

胡萝卜汁双歧杆菌发酵饮料的研制

杜小兵¹ 张 箴² 郑海涛²

1(西南农业大学食品学院,重庆 400716) 2(中国农业大学食品学院,北京,100094)

摘 要 在添加 5%脱脂牛乳和 4%~5%蔗糖的胡萝卜汁中接种 $5 \times 10^6/\text{mL}$ 的长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*),发酵 10~14 h 后或终点 pH 达到 4.2 左右时,可获得总菌数在 $10^9/\text{mL}$ 数量级、色泽鲜艳、口感良好、风味上佳的双歧杆菌胡萝卜汁发酵饮料制品。产品低温贮运的保质期为 1 周左右。

关键词 双歧杆菌,胡萝卜汁,发酵

双歧杆菌是人体肠道正常定居的重要有益菌群之一,口服大量双歧杆菌活菌可以达到增进人体健康的目的^[3]。近年来,我国已有多种含双歧杆菌的产品正处在研究阶段^[4,5]或已面市^[6-8],但高效发酵菌种和发酵工艺尚有待进一步探讨。

胡萝卜中不仅含有丰富的 β -胡萝卜素等维生素,还含有能促进双歧杆菌良好生长的促生长因子(双歧因子)。笔者在胡萝卜汁中添加了少量牛乳和蔗糖,以此作为双歧杆菌发酵的主要基质,探讨了双歧杆菌发酵胡萝卜汁的工艺条件和参数,并进行了小试和中试,研制出口感和风味良好的双歧杆菌胡萝卜汁发酵饮料制品。

1 材料与方法

1.1 菌 种

长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)和两歧双歧杆菌(*B. bifidum*),均为本实验室保存。

1.2 培养基

改良 MRS 培养基:MRS 基本培养基附加 0.1%玉米浆和 0.04% L-半胱氨酸盐酸盐(最后加入)。

种子液培养基:胡萝卜汁附加 5%脱脂牛乳液和 0.1%玉米浆。

1.3 原 料

胡萝卜为市售优质鲜红品种。脱脂牛乳和蔗糖均为市售。

1.4 实验方法

1.4.1 双歧杆菌菌种活化和发酵种子液的制备

采用改良液体 MRS 培养基于厌氧管中 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 下活化双歧杆菌 20~22 h。将活化菌种接入装有种子液培养基的厌氧瓶中,在相同条件下扩大培养 20~22 h,制备发酵种子液菌种。

表 1 正交试验方案

水平	因 素		
	A 牛乳含量/%	B 蔗糖含量/%	C 接种量/个·mL ⁻¹
1	1	4	5×10^5
2	3	5	1×10^6
3	5	6	5×10^6

1.4.2 胡萝卜汁的制备

优质胡萝卜原料经清洗、去皮、称重、切片、热烫至软后打浆,用均质机均质,4 层纱布过滤后备用(小试和中试无需过滤)。

1.4.3 发酵参数的确定

以长双歧杆菌为发酵菌种,分别研究脱脂牛乳、蔗糖和双歧杆菌接种量等单因子对发酵产品质量的影响,然后采用 $L_9(3^4)$ 正交设计(见表 1)筛选这 3 个因子的最佳组合。操作过程如下:

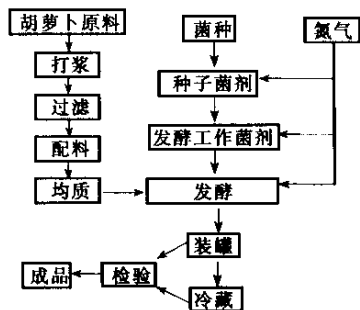
向胡萝卜汁中添加脱脂牛乳、蔗糖等辅料,用 Na_2CO_3 调 pH 至 7.30 左右,装入 100 mL 厌

