

产细菌素双歧杆菌 L-SN 对酸奶后酸化及品质的影响

尚楠 刘丽莎 任发政 李平兰*

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院,北京 100083)

摘要 选择产细菌素双歧杆菌 L-SN 菌株与保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混合发酵剂配伍共同发酵生产酸奶,通过测定 4 ℃ 贮藏条件下酸奶的 pH、可滴定酸度、活菌数、持水力和黏度等指标的变化探讨产细菌素双歧杆菌对酸奶后酸化效果及品质的影响。结果显示:双歧杆菌 L-SN 的加入能有效抑制酸奶的后酸化,以添加水平为 $(2\sim 5)\times 10^6$ cfu/mL 为最佳,可在 20 d 贮藏期内维持酸度为 $100\sim 110$ °T、pH 4.1~4.2、活菌数 $\geq 10^6$ cfu/mL,并能显著提高酸奶的持水力和黏度,赋予酸奶良好的色泽、口感和组织状态。

关键词 酸奶; 双歧杆菌; 后酸化; 酸奶品质

中图分类号 TS 201.3

文章编号 1007-4333(2013)04-0178-05

文献标志码 A

Effect of a bacteriocin-producing strain of *Bifidobacterium* L-SN on the postacidification and quality of yohurt

SHANG Nan, LIU Li-sa, REN Fa-zheng, LI Ping-lan*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract The study was carried out to restrain postacidification of set yoghurt using *Bifidobacterium* L-SN with mixed leaven together for fermentation. By measuring the changes of pH value, titratable acidity, the number of viable cells, water hold capacity, viscosity and sensory evaluation in 20 days under the storage condition of 4 ℃, we find adding L-SN can efficiently restrain postacidification of set yoghurt and improve the quality. The results indicate that the best supplemental level is $(2-5)\times 10^6$ cfu/mL. In 20 days, the pH value is 4.1-4.2; the titratable acidity is $100-110$ °T and the number of viable cells are more than 10^6 cfu/mL. In addition, it can significantly improve the water holding capacity and viscosity and to give good color, texture and organization state of the set yoghurt.

Key words yoghurt; *Bifidobacterium*; postacidification; yohurt quality

酸奶是一种含有活性益生菌的乳制品,正常发酵结束后,在产品贮存、运输、销售、食用前菌体仍会缓慢的生长繁殖,发生后酸化现象,即酸奶的 pH 继续下降,出现消费者不可接受的酸味,致使产品质量降低。抑制酸奶菌种在低温条件下的活性,降低其产酸可延缓酸奶的后酸化,并延长其货架期^[1-4]。

目前酸奶后酸化的防治方法包括生物育种^[5]、调整菌种添加比例^[6],以及添加 Nisin^[7]。生物育种主要是指利用诱变育种和基因工程等技术选育在酸奶发酵时产酸快,而在冷藏时减少产酸或者不产酸

的菌株,但这种方法选育周期长,成功率不确定,且选育的菌株是否符合食品安全的标准还有待进一步考证,因此不是抑制后酸化的有效方法。而通过调整菌种添加比例的方法虽然可以在一定程度上解决后酸化,但应用于酸奶生产时却很难保证每批产品的一致性,因此也具有一定的缺陷。添加 Nisin 是目前解决酸奶后酸化问题最好的方法,但它对凝固型酸奶的作用明显差于搅拌型,而且随着人们对食品安全意识的逐步提高和国家对食品添加剂控制程度的加强,利用添加 Nisin 来解决酸奶后酸化也不

收稿日期: 2012-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071591)

第一作者: 尚楠,硕士研究生,E-mail:shangnan427@126.com

通讯作者: 李平兰,教授,主要从事益生菌及其代谢产物研究,E-mail:lipinglan@cau.edu.cn

是长久之计。因此需要寻找更好的抑制酸奶后酸化的方法。本试验拟通过添加不同数量的双歧杆菌,利用其产生的少量细菌素延长凝固型酸奶的保质期,并探究其最佳添加量、抑制效果以及对酸奶品质的影响,以期为缓解酸奶后酸化,延长保质期提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

