

益生菌发酵对苹果浆理化性质、抗氧化活性及挥发性风味的影响

袁晶^{1,2}, 康三江^{1,2*}, 曾朝珍^{1,2}, 张海燕^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 兰州 730070;

2. 甘肃省果蔬贮藏加工技术创新中心, 兰州 730070)

摘要: 目的 探究益生菌发酵对苹果浆理化性质、抗氧化活性及挥发性风味物质的影响。**方法** 测定苹果浆发酵过程中活菌数、pH、总酸、总糖、还原糖、总酚、黄酮、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除能力、铁离子还原能力(ferric reducing antioxidant power, FRAP)和2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt, ABTS]阳离子自由基清除能力, 同时比较了发酵前后挥发性风味物质的变化。**结果** 发酵体系中活菌数、总酚、黄酮在发酵第3 d时达到最大值, 分别较发酵前提高了12.63%、17.63%和22.06%; FRAP与ABTS阳离子自由基清除能力在发酵第4 d达到最大值, 分别较发酵前提高了42.47%和10.45%; 可滴定酸含量与DPPH自由基清除能力随着发酵时间的延长逐渐增加, 发酵第7 d时, 分别升高了126.34%和26.32%; pH、总糖、还原糖含量较发酵前显著下降, 分别降低了57.59%、8.76%和8.03%。苹果浆经益生菌发酵后有41种挥发性风味物质, 新生成了15种, 减少了6种, 有26种与发酵之前相同, 其中酯类、醇类和酸类风味物质相对增加, 醛酮类风味物质降低, 新生成的风味物质多具有愉悦香气。**结论** 苹果浆可以作为益生菌发酵的良好基质, 发酵改善了苹果浆的抗氧化能力和风味。

关键词: 发酵; 益生菌; 苹果浆; 理化性质; 抗氧化活性; 挥发性风味

Effects of probiotics fermentation on physicochemical properties, antioxidant activity, and volatile flavor of fermented apple pulp

YUAN Jing^{1,2}, KANG San-Jiang^{1,2*}, ZENG Chao-Zhen^{1,2}, ZHANG Hai-Yan^{1,2}

(1. Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 2. Innovative Center for Storage and Processing Technology of Fruits and Vegetables in Gansu, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effects of probiotic fermentation on the physicochemical properties, antioxidant activity and volatile flavor substances of apple pulp. **Methods** The number of viable bacteria, pH, total acids, total sugars, reducing sugars, total phenols, total flavonoids, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-27)、甘肃省科技计划自然科学基金项目(21JR7RA727)

Fund: Supported by the China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-27), and the Project of Natural Science Foundation of Gansu (21JR7RA727)

*通信作者: 康三江, 研究员, 主要研究方向为农产品贮藏与加工。E-mail: kang58503@163.com

Corresponding author: KANG San-Jiang, Professor, Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, No.1, New Village, Academy of Agricultural Science, Lanzhou 730070, China. E-mail: kang58503@163.com

salt (ABTS) cation radical scavenging capacities during the fermentation of apple pulp were determined, and the changes of volatile flavor substances before and after fermentation were compared. **Results** The number of viable bacteria, total phenols and total flavonoids in the fermentation system reached the maximum at the 3th day of fermentation, which were higher than those before fermentation by 12.63%, 17.63% and 22.06%, respectively. The free radical scavenging capacity of FRAP and ABTS reached the maximum on the 4th day of fermentation, which was 42.47% and 10.45% higher than that before fermentation, respectively. The titratable acid content and DPPH radical scavenging ability increased gradually with the fermentation time, and increased by 126.34% and 26.32% on the 7th day of fermentation, respectively. The content of pH, total sugar and reducing sugar decreased significantly, by 57.59%, 8.76% and 8.03%, respectively. There were 41 kinds of volatile flavor compounds in apple pulp fermented by probiotics, 15 kinds of were newly produced, 6 kinds of were reduced, and 26 kinds of were the same as before fermentation, among which, esters, alcohols and acids were relatively increased, aldehydes and ketones were reduced, and most of the newly produced flavor compounds had pleasant aroma.

Conclusion Apple pulp can be used as a good substrate for probiotic fermentation, and fermentation improves the antioxidant capacity and flavor of apple pulp.

