

大豆酸乳发酵工艺的优化

陈倩, 吴琼, 蒋予箭

(浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310012)

摘要:以豆浆为原料, 比例为1:1的保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*)和嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)为发酵菌种进行大豆酸乳的发酵工艺的研究。采用提高牛奶中豆浆的比例驯化发酵菌种, 使菌种逐步适应豆浆中的发酵环境。以接种量、发酵时间、营养因子、豆浆固形物含量进行4因素3水平的正交试验, 采用模糊综合评定法进行感官打分。试验得出最佳发酵工艺条件为: 接种量3%、发酵时间为6 h、胡萝卜汁的添加浓度为15%、豆浆固形物含量为7°Bx。

关键词:大豆酸乳; 模糊评定; 最佳工艺

中图分类号: TS252.54

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.01.0116

The Optimization of Soy Yogurt's Fermented Processing

CHEN Qian, WU Qiong, JIANG Yu-jian

(School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract: Using soymilk as raw materials and *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* (1:1) as starter to optimize the best fermentation process of soy yogurt. By improving the proportion of the soymilk during the fermentation, the fermented bacteria could gradually adapt to the environment in pure soymilk. The four factors and three levels of orthogonal experiment was adopted, four factors including inoculation amount, fermentation time, nutritional factors and soymilk solids content. Fussy mathematical evaluation method was used to evaluate the sensory score. The optimum fermentation conditions were as follows: the inoculation was 3%, fermentation time was 6 hours, addition of carrot juice concentration was 15% and milk solids content was 7°Bx.

Keywords: Soy yoghurt; Fussy evaluation; Fermentation; Optimum fermentation

大豆中含有约40%的蛋白质, 20%的脂肪, 27%的碳水化合物, 多种维生素和矿物质^[1], 豆浆中含有大豆异黄酮, 经特定菌种发酵后, 活性大豆异黄酮含量增加, 因此在预防癌症、心血管疾病以及缓解更年期症状等方面有非常好的作用^[2]。大豆酸乳是大豆制浆后, 加入少量奶粉或新鲜牛奶及某些可供益生菌利用的糖类作为发酵促进剂, 经益生菌发酵而成^[3]。它既保留了豆浆中的营养成分, 又利用益生菌作用使酸豆奶有醇香、清爽的酸香味^[4]。

乳酸菌在以大豆为主要原料的介质中的成长特性较差, 发酵后的酸度和活菌数都不及酸牛奶, 因此直接影响了大豆酸乳的产品质量^[5]。当前大豆酸乳的研究方向多集中于探究发酵菌种、减少豆腥味以及发酵工艺的改进。本研究利用经驯化的保加利亚杆菌和嗜热链球菌作为发酵菌种, 探究大豆酸乳的最佳生产工艺, 减少豆腥味, 生产出酸度适宜, 风味较好的大豆酸乳。

1 材料与方法

1.1 材料

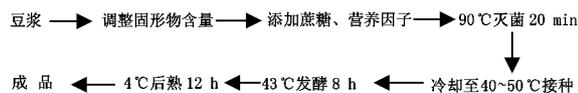
豆浆(祖明豆制品有限公司); 白砂糖(食品

级); 脱脂奶粉; 菌种: 保加利亚杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)及嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)冻干粉(哈尔滨美华生物技术有限公司); 番茄, 胡萝卜; 蔗糖, 果糖, 乳糖, 低聚果糖(食品级)。

电子天平(梅特勒托利多称重设备系统有限公司)、电子分析天平(奥豪斯国际贸易有限公司)、721分光光度计(上海锦屏仪器仪表有限公司)、pHS-3C型酸度计(上海雷磁仪器厂)、SPX-250B-Z型生化培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、BCD-206YH B型海尔电冰箱(青岛海尔股份有限公司)、YXQ-LS-S II型立式压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

