

细菌素 bifidocin A 对凝固型发酵乳品质及贮藏性能的影响

邱爽^{1,2} 宋铮¹ 张璟琳¹ 王落琳^{1,3} 刘国荣^{1*} 孙宝国¹

(¹北京食品营养与人类健康高精尖创新中心 北京市食品添加剂工程技术研究中心

北京工商大学 北京 100048

²天津大学化工学院 天津 300350

³首都师范大学生命科学学院 北京 100048)

摘要 目的: bifidocin A 是由动物双歧杆菌 BB04 代谢合成的一种新型广谱高效细菌素, 有作为天然食品生物防腐剂的巨大应用潜力。本研究旨在探讨细菌素 bifidocin A 在凝固型酸奶生产、加工及贮藏过程中的应用可行性。方法: 以 50 mg/mL 乳酸链球菌素(nisin)为对照, 设置细菌素 bifidocin A 的不同添加量(56, 28, 14 mg/mL)处理组, 通过测定凝固型酸奶 28 d 贮藏期内 pH 值、可滴定酸度、持水力、活菌数、质构性、流变性、挥发性风味物质含量等指标变化, 分析比较细菌素 bifidocin A 对其产品品质及贮藏性能的影响。结果: 添加 28 mg/mL 细菌素 bifidocin A 可在 28 d 贮藏期内维持酸度小于 110 °T, pH>4.2, 活菌数高于 10⁸ CFU/mL, 且酸奶持水力及挥发性风味物质含量显著提高。结论: 细菌素 bifidocin A 可作为一种替代乳酸链球菌素的天然防腐剂加入凝固型酸奶中, 以提高其产品品质及贮藏性能, 其最佳添加量为 28 mg/mL。

关键词 动物双歧杆菌; 细菌素; 酸奶; 品质; 贮藏性能

文章编号 1009-7848(2020)09-0156-10 doi: 10.16429/j.1009-7848.2020.09.019

酸奶是以生牛(羊)乳或乳粉为原料, 经过杀菌并接种嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌(德氏乳杆菌保加利亚亚种)发酵等工艺而制成的一种乳制品。由于其具有营养丰富、风味独特且易于人体消化吸收等优点, 所以深受大众喜爱。然而, 酸奶在贮藏过程中会发生后酸化现象, 即酸奶在结束正常发酵后, 在贮存、运输、销售、饮用前等过程中, 酸奶的菌体仍在不断繁殖, 酸度持续上升, 出现消费者难以接受的过酸味和感官品质的下降, 进而影响酸奶的贮藏性能及跨地域销售^[1-2]。

国内外研究学者广泛开展了酸奶弱酸化发酵

菌株的筛选, 这种优质菌株的筛选十分困难, 现存的优质菌株大多掌握在国外企业机构手中, 引入这些菌株会大大提高中国乳品企业的成本^[3-5]。目前食品工业上普遍使用的防止酸奶后酸化的方法有发酵后二次加热处理^[6], 发酵后快速冷却^[2,6], 改变保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌的比例^[7], 添加乳酸链球菌素(nisin)^[8], 添加葡萄糖氧化酶等^[9-10]。发酵后快速冷却目的是使菌体的活力下降。改变保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌的比例是通过增加发酵剂中球菌对杆菌的比例, 使酸奶后发酵减弱。添加葡萄糖氧化酶是通过黑曲霉、点青霉等发酵制得的一种需氧脱氢酶, 作为天然食品防腐剂除去食品中的氧, 从而有效防止食品腐败。乳酸菌细菌素是乳酸菌代谢过程中合成并分泌到环境中的一类对同种或亲缘较近的种有抑制作用的杀菌蛋白或多肽。其中, 乳酸链球菌产生的乳链菌素已成功应用于食品工业控制酸奶后酸化。

动物双歧杆菌 BB04 可代谢合成新型广谱高效细菌素 bifidocin A, 是国内外首次报道的产细菌素的动物双歧杆菌^[11]。课题组前期已建立 bifidocin A 的提取纯化方法, 分析了该细菌素的分子

收稿日期: 2019-09-20

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目(6192003); 国家自然科学基金面上项目(31871772, 31671832); 北京市属高校高水平教师队伍建设支持计划青年拔尖人才培养计划项目(CIT&TCD201704034); 人才培养质量建设—一流专业建设(市级)—食品科学与工程(PXM2019_014213_000010)

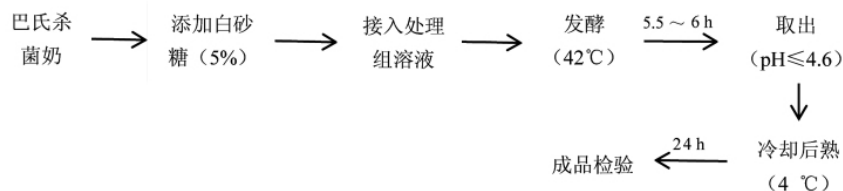
作者简介: 邱爽(1996—), 女, 硕士生

通讯作者: 刘国荣 E-mail: liugorong1983@126.com

结构、生物学特性和抑菌机理,确定其有作为天然食品生物防腐剂的巨大应用潜力^[12-14]。为探讨细菌素 bifidocin A 在凝固型酸奶生产、加工及贮藏过程中的应用可行性,本研究以添加乳酸链球菌素为对照组,设置细菌素 bifidocin A 的不同添加量(56,28,14 mg/mL)处理组,通过测定凝固型酸奶 28 d 贮藏期内 pH 值、可滴定酸度、持水力、活菌数、流变特性、质构性、挥发性风味物质等指标变化,分析比较细菌素 bifidocin A 对产品品质及贮藏性能的影响,旨在为双歧杆菌细菌素的应用推广提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂



