

# 不同发酵方法 对发酵银杏粉营养和风味的影响

张伟, 姚芳\*, 桂家进

(江苏农牧科技职业学院食品科技学院, 江苏泰州 225300)

**摘要:**为制备一款具有较高营养成分且风味宜人的发酵银杏粉,以泰州大佛指银杏果为原料,研究单酶解(M)、酶解+乳酸菌(M+R)、单乳酸菌(R)、乳酸菌+酵母菌(R+J)、酶解+乳酸菌+酵母菌(M+R+J)5种不同发酵方法对发酵银杏粉的营养成分和挥发性风味物质的影响。营养成分测定结果表明:M+R+J组的黄酮( $17.06 \pm 0.82$ ) mg/g、多酚( $46.62 \pm 1.97$ ) mg/g、总抗氧化能力( $241.91 \pm 10.23$ ) U/mL显著高于其他4组( $P < 0.05$ );可溶性蛋白( $4.74 \pm 0.18$ ) mg/g最高;可溶性糖( $7.61 \pm 0.91$ ) mg/g显著高于R组( $5.24 \pm 0.52$ ) mg/g和R+J组( $3.82 \pm 0.41$ ) mg/g( $P < 0.05$ )。挥发性风味成分测定结果表明:M+R+J组检测到的醇类物质(17.44%)、酚类物质(3.95%)、酸味物质(13.46%)、挥发性酯类物质(11.87%)均最高,赋予了产品酸香适宜、浓郁的风味;检测到的风味缺陷物质醛类物质(2.38%)最低;5组中的烃类物质大多数为饱和脂肪烃类,嗅觉阈较高,对产品的风味影响较小。结论:酶解后采用乳酸菌协同酵母菌发酵有利于营养成分的析出和风味物质的富集,明显提高发酵银杏粉的营养价值,并赋予其良好的风味。

**关键词:**银杏粉,混合发酵,风味物质,活性成分

## Effects of Different Fermentation Methods on Nutrition and Flavor of Fermented *Ginkgo biloba* Powder

ZHANG Wei, YAO Fang\*, GUI Jia-jin

(Department of Food Science and Technology, Jiangsu Animal Husbandry & Veterinary College, Taizhou 225300, China)

**Abstract:** In order to prepare a fermented *Ginkgo biloba* powder with high nutrient components and pleasant flavor, the effects of five different fermentation methods on the nutrient components and volatile flavor substances of *Ginkgo biloba* powder were studied using Taizhou Dafo finger ginkgo fruit as raw material, including monozymatic hydrolysis (M), enzymatic lactic acid bacteria (M+R), lactic acid bacteria (R), lactic acid bacteria yeast (R+J), and enzymatic lysate lactic yeast (M+R+J). The results of nutrient determination showed that: Flavonoids in M+R+J group ( $17.06 \pm 0.82$ ) mg/g, polyphenol ( $46.62 \pm 1.97$ ) mg/g, the total antioxidant capacity ( $241.91 \pm 10.23$ ) U/mL was significantly higher than the other four groups ( $P < 0.05$ ). The soluble protein ( $4.74 \pm 0.18$ ) mg/g was the highest. The soluble sugar ( $7.61 \pm 0.91$ ) mg/g was significantly higher than that in R group ( $5.24 \pm 0.52$ ) mg/g and R+J group ( $3.82 \pm 0.41$ ) mg/g ( $P < 0.05$ ). The results of determination of volatile flavor components showed that: Alcohols (17.44%), phenol substance (3.95%), sour substance (13.46%), volatile esters (11.87%) detected in M+R+J group were the highest, so that the product had a suitable and rich flavor. The flavor defective substances detected by aldehydes (2.38%) were the lowest. Most of the hydrocarbons in the 5 groups were saturated aliphatic hydrocarbons with higher olfactory threshold and less influence on the flavor of the product. Conclusion: The use of lactic acid bacteria and yeast fermentation after enzymatic hydrolysis was beneficial to the precipitation of nutrients and the enrichment of flavor substances, and significantly improved the nutritional value of fermented *Ginkgo biloba* powder and gave it a good flavor.

**Key words:** *Ginkgo biloba* powder; mixed fermentation; flavor substance; active ingredient

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)09-0061-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.010

引文格式: 张伟, 姚芳, 桂家进. 不同发酵方法对发酵银杏粉营养和风味的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 61-68.

收稿日期: 2019-07-04

作者简介: 张伟(1982-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 农副产品深加工及质量安全控制, E-mail: 38937546@qq.com.

\* 通讯作者: 姚芳(1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品功能成分提取及生物活性, E-mail: 46268809@qq.com.

基金项目: 2019年江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目(201912806033Y); 江苏农牧科技职业学院科研课题(NSF20180601); 2019年江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目(201912806019Y); 泰州市第五期“311高层次人才培养工程”基金((2017) III-817号)。

银杏(*Ginkgo biloba*)是一种珍贵的药食同源资源,其种仁含有蛋白质、淀粉、脂肪、粗纤维、维生素、微量元素等营养成分及银杏黄酮、银杏多糖等具有特殊功能的微量活性物质<sup>[1]</sup>。银杏果具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、提高免疫力、治疗心血管疾病等功效<sup>[2]</sup>。泰州是银杏之乡,拥有丰富的银杏资源,但开发利用较低,人们常将剥皮的银杏果作为煲汤炖菜的原料,虽然也小规模生产银杏奶茶、银杏酒、银杏月饼、银杏保健餐粉等产品,但巨大的产能和落后的生产技术之间的矛盾巨大,造成了大量银杏资源的浪费,因此,有必要加大银杏资源的开发和利用。

