

# 发酵剂菌体自溶对酸乳品质的影响

孙洁<sup>1,2</sup>, 沈瑾<sup>2</sup>, 王希卓<sup>2</sup>, 田亚洲<sup>2</sup>, 吕加平<sup>1\*</sup>, 刘鹭<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100094; 2. 农业部规划设计研究院, 北京 100125)

**摘要:** 通过研究发酵剂自溶对菌株产酸、凝乳能力, 及对酸乳黏度、持水率、风味物质、后酸化程度等理化指标的影响。结果表明: 自溶度较高的乳酸菌菌株在酸乳发酵过程中产酸性能更优, 凝乳时间较短; 菌株的自溶度对酸乳的黏度、持水率、风味物质成分及含量影响不大, 但对酸乳的后酸化程度有着显著影响, 高自溶度菌株发酵而成的酸乳在模拟货架期储藏条件下 (10~15℃) 后酸化程度相对较低。该文为开发新型复合发酵剂提供了理论依据。

**关键词:** 发酵剂, 发酵, 乳酸, 自溶, 酸乳, 乳酸菌

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.01.051

中图分类号: TQ920.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2012)-01-0287-06

孙洁, 沈瑾, 王希卓, 等. 发酵剂菌体自溶对酸乳品质的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(1): 287-292.

Sun Jie, Shen Jin, Wang Xizhuo, et al. Effects of yogurt starters autolysis on quality of yogurt[J]. Transactions of the CSAE, 2012, 28(1): 287-292. (in Chinese with English abstract)

## 0 引言

细菌自溶是指菌体细胞在某些特定条件下, 自身释放可水解细胞壁肽聚糖网络结构的自溶酶 (autolysin) 溶解细菌胞壁质, 使细胞内物质向周围环境释放的过程<sup>[1]</sup>。发酵剂菌体自溶时产生的蛋白酶、脂肪酶等酶类催化了乳中蛋白质、脂肪、乳糖等成分的一系列生化反应, 从而赋予发酵乳制品特有的风味和质地。目前关于菌体自溶对发酵乳制品品质的影响主要集中在干酪生产方面, 国外已有很多关于发酵剂自溶对干酪品质影响的研究。例如, 使用含有 I 型乳球菌素的非自溶性乳酸乳球菌 HP 制作的切达干酪有明显苦味<sup>[2]</sup>; 但是使用同样含有 I 型乳球菌素的自溶性乳酸乳球菌 LW1484<sup>[3]</sup>制作的切达干酪苦味就很不明显; Drake<sup>[4]</sup>和 Crow<sup>[5]</sup>等研究发现: 通过机械破壁等方法加速乳酸菌的自溶, 可使制作的干酪产品达到更好的品质。尽管多数时期发酵剂菌体自溶是有益的, 但是当自溶速度过快时, 也会引起发酵乳制品酸度不足或者乳糖残留等问题。

关于酸乳发酵剂自溶特性的研究报道较少, 但是菌体自溶对酸乳品质和保质期的影响也极为显著<sup>[6]</sup>。酸乳的酸度、甜度、香气、色泽、细腻度、粘稠度、滑爽感、货架期后酸化等方面的综合质量对消费者购买产品时的品牌选择有着极大影响。生产厂家通常使用各种添加剂来增加产品的粘度、稳定性和口感, 这与消费者追求食品天然、绿色的消费诉求背道而驰, 而使用优质发酵剂

对产品品质进行调控正是发酵乳产业的发展方向。因此, 本文选择了前期试验获得的不同自溶度乳酸菌菌株作发酵剂<sup>[7]</sup>, 通过研究单菌株发酵剂自溶对酸乳黏度、持水力、风味物质、后酸化等方面的影响, 以期得到发酵剂菌体自溶与酸乳品质之间的关系, 为下一步开发新型复合发酵剂提供理论依据和菌种资源。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

供试菌株均来自于实验室储备菌株, 经 API<sup>®</sup>标准微生物生化系统鉴定, 置信区间均在 98% 以上, 具体名称见表 1。

表 1 供试菌株种类及名称  
Table 1 Bacterial strains used in research

菌株	简称
德氏乳杆菌保加利亚亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus</i>	LD3、LD3-A3、LD3-B6、LA1
唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus</i>	GS1、GS1-A8、GS1-B4
乳酸乳杆菌 <i>Lactobacillus lactis</i>	S15、S15-A3、SY7

### 1.2 仪器和试剂

FACSCalibur 流式细胞仪联用 Cellquest 3.1 软件, 美国 Becton Dickinson 公司; 1200LGC-MS 气相色谱质谱联用仪, 美国 VARIAN 质谱公司; DV-E 粘度计, 美国博力飞公司; Delta 320 pH 计, 梅特勒-托利多上海有限公司; T5107-IM 恒温培养箱, 哈尔滨市东联公司; 3K15 高速冷冻离心机, 美国 Sigma 公司; U-3010 全波段分光光度仪, 日本东京 Hitachi High-Technologies Corporation; LGJ-10 冷冻干燥机, 北京四环公司; SL-N 电子天平, 上海民桥精密仪器有限公司; TSAO HSIN TH-3560 高压灭菌锅, 台北造鑫企业有限公司; SC-15 电热恒温水浴锅, 宁波新芝生物公司。

