

# 西藏开菲尔发酵提取物对牛奶和馒头防腐作用的研究

苗建银, 郭浩贤, 符翠欢, 赵力超, 曹庸

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 将西藏开菲尔发酵物 FXJX 按照一定添加量分别加入到牛奶和馒头中, 在不同时间测定它们的微生物指标和理化指标, 并对感官情况进行评定。同时以乳酸, 乳酸链球菌素和丙酸钙作为阳性对照组。结果表明: 添加了 FXJX 后的牛奶和馒头, 在储藏过程中微生物的数量比其它阳性对照组的要少, 大肠杆菌数呈阴性; 在牛奶中的酸度到第 10 d 才超出国家标准要求; 还有对牛奶和馒头的感官起到更好的保护和延缓恶化的作用, 这些都表明 FXJX 对这两种食品有很好的防腐效果。

**关键词:** 西藏开菲尔; 提取物; 防腐效果

**文章编号:** 1673-9078(2013)1-1509-1513

## Preservative Effect of Kefir Fermented Extracts on Two Kinds of Food

MIAO Jian-yin, GUO Hao-xian, FU Cui-huan, ZHAO Li-chao, CAO Yong

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** According to a certain addition amount, the *Kefir* fermented extracts (FXJX) was added to milk and steamed bread. The microbial indicators, physicochemical indexes and sensory quality of the treated foods were determined at different time. Meanwhile, lactic acid, nisin and calcium propionate were added as positive control. The results showed that in the milks tested and steamed breads added with FXJX, the number of micro-organisms was less than that in other positive controls. The number of *E. coli* was negative and the acidity of those milk did not exceed the national standard requirements until 10 d. FXJX also had better protection and deterioration-slowng effects on the sensory quality of milk and steamed bread during storage.

**Key words:** Tibet *Kefir*; crude extract; preservative effect

开菲尔是一种起源于高加索地区的发酵乳饮料<sup>[1]</sup>, 是由一种叫开菲尔粒的发酵剂加入到牛乳当中发酵而成, 具有丰富营养价值和多种保健功能<sup>[2]</sup>。不同地区由于开菲尔粒的菌相或者发酵条件不同, 得到的开菲尔发酵乳也不同<sup>[3]</sup>。西藏开菲尔(藏灵菇)是我国西藏地区人民日常饮用的一种发酵饮品, 不需要进行防腐处理即可保存, 因此, 其抑菌防腐作用引起了不少关注。

Sarkar<sup>[4]</sup>等证明了开菲尔提取物对伤口愈合的作用大于新霉素; Simova 等人<sup>[5]</sup>通过从开菲尔中分离提取得到了对多种食源性细菌有抑制作用的多肽类物质; 本课题组曹庸等人<sup>[6]</sup>在前期研究中通过对西藏开菲尔发酵乳进行提取得到开菲尔发酵提取物

(FXJX), 并发现其对常见的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌及部分真菌有抑菌活性。针对开菲尔提取物具有抑菌作用, 而其在食品中的防腐保鲜的研究则鲜有报道, 因此本文在前期研究的基础上对其在一些食品中的防腐效果进行应用验证。

由于化学防腐剂或多或少具有毒副作用或者产生不良影响<sup>[7]</sup>, 而新兴起的天然防腐剂具有抗菌性强、安全无毒、水溶性好、热稳定性好、作用范围广等优点, 故逐步引起世界各国的关注和研究<sup>[8]</sup>。本文根据前期的研究, 在确定 FXJX 具有抑制细菌和真菌的活性下, 并考虑到牛奶和馒头在保藏过程中分别容易腐败变质和发霉, 将 FXJX 加入到这两种食品中, 并通过测定微生物指标, 理化指标和感官指标, 对其在这两种食品的储存过程中的防腐效果进行评价, 为其作为一种新型食品防腐剂的开发奠定应用基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期: 2013-03-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171768)

