

百香果水牛乳酸奶的制备工艺研究

黎世灵, 谢耀锋, 谭志华, 卓茜

(中国农业科学院广西水牛研究所, 南宁 530001)

中图分类号: TS252.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-4264 (2021) 09-0048-04

DOI: 10.19305/j.cnki.11-3009/s.2021.09.012

摘要: 本研究以水牛乳为主料, 加入百香果汁, 制成口味独特、营养价值高的百香果水牛乳酸奶。通过单因素和正交试验确定该酸奶最佳工艺为: 百香汁添加量为9%, 发酵剂接种量为7%, 发酵时间为4.5h, 白砂糖添加量为9%, 发酵温度为41℃。由此工艺条件制备的百香果水牛乳酸奶口感清新, 品质最佳。

关键词: 百香果; 水牛乳; 酸奶; 制备工艺

百香果, 因其含有草莓、芒果、苹果等百来种水果香味而得名。有研究表明其果汁含有超过38种以上的芳香化合物^[1], 正是这些芳香化合物造就了百香果奇特的水果香味。百香果于1913年由大小安的列斯群岛引入中国, 目前主要集中在热带、亚热带地区种植^[2]。百香果含有多种对人体健康有益的成分, 如维生素A、B₁、B₂、C及钙、铁、磷、类胡萝卜素以及多种必需氨基酸等, 具有美容养颜、降脂降压、润肠通便等功效^[3]。近年来, 百香果在广西田阳、钦州、北流等地广泛种植, 面积已超过20万亩, 成为了广西的特色农业之一^[4]。而水牛乳作为南方的一种特色优势乳品, 因拥有全面的营养和良好的食用安全性而成为市场消费的“新宠”, 然目前我国水牛奶深加工渠道有限, 急需开发出系列高附加值产品, 以满足人们对功能性水牛乳制品的需求。本研究利用百香果独特的果香味和潜在的生理功能, 结合水牛乳的深度开发热点, 制备出一款保健功能型风味酸奶, 使其既具有水牛乳的奶香味又具有百香果的果香味, 同时还能有良好的乳酸菌发酵后的酸甜滑爽口感和更全面的营养, 以期为广西地区百香果和水牛乳的综合开发利用开辟出一条新途径。

1 材料与方法

收稿日期: 2021-02-01

作者简介: 黎世灵 (1967-), 男。

1.1 材料

水牛乳于当天取自水牛研究所种牛场。百香果购自南宁吾悦永辉超市。白砂糖(红棉)。酸奶菌种为德氏乳杆菌保加利亚亚种 (1.2717 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*)、嗜热链球菌 (1.2718 *Streptococcus thermophilus*), 均购自中国普通微生物菌种保藏中心。

培养基及试剂: 基础培养基为脱脂后的水牛乳, MRS培养基、MRS肉汤培养基(北京索莱宝科技公司); 无水乙醇、β-巯基乙醇(天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器设备

KJ-12G06搅拌机(破壁料理机): 美的生活电器有限公司; 乳脂分离机: 南京拉伐分离机制造有限公司; SPX-150生化培养箱: 北京科伟永兴仪器有限公司; YM50立式压力蒸汽灭菌器: 上海三申医疗器材有限公司; 尼康ECLIPSE 50i正置生物显微镜: Nikon日本公司; SW-CJ-1F超净工作台: 苏州苏净化设备有限公司; FTC-质构仪(TMS-Pro)、MilkoScan FT120乳品成分快速分析仪: 美国FTC公司; 5804R高速冷冻离心机: BBI北京京立离心机有限公司; PHS-3C数显pH计: 上海越磁电子科技有限公司; Thermo Scientific涡旋振荡器 88880018: 雷琪实验器材有限公司; JD500-2型电子天平: 梅特勒-托多利仪器有限公

司; UV-8000紫外可见分光光度计; 上海元析仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 百香果水牛乳酸奶的制备工艺流程

百香果原汁制备: 新鲜百香果(表皮紫红色)→清洗→剖壳→收集果浆→离心(50mL离心管, 3000r/min)→过滤(40目)→百香果原汁。

百香果水牛乳酸奶: 生水牛乳(pH值6.1)→净化→均质→白砂糖→杀菌(95℃, 5min)→加入百香果原汁(pH值5.86)→搅匀→(38℃)接种发酵剂→灌装封口→(41℃)发酵→冷藏后熟(4℃)。

