

野生蓝靛果发酵过程中品质变化及挥发性物质分析

冯隽野, 李佳启, 王萍

(东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要: 本文研究了植物乳杆菌发酵蓝靛果浆及果汁的品质变化, 分析了 48 h 发酵过程中 pH、活菌数、总酚含量、花色苷含量、清除 OH 能力、清除 DPPH 能力、SOD 酶活性和淀粉酶活力的变化, 通过气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 分析了发酵 48 h 时蓝靛果浆及果汁的挥发性物质。研究发现, 经过发酵, 蓝靛果浆及果汁的品质变化如下: pH 显著下降 ($p < 0.05$), 最终分别为 3.71 和 3.51; 植物乳杆菌数量在 20 h 和 24 h 达到最高, 分别为 7.42 Log CFU/mL 和 7.85 Log CFU/mL; 总酚含量均在 40 h 时达到最大值, 分别为 0.89 ± 0.06 mg/mL 和 0.70 ± 0.02 mg/mL; 花色苷含量显著降低 ($p < 0.05$); 清除 OH 能力在 40 h 时达到最高, 分别为 $(83.12 \pm 3.59)\%$ 和 $(80.60 \pm 2.87)\%$; 清除 DPPH 能力变化不显著 ($p > 0.05$); SOD 酶活力于 36 h 达到最大值, 分别为 (45.59 ± 1.07) U/mL 和 (49.59 ± 0.71) U/mL; 淀粉酶活力于 48 h 达到最大值, 分别为 (8.77 ± 0.37) U/mL 和 (11.93 ± 0.57) U/mL。通过 GC-MS 分析, 在发酵蓝靛果浆及果汁中分别检测出 86 种和 70 种挥发性物质。癸酸乙酯 (34.42%) 和辛酸乙酯 (21.37%) 是发酵蓝靛果浆中主要的挥发性物质; 辛酸乙酯 (20.67%)、乙基 9-癸烯酸酯 (17.82%) 和癸酸乙酯 (15.51%) 是发酵蓝靛果汁中主要的挥发性物质。癸酸乙酯是发酵蓝靛果中的特征性风味物质。

关键词: 蓝靛果; 植物乳杆菌; 品质变化; 挥发性物质

文章编号: 1673-9078(2018)11-111-118

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.018

Quality Changes and Analysis of Volatile Compounds of *Lonicera caerulea*

L. during Fermentation

FENG Jun-ye, LI Jia-qi, WANG Ping

(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In this paper, the quality changes of *Lactobacillus plantarum* fermented honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) pulp and juice were studied. The changes of pH, viable cell counts, total phenolic content, anthocyanin content, hydroxyl radical scavenging ability, DPPH free radical scavenging ability, SOD activity and amylase activity were investigated during 48 h fermentation. The volatile compounds of honeysuckle pulp and juice at 48 h of fermentation were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that through fermentation, the quality changes of the honeysuckle pulp and juice were as follows: the pH decreased significantly ($p < 0.05$), and finally was 3.71 and 3.51, respectively. The number of *Lactobacillus plantarum* was 7.42 Log CFU/mL and 7.85 Log CFU/mL at 20 h and 24 h, respectively. The total phenolic content showed the highest value at 40 h, which was (0.89 ± 0.06) mg/mL and (0.70 ± 0.02) mg/mL, respectively. The anthocyanin content was significantly reduced ($p < 0.05$). The hydroxyl radical scavenging ability reached the highest point at 40 h, which was $83.12 \pm 3.59\%$ and $80.60 \pm 2.87\%$, respectively. DPPH free radical scavenging ability did not change significantly ($p > 0.05$). The SOD activity reached a maximum at 36h, which was (45.59 ± 1.07) U/mL and (49.59 ± 0.71) U/mL, respectively. The amylase activity achieved the peak at 48 h, which was (8.77 ± 0.37) U/mL and (11.93 ± 0.57) U/mL, respectively. By GC-MS analysis, 86 and 70 volatile compounds were detected in the fermented honeysuckle pulp and juice, respectively. Ethyl decanoate (34.42%) and ethyl octanoate (21.37%) are the main volatile compounds in the fermented honeysuckle pulp; and ethyl octanoate (20.67%), ethyl 9-decenoate (17.82%) and ethyl decanoate (15.51%) are the main volatile compounds in fermented honeysuckle juice. Ethyl decanoate is a characteristic flavor compound in fermented honeysuckle.

