

尹琳琳, 陈志娜, 孙瑞雪, 等. 水开菲尔粒发酵草莓汁在冷藏期间品质稳定性分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(2): 301–307. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024020209

YIN Linlin, CHEN Zhina, SUN Ruixue, et al. Analysis of the Quality Stability of Strawberry Juice Fermented with Water Kefir Grains during Refrigeration[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(2): 301–307. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024020209

· 贮运保鲜 ·

# 水开菲尔粒发酵草莓汁在冷藏期间 品质稳定性分析

尹琳琳<sup>1,2</sup>, 陈志娜<sup>1,2</sup>, 孙瑞雪<sup>1</sup>, 刘娴雅<sup>1</sup>, 王语馨<sup>1</sup>

(1. 淮南师范学院生物工程学院, 安徽淮南 232038;

2. 资源与环境生物技术安徽普通高校重点实验室, 安徽淮南 232038)

**摘要:** 为探究水开菲尔粒发酵草莓汁在冷藏期间的品质稳定性, 本研究对发酵草莓汁在 4 °C 下冷藏 28 d 期间的主要理化指标、活性物质、抗氧化能力、活菌数及感官特性的变化进行了综合检测。结果显示, 在冷藏期间, 发酵草莓汁的总酚、总黄酮和 V<sub>C</sub> 含量均有下降, 相应的其抗氧化能力包括 SOD 酶活性、DPPH 自由基清除率和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率分别降低了 16%、8.5% 和 28.3%。乳酸菌和酵母菌活菌数分别减少了 12.8% 和 14%, 醋酸菌活菌数增加了 16%。感官评价中, 除气味得分升高外, 因 L\* 与 a\* 的降低, b\* 的升高, 发酵草莓汁色泽评分降低, 同时, 悬浮稳定性和 pH 的下降, 使组织状态和滋味得分也出现降低, 但得分均在 6 分以上。总体上, 在冷藏期间, 水开菲尔粒发酵草莓汁的主要理化指标和活性物质稳定性较强, 乳酸菌等活菌数仍保持在 6 lg CFU/mL 以上, 抗氧化能力仍保持 65% 以上的较高活性, 感官评定也在可接受范围, 说明水开菲尔粒发酵草莓汁的综合品质在冷藏 28 d 内可保持较高稳定性。

**关键词:** 水开菲尔粒, 草莓汁, 冷藏, 品质

中图分类号: TS255.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)02-0301-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024020209



本文网刊:

## Analysis of the Quality Stability of Strawberry Juice Fermented with Water Kefir Grains during Refrigeration

YIN Linlin<sup>1,2</sup>, CHEN Zhina<sup>1,2</sup>, SUN Ruixue<sup>1</sup>, LIU Xianya<sup>1</sup>, WANG Yuxin<sup>1</sup>

(1. School of Biological Engineering, Huainan Normal University, Huainan 232038, China;

2. Key Laboratory of Bioresource and Environmental Biotechnology of Anhui Higher Education Institutes, Huainan 232038, China)

**Abstract:** To investigate the quality stability of strawberry juice fermented with water kefir grains during refrigeration. Variations in the primary physical and chemical parameters were analyzed, together with analysis of the active compounds, antioxidant capacity, viable bacterial and yeast counts, and sensory attributes of the fermented strawberry juice over a 28 day refrigeration period at 4 °C. Results showed that during refrigeration, the total phenol, total flavonoid, and vitamin C contents in the fermented strawberry juice decreased. Correspondingly, the antioxidant capacity, including the activity of superoxide dismutase and the DPPH and ABTS<sup>+</sup> free radical-scavenging rates were reduced by 16%, 8.5%, and 28.3%, respectively. The viable lactic acid bacterial and yeast counts decreased by 12.8% and 14%, respectively, while the counts of viable acetic acid bacteria increased by 16%. In the sensory evaluation, in addition to the observed increase in the odor score, the color score of the fermented strawberry juice decreased due to reductions in the L\* and a\* values and an increase in the b\* value. At the same time, reductions in the suspension stability and pH also led to lower scores for texture and taste,

收稿日期: 2024-02-27

基金项目: 淮南市指导性科技计划项目 (2023098); 国家自然科学基金 (32302044); 安徽省高校优秀人才支持重点项目 (gxyqZD2022075); 安徽省高等学校科研项目重点项目 (2022AH051581); 淮南师范学院校级重点科研项目 (2024XJZD016)。

作者简介: 尹琳琳 (1984-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 果蔬贮藏加工, E-mail: yinlinlin526@163.com。

however, these scores still remained above 6 points. During refrigeration, the main physical and chemical indicators, as well as the levels of active substances, in the strawberry juice fermented with water kefir grains, were found to be relatively stable. The number of viable lactic acid bacteria was above  $6 \lg$  CFU/mL, while the antioxidant capacity remained at a high level of more than 65%. In addition, the results of the sensory evaluation fell within the acceptable range. These findings indicated that the overall quality of water kefir grains-fermented strawberry juice remained stable over 28 days of refrigeration.

