



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115590129 A

(43) 申请公布日 2023. 01. 13

(21) 申请号 202211254200.0

(22) 申请日 2022.10.13

(71) 申请人 辽宁省农业科学院

地址 110161 辽宁省沈阳市沈河区东陵路
84号

(72) 发明人 王琛 王媛 韩艳秋 张锐
李莉峰 李潇 吴娜娜 徐立伟
高雅

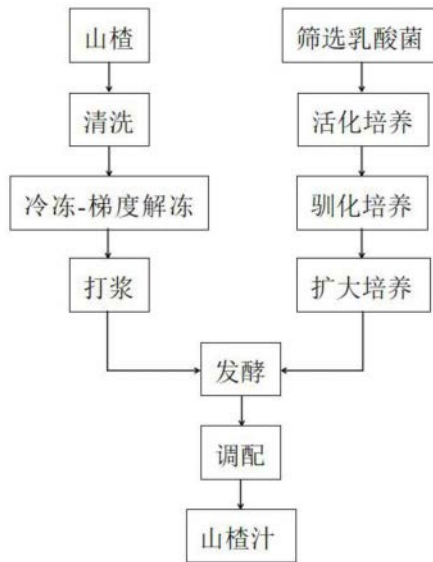
(74) 专利代理机构 北京方圆嘉禾知识产权代理
有限公司 11385
专利代理师 戴嵩玮

(51) Int. Cl.
A23L 2/38 (2021.01)
A23L 2/84 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01)

权利要求书2页 说明书17页 附图2页

(54) 发明名称
一种发酵型低糖山楂果汁及其制备方法

(57) 摘要
本发明提供了一种发酵型低糖山楂果汁及其制备方法,属于发酵工程技术及饮料生产技术领域。本发明提供了一种发酵型低糖山楂果汁的制备方法,包括将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆;将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。本发明提供的制备方法利用乳酸菌复合菌发酵代谢降解山楂汁中过多的柠檬酸,将酸味刺激的柠檬酸转换成风味和口感柔和的乳酸,解决山楂浆的酸味过于刺激的问题,并且丰富了山楂浆的风味。所述制备方法在整个制作过程中不额外添加蔗糖,制备得到的发酵型低糖山楂果汁是一款低酸感、低糖、风味独特的果汁饮料,适合多数人群饮用。本发明提供的制备方法为山楂饮料推广提供了理论和技术支持。



1. 一种发酵型低糖山楂果汁的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:
将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆;
将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。
2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述乳酸菌复合菌包括柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌。
3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,进行发酵处理时,柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌接种的体积比为(1~2):(0.5~1):(1~2);
所述柠檬明串珠菌的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL;所述干酪乳杆菌的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL;所述短乳杆菌菌剂的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL。
4. 根据权利要求2或3所述的制备方法,其特征在于,采用乳酸菌复合菌对山楂浆进行发酵处理前,所述乳酸菌复合菌分别依次进行活化培养、驯化培养和扩大培养;
所述活化培养在MRS培养基中进行;所述活化培养的次数为2次;
所述驯化培养在梯度组成的培养基中进行;
以MRS和山楂浆的质量比计,所述梯度组成培养基包括质量比为10:0培养基、质量比为8:2培养基、质量比为6:4培养基、质量比为4:6培养基、质量比为2:8培养基和质量比为0:10培养基;
所述驯化培养在同比例培养基中传代两次后再接入下一比例培养基继续进行驯化培养;
所述扩大培养的培养基为山楂浆;所述扩大培养的次数为2次。
5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述山楂浆的制备方法包括以下步骤:
将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,得到冻融山楂;
将所述冻融山楂进行打浆,得到山楂浆。
6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,所述循环冷冻-梯度解冻的次数为1~2次;一次循环冷冻-梯度解冻包括以下步骤:
将山楂进行冷冻,得到冷冻山楂;所述冷冻的温度为-25~-15℃,所述冷冻的时间为10~14h;
将所述冷冻山楂进行梯度解冻,得到冻融山楂;
所述梯度解冻包括第一次解冻和第二次解冻;
所述第一次解冻的温度为-8~-2℃;时间为5~7h;
所述第二次解冻的温度为8~12℃;时间为5~7h。
7. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,所述打浆时的温度为5~10℃;所述打浆时,山楂与水的质量比为1:3~5。
8. 根据权利要求5或7所述的制备方法,其特征在于,所述打浆的方法包括破碎和胶体研磨;
所述破碎的时间为5~8min;所述破碎在搅拌条件下进行,所述搅拌的转速为2000~2500r/min;打浆完成后,所得山楂浆的细度为5~10 μ m,均质度为85%~90%。
9. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述调配包括:将发酵山楂浆与赤藓糖醇、甜菊糖苷、茶多酚、维生素D、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、乳酸钙和磷酸氢二钠混合。

10. 一种权利要求1~9任一项所述制备方法制备得到的发酵型低糖山楂果汁,其特征
在于,所述发酵型低糖山楂果汁具有低糖、低酸感、风味独特的特点。

一种发酵型低糖山楂果汁及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于发酵工程技术及饮料生产技术领域,具体涉及一种发酵型低糖山楂果汁及其制备方法。

背景技术

[0002] 山楂,又名山果果、山里红,蔷薇科山楂属,在我国多地均有分布,是我国传统的药食兼用果品。山楂富含多种活性营养成分,具有降血脂、血压、强心、抗心律不齐等作用,同时也是健脾开胃、消食化滞和活血化痰的良药,对胸膈脾满、疝气、血淤和闭经等症有很好的疗效。目前市场上山楂制品种类很多,最常见的有山楂片、山楂糕、果丹皮等,都是开胃健脾,止渴生津的休闲食品,深受人们喜爱。但是由于山楂中有机酸,特别是柠檬酸含量丰富,使山楂鲜果口感酸涩,不适宜鲜食,所以在生产加工过程中为保持良好的糖酸比往往向产品中会加入大量的蔗糖,不仅导致许多老年人群和糖尿病人无法食用,也不能满足现代人类低糖低脂的饮食需求,其产品推广逐渐受到限制。山楂鲜果的果肉比较坚硬,果胶含量较高,含水量低,直接压榨出汁率少且粘稠。目前为提高山楂出汁率通常会采用向山楂汁中加入果胶酶,热浸提等方法,这些方法的局限性在于加热会破坏山楂中的活性成分,且后续添加酶等物质容易使山楂果汁的风味变差。

[0003] 针对山楂口感酸涩、山楂汁含糖量较高的问题,如何在降低山楂果汁的含糖量的同时,改善山楂口感酸涩是山楂果汁制备中的难题。

发明内容

[0004] 针对现有技术中的缺陷,本发明的目的是提供一种发酵型低糖山楂果汁的制备方法,能够在不添加蔗糖的条件下制备得到低酸感、低糖、风味独特的山楂果汁。

[0005] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0006] 本发明提供了发酵型低糖山楂果汁的制备方法,包括以下步骤:

[0007] 将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆;

[0008] 将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。

[0009] 优选的,所述乳酸菌复合菌包括柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌。

[0010] 优选的,进行发酵处理时,柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌接种的体积比为(1~2):(0.5~1):(1~2);

[0011] 所述柠檬明串珠菌的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL;所述干酪乳杆菌的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL;所述短乳杆菌菌剂的菌活 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL。

[0012] 优选的,采用乳酸菌复合菌对山楂浆进行发酵处理前,所述乳酸菌复合菌分别依次进行活化培养、驯化培养和扩大培养;

