

## 不同保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 复配对发酵乳特性的影响

孙悦欣, 史嘉琦, 李璟, 刘俊霞, 杨志辉, 杨淑娟, 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** 嗜热链球菌 S10 分离自青海地区自然发酵酸牛乳,具有良好的弱后酸化能力和发酵特性。本研究将分离自不同国家传统发酵乳及酸马奶的 4 株保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU95110、IMAU62091 和 IMAU62161,分别与嗜热链球菌 S10 进行复配组成发酵剂(A、B、C 和 D),以商业发酵剂(E)为对照,采用多频扩散波谱法研究发酵过程中的微流变学特性,并对贮藏稳定性和后酸化进行综合评价。结果表明:发酵过程中 A 组发酵乳的固液平衡值最低,而黏性因子、弹性因子高于 B、C、D 组发酵乳,表明 A 组发酵乳形成具有较高强度的乳凝胶结构。在 4℃贮藏 21 d 期间,A 组和 C 组硬度与对照组无差异,均显著大于其它试验组( $P<0.05$ ),各试验组发酵乳的黏度、持水与对照组无显著性差异( $P>0.05$ )。25℃贮藏 14 d 后酸化评价表明,B 组和 D 组发酵乳 pH 值和滴定酸度均分别小于和大于其它各组( $P<0.05$ ),而 A 组和 C 组的发酵乳与对照组无显著性差异,说明 A 组和 C 组发酵剂具有弱后酸特性。同时 A、C 组感官评价得分最高,发酵乳酸甜比恰当,组织均匀,质地细腻丝滑。综上,保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU62091 分别与嗜热链球菌 S10 复配时酸乳发酵和贮藏特性较好,具有进一步研究价值和较好应用前景,为乳酸菌发酵剂开发提供物质基础和参考数据。

**关键词** 保加利亚乳杆菌;嗜热链球菌;发酵乳

**文章编号** 1009-7848(2023)10-0206-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.10.021

自然发酵乳可以作为保加利亚乳杆菌特定的载体<sup>[1]</sup>。在发酵乳制品生产中,保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)产生协同作用,是人体肠道内重要的微生物,因其较高的经济价值而受到广泛关注<sup>[2]</sup>。

大量研究探讨了保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌在发酵乳中的应用,二者协同共生的关系可赋予发酵乳高黏度、快速产酸、丰富的活性物质等<sup>[3]</sup>。然而,有研究表明,只有一部分保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌菌株间存在共生关系,除此之外两者间还可能具有拮抗作用<sup>[4]</sup>。由于保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的生长特性和代谢特性存在差异,不同菌株的组合对发酵乳的影响很大,甚至影响货架期稳定性。此外,乳酸菌之间也存在个体差异,如何筛选、搭配出相互促进的优良菌株组合仍有一定的难度。

保加利亚乳杆菌具有发酵时间短、后酸化弱、高

产乙醛、双乙酰和生产应用稳定等特性,可增加发酵乳生产过程中的黏度。本研究团队从全基因组水平对保加利亚乳杆菌的遗传多样性和种群结构进行深入的群体遗传学研究,系统发育分析后将保加利亚乳杆菌划分为 4 个分支谱系<sup>[5]</sup>。基于其高度的遗传多样性和分离源差异,推测菌株的多样性差异决定菌株具有不同的发酵表型。本研究采用的不同谱系的保加利亚乳杆菌 IMAU20450 分离自蒙古国传统发酵酸牦牛乳,IMAU6209 和 IMAU62161 分离自中国西藏地区酸马奶中,IMAU95110 分离自俄罗斯传统发酵酸牛乳。嗜热链球菌 S10 分离自青海自然发酵酸牛乳中,具有产黏、产酸等优良发酵特性<sup>[6]</sup>。研究发现,与牛乳相比,在嗜热链球菌 S10 发酵乳中鉴定出包括肽、氨基酸、脂肪酸及其相关代谢物和维生素等 39 种重要的差异代谢物,其中发酵乳中月桂酸和维生素 B<sub>2</sub> 含量显著高于牛奶<sup>[7]</sup>。此外,嗜热链球菌 S10 还可用作发酵豆乳的基础发酵剂,不仅具有较好的感官、发酵特性、贮藏特性,还具有较高的活性大豆异黄酮转化量,对调节女性体内雌激素水平具有很好的效果<sup>[8]</sup>。

扩散波谱技术(Diffusing-wave spectroscopy, DWS)是一种基于传统光散射的光学测量技术。其

**收稿日期:** 2022-10-26

**基金项目:** 内蒙古科技重大专项(2021ZD0014);国家自然科学基金青年科学基金项目(32101918);内蒙古自治区自然科学基金项目(2022QN03021)

**第一作者:** 孙悦欣,女,博士生

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

原理是样品内的随机运动的粒子对入射光子的多重散射,先得到被散射光子的自相关函数(即扩散波光谱),后通过计算机模拟,得到粒子的均方位移(MSD)、颗粒平均粒径及体系的流变参数<sup>[9]</sup>。在静止状态下与传统流变学相比,微流变学分析软物质的微观结构并不会破坏样品的凝胶结构,更不会对样品的状态产生影响<sup>[10]</sup>。对应用于发酵乳发酵过程中形成乳凝胶的特性分析具有独特优势。

本研究将 4 株不同谱系的保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 进行复配,以商业发酵剂为对照,分析发酵过程中微流变学特性,测定弹性因子(Elastic index, EI)、黏度因子(Viscosity index, VI)、固液平衡值(Solid liquid balance, SLB)及流动因子(Fluidity index, FI)随发酵时间的变化情况,对鉴别、控制发酵食品的质量具有重要的意义<sup>[11]</sup>。在贮藏期,通过稠度、硬度、内聚性和黏度指数评价发酵乳的质构特性,并对各组发酵乳的发酵和贮

藏特性进行综合性评价。将具有优良发酵特性的不同保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌菌株进行组合,可提升发酵剂的整体性能<sup>[12]</sup>。筛选具有优良发酵性能的发酶剂组合,为生产优质发酵乳提供数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