**Key words:** water kefir grains; strawberry juice; refrigeration; quality

开菲尔粒是一种大小为 1~15 mm 的花椰菜状弹性颗粒,由乳酸菌、酵母菌和醋酸菌等多种微生物栖息在蛋白质和多糖构成的基质骨架上所构成<sup>[1]</sup>,具有潜在的益生特性,可用于开发功能性食品。开菲尔粒可以发酵乳和糖水基质,分别称为开菲尔和水开菲尔。随着人们对健康食品需求的提高,开菲尔食品因其富含多益生菌群,具有抗氧化、提高免疫力和胃肠道功能调节等生理活性,逐渐受到重视<sup>[2]</sup>。目前,开菲尔粒常用于发酵乳制品,但存在部分消费者过敏或不耐受的缺陷,此外,世界上有 6 亿人是素食主义者,素食和纯素产品行业以每年约 10% 的速度增长,也使得非乳制品发酵越来越受欢迎<sup>[3]</sup>。GIZEM 等<sup>[4]</sup>对开菲尔与水开菲尔进行了比较,发现水开菲尔除了蛋白质含量低外,其益生特性及其他品质是素食主义者对益生菌摄入的理想替代。一般水开菲尔仅由水开菲尔粒、糖和水构成,口感和风味比较单一,因此,近年来以果蔬汁为基质的水开菲尔的开发逐渐引起人们关注。

果蔬中不仅含有维生素、多酚、黄酮等可以降低心血管疾病、免疫功能障碍、白内障等多种慢性疾病的生物活性物质<sup>[5]</sup>,而且含有丰富糖类可为开菲尔粒发酵提供良好基质。已有研究者们开展了水开菲尔粒在火龙果汁<sup>[6]</sup>、椰子汁<sup>[5]</sup>、沙枣汁<sup>[7]</sup>、果蔬复合汁<sup>[8]</sup>及苹果汁<sup>[9]</sup>等基质中发酵能力的探索,获得了最佳发酵工艺,并发现水开菲尔粒发酵后果蔬汁中乳酸菌、酵母菌菌群大量繁殖,理化特性及抗氧化能力显著提升。这些发酵果蔬饮料中的益生菌和膳食纤维可以协调发挥作用,尤其可以促进乳制品不耐症人群更健康的饮食和平衡的微生物菌群。现有对水开菲尔发酵产品的研究多集中发酵材料选择、工艺优化及发酵过程品质控制方面,贮藏品质关注较少,而产品感官、营养、益生菌群和功能特性的贮藏稳定性对开发产品走向市场也至关重要。

草莓为蔷薇科小浆果类水果,富含糖类、有机酸、花色苷等营养物质,皮薄多汁,以鲜食为主,但极易腐烂、鲜果储运困难,将其进行深加工可有效减少资源浪费及果农损失<sup>[10]</sup>,而目前将水开菲尔粒应用于鲜榨草莓汁制备活菌型饮料的报道较少。因此,本研究对水开菲尔粒在最佳发酵工艺条件下(草莓汁:10% 无菌糖水=6:4(体积比)、接种量 4%、发酵温度 25 ℃、发酵时间 48 h)发酵的草莓汁,在冷藏期间感官特性、主要理化指标、活菌数及抗氧化能力的变

化进行分析,综合评价其贮藏品质的稳定性,为草莓深加工及水开菲尔粒发酵果蔬汁的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

草莓(丰香) 淮南市水果批发市场;水开菲尔粒 淮南师范学院生物工程实验中心提供;果胶酶(3 万 U/g)、纤维素酶(1 万 U/g) 河南万邦实业有限公司;L-抗坏血酸 北京索莱宝科技有限公司;Folin 酚试剂、氢氧化钠、亚硝酸钠、硼酸 国药集团化学试剂有限公司;MRS 培养基、PDA 培养基、溴甲酚紫培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司;SOD 试剂盒、ABTS 试剂盒、DPPH 试剂盒 南京建成生物工程研究院。

SpectraMax M2e 酶标仪 美谷分子仪器(上海)有限公司;SW-CJ-2FD 标准型双人单面净化工作台 苏州博莱尔净化设备有限公司;LDZM-80-II 立式高压灭菌器 上海申安医疗器械厂;ZXSD-A1090 生化培养箱 上海智城分析仪器制造有限公司;Evolution350 紫外可见分光光度计 美国赛默飞世尔科技公司;PHS-3C pH 计 上海越平科学仪器(苏州)制造有限公司;WAY-80 阿贝折光仪 山东昊洲矿业安全装备有限公司;3nh 色差仪 广东三恩时智能科技有限公司;Z216M 台式高速离心机 贺默(上海)仪器科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 水开菲尔粒发酵草莓汁制备 挑选新鲜、无病害草莓,用蒸馏水冲洗后,以草莓:水=2:1(质量比)打浆,匀浆置于大烧杯中,按质量比分别添加 0.05% 抗坏血酸和 0.2% 的果胶酶和纤维素酶(果胶酶:纤维素酶=3:1),混匀后,以 8 层纱布封口,42 ℃ 水浴锅中保温 35 min。快速降温后用 200 目滤布过滤,然后于水浴锅中 85 ℃,20 min 杀菌,冷水冷却,即得到草莓汁。于超净工作台上,草莓汁:10% 无菌糖水=6:4(体积比)分装于锥形瓶中,按每瓶质量比 4% 接种水开菲尔粒,于 25 ℃,发酵 48 h(本发酵条件由课题组前期,以乳酸菌活菌数、总酸和感官评分为响应指标,通过单因素实验和响应面试验优化得到)后取出,无菌条件下过滤出水开菲尔粒,发酵草莓汁置于 4 ℃ 冰箱冷藏,分别于第 0、7、14、21、28 d 取样进行理化指标、活菌数、抗氧化特性和感官特性检测。

1.2.2 基本理化指标测定 pH 和总可溶性固形物 (Total Soluble Solid, TSS) 分别采用 pH 计和阿贝折光仪测定, 其中 TSS 以 °Brix 表示; 总可滴定酸 (Total Titratable Acidity, TTA) 参照 GB/T 12456-2008《食品中总酸的测定》中的电位滴定法测定; 色泽采用色差计测定  $L^*$  值 (亮度)、 $a^*$  值 (红绿度)、 $b^*$  值 (黄蓝度); 悬浮稳定性测定参照尹琳琳等<sup>[11]</sup> 方法;  $\text{CO}_2$  含量以发酵后的失重量间接估算所得<sup>[8]</sup>, 以 g/100 mL 表示。V<sub>C</sub> 含量根据 GB 5009.86-2016《食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定》中 2,6-二氯酚磺酞测定法测定 (滴定之前以白陶土脱色)。