微生物发酵可产生复杂的酶系,对外源性底物进行结构的修饰和转化,产生众多活性成分和风味物质,提高产品的营养价值,改善产品风味<sup>[3]</sup>。乳酸菌和酵母菌是淀粉类原料发酵过程中常用的优势菌<sup>[4]</sup>,乳酸菌与酵母菌之间存在共生与互补效应,酵母菌的代谢产物氨基酸、维生素和丙酮酸盐等可刺激乳酸菌活动,为乳酸菌提供营养物质,乳酸菌水解产物则为酵母菌提供了能量来源<sup>[5]</sup>。乳酸菌和酵母菌共生发酵制得的发酵乳饮料的蛋白水解程度、多肽抗氧化活性和感官均高于单一菌种发酵的结果<sup>[6]</sup>;闫彬等<sup>[7]</sup>的研究表明:乳酸菌和酵母菌混合培养比单菌培养能得到更多的风味物质和甲酸、乙酸和丙酸;Tristezza等<sup>[8]</sup>的研究表明:乳酸菌和葡萄酒酵母混合发酵会缩短葡萄酒发酵时间,生成丁二酸二乙酯和乳酸乙酯,使葡萄酒具有黄油和奶油香味;李美伦等<sup>[4]</sup>利用植物乳杆菌、酿酒酵母和矮小假丝酵母混合发酵制作的米发糕相比较传统市售米发糕产生了12种特有风味物质,其中9种为酯类物质;刘英丽等<sup>[9]</sup>的研究表明,乳酸菌和酵母菌复配使用后醇类挥发性物质含量增多,并产生四甲基吡嗪物质。但未见银杏果通过生物发酵技术提高其营养功能和风味的报道。

本试验以乳酸菌和酵母菌为发酵剂,研究了不同的发酵方法组合对发酵银杏粉中的黄酮类物质、多酚类物质、可溶性蛋白质、可溶性糖、总抗氧化能力、挥发性香气成分的影响机理及变化规律,以期为地方银杏资源的开发利用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

银杏(大佛指) 泰州利群超市;淀粉酶、糖化酶 北京索莱宝科技有限公司;乳酸杆菌菌株 SM-006 江苏农牧科技职业学院实验室选育,菌种为冻干菌粉;酵母菌 安琪酵母股份有限公司;总抗氧化能力(T-AOC)测试盒 青岛捷世康生物科技有限公司;没食子酸、三羟甲基氨基甲烷、盐酸、硫酸、乙醇、碳酸氢钠、磷酸、考马斯亮蓝 G-250、牛血清蛋白、福林酚试剂、碳酸钠、苯酚、葡萄糖 等化学试剂均为国产分析纯。

7980B-5977A GC-MS 气质联用仪 美国安捷伦科技公司;50/30  $\mu\text{m}$ DVB/CAR/PDMS 固相微萃取纤维头 美国 Supelco 公司;T6-紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;HH-6 数显恒

温水浴锅 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂;RE-52D 旋转蒸发仪 上海青浦沪西仪器厂;DHG-9101-2S 电热恒温鼓风干燥箱 上海三发科学仪器有限公司;Scientz-10N 冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司;5PX-250S·II 生化培养箱 上海三发科学仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 发酵银杏粉的制备 新鲜银杏果去壳后预煮 1 h,置于 2% 的碳酸氢钠溶液浸泡 2 h,于 1% 盐酸溶液浸泡 15 min,然后冷热水交替浸泡 10 min,于清水中浸泡 12 h 后去芯,捣碎,于 70  $^{\circ}\text{C}$  的烘箱内干燥 12 h。称烘干后的粉碎样 100 g,溶于 600 mL 纯净水中,胶体磨研磨 3 min,置于沸水浴中加热至 100  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 15 min 使淀粉充分糊化,取出后冷却至 25  $^{\circ}\text{C}$ ,分别按照单酶解(M)、酶解+乳酸菌(M+R)、单乳酸菌(R)、乳酸菌+酵母菌(R+J)、酶解+乳酸菌+酵母菌(M+R+J)的工艺进行发酵,工艺条件如下:

单酶解(M):加入 2% 和 1% 的糖化酶和淀粉酶,于 60  $^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴振荡器中搅拌酶解 2 h 后冷却至 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

酶解+乳酸菌(M+R):在单酶解的基础上,加入 3 g/100 g 乳酸菌冻干菌粉,搅拌均匀,30  $^{\circ}\text{C}$  的恒温培养摇床发酵 12 h。

单乳酸菌(R):以 3 g/100 g 的量加入乳酸菌冻干菌粉,搅拌均匀,30  $^{\circ}\text{C}$  的恒温培养摇床发酵 12 h。

乳酸菌+酵母菌(R+J):分别加入 1.5 g/100 g 乳酸菌冻干菌粉和酵母菌粉,搅拌均匀,30  $^{\circ}\text{C}$  的恒温培养摇床发酵 12 h。

酶解+乳酸菌+酵母菌(M+R+J):在单酶解的基础上,分别加入 1.5 g/100 g 乳酸菌冻干菌粉和酵母菌粉,搅拌均匀,30  $^{\circ}\text{C}$  的恒温培养摇床发酵 12 h。

分别取出发酵液倒入平皿,保鲜膜封口后放入 -70  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻 2 h 后放入冷冻干燥机内冻干 28 h,即为发酵银杏粉成品。

1.2.2 黄酮含量的测定 称取发酵银杏粉 15 g,加入 150 mL 70% 乙醇配制成溶液,70  $^{\circ}\text{C}$  水浴回流提取 2 h,常温下 6000 r/min 离心 15 min,上清液放入旋转蒸发仪,蒸发浓缩后转移至 50 mL 容量瓶,30% 乙醇定容至刻度。以芦丁为标样,采用  $\text{NaNO}_2-\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  显色法<sup>[10]</sup>测定发酵银杏粉中黄酮含量。标准曲线方程为: $y = 8.9943x + 0.0042$  (0~0.08 mg/mL,  $R^2 = 0.9987$ ), $x$  为芦丁浓度,(mg/mL); $y$  为吸光度。发酵银杏粉中黄酮含量(mg/g) =  $m_1/m$ 。式中: $m_1$  为样品中黄酮质量(mg), $m$  为发酵银杏粉的质量(g)。

1.2.3 多酚含量的测定 称取发酵银杏粉 2 g,加入 50 mL 60% 乙醇浸泡 1 h,于 90  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴锅内提取 2 h,反复提取 3 次。提取液 7200 r/min 离心 20 min,取上清液真空浓缩,得多酚提取液<sup>[11]</sup>。以没食子酸为标样,采用福林酚法测定发酵银杏粉中多酚含量。标准曲线方程为  $y = 1.9562x + 0.0135$  (0~0.3 mg/mL,  $R^2 = 0.9995$ ), $x$  为没食子酸浓度(mg/mL); $y$  为吸光度。发酵银杏粉中多酚含量(mg/g) =  $m_2/m$ 。式中:

