

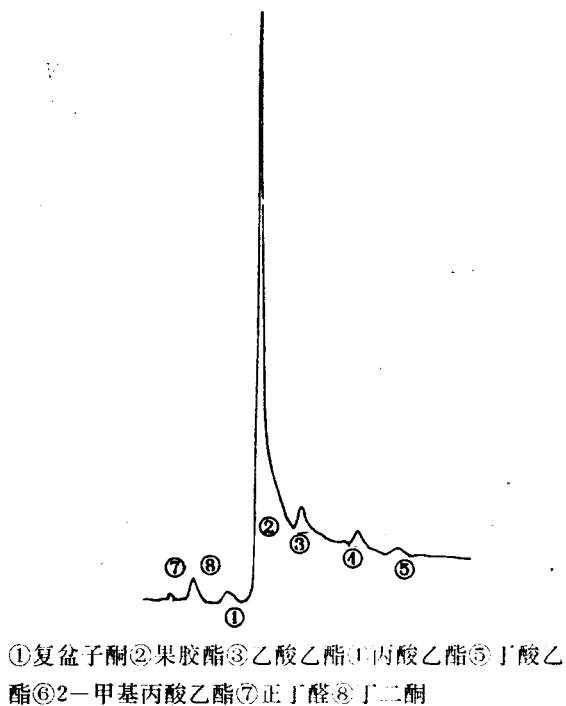


图3 加热(85°C 5min)原汁色谱图

参考文献

- 1 Hernandez, E. et al. AICHE National Meeting, 1984, San Francisco, CA.
- 2 Yu, Z. R. et al. J. Food sci. 1986, 51.
- 3 Ernesto, H. et al. J. Agric. Food chem. 1992, 40.
- 4 Nisperos, Carriedo, et al J. Agric. Food chem. 1990, 38.
- 5 杨斌. 膜科学与技术, 1995, 2(24).
- 6 Ahmed, A. E. R; Zabavitch, J. M. J. Food Biochem. 1977, 1.
- 7 Ting, S. V. et al. Trans. citrus Zng. conf. 1991, 37.
- 8 Chou, F. thosis. vniv. OF Maryland. Couag purk. M. D. 1989.
- 9 Shaw, P. E. et al. J. Food sci. 1991, 56.
- 10 杨斌. 西北大学硕士论文, 1991.
- 11 亢茂德等. 化学工程. 1984, 3.
- 12 Vitali, A. Ai et al. J. Food sci. 1984, 49.

固定化多菌种发酵海带饮料的研究

王克明 王雪筠 烟台大学 生物化学系 264005

摘要 研究了以海带浸提汁液为主料, 采用固定化葡萄酒酵母、嗜酸乳酸菌、弱氧化醋酸菌混合发酵海带饮料的制汁及发酵条件。研究表明: 海带汁液的制取为以 0.3% 盐酸溶液为浸提介质于 105°C 下浸提 8 h, 发酵温度 20°C, 发酵周期为 5~6 天, 3 种固定化凝胶粒填充体积比例为葡萄酒酵母: 嗜酸乳酸菌: 弱氧化醋酸菌 = 0.5: 0.8: 2。成品淡黄色, 风格独特, 口味纯正, 含有丰富的氨基酸、维生素、各种微量元素及乳酸、醋酸、葡萄糖酸等有机酸, 是一种理想的新型保健饮料。

关键词 固定化多菌种 海带 发酵饮料

前言

海带是一种褐藻, 其藻体中除含有大量碳水化合物、D-葡萄糖及海藻多糖外, 藻酸和其它各种多糖类, 以及各种维生素、蛋白质、氨基酸、各种微量元素的含量也很高, 使得海带不仅具有独特的风味, 而且营养、保健价值很高^[1]。在我国虽然海藻资源十分丰富但人们食用量仅