API<sup>®</sup>50 CHL 乳酸菌鉴定试剂盒, 法国生物-梅里埃公司; MRS 肉汤培养基和 MRS 琼脂培养基, 北京陆桥

收稿日期: 2011-08-15 修订日期: 2011-12-12

基金项目: 科技部黑龙江省部会商项目: 干酪加工关键技术的研究与产业化 (NC2010KA0104)

作者简介: 孙洁 (1980-), 女, 甘肃兰州人, 博士, 主要从事农产品加工和贮藏研究。Email: sunjie9797@163.com

\*通信作者: 吕加平 (1963-), 男, 山西朔州人, 研究员, 博士生导师, 主要乳品加工及微生物方面的研究。Email: lvjp586@vip.sina.com

公司；碘化丙锭 (PI)，美国 Sigma 公司。

鲜牛乳购自中国农业科学院畜牧研究所；脱脂乳粉 (新西兰 NZMP)、YO-MIX 495 直投式混合发酵剂 (荷兰丹尼斯克公司)。

脱脂乳培养基：将脱脂乳粉以 10% 的量溶解于蒸馏水中，110℃ 灭菌 5 min，4℃ 贮存备用。

MRS 肉汤培养基与 MRS 琼脂培养基分别按照商品说明书所示比例配制，115℃ 灭菌 20 min 备用。

试验中所用其余药品均为分析纯级 (北京国药集团)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 菌株的培养<sup>[8]</sup>

纯化菌株用冷冻干燥机真空冻干，保存于 -80℃ 低温冰箱，使用时经 MRS 肉汤 37℃ 条件下培养活化 3 次以上，储存于 4℃ 冰箱备用。

活化好的菌株在 MRS 肉汤培养基中 37℃ 培养，待菌株生长至稳定期，离心收集菌体细胞 (5 000 r/min, 5 min) 并用磷酸缓冲液洗涤一次，所得菌体细胞 4℃ 冷藏，尽快使用。

菌株的扩培：经活化的菌株以菌体湿质量 0.03% 的接种量接于 200 mL 脱脂乳培养基内，37℃ 培养 24 h，4℃ 贮存备用。

#### 1.3.2 菌株自溶度的测定<sup>[9]</sup>

菌体细胞自溶度检测使用 PI-FCM 方法：离心收集待测菌悬液中菌体细胞 (5 000 r/min, 5 min)，用 PBS 缓冲液洗涤两次后重悬，调整菌悬液吸光值 (OD<sub>650</sub>) 至 1.0 左右，使菌悬液细胞个数控制在  $1 \times 10^7$  cells/mL，取 1 mL 菌液 4℃ 离心 (3 000 r/min, 5 min) 弃去上清液，菌体细胞重悬于 1 mL PI-PBS 染液 (20 mmol/L) 中，4℃ 避光染色 30 min，PBS 缓冲液 (50 mmol/L PH 值为 6.5) 洗涤一次，400 目铜网过滤后上机测定。流式细胞仪激发光波长 488 nm，FL3 通道检测波长 650 nm，每个样品收集  $1 \times 10^5$  个细胞，在 FL3-H 在 101 处设门，使用 CellQuest 软件对所得数据进行联机分析，得到 PI 染色呈阳性的细胞数与细胞总数的比率，即为菌体自溶度。

#### 1.3.3 酸乳的制作

脱脂复原乳酸乳：将脱脂乳粉按照 10% 的添加量溶解于蒸馏水中制成脱脂复原乳，加入 4% 的蔗糖混匀，110℃ 灭菌 5 min，待温度降到 40℃ 左右时，按照一定比例添加 1.3.1 中扩培的脱脂乳培养基，37℃ 培养至凝乳 (pH 值为 4.5~5 左右) 后取出，4℃ 后熟 16 h，分别置于 4℃ 和 15℃ 冷藏柜中，定时取样测定。

牛乳酸乳：生牛乳中加入 4% 的蔗糖混匀，110℃ 灭菌 5 min，待温度降到 40℃ 左右时，按照 10% 的接种量添加 1.3.1 中扩培的脱脂乳培养基，42℃ 培养至乳蛋白即将凝结 (pH 值为 4.5~5 左右) 时取出，4℃ 后熟 16 h，进行测定和感官评定。

#### 1.3.4 酸乳 pH 值的测定

酸乳样品 pH 值由校准的酸度计直接测定，测定时间与滴定酸度同步。每个样品平行测定 3 次，取算数平均值。

#### 1.3.5 酸乳滴定酸度的测定

酸乳样品的滴定酸度的测定：将 10 mL 待测酸乳样

品与等体积蒸馏水混合，滴入 1~2 滴浓度为 5% 的酒精酚酞指示剂，用标定过的 0.1 mol/L NaOH 标准溶液滴定至微红并记录滴定量。酸乳的滴定酸度以吉尔涅尔度 (<sup>0</sup>T) 表示，即每 100 mL 酸乳样品消耗的 NaOH 溶液毫升数。

