

## 凝固型豆酸奶发酵菌种的选择

杨林林<sup>1</sup>, 常忠义<sup>1</sup>, 高红亮<sup>1</sup>, 刘巧妮<sup>1</sup>, 向汝发<sup>2</sup>, 杨晓娟<sup>1</sup>

(1. 华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062; 2. 上海高更食品科技有限公司, 上海 200062)

**摘要:**以大豆为主要原料, 浸泡磨浆, 对发酵的凝固型豆酸奶进行了菌种选择。选择出3种发酵菌种进行菌种复配并确定了培养条件和培养基成分。结果表明: 乳酸乳球菌1#、2#和3#菌种发酵的豆酸奶好于普通酸奶菌种保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌, 并且1#、2#和3#菌株最佳配比为5:3:2; 发酵温度30℃, 发酵时间10 h; 通过 $L_9(3^3)$ 正交试验确定发酵豆酸奶培养基成分: 豆水比1:5, 葡萄糖4%, 蔗糖5%。

**关键词:** 酸奶; 乳酸菌; 发酵; 感官评定

**中图分类号:** TS252.54

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-9841(2011)02-0290-04

## Selection of Starters for Solidifying Soy-yogurt

YANG Lin-lin<sup>1</sup>, CHANG Zhong-yi<sup>1</sup>, GAO Hong-liang<sup>1</sup>, LIU Qiao-ni<sup>1</sup>, XIANG Ru-fa<sup>2</sup>, YANG Xiao-juan<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062; 2. Shanghai Gaogan Foods Science and Technology Co., Ltd. Shanghai 200062, China)

**Abstract:** Using soybeans as raw material, selection of starters of soy-yogurt and fermentation conditions were investigated in this paper. Sensory evaluation and pH value, titratable acidity, viscosity and water-holding capacity were applied as standards. The results showed that soy-yogurt fermented by three kinds of *Lactococcus lactis* we chose were better than *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophils*. And the best ratio of 1#:2#:3# was 5:3:2, the fermentation temperature was 30℃ and fermentation time was 10 h. The optimal fermentation conditions achieved through orthogonal experiments was soybean: water 5:1, 4% glucose and 5% sucrose.

**Key word:** Yogurt; Lactic acid bacterial; Fermentation; Sensory evaluation

大豆具有很高的营养价值, 蛋白质含量高达40%, 碳水化合物达25%, 脂肪含量达18%, 而且大豆蛋白质中含有人体需要的8种必需氨基酸且较平衡, 食用后较动物蛋白更易为人体消化吸收<sup>[1-2]</sup>。由此可见, 以大豆为原料生产加工大豆制品具有广阔的开发前景。大豆酸奶又称为植物性酸奶, 是豆浆深加工产品中的发酵类制品, 大大延长了豆浆的保质期。与动物性酸奶相比, 大豆酸奶最突出的优点是无胆固醇, 同时适合于乳糖不耐症患者食用。大豆中还含有抗致癌作用的决定性成分胰蛋白酶抑制剂和异黄酮<sup>[3-5]</sup>。

国内外已有研究人员利用大豆代替牛奶制作大豆酸奶, 所利用的菌种大多数是保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌<sup>[6-7]</sup>, 但是利用乳酸乳球菌制作豆酸奶的研究还鲜有报道。

现以大豆为原料, 研究了3种乳酸乳球菌亚种发酵豆酸奶的最佳配比及发酵培养基成分。所研

制的产品呈均匀一致的淡黄色, 质地光滑、滋味纯正、香气浓郁、口感细腻、无不良发酵气味。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与主要设备

1.1.1 材料 大豆: 市售, 籽粒饱满, 光亮无霉变; 菌种: 乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*) 1#, 2#, 3#, 实验室保藏; 4#为保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌2:1混合菌, 购自法国罗地亚公司。发酵剂培养基: 酪蛋白胨1%, 酵母膏0.5%, 葡萄糖0.5%, 氯化钠0.5%, pH 7.2。基础培养基: 豆浆, 蔗糖, 葡萄糖。

1.1.2 主要设备 豆浆机, 均质机, 高压灭菌锅, DELTA320 pH计, 721型分光光度计, TDL-5型离心机, Brookfield粘度计。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 发酵剂的制备 选择发酵剂培养基, 在无菌条件下, 接种1% (v/v) 甘油保藏的乳酸乳球菌菌