$m_2$  为样品中多酚质量(mg),  $m$  为发酵银杏粉的质量(g)。

1.2.4 可溶性蛋白含量的测定 取发酵银杏粉 0.5 g, 加入 Tris-HCl 缓冲液 25 mL, 磁力搅拌提取 0.5 h, 于 4 °C、7000 r/min 离心 15 min, 取上清液。以牛血清白蛋白为标样, 采用考马斯亮蓝法进行测定发酵银杏粉中可溶性蛋白质含量。标准曲线方程为:  $y = 5.1664x + 0.0108$  ( $0 \sim 0.06$  mg/mL,  $R^2 = 0.9992$ ),  $x$  为牛血清白蛋白浓度(mg/mL);  $y$  为吸光度。发酵银杏粉中蛋白质含量(mg/g) =  $m_3/m$ 。式中:  $m_3$  为样品中蛋白质质量(mg),  $m$  为发酵银杏粉的质量(g)。

1.2.5 可溶性多糖含量的测定 取发酵银杏粉 1 g, 加入 50 mL 蒸馏水, 60 °C 水浴回流提取 2 h, 于 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液。以葡萄糖为标样, 采用苯酚硫酸法进行测定发酵银杏粉中多糖含量。标准曲线方程为:  $y = 2.4957x + 0.0238$  ( $0 \sim 0.06$  mg/mL,  $R^2 = 0.9993$ )。  $x$  为葡萄糖浓度(mg/mL);  $y$  为吸光度。发酵银杏粉中可溶性多糖含量(mg/g) =  $m_4/m$ 。式中:  $m_4$  为样品中可溶性多糖质量(mg),  $m$  为发酵银杏粉的质量(g)。

1.2.6 总抗氧化能力(T-AOC)的测定 采用总抗氧化能力测试盒测定, 具体步骤参照测试盒使用说明

书。发酵银杏粉总抗氧化能力(U/mL) =  $\frac{A_1 - A_2}{0.01 \times 30} \times N \times n$ 。式中:  $A_1$  为样品测定管吸光度值,  $A_2$  为对照管吸光度值,  $N$  为稀释倍数(反应液总体积/取样量),  $n$  为样品测试前稀释倍数。

1.2.7 挥发性风味物质的测定 样品处理: 称取 3 g 样品于固相微萃取样品瓶, 60 °C 恒温加热平衡 10 min, 插入老化好的 SPME 固相微萃取萃取头(老化条件 250 °C, 2 h), 于 60 °C 顶空吸附 30 min, 于气相色谱仪 250 °C 解吸 3 min。

GC-MS 条件: 色谱柱 Hp-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 载气为 He, 流速 1.2 mL/min, 不分流进样; 进样口温度为 230 °C; 溶剂延迟 3 min; 程序升温: 初始温度 20 °C, 保持 5 min; 以 2 °C/min 升至 30 °C, 保持 3 min; 以 10 °C/min 升至 250 °C, 保持 10 min。

MS 条件: 电离模式: EI, 70 eV; 离子源温度 230 °C, 四级杆温度 150 °C, 传输线温度 250 °C, 全扫描模式, 扫描范围: 35~550 m/z。

定性分析: GC-MS 检测到的挥发性香气物质与 NIST 14.L 谱库进行匹配, 匹配度 ≥ 80% 的鉴定结果予以保留。

### 1.3 数据处理

采用 Excel 2013 和 SPSS Statistics 24 软件对数据进行分析, 结果采用  $\bar{X} \pm SD$  的形式表示, 两组数据间的差异性用 t 检验法进行比较, 多组分数据间的差异性用 Duncan 多重比较法进行比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同发酵方法对营养成分的影响

2.1.1 不同发酵方法对黄酮含量的影响 黄酮类物质是银杏果仁中的主要活性成分, 常与糖结合, 以黄酮苷的形式存在<sup>[12]</sup>。不同发酵方法对黄酮含量的影响

见图 1。由图 1 可知, M + R + J 组 ( $17.06 \pm 0.82$ ) mg/g 最高, M + R 组 ( $13.91 \pm 0.58$ ) mg/g、M 组 ( $13.05 \pm 0.89$ ) mg/g 均显著高于 R + J 组 ( $8.02 \pm 0.33$ ) mg/g 和 R 组 ( $8.05 \pm 0.52$ ) mg/g ( $P < 0.05$ ), 主要是由于糖化酶和淀粉酶水解了样品中的糖, 打断糖苷键, 释放出黄酮物质所致; M 组和 M + R 组黄酮含量差异不显著, 这是因为乳酸菌发酵底物为乳糖和葡萄糖, 而黄酮类物质主要与多糖结合, 所以乳酸菌发酵对黄酮含量影响不显著; M + R + J 组黄酮含量最高, 且显著高于 M 组和 M + R 组 ( $P < 0.05$ ), 主要由于酵母菌产生了纤维素酶、果胶酶、糖苷酶等, 降低了细胞壁和糖苷键对黄酮类物质的阻滞所致<sup>[13]</sup>。

