

开菲尔米酒的研制*

扈麟,陈亚莉,李宗军,周传云

(湖南农业大学食品科技学院食品科学与生物技术湖南省重点实验室,湖南 长沙, 410128)

摘 要 为了开发功能性乳酸菌资源,提高农副产品的经济效益,分别以牛乳和糯米为主要原料,将其发酵成开菲尔和糯米酒液,辅以其他原料调配成新型开菲尔米酒,通过试验确定了配方为:以开菲尔:糯米酒=1:0.6的质量比进行混料,然后添加蔗糖3%、甜赛糖0.05%与0.06%的柠檬酸混匀,再按多能饮料乳化稳定剂:黄原胶质量比=0.45:0.1添加稳定剂。可获得具有开菲尔和糯米酒巧妙结合的,具有独特风味的和良好营养功效的开菲尔米酒。

关键词 开菲尔,乳酒,糯米发酵液,糯米酒

开菲尔(Kefir)是以牛乳或山羊乳为原料,以开菲尔粒(Kefir grains)为发酵剂,制得的一种含酸、乙醇及少量CO₂乳饮料^[1]。开菲尔有着致密的脂肪状结构,有一定的起泡性,味微酸,含有近40种芳香类化合物,含有0.08%~2%的乙醇,具有淡淡的新鲜啤酒所特有的芳香^[2]。由于其发酵剂中益生菌的种群和特性不同于普通酸奶因此开菲尔产品的营养功能优于普通酸乳,如其中B族维生素含量较普通酸乳高4~5倍^[3]。

米酒是以糯米、粳米、籼米等大米为主要原料,经益生菌菌和酵母菌先后作用,酿制而成不经蒸馏的一类低度原汁酒^[4]。

本研究利用传统开菲尔粒作为发酵剂对新鲜牛乳进行发酵制成开菲尔,同时将糯米糊化后接种根霉菌和酵母菌发酵成糯米酒。再将两者按一定比例并适当辅以其他原料配制成新型的乳酒。既包含了开菲尔和米酒的营养功效,又融合了我国南北方食品风味和文化,同时还可以大大提高牛乳、大米的综合利用价值和农副产品的经济效益,顺应我国经济科学发展的需要。

1 材料和方法

1.1 材料与设备

1.1.1 主要原料

糯米、白砂糖(均为食品级):市购;鲜牛乳(不含抗生素,脂肪含量3.2%,蛋白质含量2.9%):购于湖

南农业大学奶牛场;多能饮料乳化稳定剂:DL-05D型,购于哈尔滨市多利来食品原料制造有限公司;黄原胶、柠檬酸(均为食品级):购于郑州信德食品科技有限公司;甜赛糖60:食品级,上海健鹰食品科技研究所;麸皮:新鲜、无霉腐、无异味,市购。

1.1.2 供试菌种

米根霉(*Rhizopus oryzae*) Q303、K酵母(*Saccharomyces kefir*)、开菲尔粒(Kefir grains),均由湖南农业大学食科院微生物研究所提供。

1.1.3 培养基

马铃薯葡萄糖培养基(PDA)^[5]:斜面及三角瓶装液体培养基,培养根霉菌、K酵母用。

麸曲培养基:用容积为500 mL的三角瓶,内装10 g麦麸,加自来水13 mL,混合均匀,塞上棉塞并包扎防潮纸,0.1 MPa高压灭菌45 min,取出冷却供制作糖化曲用。

脱脂乳培养基^[5]:活化、培养开菲尔粒用。

营养琼脂培养基^[5]:检测细菌总数用。

乳糖胆盐发酵管,伊红美兰琼脂,乳糖发酵管:均为检测大肠菌群用^[5]。

检测致病菌用培养基:按GB/T. 4789-2003^[6]中相关部分配制。

1.1.4 主要仪器与设备

高压蒸汽灭菌锅:YXQ-SG46-28OSA型,上海博迅实业有限公司医疗设备;恒温生化培养箱,250B型,常州市华普达教学仪器有限公司;净化工作台,SW-CJ-2FD型,安徽瑞风净化设备工程有限公司;高剪切混合乳化机,BME100L型,上海威字机电制造有限公司;胶体磨,JW-2型,廊坊通用机械厂;气象色谱仪:GC122型,上海分析仪器厂;糖度计,WYT4

