

# 辣椒酵素益生菌复合发酵制剂的筛选

## Screen of probiotic compound starter for capsicum ferment

孙树平<sup>1,2,3</sup> 刘志伟<sup>1,2,3</sup> 李京<sup>1,2,3</sup> 何丽丽<sup>4</sup>

SUN Shu-ping<sup>1,2,3</sup> LIU Zhi-wei<sup>1,2,3</sup> LI Jing<sup>1,2,3</sup> HE Li-li<sup>4</sup>

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 湖北省农产品加工与转化重点实验室, 湖北 武汉 430023; 3. 武汉轻工大学大宗粮油精深加工教育部重点实验室, 湖北 武汉 430023; 4. 武汉华康臣生物科技有限公司, 湖北 武汉 430023)

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei 430023, China; 2. Hubei Key Laboratory for Processing and Transformation of Agricultural Products, Wuhan, Hubei 430023, China; 3. Key Laboratory of Deep Processing of Major Grain and Oil, Ministry of Education, Wuhan, Hubei 430023, China; 4. Wuhan Hua Kangchen Biotechnology Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430023, China)

**摘要:**以前期试验筛选出的植物乳杆菌、酿酒酵母、醋酸菌为研究对象,从中选择2组益生菌复合发酵剂L1(植物乳杆菌和酿酒酵母)、L2(植物乳杆菌、酿酒酵母和醋酸菌)制作辣椒酵素,并与传统自然发酵L0做对比。通过观察发酵过程中总酸、pH值、酒精度以及主要功效酶活力(超氧化物歧化酶活力、脂肪酶活力)等主要质量指标的变化规律,筛选出最适合辣椒酵素发酵的一种菌种组合。试验结果表明:混菌发酵对辣椒酵素的品质有明显的改善。发酵第15天,L1、L2与L0相比,总酸含量分别提高了36.53%,31.42%;脂肪酶活力分别提高了99.22%,96.27%;SOD活力分别提高了6.93%,0.91%;pH值分别降低了10.35%,11.05%。此时L1的感官评分最高为(88.75±0.88),总酸含量为34.82 g/L,酒精含量为0.023 g/L,pH值为3.75,SOD酶活力为88.71 U/mL,脂肪酶活力45.75 U/L,明显优于L2。植物乳杆菌和酿酒酵母复合的发酵剂适用于辣椒酵素的发酵。

**关键词:**辣椒;植物乳杆菌;酿酒酵母;酵素;酶活力;总酸

**Abstract:** *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *acetic acid* bacteria screened from previous experiments were taken as the research objects. Selecting two groups of probiotic compound starter L1 (*Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*), L2 (*Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter*) to produce capsicum ferment, and

compared with traditional natural fermentation L0. By observing the changes of main quality indexes such as total acid, pH value, alcoholicity and main efficacy enzymes (superoxide dismutase activity, lipase activity) in the fermentation process, Selected the most suitable strain combination for capsicum fermentation. The results showed that the quality of capsicum ferments was significantly improved by mixed fermentation. On the 15th day of fermentation, compared with L0, the total acid content of L1 and L2 increased by 36.53% and 31.42%, lipase activity increased by 99.22% and 96.27%, SOD activity increased by 6.93% and 0.91%, and pH value decreased by 10.35% and 11.05%, respectively. At this time, the sensory score of L1 was (88.75±0.88), total acid content was 34.82 g/L, alcohol content was 0.023 g/L, pH value was 3.75, SOD activity was 88.71 U/mL, lipase activity was 45.75 U/L, which was significantly better than L2. Therefore, L1, *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*, were selected as probiotic compound fermentation agents for capsicum enzyme.

**Keywords:** capsicum; *Lactobacillus plantarum*; *Saccharomyces cerevisiae*; enzyme; enzyme activity; total acid

辣椒又名海椒、番椒、秦椒等,属一年生草本植物<sup>[1]</sup>,是β-胡萝卜素、辣椒素、玉米黄质、叶黄素和V<sub>C</sub>等营养物质的重要来源<sup>[2]</sup>。此外,它还富含酚类和黄酮类化合物<sup>[3]</sup>。新鲜红辣椒含有高水平的抗坏血酸,其含量居各类蔬菜含量之首<sup>[4]</sup>,100 g红辣椒V<sub>C</sub>的供应量相当于目前推荐日摄入量(RDA)的100%(60 mg/100 g)<sup>[5]</sup>。红辣椒中总类胡萝卜素含量(30.37 mg/100 g鲜重)是胡萝卜和西红柿的4倍左右<sup>[6]</sup>。红辣椒除了作为蔬菜和香料被世界上大部分的人口食用外,还是用于治疗各种人类疾

