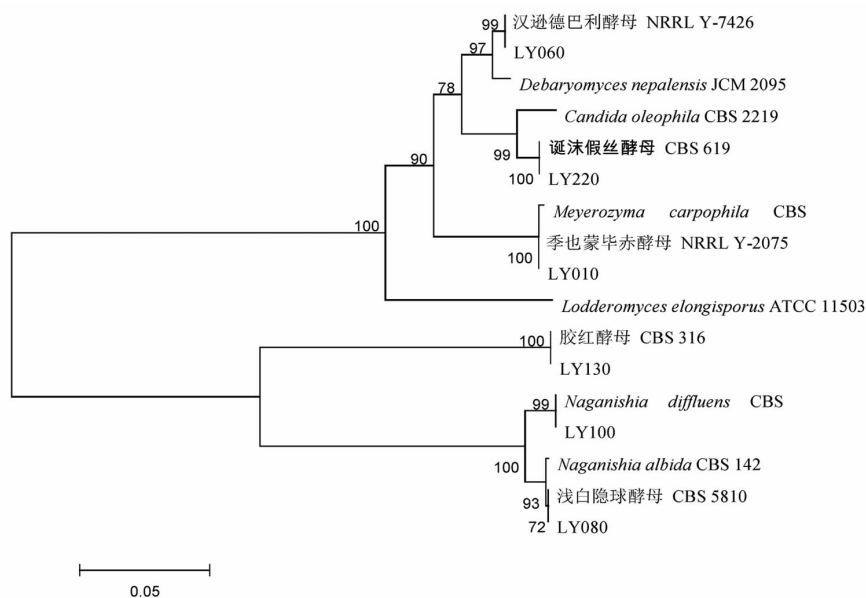


图 1 基于 26S rDNA 序列的四川腊肉酵母菌分离株系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of yeast strains derived from Sichuan bacon based on 26S rDNA sequence

且腊肉中酵母菌呈现较好的多样性。

2.3 四川腊肉酵母菌分离株的生物学特性

2.3.1 环境耐受性 汉逊德巴利酵母和诞沫假丝酵母常应用于发酵肉制品工业化生产^[12]。考虑到本试验中季也蒙毕赤酵母是四川腊肉第一优势酵母菌,根据 2.2 节结果,将归类于这 3 个种属的共 80 株酵母菌继续用于生物学特性研究。

从表 4 可知,80 株酵母菌均不能在 pH 1.5 的条件下生长,而绝大多数酵母菌可在 pH 3.0 (87.5%)和 pH 4.5(100%)的条件下正常生长。同样,绝大多数酵母菌可在 5%NaCl (98.75%)和 10%NaCl (83.75%)条件下生长,还有 21.25%的酵母菌可在 15%NaCl 条件下生长。本试验中的酵母菌对亚硝酸盐表现出很好的耐受性,有 96.25%的酵母菌可在 150 mg/kg 的 YEPD 培养基中较好生长。另外,有 78 株酵母菌可在 15 °C 条件下生长,而仅有 16 株菌可在 37 °C 条件下生长。肉制品中酵母菌能在较高的食盐和亚硝酸盐浓度、较低的水分活度和环境温度、中等偏酸的环境条件下正常生长和代谢,从而对肉制品品质产生影响。这也是发酵剂菌种筛选的基本要求^[24]。本试验结果表明四川腊肉酵母菌具有很好的环境耐受性,应用开发前景广阔。

表 4 24 株酵母菌的耐受性和胞外酶活性评价

Table 4 Evaluation of environmental tolerance and extracellular enzymes activity of 24 strains of yeast

环境因素	水平	酵母菌数量(正常生长的酵母菌株数/总酵母菌株数)
pH	1.5	0/80
	3.0	70/80
	4.5	80/80
温度/°C	15	78/80
	30	80/80
	37	16/80
NaCl/%	5	79/80
	10	67/80
	15	17/80
亚硝酸盐/mg·kg ⁻¹	50	80/80
	100	79/80
	150	77/80
蛋白水解活性	-	73/80
	+	7/80
	++	0/80
脂肪水解活性	-	5/80
	+	54/80
	++	21/80
明胶液化	+	6/80
过氧化氢酶活性	-	9/80
	+	71/80

