

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60034

# 有色米乳酸饮料发酵工艺优化及抗氧化和降血糖活性研究

Research on fermentation process optimization, antioxidant and hypoglycemic activity of pigmented rice lactic acid beverage

刘婷<sup>1</sup> 李嘉妮<sup>2</sup> 沈俊利<sup>2</sup> 陆俊<sup>2</sup> 杨雯驿<sup>2</sup>

LIU Ting<sup>1</sup> LI Jia-ni<sup>2</sup> SHEN Jun-li<sup>2</sup> LU Jun<sup>2</sup> YANG Wen-yi<sup>2</sup>

(1. 中国检验认证集团湖南有限公司, 湖南长沙 410021;

2. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 湖南长沙 410004)

(1. China Certification & Inspection Group Hunan Co., Ltd., Changsha, Hunan 410021, China;

2. College of Food Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410021, China)

**摘要:**目的: 开发具有较好抗氧化及降血糖活性的有色米乳酸饮料产品。方法: 以黑米和紫米为主要原料, 考察有色米比例构成、乳酸菌发酵粉添加量、发酵时间、料液比对有色米乳酸饮料感官评分值、总酚含量、铁离子还原能力、ABTS 自由基清除能力、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率的影响。结果: 有色米乳酸饮料最佳发酵工艺条件为紫米和黑米质量比( $m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ ) 1 : 5, 料液比 1 : 8 (g/mL), 乳酸菌发酵粉添加量 5%, 发酵时间 40 h, 此条件下有色米乳酸饮料感官评分值为  $83.6 \pm 2.51$ , ABTS 自由基清除能力为  $(145.02 \pm 7.88)$  mmol TE/g · DW, 铁离子还原能力 (FRAP) 为  $(33.41 \pm 1.70)$  mmol Fe<sup>2+</sup>/g · DW, 总酚含量为  $(4\ 208.78 \pm 281.26)$   $\mu\text{g}$  GAE/g · DW,  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率为  $(13.94 \pm 0.01)\%$ 。结论: 有色米乳酸饮料呈紫红色, 口感柔和, 酸甜味适中, 具有较好的抗氧化活性和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。

**关键词:** 黑米; 紫米; 乳酸饮料; 抗氧化活性;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶

**Abstract:** **Objective:** To develop pigmented rice lactic acid beverage with good antioxidant and hypoglycemic activity. **Methods:** Taking black and purple rice as the main material, the effect of mass ratio of purple rice to black rice, the addition amount of *Lactobacillus* bacteria, fermentation time and solid-liquid ratio on the sensory evaluation value, total phenolics content, ferric ion

reducing antioxidant power (FRAP), ABTS free radical scavenging ability, and the inhibition rate of  $\alpha$ -glucosidase of pigmented rice lactic acid beverage were explored. **Results:** The optimal technology of pigmented rice lactic acid beverage was as follows: the mass ratio of purple rice to black rice was 1 : 5, the solid-liquid ratio was 1 : 8 (g/mL), the addition amount of lactic acid bacteria was 5%, and the fermentation time was 40 h. Under these conditions, the sensory score of pigmented rice lactic acid beverage was  $83.6 \pm 2.51$ , ABTS radical scavenging capacity was  $(145.02 \pm 7.88)$  mmol TE/g · DW, FRAP was  $(33.41 \pm 1.70)$  mmol Fe<sup>2+</sup>/g · DW, total phenolics were  $(4\ 208.78 \pm 281.26)$   $\mu\text{g}$  GAE/g · DW,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory rate activity was  $(13.94 \pm 0.01)\%$ . **Conclusion:** The pigmented rice lactic acid beverage possessed purplish red color, soft in taste, moderate in sour and sweet taste, with good antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibition effect.

**Keywords:** black rice; purple rice; lactic acid beverage; antioxidant activity;  $\alpha$ -glucosidase

乳酸饮料由于口味酸甜爽口, 富含活性益生菌和乳酸类代谢成分, 在饮料市场中占比越来越高。有色米乳酸饮料是以黑米和紫米为主要原料, 利用乳酸菌发酵形成的一种功能性乳酸饮料。黑米和紫米富含包括类黄酮 (特别是花青素和原花青素)、酚酸类化合物 (如咖啡酸、阿魏酸等)、植物甾醇 (如  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇和辣椒醇) 等活性成分<sup>[1-3]</sup>, 具有抗氧化、降胆固醇、降血糖等作用。其中黑米含有的活性成分相对其他有色米较多, 使之有较强的清除活性氧自由基、羟自由基和 DPPH 自由基的抗氧化作用<sup>[4-5]</sup>。研究<sup>[6-10]</sup>表明, 利用一些益生菌发酵

