文章编号: 1673-1689(2010)03-0442-06

羊奶酸奶优良发酵菌株的筛选

王 攀[1], 张富新*[1], 罗 军[2], 任 娟[1], 李 江[1], 马 赛[1]
(1. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062; 2. 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 以保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌为发酵菌种, 选育适合羊奶酸奶发酵的优良菌株。通过对 4 株保加利亚乳杆菌和 4 株嗜热链球菌在羊乳中发酵特性进行研究。结果表明, 4 株保加利亚乳杆菌中, L. b-800 菌株产酸速度较快, 后酸化能力较弱, 且乳酸菌活菌数较高; 4 株嗜热链球菌中, S. t-499 菌株产酸速度较快, 产粘能力较强, 且乳酸菌活菌数较高。优良菌株 L. b-800 和 S. t-499 配比为 2∶1~1∶2 时, 羊奶酸奶发酵酸度适中, 粘度适宜, 无乳清析出, 乳酸菌活菌数高达 1×10^9 cfu/mL 以上。

关键词: 羊奶酸奶; 粘度; 持水性; 乳酸菌
中图分类号: TS 252.54 文献标识码: A

Screening Fine Fermentation Strains for Goat's Yogurt

WANG Pan[1], ZHANG Fu-xin*[1], LUO Jun[2], REN Juan[1], LI Jiang[1], MA Sai[1]
(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shanxi Normal University, Xián 710062, China;
2. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Screening fine fermentation strains in *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* for goat's yogurt. The fermentation characteristics of the four strains *Lactobacillus bulgaricus* and four strains *Streptococcus thermophilus* were studied during goat yoghurt manufacture. The results showed that Lb-800 strain has higher producing acid rate, weaker postacidification and abundant alive bacteria within four strains *Lactobacillus bulgaricus*. St-499 strain has higher producing acid rate, higher producing viscosity ability and abundant alive bacteria within four strains *Streptococcus thermophilus*. The goat's yoghurt has suitable acidity and viscosity, no whey separates and the number of alive lactic acid bacteria more than 1×10^9 cfu/mL, while the ratio of fine strains Lb-800 and St-499 is within 2∶1~1∶2.

Key words: goat's yogurt, viscosity, water holding capacity, lactic acid bacteria

---

酸奶是深受消费者欢迎的发酵乳制品。在酸奶生产中, 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌是酸奶发酵剂的常用菌种[1-3], 其主要作用是分解乳中的乳糖, 产生乳酸使乳凝固, 同时还产生大量的风味物

收稿日期: 2009-08-31
基金项目: 农业部公益性行业科研项目(nyhyzx3-45)。
* 通信作者: 张富新(1962-), 男, 陕西武功人, 工学博士, 教授, 硕导, 主要从事食品科学方面的研究。Email: fuxinzh@snnu.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

质。酸奶中存在大量的活性乳酸菌, 不仅能降低肠道的 pH 值, 抑制病原菌的生长, 还能促进肠道的蠕动, 具有整肠作用[4]。优质的酸奶发酵剂应具备发酵过程产酸速度快, 后酸化能力较弱, 产粘性好, 具有良好的组织状态和高持水性, 并能在酸奶中大量存活[3,5]。

羊奶具有营养丰富, 易吸收等特点, 然而羊奶中酪蛋白含量较低, 乳脂肪球较小, 采用普通的酸奶发酵剂生产羊奶酸奶时, 凝固性较差, 凝乳时间较长, 乳清易析出。因此, 作者用从商业发酵剂中分离纯化的 4 株保加利亚乳杆菌和 4 株嗜热链球菌生产羊奶酸奶, 以产酸速度、发酵粘度、酸奶持水性以及菌株在酸奶中的存活数为指标筛选优良的羊奶酸奶发酵菌株, 以期为研制开发优质发酵剂和羊奶酸奶提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

脱脂奶粉: 英格兰进口; 全脂羊奶粉: 陕西红星乳业有限公司生产的无抗全脂羊奶粉(出口级); 蔗糖: 市售白砂糖; 菌株: 保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*) L. b-883、L. b-800、L. b-499、L. b-300 菌株和嗜热链球菌(*Stretococcus*) S. t-883、S. t-800、S. t-499、S. t-300 菌株, 均由作者所在实验室从丹尼斯克酸奶发酵剂 YO-MIX883、YO-MIX800、YO-MIX499、YO-MIX300 中分离纯化所得。