作者简介: 苗建银(1981-), 男, 博士, 研究方向: 食品质量与安全; 郭浩贤

通讯作者: 曹庸(1966-), 男, 教授, 博导, 研究方向: 食品化学与营养

西藏开菲尔发酵提取物 (FXJX), 实验室自制<sup>[6]</sup>; 培养基, 广东环凯微生物科技有限公司; 化学试剂, 天津市福晨化学试剂厂; 巴氏杀菌乳和馒头, 市售。

## 1.2 仪器与设备

天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; R201BL 型旋转蒸发仪, 上海申生科技有限公司; FD-1PF 型立式冷冻干燥机, 北京德天佑科技发展有限公司; TDL-5 型台式离心机, 上海安亭科技仪器厂; 恒温培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 超净工作台, 苏州净化有限公司; 摇床, 常州澳华仪器有限公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 FXJX 成分分析

将 FXJX 用水溶解配成一定浓度, 对其里面的乳酸<sup>[9]</sup>, 多肽类物质<sup>[10]</sup>进行定性分析。

### 1.3.2 实验设计

将买回来的巴氏杀菌乳分成 4 组, 每组各分成 8 份, 每份称 10 g, 同时每份另外准备两次重复。一组加入 FXJX (添加量为 0.4 mg/g), 一组加入乳酸链球菌素 (添加量为 0.4 mg/g), 一组加入乳酸 (根据在 FXJX 中的含量, 同等添加量), 一组作空白对照, 各组样品在 10 °C 密封储藏, 分别在第 0、2、4、6、8、10、12、14 d 测定相关指标。

将买回来的馒头分成 4 组, 每组各分成 8 份, 每份称 10 g, 同时每份另外准备两次重复。一组加入 FXJX (添加量为 0.5 mg/g), 一组加入丙酸钙 (添加量为 0.5 mg/g), 一组加入乳酸 (根据在 FXJX 中的含量, 同等添加量), 一组作空白对照, 在 10 °C 密封储藏, 分别在第 0、2、4、6、8、10、12、14 d 测定相关指标。

### 1.3.3 测定指标

#### 1.3.3.1 细菌菌落总数

采用平板计数法, 根据 GB4789.2-2010 执行。

#### 1.3.3.2 大肠菌群数

大肠菌群 MPN 计数法, 根据 GB4789.3-2010 执行。

#### 1.3.3.3 酸度

酸度根据乳及其乳制品中酸度的测定, 根据 GB5413.34-2010 执行。

#### 1.3.3.4 霉菌酵母数

霉菌酵母数的测定, 根据 GB4789.15-2010 执行。

#### 1.3.3.5 感官评定

(1) 巴氏杀菌乳的感官评定根据 GB25190-2010 的要求, 选定 10 名接受过严格的感官评定培训、并具

有感官评定经验的人员, 以牛奶的色泽、气味和组织形态作为评定依据, 分别在第 0、7、14 d 进行评定。

(2) 馒头的感官评定根据 GB7099-2003 的要求, 选定 10 名接受过严格的感官评定培训、并具有感官评定经验的人员, 以馒头的色泽、气味和组织形态作为评定依据分别在第 0、7、14 d 进行评定。

## 1.3.4 数据分析

以上测定的菌落总数, 酸度值和霉菌酵母数指标, 运用 SPSS Statistics 17.0, 采用 LSD 中的 t 检验进行显著性比较分析 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 开菲尔发酵提取物成分分析

开菲尔发酵提取物中成分分析结果如表 1 所示。

表 1 开菲尔发酵提取物中成分检测结果

Table 1 The component test of FXJX

实验方法	现象	含有成分
高效液相色谱法	与乳酸标品的保留时间一致	乳酸, 且含量为 9.5%
茚三酮显色法	蓝紫色斑点出现	蛋白类物质

表 1 结果说明本文研究的 FXJX 中含有乳酸, 蛋白质这些成分, 而且通过高效液相色谱法检测得到 FXJX 中乳酸的含量为 9.5%。根据以前报道<sup>[11-12]</sup>, 推测里面的蛋白类物质含有抗菌肽。同时本课题组曹庸等人<sup>[6]</sup>在前期对 FXJX 的研究中, 表明其具有较好的对热、光和酸稳定性, 这为 FXJX 打下了一定的应用基础。