[0013] 所述活化培养在MRS培养基中进行培养;所述活化培养的次數为2次;

[0014] 所述驯化培养在梯度组成的培养基中进行;

[0015] 以MRS和山楂浆的质量比计,所述梯度组成培养基包括质量比为10:0培养基、质量

比为8:2培养基、质量比为6:4培养基、质量比为4:6培养基、质量比为2:8培养基和质量比为0:10培养基;

[0016] 所述驯化培养在同比例培养基中传代两次后接入下一比例培养基继续进行驯化培养;

[0017] 所述扩大培养的培养基为山楂浆;所述扩大培养的次数为2次。

[0018] 优选的,所述山楂浆的制备方法包括以下步骤:

[0019] 将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,得到冻融山楂;

[0020] 将所述冻融山楂进行打浆,得到山楂浆。

[0021] 优选的,所述循环冷冻-梯度解冻的次数为1~2次;一次循环冷冻-梯度解冻包括以下步骤:

[0022] 将山楂进行冷冻,得到冷冻山楂;所述冷冻的温度为-25~-15℃,所述冷冻的时间为10~14h;

[0023] 将所述冷冻山楂进行梯度解冻,得到冻融山楂;

[0024] 所述梯度解冻包括第一次解冻和第二次解冻;

[0025] 所述第一次解冻的温度为-8~-2℃;时间为5~7h;

[0026] 所述第二次解冻的温度为8~12℃;时间为5~7h。

[0027] 优选的,所述打浆时的温度为5~10℃;所述打浆时,山楂与水的质量比为1:3~5。

[0028] 优选的,所述打浆的方法包括破碎和胶体研磨;

[0029] 所述破碎的时间为5~8min;所述破碎在搅拌条件下进行,所述搅拌的转速为2000~2500r/min;打浆完成后,所得山楂浆的细度为5~10μm,均质度为85%~90%。

[0030] 优选的,所述调配包括:将发酵山楂浆与赤藓糖醇、甜菊糖苷、茶多酚、维生素D、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、乳酸钙和磷酸氢二钠混合。

[0031] 本发明还提供了上述技术方案所述制备方法制备得到的发酵型低糖山楂果汁,所述发酵型低糖山楂果汁具有低糖、低酸感、风味独特的特点。

[0032] 本发明的有益效果:

[0033] 本发明提供了一种发酵型低糖山楂果汁的制备方法,包括将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆;将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。本发明提供的发酵型低糖山楂果汁的制备方法利用乳酸菌复合菌发酵代谢降解山楂汁中过多的柠檬酸,将酸味刺激的柠檬酸转换成风味和口感柔和的乳酸,解决山楂浆的酸味过于刺激的问题,并且丰富了山楂浆的风味。所述制备方法在整个过程中不额外添加蔗糖,制备得到的是一款低酸感、低糖、香味浓郁的健康果饮,适合多数人群饮用。

附图说明

[0034] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动性的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0035] 图1为本发明发酵型低糖山楂果汁的制备流程图。

[0036] 图2为实施例1冷冻之前的山楂。

[0037] 图3为实施例1进行一次冷冻-梯度解冻后的冻融山楂。

具体实施方式

[0038] 本发明提供了一种发酵型低糖山楂果汁的制备方法,包括以下步骤:

[0039] 将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆;

[0040] 将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。

[0041] 本发明将山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆。

[0042] 在本发明中,所述山楂浆的制备方法优选包括以下步骤:将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,得到冻融山楂;将所述冻融山楂进行打浆,得到山楂浆。

[0043] 本发明优选将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,得到冻融山楂。在本发明中,所述山楂优选为新鲜、色泽鲜亮的山楂,进一步优选为无虫害、无伤痕的山楂,更优选为成熟度为9~10成的山楂。本发明对山楂的品种没有特殊限定,采用常规市售产品即可。本发明实施例中所用山楂为金星山楂或五棱山楂。

[0044] 将山楂进行循环冷冻-梯度解冻前,本发明优选对山楂进行清洗。在本发明中,所述清洗优选采用超声波进行清洗;所述清洗的功率优选为300~350W,进一步优选为320~340W,更优选为330W;所述清洗的时间优选为5~8min,更优选为7min。本发明对山楂进行清洗主要是除去山楂表面杂质。

[0045] 将山楂进行清洗后,本发明优选除去山楂表面的水分后进行循环冷冻-梯度解冻。在本发明中,所述循环冷冻-梯度解冻优选进行1~2次,更优选为1次。一次循环冷冻-梯度解冻优选包括以下步骤:将山楂进行冷冻,得到冷冻山楂;所述冷冻的温度优选为-25℃~-15℃,进一步优选为-20℃~-18℃,更优选为-18℃;所述冷冻的时间优选为10~14h,更优选为12h。得到冷冻山楂后,本发明优选将冷冻山楂进行梯度解冻,得到山楂浆;所述梯度解冻优选包括第一次解冻和第二次解冻;所述第一次解冻的温度优选为-8℃~-2℃,进一步优选为-6℃~-4℃更优选为-5℃;所述第一次解冻的时间优选为5~7h,更优选为6h。所述第二次解冻的温度优选为8℃~12℃,进一步优选为9℃~11℃,更优选为10℃;所述第二次解冻的时间优选为5~7h,更优选为6h。本发明对山楂进行循环冷冻-解冻主要是借助果肉细胞膨胀作用,使聚合度高的多糖降解为聚合度低的多糖,增加细胞壁多糖的可溶性,促进水分的变迁,从而有利于提高山楂出汁率。本发明将山楂原料进行冷冻后,进行梯度解冻,使果实内冰晶缓慢融化,有利于稳定果肉细胞结构,防止山楂果肉过度软化,导致山楂汁液损失、风味变差,保持山楂浆的良好口感。本发明采用低温温度进行解冻,是为了防止酶促褐变发生,导致山楂汁色泽暗淡。本发明采用1~2次冷冻-梯度解冻防止冻融循环次数过多会导致细胞结构松散,细胞壁断裂,导致汁液流失严重。

[0046] 得到冻融山楂后,本发明将冻融山楂进行打浆,得到山楂浆。所述打浆前,本发明优选对山楂进行去核处理;所述去核处理优选采用内径为12mm的冲核刀进行。本发明进行打浆的温度优选为5℃~10℃,进一步优选为6℃~8℃,更优选为7℃。本发明采用低温温度进行打浆能够抑制山楂中的氧化酶活性,防止打浆过程中发生氧化褐变,从而保持山楂浆的营养成分。本发明所述打浆时山楂与水的质量比优选为1:3~5;更优选为1:4,最优选为1:3。在本发明中,所述山楂与水混合的比例适宜,能够防止山楂浓度过稠不易打浆;同时防止山楂浓度过稀,风味不足。本发明所述打浆的方法优选包括破碎和胶体研磨。本发明所述

破碎的时间优选为5~8min;更优选为6min。本发明所述破碎优选在搅拌条件下进行;所述搅拌的转速优选为2000~2500r/min;更优选为2300r/min。本发明所述破碎优选在破壁机中进行破碎。将山楂进行破碎后,本发明优选对山楂进行胶体研磨,得到山楂浆。所述山楂浆的细度优选为5~10 μm ,进一步优选为7~9 μm ,更优选为8 μm ;所述山楂浆的均质度优选为85%~90%,更优选为88%。本发明对所述破碎和胶体研磨的方法和参数设置没有特殊限定,采用本领域常规的果蔬破碎和胶体研磨方法和参数设置均可。本发明采用上述制备方法制备得到的山楂浆相对于常规方法制备的山楂浆出汁率明显增多,原果胶含量显著降低,酸度、可溶性固形物含量和可溶性果胶含量显著提高,且色泽鲜亮。

