

# 酵素食品微生物指标与主要功效酶及有机酸分析

张梦梅<sup>1</sup>, 刘芳<sup>1</sup>, 胡凯弟<sup>1</sup>, 胡露<sup>1</sup>, 刘金霞<sup>1</sup>, 张美佳<sup>1</sup>, 刘书亮<sup>1,2\*</sup>

1(四川农业大学 食品学院, 四川 雅安, 625014) 2(四川农业大学 食品加工与安全研究所, 四川 雅安, 625014)

**摘要** 为了解不同原料自然发酵酵素食品中微生物组成, 评价市售酵素食品的理化指标、微生物指标、主要功效酶活力和有机酸组成, 对 23 份发酵期酵素样品进行酵母菌数、乳酸菌数和醋酸菌数测定, 对 4 种市售酵素食品进行总酸、可溶性固形物含量、微生物指标及蛋白酶、脂肪酶、 $\alpha$ -淀粉酶、超氧化物歧化酶活力测定, 并采用高效液相色谱法对其有机酸的种类及含量进行分析。结果表明, 发酵期酵素中广泛存在酵母菌、乳酸菌和醋酸菌; 市售酵素食品的功效酶活力偏低, 主要有机酸为草酸、苹果酸、乳酸和乙酸。结论: 市售酵素食品质量参差不齐, 功效酶活力较低, 与其宣传功效不符。该研究为了解酵素食品品质、正确看待酵素食品提供了数据参考。

**关键词** 酵素食品; 微生物; 酶活; 有机酸

酵素, 实际上是“酶”的旧译, 是由生物体产生的具有催化活性的大分子, 参与人体新陈代谢、机体免疫和组织修复等生命活动。酵素食品是指以一种或多种新鲜蔬菜、水果、菌菇、药食同源中草药等为原料, 经多种有益菌发酵而成的功能性产品, 含有丰富的酶、维生素、矿物质和次生代谢产物等营养成分<sup>[1]</sup>。具有改善肠胃功能<sup>[2-3]</sup>、增强机体免疫力<sup>[4]</sup>、美白抗衰<sup>[5]</sup>等功能。酵素食品的原料丰富, 产品种类多样, 如酵素原液、酵素粉、酵素片、酵素饮料等。近年来, 学者对酵素的发酵工艺和酵素食品的抗氧化性进行了较多研究。酵素食品发酵工艺有自然发酵和人工接种发酵两种, 人工接种发酵根据发酵剂的不同可以分为单一菌种发酵<sup>[6]</sup>和多菌混合发酵<sup>[7]</sup>。酵素食品普遍具有较好的抗氧化性, 发酵过程中抗氧化性能总体呈现上升趋势<sup>[8]</sup>。

酵母菌、乳酸菌和醋酸菌为发酵食品中的常见微生物, 三者之间共同作用可以形成独特风味。如民间传统茶饮料“红茶菌”即是由酵母菌、乳酸菌和醋酸菌组成的共生体系将糖和茶叶发酵而成<sup>[9]</sup>; 食醋的酿造也是常见的多菌发酵体系。酶活是酵素的主要质量指标, 蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是酵素类食品的主要功效酶。其中 SOD 酶活性是评价酵素品质优劣的重要指标之一, 也是各品牌在保健功效上的宣传重点。有机酸是大分子化合物的代谢产物, 在发酵食品香味的

形成中起着重要作用<sup>[10]</sup>。近年来关于酵素食品中有机酸成分的研究鲜见报道, 仅蒋增良<sup>[11]</sup>对葡萄酵素、蓝莓酵素、树莓酵素中有机酸的种类及含量进行了分析, ARUN 等<sup>[12]</sup>测定了环保酵素不同发酵阶段的有机酸含量, 酵素食品中有机酸来源于果蔬原料及有益菌的代谢产物。

本研究分析了不同原料的酵素发酵期的微生物组成, 对国内市售的 4 种不同品牌、不同原料的液体酵素进行了理化指标、微生物指标、主要功效酶活性测定和有机酸成分分析, 对液体酵素产品质量进行了初步评价, 以期对液体酵素食品品质研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

