

周方方,吴正钧,陈 臣,等. 1 种肠膜明串珠菌发酵稀奶油的研制[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):270-272.

1 种肠膜明串珠菌发酵稀奶油的研制

周方方,吴正钧,陈 臣,徐致远,刘振民,郭本恒

(光明乳业股份有限公司研究院/乳业生物技术国家重点实验室/光明乳业股份有限公司技术中心/
上海乳业生物工程技术研究中心,上海 200436)

摘要:为提高脱脂奶生产副产品稀奶油的利用率,以 1 株具有良好的产胞外多糖能力的肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) Leuco4 为发酵剂,添加 10% 白砂糖,28 ℃ 发酵稀奶油得到涂抹型发酵稀奶油制品。该菌发酵的稀奶油在析水性、流动性(黏度)、涂抹性及感官评定方面均优于对照菌株,7 d 保质期内产品状态稳定,几乎不析水,涂抹性好。该发酵稀奶油不含任何稳定剂、增稠剂及乳化剂,但稳定性好、稠度佳、保水性很好,符合清洁标签以及健康自然食品要求。

关键词:肠膜明串珠菌;发酵稀奶油;清洁标签

中图分类号: TS225.2⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0270-03

肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)是乳酸菌中明串珠菌属的重要菌种,是被美国食品药品监督管理局(FDA)和美国饲料协会(AAFCO)于 1989 年列为可以直接食(饲)用的 42 种安全微生物之一,我国卫生部也于 2012 年将肠膜明串珠菌肠膜亚种列入《可用于食品的菌种名单》。研究证实,肠膜明串珠菌能使糖类发酵产生多种酸、醇,具有产胞外多糖能力、抗氧化能力、拮抗致病菌等能力^[1]。肠膜明串珠菌可

以代谢生成胞外多糖(EPS),这类多糖是由 α -D-葡萄糖苷构成的同质性多糖,如右旋葡聚糖(dextran)^[2-3],肠膜明串珠菌的蔗糖代谢产物为黏性葡聚糖^[1]。在乳品加工领域,右旋葡聚糖及其他类型胞外多糖均可用作增稠剂提高产品黏度,以及用作稳定剂减弱蛋白质的脱水收缩作用,提高产品稳定性。因此,胞外多糖在发酵乳、奶油、面点及调味乳等众多食品或饮料的生产加工过程中起重要作用。

稀奶油是脱脂鲜牛奶生产过程中的副产品,也是重要的甜品及糕点原料。开发稀奶油加工工艺,创新产品也成为研究热点。发酵稀奶油是稀奶油加工的一种方式,通过发酵可以延长稀奶油的储存期,增加风味。现有技术中发酵稀奶油一般是用含以下菌种的混合发酵剂:乳酸链球菌、乳脂链球菌、丁二酮乳链球菌、嗜柠檬酸链球菌、副嗜柠檬酸链球菌等^[4],可根据风味和产酸需要进行组合。目前还未见使用单株肠膜明串珠菌的专利或报道。现有技术须要用到多种菌株

收稿日期:2013-11-14

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD18B01);国家“863”计划(编号:2011AA100901)。

作者简介:周方方(1981—),女,山东烟台人,硕士,工程师,研究方向为食品生物技术。E-mail:zhoufangfang@brightdairy.com。

通信作者:郭本恒,博士,教授级高级工程师,研究方向为食品生物技术。E-mail:gbhbrightdairy@hotmail.com。

为 B、C、D,即提取时间 > 提取次数 > 料液比 > 乙醇浓度;总蒽醌最佳提取条件为 A₂B₃C₃D₂,即浸提时间为 1.5 h、提取次数为 3 次、乙醇浓度为 70%、料液比为 1 g:12 mL。在最优提取条件下,茜草总蒽醌的提取率为 12.45%。

3 小结

茜草中含有丰富的蒽醌类化合物,本试验详细探讨茜草中蒽醌类物质的提取工艺,为茜草的进一步开发利用提供了有益的参考。虽然提取的次数和时间越多越好,但结合生产实践,最佳提取工艺为浸提时间为 1.5 h、提取次数为 3 次、乙醇浓度为 70%、料液比为 1 g:12 mL,此时,总蒽醌的提取率最高,为 12.45%。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 2010 版. 北京:中国医药科技出版社,2010,218.
- [2] 杨连荣,周庆华,张哲锋,等. 茜草的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2007,24(1):21-23.