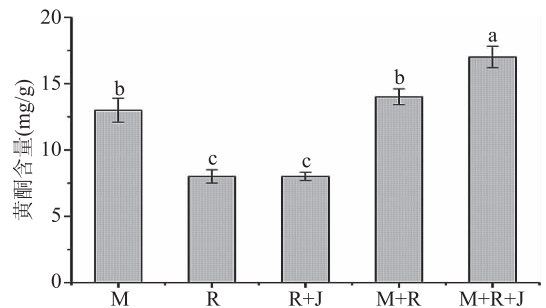


图 1 不同发酵方法对黄酮含量的影响

Fig.1 Effects of different fermentation methods on flavonoid content

注: 不同小写字母表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 图 2~图 5 同。

2.1.2 不同发酵方法对发酵银杏粉中多酚含量的影响 多酚类物质是指分子结构中有若干个酚性羟基的植物成分总称, 具有抗氧化、抗癌、抗炎及抗突变活性。银杏果仁中的多酚类物质主要是黄酮类、酚酸类等<sup>[11]</sup>。不同发酵方法对多酚含量的影响见图 2。由图 2 可知, 5 组多酚含量差异显著 ( $P < 0.05$ ), M + R + J 组 ( $46.62 \pm 1.97$ ) mg/g 最高, 显著高于 R + J 组 ( $38.64 \pm 2.63$ ) mg/g ( $P < 0.05$ )。这是由于多酚化合物通过疏水键和多元氢键与蛋白质、生物碱、多糖等生物大分子以结合态存在<sup>[14]</sup>。糖化酶和淀粉酶可水解样品中的多糖为可溶性糖, 酵母菌和乳酸菌可分解大分子蛋白质为多肽和小分子可溶性蛋白质, 使结合态的多酚类物质溶出。M + R 组 ( $31.92 \pm 1.21$ ) mg/g 显著低于 M 组 ( $35.16 \pm 1.69$ ) mg/g ( $P < 0.05$ ), R 组 ( $25.67 \pm 1.09$ ) mg/g 最低, 这是由于乳酸菌发酵样品中糖类物质产生乳酸, 抑制多酚氧化酶活性, 减少多

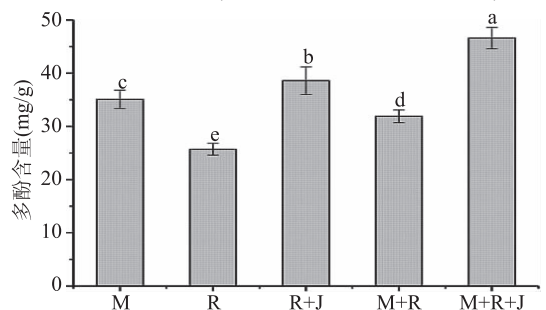


图 2 不同发酵方法对多酚含量的影响

Fig.2 Effects of different fermentation methods on polyphenol content

酚类物质的分解所致。

**2.1.3 不同发酵方法对可溶性蛋白含量的影响** 可溶性蛋白指可以小分子状态溶于水或其他溶剂的蛋白,可溶性蛋白易被人体消化利用,是评价食品营养价值的重要指标之一。不同发酵方法对可溶性蛋白含量的影响见图3。由图3可知,M+R+J组( $4.74 \pm 0.18$ ) mg/g最高,与R+J组( $4.59 \pm 0.12$ ) mg/g差异不显著,两者显著高于M+R组( $3.42 \pm 0.09$ ) mg/g和R组( $3.28 \pm 0.15$ ) mg/g( $P < 0.05$ ),M组( $1.41 \pm 0.11$ ) mg/g最低。主要由于乳酸菌和酵母菌发酵过程中均会产生蛋白酶,将产品中的蛋白质水解为具有一定空间结构但分子量较小的蛋白质,增加了蛋白质的溶解性<sup>[15]</sup>。乳酸菌产生的乳酸具有 $\alpha$ -羟基结构的羧酸,能与多肽链上的基团形成氢键,也会促进蛋白质的溶出<sup>[16]</sup>。

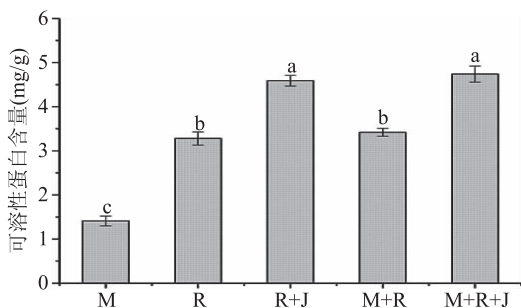


图3 不同发酵方法对可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of different fermentation methods on soluble protein content

**2.1.4 不同发酵方法对可溶性糖含量的影响** 可溶性糖是食品重要品质指标之一,赋予产品甜味,易于人体消化吸收。不同发酵方法对可溶性糖含量的影响见图4。由图4可知,5组产品中可溶性糖含量差异显著( $P < 0.05$ ),M组( $18.98 \pm 0.66$ ) mg/g含量最高,这是由于糖化酶和淀粉酶均能水解淀粉和糊精为可溶性葡萄糖所致;M+R组( $11.25 \pm 0.85$ ) mg/g含量次之,是由于乳酸菌可以利用样品中的葡萄糖、果糖等可溶性糖发酵产生乳酸、乙醇等,使可溶性糖显著下降的同时,赋予产品特殊的风味;M+R+J组( $7.61 \pm 0.91$ ) mg/g显著低于M+R组( $P < 0.05$ ),这是由于酵母菌不但可以消耗样品中的葡萄糖、果糖、麦芽糖等可溶性糖,乳酸菌发酵产生的乳酸还能促进酵母菌大量繁殖<sup>[7]</sup>,进一步消耗样品中可溶性糖。R组( $5.24 \pm 0.52$ ) mg/g和R+J组( $3.82 \pm 0.41$ ) mg/g之间含量差异显著( $P < 0.05$ )也进一步说明了这一机理。

**2.1.5 不同发酵方法对总抗氧化能力(T-AOC)的影响** 体内自由基和损伤剂会通过氧化反应攻击机体组织和细胞,引起慢性疾病及衰老效应,具有抗氧化活性的还原性物质可淬灭体内自由基和损伤剂。不同发酵方法对总抗氧化能力(T-AOC)的影响见图5。由图5可知,M+R+J组总抗氧化能力( $241.91 \pm 10.23$ ) U/mL最强,显著高于M+R组( $116.36 \pm 8.52$ ) U/mL和R+J组( $112.84 \pm 7.13$ ) U/mL( $P < 0.05$ )。由于黄酮类物质具有清除体内DPPH·、 $O_2^-$ ·、

