

火龙果汁凉茶的制备品质与生产经济优化

林大成^{1a,b}, 陆明盈^{1a}, 钟捷^{1a}, 陈美花^{1a,b}, 王剑峰², 颜财发³

(1.北部湾大学 a.食品工程学院;b.广西高校北部湾特色海产品资源开发与高值化利用重点实验室,广西 钦州 535011;

2.广西灵山县宇峰保健食品有限公司,广西 灵山 535400;3.广州工商学院 商学院,广州 510800)

摘要:为解决一般果汁饮料的均匀稳定、色素保存、污染菌及料液成本等生产经济性问题,利用中药促进乳酸菌发酵火龙果汁,以正交试验优化生产条件,并进行产品储存6月保质的加速试验(accelerated test).结果显示最佳工艺组合对火龙果汁凉茶中胞外多糖(EPS)产量的影响顺序由大到小为:火龙果汁料液比1:5组,温度37℃组,pH4.0组,发酵时间16h组,此时最佳EPS产量为(1168±12)mg/L.加速实验后,最佳实验组合的各项指标皆比各对照组具有显著的乳化性(85.8±0.9)%,稳定性(99.62±0.07)%,及甜菜苷含量(78.8±0.5)mg/L($P < 0.05$),抑菌作用显示对大肠杆菌的抑菌能力最强而对金黄色葡萄球菌为最弱.研究显示原料成本可降低5倍,发酵温度可减少5℃,发酵时间可减少4h,EPS产量可提高(18.8±2.4)%,总体提高了生产成本的经济性.

关键词:火龙果;凉茶;乳酸菌;乳化性;最小抑菌浓度

中图分类号:TS201.3

文献标志码:A

现代健康养生观念的兴起,使开发绿色天然果汁饮料具有潜在市场价值,但要取代一般化学勾兑饮料仍有很大的质量改善空间,例如果汁饮料内容物的沉淀稳定^[1]、色素保质^[2-3]、食源性污染菌^[4]及原料成本^[5]等四大问题.解决问题的关键在于绿色制备与生态型保质方法.果汁饮料常见内容物的沉淀分层问题涉及均匀乳化性与稳定性^[1].对稳定性问题大都关注稳定剂的种类、浓度及添加量,并以离心沉淀率作为判断指标^[1],而少有以生物乳化剂作为生态型保质剂.色素保质问题涉及温度与酸碱性和花青素或甜菜苷色素的含量与保留率^[2-3],而少有以中药促进生物乳化,强化天然色素的保护作用.食源性污染菌问题涉及中药的活性成分、多酚类物质及多糖等对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度与抑菌圈敏感性^[6],而少有结合生物保质剂与低pH发酵的抑菌作用.原料成本问题大都关注原料添加的配方比例与制备条件优化,而少有关关注绿色制备方式与生态型保质剂.

火龙果汁凉茶属创新产品,火龙果果肉富含营养、甜菜色素及膳食纤维,具有抗氧化、降低胆固醇、预防便秘等功效.结合养生中药与益生乳酸菌发酵,适合于深加工.本研究旨在火龙果汁饮料产品的保质期限内,解决一般果汁饮料的稳定性、色素保存、污染菌及原料成本等四大问题,为创新产品从生产理论转化成商品提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

火龙果,柠檬(市售),仙草(广西灵山县宇峰保健食品有限公司),中药(山药、枸杞、红曲)(西安百庆生物科技有限公司);混合乳酸菌种(嗜酸乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜热链球菌)(山东菌乐生物科技有限公司),苯酚、浓硫酸、三氯乙酸、95%乙醇及葡萄糖等均为分析纯(广州柏研生物科技有限公司).

收稿日期:2022-02-22;修回日期:2022-04-22.

基金项目:钦州市科学研究与技术开发计划项目(20189902);2022年自治区级大学生创新创业训练计划项目(S202211607214);2021年自治区级大学生创新创业训练计划项目(S202111607043).

作者简介:林大成(1960—),男,台湾高雄人,北部湾大学教授,博士,研究方向为农产品加工与功能应用.

通信作者:颜财发, E-mail:2082135496@qq.com.

主要仪器: Evolution 201 & 220 紫外-可见分光光度计(上海谱祥科学仪器有限公司); TG16MW 台式高速离心机(湖南赫西仪器装备有限公司); AE300L-H 台式高速分散均质机(深圳市良谊实验室仪器有限公司); KTNK-80 冷冻干燥机(上海乔枫实业有限公司); DG250 密封式厌氧操作台(上海迪发仪器仪表有限公司)。

1.2 实验设计

基于先前研究火龙果汁凉茶最佳配料组合(糖添加量 140 g/L, 复方中药浓缩液添加量 30 mL/L, 乳酸菌种添加量 100 mL/L 及柠檬汁添加量 70 mL/L)的结果为基础, 再以胞外多糖产量(EPS)为指标, 利用单因素分析与正交试验进行筛选火龙果汁凉茶的最佳经济组合为实验组(EX), 探讨生产条件的优化参数。同时以仅不添加中药为控制组(CL), 仅不添加乳酸菌发酵为对照组(CK)及不添加乳酸菌与中药的火龙果汁为空白组(BK), 进行6月加速实验的各项性能评估, 包含乳化性、稳定性及抑菌作用等, 并测定甜菜苷色素含量与保留率。6月加速实验乃对实验各组在其相同条件下预做相同的6项产品再于每月进行破坏性测定试验。复方中药浓缩液制备工艺为各组分经清洗后 50 °C 烘干磨粉的样品, 分别称取干粉 5.0 g 加纯水 300 mL 熬煮浓缩成 200 mL, 3种中药浓缩液混合比例为 $V_{\text{山药}} : V_{\text{枸杞}} : V_{\text{红曲}} = 1 : 1 : 1$ 。混合乳酸菌为分别取含量 $10^9 \text{ CFU} \cdot \text{L}^{-1}$ 的3种菌混合而成, 混合比例为 $V_{\text{嗜酸乳杆菌}} : V_{\text{德氏乳杆菌保加利亚亚种}} : V_{\text{嗜热链球菌}} = 1 : 1 : 1$ 。