**基金项目:**国家公共营养改善项目办公室产业示范项目(编号:WHEDZ-RD2017017)

**作者简介:**孙树平,女,武汉轻工大学在读硕士研究生。

**通信作者:**刘志伟(1965—),男,武汉轻工大学教授,博士。

E-mail:903785022@qq.com

**收稿日期:**2018-12-29

病的传统草药的重要组成部分。因此,为了能够进一步开发红辣椒的功能性成分,需要对其加工手段进行研究<sup>[7]</sup>。

酵素(Fermented plant extract,FPE)是以一种或多种植物为原料<sup>[8]</sup>,经多种益生菌发酵而产生的一种功能性食品。FPE 含有脂肪酶、超氧化物歧化酶、香气成分、乳酸、醋酸及少量乙醇等多种活性物质<sup>[9-11]</sup>,具有清理肠道<sup>[12]</sup>、抗炎症、解毒<sup>[13]</sup>、抗菌<sup>[14]</sup>、止血<sup>[15]</sup>等保健功效。Mi 等<sup>[16]</sup>研究发现在红辣椒中接种类布氏乳杆菌能够显著提高发酵产物中醇、酯、烃类、内酯、吡嗪和萜类等物质的含量,使所得的产品具有很好的感官评价;邵伟等<sup>[17]</sup>的研究表明酵母菌和醋酸菌的加入能够显著提高辣椒酱的醇香和绵酸味;王微<sup>[18]60-65</sup>研究发现乳酸菌的加入使辣椒产品产生新的生物活性物质。

从以上研究来看,目前用于辣椒发酵的多为乳酸菌、酵母菌和醋酸菌。但是未见用植物乳杆菌和酿酒酵母;植物乳杆菌和醋酸菌;植物乳杆菌、酿酒酵母和醋酸菌等混菌发酵剂来发酵辣椒的。在发酵过程中,适量酵母菌的存在可产生醇类物质,该类物质与乳酸菌、醋酸菌的发酵产物有机酸结合可促进多种风味物质的形成。因此研究拟以恩施富硒辣椒为原料,以前期试验筛选出的植物乳杆菌、酿酒酵母和醋酸菌为研究对象,从中选择 2 组发酵剂 L1(植物乳杆菌、酿酒酵母)和 L2(植物乳杆菌、酿酒酵母和醋酸菌)与自然发酵 L0 来制作辣椒酵素,通过比较 30 d 内 3 组辣椒酵素 SOD 酶活力、脂肪酶活力、总酸、酒精度等主要质量指标的变化规律,筛选出一组最适合辣椒酵素发酵的益生菌复合发酵剂。为后期辣椒酵素最佳发酵工艺参数的确立,辣椒酵素的工业化生产提供一定的技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

辣椒:湖北省恩施市建始县;

植物乳杆菌、酿酒酵母、醋酸杆菌:广东省微生物菌种保藏中心;

MRS 琼脂、MRS 肉汤、麦芽汁琼脂、YPDA 培养基:青岛高科园海博生物技术有限公司;

超氧化物歧化酶测试盒、脂肪酶测试盒:南京建成研究所。

### 1.2 主要仪器设备

恒温磁力搅拌器:524G 型,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;

生物传感器分析仪:S-10 型,深圳市西尔曼科技有限公司;

超纯水机:PCR-B-SF-10 型,成都品成科技有限公司;

集热式恒温加热磁力搅拌器:DF-101S 型,上海科尔仪器设备有限公司;

隔水式恒温培养箱:GHP-9050 型,上海齐欣科学仪器有限公司;

立式压力蒸汽灭菌器:YXQ-LS-70A 型,上海博讯实业有限公司;

单人净化工作台:SW-CJ-1G 型,苏州净化设备有限公司;

多功能酶标仪:EnSpire® 2300 型,珀金埃尔默股份有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 活化菌株 在无菌条件下,用无菌枪头吸取 200~300  $\mu$ L 的无菌水,滴入安瓿瓶中,并用无菌枪头反复吹打,使菌粉呈悬浮状。用无菌接种环挑取一定量的菌悬液,以划线法接种于指定固体培养基中,重复几个平板<sup>[19]</sup>。最后将平板分别置于指定恒温培养箱中培养。待菌种活化 24 h 后挑长势良好的菌落分别接种于指定液体培养基中,进行第 2 代活化。24 h 后将活化好的菌悬液按照 10% 的接种量接种于新的液体培养基中,实时监测 3 种菌种的生长曲线,确定各菌种最佳接种时间。

1.3.2 辣椒酵素样品的制备 选用色泽鲜亮、表皮完整且无病虫害的新鲜辣椒作为材料。将洗净表皮污渍以及残留农药的辣椒沥干后切成 0.5 cm 长的辣椒块,放置于超净工作台上紫外杀菌 30 min 后备用。取杀菌后的辣椒块 300 g 均分于 L0、L1、L2 3 个发酵罐中。L0 按照料液比 1:1(g/mL)的比例加入浓度为 5% 的盐水;L1 在 L0 的基础上以  $10^7$  CFU/mL 水平接种 1.5 mL/100 g 的植物乳杆菌和 0.5 mL/100 g 的酿酒酵母;L2 在 L1 的基础上也同样以  $10^7$  CFU/mL 水平再接种 0.6 mL/100 g 的醋酸菌。接种处理后,将 L0、L1、L2 3 个发酵罐均置于 28  $^{\circ}$ C 恒温条件下发酵,每隔 5 d 取一次样,取至第 30 天。所有样品都保存在-80  $^{\circ}$ C 左右冰箱中,在分析之前,样品在冰箱中融化,所有试验均一式 3 份进行。

1.3.3 总酸和 pH 值的测定 参考 GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》对样品进行总酸含量的测定;pH 值采用 pH 计法进行测定。

