

戴一佳, 赵亮. 益生菌对发酵乳品质影响的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(8): 388–396. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050350

DAI Yijia, ZHAO Liang. Research on the Effect of Probiotics on the Quality of Fermented Milk[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(8): 388–396. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050350

· 专题综述 ·

益生菌对发酵乳品质影响的研究进展

戴一佳¹, 赵亮^{1,2,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 10083;
2. 中国农业大学益生菌研究中心, 中国农业大学营养与健康系, 北京 100190)

摘要: 发酵乳营养丰富、风味独特, 市场发展迅速, 是益生菌在食品领域的重要产品应用形式。与嗜热链球菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种等发酵菌株相比, 益生菌在主发酵过程中参与度较低, 但通过协同发酵对发酵乳的质构、风味、后酸化程度等产生一定作用, 影响发酵乳品质。本文综述了益生菌对发酵乳质构、风味品质、后酸化进程的影响; 分析了益生菌利用代谢及产 EPS 维持发酵乳的质构, 通过产生风味化合物改善发酵乳的风味品质, 以及通过影响商业发酵剂的生长而影响发酵乳后酸化进程的相关机理; 总结提出了提高益生菌在发酵乳中稳定性的相关技术, 以期功能性发酵乳的研发和品质提升提供参考。

关键词: 益生菌, 发酵乳, 风味, 质构, 菌株活性

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)08-0388-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023050350

本文网刊:



Research on the Effect of Probiotics on the Quality of Fermented Milk

DAI Yijia¹, ZHAO Liang^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Probiotics Research Center, China Agricultural University, Department of Nutrition and Health, China Agricultural University, Beijing 100190, China)

Abstract: Fermented milk is an important application form of probiotics in the food industry, which is rich in nutrition and unique in flavor, and has rapid market development. Compared with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and other fermentation strains, probiotics have a lower participation in the main fermentation process, but they have a certain effect on the texture, flavor and post-acidification of fermented milk through synergistic fermentation, affecting the quality of fermented milk. This paper reviews the effects of probiotics on the texture, flavor quality and post-acidification process of fermented milk, and analyzes the mechanisms of probiotics maintaining the texture of fermented milk by metabolism and producing EPS, improving the flavor quality of fermented milk by producing flavor compounds, and affecting the post-acidification process by affecting the growth of commercial starter cultures, and summarizes the relevant technologies to improve the stability of probiotics in fermented milk, in order to provide reference for the development and quality improvement of functional fermented milk.

Key words: probiotic; fermented milk; flavor; texture; activity of stains

发酵乳指的是以生牛(羊)乳或乳粉为原料, 经杀菌、发酵后制成的 pH 降低的产品^[1], 一般由德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)发酵而成。发酵乳的本质是一种乳蛋白凝

胶, 凝胶物质的组成和结构是影响发酵乳品质的关键因素。由于发酵工艺及贮藏条件的不同, 发酵乳产品的凝胶特性、风味、贮藏稳定性也有所不同。我国的发酵乳产品一般分为发酵乳和风味发酵乳^[1]。风味发酵乳在发酵乳的基础上添加了营养强化剂、果蔬

收稿日期: 2024-05-31

基金项目: 国家自然科学基金(32072196)。

作者简介: 戴一佳(2002-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物, E-mail: 2413446075@qq.com。

* 通信作者: 赵亮(1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: lzhaoc@cau.edu.cn。

制品等, 益生菌发酵乳属于此类范畴, 占发酵乳市场的比例超过 1/3^[2]。

益生菌是指摄入足够数量对宿主产生有益作用的活的微生物。目前广泛应用的益生菌主要包括乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)。益生菌通过调控宿主的肠道微生物平衡, 直接或间接地影响宿主健康^[3], 具有改善便秘腹泻、缓解肠道炎症、调节机体免疫、降低氧化应激水平、调节血脂和血糖水平^[4], 缓解乳糖不耐等益生功能。

发酵乳是益生菌应用的优良载体, 是我国益生菌应用的主要形式, 占益生菌市场规模的 78.4%^[5]。益生菌的添加提升了发酵乳产品的健康属性, 具有广阔的市场前景。添加益生菌可能影响发酵乳的质构、风味等品质, 如任然^[6]在发酵乳中添加了干酪乳酪杆菌 CICC-20280 (*Lactocaseibacillus casei*), 不仅能提高发酵乳的粘度, 还使发酵乳中酸类、酮类等重要风味物质的含量升高, 提升了发酵乳的品质。白梅等^[7]的研究表明在发酵乳中添加益生菌干酪乳酪杆菌 Zhang 和/或乳双歧杆菌 V9 能够改善其质构特性和贮藏稳定性; 另一方面, 发酵乳的组分、贮存条件会通过影响益生菌产品中的活性影响而菌株益生功能, 如贮存期间的高酸度环境会对菌株生存造成胁迫, 使活菌数难以达到标准。

目前国内外关于益生菌发酵乳的研究主要集中在评价从传统发酵食品分离出来的新型益生菌的有益作用^[8-9], 通过将这些益生菌应用于发酵乳, 研究其对发酵乳制品的感官品质和功能特性的影响。然而不同益生菌对发酵乳品质影响具有菌株特异性, 机制仍不清楚; 生产过程中如何选择合适的菌种及接种量、加工工艺、贮藏条件以维持益生菌的存活剂量还存在较大困难^[10-11]。本文综述了益生菌影响发酵乳质构、风味的机理, 总结了益生菌对发酵乳质构、风味品质的规律; 通过分析发酵乳中菌种的互作、pH、温度等环境因素, 总结了提高菌株稳定性和应用水平的技术手段, 旨在为益生菌发酵乳的开发和应用提供理论依据。

1 益生菌对发酵乳品质的影响

1.1 益生菌对发酵乳质构的影响

发酵乳的质构基础是酪蛋白复合凝胶, 凝胶结构是发酵过程中由于乳酸菌产酸使 pH 降低至酪蛋白等电点, 导致酪蛋白聚集所形成的三维网状含水结构。凝胶结构的强度主要与凝胶形成动力学、酪蛋白网络结构的排列、多糖及脂肪、蛋白^[12]的组成与分子量等有关。此外, pH 和温度等环境因素也会通过影响酪蛋白胶束的相互作用及与变性乳清蛋白的交联、颗粒表面的 Zeta 电位影响凝胶结构的稳定性^[13]。