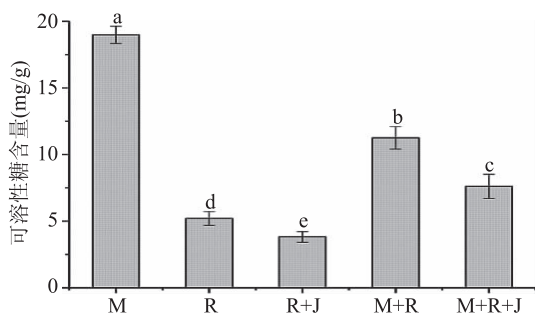


图4 不同发酵方法对可溶性糖含量的影响

Fig.4 Effects of different fermentation methods on soluble sugar content

·OH等氧化自由基作用<sup>[17]</sup>,某些蛋白质的降解产物具有抗氧化性基团,His、Trp、Tyr等氨基酸具有一定抗氧化性<sup>[18]</sup>,可溶性还原糖具有一定的还原性。糖化酶、淀粉酶、酵母菌和乳酸菌相互促进,使黄酮类物质、多酚物质、还原性短肽、还原性氨基酸、还原糖大量溶出,提高了样品的总抗氧化能力;M+R组和R+J组差异不显著,显著高于M组( $68.55 \pm 12.08$ ) U/mL和R组( $31.39 \pm 4.18$ ) U/mL( $P < 0.05$ ),主要由于糖化酶、淀粉酶和乳酸菌协同作用能同时促进黄酮类物质和抗氧化肽、抗氧化氨基酸溶出,使总抗氧化能力高于单独作用,同时由于乳酸菌和酵母菌具有共生促进的能力,使样品中可溶性多肽、氨基酸等抗氧化性物质含量显著高于乳酸菌单独作用。

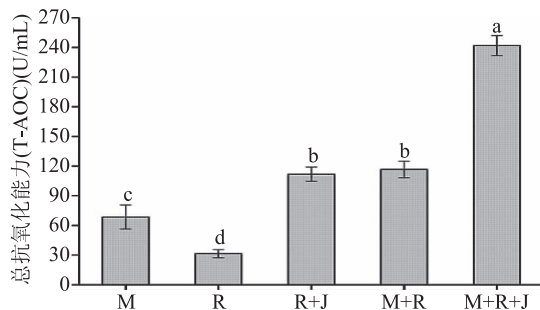


图5 不同发酵方法对总抗氧化能力(T-AOC)的影响

Fig.5 Effects of different fermentation methods on total antioxidant capacity (T-AOC)

综上所述,M+R+J组的黄酮类物质、多酚、可溶性蛋白、总抗氧化能力均最高,且黄酮类物质、多酚、总抗氧化能力显著高于其他4组( $P < 0.05$ );可溶性糖含量虽不是最高,但由于乳酸菌发酵产生了乳酸、乙醇等物质,赋予了产品柔和的酸味和浓郁的香气。

## 2.2 不同发酵方法对挥发性风味成分的影响

香气是食品的重要品质特征,由多种挥发性风味成分组成。不同发酵方法能产生一些有益风味物质,降低某些风味缺陷物质的含量,改变发酵产物的风味特征,提高产品品质<sup>[19]</sup>。将不同发酵方法制得的发酵银杏粉经处理后用气质联用仪结合计算机检索技术对风味成分进行鉴定,结果见表1。

由表1可知,不同发酵方式制得的发酵银杏粉中风味物质数目和相对含量(某风味物质占整体风

味物质的比例)不同,共检测出102种风味物质,其中烃类45种,醇类17种,酯类12种,酸类11种,醛

类9种,酚类4种,其他类4种。

烃类化合物通常具有清香和甜香的风味,对整

表1 不同发酵方法制得的发酵银杏粉中挥发性风味成分含量

Table 1 Contents of volatile flavor components in fermented *Ginkgo biloba* powder prepared by different fermentation methods

| 大类    | 序号 | 化合物名称      | 相对含量(%) |       |       |       |       |
|-------|----|------------|---------|-------|-------|-------|-------|
|       |    |            | M       | R     | R+J   | M+R   | M+R+J |
|       | 1  | 癸烷         | 12.6    | 6.34  | 1.58  | 7.14  | -     |
|       | 2  | 柠檬烯        | 2.38    | -     | 2.38  | -     | -     |
|       | 3  | 十一烷        | 2.38    | -     | 2.38  | 2.38  | -     |
|       | 4  | 2-壬烯       | 1.6     | -     | -     | -     | -     |
|       | 5  | 十二烷        | 2.38    | -     | 2.38  | 2.38  | -     |
|       | 6  | 9-甲基十七烷    | 0.79    | -     | -     | -     | -     |
|       | 7  | 6-十三烯      | 0.79    | -     | -     | 0.79  | -     |
|       | 8  | 2-十四烯      | 3.17    | -     | 0.79  | -     | 2.38  |
|       | 9  | 1-癸烯       | 1.6     | -     | -     | -     | -     |
|       | 10 | 壬烷         | 2.38    | 0.79  | -     | 1.58  | 0.79  |
|       | 11 | 蒎烯         | 2.38    | -     | -     | -     | -     |
|       | 12 | 可巴烯        | 1.58    | -     | -     | -     | -     |
|       | 13 | 萜澄茄油烯      | 0.79    | -     | -     | -     | -     |
|       | 14 | 石竹烯        | 1.58    | -     | -     | -     | -     |
|       | 15 | 环戊烷        | 4.76    | 3.96  | 0.79  | 2.38  | 3.17  |
|       | 16 | 5,5-二乙基十三烷 | 0.79    | -     | -     | -     | -     |
|       | 17 | 丙烷         | -       | 0.79  | -     | -     | -     |
|       | 18 | 庚烷         | -       | 0.79  | 0.79  | -     | -     |
|       | 19 | 正十五烷       | -       | 0.79  | -     | 0.79  | -     |
|       | 20 | 正己烷        | -       | 0.79  | -     | 1.58  | -     |
|       | 21 | 辛烷         | -       | 0.79  | -     | -     | -     |
|       | 22 | 十六烷        | -       | 3.96  | 2.38  | 3.17  | 3.17  |
| 烃类    | 23 | 5-乙基癸烷     | -       | 0.79  | -     | -     | -     |
| (45种) | 24 | 4,4-二丙庚烷   | -       | 0.79  | -     | -     | -     |
|       | 25 | 长叶烯        | -       | 2.38  | 2.38  | -     | -     |
|       | 26 | 十四烷        | -       | 2.38  | 2.38  | 1.58  | 2.38  |
|       | 27 | 环己烯        | -       | -     | -     | 0.79  | -     |
|       | 28 | 1,3-己二烯    | -       | -     | -     | 1.58  | -     |
|       | 29 | 6-十二烯      | -       | -     | -     | 0.79  | -     |
|       | 30 | 2,4-癸二烯    | -       | -     | -     | 0.79  | -     |
|       | 31 | 依兰油烯       | -       | -     | -     | 1.58  | -     |
|       | 32 | 环己烷        | -       | -     | -     | 1.58  | -     |
|       | 33 | 十七烷        | -       | -     | -     | 0.79  | 1.58  |
|       | 34 | 乙烯基        | -       | -     | -     | -     | 2.38  |
|       | 35 | 十三烷        | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 36 | 3,5-二甲基十二烷 | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 37 | 1-庚烯       | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 38 | 戊烷         | -       | -     | -     | -     | 2.38  |
|       | 39 | 二十二烷       | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 40 | 三十一碳烷      | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 41 | 1-十八烯      | -       | -     | -     | -     | 1.58  |
|       | 42 | 1-二十四碳烯    | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 43 | 正二十烷       | -       | -     | -     | -     | 2.38  |
|       | 44 | 四丁烷        | -       | -     | -     | -     | 0.79  |
|       | 45 | 乙烯基        | -       | -     | -     | -     | 2.38  |
|       |    | 合计         | 41.95   | 25.34 | 18.23 | 31.67 | 30.10 |

