

乳酸菌种混合发酵研制大米饮料的工艺研究

余稳稳¹, 吴晖¹, 郭亚鹏², 闵甜¹, 李杰², 潘伯良²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

(2. 东莞市英芝堂生物工程有限公司, 广东东莞 523142)

摘要: 以大米, 麦芽为主要原料, 经粉碎、糊化、糖化、乳酸菌种发酵等一系列操作以后, 加入调味剂和辅助剂, 即可制备发酵米乳饮料。实验时确定了发酵米乳的最佳制作工艺: 大米与水以1:10的比例蒸煮糊化, 糖化时麦芽汁的加入量为原料的30%, 糖化酶加入量为发酵醪液的1%; 按照3:2的比例分别接种保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌到大米培养基中培养制备母发酵液, 前发酵时母发酵液的接入量为1%~3%, 时间为72~80 h, 温度为37 °C, 后发酵时间为15~30 d, 温度为4~5 °C。经此一系列操作后可制得口感细腻、米香、麦芽香浓郁, 营养健康的功能性发酵米乳饮料。

关键词: 米乳饮料; 发酵; 保加利亚乳杆菌; 嗜热链球菌; 麦芽汁

文章篇号: 1673-9078(2012)1-69-73

Preparation of Rice Beverage by Mixed Fermentation *Lactic Acid Bacteria*

YU Wen-wen¹, WU Hui¹, GUO Ya-peng², MIN Tian¹, LI Jie², PAN Bo-liang²

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Dongguan Yingzhitang Bioengineering Co., Ltd, Dongguan 523142, China)

Abstract: This essay is aimed at producing rice beverage using rice and malt as main raw materials. The rice beverage can be produced with the following processing steps: mixing, elatinization, smashing, mashing, fermentation by mixed lactic acid bacteria, and addition of apple juice, sugar and CMC. The optimum ratio of rice and water 1:10 before saccharification. For saccharification, the optimum wort concentration and the saccharifying enzyme dosage were 30% of raw materials and 1% of liquid fermentation, respectively. For pro-fermentation, the best ratio of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, the amount of mother fermented liquid, fermentation time and temperature were 3:2, 1%~3%, 70~80 hours and 37 °C, respectively. For post-fermentation, the best temperature was 4~5 °C and the time was 15~20 days. Under the optimized conditions, the rice beverage was produced with abundant nutrition and excellent flavor.

Key words: rice beverage; fermentation; *lactobacillus bulgaricus*; *streptococcus thermophilus*; malt

我国是世界上最大的大米生产和消费大国, 水稻是我国粮食工业的支柱性产业之一^[1]。大米中除了富含优质的低过敏性蛋白质和给人体提供主要热量的淀粉以外, 还富含丰富的维生素、矿物质、膳食纤维等营养成分^[2]。麦芽为禾本科植物大麦 *Hordeum vulgare* L 的成熟果实经发芽干燥而得, 含有多种酶类。实验时, 糖化就是利用麦芽自身的酶(或者外加酶制剂如糖化酶)将麦芽和辅助原料糊化大米中不溶性高分子物质分解为可溶性低分子物质(如糖类、氨基酸、肽类等)的过程^[3]。经糖化后的混合液利用乳酸菌混合菌种^[4,5]进行发酵。实验过程中, 微生物不仅可以酸化食品、产生乳酸味、分解部分蛋白质、抑制有害微

收稿日期: 2011-10-22

基金项目: 东莞市科技计划项目(200702030)

作者简介: 余稳稳(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品质量与安全

通讯作者: 吴晖(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全与天然产物化学

生物的生长等等, 同时也可以使得米乳饮料具有独特的发酵风味^[6,7]。

当前提高大米的精深加工水平, 增加其附加价值已经成为如今必须面对的问题。谷物类液态化食品的大规模食品是市场所需, 大势所向。本文拟通过新鲜无霉变的大米, 蒸煮糊化后与麦芽汁充分混合, 经糖化、发酵等一系列操作后制备大米饮料。提高其附加值, 丰富食品市场, 创造更多的经济价值, 使粮食生产走上良性循环的道路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

优质、无霉变大米, 大麦芽, 市售; 白砂糖, CMC, 市售; GIM1.204 保加利亚乳杆菌, 广东省微生物研究所; 无菌水, 自制; GIM1.83 嗜热链球菌, 广东省微生物研究所; M17 培养基, 自制; 糖化酶, 广州裕立宝生物科技; MRS 培养基, 自制。

