

# 乳酸菌发酵蓝莓乳清混合体系体外抗氧化特性分析

王文琼<sup>1</sup>, 孙志勇<sup>1,2</sup>, 黄冬成<sup>3</sup>, 张杰龙<sup>1</sup>, 张志贤<sup>1</sup>, 李颖<sup>1</sup>, 鲁茂林<sup>1</sup>, 顾瑞霞<sup>1</sup>

(1. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏乳品生物技术与安全控制重点实验室, 江苏扬州 225127)

(2. 江苏新美星包装机械股份有限公司, 江苏张家港 215618)

(3. 黑龙江大三源乳品机械有限公司, 黑龙江哈尔滨 150069)

**摘要:** 本文利用嗜热链球菌, 保加利亚乳杆菌及混合菌发酵乳清蛋白蓝莓汁混合物, 比较研究了乳清蛋白, 蓝莓汁单独发酵和混合发酵初始, 24、36、48 h 时对发酵产品体外抗氧化特性的影响。结果表明: 通过嗜热链球菌发酵乳清蛋白蓝莓混合体系还原能力高于乳清蛋白和蓝莓单独发酵, 在发酵 24 h 时, DPPH 自由基清除能力最高达到 63.01%。同时, 超氧阴离子自由基清除能力与发酵前相比提高 54.94%, 发酵 36 h 时的还原能力和羟自由基清除能力最强。采用保加利亚乳杆菌发酵乳清蓝莓体系 36 h 时 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力最强。采用嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌混合菌种发酵蓝莓乳清体系 24 h 时, 抗脂质过氧化能力与发酵前相比提高 24.33%。因此, 乳酸菌发酵对乳清蛋白和蓝莓汁混合体系的抗氧化能力具有提高和稳定的作用。该研究旨在为开发功能性乳酸菌发酵蓝莓乳清混合产品供理论依据, 为蓝莓乳清混合发酵产物在食品及医药领域的应用提供研究依据。

**关键词:** 蓝莓汁; 乳清蛋白; 乳酸菌发酵; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2021)01-142-149

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.01.0744

## Antioxidant Properties Analysis *in vitro* of Lactic Acid Bacteria

### Fermentation Blueberry and Whey Mixture System

WANG Wen-qiong<sup>1</sup>, SUN Zhi-yong<sup>1,2</sup>, HUANG Dong-cheng<sup>3</sup>, ZHANG Jie-long<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-xian<sup>1</sup>, LI Ying<sup>1</sup>,  
LU Mao-lin<sup>1</sup>, GU Rui-xia<sup>1</sup>

(1. Yangzhou University, College of Food Science and Engineering, Jiangsu Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Safety Control, Yangzhou 225127, China) (2. Jiangsu Newamstar Packaging Machinery Co. Ltd., Zhangjiagang 215618, China) (3. HeiLongjiang DaSanYuan Dairy Machinery Co. Ltd., Harbin 150069, China)

**Abstract:** In this paper, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and mixed bacteria were used to ferment the mixture of whey protein and blueberry juice. The effects fermented time of initial, 24 h, 36 h and 48 h on the antioxidant properties of whey protein, blueberry juice through single and mixed fermentation were investigated. The results showed that the reduction capacity of the mixed whey protein and blueberry system fermented by *Streptococcus thermophilus* was higher than that of the single fermentation of whey protein and blueberry, and the DPPH free radical scavenging capacity reached up to 63% fermented at 24 h. At the same time, the scavenging capacity of superoxide anion radical was increased by 54.94% compared to the initial. Furthermore, the blueberry and whey system fermented at 36 h had the strongest reduction ability and hydroxyl radical scavenging ability. When *Lactobacillus bulgaricus* fermented whey protein and blueberry for 36 h had the strongest ABTS<sup>+</sup> scavenging ability. The anti-lipid peroxidation ability was increased by 24.33% compared with the initial. When mixed strains of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* were used to ferment blueberry and whey system for 24 h, the anti-lipid peroxidation ability was higher than that of the system before fermentation for about 24.33%. Therefore, *Lactobacillus* fermentation

引文格式:

王文琼, 孙志勇, 黄冬成, 等. 乳酸菌发酵蓝莓乳清混合体系体外抗氧化特性分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 142-149

WANG Wen-qiong, SUN Zhi-yong, HUANG Dong-cheng, et al. Antioxidant properties analysis *in vitro* of lactic acid bacteria fermentation blueberry and whey mixture system [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 142-149

收稿日期: 2020-08-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31901715); 江苏省“双创博士”; 扬州市“绿杨金凤”计划项目 (2018)

作者简介: 王文琼 (1987-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 乳清蛋白

通讯作者: 鲁茂林 (1963-), 女, 副教授, 研究方向: 乳品科学

can improve and stabilize the antioxidant capacity of the mixed system of whey protein and blueberry juice. The purpose of this study is to provide the theoretical basis for the development of functional blueberry and whey mixed products fermented by lactic acid bacteria, and to provide the research basis for the application of blueberry whey mixed fermentation products in the field of food and medicine.

