

# 益生菌发酵小米浆的工艺研究

张桂芳<sup>1</sup>, 郭希娟<sup>2</sup>, 张东杰<sup>2</sup>, 张爱武<sup>2</sup>, 王颖<sup>1</sup>

(1. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319;

2. 黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

**摘要:**利用特殊驯化的益生菌发酵小米浆, 考察了白砂糖添加量、接种量、发酵温度、发酵时间对发酵效果的影响, 在单因素试验的基础上通过正交试验优化了益生菌发酵小米浆的工艺参数。结果表明, 优化后的发酵工艺参数为: 白砂糖添加量 8%, 益生菌接种量 2.5%, 发酵温度 38 ℃, 发酵时间 9 h。在此条件下, 小米发酵浆的感官评分为 97.6, 总多酚含量为 0.287 μg/mL。

**关键词:**小米浆; 益生菌; 接种量; 小米发酵饮料

中图分类号: TQ 920.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2016)04-0090-04

## Probiotics fermentation process of millet pulp

ZHANG Gui-fang<sup>1</sup>, GUO Xi-juan<sup>2</sup>, ZHANG Dong-jie<sup>2</sup>, ZHANG Ai-wu<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>

(1. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing Heilongjiang 163319;

2. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang 163319)

**Abstract:** The effects of sugar amount, inoculum concentration, temperature and time on fermentation were investigated by single-factor experiments and optimized by orthogonal experiment with specially domesticated probiotics. The results showed that the optimal process parameters was that sugar added amount 8%, inoculum concentration 2.5%, fermentation temperature 38 ℃ and time 9 h. Under the optimal conditions, the sensory evaluation and the total polyphenol content of the fermented millet pulp was 97.6 and 0.287 μg/mL, respectively.

**Key words:** millet pulp; probiotics; inoculum concentration; millet fermented drink

谷子脱壳称为小米, 小米营养成分丰富<sup>[1]</sup>, 富含碳水化合物、蛋白质和粗纤维, 且消化吸收率高<sup>[2-3]</sup>。除此以外还含有多酚、黄酮等植物次级代谢产物, 具有较高的生物活性<sup>[4-5]</sup>。发酵谷物饮料是以谷物为主要原料, 采用发酵工程和酶工程技术, 经微生物发酵制备的一种功能性发酵饮料。该产品既保存了谷物的自身营养价值, 又由微生物赋予新的营养物质和风味<sup>[6]</sup>。小米营养丰富, 是我国传统食药同源的谷物, 熬粥蒸饭等原始加工方式不适应现代快节奏的生活方式, 将小米作为主要原料开发成谷物发酵饮料非常具有市场潜力。目前应用于杂

粮发酵的菌种主要包括乳酸菌、酵母菌和少量的霉菌<sup>[7]</sup>。酵母菌和霉菌发酵产酒精影响口感, 不适宜开发成无醇饮品, 而普通的乳酸菌发酵杂粮通常需要补充氮源。基于此, 本文利用特殊驯化的益生菌发酵小米浆, 在不额外添加牛乳等氮源的条件制备适宜发酵小米浆的发酵剂, 考察白砂糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间对饮料感官指标和以总多酚含量为代表的活性物质含量的影响, 通过正交试验对发酵工艺参数进行优化, 希望为小米发酵饮料开发提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

小米: 本地市售, 商品名为大金苗; 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和双歧杆菌由黑龙江八一农垦大学食品学院提供; 3,5-二硝基水杨酸、酒石酸钾钠、氢氧化钠等均为国产分析纯。

收稿日期: 2016-05-19

基金项目: 国家科技部星火计划项目(2015GA670008); 大庆市指导性科技计划项目(S2dfy-2015-51); 大庆市创新能力建设项目(sjh-2013-65); 黑龙江省农垦总局开发项目(HNK13KF-01-01)

作者简介: 张桂芳, 1980年出生, 女, 助理研究员。

通讯作者: 张东杰, 1966年出生, 男, 教授。

## 1.2 主要的仪器设备

DM - Z125S II 型砂轮电动磨浆机:河北铁狮磨浆机械有限公司;AR2140 电子分析天平:奥豪斯仪器(上海)有限公司;B6 - WLZ 型阿贝折射仪:上海光学仪器进口有限公司;T6 系列紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;梅特勒—托利多 Five 系列台式 pH 计:梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;LD4 - 1.6 型离心机:北京京立离心机有限公司;DNP - 9052 电热恒温培养箱:上海精宏实验设备有限公司;LDZX - 40 立式自动电热压力蒸汽杀菌器:上海上天精密仪器有限公司。

