

黄怡忱, 华梓延, 张格文, 等. 嗜热链球菌 FUA329 发酵制备石榴汁酸奶的工艺优化及其品质特性 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(21): 174–181. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120204

HUANG Yichen, HUA Ziyen, ZHANG Gewen, et al. Process Optimization and Quality Evaluation of Pomegranate Juice Yogurt Fermented with *Streptococcus thermophilus* FUA329[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(21): 174–181. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120204

· 工艺技术 ·

# 嗜热链球菌 FUA329 发酵制备石榴汁酸奶的工艺优化及其品质特性

黄怡忱<sup>1</sup>, 华梓延<sup>1</sup>, 张格文<sup>1</sup>, 刘 姝<sup>1</sup>, 侯晓月<sup>1</sup>, 池可心<sup>2</sup>, 杨 光<sup>1</sup>, 周 翔<sup>3</sup>, 房耀维<sup>1,\*</sup>

(1. 江苏海洋大学海洋食品与生物工程学院, 江苏连云港 222005;

2. AB SCIEX 分析仪器贸易有限公司, 上海 200000;

3. 连云港市食品药品检验检测中心, 江苏连云港 222069)

**摘要:** 微生物发酵转化鞣花酸生成具有多种生物活性的尿石素 A, 显著提高富含鞣花酸食品的营养价值。本研究通过单因素与响应面试验优化获得菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶的最佳工艺, 以嗜热链球菌 CGMCC1.8748 为对照, 对石榴汁酸奶的菌种活力、流变特性及抗氧化活性进行分析, 并利用高效液相色谱法测定菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶中的尿石素 A 含量。结果表明: 嗜热链球菌 FUA329 发酵制备石榴汁酸奶的最佳工艺为石榴汁添加量为 15.79%, 蔗糖添加量为 7.08%, 发酵剂接种量为 3.04%, 发酵时间 7 h, 发酵温度 37 °C, 综合感官评分 79.4 分; 在最佳工艺条件下, 菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶的酸度 (82.5±1.3) °T, 乳清析出量 9.6%±0.97%, 色差 68.17±2.75, 菌种活力 2.01±0.31 (OD<sub>600</sub>)。抗氧化活性方面, 菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶的 DPPH 自由基清除率、ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率和超氧阴离子自由基清除率分别为 82.87%±1.48%、88.20%±2.10% 和 76.92%±1.02%, 明显优于菌株 FUA329 原味酸奶以及嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵石榴汁酸奶。此外, 菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶 7 h, 尿石素 A 含量达到 3.31 μmol/L。研究为利用嗜热链球菌 FUA329 发酵制备功能性石榴汁酸奶奠定理论基础。

**关键词:** 石榴汁, 嗜热链球菌 FUA329, 尿石素 A, 酸奶, 工艺优化

中图分类号: TS252.54

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2024)21-0174-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120204



本文网刊:

## Process Optimization and Quality Evaluation of Pomegranate Juice Yogurt Fermented with *Streptococcus thermophilus* FUA329

HUANG Yichen<sup>1</sup>, HUA Ziyen<sup>1</sup>, ZHANG Gewen<sup>1</sup>, LIU Shu<sup>1</sup>, HOU Xiaoyue<sup>1</sup>, CHI Kexin<sup>2</sup>, YANG Guang<sup>1</sup>, ZHOU Xiang<sup>3</sup>, FANG Yaowei<sup>1,\*</sup>

(1. College of Marine Food and Bioengineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;

2. AB SCIEX Analytical Instrument Trading Co., Ltd., Shanghai 200000, China;

3. Lianyungang City Food and Drug Testing Center, Lianyungang 222069, China)

**Abstract:** Metabolizing ellagic acid (EA) to urolithin A with numerous bioactivities significantly improve the nutritional value of food rich in EA. In the present study, *Streptococcus thermophilus* FUA329 was applied to prepare pomegranate juice yogurt. The best process formula was investigated through single-factor experiments and response surface methodology. With *S. thermophilus* CGMCC1.8748 as control, the viability of strain, rheological properties and antioxidant activity of pomegranate juice yogurt fermented with strain FUA329 were evaluated. The content of urolithin A in

收稿日期: 2023-12-19

基金项目: 江苏省高等学校自然科学研究重大项目 (20KJA550001); 江苏省“333 高层次人才培养工程”; 江苏省研究生科研实践创新计划 (KYCX2023-126); 江苏省大学生创新创业训练计划 (SY202311641638001)。

作者简介: 黄怡忱 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 847303615@qq.com。

\* 通信作者: 房耀维 (1978-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: foroei@163.com。

pomegranate juice yogurt fermented with strain FUA329 were analyzed by high-performance liquid chromatography. The results showed that the optimal fermentation conditions for preparing pomegranate juice yogurt by *S. thermophilus* FUA329 were 15.79% pomegranate juice content, 7.08% sucrose content and 3.04% starter inoculum size, fermentation at 37 °C for 7 h and comprehensive sensory score was 79.4 points. Under the optimal conditions, the results of basic indicators showed that yogurt acidity was  $(82.5 \pm 1.3)^\circ\text{T}$ , whey precipitation was  $9.6\% \pm 0.97\%$ , color difference was  $68.17 \pm 2.75$ , bacterial activity was  $2.01 \pm 0.31$  ( $\text{OD}_{600}$ ). In terms of antioxidant activity, DPPH radical, ABTS<sup>+</sup> radical and superoxide anion radical scavenging rates of fermented pomegranate juice yogurt by strain FUA329 were  $82.87\% \pm 1.48\%$ ,  $88.20\% \pm 2.10\%$  and  $76.92\% \pm 1.02\%$ , respectively, which was significantly better than plain yogurt fermented by strain FUA329 and pomegranate juice yogurt fermented by *S. thermophilus* CGMCC1.8748. In addition, urolithin A content was  $3.31 \mu\text{mol/L}$  in fermented pomegranate juice yogurt by strain FUA329 after 7 h. The results of this study would provide a theoretical basis for fermenting a functional pomegranate juice yogurt, and lay a foundation for the development and utilization of *S. thermophilus* FUA329.

