

一种植物乳杆菌发酵紫薯工艺条件优化

张鑫¹, 李思萌¹, 吴祖芳^{1,2*}, 薛利英¹, 蔺志颖¹, 刘玲¹

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211; 2. 浙江省动物蛋白精深加工技术重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 针对一种集紫薯的营养保健功能和乳酸菌发酵优势为一体的新型功能性紫薯乳酸菌发酵饮料, 以紫薯为原料, 通过打浆液化、糖化、接种发酵等系列处理并比较最适的操作条件, 最后优化了紫薯乳酸菌发酵饮料的加工工艺。实验结果表明, 其紫薯液化的最佳用酶量为 0.4%、最适 pH 7.5、最适时间 70 min、最适温度 55 °C; 糖化最佳条件为用酶量 55 U·100 mL⁻¹, pH 4.0, 糖化时间 90 min, 温度 60 °C。采用优化筛选得到的植物乳杆菌发酵接种量为 9%, 发酵时间为 29 h。最后得到一种新型的风味好、营养价值高、有利于人体健康的紫薯乳酸菌发酵饮料。

关键词: 紫薯; 乳酸菌; 糖化; 发酵

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 02-0029-06

紫薯在世界范围内深受人们的喜爱, 除了脍炙人口的色、香、味之外, 紫薯更具有营养保健功能。目前流行病学与预防医学研究表明, 紫薯的营养成分含量比普通甘薯更高^[1], 含有丰富的膳食纤维、淀粉、微量元素(如硒、钙、钾、铁等)、维生素及花青苷、糖蛋白、胡萝卜素、去氢表雄(甾)酮(DHEA)等多种功能性因子^[2-3]。其中, 硒元素具有抗氧化作用, 抗癌保健效果明显; 去氢表雄(甾)酮可有效防止结肠癌和乳腺癌, 改善自身免疫, 延长寿命; 属胶原多糖类的糖蛋白具有抗疲劳和修复器官损伤的作用^[4]。总之, 紫薯具有普通甘薯不具备的生物活性, 如抑制肿瘤、预防高血压、增强人体免疫力等功效^[5]。迄今为止, 紫薯的加工产品形式单一附加值低^[6]。目前国内在紫薯乳酸菌发酵饮料研究方面, 仅报道采用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵酸奶并研究其发酵工艺条件^[7], 而对紫薯发酵前的预处理方法未能系统研究。乳酸菌至少有 18 个属, 共 200 多种, 且绝大部分是人体内必不可少且具有重要生理功能的菌群, 在人体的肠道中广泛存在^[8]。研究表明, 乳酸菌较多菌种能调节胃肠道正常菌群、维持微生态平衡, 促进蛋白质、单糖及钙、镁等营养物质的吸收, 降低血清胆

固醇^[9], 抑制腐败菌繁殖, 具提高机体免疫力、抗衰老和抗肿瘤等作用^[10]; 能有效地预防女性泌尿生殖系统感染等^[11]。已有文献报道^[12], 紫薯经乳酸菌发酵之后产品更易于消化吸收, 营养效果更趋于完善。因紫薯乳饮料产品符合大多数消费者的饮用习惯, 产业前景广阔^[13]。

本研究团队先期已分离筛选得到一株发酵活性较高、产酸适中且具有防腐抗菌功能的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* FB21), 是一株较理想的适用于紫薯发酵的乳酸菌。通过将紫薯的高营养价值与特定的益生菌相结合进行生物发酵处理, 使产品的感观性能显著提高, 又进一步提高了营养价值。本文通过正交实验方法对紫薯的液化与糖化条件进行了优化, 研究了紫薯汁乳酸菌发酵的工艺参数条件, 得到了紫薯乳酸菌发酵的最佳加工工艺, 为工业化规模生产紫薯发酵饮料提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* FB21),

收稿日期: 2016-04-14。

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 浙江省自然科学基金(LQ15C200003); 浙江省大学生新苗项目(2014R405048); 宁波大学SRIP项目(136150015)。