[0047] 得到山楂浆后,本发明对所述山楂浆进行乳酸菌复合菌发酵处理,得到发酵山楂浆。

[0048] 在本发明中,所述乳酸菌复合菌优选包括柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌。本发明实施例中,所述菌株来源为北京北纳创联生物科技有限公司;所述柠檬明串珠菌的菌种编号为BNCC 194779;所述干酪乳杆菌的菌种编号为BNCC 134415;短乳杆菌的菌种编号为BNCC 337373。本发明所述发酵处理之前,优选将所述乳酸菌复合菌分别依次进行活化培养、驯化培养和扩大培养。本发明优选对所述柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌分别进行活化培养、驯化培养和扩大培养。

[0049] 在本发明中,所述活化培养用培养基优选为MRS培养基。所述活化培养的温度优选为36 $^{\circ}\text{C}$ ~38 $^{\circ}\text{C}$,更优选为37 $^{\circ}\text{C}$;所述活化培养的时间优选为20~30h,进一步优选为22~28h,更优选为25h。所述活化培养时乳酸菌的接种量优选为培养基体积的2%~4%,进一步优选为2%~3%,更优选为2%。所述活化培养优选在通氧静置条件下进行。所述活化培养的次数优选为2次,分别为第一次活化培养和第二次活化培养。所述第一次活化培养完成后,所得菌液的菌活优选 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,进一步优选为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,更优选为 1×10^7 CFU/mL。所述第一次活化培养完成后,本发明优选将第一次活化菌液进行第二次活化培养。所述第二次活化培养完成后,所得第二次活化菌液的菌活优选 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,进一步优选为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,更优选为 1×10^7 CFU/mL。

[0050] 所述活化培养后,本发明优选将柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌的第二次活化菌液分别进行驯化培养。在本发明中,所述驯化培养的温度优选为36~38 $^{\circ}\text{C}$,更优选为37 $^{\circ}\text{C}$;所述驯化培养的时间优选为20~30h,更优选为25h。所述驯化培养时乳酸菌的接种量优选为培养基体积的2%~4%,进一步优选为2%~3%,更优选为2%。所述驯化培养优选在通氧静置条件下进行。所述驯化培养每次培养后菌液菌活优选 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,进一步优选为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,更优选为 1×10^7 CFU/mL。在本发明中,所述驯化培养的次数优选为6次,每次驯化培养优选在不同的培养基中进行;进行驯化培养的不同培养基优选为梯度组成的培养基,具体为:以MRS和山楂浆的质量比计,所述梯度组成培养基优选依次包括质量比为10:0培养基、质量比为8:2培养基、质量比为6:4培养基、质量比为4:6培养基、质量比为2:8培养基和质量比为0:10培养基。在本发明中,每次驯化培养优选在同比例培养基中传代两次后接入下一比例培养基继续进行驯化培养。所述驯化培养过程在培养基中的山楂浆的量逐渐增加,最终得到完全以山楂浆为培养基的驯化培养物。

[0051] 在本发明中,所述驯化培养的过程具体为:将活化菌液以培养基体积比为2%~4%的接种量接入MRS和山楂浆质量比例为10:0的培养基中培养,36~38 $^{\circ}\text{C}$ 下通氧静置培养

20~30h,使菌液菌活达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物1;将培养物1以培养基体积比为2%~4%的接种量接入MRS和山楂浆质量比例为10:0的培养基中培养20~30h,使菌液菌活达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第一次驯化培养物,即完成在(10:0)培养基传代两次的培养。将第一次驯化培养物以体积比为2%~4%的接种量接入MRS和山楂浆质量比例为8:2的培养基中进行传代两次培养,得到第二次驯化培养物。将第二次驯化培养物以培养基体积比为2%~4%的接种量接入MRS和山楂浆质量比例为6:4的培养基中进行传代两次培养,得到第三次驯化培养物。依次类推,依次在MRS和山楂浆质量比例为4:6的培养基中进行传代两次培养,得到第四次驯化培养物;在MRS和山楂浆质量比例为2:8的培养基中进行传代两次培养,得到第五次驯化培养物;在MRS和山楂浆质量比例为0:10的培养基中进行传代两次培养,得到第六次驯化培养物,即为驯化培养物。本发明采用驯化培养的方式更换乳酸菌的培养基,能够使乳酸菌在进行山楂浆发酵时,快速地适应山楂浆的发酵环境,避免因为培养基的变化导致的发酵菌剂不能正常发酵,发酵产率低的问题。

[0052] 得到驯化培养物后,本发明优选将乳酸菌驯化培养物进行扩大培养,得到种子液。在本发明中,所述扩大培养的培养基优选为山楂浆,更优选为上述技术方案所述山楂浆制备方法制备的山楂浆。在本发明中,所述扩大培养的温度优选为 $30^\circ\text{C} \sim 33^\circ\text{C}$,更优选为 32°C ;所述扩大培养的时间优选为1~2d,更优选为2d;所述扩大培养时乳酸菌的接种量优选为培养基体积的4%~10%,进一步优选为6%~8%,更优选为6%;所述扩大培养优选为厌氧培养。所述扩大培养的次数优选为2次,分别为第一次扩大培养和第二次扩大培养。所述第一次扩大培养完成后,得到一级种子液。所述一级种子液菌活优选 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,进一步优选为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,更优选为 1×10^7 CFU/mL。得到一级种子液后,本发明优选将一级种子液进行第二次扩大培养,第二次扩大培养完成后,得到二级种子液。所述二级种子液菌活优选 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,进一步优选为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,更优选为 1×10^7 CFU/mL。

[0053] 得到二级种子液后,本发明采用乳酸菌二级种子液对山楂浆进行发酵,得到发酵山楂浆。本发明对山楂浆进行乳酸菌发酵时,柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌接种的体积比优选为(1~2):(0.5~1):(1~2);进一步优选为1:(0.5~1):(1~2);更优选为1:1:1。本发明优选将柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液进行混合后接种到山楂浆中进行山楂浆发酵。在本发明中,所述发酵培养的温度优选为 $30^\circ\text{C} \sim 33^\circ\text{C}$,更优选为 31°C ;所述发酵培养的时间优选为2~3d,更优选为2d;所述发酵培养时乳酸菌的接种量优选为培养基体积的4%~10%,进一步优选为6%~8%,更优选为6%;所述发酵培养优选为恒温厌氧发酵。所述发酵完成后,本发明优选进行灭菌结束发酵;所述灭菌的方式优选为巴氏杀菌;所述巴氏杀菌的温度优选为 $75^\circ\text{C} \sim 85^\circ\text{C}$,更优选为 80°C ;所述巴氏杀菌的时间优选为8~15min,更优选为10min。本发明采用特定的乳酸菌对山楂浆进行发酵,乳酸菌的乳酸代谢过程使山楂浆的柠檬酸转化为乳酸,导致山楂浆的酸感下降;同时在发酵过程中不额外添加蔗糖,乳酸菌发酵还能使山楂浆中的糖类物质进一步代谢,使含糖量降低。

