

槲皮素酸奶的研制及其对小鼠肠道菌群的调节作用

陈樱萌, 苏立杰, 丁静华, 李瑶璐, 曾钰鹏, 李梦珊, 王秋兰, 陈晓熠

(广州医科大学公共卫生学院, 广东广州 511436)

摘要:以感官评价得分及酸度为评价指标, 利用单因素及正交试验方法确定槲皮素酸奶的最佳发酵条件和最优配方。通过检测酸奶乳酸菌总数, 探究槲皮素对酸奶菌群的影响。动态观察槲皮素酸奶对小鼠肠道菌群乳杆菌、双歧杆菌、肠杆菌和肠球菌体外增殖的影响。实验证明, 槲皮素酸奶最佳发酵条件和工艺配方为: 发酵时间为 8 h, 发酵温度为 42 ℃, 发酵剂接种量为 0.1%, 乳粉添加量为 12%, 蔗糖添加量为 4%, 槲皮素添加量为 0.1%, 所制得的槲皮素酸奶色泽均匀, 呈黄绿色, 酸甜适口, 带有愉悦的轻微苦味(可能来自添加的槲皮素和某些蛋白水解产生的肽)。槲皮素酸奶中乳酸菌总数为 $(1.475 \pm 0.005) \times 10^8$ cfu/mL, 高于原味酸奶乳酸菌总数 ($p < 0.05$)。观察动态微生物变化, 发现小鼠肠道菌群体外增殖的变化, 槲皮素酸奶处理组的乳杆菌和双歧杆菌的生长曲线高于原味酸奶处理组, 而肠杆菌和肠球菌的生长曲线低于原味酸奶处理组。结果表明最优工艺条件下制得的槲皮素酸奶能促进小鼠乳杆菌和双歧杆菌体外增殖、抑制肠杆菌和肠球菌体外增殖, 且口感优于市售酸奶。本研究结果为槲皮素功能酸奶的后续开发利用提供理论依据。

关键词: 槲皮素; 酸奶; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2019)12-189-196

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.025

Preparation of Quercetin-fortified Yogurt and Its Intestinal Flora-regulating Effect in Mice

CHEN Ying-meng, SU Li-jie, DING Jing-hua, LI Yao-lu, ZENG Yu-peng, LI Meng-shan, WANG Qiu-lan, CHEN Xiao-yi

(Institute of public health, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China)

Abstract: Using sensory evaluation score and acidity as evaluation indices, the optimal fermentation conditions and optimal formula of quercetin-fortified yoghurt were determined by the single factor and orthogonal test methods. The effect of quercetin on the microbes in the yoghurt was investigated by measuring the total number of lactic acid bacteria of yogurt. Examinations were performed on the dynamic changes in the microbial community induced by quercetin-fortified yoghurt i.e. the proliferation of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter* and *Enterococcus* in mice. The experiments revealed that the optimal fermentation conditions and formula of quercetin-fortified yoghurt were: fermentation time 8 h, fermentation temperature 42 ℃, inoculation dosage 0.1%, added milk powder 12%, added sucrose 4%, and added quercetin added 0.1%. The obtained quercetin-fortified yoghurt had uniform color (yellow-green color) and sweet-sour balanced taste, with a pleasant and slight bitterness (which likely came from the added quercetin and some peptides derived from protein hydrolysis). The total number of lactic acid bacteria in quercetin-fortified yoghurt was $(1.475 \pm 0.005) \times 10^8$ cfu/mL, which was higher than that for the unfortified yogurt ($p < 0.05$). Observations on the dynamic microbial changes revealed the alterations in the proliferation of intestinal flora in mice: the growth of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in the quercetin-fortified yogurt was stronger while the growth of *Enterobacter* and *Enterococcus* was weaker, compared with that of unfortified yogurt. The results showed that the quercetin-fortified yoghurt prepared under the optimal conditions could promote the proliferation of *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* in vitro but inhibit the proliferation of *Enterobacter* and *Enterococcus* in vitro, with its taste better than that for the commercially available yoghurt. The results of this study provide a theoretical basis for the subsequent development and utilization of quercetin-fortified functional yogurt.

Key words: quercetin; yoghurt; intestinal flora

收稿日期: 2019-05-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81773428); 广东省自然科学基金项目(2016A030313597)

作者简介: 陈樱萌(1993-), 女, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生; 共同第一作者: 苏立杰(1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 营养与食品卫生

