

滨海白首乌发酵片工艺优化及抗氧化活性研究

Study on process optimization and antioxidant activity of
fermentative *Cynanchum auriculatum* tablet

卜京^{1,2} 石云³ 林燕¹ 覃媛媛¹ 洪键¹

BU Jing^{1,2} SHI Yun³ LIN Yan¹ QIN Yuanyuan¹ HONG Jian¹

(1. 盐城师范学院海洋与生物工程学院, 江苏盐城 224007; 2. 盐城市亭湖高级中学,

江苏盐城 224002; 3. 江苏医药职业学院药学院, 江苏盐城 224051)

(1. College of Marine and Biological Engineering, Yancheng Teachers University, Yancheng, Jiangsu 224007, China; 2. Yanchen Tinghu Senior High School, Yancheng, Jiangsu 224002, China;
3. College of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng, Jiangsu 224051, China)

摘要:目的:优化滨海白首乌发酵片工艺参数,开发一款新型滨海白首乌发酵产品。方法:以滨海白首乌完整切片为原料,以感官评分、总酸含量为指标,优化滨海白首乌发酵片工艺参数,并对其抗氧化活性及氨基酸含量进行检测。结果:滨海白首乌发酵片最佳工艺参数为料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$)1:1,发酵温度31℃,混合菌液接种量9.6%,发酵时间25 h,此条件下滨海白首乌发酵片感官评分为89.33分,总酸含量为0.726 g/100 g。当滨海白首乌发酵片醇提液质量浓度为10 mg/mL时,总抗氧化能力可达2.05 U/mL、对DPPH自由基、ABTS⁺自由基清除率分别为32.18%,45.89%。发酵前后,白首乌片中芳香味氨基酸含量上升了47.22%。结论:最佳工艺参数下制得的滨海白首乌发酵片形态结构完整,色泽均匀,酸甜协调,有宜人的酒香味和白首乌特征风味,具有一定的抗氧化活性。

关键词:滨海白首乌;液态发酵;抗氧化活性;氨基酸检测

Abstract: Objective: This study aimed to optimize the process parameters of fermentative *Cynanchum auriculatum* (CA) tablets to develop a new type of fermented product of CA. **Methods:** Taking complete slices of CA as raw materials, the

process parameters of fermentative CA tablets were optimized by response surface methodology based on single factor experiments with sensory score and total acid content as indicators, and the antioxidant activity and amino acid content of fermentative CA tablets were tested. **Results:** The optimal process parameters for fermentative CA tablets were material liquid at ratio 1:1, fermentation at 31 °C, inoculation amount 9.6% and fermenting for 25 h. The sensory score was 89.33, and the total acid content was 0.726 g/100 g under the control of the optimal processing conditions. At the concentration of 10 mg/mL, the total antioxidant capacity of the fermentative CA tablets alcohol extract was 2.05 U/mL, and the scavenging rate of DPPH and ABTS⁺ free radicals was 32.18% and 45.89% respectively. Test results of the amino acid content showed that the content of aromatic amino acids in CA tablets increased by 47.22% after fermentation. **Conclusion:** Fermentative CA tablets obtained under the control of the optimal processing conditions have complete morphology and structure, uniform color, harmonious sourness and sweetness, pleasant wine aroma and characteristic flavor of CA and high antioxidant activity, indicating the product has achieved the expected effect.

Keywords: *Cynanchum auriculatum*; liquid fermentation; antioxidant activity; amino acid content test

基金项目:盐城师范学院大学生创新创业训练计划项目(编号:202310324008Z);西藏藏医药大学中医学(藏医)博士点建设及中药学(藏药)博士点培育博士后项目(编号:BSDJS-BH-22-01, BSDJS-BH-22-02);江苏省基础研究计划(自然科学基金)(编号:BK20201063)

作者简介:卜京,男,盐城师范学院在读本科生。

通信作者:洪键(1981—),男,盐城师范学院高级实验师,博士。
E-mail:jian_hong602@sina.com

收稿日期:2023-07-12 **改回日期:**2023-11-27

白首乌系萝藦科鹅绒藤属植物耳叶牛皮消(*Cynanchum auriculatum*)、隔山牛皮消(*Cynanchum wilfordii*)及戟叶牛皮消(*Cynanchum bungei*)等植物的块根^[1-2]。滨海白首乌属于耳叶牛皮消的块根^[3-4],中国有95%的耳叶牛皮消产自江苏滨海,“滨海白首乌”于

2010年获得国家地理标志产品保护^[5-7]。作为一种传统的药食同源地产植物,滨海白首乌至今已使用千余年,2017年被国家卫计委列入普通食品名录中^[8]。现代医学研究^[9-12]证实,滨海白首乌富含多种活性物质,主要包括C₂₁甾体类化合物、多糖类、二苯酮和磷脂类,具有抗肿瘤、抗氧化、保护肝脏以及增强免疫等多种药理功效。

发酵食品是饮食中重要的组成部分。发酵片类型较多,目前已有火棘果咀嚼片^[13],麸皮红枣乳酸发酵片^[14]和木瓜发酵片^[15]等。发酵片在制作过程中通常需要额外添加碳源以实现对菌种活性维持^[16]和发酵产品口感调节。而以火棘果咀嚼片、麸皮红枣乳酸发酵片为代表的发酵片制作工艺是将原料粉碎制浆,以醪液形式进行液态深层发酵,经干燥处理后添加辅料最后压制成品;后期还需设计试验优化原辅料配比,以校正辅料添加对原料风味口感产生的影响,工序相对繁琐,营养物质和活性成分会流失。