1.2　实验设备

旋转式粘度计 NDJ-79 型: 同济大学机电厂制造; 冷冻高速离心机 3K30 型: Sigma 公司制造; 隔水式恒温培养箱 GHX-9080B-1 型: 上海福玛试验设备有限公司制造; 电热恒温水浴锅 HH-S4 型: 北京科伟永兴仪器有限公司制造; 超净工作台 SW-CJ-1F: 苏州安泰空气技术有限公司制造。

1.3　酸奶的制作

1.3.1　生产发酵剂的制备　将保藏的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的菌株勾取单个菌落, 移至经 110~ 115 ℃/ 20 min 灭菌的 12% 的脱脂牛奶中, 43 ℃培养 4~ 8 h, 待乳凝固后取出, 置于 5 ℃冰箱中保存备用。

1.3.2　羊奶酸奶的制作　将羊奶粉用水配成乳固形物质量分数为 12% 的复原乳, 在 4 ℃贮藏 12 h 使乳蛋白充分水化, 预热到 50~ 60 ℃, 添加 7% 的蔗糖, 充分搅拌, 使糖溶解, 然后经过 80 ℃/ 20 min 杀菌处理, 迅速冷却到 43~ 45 ℃, 以 2% 的接种量接种生产发酵剂, 在 43 ℃下发酵, 待乳凝固后在 5 ℃贮藏 24 h, 进行后发酵。

1.4　酸度的测定

按 GB5409-85 方法[6]。用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定, 酸度以 °T 表示。

1.5　粘度的测定

采用旋转式粘度计[7]。根据粘度范围, 选用二单元 1 × 10 转子, 在室温下测试, 在第 30 秒时记录数据, 分别测量 3 次数据后取平均值。粘度单位为 mPa·s。

1.6　持水性的测定

采用 Hassan 的方法[8-9]。取 15~ 20 g 样品, 在 10 ℃下, 13 500 g 离心 30 min, 倾去上清液, 使离心管保持倒置状态 10 min, 称量沉淀物质量, 按下式计算酸奶的持水性。

酸奶持水性(%) = 离心沉淀物质量/ 样品质量 × 100

1.7　酸奶中活菌数的测定

1.7.1　培养基

1) M17 基础培养基[10-11]: 胰蛋白胨 2.50 g, 蛋白胨 2.50 g, 大豆蛋白胨 5.0 g, 酵母浸膏 2.50 g, 肉浸膏 5.0 g, β-磷酸甘油 10.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, 抗坏血酸 0.50 g, 琼脂粉 10 g, 蒸馏水 950 mL。

2) 酸化 MRS 培养基[10-11]: 蛋白胨 10.0 g, 牛肉膏 10.0 g, 酵母膏 5.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 吐温-80 1 mL, $(NH_4)_2C_6H_5O_7$ 2 g, K_2HPO_4 2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.05 g, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ 5 g, 琼脂粉 10.0 g, 蒸馏水 1 000 mL。

1.7.2　计数培养方法　在无菌操作条件下, 将融化的培养基倒入灭菌培养皿, 冷却后形成培养平板。将酸奶样品充分搅拌均匀, 依次做 10 倍递增稀释至适当稀释度, 吸取 1 mL 在培养平板上涂布均匀。嗜热链球菌菌株接入 M17 培养基平板, 在 37 ℃恒温培养箱中培养 48 h; 保加利亚乳杆菌菌株接入酸化 MRS 培养基平板后, 再倒入一层冷却至 50 ℃的酸化 MRS 培养基形成双层平板, 将培养皿放入烛缸, 在 37 ℃恒温培养箱中培养 72 h。然后记录培养基平板中的菌落数, 以 cfu/ mL 表示[10]。

2　结果与讨论

2.1　保加利亚乳杆菌优良菌株的筛选

将保加利亚乳杆菌 L. b-883、L. b-800、L. b-

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

499、L. b-300 菌株经复原脱脂乳充分活化后, 分别接入复原羊乳中制作酸奶。分别测定发酵期间酸奶的凝乳特性、产酸速度和粘度以及后发酵 24 h 时的酸度、粘度、持水性和乳酸菌活菌数, 结果见表 1 和图 1~ 4。

