



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目：植物乳杆菌 YC 胞外多糖的理化性质和对发酵乳加工特性的影响
作者：白冰, 刘海涛, 刘欢欢, 彭心怡, 李贞景, 郭庆彬
DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20230182
收稿日期: 2023-10-06
网络首发日期: 2024-07-12
引用格式: 白冰, 刘海涛, 刘欢欢, 彭心怡, 李贞景, 郭庆彬. 植物乳杆菌 YC 胞外多糖的理化性质和对发酵乳加工特性的影响[J/OL]. 天津科技大学学报. <https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20230182>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20230182

植物乳杆菌 YC 胞外多糖的理化性质和对发酵乳加工特性的影响

白冰¹, 刘海涛¹, 刘欢欢^{1,2}, 彭心怡^{1,2}, 李贞景^{1,2}, 郭庆彬^{1,2}

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457;

2. 天津科技大学省部共建食品营养与安全国家重点实验室, 天津 300457)

摘要: 对植物乳杆菌 YC 胞外多糖 (*Lactobacillus plantarum* YC exopolysaccharides, LPE) 进行理化性质 (化学组成及含量、扫描电镜分析、傅里叶红外光谱分析、相对分子质量、单糖组成) 测定, 并将 LPE 按照不同比例 (0.1%、0.5%、1%) 添加到脱脂乳粉中, 对发酵乳发酵及冷藏过程中理化、微生物变化、流变特性以及质构特性进行测定。结果表明: LPE 是总糖含量为 67.94%, 蛋白质含量为 1.24%, 糖醛酸含量为 9.72%, 呈现出分支多孔的网状结构, 相对分子质量为 1.01×10^6 , 主要由甘露糖、葡萄糖和半乳糖构成的酸性杂多糖; LPE 不仅能有效降低发酵乳的 pH, 还有效增加了发酵乳的持水力、硬度和稠度, 且 LPE 的添加对发酵乳的表面黏度和黏弹性均有提升。本研究为植物乳杆菌的胞外多糖的研究及在发酵乳中的应用提供参考。

关键词: 植物乳杆菌 YC; 胞外多糖; 发酵乳加工; 质构; 流变学特性

中图分类号: TS252.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Physicochemical Properties of Extracellular Polysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YC and Its Effect on Processing Characteristics of Fermented Milk

BAI Bing¹, LIU Haitao¹, LIU Huanhuan^{1,2}, PENG Xinyi^{1,2}, LI Zhenjing^{1,2}, GUO Qingbin^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The physical and chemical characteristics of *Lactobacillus plantarum* YC exopolysaccharides (LPE) were ascertained, including chemical composition and content, scanning electron microscopy examination, Fourier transform infrared spectroscopy analysis, relative molecular weight and monosaccharide composition. After adding LPE to skim milk powder in different proportions (0.1%, 0.5% and 1%), the physicochemical, microbial, rheological and textural properties of fermented milk during fermentation and refrigeration processes were studied. The results showed that LPE was an acid heteropolysaccharide with a total sugar content of 67.94%, protein content of 1.24%, uronic acid content of 9.72% and relative molecular weight of 1.01×10^6 , showing a branched porous network structure. It was mainly composed of mannose, glucose and galactose; Furthermore, LPE not only effectively reduced the pH of fermented milk, but also increased its water holding capacity, hardness, and viscosity. Meanwhile, the addition of LPE also enhanced the surface viscosity and viscoelasticity of fermented milk. Overall, these results have provided a reference for the study of LPE and its application in fermented milk.

收稿日期: 2023-10-06; 修回日期: 2024-03-26

基金项目: 省部共建食品营养与安全国家重点实验室开放课题 (SKLFNS-KF-202103, SKLFNS-KF-202004), 天津市教委科研项目 (2018KJ093)

作者简介: 白冰 (1997—), 女, 黑龙江人, 硕士研究生; 通信作者: 李贞景, 助理研究员, lizhenjing@tust.edu.cn

Key words: *Lactobacillus plantarum* YC; exopolysaccharide; fermented milk processing; texture; rheological properties

植物乳杆菌是一种存在于人和动物黏膜（口腔、胃肠道、阴道等）^[1]，且被广泛应用的益生菌^[2,3]。许多发酵产品，如泡菜、奶酪、酸奶、香肠等^[4]均含有植物乳杆菌。植物乳杆菌不仅具有良好的保健效果，还可以增强免疫功能、抑制病原菌、降低血清总胆固醇含量^[5]。此外，植物乳杆菌在平衡肠道微生物群，减轻乳糖不耐受以及癌细胞控制等方面也有一定效用^[6,7]，例如和双歧杆菌共用于防治由消化道菌群功能失调所致的便秘、急性慢性泄泻、胃气胀、消化不良等病症^[8,9]。

植物乳杆菌胞外多糖（exopolysaccharides, EPS）是指乳酸菌在生长过程中分泌到细胞壁外的荚膜多糖或黏液多糖的总称。这些多糖通常由多种单糖分子组成，包括葡萄糖、半乳糖、甘露糖等。它们具有高相对分子质量和黏性，能够形成软凝胶状的结构。由于其特殊的物理化学性质和生物活性，EPS 在食品、医药和生物技术等领域中具有广泛的应用前景。另外，EPS 还具有多种生理功能，包括降血压、抗肿瘤、调节肠道菌群结构等。高产 EPS 的乳酸菌的资源开发与应用，正日益成为当前的研究热点。

