

不同乳酸菌对凝固型荔枝酸奶的 发酵特性和质构的影响

吴倩^{1,2}, 余元善², 徐玉娟², 吴继军², 肖更生², 温靖², 邹波²

(1. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 以纯牛奶和荔枝汁为主要原料, 以干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌为发酵菌种, 探讨三种乳酸菌的不同组合发酵对凝固型荔枝酸奶的发酵特性和质构的影响。结果表明: 干酪乳杆菌产胞外多糖能力较强, 单独发酵时胞外多糖含量达到 22.50 g/L, 而嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌单独发酵时胞外多糖的含量分别为 5.73 g/L 和 0.29 g/L; 各种不同乳酸菌组合发酵后酸奶的表观粘度和持水力与胞外多糖的含量呈正相关($R^2=0.98$); 干酪乳杆菌产酸能力弱, 单独发酵后 pH 高于其它添加有嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的组合, 导致酸奶的硬度偏低, 但干酪乳杆菌联合嗜热链球菌或保加利亚乳杆菌发酵时, 发酵酸奶的硬度和乳酸菌活菌数均明显优于单独发酵组。因此, 当干酪乳杆菌与嗜热链球菌及保加利亚乳杆菌联合发酵时, 能充分发挥三个菌种的各自优势, 菌落总数、胞外多糖含量和质构均能达到较好的品质水平。

关键词: 乳酸菌; 荔枝汁; 凝固型酸奶; 发酵特性; 质构

文章编号: 1673-9078(2019)07-99-106

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.7.014

Effects of Different Lactic Acid Bacteria on Fermentation Characteristics and Texture of Set-style Yogurt Fortified with Lychee Juice

WU Qian^{1,2}, YU Yuan-shan², XU Yu-juan², WU Ji-jun², XIAO Geng-sheng², WEN Jing², ZOU Bo²

(1. College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(2. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: Pure milk and lychee juice were used as the main raw materials, with *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* as fermentation strains. The effects of different combinations of three lactic acid bacteria on the fermentation characteristics and texture of set-style yogurt fortified with lychee juice were investigated. The results showed that *L. casei* showed relatively high ability to produce exopolysaccharide, with the exopolysaccharide content reaching 22.50 g/L when used alone (compared to 5.73 g/L and 0.29 g/L for the fermentation using *S. thermophilus* or *L. bulgaricus* alone). After fermentation with different combinations of the three bacteria, the apparent viscosity and water-holding capacity of the yoghurts were positively correlated ($R^2 = 0.98$) with exopolysaccharide content. The *L. casei* showed a weak acid-producing ability, and the pH after fermentation with the strain alone was higher causing lower hardness, compared with those for the fermentation with its combinations of *S. thermophilus* or *L. bulgaricus*. However, the hardness and number of viable lactic acid bacteria were significantly ($p < 0.05$) higher for the yoghurt fermented by *L. casei* combined with *S. thermophilus* or *L. bulgaricus*, compared with those fermented with *Lactobacillus casei* alone. Therefore, when the fermentation is performed using the combination of *L. casei* with *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*, the advantages of the three strains can be fully utilized, and the total number of colonies, exopolysaccharide content and texture can reach a higher quality level.

Key words: lactic acid bacteria; litchi juice; set-style yogurt; fermentation characteristics; texture

收稿日期: 2018-12-18

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0400703); 广东省自然科学基金研究团队项目(2015A030312001); 广州市科技计划项目(201704020037)

作者简介: 吴倩(1993-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品工程

通讯作者: 余元善(1983-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品发酵工程

乳酸菌具有调节胃肠道菌落, 维持人体器官微生态平衡, 提高食物消化的能力, 改善胃肠道功能, 降低胆固醇, 提高身体免疫力等多种功能和优点。目前, 含有益生菌的发酵乳制品已经大量投入市场, 最常用的益生菌有嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌、发酵乳杆菌和双歧杆菌等, 其中嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌是较为常用的三种乳酸菌益生菌^[1]。

近些年来, 随着人们生活水平的提高和工作步伐的加快, 人们越来越关注自身健康和生活质量, 从而对饮食提出更高层次的要求, 新鲜的水果和蔬菜含有的维生素是人体必需的营养物质, 具有能够促进机体的新陈代谢, 维持身体酸碱平衡, 延缓衰老等功能^[2], 如果一种饮品能同时含有多种有益的物质, 并且能够符合大众口味, 必将受到消费者的青睐。将水果和蔬菜等加入到复原乳中, 再接入乳酸菌发酵开发的营养丰富且风味独特的乳酸菌奶制品正在成为市场的“新宠”, 李雅乾等^[3]对双歧杆菌与乳酸菌混合发酵胡萝卜牛乳饮料进行了工艺研究, 研发了混合菌种进行单一蔬菜汁发酵奶饮料。郑凤锦等^[4]还对香蕉酸奶的发酵工艺进行了优化, 并进行了质构特性研究。秦涛等^[5]发现将传统乳酸菌与益生菌混合发酵后的酸乳可以弥补单纯菌种发酵时的风味不足, 产酸能力弱与发酵时间长等问题, 从而改善了酸乳的适口性, 同时也证明了这些菌种之间存在共生关系。

