

冬瓜汁乳酸发酵饮料的工艺研究

邓开野, 许成钿

(仲恺农业技术学院轻工食品学院, 广东 广州 510225)

摘要: 筛选保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌, 经过驯化, 选用冬瓜汁为原料进行发酵制备冬瓜汁乳酸发酵饮料。确定了冬瓜乳酸发酵的工艺条件, 即乳糖添加量 1.0%, 接种量 5%, 发酵温度 39 °C, 发酵时间 24 h。白砂糖为甜味剂, 添加量为 7%, 发酵后制品的杀菌温度 90 °C, 杀菌时间 15 min。

关键词: 冬瓜汁; 乳酸发酵; 工艺

中图分类号: TS252.54; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)12-0059-05

Study on the Fermentation Technology of White Gourd Juice with Lactic Acid Bacteria

DENG Kai-ye, XU Cheng-dian

(College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225, China)

Abstract: In the current studies, we produced a white gourd lactic acid bacteria drink using the screened and acclimatized bacteria (*Lactobacillus Bulgaricus* and *Streptococcus Thermophilus*). The fermentation conditions were optimized and the most suitable lactose content, inoculum size, fermentation temperature and time were 1%, 5%, 39 °C and 24 h, respectively. In addition, 7% of white sugar was added as sweetener. The sterilization temperature and time for the fermentation broth were 90 °C and 15 min, respectively.

Key words: white gourd juice; lactic acid fermentation; technology

近年来, 利用乳酸菌开发和加工新型食品已受到食品行业的重视。除了对于传统的乳酸菌发酵食品如酸乳等进一步提高其产品质量、增加花色品种外, 积极拓宽可用于乳酸发酵的原料范围, 寻求将不同原材料自有的营养、保健成分与乳酸菌的独特保健功能相结合, 也成为研究的热点。

我国冬瓜资源丰富, 但冬瓜的加工却比较落后, 产品形式单一, 附加值低。提高冬瓜的加工技术, 丰富产品的种类, 扩大其利用, 是食品科技工作者和消费者共同关注的问题。本研究以冬瓜为原料开发研制风味独特、有保健功能的冬瓜乳酸发酵型饮料, 可为工业化规模生产冬瓜饮料提供理论依据和工艺参数, 对开发冬瓜资源、提高经济价值有重要的现实意义。

1 材料和方法

1.1 材料

清远冬瓜, 购自规范市场; 奶粉、羧甲基纤维素钠 (CMC-Na)、海藻酸钠、卡拉胶、乳糖、白砂糖等, 以上添加剂均为食品级, 由食品加工实验室提供; 试

收稿日期: 2007-09-07

验用化学分析试剂均为分析纯, 由食品微生物实验室提供。

试验菌种: 保加利亚乳杆菌 (L.b), 嗜热链球菌 (S.t) 筛选于市场销售的燕塘酸奶。

主要培养基: MRS 培养基, LAB 培养基: 番茄汁培养基^[1], PYG 培养基^[2]。

1.2 方法

1.2.1 试验工艺流程

冬瓜→挑选→清洗→切块→清洗→称量→热烫→冷却榨汁乳糖、稳定剂等→调配→均质→灭菌→接种→发酵→冷却→装瓶→杀菌→成品

↑
种子培养(三角瓶)

↑

菌种活化分离→菌种驯化→乳酸菌发酵液

1.2.2 菌种的活化分离与驯化

采用 10%的奶粉溶液, 灭菌后, 加入 1%的燕塘酸奶, 在适宜的温度下培养 2~3 代后, 吸取 1 mL 稀释活化后菌液分别接种在 MRS 培养基、LAB 培养基、番茄汁培养基和 PYG 培养基上, 39 °C 条件下培养 48 h, 挑取不同形态的菌落进行革兰氏染色镜检。并在