#### 1.3.6 酸乳粘度的测定

酸乳样品的黏度由旋转粘度计直接测定，将水浴锅温度调整为 25℃，取待测酸乳样品约 150 mL 依次倾入同一烧杯中，选用仪器所配 4 号转子，转速为 50 r/min，每 5 s 取值一次，连续测定 60 s，每个样品重复 3 次，取算数平均值。

#### 1.3.7 酸乳持水力的测定

取待测酸乳样品 15 mL 置于称重过的离心管中再次称质量，得到样品质量后，放入离心机，以 5 000 r/min 转速离心 20 min，弃去上清液，将离心管口朝下静置 10 min，称沉淀物质量，每个样品测定 3 次，取算数平均值。

酸乳的持水力按下式计算

$$\text{持水力}(\%) = \frac{W}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中， $W_0$  为样品质量，g； $W$  为沉淀物的质量，g。

#### 1.3.8 酸乳中风味物质的测定

酸乳风味物质的检测方法采用气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)。

酸乳样品的前处理：取 10 mL 酸乳样品置于 15 mL 的顶空瓶中，萃取头为 100  $\mu$ m PDMS，经过老化后插入样品瓶顶空部位，40℃ 条件下吸附 30 min；之后将萃取头插入气相色谱仪的进样口，250℃ 解吸 3 min，启动仪器进行数据采集。

气相色谱条件：PEG20M 气相色谱柱柱内径 0.25 mm，柱长 30 m，膜厚 0.25  $\mu$ m。以高纯氦气 (99.9%) 为载气，流速 0.80 mL/min，恒流模式。

多阶程序升温过程为：40℃ 保持 3 min  $\rightarrow$  6℃/min 升温至 130℃  $\rightarrow$  8℃/min 升温至 230℃，保持 8 min，不分流。

MS 条件：EI<sup>+</sup> 离子源电离，发射电流 200  $\mu$ A，离子源电子能量 70 eV，检测电压为 350 v，离子源温度为 200℃，进样口温度为 250℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵剂菌种的选择

本次试验所选择了酸乳生产中最常用的三种乳酸菌作为研究对象，分别是德氏乳杆菌保加利亚亚种、唾液链球菌嗜热亚种和乳酸乳杆菌；经过前期试验，在对各菌株进行传代稳定性、生物量以及自溶度等方面进行筛选后，确定表 2 中所示各菌株作为发酵剂进行下一步发酵试验。

LD3、LD3-A3、LD3-B6 和 LA1 为德氏乳杆菌保加利亚亚种，自溶度在 13.29%~54.30% 之间；GS1、GS1-A8 和 GS1-B4 为唾液链球菌嗜热亚种，自溶度在 6.43%~20.75% 之间；S15、S15-A3 和 SY7 为乳酸乳杆菌，自溶度在 11.44%~42.53% 之间。由表中数据可以看出，这些乳酸菌自溶度相差很大，但是同一品种菌株之间生物量无显著差异。因此，选择的各菌株的增殖能力处于比较均一的程度。

表 2 供试菌株的自溶度和生物量

菌 株	自溶度/%	生物量/(g·mL <sup>-1</sup> )
德氏乳杆菌保加利亚亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	LD3	21.51±0.81 bB
	LD3-A3	54.30±1.32 cB
	LD3-B6	13.29±0.07 dC
	LA1	20.07±0.79 aA
唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i>	GS1	9.65±0.02 aA
	GS1-A8	20.75±1.03 bB
	GS1-B4	6.43±0.13 cC
乳酸乳杆菌 <i>Lactobacillus lactis</i>	SY7	11.44±0.14 aA
	S15	37.42±0.21 bB
	S15-A3	42.53±0.71 cC

注：表中小写字母和大写字母分别代表 Duncan 0.05 和 0.01 水平显著性差异，相同字母表示差异不显著。

### 2.2 菌株自溶对发酵酸度的影响

将各菌株扩培后以 10% 的接种量添加到脱脂复原乳中 37℃ 发酵，以原料乳 pH 值的下降为指标，考察不同自溶度菌株的发酵活力，结果如图 1 所示。

由图 1 中可见，德氏乳杆菌保加利亚亚种 LD3 和 LD3-A3 的产酸能力最强，发酵时间为 10 h 左右时，发酵乳的 pH 值已降至 4.5 左右，此时乳中酪蛋白开始凝固；相对于 LD3 和 LD3-A3，菌株 LD3-B6 和 LA1 的自溶度较小，其发酵乳 pH 值降至 4.5 则需发酵 15 h 左右；以上菌株发酵至 72 h，pH 均值分别为 3.24、3.18、3.76 和 3.22。唾液链球菌嗜热亚种 GS1-A8、GS1 和 GS1-B4 发酵时 pH 值降至 4.5 则需 32 h 左右，发酵至 72 h 时 pH 均值分别为 3.88、3.79 和 3.78。乳酸乳球菌 SY7 发酵时 pH 值降至 4.5 则需发酵 28 h 左右，发酵至