[0054] 以上技术方案所用培养基如无特别说明,所述培养基均进行高温灭菌;所述灭菌的温度优选为 120°C ;所述灭菌的时间优选为20min。

[0055] 得到发酵山楂浆后,本发明将所述发酵山楂浆进行调配,得到发酵型低糖山楂果汁。

[0056] 在本发明中,所述调配优选将发酵山楂浆与赤藓糖醇、甜菊糖苷、茶多酚、维生素D、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、乳酸钙和磷酸氢二钠混合。在本发明中,按质量份计,所述调配时发酵山楂浆优选为800~1000份,进一步优选为850~950份,更优选为900份。以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时赤藓糖醇的添加量优选为1~3份,更优选为2份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时甜菊糖苷的添加量优选为0.05~0.1份,更优选为0.07份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时茶多酚的添加量优选为0.1~0.5份,进一步优选为0.2~0.4份,更优选为0.3份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时维生素D的添加量优选为0.1~0.2份,更优选为0.1份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时海藻酸钠的添加量优选为0.01~0.05份,进一步优选为0.02~0.04份,更优选为0.03份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时羧甲基纤维素钠的添加量优选为0.01~0.05份,进一步优选为0.02~0.04份,更优选为0.03份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时乳酸钙的添加量优选为0.1~0.5份,进一步优选为0.2~0.4份,更优选为0.3份;以发酵山楂浆的质量份为基准,所述调配时磷酸氢二钠的添加量优选为0.1~0.2份,更优选为0.1份。本发明所述调配过程优选伴随搅拌;本发明对搅拌的转速没有特殊要求,采用本领域常规调配搅拌转速即可;本发明对所述搅拌优选搅拌至原料混合均匀无明显结块。本发明对赤藓糖醇、甜菊糖苷、茶多酚、维生素D、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、乳酸钙和磷酸氢二钠的来源没有特殊限定,采用本领域常规市售即可。

[0057] 所述调配后,本发明将调配后的山楂浆优选依次进行分瓶分装和巴氏杀菌得到发酵型低糖山楂果汁。在本发明中,所述巴氏杀菌的温度优选为75℃~85℃,更优选为80℃;所述巴氏杀菌的时间优选为8~15min,更优选为10min。

[0058] 本发明制备发酵型低糖山楂果汁过程中无需额外添加糖类物质,同时,乳酸菌乳酸代谢过程使山楂浆的柠檬酸转化为乳酸,导致山楂浆的酸感下降;发酵过程中不额外添加蔗糖,乳酸菌发酵还能使山楂浆中的糖类物质进一步代谢,使含糖量降低,后期调配时也不用添加过多的蔗糖,最终制备得到的发酵型低糖山楂果汁具有低糖、低酸感和香味浓郁的特点,弥补了传统山楂饮料制备中需要添加大量蔗糖的缺陷,所述发酵型低糖山楂果汁更适于现代人们的饮食观念,更适于肥胖、糖尿病、儿童和老年人群食用。

[0059] 本发明还提供了一种上述技术方案制备得到的发酵型低糖山楂果汁,所述发酵型低糖山楂果汁具有低糖、低酸感、风味独特的特点。

[0060] 为了进一步说明本发明,下面结合附图和实施例对本发明提供的山楂浆及制备方法和发酵型山楂饮料及制备方法进行详细地描述,但不能将它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0061] 实施例1

[0062] 一种山楂浆的制备方法,步骤如下:

[0063] 挑选新鲜的、色泽鲜艳的、成熟度高的(9-10成)、无虫害、无伤痕的山楂果实,用超声波300W清洗5min后,除去山楂表明水分,然后将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,循环冷冻-梯度解冻具体为将山楂在-18℃下冷冻12h;将冷冻山楂置于-5℃进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于10℃进行第二次解冻,时间为6h。完成一次循环冷冻-梯度解冻后得到冻融山楂。其中进行冷冻之前的山楂如图2所示。

[0064] 将冻融山楂进行去核,采用内径为12mm的冲核刀除去山楂核,冻融山楂去核后如

图3所示;将山楂与水以质量比为1:3的比例用破壁机在2000r/min下打碎山楂5min,然后在胶体磨中加工达到加工细度在5 μ m,均质度为85%,得到山楂浆。

[0065] 由图2和图3可得,经过一次循环冷冻-梯度解冻后的冻融山楂颜色鲜亮,与冷冻前的山楂相比颜色没有发生变化,经一次冻融-梯度解冻的冻融山楂表现出皱缩软化。

[0066] 实施例2

[0067] 一种山楂浆的制备方法,步骤如下:

[0068] 挑选新鲜的、色泽鲜艳的、成熟度高的(9-10成)、无虫害、无伤痕的山楂果实,用超声波350W清洗8min后,除去山楂表明水分,然后将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,循环冷冻-梯度解冻具体为在-18 $^{\circ}$ C下冷冻12h;将冷冻山楂置于-5 $^{\circ}$ C进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于10 $^{\circ}$ C进行第二次解冻,时间为6h。

[0069] 完成第一次循环冷冻-梯度解冻后,进行第二次循环冷冻-梯度解冻,具体为在-18 $^{\circ}$ C下冷冻12h;将冷冻山楂置于-5 $^{\circ}$ C进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于10 $^{\circ}$ C进行第二次解冻,时间为6h。完成二次循环冷冻-梯段解冻后得到冻融山楂。

[0070] 将冻融山楂进行去核,采用内径为12mm的冲核刀除去山楂核;将山楂与水以质量比为1:3的比例用破壁机在2500r/min下打碎山楂8min,然后在胶体磨中加工达到加工细度在10 μ m,均质度为90%,得到山楂浆。

[0071] 实施例3

[0072] 一种山楂浆的制备方法,步骤如下:

[0073] 挑选新鲜的、色泽鲜艳的、成熟度高的(9-10成)、无虫害、无伤痕的山楂果实,用超声波300W清洗8min后,除去山楂表明水分,然后将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,循环冷冻-梯度解冻具体为在-18 $^{\circ}$ C下冷冻12h;将冷冻山楂置于-5 $^{\circ}$ C进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于10 $^{\circ}$ C进行第二次解冻,时间为6h。完成第一次循环冷冻-梯度解冻后得到冻融山楂。

[0074] 将冻融山楂进行去核,采用内径为12mm的冲核刀除去山楂核;将山楂与水以质量比为1:3的比例用破壁机在2000r/min下打碎山楂5min,然后在胶体磨中加工达到加工细度在5 μ m,均质度为90%,得到山楂浆。

[0075] 实施例4

[0076] 一种山楂浆的制备方法,步骤如下:

[0077] 挑选新鲜的、色泽鲜艳的、成熟度高的(9-10成)、无虫害、无伤痕的山楂果实,用超声波350W清洗5min后,除去山楂表明水分,然后将山楂进行循环冷冻-梯度解冻,循环冷冻-梯度解冻具体为在-18 $^{\circ}$ C下冷冻12h;将冷冻山楂置于-5 $^{\circ}$ C进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于10 $^{\circ}$ C进行第二次解冻,时间为6h。完成第一次循环冷冻-梯度解冻后得到冻融山楂。

[0078] 将冻融山楂进行去核,采用内径为12mm的冲核刀除去山楂核;将山楂与水以质量比为1:3的比例用破壁机在2500r/min下打碎山楂8min,然后在胶体磨中加工达到加工细度在10 μ m,均质度为85%,得到山楂浆。

[0079] 实施例5

[0080] 一种山楂浆的制备方法,步骤如下:

[0081] 将山楂清洗去核后放入-25 $^{\circ}$ C的冰箱中冷冻12h,冷冻完成后将山楂置于-5 $^{\circ}$ C进行

第一次解冻,时间为5h;第一次解冻完成后,将山楂于10℃进行第二次解冻,时间为5h,其他步骤同实施例3。

[0082] 实施例6

[0083] 一种山楂浆的制备方法,具体制备方法同实施例1,区别在于,循环冷冻-梯度解冻具体为将山楂在-25℃下冷冻10h;将冷冻山楂置于-8℃进行第一次解冻,时间为5h;第一次解冻完成后,将山楂于8℃进行第二次解冻,时间为5h。

