

# 响应面优化益生菌发酵复合果蔬汁的加工工艺

何嘉敏, 于新, 刘学云

(仲恺农业工程学院轻工与食品学院, 广东广州 510225)

**摘要:** 以甘蔗、番茄及胡萝卜为原料, 嗜酸乳杆菌 (*La*)、嗜热链球菌 (*St*)、植物乳杆菌 (*Lp*) 为发酵菌种, 利用响应面分析法优化益生菌发酵复合果蔬汁加工工艺。经过单因素实验得出: 发酵复合果蔬汁最佳原料比为甘蔗汁:番茄汁:胡萝卜汁=5:1:2 (V/V/V); 最优菌种混合比为嗜酸乳杆菌 (*La*):嗜热链球菌 (*St*):植物乳杆菌 (*Lp*)=3:2:1 (V/V/V); 最适初始 pH 在 6.4; 优化发酵温度为 39~40 °C、接种量为 2.5%; 响应面分优化实验得出最佳发酵工艺为: 发酵温度 37.91 °C, 初始 pH 6.72, 接种量 2.88%; 考虑实际操作, 对各参数稍作调整: 发酵温度为 38 °C, 初始 pH 为 6.7, 接种量为 3%。且此款发酵果蔬汁的感官指标、理化指标及微生物指标等各项质量指标均符合 T/CBFIA 08003-2017 中国生物发酵产业协会团体标准。

**关键词:** 益生菌; 果蔬汁; 发酵; 响应面分析法

文章篇号: 1673-9078(2019)05-206-213

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.029

## Optimization of Probiotic Fermentation Process for Vegetable-fruit Juice

HE Jia-min, YU Xin, LIU Xue-yun

(Institute of Light Industry and Food, Zhongkai Institute of Agricultural Engineering, Guangzhou 510225, China)

**Abstract:** Using sugarcane, tomato and carrot as raw materials, *Lactobacillus acidophilus* (*La*), *Streptococcus thermophilus* (*St*), *Lactobacillus plantarum* (*Lp*) as fermenting strains, response surface analysis method was applied to optimize the probiotic fermentation technology of mixed fruit and vegetable juice. After single factor experiment, the best raw material ratio of fermented fruit and vegetable juice composite was sugar cane juice: tomato juice: carrot juice=5:1:2 (V/V/V); the optimal strains ratio was *Lactobacillus acidophilus* (*La*) : *Streptococcus thermophilus* (*St*) : *Lactobacillus plantarum* (*Lp*) = 3:2:1 (V/V/V); the optimum initial pH was 6.4; the optimized fermentation temperature was 39~40°C, and the inoculum was 2.5%; By response surface analysis, the optimum fermentation process was as follows: fermentation temperature 37.91°C, initial pH 6.72, inoculum 2.88%; considering the actual operation, the parameters were slightly adjusted: fermentation temperature was 38°C, initial pH was 6.7, inoculation amount was 3%. And the quality indicators such as sensory indicators, physical and chemical indicators and microbial indicators of this fermented fruit and vegetable juice were in line with the T/CBFIA 08003-2017 China Bio-Fragmentation Industry Association group standard.

**Key words:** probiotic; fruit and vegetable juice; fermentation; response surface analysis

长期以来, 我国甘蔗 (*Saccharum officinarum*) 产量稳居世界前列, 广泛种植于华南、华中、西南<sup>[1]</sup>。近年来, 收到国际糖业市场冲击, 我国甘蔗产业趋于萎缩, 利润明显下滑。广大蔗农和政府急于寻求甘蔗产业效益的新增长点。广西、广东海南等省区立项研究甘蔗酒、甘蔗醋, 并投入生产。在一定程度上缓解了蔗农的压力, 但市场认可度不高, 没有形成产业规模效益, 甘蔗汁制品种类缺乏多样化、时尚化。也有研究及企业以甘蔗渣为能源材料, 投资生产燃料乙醇<sup>[2,3]</sup>, 其大量甘蔗汁被浪费, 叫人惋惜。

甘蔗汁含有多种可溶性糖、多种氨基酸、多种维

收稿日期: 2019-01-02

基金项目: 农业部功能食品重点实验室开放基金项目 (201806)

作者简介: 何嘉敏 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全

通讯作者: 于新 (1959-), 男, 教授, 研究方向: 农产品加工及贮藏

生素及多种对人体有益的有机酸<sup>[4]</sup>。除此之外, 还含有黄酮类物质、果胶、转化酶类、纤维素, 以及钙、铁、锰、锌等人体必需的微量元素<sup>[5-7]</sup>, 且经过研究发酵后的营养物质高于发酵之前<sup>[8]</sup>。胡萝卜 (*Daucus carota L.*) 全国各地均广泛栽培<sup>[9]</sup>, 富含糖类、脂肪、挥发油、胡萝卜素、维生素 A、维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub>、花青素、钙、铁及果胶、淀粉、无机盐和多种氨基酸等营养成分<sup>[10-13]</sup>。番茄, 即西红柿 (*Lycopersicon esculentum Mill.*), 番茄含有丰富的维生素、矿物质、碳水化合物、有机酸及少量的蛋白质<sup>[14-18]</sup>。综合三者功能成分对人体十分有益, 如有助于预防心脏疾病和肿瘤、推迟细胞衰老、增加人体抗癌能力、防治夜盲症和眼干燥症、促进骨骼钙化、促进消化、利尿、保护血管、治高血压等作用<sup>[19-21]</sup>。