荔枝为岭南佳果, 色、香、味皆美, 驰名中外, 有“果王”之称。荔枝汁呈乳白色, 含有多种维生素、有机酸、糖分、蛋白质以及大量游离的精氨酸和丝氨酸, 并含有丰富的多酚和花色苷等生物活性物质^[6]。前面的研究发现, 荔枝汁所富含的营养成分能够很好地促进乳酸菌的生长, 且发酵后果汁产品的风味也能被消费者接受, 并且发现通过干酪乳杆菌发酵荔枝汁, 可以产生大量的胞外多糖^[7,8]。胞外多糖可以改善酸奶的质地, 能进一步改善酸奶的口感和益生功能。本文在前面的研究基础上, 比较不同的乳酸菌组合对荔枝酸奶发酵特性(菌落总数、pH、可滴定酸、糖组成、胞外多糖含量)和质构(表观粘度、持水力、硬度、显微结构等)的影响, 以期指导荔枝酸奶的生产工艺优化和品质改善。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

荔枝, 购买于广东广州生鲜市场; 伊利纯牛奶, 购买于广东广州中百超市; 干酪乳杆菌、嗜热链球菌

和保加利亚乳杆菌购自于上海润盈生物工程有限公司; MRS 培养基和肉汤广东环凯微生物科技有限公司; 浓硫酸天津市进丰化工有限公司; 苯酚天津市科密欧化学试剂有限公司; 氢氧化钠天津市福晨化学试剂厂; 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

UHT 灭菌装置, 上海雅程有限公司; 榨汁机, 美的集团公司; 生化培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 无菌操作台, 苏净集团苏州安康空气技术有限公司; UV1800 型紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; PB-10 型 pH 计, Sartorius 公司; Agilent 1200 series 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦科技有限公司; TA.XTPlus 质构仪, 英国 Stable Micro System 公司; CR22GIII 高速冷冻离心机, 日本日立公司; AR1500 流变仪, 美国 TA 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 荔枝汁凝固型酸奶的制备

将荔枝鲜果的皮壳和核去掉, 用打浆机打浆, 过两层纱布, 再于 5000 r/min 离心 5 min, 即得荔枝清汁, 获得的荔枝清汁用柠檬酸钠调 pH 为 6.20, 按照荔枝汁 15% (m/m), 蔗糖 7% (m/m) 的比例将其与纯牛奶混合^[9], 加热煮沸 10 min, 灌装入 100 mL 酸奶瓶中, 每瓶分别接入各组合菌种(混合菌种比例为 1:1, 每瓶接种量共 7.01 lg cfu/mL 左右), 置于 37 °C 培养箱中培养 8 h。

1.3.2 胞外多糖的提取^[10]

取 600 μ L 发酵酸奶与 300 μ L 40% 的三氯乙酸混合, 在 -20 °C 冰箱中放置 10 min, 接着于 4 °C 放置 2 h, 12000 r/min 离心 5 min 去除菌体和杂蛋白, 接着, 取 200 μ L 上清液与 1 mL 冰冷的无水乙醇混合, 置于 4 °C 冰箱中过夜, 同样 12000 r/min 离心 5 min 收集多糖沉淀, 沉淀经 75% 的乙醇清洗两遍。

1.3.3 多糖含量的测定

样品中提取的胞外多糖用 1 mL 蒸馏水溶解, 把 1 mL 的溶解液移至 10 mL 试管中, 加入 0.50 mL 6% 苯酚溶液及 2.50 mL 浓硫酸, 充分震荡摇匀, 室温放置 20 min 后, 测定在 490 nm 波长处吸光度, 结果以葡萄糖计。

1.3.4 表观粘度的测定

粘度采用 AR1500 型流变仪测定, 测定时使用 60 mm、20 锥板下的流变模式, 测定温度为 25 °C, 剪切速率为 0.1~100 s⁻¹, 样品点选定为 30 个。结果以剪切速率为 30 s⁻¹ 时的粘度表示。

1.3.5 持水力的测定

首先称量空的 50 mL 离心管的质量 W_0 , 每个离心管中加入 30 g 发酵好的样品, 并称量总质量 W_1 , 于 4 °C 条件下, 3000 r/min 离心 10 min, 弃去上清, 倒置 10 min 后, 称量总质量 W , 平行测 3 次取平均值。持水力的计算公式为:

$$\text{持水力} = (W - W_0) / (W_1 - W_0) \times 100\%$$

1.3.6 pH 和滴定酸度的测定

pH 值采用 pH 计测定。滴定酸度的测定: 按照 GB 5413.34-2010 《乳和乳制品酸度的测定》, 采用滴定法测定^[11]。

1.3.7 乳酸菌活菌数的测定

参考 GB 4789-2010 乳酸菌菌落总数的测定方法^[12]。

1.3.8 质构测定

样品于 4 °C 冰箱中贮存 24 h 后取出待其达到室温, 采用 TA.XTPlus 质构仪测定样品质构指标。采用 TPA 测试, 选用 P50 探头, 测试距离为 10 mm, 触发点为 5 g, 测前速度 1 mm/s, 测中速度为 1 mm/s, 测后速度为 5 mm/s。

