

发酵乳清饮品的研究

尤玉如¹, 帅益武², 袁海娜¹, 刘士旺¹

1(浙江科技学院生物与化学工程学院, 浙江杭州, 310012) 2(浙江小王子食品股份有限公司, 浙江杭州, 311300)

摘要 选用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌, 对乳清进行发酵, 开发具有生物活性的乳清饮品。通过对乳清蛋白主要成分及理化特性的分析、杆菌球菌比例、稳定剂选择和保质期试验以及正交实验, 确定了乳清发酵的优化工艺条件为: GA 和 CMC 混合协同增效的最佳比例为 1:3。发酵温度 42℃、接种量 3%、发酵终点 750T, 杆菌球菌的最适比例为 1~2:1, 0~6℃冷藏保质期可达 20 d 以上。

关键词 发酵, 乳清, 生物活性, 饮品

乳清是工业生产干酪、干酪素等的副产品, 一般每生产 1 kg 干酪可得 9 kg 乳清, 1 kg 干酪素可得 27 kg 乳清^[1]。研究发现, 乳清营养极为丰富, 其营养物质占原料奶 55%, 干物质约占 6%~8%, 粗蛋白占 1%, 粗脂肪占 0.3%~0.4%, 总糖占 3%~5%, 还有多种矿物质和水溶性维生素等^[2]。乳清蛋白功能性成分含量也十分丰富, 包括 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白、牛乳血清白蛋白、免疫球蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶、生长因子和许多生物活性因子及酶等。这些物质均具有一定的生物活性, 其中增强免疫力、促进双歧杆菌生长、降低癌症发病率等功能已被证实^[3]。乳清蛋白中还富含半胱氨酸和蛋氨酸, 它具有抗肌体氧化作用, 并且具有在细胞分裂时能稳定 DNA 的功能^[4]。

随着东西方交流的加强和乳业的发展, 我国干酪的生产和消费增长迅速。1996 年仅为 345 t, 但 2000 年已为 1 968 t, 2003 年 4 614 t, 2004 年国内消费量更是达 1 万 t 左右^[5]。目前国内乳清的研究和规模化生产, 仅局限于提取乳糖和作为婴儿食品的主要原料, 以乳清为主要原料的产品研究还不多, 大多处于研发阶段。本研究以乳清为主要原料, 在保留乳清原有各种营养和生物活性成分的基础上, 利用生物工程技术研究具有新型生物活性功能的发酵型乳清饮品。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

主要原料: 脱盐乳清粉(澳大利亚产)、34%浓缩

乳清粉(美国进口)、黄原胶、CMC、PGA、变性淀粉、果汁、柠檬酸、苹果酸; 由浙江贝因美科工贸股份有限公司提供。

保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌: 浙江科技学院生物工程研究所提供。

主要试验设备: 均质机、超净工作台、生化培养箱、恒温水浴锅、LD4-2 高速离心机、PHS-2A 酸度计、WNE-1A 型恩氏粘度计、秒表。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种扩培

试管菌种 → 2% 接种于脱脂乳中(三角瓶) → 42℃ 培养至凝固 → 镜检合格 → 4℃ 冷藏备用

1.2.2 试验工艺

乳清粉 → 溶解配料(充分溶解、4℃ 静止 12h 以上) → 均质(55℃、25 MPa) → 杀菌(90℃ 5 min) → 冷却(42±1)℃ → 接种发酵(扩培菌种 3%、42℃、6h) → 调配(调整 pH4.0 左右) → 均质 → 冷却 → 灌装

↓ ↓
冷却(40℃) ← 杀菌(90→, 5min) (水、稳定剂、果汁、调味剂)混合 乳清饮品

1.2.3 感官测定^[6]

根据色泽、滋味气味、组织状态在产品感官中的重要程度, 确定相应的分值比例, 总分值为 100 分。感官测定细则如表 1。

1.2.4 乳酸菌数测定

采用酸化 MRS 培养基和 M17 培养基, 分别测定保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的菌数^[7]。按 GB/T16347 标准^[8]测定乳酸菌菌落总数。

第一作者: 学士, 教授。

* 基金资助: 杭州市科技攻关项目(No. 20051332B21), 杭州市重大科技招标项目(No. 20062911A05)

收稿日期: 2007-02-12

表 1 感官测定细则

色泽	滋味和气味	组织状态
均匀淡乳黄(8~10)	清香宜人(35~40)	均匀细腻、不分层(40~50)
乳黄偏重(6~8)	香味较淡、过酸或过甜(20~35)	细腻略分层(30~40)
色重偏红(6 以下)	香味淡有涩味、杂味(20 以下)	组织粗糙分层有沉淀(30 以下)