**Key words:** pomegranate juice; *Streptococcus thermophilus* FUA329; urolithin A; yogurt; process optimization

肌肉衰退引起的机体功能障碍增加老年人衰弱、跌倒、骨折与失能风险, 严重损害老年人的健康和生活质量<sup>[1]</sup>。随着我国老龄化的逐年加剧, 这一问题给家庭和社会造成了越来越沉重的负担。目前, 积极应对人口老龄化已上升为国家战略。国家卫生健康委等 15 个部门联合印发《“十四五”健康老龄化规划》, 明确指出要针对老年人肌肉衰退实施积极预防和干预。但是, 目前缺乏缓解肌肉衰退的有效方法。因此, 探索显著有效地延缓老年人肌肉衰退的方法刻不容缓。

鞣花酸具有抗氧化、减少胆固醇和油脂累积等生物学活性<sup>[2]</sup>。由于溶解度低, 难以被直接吸收利用, 经肠道菌代谢后生成不同种类的尿石素<sup>[3]</sup>。其中, 尿石素 A (Uro-A) 是目前唯一临床显示可通过线粒体自噬改善肌肉功能的化合物, 还具有抗癌、抗炎、改善认知障碍、减缓动脉粥样硬化等生物学活性, 且对人类健康无风险<sup>[4-6]</sup>。但是, 30 岁以上人群中, 约 50% 的人不能产生尿石素 A<sup>[7]</sup>。因此, 2018 年, 美国食品药品监督管理局批准尿石素 A 为营养补充剂。2021 年, Amazentis 公司将化工合成的 Uro-A 开发为抵抗肌肉衰退的营养补充剂, 受到消费者青睐。目前, Uro-A 的工业制备只有化工合成法<sup>[8]</sup>。如果制备富含 Uro-A 的食品, 则可以让人们在享受美食的同时, 补充 Uro-A, 抵抗肌肉衰退, 增强健康水平。

酸奶中的蛋白质和钙等营养素更容易被老年人吸收利用, 增强全身免疫力, 并具有调节肠道菌群、降低胆固醇、抗肿瘤、增强免疫力和延缓衰老等功效<sup>[9]</sup>。石榴中富含鞣花单宁, 含量达到  $0.35 \sim 0.75 \text{ mg/g}$ <sup>[10]</sup>。利用可以转化鞣花酸生成尿石素 A 的安全菌株发酵制备石榴汁酸奶, 将水解石榴中鞣花单宁生成的鞣花酸转化为尿石素 A, 提升酸奶的营养价值。本研究分离报道了一株具有转化鞣花酸生成尿石素 A 的嗜热链球菌 FUA329, 菌种保藏号为 CGMCC NO.24963, 研究表明该菌株具有良好的安全性和益生性<sup>[11-13]</sup>。本研究利用嗜热链球菌 FUA329 发酵制备含有尿石素 A 的石榴汁酸奶, 对发酵条件进行优

化, 为开发具有营养保健功效的功能性酸奶提供实验支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

嗜热链球菌 FUA329 由本实验室保藏; 脱脂乳粉 上海光明乳业股份有限公司; 蔗糖 东莞市金仙峰实业有限公司; 嗜热链球菌 CGMCC1.8748 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心; 石榴 采摘于江苏海洋大学苍梧校区; BHI 培养基 广东环凯生物科技有限公司; DPPH 自由基清除率试剂盒、超氧阴离子自由基清除率试剂盒 南京建成生物工程研究所; ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力检测试剂盒 北京索莱宝科技有限公司; 甲酸、乙腈 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

UV-1000 型紫外分光光度计 上海翱艺仪器有限公司; PB-10 pH 计 上海仪电科仪公司; WSC-S 色差仪 上海仪电物理光学仪器有限公司; XW-80A 漩涡混合器 上海青浦沪西仪器厂; MCR 102 模块化智能型高级流变仪 上海恪瑞仪器科技有限公司; Agilent1200 高效液相色谱仪 美国安捷伦科技公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 酸奶制作 石榴汁的制备<sup>[14]</sup>: 取新鲜石榴洗净切块, 破壁机打碎, 石榴汁在  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5000 \times g$  离心 10 min, 取上清液, 用 500 mL 真空式过滤器过滤除菌。

石榴汁酸奶的制备<sup>[15]</sup>: 脱脂牛奶中加入蔗糖和 15% 的石榴汁,  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ , 杀菌 10 min, 室温冷却至  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 无菌状态下分别接种嗜热链球菌 FUA329 和嗜热链球菌 CGMCC1.8748, 菌液浓度  $\text{OD}_{600}$  为 2.7 (3%, V/V), 搅拌均匀, 罐装在玻璃瓶中于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  发酵 7 h; 凝固后放  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱冷藏。以不加石榴汁的酸奶为对照。

1.2.2 单因素实验 首先进行预实验, 初步确立利用嗜热链球菌 FUA329 发酵石榴汁酸奶配方工艺参数。预实验中以脱脂牛奶的添加量为标准, 石榴汁添

加量 20%、蔗糖添加量 8%、发酵时间 6 h、发酵剂接种量 3% 制作出的酸奶,经感官评定产品酸甜较为合理,口感较为细腻,石榴汁酸奶也具有一定的黏稠感。基于预实验结果,进行石榴汁酸奶的单因素优化实验。

1.2.2.1 发酵时间对酸奶感官评分的影响 以脱脂牛奶的添加量为标准,在石榴汁的添加量为 20%、蔗糖添加量为 8%、发酵剂接种量 3% 的情况下,探究发酵时间为 5、6、7、8、9 h 对酸奶感官评分的影响。实验中每个单因素变量确定最佳条件后,接下来就按照最优条件进行下一因素的确定。

1.2.2.2 石榴汁的添加量对酸奶感官评分的影响 以脱脂牛奶的添加量为标准,在蔗糖添加量为 8%、发酵时间 7 h、发酵剂接种量 3% 的情况下,探究石榴汁添加量为 5%、10%、15%、20%、25% 对酸奶感官评分的影响。