**Key words:** blueberry juice; whey protein; *Lactobacillus* fermentation; antioxidant property.

氧化损伤是人体衰老的主要原因,另外其还可引起高血脂、糖尿病及心脑血管疾病等多种疾病<sup>[1]</sup>。大量研究表明,乳酸菌具有较强的抗氧化能力,能够改善人体肠道内的活性氧分子变化,清除氧化应激产生的多种自由基<sup>[2,3]</sup>。蓝莓中的花青素,多酚类物质具有很强的抗氧化性,蓝莓果汁经过乳酸菌发酵后,花青素含量提高 15.38%,抗氧化能力显著提高<sup>[4]</sup>。同时有多项研究发现经乳酸菌发酵后果蔬制品的抗氧化能力显著增强,这是由于乳酸菌在发酵过程中能够水解一些结合酚,释放游离酚,提高其生物利用率,从而提高抗氧化能力。乳清蛋白经过乳酸菌发酵后会产生大量的功能性多肽,具有 ACE 抑制活性,抗氧化等功能。研究表明蛋白对花色苷的热稳定性和光稳定性具有一定的保护作用。近年来,蓝莓发酵提高抗氧化的研究很多,乳酸菌发酵对于花青素的保护作用是不容置疑的,乳酸菌发酵可以维持底物基质中的酸性环境,这对于酚类物质及花青素都有着积极的保护作用<sup>[5,6]</sup>。然而,乳清蛋白与蓝莓果汁中酚类物质的相互作用对体系抗氧化性造成影响,所以提高和稳定蓝莓乳清发酵体系的抗氧化性是目前需要解决的技术难题。

本课题组前期利用乳酸菌对乳清蛋白与蓝莓果汁混合物进行发酵,利用微生物发酵产酸,降低发酵体系 pH,保持多酚活性,维持体系颜色稳定,同时利用乳酸菌发酵作用促进蓝莓果浆中活性成分与乳清蛋白对接,产生蛋白-多酚和花色苷复合物提高饮料体系的抗氧化能力<sup>[7]</sup>。本研究采用乳清蛋白蓝莓果汁体系为原料,考察嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌以及嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的混合菌种(以下简称混合菌种)分别发酵 24、36、48 h 后体系还原能力,羟自由基清除能力,总抗氧化能力, DPPH·清除能力,超氧阴离子清除能力以及抗脂质过氧化能力。旨在以蓝莓乳清为原料通过乳酸菌发酵使酚酸类物质发生脱羧和还原,提高酚酸类物质在人体内的消化和吸收率。同时,利用乳酸菌水解蛋白,增强蛋白质分子与蓝莓花青素分子之间以亲水和疏水作用相互结合,从而对其分子稳定性起到保护作用<sup>[8]</sup>。将蛋白和多酚的结合物水解为游离酚,提高蓝莓乳清饮料体系的抗氧化性,为蓝莓乳清混合饮料的研发与工艺优化提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 样品准备

①原料的筛选:选择果实饱满,已经成熟的蓝莓果(2018 成熟的大兴安岭野生蓝莓 51°55' N, 124°34' E),摘除果柄、枝叶,剔除病虫害、变色、变质等质量不合格的蓝莓果,并用清水清洗干净。

②榨汁:将清洗干净的蓝莓果,晾干,取蓝莓 100 g,加水榨汁。

③过滤:将蓝莓浆液先用 200 目纱布单层过滤,再用两层纱布过滤,过滤液 600 mL,分装 50 mL。

④调配:向过滤完的蓝莓中加入去离子水,使得蓝莓与水的比例为 1:5。

⑤加入乳清粉:向调配液中加入 6%的乳清蛋白。

⑥加入 6%蔗糖。

⑦调 pH:将样品液 pH 调至 7.0。

⑧灭菌:将配置成的蓝莓乳清蛋白饮料置于 95 °C 水浴锅水浴灭菌 5 min。

⑨接菌发酵:接入保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌(上海昊岳食品科技有限公司提供)以及混合菌种(保加利亚乳杆菌:嗜热链球菌=1:1),接种量为 2%(活菌数为 7 log cfu/mL),样品置于 37 °C 恒温箱培养。

