

苹果酵素复合型羊乳的制备及抗氧化活性研究

张艾青

(山东畜牧兽医职业学院 食品与药品科技学院, 山东 潍坊 261061)

摘要: 苹果酵素具有良好的抗氧化活性,为了增加发酵羊乳的抗氧化活性,作者采用苹果酵素与复合发酵剂发酵羊乳,并研究其理化指标及抗氧化活性。依据发酵羊乳的理化指标和感官评价指标,确定苹果酵素添加质量分数、发酵剂类型和发酵剂添加质量分数:苹果酵素添加质量分数4%,B发酵剂添加质量分数为1%时,发酵羊乳蛋白质含量为3.85 g/hg,脂肪含量为3.72 g/hg,非脂乳固体含量为9.28 g/hg,对DPPH自由基清除能力为95.17%,且发酵羊乳凝固状态好,具有发酵羊乳特有的滋味、气味及苹果口味,酸度、甜度合适,为发酵羊乳制品的研究与开发提供理论基础。

关键词: 苹果酵素;羊乳;发酵剂;抗氧化活性

中图分类号:TS 252 文章编号:1673-1689(2021)06-0106-06 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.06.014

Preparation of Apple-Ferment-Fortified Goat Milk and Its Antioxidant Activity Investigation

ZHANG Aiqing

(Department of Food and Pharmaceutical Technology, Shandong Vocational Animal Science and Veterinary College, Weifang 261061, China)

Abstract: Apple-ferment has good antioxidant activity. In order to increase the antioxidant activity of fermented goat milk, apple-ferment and compound starter cultures were used to ferment goat milk, and the physicochemical properties and antioxidant activity of fermented goat milk were studied. The addition amount of apple-ferment, and the type and addition amount of starter cultures were determined based on the physicochemical properties and sensory evaluation. The result showed when the addition of apple-ferment and B starter culture were 4% and 1%, the protein content, fat content and non-fat milk solid content of fermented goat milk were 3.85 g/hg, 3.72 g/hg, and 9.28 g/hg, respectively, and the DPPH scavenging ability was 95.17%. The fermented goat milk had a good curd, characteristic flavor of fermented goat milk and smell of apple, pleasant taste with moderate sweet and sour. This experiment could provide a theoretical basis for the research and development of fermented goat milk products.

Keywords: apple-ferment, goat milk, starter cultures, antioxidant activity

收稿日期: 2020-04-14

基金项目: 潍坊市科学技术发展计划项目(2016GX046)。

作者简介: 张艾青(1982—),女,硕士,讲师,主要从事食品微生物与发酵工程方向研究。E-mail:zhangaiqingwf@163.com

羊乳具有特殊的风味、营养价值及保健功能,但由于其自带的膻味较重,极大程度限制了羊乳制品的研究与生产加工^[1]。羊乳中蛋白质、脂肪、乳糖、矿物质、维生素及多种生物活性物质的含量较高,主要营养物质含量与母乳较相近,且具有抗过敏、抗衰老、提高免疫力等保健作用^[2]。经调查研究发现,乳酸菌发酵羊乳可以减轻羊奶特有的膻味,提高羊乳产品的营养物质含量,同时发酵能提高羊乳的抗氧化能力。有研究表明,山羊乳经乳酸菌发酵后有较强的抗氧化能力,主要体现为DPPH自由基清除能力和抑制脂质过氧化能力的增强^[3]。根据国内外研究表明,发酵剂的复合使用可以有效弥补单一发酵剂发酵的缺点,使发酵乳制品的口感、风味较单一发酵剂发酵乳制品更容易被广大消费者接受^[4]。