1.2.2.3 蔗糖的添加量对酸奶感官评分的影响 以脱脂牛奶的添加量为标准,在石榴汁的添加量为 15%、发酵时间 7 h、发酵剂接种量 3% 的情况下,探究蔗糖添加量为 5%、6%、7%、8%、9% 对酸奶感官评分的影响。

1.2.2.4 发酵剂接种量对酸奶感官评分的影响 以脱脂牛奶的添加量为标准,在石榴汁的添加量为 15%、蔗糖添加量为 7%、发酵时间 7 h 的情况下,探究发酵剂接种量 1%、2%、3%、4%、5% 对酸奶感官评分的影响。

1.2.3 响应面优化试验 在发酵时间为 7 h 的基础上选取对发酵效果影响较显著的石榴汁添加量(A)、蔗糖添加量(B)和发酵剂接种量(C)三因素,根据 Box-Behnken 设计试验,以产品综合感官评分(Y)为响应值,采用响应面法对发酵条件进行优化,试验设计水平见表 1。

表 1 响应面试验因素和水平  
Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	A石榴汁添加量(%)	B蔗糖添加量(%)	C发酵剂接种量(%)
-1	10	6	2
0	15	7	3
1	20	8	4

1.2.4 嗜热链球菌 FUA329 和嗜热链球菌 CGMCC

1.8748 发酵制备石榴汁酸奶的基础指标测定

1.2.4.1 感官评价 选取 10 名具有食品评价经验的人组成感官评定组,其中 7~10 岁男女各 1 名,每增加 10 岁,男女各增加 1 名,对发酵后成品酸奶的外观颜色、气味、口感、状态、酸甜度进行评价,满分为 100 分,每项分值为 20 分,最终结果为总分的平均值<sup>[16]</sup>。石榴汁酸奶感官评价标准见表 2。

1.2.4.2 酸度的测定 按照 GB 5009.239-2016 进行测定。

表 2 酸奶样品感官评分标准

Table 2 Sensory scoring criteria for yogurt samples

评价指标	评分标准	分值
外观颜色	呈乳白色或稍带黄色,色泽均匀一致	14~20
	呈微黄色或稍带红色,色泽不均匀	7~13
	颜色异常,出现灰暗或红色等其他颜色	0~6
气味	奶香味浓郁,有乳酸菌发酵后的香气	14~20
	奶香气味微弱,稍有奶腥味或稍带异味	7~13
	有鱼腥味,酒精发酵气味或其他不良气味	0~6
口感	口感细腻,爽口	14~20
	口感略粗糙,不爽口	7~13
	口感非常粗糙,有颗粒状物且不爽口	0~6
状态	均匀,无气泡,几乎无乳清析出,黏稠度适宜,状态稳定	14~20
	不均匀,有微量气泡,有明显乳清析出,黏度稀,且不太稳定	7~13
	凝乳不良,有气泡,乳清严重析出,黏度很稀,非常不稳定	0~6
酸甜度	酸甜适口	14~20
	酸味重或者不适口	7~13
	有苦味,涩味或其他不良滋味	0~6

1.2.4.3 乳清析出量的测定 取 10 g 发酵后的酸奶置于 120 目的漏斗中自然放置 2 h,收集滤液后称量<sup>[17]</sup>。

$$\text{乳清析出率}(\%) = \frac{\text{析出后质量}}{\text{酸奶样品质量}} \times 100$$

1.2.4.4 色度的测定 取发酵后的酸奶搅拌均匀,室温放置 30 min。称取 30.0 g 酸奶样品置于培养皿,轻微晃动使酸奶均匀铺在培养皿底部,用色度计进行检测<sup>[18]</sup>。

1.2.4.5 菌种活力的测定 样品在 4 ℃、3500×g 的条件下离心 10 min,向离心后的沉淀中加入 5 mL 灭菌生理盐水,与 MTT 染色液混匀,37 ℃ 培养条件下染色 30 min,4 ℃、12000×g 离心 10 min,DMSO 悬浮沉淀物,用酶标仪测定 600 nm 下 OD 值<sup>[19-20]</sup>。

1.2.4.6 抗氧化能力检测 DPPH 自由基清除率、ABTS<sup>+</sup>自由基清除率和超氧阴离子自由基清除率均采用试剂盒进行测定。

1.2.4.7 流变学分析 酸奶样品在室温下放置 15 min,采用 MCR 102 流变仪测定表观黏度,转子型号 P60/Ti02150138。实验参数设定为:流动-斜坡模式,温度 4 ℃,平衡时间 5 min,剪切速率 0.01~100 s<sup>-1</sup><sup>[21]</sup>,取 50 个点进行测试。

1.2.4.8 高效液相色谱测定鞣花酸和尿石素 A 色谱柱为 ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(250×4.6 mm, 5.0 μm)(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)。以 1% 甲醇(A)和乙腈(B)为流动相。流速 1.0 mL/min,进样量 5 μL,紫外检测器(UA)305 nm,柱温 30 ℃。洗脱条件:梯度洗脱,洗脱梯度曲线:0~15 min,0~20% B; 15~20 min,20%~70% B; 20~21 min,70%~95% B; 21~24 min,95%~100% B; 24~25 min,100%~20% B<sup>[22]</sup>。

### 1.3 数据处理

每组实验均为三个平行, 通过 Excel 2010 对数据进行整理, 利用 SPSS 23.0 软件对数据进行显著性分析, 采用 Origin 软件进行图的绘制, 响应面优化试验数据采用 Design-ExpertV8.0.6 进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果