第一作者:博士研究生,讲师。
收稿时间 2004-03-09,改回时间 2004-06-03

氧瓶,高纯氮气经过过滤除菌后充入厌氧瓶中排氧,经 $3.6\text{ kg}\cdot\text{f}$ (8 磅) 105°C 灭菌 $10\sim 15\text{ min}$,冷却后接入活化的双歧杆菌菌种, $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 发酵,定期取样分析。

1.4.4 规模发酵试验

在小样试验的基础上设计的工艺流程见图 1。采用 14 L 发酵罐(加拿大产)进行小规模试验和 500 L 发酵罐中试,均充无菌氮气进行厌氧发酵。分析产品品质和贮藏期。



1.4.5 pH 值的测定

采用 PHS-2C 型精密酸度计。

1.4.6 总菌数的测定

采用血球计数板计数。

1.4.7 活菌数测定

厌氧培养罐平板培养计数。

1.4.8 还原糖和可溶性总糖含量的测定

采用费林试剂法^[9]。

1.4.9 氨基酸含量的测定

采用 835-50 氨基酸自动分析仪分析。

1.4.10 B 族维生素和 β -胡萝卜素含量的测定

采用 LKB-LC5000 型高压液相色谱仪分析。

1.4.11 大肠菌群和致病菌的检测

按《食品卫生检验方法-微生物学》标准方法进行^[10]。

2 结果与讨论

2.1 发酵工艺参数的优化

2.1.1 菌种生长特性与选择

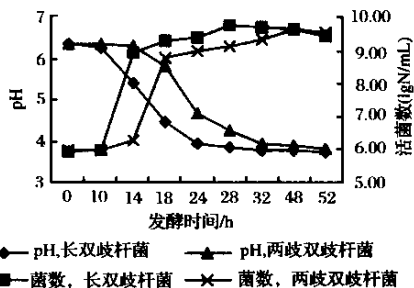


图 2 双歧杆菌胡萝卜汁发酵的生长特性

图 2 结果显示,接种 10^5 数量级的长双歧杆菌发酵胡萝卜汁,10 h 内活菌数几乎没有增长,随后数量迅速增加,18 h 达到 1.88×10^9 个/mL,28 h 后因酸度过低而逐渐减少,而两歧双歧杆菌生长明显滞后,在 14 h 内活菌数增加不明显,28 h 才达到 1.32×10^9 个/mL。由于长双歧杆菌生长产酸比两歧双歧杆菌快,为了缩短发酵时间,选择长双歧杆菌作为胡萝卜汁发酵菌种。

双歧杆菌发酵胡萝卜汁产生了大量的醋酸和乳酸,使发酵液的 pH 值降低,当酸度低于某值后会抑制其生长,阻止继续发酵。试验结果显示, pH 3.8 是长双歧杆菌和两歧双歧杆菌的发酵临界点(见图 2)。此外,发酵程度、活菌数量和 pH 值之间存在相关性,因此有可能通过测定 pH 值来跟踪发酵进程,免去细菌计数监测的麻烦。检测中发现,当 pH 值下降至 4.2 左右时,发酵液中的总菌数可达到 10^9 个/mL;经品尝,产品酸度适宜,风味好,而且产品容易保存,因此确定该 pH 值为发酵的终止点。

2.1.2 脱脂牛乳添加量对产品品质的影响

采用纯胡萝卜汁发酵,产品有过浓的胡萝卜异味。添加脱脂牛乳后,可以减轻这种味道(见表 2)。脱脂牛乳添加量以 4%~5% 为宜;低于 3% 时,胡萝卜异味减轻不明显;高于 6%,产品颜色不佳,且容易分层。

