

甘肃省大学生创新创业训练计划
项目申报表
(创新训练项目)

推荐学校：



项目名称：

甜叶菊益生菌发酵型功能
饮料研制及残渣生产发酵
饲料研究

所属一级学科名称：

食品科学技术

项目负责人：

韩磊

联系电话：

17393302274

指导教师：

童红梅 宋巧

联系电话：

13993326867 13993309069

申报日期：

2019年4月26日

甘肃省教育厅 制

填写说明

- 一、申报书要按照要求，逐项认真填写，填写内容必须实事求是，表达明确严谨。空缺项要填“无”。
- 二、格式要求：表格中的字体采用小四号宋体，单倍行距；需签字部分由相关人员以黑色钢笔或签字笔签名。
- 三、填报者须注意页面的排版。

项目名称		甜叶菊益生菌发酵型功能饮料研制及残渣生产发酵饲料研究						
项目所属一级学科		食品科学技术						
项目实施时间		起始时间：2018 年 4 月 完成时间： 2019 年 4 月						
项目简介 (100 字以内)		甜叶菊富含天然甜味剂，热值低，并具降糖降压、减肥解毒，调节代谢、恢复神经疲劳的营养功效。本项目拟应用三联益生菌联合发酵技术，配以陈皮、蒲公英、枸杞、马齿苋水提液、蜂蜜等辅料，研制香味浓郁，色泽明亮，酸甜可口的发酵型功能饮料。同时对发酵后的甜叶菊残渣进行二次糖化发酵制备成发酵型饲料，添加到畜禽饲料中。这既可改善甜叶菊产业附加值低、链条短，又解决了资源浪费，环境污染的现状，同时为甜叶菊深加工开辟一条新途径。						
申请人或申请团队		姓名	年级	学号	所在院系/专业	联系电话	E-mail	
	主持人	韩 磊	2016 级	2016010110	护理系/护理学	17393302274	2240374621@qq.com	
		侯 艳	2016 级	2016010113	护理系/护理学	18215073605	979273293@qq.com	
	成 员	王 龙	2016 级	2016010134	护理系/护理学	18152249112	726725199@qq.com	
		常怀荣	2016 级	2016010103	护理系/护理学	18293324558	1247602429@qq.com	
		冉晓娟	2016 级	2016010127	护理系/护理学	15249329412	2230689325@qq.com	
指导教师	第一指导教师	姓名	童红梅		单位	甘肃医学院		
		年龄	49		专业技术职务	教 授		
	主要成果		主持完成甘肃省教育厅课题《红牛山药骨肽活性营养粉的研制》等多项省级、市级科研及教学项目。发表二十余篇国家级论文，如：甘肃酒泉甜叶菊黄酮提取工艺优化与含量测定，《食品与发酵科技》，2019 年；益生菌发酵山药红牛骨肽营养粉活菌制剂关键工艺研究，《食品工业》2017 年；中药材复合涂膜保鲜剂对灵台牛心杏贮藏品质的影响，《中国食品添加剂》，2016 年等。					
	第二指导教师	姓名	宋 巧		单位	甘肃医学院		
		年龄	32		专业技术职务	讲 师		
	主要成果		主持在研甘肃省教育厅课题 1 项，完成 1 项创新创业教育改革项目。发表多篇国家级论文，如：平凉红牛超细鲜骨粉制备关键工艺研究，《食品研究与开发》，2017 年；平凉山药红牛骨肽营养粉配方研究，《食品工业》，2018 年等。完成两项发明专利：《一种清香型甜叶菊茶叶的加工方法》，CN201710271422.6；《一种自循环水果清洗装置》，CN201620905166.2。					

一、申请理由

（一）甘肃酒泉甜叶菊“外销不畅，内销不旺”，亟需深加工实现科技转化

我省酒泉市肃州区目前重点栽培甜叶菊，原料来源广泛，开发前景广阔，但目前产品途径单一，甜叶菊产业面临高产量低附加值的发展瓶颈，急需开发甜叶菊深加工产品实现科技转化。甜叶菊具有高甜度、低热能、无副作用的特点，对肥胖症患者和糖尿病患者尤为适宜，且具有降胆固醇、调节免疫、抑菌止血和清热解毒的保健功效和药用价值。对甜叶菊提取液采用益生菌发酵技术制作功能饮料，制成风味独特、甜但不升糖，且具有发酵风味的保健饮料，特别适合于肥胖症、糖尿病、龋齿、高血脂等疾病的患病人群，同时提高了甜叶菊的附加值，解决酒泉市甜叶菊“外销不畅，内销不旺”的困顿局面。此外，甜叶菊生产废渣处理不当将会造成环境污染，其可以作为微生物的培养基进行固态发酵生产饲料蛋白，可提高甜叶菊利用率、弥补饲料种类短缺、减少环境污染。