益生菌为给予一定数量时能对宿主健康产生有益

作用的活的微生物<sup>[22]</sup>。益生菌通过竞争、偏生或吞噬等复杂关系改善宿主肠道微生物菌群的平衡关系从而改善宿主肠道功能<sup>[23]</sup>；其代谢产物包括短链脂肪酸、有机酸及其他多种物质对宿主生理过程具有调节作用，可以促进宿主营养物质的吸收<sup>[24]</sup>；除此之外益生菌还具有缓解乳糖不耐症、免疫调节及抗肿瘤的作用<sup>[25]</sup>。且复合益生菌对宿主有益作用优于单一益生菌。

经过 CA、BA、Springer、CNKI、维普等数据库文献检索，发现目前国内外对单一益生菌发酵单一果蔬汁或复合果蔬汁及复合益生菌发酵单一果蔬汁的研究报道较多，但对复合益生菌发酵复合果蔬汁研究报道较少。本试验采用物美价廉且种植广泛、产量丰富的甘蔗、番茄及胡萝卜为主要原料，进一步研究和开发果蔬产品，打造一款营养保健价值较高的健康型饮料，从而为果蔬汁发酵系列产品的研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验试剂及菌种来源

琼脂、蛋白胨、牛肉膏、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、酵母提取物均为广东环凯生物科技有限公司；葡萄糖、吐温-80、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、柠檬酸二铵、氢氧化钠（粒）、福林酚均为天津市大茂化学试剂厂。以上所用化学试剂均为分析纯或生化试剂。

本试验所用菌种均为本实验室研究者分离鉴定保存菌种。

### 1.2 试验仪器与设备

TU-1901 双光束紫外分光光度计，北京普析通用仪器有限公司；LDZX-30FBS 立式压力蒸汽灭菌器，上海申安医疗器械厂；DHP-90 电热恒温培养箱，上海索谱有限公司；JD100-3B 电子分析天平，上海精科天美科学仪器有限公司；DHG-9030A 电热恒温鼓风干燥箱，广州环凯生物科技有限公司；SW-CJ-1F 超净工作台，苏州净化设备有限公司；U410-86NBS 超低温冰箱，广

州卓越贸易有限公司；微量移液器（200、1000、5000 μL）。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 原料预处理

将甘蔗清洗、沥干，榨汁备用；将胡萝卜、番茄去蒂，清洗、沥干、切块，用榨汁机榨汁备用。

#### 1.3.2 工艺流程及操作要点

##### 1.3.2.1 工艺流程

按甘蔗汁、番茄、胡萝卜按一定比例装进 500 mL 玻璃瓶中→调配 pH→将植物乳酸菌、嗜酸乳杆菌、嗜热乳杆菌按一定比例添加→恒温发酵→甘蔗复合酵素

##### 1.3.2.2 操作要点

(1) 凡实验所需用具都需事先消毒，接种需在无菌条件下。

(2) 接种菌种需使用驯化好的菌种（生理盐水活化后采用复合果蔬汁进行 2、3 代稳定培养，使菌种适应生长环境）。

#### 1.3.3 发酵复合果蔬汁发酵工艺优化单因素实验

##### 1.3.3.1 发酵复合果蔬汁发酵混合汁比例的确定

本试验以甘蔗、番茄、胡萝卜为原料，将三种原料混合进行乳酸菌发酵试验。其原料决定混合的营养成分及风味、色泽，从而对酵素产生极大影响，因此确定混合汁比例尤为重要。应该在发酵前确定出风味、口感、色泽具佳的混合汁比例再进行发酵试验。

乳酸菌发酵消耗较多糖类物质，所以甘蔗应为主料；番茄呈现夕阳红，味酸，添加量过大对风味影响很大，但因番茄可作为嗜酸乳杆菌的促生长因子添加量宜不可过少；胡萝卜呈现橙黄色，对色泽也有很大影响。因此，本试验分别将甘蔗汁、番茄汁、胡萝卜汁按不同比例混合（甘蔗汁:番茄汁:胡萝卜汁=3:1:1、3:2:1、3:1:2、3:2:2、4:1:2、4:2:2、5:1:2、5:1:1），以感官评分选出色泽、状态、气味与滋味、杂质各方面比较好的混合比例。总分 100 分，感官评定表见表 1。

表 1 感官评定表

Table 1 Sensory assessment table

项目	优	良	中	差
色泽 30	色泽很好，呈金黄色	色泽较好，呈浅黄色	色泽一般，呈浅黄色，有轻微褐变	色泽差，呈浅绿色，有褐变
状态 15	液状均匀，无果肉沉淀	液状较均匀，有较多果肉沉淀	液体不太均匀，果肉沉淀很多	液体很不均匀，果肉沉淀很多
气味与滋味 45	具有很浓的甘蔗香气和滋味，无异味	具有较浓的甘蔗香气和滋味，无异味	具有不太浓的甘蔗香气和滋味，无异味	不具有甘蔗香气和滋味，有其他异味
杂质 10	无可见外来杂质	有微量可见外来杂质	有较多可见外来杂质	有大量外来杂质

