

# 碳源对复合乳酸菌发酵西芹浆的影响研究

陈中, 苏郅珉, 林伟锋

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 本试验通过复合乳酸菌(干酪乳杆菌与肠膜明串珠菌复合比例为 1:1)对分别添加了白砂糖、葡萄糖以及果葡糖浆的西芹浆进行对比发酵,探讨其发酵过程中活菌数、pH 值、总酸以及还原糖的变化规律及内在联系。结果表明,发酵 72 h 后,添加白砂糖、葡萄糖和果葡糖浆的西芹浆中的总酸分别为 8.52 mg/g、8.18 mg/g 和 8.32 mg/g,均比不加碳源的 7.26 mg/g 高。添加葡萄糖和果葡糖浆的西芹浆中还原糖含量分别减少了 29.14%和 14.81%,而添加白砂糖的西芹浆中还原糖含量却增加了 69.20%。其中,添加了果葡糖浆的西芹浆中乳酸菌稳定期得到有效延长、整体活菌数最高、产酸量以及还原糖利用率都有所增加,可得到西芹清香明显、酸甜度适中的发酵西芹浆。

**关键词:** 西芹浆; 发酵; 复合乳酸菌; 还原糖

**文章篇号:** 1673-9078(2012)3-256-259

## Effect of Different Carbon Sources on the Fermentation of Celery Juice by Lactic Acid Bacteria Mixture

CHEN Zhong, SU Zhi-min, LIN Wei-feng

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** A study on lactic acid bacteria mixture (the ratio of *Lactobacillus casei* and *Leuconostoc mesenteroides* being of 1:1) for the fermentation of celery juice was carried out. During the fermentation the changes and internal relation of viable count, pH, total acid and reducing sugar were observed. The experimental results indicate: sugar, glucose and fructose syrup were added to the celery juice respectively, and the total acid of celery juice were 8.52 mg/g, 8.18 mg/g and 8.32 mg/g. They were larger than the total acid of original celery juice (7.26 mg/g). The utilization rate of reducing sugar was also improved. After the adjunction of fructose syrup the stability period, whole viable count, amount of acid and utilization rate of reducing sugar were increased effectively. And then the delicious fermented celery juice with celery fragrance was obtained.

**Key words:** celery juice; fermentation; lactic acid bacteria mixture; reducing sugar

芹菜分为本芹(中国类型)和洋芹(西芹类型,又名西洋芹菜、美芹)两大类,是一种营养丰富的蔬菜,含有多种对人体健康有益的活性成分<sup>[1]</sup>。其中,研究得最多的芹菜黄酮类物质具有抗癌、降压、降脂、控制血糖、抗衰老、抗氧化的药用功能<sup>[2,3]</sup>。目前芹菜加工产品主要集中在芹菜汁豆腐、芹菜风味灌肠、芹菜纸、芹菜脯、即食方便芹菜以及调配芹菜汁,而对于芹菜汁发酵方面的深入研究较少<sup>[4-7]</sup>。本试验对加糖的西芹浆进行乳酸发酵,得到风味独特的发酵西芹浆,兼有西芹和乳酸菌饮料的双重保健作用。

### 1 材料与方法

收稿日期: 2011-09-22

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目(2009B090300379)

作者简介: 陈中,男,博士,副教授

通讯作者: 林伟锋,男,博士

#### 1.1 材料

西芹,市售;菌种:干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*),肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*),菌种由本实验室提供。

#### 1.2 主要试验仪器

pHS-25 型 pH 计,FA1104N 电子天平,JJ500 型电子天平,TC10KH 型电子天平,JM-L50 胶体磨,01J2003-04 型立式压力蒸汽灭菌器筒,SW-CJ-1D 型单人净化工作台,GHX-9270B-2 隔水式恒温培养箱,101-2S4 电热鼓风恒温干燥器,QYQ-1000-UL 取液器。