通讯作者: 陈晓熠(1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 营养与食品卫生

槲皮素又名栎精、槲皮黄素,属于黄酮类化合物,分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$,不溶于水,溶于甲醇、冰醋酸、丙酮和碱等^[1]。槲皮素广泛存在于植物的花、叶和果实中,其生理功能很广泛,具有抗氧化及清除自由基^[2]、抗癌^[3]、抗炎^[4]、抗菌^[5]、抗病毒^[6]、降糖^[7]、降压^[8]、免疫调节^[9]及心血管保护等作用^[10]。研究也证实槲皮素在体内、体外均无急性毒性、致突变性和慢性或亚慢性毒性,无致畸性和致癌性^[11]。在国外槲皮素已被列入功能性食品的主要成分之一,欧盟委员会授权二氢槲皮素提取物作为新食品成分应用于食品中,槲皮素被认为是最有前途的用于预防和治疗多种慢性疾病的食物之一。而在新加坡的一项研究中^[12],用微胶囊化方法将槲皮素包裹在巴西棕榈蜡中,可广泛应用于食品。虽然槲皮素广泛分布于膳食植物中,如蔬菜、水果、中草药和许多饮料(茶、咖啡、红酒和水果汁)中,也是人类饮食中最主要的生物类黄酮,但是我国居民每日人均从蔬菜中摄入的槲皮素约为 7.10 mg,从水果摄入的槲皮素约为 2.35 mg^[13],无法达到理想的保健效果,因此需要通过食品来补充。

槲皮素对肠道菌群有调节作用^[14]。槲皮素调节肠道菌群失衡状态,增加拟杆菌和减少变形杆菌,表明其有恢复宿主微生物平衡的能力^[15]。在蛋鸡饲料中添加槲皮素,可显著抑制蛋鸡肠道内金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、绿脓杆菌、粪链球菌、肠球菌等有害细菌生长,促进双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌生长^[16]。槲皮素补充剂对不同分类水平的肠道微生物群组成产生很大影响^[17]。槲皮素可调节由高脂饮食诱导的肥胖大鼠的肠道菌群,显著减低与肥胖相关的菌科的丰度,增加缓解肥胖相关的菌科/菌属的丰度,达到减肥效果^[18]。但是由于槲皮素不溶于水,故难以应用在食品加工生产当中,选择酸奶做为槲皮素的食物载体,可解决这一问题。酸奶是以牛奶(或奶粉)为主要原料,加入甜味剂经乳酸菌发酵而成的,含有大量乳酸菌及代谢产物,可以起到改善人体微生态平衡、优化肠道菌群、调整肠道功能、提高人体免疫力、促进人体对矿物质的吸收等作用^[19]。槲皮素酸奶是以脱脂乳粉、蔗糖、槲皮素、发酵剂为主要原料制备的乳制品。本研究研制的具有调节肠道菌群作用的槲皮素酸奶,探究槲皮素对酸奶菌群的影响以及槲皮素酸奶对肠道菌群体外增殖的影响,为槲皮素功能食品的研发提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

槲皮素、蔗糖,市售;脱脂乳粉,德运;酸奶发酵剂,安琪酵母股份有限公司;胆盐-七叶苷-叠氮钠琼脂培养基、双歧杆菌培养基,青岛海博生物科技有限公司;伊红美兰琼脂培养基、MRS 琼脂培养基,广东环凯微生物科技有限公司。

SPF 级健康 Balb/c 五周龄雄性小鼠,由广东省实验动物中心提供,生产许可证编号 SCXK(粤)2013-0002,饲养于广州医科大学 SPF 级动物室,室温(22±2)℃;相对湿度 50%~70%,清洁安静,相同的照明条件。

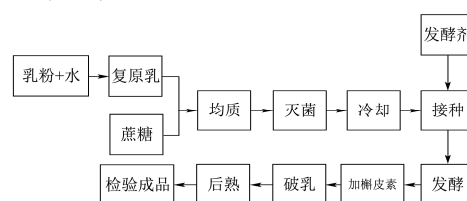
市售酸奶 1~4 均是广州市面常见的酸奶,是配料基本一致的四种原味酸奶,生产日期及保质期相同,区别为品牌不同。

1.2 仪器与设备

恒温培养箱,上海瑞丰仪器仪表有限公司;高压蒸汽灭菌机,日本三洋;迅数自动菌落分析仪,杭州迅数科技有限公司;电子天平,普利赛斯科学仪器有限公司;紫外分光光度计,天美(中国)科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 槲皮素酸奶加工工艺流程



1.3.2 工艺流程要点

(1) 器具消毒:将所用器具置于高压灭菌锅内,121℃灭菌 20 min;

(2) 复原乳的制备:称取脱脂奶粉溶于 70℃~80℃温开水按一定比例制成乳液,混匀后备用;

(3) 配料:在复原乳中加入一定比例的蔗糖,充分溶解;

(4) 灭菌:将上述混匀液置于高压灭菌锅内,95℃杀菌 5 min~10 min;

(5) 冷却、接种:将灭菌后的乳液快速冷却至约 40℃时,接入活化好的发酵剂;

(6) 发酵:将接种后的乳液放入 42℃培养箱中恒温发酵,直至凝乳块出现;

(7) 加入槲皮素、破乳:将 100 mg 槲皮素加

入到制作好的酸乳中,搅拌均匀;

(8) 后熟: 待酸乳冷却至 10℃后, 放入 4℃~6℃冰箱后熟 24 h。

1.3.3 槲皮素酸奶的感官评分标准

槲皮素酸奶的感官评分标准见表 1。评定指标共 4 项, 满分共 100 分。由 10 人组成感官品评小组, 根据评分标准, 对酸奶进行评分, 取平均值作为酸奶的总分。

