

# 嗜酸乳杆菌发酵罗望子(*Tamarindus indica* L.)饮料的研制\*

杜林<sup>1</sup> 肖艳<sup>2</sup> 黄建昌<sup>2</sup> 李燕韵<sup>1</sup>

1(仲恺农业技术学院食品系,广州,510225) 2(仲恺农业技术学院园艺园林系,广州,510225)

**摘要** 以营养丰富的野生果树资源——罗望子为原料,利用浸提法制取原果汁,并对原汁进行预处理,得到适合嗜酸乳杆菌生长繁殖的罗望子果汁,通过发酵制得新型的果汁发酵饮料——罗望子活性乳酸菌饮料,并对其制作工艺进行了探讨。该活性乳酸菌制品营养丰富、芳香浓郁、口感怡人,饮料中嗜酸乳杆菌含量达  $1.0 \times 10^8$  个/mL。

**关键词** 罗望子,嗜酸乳杆菌,发酵饮料

罗望子(*Tamarindus indica* L.)又名酸角(酸型)、甜角(甜型)、酸豆(海南)、酸梅、罗晃子(台湾)、酸皎等,是一种生长于热带及亚热带的高大常绿乔木,属豆科(Leguminosae)罗望子属(*Tamarindus* L.),其品种大致分为酸、甜2种类型。罗望子耐干旱,喜光照及炎热气候,为阳性树种,原产非洲热带地区,后经苏丹引入印度繁衍栽种,生长良好,后来由亚洲南部传播到波斯、阿拉伯国家和欧洲等地。罗望子在我国南方各省分布广泛,如台湾、海南、广东、福建、广西、云南、四川、贵州等地,尤以海南岛最为普遍<sup>[1]</sup>。据《滇南本草》记载,罗望子在云南约有700~800年的种植历史<sup>[2]</sup>,但至今仍是“自长自灭,天管人收”,处于野生栽培状态。民间对罗望子果有鲜食、佐料(酸角水)及治疗积食、中暑等利用方式。随着科学的进步,罗望子的药理、保健效应及加工食品被当今消费者喜爱<sup>[3~5]</sup>。罗望子果肉多呈棕色或红色,味酸甜,芳香浓郁,是较酸的一种可食干果,有机酸含量高达13.8%,且富含钙、磷、铁、硫胺、核黄素等,其钙含量在所有水果中最高<sup>[6]</sup>。罗望子果汁营养丰富,口感怡人。

嗜酸乳杆菌,是人和动物肠道菌群中很重要的一

种益生菌<sup>[7,8]</sup>。在发酵制品和医疗药品中应用广泛,主要用于嗜酸乳杆菌发酵酸乳(Acidophilus milk)及酸乳饮料、冰淇淋、嗜酸乳杆菌制剂等。目前的活性乳酸菌饮料多以牛乳发酵为主,如如果汁的酸牛乳、纯酸牛乳,还未出现单纯用果汁或蔬菜汁作益生菌乳酸发酵原料的保健饮料产品。为此我们在引种开发罗望子野生果树资源的同时,利用其果肉营养丰富、酸度高的特点,采用嗜酸乳杆菌进行发酵,以期获得口感和活菌浓度皆佳的罗望子发酵饮料。

## 1 材料与方法

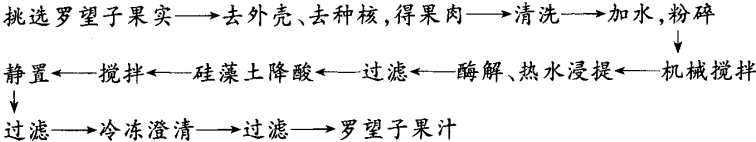
### 1.1 材料

罗望子(*Tamarindus indica* L.)采自海南,嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*)由仲恺农学院食品微生物实验室分离并鉴定。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 罗望子果汁制作

罗望子果肉为固体,为了得到能用来发酵的果汁,在进行发酵之前必须对原料进行一系列的预处理。罗望子汁制作的工艺流程为:



#### 1.2.1.1 原料处理

先去掉罗望子的硬壳质外果皮,取出荚果内的种

子,弃去,只留下果肉部分,然后以少量蒸馏水稍加清洗,称重、计数、加水 [ $m(\text{水}):m(\text{果肉})=1:5$ ],用搅拌机搅拌成果浆。在果浆中加入果胶酶(果胶酶的加入量约10 U/mL),45℃下酶解1~2 h,然后60℃热浸提2~4 h,取出果浆,在室温下用8层灭菌纱布过滤,得到罗望子原果汁。

