

张海芳, 满都呼, 王记成. 双蛋白益生菌发酵乳的研制与品质分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 157–163. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120035

ZHANG Haifang, MAN Douhu, WANG Jicheng. Development and Quality Analysis of Double Protein Probiotic Fermented Milk[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(12): 157–163. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120035

· 生物工程 ·

双蛋白益生菌发酵乳的研制与品质分析

张海芳¹, 满都呼², 王记成^{2,*}

(1. 内蒙古化工职业学院材料工程系, 内蒙古呼和浩特 010070;

2. 内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘要: 为丰富发酵乳的品类并满足消费者的多样化需求, 本研究以一定比例的纯牛乳和花生蛋白粉为原料, 添加益生菌制作了一种双蛋白益生菌发酵乳。将纯牛乳与不同比例的花生蛋白混合, 巴氏灭菌后, 将混合物与发酵物一起发酵 (嗜热链球菌 S10: 动物双歧杆菌乳亚种菌株 V9: 干酪乳杆菌 Zhang=10:10:1), 从感官特性、酸度、粘度、持水力及益生菌活菌数等角度, 评价了贮藏期内 28 d 实验组及对照组发酵乳的品质及贮藏特性。结果表明, 花生蛋白: 牛乳蛋白=3:7 时, 发酵乳酸甜适口、色香兼具、组织细腻且凝聚性好, 感官评分为 (94±3) 分, 发酵时间 5.4 h。经 4℃ 下贮藏 28 d 后, 3:7 实验组的后酸化程度与对照组相比较弱, 内聚性及粘度指数均高于两个对照组 (分别为 -20.24±1.77 g、-20.63±2.79 g·s)。与此同时, 3:7 实验组的粘度最高可达 (1085±100) mPa·s, 持水力可平均稳定在 75% 左右, 发酵乳中的干酪乳杆菌 Zhang 及动物双歧杆菌乳亚种 V9 的活菌数均可保持在 1×10⁷ CFU/mL 以上。因此, 通过花生蛋白替代部分牛乳蛋白来制作发酵乳的工艺是可行的, 产品在 28 d 贮藏期内能够保持良好的感官特性及贮藏稳定性, 此类产品具有深入研究和继续开发的价值潜力。

关键词: 双蛋白, 益生菌发酵乳, 品质分析, 贮藏特性

中图分类号: TS252.42

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)12-0157-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120035

本文网刊:



Development and Quality Analysis of Double Protein Probiotic Fermented Milk

ZHANG Haifang¹, MAN Douhu², WANG Jicheng^{2,*}

(1. Department of Materials Engineering, Inner Mongolia Chemical Vocational College, Hohhot 010070, China;

2. Key Lab of Dairy Biotechnology and Bioengineer, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: To investigate double protein product which was combined with fermented milk and peanut protein followed by characterization of the sensory properties, acidity, viscosity, water holding capacity and viable count of probiotics after the storage of 28 days. The pure milk was mixed with different peanut protein proportions, and after pasteurization, the mixture were fermented with the fermentation (*Streptococcus thermophilus* S10: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain V9: *Lactobacillus casei* Zhang=10:10:1). The results showed that the group of peanut protein: milk protein=3:7 presented better sensory characteristics (94±3) and texture properties with both color and aroma, delicate tissue, and good cohesion, and the fermentation time was 5.4 h. Compared with the control groups, the 3:7 group showed a weak post-acidification ability, and higher cohesiveness and viscosity index (-20.24±1.77 g, -20.63±2.79 g·s, respectively). In addition, the 3:7 group showed (1085±100) mPa·s of viscosity and the 75% water holding capacity for the whole process. Further more, the viable count of *Lactobacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9 in 3:7 group maintained 1×10⁷ CFU/mL after the 28 d storage, respectively. In general, the product of probiotic fermented milk mixed with the peanut protein appeared better sensory characteristics and stability, which would have potential research and commercial values for the future.

收稿日期: 2022-12-15

作者简介: 张海芳 (1978-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 食品加工, E-mail: zhanghaifang1999@sina.com。

* 通信作者: 王记成 (1979-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 乳品生物技术, E-mail: imwjc@163.com。

Key words: double protein; probiotic fermented milk; quality analysis; storage characteristics

发酵乳是将益生菌传递到人体内的最理想载体之一,向发酵乳中添加益生菌后,可以将菌种本身的保健作用和发酵乳的健康功效完美结合起来,使益生菌发酵乳具有“1+1>2”的效果^[1]。研究表明,益生菌发酵乳在调控肠道菌群的组成、调整“肠-X轴”的平衡、改善宿主的微生态状况等方面起到了重要作用^[1-2]。此外,益生菌发酵乳还具有改善肠道健康、缓解乳糖不耐症、降低过敏反应、预防心脑血管疾病和某些癌症,以及改善认知障碍等多种潜在功能^[3-5]。

