

8 种乳酸菌发酵对凤丹花瓣中酚类物质及其抗氧化活性的影响

Effects of eight species of *Lactobacillus* fermentation on phenolic compounds and their antioxidant activity in Feng Dan petals

吕丹丹 何 佳 宋文华 袁江月

LU Dan-dan HE Jia SONG Wen-hua YUAN Jiang-yue

(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023)

(School of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:为筛选合适凤丹花瓣发酵的乳酸菌菌种,比较了 8 种乳酸菌(植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、瑞士乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、嗜酸乳杆菌、副干酪乳杆菌和嗜热链球菌)发酵凤丹花瓣后,其酚类物质、色差和抗氧化活性的变化。结果表明,植物乳杆菌发酵后的凤丹花瓣总酚和总黄酮含量分别提高了 4.95% 和 12.51% ($P<0.05$);色差值 ΔE 变化显著 ($P<0.01$);自由基清除活性最高, DPPH 自由基清除率增加了 11.14% ($P<0.01$), ABTS 自由基清除率增加了 6.58% ($P<0.05$),还原力增加了 16.19% ($P<0.05$)。经保加利亚乳杆菌发酵后,凤丹花瓣的芦丁和槲皮素分别提高了 3.16% 和 0.81% ($P<0.05$)。

关键词: 凤丹; 花瓣; 乳酸菌; 总黄酮; 总多酚; 抗氧化

Abstract: In order to select suitable lactic acid bacteria species for fermenting of Feng Dan petals, the differences of phenolic substances, color difference and antioxidant activity of Feng Dan petals were compared after fermentation by 8 kinds of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Streptococcus thermophilus*). The results showed that the concentrations of total phenolics and flavonoids increased significantly after fermentation by *L. plantarum*, which increased by 4.95% and 12.51%, respectively ($P<0.05$). The color difference ΔE was significantly changed ($P<0.01$). The scavenging activity was the highest, the DPPH free radical scavenging rate increased by 11.14% ($P<0.01$), the ABTS free radical

scavenging rate increased by 6.58% ($P<0.05$), and the reducing power increased by 16.19% ($P<0.05$). The rutin and quercetin increased by 3.16% and 0.81%, respectively ($P<0.05$) after fermentation by *L. bulgaricus*.

Keywords: Feng Dan; petals; lactic acid bacteria; total flavonoids; total phenols; antioxidant

凤丹(*Paeonia ostii* ‘Feng Dan’) 又名铜陵牡丹,为芍药科芍药属植物,主要产于安徽铜陵,于 2006 年被中国质检总局列为“国家地理标志保护产品”^[1]。牡丹花具有较高的药用价值^[2]。2013 年丹凤牡丹花被中国卫计委批准为新食品原料^[3]。凤丹作为油用牡丹,各地均有大量种植,生产中为了提高结籽率,需要大量疏花。牡丹花中含丰富的营养物质,包括多酚类物质、蛋白质、可溶性碳水化合物、维生素、多种矿物质等^[4],以及类黄酮类物质,具有良好的抗氧化作用。

目前已有关于乳酸菌发酵对植物酚类物质和抗氧化性影响的报道,如: Cagno 等^[5]研究发现,混合果蔬汁发酵后,能防止果蔬汁酚类物质的降解,维持了其抗氧化活性; Tabasco 等^[6]发现,葡萄籽经乳酸菌发酵可增加其没食子酸的含量;郑欣等^[7]研究发现,肠膜状明串珠菌相比其他菌发酵后,总酚和色差保留率高。但这些研究都未对发酵后单体酚类物质的变化进行研究。马利华等^[8]研究发现,乳酸菌发酵槐花后,其营养性和抗氧化能力均有所提高; Park 等^[9]研究发现,植物乳杆菌发酵旋覆花花瓣后,总黄酮含量得到了提高。但这些研究都集中在单种菌发酵后物质的变化。韩雪等^[10]发现,植物乳杆菌发酵红枣浆后,游离态酚含量和抗氧化能力优于其他菌种; Liu 等^[11]研究也表明,乳酸菌发酵诺丽果汁,可以增强其抗氧化能力。但都未研究发酵后抗氧化与色差间的联系。目前关于不同乳酸菌发酵对凤丹花瓣酚类物质、色差和抗氧化能力影响的研究鲜有报道。本试验

基金项目:河南省产学研合作项目(编号:142107000095);大学生研究训练计划项目(编号:2016071)

作者简介:吕丹丹,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:何佳(1963—),男,河南科技大学教授,博士。