### 1.3.3.2 发酵菌种配比的确定

经本试验研究,发现在分离的10株菌种当中,嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、植物乳杆菌三者之间存在共生且协同的作用,所以本实验确定使用这三种菌株为发酵菌种,但仍需确定三者之间的比例。因此进行了三种菌种不同比例,嗜酸乳杆菌(*La*):嗜热链球菌(*St*):植物乳杆菌(*Lp*)=1:1:1、1:2:1、1:2:2、1:1:2、2:1:1、2:1:2、2:2:1、1:2:3、2:3:1、3:2:1、2:2:3、2:3:2、3:2:2、1:3:1、1:1:3、3:1:1、3:1:3、2:3:2、3:2:3、3:3:2(V/V/V)混合培养,发酵条件为:发酵温度37℃,发酵时间24 h,接种量3%,以活菌数及OD值为依据(每组做3个平行),确定最佳比例。

### 1.3.3.3 甘蔗复合汁发酵初始pH的确定

嗜酸乳杆菌最适生长pH 5.5~6.0、嗜热链球菌最适生长pH 6.0~7.0、植物乳杆菌最适生长pH 6.5左右,因此需要调节pH来确定最适pH。分别在初始pH 5.6、5.8、6.0、6.2、6.4、6.6、6.8条件下,接种3%的菌种[嗜酸乳杆菌(*La*):嗜热链球菌(*St*):植物乳杆菌(*Lp*)=1:1:1],发酵24 h后,取酵素液测定指标,确定最适pH。

### 1.3.3.4 甘蔗复合汁发酵温度的确定

嗜酸乳杆菌最适发酵温度为35℃~38℃、嗜热链球菌最适发酵为38℃~43℃、植物乳杆菌最适发酵为37℃左右。将发酵温度分别设置为35、36、37、38、39、40、41℃,发酵24 h后,取发酵液测定指标,确定最佳发酵温度。

### 1.3.3.5 甘蔗复合汁发酵接种量的确定

使用以上确定的最佳温度、最适pH,分别接种0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5%的混合菌种,发酵24 h后,取发酵液测定指标,确定最佳接种量。

### 1.3.4 响应面优化发酵复合果蔬汁加工工艺

表2 益生菌发酵条件响应面优化设计水平和编码

Table 2 Optimal design level and coding of probiotic compound juice process

因素	水平		
	-1	0	1
A 发酵温度/℃	36	38	40
B 初始pH	6.60	6.70	6.80
C 接种量/%	3	1	5

在单因素试验的基础上,结合感官评价、乳酸菌浓度、SOD显著项的分析,以益生菌发酵温度A(℃)、初始pH B、接种量C(%)为考察因素,以SOD值为响应面值,根据Box-Behnken组合实验设计原理,设计3因素3水平响应面试验,实验因素和水平见表2。

### 1.3.5 主要指标测定方法

#### 1.3.5.1 乳酸菌浓度的测定

参考GB/T 478.35-2008的方法测定。

#### 1.3.5.2 pH的测定

参考GB/T 10468的方法测定。

#### 1.3.5.3 超氧化物歧化酶(SOD)值的测定

参考GB/T 5009.171的方法测定。

### 1.3.6 发酵复合果蔬汁质量指标

各项指标检测均按照TCBFIA08003-2017食用植物酵素指标检测及相对应国标方法。

### 1.3.7 数据统计分析

采用Excel 2007对实验数据进行整理后,采用SPSS 17.0软件对单因素试验数据进行方差分析以及差异显著性分析,p<0.05表示差异显著。采用Expert-Design 8.0.6统计软件进行响应面优化分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵复合果蔬汁发酵单因素实验

#### 2.1.1 发酵复合果蔬汁发酵混合汁比例的确定

由图1可以看出,感官评价发现原料比为甘蔗汁:番茄汁:胡萝卜汁=5:1:2时为最佳状态。呈现出一款香味浓郁、色泽鲜2艳呈橙红色、无正常视力可见杂质的最优果汁。其中甘蔗的清香味最为浓郁,且最优原料比中甘蔗含量最高是因为乳酸菌发酵需要有充足的营养物质及糖源,而甘蔗可溶性固形物含量较高。