72 h 时 pH 均值为 3.22 左右。由以上结果可知，同一种属的乳酸菌自溶度较大的菌株产酸更快，各菌株发酵至 72 h，发酵乳的酸度逐渐趋同至 pH 值为 3.5 左右，受环境酸度影响，菌体细胞分裂受到抑制，菌株停止生长<sup>[10]</sup>，发酵乳的 pH 值不再产生变化。

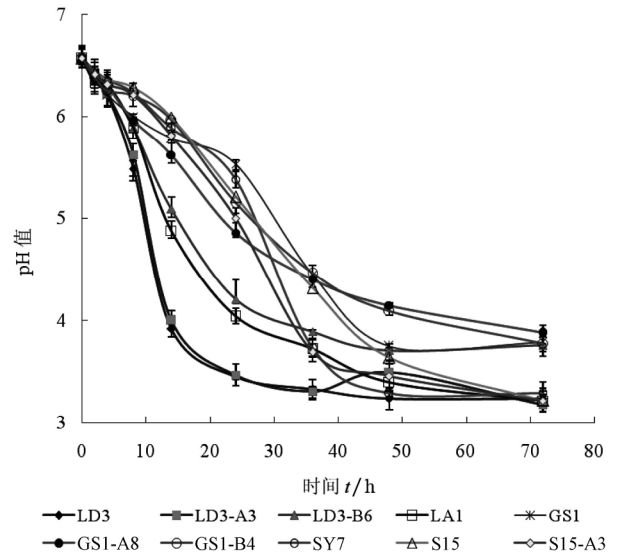


图 1 不同乳酸菌发酵试验中 pH 值的变化  
Fig.1 Changes of pH value of different cultured milk lactic acid bacteria strains

### 2.3 菌株自溶对酸乳凝乳时间和质地的影响

将各菌株扩培后以 10% 的接种量添加到脱脂复原乳中 37℃ 发酵，考察菌株自溶对凝乳时间、凝乳强度和持水力的影响，结果如表 3 所示。

表 3 不同乳酸菌发酵试验中凝乳时间和凝乳强度

Table 3 Viscosity and coagulating time of different cultured milk lactic acid bacteria strains

菌 株	24 h 自溶度/%	黏度/ (Pa·s)	持水力/%	凝乳时间/h	
德氏乳杆菌保加利亚亚种 <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	LA1	20.07±0.79 aA	264±2.12 aA	87.11±2.82 aA	8
	LD3	21.51±0.81 bB	289±5.65 bA	80.23±1.25 bAB	7
	LD3-B6	54.30±1.32 cB	222±7.07 cB	89.76±0.57 cB	8
	LD3-A3	13.29±0.07 dC	181±7.07 dC	70.88±0.62 dC	7
乳酸乳杆菌 <i>Lactobacillus lactis</i>	SY7	11.44±0.12 aA	177±7.07 aA	70.45±0.71 aA	25
	S15	37.42±1.01 bB	199±9.89 bA	77.63±0.42 bB	25
	S15-A3	42.53±1.12 cC	224±10.22 bA	83.98±0.91 cC	24
唾液链球菌嗜热亚种 <i>Streptococcus salivarius ssp.</i>	GS1	9.65±0.02 aA	298±12.12 aA	79.48±1.12 aA	19
	GS1-A8	20.75±1.03 bB	280±3.63 bB	84.34±0.84 bAB	17
	GS1-B4	6.43±0.13 cC	353±6.36 bB	70.52±0.34 cB	19

注：表中小写字母和大写字母分别代表 Duncan 0.05 和 0.01 水平显著性差异，相同字母表示差异不显著。

酸乳凝固的部分原因是乳酸菌菌体产生的蛋白酶作用于乳蛋白而产生，但主要决定因素还是乳酸菌代谢乳糖和乳中其他碳源产生乳酸，使得酸乳酸度发生变化，造成酪蛋白凝固。因此，发酵酸乳的凝乳时间与发酵酸度紧密相关。由图 1 各菌株 pH 变化曲线和表 3 中数据可知，自溶度大的菌株凝乳时间较短，自溶度小的菌株凝乳时间稍长。除酪蛋白的凝固之外，酸乳特有的粘性质地与菌株产生的胞外多糖也有很大的关系，这一因素取决于乳酸菌菌株的种类，因此酸乳的黏度和持水率对菌株自溶度的影响

不显著，对以上试验数据进行线性回归，返回相关系数仅为黏度  $R=0.176$ 、持水力  $R=0.067$ ，因此可以认为菌株自溶度与酸乳中的黏度和持水率没有线性相关关系。

### 2.4 菌株自溶对酸乳风味的影响

为分析各菌株自溶对酸乳风味的影响，对风味物质进行量化分析，将各菌株扩培后以 10% 的接种量添加到脱脂复原乳中 37℃ 发酵至 pH 值为 4.5 左右，于 4℃ 后熟 16 h 后使用气相色谱联用质谱对酸乳中挥发性的风味物质进行分析，以未添加菌种的空白脱脂乳样品扣除本底，图 2 所示即为空白