第一作者: 张鑫(1986—), 男, 河南信阳人, 博士/讲师, 主要研究方向: 食品生物技术。E-mail: zhangxin@nbu.edu.cn

*通信作者: 吴祖芳(1963—), 男, 浙江奉化人, 博士/教授, 主要研究方向: 食品生物技术。E-mail: wuzufang@nbu.edu.cn

宁波大学食品生物技术研究室保存。

1.1.2 酶类与酸奶

α -淀粉酶和糖化酶购于国药集团化学试剂有限公司(上海);酸奶为市售新鲜酸奶发酵剂(含保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌)。

1.1.3 主要试剂和仪器

HCl、NaOH 为分析纯, 购于杭州 Aladdin 公司。酸度计(梅特勒—托利多), 恒温水浴锅(常州润华电器有限公司)、烘箱(宁波江南仪器厂)、高压蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂)、超净工作台(苏州净化设备有限公司)、高速离心机(湖南湘仪)、电磁炉(美的电器有限公司)、打浆机(九阳股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 护色方法

将紫薯切成边长约 2 cm 小块, 迅速放入含有质量分数为 0.45% 抗坏血酸和 0.6% 柠檬酸护色液中进行护色约 30 min, 在 95~100 °C 的热水中热烫 5 min, 将软化后的紫薯打浆。

1.2.2 紫薯液化条件的优化

经打浆后的紫薯液, 按要求量加入酶并控制温度等条件进行液化。用费林试剂法测 DE 值^[14], 通过正交实验计算确定其最佳液化条件。

1.2.3 紫薯糖化条件的优化

经液化后的紫薯液, 按糖化要求(如温度与作用时间等)进行糖化。用费林试剂法测 DE 值, 通过正交实验计算确定其最佳糖化条件。

1.2.4 菌种的培养与选择

用 MRS 液体培养基扩大培养, 通过测定紫薯液发酵 pH 及 DE 值试验确定最佳菌种。

1.2.5 发酵条件的优化

通过单因素试验, 以 DE 值为指标, 确定发酵最佳接种量与时间。

2 结果与分析

2.1 液化条件的确定

α -淀粉酶催化水解淀粉生成糊精和一些还原糖^[15], 它作用于淀粉时, 随机地从分子内部切开 α -1 和 4-糖苷键而使淀粉水解。

2.1.1 液化温度的确定

样液中加入质量分数为 0.03% 的淀粉酶, 调节溶液 pH 为 8, 在温度为 45、50、55、60 和 65 °C 下

分别反应 60 min, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 随温度的升高, 紫薯酶解液 DE 值及水解率先增后减。当酶解温度增至 60 °C 时, 酶解液的 DE 值最大, 65 °C 后 DE 值明显下降, 酶活性可能有所减弱, 所以最佳酶解温度约为 60 °C。

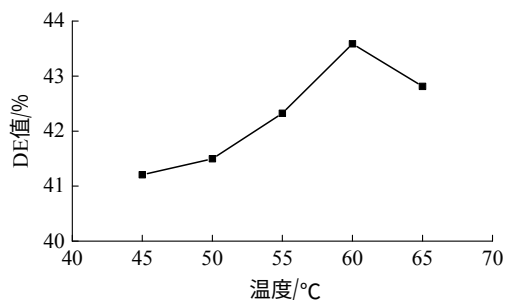


图 1 α -淀粉酶作用温度对 DE 值的影响

2.1.2 液化时间的确定

紫薯处理液中加入质量分数为 0.03% 的淀粉酶, 调节溶液 pH 至 8, 在温度为 60 °C 下分别反应 10、30、50、70、90 和 110 min, 通过不同时间水解后紫薯浆的 DE 值差异性如图 2 所示。从图 2 可看出, 当液化时间为 50 min 时, DE 值达到 29.54, 随后 DE 值增幅较小, 最后选择液化时间为 50 min。