酵素是以水果、蔬菜、食用中药材等为原料,通过天然发酵或添加有益微生物发酵而成的一类具有保健功能的发酵制品^[5]。酵素中不仅含大量的氨基酸、矿物质、功效酶等发酵原料中原有的成分,也具有较高含量的还原糖、维生素C、酚类、花色苷、超氧化物歧化酶等抗氧化物质^[6],具有清除人体自由基、美容养颜等多种益生作用^[7-8]。目前天然酵素的开发和利用还处于初级水平,有待进一步深入^[4]。苹果酵素是以苹果为原料,经自然发酵所得,其含有大量的维生素、矿物质、酵母菌及其代谢产物等,具有一定的生物功能^[9]。经研究表明,发酵所得的苹果酵素具有较强的抗氧化能力,强于苹果的抗氧化性^[10]。而用苹果酵素发酵羊乳的研究至今未有报道。

作者以苹果酵素协同多菌种(丁二酮乳酸链球菌与双歧杆菌)制备发酵羊乳制品,并测定其抗氧化活性。将苹果酵素添加至羊乳制品制成苹果酵素发酵羊乳产品,不仅增加其抗氧化性,还有效提高了产品的适口性,更易被消费者接受,促进水果酵素发酵羊乳产品的商业化应用,为后续羊乳制品的生产和开发提供一定的技术支撑和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

材料:新鲜羊乳由山东阳春羊奶乳业公司提供,苹果为山东潍坊红富士。

A发酵剂(保加利亚乳杆菌:嗜热链球菌质量比

为1:1)、B发酵剂(丁二酮乳酸链球菌:双歧杆菌质量比为1:1);购于丹麦Danisco公司;浓硫酸、无水硫酸铜、乙酸、乙酸钠、氢氧化钠、甲醛等均为分析级;购于天津市大茂化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

电子分析天平:赛多斯科学仪器有限公司产品;精密数显酸度计:上海电子仪器厂产品;HH-4电子恒温水浴锅:常州澳华仪器有限公司产品;离心机:上海安亭科学仪器厂产品;分光光度计:常州澳华仪器有限公司产品;SQ510C立式压力蒸汽灭菌锅:重庆雅马拓科技有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 苹果酵素制备 将苹果洗净、晾干后分别切块,按照白砂糖、水果和蒸馏水质量比为1:8:10加入发酵罐中,把罐体密封好置于25~30℃发酵,每隔3d于无菌操作台中通气1次,静置发酵30d。在无菌状态下,6℃、4000r/min离心10min,保留上清液,保存备用^[11]。

1.3.2 苹果酵素发酵羊乳制备 新鲜羊乳添加质量分数6%的蔗糖,20~25MPa均质处理后90℃杀菌30min,冷却至40~45℃,添加质量分数1%~5%的苹果酵素,装瓶后在41~44℃下培养2.5~4.0h,置于0~4℃储藏。

1.3.3 发酵羊乳制备 新鲜羊乳添加质量分数6%的蔗糖,20~25MPa均质处理后90℃杀菌30min,冷却至40~45℃,添加质量分数3%的双歧杆菌,装瓶置于41~44℃,培养时间2.5~4.0h,将发酵好的羊乳置于0~4℃储藏。

1.3.4 复合发酵剂发酵羊乳制备 新鲜羊乳添加质量分数6%的蔗糖,20~25MPa均质处理后90℃杀菌30min,冷却至40~45℃,添加质量分数3%的发酵剂(发酵剂A或发酵剂B),装瓶后在41~44℃下培养2.5~4.0h,将发酵好的羊乳置于0~4℃储藏。

1.3.5 复合型发酵羊乳制备 新鲜羊乳添加质量分数6%的蔗糖,20~25MPa均质处理后90℃杀菌30min,冷却至40~45℃,添加苹果酵素和发酵剂,41~44℃下装瓶,培养2.5~4.0h,将发酵好的复合型发酵羊乳置于0~4℃储藏。

1.3.6 发酵羊乳感官评定 发酵羊乳感官评定指标按照GB 19302—2010^[12]进行评定,具体指标见表1。

表 1 感官评价指标

Table 1 Sensory evaluation index

发酵乳指标	标准
色泽	色泽均匀一致,呈乳白色或微黄色
滋味、气味	具有发酵乳特有的滋味、气味
组织状态	组织细腻、均匀,允许有少量乳清析出;风味发酵乳具有添加成分特有的组织状态