### 1.2 还原能力的测定

取样品 0.5 mL,加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(浓度为 0.2 mol/L, pH 值为 6.6)和 2.5 mL 的 1%铁氰化钾溶液,混合均匀。再将混合物在 50 °C 下水浴 20 min 后冷却,加入 2.5 mL 的三氯乙酸溶液(体积分数 10%),然后将混合物在 5500 r/min 下离心 10 min。取 2.5 mL 上层清液,加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 的 0.1%的氯化铁溶液,混合均匀,放置 10 min 后,在 700 nm 处测定其吸光度<sup>[9]</sup>。实验用坏血酸作为对照组,重复 3 次,吸光度值越大,饮料还原能力越强。

还原能力= $A_i - A_j$

式中: $A_i$  为加样品的吸光度; $A_j$  为以水代替清除剂时的吸光度。

### 1.3 羟自由基清除能力测定

向试管中加入样品(样品用去离子水稀释至 200

mg/mL) 1.00 mL, 溶液(浓度为 10 mmol/L) 1.00 mL, 水杨酸-乙醇(浓度为 10 mmol/L) 1.00 mL, 最后加 1.00 mL (体积分数 0.03%) 启动反应, 振荡混合, 水浴 37 °C, 保温 30 min, 5500 r/min 离心 7 min, 在波长 510 nm 下测量吸光度值<sup>[10]</sup>。

$$\text{清除率}/\% = \left[ 1 - \frac{A_s - A_0}{A_c - A_0} \right] \times 100\%$$

式中:  $A_s$  为加样品的吸光度;  $A_c$  为不加清除剂时吸光度;  $A_0$  为以水代替样品的吸光度。

## 1.4 ABTS<sup>+</sup>自由基测定

### (1) ABTS<sup>+</sup>自由基储备液的制备

用蒸馏水将 ABTS<sup>+</sup> 和高硫酸钾分别溶解并混合, 使其终浓度分别为 7 mmol/L 和 2.45 mmol/L, 在室温、避光条件下放置 12~16 h, 形成 ABTS<sup>+</sup> 自由基储备液。使用前用 60% 乙醇或磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 7.4) 稀释 ABTS<sup>+</sup> 自由基储备液, 使其在波长 405 nm 处吸光度为 0.700±0.020, 此为 ABTS<sup>+</sup> 工作液。配浓度为 0~750 μmol/L 的 Trolox 标准溶液, 0.1 mL 不同浓度的 Trolox 溶液与 3.90 mL ABTS<sup>+</sup> 工作液充分混合, 反应 10 min 后, 于 734 nm 波长处测定吸光度, 绘制标准曲线。

### (2) 样品的测定

将样品稀释至 200 mg/mL, 使其对 ABTS<sup>+</sup> 工作液产生 20%~80% 的抑制率。精确吸取样品稀释液 0.10 mL, 加入 3.90 mL ABTS<sup>+</sup> 工作液充分混合, 在 30 °C 反应 10 min 后, 于 405 nm 波长处测定吸光度, 以蒸馏水作为空白对照。样品的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力用 TEAC 值 (Trolox equivalent antioxidant capacity) 表示<sup>[11]</sup>。

## 1.5 DPPH 自由基清除能力的测定

将样品稀释到 200 mg/mL 浓度, 取样液 1.0 mL 及 4.00 mL 浓度为 0.12 mmol/L 的 DPPH·乙醇溶液(乙醇体积分数 95%), 混匀, 室温下避光反应 30 min, 如有沉淀可在 5500 r/min 条件下离心 5 min。用体积分数为 95% 乙醇溶液作参比, 于 517 nm 测定吸光值。根据下式计算每种样品液对 DPPH 自由基的清除率<sup>[12]</sup>:

$$\text{DPPH自由基清除率}/\% = \left( 1 - \frac{A_i - A_j}{A_c} \right) \times 100\%$$

式中:  $A_i$  为加样品液后 DPPH·溶液的吸光值;  $A_j$  为样品液的吸光值;  $A_c$  为未加样品液时 DPPH·溶液的吸光值。

## 1.6 抗脂质过氧化能力测定

用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 比色法测定样品中丙二醛含量(代表脂质过氧化反应程度)<sup>[13]</sup>。卵黄悬液: 新鲜鸡蛋去除蛋清, 卵黄用等体积 pH 7.45, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 配成 1:1 (m/m) 悬液, 磁力搅拌 10 min, 再用 PBS 稀释成 1:25 (m/m) 的悬液, 冷藏备用。测定方法: 在离心管中依次加入 40 μL 卵黄悬液, 10 μL 不同质量浓度样品溶液, 40 μL 25 mmol/L FeSO<sub>4</sub>, 310 μL PBS (0.1 mol/L, pH 7.45), 混匀于 37 °C 恒温振荡 15 min, 取出后加入 100 μL 质量分数为 20% 的三氯乙酸溶液和 100 μL 质量分数为 0.8% 的 TBA 溶液, 沸水浴 15 min, 冷却后, 3500 r/min 离心 10 min, 吸取上清液, 于 532 nm 波长处测定 MDA-TBA 复合物吸光度, 按下列式子计算抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{A - A_{\#}}{A} \times 100\%$$

