

文章编号 :1009-038X(2001)06-0603-05

发酵条件对乳酸菌发酵蔬菜汁产品指标的影响

严维凌, 赵琦, 谢志镭
(上海市食品研究所, 上海 200233)

摘 要 : 选用番茄汁、胡萝卜汁为原料, 用保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌和两歧双歧杆菌为发酵菌种, 对不同发酵条件下的产酸速度、总菌数以及发酵前后有机酸和部分风味成份的变化情况进行了研究。

关键词 : 番茄汁 ; 胡萝卜汁 ; 乳酸菌发酵
中图分类号 : Q 939.11

文献标识码 : A

Effects of Fermentating Conditions on Indexes of the Lactic-Acid-Fermented Vegetable Juice

YAN Wei-ling, ZHAO Qi, XIE Zhi-lei
(Shanghai Food Research Institute, Shanghai 200233, China)

Abstract : The tomato and carrot juice were fermented by different combinations of lactic acid bacteria including *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*. The factors affecting the acid producing ability and the total number of bacteria coupled with changes of the organic acids and the flavor components after fermentation were studied.

Key words : tomato juice ; carrot juice ; lactic acid fermentation

蔬菜是人体所需维生素、矿物质的重要来源之一, 利用蔬菜汁制作的饮料具有无醇、低糖、低钠、有益健康等优点。但单纯的蔬菜汁也普遍存在野蒿味重、风味欠佳等缺点, 影响了蔬菜汁的商品价值和消费。蔬菜汁经乳酸菌发酵后可改善其风味和营养价值。目前国内外对蔬菜汁的乳酸菌发酵已有研究, 并有个别产品上市。

自 20 世纪初俄国科学家梅契尼柯夫提出乳酸菌可防止人体衰老的学说以来^[1], 各国科学家对乳酸菌的特殊生理作用以及在食品饮料中的应用进行了深入广泛的研究。乳酸菌是一类对人体健康具有特殊作用的菌群, 特别是双歧杆菌对维持人体中

的微生态平衡及人体正常的生理功能起着十分重要的作用, 是人体重要的生理菌群。采用乳酸菌发酵的食品, 除了能产生大量对人体有益的乳酸菌外, 还能产酸产香, 赋予发酵食品特殊的风味。对蔬菜汁进行乳酸菌发酵, 不仅保留了蔬菜汁原有的营养价值, 还能与乳酸菌的生理功能和发酵风味互补, 改善蔬菜汁的口感和风味, 两者相得益彰。

作者以番茄汁、胡萝卜汁为蔬菜汁原料, 采用保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌和两歧双歧杆菌为发酵菌种, 对不同发酵条件下的产酸速度、总菌数, 以及发酵前后有机酸和部分风味成份的变化情况进行了研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

番茄、胡萝卜:均为市售原料;果胶酶:天津酶制剂厂产品;发酵菌种:保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*,以下简称 L. B)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*,简称 S. T)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*,简称 L. A)和两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*,简称 Bif)均为 CHR HANSEN 公司的酸奶冻干发酵剂;乳糖:上海乳品一厂生产;碳酸钠、醋酸钠:分析纯;酵母抽提物:OXIOD 产品;大豆黄浆水:采用市售大豆自制黄浆水,浓缩而成。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵剂

冻干菌种复壮后单独扩大培养至工作发酵剂。
1) 种子发酵剂:保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌为脱脂牛乳;两歧双歧杆菌为含 0.5% 酵母抽提物和 0.2% 醋酸钠的脱脂牛乳^[2]。

2) 工作发酵剂:自制。

1.2.2 发酵实验

采用四因素三水平 L_93^4 正交表,选择蔬菜汁、碳源、氮源、菌种配合作为影响因素,研究各因素对蔬菜汁的产酸速度、总菌数的影响。依正交试验表的安排对各样品进行处理后,加入工作发酵剂,工作发酵剂的添加量为 5%,摇匀后置于 38℃ 水浴锅内恒温发酵,每隔 1 h 测定一次 pH 值。发酵结束后取样测定总菌数、有机酸的含量和其他风味成份。工艺流程如下:

果胶酶
↓
番茄、胡萝卜→漂烫软化→破碎→酶解→取汁→
过滤澄清→加入碳源、氮源→调整 pH→杀菌→
冷却→接种→恒温发酵

1.3 测定方法

1.3.1 pH 值测定 采用雷磁仪器厂 pH B-4B pH 计。

1.3.2 总菌数量的测定 直接镜检法^[3]。

1.3.3 有机酸的测定 离子色谱法,测定条件如下:仪器为 Dionex2010i 离子色谱仪;色谱柱为 UP-ICE-AS1 离子排斥色谱柱;检测方法为抑制电导。