## 1.3 菌种驯化

菌种驯化能够使微生物逐步适应小米浆的生长条件,通过定向选育取得具有较高耐受力及活动能力的菌株。本研究将小米浆与脱脂牛乳分别按1:9、2:8、4:6、6:4、8:2、9:1 的体积比配成 6 种培养基,将嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌和双歧杆菌菌种(比例 1:1:2)分别接种于灭菌的脱脂乳培养基中,传代培养三次进行菌种复壮与活化,然后将上述复合菌种培养物按 2% 接种量分别接种到上述 6 种培养基中在 38 ~ 42 °C 培养至酸度达到 40 °T 以上,分别在小米浆含量由低到高的 6 种培养基中逐步驯化培养,最后将小米浆与脱脂牛乳按 9:1 配置的培养基中的混合菌发酵液制成益生菌菌种培养液备用或冷冻干燥后制成益生菌菌种冻干粉备用。

## 1.4 主要工艺流程

小米→前处理→磨浆→糊化→酶解→灭酶→离心→标准化→均质→灭菌→接种→发酵→发酵小米浆→样品供试液检测(感官评定和总多酚含量指标检测)。

前处理:去除小米中杂质,清洗干净,浸泡 12 h。

磨浆:浸泡后的小米利用磨浆机按照料液比 1:10 进行磨浆处理。

糊化、酶解和灭酶:小米浆调节 pH 值到 6.4,在 55 °C 下糊化 30 min,然后升温至 85 °C 加入高温  $\alpha$  淀粉酶进行酶解,酶添加量为 18.0 U/g 小米,酶解时间 17 min,酶解后煮沸 10 min 灭酶<sup>[8]</sup>。

离心:小米浆冷却到室温后在 3 000 r/min 转速下离心 15 min。

标准化、均质和灭菌:对小米浆的可溶固形物含量进行标准化处理,通过蒸发或稀释的方法调节可

溶固形物含量在 5.0% 左右;然后在 40 °C、20 Mpa 条件下均质 15 min,最后在 131 °C 条件下高温高压灭菌维持 10 min。

发酵:将灭菌后的小米浆利用特殊驯化的益生菌进行发酵。

样品供试液:将小米发酵液在 121 °C 条件下灭菌 20 min 后滤纸过滤备用(4 °C 条件下保存,不超过 48 h)。

## 1.5 指标检测方法

### 1.5.1 多酚含量的测定方法

采用 Folin - Ciocalteu 法测定样品供试液的总多酚含量<sup>[9-10]</sup>,绘制没食子酸标准曲线( $R^2 \geq 0.99$ ),依据得到的线性回归方程计算供试液的总多酚含量,以没食子酸当量表示( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。

### 1.5.2 感官评价方法

制备的发酵小米浆综合感官评价标准如表 1 所示。

表 1 发酵小米浆感官评价标准

项目	评分标准	分值/分
组织状态(30分)	澄清,无杂质	20~30
	澄清,有絮状物	10~20
	浑浊或有泡沫,分层	0~10
口感(40分)	酸甜适口,口感清爽	20~40
	酸甜适口,无刺激	10~20
	过酸或过甜,口感刺激	0~10
色泽(15分)	色泽淡黄,均匀	10~15
	色泽偏淡	5~10
	颜色不佳	0~5
风味(15分)	有小米固有香气,无异味	10~15
	无小米固有香气,无异味	5~10
	无小米香气,有异味	0~5

## 1.6 单因素试验及正交试验

分别研究白砂糖添加量、益生菌接种量、发酵时间、发酵温度四个因素对小米浆感官评分值和总多酚含量的影响,确定正交试验各因素范围值。根据单因素试验结果,设计  $L_9(3^4)$  正交试验,确定益生菌发酵小米浆的最优工艺技术参数。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

#### 2.1.1 白砂糖添加量对发酵效果的影响

白砂糖添加量分别为 4%、8%、10%、12%、14%、16%,小米浆 pH 值 6.0,发酵条件为接种量 2%、温度 40 °C、时间 8 h,制作的发酵小米浆进行感官评价和供试液总多酚含量的检测。白砂糖添加量

对小米浆发酵效果的影响见图1,随着白砂糖添加量的增加发酵小米浆感官评分先升高再下降,在添加量8%附近出现最高值;总多酚含量随着白砂糖添加量的增加逐渐降低,在4%~10%范围内保持一个相对稳定的数值,因此白砂糖添加量的正交试验范围选择8%、9%和10%。

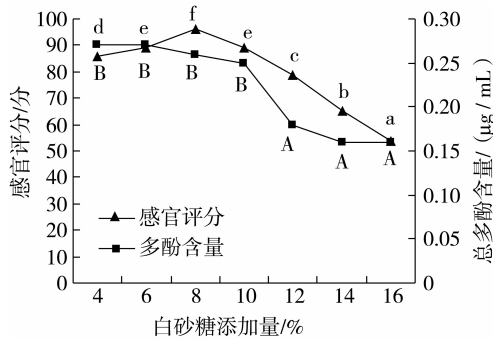


图1 白砂糖添加量对发酵效果的影响

注:a~f表示不同白砂糖添加量下感官评分值的差异显著性( $P < 0.05$ );A~B表示不同白砂糖添加量下总多酚含量的差异显著性( $P < 0.05$ )。