在菌种资源开发方面，研究者们致力于筛选和鉴定高产 EPS 的乳酸菌菌株。通过从不同的环境样品中收集乳酸菌之后，再利用分子生物学和生物化学手段进行筛选与鉴定。在应用方面，高产 EPS 的乳酸菌在食品、保健品、医药等领域都具有广阔的应用前景。Bengoa 等^[10]从开菲尔中分离的副干酪乳杆菌 CIDCA 8339 和 CIDCA 83124 产生的 EPS 均一定程度上改变了健康儿童的粪便微生物群活性和组成，有助于减少肠道水平的炎症。从芥菜泡菜中分离到的高 EPS 戊糖乳杆菌 SLC 13 菌株具有益生菌特性、抗生素耐受性、细菌素产生能力、耐酸性、胆汁耐受性和免疫增强作用^[11]。此外，EPS 还具有抗氧化、抗菌、免疫调节等多种生物活性，可以应用于药物开发和医疗保健产品中。例如植物乳杆菌 LP6 中的胞外多糖（EPS-3）对 PC12 细胞的氧化损伤具有明显的保护作用^[12]；从植物乳杆菌 JLK0142 分离的 EPS 可以有效地改善 RAW 264.7 细胞的免疫调节活性，并刺激环磷酸腺苷诱导的免疫抑制小鼠的免疫系统^[13]。当前的研究重点包括深入了解 EPS 的生物活性机制、开发高效的 EPS 提取技术等。这将进一步推动 EPS 在各个领域的应用，并为相关产业提供有益的资源和产品。

本实验以课题组前期分离并筛选的具有降尿酸功能的植物乳杆菌 YC^[14]为出发菌株，得到了其发酵产生的植物乳杆菌 YC 胞外多糖，测定其理化性质，并将不同浓度的植物乳杆菌 YC 胞外多糖加入到脱脂乳粉中进行发酵，计算发酵乳的 pH、持水力、活菌数、质构、流变等指标来评估植物乳杆菌 YC 胞外多糖对发酵乳性质的影响。以期为 EPS 的进一步研究和应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

植物乳杆菌 YC 保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心，保藏编号为 CGMCC 25306。

MRS 肉汤培养基，天津市江天化工技术股份有限公司，脱脂乳粉购买自湖南栢望三立食品有限公司，植物乳杆菌发酵剂 YO-MIX 883 LYO 购买自丹麦丹尼斯克公司。

PB-10 型 pH 计：赛多利斯公司；MARS 60 型旋转流变仪：德国哈克；TA-XT 型质构仪：英国 Stable Micro Systems；1260 infinity II 型高效液相色谱仪：Agilent Technologies；ICS5000+ 离子色谱仪：Thermo Fisher Scientific。

1.2 实验方法

1.2.1 植物乳杆菌 YC 胞外多糖的提取工艺

将 3% 植物乳杆菌 YC 接种于 MRS 肉汤培养基中 37℃ 培养 24 h 进行活化，添加 80% 三氯乙酸至发酵液终质量分数 4%，4℃ 静置过夜，4℃、10000 r/min 离心 30 min 除去蛋白质，取上清液，旋转蒸发至原体积 1/4 后，加入 3 倍体积的无水乙醇，4℃ 静置醇沉过夜，4℃、10000 r/min 离心 20 min，沉淀用超纯水溶解，于 8000~14000 透析袋中透析 48 h，其间每 8 h 换水一次，冷冻干燥，即得植物乳杆菌 YC 胞外多糖（*Lactobacillus plantarum* YC exopolysaccharides, LPE）^[15,16]。

1.2.2 化学组成含量测定

采用苯酚-硫酸法^[17]测定总糖含量；采用考马斯亮蓝法^[18]测定蛋白质含量；采用硫酸-喹啉法^[19]测定糖醛酸含量。

1.2.3 扫描电子显微镜观察

通过扫描电子显微镜（SEM）分别在 500 和 5000 倍的放大倍数下对 LPE 的表面结构和形态进行

观察。

1.2.4 红外光谱分析

通过使用溴化钾 (KBr) 压片技术, 将 200 mg 的 KBr 粉末与 2 mg LPE 混合, 并利用压片设备将其制成薄片状。在 400~4000 cm^{-1} 波长范围进行扫描。

1.2.5 相对分子质量分布

将相对分子质量分别为 10000、40000、70000、500000、2000000 的葡聚糖标品 (T-10、T-40、T-70、T-500、T-2000) 和 LPE 各 1.0 mg 溶于 1.0 mL 超纯水中, 取 20 μL 用高效液相色谱仪 (检测器: 示差检测器 (RID)), 流动相: 超纯水; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; RID: 35 $^{\circ}\text{C}$) 进行分析。

1.2.6 单糖组成

取干净色谱瓶, 称取 1.5 mg LPE, 加入 1 mL 2 M TFA 酸溶液, 121 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 h。通氮气, 吹干。加入 99.99% 甲醇清洗, 再吹干, 重复甲醇清洗 2-3 次。加入超纯水溶解, 转入色谱瓶中待测。