1.3.4 酒精度的测定 选择乙醇酶膜为活性材料<sup>[20-21]</sup>,采用生物传感分析仪对辣椒酵素进行酒精含量的测定。试验过程中用微量移液枪吸取 0.5 g/L 的乙醇标准液 25  $\mu$ L 进行定标,根据仪器提示决定定标次数,待仪器提示进样时方可进样。酵素液中的乙醇在乙醇酶膜的作用下会迅速产生过氧化氢<sup>[22]</sup>。 $H_2O_2$  通过氧化还原反应产生电流,进而产生电压,乙醇的浓度可以通过电压值的大小来衡量。进而得出样品中酒精度含量。

1.3.5 感官评定 请 10 位有感官评价经验的人按照感

官评分标准对辣椒酵素进行感官评分,并取 10 人平均分作为最终得分。感官评分标准见表 1。

表 1 感官评分标准  
Table 1 Sensory Scoring Criteria

| 项目 | 色泽(20 分)                  | 香气(35 分)              | 口感(45 分)                     |
|----|---------------------------|-----------------------|------------------------------|
| 特级 | 酵素液色泽均匀,有光泽,呈自然金黄色(20~15) | 酵素液酱香气浓厚,浓浓的醇香(35~27) | 酸度、咸味、辣度适中、味道柔和无苦涩等异味(45~35) |
| 一级 | 酵素液色泽均匀,稍有光泽呈黄色(15~11)    | 酵素液略有酱香气,淡淡的醇香(26~18) | 酸度、辣度、咸味过重或过轻,无苦涩等异味(34~23)  |
| 二级 | 酵素液色泽不均,无光泽,表面呈暗黄色(10~6)  | 酵素液香气较淡,无醇香(17~9)     | 酸度、辣度、咸味过重或过轻略有异味(22~11)     |
| 三级 | 酵素液色泽不均,无光泽,暗黄色面积较大(5~0)  | 酵素液无香气,无醇香(8~0)       | 酸度失调、很大异味(10~0)              |

1.3.6 超氧化物歧化酶(SOD)活力的测定 采用 WST-1 法。吸取 WST-1[2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt]母液 20  $\mu\text{L}$  和缓冲液 4 mL 混匀制成 WST-1 工作液,另取 15  $\mu\text{L}$  酶贮备液与 150  $\mu\text{L}$  酶稀释液混匀制成酶工作液(现用现配)。然后取 WST-1 工作液 200  $\mu\text{L}$  加入 96 孔板中,对照孔中加入 20  $\mu\text{L}$  双蒸水和 20  $\mu\text{L}$  酶工作液;对照空白孔中加入 20  $\mu\text{L}$  双蒸水和 20  $\mu\text{L}$  酶稀释液;测定孔中加入 20  $\mu\text{L}$  不同浓度的酵素液和 20  $\mu\text{L}$  酶工作液;测定空白孔中加入 20  $\mu\text{L}$  不同浓度的酵素液和 20  $\mu\text{L}$  酶稀释液。轻轻混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min 后立即用酶标仪测定各孔在 450 nm 下的吸光值。对照、对照空白、测定空白孔只需做 1~2 孔,样品测定孔设置 3~6 孔。最后选取抑制率在 50%左右的浓度进行批量试验。按式(1)、(2)计算样品 SOD 抑制率和 SOD 酶活力。

$$IC = \frac{(A_0 - A_1) - (A_2 - A_3)}{(A_0 - A_1)} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

IC——SOD 抑制率,%;

$A_0$ ——200  $\mu\text{L}$  工作液,20  $\mu\text{L}$  双蒸水与 20  $\mu\text{L}$  酶工作液的吸光值;

$A_1$ ——200  $\mu\text{L}$  工作液,20  $\mu\text{L}$  双蒸水与 20  $\mu\text{L}$  酶稀释液的吸光值;

$A_2$ ——200  $\mu\text{L}$  工作液,20  $\mu\text{L}$  酵素液与 20  $\mu\text{L}$  酶工作液的吸光值;

$A_3$ ——200  $\mu\text{L}$  工作液,20  $\mu\text{L}$  酵素液与 20  $\mu\text{L}$  酶稀释液的吸光值;

$$EA = \frac{IC \times 0.24 \times n}{50\% \times 0.02}, \quad (2)$$

式中:

EA——SOD 酶活力,U/mL;

0.24——反应液总体积,mL;

0.02——加样体积,mL;

$n$ ——样品测试前稀释倍数。

1.3.7 脂肪酶(LPS)酶活力的测定 采用酶比色法。LPS 在共脂肪酶和牛磺脱氧胆酸的存在下能够水解 1,2-邻-二甲基宗甘油-3-戊二酸-(6'-甲基试卤灵)-酯生成 1,2-邻-二甲基宗甘油、戊二酸和 6'-甲基试卤灵。当 6'-甲基试卤灵酯降解为 6'-甲基试卤灵时,此红色染料引起的吸光度的上升速率与样品中 LPS 活力呈正比。因此在 570 nm 波长下,通过连续监测 1~2 min 吸光值的变化,按式(3)计算酵素液中 LPS 的活力。

$$EA = \frac{\Delta_{\text{样本}/\text{min}} - \Delta_{\text{空白}/\text{min}}}{\Delta_{\text{校准品}/\text{min}} - \Delta_{\text{空白}/\text{min}}} \times 45.8, \quad (3)$$