由于低凝胶强度容易导致发酵乳脱水及乳清析出^[14], 黏度和硬度下降, 从而对产品的组织状态和口感造成不利影响^[15]。为增强凝胶强度, 工业生产往

往通过优化均质、热处理等加工工艺或添加果胶、淀粉等稳定剂增强发酵乳蛋白网络结构强度^[16]。与稳定剂相比, 在发酵乳中添加特定益生菌也能起到维持乳蛋白凝胶稳定性的效果。

益生菌主要通过代谢和分泌 EPS^[17] 影响发酵乳的凝胶结构, 研究表明, 在发酵乳中添加发酵乳杆菌 (*Limosilactobacillus fermentum*) 和植物乳植杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*), 可水解商业发酵菌未水解的蛋白质, 产生更多小分子肽以加强乳蛋白网络结构的交联^[18]。此外, 部分益生菌如鼠李糖乳酪杆菌 (*Lactocaseibacillus rhamnosus*)、干酪乳酪杆菌 (*Lactocaseibacillus casei*)、植物乳植杆菌、双歧杆菌 (*Bifidobacterium*)、乳酸乳球菌乳脂肪亚种^[19] (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 产生的游离型^[20] 胞外多糖 (EPS) 也可起到增稠的效果, 制备的发酵乳析水率低于果胶和琼脂强化型发酵乳^[21], 可作为一种天然增稠剂应用于发酵乳生产^[22]。

益生菌产 EPS 对酸奶质构稳定性具有明显贡献, 也是研究和实际应用的热点。EPS 通过与蛋白质相互作用形成连续的分支蛋白网络, 从而提高发酵乳的凝胶硬度和粘度以及保水性。Costa 等^[23] 在脱脂乳中分别接种产 EPS 的乳脂乳球菌 *Lactococcus cremoris* DPC6532 和不产生 EPS 的同基因变种, 结果表明由产 EPS 菌株所发酵的发酵乳黏度较高, 持水性较好。主要是因为溶解在乳清相中的 EPS 对蛋白质起到排斥作用, 从而形成较大的酪蛋白聚集物, 使凝胶强度显著增加。Ruas-Madiedo 等^[24] 对比了五株乳酸乳球菌所产 EPS 的结构, 结果表明摩尔质量大, 主链含较多 α -1,4 糖苷键、侧基空间位阻大的 EPS 粘度较大 ($>1.5 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$), 可提高发酵乳的凝胶强度。Gentes 等^[25] 也发现 EPS 的分子量和分支度与发酵乳粘度、硬度呈正相关, 且 EPS 结构中的负电荷可通过在相邻蛋白聚集物之间形成桥联来提高酪蛋白网络的弹性, 从而增强凝胶的结构。而中性的多糖如淀粉、瓜尔胶等不直接参与蛋白质网络的形成, 以填料形式吸收蛋白网络孔隙中的水分, 增加乳清相的黏度^[26]。由此表明, EPS 对发酵乳凝胶强度的调节作用主要取决于 EPS 的结构 (分子质量、分支度、电荷量) 以及它们与其他物质的相互作用, 其中分子量大、分支度高、带负电荷的 EPS 可增强凝胶强度, 提高发酵乳的粘度、硬度以及持水力^[27]。合成 EPS 的基因位于乳酸菌染色体或质粒上, 在质粒上编码的基因 EPS 产量较不稳定, 菌株在没有环境压力的情况下容易丧失 EPS 的生产能力^[28], 且不同菌株产 EPS 的能力有较大差异 (浓度在 0.1~100 mg/L 范围内)^[12,29], 因此 EPS 的结构、生产能力及产量稳定性具有显著的特异性^[30], 对发酵乳质构稳定性的影响差异巨大, 目前对于 EPS 影响发酵乳质构的量效、构效关系仍不完全明确。为了筛选 EPS 产量稳定且结构符合要求的菌株应用于发酵乳生产, 可将表型和

已公布的基因型数据相关联,但目前的研究在基因组水平上的具体机制(如单糖单元的排列方式和 EPS 产量的调控机制)仍未完全阐明。

1.2 益生菌对发酵乳风味品质的影响

发酵乳的风味品质与发酵剂种类、加工工艺、原料乳特性以及添加剂、贮藏条件等多种因素有关。发酵乳中大部分风味物质由乳酸菌代谢产生,因此发酵剂的选择是关键影响因素。发酵乳风味物质主要包括酮类、醛类、酸类、酯类。乳酸菌通过糖酵解、蛋白质和脂肪分解作用产生乳酸和多种挥发性有机芳香化合物,从而赋予发酵乳特殊的风味。其中糖酵解的重要中间产物丙酮酸可以部分转化为双乙酰和乙偶姻,赋予发酵乳独特的奶油味和黄油味;丙酮酸的其他代谢产物如乙醛、乙酸也是发酵乳中的关键风味成分。除此之外,脂类水解产生的游离脂肪酸和乳酸菌通过氨基酸代谢转化生成的多种化合物也会对发酵乳的风味产生影响^[8]。表 1 列出了发酵乳中主要的风味物质。然而,并非所有挥发性成分都具有重要的感官意义,只有其浓度超过阈值时才能被感知。通常认为赋予发酵乳理想风味的主要化合物是乳酸、乙醛、双乙酰、2-丁酮等,当这些化合物的含量在适当水平时,发酵乳的风味较好。例如发酵乳中乙醛的最佳浓度在 14~20 mg/kg 之间,低于 8.0 mg/kg 时味道较淡;而过量的乙醛会导致发酵乳口感较涩,产生异味^[31]。

为了使发酵乳中风味物质的浓度适当浓度,工业生产过程可以利用发酵剂与益生菌共同培养改善发酵乳的风味品质^[31]。其木格苏都等^[32]的研究表明嗜热链球菌与干酪乳酪杆菌 Zhang 复配发酵有利于提高发酵乳中 2,3-丁二酮和己酸的含量,促进风味物质的形成。Xu 等^[33]将四种常见的益生菌与传统发酵剂共同发酵,发现费氏丙酸杆菌谢氏亚种(*Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii*)的添加能够提高发酵乳中 2,3-丁二酮的含量,从而显著改良发酵乳风味。除了提高某种风味化合物的含量,益生菌还可起到改善不良风味的作用,延长产品附加值。Liu 等^[34]在发酵核桃乳中添加植物乳植杆