纯牛乳(蛋白质 3.0 g/100 g, 脂肪 3.0 g/100 g),蒙牛乳业;蔗糖,广西凤糖生化股份有限公司;菌株:保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU95110、IMAU62091、IMAU62161 和嗜热链球菌 S10 均来自内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室;商业发酵剂 YF-L904(500U),科汉森公司。MRS 固体培养基、M17 固体培养基等试剂,青岛海博生物科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

试验所用仪器和设备信息见表 1。

表 1 主要仪器和设备信息

Table 1 Information of the main instruments and equipment

| 主要仪器与设备                   | 厂家                        |
|---------------------------|---------------------------|
| pH 计(pHSJ-3F)             | 上海精密科学仪器有限公司              |
| 高压均质机(SRH60-70)           | 上海申鹿均质机有限公司               |
| 电热恒温水浴锅                   | 上海一恒科技有限公司                |
| 生化培养箱                     | 上海一恒科技有限公司                |
| 电子天平                      | 奥豪斯仪器上海有限公司               |
| 黏度计(DV2T)                 | Brookfield(美国)            |
| 质构仪(TA-XT plus)           | 英国 Stable Micro System 公司 |
| 微流变分析仪 Rheolaser Master 型 | 法国 Formulation 仪器公司       |
| 超净工作台                     | 苏州苏洁净化设备有限公司              |

### 1.3 试验方法

1.3.1 发酵乳的制备 发酵乳各组接种量如表 2 所示。发酵乳制作流程:牛乳中加入 6.5%的蔗糖,预热至 62 ℃,化料 15 min,均质(20 MPa),95 ℃,5 min 杀菌,水浴冷却到 42 ℃,接种发酵,pH 4.5 为发酵终点,水浴冷却到 20 ℃以下,无菌分装。分装前进行破乳处理,于 4 ℃储存 21 d,25 ℃储存 14 d,分别于 1,3,7,10,14,21 d 进行相关参数的测定,每组 3 个平行样。

1.3.2 发酵乳的感官评价 根据《食品安全国家标准发酵乳》(GB 19302-2010)<sup>[13]</sup>,选择 6 位品评

员对 5 组发酵乳进行感官评价。取适量样品置于品尝杯中,在室温自然光下观察发酵乳的色泽、组织状态,闻其气味,品尝滋味。以酸奶的喜好程度进行排序。注意每次品尝完用温开水漱口,防止味道混淆。

1.3.3 发酵过程中微流变学特性分析 将接种后的 20 mL 发酵乳转移至灭菌的微流变仪器配套样品瓶中,放入测定槽,提前将微流变仪温度调节至 42 ℃,检测发酵过程中的 MVI、EI、SLB 及 FI 随时间的变化情况。发酵过程中每 5 min 进行 1 次数据采集,此过程一直持续到发酵终点<sup>[14]</sup>。

表2 试验各组发酵乳接种量信息(CFU/mL)

| 样品编号 | S10                 | IMAU20450           | IMAU95110           | IMAU62091           | IMAU62161           | YF-L904          |
|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|
| A    | 2.0×10 <sup>6</sup> | 2.0×10 <sup>3</sup> | -                   | -                   | -                   | -                |
| B    | 2.0×10 <sup>6</sup> | -                   | 2.0×10 <sup>3</sup> | -                   | -                   | -                |
| C    | 2.0×10 <sup>6</sup> | -                   | -                   | 2.0×10 <sup>3</sup> | -                   | -                |
| D    | 2.0×10 <sup>6</sup> | -                   | -                   | -                   | 2.0×10 <sup>3</sup> | -                |
| E    | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 0.03% <i>c</i> * |

注: \*: 质量分数; S10: 嗜热链球菌 S10; IMAU20450、IMAU95110、IMAU62091 和 IMAU62161 分别为保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU95110、IMAU62091 和 IMAU62161。

1.3.4 pH值的测定 采用雷磁 pH SJ-3F 型 pH 计测定, 每个样品平行测 3 次。

1.3.5 滴定酸度(TA)的测定<sup>[15]</sup> 用电子天平准确称取 10.0 g 发酵乳样品放入锥形瓶中, 加入 20 mL 去 CO<sub>2</sub> 的蒸馏水, 摇匀, 加入 1 mL 酚酞指示剂, 再次摇匀, 用 0.1 mol/L NaOH 滴定标准溶液至微粉色且 5 s 内不消失即可。记录消耗的标准 NaOH 溶液的体积(mL), 每个样品平行测定 3 次。

1.3.6 黏度的测定 将发酵乳样品置于 100 mL 烧杯中, 室温下采用 Brookfield DV-1 VISCOMETER 型黏度仪进行 3 次平行样测定, 发酵乳选取 4# 转子, 转速 100 r/min, 扭矩 10%~100%, 测定时间 30 s。

1.3.7 持水性的测定 取 20 g 酸奶置于配有滤膜漏斗的 250 mL 锥形瓶中, 2 h 后将析出液倒出, 再次称量样品和容器的质量, 计算持水性。计算公式如下:

$$\text{持水性}(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

式中,  $m_1$ ——滤液质量 (g);  $m_2$ ——样品质量 (g)。

1.3.8 质构特性的分析 A.XT plus 质构仪选用

A/BE 探头。A/BE 探头是一种反向挤压装置。在进行下压试验时, 样品从活塞的外缘被反向挤出, 适用于本试验软凝胶类的黏性物质测定<sup>[16]</sup>。试验速度均固定到 1 mm/s, 穿透深度为 30 mm。可检测发酵乳在 1, 7, 14, 21 d 的硬度、稠度、内聚性和黏度指数的变化情况。使用 5 kg 的称重传感器进行单次压缩循环试验测量酸奶样品<sup>[17]</sup>。需注意的是样品在 4 °C 取出后置室温, 然后检测。

1.3.9 统计分析 微流变数据采用 Rheolaser Master 型光学法微流变分析仪自带的 Smart 软件进行数据分析。所有图表均采用 Origin 9.1 绘制。试验数据使用 SPSS 25.0 软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官特性

