

## 乳酸乳球菌乳亚种 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳品质的改善

李培培, 郭 帅, 张启航, 徐维那, 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  
内蒙古乳品生物技术与工程重点实验室 呼和浩特 010018)

**摘要** 双歧杆菌因自身生理特性, 故在发酵乳应用时存在时效性差和风味不佳等缺陷。本试验中将乳酸乳球菌乳亚种 BL19 与 4 株动物双歧杆菌乳亚种分别复配制备发酵乳, 并以单菌株发酵作为对照, 测定发酵和贮藏期间各组发酵乳的 pH 值、滴定酸度、活菌数、黏度、持水力、质构。通过电子鼻、电子舌以及感官品鉴, 综合评价 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳品质的改善作用。结果显示, 相比于单菌株发酵, BL19 可将动物双歧杆菌发酵乳的发酵时间缩短至 8 h, 并使动物双歧杆菌乳亚种的活菌数在短时间内快速增长 4 倍以上。贮藏期内, BL19 可降低动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的后酸程度, 使 pH 值维持在 4.33 以上; 提高持水力到 60% 以上; 将黏度保持在 2 000 cP 以下, 同时改善发酵乳的质构。另外, 加入 BL19 可丰富动物双歧杆菌乳亚种发酵乳中的挥发性风味物质, 提升发酵乳在贮藏期间的口感和滋气味。结论: 乳酸乳球菌乳亚种 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳品质具有良好的改善作用, 本研究可为益生菌发酵乳在产业化过程的应用推广提供数据参考。

**关键词** 乳酸乳球菌乳亚种; 动物双歧杆菌乳亚种; 益生菌; 发酵乳品质; 贮藏特性  
**文章编号** 1009-7848(2025)02-0201-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.02.018

双歧杆菌是人类和动物肠道菌群的核心组成部分, 可维持宿主微生态平衡, 调节免疫, 抑制有害微生物生长, 缓解和改善消化道疾病等<sup>[1-3]</sup>。发酵乳是益生菌的良好载体, 也是目前摄入双歧杆菌的重要形式。发酵乳具有较强的 pH 值缓冲能力, 在低酸条件下形成的凝聚物可将双歧杆菌包埋, 能抵抗来自胃酸等不利环境对其细胞的损伤, 并提高到达肠道的存活率<sup>[4-6]</sup>。因牛乳中缺少双歧杆菌生长所需的全部营养物质, 故单独发酵时效性较差, 并伴有酵母味、醋味和香气不足等滋气味缺陷<sup>[7-8]</sup>。多菌株复合发酵可以解决这个问题, 在促进双歧杆菌生长的同时, 改善发酵乳的品质<sup>[9]</sup>。如: Yonezawa 等<sup>[7]</sup>发现乳酸乳球菌乳亚种与双歧杆菌在乳中共培养可以促进双歧杆菌的生长, 发酵结束时复配组中双歧杆菌的活菌数显著高于单菌组。另外, 多菌株发酵可生成双乙酰等风味物质, 能改善发酵乳风味和品质<sup>[10]</sup>。发酵乳品质评价包括理化特性、微生物和感官品鉴等指标: 理化特性如酸度、持水力、黏度和质构特性等; 微生物主要

指活性益生菌数; 感官包括颜色、气味和口感等。

试验中, 以乳酸乳球菌乳亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) BL19、动物双歧杆菌乳亚种 (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) V9、BB-35、BB-69 和 ProSci-246 为研究菌株。其中, BL19 发酵特性良好, 广泛应用于发酵乳和奶酪等乳制品生产中, 对产品酸度、风味和质地形成起关键作用<sup>[11]</sup>。V9 分离自蒙古族健康儿童肠道, 被证明具有调节肠道菌群, 平衡免疫, 缓解和改善女性多囊卵巢综合征等功效<sup>[12-13]</sup>, BB-35、BB-69 和 ProSci-246 分离自健康婴儿肠道, 具有良好的胃肠液和胆盐耐受性<sup>[14]</sup>。以动物双歧杆菌乳亚种单菌株发酵为对照组, 通过理化指标、活菌数、感官品鉴、滋气味等指标综合评估 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳品质的改善作用, 旨在为益生菌发酵乳产品开发提供数据支持。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料与设备

1.1.1 试验菌株来源 试验中使用的 BL19、V9、BB-35、BB-69 和 ProSci-246 直投式发酵剂均由内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室提供。

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2022QN03021)

第一作者: 李培培, 女, 硕士生

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

1.1.2 材料及试剂 纯牛乳,蒙牛高科乳制品(北京)有限责任公司;白砂糖,中粮糖业有限公司。MRS 固体培养基,英国 oxoid 公司;*L*-半胱氨酸盐酸盐(分析纯级),青岛海博生物技术有限公司;莫匹罗星锂盐,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;氯化钾、酒石酸、氢氧化钾(分析纯级),天津新技术产业园区科茂化学试剂有限公司;无水乙醇,天津基准化学试剂有限公司。

1.1.3 试验仪器及设备 pH S-3C 型 pH 计,上海雷磁技术有限公司;HWS28 型恒温水浴锅,金坛市瑞华仪器有限公司;Brookfield DV-1 型黏度仪,上海一恒科技有限公司;60-70 型均质机,上海申鹿均质机有限公司;GNP-9080 型恒温培养箱,天津市中环实验电炉有限公司;HA-300MII 型全自动高压蒸汽灭菌锅,日本 HIRAYAMA 公司;CP2202C 型分析天平,奥豪斯仪器有限公司;SA 402B 型电子舌,日本 Insent 公司;PEN3 型电子鼻,德国 AIRSENSE 公司。

## 1.2 方法

1.2.1 发酵乳制备 将纯牛奶加热到 60 °C,加入白砂糖在恒温水浴锅中化料,随后均质,压力为 20 MPa,最后在 95 °C 下杀菌 5 min,杀菌完毕冷却至 37 °C 后接种发酵,置于 37 °C 恒温培养箱中发酵至 pH 4.60 停止,破乳分装后置于 4 °C 冷藏后熟。发酵乳分为单菌组和复合发酵组,具体分组明细及菌株接种量见表 1。发酵期间每 1 h 测定 pH 值、滴定酸度和活菌数,贮藏期为 28 d,每 7 d 测定样品 pH 值、滴定酸度、活菌数、持水力、黏度、质构、电子舌和电子鼻,以及进行感官评定。

表 1 菌株分组及接种量

Table 1 Grouping and inoculation amount of strains

组别	菌株	接种量/(CFU/mL)
V	V9	$6.0 \times 10^6$
VB	V9+BL19	$6.0 \times 10^6 + 2.0 \times 10^6$
D	BB-35	$6.0 \times 10^6$
DB	BB-35+BL19	$6.0 \times 10^6 + 2.0 \times 10^6$
N	BB69	$6.0 \times 10^6$
NB	BB-69+BL19	$6.0 \times 10^6 + 2.0 \times 10^6$
P	ProSci-246	$6.0 \times 10^6$
PB	ProSci-246+BL19	$6.0 \times 10^6 + 2.0 \times 10^6$