1.3.2 试验设计与分组 试验共设计 5 组处理,其中未添加任何细菌素且仅含有商业凝固型酸奶发酵剂 YC-350 组为空白对照组;在混合发酵剂基础上添加终质量浓度 50 mg/mL 乳酸链球菌素组为阳性对照组;在混合发酵剂基础上添加双歧杆菌细菌素 bifidocin A 组为处理组。将处理组按添加量不同分为 3 组:高添加量组,细菌素 bifidocin A 终质量浓度为 56 mg/mL;中添加量组,细菌素 bifidocin A 终质量浓度为 28 mg/mL;低添加量组,细菌素 bifidocin A 终质量浓度为 14 mg/mL。将制备的凝固型酸奶置于 4 °C 贮藏,在贮藏第 0,1,7,14,21,28 天分别检测样品的各项指标,主要包括:pH、可滴定酸度、持水力、活菌数、流变特性、质构性及挥发性风味物质含量。

1.4 凝固型酸奶指标测定方法

1.4.1 凝固型酸奶 pH 值的测定 采用数显式 pH 计,在 20 °C 室温下分别测定 5 组样品的 pH 值。

1.4.2 凝固型酸奶可滴定酸度的测定 采用酸度滴定仪测定酸度值,取 8 g 样品加入适量去离子水作为待测样本,滴定液为 1 mol/L 的 NaOH 溶液,

商业凝固型酸奶发酵剂 YC-350,丹麦科汉森股份有限公司;乳酸链球菌素,美国 Sigma 公司(10⁶ IU/g);MRS、MC 培养基,北京陆桥技术股份有限公司;细菌素 bifidocin A 纯品(比活力 5535 AU/mg,纯度 95.3%),本实验室自主分离提取纯化^[12];巴氏杀菌奶、白砂糖,市售。

1.2 仪器与设备

MCR 102 流变仪,安东帕公司;TMS-pilot 质构仪,美国 FTC 公司;905 滴定仪,Titrande 公司;H185 离心机,天林恒泰科技有限公司;pH400 pH 计,安莱立思仪器科技有限公司;TSQ 8000 Evo 气相色谱-质谱联用仪,赛默飞世尔科技公司。

1.3 酸奶的制备方法

1.3.1 酸奶的制备

直接用滴定仪测滴定酸度。

1.4.3 凝固型酸奶持水力的测定 取适量后熟后的发酵乳,称重放入离心管中,以 2 340 r/min 离心 10 min,除去乳清后再次称重,按下式计算其持水力。

持水力(%)=离心后沉淀物质量(g)/样品质量(g)×100^[15]

1.4.4 凝固型酸奶活菌数的测定 采用选择性培养基,通过菌落平板计数法测定活菌数。分别将 5 个处理组酸奶样品用生理盐水稀释到适当的梯度后倒入计数用无菌培养皿,用 MRS 培养基测定保加利亚乳杆菌活菌数、用 MC 培养基测定嗜热链球菌活菌数,37 °C 培养 36 h,计数结果取对数。

1.4.5 凝固型酸奶流变特性的测定 将发酵乳按顺时针和逆时针分别搅拌 10 圈后,取 5 滴于流变仪检测平台上,选取直径 40 mm 探头,控制温度为 25 °C。分析模式为:频率扫描,频率从 0.01~10 Hz,用 Herschel-Bulkley 模型进行拟合分析。

1.4.6 凝固型酸奶质构的测定 用质构仪进行 TPA 分析。采用直径为 50 mm 的柱形探头,探头下

降速度 90 cm/s, 返回速度 90 m/s, 压缩距离 10 mm, 返回距离 10 mm, 触及力 0.1 g。通过分析力获得硬度、内聚性、弹性、咀嚼性和黏附性、胶黏性 6 个 TPA 参数。

1.4.7 凝固型酸奶挥发性风味物质的测定 取 3 g 发酵乳样品置于 15 mL 的顶空瓶中, 加入 3 mL 饱和 NaCl 溶液, 加入 10 μ L 含有 0.001% 壬酸甲酯的甲醇溶液。在 40 $^{\circ}$ C 条件下平衡 10 min 后, 用聚二甲硅氧烷 (PDMS) 纤维头萃取, 40 $^{\circ}$ C 吸附 40 min, GC 解析 3 min, 用于 GC-MS 分析。

GC 条件为分流方式不分流。程序升温: 40 $^{\circ}$ C 保持 4 min, 以 5 $^{\circ}$ C/min 的速度升温至 100 $^{\circ}$ C, 然后以 10 $^{\circ}$ C/min 的速度升温到 220 $^{\circ}$ C 保持 5 min。载气为氦气, 体积流量为 0.8 mL/min, 进样口温度为 250 $^{\circ}$ C。