式中:

EA——LPS 活力,U/L;

$\Delta_{\text{样本}/\text{min}}$ ——单位时间内酵素液测定孔吸光值的变化率;

$\Delta_{\text{空白}/\text{min}}$ ——单位时间内空白测定孔吸光值的变化率;

$\Delta_{\text{校准品}/\text{min}}$ ——单位时间内校准品测定孔吸光值的变化率;

45.8——校准品活力,U/L。

## 1.4 数据处理

所有试验数据经 Excel 和 SPSS Statistics 17.0 显著性方差分析后( $P < 0.05$ ),用 Origin 2018 64Bit 软件进行图表的绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种活化

由图 1 可知,随着培养时间的延长,3 种菌种的生长曲线均呈先增加后平稳的趋势。而且在 3~7 h,3 种菌种均处于指数生长中后期,此时菌体活力好且数量多,适合作为接种物;图 1 显示 3 种菌种最佳培养时间分别为植物杆菌 7 h,酿酒酵母 6 h,醋酸菌 5 h。因此,将第 2 代活化后的 3 种菌种分别活化 7,6,5 h 后接种于辣椒酵素中。

### 2.2 辣椒酵素发酵过程中总酸含量的变化趋势

食品中的总酸主要包括乙酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸等<sup>[23]</sup>,是评价产品品质及风味的一项重要指标。图 2 是 3 组辣椒酵素发酵过程中总酸含量的变化情况。由图 2 可知,在发酵过程中,3 组辣椒酵素的总酸含量的变化趋势一致,但在不同的时间段,总酸含量有所差异。发酵前 10 d,L1、L2 产酸速度快且产酸量多;发酵 10~15 d 时,

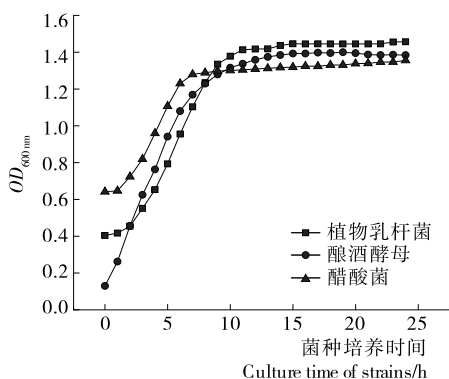


图 1 3 种菌种的生长曲线

Figure 1 Growth curves of three strains

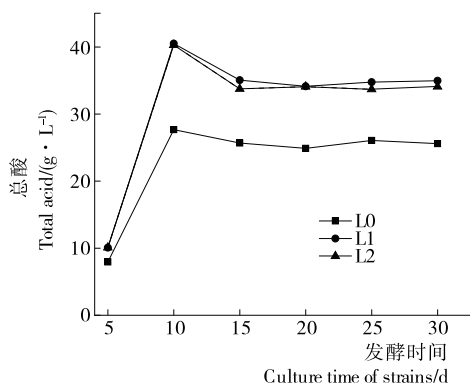


图 2 辣椒酵素发酵过程中总酸含量的变化

Figure 2 Changes of total acid content in capsicum fermentation

微生物利用有机酸使总酸含量部分减少;发酵 15 d 后, L1、L2 的总酸含量分别为 34.88, 33.57 g/L, 较 L0 分别提高了 36.53%, 31.42%; 发酵 15~30 d 时, 由于发酵底物与发酵环境的影响, 大部分微生物的生长受到抑制, 3 组辣椒酵素的总酸含量不再变化。因此, 从产酸量来看, L1 更适合辣椒酵素的发酵。

### 2.3 辣椒酵素发酵过程中 pH 的变化趋势

如图 3 所示, 随着发酵时间的延长, 3 组辣椒酵素的 pH 值呈现先下降后上升而后稳定的趋势。且 L1、L2 的 pH 值明显低于 L0。发酵初期, 酿酒酵母和植物乳杆菌占优势, 菌种生长较快且产酸量较多, pH 值迅速下降; 而后菌种浓度增加且利用部分有机酸, 使得 pH 值缓缓上升<sup>[24]</sup>。发酵 15 d 后, L1、L2 的 pH 值分别为 3.81, 3.78, 大部分杂菌的生长受到抑制<sup>[25]</sup>。因此, 从产酸及食品安全角度来看, L1、L2 均适宜辣椒酵素的发酵。

### 2.4 辣椒酵素发酵过程中酒精含量的变化

如图 4 所示, 3 组辣椒酵素酒精含量的变化趋势大致相同, 均在发酵第 10 天时酒精含量达到最大值。在整个发酵过程中, L0 的酒精含量始终高于 L1、L2。辣椒发酵

