

芦丁对低脂酸奶品质和抗氧化能力的影响

Effect of supplementing rutin on quality and antioxidant capacity of low-fat yoghurt

侯彩云 郭秀兰 彭家宣 卢玉容

HOU Cai-yun GUO Xiu-lan PENG Jia-xuan LU Yu-rong

(成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106)

(Chengdu University, College of Pharmacy and Biological Engineering, Chengdu, Sichuan 610106, China)

摘要:以脱脂复原乳为原料,按不同比例(0.015%, 0.020%, 0.025%, 0.030%)添加芦丁制成含有芦丁的营养保健型低脂酸奶,考察其对酸奶发酵时间、酸度、持水力、感官品质、抗氧化性能和发酵细菌数量等的影响。试验表明:与对照组相比,添加0.015%~0.025%的芦丁酸奶持水力和状态感官评分提高($P<0.05$);随芦丁添加量的增加,酸奶芦丁含量和抗氧化能力逐渐提高,添加量 $\geq 0.015\%$ 时显著提高酸奶芦丁含量和抗氧化能力,而发酵细菌数量则受到抑制,当剂量 $\geq 0.020\%$ 时2种细菌数量显著减少($P<0.05$),发酵时间也显著延长($P<0.05$);芦丁添加剂量进一步增加到0.030%时显著降低了持水力和感官评分。试验结果表明,添加适宜的芦丁(0.015%~0.025%)可提高酸奶持水力、抗氧化能力和感官品质,但超过0.020%时会延长发酵时间。

关键词: 芦丁;低脂酸奶;抗氧化性;持水力

Abstract: Based on skimmed milk, the effects were investigated on supplementing different concentrations of rutin (0.015%, 0.020%, 0.025% and 0.030%) in fermentation time, acidity, water holding capacity, sensory quality, antioxidant capacity and microbe numbers of low fat yogurt. The results showed that the addition of 0.015%~0.025% rutin increased the water holding capacity and the state sensory score of yoghurt ($P<0.05$) compared with the control. With the rutin amount increasing, the rutin contents and antioxidant capacity were gradually increased in yoghurt, and they were significantly enhanced when the amount was more than 0.015%. The numbers of fermented bacteria were reduced as the rutin amount increased, and the numbers of two bacteria were decreased significantly and the fermentation time

was prolonged significantly when the amount was more than 0.020%. While more rutin amount (0.030%) was added, the water holding capacity and sensory scores were significantly reduced. In a word, the addition of suitable rutin (0.015%~0.025%) improved the water holding capacity, antioxidant capacity and sensory quality of yoghurt, but the fermentation time was prolonged when more than 0.020% was added.

Keywords: rutin; low-fat yoghurt; antioxidant capacity; water holding capacity

酸奶是一种倍受欢迎的保健食品,它富含益生菌、钙、高质量蛋白质、多种维生素和碳水化合物^[1],能补充人体所需营养素,同时具有增强肠道免疫反应、润肠通便等功效^[2]。而低脂酸奶因脂肪含量较低,可有效避免高脂肪引起的高血糖、高血脂、高血压、肥胖等疾病^[3],因此成为目前备受关注的乳制品之一。然而,低脂酸奶由于缺乏脂肪,易导致酸奶出现乳清析出、质构变差、口感不佳等质量问题^[4]。近年来,有研究^[2-3]将多酚等天然提取物添加到酸奶中,发现其能改善质构,降低乳清析出,并提高抗氧化活性。

芦丁是自然界普遍存在的一类天然多酚,广泛存在于各类植物和水果中^[5]。芦丁也被称为维生素P,具有较高的抗氧化活性,能显著抑菌、抗血小板、抗病毒、抗高血压、降血糖和强化毛细血管功能等,能有效预防疾病的发生和保持基因组的稳定性^[6]。但芦丁被动物体摄入后在肠道中吸收很少,大部分滞留于肠道并排出体外^[7],而芦丁被酸奶中益生菌发酵分解后更利于人体的吸收^[8]。

目前,并未有相关报道将天然提取芦丁应用到酸奶中,因此本试验将天然提取的芦丁按不同比例添加到低脂酸奶中,考察芦丁对低脂酸奶感官品质、理化指标和抗氧化性的影响,以期开发富含芦丁的低脂抗氧化酸奶,为芦丁的综合利用以及功能性低脂酸奶的开发提供理论依据。