发酵期酵素 1 ~ 23 号(发酵时间约为 30 ~ 180 d); 市售酵素 A、B、C、D。

表 1 发酵期酵素原料

Table 1 The raw material of leaven in fermentation period

样品编号	原料	样品编号	原料
1	西胡瓜、黄瓜、莴笋、食糖	13	梨子、食糖
2	西胡瓜、黄瓜、莴笋、食糖	14	牡丹根、食糖
3	茄子、南瓜、食糖	15	赶黄草、食糖
4	西红柿、茄子、黄瓜、食糖	16	松针、食糖
5	野西红柿、食糖	17	牡丹花蕾、食糖
6	西兰花、食糖	18	赶黄草、食糖
7	西胡瓜、黄瓜、食糖	19	赶黄草、食糖
8	莴笋、食糖	20	红景天、银杏果、食糖
9	西胡瓜、黄瓜、莴笋、食糖	21	木瓜、牡丹花、食糖
10	黄瓜、食糖	22	茄子、松茸、食糖
11	茄子、食糖	23	梨、秋葵、食糖
12	西胡瓜、黄瓜、莴笋、食糖		

第一作者: 硕士研究生(刘书亮教授为通讯作者, E-mail: lsliang999@163.com)。

基金项目: 四川省农业科技成果转化资金项目(编号: 14NZ0012)

收稿日期: 2017-02-24, 改回日期: 2017-03-27

表2 市售酵素原料

Table 2 The raw material of commercially available leaven

样品编号	原料
A	西红柿、食糖
B	赶黄草、食糖
C	苹果、胡萝卜、白萝卜、卷心菜、早芹、黄瓜、香蕉、菠菜、圆葱、南瓜、西红柿、绿豆芽、青椒、茄子、莲藕、香菇、生菜、生姜、大蒜、鸭儿芹、橘子、苜蓿、昆布、紫菜、蒲公英、莴苣、油菜、西葫芦、茼蒿、油麦菜、苹果梨、菠萝、山楂、沙果、葡萄、冬枣、草莓、猕猴桃、紫薯、茶树菇、蟹味菇、白玉菇、杏鲍菇、金针菇、苦苣、西兰花、小白菜、香葱、白菜、紫苏、韭菜、食糖
D	紫糙米、甜菜根、葛根、红景天、桑葚、洛神花、石榴、神秘果、山楂、银杏果、紫苏、梅子、凤梨、南瓜、苦瓜、木瓜、柠檬、大白柚、柳橙、葡萄、西印度樱桃、红萝卜、白萝卜、卷心菜及蜂蜜、乳糖等

## 1.2 试剂与仪器

### 1.2.1 培养基

孟加拉红培养基、月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤、煌绿乳糖胆盐肉汤,杭州微生物试剂有限公司。

乳酸菌固体培养基(MRS):蛋白胨 10.0 g,酵母膏 5.0 g,葡萄糖 20.0 g,  $K_2HPO_4$  2.0 g,  $MgSO_4$  0.58 g,柠檬酸氢二铵 2.0 g,牛肉膏 10.0 g,  $MnSO_4$  0.25 g,吐温 80 2.0 g,乙酸钠 5.0 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL, pH 6.0~6.4。

醋酸菌固体培养基:酵母膏 10.0 g,葡萄糖 10.0 g,  $CaCO_3$  15.0 g,琼脂 20.0 g,水 1 000 mL,使用前添加 30 mL 无水乙醇。