式中:  $A_{\#}$  为加样品吸光度;  $A_1$  为空白管吸光度, 以水代替样品液。

## 1.7 超氧阴离子自由基的清除能力的测定

采用邻苯三酚法, 在试管中加入 Tris-HCl 缓冲溶液 (50 mmol/L pH 8.2) 9 mL, 加入样品 (用去离子水稀释至 0.2 mg/mL) 0.6 mL, 混合均匀, 于 25 °C 恒温水浴锅中加热 15 min 后, 加入 25 °C 邻苯三酚溶液 (以 10 mmol/L HCL 为溶剂配置成 7.5 mmol/L) 0.2 mL, 混合均匀, 于 325 nm 处测定吸光度, 3 min 后再次测定吸光度, 计算差值记为  $\Delta A$ 。将样品溶液替换为水, 其他操作同上, 计算差值记为  $\Delta A_0$ <sup>[14]</sup>。实验采用抗坏血酸作对照组。根据下列公式计算样品 O<sup>2-</sup>·清除率。

$$\text{清除率}/\% = \left( \frac{\Delta A_0 - \Delta A}{\Delta A_0} \right) \times 100\%$$

式中:  $\Delta A$ : 加入样品溶液后 3 min 内吸光度增加值;  $\Delta A_0$ : 以水替代样品溶液 3 min 内吸光度增加值。

## 1.8 实验数据处理

每个试验重复 3 次, 结果表示为平均值±偏差。数据统计分析采用 SPSS 11.5 软件 ( $p < 0.05$  表示差异显著,  $p > 0.05$  表示差异不显著), 采用 Origin 8.5 画图。

## 2 结果与分析

### 2.1 还原能力

由图 1 可知, 在发酵前, 乳清蛋白蓝莓果汁体系

的还原能力比蓝莓强, 蓝莓的还原能力比乳清蛋白强<sup>[15]</sup>, 主要是蓝莓中含有酚类化合物, 如黄烷醇、单宁、花青素等具有较强抗氧化活性<sup>[16]</sup>。另外, 乳清蛋白与多酚形成的结合物具有抗氧化性<sup>[17]</sup>。乳清蛋白在不接菌, 接入嗜热链球菌(发酵 24、36、48 h), 接入保加利亚乳杆菌(发酵 24、36、48 h), 和接入混合菌种(发酵 0、24、36、48 h)时还原能力差异不显著 ( $p>0.05$ )。

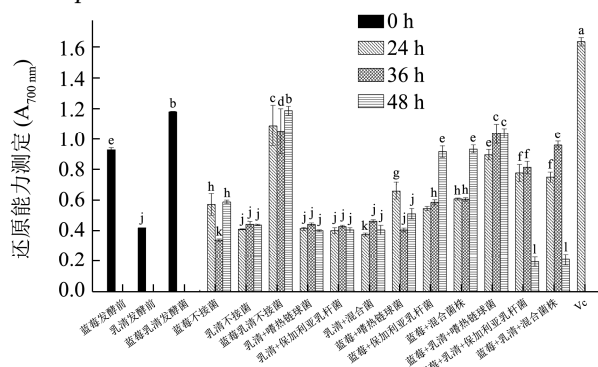


图1 乳清蛋白蓝莓体系发酵时间对还原能力的影响

Fig.1 The effect of fermentation time on the reducing power of whey protein and blueberry beverage

注: 同时间组数据上小写字母不同表示差异显著,  $p<0.05$ , 下同。

接种嗜热链球菌的乳清蛋白蓝莓果汁体系在发酵 24、36、48 h 时还原能力均显著高于接种嗜热链球菌的蓝莓和接种嗜热链球菌的乳清蛋白。接种嗜热链球菌的乳清蛋白蓝莓果汁体系在发酵 24、36、48 h 时还原能力均高于接种保加利亚乳杆菌和混合菌种的乳清蛋白蓝莓果汁发酵体系。因此嗜热链球菌发酵有利于乳清蛋白蓝莓果汁体系中抗氧化活性成分的保持和提高。有研究发现乳酸发酵更有利于天然产物中抗氧化活性成分的保持<sup>[18]</sup>。接种保加利亚乳杆菌的乳清蛋白蓝莓果汁发酵体系在发酵 24 h 和 36 h 时还原能力显著高于接种保加利亚乳杆菌的蓝莓和接种保加利亚乳杆菌的乳清蛋白, 在发酵 48 h 时还原能力低于乳清蛋白, 蓝莓单独发酵。接种混合菌种的乳清蛋白蓝莓果汁发酵体系在发酵 24 h 和 36 h 时还原能力显著高于接种混合菌种的蓝莓和接种混合菌种的乳清蛋白, 在发酵 48 h 时还原能力低于蓝莓, 乳清蛋白单独接种混合菌种。因此, 相比于接种保加利亚乳杆菌和混合菌种, 接种嗜热链球菌的乳清蛋白蓝莓果汁发酵体系还原能力最高, 发酵 24 h 时还原能力低于发酵 36 h, 而发酵 36 h 与发酵 48 h 时还原能力差异不显著。