评分细则见表 3。将每组发酵乳样品按随机顺序给 6 位品评员品尝, 按照对 5 组发酵乳的喜好程度进行排序, 感官评价结果见表 4。结果表明: 对 A、C 组的喜好程度明显大于其它发酵组。品评员普遍认为 A、C 组发酵乳酸甜比恰当, 组织均匀, 质地细腻丝滑, 品尝时无颗粒感, 具有发酵乳特有的风味。

表3 感官评分表

| 指标 | 评价标准                   | 分数    |
|----|------------------------|-------|
| 口感 | 酸甜比适宜, 口感细腻丝滑, 口味纯正    | 25~30 |
|    | 略甜或略酸, 口感整体丝滑, 不够柔和    | 15~24 |
|    | 偏酸或偏甜, 口感不够细腻          | 10~14 |
|    | 口感欠佳, 不细腻较粗糙           | <10   |
| 气味 | 具有酸牛乳特有的气味, 无不良气味及其它气味 | 16~20 |
|    | 气味淡, 无其它不良气味           | 11~15 |
|    | 气味较淡, 略有酒精发酵的味道        | 6~10  |
|    | 有异味, 有较强的特殊气味          | <6    |

(续表 3)

| 指标   | 评价标准                  | 分数    |
|------|-----------------------|-------|
| 色泽   | 色泽均匀一致,呈乳白色、微黄        | 16~20 |
|      | 色泽略不均匀,呈淡黄            | 11~15 |
|      | 色泽不均匀,呈黄色             | 6~10  |
|      | 色泽不均匀,呈深黄色,有明显色差      | <6    |
| 组织状态 | 组织细腻顺滑,无气泡产出,无乳清析出    | 25~30 |
|      | 组织较为均匀,略有气泡产出,极少量乳清析出 | 15~24 |
|      | 组织不均匀,产出的气泡略多,有较多乳清析出 | 10~14 |
|      | 质地浑浊,出现分层现象           | <10   |

表 4 感官评价结果

Table 4 Sensory evaluation sheet

| 指标   | A 组  | B 组  | C 组  | D 组  | E 组  |
|------|------|------|------|------|------|
| 口感   | 28.9 | 27.7 | 28.7 | 28.6 | 27.8 |
| 色泽   | 18.9 | 19.1 | 18.8 | 18.3 | 18.3 |
| 组织状态 | 29.6 | 29.2 | 29.7 | 29.4 | 29.5 |
| 气味   | 20   | 19.5 | 19.6 | 19.8 | 20   |
| 总分   | 97.4 | 95.5 | 96.8 | 96.1 | 95.6 |

## 2.2 微流变学特性

在发酵过程中,各组发酵乳的凝胶化过程中微流变特性参数随发酵时间的变化情况如图 1 所示。FI 值反映发酵乳中微观粒子的运动速度。FI 值越高,运动速度越快,颗粒越多,流动性越大<sup>[18]</sup>。EI 直接反映弹性模量,EI 值越大,样品的凝胶结构越强,样品性质越稳定<sup>[19]</sup>。MVI 表示黏性模量,显示发酵乳黏度的变化<sup>[20]</sup>,MVI 与黏性模量成正比。SLB 直接反映产品偏固态或液态时与时间对应的函数关系,与黏弹性性能成正比,当  $0.5 < SLB < 1$  时,表现出黏性模量,样品质地偏向于液态<sup>[19]</sup>。研究表明,酪蛋白胶束是凝胶形成的主要驱动力<sup>[21]</sup>。

发酵开始至 3.8 h,发酵乳样品的 SLB 处于波动状态,酪蛋白胶束的 pH 值降低,净负电荷逐渐减少,胶束之间的静电斥力逐渐减小,从而对胶束的稳定性产生影响<sup>[22]</sup>。3.8 h 后 SLB 值在拐点后开始缓慢上升,使原有的酪蛋白聚发生解离,样品逐渐达到微黏性状态。当 SLB 为 0.5 时为凝胶点,E 组最先到达凝胶点,其它各组到达时间比较接近,A 组较快到达凝胶点。发酵终点时,SLB 值在 0.7 左右,样品具有更多的黏性液体特征,其中 E 组发酵乳的 SLB 最高,而 D 组最低。

除 E 组发酵乳外,其余发酵乳样品的 EI 在 3.8 h 内保持稳定,在此期间 MVI、SLB 和 FI 值处于较大的波动状态,原因是酪蛋白未形成凝胶的网状结构<sup>[22]</sup>。4 h 开始,A、B、C、D 组发酵乳 EI 出现拐点且迅速呈垂直上升,到达凝胶点。随发酵时间的增加,发酵乳中的酪蛋白发生完全解离并快速聚集成凝胶结构,EI 值达到最大<sup>[23]</sup>。到发酵终点时,A 组与对照组 E 组的 EI 值接近,略大于其它各组,表示形成的凝胶结构更为紧密。

试验各组发酵乳在发酵前 3.8 h,MVI 值在同一时期保持在一定水平范围内波动,这是处于低黏度的初始停滞阶段,原因是未形成凝胶网络结构<sup>[24]</sup>。3.8 h 后,A、B、C、D 组发酵乳 MVI 迅速上升,可能由于酪蛋白胶粒发生解离后开始形成凝胶,之后各发酵乳样品进入高黏度阶段使 MVI 迅速增至最大值<sup>[25]</sup>。5.3 h 左右出现同样的趋势。发酵终点时形成网络结构,各组发酵乳最终形成稳定的凝胶结构。

发酵 3.8 h,除发酵乳 E 组外,其它各组 FI 值均处于波动状态,表现为液态性质。4.5 h 后出现拐点,FI 值从直线下降到平缓下降,达到  $10^{-2}$  Hz 后基本保持不变,说明样品具有较高的黏性液体性质。到发酵终点,E 组发酵乳的 FI 最低。



