

复合乳酸菌发酵蓝莓黑莓混合汁过程中的品质变化

张宏志¹, 马艳弘¹, 刘小莉¹, 李亚辉¹, 郜海燕², 陈杭君², 周剑忠¹

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014)

(2. 浙江省农业科学院食品科学研究所, 浙江杭州 310021)

摘要: 以鲜榨并经灭菌的蓝莓黑莓混合果汁为原料, 接入3种不同的乳酸菌(植物乳杆菌、乳酸乳杆菌、肠膜明串珠杆菌)进行发酵, 研究发酵过程中乳酸菌活菌数、pH、总酸、总糖、还原糖、总酚、体外抗氧化和抑菌活性变化规律。结果表明, 乳酸菌在混合果汁中生长良好, 24 h时活菌数最高, 为 1.23×10^8 cfu/mL; 发酵过程中, pH值不断降低, 由最初的5.50降低到3.75, 总酸含量呈不断上升趋势, 从初始含量0.15 g/100 mL上升到2.15 g/100 mL; 还原糖呈先短暂上升然后下降趋势, 发酵至6 h为最高值2.63 g/L, 总糖被微生物利用消耗, 质量浓度不断下降, 42 h后趋于0 g/L; 总酚含量从2.32 mg/mL升高到3.26 mg/mL, 发酵前后增加了40.52%; DPPH·、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除能力比未发酵前分别提升了18.17%、30.67%和34.55%。发酵混合汁对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、酿酒酵母和黑曲霉等几种微生物的抑菌作用显著, 抑菌效果随发酵时间而逐渐提高。因此, 利用复合乳酸菌发酵来提升蓝莓黑莓混合汁品质和开发功能性产品具有重要意义。

关键词: 蓝莓; 黑莓; 乳酸菌; 发酵; 品质变化

文章编号: 1673-9078(2019)010-85-91

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.013

Quality Changes during the Fermentation of Blueberry and Blackberry

Juice Mixture by Composite Lactic Acid Bacteria

ZHANG Hong-zhi¹, MA Yan-hong¹, LIU Xiao-li¹, LI Ya-hui¹, GAO Hai-yan², CHEN Hang-jun²,
ZHOU Jian-zhong¹

(1. Institute of Farm Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

(2. Institute of Food Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Freshly squeezed and sterilized blueberry and blackberry juice mixture was used as the raw material for the fermentation with three different lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*). The changes in the number of live lactic acid bacterium colonies, pH value, total acid, total sugar, reducing sugar and total phenolic content, *in vitro* antioxidant activity and bacteriostatic effect during fermentation were studied. The results showed that the lactic acid bacteria grew well in the juice mixture, with the highest colony number of viable bacteria (1.23×10^8 cfu/mL) occurring at the 24th h. During the fermentation, the pH value decreased constantly (from initial 5.50 to 3.75) while the total acid content increased continuously (from 0.15 to 2.15 g/100 mL). The reducing sugar content increased briefly and then decreased with the peak value (2.63 g/L) at 6 h, while the concentration of total sugar decreased steadily, due to the consumption by microorganisms, till almost 0 g/L after 42 h of fermentation. The content of phenolic compounds changed from 2.32 to 3.26 mg/mL (increase by 40.52% after fermentation). The DPPH·, hydroxyl and superoxide anion free radical scavenging rates increased by 18.17%, 30.67% and 34.55%, respectively, after fermentation. The fermented juice mixture significantly inhibited *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Staphylococcus aureus*, and the inhibitory activities increased gradually with fermentation time. Therefore, the use of fermentation by composite lactic acid bacteria is of high significance in terms of improving the quality of the blueberry and blackberry juice mixture and developing functional food products.

Key words: blueberry; blackberry; lactic acid bacteria; fermentation; quality changes

收稿日期: 2019-04-02

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金(CX(18)2017); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20150541); 江苏省农业科学院农产品加工研究所科研基金项目(JG(2017)06)

作者简介: 张宏志(1985-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品微生物及生物技术

通讯作者: 周剑忠(1965-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品微生物及生物技术

蓝莓 (Blueberry), 又称越橘、蓝浆果, 是杜鹃花科越桔属植物, 为多年生落叶或常绿灌木^[1]。蓝莓果实为浆果, 近圆形, 呈蓝色, 酸甜适度, 果肉细腻, 皮薄籽小。蓝莓含有对人体有益的多种营养成分, 包括花青素、维生素 A、维生素 E、熊果酸、鞣花酸和多酚等, 具有提高视力、抗衰老、增强心脏功能、治疗心血管疾病和降低胆固醇等功效。因此, 蓝莓在近年来风靡国内外, 分别被英国权威营养学家和联合国粮农组织列为“15 种健康食品”之首和“人类五大健康食品”之一^[2]。

