

文章编号:1673-1689(2008)03-0013-05

蒲公英酸奶的研制及其抑菌效果的研究

周传云, 王运亮, 扈麟, 李宗军

(湖南农业大学 食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要:以鲜牛乳和蒲公英汁为主要原料,添加蔗糖,经杀菌、接种保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌为发酵剂。采用 5 因素 4 水平 $L_{16}(4^5)$ 正交试验,获得了制作蒲公英酸奶的最佳工艺参数:在鲜牛乳中添加 8 g/dL 的蔗糖,121 ℃ 杀菌 15 min,加入体积分数 9% 的蒲公英汁,接种体积分数 3.5% 的发酵剂,发酵温度为 42 ℃、时间为 4 h。用该奶制品作纸片法抑菌试验,结果表明:其抑菌作用的大小依次为:蜡样芽孢杆菌>金黄色葡萄球菌>溶血性链球菌>志贺氏菌>沙门氏菌>致泻大肠埃希氏菌;而且当蒲公英酸奶中蒲公英汁体积分数 $\leq 9\%$ 时,其抑菌作用随蒲公英汁含量的增加而增强;而当蒲公英汁体积分数 $> 9\%$ 后,其抑菌强度增加极缓,并非成正比增强,其原理有待进一步研究。

关键词:鲜牛乳;蒲公英;酸奶;发酵;抑菌

中图分类号:TQ 92

文献标识码:A

Study on the Dandelion Yogurt Production and it Effect of Inhibition on Bacteria

ZHOU Chuan-yun, WANG Yun-liang, HU Lin, Li Zong-jun

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract:The dandelion yogurt was made from the fresh milk, dandelion juice and sucrose by fermentation with *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. According the result of $L_{16}(4^5)$ orthogonal experiment, the best processing conditions of dandelion juice were as follows: 8% (v/v) sucrose added to fresh milk, sterilized at 121℃ for 15min, then added with 9% (v/v) dandelion juice and 3.5% starter culture, fermented at 42 ℃ for 4 h. This yogurt has a inhibition effect on bacteria, and the effects from strongest to weak were: *Bacillus cereus* > *Staphylococcus aureus* > *Streptococcus gangrene* > *Shigella sp.* > *Salmonolla sp.* > *Escherichia coli*. There was an interesting phenomena, that was the inhibition effect increased with dandelion juice content in milk when the content below at 9%, and no positive correlation between them when the content up to 9%. The mechanism of the phenomenon should be further investigated.

Key words: fresh milk; dandelion; yogurt; ferment; bacterial inhibition

收稿日期:2007-05-15.

基金项目:国家“863”计划项目(2007AA10Z300);湖南省自然科学基金项目(05JJ30153).

作者简介:周传云(1947-),男,湖南湘乡人,教授,主要从事微生物学的研究.

Email:chuanyunzhou@yahoo.com.cn

蒲公英 (*Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz), 俗称黄花地丁、婆婆丁等, 为菊科蒲公英属多年生草本植物。野生, 遍布于路旁、田野、山坡, 亦可人工栽培, 在我国分布极广, 资源极为丰富, 能耐寒、抗旱又耐涝, 耐病虫害, 不受“三废”污染^[1]。蒲公英具有无毒、温和、安全性高的特点, 被国家卫生部列为既是食品又是药品的物品名单, 可作为保健食品原料之一^[2]。蒲公英含有丰富的蛋白质、氨基酸、碳水化合物、维生素及 Ca、P、Fe 等矿物质元素^[3]。春季, 蒲公英鲜嫩茎叶可食用, 或生食、凉拌、炒食、做汤、做馅、煮粥, 还可做酱, 制作其他特种饮料。在日本、德国, 蒲公英已被开发成饮料、糖果、糕点等食品的添加剂^[1]。蒲公英含有多种具有保健功能的化学成分, 如肌醇、天冬酰胺、皂苷、蒲公英甾醇、蒲公英素、蒲公英苦素等^[4]; 据《本草纲目》记载, 蒲公英味苦、甘、性寒, 有清热解毒、消肿散结、利尿通淋之功效。现代药学研究证明, 蒲公英煎剂或浸剂具有提高免疫力、抗肿瘤、抗菌、保肝利胆、抑制胃酸分泌、抗胃溃疡等作用^[5]。作者拟将新鲜野生蒲公英取汁加入到灭菌鲜牛奶中, 接种酸奶发酵剂, 混合发酵制成既有蒲公英、乳酸菌的营养保健作用, 又有乳酸发酵奶独特风味的新型奶制品——蒲公英酸奶; 同时试验其对某些致病菌的抑菌作用。为开发、深入研究蒲公英奶制品及其功能提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