平板计数培养基(PCA):胰蛋白胨 5.0 g,酵母浸膏 2.5 g,葡萄糖 1.0 g,琼脂 15.0 g,水 1 000 mL, pH 6.8~7.2。

以上培养基均于 121 ℃ 灭菌 15 min。

### 1.2.2 试剂

氢氧化钠、盐酸、福林试剂、碳酸钠、三氯乙酸、乳酸、乳酸钠、标准酪蛋白、L-酪氨酸、聚乙烯醇、橄榄油、乙醇、磷酸二氢钾、十二水磷酸氢二钠、碘、碘化钾、可溶性淀粉、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠、邻苯三酚:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;酚酞:分析纯,成都化学试剂厂;三羟甲基氨基甲烷,分析纯:北京索莱宝科技有限公司;甲醇、乙腈:色谱纯,瑞典 Oceanpak 公司。

有机酸标准品:L-苹果酸(纯度 $\geq 99\%$ ),美国 Sigma 公司;柠檬酸(纯度 $\geq 99.5\%$ ),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乳酸、乙酸、琥珀酸、草酸、酒石酸(纯度 $\geq 99.5\%$ ),天津市光复精细化工研究所。

### 1.2.3 仪器与设备

CPA225D 型精密天平,德国 Sartorius 公司;UV-1800PC 型紫外可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;VBR90A 手持折光仪,杭州汇尔仪器设备有限公司;LC-2010C HT 液相色谱仪,日本 Shimazu 公司,配可变波长紫外检测器(UV);LC-Solution 工作站,日本 Shimazu 公司;Milli-Q Gradient 超纯水仪,美国 Millipore 公司;Sorvall ST 16R 冷冻离心机,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;SCIENTZ-09 无菌均质器,宁波新芝生物科技股份有限公司;Sep-Pak C18 固相萃取小柱,美国 Waters 公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 理化指标测定

总酸:参考 GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定》,采用酸碱滴定法,以乳酸计。每个样品重复测定 3 次。

可溶性固形物:取 1 mL 样品经蒸馏水稀释后采用 VBR90A 手持折光仪测定可溶性固形物含量。

### 1.3.2 微生物指标分析

菌落总数:参照 GB 4789.2—2010;酵母菌、霉菌数:参照 GB 4789.15—2010;乳酸菌数:参照 GB 4789.35—2010;醋酸菌数:将样品梯度稀释,选择适宜梯度吸取 0.1 mL 液体涂布于醋酸菌固体培养基,30 ℃ 培养 48 h 后计数;大肠菌群:参照 GB 4789.3—2010。

### 1.3.3 酶活性测定

酵素样品原液经 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液进行主要功效酶活力测定。

蛋白酶活力:采用福林酚法测定,参照 GB/T 23527—2009。

脂肪酶活力:采用滴定法测定,参照 GB/T 23535—2009。

$\alpha$ -淀粉酶活力:参照 GB/T 24401—2009。

SOD 酶活力:采用修改的 Marklund 方法,参照 GB/T 5009.171—2003。

### 1.3.4 有机酸测定

#### 1.3.4.1 有机酸标准溶液的配制

测定酵素食品中草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、琥珀酸、乳酸、乙酸的含量。按表 3 配制有机酸标准品混合溶液,并分别取 2、10、50、75、100  $\mu$ L,定容至 1 mL,配制成不同质量浓度的混合标液,用 0.45  $\mu$ m 水相微孔滤膜过滤后,用 HPLC 分析获得各种有机酸的线性方程。

表3 有机酸标准品溶液的配制

Table 3 The preparation of standard organic acid

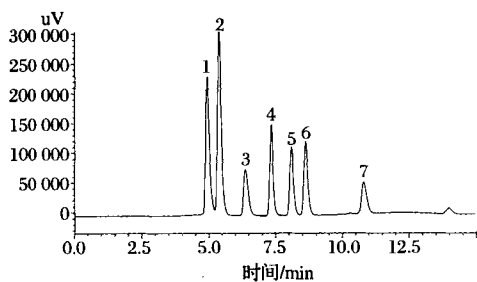
有机酸	质量浓度/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	有机酸	质量浓度/ (mg · mL <sup>-1</sup> )
草酸	2.5	苹果酸	15
乳酸	25	琥珀酸	15
柠檬酸	15	酒石酸	25
乙酸	30		