**基金项目:** 湖南省自然科学基金 (编号: 2022JJ50325); 湖南省大学生创新创业训练计划 (编号: S202210538059)

**作者简介:** 刘婷, 女, 中国检验认证集团湖南有限公司高级工程师, 硕士。

**通信作者:** 陆俊 (1978—), 男, 中南林业科技大学副教授, 博士。  
E-mail: 690056167@qq.com

**收稿日期:** 2022-03-30 **改回日期:** 2022-06-25

果蔬或粮谷类食品,能有效提升产品口感,增强特殊风味,同时,还能提高产品的营养价值。如利用植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌接种浓缩黑米浆发酵,可得到口感清爽,紫红色、有淡淡米香味和发酵风味的复合益生菌黑米饮料<sup>[7]</sup>;以黑米和红枣为原料,可制得比红枣乳酸饮料有更好色泽、风味、滋味和适口性的黑米红枣乳酸饮料<sup>[8]</sup>;以黑米和脱脂乳粉为主要原料可制得口感、色泽和质地良好的乳酸饮料<sup>[9]</sup>;以及以嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌混合发酵剂发酵燕麦、黑米、糙米,可得到状态均匀、谷香浓郁、酸甜可口的发酵谷物饮料<sup>[10]</sup>。而关于以不同比例复配的有色米为原料,利用复合益生菌发酵生产乳酸饮料,并分析其抗氧化活性和降糖活性的研究尚未见报道。

研究拟以黑米、红米和紫米等有色米为研究对象,以益生菌果蔬酵素发酵粉为发酵菌种,通过单因素和正交试验研究有色米乳酸饮料的发酵工艺条件,并对其抗氧化活性和降血糖活性进行评价,以期在黑米、紫米等有色米的加工利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与设备

黑米、紫米、红米:陕西洋县;

发酵粉:川秀益生菌果蔬酵素发酵粉,北京川秀科技有限公司;

热稳定性 $\alpha$ -淀粉酶:酶活 4 万 U/g,上海源叶生物科技有限公司;

糖化酶:酶活 10 万 U/mL,上海源叶生物科技有限公司;

磁力搅拌水浴锅:HSJ-3A 型,常州澳华仪器有限公司;

回旋式气浴振荡器:SHZ-82 型,长葛式明途机械设备有限公司;

模式高速分散均质机:FA25 型,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;

酶标仪:SpectraMax i3X 型,美国 Molecular Devices 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 有色米乳酸饮料制备工艺 参照文献<sup>[10-11]</sup>修改如下:将 3 种有色米粉碎制粉过 60 目筛后按所需比例称取混合后,加纯水浸泡,放入磁力搅拌水浴锅中进行加热搅拌糊化,92.5 °C 恒温 30 min,冷却至 70 °C,按 8 U/g 有色米加入热稳定性 $\alpha$ -淀粉酶,放入水浴锅进行磁力搅拌加热,待升温至 90 °C 后保温 10 min,冷却至 62 °C,再按 100 U/g 有色米加入糖化酶,在 62 °C 的磁力水浴锅中不断搅拌 5 h,即得糖化醪。然后用均质机均质(500 W, 10 000 r/min) 5~10 min,将糖化醪细化后,放入升温至 100 °C 的沸水中,持续 5 min 使酶灭活。冷却后按需接种

乳酸菌,放入恒温箱(37 °C)进行培养。

1.2.2 总酚含量测定 参照文献<sup>[12]</sup>。

1.2.3 抗氧化活性测定

(1) 铁离子还原能力:参照文献<sup>[13]</sup>。

(2) ABTS 自由基清除能力:参照文献<sup>[12]</sup>。

1.2.4  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率测定 参照文献<sup>[14]</sup>。

1.2.5 感官评价 参照文献<sup>[11]</sup>并适当修改,见表 1。

表 1 感官评价表

Table 1 Sensory evaluation table

感官指标	感官评价内容	评分
色泽	色泽均一,颜色呈紫红色,有光泽	16~20
	色泽均一,紫色偏黑或偏浅,稍有光泽	8~16
	色泽不均一,颜色暗沉,无光泽	0~8
气味	有典型的发酵香味,无不良气味	16~20
	较淡的发酵香气,无不良气味	8~16
	无发酵香气,有不良气味	0~8
口感	口感柔和,酸甜味适中,无不良气味,口感较好	24~30
	酸甜味不足,无不良气味,口感适当	12~24
	过酸或过甜,口感差	0~12
质地	流动呈液状,无沉淀物,无分层	24~30
	流动呈液状,质地均匀,稍有絮凝,无沉淀物,无分层	12~24
	流动性较差,质地较差,有沉淀物,有分层	0~12

### 1.2.6 单因素试验

(1) 有色米比例构成对有色米乳酸饮料品质的影响:固定乳酸菌发酵粉添加量为 4%,料液比为 1:6 (g/mL),发酵时间为 44 h,考察红米和黑米质量比( $m_{\text{红米}}:m_{\text{黑米}}$  分别为 1:1,1:3,1:5),以及紫米和黑米质量比( $m_{\text{紫米}}:m_{\text{黑米}}$  分别为 1:1,1:3,1:5)对有色米乳酸饮料品质的影响。