称取单糖标准品 (岩藻糖 Fuc、鼠李糖 Rha、阿拉伯糖 Ara、半乳糖 Gal、葡萄糖 Glc、木糖 Xyl、甘露糖 Man、果糖 Fru、核糖 Rib、半乳糖醛酸 Gal-UA、葡萄糖醛酸 Gul-UA、甘露糖醛酸 Glc-UA、古罗糖醛酸 Man-UA) 13 种标准品 10 mg 溶于 1 mL 水中, 各取 500 μL 加水配制称 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准品混标, 用离子色谱仪进行测定。

液相色谱柱: DionexTMCarboPacTMPA20 (150mm \times 3.0 mm, 10 μm); 进样量为 5 μL 。流动相 A (H_2O), 流动相 B (0.1 mol/L NaOH), 流动相 C (0.1 mol/L NaOH, 0.2 mol/L NaAc), 流速 0.5 mL/min; 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.7 发酵乳的制备

分别添加 0.1%、0.5%、1% 的 LPE 于 12% 的脱脂乳粉中, 60~70 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中加热 10 min。20000 r/min 剪切 2 min, 反复剪切 3 次, 对均质后的脱脂乳进行灭菌处理。分别接种各试样组发酵剂接种量为 3%, 发酵剂组成: 嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌。将接种好的脱脂乳放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中发酵, 以凝乳的形成作为发酵终点的判定。将已凝乳的发酵乳置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏, 从后熟 12 h 起记为第 0 天^[20,21]。

1.2.8 发酵乳指标的测定

对发酵乳冷藏的第 0、3、6、9、12 天的 pH、持水力、活菌数、质构、流变特性指标进行测定。

(1) 发酵过程中 pH 变化的测定

采用数显 pH 计测定发酵乳的 pH。

(2) 发酵过程中活菌数的变化

在发酵过程中活菌数的变化测定中, 可以参考 GB 4789.35—2016《食品微生物学检验植物乳杆菌检验》^[22] 进行操作。

(3) 发酵过程中持水力变化的测定

取发酵乳样品 10.0 g, 10 $^{\circ}\text{C}$ 、10000 r/min 离心 30 min 后弃去上清液, 称量沉淀的质量。按照式

(1) 计算持水力 (w_{water})。

$$w_{\text{water}} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_0 为离心管质量; m_1 为离心管加发酵乳质量; m_2 为离心后沉淀和离心管总质量。

(4) 发酵过程中质构指标变化的测定

在对发酵乳进行质构测定时, 使用 TPA (Texture Profile Analysis) 质构仪, 并采用以下参数进行测试: 探头形状为圆柱形, 直径为 45 mm, 测试距离为 20 mm, 测试速度为 2 mm/s, 触发力为 5 g。测定发酵乳的稠度、硬度和内聚性三个指标。

(5) 发酵过程中流变特性指标变化的测定

发酵乳剪切性能的测定: 使用 MARS 60 旋转流变仪进行发酵乳剪切指标的测定, 托盘型号为 P35 mm, 夹具型号为 P35TiL; 设置剪切速率为 0.1~100 s^{-1} , 温度设定为 25 $^{\circ}\text{C}$, 对不同添加量 LPE 的发酵乳进行测定。

发酵乳频率扫描: 使用 MARS 60 动态流变仪进行发酵乳频率的测定, 托盘型号为 P35 mm, 夹具型号为 P35TiL; 频率范围为 0.1~100 s^{-1} , 温度设定为 25 $^{\circ}\text{C}$, 分别对不同添加量 LPE 的发酵乳进行测定。

(6) LPE 对发酵乳感官变化的影响

参照 GB19302-2010《发酵乳》^[23] 的评价标准, 随机邀请 20 名测评员对冷藏了 0, 3, 6, 9, 12 天的发酵乳的口感、颜色、气味、味道、质地进行了评分^[24,25]。发酵乳的感官评定标准见表 1。

表 1 发酵乳感官评定标准

Tab. 1 Sensory evaluation criteria of fermented milk

项目	评价标准	评分
口感	入口绵密顺滑, 浓稠度适中。	15~20
	入口较为绵密顺滑, 浓稠度一般。	10~<15
	口感不够绵密顺滑, 较浓或较稀。	5~<10
	口感粗糙, 过浓或过稀。	0~<5
色泽	颜色均匀, 呈乳白色。	15~20

	色泽较为均一，呈乳白色。	10~<15
	色泽不够均一，颜色较为暗沉。	5~<10
	色泽发灰发黄或呈现其他异常颜色。	0~<5
气味	口感纯正，带有酸奶独特的香气。	15~20
	奶味较为纯正，稍有酸奶独特的芳香。	10~<15
	奶味不太纯正，酸奶香味较淡。	5~<10
	无酸奶香气。	0~<5
滋味	滋味浓郁香醇，酸甜适中。	15~20
	滋味较为浓郁香醇，酸甜适中	10~<15
	偏酸或偏甜。	5~<10
	过酸或过甜	0~<5
组织状态	凝乳均匀细腻，无气泡，无乳清析出。	15~20
	凝乳较为均匀，有少量气泡伴随轻微乳清析出。	10~<15
	凝乳不均匀，有明显气泡伴随大量乳清析出。	5~<10
	凝乳不良，有大量气泡，乳清析出严重。	0~<5