表 1 槲皮素酸奶感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria of quercetin yogurt

项目	评分标准	评分/分
组织状态 (30 分)	质地均匀光滑, 黏度适中, 无乳清析出	27~30
	质地较均匀, 黏度适中, 少量乳清析出	23~26
	有较多乳清析出, 黏度较低	18~22
	有大量乳清析出, 黏度差	<18
口感 (30 分)	酸甜适中, 细腻柔滑	27~30
	酸甜比例稍有失调, 口感些许粗糙, 稍有沙粒感, 不尽柔和, 尚可接受	23~26
	口感粗糙, 有部分沙粒感, 酸甜比例失调	18~22
	过酸或者过甜, 口感粗糙, 难以接受	<18
风味 (20 分)	具有浓郁的酸奶特殊香气、槲皮素味且协调	18~20
	具有酸奶特殊香气, 槲皮素味较淡, 香气均一	15~17
	酸奶香味较淡, 无明显槲皮素味	13~14
	酸奶香味弱, 无槲皮素味, 甚至有异味	<13
色泽 (20 分)	均匀柔和的黄绿色, 色泽均匀	18~20
	淡黄绿色, 色泽均匀	15~17
	淡黄色, 色泽不均匀	13~14
	乳白色, 颜色不均匀, 无光泽	<13

表 2 九点快感感官评价法数字标度表

Table 2 Nine-point pleasure sensory evaluation method digital scale

数字标度	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
喜好程度	非常厌恶	很厌恶	一般厌恶	轻微厌恶	无好恶	轻微喜爱	一般喜爱	很喜爱	非常喜欢

1.3.4 工艺配方优化试验设计

分别考察发酵时间、乳粉添加量、蔗糖添加量和发酵剂接种量对槲皮素酸奶感官评分和酸度的影响。酸度结果参照 GB 19302 规定进行判断。

1.3.5 九点快感感官评价法

在大型超市中随机选取四个不同品牌的市售原味酸奶, 与槲皮素酸奶和原味酸奶进行感官评价。

由 10 名同学组成的感官评价小组, 品评员按照呈送顺序, 依次品尝 A-F 六种酸奶样品, 根据自身的喜好程度选择标度, 4 分为非常喜欢, 3 分为很喜爱, 2 分为一般喜爱, 1 分为轻微喜爱, 0 分为无好恶, -1 分为轻微厌恶, -2 分为一般厌恶, -3 分为很厌恶, -4 分非常厌恶。品评员单独品尝, 独立评价。每完成一个样品的感官评价, 立即用清水漱口。见表 2。

1.3.6 理化指标

槲皮素酸奶的酸度、蛋白质、脂肪均参照 GB 19302 规定的方法检测。葡萄糖、蔗糖和乳糖含量

指标参照 GB 5009.8 规定的方法检测。

1.3.7 槲皮素对酸奶菌群的影响

原味酸奶与槲皮素酸奶的乳酸菌总数按照国标 GB 19302-2010《发酵乳》要求进行检测。

1.3.8 槲皮素酸奶对部分肠道有益菌及有害菌的影响

选取了肠球菌、肠杆菌、双歧杆菌和乳杆菌等四类细菌作为研究对象, 既包含了致病菌, 又包含了益生菌, 可相对全面地代表肠道中常见菌群。这四种菌也是《保健食品检验与评价技术规范(2003 版)》中用于评价受试样品是否具有调节肠道菌群的作用的。

(1) 选择培养基的配制: 按照培养基配制方法分别配制 EMB 培养基、BEA 肠培养基、TPY 培养基、BBL 培养基。

(2) 样本的稀释及细菌培养条件的确定: 无菌取小鼠粪便, 用无菌水梯度稀释至 10^{-4} 后, 分别接种于对应的选择培养基上进行培养。

选择性培养并鉴定,剔除不符合条件的菌落,其余菌落以无菌水冲洗后收集,得到目标菌种。

(3) 菌落的鉴定:参考《伯杰氏系统细菌学手册》第九版对肠球菌、肠杆菌、双歧杆菌和乳杆菌的描述,对分离所得菌种菌落形态和微生物形态学特征进行鉴定。

(4) 光电比浊法测定 OD 值:将 0.5 麦氏浊度的目标菌种(肠球菌、肠杆菌、双歧杆菌、乳杆菌)以 10%的接种量接种于含有适量槲皮素酸奶/原味酸奶的营养肉汤中,取 200 μ L 置于 96 孔板中,37 $^{\circ}$ C 厌氧培养。以空白营养肉汤为对照,分别做三个平行样,于 600 nm 波长下测定其吸光度(OD 值)。每 2 h 测定一次,共检测 24 h。

1.3.9 数据统计分析

运用 SPSS 17.0 对数据进行统计分析。计量资料正态分布数据采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{X}\pm S$)进行统计描述。