## 1.3.4.2 样品处理

取一定体积的酵素样品以 10 000 r/min 离心 10 min<sup>[13]</sup>。取上清液稀释 10 倍后过 0.45 μm 水相微孔滤膜<sup>[13]</sup>,取 5 mL 滤液以 1 mL/min 流速流经 C<sub>18</sub> 固相萃取小柱(使用前预先用 5 mL 甲醇活化,再用等量超纯水平衡)除去色素干扰物,弃去初滤液,收集 3 mL 续滤液供 HPLC 分析,做 3 次重复<sup>[14-15]</sup>。

## 1.3.4.3 色谱条件

色谱柱: Sepax HP-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);柱温:18 ℃;流动相:5% 乙腈-95% 0.05 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(用磷酸调至 pH 2.5);流速:0.6 mL/min;进样量:10 μL;紫外检测器波长:210 nm,得到的 7 种有机酸混合标准品的色谱图如图 1 所示,所测的 7 种有机酸的相关系数均大于 0.990(表 4)。



1 - 草酸;2 - 酒石酸;3 - 苹果酸;4 - 乳酸;  
5 - 乙酸;6 - 柠檬酸;7 - 琥珀酸

图1 7种有机酸标准样品色谱分离图

Fig.1 The standard map of 7 standard organic acid

表4 7种有机酸标准曲线线性相关性

Table 4 Liner equations for the standard curve of 7 standard organic acid

有机酸	线性范围/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	线性方程	相关系数 $R^2$
草酸	0.025 ~ 0.250	$y = 1.0 \times 10^7 x + 64\ 909$	0.999 7
酒石酸	0.250 ~ 2.500	$y = 2.0 \times 10^6 x + 31\ 098$	0.999 4
苹果酸	0.150 ~ 1.500	$y = 916\ 346x + 21\ 828$	0.997 8
乳酸	0.250 ~ 2.500	$y = 651\ 568x + 15\ 868$	0.996 0
乙酸	0.300 ~ 3.000	$y = 544\ 790x + 12\ 169$	0.999 4
柠檬酸	0.150 ~ 1.50	$y = 1.0 \times 10^6 x + 14\ 504$	0.999 2
琥珀酸	0.150 ~ 1.500	$y = 670\ 041x + 3\ 598.1$	0.998 7

## 2 结果与分析

## 2.1 酵素微生物指标分析

取发酵中不同原料酵素样品 1 ~ 23 号进行酵母菌、乳酸菌及醋酸菌计数。由表 1 及表 5 可知,样品 1 ~ 11 主要原料为蔬菜,多数样品中含有极少的乳酸菌;12 ~ 13 主要原料为水果,微生物以酵母菌为主;14 ~ 20 主要原料为药用植物,样品中含有较多的酵母菌、乳酸菌和醋酸菌;21 ~ 23 为蔬菜、水果、药用植物两两混合发酵样品,均含有一定数量的酵母菌和醋酸菌,样品间乳酸菌数量差异较大。除样品 1、8、14 外均含有一定数量的酵母菌,大部分样品含有乳酸菌和醋酸菌。样品 5、7、13 的发酵体系中微生物以酵母菌为主,基本无乳酸菌、醋酸菌。样品 1、2、9 的主要原料均为西胡瓜、黄瓜、莴笋,醋酸菌为该发酵体系中的主要微生物。微生物组成以酵母菌为主可能会使产品中乙醇含量过高、酸度过低,影响产品风味且存在一定安全隐患。样品 15、18、19 为发酵时间不同的赶黄草酵素,可以看出在发酵过程中酵母菌数、乳酸菌数和醋酸菌数的数量级发生变化,3 者间此消彼长。

表5 发酵期酵素中酵母菌、乳酸菌和醋酸菌数

Table 5 Yeast, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria count of leaven products in fermentation period