(2) 乳酸菌发酵粉添加量对有色米乳酸饮料品质的影响:固定紫米和黑米质量比( $m_{\text{紫米}}:m_{\text{黑米}}$ )为 1:5,料液比为 1:6 (g/mL),发酵时间为 44 h,考察乳酸菌发酵粉添加量(3%,4%,5%,6%)对有色米乳酸饮料品质的影响。

(3) 发酵时间对有色米乳酸饮料品质的影响:固定紫米和黑米质量比( $m_{\text{紫米}}:m_{\text{黑米}}$ )为 1:5,乳酸菌发酵粉添加量为 4%,料液比为 1:6 (g/mL),考察发酵时间(24, 28,32,36,40,44 h)对有色米乳酸饮料品质的影响。

(4) 料液比对有色米乳酸饮料品质的影响:固定紫米和黑米质量比( $m_{\text{紫米}}:m_{\text{黑米}}$ )为 1:5,乳酸菌发酵粉添加量为 4%,发酵时间为 44 h,考察料液比[1:4,1:6,1:8,1:10,1:12 (g/mL)]对有色米乳酸饮料品质的影响。

1.2.7 正交试验 在单因素试验基础上,选取紫米和黑米质量比、乳酸菌发酵粉添加量、发酵时间和料液比4个因素,考察各因素对有色米乳酸发酵饮料感官评价及抗氧化活性、抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响。

1.2.8 数据分析 所有试验平行3次,结果以平均值±标准偏差表示。使用SPSS 20.0软件进行统计及分析,使用Spearman相关系数进行相关性检测, $P < 0.05$ 表示有显著性差异; $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 有色米比例构成对有色米乳酸饮料品质的影响

由表2可知,红米与黑米配方组得到的有色米乳酸饮料感官评分整体低于紫米与黑米配方组,紫米和黑米复配后有色米乳酸饮料感官评分随黑米比重的增加逐渐升高,且以 $m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:5的最佳。同理,当 $m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:5时,有色米乳酸饮料的多酚含量最高,铁离子还原能力最高为 $(24.52 \pm 1.30) \text{ mmol Fe}^{2+} / \text{g} \cdot \text{DW}$ ,ABTS自由基清除能力达最大为 $(77.08 \pm 13.18) \text{ mmol TE} / \text{g} \cdot \text{DW}$ 。当 $m_{\text{红米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:1时,有色米乳酸饮料对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率最高,稍高于 $m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:5的,可能与黑米的总酚含量远大于紫米和红米有关<sup>[15]</sup>,尤其是与黑米中含有丰富的矢车菊-3-O-葡萄糖苷等花青素有较大关系。同时,紫米也具有良好的抗氧化性,在消化过程中释放出的总酚量和总抗氧化性优于红米<sup>[16]</sup>,因此,紫米和黑米发酵的乳酸饮料整体品质要优于红米和黑米发酵的。而黑米比重越大,总酚含量也随之增加,抗氧化活性越

强,可能是有色稻的花青素和抗氧化能力与种皮颜色深浅呈正相关<sup>[3]</sup>。同时,乳酸发酵过程中产生的有机酸如乳酸、丙酸、醇醛等物质的香味交融渗透,产生了较好的香味<sup>[17]</sup>,使整体感官变佳。

2.1.2 乳酸菌发酵粉添加量对有色米乳酸饮料品质的影响 由表3可知,当乳酸菌发酵粉添加量为4%时,有色米乳酸饮料的感官评分最高,可能是在一定添加量范围内,乳酸菌发酵粉添加量的增加使饮料中乳酸、乙酸、甲酸等物质增加<sup>[18]</sup>,产生特有的乳酸发酵风味,超过一定范围后,乳酸菌代谢的酸性物质过量,会使有色米乳酸饮料酸味过重,风味口感较差。当乳酸菌发酵粉添加量为3%时,总酚含量最多,且随着乳酸菌发酵粉添加量的增加,样品中总酚含量呈下降趋势,当乳酸菌发酵粉添加量为6%时,有色米乳酸饮料的总酚含量小幅度增加,可能是由于随着复合乳酸菌添加量的增加,发酵反应过程中产生了越来越多的酸性代谢物、二氧化碳和细菌素等物质,对多酚有一定抑制或失活作用<sup>[19]</sup>。研究<sup>[20]</sup>表明,黑米中含有原儿茶酸、儿茶素、对羟基苯甲酸、香草酸等游离和结合酚类,当乳酸菌发酵粉添加量为6%时总酚含量有小幅度的上升,可能是因为释放的结合多酚含量多于损耗的。有色米乳酸饮料的铁离子还原能力和ABTS自由基清除能力均以乳酸菌发酵粉添加量为3%的最高,而后呈波动趋势,其中ABTS自由基清除能力的变化趋势与总酚的一致,均在乳酸菌发酵粉添加量为5%时达最低值,在6%时轻微上升,可能是由于较低乳酸菌发酵粉添加量下,游离抗氧化活性物质的损失量较低,而乳酸菌发酵粉添加量较高时产生的一些酸性物质会导致抗氧化成分的