KEY WORDS: fermentation; probiotics; apple pulp; physicochemical properties; antioxidant activity; volatile flavor

0 引言

苹果性温味甜, 是世界四大水果之冠, 2022 年我国苹果产量 4100 万 t, 全球占比为 47.94%, 产量位居世界第一^[1]。苹果因其酸甜的口感和独特的香气, 在果汁加工行业使用广泛^[2]。中性的 pH 和丰富的营养, 使得苹果汁极易受到微生物污染, 无法长期保存。杀菌处理是苹果汁用来延长货架期和维持果汁品质的必要加工方式^[3]。目前常用的杀菌方式主要有热杀菌和非热杀菌两大类, 热杀菌虽能杀灭苹果汁中的微生物, 但会破坏苹果汁的营养成分并损失大量的香气物质^[4-5]。非热杀菌技术虽然可以延长苹果汁保质期, 但费用高昂, 极大地增加了加工成本^[6]。因此, 有必要寻找一种简单易行且营养保持良好的低成本方式来加工苹果汁。

食品发酵是微生物(如乳酸菌)在有氧或无氧条件下, 进行大分子物质转化的过程^[7]。中国拥有悠久的发酵历史, 1000 多年前人们就利用微生物发酵原理制作泡菜^[8]、浆水^[9]、醋^[10]等食品。利用发酵技术可以改善食品风味并延长保质期, 具有简单、高效、低成本的特点。益生菌被定义为“在摄入一定数量后, 有益宿主健康的一类微生物”^[11], 益生菌可以通过调节肠道菌群和增强肠道屏障功能等多种方式改善肠道, 促进宿主健康^[12]。已有研究表明, 苹果汁可作为益生菌发酵的良好载体^[13-15]。Ji 等^[16]利用乳杆菌发酵苹果汁, 结果表明发酵可以显著提高苹果汁中有机酸和多酚含量, 发酵显著增强了苹果汁抗氧化能力和功能性。张晶等^[17]研究发现苹果汁经短乳杆菌发酵后的品质明显优于发酵前, 发酵后乳酸、富马酸、乙酸、奎宁酸含量显著增多, 苹果酸、琥珀酸含量均持续减少。

苹果全果浆是苹果去核后直接打浆得到的黏稠状浆体, 很大程度保留了苹果的膳食纤维、矿物质和维生素等营养元素, 并且减少苹果渣排放, 对保护环境有积极作用。因此, 研究苹果全果浆的利用是有必要的。但目前人们研究主要集中在苹果汁方面, 而对于苹果的全果浆发酵, 尤其是苹果浆发酵后的理化性质、功能成分和风味物质研究较少。

因此, 本研究以苹果浆为原料, 通过分析比较发酵过程的理化性质、抗氧化活性和发酵前后挥发性风味物质的变化, 旨在为苹果发酵全果浆提供新方法, 为工业化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“长富二号”苹果(Nagafu No.2): 甘肃省平凉市静宁县。植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* CICC21824)、青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis* CICC6175)(中国工业微生物菌种保藏管理中心); MRS 肉汤培养基(北京奥博星生物技术有限责任公司); 果胶-纤维素复合酶(8 万 U/g, 宁夏和氏璧生物技术有限公司); 总糖含量测定试剂盒、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基清除能力试剂盒、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt, ABTS]阳离子自由基清除能力试剂盒、铁离子还原能力(ferric reducing antioxidant power, FRAP)试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司); 3-辛醇(色谱级, 美国 Sigma 公司); 其他分析

纯或色谱纯试剂(国药集团化学试剂有限公司或美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器与设备

Trace1310 气相色谱质谱联用仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); DB-WAX 色谱柱($30\text{ m}\times0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$) (美国安捷伦科技有限公司); SpectraMax 190 型酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); ZHJH-C112B 型超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司); BL-75G 型立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); Scientz-IID 超声波打浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司); PB-10 型 pH 计(德国 Sartorius 集团公司); H1850R 医用离心机(湘仪离心机仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种活化

分别取植物乳杆菌 CICC21824 和青春双歧杆菌 CICC6175 的适量冻干菌粉与 100 mL MRS 液体培养基充分混合, 37°C 活化 24 h 后, 吸取 1 mL 菌液接种于 150 mL MRS 液体培养基中继续活化 24 h。取上述菌液于 $12000\text{ r}/\text{min}$, 4°C 离心 5 min 后, 无菌条件下收集菌体, 超净台中无菌生理盐水洗涤离心 2 次后, 用 1 mL 无菌生理盐水溶解备用。

1.3.2 苹果浆制备与发酵

新鲜苹果清洗去核打浆后, 快速加入 0.06% 亚硫酸钠搅拌均匀, 加入果胶-纤维素复合酶 50°C 酶解 30 min 后^[18], 用 NaHCO_3 调整 pH 至 4.5 左右, 90°C 水浴灭菌 15 min。灭菌结束后迅速冷却至室温, 置于超净工作台中接种[接种条件: 21824:6175=1:1 ($V:V$), 8%, $8.0\text{ lg}(\text{CFU}/\text{mL})$], 于 34°C 培养 7 d, 分别在第 1、2、3、4、5、6 和 7 d 同一时间取样, 测定指标。以相同条件灭菌未接种的苹果浆作为对照(第 0 d)。