干酪乳酪杆菌 Zhang(*Lactocaseibacillus casei* Zhang)分离自内蒙古锡林郭勒盟正蓝旗的酸马奶中,在胃肠液中具有较好的耐受性及存活率^[6]。同时,干酪乳酪杆菌 Zhang 还具有抗氧化^[7]、降低血脂^[8]、调节免疫系统^[9]、预防二型糖尿病^[10]、保护肝脏和预防肝损伤^[11]及抑制肠道病原菌生长^[12]等益生功效。动物双歧杆菌乳亚种 V9(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9)分离自内蒙古健康蒙古族儿童肠道,是具有优良益生功效的乳酸菌菌株^[13-15]。

花生又名“落花生”,是一种食用、榨油、饲料兼用的豆科作物,且与黄豆一同被称为“素中之荤”,但花生中含有的抗营养因子比大豆更少。花生中含有 24%~36% 的蛋白质,花生蛋白极易被人体消化吸收,利用率高达 98%^[16];花生蛋白风味浓厚,水溶性程度高,可形成稳定的胶体溶液^[17];花生中特有的生理活性物质——花生多肽,已被证实具有抗氧化、抑菌抗菌、清除自由基、增强抵抗力、降低血压及胆固醇等多种生理活性功能^[18-19]。研究发现,花生蛋白酸奶包含 18 种氨基酸,且含有人体所需的 8 种必需氨基酸,能够满足人体的正常营养需求^[20]。

目前,双蛋白发酵乳的研究与应用在发达国家已十分成熟,产品种类丰富,然而国内市场上的双蛋白酸奶或植物基酸奶产品仍较为匮乏。在双蛋白益生菌发酵乳的开发方面,目前大多数产品主要是以大豆、花生或其副产品为主要原料制备的酸奶^[16],但研究结果会因实验条件的不同而存在较大差异。近年来,中国已成为世界上主要的花生生产及出口大国,同时花生蛋白也是公认的优质植物蛋白资源。因此大力挖掘花生蛋白资源,不仅可以开发出营养价值高、附加值高的花生蛋白产品,而且将花生蛋白加入乳制品中部分替代牛乳或乳粉,可以降低成本,增加产品种类,为消费者提供多样化的选择。

为了顺应功能性食品的发展潮流并丰富发酵乳的产品种类,本研究将探索以一定比例的纯牛乳和花生蛋白粉为主要原料,添加复配发酵剂(干酪乳酪杆菌 Zhang 和动物双歧杆菌乳亚种 V9 及嗜热链球菌 S10)制作双蛋白益生菌发酵乳的可行性,并分析 4 ℃ 下 28 d 贮藏期内该产品的品质及贮藏特性,为双蛋白乳制品的研究与开发提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

花生蛋白粉 蛋白含量 99%,安阳天祥瑞食品科技有限公司;全脂灭菌纯牛乳 蛋白质含量 3.0 g/100 mL,内蒙古伊利实业集团股份有限公司;白砂糖 成都太古糖业有限公司;MRS 固体培养基、万古霉素、莫匹罗星锂盐、L-半胱氨酸盐酸盐均购自青岛海博生物技术有限公司;干酪乳酪杆菌 Zhang(*Lactocaseibacillus casei* Zhang)、动物双歧杆菌乳亚种 V9(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9)、嗜热链球菌 S10(*Streptococcus thermophilus* S10)均由内蒙古农业大学乳酸菌菌种资源库(Lactic Acid Bacteria Collection Center, LABCC)提供。

ATS-AH100D 型高压均质机 上海 ATS Engineering Inc;PHSJ-3F 型电子 pH 计 上海精密科学仪器有限公司;DV-2T 型粘度计 美国 Brookfield 公司;TA-XT plus 型质构仪 英国 Stable Micro System 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 花生蛋白粉复溶液的制备 以一定比例的去离子水溶解花生蛋白粉,为方便计算产品配方,将花生蛋白粉复溶液的蛋白质含量调配为 3.0 g/100 g。

1.2.2 花生蛋白益生菌发酵乳的制备

1.2.2.1 工艺流程 花生蛋白益生菌发酵乳制备的工艺流程如图 1 所示。

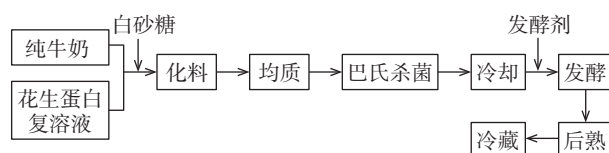


图 1 双蛋白益生菌发酵乳加工工艺流程

Fig.1 Double protein probiotic fermented milk processing process

1.2.2.2 操作要点 预热化料:称取适量纯牛乳预热至 65 ℃,边搅拌边加入白砂糖及花生蛋白粉复溶液,化料 15 min;高压均质:料液在 65 ℃,20 MPa 的条件下进行高压均质;巴氏杀菌、冷却:料液在 95 ℃ 下保持 5 min 杀菌,随后冰水浴冷却至 42 ℃;接种发酵剂:将冷却至 42 ℃ 的料液在无菌操作下接种复配菌种。在预实验的基础上,各菌种的接种量分别为:嗜热链球菌 S10 的添加量为 3×10^6 CFU/mL,动物双歧杆菌乳亚种 V9 的添加量为 3×10^6 CFU/mL,干酪乳酪杆菌 Zhang 的添加量为 3×10^5 CFU/mL;恒温发酵:置于 42 ℃ 下恒温发酵,以 pH 下降到 4.50 ± 0.02 为发酵终点;低温后熟:发酵结束后进行搅拌破乳,于 4~6 ℃ 下后熟 12 h;产品冷藏:对照组和实验组各