黑莓 (Blackberry), 原产北美, 为蔷薇科悬钩子属多年生藤本植物。成熟时为紫黑色, 柔嫩多汁, 味酸带甜, 风味独特。黑莓自 1986 年引种国内以来, 已在江苏、湖北、云南等地广泛种植, 是一种非常适合在江苏低山丘陵地区生长的经济型果树^[3]。黑莓果实柔软多汁, 色泽艳丽, 酸甜爽口, 风味独特, 富含花青素、黄酮醇、鞣花酸、绿原酸、没食子酸、槲皮素等高生物活性的酚类化合物, 具有较强的抗氧化、抗衰老、抗癌、抗突变、清除自由基、预防动脉硬化等作用^[4]。长远发展角度来看, 黑莓加工产品市场容量很大, 具有广阔的产业化前景。

近年来, 黑莓、蓝莓等小浆果类果品的营养价值和保健功能越来越受到人们的喜爱和重视, 栽培面积及其精深加工产品在国内呈逐年增加趋势。其中, 采用复合乳酸菌发酵的果汁饮料因诸多优点而倍受消费者青睐, 首先乳酸菌作为天然的防腐剂, 能够使产品摆脱工业防腐添加剂, 同时可以赋予果汁新的发酵风味, 增添有助于宿主肠道微生态平衡的多种有益微生物; 其次, 发酵后的低 pH 环境可改善果汁中活性成分的组成和稳定性, 包括矿物质、维生素、膳食纤维和抗氧化物质等^[5]。这些显而易见的健康特性极大地满足了人们对营养和保健的需求, 发酵果汁市场将有很大的发展空间, 对其的研究也颇有意义。

目前对浆果类果汁乳酸菌发酵的研究多集中在加工技术的创新和研制以及保健功能性的开发^[6-7], 对发酵过程中代谢产物变化规律的研究则相对较少。而原料自身利用程度、生成代谢物的种类产量以及生物功能活性都是乳酸菌发酵产品质量指标的关键所在, 也是判定发酵终点的主要依据。

本文选用鲜榨并经灭菌的蓝莓和黑莓果汁为原料, 研究经 3 种不同乳酸菌(植物乳杆菌、乳酸乳杆菌和肠膜明串珠杆菌)同时接种发酵过程中 pH、总酸、活菌数、总糖、还原糖、总酚、体外抗氧化和抑菌活性的变化规律, 以期对小浆果精深加工以及复合乳酸菌发酵产品的研发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜蓝莓、黑莓, 由南京溧水新得力食品有限公司提供。

菌种: 植物乳杆菌 70810 (CGMCC No.2843) 由南京农业大学食品微生物研究室分离鉴定并保存; 乳酸乳杆菌 KN 和肠膜明串珠杆菌 JX5 为本研究室保藏菌种。

果浆酶、果胶酶, 购自诺维信生物技术有限公司; DPPH·, 上海源叶生物科技有限公司; 羟自由基和超氧阴离子自由基测试试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所; 苯酚、浓硫酸、3,5-二硝基水杨酸 (均为分析纯) 等, 购自国药集团化学试剂有限公司; 其他试剂均为分析纯, 购于上海化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

pH 酸度计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; UV-3802H 紫外可见分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; JJ500 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂; DK-8D 型电热恒温水槽, 上海精宏实验设备有限公司; HR2096 型飞利浦搅拌机, 飞利浦电子香港有限公司; LXJ-II B 型低速大容量多管离心机, 上海安亭科学仪器厂。

1.3 工艺流程

蓝莓、黑莓鲜果→挑选→清洗→打浆→酶解→过滤→调配→灭菌→接种→发酵→后熟→过滤→离心→灌装→杀菌→成品

1.4 操作要点

1.4.1 蓝莓、黑莓汁的制备

挑选新鲜、成熟度高的蓝莓、黑莓洗净沥干, 按 1:1 的重量比进行榨汁, 加入 0.30% 抗坏血酸和 0.40% 柠檬酸护色; 用 NaHCO₃ 将蓝莓黑莓混合汁 pH 调节为 5.00~5.50; 将果胶酶和果浆复合酶制剂分别用去离子水稀释 5 倍后加入混合汁中, 45 °C 保温搅拌 2 h, 酶解后加热到 90 °C 灭酶活 5 min, 冷却, 4500 r/min 离心 15 min, 压滤去籽去渣, 得蓝莓黑莓混合清汁; 加热至 68~70 °C 巴氏杀菌 30 min, 在 4 °C 条件下密封贮存, 备用。