1.3.4 风味成分的分析 采用气相色谱-质谱联用法,测定条件如下:仪器:Finnigam MAT4610B 气质联用仪;电离方式:电子轰击(EI);气相色谱条件:

气化室温度 220℃;色谱柱:HP-5 25 米毛细管柱。

2 结果与讨论

2.1 发酵条件对产酸速度和总菌数量的影响

正交试验设计方法见表 1。

表 1 L_93^4 试验因素水平表

Tab.1 The factors and levels for the L_93^4 orthogonal experiment

水平	因 素			
	碳源 A	氮源 B	蔬菜汁 C	菌种配合 D
水平 1	0.5% 乳糖	0	番茄汁	L. B + S. T
水平 2	1.0% 乳糖	0.2% 酵母抽提物	胡萝卜汁	Bif + L. A
水平 3	2.0% 乳糖	5.0% 大豆黄浆水	50% 番茄汁 + 50% 胡萝卜汁	S. T + Bif + L. A

在发酵过程中,产酸速度越快、诱导期越短、菌数越多,则被杂菌污染的概率就越小。9 个样品的发酵产酸曲线见图 1。

产酸能力和总菌数的正交试验结果见表 2。

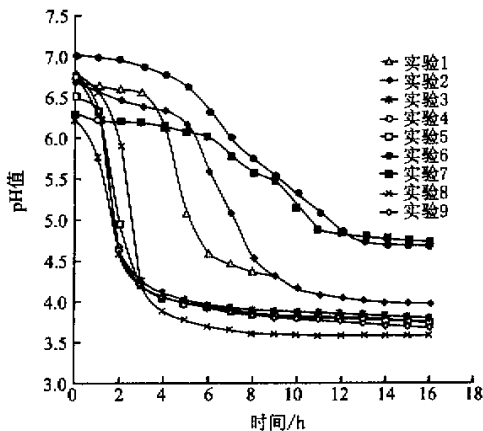


图 1 发酵曲线图

Fig.1 The curves of the fermentation

从图 1 和表 2 可知,菌种配合是 4 个因素中对诱导期和对数期末 pH 影响最大的因素。嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合的诱导期最短,约 1~2 h;对数期也较短,约 3 h;对数期产酸速度较快,终点 pH 在 3.8~4.2,全部发酵时间约 6~7 h。其次是保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌配合发酵,产酸速度、终点 pH 和发酵时间接近上述配合的发酵的情况。双歧杆菌和嗜酸乳杆菌配合发酵的诱导期最长,约 5 h;对数期持续时间也较长,约 6 h;产酸速度较慢,且终点的 pH 较高,约 4.8 左右;全部发酵时间约 12~13 h。

表 2 产酸能力和总菌数的正交试验结果

Tab.2 The values of the acid producing ability and the total number of bacteria from the L ₉ 3 ⁴ orthogonal experiment							
试验号	因 素				试验结果		
	碳源 A	氮源 B	蔬菜汁 C	菌种配合 D	诱导期/h	总菌数/(个/mL)	对数期终点 pH 值
1	1	1	1	1	3.0	2.4×10 ⁸	4.3
2	1	2	2	2	5.0	2.0×10 ⁷	4.3
3	1	3	3	3	1.0	2.8×10 ⁸	4.1
4	2	1	2	3	1.0	1.6×10 ⁸	4.2
5	2	2	3	1	1.0	2.0×10 ⁸	4.2
6	2	3	1	2	6.0	1.8×10 ⁸	4.8
7	3	1	3	2	6.0	4.0×10 ⁷	4.8
8	3	2	1	3	2.0	1.2×10 ⁸	3.8
9	3	3	2	1	1.0	2.4×10 ⁸	4.0
诱导期/ h	ΣⅠ	9.0	10.0	11.0	5.0		
	ΣⅡ	8.0	8.0	7.0	17.0		
	ΣⅢ	9.0	8.0	8.0	4.0		
	R	1.0	2.0	5.1	13.0		
总菌数/ (个/mL)	ΣⅠ	5.4×10 ⁸	4.4×10 ⁸	5.4×10 ⁸	6.8×10 ⁸		
	ΣⅡ	5.4×10 ⁸	3.4×10 ⁸	4.2×10 ⁸	2.4×10 ⁸		
	ΣⅢ	4.0×10 ⁸	7.0×10 ⁸	5.2×10 ⁸	5.6×10 ⁸		
	R	1.4×10 ⁸	3.6×10 ⁸	1.2×10 ⁸	4.4×10 ⁸		