1.3.9 糖组分测定

糖组分(果糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖)采用 HPLC 法进行测定。发酵酸奶与无水乙醇 1:3 (V/V) 混合, 置于 70 °C 水浴锅中, 水浴 30 min; 取水浴后上清液 1 mL 与无水乙醇 1:3 (V/V) 混合, 室温下 10000 r/min 离心 10 min, 上清液过 0.22 μm 滤膜后用于 HPLC 分析。色谱柱: Shodex Asahipak NH2 P-50 4E(4.6 mm×250 mm); 柱温: 30 °C; 检测器: 蒸发光(ELSD)检测器; 流动相: 乙腈:H₂O (V/V) =3:1; 流速: 1.0 mL/min。进样量为 10 μL, 并采用外标(葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖为标准品)法定量。

1.3.10 显微结构的测定

酸奶样品提取酸奶表面下 1 cm。样品在 60 °C 下干燥, 干燥的样被切成 1 mm 厚的方块, 随后被 2.5% 的戊二醛缓冲液在室温下固定 2 h, 然后在 4 °C 下固定 24 h^[13]。固定后的样用磷酸缓冲液清洗, 然后用不同浓度的乙醇分级脱水(在 50%、60%、70%、80%、90%、100%各脱水 0.5 h), 然后用冷冻干燥机干燥。酸奶处理样的微观结构观察使用的是高真空电子扫描显微镜(SU8020, 日立, 日本), 离子溅射喷金后进行, 电压 10 kV。

1.4 统计分析

所有的不同处理均重复三次, 数据结果采用统计软件 SPSS 19.0 进行方差分析(Duncan's multiple

rangetests), 数值以平均值±SD 表示, 并用 Origin 8.5.1 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶胞外多糖浓度的影响

不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶胞外多糖浓度的影响如表 1 所示。由表 1 可知, 发酵 8 h 后, 三种乳酸菌的胞外多糖产生量表现出显著性差异($p < 0.05$)。单独用干酪乳杆菌发酵酸奶的胞外多糖浓度达到 22.50 g/L, 是单独用嗜热链球菌发酵和保加利亚乳杆菌发酵酸奶的 3.90 倍和 77 倍。将干酪乳杆菌分别和保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌联合发酵, 可以显著提高胞外多糖的产生量。乳酸菌胞外多糖是乳酸菌在生长代谢过程中分泌到细胞壁外常渗于培养基的一类糖类化合物, 有的依附于微生物细胞壁形成荚膜, 称为荚膜多糖, 有的则进入培养基形成粘液, 称为粘液多糖, 它们都是微生物适应环境的产物^[14,15]。胞外多糖多用于乳制品中, 含有胞外多糖的发酵剂可以为乳制品提供粘度、稳定性和保水性, 使产品具有良好的口感、质地和风味^[16]。

表 1 菌种对荔枝汁凝固型酸奶胞外多糖浓度的影响

Table 1 Effect of strains on extracellular polysaccharides of lychee juice-solidified yoghurt

菌种组合	多糖浓度/(g/L)
干酪乳杆菌	22.50±0.23 ^a
保加利亚乳杆菌	0.29±0.02 ^f
嗜热链球菌	5.73±0.04 ^e
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌	20.97±0.16 ^b
干酪乳杆菌+嗜热链球菌	17.37±0.18 ^c
保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	6.00±0.07 ^e
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	11.70±0.56 ^d

注: a、b、c 表示同一列各数值之间的显著性差异($p < 0.05$)。下表同。

2.2 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶表观粘度的影响

不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶表观粘度的影响如图 1 所示, 由图 1 可以看出, A 组酸奶的粘度最大, 达到了 394.20 MPa·s, A+C 组与 C、B+C 组无显著性差异($p > 0.05$), A+B+C 组与 C、A+B、A+C 组也无显著性差异($p > 0.05$)。影响粘度测定的因素较多, 在测

定的过程中由于各种因素会使得数据出现波动,但添加了干酪乳杆菌的A、A+B、A+B+C组酸奶的粘度值相对于B、B+C组仍较大,这表明干酪乳杆菌发酵可以提高荔枝酸奶的粘度值。也有文献表明酸奶的表观粘度与胞外多糖的含量具有一定的关系,多糖浓度的增加,表观粘度也随之增加^[17]。粘度是酸奶在发酵中至关重要的一个指标,产粘高的菌株不但可以带来良好的口感,也会取代增稠剂等添加剂。李伟欣等^[18]研究发现当双歧杆菌 22-5 胞外多糖的添加量为 12.00 g/L 时能显著提高酸奶粘度。