2.1.3 蔗糖添加量对双歧杆菌生长和产品风味的影响

发酵前加入蔗糖来调配发酵产品的口味,

表 2 脱脂牛奶添加量对产品品质的影响¹⁾

脱脂牛乳含量 /%	pH 值		外观和口感
	发酵 0h	发酵 20h	
(CK)	5.95	4.20	色泽好,不分层,但胡萝卜异味重
1	6.02	4.17	色泽好,不分层,但胡萝卜异味重
2	6.11	4.21	色泽好,不分层,但胡萝卜异味重
3	6.19	4.24	色泽好,不分层,但胡萝卜异味重
4	6.24	3.99	色泽较好,轻微分层,胡萝卜异味轻
5	6.27	4.00	色泽较好,轻微分层,胡萝卜异味轻
6	6.33	4.03	颜色偏白,不真实,分层严重,胡萝卜异味不明显
7	6.35	4.04	颜色偏白,不真实,分层严重,胡萝卜异味不明显
8	6.42	4.09	颜色偏白,不真实,分层严重,胡萝卜异味不明显
9	6.47	4.07	颜色偏白,不真实,分层严重,胡萝卜异味不明显
10	6.46	4.05	颜色偏白,不真实,分层严重,胡萝卜异味不明显

1) 双歧杆菌接种量为 5×10^5 个/mL。

可简化工艺。由表 3 结果可知,蔗糖加入量为 2% 以下时产品偏酸,8% 以上时产品过甜,而以 4%~6% 的加入量较为适合。同时,6% 以下的

蔗糖对双歧杆菌生长影响不大,但 8% 以上高浓度蔗糖对双歧杆菌生长具有部分抑制作用,抑制产酸,使发酵时间延长。

表 3 蔗糖添加量对发酵产品 pH、菌数和质量的影响

蔗糖含量/%	0	2	4	6	8	10
产品 pH	4.03	4.35	4.37	4.41	4.47	4.49
活菌数/个·mL ⁻¹	1.17×10^9	1.15×10^9	1.11×10^9	1.03×10^9	9.90×10^8	9.80×10^8
口感和风味	酸	偏酸	微偏酸	酸甜适中	偏甜	过甜

注:胡萝卜汁中加 5% 牛乳,发酵前 pH 6.37,接种长双歧杆菌 8.34×10^6 个/mL,发酵 16 h。

在确保产品品质优良的前提下,应当尽可能采用较大的接种量,缩短发酵时间,以缩短生产周期,减少杂菌污染。长双歧杆菌接种量为 10^6 个/mL 时,10 h 就已过发酵终点,而接种量为 10^5 个/mL 时,需发酵 24 h,时间延长了 1 倍多(见图 3)。品尝结果显示,2 个产品在发酵终点时的口感和风味无太大差异。因此,用长双歧杆菌发酵胡萝卜汁宜选择 10^6 个/mL 以上的高接种量。

2.1.4 牛乳和蔗糖的添加量及接种量最佳组合的筛选

在胡萝卜汁中添加蔗糖和脱脂牛乳,采用不同接种量等可以影响发酵速度、产品活菌总数和口感、风味。表 4 的结果进一步显示,蔗糖和牛乳是影响胡萝卜汁双歧杆菌发酵产品中活菌数的主效因子,而双歧杆菌接种量在 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个/mL 范围内对产品的活菌数影响不大。接种量大小对发酵的效应,主要体现在发酵速度(见单因子试验结果),在发酵终止时产品活菌数基本趋于饱和。试验结果还表明,5% 的牛乳、4% 的蔗糖和 5×10^6 个/mL 的接种量是长双歧杆菌发酵胡萝卜汁的最佳组合。

2.2 产品的质量分析

长双歧杆菌以 5×10^6 个/mL 为起始浓度时,发酵含 5% 牛乳和 4% 蔗糖的胡萝卜汁经 12~14 h 可使双歧杆菌增殖到约 10^9 个/mL。设计的工艺流程基本合理。所得产品色泽好,