2 结果与分析

2.1 发酵时间对槲皮素酸奶质量的影响

以 100 mL 乳液为基准,槲皮素添加量为 0.1%、乳粉添加量为 10%、蔗糖添加量为 8%、发酵剂接种量为 0.1%,发酵温度为 42 $^{\circ}$ C,探究发酵时间为 6 h、7 h、8 h、9 h、10 h 时对槲皮素酸奶质量的影响,酸度和感官评分结果见表 3。

由表3可知,随着发酵时间的增加,酸奶的感官评价得分先升高后降低,酸奶的酸度增加,且酸度均 $>70^{\circ}$ T,使酸奶特有风味突出。发酵时间为9 h时,酸奶的感官评价得分最高,因此最适发酵时间在9 h 附近。分析其原因可能当发酵时间较短时,难以形成良好的凝乳状。当发酵时间过长时,乳酸菌产酸过多,会使酸度增大,甚至乳清析出,导致酸奶风味不协调,影响产品的感官评分,这与马福敏等^[20]研制的酸奶发酵时间结果基本一致。

2.2 乳粉添加量对槲皮素酸奶质量的影响

以 100 mL 乳液为基准,蔗糖添加量为 8%、槲皮素添加量为 0.1%、发酵剂接种量为 0.1%,发酵温度为 42 $^{\circ}$ C,发酵时间为 8 h,探究乳粉添加量为 6%、8%、10%、12%、14%时对槲皮素酸奶质量的影响,酸度和感官评分结果见表 4。

由表 4 可以看出,随着乳粉添加量的增加,酸度逐渐增加。乳粉添加量为 6%时,有乳清析出,保形能力很弱,酸奶酸度低于 70 $^{\circ}$ T,不符合国标规定,舍去。随着乳粉添加量的增加,酸奶的奶香味更浓,更受人们喜爱,酸奶感官评分呈上升趋势。综合考虑,初步确定乳粉添加量范围为 10%~14%。当乳粉添加量过低时,酸奶的组织状态差,乳清析出多,这可能是由于酪蛋白和乳糖含量不足,故未形成较好的蛋白质网状结构^[21]。

2.3 蔗糖添加量对槲皮素酸奶质量的影响

以 100 mL 乳液为基准,槲皮素添加量为 0.1%、乳粉添加量为 10%、发酵剂接种量为 0.1%,发酵温度为 42 $^{\circ}$ C,发酵时间为 8 h,探究蔗糖添加量为 4%、6%、8%、10%、12%时对槲皮素酸奶质量的影响,酸度和感官评分结果见表 5。

由表 5 可以看出,感官评价分数随着蔗糖添加量增加而增加,且酸度均在 70 $^{\circ}$ T 以上。因感官评分分数总体在 75~80 分之间,差距并不明显。槲皮素酸奶的蔗糖添加量相较其它普通市售酸奶的蔗糖添加量低,是由于所使用的酸奶发酵剂中含有甜味剂-甜菊糖苷和罗汉果甜苷,可适量减少蔗糖的添加量,且二者低热量的特点可满足人们对酸奶低能量的需求。而槲皮素酸奶的甜度稍低,可更好地突出酸味,与槲皮素的独特风味搭配更协调。综合考虑酸奶品质及保证酸奶的低能量特点,初步确定蔗糖添加量为 4%。

表 3 发酵时间对酸度的影响

Table 3 Effect of fermentation time on acidity

发酵时间/h	6	7	8	9	10
酸度/ $^{\circ}$ T	76.77 $\pm$ 0.55	78.47 $\pm$ 0.66	79.4 $\pm$ 0.86	80.27 $\pm$ 0.39	81.27 $\pm$ 1.51
感官评价/分	79.1 $\pm$ 2.88	80.2 $\pm$ 4.42	81.9 $\pm$ 5.92	83.6 $\pm$ 3.53	81.7 $\pm$ 4.41

表 4 乳粉添加量对酸度的影响

Table 4 Influence of milk powder addition amount on acidity

乳粉添加量/%	6	8	10	12	14
酸度/ $^{\circ}$ T	56.85 $\pm$ 1.23	71.85 $\pm$ 1.34	88.29 $\pm$ 1.34	98.13 $\pm$ 1.26	110.33 $\pm$ 1.03
感官评价/分	75.4 $\pm$ 7.31	79.0 $\pm$ 7.58	80.6 $\pm$ 5.57	80.8 $\pm$ 4.28	85.3 $\pm$ 6.20

表 5 蔗糖添加量对酸度的影响

Table 5 Effects of sucrose content on acidity

蔗糖添加量/%	4	6	8	10	12
酸度/°T	79.21±1.65	74.83±0.88	78.45±2.19	76.43±1.55	73.09±1.50
感官评价/分	76.5±8.29	77.6±8.04	78.2±7.32	78.4±9.29	78.5±7.81

表 6 发酵剂接种量对酸度的影响

Table 6 Effect of starter inoculation amount on acidity

发酵剂接种量/%	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
酸度/°T	74.48±1.05	74.29±0.98	74.92±0.20	77.28±0.45	74.37±1.16
感官评价/分	82.9±3.62	83.7±4.22	82.3±6.33	81.1±7.65	80.2±8.81

