

酸乳发酵剂低温刺激 对凝固型酸乳质构影响机理的探讨

卫晓英,李全阳,赵红玲,赵正涛

(山东农业大学食品科学与工程学院,山东泰安 271018)

摘要:酸乳在低温刺激下发酵,可以改善其质量。在低温条件下,确定嗜热链球菌(STZ)的低温刺激温度为33℃,保加利亚乳杆菌(LBZ)为37℃,而后将鲜奶分别在这两种温度下发酵,同时以42℃发酵的作为对照,测定其有关参数,并对其机理进行了探讨。发现经低温刺激后其后酸化能力显著降低,酸乳胶体脱水收缩作用敏感性(STS)、酸乳持水力(WHC)下降,粘度增大,硬度、粘聚度、弹性和回复性均有不同程度的降低,其主要原因可能是低温延长了酸乳的凝固时间,使蛋白质网络形成得更充分,同时产生了大量的酸乳胞外多糖(EPS),EPS干扰了酪蛋白之间的相互作用。

关键词:酸乳,低温,胞外多糖,粘度

Discussion on mechanism about quality and structure of yoghurt fermented by low-temperature-stimulating

WEI Xiao-ying, LI Quan-yang, ZHAO Hong-ling, ZHAO Zheng-tao

(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: The quality of yoghurt would be improved, if yoghurt was fermented by low-temperature-stimulating. Using this method, we confirmed the cultured temperature of STZ was 33℃ and LBZ was 37℃. Yoghurt were made at these two temperature, two others were made in 42℃ which were used as CK. After fermented, some indexes were measured and also the mechanism was discussed. We discovered that by low-temperature-stimulating the yoghurt's ability of later-acidification decreased significantly, WHC, STS, hardness, cohesiveness and springiness also reduced with different degrees, while viscosity increased. The possible reason was the clotting-time, which was extended by low-temperature-stimulating to impel the protein net formed more sufficiently. Meanwhile, the yoghurt produced more EPS and EPS disturbed the interaction between caseins.

Key words: yoghurt; low-temperature; EPS; viscosity

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)06-0170-04

酸乳具有独特的风味,适口性强,而且具有改善胃肠功能,促进钙、磷吸收的作用,在增强人类体质与营养健康方面起到食疗兼收的作用^[1],因而受到越来越多人的喜爱。目前,我国酸乳生产比较成熟的生产工艺为:嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌混合菌种,在42℃左右发酵2~4h。此工艺生产周期短,成本低,但在贮藏的过程中会出现乳清析出,风味改变等质量问题^[2]。为解决如上的质量问题,学者们进行了大量的研究,目前认为主要的解决方法有:通过低温控制菌种的产酸能力^[4];采用巴氏杀菌、超高温杀菌等技术;调整嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的比例;通过添加外来物控制菌的生长和产酸等^[5],其中最简便易行的方法是通过低温控制菌种的产酸能

力。酸乳产生这些质量缺陷的主要原因是菌种经高温发酵后,产酸能力较强,导致后酸化过程严重^[3]。目前对酸乳在低温下发酵的研究仅限于工艺参数的确定,对其机理研究很少,因此本文对酸乳发酵剂低温刺激对酸乳质构的影响机理进行了探讨,以期能够为解决酸乳的质量问题提供一定的帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

嗜热链球菌(*S. thermophilus*, STZ)、保加利亚乳杆菌(*L. bulgaricus*, LBZ) 实验室自制;伊利脱脂奶粉 市售;氢氧化钠、酚酞 天津市凯通化学试剂有限公司。

303A-1型电热恒温培养箱,无菌操作台,高压灭菌锅, DV-III + 流量粘度计,物理特性测试仪。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵剂的低温刺激处理 取脱脂奶粉与蒸馏水以1:9的比例混合,配制成复原脱脂乳,在121℃

