

龙葵果汁发酵工艺优化及其抗炎、抑菌活性评价

李祎, 王萍

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 本文以龙葵果为原料, 对益生菌发酵龙葵果汁进行工艺优化, 选取初始糖度、初始 pH、乳酸菌的发酵温度、接种量、发酵时间、酵母菌的发酵温度、发酵时间和接种量 8 个因素进行 Plackett-Burman 试验, 确定影响总酚含量的关键因素为乳酸菌发酵温度和酵母菌接种量; 用中心组合设计对发酵条件进行优化, 得出发酵的最佳条件为初始糖度 12%、初始 pH 4.5、乳酸菌接种量 5%、乳酸菌发酵温度 39.5 °C、乳酸菌发酵时间 24 h、酵母菌接种量 0.07%、酵母菌发酵温度 25 °C、酵母菌发酵时间 20 h, 优化后发酵龙葵果汁的总酚含量达到 1.18±0.02 mg/mL, 与优化前相比提高了 21.6%。发酵龙葵果汁的抗炎及抑菌活性与发酵前相比均有显著提高, 发酵龙葵果汁的透明质酸酶活性抑制率达到 82.98±4.16%, 抑制白蛋白变性能力达到 81.57±1.24%。对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制效果好于对埃希氏大肠杆菌的抑制效果。

关键词: 龙葵果; 发酵; 抗炎; 抑菌

文章编号: 1673-9078(2017)6-248-254

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.037

Optimization of Fermentation Process for *Solanum nigrum* L. Juice and Evaluation of its Anti-inflammatory and Antibacterial Activities

LI Yi, WANG Ping

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: The *Solanum nigrum* L. fruit was used as the raw material for this study, the fermentation process for *Solanum nigrum* L. juice was optimized using probiotics. Eight factors, including initial sugar degree, initial pH, fermentation temperature using lactic acid bacteria (LAB), LAB-inoculation dose, fermentation time of LAB, fermentation temperature of yeast, fermentation time of yeast, and yeast-inoculation dose, were selected for the Plackett-Burman test. The main factors influencing total phenolic content were the fermentation temperature of LAB and the yeast-inoculation dose. Fermentation conditions were optimized by central composite design, and the results showed that the optimal conditions were as follows: initial sugar degree, 12%; initial pH 4.5; LAB-inoculation dose, 5%; fermentation temperature of LAB, 39.5 °C, fermentation time of LAB, 24 h; yeast-inoculation dose, 0.07%; fermentation temperature of yeast, 25 °C; and fermentation time of yeast, 20 h. The total phenolic content in the *Solanum nigrum* L. fruit following optimization reached 1.18±0.02 mg/mL, which represented a 21.6% increase. Additionally, anti-inflammatory and antibacterial activities were significantly increased as compared with those observed before fermentation, and the inhibition percentages associated with hyaluronidase activity and protein denaturation of the fermented *Solanum nigrum* L. fruit were 82.98±4.16% and 81.57±1.24%, respectively. Furthermore, the inhibitory effects of fermented *Solanum nigrum* L. fruit against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were stronger than those against *Escherichia coli*.

Key words: *Solanum nigrum* L.; fermentation; anti-inflammatory; antibacterial

龙葵 (*Solanum nigrum* L.) 为茄科 (*Solanaceae*), 茄属 (*Solanum*) 的一年生草本植物, 又名黑星星、黑天天等。具有分布广、蕴藏量大、抗逆性强和易栽培等特点, 成熟的龙葵果实酸甜可口, 风味独特, 受到人们的喜爱, 且具有很高的营养价值和药用价值^[1,2]。

收稿日期: 2016-09-27

基金项目: 卓越农林人才教育培养计划改革试点项目 (41110211)

作者简介: 李祎 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵工程

通讯作者: 王萍 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 主要从事功能食品研究与开发

龙葵成熟果实中含有抗氧化酶、生物碱、皂苷、酚类物质及多糖等功能性成分, 已被证实具有抑菌、抗肿瘤、抗氧化等功效^[3-5], 是一种极具开发价值的资源。

发酵不仅是食物储存的一种有效方法, 在世界许多地区发酵制品都以其强大的保健效果而闻名, A.J.Marsh 等^[6]指出通过发酵可以增加食品中营养物质的含量, 从而提高食品的功能性质。近年来, 除了传统的发酵乳制品外, 一些非乳的益生菌发酵饮品愈发被消费者追捧, 如豆奶、谷物类以及各种果蔬汁制成的益生菌发酵饮料。现已被证实植物类食品经发酵