1.2 试验设计

1.2.1 大豆酸乳发酵工艺



1.2.2 驯化菌种与未驯化菌种对发酵酸度的比较

采用提高牛乳中豆浆比例和传代驯化对保加利亚杆菌和嗜热链球菌进行驯化^[6]。将单菌种接种至

完全为牛奶的环境中发酵,利用发酵成品作为菌种来源,再接种至牛奶:豆浆为 9:1 的环境中培养。依次降低牛奶的比例为 8:2、7:3 直至牛奶:豆浆比例为 0:10,保加利亚杆菌的最终比例为 2:8;每次接种前在同一比例传代至少 2 次,直至乳酸菌稳定。经过驯化与未经驯化的菌种同时接入相同接种量于豆浆中发酵,测定发酵完成时大豆酸乳的酸度,比较两者的酸度差别。

1.2.3 菌种接种量对大豆酸乳的影响 本研究选择的发酵菌种为嗜热链球菌和保加利亚杆菌,通过接种驯化后的菌种进行发酵,但是菌种的接入量并不是越多越好^[7]。接种量过少,发酵酸度低;接种量过高,产酸过多,口感酸涩。本试验选择的接种量分别为 2%、3%、4%、5%,通过酸度与感官评分确定最佳接种量。

1.2.4 豆浆浓度对大豆酸乳的影响 豆浆的固形物含量对大豆酸乳的感官品质有较大的影响,并且通过与发酵时间、接种量之间的互相影响决定大豆酸乳的最终品质。豆浆固形物含量低,即蛋白质含量相对较低,凝固时间较长且质地松散;发酵时间过长则质地坚硬,时间过短,则酸度太低。试验选择的豆浆固形物含量分别为 6、7、8、9°Bx。

1.2.5 发酵时间对大豆酸乳的影响 发酵时间是大豆酸乳发酵的基本参数。本试验选择的发酵时间为 4、6、8、10 h。通过对大豆酸乳的酸度与感官得分确定最佳发酵时间。

1.2.6 营养因子的添加对大豆酸乳的影响 大多数乳酸菌是生长因子异养型微生物,需要从外界提供其维生素等多种生长因子,它在促进其生长方面起着重要的作用^[8]。现已证明各种低聚糖对乳酸菌具有促进作用^[9]。因此营养因子的添加对大豆酸乳的最终酸度影响显著。本研究选择的营养因子为胡萝卜汁、西红柿汁以及低聚果糖,制备浓度分别为 5%、10%、15% 和 20% 的胡萝卜汁和番茄汁,115℃ 灭菌 10 min,添加量为 3%;低聚果糖添加量分别为 0.5%、1%、2%、3%。通过酸度与感官得分确定最佳营养因子以及浓度。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 酸豆乳的酸度 采用国标 GB5413.34-2010 法,用浓度为 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 标准溶液进行滴定,以滴定酸度(°T)表示。

1.3.2 方法精密度试验 取同一批相同条件发酵的大豆酸乳样品 8 份,测定其酸度,确定标准偏差和变异系数。

1.3.3 感官品评 邀请 10 位具有一定专业素养的人员组成感官评价小组对随机编号的酸豆乳样品的色泽、滋味、气味和组织状态进行评估打分,满分为 100 分。

正交试验结果的感官评定采用模糊数学法^[11],减少感官评定的主观因素。以大豆酸乳的色泽、滋味、气味、组织状态为评分标准,评语集为好、较好、一般、较差、差。为得到模糊综合评判总分,设定感官特殊性:好为 90 分,较好为 80 分,一般为 70 分,较差为 60 分,差为 50 分。权重为 0.15,0.3,0.3,0.25。建立这四个单因素矩阵,进行模糊综合评分分析。模糊综合评判集为 $B_i = W \times R$ 其中 W 为权重集, R 为模糊矩阵。

根据产品的色泽、滋味、气味、组织状态以及有无杂质对酸豆乳进行感官评分,评定指标如下:

表 1 酸豆乳感官评分标准

项目 Item	评分标准 Evaluation criteria	分值 Score
色泽 Color	色泽均匀,成乳白色或微黄色,有光泽	10~15
	色泽较深且均匀	5~10
	色泽较暗且不均匀	0~5
滋味 Taste	口感细腻圆润,酸度适宜柔和	20~30
	口感较好,质地较细腻,乳酸味稍高或稍低	10~20
	颗粒感较重,过酸或过甜	0~10
气味 Smell	有清香的乳酸味,或者微微的豆香味	20~30
	可辨识的乳酸香味,有一定的豆腥味	10~20
	豆腥味严重,几乎无乳酸清香味	0~10
组织状态 Texture	质地细滑,无乳清析出、粘稠度合适	20~25
	质地较细滑,有少量乳清析出,粘稠度良好	10~20
	质地粗糙有较多乳清析出,有颗粒感	0~10

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 及 Origin 8.0 进行各项理化指标的统计分析与数据处理。

2 结果与分析

2.1 菌种驯化前后发酵大豆酸乳的酸度变化

利用 1.2.1 方法对发酵菌种进行驯化工作,选择豆浆固形物含量为 8°Bx,加入 8% 蔗糖,接种量为 4%,发酵时间为 8 h。通过测定接种驯化菌种的酸度与对照组的酸豆乳(接种未经过驯化的菌种)酸度来评定驯化菌种的功效。由图 1 可知,未经驯化的菌种活性较高,在发酵前 4 h,产酸速度较快;经过驯化发酵的菌种前期产酸较慢产酸速度减缓甚至不再产酸;经过驯化的菌种,随着发酵时间的增长继续产酸,最终酸度可达 58.90 ± 0.93°T,而未经过驯化的菌种的最终酸度为 50.4 ± 0.87°T。可见,而未经过驯化的菌种,在蔗糖被逐渐消耗后,无法适应豆浆的发酵环境,因而产酸量与酸度比驯化菌种发酵的大豆酸乳的酸度低。取 8 份上述样品进行精密度检测,酸度分别为 57.24、56.80、58.16、57.65、57.62、57.37、56.47 和 58.60°T,标准偏差(SD)与相对标准偏差(RSD)分别为 0.69 和 1.20%,RSD < 2%,测

定的酸度值精密度较好。

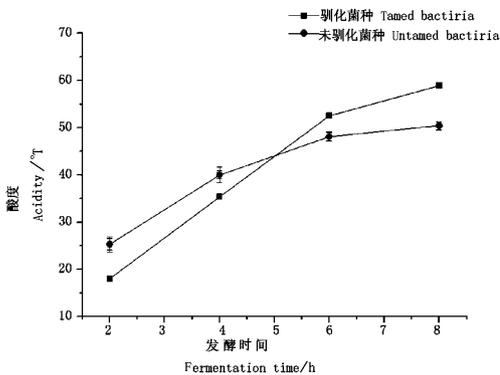


图1 驯化菌种接种发酵对酸豆乳酸度的影响

Fig.1 The influence of inoculating taming starter on the acidity of soy yogurt

2.2 豆浆浓度、接种量、发酵时间及营养因子对大豆酸乳的影响

2.2.1 豆浆浓度 由表2可知,不同豆浆浓度对酸度有一定的影响,对组织状态影响较大。当豆浆固形物含量为7°和8°Bx时,组织状态完整,乳清析出少,发酵的酸豆乳酸度达到较为理想的酸度,分别为58.0和58.3°T。从感官得分上看,固形物含量为7°Bx时发酵的酸豆乳质地顺滑,口感较好,因此豆浆固形物含量为7°Bx最适合发酵大豆酸乳。

表2 不同豆浆固形物含量对酸豆乳的酸度以及组织状态的影响

Table 2 The effect of different soymilk solids content on the organization of the state and the acidity of soymilk yogurt