1.3.3 活菌数测定

参考 GB 4789.35—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》, 使用稀释涂布平板法测定活菌数, 结果以发酵液中活菌数的对数表示, 单位为 $\text{lg}(\text{CFU}/\text{mL})$ 。

1.3.4 理化指标测定

pH: 采用 PB-10 pH 计测定发酵苹果浆的 pH。

总酸: 参考 GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》, 使用酸碱滴定法测定发酵苹果浆可滴定酸, 结果以 g/L 乳酸计。

总糖: 采用总糖试剂盒进行检测, 结果以 glucose equivalent (GE) mg/mL 表示。

还原糖: 采用 3,5-二硝基水杨酸法(3,5-dinitrosalicylic acid colorimetry, DNS) 测定还原糖^[19], 结果以 glucose

equivalent (GE) mg/mL 表示。

1.3.5 总酚、黄酮含量测定

总酚: 采用总酚试剂盒进行检测。

黄酮: 采用黄酮试剂盒进行检测。

1.3.6 抗氧化能力的测定

DPPH 自由基清除能力、ABTS 阳离子自由基清除能力、FRAP: 采用 DPPH 自由基清除能力试剂盒、ABTS 阳离子自由基清除能力试剂盒、FRAP 试剂盒检测。

1.3.7 挥发性成分的测定

采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法(head space-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME/GC-MS) 测定挥发性化合物, 根据黄豪等^[20]的方法略加修改。取发酵第 3 d 的苹果浆, $12000\text{ r}/\text{min}$, 4°C 离心 5 min 后取上清液。向 5 mL 上清液液中加入 1 g NaCl 和 50 μL 3-辛醇内标溶液, 混匀后 4°C 冷藏过夜。将样品顶空微萃取, 60°C 吸附 30 min。使用 DB-WAX 色谱柱($30\text{ m}\times0.25\text{ mm}$, $0.25\text{ }\mu\text{m}$) 分离挥发性物质。气相色谱条件: 进样温度 25°C , He 作为载气, 流速 $1.2\text{ mL}/\text{min}$ 。升温程序: 40°C 保温 3 min, 以 $6^\circ\text{C}/\text{min}$ 速度升温至 180°C , 保持 2 min, 然后以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率升至 230°C , 保持 6 min。

质谱条件: 电子轰击离子源, 电离能量为 70 eV, 离子源温度为 200°C , 接口温度为 250°C , 扫描范围为 $33.00\sim450.00\text{ amu}$ 。

1.4 数据处理

所有实验结果均重复 3 次, 实验数据处理采用 Microsoft Excel 2016 和 SPSS 16.0 软件, 采用 Origin 2021 软件进行绘图处理。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中活菌数、可滴定酸和 pH 含量的变化

如图 1 所示, 益生菌发酵苹果浆中的活菌数呈现先增加后减少的趋势。在发酵第 0~3 d, 活菌数呈对数增长, 在第 3 d 达到最大值($9.01\pm0.04\text{ lg}(\text{CFU}/\text{mL})$), 较发酵前($8.00\pm0.05\text{ lg}(\text{CFU}/\text{mL})$)提高了 12.63%, 表明苹果浆在不添加其他营养物质的条件下, 乳酸菌可以良好生长, 这一结果与 MANDHA 等^[21]的结论一致。随着发酵时间的延长, 发酵体系中积累的可滴定酸越来越多, 呈现逐步增加的趋势, 由发酵第 0 d ($2.05\pm0.12\text{ mg}/\text{mL}$) 增加至第 7 d ($4.64\pm0.06\text{ mg}/\text{mL}$), 较发酵前增加了 126.34%; pH 呈现越来越低的趋势, 由发酵第 0 d 5.5 ± 0.15 降低至第 7 d 3.49 ± 0.19 , 较发酵前下降了 57.59%, 同时发酵的口感也越来越酸。酸度的增加, 可能是乳酸菌生长代谢产生了大量的乳酸、乙酸和氨基酸, 导致酸度增加、pH 降低^[22]。