### 2.2 对牛奶的防腐效果

#### 2.2.1 菌落总数

由图 1 可以看出, 空白组的牛奶菌落总数在储藏过程中上升的趋势都比较迅速, 在第 2 d 已经超过了 4 lg(cfu/g), 而 FXJX 组的牛奶的菌落数增加速度相对缓慢, 菌落数与空白组的对比有明显的差异 ( $P < 0.05$ ), 由此可知 FXJX 对牛奶中的细菌生长起到了抑制作用。由于 FXJX 中含有一定比例的乳酸, 且经高效液相色谱分析乳酸的含量为 9.5%, 按照该含量设计的乳酸对照组, 其对应的牛奶中菌落数明显高于 FXJX 组的牛奶, 表明提取物中除了乳酸外, 还有其它的抗菌物质在发挥抑菌作用, 而 FXJX 中像抗菌肽这种抗菌谱广的物质<sup>[13]</sup>, 其抑菌能力以及与其他物质的协同作用可能会使得 FXJX 的抑菌防腐能力比起其它防腐剂更强; 同时也可以看到 FXJX 的菌落数在第 12 d 之前明显要比乳酸链球菌素组的少 ( $P < 0.05$ ), 可见 FXJX 的防腐效果

在一定时间内要比乳酸链球菌素好。

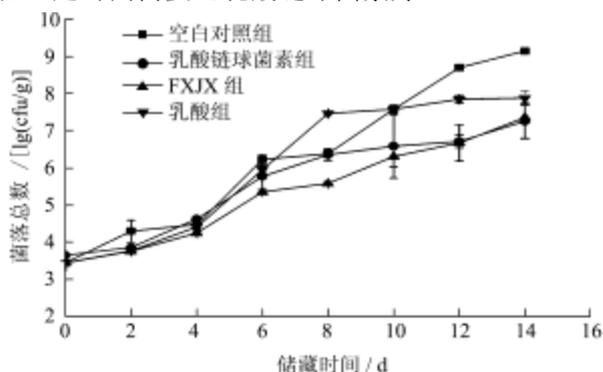


图1 添加不同样品后的牛奶在储藏过程中菌落总数

Fig.1 The total bacterial count in milk added with the extracts during storage

### 2.2.2 酸度

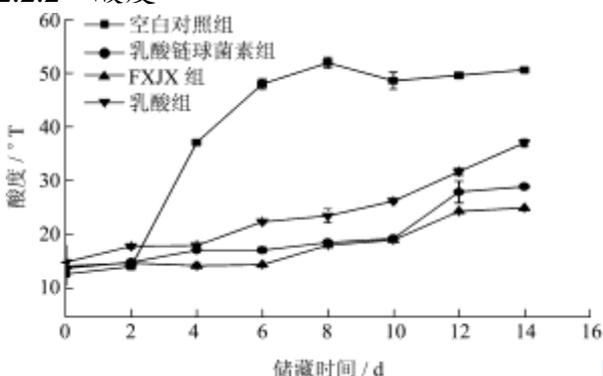


图2 添加不同样品后的牛奶在储藏过程中酸度

Fig.2 The acidity of milk added with the extracts during storage

从图2可以看出,空白组的牛奶在第2 d之后酸度上升急速,在第4 d已达到37,远远超出了食品安全国家标准中对乳及乳制品的酸度要求(酸度°T为12~18)。加入了FXJX的牛奶酸度,在第2 d之后与空白组便有明显的差异,而且上升趋势缓慢,一直到第10 d才超出了国家标准,表明FXJX对牛奶中的微生物生长有抑制作用,控制了牛奶中酸度的增加。同时,FXJX组的牛奶的酸度在储藏过程中均要比乳酸链球菌素组的和乳酸组要更低,与乳酸链球菌素组的牛奶相比,在第2~8 d和第10 d后这两段时间内有明显差异(P<0.05),表明FXJX组的防腐效果更好。