1.2 主要仪器

FA2204B 型电子天平, DFY-300 型 300 克摇摆式高速中药粉碎机, HHS-11-2 型电热恒温水浴锅, GXZ-9140 MBE 型数显鼓风干燥箱, LRH-150-S 型恒温恒湿培养箱, PHS-3C 型数显 pH 计, WYT-15 型手持糖度计, 40 目筛。

1.3 菌种的培养

1.3.1 培养基的制备

MRS 培养基, M17 培养基^[8]。

1.3.2 菌种的活化

用浸过 75% 酒精的脱脂棉擦净安瓿瓶, 用火焰加热其顶端, 吸取少量无菌水至顶端破裂, 用镊子敲下已破裂的安瓿瓶顶端。用无菌的移液枪吸取 0.3~0.5 mL 适宜的无菌水滴入安瓿瓶内, 轻轻震荡, 使已冻干菌体溶解呈悬液状。吸取全部的菌体悬浮液移殖于事先配置好的培养基中斜面培养。经三代继代培养后的菌种可用于产品的发酵。

1.3.3 菌种的培养

实验过程中保加利亚乳杆菌利用 MRS 培养基进行培养, 嗜热链球菌用 M17 培养基进行培养。各培养三代以后, 分别在 37 °C 条件下进行厌氧培养, 并于 600 nm 处利用紫外可见分光光度计测其吸光度后得其 OD 值^[9], 并利用酸度计测定发酵液的 pH, 后得其生长曲线。通过实验我们可以发现: 保加利亚乳杆菌经过短暂的延滞期后于第 3 h 开始进入对数期, 此时培养基逐渐变浑浊, 在第 12 h 后开始进入稳定期; 同样的, 嗜热链球菌则于第 4 h 开始进入对数期, 11 h 后进入稳定期。实验过程中, 因此考虑了在利用对数期生长的菌种进行接种, 观察其菌落形态。

1.3.4 发酵菌液的制备与保藏

在 MRS 和 M17 培养基中培养的菌种并不一定适合于大米培养基培养, 因此在制备母发酵液前需要将其驯化。实验过程中, 选用已培养三代的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混合菌种接种到大米培养基中培养。制作培养基时, pH 值调在 4~5, 以大米汁, 牛奶, 麦芽汁(Bx 12°)按照 6:2:2 作为液体培养基, 经 120 °C 高温灭菌 15~20 min, 冷却至 40 °C 左右后, 将菌种混合接入, 于 37 °C 条件下发酵 4 h 左右, 接种量为 1%~3%。后置于 0~5 °C 的冰箱中保藏备用。

2 发酵米乳的制作工艺

2.1 基本工艺流程^[10]

新鲜、无霉变大米→粉碎→蒸煮→冷却→糖化(加糖化酶、麦芽汁)→过滤→冷却→接种乳酸菌→前发酵→后发酵→稀释→过滤→调配(加果汁、稳定剂、调味料)→均质→罐装→灭

菌→成品

2.2 工艺流程要点

粉碎: 大米以及麦芽粉碎为 30~40 目。

蒸煮: 大米发酵生产饮料前应该进行糖化, 而糖化前需要对原料进行蒸煮糊化, 将原料和水按照 1:10 的比例调匀, 经常压蒸煮 20 min 左右, 然后冷却备用。

麦芽汁: 麦芽汁的制作物料按物料与水 1:5 的比例浸渍, 温度为 50~60 °C, 浸渍时间 1 h。

糖化: 当大米醪液的温度降到 50 °C 左右时, 加入糖化酶和麦芽汁搅拌均匀进行糖化。糖化酶按照发酵料液的 1% 添加, 麦芽汁按照原料的 30% 加入。在糖化的过程当中, 由于直到温度过高才会引起淀粉的糊化和膨化, 才会发生淀粉的真正分解。在 60~65 °C 条件下进行恒温糖化时, 可以得到最大的浸出率。但是高温条件下制备的麦芽汁可发酵能力较低, 因为会使得 β-淀粉酶的破坏变得更加迅速^[11]。综合考虑后糖化温度控制在 60~65 °C, 时间为 3~4 h。糖化后糖度应该达到 10% 左右。