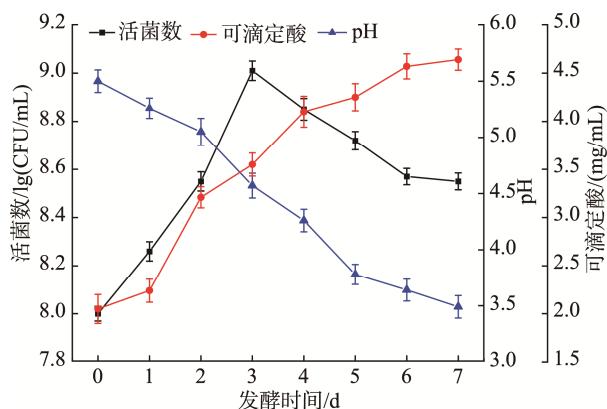


图 1 苹果浆发酵过程中活菌数、可滴定酸和 pH 的变化

Fig.1 Changes in viable cell count, total titratable acid and pH during apple pulp fermentation

2.2 发酵过程中总糖、还原糖的变化

糖是发酵过程中乳酸菌生长代谢的重要碳源^[23]。如图 2 所示, 发酵前(第 0 d)总糖和还原糖含量分别为(112.01 ± 0.85) mg/mL 和(85.70 ± 1.11) mg/mL。随着发酵时间的延长, 总糖和还原糖均呈下降趋势, 发酵第 6 d 时下降趋势趋于缓慢, 至发酵第 7 d 时含量分别为(102.99 ± 0.50) mg/mL 和(79.33 ± 1.23) mg/mL, 较发酵前分别下降了 8.76% 和 8.03%。有研究表明, 乳酸菌可利用糖类作为碳源进行生理代谢活动, 产生了有机酸(乳酸、乙酸等)代谢产物^[24-25], 在发酵过程中, 糖类的消耗与活菌数和总酸的变化趋势是一致的。

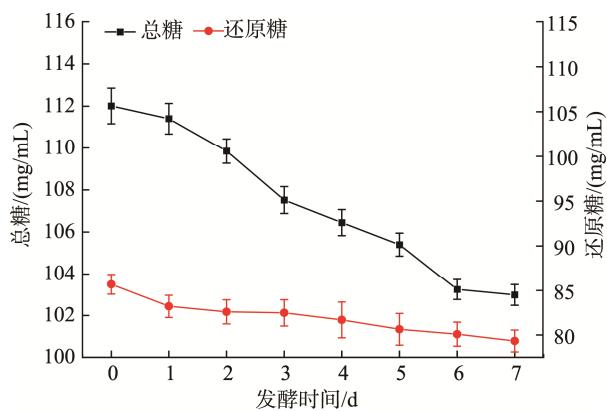


图 2 苹果浆发酵过程中总糖、还原糖的含量变化

Fig.2 Changes in total sugar and reducing sugar during apple pulp fermentation

2.3 发酵过程中总酚、黄酮的变化

由图 3 可知, 在发酵前 3 d, 益生菌发酵苹果浆过程

中总酚、黄酮含量均呈现显著上升趋势, 第 3 d 总酚和黄酮含量分别达到最大值, 总酚含量由发酵前(0.312 ± 0.05) mg/mL 增加至(0.367 ± 0.02) mg/mL, 黄酮含量由发酵前的(0.136 ± 0.02) mg/mL 增加至(0.166 ± 0.03) mg/mL, 较发酵前分别提高了 17.63% 和 22.06%, 随后缓慢下降。苹果中含有丰富的酚类、黄酮类化合物, 是重要的功能活性物质^[26]。乳酸菌在发酵过程中由于发酵体系酸度增加, 导致细胞壁破坏, 苹果细胞中的多酚、黄酮类物质溶出, 增加了多酚和黄酮的含量^[27]。杜袁莹^[28]研究发现, 经德氏乳杆菌乳酸亚种发酵后的苹果汁总酚含量达到 8.64 mg/L, 远高于未发酵样品, 这与本研究结论一致。