1.3 单因素试验与正交试验

为考量产品质量与生产经济性, 单因素试验主要考察料液比(1:1、1:2、1:3、1:4、1:5)、pH值(3.5、4.0、4.5、5.0、5.5)、发酵温度(31 °C、34 °C、37 °C、40 °C、43 °C)及发酵时间(8 h、12 h、16 h、20 h、24 h)等四因素对火龙果汁凉茶中EPS产量的影响, 其中以各因素的中间值为固定因素水平。根据单因素试验结果, 进行四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交优化试验。发酵温度选择一般微生物生长的最佳温度 37 °C 为中间值, 再各取上下差值为 3 °C 以求其差异具有显著性。

1.4 胞外多糖的提取与测定

EPS提取参考文献[7]。首先取各试验样品溶液进行抽滤, 收集滤液后加入 0.4 mol/L 的三氯醋酸 10 mL, 将锥形瓶放入冰箱 4 °C 静置 3 h 后, 取体积分数 95% 酒精以 1:2 的料液体积比抽提上清液 12 h 后, 放入冰箱 4 °C 静置 24 h, 以 5 000 r/min 离心 20 min, 离心后提取沉淀物, 再以分子量 6 000~8 000 kD 透析膜进行 24 h 透析, 最后收集透析液于冷冻干燥器中进行 72 h 干燥恒重称量, 得粗多糖干质量。胞外多糖测定参考文献[8], 采用苯酚硫酸法。首先制备葡萄糖标准曲线, 配制葡萄糖标准液(100 mg/L)后稀释 5 个梯度(5, 10, 25, 50, 100 mg/L), 以分光光度计在 490 nm 测吸光值, 在同一波长下测定多糖样品, 3 个平行取平均值, 利用葡萄糖标准曲线计算多糖质量浓度。

1.5 乳化性与稳定性测定

采用乳化指数(E_{24})法, 参考文献[7]的方法稍加修改。配制实验组与控制组各样品EPS溶液, 分别以体积比 2:3 加入色拉油混合, 进行震荡 2 min, 静置 24 h 后测量乳化层和总高度, 计算乳化指数,

$$E_{24} = (E_h/E_H) \times 100\%, \quad (1)$$

式中, E_{24} : 乳化指数(%), E_h : 乳化层高度(mm), E_H : 总溶液高度(mm)。

稳定性采用离心沉淀法, 参考文献[9], 测定离心沉淀率并同时计算稳定性。量取各试验组 5 mL 火龙果汁凉茶饮料于 10 mL 离心管中, 在 3 000 r/min 下离心 10 min, 弃去上清液, 称量沉淀质量, 计算离心沉淀率,

$$S_r = (S_m/S_s) \times 100\%, S_t = 100\% - S_r, \quad (2)$$

式中, S_r : 离心沉淀率(%), S_m : 沉淀质量, S_s : 样品质量, S_t : 稳定性(%).

1.6 甜菜色素的提取测定与保留率确定

根据甜菜苷色素含量作为产品质变的判定指标, 甜菜苷色素含量越低表示质变作用越大^[3]。火龙果汁凉茶中总甜菜苷色素含量的提取与测定参考文献[2]方法。称取一定量火龙果汁凉茶饮料置于离心管, 超声波震荡 20 min, 以 10 000 r/min 离心 10 min 提取红色素并稀释一定倍数, 与蒸馏水组进行对照, 在 535 nm 波长下测其吸光值, 计算红色素含量,

$$C = A_{535} \times M_w \times V \times D_F \times (\epsilon \times L \times W)^{-1} \times 10^5 \text{ mol} \cdot \text{cm} \cdot \text{g} \cdot \text{L}^{-2}, \quad (3)$$

式中, C : 待测样品中甜菜苷质量浓度(g/L), A_{535} : 样品在 535 nm 处的吸光度值, M_w : 标准甜菜苷摩尔分子质量, 550.46 g/mol, V : 样品溶液体积(mL), D_F : 稀释倍数, ϵ : 标准甜菜苷摩尔消光系数, L : 试管的透光路

径长度(cm), W :原料的鲜质量(g).

将不同处理的火龙果红色素提取液在 535 nm 波长下测定吸光值,计算色素保留率,

$$R/\% = (A_1/A_0) \times 100\% \quad (4)$$

式中, R :火龙果色素保留率(%), A_1 :各处理后火龙果红色素提取液在 535 nm 下的吸光值, A_0 :新鲜火龙果红色素提取液在 535 nm 下的吸光值.

1.7 最小抑菌浓度与抑菌圈测定

采用二倍稀释法参考文献[10].首先取火龙果汁凉茶的最佳实验组合(EX)100 mL, EPS 为(1 168±120) mg/L,以减压浓缩机进行 10 倍体积浓缩,得(1 136±180) mg/L,再进行 8 个梯度的二倍稀释法,稀释后的质量浓度为:(5 680±90)、(2 840±50)、(1 420±230)、(710±11)、(355±6)、(178±3)、(89±1) mg/L.同时做不加菌液的阴性对照,与不加样品的阳性对照.试验菌种包含常见的食品污染菌例如大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E.coli*, EL),金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA),志贺氏菌(*Shigella Castellani*, SC),及沙门氏菌(*Salmonella*, SM)等.