1.4.2 发酵剂的活化

将-20 °C 冷冻保藏的植物乳杆菌 70810、乳酸乳杆菌 KN 和肠膜明串珠杆菌 JX5 甘油管解冻至室温,

在无氧条件下按 2% 的接种量接种在 MRS 液体培养基中, 37 °C 活化培养 18~24 h, 至活菌数达到 10^8 cfu/mL。按照此法反复活化 3 代, 获得活力较好的菌种。

1.4.3 复合乳酸菌发酵蓝莓黑莓饮料的制备工艺

将上述活化好的菌悬液按照植物乳杆菌 70810、乳酸乳杆菌 KN、肠膜明串珠杆菌 JX5=1:1:1 的体积比制成复合菌液, 6000 r/min, 离心 10 min, 弃上清, 加入等体积无菌生理盐水重悬乳酸菌。重悬的乳酸菌按 3% 接种量接入灭菌的蓝莓黑莓混合清汁中, 37 °C 静置培养 48 h。发酵结束后, 在 4 °C 条件下后熟 24 h, 经 4500 r/min 离心 20 min, 得到澄清发酵液。

1.5 测定方法

1.5.1 部分理化指标

pH 值的测定: pH 计;

总酸的测定: 参照 GB/T 12456-2008《食品中总酸的测定》的方法测定, 测定结果以乳酸质量浓度 (g/100 mL) 计。

乳酸菌活菌数的测定: 参照 GB 4789-2016 中乳酸菌菌落总数的测定方法 (稀释平板计数法)。

总糖的测定: 苯酚硫酸法;

还原糖的测定: 3,5-二硝基水杨酸法。

1.5.2 总酚含量的测定

参照文献^[8]中的福林-酚法, 以没食子酸为对照品, 绘制出标准曲线, 测定蓝莓黑莓混合发酵汁中的总酚含量。取 0.10 mL 样品用去离子水 1:1 稀释, 与 1 mL 体积分数 50% 的福林-酚溶液混合均匀并保持 5 min, 加入 2 mL 7.50 g/100 mL Na_2CO_3 溶液, 避光条件下反应 30 min, 于 760 nm 波长处测吸光度。总酚的含量以 1 mL 混合发酵果汁中含有的没食子酸的质量 (mg) 计。按照相应的标准曲线方程 $y=8.532x+0.0358$ ($R^2=0.9991$) 计算总酚含量。

1.5.3 体外抗氧化活性的测定

1.5.3.1 DPPH·清除率的测定

参照 Braca^[9]的方法, 将 0.1 mL 不同发酵时段的蓝莓黑莓混合发酵汁用双蒸水稀释 10 倍于具塞试管中, 再加入 4 mL 0.004% 的 DPPH·无水乙醇溶液中, 混匀, 避光静置 30 min, 无水乙醇做对照, 在 517 nm 处测定吸光值 A, 重复 3~5 次, 计算清除率 E。

1.5.3.2 羟自由基清除率的测定

利用 Fenton 反应产生羟自由基, 当给予电子受体后, 用 Gress 试剂显色, 形成红色物质, 其呈色与羟自由基的多少成正比关系。测定方法是将 0.1 mL 不同发酵时段的蓝莓黑莓混合发酵汁用双蒸水稀释 5 倍于

具塞试管中, 按照试剂盒说明书配置好各试剂和应用液, 混匀, 室温放置 20 min, 双蒸水调零, 于 550 nm 波长处测定各管吸光度 A, 其呈色与羟自由基的多少成正比关系, 即吸光度越小, 样品对羟自由基的清除能力越强。重复 3~5 次, 计算清除率 E。

1.5.3.3 超氧阴离子自由基清除率的测定

模拟机体中黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶反应系统, 产生超氧阴离子自由基, 加入电子传递物质及 Gress 显色剂, 使反应系统呈现紫红色。测定方法是将 0.1 mL 不同发酵时段的蓝莓黑莓混合发酵汁用双蒸水稀释 10 倍于具塞试管中, 按照试剂盒说明书配置好各试剂和应用液, 混匀, 室温放置 10 min, 双蒸水调零, 于 550 nm 波长处测定各管吸光度 A, 重复 3~5 次, 计算清除率 E。

上述三种自由基清除能力计算公式为:

$$\text{自由基清除率}/\% = (1 - A_{\text{sample}}/A_{\text{control}}) \times 100\%$$

式中: A_{sample} 和 A_{control} 分别是对照和样品的吸光值。

1.5.4 体外抑菌活性的测定

供试菌为黑曲霉、酿酒酵母、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌 4 种。参考文献^[10]的方法预先将上述供试菌从斜面转接到液体马铃薯培养基中活化, 挑取菌苔, 用无菌水制成含菌数约 10^8 cfu/mL 的菌悬液。分别取 0.10 mL 供试菌悬液, 于马铃薯琼脂(PDA)培养基表面涂布均匀, 再用无菌镊子夹取浸有蓝莓黑莓复合乳酸菌发酵液的滤纸片 (直径 5 mm) 贴在各含菌平板上, 以浸有无菌水的滤纸片作对照。黑曲霉和酿酒酵母 28 °C 培养 48 h, 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌 37 °C 培养 24 h。每个菌种做 3 个平板, 测量各自抑菌圈直径的大小, 比较抑菌效果。