Key words: *Lonicera caerulea* L.; *Lactobacillus plantarum*; quality changes; volatile compounds

收稿日期: 2018-07-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2572017GY02); 哈尔滨市应用技术与开发项目 (2017RAYXJ012)

作者简介: 冯隽野 (1994-), 男, 在读硕士, 研究方向: 食品发酵

通讯作者: 王萍 (1964-), 女, 博士, 教授, 植物活性物质分离及功能性

蓝靛果 (*Lonicera caerulea* L.) 又名山茄子、黑瞎子果、羊奶子等, 是一种忍冬科、忍冬属可食用野生浆果类植物, 主要分布在俄罗斯、中国、日本和北美^[1]。成熟的蓝靛果果实具有独特的风味, 富含维生素 (VB₁、VB₂、V_{pp}、V_c)、矿物质和氨基酸, 具有很高

的营养价值^[2]。蓝靛果中含有丰富的多酚、黄酮和花色苷等功能性成分,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和治疗糖尿病^[3-6]等功效,具有广阔的开发利用前景。发酵是保持或改善果蔬原料营养与感官品质、延长食品货架期的有效手段,微生物如酵母和乳酸菌已广泛用于发酵来增强食品的功能特性^[7,8]。

目前,对蓝靛果的研究日趋增加,蓝靛果果酱、果脯、酸奶、饮料、果酒等产品已有报道^[9-12];对蓝靛果的研究多集中在总酚、花色苷等活性成分分析及抗氧化、抑菌、降血脂等功能评价^[13-15]。但国内外对蓝靛果乳酸菌发酵过程及其芳香物质的分析却未见报道。

本研究选用植物乳杆菌分别发酵蓝靛果浆及蓝靛果汁,对0~48 h的发酵过程中pH、活菌数、活性成分、自由基清除能力及酶活力进行测定和比较,并对发酵48 h的蓝靛果浆及蓝靛果汁的挥发性物质进行分析。为推动蓝靛果资源利用及储存,开发新型发酵产品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生蓝靛果,购自黑龙江大兴安岭。

植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),东北林业大学食品微生物实验室保存。

SOD试剂盒、淀粉酶试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;脱氧核糖、2-巯代巴比妥酸,购自上海源叶生物科技有限公司;其他药品试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DH6000A型电热恒温培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司;5030-PVL型高压灭菌锅,长春百奥生物仪器有限公司;PHS-3E型pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;DK-S12型电热恒温水浴锅,上海森信试验仪器有限公司;Agilent GC 6890-MS 5973N型气相色谱-质谱联用仪,美国Agilent公司。

1.3 试验方法

1.3.1 植物乳杆菌的活化与驯化

将植物乳杆菌接种到MRS培养基中,于37℃培养24 h进行活化处理,然后将活化好的菌种按10%的接种量接入灭菌后的50% MRS培养基和50%蓝靛果浆/汁(与水1:6混合,W/V)混合培养液中进行驯化处理,37℃培养24 h。

1.3.2 样品制备

1.3.2.1 植物乳杆菌发酵蓝靛果浆的制备

将蓝靛果与蒸馏水,按料液比1:6打浆,量取蓝靛果浆100 mL于150 mL三角瓶中,按18 g/100 mL加入白砂糖,使用1 M的NaHCO₃溶液调节pH为4.70,于68℃杀菌30 min,冷却后,将驯化液(菌体量约为1.33×10⁷ CFU/mL)按6%的接种量接种于蓝靛果浆发酵基质中,于37℃恒温静置培养,制备发酵蓝靛果浆。