抑菌圈测定采用琼脂打孔法参考文献[11].首先以 NB 培养基进行 37 °C, 24 h 震荡培养四种污染菌,分别吸取适量污染菌液均匀涂抹于培养基.在平板上打孔 4 个后,其中一孔设置无菌水作阴性对照.将配制一定多糖溶液质量浓度(11.68±0.12) mg/mL 并稀释 5 个梯度的多糖溶液分别加入其余 3 个孔穴中,静置 3 min,放入 37 °C 培养箱培养 24 h,用游标卡尺测量抑菌圈直径,同时做对照组与控制组实验如同实验组步骤,平行 3 次试验,取平均值.本抑菌试验对象包含上述 4 种食品污染菌.抑菌圈(DI)敏感度参考文献[12]定义为:DI>20 mm 为极敏,DI:16~20 mm 为高敏,DI:11~15 mm 为中敏,DI:5~10 mm 为低敏,DI<5 mm 为极低敏,DI:0 mm 无抑菌圈为不敏感.

1.8 感官评价与产品品质分析

感官评价实验方法参考文献[13].生产发酵后产品品质分析包含微生物与理化指标的测定如乳酸菌数、可溶性固形物含量、pH、固形物含量、总糖、总酸等分别参照文献[14-18].

1.9 生产经济性的计算方法与统计分析

生产经济性的计算方法为以最优化条件对预实验条件或单因素试验的水平条件之差值与最优化条件的百分比,并以影响 EPS 产量无显著差异的验证条件为依据.

每一试验皆做 3 重复试验,方差分析利用软件 SPSS 26 处理,数据分析采用 Duncan 多重比较在 95%或 99%水平的统计显著差异.

2 结果与分析

2.1 EPS 产量的单因素分析

2.1.1 料液体积比对 EPS 产量的影响

火龙果汁料液体积比对 EPS 产量的影响如图 1(a)所示.随着料液体积比的增加, EPS 的产量呈先上升后下降并趋平缓的现象.一般乳酸菌 EPS 属代谢副产物,通常于稳定期产生^[19-20].开始阶段料液体积比 1:1 营养丰富,乳酸菌的生长最为旺盛,处于生长对数期, EPS 产量最少.当料液体积比 1:3 时乳酸菌的生长平稳, EPS 产量最高达(1 178±20) mg/L.由于料液体积比 1:5 与 1:4 的 EPS 产量(1 038±18) mg/L 和(1 056±19) mg/L 二者并无显著差异($p>0.5$),但显著高于料液体积比 1:2 者(987±17) mg/L($P<0.5$),因此从成本经济考量,取水平 3,4 和 5 为佳,以进行正交试验.

2.1.2 pH 对 EPS 产量的影响

pH 对 EPS 产量的影响如图 1(b)所示, pH 值大约与 EPS 产量呈负相关.随着初始环境 pH 值的增加, EPS 的产量呈先上升后下降的趋势.一般乳酸菌生产 EPS 的最佳 pH 在 3.5~5.5 之间^[20].当 pH 低于 4.0 时,酸度低抑制乳酸菌的生长,但有利于 EPS 生产,因此 EPS 产量相对高于对数生长期^[20].当 pH 高于 4.0 时,乳酸菌繁殖旺盛处于对数生长期,不利于乳酸菌 EPS 的生成,因此 EPS 产量低.当 pH 为 4.0 时,乳酸菌的生长最稳定, EPS 的产量最高达(1 156±15) mg/L,与其他 pH 值的产量相比具有显著差异($p<0.05$),此

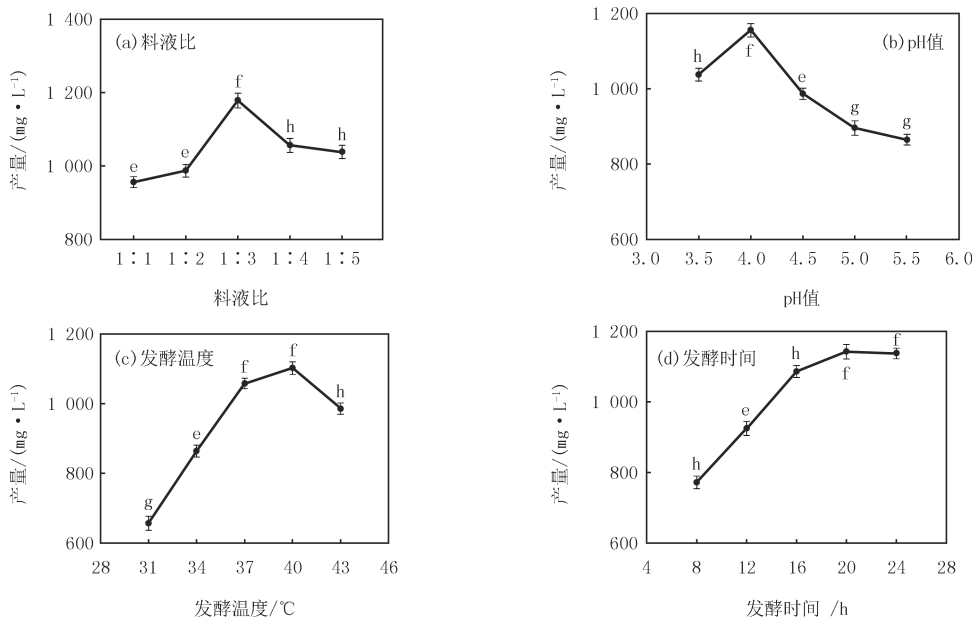
时发酵作用最为旺盛,最适合 EPS 的生产,故最适 pH 值为 4.0.

2.1.3 发酵温度对 EPS 产量的影响

EPS 产量随发酵温度升高而呈先上升后下降的趋势(图 1(c)).当发酵温度达 40 °C 时,乳酸菌的生长最为稳定,EPS 产量最高达(1 102±15) mg/L,而一般微生物生长的最佳温度为 37 °C.故除 37 °C 外与其他温度的产量相比具有显著差异($p < 0.05$),因此,最佳 EPS 产量的温度为 40 °C 左右.适当的发酵温度可使中药中活性物质释出,以刺激乳酸菌外源性酶充分分解营养基质,促进 EPS 产量^[21].