1.3.7 发酵羊乳理化指标测定 蛋白质检测按照 GB 5009.5—2016 方法测定,脂肪含量按照 GB 5413.3—2010 盖勃法测定,非脂乳固体检测按照 GB 5413.39—2010 方法进行测定^[13-15]。

1.3.8 乳酸菌数测定 按照 GB 4789.35—2016《食品微生物学检验 乳酸菌检验方法》测定发酵羊乳中乳酸菌数^[16]。

1.3.9 DPPH·自由基清除能力的测定 参照文献[17-20]的方法,将 400 μL 提取液与 2.6 mL 浓度 0.1 mmol/L 的 DPPH(用乙醇溶解)溶液混合,在黑暗中放置 30 min,使用无水乙醇作为空白,并测量 517 nm 处的吸光度。DPPH 的清除率计算公式如下。

$$D(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100\%$$

式中:D 为 DPPH 清除率,%;A₁ 为样品与 DPPH 溶液的吸光度;A₂ 为样品与无水乙醇溶液的吸光度;A₃ 为无水乙醇与 DPPH 溶液的吸光度。

1.4 数据处理和分析

采用 Excel 2007 和 Origin 8.0 软件进行数据处理和绘制曲线图,SPSS 17.0 进行方差分析和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 苹果酵素添加质量分数对发酵羊乳感官评定指标的影响

由表 2 可以得出,苹果酵素添加的质量分数越高,发酵羊乳的凝固性越强,苹果口味越强,酸度和甜度呈现增加趋势。当苹果酵素添加质量分数为 4% 时,发酵羊乳凝固性好,色泽为乳白色,颜色分布均匀,具有发酵羊乳特有的风味,有苹果口味,酸度合适,甜度合适,口感较佳,易于被大众接受。其可能原因为,苹果酵素添加质量分数过低,发酵能力不够,出现了发酵不完全,产品酸度低,凝固性差,甜度低等现象。

表 2 苹果酵素发酵羊乳感官评定

Table 2 Sensory evaluation of goat milk fermented by apple-ferment

苹果酵素添加质量分数/%	感官评定
1	凝固性差;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;无明显的苹果口味;酸度偏低;甜度低
2	凝固性差;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;无明显的苹果口味;酸度偏低;甜度合适
3	凝固性好;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;无明显的苹果口味;酸度偏低;甜度合适
4	凝固性好;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;有苹果口味;酸度合适;甜度合适
5	凝固性好,有乳清析出;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;有苹果口味;酸度合适;甜度高

2.2 苹果酵素添加质量分数对发酵羊乳理化指标的影响

由图 1(a)可知,当苹果酵素添加质量分数增加时,发酵羊乳中脂肪和蛋白质含量均降低,且存在显著性差异($P<0.05$)。由图 1(b)可知,随着苹果酵素添加质量分数增加,发酵羊乳中非脂乳固体含量呈上升趋势,且存在显著性差异($P<0.05$)。原因在于苹果酵素中含有大量蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶,可以酶解羊乳中的蛋白质和脂肪,从而使发酵羊乳中的蛋白质和脂肪含量降低^[21],故当添加苹果酵素时,苹果酵素发酵羊乳中蛋白质和脂肪含量降低。综合口感和营养成分考虑,苹果酵素添加质量分数为 4% 时最佳。

2.3 不同发酵剂对发酵羊乳感官评定指标的影响

从表 3 可知,A 发酵剂和 B 发酵剂发酵羊乳的凝固性、色泽、滋味和气味等感官评价结果相似,但 B 发酵剂酸度明显优于 A 发酵剂。保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、丁二酮乳酸链球菌和双歧杆菌是发酵酸奶常用的发酵剂,发酵能力基本相同,可使发酵所得的羊乳具有酸奶特有的口感、风味^[22]。丁二酮乳酸链球菌发酵羊乳可以产生特有的酸乳风味,因其可以发酵柠檬酸,产生具有芳香气味的丁二酮^[23-24]。利用单一的双歧杆菌发酵羊乳作为阳性对照,对比发现 B 发酵剂发酵羊乳酸度合适,风味俱佳,故而 B

