

保鲜乳酸菌在搅拌型酸乳中的应用研究

骆鹏飞, 俞兰秀

(绿雪生物工程(深圳)有限公司, 广东深圳 518015)

摘要: 对6组保鲜乳酸菌(RP80、RP81、RP82、YM-C、GP100、GP101)进行了以下几个方面的研究:在搅拌型酸乳发酵过程中对发酵剂产酸能力的影响、终止发酵后,4℃后熟24h对酸乳感官品质的影响、贮藏过程中对酸乳后酸的影响以及对酵母菌和霉菌的抑制作用。结果表明:这6组保鲜乳酸菌均对发酵剂的产酸能力没有影响;接入保鲜菌RP82的酸乳4℃后熟24h的感官评分最高,后酸变化趋势与对照组保持一致,无不良后味;6组保鲜菌在试验接种量下均对酵母菌和霉菌有抑制作用,其中RP80对酵母菌的抑制效果较好,YM-C对霉菌的抑制效果较好。

关键词: 保鲜乳酸菌;搅拌型酸乳;酵母菌;霉菌

文章编号: 1673-9078(2012)12-1769-1773

Application of Preservative *Lactic Acid Bacteria* in Stirred Yoghurt

LUO Peng-fei, YU Lan-xiu

(Lv Xue Bioengineering Limited Company, Shenzhen 518015, China)

Abstract: Six preservative lactic acid bacteria were tested for their influence on acid-producing ability of the starter in yoghurt fermentation. Effects of preservative lactic acid bacteria on sensory quality of stirred yoghurt at 4℃ after 24 h storage, thornier in storage process and inhibition of yeasts and moulds were investigated. The results showed that the selection of six test preservative lactic acid bacteria (RP80, RP81, RP82, YM-C, GP100 and GP101) did not affect the acid yield ability of the starter. Preservative bacteria RP82 showed the highest score in sensory evaluation. In addition, the thornier change trend of RP82 was consistent with control group in storage process. The yogurt added with RP82 showed no bad taste. All the tested preservative lactic acid bacteria exhibited inhibitory effect on yeasts and molds under the experiment conditions. Compared with other strains, RP80 exhibited better inhibitory effect on yeasts and YM-C exhibited better inhibitory effect on molds under the experiment conditions.

Key words: preservative lactic acid bacteria; stirred yoghurt; yeast; mould

牛乳是迄今为止人们从自然界中所获得的最接近完美的食物之一^[1]。酸乳是生牛乳或复原乳在经过标准化、均质及巴氏杀菌后,添加乳酸菌发酵剂发酵而成的乳制品^[2],按其成品的组织状态可分成凝固型、搅拌型和饮用型三类^[3]。酸乳不但含有新鲜牛奶丰富的营养物质,且口感酸甜细滑,具有特殊的医疗保健作用,如调整肠胃菌群、降低胆固醇、抑癌、预防便秘和细菌性腹泻、美容等疗效,倍受人们的喜爱,被称为“21世纪的食品”^[4]。搅拌型酸乳是指发酵乳经搅拌破乳、冷却后包装(包装过程可添加果料、香精等)而得的酸乳产品。酸乳生产在接种至包装为成品的过程中均不再进行杀菌处理,而接种前对原料乳进行的巴氏杀菌也只能杀死致病菌、嗜冷细菌等部分微生物。一般,酸乳发生变质的主要原因是污染了酵母菌和霉菌^[5]。