注:-:无活性;+:有活性;+:活性强。

2.3.2 胞外酶活性分析 胞外酶活性研究表明(表4和图2),有93.75%的酵母菌具有细胞外脂肪酶活性,其中26.25%的酵母菌在脂肪酶平板上透明圈 $D/d>2$ 。与高比例胞外脂肪酶活性不同,只有8.75%的酵母菌具有胞外蛋白质水解酶活性,7.5%的酵母菌具有明胶液化能力。另外,还发现有71株(88.75%)酵母菌具有过氧化氢酶活性,表明四川腊肉中酵母菌具有良好的抗氧化能力。

本试验中有5株酵母菌未检测到脂肪酶活性,包括1株*C. zeylanoides*、2株*D. hansenii*和2株*M. guilliermondii*;而具有蛋白水解酶活性的7株酵母菌包括1株*M. guilliermondii*、3株*C. zeylanoides*和3株*D. hansenii*。另外,未能检测到过氧化氢酶活性的9株酵母菌包括2株*C. zeylanoides*、3株*D. hansenii*和4株*M. guilliermondii*,未发现胞外酶活性与酵母菌种属之间存在关联性。

经生物学试验,从80株酵母菌中筛选到6株酵母菌能够耐受pH 3.0,10%NaCl,150 mg/kg亚硝酸盐,且温度高于37℃时不生长;具有较强的

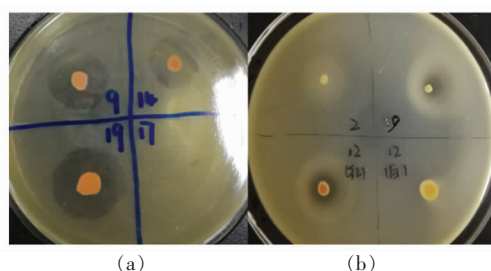


图2 四川腊肉酵母菌胞外脂肪酶(a)和蛋白酶(b)活性
Fig.2 Extracellular lipase (a) and protease (b) activities of yeasts isolated from Sichuan bacon

脂肪酶水解活性($D/d>2$),同时具有蛋白酶水解活性(或明胶液化能力)和过氧化氢酶活性,分别为3株*D. hansenii*(编号LY050、LY090、LY180),2株*C. zeylanoides*(编号LY140、LY220)和1株*M. guilliermondii*(编号LY190)。为进一步探究其产香性能,选择*D. hansenii* LY090、*C. zeylanoides* LY140和*M. guilliermondii* LY190 3株酵母菌开展模拟肉汤发酵试验。

2.4 酵母菌在模拟肉汤中发酵产风味物质分析

3株酵母菌模拟肉汤发酵试验如表5所示。

表5 酵母菌接种模拟肉汤发酵后挥发性成分含量

Table 5 The content of volatile components in simulated broth after yeast inoculation

序号	化合物名称	挥发性风味物质质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
		对照	LY190	LY140	LY090
1	3-甲基丁醇	-	791.05 ^a	756.92 ^a	797.50 ^a
2	丁酸	8.20	-	-	-
3	糠醛	80.82	-	-	-
4	苯甲醛	30.18	-	-	-
5	己酸	6.44	-	-	-
6	乙酰基噻唑	9.90	-	-	-
7	庚酸甲酯	41.66 ^a	9.19 ^c	20.39 ^b	3.57 ^c
8	4-甲基戊酸	11.05	-	-	-
9	2-乙基己醇	-	-	-	15.73
10	苯乙醇	54.17 ^b	739.08 ^a	537.49 ^a	75.67 ^b
11	乙基苯酚	4.98	-	-	-
12	二甲基苯甲醛	62.55 ^a	21.56 ^b	29.75 ^b	-
13	乙基苯甲醛	-	3.51	-	1.13
14	苯并噻唑	-	-	5.74	-
15	丙烯酸异辛酯	-	-	-	1.12
16	乙酸苯乙酯	-	3.17 ^b	3.47 ^b	27.78 ^a
17	长叶烯	61.57	-	-	-
18	二叔丁基对甲酚	12.87 ^a	4.34 ^b	2.87 ^b	14.20 ^a
19	2,4-二叔丁基苯酚	15.12 ^a	9.36 ^b	8.46 ^b	8.07 ^b
	总计	607.24 ^c	1 670.99 ^a	1 510.22 ^a	1 021.25 ^b

