



食品工业科技

Science and Technology of Food Industry

ISSN 1002-0306, CN 11-1759/TS



## 《食品工业科技》网络首发论文

题目：基于体外模拟胃肠消化的双蛋白酸奶消化特性研究  
作者：康颖，白雪莹，叶滔，周可欣，尹慧萱，赵良忠，周晓洁，张雪娇  
DOI：10.13386/j.issn1002-0306.2026030119  
网络首发日期：2026-05-19  
引用格式：康颖，白雪莹，叶滔，周可欣，尹慧萱，赵良忠，周晓洁，张雪娇. 基于体外模拟胃肠消化的双蛋白酸奶消化特性研究[J/OL]. 食品工业科技.  
<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2026030119>



**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。

作者简介：康颖（1995-），女，硕士研究生，研究方向为豆制品加工、乳制品加工，E-mail: 191722536@qq.com

通讯作者：张雪娇（1985-），女，博士，副教授，研究方向为食品加工及功能营养，E-mail: 380711974@qq.com

基金项目：湖南省自然科学基金项目（2022JJ50232）；湖南省教育厅重点项目（21A048）；邵阳市科技计划项目(2024GZ1001)；邵阳学院横向科研项目( 2023HX43,2023HX37)；

# 基于体外模拟胃肠消化的双蛋白酸奶消化特性研究

康颖<sup>1</sup>，白雪莹<sup>1</sup>，叶滔<sup>1</sup>，周可欣<sup>1</sup>，尹慧萱<sup>1</sup>，赵良忠<sup>1,2</sup>，周晓洁<sup>1,2</sup>，张雪娇<sup>1,2,\*</sup>

(1. 邵阳学院 食品与化学工程学院,豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 湖南邵阳 422000; 2.湘味特色食品绿色加工与装备湖南省工程研究中心, 湖南邵阳 422000)

**摘要** 本研究以豆浆-牛奶混合体系为双蛋白基质，探讨高产胞外多糖的融合魏斯氏菌 SY628 与商业酸奶发酵剂共发酵对双蛋白酸奶体外消化特性的影响。通过模拟胃肠道消化试验，对比了商业发酵剂组（CN 组）与共发酵组（SYF 组）在消化过程中的粒径、可溶性蛋白、小肽及氨基酸含量、水解度、活菌数及产物分子量分布。结果表明，SYF 组酸奶中活菌保留率约为 CN 组的 1.47 倍，可溶性蛋白含量在消化各阶段均保持较高水平。SYF 组的体外消化率（72.56%±0.97%）低于 CN 组（81.73%±0.38%）（ $P<0.05$ ），相对应的小肽含量（1.62±0.05 mg/mL）与氨基酸含量（265.83 μg/g）亦低于 CN 组（分别为 1.75±0.02 mg/mL 与 293.82 μg/g）。此外，SYF 组在体外消化结束时表现出更低的水解度和更大的粒径，SDS-PAGE 图谱也证实 SYF 组酸奶蛋白质水解程度较低。本研究揭示了融合魏斯氏菌在显著提升活菌数方面的优势，且融合魏斯氏菌的添加使双蛋白酸奶抵抗胃肠道消化酶降解的能力增强，为开发兼具高益生菌含量与持久饱腹感的功能性双蛋白食品提供了新思路，对于实现能量摄入控制的新型食品生产具有积极意义。

**关键词** 融合魏斯氏菌，豆浆，牛奶，双蛋白酸奶，体外消化，生物可利用性，蛋白水解

## Study on digestive characteristics of dual-protein yogurt based on *in vitro* simulated gastrointestinal digestion

KANG Ying<sup>1</sup>, BAI Xueying<sup>1</sup>, YE Tao<sup>1</sup>, ZHOU Kexin<sup>1</sup>, YIN Huixuan<sup>1</sup>, ZHAO Liangzhong<sup>1,2</sup>, ZHOU Xiaojie<sup>1,2</sup>, ZHANG Xuejiao<sup>1,2,\*</sup>

(1.College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University, Hunan Provincial Key Laboratory of Soybean Products Processing and Safety Control, Shaoyang, 422000, China;2.Hunan Engineering Research Center of Green Processing and Equipment of Hunan-style Food, Shaoyang, 422000, China)

**Abstract** This study investigated the effects of co-fermentation with the high exopolysaccharide-producing strain *Weissella confusa* SY628 and a commercial yogurt starter culture on the *in vitro* digestion properties of soy-dairy dual-protein yogurt prepared from a soy milk-cow milk mixed dual-protein substrate. Simulated gastrointestinal

digestion was performed to compare the commercial starter culture group (CN) and the co-fermentation group (SYF) in terms of particle size, soluble protein content, peptide and free amino acid contents, degree of hydrolysis, viable cell counts, and molecular weight distribution of products during digestion. The results showed that the viable cell retention rate of probiotics in the SYF yogurt group was approximately 1.47 times that of the CN group. Moreover, the SYF group maintained a higher soluble protein content throughout digestion. However, the in vitro protein digestibility of the SYF group ( $72.56\% \pm 0.97\%$ ) was significantly lower than that of the CN group ( $81.73\% \pm 0.38\%$ ) ( $P < 0.05$ ). Consistently, the peptide content ( $1.62 \pm 0.05$  mg/mL) and free amino acid content ( $265.83$   $\mu$ g/g) in the SYF group were lower than those in the CN group ( $1.75 \pm 0.02$  mg/mL and  $293.82$   $\mu$ g/g, respectively). In addition, the SYF group exhibited a lower degree of hydrolysis and a larger particle size at the end of digestion. SDS-PAGE analysis further confirmed that protein hydrolysis was less extensive in SYF yogurt than in CN yogurt. These findings indicate that *W. confusa* SY628 markedly increased viable cell counts and enhanced the resistance of the yogurt protein matrix to gastrointestinal proteolysis. Co-fermentation with EPS-producing *W. confusa* therefore represents a promising strategy for developing functional soy-dairy dual-protein foods with high viable counts and enhanced satiety potential, and may provide new opportunities for the design of foods intended for energy intake management.

**Keywords** Weissella confusa; soy milk; cow milk; dual-protein yogurt; in vitro digestion; bioaccessibility; proteolysis  
中图分类号: TS252.54 文献标志码: A

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2026030119

随着可持续发展理念不断深化,居民健康意识逐步增强,大众对健康饮食与膳食多元化的需求日益提升,动物和植物蛋白所形成的双蛋白体系不仅成为学者们研究的热点方向,更是《国民营养计划(2017—2030年)》等国家战略的重要组成部分<sup>[1]</sup>。双蛋白酸奶多以乳蛋白与植物蛋白复配为基质,其中牛乳蛋白与大豆蛋白是应用最为广泛的组合形式,不仅在氨基酸组成上具有互补效应,还能兼具动物蛋白的高生物价与植物蛋白的大豆异黄酮、膳食纤维等活性成分,实现了营养均衡和代谢调节的双重优势目标<sup>[2]</sup>。然而,引入植物基原料势必带来新的技术挑战:凝胶网络脆弱、乳清析出、豆腥味难以遮蔽,以及发酵过程不可控,这些难题严重制约了双蛋白酸奶的工业化发展<sup>[3]</sup>。

乳酸菌发酵剂是影响酸奶品质的核心要素。传统发酵菌株(保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌)虽在牛乳体系中表现优异,但对豆乳环境的适应性较差,发酵活力不足且产酸缓慢,因而调控双蛋白酸奶质构特性的能力较弱,常有乳清分离现象及水状口感,再加之风味复杂度受限,常需引入特定功能的辅助菌株来提升酸奶的品质与营养价值<sup>[4]</sup>。近年来,融合魏斯氏菌因其独特的代谢特性而备受关注,该菌株不仅能在植物基质中生长良好,而且还具有高产胞外多糖(EPS)的能力<sup>[5]</sup>。研究表明,使用融合魏斯氏菌与商业发酵剂共发酵豆奶,可显著提升酸豆乳的发酵性能、质构稳定性和风味适口性<sup>[6]</sup>。值得注意的是,EPS作为乳酸菌代谢产生的高分子聚合物,能够通过静电相互作用、氢键和疏水作用与蛋白质形成复合网络结构,这一特性为改善双蛋白酸奶的质构缺陷提供了新的解决思路<sup>[7]</sup>。然而,EPS-蛋白质复合物的形成在改善产品质构和不良风味的同时,也可能对蛋白质的消化特性产生深远影响。现有研究表明,多糖的存在会通过空间位阻效应限制消化酶与底物的接触,从而延缓蛋白质的水解进程<sup>[8]</sup>。

前期研究发现,融合魏斯氏菌共发酵制备的双蛋白酸奶多糖含量和蛋白质含量与仅商业发酵剂制备的酸奶相比具有显著差异,共发酵组蛋白质含量更高,在微观结构上相较于商业发酵剂组开放、多孔、松散的丝状三维网络也显示出更致密的凝胶片层状结构,孔隙率低,无乳清析出,产品稳定性更佳<sup>[9]</sup>。研究表明不同来源的蛋白质因微观结构的差异,对酶可及性具有关键调控作用,进而影响消化率<sup>[10]</sup>。同时食物基质的结构特征也会直接影响营养素