**2.1.1 发酵时间对菌株 FUA329 发酵酸奶感官评分的影响** 在制作酸奶过程中发酵时间对酸奶感官品质影响较大, 发酵时间短则酸奶黏稠度低影响口感, 若发酵时间过长则发酵菌株可能会失活。由图 1 可以看出, 在发酵时间在 5~9 h 之间, 产品感官评分呈现先增加后下降的趋势, 当发酵时间为 7 h 时, 产品状态均一, 色泽光亮, 感官评分达 79.2。当发酵时间达到 9 h 时, 产品出现轻微的乳清分离, 影响品质。这可能是在发酵过程中, 随着发酵时间的延长酸奶的酸度不断下降, 从而造成酸奶中酪蛋白等其他蛋白质分子稳定性下降, 进而出现蛋白质絮集、乳清分离的现象<sup>[23]</sup>, 因此后续选择发酵时间 7 h 进行下一步实验。

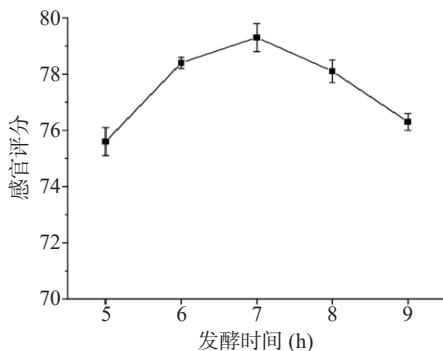


图 1 发酵时间对感官评分影响

Fig.1 Effect of fermentation time on sensory scores

**2.1.2 石榴汁添加量对菌株 FUA329 发酵酸奶感官评分的影响** 石榴汁含有大量单宁物质, 添加量过大则口感酸涩, 添加量过少则鞣花酸等多酚类物质含量较少。随着石榴汁添加量的不断提升, 感官评分呈现先增高后下降的趋势。当石榴汁添加量为 15% 时, 发酵后的酸奶风味达到最佳, 口味适宜(图 2), 因此

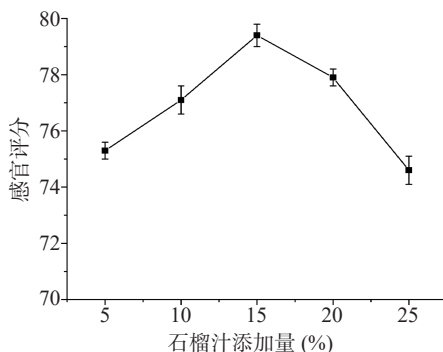


图 2 石榴汁添加量对感官评分影响

Fig.2 Effect of pomegranate juice addition on sensory scores

选择石榴汁 15% 添加量进行下一步实验。

**2.1.3 蔗糖添加量对菌株 FUA329 发酵酸奶感官评分的影响** 蔗糖添加量在 5%~9% 之间, 酸奶的感官评分先上升后下降, 当蔗糖添加量为 7% 时, 产品口感酸甜适中(图 3)。蔗糖的加入会丰富酸奶的口感, 增加酸奶的黏稠度, 但是蔗糖添加过量可能会逐渐掩盖酸奶的酸味, 使酸奶尝起来口味偏甜, 同时蔗糖添加量过多, 还会影响产品菌株的发酵能力, 造成产品品质下降, 失去酸奶中的特有风味。

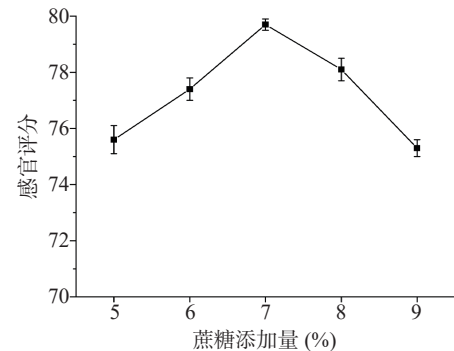


图 3 蔗糖添加量对感官评分影响

Fig.3 Effect of sucrose addition on sensory scores

**2.1.4 发酵剂接种量对菌株 FUA329 发酵酸奶感官评分的影响** 产品发酵剂的接种量的多少主要取决于发酵剂的种类, 不同类型的发酵剂接种量有所不同。酸奶的感官评分随发酵剂接种量的增加呈现先增高后下降的趋势, 当发酵剂接种量在 3% 时, 发酵出的酸奶质地柔顺, 酸甜适中; 当发酵剂接种量增大到 5% 时, 发酵出的酸奶口感较酸, 适口度差, 感官评分低(图 4)。在酸奶发酵过程中大量的发酵剂在发酵初期就使产品达到较高的酸度, 同时随着发酵时间的延长菌株还在不断增长, 后酸化现象严重, 因此造成产品的适口度较差, 感官品质下降<sup>[24]</sup>。

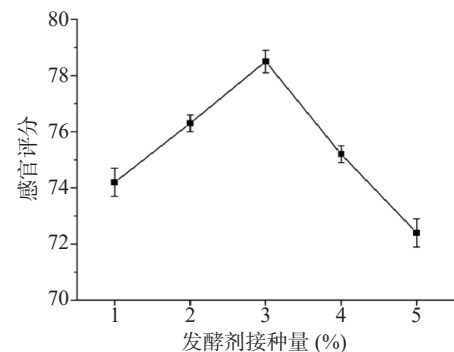


图 4 发酵剂接种量对感官评分影响

Fig.4 Effect of inoculating amount of fermentation agents on sensory scores

## 2.2 响应面试验

**2.2.1 FUA329 发酵石榴汁酸奶响应面试验结果分析** 基于单因素实验结果, 菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶在 7 h 时产品状态达到最佳, 感官评分最高,

因此,控制发酵时间 7 h,发酵温度 37 ℃,以石榴汁添加量、蔗糖添加量、发酵剂接种量进行响应面优化试验,结果如表 3 所示;运用 Design-Expert 软件对响应值进行回归拟合,得到回归方程为:  $Y=79.5+0.30A+0.21B+0.11C-0.075AB-0.23AC-0.05BC-0.90A^2-1.23B^2-1.12C^2$ ,并对所得的回归方程进行方差分析,结果如表 4 所示。