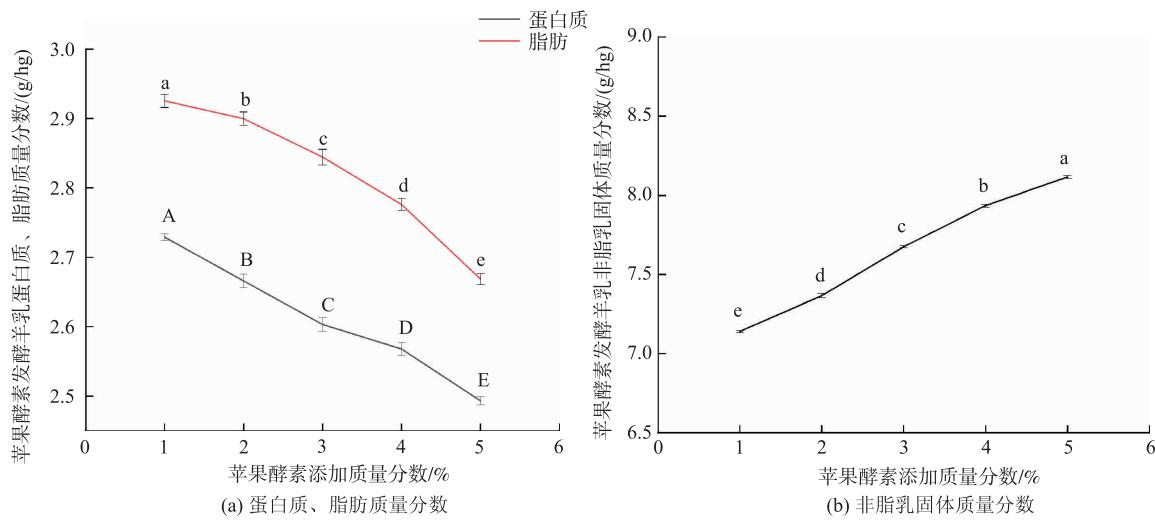
不同的字母表示显著性差异, $P<0.05$;相同字母表示无显著性差异, $P>0.05$ 。

图 1 苹果酵素添加质量分数对发酵羊乳理化指标的影响

Fig. 1 Effect of apple-ferment addition on the physicochemical properties of fermented goat milk

发酵剂较佳。

表 3 发酵剂发酵羊乳的感官评定

Table 3 Sensory evaluation of goat milk fermented by starter cultures

添加剂型	感官评定
A 发酵剂	凝固性好;色泽均匀一致,呈白色;具有发酵羊乳特有的滋味、气味;酸度偏低
B 发酵剂	凝固性好;色泽均匀一致,呈白色;具有发酵羊乳特有的滋味、气味;酸度合适
双歧杆菌发酵	凝固性好;色泽均匀一致,呈白色;具有发酵羊乳特有的滋味、气味,同时膻味较重;酸度偏低

2.4 不同发酵剂对发酵羊乳理化指标的影响

由表 4 可知,相较于 A 发酵剂发酵羊乳,B 发酵剂发酵羊乳脂肪和非脂乳固体质量分数分别增加 0.63% 和 0.07%,但差异性不显著($P>0.05$),蛋白质质量分数增加 7.43%,存在显著性差异($P<0.05$)。

表 4 不同发酵剂对发酵羊乳理化指标的影响

Table 4 Effects of different starter cultures on the physicochemical indexes of fermented goat milk

发酵剂种类	蛋白质质量分数/(g/hg)	脂肪质量分数/(g/hg)	非脂乳固体质量分数/(g/hg)	乳酸菌数/(CFU/mL)
A 发酵剂	3.20±0.02 ^b	3.34±0.02 ^a	8.46±0.01 ^a	3.8×10 ⁶
B 发酵剂	3.44±0.05 ^a	3.36±0.02 ^a	8.47±0.02 ^a	4.5×10 ⁶
双歧杆菌发酵	3.09±0.04 ^c	3.27±0.01 ^b	8.44±0.05 ^b	3.2×10 ⁶