保留三个平行样品,在 4 ℃ 冷库中低温冷藏。

1.2.3 双蛋白益生菌发酵乳蛋白质相对比例的确定

在前期预实验的基础上,确定了发酵乳的总蛋白质含量为 2.8 g/100 mL,白砂糖添加量为 6.5%。以花生蛋白与牛乳蛋白的相对比例分别为:1:1、3:7、4:6、6:4、7:3 作为实验组,以全牛乳蛋白和全花生蛋白作为对照组 1 和对照组 2。对后熟完成的发酵乳样品进行感官评定,以感官综合评分结果为指标,确定产品中两种蛋白质的最佳比例,最终确定产品的最佳配方。

1.2.4 感官评定 样品感官特性的评价采用感官综合评分法,邀请 20 位经验丰富的品评人员,对产品进行感官综合评分,满分为 100 分。感官综合评分标准^[21]见表 1。

表 1 感官综合评分标准 Table 1 Comprehensive sensory scoring criteria		
评分项目	评分标准	评分范围(分)
色泽与风味(30分)	色泽均匀,有光泽,乳香味浓厚	26~30
	微乳白色,奶香味稍淡	21~25
	微黄色,有异味	11~20
	色泽不均匀,异味较大	<10
口感(40分)	酸甜适口,口感顺滑	36~40
	酸味或甜味过重,口感较好	26~35
	酸味或甜味过淡,口感一般	16~25
	无酸奶味,口感较差	<15
组织状态(30分)	组织细腻,凝聚性好,表面光滑	26~30
	组织较细腻,凝聚性较好,表面较光滑	21~25
	组织较细腻,凝聚性较差,表面较粗糙	11~20
	组织粗糙,凝聚性差,有泡沫	<10

1.2.5 双蛋白蛋白益生菌发酵乳品质分析 选取最佳产品配方制备出的花生蛋白益生菌发酵乳为实验组,联合两个对照组进行品质分析。通过检测贮藏期实验组和对照组发酵乳于 1、7、14、21 及 28 d 的 pH、滴定酸度、粘度、持水力、质构特性及益生菌活菌数等指标,结合感官评分综合分析产品的品质及贮藏特性。

1.2.5.1 pH 的测定 取适量贮存于 4 ℃ 下的样品,恢复至室温后使用电子 pH 计测定。

1.2.5.2 滴定酸度的测定 按照 GB 5009.239-2016 中的“酚酞指示剂法”测定^[22]。

1.2.5.3 粘度的测定 分别称取适量样品恢复到室温,使用粘度仪的 4#转子,扭矩为 64%,100 r/min 下测定 30 s,每个样品平行测定 3 次^[23]。

1.2.5.4 持水力的测定 分别称取 20.0 g 样品恢复至室温,置于含滤纸的漏斗中 120 min,收集滤液并称重,评价样品的持水力^[24]。计算公式如下:

持水力(%)=1-(M_{滤液}/M_{样品})×100

式中: M_{滤液}表示滤液的质量, g; M_{样品}表示样品的质量, g。

1.2.5.5 质构特性的测定 分别称取适量样品于烧杯中,恢复至室温后,使用 TA-XT plus 质构仪检测样品的稠度、内聚性和黏度指数。选用 A/BE 探头,穿透深度为 30 mm,试验前速度为 6 mm/s,试验中和试验后速度固定为 1 mm/s^[25]。

1.2.5.6 益生菌活菌的计数 按照 GB 4789.35-2016 中的方法进行活菌计数^[26]。动物双歧杆菌乳亚种 V9 的培养计数使用 MRS 固体改良培养基,干酪乳酪杆菌 Zhang 的培养计数使用添加 0.01%(质量分数)万古霉素的 MRS 固体培养基。均在厌氧条件下培养^[27]。

1.3 数据处理

本研究的样品均进行三次平行测定,结果表示为“平均值±标准差”。数据分析使用 IBM SPSS Statistics 20.0,显著性水平设定为 0.05,并采用单因素方差分析的 Tukey B 法和 Waller-Duncan 法进行两两比较分析,数据汇总、统计图绘制使用 Excel。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白质比例对发酵乳发酵时间的影响

经过发酵、后熟等工艺制作出了蛋白质比例不同的几种发酵乳,各组的发酵时长如表 2 所示。由表 2 可知,实验组(3:7)的发酵时间约为 5.4 h,在 5 种配方中发酵速度最快,耗时最短;而发酵耗时最长的为实验组(7:3),用时约为 5.7 h。分析可知,牛乳蛋白占比高的酸奶发酵速度快,这是由于乳酸菌利用乳糖产生乳酸进行发酵,而花生蛋白比例的增加会减少乳糖含量,导致酸奶体系凝乳缓慢,发酵时间延长^[27]。