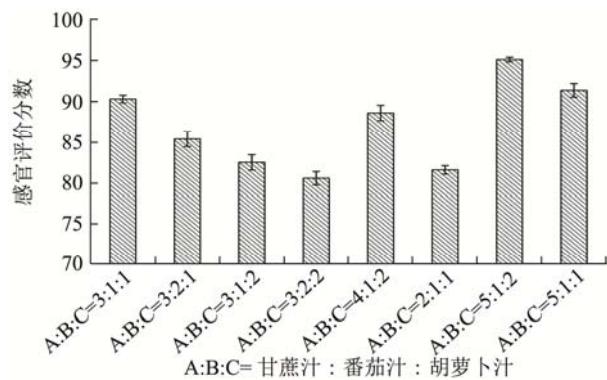
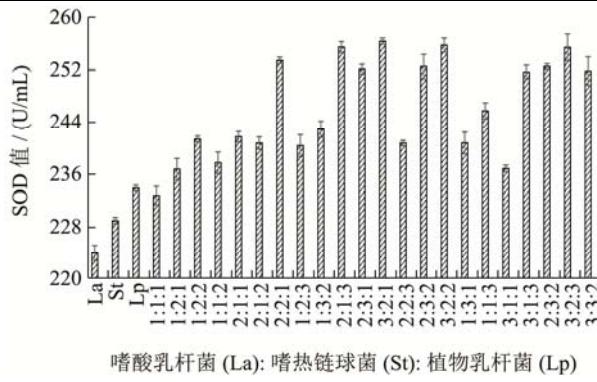


图1 原料比对果汁感官评价的影响

Fig.1 Effect of raw material ratio on sensory evaluation of juice

#### 2.1.2 发酵菌种配比的确定

由图2可以看出,单菌种及三种菌种不同比例组合复配并发酵得出,菌种配比为嗜酸乳杆菌(*La*):嗜热链球菌(*St*):植物乳杆菌(*Lp*)=3:2:1时乳酸菌浓度最高,即此复配比例为最佳菌种配比。相对单菌种来说SOD值比大多数混合菌种低,可能是因为不同菌种之间可能同在协调或共生的作用,使乳酸菌浓度增大。



嗜热链球菌 (La); 嗜热链球菌 (St); 植物乳杆菌 (Lp)

图2 不同菌种对发酵液 SOD 值的影响

Fig.2 Effect of different strains on SOD value of fermentation broth

### 2.1.3 甘蔗复合汁发酵初始 pH 的确定

由图3可以看出, 发酵复合果蔬汁的最适 pH 在 6.4, 此时发酵液中的乳酸菌浓度及 SOD 值均处于最大值, 且保持相对稳定, 初始 pH 低于或高于 6.4 时, 以上两项指标均出现明显的下降趋势。因此, 发酵复合果蔬汁发酵阶段的初始 pH 在 6.4 为最合适。

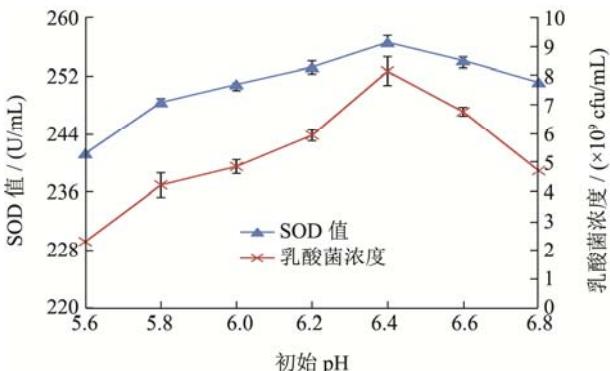


图3 初始pH对发酵液SOD值及乳酸菌浓度的影响

Fig.3 Effect of initial pH on SOD value of fermentation broth and concentration of lactic acid bacteria

### 2.1.4 甘蔗复合汁发酵温度的确定

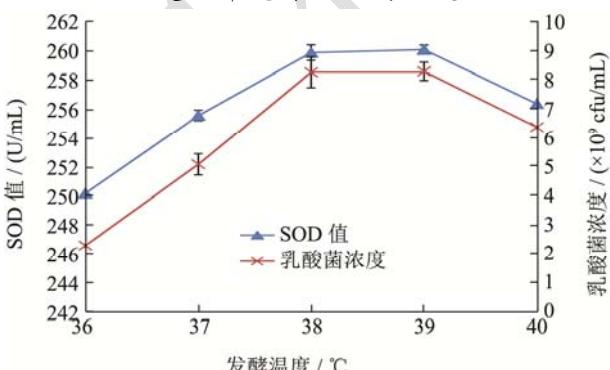


图4 初始温度对发酵液SOD值及乳酸菌浓度的影响

Fig.4 Effect of initial temperature on SOD value of fermentation broth and concentration of lactic acid bacteria

由图4可以看出, 发酵复合果蔬汁在 36~39 ℃之间时乳酸菌浓度及 SOD 值均处于上升趋势, 其中

38~39 ℃之间呈缓慢上升趋势, 而 39~40 ℃时呈下降趋势。因此, 38~39 ℃之间为发酵复合果蔬汁中乳酸菌的发酵最适温度。

### 2.1.5 甘蔗复合汁发酵温度的确定

由图5可以看出, 发酵复合果蔬汁中乳酸菌的接种量在 0.5%~2.5% 之间时乳酸菌浓度及 SOD 值随着接种量的增加而增加, 其中接种量在 2.5% 时乳酸菌浓度及 SOD 值有最大值。接种量在 2.5%~3.5% 之间发酵复合果蔬汁的乳酸菌浓度及 SOD 值反而呈下降趋势。可能是因为在营养物质一定的条件下, 接种量越大, 乳酸菌呈几何趋势增长消耗营养物质的速度加快, 造成营养物质缺乏致使部分乳酸菌提早消亡。

