

周方方,吴正钧,陈 臣,等. 肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油的条件优化[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):243-245.

# 肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油的条件优化

周方方,吴正钧,陈 臣,徐致远,刘振民,郭本恒

(光明乳业股份有限公司研究院/乳业生物技术国家重点实验室/光明乳业股份有限公司技术中心/

上海乳业生物工程技术研究中心,上海 200436)

**摘要:**以 1 株具有良好的产胞外多糖能力的肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) Leuco4 (CGMCC NO. 6432) 为发酵剂,添加蔗糖、发酵稀奶油得到涂抹型发酵稀奶油制品。在单因素试验基础上,采用正交试验确定肠膜明串珠菌发酵稀奶油的最佳配方。结果表明,最佳发酵条件为温度 29 ℃、接种量 3%、发酵时间 55 h、蔗糖添加量 60 g/L。该工艺条件得到的产品质量优,可进一步开发利用。该产品不含任何稳定剂、增稠剂及乳化剂,但是稳定性好、稠度佳、保水性很好,符合清洁标签以及健康自然食品的要求。

**关键词:**肠膜明串珠菌;发酵稀奶油;清洁标签;发酵工艺;配方优化

**中图分类号:** TS225.2<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0243-02

发酵稀奶油可以延长稀奶油的储存期,获得口感、涂抹性俱佳的涂抹型稀奶油制品。本研究以脱脂乳生产中副产品稀奶油为原料,以肠膜明串珠菌为发酵剂进行单菌发酵,在单因素试验基础上,采用正交试验确定肠膜明串珠菌发酵稀奶油的最佳配方。

## 1 材料与方

### 1.1 原料、菌株与试剂

稀奶油,为光明乳业股份有限公司乳品四厂脱脂乳产品副产品;蔗糖(白砂糖)(广西上上糖业有限公司生产);脱脂乳粉(新西兰 Snylait 公司,食品级)。

肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) Leuco4 (CGMCC NO. 6432)为笔者所属试验室保藏;M17 培养基购自德国 Merck 公司;其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

APV-1000 均质机(美国 APV 公司);高速搅拌机(上海 Flunko 公司);恒温水浴锅(GFL 公司);CA-1480-3 型无菌工作台(上海净化设备有限公司);Bostwick 稠度计(CSC Scientific 公司);BS-2E 型震荡培养箱(金坛市国旺实验仪器厂)。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 发酵种子液的制备** 取 -80 ℃ 保存的肠膜明串珠菌 Leuco 4,在含 5% 蔗糖的 M17 平板上活化(28 ℃),并在含 5% 蔗糖的无菌脱脂乳中逐级扩培,培养温度为 28 ℃,培养时间为 30 h,得到发酵种子液,冷却;发酵种子液中肠膜明串珠菌菌落数为  $1 \times 10^8$  CFU/mL。

收稿日期:2013-12-06

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD18B01);国家“863”计划(编号:2011AA100901)。

作者简介:周方方(1981—),女,山东烟台人,硕士,中级工程师,主要从事食品生物技术方向的研究。Tel:(021)66553219;E-mail:zhoufangfang@brightdairy.com。

通信作者:郭本恒,博士,教授级高级工程师,主要从事乳品生物技术方向的研究。Tel:(021)66553219;E-mail:gbhbrightdairy@hotmail.com。

**1.3.2 稀奶油的发酵** 稀奶油(加热到 50 ℃)+蔗糖→高速搅拌 20 min→加热到 60~65 ℃→均质[一级压力(16.5±0.5) MPa,二级压力(3.5±0.5) MPa]→杀菌(90~95 ℃,5 min)→冷却至 25~30 ℃→接种→发酵(28~30 ℃,180 r/min)→灌装、冷却。如果发酵结束有乳清析出,则需要灌装之前排掉乳清。

### 1.3.3 理化及感官测定

**1.3.3.1 黏度(流动性)试验** 对发酵稀奶油进行流动性(黏度)方面的效果检验,用 Bostwick 稠度计进行流动性(黏度)测试。将清洁干燥的稠度计放于水平位置,调整水平螺旋使水泡居中。关闭扣紧容量皿阀门,称取样品填满容量皿,样品测试在(20±1) ℃下进行,并用刮刀刮平顶部,记录样品温度。按下阀门扣打开阀门使样品流下,同时开始计时,30 s 时读取样品流动在刻度板上的读数,即稠度值,精确到 0.1 cm。每个样品测试 3 次,取平均值。

