

多菌种混合发酵黑米饮料的研究

(仲恺农业技术学院食品系, 广州 510225) 刘长海

摘 要 研究了以黑米为原料, 通过蒸煮、糖化制得黑米汁, 再接入酵母菌、乳酸菌、醋酸菌共同发酵所得的一种新型发酵无醇饮料。试验表明, 黑米汁发酵的最佳糖度为 12°Bx, pH 为 6.5, 接入菌种的比例为酵母菌:乳酸菌:醋酸菌=0.5:1:2, 接种量为 0.1g/L, 发酵时间为 8~9d, 发酵温度为 33℃。所得发酵液经调配、杀菌便制成了黑米发酵无醇饮料。

关键词 黑米 酵母菌 醋酸菌 乳酸菌 发酵

Abstract A new type nonalcoholic beverage was produced by use of black rice through gelatinization, saccharification and fermentation by yeasts, acetobacter and lactobacillus. The optimal condition of the processes was: substrate 12°Bx, pH 6.0, the proportion of inoculum was yeasts: acetobacter: lactobacillus = 0.5:1:2, the inoculum size was 1%, the fermentation temperature was controlled at 32~34℃ and the fermentation time was 8~9days.

Key words black rice; yeasts; acetobacter; lactobacillus; fermentation

中图分类号: TS261.4*2; TS275.4 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)06-0043-03

黑米营养价值很高, 富含多种维生素和天然黑色素, 八种人体必须氨基酸含量及微量元素的含量明显高于普通大米。因黑米的开发利用具有广阔的市场前景, 近年来受到了国内外的普遍关注^[1~3]。本试验将以黑米和大米为主要原料, 利用生物技术, 采用双酶法糖化, 多菌种混合发酵等一系列工艺过程, 获得一种营养丰富、风味独特、口味纯正、色泽诱人的纯天然无醇^[4]饮品。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

黑米、大米 市售; 产香酵母 AS2.1182 购自中科院广州分院; 乳酸菌 保加利亚乳酸杆菌和嗜热乳酸链球菌 MY9000, 由法国 Rhodia 公司提供; 醋酸菌 AS1.41 购自中科院广州分院。

高压杀菌锅, 恒温培养箱, 恒温振荡器, 超净工作台, 高速离心机。

收稿日期: 2002-11-21

作者简介: 刘长海 (1955-) 男, 副教授, 研究方向: 食品工程, 发酵食品。

1.2 混合菌母的制作

黑米汁→接种纯菌种→发酵培养→菌母

1.3 工艺流程

黑米→筛选(清洗、去杂)→浸泡→高压蒸煮→糖化→过滤→黑米汁→接种菌母→发酵→过滤→杀菌→成品

1.4 分析方法

酒精度的测定 以比重瓶法测定^[5];

糖度的测定 以手提式折光糖度计法测定^[5];

总酸的测定 以碱液滴定法测定^[5];

挥发酸的测定 以蒸馏滴定法测定^[5];

感官评价方法 请有关人士 10 名, 对调配好的成品的滋味、香气、色泽、口感进行评价。

1.5 菌种扩培的条件

将购入的菌种置于冰箱中, 在 4℃ 下保存, 配制各种菌种的培养基, 并在高压灭菌锅中 121℃ 灭菌 30min, 冷却后将菌种接种于培养基上, 并放入恒温培养箱, 依据各菌种所需的温度和时间进行培养, 待菌种生长出来后将其置于冰箱中 4℃ 保存。

1.5.1 醋酸菌 (AS1.41) 的扩培条件 培养基 (固体): 酵母膏药 1g、葡萄糖 3g、95% 酒精 (乙醇) = 2mL、琼脂 2g、CaCO₃ 5g、水 100mL, 121℃ 蒸汽灭菌 30min; 培养基 (液体): 酵母膏药 1g、葡萄糖 1g、95% 酒精 (乙醇) = 2mL、水 100mL、0.1MPa 蒸汽灭菌 30min。醋酸菌接种于上述培养基中, 33℃ 培养 48h。