（二）本团队具备较为扎实的专业基础、对项目有极大的研究兴趣，有一定实践成果的积累

本项目组由5名护理专业本科生组成，是成绩良好、文献调研和实验操作能力较强、综合素质较好的本科生，具备较强的实践操作能力和思维能力，主要是创新能力较强。本项目是在生物化学教研室主任和预防医学教研室老师的带领下开展的，从大一的生物化学课程开始，到大二的预防医学课程，利用课余时间一直跟随指导老师进行甘肃省教育厅一般项目课题《甜叶菊天然活性成分提取工艺与菊杞保健茶配方研究》（2017A-178），在食品开发和检验、微生物发酵的试验操作方面奠定了坚实的理论基础和实践基础，同时在跟随老师对甜叶菊项目不断进行试验研究的同时，对甜叶菊这种植物的研究逐渐深入，愈发充满了研究的兴趣和爱好。

目前我们已跟随老师完成了该课题的主要试验内容，对甜叶菊中的甜菊糖苷和黄酮等生物活性成分有了深入的认识，并掌握了基本的实验理论，配合老师发表了《甘肃酒泉甜叶菊叶中总黄酮的提取及其抗氧化活性测定》，甘肃农业大学学报，2019年；《甘肃酒泉甜叶菊黄酮提取工艺优化与含量测定》，食品与发酵科技，2019年两篇核心论文。

二、项目方案

（一）项目研究背景

1. 国内外的研究现状及研究意义

甜叶菊被公认为是天然、零热量的甜味剂，备受国内外肥胖症和糖尿病人群的青睐。当今世界的饮料业正朝着低糖、低钠、无添加剂的天然饮料型方向发展。目前美国、日本甜叶菊产品有6000多种，如食品和医药，且数目还在不断增加。我国甜叶菊甜味剂在乳品、甜点、零食加工中都呈现强劲的发展势头，越来越多的消费者都来品尝甜叶菊产品并从中受益。

国外对甜叶菊的植物生物化学、栽培方法、病害、糖苷制备、毒理试验、食品检测等进行了大量研究，开发出的甜叶菊糖苷产品丰富。而我国对甜叶菊的研究起步晚、进展缓慢，目前主要集中在甜叶菊栽培技术及糖苷、黄酮等活性物质的提取等基础研究方面，而对甜叶菊深加工产品的开发和副产品的利用报道极少，甜叶菊产业面临高产量低附加值的发展瓶颈。当今世界饮料业正朝着低糖、低钠、无添加剂的天然饮料

型方向发展，对甜叶菊开展益生菌发酵型功能饮料的研制，并针对其残渣生产发酵饲料的工艺研究目前尚未查到。

2. 项目已有的基础

本项目在生物化学教研室主任和预防医学教研室老师的带领下已开展了甘肃省教育厅一般项目课题《甜叶菊天然活性成分提取工艺与菊杞保健茶配方研究》

（2017A-178）的基础研究，目前我们已跟随老师完成了该课题的主要试验内容，对甜叶菊中的甜菊糖苷和黄酮等生物活性成分有了深入的认识，并掌握了基本的实验理论，配合老师发表了《甘肃酒泉甜叶菊叶中总黄酮的提取及其抗氧化活性测定》，甘肃农业大学学报，2019年；《甘肃酒泉甜叶菊黄酮提取工艺优化与含量测定》，食品与发酵科技，2019年两篇核心论文，对甜叶菊的研究已逐渐深入。

3. 与本项目有关的研究积累和已取得的成绩

指导老师所属的课题团队，多年来一直致力于食品行业新工艺的研究和新产品的开发。前期团队成员在甘肃医学院营养与食品卫生学实验室及兰州市食品检验所食品科已开展了甜叶菊性能的基础分析和益生菌甜叶菊发酵工艺的基础研究工作，发表了《浅谈甜叶菊在食品中的应用》、《益生菌发酵山药红牛骨肽营养粉活菌制剂关键工艺研究》等5篇国家级论文，并形成《一种菊杞保健茶饮料》和《一种清香型甜叶菊茶叶的加工方法》2个专利。