菌 LP56,研究表明发酵后的甜味氨基酸、鲜味氨基酸含量提高且导致产品较浓青草味的醛类物质含量降低,提升了核桃发酵乳的品质。

1.3 益生菌对发酵乳后酸化的影响

发酵乳在在贮藏、运输和销售过程中耐酸性的乳酸菌由于 β -半乳糖苷酶在低温(0~5 ℃)依旧保持较高的活性^[38],将继续利用剩余乳糖代谢产酸使发酵乳 pH 下降至 4.0 以下,导致蛋白质之间的疏水和静电相互作用增加,胶体磷酸钙(CCP)溶解、蛋白质网络重构^[39],从而使发酵乳脱水和乳清析出、风味劣化的现象称为发酵乳的后酸化。

发酵乳贮藏期间后酸化程度的增加主要来源于发酵剂中的德氏乳杆菌保加利亚亚种^[40]。益生菌主要通过影响发酵剂菌种的生长影响后酸化进程,影响程度与其低温贮藏期间的生长能力有关,存在菌株特异性^[30]。嗜酸乳杆菌、双歧杆菌等益生菌的生长会受到发酵过程中产生的过氧化氢、酸的抑制^[41]。兼性厌氧菌如植物乳植杆菌等,氧气对菌体细胞本身没有损伤作用,但是在其代谢过程中所产生的活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)、(过氧化氢(H_2O_2))、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)以及过氧化自由基能引起脂类、蛋白质及 DNA 等的损伤,进而破坏菌体细胞^[42];而蛋白水解能力强的益生菌如嗜酸乳杆菌等可通过水解乳蛋白分泌更多氨基酸、肽等营养因子,促使发酵剂菌种更好地生长,促进产酸,加速后酸化^[40]。也有研究表明产 EPS 的益生菌株可通过竞争利用乳糖优先产生 EPS 而非乳酸,从而减缓发酵乳后酸化程度,维持发酵乳的凝胶结构^[39]。因此益生菌主要通过影响发酵剂菌种的生长影响后酸化进程,影响程度与其低温贮藏期间的生长能力有关,存在菌株特异性^[30]。

2 发酵乳中益生菌的稳定性

根据 FAO/WHO 建议,发酵乳产品每日益生菌活菌摄入量应不低于 10^6 CFU/g^[43],欧美及日本等国则规定应达到 10^7 CFU/g 以上。摄入益生菌达到一定数量才能发挥其益生功能,因此益生菌在发酵乳中的稳定性是产品关注的重点。影响发酵乳中益生菌

表 1 发酵乳中主要风味化合物、香气描述^[35-37]

Table 1 Description of the main flavor compounds and aroma in fermented milk^[35-37]

类别	风味化合物	香气描述	阈值(mg·kg ⁻¹)	主要菌种	主要代谢途径
酮类	双乙酰、乙偶姻、2,3-戊二酮	黄油味、奶油味	0.001~0.020	鼠李糖乳酪杆菌、肠膜明串珠菌、乳酸乳球菌等	丙酮酸代谢、柠檬酸代谢
	2-庚酮	药香	8×10^{-9} ~0.832		
	2-壬酮	乳酪味、奶香味	8×10^{-9} ~0.832		
	丙酮	水果香	8×10^{-9} ~0.832		
醛类	己醛、正辛醛	草香	0.0004~0.0390	保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌等	苏氨酸代谢、丙酮酸代谢
	乙醛、苯乙醛	青苹果味、花香	0.004~0.390		
	甲酸、异丁酸、戊酸	花香	0.05~1.84		
酸类	辛酸	弱水果酸味	0.1~2.0	肠膜明串珠菌、短乳杆菌等	HMP途径、氨基酸代谢等
	己酸	脂肪味、乳酪味	0.05~1.84		
酯类	乙酸乙酯、乙酸丁酯	果香、花香	0.001~3.300	嗜热链球菌、乳酸乳球菌乳亚种等	甘油三酯的分解生成游离脂肪酸、酯酶催化

稳定性的因素主要有菌株间的互作和环境条件。发酵乳发酵过程中,不同菌株间存在共生或拮抗作用,表现出拮抗作用的菌株主要通过产生细菌素^[44]影响其他菌株的生存能力,起到抑制有害微生物的作用。研究表明,竞争微生物通过群体感应(QS)途径调控的某些特定成分(如植物乳植杆菌素)的调控系统的激活,可引发微生物拮抗作用。与植物乳植杆菌 *L. plantarum* DC400 共培养时,旧金山乳杆菌 *L.san-franciscensis* DPPMA174 和戊糖片球菌 *P. pentosaceus* 2XA3 的生长受到抑制,与各自的单一培养相比,死亡或受损细胞数量增加^[45]。此外,温度、pH 也是影响活菌数稳定性的关键因素。由于益生菌的适宜温度普遍在 30~40 ℃ 之间,且大多数益生菌是嗜中性的,生长最适 pH 在 5~9 之间^[43],因此发酵乳贮藏期间的温度变化、酸度上升易导致菌体存活率下降,影响菌株益生功能的发挥^[46]。研究表明,将发酵乳分别置于 4、-10、-20 ℃ 的温度下贮藏,活菌数存在较大差异。4 ℃ 贮藏条件下,益生菌缓慢生长,数量逐渐增加;而-10 与-20 ℃ 条件会导致酸乳发生冻结,从而使菌体内部水分逐渐结晶,刺破细胞,造成死亡^[47]。除了低温胁迫,较高的贮藏温度会使乳酸菌大量繁殖产酸,导致益生菌活菌数下降。当发酵乳酸度较高时,益生菌的生长同样受到抑制,容易出现菌体老化、活菌数下降等现象。吕嘉枋等^[48]以干酪乳酪杆菌、植物乳植杆菌、鼠李糖乳酪杆菌等 13 株常见的乳酸菌为研究对象,研究酸胁迫对其活性的影响。结果表明,随着酸胁迫程度的增强,乳酸菌的活性受到不同程度的抑制,其中当 pH 为 1~3 时,13 株乳酸菌的抑制率在 90% 以上。此外对氧气高度敏感的益生菌如双歧杆菌,活性氧 ROS 可导致其蛋白质错误折叠和聚集、DNA 损伤和脂质过氧化^[49],使活菌数无法达到标准。因此工业生产往往采取一定技术手段提高发酵乳中益生菌的稳定性,从而维持发酵乳的健康特性。