1.5.2 乳酸菌的扩培条件 保加利亚乳酸杆菌与嗜热链球菌混和种, 由罗地亚公司生产, 菌种是一种直接罐内接种的一次性酸菌种, 它最突出的特点就是其优越的后发酵保持特性。该菌种的发酵达到 pH4.5~4.6 时, 菌种的酸化速度就会减慢, 因此在整个保存期中显示出无可比拟的保持后发酵特性。

称取菌种 0.1g, 加入到 10mL UHT 奶中, 轻轻摇动 5min, 使菌种粉末完全溶解, 然后置于恒温培养箱中, 在 40℃ 下培养 24h。菌种取用后立即重新密封好, 储存于冷冻条件下, 可放置一个月。

1.5.3 酵母菌 (产香酵母 AS2.1182) 的扩培条件 培养基 采用 120mL/L 麦芽汁琼脂培养基, 25℃ 培养 24h。

1.6 混合发酵工艺条件的选择

采用 $L_9(3^3)$ 正交实验。

根据各菌种的最适发酵温度和最适的浓度条件,初定前期发酵温度为 25、28 和 30℃,中后期由于醋酸菌的最适温度为 33℃,所以将发酵温度提升至 33℃,并保持在通风条件下(即将其转入恒温振荡器中)进行发酵。前期属于酵母菌和乳酸菌混合发酵期,发酵时间为 2~3d,中后期属于醋酸菌发酵期,发酵时间约为 5~6d,以酒精含量(乙醇)=2%以下、残糖 3~4°Bx 以下为发酵终点。

2 结果与讨论

2.1 浸米、蒸煮与糖化

为了便于后续加工,要先将黑米浸泡。浸米开始,米膨胀,含水量增加;浸米 4~6h,吸水达 20%~25%;浸米 24h,水分基本吸足。浸米时,米粒表面的微生物利用溶出的糖分、蛋白质、维生素等营养物质进行生长繁殖;浸米 2d 后,浆水微带甜味,从米层深处会冒出小气泡,开始进行缓慢的发酵作用,乳酸链球菌将糖分分解转化成乳酸,浆水酸度慢慢升高;浸米数天后,水面上将出现由皮膜酵母形成的乳白色菌,与此同时,米粒所含的淀粉、蛋白质等高分子物质受到米粒本身存在的酶及微生物分泌的淀粉酶、蛋白酶等的作用而进行水解,其水解产物提供给乳酸链球菌等作为转化的基质,产生乳酸等有机酸,使浸米水的总酸、氨基酸含量增加,总酸可高达 0.5%~0.9%左右,酸度的增加促进了米粒结构的疏松,并随之出现“吐浆”的现象。这些变化与浆水中微生物密切相关。经分析,浆水中细菌最多,酵母次之,霉菌最少。试验表明,浸泡时间过短,黑糯米表皮较硬,不利于糊化和香味的产生;但浸泡时间过长,又会使黑米变质,水层表面会长出一层白色的霉菌。故选定浸米时间为夏季 24h,冬季 36h。本试验采用的是不经粉碎的原料。

称取 0.5kg 黑米,在 121℃高压灭菌锅中进行蒸煮,观察其糊化程度的变化。结果表明,黑米在不同的时间内蒸煮的差别非常明显,时间越长,其蒸煮效果越好,淀粉糊化程度也越高。但考虑到蒸煮所用能源问题和产品的色泽,本试验采用 121℃条件下蒸煮 30min,该条件既能使黑米糊化完全,又不至于浪费太多的能源。

黑米蒸煮后加入糖化酶进行恒温糖化,保持温度在 60℃,期间每隔 2h 对其糖度进行测定。结果表明,随着糖化时间的推移,糖化的速度逐渐减慢,原因是反应底物的减少和产物浓度的增加。在糖度低于 10°Bx 时,糖度急剧上升;当糖度达到 10°Bx 时,所需的时间约为 4h,之后,糖化速度持续减慢,当到达 14°Bx 时,所需的时间约 8h,此时糖化已经基本停