1.2.2 酸度测定方法 酸度包括 pH 值和滴定酸度。发酵乳样品 pH 值使用 pH 计进行测定,滴定酸度的测定方法参考《食品安全国家标准 食品酸度的测定》(GB 5009.239-2016) 中的酚酞指示剂法。发酵过程中每小时取样测定 1 次酸度,贮藏期间每 7 d 测定一次酸度。

1.2.3 活菌数测定方法 发酵乳中双歧杆菌的活菌数测定方法参考《食品安全国家标准 食品微生物学检验 双歧杆菌检验》(GB 4789.34-2016),使用 ML 培养基(含 0.05% *L*-半胱氨酸盐酸盐和 0.05 mg/mL 莫匹罗星锂盐的 MRS 固体培养基)在 37 °C 厌氧培养 72 h,选取菌落总数在 30~300 之间、无蔓延菌落生长的平板统计菌落总数。

1.2.4 黏度和持水力测定方法 样品恢复至室温后,使用黏度仪测定黏度。使用 4# 转子,转速为 100 r/min,时间为 30 s。

参考文献[15]中的方法,将 20 g 样品置于滤纸的漏斗中,在室温下静置 120 min,记录滤液体积,根据式(1)计算出样品的持水力。

$$\text{持水性}(\%) = [1 - (\text{滤液质量}/\text{样品质量})] \times 100 \quad (1)$$

1.2.5 质构测定方法 使用 TA.XT. plus 质构分析仪测定贮藏期间样品的硬度(Hardness)、稠度(Consistency)、内聚性(Cohesion)和黏度指数(Viscosity index)。样品恢复至室温后倒入样品杯中,使用 35 mm 的 A/BE 探头进行测定。测试参数为试验速度 1.0 mm/s,测试深度为 20 mm,初始应力为 2 g,压缩程度为 20%,压缩时间为 5 s,提升速度为 1.5 mm/s。

1.2.6 电子舌测定方法 测试传感器内部加入 200  $\mu$ L 内部液后置于参比溶液中对传感器活化 24 h;参比电极加入内部液之后置于 3.33 mol/L 氯化钾溶液中活化 24 h。样品的处理方式是将发酵乳置于 50 mL 离心管中,按照发酵乳与超纯水体积比 1:3 的比例,取 10 mL 样品与 30 mL 超纯水混合,经 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液于杯中进行测定<sup>[16]</sup>。

1.2.7 电子鼻测定方法 电子鼻测定条件<sup>[17]</sup>为:清洗时间 60 s、样品准备时间 5 s、样品测定时间 90 s、内部流量 300 mL/min、进样流量 200 mL/min。提前将样品置于 42 °C 水浴锅中水浴 30 min,随后

插入电子鼻探头进行检测。

1.2.8 感官评定 邀请 10 名专业人员,对发酵乳样品进行感官品鉴,参考《食品安全国家标准 发

酵乳》(GB 19302-2010) 制定感官品鉴标准进行打分,标准如表 2 所示。

表 2 感官品鉴标准  
Table 2 Sensory tasting standards

项目	要求	评分/分
色泽(30分)	色泽均匀一致,呈乳白色或微黄色	21~30
	色泽较均匀,呈深黄色或灰色	11~20
	色泽不均匀,有异常颜色	0~10
滋味、气味(30分)	具有发酵乳特有的滋味、气味	21~30
	发酵乳特有的滋味、气味较淡	11~20
	无发酵乳特有的滋味、气味,有异味	0~10
组织状态(40分)	组织状态细腻、均匀,无气泡、无乳清析出	31~40
	组织状态较细腻、均匀,少量气泡、少量乳清析出	21~30
	组织较松散、不均匀,有气泡、有分层	11~20
	组织松散、不均匀,有大量气泡、明显分层	0~10

### 1.3 数据分析

研究过程中,所有试验均设置 3 个平行。数据通过 Office Excel 汇总,pH 值、滴定酸度、活菌数、黏度、持水力和感官评分结果用“平均值±平均差”表示,通过 SPSS 软件对试验数据进行统计学分析,显著性水平设定为 0.05,文中所有图形使用 Origin 2022 绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 生长曲线测定结果

菌株发酵时间与发酵乳产业化应用和发酵乳品质密切相关。如图 1a 所示,本试验中 4 株动物双歧杆菌乳亚种与 BL19 复配发酵后均极大缩短发酵时间,复配组发酵时间均在 8 h 左右,无明显差别。单菌组发酵时间均超过 20 h,其中 N 组和 P 组单菌发酵最快,发酵时间为 21 h 左右,D 组发酵最慢,发酵时间为 25 h。BL19 产酸速度快,蛋白水解彻底,发酵时间短<sup>[18]</sup>,可加快动物双歧杆菌乳亚种的发酵进程。

酸度变化可反映菌株的产酸速率和活力,因此有必要检测发酵过程中的 pH 值和滴定酸度变化。由图 1b 可知,4 株动物双歧杆菌乳亚种分别与 BL19 复配发酵期间 pH 值急速下降,复配组在发酵 2 h 到 5 h 之间 pH 值变化最大,当发酵 5 h 时 4 组复配组的 pH 值达到 5.2 左右并均开始凝乳,3 h 后 pH 值降到 4.60 以下完成发酵。其中 PB

组 pH 值下降最快,DB 组和 NB 组的 pH 值下降速度慢。单菌组在发酵 0~8 h 内 pH 值变化较小,其中 N 组可以明显看出 pH 值下降最快,发酵 8 h 时 pH 值降到 6.00 以下,其次是 P 组,两组均较快完成发酵。由图 1c 可知,TA 和 pH 值变化情况相同,复配组的滴定酸度明显变化幅度大,发酵 2 h 到 5 h 内变化最明显,PB 组上升最快,DB 组和 NB 组的 TA 上升速度慢。单菌组中 N 组上升最快,其次是 P 组,这也与 pH 值变化趋势相同,发酵结束时 V 组和 D 组的 TA 最高,为 86 °T 和 85 °T。

发酵期间活菌数结果如图 1d 所示,复配组从发酵 2 h 开始活菌数迅速上升,其中 PB 组和 NB 组增长最快,发酵结束时活菌数可达到 8.39 lg(CFU/mL)和 8.38 lg(CFU/mL);DB 组发酵结束时活菌数是复配组中最低,为 7.94 lg(CFU/mL)。发酵 8 h 时复配组发酵结束,活菌数均比单菌组高,DB 组中的活菌数是 D 组的 30.24 倍;V 组在发酵前 8 h 内活菌数呈现下降趋势,在发酵 8 h 时,VB 组中的活菌数是 V 组的 19.94 倍;NB 组中的活菌数是 N 组的 7.41 倍;PB 组中的活菌数是 P 组的 4.17 倍。根据单菌组发酵结束时的活菌数结果可知,复合发酵组发酵 8 h 可达到对应单菌发酵 20 h 以上的益生菌活菌数,显然 BL19 加速了动物双歧杆菌乳亚种的生长和增殖速率。各组发酵终点对比可知,VB 组中的活菌数是 V 组的 3.02 倍;DB 组中的活菌数是 D 组的 4.9 倍;PB 组中的活菌数