第一作者:硕士研究生(周传云教授为通讯作者)。

*国家863资助项目(No. 2007AA10Z347)

收稿日期:2008-10-09,改回日期:2009-01-04

型,泉州数字仪器厂;精密 pH 计,pHS-3C 型,上海雷磁仪器厂;高压均质泵:GJB1-25 型,宜兴市轻工机械厂等。

1.2 试验方法

1.2.1 开菲尔米酒的制作工艺流程

(1)开菲尔发酵工艺流程

开菲尔发酵剂
↓
新鲜牛乳→净化→杀菌→冷却→接种→发酵→冷藏后熟

(2)大米发酵工艺流程

糖化曲
↓
大米→浸泡→清洗→蒸煮→摊冷→拌曲糖化→加酵母发酵→过滤、胶磨→酒液
↑
酵母菌发酵剂

(3)乳酒调配的工艺流程

牛乳开菲尔 } 混料→添加辅料(甜味剂+稳定剂+酸味剂)→均质→灌装→灭菌→质检→成品
大米发酵液 }

1.2.2 工艺技术要点

1.2.2.1 开菲尔发酵工艺技术要点

鲜牛乳净化:将经过酒精试验、抗菌素试验检验合格的鲜牛乳,用 3 层纱布过滤。

杀菌及冷却:取 2kg 经净化的牛乳放入容积为 3L 的带盖不锈钢桶内,用 95-98℃ 水浴灭菌 5 min,然后冷却到 25℃ 左右。

接种、发酵:在无菌操作条件下将制备好的开菲尔发酵剂接种于灭菌牛乳中,接种量 2%。摇混均匀后,置于 25℃ 生化培养箱中发酵 24 h,待奶液凝乳而未有乳清析出时,停止发酵。

冷藏后熟:将发酵好的开菲尔放置于 4℃ 冰箱中冷藏后熟 24h,使其风味更协调,口味更柔和,成分更稳定,备用。

1.2.2.2 大米发酵工艺技术要点

大米的浸泡、清洗:称取 2 kg 糯米,在常温下(25℃ 左右)用水浸泡 24-36 h,以手捻米粒即碎为准,再用自来水洗至无白浆为止。

蒸煮、摊凉:将洗好的大米沥至无水滴,用双层纱布包好后置于高压蒸汽灭菌锅内,115℃ 30 min 蒸煮糊化、灭菌,要求蒸煮好的米粒熟而不烂、透而不糊、疏松均匀。再将其自然摊凉至 35℃ 左右时置于灭菌

的 15L 带盖不锈钢圆桶内。

拌曲糖化:称取米饭质量 1% 的糖化曲,将其糖化曲总需要量的 2/3 加入米饭中,充分拌匀,落缸、搭窝,窝呈漏斗状,松而不塌。轻轻压实表面,撒上余下的糖化剂。置于 28-30℃ 下保温糖化,至漏斗状饭窝内有 4/5 体积的醪液或几乎充满醪液、甜香浓郁、无酒香或具微微酒香时为止(36-48 h)。此时糖分含量应在 35% 以上。

加酵母发酵:待糖化终止后,添加米饭质量 2 倍的冷开水冲缸,同时接种米饭和所加冷开水总量质量分数的 2% 的酵母发酵剂,置于 28-30℃ 的生化培养箱中培养发酵,第 3 天用保鲜膜封口,再在 28-30℃ 的生化培养箱中发酵 4d,此时发酵醪液的糖分在 4% 左右,酒精体积分数为 4%(20℃)时终止发酵。