滞,之后虽然糖度还略有上升,但由于反应底物已经基本消耗完全,糖化已基本完成。糖度上升的原因主要是由于水分蒸发而带来的影响,故糖化的时间应为 8h 为宜。

2.2 单菌种的发酵试验

各菌种在不同的糖度条件下有着不同的发酵速度,选择最佳的糖度条件,对于前期发酵时间有着重要的意义。在发酵前期主要是乳酸菌和酵母菌处于主发酵的地位,对糖分的利用也是这两种菌共同发酵的结果,所以本实验只测试了乳酸菌和酵母菌在不同糖度条件下的发酵情况。

将黑米汁煮沸后钝化糖化酶,加入无菌水,分别调整其浓度为 8、10、13、16°Bx,然后分别接入菌母,接种量为 10g/L,发酵温度为 30℃,确定其最佳发酵糖度,结果见表 1、表 2。

表 1 乳酸菌的发酵试验

初糖度(°Bx)	发酵时间(d)				
	1	2	3	4	5
8.0	7.1	5.2	4.0	2.3	1.0
10.0	8.9	7.6	6.0	4.2	1.5
13.0	10.2	7.5	3.4	2.5	2.0
16.0	13.8	11.2	7.6	5.7	2.3

由表 1 可见,乳酸菌的最佳发酵糖度为 13°Bx。

表 2 酵母菌的发酵试验(°Bx)

初糖度(°Bx)	发酵时间(d)				
	1	2	3	4	5
8.0	7.2	6.0	4.7	4.0	1.0
10.0	9.2	6.0	3.5	2.0	2.0
13.0	11.6	8.5	6.8	4.7	2.1
16.0	14.5	11.8	8.2	6.3	2.4

由表 2 可见,酵母菌的最佳发酵糖度为 16°Bx。

故黑米汁的发酵应将糖度调整为 13~16°Bx 之间。为使成品中的刺激性减低(即醋酸含量减低),发酵条件应偏向乳酸发酵,使乳酸菌成为较优势的菌群,因此本试验采用 14°Bx 为黑米发酵初糖度。

2.3 多菌种共生条件的研究

根据单菌种试验,多菌种发酵无醇饮料各代谢产物的期望结果为酒精产量低些,约为酒精(乙醇)=1%左右,酸度高些。为了确定三个菌种混合发酵的最佳条件,进行了正交实验,将各种发酵条件的发酵液调配成饮料,品尝评分,选出最佳发酵参数。感官品质评分标准为:滋味 酸度适中、醇厚 3 分;香气 酵母香及微酸味 3 分;色泽 质地均一、半透明 2 分;口感 口味独特、感觉良好 2 分,满分 10 分。

根据单因素试验结果,选定三因素三水平作正交试验,结果见表 3。

由正交实验结果可知,30℃、pH6.5,接种比例为酵母菌:乳酸菌:醋酸菌=0.5:1:2 是试验范围内三菌种

表3 多菌种共生条件的正交试验

实验号	A 温度(°C)	B pH	C 酵母菌:乳酸菌:醋酸菌	乙醇(%)	总酸(mol/L)	乳酸(mol/L)	醋酸(mol/L)	残糖(°Bx)	口感评分
1	1(25)	1(5.5)	1(1:1:2)	0.425	0.289	0.207	0.082	2.3	6.92
2	2(28)	1	2(0.5:1:2)	0.382	0.296	0.223	0.073	2.5	7.10
3	3(30)	1	3(1:2:2)	0.216	0.297	0.218	0.079	2.0	6.97
4	1	2(6.5)	3	0.203	0.304	0.234	0.070	2.6	6.74
5	2	2	1	0.358	0.297	0.221	0.076	2.4	6.89
6	3	2	2	0.263	0.301	0.231	0.070	2.1	7.26
7	1	3(7.5)	2	0.192	0.312	0.247	0.065	2.3	7.03
8	2	3	3	0.113	0.325	0.262	0.063	2.5	6.84
9	3	3	1	0.260	0.306	0.232	0.074	2.0	7.03
K ₁	7.00	7.00	6.98						
K ₂	6.94	6.93	7.13						
K ₃	7.09	6.97	6.85						
R	0.15	0.07	0.28						