4. 已具备的条件

项目主要在申请单位甘肃医学院生物化学与分子生物学实验室、营养与食品卫生学实验室和病原生物学实验室完成，主要进行食品开发、成分检测及工艺研究，现配备高效液相色谱仪、原子分光光度计、全自动氨基酸分析仪、凯氏定氮仪、紫外显示器、色谱提纯装置、超低温冰箱等仪器和设备，项目组的6名成员分属不同的实验室，主要负责工艺研究和参数优选、分析测试等。其中病原生物学实验室为二级生物安全实验室（BSL-2），配备二级生物安全柜、高压灭菌锅、设置洗眼装置、安装移动式紫外线消毒灯等微生物培养与检验仪器。实验仪器总价值2000多万，条件完全满足项目申报科研环境。

5. 尚缺少的条件及方法

目前主要对于发酵后的甜叶菊残渣进行二次糖化发酵制备成发酵型饲料制品，我们需要联合养殖基地添加到畜禽饲料中进行中试，此项通过老师尚在与企业联系中。

实验过程中可能遇到科研经费、时间不足问题，贷款和利用节假日确保按时高质量完成预期的研究任务。

（二）项目研究目标及主要内容

1. 项目研究目标

（1）益生菌发酵甜叶菊工艺条件研究

①甜叶菊浸提液的制备工艺

②发酵菌种选择

③发酵条件的筛选

(2) 发酵型甜叶菊功能饮料工艺研究

- ① 陈皮、蒲公英、枸杞、马齿苋浸提液的制备
- ② 复方稳定剂的效果研究
- ③ 功能性饮料配方与工艺研究

(3) 功能饮料产品品质评价

- ① 产品质量评价
- ② 产品风味评价

(4) 甜叶菊废渣二次发酵糖化饲料的工艺研究

- ① 糖化饲料基质配方研究
- ② 发酵条件研究
- ③ 糖化饲料产品品质评价

2.重点解决的科学问题

(1) 甜菊叶浸提液工艺研究

选浸提时间、温度、料液比用 $L_9(3^3)$ 正交试验(表1)。以甜菊糖苷含量为指标,确定甜菊叶浸提最佳工艺。

表1 浸提液工艺正交试验因素与水平

水平	因素		
	A 浸提时间 (min)	B 浸提温度 (°C)	C 料液比
1	30	70	1:20
2	40	80	1:25
3	50	90	1:30

(2) 三联益生菌发酵共生条件响应曲面分析研究

据 Box-Behnken 的中心组合设计原理,以菌种比例(X_1)、发酵时间(X_2)、接种量(X_3)和磷酸氢二铵添加量(X_4)四个因素为自变量,以甜菊糖苷为响应值,设计四因素五水平响应面试验见表2。

表2 发酵共生条件响应面分析因素与水平表

因素	编号	水平				
		-2	-1	0	+1	+2
嗜:保:植	X_1	1:1:1	2:1:1	3:1:1	4:1:1	5:1:1
发酵时间(h)	X_2	24	36	48	60	72
接种量(%)	X_3	5	6	7	8	9
磷酸氢二铵(%)	X_4	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6

(3) 功能性饮料配方研究

选甜菊叶发酵液、功能物质浸提液、蜂蜜、柠檬酸,利用 $L_{16}(4^4)$ 正交试验(表

3)。以糖酸比为标准优选。

表3 功能性饮料最佳配方因子与水平表

水平	因素			
	A 甜菊叶发酵液(%)	B 功能物质浸提液(%)	C 蜂蜜(%)	D 柠檬酸(%)
1	30	25	5	0.2
2	35	30	6	0.3
3	40	35	7	0.4
4	45	40	8	0.5

(4) 产品质量评价指标

- ① 感官指标: 产品呈清亮的淡黄色、酸甜味的液体。
- ② 风味指标: 清香、酸甜、口感细腻爽口。
- ③ 可溶性固形物测定: 按照 GB/T5009.3-2003 测定。
- ④ 酸度测定: 采用 HI-98128 手持式酸度计于 $(25.0\pm0.5)^\circ\text{C}$ 测定。
- ⑤ 微生物指标: 大肠菌群、致病菌数不得检出。