1.3.2 产品指标测定

酸度: 参照GB5413.34-2010氢氧化钠滴定法^[5]; 乳酸菌活菌数: 采用平板计数法测定^[6]; pH值: 采用便携式酸度仪测定; 硬度、黏附性: 采用FTC-质构仪(TMS-Pro)测定^[7]; 蛋白质: 按GB/T 5009.5-2010中规定的方法测定^[8]; 脂肪: 按GB 5413.27-2010中规定的方法测定^[9]; 细菌总数: 采用平板培养计数法测定; 大肠菌群: 采用多管发酵法测定。酵母菌、霉菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌由广西分析测试中心检测完成。

1.3.3 感官评定

表1 百香果水牛乳酸奶感官评定标准

项目	评分标准	分值
色泽 (20分)	呈均匀的明黄色, 有光泽	20~15
	浅黄色或青黄色, 不均匀	15~10
	有其他异常颜色或霉菌、杂斑	10~0
滋味和气味 (40分)	具有百香果和水牛乳酸奶特有的滋味和气味、酸甜适宜, 口感柔滑	40~35
	酸甜适中, 百香果味明显, 后味不丰满	35~20
	百香果味不浓, 酸甜比不协调, 口感淡	20~10
	百香果味明显, 无奶香味, 酸味或甜味较浓	10~0
组织状态 (40分)	细腻、均匀、无气泡、有少量乳清析出	40~35
	细腻、不均匀、无气泡、有少量乳清析出	35~20
	粗糙有裂纹、不均匀、无气泡、有少量乳清析出	20~10
	粗糙有裂纹、不均匀、气泡多、乳清析出严重	10~0
等级	A: 86~100分; B: 71~85分; C: 70~60分	

采用加权评分法^[10], 根据GB19302-2010^[11], 以百香果水牛乳酸奶的色泽、气味和滋味、组织状态、口感及乳清析出情况进行综合评定, 具体感官评分标准见表1。

1.3.4 单因素试验

在单因素试验中, 分别考察百香果原汁添加量、发酵剂接种量、白砂糖添加量、发酵时间对百香果水牛乳酸奶品质的影响。试验中所有百分比均为质量分数(质量百分比)。用FTC-质构仪测定酸奶的硬度及黏附性, 每个样品平行测3次, 取其平均值。测试条件: 形变量为20%, 触发点负载为5g, 测试速率为1mm/s^[12]。

1.3.4.1 百香果添加量的确定

按白砂糖添加量9%, 发酵剂接种量7%, 百香果原汁添加量分别为3%、5%、7%、9%、11%, 在41℃的恒温箱中发酵至凝乳, 4℃后熟12h, 测定酸奶的pH值、酸度、硬度、黏附性, 并进行感官评价, 确定最佳百香果原汁添加量。

1.3.4.2 发酵时间的确定

按白砂糖添加量9%, 发酵剂接种量7%, 百香果原汁添加量9%, 发酵温度41℃, 发酵时间分别为2.5h、3.5h、4.5h、5.5h、6.5h, 4℃后熟12h, 测定酸奶的pH值、酸度、硬度、黏附性, 并进行感官评价, 确定酸奶的最佳发酵时间^[13]。

1.3.4.3 发酵剂接种量的确定

按白砂糖添加量9%, 百香果汁添加量9%, 发酵剂接种量分别为3%、5%、7%、9%、11%, 在41℃的恒温箱中发酵至凝乳, 4℃后熟12h, 测定酸奶的pH值、酸度、硬度、黏附性, 并进行感官评价, 确定最佳发酵剂接种量。

1.3.4.4 白砂糖添加量

按发酵剂接种量7%, 百香果原汁添加量9%, 白砂糖接种量分别为3%、5%、7%、9%、11%, 在41℃的恒温箱中发酵至凝乳, 4℃后熟12h, 测定酸奶的pH值、酸度、硬度、黏附性, 并进行感官评价, 确定最佳白砂糖添加量。

1.3.5 正交试验

参照单因素试验结果, 确定41℃恒温发酵的条件下^[14], 百香果汁添加量、发酵时间、发酵剂接种量、白砂糖添加量这四个对酸奶品质影响较大的因素的四因素三水平 $L_9(3^4)$ 正交试验各因素水平。试验共9个样品, 每个样品做三次重复, 根据感官评价, 用极差分析法确定最佳工艺^[15]。各因素水平见表2。

表2 正交试验因素水平

水平	因素			
	A百香果添加量(%)	B发酵剂接种量(%)	C发酵时间(h)	D白砂糖添加量(%)
1	5	5	3.5	5
2	9	7	4.5	9
3	11	9	5.5	11