MS 条件为: EI 电离源, 电子能量为 70 eV, 灯丝电流为 0.20 mA, 检测器 350 V, 扫描范围为 30~450 amu, 离子源温度为 200 $^{\circ}$ C。

2 结果与分析

2.1 凝固型酸奶贮藏过程中 pH 值的变化

pH 值是评价发酵乳的重要指标之一, 也是发酵乳制品口感和品质的重要影响因素。试验中, 不同处理组酸奶在贮藏过程中 pH 值变化情况如图 1 所示, 可以看出, 发酵过程中, 乳酸菌利用乳品

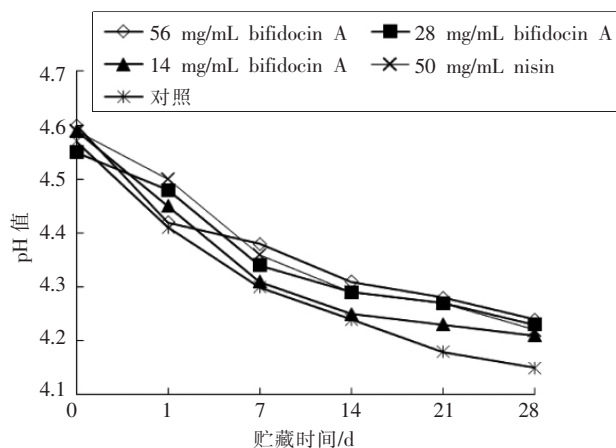


图 1 凝固型酸奶贮藏过程中 pH 值的变化
Fig.1 Changes of set yogurt on pH value during storage

中的碳源产生乳酸, 使 pH 值下降。其中空白对照组在贮藏中 pH 下降趋势明显, 一般酸奶适口的 pH 值为 4.2~4.7, 空白对照组 pH 值达 4.2 以下, 后酸化较为严重。添加了细菌素的 4 组处理组在贮藏中 pH 值下降较为平缓, 尤其以添加 56 mg/mL bifidocin A 组下降最为平缓, 最终 pH 值均大于 4.2。其中, 添加 28 mg/mL bifidocin A 组与添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素组在贮藏过程中 pH 值下降趋势最为接近。

2.2 凝固型酸奶贮藏过程中可滴定酸度的变化

图 2 所示为不同处理组凝固型酸奶在贮藏过程中可滴定酸度变化情况。由图可知, 凝固型酸奶在贮藏过程中, 可滴定酸度均呈升高趋势, 空白对照组上升最为迅速, 根据 GB 5413.34-2010《乳和乳制品酸度的测定》中规定发酵乳的酸度应 $>70^{\circ}$ T^[16-17], 最佳食用酸度为 $80\sim 120^{\circ}$ T^[18-19], 空白对照组在第 28 天时, 酸度已超过 120° T, 后酸化现象十分严重。这是由于酸奶制品中残留的乳糖被活菌继续分解产酸, 导致酸度持续上升。添加 56 mg/mL bifidocin A 组可滴定酸度上升趋势最为平缓, 添加 28 mg/mL bifidocin A 组与添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素组可滴定酸度上升趋势最为接近, 且在发酵 28 d 后酸度仍符合最佳食用酸度标准。

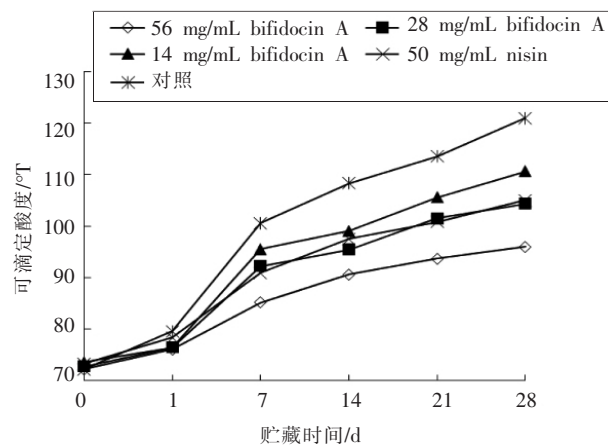


图 2 凝固型酸奶贮藏过程中可滴定酸度的变化
Fig.2 Changes of set yogurt on titratable acidity during storage