蒲公英: 采自湖南农业大学附近, 取野生蒲公英未开花或刚现花蕾的地上茎、叶部分。鲜牛奶: 不含致病菌和抗生素的鲜牛奶, 购于湖南农业大学奶牛场; 蔗糖: 市购, 优质食品级白砂糖; 制作酸奶用菌种: 保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*) 和嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*), 均由湖南农业大学食品科学技术学院微生物研究所提供; 供试病原菌菌种: 沙门氏菌 (*Salmonella* sp.)、志贺氏菌 (*Shigella* sp.)、致泻大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*)、蜡芽芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、溶血性链球菌 (*Streptococcus hemolyticus*), 均由湖南农业大学食品科学技术学院微生物研究所提供。营养琼脂培养基^[6], 培养上述供试病原菌用。

1.2 主要仪器设备

250 型打浆机, JM-2 型胶体磨, 实验型高压均质机, DD5 型高速离心机, SW-CJ-IB 超净工作台,

高压蒸汽灭菌器, 250B 型恒温生化培养箱, 电冰箱, Expiorer 电子天平, FR-90 型封口机, 常规玻璃器皿等。

1.3 蒲公英酸奶制作方法

1.3.1 蒲公英酸奶制作工艺 流程 见图 1。

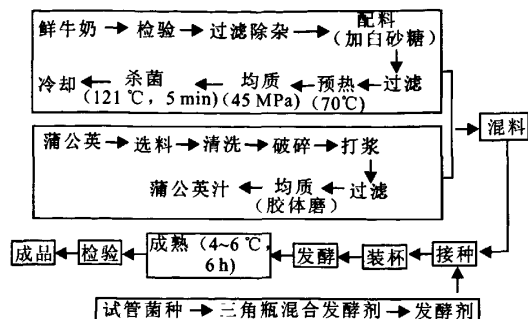


图 1 蒲公英酸奶工艺流程

Fig. 1 Dandelion yogurt of the process

1.3.2 工艺要点

1) 蒲公英汁的制备

将采收回的蒲公英, 去除病黄叶及其它杂质, 用流动的自来水反复洗净泥沙后, 用破碎机破碎成 0.3~0.4 cm 的碎段, 并立即将其放在 80~85 °C 水中热烫 3~4 min, 滤水后趁热加温开水 (40~50 °C, 蒲公英和水质量比为 1:1) 打浆, 打浆后的浆液用 200 目的无菌纱布过滤得汁。由于蒲公英汁中含有果胶、纤维素和半纤维素等成分, 故将其通过胶体磨均质, 从而得到质地均一、稳定的蒲公英汁。在 70 °C 左右, 15 min 对蒲公英汁灭菌, 冷却备用。

2) 原料乳的验收与处理

原料乳, 必须具有新鲜牛乳固有的香味, 带有微甜味, 呈乳白色或微黄色, 用酒精检验无絮状沉淀, 酸度、密度、脂肪含量、固形物含量和蛋白质含量等达到国家标准要求, 并且抗菌物质检验必须为阴性。检验合格的鲜牛乳, 采用过滤净化或离心净化方式去除乳中的机械杂质并减少微生物的数量, 加入白砂糖搅拌溶化, 然后将其进行标准化、预热 (70 °C)、均质 (40 MPa) 和杀菌 (121 °C, 15 min), 备用。

3) 生产发酵剂的制备

菌种的驯化: 将两种乳酸菌菌种先后分别在添加了质量分数 3%、6%、9% 蒲公英汁的无菌牛奶中进行移植培养驯化, 直至凝乳性能快速、良好。以此获得能适应于蒲公英汁、牛奶混合料中生长繁殖的发酵菌种。

乳酸菌生产用发酵剂: 取新鲜牛乳 255 mL 装入 500 mL 的三角瓶内, 用 0.1 MPa/cm² 蒸汽灭菌

15 min 后,迅速冷却到 40~42 ℃,加入制备好的灭菌蒲公英汁 45 mL,摇混均匀。用灭菌吸管定量吸取驯化的乳酸菌纯培养物于上述 500 mL 的三角瓶中(两种菌各 1 mL),42~44 ℃ 下恒温培养至凝乳良好即为生产用发酵剂。置于 4~6 ℃ 冰箱中保存备用。