E-mail: hejia@haust.edu.cn

收稿日期:2018-07-13

拟以凤丹花瓣为原料,选用 8 种乳酸菌发酵后,根据总酚、总黄酮含量、色差值和抗氧化能力的变化,筛选出最适的菌种,并采用高效液相色谱法对发酵后单体酚变化进行了分析,以期研发出一种新型的凤丹花乳酸菌发酵饮料提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

- 凤丹白花瓣:洛阳洛宁;
 - 柠檬酸:食品级,河南兴源化工产品有限公司;
 - β -环糊精:食品级,江苏锐阳生物科技有限公司;
 - 果葡糖浆:上海根莱食品有限公司;
 - 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, HZLp-005)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*, HZLc-017)、瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*, HZLh-003)、保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*, HZLb-006)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*, HZSt-012)、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*, HZLr-023)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, HZLa-008)、副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*, HZLp-019);实验室保藏;
 - 芦丁、没食子酸、芍药苷、对香豆酸、根皮苷、木犀草素、槲皮素、山萘酚:标准品,上海源叶生物科技有限公司;
 - 福林酚试剂:上海源叶生物科技有限公司;
 - V_C:分析纯,江苏强盛功能化学股份有限公司;
 - 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、2,2-联氨-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)自由基:上海蓝季生物有限公司;
 - MRS 培养基:广东环凯微生物科技有限公司;
 - 甲醇、乙腈:色谱纯,天津市德恩化学试剂有限公司;
 - 无水乙醇:分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司。
- 1.1.2 主要仪器设备
- 电热恒温水浴锅:HH-S4 型,北京科伟永兴仪器有限公司;
 - 超净工作台:SW-CJ-2D 型,苏州净化设备有限公司;
 - pH 计:PHS-25 型,上海精密科学仪器有限公司;
 - 立式压力蒸汽灭菌器:LDZX-50KB 型,上海申安医疗器械厂;
 - 生化培养箱:SPX-250 型,北京市永光明医疗仪器公司;
 - 离心机:TG16-W 型,河南湘仪实验室仪器开发有限公司;
 - 分光光度计:UV-2100 型,尤尼柯(上海)仪器有限公司;
 - 全自动色差计:SC-80C 型,北京康光光学仪器有限公司;
 - 高效液相色谱仪:1260 型,美国 Agilent 公司。

1.2 方法

- 1.2.1 菌种活化 分别将 8 种乳酸菌置于 MRS 液体培养基中复壮,37 ℃静置培养 18 h。
- 1.2.2 凤丹白花瓣浸提液制备 凤丹花瓣清洗干净后,切碎(3~5 mm),加入 15 倍质量的去离子水打浆,添加护色剂

- (0.03% 柠檬酸、0.02% β -环糊精)于浆液中,65 ℃水浴 1 h。浸提结束后,加入 6%果葡糖浆,取 100 mL 分装于 250 mL 三角瓶中,100 ℃灭菌 15 min。
- 1.2.3 凤丹白花瓣浸提液发酵培养 灭菌后的凤丹白花瓣浸提液,冷却,置于无菌操作台上,分别取 3 mL 乳酸菌发酵剂(菌浓度:8.0~9.0 CFU/mL),5 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加入 3 mL 灭菌的生理盐水重悬乳酸菌,接入灭菌的凤丹花瓣浸提液中,37 ℃静置培养 36 h。发酵液 10 000 r/min 离心 10 min,取上清。
- 1.2.4 总黄酮含量的测定 亚硝酸钠—硝酸铝法^[12]。
- 1.2.5 总酚含量的测定 福林酚试剂法^[13]。
- 1.2.6 色差的测定 参考 Rui 等^[14]的方法采用全自动色差计(透射模式)对发酵凤丹花浸提液样品的色泽进行测定。
- 1.2.7 单体酚含量的测定 参考陈智毅等^[15]方法,采用高效液相色谱仪。色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4 mm, 5 μ m);流动相 A:水,流动相 B:乙腈;洗脱顺序:0~25 min, 30%~60% B,25~30 min,30% B。柱温 30 ℃;检测波长 230,280,360 nm;流速 0.8 mL/min,进样量 10 μ L。制作不同浓度的单体酚标准曲线,相关系数均达到 0.999 以上;标准品回收率为 94%以上,测定重复 3 次。根据保留时间及峰面积计算样品中单体酚含量。
- 1.2.8 凤丹花乳酸发酵液体外抗氧化活性测定
- (1) DPPH 自由基清除率的测定:参照文献[16];
 - (2) ABTS 自由基清除率的测定:参照文献[17];
 - (3) 还原力的测定:参照文献[18]。