1.6 数据处理

所有试验平行 3 次, 实验数据采用 SPSS 13.0 软件和 Origin Pro 8.6 软件进行数据分析并作图。

2 结果与分析

2.1 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中乳酸菌活菌数的变化

乳酸菌作为胃肠道中的优势菌群, 只有达到一定的数量才会起到益生作用, 发酵制品中的活菌数是反映营养品质的重要指标。蓝莓黑莓混合汁发酵过程中活菌数变化如图 1 所示, 在 6 h 前, 复合乳酸菌生长相对缓慢, 需要对新的理化环境进行适应, 6~24 h 为对数生长期, 代谢活跃, 24 h 后进入稳定期, 活

菌数由初始值 3.30×10^6 cfu/mL 上升到 1.23×10^8 cfu/mL, 活菌数增长到初始值的 36 倍。此时由于营养物质的消耗以及发酵产物的积累, 可利用的碳源和氮源不足, 复合乳酸菌在低 pH 环境下生长逐步受限, 30 h 后进入衰亡期。

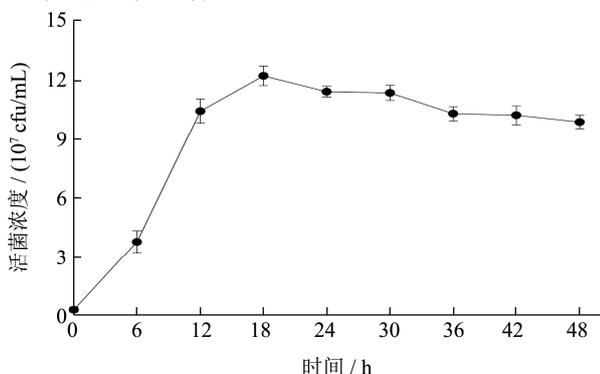


图1 发酵过程中乳酸菌活菌数的变化

Fig.1 Changes in the number of lactic acid bacteria during fermentation

2.2 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中 pH、总酸含量的变化

pH 值的变化可以反映发酵过程是否正常, 而酸度是衡量发酵制品成熟度和品质的重要指标。蓝莓和黑莓中本身含有的多种有机酸持续不断溶出, 加之乳酸菌自身代谢产生大量的乳酸、苹果酸等, 发酵过程中总酸含量的持续增加使发酵液的 pH 值不断降低。蓝莓黑莓混合汁发酵过程中 pH 变化如图 2 所示, 前 12 h 内 pH 值从 5.50 快速下降到 4.11, 随着时间的延长, 产酸量不断积累, pH 值不断下降, 但速度减缓, 36 h 将至 3.75 以后趋于稳定。与 pH 值变化相对应的, 总酸含量发酵过程中呈快速上升再缓慢增加的趋势, 从初始含量 0.15 g/100 mL 上升到 2.15 g/100 mL。

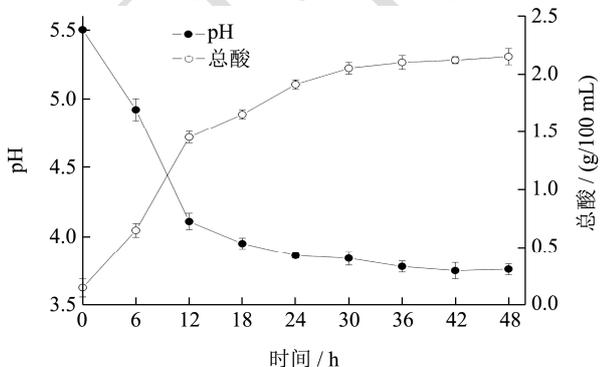


图2 发酵过程中 pH 和总酸的变化

Fig.2 Changes in pH value and total titratable acidity during fermentation

2.3 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中总糖和还原糖的变化

糖类作为微生物生长繁殖的主要碳源, 其含量是研究发酵过程微生物代谢变化的核心指标之一。蓝莓黑莓混合汁发酵过程中总糖和还原糖含量变化如图 3 所示, 在发酵 0~6 h, 混合汁中还原糖呈上升趋势, 最高达 2.63 g/L, 而后迅速下降, 24 h 后趋于稳定, 可能的原因是在发酵初期, 乳酸菌在自身酶系作用下将蔗糖降解为葡萄糖和果糖, 混合汁中的还原糖短暂上升, 发酵中后期乳酸菌将已糖转化成乳酸等有机酸, 还原糖持续减少。总糖在发酵的过程中是逐渐减少的, 6~24 h 下降最快, 42 h 后质量浓度不断下降趋于 0 g/L。在发酵 24 h 后, 总糖和还原糖均处于最低水平, 但总糖含量始终高于还原糖, 说明在蓝莓黑莓混合汁中含有非还原性的多糖。