2.3 凝固型酸奶贮藏过程中活菌数的变化

不同处理组酸奶在贮藏过程中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的活菌数变化情况分别如图3和图4所示。由图3可知,发酵结束后,56 mg/mL bifidocin A 处理组保加利亚乳杆菌活菌数明显低于其它4组处理,这可能是由于添加高质量浓度的细菌素严重影响了酸奶生产中保加利亚乳杆菌的增长所致;除56 mg/mL bifidocin A 处理组外,其它4个处理组均表现较为类似的活菌数变化趋势,活菌数在发酵期间上升迅速,发酵完成后且贮藏7 d内基本保持不变,之后逐渐减小(图3),这可能是贮藏前期酸奶中乳糖等营养物质含量丰富,乳酸菌活菌数量稳定或有所增长,随着贮藏时间的延长,乳酸菌因缺乏营养物质而逐渐衰亡,从而导致活菌数降低;通过比较不同处理组间活菌数变化,发现在发酵完成后空白对照组活菌数高于其它添加细菌素处理组,且在贮藏前期活菌数缓慢增长,说明细菌素的添加可不同程度抑制酸奶贮藏中乳酸菌的增长。值得关注的是:空白对照组在贮藏7 d后出现了大幅下降,28 d时活菌数达到 2×10^8 CFU/mL,而添加细菌素处理组活菌数下降缓慢,其中,添加28 mg/mL bifidocin A 组、添加14 mg/mL bifidocin A 组与添加50 mg/mL 乳酸链球菌素组在28 d时活菌数都在 5×10^8 CFU/mL 左右。总体来看,在贮藏前期空白对照组虽然活菌数较高,而在贮藏后期添加28 mg/mL bifidocin A 组、添加14 mg/mL bifidocin A 组与添加50 mg/mL 乳酸链球菌素组活菌数明显高于空白对照组。由图4可知,发酵结束后,嗜热链球菌活菌数略低于保加利亚乳杆菌,而在贮藏过程中变化的整体趋势与保加利亚乳杆菌基本一致。

2.4 凝固型酸奶贮藏过程中持水力的变化

图5所示为不同处理组凝固型酸奶在贮藏过程中持水力变化情况,由图可知,随着贮藏时间的延长,不同的处理组持水力指标均有下降,其中以空白对照组下降最为明显,在贮藏第28天时持水力小于68%,严重影响了凝固型酸奶的口感,添加28 mg/mL bifidocin A 组的持水力变化最为缓慢,贮藏前后持水力变化不大,添加28 mg/mL bifidocin A 组与50 mg/mL 乳酸链球菌素组持水力变化趋势最为接近,与添加14 mg/mL bifidocin A 组

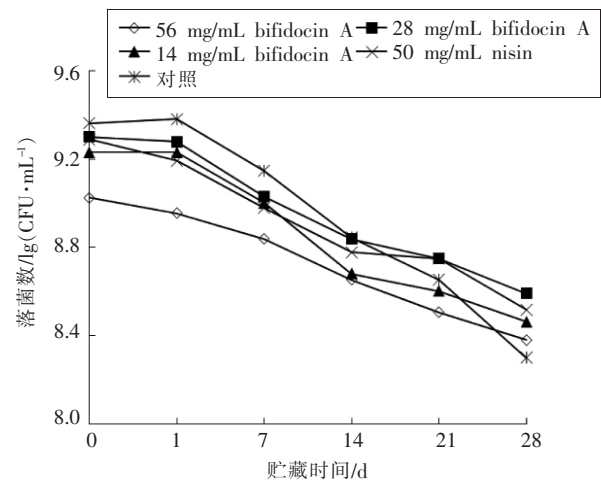


图3 凝固型酸奶贮藏过程中保加利亚乳杆菌活菌数的变化

Fig.3 Changes of set yogurt on viable counts of *Lactobacillus bulgaria* during storage

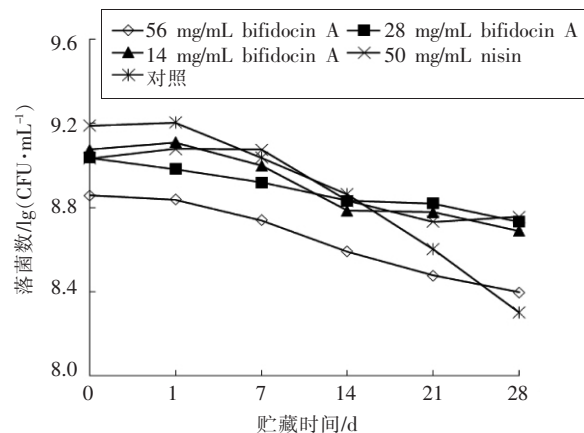


图4 凝固型酸奶贮藏过程中嗜热链球菌活菌数的变化

Fig.4 Changes of set yogurt on viable counts of *Streptococcus thermophilus* during storage

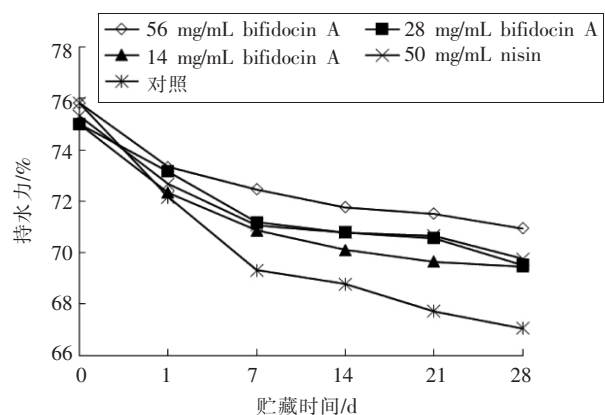


图5 凝固型酸奶贮藏过程中持水力的变化

Fig.5 Changes of set yogurt on water holding capacity during storage

较为接近。

2.5 凝固型酸奶贮藏过程中流变参数的变化

试验中采用 Herschel-Bulkley 模型分析了不同处理组酸乳的流变参数变化情况,结果见表 1,可以看出,4 种样品的相关系数均高于 0.995,表明模型选择合理。