1.3 数据处理

采用 Excel 软件进行数据处理，结果以“平均值±标准差”表示， $P < 0.05$ 表示组间差异显著。

2 结果与分析

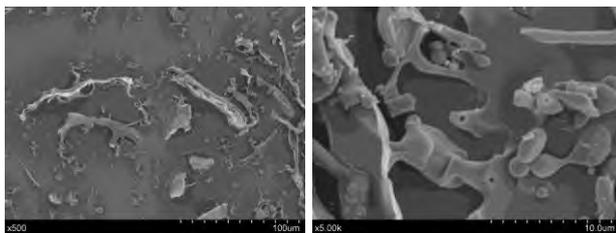
2.1 LPE 的理化性质

2.1.1 LPE 的化学组成

LPE 的总糖含量为 $67.94\% \pm 2.94\%$ ，蛋白质含量为 $1.24\% \pm 0.12\%$ ，糖醛酸含量为 $9.72\% \pm 1.21\%$ 。表明 LPE 是一种纯度较高并含有少量蛋白质的酸性多糖。

2.1.2 扫描电子显微镜观察

采用扫描电子显微镜观察不同倍数的 LPE 表面形貌特征如图 1 所示，LPE 表面呈现不规则碎片状，放大后（5000×）观察，可见其表面粗糙且暗淡，呈现分支多孔的网状结构，推测 LPE 可能有较好的吸湿性。



(a) 放大 500 倍 (b) 放大 5000 倍

图 1 LPE 的扫描电子显微镜图

Fig. 1 Scanning electron microscope image of LPE

2.1.3 LPE 的红外光谱分析

红外扫描结果如图 2，在 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 范围内观察到了典型的多糖吸收峰模式。具体分析如下：在 3361.56 cm^{-1} 处，观察到一个宽峰，代表羟基-OH 的伸缩振动峰，表明样品中存在大量羟基。在 2932.89 cm^{-1} 处，观察到一个吸收峰，代表饱和的 C—H 键的对称伸缩振动峰。在 1651.46 cm^{-1} 处，观察到一个吸收峰，代表脂肪族 C=C 的伸缩振动峰，可能与苯环的共轭作用有关。在 1544.29 cm^{-1} 处，观察到一个弱吸收峰，由 N—H 的弯曲振动引起。在 1450.81 cm^{-1} 处，观察到一个吸收峰，代表 C=H 键的弯曲振动峰。在 1074.59 cm^{-1} 处，观察到一个吸收峰，由羧酸 C-O 的伸缩振动引起。 614 cm^{-1} 处的吸收峰为醇 COH 的面外弯曲振动。这些吸收峰的观察结果提供了关于样品中不同官能团的信息，有助于对样品的化学成分进行分析和鉴定。

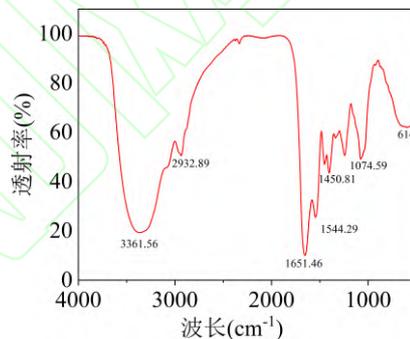


图 2 LPE 的傅里叶红外光谱扫描

Fig.2 Fourier transform infrared spectral scanning of LPE

2.1.4 LPE 的相对分子质量分布和单糖组成

依据标准曲线 $y = -0.3713x + 9.579$ ， $R^2 = 0.9911$ 计算得 LPE 的分子质量为 1.09×10^6 。

由表 2 可知，LPE 主要含有的 4 种单糖分别为半乳糖、葡萄糖、甘露糖，摩尔比为 16.38: 22.78: 31.01，由此得出 LPE 是以甘露糖、葡萄糖和半乳糖为主的酸性杂多糖。此前有报道称植物乳杆菌合成的 EPS 多为 HePS（杂多糖），只有少数是 HoPS（同多糖），而其 HePS 通常以葡萄糖、半乳糖、甘露糖为主要的单糖组成^[26]，与本文研究结果一致。

表 2 LPE 的单糖组成分析

Table 2 Analysis of monosaccharide composition of LPE

单糖名称	单糖组成百分比 (%)	单糖组成摩尔质量比 (%)
Fuc	1.19	1.29
Rha	8.35	9.04
Ara	2.28	2.70
Gal	16.61	16.38

Glc	22.78	22.46
Xyl	0.00	0.00
Man	31.01	30.58
Fru	0.00	0.00
Rib	4.32	5.11
Gal-UA	2.22	2.03
Gul-UA	0.00	0.00
Glc-UA	11.25	10.29
Man-UA	0.00	0.00

2.2 LPE 对发酵乳加工特性的影响

2.2.1 不同添加量 LPE 对发酵乳 pH 的影响

LPE 对发酵乳发酵到储藏 12 天过程中 pH 变化的影响如图 3 所示。根据图 3 的结果显示, 在整个冷藏过程中, 各组发酵乳的 pH 整体呈下降趋势。对照组的 pH 从初始值 4.65 下降到 4.25, 而实验组的 pH 从初始值 4.60 左右下降到 4.20 左右。可以看出, 对照组的 pH 始终高于实验组的 pH, 表明添加 LPE 可以有效降低发酵乳的 pH。Du 等^[27]表明, 较低的 pH 值有助于抑制酸奶中有害细菌的生长, 延缓产品的变质。

