

郭芸, 李海涛, 王小玲. 富硒乳酸菌发酵酸奶贮藏品质变化 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 54-60. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022060207

GUO Yun, LI Haitao, WANG Xiaoling. Quality Changes of Yogurt Fermented by Selenium-enriched Lactic Acid Bacteria during Storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 54-60. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022060207

· 研究与探讨 ·

富硒乳酸菌发酵酸奶贮藏品质变化

郭芸¹, 李海涛^{2,*}, 王小玲³

(1. 山西药科职业学院, 山西太原 030031;

2. 山西省生物研究院有限公司, 山西太原 030006;

3. 柳林县汇丰中学, 山西吕梁 033300)

摘要: 为了研究富硒乳酸菌发酵酸奶贮藏期间的品质变化, 对富硒乳酸菌发酵酸奶 (富硒酸奶) 与非富硒乳酸菌发酵酸奶 (对照酸奶) 的感官性状、理化指标以及两种酸奶 4 ℃ 贮藏过程中的菌落总数、滴定酸度、黏度、保水性、色泽、抗氧化性和感官评分进行分析。结果表明, 贮藏第 1 d 时与对照酸奶相比, 富硒酸奶的 pH 较高, 总固形物含量和硒含量较高 (对照酸奶的 14.3 倍), 颜色更偏红、偏黄。富硒酸奶的乳酸菌菌落总数在贮藏第 7 d 后高于对照酸奶 ($P>0.05$), 而整个贮藏过程中滴定酸度、黏度低于对照酸奶 ($P<0.05$), 持水性低于对照酸奶 ($P>0.05$)。相同贮藏期内富硒酸奶的过氧化值低于对照酸奶 ($P>0.05$), 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除活性高于对照酸奶 ($P<0.05$), 二者的感官评分接近 ($P>0.05$)。富硒乳酸菌发酵酸奶具有较高的抗氧化活性、较低的后酸化, 更有利于贮藏过程中品质的保持。

关键词: 富硒, 乳酸菌, 酸奶, 品质, 抗氧化活性

中图分类号: TS252.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)08-0054-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022060207



本文网刊:

Quality Changes of Yogurt Fermented by Selenium-enriched Lactic Acid Bacteria during Storage

GUO Yun¹, LI Haitao^{2,*}, WANG Xiaoling³

(1. Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China;

2. Shanxi Biological Research Institute Co., Ltd., Taiyuan 030006, China;

3. Liulin County Huifeng Middle School, Lüliang 033300, China)

Abstract: In order to study quality changes of yogurt fermented by selenium-enriched lactic acid bacteria (Se-enriched yogurt) during storage, the sensory characteristics and the physicochemical indexes were analyzed and the total number of colonies, titrated acidity, viscosity, water-holding capacity, color, antioxidant activity and sensory evaluation values of Se-enriched yogurt during storage were evaluated, compared with non selenium-enriched lactic acid bacteria fermented yogurt (control yogurt). The results showed that during the storage of 1st d, the Se-enriched yogurt had higher pH, higher total solid content and selenium content (14.3 times of the control yogurt), and with more red and yellow color compared with the control yogurt. The total number of colonies of Se-enriched yogurt was significantly higher than that of control yogurt after 7 days of storage. However, during the whole storage process, the titrated acidity, viscosity and water holding capacity of Se-enriched yogurt were lower than those of the control yogurt. In the same storage period, the peroxide value of Se-enriched yogurt was lower than that of control yogurt, and the scavenging activities for DPPH free radical and ABTS⁺ free radical were significantly higher than that of control yogurt. The sensory scores of Se-enriched yogurt was similar to control yogurt. Se-enriched yogurt was with higher antioxidant activity and lower post-acidification compared with control yogurt, which was more conducive to the maintenance of quality during storage.

收稿日期: 2022-06-23

作者简介: 郭芸 (1982-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品加工, E-mail: gyhygirl@163.com。

* 通信作者: 李海涛 (1972-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 功能食品及乳制品, E-mail: 1076317008@qq.com。

Key words: selenium-enriched; lactic acid bacterium; yogurt; quality; antioxidant activity

酸奶作为一种发酵乳制品已成为人们日常生活中一种常见的饮用乳制品,受到越来越多消费者的青睐,且需求量呈不断增长趋势^[1]。除了与其良好的风味、口感和丰富的营养价值有关之外,还与其中含有的乳酸菌对人体肠道菌群的调节和特定的功能有关。