研究先用 α -淀粉酶对白首乌片进行糖化,减少白首乌片表面淀粉颗粒对后期发酵片口感形成的影响,同时以糖化淀粉产生的还原糖作为葡萄酒酵母和副干酪乳杆菌发酵碳源,避免在发酵过程中多种碳源或者外来碳源的加入对白首乌片最终口感和风味造成影响。根据所选菌种兼性厌氧特性,以糖化后的白首乌片作为发酵基质进行液态表面发酵,改善白首乌片的口感与风味,并且发酵结束后直接收获成片,不需要添加任何辅料进行制片,极大地减少工作程序,节省制作成本。

因此,研究拟以滨海白首乌完整切片为原料,采用副干酪乳杆菌与葡萄酒酵母的混合菌种对白首乌片进行液态表面发酵。在单因素试验基础上,利用响应面法优化滨海白首乌发酵片工艺参数,通过总抗氧化能力、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2-联氮-2(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS⁺)自由基清除能力评价滨海白首乌发酵片的抗氧化活性,并比较发酵前后发酵片中呈味氨基酸含量变化,以为滨海白首乌产品的深加工提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

滨海白首乌:盐城市滨海县白首乌生态种植基地;

副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*):前期试验从蒙牛优益C中筛选得到;

葡萄酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*):安琪酵母股份有限公司;

α -淀粉酶:酶活力1 000 U/g,北京双旋微生物培养基制品厂;

总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒:南京建成生物工程研究所;

DPPH:质量分数98%,上海源叶生物科技有限公司;

ABTS⁺:质量分数98%,福州飞净生物科技有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

中药材切片机:AK-150C型,奥力中药机械有限公司;

电子天平:AR124CN型,奥豪斯仪器有限公司;

蒸锅:ZHG-2801T型,九阳股份有限公司;

超净工作台:SW-CJ-2FD型,江苏苏净集团有限公司;

高压蒸汽灭菌锅:YXQ-LS-50A型,上海博迅实业有限公司;

数显生化培养箱:SPX-150型,常州华冠仪器制造有限公司;

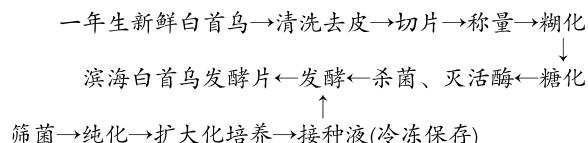
pH计:FiveEasy Plus型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

真空冷冻干燥机:SCIENTZ-10N型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

酶标分析仪:DNM-9602型,北京普朗新技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 滨海白首乌发酵片工艺流程



操作要点:

(1) 白首乌片预处理:一年生新鲜滨海白首乌清洗去皮切成厚度2 mm,直径约1 cm薄片;100 ℃蒸20 min,糊化。

(2) 糖化:每个发酵瓶中装入20 g预处理后的白首乌片,单层、平铺于发酵瓶底;加入20 g质量分数为1.6%的 α -淀粉酶溶液,65 ℃水浴3 h。

(3) 灭菌:糖化后的白首乌片置于高压蒸汽灭菌锅中,90 ℃灭菌20 min^[17]。

(4) 接种:调整发酵菌种菌液的菌数为 1×10^9 CFU/mL,以体积比1:5^[18]接种葡萄酒酵母与副干酪乳杆菌。

(5) 发酵:接种完后将发酵瓶置于恒温培养箱中,在试验设计的料液比、发酵温度、混合菌液接种量和发酵时间下进行发酵。

1.3.2 单因素试验

(1) 料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$): 固定混合菌液接种量 7%, 发酵温度 34 °C, 发酵时间 36 h, 考察料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$) 分别为 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:2.5, 1:3, 1:3.5 对感官评分和总酸含量的影响。

(2) 发酵温度: 固定料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$) 1:1、混合菌液接种量 7%, 发酵时间 36 h, 考察发酵温度(22, 25, 28, 31, 34, 37 °C) 对感官评分和总酸含量的影响。

(3) 混合菌液接种量: 固定料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$) 1:1, 发酵温度 34 °C, 发酵时间 36 h, 考察混合菌液接种量(3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%) 对感官评分和总酸含量的影响。

(4) 发酵时间: 固定料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$) 1:1, 混合菌液接种量 7%, 发酵温度 34 °C, 考察发酵时间(0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 h) 对感官评分和总酸含量的影响。

1.3.3 指标测定

(1) 感官评分: 根据产品的外观、口感和风味, 邀请 10 名有一定相关经验的品评员, 男女比例各半, 按表 1 对产品进行感官评定^[19-20]。

(2) 总酸含量: 按 GB/T 12456—2021 执行。

(3) 总抗氧化能力(T-AOC): 按试剂盒说明书执行。

(4) DPPH 自由基清除率: 根据冯康等^[21]的方法。

(5) ABTS⁺ 自由基清除率: 根据孙正霄等^[22]的方法。

(6) 氨基酸含量: 按 GB 5009.124—2016 执行。

1.4 数据处理

所有试验重复 3 次, 结果以平均值±标准差表示。采用 Excel 2019、Design-Expert 8.0.6 和 SPSS 19.0 软件作图和数据处理。

表 1 感官评价表

Table 1 Table of sensory score

项目	评价指标	分值
外观 (30 分)	完整无残缺, 色泽自然均匀	21~30
	有残缺, 色泽较不均匀 残缺严重, 色泽很不均匀	11~20 <11
口感 (40 分)	硬度适中, 无颗粒感, 酸甜协调, 无苦味	31~40
	稍硬或稍软, 有颗粒感, 酸甜较协调, 稍有苦味 过硬或过软, 有明显颗粒感, 偏酸/甜, 有苦味	21~30 <21
风味 (30 分)	有宜人的酒香味, 白首乌特征风味适宜	21~30
	酒香味较淡/浓, 白首乌特征风味较淡/浓 酒香味、白首乌特征风味不明显, 有异味	11~20 <11

