

蔬菜汁乳酸菌发酵过程中产酸量预测的研究

张菊华, 单杨

(湖南省农产品加工研究所, 湖南 长沙 410125)

摘要: 本文以胡萝卜、番茄为试验原料, 经过加工处理, 将所得的蔬菜汁用嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌进行发酵。采用四元二次通用旋转组合试验将发酵温度、La、Lp 两菌种接种量、发酵时间四因素对发酵蔬菜汁的产酸量进行回归, 得到方程 $Y=0.4394+0.102x_1+0.0338x_3+0.1107x_4-0.0163x_1^2$, 其中 x_1 为发酵温度、 x_3 为植物乳杆菌接种量、 x_4 为发酵时间、 Y 为发酵蔬菜汁的产酸量。

关键词: 乳酸发酵; 蔬菜汁; 产酸量预测

中图分类号: TQ920.1; 文献标识码: A; 文章篇号:1673-9078(2007)05-0011-04

Research on Acidity Forecast for fermentation of Vegetable Juice by

Lactic Acid Bacteria

ZHANG Ju-hua, SHAN Yang

(Hunan Institute of Agricultural Product processing Research, Changsha 410125, China)

Abstract: A kind of vegetable juice, which is prepared from carrot and tomato, was fermented by *Lactibacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. The correlations of three factors (fermentation temperature x_1 , inoculum size of *Lactobacillus plantarum* x_3 and fermentation time x_4) with acidity were regressed and the achieved regression equation was as follows: $Y=0.4394+0.102x_1+0.0338x_3+0.1107x_4-0.0163x_1^2$.

Key words: lactic acid fermentation; vegetable juice; acidity forecast

蔬菜是人类膳食不可缺少的食品, 乳酸菌应用于蔬菜加工的研究日益广泛和深入, 寻求将不同蔬菜原料自有的营养、保健成分与乳酸菌的独特的保健功能相结合成为研究的热点。胡萝卜与番茄的保健功效已经得到了广泛认同, 将经过加工处理的蔬菜汁经乳酸菌发酵之后, 由一般的营养食品发展成为功能性食品, 对其进行深入的研究与开发利用, 对于提高人民健康水平、搞好蔬菜原料的综合利用、增加饮料品种有着积极意义。

在实际发酵过程中, 发酵温度、各菌种接种量以及发酵时间均对发酵产酸有一定影响, 并存在一定的关联作用, 会出现发酵条件偏离预先设计条件的情况, 因此有必要建立生产过程中的数学模型, 了解上述因素对发酵产酸的影响情况, 并在发酵条件偏离预先设计条件时, 能对产品的酸度变化进行预测。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 主要原辅料

收稿日期: 2007-03-02

作者简介: 张菊华 (1971-), 女, 助理研究员, 主要从事农产品加工研究

胡萝卜、番茄购于农科院农贸市场。

1.1.2 试验用菌种 (均购于中科院微生物研究所) 和培养基

菌种: 嗜酸乳杆菌 (*Lactibacillus acidophilus*) 简写 La, MRS 培养基; 植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 简写 Lp, MRS 培养基。

试验所需培养基: 斜面培养: MRS 培养基^[1]、扩大培养: 液体活化培养基^[2]。

1.1.3 主要药品与试剂

邻苯二甲酸氢钾、乙酸钠、葡萄糖、柠檬酸二铵、 $MnSO_4 \cdot H_2O$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $CaCO_3$ 、NaOH (AR 级); 酪蛋白胨、牛肉提取物、酵母提取物 (生化试剂); 酚酞 (指示剂)。

1.1.4 试验仪器与设备

组织捣碎机、电子天平、手持糖量计、胶体磨、电热手提式压力灭菌器、超净工作台、电热恒温培养箱、精密酸度计、恒温水浴锅。

1.2 检测项目与方法

总酸的测定: NaOH 常规滴定法^[3]