表 2 不同蛋白质比例下发酵乳的发酵时间
Table 2 Fermentation time of fermented milk with different protein ratios

组别	花生蛋白:牛乳蛋白	发酵时间(h)
实验组	1:1	5.6±0.2
	3:7	5.4±0.1
	4:6	5.5±0.5
	6:4	5.5±0.1
	7:3	5.7±0.4
对照组	0:10	5.3±0.2
	10:0	5.4±0.3

2.2 不同蛋白质比例对产品感官评价的影响

由图 2 可知,随着配方中花生蛋白比例的增加,实验组发酵乳的感官评分呈现下降趋势。其中,对照组 1 的评分最高(96±3 分),其次为实验组(3:7)(94±3 分),而对照组 2 则由于使用了纯植物蛋白发酵而导致产品口感及风味较差,评分较低(90±4 分)。由显著性分析可知,对照组 1 的感官评分显著高于其他组(P<0.05),原因可能是:一方面本研究所使用的发酵剂可能更适合于牛乳的发酵,所以对添加了花生蛋白的双蛋白发酵乳可能存在兼容性较差的现象;另一方面,发酵乳的口感及组织状态可能会在益生菌的

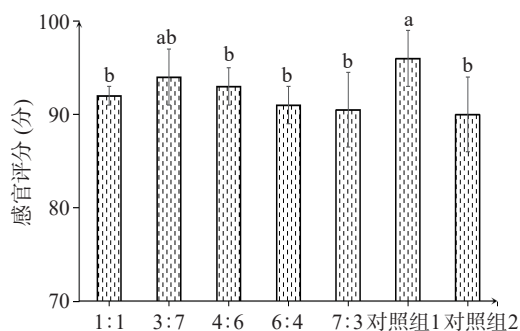


图2 不同配下方发酵乳的感官评分

Fig.2 Sensory scores of fermented milk under different formulations

注:统计图上标不同小写字母表示同一组内差异显著($P<0.05$);图3、图6同。

生长代谢作用下得到有效提升,进而提高产品的感官评分。

根据感官综合评分可知,以实验组(3:7)制备得到的双蛋白益生菌发酵乳酸甜适口,色香兼具,组织细腻且凝聚性好,同时在实验组的五种配方中,实验组(3:7)的感官评分与其他组差异显著($P<0.05$)。由此证明,以花生蛋白部分代替牛乳蛋白制作双蛋白发酵乳是可行的。故选择实验组(3:7)(花生蛋白:牛乳蛋白=3:7)为最佳产品配方,作为后续实验的实验组。

2.3 双蛋白益生菌发酵乳的品质分析

2.3.1 贮藏期内发酵乳 pH 的变化 由图3可知,在28 d的贮藏期内,三组发酵乳的pH总体呈下降趋势,且组内存在显著性差异($P<0.05$)。由于实验组及对照组产品的发酵剂均以乳酸菌为主,而乳酸菌在贮藏温度(4℃)下会继续产生乳酸,进而降低发酵乳体系的pH^[28]。分析可知,到第28 d时,实验组的pH从4.48降低到了4.24,下降了0.24个单位;对照组1和对照组2的pH下降幅度分别为:0.28和0.32。相比而言,对照组2的pH下降幅度最大,而实验组的pH下降幅度最小,低于其他两个对照组。即发酵乳体系中的花生蛋白含量越高,发酵乳的pH下降幅度越小,乳酸产生速度降低,这与刘晓恒^[29]的研究结

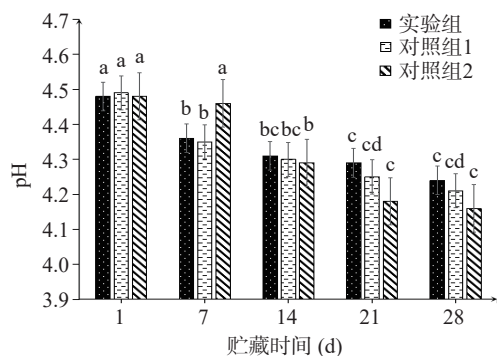


图3 实验组及对照组在28 d贮藏期内 pH 的变化

Fig.3 Changes of pH values in experimental group and control group during 28 d storage

果相似。可见,本研究制备的花生蛋白益生菌发酵乳后酸化程度较弱,能在一定程度上维持产品pH的稳定。

2.3.2 贮藏期内发酵乳滴定酸度的变化 pH和滴定酸度影响益生菌在发酵及贮藏过程中的生存能力和发酵乳的品质^[30]。如图4所示,在28 d的低温贮藏(4℃)条件下,实验组和对照组发酵乳的滴定酸度均呈现出上升趋势,除对照组1的滴定酸度始终保持在较低水平外,其他两组的滴定酸度均处于较高水平。同时,低温贮藏28 d后,对照组1的滴定酸度从72 °T上升至88 °T,实验组的滴定酸度从75 °T上升到了92 °T,增量分别为16和17 °T;而对照组2的滴定酸度增量为22 °T。其中,实验组的滴定酸度增量显著低于对照组2的滴定酸度增量($P<0.05$),但总体而言各组发酵乳的滴定酸度增量都未超过22 °T,食用时仍可被接受。虽然贮藏期内实验组的滴定酸度整体处于较高水平,但与对照组相比总体变化幅度不大,故贮藏期内的稳定性较为理想。