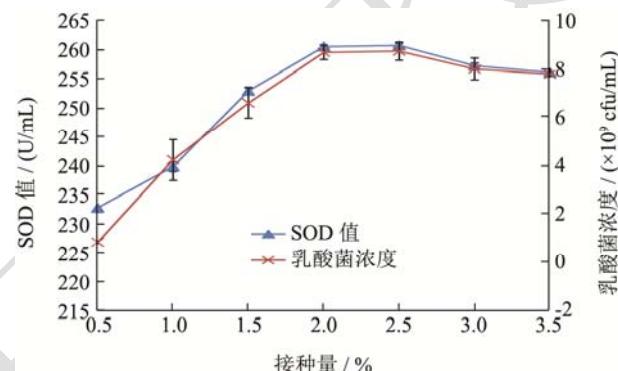


图5 初始接种量对发酵液SOD值及乳酸菌浓度的影响

Fig.5 Effect of initial inoculation on SOD value of fermentation broth and concentration of lactic acid bacteria

### 2.1.6 甘蔗复合汁发酵温度的确定

由图5可以看出, 益生菌发酵复合果蔬汁中乳酸菌浓度及 SOD 值随着发酵时间的延长而不断增大, 当发酵时间在 32~40 h 之间乳酸菌浓度及 SOD 值有最大值。发酵时间在 40 h 之后发酵复合果蔬汁的乳酸菌浓度及 SOD 值反而呈缓慢下降趋势。可能是因为在 40 h 之后益生菌发生了自溶现象。

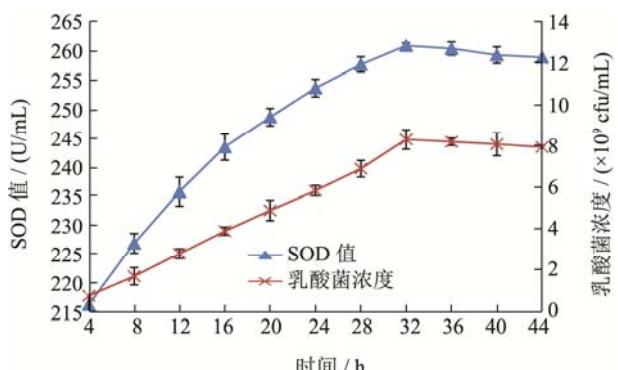


图6 发酵时间对发酵液SOD值及乳酸菌浓度的影响

Fig.6 Effect of fermentation time on SOD value of fermentation broth and concentration of lactic acid bacteria

## 2.2 响应面优化发酵复合果蔬汁加工工艺

表3 响应面设计及结果

Table 3 Response surface design and response value

实验序号	温度℃	初始 pH	接种量%	SOD/(U/mL)
1	-1.000	-1.000	0.000	238.32
2	1.000	-1.000	0.000	238.75
3	-1.000	1.000	0.000	233.57
4	1.000	1.000	0.000	240.75
5	-1.000	0.000	-1.000	264.98
6	1.000	0.000	-1.000	238.56
7	0.000	0.000	1.000	241.88
8	0.000	0.000	1.000	240.90
9	0.000	1.000	-1.000	250.30
10	0.000	-1.000	-1.000	254.80
11	0.000	1.000	1.000	254.78
12	0.000	1.000	1.000	257.53
13	0.000	0.000	0.000	254.98
14	0.000	0.000	0.000	261.88
15	0.000	0.000	0.000	261.02

表4 SOD 回归模型方法分析

Table 4 Analysis of SOD regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	9684	9	1.14	73.16	0.0010**
A	2.38	1	0.13	124.13	0.0021**
B	625	1	0.25	5.28	0.0239*
C	4.8	1	6.30	7.43	0.0211*
AB	56.86	1	0.06	4.5	0.0133*
AC	350	1	0.50	11.31	0.0372*
BC	256	1	0.78	1.78	0.0284*
$A^2$	516	1	4.90	111.22	0.003**
$B^2$	267	1	0.60	10.38	0.001**
$C^2$	134	1	0.72	11.66	0.0012**
Residual 残差	02	5	0.013		
Lack of Fit 失拟项	0.071	3	0.015	0.75	0.7376
Pure Error 纯误差	0.027	3	0.014		
Cor Total 总离差	7.46	14			

注:  $p<0.05$  为显著, 用“\*”表示;  $p<0.01$  为极显著, 用“\*\*”表示。

根据响应面试验设计和单因素实验结果, 以益生菌发酵温度 A (℃)、初始 pH B、接种量 C (%) 为变量, 以 SOD U/mL 和 pH 为响应值, 试验设计见表 3。表中共有 15 个试验点, 12 个析因点和 3 个零点, 零点实验重复 5 次。