2.4 发酵剂接种量对槲皮素酸奶质量的影响

以 100 mL 乳液为基准，槲皮素添加量为 0.1%、乳粉添加量为 10%、蔗糖添加量为 8%，发酵温度为 42 ℃，发酵时间为 8 h。探究发酵剂接种量为 0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25%时对槲皮素酸奶质量的影响，酸度和感官评分结果见表 6。

由表 6 可知，随着发酵剂接种量的增加，酸奶的感官评价得分先增加后降低，且酸度均在合格范围之内，当发酵剂添加量为 0.1%时，酸奶的感官评价得分最高，因此最适宜的接种量在 0.1%附近。分析其原因可能当发酵剂接种量过少时，易造成不利于乳酸菌生长的环境，使得酸度增加缓慢，酸奶发酵所需时间延长，更容易导致杂菌污染，使酸奶的品质有所下降，而且会使酸奶发酵风味不明显，影响酸奶口感，酸味偏淡；当发酵剂接种量过多时，酸生成过快，乙醛等一些风味物质生成不足，导致酸奶酸味过重，乳清析出较多，酸奶香味弱，因而影响产品的感官评分^[22]。

由单因素试验结果可见，乳粉添加量、发酵时间和发酵剂接种量对产品感官评分和酸度都有较明显影响，可纳入正交设计实验。

2.5 工艺配方优化正交试验

表 7 槲皮素酸奶优化正交试验因素水平

Table 7 Factor levels of quercetin yogurt in orthogonal test

水平	因素		
	A 乳粉添加量/%	B 发酵时间/h	C 发酵剂添加量/%
1	10	8	0.05
2	12	9	0.1
3	14	10	0.15

根据单因素试验结果，以酸奶的感官评价和酸度为考察指标，选取发酵时间、乳粉添加量、发酵剂接种量三个因素设计三因素三水平正交实验，优化发酵工艺。

2.6 正交实验

由表 8 可知，根据正交试验的极差分析结果可看出各因素对感官评价的影响存在差异，各因素对产品的影响大小依次为：A 乳粉添加量>C 发酵剂添加量>B 发酵时间，极差分析结果表明最优方案为 A₂B₁C₂，且其感官评价分数最高，检测其酸度，结果为 81.42°T，符合要求，因此最优组合为试验号为 4 的组别-A₂B₁C₂，即乳粉添加量为 12%，发酵时间为 8 h，发酵剂添加量为 0.1%，感官评分和酸度分别为 85.5 分和 81.42°T。

表 8 槲皮素酸奶配方优化正交实验结果与分析

Table 8 Orthogonal experimental results and analysis of quercetin yogurt formula optimization

试验号	A	B	C	感官评分
1	1	1	1	79.2
2	1	2	2	82.3
3	1	3	3	82.1
4	2	1	2	85.5
5	2	2	3	82.6
6	2	3	1	81.7
7	3	1	3	83.5
8	3	2	1	82.5
9	3	3	2	81.4
感官评分	k1	81.2	82.73	81.13
	k2	83.27	82.47	83.07
	k3	82.47	81.73	82.73
R	2.07	1	1.94	
优方案	A ₂	B ₁	C ₂	

2.7 理化指标

经检测槲皮素酸奶的蛋白质含量为 3.30 g/100 g，脂肪含量为 0.1 g/100 g，酸度为 81.42°T，葡萄糖含量为 0.072 mg/mL，蔗糖含量为 0.781 mg/mL，乳糖含量为 1.098 mg/mL。

2.8 槲皮素酸奶的乳酸菌总数明显高于原味酸奶

由表 9 可以得出, 槲皮素酸奶中乳酸菌总数为 $(1.475 \pm 0.005) \times 10^8$ cfu/mL, 原味酸奶(未添加槲皮素的酸奶)中乳酸菌总数为 $(1.213 \pm 0.006) \times 10^8$ cfu/mL, 统计分析结果为 $p < 0.05$, 说明槲皮素酸奶的乳酸菌总数高于原味酸奶, 差异有统计学意义。

表 9 槲皮素酸奶乳酸菌总数检测结果

Table 9 Test results of total number of lactic acid bacteria in quercetin yogurt

检测指标	槲皮素酸奶	原味酸奶
乳酸菌总数/(10^8 cfu/mL)	1.475 ± 0.005	1.213 ± 0.006

2.9 槲皮素酸奶与市售酸奶九点快感感官评价法比较结果分析

由 10 名同学通过九点快感法感官评价得出的槲皮素酸奶、原味酸奶与市售酸奶的感官评价结果如表 10 所示。

表 10 槲皮素酸奶、原味酸奶与市售酸奶的感官评价结果

Table 10 Sensory evaluation results of quercetin yogurt, plain yogurt and commercially available yoghurt

样品序号	样品名称	感官评价分数
A	某市售酸奶 1	2.1
B	某市售酸奶 2	1.8
C	某市售酸奶 3	2.3
D	某市售酸奶 4	2.6
E	原味酸奶	3.3
F	槲皮素酸奶	3.5