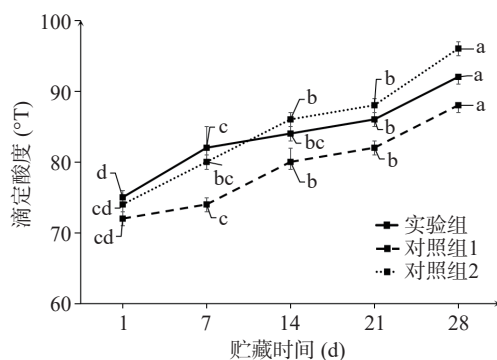


图4 实验组及对照组在28 d贮藏期内滴定酸度的变化

Fig.4 Changes of titrated acidity in experimental group and control group during 28 d storage

注:不同大写字母表示不同组间差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示同一组内差异显著($P<0.05$);图5、图7同。

2.3.3 贮藏期内发酵乳粘度的变化 发酵乳体系中蛋白质结构的凝胶化是发酵乳形成凝胶态时涉及的主要变化,而蛋白质的凝胶化在宏观上表现为发酵乳粘度的增加,因此粘度可以作为评价发酵乳品质的一个重要指标^[31]。如图5所示,在贮藏期间发酵乳的

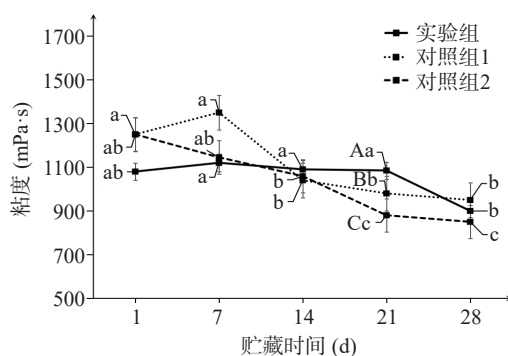


图5 实验组及对照组在28 d贮藏期内粘度的变化

Fig.5 Viscosity changes of experimental group and control group during 28 d storage

粘度整体出现下滑现象,具体而言,实验组的发酵乳在贮藏期始末的粘度差最小,为 180 mPa·s;在第 1~7 d 的贮藏期中,实验组的粘度均低于对照组的粘度;而在贮藏第 21 d 时,实验组的粘度与对照组 2 的粘度存在显著性差异($P<0.05$),达到了 $(1085\pm 100)\text{mPa}\cdot\text{s}$ 。原因可能是:发酵乳中形成了紧密结合的蛋白质凝胶体,使实验组发酵乳表现出较高的粘度;另外实验组中添加的干酪乳酪杆菌 Zhang 和动物双歧杆菌乳亚种 V9 能在发酵乳中起到增加粘度的作用^[24]。

2.3.4 贮藏期内发酵乳持水力的变化 持水性用于衡量发酵乳的乳清存在于蛋白质网络结构的稳定性,持水性好可以防止乳清析出^[24]。随着贮藏时间的推移,各组发酵乳的持水力均出现不同程度的降低。由图 6 可知,实验组发酵乳在贮藏第 7 d 时,持水力上升到了 82% 左右;在贮藏第 28 d 时,持水力为 69% 左右。在贮藏期内,实验组能将持水力平均稳定在 75.2% 左右,为各组中最高,可能是由于实验组产品中添加的花生蛋白,其水溶性程度高,可形成稳定的胶体溶液,从而提高并维持了发酵乳的持水力^[32]。另外,贮藏第 28 d 时,对照组 1 的持水力下降幅度最大,达到了 18%,实验组及对照组 2 的持水力下降了 11% 和 12%。由于实验组中并未添加任何稳定剂,故贮藏期末实验组的持水力略低于对照组,可稳定在 69% 以上,具有较好的持水能力。

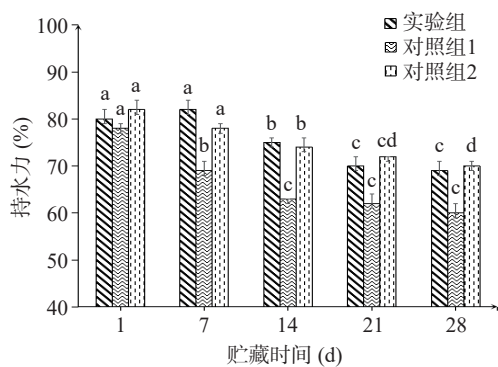


图 6 实验组及对照组在 28 d 贮藏期内持水力的变化
Fig.6 Changes of water retention in the experimental group and control group during 28 d storage