回归模型分析方差分析的结果见表 4。三个单因素进行拟合后得到的关于 Y 回归方程:

$$Y=4.98+0.08A-0.04B-0.03C-0.11D-2.470E-0.73AB +0.54AC+0.21AD+0.05BC+0.16BD-0.11CD-0.27A^2$$

$$0.31B^2-0.18C^2-0.28D^2$$

模型方差分析和显著性检验结果如上表所述,  $p<0.05$  表明在统计学上有意义。且自变量一次项 A、B、C, 二次项均显著, 即  $p<0.05$ 。失拟项用来表示所用模型与实验拟合的程度, 即二者差异的程度。失拟项  $p 0.7376 > 0.05$ , 对模型是有利的, 无失拟因素存在, 因此可用该回归方程代替试验真实点对实验结果进行分析。

## 2.2.1 响应面和等高线

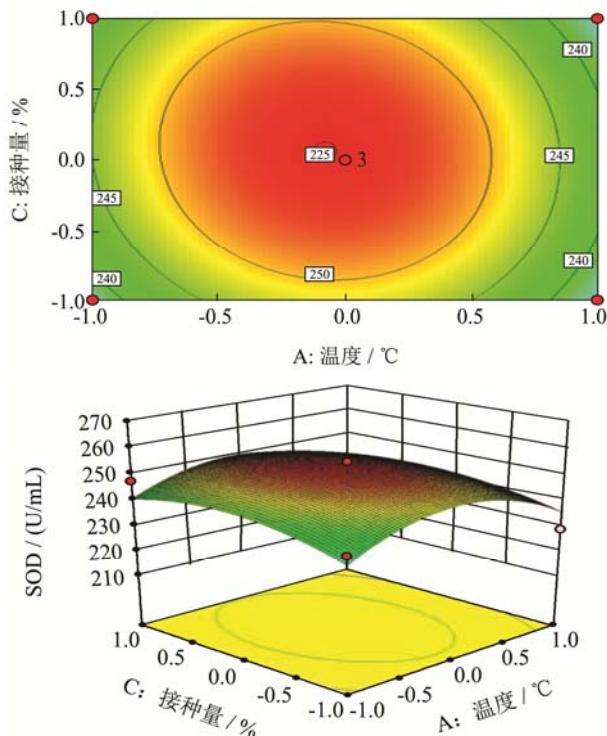


图 7 接种量和温度对发酵液 SOD 值的影响

Fig.7 Effects of inoculation amount and temperature on SOD value of fermentation broth

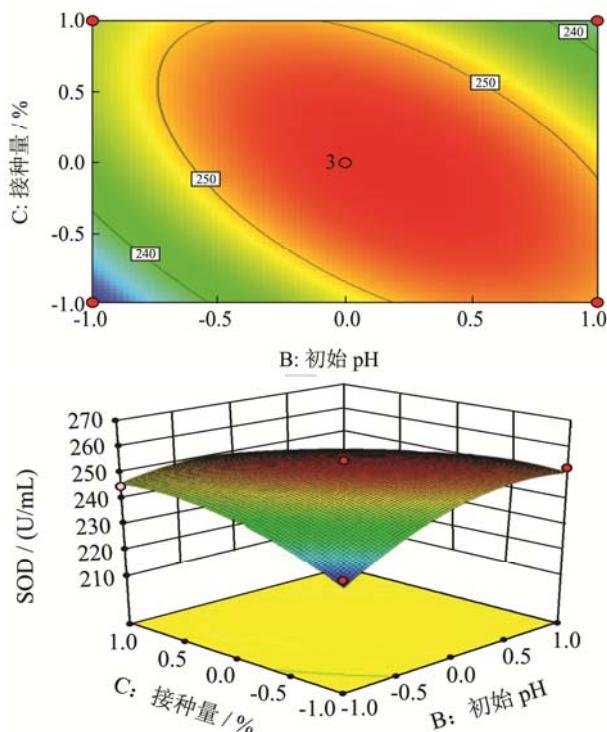


图 8 接种量和初始 pH 交互作用对发酵液 SOD 值影响

Fig.8 Effects of inoculation amount and initial pH interaction on SOD value of fermentation broth

交互效应的强弱可以通过等高线的形状判断，椭圆表示两因素交互作用显著。图 7~9 显示发酵温度 (A)、初始 pH (B)、接种量 (C) 之间的相互作用

对乳酸菌发酵的影响。

## 2.2.2 最佳工艺参数及验证试验

经过响应面分析得出最佳工艺为：发酵温度为 37.91 °C，初始 pH 为 6.72，接种量为 2.88%。考虑实际操作，对各参数稍作调整：发酵温度为 38 °C，初始 pH 为 6.7，接种量为 3%，经过五组验证试验后，实际 SOD 值为 261.164，于理论预测值 261.205 接近。说明经响应面优化得到的乳酸菌发酵条件具有一定的可行性。