在胃肠道中的释放速率与程度<sup>[11]</sup>。Lin 等人<sup>[12]</sup>发现,纤维密度较高的结构化小麦蛋白具有更强的内聚性,这降低了胃蛋白酶对蛋白质水解的敏感性,从而消化程度较低。此外,蛋白质含量与蛋白质结构显著影响水解度。研究表明,羊乳相对牛乳而言蛋白质水解速率的降低可能是由于其拥有更高的蛋白质含量和更致密的蛋白质网络,这种特性延缓了酶接触底物的速度,从而导致营养物质的消化速率减慢<sup>[13]</sup>。蛋白质与蛋白质间的相互作用会改变异源蛋白体系的结构,从而影响消化率,Wegrzyn 等人<sup>[14]</sup>研究表明,大豆蛋白能增强其与酪蛋白或乳清蛋白的相互作用,从而稀释凝胶基质、抑制胃蛋白酶介导的凝固反应,并提高其对消化酶的可及性,将植物蛋白与牛奶蛋白混合可有效延缓胃排空速度并增强饱腹感。蛋白质参与人体生命活动几乎所有的生理过程,其生理活性只有被消化分解成氨基酸并被身体有效吸收后才能被高效利用发挥其价值,因此,系统评估融合魏斯氏菌共发酵对双蛋白酸奶体外消化特性及蛋白质生物可及性的影响,对于明确该技术的营养学价值至关重要。

基于上述背景,本研究以豆浆-牛奶混合体系为双蛋白基质,以高产 EPS 的融合魏斯氏菌 SY628 与商业酸奶发酵剂进行共发酵,采用 INFOGEST 体外模拟消化模型,通过模拟口腔、胃、肠三阶段消化条件系统考察共发酵双蛋白酸奶在消化过程中的蛋白质体外消化率、粒径分布、活菌数存活率、可溶性蛋白释放、小肽及游离氨基酸生成、水解度变化及产物分子量分布,并与商业发酵组进行对比。旨在阐明融合魏斯氏菌共发酵对双蛋白酸奶体外消化特性的影响规律及其作用机制,为开发兼具高益生菌活性和缓释消化特性的功能性双蛋白食品提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

东北大豆 采购于湖南邵阳农贸市场;纯牛奶 采购于内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司;黄浆水 自制于邵阳学院;融合魏斯氏菌(*Weissella confusa* SY628) 邵阳学院豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室保藏菌种;德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜热链球菌 采购于丹麦科汉森(中国)有限公司;亮氨酸、丝氨酸 采购于上海麦克林生物试剂企业店;BCA 蛋白检测试剂盒 采购于碧云天生物技术有限公司;蛋白质分子量标准(10-150 kDa) 采购于赛默飞世尔科技公司;模拟唾液 SSF、模拟胃液 SGF 和模拟肠液 SIF 采购于福州飞净生物科技有限公司; $\alpha$ -淀粉酶(50 U/mg) 采购于上海蓝季科技发展有限公司;胃蛋白酶 1:3000、猪胆盐 采购于上海源叶生物科技有限公司;胰蛋白酶 1:250 采购于合肥千盛生物有限公司;邻苯二甲醛、十二烷基硫酸钠、 $\beta$ -巯基乙醇、甲醇、硼砂等其余试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

高浓精磨机 正达精研制造有限公司;UDK139 凯氏定氮仪 北京市盈盛恒泰科技有限公司;WJL-628 激光粒径仪 上海物光公司;IS-AX 恒温振荡器 苏州捷美电子有限公司;全自动氨基酸分析仪 英国百康科技有限公司;Multiskan GO 1510 型酶标仪 Thermo/美国。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细菌菌株与培养条件

实验采用融合魏斯氏菌 SY628 菌株,该菌株从自然发酵豆酸奶中分离获得。使用前,菌株在 37 °C 条件下于 MRS 肉汤中连续传代培养 12 h 以激活,后在黄浆水中继续扩大培养 12 h,孵育结束后,4 °C、8000 r/min 离心 15 min,收集细菌细胞,并用无菌生理盐水进行两次洗涤循环。

#### 1.2.2 双蛋白酸奶制备

称取 4 kg 大豆,置于室温水浸泡 8-10 h,按照 1:5.5(重量比,基于干燥大豆)的比例与水混合,使用高浓度精磨机进行研磨。将豆浆通过集成制浆机三段煮浆与 105 °C 蒸汽煮



沸 18 min, 通过 200 目离心机过滤后用 200 目振动筛过滤。将纯牛奶与熟豆浆按照 6:4 比例混合均匀, 添加 6%蔗糖, 85 °C 灭菌 20 min, 冷却至室温, 接种 3%发酵剂, 30 °C 发酵 8 h, 4 °C 后熟 24 h, 将成品置于 4 °C 冰箱保存。添加 *Weissella confuse* SY628 (活菌数  $1 \times 10^8$  CFU/mL) 和商业菌种 (德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜热链球菌) YF (将 2 g YF-L904 菌粉溶于 98 mL 无菌水中制得, 现配现用, 活菌数  $1 \times 10^8$  CFU/mL) 作为发酵剂 (体积比, SY628: YF=1:3) 的共发酵组样品命名为 SYF 组, 仅添加商业菌种作为发酵剂的样品为对照组, 命名为 CN 组。所有实验均重复三次。

### 1.2.3 模拟消化

根据文献<sup>[15]</sup>的标准化 INFOGEST 方法, 对 SYF 组酸奶与 CN 组酸奶开展体外消化模拟。在口腔模拟阶段 (pH 7), 准确称取 2.5 g 酸奶样品于锥形瓶中, 加入 2.5 mL 的模拟唾液 SSF (7.72 mg、75 U/mL 的  $\alpha$ -淀粉酶) 并于 37 °C 孵育 2 min, 随即取样 1 mL。随后进入胃模拟阶段: 剩余的 4 mL 口腔消化物与 4 mL 的模拟胃液 SGF (6.40 mg、2000 U/mL 的胃蛋白酶) 混匀, 用 1 mol/L 的 HCl 标准溶液调节 pH 至 3.0, 在 37 °C 持续反应 2 h, 于 5、30、60、120 min 时各取样 1 mL。最后进行肠道模拟: 向剩余的 4 mL 反应体系中加入 4 mL 的模拟肠液 SIF (2.81 mg、100 U/mL 的胰蛋白酶和 17.20 mg、10 mmol/L 的胆盐), 用 1 mol/L 的 NaOH 标准溶液调节 pH 至 7.0, 在 37 °C 振荡孵育 4 h, 并于 1、2、3、4 h 采集样品。所有样品收集后立即于沸水加热 5 min 以终止酶活性, 除粒径分析外, 所有样本均经离心处理 ( $10,000 \times g$ , 20 min, 4 °C), 上清液随后置于 -20 °C 保存备用。未经消化的 SYF 与 CN 酸奶样品作为对照组进行分析。所有酶在使用前均按照 INFOGEST 推荐方法进行酶活性校准。

### 1.2.4 活菌数测定

用无菌生理盐水将消化液稀释后, 参照 GB 4789.35 -2023 对其乳酸菌活菌数进行测定。

### 1.2.5 可溶性蛋白含量测定

可溶性蛋白浓度测定参照文献<sup>[16]</sup>采用 BCA 蛋白定量检测试剂盒。具体操作如下, 取未消化和各消化样品上清液 20  $\mu$ L 和 200  $\mu$ L BCA 工作液混合, 37 °C 孵育 30 min, 使用酶标仪在 562 nm 波长处测吸光度。根据标准曲线方程  $Y=0.001x+0.1834$  ( $R^2=0.9963$ ) 计算可溶性蛋白浓度。

### 1.2.6 蛋白质消化率测定

参考三氯乙酸沉淀法进行蛋白质消化率的测定, 并稍作修改。将肠消化 4 h 后的样品与质量分数为 15%的三氯乙酸按 1:1 (体积比) 混合, 于 4 °C 静置 30 min, 随后在 4 °C、10000 r/min 条件下离心 15 min 后, 弃去上清液, 收集沉淀, 用凯氏定氮法测定未消化样品的总蛋白质含量 ( $N_0$ ) 和 TCA 沉淀后沉淀物中的蛋白质含量 ( $N_t$ ), 按以下公式计算消化率:

$$\text{消化率} / \% = \frac{N_0 - N_t}{N_0} \times 100$$

式中:  $N_0$  表示未消化样品的总蛋白含量;  $N_t$  表示消化后沉淀中蛋白含量。每个批次实验设置试剂空白 (以去离子水替代样品, 同步操作), 结果以扣除空白后的净值计算。每个样品设置 3 个独立平行样, 结果以“平均值  $\pm$  标准差”表示。凯氏定氮测定时每个样品做 3 次技术重复, 取平均值作为该样品的测定值。