由表 10 可以看出, 槲皮素酸奶的感官评价分数最高, 其次为原味酸奶(未添加槲皮素的酸奶), 即槲皮素酸奶与原味酸奶较市售酸奶相比, 口感和风味更受欢迎。

2.10 槲皮素酸奶对肠道菌群体外增殖的影响研究

2.10.1 槲皮素酸奶对肠球菌体外增殖的影响

肠球菌是人类和动物肠道正常菌群的一部分, 是致病菌的一种。如图 1 所示, 槲皮素酸奶组跟原味酸奶组的 OD 值均高于空白组, 但整个生长曲线的趋势与空白组基本一致。槲皮素酸奶组肠球菌生长

曲线明显低于原味酸奶组肠球菌, 在 6 h 之后相比原味酸奶明显抑制了肠球菌的增殖生长, 12 h 之后随着时间的延长只有小幅度的增长, 生长曲线趋于平稳, OD 值基本保持稳定, 表明槲皮素酸奶对肠球菌的增殖表现出抑制作用。目前关于槲皮素对肠道细菌的作用^[14], 主要集中于其对致病菌的抑制效果, 研究表明一定浓度的槲皮素能够有效抑制肠球菌的生长。本实验使用的槲皮素酸奶, 因为酸奶作为作为乳酸菌补充剂, 本身细菌含量比较高。因此干预组的 OD 值, 与空白组相比较反而更高。槲皮素酸奶组肠球菌生长曲线明显低于原味酸奶组, 表明槲皮素酸奶对肠球菌的增殖表现出较强的抑制作用。

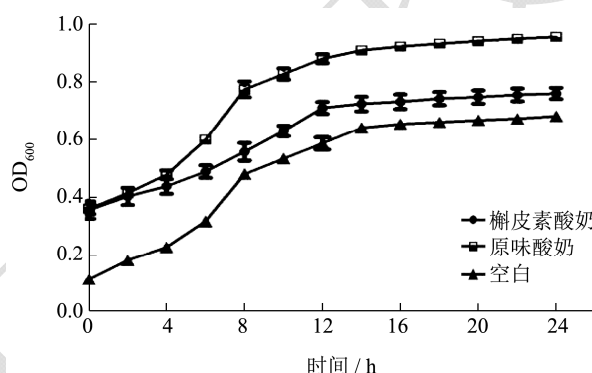


图 1 槲皮素酸奶对肠球菌增殖的影响

Fig.1 Quercetin yogurt effect on enterococcus proliferation

2.10.2 槲皮素酸奶对肠杆菌体外增殖的影响

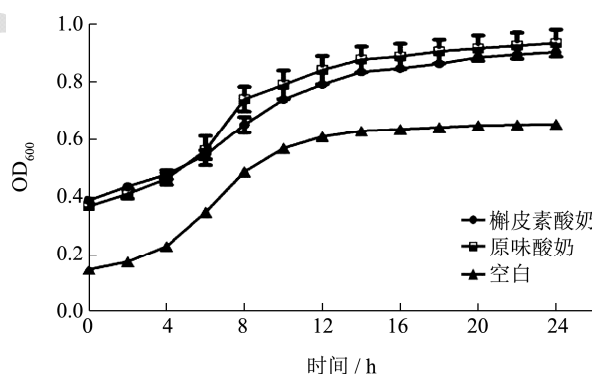


图 2 槲皮素酸奶对肠杆菌增殖的影响

Fig.2 Quercetin yogurt impact on proliferation of intestinal bacteria

肠杆菌属于肠道有害菌的一种, 其中沙门氏菌属、志贺氏菌属、变形杆菌属等都属于致病菌, 可导致伤寒、败血症、慢性肠炎、食物中毒等。如图 2 所示, 24 h 内空白组 OD 值呈上升趋势, 是由于空白营养肉汤对肠杆菌也提供营养作用, 促进了肠杆菌增殖。24 h 内槲皮素酸奶组和原味酸奶组肠杆菌的生长曲线的发展趋势与空白组基本持平, OD 值始终高于空白组, 随着时间的延长呈小幅度增长, 槲皮

素酸奶组肠杆菌的生长曲线均在原味酸奶组之下,在 12 h 后生长曲线趋于平稳,OD 值基本稳定,不再上升,说明槲皮素酸奶对肠杆菌有一定的增殖抑制作用。滕楠^[14]等人研究表明槲皮素能够有效地抑制肠杆菌的生长,与本实验槲皮素酸奶研究结果基本一致。槲皮素酸奶对肠杆菌的增殖抑制效果没有对肠球菌的抑制效果明显,肠杆菌数量下降速度缓慢,可能是与肠杆菌能够在一定的酸性环境下生长,但不能长时间在酸性环境存活有关^[23]。