[0084] 实施例7

[0085] 一种山楂浆的制备方法,具体制备方法同实施例1,区别在于,循环冷冻-梯度解冻具体为将山楂在-15℃下冷冻14h;将冷冻山楂置于-2℃进行第一次解冻,时间为7h;第一次解冻完成后,将山楂于12℃进行第二次解冻,时间为7h。

[0086] 实施例8

[0087] 一种山楂浆,具体制备方法同实施例1,区别在于,循环冷冻-梯度解冻具体为将山楂在-20℃下冷冻12h;将冷冻山楂置于-6℃进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于9℃进行第二次解冻,时间为6h。

[0088] 实施例9

[0089] 一种山楂浆,具体制备方法同实施例1,区别在于,循环冷冻-梯度解冻具体为将山楂在-18℃下冷冻12h;将冷冻山楂置于-4℃进行第一次解冻,时间为6h;第一次解冻完成后,将山楂于11℃进行第二次解冻,时间为6h。

[0090] 对比例1-1

[0091] 挑选新鲜的、色泽鲜艳的、成熟度高的(9-10成)、无虫害、无伤痕的山楂果实,采用内径为12mm的冲核刀除去山楂核。将山楂与水以质量比为1:3的比例用破壁机在2000r/min下打碎山楂5min,然后在胶体磨中加工达到加工细度在5 μ m,均质度在85%,得到山楂浆。

[0092] 对比例1-2

[0093] 一种山楂浆,制备方法同实施例1,区别在于,循环冷冻-梯度解冻进行的次数为3次。

[0094] 对比例1-3

[0095] 一种山楂浆,具体制备方法同实施例1,区别在于,不进行循环冷冻梯度解冻仅进行冷冻-解冻,具体为将山楂在-18℃下冷冻12h;将冷冻山楂置于10℃进行解冻,时间为12h。

[0096] 应用例1

[0097] 将实施例1~9和对比例1-1~对比例1~3制备的山楂浆进行理化性质检测。

[0098] 酸度测定:将山楂浆稀释10倍后用0.1mol/LNaOH溶液进行酸碱滴定,计算山楂酸度(mg*g⁻¹)。

[0099] 可溶性固形物含量测定:并用手持式糖度计直接检测山楂浆测定。

[0100] 可溶性果胶含量测定:称取5g样品,加入25mL 95%乙醇进行打浆,沸水浴加热30min,冷却至室温,于8000rpm离心15min,弃去上清液,向沉淀中加入20mL蒸馏水,50℃水浴中保温30min,冷却至室温后,8000rpm离心15min,将上清液移入100mL容量瓶中,用少量去离子水洗涤沉淀,8000rpm离心15min,一并将上清液移入到容量瓶中,加蒸馏水至刻度,此溶液即为水溶性果胶。

[0101] 原果胶含量测定:在提取完可溶性果胶步骤后,向经蒸馏水洗涤后的沉淀物中加入25mL $0.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸溶液,沸水浴加热1h,冷却至室温,于8000rpm离心15min,将上清液移入100mL容量瓶中,加蒸馏水至刻度,此溶液即为原果胶。

[0102] 水溶性果胶和原果胶含量用咪唑-硫酸法测定,具体方法参考文献(电子束辐照抑制猕猴桃软化机理研究,李瑞娟,西北农林科技大学,2022,第10页)。具体方法为:吸取1.0mL待测液,加6.0mL浓硫酸,沸水浴20min,冷却后加0.2mL1.5g/L咪唑乙醇溶液。避光反应30min,测定 OD_{530} 。

[0103] 标准曲线绘制:精确称取干燥的半乳糖醛酸标准样品10mg,定容于25mL容量瓶中。然后准确量取0,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8mL半乳糖醛酸标准溶液于带塞试管中,各管加水至1mL。在冰水浴中向各管加入6mL浓硫酸,摇匀后,改在85℃水浴中保持20min,取出后冷至室温,各管加0.2mL咪唑液,在室温下保持2h,测定吸收度(530nm),以浓度对吸收度作标准曲线,回归方程 $y=0.0534x-0.0193$, $R^2=0.9979$ 。将测定的 OD_{530} 值代入回归方程,得到果胶含量(以半乳糖醛酸计)。

[0104] 色泽测定:用色差仪测定, Δa 越小表示颜色变红越鲜艳, Δa 越大表示颜色绿越暗淡。

[0105] 出汁率根据出汁率计算公式进行计算,具体为:

[0106] 标准出汁率=山楂汁的重量×山楂汁可溶性固形物×100/(山楂重量×山楂原汁的可溶性固形物含量)×100%;

[0107] 其中,山楂汁为山楂加水打浆后得到的山楂汁;山楂原汁为山楂不加水直接打浆得到的山楂原浆。

[0108] 对实施例1~9和对比例1-1~对比例1~3制备得到的山楂浆的理化性质检测结果如表1所示。

[0109] 表1冷冻-梯度解冻对山楂理化性质的影响

山楂	出汁率 (%)	酸度 (mg *g ⁻¹)	可溶性固形物含量 (Brix%)	可溶性果胶含量 (mg.g ⁻¹ FW)	原果胶含量 (mg.g ⁻¹ FW)	色泽 (Δa)
实施例 1	61	15.2	16	18.05	18.35	5.3
实施例 2	61.8	15.8	18	19.32	17.68	7.1
[0110] 实施例 3	62.1	15.3	17.1	18.98	18.02	6.5
实施例 4	61.5	14.9	16.5	19.07	17.98	5.3
实施例 5	61.9	15.5	17.8	19.21	17.48	5.1
实施例 6	60.5	14.8	17.4	18.03	17.52	6.3
实施例 7	59.6	14.3	16.8	17.98	17.91	4.9
实施例 8	60.8	14.5	17.6	18.46	17.22	4.6

[0111]	实施例 9	60.3	15.7	17.1	18	17.61	5.8
	对比例 1-1	55	13.3	15.2	15.84	20	18.7
	对比例 1-2	54	12.69	14.88	15.25	19.23	15.3
	对比例 1-3	57	13.9	15.8	16.45	18.75	6.7

[0112] 由表1可得,山楂浆的制备中采用冷冻-梯度解冻的方法进行山楂处理后再进行打浆能够显著提高山楂的出汁率,提高山楂浆中的可溶性固形物含量、可溶性果胶含量以及降低原果胶含量,并且经冷冻-梯度解冻方法得到的山楂浆色泽鲜亮;而未经冷冻-梯度解冻方法得到的山楂浆色泽暗沉。

[0113] 实施例10

[0114] 1. 发酵菌剂选择

[0115] 从北京北纳创联生物科技有限公司购买乳酸菌,具体菌株为:柠檬明串珠菌,编号为BNCC 194779;干酪乳杆菌,编号为BNCC 134415;短乳杆菌,编号为BNCC 337373;瑞士乳杆菌,编号为BNCC 189793;嗜酸乳杆菌,编号为BNCC 186447。

[0116] 将上述乳酸菌分别进行经柠檬酸转化体系实验和发酵山楂浆实验。

[0117] 其中,柠檬酸转化体系实验具体为:

[0118] 将上述菌株采用MRS培养基作为培养基分别进行培养,培养在37℃下200r/min通气恒温摇床中进行培养,培养24h时,将菌液摇匀。吸取2mL处于对数末期的均匀菌液于离心管中,以8000rpm转速离心,得到菌体用0.9%生理盐水洗涤两次,转接入柠檬酸乳酸转化的反应体系中。

[0119] 反应体系:

[0120] 0.05M $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-H}_3\text{PO}_4$ 缓冲液 (pH3.5) 2mL

[0121] 100 μM MnCl_2 0.1mL

[0122] 50mM柠檬酸0.5mL

[0123] 参考国标GB 5009.157-2016的方法检测得到上述发酵菌剂发酵结束后发酵体系的柠檬酸含量如表2所示。

[0124] 发酵山楂浆实验具体为:在实施例1中得到的山楂浆作为培养基,以培养基体积比2%的接种量分别接入柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌、短乳杆菌、瑞士乳杆菌、嗜酸乳杆菌。在30℃条件下进行培养,培养方式为静置培养,培养时间为3天。发酵结束后,采用pH计检测发酵山楂浆的pH如表2所示。

[0125] 表2乳酸菌发酵结束后发酵体系的相关参数

菌株名称	柠檬酸含量 (mg/kg)	发酵山楂浆pH值 (第三天)
柠檬明串珠菌	1759.57	2.23
干酪乳杆菌	1444.68	2.07
短乳杆菌	1565.67	2.2
瑞士乳杆菌	1745.34	2.12
嗜酸乳杆菌	1773.99	2.11

[0127] 由表2结果,经对比选择在柠檬酸转化体系中柠檬酸含量较低,和发酵山楂浆pH值较高的菌株,由此选择柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌、短乳杆菌作为混菌发酵剂,进行山楂浆

发酵。

[0128] 实施例11

[0129] 一种发酵型低糖山楂果汁,制备步骤如下,制备流程如图1所示:

[0130] 选择实施例10中所述的柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌、短乳杆菌作为山楂浆的发酵菌剂。

[0131] 将实施例3中的山楂浆在120℃条件下,灭菌20min,得到灭菌后的山楂浆进行后续发酵。

[0132] 分别将柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌进行活化培养、驯化培养和扩大培养,具体为:将柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌或短乳杆菌以培养基体积百分比为2%接种量加入到MRS培养基中37℃下通氧静置培养,进行活化处理20h,使菌种数量菌活达到 1×10^6 CFU/mL及以上时,得到菌液1。

[0133] 将菌液1接入进行第二次活化以培养基体积百分比2%接种量,接种到MRS中37℃,通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度时,得到菌液2。

[0134] 将菌液2进行驯化培养,驯化培养过程的培养条件为37℃下通氧静置培养20h。将菌液2以培养基体积比为2%的接种量接入MRS和山楂浆质量比例为10:0的培养基中进行传代两次培养。传代两次培养培养条件为:将菌液2以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为10:0的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物1。将前述培养物1以培养基体积比为2%的接种量接入MRS:山楂浆质量比例为10:0的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第一次驯化培养物。

[0135] 将第一次驯化培养物以体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为8:2的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物2。将前述培养物2以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为8:2的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第二次驯化培养物。

[0136] 将第二次驯化培养物以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为6:4的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物3。将前述培养物3以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为6:4的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第三次驯化培养物。

[0137] 将第三次驯化培养物以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为4:6的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物4。将前述培养物4以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为4:6的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第四次驯化培养物。

[0138] 将第四次驯化培养物以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为2:8的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物5。将前述培养物5以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为2:8的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的

密度,得到第五次驯化培养物。

[0139] 将第五次驯化培养物以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为0:10的培养基中培养,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物6。将前述培养物6以培养基体积比为2%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为0:10的培养基中,37℃下通氧静置培养20h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第六次驯化培养物,即驯化培养物菌液3。

[0140] 将菌液3接入灭菌后的山楂浆培养基中进行扩大培养:将菌液3以培养基体积比为4%接种量接种于灭菌山楂浆中,在30℃条件下进行厌氧培养1d至山楂浆中菌液密度 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,培养完成得到一级种子液;后将一级种子液按照体积比为4%的接种量接种到山楂浆中在30℃条件下进行厌氧培养1d得到柠檬明串珠菌二级种子液、干酪乳杆菌二级种子液或短乳杆菌二级种子液,其中各菌液密度 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL。

[0141] 将制得的柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液以体积比为1:0.5:1比例混合,将混合菌液按照山楂浆体积的4%接种于实施例3制备的山楂浆中,进行恒温厌氧发酵,发酵温度为30℃,发酵时间为2d。发酵完成后于80℃巴氏灭菌10min终止发酵。

[0142] 向终止发酵后的800kg山楂浆倒入搅拌机中,边搅拌边添加1kg赤藓糖醇,0.05kg甜菊糖苷,0.1kg茶多酚,0.1kg维生素D,0.01kg海藻酸钠,0.01kg羧甲基纤维素钠、0.1kg乳酸钙和0.1kg磷酸氢二钠。搅均匀至无明显结块。

[0143] 将调配好的山楂汁灌入瓶中,采用巴氏灭菌(80℃,10min),得到发酵型低糖山楂果汁,即图1中山楂汁。

[0144] 实施例12

[0145] 一种发酵型低糖山楂果汁,制备步骤如下,制备流程同样如入1所示:

[0146] 选择实施例10中所述的柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌、短乳杆菌作为山楂浆的发酵菌剂。

[0147] 将实施例4中的山楂浆在120℃条件下,灭菌20min,得到灭菌后的山楂浆进行后续发酵。

[0148] 分别将柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌以体积百分比为2%接种量接入到MRS培养基中37℃下进行活化处理30h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度时,得到菌液1。

[0149] 将菌液1接入进行二次活化以培养基体积百分比2%接种量,接种到MRS中37℃,通氧静置培养30h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度时,得到菌液2。

[0150] 将菌液2进行驯化培养,驯化培养过程的培养条件为37℃下通氧静置培养30h。将菌液2以体积比为4%的接种量接入MRS:山楂浆比例为10:0的培养基中进行传代两次培养。传代两次培养培养条件为:将菌液2以体积比为4%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为10:0的培养基中培养,37℃下通氧静置培养30h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到培养物1。将前述培养物1以体积比为4%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为10:0的培养基中培养30h,使菌种数量达到 1×10^6 CFU/mL及以上的密度,得到第一次驯化培养物。将第一次驯化培养物以体积比为4%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为8:2的培养基中进行传代两次培养,得到第二次驯化培养物。将第二次驯化培养物以以体积比为4%的接种量接入MRS与山楂浆质量比例为6:4的培养基中进行传代两次培养,得到第三次驯化培

养物。依次类推,依次在MRS与山楂浆质量比例为4:6的培养基中进行传代两次培养,得到第四次驯化培养物;在MRS与山楂浆质量比例为2:8的培养基中进行传代两次培养,得到第五次驯化培养物;在MRS与山楂浆质量比例为0:10的培养基中进行传代两次培养,得到第六次驯化培养物即得驯化培养物菌液3。

[0151] 将菌液3接入灭菌后的山楂浆培养基中进行扩大培养:将菌液3以培养基体积比为10%接种量接种于灭菌山楂浆中,在33℃条件下进行厌氧培养2d至山楂浆中菌液密度 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL,培养完成得到一级种子液;后将一级种子液按照培养基体积比为10%的接种量接种到山楂浆中在33℃条件下进行厌氧培养2d得到二级种子液,其中菌液密度 $\geq 1 \times 10^6$ CFU/mL。