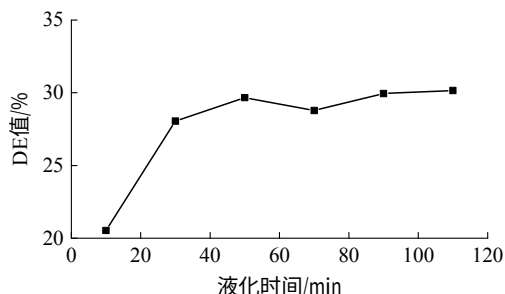


图 2 α -淀粉酶作用时间对 DE 值的影响

2.1.3 pH 对 DE 值的影响

紫薯浆中加入质量分数为 0.03% 的淀粉酶, 调节溶液 pH 分别为 4、5、6、7 和 8, 在温度为 60 °C 下分别反应 50 min, 结果如图 3 所示。从图 3 可

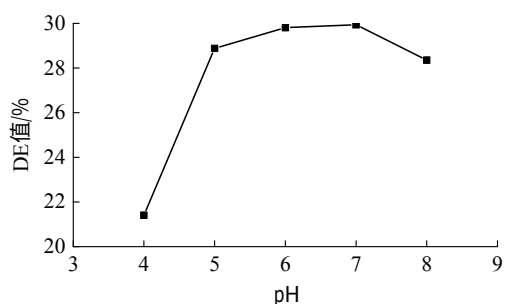


图 3 pH 对 DE 值的影响

知, 随着 pH 的增加, 紫薯酶解液的 DE 值先增后降, pH 为 7 时酶解效果较佳.

2.1.4 液化酶用量的确定

酶用量是酶水解的重要参数, 样液中加入质量分数为 0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、1.0%和 1.5% 的淀粉酶, 结果如图 4 所示. 从图 4 可知, 当酶用量为 0.3%时, DE 值达了一个较大值, 此后随着酶用量的增加, DE 值不再显著增加, 因此选择酶用量为 0.3%.

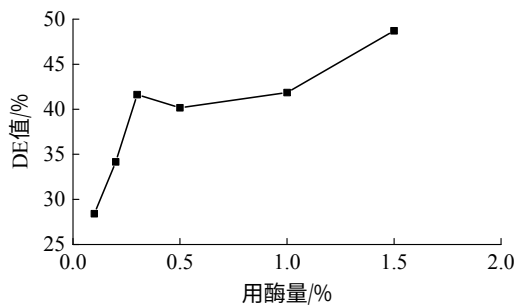


图 4 α -淀粉酶的用量对 DE 值的影响

2.1.5 正交实验确定液化工艺最佳条件

在单因素实验的基础上, 以液化液 DE 值为指标, 做 4 因素 3 水平正交实验(因素中 A 为温度, B 为时间, C 为 pH, D 为酶添加量), 筛选糖化工艺的最佳条件, 正交实验因素水平见表 1, 正交实验结果见表 2. 由表 2 可知, 因素间的主次关系为: 加酶量>糖化温度>糖化时间>pH. 根据 DE 值可知, 最佳因素组合为 $A_2B_3C_3D_3$, 即最佳加酶量为 0.4%、最适 pH 为 7.5、最适液化时间为 70 min、最适液化温度为 55 $^{\circ}\text{C}$.

表 1 液化工艺正交实验因素与水平

水平	因素			
	温度/ $^{\circ}\text{C}$	时间/min	pH	酶添加量/%
1	50	50	6.5	0.2
2	55	60	7.0	0.3
3	60	70	7.5	0.4

表 2 相关因素的试验结果

试验号	A	B	C	D	DE/%
1	1	1	1	1	31.74
2	1	2	2	2	32.83
3	1	3	3	3	39.14
4	2	1	2	3	38.01
5	2	2	3	1	34.09

续表

试验号	A	B	C	D	DE/%
6	2	3	1	2	37.68
7	3	1	3	2	34.29
8	3	2	1	3	36.06
9	3	3	2	1	31.92
k1	34.57	34.68	35.16	32.58	
k2	36.59	34.33	34.00	34.93	
k3	34.09	36.25	35.84	37.74	
R	2.5	1.92	1.84	5.16	

2.2 糖化条件的确定

紫薯浆中的淀粉经 α -淀粉酶作用后主要是一些单糖、低聚糖和糊精等成分, 但仍存在大分子物质, 这对饮料的稳定性不利, 因此需进一步水解.