2.1 提高发酵乳中益生菌株稳定性的技术

2.1.1 提高菌株自身耐受能力 工业生产中,益生菌往往面临不利于生存的环境胁迫^[50]。如发酵过程中容易遭到氧化胁迫,冷链运输和贮藏期间易遭受低温胁迫和酸胁迫。氧化胁迫过程中生成的超氧阴离子自由基(O₂⁻·)、过氧化氢(H₂O₂)和羟自由基(·OH)等活性氧簇攻击蛋白质、DNA 和脂类等大分子,造成

细胞衰老和死亡,导致菌体存活率下降和活性衰减。此外,发酵过程中的酸性环境以及进入人体消化道后胃酸会导致菌体胞内的 pH 下降,代谢途径中部分酸敏感的酶失活,从而严重影响能量供给。因此,通过诱变育种、食品级基因改造等技术手段筛选对氧化胁迫、酸胁迫等不良环境具有较强抵抗能力的菌株是提高益生菌稳定性的关键^[51]。

2.1.1.1 诱变育种 野生型菌株具有代谢产量低、耐受性低、稳定性低等缺点,难以满足工业化需求。诱变育种通过改良微生物的遗传性状提高益生菌的耐受能力,是现代食品工业及发酵工业中的重要育种途径^[52]。常用的诱变育种方法一般可以分为物理、化学及复合诱变。在益生菌菌种选育中,由于化学诱变试剂普遍毒性较大,物理诱变是常用的诱变方式^[53]。物理诱变主要包括紫外线诱变、α、γ 射线诱变。但紫外诱变存在诱变效应具有菌种特异性、可见光修复导致突变的不稳定性等局限^[54]。针对这一现状,目前较多研究采用常压室温等离子体(Atmospheric Room Temperature Plasma, ARTP)、重离子束辐射(Heavy Ion Beam Irradiation, HIB)等新型物理诱变技术。化学诱变剂种类繁多且适用性较广,与物理诱变相比相对经济。为了提高菌株突变率,通常采用两种或以上诱变剂同时或先后作用,也可将物理诱变和化学诱变复合处理进行复合诱变。诱变育种在益生菌选育中的应用如表 2 所示。

2.1.1.2 食品级基因改造 利用基因工程技术改造传统的发酵菌株^[60],增强其对不良环境的抵抗能力是目前食品生物技术领域的研究热点之一,但我国法规要求,基因工程改造菌株不能用于食品。食品级基因修饰菌(genetically modified microorganisms)是指被导入公认安全的食品级微生物的基因,并因此具有某种优良性状的用于发酵等食品工业生产的微生物。目前在基因工程领域已建立一系列基于乳酸菌的遗传转合系统,其诱导剂、筛选标准均为食品级,符合美国食品和药物管理局的安全标准^[61]。通过研究胁迫抵抗机制,找到提高益生菌胁迫抗性的途径进行食品级基因改造,能够显著增强对环境胁迫的抵抗能力。

翟征远^[62]采用蛋白组学技术和转录水平分析相结合的方法对保加利亚乳杆菌 CAUH1 的酸耐受反应中的差异基因进行分离鉴定,并进一步采用超量表

表 2 诱变育种技术在益生菌中的应用

Table 2 Application of mutagenesis breeding technology in probiotics

益生菌	诱变方式	诱变结果	参考文献
植物乳植杆菌SS18-50	太空诱变	与原始菌株相比具有良好的发酵性能,耐酸性、耐盐性分别提高8%、9%,且抗菌活性显著提高	[55]
凝结芽孢杆菌	ARTP诱变	在pH2.5、0.3%胆盐胁迫下的耐受性提高	[56]
乳酸片球菌L15	紫外诱变	EPS产量提高32.1%,且耐酸性、耐胆盐性增强	[57]
短双歧杆菌、长双歧杆菌	甲硫酸乙酯诱变	β-半乳糖苷酶活性显著提高	[58]
乳糖链球菌FGM	紫外线和亚硝基胍复合诱变	发酵黄芪产物中多糖含量较出发菌株提高94.99%	[59]

达实验对其进行功能验证,结果表明 Ldb0677 在抗氧化胁迫反应中起到重要的调控作用。杨扬^[51]通过揭示植物乳植杆菌 CAUH2 的氧化胁迫应激机制,选择转录水平上调最为显著的麦芽糊精 ABC 转运系统的通透酶基因 *mdx*F 进行基因突变,成功筛选到参与氧化胁迫应激调控的关键转录因子,从而提高菌株抗氧化胁迫的能力。氨基酸代谢调节在胞内 pH 调节中发挥着重要作用,卢承蓉^[52]将精氨酸琥珀酸合成酶(ASS)和精氨酸琥珀酸裂解酶(ASL)在乳酸乳球菌 *Lactococcus lactis* NZ9000 重组表达,从而引起氨基酸代谢流量的增加,结果表明重组菌株在酸胁迫条件下的生长性能及耐受性均高于对照菌。通过对益生菌进行食品级基因改造提高其抗氧化胁迫和酸胁迫的能力有利于维持活菌数的稳定性。

2.1.2 外源活性物质 除了提高菌株自身耐受能力,在发酵乳中添加多糖、细菌素等外源活性物质促进益生菌生长也能增强益生菌的稳定性。益生元是通过向益生菌提供营养,使肠道内的有益菌将其分解、消化、吸收,从而起到促进益生菌的生长繁殖的非消化成分,具有提高益生菌活性的作用^[63]。低聚果糖、低聚半乳糖、菊粉是常见的益生元制剂。刘秀清等^[64]研究了低聚木糖、低聚果糖和低聚异麦芽糖 3 种益生元对发酵乳中鼠李糖乳酪杆菌活性的影响,结果表明 3 种益生元均可促进鼠李糖乳酪杆菌生长,提高益生菌的活性,其中低聚麦芽糖的效果最好。张娜等^[65]在发酵乳中添加了低聚木糖和低聚异麦芽糖的混合糖,结果表明能够维持植物乳植杆菌 ZDY2013 在发酵乳中的浓度,提高益生菌的稳定性。刘洋等^[66]也得到了类似的结论:低聚糖对益生菌活菌数具有较为显著的增殖效果,但不同的低聚糖对发酵乳的酸度的降低具有不同效果。因此在实际应用过程添加低聚糖需进一步筛选,避免产生后酸化等影响发酵乳品质。此外,菊粉^[67]、甜菊糖苷^[68]、谷氨酰胺转氨酶^[69]也可作为功能性添加剂应用于发酵乳生产。Bifidocin A 是由动物双歧杆菌 BB04 代谢合成的一种新型细菌素,邱爽等^[70]将细菌素 bifidocin A 添加到发酵乳中,发现在维持正常酸度的前提下,持水力、挥发性风物质含量显著提高。生产应用时可通过复配上述稳定剂来强化其功效,但复配比例以及最佳添加量需要进一步确定。