2.3.5 贮藏期内发酵乳感官评分的变化 由图 7 可知,在 28 d 贮藏期内,实验组的感官评分始终高于对照组 2 的评分,贮藏后期也高于对照组 1 的评分。在第 28 d 时实验组的感官综合评分达到了 82 分,表现为:色泽均匀、香味较浓厚、酸甜适口、组织较细腻、凝聚性较好。尽管贮藏期间产品存在的 pH 下降、酸度上升、粘度变小、持水力减弱等不良因素,会直接或间接地对实验组发酵乳的感官特性造成不利影响,可能是由于实验组发酵乳的蛋白质比例较为合理,且花生蛋白的特殊风味及理化性质使产品的感官品质得到了增强,最终使得产品在贮藏期间保持了较为理想的感官特性,从而保证了实验组发酵乳在贮藏

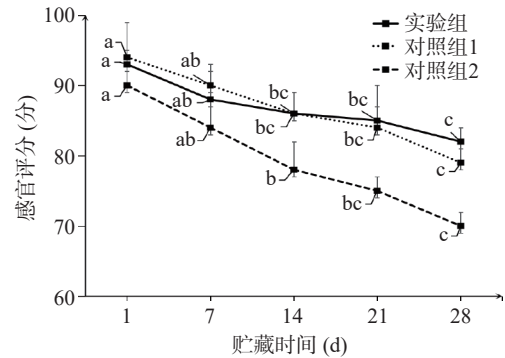


图 7 实验组及对照组在 28 d 贮藏期内感官评分的变化
Fig.7 Changes of sensory score in experimental group and control group during 28 d storage

贮藏期内的稳定性。

2.3.6 贮藏期内发酵乳质构特性的变化 为进一步探究产品的质构特性,分析了在贮藏的第 1、14、28 d 产品的内聚性、稠度及黏度系数三种质构参数,结果见表 3。实验组及对照组发酵乳的三种质构参数均随着贮藏时间的延长而下降,且同组内差异显著($P<0.05$)。在贮藏期第 14 d,实验组的稠度显著高于其他三组($P<0.05$);同时,在第 28 d 时,其稠度仍处于较高水平,这与前文中“实验组发酵乳具有较高持水力”的结果相符。在贮藏期间,由于后酸化及酪蛋白颗粒的重新排列,发酵乳的内聚性及黏度指数均会发生较大变化。值得关注的是,实验组在第 28 d 时的内聚性及黏度指数均为最高,说明本研究制备的双蛋白益生菌发酵乳在贮藏期间能够保证自身组织状态的相对稳定。

表 3 实验组及对照组在 28 d 贮藏期内质构特性的变化
Table 3 Changes of texture characteristics of experimental group and control group during 28 d storage

参数	贮藏时间 (d)	实验组	对照组1	对照组2
稠度(g·s)	1	203.38±0.36 ^a	204.37±1.51 ^a	187.85±4.83 ^a
	14	189.61±5.02 ^{ab}	179.94±3.25 ^{bc}	138.65±0.09 ^{cd}
	28	184.30±3.03 ^b	188.01±6.83 ^b	150.19±0.76 ^b
内聚性(g)	1	-24.89±2.57 ^a	-22.85±1.38 ^a	-22.93±1.33 ^a
	14	-20.76±1.11 ^b	-21.49±0.55 ^a	-16.12±0.78 ^b
	28	-20.24±1.77 ^b	-19.13±1.36 ^b	-15.03±1.18 ^b
黏度指数(g·s)	1	-23.75±2.1 ^a	-26.98±2.12 ^a	-20.49±1.44 ^a
	14	-20.12±0.8 ^b	-19.14±1.25 ^b	-17.69±1.33 ^b
	28	-20.63±2.79 ^b	-19.56±1.78 ^b	-12.49±3.08 ^c

注:不同大写字母表示不同组间差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示同一组内差异显著($P<0.05$)。

2.3.7 贮藏期内益生菌活菌数的变化 由表 4 可知,随着贮藏时间的延长,发酵乳体系因菌株的持续产酸而出现 pH 下降、滴定酸度上升的现象,使得益生菌的最适生长环境被打破,最终导致两种益生菌的活菌数水平逐渐下降。进一步分析可以发现:两菌株的活菌数增减趋势是不同的,干酪乳酪杆菌 Zhang 呈现先增加后降低的趋势,在第 7 d 时活菌数达到了最高水平,即 $(4.80\pm 0.35)\times 10^7$ CFU/mL;而动物双歧杆菌

乳亚种 V9 则呈现持续下降的趋势,这可能是由于干酪乳酪杆菌 Zhang 在发酵乳中对酸性环境有着更好的耐受性,使其具有更好的贮藏稳定性,活菌数水平也更高。发酵乳在后熟完毕后,实验组中干酪乳酪杆菌 Zhang 及动物双歧杆菌乳亚种 V9 的活菌数均有大幅上升,分别达到了 $(4.50 \pm 0.20) \times 10^7$ 和 $(1.80 \pm 0.15) \times 10^7$ CFU/mL,此外,实验组在第 28 d 时,两种益生菌的活菌数仍能保持在 1×10^7 CFU/mL 以上的高活菌数水平,能有效保障两株益生菌以足量的活菌状态进入人体从而发挥其益生功效。

表 4 实验组在 28 d 贮藏期内的益生菌活菌数
Table 4 Viable count of probiotics in experimental group during 28 d storage