## 2.2 羟自由基清除能力

相关研究表明乳酸菌在生长繁殖过程中不同程度

地提高发酵产品的自由基清除能力<sup>[18]</sup>。另外, 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<sup>[19]</sup>。前期研究发现发酵后花色苷含量约为 150~250 mg/100 g 样品, 总酚含量为 6 mg/100 g 样品, 并且不同发酵时间, 花色苷和总酚含量变化显著<sup>[7]</sup>。

接入嗜热链球菌的蓝莓果汁在发酵 36 h 时羟自由基清除能力高于发酵前, 而发酵 24 h 和发酵 48 h 时, 羟自由基清除能力与发酵前差异不显著。接入保加利亚乳杆菌的蓝莓果汁在发酵 24 h 时羟自由基清除能力与发酵前相比降低 28.80%, 发酵 36 h 时羟自由基清除能力提高了 8.98%, 但仍比发酵前低 19.82%, 发酵 48 h 时羟自由基清除能力显著提高 ( $p<0.05$ ), 比发酵前高 5.80%。接入混合菌种的蓝莓果汁在发酵 24 h 时羟自由基清除能力与发酵前相比显著降低, 降低了 32.13%。发酵 36 h 时羟自由基清除能力提高 15.31%, 但仍比发酵前低 16.81%, 发酵 48 h 时羟自由基清除能力进一步提高, 提高了 20.75%。与发酵前相比差异不显著 ( $p>0.05$ )。接入嗜热链球菌的蓝莓果汁在发酵 24 h 与发酵 36 h 时羟自由基清除能力高于接入保加利亚乳杆菌和混合菌种的蓝莓果汁, 而在发酵 48 h 时显著降低 ( $p<0.05$ )。Vinderola<sup>[20]</sup>等研究表明, 德氏保加利亚乳杆菌对嗜热链球菌菌株表现出强烈的抑制作用。所以, 在接入乳酸菌的蓝莓果汁中, 接入嗜热链球菌的蓝莓果汁在发酵 36 h 时羟自由基清除能力最强。

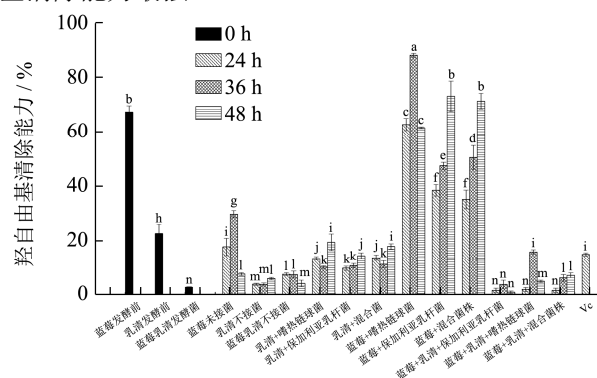


图2 乳清蛋白蓝莓体系发酵时间对羟自由基清除能力的影响

Fig.2 The effect of fermentation time on the scavenging capacity of hydroxyl radicals of whey protein and blueberry beverage

由图 2 可知, 接入嗜热链球菌的乳清蛋白蓝莓果汁混合饮料的羟自由基清除能力在发酵 24 h 和 48 h 时显著低于接入嗜热链球菌的乳清蛋白和接入嗜热链球菌的蓝莓果汁, 在发酵 36 h 时略高于接入嗜热链球菌的乳清蛋白, 显著低于接入嗜热链球菌的蓝莓果





了混合发酵体系的DPPH自由基清除能力<sup>[24]</sup>。接入嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,混合菌种的蓝莓乳清发酵饮料在发酵24 h时,DPPH自由基清除能力均高于60%,清除能力较强。从图中可以看出,在蓝莓乳清发酵体系中,接入嗜热链球菌发酵24 h时DPPH自由基清除能力最高,达到63.01%。