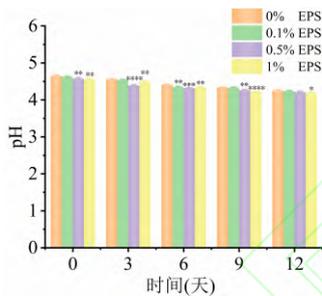


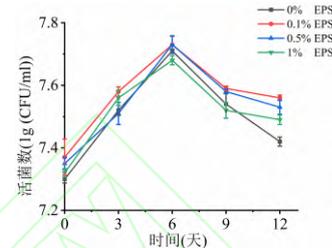
图 3 LPE 对发酵乳储藏过程中 pH 变化的影响

Fig. 3 Effect of LPE on pH change during storage of fermented milk

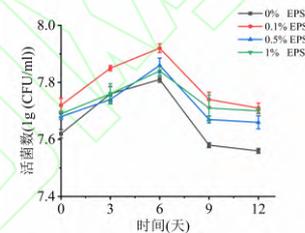
2.2.2 发酵过程中活菌数的变化

LPE 对发酵乳发酵到储藏 12 天过程中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌活菌数的变化如图 4 所示, 在冷藏期间, 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌活菌数均呈现出先升高后降低的趋势, 且在第 6 天时达到最高值。在前 9 天各组的保加利亚乳杆菌数均无明显差异, 即表示各组的活菌数保持相对稳定。而在第 12 天时, 对照组下降了 3.76%, 而实验组下降则趋于缓慢, 0.1%, 0.5%, 1% 组分别下降了 2.2%, 2.59%, 2.86%。各组的嗜热乳杆菌活菌数则相对差异较大, 其中 0.1% 组的嗜热乳杆菌活菌数最高, 相对于菌数达到最高的第 6 天, 在第 12 天时 0.1% 组下降了 2.65%, 0.5% 组和 1% 整体趋势差异不大, 相对于第 6 天分别下降了 2.54% 和 1.79%, 而对照组下降则最为明显, 相较于第 6 天下降了 3.2%, 表明添加一定量的 LPE 可以增加发酵乳中的保加利亚

乳杆菌和嗜热链球菌活菌数, 其中以 0.1% 的用量最为明显。这可能是由于适量的 LPE 能够促进乳酸菌更好的利用发酵乳中的营养物质, 而在贮藏 9 d 后活菌数逐渐减少可能由于随着发酵期的延长, pH 值下降从而不利于乳酸菌的生长。乳酸菌能够更好的改善胃肠道的菌群环境, 从而有效抑制腐败微生物生长。LPE 可以作为一种潜在的益生元, 促进发酵乳中乳酸菌的生长, 从而增强发酵乳的益生元特性。



(a) 保加利亚乳杆菌



(b) 嗜热链球菌

图 4 LPE 对发酵乳储藏过程中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌活菌数的变化

Fig. 4 Changes of live bacteria count of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during storage of fermented milk by LPE

2.2.3 不同添加量 LPE 对发酵乳持水力的影响

发酵乳的持水力是蛋白质凝胶网络持水的能力, 如果持水力弱, 很可能会引起乳清沉淀的现象。持水力是衡量酸奶质量的一个重要指标。LPE 对发酵乳发酵到储藏 12 天过程中持水力变化的影响如图 5 所示。

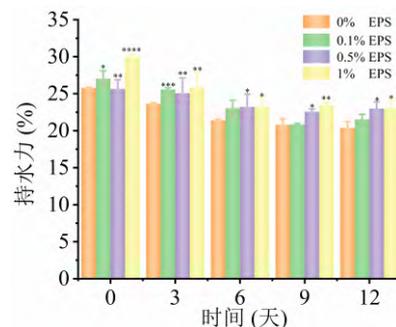


图 5 LPE 对发酵乳储藏过程中持水力变化的影响

Fig. 5 Effect of LPE on the change of water retention during storage of fermented milk

由图 5 可知, 各组发酵乳的持水力都呈下降趋势, 而实验组的持水能力均高于对照组, 这表明, LPE 的加入提高了酸奶的持水力, 减少了乳清沉淀, 限制了发酵乳的脱水和收缩效应, 从而提高了发酵乳的稳定性。

2.2.4 不同添加量 LPE 对发酵乳质构特性的影响

酸奶的质地是其最重要的质量参数之一。本研究测定了酸奶的硬度、稠度和内聚性(图 6)。对照组和实验组的稠度、硬度和内聚性在前 3 天均大幅下降, 此后均趋于稳定。在第 0 天时对照组的稠

度最低, 而 0.5% 组的稠度最高, 可能是由于适量添加 LPE 能增加发酵乳的稠度, 而随着时间的延长, 对照组相对实验组下降趋势较为缓慢, 相对于实验组, 对照组的稠度在 12 天内变化最小, 下降了 38.35%, 0.5% 组的稠度变化最大, 下降了 43.02%, 可能是由于发酵后期乳清大量析出所致。而在这 12 天内对照组的硬度均大于实验组, YANG 等^[28]研究发现植物乳杆菌发酵剂的加入可能会导致发酵乳变软。1% 组的内聚性变化最小, 而其他组的差异均不明显。