1.3.2.2 植物乳杆菌发酵蓝靛果汁的制备

将蓝靛果与蒸馏水,按料液比1:6打浆,过滤,量取蓝靛果汁100 mL于150 mL三角瓶中,按18 g/100 mL加入白砂糖,使用1 M的NaHCO₃溶液调节pH为4.70,于68℃杀菌30 min,冷却后,将驯化液(菌体量约为1.32×10⁸ CFU/mL)按6%的接种量接种于蓝靛果汁发酵基质中,于37℃恒温静置培养,制备发酵蓝靛果汁。

1.3.2.3 取样

每隔4 h,分别对发酵蓝靛果浆和发酵蓝靛果汁取样,测定pH值和活菌数。每隔8 h,分别对发酵蓝靛果浆和发酵蓝靛果汁取样,4000 r/min离心10 min,取上清液,测定总酚含量、花色苷含量、清除OH的能力、清除DPPH的能力。每隔12 h,分别对发酵蓝靛果浆和发酵蓝靛果汁取样,4000 r/min离心10 min,取上清液,测定SOD酶活力和淀粉酶活力。

1.4 测定方法

1.4.1 pH值的测定

使用pH计测定样品的pH值。

1.4.2 活菌数的测定

采用平板计数法,将样品用0.85%的盐水梯度稀释,涂布于MRS琼脂培养基上,于37℃培养48 h,计数植物乳杆菌数量。

1.4.3 活性物质含量的测定

1.4.3.1 总酚含量的测定

采用福林酚法^[16]测定样品中的总酚含量。将100 μL适当稀释后的样品加入到试管中,加水7 mL,摇匀,再加入0.5 mL福林试剂,充分摇匀,1 min之后,加入质量分数20%的Na₂CO₃溶液1.5 mL,混匀,最后加入0.9 mL蒸馏水。于25℃水浴条件下避光反应1 h。在765 nm波长下测定吸光值,结果用没食子酸当量表示。重复测定3次取平均值。

1.4.3.2 花色苷含量的测定

采用pH示差法^[17]测定样品中的花色苷。分别移取1 mL样品于试管中,用pH 1.0、pH 4.5的缓冲溶

液定容到 10 mL, 置于暗处反应达平衡后 (pH 1.0 为 50 min, pH 4.5 为 80 min) 分别在 510、700 nm 波长下测定吸光值, 根据公式 (1) 计算花色苷含量。重复测定 3 次取平均值。

$$\text{花色苷含量 (mg/L)} = \frac{A \times M}{\epsilon \times L} \times \text{DF} \times 1000 \quad (1)$$

注: A-吸光度, $A = (A_{510\text{nm}, \text{pH} 1.0} - A_{700\text{nm}, \text{pH} 1.0}) - (A_{510\text{nm}, \text{pH} 4.5} - A_{700\text{nm}, \text{pH} 4.5})$; ϵ -矢车菊素-3-葡萄糖苷的消光系数, 26900; DF-稀释因子; M-矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量, 449.2。

1.4.4 清除自由基能力的测定

1.4.4.1 清除 OH 能力的测定

采用硫代巴比妥酸法 (TBARS) 测定样品清除 OH 的能力。试验方法参照文献^[18]并作修改。取 0.25 mL 样品, 以 0.25 mL 蒸馏水作为空白对照, 向样品中加入 0.5 mL PBS 缓冲溶液 (pH 7.4, 100 mM)、0.2 mL 2-脱氧-D-核糖 (28 mM)、0.4 mL Fe^{3+} -EDTA (100 μM FeCl_3 , 104 μM Na_2EDTA , 1:1, V/V) 混匀, 再加入 0.2 mL H_2O_2 (1 mM) 和 0.2 mL 抗坏血酸溶液 (1 mM), 在 37 °C 条件下反应 1 h。立即加入 2 mL 三氯乙酸 (2.8%, W/V) 和 2 mL 2-硫代巴比妥酸 (1%, W/V) 混匀, 沸水浴 20 min, 然后放入冰水浴中终止反应。在室温下静置 10 min, 于 532 nm 波长下测定各样品吸光值; 根据公式 (2), 计算清除率。重复测定 3 次取平均值。