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 百香果汁最佳添加量的确定

百香果原汁添加量对酸奶品质的影响见表3。由表3可知,随着百香果原汁添加量的增加,酸奶的黏附性呈上升趋势。这可能是因为百香果中所特有的果浆物质,增加了酸奶的凝固及黏附性。同时随着百香果原汁添加量的增加,酸奶的酸度也逐渐升高,这可能是因为百香果含有的碳水化合物促进了乳酸菌的生长^[16],从而导致酸奶酸度增加。当百香果添加量低至5%时,酸奶中百香果的风味不强,口感不明显,当添加量为11%时,酸奶百香果口味太重,酸味盖过了酸奶本身的芳香味,且不利于发酵^[17],故将百香果的添加量确定为9%,此浓度的百香果酸奶质地、口感均较好,感官评分最高。

表3 百香果原汁添加量对酸奶品质的影响

百香果原汁添加量(%)	酸度(°T)	硬度(N)	黏附性(mJ)	感官评定(分)
3	68.8	0.601	0.93	83
5	72.3	0.813	1.12	85
7	75.5	1.023	1.43	87
9	78.2	1.080	2.28	92
11	80.4	1.005	2.46	90

2.1.2 发酵时间的确定

表4 发酵时间对酸奶品质的影响

发酵时间(h)	酸度(°T)	硬度(N)	黏附性(mJ)	感官评定(分)
2.5	66.7	0.841	1.03	81
3.5	70.1	0.984	1.75	88
4.5	73.8	1.011	1.92	90
5.5	78.6	1.234	1.88	86
6.5	80.3	1.874	2.02	84

发酵时间对酸奶品质的影响见表4。由表4可知,酸奶发酵时间越长,产酸越多,直接影响酸奶的品质。而酸奶发酵时间对酸奶的硬度和黏附性影响不大,发酵时间在4~6h内,酸奶的各理化指标都较好。根据感官评分结果,发酵4.5h时,酸奶的口感和组织状态最佳,故

选择发酵时间为4.5h。

2.1.3 发酵剂接种量的确定

发酵剂接种量对百香果酸奶品质的影响见表5。由表5可知,酸奶的酸度与发酵剂接种量呈正相关,发酵剂用量越大,其酸度越大,而同时,酸奶的硬度和黏附性也随着发酵剂添加量的增加而呈现上升趋势。根据感官评分结果,添加量为7%时,酸奶的感官品质最佳,评分最高,故选择发酵剂添加量为7%。

表5 发酵剂添加量对酸奶品质的影响

发酵剂接种量(%)	酸度(°T)	硬度(N)	黏附性(mJ)	感官评定(分)
3	68.4	0.713	0.78	80
5	70.2	0.984	1.04	83
7	74.6	1.482	1.21	92
9	80.4	2.162	1.63	90
11	83.5	2.230	1.88	88

2.1.4 白砂糖添加量的确定

白砂糖添加量对酸奶品质的影响见表6。由表6可知,白砂糖添加量对酸奶的硬度和黏附性指标影响均不大。随着白砂糖添加量的增加,酸奶感官评分呈先升后降的趋势,其添加量与酸奶的酸度成正相关,当白砂糖添加量为5%以下时,酸奶口感偏酸,感官评分较低,当添加量为11%时,酸奶偏甜,当添加量为9%时,酸奶酸甜适宜,口感最佳,故选择白砂糖添加量为9%。

表6 白砂糖添加量对酸奶品质的影响

白砂糖添加量(%)	酸度(°T)	硬度(N)	黏附性(mJ)	感官评定(分)
3	78.2	0.916	1.18	79
5	74.6	1.178	1.15	84
7	72.5	1.075	1.92	90
9	70.8	1.082	1.91	91
11	68.4	1.052	1.88	86

2.2 正交试验

根据表2正交因素水平进行正交试验,其结果见表7。由表7可知,根据极差分析^[18],各因素对百香果水牛乳酸奶品质的影响顺序依次为:A>C>B>D,即百香果汁添加量>发酵时间>发酵剂接种量>白砂糖添加量,其中百香果汁添加量对产品品质影响最大,酸奶最佳工艺为A₂B₂C₂D₂,而从正交表得出最优组合为2号试验,即A₁B₂C₂D₂,感官评分为94分,由于此极差分析和正交试验直观分析的最优工艺有差异,故对这两组合再次进行感官对比试验。结果表明,A₂B₂C₂D₂组合的感官评分为96分,A₁B₂C₂D₂组合的感官评分为91分,故最终确定酸奶最佳组合为A₂B₂C₂D₂,即百香果汁添

