

螺旋藻乳酸菌发酵饮料的研制

王 宏, 邓俊杰

(湛江师范学院生命科学与技术学院, 广东 湛江, 524048)

摘 要 开发研制螺旋藻乳酸菌饮料, 用新西兰进口乳粉和优质的螺旋藻为原料, 采用 5 因素 4 水平正交实验, 确定饮料口感、稳定性的最佳工艺配方。实验结果表明, 用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌按 1:1 作为菌种制备发酵乳, 最佳配方为: 发酵乳 35%, 浓度 2% 的螺旋藻溶液 20%, 白砂糖 7%, 柠檬酸 0.07%, 瓜尔豆胶 0.25%。

关键词 螺旋藻, 乳酸菌饮料, 发酵, 乳酸菌

螺旋藻(Spirulina)是集营养和药用于一身的天然绿色食品, 蛋白质含量高达 70%, 是一种高蛋白质、低脂肪的食品^[1]。由于螺旋藻的细胞壁不是由纤维素构成, 所以其营养成分极易被人体消化、吸收。螺旋藻除了具有较高的营养价值外, 还兼具有多种特殊功能^[2]。实验中将螺旋藻引入乳酸饮料中, 制成螺旋藻乳酸菌饮料。一方面能明显改善乳酸菌饮料单一的发酵乳风味, 生产的螺旋藻乳酸菌饮料具有更加浓郁的香气和香味, 另一方面乳酸菌饮料具有更加丰富的蛋白质和多种活性成分^[3], 其营养保健功能得到更大的提高。

1 材料与方法

1.1 材 料

螺旋藻→破碎细胞→离心→杀菌→冷却

乳粉→原料乳→杀菌→冷却→接种→发酵→发酵乳→冷却→搅拌→混合调配→预热→均质→冷却→分装→成品

糖溶液、柠檬酸、瓜尔豆胶、水

1.2.2 菌种活化

用 10% 脱脂乳为培养基, 活化菌种, 放置培养箱培养, 传代 3~4 次, 置冰箱备用。

1.2.3 螺旋藻乳酸菌饮料的杀菌

使用蒸汽灭菌锅杀菌, 采用 108℃, 维持 15 min。使部分乳清蛋白产生变性, 有利于凝固状态的形成, 杀菌后将乳冷却至发酵温度。

1.2.4 发酵乳的制备

由于影响发酵乳的因素较多, 因此用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选出最佳发酵乳配方。检测指标是乳酸菌数, 因素水平见表 1。

表 1 螺旋藻乳酸菌饮料发酵乳的因素水平表

水平	(A) 乳粉 /g · L ⁻¹	(B) 发酵时间 /h	(C) 接种量 /%	(D) 发酵温度 /℃
1	60	2	4	37
2	80	3	5	41
3	100	4	6	45

第一作者: 硕士, 讲师。

收稿日期: 2006-10-10, 改回日期: 2007-01-22

1.1.1 实验原料

螺旋藻粉, 新西兰进口乳粉, 保加利亚乳杆菌, 嗜热链球菌。

1.1.2 仪 器

生化培养箱、电热手提压力蒸汽灭菌器、控温磁力搅拌器、超声波细胞破碎仪、离心机、电冰箱、原子吸收分光光度计、酸度计、电子天平、恒温水浴锅、电子调温电炉、改良式凯氏定氮仪。

1.2 实验方法

1.2.1 螺旋藻乳酸菌饮料工艺流程

用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌按 1:1 作为菌种制备发酵乳, 发酵凝固后须在 0~4℃ 贮藏 24 h, 备用。

1.2.5 螺旋藻的制备

破壁^[4]: 用超声波细胞破碎仪对螺旋藻破壁, 时间 30 min, 冰块冷却。

杀菌: 用水浴加热的方法杀菌, 80~83℃, 15 min。

离心^[5]: 将破壁后的螺旋藻放入离心机中, 在 4 000 r/min 下, 离心 5 min。除去残余的细胞壁和杂质沉淀物质, 取上清液备用。

1.2.6 螺旋藻乳酸菌饮料口感的调配及稳定性实验

评价指标是口感和稳定性(口感、色泽、组织状态、香气滋味), 评价标准见表 2。螺旋藻乳酸菌饮料口感调配及稳定性试验正交因素水平见表 3。

表 2 螺旋藻乳酸菌饮料口感调配及稳定性试验评分标准

项目	评分标准	满分
口感、色泽	细腻滑润、酸甜、均匀的浅绿色	40
组织状态	紧密、均匀一致、无气泡、无杂质、不分层	30
香气滋味	香气浓郁、有浓郁的酸奶和螺旋藻的香味、无异味	30