2.10.3 槲皮素酸奶对双歧杆菌体外增殖的影响

双歧杆菌是人和动物肠道菌群的重要组成成员之一,具有改善胃肠道功能、营养作用、免疫增强作用、抗肿瘤作用等多种重要的生理功能。如图 3 所示,24 h 内空白组生长曲线呈不断上升趋势。24 h 内槲皮素酸奶组双歧杆菌的生长曲线趋势与空白组基本一致,细菌悬液 OD 值随时间的增加而增长,且始终高于原味酸奶组。槲皮素酸奶和原味酸奶组双歧杆菌的生长曲线都在空白组之上,槲皮素酸奶组在 8 h 后加速双歧杆菌的增殖,随时间的增加 OD 值不断增加,明显提高了双歧杆菌的最终浓度,表现出较强的扶植作用。刘兰杰^[24]的研究表明,凝固性苦荞酸奶相比普通酸奶能更好地促进小鼠肠道内有益菌(双歧杆菌、乳杆菌)的增殖,增加肠道代谢产物的含量,改善肠道功能。本实验的结果表明槲皮素酸奶能加速双歧杆菌的体外增殖,能明显提高酸奶中双歧杆菌的最终细菌浓度,表现出较强的扶植作用。

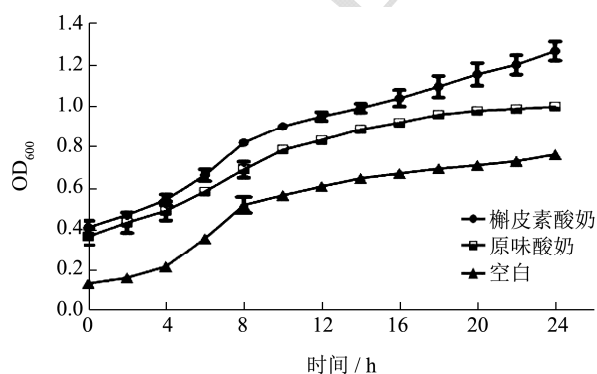


图3 槲皮素酸奶对双歧杆菌增殖的影响

Fig.3 Quercetin yogurt effects on bifidobacterium proliferation

2.10.4 槲皮素酸奶对乳杆菌体外增殖的影响

乳酸杆菌作为益生菌广泛用于人和动物,它起到保护肠道功能、调节免疫功能、改善宿主健康状况的作用。如图 4 所示,24 h 内空白组酸奶生长曲线呈不断上升趋势。24 h 内槲皮素酸奶组和原味酸

奶组乳杆菌的生长曲线同样呈上升趋势,且始终高于空白组乳杆菌生长曲线。0~16 h 内槲皮素酸奶组和原味酸奶组生长曲线及 OD 值基本一致,从 16 h 开始槲皮素酸奶组乳杆菌随时间的增加,体外增殖的趋势越来越明显,OD 值也始终高于原味酸奶组,而原味酸奶组生长曲线则趋于平稳,OD 值维持在 0.9 左右,说明槲皮素酸奶相对于原味酸奶能更好地促进乳杆菌体外增殖作用,具有非常重要的意义。

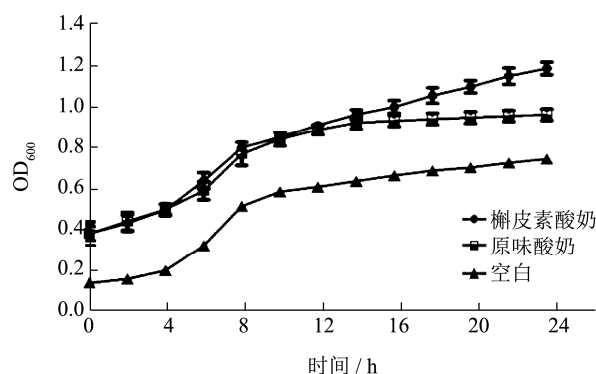


图4 槲皮素酸奶对乳酸杆菌体外增殖的影响

Fig.4 Quercetin yogurt effects on *Lactobacillus* proliferation in vitro

3 结论

本研究通过单因素试验及正交试验确定槲皮素酸奶的最佳发酵条件为:发酵时间为 8 h,温度为 42 ℃,发酵剂添加量为 0.1%,工艺配方为:乳粉添加量为 12%,蔗糖添加量为 4%,槲皮素添加量为 100 mg;与市售酸奶相比,槲皮素酸奶感官评价分数最高。与原味酸奶相比,槲皮素酸奶的乳酸菌总数较高;动态观察槲皮素酸奶对肠道菌群在体外增殖的影响,槲皮素酸奶能促进小鼠乳杆菌和双歧杆菌增殖、抑制肠杆菌和肠球菌增殖。

参考文献

- [1] 骆明旭,罗丹,赵万红.槲皮素药理作用研究进展[J].中国民族民间医药,2014,17:12-14
LUO Ming-xu, LUO Dan, ZHAO Wan-hong. Advances in research on pharmacological effects of quercetin [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2014, 17: 12-14
- [2] 肇莹,张蕾,李会,等.槲皮素抗氧化作用的研究进展[J].园艺与种苗,2009,29(2):99-100
ZHAO Ying, ZHANG Lei, LI Hui, Advances in research on anti-oxidation of quercetin [J]. Horticulture & Seed, 2009, 29(2): 99-100
- [3] 孙阳,车艳新,吴勃岩,等.槲皮素抗肿瘤药理作用及剂型研