2.1.3 微胶囊技术 益生菌微胶囊技术是指用半透性和生物相容性基质作为载体包埋益生菌,达到目标部位后进行缓慢释放的一种起到保护和递送作用的新技术^[71]。微胶囊的制备技术主要包括物理方法、化学方法和物理化学方法 3 大类。目前在食品行业中已被推广应用的技术有挤压法、乳化法、喷雾干燥法、冷冻干燥法等^[72]。微胶囊由壁材外壳和芯材两部分组成。通常将益生菌作为芯材进行包埋,而微胶囊壁材外壳作为一种物理屏障可以提高益生菌对不良环境的抗力,保护益生菌在加工和贮藏过程和

在上消化道(口腔、胃、小肠等)不被释放,从而有效解决发酵乳贮藏期间益生菌活菌数下降、胃酸不耐的问题。因此,提高微胶囊的包埋效果可以显著提高益生菌的稳定性。

为了提高益生菌包埋效果,需选择合适的壁材。不同壁材在流动性、溶解性、缓释性和渗透性等方面效果不同。海藻酸钠、壳聚糖和果胶等天然高分子材料常作为益生菌微胶囊壁材。Prasanna 等^[73]用海藻酸钠对动物双歧杆菌 Bb-12 进行包埋应用于发酵乳中,结果表明动物双歧杆菌 Bb-12 的存活率显著提高,且能够抑制发酵乳的后酸化。Wu 等^[74]利用阿拉伯木聚糖和海藻酸盐的相互作用增强了微胶囊结构强度,从而提高了发酵乳中植物乳植杆菌的稳定性。

虽然大量研究已表明微胶囊技术可以提高发酵乳中益生菌的稳定性,但该技术的应用仍存在一定缺陷。目前国内益生菌微胶囊技术的研究主要集中于单一菌种,对不同菌种同时包埋的研究较少,且新型包埋壁材的应用还需进行安全性评价^[72]。有研究发现,益生菌的微胶囊化会对发酵乳制品的感官质量造成一定影响。如利用喷雾干燥法制备微胶囊的过程中,由于出口温度较高发生的美拉德反应会影响胶囊的颜色,且对发酵乳的质地风味也会造成一定影响。此外,益生菌微胶囊化工艺较为复杂,可能增加生产成本。因此,在应用微胶囊技术时仍需进一步优化生产工艺,在提高益生菌稳定性的同时保证发酵乳的感官品质。

2.1.4 其他技术 除上述技术外,超声波技术作为一种广泛使用的食品加工技术也可用于提高发酵乳中益生菌的活性。Gholamhosseipour 等^[75]研究了超声波处理对发酵乳中植物乳植杆菌 AF1 的影响,结果表明经处理后发酵过程中植物乳杆菌 AF1 活菌数提高,可能是因为低频超声可以通过在细胞膜上形成瞬态气孔,从而提高细胞膜的渗透性,促进了细胞内酶等代谢物的分泌,刺激细胞生长和繁殖。但长时间超声处理也会导致益生菌存活率降低。Niamah^[76]的研究表明超声波处理对益生菌对效果取决于菌株的类型,在相同的功率下处理 10 min,动物双歧杆菌的存活率相较于其他菌株减少。低频超声处理发酵乳可通过提高酶活促进益生菌生长,但应用时需要针对菌株优化超声处理的条件。此外,低频超声波(100 kHz)处理可使菌体细胞释放 β -半乳糖苷酶,加速反式半乳糖基化,促进乳糖水解发酵^[77],从而提高益生菌的酶活增加糖和蛋白质的分解。一些蛋白水解能力强的益生菌可通过产生氨基酸、肽等营养物质促进商业发酵菌株生长,从而为开发新型功能性发酵乳制品提供机遇^[78]。

3 结论与展望

发酵乳作为益生菌重要的食品载体,是益生菌的主要应用形式。益生菌可以通过水解蛋白质产生

小分子肽和分泌胞外多糖增强乳蛋白网络的交联, 提高发酵乳质构稳定性; 也可通过代谢增强发酵乳风味, 此外益生菌的添加也会影响发酵乳的后酸化程度。在益生菌应用过程中应对产品品质进行评价, 重点关注优良益生菌的筛选和适配。发酵乳中菌种互作、贮藏环境会影响益生菌的活性, 可通过诱变育种、食品基因改造、外源活性物质的添加、微胶囊及超高压等新兴技术增强菌株的耐受能力, 增强益生菌活菌数的稳定性并提高益生菌的应用水平。未来可以持续开展益生菌对发酵乳品质影响机制, 开发高稳定性、具备生产性能和益生功能多功能菌株, 实现益生菌在发酵乳中的广泛应用。

