

牛佳佳, 赵彪, 崔巍, 等. 酥梨汁乳酸菌发酵工艺优化及挥发性成分分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(14): 171–181. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080321

NIU Jiajia, ZHAO Biao, CUI Wei, et al. Optimization of Lactic Acid Bacteria Fermentation Process and Volatile Component Analysis of Suli Pear Juice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(14): 171–181. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080321

· 工艺技术 ·

酥梨汁乳酸菌发酵工艺优化及 挥发性成分分析

牛佳佳¹, 赵彪², 崔巍¹, 郭超峰³, 徐振玉³, 鲁云凤⁴, 苗建银⁵, 张四普^{1,*}

(1.河南省农业科学院园艺研究所, 河南郑州 450002;

2.河南农业大学园艺学院, 河南郑州 450002;

3.宁陵县农业农村局, 河南商丘 476700;

4.南阳师范学院生命科学与农业工程学院, 河南南阳 473061;

5.华南农业大学食品学院, 广东省功能食品活性物重点实验室, 广东广州 510642)

摘要:以宁陵县金顶谢花酥梨为主要原料, 筛选适宜酥梨汁发酵的乳酸菌组合, 在单因素实验的基础上, 通过正交试验优化乳酸菌酥梨汁的发酵工艺, 并对优化后的乳酸菌酥梨汁挥发性成分进行动态分析。结果表明, 最优发酵条件为: 鼠李糖乳杆菌:嗜酸乳杆菌:乳双歧杆菌=1:1:1 (V/V), 初始 pH4.5, 接种量 4%, 糖添加量 10%, 发酵时间 50 h, 此条件下制得的乳酸菌酥梨汁 V_C 含量 14.17 mg/100mL、总酸含量 7.66 g/L、总酚含量 3.68 mg/mL、总黄酮含量 6.25 mg/mL, DPPH 自由基清除率 90.05%, 感官评分 80.60。通过气相色谱-质谱法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 对乳酸菌酥梨汁在发酵 0、30、40、50 h 的挥发性成分进行分析, 共检测出 55 种挥发性物质, 随着发酵时间的延长, 挥发性物质的种类和含量增加, 酥梨原汁共有 7 种挥发性成分, 发酵 30 和 40 h 的酥梨汁挥发性成分均为 27 种, 发酵 50 h 的挥发性成分增加至 46 种, 此时, 高级醇、高级酯和高级酸类物质大量产生, 赋予乳酸菌酥梨汁酸甜口感和独特的风味。

关键词:酥梨汁, 乳酸菌, 发酵工艺优化, 挥发性成分, 气质联用 (GC-MS)

中图分类号: TS255.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2023)14-0171-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080321



本文网刊:

Optimization of Lactic Acid Bacteria Fermentation Process and Volatile Component Analysis of Suli Pear Juice

NIU Jiajia¹, ZHAO Biao², CUI Wei¹, GUO Chaofeng³, XU Zhenyu³, LU Yunfeng⁴, MIAO Jianyin⁵,
ZHANG Sipu^{1,*}

(1. Horticulture Research Institute of Henan Agricultural Science Academy, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

3. Agricultural Bureau of Ningling County, Shangqiu 476700, China;

4. College of Life Sciences and Agricultural Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China;

5. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Taking Jinding Xiehua Suli pear from Ningling County as the main raw material, lactic acid bacteria suitable for fermentation of pear juice were screened. The fermentation technology of Suli pear juice with lactic acid bacteria was optimized by orthogonal test based on single-factor experiments and the volatile component of the Suli pear juice with lactic

收稿日期: 2022-08-31

基金项目: 河南省大宗水果产业技术体系项目 (HARS-22-09-G4)。

作者简介: 牛佳佳 (1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 果品保鲜与加工, E-mail: 50817645@qq.com。

* 通信作者: 张四普 (1973-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 果品保鲜与加工, E-mail: spz3554101@126.com。

acid bacteria after optimization were analyzed dynamically. The results showed that the best fermentation conditions were as follows: *Rhamnose Lactobacillus:Lactobacillus acidophilus:Bifidum lactobacillus lactis*=1:1:1 (V/V), the initial pH was 4.5, the amount of lactic acid bacteria addition was 4%, the amount of sugar addition was 10%, and the fermentation time was 50 h. Under this condition, the V_C content was 14.17 mg/100 mL, the total acid content was 7.66 g/L, the total phenol content was 3.68 mg/mL, the total flavonoids content was 6.25 mg/mL, the DPPH free radical scavenging rate was 90.05%, and the sensory score was 80.60. The volatile components of Suli pear juice after 0, 30, 40 and 50 h fermentation were analyzed by the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 55 volatile substances were detected. With the prolongation of fermentation time, the types and contents of volatile substances increased. There were 7 kinds of volatile components in the raw Suli pear juice, the volatile components of pear juice after 30 and 40 h fermentation were 27 kinds, and increased to 46 kinds of volatile components after 50 h fermentation when higher alcohols, higher esters and higher acids were produced in large quantities, which brought lactic acid bacteria the sour and sweet taste and unique flavor of Suli pear juice.

Key words: Suli pear juice; lactic acid bacteria; optimization of fermentation process; volatile component; GC-MS

梨属于蔷薇科(Rosaceae)梨亚科(Pomoideae)梨属(*Pyrus* L.)植物,其果实具有生津止渴、清热解暑、化痰润肺、止咳平喘、通便利尿的功能,梨汁含水量可达 80% 以上,含糖量约为 8%~15%,富含 Ca、Fe、P、Se、Zn 等矿物质和果胶物质以及多种维生素,是优质的加工原材料^[1]。益生菌发酵果汁不仅可以赋予果汁产品独特的风味,还可以转化果汁中的营养物质,成为近年来食品加工领域备受关注的热点^[2]。

乳酸菌是一类可利用碳水化合物发酵产生有机酸的微生物,研究发现,益生性乳酸菌发酵果汁能够增加产品营养功能和保健功能^[3],提高抗氧化性^[4],分解大分子物质^[5],改善产品口感和风味^[6]。发酵果汁中风味物质对产品的最终感官品质起着决定作用^[7],焦媛媛等^[8]、李汴生等^[9]和卢嘉懿^[10]研究梨汁乳酸菌发酵时关注点均在发酵前后梨汁挥发性风味物质的组分变化,而对发酵过程中挥发性物质动态变化的相关研究鲜有报道。目前,在皇冠^[11]、鸭梨^[12]、玉露香^[13]等多个梨品种上也进行过乳酸菌发酵研究,但鲜见发酵菌种筛选的相关报导。由于菌种的代谢途径不同,乳酸菌混菌发酵较单一菌种发酵能产生更丰富的代谢产物^[13-14],郭玉如等^[15]选择类干酪乳杆菌和保加利亚乳杆菌共同发酵苹果汁,能够提高活菌数和改善单菌发酵的单一风味,卢嘉懿等^[16]进行内源性植物乳杆菌和外源性植物乳杆菌混合发酵,梨汁的产酸量高、挥发性风味物质丰富,游离氨基酸和酚类物质均优于菌种单一发酵。因此,选择适宜梨汁发酵的菌种尤为关键。

