

双歧杆菌发酵

山药、南瓜复合果肉饮料的研究

孔 瑾,高 晗,胡明利,武强辉
(河南科技学院食品学院,河南新乡 453003)

摘 要:以山药和南瓜为原料,以双歧杆菌为发酵剂,对两种原料复合果肉饮料进行厌氧发酵,从而研究出双歧杆菌发酵果肉饮料的加工工艺。实验表明:山药和南瓜原料片以1:3的比例加水软化制浆,山药浆和南瓜浆以2:3的比例进行混合,其混合果肉饮料品质优良,固形物含量适中,色泽鲜黄明亮;添加0.5%的糖化酶,在60℃左右,经30min糖化效果最好;加入0.15%明胶,0.08%海藻酸钠,0.08%黄原胶,0.01%PGA(海藻酸丙二醇酯)四种复合稳定剂,饮料的稳定效果最好。产品在4℃的环境下保藏15d,双歧杆菌活菌数仍在 10^6 cfu/mL以上。

关键词:双歧杆菌,南瓜,山药,厌氧培养,糖化

Preparation of beverage of yam and pumpkin fermented by bifidobacterium

KONG Jin, GAO Han, HU Ming-li, WU Qiang-hui

(School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: The anaerobic fermentation of the mixed fruit beverage of yam and pumpkin which were used as the main raw material with the bifidobacterium was studied. The experiment showed that solids content of the mixed fruit drink was moderate and the color was bright yellow when the yam and pumpkin were each softened to pulp with the ratio of 1:3 and then mixed with the ratio of 2:3. The effect of glycosylating was best by adding 0.5% glucoamylase when the beverage had been glycosylating for 30min at the temperature of 60℃. The recipe of the composite stabilizer was best when gelatin 0.15%, sodium alginate 0.08%, xanthan gum 0.08%, PGA (propylene glycol alginate fat) 0.01%. The best preservation temperature of the product was 4℃. Eventually the fermented fruit beverage which contained more than 10^6 cfu/mL after 15d.

Key words: bifidobacterium; pumpkin; yam; anaerobic training; saccharification

中图分类号:TS252.54

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2008)04-0174-04

南瓜含有较丰富的维生素,具有较好的保健功效。中医认为南瓜性甘温、补脾、暖胃、具有补中益气、消炎止痛、解毒等功能。研究表明,南瓜能促进人体内胰岛素的分泌,同时能消除致癌物质亚硝胺的突变作用^[1]。山药本名薯蓣,别名山珍,山芋、延草、薯蕷科,多年生缠绕草本植物,其块茎、珠芽、藤皆可入药,块茎可食用。现代药理研究表明,山药多糖为其主要活性成分,在防止高血脂及调理肠胃方面有良好功效,还能降低血糖,提高和调节免疫功能,并具有抗衰老作用^[2]。山药中的尿囊素具有抗刺激物、麻痹镇痛、促进上皮生长、消炎抑菌等疗效。双歧杆菌是人体内的正常生理性细菌,定殖于肠道

内,是肠道的优势菌群,占婴儿消化道菌丛的92%。该菌与人体终生相伴,其数量的多少与人体健康密切相关,是目前公认的一类对机体健康有促进作用的代表性有益菌^[3]。有目的地选择食用富含双歧杆菌的食品对保障人们的健康极其有益。本实验旨在研究双歧杆菌发酵山药、南瓜果肉饮料的工艺技术,为社会提供集营养、保健、味美、色艳于一体的保健饮品。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

双歧杆菌 由北京川秀科技有限公司提供的酸奶双歧杆菌混合菌种(成分:双歧杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸链球菌、明串球菌属;)分离制取;山药 市售新鲜山药,以焦作地区所产的铁棍山药为最好,无机械损伤、无霉变斑点、无腐烂、无病虫害、无虫蛀、少黑斑、山药条茎表面泥沙少、无杂质;南瓜 市售,肉厚、纤维少、黄色、9~10成熟、无机

收稿日期:2007-10-22

作者简介:孔瑾(1957-),男,副教授,硕士,主要从事农副产品加工的教学和科学研究工作。

基金项目:2006年河南省科技厅0623012000号普通科技攻关项目。

表1 两种浆料感官评分标准^[5]