2 实验指标测定

- (1)乳酸菌数的测定:平板活菌计数法^[6]。
- (2)pH 值的测定:用酸度计直接测定^[7]。

- (3)蛋白质的测定:用凯氏定氮法测定^[8]。
- (4)微量元素(钙、铁、锌)的测定:用原子吸收火焰法测定^[9]。

表 3 螺旋藻乳酸菌饮料口感调配及稳定性试验因素水平表

水平	(A) 发酵乳 /%	(B) 螺旋藻溶液含量 /%	(C) 蔗糖 /g · L ⁻¹	(D) 柠檬酸 /g · L ⁻¹	(E) 瓜尔豆胶 /g · L ⁻¹
1	25	5	50	0.3	2.0
2	30	15	60	0.5	2.5
3	35	20	70	0.7	3.0
4	40	25	80	0.9	3.5

注:螺旋藻溶液浓度为 2%。

3 结果与分析

通过 L₉(3⁴)正交实验确定,实验因素设计见表 1,每次试验重复 3 次,取平均值,正交实验结果见表 4,转化率与四因素关系图^[10]见表 5。

3.1 发酵乳配方的确定

表 4 正交实验设计及结果

试验号	(A) 奶粉/g · L ⁻¹	(B)发酵时间 /h	(C)接种量 /%	(D)发酵温度 /℃	结果评分乳酸菌数 × 10 ⁻⁸ /cfu · mL ⁻¹
1	10	1	1	1	10.07
2	10	2	2	2	17.93
3	10	3	3	3	13.97
4	20	1	2	3	15.53
5	20	2	3	1	18.84
6	20	3	1	2	30.67
7	30	1	3	2	15.93
8	30	2	2	3	16.84
9	30	3	1	1	9.1
T ₁	41.97	41.53	57.58	38.01	
T ₂	65.04	53.61	42.56	65.44	
T ₃	41.87	53.74	48.74	46.36	
K ₁	13.99	13.84	19.20	12.67	
K ₂	21.68	17.87	14.19	21.81	
K ₃	13.96	17.91	16.25	15.45	
R	7.72	4.07	5.01	9.14	

由表 4 可见,6 号乳酸菌数最高。其配方是 A₂B₃C₁D₂,通过观察转化率与 4 因素关系图(图 1)可得到另一个较佳配方 A₂B₂C₁D₂,从这 2 个配方中选择一经济实用的最佳配方为 A₂B₂C₁D₂,因此配方节约了发酵时间。从极差分析中可看出,影响试验的 4 因素的大小的顺序是 D>A>C>B。

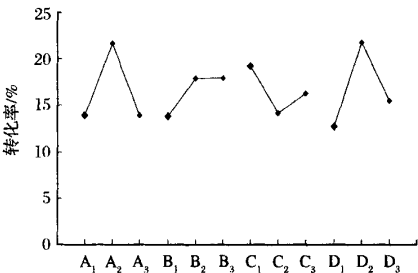


图 1 转化率与 4 因素关系图

3.2 螺旋藻乳酸菌饮料配方的确定

实验因素设计见表 3,结果见表 5,由表可见,3,9,10,16 号样的调配得分较高,3 号样的的配方是 A₁B₃C₃D₃E₃,9 号的配方是 A₃B₁C₃D₄E₂,10 号的配方是 A₃B₂C₄D₃E₁,16 号的配方是 A₄B₁C₁D₃E₂,而根据正交试验结果图 2 可得到另 2 种较佳配方(N1)A₃B₃C₃D₃E₂ 和(N2)A₃B₄C₃D₃E₂,为得到最佳配方将这 6 种组合做重复试验,结果见表 6。

由表 6 可见,通过重复试验,(N1)A₃B₃C₃D₃E₂ 和(N2)A₃B₄C₃D₃E₂ 的得分最高,从这 2 种配方中选择一经济实用的最佳配方为 A₃B₃C₃D₃E₂。因此此配方节省了螺旋藻的用量。从极差分析中可见,影响实验的 5 因素大小的顺序是 C>D>E>A>B。

3.3 螺旋藻乳酸菌饮料稳定性的观察

螺旋藻乳酸菌饮料 4℃ 放置 1 个月,饮料性状较稳定,无分层,无沉淀,色泽稍变深,其活菌数是 1.16 × 10⁶ 个/mL(均质),其饮料装瓶封口之前 pH 值是 4.12(均质),放置 1 个月之后,pH 值是 3.63(均质)。

表 5 筛选最佳螺旋藻乳酸菌饮料正交表

试验号	(A) 发酵乳	(B)螺旋藻 溶液	(C)糖	(D) 柠檬酸	(E)瓜尔 豆胶	感官 评分
1	1	1	1	1	1	60
2	1	2	2	2	2	73
3	1	3	3	3	3	83
4	1	4	4	4	4	70
5	2	1	2	3	4	71
6	2	2	1	4	3	65
7	2	3	4	1	2	77
8	2	4	3	2	1	78
9	3	1	3	4	2	81
10	3	2	4	3	1	82
11	3	3	1	2	3	71
12	3	4	2	1	4	72
13	4	1	4	2	3	75
14	4	2	3	1	4	73
15	4	3	2	4	1	70
16	4	4	1	3	2	81
T ₁	286	287	277	282	290	
T ₂	291	293	286	297	312	
T ₃	306	301	315	317	294	
T ₄	299	301	304	286	286	
K ₁	95.3	95.7	92.3	94	96.7	
K ₂	97	97.7	95.3	99	104	
K ₃	102	100.3	105	105.7	98	
K ₄	99.7	100.3	101.3	95.3	95.3	
R	6.7	4.6	12.7	11.7	8.7	