过滤、胶磨:用双层灭菌纱布对酒化完全的发酵醪进行过滤,除去饭粒,取糯米酒汁液用胶体磨(120-140 目)磨成微细浆汁,备用。

1.2.2.3 乳酒调配的工艺技术要点

混料:在调配混料前将发酵好的开菲尔置于高剪切混合乳化机下以 3 000 r/min、5 min 乳化处理,使开菲尔呈均匀液胶态。然后与制备好的糯米酒清液混合均匀,备用。

添加辅料:将白砂糖、甜赛糖与多能饮料乳化稳定剂、黄原胶等按比例干混均匀,然后加入适量的制备好的开菲尔、糯米酒混合液搅拌后用胶体磨(120 目)磨成浆汁。再加入到混合料中,不断搅拌。柠檬酸则须先用少量冷开水充分溶解后,在快速混料的同时缓慢洒入,并进一步混合均匀。

均质:用高压均质泵将添加好辅料的混合料经 45 MPa 均质,备用。

灌装、灭菌:用容积为 250mL 的旋盖玻璃瓶分装均质好的开菲尔米酒,每瓶装 245mL。装料后整瓶水浴杀菌 20 min,但瓶内中心温度须稳定保持在 70-75℃,灭菌后取出立即水冷至常温。

质检:参照国家相应标准,对产品进行感官、理化、微生物学检验。

1.2.3 开菲尔发酵剂的制备

开菲尔粒的活化:将开菲尔粒按 2% 的接种量接种于三角瓶装的 100mL 灭菌鲜牛乳中,于 23-25℃ 恒温生化培养箱中培养 24h 后用双层灭菌纱布过滤,并用无菌凉水冲洗留在纱布上的开菲尔粒 3-4 次,再将冲洗后的开菲尔粒移入另一支装有 100mL 灭菌鲜牛乳的三角瓶中,多次培养活化,至开菲尔粒颗粒

增大并增加许多新颗粒即为活化完成。

开菲尔发酵剂的制备:在无菌操作条件下将已活化的开菲尔粒接种到制备好的装有 200 mL 灭菌牛乳的三角,接种量的质量浓度为 1%,23-25℃ 恒温培养至凝乳。用无菌纱布过滤,取滤出的发酵奶液放于 4℃ 冰箱保存,即为供试验用开菲尔发酵剂。

1.2.4 糖化曲的制备方法

根霉 Q303 的活化:在无菌操作下挑取 1 接种环根霉 Q303 孢子接种到 PDA 斜面培养基上,于 30℃ 恒温培养,待根霉长出黑色孢子后再挑取孢子转接到新的 PDA 斜面培养基上,并 30℃ 恒温培养,重复操作直至斜面快速长出丰满的菌丝和孢子。

糖化曲的制备:无菌下取活化好的根霉 Q303 孢子,移植到麸皮培养基中,混匀,30℃ 恒温培养 48-72h,待麸曲料内外全部长满孢子后,取出备用。

1.2.5 酵母菌发酵剂的制备方法

K 酵母的活化:在无菌操作条件下,挑取 1 接种环 K 酵母接种到无菌 PDA 斜面上,28℃ 下培养 24-36 h,直到斜面上形成乳白色菌苔再转接到新的无菌 PDA 斜面培养基上,如此连续培养 3 代,即为活化完成。

酵母菌发酵剂的制备:在无菌操作条件下,取 1 环活化好的酵母菌接种于规格为(2×20) cm 试管装

的 10 mL 无菌 PDA 液体培养基中,30℃ 恒温培养 24h 后,用无菌移液枪取 2 mL 转接至装有 200 mL 无菌 PDA 液体培养基的 500 mL 三角瓶中,28-30℃ 恒温培养 36-48 h,即为供试用的酵母菌发酵剂。