总分(100)	南瓜			山药		
	21~25	11~20	0~10	21~25	11~20	0~10
色泽(25)	鲜亮	较亮	灰黄	洁白	较白	灰白
气味(25)	瓜味浓郁	瓜味淡	基本无味	味浓郁	味较淡	无味
滋味(25)	甜有香味	略甜微香	微苦	清香	微清香	无味
形态(25)	均匀	较均匀	有凝块	均匀	较均匀	有凝块

械损伤;糖化酶 郑州市福源生物科技有限公司生产;培养基 15% 复原脱脂乳培养基、改良 MRS 琼脂培养基 I、PTYG 琼脂培养基;蔗糖、柠檬酸、稳定剂、葡萄糖 食用级。

电热鼓风机 101-型,上海市上海县实验仪器厂;厌氧培养箱 YQX-1 型,上海跃进医疗器械一厂;电子计重称 ACS-A 型,上海支声衡器有限公司;恒温水浴锅 HH-4 型,江苏省金坛市宏华仪器厂;生化培养箱 SPX-250B 型,江苏金坛市新航仪器厂;分析天平 上海天平厂;胶体磨 小型卧式,沈阳香洋机械厂;高压均质机 GJB1-25,江苏常州东郊洛阳镇常乐乳品机械厂;高压灭菌锅 YXQ-LS-18SI,上海涵今仪器公司;手持糖度计 N-1a,上海卓鑫科技有限公司;超净工作台 SW-CJ-1 型,苏州净化设备厂;电磁炉、滴定管 河南科技学院食品工艺实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 稳定剂的选择 选取四种稳定剂,采用单一实验和复合正交实验的方法进行果肉饮料的稳定性研究,以确定复合稳定剂的用量。

1.2.2 双歧杆菌菌种的分离、扩培与发酵 对双歧杆菌混合菌种进行分离,经过活化、分离、扩大、培养,然后接种到饮料中进行厌氧发酵。

1.2.3 双歧杆菌活菌数检测 采用平板计数法。

1.2.4 其它成分测定 pH 的测定:精密 pH 试纸法;还原糖的测定:费林试剂法;淀粉含量的测定:酸水解法。

1.3 工艺流程

1.3.1 山药→清洗→去皮→切片→护色→软化→制浆→山药原浆

1.3.2 南瓜→清洗→去皮→切片→护色→软化→制浆→南瓜原浆

1.3.3 原浆混合→糊化→糖化→添加辅料→均质→灭菌→冷却→接种→发酵→检验→成品→恒温保藏

1.4 操作要点

1.4.1 原料选择 山药、南瓜要求新鲜、无机械损伤、无霉变斑点、无腐烂、无病虫危害、表面光洁无泥沙。

1.4.2 清洗 用流动清水洗净南瓜、山药外皮上的泥尘,在清洗过程中注意不要损伤山药的外皮。

1.4.3 去皮、切片与护色 用不锈钢刀将山药、南瓜刨去外皮后,用 0.2% 的柠檬酸和 1% 的食盐水溶液护色。两种原料均切成 0.3~0.5cm 厚的薄片,以利于软化。

1.4.4 软化制浆 将山药片和南瓜片加水,煮沸 5~8min,破坏酶的活性,软化果肉,冷却后利用胶体磨制

取浆料。经过单因素实验,确定山药和南瓜与水的比例均以 1:3 为最好。浆料的浓度适宜,组织状态比较均匀,带有各自独有的风味,色泽鲜亮。浆料的感官评分标准见表 1,原料与水的比例选择实验见表 2。

表2 原料与水的比例选择

山药	水	感官评分	南瓜	水	感官评分
1	2	69	1	2	72
1	3	86	1	3	82
1	4	68	1	4	56

1.4.5 山药和南瓜原浆混合比例实验 混合原浆的感官评分标准见表 3,采用单因素实验方法选择两种浆料的混合比例,结果见表 4。

表3 混合原浆的感官评分标准^[5]

项目	结果	评分 (满分 30 分)
色泽	颜色鲜黄	0~5
气味	具南瓜、山药的混合气味	0~10
滋味	略甜,具南瓜、山药的混合风味	0~5
组织状态	均匀无凝块	0~10