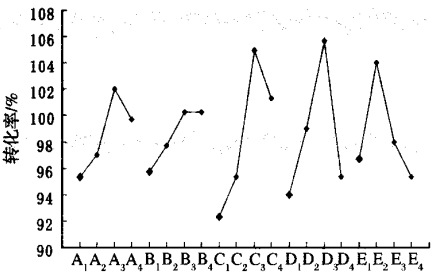


图 2 转化率与 5 因素关系图

表 6 螺旋藻乳酸菌饮料口感调配重复试验

试验号	(A) 发酵乳 /%	(B) 螺旋藻 溶液 /V·V ⁻¹	(C) 蔗糖 /g·L ⁻¹	(D) 柠檬酸 /g·L ⁻¹	(E) 瓜尔豆胶 /g·L ⁻¹	感官 评分
3	1	3	30	30	30	85
9	3	1	30	40	20	84
10	3	2	40	30	10	86
16	4	4	10	30	20	83
N ₁	3	3	30	30	20	90
N ₂	3	4	30	30	20	90

3.4 螺旋藻乳酸菌饮料(螺旋藻含量 10 g/L)与普通乳酸菌饮料的营养对比

3.4.1 蛋白质含量

螺旋藻乳酸菌饮料含有 38.2% 的蛋白质,普通乳酸菌饮料含有 32% 的蛋白质。结果表明,螺旋藻乳酸菌饮料的蛋白质含量高于普通乳酸菌饮料 6.2%,具有高蛋白的特点。

3.4.2 微量元素(钙、铁、锌)含量

表 9 微量元素的测定

	钙 /mg·kg ⁻¹	铁 /mg·kg ⁻¹	锌 /mg·kg ⁻¹
普通乳酸菌饮料	92.7	0.533	0.267
螺旋藻乳酸饮料	95.5	0.567	1.6

螺旋藻乳酸饮料比普通乳酸饮料含有更多的微量元素,其中钙的含量比普通乳酸饮料钙的含量高出 30.2%,铁高出 6.38%,锌的含量是普通的乳酸菌饮料的 6 倍。

4 讨论

在乳酸菌发酵过程中,由于球菌和杆菌的共生作用,使混合发酵明显优于单菌发酵^[11]。因此选择了保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌按 1:1 比例混合,对乳粉制成的乳液进行发酵。实验结果表明,发酵乳的最佳配方是乳粉 8%,发酵时间 3 h,接种量 4%,发酵温度 41℃;发酵饮料调配最佳配方是发酵乳 35%,浓度 2% 的螺旋藻溶液 20%,白砂糖 7%,柠檬酸 0.07%,瓜尔豆胶 0.25%。

在混合料中加入 0.25% 的瓜尔豆胶,可以有效防止螺旋藻乳酸菌饮料颗粒的沉淀,使酸乳组织均匀一致,黏稠度适当。

制成的螺旋藻乳酸菌饮料乳香浓郁,酸甜可口,具有螺旋藻特有的香气。颜色呈翡翠绿,具有丰富的营养成分和良好的保健作用,为螺旋藻资源的综合利用开辟了一个新途径。

参 考 文 献

1 缪坚人著. 21 世纪生命之光:螺旋藻[M]. 北京:中国农业科技出版社,1997. 272~275
2 张学成等编著. 螺旋藻:最完美的功能食品[M]. 青岛:海洋大学出版社,1999. 136~138
3 张兰威主编. 无公害乳制品加工综合技术[M]. 北京:中国农业出版社,2003. 312~217
4 易美宇,黄业福,韩凌. 螺旋藻珍珠粒饮料的制作技术[J]. 饮料工业,1986,11(3):22
5 唐 玫,王 曼,郭宝江. 富硒藻兰蛋白对运动小鼠免疫功能及抗氧化活性的影响[J]. 营养学报,2001,23(3):275~278
6 张铁华,刘静波,杨铭铎. 螺旋藻巧克力的研制[J]. 粮油食品科技,2005,13(2):12~13
7 李建武,余瑞元,袁明秀,等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京:北京大学出版社. 1994. 160~164
8 吴坤主编. 营养与食品卫生学学习指导[M]. 北京:人民卫生出版社,2003. 10~11,29~31
9 邓 勃. 原子吸收光谱分析的原理技术和应用[M]. 北京:清华大学出版社,2004. 363~383
10 方开泰,马长兴著. 正交与均匀试验设计[M]. 北京:科学出版社,43~45
11 张翠霞,王淑华,张翠焕. 功能性乳酸菌系列产品的研制开发[J]. 微生物杂志,1997,17(1):33~35