硒是人体必需的微量元素,具有抗氧化、抗肿瘤、增强机体抵抗力的作用,对一些重金属离子有解毒作用。大量研究表明大多乳酸菌都具有富硒能力。赵爱兵通过复合诱变选育高富硒嗜热链球菌种,将菌株 ZZ-CW4 的富硒率大幅提升^[2]。杨鹤研究发现嗜酸乳杆菌的富硒能力较好,当将菌种进行复合时,发现嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌的富硒能力有所提高^[3]。齐睿婷等发现在 pH6.6、亚硒酸钠浓度 14 $\mu\text{g/mL}$ 、接种量 8%、37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 h 后乳酸乳球菌的有机硒转化率为 59.87%^[4]。Sun 等报道在红曲霉 *Monascus purpureus* M12 发酵 0 d 时添加亚硒酸钠 10 $\mu\text{g/mL}$,调节 pH5.5~6.5 时接种 5%,发酵 10 d 后硒的富集和转化率达到了最佳^[5]。而富硒乳酸菌发酵特性的报道也较多,Zhou 等报道富硒植物乳杆菌发酵的泡菜降低了亚硝酸盐含量,提高了抗氧化活性,生成了独特的风味物质(乙酸,己烯醇,2-侧柏烯,壬醛和 1-壬醇)^[6]。Ekumah 等发现富硒酵母(100 和 300 μg)发酵桑葚酒较对照提高了总花青素、总黄酮和总多酚含量,提高了酒的抗氧化活性,对发酵效率和总体酒的品质没有显著影响,在加入硒富集量为 100 μg 的富硒酵母 28 $^{\circ}\text{C}$ 发酵 150 h 后酒中有较高的硒保留率(65.16%)^[7]。Palomo 等对添加亚硒酸钠的富硒酸奶发酵过程中硒的代谢进行分析,发现乳酸菌在硒与蛋白结合中有一定作用,富硒酸奶中的一种热休克蛋白消失了^[8]。大量文献报道乳酸菌富硒后其益生活性增加,富硒益生菌在体内对外对大肠杆菌具有显著的抑制作用,在低浓度亚硒酸钠情况下通过增加磷、镁、锰、锌、钙和总氨基酸含量增加了细菌生物量的营养价值^[9-14]。Palomo-Siguero 报道 1 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠和纳米硒壳聚糖对保加利亚乳杆菌 LB-12 的活性没有显著影响,而 10 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠和纳米硒对保加利亚乳杆菌 LB-12 的抑制率分别为达到 60% 和 20%,纳米硒壳聚糖可以进入菌体的细胞内被转化成有机硒化合物,从而保持细胞膜的完整性而保护细胞膜免受损伤^[15]。

有关富硒乳酸菌的发酵特性以及对发酵酸奶品质的影响鲜有报道,本文就乳酸菌富硒后发酵酸奶的品质特性进行评价,通过富硒乳酸菌与非富硒乳酸菌发酵所得酸奶的菌落总数、保水性、黏度、pH、滴定酸度、抗氧化活性、感官评价等结果进行对比分析,为富硒乳酸菌在发酵乳制品中的应用奠定基础,为开发富硒发酵乳制品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 山西省生物研究院有限公司提供;鲜牛乳(新鲜、无抗) 山西维尔生物乳制品有限公司提供;亚硒酸钠(分析纯) 西亚食品有限公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)ABTS、1,1-二苯基-2-苦肼基(自由基)DPPH(分析纯) 美国 Sigma 公司;磷酸氢二钾、葡萄糖(均为分析纯) 天津市北辰方正试剂厂;乙酸钠、吐温 80、 MgSO_4 、 MnSO_4 (均为分析纯) 天津市天力化学试剂有限公司; β -磷酸甘油二钠(分析纯) 北京 Solarbio 科技有限公司。

NDJ-1 指针式黏度计 上海舜宇恒平科学仪器有限公司;HPX-9052MBE 恒温培养箱 上海博讯仪器有限公司;低温高速离心机 美国 Thermo Fisher 公司;UV-1100 紫外/可见分光光度计 上海 MAPADA 公司;FE28 酸度计 梅特勒-托利多(上海)有限公司;BL-50 立式压力蒸汽灭菌锅 上海申安压力容器有限公司;TYJ-2A 菌落计数器 上海宏汇电器厂;CM-5 型色差仪 柯尼卡美能达有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酸奶制作 富硒乳酸菌的制备:新鲜、无抗牛乳中添加亚硒酸钠(终浓度 10 $\mu\text{g/mL}$),然后灭菌(121 $^{\circ}\text{C}$ 、30 min),将灭菌后的牛乳冷却到 40 $^{\circ}\text{C}$,接种(3%, V/V)活化好的乳酸菌(保加利亚乳杆菌嗜热链球菌=1:1)并搅拌均匀,42 $^{\circ}\text{C}$ 恒温发酵 4~5 h,即为富硒乳酸菌。

酸奶的制备:新鲜、无抗牛乳中加入 7%(w/w)白砂糖,加热至 95 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 5~10 min,然后冷却到 40 $^{\circ}\text{C}$,无菌状态下分别接种富硒乳酸菌或非富硒乳酸菌发酵剂(3%, V/V)并搅拌均匀,罐装在容器中于 42 $^{\circ}\text{C}$ 恒温发酵 4~5 h,凝固后终止发酵,放 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏后熟 12 h 即为成品。

接种富硒乳酸菌的发酵乳记为富硒酸奶,而接种非富硒乳酸菌的发酵乳记为对照酸奶。分别在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱贮藏,并于第 1、7、14、21 d 时取样测定指标。

1.2.2 指标测定

1.2.2.1 基本指标测定 采用稀释平板法测定乳酸菌菌落总数^[16];采用 pH 计直接测定 pH;采用酸碱滴定法测定滴定酸度^[17];采用原子荧光法测定硒含量^[6]。总固形物采用干燥恒重法^[2]。