是P组的2.24倍;NB组与N组活菌数相差较小。由于牛乳中缺乏生长所需的必需氨基酸和生长因子等,因此双歧杆菌的生长受到限制,而乳酸乳球菌可以利用细胞壁锚定蛋白酶水解酪蛋白生成低分子质量的氮(特别是肽)为双歧杆菌生长提供营

养,这可能是BL19促进动物双歧杆菌乳亚种生长的重要原因<sup>[7]</sup>。综上可知,BL19与动物双歧杆菌乳亚种复配发酵后,可以快速改变发酵乳的酸度,促进动物双歧杆菌乳亚种的生长,缩短发酵进程。

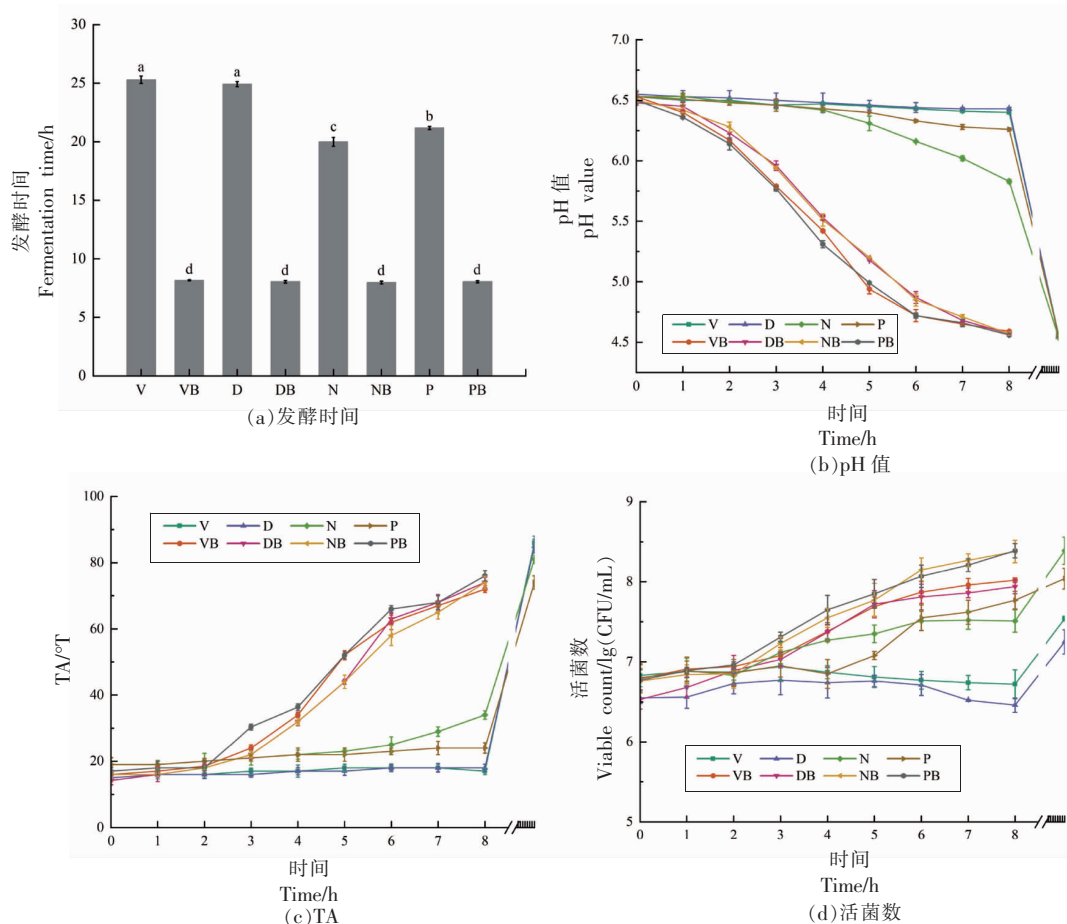


图1 发酵期间生长曲线结果

Fig.1 Results of growth curves during fermentation

## 2.2 贮藏期间指标变化结果

2.2.1 pH值、TA值和活菌数检测结果 货架期内维持一定的酸度变化范围对产品的感官和稳定性十分重要,一般商业发酵乳的货架期pH值保持在4.40~4.20之间最佳<sup>[19]</sup>。贮藏期间各组pH值随着时间变化呈现下降趋势,但均保持在4.20以上。复配组中DB组在整个贮藏期间pH值最稳定,贮藏始末pH值相差0.08,其次是PB组、VB组和NB组,贮藏结束时这4组pH值分别为4.37,4.33,4.34,4.34。单菌组中D组在贮藏期间pH值最稳定,贮藏前、后pH值下降0.10,而贮藏

期间pH值整体偏低,贮藏结束时pH值为4.29。其次是P组、V组和N组,贮藏结束时这3组pH值分别为4.33,4.25,4.24。

由图2b可知,贮藏期间各组的TA值随时间变化呈现上升趋势,复配组中VB组和NB组在贮藏期间最为稳定,贮藏前后相差10 °T,贮藏结束时两组的TA分别为90 °T和94 °T。其次是DB组和PB组,贮藏结束时TA分别为94 °T和93 °T,4组复配组在贮藏期间TA均在100 °T以下,酸度适中。单菌组中V组在贮藏期间最为稳定,贮藏始末相差10 °T,贮藏结束时TA为104 °T。D组、N

组和 P 组贮藏结束时 TA 分别为 101, 120 °T 和 110 °T, 单菌组在贮藏结束时 TA 均超过 100 °T, 并且 N 组达到了 120 °T, 很大程度会影响发酵乳的口感。贮藏期间由于菌株不断将乳糖转化为乳酸和其它酸性物质, 因此发酵乳的酸度会不断增加, 而酸度越高会造成产品热稳定性和感官品质的下降<sup>[20]</sup>, 一般认为发酵乳的滴定酸度在 70~110 °T 最佳, 超过 120 °T 不宜饮用<sup>[21]</sup>。综上可知, 复配组均比单菌组的酸度低且稳定。贮藏始末复配组 pH 值相差最多为 0.12, 单菌组除 D 组外, 贮藏始末 pH 值相差均为 0.17 以上, 并且单菌组整体比复配组 pH 值低, TA 值也是类似的情况。因此, 加入 BL19 后可以减弱动物双歧杆菌乳亚种发酵乳后酸化, 使其贮藏期间酸度适宜, 提升发酵乳的感官品质。

由图 2c 可知, 贮藏期间各组活菌数随时间均呈现下降趋势, 其中 D 组和 DB 组贮藏 1 d 活菌数急速下降到 6.53 lg (CFU/mL) 和 6.88 lg (CFU/mL), 在整个贮藏期间活菌数最低, 保持在 7~6.2 lg (CFU/mL) 之间。P 组和 N 组在贮藏期间的活菌数最高, 贮藏结束时还维持在 8.6 lg (CFU/mL) 以上, 对应的 PB 组和 NB 组在贮藏结束时活菌数分别为 7.62 lg (CFU/mL) 和 6.89 lg (CFU/mL), 为复配组中活菌数最高的 2 组。V 组和 VB 组贮藏结束时活菌数分别为 7.63 lg (CFU/mL) 和 6.82 lg (CFU/mL)。发酵乳中的活菌数根据《食品安全国家标准 发酵乳》(GB 19302-2010) 的规定活菌数应保持在 10<sup>6</sup> CFU/mL 以上, 所有发酵乳均符合标准。除 DB 组比 D 组活菌数高外, 贮藏结束时均为单菌组相比对应复配组的活菌数高, 可能与发酵期间复配组酸度快速下降有关。酸度会影响菌体的细胞膜结构完整性, 导致增加细胞通透性、降低细胞生长速率、加速细胞死亡等<sup>[22-23]</sup>。此外, 复配组在贮藏期间可能出现营养物质互相竞争<sup>[19, 24]</sup>, 致使复配组在货架期内活菌数下降更快。