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 1(a)可知, 随着料液比的增加, 发酵片的感官评分和总酸含量均呈下降趋势。当料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$)>1:1 时, 发酵片浸泡在高比例的液体环境中易使片体结构分裂, 难以成型; 同时发酵片中的总酸会较多地流入发酵液中, 导致片中总酸含量降低。因此, 选择料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$)1:1 开展后续单因素试验。

由图 1(b)可知, 总酸含量随发酵温度的升高而升高; 感官评分随发酵温度的升高先升高后下降, 当发酵温度为 31 °C 时, 发酵片感官评分最高可达 83 分, 此时总酸含量为 0.612 g/100 g。从感官评分角度分析, 当发酵温度>31 °C 时, 菌种处于适宜温度区间, 产酸积累较多, 但温度过高会影响发酵过程中香味成分^[23], 此时发酵片酸味和酒香味偏重, 而白首乌本身特征风味被掩盖; 当发酵温度<31 °C 时, 菌种活性受到影响^[24], 发酵不完全导致酸味不足, 发酵片整体风味不协调, 感官评分差异显著($P<0.05$)。因此, 选择发酵温度 28, 31, 34 °C 进行响应面优化试验。

由图 1(c)可知, 随着混合菌液接种量的增加, 发酵片感官评分和总酸含量均呈先升高后降低趋势。当混合菌液接种量为 9% 时, 感官评分和总酸含量均达到最大值, 分别为 84 分、0.732 g/100 g; 当混合菌液接种量<9% 时, 菌种产酸能力较弱, 发酵片发酵周期较长, 酸味不足, 口感风味不佳; 接种量为 9%, 11% 和 13% 时, 总酸含量无显著差异($P>0.05$), 可能是接种量过高营养物质此时多消耗在菌体细胞生长繁殖上^[25], 而过高的接种量也会使菌体提前衰老而发生自溶, 影响风味^[26]。因此, 选择混合菌液接种量 7%, 9%, 11% 进行响应面优化试验。

由图 1(d)可知, 发酵片感官评分和总酸含量随发酵时间的延长先升高后下降, 可能是发酵前期(0~24 h), 营养物质较为丰富, 菌种利用营养物质速度快, 产酸量大^[27], 总酸含量呈上升趋势, 且随着酸的积累, 发酵片的风味逐渐增强, 其感官评分也逐渐升高, 24 h 时发酵片感官评分最高可达 86 分, 总酸含量可达 0.726 g/100 g; 而发酵后期(24~48 h), 30 h 时发酵片总酸含量相较于 24 h 时显著下降($P<0.05$), 可能是发酵时间过长导致发酵片表面组织形态松散, 总酸较多地流入发酵液中。30 h 后发酵片总酸含量变化趋于平稳($P>0.05$), 是因为发酵液达到一定酸度后, 菌种的生长代谢受到抑制^[28], 同时发酵时间过长会使得发酵片变黏变软, 感官评分显著下降($P<0.05$)。因此, 选择发酵时间 28, 24, 30 h 进行响应面优化试验。

2.2 响应面试验

根据单因素试验结果, 选择混合菌液接种量、发酵温

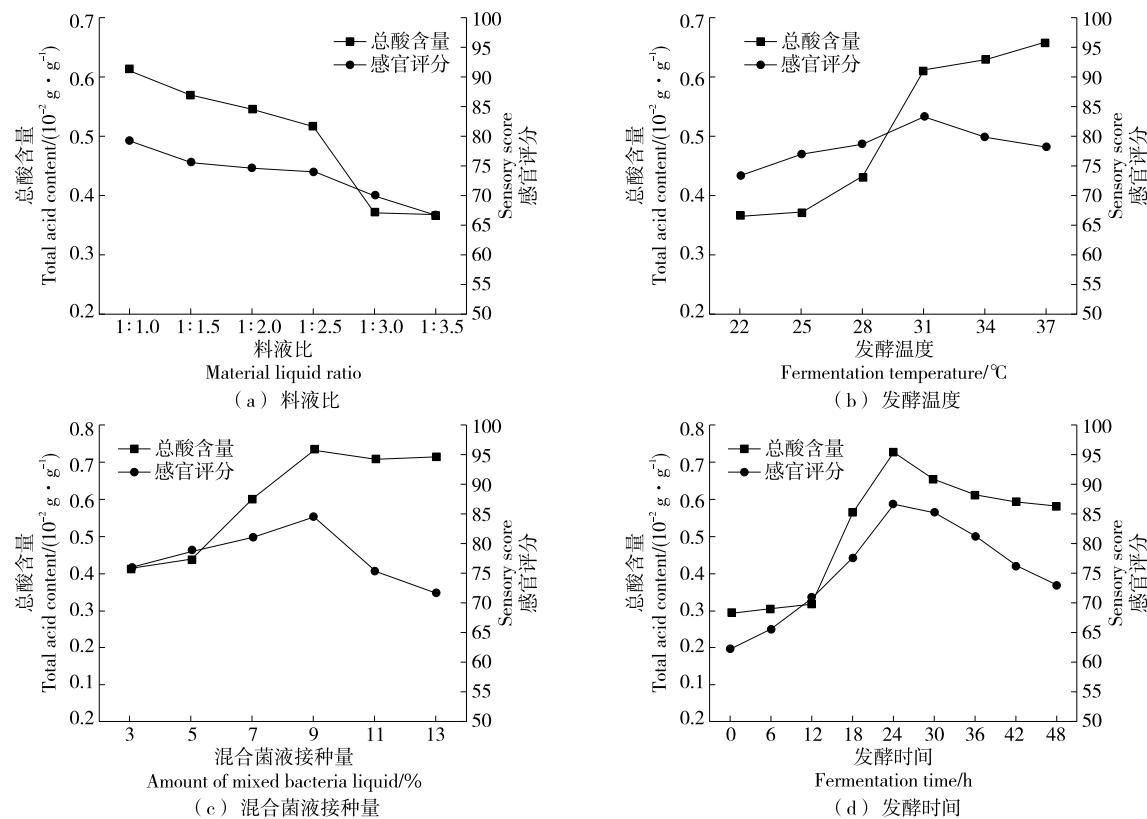


图 1 各因素对滨海白首乌发酵片感官评分和总酸含量的影响

Figure 1 Effects of various factors on sensory score and total acid content of fermentative CA tablets