表 3 响应面试验设计及结果

Table 3 Experimental design and results of response surface methodology

试验号	A石榴汁添加量	B蔗糖添加量	C发酵剂接种量	Y感官评分
1	0	0	0	79.5
2	1	-1	0	77.4
3	0	0	0	79.6
4	-1	0	-1	76.6
5	1	1	0	77.7
6	0	0	0	79.4
7	0	1	-1	77.3
8	0	-1	-1	77.0
9	1	0	1	77.9
10	0	0	0	79.3
11	0	0	0	79.7
12	-1	0	1	77.5
13	-1	-1	0	76.9
14	1	0	-1	77.9
15	-1	1	0	77.5
16	0	1	1	77.4
17	0	-1	1	76.9

表 4 回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	18.21	9	2.02	43.24	<0.0001	**
A	0.72	1	0.72	15.39	<0.0057	**
B	0.36	1	0.36	7.72	0.0273	*
C	0.10	1	0.10	2.16	0.1847	
AB	0.023	1	0.023	0.48	0.5104	
AC	0.020	1	0.020	4.33	0.0760	
BC	0.001	1	0.001	0.21	0.6579	
A <sup>2</sup>	3.41	1	3.41	72.90	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	6.32	1	6.32	1325.05	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	5.33	1	5.33	113.90	<0.0001	**
残差	0.33	7	0.047			
失拟项	0.23	3	0.076	3.03	0.1559	不显著
纯误差	0.10	4	0.025			
总和	18.54	16				
		$R^2=0.9813$	$R^2_{Adj}=0.9572$			

注:“\*”表示差异显著(0.01<P<0.05),“\*\*”表示差异极显著(P<0.01)。

由表 4 可知,本试验回归模型 F 值为 43.24,  $P<0.01$ , 极其显著;失拟项( $P=0.1559$ ), 不显著;说明本试验的回归模型显著性和稳定性较好。其中该模型中 A 极显著,对产品感官评分影响较大, B 显著,同样对产品感官评分具有影响;二次项 A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 极显著;交互项 AB、BC、AC 不显著。因此三个因素对酸奶感官评分的影响顺序为 A(石榴汁添加量)>B(蔗糖添加量)>C(发酵剂接种量)。

发酵酸奶响应面等高线图如图 5 所示,对响应面结果分析得出石榴汁酸奶的最佳工艺条件为石榴汁添加量 15.79%、蔗糖添加量 7.08%、发酵剂接种量 3.04%。

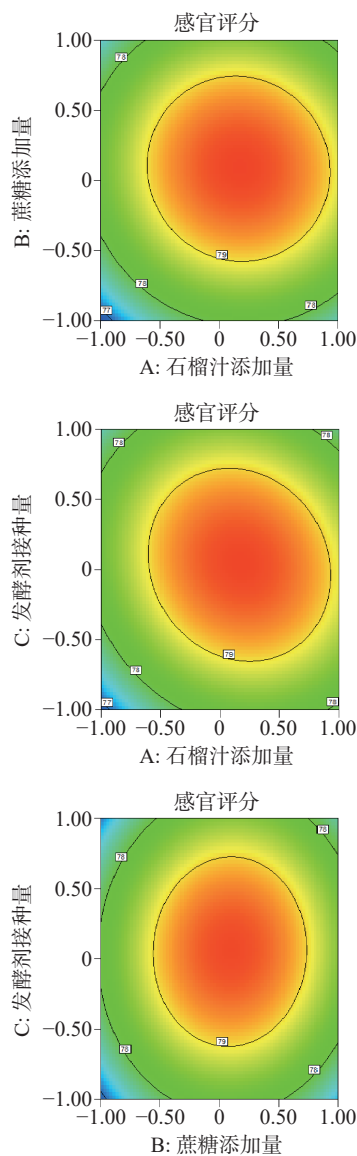


图 5 不同因素之间的交互作用  
Fig.5 Interaction between different factors

### 2.3 验证实验

为检验模型的可靠性,在发酵工艺条件为石榴汁添加量为 15.79%,蔗糖添加量为 7.08%,发酵剂接种量为 3.04% 下,进行三次平行实验。所测得的产品感官评分为  $79.4\pm 1.7$ ,与模型理论值 79.5 接近,因此基于响应面优化的石榴汁酸奶工艺参数优化较准确可靠。

### 2.4 嗜热链球菌 FUA329 石榴汁酸奶基础指标测定结果

酸度、乳清析出量、色差、菌种活力是衡量酸奶品质的重要指标。由表 5 可知嗜热链球菌 FUA329 发酵酸奶的感官评分、滴定酸度与嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵酸奶的差异不显著,两株菌的产

表 5 酸奶样品基础指标对比

Table 5 Comparison of basic indicators of yogurt samples

酸奶种类	感官评分	滴定酸度(°T)	乳清析出量(%)	色差	菌种活力OD <sub>600</sub>
嗜热链球菌FUA329原味酸奶	75.7±1.9 <sup>b</sup>	76.3±1.2 <sup>b</sup>	12.25±0.85 <sup>b</sup>	91.97±2.97 <sup>a</sup>	1.78±0.03 <sup>c</sup>
嗜热链球菌FUA329石榴汁酸奶	79.5±1.7 <sup>a</sup>	82.5±1.3 <sup>a</sup>	9.6±0.97 <sup>d</sup>	68.17±2.75 <sup>b</sup>	2.01±0.03 <sup>a</sup>
嗜热链球菌CGMCC1.8748原味酸奶	76.1±1.5 <sup>b</sup>	75.7±1.3 <sup>b</sup>	13.56±0.82 <sup>a</sup>	92.97±2.14 <sup>a</sup>	1.87±0.02 <sup>b</sup>
嗜热链球菌CGMCC1.8748石榴汁酸奶	78.9±1.6 <sup>a</sup>	80.8±1.4 <sup>a</sup>	10.7±0.72 <sup>c</sup>	68.22±1.95 <sup>b</sup>	1.96±0.01 <sup>a</sup>