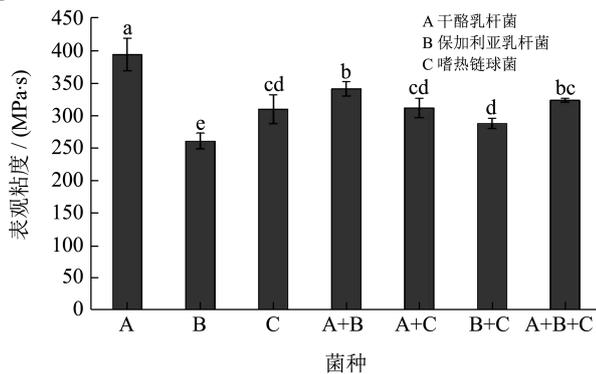


图1 菌种对荔枝汁凝固型酸奶表观粘度的影响

Fig.1 Effect of strain on apparent viscosity of lychee juice solidified yogurt

注: a、b、c 表示不同组之间的显著性差异 ($p < 0.05$)。下同。

2.3 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶持水力的影响

影响

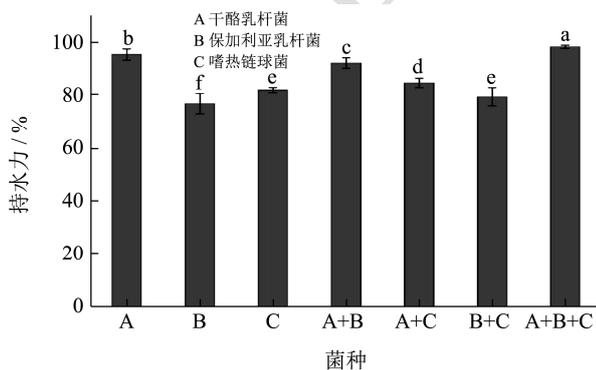


图2 菌种对荔枝汁凝固型酸奶持水力的影响

Fig.2 Effect of strains on water holding capacity of lychee juice solidified yogurt

酸奶持水力测定的是酸乳凝胶在经过高速离心后,对体系中各种水及其他小分子物质总的保持能力。不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶持水力的影响如图2所示,由图2可知,A、A+B、A+B+C组酸奶的持水力都高于90%,B、B+C组酸奶的持水力都小于80%,

表明将干酪乳杆菌联合保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵,可以提高其发酵酸奶的持水力。酸奶的持水力受总固形物和总蛋白含量的影响,持水力越高说明这种凝胶体系的大分子可以通过较强的作用力对较多的水分子结合,这种产品中结合水的含量也越高,稳定性也越好^[19,20]。而且,酸奶持水力与酸奶表观粘度密切相关,随着酸奶粘度增加,乳蛋白胶体结构结合加强,乳清析出降低,所以持水力也随之增加。

2.4 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶 pH 和滴定

酸度的影响

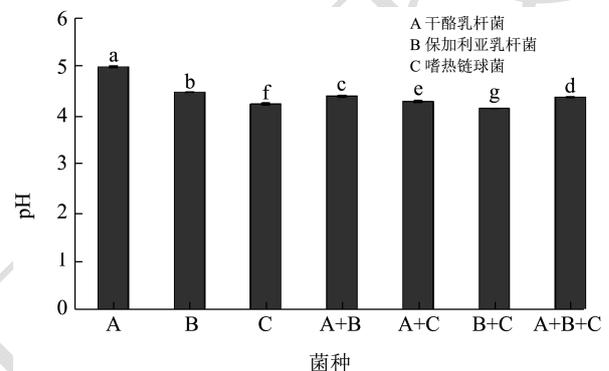


图3 菌种对荔枝汁凝固型酸奶 pH 的影响

Fig.3 Effect of strain on pH of lychee juice solidified yogurt

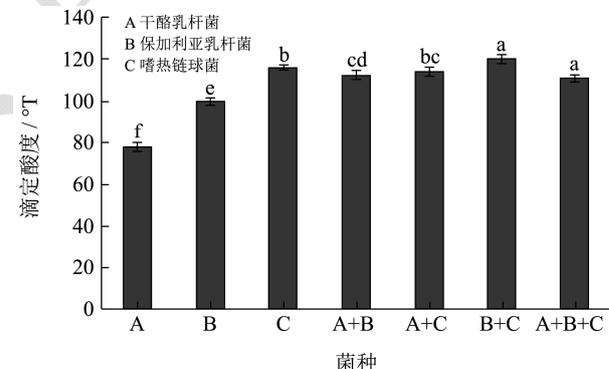


图4 菌种对荔枝汁凝固型酸奶滴定酸度的影响

Fig.4 Effect of strains on titration acidity of lychee juice solidified yogurt

不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶 pH 的影响如图3所示。常乳的 pH 约为 6.70,此时酪蛋白胶束表面带有负电荷,酸奶在发酵后 pH 值都降低。由图3可知,8 h 发酵结束后,A组 pH 为 5.01,B组 pH 为 4.49,C组 pH 为 4.25;A+B、A+C、A+B+C 组的 pH 要高于 B、C、B+C 组的 pH,表明干酪乳杆菌在 37 °C 条件下产酸能力较弱,将干酪乳杆菌联合保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵,既能保证酸乳的酸度要求,又能改善酸乳的质感。有研究表明^[21],干酪乳杆菌具有在低温下生长产酸的特性,当主发酵剂产酸导致发酵

