

枸杞发酵饮料的工艺优化及其风味物质分析

汪云阳^{1,2}, 单静博^{1,2}, 陈亚楠^{1,2}, 乔长晟³, 罗学刚^{1,2,*}

(1. 工业发酵微生物教育部重点实验室暨天津市工业微生物重点实验室, 天津科技大学 生物工程学院, 天津 300457; 2. 天津市微生物代谢与发酵过程控制技术工程中心, 天津 300457; 3. 天津慧智百川生物工程有限公司, 天津 300457)

摘要:以枸杞原浆为原料, 采用实验室特有的植物乳杆菌 CGMCC8198 对其进行发酵, 生产风味独特、口感优良的枸杞发酵饮料。以感官评分为指标, 通过单因素试验及响应面分析法对枸杞汁发酵饮料进行工艺优化, 并且采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用的方法分析枸杞汁发酵前后风味物质种类及含量的变化。结果表明: 枸杞发酵饮料最优的发酵条件是枸杞原浆与水体积比为 10.5 : 1、接种量为 2 %、发酵时间为 6 h、发酵温度为 33 ℃, 木糖醇添加量为 7 %。同时对比分析发酵前后枸杞汁挥发性风味物质成分及含量的变化。最终得到的枸杞发酵饮料兼具枸杞的清香以及发酵特有的风味, 具有很好的实际生产应用价值。

关键词: 枸杞; 植物乳杆菌; 风味物质; 感官评价; 响应面

Optimization of Fermentation Technology and Analysis of Flavor Substances of Wolfberry

WANG Yun-yang^{1,2}, SHAN Jing-bo^{1,2}, CHEN Ya-nan^{1,2}, QIAO Chang-sheng³, LUO Xue-gang^{1,2,*}

(1. Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology of the Ministry of Education & Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. Tianjin Engineering Research Center of Microbial Metabolism and Fermentation Process Control, Tianjin 300457, China; 3. Tianjin Huizhi Baichuan Bioengineering Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract: The raw juice of *Lycium barbarum* L. was fermented by lab-specific *Lactobacillus plantarum* CGMCC8198 to produce a fermented beverage with unique flavor and good taste. Sensory score as an index for process optimization wolfberry juice fermented beverage by single factor test and response surface methodology. And headspace solid phase microextraction in combination with gas chromatography mass spectrometry analysis before and after wolfberry juice fermented flavor type and content. The results showed that: the optimum process of wolfberry fermented beverage was wolfberry puree to water volume ratio was 10.5 : 1, inoculation was 2 %, the fermentation time was 6 h, the fermentation temperature was 33 ℃, added in an amount of 7 % xylitol. At the same time comparative analysis of the changes in material composition and content of volatile flavor wolfberry juice before and after fermentation. Wolfberry fermented beverages got the final production of fermented both fragrance and unique flavor wolfberry, had a good practical application value.

Key words: wolfberry; *Lactobacillus plantarum*; flavor substances; sensory evaluation; response surface methodology

引文格式:

汪云阳, 单静博, 陈亚楠, 等. 枸杞发酵饮料的工艺优化及其风味物质分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(18): 40-47

WANG Yunyang, SHAN Jingbo, CHEN Yanan, et al. Optimization of Fermentation Technology and Analysis of Flavor Substances of Wolfberry[J]. Food Research and Development, 2020, 41(18): 40-47

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0400303); 天津市自然科学基金重点项目(18JCZDJC33800); 工业微生物优良菌种选育与发酵技术公共服务平台项目(17PTGCCX00190); 天津科技大学青年教师创新基金(2016LG06)

作者简介: 汪云阳(1995—), 女(汉), 硕士, 研究方向: 益生菌与微生态调控机制及功能产品研发。

* 通信作者: 罗学刚(1981—), 男, 教授, 研究方向: 微生态调控机制与益生制品研发。

枸杞作为传统中药材和功能性食品,在中国已有 2 000 多年的历史^[1-2]。枸杞果实是一种“药食同源”的保健性食品,其色泽鲜红,口感酸甜^[3],被认为具有不同的药理活性和保健作用,广泛应用于不同的方剂和中成药中^[4]。当前科学研究表明,枸杞果实中含有丰富的营养物质,主要涉及多糖、多肽、生物碱、黄酮类、萜烯类、有机酸、木脂素、酚酰胺、类胡萝卜素等多种化合物^[5-7],而多糖是枸杞果实中含量最丰富的活性成分。现代药理研究表明枸杞果实中的多糖具有抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、抗辐射、抗氧化、补肝益肾、补血安神等诸多药用功效^[5,8-9]。

益生菌是一类对宿主有益的活性微生物,现代研究表明,益生菌进入并定植在胃肠道后,能够与宿主共生,从而构成一个复杂的微生态环境,对宿主发挥其益生作用,例如改善肠道菌群结构,维持肠道的微生态平衡,提高宿主的免疫力^[10]。在评估益生菌特性的乳酸杆菌物种中,植物乳杆菌被认为是一种高度通用的物种,对维护人体健康十分重要^[11-12]。相关研究证实,植物乳杆菌 CGMCC8198 (*L. plantarum* CGMCC8198)具有很好的耐酸耐胆盐能力,可以调节胃肠道功能,降低因高脂饮食所造成的肥胖及高血脂病变,有效预防动脉粥样硬化的发生^[13-15]。