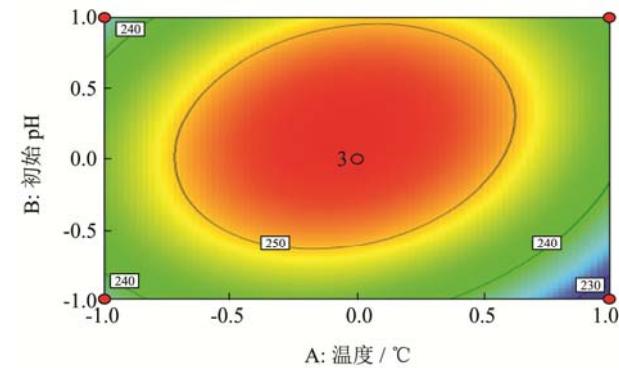


图 9 初始温度及初始 pH 交互作用对发酵液 SOD 影响

Fig.9 Effects of initial temperature and initial pH interaction on SOD of fermentation broth

## 2.3 益生菌发酵复合果蔬汁质量指标

### 2.3.1 感官指标

表 4 发酵复合果蔬汁感官评价指标

Table 4 Sensory index of sugarcane compound fruit and vegetable enzymes

项目	评价
色泽	呈金黄色
状态	液状均匀，无果肉沉淀
气味与滋味	具有发酵饮料特有的香气，有清香的甘蔗、胡萝卜、番茄香味
杂质	无正常视力可见外来杂质

### 2.3.2 理化指标

表 5 可得益生菌发酵复合果蔬汁的特征理化指标：可溶性固形物、可滴定酸及氯化钠含量均符合标

准要求。

表 5 发酵复合果蔬汁理化指标

**Table 5 Physicochemical index of sugarcane compound fruit and vegetable enzymes**

项目	标准要求	实测指标含量
可溶性固形物/%	2.0	12.3
可滴定酸度/°T	25	71.6
氯化钠含量测定/(g/100 g)	≤0.2	0

### 2.3.3 微生物指标

由表 6 可知益生菌发酵复合果蔬汁微生物指标: 菌落总数、大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌含量均符合标准要求。

表 6 发酵复合果蔬汁微生物指标

**Table 6 Microbial index of sugarcane compound fruit and vegetable enzymes**

项目	标准要求	实测指标含量
菌落总数/(CFU/mL)	$5 \times 10^4$	$3.61 \times 10^{11}$
大肠杆菌/(CFU/mL)	≤3	1
沙门氏菌/(CFU/mL)	0	0
金黄色葡萄球菌/(CFU/mL)	≤100	3

## 3 结论

3.1 单因素实验得出: 发酵复合果蔬汁最佳原料比为甘蔗汁:番茄汁:胡萝卜汁=5:1:2; 最优菌种配比为嗜酸乳杆菌(*La*):嗜热链球菌(*St*):植物乳杆菌(*Lp*)=3:2:1; 最适初始 pH 在 6.4; 最佳发酵温度为 39~40 °C 之间; 最佳接种量为 2.5%。

3.2 响应面优化实验得出最佳工艺为: 发酵温度为 37.91 °C, 初始 pH 为 6.72, 接种量为 2.88%。考虑实际操作, 对各参数稍作调整: 发酵温度为 38 °C, 初始 pH 为 6.7, 接种量为 3%, 经过五组验证试验后, 实际 SOD 值为 255.164, 于理论预测值 255.205 接近。说明经响应面优化得到的益生菌发酵条件具有一定的可行性。

3.3 测定感官指标、理化指标及微生物指标发现益生菌发酵复合果蔬汁各项质量指标均符合 T/CBFIA 08003-2017 中国生物发酵产业协会团体标准。产品合格。

3.4 本文开发出较完善的益生菌发酵复合果蔬汁发酵工艺, 且活菌数含量较高。为进一步开发功能性益生菌发酵果蔬产品, 实现工业化生产提供了一定的数据支持和理论基础; 为进一步解决功能性成分和质量控制等问题提供了一定的技术依据。

## 参考文献

- [1] 陈莉, 杨建, 邹刚. 甘蔗的社会经济价值探讨[J]. 中国农业信息, 2013, 4: 37-39  
CHEN Li, YANG Jian, ZOU Gang. Study on the social and economic value of sugarcane [J]. China Agriculture Information, 2013, 4: 37-39
- [2] Pandey A, Soccol C R, Nigam P, et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse [J]. Bioresource Technology, 2000, 74(1): 69-80
- [3] 陈平华. 甘蔗主成分分析及作为再生能源的可行性[J]. 甘蔗: 福建, 2004, 11(2): 1-4  
CHEN Ping-hua. Principal component analysis of sugarcane and its feasibility as renewable energy [J]. Sugarcane: Fujian, 2004, 11(2): 1-4
- [4] Eggleston G. Positive aspects of cane sugar and sugarcane derived products in food and nutrition [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2018, 66(16): 4007-4012
- [5] Santos W C C D, Nascimento W G D, Magalhães A L R, et al. Nutritive value, total losses of dry matter and aerobic stability of the silage from three varieties of sugarcane treated with commercial microbial additives [J]. Animal Feed Science & Technology, 2015, 204(3): 1-8
- [6] Chen G L, Zheng F J, Lin B, et al. Preparation and characteristics of sugarcane low alcoholic drink by submerged alcoholic fermentation [J]. Sugar Tech, 2013, 15(4): 412-416
- [7] Hentschel H. Thoughts on the production and use of cane juice [J]. Agropecuária Catarinense, 2009: 43-46
- [8] 孙帅楠. 甘蔗汁饮料混菌发酵工艺的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2017  
SUN Shuai-nan. Study on the fermentation process of Sugar cane juice drink by mixed bacteria [D]. Nanning: Guangxi University, 2017
- [9] Biyani M K, Banavaliker M M, Parikh G C, et al. Nutrients rich low fat high fiber carrot product [P]. 2001
- [10] Gong Y J, Zeng C, Wang Q, et al. Influence factors on physical properties and nutrient component for carrot micro-powder [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(11): 124-128
- [11] García A F, Butz P, Bognà A, et al. Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging [J]. European Food Research & Technology, 2001, 213(4-5): 290-296
- [12] 阮婉贞. 胡萝卜的营养成分及保健功能[J]. 中国食物与营养, 2007, 6: 51-53