1.2.2.2 色差测定 将样品在室温下放置 30 min。称取 30.0 g 酸奶均匀平铺于皿中。机器预热后分别用标准版校准,采用发射模式进行测定,重复测定三次,数据以 L^* (亮度)、 a^* (红绿)、 b^* (黄蓝)表示。

1.2.2.3 保水性的测定 称量空离心管的质量 m_1 , 称取加入酸奶后的离心管质量 m_2 , 离心(3500 r/min, 10 min), 称量离心后沉淀和离心管质量 m_3 ^[18-19]。持水性按照下式计算:

$$\text{持水性}(\%) = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

1.2.2.4 粘度测定 先将样品在室温下静置 30 min, 然后将样品盛于烧杯中, 选择 2 号转子利用 NDJ-1 指针式粘度计测定, 指针读数稳定后即为最终结果。

1.2.2.5 抗氧化性测定 取 10 mL 样品与 15 mL 酸化甲醇(含 0.05 mL 浓盐酸)充分混匀后, 4 °C 静置 30 min 后离心(5000×g, 10 min)离心, 收集上清液用于抗氧化活性的测定。

DPPH 自由基清除率^[20]: 在 0.5 mL 样品提取液中加入 1 mL DPPH 甲醇溶液(0.125 mmol/L), 充分混匀后, 常温避光静置 30 min, 无水甲醇调零, 于 517 nm 下测定吸光度, 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A - A_0}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A 为提取液与 DPPH 混合液的测定值; A_0 为提取液与甲醇混合液的吸光值; A_0 为 DPPH 与甲醇混合液的吸光值。

ABTS⁺自由基清除率^[21]: 0.3 mL 提取液与 3.7 mL ABTS 溶液(7 mmol/L, 734 nm 下吸光度值为 0.70±0.02)混匀后, 室温避光反应 20 min, 于 734 nm 下测定各吸光度值, ABTS⁺自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_i 为样品溶液与 ABTS 溶液反应后的测定值; A_0 为蒸馏水与 ABTS 溶液反应后的测定值。

还原力^[22]: 在提取液 1 mL 中分别加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(pH6.6, 0.2 mol/L)和 $K_3Fe(CN)_6$ 溶液(1 g/100 mL, w/v), 充分混匀后于 50 °C 保温 20 min, 冷水速冷, 然后加入 2.5 mL 三氯乙酸溶液(10 g/100 mL, w/v), 充分混匀后离心(3000 r/min, 10 min), 取上清液 1.5 mL, 加入 0.2 mL 现配的 $FeCl_3$ 溶液(0.1 g/100 mL, w/v)、再加入蒸馏水 1 mL, 充分混匀后在 700 nm 下测定吸光度。

1.2.2.6 过氧化值的测定 取酸奶 4 mg, 加入 50 mL 去离子水充分混匀, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液 30 mL 并加入 4 mL 冰醋酸、1 g 碘化钾、2% 淀粉溶液 1 mL, 充分混匀后暗处反应 30 min, 用 0.002 mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定至蓝色消失, 同时进行空白试验, 根据下式计算过氧化值^[23]。

$$X = \frac{(V - V_0) \times c \times 0.1269}{m} \times 100$$

式中: V 为试样消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积, mL; V_0 为空白消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积, mL; c 为硫代硫酸钠标准溶液的浓度, mol/L; m 为试

验质量, g。

1.2.2.7 感官评价 评定小组由 10 位有食品评价经验的人员组成, 对酸奶的外观、气味、口感、组织状态、酸甜度进行评价, 各项满分各为 20 分, 各项评分值的和为感官评价总分, 满分 100 分, 取总分的平均分作为最后的结果; 酸奶感官评价标准见表 1^[2,16]。

表 1 酸奶样品感官评分标准
Table 1 Sensory evaluation standards of yogurt samples

评价指标	评分标准	分值
外观	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, 稍有鱼腥味或稍带异味	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
组织状态	均匀, 无气泡, 几乎无乳清析出, 粘稠度适宜, 状态稳定	14~20
	不均匀, 有微量气泡, 有明显乳清析出, 粘度稀, 且不太稳定	7~13
	凝乳不良, 有气泡, 乳清严重析出, 粘度很稀, 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

1.3 数据处理

每个实验重复 3 次, 试验数据采用 SPSS13.0 进行显著性分析, 用 Sigmpilot 10.0 作图。

2 结果与分析

2.1 富硒乳酸菌发酵对酸奶基本指标的影响

两种酸奶在冷藏后熟贮藏第 1 d 时的 pH、总固形物含量、硒的含量、黏度和感官评分如表 2 所示。

表 2 两种酸奶基本指标
Table 2 Physicochemical parameters of yogurt samples

样品	pH	总固形物(g)	硒(μg/g)	黏度(mPa·s)	感官评分
富硒酸奶	4.68±0.57	11.53±1.56	0.43±0.05 [#]	2867±22.45	86.75±4.45
对照酸奶	4.51±0.82	10.84±1.23	0.03±0.00	2889±28.43	88.32±5.32

