

富硒乳酸菌对复合果蔬汁品质的影响

左映平¹, 孙国勇¹, 张玲²

(1. 茂名职业技术学院 化学工程系, 广东 茂名 525000; 2. 广东石油化工学院 生物与食品工程学院, 广东 茂名 525000)

摘要:为开拓富硒食品新途径, 增加硒的摄入量, 该文比较3种不同发酵工艺(自然发酵、接种植物乳杆菌发酵和接种富硒植物乳杆菌发酵)对复合果蔬汁中乳酸菌菌落总数、理化特性、有机酸、多酚类物质及体外抗氧化能力的影响。结果表明, 接种富硒植物乳杆菌可使发酵后的复合果蔬汁具有最高的乳酸菌菌落总数[8.28 lg(CFU/mL)]和总酸(20.45 g/L)、乳酸(16.82 g/L)、总黄酮(0.35 g/L)、总多酚(10.92 g/L)含量。与自然发酵相比, 接种发酵, 尤其是接种富硒植物乳杆菌发酵, 可提高复合果蔬汁的体外抗氧化活性。此外, 接种富硒植物乳杆菌的复合果蔬汁中硒含量可达20.97 μg/mL。

关键词:复合果蔬汁; 富硒; 植物乳杆菌; 理化特性; 多酚; 抗氧化活性

Quality of Compound Fruit and Vegetable Juice Fermented by Selenium-enriched Lactic Acid Bacteria

ZUO Ying-ping¹, SUN Guo-yong¹, ZHANG Ling²

(1. Department of Chemical Engineering, Maoming Polytechnic, Maoming 525000, Guangdong, China)

(2. College of Biological and Food Engineering, Guangdong University of Petrochemical Technology, Maoming 525000, Guangdong, China)

Abstract: To explore a new approach to increase the dietary intake of selenium, the effects of three different fermentation processes (natural fermentation, fermentation following inoculation with *Lactobacillus plantarum*, and fermentation following inoculation with selenium-enriched *L. plantarum*) on the viable count of lactic acid bacteria, physiochemical properties, contents of organic acids and polyphenols, and *in vitro* antioxidant activity were compared in compound fruit and vegetable juice. The highest total number of *Lactobacillus* colonies [8.28 lg(CFU/mL)] and contents of total acid (20.45 g/L), lactic acid (16.82 g/L), total flavonoids (0.35 g/L), and total polyphenols (10.92 g/L) were obtained by selenium-enriched *L. plantarum* fermentation of compound fruit and vegetable juice. Compared with natural fermentation, inoculation of *L. plantarum*, especially selenium-enriched *L. plantarum*, increased the antioxidant activity of compound fruit and vegetable juice. The concentration of selenium in fermented compound fruit and vegetable juice inoculated with selenium-enriched *L. plantarum* reached 20.97 μg/mL.

Key words: compound fruit and vegetable juice; selenium-enriched; *Lactobacillus plantarum*; physiochemical properties; polyphenols; antioxidant activity

引文格式:

左映平, 孙国勇, 张玲. 富硒乳酸菌对复合果蔬汁品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(14): 36-42.

ZUO Yingping, SUN Guoyong, ZHANG Ling. Quality of Compound Fruit and Vegetable Juice Fermented by Selenium-enriched Lactic Acid Bacteria[J]. Food Research and Development, 2021, 42(14): 36-42.

硒是人体必需的微量元素,其不仅是谷胱甘肽过氧化物酶、碘甲腺氨酸脱碘酶、硒磷酸酯合成酶等代谢酶活性中心组成部分,还具有清除自由基、调节免疫系统、保护心血管等作用^[1-3]。人体中硒的摄入主要来源于日常饮食,但日常饮食中摄入硒含量不能满足 55 $\mu\text{g}/\text{d}$ 的推荐摄入量^[4-5]。因此,可通过增加食品中硒含量来补充硒的摄入量。硒的补充形式主要有无机硒和有机硒两种,有机硒相比无机硒具有生物利用度高和低毒等特性^[1,3]。因此,寻找准确、科学、廉价且高效的补硒方法是当今的研究热点。

研究表明,一些乳酸菌能快速积累无机硒并将无机硒转化为纳米硒及有机硒^[2,5],这表明乳酸菌可作为将硒输送至发酵食品中的良好载体。此外,富硒乳酸菌具有抗氧化、抗突变和抗癌等多种生物活性^[2,6]。因此,人们对开发富硒乳酸菌发酵食品越来越感兴趣。

沙棘、胡萝卜和黑枣广泛种植于我国北方地区,三者的果实中富含多种碳水化合物、氨基酸、维生素、脂肪酸和多种微量元素,并含有大量的黄酮和多酚等生物活性物质^[7-9]。这三者通常都被生食或榨汁,但由于其涩味明显而不被人们所接受,亟需加大三者的综合加工,提高产品的附加值。利用富硒乳酸菌发酵果蔬汁不仅可以改善果蔬制品的口感和风味,还有助于提高果蔬制品的功能特性^[3]。