表2 有色米比例构成对有色米乳酸饮料品质的影响

Table 2 The effects of mass ratio of purple rice to black rice on the quality of pigmented rice lactic acid beverage

有色米比例构成	感官评分	总酚含量/ ( $\mu\text{g GAE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	铁离子还原能力/ ( $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	ABTS自由基清除能力/ ( $\text{mmol TE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	$\alpha$ -葡萄糖苷酶 抑制率/%
$m_{\text{红米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:1	83.62±1.34	2 460.21±27.35	18.07±1.04	56.39±2.16	28.78±2.11
$m_{\text{红米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:3	79.43±1.34	2 350.43±112.61	17.83±1.04	72.58±13.32	28.04±2.73
$m_{\text{红米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:5	79.02±1.58	2 152.50±13.41	16.78±1.52	70.20±7.99	22.72±2.47
$m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:1	82.64±1.14	1 462.78±100.30	7.33±0.24	53.25±4.62	18.48±0.34
$m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:3	83.45±0.55	2 241.75±144.95	15.36±0.46	59.21±1.11	20.15±2.30
$m_{\text{紫米}} : m_{\text{黑米}}$ 为1:5	86.20±1.41	2 997.17±42.65	24.52±1.30	77.08±1.17	25.71±1.31

表3 乳酸菌发酵粉添加量对有色米乳酸饮料品质的影响

Table 3 The effects of the addition amount of *Lactobacillus* on the quality of pigmented rice lactic acid beverage

乳酸菌发酵粉 添加量/%	感官评分	总酚含量/ ( $\mu\text{g GAE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	铁离子还原能力/ ( $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	ABTS自由基清除能力/ ( $\text{mmol TE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	$\alpha$ -葡萄糖苷酶 抑制率/%
3	83.43±1.67	2 901.15±374.04	25.67±1.27	94.89±3.99	21.80±3.15
4	86.24±1.67	2 880.58±212.16	23.14±1.28	78.49±4.30	24.54±2.64
5	83.26±0.84	2 550.98±148.71	21.49±0.94	75.38±4.71	25.13±2.49
6	84.22±1.48	2 649.15±208.38	20.90±0.96	90.44±3.77	27.21±3.29

损失增加。有色米乳酸饮料对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率随乳酸菌发酵粉添加量的增加而升高,且在乳酸菌发酵粉添加量为 5%~6% 时增幅明显变大,可能是由于乳酸菌利用碳源进行同型发酵和异型发酵,产生大量的乳酸、乙酸等代谢产物,从而对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶有一定的抑制作用<sup>[18]</sup>。

2.1.3 发酵时间对有色米乳酸饮料品质的影响 由表 4 可知,随着发酵时间的延长,有色米乳酸饮料感官评分呈逐渐上升趋势,以发酵 44 h 的最高,可能是由于乳酸菌得到了充分的生长繁殖,产生了较多的有机酸、酮、醛、酯等风味物质<sup>[21]</sup>,发酵时间越长,风味物质浓度越高,因此感官评分上升。随着发酵时间的延长,总酚含量在 36 h 时达到峰值,随后降低,可能是由于发酵前 36 h,乳酸菌处于迟缓期和对数期前期,黑米和紫米中结合多酚的释放也较为缓慢;进入对数生长后期和稳定期前期后,对样品的利用率增大,结合多酚得到大量释放;之后进入稳定后期甚至衰亡期,乳酸菌生产代谢物对多酚的损耗导致总酚含量下降。发酵时间对有色米乳酸饮料的 FRAP 值和 ABTS 自由基清除能力的影响趋势与总酚的类似,均随发酵时间的延长先上升,且分别在 32, 36 h 时达到峰值,而后下降。可能是以多酚类为代表的大部分抗氧化活性物质,前期只有一定量处于游离态,随着乳酸菌对样品的利用,结合态抗氧化活性物质得到释放,当中期乳酸菌含量达到一定程度时,对结合态抗氧化活性物的释放能力大大增强,样液中的抗氧化活性物质含量增大;随着乳酸菌代谢产物的增多和结合态抗氧化活性物质的释放程度减少,发酵时间过长也会引起花青素发生酶促和