收稿日期: 2010-11-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700064)。

第一作者简介: 杨林林(1986-), 女, 在读硕士, 研究方向为食品生物化学。E-mail: yllin329@yahoo.cn。

通讯作者: 高红亮(1973-), 男, 副教授, 从事微生物与食品生物化学研究。E-mail: hlgao@bio.ecnu.edu.cn。

种发酵液,在培养基中 30℃ 培养至  $OD_{600}$  达到 0.7,连续反复传代 3 次,一般活力在 0.7~1.15 即可使用。

**1.2.2 发酵酸豆奶的制备** 精选成熟度好的大豆,豆水比为 1:3,用 0.5%  $NaHCO_3$  溶液在室温浸泡 10 h 后用清水充分冲洗,以 1:5 的豆水比磨浆,用 200 目滤布过滤除渣后,迅速煮沸灭酶 5 min,以除去大豆的腥味和涩味。将豆乳冷却至 65℃ 左右,加入葡萄糖,白砂糖等充分搅拌均匀。将混合液在 20~25 MPa 压力下进行 2 次均质,115℃ 杀菌 15 min,自然冷却至 30℃ 左右,接入 3% 的发酵剂,30℃ 发酵 9 h。在 4℃ 冷藏 24 h 进行发酵后熟,使产品更加细腻,风味更加柔和。

### 1.3 检测方法

**1.3.1 pH 值测定** 用酸度计进行测定<sup>[8]</sup>。

**1.3.2 滴定酸度测定** 采用浓度为 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液滴定酸度(°T)<sup>[8]</sup>。

**1.3.3 持水力的测定** 以离心管取待测样 5 mL,测定样重  $W_0$  后放入离心机,以 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 30 min,取出离心管后静置 10 min,除去上清液,测残余物的重量  $W$ 。酸奶持水力按以下公式计算<sup>[9]</sup>:

$$\text{持水力}(\%) = (W/W_0) \times 100\%$$

**1.3.4 表观粘度的测定** 采用 Brookfield 粘度计,根据测定的粘度范围选择转子为 S64,设定转速为 10 r·min<sup>-1</sup>,测定温度为 20℃,时间为 30 s<sup>[10]</sup>。

**1.3.5 感官指标评定** 酸奶成熟后,邀请 10 位有品尝经验的人对各试验产品从组织状态、口感、滋味、色泽和风味 5 个方面进行评分。产品评分采用 10 分制,取平均值作为产品的最后得分。

## 2 结果与分析

### 2.1 三种菌种对豆酸奶发酵的影响

不同菌种对豆酸奶发酵过程 pH 和酸度的影响如图 1 和 2 所示。3 种乳酸菌菌种发酵的豆酸奶的 pH 值和滴定酸度在相同时间内变化幅度小于普通酸奶菌种 4#,其中 3#菌种发酵的豆酸奶体系中 pH 降低的最快,其次是 2#菌种,但是 2#菌种和 1#菌种相差不大。有研究表明,乳酸菌发酵达到发酵 pH 和滴定酸度终点所需要的时间长于牛乳发酵终点<sup>[11]</sup>。3 种乳酸菌菌种在 9 h 时都达到发酵终点 pH(4.35±0.05)。同时,3#菌种发酵的豆酸奶体系中酸度增加的最快,到 9 h 滴定酸度达到 65°T;2#,1#也都达到 60°T 左右,4#菌种在 5 h 达到发酵终点。