基金项目:四川省教育厅科研项目(编号:18ZB0136)

作者简介:侯彩云,女,成都大学在读硕士研究生。

通信作者:郭秀兰(1977—),女,成都大学副教授,博士。

E-mail: guoxiu528@126.com

收稿日期:2018-12-11

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

脱脂奶粉:安佳脱脂乳粉(含 1%脂肪),市售;
酸奶发酵剂:北京川秀科技有限公司;
蔗糖:市售;
芦丁:成都欧康医药股份有限公司;
DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼):东京化成工业株式会社;
超净工作台:VS1300-L 型,苏州安泰空气技术有限公司;
立式压力蒸汽灭菌器:LDZX-30FBS 型,上海申安医疗器械厂;
恒温生化培养箱:SPX-80 型,北京科伟永兴仪器有限公司;
高速离心机:F1650 型,长沙湘仪离心机仪器有限公司;
紫外可见分光光度计:UV755B 型,上海佑科仪器仪表公司;
分析天平:JA2003N 型,上海佑科仪器仪表公司;
pH 计:雷磁 PHS-2F 型,上海精密科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 芦丁低脂酸奶制作工艺及操作要点

芦丁
↓
脱脂奶粉、蔗糖、水→调配→均质→灭菌→冷却→接种(0.1%)→罐装封口→发酵→冷藏、后熟

(1) 芦丁还原乳的制备:按奶粉与水质量比为 12.5:100 配制成还原奶,加入 5%的蔗糖使其充分溶解,再添加不同比例的(0.015%,0.020%,0.025%,0.030%)芦丁粉于料液瓶中,充分搅拌均匀。

(2) 均质:将料液用均质机在 10 MPa 压力下均质 1~2 min。

(3) 杀菌、冷却:将混合好的料液在 85℃ 恒温水浴锅中巴氏杀菌 10 min,然后将其放置在灭了菌的超净工作台内冷却至 40℃,待用。

(4) 接种:在超净工作台中,向混合乳液中接种 0.1% 发酵剂,并混合均匀。

(5) 罐装封口:将接种完毕的乳液分装于预先灭菌的玻璃发酵瓶中并封口。

(6) 发酵及后成熟:于 42℃ 恒温培养箱中培养至凝固取出,并记录发酵时间,取出后放置在 1~4℃ 冰箱,后熟发酵 24 h 即得成品。

1.2.2 感官评定 选取 10 位经培训的具有食品感官检验基础的同学,按照表 1 所给出的芦丁低脂酸奶感官评分标准进行感官评价,将从色泽、气味、口感、状态 4 方面

表 1 低脂酸奶感官评分标准

Table 1 Yoghurt sensory evaluation criteria

项目	评分标准	评分
色泽	凝乳呈现均匀白色或浅黄色	15
气味	酸奶奶香清郁,无异味	20
口感	爽口细腻,酸甜适宜,有酸奶固有风味	30
状态	凝乳均匀结实,有一定黏弹性,无气泡,无或少量乳清析出	35

进行评定打分。

1.2.3 微生物数量的测定 取 3 g 酸奶样品,用无菌生理盐水稀释至 10^{-6} , 10^{-7} , 每个组别、每个梯度取 100 μ L 菌液进行胶注培养^[9]。乳酸杆菌采用 MRS 培养基 37℃ 厌氧培养 72 h,嗜热链球菌采用 M17 培养基 42℃ 厌氧培养 72 h,再分别进行微生物计数。

1.2.4 酸奶 pH 及酸度的测定 取少量酸奶用 pH 计直接测定 pH 值,酸奶酸度的测定按 GB 5009.239—2016 执行。

1.2.5 酸奶持水力的测定 参照刘亚琼等^[10]的方法,将离心转速降低为 2 000 r/min。

1.2.6 酸奶中芦丁含量测定 参照李淑云等^[11]的方法,利用分光光度计,在 255 nm 波长下测定吸光度,建立标准曲线,计算回归方程,根据测定值确定样品中芦丁含量。