梨汁进行乳酸菌发酵时考察因素一般有发酵温度、发酵时间、接种量、糖添加量^[11-13]。研究发现,乳酸菌最适生长温度集中于 30~37 ℃,但酥梨^[17]、香梨^[18]和水晶梨^[8]汁在 30 ℃ 条件下进行乳酸菌发酵,均取得了良好的发酵效果;姚沛琳等^[19]进行植物乳杆菌酥梨汁发酵时发现,发酵温度是正交试验影响最小的因素,在猕猴桃^[20]、树莓^[21]上也有相同结果。同时,初始 pH 也是影响发酵指标的关键因素,适宜的 pH 影响菌株的生长、果汁稳定性和酶的活性^[22-23],

但在梨汁乳酸菌发酵研究中关注较少。

因此,本试验以宁陵县金顶谢花酥梨为主要原料,基于主成分分析综合评价确定适宜酥梨汁发酵的乳酸菌种类,在单因素的基础上,通过正交试验进一步优化酥梨汁乳酸菌发酵工艺,并对工艺优化后的乳酸菌酥梨汁挥发性成分采用气-质联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行动态分析。旨在通过乳酸菌发酵解决酥梨汁易褐变、无酸味、口感单一的问题,为酥梨资源开发利用、提高产品附加值提供技术支撑,为乳酸菌发酵梨汁的规律研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金顶谢花酥梨(Suli pear) 采自商丘市宁陵县石桥镇;植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、乳双歧杆菌 冻干型乳酸菌粉乳酸菌,活菌总数 $\geq 1.0 \times 10^{10}$ CFU/g,山东中科嘉亿生物工程有限公司;绵白糖 中粮福临门;氢氧化钠、没食子酸、三氯乙酸、氯化铁 AR 级,天津市科密欧化学试剂有限公司;福林酚 上海展云化工有限公司;无水乙醇、碳酸钠 烟台市双双化工有限公司;亚硝酸钠、硝酸铝 天津希恩思生化科技有限公司;芦丁 上海索莱宝生物科技有限公司;双吡啶、没食子酸 上海源叶生物科技有限公司;DPPH 自由基清除能力试剂盒 南京建成生物工程研究所;2-甲基-3-庚酮 质谱级德国默克股份两合公司。

PAL-1 数显折光仪 日本 ATAGO 公司;ZDJ-4B 雷磁自动电位滴定仪 上海仪电科学仪器股份有限公司;CR-400 色差分析仪 日本柯尼卡美能达公司;FE-28 酸度计 梅特勒-托利多(上海)有限公司;HC-2518R 高速冷冻离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司;BSA423S-CW 电子秤 感量 1 mg,德国赛多利斯公司;LRH-100 恒温培养箱 上海精宏实验设备有限公司;A590 扫描型双光束紫外可见分光光度计 上海翱艺仪器有限公司;JYZ-E16 九阳原汁机 杭州九阳小家电有限公司;8890B/5977B

型气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦科技有限公司; HP-INNOWAX 气象毛细管色谱柱 上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 乳酸菌发酵酥梨汁工艺流程 梨→去皮、去核→切块→榨汁→灭菌→冷却→调整成分→搅拌→发酵→冷藏。

选择新鲜成熟的宁陵酥梨,经清洗、去皮、去核后,破碎榨汁,100℃ 5 min 灭菌,自然冷却后按试验设计调整成分,搅拌均匀后置于预定条件发酵。

1.2.2 酥梨汁乳酸发酵菌种筛选 将植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, Lp)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, La)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*, Lc)、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*, Lr)、乳双歧杆菌(*Bifidobacterium lactis*, Bl) 5 种乳酸菌进行等量体积比混合,基于主成分分析方法,对完全随机组合共 31 个处理进行评价,以感官评分、维生素 C(Vitamin C, V_C) 含量、总酸含量等理化指标为因子,确定适宜酥梨汁发酵的乳酸菌组合,设定发酵温度 30℃, pH4.0, 糖添加量 5%, 接种量 1%, 发酵 60 h。

1.2.3 发酵工艺单因素试验 以乳酸菌酥梨汁的感官评定分数和总酸含量为指标,分别对初始 pH、接种量、糖添加量、发酵时间进行单因素实验。各因素设置如下:发酵初始 pH 分别为 4、4.5、5、5.5、6,设定发酵温度 30℃, 接种浓度 1%, 糖添加量 5%, 发酵 80 h; 接种量分别为: 1%、2%、3%、4%、5%, 设定发酵温度 30℃, pH4.0, 糖添加量 5%, 发酵 80 h; 糖添加量分别为 1%、3%、5%、8%、10%, 设定发酵温度 30℃, pH4.0, 接种浓度 1%, 发酵 80 h; 发酵时间分别为: 40、50、60、70、80 h, 设定发酵温度 30℃, 接种浓度 1%, pH4.0, 糖添加量 5%, 发酵 80 h。

1.2.4 正交试验设计 在上述单因素实验的基础上,进行四因素三水平的正交分析试验,试验按照 $L_9(3^4)$ 正交试验因素与水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平设计
Table 1 Factor level design of orthogonal experiment

水平	A pH	B接种量(%)	C糖添加量(%)	D发酵时间(h)
1	4.0	2	5	50
2	4.5	3	8	60
3	5.0	4	10	70

综合加权评分法参考韩颖等^[24]的方法,对总酸含量和感官评分两项指标进行综合加权评分,确定各指标权重,以满分 100 分计。总酸含量权重分值 40 分,感官评价权重分值 60 分,综合评分为各指标加权评分之和。

$$Y_i = a \times \frac{W_i}{W_0}$$

式中: Y_i 表示指标加权得分,分; a 表示指标权重分值,分; W_i 表示指标试验结果, g/L 或分; W_0 表示最佳试验结果 g/L 或分(总酸最佳值为 9.61 g/L, 感官评分最佳值为 79.33 分)。

1.2.5 乳酸菌酥梨汁品质分析

1.2.5.1 感官评分 由 10 名受过训练的老师和学生组成(年龄 20~58 不等), 男女各 5 名,对乳酸菌发酵梨汁的色泽、口感、风味和形态进行评价,评定结果实行百分制,取平均值作为最终感官评分,具体评价标准见表 2。

表 2 发酵酥梨汁感官评分标准
Table 2 Sensory evaluation criteria for Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria

项目	评分标准	分值
色泽(15分)	淡黄色	10~15
	黄色、深黄色	5~9
	棕黄色、棕色、褐色	0~4
形态(15分)	无悬浮物,无正常视力可见的外来杂质	14~15
	有微量悬浮物,无正常视力可见的外来杂质	10~13
	轻度浑浊,有少量沉淀物或杂质	5~9
	液体浑浊,沉淀明显有分层,有杂质	0~4
	具有梨发酵特有的口感,酸甜适度,口感柔和	16~20
口感(20分)	梨发酵特征口感明显,稍酸或稍甜	11~15
	有梨发酵的特征口感,酒味淡,味道偏酸过甜	6~10
	酸涩味过重,适口性较差	0~5
气味(30分)	具有典型的果香和发酵香,无异味	25~30
	有果香和发酵香气,无异味	18~24
	果香和发酵香气平淡,略带其他气味	11~17
	果香和发酵香气微弱,异味明显	0~10
	滋味协调,风味突出、梨香醇厚,无异味	15~20
滋味(20分)	偏酸或偏甜,风味略佳、梨香稍淡,无异味	10~14
	过酸或过甜,风味一般,有异味	0~9