非酶促氧化<sup>[22]</sup>,导致样液内的抗氧化活性物质降低,因此抗氧化活性呈下降趋势。发酵 0~32 h,随着发酵时间的增加,有色米乳酸饮料对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑酶能力先缓慢增加后骤然降低再上升,可能是在发酵前期,随着乳酸菌的生长繁殖,产生的具有抑酶作用的代谢产物累加,抑酶率上升,而发酵后期因乳酸菌的大量繁殖,各种代谢产物增加,产生一定的拮抗作用使得抑酶率下降,而后乳酸菌的代谢产物浓度上升,抑酶率再次上升。

2.1.4 料液比对有色米乳酸饮料品质的影响 由表 5 可知,当料液比为 1:4 (g/mL) 时,有色米乳酸饮料的感官评分最好,随着料液的增加,感官评分越低,可能是由于水量的增加,造成了风味物质的浓度变低,口感相对较寡淡,乳酸发酵风味相对较差。总酚含量随料液比的增大呈先上升后下降的趋势,当料液比为 1:8 (g/mL) 时,总酚含量达最大,可能是由于该比例下促进了乳酸菌和样品的充分接触和反应,有利于乳酸菌对样品的利用和结合多酚的释放,多酚浓度增大;水量继续增加则不利于发酵的有效进行,因此多酚难以有效释放,总酚含量有所降低。有色米乳酸饮料 FRAP 值随料液比的增大先上升后下降,可能是料液比在一定范围内时,水量的增多可以促进乳酸菌和样品的充分接触和反应,有利于乳酸菌对样品的利用和结合抗氧化活性物质的释放,但同时酸性物质含量相对增加,而在酸性条件下对 FRAP 的测定产生了一定影响,FRAP 值呈下降趋势。ABTS 自由基清除能力受酸性条件的影响较小,料液比越大,可溶性抗氧化成分相对增加,在一定范围内促进了 ABTS 自由基清除能力的

表 4 发酵时间对有色米乳酸饮料品质的影响

Table 4 The effects of fermentation time on the quality of pigmented rice lactic acid beverage

发酵时间/h	感官评分	总酚含量/ ( $\mu\text{g GAE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	铁离子还原能力/ ( $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	ABTS 自由基清除能力/ ( $\text{mmol TE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	$\alpha$ -葡萄糖苷酶 抑制率/%
24	77.20±1.30	2 742.44±315.48	24.66±0.60	76.71±7.58	40.32±1.35
28	81.82±0.84	2 791.02±503.13	27.20±1.01	92.47±2.46	40.62±2.30
32	82.82±1.30	2 950.23±229.85	28.40±0.63	98.91±2.02	41.10±3.48
36	84.03±1.22	3 393.75±365.30	26.06±0.83	109.29±7.61	34.79±2.42
40	85.64±0.89	3 028.81±243.30	24.20±0.89	78.13±2.15	30.06±3.45
44	86.38±1.30	2 938.07±129.82	23.60±0.46	70.60±4.98	28.22±1.23

表 5 料液比对有色米乳酸饮料品质的影响

Figure 5 The effects of the ratio of material to liquid on the quality of pigmented rice lactic acid beverage

料液比 (g/mL)	感官评分	总酚含量/ ( $\mu\text{g GAE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	铁离子还原能力/ ( $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	ABTS 自由基清除能力/ ( $\text{mmol TE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	$\alpha$ -葡萄糖苷酶 抑制率/%
1:4	86.41±0.89	2 478.74±108.88	22.37±2.43	70.46±2.07	20.32±1.35
1:6	85.42±0.89	2 823.51±270.71	24.20±2.06	79.90±7.88	26.62±2.30
1:8	76.82±0.84	3 311.89±217.34	28.41±1.34	166.15±8.83	31.10±3.48
1:10	76.22±1.48	2 674.25±114.50	24.45±2.16	194.28±4.25	34.79±2.42
1:12	74.22±1.58	2 834.14±254.24	13.43±0.86	208.54±9.16	36.06±3.45



提升。随着料液比的增加,有色米乳酸饮料对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率明显下降,其最佳料液比为 1 : 4 (g/mL),可能是由于抑制葡萄糖苷酶的活性物质随发酵体积分量的增多,单位浓度内的活性物质浓度降低,抑酶率下降。

2.2 正交试验

在单因素试验基础上,选取发酵时间、乳酸菌发酵粉添加量、有色米比例构成和料液比进行四因素三水平正交试验,试验因素水平见表 6,试验设计及结果见表 7。

由表 7 可知,以感官评分作为主要指标时,最佳工艺配方为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,各因素对感官评分的影响程度从高到低为乳酸菌发酵粉添加量(B)>发酵时间(A)>料液比(D)>有色米比例构成(C)。以总酚含量作为主要指标时,最佳工艺配方为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>,各因素对总酚含量的影响程

度从高到低为料液比(D)>乳酸菌发酵粉添加量(B)>发酵时间(A)>有色米比例构成(C)。以铁离子还原能力作为主要指标时,最佳工艺配方为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,各因素对铁离子还原能力的影响程度从高到低为发酵时间(A)>料液比(D)>有色米比例构成(C)>乳酸菌发酵粉添加