目前,枸杞的使用已经扩展到所有西方国家,人们食用枸杞果实,并将枸杞果实的浓缩果汁或提取物添加到饮料中,以期改善肝功能和氧化应激损伤^[16-17]。由于枸杞自身并没有突出的香味,并且药味浓重,无较佳的风味,因此单独使用枸杞为原料生产的枸杞原浆口感欠佳,这种情况严重地影响了枸杞类饮品的生产和市场开发^[18]。有研究表明益生菌枸杞发酵饮料具有潜在的益生菌活菌特有的生理功能,可以调理肠道菌群,是一种理想的集天然、营养、滋补于一体的保健饮品,有广泛的市场前景^[19]。因此本文采用 *L. plantarum* CGMCC8198 对枸杞原浆进行单一菌种定向发酵,在较大程度保持营养物质的同时,生产出风味独特、口感优良的枸杞发酵饮料,又进一步分析了枸杞汁发酵前后风味物质种类及含量的变化,为枸杞发酵饮料的工业化生产提供最佳工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞原浆:天津慧智百川生物工程有限公司;*L. plantarum* CGMCC8198:天津科技大学生物工程学院微生态调控与分子药理学实验室保存;碳酸氢钠、木糖醇:市售食品级;葡萄糖、亚铁氰化钾、硫酸铜、次甲基

蓝、氢氧化钠:天津泰进科技有限公司。

1.2 仪器与设备

4R2204CN 型电子天平:奥豪斯仪器(上海)有限公司;TG16B 型高速台式离心机:湖南凯达科学仪器有限公司;LRH-150 型生化培养箱:上海齐欣科学仪器有限公司;PSSJ-4V 型精密 pH 计:上海精密科学仪器有限公司;SW-CJ-2FD 型超净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;57330-U 型固相微萃取装置、50/30 μm DVB/CAR/DVB 固相微萃取针、手动 SPME 进样器:美国 Suplco 公司;安捷伦 5975C+7890A 气相色谱-质谱联用仪:美国 Agilent 公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵工艺流程

发酵工艺流程图见图 1。

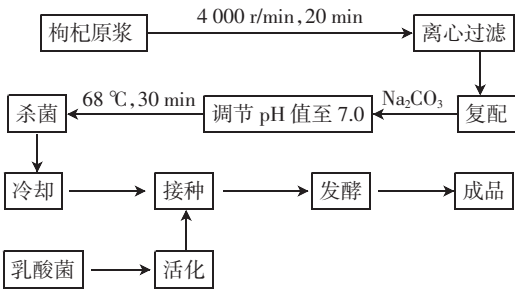


图 1 发酵工艺流程图
Fig.1 Fermentation process flow diagram

1.3.2 枸杞发酵饮料的感官评定标准

感官评定小组成员通过筛选确定,由 8 位食品专业相关人员组成。感官评价细则见表 1,分别从色泽、香气、口感、状态 4 个方面对枸杞发酵饮料进行评分,总分 100 分。

表 1 枸杞发酵饮料感官评价标准
Table 1 Wolfberry fermented beverage sensory evaluation criteria

评价指标及分数	评价标准	分数
色泽(30)	橘色,清澈透亮有光泽	21~30
	浅橘色,清澈透亮但无光泽	11~20
	暗橘色,澄清晰度不够且无光泽	0~10
香气(20)	具有枸杞特殊香气且适中	11~20
	枸杞香气浓郁,稍有不协调	6~10
	无明显枸杞香气,无异味	0~5
口感(30)	口感酸甜适口,回味延绵	21~30
	口感酸甜柔和,但不醇厚	11~20
	淡而乏味,过甜,回苦	0~10
状态(20)	状态均匀,清澈,无沉淀物	11~20
	略显不均,有少量沉淀	6~10
	饮料浑浊且有少量沉淀	0~5

1.3.3 枸杞发酵饮料的单因素试验

以枸杞原浆与水的体积比 8:1、发酵时间 8 h、发酵温度 33 ℃、木糖醇添加量 5 %、接种量 3 %为基础发酵条件,以体积比(4:1、6:1、8:1、10:1、12:1)、发酵时间(4、6、8、10、12 h)、发酵温度(29、31、33、35、37 ℃)、木糖醇添加量(1 %、3 %、5 %、7 %、9 %)、植物乳杆菌 CGMCC8198 接种量(1 %、2 %、3 %、4 %、5 %)为变量进行单因素试验,考察各个因素对枸杞发酵饮料感官品质的影响。

1.3.4 枸杞发酵饮料的响应面设计

选取单因素试验确定的各因素的较优值,以感官评分为响应值,采用 Design-Expert.V8.0.6 响应面设计软件,根据 Box-Behnken 设计中心试验设计原理设计四因素三水平的试验,具体因素水平见表 2。

表 2 Box-Behnken 设计因素水平表
Table 2 Box-Behnken design level of form factors

水平	因素			
	A 体积比	B 接种量/%	C 发酵时间/h	D 发酵温度/℃
-1	8:1	1	5	32
0	10:1	2	6	33
1	12:1	3	7	34