续表

| 大类          | 序号 | 化合物名称           | 相对含量(%) |       |      |       |       |
|-------------|----|-----------------|---------|-------|------|-------|-------|
|             |    |                 | M       | R     | R+J  | M+R   | M+R+J |
| 醇类<br>(17种) | 1  | 1-己醇,2-乙基       | 2.38    | 2.38  | 2.38 | -     | -     |
|             | 2  | 1-辛醇            | 0.79    | -     | -    | -     | -     |
|             | 3  | 苯乙醇             | 2.38    | 2.38  | -    | 2.38  | 4.76  |
|             | 4  | 1-辛烯-3-醇        | 2.38    | -     | -    | -     | -     |
|             | 5  | 1-异丙基-4,7-二甲基   | 2.38    | -     | -    | 0.79  | 0.79  |
|             | 6  | 异丙醇             | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 7  | 丁酸丁酯            | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 8  | 1-十二醇,2-己基      | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 9  | 1-癸醇,2-辛醇       | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 10 | 1-戊醇            | -       | -     | -    | 2.38  | -     |
|             | 11 | 1-丁醇,3-甲基       | -       | -     | -    | 0.79  | -     |
|             | 12 | 呋喃甲醇            | -       | -     | -    | 2.38  | -     |
|             | 13 | 2,3-丁二醇         | -       | -     | -    | -     | 8.73  |
|             | 14 | 2,6-辛二醇         | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             | 15 | 香叶醇             | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             | 16 | 1,2-苯二醇         | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             | 17 | 3,4-二羟基苯乙二醇     | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             |    | 合计              | 10.31   | 7.92  | 2.38 | 8.72  | 17.44 |
| 醛类<br>(9种)  | 1  | 正己醛             | 2.38    | 2.38  | -    | -     | -     |
|             | 2  | 庚醛              | 2.38    | -     | -    | -     | -     |
|             | 3  | 苯甲醛             | 2.38    | 2.38  | 2.38 | -     | -     |
|             | 4  | 辛醛              | 2.38    | 2.38  | 2.38 | 2.38  | -     |
|             | 5  | 壬醛              | 2.38    | 2.38  | 2.38 | 2.38  | 2.38  |
|             | 6  | 癸醛              | 2.38    | 2.38  | 2.38 | 2.38  | -     |
|             | 7  | 1,2,3,5,6,8-己二醛 | 0.79    | -     | -    | 0.79  | -     |
|             | 8  | 2-壬烯醛           | -       | 2.38  | -    | 0.79  | -     |
|             | 9  | 2-十二烯醛          | -       | -     | -    | 1.58  | -     |
|             |    | 合计              | 15.07   | 14.28 | 9.52 | 10.30 | 2.38  |
| 酚类<br>(4种)  | 1  | 甲酚              | -       | 1.58  | 1.58 | -     | 1.58  |
|             | 2  | 2-甲氧基-5-甲基苯酚    | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 3  | 3-烯丙基-6-甲氧基苯酚   | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             | 4  | 丁香酚             | -       | -     | -    | -     | 1.58  |
|             |    | 合计              |         | 2.37  | 1.58 |       | 3.95  |
| 酸类<br>(11种) | 1  | 草酸              | 0.79    | -     | -    | 0.79  | 0.79  |
|             | 2  | 醋酸              | 0.79    | -     | -    | -     | 1.58  |
|             | 3  | 庚氟丁酸            | -       | 0.79  | -    | -     | -     |
|             | 4  | 丙酸              | -       | -     | 2.38 | -     | -     |
|             | 5  | 甲酸              | -       | -     | -    | 0.79  | -     |
|             | 6  | 辛酸              | -       | -     | -    | -     | 2.38  |
|             | 7  | 苯乙酸             | -       | -     | -    | -     | 2.38  |
|             | 8  | 正癸酸             | -       | -     | -    | -     | 1.58  |
|             | 9  | 十四酸             | -       | -     | -    | -     | 0.79  |
|             | 10 | 琥珀酸             | -       | -     | -    | -     | 2.38  |
|             | 11 | 正十六烷酸           | -       | -     | -    | -     | 1.58  |
|             |    | 合计              | 1.58    | 0.79  | 2.38 | 1.58  | 13.46 |
|             | 1  | 己酸乙酯            | -       | -     | -    | 1.58  | 0.79  |
|             | 2  | 氯甲酸辛酯           | -       | -     | -    | 1.58  | -     |
|             | 3  | 1-三氟乙酸辛酯        | -       | -     | -    | 0.79  | -     |
|             | 4  | 癸酸乙酯            | -       | -     | -    | 2.38  | 2.38  |