- [3] 张 琳,彭 亮,胡本祥. 茜草的化学成分研究进展[J]. 现代中医药,2008,28(2):52-54.
- [4] 余旭东,杨季菱. 茜草与茜草炭药理作用比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(9):53-56.
- [5] 许兰芝,赵世琴,胡庆伟,等. 茜草总蒽醌抗炎抗风湿作用及机制[J]. 潍坊医学院学报,2002,24(1):11-13.
- [6] 陈 星,王 侃,单鸣秋,等. UPLC 测定茜草炭中 4 种醌类成分的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(19):2922-2925.
- [7] 陈小全,杨晓东,邵辉莹,等. 超声波作用下提取茜草色素及稳定性实验[J]. 泰山医学院学报,2013,34(3):173-176.
- [8] 浦益琼,王 冰,张 彤,等. 大孔树脂柱层析法制备茜草总蒽醌提取物的实验研究[J]. 中成药,2013,35(9):1900-1905.
- [9] 卫亚丽,梁 芳,汤洪敏. 中药茜草中总蒽醌含量的测定[J]. 贵州农业科学,2011,39(8):51-53.
- [10] 苏静慧,吕强三,李红霞. 超声波法提取茜草中蒽醌成分[J]. 河北理工大学学报:自然科学版,2011,33(4):101-104.
- [11] 浦益琼,王 冰,张 彤,等. 茜草提取物中大叶茜草素测定的方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):94-96.

混合发酵,在发酵剂制备中,工艺复杂较难控制。同时为了维持产品形态和口感,发酵产品要添加多种稳定剂等,除增加成本外,也不符合当代社会对自然健康食品的追求。本研究以筛选自云南省传统乳制品的肠膜明串珠菌为发酵剂进行单株发酵,以简洁配方、简单工艺得到口感、风味、质地俱佳且不含任何添加剂的发酵稀奶油产品,以期为稀奶油的利用增加新工艺。

1 材料与方法

1.1 原料、菌株与试剂

稀奶油,光明乳业股份有限公司乳品四厂脱脂乳产品副产品;白砂糖,广西上上糖业有限公司;脱脂乳粉,新西兰 Snylait 公司,食品级。

肠膜明串珠菌 Leuco4 (CGMCC NO. 6432) 筛选自云南省传统乳制品,本实验室保藏;乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) MD88、肠膜明串珠菌 LM79 购自美国杜邦公司;M17 培养基购自德国 Merck 公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

APV-1000 均质机,美国 APV 公司;高速搅拌机,上海 Flunko 公司;恒温水浴锅,GFL 公司;CA-1480-3 型无菌工作台,上海净化设备有限公司;Bostwick 稠度计,CSC Scientific 公司;ZD-2 型自动电位滴定仪,上海雷磁仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 发酵种子液的制备 取-80℃保存的肠膜明串珠菌 Leuco 4,在含 5% 蔗糖的 M17 平板上活化(28℃),并在含 5% 蔗糖的无菌脱脂乳中逐级扩培,培养温度为 28℃,培养时间为 30 h,得到发酵种子液,冷却;发酵种子液中肠膜明串珠菌菌落数为 1 亿 CFU/mL。

1.3.2 稀奶油的发酵 稀奶油(加热到 50℃,质量分数 90%) + 白砂糖(质量分数 10%)→高速搅拌 20 min→加热到 60~65℃→均质[一级压力(16.5±0.5)MPa,二级压力(3.5±0.5)MPa]→90~95℃杀菌,5 min→冷却至 25~30℃→接种→28℃、100 r/min 发酵(每隔 1 h 振荡 5 min)→冷却、灌装。以滴定酸度达到 33~36℃T 为发酵终点,滴定方法参考 GB 5413.34—2010《乳和乳制品酸度的测定》。如果发酵结束有乳清析出,则须在灌装前排掉乳清。

以乳酸乳球菌 MD88 同样条件下发酵稀奶油的样品为对照 1(发酵过程中不须振荡),以肠膜明串珠菌 LM79 同样条件下发酵稀奶油的样品为对照 2,分别进行后续指标测定。

1.3.3 产品指标的测定

1.3.3.1 流动性(黏度)测试 用 Bostwick 稠度计对发酵稀奶油进行流动性(黏度)效果检验。将清洁干燥的稠度计放

于水平位置,调整水平螺旋使水泡居中。关闭、扣紧容量阀阅门,称取样品填满容量皿,样品测试在(20±1)℃下进行,并用刮刀刮平顶部,记录样品温度。按下阅门扣、打开阅门使样品流下,同时开始计时。30 s 时读取样品流动在刻度板上的读数,即稠度值。精确到 0.1 cm。每个样品测试 3 次,取平均值。