表 6 试验因素与水平设计表  
Table 6 Test factors and level design

水平	A 发酵时间/h	B 乳酸菌发酵粉添加量/%	C 有色米比例构成	D 料液比(g/mL)
1	36	3	$m_{紫米} : m_{黑米}$ 为 1 : 5	1 : 6
2	40	4	$m_{红米} : m_{黑米}$ 为 1 : 3	1 : 8
3	44	5	$m_{红米} : m_{黑米}$ 为 1 : 5	1 : 10

表 7 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计及结果  
Table 7 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test results

试验号	A	B	C	D	感官评分	总酚含量/ ( $\mu\text{g GAE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	FRAP 值/ ( $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	ABTS 值/ ( $\text{mmol TE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{DW}$ )	$\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率/%
1	1	1	1	1	73.2	2 531.9	34.5	98.55	20.6
2	1	2	2	2	80.0	3 640.6	48.4	166.00	22.8
3	1	3	3	3	79.6	3 113.2	40.7	183.37	15.5
4	2	1	2	3	79.0	3 290.9	34.9	188.88	9.2
5	2	2	3	1	80.6	2 452.8	21.6	122.09	13.5
6	2	3	1	2	84.0	4 208.8	33.4	145.02	13.9
7	3	1	3	2	79.0	3 382.9	40.2	167.67	6.3
8	3	2	1	3	82.2	3 148.1	42.0	187.00	6.0
9	3	3	2	1	83.8	3 299.5	42.8	119.26	8.6
<hr/>									
感 官 评 分	$k_1$	77.6	77.1	79.8	79.2				
	$k_2$	81.2	80.8	80.8	80.9				
	$k_3$	81.7	82.5	79.7	80.3				
	R	4.1	5.4	1.1	1.7				
总 酚 含 量	$k_1$	3 095.2	3 068.6	3 296.3	2 761.4				
	$k_2$	3 348.2	2 904.7	3 234.5	3 568.3				
	$k_3$	3 276.8	3 540.5	2 983.0	3 184.1				
	R	253.0	635.8	251.5	806.9				
铁 离 子 还 原 能 力	$k_1$	41.2	36.5	36.6	33.0				
	$k_2$	31.7	34.8	39.5	38.1				
	$k_3$	41.7	39.0	34.2	39.2				
	R	10.0	5.2	5.3	6.2				
ABTS 自 由 基 清 除 能 力	$k_1$	149.31	151.70	143.52	76.67				
	$k_2$	108.30	127.53	163.84	165.35				
	$k_3$	157.98	149.21	121.08	186.42				
	R	49.68	24.17	42.76	109.75				
$\alpha$ -葡 萄 糖 苷 酶 抑 制 率	$k_1$	19.6	12.0	13.5	14.2				
	$k_2$	11.2	11.7	11.1	11.9				
	$k_3$	7.0	12.7	11.8	10.2				
	R	12.6	1.0	1.7	4.0				

量(B)。以 ABTS 自由基清除能力为主要指标时,最佳工艺配方为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,各因素对铁离子还原能力的影响程度从高到低为料液比(D)>发酵时间(A)>有色米比例构成(C)>乳酸菌发酵粉添加量(B)。以 α-葡萄糖苷酶抑制率为主要指标时,最佳工艺配方为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,各因素对 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响由大到小为发酵时间(A)>料液比(D)>有色米比例构成(C)>乳酸菌发酵粉添加量(B)。

根据各指标所得的最佳工艺配方为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,其中以总酚含量为主要参考依据所得的最佳配方 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub> 为正交试验第 6 组,其余所得的最佳配方均不是正交试验内的配方,且有一定差距,需进行进一步试验和指标测定。

由表 8 可知,A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub> 的抗氧化性和 α-葡萄糖苷酶抑制能力均为最佳,感官评分为 83.60±2.51,略低于 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub> 的,且又具有良好的抗氧化能力,总酚含量为(4 208.78±281.26) μg GAE/g·DW,ABTS 自由基清除能力为(145.02±7.88) mmol TE/g·DW,总酚含量和 ABTS 自由基清除能力显著高于采用单一菌种发酵单一或复合有色米的总酚含量<sup>[22]</sup>。铁离子还原能力(FRAP)为(33.41±1.70) mmol Fe<sup>2+</sup>/g·DW,α-葡萄糖苷酶抑制活性为(13.94±0.01)% ,因此,选择最佳配方为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>2</sub>,即紫米和黑米质量比为 1 : 5,料液比为 1 : 8 (g/mL),乳酸菌发酵粉添加量为 5%,发酵时间为 40 h,该条件下有色米乳酸饮料产品色泽均一,呈紫红色,有典型的发酵香味,口感柔和,酸甜味适中,无沉淀物。