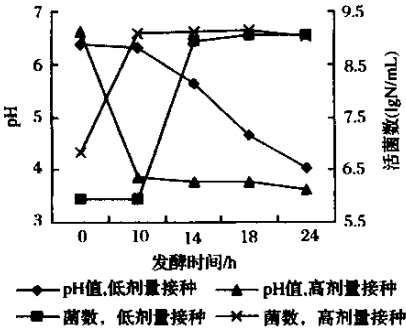


图 3 接种量与发酵进程

表 4 蔗糖、牛乳与接种量的正交试验结果

处理号	A (牛乳)	B (蔗糖)	C (接种量)	活菌总数 /个·mL ⁻¹	口味与口感
1	1	1	1	1.52×10 ⁹	不甜 味淡 酸
2	1	2	2	1.18×10 ⁹	不甜 酸 胡萝卜异味重
3	1	3	3	1.49×10 ⁹	较 1 2 甜
4	2	1	3	1.73×10 ⁹	不甜 味淡
5	2	2	1	1.44×10 ⁹	甜 味同 2
6	2	3	2	1.70×10 ⁹	胡萝卜异味重
7	3	1	2	1.73×10 ⁹	酸甜适中 味较好
8	3	2	3	1.59×10 ⁹	味好
9	3	3	1	1.64×10 ⁹	偏甜
I	4.19×10 ⁹	4.98×10 ⁹	4.60×10 ⁹		
II	4.87×10 ⁹	4.21×10 ⁹	4.61×10 ⁹		
III	4.96×10 ⁹	4.83×10 ⁹	4.81×10 ⁹		
极差(R)	0.77×10 ⁹	0.77×10 ⁹	0.21×10 ⁹		

注 :发酵时间为 16~18 h。

不易分层 ,口感清爽 ,没有明显的胡萝卜异味。发酵产品的氨基酸总量略高于未发酵的对照。B 族维生素和尼克酸含量明显增加^[4]。β-胡萝卜素含量变化不大。

双歧杆菌在发酵过程中主要消耗还原糖 ,对非还原糖如蔗糖等几乎不利用^[11]。研究的结果证实了这一点。产品的总糖含量下降值与还原糖含量下降值相近 ,说明添加的蔗糖几乎没被消耗(表 5)。

表 5 产品质量测定结果

项 目	对照 (发酵前样品)	产 品
色 泽	-	橙 红
质 地	-	均匀、不分层
口感和风味	-	酸甜适度 胡萝卜异味不明显
酸度(pH)	6.35	4.11
长双歧杆菌/个·mL ⁻¹	1×10 ⁶	1.98×10 ⁹
氨基酸总量/个·mL ⁻¹	42.518	44.399
维生素 B ₁ /个·mL ⁻¹	-	1.6
维生素 B ₂ /个·mL ⁻¹	6.5	9.0
维生素 B ₆ /个·mL ⁻¹	-	1.0
维生素 B ₁₂ /个·mL ⁻¹	0.1	0.9
尼克酸/个·mL ⁻¹	10.0	11.5
β-胡萝卜素/个·mL ⁻¹	1.6	1.8
还原糖/个·mL ⁻¹	14.7	6.3
可溶性总糖/个·mL ⁻¹	69.2	2.0
大肠菌群菌数	-	未检出
致病菌	-	未检出

2.3 产品保存期的确定

将胡萝卜汁双歧杆菌发酵产品在常温(25℃)和冷藏(4℃)条件下保存 ,定期取样检测分析。在 2 种保存条件下 ,产品的 pH 值下降不明显 ,但双歧杆菌活菌数变化显著。常温保存 1 周时 ,产品的活菌数仅 600 个/mL ,10 d 以后很少或几乎检测不出。冰箱保存 7 d 时产品的活菌数尽管下降了约 99% ,但仍较高 ,达到 2.85×10⁶ 个/mL ,且风味无明显改变(图 4) 。因此 ,胡萝卜汁双歧杆菌发酵产品不宜常温保存 ,必须低温贮运 ,有效期在 1 周左右。

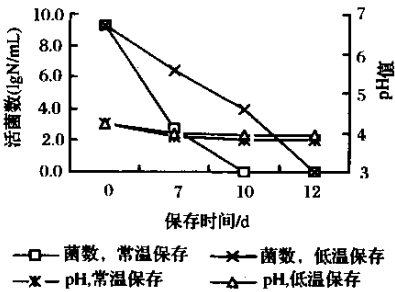


图 4 保存方式对产品双歧杆菌活菌数的影响

3 结 论

实验结果说明 ,长双歧杆菌比两歧双歧杆菌更适宜发酵胡萝卜汁 ,发酵的终点指示 pH 值在 4.2 左右。添加 5% 的脱脂牛乳 ,可减轻产品的胡萝卜异味 ,且能促进双歧杆菌的生长。