2.1.4 发酵时间对 EPS 产量的影响

发酵液中 EPS 的产量随着发酵时间延长而增加后呈稳定的趋势.如图 1(d)所示,8~16 h 乳酸菌处于快速生长的对数期,于 16~20 h 后达稳定期,20 h 后 EPS 产量也达到最高,此时 EPS 产量为(1 152±21) mg/L.因此,最适发酵时间约为 20 h,除 24 h 外与其他发酵时间的产量相比具有显著差异($p < 0.05$).充足的发酵时间可使内源性酶充分进行生化反应,以促进乳酸菌发酵作用生产 EPS^[22].



图中不同小写字母表示具有统计显著差异($P < 0.05$).

图1 单因素试验各因素对胞外多糖产量的影响

Fig.1 Effect of factors on exopolysaccharide production in single factor test

2.2 EPS 产量的正交分析

由单因素分析结果见表 1,据此进行四因素三水平的正交优化试验,结果如表 2 所示.各因素对 EPS 产量影响的主次顺序由大到小为 A(料液体积比),C(发酵温度),B(pH),D(发酵时间),即料液体积比对 EPS 产量影响最大,其次为发酵温度,再次为 pH,发酵时间的影响最小.最优组合为 A3B1C1D2,即料液体积比 1:5,

pH=4.0,发酵温度 37 °C,发酵时间 20 h.适当的料液体积比供应营养,可使乳酸菌生长稳定而不会过度生长繁殖,以最经济的原料产生最大量的 EPS.最佳的 pH 值可抑制乳酸菌过度繁殖使其生长处于稳定期,又可抑制杂菌生长.以较低的发酵温度与适当的发酵时间,可降低乳酸菌发酵的能源消耗,对 EPS 生产最具经济效益.

表 1 火龙果汁凉茶正交试验因素水平

Tab. 1 Factors level of pitaya juice herbal tea in orthogonal test

水平	因素			
	A	B	C/°C	D/h
1	1:3	4.0	37	16
2	1:4	4.5	40	20
3	1:5	5.0	43	24

表 2 正交试验结果与分析
Tab. 2 Result and analysis of orthogonal test

试验号	因素 A	因素 B	因素 C/℃	因素 D/h	EPS 产量/(mg · L ⁻¹)	试验号	因素 A	因素 B	因素 C/℃	因素 D/h	EPS 产量/(mg · L ⁻¹)
1	1:3	4.0	37	16	983±10	8	1:5	4.5	37	24	1 183±17
2	1:3	4.5	40	20	934±11	9	1:5	5.0	40	16	956±19
3	1:3	5.0	43	24	821±15	k ₁	913	978	1016	906	
4	1:4	4.0	40	24	876±13	k ₂	846	965	933	964	
5	1:4	4.5	43	16	779±12	k ₃	1072	887	896	960	
6	1:4	5.0	37	20	883±18	R	226	92	119	59	
7	1:5	4.0	43	20	1 077±16						

2.3 结果验证与方差分析

由附表 I 方差分析可知,在不考虑交互作用的情况下,液料体积比、pH、发酵温度及发酵时间对火龙果汁凉茶 EPS 产量都有极显著的影响($p < 0.01$),再次验证液料体积比对 EPS 产量的影响最大,而发酵时间影响最小。由于发酵时间的影响最小,故考虑生产经济性可弹性调整发酵时间范围为 16~20 h。故由正交试验得 EPS 产量的最佳组合为 A3B1C1D2,但因此组合不在正交表上,故进行验证试验,得到产量为(1 178±14) mg/L 与最大产量组合(A3B2C1D3)的(1 183±17) mg/L 并无显著差异($p > 0.05$),因此验证可行,即最适生产 EPS 的经济效益组合为液料体积比 1:5, pH4.0、温度 37℃及发酵时间 20 h。由于发酵时间的影响最小,故再验证 A3B1C1D1 得 EPS 产量为(1 168±12) mg/L 与最大产量组合(A3B2C1D3)的(1 183±17) mg/L 亦并无显著差异($p > 0.05$),因此验证也可行。故料液体积比可从 1:1 调理为 1:5,原料成本可降低 5 倍;发酵温度可从 42℃调降至 37℃,减少 5℃能源;发酵时间从 20 h 调降为 16 h,可减少 4 h 生产时间;EPS 产量可从(983±10) mg/L 提高为(1 168±12) mg/L,增加(18.8±2.4)%,故最适生产 EPS 的经济效益组合为液料比 1:5、pH4.0、温度 37℃及发酵时间 16 h。总体可提高生产成本的经济性。

2.4 乳化性分析

乳化性可评估产品内容物的分布均匀性,可根据乳化指数(E_{24})作为产品乳化效果的判定指标,乳化指数越大表示乳化效果越佳,即火龙果汁凉茶饮料的料液均匀分布越佳,且与胞外多糖的产量有关^[23]。在 6 月的加速实验中,乳化性分析结果如图 2 显示,最佳组合的实验组(EX)皆比对照组(CL)与控制组(CK)及空白组(BK)具有较良好的乳化性,各月数值(85.8±0.9)%至(86.5±0.8)%并无显著差异;而仅不添加中药的控制组(CL)与仅不添加乳酸菌的对照组(CK)均无法维持平稳的乳化性,曲线逐渐呈下降趋势,因此唯有二者的协同作用产生足够的胞外多糖以维持乳化稳定;另外中药里的山药富含黏性蛋白多糖,可增加乳化液黏性,有利于形成具强度的界面膜,可促进与水的亲和力,以维持平稳的乳化性^[23-25],故以中药强化乳酸菌可提高胞外多糖产量,增加体系黏度以提高产品的乳化性而维持料液内容物的分布均匀性^[25]。

2.5 稳定性分析

一般酸性含乳饮料常见沉淀或分层的质量问题。而产品的稳定性可以利用离心沉淀率作为判定的指标。沉淀率与体系的稳定性成反比,离心沉淀率越低稳定效果越佳。在 6 月的加速实验中,稳定性分析结果如图 3 显示,最佳组合的实验组(EX)皆比对照组(CL)与控制组(CK)及空白组(BK)具有较良好的稳定性,且各月数值(99.62±0.07)%至(99.67±0.03)%并无显著差异;而仅不添加中药的控制组(CL)与仅不添加乳酸菌的