从发酵蔬菜汁的总菌数来看 ,菌种配合也是最主要的影响因素 .保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌配合发酵的总菌数最高 ,都在 2.0×10⁸ 个/mL 以上 ;其次是嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合 ,活菌数量也在 1.2×10⁸ 个/mL 以上 ;双歧杆菌和嗜酸乳杆菌配合发酵的总菌数最低 ,大多在 10⁸ 个/mL 以下 .此外 ,氮源是另外一个影响总菌数的重要因素 ,从表 2 可知 ,采用大豆黄浆水作为氮源 ,样品的总菌数明显高于采用其它氮源的样品 ,说明大豆黄浆水对乳酸菌生长有促进作用 .

2.2 发酵条件对有机酸及其它风味物质形成的影响

乳酸菌发酵对蔬菜汁风味的影响主要表现在产酸量以及醛、醇、酯、烃类低分子物质的合成 .我们对未发酵的番茄汁、胡萝卜汁、以及上述正交试验中的 1,2,8 号发酵完成的样品进行了有机酸组成和风味成分的比较 .

2.2.1 发酵前后有机酸组成的变化

发酵前后有机酸组成的变化见表 3 .

表 3 发酵前后蔬菜汁中有机酸的测定结果

Tab.3 The values of the organic acids in vegetable juice before and after lactic acid fermentation

样品名称	柠檬酸质量 分数/(mg/kg)	乳酸质量 分数/(mg/kg)	乙酸质量 分数/(mg/kg)
番茄汁	2 243	2 564	—
胡萝卜汁	376	62	—
1 号	1 050	6 987	—
2 号	211	5 760	519
8 号	1 384	4 326	2 079

由表 3 可知 ,经发酵后蔬菜汁中柠檬酸含量均有所下降 ,这是由于乳酸菌发酵中的柠檬酸代谢所致^[4] .嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌配合发酵的蔬菜汁中仅产生了大量的乳酸 ;双歧杆菌和嗜酸乳杆菌配合发酵的蔬菜汁中乳酸和乙酸含量都有增加 ;嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合发酵中乳酸和乙酸含量也都有明显增加 .

双歧杆菌的糖发酵途径为异型发酵 ,除产生乳

酸外,还因己糖-磷酸盐支路途径生成乙酸、乙醇和二氧化碳等^[1].因此,由双歧杆菌参与发酵可产生更丰富的有机酸组成.

2.2.2 发酵前后蔬菜汁风味成分的变化
经色谱-质谱联用法分析,发酵前后部分风味成分组成的变化见表 4.

表 4 乳酸菌发酵前后蔬菜汁风味成分与相对含量

组分		样 品				
		番茄汁	胡萝卜汁	1 号	2 号	8 号
酮 与 醛	双乙酰	0.06	—	—	—	30.80
	丁醛	—	0.07	—	0.02	—
	戊醛	—	—	0.10	0.01	1.65
	‘3’-甲基丁醛	—	0.02	—	—	1.18
	己醛	—	—	—	—	1.00
	庚醛	—	—	—	—	0.27
	辛醛	—	—	—	—	1.05
	壬醛	—	—	—	—	1.19
	癸醛	—	—	—	—	0.58
	十一醛	—	—	—	—	0.60
	十二醛	—	—	—	—	—
	3,5-二甲基-2-(三氢)呋喃酮	0.03	—	—	—	—
	6-甲基-5-庚烯酮-2	0.01	—	—	—	—
醇	丙醇	0.03	—	—	—	—
	异丁醇	0.01	—	—	—	0.70
	异戊醇	—	—	—	0.03	—
	戊醇	0.00	—	—	—	—
	辛醇	—	—	—	—	0.20
	十二醇	—	—	—	—	9.67
	2-丙烯氧基-2-乙醇	—	—	—	—	—
烃	己烯	—	—	0.01	0.02	2.70
	辛烯	—	—	—	—	0.59
	壬烯	—	—	—	—	0.21
	十一烯	—	—	—	—	0.14
	十二烯	—	—	—	—	1.17
	2,3-二甲基丁烷	—	—	0.05	0.06	—
	3-甲基戊烷	—	—	0.02	0.05	—
	辛烷	—	0.05	—	—	0.32
	壬烷	—	—	—	—	0.21
	十一烷	—	—	—	—	0.30
其 它	石竹烯	—	—	—	—	—
	α-蒎烯	—	0.06	—	—	—
	二甲硫醚	—	0.08	—	—	—
	乙硫醇	—	—	0.06	—	—
	乙酸乙酯	0.01	—	—	—	—
	己酸乙酯	—	—	—	—	0.53

注:以己醛峰面积为 1.00 计,各组份面积求得以上结果.