高浓度蔗糖对双歧杆菌生长和产酸有抑制作用,而4%~6%的加入量较为适宜。双歧杆菌接种量大有利于缩短发酵时间,且以 5×10^6 个/mL为宜。胡萝卜汁双歧杆菌发酵产品色鲜味好,氨基酸和B族维生素含量等均得到增加,并保持原料的胡萝卜素含量。产品需在4℃左右冷藏条件下贮运和销售,保质期在1周左右。

参 考 文 献

- 1 魏曦等编著. 正常菌群与健康——人体微生物生态学 [M]. 上海:上海科学技术出版社,1985
- 2 Klupsch H J. Man and microflora [J]. North European Dairy Journal, 1985, 51(8): 221~226
- 3 Rasic Jeremija Lj, Kurmann Joseph A. bifidobacteria and their role: microbiological, nutritional-physiological, medical, and technological aspects and bibliography [M]. Boston: Besel, 1983, 1~295.
- 4 金世琳. 双歧杆菌在乳品生产中的应用 [J]. 食品与发酵工业, 1983(3): 39~45
- 5 张瑞霖. 双歧杆菌发酵乳 [J]. 食品科学, 1981(4): 43~45
- 6 李剑芳, 李明灯. 双歧杆菌发酵胡萝卜汁饮料的研制 [J]. 中国食品学报, 2003(2): 41~46
- 7 朱俊晨, 李世敏, 林 青等. 厌样氧青春双歧杆菌在复合蔬菜汁中发酵工艺的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2003(1): 37~40
- 8 傅晓超等. 保健食品——BB乳的研究 [J]. 食品与发酵工业, 1990(4): 26~34
- 9 黄伟坤. 食品检验与分析 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1989
- 10 中华人民共和国卫生部. 食品卫生微生物检验 [M], 1994年实施
- 11 Hughes David B, Hower Dallas G. *Bifidobacteria*: Their potential for use in American dairy products [J]. Food Technology, 1991(4): 74~83

Manufacture of Fermented Carrot Juice with *Bifidobacterium*

Du Xiaobing¹ Zhang Chi² Zheng Haitao²

¹(College of Food Science of Southwest Agricultural University, Chongqing, 400716)

²(College of Food Science of China Agricultural University, Beijing, 100094)

ABSTRACT The fermentation condition of *Bifidobacterium* on carrot juice was studied. When supplemented with 5% of defatted milk and 4%~6% of sucrose and inoculated 5×10^6 cell/mL of *Bifidobacterium longum*, bifidobacterium-fermented carrot juice was obtained after 10 to 14 hours at 37℃ or when the terminor pH reached around 4.2, which contained 10^9 cell/mL of active bifidobacterium and had fresh color and suitable flavor. An available storage period at low temperature was about one week for the survival of *Bifidobacterium*.

Key words *Bifidobacterium longum*, carrot juice, fermentation

·广 告·

中国(山东)泰安神源企业

神源牌系列酿酒器械产品,有冷酒器、甑锅、夹层锅、盘盖、酒尾分酒器,中、小酒精塔、酒精糟潜热回收装置、酒葵、酒桶、1~100立方米的酒容器、运行罐。承揽酒容器防腐,多种粉碎机,小麦优质大曲块,生料酒曲,灌装机全套流水线,通风机白酒净化器等系列产品。

五岳之首是泰山,酿造美酒用神源

电 话 0538-8311091 8312009
手 机 13012749891 13395489269
通信地址 山东省泰安神源开发酿酒器械厂

传 真 0538-8312009
联系人 肖立长
邮 编 271023