注:同一列,不同字母表示显著性差异, $P<0.05$;相同字母表示无显著性差异, $P>0.05$ 。

2.6 发酵剂添加质量分数对复合型发酵羊乳感官评定指标的影响

苹果酵素复合 B 发酵剂发酵羊乳感官评定指

相较于双歧杆菌发酵羊乳,B 发酵剂发酵羊乳蛋白、脂肪和非脂乳固体质量分数分别增加 11.33%、2.75% 和 0.36%,存在显著性差异($P<0.05$)。双歧杆菌可以产生人体必需的 B 族维生素、丙氨酸、缬氨酸、天冬氨酸和苏氨酸等营养物质^[25]。

2.5 不同发酵剂对发酵羊乳中乳酸菌数的影响

到发酵终点时,测定发酵羊乳中的乳酸菌总数。由表 4 可知,A 发酵剂发酵羊乳乳酸菌数为 3.8×10^6 CFU/mL, 双歧杆菌发酵羊乳乳酸菌数为 3.2×10^6 CFU/mL,B 发酵剂发酵羊乳乳酸菌数为 4.5×10^6 CFU/mL, 明显优于 A 发酵剂。乳酸菌可提高人体对发酵羊乳中乳糖、钙、磷、铁的利用率,促进维生素 D 的吸收和增加蛋白酶的分泌,使发酵羊乳中的蛋白质更易于消化吸收^[23]。综合 2.3 和 2.4 的结论,选择 B 发酵剂应用于制备发酵羊乳。

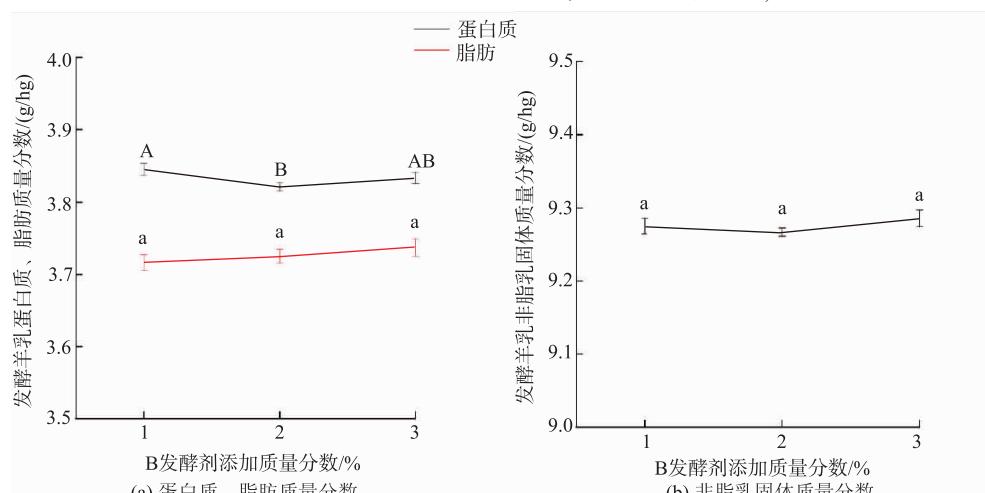
标见表 5。当 B 发酵剂添加质量分数为 2%~3% 时,复合型发酵羊乳有乳清析出且酸度偏高,可能是由于 B 发酵剂添加质量分数过多,羊乳发酵过度,使

制品酸度偏高。当B发酵剂添加质量分数为1%时,复合型发酵羊乳凝固性好,色泽为乳白色,颜色分布均匀,具有发酵羊乳特有的风味,有苹果口味,酸度合适,甜度合适。故而B发酵剂最佳添加质量分数为1%。