© 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] 中华人民共和国卫生部. GB 19302-2010 食品安全国家标准 发酵乳[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010. [Ministry of Health P. R. China. GB 19302-2010 National food safety standard. Fermented milk[S]. Beijing: Standards Press of China, 2010].
- [2] 杨海燕. 益生菌酸奶的发展现状与趋势展望: 从概念到功效[Z]. “亚运食品安全保障与广东食品产业创新发展”学术研讨会暨 2009 年广东省食品学会年会论文集, 2009: 371-373. [YANG Haiyan. Development status and trend of probiotic yogurt: From concept to efficacy[Z]. Proceedings of the Symposium on "Food Safety and Security for the Asian Games and the Innovative Development of Guangdong Food Industry" and the Annual Conference of Guangdong Food Society in 2009, 2009: 371-373.]
- [3] ABESINGHE A M N L, PRIYASHANTHA H, PRASANNA P H P, et al. Inclusion of probiotics into fermented buffalo (*Bubalus bubalis*) milk: An overview of challenges and opportunities[J]. *Fermentation*, 2020, 6(4).
- [4] 张群. 新型益生菌发酵乳制品的研究与开发[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(6): 672. [ZHANG Qun. Research and development of new probiotic fermented dairy products[J]. *Journal of Food and Biotechnology*, 2015, 34(6): 672.]
- [5] 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 of probiotic fermented milk[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2020, 20(10): 1-7.]
- [6] 任然. 四株益生菌对发酵酸奶保质期品质和风味影响的研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2021. [REN Ran. Effects of four strains of probiotics on shelf-life quality and flavor of fermented yogurt[D]. Chengdu: Southwest University for Nationalities, 2021.]
- [7] 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. Effect of extracellular polysaccharide content on rheological properties, texture and stability of fermented milk from probiotic *Lactobacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium lactis* V9[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2021, 21(4): 193-202.]
- [8] 孙昕萌, 袁惠萍, 赵钜阳. 发酵乳风味及其分析技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6111-6117. [SUN Xinmeng, YUAN Huiping, ZHAO Juyang. Advances in fermented milk flavor and its analytical techniques[J]. *Journal of Food Safety and Quality Testing*, 2021, 12(15): 6111-6117.]
- [9] KARIYAWASAM K M G M M, LEE N K, PAIK H D. Fermented dairy products as delivery vehicles of novel probiotic strains isolated from traditional fermented Asian foods[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2021, 58(7): 2467-78.
- [10] 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.
- [11] ALADEBOYEJE O T, SANLI N O. Fermented traditional probiotic beverages of Turkish origin: A concise review[J]. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2021, 4(3): 546-564.
- [12] 罗天淇, 杨智杰, 张敏, 等. 基于不同乳糖浓度的乳蛋白浓缩物发酵特性研究[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(3): 77-85. [LUO Tianqi, YANG Zhijie, ZHANG Min, et al. Fermentation characteristics of milk protein concentrate under different lactose concentrations[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 38(3): 77-85.]
- [13] PRIYASHANTHA H, BULDO P, BERG T, et al. Understanding the fermentation factors affecting the separability of fermented milk: A model system study[J]. *Food Structure-Netherlands*, 2021, 30.
- [14] ARAB M, YOUSEFI M, KHANNIRI E, et al. A comprehensive review on yogurt syneresis: Effect of processing conditions and added additives[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2022.
- [15] 张睿, 刘继超, 药璐, 等. 益生菌对发酵乳理化性质影响的研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(6): 66-70. [ZHANG Rui, LIU Jichao, YAO Lu, et al. Study of probiotics on the impact of physical and chemical properties of fermented milk[J]. *China Food Additives*, 2013(6): 66-70.]
- [16] LUCEY J A. Cultured dairy products: An overview of their gelation and texture properties[J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2004, 57(2-3): 77-84.
- [17] WANG L, GU Y C, LÜ Z L. Processing properties of yogurt as affected by the EPS produced by *Leuconostoc mesenteroides* XR1[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2022, 57(7): 4076-4085.
- [18] WANG Y J, FENG K B, JIN J H, et al. Comparison on properties between normal and A₂ bovine milk fermented using commercial bacteria mixed with/without two probiotics from human milk[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 216: 105-113.
- [19] NG K S, CHANG Y C, CHEN Y P, et al. Characterization of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from Taiwaneseropy fermented milk and their application in low-fat fermented milk[J]. *Animal Bioscience*, 2022, 35(2): 281-289.
- [20] KRISTO E, MIAO Z, CORREDIG M. The role of exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp cremoris in structure formation and recovery of acid milk gels[J]. *International Dairy Journal*, 2011, 21(9): 656-662.
- [21] XU Z Y, GUO Q B, ZHANG H, et al. Exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* S-3: Molecular, partial structural and rheological properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 194: 132-138.
- [22] 孔婧, 李梦洋, 权鑫, 等. 植物乳杆菌 L3 对发酵乳贮藏品质的影响[J]. 东北农业大学学报, 2022, 53(10): 56-66. [KONG