1.3 发酵工艺流程

胡萝卜、番茄→清洗去皮→修整、切分→烫漂→打浆→

取汁→离心→调配→杀菌→冷却→(发酵剂活化培养)接种→发酵→冷藏→调味、加稳定剂→均质→无菌罐装→冷藏(或超高温瞬时灭菌→罐装)。

2 试验结果与分析

通过感官评价确定了发酵蔬菜汁含量为 60%，番茄汁与胡萝卜汁之比为 3:1。

2.1 发酵工艺的初筛

发酵温度的范围应控制在菌种较适宜的生长范围(25~43℃);菌种接种量方面,有资料报道,嗜酸乳杆菌的接种量控制在 5%左右。植物乳杆菌的产酸能力强,为防止过度产酸,应控制其接种量,否则会抑制嗜酸乳杆菌的生长。发酵时间的控制,参考菌种的产酸曲线,在 37℃条件下产酸量大于 0.5%,发酵时间必需控制在 12 h 以上。由于试验选用的菌种均为同型乳酸发酵菌,其代谢产物主要是乳酸,因此产酸量可以作为一个明显的指标以表明发酵状况和判定产品质量。采用均匀实验对发酵工艺进行初筛,结果见表 1。

表 1 均匀试验结果

Table 1 Results of uniform experiment

试验号	因素				考察指标	
	A	B	C	D	pH	产酸量/%
1	38	4	2	18	3.54	0.80
2	42	6	1	16	3.96	0.66
3	26	3	2.5	14	4.32	0.48
4	30	5	1.5	12	4.20	0.57
5	34	7	3	20	3.43	0.89

注: A 为发酵温度(℃); B 为 La 接种量(%); C 为 Lp 接种量(%); D 为发酵时间(h)

采用直观分析法对表 1 进行分析,可以看出 5 个处理样品中有 2、4 号产品产酸量符合酸性饮料 pH 3.8~4.3 范围,酸度较适宜。42℃、38℃高温发酵的产品 1 号、2 号香味较刺激,且有少量沉淀生成。发酵温度低的产品香味较浓,因此低温发酵较适宜,4 号处理最好。因此以 4 号处理的工艺:发酵温度 30℃、嗜酸乳杆菌 5%、植物乳杆菌 1.5%、发酵时间 12h 为较适宜条件。

2.2 发酵温度、La、Lp 两菌种接种量、发酵时间与产酸量回归方程的确立

在发酵过程中,发酵温度、各菌种接种量以及发酵时间均对发酵产酸有一定影响,以上各因素在发酵过程中相互之间也存在一定作用影响产酸,而且在实际的发酵过程中,也会出现发酵条件偏离预先设计条

件的情况。为了进一步了解上述因素对发酵产酸的影响情况,建立生产过程中的数学模型,并在发酵条件偏离预先设计条件时,能对产品的酸度变化进行预测,本文采用了四元二次通用旋转组合试验,试验因素是发酵温度、La、Lp 两菌种接种量以及发酵时间,各因素分取五个水平,具体的水平安排见表 2,试验的因变量即为发酵蔬菜汁的产酸量。对试验所取得的数据进行回归处理,能够建立产品产酸量与发酵温度、各菌种接种量以及时间的回归方程,利用建立的回归方程,可以预测发酵终了产品的酸度。

表 2 四元二次通用旋转组合设计编码

Table 2 Arrangements of code for regression experiment

编码	发酵温度	La 接种量	Lp 接种量	发酵时间
	x_1	x_2	x_3	x_4
+2	37℃	5%	3%	14 h
+1	34℃	4%	2.5%	12 h
0	31℃	3%	2%	10 h
-1	28℃	2%	1.5%	8 h
-2	25℃	1%	1%	6 h

通过 SAS RSREG 数据分析软件将发酵温度、La 接种量、Lp 接种量和发酵时间四因素对产酸量的影响进行回归分析,结果如表 3。

将表 3 中的数据按标准二次多项式回归,得产酸量的回归方程为:

$$Y=0.4394+0.102x_1+0.0113x_2+0.0338x_3+0.1107x_4-0.0163x_1^2+0.00263x_2x_1+0.0011x_2^2-0.0048x_3x_1+0.0005x_3x_2+0.0034x_3^2+0.006x_4x_1-0.0018x_4x_2+0.0016x_4x_3+0.0011x_4^2$$