#### 1.3 方法

##### 1.3.1 发酵西芹浆的制备

加糖	接种
↓	↓
西芹→清洗→破碎磨浆→分装→灭菌→冷却→发酵→成品	

1.3.2 操作要点

1.3.2.1 破碎磨浆

将西芹去叶，清洗后切成小块，按照西芹与水的质量比为 2:1 的比例使用胶体磨进行破碎，得到西芹浆。

1.3.2.2 灭菌

采用温度为 90~95 °C，时间为 10 min 的灭菌法，可杀死西芹浆中的有害杂菌且不影响其风味。

1.3.2.3 接种及发酵

待灭菌的西芹浆冷却至 40 °C 后，将干酪乳杆菌与肠膜明串珠菌 (1:1) 按照  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的初始活菌数接种于西芹浆中。发酵温度 37 °C、发酵时间 72 h。

1.3.3 测定指标与测定方法

pH 值采用 pH 计测定；总酸采用 pH 电位法测定，参考 GB/T 12456-2008；活菌数采用平板计数法测定，参考 GB 4789.35-2010；还原糖采用直接滴定法测定，参考 GB/T 5009.7-2008。

1.3.4 感官评价指标

感官评价标准见表 1，相关评价方法参考 GB/T 12315-2008。

表 1 感官评价标准表

Table 1 Standards of sensory evaluation

级别	口感/30 分	色泽/25 分	香气/25 分	组织状态/20 分
一级	酸甜适中， 柔和清爽 (26~30)	色泽均匀， 鲜黄绿色 (20~25)	香味协调，有西芹的清香和乳酸饮料特有风味 (20~25)	质地均匀，柔和细腻，无分层 (17~20)
二级	微酸或略甜，有刺激感 (21~25)	色泽均匀，微暗 (15~19)	香味一般，西芹香味不明显 (15~19)	质地均匀，略有分层 (12~16)
三级	过酸或过甜，有异味 (0~20)	色泽不均，暗黄绿色 (0~14)	香味淡或无，香味，有异味 (0~14)	质地不均匀，分层明显，有大量沉淀物出现 (0~11)

2 结果与讨论

2.1 添加不同种类碳源后的活菌数测定结果

原始西芹浆中还原糖含量仅为 5.58 mg/g，这不利于西芹浆的乳酸发酵。为了促进干酪乳杆菌与肠膜明串珠菌 (1:1) 的生长，进一步改善发酵西芹浆的风味，考虑向西芹浆中添加碳源。因为乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和明串珠菌属 (*Leuconostoc*) 都以葡萄糖、果糖为主要碳源<sup>[8]</sup>。本试验中对比不加糖的发酵，向西芹浆中分别添加 6% 白砂糖、6% 葡萄糖、6% 果葡糖浆，测定发酵过程中活菌数、总酸、pH 值、还原糖的变化情况。

测定添加不同种类碳源后的西芹浆在发酵过程中活菌数变化，与不加碳源进行比较所得结果如图 1 所示。

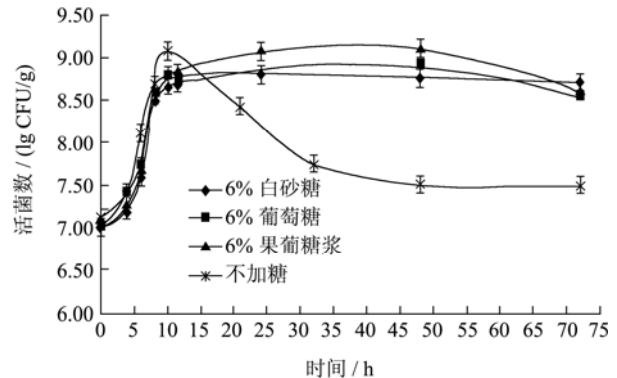


图 1 西芹浆发酵过程中活菌数的变化

Fig.1 Change of viable count in the celery juice fermentation process

由图 1 可知，虽然不加糖西芹浆中的乳酸菌延滞期最短，但是其经历了很短的稳定期后就迅速进入衰亡期，这样不利于代谢产物的合成与积累。与不加糖相比，虽然加糖后三者的延滞期 (0~4 h) 稍微有所增加，但是它们的稳定期 (10~48 h) 却得到很好的延长。这是因为糖的添加使得西芹浆渗透压增大，影响了乳酸菌的生存环境，而这种渗透胁迫只是暂时的，糖被吸收后，内部和外部的糖浓度很快达到平衡，然后才能进入生长速度相对恒定的对数生长期<sup>[9]</sup>。又由于西芹浆中含有足够的碳源，因此进入稳定期后乳酸菌的能量代谢和一系列生化反应的许多功能仍在继续，菌体死亡率得到控制，在发酵 48 h 后才逐渐进入衰亡期。比较三种糖的添加对西芹浆中活菌数的影响可得，添加了果葡糖浆的整体活菌数最高，白砂糖的最低，这与乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和明串珠菌属 (*Leuconostoc*) 优先利用葡萄糖和果糖有关。