表 1 4 株保加利亚乳杆菌的凝乳特性

Tab. 1 Curd characteristics of four strains *Lactobacillus bulgaricus*

菌株	凝乳时间/h	凝乳状态
L. b-883	5	凝乳不够细腻, 粘度低, 少量乳清析出。
L. b-800	4.5	凝乳细腻, 粘度低, 无乳清析出。
L. b-499	5	凝乳不够细腻, 粘度低, 少量乳清析出。
L. b-300	4.5	凝乳细腻, 粘度低, 无乳清析出。

由表 1 可见, 4 株保加利亚乳杆菌菌株的凝乳时间均在 4. 5~ 5 h, 但凝乳时粘度较低, 其中 L. b-800 和 L. b-300 菌株凝乳细腻光滑, 无乳清析出, 且凝乳时间较短。由图 1~ 4 可知, L. b-800 和 L. b-300 菌株在发酵过程中的产酸速度明显高于 L. b-883 和 L. b-499 菌株, 其中 L. b-800 菌株产酸能力最强; 4 株菌种的后酸化能力基本相同, 在后发酵 24 h 内, 酸度的变化均小于 5 ^{0}T; 4 株菌种发酵羊奶酸奶的粘度有一定差异, 其中 L. b-499 产粘性较高, L. b-300 产粘性较低; L. b-883 和 L. b-800 菌株与 L. b-499 和 L. b-300 菌株发酵的羊奶酸奶相比具有高的持水性且差异显著($P < 0.01$); L. b-800 菌株发酵的酸奶含有最高的乳酸菌活菌数。而 L. b-883 菌株发酵的酸奶中乳酸菌活菌数较低。综合比较 L. b-800 可作为生产羊奶酸奶的优选菌株。

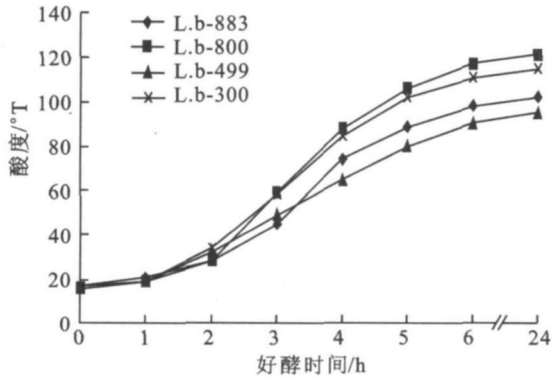


图 1 4 株保加利亚乳杆菌在羊奶中的产酸特性

Fig. 1 Acid characteristics of four strains *Lactobacillus bulgaricus* in goat's milk

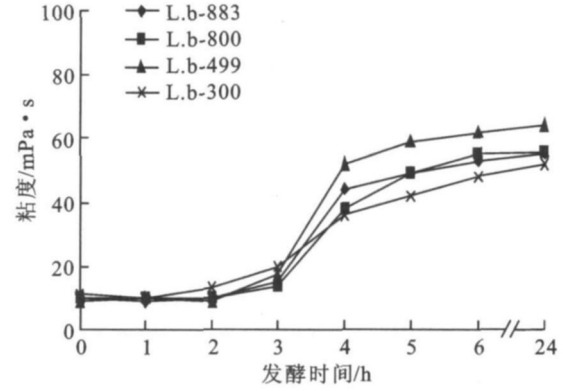


图 2 4 株保加利亚乳杆菌在羊奶中的产粘特性

Fig. 2 Viscosity characteristics of four strains *Lactobacillus bulgaricus* in goat's milk

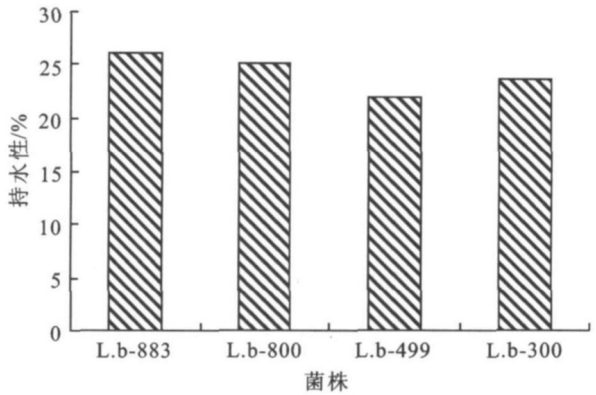


图 3 4 株保加利亚乳杆菌在羊奶中的持水特性

Fig. 3 Water holding capacity characteristics of four strains *Lactobacillus bulgaricus* in goat's milk