2 结果与分析

2.1 对总酚和总黄酮的影响

由表 1 可以看出,与发酵前相比,5 种乳酸菌发酵凤丹花浸提液后,其总酚含量得到了提高,增加幅度为 0.20%~4.95%,其中植物乳杆菌发酵后总酚含量显著增加(P<0.05),增加量为 4.95%。总酚含量增加排序为:植物乳杆菌>嗜酸乳杆菌>保加利亚乳杆菌>干酪乳杆菌>嗜热链球菌。通过 8 种乳酸菌发酵,发现不同乳酸菌发酵释放酚的能力不同。李俦等^[19]研究发现酚类含量的提高可能是乳酸菌发酵过程中产生了某些酶类,对植物细胞壁进行了水解,进而使细胞中的一些酚类物质释放出来。植物乳杆菌相比其他菌,发酵后总酚含量显著提高,可能是其在发酵过程中使更多的糖基化酚类去糖基化,从而使植物细胞壁中可溶性酚释放^[20]。Wouters 等^[21]通过复合乳酸菌发酵韭菜,也发现了其游离酚得到了提高。Wu 等^[22]通过 3 种不同乳酸菌发酵石莲花后,发现游离酚含量得到了不同程度的提高,以植物乳杆菌发酵后游离酚含量提高最多。这些与本研究结果一致。

与发酵前相比,6 种乳酸菌发酵后总黄酮含量得到了提高,增加幅度为 0.64%~12.51%,其中保加利亚乳杆菌和植物乳酸菌发酵后总黄酮含量显著增加(P<0.05)。植物乳酸菌发酵后黄酮含量提高了 12.51%,保加利亚乳杆菌发酵后黄酮含量提高了 7.69%。总黄酮增加量按大小排列为:植物

乳杆菌>保加利亚乳杆菌>鼠李糖乳杆菌>瑞士乳杆菌>干酪乳杆菌>嗜酸乳杆菌。黄酮含量的提高明显比总酚含量的显著,可能是复杂的多酚在发酵过程中被一些酶分解,变成了更简单的黄酮醇类化合物等^[23]。其中植物乳杆菌发酵后,总酚含量和总黄酮含量都显著提高(P<0.05)。

表 1 不同乳酸菌发酵对凤丹花浸提液中总酚和总黄酮的影响[†]

Table 1 Effect of different lactic acid bacteria fermentation on total phenols and total flavonoids in the extract of Feng Dan petals $\mu\text{g/mL}$

菌种	总黄酮	总酚
发酵前	73.25±1.23 ^{cd}	1 275.07±20.11 ^{bc}
干酪乳杆菌	74.53±2.12 ^c	1 295.60±13.24 ^{bc}
嗜热链球菌	70.45±1.24 ^{de}	1 277.57±24.68 ^{bc}
保加利亚乳杆菌	78.88±1.98 ^b	1 296.98±10.37 ^{bc}
植物乳杆菌	82.41±1.88 ^a	1 338.13±22.68 ^a
鼠李糖乳杆菌	75.73±1.89 ^{bc}	1 268.17±18.99 ^c
瑞士乳杆菌	74.79±1.64 ^c	1 275.03±6.29 ^{bc}
嗜酸乳杆菌	73.71±2.33 ^c	1 299.93±12.22 ^b
副干酪乳杆菌	69.84±2.15 ^e	1 269.55±18.84 ^c

[†] 同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.2 对单体酚的影响

单体酚标准曲线方程见表 2。由表 3 可以看出,凤丹中芦丁和槲皮素是含量较多的 2 种单体酚;而木犀草素、对香豆酸、芍药苷、根皮苷和山奈酚的含量较低。乳酸菌发酵凤丹花浸提液后,大部分单体酚含量都有所降低,不同乳酸菌发酵凤丹花浸提液后单体酚变化也不同。仅保加利亚乳杆菌发酵后芦丁、槲皮素得到了显著提高(P<0.05),其中芦丁提高了 3.16%,槲皮素提高了 0.81%。其他 7 种乳酸菌,植物乳酸菌发酵后芦丁含量下降最少,为 4.84%;嗜酸乳杆菌发酵后槲皮素含量下降最少,为 5.47%。

在除了保加利亚乳杆菌外,其他 7 种乳酸菌发酵后,芍

药苷含量显著降低(P<0.05),下降幅度为 7.42%~83.20%。对香豆酸在发酵后含量都显著降低(P<0.05),下降幅度为 9.41%~44.10%。木犀草素的含量,仅瑞士乳杆菌发酵后含量增加,但不显著,其他下降幅度为 4.29%~8.50%。而根皮苷经发酵后含量变化较大,嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌发酵后均未检测到,植物乳杆菌发酵后含量显著提高(P<0.01),增加了 78.37%。山奈酚在发酵前未检测到,经保加利亚乳杆菌、植物乳杆菌、瑞士乳杆菌和嗜酸乳杆菌发酵后都有检测到,其中保加利亚乳杆菌发酵后含量最多。