Herschel-Bulkley 模型公式为:

$$\tau_0 = \tau - \kappa r'^n \quad [20]$$

式中, τ ——剪切应力,Pa; κ ——稠度系数,Pa·sⁿ; r' ——剪切速率,s⁻¹; n ——流动特性指数。

流体的屈服应力是指对非牛顿流体施加的剪应力较小时流体只发生变形,不产生流动,当剪应力增大到临界值时流体才开始流动,此时的临界值剪应力称为该流体的屈服应力,用 τ_0 表示。流动行为指数 n 通过对比牛顿流体($n=1$)的偏差程

度,可以显示样品的流变学性质;当 $n < 1$ 时,样品为假塑性流体;当 $n > 1$ 时,样品为胀塑性流体,发酵酸乳为非牛顿流体—假塑性流体^[21], n 值均小于 1。表观黏度 η_{300} 是指当剪切速率为 300 s⁻¹ 时样品的表观黏度。

贮藏过程中各组酸奶的屈服应力有先增大后减小的趋势,由于屈服应力值与硬度相关^[22],说明在贮藏过程中凝固型酸奶的硬度先增大后减小;从稠度系数和表观黏度来看,各组稠度系数变化不明显($P > 0.05$),说明不同处理对凝固型酸奶剪切稀化的特性影响不大。贮藏过程中各组酸奶的表观黏度均有下降趋势,但各组之间表观黏度无明显差异($P > 0.05$)。以上结果表明,添加细菌素未改变凝固型酸奶的流变学特性。

表 1 贮藏过程中凝固型酸奶流变学参数的变化

Table 1 Changes of set yogurt on rheological parameters during storage

贮藏时间/d	样品	Herschel-Bulkley 模型			
		屈服应力 τ_0 /Pa	稠度系数 κ /Pa·s ⁿ	表观黏度 η_{300} /Pa·s	相关系数 R
0	A	3.69 ± 0.15	0.524 ± 0.03	235.62 ± 11	1.000
	B	1.453 ± 0.06	0.715 ± 0.02	182.88 ± 20	1.000
	C	1.126 ± 0.13	0.23 ± 0.06	218.22 ± 17	0.998
	D	1.009 ± 0.03	0.338 ± 0.15	216.53 ± 14	0.998
	E	2.405 ± 0.28	0.459 ± 0.07	148.48 ± 22	0.999
1	A	21.604 ± 0.43	0.165 ± 0.06	344.69 ± 20	1.000
	B	9.137 ± 0.08	0.355 ± 0.08	317.865 ± 4	1.000
	C	1.256 ± 0.14	0.527 ± 0.01	208.415 ± 16	1.000
	D	4.724 ± 0.32	0.213 ± 0.05	280.8 ± 24	1.000
	E	8.265 ± 0.12	0.197 ± 0.1	412.325 ± 10	0.999
7	A	21.862 ± 0.09	0.150 ± 0.05	223.03 ± 16	0.998
	B	18.339 ± 0.26	0.142 ± 0.04	247.515 ± 14	0.999
	C	24.433 ± 0.12	0.116 ± 0.03	244.225 ± 19	0.998
	D	26.836 ± 0.23	0.108 ± 0.07	243.34 ± 11	0.998
	E	21.183 ± 0.12	0.101 ± 0.06	226 ± 19	0.997
14	A	18.669 ± 0.06	0.461 ± 0.1	194.94 ± 1	0.998
	B	15.131 ± 0.23	0.188 ± 0.04	196.44 ± 6	0.999
	C	16.736 ± 0.11	0.267 ± 0.01	192.93 ± 8	0.999
	D	1.895 ± 0.04	0.884 ± 0.05	194.61 ± 16	0.996
	E	0.989 ± 0.14	0.665 ± 0.02	295.15 ± 9	0.999
21	A	16.85 ± 0.44	0.100 ± 0.01	194.94 ± 11	0.998
	B	9.545 ± 0.15	0.150 ± 0.05	196.44 ± 2	0.998
	C	8.694 ± 0.16	0.158 ± 0.04	192.93 ± 5	0.999
	D	9.272 ± 0.31	0.167 ± 0.06	194.61 ± 5	0.999
	E	9.957 ± 0.24	0.110 ± 0.01	220.59 ± 23	0.997

(续表 1)

贮藏时间/d	样品	Herschel-Bulkley 模型			
		屈服应力 τ_0/Pa	稠度系数 $\kappa/\text{Pa}\cdot\text{s}^n$	表观黏度 $\eta_{300}/\text{Pa}\cdot\text{s}$	相关系数 R
28	A	13.732 ± 0.03	0.193 ± 0.12	178.455 ± 12	0.997
	B	6.101 ± 0.23	0.265 ± 0.11	185.265 ± 2	0.998
	C	5.39 ± 0.09	0.333 ± 0.05	207.195 ± 4	0.999
	D	8.36 ± 0.11	0.187 ± 0.05	204.07 ± 13	0.998
	E	8.458 ± 0.18	0.206 ± 0.04	224.055 ± 11	0.997