度以及发酵时间作为主要影响因素,以感官评分和总酸含量为响应值,试验因素和水平见表 2,Box-Behnken 中心组合试验设计及结果见表 3。

运用 Design-Expert 8.0.6 软件对各因素进行回归分析,得到二次多项式回归方程分别为:

$$Y_1 = 91.26 + 0.19A - 1.25B + 2.85C - 0.42AB + 0.49AC - 0.04BC - 1.33A^2 - 1.71B^2 - 8.07C^2, \quad (1)$$

$$Y_2 = 0.73 + 0.015A + 0.00475B + 0.039C + 0.00725AB + 0.011AC + 0.021BC - 0.028A^2 - 0.028B^2 - 0.11C^2. \quad (2)$$

由表 4 可知,回归模型 $P < 0.0001$,极显著;失拟项 $P = 0.0813 > 0.05$,不显著,表明所得到的回归方程与实际拟合中非正常误差所占比例较小,使用该方程模拟真

表 2 Box-Behnken 试验设计因素和水平

Table 2 Factors and levels of the Box-Behnken experiment design

水平	A 混合菌液接种量/%	B 发酵温度/℃	C 发酵时间/h
-1	7	28	18
0	9	31	24
1	11	34	30

表 3 Box-Behnken 中心组合试验设计及结果

Table 3 Box-Behnken experimental design and results

试验号	A	B	C	Y ₁ 感官评分	Y ₂ 总酸含量/(10 ⁻² g·g ⁻¹)
1	0	0	0	91.34	0.724
2	-1	1	0	86.54	0.654
3	-1	0	-1	80.04	0.544
4	1	-1	0	90.75	0.675
5	0	1	1	82.58	0.658
6	1	1	0	87.94	0.694
7	0	0	0	90.56	0.728
8	0	1	-1	77.36	0.536
9	1	0	-1	77.58	0.558
10	-1	-1	0	87.66	0.664
11	-1	0	1	85.16	0.601
12	0	0	0	91.37	0.726
13	0	0	0	90.63	0.731
14	0	0	0	92.38	0.732
15	0	-1	1	85.69	0.601
16	0	-1	-1	80.31	0.564
17	1	0	1	84.67	0.657

实的三因素三水平分析可行^[29]。回归模型的复相关系数 $R^2=0.974\ 9$, 表明模型误差小, 拟合度较高。调整系数 $R_{\text{Adj}}^2=0.942\ 6$, 说明该模型可行度较高, 能解释 94.26% 的响应值的变化。由各因素 F 值可知, 影响感官评分(Y_1)的因素按主次顺序排列为发酵时间>发酵温度>混合菌液接种量。由图 2 可知, 发酵时间响应面曲面陡于其余两因素曲面, 表明发酵时间对感官评分影响最大, 与方差分析一致。

由表 5 可知, 回归模型 $P<0.000\ 1$, 失拟项 $P=0.168\ 7>0.05$, 极显著; $R^2=0.998\ 2$, 说明模型拟合度高, 试验误差较小且可信度比较高。由 F 值可知, 各因素对总酸含量(Y_2)的影响大小顺序为发酵时间>混合菌液接种量>发酵温度。由图 3 可知, 任意两个因素间均存在交互作用, 其中交互项 AC、BC 的响应面最陡峭, 对总酸含量(Y_1)影响最显著, 与方差分析结果一致。

应用 Design-Expert 8.0.6 优化, 滨海白首乌发酵片最佳工艺参数为混合菌液接种量 9.67%, 发酵温度 31.62 °C, 发酵时间 25.10 h, 此条件下滨海白首乌发酵片感官评分预测值为 91.77 分, 总酸含量预测值为 0.735 g/100 g。以可操作性为前提, 调整实际条件, 在发酵温度 31 °C, 混合接种量 9.6%, 发酵时间 25 h 下进行 3 次平行验证实验, 测得滨海白首乌发酵片感官评分为 89.33 分, 总酸含量为 0.726 g/100 g, 与预测值接近, 说明该模型可用于滨海白首乌发酵片工艺优化, 具有实用价值。因此, 滨海白首乌发酵片最佳工艺参数为料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$)1:1, 发酵温度 31 °C, 混合菌液接种量 9.6%, 发酵时间 25 h。

2.3 抗氧化活性试验

由图 4 可知, 新鲜滨海白首乌完整切片和产品滨海白首乌发酵片的总抗氧化能力、DPPH 自由基和 ABTS⁺

表 4 以感官评分为响应值的回归模型方差分析[†]

Table 4 Analyses of variance of regression model with sensory score as evaluation index

来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
模型	387.38	9	43.04	30.22	<0.000 1	* *
A	0.30	1	0.30	0.21	0.662 0	
B	12.48	1	12.48	8.76	0.021 1	*
C	65.04	1	65.04	45.66	0.000 3	*
AB	0.71	1	0.71	0.50	0.501 8	
AC	0.97	1	0.97	0.68	0.436 4	
BC	6.40×10^{-3}	1	6.40×10^{-3}	4.49×10^{-3}	0.948 4	
A^2	7.43	1	7.43	5.21	0.056 4	
B^2	12.25	1	12.25	8.60	0.021 9	*
C^2	273.90	1	273.90	192.31	<0.000 1	* *
残差	9.97	7	1.42			
失拟项	7.81	3	2.60	4.82	0.081 3	不显著
纯误差	2.16	4	0.54			
总和	397.35	16				

[†] * 表示差异显著($P<0.05$); ** 表示差异极显著($P<0.01$); $R^2=0.974\ 9$; $R_{\text{Adj}}^2=0.942\ 6$ 。