### 1.2.7 蛋白质水解度测定

消化上清液的蛋白质水解程度评估采用 Nielsen 等人<sup>[17]</sup>描述的方法, 并稍作修改。口腔-胃-肠各阶段消化后的样品均用去离子水稀释 40 倍, 取 400  $\mu$ L 过滤后的消化上清液, 与 3 mL OPA 试剂 (0.1 mol/L 邻苯二甲醛、0.1%四硼酸钠十水合物、0.08%十二烷基硫酸钠和 0.2% $\beta$ -巯基乙醇) 充分混合, 室温反应 2 min。空白组和标准组分别用蒸馏水和丝氨酸溶液 (0.1

mg/mL) 替代样品溶液。在 340 nm 处测定混合物吸光度, 随后根据以下公式进行计算:

$$\text{丝氨酸}_{\text{-NH}_2} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准品}} - A_{\text{空白}}} \times \frac{(0.9516 \times V \times d)}{C}$$

$$h = \frac{(\text{丝氨酸}_{\text{-NH}_2} - \beta)}{\alpha}$$

$$\text{蛋白质水解程度} / \% = \frac{h}{h_{\text{tot}}} \times 100$$

其中 Serine-NH<sub>2</sub> 表示每克蛋白质的丝氨酸氨基毫当量, V 为消化上清液样品体积(L), d 为稀释倍数, C 为样品蛋白质含量(g), h 为水解过程中形成的氨基浓度(毫当量/克蛋白质)。数值 0.9516 为标准品中的氨基浓度(毫当量/升丝氨酸-NH<sub>4</sub>), β 为 0.4, α 为 1.0, 这些参数值均适用于双蛋白酸奶, h<sub>tot</sub> 为大豆蛋白和酪蛋白完全水解为氨基酸时的水解当量(毫当量/克蛋白), 此处取加权平均值 8.04。

#### 1.2.8 小肽含量测定

肽含量参考文献<sup>[16]</sup>采用邻苯二甲醛(OPA)法测定, 并稍作修改。在每个采样间隔, 上清液通过 10 kDa 分子量截留膜过滤。取 50 μL 样品与 200 μL 试剂(50 mL, 由 25 mL 100 mmol/L 硼砂、2.5 mL 十二烷基硫酸钠(20% w/w)、40 mg OPA 溶于 1 mL 甲醇以及 100 μL β-ME 组成)。在 25 °C 下反应 2 min 后, 于 340 nm 处测定吸光度。以亮氨酸作为标准品, 根据标准曲线方程 Y=0.0074x-0.0068 (R<sup>2</sup>=0.9973) 计算小肽含量。

#### 1.2.9 游离氨基酸含量测定

参照贾向飞等<sup>[18]</sup>描述的方法进行双蛋白酸奶消化前后的游离氨基酸含量测定。采用全自动氨基酸分析仪, 样品经 0.2 mol/L 柠檬酸钠缓冲液(pH 2.2)和 5% (g/mL) 的碘基水杨酸处理后, 4 °C 条件下, 6200 r/min 离心 10 min。将上清液经过 0.22 μm 膜过滤后, 调整 pH 值为 1.7~2.2。采用阳离子交换柱分离不同氨基酸组分, 采用茚三酮显色法进行定性和定量分析。

#### 1.2.10 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析

采用 SDS-PAGE 分析样品在消化前、口腔、胃、肠道不同消化阶段的蛋白质谱<sup>[19]</sup>。将蛋白质浓度调整至 1.0 mg/mL, 随后取调整后的上清液与上样缓冲液按 4:1 混合均匀, 100 °C 水浴煮沸 5 min, 经 8000 r/min 离心 10 min 去除沉淀后, 取 10 μL 上样。采用 12% 分离胶和 5% 浓缩胶进行不连续垂直平板电泳分析。电压调至 80 V 并保持恒压, 当样品进入分离胶后调节电压使电压恒定在 120 V, 溴酚蓝移动离底部 0.5 cm 时, 停止电泳。凝胶经考马斯亮蓝 R-250 染色后, 用甲醇和乙酸进行脱色处理, 拍摄凝胶图像获取结果。

#### 1.2.11 粒径测定

酸奶样品在各消化阶段(P0、P1、P2-120、P3-4)的粒径分布参考文献<sup>[20]</sup>采用 Mastersizer 2000 型粒度分析仪进行, 并稍作修改。将样品分散于水中, 分散剂折射率为 1.33, 混合蛋白颗粒使用 1.45 的折射率参数, 检测的有效遮光度为 10%-20%。超声分散时间设定为 2 min, 循环泵转速设定为 1600 r/min。

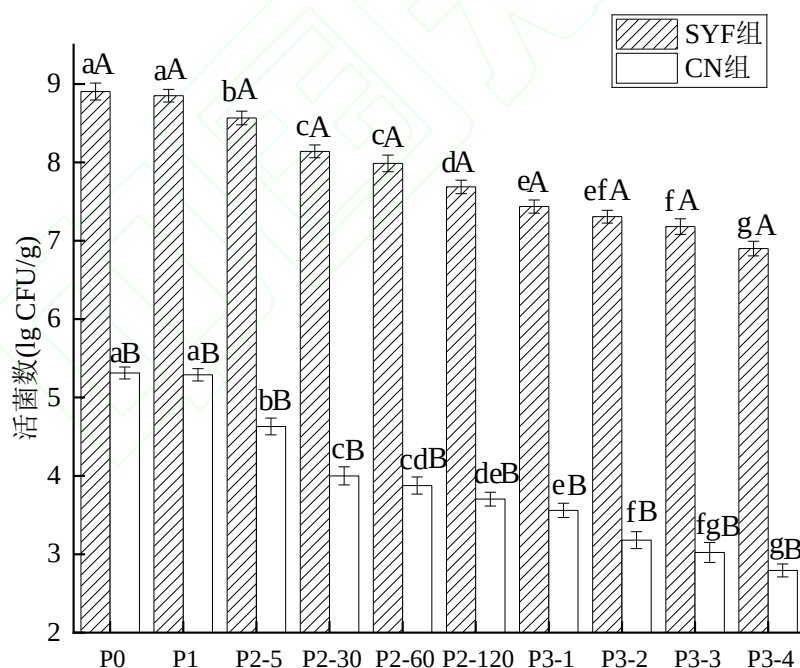
### 1.3 数据分析

每个实验均设置三个重复, 数据以“平均值±标准差”表示。组间差异比较采用独立样本 t 检验; 同一组内消化前与肠消化后比较采用成对样本 t 检验; 同一处理组不同消化时间点间差异采用单因素方差分析(ANOVA)进行数据分析, 使用 SPSS 26.0 软件进行 Duncan 检验, 以确定处理组均值间的显著性差异(P<0.05)。

## 2 结果与讨论

## 2.1 活菌数

酸奶中活性益生菌在人体内的定植含量直接关系到酸奶的益生作用以及对人体肠道健康的影响,通常在肠道内的定植阈值 $>6 \lg \text{CFU/g}$ 才能发挥益生菌的生理效应<sup>[21]</sup>,因此评价酸奶在胃肠道消化过程中的活菌数动态变化,对评估其益生潜力具有重要意义。从图1可知,消化前,SYF组酸奶活菌数( $8.94 \lg \text{CFU/g}$ )显著高于CN组( $5.32 \lg \text{CFU/g}$ ),源于发酵过程中融合魏斯氏菌细胞本身产生的胞外多糖和附着荚膜等成分以及细胞内组分能够促进混合体系中嗜热链球菌的增长<sup>[22]</sup>;胃消化120 min后,两组酸奶的活菌数均大幅减少,这是由于在胃酸的作用下,乳酸菌的结构完整性被破坏从而使得益生菌的存活率降低<sup>[23]</sup>;在经过体外模拟胃肠消化6 h后,SYF组酸奶活菌数为 $6.93 \lg \text{CFU/g}$ ,仍高于发挥生理效应的定植阈值,而CN组活菌数降至 $2.80 \lg \text{CFU/g}$ ,已远低于该阈值。为避免初始活菌数差异对存活率评价造成干扰,重点对比两组酸奶的活菌保留率:SYF组的活菌保留率为77.5%,CN组为52.6%,SYF组的活菌保留率约为CN组的1.47倍,显著高于商业发酵剂组,说明其在胃肠消化胁迫下的活菌保护效果更优。整体而言,SYF组在整个消化过程中的活菌数要显著高于CN组,这种优势不仅源于初始发酵阶段的菌数差异,更得益于多重保护机制:一方面,多糖-蛋白质组成的致密凝胶网络结构所提供的物理保护作用,隔绝了益生菌与消化酶、胆盐及酸性环境直接的接触;另一方面,多糖固有的缓冲能力中和了胃酸,降低了细胞失活的速度<sup>[21]</sup>;此外,融合魏斯氏菌本身对低pH环境具有良好耐受性<sup>[6]</sup>,其产生的胞外多糖在消化过程中逐渐降解,可为益生菌提供营养物质并调节代谢活动,进一步促进体系中嗜热链球菌的存活<sup>[22]</sup>。因而SYF组酸奶中益生菌在胃肠消化过程中的活菌保留率显著提升,更易在肠道中达到发挥生理效应的定植水平。