目前国内外延长酸乳货架期的方法主要有基因工

程和人工诱变育种、巴氏杀菌和超高温杀菌技术、调整保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的比例、添加细菌素等^[6-7]。生物保鲜是指通过添加天然物质、加入菌株本身或其抗菌产物来延长食品的货架期和保证食用安全性^[8]。乳酸菌是一类能在可利用的碳水化合物发酵过程中产生大量乳酸的细菌^[9]。在食品工业上,乳酸菌被广泛用作发酵剂来生产发酵食品,如酸奶、奶酪、香肠、鱼、面包、啤酒、葡萄酒、酸菜、泡菜等^[10]。大多数乳酸菌通常被认为是安全的^[11],乳酸菌对食品的生物保鲜作用是由于菌株代谢产生的有机酸、二氧化碳、乙醇、过氧化氢、双乙酰、细菌素和抗生素等^[12-13]。生物保鲜剂的种类虽然繁多,但是实际应用于酸乳生产的并不多^[14]。本研究通过将6组不同的保鲜乳酸菌应用于搅拌型酸乳,比较不同乳酸菌对酸乳发酵特性的影响及对酵母菌、霉菌的抑制效果,以期为保鲜乳酸菌的筛选和在酸乳中的应用提供参考。

1 材料与方法

收稿日期: 2012-07-20

作者简介: 骆鹏飞(1969-),男,助理工程师,研究方向为微生物工程

1.1 材料与试剂

生牛乳：温氏奶厂（理化指标和微生物指标符合 GB 19301 的要求，不含抗生素）；白砂糖：东莞制糖厂；果胶：丹尼斯克公司；发酵剂：汉森直投式菌种

F-L812；酵母：安琪面包酵母；霉菌孢子：置霉变的诉样酸奶于潮湿阴冷处 10d 后将孢子刮下。

滴定试剂：酚酞（0.5%）、氢氧化钠（0.1000 mol/L）
保鲜乳酸菌菌种组成及用量见表 1。

表 1 保鲜乳酸菌菌种组成和用量

Table 1 Strains and dosage of preservative lactic acid bacteria

菌种	菌种组成	公司	用量
RP80	植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌	普尔斯（天津）国际贸易有限公司	30DCU/t
RP81	鼠李糖乳杆菌	普尔斯（天津）国际贸易有限公司	30DCU/t
RP82	植物乳杆菌	普尔斯（天津）国际贸易有限公司	30DCU/t
YM-C	费氏丙酸杆菌、副干酪乳杆菌	丹尼斯克（中国）有限公司	200DCU/t
GP100	植物乳杆菌	润盈生物工程（上海）有限公司	20U/t
GP101	植物乳杆菌	润盈生物工程（上海）有限公司	20U/t

1.2 仪器与设备

电子秤、APV-1000/2000 高压均质机、DV-II 型数字粘度计、电子显微镜、血球计数器、冰箱、LRH-250A 生化培养箱、酸奶制备所需的其他仪器及工具。

1.3 方法

1.3.1 搅拌型酸乳配方

生牛乳 91.9%，白砂糖 8%，果胶 0.1%，对照组仅添加汉森直投式发酵剂 YF-L812（200 U/吨），试验组除添加直投式发酵剂 YF-L812 外，还分别添加 RP80、RP81、RP82、YM-C、GP100、GP101。

表 2 对照组和试验组菌种添加表

Table 2 Strains addition in the control group and the test group

对照组	试验组 1	试验组 2	试验组 3	试验组 4	试验组 5	试验组 6
YF-L812	YF-L812+RP80	YF-L812+RP81	YF-L812+RP82	YF-L812+YM-C	YF-L812+GP100	YF-L812+GP101

注：各菌种均需制备稀释液后接种，其添加量见表 1。

1.3.2 工艺流程

生牛乳、白砂糖、果胶→溶解（60~65℃/20 min）→均质（20 Mpa, 1 次）→杀菌（95℃, 5 min）→冷却（43~45℃）→接种→发酵（42℃, 5.5 h）→冷却→分装→接种酵母菌、霉菌（分别于 4℃ 和 25℃ 下贮藏）→观察、记录结果并分析。