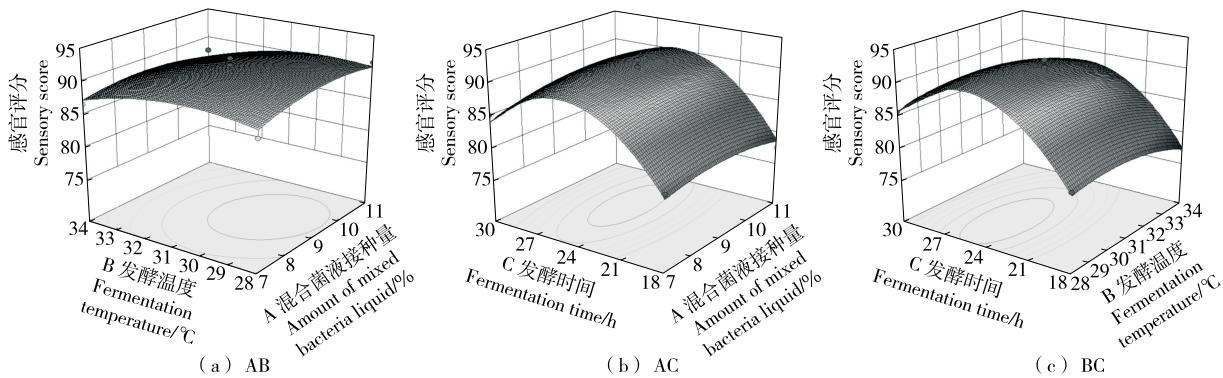


图 2 感官评分的响应面图

Figure 2 Response surface and contour map of sensory score

表 5 以总酸含量为响应值的回归模型方差分析[†]

Table 5 Analyses of variance of regression model with total acid content as evaluation index

来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
模型	0.078	9	8.695×10^{-3}	431.54	<0.000 1	* *
A	1.830×10^{-3}	1	1.830×10^{-3}	90.83	<0.000 1	* *
B	1.805×10^{-4}	1	1.805×10^{-4}	8.96	0.020 1	*
C	0.012	1	0.012	615.54	<0.000 1	* *
AB	2.103×10^{-4}	1	2.103×10^{-4}	10.43	0.014 4	*
AC	4.410×10^{-4}	1	4.410×10^{-4}	21.89	0.002 3	* *
BC	1.806×10^{-3}	1	1.806×10^{-3}	89.64	<0.000 1	* *
A ²	3.325×10^{-3}	1	3.325×10^{-3}	165.00	<0.000 1	* *
B ²	3.384×10^{-3}	1	3.384×10^{-3}	167.95	<0.000 1	* *
C ²	0.051	1	0.051	2 533.00	<0.000 1	* *
残差	1.410×10^{-4}	7	2.015×10^{-5}			
失拟项	9.625×10^{-5}	3	3.208×10^{-5}	2.86	0.167 8	不显著
纯误差	4.480×10^{-5}	4	1.120×10^{-5}			
总和	0.078	16				

[†] * 表示差异显著($P < 0.05$)；** 表示差异极显著($P < 0.01$)； $R^2 = 0.998\ 2$ ； $R^2_{Adj} = 0.995\ 9$ 。

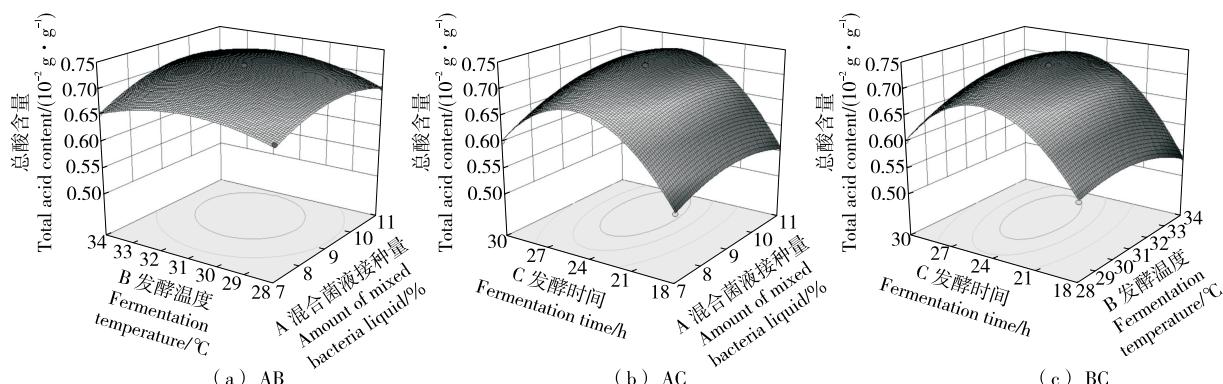
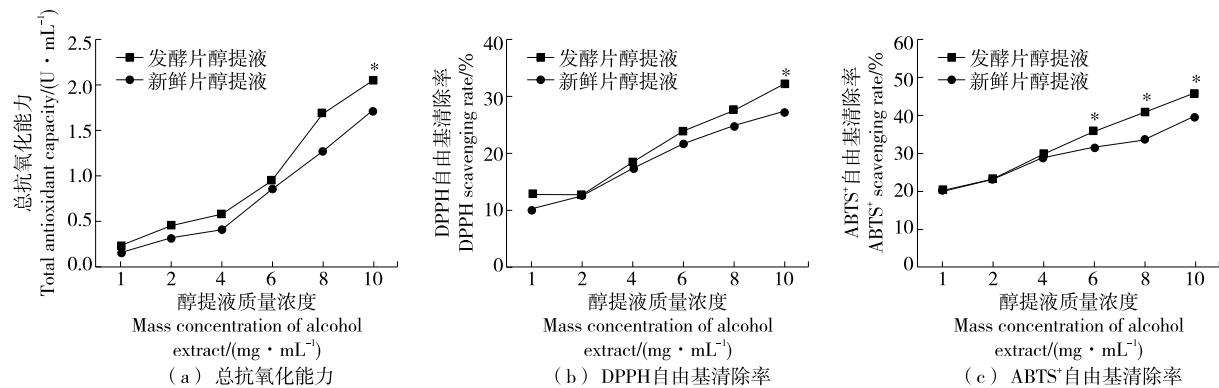