后抗氧化性能增强, 主要是因为微生物代谢使酚类化合物水解, 使抗氧化物质含量增加^[7]。Pasquale Filannino 等^[8]指出在乳酸菌作为优势菌的发酵过程中, 分子量高的酚类化合物可降解成简单的小分子酚类。而真菌(如黑曲霉和酵母菌等)的存在可以产生相关的酶类, 提高并改善发酵饮品的风味。近年来, 对龙葵果发酵方面的研究日趋增加, 龙葵果酒、果醋、酸奶等发酵类产品工艺已有报道^[9-11]。丛建民等^[12]对酵母发酵龙葵果汁的营养成分进行了分析, 认为龙葵果发酵液富含各种营养物质, 适宜开发生产。此外, 李维江^[13]等向发酵酸乳中添加野生龙葵果汁调配, 制成了一款口感和稳定性良好的乳酸菌饮料。

本研究选用保加利亚乳杆菌和果酒酵母两种益生菌来发酵龙葵果汁, 用 Plackett-Burman 试验设计和中心组合试验设计对发酵工艺进行优化, 旨在得到一种总酚含量较高的发酵龙葵果汁, 并对发酵龙葵果汁的体外抗炎活性及对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和埃希氏大肠杆菌的抑菌活性进行评价。

1 材料与方法

1.1 试验材料

龙葵果, 2015年9月下旬采于哈尔滨市郊, 粒大饱满、呈紫黑色、无病虫害, 且可溶性固形物含量在7%~9%; MRS培养基, 自制(用于保加利亚乳杆菌的培养); LB培养基, 自制(用于大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的培养); 透明质酸酶、透明质酸钠、牛血清蛋白、对氨基苯甲醛(p-DAB), 源叶生物科技有限公司; 其他试剂均为分析纯或生物制剂。

1.2 试验菌种

保加利亚乳杆菌、大肠埃希氏杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌: 东北林业大学食品微生物实验室保藏; 葡萄酒·果酒专用酵母: 安琪酵母股份有限公司。

1.3 主要仪器

DH6000A型电热恒温培养箱: 天津市泰斯特仪器有限公司; 5030-PVL高压灭菌锅: 长春百奥生物仪器有限公司; PB-10酸度计: 德国 Sartorius 公司; WYT-4型手持糖度计: 泉州中友仪器有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 发酵基质的制备

取成熟的龙葵果加入3倍无菌水打浆, 4000 r/min离心15 min, 取上清液加入白砂糖调整发酵基质的初始糖度。

1.4.2 接种顺序的确定

第一组向初始糖度为15%的培养基质中接入5%活化好的保加利亚乳杆菌。37℃密闭培养24 h后, 接入0.1%活化后的酵母菌, 于27℃培养24 h。第二组先接入0.1%酵母菌后接入5%保加利亚乳杆菌, 其余培养条件不变。发酵结束后, 分别测定发酵液pH、剩余还原糖和总酚含量。

1.4.3 测定方法

pH: pH计法测定。总酚含量: 福林酚法测定^[14]。还原糖含量: DNS法测定^[15]。

1.4.4 龙葵益生菌发酵液抗炎活性评价

1.4.4.1 透明质酸酶抑制试验

采用 Elsonn-Morga 法^[16], 略有改动。0.5 mL 透明质酸酶加入 A、C 管中, 0.5 mL 醋酸盐缓冲液(pH 4.01, 0.1 mol/L)加入 B、D 管中, 四管分别再加入 0.1 mL 的 0.25 mmol/L CaCl₂, 40℃保温 20 min, 在 C、D 管中加入处理后的样品液 0.5 mL, A、B 管中加入 0.5 mL 蒸馏水, 40℃保温 20 min, 再向四管中加入 0.5 mL 透明质酸钠溶液(0.6 mg/mL), 40℃保温 20 min, 加入 0.1 mL、0.4 mol/L NaOH, 冰上冷却 15 min, 加入 0.2 mL 硼酸溶液, 沸水浴 5 min 结束反应, 冷却后加入 3 mL p-DAB 显色剂, 静置 5 min 后, 于 585 nm 处测定吸光值。

$$\text{透明质酸酶抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{A - B}{C - D}\right) \times 100$$