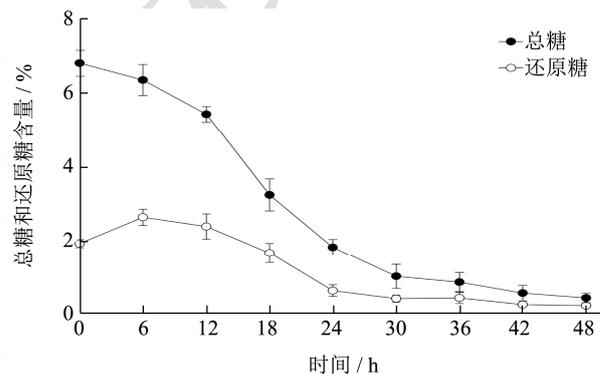


图3 发酵过程中总糖和还原糖的变化

Fig.3 Changes in content of total sugar and reducing sugar during fermentation

2.4 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中总酚的变化

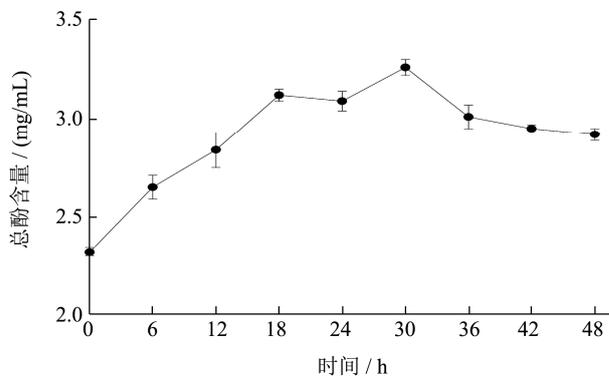


图4 发酵过程中总酚含量的变化

Fig.4 Changes in total phenolic during fermentation

蓝莓和黑莓中富含各种天然酚类活性成分, 是主要的抗氧化物质。蓝莓黑莓混合汁发酵过程中总酚含

量变化如图 4 所示,随着发酵时间的延长,总酚含量呈缓慢增加的趋势,发酵至 30 h,总酚含量由发酵前的 2.32 mg/mL 增加至 3.26 mg/mL,增加 40.52%,之后趋于缓和,表明乳酸菌的发酵过程可以显著提高蓝莓黑莓混合汁中总酚含量。可能的原因是发酵过程中微生物会把复杂的大分子酚类物质转换成小分子物质,使酚类含量增加^[11]。此外,乳酸菌产生的酶类及有机酸使蓝莓和黑莓中酚类物质溶出并呈游离态,也会导致总酚含量上升^[12]。