表 4 为产酸试验回归分析结果。从表 4 知,方程的决定系数 R^2 为 0.9800。说明 98% 的试验数据可用于这个方程解释,说明本试验设计及分析效果都很好。t 检验结果表明:对回归方程, x_1 , x_3 , x_4 , x_1^2 项都在 $p<0.01$ 水平上影响显著。 $p>0.05$ 的项对产酸量的影响不大,可以忽略不计,回归方程可以简写为:

$$Y=0.4394+0.102x_1+0.0338x_3+0.1107x_4-0.0163x_1^2$$

表 5 为回归方程的方差分析结果。从表 5 知,一次相的 Prob>F 项 Prob<0.01,说明一次相的影响极显著,二次相和交互项的 Prob>F 项 Prob>0.05,说明影响不显著,方程的总模式 Prob<0.01,说明回归达到了极显著的水平,以上方程很好地拟合了试验数据。对各因素的显著性比较可知(如表 6),各因素间显著与不显著泾渭分明, x_1 发酵温度、 x_4 发酵时间、 x_3 植物乳杆菌接种量对产酸的影响是极显著的,而 x_2 嗜酸乳杆菌接种量对产酸的影响不显著。

表3 四元二次通用旋转组合设计方案及结果

Table 3 Arrangements and results of regression experiment

No.	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	Acid production/%
1	1	1	1	1	0.679
2	1	1	1	-1	0.479
3	1	1	-1	1	0.653
4	1	1	-1	-1	0.392
5	1	-1	1	1	0.680
6	1	-1	1	-1	0.436
7	1	-1	-1	1	0.627
8	1	-1	-1	-1	0.409
9	-1	1	1	1	0.453
10	-1	1	1	-1	0.253
11	-1	1	-1	1	0.392
12	-1	1	-1	-1	0.192
13	-1	-1	1	1	0.479
14	-1	-1	1	-1	0.235
15	-1	-1	-1	1	0.375
16	-1	-1	-1	-1	0.174
17	2	0	0	0	0.523
18	-2	0	0	0	0.209
19	0	2	0	0	0.479
20	0	-2	0	0	0.392
21	0	0	2	0	0.523
22	0	0	-2	0	0.366
23	0	0	0	2	0.653
24	0	0	0	-2	0.218
25	0	0	0	0	0.453
26	0	0	0	0	0.444
27	0	0	0	0	0.436
28	0	0	0	0	0.453
29	0	0	0	0	0.436
30	0	0	0	0	0.418
31	0	0	0	0	0.436

表4 产酸试验回归分析结果

Table 4 Results of regression analysis for producing acid

experiment					
Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pro > t
截距	1	0.439429	0.010311	42.62	<0.0001
x ₁	1	0.102000	0.005568	18.32	<0.0001
x ₂	1	0.011250	0.005568	2.02	0.0604
x ₃	1	0.033833	0.005568	6.08	<0.0001
x ₄	1	0.110667	0.005568	19.87	<.0001
x ₁ ²	1	-0.016274	0.005101	-3.19	0.0057
x ₂ x ₁	1	0.002625	0.006820	0.38	0.7054
x ₂ ²	1	0.001101	0.005101	0.22	0.8318
x ₃ x ₁	1	-0.004750	0.006820	-0.70	0.4961
x ₃ x ₂	1	0.000500	0.006820	0.07	0.9425
x ₃ ²	1	0.003351	0.005101	0.66	0.5206
x ₄ x ₁	1	0.006000	0.006820	0.88	0.3920
x ₄ x ₂	1	-0.001750	0.006820	-0.26	0.8008
x ₄ x ₃	1	0.001625	0.006820	0.24	0.8147
x ₄ ²	1	0.001101	0.005101	0.22	0.8318
响应均值			0.431129		
均方根			0.027280		
R ²			0.9800		
变异系数			6.3275		

表5 回归方程的方差分析

Table 5 Analysis of variance of regression equation

Regression	DF	Sum of Square	R ²	F 值	Prob>F
Linear	4	0.574137	0.9636	192.87**	<.0001
Quadratic	4	0.008615	0.0145	2.89	0.056
Crossproduct	6	0.001143	0.0019	0.26	0.9496
Total Model	14	0.583895	0.9800	56.04**	<.0001
Residual	16	0.011907			

注: F_{0.01}(4,16)=4.77; F_{0.05}(4,16)=3.01; F_{0.01}(14,16)=3.45; F_{0.05}(14,16)=2.37

表6 各因素显著性比较结果

Table 6 Results of markedness comparison for various factors

Factor	DF	Sum of square	Mean squares	F Value	Prob>F
x1	5	0.258316	0.051663	69.42	<0.0001
x2	5	0.003235	0.000647	0.87	0.5228
x3	5	0.028201	0.005640	7.58	0.0008
x4	5	0.294633	0.058927	79.18	<0.0001

3 结论

(下转第 25 页)