1.2.7 DPPH 自由基清除能力的测定 参照 Muniandy 等^[12]的研究并稍作修改,进行 DPPH 自由基清除测定。采用分光光度比色法,测定 517 nm 波长样品吸光度,按式(1)计算清除率:

$$R_1 = \frac{A_c - A_i}{A_c} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

R_1 ——DPPH 自由基清除率,%;

A_c ——1 mL 乙醇溶液与 3 mL DPPH 乙醇溶液的吸光值;

A_i ——1 mL 样液与 3 mL DPPH 乙醇溶液的吸光值。

1.2.8 OH 自由基清除能力的测定 参照 Baydar 等^[13]的方法,采用分光光度比色法,测定 510 nm 波长吸光度,按式(2)计算清除率:

$$R_2 = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:

R_2 ——OH 自由基清除率,%;

A_s ——样液测定的吸光值;

A_o ——对照组测定的吸光值。

1.2.8 数据统计分析 不同指标均进行 3~5 个平行试

验,至少选取 3 组进行数据分析,试验数据表示为平均值±标准偏差(SD),方差分析采用 SPSS 17.0 单因素方差分析和 Duncan's 多重比较分析,当 $P<0.05$ 时表示具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 芦丁对低脂酸奶感官品质的影响

将芦丁按不同比例(0.015%,0.020%,0.025%,0.030%)添加制成含有芦丁的低脂酸奶,经感官分析得出评分见图 1。添加量为 0.015%~0.025%的酸奶质地均匀,乳清析出减少,状态感官评分显著提高($P<0.05$),其中 0.025%组最佳;芦丁添加量过大(0.030%),酸奶的色泽偏暗,芦丁苦味较明显,过量的芦丁不能完全融入酸奶体系中,部分沉淀到发酵瓶底,使酸奶体系不均匀,导致酸奶感官品质极显著降低($P<0.01$)。结果表明适量芦丁的添加对低脂酸奶状态感官品质有明显的促进作用。

2.2 芦丁对低脂酸奶微生物的影响

芦丁添加抑制了酸奶中微生物的生长(表 2),且随添加剂量的增加抑制效果更加明显:与对照组相比,芦丁添加量为 0.015%时嗜热链球菌数目显著减少($P<0.05$);剂量为 0.020%时嗜热链球菌和乳酸杆菌数量进一步减少($P<0.05$);剂量为 0.025%时嗜热链球菌数量极显著低于对照组($P<0.01$);剂量为 0.030%时 2 种菌都极显著

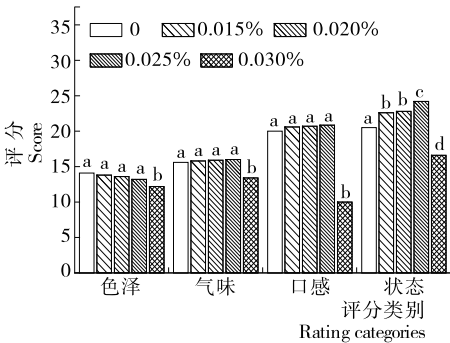
低于对照组($P<0.01$)。这与 Mazzeo 等^[7]报道芦丁对乳酸菌的生长有明显的抑制作用的研究结果一致。Chan 等^[14]研究表明,多酚对酸奶中微生物有抑制作用,但抑制情况与细菌的种类、活性及多酚的结构相关。此外,酸奶发酵过程中随着 pH 的降低,嗜热链球菌的生长会受到显著抑制,而乳酸杆菌较耐酸^[15],因此嗜热链球菌的生长会同时受到芦丁和 pH 的影响,导致其生长抑制更明显。然而 4 种酸奶微生物数量均 $>6 \lg \text{CFU/g}$,符合 GB 19302—2010 中的相关规定。

2.3 芦丁对低脂酸奶 pH、酸度和发酵时间的影响

酸奶的凝固与体系的 pH 值密切相关。微生物在发酵过程中产生有机酸从而降低体系的 pH 值,当 pH 降至酪蛋白的等电点($\text{pH}=4.6$)时该蛋白发生变性凝固^[16],此时终止发酵并记录发酵时间。添加芦丁对酸奶 pH、酸度和发酵时间的影响见表 2,各处理发酵至凝固即取出,并终止发酵,所以样品的 pH 及滴定酸度差异不明显(除 0.03%组外)。但酸奶的发酵时间随着芦丁浓度的增加而延长,当添加量为 0.020%时显著延长了发酵时间(约 0.3 h, $P<0.05$),芦丁浓度为 0.030%时延长了约 0.57 h($P<0.01$)。这可能是芦丁的添加抑制酸奶中发酵细菌的数量并提高酸奶的持水力,从而降低了乳酸的产生和 pH 的下降速度,导致酸奶的发酵时间延长。这与 Tseng 等^[17]的研究结果类似,添加适量富含多酚的果皮提取物延长了酸奶的发酵时间。