1.2.3 总花色苷测定 参考单云辉等<sup>[12]</sup> 的方法测定。取 1 mL 发酵草莓汁, 加入 4 mL 70% 乙醇, 调整 pH 至 3 后, 于 4 °C 冰箱中放置 2 h 后, 4200 r/min 离心 10 min 取上清液。同时进行两组, 分别加入 0.025 mol/L 的氯化钾缓冲液 (pH=1) (A 组) 和 0.4 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH=4.5) (B 组) 各 9 mL, 分别加入样品上清液 1 mL, 以蒸馏水调零, 分别于 510 nm 和 700 nm 波长处测定吸光度, 总花色苷含量按矢车菊素-3-葡萄糖苷含量记, 计算公式如式 (1)、式 (2)。

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \quad \text{式 (1)}$$

$$\text{总花色苷含量 (mg/100 mL)} = \frac{A \times M \times F \times V_1}{V \times L \times \varepsilon} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: M 为矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔分子量, 433 g/mol; F 为稀释倍数;  $V_1$  为上清液体积, mL; V 为样品体积, mL; L 为比色皿光程, 1 cm;  $\varepsilon$  为矢车菊素-3-葡萄糖苷摩尔消光系数,  $2.24 \times 10^4$  L/(mol·cm)。

1.2.4 总酚和总黄酮含量的测定 总酚和总黄酮含量的测定均参考王炬等<sup>[13]</sup> 的方法。总酚含量采用福林-酚比色法, 以 0~50 mg/100 mL 浓度范围的一水没食子酸 (Gallic Acid Equivalent, GAE) 标准溶液制作标准曲线, 线性回归方程为  $y=0.0051x+0.0026$  ( $R^2=0.997$ ), 总酚含量以 mg GAE/100 mL 计; 总黄酮含量采用  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO})_3\text{-NaOH}$  比色法, 以 0~80 mg/L 浓度范围的芦丁标准溶液制作标准曲线, 线性回归方程为  $y=0.0012x+0.0018$  ( $R^2=0.998$ ), 总黄酮含量以 mg 芦丁/L 计。

1.2.5 抗氧化能力测定 取不同贮藏时间的发酵草莓汁, 在 4200 r/min 离心 10 min, 取上清液检测其抗氧化能力。分别利用 SOD 酶活性测定试剂盒法、DPPH 自由基清除能力试剂盒法和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除力试剂盒法进行其 SOD 酶活性、DPPH 自由基清除能力和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除力的测定。

1.2.6 微生物计数 乳酸菌和酵母菌计数分别依据 GB/T 4789.35-2016《食品微生物学检验 乳酸菌检验》和 GB 4789.15-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》进行检测。醋酸菌计数参考张甜<sup>[14]</sup> 方法进行, 采用溴甲酚紫琼脂培养基, 30±1 °C 培养 48±2 h。结果均以 lg CFU/mL 表示。

1.2.7 感官特性评价 对冷藏期间水开菲尔草莓汁的感官评价由来自食品综合实验室的教师和学生组成, 共 10 人。采用嗜好性感官检验法, 分别对样品的色泽、滋味、气味、组织状态、整体接受度等方面以 10 分制量表法进行 (10=非常喜欢, 1=非常不喜欢)。每个样品在冷藏室中取出分为 3 份, 60 mL/份于透明杯中, 以字母+数字的方式随机编号。提供常温纯净水供每个样品品评后漱口<sup>[15]</sup>。

### 1.3 数据处理

所有样品重复检测 3 次, 结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS17.0 软件对结果进行统计分析, 邓肯比较法 (Duncan) 检验进行差异性显著分析, 以  $P<0.05$  为显著水平, 利用 Origin8.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间基本理化品质变化

果汁的 pH、总酸度、色泽、总可溶性固形物等基本理化指标是评价其品质的重要依据。其中, pH、总可滴定酸反映饮料的酸度变化, 不但可反映果汁的适口性, 还与保藏特性有关, 总可溶性固形物一般指所有溶解于水的化合物的总称, 在饮料中主要指可溶性糖, 色泽和悬浮稳定性具有最直观的视觉冲击性, 是果汁是否受消费者接受的重要感官指标。因水开菲尔粒发酵会有  $\text{CO}_2$  产生, 给果汁带来特殊的口感, 本研究对冷藏期间的  $\text{CO}_2$  含量也进行了分析。

由表 1 可知, pH 在 28 d 冷藏期间的变化范围为 3.27~3.56, 其中, 前 14 d 的 pH 变化很小, 21 d 后出现较显著降低 ( $P<0.05$ )。总可滴定酸在 21 d 后呈

表 1 发酵草莓汁在冷藏期间基本理化指标变化

Table 1 Changes of basic physicochemical indexes of fermented strawberry juice during refrigeration