1.4.4.2 抑制白蛋白变性试验

参考文献^[17,18]的方法, 略有改动。3 mL、2%牛血清蛋白(溶于 pH 5.5、0.1 mol/L 醋酸盐缓冲液中), 于 37℃保温 20 min, 加入一定量待测定样品, 定容至 5 mL, 于 70℃水浴 10 min 后迅速冷却至室温。用紫外分光光度计于 660 nm 处测定样品浊度。用蒸馏水代替待测样品作为控制组, 吸光值记为 A_c, 试验组吸光值记为 A_s。

$$\text{抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100$$

1.4.5 抑菌试验

抑菌活性测定采用滤纸片法^[19,20], 取灭菌的培养皿水平放置, 倒入适量固体下层培养基, 摇匀铺平, 凝固作为底层, 另取上层培养基融解, 冷至 40℃左右, 将供试细菌培养液加入上层培养基中, 制成 10⁻⁶ CFU/mL 的含菌培养基, 迅速混匀, 趁热向培养皿中倒入适量此含菌培养基, 使在底层上分布均匀, 作为

菌层。待菌层凝固即向皿中均匀放置无菌滤纸片，在纸片正中心中加入 5 μL 除菌后的待测样，每皿做阴性对照和阳性对照，重复 3 次。上述过程严格按照无菌操作进行，培养皿置培养箱 37 °C 培养 24 h。观察各皿抑菌效果，量取抑菌圈直径，结果取平均值。

1.5 试验设计

1.5.1 Plackett-Burman 试验设计

在前期试验的基础上，选取可能影响发酵的 8 个因素进行 Plackett-Burman 设计，每个因子取高 (+1) 和低 (-1) 2 个水平，响应值为总酚含量 (Y)。试验因素、水平及编码见表 1。每组试验 3 个平行，试验结果为 3 组平行的平均值。

表 1 Plackett-Burman 试验设计因素水平范围

因子	因素	水平	
		-1	1
A	乳酸菌发酵时间/h	20	24
B	乳酸发酵温度/°C	37	43
C	乳酸菌接种量/%	3	5
D	初始糖度/%	12	18
E	初始 pH	4.5	5.5
F	酵母发酵时间/h	20	24
G	酵母发酵温度/°C	25	29
H	酵母菌接种量/%	0.05	0.15

1.5.2 中心组合试验设计

直接根据 Plackett-Burman 试验结果，以总酚含量为响应值，利用中心组合设计进行响应面分析。中心组合试验设计见表 2。

1.6 数据分析

所有试验数据以 $\bar{x} \pm sd$ 表示，采用 SPSS 20.0 进行

表 4 Plackett-Burman 的试验设计及响应值

序号	A	B	C	D	E	F	G	H	Y
1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	1.05
2	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	1.06
3	1	-1	1	1	-1	1	1	1	1.06
4	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1.01
5	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1.05
6	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1.09
7	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	1.04
8	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1.02
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1.08

转下页

数据处理，Design-Expert 8.0.6 进行试验设计及分析，以 $p < 0.05$ 为统计学差异。

表 2 中心组合试验设计因素水平

因素	水平				
	-1.41	-1	0	1	1.41
乳酸发酵温度 (°C, A)	35.8	37	40	43	44.2
酵母菌接种量 (% , B)	0.03	0.05	0.10	0.15	0.17

2 结果与讨论

2.1 接种顺序的确定结果

接种顺序的结果如表 3 所示。

表 3 接种顺序对发酵的影响

组别	发酵液 pH	剩余还原糖 / ($\times 10^{-2}$ mg/mL)	总酚含量 / (mg/mL)
第一组	3.91 \pm 0.03 ^b	2.34 \pm 0.03 ^a	0.97 \pm 0.01 ^a
第二组	4.48 \pm 0.06 ^a	1.52 \pm 0.06 ^b	0.65 \pm 0.01 ^b

注：第一组表示先接种保加利亚乳杆菌；第二组表示先接种酵母菌；同列中不同字母表示数值间差异性达到极显著水平 ($p < 0.01$)。

从表 3 的结果比较发现，第一组的总酚含量显著高于第二组 ($p < 0.01$)，pH 显著低于第二组。第二组剩余还原糖含量较少，说明发酵更加完全。由于本试验目的是制备一种功能性佳风味优良的发酵饮品，故综合考虑后选择先进行乳酸发酵再进行酵母发酵。