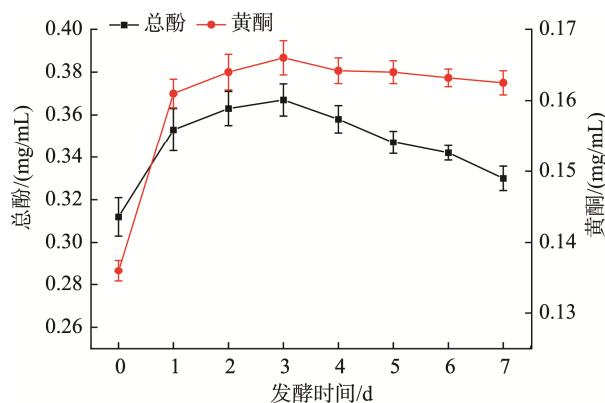


图 3 苹果浆发酵过程中总酚、黄酮含量变化

Fig.3 Changes in total phenols and total flavone during apple pulp fermentation

2.4 发酵过程中抗氧化能力的变化

运用 DPPH 自由基清除能力、FRAP 和 ABTS 阳离子自由基清除能力进一步评价苹果浆的抗氧化能力。如图 4 所示, FRAP 和 ABTS 阳离子自由基清除能力变化趋势相同, 呈现先增加后降低的趋势。发酵第 4 d FRAP 达到最大值, 由发酵前(0.73 ± 0.07) mg/mL 增加至(1.04 ± 0.06) mg/mL, 较发酵前提高 42.47%; 同时 ABTS 阳离子自由基清除能力也达到最大值, 由(4.21 ± 0.04) mg/mL 增加至(4.65 ± 0.07) mg/mL, 较发酵前提高 10.45%; DPPH 自由基清除能力呈现逐步增加的趋势, 由发酵前(0.76 ± 0.02) mg/mL 增长至(0.96 ± 0.02) mg/mL(发酵第 7 d), 较发酵前提高了 26.32%。DPPH 自由基清除能力、ABTS 阳离子自由基清除能力和 FRAP 与多酚含量变化有关。有研究表明, 较高的多酚含量有助于提升 DPPH 自由基的清除能力^[29]。LI 等^[30]研究发现, 微生物水解产生的酚类化合物和类黄酮可引起体系抗氧化能力的增加。此外, 发酵还会诱发细胞壁的结构分解, 导致各种抗氧化化合物的释放或合成。

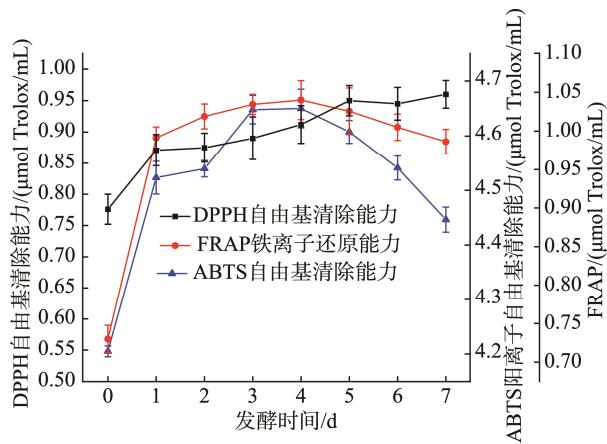


图 4 苹果浆发酵过程中抗氧化能力的变化

Fig.4 Changes in antioxidant activities during apple pulp fermentation

2.5 发酵前后挥发性成分分析

从表 1 可以看出, 苹果浆发酵前有 32 种挥发性风味物质, 其中醇类 4 种、酯类 4 种、酸类 8 种、醛类 4 种、酮类 12 种; 发酵后有 41 种挥发性风味物质, 其中醇类 6

表 1 苹果浆发酵前后挥发性风味成分变化

Table 1 Volatile compounds changes of apple pulp before and after fermentation

序号	名称	含量/(mg/L)	
		发酵前	发酵后
醇类			
1	2-乙基己醇	—	72.24
2	2-呋喃甲醇	29.01	22.74
3	异山梨醇	—	14.95
4	顺-1,2-环己二醇	—	1.58
5	1-(2-呋喃)-1,2-乙二醇	5.62	7.86
6	1-庚烯-4-醇	4.95	—
7	1-乙酸-1,2,3-丙二醇	1.55	1.82
酯类			
8	丙酸甲酯	—	69.56
9	丁酸乙酯	—	59.13
10	γ-丁内酯	50.21	57.10
11	2-羟基-2-甲基-丁酸甲酯	—	45.13
12	2-丙烯酸甲酯	—	33.76
13	(S)-(+)2',3'-双脱氧核糖酸-1,4-内酯	—	29.26
14	2-[(四氢-2H-吡喃-2-基)氧]-丙酸乙酯	—	17.75
15	2-糠酸甲酯	14.81	13.66
16	丁内酯	11.74	15.12
17	2-羟基-丙酸甲酯	—	10.31