2.5 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中抗氧化活性的变化

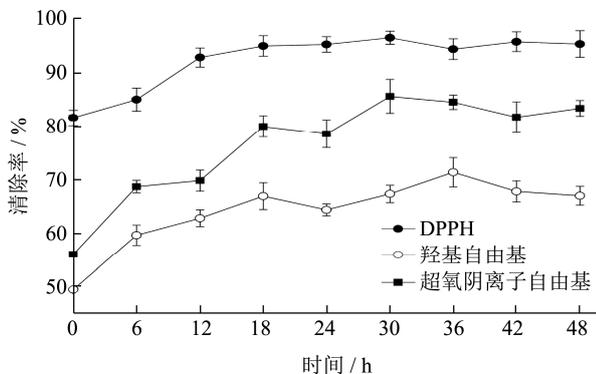


图 5 发酵过程中抗氧化活性的变化

Fig.5 Changes in antioxidant activity during fermentation

乳酸菌在生长过程中能够产生多种酶类,通过这些酶的转化作用可以将结合态酚酸分解为游离态酚酸,提高发酵原料中酚酸类化合物的生物利用度及抗氧化性^[13,14]。本试验通过对 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除率的测定,研究了蓝莓黑莓混合汁发酵过程中抗氧化活性的变化,结果如图 5 所示,自由基清除率随着发酵的进行呈逐渐升高的趋势,其中 DPPH·和超氧阴离子自由基清除率分别在 30 h 达到最高的 96.37%和 85.53%,比未发酵时(清除率为 81.55%和 55.98)分别提升了 18.17%和 34.55%,而羟自由基清除率则在 36h 达到最高的 71.33%,比未发酵时(清除率为 49.45%)提升了 30.67%,三者发酵前期,清除能力迅速上升,18 h 后上升逐步缓慢,这可能的原因是前期乳酸菌增殖迅速,代谢旺盛,代谢产物积累较快,随着时间的延长,整个发酵体系 pH 以及营养物质的变化,清除能力增加减缓。Lacan^[15]和 Siddhuraju^[16]等研究表明有机酸、维生素具有自由羟基的酚类物质, A 环或 B 环上有多羟基取代或有自由的 3-羟基取代的黄酮化合物,都可以呈现出自由基清除能力。因此,蓝莓黑莓混合汁发酵过程中抗氧化活性提高与酚类物质的转化代谢(图 4)表现出比较

一致的趋势。

2.6 蓝莓黑莓混合汁发酵过程中体外抑菌活性的变化

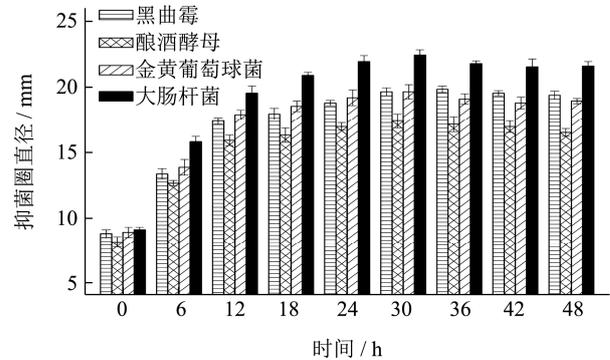


图 6 发酵过程中抑菌活性的变化

Fig.6 Changes in antibacterial activity during fermentation

抑菌圈的大小,可以直观地反映出抑菌液的抗菌能力。如图 6 所示,复合乳酸菌蓝莓黑莓混合汁对黑曲霉、酿酒酵母、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌都有很强的抑制作用,具有潜在的广谱抗菌活性,其中尤其对大肠杆菌最为明显。随着发酵时间的延长,发酵混合汁对各株菌的抑制作用呈逐步增强趋势,与 pH 值表现出了一定程度的正相关性,发酵至 24~30 h 之间达到最大抑菌效果,其抑菌圈直径从 8.15~9.10 mm 增大到 17.40~22.45 mm,之后趋于稳定。可能的原因是乳酸菌代谢过程中产生乳酸、乙酸等有机酸,大大降低环境中的 pH 值和氧化还原电位,此外还能产生细菌素,均可抑制或杀灭多种致病菌和腐败菌^[17-19];同时可以注意到,蓝莓黑莓混合汁在发酵前仍具有一定的抑菌作用,说明混合汁中特别是蓝莓本身含有一些抑菌活性成分存在,其中起主要作用的如酚类物质、有机酸类、多糖类及花青素类等^[20-22]。

3 结论

3.1 乳酸发酵的关键点之一是菌种的筛选。生香、无异味、产酸为左旋乳酸且产酸量高、适应性强、不易变异等特点是优选的菌株条件^[23]。用于食品发酵的乳酸菌较多,根据相关文献报道^[24],在乳酸菌发酵过程中,由于球菌和杆菌的共生作用,使混合菌发酵明显优于单一菌种发酵。因此本研究选用了杆状的植物乳杆菌、乳酸乳杆菌和球状的肠膜明串珠杆菌。3 株乳酸菌生长良好,24 h 时活菌数最高,为 1.23×10^8 cfu/mL。发酵过程中,蓝莓黑莓发酵混合汁的理化指标和营养成分均发生了显著的变化,其中 pH 值不断降低,由最初的 5.50 降低到 3.75,总酸含量呈不断上

升趋势,从初始含量 0.15 g/100 mL 上升到 2.15 g/100 mL;还原糖呈先短暂上升然后下降趋势,发酵至 6 h 为最高值 2.63 g/L,总糖被微生物利用消耗,42 h 后质量浓度不断下降趋于 0 g/L;总酚含量从 2.32 mg/mL 升高到 3.26 mg/mL,发酵前、后增加了 40.52%。