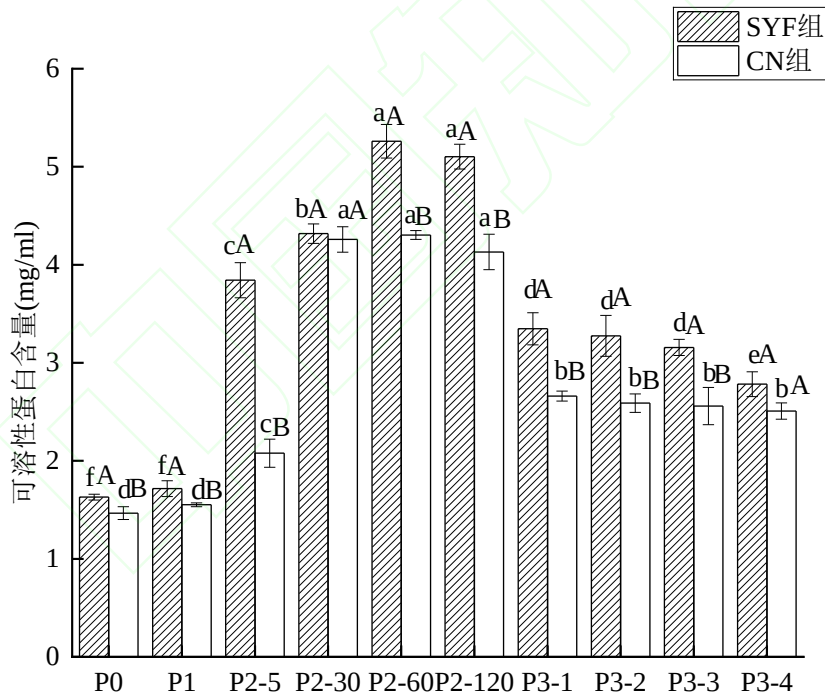
P0:消化前; P1:经口腔消化后; P2-5、P2-30、P2-60、P2-120:分别于胃消化5分钟、30分钟、60分钟和120分钟取样; P3-1、P3-2、P3-3、P3-4:分别于肠消化1小时、2小时、3小时和4小时取样。同一消化阶段中,不同小写字母表示显著差异,不同大写字母表示组间差异( $P<0.05$ )。

图1 两组双蛋白酸奶活菌数

Figure 1. Viable counts of two dual-protein yogurt groups

## 2.2 可溶性蛋白含量

可溶性蛋白的含量通常作为酶解后的蛋白指标。不同消化阶段，两组双蛋白酸奶中的可溶性蛋白含量变化如图 2 所示。消化前（P0），两组样品的可溶性蛋白含量都较低，表明大部分蛋白质都被截留在凝胶基质中。在口腔消化阶段（P1），可溶性蛋白含量没有明显变化，说明唾液淀粉酶对蛋白质几乎没有水解作用。在胃消化阶段（P2），由于持续的机械振荡、胃蛋白酶的水解作用以及酸性 pH 环境下，大量蛋白质从基质释放到溶液中<sup>[24]</sup>，两组样品的可溶性蛋白浓度随着胃消化时间的延长呈现出先上升再下降的趋势。SYF-P<sub>2</sub> 消化物在 60 min 时显示出最高的可溶性蛋白含量（ $5.26\pm0.17$  mg/mL），显著（ $P<0.05$ ）高于 CN 组消化物同阶段的值（ $4.30\pm0.05$  mg/mL）。在肠消化阶段（P3），两组酸奶的可溶性蛋白含量均呈现下降趋势，且低于胃消化阶段，原因是蛋白质被进一步分解为小分子多肽和氨基酸，该发现与 Mei Yang 等人<sup>[16]</sup>报道的类似现象一致。整个消化过程中，SYF 组的可溶性蛋白含量均显著高于 CN 组，这一差异可归因于多重机制的协同作用：一方面，发酵阶段菌株分泌的胞外蛋白酶对双蛋白体系进行了预水解，使部分蛋白质提前转化为可溶性肽段，为消化阶段的蛋白释放提供了初始基础<sup>[6]</sup>；另一方面，融合魏斯氏菌胞外多糖具有良好的 pH 缓冲能力，可中和部分胃酸，避免蛋白质因强酸快速变性凝固，维持胃消化过程中蛋白质的持续溶出；同时在肠消化阶段，多糖与小分子肽的弱相互作用可减缓胰蛋白酶对肽段的过度降解，使体系在肠消化后期仍能维持较高的可溶性蛋白水平<sup>[9,25]</sup>。



P0:消化前；P1:经口腔消化后；P2-5、P2-30、P2-60、P2-120:分别于胃消化 5 分钟、30 分钟、60 分钟和 120 分钟取样；P3-1、P3-2、P3-3、P3-4:分别于肠消化 1 小时、2 小时、3 小时和 4 小时取样。同一消化阶段中，不同小写字母表示显著差异，不同大写字母表示组间差异（ $P<0.05$ ）。

图 2 两组双蛋白酸奶可溶性蛋白含量

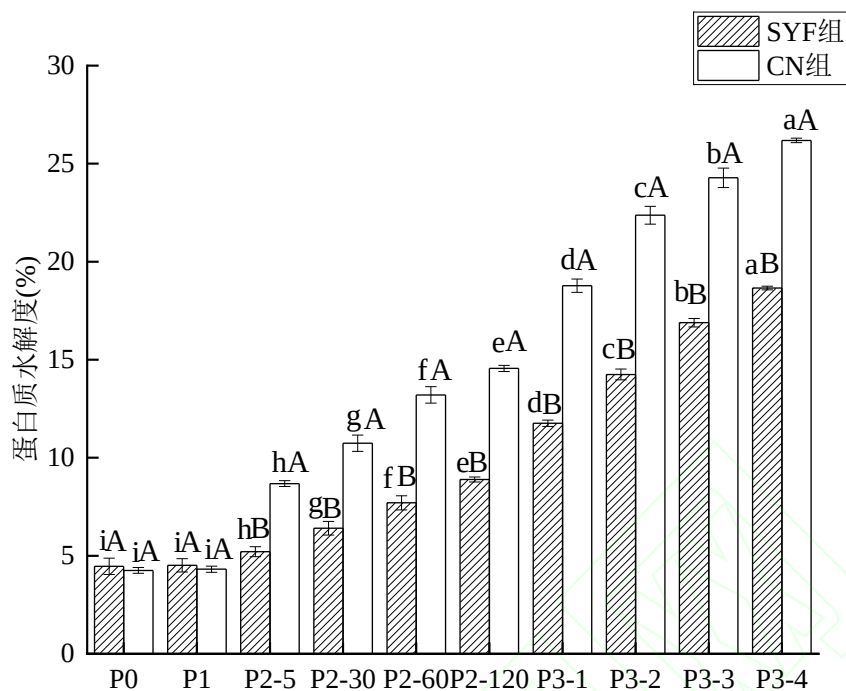
Figure 2. Soluble protein content of two dual-protein yogurt groups

## 2.3 蛋白质体外消化率及水解度分析



蛋白质的消化率是反映膳食蛋白质在消化道内分解与吸收情况的关键指标<sup>[26]</sup>。测定两组酸奶肠消化 4 小时后的蛋白质体外消化率,结果显示,融合魏斯氏菌混菌发酵制备的 SYF 组酸奶体外蛋白质消化率  $72.56\% \pm 0.97\%$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 低于仅商业菌发酵制备的 CN 组酸奶体外蛋白质消化率  $81.73\% \pm 0.38\%$ , 这说明了 CN 组酸奶因疏松开放多孔的凝胶结构使其更容易被消化酶水解。微观结构的不同源于胞外多糖与蛋白组分形成的网络交联程度的高低,有研究表明,经多糖处理的鱼糜与未添加多糖组相比,蛋白质消化率显著减低,这是由于多糖通过形成稳定的交联网络,阻碍蛋白酶接触其底物,从而对蛋白质水解过程产生抑制作用<sup>[27]</sup>。另一方面,乳制品加工过程中不同的工艺条件也会改变蛋白质内部微观结构,如适当的加热会使乳清蛋白变性,与酪蛋白通过二硫键形成紧密的胶束结构,但过度加热会使两者形成分散的聚集体,降低对蛋白酶的可及性或抑制特定肽键的接触,这会直接影响乳制品基质中蛋白质的消化率<sup>[28]</sup>。王佳喻等研究了高温喷雾干燥和低温真空处理对骆驼乳体外消化特性的影响,明确表示低温干燥对蛋白质结构的破坏性较小,一定程度上会延长消化酶的作用时间,影响营养素的释放<sup>[29]</sup>。