脱脂乳和各菌株在脱脂复原乳中发酵后产生风味物质的 Full scan 总离子流图。其中图 2a 为空白脱脂乳样品；图 2b 为菌株 LD3 发酵样品；图 2c 为菌株 GS1 发酵样品；图 2d 为菌株 S15 发酵样品。对图 2 中各目标峰以峰面积归一积分，选

择相对丰度响应值大于 1.0 的分子离子峰在 NIST05 标准质谱检索库中进行检索，以匹配度大于 90% 为置信区间，得到各酸乳样品中主要挥发性风味物质名称及相对含量，选择其中出现频率较高的 20 种风味物质为考察指标，编号及名称见表 4。

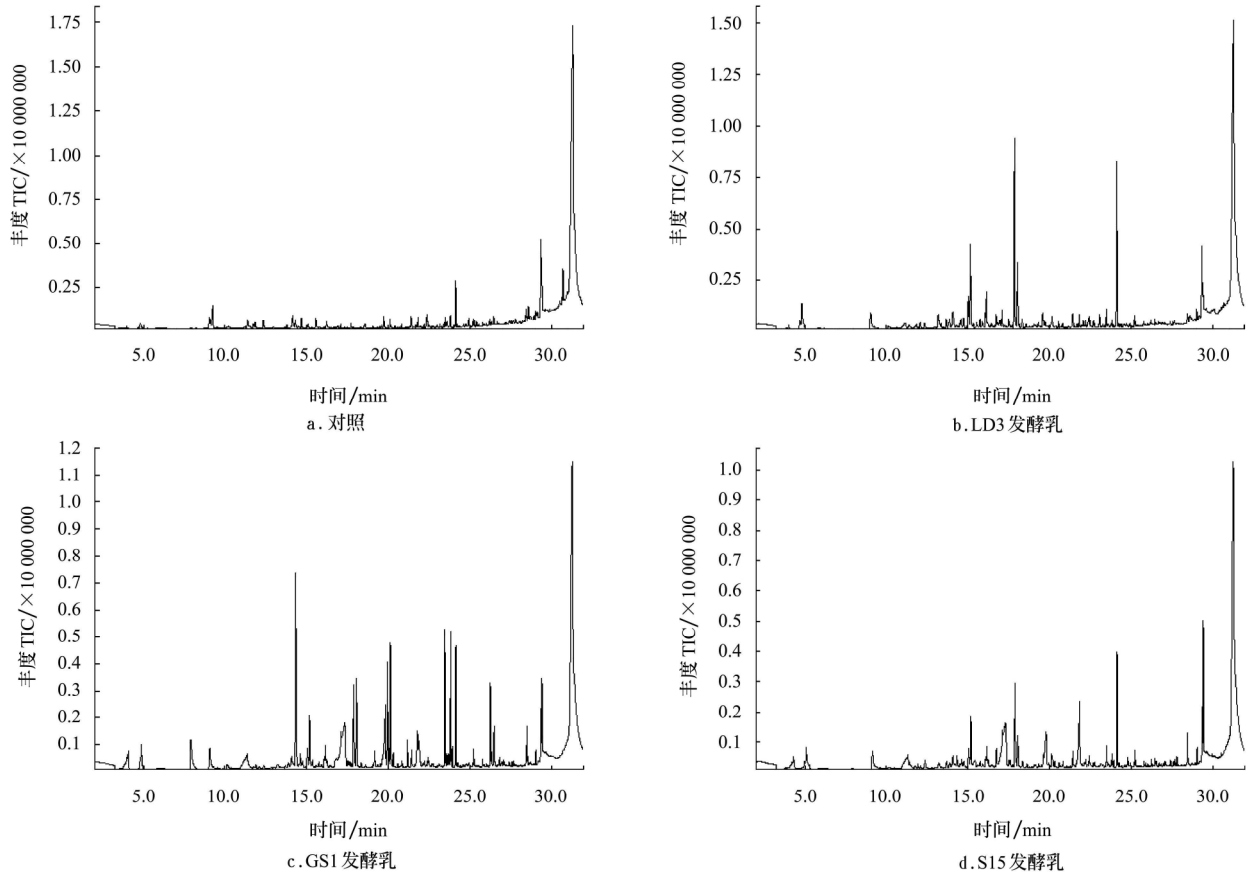


图 2 酸乳中风味物质的 GC-MS 总离子流图

Fig.2 GC-MS analysis of flavor components of different cultured milk

表 4 GC-MS 分析酸乳中主要的风味物质及比例

Table 4 GC-MS analysis of mainly flavor components of fermented milk

序号	风味物质	Name	发酵乳中风味物质体积分数/%		
			GS1	GS1-A8	GS1-B4
1	乙酸	Acetic acid	1.09	1.47	2.99
2	丁内酯	Butyrolactone	0.53	0.92	3.29
3	乙醇	Ethanol	2.32	2.29	1.32
4	正己醇	1-Hexanol	0.29	0.86	0.55
5	壬酮	2-Nonanone	1.82	3.46	1.6
6	壬醛	Nonanal	4.68	6.15	4.55
7	甲基壬基甲酮	2-Undecanone	0.88	2.77	2.60
8	2-甲基-丙酸-2-苯氧代乙酯	2-methyl-, 2,2-dimethyl-1-propyl ester	1.63	0.49	1.36
9	(2-甲基)3,7-二甲基-6-辛烯丙酸酯	2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester	2.34	3.44	1.74
10	2-羟基戊酸甲酯	2-hydroxy-, methyl ester	1.06	0.57	1.62
11	2-十三烷酮	2-Tridecanone	1.40	0.68	3.01
12	丁基羟基甲苯	Burylmed Hydroxytoluene	2.40	4.69	3.93
13	肉豆蔻醛	Tetradecanal	0.77	3.30	0.54
14	1-烯基肉豆蔻醛	Hexadecane	0.83	2.98	0.78
15	2,2-二甲基-1,3-丙二醇	bis(2-methylpropyl) ester	1.29	0.42	1.05
16	2,5-二甲基-4-羟基-己酮	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-hexanone	0.43	3.68	0.92
