

# 青春双歧杆菌发酵胡萝卜豆奶生产工艺的研究

朱俊晨 深圳职业技术学院 生物应用工程系 518055

魏小青 深圳新安学院 生物技术系 518052

**摘 要** 以发酵液的外观口感及其中的活菌数为评价产品的指标,考察青春双歧杆菌在以豆奶、胡萝卜汁为底料生产活菌饮品的发酵条件,最佳底料配比为豆奶 50% (v/v),胡萝卜汁 50% (v/v),发酵的最佳工艺条件的组合为培养温度 37℃、发酵时间 10h、接种量 50%、蜂蜜添加量 2%。

**关键词** 青春双歧杆菌 豆奶 发酵

**Abstract** Fermented soy milk containing live bifidobacterium adolescentis was prepared with the mixture of soy milk and carrot juice as well as honeydew. On the point of taste and aspect of live cell of the products, the fermentative conditions were studied and the optimum conditions were obtained as follows: fermentative temperature (37℃), time of fermentation (10h) concentration of starter (5% v/v) and concentration of honey dew (2%). The optimum proportion of the substrates was 50% (v/v) of carrot juice and 50% (v/v) soy milk.

**Key words** Bifidobacterium adobescentis Soymilk Fermentation

微生物学理论体系的建立使双歧杆菌的研究方兴未艾,其临床保健作用正为人们所认识和接受,尤其是青春双歧杆菌的免疫激活活性优于其它双歧杆菌,作为重要的生理功能菌,其应用也变得越来越广泛<sup>[1]</sup>,普遍应用于保健食品的生产中,由此产生的各种微生态制剂及其保健食品正在国内外飞速发展。但是,在工业化生产中尚存在着厌氧培养工艺复杂、营养要求高等问题。本研究小组在前期的大量工作中,已经筛选出了能促进青春双歧杆菌大量增殖的复合果蔬汁培养基及其厌氧发酵的工艺参数<sup>[2]</sup>,为了减少厌氧发酵过程的麻烦、现已驯化出耐氧菌种。为进一步降低原料成本、充分开发利用我国的大豆资源,我们以豆奶、胡萝卜汁为复合底料,考察了最佳底料配比情况并研究了发酵过程中的最佳工艺参数,研究制出双歧杆菌发酵豆奶,旨在为该类产品的工业化生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要原料

胡萝卜、大豆、椴蜂蜜均为市售产品

### 1.2 菌种

青春双歧杆菌(由纯菌产品中分离):筛选并经多次好氧驯化的耐氧菌,革兰氏阳性菌,呈 V 形。

1.3 种子培养:采用 PYG 液体培养基<sup>[3]</sup>,经  $3.530 \times 10^5$  Pa、3min 高压蒸汽灭菌,培养后取活菌数为  $10^7 \sim 10^8$  个/ml 的发酵液作为种子液,发酵剂成分组成同底料。

$10^7$  个/ml 的发酵液作为种子液,发酵剂成分组成同底料。

## 1.4 生产工艺

### 1.4.1 豆奶生产工艺条件流程

大豆→清洗、浸泡→磨碎、热烫→离心分离→加热杀菌→脱臭→均质;

调配至固形物含量为 12.5% 备用;

1.4.2 胡萝卜汁生产工艺条件流程:原料选择→预处理→切片→打浆→榨汁;胡萝卜汁糖度控制在 3.5~4.5°Bx。

### 1.4.3 发酵工艺流程:

菌种→斜面活化→液体种子培养基→发酵剂

↓  
豆奶、胡萝卜汁、蜂蜜→杀菌→冷却→接种→发酵培养→罐装→成品

## 1.5 检测指标与方法

1.5.1 测定不同时间发酵液中双歧杆菌活菌数<sup>[4]</sup>与 pH<sup>[5]</sup>值

1.5.2 产品外观口感评分:感官分数由 6 人评定,评分尺度 1~10 级,评分标准见表 1。

表 1 评分标准

质量等级	优良	中等	稍有缺陷	明显缺陷	显著缺陷
最高分数	10	9	7	4	1

产品缺陷包括:酸味过剩、发霉及麦芽味、涩味、

过甜或甜味不足、组织状态不够均匀等；

1.5.3 微生物指标:大肠菌群、致病菌(沙门氏菌、链球菌)等分别按 GB4789.3、GB4789.4、GB4789.11 等标准测定。

1.5.4 还原糖按 GB5009—85 测定,铜、铅、砷分别按照 GB5009.12—85、GB5009.13—85、GB5009.11—85 测定,总酸采用标准碱滴定法,可溶性固形物采用阿贝折光仪测定。B 族维生素采用岛津气相色谱仪测定。