注: 同列不同小写字母表示存在显著性差异( $P<0.05$ ); 表6同。

表 6 酸奶样品抗氧化能力对比

Table 6 Comparison of antioxidant capacity of yogurt samples

	DPPH 自由基清除率(%)	ABTS <sup>+</sup> 自由基清除率(%)	超氧阴离子自由基清除率(%)
嗜热链球菌FUA329原味酸奶	66.32±1.36 <sup>c</sup>	66.70±1.90 <sup>c</sup>	54.13±0.81 <sup>c</sup>
嗜热链球菌FUA329石榴汁酸奶	82.87±1.48 <sup>a</sup>	88.20±2.10 <sup>a</sup>	76.92±1.02 <sup>a</sup>
嗜热链球菌CGMCC1.8748原味酸奶	63.99±1.46 <sup>c</sup>	60.90±1.21 <sup>c</sup>	52.27±1.17 <sup>c</sup>
嗜热链球菌CGMCC1.8748石榴汁酸奶	73.50±1.39 <sup>b</sup>	83.80±1.73 <sup>b</sup>	68.64±1.23 <sup>b</sup>

酸能力和风味物质产生水平差异不显著( $P>0.05$ )。嗜热链球菌 FUA329 发酵石榴汁酸奶乳清析出量显著低于热链球菌 CGMCC1.8748 发酵酸奶以及未添加石榴汁的原味酸奶( $P<0.05$ )。这可能是由于石榴汁中含有大量酚类物质, 多酚和蛋白质之间相互作用可形成稳定的配合物, 增加了酪蛋白网络稳定性和持水能力<sup>[25]</sup>。粉色的石榴汁造成石榴汁酸奶的色差值显著低于原味酸奶( $P<0.05$ )。嗜热链球菌 FUA329 发酵石榴汁酸奶的菌种活力显著高于原味酸奶( $P<0.05$ ), 初步表明石榴汁可以促进嗜热链球菌 FUA329 活力。

## 2.5 嗜热链球菌 FUA329 石榴汁酸奶抗氧化能力检测结果

嗜热链球菌 FUA329 发酵的两种酸奶与嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵的两种酸奶的 DPPH 自由基清除率、ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率、超氧阴离子自由基清除率结果如表 6 所示。嗜热链球菌 FUA329 菌株发酵石榴汁酸奶的 DPPH、ABTS<sup>+</sup>、超氧阴离子自由基清除率显著高于嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵石榴汁酸奶( $P<0.05$ ); 石榴汁酸奶抗氧化活性显著高于原味酸奶( $P<0.05$ ), 可能是石榴汁中含有的具有抗氧化活性的多酚、蛋白质所致<sup>[26-27]</sup>。

## 2.6 嗜热链球菌 FUA329 石榴汁酸奶流变学检测结果

表观黏度可从侧面反映样品的结构及稳定性, 是感官评价的重要组成部分<sup>[28]</sup>。两种菌发酵酸奶的表观黏度都随剪切速率的增长而下降。石榴汁酸奶的黏度随剪切速率的变化曲线如图 6 所示。嗜热链球菌 FUA329 和 CGMCC1.8748 发酵后的石榴汁酸奶黏度在受外界干扰方面差异不显著。两种酸奶剪切应力变化均呈现剪切变稀的曲线特征, 剪切应力都随剪切速率的增大而增大, 但是当剪切速率达到一定值时, 剪切应力增长速率变得缓慢, 表明二者流变特性相近。

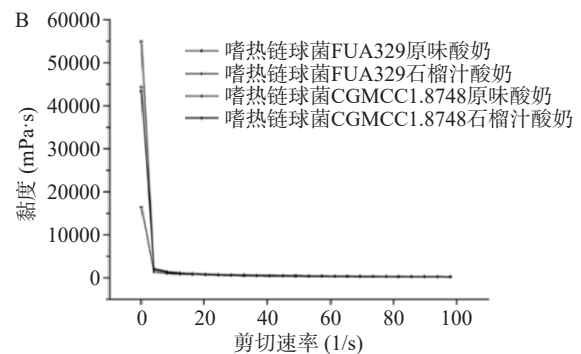
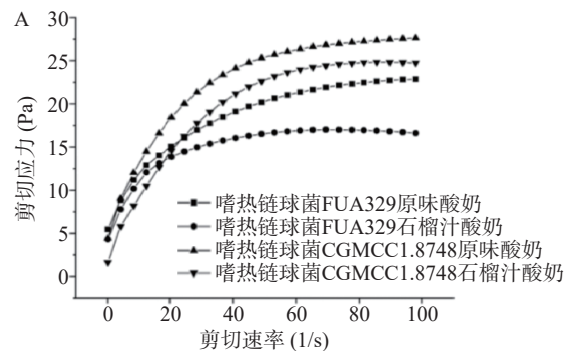


图 6 石榴汁酸奶剪切应力(A)及黏度曲线(B)

Fig.6 Shear stress (A) and viscosity curve (B) of pomegranate juice yogurt

## 2.7 嗜热链球菌 FUA329 石榴汁酸奶发酵前后尿素 A 检测结果

尿素 A 比鞣花酸具有更高的生物利用度, 且具有缓解肌肉衰退等多种生物学活性, 因此, 转化食品中的鞣花酸生成尿素 A 可显著提高食品的保健功效<sup>[29]</sup>。采用高效液相色谱法测定嗜热链球菌 FUA329 石榴汁酸奶中的鞣花酸代谢产生尿素 A 的含量, 检测结果如图 7 所示。嗜热链球菌 FUA329 发酵 7 h 后石榴汁酸奶中的尿素 A 含量为 3.31  $\mu\text{mol/L}$ , 鞣花酸转化为尿素 A 的转化率为 35.7%。嗜热链球菌 FUA329 转化石榴汁中鞣花酸生成尿素 A 的最佳时间为 48 h<sup>[30]</sup>。本研究酸奶最