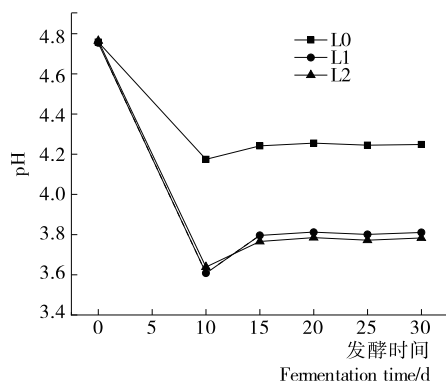


图 3 辣椒酵素发酵过程中 pH 值的变化趋势

Figure 3 Change trend of pH value in capsicum fermentation

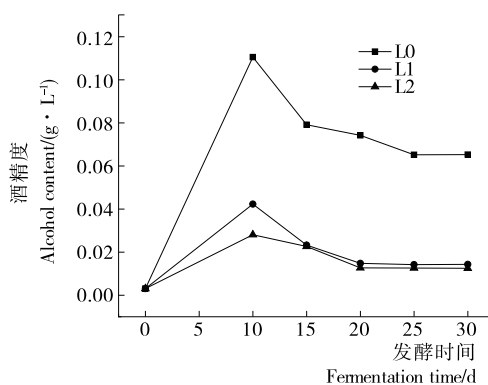


图 4 辣椒酵素发酵过程中酒精含量的变化

Figure 4 Changes of alcohol content in capsicum fermentation

第 10 天, L0 的酒精含量达到最大值 0.110 g/L, 而 L1、L2 酒精含量分别为 0.042, 0.028 g/L。这可能是 L0 在发酵初期酵母菌处于优势, 产生酒精的速度相对较快; 而 L1、L2 由于乳酸菌占主体, 对酵母菌的生长有所抑制, 使得 L1、L2 的酒精含量低于 L0。发酵第 15 天时, L0、L1、L2 3 组辣椒酵素的酒精含量分别为 0.079, 0.023, 0.022 g/L。其中 L1、L2 的酒精含量适中, 使发酵体系有微微的酒香味, 也不失辣椒酵素的风味。

### 2.5 辣椒酵素样品的感官评价

由表 2 可知, 在整个发酵过程中, 3 组辣椒酵素的感官评分均呈现先增加后降低的趋势。L0、L1、L2 分别在发酵 20, 15, 15 d 时达到最高分 ( $81.76 \pm 1.93$ ,  $88.75 \pm 0.88$ ,  $88.71 \pm 1.45$ )。由此可知, 菌种的添加不仅可以缩短辣椒酵素的发酵时间, 而且可以改善产品的品质。其中, 发酵相同时间后的辣椒酵素在外观色泽方面并无显著差异 ( $P < 0.05$ ), 这可能是所用原料以及前期处理方式均相同<sup>[18]37-38</sup>。结合图 2、4 可知, 发酵第 10 天, 3 组辣椒酵素的产酸量和酒精含量均达到最高, 但仍具有较淡的辣椒生腥味; 辣椒酵素特有的风味还未形成。在风味和口感

表 2 辣椒酵素样品的感官评价<sup>†</sup>  
Table 2 Sensory evaluation of pepper enzyme samples

| 试样编号 | 发酵天数/d | 色泽                      | 香气                      | 口感                      | 总分                       |
|------|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| L0   | 5      | 11.23±0.94 <sup>a</sup> | 18.14±1.17 <sup>a</sup> | 23.33±0.92 <sup>a</sup> | 52.70±1.09 <sup>a</sup>  |
|      | 10     | 13.12±1.27 <sup>a</sup> | 24.26±1.94 <sup>a</sup> | 31.68±1.87 <sup>a</sup> | 69.06±1.34 <sup>b</sup>  |
|      | 15     | 18.79±1.01 <sup>a</sup> | 27.58±1.53 <sup>b</sup> | 32.94±1.49 <sup>b</sup> | 79.31±0.50 <sup>b</sup>  |
|      | 20     | 16.24±0.78 <sup>a</sup> | 29.37±0.98 <sup>b</sup> | 36.15±1.28 <sup>a</sup> | 81.76±1.93 <sup>a</sup>  |
|      | 25     | 14.28±0.67 <sup>a</sup> | 25.99±1.24 <sup>b</sup> | 30.87±1.21 <sup>b</sup> | 71.14±1.78 <sup>b</sup>  |
|      | 30     | 13.07±0.69 <sup>a</sup> | 18.76±1.57 <sup>b</sup> | 28.36±1.64 <sup>b</sup> | 60.19±0.66 <sup>b</sup>  |
| L1   | 5      | 11.77±1.13 <sup>a</sup> | 18.57±1.78 <sup>a</sup> | 24.83±1.98 <sup>a</sup> | 55.24±1.07 <sup>a</sup>  |
|      | 10     | 14.98±0.98 <sup>a</sup> | 25.82±1.37 <sup>a</sup> | 35.65±1.67 <sup>a</sup> | 76.45±1.82 <sup>a</sup>  |
|      | 15     | 19.64±0.99 <sup>a</sup> | 32.98±1.84 <sup>a</sup> | 36.13±1.53 <sup>a</sup> | 88.75±0.88 <sup>a</sup>  |
|      | 20     | 16.95±0.97 <sup>a</sup> | 32.99±1.25 <sup>a</sup> | 35.07±1.21 <sup>a</sup> | 85.01±0.93 <sup>a</sup>  |
|      | 25     | 14.57±1.07 <sup>a</sup> | 29.12±0.94 <sup>a</sup> | 33.79±1.67 <sup>a</sup> | 77.48±0.34 <sup>a</sup>  |
|      | 30     | 13.99±0.84 <sup>a</sup> | 22.57±0.93 <sup>a</sup> | 26.49±1.05 <sup>b</sup> | 63.05±0.96 <sup>ab</sup> |
| L2   | 5      | 11.36±1.69 <sup>a</sup> | 18.61±1.62 <sup>a</sup> | 25.23±1.79 <sup>a</sup> | 55.20±1.52 <sup>a</sup>  |
|      | 10     | 14.67±0.89 <sup>a</sup> | 25.99±1.07 <sup>a</sup> | 35.68±1.43 <sup>a</sup> | 76.34±1.11 <sup>a</sup>  |
|      | 15     | 19.67±1.57 <sup>a</sup> | 32.90±1.67 <sup>a</sup> | 36.14±1.94 <sup>a</sup> | 88.71±1.45 <sup>a</sup>  |
|      | 20     | 16.29±0.96 <sup>a</sup> | 33.37±1.58 <sup>a</sup> | 35.13±1.47 <sup>a</sup> | 84.79±0.85 <sup>a</sup>  |
|      | 25     | 14.92±0.79 <sup>a</sup> | 28.92±1.08 <sup>a</sup> | 33.49±1.52 <sup>a</sup> | 77.33±0.95 <sup>a</sup>  |
|      | 30     | 13.25±0.57 <sup>a</sup> | 23.47±0.94 <sup>a</sup> | 26.87±1.03 <sup>a</sup> | 63.59±0.81 <sup>a</sup>  |