2.2.1 糖化酶作用温度对糖化效果的影响

在液化后的紫薯浆中加入 64 U 糖化酶, 调节溶液 pH 为 4, 在温度为 50、55、60、65 和 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下糖化 90 min, 结果如图 5 所示. 从图 5 可知, 在温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 时 DE 值最大, 糖化效果最好, 故糖化最适温度约为 60 $^{\circ}\text{C}$.

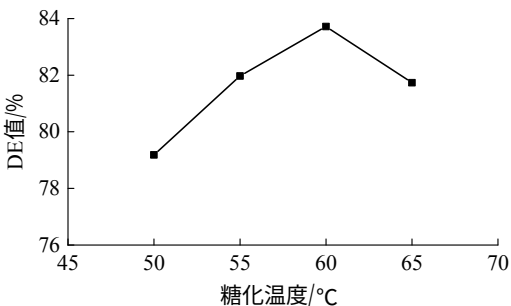


图 5 糖化酶作用温度对 DE 值的影响

2.2.2 糖化酶作用时间对糖化效果的影响

在液化后的紫薯浆中加入 64 U 糖化酶, 调节溶液 pH 为 4, 在温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下分别糖化 30、60、90、120 和 150 min, 结果如图 6 所示. 从图 6

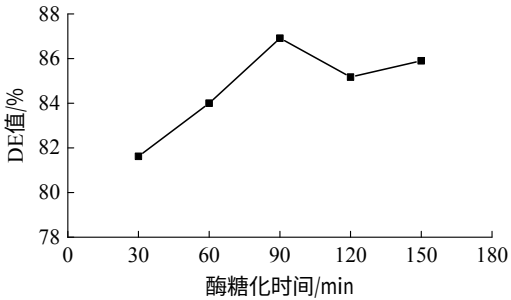


图 6 糖化酶作用时间对 DE 值的影响

可知,随着糖化时间的增加,DE 值增加,在 90 min 处达最大值,故糖化最适时间约为 90 min.

2.2.3 pH 对糖化效果的影响

在液化后的紫薯浆中加入 64 U 糖化酶,调节溶液 pH 为 2、3、4、5 和 6,在温度为 60 °C 条件下糖化 90 min. 随着 pH 增加,DE 值先增后减,在 pH 为 4 时达最大(图 7),故糖化酶最适 pH 为 4.

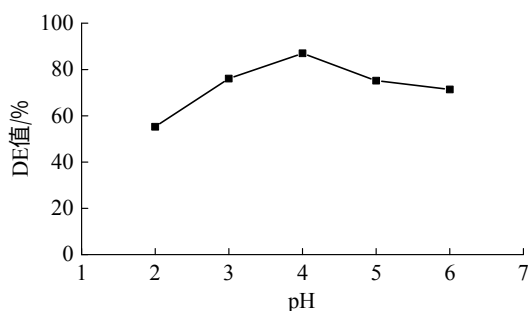


图 7 pH 对糖化 DE 值的影响

2.2.4 酶用量对糖化效果的影响

在液化后的紫薯浆中加入 15、30、45、60、75 U·100 mL⁻¹ 糖化酶,调节溶液 pH 为 4,在温度为 60 °C 条件下糖化 90 min,结果如图 8 所示. 从图 8 可知,当酶用量为 45 U·100 mL⁻¹ 时,DE 值达最大,过多有抑制作用,故最佳酶用量为 45 U·100 mL⁻¹.