结束时,干酪乳杆菌在冷藏后熟过程中继续产酸发酵,会导致发酵乳的滴定酸度增加。

滴定酸度能够反映发酵乳中的酸性物质可能产生的全部氢离子的总量,因此,研究滴定酸度可更好的了解不同发酵条件下的发酵乳的产酸情况。不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶滴定酸度的影响如图 4,由图 4 可知,滴定酸度的测定结果与 pH 值基本是相对应的,pH 与滴定酸度的相关系数为-0.996 ($p<0.01$)。A 组滴定酸度为 78 °T,而其他六组的滴定酸度均大于 80 °T,GB 2746-85 中规定发酵乳的滴定酸度为 80~120 °T,说明单独用干酪乳杆菌发酵无法达到发酵乳的酸度要求。此外,乳酸菌发酵产生凝乳与体系酸度之间存在显著相关,这与三种乳酸菌发酵酸奶的硬度值相符。

2.5 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶乳酸菌总数的影响

菌种对荔枝汁凝固型酸奶乳酸菌总数的影响如表 2 所示。由表 2 可知,三组单种菌发酵酸奶的乳酸菌总数都要低于两种和三种乳酸菌联合发酵,其中三种乳酸菌联合发酵 8 h 后,乳酸菌活菌数达到 9 个对数值,乳酸菌活菌数是干酪组的 2.98 倍、保加组的 11.56 倍、嗜热组的 4.40 倍,这是由于菌株间的共生性促进混菌活菌数的增加。同时,添加了干酪乳杆菌发酵酸奶的乳酸菌总数明显高于其他酸乳的乳酸菌总数,这可能与干酪乳杆菌产较多胞外多糖有关,胞外多糖对乳酸菌的增殖有显著的促进作用,可以改善酸乳的组织形态、提高酸乳的营养价值^[22],但乳酸菌活菌数过高会使得酸奶后酸化严重,不利于后期的贮藏和产品的品质。乳酸菌数量不仅能够反映出酸乳的发酵程度,还能反映出酸乳营养价值的高低。据报道当酸奶被饮

用时,其中的乳酸菌活菌数的含量必须要大于 6.00 lg cfu/mL,才会有乳酸菌在人体肠道中存活从而发挥乳酸菌对人体的保健作用。

表 2 菌种对荔枝汁凝固型酸奶菌落总数的影响

Table 2 Effect of strains on the total number of colonies of

lychee juice-solidified yogurt

菌种组合	乳酸菌菌落总数/(lg cfu/mL)
干酪乳杆菌	8.79±0.02 ^c
保加利亚乳杆菌	8.20±0.01 ^e
嗜热链球菌	8.62±0.05 ^d
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌	8.92±0.03 ^b
干酪乳杆菌+嗜热链球菌	8.97±0.02 ^b
保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	8.91±0.10 ^b
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	9.27±0.04 ^a

2.6 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶糖组分的影响

不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶糖组分的影响如表 3 所示。由表 3 可知,发酵 8 h 后,七组菌种发酵酸奶的蔗糖含量都减少,其中干酪、保加、干酪+嗜热、保加+嗜热、干酪+保加+嗜热组蔗糖利用率达到 50%,嗜热组蔗糖利用率达到 70%,干酪+保加组蔗糖利用率仅为 37.50%,可以看出嗜热链球菌对糖的利用率高,代谢过程快,这也与发酵乳的产酸情况一致。由于干酪乳杆菌、嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌产胞外多糖的含量不同,其多糖的分子量也不同,所以三种菌对蔗糖和乳糖的消耗利用以及转化情况有很大差异,导致发酵之后果糖含量有显著差异 ($p<0.05$)。

表 3 菌种对荔枝汁凝固型酸奶糖组分的影响

Table 3 Effect of strains on the sugar component of lychee juice solidified yogurt

项目	果糖/(g/L)	葡萄糖/(g/L)	蔗糖/(g/L)	乳糖/(g/L)
初始糖含量	11.70±1.02 ^e	20.35±0.35	72.18±1.10 ^a	39.79±1.12 ^a
发酵 8 h 后				
干酪乳杆菌	13.62±1.01 ^c	ND	35.07±1.01 ^e	34.58±1.00 ^c
保加利亚乳杆菌	8.84±1.11 ^f	ND	36.29±1.21 ^{cd}	28.99±1.32 ^e
嗜热链球菌	11.35±0.87 ^e	ND	21.34±1.13 ^g	29.30±1.04 ^e
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌	14.47±1.03 ^b	ND	45.07±2.03 ^b	37.33±0.28 ^b
干酪乳杆菌+嗜热链球菌	16.04±1.21 ^a	ND	33.02±1.02 ^f	33.62±1.03 ^d
保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	11.93±0.56 ^{de}	ND	35.65±0.63 ^{de}	32.60±1.11 ^d
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	12.33±0.81 ^d	ND	36.89±0.58 ^c	33.74±1.02 ^d