目前,对于乳酸菌发酵果蔬的研究报道较多,但对以沙棘、胡萝卜和黑枣为原料发酵复合果蔬汁的研究鲜有报道,仍不清楚富硒乳酸菌对该复合果蔬汁的影响。植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)是食品发酵中常用的发酵剂,具有富集硒的潜力^[10]。因此,本研究以沙棘汁、胡萝卜汁和黑枣汁为主要原料,通过接种富硒植物乳杆菌、植物乳杆菌和自然发酵制备3种发酵复合果蔬汁。对发酵复合果蔬汁的理化特性、多酚类物质及抗氧化活性进行评价,为生产高品质富硒发酵果蔬汁提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

沙棘汁:吕梁野山坡食品有限责任公司;胡萝卜汁、黑枣汁:福建绿泉食品有限公司;植物乳杆菌(*L. plantarum*):茂名职业技术学院食品与药品工程微生物实验室保藏。

乳酸细菌液体培养基:北京索莱宝科技有限公司;无水亚硫酸钠、亚油酸、铁氰化钾、亚硒酸钠、硝酸铝、福林酚、氢氧化钠、无水氯化铁(分析纯):国药集团

化学试剂有限公司。乙酸、富马酸、草酸、柠檬酸、苹果酸、莽草酸、乳酸、丙酮酸、琥珀酸标准品(色谱纯):国家食品药品检测中心;3,3'-二氨基联苯胺(di-aminobenzidine, DAB)、2,4,6-三(2-吡啶基)三嗪[2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ](分析纯):上海阿拉丁试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

GL-21M 型高速冷冻离心机:长沙平凡仪器厂;ZHJH-C1109C 型无菌操作台:上海智城分析仪器制造有限公司;AB-50 型电子分析天平、FE28 型 pH 计:瑞士 Mettler-Toledo 公司;UV1800 型紫外可见分光光度计:日本岛津公司;1260 型高效液相色谱仪:美国 Agilent 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌悬液制备

将植物乳杆菌接入含 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 亚硒酸钠的乳酸细菌液体培养基进行活化,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养 24 h, 5000 r/min 离心 15 min,弃去上清液,将沉淀重溶于无菌生理盐水中,得到活菌数为 2.2×10^7 CFU/mL 左右的菌悬液。

1.3.2 复合果蔬汁发酵工艺

将沙棘汁、胡萝卜汁和黑枣汁按一定比例混合后装入已灭菌玻璃瓶中,分别接种植物乳杆菌(记为 LP 组)和富硒植物乳杆菌(记为 LP-Se 组),接种量为 2% 菌悬液,混匀后 37 $^{\circ}\text{C}$ 静置发酵 36 h。另外,设置自然发酵的复合果蔬汁(记为 NF 组)作为发酵对照。每隔 6 h 收集样品,置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

1.3.3 乳酸菌菌落总数的测定

参照 GB 4789.35—2016《食品微生物学检验 乳酸菌检验》测定乳酸菌菌落总数^[11]。

1.3.4 理化特性的测定

使用 pH 计直接测定 pH 值;参照 GB 5009.239—2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》测定总滴定酸的含量(以乳酸计)^[12];参照 GB 5009.7—2016《食品安全国家标准 食品中还原糖的测定》测定还原糖的含量(以葡萄糖计)^[13];用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白的含量^[14]。

采用高效液相色谱法测定复合果蔬汁中有机酸的含量^[15]。取适量复合果蔬汁发酵液,4 500 r/min 离心 10 min,将离心后的上清液稀释 5 倍微滤(0.45 μm)过膜后待用。采用 Agilent C18 色谱柱,进样量为 10 μL ,流动相为甲醇-水-磷酸溶液(A 相体积比 80:15:5; B 相体积比为 5:90:5),柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,柱流速 0.5 mL/min,

检测波长 210 nm^[15]。流动相梯度洗脱条件(时间, 体积比): 0~5 min, A:B = 0:100; 15 min, A:B = 10:90; 45 min~55 min, A:B = 100:0; 65 min~75 min, A:B = 0:100^[15]。

1.3.5 硒含量的测定

硒含量测定参考 YANG 等^[16]的方法, 吸取适量复合果蔬汁发酵液, 加入混合酸(硝酸:高氯酸=9:1, 体积比)进行消化, 直至变为无色, 将消化后的溶液与 10 mL 0.5% DAB 混合, 最后使用 10 mL 甲苯萃取混合物, 萃取 3 次, 于 420 nm 下测定萃取物吸光度。

1.3.6 总黄酮和总多酚含量的测定

采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法测定总黄酮的含量^[17], 总黄酮含量用芦丁当量表示; 采用 Folin-Ciocalteu 比色法测定总多酚的含量^[18], 总多酚含量用没食子酸当量表示。

1.3.7 体外抗氧化能力的测定

脂质过氧化抑制率测定参考 CHEN 等^[19]的方法, 0.5 mL 复合果蔬汁发酵液与 0.5 mL 磷酸盐缓冲溶液(0.02 mol/L, pH 7.4)、1 mL 亚油酸乳化液和 1 mL 硫酸亚铁溶液(0.05 mol/L)混合, 置于 37 °C 水浴保温 1.5 h, 依次加入 0.2 mL 4% 三氯乙酸, 0.2 mL 0.4% 丁基化羟甲基苯和 2 mL 0.8% 硫代巴比妥酸, 置于沸水浴加热 25 min, 冷却后 4500 r/min 离心 10 min 收集上清液, 于 532 nm 下测定吸光度, 纯水代替样品作空白对照。脂质过氧化抑制率计算公式如下。