$$\text{清除率 (\%)} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (2)$$

注: A_1 : 加测定溶液后的吸光值; A_2 : 加测定溶液, 不加脱氧核糖溶液反应后的吸光值; A_3 : 未加测定溶液时的吸光值。

1.4.4.2 清除 DPPH 能力的测定

参考文献^[17]的方法, 并稍有改动。移取样品 1 mL 加入 0.1 mM 的 DPPH-乙醇溶液 4 mL, 避光反应 30 min, 以蒸馏水为参比, 在 517 nm 波长下测定吸光值; 对照组用 4 mL 无水乙醇代替 0.1 mM DPPH, 空白组用 1 mL 无水乙醇代替样品, 测定吸光值, 根据公式 (3) 计算清除率。重复测定 3 次取平均值。

$$\text{清除率 (\%)} = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (3)$$

注: A_1 -样品组吸光值; A_2 -对照组吸光值; A_3 -空白组吸光值。

1.4.5 酶活力的测定

1.4.5.1 SOD 酶活力测定

按照 SOD 酶试剂盒说明书进行操作。

1.4.5.2 淀粉酶活力测定

按照淀粉酶试剂盒说明书进行操作。

1.4.6 挥发性物质分析

仪器: Agilent GC 6890-MS 5973N 型气相色谱-

质谱联用仪; 萃取头: 50/30 μm (DVB/CAR/PDMS); 色谱柱: DB-5 (60 m \times 0.25 mm, 0.25 μm film thickness, J&W Sci. USA)。

色谱条件: 进样口温度 250 °C, 载气 He, 流速 1.0 mL/min。采用程序升温方式, 由初始温度升至 50 °C 保持 5 min, 然后以 5 °C/min 升至 250 °C, 在此温度下保持 5 min, 不分流进样。

质谱条件: MS 离子源在 225 °C 全扫描, 电离方式: EI, 电子能量 70 eV; 扫描质量范围: 50~500 *amu*。

萃取条件: 取 20 mL 样品, 将样品瓶 (50 mL) 放入 60 °C 的水浴中平衡 10 min, 将老化好 (老化温度: 280 °C, 老化时间: 5 min) 的萃取针头插入样品瓶中, 将石英纤维头暴露于样品瓶的顶空气中, 恒温 60 °C 萃取 45 min, 用手柄将纤维头推回针头后拔出, 插入 GC-MS 的进样器于 250 °C 条件下解析 1 min, 同时启动仪器采集数据。

定性与定量的方法: 对采集到的质谱图与 NIST 02 MS Library 图谱库进行检索对比, 并用气相色谱峰面积归一化定量计算出各挥发性成分在发酵蓝靛果浆及果汁中的相对含量。

1.5 统计分析

试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 采用 Origin 8.5 作图, SPSS 20.0 进行数据处理, 以 $p < 0.05$ 为统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 蓝靛果发酵过程中 pH 值的变化

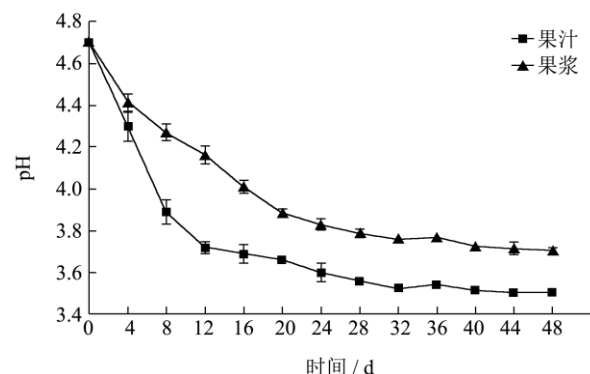


图 1 发酵蓝靛果浆及果汁的 pH 值

Fig.1 pH of fermented honeysuckle pulp and juice

由图 1 可以看出, 随着发酵时间的延长, pH 呈现先下降后稳定的趋势。与发酵蓝靛果浆相比, 发酵蓝靛果汁的 pH 下降的更快, 在 0~12 h, 急剧下降。发酵 48 h 后, 发酵蓝靛果浆与发酵蓝靛果汁的 pH 由 4.70 分别降至 3.71 与 3.51, pH 变化显著 ($p < 0.05$)。