## 2.5 超氧阴离子清除能力

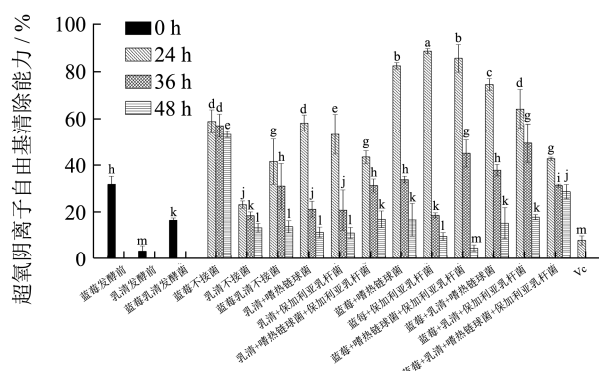


图5 乳酸菌发酵乳清蛋白蓝莓果汁体系超氧阴离子自由基清除能力

Fig.5 Lactic acid bacteria fermentation system of whey protein blueberry juice superoxide anion radical scavenging capacity

由图5可知,在发酵24 h时,接入乳酸菌的蓝莓果汁 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力均大于80%,而未接菌的蓝莓果汁 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力为58%,数据表明发酵24 h时的蓝莓果汁 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力显著提高。原因是乳酸菌在蓝莓汁中生长繁殖,改变了蓝莓的营养物质。发酵后的蓝莓汁 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力得到提高<sup>[25]</sup>。接入嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,混合菌种在发酵24 h时分别提高23.53%、29.74%和26.70%,但发酵36 h和48 h时超氧阴离子自由基清除能力显著下降,与发酵24 h相比,接入嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,混合菌种在36 h清除能力分别降低48.89%、69.94%和40.53%,在48 h时分别降低65.57%、78.81%和80.90%,说明蓝莓果汁长时间发酵会降低其抗氧化能力。与未接菌的乳清相比,接菌的乳清发酵液 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力更强。与未接菌的蓝莓乳清相比,接入嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌和混合菌种的乳清在24 h时的清除能力分别提高34.98%、30.07%和20.22%,与未接菌的蓝莓乳清相比,接入嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌的蓝莓乳清发酵饮料 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力均有显著提高,在24 h时分别提高32.98%和22.57% ( $p < 0.05$ ),在36 h时分别提高6.85%和18.42%,在48 h时分别提高1.5%和3.98%。原因是在发酵过程中,由于乳酸菌将乳清蛋白水解成多肽,氨基酸侧链基团释放出来,这些基团具有电子供体作用,能够与超氧阴离子自由基反应,

从而提高了 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力<sup>[26]</sup>。因此,在接入乳酸菌的蓝莓乳清发酵体系中,嗜热链球菌发酵24 h时 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力最好。

## 2.6 抗脂质过氧化能力

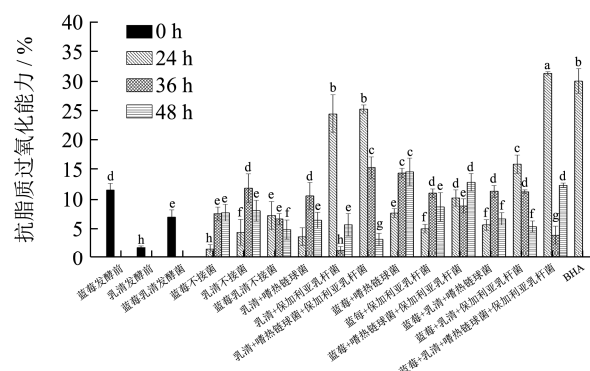


图6 乳酸菌发酵乳清蛋白蓝莓果汁体系抗脂质过氧化能力

Fig.6 The lipid peroxidation ability of lactic acid bacteria fermented whey protein blueberry juice system

由图6可知,接入嗜热链球菌,保加利亚乳杆菌,混合菌种的蓝莓汁在24、36和48 h抗脂质过氧化能力均高于未接菌的蓝莓汁,说明蓝莓果汁经发酵后抗脂质过氧化能力得到提高。与未接菌的蓝莓乳清相比,接入混合菌种的蓝莓果汁发酵体系在24 h时抗脂质过氧化能力显著提高,达到了31.30%,提高了24%;接入保加利亚乳杆菌的蓝莓乳清发酵体系抗脂质过氧化能力也有所提高,增长了8.60%。接入嗜热链球菌的蓝莓乳清发酵体系在发酵36 h时抗脂质过氧化能力最高,而在24 h和48 h时,与未接菌蓝莓乳清相比差异不显著 ( $p > 0.05$ )。经保加利亚乳杆菌和混合菌种发酵24 h的乳清蛋白和蓝莓乳清发酵体系抗脂质过氧化能力均有显著提高 ( $p < 0.05$ ),而采用混合菌种发酵时抗脂质过氧化能力最高,原因是保加利亚乳杆菌发酵后产生的代谢产物能够防止亚油酸被氧化,而嗜热链球菌所产生的代谢产物对保加利亚乳杆菌的生长繁殖有促进作用<sup>[27]</sup>。所以蓝莓乳清发酵体系的发酵菌种选用混合菌种,发酵时24 h时,抗脂质过氧化能力达最高。