[0152] 将制得的柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液以体积比1:1:2比例混合,并按照步骤2中得到山楂浆体积的10%添加,恒温厌氧发酵温度在33℃,发酵3d后采用巴氏灭菌(80℃,10min)终止发酵。

[0153] 向终止发酵后的1000kg山楂浆倒入搅拌器中,边搅拌边添加3份赤藓糖醇,0.1kg甜菊糖苷,0.5kg茶多酚,0.2kg维生素D,0.05kg海藻酸钠,0.05kg羧甲基纤维素钠、0.5kg乳酸钙和0.2kg磷酸氢二钠。搅均匀至无明显结块。

[0154] 将调配好的山楂汁灌入瓶中,采用巴氏灭菌(80℃,10min),得到发酵型低糖山楂果汁。

[0155] 实施例13

[0156] 一种发酵型低糖山楂果汁,采用实施例5中的山楂浆在120℃条件下,灭菌20min,得到灭菌后的山楂浆进行后续发酵。其他制备方法同实施例11。

[0157] 实施例14

[0158] 一种发酵型低糖山楂果汁,制备方法同实施例11,区别在于,灭菌山楂浆发酵时乳酸菌菌剂采用柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液以体积比1:1:1比例混合。

[0159] 实施例15

[0160] 一种发酵型低糖山楂果汁,采用实施例1中的山楂浆在120℃条件下,灭菌20min,得到灭菌后的山楂浆进行后续发酵。灭菌山楂浆发酵时乳酸菌菌剂采用柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液以体积比为2:0.5:1比例混合。其他制备方法同实施例11。

[0161] 实施例16

[0162] 一种发酵型低糖山楂果汁,采用实施例2中的山楂浆在120℃条件下,灭菌20min,得到灭菌后的山楂浆进行后续发酵。灭菌山楂浆发酵时乳酸菌菌剂采用柠檬明串珠菌、干酪乳杆菌和短乳杆菌二级种子液以体积比为2:1:2比例混合。其他制备方法同实施例11。

[0163] 对比例2

[0164] 与实施例11的区别之处在于,山楂不经冷冻融化过程直接打浆,制备得到的发酵型山楂果汁。

[0165] 对比例3

[0166] 与实施例11的区别之处在于,山楂打浆后未经胶体磨处理,制备得到的山楂果汁。

[0167] 对比例4

[0168] 与实施例11的区别之处在于,山楂不经过发酵直接制汁,制备得到的发酵型山楂果汁。

[0169] 对比例5

[0170] 市售山楂饮料。

[0171] 对比例6

[0172] 与实施例11的区别之处在于,山楂浆发酵菌剂仅为柠檬明串珠菌,种子液接种量与实施例11三菌的接菌量相同。

[0173] 对比例7

[0174] 与实施例11的区别之处在于,山楂浆发酵菌剂仅为干酪乳杆菌,种子液接种量与实施例11三菌的接菌量相同。

[0175] 对比例8

[0176] 与实施例11的区别之处在于,山楂浆发酵菌剂仅为短乳杆菌,种子液接种量与实施例11三菌的接菌量相同。

[0177] 对比例9

[0178] 与实施例11的区别之处在于,山楂浆发酵菌剂为植物乳杆菌的发酵菌剂,种子液接种量与实施例11三菌的接菌量相同,所述植物乳杆菌为从北京北纳创联生物科技有限公司购买乳酸菌,菌株编号为BNCC336421。

[0179] 应用例2

[0180] 评定小组由45名志愿者组成,进行感官评定,志愿者人员身体健康,对色、香、味有较强的分辨力。对实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~9制备的山楂饮料进行感官评价,评价结果如表3所示。

[0181] 表3实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~9制备的山楂饮料感官评价结果

组别	口感	酸度	果汁状态	香味
实施例11	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
实施例12	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
实施例13	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
实施例14	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
实施例15	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
实施例16	顺滑	合适	色泽明亮	香味浓郁
对比例2	顺滑	合适	颜色较暗	香味略淡
对比例3	粗糙	合适	有明显沉淀	香味浓郁
对比例4	粗糙	较酸	颜色较暗	香味略淡
对比例5	顺滑	较酸	颜色较暗	香味略淡
对比例6	顺滑	较酸	色泽明亮	香味略淡
对比例7	顺滑	较酸	色泽明亮	香味略淡
对比例8	顺滑	较酸	色泽明亮	香味略淡
对比例9	顺滑	较酸	颜色较暗	香味略淡

[0183] 由表3可得,本发明采用特定方法制备的山楂饮料口感顺滑,酸度合适,果汁色泽明亮且香味浓郁。

[0184] 应用例3

[0185] 对实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁进行理化性质检测,其中,柠檬酸和乳酸含量检测参考国标GB 5009.157-2016;酸感采用电子舌进行检测;可溶性固形物含量采用糖度计进行检测。

[0186] 对实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁的可溶性固形物含量,酸感,柠檬酸含量和乳酸含量的检测结果如表4所示。

[0187] 表4实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁的理化性质检测结果

[0188]	组别	可溶性固形物 (Brix%)	酸感(电子舌 响应强度)	柠檬酸含量 (g/L)	乳酸含量 (g/L)
	实施例 11	4.75	21	2.1	0.47
	实施例 12	4.58	20	2.0	0.51
	实施例 13	5.39	20	2.2	0.45
	实施例 14	5.21	21	2.2	0.46
	实施例 15	5.15	21	2.	0.48
	实施例 16	5.09	22	2.2	0.46
[0189]	对比例 2	5.07	22	2.1	0.46
	对比例 3	4.99	22	2.2	0.48
	对比例 4	6.52	25	2.4	-
	对比例 5	6.37	26	2.5	0.51
	对比例 6	5.26	23	2.3	0.48
	对比例 7	5.47	22	2.2	0.46
	对比例 8	5.15	24	2.3	0.46
	对比例 9	5.33	26	2.4	0.49

[0190] 注:-表示没有检测到相关物质。

[0191] 由表4可得,本发明制备得到的发酵型低糖山楂果汁对比其他处理方式,本发明的发酵型低糖山楂果汁中糖度含量、酸感和柠檬酸含量有所降低,对比未发酵山楂汁乳酸含量升高。说明筛选的乳酸菌菌株能够有效解决山楂浆的酸味过于刺激的问题,代谢山楂汁中的柠檬酸,降低山楂汁酸感。

[0192] 应用例4

[0193] 对实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁进行香气成分检测。具体检测方法为:从-80℃冰箱中取出样品进行液氮研磨,涡旋混合均匀,每个样本称取约液体1mL于顶空瓶中;分别加入饱和NaCl溶液,10μL(50μg/mL)内标溶液。在60℃恒温条件下,震荡5min,将已老化好的萃取头插入样品瓶的顶空部分,顶空萃取15min,于250℃下解析5min,然后进行GC-MS分离鉴定。

[0194] 色谱条件为:DB-5MS毛细管柱(30m×0.25mm×0.25μm,Agilent J&WScientific,

Folsom, CA, USA), 载气为高纯氦气(纯度不小于99.999%), 恒流流速1.2mL/min, 进样口温度250℃, 不分流进样, 溶剂延迟3.5min。程序升温: 40℃保持3.5min, 以10℃/min升至100℃, 再以7℃/min升至180℃, 最后以25℃/min升至280℃, 保持5min。

[0195] 质谱条件为: 电子轰击离子源(EI), 离子源温度230℃, 四级杆温度150℃, 质谱接口温度280℃, 电子能量70eV, 扫描方式为选择离子检测模式(SIM), 定性定量离子精准扫描(GB 23200.8-2016)。