以上结果表明,乳酸菌发酵对凤丹花浸提液中的单体酚含量和组成都有影响。其中保加利亚乳杆菌发酵后,芦丁、槲皮素、芍药苷和山奈酚含量都有一定的提高;植物乳杆菌发酵后,根皮苷、山奈酚含量提高。Kwaw 等^[24]用乳酸菌发酵桑葚汁后,芦丁、槲皮素含量显著增加。Bisakowski 等^[25]用植物乳杆菌对红洋葱发酵后,能使槲皮素二糖苷降解成槲皮单糖苷。Duenas 等^[26]研究表明,植物乳杆菌发酵豇豆后,游离态槲皮素含量增加,与本研究相似。研究^[27]表明,乳酸菌发酵过程中,产生的多酚氧化酶对高分子量复合酚进行了解聚。pH 的降低可以稳定一些酚类^[28],因此在较低 pH 浸提液中总酚含量高。在较低的 pH 范围内,酚类物质的提取量增加^[29]。保加利亚乳杆菌产酸能力较弱,发酵液 pH 值较高,稳定酚类能力较弱,因此发酵后总酚含量没有植物乳杆菌高,但其单体酚含量多。

表 2 单体酚标准曲线方程

Table 2 Standard curve equation for monomeric phenol

单体酚	标准曲线方程	R ²
对香豆酸	Y=41.047X+876.90	0.999 1
芦丁	Y=10.836X-257.59	0.999 3
芍药苷	Y=11.836X+993.14	0.999 7
根皮苷	Y=16.584X+927.52	0.999 4
木犀草素	Y=33.912X-1 311.6	0.999 6
槲皮素	Y=17.282X-879.95	0.999 5
山萘酚	Y=35.974X-315.58	1.000 0

表 3 不同乳酸菌发酵对凤丹花浸提液中单体酚的影响[†]

Table 3 Effect of different lactobacillus fermentations on monomer phenols in the extract of Feng Dan petals $\mu\text{g/mL}$

菌种	对香豆酸	芦丁	芍药苷	根皮苷	木犀草素	槲皮素	山萘酚
发酵前	55.14±1.50 ^a	705.05±7.81 ^b	66.28±4.14 ^a	55.38±2.00 ^b	91.78±0.57 ^a	124.04±0.34 ^b	ND
干酪乳杆菌	44.74±0.68 ^{cd}	661.37±16.40 ^c	31.58±1.28 ^d	15.26±1.33 ^d	84.80±0.56 ^d	115.37±0.20 ^f	ND
嗜热链球菌	43.07±0.54 ^{cd}	613.27±4.95 ^{de}	13.70±5.98 ^f	ND	84.32±0.29 ^{de}	116.27±0.14 ^d	ND
保加利亚乳杆菌	49.89±1.97 ^b	727.26±3.70 ^a	61.23±1.34 ^a	56.46±3.75 ^b	87.85±0.34 ^b	125.05±0.54 ^a	21.81±0.09 ^c
植物乳杆菌	42.25±1.89 ^{de}	670.89±6.01 ^c	11.22±4.44 ^f	98.65±1.87 ^a	87.16±0.19 ^c	116.89±0.23 ^c	22.34±0.13 ^a
鼠李糖乳杆菌	30.77±3.09 ^f	609.50±6.94 ^e	24.22±2.77 ^e	7.98±1.27 ^e	84.75±0.21 ^d	115.79±0.10 ^{ef}	ND
瑞士乳杆菌	44.95±0.80 ^c	624.73±10.53 ^d	49.40±2.89 ^b	ND	92.10±0.24 ^a	109.65±0.08 ^e	22.07±0.05 ^b
嗜酸乳杆菌	43.96±0.78 ^{cd}	661.49±5.72 ^c	42.06±5.23 ^c	ND	87.29±0.48 ^{bc}	117.27±0.26 ^c	21.28±0.05 ^d
副干酪乳杆菌	40.31±1.00 ^e	569.14±6.42 ^f	22.31±2.06 ^e	21.25±1.85 ^c	83.99±0.44 ^e	116.13±0.06 ^{de}	ND