1.3.5 测定枸杞发酵饮料的条件

采用顶空固相微萃取-气质联用分析(head space-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry,HS-SPME-GC-MS)技术测定枸杞发酵饮料的条件。

1.3.5.1 顶空固相微萃取条件

吸取 6 mL 样品置于样品瓶中,同时加入适量 NaCl 使其达到饱和状态,将样品瓶置于 60 ℃的水浴条件下平衡 15 min,再插入萃取头吸附 45 min。

1.3.5.2 色谱条件

采用不分流进样方式,进行阶段升温,以初始温度 60 ℃保持 2 min,再以 5 ℃/min 升至 160 ℃保持 1 min,接着以 10 ℃/min 升温至 250 ℃保持 4 min^[20]。

1.3.5.3 质谱条件

信号采集使用全扫描的方式进行,离子源温度设置为 230 ℃,四级杆温度设置为 150 ℃。电子能量为 70 eV,检测电压 350 V。结果经过计算机检索后与 NIST 普库进行比对,选取匹配度大于 90 %的化合物,鉴定主要化合物的种类及其物质相对含量。

1.3.6 理化指标

pH 值:用 PSSJ-4V 型精密 pH 计测定;还原糖含量测定:按照直接滴定法测定^[21]。

1.3.7 微生物指标

参照 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》进行乳酸菌计数。

1.3.8 数据分析

采用 GraphPad Prism 5 软件、Design-Expert.V8.0.6 响应面分析软件和 Excel 进行数据的处理和分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 体积比对枸杞汁发酵的影响

体积比对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响见图 2。

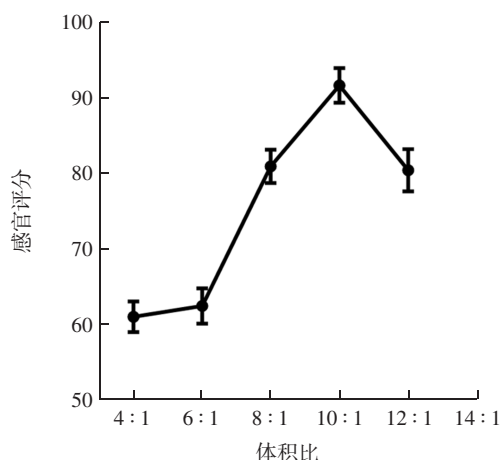


图 2 体积比对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响

Fig.2 Effect of ratio of volume on sensory score of fermented oyster sauce and gluten index of the whole wheat flours

由图 2 可知,随着体积比的增加,枸杞发酵饮料的感官评分先上升后又下降,体积比值较低时枸杞风味较淡,体积比过高又会有苦涩感。在体积比为 10:1 时,饮料的感官评分最高,因此,体积比为 10:1 较为适宜。

2.1.2 发酵时间对枸杞汁发酵的影响

发酵时间对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响见图 3。

由图 3 可知,当发酵时间 6 h 时感官评分高达 92,之后随着发酵时间的延长感官评分急速下降。可能由于发酵时间较长,导致饮料过酸,产生不良的风味。因此,发酵时间为 6 h 较为适宜。

2.1.3 发酵温度对枸杞汁发酵的影响

发酵温度对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响见图 4。

由图 4 可知,随着发酵温度的升高,饮料的感官评分先缓慢增加又缓慢降低,当发酵温度为 33 ℃时,感官评分最高。温度偏高或偏低不利于菌株的生长,可

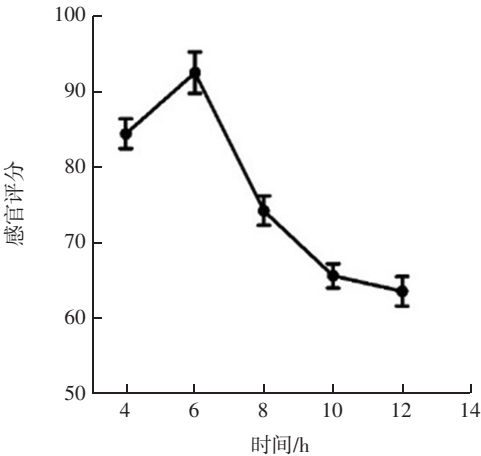


图3 发酵时间对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响
Fig.3 Effect of fermentation time on sensory score of fermented oyster sauce

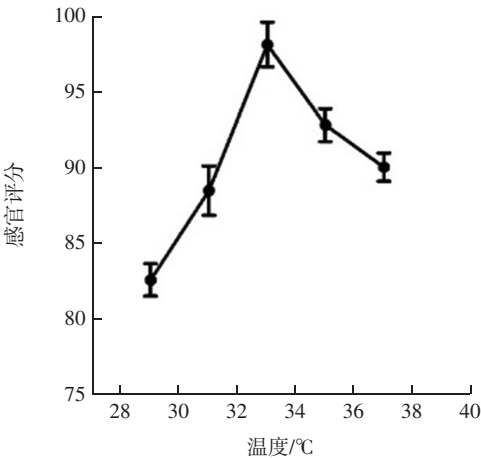


图4 发酵温度对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响
Fig.4 Effect of fermentation temperature on sensory score of fermented oyster sauce