1.2.5.2 总酸含量测定 按照 GB 12456-2021《食品安全国家标准食品中总酸的测定》方法,采用电位滴定法进行测定^[25]。

1.2.5.3 色差的测定 直接采用 CR-400 便携式色差仪对梨汁色泽进行测定,记录 L^* 、 a^* 、 b^* 值,每样品重复测定 9 次。

1.2.5.4 pH 和 V_C 含量测定 参照崔燕等^[26]的方法略作修改,采用 pH 计直接测定梨汁 pH; 采用分光光度法进行梨汁中 V_C 含量,取 1.0 mL 样品,加入 5 mL 6% TCA 溶液混匀,然后在 4℃, 10000 r/min, 离心 25 min, 取 0.2 mL 上清,依次加入 0.8 mL PBS (0.1 mol/L pH=7.4), 1.0 mL 10%TCA, 0.8 mL 42% H_3PO_4 , 0.8 mL 4% 双吡啶, 0.4 mL 3% $FeCl_3$, 混匀后 42℃ 水浴 60 min, 然后立即测定 534 nm 处测定吸光值,对比相应的 V_C 标准曲线计算样品中的 V_C 含量, $y = 0.1257x + 0.010$, $R^2 = 0.996$, 结果以 mg/mL 表示。每个样品 3 次重复。

1.2.5.5 总酚含量测定 参考 Cw 等^[27]的方法略有

改动,取 2.0 mL 梨汁与 4 mL 60% 乙醇充分混匀,4 ℃ 10000 r/min 离心 10 min,取 2.0 mL 上清,加入 1.0 mL 0.5 mol/L 福林酚试剂,混匀后加入 5.0 mL 饱和碳酸钠溶液,加蒸馏水至 25 mL,混匀,室温放置 60 min,在波长 765 nm 下测定吸光值,对比相应没食子酸标曲计算样品中的总酚含量, $y = 0.1046x + 0.0034$, $R^2 = 0.998$,结果以 mg/mL 表示,每个样品 3 次重复。

1.2.5.6 总黄酮含量测定 参考刘金龙等^[28]的方法略有改动,取 2.0 mL 梨汁加入 60% 乙醇溶液 3.0 mL,0.3 mL 5% 亚硝酸钠溶液,摇匀后静置 6 min,加入 0.3 mL 10% 硝酸铝溶液,摇匀后静置 6 min,加入 4.0 mL 5% 氢氧化钠溶液摇匀,静置 15 min,于波长 510 nm 测定吸光值,对比相应芦丁浓度标准曲线计算样品中的总黄酮含量, $y = 0.1257x + 0.0103$, $R^2 = 0.998$,结果以 mg/mL 表示。每个样品 3 次重复。

1.2.5.7 DPPH 自由基清除率测定 参照南京建成生物工程研究所 DPPH 自由基清除能力试剂盒使用说明。

1.2.6 乳酸菌酥梨汁挥发性成分的测定 采用顶空固相微萃取气质联用法对所制得的乳酸菌酥梨汁挥发性风味物质进行检测^[29]。

1.2.6.1 样品制备 准确移取 6 mL 样品于 10 mL 螺口进样瓶中,加入 1.50 g NaCl 和 1 μ L 内标物(2-甲基-3-庚酮),用聚四氟乙烯隔垫密封,45 ℃ 环境下于磁力搅拌器中平衡 20 min。平衡后将 SPME 萃取头通过隔垫插入进样瓶 1 cm,使其置于样品瓶顶空吸附 30 min,随后取出萃取头立即插入 GC 仪的进样口,插入深度为 2 cm,推出纤维头,解析热 5 min,同时启动仪器收集数据。

1.2.6.2 色谱和质谱条件 气相色谱(GC)条件: HP-INNOWAX 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm,0.25 μ m);进样口温度 260 ℃,载气为 He(纯度 99.999%),流速 1 mL/min,不分流进样。升温程序:起始温度为 40 ℃,保持 3 min 后以 4 ℃/min 的速度升温至 120 ℃,再以 6 ℃/min 的速度升温至 240 ℃,保持 9 min。

质谱(MS)条件:电子轰击电离(EI),电子能量为 70 eV,离子源温度为 230 ℃,接口温度为 230 ℃,质量扫描范围为 m/z 35~500,溶剂切除时间 2 min。将采集到的谱图与质谱仪的 NIST 谱库进行检索对比进行定性,选取匹配度大于 80% 作为物质鉴定依据,用峰面积计算挥发性物质的绝对含量。

1.3 数据处理

使用 Excel 2010 处理数据,SPSS 19.0 软件统计分析数据,利用 Origin 2020 软件制图,所有试验 3 次重复,取平均值加减标准差。

2 结果与分析

2.1 酥梨汁乳酸发酵菌种筛选

由表 3 可知 8 个理化指标因子可形成 4 个主成分,4 个主成分的累计方差贡献率为 91.145%,涵盖

了大于总体信息的 85%,符合分析要求,可依此进行主成分分析综合评价乳酸菌梨汁。将各指标变量的主成分载荷除以主成分相对应的特征值平方根得到标准化变量的系数向量,依此列出基于感官评分主成分解析表达式:

$$F = 0.856X_1 - 0.269X_2 + 0.069X_3 - 0.049X_4 - 0.112X_5 - 0.118X_6 + 0.219X_7 - 0.184X_8$$

表 3 乳酸菌发酵梨汁品质指标的载荷矩阵
Table 3 Loading matrix of quality indexes of pear juice fermented by lactic acid bacteria

品质指标	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
感官评分 X_1	-0.257	0.081	-0.166	0.902
pH X_2	-0.032	0.802	-0.304	-0.284
总酸含量 X_3	-0.053	-0.199	0.925	0.073
V _C 含量 X_4	-0.124	0.789	0.526	-0.052
L*值 X_5	-0.955	0.001	-0.055	-0.118
a*值 X_6	0.944	-0.182	-0.013	-0.124
b*值 X_7	0.867	0.352	0.022	0.231
C*值 X_8	-0.920	-0.282	-0.028	-0.194
方差贡献率(%)	47.307	18.157	13.97	11.711
累积贡献率(%)	47.307	65.464	79.434	91.145

注:粗体表示因子载荷大于0.7。

由表 4 可知,分值排名前 3 位的菌种组合为,鼠李糖乳杆菌(La):嗜酸乳杆菌(BI):乳双歧杆菌(Lr)=1:1:1(V/V),植物乳杆菌(Lp):干酪乳酸菌(Lc)=1:1(V/V),植物乳杆菌(Lr):鼠李糖乳杆菌(Lp)=1:1(V/V)。因此,优选鼠李糖乳杆菌(La):嗜酸乳杆菌(BI):乳双歧杆菌(Lr)=1:1:1(V/V)组合进行后续试验。