1.3.3.2 析水试验^[5] 对发酵稀奶油进行析水试验。先对 1 个空容器称重,记为 m_0 ,在该容器上盖 1 个 200 目的筛子,在筛子上对一定量样品称重,记为 m_1 (本试验取 50 g 样品),在 30℃恒温箱放置 12 h 后,取出称容器总重 m_2 ,按如下公式计算析水率。析水率越小,表示持水性越好。

析水率 = $(m_2 - m_0) / m_1 \times 100\%$ 。 (1)

1.3.3.3 感官测定 感官评定由 20 名经过培训的评价员完成。从色泽(10 分)、气味(10 分)、组织状态(30 分)、滋味(40 分)、涂抹性(10 分)等 5 个方面对发酵稀奶油进行感官评分,评分标准见表 1。

1.3.4 保质期内状态变化 设计发酵稀奶油产品的保质期为 7 d。4℃冷藏 7 d 后,观察产品状态,分别对其进行酸度、析水性以及感官测定。

表 1 感官评分标准

指标	标准	得分
色泽	色泽均匀一致,呈乳白色到乳黄色	8~10
	色泽发黄或白,分布不均匀	5~7
	色泽发乌,可接受性差	0~4
气味	有奶油特有的香气,气味自然	8~10
	有奶香,气味不太自然	5~7
	无奶香,气味接受性差	0~4
组织状态	组织细腻光滑,均匀一致,无乳清析出	25~30
	组织均匀,少量乳清析出	10~24
	大量乳清析出,有颗粒状凝块	0~9
滋味	滋味纯正,口感润滑	35~40
	口感不柔和,能接受	15~34
	口感粗糙,不自然,接受性差	0~14
涂抹性	黏度适中,易于涂抹	8~10
	黏度可以接受,涂抹较容易	5~7
	黏度太高或太低,很难涂抹开或太稀无法涂抹	0~4

2 结果与分析

2.1 产品

以 Leuco 4 为发酵剂,按“1.3.2”方法制作发酵稀奶油,分别以乳酸乳球菌 MD88 同样条件下发酵稀奶油的样品为对照 1,以肠膜明串珠菌 LM79 同样条件下发酵稀奶油的样品为对照 2,每 8 h 观察状态,结果见表 2。

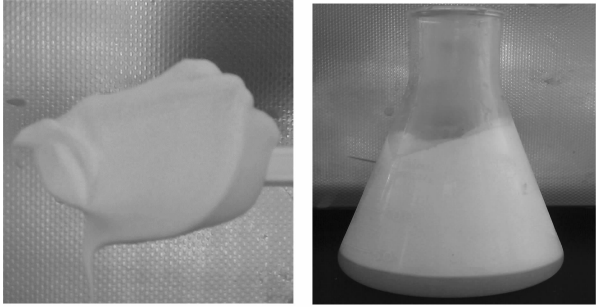
表 2 不同培养时间发酵稀奶油状态变化

样品	发酵稀奶油状态变化					
	培养 8 h	培养 16 h	培养 24 h	培养 32 h	培养 40 h	培养 48 h
Leuco4 发酵	无明显变化	无明显变化	质地开始黏稠	质地稍有黏稠	质地比较黏稠	质地明显黏稠
对照 1	无明显变化	脂肪开始上浮	脂肪稍有上浮	脂肪上浮	脂肪明显上浮	脂肪明显上浮
对照 2	无明显变化	脂肪开始上浮	脂肪上浮	脂肪明显上浮	脂肪明显上浮	脂肪明显上浮

试验表明,使用肠膜明串珠菌 LM79、乳酸乳球菌 MD88 发酵得到的发酵稀奶油质地黏稠性不佳、保水性不好,发酵

16 h 后脂肪就开始上浮,发酵 2 d 后脂肪上浮很明显(图 1-a),肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵 2 d 后得到的发酵稀奶油质地