蛋白质水解度用于评估消化过程中蛋白质肽键的水解程度。高蛋白质水解度意味着消化酶将蛋白质广泛分解为较小的肽段和游离氨基酸,这一过程有助于氨基酸在小肠中的吸收并提高营养利用率<sup>[30]</sup>。胃肠道消化各阶段的蛋白质水解度如图 3 所示。在胃消化初始阶段,大豆蛋白和牛奶蛋白在胃蛋白酶的作用下被水解成多肽,此时二者的水解度分别为 4.81% (SYF 组) 和 8.68% (CN 组),在胃消化 120 min 后,两组酸奶的水解度有一定增加,但共发酵组水解度依旧更低。随着肠消化时间的延长,水解度亦持续上升,肠消化至 4 h 后的水解度分别为 18.66% (SYF 组) 和 26.18% (CN 组),蛋白质的快速水解和低分子量多肽的增加是水解度不断上升的原因。研究表明 EPS 在胃肠道内对酶具有较强的抗降解能力,仅有少部分会被降解,绝大多数会保留至大肠被肠道微生物利用<sup>[31]</sup>,抗降解能力的高低取决于 EPS 组分在糖苷键类型、分子构象及单糖组成方面的差异<sup>[32]</sup>。然而融合魏斯氏菌共发酵制备的酸奶产生了更多的在胃肠道消化条件中不易被降解的胞外多糖,EPS 穿插在蛋白质中并与蛋白质组分形成了高度交联且难以解离的网络结构,在凝胶网络中产生空间位阻效应来限制酶的扩散并抑制底物与消化酶的相互作用,从而导致蛋白质消化率下降<sup>[33]</sup>。值得注意的是,在刘雨欣等<sup>[34]</sup>的研究中发现,通过对比四种不同来源的蛋白质在体外消化过程中的水解度,发现微藻蛋白的水解度最低,可能跟它蛋白质结构更紧密,酶可及性降低相关。



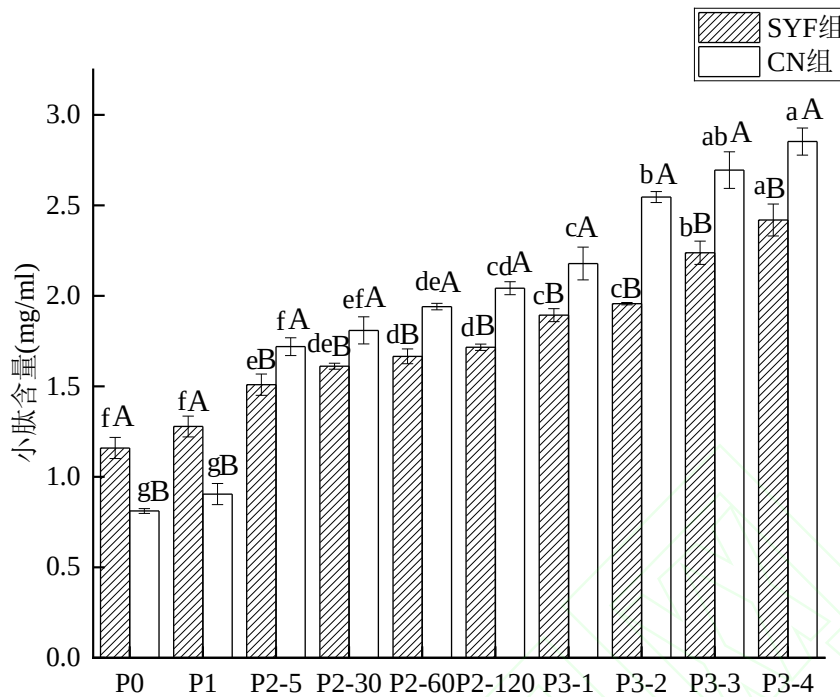
P0:消化前; P1:经口腔消化后; P2-5、P2-30、P2-60、P2-120:分别于胃消化5分钟、30分钟、60分钟和120分钟取样; P3-1、P3-2、P3-3、P3-4:分别于肠消化1小时、2小时、3小时和4小时取样。同一消化阶段中,不同小写字母表示显著差异,不同大写字母表示组间差异 ( $P<0.05$ )。

图3 两组双蛋白酸奶蛋白质水解度

Figure 3. Degree of protein hydrolysis of two dual-protein yogurt groups.

## 2.4 小肽含量

图4显示了胃肠消化期间的小肽含量变化。消化前, SYF组小肽含量高于CN组,这可能源于融合魏斯氏菌在发酵阶段具有较强的蛋白水解能力。随后在胃消化阶段,两组双蛋白酸奶的小肽含量略有增加, SYF组酸奶的小肽含量由初始的  $1.16\pm0.06$  mg/ml 增加至  $1.72\pm0.02$  mg/ml, CN组酸奶由  $0.81\pm0.01$  mg/ml 增加至  $2.04\pm0.04$  mg/ml。由于低酸性环境和胃蛋白酶的作用,高分子量的蛋白质被水解为多肽和部分氨基酸,随着肠消化时间的延长,在胰蛋白酶和其他酶的作用下,进一步分解为更小的肽和氨基酸,因而小肽含量继续显著增加<sup>[8]</sup>。肠消化4h后, SYF组酸奶小肽含量 ( $2.41\pm0.09$  mg/ml) 始终低于CN组酸奶小肽含量 ( $2.85\pm0.07$  mg/ml)。研究表明,当蛋白质与多糖高度结合时所形成的微观结构更加致密,结构凝聚力增强,这些结构阻碍了酶对蛋白质内部的接触,使得消化酶可作用位点减少,阻碍了酶与底物的切割,导致蛋白质水解度降低,从而产生的小肽含量低<sup>[35]</sup>。



P0:消化前; P1:经口腔消化后; P2-5、P2-30、P2-60、P2-120:分别于胃消化 5 分钟、30 分钟、60 分钟和 120 分钟取样; P3-1、P3-2、P3-3、P3-4:分别于肠消化 1 小时、2 小时、3 小时和 4 小时取样。同一消化阶段中, 不同小写字母表示显著差异, 不同大写字母表示组间差距显著 ( $P<0.05$ )。

图 4 两组双蛋白酸奶小肽含量

Figure 4. Small peptide content of two dual-protein yogurt groups.

## 2.5 游离氨基酸含量分析

在人体胃肠道中, 蛋白质只有被分解为短肽或氨基酸后才能被吸收利用发挥生理功能, 因此分析消化前后氨基酸的含量十分重要。体外消化前和肠消化 4h 后, 双蛋白酸奶中氨基酸组成情况如表 1 所示。经肠消化 4 h 后, 两组酸奶的总游离氨基酸含量均较消化前显著提升, 分别从  $63.39 \mu\text{g/g}$  和  $61.29 \mu\text{g/g}$  增至  $265.88 \mu\text{g/g}$  和  $293.84 \mu\text{g/g}$ , 增幅分别达到 3.20 倍和 3.80 倍。这一结果表明, 胃肠消化过程能有效促进酸奶中蛋白质的水解, 显著提高其游离氨基酸的释放量, 从而提升蛋白质的消化吸收效率。从必需氨基酸 (EAA) 的释放来看, 两组酸奶的增幅更为突出。SYF 组的必需氨基酸含量从  $16.35 \mu\text{g/g}$  增至  $102.23 \mu\text{g/g}$ , 增幅约 5.25 倍; 而 CN 组则从  $11.03 \mu\text{g/g}$  增至  $109.44 \mu\text{g/g}$ , 增幅高达 8.93 倍。必需氨基酸是人体无法自身合成、必须从食物中获取的关键营养物质, 其在消化后含量的大幅提升, 尤其是 CN 组更为显著的增幅, 说明该组酸奶在消化后能提供更为丰富的必需氨基酸, 具有更高的营养可利用性。消化前后两组酸奶中苦味氨基酸占比均较高, 说明菌株可能在发酵过程中释放了更多与苦味相关的氨基酸。消化前, SYF 组总氨基酸含量高于 CN 组, 经过肠消化 4h 后, 酪氨酸的释放率最高, 其次是苯丙氨酸, 再次是亮氨酸和赖氨酸 (图 5), SYF 组的总必需氨基酸含量和总氨基酸含量均低于 CN 组, 此结果与蛋白质水解度和小肽含量结果相呼应。研究显示, 不同的基质结构会影响酶与蛋白质相互作用的程度, GDL 豆腐较薄的质地、疏松的凝胶网络促进了消化酶向食物基质中的扩散, 增强了酶与蛋白组分之间的相互作用, 最终提高了蛋白质的水解程度和游离氨基酸的含量<sup>[36]</sup>。SYF 组酸奶因被多糖填充而结构致密,

从而降低了蛋白质-酶的结合效率，使得大豆蛋白和牛奶蛋白的水解度降低，氨基酸含量随之降低。张晓轩等<sup>[37]</sup>在研究青稞  $\beta$ -葡聚糖/玉米醇溶蛋白植物基奶酪的消化特性时，报告了完全一致的现象：随着  $\beta$ -葡聚糖添加量的增加，游离氨基酸的释放率逐渐降低，作者将这一现象归因于“多糖通过降低蛋白酶的可及性，抑制了蛋白质的消化”。