**1.3.3.2 析水试验<sup>[1]</sup>** 对发酵稀奶油进行析水试验。先称出 1 个空容器,记为  $m_p$ ,在该容器上盖 1 个 200 目的筛子,在筛子上称出一定量的样品记为  $m_1$ (本试验取 50 g 样品),在 30 ℃ 恒温箱放置 12 h 后,取出称容器总质量  $m_2$ 。计算析水率,析水率越小,表示持水性越好。每个样品测试 3 次,取平均值。

$$\text{析水率} = [(m_2 - m_p) / m_1] \times 100\%$$

以上析水和流动性试验结果评定按表 1 打分。

表 1 理化评分标准

指标	标准	得分
黏度	黏度适中(2.0~3.0 cm),易于涂抹	8~10
	黏度可以接受(3.1~5.0 cm),涂抹较容易	5~7
	黏度太高或者太低(>5.0 cm 或者 <2.0 cm),很难涂抹开或者太稀无法涂抹	0~4
析水性	保水能力强,几乎无水析出(0~0.5%)	8~10
	有保水能力,稍有水析出(0.6%~1.0%)	5~7
	保水性差,水析出多(>1.0%)	0~4

**1.3.3.3 感官测定** 感官评定由 20 名经过培训的评价员完成。从色泽(10 分)、气味(10 分)、组织状态(30 分)、滋味(40 分)、涂抹性(10 分)5 个方面对发酵稀奶油进行感官评

分,评分标准见表2。

表2 感官评分标准

指标	标准	得分
色泽	色泽均匀一致,呈乳白色到乳黄色	8~10
	色泽发黄或白,分布不均匀	5~7
	色泽发黑,可接受性差	0~4
气味	有奶油特有的香气,气味自然	8~10
	有奶香,气味不太自然	5~7
	无奶香,气味接受性差	0~4
组织状态	组织细腻光滑,均匀一致,无乳清析出	25~30
	组织均匀,少量乳清析出	10~24
	大量乳清析出,有颗粒状凝块	0~9
滋味	滋味纯正,口感润滑	25~30
	口感不柔和,能接受	10~24
	口感粗糙,不自然,接受性差	0~9

1.3.4 单因素试验 参考肠膜明串珠 *Leuco4* 菌产胞外多糖的条件<sup>[2]</sup>,选取温度、培养时间、接种量、蔗糖添加量4个因素设计单因素试验。

温度:以含50 g/L蔗糖的稀奶油为培养基,接种量2%,按“1.3.2”节方法分别于27、28、29、30、31℃发酵,48 h后取发酵产品,按“1.3.3”节方法打分。

培养时间:以含50 g/L蔗糖的稀奶油为培养基,接种量2%,30℃发酵,按“1.3.2”节方法分别于40、45、50、55、60 h取发酵产品,按“1.3.3”节方法打分。

接种量:以含50 g/L蔗糖的稀奶油为培养基,接种量分别为1%、2%、3%、4%、5%,30℃发酵,按“1.3.2”节方法于48 h取发酵产品,按“1.3.3”节方法打分。

蔗糖量:分别以含30、40、50、60、70 g/L蔗糖的稀奶油为培养基,接种量2%,30℃发酵,按“1.3.2”节方法分别于48 h取发酵产品按“1.3.3”节方法打分。

1.3.5 正交试验 根据肠膜明串珠 *Leuco4* 菌单因素试验的结果,选定温度、蔗糖添加量、培养时间、接种量为考察因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验的因素水平如表3所示。试验结果以理化打分(表1)及20人感官小组打分(表2)来评定,满分100分。按照正交试验结果,调整发酵条件,对正交试验结果进行验证。

表3 肠膜明串珠菌发酵稀奶油正交试验的因素和水平

水平	因素			
	A:温度(℃)	B:时间(h)	C:接种量(%)	D:蔗糖量(g/L)
1	28	45	1	50
2	29	50	2	60
3	30	55	3	70