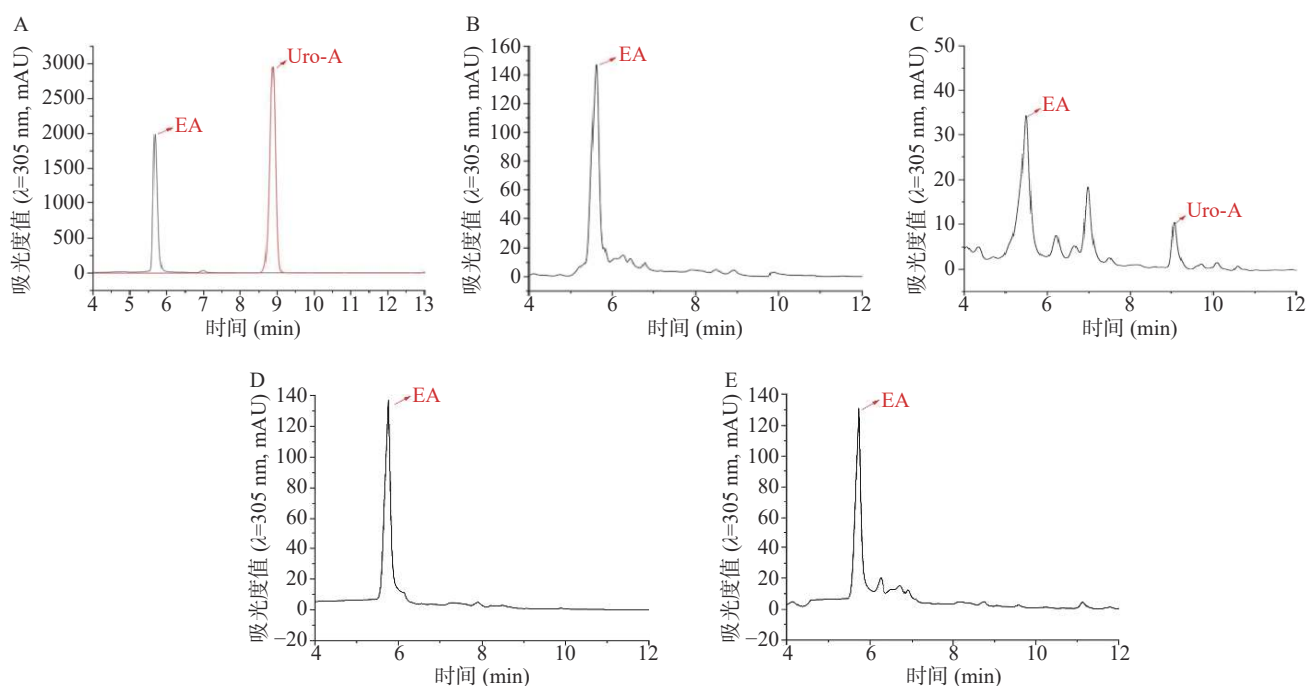


图7 高效液相色谱测定嗜热链球菌 FUA329、嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵石榴汁酸奶对鞣花酸和尿石素 A 含量的影响  
 Fig.7 Effect of pomegranate juice yogurt fermented by *S. thermophilus* FUA329 and *S. thermophilus* CGMCC1.8748 on the content of ellagic acid and urolithin A determined by high performance liquid chromatography

注: A. 鞣花酸和尿石素 A 标准品; B. 菌株 FUA329 未发酵石榴汁酸奶; C. 菌株 FUA329 发酵 7 h 的石榴汁酸奶; D. 菌株 CGMCC1.8748 未发酵石榴汁酸奶; E. 菌株 CGMCC1.8748 发酵 7 h 的石榴汁酸奶。

佳发酵时间为 7 h, 因此, 鞣花酸转化生成尿石素 A 的转化率偏低。

### 3 结论

通过单因素结合响应面试验优化获得了嗜热链球菌 FUA329 发酵制备石榴汁酸奶的发酵工艺。嗜热链球菌 FUA329 与嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵添加和不添加石榴汁酸奶在风味和品质上差异不显著。菌株 FUA329 发酵石榴汁酸奶的 DPPH 自由基清除率、ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率和超氧阴离子自由基清除率显著高于菌株 FUA329 发酵原味酸奶以及嗜热链球菌 CGMCC1.8748 发酵石榴汁酸奶 ( $P < 0.05$ )。嗜热链球菌 FUA329 发酵石榴汁酸奶 7 h, 尿石素 A 含量达到 3.31  $\mu\text{mol/L}$ , 鞣花酸转化为尿石素 A 的转化率为 35.7%。本研究为利用嗜热链球菌 FUA329 制备功能性石榴汁酸奶提供了一定的参考数据。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### 参考文献

[1] JONES G, TRAJANOSKA K, SANTANASTO A J, et al. Genome-wide meta-analysis of muscle weakness identifies 15 susceptibility loci in older men and women[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 654.  
 [2] ZHANG X M, FANG Y W, YANG G, et al. Isolation and characterization of a novel human intestinal *Enterococcus faecium* FUA027 capable of producing urolithin A from ellagic acid[J].

*Front Nutr*, 2022, 9: 1039697.

[3] GARCIA-VILLALBA R, GIMERNEZ-BASTIDA J A, CORTES-MARTIN A, et al. Urolithins: A comprehensive update on their metabolism, bioactivity, and associated gut microbiota[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2022, 66(21): e2101019.  
 [4] D'AMICO D, ANDREUX P A, VALDES P, et al. Impact of the natural compound urolithin A on health, disease, and aging[J]. *Trends Mol Med*, 2021, 27(7): 687-699.  
 [5] SINGH A, D'AMICO D, ANDREUX P A, et al. Urolithin A improves muscle strength, exercise performance, and biomarkers of mitochondrial health in a randomized trial in middle-aged adults[J]. *Cell Rep Med*, 2022, 3(5): 100633.  
 [6] SINGH R, CHANDRASHEKHARAPPA S, BODDULURI S R, et al. Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the Nrf2 pathway[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 89.  
 [7] CORTES-MAETIN A, GARCIA-VILLALBA R, GONZALEZ-SARRIAS A, et al. The gut microbiota urolithin metabolites revisited: The human metabolism of ellagic acid is mainly determined by aging[J]. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4100-4106.  
 [8] ZHANG M, CUI S, MAO B, et al. Ellagic acid and intestinal microflora metabolite urolithin A: A review on its sources, metabolic distribution, health benefits, and biotransformation[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(24): 6900-6922.  
 [9] DENNIS A, ROBERT W. Yogurt, cultured fermented milk, and health: A systematic review[J]. *Nutrition Reviews*, 2021, 79(5): 599-614.  
 [10] LIPINSKA L, KLEWICKA E, SOJKA M. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: A general review[J]. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 2014, 13(3): 289-299.  
 [11] LIU Q T, LIU S, YE Q W, et al. A novel *Streptococcus thermophilus* FUA329 isolated from human breast milk capable of producing urolithin A from ellagic acid[J]. *Foods*, 2022, 11: 3280.