17	棕榈酸甲酯	n-Hexadecanoic acid	0.23	0.43	0.97
18	邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	2.19	1.76	3.86
19	正十二烷酸	Dodecanoic acid, isoocyl ester	1.08	0.45	1.89
20	油酸	Oleic Acid	0.20	0.83	0.54

使用以上 20 种化学成分作为指标，对各菌株的风味物

质整体进行评估，以唾液链球菌嗜热亚种为例，表 4 所

列分别为菌株 GS1、GS1-A8、GS1-B4 的风味物质及其比例关系，其中 GS1-A8 和 GS1-B4 是 GS1 经由 N<sup>+</sup> 离子注入诱变所得不同自溶度表型的菌株，可以看出各指标之间的比例关系大致相同，但是也有一部份指标相差很大，比如三个样本中 2 号指标丁内酯、13 号指标肉豆蔻醛和 16 号指标 2,5-二甲基-4-羟基-己酮的含量存在很大的差异，分别为 0.53%、0.92%、3.29%，0.77%、3.30%、0.54% 和 0.43%、3.68%、0.92%。酸乳的风味来源于乳酸和羰基化合物，这些物质在酸乳内含量的多少取决于乳酸菌在生长过程中产生的各种代谢酶类，如乙醛脱氢酶、乙醇脱氢酶、脱氧核糖醛缩酶等，乳酸菌的自溶会影响这些酶类的合成，从而对代谢产物产生一定的影响，但是造成风味物质种类及数量差异的原因非常复杂，并不能完全肯定这些差异是由菌株自溶度的差异引起的，并且这些风味物质对酸乳口感的作用，至今尚未有一个可靠权威的系统模型来支持，因此在选择发酵剂菌株时，关于自溶对风味物质的影响，只能作为一种参考指标对产品进行评价。

### 2.5 菌株自溶对酸乳后酸化程度的影响

酸乳的后酸化是影响酸乳质量的一个重要因素。在酸乳的贮存运输以及货架期内，后酸化对酸乳品质产生了很大的影响。Zourari, Accolas 和 Desmazeaud<sup>[11]</sup>报道了德氏乳杆菌保加利亚亚种的细胞壁和细胞膜对乳糖酶活性有一定保护作用，采用该菌种制作的酸乳在贮存过程中，其乳糖酶在酸性条件下仍具有较大的活性，从而继续发酵乳糖产生乳酸，导致了后酸化现象产生，因此认为德氏乳杆菌保加利亚亚种是造成酸乳后酸化主要的产酸菌株。此外还有报道在酸乳产品中使用化学诱变剂增加乳酸菌细胞膜的通透性，使分泌到细胞外的乳酸与氢质子能渗透到菌体内，降低菌体内 pH 值，促使乳酸菌停止生长和产酸<sup>[12]</sup>，以达到防止后酸化的目的。由此可见，发酵剂菌株的自溶度与酸乳的后酸化存在着必然的联系。

将各菌株扩培后以 10% 的接种量添加到含有 4% 蔗糖的牛乳中 42℃ 发酵至 pH 值为 4.5 左右后，于 4℃ 后熟 16 h，分别贮藏于两种低温环境中，15 d 后测定酸乳 pH 值和滴定酸度的变化，结果如图 3 和图 4 所示。