随着发酵的进行,植物乳杆菌代谢产生乳酸等有机酸,有机酸积累从而导致 pH 的降低,酸性的环境有利于花色苷的稳定并且可以抑制病原菌的生长。

2.2 蓝靛果发酵过程中活菌数的变化

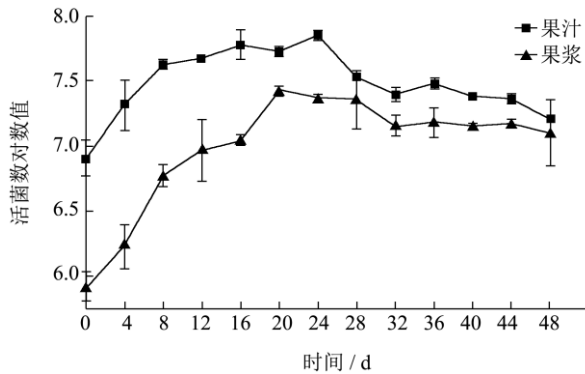


图2 发酵蓝靛果浆及果汁的活菌数

Fig.2 Number of viable cells of fermented honeysuckle pulp and juice

由图2可以看出,发酵蓝靛果浆及果汁中植物乳杆菌的数量分别在20h及24h达到最高。发酵前期,由于充足的营养条件,植物乳杆菌迅速生长,随着发酵的进行,营养物质被大量消耗,无法满足植物乳杆菌生长的需求,因此,植物乳杆菌的数量呈现下降的趋势。0~48h发酵期间,发酵蓝靛果浆中植物乳杆菌的数量由5.90 Log CFU/mL (0h)升至7.42 Log CFU/mL (20h),然后降至7.10 Log CFU/mL (48h);发酵蓝靛果汁中植物乳杆菌的数量由6.90 Log CFU/mL (0h)升至7.85 Log CFU/mL (24h),然后降至7.21 Log CFU/mL (48h)。出现这种数量差异的原因,可能是因为植物乳杆菌在不同的基质中生长状况不同导致的。Espirito-Santo^[19]等人的研究表明不同果汁类型(葡萄汁、苹果汁、橙汁)会影响乳酸杆菌的生长。

2.3 蓝靛果发酵过程中活性物质含量的变化

2.3.1 蓝靛果发酵过程中总酚含量的变化

由图3可以看出,随着发酵时间的延长,发酵蓝靛果浆及果汁中的总酚含量显著增加 ($p < 0.05$),整体上呈现先上升后下降的趋势,均在40h时达到总酚含量最大值,分别为(0.89±0.06) mg/mL和(0.70±0.02) mg/mL,比发酵前分别提高了58.33%和36.05%。Bhat等^[20]人使用植物乳杆菌发酵显著增加了番石榴中的总酚含量。Kwaw等^[21]人使用乳酸菌(植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌和副干酪乳杆菌)发酵桑葚汁提高了其总酚含量,认为总酚含量的提高是由于乳酸菌产生的水解酶能将复杂的酚类化合物水解成简单的酚类物质。

发酵蓝靛果浆中总酚含量高于发酵蓝靛果汁,原因可能是蓝靛果汁中过滤除去了果皮,果皮中存在大量的酚类物质。总酚含量降低,可能是因为多酚类化合物与蛋白质、多糖等大分子物质结合或吸附,从而导致总酚含量的下降^[22,23]。