2.2 单因素实验结果

2.2.1 发酵初始 pH 对乳酸菌发酵酥梨汁感官品质的影响 pH 和总酸含量是判断发酵程度的重要指标,能否快速产酸也标志着乳酸菌活力是否良好,其值的高低还直接影响产品的口感、风味、品质、以及保质期^[30]。如图 1 所示,随着发酵初始 pH 的增加,酥梨汁总酸含量先升高后降低,感官评分也呈相同的变化趋势,总酸含量和感官评分在初始 pH4.5 时达到双峰值,为 8.03 g/L 和 78.33 分,感官评分在初始 pH4.5 最高,与王鑫^[31]的结果一致。试验选用的鼠李糖乳杆菌、嗜酸乳杆菌、乳双歧杆菌在菌体培养中,一般优化的初始 pH 范围是 6.0~7.5 之间^[32],但由于水果特性和乳酸菌的耐酸性,果汁乳酸菌发酵的初始 pH 一般较低(pH 4.30~6.10),卢嘉懿^[10]研究橙汁、梨汁和葡萄汁乳酸菌发酵发现,果汁初始 pH 主要影响嗜酸乳杆菌,且在初始 pH3.80 的橙汁发酵中表现更优,海棠果采用鼠李糖乳杆菌发酵 48 h 后,pH 稳定在 3.02,此时活菌数也保持稳定^[33],添加乳双歧杆菌的混合发酵中,有嘧啶代谢、戊糖磷酸途径、酪氨酸代谢、苯丙氨酸代谢等多种氨基酸代谢途

表 4 乳酸菌筛选组合的品质评价分值
Table 4 Quality evaluation score of lactic acid bacteria screening combination

序号	乳酸菌组合(V/V)	得分	排名
1	La	-0.892	27
2	Bl	0.089	19
3	Lr	-0.954	28
4	Lp	0.449	11
5	Lc	-2.838	31
6	La:Bl=1:1	0.421	12
7	La:Lr=1:1	-0.445	23
8	La:Lp=1:1	0.953	5
9	La:Lc=1:1	0.090	18
10	Bl:Lr=1:1	-2.220	30
11	Bl:Lp=1:1	0.306	15
12	Bl:Lc=1:1	-0.540	24
13	Lr:Lp=1:1	1.070	3
14	Lr:Lc=1:1	-1.960	29
15	Lp:Lc=1:1	1.200	2
16	La:Bl:Lr=1:1:1	1.444	1
17	La:Bl:Lp=1:1:1	-0.428	22
18	La:Bl:Lc=1:1:1	-0.197	21
19	La:Lr:Lp=1:1:1	0.622	9
20	La:Lr:Lc=1:1:1	0.876	7
21	La:Lp:Lc=1:1:1	0.677	8
22	Bl:Lr:Lp=1:1:1	0.881	6
23	Bl:Lr:Lc=1:1:1	0.367	13
24	Bl:Lp:Lc=1:1:1	-0.599	26
25	Lr:Lp:Lc=1:1:1	0.606	10
26	La:Bl:Lr:Lp=1:1:1:1	-0.122	20
27	La:Bl:Lr:Lc=1:1:1:1	-0.547	25
28	La:Bl:Lp:Lc=1:1:1:1	0.325	14
29	La:Lr:Lp:Lc=1:1:1:1	0.961	4
30	Bl:Lr:Lp:Lc=1:1:1:1	0.126	17
31	La:Bl:Lr:Lp:Lc=1:1:1:1:1	0.280	16

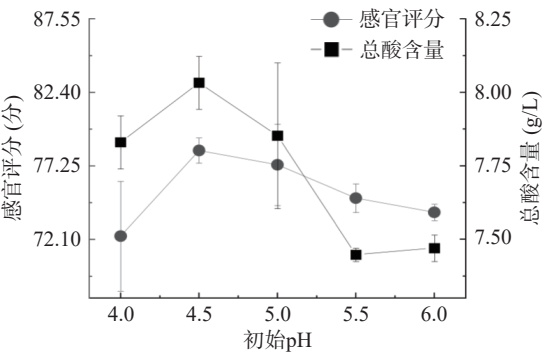


图 1 发酵初始 pH 对乳酸菌发酵酥梨汁感官评分和总酸度含量的影响
Fig.1 Effect of initial fermentation pH on sensory score and total acidity content of Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria

径的参与^[34]。因此,本研究中乳酸菌混合发酵酥梨汁,选择初始 pH4.0~5.0 的条件进一步优化。

2.2.2 糖添加量对乳酸菌发酵酥梨汁感官品质的影响 糖作为乳酸菌可利用的碳源,有助于乳酸菌生长

繁殖,同时糖添加量影响果汁发酵后的甜酸比,直接影响果汁的口感^[21]。如图 2 所示,随着糖添加量的不断增加,感官评分逐步上升,在糖添加量为 8% 时,乳酸菌梨汁的感官评分最高,为 77.00 分,10% 糖添加量的感官评分略微降低;总酸含量呈先升高后降低的变化趋势,在 3% 糖添加量时总酸含量最高,为 7.95 g/L,之后逐步降低,在 10% 糖添加量时总酸含量降为 7.28 g/L,可能由于糖添加量高,渗透压增大,影响到菌株的活性,造成发酵过程减缓甚至减弱,从而降低产酸能力;糖添加量过少、乳酸菌增殖能力下降,难以形成发酵风味,也会导致口感不佳。刘国明等^[35]发现加糖量在 7%~9% 范围时,发酵饮料的感官评分相对较高。因此,综合考虑选择糖添加量为 5%~10% 进一步优化。

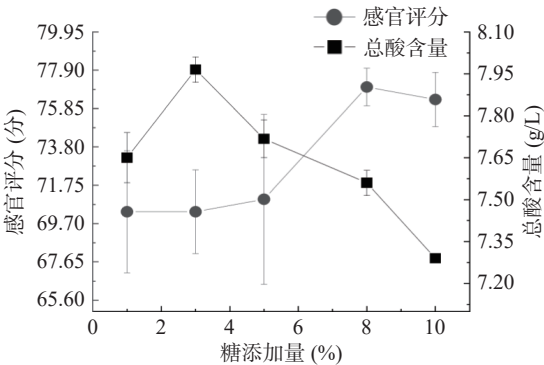


图 2 糖添加量对乳酸菌发酵酥梨汁感官评分和总酸含量的影响
Fig.2 Effects of sugar content on sensory score and total acid content of Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria

2.2.3 接种量对乳酸菌发酵酥梨汁感官品质的影响 乳酸菌接种量的多少是影响梨汁品质的重要影响因素之一,影响着发酵产品的酸度和黏度^[3]。接种量低乳酸菌活菌数比较少,利用梨汁的苹果酸或糖类转化为乳酸的效率不高,发酵果汁乳酸风味淡;接种量高乳酸菌可以在短时间内快速利用梨汁的糖类物质转化为大量乳酸,但发酵果汁过酸会影响梨汁的口感和品质;另外接种量高会促进微生物细胞衰老,出现自溶现象,影响口感和功能^[36]。由图 3 可知,随着接