1.3.3 蛋白质、脂肪、非脂乳固体含量的测定

蛋白质测定：GB 5009.5-2010；脂肪测定：GB 5413.3-2010；非脂乳固体测定：GB 5413.39-2010。

1.3.4 酸度测定

称取 10 g 酸乳置于 250 mL 三角瓶中，加入 20 mL 蒸馏水，以酚酞为指示剂，混匀后用 0.1000 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至微红色，并在 30 s 内不褪色，记录消耗 0.1000 mol/L 氢氧化钠标准溶液的毫升数乘以 10，即为酸度（°T）。

1.3.5 粘度测定

将酸乳倒入洁净烧杯中，用粘度计进行测定。

测定参数：转子型号 C，速度 10 r/min，时间间隔 3 s，在 4℃ 下测定数据点数 40 个。

1.3.6 酵母菌及霉菌孢子稀释液的制备及计数

酵母菌稀释液的制备：称取面包酵母粉溶于无菌水中配制成酵母菌稀释液。

霉菌孢子稀释液的制备：将卡士原味鲜酪乳开盖

后置常温下放置 20 d，将长在酸乳表面的霉菌孢子用无菌勺刮下，用无菌水配制成霉菌孢子稀释液。

酵母菌和霉菌孢子的计数参照 GB 4789.15-2010。

1.3.7 酸乳的感官评定

取适量酸乳置于 50 mL 烧杯中，在自然光下观察色泽和组织状态。闻其气味，用温开水漱口，品尝滋味。由 8 位有经验的研究人员根据搅拌型酸乳的组织状态、粘稠度、口感和风味这 4 方面进行评定，4 项分值的平均分之和即为感官评价总分。感官评定标准见表 3。

表 3 感官评定标准

Table 3 Standard of sensory evaluation

项目	评分标准	满分
组织状态	组织细腻、均匀,允许有少量乳清析出	20
粘稠度	黏稠度适中,无过稀或过稠感觉	30
口感	细腻滑润、爽口、酸甜适中	30
风味	滋味香气浓郁、清爽宜人,有酸奶特有香味、无异味	20

1.3.8 数据统计分析

试验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示（n=3），采用 SPSS 17.0 软件的 ANOVA 进行显著性比较（ $p < 0.05$ ）。

2 结果与分析

2.1 生牛乳成分测定

蛋白质含量 3.06%，脂肪含量 3.65%，非脂乳固体含量 8.28%。

2.2 保鲜乳酸菌对酸乳发酵过程中产酸的影响

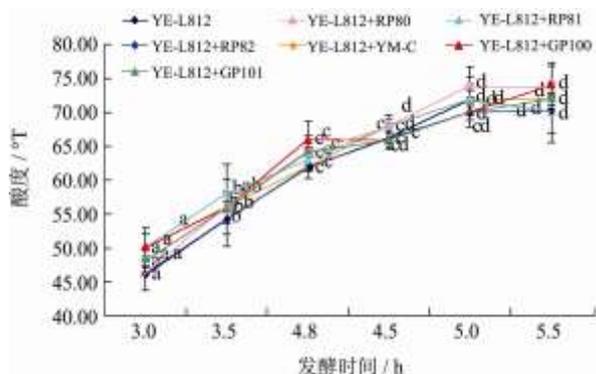


图 1 各保鲜乳酸菌对酸乳发酵过程产酸的影响

Fig.1 Effect of lactic acid bacteria on acidity in the process of fermentation

注：与同组 3.0 h 比较，不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

对照组和试验组在 42 °C 下发酵 3 h 后，每隔 30 min 取样测定酸度直至 5.5 h 发酵结束，发酵过程中酸度变化见图 1。

由图 1 可以看出，随着发酵时间的延长，酸度逐渐增加。这是由于发酵剂作用乳糖同型发酵产生乳酸。与对照组相比，试验组添加的 6 组保鲜乳酸菌均对汉森直投式发酵剂的产酸能力没有影响，酸度变化趋势与对照组一致，不影响酸奶的发酵速度。发酵 5.5 h 结束后，各个试验组和对照组酸度无显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.3 保鲜乳酸菌对酸乳感官的影响