样品编号	菌数/(CFU · mL <sup>-1</sup> )		
	酵母菌数	乳酸菌数	醋酸菌数
1	<1	<10	<10
2	$1.1 \times 10^2$	<10	$5.8 \times 10^2$
3	$3.1 \times 10^4$	<10	$2.6 \times 10^4$
4	$1.4 \times 10^4$	<10	$7.8 \times 10^3$
5	$1.8 \times 10^2$	<10	<10
6	$4.4 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	$1.4 \times 10^2$
7	$1.4 \times 10^2$	<10	10
8	<1	<10	10
9	1	<10	$2.0 \times 10^2$
10	$2.1 \times 10^5$	$2.8 \times 10^4$	$2.0 \times 10^6$
11	41	<10	$1.1 \times 10^2$
12	$1.2 \times 10^5$	$1.4 \times 10^4$	$4.0 \times 10^4$
13	$2.4 \times 10^2$	<10	<10
14	<1	<10	$2.0 \times 10^4$
15	$2.8 \times 10^4$	$3.0 \times 10^3$	$4.8 \times 10^3$
16	$1.4 \times 10^4$	$1.8 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$
17	$1.0 \times 10^3$	$4.0 \times 10^5$	$6.3 \times 10^5$
18	$3.1 \times 10^3$	$2.2 \times 10^6$	$3.4 \times 10^7$
19	$1.6 \times 10^4$	$7.5 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$
20	$3.0 \times 10^4$	$2.6 \times 10^6$	$5.7 \times 10^7$
21	$1.0 \times 10^5$	$7.5 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$
22	$1.9 \times 10^2$	<10	60
23	$6.2 \times 10^4$	<10	$1.0 \times 10^3$

## 2.2 市售酵素总酸及可溶性固形物含量情况

测定4种市售酵素样品的总酸和可溶性固形物含量,结果见表6。样品D的总酸含量最高,为37.15 g/kg;样品C的总酸含量最低,仅为6.78 g/kg。样品C的可溶性固形物含量最高,为58.0%,而样品B的可溶性固形物含量仅为4.8%。可溶性固形物反映了样品中能溶于水的化合物的总称,包括可溶性糖类和可溶性蛋白质等。样品B可溶性固形物含量较低可能是由于发酵原料单一,且与原料本身及加糖量有关。

表6 市售酵素的总酸及可溶性固形物含量

Table 6 The total acid and soluble solid content of commercially available leaven

样品编号	总酸(以乳酸计)/(g·kg <sup>-1</sup> )	可溶性固形物/%
A	12.11 ± 0.26	51.6 ± 0.07
B	22.32 ± 0.17	4.8 ± 0.00
C	6.78 ± 0.21	58.0 ± 0.03
D	37.15 ± 0.20	40.9 ± 0.04

## 2.3 市售酵素微生物指标

市售酵素微生物检测结果见表7。样品A菌落总数、酵母菌数较多,分别为 $1.5 \times 10^3$  CFU/mL和 $4.5 \times 10^5$  CFU/mL。样品D菌落总数和酵母菌数均小于1。4个样品均无霉菌、大肠菌群检出。若以GB 7101—2015《饮料》中规定的微生物限量为衡量标准,仅样品D的微生物指标合格。

表7 市售酵素微生物检测结果

Table 7 The microorganism results of commercially available leaven

样品编号	菌落总数/ (CFU·mL <sup>-1</sup> )	酵母菌/ (CFU·mL <sup>-1</sup> )	霉菌/ (CFU·mL <sup>-1</sup> )	大肠菌群/ [MPN· (100 mL) <sup>-1</sup> ]
A	$1.5 \times 10^3$	$4.5 \times 10^5$	<1	<3.0
B	$3.1 \times 10^3$	<10	<1	<3.0
C	6	$1.9 \times 10^5$	<1	<3.0
D	<1	<1	<1	<3.0

## 2.4 市售酵素主要功效酶活性情况

对市售酵素样品A、B、C、D蛋白酶活力、脂肪酶活力、 $\alpha$ -淀粉酶活力及SOD酶活力进行测定。结果见表8,样品A、B、C、D的蛋白酶活力分别为8、1、1、3 U/mL。结果表明,这4种酵素具有一定的蛋白酶活性,但活力较低。样品C的脂肪酶活力为2 U/mL,其余3种样品均无脂肪酶活力。4种样品均无 $\alpha$ -淀粉酶活力。样

