

利用开菲尔粒制备酸豆乳酒的最佳发酵条件

周传云¹ 唐书泽² 聂明¹ 万佳蓉

(湖南农业大学食品科技学院,长沙,410128) (暨南大学食品科学与工程系,广州,510632)

摘要 利用传统酸牛乳酒(Kefir)的发酵剂——开菲尔粒(Kefir Grains)制作的发酵剂,对豆乳与牛乳的混合原料进行发酵,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计筛选制备酸豆乳酒(一种新型发酵豆乳制品)的最佳发酵条件。结果表明,豆乳与鲜牛乳的搭配比例是8:2,接种量为3%,发酵温度25℃,发酵时间14h,添加10%的白砂糖。产品的酸度为83°T,乙醇含量为0.26%。

关键词 豆乳,开菲尔粒,发酵,酸豆乳酒

开菲尔粒(Kefir Grains)是传统发酵乳制品Kefir的发酵剂,是由乳酸菌(乳酸杆菌和乳链球菌)、明串珠菌和酵母菌及醋酸菌等多种有益微生物组成,其菌相极为复杂,外形不规则,大小为(0.3~2)cm或更大的颗粒(或薄片状、纸卷样等构型),多为白色或浅黄色。其主要成分是水、粘性多糖、少量蛋白质、脂质等。具有活性的开菲尔粒可悬浮在乳中生长繁殖,并将其特性传给下一代,使颗粒由小变大,数量增加^[1~3]。

以牛乳或山羊乳为原料,以开菲尔粒作发酵剂,制成的一种含酸、乙醇及少量 CO_2 的发酵乳,即为传统的开菲尔(Kefir)^[3],又称酸牛乳酒^[3],或称牛乳酒^[4],山羊乳酪^[5]等。开菲尔不仅有着与普通酸牛乳同样的营养价值 and 保健功能,而且开菲尔中的活菌对一些病原微生物有强烈的抑制作用;对胃肠道疾病、代谢疾病、高血压、心脏病等也都具有极好的疗效;开菲尔中因有中等量的四碳双羧酸而具有溶解有机体内癌细胞的作用;由于酵母菌和醋酸菌的作用使开菲尔中的B族维生素含量较普通酸乳多;常食开菲尔由于其 CO_2 和钙盐的作用可加速人体尿液的稀释、排泄等等^[2~4]。

本研究中利用传统开菲尔粒作发酵剂,对豆乳与牛乳的混合料进行发酵,研制出新产品——酸豆乳酒(即豆乳开菲尔)。

1 材料与方法

1.1 材料

开菲尔粒,自行采集;黄豆,市购;鲜牛乳,湖南农业大学奶牛场提供。

1.2 主要仪器与设备

压力蒸汽消毒器,250B型恒温生化培养箱,冰箱,

磨浆机,高压均质机,超净工作台,牛奶酸度、酒精度及微生物等检测的标准设备。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

黄豆→浸泡→热磨→分离取浆(固形物6%)
鲜牛乳→检验→过滤除杂
(加白砂糖)→过滤→预热(70℃)→均质(45 MPa)→杀菌(95℃,20 min)→冷却、接种→灌袋→发酵→成熟(6~8℃,12h)→检验→成品。

1.3.2 开菲尔粒的活化

V(开菲尔粒):V(灭菌鲜牛乳)=1:50接种,在25℃恒温生化培养箱中培养24h,用医用纱布过滤,并用灭菌凉水对开菲尔粒冲洗3~4次,再放入灭菌鲜牛乳中于25℃培养24h,过滤,用水冲洗。如此连续多次培养活化,直到25℃培养24h后颗粒增大并能形成新颗粒为止。

1.3.3 开菲尔粒的驯化

将豆乳与牛乳按1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1的体积比配成9种培养基,各加入10%的白砂糖,各用300 mL的三角瓶3个,每瓶装150 mL混合料,0.1 MPa灭菌20 min,接种活化的开菲尔粒(2%),于25℃恒温培养24h,按豆乳含量由低到高逐级驯化培养。

1.3.4 酸豆乳酒发酵剂的制备

在灭菌冷却后的豆浆-牛乳混合料中[V(豆浆):V(牛乳)]=9:1接种2%的已驯化的开菲尔粒,于25℃恒温培养48h。用无菌纱布过滤,取滤出的发酵奶液放4℃冰箱中保存,供试验用,开菲尔粒则用凉开水冲洗后置冰箱内保存。