[†] 同列不同字母表示差异显著(P<0.05);ND 表示没有检测到。

2.3 对色泽的影响

如表 4 所示,8 种乳酸菌发酵对浸提液的亮度影响显著 ($P<0.05$), L^* 值均降低。除植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌和干酪乳杆菌外,其他乳酸菌发酵 b^* 值均降低;除鼠李糖乳杆菌外,其他乳酸菌发酵 a^* 值均增加。付磊等^[30] 研究发现凤丹白中几乎不含花青素,故其浸提液颜色淡黄。发酵后浸提液 L^* 值的降低最为显著的是植物乳杆菌 ($P<0.05$),而其发酵后总酚、总黄酮最高,说明之间存在关系。如表 5 所示, L^* 值与总酚、总黄酮含量显著负相关 ($P<0.05$)。Lago-

Vanzela 等^[31] 研究发现 a^* 值与总酚和总黄酮含量有关,证实了表 5 中 a^* 值与总酚极显著相关关系 ($R^2=0.806\ 5$)。 b^* 值与总黄酮含量显著正相关 ($R^2=0.761\ 4$),与总酚含量也正相关 ($R^2=0.717\ 8$),表明总酚、总黄酮含量与 b^* 值也有一定关系。研究^[32] 表明,当总色差 $\Delta E>2$ 时,样品的色泽变化可以通过肉眼观测,即样品间的色泽发生了显著的变化。8 种乳酸菌发酵,其中植物乳杆菌 ΔE 值变化显著 ($P<0.01$),且 >2 ,表明植物乳杆菌发酵后,浸提液颜色变化较大。

表 4 不同乳酸菌发酵对凤丹花浸提液色差的影响[†]

Table 4 Effect of different lactic acid bacteria fermentation on chromatic differential of Feng Dan petals extract

菌种	L^*	a^*	b^*	ΔE
发酵前	97.91±0.04 ^a	-1.06±-0.04 ^f	6.74±0.06 ^e	—
干酪乳杆菌	95.42±0.05 ^e	-0.13±-0.02 ^b	7.04±0.02 ^b	2.67±0.07 ^b
嗜热链球菌	97.27±0.03 ^{bc}	-0.60±0.02 ^d	6.15±0.03 ^e	0.99±0.06 ^{de}
保加利亚乳杆菌	96.39±0.10 ^d	-0.10±0.01 ^b	7.15±0.02 ^a	1.84±0.08 ^c
植物乳杆菌	94.89±0.64 ^f	-0.04±0.02 ^a	7.20±0.03 ^a	3.22±0.60 ^a
鼠李糖乳杆菌	97.31±0.05 ^b	-1.15±0.04 ^g	6.17±0.03 ^e	0.82±0.12 ^e
瑞士乳杆菌	96.92±0.07 ^c	-1.02±0.03 ^f	6.14±0.02 ^e	1.15±0.01 ^{de}
嗜酸乳杆菌	96.30±0.03 ^d	-0.26±0.04 ^c	6.24±0.03 ^d	1.86±0.04 ^c
副干酪乳杆菌	97.15±0.04 ^{bc}	-0.69±0.03 ^e	5.81±0.04 ^f	1.26±0.06 ^d

† 同列不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

表 5 总酚、总黄酮与色差的相关系数表[†]

Table 5 The correlation coefficient of total phenol, total flavonoids and color difference

项目	总酚	总黄酮	L^*	a^*	b^*
总酚	1.000 0				
总黄酮	0.776 5**	1.000 0			
L^*	-0.883 6**	-0.667 2*	1.000 0		
a^*	0.806 5**	0.464 1	-0.839 8**	1.000 0	
b^*	0.717 8*	0.761 4*	-0.632 5*	0.627 1*	1.000 0

† “**”表示 $P<0.01$,差异极显著;“*”表示 $P<0.05$,差异显著。

2.4 对抗氧化活性的影响

由表 6 可以看出,凤丹花浸提液经干酪乳杆菌、植物乳杆菌和保加利亚乳杆菌发酵后,DPPH 自由基清除率与发酵前相比显著提高 ($P<0.01$),增加幅度为 4.53%~11.14%。瑞士乳杆菌发酵后清除率增加不显著,增加了 1.25%。DPPH 在溶液中可以形成一个稳定的含氮自由基,抗氧化剂等加入后,通过传递电子或质子而生成稳定的分子状态 DPPH₂,乳酸菌发酵可能会生成一些含有递质子能力的化合物,从而使清除率升高^[33]。由表 7 可知,DPPH 自由基清除率与总酚、总黄酮含量呈正相关关系 (R^2 分别为 0.992, 0.797)。与发酵前相比,干酪乳杆菌、植物乳杆菌和保加利亚乳杆菌发酵后,ABTS 自由基清除率都得到了提高,增加幅度为 2.47%~6.58%,仅植物乳杆菌发酵后清除率得到了显著提高 ($P<0.05$),为 6.58%。ABTS 自由基清除率与总酚、总黄酮含量也呈正相关关系 (R^2 分别为 0.831 4,0.836 9)。