2.4 芦丁对低脂酸奶持水力的影响

浓度芦丁对酸奶持水力的影响结果见表 2。与对照组相比,芦丁添加量为 0.015%~0.025%时酸奶持水力显著提升($P<0.05$),但添加量为 0.030%时持水力则显著下降,说明添加适量芦丁(0.015%~0.025%)能有效增强酸奶持水力。Hasni 等^[18]研究表明,多酚类物质具有多羟基结构,能与酪蛋白作用形成紧密的结构,强化凝胶的三维网状结构,并容纳更多的水分子;Lorena 等^[19]研究发现乳清蛋白会吸附芦丁,使得体系稳定性更佳。本试验结果与 Tseng 等^[17]和 Oliveria 等^[20]研究结果一致,其发现适量植物多酚与酸奶中蛋白质及多肽结合形成复合结



同一评分类别中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

图 1 芦丁低脂酸奶感官评分

Figure 1 Sensory score of rutin low-fat yoghurt

表 2 芦丁低脂酸奶理化指标及益生菌数量[†]

Table 2 Physicochemical and probiotics value of rutin low-fat yoghurt

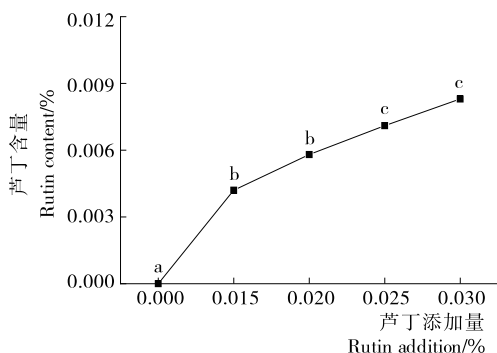
添加量/%	pH	酸度/°T	发酵时间/h	持水力/%	微生物数/[lg(CFU·g ⁻¹)]	
					乳酸杆菌	嗜热链球菌
0.000	4.58±0.00 ^a	89.90±1.00 ^a	4.00±0.04 ^a	86.18±1.39 ^a	8.26±0.05 ^a	7.43±0.00 ^a
0.015	4.56±0.01 ^a	89.49±1.38 ^a	4.17±0.06 ^{ab}	93.30±0.32 ^b	8.05±0.04 ^a	7.31±0.06 ^b
0.020	4.55±0.01 ^a	89.36±1.54 ^a	4.30±0.10 ^b	93.82±0.91 ^b	7.80±0.05 ^b	7.22±0.02 ^{bc}
0.025	4.54±0.02 ^a	89.98±1.90 ^a	4.45±0.06 ^{bc}	93.86±1.50 ^b	7.58±0.14 ^b	7.09±0.02 ^c
0.030	4.50±0.05 ^b	92.05±1.22 ^b	4.57±0.11 ^c	80.44±1.32 ^c	6.93±0.35 ^c	6.50±0.41 ^d

[†] 同列不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

构,能有效防止水分子逃逸,提高酸奶持水力;而大量的多酚与蛋白质复合物会不断凝聚,甚至形成沉淀^[21],过量添加富含多酚的提取物导致酸奶持水力下降^[17]。因此添加适量芦丁有效防止乳清析出,提高酸奶持水力,并能保证酸奶体系的稳定性,然而过量芦丁的添加导致水分流出,持水力下降。