1.3.5 发酵条件的试验设计

发酵条件的筛选采用 5 因素 4 水平 $L_{16}(4^5)$ 正交试验法设计,方案见表 1。

表 1 试验因素和水平

	A	B	C	D	E
因素	V(豆乳): V(牛乳)	接种 量/%	发酵温 度/℃	发酵时 间/h	白砂糖用 量/%
1	9:1	1	22	8	6
2	8:2	2	23	10	8
3	7:3	3	24	12	10
4	6:4	4	25	14	12

1.3.6 感官评定

组织 25 人对产品的色泽(乳白微黄,表面平滑有光泽,无异色)、组织状态(粘稠状,均匀一致,无乳析出或析出较少)、滋味(具有天然的发酵乳兼豆香味)、口感(细腻、清爽、酸甜适中)及喜爱程度等 5 个方面进行评价计分,每项指标满分为 20 分。

1.3.7 产品中菌数的测定

用 MRS 培养基及改良沙氏培养基平板计数法测定发酵剂及产品中乳酸菌与酵母菌数^[6]。

1.3.8 酸度的测定^[7]

用酚酞为指示剂,以 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定,以 $^{\circ}$ T 表示。

1.3.9 乙醇含量的测定

采用蒸馏-比重法测定^[8]。

2 结果与分析

2.1 发酵剂及产品的含菌量

经测定,发酵剂中乳酸菌、酵母菌、醋酸菌的含量明显高于产品中相应菌的含量,这可能与发酵时间有关。结果见表 2。

表 2 发酵剂与产品中含菌量测定结果 cfu/mL

	乳酸菌总数	酵母菌数	醋酸菌数
发酵剂	1.8×10^9	2.05×10^6	1.3×10^5
产 品	2.7×10^7	3.6×10^4	1.1×10^4

2.2 各因素水平对感官评定的影响

按照 $L_{16}(4^5)$ 正交试验法对各试验进行处理后,于 6~8℃成熟 12 h,再进行感官评定(或测酸度与乙醇含量)统计分析结果见表 3(各实验号均设 3 个平行样品)。

由表 3 可以看出,感官评定结果以 4、6、11 组较其他各组差异显著。据极差 R_I 值的大小可以看出 5 个因素对感官评定的影响依次是白砂糖>发酵时间>豆乳:牛乳的>发酵温度>接种量,最佳发酵条件组合是 $A_2B_3C_4D_4E_3$,即 $V(\text{豆乳}):V(\text{牛乳})=8:2$,发酵剂接种量为 3%,发酵温度 25℃,发酵时间 14 h,白砂糖用量 10%。

2.3 各因素水平对酸度的影响

据表 3 中极差 R_{II} 值的大小,可以看出 5 个因素中以发酵温度对产品酸度的影响最为显著,其余依次是发酵时间、糖的添加量及发酵剂的用量与原料的配比,使其酸度高的达 98.8 $^{\circ}$ T,低的仅 20.17 $^{\circ}$ T。从感官评定的最优组合 $A_2B_3C_4D_4E_3$ 来看,发酵温度控制因素 C_4 的平均酸度为 83.5 $^{\circ}$ T,加之产品中酵母菌的代谢产物对产品具有良好的影响,因此产品具有良好风味。

2.4 各因素水平组合对酸豆乳酒中乙醇含量的影响

从表 3 中极差 R_{III} 值的大小来看,影响酸豆乳酒中乙醇含量的 5 个因素中,以白砂糖的加入量最为显著,其余依次是发酵时间>发酵温度>豆乳与牛乳的配比>发酵剂的接种量。感官评定的 5 个最佳因素组合中,加糖因素 E_3 的平均乙醇含量为 0.265%,比传统酸牛乳酒中乙醇含量(0.5%~2%)^[5]少得多,故其口感清爽而无明显酒味。