植物乳杆菌发酵后,DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率和还原力分别增加了 11.14%,6.58%,16.19%;保加利亚乳杆菌发酵后,DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率和还原力分别增加了 4.53%,2.47%,6.07%。这些与 2 种菌发酵后总酚、总黄酮含量高是一致的。

酚类化合物抗氧化能力的不同可能是其芳香环上所带羟基数量的不同引起的,因此根据溶液中所含酚类化合物种类和含量的差异,抗氧化活性也可能不同^[34]。这些也都证实了,DPPH、ABTS 自由基清除能力和还原力与总酚、总黄酮之间的高相关性关系。从单体酚含量分析,仅保加利亚乳杆菌发酵后,芦丁和槲皮素含量增加,而植物乳杆菌发酵后下降量也是最少的,这与 2 种菌发酵后高抗氧化能力存在一定联系。Bisakowski 等^[25] 用植物乳杆菌对红洋葱发酵后,槲皮素二糖苷下降,而槲皮单糖苷增加,后者具有比前者更高的抗氧化活性。由此可见,乳酸菌发酵导致酚类物质间的相互转化,能明显改变其抗氧化性。

表 6 不同乳酸菌发酵前后的抗氧化性与 V_C 的抗氧化性的比较[†]

Table 6 Comparison of anti-oxidation and anti-oxidation of V_C before and after fermentation of different lactic acid bacteria

菌种	DPPH/%	ABTS/%	还原力(OD 值)
发酵前	80.23±0.45 ^{cd}	56.05±1.20 ^{bc}	0.247±0.04 ^f
干酪乳杆菌	88.23±1.00 ^a	57.43±1.57 ^b	0.267±0.04 ^e
嗜热链球菌	76.56±0.67 ^e	54.47±0.46 ^{de}	0.252±0.05 ^{ef}
保加利亚乳杆菌	83.86±0.47 ^b	57.05±0.79 ^b	0.262±0.04 ^{cd}
植物乳杆菌	89.16±0.47 ^a	59.71±0.66 ^a	0.287±0.03 ^a
鼠李糖乳杆菌	79.76±0.61 ^d	55.43±0.65 ^{dce}	0.250±0.04 ^f
瑞士乳杆菌	81.23±0.31 ^c	54.04±0.59 ^e	0.259±0.03 ^{de}
嗜酸乳杆菌	79.33±1.08 ^d	55.95±1.43 ^{bcd}	0.278±0.05 ^b
副干酪乳杆菌	77.40±0.46 ^e	51.62±0.57 ^f	0.233±0.05 ^g
V _C	54.06±0.40 ^f	43.10±0.35 ^g	0.206±0.04 ^h

† 同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

表 7 抗氧化活性与总酚、总黄酮的相关系数表[†]

Table 7 The correlation coefficient of antioxidant activity and total phenol, total flavonoids difference

项目	DPPH	ABTS	还原力	总酚	总黄酮
DPPH	1.000 0				
ABTS	0.832 4**	1.000 0			
还原力	0.689 7*	0.823 3**	1.000 0		
总酚	0.992 0**	0.831 4**	0.887 6**	1.000 0	
总黄酮	0.797 0**	0.836 9**	0.724 3*	0.776 5**	1.000 0

† “*”表示 P<0.01,差异极显著;“*”表示 P<0.05,差异显著。

3 结论

本研究结果表明,8 种乳酸菌发酵凤丹花瓣浸提液,部分乳酸菌能够增加其总酚、总黄酮含量,提高抗氧化能力。其中植物乳杆菌发酵后总酚和总黄酮的含量最高,与对照组相比分别提高了 4.95%和 12.51%(P<0.05)。芦丁和槲皮素是凤丹花瓣浸提液中主要的单体酚,保加利亚乳杆菌发酵后分别提高了 3.16%和 0.81%(P<0.05)。植物乳杆菌发酵后,DPPH 自由基清除率增加了 11.14%(P<0.01),ABTS 自由基清除率增加了 6.58%(P<0.05),还原力增加了 16.19%(P<0.05),其抗氧化能力是 8 种乳酸菌中最强的。植物乳杆菌发酵后,总色差△E>2,发酵液颜色较深,而保加利亚乳杆菌相对较好。因此,后期将采用植物乳杆菌和保加利亚乳杆菌来发酵凤丹花瓣。2 种乳酸菌均能一定程度提高总酚、总黄酮含量,保加利亚乳杆菌对单体酚的组成和含量影响大,而植物乳杆菌发酵后抗氧化能力最强,故这 2 种乳酸菌发酵凤丹花瓣可提升其生理功能。

参考文献

[1] 孙志国, 陈志, 刘成武, 等. 安徽省道地药材类国家地理标志产

品的保护现状及对策[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7 353-7 355.