贮藏时间	干酪乳酪杆菌 Zhang ($\times 10^7$ CFU/mL)	动物双歧杆菌乳亚种 V9 ($\times 10^7$ CFU/mL)
后熟完成	4.50 ± 0.20^{ab}	1.80 ± 0.15^a
1 d	4.62 ± 0.30^a	1.77 ± 0.16^a
7 d	4.80 ± 0.35^a	1.75 ± 0.10^a
14 d	4.75 ± 0.10^a	1.58 ± 0.11^a
21 d	4.40 ± 0.22^{ab}	1.24 ± 0.16^b
28 d	4.30 ± 0.10^b	1.02 ± 0.04^b

注:干酪乳酪杆菌 Zhang 的初始接种量为 3×10^5 CFU/mL,动物双歧杆菌乳亚种 V9 的初始接种量为 3×10^6 CFU/mL;数据右上角标不同小写字母表示同一组内差异显著($P < 0.05$)。

3 结论

本研究利用新型复配益生菌——干酪乳酪杆菌 Zhang 和动物双歧杆菌乳亚种 V9 研制花生双蛋白发酵乳,最优配方为:纯牛乳 65.45%,花生蛋白粉复溶液 28.05%,白砂糖 6.5%。在 28 d 贮藏期内产品的 pH 下降幅度较小(0.24 个单位),持水力可稳定在 69% 以上,粘度最高可达到 (1085 ± 100) mPa·s,益生菌活菌数可保持在 1×10^7 CFU/mL 以上,同时产品质构特性良好,能在一定程度上维持自身的组织状态。因此,以花生蛋白与牛乳蛋白的比例为 3:7 制作的双蛋白益生菌发酵乳是可行的,最终所得产品具有动植物双蛋白互补、高益生菌活菌数和口感风味俱佳等优点,益生菌的加入不仅能够赋予发酵乳益生功效,而且能够保持产品的质构特性和贮藏稳定性。

参考文献

- [1] 于洁,张和平. 益生菌发酵乳的研究及产业化进展[J]. 中国食品学报, 2020, 20(10): 1-7. [YU Jie, ZHANG Heping. Research and industrialization progress on probiotics fermented dairy products[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(10): 1-7.]
- [2] YADAV M, SHUKLA P. Recent systems biology approaches for probiotics use in health aspects: A review[J]. 3 Biotech, 2019, 9(12): 449-458.
- [3] SAKANDAR H A, ZHANG H. Trends in probiotic (s)-fermented milks and their *in vivo* functionality: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 55-65.
- [4] NAVEED M, ZHOU Q G, XU C, et al. Gut-brainaxis: A matter of concern in neuropsychiatric disorders[J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2020, 104(2021):

110051.

- [5] TILLISCH K, LABUS J, KILPATRICK L, et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity[J]. Gastroenterology, 2013, 114(7): 1394-1401.
- [6] GUO Z, WANG J C. *In vitro* comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* Zhang, a potential new probiotic, with selected probiotic strains[J]. Food Science and Technology, 2009, 42: 1640-1646.
- [7] 王俊国,孟和毕力格,张和平,等. 干酪乳杆菌 Zhang 对大鼠抗氧化能力的影响[J]. 营养学报, 2009, 31(1): 63-65, 70. [WANG Junguo, MENGHE Belige, ZHANG Heping, et al. Effects of *Lactobacillus casei* Zhang on anti-oxidative ability in rats[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2009, 31(1): 63-65, 70.]
- [8] 云月英,王立平,张和平,等. 喂饲 *Lactobacillus casei* Zhang 对大鼠体内脂质代谢的影响[J]. 微生物学通报, 2006, 33(3): 60-64. [YUN Yueying, WANG Liping, ZHANG Heping, et al. Effect of Administration of *Lactobacillus casei* Zhang on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats[J]. Microbiology China, 2006, 33(3): 60-64.]
- [9] YA T, ZHANG Q, CHU F, et al. Immunological evaluation of *Lactobacillus casei* Zhang: A newly isolated strain from koumiss in Inner Mongolia, China[J]. BMC immunology, 2008, 9(1): 1-9.
- [10] ZHANG Y, GUO X, GUO J, et al. *Lactobacillus casei* reduces susceptibility to type 2 diabetes via microbiota mediated body chloride ion influx[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 5654.
- [11] WANG Y, LI Y, XIE J, et al. Protective effects of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang against endotoxin and galactosamine induced liver injury in rats via anti-oxidative and anti-inflammatory capacities[J]. International Immunopharmacology, 2013, 15(1): 30-37.
- [12] 托娅,杜瑞亭,张和平. 益生菌 *Lb. casei* Zhang 对 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用及机制[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(4): 463-465. [TUO Ya, DU Ruiting, ZHANG Heping. Antitumor effect and mechanism of probiotics *Lb. casei* Zhang on H22 tumor-bearing mice[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2010, 37(4): 463-465.]
- [13] SUN Z H, CHEN X, WANG J C, et al. Complete genome sequence of probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* strain V9[J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(15): 4080-4081.
- [14] 高鹏飞,孙志宏,麻士卫,等. *B. animalis* V9 对腹泻动物的保护性作用及其机制研究[J]. 中国微生态学杂志, 2009, 21(5): 385-387. [GAO Pengfei, SUN Zhihong, MA Shiwei, et al. Study on the protective effect and mechanism of *B. animalis* V9 on mice with diarrhea[J]. Chinese Journal of Microecology, 2009, 21(5): 385-387.]
- [15] XU H, HUANG W, HOU Q, et al. Oral administration of compound probiotics improved canine feed intake, weight gain, immunity and intestinal microbiota[J]. Frontiers in Immunology, 2019, 10: 666.
- [16] 赵晓燕,孙秀平,陈锋亮,等. 花生蛋白的研究进展与开发利用现状[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(12): 118-122. [ZHAO Xiaoyan, SUN Xiuping, CHEN Fengliang, et al. Research progress and application of peanut protein[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2011, 26(12): 118-122.]
- [17] 李响,张焕丽,郭世龙,等. 不同改性方法对花生蛋白理化特性影响研究[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(9): 101-108, 193. [Li Xiang, Zhang Huanli, Guo Shilong, et al. Effects of different modification methods on physicochemical properties of peanut protein[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2021, 36(9):