[0196] 1. 选择发酵前后含量差异最大的七种酯类, 对比其在山楂汁酯类风味物质中百分含量的变化, 检测结果见表5。

[0197] 表5实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁酯类香气成分检测结果

组别	(E)-2-甲基-2-丁酸-2-甲丙酯	(E)-2-甲基丙烯酸-2-甲基丁-2-烯-1-基酯	3-甲基硫羟丁酸-S-(1-甲基丙基)酯	正戊酸-(Z)-3-己烯酯	3,4-二甲基苯甲酸甲酯	(Z)-戊-2-烯丁酸丁酯	3-甲基丁酸己酯
实施例 11	8.76%	6.93%	16.85%	7.61%	0.55%	4.72%	5.17%
实施例 12	8.74%	6.90%	16.83%	7.58%	0.56%	4.70%	5.18%
实施例 13	8.68%	6.92%	16.84%	7.59%	0.54%	4.68%	5.15%
实施例 14	8.70%	6.89%	16.82%	7.56%	0.52%	4.65%	5.13%
实施例 15	8.73%	6.93%	16.83%	7.52%	0.51%	4.71%	5.17%
实施例 16	8.90%	6.91%	16.80%	7.58%	0.53%	4.66%	5.16%
对比例 2	8.20%	6.59%	16.63%	7.38%	0.35%	4.51%	5.03%
对比例 3	8.65%	6.80%	16.79%	7.50%	0.49%	4.63%	5.12%
对比例 4	8.18%	6.57%	16.59%	7.35%	0.30%	4.49%	4.97%
对比例 5	8.35%	6.68%	16.68%	7.43%	0.45%	4.53%	5.09%
对比例 6	8.46%	6.69%	16.72%	7.49%	0.45%	4.52%	5.11%
对比例 7	8.49%	6.72%	16.74%	7.47%	0.46%	4.50%	5.08%
对比例 8	8.50%	6.70%	16.71%	7.47%	0.47%	4.55%	5.07%
对比例 9	8.38%	6.58%	16.62%	7.38%	0.37%	4.51%	5.02%

[0198] 由表5可得, 本发明制备的发酵型低糖山楂果汁和未发酵山楂汁中相比, 酯类香气成分含量发生变化, 乳酸菌发酵有效提高了山楂汁中酯类香气成分的含量, 并且筛选出来的乳酸菌株发酵对比其他菌株发酵, 山楂汁中酯类香气成分的含量更高。说明筛选出来的乳酸菌菌株发酵有效丰富了山楂汁的风味, 提高山楂汁品质。

[0200] 2. 从含量较高的九十种香气成分中选出比较有代表性的香气成分(包括酸类、萜类、酚类、杂环化合物、醛类香气成分)如表6所示。

[0201] 表6实施例11~16制备的发酵型低糖山楂果汁和对比例2~8的山楂果汁其他七种代表性香气成分检测结果

组别	4-甲基-苯甲酸	L-香芹醇	子香酚	2-己酰基咪喃	2,6-二甲基-5-庚烯醛	薄荷醇	1-(1H-吡唑-4-基)-乙酮
实施例 11	0.44%	0.30%	0.55%	5.94%	3.82%	2.08%	3.49%
实施例 12	0.40%	0.25%	0.50%	5.94%	3.80%	2.04%	3.485%
实施例 13	0.41%	0.26%	0.48%	5.95%	3.81%	2.06%	3.479%
实施例 14	0.43%	0.23%	0.53%	5.93%	3.80%	2.07%	3.48%
实施例 15	0.43%	0.28%	0.49%	5.97%	3.81%	2.05%	3.487%
实施例 16	0.42%	0.29%	0.51%	5.96%	3.79%	2.04%	3.482%
对比例 2	0.15%	0.10%	0.39%	5.92%	3.78%	1.99%	3.45%
对比例 3	0.37%	0.15%	0.45%	5.93%	3.79%	2.06%	3.471%
对比例 4	0.12%	0.03%	0.32%	5.91%	3.77%	1.98%	3.44%
对比例 5	0.25%	0.08%	0.34%	5.915%	3.782%	2.00%	3.456%
对比例 6	0.28%	0.09%	0.35%	5.919%	3.783%	1.99%	3.458%
对比例 7	0.24%	0.07%	0.37%	5.917%	3.781%	2.01%	3.452%
对比例 8	0.26%	0.05%	0.36%	5.913%	3.779%	1.995%	3.454%
对比例 9	0.23%	0.04%	0.33%	5.916%	3.772%	1.997%	3.451%

[0203] 由表6可得,和未发酵山楂汁中相比,其中不同种类的香气成分含量发生变化,乳酸菌发酵有效提高了山楂汁中不同种类香气成分的含量,并且筛选出来的乳酸菌株发酵对比其他菌株发酵,山楂汁中不同种类香气成分的含量更高。其中,本发明制备的发酵型低糖山楂果汁能够显著提高香气成分中4-甲基-苯甲酸、L-香芹醇、子香酚的含量。说明筛选出来的乳酸菌菌株发酵有效丰富了山楂汁的风味,提高山楂汁品质。

[0204] 综上,本发明提供的发酵型低糖山楂果汁的制备方法利用乳酸菌发酵代谢降解山楂汁中过多的柠檬酸,将酸味刺激的柠檬酸转换成风味和口感都更加柔和的乳酸,解决山楂浆的酸味过于刺激的问题,并且丰富山楂浆的风味。所述制备方法在发酵过程中不额外添加蔗糖,乳酸菌发酵使果汁含糖量降低,是一款低糖健康的果汁饮料,适合多数人群饮用。采用本发明所述制备方法制备山楂饮料能够在低糖条件下,得到出汁率高、酸度低的发酵型山楂饮料,制备得到的发酵型山楂饮料具有低糖、低酸感、香味浓郁的特点。

[0205] 尽管上述实施例对本发明做出了详尽的描述,但它仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部实施例,人们还可以根据本实施例在不经创造性前提下获得其他实施例,这些实施例都属于本发明保护范围。

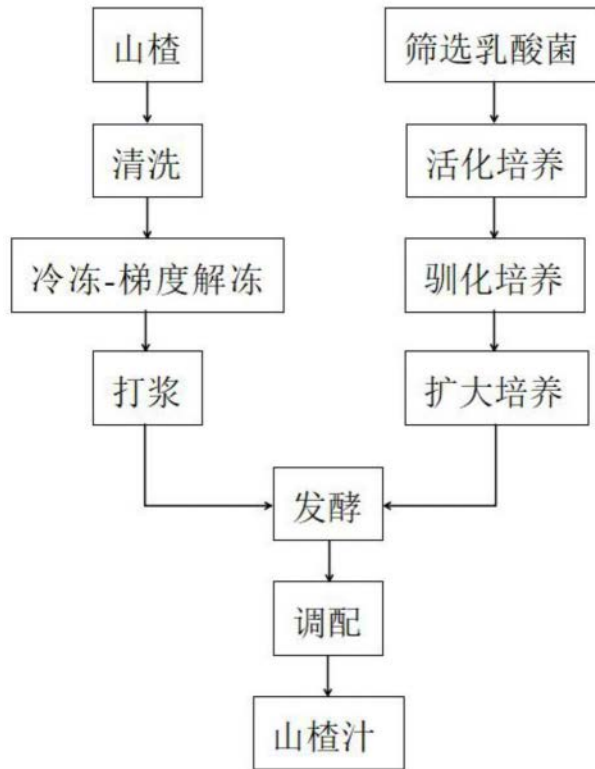


图1



图2



图3