

# 多株乳酸菌发酵制作果汁型饮料的研究

段善海<sup>1</sup>, 缪 铭<sup>1</sup>, 陈凌远<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 上海产品质量监督检验所, 上海 200233)

**摘 要** 对大豆多菌株的发酵工艺进行了探讨, 确定了最佳菌种组合及种间比为 $V(\text{La}):V(\text{Lb}):V(\text{Bb})=2:1:1$ , 并通过正交实验确定发酵的最佳工艺条件为: 接种量为 3%, 麦芽汁添加量为 2.5%, 葡萄糖添加量为 1%, 在 37℃ 条件下培养 48h。发酵后的上清液经调配制成酸甜可口、香气浓郁、营养丰富的果汁型乳酸菌发酵饮料。

**关键词**: 乳酸菌; 发酵; 果汁型饮料

## Developing Studies on the Production of a Juice-type Beverage Through Beverage

## Fermentation by Lactic Acid Bacteria Strains

DUAN Shan-hai<sup>1</sup>, MIAO Ming<sup>1</sup>, CHEN Ling-yuan<sup>2</sup>

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Shanghai Institute of Supervision and Test on Product Quality, Shanghai 200233, China)

**Abstract**: The experiment explored the technology of soybean with Lactic acid bacteria. The best mixed culture was *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and the best proportion of species was respectively  $V(\text{St}):V(\text{Bb}):V(\text{La})=2:1:1$ . By orthogonality test, the best fermentative technological factors consisted of using 3% inoculum and adding tomato juice 2.5%, Glucose 1% in soybean juice medium when prepared starter was kept at 37℃ for 48h. The ferment supernatant was formulated into sour, sweet, tasty, aromatic, thick and nutrients enriched lactobacillus fermented beverage.

**Key words**: Lactobacillus fermentation; juice-type beverage

中图分类号 TS255.44

文献标识码 B

文章编号 1002-6630(2005)01-0138-04

大豆含有大量人体必须的不饱和脂肪酸、可食纤维、异黄酮等, 还可给人体提供多种维生素和矿物质, 尤以钙、磷为多。大豆中蛋白质含量远远高于所有的肉类和谷类, 又是植物性蛋白中唯一含人体不能合成的八种氨基酸的完全蛋白质, 营养价值较高, 所以大豆又称“植物肉”。本课题通过利用多株对人体有利的益生菌为发酵剂, 以富含全价蛋白质的大豆为主要原料, 经过乳酸发酵, 得到的发酵液中富含多种氨基酸、B 族维生素、有机酸等营养物质。因此本实验将过滤出的发酵液经离心处理, 取上清液进行调配, 制成一种果汁型乳酸发酵饮料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