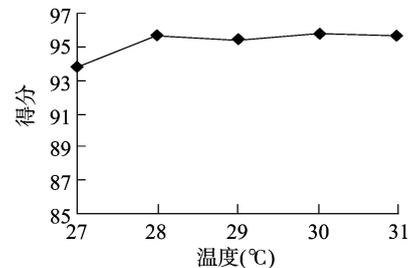
## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素试验结果

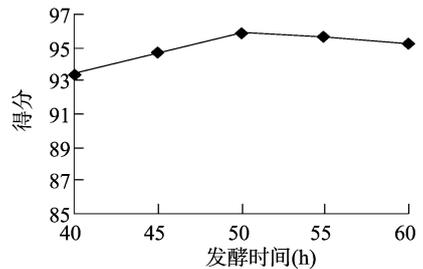
从单因素试验结果(图1)来看,温度28~31℃、发酵时间45~60 h、菌种添加量1%~3%、蔗糖添加量40~60 g/L时得分较高,正交试验条件按此结果设计。

### 2.2 正交试验结果

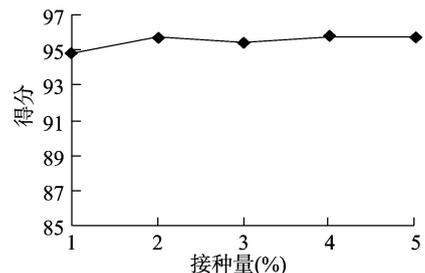
正交试验结果(表4)显示,最好的组合是 $A_2B_3C_3D_2$ ,就



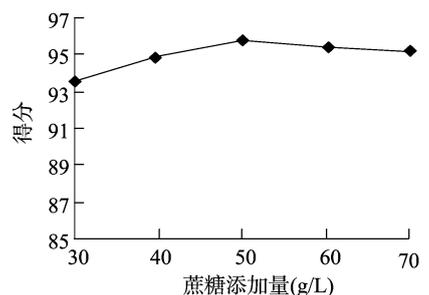
A.温度对得分的影响



B.发酵时间对得分的影响



C.接种量对得分的影响



D.蔗糖添加量对得分的影响

图1 肠膜明串珠菌发酵稀奶油单因素试验结果

表4 肠膜明串珠菌发酵稀奶油正交试验设计及结果

试验号	因素				评定总分 (100分)
	A:温度	B:时间	C:接种量	D:蔗糖量	
1	1	1	1	1	90.1
2	1	2	2	2	93.2
3	1	3	3	3	95.4
4	2	1	2	3	92.3
5	2	2	3	1	97.3
6	2	3	1	2	98.1
7	3	1	3	2	92.5
8	3	2	1	3	90.2
9	3	3	2	1	91.4
$k_1$	92.900	91.633	92.800	92.933	
$k_2$	95.900	93.567	92.300	94.600	
$k_3$	91.367	94.967	95.067	92.633	
R	4.533	3.334	2.767	1.967	

陈伟,卓成龙,刘春菊,等. HACCP在速冻西兰花加工过程中的应用[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):245-247.

# HACCP在速冻西兰花加工过程中的应用

陈伟<sup>1</sup>,卓成龙<sup>1</sup>,刘春菊<sup>1,2</sup>,刘春泉<sup>1,2</sup>

[1. 国家农业科技华东(江苏)创新中心-农产品加工工程技术研究中心,江苏南京 210014;

2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所,江苏南京 210014]

**摘要:**通过分析速冻西兰花生产过程中存在和潜在的危害,确定原料、烫漂、速冻、包装4个关键控制点,制定HACCP计划表,为保证速冻西兰花的质量安全提供了依据。

**关键词:**西兰花;速冻;HACCP;加工;危害;关键控制点

**中图分类号:** TS201.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0245-03

近年来,随着人们对食品安全的日益关注和食品卫生意识的提高,如何保证食品安全、如何让消费者吃上放心食品已成为食品企业发展的首要问题,那么食品企业在生产过程中引入HACCP(hazard analysis critical control points,危害分析及关键控制点)显得尤为重要,HACCP主要是通过科学和系统的方法分析和查找食品生产过程的危害,确定具体的预防控制措施和关键控制点,并实施有效的监控,从而确保产品的安全卫生质量<sup>[1]</sup>。西兰花别称花椰菜、青花菜,属十字花科芸薹属甘蓝种中以绿花球为产品的一个变种,食用部分为带有花蕾群的肥嫩花茎,色泽鲜绿,营养丰富,几乎包含人体所需的各种营养元素,含有丰富的蛋白质、糖、脂肪、矿物质、维生素和胡萝卜素等,被誉为“蔬菜皇冠”<sup>[2]</sup>。此外,西兰花还含