终止发酵后，将发酵乳破乳搅拌均匀置于 4 °C 冰箱中后熟 24 h。测定酸乳的酸度、粘度并进行感官评定，结果如表 4 所示。

表 4 添加不同保鲜乳酸菌所得发酵产物的酸度和粘度

Table 4 Acidity and viscosity of stirred yoghurt by added different preservative lactic acid bacteria

指标	组别						
	YF-L812	YF-L812+RP80	YF-L812+RP81	YF-L812+RP82	YF-L812+YM-C	YF-L812+GP100	YF-L812+GP101
酸度/°T	72.00±0.48	74.00±2.90	70.00±2.96	70.00±4.44	72.00±0.18	72.00±3.45	72.00±0.83
粘度/mPa·s	5105±105.50	5054±174.60	5248±227.89	5612±526.54	5387±338.86	5295±271.49	5004±352.46

由表 4 可以看出，试验组酸乳的酸度值范围在 70~74 °T 之间，与对照组 72 °T 相比差异不显著 ($p < 0.05$)。试验组 2~5 即分别添加 RP81、RP82、YM-C 和 GP100 的酸乳粘度较对照组有所提高，但差异不显著 ($p < 0.05$)。由此可见，添加的各组保鲜

乳酸菌在酸乳经 4 °C 后熟 24 h 后，对酸乳的酸度和粘度值影响均不显著 ($p < 0.05$)。

酸乳后熟 24 h 之后，对酸乳进行感官评定，其结果如表 5 所示。

表 5 感官评定结果

Table 5 Results of sensory evaluation

组别	组织状态	粘稠度	口感	风味	感官评分
YF-L812	均匀细腻	滑度一般,不拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,无异味	70
YF-L812+RP80	均匀细腻	滑度一般,不拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,无异味	70
YF-L812+RP81	均匀细腻	滑度中等,不拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,无异味	75
YF-L812+RP82	均匀细腻	滑度佳,略拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,体现良好奶油感,无异味	80
YF-L812+YM-C	均匀细腻	滑度佳,略拉丝	润滑、酸甜适中	体现较明显乳酸类风味,酸感略显刺激	65
YF-L812+GP100	均匀	颗粒感较强,不拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,无异味	65
YF-L812+GP101	均匀细腻	滑度较好,不拉丝	润滑、酸甜适中	正常温和发酵风味,无异味	75

由表 5 可知，添加 RP82 的酸乳感官评分最高。添加 RP81 和 GP101 的感官评分次之，再次是添加 RP80 的酸乳。添加 YM-C 和 GP100 的感官评分最低。但添加 YM-C 制得的酸乳体现较明显乳酸类风味，酸感略显刺激。添加 RP82 感官评分最高且不影响发酵剂的产酸能力，后酸变化趋势与对照组一致，无不良后味。

2.4 保鲜乳酸菌对酸乳贮存过程中后酸的影响

4 °C 冰箱中后熟 24 h 后，在 4 °C 的贮存条件下每隔 3 d 测定一次酸度，连续测定 21 d，测定贮存期间酸度变化情况，其酸度随贮存时间变化的曲线如图 2 所示。

酸乳发酵结束进入冷藏后熟阶段，酸度仍会缓慢增加。和图 1 发酵过程中酸度增加趋势相比，贮存过程中酸度增加趋势减缓。在冷藏期间，发酵剂中的嗜酸乳杆菌继续生长繁殖分解乳糖产生乳酸，使发酵乳