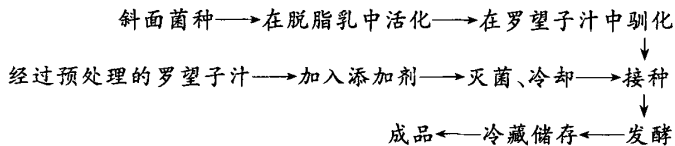
第一作者:硕士,助教。

\* 广东省农业科技攻关项目(2003C201028)

收稿日期:2006-03-03,改回日期:2006-05-10

## 1.2.1.2 果汁降酸、除杂

因为罗望子原果汁的 pH 过低,不利于乳酸菌的繁殖生长。因此,在制作果汁乳酸菌饮料时,应先对果汁进行降酸处理。即采用粒状硅藻土对果汁中有机酸进行吸附,再经沉淀过滤,提高果汁的 pH 值,以利于乳酸菌接种后的生长繁殖。吸附剂按果汁量的 3% 加入,常温下搅拌 20 min,静置 40 min 后过滤,除去吸附剂和杂质。



为获得适合在罗望子汁中生长繁殖的菌种,在发酵接种前必需对菌种进行驯化。把经过活化的菌种在罗望子果汁中培养 3 代。因为是利用果汁来进行发酵,故灭菌温度不可过高。文中的灭菌操作都是采用 95℃ 灭菌 1 min 的方法。

## 1.2.2.1 降酸处理

把经过 3 代转接的斜面菌种分别直接接到经过降酸处理的罗望子果汁、未经降酸处理的罗望子果汁中,发酵 24 h 后进行感官评定并测定 pH。

## 1.2.2.2 接种量和发酵温度

分别将 3%、6%、9%、12%、15% 的嗜酸乳杆菌菌液接种于添加葡萄糖及不加葡萄糖的罗望子果汁中发酵 24 h 后用平板计数法检验其菌数,从而确定接种量;分别在 37℃、39℃、41℃ 下发酵罗望子果汁,

## 1.2.1.3 果汁的冷冻澄清

把已经降酸的罗望子果汁置于冰箱中储存 1 d 或以上,会有大量疑似酒石酸的透明结晶析出(口尝感觉有明显的酸味和涩味),果汁变得更加澄清,为亮橙黄色的透明液体。

## 1.2.2 发酵重要单元的处理方法

罗望子活性乳酸菌饮料制作工艺为:

比较不同温度下发酵液的 pH 变化曲线。

## 1.2.2.3 嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中的生长曲线

在最适生长温度下,将罗望子果汁发酵 48 h,测定 pH 变化曲线(用酸度计测定)、菌数变化曲线(用平板计数法测定)、糖度变化曲线(用手持糖度计测定)。

## 1.2.3 成品检验

根据上述单因素实验确定发酵温度、发酵时间、接种量,发酵制得成品,对成品进行理化及微生物检验,确定产品质量标准。

## 2 结果与分析

## 2.1 降酸处理对罗望子果汁发酵的影响

表 1 降酸处理对罗望子果汁发酵的影响

	未经降酸处理的罗望子果汁发酵情况	经过降酸处理的罗望子果汁发酵情况
嗅觉检验	有微弱的或没有发酵酸味	有浓郁的发酵酸味
视觉检验	发酵液色泽呈深暗的橙色,有悬浮物,底部有大量沉淀	发酵液色泽明亮,呈亮橙黄色,无悬浮物,底部有菌体沉淀
发酵前后 pH 变化	果汁 pH 值仅从 3.86 下降到 3.80	果汁 pH 值从 4.0 下降到 3.65

用光学显微镜观察发酵液中的嗜酸乳杆菌与斜面试管中培养的菌体,可以看出,在罗望子果汁中生长的嗜酸乳杆菌的菌体形态很丰润,菌体粗短(图 2);而在 MRS 斜面培养基中生长的嗜酸乳杆菌的菌体形态相比之下则显得瘦长(图 1)。

由此看出,嗜酸乳杆菌能够在罗望子果汁中良好生长。而在没有经过降酸处理的罗望子果汁中嗜酸乳杆菌的生长较差,产酸不明显。可能因为硅藻土能吸附罗望子果汁中能抑制嗜酸乳杆菌生长的物质,如酒石酸、单宁等物质。对比可知,经过硅藻土降酸处