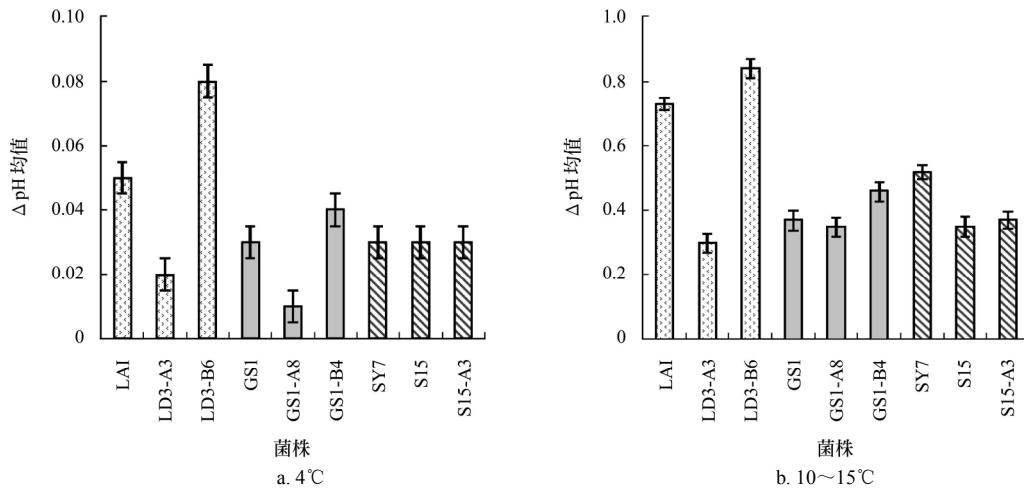


图 3 不同乳酸菌菌株发酵酸乳贮藏期间 pH 值变化

Fig3 Changes of pH value of different lactic acid bacteria strains cultured milk

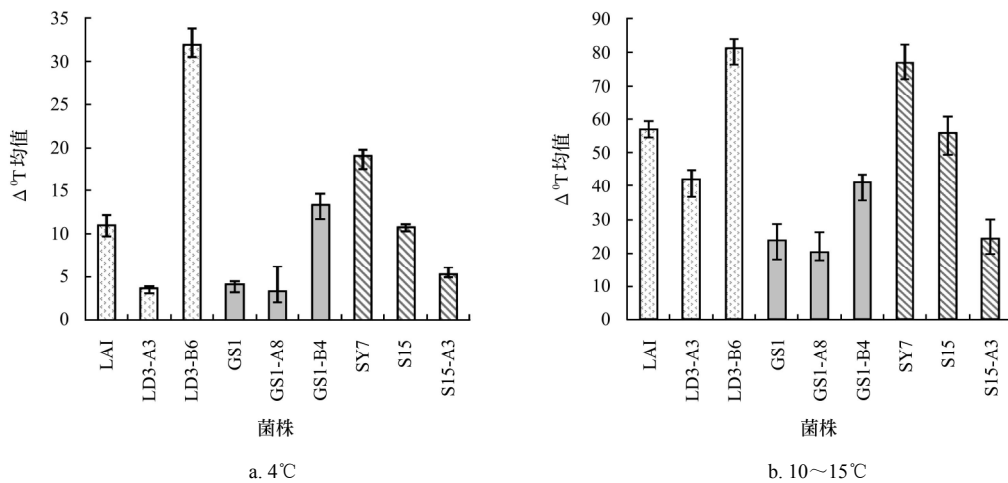


图 4 不同乳酸菌菌株发酵酸乳贮藏期间的滴定酸度变化

Fig4 Changes of Δ°T of different lactic acid bacteria strains cultured milk

高质量酸乳在消费者饮用时，最佳酸度应为 pH 值 4.3 左右，而在中国国标 GB2746—1999 中规定，合格酸乳制品的滴定酸度应在 700~1 100 °T 的范围之内。通常

酸乳的后酸化严重与否，很大程度上依赖于贮藏运输和销售过程中的冷链温度。在绝对理想的情况下，酸乳的冷藏温度应为 4℃；然而在实际开架销售的货架期中，酸

乳基本上处于 10℃ 以上的冷藏环境。因此,为了模拟货架期状态,将各菌株发酵的酸乳分别贮藏于 4℃ 和 10~15℃ 的环境里,对 15 d 后各酸乳的后酸化程度进行检测,由图 3 和图 4 中结果可以看出,乳酸菌菌株自溶度对酸乳后酸化的影响显著 ( $p < 0.05$ ),尤其是在 10℃~15℃ 贮藏条件下,相对自溶度较小的菌株 LD3-B6、GS1-B4 和 SY17 发酵的酸乳,不论是滴定酸度的变化 ( $\Delta^0T$ ) 还是 pH 值的变化 ( $\Delta pH$ ),其后酸化程度都要比同种属其他自溶度较大的菌株发酵的酸乳高出许多;而使用自溶度较高的菌株进行发酵时,因为自溶行为导致了部分乳酸菌菌体细胞壁和细胞膜破损,使得菌体在酸性条件下内环境 pH 值急速降低,抑制了菌体的生长,所以在贮藏过程中,菌株代谢乳糖产酸能力也比较低,因此酸乳的后酸化程度也大为降低。

### 3 结 论

使用不同自溶度的乳酸菌制作酸乳,发酵过程中自溶度较高的乳酸菌菌株产酸性能更优,因此凝乳时间较短;各菌株发酵至 72 h,发酵乳的酸度逐渐趋同至 pH 值为 3.5 左右之后不再变化;酸乳的黏度和持水率对菌株自溶度的影响不显著 ( $p > 0.05$ );对同一菌株出发诱变所得的不同自溶度菌株制作的酸乳中的风味物质进行测定,其主要的挥发性化学物质构成成分基本相同,各组分含量略有变化,但总体变化不大。