$$\text{脂质过氧化抑制率}/\% = [1 - A_1 / A_0] \times 100$$

式中: A_0 和 A_1 分别为空白和样品的吸光度值。

亚铁离子整合率测定参考 CHEN 等^[19]的方法, 0.5 mL 复合果蔬汁发酵液与 0.1 mL 1% 抗坏血酸、0.1 mL 0.4% 硫酸亚铁、1 mL 氢氧化钠(0.2 mol/L)混合, 置于 37 °C 水浴反应 25 min, 4500 r/min 离心 10 min 收集上清液, 取 0.2 mL 上清液与 2 mL 1% O-菲罗啉混合, 静置 10 min 后于 510 nm 下测定吸光度, 纯水代替样品作空白对照。亚铁离子整合率计算公式如下。

$$\text{亚铁离子整合率}/\% = [1 - A_1 / A_0] \times 100$$

式中: A_0 和 A_1 分别为空白和样品的吸光度值。

1.4 数据分析

每组试验均重复 3 次, 采用 GraphPad Prism 8 软件绘图, 使用 SPSS 19.0 软件进行方差分析(ANOVA), 用于分析组间差异。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌菌落总数的动态变化

复合果蔬汁发酵过程中乳酸菌菌落总数的动态

变化见表 1。

表 1 复合果蔬汁发酵过程中乳酸菌菌落总数的动态变化
Table 1 Dynamic changes in the total numbers of colonies during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice

发酵时间/h	乳酸菌菌落总数/[lg(CFU/mL)]		
	NF 组	LP 组	LP-Se 组
0	2.57±0.08 ^F	5.65±0.31 ^e	5.65±0.31 ⁵
6	2.61±0.11 ^F	6.12±0.28 ^d	6.34±0.42 ⁴
12	2.94±0.14 ^E	7.05±0.24 ^c	7.45±0.38 ³
18	3.78±0.18 ^D	7.52±0.21 ^b	7.89±0.34 ²³
24	4.53±0.22 ^C	7.95±0.36 ^{ab}	8.31±0.37 ¹
30	5.29±0.29 ^B	8.21±0.42 ^a	8.37±0.41 ¹
36	6.12±0.36 ^A	8.15±0.35 ^a	8.28±0.45 ¹²

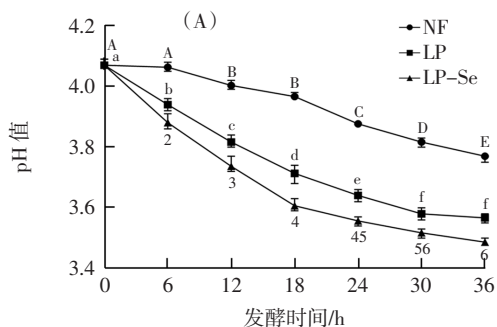
注: 表中数据为平均值 ± 标准差; 不同字母和数字表示相应乳酸菌菌落总数在不同发酵时间的含量存在显著差异($n=3$, $P<0.05$); 大写字母代表 NF 组; 小写字母代表 LP 组; 数字代表 LP-Se 组。

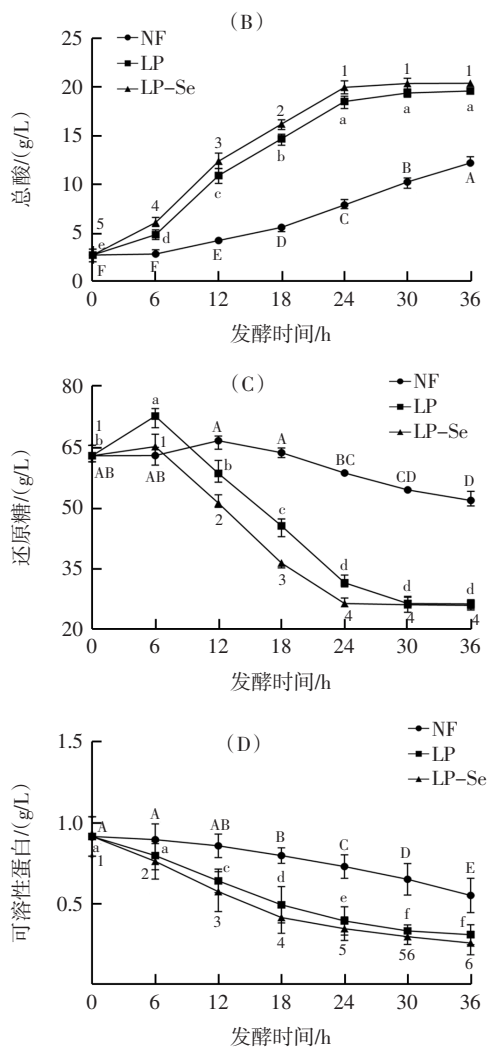
由表 1 可知, NF 组乳酸菌菌落总数呈持续上升的趋势, 说明乳酸菌可在以沙棘、胡萝卜和黑枣为原料的复合果蔬汁中迅速生长繁殖。与 NF 组相比, LP 组和 LP-Se 组乳酸菌菌落总数随发酵时间延长均呈先增大后基本保持稳定的变化趋势, 与吴万林等^[20]研究结果相一致。LP-Se 组在发酵 12 h 时乳酸菌菌落总数迅速增加至 7.45 lg(CFU/mL), 远高于 LP 组的 7.05 lg(CFU/mL)。此外, LP-Se 组乳酸菌菌落总数在发酵 24 h 就能达到稳定, 可达 8.31 lg(CFU/mL), 而 LP 组则需要 30 h 才能达到稳定, 其乳酸菌菌落总数只有 8.21 lg(CFU/mL)。上述结果表明, 富硒乳酸菌在果蔬汁中的生长繁殖速率要高于不富硒的乳酸菌, 进一步说明少量的硒可以促进乳酸菌的生长, 与 CHEN 等^[19]的结论一致。