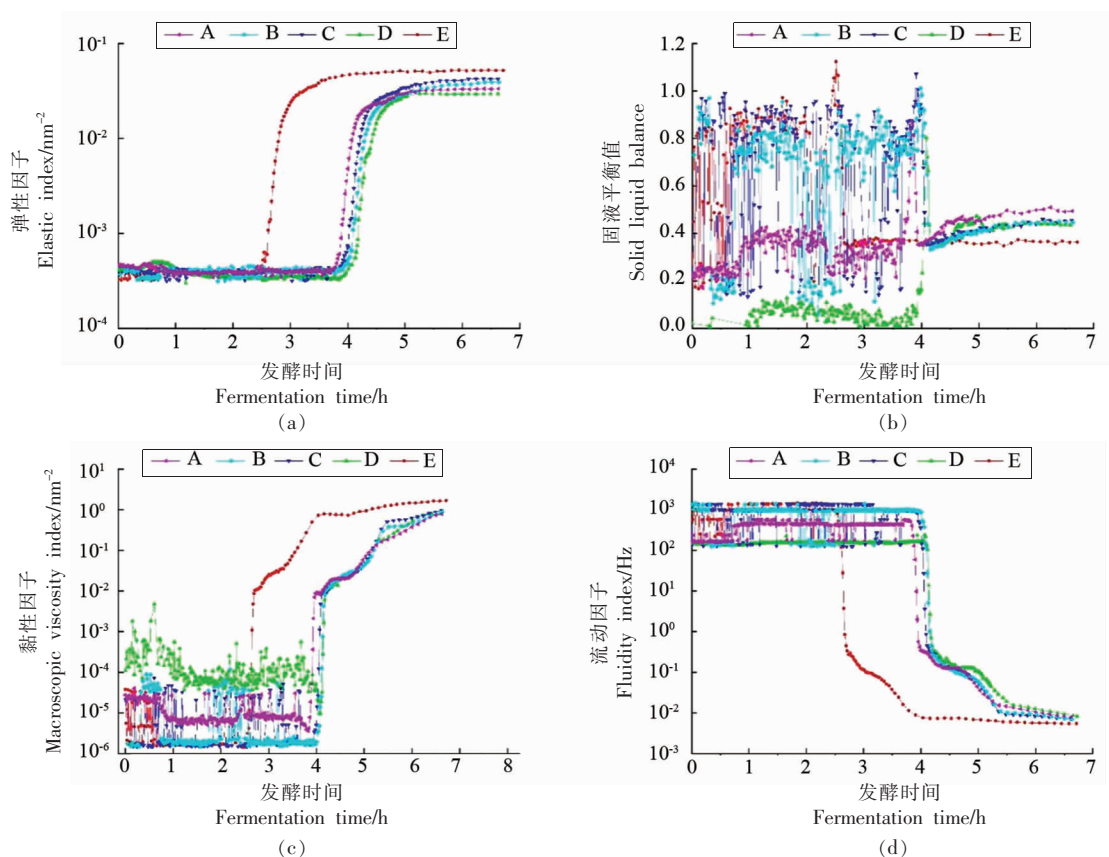


图1 发酵乳在发酵过程中的弹性因子(a)、固液平衡值(b)、黏性因子(c)及流动因子(d)的变化

Fig.1 The elastic index (a), solid liquid balance (b), macroscopic viscosity index (c), and fluidity index (d) of yogurt during the fermentation

### 2.3 质构特性

贮藏过程中,5组发酵乳的质构特性见表5。由于后酸和酪蛋白水合作用等因素会影响发酵乳的硬度、脱水收缩等质构特性,因此本试验中所有质构参数均在贮藏期测定。5组发酵乳的硬度、内聚性、稠度、黏度指标均存在显著差异( $P < 0.05$ )。其中硬度和黏度指数在贮藏1,7,21 d有差异( $P < 0.05$ ),贮藏14 d时无差异( $P > 0.05$ )。稠度和内聚性在贮藏1,7,14,21 d均有差异( $P < 0.05$ )。有研究表明硬度直接影响酸奶质量<sup>[26]</sup>。本研究中,E组具有最大硬度,其次是A组,再次是C组,说

明A、C组酸奶质量较好。从稠度、内聚性、黏度指数角度分析,A、C组发酵乳的相关参数比其它发酵组高。从总体分析,A、C组发酵乳与商业发酵剂组相似,表现出优良的性能。吴森等<sup>[27]</sup>研究表明:发酵乳的蛋白水解活性、酸化能力、硬度和黏稠性均随贮藏时间的延长而增加( $P < 0.05$ ),而内聚性、持水力和感官评分显著下降( $P < 0.05$ )。而在本研究中,与嗜热链球菌S10复配的IMAU20450、IMAU62091持水性并未下降,可能是由于嗜热链球菌S10与保加利亚乳杆菌复配发酵可增加发酵乳的特性。

表5 发酵乳贮藏期间质构参数分析

Table 5 Analysis of texture index of fermented milk

| 时间/d | 试验组发酵乳                    |                            |                           |                           | 对照组                       |
|------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|      | A组                        | B组                         | C组                        | D组                        | E组                        |
|      | 硬度/g                      |                            |                           |                           |                           |
| 1    | 38.45 ± 4.54 <sup>b</sup> | 43.11 ± 4.43 <sup>b</sup>  | 41.22 ± 1.54 <sup>b</sup> | 37.63 ± 1.64 <sup>b</sup> | 56.93 ± 0.63 <sup>a</sup> |
| 7    | 63.94 ± 5.27 <sup>a</sup> | 59.52 ± 0.18 <sup>ab</sup> | 64.37 ± 1.68 <sup>a</sup> | 54.12 ± 0.80 <sup>b</sup> | 56.27 ± 1.17 <sup>b</sup> |