表4 菌种对荔枝汁凝固型酸奶质构的影响

Table 4 Effect of strains on the texture of lychee juice-solidified yogurt

菌种组合	硬度/g	弹性/mm	内聚性/(g·s)	回复性
干酪乳杆菌	76.46±4.23 ^d	1.36±0.10 ^a	1.06±0.08 ^a	0.49±0.04 ^a
保加利亚乳杆菌	111.15±3.43 ^b	0.98±0.04 ^{bc}	0.84±0.01 ^f	0.26±0.00 ^e
嗜热链球菌	97.56±2.01 ^c	0.98±0.01 ^b	0.89±0.01 ^c	0.35±0.01 ^c
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌	169.82±1.14 ^a	0.96±0.01 ^{bc}	0.89±0.01 ^b	0.36±0.00 ^b
干酪乳杆菌+嗜热链球菌	170.65±1.85 ^a	0.97±0.01 ^{bc}	0.820±0.00 ^g	0.24±0.00 ^f
保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	171.24±2.04 ^a	0.980±0.01 ^{bc}	0.87±0.01 ^d	0.29±0.02 ^d
干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌	170.55±2.03 ^a	0.95±0.01 ^c	0.85±0.01 ^e	0.22±0.03 ^g

糖的种类和浓度对EPS的合成有着重要的影响,不同菌种的最适碳源不同。Geming等^[23]研究了半乳糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖、麦芽糖和蜜二糖对干酪乳杆菌产胞外多糖的影响,发现该菌的最适碳源为葡萄糖。Gannel等^[24]发现乳糖作为碳源对嗜热链球菌EPS生成量最大。乳酸菌合成的EPS主要是葡聚糖和果聚糖,它们分别由外源或自身分泌的糖基转移酶、葡聚糖合成酶、果聚糖合成酶合成,一旦被合成,它们可将细胞外的蔗糖转化成胞外多糖和杂多糖^[25]。

2.7 不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶质构的影响

不同菌种对荔枝汁凝固型酸奶质构的影响如表4所示。由表4可知,干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌联合发酵的酸奶其硬度值无显著性差异($p<0.05$),但都要优于单种菌发酵酸奶的硬度值,其中单独用干酪乳杆菌发酵酸奶的硬度值为76.46 g,仅为联合发酵的0.45倍,原因可能是干酪在发酵的过程中产生胞外多糖的影响,菌体细胞通过丝状的多糖与周围的蛋白质凝块相连形成复杂而稳定的网络结构,这种网络结构的形成可降低酸乳的硬度,在降低硬度的同时,内聚性和回复性有所增加,从而能够改善酸乳的口感,使其结构富有弹性。胞外多糖的存在增强了酪蛋白大分子的结合能力,提高体系的凝胶能力^[26,27],从而能够稳定体系的胶凝状态,增强对外来破坏力的抵抗能力,表现出较强的内聚性和回复性。

2.8 菌种对发酵酸奶显微结构的影响

酸乳凝胶具有一种呈立体纤维状的三维网络结构,这种网络结构的主要支架是由大小不一的保持圆柱形的酪蛋白胶束链和簇构成的,类似于网状纤维。正是由于凝乳的此种结构才能使其能够容纳其他成分和物质在其中,其中明显的表现是能锁住水分表现出凝胶的持水力、包埋添加剂来达到增稠的效果^[28]。

菌种对酸奶微观结构的影响如图5所示,由图5a可以看出,干酪乳杆菌发酵的酸奶具有致密的网络结构,可以清晰地看到裸露的大小均一的构成网络结构的球状酪蛋白的胶束以及类似蜂窝状的黑洞空隙小孔。图5b表示的是由保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混合发酵酸奶的微观结构,可以观察到b组的凝乳酪蛋白连接点较少,开放式结构较多,几乎没有形成连续的链状结构,这种粗糙的结构会导致凝乳具有较低的持水性和黏性。图5c是三种菌种混合发酵酸奶的微观结构,与a组相比球形酪蛋白簇变粗、变大,与b组相比酪蛋白的网状结构更为紧密,整体空隙数目减少。这可能是由于胞外多糖能使酸乳结构中蛋白簇加厚,凝胶更致密^[29,30]。

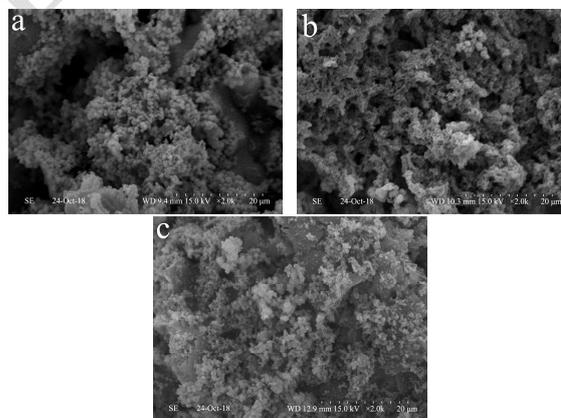


图5 菌种对荔枝汁凝固型酸奶显微结构的影响

Fig.5 Effect of strains on the microstructure of lychee juice solidified yogurt

注: a: 干酪乳杆菌发酵; b: 保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌混合发酵; c: 干酪乳杆菌+保加利亚乳杆菌+嗜热链球菌发酵。