1.2.5 粘度测定

采用 WNE-1A 型恩氏粘度计测定发酵乳清液的粘度。具体操作方法:在粘度计内锅中注入 240 mL 发酵乳清液,盖上内锅盖。待锅内温度达到 20℃ 后,保温。迅速提起木塞,同时开启秒表,当接受瓶中的乳清液正好达到 200 mL 的标线时,记录所需时间(s),连续测定 2 次,取平均值,按(1)式计算乳清液的恩氏粘度。

$$E_t = J_t / K_{20}$$

E_t —温度 T 时的恩氏粘度,单位为条件度;

J_t —试样在试验温度 T 时从粘度计流出 200 mL 所需要的时间(s);

K_{20} —粘度计的水值(s),本实验中粘度计水值为 51.42s;

T—本实验粘度测定温度为 20℃。

2 结果与分析

2.1 乳清蛋白成分分析及与其他动植物蛋白原料营养价值的比较

表 2 乳清蛋白主要成分及理化特性

	含量/%	等电点 pI	分子质量/ku
β -乳球蛋白	48	5.2	18 400~36 800
α -乳白蛋白	19	5.1	14 200
免疫球蛋白	8	5.5~6.8	160 000
牛乳血清白蛋白	5	4.8	69 000
蛋白酶-蛋白胨	20	5.1~6.0	4 000~80 000

表 3 乳清蛋白与其他动植物蛋白原料营养价值的比较

	生物价(BV)	有效率(PER)	净利用率(NPU)
乳清蛋白	104	3.6	92
牛奶	91	3.1	82
酪蛋白	77	2.9	76
大豆	74	2.1	61
鸡蛋蛋白	100	3.8	94

生物价(BV):被生物体利用保留的氮量与吸收的氮量之比。其比例越高,生物价越好。

$BV = [\text{食物 N} - (\text{粪 N} - \text{代谢 N}) - (\text{尿 N} - \text{内生 N})] / [\text{食物 N} - (\text{粪 N} - \text{内生 N})]$

有效率(PER):实验动物体重增重与摄食的蛋白

质量之比。

$PER = (\text{体重增重}) / (\text{蛋白质摄入量})$

净利用率(NPU):生理价值中没有包括在消化过程中未被吸入而丢失的这部分氮,包括这一部分氮在内的蛋白质营养质量指标叫蛋白净效系数。

$NPU = [\text{食物 N} - (\text{粪 N} - \text{代谢 N}) - (\text{尿 N} - \text{内生 N})] / \text{食物 N}$

从表 2 和表 3 中可以看出,乳清蛋白组成中人体需要的白蛋白和球蛋白含量高达 80%,生物价和有效率(效价比、PER)也高于其他食物,与鸡蛋蛋白相近,分别高达 104 和 3.6。一般认为,当某种蛋白质的 PER 值超过 2.5 时,则被认为是高营养优质蛋白质。乳清蛋白的必需氨基酸组成完全符合或超出 FAO/WHO 要求。乳清中糖类几乎都是乳糖,乳糖不仅可为机体提供能量,尚有多种营养与保健功能。另外乳清矿物质处于良好的平衡状态,其中 K/Na= 为 2 : 1,具有完全的营养功效。

2.2 杆菌球菌比例的确定

发酵乳清芳香味是乳清发酵过程中微生物分解乳糖后,产生多种挥发性物质的复合物,主要成分是乳酸与少量的副产物(乙醛、联乙酰等风味物质),这些物质来源主要取决于杆菌与球菌的比例,联乙酰风味物质主要由链球菌生成^[9]。为此,在相同的发酵条件下,对保加利亚乳杆菌和链球菌比例与发酵风味(滋气味)和时间,进行了试验。

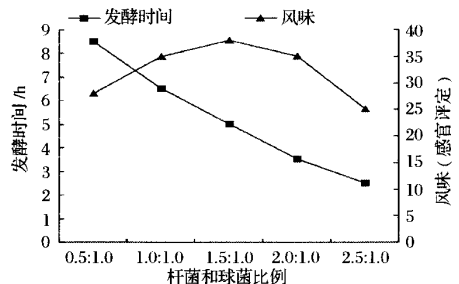


图 1 杆菌和球菌的不同比例对发酵时间和风味的影响

从图 1 中可以看出,杆菌与球菌的比值小于 1.0,发酵时间偏长(约 8.5 h),风味也较差(受杂菌影响);比值大于 2.0,发酵时间虽只有 3.5 h 以下,但口感太酸,发酵的芳香味严重不足。经比较,选择杆