表4 山药南瓜浆料混合的单因素实验

实验号	1	2	3	4	5
南瓜浆	3	4	5	6	7
山药浆	7	6	5	4	3
感官评分	13	14	16	20	15

经过感官评分,南瓜和山药原浆的最佳混合比例为 6:4(见表 4),混合果肉饮料色泽鲜黄,既有南瓜的甜香,又有山药的淡香,组织状态均匀,无凝块。

1.5 稳定剂的选择实验

1.5.1 单一稳定剂实验 选择四种常用的稳定剂进行单因素实验,饮料的稳定效果见表 5。

表5 单一稳定剂对产品稳定性的影响^[4]

实验号	稳定剂种类	添加量(%)	第 1d	第 2d	第 3d
1	/	/	≡	*	*
2	海藻酸钠	0.1	≡	*	*
3	海藻酸钠	0.3	≡	*	*
4	明胶	0.2	≡	*	*
5	黄原胶	0.08	≡	*	*
6	黄原胶	0.1	≡	*	*
7	琼脂	0.2	≡	*	*
8	琼脂	0.4	√	≡	*
9	酸性-CMC	0.2	≡	*	*
10	PGA	0.02	≡	*	*

注:√ 无分层;≡ 分层;* 实验终止,表 6 同。

从表 5 可以看出,使用单一稳定剂稳定效果不好,饮料的分层现象严重。

1.5.2 两种稳定剂复合实验 将两种不同的稳定剂混合加入到饮料中,饮料的稳定效果见表 6。

表6 复合稳定剂对产品稳定性的影响^[4]

实验号	稳定剂种类	添加量(%)	稳定时间(d)			
			1	3	5	7
1	明胶+海藻酸钠	0.1+0.05	√	≡	*	*
2	明胶+海藻酸钠	0.2+0.2	√	√	≡	*
3	酸性CMC+明胶	0.2+0.1	√	≡	*	*
4	酸性CMC+海藻酸钠	0.2+0.2	√	≡	*	*
5	酸性CMC+琼脂	0.2+0.2	√	√	≡	*
6	明胶+黄原胶	0.2+0.05	√	≡	*	*
7	PGA+黄原胶	0.02+0.05	√	≡	*	*
8	琼脂+PGA	0.2+0.02	√	√	≡	*
9	黄原胶+琼脂	0.05+0.2	√	√	≡	*

由表6看出,将稳定剂两两混合,饮料仍存在严重的分层现象。

1.5.3 稳定剂的复合正交实验 选择四种稳定剂进行正交实验,实验方案见表7。

表7 复合稳定剂的因素与水平实验设计方案

水平	因素			
	明胶(%)	海藻酸钠(%)	黄原胶(%)	PGA(%)
1	0.1	0.06	0.04	0.01
2	0.15	0.08	0.06	0.02
3	0.2	0.1	0.08	0.03

实验结果表明,在饮料中添加0.15%明胶,0.08%海藻酸钠,0.08%黄原胶和0.01%PGA稳定性最好。

1.6 糖化

含有淀粉成分的山药、南瓜原料通过熟制以后,把颗粒状态的淀粉变成了溶解状态的糊精,再经糖化酶的作用,把浆料中的淀粉以及糊精转化为单糖,以利于酵母的利用,糖化实验方案见表8。