乳酸菌菌株自溶度对酸乳后酸化程度有着显著影响,在模拟货架期的 10~15℃ 贮藏条件下,相对自溶度较小的菌株 LD3-B6、GS1-B4 和 SY17 制作的酸乳,不论是以滴定酸度的变化 ( $\Delta^0T$ ) 还是 pH 值的变化 ( $\Delta pH$ ),都比同一种属其他自溶度较大的菌株制作的酸乳高;而使用自溶度较高的菌株进行发酵时,酸乳后酸化程度相对较低。

酸乳发酵剂中的菌株自溶对酸乳生产周期和酸乳品质都有着直接的影响,所以在筛选发酵剂菌株时应充分考虑菌株自溶的因素。复合发酵剂中多菌株自溶的交互作用,及其对酸乳品质造成的影响,则需要进一步研究。

#### [参 考 文 献]

[1] Gasson M J. Lytic systems in lactic acid bacteria and their bacteriophages[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1996, 70, 147—159.

- [2] Visser S, Exterkate F A, Slangen C J, et al. Comparative study of action of cell wall proteinases from various strains of *Streptococcus cremoris* on bovine a<sub>1</sub>-, b-, and k-casein[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 52: 1162—1166.
- [3] Christensson C, Pillidge C J, Ward L W, et al. Nucleotide sequence and characterisation of the cell envelope proteinase plasmid in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* HP[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, 91(2): 334—343.
- [4] Drake M A, Boyleston T D, Spence K D, et al. Chemical and sensory effects of a *Lactobacillus adjunct* in Cheddar cheese[J]. *Food Research International*, 1996, 29(3/4): 381—387.
- [5] Crow V L, Coolbear T, Gopal P K, et al. The role of autolysis of lactic acid bacteria in the ripening of cheese[J]. *International Dairy Journal*, 1995, 5(8): 855—875.
- [6] 李艾黎, 邓凯波, 霍贵成. 环境因素对酸奶菌株自溶的影响[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(8): 1262—1267.  
Li Aili, Deng Kaibo, Huo Guicheng. Effect of the cultivation conditions on the autolysis of yoghurt strains[J]. *Microbiology*, 2008, 35(8): 1262—1267. (in Chinese with English abstract)
- [7] 孙洁, 吕加平, 刘鹭, 等. N<sup>+</sup>注入诱变高自溶度的乳酸菌突变株[J]. *核农学报*, 2010, 24(4): 684—688.  
Sun Jie, Lü Jiaping, Liu Lu, et al. Screening of lactic acid bacteria with high autolysis rate by N<sup>+</sup>implantation[J]. *Journal of Nuclear Agricultural sciences*, 2010, 24(4): 684—688. (in Chinese with English abstract)
- [8] 沈萍, 陈向东. *微生物学实验*[M]. 第 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [9] 孙洁, 吕加平, 刘鹭, 等. 流式细胞术在乳酸菌自溶检测中的应用[J]. *微生物学报*, 2010, 50(5): 676—680.  
Sun Jie, Lü Jiaping, Liu Lu, et al. Assessment of autolysis of lactic acid bacteria by flow cytometry[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(5): 676—680. (in Chinese with English abstract)
- [10] Thunell R K, Sandine W E, Bodyfelt F W. Frozen starters from internal-pH-control-grown Cultures[J]. *Journal of Dairy Science*, 1984, 67(1): 24—36.
- [11] Zourari A, Accolas J P, Desmazeaud M J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *Lait*, 1993, 72(1): 1—34.
- [12] Somkuti A G, Dominiacki M E, Steinberg D H. Permeabilization of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* with ethanol[J]. *Current microbiology*, 1998, 36: 202—206.

## Effects of yogurt starters autolysis on quality of yogurt

Sun Jie<sup>1,2</sup>, Shen jin<sup>2</sup>, Wang Xizhuo<sup>2</sup>, Tian Yazhou<sup>2</sup>, Lü Jiaping<sup>1\*</sup>, Liu Lu<sup>1</sup>

(1. Institute of Agro-food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100083, China; 2. Chinese Academy of Agricultural Engineering, Beijing 100125, China)

**Abstract:** For developing new composite yogurt starters and finding new lactic acid bacteria strains for starters, the effects of yogurt starters autolysis on quality of yogurt, such as acid producing ability and curd ability of strains, yogurt viscosity, water-holding ratio, flavor compounds, acidification in shelf-life were studied. The results showed that coagulation time decreased significantly by using high autolysis rate lactic acid bacteria strains fermented yogurt, were positively related to acid producing ability of lactic acid bacteria starters. There was no relative correlation between autolysis rate of strains and water-holding ratio, viscosity and flavor compounds of yogurt. However, yogurt acidities were significant influenced by autolysis rate of lactic acid bacteria starters, especially in the simulated shelf life of 10-15℃ storage conditions. High autolysis rate starters could decrease acidification level of yogurt.

**Key words:** starters, fermentation, lactic acid, autolysis, yogurt, lactic acid bacteria