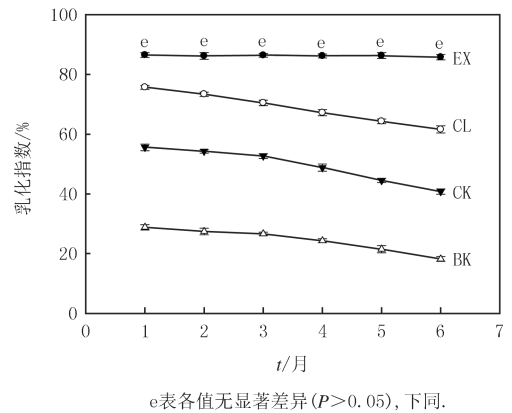


图2 火龙果汁凉茶的乳化性分析

Fig.2 Emulsification analysis of pitaya fruit juice herbal tea

对照组(CK)均无法长久维持良好的稳定性,沉淀率曲线呈逐渐上升趋势,因此唯有二者的协同作用产生较多的胞外多糖,使具有较高的乳化性得以维持良好的稳定效果^[24].故中药强化乳酸菌发酵作用可提高胞外多糖产量,以增强产品的稳定性,维持产品内容物不致沉淀分层.与魏然等^[9]研究比较,以离心沉淀率考察乳酸菌饮料的最佳稳定性为 0.45%,该研究最佳组合的实验组(EX)约为 0.33%~0.38%,结果稍优,推论中药促进乳酸菌的协同作用提高胞外多糖产量涉及均质与抽滤等工艺的联合作用.由于饮料颗粒直径越小,沉降速度越小,饮料溶液在乳化体系中越趋稳定^[25-26].

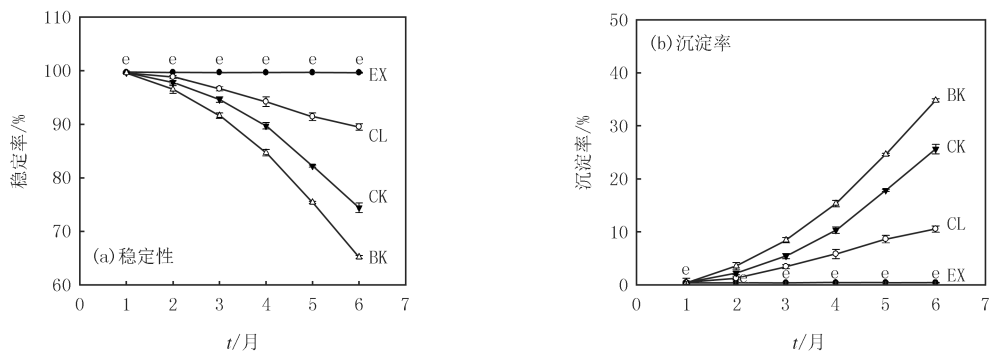


图3 火龙果汁凉茶的稳定性分析

Fig.3 Stability analysis of pitaya fruit juice herbal tea

2.6 甜菜苷色素含量与保留率分析

火龙果具有丰富的甜菜苷红色素但对光热缺乏稳定性且易受氧化而褪色,因此甜菜苷含量可作为评估产品质变的指标之一.在 6 月的加速实验中,甜菜苷色素含量分析如图 4 所示,最佳组合的实验组(EX)皆比对照组(CL)、控制组(CK)及空白组(BK)具有较高且稳定的甜菜苷色素含量(78.8±0.5)~(80.4±0.4) mg/L,各月数值(98.01±0.63)%至(100.25±0.87)%并无显著差异;而仅不添加中药的控制组(CL)与仅不添加乳酸菌的对照组(CK)均无法维持平稳的甜菜苷色素含量,曲线逐渐呈下降趋势,因此唯有二者的共同作用生产足够的胞外多糖,得以维持平稳的甜菜苷色素含量,且能使火龙果汁释放出更多的甜菜苷色素,其保留率在 6 月后仍可达(98.01%±0.63)%,如图 5 所示,各月数值并无显著差异,此与文献[3]在低温低酸性环境的保留率(100±10.0)%结果相似,推测该研究与胞外多糖的乳化作用、枸杞多糖与中药多酚类物质的抗氧化护色效果及乳酸菌发酵产生乳酸形成酸性环境有关^[2,27].故中药强化乳酸菌可提高胞外多糖产量与总酚含量,以增强产品的甜菜苷色素含量以维持产品的质量.李霞等^[2]以加入抗坏血酸促进丙二甜菜苷的转化,而保持甜菜苷含量达成护色效果,与该研究产生胞外多糖的抗氧化效果相同.一般火龙果 pH 在 3.5~5.5 时色素最稳定^[28],此阶段为乳酸菌胞外多糖高产量的稳定期,而且胞外多糖具有乳化稳定甜菜苷的护色作用^[3].因此保持酸性、低温、避光和隔氧可达到防止甜菜苷色素质变的目的^[29-30].