发酵: 按照糖化料液的 5%~8% 加入乳酸菌种子液, 如果起始发酵料液种子液加量过低, 由于糖化程度较低, 发酵缓慢, 容易遭受杂菌污染而废弃。前发酵温度在 37 °C 左右, 发酵时间为 70~80 h, pH 降到 4 左右, 外观呈絮乳状即可转入后发酵。后发酵在 4~5 °C 的条件下进行, 时间为 15~30 d, 以利于发酵液的澄清以及成品风味的提高。

灭菌: 95 °C/15 min。

2.3 感官评价标准

选 10 人对成品饮料的色泽、组织状态、风味、香味、口感进行评定。感官评分标准见表 1。

表 1 发酵米乳的感官评分标准

Table 1 Standard of sensory evaluation for fermented rice milk

beverage		
评分项目	评分标准	分值
色泽	乳白色、有光泽	1
组织状态	均匀, 无上清液	1
发酵风味	酸甜适中, 无涩味	1
香味	米香, 麦香, 酒香浓厚	1
口感	细腻、无颗粒感	1
总分		5

2.4 pH 值的测定

利用 PHS-3C 型数显 pH 计进行测量。

2.5 糖度的测定

利用 WYT-15 型手持糖度计进行测量。

2.6 乳酸菌活菌计数法

采用 MRS 培养基平板计数。

2.7 酸度测定^[12]

称取搅拌均匀的样品 5.0 g 于 100 mL 锥形瓶中, 加入 40 mL 新煮沸放冷至 40 °C 的水, 混合均匀, 加入 5 滴酚酞指示剂, 用浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定至微红色, 且在 0.5 min 内不褪色为终点, 记录消耗的 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液的体积。根据以下公式计算样品酸度:

$$\text{酸度}(\text{°T}) = V_{\text{NaOH}}(\text{mL}) \times 20(\text{稀释倍数})$$

2.8 蛋白质测定

参照 GB/T5009.5-1985 凯氏定氮法进行测定。

2.9 固形物测定

用 105 °C 恒温干燥法进行测定。

3 发酵米乳最佳工艺条件的确定

3.1 单菌种发酵结果比较

表 2 单菌种发酵结果比较

Table 2 The quality of the beverage fermented by single

bacteria

菌种	pH	糖度/%	感官评价
保加利亚乳杆菌	3.55	1.8	乳白色, 有酒香, 偏酸, 很涩
嗜热链球菌	3.51	2.2	乳白色, 有酒香, 较涩

注: 实验的前发酵时间为 70 h, 后发酵时间为 10 d。

经实验可以得知, 单个菌种发酵后所得到的料液味道单一, 当仅利用保加利亚乳杆菌进行发酵时, 样品味道较涩, 偏酸, 难以入口, 大米香味以及麦芽香味不够浓厚, 只有淡淡的酒香味; 而当仅用嗜热链球菌进行发酵时, 样品味道较涩, 香味物质不够丰富, 所以采用单个菌种发酵米乳饮料是不可行的。

3.2 菌种的比例对发酵结果的影响

表 3 不同接菌比例对产品风味的影响

Table 3 Influence of different ratio of bacterias on the flavor of beverage

B:S	pH	糖度	风味评价	感官评分*
1:1	3.53	2.0	味涩, 甜度较低, 后味不重	3.0
1:2	3.52	2.2	偏甜	4.0
2:3	3.52	2.0	酸甜比适中, 香味不够持久	4.6
3:2	3.83	2.6	酸甜比适中, 米香味持续时间长	4.8
2:1	3.0	1.9	偏酸	4.1

注: (1)实验的前发酵时间为 72 h, 后发酵时间为 16 d;

(2)B 代表保加利亚乳杆菌, S 代表嗜热链球菌。感官评分为添加 10% 白砂糖后的感官评价。

保加利亚乳杆菌以及嗜热链球菌均可以在以淀粉为主要原料的培养环境中生长, 两种菌种的关系主要表现为共生作用以及拮抗作用^[13]。共生作用表现在嗜热链球菌在生长过程当中产生一些代谢产物可以促

进保加利亚乳杆菌的生长, 同时 Pette^[14]等证实保加利亚乳杆菌在发酵乳中的无菌过滤物可促进嗜热链球菌的生长。表 3 中单因素实验设计了五组不同比例的混合菌种, 分别进行发酵实验, 米水比均为 1:10、前发酵时间为 72 h, 后发酵时间为 16 d, 白砂糖添加量为 10%。感官评定结果表明, c(保加利亚乳杆菌):c(嗜热链球菌)=3:2 为最适接菌比例, 所得米乳酸甜适中。

