

酵素的发酵工艺、安全性评价及抗氧化性研究进展

谈雨蝶, 张法典, 徐洁, 王贺, 谢心愿, 杨潇*

合肥师范学院化学与制药工程学院, 安徽合肥 230601

【摘要】本文旨在帮助人们认识并了解酵素。简述了酵素的发酵工艺、安全性评价以及酵素的抗氧化性能。酵素制作过程中发酵是关键环节, 选择合适的发酵菌种和发酵条件可以提高酵素的品质。通过对发酵工艺的杂菌繁殖量、亚硝酸盐和甲醇的含量进行评价, 可以确保酵素的安全性。对酵素的抗氧化性研究包括 DPPH 自由基、ABTS 阳离子自由基的清除能力及活性物质的含量等。通过对酵素的探讨, 为酵素的开发和应用提供参考依据。

【关键词】酵素; 发酵工艺; 安全性评价; 抗氧化性

【中图分类号】TS275.4 **【文献标识码】**A **【DOI】**10.12325/j.issn.1672-5336.2024.02.035

引言

酵素是以水果蔬菜等为原料经发酵得到的产品, 含有多重活性物质^[1]。酵素制成的产品深受市场喜爱。2018年我国颁布的《酵素产品分类导则》中, 将酵素按应用领域分为农用酵素、食用酵素、环保酵素和日化酵素等。与酵素相关的国家标准和行业标准如表1所示。

在众多酵素制品中, 环保酵素能够改变土壤结构、提高土壤肥力^[2]、防虫^[3]、改善作物品质^[4]。任卓然等^[5]研究发现酵素的施用改变了土壤结构, 增加了土壤可溶性有机质的含量, 提高了土壤微生物对含氮有机化合物的转化。王丽平等^[6]研究发现使用大蒜、丁香和洋葱发酵液对朱砂叶螨有较好的毒杀作用。黄兴学等^[7]研究发现, 施用酵素菌肥后, 苋菜所含蛋白质和维生素含量有显著增加。

食用酵素具有降血脂、降血糖等作用^[8]。赵冰婕等^[9]研究发现红树莓酵素有利于I型糖尿病小鼠空腹血糖值的恢复。马巧灵等^[10]研究表明苹果酵素对II型糖尿病小鼠具有良好的降血糖、降血脂作用。

酵素的发酵工艺的优化和发展, 可以实现酵素的高效生产, 提高酵素的安全性指标。本文主要从酵素的发酵工艺、安全性评价及抗氧化性对酵素的制备及其性能进行探讨, 为酵素的进一步研究提供参考。

1 发酵工艺

酵素的制备是将水果或蔬菜洗净后切块或打浆, 加

入营养物质或菌种与水, 于密闭容器中发酵。图1是常见的酵素发酵工艺流程。研究者从菌种的不同, 发酵时间与发酵温度来探索最优的发酵工艺。

陆皓茜等^[11]探索莲蓬酵素的发酵条件, 以四因素三水平正交实验, 确定了莲蓬发酵的最佳工艺条件为: 使用未过滤的莲蓬打浆液、菌种选用江大益生菌、加糖量为10%, 发酵时间为30天。

鲁风云等^[12]采用三因素三水平正交实验, 通过感官评价, 以发酵温度、苹果和糖的比例、糖的种类为影响因素, 优化苹果酵素生产工艺。结果表明, 选择红糖, 苹果与红糖的比例为1:1, 发酵温度为30℃, 发酵天数为120天为最佳发酵条件。

赵飞等^[13]优化黄秋葵-火龙果酵素工艺。他们采用乳酸菌液态发酵, 在单因素试验基础上, 利用正交试验, 通过感官评价确定黄秋葵-火龙果酵素的发酵工艺。结果表明, 最佳发酵条件为黄秋葵与火龙果的比例为1:1, 菌粉接种量为0.7g/L, 35℃环境下恒温发酵72小时。

上述研究表明, 利用菌种发酵的酵素发酵条件一般为温度30℃~35℃, 发酵时间为72小时; 自然发酵的水果酵素发酵条件一般温度为30℃, 发酵时间为30~120天。