黏稠,几乎没有乳清析出,保水性好,涂抹性佳(图 1-b)。



a. Leuco4发酵稀奶油
b. 对照组稀奶油
图1 发酵 2 d 时 Leuco4 发酵稀奶油与对照组稀奶油状态

2.2 流动性(黏度)试验

不接种发酵剂的无菌稀奶油放置 1 d 后,均出现明显的脂肪上浮现象,这是由于脂肪球密度小于乳清而发生的物理现象。而接种 Leuco4 发酵剂的稀奶油质地均一、无分层现象,说明菌种的发酵作用及发酵产物维持了体系的均一、稳定,具有一定的保水能力,因而能抓住水分。本研究用 Bostwick 稠度计进行流动性(黏度)测试,由表 3 可见,试验组稀奶油流动性效果明显好于对照组。以往研究表明,肠膜明串珠菌在只有蔗糖的培养基中发酵得到葡聚糖^[3],已有专利证实 Leuco4 在含蔗糖的脱脂乳中发酵,产多糖达到 10 g/L 以上^[6],因而推测试验组产品黏度高、无分层现象与其产生的葡聚糖有关。另 1 株肠膜明串珠菌的发酵稀奶油流动性与析水率均表现不佳,可能是由于其产胞外多糖的分子量比较小,因而发酵产物黏度低、持水性差。

表 3 Bostwick 黏度测试结果

样品	黏度 (cm/30 s)
对照 1 (MD88)	3.2 ± 0.1
对照 2 (LM79)	3.5 ± 0.2
试验组 (Leuco4)	2.0 ± 0.1

2.3 析水试验

析水试验结果反映产品的持水能力,是衡量乳制品尤其是涂抹型奶油或奶酪酱的重要指标。由表 4 可见,对照 1 接种 MD88 的发酵稀奶油,析水率达到了 5.1%;对照 2 接种 LM79,发酵后析水率降到 1.1%;而接种肠膜明串珠菌 Leuco4 的样品几乎不析水,析水率低至 0.2%,表明 Leuco4 发酵产品有非常好的持水能力。

表 4 各样品析水率比较

样品	析水率 (%)
对照 1 (MD88)	5.1 ± 0.1
对照 2 (LM79)	1.1 ± 0.1
试验组 (Leuco4)	0.2 ± 0.1

2.4 感官评定

由表 5 可见,与单株乳酸乳球菌发酵产品相比,肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵的稀奶油极大改善了产品风味,增加了口感,获得更好的喜好度;同时比另 1 株肠膜明串珠菌 LM79 获得更高的满意度。说明该菌株能使产品质地更细腻油滑、风味清香、口感浓郁、适于涂抹,具有更高的附加价值。

表 5 感官评定结果

样品	得分(分)
对照 1 (MD88)	73.2
对照 2 (LM79)	82.5
试验组 (Leuco4)	89.2

2.5 保质期末状态

由表 6 可见,由肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油产品 4 ℃ 冷藏 7 d 后析水率没有变化,黏度、酸度稍有增加,感官评定分数稍有下降,总体还是得到比较理想的满意度(>85 分),在保质期内能保持理想的状态和口感,维持产品品质。

表 6 保质期末产品指标

保存时间 (d)	黏度 (cm/30 s)	酸度 (°T)	析水率 (%)	感官得分 (分)
1	2.0	35	0.2	89.2
7	1.7	40	0.2	86.3

3 结论

本研究表明,由肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵的稀奶油,在流动性和保水性上有明显改善。相对传统单菌发酵稀奶油而言,Leuco4 发酵稀奶油口感浓郁,质地更佳。同时该发酵稀奶油中不含任何稳定剂、增稠剂及乳化剂,但仍然质地细腻,保水性良好,符合清洁标签以及健康自然食品要求。

参考文献:

[1]李文斌,宋敏丽,高荣琨. 肠膜明串珠菌的研究和应用进展[J]. 食品工程,2006(4):3-4,11.
[2]高莉莉. 肠膜明串珠菌发酵生成低聚糖的研究[D]. 北京:北京林业大学,2009:6-9.
[3]张雄杰,孙庆林,达 赖,等. 肠膜明串珠菌胞外多糖的研究进展及其在饲料业中的应用前景[J]. 畜牧与饲料科学,2012,33(9):59-62.
[4]张和平,张列兵. 现代乳品工业手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005:647.
[5]莫蓓红,肖 杨,苗君莅,等. 一种奶酪酱及其制备方法:中国,200910195301.3[P]. 2009-09-08.
[6]韩 璠,吴正钧,周方方,等. 一株肠膜明串珠菌及其胞外多糖与应用:中国,201210581248.2[P]. 2012-12-27.