大豆、西红柿、麦芽汁、脱脂乳 市售; 蔗糖、鲜橙汁、柠檬酸等均为食品级添加剂。

**菌种** 嗜热链球菌(St); 嗜酸乳杆菌(La); 保加利亚乳杆菌(Lb); 两歧双歧杆菌(Bb)。

#### 1.2 实验设备与仪器

电热压力蒸汽消毒器、恒温培养箱、飞利浦搅拌机、精密 pH 计、离心机、糖度计。

#### 1.3 工艺流程

助酵剂  
↓  
大豆 → 浸泡 → 蒸煮 → 冷却 → 发酵 → 过滤 → 离心 →  
调配 → 罐装 → 杀菌 → 成品

↑  
蔗糖、鲜橙汁、柠檬

#### 1.4 操作要点

1.4.1 大豆的选取 选取含油量低、蛋白质含量高、无污染、无霉变, 颗粒饱满的大豆为原料。

收稿日期: 2003-12-01

作者简介: 段善海(1950-), 男, 高级工程师, 研究方向为食品科学与工程。

**1.4.2 清洗和浸泡** 先将大豆清洗干净除去原料大豆表面的尘土和杂质,然后将大豆放在2倍体积的水中,浸泡12h。

**1.4.3 蒸煮** 将浸泡好的大豆以1:2.5的比例加入水,然后在温度为121℃下蒸煮30min,冷却备用。

**1.4.4 发酵** 将发酵剂按3%接种量接种于冷却的大豆液中,并充分搅拌,然后送入37℃恒温箱,发酵48h。

**1.4.5 离心** 发酵液经3000r/min, 10min离心后,弃去沉淀取上清液。

**1.4.6 调配** 向经处理后的发酵液加入蔗糖、鲜橙汁、柠檬酸以及稳定剂(耐酸CMC)和香料等其他辅料,充分混合均匀。

**1.4.7 杀菌** 将灌装封罐后的饮料进行高温瞬时灭菌,杀菌公式 $\frac{10 \square 15 \square 10 \text{min}}{121}$ ,经冷却检验,贴标后即为成品。

## 1.5 检验方法

**1.5.1 总酸的测定** 吸取5ml样液,加入50ml蒸馏水,加入2~3滴酚酞指示剂,用0.1mol/L NaOH标准溶液滴定至微红色,以30s不褪色为终点,记下消耗NaOH标准溶液的毫升数(A),计算出酸度。推算成乳酸含量以%计。

$$\text{乳酸含量}(\%) = [(0.1 \times A \times 0.09) / 5] \times 100\%$$

## 1.5.2 感官指标评定标准

表1 果汁型乳酸菌饮料感官指标评定参考标准

Table 1 Reference standard of juice-type beverage sensory estimation

评定项目	组织状态	香气合滋味	色泽
成品参考标准	成品外观 均匀一致, 澄清透明, 无沉淀	酸甜适口, 果香浓郁, 无异味	橙黄色, 均匀一致, 具有光泽
所占分数	30分	40分	30分

## 2 结果与讨论

### 2.1 大豆发酵工艺的确定

#### 2.1.1 确定最佳乳酸菌菌株的组合

将菌株经筛选、活化、扩大培养后以等量的种间比,按3%的接种量接于大豆汁培养液中,于37℃条件下培养32h,每隔4h测一次产酸量并绘制酸度曲线,确定最佳菌种组合,如图1所示。

由图1可见,第一组菌株组合La+Lb+Bb的产酸量增长速度最快,最终滴定酸度液比其他两组高,同时其产酸速率也比单独发酵时的速率要高,这说明这三株菌共同生长有一定的互生效应,其中Bb和La均为重要

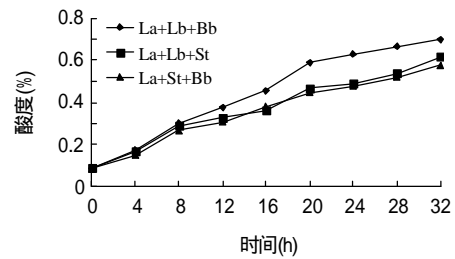


图1 多菌株产酸曲线

Fig.1 Acid produced curve of mixture fermentation by several strains

的人体肠道菌,因此La+Lb+Bb组合为最佳组合。

#### 2.1.2 多菌株发酵最适种间比的确定

将筛选出的菌株,按1:1:1, 1:2:1, 2:1:1, 1:1:2的比例分别以3%的接种量,接于大豆汁培养基中。在37℃条件下培养24h,每隔4h测一次产酸量,绘制产酸曲线,确定最佳种间比,如图2所示。

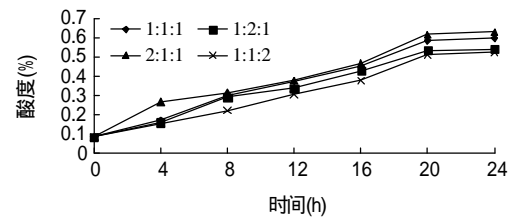


图2 不同种间比菌种的产酸曲线

Fig.2 Acid produced curve of various mixed cultures

图2表明,第3组菌种种间比即V(La):V(Lb):V(Bb)=2:1:1的产酸量增长速度最快,最终滴定酸度比其他种间比的高。因此得最佳种间比为2:1:1。

#### 2.1.3 营养物质的选择

为了提高乳酸菌发酵剂的产酸量,保证菌种活力和加快发酵速度,对大豆汁培养液进行适当的营养补充。我们选用西红柿汁、麦芽汁、牛乳作为补充物质,各添加3%到大豆汁培养液中,37℃条件下培养,每隔4h测一次活菌数并绘制生长曲线,结果如图3所示。

由图3明显看出,所有添加物对乳酸菌的生长有一

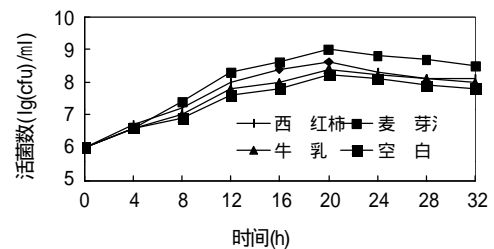


图3 添加促生长物之后的生长曲线

Fig.3 The growth curves of strains added various growth improvers

定的促进作用, 其中加入麦芽汁后, 其活菌数增加尤为明显, 这是因为麦芽汁中含有丰富的可发酵糖, B 族维生素等促生长物质, 对本试验所用菌株促进生长作用明显, 而且这种促进生长的作用对杆菌尤为明显。所以选择在大豆中添加麦芽汁作为营养物质。

#### 2.1.4 葡萄糖和食盐的添加量的确定

为给乳酸发酵的基质提供足够的碳源, 促进乳酸菌的生长, 我们在一组大豆汁培养基中添加 2% 的葡萄糖; 在另一组的大豆汁培养基中添加 0.3% 的食盐, 主要是抑制杂菌的生长及给体系提供一个良好的发酵环境。按最佳种间比 3% 的接种量接种, 在 37℃ 条件下培养, 每隔 4h 测一次活菌数并绘制生长曲线, 结果如图 4 所示。