续表

| 大类          | 序号          | 化合物名称                   | 相对含量(%)          |      |      |      |       |      |
|-------------|-------------|-------------------------|------------------|------|------|------|-------|------|
|             |             |                         | M                | R    | R+J  | M+R  | M+R+J |      |
| 酯类<br>(12种) | 5           | 十二烷酸乙酯                  | -                | -    | -    | 1.58 | 0.79  |      |
|             | 6           | 十六烷酸乙酯                  | -                | -    | -    | 0.79 | -     |      |
|             | 7           | 1,2-丙二醇二甲酸酯             | -                | -    | -    | -    | 0.79  |      |
|             | 8           | 辛酸乙酯                    | -                | -    | -    | -    | 2.38  |      |
|             | 9           | 琥珀酸辛丙酯                  | -                | -    | -    | -    | 1.58  |      |
|             | 10          | 丁酸苯乙酯                   | -                | -    | -    | -    | 0.79  |      |
|             | 11          | 三氟乙酸十八酯                 | -                | -    | -    | -    | 0.79  |      |
|             | 12          | 十二酸乙酯                   | -                | -    | -    | -    | 1.58  |      |
|             |             | 合计                      |                  |      |      | 8.7  | 11.87 |      |
|             | 其他类<br>(4种) | 1                       | 乙酰丙酮             | -    | 0.79 | -    | -     | -    |
|             |             | 2                       | 1-苯乙基吡咯烷酮-2,4-二酮 | -    | -    | -    | -     | 0.79 |
|             |             | 3                       | 丁基羟基茴香醚          | 2.38 | -    | -    | 2.38  | 2.38 |
| 4           |             | 4h-吡喃-4-1,2,3-二氢-3,5-di | -                | -    | -    | 2.38 | 2.38  |      |
|             |             | 合计                      | 2.38             | 0.79 | -    | 4.76 | 4.76  |      |

注：“-”表示未检出。

体风味有一定的贡献<sup>[20]</sup>。但饱和烃类具有较高的嗅觉阈值,对产品风味贡献较小。5种发酵方式制得的发酵银杏粉中烃类化合物相对含量均较高,但种类和数量差异较大。M组检测到16种烃类,相对含量41.95%,其中饱和烃类占全部烃类的比例为62.2%;R组检测到13种烃类,相对含量25.34%,其中饱和烃类占全部烃类的比例为90.6%;R+J组检测到10种烃类,相对含量18.23%,其中饱和烃类占全部烃类的比例为69.6%;M+R组检测到17种烃类,相对含量31.67%,其中饱和烃类占全部烃类的比例为80.0%;M+R+J组检测到18种烃类,相对含量30.10%,其中饱和烃类占全部烃类的比例为81.6%。乳酸菌参与发酵的产物中饱和烃类占全部烃类的比例均明显提高,可能由于饱和烃类是杂环物质的中间体,来源于脂肪酸烷氧基的均裂<sup>[21]</sup>,而乳酸菌代谢产物中含有促进脂肪酸烷氧基均裂的酶。

醇类物质一般存在于植物中,通常具有芳香和植物香的风味<sup>[22]</sup>。5种发酵方式制得的银杏粉中醇类物质种类和相对含量差异较大。M组检测到5种醇类,相对含量10.31%;R组检测到6种醇类,相对含量7.92%;R+J组只检测到1种醇类,相对含量2.38%;M+R组检测到5种醇类,相对含量8.72%;M+R+J组检测到7种醇类,相对含量最高为17.44%,其中独有成分2-3-丁二醇占全部醇类物质的比例为50.1%。2-3-丁二醇是4-甲基吡嗪的重要前体物质,吡嗪类物质具有青椒的香气和焙烤香,起着助香的作用<sup>[23]</sup>。

醛类物质分为饱和醛和不饱和醛。5种发酵方式生产的发酵银杏粉中的饱和醛除苯甲醛、2-壬烯醛、2-十二烯醛外,都属于饱和直链醛。饱和直链醛通常有令人不快、辛辣的、尖刺的气味<sup>[22]</sup>。M组中饱和醛相对含量最高,达11.90%,R、R+J、M+R组中饱和醛相对含量分别为9.52%、9.52%、7.14%,M+R+J组中饱和醛相对含量最低,只有2.38%,风味最清爽,闻不到刺激性气味。发酵银杏粉中不饱和醛

主要是烯醛类化合物,烯醛类化合物通常具有清香、暗香,似亚麻油或奶油香的气味<sup>[23]</sup>。烯醛类化合物只有R组(2.38%)和M+R组(2.37%)中有,但含量均较低,对整体风味影响不大。

酚类化合物能够增加香气的丰满性,且具有一定的抗氧化功效<sup>[24]</sup>。5种发酵方式制得的银杏粉中酚类物质分别检出0、2、1、0、3种,相对含量均很低,但因其阈值低,对整体风味仍具有一定的影响。R组和R+J组中酚类物质相对含量分别为2.37%和1.58%,M+R+J组中酚类物质相对含量为3.95%,含量最高,其中丁香酚是特有成分,占全部酚类物质的比例高达40%,丁香酚具有典型丁香香气,且阈值很低<sup>[25]</sup>。

适量的酸味可赋予食品舒适、柔和的口味,既能增进食欲,又能使肠胃内的纤维素、钙等物质迅速溶解<sup>[26]</sup>。5种发酵方式制得的发酵银杏粉中的酸味物质含量差异较大,M+R+J组中检测到8种酸味物质,相对含量最高达13.46%,赋予了银杏粉柔和舒适的酸味;M+R、R+J、M、R组分别检测到2、1、2、1种酸类物质,相对含量分别为1.58%、2.38%、1.58%、0.79%,这些产品的酸味不突出,对整体风味几乎没有贡献。

挥发性酯类物质对食品风味的贡献较大,赋予产品令人愉悦的果香和酒香<sup>[27]</sup>。5种发酵方式中,只有M+R和M+R+J两组检测出挥发性酯类物质,分别检出1、6种,相对含量分别为8.7%和11.87%。癸酸乙酯和辛酸乙酯是M+R+J组中的代表性成分,这两种物质均是世界著名的法国白兰地酒如马爹利、人头马等中的特征风味组分<sup>[28]</sup>。