### 2.1.2 益生菌接种量对发酵效果的影响

益生菌接种量对小米浆发酵效果的影响见图2,随着接种量的增加发酵小米浆感官评分先升高再下降,在添加量2%附近出现最高值;总多酚含量随着接种量的增加逐渐降低,在1%~3%范围内数值下降缓慢,因此益生菌接种量正交试验范围选择2.0%、2.5%和3.0%。

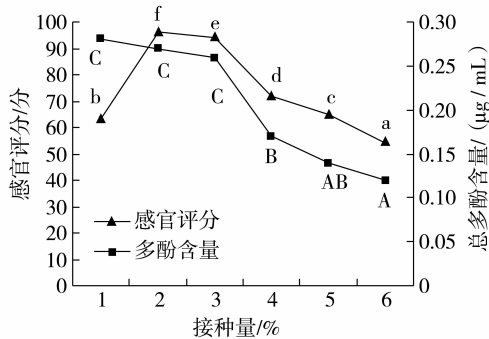


图2 接种量对发酵效果的影响

注:a~f表示不同接种量下感官评分值的差异显著性( $P < 0.05$ );A~C表示不同接种量下总多酚含量的差异显著性( $P < 0.05$ )。

### 2.1.3 温度对发酵效果的影响

发酵温度对小米浆发酵效果的影响见图3,随着发酵温度的升高发酵小米浆感官评分在38~42℃范围内变化不大,在温度44℃附近出现最低

值;总多酚含量随着发酵温度的增加先缓慢上升然后逐渐降低,在36~38℃范围内数值相对稳定,因此益生菌发酵温度的正交试验范围选择36℃、38℃和40℃。

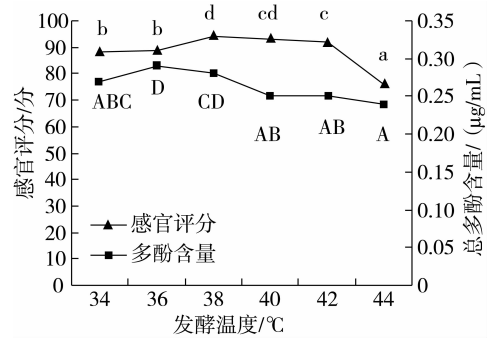


图3 温度对发酵效果的影响

注:a~d表示不同发酵温度下感官评分值的差异显著性( $P < 0.05$ );A~D表示不同发酵温度下总多酚含量的差异显著性( $P < 0.05$ )。

### 2.1.4 时间对发酵效果的影响

发酵时间对小米浆发酵效果的影响见图4,随着发酵时间的延长发酵小米浆感官评分先缓慢上升然后急剧下降,在10h附近出现最高值;总多酚含量随着发酵时间的延长初期下降缓慢,10h以后逐渐下降。综合感官评分值和总多酚含量,益生菌发酵时间的正交试验范围选择8h、9h和10h。

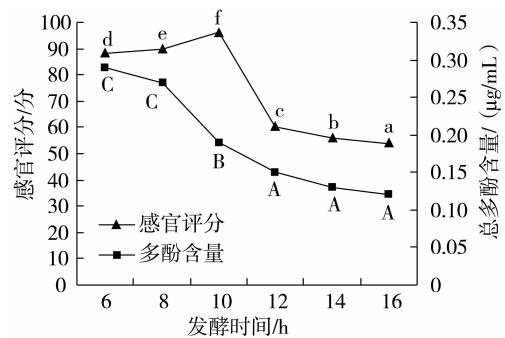


图4 时间对发酵效果的影响

注:a~f表示不同发酵时间下感官评分值的差异显著性( $P < 0.05$ );A~C表示不同发酵时间下总多酚含量的差异显著性( $P < 0.05$ )。

### 2.2 正交试验确定最优发酵条件

在单因素试验结果的基础上,选择白砂糖添加量、接种量、发酵温度和发酵时间四个因素进行正交试验。表2为发酵工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表,按照因素水平进行正交实验,试验设计和结果如表3所示,方差分析结果如表4所示。