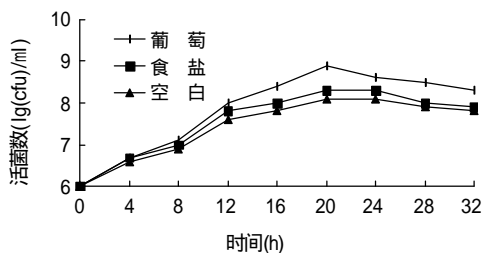


图4 添加葡萄糖和食盐之后的生长曲线

Fig.4 The growth curves of strains added glucose and salt

由图 4 可以看出, 添加葡萄糖和食盐都有助于乳酸菌的生长, 但添加葡萄糖的大豆汁发酵后, 其中活菌数有明显的增加, 而加入食盐的大豆汁发酵后的活菌数与对照实验的相比增加不明显。由此可见, 葡萄糖对乳酸发酵大豆的影响较大, 可作为一个主要因素。

#### 2.1.5 发酵大豆最佳工艺条件的确定

在 37℃, 基质 pH 值为 7.0, 最佳种间比 V(La):V(Lb):V(Bb)=2:1:1 的条件下接种培养 48h, 并添加 2.5% 的麦芽汁, 确定影响产品质量的关键因素, 以产酸量为评定指标, 确定最终接种量、促生长物质添加量、葡萄糖添加量。根据单因素预实验, 采用正交实验设计, 确定最佳发酵工艺条件, 实验结果见表 2、表 3 所示。

由表 2 的实验结果可知, A、B、C 三个因素对乳酸发酵均起显著作用, 其中 A > C > B。各因素的最

表2 发酵最佳工艺条件的因素水平表

Table 2 The factors and levers of optimal fermentation conditions

水平	因素			
	接种量	促生长物质添加量	葡萄糖添加量	误差列
1	1(2%)	1(2.5%)	1(1%)	1
2	2(3%)	2(3%)	2(2%)	2
3	3(4%)	3(3.5%)	3(3%)	3

表3 一次正交设计实验结果

Table 3 Result of unitary orthogonal experiment

实验号	A 接种量	B 促生长 物质添加量	C 葡萄糖 添加量	D 误差列	产酸量
1	1(2%)	1(2.5%)	1(1%)	1	0.738
2	1	2(3%)	2(2%)	2	0.728
3	1	3(3.5%)	3(3%)	3	0.723
4	2(3%)	1	2	3	0.745
5	2	2	3	1	0.732
6	2	3	1	2	0.750
7	3(4%)	1	3	2	0.731
8	3	2	1	3	0.729
9	3	3	2	1	0.725
K <sub>1</sub>	2.189	2.214	2.217	2.195	
K <sub>2</sub>	2.227	2.189	2.198	2.209	
K <sub>3</sub>	2.185	2.198	2.186	2.197	
k <sub>1</sub>	0.730	0.738	0.739	0.732	
k <sub>2</sub>	0.742	0.730	0.733	0.736	
k <sub>3</sub>	0.728	0.733	0.729	0.732	
极差 R	0.014	0.008	0.010	0.004	
优水平	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>		

佳组合为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>, 即发酵工艺条件为: 接种量 3%, 麦芽汁添加量为 2.5%, 葡萄糖添加量为 1%。

#### 2.2 发酵液调配饮料配方的优化

本实验采用一次正交实验设计确定辅料的最佳配比。对于果汁型乳酸菌饮料, 除了果汁、发酵液、蔗糖、柠檬酸四种因素决定风味和糖酸比外, 还有稳定性和色素等影响因素, 所以配料中其他固定因素的数值为: 稳定剂(耐酸性 CMC) 0.2%、桔子香料 0.1% 和色素适量, 加水至 100%。

比较表 4 的 R 值可知: 鲜橙汁的极差最大, 对产品品质的影响最显著, 蔗糖、柠檬酸、发酵液的影响依次减小。同时根据表中各因素的 k 值, 找出各因素的优水平为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>。果汁型乳酸菌饮料的最佳配方: 鲜橙汁为 8%、发酵液为 5%、蔗糖为 14%、柠檬酸为 0.2%, 其他成分为稳定剂(耐酸性 CMC) 0.2%、桔子香料 0.1% 和色素适量。