### 2.2.3 大肠菌群数

从表2可以看到,空白组的牛奶到第8 d开始出现大肠菌群数阳性的情况,乳酸链球菌素组的牛奶到第14 d的大肠菌群数出现阳性的情况,而加入FXJX和乳酸的牛奶在储藏过程中大肠菌群数一直都为阴性,可见FXJX对大肠杆菌的生长的抑制作用明显,同时对比乳酸链球菌素的效果要稍好。

表2 添加不同样品后的牛奶在储藏过程中的大肠杆菌数

Table 2 Coliforms bacterial count in milk added with the extracts during storage

天数/d	大肠杆菌数 (MPN/g)			
	FXJX 组	乳酸链球菌素组	乳酸组	空白组
0	<3	<3	<3	<3
2	<3	<3	<3	<3
4	<3	<3	<3	<3
6	<3	<3	<3	<3
8	<3	<3	<3	64
10	<3	<3	<3	64
12	<3	<3	<3	64
14	<3	210	<3	460

### 2.2.4 感官指标

从表3可以看出,在第0 d时各组的牛奶在感官上无差异,在第7 d时空白组的牛奶已经出现了出现臭味和大块絮状沉淀等这些不可接受的情况,而加入了乳酸链球菌素,FXJX和乳酸的牛奶仍然有牛乳的香味,色泽和组织形态处于可接受的感官状况。而在第14 d时,空白组的牛奶已经出现恶臭、块状沉淀等情况了,而添加了FXJX的牛奶在感官上恶化程度也相对较低,只是出现些许臭味和少量絮状沉淀,说明了加入FXJX对牛奶在保鲜和延缓感官恶化起到一定作用,在几个试验组中效果最好。

### 2.3 对馒头中的防腐效果

#### 2.3.1 菌落总数

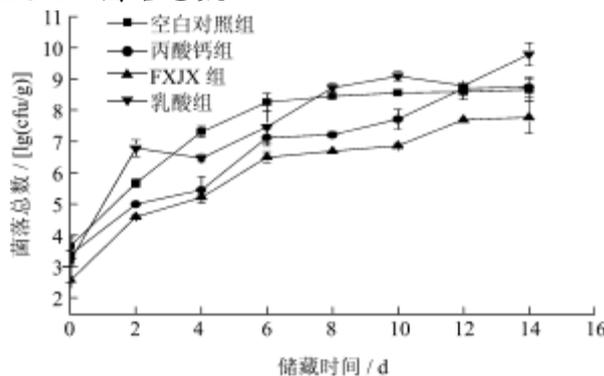


图3 添加不同样品后的馒头在储藏过程中菌落总数

Fig.3 The total bacterial count in steamed bread added with the extracts during storage

由图3可以看出,空白组的馒头的菌落数在整个储藏期间相对较多,在第4 d已经超过了7 lgcfu/g,而FXJX组和乳酸链球菌素组的菌落数较空白组的少,尤其是添加了FXJX的馒头,菌落数最少,在整个储藏期间与其他试验组均有明显的差异性(P<0.05),说明FXJX对馒头中细菌的生长有

抑制作用,起到了很好的防腐效果。

表 3 添加不同样品的牛奶在储藏过程中感官变化

Table 3 Sensory quality of milk added with the extracts during storage

样品	0 d			7 d			14 d		
	气味	色泽	组织形态	气味	色泽	组织形态	气味	色泽	组织形态
空白组	具有浓郁乳的香气	呈乳白色	呈均匀一致液体,无凝块、无沉淀	开始有臭味产生	呈黄白色	出现大块絮状沉淀	产生腐败恶臭	呈黄白色	出现分层,有大块的沉淀
乳酸链球菌素组	具有浓郁乳的香气	呈乳白色	呈均匀一致液体,无凝块、无沉淀	乳香很淡	出现微黄色	出现小块絮状沉淀	产生腐败恶臭	呈黄白色	出现絮状沉淀
FXJX 组	具有浓郁乳的香气	呈乳白色	呈均匀一致液体,无凝块、无沉淀	乳香很淡	出现微黄色	出现小块絮状沉淀	有些许臭味产生	呈黄白色	出现少量絮状沉淀
乳酸组	具有浓郁乳的香气	呈乳白色	呈均匀一致液体,无凝块、无沉淀	乳香很淡	出现微黄色	出现小块絮状沉淀	产生腐败恶臭	呈黄白色	出现絮状沉淀