的酸度继续升高。随着贮存时间的延长,酸度逐渐趋于平稳。试验组在贮存过程中酸度变化趋势与对照组相一致。

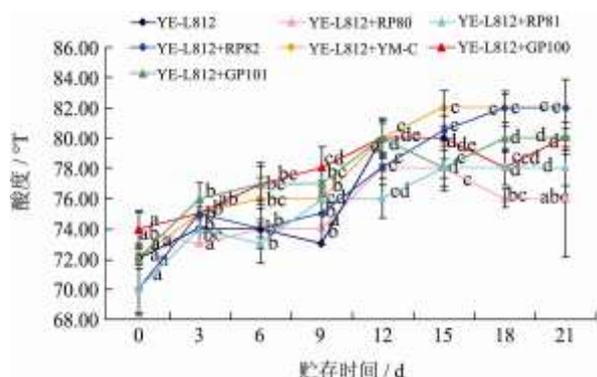


图2 各保鲜乳酸菌对酸奶贮存过程中后酸的影响

Fig.2 Effect of lactic acid bacteria on acidity in the process of storage

注:与同组0d比较,不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

2.5 保鲜乳酸菌对酵母菌和霉菌的抑制效果

酵母菌和霉菌的最适生长 pH 值分别为 4.0~5.8 和 3.8~6.0^[5]。酸奶的 pH 值为 4.2~4.7,有利于酵母菌和霉菌的生长。

2.5.1 保鲜乳酸菌对酵母菌的抑制效果

参照 GB 4789.15-2010 计得 1.3.6 中酵母菌含量为 2.5×10^4 个/mL。以 200 个/100 g 酸乳的接种量将酵母菌分别接入对照组和试验组,搅拌均匀后分为 2 份(各 5 杯平行样),一份置于 4 °C 冰箱贮存,一份置于 25 °C 培养箱贮存,观察发酵乳表面的产气情况。

在 4 °C 的贮存条件下,试验接种量下的酵母菌在酸乳中处于休眠状态。连续观察 21 d 对照组和试验组中均未观察到酵母产气现象。

表 6 25 °C 贮存条件下保鲜菌抑制酵母产气效果

Table 6 Inhibitory effect of lactic acid bacteria on yeast at the storage temperature 25 °C

组别	抑制结果						
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
YF-L812	-	1 杯出现侧裂痕,少量产气	产气,浓酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味
YF-L812+RP80	-	-	-	-	-	轻微	少量,轻微酒味
YF-L812+RP81	-	-	-	-	轻微	少量,轻微酒味	产气,浓酒味
YF-L812+RP82	-	-	-	-	少量,轻微酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味
YF-L812+YM-C	-	-	-	-	轻微	少量,轻微酒味	产气,浓酒味
YF-L812+GP100	-	-	-	-	少量,轻微酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味
YF-L812+GP101	-	-	-	-	少量,轻微酒味	产气,浓酒味	产气,浓酒味

注:“-”表示不产气。

从表 6 可以看出,25 °C 的贮存条件下,对照组在贮存第 2 d 开始产气,而试验组对酵母产气均有一定的抑制作用。其中添加有 RP81、RP82、YM-C、GP100、GP101 的酸乳从第 5 d 开始产气。添加 RP80 的酸乳在第 6 d 才出现轻微产气现象,其对酵母菌的抑制效果最好。综上,可以看出 6 种保鲜乳酸菌明显抑制了酸乳在常温贮存过程中酵母菌的生长。

2.5.2 保鲜乳酸菌对霉菌的抑制效果

参照 GB 4789.15-2010 计得 1.3.6 中霉菌孢子含量为 4.5×10^4 个/mL。以 100 个/100g 酸乳的比例将霉菌孢子分别接入对照组和试验组,搅拌均匀后分为两份(各 5 杯平行样),一份置于 4 °C 冰箱贮存,一份置于 25 °C 培养箱贮存,观察发酵乳表面长霉情况。如 1 杯样品中发现有长霉现象,结果记为 1/5。

在 4 °C 的贮存条件下,试验接种量下的霉菌在酸乳中处于休眠状态。连续观察 21 d 对照组和试验组中均未观察到长霉现象。

表 7 25 °C 贮存条件下保鲜菌抑制霉菌长霉效果

Table 7 Inhibitory effect of lactic acid bacteria on mould at the storage temperature 25 °C