4) 接种、发酵、成熟

将制备好的乳酸菌发酵剂在无菌条件下接种于已经灭菌的蒲公英汁与鲜牛乳混合均匀液中(接种量(质量分数)为 4%),混合均匀,然后分装到塑料杯中并封盖,置于 42~44 ℃ 下恒温培养至凝乳良好,再放入 4 ℃ 冰箱中存放 6~10 h。经检验合格后即为成品。

表 1 产品的感官评分标准

Tab.1 Sensory evaluation standard for product

色泽(10分)	气味(20分)	滋味(40分)	状态(30分)
色泽浅绿,均匀一致(8~10分)	有蒲公英味和乳香,具有混合香味,且协调(16~20分)	甜酸适口,口感细腻,滋味柔和,滑润爽口(32~40分)	无乳清析出,凝乳均匀不分层,无或少量沉淀(25~30分)
色泽绿中偏黄,均匀较好(5~7分)	有蒲公英味,乳香淡,气味较协调(9~15分)	甜酸比例不佳,滋味不柔和,口感粗糙,尚能接受(16~31分)	有少量乳清析出,凝乳较均匀,较粘稠,少沉淀(14~24分)
色泽差,不均匀(0~4分)	无蒲公英味和乳香,气味不协调(0~8分)	甜酸比例差,过酸或过甜,难以接受(0~15分)	有大量乳清析出,凝乳不均匀,粘性差,沉淀多(0~14分)

1.4.2 理化检验 非脂乳固体、蛋白质、乳脂肪、酸度(梯涅尔度法)和密度等按照 GB/T5009—1996 中所规定的有关方法进行分析测定^[7-8]。

1.4.3 微生物检验 大肠菌群及致病菌等的检测按照 GB/T 4789.3,18—2003 中所规定的有关方法进行检验^[9],乳酸菌数量的检测按照 GB/T 4789.35—2003 中所规定的有关方法进行检验^[9]。

1.5 蒲公英酸奶抑菌试验方法

采用滤纸片法^[6]。

1.5.1 蒲公英汁液制备 分别按每分升汁液蒲公英鲜茎叶质量 1、3、6、9、12、15 g 打浆;用 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。

1.5.2 蒲公英酸奶制备方法 分别用蒲公英鲜茎叶质量浓度 1、3、6、9、12、15 g/dL 的蒲公英汁液与鲜牛奶混合,灭菌,接种酸奶发酵剂均为体积分数 4%,均于 42~44 ℃ 发酵 4 h,凝乳后置 4~6 ℃ 冰箱内后熟 6~8 h;取出以 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。

1.5.3 普通纯酸奶 凝固型,自制(除在原料中不加蒲公英汁外,其余制作方法同上述蒲公英酸奶的制作);用 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。

1.5.4 制备含菌平板 将制备好的营养琼脂培养

5) 工艺参数的选择

研究中以接种量、蔗糖添加量、蒲公英汁添加量、发酵时间和发酵温度为因素,采用 5 因素 4 水平 $L_{16}(4^5)$ 正交试验法设定工艺条件,其中各因素所取水平,按照单因素试验的结果来确定其最大可能取值范围。

1.4 蒲公英酸奶产品检验方法

1.4.1 感官检验 在自然光线下观察蒲公英酸奶的凝固状态、色泽及组织状况,闻其气味并品尝确定其滋味。组织 15 位具有一定专业知识的人组成评价小组按表 1 方法对研制品进行感官评价,每个样品以其 3 组平行试验的平均值作为最终评价结果。

基用 9 cm 直径的无菌平皿制成无菌平板;在无菌操作条件下,将经 3 次转管活化至对数生长期的各被试病原菌用无菌生理盐水制成菌悬液(含菌量均为 10^6 cfu/mL),分别吸取 0.1 mL 菌悬液均匀涂抹在相应标记好的无菌平板上,将每个平板等分成 4 个区域并分别在平板底部各区域标注好“蒲公英汁液、蒲公英酸奶、普通凝固型纯酸奶、对照(CK)”等 4 种标记。每种处理各设置 4 个平行样。

1.5.5 置入抑菌物 用无菌镊子夹取直径为 5 mm 的灭菌小滤纸片,分别蘸取制备好的蒲公英汁液、或蒲公英酸奶的离心上清液、或普通酸奶的离心上清液(均不得有多余液滴),并将处理好的滤纸片平贴在制备好的被试平板上相应的区域,平板上的 CK 区贴上浸有无菌生理盐水的滤纸片作为对照。各纸片间距相同。