贮藏时间(d)	pH	TSS(°Brix)	TTA(g/L)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	悬浮稳定性(%)	$\text{CO}_2$ (g/100 mL)
0	3.56±0.01 <sup>b</sup>	2.0±0.01 <sup>a</sup>	5.94±0.05 <sup>a</sup>	9.62±0.11 <sup>b</sup>	6.68±0.1 <sup>b</sup>	4.52±0.05 <sup>a</sup>	56.6±0.74 <sup>d</sup>	3.14±0.02 <sup>c</sup>
7	3.51±0.03 <sup>b</sup>	1.9±0.04 <sup>a</sup>	5.92±0.07 <sup>a</sup>	9.54±0.21 <sup>b</sup>	6.89±0.05 <sup>b</sup>	4.47±0.01 <sup>a</sup>	55.8±0.41 <sup>d</sup>	1.24±0.01 <sup>b</sup>
14	3.48±0.02 <sup>b</sup>	1.7±0.02 <sup>a</sup>	5.86±0.02 <sup>a</sup>	9.47±0.15 <sup>b</sup>	6.84±0.08 <sup>b</sup>	5.41±0.04 <sup>b</sup>	42.1±0.23 <sup>c</sup>	1.01±0.01 <sup>b</sup>
21	3.31±0.01 <sup>a</sup>	1.9±0.02 <sup>a</sup>	6.27±0.1 <sup>b</sup>	9.52±0.09 <sup>b</sup>	5.85±0.01 <sup>a</sup>	5.73±0.07 <sup>c</sup>	35.4±0.71 <sup>b</sup>	0.68±0.02 <sup>a</sup>
28	3.27±0.03 <sup>a</sup>	1.9±0.04 <sup>a</sup>	6.11±0.06 <sup>b</sup>	8.61±0.14 <sup>a</sup>	5.18±0.02 <sup>a</sup>	7.32±0.12 <sup>d</sup>	31.2±0.46 <sup>a</sup>	0.52±0.01 <sup>a</sup>

注: 同指标肩标字母不同表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

显著增加( $P<0.05$ ),与 pH 变化规律相反,整体变化区间在 5.86~6.27 g/L。而 FERHAT 等<sup>[16]</sup>发现山茱萸,山楂,红李子,玫瑰和石榴汁水开菲尔在贮藏过程中可滴定酸呈规律性增加,pH 变化范围在 3.11~3.65 呈逐渐降低趋势。这说明发酵原料、菌粒来源、发酵过程和贮藏时间等因素都会对水开菲尔粒发酵果汁的 pH 和可滴定酸度值产生影响。TSS 在整个冷藏期间基本没有变化(1.7~2.0°Brix),PEDRO 等<sup>[17]</sup>对热带水果开菲尔饮料冷藏期间的 TSS 也没有明显变化,而与 KHATOON 等<sup>[18]</sup>研究中出现的显著下降不同。这可能与发酵材料不同,发酵液中有有机酸等可溶性物质的积累增补了因糖被分解带来的 TSS 降低。

水开菲尔草莓汁的色泽检测结果显示, $L^*$ 与 $a^*$ 在冷藏期间出现降低趋势, $b^*$ 值呈升高趋势,其中 $L^*$ 值在冷藏后期 28 d 时呈显著降低( $P<0.05$ ),前期变化不显著, $a^*$ 值在 21 d 时出现显著降低( $P<0.05$ ), $b^*$ 值在 14 d 时显著增加( $P<0.05$ ),说明开菲尔草莓汁在冷藏后期,亮度和红度会降低,黄度升高。而 PEDRO 等<sup>[17]</sup>利用开菲尔粒发酵芒果、巴西莓果浆在 30 d 冷藏期间其各色差值 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 均呈规律性降低的规律,与本研究结果不同,这与不同发酵的色素物质的特性差异和菌粒来源不同有关。

悬浮稳定性表征数值越接近 100%,说明果汁沉淀越少,悬浮稳定性越高<sup>[11]</sup>。本研究用草莓汁制备过程中仅经粗滤处理,为浊汁,其未发酵汁悬浮稳定性仅为 48.2%,而经水开菲尔粒发酵后升高为 56.6%,发酵汁随着冷藏时间的延长呈降低趋势,尤其在 14 d 后显著降低( $P<0.05$ ),至第 28 d 时降为 31.2%。水开菲尔粒发酵后草莓汁悬浮稳定性升高,可能是由于微生物的大量繁殖,会产生可分解草莓汁中细胞壁和果胶等大分子物质的酶,使其更澄清,而在冷藏期间出现降低,可能是由于在静置贮藏过程中微生物菌体沉降、果汁中固形物凝聚成团所致, $CO_2$ 是水开菲尔粒重要的代谢物之一,果汁中的可发酵糖通常会被 Saccharomyces 型酵母转化为乙醇和 $CO_2$ <sup>[19]</sup>。本研究中开菲尔草莓汁在冷藏初期,即刚发酵结束时(0 d)产生了 3.14 g/100 mL  $CO_2$ ,在冷藏过程中 $CO_2$ 含量急剧降低,这与低温下微生物代谢较慢有关。

## 2.2 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间总花色苷和 $V_C$ 含量变化

花色苷是一类由糖苷键将色素与糖结合而成的物质,草莓中含有丰富的花色苷。花色苷不但赋予水果不同的颜色,还具有清除自由基、保护视力、抗肿瘤等功效。如图 1 所示,开菲尔草莓汁中总花色苷含量在 28 d 冷藏期间未发生显著变化(8.5~7.8 mg/100 mL),这与 AMENE 等<sup>[20]</sup>报道的乳酸菌发酵山茱萸樱桃汁的花色苷在冷藏的 28 d 期间的变化趋势相近。草莓花色苷一般在低温下稳定性较高,本研究中其总含量也基本稳定,但色差结果显示(表 1)冷藏

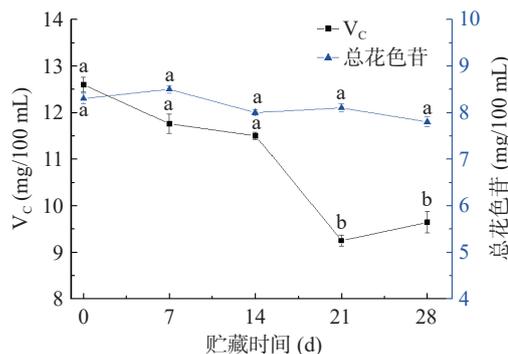


图 1 发酵草莓汁在冷藏期间总花色苷和 $V_C$ 含量变化

Fig.1 Changes of total anthocyanins and  $V_C$  contents in fermented strawberry juice during refrigeration