组别	抑制结果						
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
YF-L812	无	无	2/5	长霉	长霉	长霉	长霉
YF-L812+RP80	无	无	无	小霉	小霉	长霉	长霉
YF-L812+RP81	无	无	1/5	小霉	长霉	长霉	长霉
YF-L812+RP82	无	无	1/5	小霉	长霉	长霉	长霉
YF-L812+YM-C	无	无	无	无	小霉	长霉	长霉
YF-L812+GP100	无	无	2/5	长霉	长霉	长霉	长霉
YF-L812+GP101	无	无	无	小霉	长霉	长霉	长霉

由表 7 可以看出,在 25 °C 的贮存条件下,对照组从第 3 d 开始有 2 杯长霉且随后霉菌的生长速度很快。试验组在观察的天数内缓慢地长霉,其中试验组 4 即添加 YM-C 保鲜菌的酸乳从第 5 d 开始长霉,其抑制霉菌的效果与其它保鲜菌相比较好。

3 结论

贮藏期内保持 4 ℃低温,在试验接种量下的酵母菌和霉菌都处于休眠状态,可以看出低温冷链对于保障酸奶的品质是至关重要的。25 ℃贮藏条件下,添加保鲜乳酸菌的酸乳较未添加保鲜菌的酸乳延缓了酸乳的酵母产气和长霉现象,降低了酸乳对冷链的依赖。并且添加的保鲜乳酸菌不影响发酵剂的产酸能力,对发酵后酸乳的感官特征也无不良影响。

参考文献

- [1] 陈春艳,陈亚玲.凝固型混合果汁酸牛奶的研制[J].现代食品科技,2009,25(7):810-812
- [2] 丁秀英,郑兰波,沈晓华,等.乳酸卫生标准[S].中华人民共和国国家标准,GB19302
- [3] 谢继志.液态乳制品科学与技术[M].中国轻工业出版社,2000
- [4] 赖钞艺,周雪松,曾建新.脱脂凝固型酸奶的研制[J].现代食品科技,2011,27(11):1379-1381
- [5] 董建辉,胡道静.浅议酸乳加工中的质量控制[J].食品科学,2006,27(10):668-672
- [6] 郭清泉,张兰威,林淑英.酸奶发酵机理及后酸化控制措施[J].食品与发酵工业,2000,27(2):80-83
- [7] 李向东,吕加平,范贵生.长保质期酸乳的研究进展[J].食品与发酵工业,2006,32(10):119-122
- [8] Johan Schnürer, Jesper Magnusson. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives[J]. Trends in Food Science & Technology, 2005, 16: 70-78
- [9] 张刚.乳酸细菌-基础、技术和应用[M].第一版.北京:化学工业出版社,2007
- [10] P Calo-Mata, S Arlindo, K Boehme, et al. Current Applications and Future Trends of Lactic Acid Bacteria and their Bacteriocins for the Biopreservation of Aquatic Food Products [J]. Food Bioprocess Technol, 2008, 1: 43-63
- [11] Silva J, Carvalho AS, Teixeira P, et al. Bacteriocin production by spray-dried lactic acid bacteria [J]. Letters in Applied Microbiology, 2002, 34(2): 77-81
- [12] Atrih A, Rekhif N, Moir AJG, et al. Mode of action, purification and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-Listeria bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 68: 93-104
- [13] Hötzel A, Gänzle MG, Nicholson GJ, et al. The first low-molecular-weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetrameric acid [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2000, 39: 2766-2768
- [14] 朱军莉,王晔,励建荣.生物保鲜乳酸菌的筛选及其细菌素特性研究[J].中国酿造,2010,5:42-46
- [15] 李春梅,程清海.提高酸奶保质期的研究[J].硅谷,2009,7:5