表 8 验证组的感官评价,总酚含量,铁离子还原能力,ABTS 自由基清除能力和 α-葡萄糖苷酶抑制率  
Table 8 Sensory evaluation value, total phenolics content, FRAP, ABTS free radical scavenging ability, and the inhibition rate of α-glucosidase of the validation group

组别	感官评分	总酚含量/ (μg GAE·g <sup>-1</sup> ·DW)	铁离子还原能力/ (mmol Fe <sup>2+</sup> ·g <sup>-1</sup> ·DW)	ABTS 自由基清除能力/ (mmol TE·g <sup>-1</sup> ·DW)	α-葡萄糖苷酶 抑制率/%
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	84.06±2.65	2 695.21±182.92	16.31±2.43	118.94±3.56	12.87±0.60
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>2</sub>	83.60±2.51	4 208.78±281.26	33.41±1.70	145.02±7.88	13.94±0.57
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	82.82±1.92	2 222.52±187.30	11.59±1.32	138.55±1.97	6.45±0.33
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	80.81±3.56	2 894.13±118.90	13.20±0.77	133.15±1.41	5.44±0.93
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub>	82.84±2.39	3 230.95±135.03	13.01±1.55	100.17±2.10	10.83±0.95

### 3 结论

试验表明,有色米乳酸饮料的最佳发酵工艺条件为紫米和黑米质量比为 1 : 5,料液比为 1 : 8 (g/mL),乳酸菌发酵粉添加量为 5%,发酵时间为 40 h,该条件下有色米乳酸饮料感官评分近 84,产品色泽均一,呈紫红色,有典型的发酵香味,口感柔和,酸甜味适中,无沉淀物。后续可借助液质等手段解析有色米乳酸饮料发酵过程中酚酸及花色苷等多酚类活性成分的组成与含量变化,以及测定出乳酸饮料中各菌种的含量水平,进一步研究其体内的作用效果和机理。

#### 参考文献

[1] 全刚, 刘志. 有色稻研究现状[J]. 种子, 2017, 36(4): 51-53.  
QUAN G, LIU Z. Research status of colored rice[J]. Seed, 2017, 36(4): 51-53.

[2] DENG G F, XU X R, ZHANG Y, et al. Phenolic compounds and bioactivities of pigmented rice[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2010, 53(3): 296-306.

[3] 陈萍萍, 游月华, 戴展峰, 等. 有色稻抗氧化作用及其与花色苷和类黄酮含量的关系[J]. 热带农业科学, 2021, 41(2): 83-87.  
CHEN P P, YOU Y H, DAI Z F, et al. Antioxidation and its correlations with anthocyanin and flavonoid contents of colored rice[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2021, 41(2): 83-87.

[4] 张名位, 郭宝江, 池建伟, 等. 黑米皮提取物的体外抗氧化作用与成分分析[J]. 中国粮油学报, 2005(6): 49-54.  
ZHANG M W, GUO B J, CHI J W, et al. Antioxidative effects in vitro of black rice pericarp extract accompanied by its components analysis[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils, 2005(6): 49-54.

[5] 于勇, 潘芳, 吴剑, 等. 超高压处理对糙米多酚、黄酮类含量及其抗氧化性的影响[J]. 农业机械学报, 2017(11): 368-374.  
YU Y, PAN F, WU J, et al. Effect of high pressure treatment on phenolics, flavonoids and antioxidant activity of brown rice [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017(11): 368-374.

[6] 刘婷玉, 周素梅, 刘丽娅, 等. 植物基谷物饮料研究及产业开发进展[J]. 食品与机械, 2020, 36(10): 18-22, 27.  
LIU T Y, ZHOU S M, LIU L Y, et al. Advances in research and industrial development of plant-based cereal beverage[J]. Food & Machinery, 2020, 36(10): 18-22, 27.

[7] 杨宇. 复合益生菌黑米饮料工艺研究[J]. 生物化工, 2021, 7(4): 25-28, 56.  
YANG Y. Study on the technology of compound probiotics black rice beverage[J]. Biological Chemical Engineering, 2021, 7(4): 25-28, 56.