序号	名称	含量/(mg/L)	
		发酵前	发酵后
18	乙酸异丁酯	—	3.62
19	4-戊烯酸乙酯	8.69	—
酸类			
20	乙酸	349.59	539.87
21	左旋乳酸	43.59	399.71
22	甲酸	199.10	113.62
23	4-氧-戊酸	64.44	38.93
24	3-羟基-丙酸	39.92	—
25	苯甲酸	38.04	35.26
26	丙酸	15.60	9.21
27	2-丙酸	14.52	7.82
醛类			
28	糖醛	317.07	236.90
29	5-羟甲基糠醛	330.43	330.38
30	5-乙酰氧甲基-2-糠醛	—	34.88
31	5-甲基糠醛	26.62	—
32	5-甲基-2-呋喃甲醛	—	25.60
33	甘油醛	15.09	22.00
34	丙酮醛	—	9.93
35	5-乙酰氧甲基-2-呋喃甲醛	—	34.88
酮类			
36	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基4H-吡喃-4-酮	216.15	320.77
37	1-羟基-2-丙酮	152.60	95.63
38	二羟基丙酮	55.85	29.36
39	2,5-二甲基呋喃-3-4-(2H,5H)-二酮	47.74	—
40	环戊-4-烯-1,3-二酮	42.52	21.27
41	(S)-5-羟甲基二氢呋喃-2-酮	35.03	—
42	3,5-二羟基-2-甲基-4H-吡喃-4-酮	31.71	20.13
43	6-氧-双环[3.1.0]己烷-3-酮	27.55	14.95
44	2-(5H)-呋喃酮	24.34	13.83
45	2-羟基-3-甲基-2-环戊烯酮	6.20	10.57
46	3-庚烯-2-酮	17.19	6.07
47	1-(2-呋喃酮)-乙酮	10.71	7.63

注: —表示未检测出。

种、酯类 11 种、酸类 7 种、醛类 7 种、酮类 10 种。发酵后的苹果浆中有 26 种风味物质与发酵前相同, 新增 15 种风味物质, 减少 6 种风味物质。增加的风味物质以酯类、醇类和酸类为主, 分别较发酵前增长了 314.75%、194.65% 和 49.64%。减少的风味物质主要以醛类、酮类为主。新生成的醇类、酯类风物物质多具有愉悦香气。2-乙基己醇、丙酸甲酯、丁酸乙酯、2-羟基-2-甲基-丁酸甲酯、2-丙烯酸甲酯、乙酸异丁酯等香气成分发酵前未检出, 发酵后含量显著升高。其中, 2-乙基己醇被赋予甜淡的花香气息, 丙酸甲酯是香气成分良好的溶剂, 丁酸乙酯、 γ -丁内酯、2-羟基-丙酸甲酯、乙酸异丁酯类物质具有苹果、香蕉、菠萝等成熟水果的芳香气味。醇类物质一般是乳酸菌通过氨基酸代谢产生的。酯类物质的风味阈值较低, 气味活度值相比其他物质较高, 所以对发酵风味的贡献较大^[31]。发酵后产生的酸类主要是乙酸、乳酸, 乙酸主要由乳酸菌通过丙酮酸-甲酸裂解途径产酸的产生, 有利于延长发酵苹果浆的货架期。高浓度的醛酮类物质会带来异味, 并且在微生物作用下是不稳定的化合物, 在发酵过程中部分醛类可被还原为醇或被氧化为有机酸^[32], 这可能是发酵苹果浆醇类、酸类和酯类风味物质相对增加, 醛酮类风味物质降低的原因。发酵增加了苹果浆中挥发性风味物质的种类和总量, 酯类和醇类化合物之间的平衡对于发酵苹果浆的风味有重要影响。

3 讨论与结论

本研究以苹果浆为原料, 接种植物乳杆菌和青春双歧杆菌发酵, 研究发酵过程中理化性质、抗氧化活性和可挥发性风味物质的变化。结果表明: 发酵过程中乳酸菌活菌数先升高后降低, 在发酵第 3 d, 活菌数达到最大值 (9.01 ± 0.04) lg(CFU/mL), 随后逐渐降低; 可滴定酸含量逐渐增加, 较发酵前提高了 126.34%; pH、总糖、还原糖含量显著降低, 分别较发酵前下降了 57.59%、8.76% 和 8.03%; 总酚、黄酮在发酵第 3 d 达到最大值, 较发酵前分别提高了 17.63% 和 22.06%; FRAP 和 ABTS 阳离子自由基清除能力在发酵第 4 d 达到最大值, 分别较发酵前提高了 42.47% 和 10.45%。同时测定了发酵前后挥发性风味物质的变化, 苹果浆经益生菌发酵后有 41 种挥发性风味物质, 其中新生成 15 种, 减少 6 种, 有 26 种与发酵之前相同, 其中酯类、醇类和酸类风味物质相对增加, 醛酮类风味物质降低, 新生成的风味物质多具有愉悦香气。

益生菌发酵苹果浆过程中, 利用苹果浆中的糖类作为主要碳源, 产生有机酸、多酚、黄酮和抑菌素等活性小分子物质, 发酵提高了苹果浆的营养品质和抗氧化能力, 同时改善了口感和风味, 通过本研究证实了苹果浆可以作为益生菌发酵的良好基质, 这为开发功能性发酵果蔬饮料