1.2.6 开菲尔与糯米酒混合配比选择试验

按开菲尔:糯米酒分别为 1:0、1:0.1、1:0.2、1:0.3、1:0.4、1:0.5、1:0.6、1:0.7、1:0.8、1:0.9、1:1.0 等质量比进行混料,并同时用高速剪切混合乳化工进行混合(5 000 r/min,10 min)。通过感官评价的得分(见表 6)和酒精度(体积分数%)、酸度(°T)与糖分含量(体积分数%)相结合来确定开菲尔与糯米酒混合的配比。

1.2.7 甜味剂配比与添加量选择试验

按照表 1 设计的 6 种不同配比分分别添加到选择确认好的开菲尔与糯米酒的混合料中,充分混匀。然后组织 15 位食品专业人员按照评估检验法^[7]进行感官评价,并进行数据统计和处理,求平均分,最高分者即为最佳甜味剂配比,感官评价标准见表 2。

表 1 蔗糖与甜赛糖用量配比表

序号	1	2	3	4	5	6
蔗糖质量分数/%	6	5	4	3	2	1
甜赛糖质量分数/%	0	0.017	0.033	0.05	0.067	0.083

表 2 甜味剂对比对配料影响的感官评分标准

标准	甜味柔和,口味清爽,后味耐人寻味	甜味较柔和,口味较清爽,后味不足或过于明显	甜味尖锐,有明显的粘稠感,后味很差
评分	10-8 分	7-5 分	4 分以下

1.2.8 柠檬酸添加量选择试验

在上述试验确认的、添加了最适甜味剂的开菲尔与糯米酒的最佳混合料中,分别添加质量分数为 0.00%、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、

0.06%、0.07%、0.08% 等 9 种不同量的柠檬酸配制成混合液,按照评估检验法^[7]进行感官评价,并进行数据统计和处理,感官评分标准见表 3。

表 3 不同柠檬酸添加量的感官评分标准

标准	酸甜味柔和适度,口味清爽,后味耐人寻味	偏甜或甜味较淡,口味欠清爽,后味不足	偏酸或无明显酸味,口味不清爽,后味很差
评分	10-8 分	7-5 分	4 分以下

1.2.9 稳定剂添加试验

在添加了甜味剂、酸味剂的开菲尔与糯米酒的优化配料中,按表 4 分别添加 6 组不同配比的稳定剂,

充分混匀。并均于 65℃ 水浴条件下处理 20 min,取出快速水冷。常温下放置 7d,观察混合料的组织状态变化情况。稳定剂对产品感官影响评价见表 5。

表 4 不同稳定剂配比表

序 号	1	2	3	4	5	6
多能饮料乳化稳定剂质量分数/%	0	0.55	0.50	0.45	0.40	0.35
黄原胶质量分数/%	0	0	0.05	0.10	0.15	0.20

表 5 稳定剂对产品感官影响评价表

稳定性(50分)	流动性(25分)	口感(25分)
均匀稳定,无分层现象(50-40分)	较稳定,偶有微量分层(39-20分)	不够稳定,有明显分层(19-0分)
流动性好,均匀(25-20分)	较好,欠均匀(19-10分)	流动性不好(9-0分)
口感好,均匀细腻(25-20分)	较好,尚均匀细腻(19-10分)	差,有颗粒感,涩口(9-0分)

1.3 质量检测方法

组织 15 位食品专业人员按表 6 标准对开菲尔米酒成品品质进行感官评分。

1.3.1 感官检验方法

表 6 产品的感官评分标准

口感(满分40分)	组织状态(满分30分)	香气滋味(满分30分)
酸甜适宜柔和,细腻滑爽,有类似酸奶的令人凉爽感 40-35分	适度黏稠,质地均匀不分层,无砂粒状,无杂质 30-25分	有类似酸奶令人凉爽的滋味和气味及协调的开菲尔和糯米酒特有的香味和滋味 30-25分
酸甜基本适宜,较细腻滑润爽口 34-21分	较黏稠,质地较均匀不分层,无杂质 24-16分	开菲尔和糯米酒的混合香滋味较协调,但酒味较浓,稍有酸奶令人凉爽的滋味 24-16分
酸甜不合适,无细腻滑爽感 ≤20分	黏性差,质地不均匀,无杂质 ≤15分	香滋味不协调,酒味浓,有强烈刺激感 ≤15分