(续表 5)

| 时间/d | 试验组发酵乳                       |                              |                             |                             | 对照组                          |
|------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|      | A 组                          | B 组                          | C 组                         | D 组                         | E 组                          |
| 14   | 36.47 ± 5.24 <sup>a</sup>    | 36.07 ± 2.42 <sup>a</sup>    | 39.43 ± 1.00 <sup>a</sup>   | 40.66 ± 0.42 <sup>a</sup>   | 36.98 ± 1.14 <sup>a</sup>    |
| 21   | 83.04 ± 1.85 <sup>a</sup>    | 76.40 ± 1.08 <sup>b</sup>    | 83.25 ± 0.084 <sup>a</sup>  | 66.96 ± 1.50 <sup>c</sup>   | 73.19 ± 1.04 <sup>b</sup>    |
|      | 稠度/g·s                       |                              |                             |                             |                              |
| 1    | 302.30 ± 40.10 <sup>b</sup>  | 344.45 ± 37.90 <sup>b</sup>  | 324.57 ± 9.75 <sup>b</sup>  | 299.83 ± 13.31 <sup>b</sup> | 454.98 ± 17.10 <sup>a</sup>  |
| 7    | 494.65 ± 38.26 <sup>a</sup>  | 440.99 ± 1.00 <sup>ab</sup>  | 484.89 ± 39.63 <sup>a</sup> | 400.74 ± 10.04 <sup>b</sup> | 410.03 ± 11.58 <sup>b</sup>  |
| 14   | 274.03 ± 36.11 <sup>ab</sup> | 271.76 ± 17.26 <sup>b</sup>  | 295.30 ± 8.39 <sup>ab</sup> | 325.46 ± 4.01 <sup>a</sup>  | 286.57 ± 19.96 <sup>ab</sup> |
| 21   | 610.22 ± 36.36 <sup>ab</sup> | 593.77 ± 37.45 <sup>ab</sup> | 615.24 ± 12.35 <sup>a</sup> | 529.19 ± 34.65 <sup>b</sup> | 575.43 ± 36.76 <sup>ab</sup> |
|      | 内聚性/g                        |                              |                             |                             |                              |
| 1    | 36.10 ± 8.86 <sup>b</sup>    | 41.20 ± 6.82 <sup>b</sup>    | 39.23 ± 2.69 <sup>b</sup>   | 34.05 ± 3.53 <sup>b</sup>   | 76.70 ± 2.89 <sup>a</sup>    |
| 7    | 67.03 ± 7.36 <sup>a</sup>    | 50.26 ± 0.63 <sup>bc</sup>   | 63.15 ± 12.24 <sup>ab</sup> | 44.09 ± 1.24 <sup>c</sup>   | 45.34 ± 1.23 <sup>c</sup>    |
| 14   | 27.91 ± 3.77 <sup>b</sup>    | 27.38 ± 1.56 <sup>b</sup>    | 30.14 ± 0.96 <sup>b</sup>   | 37.04 ± 2.79 <sup>a</sup>   | 29.99 ± 2.85 <sup>b</sup>    |
| 21   | 86.22 ± 1.48 <sup>ab</sup>   | 80.91 ± 3.13 <sup>ab</sup>   | 88.12 ± 1.03 <sup>a</sup>   | 35.36 ± 45.18 <sup>b</sup>  | 76.62 ± 3.87 <sup>ab</sup>   |
|      | 黏度指数/g·s                     |                              |                             |                             |                              |
| 1    | 40.67 ± 7.76 <sup>b</sup>    | 48.09 ± 8.89 <sup>b</sup>    | 45.69 ± 4.18 <sup>b</sup>   | 39.06 ± 3.04 <sup>b</sup>   | 79.11 ± 3.71 <sup>a</sup>    |
| 7    | 79.34 ± 6.18 <sup>a</sup>    | 63.79 ± 0.58 <sup>bc</sup>   | 74.28 ± 7.89 <sup>ab</sup>  | 56.92 ± 0.21 <sup>c</sup>   | 60.54 ± 1.13 <sup>c</sup>    |
| 14   | 34.44 ± 7.72 <sup>a</sup>    | 33.30 ± 4.04 <sup>a</sup>    | 38.91 ± 2.32 <sup>a</sup>   | 43.71 ± 1.73 <sup>a</sup>   | 35.76 ± 2.37 <sup>a</sup>    |
| 21   | 99.88 ± 1.32 <sup>a</sup>    | 90.40 ± 2.77 <sup>bc</sup>   | 98.05 ± 6.21 <sup>ac</sup>  | 83.94 ± 1.94 <sup>b</sup>   | 89.06 ± 0.47 <sup>b</sup>    |

注:同行上标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

2.4 贮藏稳定性

本研究对各组发酵乳样品在贮藏期间的滴定酸度、持水性和黏度变化情况进行测定,综合评价

在不同时间保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌复配发酵乳后酸及稳定性情况,结果如图 2、表 6 所示。

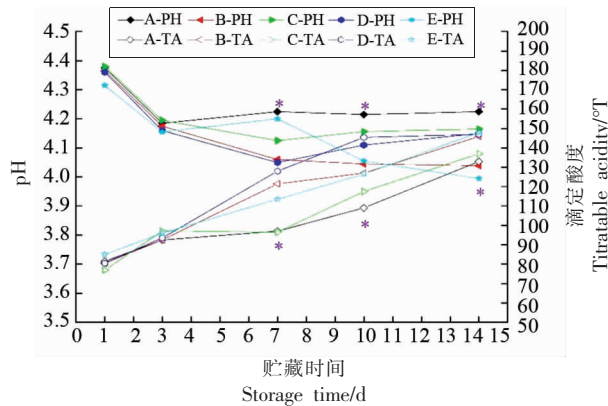


图 2 发酵乳在 25 °C 贮藏 14 d 期间 pH 值和滴定酸度(TA)变化

Fig.2 Changes in pH and titratable acidity of fermented milk during storage at 25 °C for 14 days

表 6 发酵乳 4 °C 贮藏 21 d 的 pH 值、酸度、持水性和黏度变化

Table 6 Changes of titratable acidity, water holding capacity and viscosity of yogurt samples during storage

| 时间/d | A 组                      | B 组                      | C 组                     | D 组                      | E 组                      |
|------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|      | 酸度/°T                    |                          |                         |                          |                          |
| 1    | 80.5 ± 0.7 <sup>b</sup>  | 77.0 ± 1.4 <sup>c</sup>  | 81.5 ± 0.7 <sup>b</sup> | 80.5 ± 0.7 <sup>b</sup>  | 85.0 ± 1.4 <sup>a</sup>  |
| 7    | 89.0 ± 1.4 <sup>bc</sup> | 89.0 ± 1.4 <sup>bc</sup> | 90.5 ± 0.7 <sup>b</sup> | 86.5 ± 2.1 <sup>c</sup>  | 97.0 ± 1.4 <sup>a</sup>  |
| 14   | 100.5 ± 0.7 <sup>a</sup> | 99.5 ± 0.7 <sup>a</sup>  | 98.5 ± 2.1 <sup>a</sup> | 100.0 ± 0.0 <sup>a</sup> | 100.5 ± 0.7 <sup>a</sup> |
| 21   | 95.5 ± 0.7 <sup>a</sup>  | 92.0 ± 1.4 <sup>b</sup>  | 92.0 ± 1.4 <sup>b</sup> | 93.5 ± 0.7 <sup>ab</sup> | 95.0 ± 0.0 <sup>a</sup>  |