(5) 甜叶菊废渣二次发酵糖化饲料的基质配方优化

选甜叶菊废渣、玉米秸秆粉、豆粕利用 $L_9(3^4)$ 正交试验(表4)。以总蛋白含量为指标,确定二次发酵糖化饲料基质配方。

表4 基质配方因子与水平表

水平	因素		
	A 甜菊叶发酵废渣(%)	B 玉米秸秆粉(%)	C 豆粕(%)
1	20	30	10
2	30	40	20
3	40	50	30
4	50	60	40

(6) 甜叶菊废渣二次发酵糖化饲料的发酵条件优化

选接种量、酿酒酵母与黑曲霉混菌比、发酵温度、发酵时间,利用 $L_{16}(4^4)$ 正交试验(表5)以还原糖含量为指标,确定二次发酵糖化饲料发酵条件。

表5 发酵条件试验因子与水平表

水平	因素			
	A 接种量(%)	B 混菌比	C 发酵温度(°C)	D 发酵时间(h)
1	5	1:1	25	24
2	6	1:2	30	48
3	7	1:3	35	72
4	8	1:4	40	96

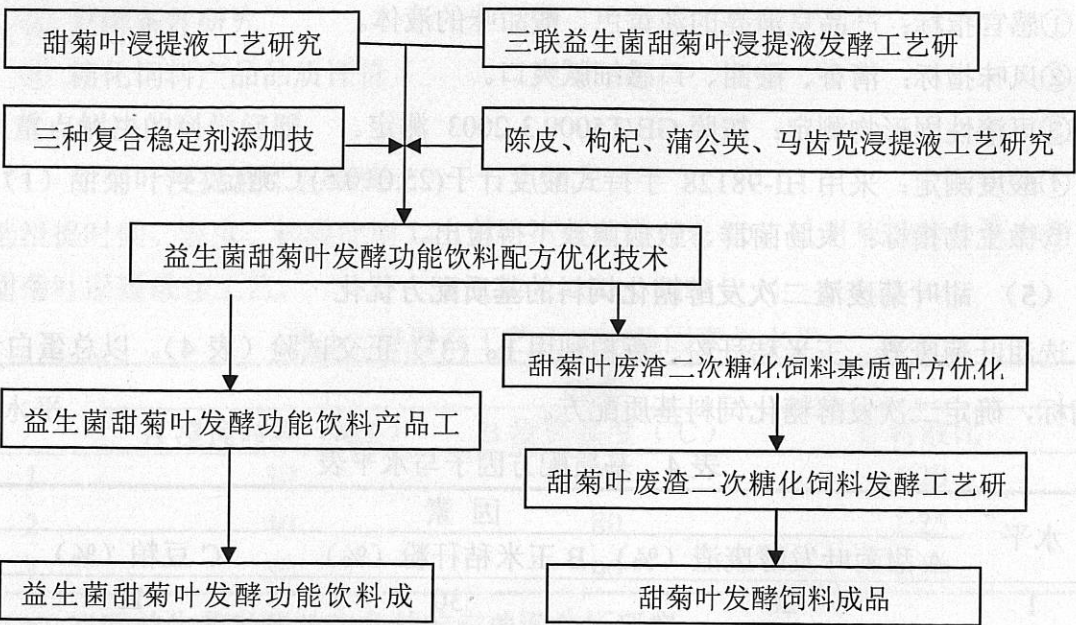
(三) 项目创新特色概述

1. 针对甜叶菊原料，首次尝试添加保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、植物乳杆菌三联益生菌，探求其对甜叶菊浸提液的发酵性能的影响，以期探索出共生发酵甜菊叶浸提液的最优发酵条件；

2. 在对甜叶菊浸提液发酵的基础上，尝试复配我国药食同源的中草药陈皮、蒲公英、枸杞、马齿苋浸提液，研制一种发酵型甜菊叶降糖功能饮料，填补糖尿病病人、肥胖症、高血压等人群对甜味饮料需求的空白；

3. 打破传统饲料原料配方，在玉米秸秆粉和豆粕中添加甜叶菊废渣，研究三者比例对糖化饲料总蛋白含量的影响关系，确定甜叶菊废渣二次发酵糖化饲料的最佳基质配方，并利用酿酒酵母与黑曲霉对甜叶菊废渣二次发酵，生产糖化饲料，以期研制出一种具有良好促生长性能、改善抗营养因子的新型甜叶菊废渣饲料，填补饲料市场空白。