3 结论

干酪乳杆菌、嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌发酵牛乳均可产胞外多糖,浓度分别为22.50 g/L、5.73 g/L、0.29 g/L,其中干酪乳杆菌产胞外多糖能力最强。胞外多糖的存在增强了酪蛋白大分子的结合能力,提高体

系的凝胶能力,所以利用干酪乳杆菌发酵的酸奶其酪蛋白网络结构较为紧密、细致,使得酸奶具有较好的粘性和持水力,但干酪乳杆菌单独发酵组的产酸能力较弱,发酵后 pH 高于其它添加有嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的组合,不能充分的使牛奶中的蛋白质酸化变形凝固导致其硬度较低。当干酪乳杆菌与嗜热链球菌及保加利亚乳杆菌联合发酵时,能充分发挥三个菌种的各自优势,菌落总数、多糖含量和质构均能达到较好的品质参数。

参考文献

- [1] 药璐. 益生菌发酵乳发酵工艺优化与品质研究[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2013
YAO Lu. Fermentation process optimization and quality research of probiotic fermented milk [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2013
- [2] Yoon K Y, Woodams E E, Hang Y D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. [J]. Bioresour Technol, 2006, 97(12): 1427-1430
- [3] 李雅乾, 田洪涛, 田益玲, 等. 双歧杆菌与乳酸菌混合发酵胡萝卜汁牛乳饮料的工艺研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 6: 117-120
LI Ya-qian, TIAN Hong-tao, TIAN Yi-ling, et al. On the technology of mixing fermented carrot juice milk beverage with bifid bacterium and lactic acid bacteria [J]. Food and Fermentation Industry, 2006, 6: 117-120
- [4] 郑凤锦, 刘国明, 李杰民, 等. 香蕉酸奶的工艺优化及质构特性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 299-303
ZHENG Feng-jin, LIU Guo-ming, LI Jie-min, et al. Process optimization and texture characteristics of banana yogurt [J]. Food Science and Technology, 2015, 36(6): 299-303
- [5] 秦涛, 陈卫锋, 张强, 等. 多菌种发酵生产保健型酸奶的研制[J]. 食品研究与开发, 2005, 1: 121-123
QIN Tao, CHEN Wei-feng, ZHANG Qiang, et al. Development of multi-strain fermentation production of health-care yogurt [J]. Food Research and Development, 2005, 1: 121-123
- [6] Mar janas. Application of longan (*Dimocarpus longan*) and lychee (*Litchi chinensis*) as innovative ingredients in the production of chocolate pralines [J]. Food Processing Technology, 2016, 51(9): 33-42
- [7] 郑欣, 余元善, 吴继军, 等. 不同乳酸菌在荔枝汁中发酵特性研究[J]. 广东农业科学, 2013, 7: 95-98
ZHENG Xin, YU Yuan-shan, WU Ji-jun, et al. Study on fermentation characteristics of different lactic acid bacteria in litchi juice [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 7: 95-98
- [8] 郑欣, 余元善, 吴继军, 等. 荔枝汁经乳酸菌发酵后营养品质的变化及贮藏稳定性研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(12): 2909-2914
ZHENG Xin, YU Yuan-shan, WU Ji-jun, et al. Changes in nutritional quality and storage stability of lychee juice after fermentation with *Lactic acid bacteria* [J]. Modern Food Science & Technology, 2013, 29(12): 2909-2914
- [9] YUANSAN YU, JIJUN WU, YUJUAN XU, et al. The effect of litchi juice on exopolysaccharide production in milk fermented by *Lactobacillus casei* [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(12): 2730-2731
- [10] 周跃斌, 王伟, 周向荣. 苯酚-硫酸比色法测定毛竹叶多糖的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 2: 180-183
ZHOU Yue-bin, WANG Wei, ZHOU Xiang-rong. Determination of polysaccharides from *Phyllostachys pubescence* L. by phenol-sulfuric acid calorimetry [J]. Modern Food Science & Technology, 2008, 2: 180-183
- [11] GB 5413.34-2010, 食品安全国家标准乳和乳制品酸度的测定[S]
GB 5413.34-2010, National Standards for Food Safety Determination of Acidity of Milk and Dairy Products [S]
- [12] GB 4789-2010, 食品安全国家标准食品微生物学检验[S]
GB 4789-2010, National Food Safety Standards for Food Microbiology [S]
- [13] 韩永佳. 功能型酸奶的理化特性、抗氧化活性及微观结构的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016
HAN Yong-jia. Study on physicochemical properties, antioxidant activity and microstructure of functional yoghurt [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016
- [14] 吴彤, 房晓彬, 闵伟红, 等. 乳酸菌胞外多糖的理化特性及免疫调节机制研究进展[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(05): 36-38, 42
WU Tong, FANG Xiao-bin, MIN Wei-hong, et al. Research progress on physicochemical properties and immunoregulatory mechanism of extracellular polysaccharides from lactic acid bacteria [J]. China Dairy Industry, 2018, 46(5): 36-38, 42
- [15] 张建丽. 产 EPS 乳酸菌发酵特性及对发酵乳流变特性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017
ZHANG Jian-li. Fermentation characteristics of EPS-producing lactic acid bacteria and its effect on rheological properties of fermented milk [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2017