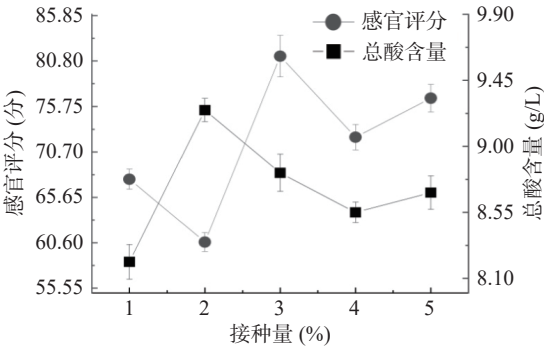


图 3 接种量对乳酸菌发酵酥梨汁感官评分和总酸含量的影响
Fig.3 Effects of inoculation amount on sensory score and total acid content of Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria

表 6 因素方差分析结果

Table 6 Factor analysis of variance for sensory evaluation						
	因素	平方和	自由度	均方	F值	显著性水平
感官评价	A	93.85	2	46.93	5068.00	*
	B	8.02	1	8.02	867.00	*
	C	4.05	1	4.05	437.00	*
	D	15.61	1	15.61	1685.00	*
	残差	0.01	1			
总酸含量	总和	289.56	8			
	A	5.61	2	2.81	429.67	*
	B	5.30	1	5.30	810.75	*
	C	5.13	1	5.13	784.40	*
	D	4.11	1	4.11	629.58	*
综合评分	残差	0.01	1			
	总和	15.11	8			
	A	69.08	2	34.55	205.58	*
	B	54.32	1	54.32	323.25	*
	C	118.58	1	118.58	705.72	*
	D	129.33	1	129.33	769.71	*
	残差	0.17	1			
	总和	344.47	8			

注: *表示差异显著($P<0.05$)。

梨汁的影响因素主次顺序为 $C>B>D>A$, 即糖添加量 $>$ 接种量 $>$ 发酵时间 $>$ pH(表 5); 初始 pH、乳酸菌接种量、糖添加量、发酵时间对乳酸菌发酵梨汁的感官评分影响均显著($P<0.05$)(表 6), 以综合评分分值为指标, 综合分析出最优工艺组合为 $A_2B_3C_3D_1$, 即 pH4.5, 接种量为 4%, 糖添加量为 10%, 发酵时间为 50 h。

2.4 最优方案试验

为验证正交优化试验结果, 在鼠李糖乳杆菌:嗜酸乳杆菌:乳双歧菌=1:1:1(V/V), 接种量 4%, pH

值 4.5, 糖添加量 10%, 发酵时间为 50 h 最优方案条件下, 制得的乳酸菌酥梨汁 V_C 含量 14.17 mg/100 mL, 总酸含量 7.66 g/L, 总酚含量 3.68 mg/mL, 总黄酮含量 6.25 mg/mL, DPPH 自由基清除率 90.05%, 感官评分 80.60, 优于所有正交试验组合的结果(表 7)。

2.5 乳酸菌酥梨汁挥发性风味分析

乳酸菌发酵可改善果蔬汁的风味口感, 试验对工艺优化后的乳酸菌酥梨汁挥发性成分采用 GC-MS 进行动态分析, 不同种类挥发性物质在样品中的分布及含量如表 8, 在发酵的 0、30、40、50 h 共检测出挥发性风味成分 55 种, 主要为醇类、酯类和酸类。其中醇类 20 种, 占比 36.36%, 酯类 17 种, 占比 30.91%, 酸类 6 种, 占比 10.91%, 酚类 4 种, 占比 7.27%, 酮类 2 种, 占比 3.64%, 烷类 2 种, 占比 3.64%, 还有甲氧基苯基酚、(+)- β -雪松烯等其他类 4 种物质。

乳酸菌酥梨汁挥发性成分在不同发酵阶段产生的种类和含量不同, 随着发酵时间延长, 挥发性风味物质的种类和含量增加, 在发酵 0、30、40、50 h, 分别检测到 7、27、27 种和 46 种挥发性成分。未发酵的酥梨汁有 7 种, 主要为 4 种醇类, 1 种酯类和甲氧基苯基酚; 发酵 30 和 40 h 均有 27 种挥发性风味物质, 醇类和酯类物质种类和含量增加, 酸类、酚类和烷类物质产生, 酚类物质产生是乳酸菌发酵过程中结合酚类转化为游离酚的结果, 游离酚更易于被人体消化吸收^[38]; 发酵 50 h, 挥发性风味物质种类增加至 46 种, 虽然乙醇产生, 但含量 ≤ 0.5 g/100 g, 符合《植物毒素》国家行业标准^[39], 同时乙醇香气阈值高, 有 100000 $\mu\text{g/L}$, 因而不影响整体风味^[40]。高级醇、高

表 7 乳酸菌酥梨汁验证试验指标

Table 7 Validation test index of Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria						
指标	V_C 含量(mg/100 mL)	总酸含量(g/L)	总酚含量(mg/mL)	总黄酮含量(mg/mL)	DPPH自由基清除率(%)	感官评分(分)
数值	14.17 $\pm$ 0.13	7.66 $\pm$ 0.03	3.68 $\pm$ 0.09	6.25 $\pm$ 0.25	90.05 $\pm$ 1.07	80.60 $\pm$ 0.92

表 8 乳酸菌发酵酥梨汁挥发性成分 GC-MS 分析结果

Table 8 GC-MS analysis of volatile constituents in Suli pear juice fermented by lactic acid bacteria							
序号	化合物名称	保留时间(min)	CAS号	不同发酵时间挥发性化合物含量($\mu\text{g/L}$)			
				0 h	30 h	40 h	50 h
	醇类(20种)			4种	9种	11种	18种
1	乙醇	3.13	C64175	—	—	—	1248.86 $\pm$ 28.08
2	异丁醇	6.87	C78831	—	—	—	35.70 $\pm$ 0.36
3	异戊醇	10.65	C123513	—	—	—	794.21 $\pm$ 16.68
4	异戊烯醇	12.04	C763326	—	3.75 $\pm$ 1.03	3.23 $\pm$ 0.14	—
5	正己醇	15.61	C111273	14.76 $\pm$ 0.16	69.46 $\pm$ 3.25	64.07 $\pm$ 5.58	68.13 $\pm$ 2.13
6	反式-2-己烯-1-醇	17.35	C928950	6.90 $\pm$ 0.17	13.18 $\pm$ 0.51	5.36 $\pm$ 0.60	—
7	6-甲基-5-庚烯-2-醇	19.21	C1569604	—	15.03 $\pm$ 2.78	13.07 $\pm$ 1.23	30.91 $\pm$ 1.24
8	2-乙基己醇	20.02	C104767	23.31 $\pm$ 1.04	29.82 $\pm$ 2.18	29.85 $\pm$ 2.52	43.25 $\pm$ 3.19
9	2-壬醇	20.95	C628999	—	—	—	60.93 $\pm$ 2.42
10	芳樟醇	21.84	C78706	—	—	—	7.09 $\pm$ 0.67
11	(-)-4-萜品醇	23.31	C20126765	—	6.90 $\pm$ 0.62	6.33 $\pm$ 0.56	16.32 $\pm$ 1.31
12	正壬醇	24.97	C143088	—	7.85 $\pm$ 0.94	7.24 $\pm$ 0.84	17.00 $\pm$ 0.68
13	α -松油醇	25.84	C98555	—	—	2.57 $\pm$ 0.36	10.47 $\pm$ 1.24