(续表 6)

| 时间/d | A 组                          | B 组                          | C 组                          | D 组                          | E 组                          |
|------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|      |                              |                              | 持水性/%                        |                              |                              |
| 1    | 65.5 ± 4.1 <sup>a</sup>      | 68.0 ± 0.2 <sup>a</sup>      | 66.1 ± 0.5 <sup>a</sup>      | 69.0 ± 0.2 <sup>a</sup>      | 67.8 ± 3.2 <sup>a</sup>      |
| 7    | 67.0 ± 0.6 <sup>a</sup>      | 68.8 ± 1.2 <sup>a</sup>      | 66.9 ± 1.7 <sup>a</sup>      | 66.9 ± 2.8 <sup>a</sup>      | 68.9 ± 2.8 <sup>a</sup>      |
| 14   | 65.7 ± 0.6 <sup>b</sup>      | 69.6 ± 1.5 <sup>ab</sup>     | 72.8 ± 2.2 <sup>a</sup>      | 68.6 ± 1.6 <sup>b</sup>      | 70.5 ± 1.6 <sup>ab</sup>     |
| 21   | 70.2 ± 2.4 <sup>a</sup>      | 67.9 ± 1.0 <sup>a</sup>      | 68.7 ± 0.1 <sup>a</sup>      | 71.2 ± 0.0 <sup>a</sup>      | 69.2 ± 3.3 <sup>a</sup>      |
|      |                              |                              | 黏度/mPa·s                     |                              |                              |
| 1    | 1 727.0 ± 17.0 <sup>a</sup>  | 1 802.0 ± 123.0 <sup>a</sup> | 1 883.5 ± 111.0 <sup>a</sup> | 1 670.5 ± 91.2 <sup>a</sup>  | 2 082.5 ± 246.7 <sup>a</sup> |
| 7    | 2 113.5 ± 461.7 <sup>a</sup> | 2 546.5 ± 50.2 <sup>a</sup>  | 2 099.0 ± 495.0 <sup>a</sup> | 2 270.5 ± 275.0 <sup>a</sup> | 2 070.5 ± 136.5 <sup>a</sup> |
| 14   | 1 999.5 ± 143.5 <sup>a</sup> | 2 212.5 ± 125.2 <sup>a</sup> | 1 811.0 ± 42.4 <sup>a</sup>  | 2 061.0 ± 35.4 <sup>a</sup>  | 1 873.5 ± 191.6 <sup>a</sup> |
| 21   | 1 920.5 ± 5.0 <sup>a</sup>   | 1 891.5 ± 38.9 <sup>a</sup>  | 2 117.0 ± 45.3 <sup>a</sup>  | 2 068.0 ± 192.3 <sup>a</sup> | 2 166.5 ± 212.8 <sup>a</sup> |

注:同行上标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

2.4.1 后酸化评价结果 后酸化指发酵乳在运输、销售过程中,乳酸菌仍生长繁殖,持续产酸使酸度继续升高的现象。后酸化不仅使产品品质下降,还会影响酸奶的货架期。采用 25 °C 贮藏 14 d 的 pH 值和 TA 变化来评估各组发酵乳后酸化情况,结果如图 2 所示。在发酵乳贮藏期间生长产酸的保加利亚乳杆菌是造成产品后酸化现象的主要原因<sup>[28]</sup>。本研究中,不同株保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 复配时表现出的后酸化情况不同。第 3 天时,各组发酵乳 pH 值和 TA 值变化虽较大,但无显著差异( $P > 0.05$ )。第 7 天时,发酵乳 A、C 组的 TA 值显著低于其它各组( $P < 0.05$ ),且差异持续至 14 d 贮藏结束。说明菌株保加利亚乳杆菌 I-MAU20450、IMAU62091 与嗜热链球菌 S10 复配时具有较好的弱后酸化能力。

2.4.2 酸度 酸度是衡量酸奶风味的一个重要的指标。贮藏 1 d 至 7 d 时,E 组的 TA 值最大,从 14 d 至 21 d 时增加趋势变得缓慢,甚至出现下降的趋势。从贮藏期间滴定酸度看,贮藏 1 d 时 A、C、D 组发酵乳无明显差别,7 d 时 A、B、C 组发酵乳无明显差别,14 d 时 A、B、C、D、E 组发酵乳无明显差别,21 d 时 A、E 组发酵乳无明显差别。在 4 °C 贮藏时 1,7,21 d 酸度均有明显差异( $P < 0.05$ ),而 14 d 时酸度无差异( $P > 0.05$ ),这与持水性表现出一致性。

2.4.3 持水性 持水性用来衡量发酵乳的乳清存在于蛋白质结构中的稳定性。发酵乳贮藏 1,7,21 d 时 A、B、C、D、E 组发酵乳的持水性无差异( $P > 0.05$ ),14 d 时的持水性有明显差别。这与发酵过

程中表现出的内聚性一致。5 组发酵乳的持水性都较好,在 60%~80% 范围。李慧等<sup>[29]</sup>对搅拌型酸奶的持水性及黏度的测定表明,黏度总体上与持水性呈较高的正相关,随黏度发生改变,与本研究相符。此外,4 株保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌 S10 复配发酵后发酵乳的持水性均良好。