- [16] 董阳勤, 妥彦峰, 牟光庆, 等. 产胞外多糖乳杆菌的筛选及多糖功能的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(2): 61-68
DONG Yang-qin, TING Yan-feng, MOU Guang-qing, et al. Screening of polysaccharide producing extracellular polysaccharide and study on polysaccharide function [J]. Modern Food Science & Technology, 2017, 33(2): 61-68
- [17] 卫晓英. 乳酸菌胞外多糖对凝固型酸乳质构的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010
WEI Xiao-ying. Effect of extracellular polysaccharides of lactic acid bacteria on the texture of solidified yogurt [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2010
- [18] 李伟欣, 陈倩, 李平兰, 等. 双歧杆菌 22-5 胞外多糖结构分析[J]. 食品科学, 2008, 4: 267-271
LI Wei-xin, CHEN Qian, LI Ping-lan, et al. Structural analysis of extracellular polysaccharide of *Bifid bacterium* 22-5 [J]. Food Science, 2008, 4: 267-271
- [19] 徐佳, 吴正钧, 翁新楚, 等. 细菌胞外多糖及其在乳制品中的应用[J]. 乳业科学与技术, 2017, 40(1): 33-37
XU Jia, WU Zheng-wei, WENG Xin-chu, et al. Bacterial extracellular polysaccharide and its application in dairy products [J]. Dairy Science and Technology, 2017, 40(1): 33-37
- [20] 张杰, 杨希娟, 党斌. 高产胞外多糖西藏灵菇乳复合发酵剂的研制及其发酵乳流变学特性研究[J]. 核农学报, 2018, 32(8): 1588-1596
ZHANG Jie, YANG Xi-juan, DANG Bin. Preparation of high-yield extracellular polysaccharides from Tibet mushroom fermentation starter and its rheological properties of fermented milk [J]. Chinese Journal of Nuclear, 2018, 32(8): 1588-1596
- [21] 何慧玲. 高产酸及耐酸性干酪乳杆菌的诱变筛选及其发酵条件的优化[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2017
HE Hui-ling. Mutagenesis screening of high-yield acid and acid-resistant *Lactobacillus casei* and optimization of fermentation conditions [D]. Wuhan: Wuhan University of Light Industry, 2017
- [22] 崔国庭, 李沁沛, 王缎, 等. 红枣多糖对乳酸菌发酵及酸奶品质的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(19): 203-207
CUI Guo-ting, LI Qin-pei, WANG Duan, et al. Effects of jujube polysaccharide on fermentation of lactic acid bacteria and quality of yogurt [J]. Food Science and Technology, 2017, 38(19): 203-207
- [23] Geming J, Renard C M G C, Thibault J F. Carbon source requirements for exopolysaccharides production by *Lactobacillus casei* CG11 and partial structure analysis of the polymer [J]. Appl and Environ Microbial, 1994, 60(11): 3914-3919
- [24] Gancel F, Novel G. Exopolysaccharide production by *Streptococcus salivarius* ssp. Thermophiles cultures condition of production [J]. Journal of Dairy Science, 1994, 77(3): 685-688
- [25] 江杨娟, 徐丽, 陈美思, 等. 乳酸菌发酵大豆糖蜜生产乳酸及糖代谢变化[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 130-134
JIANG Yang-juan, XU Li, CHEN Mei-si, et al. Changes in lactic acid and glucose metabolism produced by lactic acid bacteria fermented soybean molasses [J]. Food Science, 2018, 39(6): 130-134
- [26] Raikos V, Grant S B, Hayes, et al. Use of β -glucan from spent brewer's yeast as a thickener in skimmed yogurt: Physicochemical, textural, and structural properties related to sensory perception [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 28(1)
- [27] Barkallah M, Dammak M, Louati I, et al. Effect of *Spirulina platensis*, fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 84(10): 323-330
- [28] Nguyen H T H, Schwendel H, Harland D, et al. Differences in the yoghurt gel microstructure and physicochemical properties of bovine milk containing A1A1, and A2A2, β -casein phenotypes [J]. Food Research International, 2018, 112(10): 217-224
- [29] Hassan A N, Ipsen R, Janzen T, et al. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(5): 1632-1638
- [30] 王雅楠, 韩育梅, 何君. 添加益生元对酸奶凝胶过程及微观结构的影响[J/OL]. 食品科学: 1-8[2018-11-01]
WANG Ya-nan, HAN Yu-mei, HE Jun. Effects of prebiotics on the gelation process and microstructure of yogurt [J/OL]. Food Science: 1-8[2018-11-01]