2.2 添加不同种类碳源后的总酸测定结果

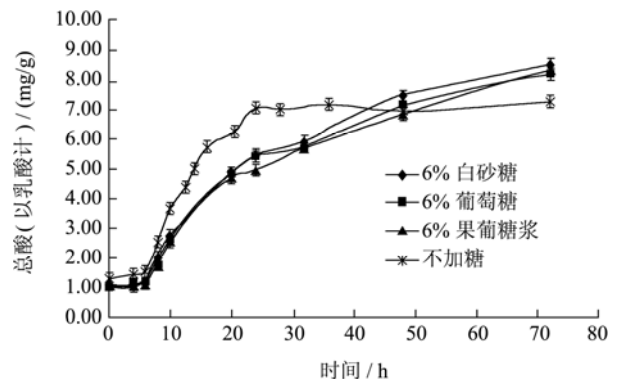


图 2 西芹浆发酵过程中总酸的变化

Fig.2 Change of total acid in the celery juice fermentation process

测定添加不同种类碳源后的西芹浆在发酵过程中

总酸的变化, 与不加碳源进行比较所得结果如图 2 所示。

观察图 2 可得, 不加糖时, 发酵的第 0~6 h 中西芹浆的总酸基本不变, 这是因为发酵开始时乳酸菌处于对新的理化环境的适应期, 代谢产生乳酸量少。而随着乳酸菌进入代谢旺盛期之后, 西芹浆中可供乳酸菌利用的碳源被大量消耗, 乳酸得到不断积累使得总酸不断升高。发酵到第 24 h 后已经没有充足的碳源供乳酸菌利用产生乳酸, 乳酸菌产酸速度下降, 因此后期的总酸含量基本无变化。加糖后, 除了第 0~6 h 与不加糖时变化一样外, 之后的变化出现很大差异。发酵的第 6~24 h 中, 由于糖的添加对乳酸菌的生长代谢有所抑制, 所以其产酸速率不高, 总酸均比不加糖的要低。随着发酵的进行, 乳酸菌不断利用糖类产生乳酸, 使得发酵后期的总酸均比不加糖的要高。又因为乳酸的积累造成西芹浆的 pH 值不断下降, 抑制了乳酸菌的代谢, 产酸率下降, 所以发酵的第 24~72 h 中总酸的增加速度比第 6~24 h 的缓慢。发酵结束时, 添加白砂糖、葡萄糖和果葡糖浆的西芹浆中的总酸分别为 8.52 mg/g、8.18 mg/g 和 8.32 mg/g, 均比不加糖的 7.26 mg/g 高。此外, 图 2 中添加白砂糖的西芹浆酸度比其他两者略高, 这说明乳酸菌对白砂糖的利用较好, 积累了较多的酸, 从而对乳酸菌产生抑制, 其死亡率上升导致活菌数下降, 这和图 1 中添加白砂糖的西芹浆中活菌数最低保持一致。

### 2.3 添加不同种类碳源后的 pH 值测定结果

分别测定加碳源和不加碳源的西芹浆发酵过程中 pH 值的变化情况, 结果如图 3 所示。

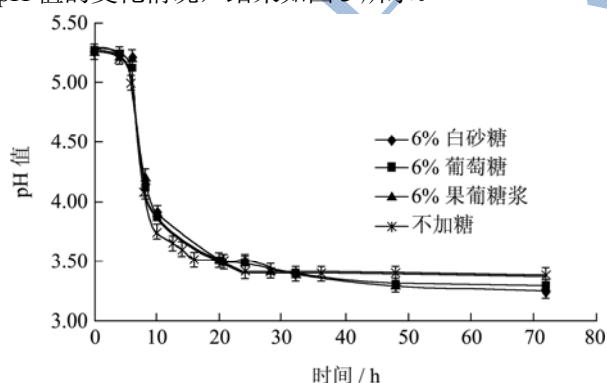


图 3 西芹浆发酵过程中 pH 值的变化

Fig.3 Change of pH in the celery juice fermentation process

从图 3 可以看出, 由于乳酸菌通过发酵碳水化合物产生乳酸、乙酸等主要酸性末端产物, 导致了西芹浆的 pH 值下降。不加糖时, 发酵的第 0~6 h 的 pH 值基本不变, 这与此时的总酸基本不变有关, 发酵的第 6~24 h 的 pH 值受到产生大量乳酸的影响而迅速由 4.99 降低到 3.42, 第 24 h 后产酸大大降低使得 pH 值