注:不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ );图 2~图 5 同。

后期其红度出现较明显降低,黄度增加,可能与开菲尔草莓汁中的乳酸、乙酸等酸的影响有关,因为有机酸、醇等物质的存在会促使花青素发生如自结合和共着色,而转化为其衍生色素,如与黄烷-3-醇和原花青素形成聚合花青素,以及形成新的色素,如吡喃花青素,从而改变原有颜色状态<sup>[21]</sup>。

抗坏血酸是一种天然的具有强抗氧化活性物质,广泛存在于果蔬中。发酵草莓汁抗坏血酸含量在冷藏期间变化范围为 9.25~12.6 mg/100 mL,随着贮藏时间的延长呈下降趋势,在贮藏第 0~14 d 降低不显著,在第 21 d 时显著降低了 26.6%( $P<0.05$ ),21~28 d 期间无明显变化。PEDRO 等<sup>[17]</sup>报道抗坏血酸与总酸呈负相关与 pH 呈正相关,因为抗坏血酸可以在酸性水溶液中通过好氧和厌氧反应降解为褐变化合物。整体上看, $V_C$ 在冷藏期间的稳定性较高,这也可能与发酵草莓汁中 $CO_2$ 的产生,氧气含量极低有关。

## 2.3 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间总酚和总黄酮含量变化

水果中的酚类物质不但具有抗氧化、增强免疫力等生理活性功能,对其风味和感官品质也有保护作用。图 2 显示,水开菲尔粒发酵草莓汁中总酚含量在冷藏 0~14 d 期间呈显著降低( $P<0.05$ ),但仍为冷

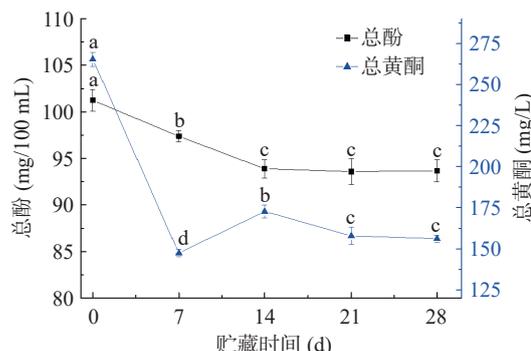


图 2 发酵草莓汁在冷藏期间总酚和总黄酮含量变化

Fig.2 Changes of total phenol and total flavone contents in fermented strawberry juice during refrigeration

藏初期的 90% 以上,在 14 d 后随着贮藏时间延长变化不显著( $P>0.05$ );FERHAT 等<sup>[16]</sup>发现与贮藏初期相比,在贮藏末期(28 d)山茱萸,山楂,红李子,玫瑰和石榴汁开菲尔的总酚含量均呈显著性降低( $P<0.05$ ),并且不同水果变化幅度有明显差异。总酚类物质的降低,一方面可能归因于参与发酵的不同乳酸菌菌株对酚类化合物的代谢降解<sup>[19]</sup>,另一方面开菲尔产品在储存过程中的酸度及其过程诱导总多酚-蛋白质脱链,这一反应可能会降低样品中的总酚水平<sup>[20]</sup>。

总黄酮含量在冷藏期间总体呈下降趋势,最大降低幅度在第 7 d 时出现,为 44.4%,而后随着贮藏时间的延长出现交替升降变化,交替变化出现的原因可能由于一方面含有类黄酮的酚类化合物被乳酸菌用作细菌生长的营养物质,另一方面多菌群微生物的生长代谢会引起复杂的物质转化,在一定时期内弥补了总黄酮的消耗,以致出现含量降低后又升高的现象。

而ŁOPUSIEWICZ 等<sup>[22]</sup>也观察到了开菲尔粒发酵亚麻籽油冷藏过程中总酚和总黄酮的波动,总黄酮呈显著下降,但总酚与本研究结果相反,呈现出增加趋势,这可能与发酵材料性质差异和菌粒来源不同有关。有研究认为,在没有光和氧的情况下,酚类化合物的含量在冷藏期间没有显著变化<sup>[20]</sup>,因此,保藏条件对其保藏稳定性控制具有重要作用。

#### 2.4 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间抗氧化能力变化

超氧化物歧化酶(SOD)是一种超氧化物自由基清除剂,是生物体内源性抗氧化系统的组成部分,本研究对开菲尔草莓汁在冷藏期间 SOD 活性变化进行了检测,作为其抗氧化性能稳定性的重要依据,结果见图 3。随着冷藏时间的延长,SOD 活性逐渐降低,由第 0 d 时的 1.84 U/mL 降低至 28 d 时的 1.54 U/mL,降低了 16%,这可能与果汁中酸度的增加及乳酸菌活菌数的降低有关,WU 等<sup>[23]</sup>研究了功能水改性果汁在贮藏期间 SOD 先升高后降低的趋势,可能是由于贮藏前期功能水激发了 SOD 活性。ESPIRITO-SANTO 等<sup>[24]</sup>进行乳酸菌发酵苹果汁品

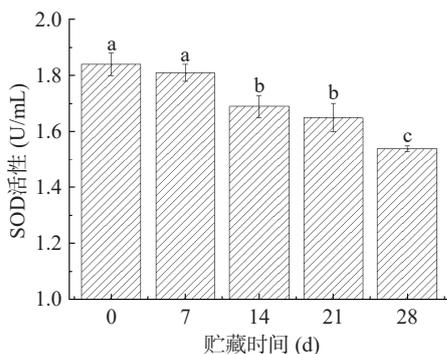


图 3 发酵草莓汁在冷藏期间 SOD 活性变化

Fig.3 Changes of SOD activity in fermented strawberry juice during refrigeration

质研究中发现,乳酸杆菌具有产生 SOD 的能力,且 SOD 活性与乳酸菌活菌数呈显著正相关,并指出因为 SOD 的存在最大限度地减少了在有氧条件下发酵过程中积累的活性氧对活菌的有害影响。