**2.2.2 持水力和黏度测定结果** 发酵乳的持水力是指发酵乳持有自身水的能力<sup>[25]</sup>, 是产品货架期稳定性评价的一项重要指标, 发酵乳的持水力差会导致乳清析出, 导致组织状态变差。由图 3a 可知, 8 组发酵乳的持水力随着时间呈现下降趋势, 其中 PB 组、NB 组和 DB 组贮藏期间持水力最高,

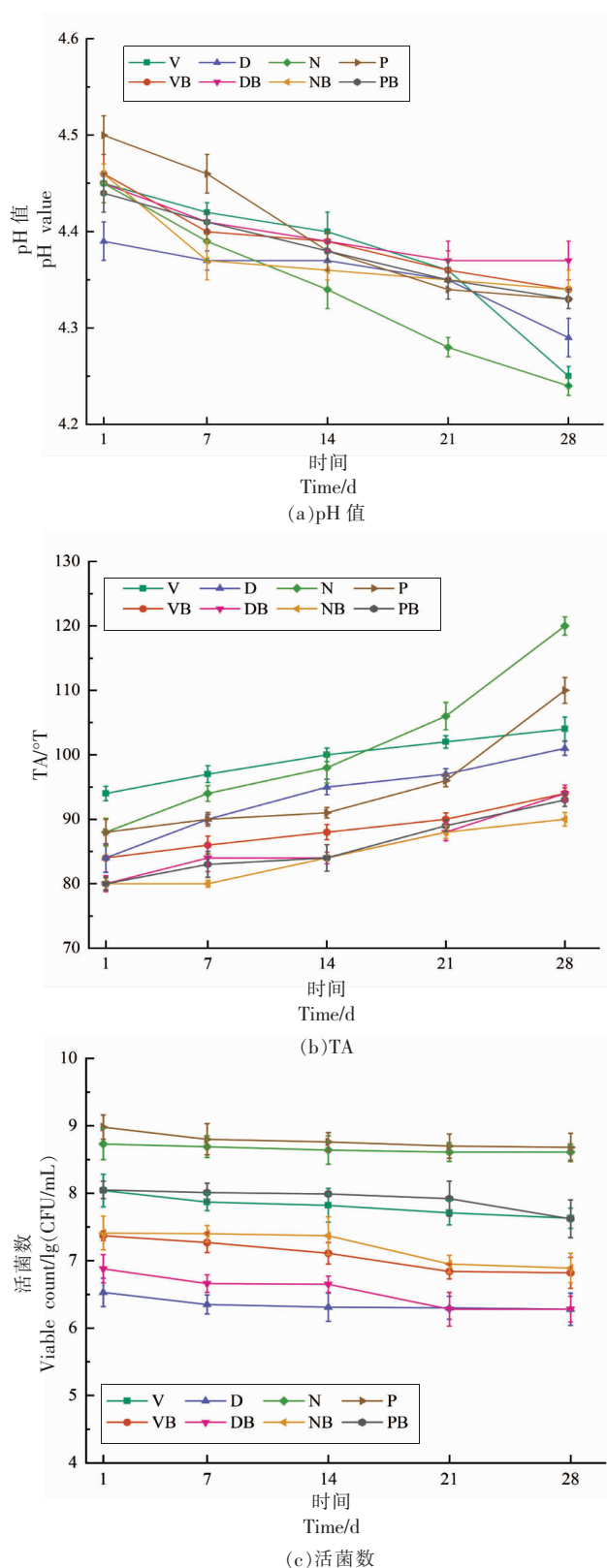


图 2 贮藏期间 pH 值、TA 值和活菌数变化情况  
Fig.2 Variation of pH value, TA value and viable bacterial counts during storage

贮藏结束时持水力分别为 61.25%、60.95% 和 61.3%;P 组和 D 组持水力最低,贮藏结束时持水力为 51.8% 和 56.55%。N 组和 P 组在贮藏期间持水力下降最多,为 10.3% 和 9.3%。结果表明加入 BL19 可以提升动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的持水力,并使持水力在贮藏期间趋于稳定,有助于改善发酵乳的组织状态。

发酵乳的黏度对于发酵乳口感十分关键,菌株的产黏特性和酪蛋白沉淀变为凝胶状态聚集较大颗粒是黏度增加的重要原因<sup>[26-27]</sup>。如图 3b 所示,样品黏度整体呈现先升高后下降的趋势,可能的原因是随着酸度下降使得更多的酪蛋白沉淀和菌体不断产生黏性物质造成黏度上升,14 d 后黏

度开始下降的原因可能是随着贮藏时间的延长,菌体生长受到了抑制,使得酸性和黏性物质生成减少,并且酸性物质累加造成乳清析出,破坏发酵乳的质构<sup>[28-29]</sup>。单菌组的黏度在贮藏期间变化幅度大,如 N 组和 D 组在贮藏 14 d 时黏度明显提升,而整个贮藏期间黏度不稳定,N 组黏度在 14 d 时超过 3 000 cP,贮藏结束又低于 1 500 cP。复配组在贮藏期间黏度变化平稳,均保持在 2 000 cP 以下。黏度和持水力反映发酵乳中蛋白凝胶结构的稳定性,是评价发酵乳品质的重要指标<sup>[30]</sup>,结合以上结果可以得出 BL19 可以稳定动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的黏度和持水性,提高贮藏稳定性。