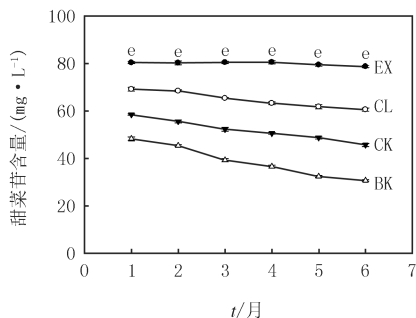


图4 火龙果汁凉茶甜菜苷的含量分析

Fig.4 Analysis of betanin content in pitaya juice herbal tea

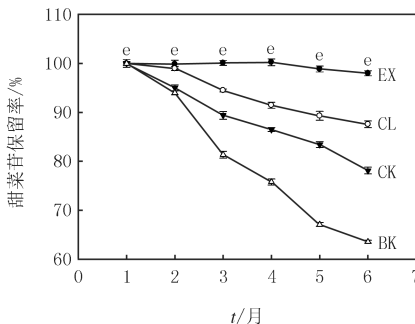


图5 火龙果汁凉茶甜菜苷的保留率分析

Fig.5 Analysis for retention rate of betanin in pitaya juice herbal tea

2.7 抑菌作用分析

以最佳组合的实验组(EX)进行抑菌作用分析,结果见附表 II 和 III,最小抑菌质量浓度(MIC)(mg/L)的

大小顺序为大肠杆菌(0.355 ± 0.006) mg/L < 志贺氏菌(0.710 ± 0.011) mg/L < 沙门氏菌(1.42 ± 0.23) mg/L < 金黄色葡萄球菌(5.68 ± 0.09) mg/L, 此与 HEYDARIAN 等^[31]的研究结果相似. 显示抑菌作用以对大肠杆菌(EL)为最强, 而对金黄色葡萄球菌(SA)为最弱. 对大肠杆菌而言, 该研究最小抑菌浓度为 MIC: (0.355 ± 0.006) mg/L 与阿木古楞等^[6]研究结果 MIC: 31.50 mg/L, 比较结果抗性优于后者, 与孙长花等^[11]研究结果 MIC: 62.50 mg/L 比较也有更优的效果. 由于金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌, 其细胞壁中肽聚糖壁较革兰氏阴性菌的大肠杆菌为厚, 不易为多糖所溶解破坏而表现出较强的抗性, 导致具有较大的 MIC^[31].

抑菌圈由大到小为大肠杆菌(EL), 志贺氏菌(SC), 沙门氏菌(SM), 金黄色葡萄球菌(SA), 各菌的抑菌圈与抑菌浓度呈量效关系($R^2 = 0.9832 \sim 0.9878$), 抑菌圈随抑菌浓度的增加而增大. 从敏感度分析以(11.36 ± 0.18) g/L 为基础, 大肠杆菌(21.2 ± 0.6) mm 属极高敏, 志贺氏菌(18.2 ± 0.7) mm 与沙门氏菌(15.7 ± 0.8) mm 属高敏, 金黄色葡萄球菌(10.4 ± 0.5) mm 属中敏. 当抑菌质量浓度为(11.36 ± 0.18) g/L 时, 二者抑制圈分别为(21.2 ± 0.6) mm 与(10.4 ± 0.5) mm, 前者对后者大约有2倍的抑制效力, 此亦与 HEYDARIAN 等^[31]的研究结果相当. 与已有研究比较^[6,11], 该研究结果 DI(11.36 ± 0.18) g/L: (21.2 ± 0.6) mm, 呈现抑菌浓度小而抑菌圈大的效果. 故推论为中药与乳酸菌的协同作用所致^[21], 表现出良好的抑菌活性, 此可能与该研究含有胞外多糖的生物活性成分有关, 或与中药促进乳酸菌发酵产生外源性酶增强抑菌活性有关, 因为中药中红曲发酵后可产生辅酶 Q10, 是细胞代谢与细胞呼吸的激活剂^[27]. 另外乳酸菌发酵的作用更能促进柠檬中的有机酸、火龙果中的花青素, 酚类等抑菌活性物质的释出, 皆能使抑菌效果大为增强, 故抑菌作用除胞外多糖外乃前述多种抑菌活性物质的综合效果.

2.8 感官评价与产品品质分析

经济性优化产品发酵后的感官评分结果与原生产发酵条件的最佳配方组合分别为(91.8 ± 1.2)分、(92.5 ± 1.6)分, 并无显著差异, 因此验证可行. 最佳产品品质分析结果显示乳酸菌数量为 2.2×10^{11} CFU · L⁻¹、pH 为(4.0 ± 0.2)、可溶性固形物含量: (16.3 ± 0.5)%、不溶性固形物含量: (0.36 ± 0.05)%、总糖含量: (14.2 ± 0.8)%、总酸(以醋酸计): (1.28 ± 0.12) mg/L.

3 结 论

最佳实验组(EX)对各组实验(CL、CK、BK)的各项指标: 乳化性, 稳定性, 甜菜苷含量及甜菜苷保留率等分别提升了 1.1~1.5 倍, 27.6~91.6 倍, 1.4~4.7 倍及 1.1~1.5 倍, 而对食源性污染指标菌的大肠杆菌具有最大的抑菌圈与最小的抑菌浓度. 在生产经济性方面, 结果显示在果汁原料成本, 发酵温度能源及发酵时间等分别提高了 80%, 12%, 20% 的经济性.

附 录

附表 I ~ III 见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.04.017).

参 考 文 献

- [1] 王丽萍, 颜向红, 米江, 等. 枸杞饮料乳酸发酵工艺优化及其风味物质分析[J]. 河南农业大学学报, 2020, 54(1): 140-149.
WANG L P, XIE X H, MI J, et al. Optimization of lactic acid fermentation and analysis of flavor substances of Goji berry beverage[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2020, 54(1): 140-149.
- [2] 李霞, 张小辉, 郑健沛, 等. 抗坏血酸对火龙果红色素稳定性的影响[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(12): 152-159.
LI X, ZHANG X H, ZHENG J P, et al. Effect of ascorbic acid on the stability of red pigment in pitaya[J]. China Food Additives, 2019, 30(12): 152-159.
- [3] SIOW L F, WONG Y M. Effect of juice concentration on storage stability, betacyanin degradation kinetics, and sensory acceptance of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) juice[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(3): 623-632.
- [4] 郭换丽, 余元善, 吴继军, 等. 二甲基二碳酸盐联合 Nisin 对荔枝汁中几种污染菌的杀菌作用[J]. 食品科技, 2014, 39(8): 246-250.
GUO H L, YU Y S, WU J J, et al. Inactivation of several bacteria in litchi juice by DMDC combined with Nisin[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(8): 246-250.
- [5] 周春峰, 郭倩, 吕行, 等. 红枣汁/饮料发酵过程中抗氧化活性变化的研究[J]. 河南农业大学学报, 2019, 53(6): 973-977.