品D的酶活力为41.7 U/mL,其余样品无SOD酶活力。表明样品D具有一定清除自由基的能力。

表8 市售酵素功效酶活力

Table 8 The efficacy enzyme activity in commercially available leaven

样品编号	酶活力/(U·mL <sup>-1</sup> )			
	蛋白酶	脂肪酶	$\alpha$ -淀粉酶	SOD
A	8	-	-	-
B	1	-	-	-
C	1	2	-	-
D	3	-	-	41.7

注:“-”表示无相应酶活力。

## 2.5 市售酵素有机酸组成

由表9可知,不同原料的酵素中有机酸的组成和含量差异较大,但4种酵素样品中均含有草酸、苹果酸、乳酸和乙酸。样品A有机酸以草酸、苹果酸、乳酸和乙酸为主,样品B有机酸以苹果酸、乳酸和乙酸为主,样品C以草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸和柠檬酸为主,样品D中则含有所检测的7种有机酸。有机酸种类与含量的差异可能与原料、发酵方式、发酵环境、微生物组成等多种因素有关。由产品标签可知,样品A、B分别由单一蔬菜、药材自然发酵而成;样品C由52种蔬果及食用菌经自然发酵而成,样品D以24种综合草本蔬果为原料,采用多种乳酸菌为菌种发酵而成。

表9 四种酵素样品中有机酸的含量

Table 9 Content of organic acids in four kinds of enzymes

样品编号	有机酸种类及含量/(mg·mL <sup>-1</sup> )						
	草酸	酒石酸	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸
A	0.368	-	3.212	4.588	0.762	-	-
B	0.012	0.054	0.144	1.846	2.460	-	0.066
C	0.280	4.276	0.544	1.426	0.516	0.126	-
D	0.208	1.942	2.544	2.516	2.198	3.670	1.916

注:“-”表示未检出。

## 3 讨论与结论

本文对自然发酵酵素中的酵母菌、乳酸菌和醋酸菌数量进行了检测,发现多数样品中均存在该三类微生物,但数量存在差异。说明酵素自然发酵过程中广泛存在酵母菌、乳酸菌和醋酸菌,结果与陈英等<sup>[16]</sup>一致,它们的存在对风味物质的形成有促进作用<sup>[17]</sup>。而样品中酵母菌、乳酸菌和醋酸菌数量上的差异则与原料表面携带的微生物及样品发酵环境有关。

本文对4种市售酵素中的有机酸进行了分析,不同样品中有机酸的种类与含量不同,但均含有草酸、苹果酸、乳酸和乙酸,其中样品D的有机酸种类最为丰富。酵素中有机酸的形成除与原料有关外,主要来源于微生物以及各物质之间的相互转化。乳酸的生成可能是由于发酵体系中乳酸菌的存在。在苹果酸-乳酸发酵(MLF)<sup>[18-19]</sup>作用下,乳酸菌能将苹果酸转化成为乳酸和CO<sub>2</sub>。研究表明,乙酸的生成源于乳酸氧化而不是乳酸菌的糖代谢(乳酸氧化生成乙酸)<sup>[20]</sup>。大多数酵母菌可以利用高浓度的苹果酸<sup>[21]</sup>。

与火龙果酵素<sup>[22]</sup>及核桃青皮果蔬酵素<sup>[23]</sup>相比,A、B、C、D四个样品中主要功效酶活性均偏低。可能是由于某些酵素产品在杀菌过程中采用高温,致使酶失去活性,对于要求无菌的酵素产品可以更改杀菌方式,如采用超滤除菌<sup>[23]</sup>、巴氏灭菌<sup>[24]</sup>等方式。另一方面,原料种类及比例对酶活性也有一定影响,可以对配方进行优化以达到提高酶活性的目的。刘敏等<sup>[25]</sup>研究发现,不同配方发酵的酵素产品中的蛋白酶活力、纤维素酶活力、脂肪酶活力、总酸含量、ABTS自由基清除能力和DPPH自由基清除能力不同。杨靖娟等<sup>[26]</sup>利用D-最优混料设计试验法研究了配方中各原料不同组合对酵素酶活及活性成分含量等主要品质指标的影响,在最优配方组合基础下得到的酵素产品蛋白酶活力为293.04 U/g, SOD酶活力为57.00 U/g。