注:-:未检出;同一行上标字母不同表示差异显著($P<0.05$), $n=3$;对照组不接种,LY190组接种*M. guilliermondii* LY190,LY140组接种*C. zeylanoides* LY140,LY090组接种*D. hansenii* LY090。

模拟肉汤发酵试验共鉴定出挥发性风味成分19种,包括醛类4种,酸类3种,酚类3种,酯类3种,醇类3种,碳氢化合物1种,含硫化物2种。其中,对照组、LY190、LY140和LY090组分别鉴定出13,8,8种和9种挥发性风味成分。与对照组相比,3个试验组模拟肉汤培养基中挥发性成分总含量均显著($P<0.05$)增加,特别是LY190组的总含量是对照组的近3倍,表明酵母菌代谢活动可显著增强模拟肉汤培养基中挥发性成分的浓度。

值得注意的是,与对照组相比,试验组中3-甲基丁醇的含量从0升到756.92~797.50 $\mu\text{g/L}$,苯乙醇从54.17 $\mu\text{g/L}$ 升到75.67~739.08 $\mu\text{g/L}$,接种酵母菌后模拟肉汤培养基中的醇类物质含量从54.17 $\mu\text{g/L}$ 分别增长到1530.13,1294.41 $\mu\text{g/L}$ 和888.90 $\mu\text{g/L}$,表明酵母菌代谢产生大量的醇类物质。另外,LY090组醇类物质含量虽低于LY140组和LY190组,但其乙酸苯乙酯含量显著高于($P<0.05$)其它两个试验组,表明在本发酵条件下,*D. hansenii* LY090的酯化能力更强。而在对照组中检测到较高含量的糠醛(80.82 $\mu\text{g/L}$)、苯甲醛(30.18 $\mu\text{g/L}$)、二甲基苯甲醛(62.55 $\mu\text{g/L}$)等醛类物质。在所有试验组中只鉴定到很少量的二甲基苯甲醛(21.56~29.75 $\mu\text{g/L}$),未能检测到糠醛和苯甲醛。

3 讨论

3.1 腊肉中酵母菌的多样性

肉制品中常见的酵母菌包括 *Debaryomyces*、*Candida*、*Yarrowia*、*Pichia*、*Rhodotorula*、*Cryptococcus*、*Trichosporon* 等菌属^[25]。一般来说,肉制品中的微生物主要来自于原辅料和加工环境,本研究中未发现常见于西式肉制品的耶氏酵母属(*Yarrowia*)和丝胞酵母属(*Trichosporon*)酵母菌^[9],可能是原料和加工环境与西式肉制品不同的原因。加工工艺或过程显著影响肉制品中酵母菌群。Encinas等^[26]发现 *Trichosporon* 一般仅在原料肉或成熟初期,而 *C. zeylanoides*、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)和 *D. hansenii* 在成熟后期成为主要酵母群体。在四川腊肉成品中发现较高比例的 *D. hansenii* 和 *C. zeylanoides*,未分离鉴定到 *Y. lipolytica*,反而分离鉴定到大量的 *M. guillier-*

mondii 和 *R. mucilaginosa*,这在一定程度上说明四川腊肉酵母菌群的特异性。有研究^[27]表明 *D. hansenii* 是整个肉制品加工阶段最常见和最丰富的种群,具有很多重要的生理特性和技术性能,是肉制品发酵剂的重要组成。Cocolin等^[28]运用RAPD-PCR技术将意大利发酵香肠中分离的144株 *D. hansenii* 聚为10种类型。本研究结果也显示 *D. hansenii* 是四川腊肉酵母菌优势种群之一,其在加工过程中的动态变化趋势是下一步研究的重点内容。