混合发酵的最佳条件,主要影响因素是菌种比例,其次是发酵温度,pH影响不大。

2.4 发酵液的调配

发酵液在发酵完全之后,酒精度已降至乙醇=1%以下,故无需考虑,而发酵酸度已上升到0.3mol/L左右。要使成品具有较适合的口感,必须加入水进行稀释,在加水的同时加砂糖,以调配酸甜比,淡化其涩味,增加其适口感。

试验表明,加水量为150mL、加糖量为15g时成品糖酸比适中,香气醇厚,并且有发酵香气及其微酸味,色泽呈紫红色、风味独特的发酵无醇饮料。

通过以上工艺制成的新型发酵无醇饮料呈紫红色,泡沫洁白、细腻,不仅保留了黑米中大量人体必需氨基酸和维生素,而且在发酵过程中产生了具有保健作用的乳酸、醋酸、葡萄糖酸等有机酸,使成品

口味纯正,风味独特,营养丰富,具有很好的保健功能。

参考文献

- 1 苏世彦.双歧杆菌发酵黑米酸乳的研究.广州食品工业科技,1999,14(1):21~23
- 2 黄锦华,于学文.黑米发酵无醇饮料的研究.湖北民族学院学报,2001,19(3):14~17
- 3 刘颖,陈丽红,袁松梅.女士黑米低醇饮料酒的研究.酿酒,2000,136(1):84~85
- 4 刘晓兰,王欣得,刘长海,等.固定化共生发酵无醇饮料的研究.微生物学通报,1996,23(1):15~18
- 5 蔡定域.酿酒工业分析手册.北京:中国轻工业出版社,1988.106~291
- 6 奚惠萍.中国果酒.北京:中国轻工业出版社,1995.289~299

(上接第42页)

2 结果与讨论

2.1 稳定剂的研究

生产的百合饮料在放置一定时间后,由于百合含有复杂的组成成分,包括淀粉、糖类、蛋白质,逐渐产生沉淀物,虽然它不影响产品的成分,但影响产品感官质量。采用离子型高分子化合物和天然亲水型的高分子化合物,制成四种混合稳定剂,加入到百合保健饮料中,制成百合保健饮料,在室温条件下保存90d。结果表明,1#混合稳定剂效果最好,在90d内未见沉淀,综合口感好,2#、3#在10d后开始逐渐分层;4#在5d后开始逐渐分层。

2.2 产品质量指标

2.2.1 感官指标

色泽 淡乳白色,略带浅黄的均匀乳浊液。

滋味及气味 酸甜适口,略带轻微的苦味,有百合汁独特的清香味,口感较好。

2.2.2 理化指标 可溶性固形物 $\geq 6\%$,总酸度 $\geq$

0.05%,总糖 $\geq 6\%$,铝(以Al计) $\leq 1.0\text{mg/L}$,砷(以As计) $\leq 0.5\text{mg/L}$,铜(以Cu计) $\leq 10\text{mg/L}$ 。

2.2.3 微生物指标 菌落总数 $\leq 100\text{个/mL}$,大肠菌群 $\leq 6\text{个/100mL}$,致病菌未检出。

3 结论

混合稳定剂的最佳配方为0.1%琼脂、0.1%海藻酸钠、0.02%CMC,以此混合稳定剂生产的百合饮料,不需淀粉酶对百合中的淀粉进行降解处理,减化了百合饮料的生产过程,在不影响百合饮料品质和外观的前提下,能尽可能保持百合原有的自然风味和营养成分。

参考文献

- 1 杨天宝,等.百合汁饮料研制.食品科技,2000(1):48
- 2 中华人民共和国药典(二部).1995.816~820
- 3 郑建仙.功能性食品.中国轻工业出版社,1999.79~89
- 4 刘成楠.百合多糖降血糖功能研究.食品科学,2002,23(6):113~114