表 1 两组双蛋白酸奶消化前后的氨基酸组成

| 氨基酸                          | SYF 组             |                    | CN 组              |                    |
|------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|                              | 消化前               | 肠消化 4h 后           | 消化前               | 肠消化 4h 后           |
| 总氨基酸含量( $\mu\text{g/g}$ )    | 63.39 $\pm$ 0.24B | 265.88 $\pm$ 0.26A | 61.29 $\pm$ 0.05B | 293.84 $\pm$ 0.11A |
| 鲜味氨基酸占比 (%)                  | 3.96 $\pm$ 0.06A  | 2.55 $\pm$ 0.03B   | 5.65 $\pm$ 0.04A  | 2.43 $\pm$ 0.01B   |
| 甜味氨基酸占比 (%)                  | 17.38 $\pm$ 0.03A | 11.21 $\pm$ 0.01B  | 16.04 $\pm$ 0.13A | 14.49 $\pm$ 0.02B  |
| 苦味氨基酸占比 (%)                  | 20.76 $\pm$ 0.02B | 55.35 $\pm$ 0.01A  | 19.61 $\pm$ 0.02B | 53.67 $\pm$ 0.02A  |
| 总必需氨基酸含量 ( $\mu\text{g/g}$ ) | 16.35 $\pm$ 0.09B | 102.23 $\pm$ 0.09A | 11.03 $\pm$ 0.08B | 109.44 $\pm$ 0.09A |

注：同一组内消化前与肠消化后标注不同大写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ，成对 t 检验)

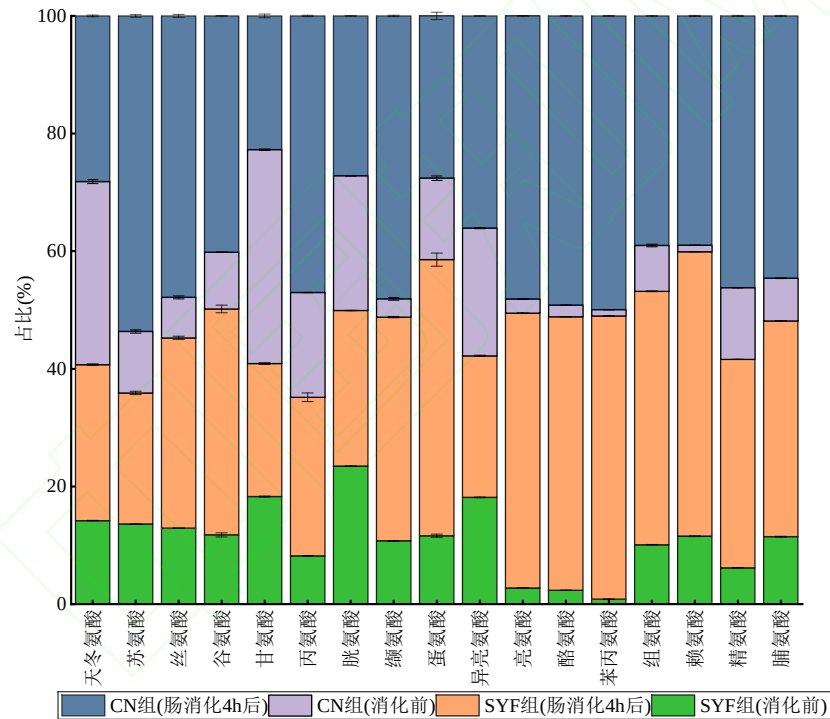


图 5 两组双蛋白酸奶消化前后游离氨基酸种类对比

Figure 5 Comparison of free amino acid profiles of two dual-protein yogurt groups before and after digestion

2.6 SDS-PAGE 分析

SDS-PAGE 是一种用于分离蛋白质并评估其消化率的有效技术。图 6 展示了两组双蛋白酸奶在体外消化过程中的蛋白质谱。大豆蛋白主要含有  $\beta$ -甘氨酸蛋白（7S 球蛋白）和甘氨酸蛋白（11S 球蛋白），其中  $\beta$ -甘氨酸蛋白由  $\alpha'$ （72 kDa）、 $\alpha$ （68 kDa）和  $\beta$ （52 kDa）亚基组成，而甘氨酸蛋白由酸性亚基 A（35-42 kDa）和碱性亚基 B（约 20 kDa）组成<sup>[38]</sup>。牛奶蛋白主要含有酪蛋白和乳清蛋白，酪蛋白由四种不同（ $\alpha_1$ -CN、 $\alpha_2$ -CN、 $\beta$ -CN、 $\kappa$ -CN）的亚基组成（19-25 kDa），而乳清蛋白主要包括  $\beta$ -乳球蛋白（约 17 kDa）， $\alpha$ -乳白蛋白（约 14 kDa）和牛奶血清蛋白（约 66 kDa）。由图 6a 可知，消化前（泳道 1），两组酸奶的蛋



白质谱均显示存在 20-75 kDa 蛋白质条带，涵盖了大豆蛋白和乳蛋白的主要亚基，且 SYF 组较 CN 组蛋白质条带灰度更深，说明其发酵结束留存的蛋白质含量高，这与先前发现的消化前的 SYF 组可溶性蛋白含量高的结果相一致。随着胃消化时间的增加（泳道 2-5），>30 kDa 的蛋白质条带消失，与之相对应的是新增了低分子量（<30 kDa）以下的条带，即 7S 球蛋白和 11S 球蛋白的酸性亚基发生快速降解，而 11S 球蛋白的碱性亚基虽有部分水解，但仍保留，说明其对胃消化具有一定抗性<sup>[24]</sup>。CN 组酸奶蛋白条带强度及新生条带的数量上均高于 SYF 组，表明 CN 组酸奶更容易被蛋白酶水解，而 SYF 组酸奶因结构致密，蛋白酶难与底物相结合，因而降低了消化速率，这与小肽含量和蛋白质水解度结果相一致。与此同时，两组酸奶样品中的酪蛋白在胃消化阶段消失了，而  $\beta$ -Lg 一直残留至胃消化结束仍存在，这表明酪蛋白在胃消化条件下分解更快，这是因为酪蛋白多肽链结构松散，对胃蛋白酶亲和力高，容易被切割水解<sup>[39]</sup>。相比之下，乳清蛋白如  $\beta$ -Lg 对胃蛋白酶具有更强的抗性，但会被胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶等胰腺蛋白酶快速消化<sup>[16]</sup>，这与后续显示的  $\beta$ -Lg 条带在肠道消化过程中消失的现象一致。在肠道消化过程中（泳道 6-9），大部分蛋白质完全水解（20-30 kDa），胰酶会进一步将多肽分解为更小的肽段和氨基酸，这些物质从凝胶中渗出，导致低分子量条带（<15 kDa）的强度逐渐减弱（图 6b）。然而即使在肠道消化的后期阶段，仍能检测到低分子量蛋白条带（10-15 kDa），这可能代表了酶解抗性肽段<sup>[38]</sup>。无论是在胃消化还是肠道消化阶段，CN 组的蛋白质水解程度最高，因此分解了最多的低分子量肽段。相比之下，产生胞外多糖的 SYF 组酸奶在体外消化过程中蛋白质水解程度低，导致释放的低分子量肽段数量少。