<sup>†</sup> 字母不同表示同一时间点同一项目之间差异显著。

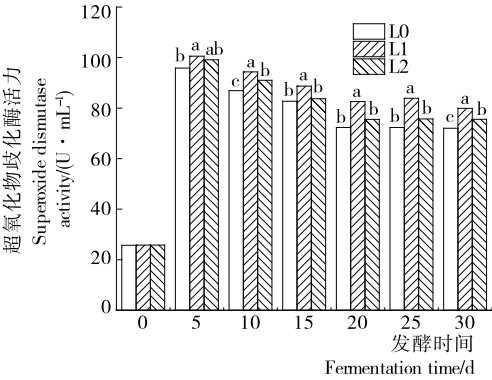
上都还属于未发酵好的产品,其感官评分也相对较低。发酵第 15 天,L1、L2 的总酸含量分别为 34.82、33.59 g/L,酒精度分别为 0.23、0.22 g/L。其总酸含量及酒精度相较于第 10 天虽然有所降低,但在风味上已无辣椒的生腥味;且具有辣椒酵素特有的酱香气和酸辣味,同时还带有淡淡的醇香。此时 L1、L2 感官评分均达到发酵周期的最高分[(88.75±0.88),(88.71±1.45)]。因此,结合产酸量、酒精度和感官评分来看,L1、L2 均适合辣椒酵素的发酵。

2.6 辣椒酵素发酵过程中 SOD 活力的变化

3 种发酵方式所得的辣椒酵素在发酵过程中 SOD 活力的变化见图 5。由图 5 可知,在发酵过程中,3 组辣椒酵素 SOD 活力随着发酵时间的延长呈先升高后下降的趋势。发酵第 5 天,3 组辣椒酵素 SOD 活力均达到最高,但是从感官角度来看,辣椒酵素还未发酵完成。发酵 15 d 后,L1 的 SOD 活力为 88.71 U/mL,显著高于 L0 (81.31 U/mL)和 L2 (5.25 U/mL)。这可能是 L0 与 L2 发酵过程中菌种之间或菌种与发酵底物之间存在着竞争关系;也有可能是 L0、L2 的发酵环境使得产生的 SOD 有部分失活。

2.7 辣椒酵素发酵过程中 LPS 活力的变化

图 6 是 3 种发酵方式的辣椒酵素在发酵过程中 LPS 活力的变化趋势。由图 6 可知,随着发酵时间的延长,

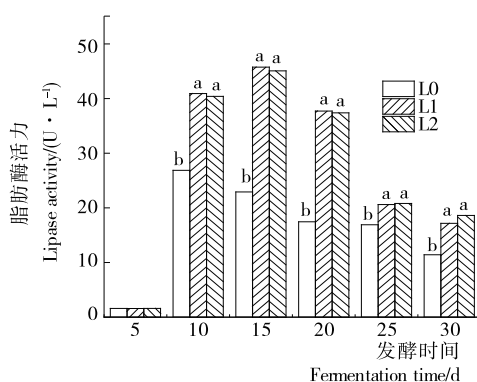


字母不同表示同一时间点 3 组辣椒酵素之间的 SOD 活力差异显著,  $P < 0.05$

图 5 辣椒酵素发酵过程中 SOD 活力的变化

Figure 5 Changes of superoxide dismutase activity in capsicum fermentation

3 组辣椒酵素 LPS 活力呈先上升后下降的趋势。在发酵 10 d 后,L1、L2 的 LPS 活力显著高于 L0 ( $P < 0.05$ ),且 L1、L2 在发酵前 15 d,LPS 活力呈上升趋势。发酵第 15 天时,L1 的 LPS 活力最高为 45.75 U/L,L1、L2 的 LPS 活力相较于 L0 分别提高了 99.22%、96.27%,而且此时 L1 的感官评分也达到最高值(88.75±0.88)。因此,从脂肪酶活力角度来看,L1 更适合辣椒酵素的发酵。