- Jing, LI Mengyang, QUAN Xin, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* L3 on storage quality of fermented milk[J]. Journal of North-east Agricultural University, 2022, 53(10): 56–66.]
- [23] COSTA N E, WANG L, AUTY M E, et al. Rheological, microscopic and primary chemical characterisation of the exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis* subsp. cremoris DPC6532 [J]. Dairy Science & Technology, 2012, 92(3): 219–35.
- [24] RUAS-MADIEDO P, TUINIER R, KANNING M, et al. Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. cremoris on the viscosity of fermented milks[J]. International Dairy Journal, 2002, 12(8): 689–695.
- [25] GENTES M C, ST-GELAIS D, TURGEON S L. Gel formation and rheological properties of fermented milk with in situ exopolysaccharide production by lactic acid bacteria[J]. Dairy Science & Technology, 2011, 91(5): 645–661.
- [26] LANEUVILLE S I, TURGEON S L. Microstructure and stability of skim milk acid gels containing an anionic bacterial exopolysaccharide and commercial polysaccharides[J]. International Dairy Journal, 2014, 37(1): 5–15.
- [27] ABARQUERO D, RENES E, FRESNO J M, et al. Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: A review[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2022, 57(1): 16–26.
- [28] KORCZ E, VARGA L. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 375–84.
- [29] BACHTARZI N, KHARROUB K, RUAS-MADIEDO P. Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian dairy products and their application for skim-milk fermentations[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 107: 117–124.
- [30] MENDE S, ROHM H, JAROS D. Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products[J]. International Dairy Journal, 2016, 52: 57–71.
- [31] CHEN C, ZHAO S S, HAO G F, et al. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20: S316–S330.
- [32] 其木格苏都, 郭壮, 王记成, 等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 对凝固型发酵乳质构和挥发性风味物质的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 595–605. [Qimugesudu, GUO Zhuang, WANG Jicheng, et al. Effects of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on the texture profile and volatile compounds of set yogurt[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(3): 595–605.]
- [33] XU S, BOYLSTON T D, GLATZ B A. Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(23): 9064–9072.
- [34] LIU W, PU X, SUN J, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* on functional characteristics and flavor profile of fermented walnut milk[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 160.
- [35] MCAULIFFE O, KILCAWLEY K, STEFANOVIC E. Symposium review: Genomic investigations of flavor formation by dairy microbiota[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(1): 909–922.
- [36] 周钺, 李健, 张玉, 等. 多组学技术联用在传统发酵乳品风味代谢调控中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 238–243. [ZHOU Yue, LI Jian, ZHANG Yu, et al. Progress in the application of multi-omics technologies in the regulation of flavor metabolism in traditional fermented dairy products[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(8): 238–243.]
- [37] 丹彤, 田佳乐, 乔少婷. 具有良好风味德氏乳杆菌保加利亚亚种的筛选及其产香性能分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 229–234. [DAN Tong, TIAN Jiale, QIAO Shaoting. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with good flavor properties and analysis of its aroma production[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 229–234.]
- [38] KAILASAPATHY K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt [J]. LWT-Food Science and Technology, 2006, 39(10): 1221–1227.
- [39] DESHWAL G K, TIWARI S, KUMAR A, et al. Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 499–512.
- [40] DONKOR O N, HENRIKSSON A, VASILJEVIC T, et al. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage[J]. International Dairy Journal, 2006, 16(10): 1181–1189.
- [41] 余之蕴, 黄宝莹, 李姣, 等. 发酵乳中乳酸菌的保健功能及其存活力影响因素[J]. 中国乳业, 2013(5): 54–57. [SHE Zhiyun, HUANG Baoying, LI Jiao, et al. Health function and influential factors of lactic acid bacteria viability in fermented milk[J]. Dairy Industry, 2013(5): 54–57.]
- [42] 赵亚荣, 张文羿, 孙天松. 乳酸菌环境胁迫应答分子机制研究进展[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(4): 42–45. [ZHAO Yarong, ZHANG Wenyi, SUN Tiansong. Research on the molecular mechanisms of Lactic acid bacteria responding to environmental stress[J]. China Dairy Industry, 2014, 42(4): 42–45.]
- [43] 张敏, 姜云芸, 杨贞耐. 益生菌发酵乳低温酸性双重胁迫致益生菌损伤机制的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 333–338. [ZHANG Min, JIANG Yunyun, YANG Zhennai. Research progress on the mechanism of probiotic damage caused by low-temperature acidic double stress in probiotic fermented milk[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2019, 10(2): 333–338.]
- [44] GERIA M, CARIDI A. Methods to assess lactic acid bacteria diversity and compatibility in food[J]. Acta Alimentaria, 2014, 43(1): 96–104.
- [45] KWOJI I D, AIYEGORO O A, OKPEKU M, et al. Multi-strain probiotics: Synergy among isolates enhances biological activities[J]. Biology-Basel, 2021, 10(4): 322.
- [46] 陈臣, 张晓丛, 袁海彬, 等. 益生菌包埋前沿技术及其研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(1): 384–396. [CHEN Chen, ZHANG Xiaocong, YUAN Haibin, et al. Frontier technology of probiotic embedding and its research progress[J]. Chinese Journal of Food Science, 2023, 23(1): 384–396.]
- [47] 张岩, 李健, 陈炼红. 不同贮藏温度对酸乳中乳酸菌活菌数以及品质影响的研究[J]. 食品科技, 2015, 40(11): 329–333. [ZHANG Yan, LI Jian, CHEN Lianhong. Effect of different storage temperatures on lactic acid bacterial count and yogurt quality [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(11): 329–333.]
- [48] 吕嘉枬, 伍金金, 周冰洋, 等. 酸和盐胁迫对乳酸菌活性的影响[J]. 中国酿造, 2020, 39(10): 90–95. [LÜ Jiali, WU Jinjin, ZHOU Bingyang, et al. Effect of acid and salt stress on lactic acid bacteria growth[J]. China Brewing, 2020, 39(10): 90–95.]
- [49] 刘亚萍, 钱佳俊, 郑雯清, 等. 双歧杆菌氧胁迫应答机制研究进展[J]. 工业微生物, 2021, 51(6): 50–55. [LIU Yaping, QIAN Jiajun, ZHENG Wenqing, et al. Advances in *Bifidobacterium* oxygen stress response mechanism[J]. Industrial Microbiology, 2021,