### 2.3.2 霉菌酵母数

从图 4 可以看到,在前 4 d 时 FXJX 组的馒头的霉菌酵母的增长速度较快,这可能由于 FXJX 中含有乳酸,加入后使得馒头中处于一个酸性环境,而霉菌相对来说比较适宜酸性环境生长。但在第 6 d,空白组的馒头的霉菌酵母数已经达到 6.5 lgcfu/g,而 FXJX 组的馒头的霉菌酵母数要比空白组少,表明 FXJX 对霉菌酵母的作用效果较为缓慢;而且在第 6 d 后,添加了 FXJX 和乳酸的馒头在霉菌酵母数要少于丙酸钙组的 ( $P < 0.05$ ),表明其对霉菌酵母的抑制效果逐渐比丙酸钙的要好。

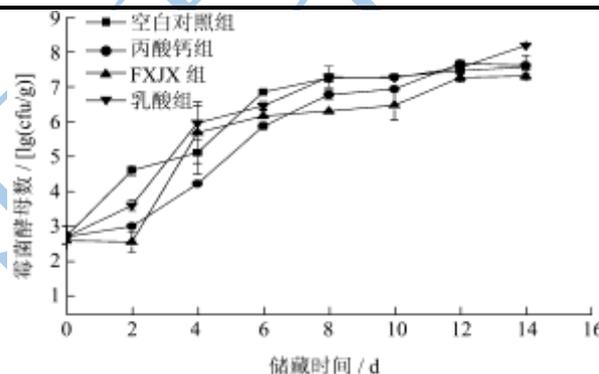


图 4 添加不同样品后的馒头在储藏过程中霉菌酵母数

Fig.4 The mildew and yeast count in steamed bread added with the extracts during storage

### 2.3.3 感官指标

表 4 添加不同样品后的馒头在储藏过程中感官变化

Table 4 Sensory quality of steamed bread added with the extracts during storage

样品	0 d			7 d			14 d		
	气味	色泽	组织形态	气味	色泽	组织形态	气味	色泽	组织形态
空白组	具有馒头的香气	表皮光滑,洁白	质地柔软,有弹性,气孔细密均匀	馒头香气很淡,略有酸味	表皮呈淡黄色	质地较硬,气孔疏松	产生霉变的酸臭味	呈暗黄色	质地硬,呈块状,容易捏碎,出现较大多的霉点
丙酸钙组	具有馒头的香气	表皮光滑,洁白	质地柔软,有弹性,气孔细密均匀	馒头香气很淡	表皮呈淡黄色	质地较硬,气孔细密	略有霉变的酸臭味	呈暗黄色	质地硬,呈块状,有少量霉点
FXJX 组	具有馒头的香气	表皮光滑,洁白	质地柔软,有弹性,气孔细密均匀	馒头香气很淡	表皮洁白	质地较硬,气孔细密	略有霉变的酸臭味	呈暗黄色	质地硬,呈块状,有少量霉点
乳酸组	具有馒头的香气	表皮光滑,洁白	质地柔软,有弹性,气孔细密均匀	馒头香气很淡,略有酸味	表皮呈淡黄色	质地较硬,气孔疏松	略有霉变的酸臭味	呈暗黄色	质地硬,呈块状,有少量霉点

从表 4 可以看到在第 0 d 时各组的馒头感官情况无任何差异,在第 7 d 的时候,空白组的馒头已经表皮开始变黄,质地较硬,出现霉变的气味;而

加入了 FXJX 的馒头的感官恶化程度相对空白组的和乳酸组的要缓慢一些,还未出现异味,表皮仍然洁白,组织形态仍然可以接受。而在第 14 d 的时候,

空白组的馒头已经出现霉变的情况很严重, 感官上完全不能接受, 而加入了 FXJX 的馒头在感官上也是恶化程度相对最低的, 只是稍有霉变的酸臭味和少量霉点, 表明 FXJX 对延缓馒头在储藏过程中感官恶化起到一定作用, 在几个试验组中效果最好。