[2] 郭香凤, 史国安. 牡丹花水提液对氧自由基的清除作用[J]. 植物生理学报, 2004, 40(1): 37-38.

[3] 闫慧娇, 王志伟, 陈燕平, 等. 凤丹牡丹花瓣化学成分研究[J]. 山东科学, 2017, 30(3): 12-16.

[4] 史国安, 郭香凤, 包满珠. 不同类型牡丹花的营养成分及体外抗氧化活性分析[J]. 农业机械学报, 2006, 37(8): 111-114.

[5] CAGNO R D, MINERVINI G, RIZZELLO C G, et al. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies[J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 1 062-1 071.

[6] TABASCO R, SÁNCHEZ-PATÁN F, MONAGAS M, et al. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism[J]. Food Microbiology, 2011, 28(7): 1 345.

[7] 郑欣, 余元善, 吴继军, 等. 不同乳酸菌在荔枝汁中的发酵特性研究[J]. 广东农业科学, 2013, 40(7): 95-98.

[8] 马利华. 乳酸菌发酵对槐花营养及抗氧化性的影响[J]. 食品工业科技, 2009(5): 200-202.

[9] PARK E H, BAE W Y, KIM K T, et al. Antimelanogenic effects of Inula britannica flower petal extractfermented by Lactobacillus plantarum KCCM 11613P[J]. Journal of Zhejiang University-Science B: Biomedicine & Biotechnology, 2017, 18(9): 816-824.

[10] 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.

[11] LIU Chang-hong, XUE Ya-rong, YE Yong-hang, et al. Extraction and characterization of antioxidant compositions from fermented fruit juice of Morinda citrifolia (Noni)[J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(12): 1 494-1 501.

[12] 何书美, 刘敬兰. 茶叶中总黄酮含量测定方法的研究[J]. 分析化学, 2007, 35(9): 1 365-1 368.

[13] DARSAN S P, RESHMA J K, MATHEW A. Estimation of Lycopene Content in Different Tomato Varieties and its Commercial Products[J]. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry, 2013, 30(2): 332-5.

[14] RUI M S C, VIEIRA M C, SILVA C L M. Modelling kinetics of watercress (Nasturtium officinale) colour changes due to heat and thermosonication treatments[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2007, 8(2): 244-252.

[15] 陈智毅, 徐玉娟, 尹艳, 等. 甜玉米多酚类成分的测定[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 235-238.

[16] KUMARAN A, KARUNAKARAN R J. Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of Coleus aromaticus[J]. Food Chemistry, 2007, 100(1): 356-361.

[17] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26(9/10): 1 231-1 237.

[18] KUMARAN A, JOEL KARUNAKRAN R. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus

aromaticus[J]. Food Chemistry, 2006, 97(1): 109-114.

[19] 李佩, 戴涛涛, 程超, 等. 发酵对南酸枣饮料抗氧化性的影响[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 54-59.

[20] BENINCASA C, MUCCILLI S, AMENTA M, et al. Phenolic trend and hygienic quality of green table olives fermented with *Lactobacillus plantarum*, starter culture[J]. Food Chemistry, 2015, 186: 271-276.

[21] WOUTERS D, BERNAERT N, ANNO N, et al. Application' and validation of autochthonous lactic acid bacteria starter cultures for controlled leek fermentations and their influence on the antioxidant properties of leek[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(2): 121-133.

[22] WU She-ching, SU Yi-shun, CHENG Huang-yu. Antioxidant properties of *Lactobacillus*-fermented and non-fermented *Grap-topetalum paraguayense* E. Walther at different stages of maturity[J]. Food Chemistry, 2011, 129(3): 804-809.

[23] LANDETE J M, CURIEL J A, RODRÍGUEZ H, et al. Aryl glycosidases from *Lactobacillus plantarum*, increase antioxidant activity of phenolic compounds [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7(1): 322-329.

[24] KWAU E, MA Y, TCHABO W, et al. Effect of fermentation parameters and their optimization on the phytochemical properties of lactic-acid-fermented mulberry juice[J]. Journal of Food Measurement & Characterization, 2017, 11(3): 1 462-1 473.

[25] BISAKOWSKI B, ATWAL A S, GARDNER N, et al. Effect of lactic acid fermentation of onions (*Allium cepa*) on the composition of flavonol glucosides[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(7): 783-789.

[26] DUEÑAS M, FERNÁNDEZ D, HERNÁNDEZ T, et al. Bio-active phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L.). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2005, 85(2): 297-304.