注: [#]表示与对照酸奶相比差异显著($P < 0.05$); 表 4 同。

从表 2 可以看出, 富硒酸奶的 pH 稍高于对照酸奶, 可能是硒对乳酸菌的发酵有一定的抑制, 从而在发酵完成后代谢乳糖生成的乳酸较少, 富硒酸奶中总固形物含量高于对照酸奶但差异不显著($P > 0.05$), 而硒的含量显著高于对照酸奶($P < 0.05$), 与相关的报道相一致^[2-3], 而二者的黏度和感官评分没有显著差异($P > 0.05$)。

2.2 富硒乳酸菌发酵对酸奶乳酸菌菌落总数的影响

酸奶中最重要的成分即乳酸菌, 其数量直接影响酸奶的品质以及酸奶对人体的生理功能。将富硒

酸奶与对照酸奶分别取样, 在 MRS 培养基上测定总的乳酸菌数量, 每隔 7 d 取酸奶样培养记录一次, 所得 21 d 内两种酸奶中乳酸菌菌落总数随时间的变化如图 1 所示。

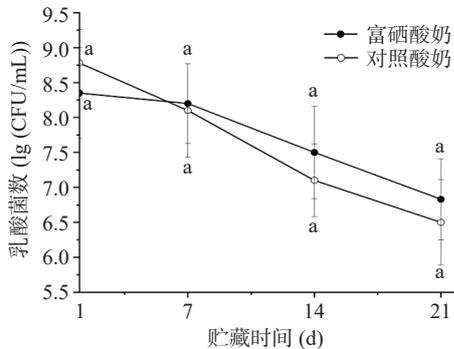


图 1 两种酸奶在贮藏过程中菌落总数的变化

Fig.1 Changes in total bacterial counts of two yogurt samples during storage

由图 1 可知, 在 21 d 的贮藏过程中, 两种酸奶的菌落总数对数值均不断下降, 富硒酸奶从 8.35 下降到 6.83, 对照酸奶从 8.78 下降到 6.50。对照酸奶的菌落总数在贮藏 1 d 时高于富硒酸奶的菌落总数, 这可能是由于乳酸菌富硒后对其发酵有一定影响, 因而在刚完成的富硒酸奶中菌落总数较低, 而从第 7 到 21 d 的贮藏过程中富硒酸奶中的菌落总数高于对照酸奶 ($P>0.05$), 尽管后期在贮藏过程中营养物质减少, 同时在较低的温度和酸性环境胁迫下乳酸菌数量大大降低, 但乳酸菌富硒后提高了细胞自身谷胱甘肽还原酶的活性, 同时硒进入细胞内与蛋白结合后提高了其对冷热休克处理和氧化应激等刺激的抵抗, 因此富硒后的乳酸菌能够更好保持细胞膜的完整性, 对氧化、低温等不良环境的应激有积极的抵抗作用, 使得富硒酸奶在低温贮藏过程中能够保持较高的活菌数^[8,16]。

2.3 富硒乳酸菌发酵对酸奶滴定酸度的影响

滴定酸度是酸奶的重要指标, 与酸奶品质有很大的关系。两种酸奶的滴定酸度随时间的变化趋势结果如图 2 所示。

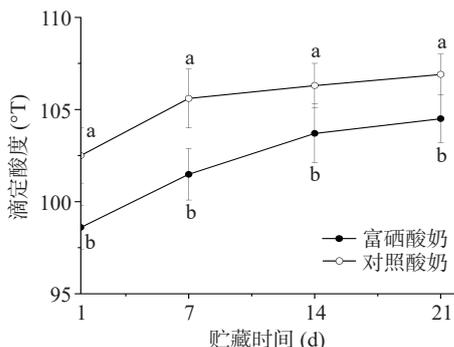


图 2 两种酸奶在贮藏过程中滴定酸度的变化

Fig.2 Changes of titratable acidity of two yoghurt samples during storage

由图 2 可知, 两种酸奶的滴定酸度随着贮藏时间的延长而逐渐上升, 从第 1 到 7 d 时增加幅度较大, 而 7 d 后变化平缓, 整个贮藏过程中富硒酸奶的滴定酸度一直低于对照酸奶 ($P<0.05$)。在酸奶贮藏过程中尽管乳酸菌不再生长, 而其所分泌的蛋白酶会继续催化反应, 使部分乳糖生成乳酸, 从而导致滴定酸度增加, 形成后酸化^[24]。富硒后乳酸菌的生长代谢发生一定的变化, 从而导致酸奶酸度的变化^[25-26]。而到后期随着酸度增加抑制了菌的活性, 产酸速度下降, 从而滴定酸度的变化趋于平缓。由于富硒后乳酸菌生长代谢受到影响, 因而后期放置过程中富硒酸奶的滴定酸度低于对照酸奶。