基本不变。而加糖发酵的前 32 h 西芹浆的 pH 值变化趋势与不加糖的无明显区别, 而第 32 h 后, 由于有充足的碳源被乳酸菌不断利用产生乳酸, 使得西芹浆的 pH 值仍然有缓慢降低。在发酵结束时, pH 值均比不加糖的 3.38 要低, 按照添加白砂糖、葡萄糖以及果葡糖浆的顺序, 西芹浆 pH 值分别为 3.25、3.29 以及 3.30。

### 2.4 添加不同种类碳源后的还原糖测定结果

分别测定加碳源和不加碳源的西芹浆发酵过程中还原糖的变化情况, 结果如图 4 所示。

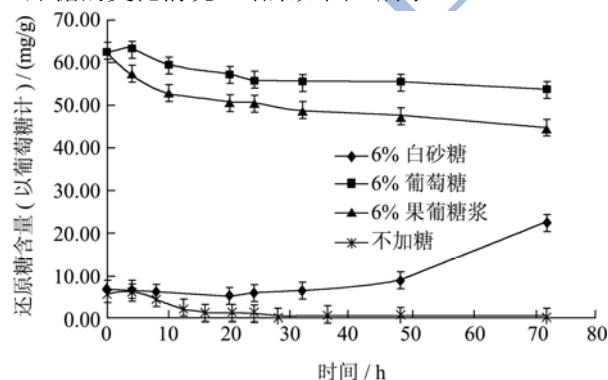


图 4 西芹浆发酵过程中还原糖的变化

Fig.4 Change of reducing sugar in the celery juice fermentation process

由图 4 可得, 由于果糖和葡萄糖均为还原糖, 白砂糖是非还原糖, 所以添加了 6%果葡糖浆和 6%葡萄糖的西芹浆中的初始还原糖均为 62.75 mg/g, 而添加了白砂糖的西芹浆中的初始还原糖则为 6.91 mg/g, 与西芹浆本身含有的还原糖量 5.58 mg/g 接近。图中除了添加白砂糖的西芹浆中还原糖含量逐渐升高外, 其他三种西芹浆中的还原糖含量随着发酵的进行而逐渐降低。到发酵结束时, 添加了果葡糖浆的西芹浆中还原糖减少了 29.14%, 添加了葡萄糖的西芹浆中减少了 14.81%。不加糖的西芹浆本身含有的还原糖量很少, 到发酵第 24 h 后还原糖含量极低且保持不变, 而加糖之后西芹浆中的还原糖在整个发酵过程中都在降低, 这一变化差异西芹浆中总酸的变化保持一致。这说明不加糖的西芹浆中的含糖量不够乳酸菌的代谢利用, 而加糖后可使乳酸菌有足够碳源继续进行代谢, 以积累更多的乳酸。添加白砂糖后, 随着发酵的进行还原糖的含量呈现增加的趋势。分析原因为, 白砂糖不能直接进入代谢途径, 需要被乳酸菌降解为葡萄糖和果糖, 然后再进入糖代谢<sup>[10]</sup>。又由于白砂糖的分解量比还原糖的利用量多, 所以添加白砂糖西芹浆在发酵过程中还原糖的含量是增加的。

### 2.5 添加不同种类碳源后的西芹浆感官评价

对加碳源和不加碳源发酵所得西芹浆发酵进行感官评价, 分析评价的指标有口感、色泽、香气和组织



状态,各指标的标准见表1。感官评价总分为口感评分、色泽评分、香气评分和组织状态评分之和。共有10位有品尝经验的老师和研究生作为评价员对发酵西芹浆进行感官评价。按照白砂糖、葡萄糖、果葡糖浆和不加糖的顺序,感官评价的最终结果依次为85分、80分、87分和70分。添加了不同种类糖后的发酵西芹浆在色泽和状态上没有明显区别,而在口感和香气上有一定区别。不加糖的风味最差,西芹香味不明显,口感很酸。添加了果葡糖浆后的风味最好,西芹清香明显,酸甜度适中。