2.2 Plackett-Burman 试验结果

接上页

10	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1.03
11	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1.12
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1.11

在前期单因素试验基础上选取 8 个对发酵结果影响较大的因素进行 Plackett-Burman 试验, 因素水平和试验结果见表 4。用 Design-Expert 8.0.6 对表中数据进行方差分析, 各因素的主效应分析见表 5。

由表 5 可知, $p < 0.05$ 说明该模型显著, R^2 为 0.9830 说明该模型对响应值的拟合程度良好。回归系数为正

值说明该因素对响应值存在正效应, 为负值则说明对响应值具有负效应。8 种因子中乳酸菌发酵温度 (B) 和酵母菌接种量 (H) 对总酚含量有极显著影响 ($p < 0.01$)。根据表 5 中各因素的回归系数不显著因素表现为正效应的取高水平, 表现为负效应的取低水平。考虑两个显著因素进行中心组合试验设计。

表 5 Plackett-Burman 试验设计效应分析

Table 5 Effects of Plackett-Burman test design

响应值	因子	回归系数	平方和	自由度	均方	F 值	p 值	显著性
Y	常数	1.060000	0.012	8	1.54×10^{-3}	21.71	0.0141	*
	A	7.69×10^{-4}	7.10×10^{-6}	1	7.10×10^{-6}	0.1	0.7726	
	B	-0.017	3.44×10^{-3}	1	3.44×10^{-3}	48.4	0.0061	**
	C	6.92×10^{-3}	5.75×10^{-4}	1	5.75×10^{-4}	8.1	0.0653	
	D	-7.69×10^{-4}	7.10×10^{-6}	1	7.10×10^{-6}	0.1	0.7726	
	E	-4.62×10^{-3}	2.56×10^{-4}	1	2.56×10^{-4}	3.6	0.154	
	F	-4.61×10^{-3}	2.56×10^{-4}	1	2.56×10^{-4}	3.6	0.154	
	G	-2.31×10^{-3}	6.39×10^{-5}	1	6.39×10^{-5}	0.9	0.4128	
	H	-0.025	7.73×10^{-3}	1	7.73×10^{-3}	108.9	0.0019	**
	残差			2.13×10^{-4}	3	7.10×10^{-5}		
校正总和			0.013	11				
R		0.9830						

注: “*”表示结果显著 ($p < 0.05$); “**”表示结果极显著 ($p < 0.01$)。

2.3 中心组合试验结果

通过中心组合设计法, 进一步确定最佳响应值。中心组合试验设计及结果见表 6, 中心组合试验方差分析见表 7。

将表 6 的试验数据进行拟合, 得到模拟方程:

$$Y = 1.18 - 0.011A - 0.047B + 0.012AB - 0.064A^2 - 0.040B^2$$

由表 7 的方差分析结果可知, 该模型 $p < 0.01$, 说明该模型极显著; 失拟误差 $p > 0.05$, 说明没有产生失拟现象。 R^2 为 0.9482, 说明拟合度良好, 方程的显著性及可靠性极高。根据以上方程绘制响应面图形, 得到图 1。

通过 Plackett-Burman 试验设计和中心组合设计试验得到的最佳发酵条件为: 初始糖度为 12%、初始 pH 为 4.5、乳酸菌接种量为 5%、乳酸菌发酵温度为 39.5 °C、乳酸菌发酵时间为 24 h、酵母菌接种量 0.07%, 发酵温度 25 °C, 酵母菌发酵时间 20 h。在此条件下发酵得到的发酵液总酚含量为 1.18 ± 0.02

mg/mL (比优化前提高 21.6%), 与模型预测误差值为 1.14%, 说明预测较可靠。

表 6 中心组合试验设计及结果

Table 6 Central composite design and results

试验号	A	B	Y 总酚含量/(mg/mL)
1	-1	-1	1.13
2	1	-1	1.08
3	-1	1	1.04
4	1	1	1.03
5	-1.41	0	1.06
6	1.41	0	1.05
7	0	-1.41	1.18
8	0	1.41	1.02
9	0	0	1.21
10	0	0	1.15
11	0	0	1.18
12	0	0	1.18