2 安全性评价

目前对酵素安全性的研究正逐步推进。依据国标, 酵素中可能存在的安全性风险因素及其含量如表2所示。

基金项目:2023年安徽省大学生创新创业训练计划(S202314098112); 2018年度安徽高校自然科学基金项目(KJ2018A0492); 2022年度安徽省药食同源天然资源开发与利用工程实验室开放基金项目(YSTY2022026)

作者简介:谈雨蝶(2003—), 女, 汉族, 安徽省合肥市, 本科, 研究方向: 化工。

***通讯作者:**杨潇(1983—), 女, 汉族, 安徽省合肥市, 硕士研究生, 讲师, 研究方向: 化工。

表1 与酵素相关的国家标准和行业标准

类别	酵素的定义	酵素的分类	食用酵素的生产规范
标准	《植物酵素》QB/T 5323-2018	《酵素产品分类导则》QB/T 5324-2018	《食用酵素良好生产规范》T/CBFIA 08002-2016

表2 酵素可能存在安全性风险因素的含量范围

安全性风险因素	菌落种类				亚硝酸盐含量		甲醇含量
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	霉菌	沙门氏菌	水果酵素	蔬菜及其制品	
国家标准规定含量范围	1~10CFU/mL	102CFU/mL	20~50CFU/mL	不得查出	0~2.19mg/L	<20mg/kg	<2mg/mL

国标 GB 4789.1 规定, 酵素产品内的菌落总数不超过 $10^2 \sim 10^3$ CFU/mL^[14]。研究人员一般会检测其中两种或两种以上的致病菌含量, 来确定酵素的安全性^[15]。郝子娜等^[16]通过研究南果梨皮红糖酵素发酵过程, 发现其大肠菌群、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、霉菌含量均符合国家规定。饶毅萍等^[17]用一定比例的苹果、红糖和水制作酵素, 发现该酵素具有稳定的微生物生态环境, 不含大肠杆菌、沙门氏菌和金色葡萄球菌等致病菌。

亚硝酸盐是影响酵素安全性的主要化学物质。亚硝酸盐摄入过多, 会危害人体^[18]。发酵中产生的亚硝酸盐含量是否符合安全标准, 对于酵素的安全性十分关键。杨吉惠等^[19]对水果酵素中亚硝酸盐含量进行测定, 对比同等原料比例下发酵玫瑰葡萄 12 个月、桑葚果 12 个月和苹果皮橘子皮 24 个月, 其亚硝酸盐含量分别为 1.58mg/L、2.19mg/L 和 0.62mg/L, 证实水果酵素符合国家标准, 安全可放心食用。同时发酵时间越长, 亚硝酸盐含量越少。常桂芳等^[20]研究发现冬瓜酵素和蒲公英酵素发酵过程中的亚硝酸盐含量的最大值分别为 5.76mg/kg 和 3.13mg/kg, 均符合国家标准 GB2762-2017, 可放心使用。

此外, 甲醇也是发酵过程中易生成的副产物, 误吸入人体后会产生甲醛和甲酸, 危害极大^[21]。李红等^[22]对苹果酵素的安全性评价研究和杨潇等^[23]对水果酵素发酵过程中甲醇含量的分析表明, 苹果、香蕉皮发酵过程

中产生的甲醇含量符合国家卫生标准, 可放心食用。

对于酵素保存, 孙桂芳等^[18]研究发现酵素在室温下可以保存一年。低温下的保存时间取决于发酵的温度。发酵工艺温度越高, 酵素保存时间越长; 密封低温的保存环境可以使酵素中的有益菌充分发挥作用。低温密封保存酵素产品, 可以大大降低杂菌对产品安全的影响, 提高酵素品质。

多项研究表明, 选材安全, 制作工艺合规, 存储条件恰当, 能极大降低酵素存在的安全性风险。

3 酵素的抗氧化性

研究表明, 癌症等疾病多与过量自由基的产生有关。目前, 酵素的功能研究主要集中在抗氧化性, 而其抗氧化作用体现在它清除 DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) 自由基、超氧阴离子、羟自由基的能力等^[24]。