菌种。产细菌素动物双歧杆菌 L-SN、保加利亚乳杆菌 S-1 和嗜热链球菌 ST,均由中国农业大学食品科学与营养工程学院应用微生物试验室提供。动物双歧杆菌 Bb12 购买自丹尼斯克(Danisco)公司。

试剂。全脂鲜牛乳、白砂糖、脱脂乳粉、硫酸、苯酚、去离子水等,其中鲜牛乳购自北京三元乳品公司;白砂糖、脱脂乳粉为市售。

1.2 酸奶制备方法

1.2.1 酸奶的制备

鲜牛乳(脱脂乳)→添加 5% 白砂糖→灭菌(95 °C, 5 min)→冷却(43 °C)→接种(2%)→发酵(42 °C)→取出(pH 4.5~4.7)→冷却后熟(4 °C)→成品→检验。

1.2.2 试验设计与分组

试验共设计 5 组处理,其中仅含有保加利亚乳杆菌 S-1 和嗜热链球菌 ST 的混合发酵剂组为空白对照组;在混合发酵剂基础上强化商用动物双歧杆菌 Bb12 组为阳性对照组;在混合发酵剂基础上强化产细菌素动物双歧杆菌 L-SN 组为处理组。将处理组按添加双歧杆菌菌数的不同分为 3 组:低添加量组,双歧杆菌添加量 $(2\sim5)\times 10^5$ cfu/mL;中添加量组,双歧杆菌添加量 $(2\sim5)\times 10^6$ cfu/mL;高添加量组,双歧杆菌添加量 $(2\sim5)\times 10^7$ cfu/mL。

将制备的凝固型酸奶,置于 4 °C 贮藏,每 3 d 测定 1 次 pH、可滴定酸度、活菌数、持水力及黏度。

1.3 指标测定方法

pH,采用数显式 pH 计,在 20 °C 下测定不同时间酸奶样品的 pH。

可滴定酸度,按 GB 5409—1985 中 2.1.1 测定^[8]。

持水力,准确称取 4 °C 下贮藏的发酵样品各 20 g,4 000 r/min 离心 10 min,弃上清立即称重,按下式计算其持水力:

$$\text{持水力} / \% =$$

$$(\text{离心后沉淀物质量} / \text{样品质量}) \times 100$$

黏度,使用 DV-1 型黏度计,选取 3# 转子,转速为 12 r/min,60 s 数值稳定后记录数据。

活菌数,通过菌落平板计数法测定活菌数。利用 MRS 培养基测定保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的活菌数;利用改良 BS 培养基测定双歧杆菌的活菌数^[9]。

感官评价,由 10 名经过培训的食品专业学生组成评定小组,按照感官评定表对酸奶样品的色泽、气味、口感以及质地进行评价并打分。采用百分制,其中色泽 10 分、滋味气味 40 分、组织状态 50 分。

2 结果与分析

2.1 产细菌素双歧杆菌 L-SN 对酸奶后酸化的抑制

2.1.1 酸奶贮藏过程中 pH 的变化

凝固型酸奶 4 °C 贮藏 20 d, pH 变化见图 1。5 组酸奶制品在贮藏期内 pH 均有所下降,其中空白组和 Bb12 组的下降趋势尤为明显,后酸化比较严重。添加产细菌素双歧杆菌 L-SN 的 3 组, pH 下降明显变缓,说明添加菌株 L-SN 可以对酸奶的后酸化起到一定的抑制作用,其中尤以 $(2\sim5)\times 10^6$ cfu/mL 接入的酸奶样品变化趋势最为平缓,20 d 时 pH 仍维持在 4.20 左右,这可能是因为以 $(2\sim5)\times 10^6$ cfu/mL 接入时,其细菌素的产量在满足抑制酸奶中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌生长繁殖的同时,不会因自身产酸过度而对酸奶的酸度造成影响。