豆浆固形物含量 Soymilk solid content/°Bx	酸度 Acidity/°T	感官评分 Sensory score
6	54.8	73.1
7	58.0	78.8
8	58.3	73.9
9	53.2	68.7

2.2.2 接种量 由图2可以看出,接种量由2%增加至5%时,随着菌种数量的增多,产酸也相对增加;接种量为3%~5%时,酸度较为理想,分别达到58.3,58.6,61.3°T。当接种量为5%时,发酵的酸豆乳酸涩味较重,口感不柔和,感官得分较低,因此接种量为3%、4%时,发酵的酸豆乳酸度与口感较合适。

由图3可知,经驯化的菌种能适应豆浆的发酵环境,在发酵的4~6h酸度增加幅度快,发酵6h酸度达到57.3°T;发酵6~8h,此时菌种能继续发酵的营养物质变少,pH降低,对乳酸菌有抑制作用,因此发酵速度减慢,发酵8h酸度为58.6°T;发酵8~10h,此时菌种几乎不再产酸,可利用发酵的营养物质降至最低。从大豆酸乳的感官评分分析,发酵时

间为6h酸豆乳的口感较8h更加细腻,因此发酵时间6h为合适的发酵时间。

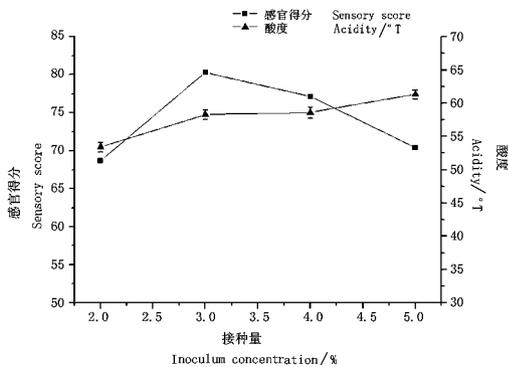


图2 不同接种量对大豆酸乳的感官得分与酸度的影响
Fig.2 The effect of different inoculation on the sensory score and the acidity of soy yogurt

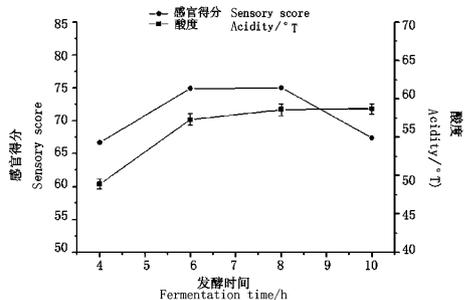


图3 发酵时间对大豆酸乳的感官得分与酸度的影响
Fig.3 The influence of fermentation hours on the sensory score and the acidity of soy yogurt

2.2.3 低聚果糖、胡萝卜汁及西红柿汁浓度 由图4和图5可知,营养因子的添加对酸豆乳的酸度均有提高作用,对感官的影响主要是由于营养因子促进菌种生长,使得酸豆乳的乳酸风味更突出,且最大酸度与最高感官得分所对应的营养因子添加量高度一致;空白(未添加营养因子)对照酸度为56.8°T,低聚果糖在添加量为2%时,酸度增至62.8°T。西红柿汁浓度增加至15%,大豆酸乳的酸度增至66.7°T;胡萝卜浓度增加至10%时,酸度增至68.3°T。

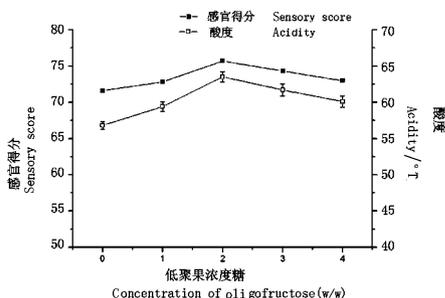


图4 不同低聚果糖浓度对大豆酸乳的感官得分与酸度的影响

Fig.4 The influence of different concentrations of oligofructose on the sensory score and the acidity of soy yogurt