2.4.4 黏度 贮藏期间,各试验组发酵乳的黏度与对照组无显著差异( $P > 0.05$ ),说明 4 株保加利亚乳杆菌和嗜热 S10 复配后可以提高发酵乳的黏度,达到商业发酵剂的标准。石月锋等<sup>[30]</sup>在研究凝固型酸奶贮存过程中的特性时发现酸奶的黏度和酸度存在一定的相关性,随着黏度增加,酸度反而减小。在本研究中没有明显的差别,可能由于复配的发酸乳可以达到商业发酵剂黏度的水平。Xu 等<sup>[31]</sup>研究了嗜热链球菌 S-3 与德氏乳杆菌复配发酵在酸奶中的应用,并对其胞外多糖(EPS-S3)结构进行表征。通过流变学研究结果显示 EPS 具有增加发酵乳表观黏度的作用,而蔡森等<sup>[32]</sup>研究显示,EPS 虽可以增加发酸乳的表观黏度,但其添加量与酸乳质构没有明确的关系。

### 3 结论

将保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU95110、IMAU62091、IMAU62161 与嗜热链球菌 S10 进行复配,以商业发酵剂为对照,分析各组发酵乳发酵过程中凝胶特性和贮藏稳定性,并评价后酸化特性。结果表明,各株保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 复配的发酸过程中形成凝胶的微流变特性类似,其中保加利亚乳杆菌 IMAU20450 复配时形成

的凝胶较为紧密。保加利亚乳杆菌 IMAU20450、IMAU62091 与嗜热链球菌 S10 复配发酵乳表现出弱后酸化特征,具有较好的贮藏稳定性,感官评分较高,说明这几株菌有深入研究的价值及较好的应用前景。本研究是基于我国自主知识产权乳酸菌菌株开发乳酸菌发酵剂,可为进一步研究提供物质基础和数据参考。

### 参 考 文 献

- [1] MARIA E M, JUMAMURAT R, BRIAN E, et al. Nomadic lifestyle of *Lactobacillus plantarum* revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats [J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(12): 4974–4989.
- [2] SONG Y Q, SUN Z H, GUO C Y, et al. Genetic diversity and population structure of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies bulgaricus isolated from naturally fermented dairy foods [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22704.
- [3] 崔欣, 孙亚琳, 王开云, 等. 嗜热链球菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种共生关系的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(6): 184–189.
- CUI X, SUN Y L, WANG K Y, et al. Research progress on the symbiotic relationship between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subspecies bulgaricus[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(6): 184–189.
- [4] SERRAZANETTI D I, GUERZONI M E, CORSETTI A, et al. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reaction in lactobacilli [J]. *Food Microbiology*, 2009, 26(7): 700–711.
- [5] 宋宇琴. 德氏乳杆菌保加利亚亚种的群体遗传学和功能基因组学研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
- SONG Y Q. Population genetics and functional genomics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018.
- [6] 李丹阳, 郑岩, 张文羿, 等. 嗜热链球菌 S10 发酵乳贮藏期间的代谢组学研究[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(11): 185–192.
- LI D Y, ZHENG Y, ZHANG W Y, et al. Metabolomics of *Streptococcus thermophilus* S10 fermented milk during storage [J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2020, 20(11): 185–192.
- [7] 李丹阳. *Streptococcus thermophilus* S10 发酵不同基料代谢组学的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- LI D Y. Metabolomics of *Streptococcus thermophilus* S10 fermentation with different base materials [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020.
- [8] 郭帅, 韩之皓, 王月娇, 等. *Streptococcus thermophilus* S10 发酵豆乳的基础研究[C]// 第十三届益生菌与健康国际研讨会摘要集. 广州: 中国食品科学技术学会, 2018: 2.
- GUO S, HAN Z H, WANG Y J, et al. Basic research on fermented soybean milk with *Streptococcus thermophilus* S10 [C]// The 13<sup>th</sup> International Symposium on Probiotics and Health Conference Abstract Collection. Guangzhou: Chinese Society of Food Science and Technology, 2018: 2.
- [9] 欧慧琳, 龚福忠, 罗艳, 等. 扩散波谱技术研究离子液体微乳液 [Bmim]BF<sub>4</sub>/Tween-20/二甲苯的流变性[J]. *广西大学学报(自然科学版)*, 2019, 44(3): 855–862.
- OU H L, GONG F Z, LUO Y, et al. Rheological properties of ionic liquid microemulsion [Bmim]BF<sub>4</sub>/Tween-20/xylene by diffusion spectroscopy[J]. *Journal of Guangxi University (Natural Science Edition)*, 2019, 44(3): 855–862.
- [10] YANG N, LV R, JIA J J, et al. Application of microrheology in food science [J]. *Review of Food Science and Technology*, 2017, 8(1): 493–521.
- [11] KAROUI R, LAGUET A, DUFOUR E. Fluorescence spectroscopy: A tool for the investigation of cheese melting—correlation with rheological characteristics[J]. *Lait*, 2003, 83(3): 251–264.
- [12] 苏敦, 任发政, 刘松玲, 等. 菌株发酵特性研究及复合酸奶发酵剂的筛选[J]. *中国奶牛*, 2017(9): 50–57.
- SU D, REN F Z, LIU S L, et al. Study on fermentation characteristics of strains and screening of compound yogurt starter[J]. *China Dairy Cattle*, 2017(9): 50–57.
- [13] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准发酵乳: GB 19302-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standard for fermented milk: GB 19302-2010[S]. Beijing: China Standard Press,