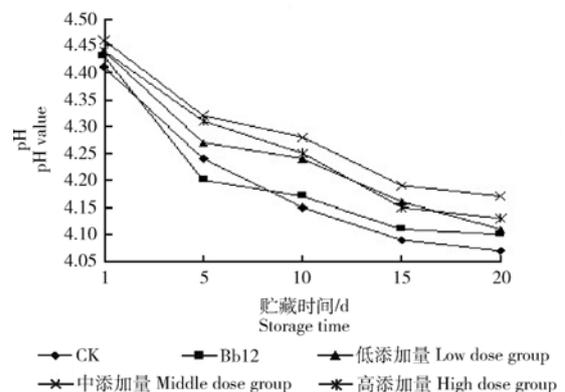


图 1 酸奶贮藏过程中 pH 的变化

Fig. 1 Change of pH value of yoghurt during storage

2.1.2 酸奶贮藏过程中可滴定酸度的变化

5 组酸奶制品在贮藏期的酸度均呈升高的趋势

(图2),其中未加任何强化菌株的CK组升高趋势最为明显,强化不产细菌素的商业菌株Bb12组升高趋势明显高于3个处理组。根据GB 5413.34—2010《乳和乳制品酸度的测定》中规定酸奶制品的酸度应 $>70^{\circ}\text{T}$ ^[10-11],最佳食用酸度为 $80\sim 120^{\circ}\text{T}$ ^[12-13],Bb12组在第15d时,酸度已经 $>120^{\circ}\text{T}$,发生了严重的后酸化现象。这是因为酸奶制品中的活菌继续分解乳糖产酸,导致酸度继续上升所致^[14]。添加产细菌素菌株L-SN的3组样品在20d时的可滴定酸度均 $<120^{\circ}\text{T}$,因此,添加水平为 $(2\sim 5)\times 10^5$ 、 $(2\sim 5)\times 10^6$ 、 $(2\sim 5)\times 10^7$ cfu/mL均可以使酸奶样品达到市售酸奶的贮藏期。

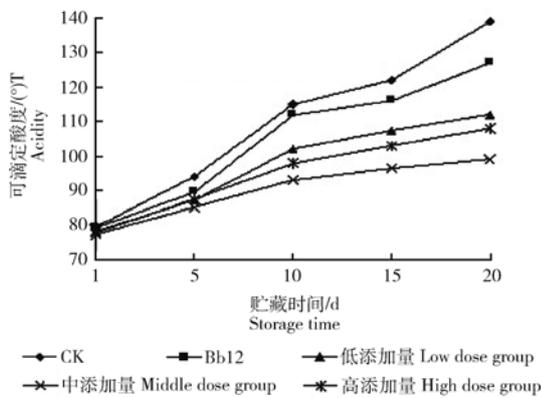


图2 酸奶贮藏过程中酸度的变化

Fig. 2 Change of acidity of yoghurt during storage

2.1.3 酸奶贮藏过程中活菌数的变化

凝固型酸奶4℃下贮藏20d的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌菌数变化结果见图3。随着贮藏时

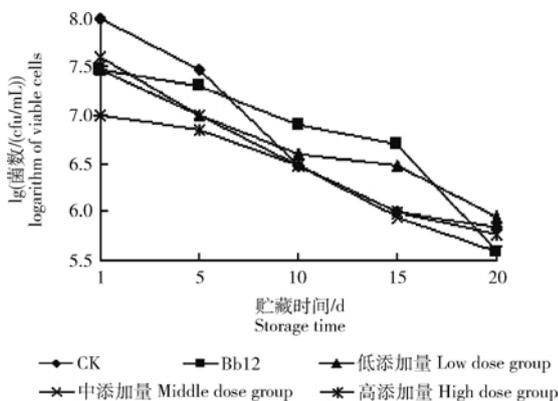


图3 酸奶贮藏过程中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌总菌数的变化

Fig. 3 Change of viable cells of ST and S-1 in yoghurt during storage

间的不断延长,酸奶中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的活菌总数均呈下降趋势^[15],但5组酸奶活菌总数降低并不存在显著性差异,整体下降趋势与最终活菌数均相差不大,在第20d时,5组酸奶中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌活菌总数均在 $(1\sim 3)\times 10^5$ 之间。这可能是由于随着贮藏时间的延长,酸奶中营养物质消耗,乳酸菌随之衰亡,从而导致活菌数降低^[16]。