收稿日期:2008-10-13

作者简介:卫晓英(1985-),女,硕士研究生,研究方向:食品加工技术及原理。

下灭菌 30min,制成无菌试管乳。将 STZ 和 LBZ 分别接种到试管乳中,分别在 30、33、35、37℃ 下进行培养,同时以在 42℃ 培养的作为对照。观察各温度下试管乳的凝乳效果,得到低温刺激的最佳温度。

1.2.2 发酵酸乳 将 STZ 和 LBZ 以 3% 的接种量接种到鲜乳中,分别在 1.2.1 中确定的低温刺激最佳温度下培养,同时以在 42℃ 培养的作为对照,发酵至 80°T 左右取出,在 4℃ 下后熟 24h。

1.2.3 参数的测定方法

1.2.3.1 酸度的测定 取酸乳样品 10mL 于锥形瓶中,用 20mL 蒸馏水稀释,加入 0.5% 的酚酞指示剂 0.5mL,用 0.1mol/L 的 NaOH 标准溶液滴定到粉红色为终点,记录消耗的碱液体积,将所消耗的 NaOH 毫升数乘以 10,即为中和 100mL 牛乳所需要的 0.1mol/L 氢氧化钠毫升数,消耗 1mL 为 1°T [6]。

1.2.3.2 酸乳胞外多糖 (EPS) 含量的测定 酸乳经稀释、钝化、浓缩、去蛋白、透析、沉淀等处理,得到粗多糖,用苯酚-浓硫酸法测定多糖的含量 [7]。

1.2.3.3 酸乳胶体脱水收缩作用敏感性 (STS) 的测定 在室温下,将 50g 凝固成熟的酸乳小心倾入带有 120 目不锈钢丝网的漏斗中,用 100mL 的量筒收集沥出的乳清,2h 后对收集的乳清称重 [8]。

$$STS = \frac{\text{乳清析出量}}{\text{样品重量}} \times 100\%$$

1.2.3.4 酸乳持水力 (WHC) 的测定 取酸乳样品 10g 装入离心管,配平,室温下离心,3000r/min,离心 10min。倾去上清液,离心管倒置 10min 后立即称重 [9]。

$$WHC = \frac{\text{离心沉淀物重量}}{\text{样品重量}} \times 100\%$$

1.2.3.5 粘度的测定 采用流量粘度计,转子转速为 0~224r/min,先升速后降速,每取一个值的间隔时间为 8s [10]。

1.2.3.6 硬度、粘聚度、弹性、回复性的测定 使用 TA-XT2i 物性测试仪,测试速度:2.0mm/s;测试后速度:2.0mm/s;测试距离:20mm [11]。

2 结果与分析

2.1 菌株低温刺激培养温度的确定

将 STZ 和 LBZ 在 30、33、35、37、39℃ 下培养后,

表 1 STZ 和 LBZ 低温刺激培养的结果

温度 (°C)	STZ		LBZ	
	凝固时间 (h)	乳清析出量占总体积的分数	凝固时间 (h)	乳清析出量占总体积的分数
30	未凝固	-	未凝固	-
33	10.0	极少量	未凝固	-
35	9.5	1/15	未凝固	-
37	6.5	1/20	10.5	极少量
39	5.0	1/20	8.0	1/15

表 2 酸乳后酸化的测定结果

类型	凝固时间 (h)	乳清析出量占总体积的分数	发酵结束时酸度 (°T)	后熟 24h 的酸度 (°T)	冷藏 3d 后的酸度 (°T)
STZ-CK	5.0	1/50	79.0	92.4	105.2
STZ	10.0	极少量	69.2	80.1	83.6
LBZ-CK	5.9	1/40	83.0	95.4	107.8
LBZ	10.4	极少量	71.0	82.7	86.9