3.2 酵母菌外源酶活性及产香能力

肉制品中酵母菌具有广泛的脂肪水解能力,Ozturk^[29]研究土耳其“Pastirma”中酵母菌发现,分离得到100株酵母菌均具有不同程度的脂肪水解酶活性。Mendoza等^[11]对阿根廷羊驼香肠中酵母菌的研究发现,*Debaryomyces*、*Candida*、*Rhodotorula*、*Yarrowia* 等优势属的大部分菌株具有较好的脂肪水解活性,均与本文研究结果一致。Purriños等^[27]从西班牙“lacón”中分离得到72株酵母菌中,只有19.2%具有胞外蛋白质水解酶活性。也有研究人员^[30]发现酵母菌可以降解肌浆蛋白和肌纤维蛋白,生成多肽和游离氨基酸。肉制品酵母菌胞外酶活性与来源和种属无关,而是依赖于菌株特异性^[31]。要获得更多具有胞外蛋白酶活性的菌株还需进一步扩大筛选范围。

酵母菌可以代谢肉中的碳水化合物和氨基酸并产生相应的醇,也可将相应的醛(如3-甲基丁醛)还原为相应的醇类^[32]。将酵母菌接种进行强化发酵,不管是实验室模拟体系还是直接进行肉制品生产,虽然不同菌株之间存在一定差异,但是均可以产生较大比例的酯类和支链醛醇类物质^[9]。本试验没有观察到大量的酯类物质生成,这可能与模拟体系没有补充相应的醇和酸有关。Flores等^[10]报道接种酵母菌后观察到醛类物质减少,认为其抗氧化作用是通过氧气消耗和过氧化物降解活性来实现的。Purriños等^[12]同样发现干发酵香肠中接种酵母菌后有减少醛形成的趋势,推测可能是酵母菌抑制了酸败,降低了氧化程度。前文2.3.2节的结果也证明四川腊肉酵母菌具有广泛的过氧化氢酶活性,其具体原因还有待研究。

4 结论

对四川腊肉中微生物类群数量、酵母菌多样性进行研究,考察了部分酵母菌株的环境耐受性、胞外酶活性和产香性能,结果表明,四川腊肉中有非常丰富的酵母菌种资源,相当一部分菌株对肉制品加工环境具有良好的耐受性,且广泛具有胞外脂肪酶活性和过氧化氢酶活性。分析发现,这些优良菌株可以显著提高模拟肉汤培养基中支链醇类物质的含量,减少醛类物质的生成,可能在特定风味形成和延缓氧化方面具有潜在的应用价值。今后将进一步探索四川腊肉加工过程中酵母菌群演替规律,在更广泛的范围内筛选优良功能菌株。