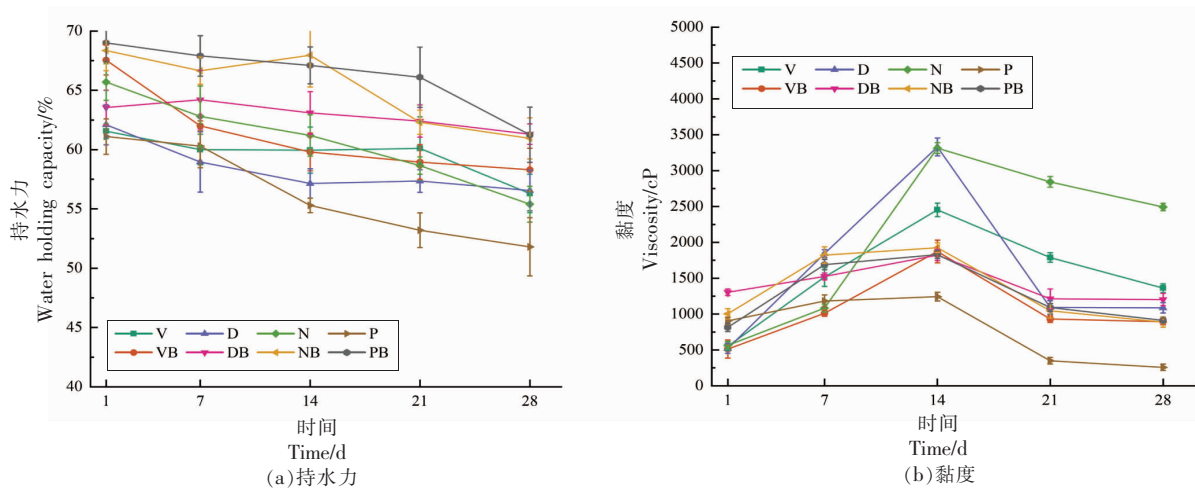


图3 贮藏期间持水力和黏度变化情况

Fig.3 Changes of water holding capacity and viscosity during storage

2.2.3 质构检测结果 质构特性与发酵乳的品质相关,通过测定 8 组发酵乳在贮藏期间稠度、内聚性、黏度指数和硬度 4 项指标的变化从而评价质构优劣。稠度是指发酵乳在搅拌过程中受到最大的力,稠度高可使发酵乳口感更加浓稠;黏度指数是探头复位时图中显示的负值区域面积,可体现发酵乳的黏度大小;内聚性反映产品内部分子之间结合作用的强弱;硬度与凝胶强度呈正相关关系,凝胶结构结实则抗形变能力强<sup>[31-33]</sup>。

由图 4a 所示,单菌组中 P 组和 N 组的稠度最低,随着时间呈现下降趋势。复配组中 DB 组的稠度最高,在 14 d 时最高达到了 276 g·s,随后继续下降;NB 稠度最低,呈现上升的趋势。单菌组和复

配组相比发现,复配组整体明显比单菌组的稠度高,且每个单菌组均比对应的复配组稠度低。由图 4b 所示,单菌组中 V 组内聚性最高,其余 3 组单菌组内聚性贮藏结束时均在 15 g 以下,复配组在整个贮藏期间内聚性均在 18 g 以上。样品中除 V 组比 VB 组内聚性高以外,P 组比 PB 组低,N 组和 D 组均是前期比 NB 组和 DB 组高,后期随时间下降。由图 4c 所示,单菌组中 P 组和 N 组黏度指数最低,P 组在整个贮藏期间黏度指数低于 10 g·s;V 组的黏度指数较高,与其黏度高相符。复配组中 DB 组黏度指数最高,贮藏结束时为 22.965 g·s,PB 组和 DB 组贮藏期间黏度指数均比 P 组和 D 组高。由图 4d 所示,单菌组中的 N 组、D 组和 P 组的

硬度随着时间呈现大幅度下降趋势, 贮藏结束时硬度低于 20 g; 复配组贮藏期间硬度较稳定, 处于 34~24 g 之间, 并且除 VB 组外, 基本都比单菌组硬度高。通过对 8 组发酵乳贮藏期间的质构特性

分析发现, 复配组优于单菌组, 其中对 P 组和 N 组改善效果最佳, 由此说明加入 BL19 后, 可以改善动物双歧杆菌乳亚种发酵乳货架期的质构, 提升贮藏稳定性。

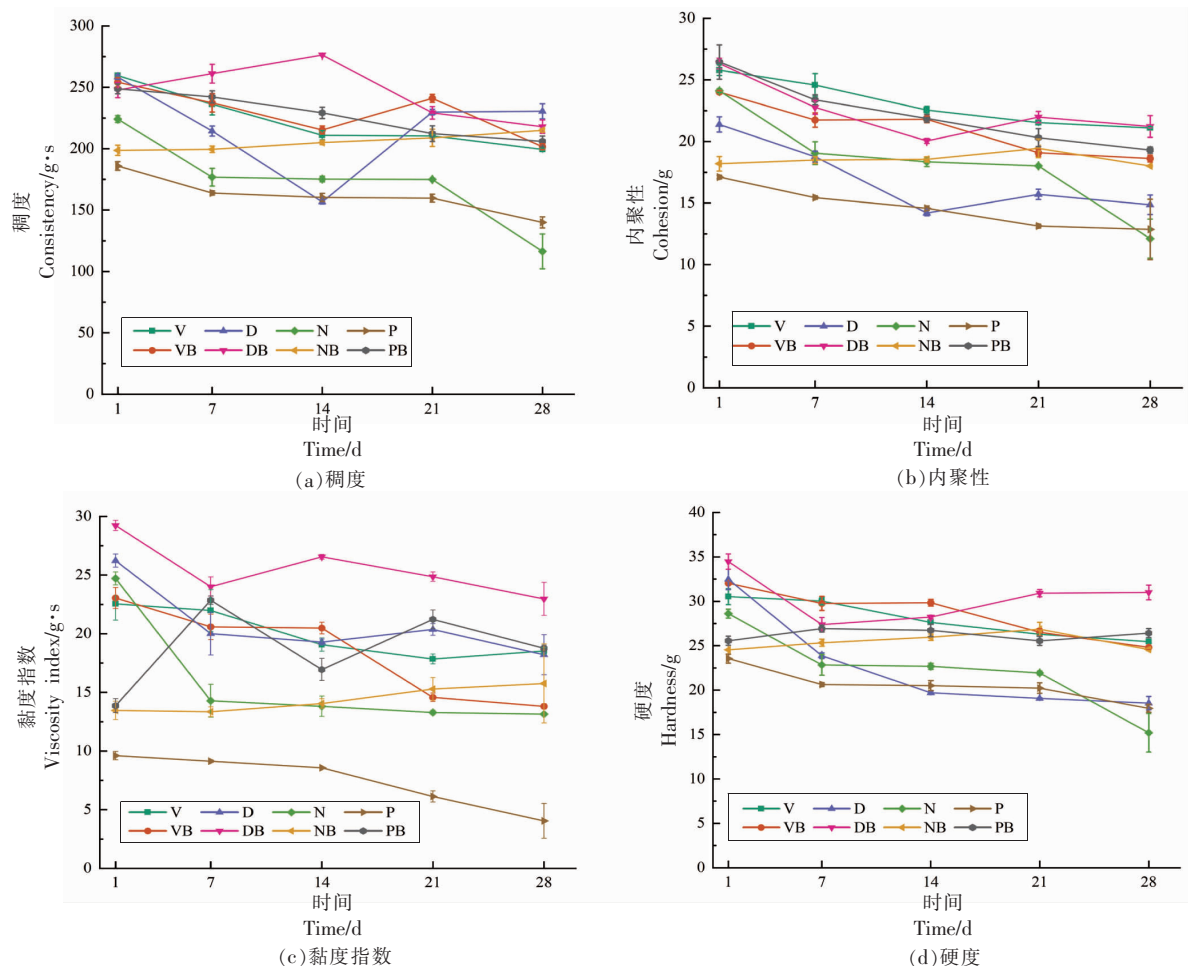


图 4 贮藏期间质构变化情况

Fig.4 Changes in texture during storage

### 2.3 电子舌测定结果

电子舌是模拟味觉系统对产品进行品质评价和实时监测的仪器, 可以检测 6 种基本味和 3 种回味, 分别是酸味、苦味、涩味、鲜味、咸味、甜味、回味-A、回味-B 和丰富度<sup>[34-35]</sup>。8 组样品在贮藏期间电子舌测定结果如图 5 所示, 单菌组和复配组的酸味存在差异, 单菌组中酸味普遍更高, 可能与单菌组贮藏期间酸度变化大有关, 另外咸味、苦味和涩味也是单菌组的数值高, 这会导致单菌组的口感下降, 而复配组甜味和鲜味数值比单菌组高, 由此可知 BL19 加入可以改善动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的口感。