注:ABCDE 代表不同处理组。A 表示添加 56 mg/mL bifidocin A 组;B 表示添加 28 mg/mL bifidocin A 组;C 表示添加 14 mg/mL bifidocin A 组;D 表示添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素;E 表示空白对照组。

2.6 凝固型酸奶贮藏过程中质构的变化

TPA 测定结果显示,在凝固型酸奶贮藏过程中,各个样品随着贮藏时间的延长,硬度、黏附性、胶黏性、咀嚼性有所增长,内聚性变化不大,各组样品之间无显著差异($P>0.05$)。以上结果表明,添加细菌素未改变凝固型酸奶的质构特性。

2.7 凝固型酸奶贮藏过程中挥发性风味物质的变化

表 2~表 4 所示为不同处理组凝固型酸奶贮藏 1,14,28 d 后挥发性物质种类和含量测定结果,可以看出,挥发性物质含量总体在 14 d 时上升到较高数值,随后在 28 d 下降。对于羰基化合物,检测出了 3-羟基-2-丁酮、丙酮、2-庚酮、2-壬酮、2-戊酮、2-己酮,酸奶中酮类化合物一般是由不饱和脂肪酸与氨基酸的分解以及微生物的代谢生成的,3-羟基-2-丁酮、2-壬酮是奶香气味的主

要来源^[23]。发酵乳中检测到醇类物质有异辛醇、2-乙基己醇、二甲基丁醇、己二醇,且集中在贮藏 28 d 后才检测出来。醇类物质一般由于糖类、氨基酸和醛类物质发生还原反应而产生。然而,因醇类物质的阈值较高,所以对发酵乳风味的影响较低^[24]。发酵乳中检测到的酯类物质有乙酸乙酯、乙酸丁酯,其也在 14 d 时含量较高,能够丰富发酵乳的口感。酸类物质能够使酸奶口感更为清爽,香气更加浓郁,是构成发酵乳特征风味的主要物质^[25]。在样品中检测出戊酸、丙酸、丁酸、辛酸、己酸、羧酸。此外,还检测出苯与甲苯等芳香物质。对比同时期的不同处理组,添加 56 mg/mL bifidocin A 组、添加 28 mg/mL bifidocin A 组和添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素组中,有良好滋气味的挥发性化合物含量明显多于其它处理组($P<0.05$)。

表 2 凝固型酸奶贮藏 1 d 后挥发性物质的种类

Table 2 Types of set yogurt of volatile substances after storage for 1 d

风味物质	含量/%					类别
	A	B	C	D	E	
3-羟基-2-丁酮	0.0226	0.0108	0.0104	0.0121		酮类
丙酮						
2-庚酮	0.0227	0.0173	0.0155	0.0170	0.0151	
2-壬酮	0.0067	0.0054	0.0047	0.0052		
2-戊酮					0.0051	
2-己酮				0.0170		
乙酸乙酯						酯类
乙酸丁酯	0.0019	0.0011	0.0009	0.0017	0.0009	
戊酸					0.0110	酸类
2,3-二羟基丙酸					0.0015	
丁酸						

(续表 2)

风味物质	含量/%					类别
	A	B	C	D	E	
己酸		0.0091			0.0110	
辛酸	0.0033	0.0035	0.0028	0.0007	0.0028	
蝶呤-6-羧酸	0.0000		0.0015	0.0001		
异辛醇						醇类
2-乙基己醇						
二甲基丁醇						
己二醇	0.0107	0.0073		0.0080	0.0056	

注:ABCDE代表不同处理组。A表示添加56 mg/mL bifidocin A组;B表示添加28 mg/mL bifidocin A组;C表示添加14 mg/mL bifidocin A组;D表示添加50 mg/mL 乳酸链球菌素;E表示空白对照组。

表 3 凝固型酸奶贮藏 14 d 后挥发性物质的种类

Table 3 Types of set yogurt of volatile substances after storage for 14 d

风味物质	含量/%					类别
	A	B	C	D	E	
3-羟基-2-丁酮	0.1731	0.1771	0.0399	0.1638		酮类
丙酮		0.2572	0.1283			
2-庚酮	0.2783			0.1549		
2-壬酮	0.1881	0.3160	0.2344	0.2042	0.3602	
2-戊酮	0.0412	0.0857		0.0458	0.0796	
2-己酮						
乙酸乙酯		0.0164		0.0336		酯类
乙酸丁酯						
戊酸						酸类
2,3-二羟基丙酸	0.3176	0.1282	0.1573	0.2752	0.2256	
丁酸		0.0105				
己酸						
辛酸						
蝶呤-6-羧酸	0.1275		0.1643			
异辛醇						醇类
2-乙基己醇						
二甲基丁醇	0.0107	0.0073		0.0080	0.0056	
己二醇						

注:ABCDE代表不同处理组。A表示添加56 mg/mL bifidocin A组;B表示添加28 mg/mL bifidocin A组;C表示添加14 mg/mL bifidocin A组;D表示添加50 mg/mL 乳酸链球菌素;E表示空白对照组。