注: 表中数据为 3 组平行试验结果平均值。

表7 中心组合试验方差分析

Table 7 Variance analysis of center composite design

来源	自由度	平方和	均方	F 值	p 值	显著性
模型	5	0.051	0.01	21.98	0.0009	**
A	1	1.03×10^{-3}	1.03×10^{-3}	2.23	0.1858	
B	1	0.018	0.018	38.36	0.0008	**
AB	1	5.33×10^{-4}	5.33×10^{-4}	1.16	0.3238	
A ²	1	0.026	0.026	57.45	0.0003	**
B ²	1	0.01	0.01	22.32	0.0032	**
残差	6	2.77×10^{-3}	4.61×10^{-4}			
失拟误差	3	1.22×10^{-3}	4.05×10^{-4}	0.78	0.5766	
纯误差	3	1.55×10^{-3}	5.17×10^{-4}			
合计	11	0.053				

注: $p < 0.05$ 为显著, 用“*”表示; $p < 0.01$ 为极显著, 用“**”表示。

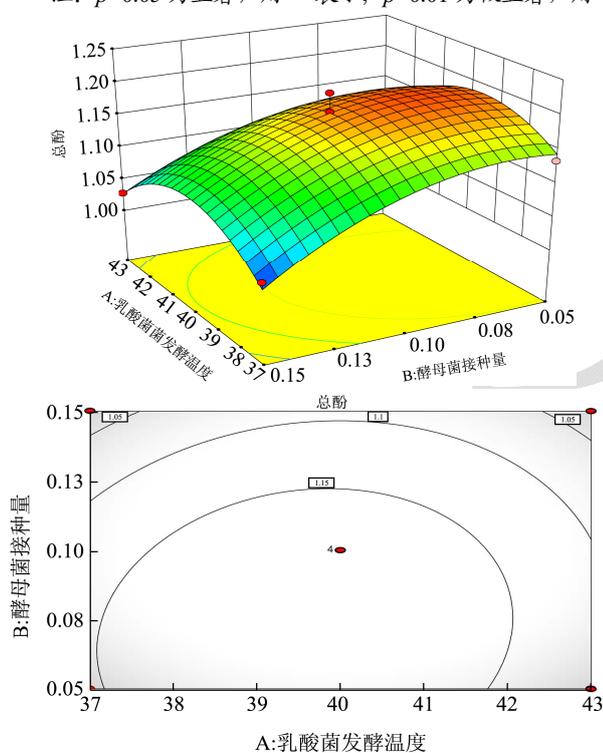


图1 乳酸菌发酵温度和酵母菌接种量交互作用响应面

Fig.1 Response surface plot of LAB temperature and yeast-inoculation dose

试验结果表明, 发酵前后总酚含量显著增加 ($p < 0.01$), 对于发酵过程中酚类物质的转化 Filannino^[8]指出在乳酸菌可以将绿原酸水解成咖啡酸和奎宁酸, 并且在代谢过程中的积累的糖基水解酶将黄酮类相应的苷元和酯类降解成甲基酯、单宁和酚酸, 这是总酚含量增加的主要原因。经发酵后龙葵果汁中的酚类更易被人体吸收, 对人体健康更加有益。

在优化条件下得到的发酵龙葵果汁的 pH 为 3.85 ± 0.06 , 剩余还原糖含量为 $(1.93 \pm 0.06) \times 10^{-2}$ mg/mL, 乳酸菌活菌数为 $9.12 \log \text{CFU/mL}$ 。