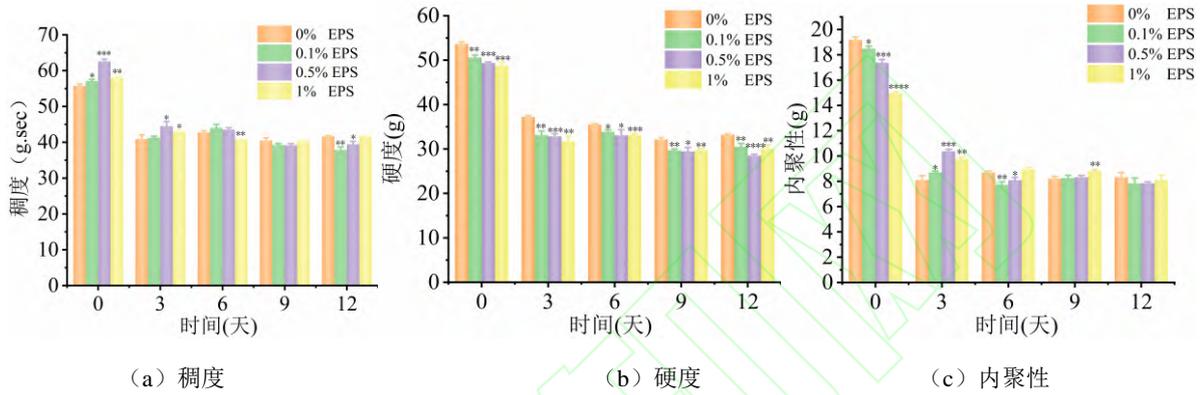


图 6 LPE 对发酵乳储藏过程中质构特性变化的影响

Fig. 6 Effect of LPE on the change of texture properties of fermented milk during storage

2.2.5 不同添加量 LPE 对发酵乳流变特性的影响

LPE 对发酵乳发酵到储藏过程中黏度随剪切力的变化曲线如图 7 所示。由图 7 可知, 各组的黏度均随着剪切速率的增加而减小, 而且黏度均随着 LPE 添加量的增多而增大, 1% 组始终最高, 表明发酵乳的剪切速率与 LPE 的添加量有关, 对照组和

0.1% 组差别始终不大, 在第 6 天和第 12 天时均低于对照组, Hassan 等^[29]表明低浓度的多糖与酪蛋白形成的网络结构不够牢固会影响其黏度, 而冷藏后期各组的黏度均有所下降, 可能是由于冷藏过程中酸度的增高所导致^[30,31]。

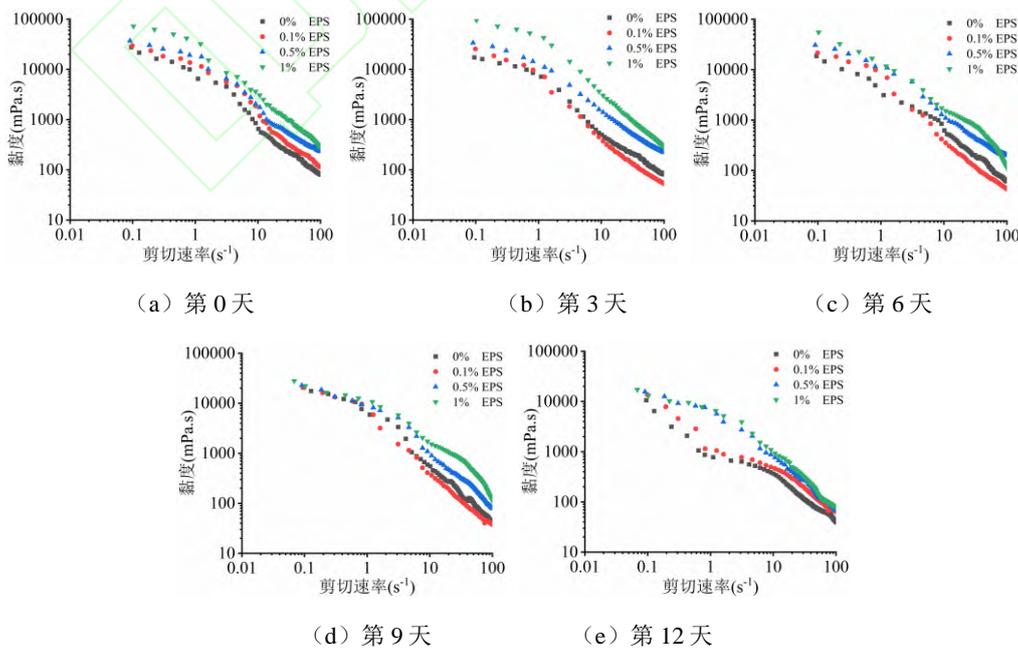


图 7 LPE 对发酵乳储藏过程中黏度随剪切力的变化曲线

Fig. 7 Curve of viscosity change of LPE with shear force during storage of fermented milk

添加 LPE 对发酵乳发酵到储藏过程中频率变化情况如图 8 所示。各组的 G' 和 G'' 值都随着扫描频率的增加而增大, 且与对照组相比, 实验组的值始终更高, 而 G' 值始终大于 G'' , 这表明了发酵乳的弹性大于黏性, 呈现了固体特性, 而从 0 天到第 12

天实验组的值均高于对照组, 表明在发酵乳中方添加 LPE 可以有效增加发酵乳的黏弹性, 在第 3 天时 G' 和 G'' 值最高, 在发酵后期逐渐下降, 这可能是由于发酵后期酸度上升及乳清大量的析出导致发酵乳黏弹性降低。