39 °C 的温度下进行单菌种分离, 将分离的菌种保存备用。

将保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌按照酸奶中 1:1 的比例接种到冬瓜汁:牛奶=5:5 的混合培养基中, 在适宜的温度下培养, 生长状态较好, 接种于冬瓜汁:牛奶=6:4 的混和液中, 依照相同的步骤, 依次加入冬瓜汁:牛奶=7:3、8:2、9:1 的混合培养基中, 进行递次驯化。将 (9:1) 驯化液保存备用。将制备好的 (9:1) 驯化液加入添加了乳糖的冬瓜汁中, 39 °C 培养 48 h 后置于冰箱备用。

1.2.3 冬瓜汁的制备

按照冬瓜:水(重量比)=1:1 的比例加水, 经打浆机处理可以得到冬瓜浆, 并用滤袋过滤得到冬瓜汁, 灭菌备用。

1.2.4 乳糖添加量对冬瓜汁乳酸发酵液 pH 的影响

将乳糖按不同比例 (0.25%、0.5%、0.75%、1.0%、1.25%) 添加到冬瓜汁中, 制备成发酵培养基, 发酵温度为 39 °C, 接种量为 5%, 发酵时间为 24 h 进行发酵, 根据发酵液最后 pH 值确定乳糖最适添加量。

1.2.5 接种量对冬瓜汁乳酸发酵液 pH 的影响

将菌种按不同比例 (2%、5%、8%、11%) 添加到冬瓜汁中, 发酵温度为 39 °C, 乳糖添加量为 1.0%, 发酵时间为 24 h 进行发酵, 根据发酵液最后 pH 值确定最适接种量。

1.2.6 发酵温度对冬瓜汁乳酸发酵液 pH 的影响

将制备好的冬瓜汁发酵液放置不同的温度 (37 °C、39 °C、41 °C、43 °C) 中, 乳糖添加量为 1.0%, 接种量为 5%, 发酵时间为 24 h 进行发酵, 根据发酵液最后 pH 值确定最适发酵温度。

1.2.7 冬瓜汁乳酸发酵饮料最佳发酵工艺参数的确定

根据上述单因素发酵试验的结果, 以乳糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间为因素, 采用正交表 L9(3⁴) 进行正交试验。因素水平见表 1。

表 1 发酵工艺参数正交试验因素水平表

水平	因素			
	A(乳糖添加量/%)	B(接种量/%)	C(发酵温度/°C)	D(发酵时间/h)
1	0.75	2	37	24
2	1.00	5	39	30
3	1.25	8	41	36

1.2.8 白砂糖添加量对冬瓜汁乳酸发酵饮料口感的影响

添加不同量的白砂糖 (3%、5%、7%、9%、11%) 于发酵完成后的饮料中, 进行感官评价, 根据评价结

果, 确定最适的白砂糖添加量。

1.2.9 冬瓜汁乳酸发酵饮料杀菌

按照最佳配方配制发酵制备的乳酸饮料装瓶后, 在 90 °C 条件下杀菌 15 min, 冷却后放进冰箱冷藏, 次日即可饮用。

2 结果与讨论

2.1 菌种培养基的选择

试验选用 MRS 培养基、LAB 培养基、番茄汁培养基和 PYG 培养基进行对比, 在 39 °C 条件下培养 3 d, 每隔 1 d 测一次菌落总数及观察菌落大小。培养过程所测得的菌落数见表 2, 所筛选的微生物见图 1。从表 2 和图 1 可以看出, 在 MRS 培养基上, 乳酸菌生长最多。通过试验证明, 由于 MRS 培养基所含成分比较全面, 因此能提供给菌种多方面的生长营养。其中, 蛋白胨和牛肉膏为乳酸菌提供氮源, 酵母膏为乳酸菌提供氨基酸类、维生素类、无机盐类, 还有其他成分所提供的各类营养因子。故选用 MRS 培养基作为菌种分离的培养基。

表 2 不同培养基中乳酸菌菌落生长总数

培养天数/d	菌落总数			
	MRS	LAB	番茄汁	PYG
1	0.63×10 ⁷	0.42×10 ⁶	0.36×10 ⁶	0.57×10 ⁷
2	0.91×10 ⁷	0.62×10 ⁶	0.57×10 ⁶	0.83×10 ⁷
3	1.05×10 ⁷	0.68×10 ⁶	0.59×10 ⁶	0.88×10 ⁷