### 2.4 电子鼻测定结果

电子鼻是模拟嗅觉系统的仪器, 10 个传感器对不同的物质敏感程度不同<sup>[36]</sup>。由图 6 可知, 8 组样品都对 W5S 反映强烈, 说明样品中氮氧化物较多。其中复配组和单菌组对 W5C 和 W1S 差别较大, 分别对应的物质是短链烷烃芳香成分和甲基类, 另外复配组在 W5C、W5S 和 W2S 的数值均比单菌组高, 说明复配组中有更加丰富的芳香成分, 如短链烷烃、氮氧化物、醇类和醛酮类。由此得出 BL19 可以丰富动物双歧杆菌乳亚种发酵乳中的风味物质, 改善滋气味。

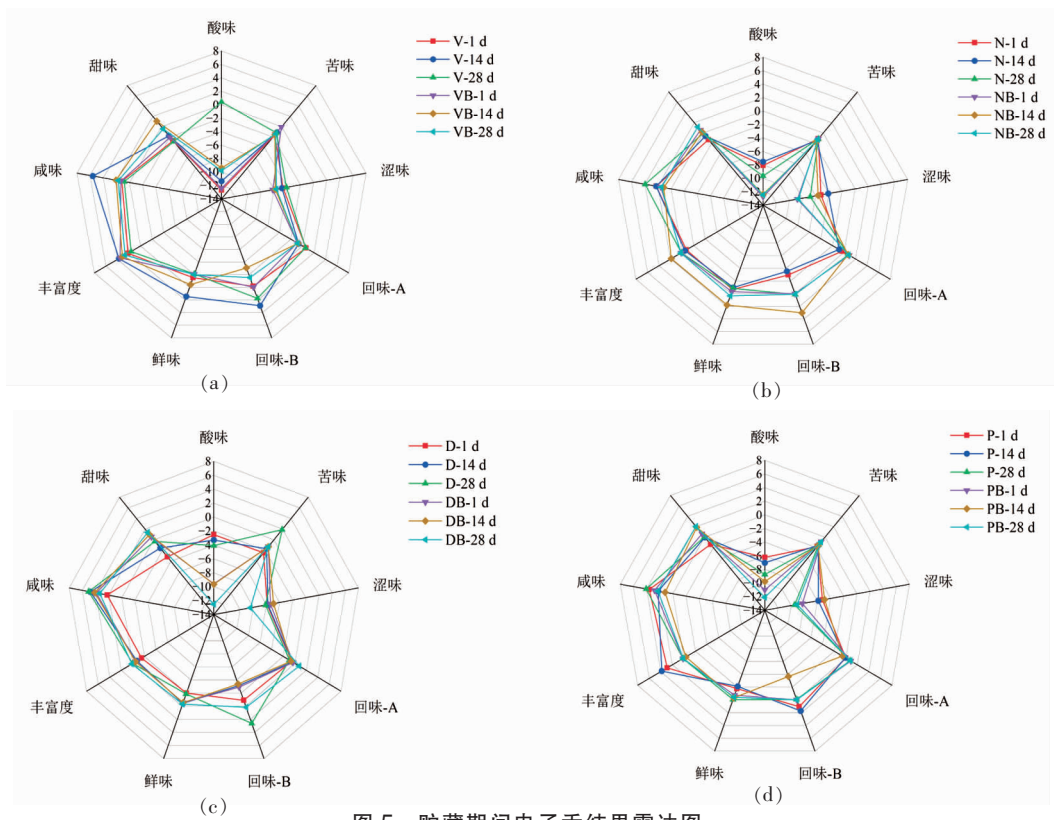


图 5 贮藏期间电子舌结果雷达图

Fig.5 Radar map of E-tongue results during storage

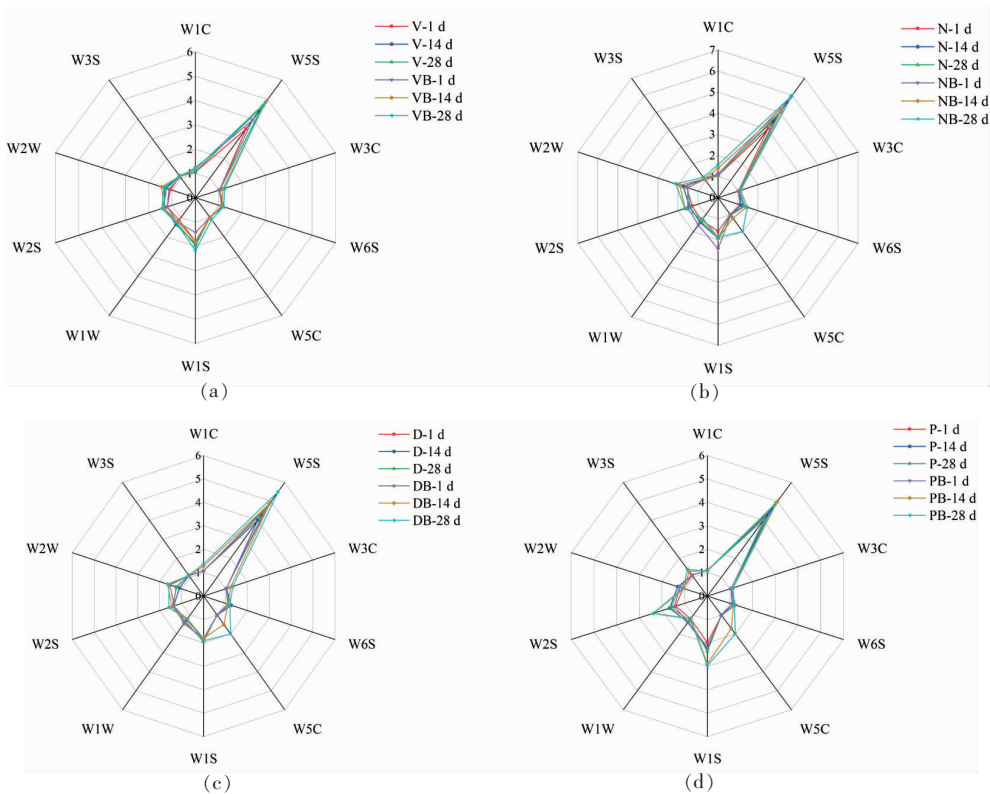


图 6 贮藏期间电子鼻结果雷达图

Fig.6 Radar map of E-nose results during storage



## 2.5 感官评定结果

良好的口感和细腻的组织状态是消费者选择购买发酵乳的关键因素,在货架期能够保持较好感官水平会更易被消费者认可和选择。由表 3 所示,8 组发酵乳感官评分随时间呈现下降趋势,单菌组在贮藏后期感官下降明显,感官评分与复配组显著不同( $P<0.05$ ),表现为大量乳清析出和口感粗糙,可能原因是贮藏后期后酸化严重,持水力和黏度的改变,以及稠度和内聚性等指标的明显下降,造成口感和组织状态变差,如 P 组贮藏期间