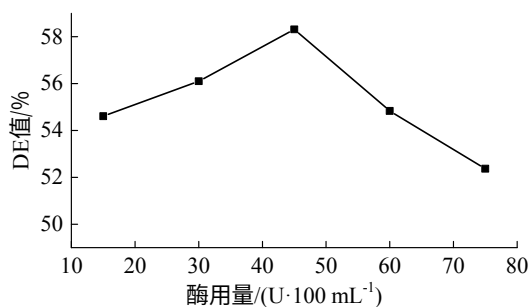


图 8 酶用量对糖化 DE 值的影响

2.2.5 正交实验确定糖化最佳工艺

在单因素实验基础上,以糖化液 DE 值为指标,设计 4 因素 3 水平正交实验,确定糖化的最佳工艺条件. 正交实验因素水平见表 3. 正交实验结果见

表 3 糖化工艺正交实验因素与水平表

水平	因素			
	温度/°C	时间/min	pH	酶添加量/%
1	55	70	3.5	45
2	60	90	4.0	50
3	65	110	4.5	55

表 4. 从表 4 可知,因素间的主次关系为: 加酶量 > pH > 温度 > 时间, 根据 DE 值可知最佳因素组合为 A₂B₂C₂D₃, 即最适糖化温度为 60 °C, 糖化时间 90 min, 最适 pH 为 4.0, 最佳酶添加量为 55 U·100 mL⁻¹.

表 4 糖化条件正交实验结果

试验号	A	B	C	D	DE/%
1	1	1	1	1	74.93
2	1	2	2	2	78.23
3	1	3	3	3	80.23
4	2	1	2	3	81.92
5	2	2	3	1	78.21
6	2	3	1	2	76.91
7	3	1	3	2	75.33
8	3	2	1	3	78.45
9	3	3	2	1	77.62
k1	77.80	77.39	76.76	76.92	
k2	79.01	78.30	79.26	76.82	
k3	77.13	78.25	77.92	80.20	
R	1.88	0.91	2.50	3.38	

2.3 最佳乳酸菌菌种的选择

用实验室分离筛选的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* FB21), 以混合的保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌为对照菌株(酸奶发酵菌种), 分别进行发酵试验, 选择适合做紫薯发酵饮料的乳酸菌. 将活化好的菌种分别按 10% 接入准备好的 200 mL 紫薯薯浆中, 在 30 °C 下发酵一段时间, 测其 pH 值, 观察产酸情况, 结果如图 9 所示. 研究表明, 植物乳杆菌比保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混合发酵的产酸能力强; 从发酵后的颜色变化可以看出, 混合菌发酵能较好地保持原发酵液的颜色, 发酵液为红色, 而植物乳杆菌得到的发酵液为粉红色. 结合发酵乳的组织状态, 采用植物乳杆菌发酵所得的

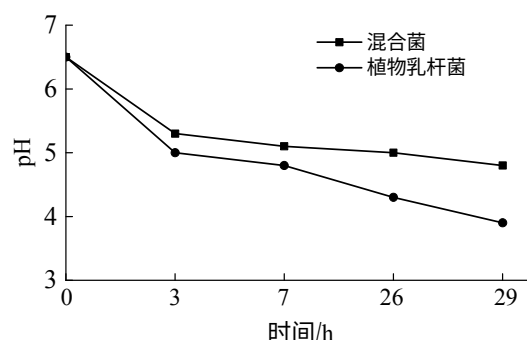


图 9 乳酸菌发酵 pH 变化

紫薯液比混合发酵的紫薯液更均一,颗粒少,最后选择植物乳杆菌为紫薯液发酵的最佳菌种。

2.4 发酵最佳工艺参数的确定

2.4.1 发酵接种量的确定

接种量是乳酸菌发酵的重要参数,乳酸菌发酵通过糖的消耗(DE 值下降)在一定程度上反映细胞生长或代谢产酸情况。将4组100 mL紫薯浆中按不同接种量, pH 值6.5的初始条件下发酵25 h,测定发酵液的残余DE值,结果如图10所示。从图10可知,随着接种量的增加,DE值减小,当接种量为9%时,DE值最小,之后略有上升,所以取发酵接种量为9%。