3.2 乳酸菌发酵型果汁作为新兴饮料,不仅可改善浆果风味,提高原料利用率,还可以强化其生理功能活性。本研究对蓝莓黑莓混合汁发酵过程中的抗氧化活性的变化进行了跟踪检测,发酵过程中 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基清除能力均先快速上升后缓慢增加,在发酵 30 h 或 36 h 达到最高,清除率比未发酵前分别提升了 18.17%、30.67%和 34.55%。由此可见,发酵过程可显著提高蓝莓黑莓混合汁的自由基清除能力,且与多酚类物质的转化与代谢有关,羟基自由基清除能力与其他自由基清除能力相比,绝对清除率相对较低,但提升幅度最大。相关研究表明不同的发酵过程可以不同程度地提高发酵产品的自由基清除能力。韩雪等^[25]研究物乳杆菌在发酵红枣浆的过程中,DPPH 自由基清除力是发酵前的 2.4 倍。叶盼等^[26]研究苹果汁发酵过程中 DPPH 自由基清除率呈先上升后下降趋势,在发酵第 9 d 达到最高值,比未发酵苹果汁高出 35.30%。蒋增良等^[27,28]研究葡萄糖素与蓝莓酵素在天然发酵过程中羟基自由基清除能力分别提高了 7.0%、2.92%。蓝莓黑莓混合汁的抑菌活性在发酵后,其抑菌圈直径随着发酵时间的延长,从 8.15~9.10 mm 增大到 17.40~22.45 mm,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、酿酒酵母和黑曲霉等几种微生物的抑菌作用提升显著,并与 pH 值表现出了一定程度的正相关性。关成冉等^[29]研究 6 株益生菌发酵制备果蔬乳饮料过程中,抑菌能力逐渐增强,24 h 达到最高值,之后趋于平缓。李祎等^[30]研究对益生菌发酵龙葵果汁,发酵后抑菌活性显著提高,与样品较低 pH 值有关,这与本研究结果一致。

3.3 本研究选用的发酵原料蓝莓和黑莓,是近些年新兴发展起来的具有独特风味和较高的营养价值的水果。但蓝莓、黑莓果实易腐烂,鲜食货架期较短,多为速冻贮存后直接出口发达国家,国内由于对浆果的加工利用起步较晚,大部分只是粗略的加工,货架期较短,产品质量较差,严重影响了市场的销售,深加工关键技术的滞后成为该产业可持续发展的瓶颈问题。因此,本试验通过对蓝莓黑莓混合汁发酵过程中乳酸菌活菌数、pH 值、总酸、总糖、还原糖和总酚等的测定,更好掌握了复合乳酸菌在蓝莓黑莓中的发酵特性及其代谢产物的变化规律,将为该产品后续的深入开发提供详细的数据参考。

参考文献

- [1] 张自川,王贺新,李根柱.我国适宜蓝莓种植的土地资源及其分布格局[J].江苏农业科学,2016,44(7):517-521
ZHANG Zi-chuan, WANG Xin-he, LI Gen-zhu. The land resources and its distribution pattern suited to growing blueberry in China [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(7): 517-521
- [2] 管章瑞,田裕,赵娜,等.蓝莓酵素发酵过程中的抗氧化活性变化研究[J].现代食品科技,2016,32(12):74-80
GUAN Zhang-ru, TIAN Yu, ZHAO Na, et al. Changes in antioxidant activity of blueberry Jiaosu during fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(12): 74-80
- [3] 孙醉君,顾姻,蔡剑华.黑莓引种十年的回顾与展望[J].江苏林业科技,1998,40(12):263-265
SUN Zui-jun, GU Yin, CAI Jian-hua. Retrospect and prospect of blackberry introduction for ten years. [J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology, 1998, 40(12): 263-265
- [4] 朱泓,赵慧芳,吴文龙,等.黑莓、蓝莓冻干粉的的抑菌抗炎活性研究[J].现代食品科技,2013,29(10):2410-2414,2430
ZHU Hong, ZHAO Hui-fang, WU Wen-long, et al. Anti-proteus mirabilis effect of freeze-dried powder of polyphenolic enriched berry [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(10): 2410-2414, 2430
- [5] 许世闯,万嗣宝,李聪,等.乳酸菌发酵复合果蔬汁的菌种筛选及发酵工艺优化研究[J].食品科技,2017,42(9):2-7
XU Shi-chuang, WAN Si-bao, LI Cong, et al. Strain screening and fermentation process optimization of compound fruit and vegetable juice fermented by lactic acid bacteria [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(9): 2-7
- [6] 郑苗,何佳,吕丹丹,等.复合乳酸菌发酵怀山药工艺及其抗氧化活性[J].中国酿造,2018,37(2):106-110
ZHENG Miao, HE Jia, LYU Dan-dan, et al. Optimization of fermentation process of Chinese yam by compound lactic acid bacteria and its antioxidant activity [J]. China Brewing, 2018, 37(2): 106-110
- [7] 陈华丽,吴继军,邹波,等.木醋杆菌对乳酸菌发酵复合果汁的影响[J].现代食品科技,2019,35(3):1-9
CHEN Hua-li, WUN Ji-jun, ZHOU Bo, et al. Effects of *Gluconacetobacter xylinus* on fermentation of mixed juice by *Lactobacillus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(3): 1-9
- [8] Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-raventos R M. Methods