其结果如表 1 所示。

由表 1 可以看出,在 30℃ 时 STZ、LBZ 均未凝固,可能是因为温度太低,影响了发酵剂的活性。STZ 从 33℃ 开始凝固,且凝固时间随温度的升高而缩短,但从乳清析出量可以看出,在 33℃ 时没有乳清析出,其它温度具有不同程度的乳清析出,因此 STZ 选择 33℃ 作为低温刺激温度。LBZ 从 37℃ 开始凝固,比较 37、39℃ 的培养结果,可以看出,39℃ 时乳清析出较多,质构粗糙,因此 LBZ 选择 37℃ 作为低温刺激培养温度。

2.2 发酵乳有关参数的测定

STZ 在 33℃ 下发酵,标号为 STZ;LBZ 在 37℃ 下发酵,标号为 LBZ,同时以在 42℃ 发酵的作为对照,分别标号 STZ-CK 和 LBZ-CK。发酵完成后测定其有关参数,结果如表 2 所示。

从表 2 中可以看出,STZ、LBZ 经低温刺激培养后比 CK 的质构好,细腻,无乳清析出,只是凝乳时间有所延长。STZ 和 LBZ 的最适温度都在 42℃ 左右,凝乳时间延长,可能是由于发酵剂在较低的温度下活性降低,其分解乳糖产生乳酸的速率下降,从而使牛奶中酪蛋白变性凝固的时间延长了。

STZ-CK 和 LBZ-CK 的酸度从发酵结束时的酸度 80°T 左右上升到后熟 24h 后的 94°T 左右,冷藏 3d 后酸度又上升到 106°T 左右,而 STZ 和 LBZ 的酸度从发酵结束时的酸度 70°T 左右上升到后熟 24h 后的 81°T 左右,冷藏 3d 后酸度才上升到 85°T 左右,由此可以看出,酸乳经低温刺激发酵后后酸化能力明显降低。引起酸乳后酸化的主要原因是在酸乳的冷藏过程中,乳酸菌缓慢生长,继续发酵产酸,使酸乳的酸度增加。其中,LBZ 的产酸能力较强,所以由 LBZ 发酵的酸乳酸度比 STZ 的要高。

4 种酸乳的 EPS 含量如图 1 所示。经低温刺激的 STZ 和 LBZ 的 EPS 含量明显高于对照样品,STZ 比 STZ-CK 约高出 63%,LBZ 比 LBZ-CK 约高出 47%。33℃ 和 37℃ 均不是嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的最适生长温度,他们的最适温度为 42℃ 左右。菌体在适宜的温度下 EPS 的合成量低,而在较低的生长温度下合成量大幅度提高,说明 EPS 作为菌体荚膜的组成物质,可以在不适宜菌体生长的环境中

增加其合成量。其主要原因可能是在较低的温度下,细菌生长速度较慢,细胞壁合成也较慢,从而使细胞膜内侧的类异戊二烯脂质载体被较多用于合成多糖结构重复单元(类异戊二烯脂质载体除被用于EPS的合成外,也参与细胞壁肽聚糖、磷壁酸的生物合成)^[12],并更有利于EPS合成酶的分泌,从而使EPS的产量提高。其它产胞外多糖的细菌也有类似的现象,Maneuso^[13]等发现南极细菌CAM025在-2℃和10℃时的胞外多糖产量较20℃时的高30倍以上。刘慧等^[14]培养藏灵菇中的嗜热链球菌,在33℃时得到了多糖的最高产量。