质构指标最低,黏度和持水性同样较低,因此贮藏结束时感官评分是 8 组中最低。复配组的感官评分无显著差异( $P<0.05$ ),在贮藏期间表现为色泽均匀、酸甜适宜,具有纯正的发酵乳滋气味,相比于单菌组来说,感官评分高且平稳,贮藏结束时感官评分相差不大。结果表明,加入 BL19 可提升动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的感官评分,使得发酵乳拥有更加细腻的口感和组织状态,提升整体接受度和喜爱度。

表 3 感官品鉴结果

Table 3 Sensory tasting results

	V	VB	D	DB	N	NB	P	PB
1 d	88.57± 0.65 <sup>aE</sup>	94.06 ± 1.12 <sup>aAB</sup>	86.58 ± 0.37 <sup>aF</sup>	93.36 ± 0.35 <sup>aBC</sup>	90.86 ± 0.16 <sup>aD</sup>	92.54 ± 0.74 <sup>aBC</sup>	92.30 ± 0.86 <sup>aCD</sup>	95.16 ± 0.25 <sup>aA</sup>
7 d	87.65 ± 0.73 <sup>bB</sup>	89.75 ± 0.61 <sup>bAB</sup>	80.56 ± 0.42 <sup>bE</sup>	88.75 ± 1.24 <sup>bAB</sup>	85.75 ± 0.38 <sup>bC</sup>	89.75 ± 1.31 <sup>bAB</sup>	83.75 ± 0.46 <sup>bD</sup>	90.79 ± 0.85 <sup>bA</sup>
14 d	84.42 ± 0.64 <sup>cB</sup>	86.48 ± 0.89 <sup>cA</sup>	76.21 ± 0.80 <sup>cD</sup>	87.48 ± 0.52 <sup>bA</sup>	81.48 ± 0.94 <sup>cC</sup>	86.48 ± 0.88 <sup>cA</sup>	77.48 ± 0.38 <sup>cD</sup>	87.32 ± 0.37 <sup>cA</sup>
21 d	80.14 ± 0.22 <sup>dC</sup>	83.64 ± 0.28 <sup>bB</sup>	72.28 ± 0.19 <sup>dD</sup>	85.64 ± 0.86 <sup>cA</sup>	72.64 ± 0.43 <sup>dD</sup>	83.64 ± 0.48 <sup>bB</sup>	72.64 ± 0.74 <sup>dD</sup>	83.72 ± 0.61 <sup>dB</sup>
28 d	72.28 ± 0.11 <sup>dD</sup>	81.25 ± 0.27 <sup>cBC</sup>	69.68 ± 1.05 <sup>eE</sup>	83.25 ± 0.92 <sup>dA</sup>	67.25 ± 0.65 <sup>eF</sup>	82.25 ± 0.17 <sup>dAB</sup>	66.25 ± 0.93 <sup>eF</sup>	80.25 ± 0.55 <sup>cC</sup>

注:小写字母表示同个样品随时间变化的显著性分析,大写字母表示不同样品相同贮藏时间的显著性分析,显著性水平设置为 0.05。

## 3 结论

本试验探究乳酸乳球菌乳亚种 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳品质改善作用。结果表明, BL19 会加快发酵进程,使动物双歧杆菌乳亚种活菌数在短时间内快速增加。在贮藏期间, BL19 可以通过减缓动物双歧杆菌发酵乳的后酸化程度、提高持水力、减少黏度波动、改善质构属性、提升滋气味特征,进而获得更佳的感官品质和贮藏稳定性。因此,乳酸乳球菌乳亚种 BL19 对动物双歧杆菌乳亚种发酵乳的品质具有良好的改善作用。

## 参 考 文 献

- [1] SHADI A, AMIN S, TINA S M, et al. Investigation of the anti-inflammatory effects of native potential probiotics as supplementary therapeutic agents in an *in-vitro* model of inflammation[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2023, 23 (1): 335-344.
- [2] TOSHIHIKO T, HIROKAZU F, TAKUYA O, et al. Effect of *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on the intestinal environment and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D)-like symptoms in patients with quiescent crohn's disease: A prospective pilot study[J]. Journal of Clinical Medicine, 2023, 12(10): 3368.
- [3] QU D W, FENG S S, LI M Y, et al. Effects of *Bifidobacteria bifidum* strains on 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced acute colitis and its potential mechanism[J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102387.
- [4] 伍鹏, 王娟, 王晶晶, 等. 基于仿生胃肠道模型的发酵乳中益生菌存活率评价[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(12): 147-153.

WU P, WANG J, WANG J J, et al. Evaluation of probiotics viability in fermented milk based on a biomimetic gastrointestinal model[J]. Food and Fer-

- mentation Industries, 2021, 47(12): 147–153.
- [5] YAO M F, WU J, LI B, et al. Microencapsulation of *Lactobacillus salivarius* Li01 for enhanced storage viability and targeted delivery to gut microbiota[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 72: 228–236.
- [6] MULET –CABERO A I, AMELIA TORCELLO –GÓMEZ, SAHA S, et al. Impact of caseins and whey proteins ratio and lipid content on *in vitro* digestion and *ex vivo* absorption[J]. Food Chemistry, 2020, 319: 126514.
- [7] YONEZAWA S, XIAO J Z, ODAMAKI T, et al. Improved growth of *Bifidobacteria* by cocultivation with *Lactococcus lactis* subspecies *lactis*[J]. Journal of Dairy Science, 2010, 93(5): 1815–1823.
- [8] HENRIQUE –BANA F C, MACEDO F J, OLIVEIRA L G S, et al. *Bifidobacterium lactis* HN019: Survival, acid production and impact on sensory acceptance of fermented milk[J]. International Food Research Journal, 2019, 26(2): 695–703.
- [9] FAN X K, DU L H, XU J, et al. Effect of single probiotics *Lactocaseibacillus casei* CGMCC1.5956 and *Levilactobacillus brevis* CGMCC1.5954 and their combination on the quality of yogurt as fermented milk[J]. LWT, 2022, 163(2): 113530.
- [10] 孙浩天. 发酵乳中干酪乳杆菌 Zhang 与乳双歧杆菌 V9 生长和代谢互作机制研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021.
- SUN H T. Growth and metabolic interaction of *Lactobacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium animalis* Subsp. *lactis* V9 in yoghurt fermentation[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021.
- [11] LI W, REN M, DUO L, et al. Fermentation characteristics of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from naturally fermented dairy products and screening of potential starter isolates[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1794.
- [12] YAN Y, LIU C Y, ZHAO S M, et al. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 attenuates hepatic steatosis and inflammation in rats with non-alcoholic fatty liver disease[J]. AMB Express, 2020, 10(1): 101–112.
- [13] ZHANG J C, SUN Z H, JIANG S M, et al. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 regulates the secretion of sex hormones in polycystic ovary syndrome patients through the gut-brain axis[J]. mSystems, 2019, 4(2): e00017–19.
- [14] LIU K L, YAO G Q, YANG Z, et al. Untargeted metabolomic analysis uncovers metabolic variability of four Bifidobacterial strains for probiotic development[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1522036.
- [15] 李娜. *L. rhamnosus* 太空诱变株 R7970–3 发酵牛乳的研制及代谢组学研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- LI N. Development of milk fermented by *L. rhamnosus* space mutant strain r7970–3 and metabolomics study[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
- [16] 赵亚茹. 具有降低黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 菌株的筛选、生物学特性研究及应用[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- ZHAO Y R. Screening, biological characteristics and application of aflatoxin B<sub>1</sub>-reducing strain[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
- [17] CHI X L, GUO H X, ZHANG Y D, et al. E-nose, E-tongue combined with GC-IMS to analyze the influence of key additives during processing on the flavor of infant formula[J]. Foods, 2022, 11(22): 3708.
- [18] SHEN X, LI W C, CAI H Y, et al. Metabolomics analysis reveals differences in milk metabolism and fermentation rate between individual *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains[J]. Food Research International, 2022, 162(PA): 111920.
- [19] 郭帅. 适用于豆乳发酵的嗜热链球菌筛选及其应用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- GUO S. Fermented soymilk, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum* P-8, soybean odor[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020.
- [20] SZAJNAR K, ZNAMIROWSKA A, KUNJAR P. Sensory and textural properties of fermented milk with viability of *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 and increased calcium concentration[J]. International Journal of Food Properties, 2020, 23(1): 582–598.
- [21] ZHA M S, LI K N, ZHANG W Y, et al. Untargeted mass spectrometry-based metabolomics approach unveils molecular changes in milk fermented by *Lactobacillus plantarum* P9[J]. LWT- Food Science and Technology, 2020, 140(5): 110759.
- [22] ADAMBERG K, KASK S, LAHT T M, et al. The effect of temperature and pH on the growth of lactic