能导致发酵风味欠佳。因此,适宜的发酵温度为 33 ℃。

2.1.4 木糖醇添加量对枸杞汁发酵的影响

木糖醇添加量对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响见图 5。

由图 5 可知,随着木糖醇的添加量增加,枸杞发酵饮料的感官评分先缓慢增加然后又稍降低。一定量的木糖醇可增加饮料的甜味,过多的量又会造成风味的不协调。当木糖醇的添加量为 7 %时,枸杞发酵的饮料风味最佳,酸甜适中。因此,较适宜的木糖醇添加量为 7 %。

2.1.5 接种量对枸杞汁发酵的影响

接种量对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响见图6。

由图 6 可知,随着接种量的增加,饮料的感官评分先增加后又缓慢降低,接种量过多会导致饮料口味偏酸,发酵风味过于浓厚,风味不协调。因此,较适宜的

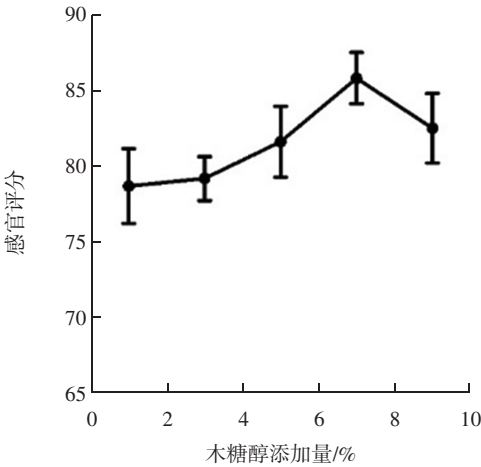


图5 木糖醇添加量对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响
Fig.5 Effect of xylitol addition on sensory score of fermented oyster sauce

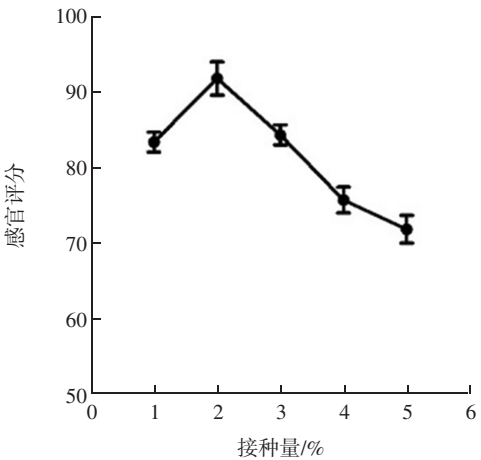


图6 接种量对发酵枸杞汁饮料感官评分的影响
Fig.6 Effect of inoculum size on sensory score of fermented oyster sauce

植物乳杆菌 CGMCC8198 的接种量为 2 %。

2.2 响应面优化分析

2.2.1 响应曲面试验设计及结果

由单因素试验可知,木糖醇添加量对枸杞发酵饮料的感官评分影响较小,因此选取其中 4 个因素,即体积比、接种量、发酵时间、发酵温度为自变量,以感官评价得分为因变量,设计响应面优化试验,响应面试验设计方案及结果如表 3 所示。

表 3 响应面试验设计及结果

试验号	因素				感官评分
	A 体积比	B 接种量/%	C 发酵时间/h	D 发酵温度/℃	
1	10:1	2	6	33	94.5
2	10:1	3	5	33	82.2

续表 3 响应面试验设计及结果

Continue table 3 Response surface test design and results

试验号	因素				感官评分
	A 体积比	B 接种量/%	C 发酵时间/h	D 发酵温度/℃	
3	12:1	2	6	32	83.3
4	10:1	2	7	34	78.2
5	10:1	2	6	33	91.5
6	8:1	2	6	32	67.9
7	8:1	3	6	33	75.0
8	10:1	3	7	33	74.6
9	10:1	2	6	33	92.0
10	10:1	1	6	32	76.1
11	12:1	2	5	33	79.5
12	8:1	2	6	34	69.0
13	10:1	1	6	34	77.7
14	10:1	3	6	34	74.2
15	10:1	2	6	33	94.0
16	12:1	3	6	33	72.7
17	12:1	2	6	34	70.2
18	12:1	2	7	33	82.2
19	10:1	2	5	34	72.6
20	10:1	1	5	33	71.2
21	10:1	1	7	33	80.3
22	8:1	2	7	33	81.7
23	12:1	1	6	33	82.0
24	10:1	2	5	32	71.7
25	10:1	2	6	33	94.8
26	8:1	1	6	33	69.0
27	10:1	3	6	32	72.1
28	10:1	2	7	32	76.3
29	8:1	2	5	33	61.2

2.2.2 枸杞发酵饮料感官评价模型的建立与分析

通过 Design-Expert.V8.0.6 对表 3 的数据进行处理,得到枸杞发酵饮料感官评分与 4 个因素的多元二次回归方程: $Y=93.38+3.83A-0.46B+2.91C-0.47D-3.83AB+4.44AC-3.55AD-4.17BC-10.02A^2-8.34B^2-7.77C^2-10.56D^2$ 。模型回归系数显著性检验结果如表 4 所示^[22]。