低聚果糖对酸度的影响在 3 种营养因子中最小,西红柿汁与胡萝卜汁的两种营养因子对大豆酸乳的酸度均有明显提高作用。15% 的西红柿汁与

10% 的胡萝卜汁对酸度的影响差别不大,浓度较高的西红柿对口感的影响较大,因此本试验选用胡萝卜汁作为营养因子。

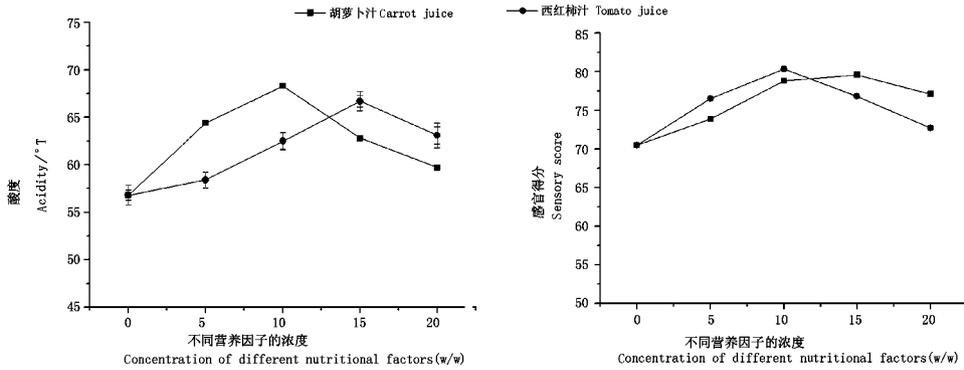


图 5 不同浓度营养因子对大豆酸乳酸度及感官得分的影响

Fig. 5 The influence of different concentrations of nutritional factors on acidity and sensory score of soy yogurt

2.3 大豆酸乳最佳发酵工艺参数的确定

用四因素三水平正交试验以专业品评小组的感官评分指标,确定大豆酸乳的最佳发酵工艺。因素和水

结合单因素试验结果,选择接种量、豆浆浓度、发酵时间,以及营养因子(胡萝卜汁)四个因素,采

平的设计见表 3。

表 3 正交试验因素水平表

Table 3 Orthogonal test factors and levels

水平 Level	因素 Factor			
	接种量 Inoculation amount/%	豆浆固形物含量 Soymilk solid content/°Bx	发酵时间 Fermentation time/h	营养因子浓度 Nutritional factor concentration/%
	A	B	C	D
1	3	6	4	5
2	4	7	6	10
3	5	8	8	15

由 2.3 的正交试验设计得出 9 种发酵工艺,采用模糊感官评定法进行实验结构分析,最后通过模

糊感官得分确定工艺的优劣,结果详见表 4。

表 4 不同工艺的大豆酸乳感官评价表

Table 4 sensory evaluation of different processing of soy yoghurt

工艺 Processing	色泽 Color					气味 Smell				
	好 Better	较好 Good	一般 Common	较差 Poor	差 Bad	好 Better	较好 Good	一般 Common	较差 Poor	差 Bad
	1	1	6	3	-	-	3	6	1	-
2	4	6	-	-	-	1	3	6	-	-
3	3	7	-	-	-	8	2	-	-	-
4	1	8	1	-	-	1	6	3	-	-
5	5	5	-	-	-	4	5	1	-	-
6	-	8	2	-	-	-	2	6	2	-
7	2	7	1	-	-	-	2	5	3	-
8	3	6	1	-	-	-	1	7	2	-
9	3	5	2	-	-	-	1	7	2	-