从结果可以发现,选择的4种市售酵素功效酶含量并不高,与产品宣传不符。酵素产品的保健功效还需要经过更全面、更严谨的评价。目前,国内还没有酵素的明确归类及相关国家标准、行业标准,缺乏审查细则,导致产品质量参差不齐,无法规范管理酵素市场,难以保证产品质量。若按《GB/T 10789—2015 饮料通则》对液体酵素产品进行分类,以水果、蔬菜为原料的产品可归为发酵果蔬汁饮料(按照GB/T 31121—2014执行),以食用菌为原料的产品可归为植物饮料(按照GB/T 31326—2014执行),实际生产中产品原料多结合了果蔬、食用菌、药食源中草药,且声称具有特定保健功能,因此也可归为其他类饮料。不同的分类导致酵素难以有统一的生产标准及质量标准。因此,酵素产品的归类和相关标准将直接影响酵素产品的理化指标、微生物指标和功效评价。在标准制定时应根据酵素产品的具体类别明确可溶性固形物含量等理化指标;酵素产品作为以果蔬、食用菌

等为基础的发酵产品应有更细化的分类,如活菌型与非活菌型,又或者根据原料的不同进行划分;由于目前其功效还未得到充分证实,更倾向于将其归为饮料,在之后的研究中需要对其宣传功效进行系统的验证。本文研究结果为了解酵素产品品质,正确看待酵素产品,促进酵素行业健康发展提供了参考。

## 参 考 文 献

- [1] 毛建卫,吴元锋,方晟. 微生物酵素研究进展[J]. 发酵科技通讯,2010(3):42-44.
- [2] 赵金凤,曲佳乐,皮子凤,等. 植物酵素润肠通便保健功能研究[J]. 食品与发酵科技,2012(3):54-56.
- [3] 蔡爽. 人参术苓酵素的制备及改善肠胃功能研究[D]. 吉林:吉林大学,2013.
- [4] 魏颖,倪庆桂,马勇,等. 自制研发酵素与竞品免疫调节和抗氧化能力的比较[J]. 食品科技,2015,36(11):24-27.
- [5] 任清,于晓艳,潘妍,等. 微生物酵素美白抗衰老功效研究[J]. 香料香精化妆品,2008(3):28-32.
- [6] 袁周率,苏小军,廖晰晰,等. 有色糙米酵素发酵工艺条件研究[J]. 广东农业科学,2015,42(7):87-92.
- [7] 赵光远,梁晓童,陈美丽,等. 红枣酵素饮料的研制[J]. 食品工业,2015(9):124-128.
- [8] 蒋增良,毛建卫,黄俊,等. 葡萄酵素在天然发酵过程中体外抗氧化性能的变化[J]. 中国食品学报,2014,15(10):29-34.
- [9] 林娟,叶秀云,曹泽丽,等. “红茶菌”中微生物的分离及纯菌混合发酵生产[J]. 中国食品学报,2015,16(2):39-48.
- [10] SHUKLA S, CHOI T B, PARK H, et al. Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste (Doenjang) [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(8-9):2 005-2 010.
- [11] 蒋增良. 天然微生物酵素发酵机理、代谢过程及生物活性研究[D]. 杭州:浙江理工大学,2013.
- [12] ARUN C, SIVASHANMUGAM P. Identification and optimization of parameters for the semi-continuous production of garbage enzyme from pre-consumer organic waste by green RP-HPLC method [J]. Waste Management, 2015, 44:28-33.
- [13] NERGİZ C, ERGÖNÜL P G. Organic acid content and composition of the olive fruits during ripening and its relationship with oil and sugar [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 122(2):216-220.
- [14] 吕利华,梁丽绒,赵良启. 山西老陈醋中有机酸的HPLC测定分析[J]. 食品科学,2007,28(11):456

- 459.