DPPH 和 ABTS<sup>+</sup>自由基清除法是广泛应用的衡量天然物质体外抗氧化能力的常用方法。如图 4 所示,水开菲尔草莓汁 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力在冷藏期间出现了下降现象,变化规律差异较大。其中,DPPH 自由基清除率仅在 28 d 时出现了较明显降低( $P<0.05$ ),在 0~21 d 内均无明显变化,其值在冷藏末期保持在 80% 以上;而 ABTS<sup>+</sup>自由基清除率在冷藏前高达 91.72%,而在冷藏开始即出现显著降低( $P<0.05$ ),且随着冷藏时间的延长持续降低,在 28 d 时降低了 28.3%。同样地,AMENE 等<sup>[20]</sup>报道了乳酸菌发酵山茱萸樱桃汁的抗氧化活性在冷藏的 28 d 期间也发生了明显下降。抗氧化活性的下降可能是由于不同化合物(如酚类化合物、蛋白质和多糖)的联合作用,包括协同作用和拮抗作用。而 GÜLHAN<sup>[25]</sup>利用开菲尔粒发酵复合果蔬汁(薄荷汁、黄瓜汁、菠菜汁和苹果汁)在冷藏 6 d 期间,其 DPPH 自由基清除能力逐渐升高,且在第 6 d 贮藏末期时达到最高,与本研究结果差异较大,这可能与菌种、发酵材料有关。

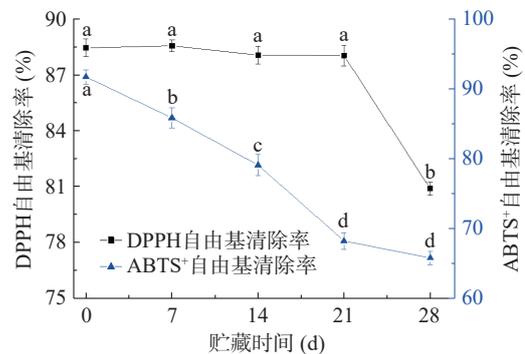


图 4 发酵草莓汁在冷藏期间 DPPH 和 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力变化

Fig.4 Changes of DPPH and ABTS<sup>+</sup> free radical scavenging ability of fermented strawberry juice during refrigeration

研究表明果蔬汁的抗氧化能力与总酚类物质的变化规律相近,两者具有密切相关性<sup>[16]</sup>。本研究中 DPPH 自由基变化规律与总酚含量变化相近,降低幅度较小,而 ABTS<sup>+</sup>自由基变化规律与总酚差异较大,这一方面与自由基清除机理差异有关,另一方面有研究指出,水开菲尔产品的抗氧化活性除与食品原料的抗氧化物质有关外,开菲尔粒在发酵过程中产生的胞外多糖结构中的生物活性成分也发挥了重要作用,它可通过增强免疫系统,减少氧化损伤和减少活性氧成分的方式来抑制氧化应激<sup>[26]</sup>。此外,开菲尔草莓汁中含有的总黄酮、抗坏血酸和总花色苷类物质均具有抗氧化能力。

#### 2.5 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间微生物数量变化

水开菲尔粒是包含有乳酸菌、酵母菌、醋酸菌等

多种益生菌群的复合菌粒,其在贮藏期间各菌群的稳定性是评价水开菲尔食品品质稳定的关键指标。如图5所示,草莓水开菲尔中乳酸菌和酵母菌活菌数在冷藏过程中活菌数变化范围分别为6.14~7.04 lg(CFU/mL)和5.86~6.79 lg(CFU/mL),其中乳酸菌在前21 d无明显降低,而在21~28 d时出现显著降低( $P<0.05$ ),与冷藏前比较降低了将近1 lg(CFU/mL);酵母菌在第21 d时下降幅度加大,28 d时降低了约14%;随冷藏时间的延长,醋酸菌数逐渐增加(5.16~5.98 lg(CFU/mL)),至21 d时数值最大,增加了16%。前人研究也发现了水开菲尔中的乳酸菌和酵母数量随发酵时间和温度、糖类型、浓度和储存时间的不同而变化<sup>[6,17,25]</sup>。

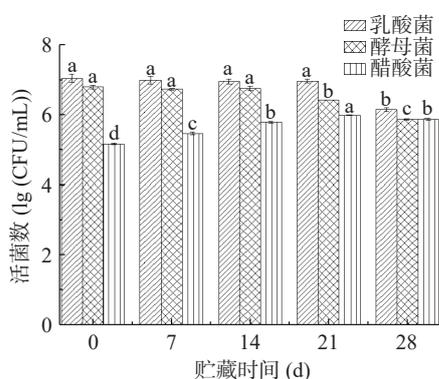


图5 发酵草莓汁在冷藏期间各益生菌活菌数变化  
Fig.5 Changes of the viable count of the probiotics in fermented strawberry juice during refrigeration

在28 d冷藏期间,乳酸菌计数保持在6 lg(CFU/mL)以上,这表明,考虑到100 mL发酵果汁的剂量,可以达到通常推荐的每日益生菌摄入量为8 log CFU对宿主有益的要求。