2.2 理化特性和有机酸含量的动态变化

复合果蔬汁发酵过程中理化特性的动态变化见图 1。

根据图 1(A)可知, 3 种不同发酵工艺均会使复合果蔬汁的 pH 值在发酵过程中呈逐渐下降的变化趋势, 与 XU 等^[3]研究结果相一致。其中, LP-Se 组的下降速率最快, 从 pH4.07 下降至 pH3.49; 且 LP-Se 组在发





(A) pH 值; (B) 总酸; (C) 还原糖; (D) 可溶性蛋白; 同组字母和数字不同表示显著差异 ($P < 0.05$)。

图1 复合果蔬汁发酵过程中理化特性的动态变化
Fig.1 Dynamic changes in the physicochemical properties during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice

酵 36 h 的 pH 值最低,与表 1 菌落总数的结果相一致,说明硒会促进乳酸菌的生长,增加发酵体系中营养物质的消耗,产生酸性代谢产物,加速复合果蔬汁的酸化。如图 1(B)所示,复合果蔬汁中总酸含量的变化与 pH 值的变化相反,这是由于原料中有机酸的溶出及乳酸菌在生长代谢中产生了乳酸等有机酸^[7]。NF 组的总酸含量由最初的 2.72 g/L 增加至 12.21 g/L,而 LP 组和 LP-Se 组的总酸含量始终高于 NF 组,其发酵 36 h 时总酸含量分别是 NF 组的 1.61 倍和 1.67 倍,说明接种乳酸菌可加速发酵体系总酸的积累,缩短发酵时间。由图 1(C)可知,除 NF 组还原糖含量呈先上升后逐渐下降的变化趋势外,LP-Se 组和 LP 组还原糖含量大致呈先上升后迅速下降再维持稳定的变化趋势。还原糖

含量上升是由于乳酸菌生长代谢过程中产生的酶可将复合果蔬汁中其它类型糖类化合物分解成还原糖,从而增加发酵初期还原糖含量。随着发酵的不断进行,乳酸菌会利用发酵体系中还原糖作为碳源快速生长繁殖,进而导致还原糖含量迅速下降。而发酵后期还原糖含量不再降低,说明乳酸菌的生物量达到瓶颈,与表 1 菌落总数的结论相吻合。在发酵 36 h 时,LP-Se 组和 LP 组还原糖含量相当。如图 1(D)所示,复合果蔬汁中可溶性蛋白含量随着发酵的不断进行而逐渐减少,与王越等^[15]研究结果一致,可能是由于可溶性蛋白能与脂肪、纤维素等结合形成致密且不溶于水的大分子物质,且发酵环境的不断酸化也会导致可溶性蛋白在大量 H^+ 水解作用下分解为多肽和氨基酸^[15]。在发酵 36 h 时,LP-Se 组可溶性蛋白含量为 0.25 g/L,低于 LP 组(0.3 g/L)和 NF 组(0.55 g/L)。

复合果蔬汁中有机酸含量也会影响产品的口感及风味^[21]。复合果蔬汁发酵过程中有机酸的变化见表 2。

根据表 2 可知,发酵前胡萝卜、沙棘和蓝莓复合果蔬汁中苹果酸含量最高,其含量可达 3.06 g/L,占整个有机酸比例的 70%。但随着发酵的不断进行,复合果蔬汁中苹果酸含量逐渐减少。在发酵 36 h 时,LP 组和 LP-Se 组中苹果酸含量分别为 0.47 g/L 和 0.41 g/L。此外,在发酵 36 h 时,3 种不同工艺发酵复合果蔬汁中莽草酸、富马酸和丙酮酸含量相当,而草酸、乙酸、柠檬酸、乳酸和琥珀酸含量有较大差异。在发酵 36 h 时,LP 组中柠檬酸含量为 7.52 g/L,相比 LP-Se 组,提高了 9.94%。随着发酵的不断进行,复合果蔬汁中乳酸含量的变化最为显著,而在复合原料(未发酵)中未能检测到乳酸,表明乳酸菌发酵有助于乳酸的积累。在发酵 36 h 时,NF 组中乳酸含量仅为 9.25 g/L,而 LP-Se 组和 LP 组的乳酸含量分别为 16.82 g/L 和 16.07 g/L,表明接种乳酸菌可加速复合果蔬汁乳酸的积累,且硒可以改善乳酸菌的代谢,从而产生更多的乳酸。综上,乳酸含量是影响复合发酵果蔬汁口感的主要因素之一。