- 51(6): 50-55.]
- [50] 王岱, 韩越眉, 桂亚, 等. 低氮源培养对鼠李糖乳杆菌胁迫耐受能力的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(10): 78-83. [WANG Dai, HAN Yuemei, GUI Ya, et al. Influence of nitrogen sources on the stress tolerance of *Lactobacillus rhamnosus*[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(10): 78-83.]
- [51] 杨扬. 植物乳杆菌 CAUH2 氧化胁迫反应机制及转录因子 CopR 在氧化胁迫应答中的作用[D]. 北京: 中国农业大学, 2018. [YANG Yang. Mechanism of oxidative stress response of *Lactobacillus plantarum* CAUH2 and the role of transcription factor CopR in oxidative stress response[D]. Beijing: China Agricultural University, China, 2018.]
- [52] 卢承蓉. 高产胞外多糖乳酸菌的诱变育种及多糖的结构和抗氧化活性研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020. [LU Chengrong. Mutagenesis and breeding of lactic acid bacteria with high production of extracellular polysaccharides and study on the structure and antioxidant activity of polysaccharides[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, China, 2020.]
- [53] 潘丽娜, 唐溶雪, 康文丽, 等. 物理诱变和高通量筛选在益生菌选育中的应用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 458-465. [PAN Lina, TANG Rongxue, KANG Wenli, et al. Application of physical mutagenesis and high throughput screening technology for probiotics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 458-465.]
- [54] 张俊桃, 刘文俊, 孟和毕力格. 酸奶弱后酸化发酵剂乳酸菌育种技术研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2017, 29(4): 481-486. [ZHANG Juntao, LIU Wenjun, MENGHE Bilige. Breeding of lactic acid bacteria with low post-acidification in yoghurt: Progress in research[J]. Chinese Journal of Microecology, 2017, 29(4): 481-486.]
- [55] WANG D, ZHANG T H, YE H Q, et al. *In vitro* probiotic screening and evaluation of space-induced mutant *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(11): 6031-6036.
- [56] LIU K Y, FANG H, CUI F J, et al. ARTP mutation and adaptive laboratory evolution improve probiotic performance of *Bacillus coagulans*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(14): 6363-6373.
- [57] 卢承蓉, 叶美芝, 上官文丹, 等. 高产胞外多糖乳酸菌的诱变育种及其益生特性[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(12): 14-20. [LU Chengrong, YE Meizhi, SHANGGUAN Wendan, et al. Mutation breeding for high-yield exopolysaccharide lactic acid bacteria and evaluation of its probiotic properties[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(12): 14-20.]
- [58] IBRAHIM S A, O'SULLIVAN D J. Use of chemical mutagenesis for the isolation of food grade beta-galactosidase overproducing mutants of *bifidobacteria*, *lactobacilli* and *Streptococcus thermophilus*[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(5): 923-930.
- [59] 陈婕. 用于发酵黄芪的益生菌株 FGM 诱变选育及突变株特性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015. [CHEN Jie. Mutagenesis of probiotic strain FGM for fermentation of Astragalus membranaceus and characterization of mutant strains[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, China, 2015.]
- [60] 杨勇, 艾连中, 熊智强, 等. 转座子编辑技术与 CRISPR 编辑技术在乳酸菌定向改良中应用的研究进展[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(6): 134-144. [YANG Yong, AI Lianzhong, XIONG Zhiqiang, et al. Research progress of application of transposon editing technique and CRISPR editing technique in directional improvement of lactic acid bacteria[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(6): 134-144.]
- [61] 马红丹, 张丽媛, 赵邯郅, 等. 大豆锰超氧化物歧化酶基因在乳酸乳球菌中的分泌表达[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 135-139. [MA Hongdan, ZHANG Liyuan, ZHAO Handan, et al. Cloning and expression of manganese superoxide dismutase gene by food-grade vector in *Lactococcus lactis*[J]. Food Science, 2015, 36(1): 135-139.]
- [62] 翟征远. 德氏乳杆菌保加利亚亚种 CAUH1 酸耐受机制的蛋白组学研究及抗酸胁迫基因 Ldb0677 和 pyk 的功能分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2014. [ZHAI Zhengyuan. Proteomic study on the acid tolerance mechanism of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus CAUH1 and functional analysis of acid stress resistance genes Ldb0677 and pyk[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.]
- [63] 柴振宇, 苑丽园, 周晓梅, 等. 益生元、益生菌微生态制剂对发酵乳发酵特性的影响[J]. 中国乳品工业, 2020, 48(12): 28-31. [CHAI Zhenyu, YUAN Liyuan, ZHOU Xiaomei, et al. Effects of probiotics and probiotics on the fermentation characteristics of fermented milk[J]. China Dairy Industry, 2020, 48(12): 28-31.]
- [64] 刘秀清, 刘璐, 李晓东. 不同益生元对发酵乳中鼠李糖乳杆菌活性的影响研究[J]. 现代农业科技, 2016(20): 262-263. [LIU Xiuqing, LIU Lu, LI Xiaodong. Study on the effect of different prebiotics on the activity of *Lactocaseibacillus rhamnosus* in fermented milk[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2016(20): 262-263.]
- [65] 张娜, 占英, 孟迎平, 等. 功能低聚糖对植物乳杆菌 ZDY2013 发酵乳发酵特性及冷藏效果的影响[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 34-42. [ZHANG Na, ZHAN Ying, MENG Yingping, et al. Effects of functional oligosaccharides on fermentation characteristics and cold storage of fermented milk using *Lactobacillus plantarum* ZDY2013[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 34-42.]
- [66] 刘洋, 瞿恒贤, 张龙飞, 等. 低聚糖对益生菌发酵乳功能特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 75-80. [LIU Yang, QU Hengxian, ZHANG Longfei, et al. Effects of oligosaccharides on the functional characteristics of probiotic fermented milk[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(5): 75-80.]
- [67] 王雅楠, 韩育梅, 何君. 添加益生元对酸乳凝胶过程及微观结构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 100-105. [WANG Yanan, HAN Yumei, HE Jun. Effect of prebiotics addition on gelation process and microstructure of yogurt[J]. Food Science, 2019, 40(15): 100-105.]
- [68] OZDEMIR T, OZCAN T. Effect of steviol glycosides as sugar substitute on the probiotic fermentation in milk gels enriched with red beetroot (*Beta vulgaris* L.) bioactive compounds[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134.
- [69] DMYTROW I, MITUNIEWICZ-MALEK A, ZIARNO M, et al. Storage stability of fermented milk with probiotic monoculture and transglutaminase[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2019, 37(5): 332-337.
- [70] 邱爽, 宋铮, 张璟琳, 等. 细菌素 bifidocin A 对凝固型发酵乳品质及贮藏性能的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(9): 156-165. [QIU Shuang, SONG Zheng, ZHANG Jinglin, et al. Effect of bacteriocin bifidocin A on the quality and storage performance of solidified fermented milk[J]. Chinese Journal of Food Science, 2020, 20(9): 156-165.]
- [71] 高向新, 陈永福, 乌斯嘎勒. 益生菌微胶囊的制备及其在食品中应用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 19-28. [GAO Xiangxin, CHEN Yongfu, Wusigale. Research progress of preparation and application of probiotic microencapsulation in

food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 19–28.]

[72] 靳浩文, 朱巧梅. 益生菌微胶囊技术对益生菌存活率影响的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022(25): 181–183. [JIN Haowen, ZHU Qiaomei. Research progress on the effect of probiotic microcapsule technology on the survival rate of probiotics[J]. China Food Safety Magazine, 2022(25): 181–183.]

[73] PRASANNA P H P, CHARALAMPOPOULOS D. Encapsulation in an alginate-goats' milk-inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt[J]. [International Journal of Dairy Technology](#), 2019, 72(1): 132–141.

[74] WU Y, ZHANG G. Synbiotic encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* by alginate-arabinoxylan composite microspheres[J]. [LWT-Food Science and Technology](#), 2018, 93: 135–141.

[75] GHOLAMHOSSEINPOUR A, HASHEMI S M B. Ultra-

sound pretreatment of fermented milk containing probiotic *Lactobacillus plantarum* AF1: Carbohydrate metabolism and antioxidant activity[J]. Journal of Food Process Engineering, 2019, 42(1): e12930.

[76] NIAMAH A K. Ultrasound treatment (low frequency) effects on probiotic bacteria growth in fermented milk[J]. Future of Food: Journal on Food, Agriculture and Society, 2019, 7(2).

[77] ASAITHAMBI N, SINGH S K, SINGHA P. Current status of non-thermal processing of probiotic foods: A review[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 303(5): 110567.

[78] CARRILLO-LOPEZ L M, GARCIA-GALICIA I A, TIRADO-GALLEGOS J M, et al. Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 73: 105467.