图 3 总酸含量的响应面图

Figure 3 Response surface and contour map of total acid content



* 为该浓度下滨海白首乌发酵片醇提液和新鲜白首乌片醇提液差异显著($P < 0.05$)

图 4 抗氧化活性试验结果

Figure 4 Antioxidant activity test results

自由基清除能力均随醇提液质量浓度的增加而增强,呈正相关的量效关系。滨海白首乌发酵片的抗氧化活性均高于相同醇提液浓度下的新鲜滨海白首乌完整切片,可能与发酵过程中总黄酮含量和酚类物质含量增加有关^[30-31]。此外,发酵菌种的代谢产物和次生代谢产物^[25],如总酸和生物碱类物质也会影响发酵产品的抗氧化活性。当醇提液质量浓度为 10 mg/mL 时,发酵前后的总抗氧化能力分别为 1.72, 2.05 U/mL, 对 DPPH 自由基清除率分别为 27.36%, 32.18%, 对 ABTS⁺ 自由基清除率分别为 39.73%, 45.89%。

2.4 氨基酸检测结果

由表 6 可知,发酵前后白首乌片中共检出 16 种氨基酸,氨基酸总量分别为 6.16, 6.06 g/100 g, 可能是因为发酵过程中部分氨基酸被乳酸菌降解成风味物质^[32]。参考 Ardo^[33] 的分类方法,根据氨基酸滋味不同,可以将其分为鲜味、甜味、苦味和芳香味四类氨基酸。由图 5 可知,发酵前后白首乌片中呈味氨基酸的组成发生变化,鲜味氨基酸、甜味氨基酸以及苦味氨基酸含量下降,芳香味氨基酸含量上升了 47.22% ($P < 0.05$),一定程度上改善了白首乌片的风味和口感。

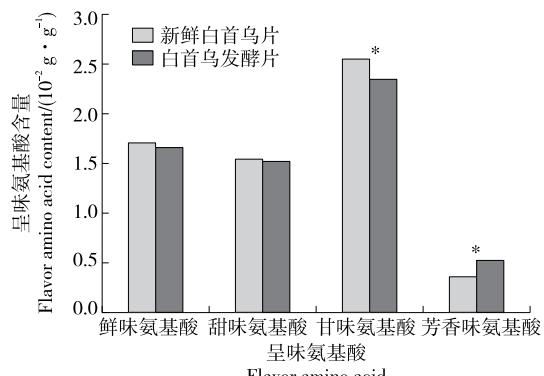
3 结论

试验表明,滨海白首乌发酵片的最佳工艺参数为料液比($m_{\text{白首乌片}} : m_{\text{无菌水}}$)1 : 1, 发酵温度 31 ℃, 混合菌液

表 6 发酵前后氨基酸含量对比

Table 6 Comparison of amino acid content before and after fermentation g/100 g

氨基酸	呈味	新鲜白首乌片	白首乌发酵片
天冬氨酸	鲜	0.60±0.03	0.58±0.03
苏氨酸	甜	0.22±0.02	0.23±0.02
丝氨酸	甜	0.17±0.01	0.21±0.02
谷氨酸	鲜	0.80±0.01	0.69±0.01
脯氨酸	甜	0.44±0.01	0.34±0.02
甘氨酸	甜	0.30±0.02	0.29±0.01
丙氨酸	甜	0.29±0.04	0.30±0.02
缬氨酸	苦	0.24±0.01	0.27±0.01
蛋氨酸	苦	0.04±0.01	0.07±0.01
异亮氨酸	苦	0.20±0.02	0.25±0.01
亮氨酸	苦	0.28±0.01	0.35±0.02
酪氨酸	芳香	0.11±0.02	0.23±0.01
苯丙氨酸	芳香	0.25±0.02	0.30±0.03
组氨酸	甜	0.11±0.02	0.14±0.01
赖氨酸	鲜	0.31±0.02	0.38±0.01
精氨酸	苦	1.79±0.02	1.41±0.01
氨基酸总量		6.16±0.04	6.06±0.02



* 表示发酵前后氨基酸含量差异显著 ($P < 0.05$)

图 5 呈味氨基酸组成变化

Figure 5 Changes in flavor amino acid composition

接种量 9.6%, 发酵时间 25 h, 此条件下滨海白首乌发酵片感官评分为 89.33 分, 总酸含量为 0.726 g/100 g。滨海白首乌完整切片经发酵后, 表现出良好的体外抗氧化活性, 其醇提液总抗氧化能力可达 2.05 U/mL, 对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基的最大清除率分别为 32.18%, 45.89%。发酵前后, 白首乌片中芳香味氨基酸含量上升了 47.22%, 一定程度上改善了白首乌片原本草药味重和口感苦涩的问题。后续将开展滨海白首乌发酵片中试生产工艺探究以及其他基于滨海白首乌活性物质的产品开发。

参考文献

- CHEN W H, ZHANG Z Z, BAN Y F, et al. *Cynanchum bungei* Decne and its two related species for "Baishouwu": A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 243: 1-23.
- 张明, 沈明晨, 陈镭, 等. 白首乌的化学成分、药理作用及栽培技术综述[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(2): 22-29.
- ZHANG M, SHEN M C, CHEN L, et al. On chemical constituent, pharmacological effect and cultivation techniques of *Cynanchum bungei*: A review[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50 (2): 22-29.
- 陈其燕, 石云, 洪健. 滨海白首乌多糖的提取与药理活性研究进展[J]. 现代农业科技, 2020(19): 215-216, 220.
- CHEN Q Y, SHI Y, HONG J. Research progress on extraction and pharmacological activities of polysaccharides in *Cynanchum auriculatum*[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2020 (19): 215-216, 220.
- 李青, 董兆稀, 赵冰清. 白首乌多糖抗疲劳及耐缺氧、耐高温作用研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2012, 35(5): 76-79.
- LI Q, DONG Z X, ZHAO B Q. Effects of radix *Cynanchi bungei* polysaccharides on anti-fatigue, hypoxia tolerance and heat-resisting in mice[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2012, 35(5): 76-79.
- 陈亚, 徐晓燕. 白首乌的生物学特性及标准化栽培技术研究[J].