参 考 文 献

- [1] 吉莉莉, 王卫, 陈林, 等. 成都地区传统酱风肉加工及其产品特性和浅发酵特征研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 106-112.
JI L L, WANG W, CHEN L, et al. Processing and product characteristics and shallow fermentation characteristics of sauce flavor preserved meat in chengdu[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(5): 106-112.
- [2] 甘潇, 李洪军, 贺稚非. 以不同比例 KCl 替代 NaCl 制备低盐腊肉其理化及品质特征的变化[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(9): 176-184.
GAN X, LI H J, HE Z F. Effect of partial replacement of NaCl with KCl on physicochemical and quality characteristics of Chinese bacon in processing [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(9): 176-184.
- [3] 宋忠祥, 樊少飞, 付浩华, 等. 低盐液熏腊肉加工工艺优化及品质分析[J]. 肉类研究, 2020, 34(7): 46-52.
SONG Z X, FAN S F, FU H H, et al. Processing optimization and quality analysis of low salt liquid smoked Chinese bacon[J]. Meat Research, 2020, 34(7): 46-52.
- [4] 龙强, 聂乾忠, 刘成国. 发酵肉制品功能性发酵剂研究现状[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 263-269.
LONG Q, NIE Q Z, LIU C G. State of the art of functional starters for fermented meat products [J]. Food Science, 2016, 37(17): 263-269.
- [5] OJHA K S, KERRY J P, DUFFY G, et al. Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 44(1): 105-116.
- [6] AMMOR M S, MAYO B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update[J]. Meat Science, 2007, 76(1): 138-146.
- [7] SANCHEZ MAINAR M, STAVROPOULOU D A, LEROY F. Exploring the metabolic heterogeneity of coagulase -negative staphylococci to improve the quality and safety of fermented meats: A review[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 247: 24-37.
- [8] FRANCIOSA I, ALESSANDRIA V, DOLCI P, et al. Sausage fermentation and starter cultures in the era of molecular biology methods [J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 279: 26-32.
- [9] FLORES M, CORRAL S, CANO-GARCIA L, et al. Yeast strains as potential aroma enhancers in dry fermented sausages[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 212: 16-24.
- [10] FLORES M, DURA M A, MARCO A, et al. Effect of *Debaryomyces* spp. on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages[J]. Meat Science, 2004, 68(3): 439-446.
- [11] MENDOZA L M, PADILLA B, BELLOCH C, et al. Diversity and enzymatic profile of yeasts isolated from traditional llama meat sausages from north-western Andean region of Argentina [J]. Food Research International, 2014, 62: 572-579.
- [12] PURRIÑOS L, CARBALLO J, LORENZO J M. The influence of *Debaryomyces hansenii*, *Candida deformans* and *Candida zeylanoides* on the aroma formation of dry-cured 'lacon'[J]. Meat Science, 2013, 93(2): 344-350.
- [13] PEROMINGO B, NUNEZ F, RODRIGUEZ A, et al. Potential of yeasts isolated from dry-cured ham to control ochratoxin A production in meat models[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 268: 73-80.
- [14] 柴子惠, 李洪军, 李少博, 等. 低盐腊肉贮藏期间菌相和理化性质的变化[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 201-206.
CHAI Z H, LI H J, LI S B, et al. Microbial, physical and chemical changes of low-salt Chinese bacon during storage [J]. Food Science, 2019, 40