从表 3 可以分析得出, 当乳酸杆菌的接入量较多时, 其产生乳酸能力强, 大米、麦芽的香味产生不足, 醪液苦涩, 偏酸, 难以入口; 而当嗜热链球菌的接种量较大时, 味道单一, 料液的糖度也较低; 当保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌菌种比例为 3:2 时我们可以发现, 在前发酵的过程当中会产生宜人的酒香味, 在后发酵的过程当中, 经过香味物质的产生以及沉淀后, 所得醪液会有淡淡的酒味, 入口后其中的米香味以及麦芽香味也可以持久性的留在口中。

3.3 水的比例

实验的过程当中, 糊化时不同比例的水对糊化后的效果影响很大, 水的不同比例对糊化后粘度的影响见表 4。

表 4 不同水米比对产品粘度的影响

Table 4 Influence of ratio of rice to water on viscosity of the product

米水比 (m/m)	粘度/Pa·s		糊化后感官评价
	糊化前	糊化后	
1:5	0.154	7632	过粘, 米香浓厚
1:10	0.131	6697	较粘, 米香浓郁
1:15	0.123	2751	粘度偏稀, 米香味浓
1:20	0.120	957	粘度偏稀, 米香味淡

从表 4 中可以看出, 糊化前水的比例对于粘度的影响不是很大, 粘度变化不明显。大米在糊化后, 由于淀粉分子的吸水膨胀, 致使糊化液的粘度以及组织状态发生了很大的变化^[14]。同时由实验的过程可知, 当水的比例太低时, 在蒸煮糊化的过程当中大米很容易由于局部温度过高而导致褐变、烧焦, 变为棕色, 影响发酵醪液的色泽。在实验的过程当中, 充分考虑了粘度以及米香等因素之后, 选用 1:10 的比例为大米糊化的最佳比例。

3.4 蔗糖的添加量对米乳饮料的影响

由于在发酵的过程中, 醪液中所含的糖类等营养物质已被微生物所充分利用, 造成米乳饮料甜度太低, 味道既酸且涩, 因此考虑添加其他调料以完善米乳饮料的口感。实验时考虑了不同的蔗糖添加量以及苹果汁、葡萄汁、CMC、海藻酸钠等辅助剂的用量对其风味所造成的影响。

表5 不同的白砂糖添加量对风味的影响

Table 5 Effect of sucrose addition on the flavor of beverage

蔗糖添加量/%	糖度	风味分析
0	1.8	很涩,难以入口
5	3.8	甜味不足
10	9.2	甜味较淡
15	14.2	甜味适中
20	超过 15	甜味较重

通过表5我们可以得到,当加入15%的蔗糖时都可以获得风味较好的米乳饮料。

4 通过正交试验确定最佳实验工艺

表6 大米饮料正交试验因素和水平

Table 6 Factor and levels of the orthogonal test for the beverage production

水平	A (菌种比例)	B (糊化比例)	C (白砂糖加入量/%)
1	1:1	1:5	5
2	2:1	1:10	10
3	3:2	1:15	15

表7 L₉(3⁴) 正交试验设计及结果

Table 7 Results of the orthogonal test for the beverage production

试验号	A	B	C	D	风味分析	感官评分
1	1	1	1	1	偏涩	4.5
2	1	2	2	2	酸甜较适中,口感较好	4.9
3	1	3	3	3	偏甜	4.5
4	2	1	2	3	偏涩	4
5	2	2	3	1	偏酸	4.2
6	2	3	1	2	颜色较差,偏酸	4.2
7	3	1	3	2	颜色较差	4
8	3	2	1	3	甜度不够	4.5
9	3	3	2	1	口感较好,酸甜比适中	4.9
K ₁	4.63	4.17	4.41	4.53		
K ₂	4.13	4.53	4.67	4.37		
K ₃	4.47	4.53	4.23	4.33		
R	0.5	0.37	0.37	0.2		

实验时根据上述单因素试验结果,选取(A)菌种比例(V/V)、(B)糊化比例(m/m)、(C)白砂糖(% , m/V)为指标,采用3因素4水平进行正交实验。以感官分析(评分见表1)作为指标,统计分析相应数据,做极差分析得到大米发酵饮料的最佳配方。