2.4 抗炎活性研究

2.4.1 透明质酸酶抑制结果

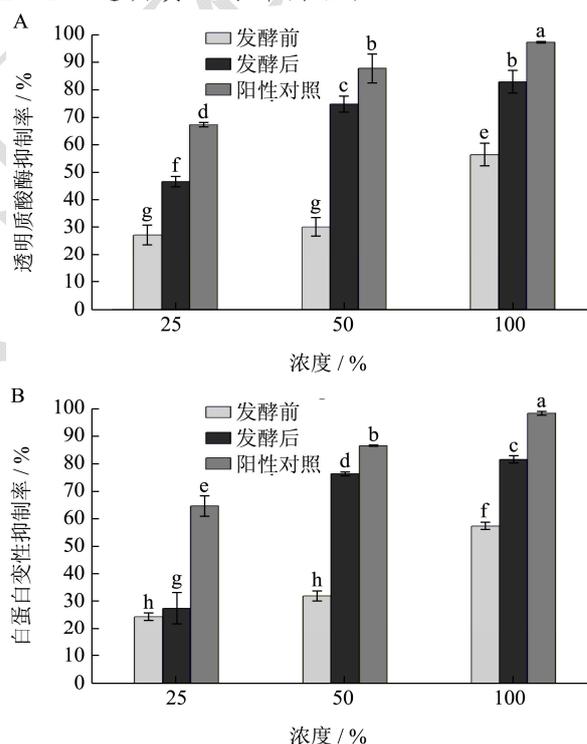


图2 透明质酸酶抑制及抑制白蛋白变性试验结果

Fig.2 Results of anti-hyaluronidase and anti-denaturation activities

注: 图中不同字母表示数值间差异性达到显著水平 ($p < 0.05$); A 为透明质酸酶抑制活性结果, B 为抑制白蛋白变性试验结果。

研究表明透明质酸酶与炎症、过敏有强相关性。透明质酸酶 (HA) 能够催化透明质酸中 N-乙酰-D-氨基葡萄糖和 D-葡萄糖醛酸之间的 β -1,4-糖苷键。HA 是细胞外基质中一种高分子量多糖。其对细胞增殖和

迁移的作用明显,也会参与到一些恶性肿瘤细胞的繁殖^[16]。因此,透明质酸酶活性抑制试验可以作为抗炎的评价指标。以 1 mg/mL 的双氯芬酸钠作为阳性对照,发酵龙葵果汁的透明质酸酶抑制活性结果见图 2。从图 2A 可以看出发酵前后不同浓度样品的抑制透明质酸酶活性能力均显著提高 ($p<0.05$)。其中样品浓度为 50% 时,抑制透明质酸酶活性提高 44.74%。浓度为 100% 时抑制率达到 $82.98\pm 4.16\%$ 。有报告指出于健康有益的酚类化合物是依赖于微生物的转化,其中以乳酸菌表现出的代谢能力最强^[21,22]。且已被证实单宁酸和黄酮类能够抑制透明质酸酶活性,但作用机制尚不明确^[23],这说明酚类物质是有效的透明质酸酶抑制剂。龙葵果汁经发酵后酚类物质含量增加,导致抑制透明质酸酶活性能力提高,说明样品抗炎能力增强。

2.4.2 抑制白蛋白变性结果

内源性蛋白的变化是一种诱发慢性炎症疾病的病因, Amina Bougandoura^[24]等人指出在炎症过程中释放

的某些自身抗体会导致蛋白质变性,因此抑制蛋白质变性是有效衡量抗炎活性的指标。以 1 mg/mL 的双氯芬酸钠作为阳性对照,结果见图 2B。比较发酵前后的样品抑制白蛋白变性效果发现发酵可以有效提高抗炎活性。尤其是样品浓度为 50% 时,与发酵前抑制白蛋白作用相比极显著增强 ($p<0.01$)。样品浓度为 100% 时抑制率达到 $81.57\pm 1.24\%$ 。说明样品对白蛋白变性抑制效果明显,具有较强的抗炎能力,导致这一结果的可能原因是益生菌积累的代谢产物具有一定的抗炎作用,或者发酵过程使具有抗炎作用的生物活性物质含量增加。

2.5 抑菌活性比较

发酵龙葵果汁对金黄色葡萄球菌、埃希氏大肠杆菌和枯草芽孢杆菌 3 种食源性微生物的抑制活性试验结果见表 8。

表 8 发酵对 3 种食源性微生物的抑菌活性 (抑菌圈直径单位: mm)

Table 8 Effect of fermentation on antibacterial activity against three different foodborne microorganisms (diameter of the inhibition zone is measured in mm)

名称	浓度/%	金黄色葡萄球菌	埃希氏大肠杆菌	枯草芽孢杆菌
发酵样品	50	7.0±0.0 ^c	7.5±0.0 ^c	6.5±0.0 ^c
	100	9.0±0.0 ^b	8.5±0.5 ^b	9.0±0.0 ^b
未发酵样品	50	-	-	-
	100	-	-	-
阴性对照	无菌水	-	-	-
阳性对照	1 mg/mL 氨苄青霉素	11.0±0.5 ^a	11.3±0.5 ^a	10.5±0.5 ^a