1.6 试验方案:采用  $L_9(3^4)$  正交表设计试验方案,试验方案见表 2

表 2 试验因素及水平

因素	水平		
	1	2	3
A(温度/℃)	32	37	42
B(时间/h)	4	8	12
C(接种量/%)	3	4	5
D(蜂蜜添加量/%)	2	3	4

## 2 结果与讨论

### 2.1 底料配比的确定

采用单因素法,发酵温度暂定为 37℃,蜂蜜 3%,接种量 4%,发酵时间 10h,发酵底料由结果表 3 看出,底料中双歧杆菌活菌数随豆奶添加量的增加而增加,当添加量为 50% 时,活菌数量高达  $6.4 \times 10^7$  个/ml,添加豆奶,不仅可以提高产品的营养价值,增加风味、改善胡萝卜汁发酵后的涩味,而且还能促进双歧杆菌的生长,另外,发酵料液中的蜂蜜含有 25 种以上的低聚糖,还有萜类、醛类、酮类、酯类等多种风味成份,不仅改善口感,还能促进双歧杆菌的增殖。

### 2.2 发酵工艺参数的确定

本实验采用四因素、三水平,选用  $L_9(3^4)$  表,以活菌数为指标的结果如表 4,外观口感为指标的结果如表 5,评分标准如表 1。从双歧杆菌增殖的角度来看,各因子作用的重要性其排列顺序为 A>C>B>D,培养温度、接种量、发酵时间影响较为显著,而蜂蜜添加量次之,工艺条件的最优组合为培养温度 37℃、发酵时间为 12h、接种量 5%、蜂蜜添加量 3%,从产品口感

表 4 不同因素水平下发酵料液中活菌数含量

实验号	因素				活菌数(lan/g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	5.47
2	1	2	2	2	6.79
3	1	3	3	3	7.56
4	2	1	2	3	5.56
5	2	2	3	1	7.84
6	2	3	1	2	7.82
7	3	1	3	2	5.57
8	3	2	1	3	5.36
9	3	3	2	1	4.80
m <sub>1</sub>	6.60	5.53	6.22	6.04	
m <sub>2</sub>	7.07	6.67	5.72	6.73	
m <sub>3</sub>	5.24	6.73	6.99	6.17	
R	1.83	1.20	1.27	1.69	

表 5 不同因素水平下发酵料液的外观口感

实验号	因素				外观口感分
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	
2	1	2	2	2	
3	1	3	3	3	
4	2	1	2	3	
5	2	2	3	1	
6	2	3	1	2	
7	3	1	3	2	
8	3	2	1	3	
9	3	3	2	1	
m <sub>1</sub>	4.33	3.00	5.67	6.67	
m <sub>2</sub>	6.67	6.33	6.00	5.00	
m <sub>3</sub>	6.67	8.33	6.00	6.00	
R	2.34	5.33	0.33	1.67	

及外观的角度来看,各因素影响的显著性排列为 B>A>D>C,即温度、发酵时间、蜂蜜添加量的多少对产品的的外观口感影响较大,最优组合为培养温度 37℃、发酵时间 12h、接种量为 50% (4%)、蜂蜜添加量 2%;以外观口感为指标时,蜂蜜添加量直接关系到发酵液的糖酸比,相比较而言,蜂蜜添加量显得尤为重要,二者兼顾,选择蜂蜜添加量 2% 为宜。经选择的最优工艺条件为:培养温度为 37℃、发酵时间 12h、接种量 5%、蜂蜜添加量 2%。

### 2.3 发酵曲线及其工艺条件

表 3 底料不同配比对发酵料液的影响(发酵时间 10h)

豆奶+胡萝卜汁(%)	0+100	10+90	20+80	30+70	40+60	50+50	60+40	70+30
感官结果	2	2	4	6	8	9	9	10
最终 pH 值	4.45	4.45	4.50	4.46	4.50	4.45	4.40	4.46