- acid bacteria: A pH-auxostat study[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, 85(1/2): 171-183.
- [23] 张宸瑞, 薛桥丽, 白彬阳, 等. 云南牟定酸浆水中优势产酸菌的分离鉴定及生长特性[J]. *食品科学*, 2021, 42(20): 75-82.
- ZHANG C R, XUE Q L, BAI B Y, et al. Isolation, identification and growth characteristics of dominant acid-producing bacteria from fermented soy whey from sufu production in Mouding, Yunnan[J]. *Food Science*, 2021, 42(20): 75-82.
- [24] BAUER M A, KAINZ K, CARMONA-GUTIERREZ D, et al. Microbial wars: Competition in ecological niches and within the microbiome[J]. *Microb Cell*, 2018, 5(5): 215-219.
- [25] JUNKAI W, HAIXING L, XUANYI M, et al. Biosynthesis of c9,t11-conjugated linoleic acid and the effect on characteristics in fermented soy milk[J]. *Food Chemistry*, 2022, 368(1): 130866.
- [26] HAMET M F, PIERMARIA J A, ABRAHAM A G. Selection of EPS-producing *Lactobacillus* strains isolated from kefir grains and rheological characterization of the fermented milks[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2015, 63(1): 129-135.
- [27] MCMAHON D J, DU H, MCMANUS W R, et al. Microstructural changes in casein supramolecules during acidification of skim milk[J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(12): 5854-5867.
- [28] 杨阳, 郭帅, 武婷, 等. 益生菌在发酵乳中的氨基酸代谢特征、发酵特性和贮藏特性[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(7): 45-55.
- YANG Y, GUO S, WU T, et al. Amino acid metabolism, fermentation and storage characteristics of probiotics in fermented milk[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(7): 45-55.
- [29] 白英, 张建丽, 刘立杰, 等. 贮藏期发酵剂对发酵乳流变特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(10): 179-184, 202.
- BAI Y, ZHANG J L, LIU L J, et al. Effect of culture on the rheological properties of fermented milk during refrigeration[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(10): 179-184, 202.
- [30] BIERZUŃSKA P, CAIS-SOKOLIŃSKA D, YIGIT A. Storage stability of texture and sensory properties of yogurt with the addition of polymerized whey proteins[J]. *Foods*, 2019, 8(11): 548.
- [31] 任然. 四株益生菌对发酵酸奶保质期品质和风味影响的研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2022.
- REN R. Effect of four strains of probiotics on quality and flavor of fermented yogurt during the storage [D]. Chengdu: Southwest Minzu University, 2022.
- [32] GUÉNARD-LAMPRON V, ST-GELAIS D, VIL-LENEUVE S, et al. Short communication: Effect of stirring operations on changes in physical and rheological properties of nonfat yogurts during storage[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(1): 210-214.
- [33] PAUL S, PAUL P, RAO J K, et al. Correlations among instrumental textural characteristics, sensory score and solids content of Dahi - An Indian fermented milk product[J]. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 2016, 6(2): 337-349.
- [34] TIAN R, YU Z M, YU L L, et al. Effects of *Bifidobacterium longum* CCFM5871 as an adjunct starter culture on the production of fermented milk[J]. *Food Bioscience*, 2022, 50(PB): 102167.
- [35] FU B, ZHENG M P, YANG H C, et al. The effect of broad bean diet on structure, flavor and taste of fresh grass carp: A comprehensive study using E-nose, E-tongue, TPA, HS-SPME-GC-MS and LC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2024, 436: 137690.
- [36] JIA W S, LIANG G, TIAN H, et al. Electronic nose-based technique for rapid detection and recognition of moldy apples[J]. *Sensors*, 2019, 19(7): 1526.

## Quality Improvement of Fermented Milk by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BL19 on *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

LI Peipei, GUO Shuai, ZHANG Qihang, XU Weina, WANG Jicheng, ZHANG Heping\*

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

**Abstract** *Bifidobacterium* suffers from poor timeliness and poor flavor in fermented milk applications due to its own physiological properties. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BL19 was compounded with four strains of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* for the preparation of fermented milk, and single-strain fermentation was used as a control. The pH value, titratable acidity, viable count, viscosity, water holding capacity, texture, electronic nose, electronic tongue and sensory evaluation of fermented milk in each group during fermentation and storage were measured to comprehensively evaluate the improvement effect of BL19 on the quality of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* fermented milk. The results showed that BL19 could shorten the fermentation time of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* fermented milk to 8 h compared with single-strain fermentation and enable the viable count of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* to increase rapidly by more than 4 times in a short period. During the storage period, BL19 could reduce the post-acidification degree of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* fermented milk, maintaining the pH value above 4.33, increase the water-holding capacity to over 60%, keep the viscosity below 2 000 cP, and improve the texture of the fermented milk simultaneously. Moreover, the addition of BL19 enriched the volatile flavor substances in the fermented milk of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, and improved the taste and odor of the fermented milk during the storage period. Conclusion: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BL19 had a certain improvement effect on the quality of fermented milk of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, which was intended to provide data reference for the application and promotion of probiotic fermented milk in the industrialization process.

**Keywords** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*; probiotic; fermented milk quality; storage property