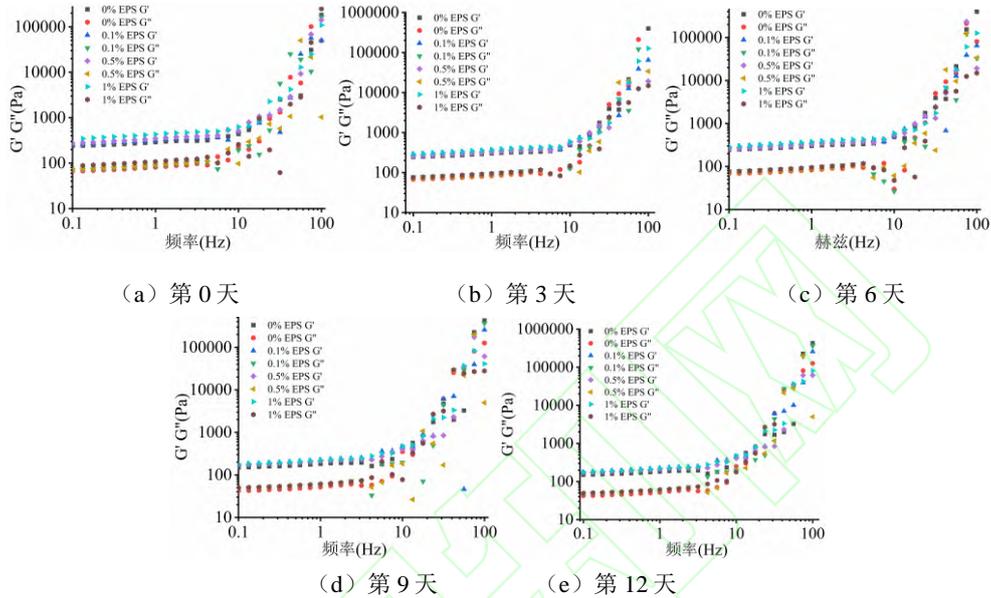


图 8 添加 LPE 对发酵乳储藏过程中频率变化情况

Fig. 8 Variation of frequency of fermented milk during storage by adding LPE

2.2.6 不同添加量 LPE 对发酵乳感官评价的影响

LPE 对发酵乳发酵到储藏过程中感官品质变化如图 9 所示。由图 9 可知, 对照组的评分显著低于实验组, 表明添加了 LPE 后的发酵乳口感较好, 而其中, 0.5% 组评分最高, 表明适量添加 LPE 可以增加发酵乳的口感, LPE 添加量增加到 1% 则会降低发酵乳的风味。有报道称^[32], 虽然乳酸菌的 EPS 大多是无味的, 但它确实延长了奶制品在口中停留的时间, 从而增强了味觉。

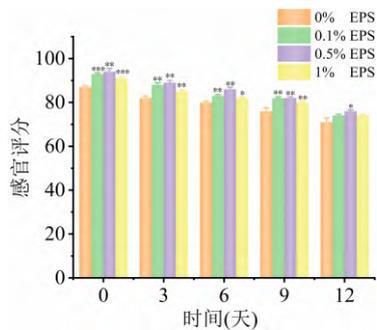


图 9 LPE 对发酵乳储藏过程中感官品质变化

Fig. 9 Effects of LPE on sensory quality of fermented milk during storage

3 结论

通过测定 LPE 的理化性质可知, LPE 的总糖含量为 67.94%, 蛋白质含量为 1.24%, 糖醛酸含量为 9.72%, 表面呈分支多孔的网状结构。分子质量为 1.01×10^6 , 主要由甘露糖: 葡萄糖: 半乳糖按相对摩尔比 31.01: 22.78: 16.38 组成。