表 4 模型回归系数显著性检验结果

Table 4 Model regression coefficient significance test results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1976.49	14	141.18	14.14	<0.000 1	**
A	176.1	1	176.1	17.64	0.000 9	**
B	2.53	1	2.53	0.25	0.622 5	
C	101.91	1	101.91	10.21	0.006 5	**
D	2.6	1	2.6	0.26	0.617 5	

续表 4 模型回归系数显著性检验结果

Continue table 4 Model regression coefficient significance test results

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
AB	58.75	1	58.75	5.88	0.029 4	*
AC	78.77	1	78.77	7.89	0.013 9	*
AD	50.34	1	50.34	5.04	0.041 4	*
BC	69.72	1	69.72	6.98	0.019 3	*
BD	0.068	1	0.068	6.771×10 ⁻³	0.935 6	
CD	0.25	1	0.25	0.025	0.876 5	
A ²	651.33	1	651.33	65.24	<0.000 1	**
B ²	451.24	1	451.24	45.2	<0.000 1	**
C ²	391.68	1	391.68	39.23	<0.000 1	**
D ²	723.77	1	723.77	72.49	<0.000 1	**
残差	139.78	14	9.98			
失拟项	130.62	10	13.06	5.7	0.054	
纯误差	9.16	4	2.29			
总离差	2 116.27	28				

注:* 差异显著($P<0.05$);** 差异极显著($P<0.01$)。

由表 4 可知,模型 $P<0.000 1$,极显著,失拟项 $P>0.05$,不显著,相关系数 $R^2=0.933 8$,表明该模型拟合程度较好,能够对枸杞发酵饮料工艺进行预测^[23]。CV=0.675 6%,说明模型较可靠。RSN=14.624>4, $R^2_{Adj}=0.884 2$,说明模型置信度较高^[24]。4 个因素对感官评分影响的顺序为 $A>C>D>B$,体积比对感官评分的影响最显著。交互作用 AB、AC、AD、BC 对感官评分影响显著;一次项 A、C 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对感官评分的影响极显著。

2.2.3 交互作用分析

通过 Design-Expert.V8.0.6 软件对得出的试验数据进行分析,建立了该工艺条件的模型。在保证体积比、接种量、发酵时间与发酵温度 4 个因素中一个因素不变的情况下,得到其他因素的三维响应面曲线和等高线。不同因素之间的交互作用的响应面曲线与等高线具体如图 7~图 10 所示。

响应曲面越陡,等高线越密集,表明因素之间的交互作用越明显^[25]。从响应面曲线可以看出,交互作用为 $AC>BC>AB>AD$ 。说明体积比和枸杞发酵时间的交互作用对枸杞发酵饮料的感官品质影响最为显著。而体积比与枸杞发酵温度的交互作用对枸杞发酵饮料的感官品质影响相对较弱。

通过响应面分析得到最优的工艺条件为体积比 10.37:1、接种量 1.89%、发酵时间 6.16 h、发酵温度 32.95℃,此发酵条件得到的感官评分预测值为 94。根据实际发酵条件,以体积比 10.5:1、接种量 2%、发酵时间 6 h、发酵温度 33℃的工艺条件进行验证,在此条

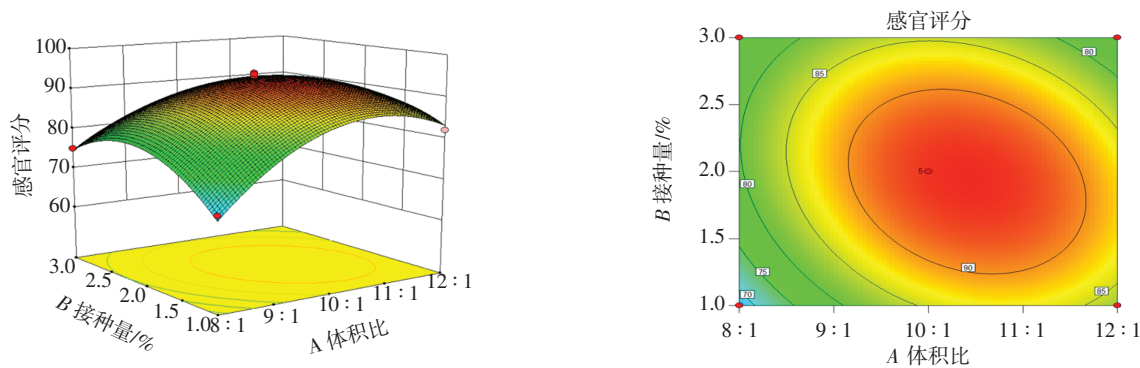


图7 体积比和接种量对感官评分影响的响应面与等高线图

Fig.7 Response surface and contour map of the influence of volume ratio and inoculum size on sensory score