续表 8

序号	化合物名称	保留时间(min)	CAS号	不同发酵时间挥发性化合物含量(μg/L)			
				0 h	30 h	40 h	50 h
14	2-十一醇	26.45	C1653301	—	—	2.14±0.49	53.21±4.95
15	1-癸醇	27.40	C112301	—	—	—	11.66±1.51
16	香茅醇	27.49	C106229	—	—	—	24.40±2.26
17	苯乙醇	30.41	C60128	—	9.51±0.60	9.36±0.35	223.66±31.06
18	2-十六醇	30.60	C14852314	—	—	—	4.28±0.31
19	橙花醇	32.75	C1000285436	—	—	—	4.90±0.15
20	(+)-雪松醇	33.98	C77532	6.27±0.77	9.26±0.29	13.91±4.20	36.47±2.88
	酯类(17种)			2种	8种	6种	12种
21	乙酸乙酯	2.53	C141786	—	127.96±0.30	110.77±7.21	—
22	丁酸甲酯	4.16	C623427	—	9.75±0.61	—	—
23	丁酸乙酯	5.37	C105544	—	10.03±0.42	—	—
24	乙酸丁酯	6.35	C123864	9.01±0.44	—	—	—
25	乙酸异戊酯	8.04	C123922	—	—	—	194.24±10.71
26	己酸乙酯	11.58	C123660	—	—	—	182.97±4.64
27	乙酸己酯	12.91	C142927	—	—	—	5.81±1.18
28	醋酸-2-乙基己酯	16.64	C103093	—	—	—	13.82±2.17
29	辛酸乙酯	18.30	C106321	—	—	—	228.80±22.98
30	醋酸辛酯	19.58	C112141	—	—	—	12.03±1.31
31	甲酸辛酯	22.08	C112323	—	12.66±1.31	13.17±1.44	82.66±4.48
32	苯酸甲酯	23.88	C93583	—	10.63±0.73	9.52±0.66	88.75±16.00
33	安息香酸乙酯	25.08	C93890	—	19.81±1.95	19.60±0.97	—
34	乙酸苄酯	26.65	C140114	—	5.65±1.32	4.41±0.39	14.88±1.49
35	乙酸苯乙酯	28.54	C103457	—	20.42±1.39	19.04±1.34	77.53±9.59
36	2,2,4-三甲基戊二醇异丁酯	29.74	C1000140775	10.99±1.39	—	—	111.44±8.58
37	邻苯二甲酸二丁酯	42.36	C84742	—	—	—	13.53±0.94
	酸类(6种)			0种	1种	2种	6种
38	醋酸	18.93	C64197	—	80.22±2.39	92.16±2.00	137.81±5.97
39	己酸	29.19	C142621	—	—	—	120.14±13.35
40	辛酸	33.09	C124072	—	—	9.21±0.28	576.09±65.55
41	癸酸	36.47	C334485	—	—	—	210.11±26.40
42	9-癸烯酸	37.39	C14436329	—	—	—	29.52±3.89
43	月桂酸	39.52	C143077	—	—	—	8.64±0.43
	酚类(4种)			0种	4种	4种	4种
44	2-甲氧基-4-甲基苯酚	31.27	C93516	—	3.88±0.38	3.69±0.32	11.03±1.15
45	丁香酚	34.86	C97530	—	4.91±0.49	4.69±0.51	12.84±2.44
46	4-乙基苯酚	34.99	C12379	—	10.28±0.48	9.72±0.40	20.66±2.09
47	2,4-二叔丁基酚	37.09	C96764	—	3.76±1.65	2.84±0.45	16.35±4.97
	酮类(2种)			0种	1种	0种	1种
48	3-羟基-2-丁酮	13.21	C513860	—	47.94±3.47	—	13.64±0.56
49	二氢-2-甲基-3(2H)-噻吩酮	21.07	C13679851	—	—	—	—
	烷类(2种)			0种	1种	1种	2种
50	螺[4.5]癸烷	31.21	C176636	—	—	—	18.70±1.64
51	B-硝基苯乙烷	34.11	C6125242	—	11.42±0.56	9.43±0.05	23.53±0.83
	其他(4种)			1种	3种	3种	3种
52	甲氧基苯基肼	27.53	C1000222866	7.66±0.53	3.90±0.64	5.04±0.26	—
53	氰化苄	30.74	C140294	—	6.22±0.39	5.47±0.34	10.93±0.90
54	(+)-β-雪松烯	22.91	C546281	—	—	—	7.74±0.73
55	2,4-二甲基苯甲醛	28.37	C15764166	—	5.48±1.98	5.75±2.143	41.76±5.98
	挥发性化合物种类			7种	27种	27种	46种

注：“—”代表未检测到。

级酯和高级酸类物质大量产生,例如,乙酸异戊酯、辛酸乙酯、乙酸苯乙酯、异戊醇、2-壬醇、芳樟醇、1-癸醇、橙花醇 2、癸酸、月桂酸等物质,醇类物质总含

量 2691.46 μg/L,酯类物质总含量 1026.44 μg/L,酸类物质总含量 1082.30 μg/L,酚类物质含量达到 60.88 μg/L,同时还产生(+)-β-雪松烯等物质。

乳酸菌混菌发酵后,赋予了酥梨汁独特的风味和营养。少量的高级醇存在将赋予果汁清香,并且醇类物质作为常用的有机溶剂可以更好的保留其他挥发性物质的香气,使得整体香气更加浓郁^[41]。例如,苯乙醇、 α -松油醇、正己醇、6-甲基-5-庚烯-2-醇、橙花醇、香茅醇、芳樟醇都具有花果香味。有机酸含量和种类也大幅增加,发酵完成后由 0 增加到 6 种,有机酸可改善梨汁风味、抑制产品褐变、提升抑菌活性和抗氧化能力^[37]。酸类、醇类物质的增加也会显著提高酯类物质的合成,挥发性酯类物质又是梨中散发成熟梨果香的最重要物质。由表 8 可知,发酵 50 h 后,酯类物质由 2 种增加至 12 种,酯类物质的含量和种类增加,有利于梨汁香气的突出^[42],且乙酸乙酯消失,乙酸乙酯含量过高会产生化学试剂的味道,从而影响梨汁整体香气^[43]。经过乳酸菌发酵后还使梨汁具有了一定生理活性,例如,雪松醇吸入可抑制焦虑、降低心率、降低血压,产生放松作用^[44], (+)- β -雪松烯有预防或逆转肥胖、改善异常代谢失常等多种活性^[45]。