### 3 结论

3.1 加碳源发酵后,虽然乳酸菌的延滞期(第0~4h)稍微有所增加,但是它们的稳定期(第10~48h)却得到很好的延长。由于西芹浆中含有足够的碳源,因此进入稳定期后乳酸菌的能量代谢和一系列生化反应的许多功能仍在继续,菌体死亡率得到控制,在发酵48h后才逐渐进入衰亡期。比较三种糖的添加对西芹浆中活菌数的影响可得,添加了果葡糖浆的整体活菌数最高,白砂糖的最低,这与乳杆菌属(*Lactobacillus*)和明串珠菌属(*Leuconostoc*)优先利用葡萄糖和果糖有关。

3.2 无论加碳源与否,发酵的第0~6h中乳酸菌需对新的理化环境进行适应,此时西芹浆的总酸基本不变,其pH值也保持不变。发酵的第6h乳酸菌进入代谢旺盛期,乳酸得到不断积累,使得总酸不断升高pH值也迅速降低。不加糖西芹浆中,发酵到第24h后已经没有充足的碳源供乳酸菌利用产生乳酸,乳酸菌产酸速度下降,其总酸含量基本无变化。加糖后发酵的第6~72h中,西芹浆中总酸一直缓慢增加且pH值也在缓慢减少。发酵结束时,添加白砂糖、葡萄糖和果葡糖浆的西芹浆中的总酸分别为8.52 mg/g、8.18 mg/g和8.32 mg/g,均比不加碳源的7.26 mg/g高。

3.3 由于白砂糖需降解后才能进入糖代谢,且发酵过程中白砂糖的分解量比还原糖的利用量多,所以添加白砂糖的西芹浆中还原糖的含量呈现增加的趋势。而

添加葡萄糖和果葡糖浆的西芹浆中的还原糖含量随着发酵的进行而逐渐降低,到发酵结束时,添加了果葡糖浆的西芹浆中还原糖减少了29.14%,添加了葡萄糖的西芹浆中减少了14.81%。

3.4 综合活菌数、产酸量、还原糖利用率以及风味口感等指标考虑,确定添加果葡糖浆为最佳碳源。添加了果葡糖浆的西芹浆中乳酸菌稳定期得到有效延长、整体活菌数最高、产酸量以及还原糖利用率都有所增加,可得到西芹清香明显,酸甜度适中的发酵西芹浆。

### 参考文献

- [1] H.B. Sowbhagya, P. Srinivas, N. Krishnamurthy. Effect of enzymes on extraction of volatiles from celery seeds [J]. Food Chemistry, 2010, 120: 230-234
- [2] 宋小俊,王怡婷. 芹菜药用功能研究概述[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(15): 6360-6361, 6395
- [3] 吉欣,陈长亮,张琳,等. 芹菜中黄酮类物质的提取研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22(1): 61-63
- [4] 薛志成. 芹菜风味灌肠加工工艺[J]. 肉类工业, 2005, 11: 15-16
- [5] 郑桂富. 芹菜豆腐加工工艺[J]. 安徽科技, 1999, 6: 29
- [6] 贾平生,贾大丽. 芹菜的综合加工[J]. 上海蔬菜, 2005, 4: 92-94
- [7] 邓开野,林丽贤. 芹菜汁乳酸发酵饮料的研制[J]. 现代食品科技, 2009, 25(6): 684-688
- [8] 张刚. 乳酸细菌-基础、技术和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006
- [9] Erwin Glaesker, Esther H. M. L. Heuberger, Wil N. Konings, et al. Mechanism of osmotic activation of the quaternary ammonium compound transporter (QacT) of *Lactobacillus plantarum* [J]. Journal of Bacteriology, 1998, 180 (21): 5540-5546
- [10] Yi-Chieh Wang, Roch-Chui Yu, Hsin-Yi Yang, et al. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria [J]. Food Microbiology, 2003, 20: 333-338