2.3 硒含量的动态变化

LP-Se 组复合果蔬汁发酵过程中硒含量的动态变化见图 2。

如图 2 所示,LP-Se 组在发酵过程中硒含量呈持续增加的变化趋势,这是由于发酵初期硒大部分都存在于接种的富硒植物乳杆菌细胞内,而随着这些富硒植物乳杆菌的生长代谢,其中绝大部分的硒会随着微生物的自溶而溶于复合果蔬汁中,从而增加复合果蔬汁中硒的含量,且这些硒是以纳米硒和有机硒的形式存在,生物利用率高且毒性低。发酵 0~24 h,复合果蔬

表2 复合果蔬汁发酵过程中有机酸的动态变化

Table 2 Dynamic changes in the content of organic acids during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice

分组	发酵时间/h	浓度/(g/L)								
		乙酸	草酸	苹果酸	柠檬酸	乳酸	琥珀酸	莽草酸	富马酸	丙酮酸
NF	0	0.24±0.03 ^D	0.17±0.02 ^E	3.06±0.33 ^A	0.24±0.10 ^F	ND ^G	0.34±0.04 ^B	0.13±0.02 ^B	0.01±0.01 ^B	0.07±0.02 ^C
	6	0.26±0.03 ^D	0.18±0.03 ^E	2.97±0.31 ^A	0.31±0.03 ^F	0.07±0.01 ^F	0.35±0.02 ^B	0.14±0.03 ^{AB}	0.01±0.01 ^B	0.08±0.03 ^{BC}
	12	0.28±0.03 ^{CD}	0.24±0.02 ^E	2.64±0.28 ^B	0.52±0.05 ^E	1.37±0.12 ^E	0.37±0.03 ^B	0.15±0.02 ^A	0.01±0.01 ^B	0.09±0.04 ^{BC}
	18	0.34±0.04 ^C	0.31±0.03 ^D	2.31±0.25 ^{BC}	0.96±0.08 ^D	2.48±0.23 ^D	0.39±0.04 ^{AB}	0.17±0.02 ^A	0.02±0.01 ^{AB}	0.10±0.04 ^{BC}
	24	0.41±0.04 ^{BC}	0.43±0.03 ^C	1.98±0.18 ^C	1.52±0.13 ^C	4.52±0.54 ^C	0.42±0.04 ^A	0.14±0.04 ^{AB}	0.02±0.01 ^{AB}	0.12±0.04 ^{AB}
	30	0.49±0.05 ^B	0.55±0.05 ^B	1.76±0.14 ^{CD}	2.14±0.21 ^B	6.79±0.67 ^B	0.44±0.04 ^A	0.12±0.02 ^B	0.03±0.01 ^A	0.13±0.03 ^A
	36	0.61±0.04 ^A	0.67±0.05 ^A	1.49±0.13 ^D	2.78±0.27 ^A	9.25±0.96 ^A	0.45±0.04 ^A	0.12±0.04 ^B	0.03±0.01 ^A	0.15±0.04 ^A
LP	0	0.24±0.03 ^e	0.17±0.02 ^d	3.06±0.33 ^a	0.24±0.03 ^e	ND ^f	0.34±0.04 ^d	0.13±0.02 ^b	0.01±0.01 ^b	0.07±0.02 ^c
	6	0.35±0.04 ^e	0.29±0.03 ^d	2.74±0.23 ^b	0.98±0.14 ^e	3.07±0.31 ^e	0.37±0.04 ^d	0.12±0.02 ^b	0.01±0.01 ^b	0.09±0.01 ^c
	12	0.52±0.06 ^d	0.58±0.07 ^c	2.13±0.21 ^c	2.31±0.27 ^d	8.92±0.67 ^d	0.39±0.04 ^c	0.12±0.02 ^b	0.02±0.01 ^{ab}	0.12±0.02 ^b
	18	0.66±0.07 ^c	0.65±0.07 ^b	1.21±0.19 ^d	4.94±0.44 ^c	12.21±1.07 ^c	0.45±0.04 ^{bc}	0.12±0.03 ^a	0.02±0.01 ^a	0.18±0.03 ^a
	24	0.89±0.12 ^b	0.89±0.09 ^{ab}	0.67±0.06 ^e	7.04±0.59 ^b	15.62±1.17 ^b	0.53±0.05 ^b	0.15±0.03 ^a	0.04±0.02 ^a	0.17±0.03 ^a
	30	1.09±0.19 ^a	0.86±0.08 ^a	0.57±0.07 ^f	7.34±0.66 ^a	16.33±1.14 ^a	0.62±0.05 ^a	0.14±0.02 ^a	0.03±0.01 ^{ab}	0.15±0.03 ^{ab}
	36	1.06±0.17 ^a	0.85±0.08 ^a	0.47±0.05 ^f	7.52±0.62 ^a	16.07±1.02 ^a	0.60±0.06 ^a	0.14±0.02 ^a	0.02±0.01 ^{ab}	0.17±0.03 ^{ab}
LP-Se	0	0.24±0.03 ^e	0.17±0.02 ^d	3.06±0.33 ^a	0.24±0.03 ^e	ND ^g	0.34±0.04 ^d	0.13±0.02 ^b	0.01±0.01 ^b	0.07±0.02 ^c
	6	0.43±0.04 ^e	0.34±0.05 ^d	2.36±0.22 ^b	1.27±0.12 ^e	3.47±0.42 ^e	0.36±0.03 ^d	0.14±0.02 ^b	0.02±0.01 ^{ab}	0.09±0.03 ^c
	12	0.52±0.05 ^d	0.59±0.05 ^c	1.52±0.18 ^c	2.59±0.35 ^d	10.86±1.01 ^d	0.41±0.03 ^c	0.14±0.03 ¹	0.04±0.02 ^{ab}	0.15±0.03 ²
	18	0.79±0.07 ^c	0.76±0.08 ^c	0.85±0.09 ^d	4.95±0.54 ^c	13.84±1.18 ^c	0.47±0.04 ²³	0.15±0.03 ¹	0.06±0.02 ¹	0.27±0.05 ¹
	24	0.94±0.11 ²	0.86±0.09 ¹	0.54±0.06 ^e	7.48±0.81 ¹	16.35±1.43 ²	0.53±0.05 ²	0.16±0.03 ¹	0.06±0.02 ¹	0.32±0.03 ¹
	30	1.14±0.24 ¹	0.89±0.07 ¹	0.44±0.04 ³⁶	7.37±0.64 ¹	17.68±1.25 ¹	0.56±0.05 ¹	0.14±0.02 ¹²	0.04±0.01 ¹²	0.27±0.03 ¹²
	36	1.23±0.21 ¹	0.87±0.08 ¹	0.41±0.04 ⁶	6.84±0.83 ²	16.82±1.02 ¹	0.55±0.04 ¹²	0.13±0.02 ²	0.03±0.01 ²	0.25±0.03 ²