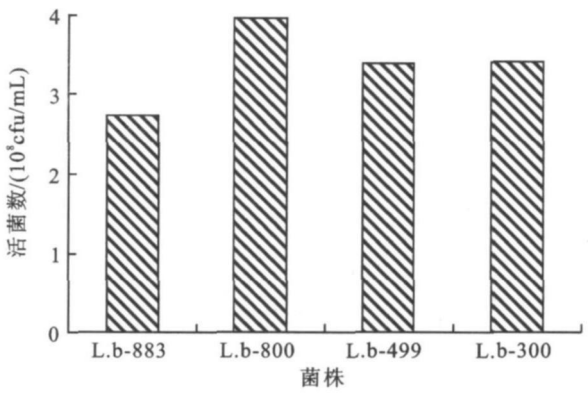


图 4 4 株保加利亚乳杆菌在羊奶中的活乳酸菌数

Fig. 4 Lactococcus's volumns of four strains *Lactobacillus bulgaricus* in goat's milk

2.2 嗜热链球菌优良菌株的筛选

将嗜热链球菌 S. t-883、S. t-800、S. t-499、S. t-300 菌株经复原脱脂乳充分活化后, 分别接入复原羊乳中制作酸奶。分别测定发酵期间的凝乳特性、产酸速度和粘度以及后发酵 24 h 时的酸度、粘度、持水性和乳酸菌活菌数, 结果见表 2 和图 5~ 8。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　4 株嗜热链球菌的凝乳特性

Tab. 2　Curd characteristics of four strains *Streptococcus thermophilus*

菌株	凝乳时间/h	凝乳状态
S.t-883	4.5	凝乳细腻, 粘度较高, 无乳清析出。
S.t-800	5	凝乳细腻, 粘度高, 稍有乳清析出。
S.t-499	4	凝乳细腻, 粘度较高, 无乳清析出。
S.t-300	5	凝乳细腻, 粘度高, 稍有乳清析出。

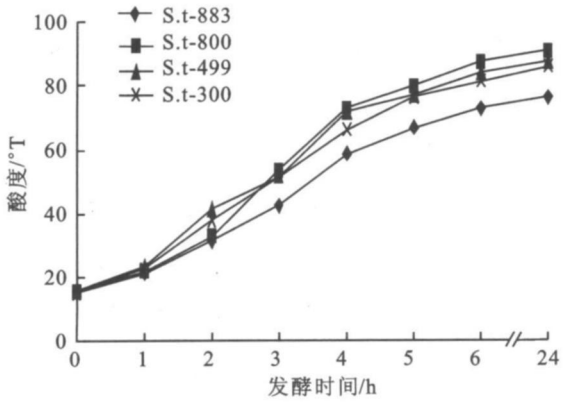


图 5　4 株嗜热链球菌在羊奶中的产酸特性

Fig. 5　Acid characteristics of four strains *Streptococcus thermophilus* in goat's milk

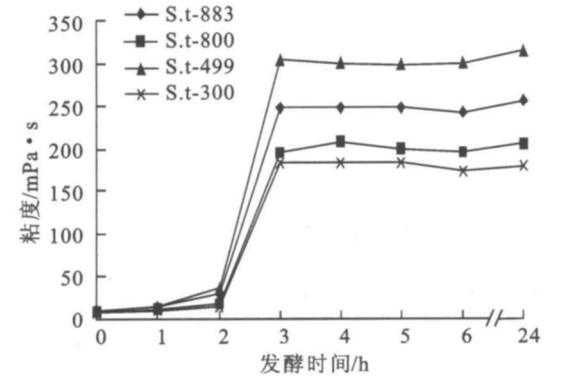


图 6　4 株嗜热链球菌在羊奶中的产粘特性

Fig. 6　Viscosity characteristics of four strains *Streptococcus thermophilus* in goat's milk