注:“-”表示无抑菌圈产生;同列中不同字母表示数值间差异性达到极显著水平 ($p<0.01$)。

从表 8 可以看出,未发酵样品无抑菌圈产生,发酵后样品的抑菌能力有显著提高 ($p<0.01$)。说明发酵能够提高龙葵果汁对 3 种供试细菌的抑菌作用,但抑菌效果没有阳性对照组明显。样品浓度为 100% 时对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制强于埃希氏大肠杆菌,而对埃希氏大肠杆菌的抑制效果在样品浓度为 50% 时好于其它两种细菌。抑菌作用的增强不仅是由于发酵液中酚类物质含量增加,也与样品的 pH 有关,样品 pH 较低会使其抑菌能力有所提高。

3 结论

3.1 本试验以龙葵果为原料,选择保加利亚乳杆菌和果酒酵母为发酵菌种对发酵工艺进行优化。优化后得到的最佳发酵工艺条件为:初始糖度为 12%、初始 pH 为 4.5、乳酸菌接种量为 5%、乳酸菌发酵温度为 39.5 °C、乳酸菌发酵时间为 24 h、酵母菌接种量 0.07%、发酵温度 25 °C、酵母菌发酵时间 20 h。对在

此条件下发酵得到的发酵龙葵果汁理化指标进行了测定:总酚含量为 1.18 ± 0.02 mg/mL (与优化前相比提高 21.6%),pH 为 3.85 ± 0.06 ,剩余还原糖含量为 $(1.93\pm 0.06)\times 10^{-2}$ mg/mL,乳酸菌活菌数为 $9.12\log\text{CFU/mL}$ 。发酵液酸度适宜,风味浓郁,呈紫红色。

3.2 用抑制透明质酸酶活性和抑制白蛋白变性两个指标表征优化得到的龙葵果汁发酵液的抗炎活性,与发酵之前相比抗炎活性显著提高 ($p<0.05$)。未稀释的发酵样品的透明质酸酶活性抑制率达到 $82.98\pm 4.16\%$,抑制白蛋白变性能力达到 $81.57\pm 1.24\%$ 。酚类物质具有较好的抗炎功效,发酵后总酚含量的增加可以看做抗炎活性增强的主要原因之一。

3.3 比较样品对三种食源性微生物的抑制作用发现,发酵前后抑菌活性显著增强 ($p<0.01$),但抑菌效果弱于阳性对照。发酵样品浓度为 100% 时对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌抑制效果最好,对埃希氏大肠杆菌抑制效果在样品浓度为 50% 时好于其它两种细菌。