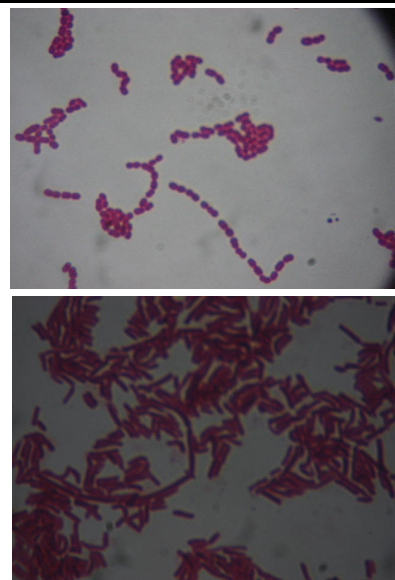


图 1 嗜热链球菌(S. t) 和保加利亚乳杆菌(L. b)

2.2 冬瓜汁乳酸发酵液 pH 值随乳糖添加量的变化

冬瓜汁中总糖的含量相对较高, 但难以被保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵^[3]。不同的乳糖添加量对冬瓜汁乳酸发酵 pH 值的影响结果如图 2 所示。

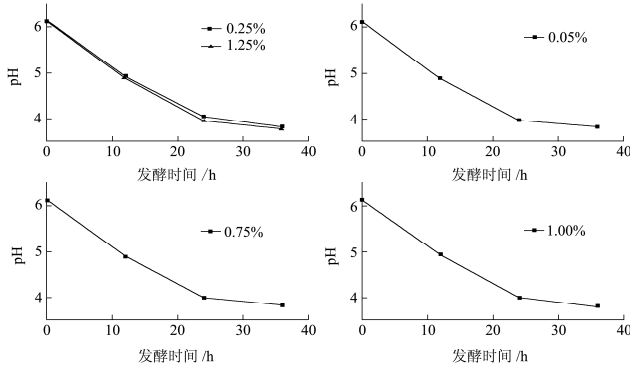


图2 乳糖添加量对冬瓜汁乳酸发酵的影响

由图2可以看出,随着时间的增长,各发酵液的pH值都呈现统一的下降趋势。由于试验将发酵终点pH值设定在3.90~4.10之间为标准,因此在相同的发酵时间下,pH值越接近标准而且菌种活力越强,说明发酵为优势。乳糖添加量为0.75%和1.0%的冬瓜汁发酵效果很好,产酸幅度不错,而且菌种的活力也较强,在24~36h间pH值均下降了0.20左右。试验结果表明,由于乳糖的添加量太少,菌种未能得到充足的营养给予,发酵效果不好,当乳糖添加量达到一定量时,菌种不仅能够充分的利用,而且生长能力也较强,但乳糖的添加量过多,也会在后期抑制菌种的生长。故选择乳糖添加量为1.0%作为以下单因素的最适水平。

2.3 冬瓜汁乳酸发酵液pH值随接种量的变化

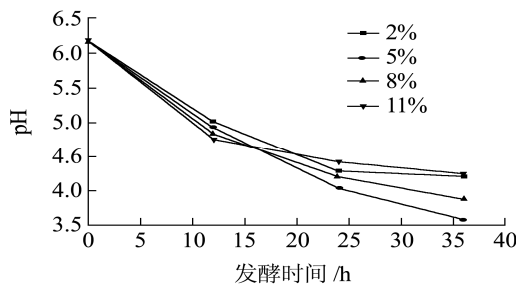


图3 接种量对冬瓜汁乳酸发酵的影响

从图3结果可以看出,接种量为2%和11%冬瓜汁的最终pH值都在4.20以上,其中,接种量2%的冬瓜汁pH值下降的速度相对慢,24h发酵后,pH值不再有大的变化,而接种量11%的冬瓜汁开始时pH值下降很快,但36h后pH值仍未能低于4.20。与此相比,接种量5%和8%的冬瓜汁发酵效果很好,发酵24h后,pH值都达到了预定的范围,再经过12h,菌种继续发酵,pH值下降到3.90左右,酸度基本稳定。