- [ 12 ] LIU Q T, BIAN Y Y, MU S T, et al. Genomic and phenotypic-based safety assessment and probiotic properties of *Streptococcus thermophilus* FUA329, a urolithin A-producing bacterium of human milk origin[J]. *Genomics*, 2023, 115(6): 110724.
- [ 13 ] XIA M J, HUA Z Y, ZHAO Y, et al. Improvement of urolithin A yield by *in vitro* cofermentation of *Streptococcus thermophilus* FUA329 with human gut microbiota from different urolithin metabolotypes[J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(6): 3008–3016.
- [ 14 ] 刘方方. 发酵石榴汁抗氧化性和抗过敏性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014. [ LIU F F. Study on antioxidant and antiallergic properties of fermented pomegranate juice[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2014. ]
- [ 15 ] 邱蓝昊, 蔡东山, 李吴凡, 等. 魔芋葡甘聚糖在搅拌型酸奶中的应用[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(8): 90–94. [ QIU L H, CAI D S, LI W F, et al. Application of konjac glucomannan in stirred yoghurt[J]. *Chinese Food Additives*, 2021, 32(8): 90–94. ]
- [ 16 ] 田佳乐. 不同复配比例酸奶发酵剂的筛选及其发酵特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022. [ TIAN J L. Study on screening and fermentation characteristics of yoghurt starter with different compounding ratios[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2022. ]
- [ 17 ] 雷娟. 水果酸奶加工工艺研究[J]. *中国食品*, 2023, 18: 78–80. [ LEI J. Research on processing technology of fruit yogurt[J]. *Chinese Food*, 2023, 18: 78–80. ]
- [ 18 ] MEHAYA F M, EI-SHAZLY A I, EI-DEIN A N, et al. Evaluation of nutritional and physicochemical characteristics of soy yogurt by *Lactobacillus plantarum* KU985432 and *Saccharomyces boulardii* CNCMI-745[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 13026.
- [ 19 ] 何玉婷. 开菲尔源优质乳酸菌的分离、筛选与酸乳复合菌种发酵剂的研制[D]. 镇江: 江苏大学, 2020. [ HE Y T. Isolation and screening of high-quality lactic acid bacteria from Kefir source and development of starter culture of acid-emulsion complex bacteria[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2020. ]
- [ 20 ] 刘梦瑶. 宁夏黄果枸杞酚类物质分析及抗氧化、体外消化和发酵特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021. [ LIU M Y. Analysis of phenolic substances and antioxidant, *in vitro* digestion and fermentation characteristics of *Lycium barbarum* in Ningxia[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2021. ]
- [ 21 ] MARINA H, MIRA R, ZORANA M, et al. Fortification of goat milk yogurt with goat whey protein concentrate-Effect on rheological, textural, sensory and microstructural properties[J]. *Food Bioscience*, 2023, 56: 103393.
- [ 22 ] XIA M J, MU S T, FANG Y W, et al. Enetic an probiotic characteristics of urolithin A producing *Enterococcus faecium* FUA027[J]. *Foods*, 2023, 12(5): 1021.
- [ 23 ] PHU Y T, TAI B T, HON W C, et al. Effects of storage and yogurt matrix on the stability of tocotrienols encapsulated in chitosan-alginate microcapsules[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 79–85.
- [ 24 ] 刘飞. 石榴汁粉对酸奶发酵及其品质影响的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019. [ LIU F. Study on the effect of pomegranate juice powder on yogurt fermentation and its quality[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2019. ]
- [ 25 ] 何齐, 李雪, 冯倩, 等. 赛里木传统酸奶品质评价及风味物质分析[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(13): 175–182. [ HE Q, LI X, FENG Q, et al. Quality evaluation and flavor substance analysis of Saimu traditional yoghurt[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(13): 175–182. ]
- [ 26 ] 赵永波, 杜玲玲, 刘璐, 等. 贮藏及消化对蓝莓酸奶中酚类物质稳定性及抗氧化活性影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(9): 53–59. [ ZHAO Y B, DU L L, LIU L, et al. Effects of storage and digestion on the stability and antioxidant activity of phenols in blueberry yogurt[J]. *Food Science*, 2018, 39(9): 53–59. ]
- [ 27 ] 赵晓明, 宋菲, 张玉锋, 等. 功能性椰子植物酸奶贮藏过程中功能成分及活性的变化[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(1): 347–355. [ ZHAO X M, SONG F, ZHANG Y F, et al. Changes of functional components and activities of functional coconut vegetable yogurt during storage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(1): 347–355. ]
- [ 28 ] SADIGHBATHI S, AMIRI S, DARIS P, et al. Development and properties of functional yoghurt enriched with postbiotic produced by yoghurt cultures using cheese whey and skim milk[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1276268.
- [ 29 ] ZHANG M W, CUI S M, MAO B Y, et al. Ellagic acid and intestinal microflora metabolite urolithin A: A review on its[J]. *Taylor & Francis*, 2023, 63(24): 6900–6922.
- [ 30 ] LIU Q T, HUA Z Y, CHEN M, et al. Changes in polyphenols and antioxidant properties of pomegranate peels fermented by urolithin A-producing *Streptococcus thermophilus* FUA329[J]. *ACS Food Science&Technology*, 2023, 3(8): 1383–1392.