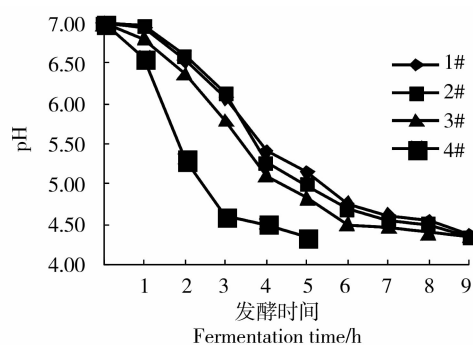


图 1 不同发酵剂发酵的豆酸奶体系 pH 变化曲线

Fig.1 Changes of pH during fermentation with different *Lactococcus lactis*

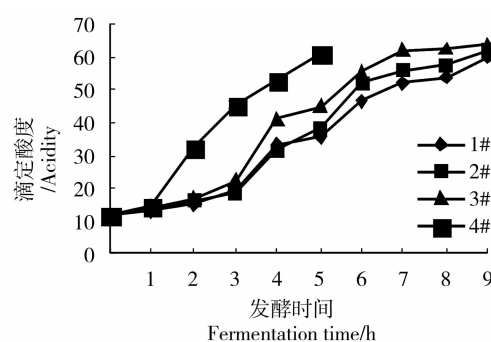


图 2 不同发酵剂发酵的豆酸奶体系滴定酸度变化曲线

Fig.2 Changes of titratable acidity during fermentation with different *Lactococcus lactis*

发酵好的豆酸奶感官评定结果如表 1 所示。4 种菌种发酵的豆酸奶都凝固块均匀,无乳清或少量乳清析出。色泽均匀呈淡黄色。3#菌种豆酸奶的口感、滋味和香气都好于 2#和 1#菌种。综合感官评定结果,1#,2#,3#菌种发酵豆酸奶好于普通酸奶、4#混合菌种的发酵豆酸奶。因此,进行 3 种乳酸乳球菌复配试验。

表 1 不同发酵剂发酵的豆酸奶感官评价结果

Table 1 Sensory evaluation of soy-yogurt fermented by different *Lactococcus lactis*

菌种	组织状态	口感	滋味	色泽	香气	平均分
Strain	Texture	Taste	Flavor	Color	Aroma	Average score
1#	7.0	5.0	6.0	8.0	6.0	6.4
2#	7.0	6.0	7.0	8.0	6.7	6.9
3#	7.0	7.0	8.0	8.0	7.3	7.5
4#	7.0	6.5	4.5	8.0	5.5	6.3

从表 2 可知 1#,2#,3#菌种发酵的豆酸奶粘度逐渐增大,都已经为凝固型豆酸奶。保水性 2#>1#>3#,而且这 3 种菌种的保水性接近或者大于 98%。发酵的凝固型豆酸奶的硬度呈蛋羹状,较坚硬,甚至将盛有酸奶的瓶倒置,凝块亦不破碎或不

落下;酸奶无乳清分离或只有少量乳清析出。因此,3 种菌种都可以用来发酵产生凝固型豆酸奶。

表 2 不同发酵剂发酵的豆酸奶的  
粘度和保水性

Table 2 Viscosity and water-holding capacity of  
soy-yogurt fermented by different *Lactococcus lactis*

菌种 Strain	粘度 Viscosity/cps	保水性 Water-holding capacity/%
1#	13 227	98.02
2#	14 542	98.34
3#	16 396	97.67

## 2.2 三种发酵剂复配对豆酸奶发酵的影响

单菌株发酵剂在豆酸奶发酵 9 h 时豆酸奶体系中 pH 都会达到发酵终点 pH( $4.35 \pm 0.05$ ), 滴定酸度都会在 60°T 左右, 保水性也很好, 没有乳清或者少量乳清析出。因此, 该试验以 3 种发酵剂复配发酵的豆酸奶的感官评定和粘度做为评价指标。

表 3 三种发酵剂复配发酵的豆酸奶  
感官评定和粘度

Table 3 Sensory evaluation and viscosity of soy-yogurt  
fermented with different ratios of three *Lactococcus lactis*

菌种配比 Strain ratio (1#:2#:3#)	组织 状态 Texture	口感 Taste	滋味 Flavor	色泽 Color	香气 Aroma	平均分 Average score	粘度 Viscosity
1:1:0	7.0	7.0	6.5	8	6.2	6.94	12 935
1:0:1	7.0	6.7	7.0	8	6.5	7.04	14 680
0:1:1	7.0	6.8	8.0	8	6.8	7.32	15 839
1:1:1	7.0	7.6	8.0	8	7.6	7.64	17 420
5:1:4	8.0	7.0	8.2	8	7.2	7.68	18 736
5:2:3	8.0	7.8	8.0	8	6.7	7.70	20 158
5:3:2	8.0	8.0	7.8	8	7.8	7.92	22 554
5:4:1	7.5	6.2	8.0	8	7.5	7.44	16 212