## 4 结论

本研究选用保加利亚乳杆菌,嗜热链球菌及其混合菌种对乳清蛋白蓝莓混合体系进行发酵,结果表明尽管蛋白-多酚的作用会降低多酚类物质的体外抗氧化活性,但随乳酸菌发酵有助于蓝莓及蓝莓乳清混合体系抗氧化能力的保持。单独采用嗜热链球菌发酵蓝莓乳清体系36 h时的还原能力最强,羟自由基清除能力最强;单独采用保加利亚乳杆菌发酵蓝莓乳清体系

36 h 时 ABTS<sup>+</sup>清除能力最强;单独采用嗜热链球菌发酵蓝莓乳清体系 24 h 时 O<sub>2</sub><sup>-</sup>清除能力和 DPPH 自由基最强;采用混合菌种发酵蓝莓乳清体系 24 h 时抗脂质过氧化能力最强。

## 参考文献

- [1] Lu D-L, Ma Q, Sun S-X, et al. Reduced oxidative stress increases acute cold stress tolerance in zebrafish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2019, 235: 166-173
- [2] Amaretti A, Di Nunzio M, Pompei A, et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(2): 809-817
- [3] Connor A M, Luby J J, Hancock J F, et al. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(4): 893-898
- [4] 李虹甫.植物乳杆菌发酵蓝莓汁工艺及功能特性研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2019
- LI Hong-fu. Process and functional properties of *Lactobacillus plantrum* fermented blueberry juice [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019
- [5] Weber F, Larsen L R. Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability [J]. Food Research International, 2017, 100(pt.3): 354-365
- [6] 胡廷,冉旭.加工工艺对紫薯饮料淀粉转化率和花青素保留率的影响[J].食品科技,2018,43(5):101-105
- HU Ting, Ran Xu. Effect of processing technology on starch conversion and anthocyanin retention in purple sweet potato beverage [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(5): 101-105
- [7] 王文琼,孙志勇,黄冬成,等.乳酸菌发酵对乳清蛋白蓝莓果汁体系特性的影响[J].食品与发酵工业,2020:1-9
- WANG Wen-qiong, SUN Zhi-yong, HUANG Dong-cheng, et al. Effect of lactic acid bacteria fermentation on the characteristics of whey protein/blueberry juice system [J]. Food and Fermentation Industries, 2020: 1-9
- [8] 孙倩怡,任坤,鲁宝君,等.蓝莓花青素的稳定性研究[J].营养学报,2017,39(4):400-404
- SUN Qian-yi, REN Shen, LU Bao-jun, et al. Study on the stability of anthocyanins from blueberry [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2017, 39(4): 400-404
- [9] Matmaroh K, Benjakul S, Tanaka M. Effect of reactant concentrations on the maillard reaction in a fructose-glycine model system and the inhibition of black tiger shrimp polyphenoloxidase [J]. Food Chemistry, 2006, 98(1): 1-8
- [10] 申衍豪,刘芳.酶法制备大米活性肽及抗氧化性的研究[J].现代农业科技,2010, 23:319-321
- SHEN Yanhao, Liu Fang. Study on the enzymatic preparation of rice antioxidant peptides [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010, 23: 319-321
- [11] Josep, Serra, Bonvehíarrate, et al. Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque country (Northeastern Spain) [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2011, 88(9): 1387-1395
- [12] LEE I, Im S, Jin C R, et al. Effect of maturity stage at harvest on antioxidant capacity and total phenolics in kiwifruits (*Actinidia* Spp.) grown in Korea [J]. Horticulture Environment & Biotechnology, 2015, 56(6): 841-848
- [13] 旷慧,冯建文,范倩,等.红树莓多酚的组分分析及体外抗脂质过氧化活性[J].食品科学,2018, 39(3): 83-89
- KUANG Hui, FENG Jian-wen, FAN Qian, et al. Composition analysis and *in vitro* anti-lipid peroxidation activity of red raspberry polyphenols [J]. Food Science, 2018, 39(3): 83-89
- [14] 王文琼,包怡红,陈颖.乳清分离蛋白美拉德反应产物的体外抗氧化特性[J].食品科学,2013,34(9):56-60
- WANG Wen-qiong, BAO Yi-hong, CHEN Ying. Antioxidant properties of maillard reaction products from whey protein isolate [J]. Food Science, 2013, 34(9): 56-60
- [15] 赵辛.梨果肉果茶研制与抗氧化研究[D].太原:山西大学, 2015
- ZHAO Xin. Preparation of pear tea with pulp and research on the antioxidant activity of the tea [D]. Taiyuan: Shangxi University, 2015
- [16] Lorenzo J M, Pateiro M, Domínguez R, et al. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: a review [J]. Food Research International, 2018, 106, 1095-1104
- [17] 李冰蟾.硒酸化蛋清蛋白与茶多酚的相互作用及其复合物的抗氧化性研究[D].昆明:云南大学,2015
- LI Bing-chan. Study on the interaction between selenium acidified egg white protein and tea polyphenols and antioxidant properties of its complex [D]. Kunming: Yunnan University, 2015
- [18] 张莉静.无花果汁乳酸菌发酵工艺及其抗氧化性研究[D].保定:河北农业大学,2014
- ZHANG Li-jing. Study on the technology and antioxidant activity of *Lactobacillus* fermented ficus carica juice [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei Province, 2014