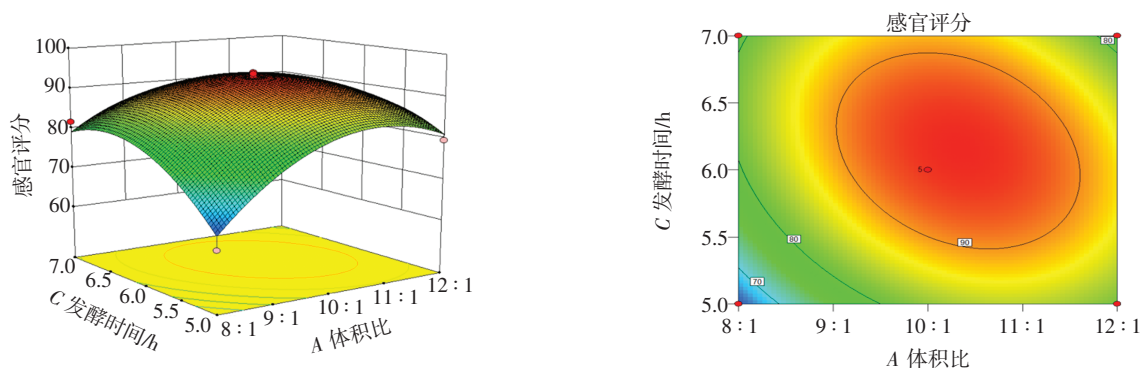


图8 体积比和发酵时间对感官评分影响的响应面与等高线图

Fig.8 Response surface and contour map of the influence of volume ratio and fermentation time on sensory score

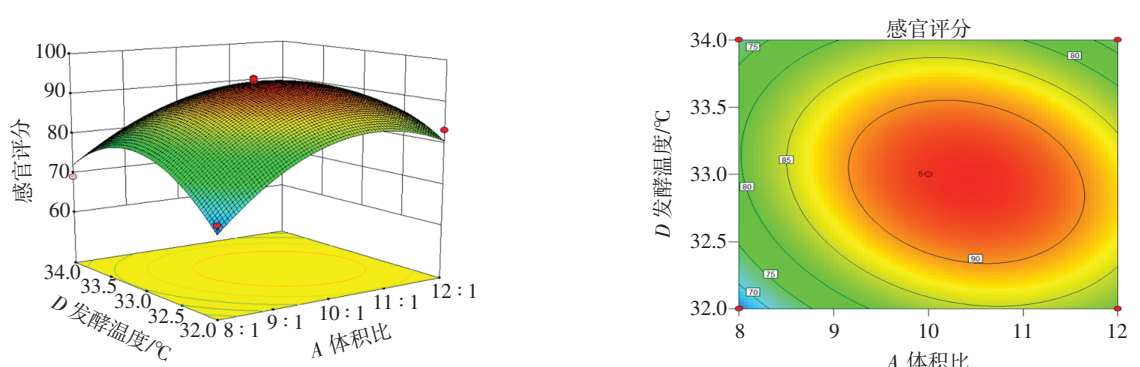


图9 体积比和发酵温度对感官评分影响的响应面与等高线图

Fig.9 Response surface and contour map of the influence of volume ratio and fermentation temperature on sensory score

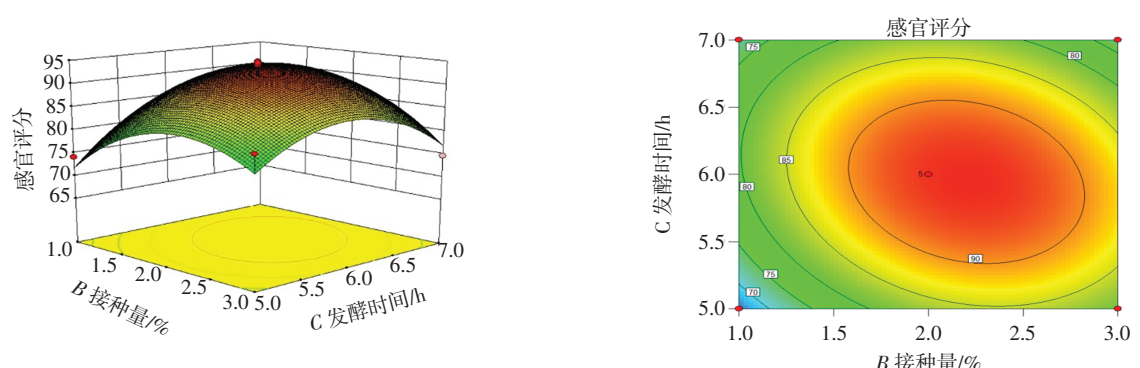


图10 接种量和发酵时间对感官评分影响的响应面与等高线图

Fig.10 Response surface and contour plots of inoculum size and fermentation time on sensory scores

件下进行独立3次试验,得到的枸杞发酵饮料感官评分实际值为 93.8 ± 0.32 。与模型预测值接近,证明此模型可靠。由此工艺得到的枸杞发酵饮料兼具枸杞的清香以及特殊的发酵风味,酸甜适中,为生产应用提供了理论参数。

2.3 枸杞中挥发性成分分析

香气成分是检验枸杞发酵饮料风味的主要指标。本试验采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用的方法分析枸杞汁发酵前后风味物质种类及含量的变化。图11~图12分别为枸杞汁发酵前后香气成分的总离子流色谱图。鉴定结果见表5。