3 结论

本研究以酥梨为原材料,采用乳酸菌混菌发酵制备乳酸菌酥梨汁。基于主成分分析筛选适宜酥梨汁发酵的乳酸菌组合,然后通过单因素实验,探讨了发酵工艺中初始 pH、乳酸菌接种量、糖添加量、发酵时间对乳酸菌酥梨汁的总酸含量和感官评分的影响。通过单因素和正交试验优化,最终确定乳酸菌酥梨汁的最佳发酵条件为:鼠李糖乳杆菌:嗜酸乳杆菌:乳双歧杆菌=1:1:1(V/V),初始 pH4.5,接种量 4%,糖添加量 10%,发酵时间 50 h,此条件制得的乳酸菌酥梨汁 V_C 含量 14.17 mg/100 mL、总酸含量 7.66 g/L、总酚含量 3.68 mg/mL、总黄酮含量 6.25 mg/mL,感官评分 80.60。采用 GC-MS 对乳酸菌酥梨汁在发酵 0、30、40、50 h 的挥发性成分进行动态分析,共检测出 55 种挥发性物质,其中醇类和酯类相对含量较多。随着发酵时间的延长,挥发性物质的种类和含量增加,酥梨原汁共有 7 种挥发性成分,发酵 30 h 和 40 h 的酥梨汁挥发性成分均为 27 种,发酵 50 h 的挥发性成分增加至 46 种,异戊醇、2-壬醇、芳樟醇、橙花醇、乙酸异戊酯、辛酸乙酯、乙酸苯乙酯、癸酸、月桂酸等高级醇、高级酯和高级酸类物质大量产生,使乳酸菌酥梨汁具有酸甜口感和独特的风味。

参考文献

[1] 姚瑶. 梨醋的酿造工艺研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2013. [YAO Y. Study on brewing technology of fruit vinegar made from pear[D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2013.]

[2] 全琦, 刘伟, 左梦楠, 等. 乳酸菌发酵果蔬汁的风味研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(1): 315-323. [QUAN Q, LIU W, ZUO M N, et al. Advances in the flavor of fruit and vegetable juices fermented by lactic acid bacteria[J]. Food and Fermentation Indus-

tries, 2022, 48(1): 315-323.]

[3] FONTELES T V, RODRIGUES S. Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives[J]. Current Opinion in Food Science, 2018: S2214799317301571.

[4] 马剑, 陈智玲, 张宏志, 等. 乳酸菌发酵梨汁过程中的品质变化及其抗氧化活性研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(6): 123-128. [MA J, CHEN Z L, ZHANG H Z, et al. Study on quality change and antioxidant activity of pear juice fermented by Lactic acid bacteria[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2021, 41(6): 123-128.]

[5] FILANNINO P, TLAIS A, MOROZOVA K, et al. Lactic acid fermentation enriches the profile of biogenic fatty acid derivatives of Avocado fruit (*Persea americana* Mill.) [J]. Food Chemistry, 2020: 126384.

[6] SHORI, BAKR A. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages[J]. Food Bioscience, 2016, 13: 1-8.

[7] RICCI A, CIRLINI M, MAOLONI A, et al. Use of dairy and plant-derived lactobacilli as starters for cherry juice fermentation[J]. Nutrients, 2019, 11(2): 213.

[8] 焦媛媛, 杜丽平, 孙文, 等. 优良梨汁发酵乳酸菌的筛选与发酵性能分析[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 141-145. [JIAO Y Y, DU L P, SUN W, et al. Screening and fermentation characteristics of lactic acid bacteria for fermentation of pear juice[J]. Food Science, 2019, 40(2): 141-145.]

[9] 李汴生, 卢嘉懿, 阮征. 植物乳杆菌发酵不同果蔬汁风味品质研究[J]. 农业工程学报, 2018, 34(19): 293-299. [LI B S, LU J Y, RUAN Z. Favor quality of different fruit and vegetable juices fermented by *Lactobacillus plantarum* [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 34(19): 293-299.]

[10] 卢嘉懿. 乳酸菌发酵果蔬汁风味品质研究与控制[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [LU J Y. Changes and control on sensory quality of lactic acid bacteria fermented fruit and vegetable juices [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]

[11] 黄澄洁, 陈笑言, 冯龙斐, 等. 响应面法优化复合乳酸菌发酵梨汁工艺[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2020, 48(4): 29-36. [HUANG Y J, CHEN X Y, FENG L F, et al. Optimization of pear juice fermentation technology by compound lactic acid bacteria employing response surface methodology[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology(Natural Science Edition), 2020, 48(4): 29-36.]

[12] 李栋, 牟德华, 郭逸, 等. 乳酸菌发酵鸭梨汁工艺优化及风味研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(1): 94-104. [LI D, MOU D H, GUO Y, et al. Process optimization and effects on flavor of fermenting pear juice with lactic acid bacteria[J]. Food Research and Development, 2022, 43(1): 94-104.]

[13] 全文玲. 乳酸菌复合发酵玉露香梨汁的研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2020. [TONG W L. Study on compound fermentation of Yulu pear juice by lactic acid bacteria[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2020.]

[14] 朱丹实, 吴逗逗, 沈雨思, 等. 多菌种混合发酵果蔬汁的研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 343-352. [ZHU D S, WU D D, SHEN Y S, et al. Research progress on mixed fermentation of multiple strains for fruits and vegetables juice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(10): 343-352.]

[15] 郭玉如. 复合乳酸菌苹果汁发酵工艺优化及生物活性研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2020. [GUO Y R. Study on the optimization and bioactivity of apple juice fermented with complex lac-