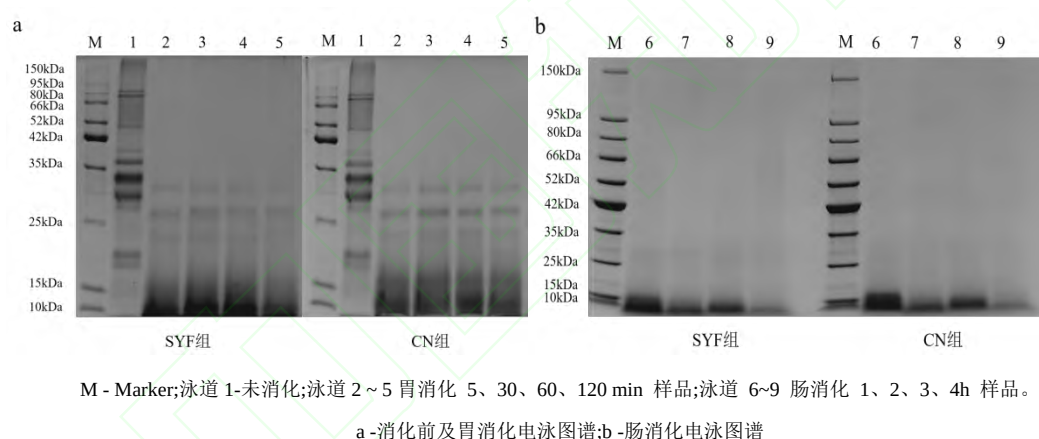


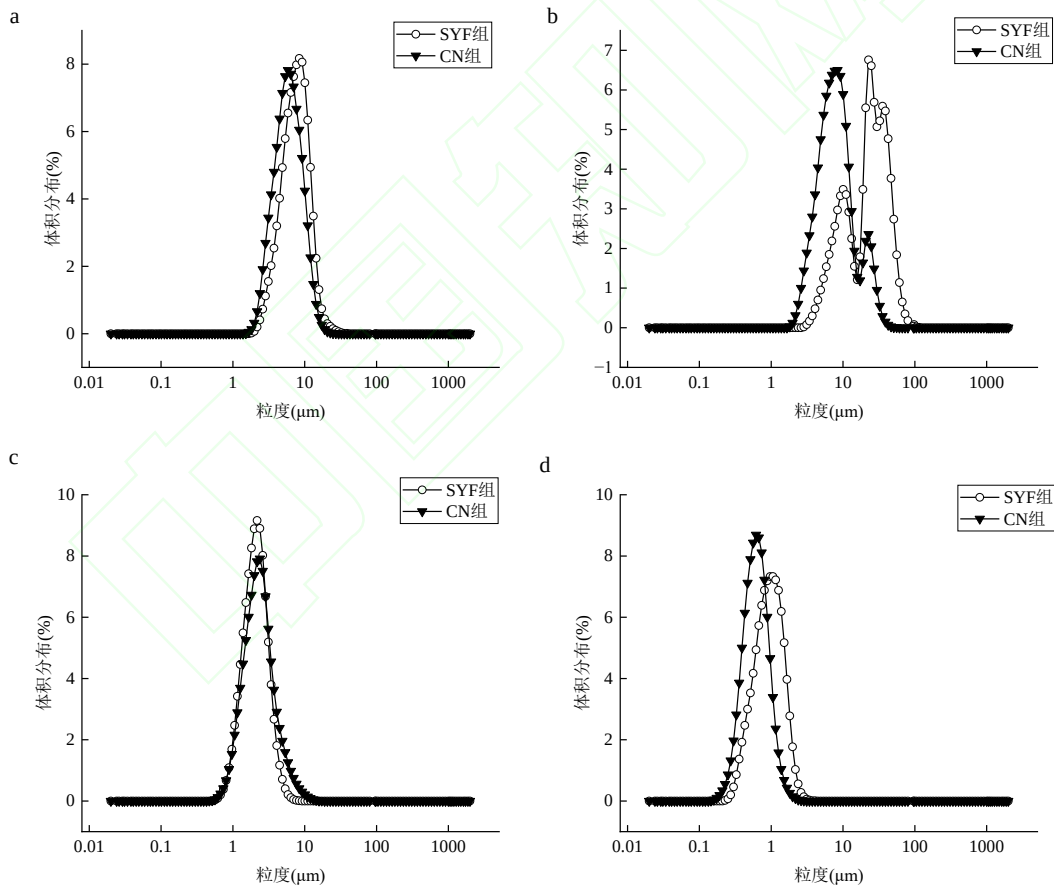
图 6 消化期间的蛋白电泳图谱

Figure. 6 Protein electrophoresis spectrum during digestion

## 2.7 粒径分析

粒径分布可反映蛋白质与脂滴的聚集情况，而颗粒大小通过改变消化酶与底物的接触面积影响消化率<sup>[27]</sup>。融合魏斯氏菌参与或不参与发酵的双蛋白酸奶的体外消化前后的粒径分析如图 7 所示。消化前，两组酸奶样品均以单峰形式出现，其中 SYF 组酸奶的粒径范围为 1.82-38.93  $\mu\text{m}$ ，CN 组酸奶的粒径范围为 1.52-24.8  $\mu\text{m}$ 。经过口腔消化后，两组双蛋白的粒径相比较消化前都显著增加，可能是由于在进行唾液淀粉酶灭活加热处理的过程中，大豆蛋白和乳蛋白变性发生了蛋白质聚集现象，使得粒径增大<sup>[20]</sup>。在胃蛋白酶的水解作用下，大分子蛋白逐渐降解为小分子颗粒，因而在胃消化末期可观察到粒径明显减小，SYF 组酸奶从口腔阶段的 2.85-114.86  $\mu\text{m}$  降解至 0.56-8.41  $\mu\text{m}$ ，CN 组酸奶由 1.82-55.84  $\mu\text{m}$  降解至 0.47-17.29  $\mu\text{m}$ ，SYF 组粒径高于 CN 组，这一现象与 SDS-PAGE 结果高度吻合：SYF 组因 EPS 的存在，凝胶网络更稳定，减少了酶与底物可及性，蛋白水解速率更慢，蛋白条带消失速度更缓、低分子量条带生成更少，对应粒径上表现为更大的颗粒尺寸。和胃消化阶段相

比, 肠消化 4 h 后, 两组双蛋白酸奶的粒径降低率减慢, 但全部降至 10  $\mu\text{m}$  以下。在整个消化过程中, 融合魏斯氏菌参与发酵制备的 SYF 组酸奶粒径始终大于仅商业发酵剂发酵的 CN 组, 表明胞外多糖与蛋白质之间交联程度的高低能够影响酸奶被不同消化酶水解的作用大小, 而小颗粒能最大化蛋白质表面与亲水区的接触面积, 从而促进酶对切割位点的可及性<sup>[40]</sup>。值得注意的是, 在胃肠消化阶段, SYF 组粒径大小与可溶性蛋白含量并没有呈现负相关关系。Qu 等人<sup>[41]</sup>对燕麦  $\beta$ -葡聚糖凝固型酸奶体外消化的研究结果显示, 肠消化阶段,  $\beta$ -葡聚糖-蛋白复合物抵抗胰酶水解, 使粒径更大、可溶性蛋白含量更高, 与本实验结果一致; 但胃消化阶段其样品因形成“微反应器”, 呈现粒径更小、可溶性蛋白更高的促进型模式, 与本研究 SYF 组粒径增大、可溶性蛋白同步升高的抵抗型模式差异显著。该差异可能源于多糖存在形式: 外源多糖易与蛋白相分离促水解, 乳酸菌内源 EPS 与蛋白紧密结合形成屏障抗酶解。可见可溶性蛋白与粒径并非简单负相关, 而是由消化阶段、多糖存在与分布形式及蛋白基质相互作用方式共同决定。粒径分析与 SDS-PAGE 结果相互印证, 共同表明 SYF 组的 EPS - 蛋白复合结构可通过调控颗粒尺寸, 改变酶的可及性, 实现对蛋白水解过程的动态调控, 最终维持更高的可溶性蛋白水平。



a-消化前;b-口腔消化后;c-胃消化 120min 后;d-肠消化 4h 后

图 7 两组双蛋白酸奶中体外消化不同阶段的粒径变化

Figure 7. Changes in particle size of two dual-protein yogurt groups during in vitro digestion.

### 3 结论

本研究通过体外模拟消化试验,系统探究了融合魏斯氏菌 SY628 与商业发酵剂共发酵对双蛋白酸奶消化特性的影响。试验结果表明,融合魏斯氏菌的引入显著提升了双蛋白酸奶中益生菌的胃肠消化耐受性与存活稳定性,SYF 组活菌保留率约为 CN 组 1.47 倍,证实了该菌株在功能性发酵食品开发中的应用价值。然而,消化特性分析显示,SYF 组的蛋白质体外消化率( $72.56\%\pm 0.97\%$ )显著( $P<0.05$ )低于 CN 组( $81.73\%\pm 0.38\%$ ),其水解后释放的小肽及氨基酸含量亦相应较低。结合 SDS-PAGE 图谱分析,推测这一现象主要归因于融合魏斯氏菌高产的葡聚糖与蛋白质基质发生交互作用,形成了更为致密紧凑的凝胶网络结构,该结构在胃肠道环境中对消化酶产生了空间位阻或结合位点遮蔽效应,从而延缓了蛋白质的酶解进程。尽管相对较低的消化率在传统营养视角下可能被视为不利因素,但在功能性食品开发中具有特殊意义。一方面,延缓的蛋白质消化有助于延长胃排空时间,增强饱腹感,对于能量摄入控制和体重管理具有积极作用;另一方面,致密的凝胶结构在消化过程中为活菌提供了物理性保护,最大程度发挥益生菌生理效应。综上,融合魏斯氏菌共发酵技术为开发高活菌载量、兼具饱腹调节功能的新型双蛋白产品提供了可行策略,其胞外多糖与蛋白质的互作机制及其在体内的生理效应值得进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] LIU Y Y, CUI R, HU T G, et al. Hetero-protein systems: an effective strategy to improve the functional properties of protein[J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 165: 105318.
- [2] 惠丹阳. 大豆蛋白部分替代牛乳蛋白对酸奶品质的影响研究[D].湘潭:湘潭大学,2023.  
HUI D Y. Study on the effect of partial substitution of milk protein by soy protein on yogurt quality[D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2023.
- [3] MÉNDEZ-GALARRAGA M P, CURUTCHET A, ARZUAGA M R. Hybrid Yogurts: exploring the functional, sensory and nutritional potential of dairy-plant protein combinations[J]. Food Reviews International, 2025, 41(7): 2150-2166.
- [4] AN M, ZHAO Z, ZHAO L, et al. Metabolic modulation of yogurt fermentation kinetics and storage stability by lactobacillus-starter culture interactions[J]. Foods, 2025, 14(17): 2935.
- [5] 李筱, 刘牧雯, 钟蓉莲, 等. 融合魏斯氏菌发酵制备凝固型大豆酸奶及其稳定性分析[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(15): 118-124.  
LI X, LIU M W, ZHONG R L, et al. Preparation of set-style soy yogurt by fermentation with *Weissella confusa* and its stability analysis[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(15): 118-124.
- [6] LIU M, LI X, YE T, et al. Safety evaluation of *Weissella confusa* SY628 and the effect of its fermentation on the taste and quality of soy yogurt[J]. Frontiers in Microbiology, 2025, 16: 1567399.
- [7] ZANG J, LIN T, SHI Y, et al. Recent advances in exopolysaccharide-protein interactions in fermented dairy - and plant - based yogurts: mechanisms, influencing factors, health benefits, analytical techniques, and future directions[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2025, 24(4): e70219.
- [8] Hu F ,Shimada L T ,Ogawa Y .Underlying mechanisms of different polysaccharides on the texture characteristics and protein digestibility of soybean curd[J].Food Hydrocolloids,2025,159110653-110653.
- [9] 康颖, 叶滔, 白雪莹, 等. 融合魏斯氏菌协同发酵制备双蛋白酸奶及其稳定性研究[J]. 浙江农业学报, 2026[2026-03-25].  
KANG Y, YE T, BAI X Y, et al. Study on the preparation and stability of double-protein