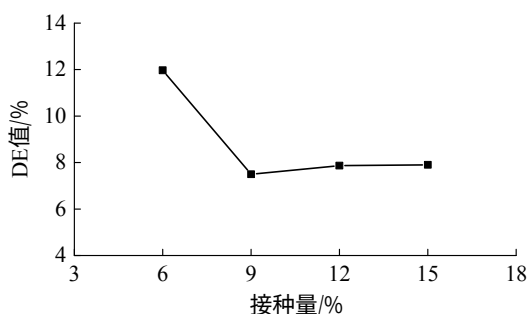


图10 不同接种量发酵终点DE值

2.4.2 发酵时间的确定

在100 mL紫薯浆中加入乳酸菌(接种量9%),调节pH值为6.5,保持温度32℃,DE值的变化趋势如图11所示。从图11可看出,随着时间的延长,DE值不断减少,当时间为29 h时,DE值达到一个较小值。随着时间的继续增加,DE值变化很小,从节省时间考虑,选择发酵时间29 h较合适。

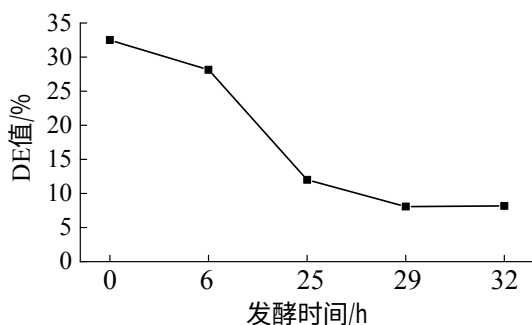


图11 不同发酵时间后DE值

3 讨论

针对紫薯发酵饮料的加工工艺,通过优化紫薯液化及糖化过程的酶用量、起始pH值及作用温

度和时间等参数,得到最佳的紫薯水解液及预处理优化条件。通过优化发酵温度、作用时间、起始pH及菌种量等,可使紫薯发酵饮料的营养成分及风味更加稳定,对紫薯发酵饮料的理化品质和感官品质起到积极作用。

在紫薯发酵饮料加工过程中,先经液化处理,即 α -淀粉酶作用于淀粉,使淀粉水解生成糊精和一些还原糖;再经糖化处理,即将经过 α -淀粉酶液化后的紫薯浆中未酶解完全而残留的大分子物质进一步酶解。温度的变化与紫薯发酵饮料的液化及糖化有关,适当的温度有利于菌种的繁殖及活动,使紫薯发酵饮料的糖化及液化效果更佳;作用时间与紫薯发酵饮料的液化及糖化有关,过短的作用时间不能使DE值达到最大,过长的作用时间影响发酵生产周期。pH值对紫薯发酵饮料的液化及糖化也有影响,适当的pH值可以使紫薯液化及糖化效果更好;在发酵阶段,适当的pH值有利于菌种的繁殖及活动,并防止杂菌的污染。试验所选择的植物乳杆菌的产酸能力较强,紫薯液发酵后比常用酸奶混合菌发酵得到的紫薯液更均一,颗粒少。

通过正交实验方法得到了利用植物乳杆菌优化紫薯汁的最佳发酵工艺条件。在此条件下得到的紫薯发酵饮料质量品质指标和感官指标都较高,去掉了紫薯固有的涩味,保留了紫薯原有的香味,并强化了普通牛奶发酵后所缺乏的硒元素与花青素等保健功能成分,得到色泽诱人、风味独特、对人体有营养价值的保健型紫薯发酵饮料。而普通的紫薯饮料相比,其中包含的抗氧化性成分更加丰富^[17],通过此功能性乳酸菌发酵得到的保健饮料,在清除自由基、抗突变及抗肿瘤和预防心血管疾病等功能方面的作用尚有待进一步研究。

4 结语

利用单因素试验和正交实验并结合感官评定,最终得到紫薯液化的最佳加酶量0.4%、最适pH 7.5、最适温度55℃,最适处理时间70 min;紫薯糖化处理的加酶量为55 U·100 mL⁻¹、最适pH 4.0、最适时间90 min、最适温度60℃;经菌种优化筛选得到最佳菌种植物乳杆菌;经发酵工艺优化得到最佳发酵接种量为9%,发酵时间29 h。