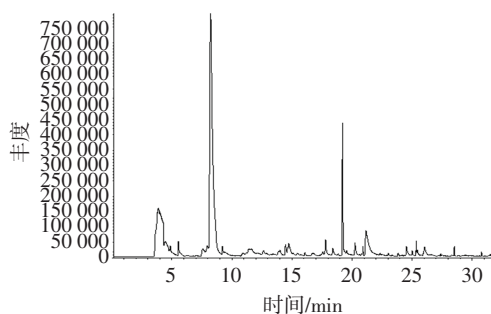


图11 枸杞发酵前香气成分的总离子流色谱图

Fig.11 The total ion chromatogram pre-fermentation aroma components wolfberry

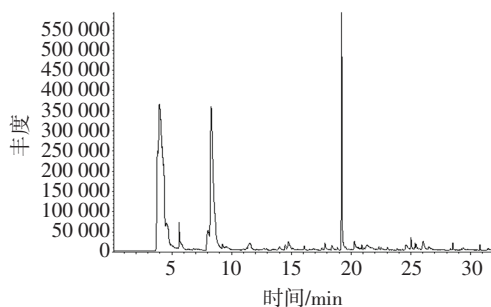


图12 枸杞发酵饮料香气成分的总离子流色谱图

Fig.12 The total ion chromatogram fermented beverage aroma components wolfberry

由表5结果可知,未发酵枸杞原浆中主要检测出13种风味物质,其中包括2种醇类物质,1种酯类物质,2种酸类物质,6种酮类物质,2种醛类物质。枸杞发酵液中主要检测出22种风味物质,其中包括5种醇类物质,2种酯类物质,4种酸类物质,8种酮类物质,3种醛类物质。枸杞发酵后,风味物质的种类和含量得到了增加,其中乙醇的相对含量最高,达到了23.59%,赋予了饮料轻快的香味^[26]。酸类物质种类的丰富赋予饮料酸甜的口味。酮类物质中,3-羟基-2-丁酮^[27]与2-壬酮^[28]具有果香、甜香、清香、椰子及其奶油的香气^[29],紫罗兰酮与香叶基丙酮具有甜花香的气味^[30]。这些成

表5 枸杞发酵前后挥发性风味物质成分及相对含量

Table 5 Volatile flavor components and relative content before and after fermentation

化合物种类	序号	化合物	相对含量/%	
			发酵前	发酵后
醇类	1	乙醇	-	23.59
	2	正庚醇	-	0.07
	3	反式-3-己烯-1-醇	0.15	-
	4	十一醇	-	0.12
	5	3-甲基-1,5-戊二醇	-	0.15
	6	1,4-戊二醇	-	0.33
	7	顺-2-壬烯-1-醇	1.20	-
酯类	8	硅烷二醇二甲酯	0.05	1.57
	9	甲氧基乙酸乙酯	-	0.16
酸类	10	对乙基苯甲酸	0.34	0.32
	11	过氧草酸	0.24	0.12
	12	二羟基顺丁烯二酸	-	0.23
	13	醋酸	-	0.06
酮类	14	3-羟基-2-丁酮	0.32	1.22
	15	2-吡啶酮	0.02	0.441
	16	2,2-二甲基环己酮	-	0.19
	17	2-壬酮	-	0.21
	18	4'-戊基苯乙酮	0.27	0.12
	19	2-十一酮	1.52	1.43
	20	脱氢二紫罗兰酮	0.21	0.19
	21	香叶基丙酮	1.20	1.10
醛类	22	糠醛	0.30	-
	23	4-戊烯醛	-	2.40
	24	苯甲醛	0.13	0.12
	25	顺式-4-庚烯醛	-	0.24

注:-表示枸杞发酵前并未检测出此风味物质。

分对于枸杞发酵饮料的风味都起到了重要作用。

3 结论

本研究首先通过单因素试验对枸杞汁发酵体积比、发酵时间、发酵温度、木糖醇添加量及接种量5个因素对枸杞发酵饮料的感官品质进行研究。之后,在单因素试验的基础上选取较优的因素条件,利用响应面法对体积比、发酵时间、发酵温度及接种量这4个因素进行Box-Behnken设计,建立植物乳杆菌发酵枸杞汁饮料的二次多项式回归方程。运用该模型进行最优工艺条件预测,得到的最优发酵工艺条件为体积比10.5:1、接种量2%、发酵时间6h、发酵温度33℃,木糖醇添加量7%,通过试验验证,在此发酵条件下的感官评分为93.8。通过顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用的方法对枸杞汁发酵前后风味物质种类及含量的变化进行了分析,通过发酵主要得出22种挥发性

风味物质,产生了多种香气成分。根据相关文献报道^[28],醇类物质中 C₁~C₃ 醇有轻快的香气,枸杞汁经过植物乳杆菌 CGMCC8198 发酵后,产生的乙醇赋予了枸杞饮料爽口清香的气味。酮类物质含量与种类的增加,尤其是 3-羟基-2-丁酮及 2-吡啶酮含量的增加赋予枸杞饮料奶香的香气,2-壬酮的出现对增强爽口清香的气味起到一定的作用^[28]。这些结果表明:经过植物乳杆菌 CGMCC8198 发酵后,枸杞汁增加或形成一些新的风味物质,它们共同构成枸杞饮料的独特风味。本研究为枸杞发酵饮料的工业化生产提供了最佳参数,但其营养价值及生理功能有待进一步探究。