注:表中数据为平均值±标准差;ND表示没有检出;不同字母和数字表示相应有机酸在不同发酵时间的含量存在显著差异($P<0.05$);大写字母代表NF组;小写字母代表LP组;数字代表LP-Se组。

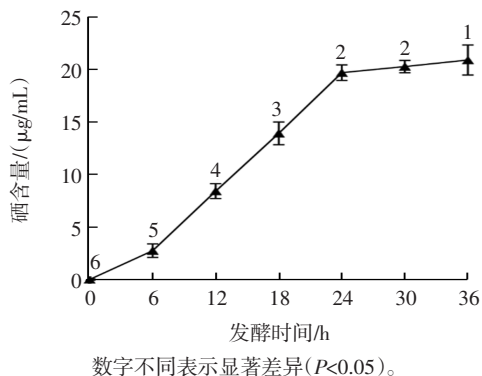


图2 接种富硒植物乳杆菌发酵复合果蔬汁发酵过程中硒含量的动态变化

Fig.2 Dynamic changes in the concentration of selenium during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice by inoculating of selenium-enriched *L. plantarum*

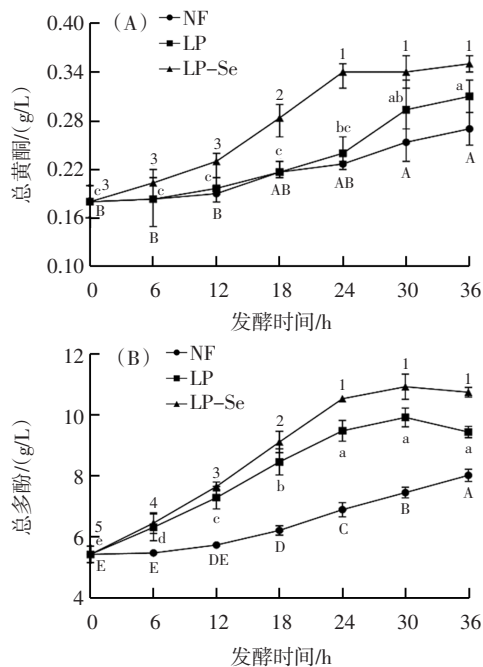
汁中硒含量迅速增加,从0增加至19.77 μg/mL;随后缓慢增加,发酵36 h达到20.97 μg/mL,说明富硒乳酸菌发酵是提高发酵食品中硒含量的一种有效方法。

2.4 总黄酮和总多酚的动态变化

多酚类化合物是果蔬汁中主要的天然抗氧化剂。复合果蔬汁发酵过程中总黄酮和总多酚的动态变化见图3。

由图3(A)可知,3种不同发酵工艺均会增加复合果蔬汁中总黄酮含量,NF组和LP组中总黄酮含量随

发酵时间的增加而持续增加,LP-Se组中总黄酮含量则呈先增加后趋于稳定的变化趋势。乳酸菌在生长过



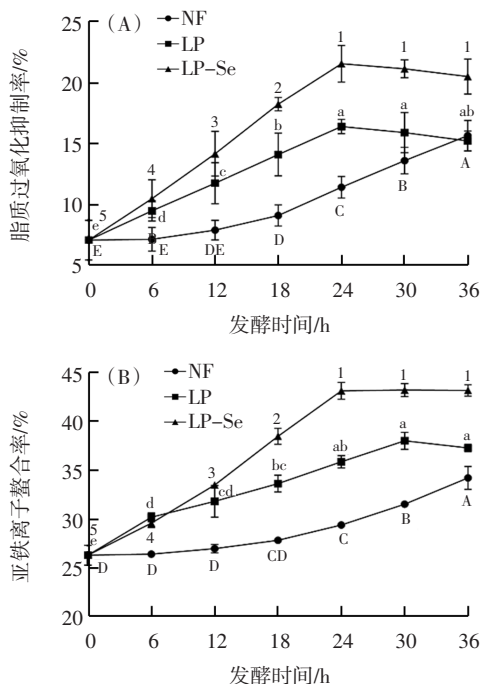
(A)总黄酮;(B)总多酚;同组字母和数字不同表示显著差异($P<0.05$)。