占其产量极少部分。所以研制新型海藻食品是开发海洋, 延伸海产品价值的重要课题。

采用多菌种混合发酵海带生产饮料是利用微生物共生原理, 代谢产物的协调而制成营养丰富、风味独特的发酵海藻饮料。

同游离细胞相比, 固定化细胞可进行高密度增殖培养, 提高单位反应器体积的生物转化率, 延长细胞寿命, 增加稳定性, 有利于连续

化生产而且便于产物的分离。由于上述的优越性固定化技术已广泛应用于酒精、果酒、啤酒生产方面的研究^[3],但应用固定化多菌种共发酵海带饮料,国内外尚未见报道。本文是有关以海带浸提汁液为主料,采用固定化葡萄酒酵母、嗜酸乳酸菌、弱氧化醋酸菌共发酵制作饮料的研究。

1 材料和方法

1.1 菌种

葡萄酒酵母(*Saccharomyces ellipsoideus*)
嗜酸乳酸菌(*Lactobacillus acidophilus*)
弱氧化醋酸菌(*Acetobacter suboxydans*)
均由烟台大学微生物实验室提供。

1.2 材料

海藻酸钠:上海化学试剂采购站分装
海带:由烟台市水产研究所提供
盐酸:分析纯 氯化钙:分析纯
柠檬酸:食用级 酒石酸:分析纯

1.3 培养基(略)

1.3.1 酵母试管培养基

1.3.2 乳酸菌试管培养基

1.3.3 醋酸菌试管培养基

1.3.4 酵母菌增殖培养基

1.3.5 乳酸菌增殖培养基

1.3.6 醋酸菌增殖培养基

1.4 分析测定方法

1.4.1 乙醇的测定:快速比色法^[4]和蒸馏法测定^[5]。

1.4.2 总糖、还原糖测定:采用改进的 Lane-Eynone^[6]法测定。

1.4.3 总酸含量测定:采用酸碱中和法测定。

1.4.4 酵母浓度测定:采用血球计数板测定。^[6]

1.4.5 发酵液中固定化凝胶珠总体积(Vgel)测定:采用排液法。

1.5 固定化方法

将培养至对数期的酵母菌、乳酸菌、醋酸菌,经离心、洗涤后,用生理盐水调成乳状,与一定温度的海藻酸钠混匀,滴入不断搅拌的 5% 的 CaCl_2 溶液中。成型的凝胶珠继续固定一定

时间,倾去多余的 CaCl_2 溶液,用生理盐水洗涤数次后转入增殖培养基中增殖培养。^[7]

1.6 海带汁液制取实验

将经挑选洗净的海带烘干,磨成粉泡发后,分别以清水和 0.3%、0.5%、0.7%、1.2% 的柠檬酸溶液、酒石酸溶液、盐酸溶液在 75℃、85℃、95℃、105℃ 的温度条件下加热浸提 2、4、6、8 h,从而研究浸提介质及其浓度、浸提处理温度及浸提时间对海带有效成分浸提率的影响^[8]。筛选出理想的海带汁液的制取方法。

1.7 发酵条件试验

1.7.1 3 种固定化菌株的凝胶粒体积比对发酵影响实验

分别以固定化酵母凝胶粒体积:固定化乳酸菌凝胶粒体积:固定化醋酸菌凝胶粒体积为 1:1:1;1:1:2;0.5:0.8:2 的比例进行发酵试验,从而考察各种固定化菌凝胶粒体积比对发酵的影响。

1.7.2 温度对发酵的影响

将 3 种固定化菌凝胶粒以 0.5:0.8:2 的比例混合,分别在 35℃、32℃、30℃、25℃、20℃ 条件下发酵海带汁液,研究发酵温度对发酵液中乙醇及成品风味的影响,从而确定适宜的发酵温度。

2 结果与讨论

2.1 海带汁液的浸提

采用正交测验法,选用 $2_{16}(4^5)$ 正交表安排实验,考察的因素、水平见表 1,实验设计方案见表 2。

表 1 海带有效成份浸提试验条件

水平	因 素			
	A	B	C	D
	加热时间 (h)	浸提介质	浸提介质 浓度(%)	加热温度 (℃)
1	2	清水	0.3	75
2	4	酒石酸溶液	0.6	85
3	6	柠檬酸溶液	0.9	95
4	8	盐酸溶液	1.2	105