从表 3 可以看出, 当 1#, 2#, 3# 3 种菌种配比为 5:3:2 时, 发酵的豆酸奶感官评定平均分最高, 粘度最高, 并且高于单菌种发酵。所得到的产品凝固性强, 没有或者只有少量乳清析出, 口感滑爽, 滋味可口, 酸甜适中, 具有酸奶特有的香味, 豆腥味小。因此, 选择 5:3:2 做为发酵豆酸奶的菌种配比。

## 2.3 发酵条件和发酵培养基成分的确定

2.3.1 发酵条件的确定 试验用的菌种为乳酸菌 1#, 2#, 3# 以 5:3:2 配比的复合菌种。不同乳酸菌有不同的发酵温度和发酵时间, 合理的调控才能生产出酸甜适口的合格产品。

复合菌种接种量为 3%, 在不同的温度条件下发酵豆酸奶, 以 pH 值达到  $4.35 \pm 0.05$  为发酵终点。结果见表 4。

表 4 发酵温度对发酵的豆酸奶感官评定  
和粘度的影响

Table 4 Sensory evaluation and viscosity of soy-yogurt  
fermented in different fermentation temperature

温度 Temperat- ure/°C	组织 状态 Texture	口感 Taste	滋味 Flavor	色泽 Color	香气 Aroma	平均分 Average score	粘度 Viscosity
20	7.0	7.0	7.0	8	7.5	7.30	15 130
25	7.5	8.5	8.0	8	8.0	8.00	18 702
30	8.3	7.5	8.3	8	7.5	7.92	19 777
35	8.5	6.5	8.5	8	7.2	7.74	19 927
37	7.5	6.0	7.5	8	7.0	7.20	18 472

从表中可以看出, 25℃ 发酵的凝固型豆酸奶的感官评定结果最好, 其次是 30℃, 并且 30℃ 和 25℃ 相差不大, 从粘度来看, 30℃ 发酵好于 25℃ 发酵的豆酸奶。考虑到生产方面的因素, 发酵温度高可以使发酵豆乳在短时间内达到适宜酸度, 凝结成块而缩短发酵时间。因此, 选择 30℃ 为最适发酵温度。

将复合菌种接种量设定为 3%, 在 30℃ 发酵凝固型豆酸奶, 分别发酵 6、7、8、9、10 和 11 h。结果见表 5。随着时间的延长, 发酵所得的凝固型豆酸奶感官评定分逐渐提高, 到 10 h 时, 发酵结果最好, 随后开始略微下降。粘度的变化和感官评定结果相同。pH 逐渐下降, 9~11 h 都达到凝固型豆酸奶发酵要求, 选择 10 h 为最佳发酵时间。

表 5 发酵时间对发酵的豆酸奶感官  
评定、pH 和粘度的影响

Table 5 Sensory evaluation, pH and viscosity of  
soy-yogurt fermented with different fermentation time

时间 Time /h	组织 状态 Texture	口感 Taste	滋味 Flavor	色泽 Color	香气 Aroma	平均分 Average score	pH	粘度 Viscosity
6	6.5	6.0	5.0	8.0	6.5	6.40	4.78	12 483
7	7.0	7.0	6.0	8.0	7.0	7.00	4.53	15 386
8	7.5	7.5	7.0	8.0	7.5	7.50	4.47	17 865
9	8.0	8.3	8.0	8.0	8.0	8.06	4.37	18 575
10	8.0	8.2	8.2	8.0	8.1	8.10	4.35	19 002
11	8.0	8.2	8.2	7.8	7.8	8.00	4.34	18 050

2.3.2 发酵培养基成分的确定 根据乳酸菌生长所需营养要素的基本原则, 选用不同的豆水比, 葡萄糖和蔗糖含量进行 3 因素 3 水平进行  $L_9(3^3)$  正交试验, 因素水平见表 6, 试验结果见表 7。

表 6 优选发酵条件正交试验因素和水平  
Table 6 Levels and factors of orthogonal experiments

水平	A 豆水比	B 葡萄糖添加量	C 蔗糖添加量
Level	Bean: water	Glucose recruitment/%	Sucrose recruitment/%
1	1:5	2	3
2	1:6	3	4
3	1:7	4	5