本研究与前人研究中有类似结果,如KOH等<sup>[27]</sup>研究也发现,在4℃的温度下,水开菲尔的乳酸菌数量相对减少,特别是在储存第28 d降低幅度达到2 lg(CFU/mL)的水平。FERHAT等<sup>[16]</sup>使用山茱萸樱桃,山楂,红梅,玫瑰和石榴汁发酵的水开菲尔饮料在冷藏28 d后乳酸菌数量均出现减少现象,其中,玫瑰果、石榴和红梅饮料的酵母菌数量也出现减少。ATALAR<sup>[28]</sup>利用榛子油开菲尔发酵饮料中乳酸菌和酵母菌数在储藏期间也出现降低。一般认为乳酸菌、酵母菌活细胞的减少是由于在后期储存中生长所需的营养物质减少所致<sup>[27]</sup>。而也有研究出现不同结果,如FERHAT<sup>[16]</sup>发现在贮藏结束时,水开菲尔粒发酵山茱萸和山楂饮料的酵母菌数量增加,并认为酵母数量的增加可能是由于乳酸菌、酵母菌和可能的醋酸菌之间的协同作用。现有水开菲尔粒发酵制品中醋酸菌在冷藏期间变化规律的研究报道较少。本研究中醋酸菌呈增加趋势,可能与发酵草莓汁中因酵母菌代谢产生的乙醇的积累为醋酸菌提供了发酵基质而利于其生长繁殖。不同研究结果变化幅度差异较大,与水开菲尔粒来源,pH,环境中溶解氧含量,

一些具有缓冲能力的代谢物如乳酸和乙酸的含量,储存温度和生产中使用的果汁的性质<sup>[27]</sup>。

## 2.6 水开菲尔粒发酵草莓汁冷藏期间感官品质变化

为观测冷藏期间水开菲尔草莓汁良好感官品质的稳定性,从色泽、滋味、气味和组织状态几个方面对其感官性状的变化进行了评价,结果如图6所示。可以看出,随着冷藏时间的延长,水开菲尔草莓汁的气味得分浮动最小,至28 d时得分还略高于贮藏前期,可能与冷藏后期微生物菌群会代谢积累更多的醇、酯等香味物质,且产生的二氧化碳助于其风味的释放有关;色泽、滋味和组织状态贮藏时间越长得分越低,其中,组织状态得分下降幅度最为显著,色泽在冷藏的0~14 d内无明显变化,21 d后出现显著降低,滋味的得分在21~28 d期间下降较为显著。水开菲尔草莓汁组织状态得分下降趋势与其在冷藏期间出现明显的沉淀显著相关( $P<0.05$ ),色泽分值的变化结合色差检测结果,与冷藏后期其红度降低、黄度增加趋势相近,滋味只有在后期分值有下降,基本保持较高得分,一方面与酸度的增加、口感偏酸有关,另一方面乳酸菌等会产生胞外多糖等物质,使其口感更丰厚。整体上来看,水开菲尔草莓汁在28 d冷藏期间除有明显沉淀分层外,色泽、滋味和气味的稳定性均较高。

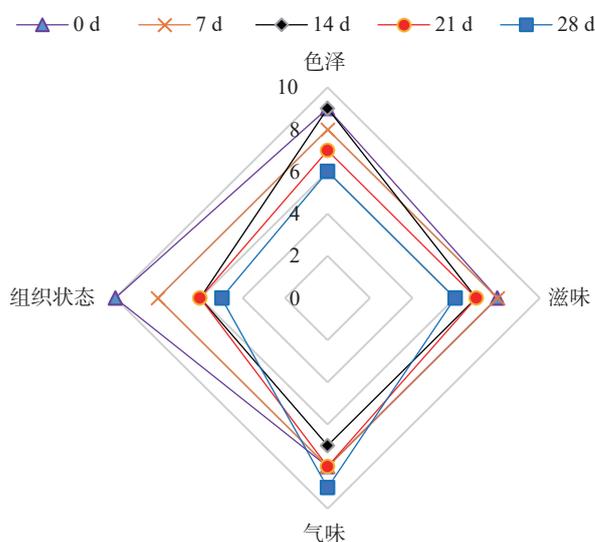


图6 发酵草莓汁在冷藏期间感官评分变化  
Fig.6 Changes of sensory scores of fermented strawberry juice during refrigeration

## 3 结论

在4℃冷藏期间,水开菲尔粒发酵草莓汁的酸度、TSS、色泽等主要理化指标,总花色苷和V<sub>C</sub>含量,抗氧化能力中SOD酶活性和DPPH自由基清除率,益生菌活菌数以及感官评价在0~14 d内均未发生显著变化,保持较高的稳定性,而总酚、总黄酮和ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力在此期间显著降低。在冷藏14 d后,TSS、总酚、总黄酮、总花色苷无显著变化,总可滴定酸、色度中b\*值(黄度值)和醋酸菌活菌数呈现明显升高,而pH、CO<sub>2</sub>含量、色度中L\*值(亮

度)、 $a^*$ 值(红度)、抗氧化性能、乳酸菌和酵母菌活菌数以及感官评分均出现较明显降低。整体上看,冷藏期间除  $V_C$  含量、总黄酮含量和 ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力分别降低了 26.6%、44.4% 和 28.3% 外,其它主要指标变化幅度均低于 20%,乳酸菌活菌数均保持在 6 lg CFU/mL 以上、酵母菌和醋酸菌活菌数也始终保持在 5 lg CFU/mL 以上,到冷藏至 28 d 仍可以达到通常推荐的每日益生菌摄入量为 8 log CFU 对宿主有益的要求(按 100 mL 发酵草莓汁摄入量计)。水开菲尔粒发酵草莓汁在 0~28 d 冷藏期间各项品质可保持较高稳定性。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### 参考文献