参考文献

- [1] 姜英,宋超,金春爱,等.龙葵果营养成分的测定分析[J].特产研究,2013,2:65-66,76
JIANG Ying, SONG Chao, JIN Chun-ai, et al. Determination and analysis of nutritional ingredient in *Solanum nigrum* fruit [J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2013, 2: 65-66, 76
- [2] 王晓英,王磊,段连海,等.野生龙葵果在食品行业中的应用与进展[J].饮料工业,2014,17(1):40-43
WANG Xiao-ying, WANG Lei, DUAN Lian-hai, et al. Progress in use of wild *Solanum nigrum* in food industry [J]. Beverage Industry, 2014, 17(1): 40-43
- [3] 陈凤清,刘宗彬,高金秋,等.龙葵果实功能成分及抗氧化酶的比较研究[J].白城师范学院学报,2015,29(2):9-13
CHEN Feng-qing, LIU Zong-bin, GAO Jin-qiu, et al. A Comparative study of *Solanum nigrum* L. fruit functional components and antioxidant enzymes [J]. Journal of Baicheng Normal University, 2015, 29(2): 9-13
- [4] 郝鑫,林柯,李延花,等.龙葵抑菌活性研究[J].农产品加工(学刊),2014,4(8):16-18,22
HAO Xin, LIN Ke, LI Yan-hua, et al. Antimicrobial activities of the extracts from *Solanum Nigrum* L. [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2014, 4(8): 16-18, 22
- [5] 秦璐,孙悦,朱劲华,等.龙葵中的生物活性成分及其抗肿瘤作用的研究进展[J].中国肿瘤外科杂志,2013,5(4):245-247
QIN Lu, SUN Yue, ZHU Jin-hua, et al. Research progress of bioactive constituents in *Solanum nigrum* L. and its antitumor effect [J]. Chinese Journal of Surgical Oncology, 2013, 5(4): 245-247
- [6] Marsh A J, Hill C, Ross R P, et al. Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives [J]. Trends in Food Science & Technology, 2014, 38(2): 113-124
- [7] Hur S J, Lee S Y, Kim Y, et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods [J]. Food Chemistry, 2014, 43(160): 346-356
- [8] Filannino P, Baia Y, Cagno R D, et al. Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree [J]. Food Microbiology, 2015, 46: 272-279
- [9] 蒋继丰,吴红艳,王存堂,等.液态发酵法生产龙葵果酒的工艺研究[J].农产品加工(学刊),2008,142(7):165-167
JIANG Ji-feng, WU Hong-yan, WANG Cun-tang, et al. Brewing technological study on *Solanum Nigrum* wine [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2008, 142(7): 165-167
- [10] 朱畅,李伟.龙葵果醋饮料的研制[J].食品研究与开发,2015,36(21):86-89
ZHU Chang, LI Wei. Development of *Solanum nigrum* fruit vinegar beverage [J]. Food Research and Development, 2015, 36(21): 86-89
- [11] 翁梁,李春阳,王乐,等.野生龙葵果酸奶的研制[J].粮食科技与经济,2015,40(3):67-69
WENG Liang, LI Chun-yang, WANG Le, et al. Development of wild *Solanum nigrum* fruit yogurt [J]. Grain Science and Technology and Economy, 2015, 40(3): 67-69
- [12] 丛建民,陈凤清,李岳峰,等.不同处理条件下龙葵发酵液营养成分分析[J].食品工业科技,2014,35(2):158-161
CONG Jian-min, CHEN Feng-qing, LI Yue-feng, et al. Nutrition ingredient analysis of *Solanum nigrum* fermentation liquid under different conditions [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(2): 158-161
- [13] 李维江,符小平,苏志成.野生龙葵汁乳酸菌饮料的研究[J].饮料工业,2011,14(3):28-30
LI Wei-jiang, FU Xiao-ping, SU Zhi-cheng. Study on a lactic acid bacteria beverage with wild *Solanum nigrum* juice [J]. The Beverage Industry, 2011, 14(3): 28-30
- [14] Li H, Wang X Y, Li Y, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected china wines [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460
- [15] 王俊丽,聂国兴,李素贞,等.DNS 法测定还原糖含量时最适波长的确定[J].河南农业科学,2010,4:115-118
WANG Jun-li, NIE Guo-xing, LI Su-zhen, et al. Optimal wavelength for determining the content of reducing sugar by dns method [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2010, 4: 115-118
- [16] Han S S, Hur S J, Lee S K. A Comparison of antioxidative and anti-inflammatory activities of sword beans and soybeans fermented with *Bacillus subtilis* [J]. Food Function, 2015, 6(8): 2736-2748
- [17] Mizushima Y, Kobayashi M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins [J]. Journal of Pharmaceutics and Pharmacology, 1968, 20: 169-173
- [18] Grabowska K, Podolak I, Galanty A, et al. *In vitro* anti-denaturation and anti-hyaluronidase activities of extracts and galactolipids from leaves of *impatiens parviflora* DC [J]. Natural Product Research, 2016, 30(10): 1219-1223
- [19] 郭申娥.瓜子金发酵口服液的制备工艺及药理活性研究

- [D].武汉:湖北工业大学,2011
- GUO Shen-e. Study on optimum preparation technology and pharmacological activity in oral liquid of fermented polygala japonica huott [D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2011
- [20] 陶申傲. 榆耳液体发酵工艺及其抑菌活性的研究[D].北京:北京化工大学,2006
- TAO Shen-ao. The study on the fermentation process and antibacterial activity of *Gloeostereum incarnatum* S.Ito Et imai [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2006
- [21] Selma M V, Espin J C, Barberán F A T. Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(15): 6485-6501
- [22] Cagno R D, Coda R, Angelis M D, et al. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation [J]. Food Microbiology, 2013, 33(1): 1-10
- [23] Isoyama T, Thwaites D, Seler M G, et al. Differential selectivity of hyaluronidase inhibitors toward acidic and basic hyaluronidases [J]. Glycobiology, 2006, 16(1): 11-21
- [24] Bougandoura A, D'Abrosca B, Ameddah S, et al. Chemical constituents and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Cistanche Violacea* Desf. (*Orobanchaceae*) extract [J]. Fitoterapia, 2016, 109: 248-253