由表 4 可知,经乳酸菌发酵的蔬菜汁中风味成份较未经发酵的蔬菜汁有明显增加.其中,经嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合发酵的番茄汁比未经发酵的蔬菜汁双乙酰含量增加了 500 多倍, 万方数据

异丁醇含量增加了 70 多倍发酵后还合成了许多未发酵蔬菜汁中所没有的风味成份,如戊醛、3-甲基丁醛、己醛、庚醛、辛醛、壬醛、癸醛、十一醛、辛醇、十二醇、己烯、壬烯、十一烯、十二烯、辛烷、壬烷、十

一烷、己酸乙酯等。

3 结 论

1) 菌种配合是蔬菜汁乳酸菌发酵中对产酸速度和总菌数最主要的影响因素。嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合发酵的蔬菜汁诱导期最短,约 1~2 h,对数期产酸速度较快,终点 pH 在 3.8~4.2,全部发酵时间约 6~7 h。保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌配合发酵的总菌数最高,都在 2.0×10^8 个/mL 以上;其次是嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合,总菌数也在 1.2×10^8 个/mL 以上。

2) 大豆黄浆水可明显提高乳酸菌发酵蔬菜汁的总菌数,说明大豆黄浆水对乳酸菌生长有促进作用。

3) 嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合发酵除了产生乳酸,还可以产生较多的乙酸,因此发酵产品中的有机酸组成更为丰富。

4) 嗜热链球菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌配合发酵的蔬菜汁较未发酵的蔬菜汁,产生了较多的风味成份,除了双乙酰、异丁酮,还合成了许多小分子的醛、醇、烃、酯等。

注 本项目中有机酸及风味物质的测定工作由无锡轻工大学测试中心完成。

参考文献：

[1] 内蒙古轻工业学校编. 乳品工艺 [M]. 北京 :中国轻工业出版社 ,1993.
[2] 马钢,刘英华,姜莹等. 双歧杆菌酸奶的研制 [J]. 食品与发酵工业 ,1992,1 :13~15.
[3] 范秀容,沈萍编. 微生物学实验 [M]. 北京 :高等教育出版社 ,1980.
[4] [英] A.H 罗斯编. 发酵食品 [M]. 朱庆裴,唐是雯译. 北京 :中国轻工出版社 ,1989.

(责任编辑 杨 萌)

(上接第 602 页)

3 讨 论

已知的食用菌子实体、菌丝体中存在的抗癌物质其主要作用机制是增强免疫力,即是佐剂效果,因此发挥抗肿瘤效果的时间较长。河村幸雄(1994)将松口蘑子实体经水提取、凝胶过滤、阴离子交换树脂和疏水色谱层析后获得能够直接杀伤皮肤癌、子宫癌等上皮癌细胞的蛋白质^[5]。本文作者采用发酵法,从产生的菌丝体中提取的蛋白质,也具有体

外抑癌活性。作者研究发现,松口蘑菌丝体水提液中活性蛋白质 TMP 在体外抗肿瘤试验中,具有杀伤肿瘤细胞的作用。较低剂量(20~160 $\mu\text{g/mL}$)时即能抑制 HeLa 细胞增殖,诱导细胞发生凋亡。表现为细胞形态异常,形成凋亡小体。随 TMP 剂量的增加和作用时间的延长,发生形态变化和凋亡的细胞数量亦相应增加。由于松口蘑是一种活体外共生菌,目前还不能进行人工栽培,产量稀少,致使国内外对其研究较少。鉴此,本研究结果对今后批量生产抗癌的天然药物有一定参考价值。

参考文献：

[1] 神田光治. 抗癌物质 Emitanin-51 的制造方法 [J]. 国外食用菌研究 ,1983,(3):199~201.
[2] 杨新美. 中国食用菌栽培学 [M]. 北京 :中国农业出版社 ,1988,155.
[3] 郑建仙主编. 功能性食品(第二卷) [M]. 北京 :中国轻工业出版社 ,1999,57~59.
[4] 韩锐. 抗癌药物研究与实验技术 [M]. 北京 :北京医科大学出版社 ,1997.
[5] 河村幸雄,森田昭博. 抗肿瘤タンパク質の制造法 [P]. 日本专利 :JP 6 80699,1994-03-22.

(责任编辑 杨 萌,朱 明)