2.4 富硒乳酸菌发酵对酸奶黏度、持水性的影响

黏度和持水性是酸奶重要的物理学特性, 反映了酸奶的凝胶特性品质。富硒酸奶与对照酸奶的黏度和持水性随贮藏时间的变化如图 3 所示。

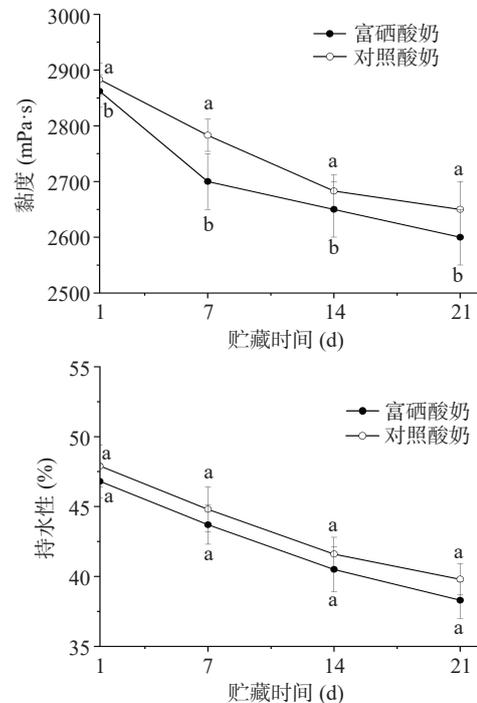


图 3 两种酸奶在贮藏过程中黏度、持水性的变化

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

由图 3 可知, 在整个贮藏过程中, 两种酸奶的黏度一直在下降。贮藏前 7 d 内黏度下降速度较快, 之后下降速度趋于平缓。富硒酸奶的黏度在贮藏过程中低于对照酸奶 ($P<0.05$)。富硒酸奶和对照酸奶的持水性都随着贮藏时间的延长而降低, 分别从第 1 d 的 46.8%、47.9% 下降到第 21 d 的 38.3% 和 39.8%, 整个过程中富硒酸奶的持水性低于对照酸奶 ($P>0.05$)。这可能是因为酸奶在贮藏期间随着酸度的不断上升, 酪蛋白胶粒变得不稳定进而开始缓慢聚集沉降^[27-28], 从而引起酸奶凝胶体系中微小蛋白质亚胶体分子团彼此之间的亲合连接作用减弱, 进一步引起酸乳胶体的刚性降低和凝胶体团聚成的蛋白质网络结

构松散,导致酸奶的稳定性下降,致使酸奶的粘度下降、持水性降低^[29-30]。富硒后乳酸菌生长代谢受到一定影响,进而产酸较少,同时代谢生成的胞外多糖也较少,整体形成的凝胶结构松散,因而其黏度和持水性都低于对照酸奶^[8,28]。

2.5 富硒乳酸菌发酵对酸奶色泽的影响

色泽是对产品影响最直观的因素,是评价酸奶品质的重要标准。两种酸奶在贮藏不同时间后的 L^* 、 a^* 、 b^* 值如表 3 所示。由表 3 可以看出,在 21 d 贮藏期内,两种酸奶的 L^* 值随贮藏时间延长基本不变,且两种酸奶的 L^* 值差异不显著 ($P>0.05$)。在同一贮藏条件下,两种酸奶的 a^* 值均缓慢增加,而同一时期内富硒酸奶的 a^* 值较对照酸奶低,即富硒酸奶较对照酸奶偏红,这与硒溶解后呈现红色有关, Esmacili 等报道水溶性硒呈现砖红色致使整体溶液的色度加深^[31]。两种酸奶的 b^* 值均随贮藏时间的延长而逐渐上升,表明酸奶颜色随贮藏时间延长而变黄,在同一贮藏条件下,富硒酸奶的 b^* 值大于对照酸奶,但二者差异不显著 ($P>0.05$),即富硒酸奶较对照酸奶黄色较深,偏黄程度大。

表 3 两种酸奶贮藏过程中色泽变化

Table 3 Colorimetric indices of two yoghurt samples during storage

指标	样品	贮藏时间(d)			
		1	7	14	21
L^*	富硒酸奶	79.07±1.12	79.88±0.98	80.49±1.15	81.82±0.95
	对照酸奶	79.72±1.08	80.58±0.87	80.68±1.06	80.92±0.89
a^*	富硒酸奶	-1.48±0.16	-1.36±0.11	-1.29±0.08	-1.12±0.06
	对照酸奶	-1.53±0.13	-1.40±0.09	-1.46±0.06	-1.33±0.07
b^*	富硒酸奶	5.23±0.25	5.74±0.22	5.93±0.19	6.09±0.24
	对照酸奶	5.04±0.18	5.47±0.26	5.75±0.27	5.89±0.22

注: L^* 为亮度表示黑白,数值越大越白; a^* 的正值为红,负值为绿; b^* 的正值为黄,负值为蓝。

2.6 富硒乳酸菌发酵对酸奶过氧化值的影响

过氧化值是评价物质氧化程度的指标,两种酸奶在贮藏过程中过氧化值的变化如图 4 所示,从图中可以看出,两种酸奶的过氧化值都随着贮藏时间的

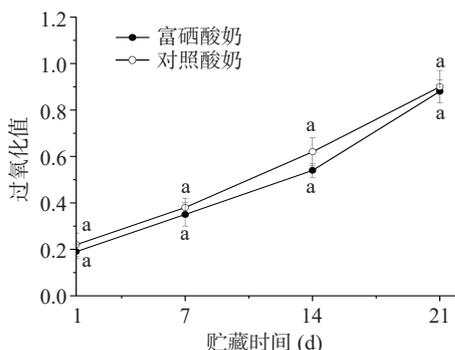


图 4 两种酸奶在贮藏过程过氧化值的变化

Fig.4 Oxidizing substances changes of two yoghurt samples during storage

延长而增加,说明酸奶在贮藏过程中的脂肪有一定的氧化,而同一贮藏时期内,富硒酸奶的过氧化值低于对照酸奶,但二者差异不显著 ($P>0.05$),这与富硒乳酸菌发酵酸奶后其中硒的抗氧化活性有关^[2,8]。