理的罗望子果汁有利于嗜酸乳杆菌的生长繁殖。因此,应采用经过降酸处理的罗望子果汁进行发酵。

## 2.2 发酵接种量的确定

发酵的时间与产品质量有很大的影响。为了确定接种量,以不同量的嗜酸乳杆菌菌液接种于罗望子果汁中,37℃ 下发酵 24 h 后,对每一个发酵样品进行平板计数,结果如表 2 所示。经过 24 h 的发酵,接种量超过 6% 的发酵液的发酵酸味过强;而考虑菌数,3% 接种量明显不能满足要求,菌数数量级只能达到  $10^7$  cfu/mL,而 6% 接种量菌数可达  $10^8$  cfu/mL。

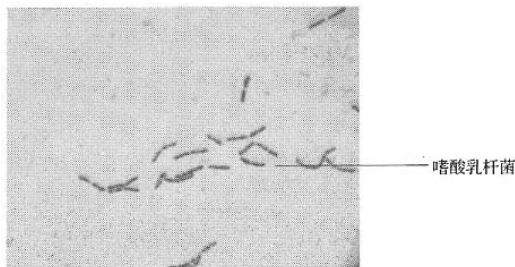


图1 在 MRS 培养基斜面生长的嗜酸乳杆菌的个体形态特征图  
(显微放大倍数:16×100)

图2 在经过降酸处理的罗望子果汁中生长的嗜酸乳杆菌的个体形态特征图  
(显微放大倍数:16×100)

因此,接种量在 6% 左右是最适合的。同时,结果还显示,添加糖的确对嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中的生长起了很大的促进作用。

表2 接种量对发酵后菌数的影响

接种量 /%	添加 3% 葡萄糖的菌浓度 $\times 10^{-6}/\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$	不添加糖的菌浓度 $\times 10^{-6}/\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$
3	91	0.3
6	156	1.6
9	166	10.2
12	174	52
15	255	208

### 2.3 不同温度下嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中的生长状况

从视觉、嗅觉、味觉 3 方面对发酵液进行感官评价。37℃ 培养的发酵液外观呈金黄色,有比较浓的发酵酸味,口尝有罗望子果实的特殊香味及发酵酸味;39℃ 培养的发酵液发酵液外观呈金黄色,闻起来有比较浓的发酵酸味,口尝有罗望子果实的特殊香味及发酵酸味,但发酵味比 37℃ 培养的发酵液更浓郁;41℃ 培养的发酵液外观呈金黄色,闻起来有较浓的发酵酸味,口感较差,有淡淡的不愉快味道。综上所述,从风味来看,37℃ 以及 39℃ 培养的罗望子发酵液都很好,

而 41℃ 培养的发酵液则带有不愉快的气味。

从菌体生长速度来看,在 41℃ 下的发酵液产酸速度最快,37℃ 培养时比 39℃ 培养的产酸稍慢(图 3)。综合风味与生长速度这两方面,39℃ 比较适合嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中生长繁殖。

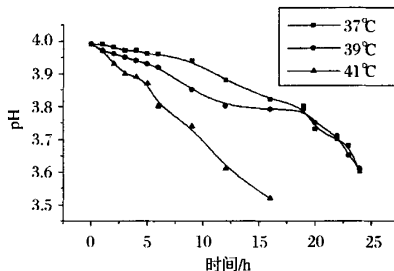


图3 37℃、39℃、41℃下罗望子发酵液的 pH 变化曲线

### 2.4 嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中的生长曲线

测定嗜酸乳杆菌在 39℃ 下发酵罗望子果汁的 pH 值、菌数、糖度的变化情况(图 4),发酵时间为 48 h。

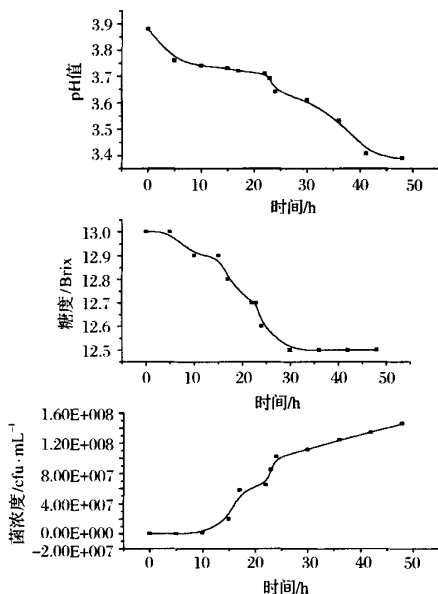


图4 pH 值、糖度、菌数的变化曲线

从图 4 中可看出,嗜酸乳杆菌在罗望子果汁中 39℃ 发酵,其 pH 值可以在 48 h 内持续下降,最终低于 pH 3.4,所以在发酵及成品保藏过程中,应防止嗜酸乳杆菌产酸过度,影响口感。发酵液的糖度在最初的 30 h 内下降最快。测定嗜酸乳杆菌在 39℃ 温度下发酵的生长曲线,发现在接种后的 24 h 内,嗜酸乳杆菌菌数增加最快,24 h 时达到  $1.0 \times 10^8$  cfu/mL 以上。所以 39℃ 下,发酵时间选取 24 h 左右较为适宜。