### 3 产品质量指标

#### 3.1 感官检验

色泽为橙黄色, 外观均匀一致, 澄清透明, 无沉淀, 无杂质, 口感酸甜爽口, 有浓郁的果香味, 柔和持久, 无异味。

#### 3.2 理化指标

总固形物 8.5%, 总酸(以乳酸计) 0.16%, 维生素 B<sub>1</sub> 0.02mg/100g, Nisin 素 46IU/ml。

表4 正交实验方案及结果分析

Table 4 The design and result parameter analysis of orthogonal experiment

实验号	A 鲜橙汁 (%)	B 发酵液 (%)	C 蔗糖 (%)	D 柠檬酸 (%)	指标总分
1	1(4%)	1(4%)	1(10%)	1(0.2%)	70
2	1	2(5%)	2(12%)	2(0.3%)	71
3	1	3(6%)	3(14%)	3(0.4%)	72
4	2(6%)	1	3	2	71
5	2	2	1	3	67
6	2	3	2	1	72
7	3(8%)	1	2	3	75
8	3	2	3	1	89
9	3	3	1	2	74
K <sub>1</sub>	213	216	211	231	
K <sub>2</sub>	210	227	218	216	
K <sub>3</sub>	238	218	232	214	
k <sub>1</sub>	71	72	70.3	77	
k <sub>2</sub>	70	75.7	72.7	72	
k <sub>3</sub>	79.3	72.7	77.3	71.3	
极差 R	9.3	3.7	7.0	5.7	
优水平	A <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	

### 3.3 卫生指标

菌落总数 $\leq 100\text{cfu/g}$ , 大肠菌群 $\leq 3$ 个/100ml, 致病菌未检出, 乳酸菌活菌数为 $3.6 \times 10^7\text{cfu/g}$ 。

## 4 结 论

### 4.1 液体发酵剂的制备

最佳菌种组合为嗜酸乳杆菌(La)、保加利亚乳杆菌(Lb)和两歧双歧杆菌(Bb), 其种间比为V(La):V(Lb):V(Ba)

=2:1:1。

### 4.2 发酵最佳工艺条件

乳酸菌接种量为3%, 麦芽汁添加量为2.5%, 葡萄糖添加量为1%, 在37℃条件下培养48h, 发酵液的总酸度在0.8%左右。

### 4.3 果汁型乳酸菌饮料的最佳配方

鲜橙汁为8%、发酵液为5%、蔗糖为14%、柠檬酸为0.2%, 稳定剂(耐酸性CMC)0.2%, 桔子香料0.1%和色素适量。

### 参考文献:

- [1] JRLiu, CWLin. Production of kefir from soymilk with or without AdecI Glucose, Lactose, or Sucrose [J]. JFoodSci, 2000, 65(4): 716-721.
- [2] 段善海, 缪铭. 胡萝卜酸奶的开发研究[J]. 食品工业科技, 2004, (5): 93-95.
- [3] 王禾, 王金凤, 刘海霞. 粟米乳酸发酵饮料的研制[J]. 食品科学, 2001, 22(1): 34-37.
- [4] 高云, 陆军. 植物乳杆菌发酵鲜整枣的工艺研究[J]. 食品科技, 2002, (1): 23-25.
- [5] JHKim. Irradiation effects on biogenic amines in korean fermented soybean paste during fermentation[J]. JFoodSci, 2003, 68(2): 80-84.
- [6] 许本发, 李宏建, 柴金贞. 酸奶和乳酸菌饮料加工[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994. 10-65.
- [7] 杨洁彬, 等. 乳酸菌—生物学基础及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996. 3-20.
- [8] HPBatt. Characterization of isoflavones in membrane~processed soy protein concentrate[J]. JFoodSci, 2003, 68(1): 401-404.



## 中山黄圃成为中国食品腊味名镇

2004年12月15日, 有百年腊味生产历史的广东省中山市黄圃镇被认定为中国腊味食品名镇。广东省食品行业协会常务副会长张俊修表示, 认定食品名镇在广东乃至全国都尚属首次, 开创了运用评价手段推进产业集群发展, 从而带动行业发展, 加速地方经济建设的先河。黄圃腊味跨越百年, 驰名中外。该镇现有200多家腊味生产企业及配套企业, 2003年总产值超过10亿元, 使黄圃镇成为全国最大的广式腊味生产加工专业基地, 涌现出银华、泰和等名牌企业。近年来, 黄圃腊味企业积极引进、消化、吸收高新技术和先进技术, 改造传统生产工艺, 使产业技术不断升级换代。全自动切肉机、灌肠机、真空包装机、金属探测器、微波杀菌设备以及太阳能蒸汽锅炉加温烘烤技术等纷纷进入企业。全镇有13家腊味企业通过了ISO9001认证, 12家腊味企业通过了QS认证, 每年腊味卫生质量抽检合格率达到97%以上。

中国腊味食品名镇专家评价委员会从政府推动、政策扶持、行业自律、产业配套、食品安全信用体系建设、产品实物质量等八个方面对黄圃镇腊味食品产业集群发展及集聚效应进行了评价。