- in Enzymology [M]. United States, Elsevier Academic Press Inc, 1999: 152-178
- [9] Braca A, De-Tommasi N, Di-Bari L, et al. Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis* [J]. The Journal of Natural Products, 2001, 64(7): 892-895
- [10] 孙晔,张贇彬.乳酸菌发酵冬瓜汁饮料抗菌性的初步研究[J].上海应用技术学院学报,2007,9(3):205-208
SUN Ye, ZHANG Yun-bin. Study on antibacterial activities of fermented white gourd juice beverage by lactic acid bacteria [J]. Journal of Shanghai Institute of Technology, 2007, 9(3): 205-208
- [11] Chu S C, Chen C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha [J]. Food Chemistry, 2006, 98(3): 502-507
- [12] Ghosh K, Ray M, Adak A, et al. Role of probiotic *Lactobacillus fermentum* KKL1 in the preparation of a rice based fermented beverage [J]. Bioresource Technology, 2015, 188: 161-168
- [13] Raquel T, Fernando S P, Maria M, et al. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: Resistance and metabolism [J]. Food Microbiology, 2011, 28 (7): 1345-1352
- [14] 杨艳,杨荣玲,邹宇晓,等.肠道微生物菌群生物转化天然多酚类化合物研究进展[J].食品科学,2014,35(17):319-325
YANG Yan, YANG Rong-ling, et al. Recent advances in biotransformation of natural polyphenols by gut microflora [J]. Food Science, 2014, 35(17): 319-325
- [15] Lacan D, Baccou J C. High levels of antioxidant enzymes correlate with delayed senescence in nonnetted muskmelon fruits [J]. Planta, 1998, 204(3): 377-382
- [16] Siddhuraju P, Mohan P S, Becker K. Studies on the antioxidant activity of Indian *Laburnum (Cassia fistula L.)*: A preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp [J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 61-67
- [17] 陈静,张玉苍,何连芳,等.乳酸菌产细菌素的研究进展及其应用前景[J].安徽农业科学,2011,39(4):1925-1927
CHEN Jing, ZHANG Yu-cang, HE Lian-fang, et al. Research progress of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and its application prospects [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39 (4): 1925-1927
- [18] Han K S, Kim Y, Kim S H, et al. Characterization and purification of acidocin1B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* GP1B [J]. J Microbiol Biotechnol, 2007, 17(5): 774-783
- [19] O'Sullivan L, Ross R P, Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality [J]. Biochimie, 2002, 84(5/6): 593-12
- [20] 魏彩虹,孙晓红,赵勇,等.野生蓝莓抑菌活性物质的分离及对金黄色葡萄球菌的抑制作用[J].天然产物研究与开发,2016,28:1256-1261
WEI Cai-hong, SUN Xiao-hong, ZHAO Yong, et al. Separation and antibacterial effects of Chinese wild blueberry's fractional components [J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28: 1256-1261
- [21] 陈燕,孙晓红,曹奕,等.蓝莓抑菌活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2013,25:716-721
CHEN Yan, SUN Xiao-hong, CAO Yi, et al. Progress in antibacterial activity of blueberries [J]. Natural Product Research and Development 2013, 25: 716-721
- [22] 汪洪涛,陈成,余芳,等.黑莓渣中原花青素的抑菌性与稳定性研究[J].酿酒科技,2013,12:85-88
WANG Hong-tao, CHEN Chen, YU Fang, et al. Study on the antimicrobial activity and the stability of proanthocyanidin in blackberry pomace [J]. Liquor-making Science & Technology, 2013, 12: 85-88
- [23] 张翠霞,王淑华,张翠焕.功能性乳酸菌系列产品的研制开发[J].微生物学杂志,1997,17(1):33-35
ZHANG Cui-xia, WANG Shu-hua, ZHANG Cui-huan. Research and development of a series of foods on functional lactic acid bacteria [J]. Journal of Microbiology, 1997, 17(1): 33-35
- [24] 施安辉,周波.乳酸菌分类、生理特性及在食品酿造工业上的应用[J].中国调味品,2001,11:3-8
SHI An-hui, ZHOU Bo. Classification and physiologic character of *Lactobacillus* and application in production [J]. China Condiment, 2001, 11: 3-8
- [25] 韩雪,王毕妮,张富新,等.不同乳酸菌发酵对红枣浆游离态酚酸及其抗氧化性的影响[J].食品与发酵工业,2018,44(3): 121-127
HAN Xue, WANG Bi-ni, ZHANG Fu-xin, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on free phenolic acid and antioxidant ability of jujube pulp [J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(3): 121-127

(下转第 212 页)