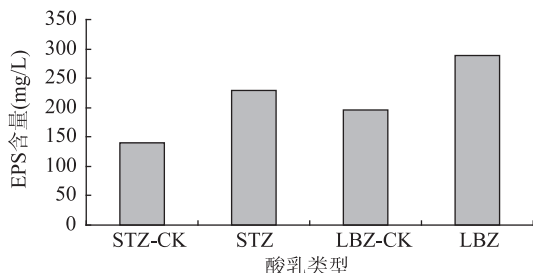


图1 酸乳的EPS含量

4种类型的酸乳的STS和WHC的值如表3所示,STZ-CK、LBZ-CK的STS和WHC明显比STZ、LBZ要高。酸乳经低温刺激以后,EPS含量增加了,能增强酸乳的持水能力,防止乳清析出,从而能更长久地保持酸乳的品质。EPS对酸乳的保水性作用与其具有阻水特性和湿度保持特性有关。从微结构上分析,不含EPS的酸乳形成单一的、相对较小的但分布很广的小孔和相对更薄的凝胶通道,而产EPS的酸乳则含有相对大的孔,这些微孔里面含有EPS,蛋白质网络形成更厚的由更浓密的蛋白质凝胶所形成的凝胶通道。产EPS酸乳的这种结构更有利于防止脱水^[15]。Hassen^[16]等研究发现,在搅拌的情况下,产EPS的酸乳不产生立即的脱水与乳清的析出。

表3 酸乳的STS和WHC

类型	STZ-CK	STZ	LBZ-CK	LBZ
STS(%)	55.8 ± 2.30	47.7 ± 0.10	55.5 ± 2.25	53.0 ± 0.50
WHC(%)	19.1 ± 0.05	17.8 ± 0.06	25.2 ± 0.33	18.8 ± 0.01

不同剪切速率下,酸乳粘度的变化曲线如图2所示。由图2可以看到,经低温刺激后的STZ和LBZ比未经过低温处理的STZ-CK和LBZ-CK粘度有显著的增加,嗜热链球菌发酵的酸乳的粘度曲线是在低剪切速率时先达到最大值,而后随着剪切速率的增加,粘度逐渐降低,趋于平缓。在降速阶段,粘度变化比较小,只在剪切速率小于50s⁻¹接近于0s⁻¹的过程中急剧下降。保加利亚乳杆菌发酵的酸乳的粘度在较低的剪切速率时粘度较低,随着剪切速率的增加,粘度逐渐增大,大约在45s⁻¹左右时达到最大值,剪切速率再继续增大时,粘度开始逐渐降低,趋于一条直线。在降速阶段,与嗜热链球菌不同的是,粘度随剪切速率的降低逐渐减少,没有一个急剧降低的过程。

粘度是指物质流动时的内摩擦的大小,摩擦力越大粘度越大。酸乳的摩擦力来源于酸乳凝胶中断裂碎片之间的位阻效应和质点之间的引力。酸乳在

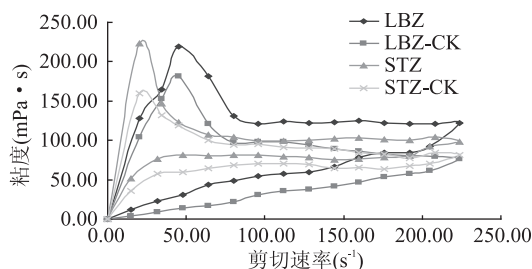


图2 不同类型酸乳的粘度曲线

低温下发酵,菌种的活性降低,从而使酸乳的凝固时间延长,酸乳中的蛋白质有更长的时间相互作用形成胶束,而不是形成颗粒,加大了酸乳的阻力。估计STZ和LBZ中含有分子量较大的EPS,EPS之间相互作用,形成了无规则的线团。我们前期研究^[17]表明,较大分子的EPS形成的空间位垒作用也较大,可干扰酪蛋白网络的形成,使其形成的簇状物较细,从而使体系的粘度较大。粘度达到最大值时,是转子克服酸乳的最大应力而使酸乳原始结构开始破坏的临界点,此时的剪切应力就是酸乳凝胶的屈服应力。弹性好的样品粘度有一个缓慢上升的过程,弹性越差的这个过程越短,由此可见,LBZ发酵的酸乳比STZ的弹性要好。