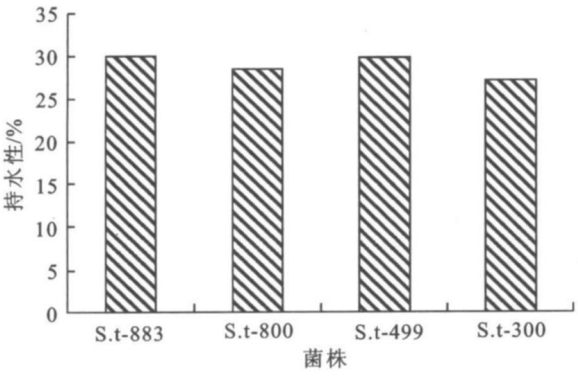


图 7　4 株嗜热链球菌在羊奶中的持水特性

Fig. 7　Water holding capacity characteristics of four strains *Streptococcus thermophilus* in goat's milk

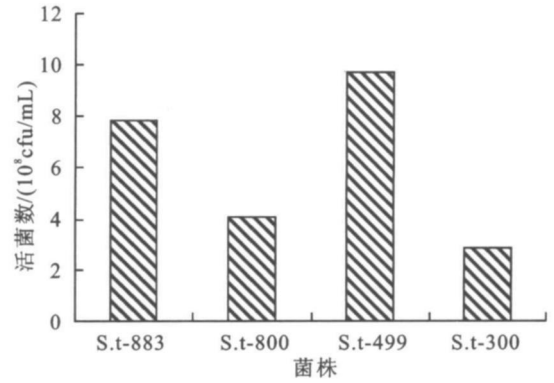


图 8　4 株嗜热链球菌在羊奶中的活乳酸菌数

Fig. 8　Lactococcus's volumns of four strains *Streptococcus thermophilus* in goat's milk

由表 2 可见, 4 株嗜热链球菌菌株的凝乳时间均在 4~ 5 h 之间, 凝乳状态细腻, 粘度较高, 其中 S. t-499 菌株凝乳时间最短, 且凝乳状态较好。由图 5~ 8 可知, S. t-800、S. t-499、S. t-300 菌株在羊奶发酵过程中的产酸能力差异不大, 但均明显高于菌株 S. t-883。4 株嗜热链球菌菌株的后酸化能力都较弱, 在后发酵 24 h 内, 酸度的上升均小于 4 °T。4 株菌种的产粘能力均较高, 明显高于保加利亚乳杆菌的产粘能力。同时也可以看出, 4 株菌种之间产粘能力也有明显差异($P< 0.05$), 其中 S. t-499 菌株的产粘能力最高; S. t-883 和 S. t-499 菌株发酵的羊奶酸奶持水性差异不大, 但明显高于 S. t-800 和 S. t-300 菌株发酵的羊奶酸奶; 4 株菌种在羊奶酸奶中的乳酸菌活菌数差异较大, 其中 S. t-499 和 S. t-883 菌株在羊奶酸奶中的乳酸菌活菌数较高, 且明显高于 S. t-800 和 S. t-300 菌株。表明 S. t-499 和 S. t-883 菌株能够较好地适应羊奶的发酵环境。综合比较 S. t-499 可作为生产羊奶酸奶的优良菌株。

2.3　乳酸菌配比对羊奶酸奶发酵特性的影响

将前面筛选的优良菌株 L. b-800 和 S. t-499 分别按 4∶1、3∶1、2∶1、1∶1、1∶2、1∶3、1∶4 进行配比组合, 接入复原羊乳中制作酸奶。分别测定羊奶酸奶发酵期间的凝乳特性、酸度和粘度以及后发酵 24 h 的酸度、粘度、持水性和乳酸菌活菌数, 结果见表 3~ 4 和图 9, 10。

由表 3 可以看出, 不同乳酸菌配比的凝乳时间均在 4~ 4.5 h 之间, 且当杆球菌配比在 2∶1~ 1∶2 之间时, 羊奶酸奶具有较好的凝乳状态, 口感光滑细腻, 无乳清析出, 当杆球菌比例小于 1∶2 时, 羊奶酸奶凝乳状态良好但口感发粘。由图 9, 10 可知, 不同乳酸菌配比在羊奶发酵过程中, 产酸和产粘均较快, 最终的酸度差异不大($P> 0.05$), 但最终