通过优化后工艺所得紫薯饮料色泽诱人、风味独特,无紫薯本身涩味,植物乳杆菌发酵饮料强化了硒元素与花青素等保健功能元素,营养价值高。研究结果为进一步提高紫薯的附加值,丰富发酵型酸奶新品种提供参考。

参考文献:

- [1] 揭小玲. 紫薯全粉品质特性及紫薯饼干加工技术研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [2] CHO J, KANG J S, LONG P H, et al. Antioxidant and memory enhancing effects of purple sweet potatoes anthocyanin and cordyceps mushroom extract[J]. Archives of Pharmacal Research, 2003, 26(10):821-824.
- [3] KIM J M, PARK S J, LEE C S, et al. Functional properties of different Korean sweet potatoes varieties[J]. Food Science and Biotechnology, 2011, 20(6):1501-1507.
- [4] 郑宁. 紫薯汁的酶解工艺及其饮料的开发[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [5] 严征, 李春阳. 紫薯乳饮料工艺及其稳定性研究[J]. 食品加工, 2012(10):32-34.
- [6] 高玥, 李新生, 马娇燕, 等. 紫薯开发利用研究进展[J]. 陕西农业科学, 2013, 59(1):100-103.
- [7] 齐希光, 张晖, 钱海峰, 等. 紫薯乳酸菌发酵饮料的发酵工艺研究[J]. 食品科技, 2004(9):123-126.
- [8] 李平兰, 张箴, 郑海涛. 乳酸菌及其生物工程研究新进展[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(4):50-53.
- [9] 韩俊华, 盛晓甘, 董彩凤, 等. 乳酸菌降胆固醇作用研究现状[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(3):16-20.
- [10] 陈君, 徐靓, 刘红芳, 等. 乳酸菌对小鼠延缓衰老的实验研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(7):129-132.
- [11] 郑晶晶, 宋静慧. 阴道乳酸菌的微生物学研究进展[J]. 内蒙古医学院学报, 2009, 31(4):431-435.
- [12] 孙宁. 紫甘薯酸奶挥发性风味成分及花青素稳定性研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2014.
- [13] 叶雪英, 刘功德, 梁立娟, 等. 紫薯饮料的研究进展、产业化现状及展望[J]. 农业研究与应用, 2012(6):69-71.
- [14] 胡彩霞, 刘美霞, 任丽, 等. 燕麦饮品中燕麦酶解后 DE 值测定方法的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014(1):271-275.
- [15] 涂强. 甘薯发酵饮料的研制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [16] 洪松虎, 吴祖芳. 乳酸菌抗氧化作用研究进展[J]. 宁波大学学报(理工版), 2010, 23(2):17-22.

Optimization of process conditions of purple sweet potato fermentation by *Lactobacillus plantarum*

ZHANG Xin¹, LI Si-meng¹, WU Zu-fang^{1,2*}, XUE Li-ying¹, LIN Zhi-ying¹, LIU Ling¹

(1.School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2.Key Laboratory of Animal Protein Deep Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: This study was mainly focused on the fermentation process conditions of purple sweet potato used in a new functional beverage. Using the purple sweet potato as raw material, the fermentation process by *Lactobacillus plantarum* was fulfilled and eventually optimized by a series of processing steps including liquefaction, saccharification and fermentation. The optimal conditions for purple sweet potato liquification consisted of optimum enzyme concentration at 0.4%, pH 7.5, 55 °C and 70 mins; and those for saccharification were addition of saccharifying enzyme at 55 U·100 mL⁻¹, pH 4.0, 60 °C and 90 mins. Finally, the optimal fermentation process included 9% inoculum size by *Lactobacillus plantarum* and 29 h fermentation time. Purple sweet potato processed by the proposed conditions could be used to produce a new functional beverage which has both nutritional and healthy benefits.

Key words: purple sweet potato; lactic acid bacteria; saccharification; fermentation

(责任编辑 史小丽)