- [1] FIORDA F A, MELO P G V, THOMAZ-SOCCOL V, et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary Kefir fermentation-A review[J]. *Food Microbiology*, 2017, 66: 86–95.
- [2] 何雪畅,张爽,减鹏雯,等.开菲尔菌群的益生功效及其在发酵食品中的应用进展[J].*食品工业*,2016,37(10):220–223. [HE X C, ZHANG S, JIAN P W, et al. The probiotic function of kefir and its application progress in fermented food[J]. *The Food Industry*, 2016, 37(10): 220–223.]
- [3] BETORET E, BETORET N, ARILLA A, et al. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*[J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 110(2): 289–293.
- [4] GIZEM C, AYSE N E. Comparative analyses of milk and water kefir: Fermentation temperature, physicochemical properties, sensory qualities, and metagenomic composition[J]. *Food Bioscience*, 2023(55): 103079.
- [5] VANESSA A, THAMARYS S, ALINE F C, et al. Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 145: 111364.
- [6] BUENO R S, RESSUTTE J B, HATA N N Y, et al. Quality and shelf life assessment of a new beverage produced from water kefir grains and red pitaya[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 140: 110770.
- [7] PARIYA D, VALÉRIE O, JOSÉ L M. Process optimization for development of a novel water kefir drink with high antioxidant activity and potential probiotic properties from Russian Olive fruit (*Elaeagnus angustifolia*)[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2021, 14(2): 248–260.
- [8] JORGE L P, MARÍA L E, ISABEL M V. A new functional kefir fermented beverage obtained from fruit and vegetable juice: Development and characterization[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 154: 112728.
- [9] WALTER R, ONOFRIO C, ROSA G, et al. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms[J]. *Food Microbiology*, 2016, 54: 40–51.
- [10] 闫冲冲,张守芳,王前前,等.长丰草莓产业发展 SWOT 分析及建议[J].*农业与技术*,2020,40(21):140–143. [YAN C C, ZHANG S F, WANG Q Q, et al. SWOT analysis and suggestions on the development of Changfeng strawberry industry[J]. *Agriculture and Technology*, 2020, 40(21): 140–143.]
- [11] 尹琳琳,杨建涛,刘海涛,等.中温协同超高压处理对草莓汁贮藏品质的影响[J].*食品与机械*,2016,32(7):106–110. [YIN L L, YANG J T, LIU H T, et al. Effect of ultra-high pressure combined with mild-temperature processing on quality of strawberry juice during storage[J]. *Food & Machinery*, 2016, 32(7): 106–110.]
- [12] 单云辉,郗海燕,房祥军,等.不同包装材料对草莓果浆贮藏品质的影响[J].*食品科学*,2018,39(13):251–257. [SHAN Y H, GAO H Y, FANG X J, et al. Effects of different packaging materials on storage quality of strawberry pulp[J]. *Food Science*, 2018, 39(13): 251–257.]
- [13] 王炬,张秀玲,高宁,等.老山芹全株及其不同部位酚类物质含量及抗氧化能力分析[J].*食品科学*,2019,40(7):54–59. [WANG J, ZHANG X L, GAO N, et al. Polyphenolic content and antioxidant capacity of whole plants and different parts of *Heraclenm dissectum*[J]. *Food Science*, 2019, 40(7): 54–59.]
- [14] 张甜,马建玲,刘艳全,等.醋酸菌的分离及初步鉴定[J].*中国调味品*,2019,44(11):76–78. [ZHANG T, MA J L, LIU Y Q, et al. Isolation and preliminary identification of acetic acid bacteria[J]. *China Condiment*, 2019, 44(11): 76–78.]
- [15] CORONA O, RANDAZZO W, MICELI A, et al. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 66: 572–581.
- [16] FERHAT O, ECEM A, OZER K. Use of cornelian cherry, hawthorn, red plum, roship and pomegranate juices in the production of water kefir beverages[J]. *Food Bioscience*, 2021, 42: 101219.
- [17] PEDRO P L G T, EMANUELE A A, RENATA Q N, et al. Chemical, microbiological and sensory viability of low-calorie, dairy-free kefir beverages from tropical mixed fruit juices[J]. *Cy-TA-Journal of Food*, 2021, 19(1): 1457–1464.
- [18] KHATOON N, GUPTA R. K. Probiotics beverages of sweet lime and sugarcane juices and its physicochemical, microbiological & shelflife studies[J]. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2015, 4(3): 25–34.
- [19] SEPTEMBRE-MALATERRE A, REMIZE F, POUCHERET P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation[J]. *Food Research International*, 2018, 104: 86–99.
- [20] AMENE N, SARA S, AMIR M M. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2016, 21(3): 49–53.
- [21] RUTH H O M, ANTONIA Á F, ANA B C. Influence of storage conditions on the anthocyanin profile and colour of an innovative beverage elaborated by gluconic fermentation of strawberry[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 23: 198–209.
- [22] ŁOPUSIEWICZ Ł, EMILIA D, PAULINA S, et al. Development, characterization, and bioactivity of non-dairy kefir-like fermented beverage based on flaxseed oil cake[J]. *Foods*, 2019, 8: 544.
- [23] WU T J, SAKAMOTO M, PHACHARAPAN S, et al. Antioxidant characteristic changes, sensory evaluation, processing and storage of functional water modified juice[J]. *Food Bioscience*, 2023, 52: 102468.
- [24] ESPIRITO-SANTO A P, CARLIN F, RENARD C M G C. Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth?-A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics[J]. *Food Research International*, 2015, 78: 352–360.
- [25] GÜLHAN A. Physicochemical, microbiological and sensory analyses of functional detox juices fermented with water kefir grains[J]. *GIDA*, 2023, 48(4): 715–727.
- [26] BARBOZA K R M, COCO L Z, ALVES G, et al. Gastro protective effect of oral kefir on indomethacin-induced acute gastric lesions in mice: Impact on oxidative stress[J]. *Life Sciences*, 2018, 209: 370–376.
- [27] KOH W Y, UTHUMPORN U, ROSMA A, et al. Assessment of yeast, acetic and lactic acid bacteria isolated from water kefir grains and their application as starter culture in the production of fermented pumpkin-based water kefir beverages in improving gastrointestinal tract digestive tolerance and inhibition against  $\alpha$ -glucosidase[J]. *International Food Research Journal*, 2019, 26(2): 429–439.
- [28] ATALAR I. Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 107: 256–263.