吴静等^[25]研究发现在 37℃ 下, 接入甜酒曲酵母发酵的树莓酵素总酚增量为 0.10409mg/mL; DPPH 和羟基自由基的清除率增量分别为 26.9143% 和 17.583%; 还原力增量为 0.1164; 抗氧化性能综合最优。

陈小伟^[26]研究表明, 发酵中期草莓酵素的 DPPH 清除率最高值为 80.96%, 羟基自由基清除率最高值为 76.44%, 当样品取样量为 150 μ L 时, 随着发酵时间的延长, 草莓酵素对 ABTS 自由基的清除率逐渐上升甚至接近

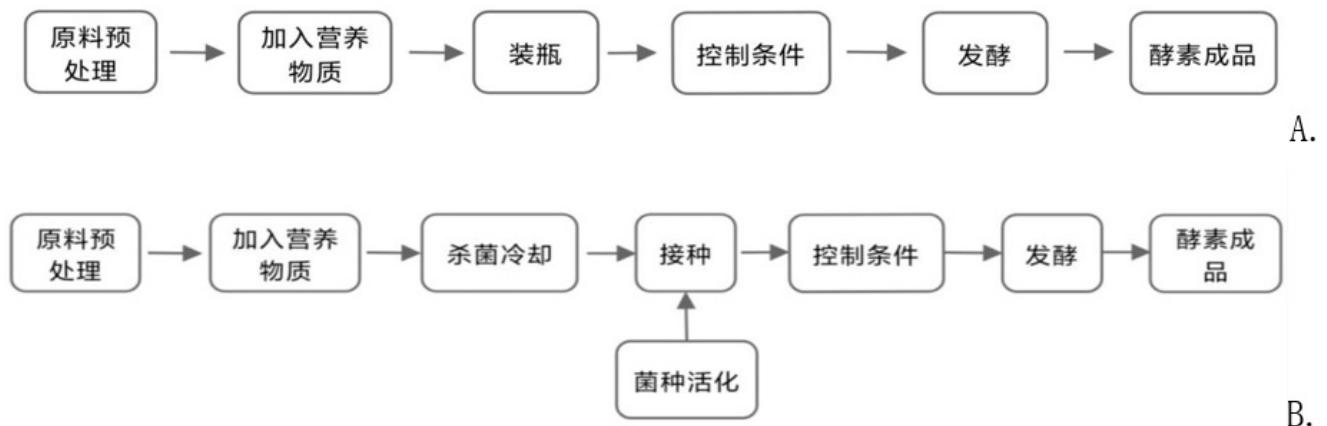


图1 酵素的发酵工艺流程 (A. 自然发酵工艺流程 B. 外加菌种发酵工艺流程)

100%。草莓酵素表现出优异的抗氧化能力。

姜峰等^[27]发现,发酵78天后青梅酵素对ABTS清除率达到74%,较发酵前增加35.76%,对DPPH清除率达到68.62%,较发酵前增加35%,SOD酶活性最大达到108.92 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$,青梅酵素的抗氧化性能达到最大。

研究表明,酵素的抗氧化能力非常优异,它能够清除DPPH和ABTS自由基,具有还原力,帮助减少氧化损伤,促进细胞的健康稳定,从而延缓衰老、减少慢性疾病风险、增强免疫系统。

4 结束语

目前,对酵素的发酵工艺研究仍处于初级阶段,很多酵素的发酵工艺仍缺乏具体详实的数据。安全评价标准中酵素的甲醇含量没有明确的国家安全标准,仍有大量不同品种的酵素缺乏相关安全性评价的研究。因此,酵素的发酵工艺研究和安全性评价标准的制定仍需要进一步发展。

参考文献:

- [1] 张旭普. 糙米酵素发酵工艺的初步研究 [D]. 河北农业大学, 2018.
- [2] 佟玉洁. 自制环保酵素改善土壤肥力试验研究 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45(26): 119-121.
- [3] 马瑞丽. 番茄褪绿病毒 RT-PCR 检测方法的优化及环保酵素对番茄褪绿病毒病抗性影响的研究 [D]. 西北农林科技大学, 2019.
- [4] 马欣, 郭俊花, 许先猛. 苹果渣发酵酵素菌肥对小麦种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 上海农业学报, 2018, 34(03): 28-31.
- [5] 任卓然, 古维娜, 王茹颖, 等. 环保酵素改良土壤系统的研究进展 [J]. 湖南农业科学, 2021(05): 111-114.
- [6] 王丽丽, 谌江华, 柴伟纲, 等. 7种生物酵素对病虫害的室内防治作用初探 [J]. 浙江农业科学, 2014(08): 1209-1211.
- [7] 黄兴学, 林处发, 周国林, 等. 植物酵素对苋菜生长和品质的影响 [J]. 长江蔬菜, 2018(22): 65-67.
- [8] 李云姣, 李琪, 杜佳峰, 等. 水果酵素体外抗氧化及抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的研究 [J]. 中国食品学报, 2019, 19(04): 79-84.
- [9] 赵冰婕. 红树莓酵素冻干粉对 I 型糖尿病小鼠肠道菌群及其代谢物影响的研究 [D]. 内蒙古大学, 2021.
- [10] 马巧灵, 申元英, 杨芳, 等. 苹果酵素对代谢性疾病模型小鼠的实验研究 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(16): 14-16.
- [11] 陆皓茜, 黄桂丽, 马佳佳, 等. 莲蓬酵素的发酵工艺研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(18): 4857-4863.
- [12] 鲁云凤, 王博文, 张四普, 等. 苹果酵素生产工艺优化研究 [J]. 酿酒, 2021, 48(03): 104-107.
- [13] 赵飞, 孙莉, 刘雪梅, 等. 黄秋葵-火龙果酵素工艺优化及特性分析 [J]. 中国果菜, 2023, 43(09): 41-47.
- [14] 周文钊, 黄文平, 张华, 等. 食用酵素产品稳定性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024: 1-10.
- [15] 中国生物发酵产业协会团体标准. T/CBFIA 8003-2017 食用植物酵素 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-10.
- [16] 郝子娜, 李杰, 田思雨, 等. 南果梨皮渣红糖酵素的工艺优化及品质分析 [J]. 粮食与油脂, 2023, 36(11): 134-137+162.
- [17] 饶毅萍, 魏建华, 陈冬城, 等. 环保酵素的微生物检测和生化成分分析 [J]. 农业与技术, 2021, 41(01): 30-31.
- [18] 孙桂芳. 浅议家庭自制水果酵素的安全性 [J]. 中国食品工业, 2023(12): 86-88.
- [19] 杨吉惠. 自制“水果酵素”及其亚硝酸盐含量的测定 [J]. 黑龙江科技信息, 2016(25): 51.
- [20] 常桂芳, 祝贺, 田莹莹, 等. 冬瓜、蒲公英酵素发酵过程中亚硝酸盐含量及其抗氧化活性测定 [J]. 中国果菜, 2019, 39(12): 49-51+55.
- [21] 周自蕊. 化学性食物中毒的护理——评《医护化学》[J]. 化学工程, 2020, 48(11): 6-7.
- [22] 李红, 毛继龙, 陈文静, 等. 发酵温度对苹果酵素抗氧化性和安全性的影响 [J]. 食品与药品, 2020, 22(05): 337-341.
- [23] 杨潇, 周唯, 张燕. 水果发酵液中甲醇含量的测定分析 [J]. 现代食品, 2021(06): 181-187.
- [24] 张思, 王蕾, 张志旭, 等. 16种市售酵素食品功能分析与评价 [J]. 食品与机械, 2016, 32(09): 196-200.
- [25] 吴静, 殷小菊, 郑凤玲, 等. 树莓酵素的制备及其抗氧化性能研究 [J]. 山东化工, 2022, 51(4): 24-27.
- [26] 陈小伟, 程勇杰, 蒋立新, 等. 草莓酵素发酵过程中代谢产物及抗氧化性的变化研究 [J]. 中国食品学报, 2020, 5(05): 1009-7848.
- [27] 姜峰, 晏子玉, 乐治平. 发酵过程中青梅酵素的活性成分及其抗氧化性能 [J]. 南昌大学学报(工科版), 2021, 43(03): 227-233.