- 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1 730-1 731.
- CHEN Y, XU X Y. Study on biological characteristics and standardized cultivation techniques of Cynanchum auriculatum[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2014, 25 (7): 1 730-1 731.
- [6] 宋婉钰, 李勇, 李春阳, 等. 基于网络药理学及代谢产物分析白首乌对乙醇性肝损伤的作用机制[J]. 江苏农业科学, 2023, 51 (9): 166-174.
- SONG W Y, LI Y, LI C Y, et al. Study on mechanism of Cynanchum auriculatum on alcoholic liver disease based on network pharmacology and metabolite analysis [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2023, 51(9): 166-174.
- [7] 王永青, 李光荣, 刘华. 绿色防控技术在江苏滨海白首乌上的示范应用与推广[J]. 农业装备技术, 2022, 48(6): 33-35.
- WANG Y Q, LI G R, LI H. Demonstration application and promotion of green prevention and control technology on Jiangsu Cynanchum auriculatum[J]. Agricultural Equipment & Technology, 2022, 48(6): 33-35.
- [8] 徐华益. 白首乌发酵乳的制备及其抗氧化功效特性的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2020: 53.
- XU H Y. Study on preparation of CaREW fermented milk and its antioxidant properties [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020: 53.
- [9] CHAI Z, HUANG W Y, ZHAO X, et al. Preparation, characterization, antioxidant activity and protective effect against cellular oxidative stress of polysaccharide from Cynanchum auriculatum Royle ex Wight[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018(119): 1 068-1 076.
- [10] JI C X, LI X Y, JIA S B, et al. The antidepressant effect of Cynanchum auriculatum in mice[J]. Pharmaceutical Biology, 2012, 50(9): 1 067-1 072.
- [11] WANG X J, LI Z L, LU X H, et al. Antitumor evaluation and multiple analysis on different extracted fractions of the root of Cynanchum auriculatum Royle ex Wight[J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(15): 3 054-3 063.
- [12] WU Z H, WANG Y Y, MENG X, et al. Total C-21 steroid glycosides, isolated from the root tuber of Cynanchum auriculatum Royle ex Wight, attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative injury and inflammationin L02 cells [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 42(6): 3 157-3 170.
- [13] 罗珍岑. 乳酸发酵制备火棘果咀嚼片品质特性及功能作用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021: 10-12.
- LUO Z C. Research on the quality characteristics and functional effects of chewable tablets of lactic acid fermented Pyracantha fortuneana fruit[D]. Chongqing: Southwest University, 2021: 10-12.
- [14] 白莉圆. 鞣皮红枣乳酸发酵片加工工艺研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2019: 25-55.
- BAI L Y. Study on processing technology of bran and jujube lactic acid fermented tablet[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2019: 25-55.
- [15] 叶汪阳, 叶红, 吴晓娟, 等. 一种木瓜果脯片、果浆的制备方法: CN103875873B[P]. 2015-05-20.
- YE W Y, YE H, WU X J, et al. A preparation method for papaya preserved slices and pulp: CN103875873B[P]. 2015-05-20.
- [16] 李后如. 一种舒冠颗粒的制备方法: CN110624050B[P]. 2021-07-09.
- LI H R. A preparation method for Shuguan granules: CN110624050B[P]. 2021-07-09.
- [17] 陈树俊, 郑婕. 响应面优化开菲尔粒发酵复合果蔬汁工艺及体外消化特性分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(3): 150-158.
- CHEN S J, ZHENG J. Optimization of compound fruit and vegetable juice fermentation with kefir grain by response surface and analysis of digestion characteristics in vitro[J]. Food Research and Development, 2020, 41(3): 150-158.
- [18] 薛乃峰. 利用多菌种发酵结合细胞固定化技术生产黑蒜复合发酵饮料工艺研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2017: 17-18.
- XUE N F. Production of black garlic compound fermented beverage by multi-strain fermentation combined with cell immobilization technology [D]. Jinan: Oilu University of Technology, 2017: 17-18.
- [19] 吴虹艳, 孔令姝, 赵家乐, 等. 响应面法优化胡萝卜—发酵蓝莓奶片的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 100-105.
- WU H Y, KONG L S, ZHAO J L, et al. Optimization of carrot-fermented blueberry milk tablet by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40 (15): 100-105.
- [20] 陈文璐, 刘妍妍, 巩燕妮. 响应面法优化干酪风味发酵乳的发酵工艺[J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 235-242.
- CHEN W L, LIU Y Y, GONG Y N. Optimization of fermentation processing of Chinese flavor fermented milk by response surface methodology[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 235-242.
- [21] 冯康, 李爱民, 吴晓磊, 等. 玛咖多糖的提取条件及体外活性研究[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(2): 48-55.
- FENG K, LI A M, WU X L, et al. Study on optimization of maca polysaccharides extraction and in vitro antioxidant and hypolipidemic activities [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(2): 48-55.
- [22] 孙正霄, 肖顺丽, 刘陆, 等. 枸杞咀嚼片免疫调节及抗氧化活性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 46-53.
- SUN Z X, XIAO L L, LIU L, et al. Immunomodulatory and antioxidant activity of Gouqi chewable tablets[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2022, 28 (8): 46-53.
- [23] 田欢, 裴龙英, 布海丽且姆·阿卜杜热合曼, 等. 乳酸菌发酵桑椹汁工艺优化及发酵过程中功能性成分及抗氧化活性的变化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(23): 90-100.
- TIAN H, PEI L Y, BUHAILIQIEMU A, et al. Optimization of the