字母不同表示同一时间点 3 组辣椒酵素之间的脂肪酶活力差异显著,  $P < 0.05$

图 6 辣椒酵素发酵过程中脂肪酶活力的变化

Figure 6 Changes of lipase activity in capsicum fermentation

### 3 结论

试验通过观察辣椒酵素发酵过程中总酸、酒精度、pH、感官、酶活力指标的变化规律,筛选出适宜辣椒酵素发酵的益生菌复合发酵剂。综合以上结果可知:在以辣椒为原料,采用微生物发酵技术生产辣椒酵素时,选用植物乳杆菌和酿酒酵母发酵得到的辣椒酵素品质较好。将植物乳杆菌和酿酒酵母以 3 : 1 (体积比) 的比例、2 mL/100 g 的接种量接入发酵罐中,28 °C 条件下发酵 15 d,得到的辣椒酵素的感官评分最高为 (88.75 ± 0.88)。此时 LPS 活力最高为 45.75 U/L, SOD 活力为 88.71 U/mL,显著高于 L0、L2。因此,选用植物乳杆菌和酿酒酵母来发酵生产辣椒酵素,可有效改善辣椒酵素的色泽、香气、功效以及口感。

试验仅完成了 FPE 生产中的一个重要环节—微生物的筛选,但是针对其发酵条件以及风味物质方面还未进行研究。发酵条件的优化主要以感官评分和生物活性物质为评价指标,并用顶空固相微萃取,GC-MS 对发酵成熟的辣椒酵素进行风味物质的测定分析,以期能得到一个发酵成熟的辣椒酵素产品,为后期辣椒酵素产品企业标准的建立提供一些数据和理论支持。

### 参考文献

[1] LEE Sang Mi, LEE Joo Young, CHO Youn Jeung, et al. Determination of volatiles and carotenoid degradation compounds in red pepper fermented by lactobacillus parabuchneri[J]. J Food Sci, 2018, 83: 2 083-2 091.

[2] KIM J S, AN C G, PARK J S, et al. Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annuum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods[J]. Food Chemistry, 2016, 201: 64-71.

[3] HOWARD L R, TALCOTT S T, BRENES C H, et al.

Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (\r, *Capsicum*\r, Species) as influenced by maturity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(5): 1 713-1 720.

[4] 中国医学科学院. 食物成分表[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 82-84.

[5] NATH P, KAUR C, RUDRA S G, et al. Enzyme-assisted extraction of carotenoid-rich extract from red capsicum (*Capsicum annuum*) [J]. Agricultural Research, 2016, 5(2): 1-12.

[6] KILCREASE J, RODRIGUEZ-URIBE L, RICHINS R D, et al. Correlations of carotenoid content and transcript abundances for fibrillin and carotenogenic enzymes in *Capsicum annuum* fruit pericarp[J]. Plant Science, 2015, 232: 57-66.

[7] NATH P, KALE S J, KAUR C, et al. Phytonutrient composition, antioxidant activity and acceptability of muffins incorporated with red capsicum pomace powder[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, DOI: 10.1007/s13197-018-3138-6.

[8] FENG Yan-jun, ZHANG Min, MUJUMDAR A S, et al. Recent research process of fermented plant extract: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, DOI: 10.1016/j.tifs.2017.04.006.

[9] BLANDINO A, AL-ASEERI M E, PANDIELLA S S, et al. Cereal-based fermented foods and beverages[J]. Food Research International, 2003, 36(6): 527-543.

[10] 董洁, 夏敏敏, 王成忠, 等. 金丝小枣枣泥酵素发酵工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 197-200.

[11] MOHIDEEN F W. Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1): 563-570.

[12] ALTAY F, FUNDA K G, DASKAYADIKMEN C, et al. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 167(1): 44-56.

[13] ARICI M, DAGLIOGLU O. Boza: A lactic acid fermented cereal beverage as a traditional Turkish food[J]. Food Reviews International, 2002, 18(1): 39-48.

[14] HUSEYIN Erten, HASAN Tanguler, AHMET Canbaş. A traditional turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (Salgam)[J]. Food Reviews International, 2008, 24(3): 8.

[15] RAY R C, SIVAKUMAR P S. Traditional and novel fermented foods and beverages from tropical root and tuber crops: Review[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2009, 44(6): 1 073-1 087.

[16] MI L S, YOUNG L J, JEUNG C Y, et al. Determination of volatiles and carotenoid degradation compounds in red pepper fermented by, Lactobacillus parabuchneri [J]. Journal of Food Science, 2018, 83(8): 2 083-2 091.