## 2.5 产品质量指标

根据前述实验,将罗望子果汁降酸后添加3%葡萄糖并杀菌,6%嗜酸乳杆菌菌液接种,39℃下,发酵时间24 h后,其感官、理化及微生物指标如下:

### 2.5.1 感官指标

色泽与质地:橙黄、透明,无明显沉淀;

口感与香气:酸甜适口,口感怡人,具有嗜酸乳杆菌特有的发酵香味。

### 2.5.2 理化指标

糖度(Brix)为14%, pH 3.6~3.7。

### 2.5.3 微生物指标

饮料中嗜酸乳杆菌含量达 $1.0 \times 10^8$  cfu/mL以上,大肠杆菌 $\leq 90$ 个/100 mL,致病菌未检出。

## 3 讨论

(1)经过预处理的罗望子果汁很适合嗜酸乳杆菌生长。而没有经过降酸处理的罗望子果汁就不太适合嗜酸乳杆菌的生长。分析原因,可能是因为硅藻土吸附了部分罗望子果汁中抑制嗜酸乳杆菌生长的物质,如酒石酸、单宁等物质。但要注意降酸的时间不宜过长,因为硅藻土吸附有机酸物质的同时,也有可能引起罗望子果汁营养和风味的损失。

(2)将罗望子果汁降酸后添加3%葡萄糖并杀菌,6%嗜酸乳杆菌菌液接种,39℃发酵24 h后,产品风味良好,具有嗜酸乳杆菌特有的发酵香味,饮料中嗜酸乳杆菌活菌数达到 $1.0 \times 10^8$  cfu/mL以上,远远

超过了国家规定的乳酸菌活菌饮料中乳酸菌含量不低于 $1 \times 10^6$  cfu/mL的标准。

(3)文中对利用嗜酸乳杆菌发酵罗望子饮料的可行性进行了初步尝试,证明了方法的可行。但一些工艺问题,如罗望子发酵饮料含大量活菌,保存时菌体沉淀影响外观的问题需要进一步通过添加稳定剂等方法解决;同时,对于其他工艺条件还应进行深入研究,以便最终实现产业化。

## 参考文献

- 1 吉宏武,丁霄霖. 罗望子研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(6): 10~13
- 2 吴建勇. 酸角生产的现状及其开发意见[J]. 云南林业科技, 1996(4): 64
- 3 Shankaracharya N N. Tamarind - Chemistry, Technology and Uses - A critical appraisal [J]. Food Sci Technol, 1998, 35(3): 193~208
- 4 Marrangoni A. Composition and Properties of seeds of the Tree Legume *Tamarindus Indica*[J]. J Food Science, 1998, 53(5): 1 452~1 455
- 5 Gerard T. Tamarind gum. in Handbook of Water-Soluble Gums and Resins[M]. Davidson, R.L, Ed. New York: McGraw - Hill, 1980, chapt 23
- 6 蒲彪,邓继尧,蒋华曾,等. 罗望子果肉的营养成分分析[J]. 四川农业大学学报, 1994, 12(4): 3~5
- 7 高福成. 新型发酵食品[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2001
- 8 杨洁彬,郭兴华,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

## Study on the *L. acidophilus* Fermented Tamarind Drink

Du Lin Xiao Yan Huang Jianchang Li Yanyun

(Zhongkai Agritechnical College, Guangzhou 510225, China)

**ABSTRACT** This paper concerns the nutritious wild tropical fruitage—tamarind, which is the raw material of the fermented beverage. At first, the flesh of tamarind is lixiviated with hot water to get the raw juice of tamarind. Then, the raw juice is pretreated to make it suitable for the growth of *L. acidophilus*. After the juice is fermented by *L. acidophilus*, a new fermented lactic-drink —tamarind lactic-drink, which is nutritious, strongly fragrant and delicious, is achieved. The process technique is also studied. The concentration of *L. acidophilus* in this drink is  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL.

**Key words** *Tamarind indica* L., *L. acidophilus*, fermented beverage