- ZHOU C F, GUO Q, LYU X, et al. Study on the changes of antioxidant activity during the fermentation of red jujube juice[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2019, 53(6): 973-977.
- [6] 阿木古楞, 李子健, 裴乐, 等. 7味蒙药对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌体外抑菌试验研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2020, 41(4): 101-106.
AMUGULENG, LI Z J, PEI L, et al. Antibacterial effects of seven kinds of Mongolian medicines against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in vitro[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2020, 41(4): 101-106.
- [7] 林大成, 张帆, 陈群昌. 以中草药促进乳酸菌发酵胞外多糖的抗氧化功能[J]. 泉州师范学院学报, 2017, 35(2): 45-52.
LIN D C, ZHANG F, CHEN Q C. Using Chinese herbal medicine to promote the antioxidant functions of exopolysaccharides fermented by lactic acid bacteria[J]. Journal of Quanzhou Normal University, 2017, 35(2): 45-52.
- [8] 王贺, 宋文刚, 任婷, 等. 血红铆钉菇多糖分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2019, 20(1): 64-67.
WANG H, SONG W G, REN T, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of *Chroogomphus rutilus* polysaccharides[J]. Journal of Beihua University(Natural Science), 2019, 20(1): 64-67.
- [9] 魏然, 杨天子, 杜明月, 等. 藜麦益生菌饮料的稳定性及芳香成分研究[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(4): 513-518.
WEI R, YANG T Y, DU M Y, et al. Study on the stability and aromatic composition of quinoa probiotic beverage[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2020, 47(4): 513-518.
- [10] 戴航宇, 滕春莹, 张荣涛. 桦褐孔菌多酚抑菌活性分析研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(11): 109-115.
DAI H Y, TENG C Y, ZHANG R T. Antibacterial activity of polyphenols from *Inonotus obliquus*[J]. China Brewing, 2020, 39(11): 109-115.
- [11] 孙长花, 丁娟芳, 王君, 等. 迷迭香提取液的抑菌作用及稳定性研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(11): 42-45.
SUN C H, DING J F, WANG J, et al. Study on antibacterial effect and stability of rosemary extract[J]. China Condiment, 2020, 45(11): 42-45.
- [12] 倪晓霞, 叶财发, 沈秋莲, 等. 复方黄连灌肠液体外抑菌活性的研究[J]. 中药导报, 2020, 26(15): 25-28.
NI X X, YE C F, SHEN Q L, et al. Study on antibacterial activity of Fufang Huanglian guanchangye in vitro[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2020, 26(15): 25-28.
- [13] 林大成, 万一来, 陈静, 等. 火龙果汁凉茶的制备及抗氧化分析[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(5): 77-84.
LIN D C, WAN Y L, CHEN J, et al. Preparation of Pitaya juice herbal tea and analysis of antioxidant activity[J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2021, 42(5): 77-84.
- [14] 生态环境部. 水质 细菌总数的测定 平皿计数法: HJ 1000—2018[S]. 北京: 中国环境出版社, 2018.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品 pH值的测定: GB 5009.237—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [16] 中华人民共和国轻工业部. 罐头食品净重和固形物含量的测定: QB 1007—1990[S]. 北京: 中国轻工业出版社, 1991.
- [17] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 食用菌中总糖含量的测定: GB/T 15672—2009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [18] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总酸的测定: GB 12456—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [19] 胡盼盼, 宋微, 单毓娟, 等. 影响乳酸菌胞外多糖产量的因素[J]. 食品科技, 2014, 39(9): 31-37.
HU P P, SONG W, SHAN Y J, et al. Factors contributing to the yield of exopolysaccharide by lactic acid bacteria[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(9): 31-37.
- [20] YANG Z N, LI S Y, ZHANG X, et al. Capsular and slime-polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* JAA58 isolated from Chinese sauerkraut: potential application in fermented milk products[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2010, 110(1): 53-57.
- [21] 林大成, 张玲玲, 张自然, 等. 中药优化生物保鲜剂的制备及其活性成分分析[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2020, 41(5): 85-90.
LIN D C, ZHANG L L, ZHANG Z R, et al. Preparation of biological preservative optimized by Chinese herbal medicine and analysis of bioactive components[J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2020, 41(5): 85-90.
- [22] 郭红莲, 邢紫娟, 余巧银, 等. 天然枸杞酵素发酵的代谢产物分析[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(5): 48-55.
GUO H L, XING Z J, YU Q Y, et al. Analysis of metabolites produced by ferment of natural *Lycium barbarum* L[J]. Food Research and Development, 2018, 39(5): 48-55.
- [23] 赵俪颖, 张丽, 王春燕, 等. 玉竹多糖复合果汁饮料的配方优化及稳定性研究[J]. 中国果菜, 2020, 40(7): 20-25.
ZHAO L Y, ZHANG L, WANG C Y, et al. Study on formula optimization and stability of *Polygonatum odoratum* polysaccharide and juice compound beverage[J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(7): 20-25.
- [24] GEE R P. Emulsion polymerization of dimethylcyclosiloxane in cationic emulsion: mechanism study utilizing two phase liquid-liquid reaction kinetics[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015, 481: 297-306.
- [25] 曹永强, 张健, 赵雯, 等. 植物乳杆菌胞外多糖的分离纯化及其乳化特性[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 7-13.
CAO Y Q, ZHANG J, ZHAO W, et al. Isolation, purification and emulsifying properties of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Science, 2016, 37(17): 7-13.
- [26] 张伟, 苗杰, 胡中楠. 全银杏粉饮料配方的模糊数学法优化及其稳定性研究[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(5): 127-134.
ZHANG W, MIAO J, HU Z N. Optimizing the formula and stability of whole *Ginkgo* powder beverage by fuzzy mathematics[J]. Storage and Process, 2020, 20(5): 127-134.
- [27] 庄明珠, 刘青茹, 李婉霞, 等. 多酚类物质和金属离子对火龙果果皮色素稳定性的影响[J]. 现代食品科技, 2011, 27(11): 1320-1324.