1.5.6 培养 将上述处理好的平板倒置于(36±1) ℃ 恒温条件下培养 24 h。

1.5.7 抑菌效果检查 培养 24 h 后取出平板,观察滤纸片周围有无抑菌圈产生,并测量抑菌圈的直径(mm),以其抑菌圈的有无及其直径的大小来评定有无抑菌作用和抑菌作用的大小。

2 结果与分析

2.1 蒲公英酸奶研制的工艺参数选择

在蒲公英酸奶研制中,以接种量、蔗糖添加量、蒲公英汁添加量、发酵时间和发酵温度为因素,采用 5 因素 4 水平 $L_{16}(4^5)$ 进行正交试验。按照单因素试验结果的最大可能取值范围,得各因素所取水平,如表 2 所示。

表 2 $L_{16}(4^5)$ 试验因素水平表

Tab. 2 The factors and levels of orthogonal experiments

水 平	发酵 温度/ ℃ A	蒲公英汁 体积 分数/% B	白砂糖 质量浓度/ (g/dL) C	发酵剂 体积 分数/% D	发酵 时间/ h E
1	41	3.0	6.0	3.0	3.5
2	42	6.0	7.0	3.5	4.0
3	43	9.0	8.0	4.0	4.5
4	44	12.0	9.0	4.5	5.0

研究中通过 15 人组成的产品感官评定小组对其各组试验产品按设定的感官评分标准进行综合评分,其结果见表 3。可以看出,感官评定结果以 1、8、11 组较其它各组差异显著,据极差 R 值的大小可以看出,5 个因素对感官评定的影响的大小依次是 $C>B>D>E>A$,即白砂糖质量浓度是影响感官品质的最主要因素,其次是蒲公英汁体积分数,再次是发酵剂体积分数。其工艺参数的最优组合是 $A_2B_3C_3D_2E_2$,即发酵温度为 42℃,蒲公英汁体积分数为 9%,白砂糖质量浓度为 8 g/dL,接种发酵剂体积分数为 3.5%,发酵时间为 4 h,以这样的工艺组合条件进行发酵时,其研制的蒲公英酸奶产品感官风味最佳。

2.2 产品质量检验

2.2.1 感官检验

色泽:呈嫩绿色,均匀一致,有光泽。

组织状态:组织细腻,呈均匀的胶状,质地均匀,粘稠适中,无气泡和分层及沉淀现象。

滋味、气味:酸甜适口,口感细腻,柔和,具有浓郁的乳酸菌发酵酸奶风味,同时还具有蒲公英独特的清香味,后味略苦而不长,无任何异味。

2.2.2 理化检测 蛋白质质量分数 2.9%;脂肪质量分数 2.65%;全乳固体质量分数 11.5%;非脂乳固体质量分数 8.1%;酸度 95℃T。

2.2.3 微生物检测 乳酸菌数: 10^8 cfu/mL;大肠菌群: 30 MPN;致病菌未检出。

以上各项指标检验结果均符合国家标准 GB2746—2003 相关要求。

表 3 各试验因素对产品质量影响的结果

Tab. 3 The result of $L_{16}(4^5)$ orthogonal experiments

实验号	A	B	C	D	E	感官评定 平均分
1	1	2	3	3	2	85.002
2	2	4	1	2	2	81.103
3	3	4	3	1	3	80.904
4	4	2	1	4	3	77.30
5	1	3	1	1	4	79.10
6	2	1	3	4	4	82.90
7	3	1	1	3	1	78.55
8	4	3	3	2	1	85.45
9	1	1	4	2	3	84.10
10	2	3	2	3	3	80.45
11	3	3	4	1	2	84.70
12	4	1	2	4	2	75.00
13	1	4	2	1	1	59.50
14	2	2	4	4	1	81.50
15	3	2	2	2	4	78.20
16	4	4	4	3	4	81.60
K_1	307.70	320.55	316.00	304.20	305.00	
K_2	325.95	322.00	393.15	328.85	325.80	
K_3	322.35	329.70	334.25	325.60	322.75	
K_4	319.35	303.10	331.90	316.70	321.80	
k_1	76.93	80.14	79.00	76.05	76.25	
k_2	81.49	80.50	73.29	82.21	81.45	
k_3	80.59	82.43	83.56	81.40	80.69	
k_4	79.84	75.78	82.98	79.18	80.45	
R	4.56	6.65	10.27	6.16	5.20	