(四) 项目研究技术路线



(五) 研究进度安排

- 1.2019.4-2019.5 查阅文献，基础资料积累
- 2.2019.6-2019.7 进行预实验，确定试验方案
- 3.2019.8-2020.2 实验室进行试验，数据资料整理，统计分析，完成论文撰写
- 4.2020.3-2020.4 发表论文，撰写结题报告

(六) 项目组成员分工

韩磊为项目负责人，负责：整体组织、项目设计、与指导教师联系沟通、申请立项、项目实施；侯艳负责甜叶菊益生菌发酵饮料购买药品，准备实验室器材，进行预备试验，同时负责甜叶菊叶三联益生菌发酵试验研究分项目的组织实施；王龙负责甜叶菊废渣二次糖化饲料基质配方研究分项目的组织实施；常怀荣负责数据收集、整理、分析；冉晓娟负责项目实施及论文与总结报告的撰写。

三、学校提供条件（包括项目开展所需的实验实训情况、配套经费、相关扶持政策等）

1.项目开展所需的实验实训情况：项目主要在甘肃医学院的生物化学与分子生物学实验室和营养与食品卫生学实验室完成，现配备高效液相色谱仪、原子分光光度计、全自动氨基酸分析仪、凯氏定氮仪、紫外显示器、色谱提纯装置、超低温冰箱等仪器和设备，其中病原生物学实验室为二级生物安全实验室（BSL-2），配备二级生物安全

柜、高压灭菌锅、设置洗眼装置、安装移动式紫外线消毒灯等微生物培养与检验仪器。这些实验室及设备均免费为学生开放，为本项目的实现提供了所需的实验及实训的场所和设备条件，条件完全满足项目申报科研环境。

2.配套经费：学校学院配套经费支持，有力保证了项目的顺利开展。

3.相关扶持政策：（1）学院一直以来重视科研发展、重视学生创新创业能力的培养，学院相关政策规定了甘肃医学院为学生开放实验室、图书馆等科研辅助场所和设施，在课余时间支持学生发展科研爱好；（2）教师考核中，涉及到指导学生的加分项目，这极大的促进了教师积极指导学生进行科研训练的积极性和效果；（3）本项目指导老师童红梅、宋巧分别自带教育厅课题一项，有 3 万元的科研启动经费，有力保障了本项目前期的调查、试剂购买、原材料购买等基本支出。

四、预期成果

- 1.在原有研究的基础上，通过三联益生菌联合发酵技术，研制出益生菌甜叶菊发酵型功能饮料 1 种；
- 2.研制出一种块状发酵型饲料；
- 3.撰写论文 1~2 篇。

五、经费预算

总经费（元）	2 万	财政拨款（元）	1 万	学校拨款（元）	1 万
注：总经费、财政拨款、学校拨款由学校按照有关规定核定数目进行填写					

具体包括：

- 1.调研、差旅费：3000 元；
- 2.用于产品研发的产品测试、原料购置费等：9500 元；
- 3.资料购置、打印、复印、印刷等费用：500 元；
- 4.学生撰写与项目有关的论文版面费、申请专利费等：7000 元。

六、导师推荐意见

该作品为我校本科生拟进行的创新训练计划项目。几位同学前期利用实验课程以及周末、节假日等课余时间，认真细致的完成了此次研究的基础调查、预试验操作和资料整理全过程。整个前期基础准备工作中学生做到了态度积极、思维严谨、数据真实、全程亲力亲独立操作完成。

该作品对我省丰富的植物资源甜叶菊进行甜叶菊益生菌发酵型功能饮料研制及残渣生产发酵饲料工艺研究，突破了传统研究范围，技术较为前沿，对于本科生来讲具有较高的挑战性。这作品的实现，不仅可锻炼学生动手操作能力、团队协作能力，引导学生能够针对糖尿病患者等对“味甜而不升糖”的甜味剂需求问题而开展独立思考并着手开辟资源利用新途径，提升了学生的思维能力及解决问题的能力。更重要的是，本作品的研究结果对改善酒泉市甜叶菊资源过剩、附加值低的现状有一定的推动作用，所取得的试验数据对提高其加工附加值及工业化生产甜叶菊产品均提供了科学依据。

推荐立项。

签名：童红梅 宋巧
2019年4月26日

七、院系推荐意见

院系负责人签名:

孔玉涛印

学院盖章:



2016年4月27日

八、学校推荐意见:

同意推荐

学校负责人签名:

王坤印

学校公章



2016年4月28日

注:表格栏高不够可增加。