### 3 结论

3.1 通过本文的研究, 确定 FXJX 中含有乳酸, 蛋白类物质, 而且推断里面的蛋白质含有抗菌肽。

3.2 在两种食品中的评价试验中, 发现添加了 FXJX 后的牛奶在储藏过程中的菌落总数要比空白组, 乳酸组和乳酸链球菌素组的均要少, 大肠菌群数为阴性, 在相同时间里其对应的酸度值更加理想以及感官质量更加良好; 而添加了 FXJX 后的馒头在储藏过程中对细菌的生长起到了很好的抑制作用, 在抑制霉菌酵母的效果上, 表明 FXJX 对真菌的生长也有一定抑制作用, 同时也能更好延缓馒头感官恶化的程度, 以上的结果表明 FXJX 在牛奶和馒头中具有很好的防腐保鲜效果。

3.3 本文用到两种作为阳性对照的防腐剂, 其中乳酸链球菌素还存在抑菌谱较窄, 价格昂贵等不足<sup>[4]</sup>; 而丙酸钙主要是一种防霉防腐剂<sup>[7]</sup>, 但其对细菌类微生物的抑菌谱仍然较窄。而西藏开菲尔作为一种传统饮料, 首先从中提取获得的抑菌活性物质具有良好的生物安全性, 而且开菲尔中含有多种益生菌, 在发酵过程中能够产生多种抑菌物质, 如乳酸, 抗菌肽等<sup>[11]</sup>, 这些物质保留在其提取物 FXJX 中, 可以在抑制微生物生长起到协同作用。以上这些都说明 FXJX 在一些食品的储藏保鲜中具有一定的潜力, 为将其应用到其它的食品中进行防腐评价以及作为新型的广谱防腐剂推广打下了坚实的基础。

### 参考文献

- [1] Urdaneta E, Barrenetxe J, Aranguren P, et al. Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats [J]. *Nutrition Research*, 2007, 27:653-658
- [2] Garrote G L, Abraham A G, De Antoni G L. Preservation of

Kefir grains, a comparative study [J]. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 1997, 30: 77-84

- [3] Kamila L R, Lucelia Rita G C, Jose Carlos T C, et al. Antimicrobial and healing activity of Kefir and Kefiran extract [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, 25: 404-408
- [4] Sarkar S. Biotechnological innovations in Kefir production: A review [J]. *British Food Journal*, 2008, 110:283-295
- [5] Simova E D, Beshkova D B, Dimitrov Z P. Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by Lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106:692-701
- [6] 黄曼曼, 陈雪香, 曹庸. 西藏开菲尔中抑菌活性物质的提取及抑菌效果研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(10):159-161
- [7] 石立三, 吴清平, 吴慧清, 等. 我国食品防腐剂应用状况及未来发展趋势[J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(3):157-161
- [8] 罗家刚. 天然食品防腐剂的研究进展[J]. *昭通师范高等专科学校学报*, 2002, 24(5):39-45
- [9] 孙晶, 朱学申, 王苑, 等. 食品中L-乳酸检测方法及其研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(31):17801-17805
- [10] Yoon Young-sil, Lee Choul-gyun. Partial Purification and Characterization of a Novel Antifungal Compound against *Aspergillus* spp. from *Synechocystis* sp. PCC 6803 [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2009, 14: 383-390
- [11] Powell J E, Witthuhn R C, Todorov S D, et al. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF [J]. *International Dairy Journal*, 2007, 17:190-198
- [12] Rodrigues K L, Caputo L R, Carvalho J C T, et al. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, 25: 404-408
- [13] 胡志帅, 陈书明, 晋大鹏. 抗菌肽的结构特征、生物活性及应用[J]. *生物学杂志*, 2008, 25(4):58-61
- [14] 张国只, 陈林海, 王雁萍, 等. 乳链菌肽应用新进展[J]. *中国农学通报*, 2006, 5:102-105