图3 复合果蔬汁发酵过程中总黄酮和总多酚的动态变化
Fig.3 Dynamic changes in total flavonoids contents and total polyphenol contents during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice

程中会产生各种酶,这些酶会促进纤维素、果胶等大分子物质的分解,使大量黄酮类化合物溶于发酵体系中,从而增加果蔬汁中总黄酮的含量^[2]。LP组中总黄酮含量在发酵36 h达到0.31 g/L;LP-Se组在发酵24 h基本达到稳定,其含量为0.34 g/L。结合表1的结果可知,硒会增加植物乳杆菌的生物量,增加产酶能力,促进纤维素及果胶的降解,从而积累更多的总黄酮。如图3(B)所示,NF组中总多酚含量在发酵36 h达到8.02 g/L;而LP组和LP-Se组中总多酚含量均在发酵30 h达到最高,分别为9.92 g/L和10.92 g/L。随着发酵过程中单体酚类化合物的不断合成,会促进多酚含量的增加,而酚类物质的氧化与生成也是同时进行的,到了发酵后期,生成速率降低,而氧化过程仍在继续,导致酚类物质的减少^[15, 23]。在发酵36 h时,相比LP组,LP-Se组中总多酚含量提高了10.08%,表明硒不仅会增加酚类物质的合成,同时也会降低酚类物质的氧化,从而增加复合果蔬汁多酚类生物活性物质的含量。

2.5 体外抗氧化能力的动态变化

复合果蔬汁发酵过程中脂质过氧化抑制率和亚铁离子螯合率的动态变化见图4。



(A)脂质过氧化抑制率;(B)亚铁离子螯合率;同组字母和数字不同表示显著差异($P < 0.05$)。

图4 复合果蔬汁发酵过程中体外抗氧化能力的动态变化

Fig.4 Dynamic changes in antioxidant activity during the fermentation process of compound fruit and vegetable juice

由图4可知,除NF组的脂质过氧化抑制率和亚铁螯合率呈持续上升的变化趋势,LP组和LP-Se组则

均呈先上升后缓慢下降的变化趋势。LP组和LP-Se组的脂质过氧化抑制率均在发酵24 h达到最高,其中LP-Se组的脂质过氧化抑制率为21.57%,是LP组的1.3倍。随着发酵的不断进行,在发酵36 h时,NF组和LP组的脂质过氧化抑制率无差别,低于LP-Se组(20.52%)。此外,LP-Se组和LP组的亚铁离子螯合率则分别在发酵24 h和30 h基本达到稳定,分别为43.13%和38.03%。在发酵36 h时,LP-Se组的亚铁离子螯合率为43.17%,分别比LP组和NF组提高了15.72%和26.08%。这可能与乳酸菌的代谢产物及复合果蔬汁中活性物质的变化有关^[24]。综上可知,硒的存在有助于提高复合果蔬汁的体外抗氧化能力。这个结果可能与植物乳杆菌可将无机硒生物转化为有机硒和纳米硒有关,且有机硒和纳米硒具有抗氧化的潜力^[25]。

3 结论

本试验比较3种不同发酵工艺(自然发酵、接种植物乳杆菌发酵和接种富硒植物乳杆菌发酵)对复合果蔬汁理化特性、有机酸、多酚类化合物、硒含量及体外抗氧化能力的影响。与自然发酵相比,接种发酵,尤其是接种富硒植物乳杆菌的发酵,对抗氧化能力的贡献更大。接种富硒植物乳杆菌可使发酵后的复合果蔬汁获得最高的乳酸菌菌落总数和总酸、乳酸、总黄酮、总多酚含量。此外,接种富硒植物乳杆菌的复合果蔬汁中硒含量可达20.97 $\mu\text{g/mL}$ 。本研究用富硒乳酸菌发酵传统食品和果蔬汁,无疑是增加蔬菜、水果和硒的日常摄入量的一种简单、有效且安全的方法。

参考文献:

- [1] 徐颖, 郭淑芳, 杨芙莲, 等. 盐胁迫促进鼠李糖乳杆菌富硒的效果[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 179-183.
XU Ying, WU Shufang, YANG Fulian, et al. Salt stress enhanced selenium enrichment in *Lactobacillus rhamnosus*[J]. Food Science, 2020, 41(6): 179-183.
- [2] 易鑫, 周琦, 欧阳祝, 等. 乳酸菌富硒优化及其活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(8): 179-186.
YI Xin, ZHOU Qi, OUYANG Zhu, et al. Selenium enrichment optimization of lactic acid bacteria and evaluation of its activity[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(8): 179-186.
- [3] XU X, BAO Y, WU B, et al. Chemical analysis and flavor properties of blended orange, carrot, apple and Chinese jujube juice fermented by selenium-enriched probiotics[J]. Food Chemistry, 2019, 289: 250-258.
- [4] DINH Q T, CUI Z, HUANG J, et al. Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: A re-