对4种酸乳的物理特性测定结果见表4。从表4中可以看出,酸乳经低温发酵后硬度、粘聚度、弹性和回复性均比对照的要低。粘聚度可以模拟表示酸乳内部的粘合力,粘合力越大,酸乳受外力作用后的回复能力越强,弹性就越好。酸乳经低温刺激发酵后,产生的EPS明显多于高温发酵,EPS主要存在于被蛋白质所分开的凝胶网络的空隙中,EPS与蛋白质聚合体有不相容性,破坏了蛋白质的交联,所以形成的酸乳硬度不大,粘聚度也较小。

表4 酸乳的物理特性的测定结果

类型	硬度	粘聚度	弹性	回复性
STZ-CK	2.20 ± 0.12	0.62 ± 0.02	1.75 ± 0.07	0.40 ± 0.03
STZ	2.00 ± 0.09	0.57 ± 0.02	1.11 ± 0.04	0.35 ± 0.05
LBZ-CK	4.80 ± 0.19	0.54 ± 0.02	1.50 ± 0.06	0.38 ± 0.06
LBZ	3.60 ± 0.14	0.32 ± 0.01	1.13 ± 0.05	0.32 ± 0.05

3 结论

酸乳发酵剂在低温刺激下可以明显改善酸乳的质构,低温刺激酸乳的凝固时间延长,为蛋白质形成胶束提供了足够的时间;EPS的含量提高,使酸乳体系形成相对较大的微孔,这些微孔里面的EPS,让蛋白质网络形成浓密的蛋白质凝胶通道,从而使WHC降低,STS降低;EPS本身较大的分子量使蛋白质形成的簇状物较小、较细,而使粘度增加,但由于EPS和蛋白质有不相容性,所以低温发酵酸乳的硬度、粘聚度和弹性都较低。

参考文献

- [1] 刘敦艳,李双霞. 酸乳的生产现状及影响酸乳质量的主要因素[J]. 中国乳业,2005(8):50.
- [2] 韩洪章. 瓶装酸奶质量缺陷在工厂生产中的控制[J]. 乳业科学与技术,2007(3):128.
- [3] 朱缤华,马兴胜. 酸奶变质机理及保鲜研究初探[J]. 黑

龙江商学院学报(自然科学版),1997,13(1):11.

[4] 廖敏,李诚. 低温长时间发酵酸乳加工关键技术及品质研究[J]. 食品与发酵工业,2005,31(7):122.

[5] 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,2001,27(2):80~83.

[6] 周光宏,等. 畜产品加工学[M]. 北京:中国农业出版社,2005.183.

[7] 刘杰,时谨. 牛蒡中菊糖的提取与测定[J]. 食品研究与开发,2005,26(2):118~121.

[8] 李全阳,夏文水. 酸乳中乳酸菌所产胞外多糖特性的初步研究[J]. 食品科学,2004,24(2):81~82.

[9] A N Hassan, J F Frank, K A Schmidt, et al. Textural properties of yogurt made with encapsulated no ropy lactic cultures [J]. Dairy Sci, 1996, 79: 2098~2103.

[10] 霍艳荣,张兰威,高前欣. 产粘乳酸菌对酸乳品质的影响[J]. 食品研究与开发,2003,24(6):123~124.

[11] 李全阳,夏文水. 酸乳流变学特性的初步研究[J]. 食

(上接第166页)

法[J]. 酿酒科技,2005,136(10):68~73.

[4] 朱建航,赵光整,帅桂兰,等. 黄酒中酒液粒度与混浊沉淀的关系[J]. 工业微生物,1999,29(3):8~11.

[5] 胡文浪. 浅析黄酒沉淀的原因及预防措施[J]. 酿酒,1998,25(2):45~46.

[6] 朱建航. 黄酒蛋白质沉淀机理的研究[D]. 无锡:无锡轻工业大学,1998.

[7] 高恩丽. 黄酒稳定性的提高[D]. 无锡:无锡轻工业大学,2000.