2.5 低脂酸奶中芦丁含量和抗氧化状态

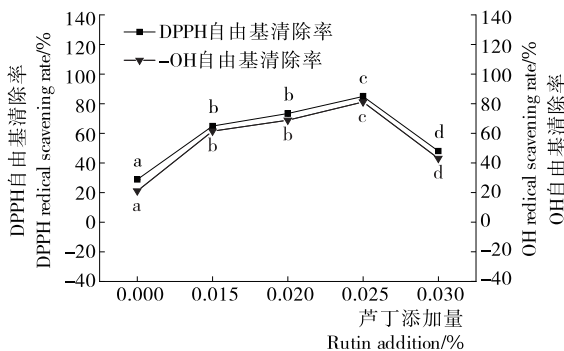
低脂酸奶中芦丁含量和抗氧化能力见图 2、3。随着芦丁添加量的增加,酸奶中芦丁含量提高,但芦丁含量均低于添加水平。这可能是芦丁在发酵过程中被益生菌发酵分解成能被吸收的小分子^[8],且酸奶中酪蛋白与芦丁会形成多酚-蛋白质复合物^[18],此外乳清蛋白能吸附芦丁^[19],从而导致酸奶中检测出的芦丁含量偏少。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 低脂酸奶中芦丁的含量

Figure 2 Content of rutin in low-fat yoghurt



同一曲线不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 DPPH 自由基与 OH 自由基清除能力

Figure 3 DPPH and OH radical scavenging

芦丁含有多个酚羟基,能直接清除自由基和活性氧等强氧化性物质^[22],因而具有较强的抗氧化能力。Baydar 等^[13]报道芦丁对于 DPPH 自由基、OH 自由基具有较强的清除能力,且优于 BHT(二丁基羟甲苯)等常见抗氧化剂。图 3 表明随着芦丁添加量的增加,酸奶对 DPPH 自由基和 OH 自由基的清除率逐渐上升;与对照组相比,添加量 0.015%~0.020%时显著提高了 DPPH

自由基和 OH 自由基的清除率(约 2 倍, $P < 0.05$),添加量 0.025%~0.030%时进一步提高了自由基的清除率(约 3 倍, $P < 0.01$)。这些结果证实芦丁的添加可显著提升酸奶的抗氧化能力,这也与刘帅涛等^[23]的研究结果一致,其发现芦丁含量越高抗氧化能力越强;而将富含酚类的天然提取物添加到酸奶中,酸奶对自由基的清除能力和抗氧化活性显著提升,其效果随添加量的增加而增强^[24-25]。

3 结论

芦丁具有多种保健作用。本试验将天然提取的芦丁添加到低脂酸奶中,结果发现添加 0.015%~0.025%芦丁时酸奶状态感官评分和持水力有所提高,抗氧化能力显著增强,但发酵微生物的生长受到抑制,在添加量超过 0.020%时发酵时间显著延长;添加过量芦丁(0.030%)酸奶酸度、持水力和感官品质均不及对照组。因此,芦丁可作为一种优良的抗氧化剂,适宜的添加(0.015%~0.025%)可提高酸奶持水力和抗氧化能力,并改善感官品质,但超过 0.020%时会延长发酵时间。本研究结果证实天然提取芦丁在酸奶中的应用潜力,表现出适量添加可有效提高酸奶持水力、抗氧化能力以及感官品质的优点,但其抑制发酵导致酸奶发酵时间延长,因此未来可研究添加其他天然提取物复合发酵(如多糖等),以期改善酸奶发酵时间。

参考文献

- [1] TAMIME A, ROBINSON R. Yoghurt: science and technology[M]. Cambridge: Pergamon Press, 1985: 83-108.
- [2] MUNIANDY P, SHORI A, BABA A, et al. Comparison of the effect of green, white and black tea on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* spp. in yoghurt during refrigerated storage[J]. Journal of the Association of Arab Universities for Basic & Applied Sciences, 2015, 9(4): 240-250.
- [3] UNAL B, METIN S, ISIKLI N D. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt[J]. International Dairy Journal, 2003, 13(11): 909-916.
- [4] MENDE S, ROHM H, JAROS D. Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products[J]. International Dairy Journal, 2016, 52: 57-71.
- [5] YANG Jian-xiong, GUO Juan, YUAN Jiang-feng, et al. In vitro antioxidant properties of rutin[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(6): 1 060-1 066.
- [6] GUO Rong, WEI Ping, LIU Wei-ya, et al. Combined antioxidant effects of rutin and Vitamin C in Triton X-100 micelles [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical

- Analysis, 2007, 43(4): 1 580-1 586.
- [7] MAZZEO M, LIPPOLIS R, SORRENTINO A, et al. Lactobacillus acidophilus-rutin interplay investigated by proteomics[J]. Plos One, 2015, 10(11): e0142376.
- [8] WINTER J, MOORE L, JR D, et al. C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(5): 1 203-1 208.
- [9] KUSUMA G, PASEEPHOL T, SHERKAT F. Prebiotic and rheological effects of Jerusalem artichoke inulin in low-fat yoghurt[J]. Australian Journal of Dairy Technology, 2009, 64(2): 159-163.
- [10] 刘亚琼, 孙剑锋, 王颀. 稳定剂对凝固型杏鲍菇酸奶品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(14): 25-27.
- [11] 李淑云. 紫外分光光度法测定芦丁控释片含量[J]. 中国医药指南, 2010, 8(35): 196-196.
- [12] MUNIANDY P, SHORI A, BABA A, et al. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yoghurt during refrigerated storage[J]. Food Packaging & Shelf Life, 2016, 8: 1-8.
- [13] BAYDAR N, ÖZKAN G, YAŞAR S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts[J]. Food Control, 2007, 18(9): 1 131-1 136.
- [14] CHAN Chak-lun, GAN Ren-you, SHAH N, et al. Polyphenols from selected dietary spices and medicinal herbs differentially affect common food-borne pathogenic bacteria and lactic acid bacteria[J]. Food Control, 2018, 92: 437-443.
- [15] 官雪芳, 郑怡, 徐庆贤, 等. 一株酸奶发酵嗜热链球菌的筛选及特性研究[J]. 西北农业学报, 2018, 27(1): 124-130.
- [16] CLARK S, COSTELLO M, DRAKE M A, et al. The Sensory Evaluation of Dairy Products[M]. New Delhi: CBS Publishers, 2009: 576.
- [17] TSENG A, ZHAO Yan-yun. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing[J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 356-365.
- [18] HASNI I, BOURASSA P, HAMDANI S, et al. Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols[J]. Food Chemistry, 2011, 126(2): 630-639.
- [19] LORENA A, MARSHALL L, AKHTAR M, et al. Structure and oxidative stability of oil in water emulsions as affected by rutin and homogenization procedure[J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1 418-1 424.
- [20] OLIVEIRA A, ALEXANDRE E, COELHO M, et al. Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins[J]. Food Chemistry, 2015, 171: 370-378.
- [21] CHARLTON A, BAXTER N, KHAN M, et al. Polyphenol/Peptide binding and precipitation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1 593-1 601.
- [22] QUIDEAU S, DEFFIEUX D, DOUATCASASSUS C, et al. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2011, 50(3): 586-621.
- [23] 刘帅涛, 陶慧林, 李锦艳. 4 种黄酮小分子对 DPPH 自由基的清除作用及构效关系研究[J]. 分析测试学报, 2012, 31(1): 71-75.
- [24] MEMNUNE S, ERKAYA T, MUSTAFA S, et al. The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage[J]. International Journal of Dairy Technology, 2012, 65(3): 429-436.
- [25] CHOUCHOULI V, KALOGEROPOULOS N, KONTELES S J, et al. Fortification of yoghurts with grape (Vitis vinifera) seed extracts[J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 53(2): 522-529.

信息窗

欧亚经济委员会拟修订《牛奶及乳制品技术安全性》技术法规

据俄罗斯 Milknews 4 月 3 日消息, 近日欧亚经济委员会代表提出用“饮用奶及复原乳”代替 TR TS 033《牛奶及乳制品技术安全性》技术法规中原“饮用奶”定义, 这意味着复原乳的营养价值得到了认同。

复原乳是一种质地均匀不透明的液体。它的味道和颜色与牛奶相近, 但具有轻微的煮沸味及少许甜味。

根据现行的 TR TS 033《牛奶及乳制品技术安全性》技术法规, 复原乳未被列入牛奶加工产品清单中,

它被描述为: 已被包装的乳制品, 或者是作为加工乳制品的原料, 但不是由浓缩或炼乳、干奶制品和水制成的饮用牛奶。

根据欧亚经济委员声明, 为使 TR TS《牛奶及乳制品技术安全性》的定义保持一致, 目前“饮用奶”一词的定义范围正在商讨中。

(来源: <http://news.foodmate.net>)