表7 正交试验结果

实验号	A	B	C	D	感官评分(分)
1	1	1	1	1	85
2	1	2	2	2	94
3	1	3	3	3	87
4	2	1	2	3	92
5	2	2	3	1	93
6	2	3	1	2	92
7	3	1	3	2	85
8	3	2	1	3	84
9	3	3	2	1	89
K ₁	266	262	261	267	
K ₂	277	271	275	271	
K ₃	258	268	265	263	
k ₁	88.7	87.3	87	89	
k ₂	92.3	90.3	91.7	90.3	
k ₃	86	89.3	88.3	87.7	
R	6.3	3.0	4.7	2.6	
最优	A2	B2	C2	D2	
主次	A>C>B>D				

加量为9%，发酵剂接种量为7%，发酵时间为4.5h，白砂糖添加量为9%。在此工艺条件下制备的百香果水牛乳酸奶，酸甜适宜，口感滑爽，组织状态良好，感官评分为96分。

2.3 产品的质量品质

2.3.1 感官

百香果水牛乳酸奶表面光滑、呈浅黄色，具有水牛乳和百香果特有的滋、气味，口感滑爽，组织细腻、均匀，无分层，有少量乳清析出。

2.3.2 理化、微生物指标

百香果水牛乳酸奶的理化、微生物指标如表8、表9所示。可以看出，其理化、微生物指标均符合GB 19302-2010《发酵乳》质量要求。

表8 百香果水牛乳酸奶的理化指标

项目	技术要求(GB19302-2010)	实测结果
脂肪(%)	≥3.1	3.3
蛋白质(%)	≥2.9	3.5
酸度(°T)	≥70	96

3 结论

本研究以水牛乳为主料，加入药食两用的百香果原汁，制备功能性百香果水牛乳酸奶，以感官评分为评

表9 百香果水牛乳酸奶的微生物指标

项目	标准	实测值
大肠菌群(CFU/g)	n=5, c=2, m=1, M=5	<1, <1, <1, <1
酵母菌(CFU/g)	≤100	<10
霉菌(CFU/g)	≤30	<10
乳酸菌数(CFU/g)	≥1×10 ⁶	2×10 ⁸
金黄色葡萄球菌(CFU/25g)	n=5, c=0, m=0	未检出
沙门氏菌(CFU/25g)	n=5, c=0, m=1	未检出

价指标^[19]，通过单因素试验和正交试验对酸奶的制备工艺进行优化，确定其最佳发酵工艺为：百香果汁添加量9%，发酵剂接种量7%，发酵时间4.5h，白砂糖添加量9%，发酵温度为41℃。利用此工艺制备的酸奶，集百香果和水牛乳双重营养与功能于一身，风味协调，口感滑爽，质地细腻，各项质量指标均符合国家标准。本研究为百香果和水牛乳深加工的可行性提供了新的思路。

参考文献

- [1] 郭艳峰, 吴惠桦, 夏雨, 等. 百香果不同发育阶段果汁挥发性成分研究[J]. 福建农业学报, 2017, 32(3): 299-304.
- [2] 霍丹群, 蒋兰, 马璐璐, 等. 百香果功能研究及其开发进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 391-395.
- [3] 朱惠敏, 黄晓辰, 顾璋璋. 百香果雪梨复合果汁饮料加工工艺研究[J]. 饮料工业, 2017, 20(4): 35-38.
- [4] 赵世海, 韦淑丹. 广西田阳县百香果生产现状与发展探讨[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(22): 309-310.
- [5] GB 5413.34-2010《乳和乳制品酸度的测定(第二法 乳及其他乳制品酸度的测定)》[S].
- [6] 刘韩, 关宏, 杨文钦, 等. 青春双歧杆菌凝固型酸奶研制及选择性培养基比较[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(5): 36-40.
- [7] 李丽, 李昌宝, 盛金凤, 等. 凝固型火龙果酸奶的制备工艺及质构特性研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(11): 177-178.
- [8] GB/T 5009.5-2010《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》[S].
- [9] GB 5413.27-2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定》[S].
- [10] 张水华. 食品感官鉴别[M]. 上海: 华南理工大学出版社, 2005: 96-105.
- [11] GB 19302-2010.《食品安全国家标准(发酵乳)》[S].
- [12] 郑购锦, 刘国明, 李杰民, 等. 香蕉酸奶的工艺优化及质构特性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(06): 299-300.
- [13] 时政, 高丙德, 郭晓恒, 等. 藜麦酸奶的制备工艺研究[J]. 食品工业, 2017, 38(4): 125-126.
- [14] 简素平. 铁皮石斛多糖的提取及其在酸乳中的应用[D]. 南昌大学, 2015: 38-41.
- [15] 谢芳, 杨承剑, 曾庆坤, 等. 富含γ-氨基丁酸水牛乳酸奶的研制[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(4): 45-46.
- [16] 宋慧, 马利华, 陈学红, 等. 猕猴桃、茉莉花复合益生菌酸奶加工工艺及抗氧化性的研究[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(6): 61-62.
- [17] 黄翠姬, 刘昭明, 胡祖黎. 百香果凝固型酸奶的研制[J]. 中国酿造, 2010(08): 182-185.
- [18] 胡盼. 紫薯益生菌酸奶的研制[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2017.
- [19] 林童, 冯佳齐, 郭红珍, 等. 红茶菌酸枣仁凝固型酸奶制备工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(17): 5897-5902.