表 4 凝固型酸奶贮藏 28 d 后挥发性物质的种类

Table 4 Types of set yogurt of volatile substances after storage for 28 d

风味物质	含量/%					类别
	A	B	C	D	E	
3-羟基-2-丁酮					0.0105	酮类
丙酮	0.0395	0.0437	0.0743	0.0395		
2-庚酮						
2-壬酮	0.0675	0.0956	0.0267	0.0675	0.0980	
2-戊酮	0.0175	0.0219	0.0313	0.0175	0.0280	
2-己酮		0.0062				

(续表 4)

风味物质	含量/%					类别
	A	B	C	D	E	
乙酸乙酯						酯类
乙酸丁酯						
戊酸						酸类
2,3-二羟基丙酸			0.2936			
丁酸	0.0051	0.0053	0.0091	0.0051	0.0065	
己酸						
辛酸						
蝶呤-6-羧酸						
异辛醇	0.0176		0.0344	0.0176	0.0159	醇类
2-乙基己醇					0.0562	
二甲基丁醇	0.0085	0.0059	0.0051	0.0085	0.0014	
己二醇	0.0001	0.0004	0.0003	0.0001		

注:ABCDE 代表不同处理组。A 表示添加 56 mg/mL bifidocin A 组;B 表示添加 28 mg/mL bifidocin A 组;C 表示添加 14 mg/mL bifidocin A 组;D 表示添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素;E 表示空白对照组。

3 结论

本研究在商业凝固型酸奶发酵剂基础上分别添加乳酸链球菌素和新型双歧杆菌细菌素 bifidocin A,通过对比分析不同处理组贮藏 28 d 过程中酸度、pH、持水力、活菌数的变化,以及影响品质指标中的持水力、质构性、流变特性及可挥发性风味物质变化,发现添加 28 mg/mL bifidocin A 组与已被世界卫生组织认可的添加 50 mg/mL 乳酸链球菌素组对凝固型酸奶后酸化的抑制效果最为相近,同时可确保酸奶保质期达到 28 d,并明显改善凝固型酸奶的感官品质,提高其持水力和风味物质的保存量。基于以上研究结果,基本确定添加终浓度为 28 mg/mL bifidocin A 到凝固型酸奶中可替代乳酸链球菌素,有效解决凝固型酸奶贮藏过程中后酸化的问题,并可在一定程度上改善酸奶的感官品质,显示出细菌素 bifidocin A 作为新型天然食品生物防腐剂的巨大潜力。

参 考 文 献

- [1] LOURENS-HATTINGH A, VILJOEN B C. Yogurt as probiotic carrier food[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(1/2): 1-17.
- [2] 黄俊, 张祥, 尤玉如, 等. 酸奶后酸化控制措施的研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(3): 663-670.
- [3] WANG X H, REN H Y, LIU D Y, et al. H⁺-ATPase defective variants of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* contribute to inhibition of postacidification of yogurt during chilled storage[J]. Journal of Food Science, 2013, 78(2): M297-M302.
- [4] JIA B H, ZHONG X T, YUAN C H, et al. Screening of *Lactobacillus plantarum* LPM21 with F1F0-ATPase β -subunit mutation used as probiotics adjunct in Sichuan pickle [J]. Food Science and Technology Research, 2013, 19(6): 1045-1050.
- [5] 罗红霞, 黄彦芳, 王芳, 等. 抗酸奶后酸化乳酸菌菌株选育研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 451-454.
- [6] 徐成勇, 吴昊, 郑思聪, 等. 弱后酸化酸奶发酵剂的筛选 [J]. 中国乳品工业, 2007, 35(3): 12-13, 16.
- [7] 秦南冰, 李妍, 袁珠妮, 等. 保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌的比例变化对酸奶品质的影响[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(2): 37-40.
- [8] PENNEY V, HENDERSON G, BLUM C, et al. The potential of phytopreservatives and nisin to control microbial spoilage of minimally processed fruit yogurts. [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2004, 5(3): 369-375.
- [9] CRUZ A G, CASTRO W F, FARIA J A P, et al. Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, pro-