3 结 论

研究表明,利用传统酸牛乳酒(Kefir)的发酵剂——开菲尔粒制作的发酵剂,研制出酸豆乳酒,成功地获得了这种新型发酵豆乳制品。其产品的组织状态、风味、口感、酸度及其乙醇含量,受豆乳与牛乳的配比、发酵剂的接种量、发酵温度、时间及加糖量等因素的影响,其中糖是影响酸豆乳酒风味的主要因素。最佳发酵条件是 $V(\text{豆乳}):V(\text{牛乳})=8:2$,发酵剂用量为 3%,发酵温度为 25℃,发酵 14 h,添加白砂糖 10%。产品酸度为 83 $^{\circ}$ T,其影响的主要因素是发酵温度,其余因素的影响大小依次为:发酵温度>发酵时间>白砂糖用量>发酵剂接种量>豆乳和牛乳的比例。产品含乙醇的体积分数为 0.265%,为传统开菲尔(0.5%~2%)^[5]的 53%~13%,影响产品中乙醇含量的主要因素是白砂糖,其余因素的影响大小依次为:白砂糖>发酵时间>发酵温度> $V(\text{豆乳}):V(\text{牛乳})$ >接种发酵剂量。

表 3 各试验因素对产品质量影响的结果

实验号	A	B	C	D	E	感官评定 平均分	酸度平均 值/°T	乙醇含量平 均值/%
1	1	1	1	1	1	54.6	20.17	0.12
2	1	2	2	2	2	66.1	53.31	0.15
3	1	3	3	3	3	78.5	78.35	0.31
4	1	4	4	4	4	85.7	89.46	0.37
5	2	1	2	3	4	71.3	27.52	0.30
6	2	2	1	4	3	83.4	60.38	0.21
7	2	3	4	1	2	66.2	64.53	0.25
8	2	4	3	2	1	70.9	75.87	0.17
9	3	1	3	4	2	64.5	85.52	0.24
10	3	2	4	3	1	68.8	98.83	0.27
11	3	3	1	2	4	82.5	31.52	0.23
12	3	4	2	1	3	74.3	24.37	0.26
13	4	1	4	2	3	79.4	81.23	0.28
14	4	2	3	1	4	48.1	55.31	0.32
15	4	3	2	4	1	70.5	64.58	0.27
16	4	4	1	3	2	50.3	54.75	0.33
I ₁	284.9	269.8	270.8	243.2	264.8	依极差 R _I 值的大小 5 个因素对感官评定的影响依次是 E>D>A>C>B		
I ₂	291.8	266.4	282.2	298.9	247.1			
I ₃	290.1	297.7	262.0	268.9	315.6			
I ₄	248.3	281.2	300.1	304.1	287.6			
R _I	10.9	7.8	9.5	15.2	17.1			
II ₁	241.29	214.44	166.82	164.38	259.45	依极差 R _{II} 值的大小 5 个因素对酸度的影响依次是 :C>D>E>B>A		
II ₂	228.3	267.83	169.78	241.93	258.11			
II ₃	240.24	238.98	295.05	259.45	244.33			
II ₄	255.87	244.45	334.05	299.94	203.81			
R _{II}	6.9	13.4	41.8	33.9	13.9			
III ₁	95	94	89	95	83	依极差 R _{III} 值的大小 5 个因素对乙醇含量的影响依次是 E>D>C>A>B		
III ₂	93	95	98	83	97			
III ₃	100	106	104	121	106			
III ₄	120	113	117	109	122			
R _{III}	6.8	4.8	7.0	9.5	9.8			

注 表中 R_I、R_{II}、R_{III} 等均为相应结果极差的平均值。

参 考 文 献

1 张列兵,丁 华,程 涛等.开菲尔粒[J].中国乳品工业,1996 24(4) 39~42

2 郭本恒.功能性乳制品[M].北京:中国轻工业出版社,2001. 106~108

3 张列兵,刘 鹏,程 涛等.酸牛奶酒(Kefir)工艺学研究进展评论[J].中国乳品工业,1996 24(2) 20~22

4 许本发,李宏建,柴金贞等.酸奶和乳酸菌饮料加工[M].北京:中国轻工业出版社,1994.133~139

5 [英]Brian J B Wood 主编,徐 岩译.发酵食品微生物学(第 2 版)[M].北京:中国轻工业出版社,2001.242~243

6 乌 尼.畜牧微生物学[M].北京:农业出版社,1992

7 中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.4—1996.乳与乳制品卫生标准的分析方法,第三篇酸牛乳[M].北京:中国标准出版社,1997

8 蔡定域.酿酒工业分析手册[M].北京:中国轻工业出版社,1988. 328~330

9 金世林.古老而新型的酒精性发酵乳饮料——开菲尔[J].中国乳品工业,1999 27(2) :18~23

10 石彦国,任 莉等.大豆制品工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2000. 241~350