基于16S rRNA高通量测序技术分析生鲜水牛乳在加工前的细菌多样性

谢芳, 谢华德, 李孟伟, 唐振华, 杨承剑

(中国农业科学院广西水牛研究所/广西水牛遗传繁育重点实验室, 南宁 530001)

中图分类号: TS252.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-4264(2021)09-0052-07

DOI: 10.19305/j.cnki.11-3009/s.2021.09.013

摘要: 本研究利用16S rRNA高通量测序分析生鲜水牛乳加工前的细菌多样性。分别提取刚挤出30min内, 及冷藏5h、12h及24h的水牛乳样本细菌总DNA, PCR扩增其16S rDNA, 利用纯化后的扩增片段构建其菌群的16S rDNA文库, 采用Miseq PE300进行高通量测序及BLAST比对。结果显示, 在属水平, 刚挤出30min~冷藏5h组中的优势菌属为金黄杆菌属(39.28%)、巨型球菌属(16.47%)、乳球菌属(9.61%), 而在冷藏12~24h组中则以不动杆菌属(34.95%)、芽孢杆菌属(11.2%)、库特氏菌属(9.01%)为优势菌属。葡萄球菌属在刚挤出组中未检出, 但随着冷藏时间的延长, 其丰度呈上升趋势。可以得出, 生鲜水牛乳从刚挤出至冷藏24h内, 其微生物群落结构和组成呈动态变化, 且此次测序中条件致病菌检出率较高, 冷藏12h后样本组中细菌多样性显著高于其他组, 由此可知生鲜水牛乳从挤出至加工前, 低温贮藏时间越短越好, 最好控制在5h内。

关键词: 16S rRNA高通量测序; 生鲜水牛乳; 冷藏; 细菌多样性

水牛乳品质优良, 口感香醇, 被公认为“奶中极

收稿日期: 2020-12-01

基金项目: 广西自然科学基金项目(2018GXNSFBA281006、2018GXNSFAA281162); 国家重点研发计划项目子课题(2018YFD0501600-02、2016YFD0500507); 广西水牛遗传繁育重点实验室自主研究课题(2018-A-03-02)。

作者简介: 谢芳(1980-), 女, 本科, 助理研究员, 研究方向为乳品加工与微生物。

通讯作者: 杨承剑(1981-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为动物营养及乳品科学。

品”^[1], 其蛋白质、脂肪、乳糖、维生素等含量为奶牛奶的2~5倍, 免疫球蛋白和生长因子更是普通牛乳的5~10倍^[2], 且水牛乳具有良好的食用安全性, 迄今尚未有水牛疯牛病病例报道^[3]。随着生活水平的提高, 作为一类高级营养食品, 水牛乳正日渐成为人们消费的“新宠”^[4]。

水牛乳因其丰富的营养而成为微生物的温床, 这些

Study on Preparation Technology of Passion Fruit Buffalo Milk Yoghurt

LI Shi-ling, XIE Yao-feng, TAN Zhi-hua, ZHUO Qian

(Guangxi Buffalo Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530001)

Abstract: With buffalo milk as the main material, passion fruit juice was added to make passion fruit buffalo milk yoghurt with unique taste and high nutritional value. Through single factor and orthogonal test, the optimum technology of yoghurt was determined as follows: the amount of Baixiang juice was 9%, the inoculation amount of starter was 7%, the fermentation time was 4.5h, the amount of white granulated sugar was 9%, and the fermentation temperature was 41 °C. The passion fruit buffalo lactic acid milk prepared by this technology has the best quality and fresh taste.

Key words: Passion fruit; Buffall milk; Yogurt; Preparation technology