(下转第 199 页)

### 3 结论

试验对 15 种粳米粉、籼米粉及 4 种糯米粉进行了理化性质、质构及感官研究,结果表明糯米粉相对于粳米粉和籼米粉,其理化性质更适宜加工成汤圆,在蒸煮时更符合传统汤圆的感官品质。水磨的浙糯 106 适宜制作宁波汤圆的面皮,而粳糯 99-25 制作的汤圆品质不佳,不适宜用来制作宁波汤圆面皮。镇糯 20 号与皖垦糯 3 号制作的汤圆感官品质较好,若后期进行改良,加入乳化稳定剂等,有望作为宁波速冻汤圆面皮的原料。研究对宁波汤圆的糯米品种原料进行初步筛选,后续还需通过改进工艺及加入品质改良剂等对原料进行优化。

### 参考文献

- [1] 廖劲松, 张华. 速冻汤圆发展与品质创新[J]. 中外食品, 2010, 1(7): 43-45.
- [2] 周显青, 夏稳稳, 张玉荣. 我国糯米粉加工及其质量控制技术现状与展望[J]. 粮油食品科技, 2013, 21(3): 1-6.
- [3] 吴伟, 李彤, 蔡勇建, 等. 三种稻米在储藏过程中蒸煮特性变化的比较[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 122-126.
- [4] 王安建, 侯传伟, 魏书信, 等. 糯玉米汤圆粉加工原料的筛选研究[J]. 食品科技, 2010, 35(1): 171-174.
- [5] 祝美云, 庞凌云, 王安建, 等. 糯玉米速冻汤圆专用粉加工工艺研究[J]. 浙江农业科学, 2008, 1(5): 630-634.
- [6] 周显青, 胡育铭, 张玉荣, 等. 汤圆粉团制作方法比较及其对蒸煮品质的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2014, 12(4): 30-33.
- [7] 黄岩. 糯米粉特性与汤圆品质的相关性研究[D]. 无锡: 江南

大学, 2014: 11-12.

- [8] 姚艾东. 糯米团糕及其冷冻制品品质研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2002: 39-40.
- [9] 李燕, 焦爱权, 孙言, 等. 豌豆淀粉对挤压米线加工特性的影响[J/OL]. 中国科技论文在线. [2017-09-25]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201709-107>.
- [10] 任真真, 李力, 郑学玲. 不同制备工艺对糯米粉特性及面条品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(18): 88-94.
- [11] 中华人民共和国粮食行业标准. LS/T 3204—2012 汤圆用水磨白糯米粉[S]. 北京: 国家粮食局, 2012.
- [12] 马文, 李喜宏, 刘霞, 等. 支链淀粉与直链淀粉比例对重组营养强化米品质的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(11): 42-48.
- [13] 黄岩, 张燕萍. 双波长法测定糯米粉支链淀粉的含量[J]. 食品科技, 2014, 39(7): 138-141.
- [14] 张国治. 糯米粉的品质分析及速冻汤圆品质改良[J]. 冷冻与速冻食品工业, 2006, 12(2): 39-42.
- [15] 王绍文. 复合食品改良剂对不同糯米粉糊化特性以及汤圆品质的影响[J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(2): 66-69.
- [16] 张蓉晖. 速冻汤圆的开裂及控制[J]. 企业技术开发, 2001, 1(4): 27.
- [17] 朱津津, 潘治利, 谢新华, 等. 汤圆 TPA 质构特性测试条件的优化[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 171-174.
- [18] 周显青, 胡育铭, 张玉荣, 等. 我国速冻汤圆加工及其质量控制技术现状与展望[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(2): 6-11.
- [19] 张喻, 章丽琳, 张琼, 等. 海藻糖添加量对糯米粉理化性质影响研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 28-30, 43.

(上接第 194 页)

- [17] 邵伟, 张亚雄, 黎妹华. 鲜辣椒中微生物的分离及其作用初探[J]. 食品科学, 2001, 22(2): 20-22.
- [18] 王微. 鲜辣椒纯种发酵生产技术的研发[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [19] 莫大美, 吴荣书. 复合菌种发酵法制备玫瑰酵素工艺研究[J]. 食品工业, 2016(10): 64-69.
- [20] BOUJTITA M, HART J P PITTSO R. Development of a disposable ethanol biosensor based on a chemically modified screen-printed electrode coated with alcohol oxidase for the analysis of beer[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2000, 15(5): 257-263.
- [21] SHKOTOVA L, GORIUSHKINA T, TRANMINH C, et al. Amperometric biosensor for lactate analysis in wine and must during fermentation[J]. Materials Science & Engineering Biomimetic and Supramolecular Systems, 2008, 28(5/6): 943-948.
- [22] VONCK J, VAN BRUGG E F J. Architecture of peroxisomal alcohol oxidase crystals from the methylotrophic yeast Hansenula polymorpha as deduced by electron microscopy[J]. Journal of Bacteriology, 1992, 174(16): 5 391-5 399.
- [23] ZHANG Li-juan, XU Wei, XU Hong-yu, et al. Analysis of organic acids in aerobic solid-fermentation culture of hengshun vinegar[J]. China Condiment, 2009, 34(2): 106-109.
- [24] LI Xin-xin, XU Wen-bin, Yang Jin-shan, et al. Effects of applying lactic acid bacteria to the fermentation on a mixture of corn steep liquor and air-dried rice straw[J]. Animal Nutrition, 2016, DOI: 10.1016/j.aninu.2016.04.003.
- [25] 管章瑞, 田裕, 赵娜, 等. 蓝莓酵素发酵过程中的抗氧化活性变化研究[J]. 现代食品科技, 2016(12): 80-86.