参考文献:

- [1] Yao R, Heinrich M, Weckerle C S. The genus *Lycium* as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 212: 50-66
- [2] Wang Y, Zhao B, Ma H R, et al. Two new sesquiterpenoid glycosides from the leaves of *Lycium barbarum*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2016, 22(6): 871-877
- [3] 葛邦国,刘志勇,朱风涛,等. 枸杞加工研究现状与前景展望[J]. *食品研究与开发*, 2014(4): 93-97
- [4] Xiao X, Ren W, Zhang N, et al. Comparative Study of the Chemical Constituents and Bioactivities of the Extracts from Fruits, Leaves and Root Barks of *Lycium barbarum*[J]. *Molecules*, 2019, 24(8): 1585
- [5] 李英杰,齐春会,张永祥. 枸杞多糖免疫调节作用机制研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2004, 13(10): 882-886
- [6] 杨建平,郭建来,聂芙蓉,等. 枸杞叶发酵物生物活性成分及营养成分的变化研究[J]. *中国饲料*, 2018(12):36-40
- [7] Dan Q, Yaxing Z, Guang Y, et al. Systematic Review of Chemical Constituents in the Genus *Lycium* (Solanaceae)[J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 911
- [8] Qiong L, Yizhong C, Jun Y, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*[J]. *Life Sciences*, 2004, 76(2): 137-149
- [9] 张璟,郭晔红,师建玲,等. 黑果枸杞和红果枸杞的比较[J]. *农业科技与信息*, 2018(10): 42-44
- [10] Xu W T, Nie Y Z, Yang Z, et al. The crosstalk between gut microbiota and obesity and related metabolic disorders[J]. *Future Microbiology*, 2016, 11(6): 825-836
- [11] Nihat Karasu,Ömer Şimşek, Ahmet Hilmi Çon. Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables[J]. *Annals of Microbiology*, 2010, 60(2): 227-234
- [12] Siezen R J, Vlieg J E V H. Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer[J]. *Microbial Cell Factories*, 2011, 10(S1): S3
- [13] Xiang Chao G, Xue Gang L, Chong Xi W, et al. Cloning and analysis of bile salt hydrolase genes from *Lactobacillus plantarum* CGMCC No. 8198[J]. *Biotechnology Letters*, 2014, 36(5): 975-983
- [14] 张同存,罗学刚,古向超,等. 高耐胆盐能力的菌株及胆盐水解酶基因:ZL201310240009.5[P]. 2016-04-27
- [15] 王欢. 植物乳杆菌降胆固醇作用的研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2010
- [16] Kulczynski B, Gramzamałowska A. Goji berry (*Lycium barbarum*): composition and health effects—a review[J]. *Polish Journal of Food & Nutrition Sciences*, 2016, 66(2): 67-76
- [17] Cheng J, Zhou Z W, Sheng H P, et al. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. *Drug Design Development & Therapy*, 2014(9): 33-78
- [18] 马晓娟,谢有发,余银芳,等. 发酵枸杞原浆中多糖、活菌数的变化规律[J]. *食品安全导刊*, 2019(28):62-65
- [19] 贾宝珠,孙春梅,张楚屏,等. 功能性发酵饮料的市场调查分析[J]. *现代食品*, 2017(23): 26-29
- [20] 楼舒婷,程焕,林雯雯,等. SPME-GC/MS 联用测定黑果枸杞中挥发性物质[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(10): 245-250
- [21] 杨林娥,彭晓光,杨庆文,等. 斐林试剂法测定还原糖方法的改进[J]. *中国酿造*, 2010, 29(5): 160-161
- [22] Sedighi M, Razavi S, Navab Moghadam F, et al. Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 111: 362
- [23] 纪秀凤,吕长鑫,芦宇,等. 响应面法优化菜用大豆乳饮料复合稳定剂及其贮藏流变特性分析[J]. *食品科技*, 2018, 43(10): 127-134
- [24] Huang B, Ban X Q, He J S, et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of edible lotus(*Nelumbo nucifera* Gaertn.) leaves[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(3): 873-878
- [25] 曹春艳. 响应面法优化银杏叶黄酮提取工艺 [J]. *中国食品学报*, 2014(4): 78-86
- [26] 刘国明,黄川,李杰民,等. 不同品种荔枝发酵饮料挥发性香气成分对比研究[J]. *中国酿造*, 2018, 37(7): 173-179
- [27] 吴文睿,李兰,汤有宏,等. 枯草芽孢杆菌产 3-羟基-2-丁酮、2,3-丁二醇发酵条件优化[J]. *酿酒*, 2016, 43(2): 93-96
- [28] 范利华,杨洁彬,张旄,等. 乳酸发酵番茄汁、胡萝卜汁风味物质的研究[J]. *食品与发酵工业*, 1993(2): 18-24
- [29] 赵丽华,靳焱,马长伟,等. 复合发酵剂和黑胡椒对羊肉发酵干香肠挥发性风味成分的影响[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(8): 80-83
- [30] 王琦,张惠玲,周广志. 采用 HS-GC-MS 法对枸杞汁发酵前后香气成分的比较分析[J]. *酿酒科技*, 2015(8): 101-104

收稿日期:2019-11-20