表2 正交试验因素水平

水平	A 白砂糖添加量/%	B 接种量/%	C 发酵温度/℃	D 发酵时间/h
1	8	2.0	36	8
2	9	2.5	38	9
3	10	3.0	40	10

表3 正交试验设计及结果

序号	A	B	C	D	感官评分/分	总多酚含量/(μg/mL)
1	1	1	1	1	81.3	0.129
2	1	2	2	2	97.6	0.287
3	1	3	3	3	69.4	0.304
4	2	1	2	3	84.8	0.293
5	2	2	3	1	90.3	0.192
6	2	3	1	2	82.5	0.174
7	3	1	3	2	89.3	0.259
8	3	2	1	3	77.9	0.275
9	3	3	2	1	76.9	0.176
K <sub>1</sub>	82.767	85.133	77.233	82.833		
K <sub>2</sub>	82.533	88.600	86.433	86.467		
K <sub>3</sub>	81.367	72.933	83.000	77.367		
R	1.400	15.667	9.200	9.100		
K <sub>1</sub>	0.240	0.193	0.227	0.166		
K <sub>2</sub>	0.220	0.252	0.218	0.291		
K <sub>3</sub>	0.237	0.252	0.251	0.240		
R	0.020	0.033	0.059	0.125		

表4 方差分析

项目	方差来源	偏差平方和	自由度	F比	显著性
感官评分	A(误差)	3.376	2	1.000	
	B	406.302	2	120.350	<0.01
	C	129.682	2	38.413	<0.05
	D	125.896	2	37.291	<0.05
多酚含量	A(误差)	0.001	2	1.000	
	B	0.007	2	7.000	
	C	0.002	2	2.000	
	D	0.024	2	24.000	<0.05

注:F<sub>0.05</sub>(2,2) = 19.00, F<sub>0.05</sub>(2,2) = 99.00。

依据表3正交试验直观分析结果可以看出,按照感官评分和总多酚含量数值越大越好的原则,在所选因素水平范围内,各因素对感官评分影响作用的主次顺序为 B > C > D > A,最优水平组合为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>;各因素对总多酚含量影响作用的主次顺序为 D > C > B > A,最优水平组合为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>。

依据表4的方差分析结果可以看出,因素B、C、D均对小米发酵浆的感官评分结果呈显著性影响(P < 0.05),因素B为极显著影响因素(P < 0.01);因素D对小米发酵浆的总多酚含量影响显著(P <

0.05)。由于A、B、C三个因素对总多酚含量的影响作用不显著,B、C、D三个因素对感官评分值的影响作用显著,因此最终确定益生菌发酵小米浆的最优工艺参数组合为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即白砂糖添加量8%,复合益生菌接种量2.5%,发酵温度38℃,发酵时间9h。在此条件下小米发酵浆的感官评分为97.6,总多酚含量为0.287 μg/mL。

### 3 结论

本研究通过单因素试验和正交试验设计,以发酵小米浆感官评分值和样品供试液总多酚含量为指标,考察了白砂糖添加量、益生菌添加量、发酵温度、发酵时间四个因素对小米浆发酵效果的影响。通过综合考虑感官评分值和总多酚含量两个指标的结果,优化了益生菌发酵小米浆的技术参数,优化后的发酵工艺参数为:白砂糖添加量8%,复合益生菌接种量2.5%,发酵温度38℃,发酵时间9h。在此条件下小米发酵浆的感官评分为97.6,总多酚含量为0.287 μg/mL。希望本研究为下一步开发具有保健功能的小米发酵饮料提供参考依据。

### 参考文献:

- [1]王勇. 小米的营养价值及内蒙古小米生产加工现状[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2010.
- [2]WANKHEDE D B, SHEHNAJ A, RAGHAVENDRA RAO M R. Carbohydrate composition of finger millet and foxtail millet[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1979, 28(4):293-303.
- [3]薛月圆,李鹏,林勤保. 小米的化学成分及物理性质的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(3):199-206.
- [4]付丽红,任文静,李玉娥. "沁州黄"小米总黄酮提取工艺的研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2016, 36(3):219-223.
- [5]张名位. 全谷物酚类物质及其抗氧化活性研究进展[J]. 粮食加工,2016, 41(1):28-36.
- [6]王磊,陈宇飞,刘长姣. 发酵饮料的开发现状及研究前景[J]. 食品工业科技,2015,36(10):379-382.
- [7]张桂芳,王瑞琦,郭希娟,等. 小米发酵饮料的研究进展[J]. 黑龙江科技信息,2016,14:158.
- [8]张桂芳,王颖,王鹏程,等. 小米饮料酶解条件的优化研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2015,27(5):96-100.
- [9]BONOLI M, VERARDO V, MARCONI E, et al. Antioxidant phenols in barley (Horde - um vulgare L.) flour; comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 5195-5200.
- [10]张海晖,段玉清,倪燕,等. 谷物中多酚类化合物提取方法及抗氧化效果研究[J]. 中国粮油学报,2008, 33(6):107-110.