表8 糖化正交实验因素与水平设计方案

水平	因素		
	A 糖化时间(h)	B 糖化温度(°C)	C 糖化酶加入量(%)
1	20	55	0.3
2	30	60	0.5
3	40	65	0.7

结果表明:添加0.5%糖化酶,在60°C左右,经30min糖化效果最好,还原糖含量1.93%,为最高。

1.7 发酵实验

1.7.1 菌种的分离活化与扩培 将混合菌种在厌氧培养环境内进行分离活化和扩培,得到纯度较高,活力较强的双歧杆菌菌种。

1.7.2 接种 选择不同的双歧杆菌接种量、蔗糖添加量、葡萄糖添加量和发酵时间,进行发酵因素的正交实验,其实验因素和水平见表9。

表9 影响双歧杆菌发酵的因素与水平实验设计方案

实验号	A 接种量(%)	B 蔗糖量(%)	C 葡萄糖量(%)	D 发酵时间(h)
1	4	4	2	7
2	5	6	3	9
3	6	8	4	11

通过实验,双歧杆菌发酵最佳的因素水平为葡萄糖的加入量为3%、蔗糖的加入量为6%、双歧杆菌

接种量为5%,发酵时间为9h。

1.8 发酵过程中pH的变化

从图1看出,在发酵过程中,随着发酵时间的延长,饮料中的含酸量逐渐增高,pH逐渐降低,在4~6h期间降低幅度较大,其后的降低曲线较平缓。

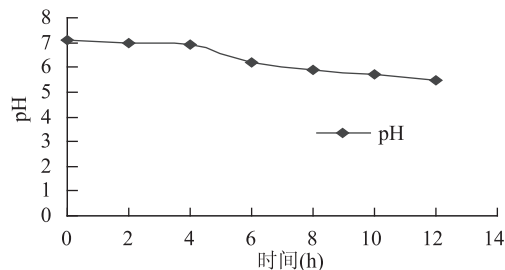


图1 双歧杆菌发酵过程中pH的变化曲线

1.9 双歧杆菌发酵过程中活菌含量的变化

从图2看出,接种双歧杆菌菌种后的山药、南瓜果肉复合饮料,在发酵的前1~6.2h,双歧杆菌的活菌含量增加缓慢;在6.2~9.6h期间增加较快;在9.6h以后,因pH的逐渐降低,抑制了双歧杆菌的存活,导致双歧杆菌活菌数迅速减少。

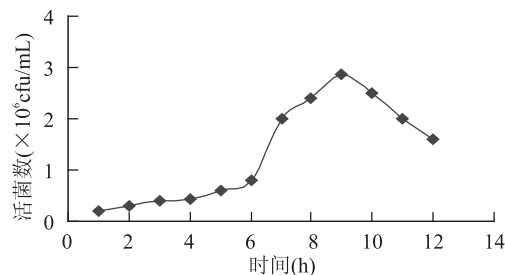


图2 双歧杆菌发酵过程中活菌含量变化曲线

1.10 贮藏实验

双歧杆菌发酵山药、南瓜果肉复合饮料在0~4°C的环境下贮藏,随着贮藏时间的延长,双歧杆菌活菌数量逐渐减少。贮藏至15d左右,双歧杆菌活菌含量由最高时的 2.86×10^6 cfu/mL,降至 1.02×10^6 cfu/mL,仍符合双歧杆菌食品有关活菌数在 10^6 cfu/mL以上的要求。

2 产品质量指标

2.1 感官指标

色泽乳黄鲜亮,质地均匀稳定,无杂质,气味清香,可在4°C以下的环境中贮藏15d左右。

(下转第179页)

表1 酶解前后苷元含量的变化

不同处理	槲皮素含量(%)	山奈酚含量(%)	异鼠李素含量(%)	总苷元含量(%)
酶解转化前的银杏叶提取物	0.21	0.00	0.00	0.21
复合酶预处理后的醇溶液	0.23	0.00	0.00	0.23
转化酶酶解后水溶液	1.66	0.46	0.25	2.37
酶解后沉淀物的乙醇溶液	24.87	30.18	4.60	59.65

酶解后水不溶物的乙醇溶液 HPLC 分析结果见图 5,从图中可以明显看出,滤渣中的成分较酶解前后的溶液中成分减少,但其中槲皮素、山奈酚和异鼠李素含量显著增加,实验表明,转化酶可以有效的将黄酮苷的糖苷键断开,将黄酮苷转化为苷元。由图 2、图 4 和图 5 对比可以看出,三个图中有些成分在三种溶液中都存在但是含量变小,这些可能是一些黄酮糖苷成分,这表明转化酶不能将黄酮苷全部转化为苷元。

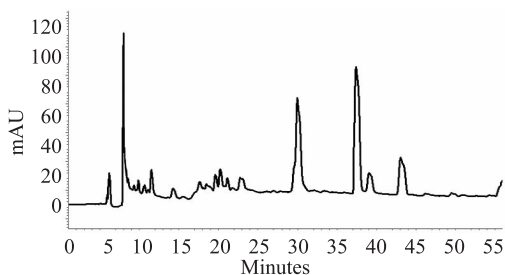


图5 银杏叶提取物酶解后乙醇溶液的 HPLC 图谱

2.5 GBE 酶转化前后黄酮苷及苷元含量变化

GBE 中的黄酮类化合物主要以糖苷的形式存在,用转化酶处理浓缩后的水溶性银杏叶提取物,可以有效的将黄酮苷转化为生物活性较强的苷元类物质:槲皮素、异鼠李素和山奈酚,其中槲皮素占产品的 24.87%,山奈酚占 30.18%,异鼠李素占 4.60%。最终产品总苷元含量 59.65%,并且这些苷元物质不