提供参考。

参考文献

- [1] United States Department of Agriculture (USDA). Fresh Apples, Grapes, and Pears: World Markets and Trade [R]. USA: Washington, D. C, June, 2023.
- [2] 刘静, 张婉菁, 王汉屏. 苹果国内外精深加工研究现状及进展[J]. 陕西农业科学, 2021, 67(11): 95–98.
LIU J, ZHANG WQ, WANG HP. Research status and advance in deep processing of apple at home and abroad [J]. Shaanxi J Agric Sci, 2021, 67(11): 95–98.
- [3] 李晓磊, 王克众, 潘俨, 等. 非浓缩还原苹果汁加工过程中物料感官品质的变化[J]. 新疆农业科学, 2022, 59(3): 645–656.
LI XL, WANG KZ, PAN Y, et al. Effects of processing technology on the quality of not-from-concentrate apple juice [J]. Xinjiang Agric Sci, 2022, 59(3): 645–656.
- [4] 邓科龙. 果汁连续欧姆灭菌装置优化设计及其灭菌工艺研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
DENG KL. Optimization design and process research of continuous ohm Sterilization device for fruit juice [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2022.
- [5] 姜溪雨, 刘璇, 毕金峰, 等. 果蔬汁品质监测及货架期预测研究进展[J]. 食品科技, 2021, 46(4): 21–29.
JIANG XY, LIU X, BI JF, et al. Research progress of fruit and vegetable juice quality monitoring and shelf life prediction [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(4): 21–29.
- [6] 张秋荣, 刘祥祥, 李向阳, 等. 复合果蔬汁饮料发展现状及前景分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 294–299.
ZHANG QR, LIU XX, LI XY, et al. Development and prospect analysis of compound fruit and vegetable juice beverage [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(14): 294–299.
- [7] 樊明涛, 张文学, 葛武鹏, 等. 发酵食品工艺学[M]. 北京: 科学出版社, 2017.
FAN MT, ZHANG WX, GE WP, et al. Food fermentation and industry [M]. Beijing: Science Press, 2017.
- [8] 李恒, 陈功, 伍亚龙, 等. 高通量测序方法研究传统四川泡菜母水中微生物群落的动态变化[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 131–138.
LI H, CHEN G, WU YL, et al. Analysis of microbial community dynamics of traditional Sichuan Paocai brine by high-throughput sequencing [J]. Food Sci, 2018, 39(24): 131–138.
- [9] ZHANG J, WU SS, ZHAO L, et al. Culture-dependent and -independent