1.3.2 理化检验方法

(1) 主要理化指标测定方法:按照资料^[8]中有关方法测定:“总酸度,pH值,总糖,蛋白质,可溶性固形物含量”等成分。

(2) 开菲尔酸度的测定方法^[9]:称取 5.00g 已搅拌均匀的样品,置于 150mL 锥形瓶中,加入 40mL 新煮沸放冷至 40℃ 的水,混匀,然后加入 5 滴酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定至微红色在 30s 内不褪色为终点,消耗的 NaOH 标准溶液体积(mL)乘以 20,即为产品的酸度(°T)。

(3) 开菲尔乙醇测定方法:用 GC-122 气相色谱仪测定。

样品处理:开菲尔奶经 1 500 r/min 离心 10 min 后,取 1mL 上清液,加入 0.3 mL 20% 的三氯乙酸,用重蒸水补足至 5 mL,振荡 1 min,沉淀蛋白质,再经

4 000 r/min 冷冻离心 10 min,用 0.45μm 滤膜过滤,得到处理样品,留待测定。

测定乙醇的条件为:O₂ 压力为 4MPa;H₂ 压力 0.31 MPa;N₂ 压力为 0.5 MPa。

1.3.3 微生物学检验方法

细菌总数、大肠菌群及致病菌等的检测按照 GB4789-2003 中所规定的有关方法进行检验^[6]。

2 结果与分析

2.1 开菲尔与糯米酒配比选择试验结果

将分别发酵制备好的开菲尔与糯米酒按 11 种不同的配比混合,其感官评定和酒精度(质量分数/%)、酸度(°T)与糖分含量(质量分数/%)测定结果见表 7。

表 7 开菲尔与糯米酒配比试验结果

m(开菲尔):m(糯米酒)	1:0	1:0.1	1:0.2	1:0.3	1:0.4	1:0.5	1:0.6	1:0.7	1:0.8	1:0.9	1:1
感官评定(分)	71.5	73.3	78.5	82.4	85.7	89.2	91.6	85.2	80.7	78.3	74.6
酒精度质量分数/%	0.90	1.18	1.43	1.61	1.80	1.92	2.05	2.17	2.26	2.36	2.45
酸度/°T	94.4	86.5	79.7	74.1	69.6	66.82	62.3	58.7	55.4	52.8	49.7
糖分含量/%	0.7	1.1	1.5	1.9	2.6	3.5	4.7	5.6	6.3	7.1	7.9

由表 7 可知,开菲尔:糯米酒=1:0.6 的配料感官评分最高,为 91.6 分;同时,此配比料的酒精度为体积分数 2.05%,符合开菲尔的酒精度要求;但酸度(62.3°T)与糖分含量体积分数 4.7%,偏低,有待调整。

2.2 甜味剂配比与添加量选择试验结果

将蔗糖与甜赛糖按照设计的 6 种不同配比分别添加到选择确认好的开菲尔与糯米酒的混合料中,充分混匀,进行感官评价,其结果见表 8。

表 8 甜味剂添加试验结果(配料单位:质量分数%)

蔗糖:甜赛糖	6:0	5:0.017	4:0.033	3:0.05	2:0.067	1:0.083
感官评定(分)	6.3	7.5	8.6	9.2	8.3	6.8

蔗糖添加比例大则甜味慢,嘴唇有黏稠感,得分低;甜赛糖比例大则甜味突出,后味过甜,得分也低。参与试验的6组甜味剂配比中以4号配比的感官评分最高,即在混合料中添加蔗糖质量分数3%、甜赛糖质量分数0.05%时,呈现甜味柔和、口感清爽