- ZHUANG M Z, LIU Q R, LI W X, et al. Effects of polyphenols and metal ions on the stability of pigment from pitaya[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2011, 27(11): 1320-1324.
- [28] 仲冉, 何珺. 红肉火龙果中两种甜菜苷色素稳定性研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(15): 16-19.
- ZHONG R, HE J. Research on stability of two betanin pigments from flesh of red-fleshed pitaya[J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(15): 16-19.
- [29] 熊勇, 张水军, 李冬梅. 甜菜红色素提取工艺及其稳定性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2015(6): 79-85.
- XIONG Y, ZHANG S J, LI D M. Study on the extraction process and stability of beet red pigment[J]. *China Food Additives*, 2015(6): 79-85.
- [30] 马丹雅, 赵晶, 姚晶, 等. 仙人掌果红色素提取工艺及其稳定性研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(23): 214-217.
- MA D Y, ZHAO J, YAO J, et al. Study on extraction technology and stability of red pigment from cactus fruit[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(23): 214-217.
- [31] HEYDARIAN M, HOSSEIN J, BEHZAD N, et al. Characterization of *Hypericum perforatum* poly-saccharides with antioxidant and antimicrobial activities: Optimization based statistical modeling[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017(104): 287-293.

Optimization in preparation quality and economic production of pitaya juice herbal tea

Lin Dacheng^{1a,b}, Lu Mingying^{1a}, Chong Lou^{1a}, Chen Meihua^{1a,b}, Wang Jianfeng², Yan Caifa³

(1. a. College of Food Engineering; b. Guangxi Colleges and University Key Laboratory of Development and High-value Utilization of Beibu Gulf Seafood Resources, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China; 2. Guangxi Lingshan Yufeng Health Food Co., Ltd., Lingshan 535400, China; 3. School of Business, Guangzhou College of Technology and Business, Guangzhou 510800, China)

Abstract: In order to solve the quality problems and production economy of common fruit juice beverage, such as uniform stability, pigment preservation, polluted bacteria and material cost. Chinese herbal medicine(CHM) was used to promote the fermentation of pitaya juice by lactic acid bacteria(LAB). Orthogonal test was used to optimize the production conditions, and 6 months accelerated storage test was also conducted to quality evaluation. Results of the optimal process group showed that the order of the effect on exopolysaccharides (EPS) yield of pitaya juice herbal tea(PJHT) was: ratio of pitaya juice material to liquid 1 : 5, temperature 37 °C, pH 4.0, fermentation time 16 h, and the optimal EPS yield was $(1\ 168 \pm 12) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. After the accelerated experiment, indexes to the optimal experimental group were significantly ($P < 0.05$) higher than those of the control group and the blank group in emulsification $(85.8 \pm 0.9) \%$, stability $(99.62 \pm 0.07) \%$, and betanin content $(78.8 \pm 0.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Bacteriostatic effects display *Escherichia coli* was the best and *Staphylococcus aureus* was the weakest. Based on the results of the experiment, the materials cost reduced 5 times; the fermentation temperature reduced 5 °C energy; the fermentation time reduced 4 h; the EPS production increased $(18.8 \pm 2.4) \%$, and the relative product quality improved by about 20%. Overall, the economy of production costs has been improved.

Keywords: pitaya; herbal tea; lactic acid bacteria; emulsification; minimum inhibitory concentration

[责任编辑 刘洋 杨浦]

附表 I 火龙果汁凉茶正交试验的方差分析

Attached Tab. I Variance analysis of orthogonal experiment in pitaya juice herbal tea

方差源	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
A	243 175	2	121 587	542	<0.01	**
B	44 307	2	22 153	99	<0.01	**
C	75 158	2	37 579	167	<0.01	**
D	19 130	2	9 565	43	<0.01	**
误差	4 041	18	225			
总计	385 811	26				

注:**表示 $p < 0.01$.

附表 II 最佳实验组对 4 株菌种的最小抑菌质量浓度

Attached Tab. II Minimum inhibitory concentration for 4 strains in the optimal experimental group

抑菌质量浓度/(g·L ⁻¹)	大肠杆菌(EL)	志贺氏菌(SC)	沙门氏菌(SM)	金黄色葡萄球菌(SA)	阴性对照	阳性对照
11.36±0.18	—	—	—	—	—	+
5.68±0.09	—	—	—	—*	—	+
2.84±0.05	—	—	—	+	—	+
1.42±0.23	—	—	—*	+	—	+
0.710±0.011	—	—*	+	+	—	+
0.355±0.006	—*	+	+	+	—	+
0.178±0.003	+	+	+	+	—	+
0.089±0.001	+	+	+	+	—	+

注: +、—分别表菌种生长与抑制状态,*表最小抑菌质量浓度(MIC).

附表 III 最佳实验组对 4 株菌种的抑菌圈直径

Attached Tab. III Diameter of inhibition zone for 4 strains in the optimal experimental group

抑菌质量浓度/ (g·L ⁻¹)	抑菌圈直径(DI)/mm				
	大肠杆菌(EL)	志贺氏菌(SC)	沙门氏菌(SM)	金黄色葡萄球菌(SA)	对照组
11.36±0.18	21.2±0.6	18.2±0.7	15.7±0.8	10.4±0.5	—
5.68±0.09	18.8±0.4	16.4±0.8	12.5±0.9	7.8±0.6	—
2.84±0.05	13.6±0.7	12.8±0.6	9.8±0.4	—	—
1.42±0.23	9.7±0.8	8.5±0.9	5.7±0.7	—	—
0.710±0.011	7.4±0.5	5.2±0.4	—	—	—
0.355±0.006	4.7±0.9	—	—	—	—

注: —表菌种生长无抑菌圈.