菌球菌的比例在(1~2):1时为佳。

2.3 发酵工艺条件确定

乳清发酵过程受诸多因素的影响,根据初步试验,影响因素较大的主要有发酵温度、接种量和发酵终点等,以这3个因素进行发酵工艺条件优化正交试验(表4)。并根据中国乳制品工业行业规范 RHB103—2004“酸牛乳感官质量评鉴细则”,确定以色泽、滋味和气味、组织状态作为考查指标,进行感官评定,以确定最佳工艺条件。发酵工艺条件优化正交试验方案及评定结果见表5。

表4 发酵工艺条件优化正交试验因素水平表

发酵温度(A)/℃	接种量(B)/%	发酵终点(C)/°T
40	3	700
42	5	750
44	7	800

表5 发酵工艺条件优化正交试验方案及评定结果

试验 编号	因素			感官评分			
	A	B	C	色泽	滋味和气味	组织状态	总分
1	1	1	1	8	33	44	85
2	1	2	2	8	32	44	84
3	1	3	3	8	31	45	84
4	2	1	2	9.5	37	47.5	94
5	2	2	3	9	31.5	43.5	84
6	2	3	1	9.5	33.5	43	86
7	3	1	3	8	32	40	80
8	3	2	1	9.5	33	46.5	89
9	3	3	2	9	35	42	86
K ₁	253	259	260				
K ₂	264	257	264				
K ₃	255	256	248				
H ₁	84.3	86.3	86.7				
H ₂	88	85.7	88				
H ₃	85	85.3	82.7				
R	3.7	1	5.3				

比较3个因素的R值可以看出(表5),发酵终点酸度C因素的极差R值为最大,说明该因素水平变动对最终结果的指标影响最大。影响产品最终评价的因素主次顺序为C、A、B,最佳工艺条件为A₂B₁C₂,即发酵温度42℃、接种量3%、发酵终点酸度750T,在此条件下生产的乳清饮品最好。

2.4 稳定剂的选择

加工过程中酸和加热的共同作用会引起乳清蛋白的沉淀,为解决这一问题,孙天松^[10]等人采用澄清分离乳清蛋白的方法。但考虑到乳清蛋白中含有的多种人体有益生物活性物质,如免疫球蛋白、多肽等,本试验采取了保留乳清蛋白的方法。为使产品稳定,

不出现沉淀,对稳定剂进行了选用试验。

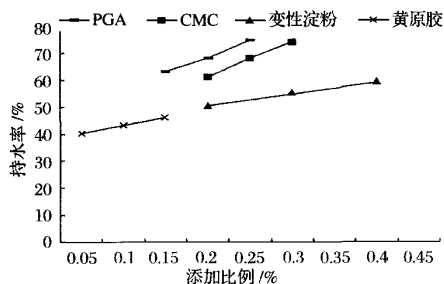


图2 不同稳定剂对乳清蛋白稳定性研究

图2中对乳清产品持水稳定效果较好者为PGA和CMC。但考虑到成本和产品的风味和口感等因素,我们选择PGA与CMC复合做本产品的稳定剂。

表6 PGA与CMC不同复合比例对产品稳定效果试验

PGA:CMC	粘度(条件度)	稳定性	感官评定
1:1	41.5	+	清爽有点稀
1:1.5	48.3	++	细腻清爽
1:2	55.6	++	细腻清爽
1:2.5	60.2	+++	细腻清爽
1:3	66.8	++++	细腻清爽
1:3.5	74.1	+++	有点糊口
1:4	86.9	+++	稍感硬

表6中可看出,PGA和CMC混合协同增效的最佳比例为1:3。

2.5 质量指标

2.5.1 感官指标

淡乳黄色;组织状态为乳浊液,均匀一致,不分层,无肉眼可见杂质;滋味和气味具有浓郁的发酵乳清风味,清新爽口。

2.5.2 理化指标

蛋白质 $\geq 1.8\%$,脂肪 $\leq 0.2\%$,总固形物 $\geq 12\%$,酸度 $\geq 700^{\circ}\text{T}$ 。

2.5.3 微生物指标

乳酸菌 $\geq 1 \times 10^6 \text{ cfu/mL}$,大肠菌群 $\leq 3 \text{ MPN/100 mL}$,无致病菌检出。

2.6 保质期试验

根据以上的工艺条件和质量指标进行了乳清产品的试验生产,先对成品进行了检测,然后放在0~6℃的冷藏箱作保质期试验,保质期20d后再取出测定相同的指标,以验证产品的保质期内的稳定性(见表7)。

从保质稳定性的检测数据可以看出,乳酸菌数虽有下降,但保质期内仍符合质量指标要求,不过保藏温度的控制十分重要;蛋白质和酸度值变化不大,大肠菌群也完全符合要求;感官也很正常,呈细腻和均