当接种量大,菌种对发酵液中的可发酵性物质利用过于充分,致使发酵前期时间乳酸产速快,而后后期时间由于缺乏可发酵性物质而产酸受阻。5%和8%接种量不仅在规定的时间内达到标准,而且5%接种量

的发酵液中菌种在24~36h的发酵过程中还保留旺盛的活性。故在以下的单因素试验中,选用5%的接种量作为最适水平接种量,对于产酸的影响主要在于一定范围内适当增加发酵剂添加量,可以缩短甚至消除延滞期,加快产酸的速度。

2.4 冬瓜汁乳酸发酵液pH随发酵温度的变化

发酵温度对冬瓜汁乳酸发酵的影响,试验结果如图4。不同的发酵温度发酵冬瓜汁的pH值变化不同,在39~43℃范围内,其pH值变化随温度的升高而加快。发酵温度为43℃的冬瓜汁在发酵24h后pH值已经下降到3.90左右。发酵温度为37℃的冬瓜汁发酵效果不理想,经过24h的发酵,pH值在4.50~4.60之间,而发酵温度为39℃和41℃的冬瓜汁相对较好,pH值变化合理,产酸稳定。

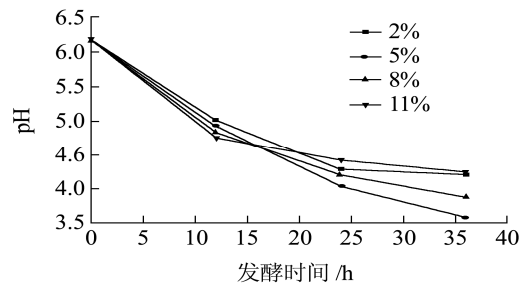


图4 发酵温度对冬瓜汁乳酸发酵的影响

温度对发酵的影响的研究表明,37℃的发酵温度显然不适合试验菌种的生长,此温度下的发酵效果不好,规定时间内产酸量少。以39℃发酵温度下的菌种活力较强,24~36h的发酵过程中还保存着旺盛的发酵能力,原因在于此温度下,两种试验菌种相互影响相互促进。故选用39℃作为冬瓜汁乳酸发酵的最适温度。

2.5 最佳冬瓜汁乳酸发酵工艺参数

在分别对乳糖添加量、接种量、发酵温度、发酵时间与pH值变化的关系进行单因素试验的基础上,确定了发酵冬瓜汁过程中各个因素最佳值的范围。研究设计了乳糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间四因素的正交试验,以确定最适宜的发酵工艺条件。正交试验结果见表3,由此可见发酵温度是影响冬瓜汁乳酸发酵饮料品质的主要因素,接种量次之,第三是乳糖添加量,发酵时间相对影响较小,即排列顺序为C>B>A>D。冬瓜汁最佳的发酵条件为A₂B₂C₂D₁,即乳糖添加量为1.0%,接种量为5%,发酵温度为39℃,发酵时间为24h。

正交试验分析结果与各单因素的分析结果相同,表明在整个单因素和正交试验过程,能够很好的控制各影响因素,并合理搭配各成分及调配好各因素水平。

表3 发酵工艺参数正交试验方案和试验结果

实验号	A	B	C	D	感官评价					平均分
					(满分 100 分)					
1	1	1	1	1	84	80	78	79	71	78.4
2	1	2	2	2	84	86	83	84	79	83.2
3	1	3	3	3	77	73	70	62	70	70.4
4	2	1	2	3	79	84	84	88	87	84.4
5	2	2	3	1	83	88	82	72	86	82.2
6	2	3	1	2	82	78	77	74	75	77.2
7	3	1	3	2	81	74	78	76	84	78.6
8	3	2	1	3	82	79	77	69	79	77.2
9	3	3	2	1	81	78	81	84	83	81.4
K1	232.0	241.4	233.8	242.0						
K2	243.8	242.6	249.0	239.0						
K3	237.2	229.0	231.2	232.0						
k1	77.33	80.47	77.60	80.67						
k2	81.27	80.87	83.00	79.67						
k3	79.07	76.33	77.07	77.33						
R	3.94	4.54	5.93	3.34						