- (11): 201–206.
- [15] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数: GB 4789.15–2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1–3.
- CFDA, NHFPC. National food safety standard, Food microbiological examination, Enumeration of moulds and yeasts: GB 4789.15–2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1–3.
- [16] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验: GB 4789.41–2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1–4.
- CFDA, NHFPC. National food safety standard, Food microbiological examination, Enterobacteriaceae: GB 4789.41–2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1–4.
- [17] 刘晓柱, 李银凤, 于志海, 等. 刺梨自然发酵过程中非酿酒酵母多样性分析[J]. 微生物学报, 2020, 60(8): 1696–708.
- LIU X Z, LI Y F, YU Z H, et al. Biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts during natural fermentation of *Rosa roxburghii*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(8): 1696–1708.
- [18] 乌日娜, 孟令帅, 王茜茜, 等. 延边泡菜品质评价以及耐盐酵母菌的筛选[J]. 食品科学, 2015, 36(5): 83–88.
- WU R N, MENG L S, WANG Q Q, et al. Quality evaluation of and salt-tolerant yeast screening from Yanbian Kimchi[J]. Food Science, 2015, 36(5): 83–88.
- [19] OZTURK I, SAGDIC O. Biodiversity of yeast mycobiota in ‘sucuk’, a traditional Turkish fermented dry sausage: Phenotypic and genotypic identification, functional and technological properties[J]. Journal of Food Science, 2014, 79(11): 2315–2322.
- [20] ANDRADE M A, CORDOBA J J, CASADO E. M, et al. Effect of selected strains of *Debaryomyces hansenii* on the volatile compound production of dry fermented sausage ‘salchichon’[J]. Meat Science, 2010, 85(2): 256–264.
- [21] ZHANG S, ZHANG C, QIAO Y, et al. Effect of Flavourzyme on proteolysis, antioxidant activity and sensory qualities of Cantonese bacon[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 779–785.
- [22] GUO X, HUANG F, ZHANG H, et al. Classification of traditional Chinese pork bacon based on physicochemical properties and chemometric techniques[J]. Meat Science, 2016, 117: 182–186.
- [23] TALON R, LEROY S, LEBERT I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters[J]. Meat Science, 2007, 77(1): 55–62.
- [24] LEROY F, VERLUYTEN J, DE VUYST L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 106(3): 270–285.
- [25] ASEFA D T, MORETRO T, GJERDE R O, et al. Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 133(2): 135–140.
- [26] ENCINAS J P, LÓPEZ-DÍAZ T M, GARCIA-LÓPEZ M L, et al. Yeast populations on Spanish fermented sausages[J]. Meat Science, 2000, 54: 203–208.
- [27] PURRIÑOS L, GARCIA FONTAN M C, CARBALLO J, et al. Study of the counts, species and characteristics of the yeast population during the manufacture of dry-cured ‘bacon’. Effect of salt level[J]. Food Microbiology, 2013, 34(1): 12–18.
- [28] COCOLIN L, URSO R, RANTSIOU K, et al. Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation of Italian sausages[J]. FEMS Yeast Research, 2006, 6(5): 692–701.
- [29] OZTURK I. Presence, changes and technological properties of yeast species during processing of pastirma, a Turkish dry-cured meat product[J]. Food Control, 2015, 50: 76–84.
- [30] CORRAL S, SALVADOR A, BELLOCH C, et al. Improvement the aroma of reduced fat and salt fermented sausages by *Debaryomyces hansenii* inoculation[J]. Food Control, 2015, 47: 526–535.
- [31] FLORES M, TOLDRÁ F. Microbial enzymatic activities for improved fermented meats[J]. Trends in Food Science & Technology, 2011, 22(3): 81–90.
- [32] ANDRADE M A, CORDOBA J J, CASADO E M, et al. Effect of selected strains of *Debaryomyces hansenii* on the volatile compound production of dry fermented sausage ‘salchichon’[J]. Meat Science, 2010, 85(2): 256–264.

Studies on the Diversity and Technological Properties of Yeast Isolated from Sichuan Bacon

Wang Song^{1,2}, Tang Lin¹, Guo Keyu¹, Liu Shuliang^{*}, Yang Yong¹

(¹College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan

²Key Laboratory of Sichuan Province for Solid Fermentation Resources and Utilization, Yibin University, Yibin 644000, Sichuan)

Abstract The number of microbial groups, pH and a_w values of 39 bacons collected from different regions of Sichuan were determined. The yeast strains were isolated and purified from the PDA counting plate, identified by morphological and biochemical characteristics combined with 26S rDNA D1/D2 region sequence, and evaluated biological and aroma-producing characteristics of 24 strains of yeast. The results showed that the range of a_w and pH of Sichuan bacon were 0.8–0.9 and 5.0–6.0 respectively except for a few samples. Lactic acid bacteria and *Staphylococci* are the dominant microorganisms in Sichuan bacon, and the number of yeasts in samples collected from mountainous areas all exceeded 4 lg (CFU/g). A total of 113 yeast strains were isolated from Sichuan bacon, including *Meyerozyma guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida zeylanoides*, *Cryptococcus albidus* and *Naganishia diffluens*, of which *M. guilliermondii* and *D. hansenii* were found as the dominant species accounted for 28.3% and 23.9%, respectively. Most of the tested strains exhibited good tolerance to processing environment and extracellular lipase and catalase activity. Interestingly, it can significantly increased the content of 3-methylbutanol and phenethyl alcohol and reduced the production of furfural, benzaldehyde and dimethyl benzaldehyde in the three inoculated groups. In conclusion, yeast of Sichuan bacon has rich diversity and good technological properties, and has potential application value and development prospects.

Keywords Sichuan bacon; yeast; diversity; technological properties; lipase