(上接第 176 页)

2.2 理化指标

可溶性固形物含量 8.5%;总酸(以柠檬酸计) 1.4g/L;pH4.8;双歧杆菌活菌数 1.02×10^6 cfu/mL。

2.3 微生物指标

致病菌和大肠菌群不得检出。

3 结果与讨论

3.1 利用双歧杆菌发酵的山药、南瓜果肉饮料具有特殊宜人的风味,而且保健效果明显。

3.2 葡萄糖对双歧杆菌发酵具有促进作用,而山药和南瓜的淀粉含量较高,必须使其转化为易被双歧杆菌利用的葡萄糖,才利于双歧杆菌的发酵。通过实验确定添加 0.5% 的糖化酶,在 60℃ 左右的温度下糖化 30min 左右,淀粉转化成葡萄糖的转化率较高,还原糖含量达 1.93%。

3.3 本实验应在无氧环境下进行菌种的接种发酵,否则双歧杆菌无法存活。双歧杆菌会随着发酵时间延长,酸度的升高而受到抑制,所以在实验过程当中要定时测定酸度变化,超过双歧杆菌菌种发酵所承受的酸度(<5.0)时,就需要停止发酵。最优的双歧杆菌接种量为 5%、葡萄糖的添加量为 3%、蔗糖添加

易溶于水,大量存在于酶解后的滤渣中,用无水乙醇可以将其溶解,见表 1。

3 结论

银杏叶黄酮类化合物中主要的活性物质是以苷的形式存在,经过复合酶处理后再经转化酶水解后,可以有效的将黄酮苷转化为生物活性较强的苷元类物质。通过实验结果可以看出,GBE 经过酶法水解后,其银杏苷元黄酮大量存在于酶解后的滤渣中,用乙醇可以将其溶解;而在水解后的上清液中含量很少。GBE(含银杏黄酮醇苷 $\geq 24\%$) 经过生物转化后各苷元的含量为:槲皮素占 24.87%,山奈酚占 30.18%,异鼠李素占 4.60%,总苷元含量为 59.65%,显著提高了 GBE 的生理活性和苷元黄酮的含量,从而大大提高了银杏黄酮的生物学效价。

参考文献:

- [1] 曾衍霖. 生物转化研究与新药开发 [J]. 中国新药杂志, 1998,7(5):337~338.
- [2] 陈时宏. 黄酮类化合物的抗氧化作用及其构效关系 [J]. 海峡药学,1998,10(4):4~6.
- [3] 朱红,高尔,王德伟,等. 银杏黄酮的药学研究进展 [J]. 食品与药品,2005;7(2):4~7.
- [4] 汪秋安. 天然黄酮类化合物的生理功能及其应用 [J]. 香料香精化妆品,1999(1):28~33.

量为 6%、发酵时间为 9h。

3.4 由于双歧杆菌的存活时间较短,产品应在 4℃ 的低温环境下贮存,并尽快销售,以保证消费者饮用时制品含有较多的双歧杆菌。

参考文献:

- [1] 崔晓玲,陈洁,刘源,刘乐,王先云. 低聚糖南瓜保健饮料研究 [J]. 新疆农业科学,2004,41(专刊):106~107.
- [2] 史秀丽. 乳酸菌发酵怀山药的工艺研究 [J]. 河南科技学院学报(自然科学版),2005,33(2):106~108.
- [3] 刘得宗,等. 双歧杆菌生理作用及保健食品开发 [J]. 中国乳品工业,2001(1):51~52.
- [4] 兰社益,焦雯,王婷. 提高山药稳定性的工艺研究 [J]. 北京工商大学学报(自然科学版),2006,24(4):1~4.
- [5] 严成. 南瓜双歧发酵乳的工艺研究 [J]. 西南科技大学学报,2003,18(4):65~67.
- [6] 周文斌,张瑞宇. 双歧杆菌保健饮料的生产 [J]. 饮料工业,2001,4(6):9~16.
- [7] 李剑芳,顾宝维. 胡萝卜汁双歧杆菌饮料生产工艺及其稳定性研究 [J]. 食品工业科技,1996(4):46~48.
- [8] 刘慧. 现代食品微生物学实验技术 [M]. 北京:中国轻工业出版社,2006. 10~55.