和后味好的最佳味感。

2.3 柠檬酸添加量选择试验结果

在添加了最适甜味剂的开菲尔与糯米酒的最佳混合料中,分别添加9种不同量的柠檬酸配制成混合液,然后按表3进行感官评价,结果见表9。

表9 柠檬酸添加量选择试验结果

柠檬酸添加量质量分数/%	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08
感官评定(分)	3.5	4.0	4.8	5.8	6.7	8.4	9.5	9.0	6.3

由表9的数据统计可以看出,质量分数为0.05%~0.07%的柠檬酸添加量是符合多数人喜好的配料酸度范围,其中0.06%的柠檬酸添加量,呈现出酸味柔和、口感清爽的最佳味感。

2.4 稳定剂添加选择试验结果

表10 稳定剂添加选择试验结果(配料单位:质量分数%)

多能饮料乳化稳定剂:黄原胶	0:0	0.55:0	0.50:0.05	0.45:0.1	0.40:0.15	0.35:0.20
感官评定(分)	60	85	89	97	75	68

由表10可知,以多能饮料乳化稳定剂:黄原胶=0.45:0.1的配比添加稳定剂,可使产品获得很好的稳定性、流动性和口感。

在添加了适宜的甜味剂、酸味剂的开菲尔与糯米酒的最优配料中,分别添加6组不同配比的稳定剂,充分混匀。各组稳定剂对产品稳定性的结果见表10。

2.5 产品质量检测结果

2.5.1 感官检测结果

色泽:乳白色,均匀一致,有光泽。

组织形态:组织细腻,质地均匀,黏稠适中,无分层及沉淀现象。

滋味和风味:酸甜适中,具有协调的酸奶发酵味和甜酒味,无异味。具有开菲尔奶特有的风味。

2.5.2 理化检测结果

蛋白质2.45%;可溶性固形物13.8%;酸度:82°T;酒度(体积分数)2.05%;总糖9.7%。

2.5.3 微生物指标

细菌总数:3 cfu/L;大肠菌群:30 MPN/100 g;致病菌:未检出。

3 结论

(1)用糊化的糯米接种根霉和酵母菌发酵成含酒精的发酵液,鲜牛乳接种开菲尔发酵剂制成开菲尔,再将两者按一定比例混合后添加甜味剂、酸味剂、稳定剂等辅料进行调配,选择合理的杀菌和保存方式,可以制成营养全面、清凉爽口、酸甜适宜的新型乳酒,为饮料市场增添新成员。

(2)经过试验,开菲尔米酒制作的的优化工艺参

数是:开菲尔:糯米酒为1:0.6,蔗糖添加量为3%、甜赛糖为0.05%,柠檬酸为0.06%、多能饮料乳化稳定剂为0.45%、黄原胶为0.1%(均为质量分数)。

参 考 文 献

[1] 周传云,唐书泽,聂明,等.利用开菲尔粒制备酸豆乳酒的最佳发酵条件[J].食品与发酵工业,2004,30(1):33-35.

[2] Semih Otles Ozlem Lagindi. Kefir; a probiotiz dairy-composition, niutrition and therapeutiz aspects[J]. Pakistan Journal of Nutrition, 2003, 2(2): 54-59.

[3] 张慧敏,李远志.开菲尔的营养成分、保健功能及其产品研究进展[J].现代食品科技,2005,21(4):118-132.

[4] 汪建国.黄酒的营养价值、保健功能及产品创新[J].江苏调味副食品,2004,21(3):10-14.

[5] 周传云.食品卫生微生物学检验[M].长沙:湖南农业大学食品科技系微生物教研室,2005:134-166.

[6] 中华人民共和国国家标准.食品卫生微生物学检验[S]. GB/T. 4789. 1-35, 2003. 北京:中国标准出版社出版,2004. 1.

[7] 张水华,孙君社,薛毅.食品感官鉴评[M].广州:华南理工大学出版社,2003:91-105.

[8] 大连轻工业学院主编.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,2006.

[9] 中华人民共和国国家标准乳与乳制品卫生标准的分析方法,第三篇酸牛乳[S]. GB/T5009. 4-1996. 北京:中国标准出版社,1997: 375-379.