匀一致状态,无分层和沉淀现象出现。说明所选工艺条件和稳定剂符合产品的设计要求。

表 7 乳清饮品品质稳定性测试表

生产 日期	成品检测结果					成品检测结果				
	乳酸菌数 /cfu·mL ⁻¹	蛋白质	酸度/ %	大肠菌群 /MPN· (100mL) ⁻¹	感官	乳酸菌数 /cfu·mL ⁻¹	蛋白质	酸度/ %	大肠菌群 /MPN· (100mL) ⁻¹	感官
06.01.14	2.5×10 ⁸	1.91	72	<3	正常	3.6×10 ⁶	1.89	78	<3	正常无分层沉淀
06.01.17	1.2×10 ⁸	1.87	78	<3	正常	3.2×10 ⁶	1.86	84	<3	正常无分层沉淀
06.02.05	5.3×10 ⁸	1.88	79	<3	正常	2.3×10 ⁶	1.91	85	<3	正常无分层沉淀
06.03.10	4.5×10 ⁸	1.92	74	<3	正常	5.1×10 ⁶	1.88	85	<3	正常无分层沉淀

3 结 论

(1) 发酵乳清芳香味是乳清发酵过程中微生物分解乳糖后,产生挥发性物质的复合物,主要决定于杆菌与球菌的比例,经试验和选择,杆菌球菌的比值在1~(2:1)时为佳。

(2) 影响乳清发酵的主要因素有温度、接种量和发酵终点等,经正交试验和比较分析确定最佳工艺条件为发酵温度 42℃、接种量 3%、发酵终点酸度 75°T。

(3) 乳清富含有益于人体的多种营养成分,尤其是乳清蛋白中免疫球蛋白、多肽等生物活性物质。为稳定乳清蛋白,避免出现分层和沉淀现象,比较选择试验了 4 种稳定剂,确定了 PGA 和 CMC 混合协同增效的最佳比例为 1:3。并经保质稳定性试验,证实乳酸活菌数和产品稳定性完全符合设计要求。

营养爽口的生物活性全乳清蛋白饮品的研究,使乳清蛋白的多种营养和生理功用得以充分发挥,为乳清的综合利用提供了一条新的途径,开辟了我国乳清应用的一个新的领域。

参 考 文 献

1 赵海智,韩建春. 乳清多肽发酵饮料的研究[J]. 食品研究与开发,2004,25(1):47~49

2 包怡红. 乳清多肽乳酸菌饮料的研制[J]. 食品与发酵工业,2003,29(3):89~91

3 V. Lagrange. 功能性乳制品和新型保健食品配料的乳清产品及其新组分[J]. 中国乳品工业,1999,27(4):32~37

4 美国乳业产品出口协会. 乳清蛋白和浮清组分的保健生气勃勃性[J]. The u. s. Dairy Export Counid News,2000,3:6~8

5 宋昆冈. 中国乳制品工业十年回顾与展望[J]. 中国乳制品工业协会年会刊,2005

6 余疾风著. 现代食品感官分析技术[M]. 成都:四川科学技术落后出版社,1991

7 王淑军,韦友兵. 酸乳制品中乳酸菌分离筛选方法研究[J]. 淮海工学院学报(自然科学版),1997,6(3):58~62

8 中华人民共和国国家标准. 乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物学检验, GB/T 16347—1996

9 吴定,孙德坤. 乳酸菌的分离、鉴定和驯化[J]. 安徽农业技术师范学院学报,2000,14(1):5~7

10 孙天松. 乳清的发酵特性及乳清发酵乳清饮料的研究[J]. 食品工业,1996,(2):42~43

Study on Ferment Whey Beverage

You Yuru¹, Shuai Yiwu², Yuan Haina¹, Liu Shiwang¹

1(School of Biological and Chemical Engineering ,Zhejiang University of Science and Technology , Hangzhou, 310012, China)
2(Zhejiang Xiaowangzi Food Co. Ltd, Hangzhou 311300, China)

ABSTRACT *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* with whey ferment were selected to prepare biological activity whey beverage. The factors, whey protein compound and its characters, two strains ratio, stabilizers, optimization of fermentation parameters, were studied in this paper. The results showed that sensory evaluation was higher with 42℃ fermentation temperature,3% inoculated biomasses, 75°_T fermentation terminal, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* as [(1~2):1], optimum for synergistic effect with PGA ad CMC(1:3), and the shelf-life storing under 0~6℃ expands to or longer than 20 days.

Key words fermentation, whey, bioactivity, beverage