有许多抗氧化物质如黄酮类、多酚类物质,可以抑制癌变和肿瘤的发生<sup>[3]</sup>,因为其食味品质独特且具有很高的营养价值,所以深受广大消费者的喜爱,然而采摘后的西兰花在常温下代谢十分活跃,呼吸很高,花球会在1~2 d内黄化萎蔫,其营养成分也会迅速降解,失去商业价值<sup>[4]</sup>。目前,西兰花的保鲜方式主要有速冻、气调和0℃左右冷藏相结合的方式,本研究就HACCP体系在速冻西兰花质量控制中的应用进行了初步研究,通过对生产过程中的危害分析,确定关键控制点,制定HACCP计划,从而为速冻西兰花的产品质量提供有力的保障。

## 1 速冻西兰花工艺流程

原料→切分→清洗→护色→烫漂→冷却→沥干→速冻→包装→冷冻贮藏。

## 2 操作规程

### 2.1 原料

选择花蕾新鲜紧实、球面规整、颗粒细小、没有开花,色泽

了肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油的最佳条件为温度 29℃、培养时间 55 h、接种量 3%、蔗糖添加量 60 g/L。发酵得到的稀奶油口感细腻顺滑,产品质量稳定、无乳清析出,有较适宜的黏度和涂抹性,具有很高的附加值和良好的销售前景。

### 参考文献:

- [1]莫蓓红,肖杨,苗君莅,等.一种奶酪酱及其制备方法:中国,200910195301[P].2011-04-13.
- [2]韩璠,吴正钧,周方方,等.一株肠膜明串珠菌及其胞外多糖与应用:中国,201210581248[P].2013-04-03.
- [3]李文斌,宋敏丽,高荣琨.肠膜明串珠菌的研究和应用进展[J].食品工程,2006(4):3-4,11.
- [4]高莉莉.肠膜明串珠菌发酵生成低聚糖的研究[D].北京:北京林业大学,2009:6-9.
- [5]张雄杰,孙庆林,达赖,等.肠膜明串珠菌胞外多糖的研究进展及其在饲料业中的应用前景[J].畜牧与饲料科学,2012,33(9):59-62.

收稿日期:2013-12-03

基金项目:江苏省南通市重大科技创新专项(编号:XA2013012)。

作者简介:陈伟(1982—),男,江苏滨海人,硕士,助理研究员,研究方向为农产品种植与加工。E-mail:chenjun5005@sina.com。

通信作者:刘春菊,硕士,助理研究员,研究方向为农产品加工与质量控制。E-mail:cjliu0306@163.com。

极差来看,影响肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油的因素主次顺序为 A > B > C > D,温度对稀奶油产品总体得分影响最大。温度影响肠膜明串珠菌的代谢速度,从而影响了其产胞外多糖的量及产品的质构,因此不同温度下的产品得分差异最大。蔗糖量的极差值最低,说明蔗糖添加量对稀奶油影响最小。肠膜明串珠菌的蔗糖代谢产物为黏性葡聚糖<sup>[3]</sup>,肠膜明串珠菌胞外多糖通常用于乳品工业,可用作增稠剂提高产品的黏度,以及用作稳定剂减弱蛋白质的脱水收缩作用,提高产品的稳定性<sup>[4-5]</sup>。

### 2.3 最佳条件验证

根据正交试验结果,选最佳组合条件,按照温度 29℃、培养时间 55 h、接种量 3%、蔗糖添加量 60 g/L 发酵稀奶油,以同样感官小组成员评定,结果得分为 98.3 分。得分高于单一因素试验任一组结果,表明所得条件为肠膜明串珠菌 Leuco4 发酵稀奶油的最佳条件。

## 3 结论

本研究通过单因素试验基础上的正交试验,得到并验证