### 3 结论

不同发酵方法对产品中黄酮、多酚、可溶性蛋白、可溶性糖、总抗氧化能力影响明显。M+R+J组的黄酮类物质、多酚、总抗氧化能力均最高,且显著高于其他4组( $P < 0.05$ )。可溶性蛋白含量最高,可

溶性糖含量显著高于 R 组和 R + J 组 ( $P < 0.05$ )。5 组发酵产品中挥发性风味成分种类和相对含量差异明显。M + R + J 组中检测到的醇类物质、酚类物质、酸味物质、挥发性酯类物质的相对含量均最高, 这些物质赋予了产品酸香适宜、风味浓郁的风味; 检测到的醛类物质相对含量最低, 闻不到刺激性气味; 检测到的烃类物质相对含量虽然不是最高, 但由于 5 组中的烃类物质大多数为饱和脂肪烃类, 嗅觉阈较高, 对产品的风味影响较小。酶解后采用乳酸菌协同酵母菌发酵有利于发酵银杏粉中营养成分的析出和风味物质的富集, 是最佳的发酵方法, 可为银杏果仁的进一步开发利用提供技术支撑。

### 参考文献

- [1] 张伟, 袁华平, 张焕新. 银杏抗性淀粉的超声波-酸解法制备及热力学性质分析[J]. 食品科技, 2018, 43(11): 293-299.
- [2] 耿敬章. 银杏资源开发利用研究[M]. 北京: 世界图书出版公司, 2016.
- [3] 谢婧. 毛霉发酵豆渣过程中异黄酮含量及构型的变化研究[J]. 中国酿造, 2009(5): 77-83.
- [4] 李美伦, 姜萌艺, 龚川杰, 等. 乳酸菌、酵母菌的筛选鉴定及其在米发糕中的应用[J]. 食品与机械, 2019, 35(5): 14-20.
- [5] De F I, Pinon N, Maubois J L, et al. The addition of a cocktail of yeast species to Cantalet cheese changes bacterial survival and enhances aroma compound formation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 129(1): 37-42.
- [6] 骆雨雨, 黄韶媛, 郭洁儿, 等. 乳酸菌与酵母混合发酵制备抗氧化肽发酵乳饮料的研究[J]. 饮料工业, 2018, 21(4): 55-60.
- [7] 闫彬, 贺银凤. 酸马奶中一株乳酸菌与一株酵母菌共生关系和风味代谢产物的研究[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(11): 10-15.
- [8] Tristezza M, Feo L D, Tufariello M, et al. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroa-marowine[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 66: 406-412.
- [9] 刘英丽, 毛慧佳, 李文采, 等. 乳酸菌的筛选及其与酵母菌互作对干发酵香肠品质的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(9): 96-108.
- [10] 席红如, 吴晖, 赖富饶, 等. 卡琪花蒂玛中黄酮类物质的组成及抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2018, 34(8): 52-56.
- [11] 向静, 刘付明亮, 崔旭兰, 等. 银杏叶多酚物质不同提取方法的比较研究[J]. 广州中医药大学学报, 2019(5): 734-737.
- [12] 张风景. 银杏全粉的制备及其评价[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [13] 杜晨晖, 闫艳, 冯前进, 等. 葛根苓连汤发酵前后总黄酮和总生物碱含量变化研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(11): 4850-4853.
- [14] Kodama N, Ramada M, Nanba H. Addition of Maitake D-fraction reduces the effective dosage of vancomycin for the treatment of *Listeria* - infected mice [J]. Japanese Journal of Pharmacology, 2001, 87(4): 327-332.
- [15] 管瑛, 汪璠, 李文, 等. 豆渣固态发酵过程中主要营养成分及抗氧化特性变化[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 189-194.
- [16] 闵伟红. 乳酸菌发酵改善米粉食用品质机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2003.
- [17] 张伟, 张焕新, 施洋, 等. 银杏叶中黄酮类物质提取及其抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(3): 230-234.
- [18] Xu L, Li X L, Wu X X. Preparation and structural characterization of a new corn anti-oxidative peptide [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2004, 25(3): 466-469.
- [19] Muñozgonzález C, Rodríguezbencomo J J, Morenoarribas M V, et al. Beyond the characterization of wine aroma compounds: Looking for analytical approaches in trying to understand aroma perception during win consumption [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 401: 1497-1512.
- [20] 李天琪, 胡飞. 虾调味料风味的 GC-MS 分析研究[J]. 中国调味品, 2017, 42(5): 94-102.
- [21] 张宁, 陈海涛, 孙宝国, 等. 固相微萃取和同时蒸馏萃取方法比较传统腊牛肉的风味成分[J]. 中国食品学报, 2016, 16(6): 247-258.
- [22] 姚芳, 张静, 刘靖, 等. 肉脯加工中风味物质的研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(2): 179-183, 200.
- [23] 刘燕梅, 王艳丽, 汪文鹏, 等. 浓香型白酒窖泥中芽孢杆菌的分离鉴定及代谢产物分析[J]. 中国酿造, 2017, 36(7): 76-79.
- [24] 朱艳霞, 杨佳荟, 王沙沙, 等. 低温浸渍对‘关口葡萄’干白葡萄酒风味物质的影响[J/OL]. 食品科学: 1-15 [2019-08-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20190517.1612.044.html>.
- [25] 刘小雨, 李科, 韦广鑫, 等. 野木瓜果酒香气成分提取方法的比较[J]. 食品与发酵工业, 2019(3): 189-195.
- [26] 朱照华. 酸笋的营养成分检测及其主要风味物质的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2014.
- [27] 白梦洋, 吴祖芳, 李若云, 等. 果酒酵母菌多菌种混合培养的生长规律及挥发性风味物质的差异性分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(5): 214-221.
- [28] 张福捐, 张磊. 法国白兰地特征风味组分癸酸乙酯的催化合成[J]. 酿酒科技, 2007(11): 17-18.

## 《食品工业科技》编委及专家团队

《食品工业科技》期刊拥有 127 名编委, 得到了国内大多数食品专业院校的支持与认可; 拥有 400 多名具有高级职称的全国知名高等院校教授组成的审稿专家团队, 专家的研究方向涉及食品、生物各个领域, 能够准确评析当前国内食品及生物行业的研究成果。