- duction of organic acid and aroma compounds [J]. *Journal of Dairy Science*, 2012, 95 (5): 2261–2269.
- [10] CRUZ A G, CASTRO W F, FARIA J A F, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage [J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 723–728.
- [11] LIU G, REN L, SONG Z Q, et al. Purification and characteristics of bifidocin A, a novel bacteriocin produced by *Bifidobacterium animalis* BB04 from centenarians' intestine [J]. *Food Control*, 2015, 50(4): 889–895.
- [12] LIU G, SONG Z, YANG X, et al. Antibacterial mechanism of bifidocin A, a novel broad-spectrum bacteriocin produced by *Bifidobacterium animalis* BB04 [J]. *Food Control*, 2016, 62(4): 309–316.
- [13] LIU G, REN G, ZHAO L, et al. Antibacterial activity and mechanism of bifidocin A against *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Control*, 2017, 73(3): 854–861.
- [14] 刘国荣, 郜亚昆, 王欣, 等. 双歧杆菌细菌素 Bifidocin A 对金黄色葡萄球菌的抑菌作用及其机制 [J]. *食品科学*, 2017, 38(17): 1–7.
- [15] SAHAN N, YASAR K, HAYALOGLU A. 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.
- [16] 王记成, 李慧, 云振宇, 等. 新型酸乳酪的研制 [J]. *中国乳品工业*, 2007, 35(10): 12–15.
- [17] 中华人民共和国卫生部. 乳和乳制品酸度的测定: GB 5413.34–2010 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [18] 姜建芳, 刘英华, 王昭英. 乳与乳制品中酸度测定方法的探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2003, 13(6): 759–759.
- [19] 李真顺, 张秀娟. 酸奶后酸化的防治措施 [J]. *中国食品添加剂*, 2006, 75(2): 87–89.
- [20] 吴锦羽. 产胞外多糖嗜热链球菌及其对发酵乳流变学性质影响的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [21] LUCEY J A, SINGH H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review [J]. *Food Research International*, 1997, 30(7): 529–542.
- [22] EGOUNLETY M, AWORH O. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms) [J]. *Journal of Food Engineering*, 2003, 56(2): 249–254.
- [23] BEI Z H, FRANS M R, ROBERT N M. A Chinese fermented soybean food [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 65(1–2): 1–10.
- [24] 李广富, 陈伟, 范路平, 等. 灵芝功能成分酸奶营养品质与风味物质分析 [J]. *食品科学*, 2015, 36(10): 168–173.
- [25] 李宁, 孙宝国. 乳品风味物质研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(8): 240–251.

Effects of Bacteriocin Bifidocin A on Quality and Storage Performance of Set Yogurt

Qiu Shuang^{1,2} Song Zheng¹ Zhang Jinglin¹ Wang Luolin^{1,3} Liu Guorong^{1*} Sun Baoguo¹

¹Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048

²School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300350

³College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048

Abstract Objective: Bifidocin A, produced by *Bifidobacterium animalis* BB04, is a novel bacteriocin with antimicrobial activity against a wide range of foodborne bacteria, which can be used in the processing and storage of food as a natural biopreservative. The study aimed to investigate the application feasibility of bifidocin A in the production, processing and storage of set yogurt. Methods: Set the different concentrations (56, 28 and 14 mg/mL) of the bifidocin A treatment group, controlled by 50 mg/mL nisin. The effects of bifidocin A on its product quality and storage performance

were analyzed by measuring the pH, titratable acidity, water holding capacity, the number of viable counts, texture, rheology, volatile flavor substances of the set yogurt during storage for 28 d. Results: Adding 28 mg/mL bacteriocin bifidocin A can maintain acidity <math>< 110\text{ }^{\circ}\text{T}</math>, pH > 4.2 and viable count > 10^8 (CFU/mL) during 28 d storage period, and the water holding capacity of the yogurt and the volatile flavor substances are significantly improved. Conclusion: The bacteriocin bifidocin A can be added to the set yogurt as a natural preservative to replace nisin to improve its product quality and storage performance, and the optimal addition amount of bacteriocin was 28 mg/mL.

Keywords *Bifidobacterium animalis*; bacteriocin; yogurt; quality; storage performance

科技动态

研究人员揭示硫化氢暴露导致猪肺脏炎症和细胞死亡机制

近日,中国农业科学院北京牧医所家畜营养与调控创新团队研究发现,猪硫化氢暴露可以通过抗原呈递、补体激活、IL-17、铁死亡和程序性坏死等多个通路引起肺脏免疫抑制、炎症应答、细胞死亡和组织损伤。该研究揭示了环境硫化氢危害动物机体健康的潜在分子机制,为评估环境硫化氢污染对畜禽及人类健康的毒性机制提供了新思路,有望为硫化氢中毒的解毒方案提供潜在的药物靶点。

据团队首席张宏福研究员介绍,环境硫化氢不仅损伤动物的中枢神经系统,而且对呼吸系统、心血管系统、消化系统等多个系统的组织器官都存在广泛的损伤。呼吸系统是有害气体攻击的首要靶点,但硫化氢暴露引起猪肺脏损伤的分子机制仍不清楚。

本研究首次以保育猪为模型,发现硫化氢暴露能够引起猪肺脏组织病理学炎症损伤,并提高促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-17 的表达。肺脏 TMT 标记蛋白组学技术分析发现,硫化氢处理引起 526 个蛋白发生改变,这些差异蛋白主要富集在抗原呈递、补体和凝血级联、IL-17 信号通路、铁死亡和程序性坏死等多个信号通路。同时还发现硫化氢暴露引起黏蛋白 MUC5AC, MUC5B 和 CASP3 表达量的升高,这些蛋白与肺脏炎症反应和细胞凋亡直接相关。因此,硫化氢暴露通过多个通路引起肺脏免疫抑制、补体激活、黏液积累、铁死亡、程序性坏死和细胞凋亡,最终导致肺脏炎症反应、细胞死亡和组织损伤。该研究阐明了硫化氢暴露引起猪肺脏炎症损伤的具体分子机制,为畜禽养殖环境评估和绿色发展提供新的理论基础,为硫化氢中毒的解毒治疗及畜禽和人类健康提供重要理论支撑。

相关研究成果发表在《环境研究(Environmental Research)》(IF=5.715),该研究得到国家重点研发计划项目支持。

(消息来源:中国农业科学院北京畜牧兽医研究所)