2.6 冬瓜汁乳酸饮料的口感随白砂糖添加量的变化

由于白砂糖的添加作用主要是调和口感，在发酵过程中可能少量被利用，试验在乳糖添加量 1.0%、接种量 5%、发酵温度 39℃、发酵时间 24 h 的条件下，添加不同量（3%~11%）的白砂糖，测定发酵后的糖度及口感，确定最适的白砂糖添加量。结果见表 4。

通过添加不同量的白砂糖，可以调节冬瓜汁乳酸饮料的口感，从表 4 可以看出，白砂糖添加量为 3% 和 5% 的冬瓜汁乳酸饮料还是偏酸，口感不佳。而白砂糖添加量为 11% 的冬瓜汁乳酸饮料就显得过甜，掩

盖了乳酸饮料应有的酸味，相比之下，白砂糖添加量为 7% 和 9% 的冬瓜汁乳酸饮料口感很好，酸甜适中。

表4 白砂糖添加量对冬瓜汁乳酸饮料口感的影响

白砂糖添加量/%	糖度/°T	pH	口感
3	4.6	3.47	偏酸,口味一般
	4.6	3.48	偏酸,口味一般
5	6.2	3.50	有甜味,但显略酸
	6.3	3.56	有甜味,但显略酸
7	8.2	3.60	酸甜适中
	8.2	3.55	酸甜适中
9	9.1	3.57	酸甜可口
	9.1	3.59	酸甜可口
11	10.5	3.62	偏甜
	10.5	3.64	偏甜

2.7 冬瓜汁培养液灭菌方法

试验采用的是先制汁后发酵的工艺，这样减少了一些影响发酵过程的因素，使工艺参数更易稳定。在冬瓜汁进行发酵之前，灭菌是个很严格的问题。经过滤的冬瓜汁并不能够将所有的冬瓜渣滤尽，多少还会存在一些微小的冬瓜颗粒，同时，如果采用过高的温度对冬瓜汁进行灭菌，则会使冬瓜汁颜色发生变化和影响冬瓜汁中某些营养成分含量。因此发酵工艺的灭菌过程采用高压蒸汽灭菌 90℃、15 min 方法，从而使乳酸菌能保持相对的优势，减少发酵过程中的污染，也保留了冬瓜汁的原色，使营养物质的损失率减到最低限度。

2.8 冬瓜汁乳酸发酵饮料的产品指标

2.8.1 感官评价指标

表5 感官评分指标

色泽(20分)	气味(20分)	口感(30分)	组织状态(30分)
色泽均匀，呈冬瓜的青绿色， 无杂色(17~20分)	风味协调，有冬瓜味和发酵型乳 酸饮料持有的酸味(18~20分)	酸甜适中，爽口滑润，清凉舒 适(27~30分)	质地均匀，柔和细腻，无分层， 少量沉淀属正常(26~30分)
色泽不错，带有冬瓜颜色，但 颜色呈深绿色(12~16分)	风味一般，冬瓜味和酸味略显轻 淡(13~17分)	稍微带酸或者甜，有沙粒感 (22~26分)	略有分层，沉淀偏多(20~25分)
颜色不一，无冬瓜颜色，显得 暗淡，有杂色(11分以下)	风味较差，无冬瓜味和酸味，且 有异味(12分以下)	过酸或者过甜，明显的颗粒口 感，有其它怪味(21分以下)	分层很明显，且有大量的沉淀 (19分以下)

2.8.2 理化指标

项目	指标
可溶性固形物/%	≥5
pH 值	4.0±0.1
总酸(乳酸计)(%)	0.875±0.125
重金属	低于国家标准

2.8.3 微生物指标

项目	指标
菌落总数/(个/mL)	≤200
大肠菌群 个/L	≤3
致病菌	不得检出

(下转第 82 页)