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

粘度随球菌比例的增大而升高, 且差异显著($P < 0.05$) 。不同乳酸菌配比在羊奶酸奶后发酵 24 h 过程中, 发酵能力均较弱, 且无明显差别($P < 0.05$) 。当杆球菌比例大于 2 ∶ 1 时, 酸奶粘度出现下降的趋势, 且随杆球均比例的增大, 下降趋势增大; 当杆球菌比例小于 2 ∶ 1 时, 酸奶粘度变化不大($P > 0.05$) 。由表 4 可知, 不同乳酸菌配比对羊奶酸奶持水性有明显的影响, 随杆球菌比例的降低, 酸奶持水性显著上升($P < 0.05$) 。用不同乳酸菌配比制作的羊奶酸奶均具有较高的乳酸菌活菌数, 酸奶中的乳酸菌活菌数均高于 10^9 cfu/mL, 高于酸牛奶国家标准 GB19302-2003 和 GB2746-1999 中规定的乳酸菌活菌数[12-13]。总之, 杆球菌比例对酸奶最终的质量有一定的影响, 当杆球菌比例在 2∶1~1∶2 之间时, 酸奶组织状态良好, 凝乳时间较短, 且酸奶中含有大量的活性乳酸菌, 适宜于羊奶酸奶的生产。

表 3 乳酸菌配比的凝乳特性

Tab. 3 Curd characteristics of lactic acid bacteria in different ratio

L. b-800∶S. t-499	凝乳时间/h	凝乳状态
4 ∶ 1	4.5	凝乳较细腻, 粘度高, 少乳清析出。
3 ∶ 1	4.5	凝乳较细腻, 粘度高, 少量乳清析出。
2 ∶ 1	4.5	凝乳光滑细腻, 粘度高, 稍有乳清析出。
1 ∶ 1	4	凝乳光滑细腻, 粘度较高, 无乳清析出。
1 ∶ 2	4	凝乳光滑细腻, 粘度较高, 无乳清析出。
1 ∶ 3	4	凝乳细腻, 粘度高, 无乳清析出。
1 ∶ 4	4	凝乳细腻, 粘度高, 无乳清析出。

表 4 乳酸菌配比对羊奶酸奶持水性和乳酸菌活菌数的影响

Tab. 4 Effect of lactic acid bacteria in different ratio on water holding capacity and Lactococcus' s volumns in goat' s yogurt

L. b-800∶S. t-499	持水性/%	乳酸菌活菌数/(cfu/mL)
4 ∶ 1	25.03	1.66×10^9
3 ∶ 1	25.54	1.50×10^9
2 ∶ 1	26.10	1.28×10^9
1 ∶ 1	27.30	1.14×10^9
1 ∶ 2	27.00	1.59×10^9
1 ∶ 3	28.76	1.21×10^9
1 ∶ 4	28.71	1.02×10^9

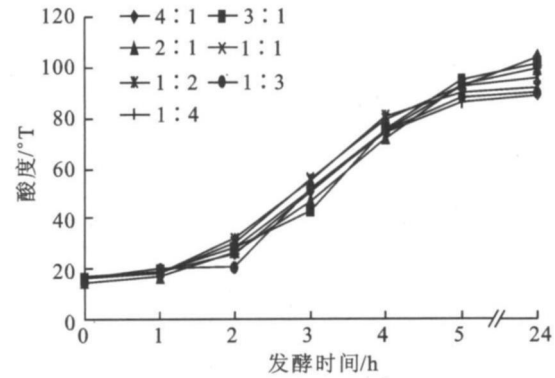


图 9 乳酸菌配比对羊奶酸奶发酵酸度的影响

Fig. 9 Effect of lactic acid bacteria in different ratio on acid in goat's yogurt

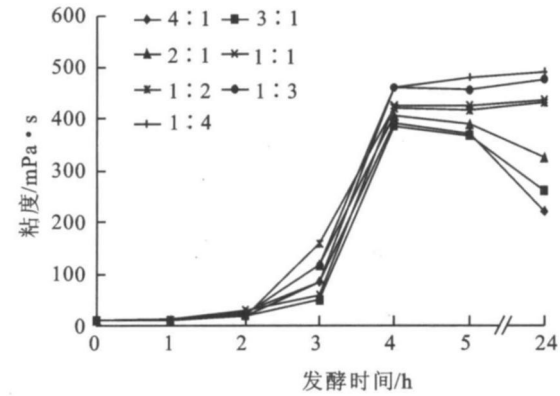


图 10 乳酸菌配比对羊奶酸奶发酵粘度的影响

Fig. 10 Effect of lactic acid bacteria in different ratio on viscosity in goat's yogurt