2.7 富硒乳酸菌发酵对酸奶抗氧化活性的影响

两种酸奶 21 d 贮藏期内对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除率和还原力如表 4 所示,从中分析可以看出,在贮藏第 1 d 时,富硒酸奶和对照酸奶对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除率分别为 57.43%、66.40% 和 51.21%、61.80%,到贮藏第 7 d 时,分别增大到 65.64%、71.54% 和 61.95%、64.6%,而还原力则从 0.10、0.09 增加为 0.20、0.20,此后趋于稳定。而同一贮藏时期内,富硒酸奶对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的清除率都高于对照酸奶,且在贮藏 1、7、14 d 时差异显著 ($P<0.05$),而两种酸奶的还原力在整个贮藏过程中接近,差异不显著 ($P>0.05$)。酸奶中的抗氧化活性与乳酸菌的活菌数、乳酸菌发酵生成含有传递质子能力的化合物以及蛋白质降解形成的多肽类及氨基酸类有关^[32]。贮藏过程中富硒酸奶较高的抗氧化活性,这可能是由于富硒乳酸菌发酵酸奶后其中含有的硒对酸奶自由基清除能力有协同增效作用,相关研究发现硒有助于酚酸中氢离子的释放,进而提高了其对自由基的清除,同时在乳酸菌发酵过程中,乳酸菌代谢过程中可以利用硒甲硫氨酸和硒代半胱氨酸等含硒化合物完成多酚类物质氢离子的释放,进而实现对自由基的清除^[33-35]。同时硒存在下,主要的单电子会在酚酸的芳香苯环和自由电子对之间发生共振,从而诱导电子离域,进而促进对 ABTS⁺ 自由基的清除^[36-37]。

表 4 两种酸奶贮藏过程抗氧化活性

Table 4 Antioxidant activities of two yoghurt samples during storage

指标	样品	贮藏时间(d)			
		1	7	14	21
DPPH 自由基清除率(%)	富硒酸奶	57.43±5.56 [#]	65.64±4.87 [#]	67.43±6.12 [#]	65.48±6.49
	对照酸奶	51.21±4.89	61.95±5.63	64.32±5.72	62.12±6.61
ABTS ⁺ 自由基清除率(%)	富硒酸奶	66.40±5.38 [#]	71.54±4.76 [#]	73.55±6.47 [#]	72.98±5.75
	对照酸奶	61.80±4.97	64.6±5.32	68.97±5.68	70.54±6.22
还原力 (A _{700 nm})	富硒酸奶	0.10±0.00	0.20±0.01	0.22±0.02	0.23±0.01
	对照酸奶	0.09±0.00	0.20±0.02	0.25±0.03	0.22±0.01

2.8 富硒乳酸菌发酵对酸奶感官评分的影响

两种酸奶贮藏过程中感官评分结果如图 5 所示,两种酸奶的色泽均匀一致、有浓郁的风味、口感细腻、酸甜可口且状态稳定,几乎无乳清析出,黏度适宜。因此,各项指标的综合评分较高。两种酸奶的感官评分都随着贮藏时间的延长而降低,富硒酸奶和对照酸奶分别从贮藏第 1 d 的 86.12、88.56 下降到第 21 d 的 73.26、74.35,可能随着贮藏过程的延续,

不断增加的酸度降低了口感,同时较多的酸破坏了凝胶的结构致使组织状态变差。贮藏第 1 d 时富硒酸奶的感官评分低于对照酸奶,而贮藏 14 d 时高于对照酸奶,这与富硒酸奶在贮藏后期较高的活菌数有关,因为在低温下贮藏尽管乳酸菌停止生长,但其形成的酶继续催化反应可以生成相应的风味物质,酸奶中对风味贡献较大的风味物质包括醛类、酯类、酮类等。两种酸奶的总体上感官评分没有显著差异($P>0.05$)。尽管富硒乳酸菌前体发酵受到影响,但整个贮藏过程中酸奶风味较好,可能富硒乳酸菌在后期贮藏过程中形成了独特的风味物质,这与 Zhou 等的报道相一致^[6]。