续表 4

工艺 Processing	色泽 Color					气味 Smell				
	好 Better	较好 Good	一般 Common	较差 Poor	差 Bad	好 Better	较好 Good	一般 Common	较差 Poor	差 Bad
1	-	-	8	1	1	-	-	6	2	2
2	2	6	2	-	-	6	4	-	-	-
3	2	7	1	-	-	3	5	2	-	-
4	-	6	4	-	-	-	4	6	-	-
5	-	-	8	2	-	-	5	5	-	-
6	-	-	6	2	2	-	4	4	2	-
7	-	-	7	2	1	-	2	6	2	-
8	-	-	5	3	2	-	-	8	2	-
9	-	-	8	2	-	1	6	3	-	-

以工艺 1 为例,得到它的模糊矩阵为

$$R_1 = \begin{bmatrix} 0.1 & 0.6 & 0.3 & 0 & 0 \\ 0 & 0.3 & 0.6 & 0.1 & 0 \\ 0 & 0 & 0.8 & 0.1 & 0.1 \\ 0 & 0 & 0.6 & 0.2 & 0.2 \end{bmatrix}$$

所以工艺 1 的大豆酸乳总得分为(0.015,0.18,

$$0.615,0.11,0.08) \times \begin{bmatrix} 90 \\ 80 \\ 70 \\ 60 \\ 50 \end{bmatrix} = 69.5$$

因此 $B_1 = W \times R_1 = (0.15,0.3,0.3,0.25) \times R_1 = (0.015,0.18,0.615,0.11,0.08)$

同理可得其他工艺的模糊感官得分。

因为设定的综合模糊感官矩阵为 $\begin{bmatrix} 90 \\ 80 \\ 70 \\ 60 \\ 50 \end{bmatrix}$

表 5 大豆酸乳正交试验结果

Table 5 The orthogonal test results of soy yogurt

试验号 Test number	接种量 Inoculation amount/%	豆浆固形物含量 Soy milk solid content/°Bx	发酵时间 Fermentation time/h	营养因子浓度 Nutritional factor concentration/%	感官评分 Sensory score
1	1	1	3	2	69.50
2	1	2	1	3	80.60
3	1	3	2	1	77.70
4	2	1	1	1	76.70
5	2	2	2	2	76.20
6	2	3	3	3	69.60
7	3	1	2	3	70.15
8	3	2	3	1	68.90
9	3	3	1	2	72.75
K ₁	75.93	72.12	69.33	72.82	
K ₂	74.17	75.23	76.68	73.45	
K ₃	70.60	73.35	74.68	74.43	
极差 R	5.33	3.12	7.35	1.61	

表 6 大豆酸乳正交试验方差分析

Table 6 Orthogonal design variance analysis for the fermentation of soy yoghurt

因素 Factors	偏差平方和 Square of deviance	自由度 DOF	F 比 Ratio of F	显著性 Significance
接种量 Inoculation amount	44.287	2	1.000	
豆浆固形物含量 Soy milk solid content	14.782	2	0.334	
发酵时间 Fermentation time	86.645	2	1.956	*
营养因子浓度 Nutritional factor concentration	3.982	2	0.090	
误差 Error	44.29	2		

从表 5 的极差分析可以得出,大豆酸乳发酵过程中影响其感官品质的主次顺序为 C > A > B > D,即发酵时间 > 接种量 > 豆浆固形物含量 > 营养因子(浓度)。发酵时间对大豆酸乳的最终感官品质影响具有显著性。发酵时间短,产酸不彻底,凝固时组织状态不稳定,弹性较差。发酵时间过长,导致酸豆乳组织状态僵硬,并且析出水分,导致分层;接种量低,代谢产酸较少导致产品失去乳酸菌产品的特点及风味。通过表 6 的方差分析得出最优发酵组合为 A₁B₂C₂D₃,即最佳发酵条件为:接种量为 3%、豆浆固形物含量 7°Bx、发酵时间为 6 h、添加营养因子即胡萝卜汁的浓度为 15%。并在此最佳条件下进行验证试验,3 次平行试验感官评分平均值为 82.98 分。