在海带汁液制取过程中,将清洗干净的海带烘干后磨成粉,称取 5 g 加水泡发,泡发量约

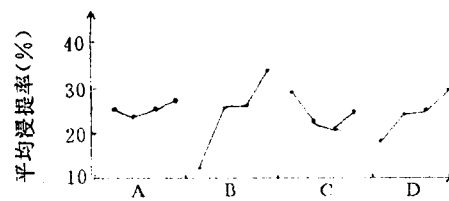
为10倍。沥干后按表2安排的实验条件进行海带有效成分浸提。浸提物经2000r/min离心,收集上清液,海带渣研磨成浆加入2倍水进行第二次浸提,离心后收集上清液,合并两次浸提清液放入烘箱中恒温烘干,所得残留物减去所添加酸量后计算浸提率。

表2 海带有效成分浸提率正交试验结果与分析

试验 序号	列 号	1	2	3	4	有效成分 浸提率(%)
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1		9.9
2	1	2	2	2		23.6
3	1	3	3	3		22.7
4	1	4	4	4		41.6
5	2	1	2	3		12.4
6	2	2	1	4		33.6
7	2	3	4	1		18.6
8	2	4	3	2		29.0
9	3	1	3	4		11.7
10	3	2	4	3		25.0
11	3	3	1	2		32.1
12	3	4	2	1		26.0
13	4	1	4	2		18.7
14	4	2	3	1		18.7
15	4	3	2	4		31.5
16	4	4	1	3		40.3
K_1		97.5	52.7	115.9	73.2	
K_2		93.5	100.9	93.5	103.4	
K_3		94.5	104.9	82.1	100.4	$T=395.5$
K_4		109.2	136.9	103.9	118.4	
$\bar{K}_1$		24.4	13.2	29	18.3	
$\bar{K}_2$		23.4	25.2	23.3	25.8	
$\bar{K}_3$		23.7	26.2	20.5	25.1	
$\bar{K}_4$		27.3	34.2	26	29.6	
R		3.9	21	8.5	11.3	

表3 3种固定化菌凝胶粒不同体积比例混合发酵结果

序号	3种菌凝胶 粒体积比例	固定化凝胶 粒与发酵液比例	残糖 (%)	总酸 (%)	酒精 (%)	发酵 天数	发酵温 度(°C)
1	1:1:1	20%	4	0.43	1.85	5	20
2	0.8:1:2	20%	4.5	0.57	1.15	5	20
3	0.5:0.8:2	20%	5	0.61	0.96	5	20



A:加热时间 B:浸提介质 C:浸提介质浓度

D:加热温度

图1 海带有效成分提取率与四因素关系图

从表2及图1可以看出,影响海带有效成分浸提的主要因素次序是:B、D、C、A,采用清水直接浸提,浸取率较低,添加少量的酸性物质,可大幅度提高浸提率。在所使用的三种酸溶液中,以盐酸的效果最佳。另外,随着温度的升高,浸提率上升。由直观分析,得出浸提海带有效成分影响因素的最佳组合为 $B_4D_4C_1A_1$ 。

2.2 发酵结果

2.2.1 三种固定化菌凝胶粒体积比对发酵的影响

固定化凝胶粒以20%(V/V)的比例接入发酵液中。固定化葡萄酒酵母凝胶粒与固定化乳酸菌凝胶粒及固定化醋酸菌凝胶粒三者以不同体积比例混合发酵对发酵液各成分影响结果见表3。

由表3可以看出,3种固定化菌以不同比例的凝胶粒体积混合发酵,对发酵液中各种物质的协调有很大影响。降低固定化酵母凝胶粒的体积比例,引起总酸含量的上升,而酒精含量降低,由此制成的饮料口味更好。

在表3所列出的3组试验中,以第3组为最佳,即固定化葡萄酒酵母凝胶粒体积:固定化乳酸菌凝胶粒体积:固定化醋酸菌凝胶粒体积=0.5:0.8:2,固定化菌凝胶粒总填充体积比为20%,发酵温度为20°C,发酵时间为5~6天。