- yogurt by co-fermentation with *Weissella confusa*[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2026[2026-03-25].
- [10] ZHOU Z, LUO S, JIN Y, et al. Comparative efficacy of amino acid availability and peptidomic analysis of alternative proteins from different sources under dynamic *in vitro* protein digestion[J]. Food Hydrocolloids, 2025, 159: 110665.
- [11] HAMMER L, MORETTI D, BÉTRIX C A, et al. *In vitro* DIAAS of Swiss soybean cultivars using the INFOGEST model: increase in protein quality from soybean to soymilk and tofu[J]. Food Research International, 2024, 178: 113947.
- [12] LIN Q, PAN L, DENG N, et al. Protein digestibility of textured-wheat-protein (TWP) -based meat analogues: (I) effects of fibrous structure[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 130: 107694.
- [13] SAVIARD T, MENARD O, NEBBIA S, et al. *In vitro* gastrointestinal digestion of cow's and sheep's dairy products: impact of species and structure[J]. Food Research International, 2024, 190: 114604.
- [14] WEGRZYN T F, ACEVEDO-FANI A, LOVEDAY S M, et al. *In vitro* dynamic gastric digestion of soya protein/milk protein blended beverages: influence of protein composition and co-processing[J]. Food & Function, 2021, 12(6): 2605-2616.
- [15] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus[J]. Food Funct., 2014, 5(6): 1113-1124.
- [16] YANG M, TANG Y, LI H, et al. Exploring the effect of milk protein concentrate on the physicochemical and digestive properties of fermentation-induced mung bean protein gels[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 318: 145090.
- [17] NIELSEN P M, PETERSEN D, DAMBMANN C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(5): 642-646.
- [18] 贾向飞, 洪青, 郑远荣, 等. 体外消化对红曲霉奶酪 ACE 抑制肽释放的影响分析[J]. 食品与发酵工业, 2025: 1-12.
- JIA X F, HONG Q, ZHENG Y R, et al. Analysis of the effect of *in vitro* digestion on the release of ACE inhibitory peptides from *Monascus* cheese[J]. Food and Fermentation Industries, 2025: 1-12.
- [19] DIAO X, XUE D, MAO X, et al. Animal-derived and plant-derived proteins in diets have different *in vitro* digestive characteristics and bioaccessibility[J]. Food Research International, 2025, 211: 116377.
- [20] 邢广良. 乳酸菌-MTG 酶共诱导条件下双蛋白乳的凝胶行为及其蛋白体外消化率和抗原性的研究[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- XING G L. Study on gel behavior of double-protein milk under co-induction of lactic acid bacteria and MTGase and its protein *in vitro* digestibility and antigenicity[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [21] YOU S, ZHAO X, CUI W, et al. The incorporation of plant-derived polysaccharides into alginate-based capsules improve probiotic viabilities during storage, gastrointestinal digestion, and their application in yogurt[J]. Foods, 2026, 15(1): 163.
- [22] 邵彤, 方海田, 刘慧燕. 红枣酵素酸奶贮藏稳定性及其体外抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(2): 165-173.
- SHAO T, FANG H T, LIU H Y. Study on storage stability and *in vitro* antioxidant activity of jujube fermented yogurt[J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(2): 165-173.
- [23] ZOU F, HUO Y, GAO W, et al. Physicochemical, microbiological and sensory



- characterization of yogurt fermented by *Weissella confusa* SW1 and traditional starters[J]. LWT, 2024, 201: 116229.
- [24] LI W, WANG T. Protein bioaccessibility of unfermented chickpea milk and lactiplantibacillus plantarum fermented chickpea milk as evaluated by *In Vitro* gastrointestinal digestion[J]. Food Science & Nutrition, 2025, 13(9): e70941.
- [25] ZENG J Y, YANG X, XIAO J H, et al. Recent advances in studying natural bioactive polysaccharides with *in vitro* gastrointestinal digestion models[J]. Discover Food, 2025, 5(1): 180.
- [26] ZANG Y, WANG S, GAO Y, et al. High moisture extrusion of pulse proteins: texture, structure, and *in vitro* digestion characteristics of extrudates[J]. Food Hydrocolloids, 2025, 159: 110676.
- [27] LENG L, YANG Z, ZHU B, et al. Insight into the digestion mechanism of proteins in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi by different alginates[J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141415.
- [28] EVERETT D W. Dairy foods: a matrix for human health and precision nutrition—the impact of the dairy food matrix on digestion and absorption[J]. Journal of Dairy Science, 2025, 108(4): 3070-3087.
- [29] 王佳喻, 王涛, 何静, 等. 不同干燥工艺对骆驼乳粉体外消化性能的影响[J]. 中国食品学报, 2026, 26(2): 181-189.
- WANG J Y, WANG T, HE J, et al. Effect of different drying processes on *in vitro* digestibility of camel milk powder[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2026, 26(2): 181-189.
- [30] LOVEDAY S M. Protein digestion and absorption: the influence of food processing[J]. Nutrition Research Reviews, 2023, 36(2): 544-559.
- [31] WANG Q, LI G, QIN W, et al. Evaluation of *in vitro* simulated digestion and fermentation characteristics of the crude exopolysaccharide from *Levilactobacillus brevis* M - 14[J]. Journal of Food Science, 2024, 89(12): 9860-9878.
- [32] CHEN M, ZHANG H, YANG R, et al. Structural analysis and prebiotic properties of the polysaccharides produced by *Lactiplantibacillus plantarum* YT013[J]. Food Chemistry: X, 2025, 28: 102600.
- [33] REN W, VERKEMPINCK S H E, GUNES D Z, et al. Calcium-induced pea protein gels: Effect of structure on *in-vitro* protein digestibility and calcium bioaccessibility[J]. Food Hydrocolloids, 2025, 168: 111478.
- [34] 刘雨欣, 张捷, 赵夕颜, 等. 不同来源蛋白体外消化特性及 ACE 抑制潜力[J]. 食品工业科技, 2026:1-14.
- LIU Y X, ZHANG J, ZHAO X Y, et al. *In vitro* digestibility and ACE inhibitory potential of proteins from different sources[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026: 1-14.
- [35] WANG Y, DONG X, ZHANG Y, et al. Effect of the combined addition of hyaluronic acid and gellan gum on the physicochemical and digestive properties of tofu[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 311: 143735. .
- [36] HU F, WANG L, BAINTO-ANCHETA L, et al. Effects of matrix structure on protein digestibility and antioxidant property of different soybean curds during *In Vitro* digestion[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(13): 7364-7373.
- [37] 张晓轩, 刘栗君, 叶发银, 等. 青稞  $\beta$ -葡聚糖/玉米醇溶蛋白植物基奶酪消化及其益生性



能体外评价[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(19): 79-87.

ZHANG X X, LIU L J, YE F Y, et al. *In vitro* evaluation of digestion and probiotic properties of plant-based cheese from highland barley  $\beta$ -glucan/zein[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(19): 79-87.

[38] LI L, WANG C, LI K, et al. Influence of soybean protein isolate-dextran conjugates on the characteristics of glucono- $\delta$ -lactone-induced tofu[J]. LWT, 2021, 139: 110588.

[39] KAUR L, MAO B, BENIWAL A S, et al. Alternative proteins vs animal proteins: The influence of structure and processing on their gastro-small intestinal digestion[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 122: 275-286.

[40] RIBES S, GENOT M, AUBRY L, et al. Oral impairments decrease the nutrient bioaccessibility of bread in the elderly[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 135: 108202.

[41] QU X, LI B, YANG W, et al. Effect of oat  $\beta$ -glucan on in vitro digestion characteristics of set-type yogurt[J]. Acta Innovations, 2022(43): 5-14.