- tic acid bacteria[D]. Linfen: Shanxi Normal University, 2020.]
- [16] 卢嘉懿, 李汴生, 阮征. 内源性和外源性植物乳杆菌发酵对梨汁品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(3): 14–20. [LUI J Y, LI B S, RUAN Z. Effects of selected autochthonous and allochthonous *Lactobacillus plantarum* starters on the qualities of pear juices[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(3): 14–20.]
- [17] 潘勇, 李建宋, 李静, 等. 一株乳酸菌的分离鉴定及其在梨汁发酵中的应用[J]. *浙江农业科学*, 2020, 61(7): 1424–1428, 1431. [PAN Y, LI J S, LI J, et al. Isolation and identification of a lactic acid bacteria and its application in pear juice fermentation[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2020, 61(7): 1424–1428, 1431.]
- [18] 周强, 刘蒙佳. 乳酸菌混合发酵香梨-黄瓜果蔬汁的工艺优化研究[J]. *食品工业*, 2017, 38(12): 68–72. [ZHOU Q, LIU M J. Technology optimization of bergamot pear-cucumber juice fermented by mixed lactobacillus[J]. *The Food Industry*, 2017, 38(12): 68–72.]
- [19] 姚沛琳, 苏博, 黄悦, 等. 乳酸菌发酵砀山酥梨汁的工艺研究[J]. *蚌埠学院学报*, 2019, 8(2): 18–23, 38. [YAO P L, SU B, HUANG Y, et al. Study on technology of Dangshan pear juice by *Lactobacillus* fermentation[J]. *Journal of Bengbu University*, 2019, 8(2): 18–23, 38.]
- [20] 陈林, 苏珊, 吴应梅, 等. 红阳猕猴桃酵素发酵工艺优化及其体外抗氧化活性[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(4): 224–233. [CHEN L, SU S, WU Y M, et al. Optimization of fermentation process for Hongyang kiwifruit Jiaosu and antioxidant activity in *Vitro*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(4): 224–233.]
- [21] 张倩茹, 尹蓉, 王贤萍, 等. 乳酸菌发酵树莓饮料的工艺优化[J]. *食品科技*, 2021, 46(5): 99–103. [ZHANG Q R, YIN R, WANG X P, et al. Optimization of fermented raspberry beverage by lactic acid bacteria[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(5): 99–103.]
- [22] 马莉, 刘慧燕, 方海田, 等. 产 γ -氨基丁酸乳酸菌的分离鉴定及其发酵条件优化[J]. *中国酿造*, 2022, 41(7): 94–100. [MA L, LIU H Y, FANG H T, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria with γ -aminobutyric yield and optimization of fermentation conditions[J]. *China Brewing*, 2022, 41(7): 94–100.]
- [23] 廖文艳, 徐致远, 刘振民. 褐色乳酸菌饮料工艺条件的优化[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(5): 225–227. [LIAO W Y, XU Z Y, LIU Z M. Optimization of the technological conditions of brown lactic acid bacteria beverage[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2014, 42(5): 225–227.]
- [24] 韩颖, 王茜, 侯晨梓, 等. 红茶菌发酵荞麦浆醋饮的工艺优化及品质分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(16): 167–175. [HAN Ying, WANG Qian, HOU Chenzi, et al. Optimization of fermentation process and quality analysis of buckwheat vinegar fermented by kombucha[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(16): 167–175.]
- [25] GB 12456-2021 食品安全国家标准食品酸度的测定[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 2021. [GB 12456-2021 National standards for food safety determination of acidity in foods[S]. Beijing: National Health Commission of the People's Republic of China, 2021.]
- [26] 崔燕, 郭加艳, 宣晓婷, 等. 高压均质对NFC水蜜桃浊汁稳定性及品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(18): 322–330. [CUI Y, GUO J Y, XUAN X T, et al. Effect of high pressure homogenization on the stability and quality of not-from-concentrate cloudy honey peach (*Prunus persica* L.) juice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(18): 322–330.]
- [27] CW A, TI A, JING Q A, et al. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice[J]. *LWT*, 2020, 122: 109064.
- [28] 刘金龙, 危晶晶, 白敬, 等. 植物乳杆菌发酵强化贝母-雪梨汁抗氧化性能的研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(23): 117–123. [LIU J L, WEI J J, BAI J, et al. Study on enhancement of antioxidant activity of fritillaria-pear juice by *Lactobacillus plantarum* fermentation[J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(23): 117–123.]
- [29] 刘纯友, 江素珍, 冯笑, 等. HS-SPME-GC-MS测定三种类型百香果果实挥发性风味成分[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(11): 255–262. [LIU C Y, JIANG S Z, FENG X, et al. Study on volatile flavor compounds from three types of passion fruit using headspace solid phase micro-extraction gas chromatography mass spectrometry[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(11): 255–262.]
- [30] SZUTOWSKA J. Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: A systematic literature review[J]. *European Food Research and Technology*, 2020, 246(3): 357–372.
- [31] 王鑫. 黄河滩枣饮料加工工艺的研究及贮藏期品质观察[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2020. [WANG X. Study on processing technology and shelf quality observation of Yellow River beach jujube fermented beverage[D]. Handan: Hebei University of Engineering, 2020.]
- [32] 于焕. 益生菌发酵工艺、冻干保护剂优化与活性研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2017. [YU H. Optimization of fermentation technologies and cryoprotectants and studies on activities of probiotics[D]. Shenyang: Liaoning University, 2017.]
- [33] 杨志鹏, 王婷, 袁峰, 等. 海棠果酵素产品开发及其生物活性研究[J]. *中国调味品*, 2018, 43(1): 48–51, 83. [YANG Z P, WANG T, YUAN F, et al. Study on the bioactivity and development of *Calophyllum inophyllum* L. enzyme product[J]. *China Condiment*, 2018, 43(1): 48–51, 83.]
- [34] 张宁. 副干酪乳杆菌 PC-01 和乳双歧杆菌 Probio-M8 复合益生菌发酵乳饮料的研究开发[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021. [ZHANG N. Research and development of milk beverage fermented by *Lactobacillus paracasei* PC-01 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Probio-M8[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021.]
- [35] 刘国明, 孙健, 彭宏祥, 等. 龙眼发酵饮料的工艺优化及其对DPPH的清除效果研究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(24): 104–109. [LIU G M, SUN J, PENG H X, et al. Process optimization and DPPH scavenging effect of longan fermented beverage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(24): 104–109.]
- [36] 蒋增良. 天然微生物酵素发酵机理、代谢过程及生物活性研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2013. [JIANG Z L. Study on mechanism of fermentation metabolic process and bioactivities of microbial natural-ferments during fermentation[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Science and Technology, 2013.]
- [37] 王惠. 乳酸菌发酵树莓汁工艺及其抗氧化抗肿瘤活性研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2020. [WANG H. Study on fermentation of raspberry juice by lactic acid bacteria and its antioxidant and antitumor activities[D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2020.]
- [38] 易建勇, 马有川, 毕金峰, 等. 果蔬酚类物质生物利用研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 351–358. [YI J Y, MA Y C, BI J

- F, et al. Bioavailability of phenolic compounds in processed fruits and vegetables products: A review[J]. Food Science, 2020, 41(21): 351–358.]
- [39] QB/T 5323-2018 植物酵素[S]. 中华人民共和国工业和信息化部, 2019. [QB/T 5323-2018 Plant jiaosu[S]. Ministry of Industry and Information Technology, PRC, 2019.]
- [40] 张华. 发酵型黑枣酒加工工艺的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013. [ZHANG H. Study on processing technology of dateplum persimmon wine[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2013.]
- [41] WANG S, LI Y, REN J, et al. Comparison on evolution of volatile compounds and aroma attributes in different pH-adjusted fermented bog bilberry syrup wines during bottle-aging period[J]. Food Bioscience, 2018: S2212429217303905.
- [42] WEI S, QIN G, ZHANG H, et al. Calcium treatments promote the aroma volatiles emission of pear (*Pyrus ussuriensis* ‘Nanguoli’) fruit during post-harvest ripening process[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 215(12): 102–111.
- [43] ZOHRE D E, ERTEN H. The influence of *kloeckeraapiculata* and *candida pulcherrima* yeasts on wine fermentation[J]. [Process Biochemistry](#), 2002, 38(3): 319–324.
- [44] ZHANG Y, HAN L, CHEN S S, et al. Hair growth promoting activity of cedrol isolated from the leaves of *platycladus orientalis*[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83(10): 641–647.
- [45] 席祖卫, 王雨佳, 陈金虎, 等. 维吉尼亚雪松精油的 GC-MS 分析及体外药理活性研究[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(2): 335–341. [XI Z W, WANG Y J, CHEN J H, et al. GC-MS analysis and *in vitro* study on pharmacological activity of Virginia Cedar essential oils[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2022, 42(2): 335–341.]