- [19] 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, Zou Yu-xiao, et al. Recent advances in biotransformation of natural polyphenols by gut microflora [J]. Food Science, 2014, 35(17): 319-325
- [20] Vinderola C G, Mocchiutti P, Reinheimer J A. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products [J]. Journal of Dairy Science, 2002, 85(4): 721-729
- [21] 刘霞,罗芳,余银,等.黄酮类化合物与食品成分相互作用研究进展[J].食品与生物技术学报,2017,36(10):1009-1015  
LIU Xia, LUO Fang, SHE Yin, et al. Research process of interaction between flavonoids and food ingredients [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(10): 1009-1015
- [22] Kaprasob R, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N, et al. Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria [J]. Process Biochemistry, 2017, 59 141-149
- [23] 赵永波.蓝莓酸奶中多酚的稳定性及抗氧化活性研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2017  
ZHAO Yong-bo. Stability of polyphenols and antioxidant activity in blueberry yoghurt [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017
- [24] 李春林,李春阳.植物乳杆菌蚕豆发酵饮料的制备与抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2020,41(7):86-91  
LI Chun-lin, LI Chun-yang. Study on preparation and antioxidant activity of broad bean beverage fermented with *Lactobacillus plantarum* [J]. Food Research and Development, 2020, 41(7): 86-91
- [25] 吕行,黄继红,冯中莹,等.桑葚发酵工艺及其抗氧化活性[J].食品工业,2019,40(9):93-97  
LYU Xing, HUANG Ji-hong, FENG Zhong-ying, et al. The changes of antioxidant activity during mulberry fermentation [J]. The Food Industry, 2019, 40(9): 93-97
- [26] Virtanen T, Pihlanto A, Akkanen S, et al. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria [J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 102(1): 106-115
- [27] 黄珊珊,刘晶,赵征.植物乳杆菌和德氏乳杆菌保加利亚亚种菌体外抗氧化活性的对比研究[J].中国乳品工业,2010, 38(10):8-10,27  
HUANG Shan-shan, LIU Jing, ZHAO Zheng. Study on antioxidative activity of two lactic acid bacteria [J]. China Dairy Industry, 2010, 38(10): 8-10, 27

## (上接第 156 页)

- [21] 李焕霞,王华,刘树立.粒度不同对膳食纤维品质影响研究[J].食品与发酵科技,2007,43(3):35-37  
LI Huan-xia, WANG Hua, LIU Shu-li. The impact of different granularity to character of dietary fiber [J]. Sichuan Food and Fermentation, 2007, 43(3): 35-37
- [22] 黄才欢,欧仕益,张宁,等.膳食纤维吸附脂肪、胆固醇和胆酸盐的研究[J].食品科技,2006,31(5):133-136  
HUANG Cai-huan, OU Shi-yi, ZHANG Ning, et al. Research on the adsorption capacity of dietary fiber complexes for fat, cholesterol and bile acid *in vitro* [J]. Food Science and Technology, 2006, 31(5): 133-136
- [23] Mei Hua, Jiayi Lu, Di Qu, et al. Structure, physicochemical properties and adsorption function of insoluble dietary fiber from ginseng residue: a potential functional ingredient [J]. Food Chemistry, 2019, 286: 522-529
- [24] Yanan Lin, Kang Chen, Dan Tu, et al. Characterization of dietary fiber from wheat bran (*Triticum aestivum* L.) and its effect on the digestion of surimi protein [J]. LWT, 2019, 102: 106-112
- [25] Wei Liu, Yu-Jie Fu, Yuan-Gang Zu, et al. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw. and its antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2008, 114(1): 334-339
- [26] Marcin Andrzej Kurek, Sabina Karp, Jarosław Wyrwisz, et al. Physicochemical properties of dietary fibers extracted from gluten-free sources: quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*) and millet (*Panicum miliaceum*) [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 85: 321-330