3 结 语

通过对从商业发酵剂中分离纯化的 4 株保加利亚乳杆菌和 4 株嗜热链球菌在羊奶酸奶生产中发酵特性的研究, 获得了 2 株具有良好发酵特性的乳酸菌菌株, 即保加利亚乳杆菌 L. b-800 菌株和嗜热链球菌 S. t-499 菌株, 且当 L. b-800 菌株与 S. t-499 菌株配比在 2 ∶ 1~1 ∶ 2 时, 羊奶酸奶凝乳状态较好, 凝乳时间较短, 并含有较高的乳酸菌活菌数, 可在羊奶酸奶生产中应用。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献(References) :

[1] 王福源. 现代食品发酵技术[M] . 北京: 中国轻工出版社, 1998.

[2] 杨洁彬, 凌代文, 郭兴华, 等. 乳酸菌- 生物学基础及应用[M] . 北京: 中国轻工业出版社, 1996.

[3] 魏小雁, 冀林立, 刘建军, 等. 酸奶发酵菌种的产香物质及发酵特性研究[J] . 乳业科学与技术, 2008, (1): 21- 23.
WEI Xiao-yan, JI Li-li, LIU Jian-jun, et al. Study on flavor and fermentation characteristics of lactic acid bacteria on the preparing of yoghurt starter[J]. **Dairy Science and Technology**, 2008, (1): 21- 23. (in Chinese)

[4] 张金华, 张晓光, 李兰红, 等. 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的筛选[J] . 现代化农业, 1999, (3): 23- 24.
ZHANG Jin-hua, ZHANG Xiao-guang, LI Lan-hong, et al. Screening *Lactobacillus bulgaricus* and *Stretococcus*[J]. **Modernizing Agriculture,** 1999, (3): 23- 24. (in Chinese)

[5] 山丽杰, 田洪涛, 马雯, 等. 几株保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌在乳中发酵特性及优化搭配研究[J] . 中国乳业, 2006, (9): 49- 52.
SHAN Li-jie, TIAN Hong-tao, MA Wen, et al. Studies on the fermention characteristics and optimization of several strains *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in milk[J]. **China Dairy,** 2006, (9): 49- 52. (in Chinese)

[6] GB5409-85, 牛乳检验方法[S] .

[7] Farnsworth J P, Hendricks G M, Guo M R, et al. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt[J]. **Small Ruminant Research,** 2006, (65) : 113- 121.

[8] 李全阳, 夏文水. 酸乳质量综合评价体系探讨 [J] . 中国乳品工业, 2003, (6) : 29- 33.
LI Quan-yang, XIA Wen-shui. A study on the methods of yoghurt quality evaluating system[J]. **China Dairy Industry**, 2003, (6) : 29- 33. (in Chinese)

[9] Hassan A N, Frank J F, Schmidt K A, et al. Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures [J]. **J Dairy Sci,** 1996, 79: 2098- 2103.

[10] 张玉洁. 国际乳品联合标准 IDF117-1983: 酸奶特征微生物的菌落计数(37 ℃时菌落计数技术) [J]. 中国乳品工业, 1990, (4): 179- 182.
ZHANG Yu-jie. IDF standard 117-1983: yogurt enumeration of characteristic microorganisms-colony count technique at 37 ℃[J]. **China Dairy Industry**, 1990, (4): 179- 182. (in Chinese)

[11] 邹雪, 易霞. 酸奶中乳酸菌的分离及其杆球菌比分析[J]. 食品科技, 2008, (3): 118- 122.
ZOU Xue, YI Xia. Isolation of the lactic acid-forming bacteria from the yoghurt and the analysis of the ratio to *Bacillus* and *Coccus*[J]. **Food Science and Technology,** 2008, (3): 118- 122. (in Chinese)

[12] GB19302-2003, 酸乳卫生标准[S] .

[13] GB2746-1999, 酸牛乳标准[S] .

(责任编辑: 李春丽)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net