凝固型酸奶4℃下贮藏20d的双歧杆菌活菌数的变化见图4。贮藏1~5d,4组酸奶中双歧杆菌的数量在原有基础上均有小幅增加,之后逐渐降低,与其接入数量级相比, $(2\sim 5)\times 10^7$ cfu/mL接入的降幅最大, $(2\sim 5)\times 10^5$ cfu/mL接入的降幅最小。而从整体看,以 $(2\sim 5)\times 10^6$ cfu/mL接入可以保持合适数量变化,最终活菌数仍能维持在 10^6 cfu/mL左右。这是由于酸奶贮藏前期,酸奶中营养物质丰富,生长环境适宜,且双歧杆菌的活力较强,因此双歧杆菌仍在缓慢生长繁殖,出现一定幅度的增长,然而随着贮藏时间的延长,一方面酸奶中的营养物质不断消耗,另一方面酸度的逐渐增加,导致双歧杆菌生长受到抑制,因而活菌数出现不断减少。

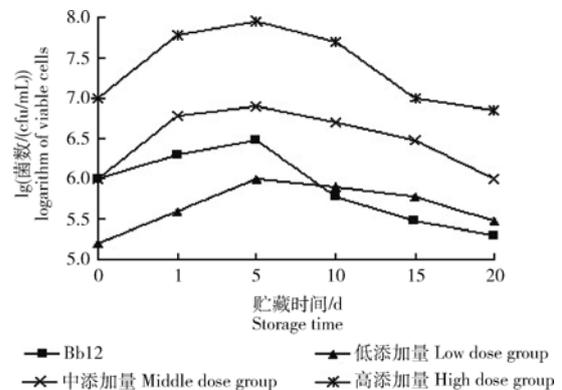


图4 酸奶贮藏过程中双歧杆菌活菌数的变化

Fig. 4 Change of viable cells of Bifidobacterium in yoghurt during storage

2.2 产细菌素双歧杆菌L-SN对酸奶品质的影响

2.2.1 酸奶贮藏过程中持水力的变化

空白组(CK)和Bb12组酸奶在贮藏第1d时持水力就较差,均在80%左右,而接入双歧杆菌L-SN的3组持水力均高于85%,最高达到90%。随着贮藏时间的延长,5组酸奶持水力均呈下降趋势,但接入产细菌素双歧杆菌L-SN的酸奶样品均优于对照组,其中以 $(2\sim 5)\times 10^7$ cfu/mL接入的样品持水力

效果最好(图 5)。经简单的产糖测定后发现,产生这种情况的原因可能是由于双歧杆菌 L-SN 在产生细菌素的同时还产生胞外多糖,而胞外多糖增强了酸奶结合自由水的能力,从而提高了酸奶的持水力。这与 Skriver H, Roemer K 等人的研究结果一致^[17]。当然,这一结论还需进一步证实。