[8] 薛凯利. 黑米红枣乳酸菌饮料发酵工艺优化及功能研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2016: 7-18.  
XUE K L. Study on optimization and function of black rice jujube

- drink by lactic acid fermentation[D]. Xiayang: Northwest A & F University, 2016: 7-18.
- [9] 卞春, 季澜洋. 黑米发酵乳饮料配方的响应面法优化[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(5): 47-50.
- BIAN C, JI L Y. Optimization of formula of black rice fermented milk beverages by response surface methodology[J]. Cereals & Oils, 2016, 29(5): 47-50.
- [10] 陈娟, 冉军舰. 复配益生菌发酵谷物饮料工艺优化[J]. 现代食品, 2021(8): 81-86.
- CHEN J, RAN J J. Optimization of the process of fermented grain beverage with compound probiotics[J]. Modern Food, 2021(8): 81-86.
- [11] 隋春光, 李大鹏. 富含 L-乳酸黑米发酵饮料的研制及发酵工艺的优化[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2008(3): 77-81.
- SUI C G, LI D P. Research on enriched L-lactic acid fermented black rice beverage and its fermentation process[J]. Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2008(3): 77-81.
- [12] ZOU Y P, CHANG S K C, GU Y, et al. Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. Morton) extract and its fractions[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59: 2 268-2 276.
- [13] BENZIE I F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay[J]. Anal Biochem, 1996, 239(1): 70-76.
- [14] 李项辉. 紫苏叶提取物的降血糖活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017: 24-25.
- LI X H. Hypoglycemic activity of perilla leaf extract [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017: 24-25.
- [15] MIRA N V M D, MASSARETTO I L, PASCUAL C D S C I, et al. Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes[J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2009, 22(5): 405-409.
- [16] 满朝坤. 五种颜色糙米多酚类物质抗氧化活性及体外消化特性研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2020: 29-38.
- MAN C K. Study on antioxidant activity and in vitro digestion characteristics of phenols in five colors of brown rice [D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2020: 29-38.
- [17] 杨汝德, 陈琼, 陈惠音. 乳酸菌发酵制品研究的现状与发展[J]. 广州食品工业科技, 2003(S1): 79-83.
- YANG R D, CHEN Q, CHEN H Y. Progress in fermented goods of lactobacillus[J]. Modern Food Science and Technology, 2003(S1): 79-83.
- [18] 李志芳, 佐兆杭, 王颖, 等. 芸豆/大豆复合发酵液代谢组分及功能性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(11): 38-43.
- LI Z F, ZUO Z H, WANG Y, et al. Studies on metabolites and functions of soy-based plant fermentation broth[J]. Food & Machinery, 2021, 37(11): 38-43.
- [19] 张珍, 李波清. 乳酸菌主要代谢产物及其作用研究进展[J]. 滨州医学院学报, 2012, 35(4): 274-276.
- ZHANG Z, LI B T. Research progress on main metabolites of lactic acid bacteria and their effects[J]. BMU Journal, 2012, 35(4): 274-276.
- [20] 龚二生. 糙米多酚组分及其抗氧化活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018: 25-43.
- GONG E S. Identification and antioxidant activity of phenolic compounds in brown rice [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018: 25-43.
- [21] 李俊, 卢扬, 赵刚, 等. 苦荞芽苗茶饮料发酵前后营养、风味及抗氧化活性的变化[J]. 食品与机械, 2019, 35(7): 187-192.
- LI J, LU Y, ZHAO G, et al. Variation of nutrition, flavor and antioxidant activity in tea beverage of tartary buckwheat sprout after fermentation[J]. Food & Machinery, 2019, 35(7): 187-192.
- [22] WIESLAW W, DOROTA S N, JOANNA T, et al. Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing[J]. Food Chemistry, 2015, 167: 115-123.
- (上接第 173 页)
- [18] 张圆圆, 孟永斌, 张琳, 等. 响应面法优化微波辅助水蒸气蒸馏法提取油樟精油工艺[J]. 化工进展, 2020, 39(S2): 291-299.
- ZHANG Y Y, MENG Y B, ZHANG L, et al. Optimization of microwave-assisted steam distillation for extracting essential oil from *Cinnamomum camphora* by response surface methodology[J]. Progress in Chemical Industry, 2020, 39(S2): 291-299.
- [19] 李勇慧, 耿惠敏, 李双双. 四种柑橘类果皮精油成分分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(4): 264-272.
- LI Y H, GENG H M, LI S S. Analysis of essential oils in four citrus peels[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(4): 264-272.
- [20] HE F, WANG W, WU M C, et al. Antioxidant and antibacterial activities of essential oil from *Atractylodes lancea* rhizomes[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 153: 112552.
- [21] BLAEKOVI B, YANG W F, WANG Y, et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula × intermedia* 'Budrovka' and *L. angustifolia* cultivated in Croatia[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 123: 173-182.
- [22] 郭英兰. 假尾孢属一新种[J]. 菌物学报, 2011, 30(5): 671-673.
- GUO Y L. A new species of *Pseudocercospora* [J]. Acta Mycologica Sinica, 2011, 30(5): 671-673.
- [23] TIMUN R, BARIK C R, PUROHIT S, et al. Composition and antibacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: Process optimization study [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94(30): 178-188.
- [24] 童周. 浙江玫瑰精油成分、抑菌抗氧化能力及稳定性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2017: 39-45.
- TONG Z. Study on the composition, antibacterial, antioxidant capacity and stability of Zhejiang rose essential oil[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2017: 39-45.