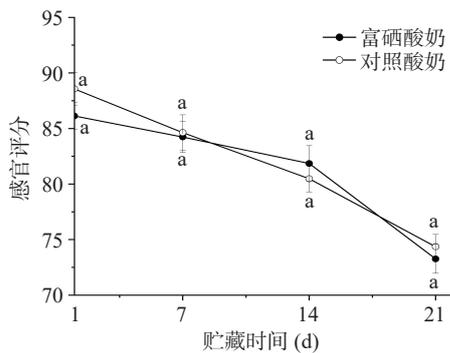


图 5 两种酸奶感官评分在贮藏过程中的变化

Fig.5 Changes of sensory scores of two yogurt samples during storage

3 结论

通过添加亚硒酸钠制作富硒乳酸菌发酵剂,并对富硒乳酸菌发酵剂和非富硒乳酸菌发酵制作的酸奶的基本理化指标进行测定,同时对两种酸奶在贮藏过程中的总乳酸菌菌落数、酸度、保水性、黏度、色泽、过氧化值、抗氧化活性、感官评价进行比较分析。结果表明,富硒酸奶的 pH 较高,总固形物含量和硒含量较高(对照酸奶的 14.3 倍),颜色更偏红和偏黄,富硒酸奶的乳酸菌菌落总数在贮藏第 7 d 后高于对照酸奶,而整个贮藏过程中滴定酸度、黏度和持水性都低于对照酸奶。相同贮藏期内富硒酸奶对 DPPH 自由基、ABTS⁺自由基的清除活性高于对照酸奶,而二者的感官评分接近。总之,采用富硒乳酸菌发酵的酸奶具有更高的有机硒,在冷藏期间能够保持较高的活菌数,同时具有较高的抗氧化活性,更有利于贮藏过程中基本品质的保持,可以利用富硒乳酸菌制剂开发有机富硒发酵乳制品。今后应对富硒酸奶凝胶体的结构、风味物质的生成与对照酸奶进行比较,以进一步阐明富硒乳酸菌对发酵酸奶的品质影响。

参考文献

[1] 吴倩,余元善,徐玉娟,等.不同乳酸菌对凝固型荔枝酸奶的发酵特性和质构的影响[J].现代食品科技,2019,35(7):99-106. [WU Qian, YU Yuanshan, XU Yujuan, et al. The comparison of the fermentation characteristics of different yoghurt starter cultures

[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 99-106.]

[2] 赵爱兵.富硒乳酸菌的研究及其在豆奶发酵中的应用[D].芜湖:安徽工程大学,2013. [ZHANG Aibing. Study on Se-enriched *Lactobacillus* and the application in soymilk fermentation[D]. Wuhu: Anhui Polytechnic University, 2013.]

[3] 杨鹤.五种乳酸菌富硒能力及条件的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2015. [YANG He. Se-enriched capability and conditions of *Lactobacillus*[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015.]

[4] 奇睿婷,颜炳祥,潘道东,等.乳酸乳球菌富硒及其硒多糖抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2012,33(11):67-70. [QI Ruiting, YAN Bingxiang, PAN Daodong, et al. Study on selenium enrichment of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* and antioxidant activity of its Se-polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(11): 67-70.]

[5] SUN Yuhan, GAN Yuan, ZHANG Lin, et al. Isolation and identification of *Monascus* and evaluation of its selenium accumulation[J]. LWT - Food Science and Technology, 2022(154): 112887.

[6] ZHOU Mengzhou, ZHENG Xin, ZHU Hanjian, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* enriched with organic/inorganic selenium on the quality and microbial communities of fermented pickles[J]. Food Chemistry, 2021(365): 130495.

[7] JOHN-NELSON EKUMAH, YONGKUN MA, NELSON DZIDZORGBE KWAKU AKPABLI-TSIGBE, et al. Effect of selenium supplementation on yeast growth, fermentation efficiency, phytochemical and antioxidant activities of mulberry wine[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021(146): 111425.

[8] MARÍA PALOMO, ANA M GUTIÉRREZ, M CONCEPCIÓN PÉREZ-CONDE, et al. Se metallomics during lactic fermentation of Se-enriched yogurt[J]. Food Chemistry, 2014(164): 371-379.

[9] MICAELA PESCUA, BEATRÍZ GOMEZ-GOMEZ, TERESA PEREZ-CORONA, et al. Food prospects of selenium enriched *Lactobacillus acidophilus* CRL 636 and *Lactobacillus reuteri* CRL 1101[J]. Journal of Functional Foods, 2017(35): 466-473.

[10] LAURA CRESPO, RAIMONDO GAGLIO, FERNANDO G MARTÍNEZ, et al. Bioaccumulation of selenium-by fruit origin lactic acid bacteria in tropical fermented fruit juices[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021(151): 112103.

[11] M PALOMO, A M GUTIÉRREZ, M C PÉREZ-CONDE, et al. Se metallomics during lactic fermentation of Se-enriched yogurt [J]. Food Chem, 2014(164): 371-379.

[12] ANA PAULA MÖRSCHBÄCHER, ANJA DULLIUS, CARLOS HENRIQUE DULLIUS, et al. Assessment of selenium bioaccumulation in lactic acid bacteria[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(12): 10626-10635.

[13] WANG Bingyi, ZHAO Ning, LI Jun, et al. Selenium-enriched *Lactobacillus plantarum* improves the antioxidant activity and flavor properties of fermented *Pleurotus eryngii*[J]. Food Chemistry, 2021(345): 128770.