表5 复合型发酵羊乳感官评定

Table 5 Sensory evaluation of compound fermented goat milk

B发酵剂添加质量分数/%	感官评定
1%	凝固性好;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;有苹果口味;酸度合适;甜度合适
2%	凝固性好,有乳清析出;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;有苹果口味;酸度高;甜度合适
3%	凝固性好,有乳清析出;色泽为乳白色,颜色分布均匀;具有发酵羊乳特有的风味;有苹果口味;酸度高;甜度合适



不同的字母表示显著性差异, $P<0.05$;相同字母表示不存在显著性差异, $P>0.05$ 。

图2 发酵剂添加质量分数对复合型发酵羊乳理化指标的影响

Fig. 2 Effect of content of starter cultures on the physicochemical properties of compound fermented goat's milk

表6 不同发酵羊乳抗氧化能力的测定

Table 6 Determination of antioxidant capacity of different fermented goat milk

不同发酵羊乳	DPPH 清除率/%
双歧杆菌发酵羊乳	89.14±0.18 ^c
苹果酵素发酵羊乳	87.38±0.26 ^d
B发酵剂发酵羊乳	91.65±0.21 ^b
复合型发酵羊乳	95.17±0.13 ^a

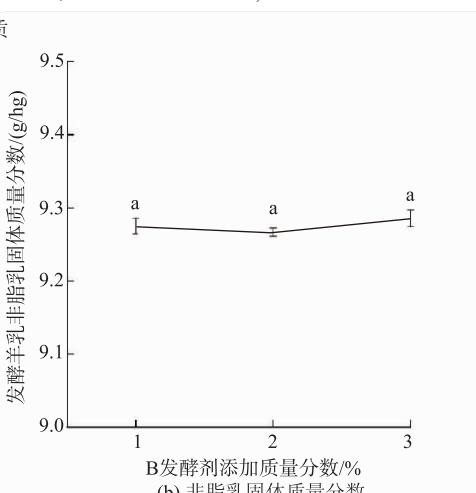
注:同一列,不同字母表示显著性差异, $P<0.05$;相同字母表示无显著性差异, $P>0.05$ 。

2.7 发酵剂添加质量分数对复合型发酵羊乳理化指标的影响

由图2可知,B发酵剂添加质量分数的变化对复合型发酵羊乳蛋白质、脂肪和非脂乳固体含量影响较小,没有显著性差异,所测定指标符合国家标准要求^[17]。综合复合型羊乳的感官指标和理化指标,B发酵剂最佳添加质量分数为1%。

2.8 不同发酵羊乳抗氧化能力的测定

由表6可知,相较于苹果酵素发酵羊乳,双歧杆菌发酵羊乳、B发酵剂发酵羊乳和复合型发酵羊乳对DPPH自由基清除率明显增加,分别增加了2.01%、4.88%和8.91%,存在显著性差异($P<0.05$)。苹果酵素的抗氧化能力与其所含的小分子糖、多糖、多酚类化合物及超氧化物歧化酶(SOD)等活性成分含量有关^[26-27]。将苹果酵素与复合发酵剂联合使用时,复合型发酵羊乳中不仅含有小分子糖、多糖、多酚类化合物^[9],同时乳酸菌将羊乳中的蛋白质



降解成具有一定抗氧化活性的小分子肽,其DPPH清除能力较强,从而提高了发酵羊乳的抗氧化活性^[28]。

3 结语

苹果酵素含有小分子糖、多糖、多酚类化合物及SOD等活性成分,具有较强的抗氧化能力。优化了苹果酵素复合发酵剂制备发酵羊乳的方法,并结合发酵羊乳的感官和理化指标,确定了最佳发酵工艺。当苹果酵素添加质量分数为4%,B发酵剂添加质量分数为1%时,复合型发酵羊乳凝固性好,色泽为乳

白色,颜色分布均匀,具有发酵羊乳特有的风味,同时具有苹果口味,酸、甜度合适。对 DPPH 自由基清除能力为 95.17%,相比于 B 发酵剂发酵羊乳,其

DPPH 自由基清除能力得到增强。为发酵羊乳制品的进一步研究与开发、工业化生产和生物功能研究提供一定参考。

参考文献:

- [1] 赵烜,李向莹,王存芳.桑葚果粒蓝莓发酵羊乳的制备及其抗氧化活性[J].乳业科学与技术,2018,41(6):31-36.
- [2] TORAL P G,CHILLIARD Y,ROUEL J,et al. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats[J]. *Journal of Dairy Science*,2015,98(10):7277-7297.
- [3] 张小苗.羊乳制品制造加工中的脱膻技术与市场现状探讨[J].食品安全导刊,2015(15):78.
- [4] 陈丹.浅论食用酵素[J].食品研究与开发,2016,37(12):210-214.
- [5] 王子丹.微生物酵素的研究进展[J].农业科技与装备,2015(8):67-68.
- [6] 徐萌.现代生活中关于酵素市场经济发展的探究[J].经营管理者,2016(22):183.
- [7] 赵芳芳,莫雅雯,蒋增良,等.功能性微生物酵素产品的研究进展[J].食品与发酵工业,2016,42(7):283-287.
- [8] 韦仕静.桑葚酵素发酵工艺及花青素生物转化的研究[D].广州:华南理工大学,2018.
- [9] 崔国庭,王缎,刘向丽,等.响应面法优化苹果酵素的发酵工艺及其生物活性初探[J].食品工业,2018,39(6):187-192.
- [10] 李飞,王凤舞,潘越,等.苹果酵素抗氧化活性初步研究[J].青岛农业大学学报(自然科学版),2016,33(1):40-44.
- [11] 艾学东,胡丽娜.水果植物复合酵素饮料的研制[J].食品与发酵科技,2015,51(2):105-108.
- [12] 中华人民共和国卫生部,GB 19302—2010 食品安全国家标准发酵乳[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [13] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局,GB 5009.5—2016 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [14] 中华人民共和国卫生部,GB 5413.3—2010 食品安全国家标准婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [15] 中华人民共和国卫生部,GB 5413.39—2010 食品安全国家标准乳和乳制品中非脂乳固体的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [16] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局,GB 4789.35—2016 食品安全国家标准食品微生物学检验乳酸菌检验[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [17] CHEN C W,HO C T. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas [J]. *Journal of Food Lipids*,1995,2(1):35-46.
- [18] CUI G,ZHANG W,ZHANG A,et al. Variation in antioxidant activities of polysaccharides from *Fructus Jujubae* in South Xinjiang area[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*,2013,57:278-284.
- [19] 和法涛,刘光鹏,朱风涛,等.微波超声波组合提取猴头菇多糖工艺优化及其抗氧化活性[J].食品与生物技术学报,2019,38(1):74-82.
- [20] 王静,韩莹,罗茜,等.体外模拟胃肠消化过程中猕猴桃抗氧化成分及活性的变化[J].食品与生物技术学报,2020,39(11):49-55.
- [21] 于晓艳,任清,卢舒娴,等.微生物酵素主要功效酶活力的测定[J].食品科技,2008,33(7):193-196.
- [22] 齐强强.发酵羊乳脂肪酸组成的动态变化分析及生物除膻技术研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [23] 胡文效,姜兴涛.乳类食品香成分及其成因[J].山东食品发酵,2001(4):36-38.
- [24] 张宗岩.乳与乳制品的正常滋味和气味[J].中国乳品工业,1996,24(1):42-45.
- [25] 祝静.酸羊奶发酵工艺及其质构特性和风味成分研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2011.
- [26] 张莉,陈军,吴大付,等.微波消解等离子体发射光谱法测定苹果中的多元素分布[J].光谱实验室,2009,26(3):617-620.
- [27] 杨小幸,周家春,陈启明,等.苹果酵素天然发酵过程中代谢产物的变化规律[J].食品科学,2017,38(24):15-19.
- [28] 李子叶.不同酸奶发酵剂的发酵性能及其产品功能活性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2019.