- RUAN Wan-zhen. Nutritional composition and health care function of carrot [J]. Chinese Food and Nutrition, 2007, 6: 51-53
- [13] Ding Wu, Sun J W, Yao M L, et al. Optimization of carrot yoghurt production by fermentation of immobilized *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* [J]. Food Science, 2010, 29(1): 40-44
- [14] Guilguerrero J L, Rebollosofuentes M M. Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties [J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2009, 22(2): 123-129
- [15] 敬思群,杨文菊.番茄渣、皮成分分析及在食品加工中的应用[J].新疆大学学报(自然科学版),2006,23(2):197-200  
JING Si-qun, YANG Wen-ju. Composition analysis of tomato residue and skin and its application in food processing [J]. Journal of Xinjiang University (Natural Science Edition), 2006, 23(2): 197-200
- [16] Hegde S R, Vijayalakshmi D, Prasad D T, et al. Development of tomato products and their nutrient composition [J]. Journal of Dairying Foods & Home Sciences, 2007
- [17] Willcox J K, Catignani G L, Lazarus S. Tomatoes and cardiovascular health [J]. C R C Critical Reviews in Food Technology, 2003, 43(1): 1-18
- [18] Motamedzadegan A, Tabarestani H S, Sinha N K, et al. Tomato processing, quality, and nutrition [M]. Handbook of Vegetables and Vegetable Processing, 2011
- [19] Ribeiro L S, Duarte W F, Dias D R, et al. Fermented sugarcane and pineapple beverage produced using Saccharomyces cerevisiae and non-Saccharomyces yeast [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2015, 121(2): 262-272
- [20] 蔡健,王薇,宋华.番茄的营养保健作用及保藏技术[J].食品研究与开发,2005,26(3):137-138  
CAI Jian, WANG Wei, SONG Hua. Nutrition and health care of tomato and its conservation technique [J]. Food Research and Development, 2005, 26(3): 137-138
- [21] 王羽梅,王勇,郝春燕.胡萝卜营养成分的分析[J].北方农业学报,1996,s1:34-35  
WANG Yu-mei, WANG Yong, HAO Chun-yan. Analysis of nutritional components in Carrot [J]. Journal of North China Agriculture, 1996, s1: 34-35
- [22] Zhou L H, Wang H, Wang Y Y. Research progress of functional probiotic lactic acid bacteria [J]. Natural Product Research & Development, 2012, 24(7): 990-997
- [23] Kleerebezem M, Vaughan E E. Probiotic and gut lactobacilli and *Bifidobacteria*: Molecular approaches to study diversity and activity [J]. Annual Review of Microbiology, 2009, 63(1): 269-290
- [24] Xie M, Xiong T, Guan Q. Research progress on the key techniques of the fruit and vegetable products fermented by probiotics [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology, 2014, 14(10): 1-9
- [25] 孙庆申,周丽楠.益生菌类保健食品研究进展[J].食品科学技术学报,2018,36(2):21-26,34  
SUN Qing-shen, ZHOU Li-nan. Advances in studies on probiotic health foods [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 36(2): 21-26, 34

(上接第 280 页)

- [20] Sepúlveda-Varas P, Proudfoot K L, Weary D M, et al. Changes in behaviour of dairy cows with clinical mastitis [J]. Applied Animal Behaviour Science, 2016, 175: 8-13
- [21] 徐继英,刘俊林,李先波,等.我国部分地区奶牛乳房炎源大肠杆菌生物学特性及耐药性分析[J].农业生物技术学报,2012,20(9):1035-1041  
XU Ji-ying, LIU Jun-lin, LI Xian-bo, et al. Biological characteristics and drug resistance of *Escherichia coli* from dairy cow mastitis in some areas of China [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2012, 20(9): 1035-1041
- [22] Chen Q, He G, Zhang W, et al. Stromal fibroblasts derived from mammary gland of bovine with mastitis display inflammation-specific changes [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 27462
- [23] 王娜,高学军.哈尔滨地区奶牛隐性乳房炎病原菌的分离鉴定[J].东北农业大学学报,2011,42(2):29-32  
WANG Na, GAO Xue-jun. Isolation and identification of pathogenic bacteria of cows with recessive mastitis in Harbin [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011, 42(2): 29-32