注:表中 R 为相应结果极差的平均值。

2.3 蒲公英酸奶抑菌试验

采用滤纸片法对蒲公英酸奶进行抑菌试验,以“蒲公英汁”及“普通凝固型酸奶”作为抑菌试验对照,详细结果见表 4。

由表 4 可见,蒲公英汁、蒲公英酸奶、普通酸奶等供试物品对被试的 6 种致病菌均有抑菌性,其抑菌作用的大小依次序为:蜡样芽孢杆菌>金黄色葡萄球菌>溶血性链球菌>志贺氏菌>沙门氏菌>致泻大肠埃希氏菌。而且当蒲公英汁体积分数 $\leq 9\%$ 时,其抑菌作用随蒲公英汁含量的增加而增强;而当蒲公英汁体积分数 $>9\%$ 后,其抑菌强度增加极缓,并非呈正比增强,其原理有待进一步研究。同时蒲公英酸奶的抑菌性并没有因为它们结合而消减,反而有所增强,且 6% 添加量的抑菌性更好,可供临床应用参考。

表 4 蒲公英酸奶抑菌试验结果
Tab. 4 Bacterial inhibition result of dandelion yogurt

制品名称	体积分数 / %	抑菌直径 d/mm					
		沙门氏菌	志贺氏菌	致泻大肠埃希氏菌	金黄色葡萄球菌	溶血性链球菌	蜡样芽孢杆菌
蒲公英汁	1	6.1	6.2	6.1	6.1	6.1	6.3
	3	6.5	6.8	6.3	7.0	6.6	7.1
	6	7.2	7.4	6.8	8.6	7.5	8.2
	9	8.0	8.5	7.8	9.0	8.8	9.3
	12	8.1	8.7	8.0	9.2	8.9	9.5
	15	8.3	8.9	8.2	9.3	9.0	9.6
蒲公英酸奶	1	6.9	7.1	6.9	7.3	7.2	7.4
	3	7.5	7.6	7.1	8.1	7.9	8.1
	6	8.1	8.2	8.1	8.9	8.5	9.0
	9	8.9	9.0	8.5	9.4	9.3	9.6
	12	9.1	9.1	8.6	9.6	9.4	9.6
	15	9.3	9.2	8.8	9.7	9.6	9.6
普通凝固型纯酸奶		5.8	5.9	5.8	5.6	5.7	5.9

注:抑菌圈的直径包含滤纸片的直径(5 mm)在内。

3 结 语

1) 在牛乳中添加适量的蒲公英汁可以制作出

参考文献(References):

[1] 孙玉顺,王博,姜秋杰,等. 野菜蒲公英的开发与利用[J]. 食品研究与开发,2003,24(6):101-103.
SUN Yu-shun, WANG Bo, JIANG Qiu-jie, et al. Exploitation and usage of dandelion as wild vegetable[J]. *Food Research and Development*, 2003,24(6):101-103. (in Chinese)

[2] 中华人民共和国卫生部. 卫法监发[2002]51号. 关于进一步规范保健食品原料管理的通知[M]. 北京:卫生部,2002.

[3] 俞红,李锦兰,宇莉,等. 天然野生蒲公英矿物元素及动物药理学安全评价分析[J]. 微量元素与健康研究 2004,21(4):4-5.
YU Hong, LI Jin-lan, YU Li, et al. Safe analysis of animal pharmacology and mineral elements of dandelion[J]. *Studies of Trace Elements and Health*, 2004,21(4):4-5. (in Chinese)

[4] 赵守训,杭秉倩. 蒲公英的化学成分和药理作用[J]. 中国野生植物资源,2001,20(3):1-3.
ZHAO Shou-xun, HANG Bing-qian. Chemical content and pharmacology analysis of dandelion[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2001,20(3):1-3. (in Chinese)

[5] 吴艳玲,朴惠善. 蒲公英的药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2004,15(8):519-520.
WU Yan-ling, PIAO Hui-shan. Development of pharmacology study of dandelion[J]. *Lishzhen Medicine and Materia Research*, 2004,15(8):519-520. (in Chinese)

[6] 赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2005.

[7] GB/T5009—1996 乳与乳制品的分析方法[S]. 北京:中国标准出版社,1996.

[8] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1996.

[9] GB/T4789—2003 食品卫生微生物检验[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

(责任编辑:杨萌,秦和平)