- 究进展[J].现代医药卫生,2016,32(20):3142-3144
- SUN Yang, CHE Yan-xin, WU Bo-yan, et al. Advances in anti-tumor pharmacological effects and dosage forms of quercetin [J]. Modern Medicine & Health, 2016, 32(20): 3142-3144
- [4] 周霄楠,韩超,宋鹏琰.木犀草素和槲皮素体外抗炎作用研究[J].动物医学进展,2017,10:60-65
- ZHOU Xiao-nan, HAN Chao, SONG Peng-yan. Anti-inflammatory effects of luteolin and quercetin *in vitro* [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 10:60-65
- [5] 洪志伟,孟令宇,葛雅琨,等.槲皮素对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用的研究[J].吉林化工学院学报,2017,34(5):38-41
- HONG Zhi-wei, MENG Ling-yu, GE Ya-kun, et al. *In vitro* antibacterial activity of quercetin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Jilin Institute of Chemical Technology, 2017, 34(5): 38-41
- [6] 吴莎,金晓晗,施珊珊,等.槲皮素和穿心莲内酯的体外抗病毒作用[J].中药材,2012,35(12):2003-2006
- WU Sha, JIN Xiao-han, SHI Shan-shan, et al. *In vitro* antiviral effect of quercetin and andrographolide [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(12): 2003-2006
- [7] 王建礼,杨作成,王聪,等.槲皮素对糖尿病大鼠的降糖作用及机制研究[J].济宁医学院学报,2018,41(2):135-138
- WANG Jian-li, YANG Zuo-cheng, WANG Cong, et al. Hypoglycemic effect and mechanism of quercetin on diabetic rats [J]. Journal of Jining Medical University, 2018, 41(2): 135-138
- [8] 程瑾,胡顺安.槲皮素的降压作用及其机制研究[J].实用药物与临床,2015,18(3):334-337
- HU Jing, HU Shun-an. Antihypertensive effect of quercetin and its mechanism [J]. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2015, 18(3): 334-337
- [9] 许广人,苏建明.槲皮素药代动力学与生物活性的研究进展[J].中国农学通报,2015,32(13):177-181
- XU Guang-ren, SU Jian-ming. Advances in research on pharmacokinetics and biological activity of quercetin [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 32(13): 177-181
- [10] 陈辉,刘应才.槲皮素的心血管保护作用[J].国际心血管病杂志,2007,34(1):57-60
- CHEN Hui, LIU Ying-cai. Cardioprotective effects of quercetin [J]. International Journal of Cardiovascular Disease. 2007, 34(1): 57-60
- [11] 冯香安.槲皮素作为饲料添加剂的安全性评价[D].哈尔滨:东北农业大学,2013
- FENG Xiang-an. Safety evaluation of quercetin as a feed additive [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013
- [12] Khor C M, Ng W K, Kanaujia P, et al. Hot-melt extrusion microencapsulation of quercetin for taste-masking [J]. Journal of Microencapsulation, 2017, 34(1): 29-37
- [13] 翟广玉,颜子童,渠文涛,等.槲皮素--有益于健康的天然化合物[J].食品研究与开发,2015,7:118-122
- ZHAI Guang-yu, YAN Zi-tong, QU Wen-tao, et al. Quercetin -A natural compound that is good for health [J]. Food Research and Development, 2015, 7: 118-122
- [14] 滕楠.槲皮素抑菌作用的体内和体外研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2015
- TENG Nan. *In vivo* and *in vitro* studies on the antibacterial action of quercetin [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015
- [15] 张玉春,左晓,邵云云,等.槲皮素与 5-氨基水杨酸协同治疗感染后肠易激综合征大鼠的药效机制[Z].2016,2054-2058
- ZHANG Yu-chun, ZUO Xiao, SHAO Yun-yun, et al. Therapeutic effect of quercetin and 5-aminosalicylic acid on rats with irritable bowel syndrome after infection [Z]. 2016, 2054-2058
- [16] 赵维中,王宇翎,陈志武,等.芸香甙对应激性胃粘膜损伤保护作用机制研究[J].中国药理学通报,1998,1:66-69
- ZHAO Wei-zhong, WANG Yu-ling, CHEN Zhi-wu, et al. Study on the protective mechanism of musk sinensis on stress gastric mucosal injury [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 1998, 1: 66-69
- [17] YU B, JIANG Y, JIN L, et al. Role of quercetin in modulating chloride transport in the intestine [J]. Frontiers in Physiology, 2016, 7: 549
- [18] Porras D, Nistal E, Martínez-Flórez, Susana, et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2017, 102: 188-202.
- [19] 邓功成,赵洪,高礼安,等.灰树花风味酸奶的研制[J].江苏农业科学,2014,42(10):257-260
- DENG Gong-cheng, ZHAO Hong, GAO Li-an, et al. Development of ash tree flower flavored yogurt [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(10): 257-260

(下转第 275 页)