表 7 优选发酵条件正交试验结果与分析  
Table 7 Results and analysis of orthogonal experiments

试验号	A	B	C	空列	感官评定
Test No.				Empty	Sensory evaluation
1	1	1	1	1	7.66
2	1	2	2	2	7.88
3	1	3	3	3	8.08
4	2	1	2	3	7.40
5	2	2	3	1	7.80
6	2	3	1	2	7.68
7	3	1	3	2	6.60
8	3	2	1	3	6.82
9	3	3	2	1	6.84
K1	7.873	7.220	7.387	7.433	
K2	7.627	7.500	7.373	7.387	
K3	6.753	7.533	7.493	7.433	
R	1.120	0.313	0.120	0.046	

对正交试验结果进行极差分析,各因素对发酵的凝固型豆酸奶感官评定的影响依次为 A>B>C,正交试验的最优水平组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>。与试验最好感官评定结果相吻合,因此最优工艺参数组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>,即 1#,2#,3# 3 个菌种以 5:3:2 配比发酵豆酸奶,发酵培养基为豆水比 1:5,葡萄糖 4%,蔗糖 5%。

3 结论

发酵生产凝固型豆酸奶的 3 种菌种乳酸乳球菌 1#、2#和 3#的最佳配比为 5:3:2 时,所得的产品为凝固块均匀,没有或仅有少量乳清析出;色泽均匀呈淡黄色;口感滑爽,滋味可口,酸甜适中,具有酸奶特有的香味,豆腥味少。最佳生产工艺为:豆水比 1:5,葡萄糖 4%,蔗糖 5%;最适发酵温度为

30℃,发酵时间 10 h,接种量 3%。

参考文献

[1] 王凤翼. 中国乳品工业与大豆蛋白[J]. 中国乳品工业, 1995, 23(4): 195-198. (Wang F J. Chinese dairy industry and soy protein[J]. China Dairy Industry, 1995, 23(4): 195-198.)

[2] 方海田, 刘慧燕. 乳酸菌发酵酸豆乳生产工艺的研究[J]. 中国酿造, 2009(5): 126-128. (Fang H T, Liu H Y. Production processing of fermented soy-milk by lactic acid bacteria [J]. China Brewing, 2009(5): 126-128.)

[3] Miyagi J, Chika S, Shinjo M, et al. Effect of soybean trypsin inhibitor and isoflavone on chemically induced skin tumor in mice [J]. Daizu Tanpakushitsu Kenkyukai Kaishi, 1997, 18: 112-119.

[4] Chen H L, Huang H Y, Chou C C. Transformation of isoflavone *Phytoestrogens* during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria [J]. Food Microbiology, 2006, 23: 772-778.

[5] Wei Q K, Chen T R, Chen J T. Using of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* to product the isoflavone aglycones in fermented soymilk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 117: 121-124.

[6] Karleskind D, Laye I, Halpin E, et al. Improving acid production in soy-based yogurt by adding cheese whey proteins and mineral salts [J]. Journal of Food Science, 1991, 56: 999-1001.

[7] Murti T W, Bouillanne C, Landon M, et al. Bacterial growth and volatile compounds in yoghurt-type products from soy-milk containing *Bifidobacterium* subsp [J]. Journal of Food Science, 1993, 58: 153-157.

[8] 无锡轻工业大学. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1984. (Wuxi university of light industry. Food Analysis [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1984.)

[9] 张佳程, 杨同舟. HMP 和 CMC 对搅拌型酸牛奶物理性质影响的初步比较[J]. 食品科学, 1997, 18(4): 33-37. (Zhang J C, Yang T Z. Physical property effect of HMP and CMC on stirred style yogurt [J]. Food Science, 1997, 18(4): 33-37.)

[10] Aryana K J. Folic acid fortified fat free plain set yogurts [J]. International Journal of Dairy Technology, 2003, 56(4): 219-222.

[11] Angeles A G, Marth E H. Growth and activity of lactic-acid bacteria in soymilk I: growth and acid production [J]. Journal of Milk and Food Technology, 1971, 34: 30-36.