- [15] 余永建, 邓晓阳, 陆震鸣, 等. 固态发酵食醋有机酸组成分析中样品预处理方法的研究[J]. 食品工业科技, 2013(4): 198-200.
- [16] 陈英, 余雄伟, 龚文发, 等. 植物酵素发酵特性及风味物质变化的研究[J]. 饮料工业, 2015(2): 9-12.
- [17] MUYANJA C M B K, NARVHUS J A, LANGSRUD T. Organic acids and volatile organic compounds produced during traditional and starter culture fermentation of Bushera, a Ugandan fermented cereal beverage[J]. Food Biotechnology, 2012, 26(1): 1-28.
- [18] 向进乐, 杜琳, 刘志静, 等. 桃醋液态发酵过程中主要成分及有机酸的变化[J]. 现代食品科技, 2015, 31(5): 193-198.
- [19] VOLSCHENK H, VAN VUUREN H, VILJOEN-BLOOM M. Malic Acid in Wine: Origin, Function and Metabolism during Vinification[J]. S Afr J Enol Vitic, 2006, 27(2): 123-136.
- [20] ZHAO H, ZHOU F, DZIUGAN P, et al. Development of organic acids and volatile compounds in cider during malolactic fermentation[J]. Czech J Food Sci, 2014, 32: 69-76.
- [21] RIBEIRO L S, DUARTE W F, DIAS D R, et al. Fermented sugarcane and pineapple beverage produced using *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeast[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2015, 121(2): 262-272.
- [22] 董银卯, 何聪芬, 王领, 等. 火龙果酵素生物活性的初步研究[J]. 食品科技, 2009, 34(3): 192-196.
- [23] 李杰, 赵声兰, 陈朝银. 核桃青皮果蔬酵素的成分组成及体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(10): 117-122.
- [24] 陈娟娟, 周延清, 王向楠. 乳酸菌发酵山药果蔬饮料配方与工艺优化[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2016(1): 117-124.
- [25] 刘敏, 熊燕, 付忠旭, 等. 不同配方发酵的酵素产品中活性物质的对比研究[J]. 食品与发酵科技, 2015(5): 27-31.
- [26] 杨靖娟, 李娜, 赵声兰. 一种酵素的配方优化研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(1): 95-99.

## Analysis on microorganism index, main enzymes and organic acids of leaven food

ZHANG Meng-mei<sup>1</sup>, LIU fang<sup>1</sup>, HU Kai-di<sup>1</sup>, HU Lu<sup>1</sup>,  
LIU Jin-xia<sup>1</sup>, ZHANG Mei-jia<sup>1</sup>, LIU Shu-liang<sup>1,2\*</sup>

1(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

2(Institute of Food Processing and Safety, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**ABSTRACT** In order to understand the microorganism compositions of natural fermentation leaven food with different raw materials, and evaluate the physical-chemical index, microorganism index, main enzyme activity and organic acids components, the amount of yeast, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria was detected. In this paper, the content of total acid and soluble solid, and the microorganism index of commercially available leaven food were detected. At the same time, the activity of protease, lipase,  $\alpha$ -amylase and superoxide dismutase was determined, the organic acids was analyzed with high performance liquid chromatography. Results showed that there were yeast, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in leaven in the fermentation period. The activity of main enzymes of the commercially available leaven food was low. The main organic acids of commercially available leaven food were oxalic acid, malic acid, lactic acid and acetic acid. In conclusion, the quality of commercially available leaven food was not uniform. And the low enzyme activity was incompatible with the propaganda. This work could provide data reference for obtaining a correct view of leaven food and comprehending the leaven food quality.

**Key words** leaven food; microorganism; enzyme activity; organic acids