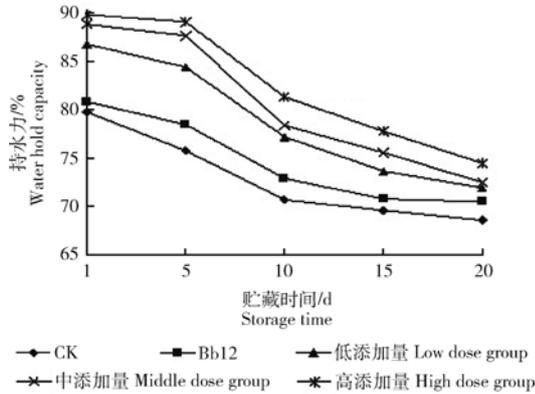


图 5 酸奶贮藏过程中持水力的变化
Fig. 5 Change of water hold capacity of yoghurt during storage

2.2.2 酸奶贮藏过程中黏度的变化

随着贮藏时间的延长,酸奶黏度均呈现下降的趋势(图 6)。这是由于在发酵过程中,乳酸菌的大量生长,pH 不断降低,奶液中的蛋白质分子表面活性降低,形成微小的亚胶体分子团,使得液体奶黏度不断增加;而随着贮藏时间的延长,亚胶体分子团逐渐解离,使得酸奶的黏度开始下降。Bb12 组和加入双歧杆菌 L-SN 的 3 组在黏度上都明显优于空白组(CK),其中接入(2~5)×10⁶ cfu/mL 双歧杆菌 L-SN 的酸奶组略优于其他 2 组,但黏度的降低十分迅

速。出现该现象的原因可能也是由于胞外多糖的产生造成,霍艳荣等^[18]将产粘乳杆菌与不产粘的保加利亚乳杆菌、不产粘的嗜热链球菌组合生产酸奶,结果表明添加胞外多糖菌株的酸奶在发酵过程中保持着较高的黏度值,与本试验结果一致。

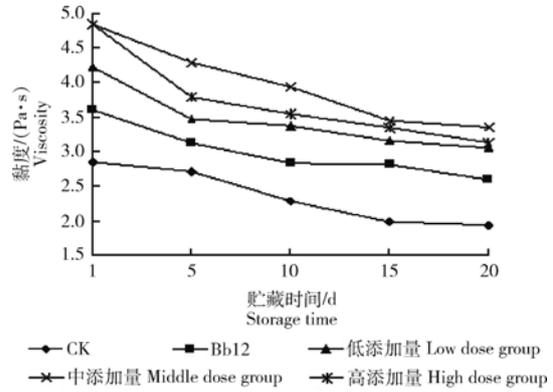


图 6 酸奶贮藏过程中黏度的变化
Fig. 6 Viscosity change of yoghurt during storage

2.2.3 感官评价

从色泽、气味与滋味、组织状态 3 个方面对 4 °C 酸奶成品进行了感官评定,评分结果见表 1。空白对照(CK)具有较差的感官状态,而中添加量组的感官评价综合评分最高,表明添加一定量的双歧杆菌 L-SN 菌株可以明显提高酸奶的色泽与组织状态,提高表面光滑感,减少乳清析出与颗粒感,并赋予酸奶合适的甜酸比例与较为香醇的气味和滋味。这说明双歧杆菌 L-SN 菌株不仅可以合成抑制后酸化的双歧杆菌细菌素,并且可与常规发酵剂菌种混合发酵形成特有的风味物质,增加酸奶风味滋味。

表 1 5 种酸奶成品的感官评定结果

Table 1 Result of sensory evaluation of 5 kinds of yoghurt

酸奶 Yoghurt	综合评分 Score	感官评定结果 Sensory evaluation
CK	71.4	淡黄色,甜酸比例失调,有较重的乳脂味,乳清析出严重,口感较稀,有颗粒感。
Bb12	85.6	乳白色,甜酸比例适当,有一定的醇香气味,无苦涩味,表面有裂纹,乳清析出较少,略有颗粒感。
高添加量 High dose group	85.9	乳白色,甜酸比例适当,有较轻苦涩味,表面光滑,有较少的乳清析出,组织细腻,无颗粒感。
中添加量 Middle dose group	90.6	乳白色,甜酸比例适当,有较强的醇香气味,无苦涩味,表面光滑均匀,无乳清析出,组织细腻,口感粘稠,无颗粒感。
低添加量 Low dose group	81.3	乳白色,甜酸比例失调,有醇香气味,无苦涩味,表面光滑,无乳清析出,组织细腻,无颗粒感。