在发酵乳发酵和冷藏过程中, 添加 LPE 可以有效降低发酵乳的 pH。并且可以有效改善发酵乳的持水能力, 从而提高发酵乳的稳定性。添加 0.1% 的 LPE 可以增加发酵乳中的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌活菌数。添加适量的 LPE 可以降低发酵乳硬度, 增加发酵乳稠度, 而对内聚性的影响不大, 在发酵乳中添加一定量的 LPE 可以有效增加发酵乳的黏弹性, 并且可以使其与酪蛋白形成的网络结构更加紧密, 而添加 0.5% 的 LPE 则有利于改善发酵乳的口感。本研究为发酵乳的加工提供了参考, 也为胞外多糖的应用提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] KOWSALYA M, SUDHA K G, ALI S, et al. Sustainability and controlled release behavior of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* PRK7 and its application in probiotic yogurt production[J]. Food bioscience, 2023, 52: 102430.
- [2] HICKISCH A, BEER R, VOGEL R F, et al. Influence of lupin-based milk alternative heat treatment and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the physical characteristics of lupin-based yogurt alternatives[J]. Food Research International, 2016, 84: 180-188.
- [3] YILMAZ T, ŞİMŞEK Ö. Potential health benefits of rosy exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*[J]. Molecules, 2020, 25(14): 3293.
- [4] CHEN X, LIU G, ZHAO L, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* X7022 ameliorates loperamide-induced constipation and modulates gut microbiota in mice[J]. Food Bioengineering, 2022, 1(3-4): 252-263.
- [5] SUN H, WARREN J, YIP J, et al. Factors influencing gallstone formation: a review of the literature[J]. Biomolecules, 2022, 12(4): 550.
- [6] CAO F, DING Q, ZHUGE H, et al. *Lactobacillus plantarum* ZJUIDS14 alleviates non-alcoholic fatty liver disease in mice in association with modulation in the gut microbiota[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 9: 1071284.
- [7] XU Y, ZHANG W., ZHU M, et al. *Lactobacillus plantarum* GMNL-662 and *Lactobacillus plantarum* 299v prevent osteoporosis in mice with colitis by down-regulating Akkermansia in the gut microbiome[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 99: 105328.
- [8] ISMAEL M, GU Y, CUI Y, et al. Probiotic of *Lactiplantibacillus plantarum* NWFU-BIO-BS29 isolated from Chinese traditional fermented milk and its potential therapeutic applications based on gut microbiota regulation [J]. Foods, 2022, 11(23): 3766.
- [9] LIU G, KHAN I, LI Y, et al. Overcoming anxiety disorder by probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* LZU-J-TSL6 through regulating intestinal homeostasis[J]. Foods, 2022, 11(22): 3596.
- [10] BENGGOA AA, DARDIS C, GAGLIARINI N, et al. Exopolysaccharides from *Lactobacillus paracasei* isolated from kefir as potential bioactive compounds for microbiota modulation[J]. Frontiers in microbiology, 2020, 11: 583254.
- [11] BIBI A, XIONG Y A, RAJOKA M S, et al. Recent advances in the production of exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and its application in the food industry: A review.[J] Sustainability, 2021, 13(22):12429.
- [12] Li J Y, MENG J, GAO SM, et al. Exopolysaccharide from *Lactobacillus planterum* LP6: Antioxidation and the effect on oxidative stress[J]. Carbohydrate polymers, 2013, 98(1): 1147-1152.
- [13] WANG J, WU T, FANG X, et al. Characterization and immunomodulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* JLK0142 isolated from fermented dairy tofu[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 115: 985-993.
- [14] 李贞景, 柴沛含, 刘欢欢, 等. 一株能降解尿酸的植物乳杆菌、益生菌组合物及其应用: CN115786187A[P]. 2023-03-14.
- [15] 赖田甜, 赵华, 姚梦柯, 等. 植物乳杆菌 NMGL2 胞外多糖对其生长特征及发酵乳加工特性的影响[J]. 中国酿造, 2022, 41(02): 113-118.
- [16] CROWLEY S, MAHONY J, VAN SINDEREN D. Comparative analysis of two antifungal *Lactobacillus plantarum* isolates and their application as bioprotectants in refrigerated foods[J]. Journal of applied microbiology, 2012, 113(6): 1417-1427.
- [17] DUBIOS M, GILLES K A, HAMILTON J K .et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28:250-256.
- [18] BARBOSA H, SLATER N K H, MARCOS J C .Protein quantification in the presence of poly(ethylene glycol) and dextran using the Bradford method[J]. Analytical Biochemistry, 2009, 395(1): 108-110.
- [19] BITTER T, MUIR H M. A modified uronic acid carbazole reaction[J]. Analytical biochemistry, 1962, 4(4): 330-334.
- [20] 蔡淼, 郝晓娜, 罗天淇, 等. 植物乳杆菌 YW11 胞外多糖对酸乳加工特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 39-45.
- [21] 孙盛, 陈作国, 俞赞霞, 等. 产胞外多糖植物乳杆菌 WHH589 的免疫活性及其在发酵乳中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(13): 43-50.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会; 国家食品药品监督管理总局. 中国标准书号: GB/T 4789.35-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会; 国家食品药品监督管理总局. 中国标准书号: GB/T 12696-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [24] 王艺会, 蔡淼, 张敏, 等. 添加酪蛋白水解肽改善酸乳的加工特性[J]. 食品科学, 2022, 43(12): 34-41.
- [25] 王雪杭, 李瑞东, 蒋云龙, 等. 植物乳杆菌胞外多糖协同鱼

- 明胶改善低脂酸奶品质特性[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 73-81.
- [26] ABO SAIF F A A, SAKR E A E. Characterization and bioactivities of exopolysaccharide produced from probiotic *Lactobacillus plantarum* 47FE and *Lactobacillus pentosus* 68FE.[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2020, 24: 100231.
- [27] DU H, WANG X, YANG H, et al. Effects of mulberry pomace polysaccharide addition before fermentation on quality characteristics of yogurt[J]. Food Control, 2023, 153: 109900.
- [28] YANG T, WU K, WANG F, et al. Effect of exopolysaccharides from lactic acid bacteria on the texture and microstructure of buffalo yoghurt[J]. International Dairy Journal, 2014, 34(2):252-256.
- [29] HASSAN A N , IPSEN R , JANZEN T ,et al. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(5):1632-1638.
- [30] WANG J , ZHAO X , TIAN Z ,et al. Characterization of an xopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 125:16-25.
- [31] URSHEV Z L , DIMITROV Z P , FATCHIKOVA N S ,et al. Partial characterization and dynamics of synthesis of high molecular mass exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 24(2):171-179.
- [32] OLIVEIRA M N, SODINI I, REMEUF F, et al. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria[J]. International dairy journal, 2001, 11(11-12): 935-942.