- 2010.
- [14] 吴伟都, 朱慧, 欧凯, 等. 测试条件对搅拌型酸乳质构特性测定的影响[J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(1): 8-12.  
WU W D, ZHU H, OU K, et al. Effects of test conditions on the determination of texture properties of stirred yogurt[J]. Dairy Science and Technology, 2019, 42(1): 8-12.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品酸度的测定: GB 5009.239-2016[S].北京: 中国标准出版社, 2016: 1-10.  
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard for determination of food acidity: GB 5009.239-2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016: 1-10.
- [16] DELIKANLI B, OZCAN T. Effects of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt[J]. International Journal of Dairy Technology, 2015, 67(4): 495-503.
- [17] YILIDIZ E, OZCAN T. Functional and textural properties of vegetable - fibre enriched yoghurt[J]. International Journal of Dairy Technology, 2018, 72(2): 199-207.
- [18] 罗天淇, 蔡森, 张敏, 等. 辅助发酵菌株对发酵乳品质的影响[J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(3): 1-8.  
LUO T Q, CAI M, ZHANG M, et al. Effects of auxiliary fermentation strains on the quality of fermented milk [J]. Dairy Science and Technology, 2019, 42(3): 1-8.
- [19] 刘贺, 庚平, 万娇, 等. 蛋白酶对豆浆凝胶过程微流变性质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 1-5.  
LIU H, GENG P, WAN J, et al. Effect of protease on microrheological properties of soybean milk gelation process[J]. Food Science, 2016, 37(3): 1-5.
- [20] ROHART A, MICHON C, CONFAC J, et al. Evaluation of ready-to-use SMLS and DWS devices to study acid-induced milk gel changes and syneresis[J]. Dairy Science & Technology, 2016, 96(4): 459-475.
- [21] TITAPICCOLO G I, CORREDIG M, ALEXANDER M. Acid coagulation behavior of homogenized milk: Effect of interacting and non-interacting droplets observed by rheology and diffusing wave spectroscopy [J]. Dairy Science & Technology, 2011, 91(2): 185-201.
- [22] HE J, HAN Y, LIU M, et al. Effect of 2 types of resistant starches on the quality of yogurt[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(5):1-9.
- [23] 王雅楠, 韩育梅, 何君, 等. 添加益生元对酸乳凝胶过程及微观结构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 100-105.  
WANG Y N, HAN Y M, HE J, et al. Effects of adding prebiotics on the gelation process and microstructure of yogurt[J]. Food Science, 2019, 40(15): 100-105.
- [24] 孙健, 牛天娇, 常圆圆, 等. 琼脂-牛乳蛋白酸凝胶微流变特征研究[J]. 农业机械学报, 2018, 49(2): 334-338.  
SUN J, NIU T J, CHANG Y Y, et al. Study on microrheological characteristics of agar-milk protein acid gel[J]. Chinese Journal of Agricultural Machinery, 2018, 49(2): 334-338.
- [25] ZHANG Y, LI Y, WANG P J, et al. Rennet-induced coagulation properties of yak casein micelles: A comparison with cow casein micelles[J]. Food Research International, 2017, 102: 25.
- [26] OZCAN T. Determination of yogurt quality by using rheological and textural parameters[J]. International Proceedings of Chemical, Biological & Environmental, 2013, 53: 27-28.
- [27] 吴森, 唐善虎, 李思宁, 等. 不同益生菌与嗜热链球菌共培养发酵乳的理化、质构及感官特性研究[J]. 食品科技, 2020, 45(12): 1-7.  
WU M, TANG S H, LI S N, et al. Physicochemical, texture and sensory properties of fermented milk co-cultured with different probiotics and *Streptococcus thermophilus*[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(12): 1-7.
- [28] SHAH N P. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(4): 894-907.
- [29] 李慧, 吴伟都, 朱慧, 等. 搅拌型酸奶黏度及持水性测定的研究[J]. 粮食与食品工业, 2018, 25(2): 56-59.  
LI H, WU W D, ZHU H, et al. Study on the determination of viscosity and water holding capacity of stirring yogurt[J]. Food and Food Industry, 2018, 25(2): 56-59.
- [30] 石月锋, 杨海燕. 凝固型酸奶在储存过程中的特性研究[J]. 新疆农业大学学报, 2009, 32(5): 72-74.

- SHI Y F, YANG H Y. Research on the characteristics of solidified yogurt during storage[J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 2009, 32(5): 72–74.
- [31] XU Z Y, GUO Q B, ZHANG H X, et al. Structural characterisation of EPS of *Streptococcus thermophilus* S-3 and its application in milk fermentation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 178: 263–269.
- [32] 蔡森, 郝晓娜, 罗天淇, 等. 植物乳杆菌 YW11 胞外多糖对酸乳加工特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 39–45.
- CAI M, HAO X N, LUO T Q, et al. Effect of extracellular polysaccharide of *Lactobacillus plantarum* YW11 on processing characteristics of sour milk[J]. Food Science, 2018, 42(14): 39–45.

### Effects of Different Combinations of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* S10 on the Properties of Fermented Milk

Sun Yuexin, Shi Jiaqi, Li Jing, Liu Junxia, Yang Zhihui, Yang Shujuan,  
Bai Mei, Wang Jicheng, Zhang Heping\*

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

**Abstract** *Streptococcus thermophilus* S10 was isolated from naturally fermented milk in Qinghai region, and has good weak post-acidification ability and fermentation characteristics. In this study, 4 strains of *Lactobacillus bulgaricus* I-MAU20450, IMAU95110, IMAU62091 and IMAU62161, isolated from traditional fermented milk and yogurt in different countries, were compounded with *Streptococcus thermophilus* S10 to form a starter (A, B, C and D), and commercial starter (E) as the control group. The micro-rheological properties of the fermentation process were studied by multi-frequency diffusion spectroscopy, the storage stability and post-acidification were comprehensively evaluated. The results showed that the solid liquid balance value of group A fermented milk was the lowest during the fermentation process, while the coefficient of viscosity and elasticity factor were higher than those of group B, C, and D fermented milk, indicating that group A fermented milk formed structure with higher strength. During storage at 4 °C for 21 days, the hardness of groups A and C had no difference with the control group, and were significantly greater than those of the other experimental groups ( $P < 0.05$ ). The acidification evaluation after 14 days of storage at 25 °C found that the pH value and titratable acidity of the fermented milk in groups B and D were lower than and greater than those in the other groups, respectively ( $P < 0.05$ ), while the fermented milk in groups A and C had no significant difference with the control group. Between groups A and C indicated that the starter in groups A and C had weak post-acid properties. At the same time, the sensory evaluation scores of groups A and C were the highest. In conclusion, when *Lactobacillus bulgaricus* I-MAU20450 and IMAU62091 were compounded with *Streptococcus thermophilus* S10 respectively, the fermentation and storage characteristics of yogurt were better, and they had further in-depth research value and better application prospects, which provided material basis and data reference for the development of lactic acid bacteria starter.

**Keywords** *Lactobacillus bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*; fermented milk