3 讨 论

控制酸奶后酸化的措施有很多种,最普遍的是通过改变嗜热链球菌对保加利亚乳杆菌的比例和添加乳酸链球菌素,虽然这些方法可以在一定程度上起到抑制后酸化的作用,但效果不显著;而且随着食品安全问题的日益频发,食品添加剂的使用也将越来越严格,因此,添加防腐剂的方法也将逐渐被取代。除此以外,选育在高温条件下产酸较强、在低温条件下产酸甚微的菌株作为发酵剂也是一种抑制后酸化的途径,比如汉森公司的 YF - L812 发酵的酸奶后酸化程度很小,但这种优质的菌株很大程度上掌握在国外发酵剂生产企业手中,使用这些菌株无疑会加大中国乳品企业的投入,抑制中国乳品企业以及发酵剂生产企业的发展。

本研究在常规酸奶发酵剂中强化产细菌素双歧杆菌 L-SN, 不仅可抑制酸奶菌种在低温贮藏条件下的活性,降低其产酸,起到显著的抗酸奶后酸化作用,同时还可明显改善酸奶的感官品质,提高黏度和持水力,赋予其良好的感官特质,而且不增加酸奶生产的难度与成本,因此可以成为一种新型解决酸奶后酸化的途径。

参 考 文 献

- [1] 谢继志,范立冬,赵平,等. 液态乳制品科学与技术[M]. 北京: 中共轻工业出版社, 1999: 267-268
- [2] Rogers L A. The inhibiting effect of *streptococcus* on *Lactobacillus Bulagaricus* [J]. Journal of Bacteriology, 1928, 16: 321-325
- [3] Rogers L A, Whiter E O. Limiting factors in the lactic fermentation[J]. Journal of Bacteriology, 1928, 16: 211-229
- [4] 茜娜, 思高. 长货架期酸奶的生产工艺[J]. 中国食品工业, 1998, 5(6): 50-51
- [5] 罗红霞, 黄彦芳, 王芳, 等. 抗酸奶后酸化乳酸菌菌株选育研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 451-454
- [6] 秦南冰, 李妍, 袁珠妮, 等. 保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌的比例变化对酸奶品质的影响[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(2): 37-40
- [7] 鲍盈盈, 周斌, 周桂飞. Nisin 在凝固型酸奶后酸化控制中的应用[J]. 食品工业科技, 2009, 30(2): 259-264
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21732—2008, 含乳饮料[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008
- [9] 黎永学, 蒋明杰, 张莉滢, 等. 一种改良大便双歧杆菌技术方法[J]. 中国微生物学杂志, 2002, 14(3): 177-178
- [10] 中华人民共和国卫生部. GB 5413. 34—2010, 乳和乳制品酸度的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010
- [11] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 16321-2003, 乳酸菌饮料卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004
- [12] 郑世荣. 食品卫生检验技术[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1995: 149-150
- [13] 汤志庆. 消费者行为研究[J]. 乳业科学与技术, 2006, 116(1): 23-24
- [14] 郭清泉. 酸奶制品在贮存过程中发生后酸化的机理及控制措施的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2001: 16-33
- [15] 余华, 严军, 刘媛, 等. 酸奶生产工艺条件对其活菌数的影响[J]. 食品工业, 2003, 24(2): 46-48
- [16] 余华. 酸奶的质量控制及保鲜[J]. 成都大学学报, 1997, 16(2): 28-31
- [17] Skriver H, Roemer K, Qvist. Rheological characterization of stirred yoghurt viscometry [J]. Journal of Texture Studies, 1993, 24: 185-198
- [18] 霍艳荣, 张兰葳, 高前欣. 产粘乳酸菌对酸奶品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(6): 123-124
- [19] 马世敏, 吴迪宗, 旭日花, 等. 产胞外多糖干酪乳杆菌 HCT 对酸奶品质的影响[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(6): 144-149
- [20] 武朋朋, 刘国荣, 畅晓渊, 等. 抗嗜链球菌戊糖乳杆菌素的纯化及特性研究[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(5): 121-126

责任编辑: 刘迎春