[14] E GALANO, E MANGIAPANE, J BIANGA, et al. Privileged incorporation of selenium as selenocysteine in *Lactobacillus*

- reuteri* proteins demonstrated by selenium-specific imaging and proteomics[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013(12): 2196–2204.
- [15] MARÍA PALOMO-SIGUERO, ANA MA GUTIÉRREZ, CONCEPCIÓN PÉREZ-CONDE. Effect of selenite and selenium nanoparticles on lactic bacteria: A multi-analytical study[J]. *Microchemical Journal*, 2016(126): 488–495.
- [16] 孙文伶, 赵丽娜, 董阳, 等. 高密度菌种发酵酸奶品质变化研究[J]. *中国酿造*, 2018, 37(8): 133–137. [SUN Wenling, ZHAO Lina, DONG Yang, et al. Quality changes of fermented yogurt with high-density bacteria starter[J]. *China Brewing*, 2018, 37(8): 133–137.]
- [17] 陈岑, 韩艳丽, 曹正, 等. 不同直投式酸奶发酵剂发酵性能的比较研究[J]. *中国酿造*, 2017, 36(1): 126–130. [CHEN Cen, HAN Yanli, CAO Zheng, et al. Comparison of the fermentation characteristics of different directed vat set starters[J]. *China Brewing*, 2017, 36(1): 126–130.]
- [18] HASSEN A N, FRANK J F, SCHMID K A, et al. Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures[J]. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79(12): 2098–2103.
- [19] 吴小艳, 刘忠义, 刘文星, 等. 复配稳定剂稳定芒果酸奶凝乳结构的作用机理[J]. *浙江农业学报*, 2020, 32(6): 1082–1091. [WU Xiaoyan, LIU Zhongyi, LIU Wenxing, et al. Mechanism of compound stabilizer stabilizing curd structure of mango yogurt[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2020, 32(6): 1082–1091.]
- [20] PORNTIPHA VITHEEJONGJAROEN, PRAPHAIPHAN KANTHAWANG, FABIEN LOISON, et al. Antioxidant activity of *Bifidobacterium animalis* MSMC83 and its application in set-style probiotic yoghurt[J]. *Food Bioscience*, 2021(43): 101259.
- [21] B N P SAH, T VASILJEVIC, S MCKECHNIE, et al. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt[J]. *Food Chemistry*, 2014(156): 264–270.
- [22] 贾亚婷, 郭艳梅, 蔡逸, 等. 不同菌种发酵乳品质与抗氧化能力研究[J]. *中国乳品工业*, 2017, 45(9): 22–25. [JIA Yating, GUO Yanmei, CAI Yian, et al. Research of quality and antioxidant capacity for fermented milk with different strains[J]. *China Dairy Industry*, 2017, 45(9): 22–25.]
- [23] AYESHA SARKER, SAJAN CHAKRABORTY, MUKTA ROY. Dark red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates inhibit the growth of oxidizing substances in plain yogurt[J]. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2020(2): 100062.
- [24] 黄俊, 张祥, 尤玉如, 等. 酸奶后酸化控制措施的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(3): 663–670. [HUANG Jun, ZHANG Xiang, YOU Ruyu, et al. Advances in controlling postacidification in yogurt[J]. *Microbiol*, 2016, 43(3): 663–670.]
- [25] SETTACHAIMONGKON S, NOUT M J R, FERNANDES E C A, et al. The impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set yoghurt[J]. *Int Dairy J*, 2014, 38(1): 1–10.
- [26] CASAROTTI S N, MONTEIRO D A, MORETTI M M S, et al. Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk[J]. *Food Res Int*, 2014, 59(4): 67–75.
- [27] 张兰威, 梁金钟. 发酵食品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 75–77. [ZHANG Lanwei, LIANG Jinzhong. *Fermented food technology*[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011: 75–77.]
- [28] 李郭浪, 刘静, 李霞, 等. 山药山楂酸奶的贮藏品质及胃肠液环境下的抗氧化性[J]. *中国酿造*, 2021, 40(5): 124–128. [LI G L, LIU J, LI X, et al. Storage quality of yam and hawthorn yogurt and its antioxidation in simulated gastrointestinal fluid[J]. *China Brewing*, 2021, 40(5): 124–128.]
- [29] 李子叶. 不同酸奶发酵剂的发酵性能及其产品功能活性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019. [LI Z Y. Study on fermentation performance of different starter culture and evaluation of its functional bioactivity in yogurt[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.]
- [30] 孙懿琳, 方伟, 田辉, 等. 保加利亚乳杆菌产酸关键酶的研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(10): 187–191. [SUN Yilin, FANG Wei, TIAN Hui, et al. Study on key enzymes involved in producing lactic acid of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgarius*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(10): 187–191.]
- [31] ESMAEILI S, POURAHMAD R, KOMEILI R. An experimental design for production of selenium-enriched yeast[J]. *World Applied Sciences Journal*, 2012, 19(1): 31–37.
- [32] KEDARE S B, SINGH R P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay[J]. *Journal of Food Science & Technology*, 2011, 48(4): 412–422.
- [33] ASSUNÇAO M, MARTINS L L, MOURATO M P, et al. Effect of selenium on growth and antioxidant enzyme activities of wine related yeasts[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015, 31(12): 1899–1906.
- [34] KIELISZEK M, BŁAZEJAK S, BZDUCHA-WROBEL A, et al. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(2): 1797–1808.
- [35] SENTKOWSKA A, PYRZYNSKA K. Investigation of antioxidant activity of selenium compounds and their mixtures with tea polyphenols[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019(36): 3019–3024.
- [36] SANTOS-S'ANCHEZ N F, SALAS-CORONADO R. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism[J]. *Intech*, 2019: 1–29.
- [37] LÜ J M, LIN P H, YAO Q, et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2010, 14(4): 840–860.