由表6可知,三个因素对产品风味的影响大小为A>C>B,即菌种比例对大米饮料的影响最为显著,其

次是白砂糖的加入量,相比之下,米水比对产品品质影响最小。正交实验的结果表明,最佳生产条件为A₁B₂C₁或者A₁B₃C₂,综合考虑后,即菌种比为3:2,糊化时大米与水的比例为1:10或者1:15为宜,白砂糖的添加量为10%,在该条件下生产的米乳感官评定分数达最大值,品质最佳。

实验时我们根据正交实验所得到的最佳工艺条件所制得的米乳发酵饮料,感官评价结果为4.7分。

5 理化指标

5.1 外观

发酵后的料液色泽乳白,无上清液,无固形物的产生。

5.2 感官指标

色泽:呈均一的乳白色,稍微带有黄色或者相应的水果色泽;

组织状态:均一一致不分层、允许有少量沉淀产生、无气泡;

滋味与气味:口感细腻、甜度适中、酸而不涩、具有乳酸菌应有的风味、无异味;

口感:质地细腻,无颗粒状。

5.3 理化指标

酸度≥60~90 °T;糖度(以蔗糖计)≥14%;pH=3.51;总干物质≥19%;

5.4 有害元素含量

砷(以As计)≤0.5 mg/kg;铅(以Pb计)≤1.0 mg/kg;

铜(以Cu计)≤10 mg/kg

5.5 微生物指标

细菌总数≤50 个/mL;大肠杆菌群≤3 个/100 mL;

酵母菌≤50 个/mL

致病菌:不得检出。

6 结论

通过单因素以及正交试验确定大米乳饮料的最佳生产工艺为:大米和水以1:10的比例蒸煮糊化后加入30%的麦芽汁和1%的糖化酶进行糖化,继而杀菌、冷却,接种母发酵菌液。其中母发酵菌液由保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌以3:2的比例接种到大米培养基中,37 °C条件下培养4 h得。醪液前发酵时间为70~80 h,温度为37 °C,后发酵改在4~5 °C的冰箱中进行,时间为15~20 d。一般而言前发酵以产酸为主,后发酵以生香为主。经此一系列操作以后,可以得到具有原料香味和发酵香味形成的复合味的功能性发酵米乳饮料。

参考文献

- [1] 李里特.粮油食品加工新技术[M].北京:中国轻工业出版社, 2001
- [2] 王启军,王婷,宁正祥,等.大米饮料的研究进展及其前景[J].中国酿造,2008,3:7-9
- [3] (英)布里格斯(Briggs,D.E.)著;李琦等译.麦芽与制麦技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005
- [4] 傅亮,王丽丽,田利春.发酵型营养米乳的研制[J].食品与机械,2006,22(5):103-105
- [5] 任佑华,周传云.新型大米发酵饮料的研制[J].中国酿造, 2008,5:86-91
- [6] Smit G, Van Hylckama Vlieg J E T, et al. Fermentative formation of flavor compounds by lactic acid bacteria [J]. Australian Journal of Dairy Technology, 2002, 57: 61-68
- [7] Cherl-Ho Lee. Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia [J]. Food Control. 1997, 8: 259-269
- [8] 曹文海,任国普杨.嗜热链球菌的检验培养基(M17)的改良[J].中国乳业,2006,1:46-48
- [9] 赵文红,杨洁彬,凌代文,等.乳酸菌-生物学基础及应用[M].北京:中国轻工业出版社,1996
- [10] 赵宝丰等编著.碳酸饮料发酵饮料制品 410 例[M].上海,科学技术文献出版社,2003
- [11] (英)布里格斯(Briggs,D.E.)著,李琦等译.麦芽与制麦技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005
- [12] 胡永金,朱仁俊,武岳.米乳乳酸发酵饮料工艺研究[J].现代食品科技,2010,26(4):396-399
- [13] 吴荣荣,马静,裴家伟,等.保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌相互作用的研究[J].中国乳品工业,2003,31(4):9-13
- [14] PETTE J W, LOKEMA H, YOGHURT I. Symbiose en Antibiose in Mengcultures van. Lactobacillus bulgaricus en Streptococcus thermophilus [J]. Netherlands Milk and Dairy Journal, 1950, 4: 197-198