[27] LANDETE J M, CURIEL J A, RODRÍGUEZ H, et al. Aryl glycosidases from *Lactobacillus plantarum*, increase antioxidant activity of phenolic compounds [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7(1): 322-329.

[28] KWAU E, MA Y, TCHABO W, et al. Effect of fermentation parameters and their optimization on the phytochemical properties of lactic-acid-fermented mulberry juice[J]. Journal of Food Measurement & Characterization, 2017, 11(3): 1 462-1 473.

[29] REZA H, KHATEREH K, SYAVASH H. Study of the effect of surfactants on extraction and determination of polyphenolic compounds and antioxidant capacity of fruits extracts[J]. Plos One, 2013, 8(3): e57 353.

[30] 付磊. ‘凤丹’牡丹花色素组成成分及抗氧化能力分析[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2015: 17-19.

[31] LAGO-VANZELA E S, PROCÓPIO D P, FONTES E A F, et al. Aging of red wines made from hybrid grape cv. BRS Violeta: Effects of accelerated aging conditions on phenolic composition, color and antioxidant activity[J]. Food Research International, 2015, 56(2): 182-189.

[32] ZHOU Lin-yuan, WANG Yuan-yuan, HU Xiao-song, et al. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(3): 321-327.

[33] KEDARE S B, SINGH R P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay[J]. Journal of Food Science & Technology, 2011, 48(4): 412-422.

[34] PÉREZGREGORIO M R, REGUEIRO J, ALONSOGONZÁLEZ E, et al. Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44 (8): 1 793-1 801.

(上接第 118 页)

[2] NEWMAN C L, BEST F W. Tobacco expansion process utilizing microwave energy: US, 3828797[P]. 1974-08-13.

[3] KOERBER A G Company. Microwave in the tobacco industry[J]. Tob. Rept., 1988(9): 30.

[4] NEUMANN C L. Tobacco expansion process utilizing microwave energy: US, 3828797[P]. 1974-08-13.

[5] LASZLO T. Microwave expansion of tobacco: US, 3842846[P]. 1974-10-22.

[6] WALDEMAR W, REINHARD L. Method and apparatus for making tobacco shreds: US, 4799501[P]. 1989-01-24.

[7] LASCH M, HACKMACK K, HOHM R, et al. Method of and apparatus for manipulating bales of condensed tobacco particles: US, 5139035[P]. 1992-08-18.

[8] ROGER Z De La B. Method of preventing the shrinkage of puffed tobacco and product obtained thereby: US, 3409027[P]. 1968-11-05.

[9] 冯春堂, 王佑铭, 施荣东, 等. 多波源多馈口微波膨胀烟梗装置: 中国, 2607033Y[P]. 2004-03-24.

[10] 怀特. 一种制备烟梗膨胀的方法及所采用的设备: 中国, 1748586[P]. 2006-03-22.

[11] 梁贵安, 彭金辉, 苏四清, 等. 84 kW 微波烟梗膨胀生产试验装置控制系统研究[J]. 昆明理工大学学报: 自然科学版, 2011 (8): 110-113.

[12] 姚二民, 周利军, 李晓, 等. 微波膨胀烟梗技术及其应用研究进展[J]. 轻工学报, 2017(5): 43-50.

[13] 何炬, 刘维涓, 师建全, 等. 微波膨胀烟梗质量研究[J]. 烟草科技, 2006(2): 9-12.

[14] 邹泉, 廖晓祥, 赵云川, 等. 微波膨胀烟梗二次切丝工艺参数研究[J]. 烟草科技, 2015(11): 59-64.

[15] 李晓, 周利军, 李全胜, 等. 烟梗形变工艺对微波膨胀梗制得梗丝综合质量的影响[J]. 南方农业学报, 2016(6): 715-720.

[16] 李晓, 景天, 姚二民, 等. 微波膨胀功率对烟梗质量的影响[J]. 江苏农业科学, 2017(3): 141-144.

[17] 赵云川, 邹泉, 廖晓祥, 等. 微波膨胀梗丝加工工艺的选择与优化[J]. 烟草科技, 2016(12): 60-70.

[18] 杨继福, 黄兰, 卢幼祥, 等. 高压蒸梗对中性香味成分和感官质量的影响[J]. 广州化工, 2011(17): 53-56.

[19] 王超, 王齐华, 王廷梅, 等. 聚苯酯/玻璃纤维改性 PTFE 密封材料的热力学性能[J]. 润滑与密封, 2017(8): 1-5.

[20] 杨威, 张强, 董高峰, 等. 微波膨胀对烟梗品质及显微结构的影响[J]. 江苏农业学报, 2014(3): 69-72.