3 结 论

以提高牛乳中豆浆比例以及传代驯化法对发酵菌种进行驯化实验,将驯化完成的菌种数量比为 1:1 接入豆浆中发酵,酸度由 48.6°T 增加至 58.9°T,驯化过程中单菌适应了豆浆发酵环境,菌种活性增加,酸度提高。因此菌种驯化是大豆酸乳发酵过程中重要的步骤。通过模糊感官评判法对感官结果进行分析,减少了主观因素对结果的影响,弥补了传统感官评价的部分缺陷,得到的感官结果更具科学性。采用 L₉(3⁴)正交试验优化大豆酸乳的发酵工艺,得出最佳发酵工艺:豆浆固形物含量 7°Bx、发酵时间 6 h、接种量为 3%、营养因子的添加量为 15% 胡萝卜汁。此时的感官得分为 82.98。发酵过程中菌种的活性不稳定,因此需进一步研究菌种活力的稳定与提高,才能进一步满足工业化大规模的生产。

参考文献

[1] 卢超,艾初香,李保同,等.一种替代牛奶的发酵型酸奶-发酵酸豆奶的研制[J].食品工业科技,2009(8):242-244.(Hu C,

Ai C X, Li B T, et al. Development of zymolytic yoghurt to replace milk - zymolytic soybean milk[J]. Science and Technology of Food Industry,2009(8):242-244.)

[2] Young H P, Tung C L, Young - Chul L. Enrichment of bioactive isoflavones in soy milk fermented with β - glucosidase - producing lactic acid bacteria[J]. Food Research International, 2005,38:551-559.

[3] 苗玉志,郭应龙.红曲酸豆奶制作工艺条件的优化及稳定性研究[J].食品工业,2008(1):35-38.(Miao Y Z, Wu Y L. Optimization processing condition and research on stability of soybean yoghurt of *Monascus pigment*[J]. The Food Industry,2008(1):35-38.)

[4] 高雪丽,梁保安.酸豆奶的研究现状及展望[J].农产品加工,2009(12):59-60.(Gao X L, Liang B A. Research situation and prospects of sour soy milk[J]. Innovative Edition of Farm Products Processing,2009(12):59-60.)

[5] 李里特.大豆加工与利用[M].北京:化学工业出版社,2003.(Li L T. The processing and application of soybean[M]. Beijing: Chemical Industry Press,2003.)

[6] 叶淑红,何连芳,张彧,等.乳酸菌的发酵条件及其对发酵胡萝卜汁风味的影响.[J].食品学报,2005,26(5):127-129.(Ye S H, He L F, Zhang Y, et al. Study on *Lactobacillus* fermentation conditions and effects on flavor of fermented carrot juice[J]. Food Science,2005,26(5):127-129.)

[7] 唐雨萌,陈洁,傅学彪,等.酸豆乳发酵菌种的驯化研究[J].食品工业科技,2012,61(2):185-187.(Tang Y M, Chen J, Fu X B, et al. Study on taming of the starter in soya - yogurt production[J]. Science and Technology of Food Industry,2012,61(2):185-187.)

[8] 贾士杰,生庆海.发酵乳及新型发酵剂的研究概述[J].中国奶牛,2000(3):45-48.(Jia S J, Sheng Q H. Fermented milk and research overview of the new type of starter cultures[J]. China Dairy Cattle,2000(3):45-48.)

[9] 杨洁彬.乳酸菌:生物学基础及应用[M].北京:中国轻工业出版社,1996:45-48.(Yang J B. Lactic acid bacteria: Biological basis and application[M]. Beijing: China Industry Press,1996:45-48.)

[10] 魏永义,王琼波,张莉,等.模糊数学法在食醋感官评定中的应用[J].中国调味品,2011,36(2):87-88,120.(Wei Y Y, Wang Q B, Zhang L, et al. Application of fuzzy mathematics in sensory assessment of vinegar [J]. China Condiment, 2011, 36(2):87-88,120.)