按照上述最优工艺条件的参数,进行发酵并定时测定活菌数、滴定酸定得发酵曲线,由结果图1可知,发酵时间在10h处有一个活菌数含量的最高点(7.95lg/g),这与最佳工艺条件中发酵时间为12h有所不符,此时对应的终点酸度为66°T。

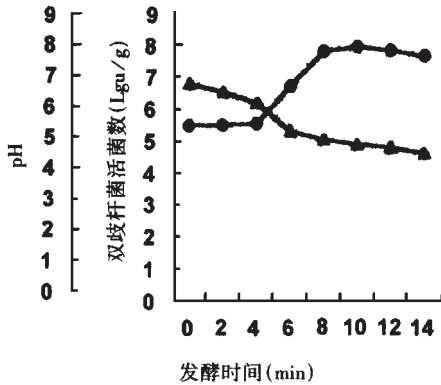


图1 双歧杆菌豆奶发酵曲线

根据多次试验,最终优化出的最佳工艺条件为:培养温度为37℃、发酵时间10h、接种量5%、蜂蜜添加量2%,为证实分析结果,以上述工艺条件进行重复试验,发酵10h后,活菌数达到 $8.89 \times 10^7$ 个/g、外观口感得分为9、对应的发酵液pH值为4.80,其结果完全符合预期指标。

#### 2.4 产品质量

对发酵灌装后的产品进行生物及理化指标的检测,结果如下:总糖6.3%,总酸66°T, pH4.90,可溶性固形物8.8%,Pb<0.3mg, As<0.1mg, Cu<0.42mg, VB<sub>1</sub>0.012mg/100g, VB<sub>2</sub>0.031mg/100g,大肠菌群<30个/100ml,致病菌均未检出,以上结果说明该产品完全符合食品卫生法规的要标。

由于大豆、胡萝卜汁中分别含有多重双歧因子,豆奶与胡萝卜汁复合,不但能促进双歧杆菌的增殖,而且,通过双歧杆菌代谢的作用,提高了营养价值、改进了口感。本文的研究结果可为青春双歧杆菌经豆奶与胡萝卜汁复合发酵生产的活菌饮品提供低成本的原料配方及工艺参数。

#### 参考文献

- 1 朱俊晨. 中国微生物学杂志 2000, 12(1). 53~55.
- 2 朱俊晨. 食品与发酵工业 2000, 26(1). 37~39.

- 3 杨洁彬、郭兴华等. 乳酸菌—生物学基础及应用, 第一版, 北京:中国轻工业出版社, 1996.
- 4 中国微生物资源中心. 乳酸细菌及其它细菌的生物学特性和应用, 微生物制剂中乳酸细菌及其他益生菌的生物学特性学习班讲议 1997, 10~11, 20~21, 56~57.
- 5 黄伟坤等. 食品检验与分析, 第一版. 北京:中国轻工业出版社, 1995, 6. 454~455.

广告编号 2001-07-56

## 国外培训 考察信息

一、由中国饭店协会主办、中国食品杂志社协办的有关国外培训、考察信息通知如下:

- 1.《关于(2001年8月,活动18天)组织全国饭店业高级管理人员赴欧洲进行饭店考察的通知》
- 2.《关于(2001年7月,时间15天)组织宾馆饭店业高级管理人员赴欧洲瑞士洛桑酒店管理学院参加研修班的通知》
- 3.《关于(2001年11月,活动16天)组织全国饭店业高级管理人员赴澳大利亚、新西兰进行饭店培训考察的通知》

以上报名对象:饭店(宾馆)总经理、副总经理。

二、由中国商业联合会主办、中国食品杂志社协办的有关国外培训、考察信息通知如下:

- 1.《关于(2001年10月)组织有关企事业单位人员赴美国培训的通知》
- 2.《关于(2001年8月,活动21天)请推荐赴加拿大参加食品科技与新产品开发培训人员的函》

以上报名对象:全国流通行业及企事业单位的管理、技术人员。

注:报名时间均为近期。了解详细情况请与中国食品杂志社培训部联系。

联系人:李向芳

电话:010-65122457 65122786

传真:65250601

手机:0-13621026321

BP:68271188 呼90652