[8] 朱一松. 超滤法纯生黄酒新工艺的研究[D]. 无锡:江南

(上接第169页)

[4] Kim S H, Kinsella J E. Surface Active Properties of Food Proteins; Effects of Reduction of Disulfide Bonds on Film Properties and Foam Stability of Glycinin[J]. Food Science, 1987, 1: 128~131.

[5] Kazunobu Tsumura, Tsutomu Saito, Keisuke Tsuge, Hiroko Ashidaa, Wataru Kugimiya, Kuniyo Inouye. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis [J]. LWT, 2005, 38: 255~261.

[6] Takao Nagano, Motobiko Hirotsuka, Hiroyuki Mofi. Dynamic Viscoelastic Study on the Gelation of 7S Globulin from Soybeans [J]. Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40: 941~944.

[7] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227: 680~685.

[8] Adler-Nissen J. Enzymic Hydrolysis of Food Proteins [M]. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 116~124.

[9] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, Randall R J. Protein measurement with the Folin - phenol reagent [J]. Biological

品与发酵工业, 2003, 29(12): 36.

[12] 杨贞耐, Eine Huttunen. 乳酸菌分泌胞外多糖的生物学基础和多糖分子结构修饰[C]. 第3届中国乳业科技大会论文集, 2006. 95~100.

[13] Mancuso CA. Production of exopolysaccharides by Antarctic bacterial isolates [J]. Applied Microbiology, 2004, 96: 1057~1066.

[14] 刘慧, 张红星, 代娟. 藏灵菇中嗜热链球菌高产胞外多糖发酵条件的优化[J]. 中国酿造, 2007, 171(6): 44.

[15] 罗玲泉, 刘成国, 黄永锋. 乳酸菌胞外多糖及其对酸乳品质的影响[J]. 食品工业科技, 2007, 28(6): 234~235.

[16] A N Hassan, R Ipsen, T Janzen. Microstruture and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides [J]. Dairy Sci, 2003, 86: 1632~1638.

[17] 李全阳, 夏文水, 祝丽香, 等. 一种乳酸菌胞外多糖对酸乳凝胶的影响机理[J]. 高等化学学报, 2007, 28(5): 1~4.

大学, 2004.

[9] 邢卫红, 徐南平, 时钧. 无机膜分离技术在食品、发酵行业的应用[J]. 膜分离技术, 1997(6): 1~9.

[10] 刘达玉, 王新惠, 马艳华. 无机膜及其在酿造食品中的应用[J]. 中国调味品, 2006(12): 33~36.

[11] 李梅生, 赵宜江, 张艳, 等. 被生酱油污染后陶瓷膜再生方法的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(5): 47~50.

[12] P Narong, A E James. Effect of the ζ -potential on the micro-ultra-filtration of yeast suspensions using ceramic membranes [J]. Separation and Purification Technology, 2006, 49: 149~156.

Chemistry, 1951, 193: 265~268.

[10] Jian-Hua Zhu, Xiao-Quan Yang, Ijaz Ahmad. Rheological properties of κ -carrageenan and soybean glycinin mixed gels [J]. Food Research International, 2008, 41: 219~228.

[11] Sikorski Z E. Functional properties of proteins in food systems. Chemical and functional properties of food proteins [P]. Lancaster, 2001. 113~136.

[12] Comas D I, Wagner J R, Toma's M C. Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions; Influence of pH on soybean protein - lecithin interaction [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20: 990~996.

[13] De Rham O, Kruseman J, Hidalgo J. Nongelling soy protein hydrolysate for use in concentrated fluid complex foods [J]. Food Science, 1978, 43: 642~648.

[14] Kamata Y, Takahata H, Yamauchi F. Gelling properties of cleaved soybean globulins by limited proteolysis [J]. Food Science, 1989, 36: 557~562.

权威 · 全面 · 核心 · 实验 · 领先