- fermentation process of mulberry juice by lactic acid bacteria and changes in functional components and antioxidant activity during fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(23): 90-100.
- [24] 刘畅, 左常洲, 彭菁, 等. 响应面优化植物乳杆菌发酵番茄汁工艺及其品质评估[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 246-253.
LIU C, ZUO C Z, PENG J, et al. Response surface optimization of the fermentation process of tomato juice by *Lactobacillus plantarum* and its quality evaluation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 246-253.
- [25] 颜飞翔, 朱丹, 牛广财, 等. 秋香梨果醋酸发酵工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(4): 184-188, 225.
YAN F X, ZHU D, NIU G C, et al. Optimization of acetic acid fermentation process and antioxidant activity of Qiuxiang pear vinegar[J]. Food & Machinery, 2021, 37(4): 184-188, 225.
- [26] 王玉玮, 袁亚宏, 岳田利. 雪莲菌发酵豇豆工艺优化及其挥发性风味成分分析[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 176-182, 232.
WANG Y W, YUAN Y H, YUAN T L. Process optimization of fermented cowpea by kefir grains and analysis of volatile flavor components[J]. Food & Machinery, 2021, 37(5): 176-182, 232.
- [27] 白桂英, 叶淑红, 王琛郴, 等. 黑枸杞乳酸菌饮料发酵工艺优化及功能性成分研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(4): 157-162.
BAI G Y, YE S H, WANG C C, et al. Fermentation process optimization and functional ingredients of black wolfberry lactic acid bacteria beverage[J]. China Brewing, 2022, 41(4): 157-162.
- [28] 朱立斌, 朱丹, 牛广财, 等. 毛酸浆乳酸发酵工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 50-56.
ZHU L B, ZHU D, NIU G C, et al. Lactic acid fermentation condition optimization and antioxidant activity of *Physalis Pubescens L.*[J]. Food Science and Technology, 2020, 45 (7): 50-56.
- [29] 何婉莹, 黄展锐, 赵良忠, 等. 生浆法制作豆腐的工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(10): 188-196.
HE W Y, HUANG Z R, ZHAO L Z, et al. Optimization of Tofu production from filtered raw soybean milk [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 188-196.
- [30] 李志华. 产 β -葡萄糖苷酶乳酸菌菌株的特性研究[D]. 延边: 延边大学, 2014: 5-7.
LI Z H. Study on characteristics of lactic acid bacteria strains producing β -glucosidase[D]. Yanbian: Yanbian University, 2014: 5-7.
- [31] SHAHIDI F, ALASALVAR, LIYANA PATHIRANA C M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana L.*) and hazelnut byproducts[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2007, 55(4): 1 212-1 220.
- [32] SMID E, KLEEREBEZEM M. Production of aroma compounds in lactic fermentations [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2014, 5(1): 313-326.
- [33] ARDO Y. Flavour formation by amino acid catabolism [J]. Biotechnology Advances, 2006, 24(2): 238-242.

(上接第 203 页)

- [17] 刘若诗. 乳酸菌酸面团发酵剂的制备及其发酵烘焙特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010: 5-35.
LIU R S. Studies on preparation of lactic acid sourdough starters and their fermentation and baking properties[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010: 5-35.
- [18] BUKSA K, KOWALCZYK M, BORECZEK J. Extraction, purification and characterisation of exopolysaccharides produced by newly isolated lactic acid bacteria strains and the examination of their influence on resistant starch formation[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130221.
- [19] GALLI V, MAZZOLI L, LUTI S, et al. Effect of selected strains of lactobacilli on the antioxidant and anti-inflammatory properties of sourdough[J]. Int J Food Microbiol, 2018, 286: 55-65.
- [20] BESTED A C, LOGAN A C, SELHUB E M. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: From Metchnikoff to modern advances: Part II-contemporary contextual research [J]. Gut Pathogens, 2013, 5: 3.
- [21] MIRANDA R F, DE PAULA M M, DA COSTA G M, et al. Orange juice added with L-casein: Is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters? [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 106: 186-193.
- [22] HUANG S, VIGNOLLES M L, CHEN X D, et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 63: 1-17.
- [23] ASSADPOUR E, JAFARI S M. Advances in spray-drying encapsulation of food bioactive ingredients: From microcapsules tonanocapsules [J]. In Annual Review of Food Science and Technology, 2019, 10: 103-131.
- [24] 姜甜, 陆文伟, 崔树茂, 等. 不同微囊化方法包埋双歧杆菌菌粉特性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(11): 128-134.
JIANG T, LU W W, CUI M S, et al. Characteristic analysis of different micro encapsulated *Bifidobacterium*[J]. Institute of Food Biotechnology, 2021, 42(11): 128-134.
- [25] ZHANG Z, PENG S, SUN X Q, et al. A novel insight to screen the optimal spray-drying protectants and parameters for manufacturing lactic acid bacteria preparations [J]. Drying Technology, 2020, 38 (14): 1 843-1 856.
- [26] STEFANELLO R F, MACHADO A A R, CAVALHEIRO C P, et al. Trehalose as a cryoprotectant in freeze-dried wheat sourdough production [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 89: 510-517.
- [27] CAGLAR N, ERMIS E, DURAK M Z. Spray-dried and freeze-dried sourdough powders: Properties and evaluation of their use in breadmaking[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 292: 110355.