101-108,193.]

[18] 韩昊天,李晓彤,吴澎,等.花生多肽研究进展[J].*中国粮油学报*,2019,34(10):140-146. [HAN Haotian, LI Xiaotong, WU Peng, et al. Research progress of peanut peptide[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2019, 34(10): 140-146.]

[19] LIN, SHI A M, LIU H Z, et al. Research progress in functional properties of peanut peptides[J]. *Biotechnology & Business*, 2017(4): 36-40.

[20] 邓源喜,张姚瑶,董晓雪,等.花生营养保健价值及在饮料工业中的应用进展[J].*保鲜与加工*,2018,18(6):166-169,174. [DENG Yuanxi, ZHANG Yaoyao, DONG Xiaoxue, et al. Nutritional and health value of peanut and its utilization in beverage industry[J]. *Storage and Process*, 2018, 18(6): 166-169,174.]

[21] 邵景海,王占东,王青云,等.双蛋白有机酸奶产品的开发[J].*食品安全导刊*,2021(22):3. [SHAO Jinghai, WANG Zhandong, WANG Qingyun, et al. Development of double protein organic yogurt products[J]. *China Food Safety Magazine*, 2021(22): 3.]

[22] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.239-2016 食品安全国家标准 食品酸度的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [People's Republic of China Ministry of health. GB 5009.239-2016 National food safety standard. Determination of acidity in foods[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]

[23] 杨淑娟,苗壮壮,史嘉琪,等.乳双歧杆菌 Probio-M8 对发酵乳风味的影响及应用评价[J].*中国食品学报*,2022,22(7):256-266. [YANG Shujuan, MIAO Zhuangzhuang, SHI Jiaqi, et al. Effect of *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 on fermented milk flavor and its application evaluation[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(7): 256-266.]

[24] SAHAN N, YASAR K. Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(7): 1291-1297.

[25] 白梅,黄天,郭帅,等.益生菌干酪乳杆菌 Zhang 和乳双歧杆菌 V9 发酵乳胞外多糖含量对流变学特性、质构和稳定性的影响[J].*中国食品学报*,2021,21(4):193-202. [BAI Mei, HUANG Tian, GUO Shuai, et al. Effects of extracellular polysaccharide in yogurt produced by the probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* Zhang

and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* V9 on rheological properties, texture and stability[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(4): 193-202.]

[26] 中华人民共和国卫生部. GB 4789.35-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [People's Republic of China Ministry of Health. GB 4789.35-2016 National food safety standard. Microbiological testing of food lactic acid bacteria test[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]

[27] ASHRAF R, SHAH N P. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt-A review[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 149(3): 194-208.

[28] 丁瑞雪,王一然,乌日娜,等.发酵乳调控人体肠道营养健康的研究进展[J].*食品与发酵工业*,2018,44(12):281-287. [DING Ruixue, WANG Yiran, WU Rina, et al. Research progress on fermented milk regulating human intestinal nutrition and health[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(12): 281-287.]

[29] 刘晓恒.大豆蛋白替代牛乳蛋白对酸奶性质影响[D].无锡:江南大学,2013. [LIU Xiaoheng. The impact on the characters of yogurt by replacing milk protein with soy protein[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.]

[30] MISHRA S, MISHRA H N. Effect of symbiotic interaction of fructooligosaccharide and probiotics on the acidification profile, textural and rheological characteristics of fermented soy milk[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 6(11): 3166-3176.

[31] 郭壮,王记成,闫丽雅,等.益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 对酸奶风味、质地及感官特性的影响[J].*中国乳品工业*,2009,37(1):7. [GUO Zhuang, WANG Jicheng, YAN Liya, et al. Influence of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on aroma generation, texture and sensory characteristics of yogurt[J]. *China Dairy Industry*, 2009, 37(1): 7.]

[32] 廖奕扬.植物蛋白肉饼的研制与特征分析[D].长沙:湖南农业大学,2021. [LIAO Yiyang. Preparation and characteristic analysis of vegetable protein meat cake[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021.]