- analysis of bacterial community structure in Jiangshui, a traditional Chinese fermented vegetable food [J]. LWT-Food Sci Technol, 2018, 96: 244–250.
- [10] 范三红, 薛虎贵, 白宝清, 等. 山西陈醋发酵过程微生物群落动态分析及差异菌属筛选[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 171–179.
- FAN SH, XUE HG, BAI BQ, et al. Dynamic analysis of microbial community and selection of different genera during fermentation of Shanxi vinegar [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(24): 171–179.
- [11] FILANNINO P, DI CR, GOBBETTI M. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: Get out of the labyrinth [J]. Curr Opin Biotechnol, 2018, 49: 64–72.
- [12] XU Y, MYA MH, OLGA G, et al. Fermentation by probiotic *Lactobacillus gasseri* strains enhances the carotenoid and fibre contents of carrot juice [J]. Foods, 2020, 9(1803): 1–15.
- [13] 陈月星, 谭思远, 李倩钰. 不同益生菌配比发酵对苹果汁主要香气成分的影响[J]. 西北农业学报, 2022, 31(9): 1131–1141.
- CHEN YX, TAN SY, LI QY. Effect of fermentation with different proportions of probiotics on aroma components of apple juice [J]. Acta Agric Boreal Sin, 2022, 31(9): 1131–1141.
- [14] 高振鹏, 宋杨, 张美娜, 等. 益生菌发酵苹果汁过程中总酚酸变化与动力学研究[J]. 农业机械学报, 2019, 50(11): 350–356.
- GAO ZP, SONG Y, ZHANG MN, et al. Changes and kinetics of total phenolic acids of apple juice fermented by probiotics [J]. Trans Chin Soc Agric Mach, 2019, 50(11): 350–356.
- [15] 郑若宇. 益生菌发酵苹果汁工艺优化及发酵过程中风味物质和功能性成分的变化[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- ZHENG RY. Optimization of fermentation technology of apple juice by probiotics and changes of flavor substances and functional components during fermentation [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.
- [16] JI GY, LIU GP, LI B, et al. Influence on the aroma substances and functional ingredients of apple juice by lactic acid bacteria fermentation [J]. Food Biosci, 2023, 51: 102337.
- [17] 张晶, 陈悦, 余偲, 等. 短乳杆菌发酵苹果汁工艺优化及有机酸变化[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(2): 180–187.
- ZHANG J, CHEN Y, YU S, et al. Optimization of fermentation process of apple juice by *Lactobacillus brevis* and its organic acids changes [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(2): 180–187.
- [18] 袁晶, 康三江, 宋娟. 响应面法优化乳酸菌发酵苹果浆工艺及其抗氧化活性分析[J]. 中国酿造, 2020, 39(12): 86–90.
- YUAN J, KANG SJ, SONG J. Optimization of fermented apple pulp process with lactic acid bacteria by response surface methodology and its antioxidant activity analysis [J]. China Brew, 2020, 39(12): 86–90.
- [19] CHEUNG JK, LI J, CHEUNG AWH, et al. Cordysinocan, a polysaccharide isolated from cultured *Cordyceps*, activates immune responses in cultured T-lymphocytes and macrophages: Signaling cascade and induction of cytokines [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 124(1): 61–68.
- [20] 黄豪, 周义, 陈佳慧, 等. 乳酸菌发酵对山楂汁理化性质、酚类化合物、抗氧化性及风味的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 97–106.
- HUANG H, ZHOU Y, CHEN JH, et al. Effect of lactic acid bacteria fermentation on physicochemical properties, phenolic compounds, antioxidant activity and volatile components of hawthorn juice [J]. Food Sci, 2022, 43(10): 97–106.
- [21] MANDHA J, SHUMOY H, DEVAERE J, et al. Effect of lactic acid fermentation of watermelon juice on its sensory acceptability and volatile compounds [J]. Food Chem, 2021, 358: 129809.
- [22] ALROSAN M, TAN TC, EASA AM, et al. Improving the functionality of lentil-casein protein complexes through structural interactions and water kefir-assisted fermentation [J]. Ferment Basel, 2023, 9(2): 194.
- [23] 张晶. 苹果汁乳酸发酵及其功能成分分析[D]. 西安: 陕西师范大学, 2020.
- ZHANG J. Lactic acid fermentation of apple juice and analysis of its functional components [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2020.
- [24] 吴江娜. 乳酸菌发酵梨汁的品质变化及其代谢途径分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2022.
- WU JN. Analysis on the quality change and metabolic pathway of pear juice fermented by lactic acid bacteria [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2022.
- [25] 胡航伟, 高翠娟, 孙杰, 等. 乳酸菌发酵蜜桃果酱制作过程中理化性质和关键香气成分演化研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(9): 2745–2754.
- HU HW, GAO CJ, SUN J, et al. Study on evolution of physicochemical properties and key aroma components in honey peach jam with lactic acid bacteria fermentation [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(9): 2745–2754.
- [26] 李旋, 毕金峰, 刘璇, 等. 苹果多酚的组成和功能特性研究现状与展望[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 328–340.
- LI X, BI JF, LIU X, et al. Research status and prospect on the composition

- and functional characteristics of apple polyphenols [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2020, 20(11): 328–340.
- [27] 刘茂, 付晓婷, 王雷, 等. 发酵型海带-苹果复合果汁饮料的研制及发酵体系抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 214–220.
- LIU M, FU XT, WANG L, *et al.* Fermentation optimization of kelp-apple compound juice beverage and the antioxidant activity of its fermentation system [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 43(4): 214–220.
- [28] 杜袁莹. 益生菌发酵苹果汁酚类物质变化及降脂功效[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- DU YY. Changes of phenolic substances in probiotic fermented apple juice and its lipid-lowering effect [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2019.
- [29] 李坤林, 魏光强, 董文明, 等. 西兰花乳清发酵饮料工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6146–6152.
- LI KL, WEI GQ, DONG WM, *et al.* Development of broccoli whey fermented beverage and research of its antioxidant activity [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(15): 6146–6152.
- [30] LI XY, GAO J, SIMAL-GANDARA J, *et al.* Effect of fermentation by *Lactobacillus acidophilus* CH-2 on the enzymatic browning of pear juice [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2021, 147: 111489.
- [31] 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 BS, LU JY, RUAN Z. Flavor quality of different fruit and vegetable juices fermented by *Lactobacillus plantarum* [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2018, 34(19): 293–299.
- [32] DI C, SURICO R, PARADISO A, *et al.* Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices [J]. *Int J Food Microbiol*, 2009, 128(3): 473–483.

(责任编辑: 张晓寒 郑丽)

作者简介



袁晶, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为果蔬加工。

E-mail: 403418398@qq.com



康三江, 研究员, 主要研究方向为农产品贮藏与加工。

E-mail: kang58503@163.com