- view[J]. Environment International, 2018, 112(12): 294–309.
- [5] WANG B, ZHAO N, LI J, et al. Selenium-enriched *Lactobacillus plantarum* improves the antioxidant activity and flavor properties of fermented *Pleurotus eryngii*[J]. Food Chemistry, 2020, 345(9): 128–137.
- [6] PEÑAS E, MARTINEZ-VILLALUENGA C, FRIAS J, et al. Se improves indole glucosinolate hydrolysis products content, Se-methyl-selenocysteine content, antioxidant capacity and potential anti-inflammatory properties of sauerkraut[J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 907–914.
- [7] 张浩然, 范昊安, 顾逸菲, 等. 沙棘酵素发酵过程中代谢产物及抗氧化性的变化研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(11): 125–133.
- ZHANG Haoran, FAN Haoan, GU Yifei, et al. Study on metabolites and antioxidant activity of seabuckthorn jiaosu during fermentation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(11): 125–133.
- [8] 陈瑞娟, 毕金峰, 陈芹芹, 等. 胡萝卜的营养功能、加工及其综合利用研究现状[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(10): 201–206.
- CHEN Ruijuan, BI Jinfeng, CHEN Qinqin, et al. Research status nutritional and healthy function of carrot and its processing and comprehensive utilization[J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(10): 201–206.
- [9] 胥立峰, 杨香瑜, 陈江魁, 等. 黑枣果酒发酵过程主要成分变化规律及香气成分分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(2): 12–17.
- ZAN Lifeng, YANG Xiangyu, CHEN Jiangkui, et al. Analysis of chemical ingredients changes and aroma components in fermentation process of date plum fruit wine[J]. Food Research and Development, 2020, 41(2): 12–17.
- [10] SAINI K, TOMAR S K. *In vitro* evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* cultures of human origin capable of selenium bioaccumulation[J]. LWT—Food Science and Technology, 2017, 84(6): 497–504.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验: GB 4789.35—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standard—Food microbiological examination, lactic acid bacteria: GB 4789.35—2010 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2010.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品酸度的测定: GB 5009.239—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard—Determination of acidity in foods: GB 5009.239—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [13] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国国家标准: 食品安全国家标准 食品中还原糖的测定: GB 5009.7—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard—Determination of reducing sugars in foods: GB 5009.7—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [14] 黄婉玉, 曹伟, 李菁, 等. 考马斯亮蓝法测定果汁中蛋白质的含量[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(5): 160–162.
- HUANG Wanyu, CAO Wei, LI Jing, et al. Determination of protein content in juice by coomassie brilliant blue[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(5): 160–162.
- [15] 王越, 赵文谨, 谢云飞, 等. 强化发酵对诺丽果成分的影响及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(15): 143–149, 157.
- WANG Yue, ZHAO Wenjin, XIE Yunfei, et al. Effects of intensified fermentation on the components of noni fruit and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(15): 143–149, 157.
- [16] YANG J P, WANG J, YANG K, et al. Antibacterial activity of selenium-enriched lactic acid bacteria against common food-borne pathogens *in vitro*[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(3): 1930–1942.
- [17] 成柯, 闫俊, 严晓雪, 等. 湖北地区不同品种蓝莓果汁加工品质特征及抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(9): 146–151.
- CHENG Ke, YAN Jun, YAN Xiaoxue, et al. Evaluation of juice quality and antioxidation activity of different blueberry cultivars in Hubei Province[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(9): 146–151.
- [18] BERKER K I, OZDEMIR OLGUN F A, OZYURT D, et al. Modified folin-ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(20): 4783–4791.
- [19] CHEN Y, LI Q, XIA C C, et al. Effect of selenium supplements on the antioxidant activity and nitrite degradation of lactic acid bacteria [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(4): 1–13.
- [20] 吴万林, 余元善, 肖更生, 等. 蓝莓汁乳酸菌的发酵特性[J]. 现代食品科技, 2020(3): 159–166.
- WU Wanlin, YU Yuanshan, XIAO Gengsheng, et al. Fermentation characteristics of lactic acid bacteria in blueberry juice[J]. Modern Food Science and Technology, 2020(3): 159–166.
- [21] 陈树俊, 郑婕. 复合果蔬发酵汁胃肠抗氧化活性及有机酸的变化[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 175–183.
- CHEN shujun, ZHENG Jie. Changes on gastrointestinal antioxidant activity and organic acid of compound fruit and vegetable fermentation juice[J]. Food Science, 2020, 41(7): 175–183.
- [22] CUI S M, ZHAO N, LU W W, et al. Effect of different *Lactobacillus* species on volatile and nonvolatile flavor compounds in juices fermentation[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(7): 2214–2223.
- [23] TKACZ K, CHMIELEWSKA J, TURKIEWICZ I P, et al. Dynamics of changes in organic acids, sugars and phenolic compounds and antioxidant activity of sea buckthorn and sea buckthorn-apple juices during malolactic fermentation[J]. Food Chemistry, 2020, 332: 127382.
- [24] GAO H, WEN J J, HU J L, et al. Momordica charantia juice with *Lactobacillus plantarum* fermentation: Chemical composition, antioxidant properties and aroma profile[J]. Food Bioscience, 2019, 29(11): 62–72.
- [25] FOROOTANFAR H, ADELI-SARDOU M, NIKKHOO M, et al. Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2014, 28(1): 75–79.

加工编辑:王艳

收稿日期:2021-03-03