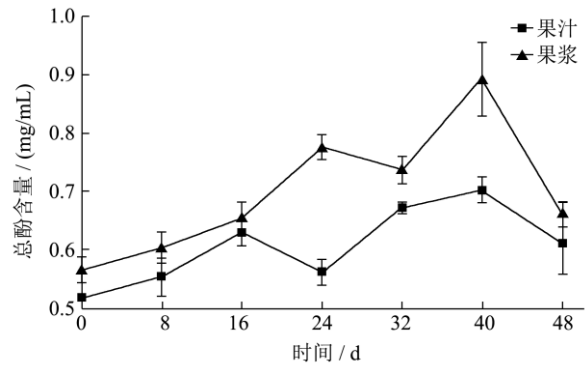


图3 发酵蓝靛果浆及果汁的总酚含量

Fig.3 Total phenols contents of fermented honeysuckle pulp and juice

2.3.2 蓝靛果发酵过程中花色苷含量的变化

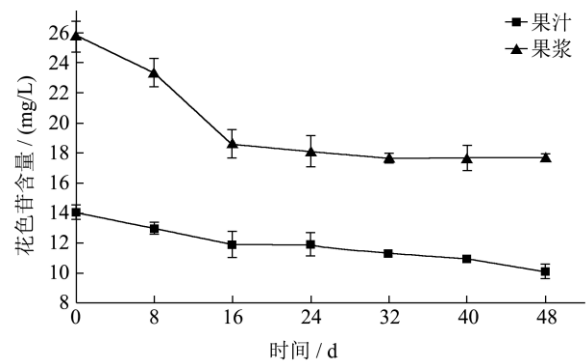


图4 发酵蓝靛果浆及果汁的花色苷含量

Fig.4 Anthocyanin contents of fermented honeysuckle pulp and juice

由图4可以看出,与未发酵蓝靛果浆及果汁(0h)相比,发酵蓝靛果浆及果汁的花色苷含量显著降低 ($p < 0.05$)。发酵前,蓝靛果浆与果汁的花色苷含量分别为(25.73±1.041) mg/L和(14.06±0.47) mg/L,两者含量的差异是由于蓝靛果汁中过滤除去了富含花色苷的果皮。

发酵48h后,发酵蓝靛果浆及果汁的花色苷含量分别降至(17.68±0.23) mg/L和(10.09±0.48) mg/L。发酵前期,花色苷含量的下降由花色苷分子被β-葡萄糖苷酶水解为糖基和花色素所引起的^[24];发酵后期,花色苷含量趋于稳定,是因为pH降低,花色苷在酸性条件下更稳定。Hashemi等^[25]人也得到过类似的结果,植物乳杆菌发酵导致小檗果汁中花色苷总含量降低。

2.4 蓝靛果发酵过程中清除自由基能力变化

2.4.1 蓝靛果发酵过程中清除 OH 能力的变化

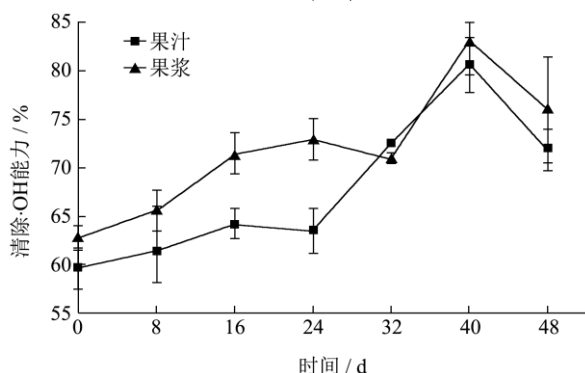


图5 发酵蓝靛果浆及果汁的清除·OH能力

Fig.5 Hydroxyl radical scavenging activity of fermented honeysuckle pulp and juice

由图5可以看出,与0 h相比,发酵蓝靛果浆及果汁对OH的清除能力显著增强($p < 0.05$),整体呈现先上升后下降的趋势,在40 h时达到最高,分别为(83.12±3.59)%和(80.60±2.87)%,分别提高了32.57%和35.42%。发酵蓝靛果浆对OH的清除能力高于发酵蓝靛果汁对OH的清除能力。其变化趋势与总酚含量的变化趋势相一致。发酵可提高蓝靛果浆及果汁清除OH的能力,可能是与蓝靛果中的酚类物质以及植物乳杆菌的抗氧化成分以及氧化还原调控系统有关[26,27]。

2.4.2 蓝靛果发酵过程中清除 DPPH 能力的变化

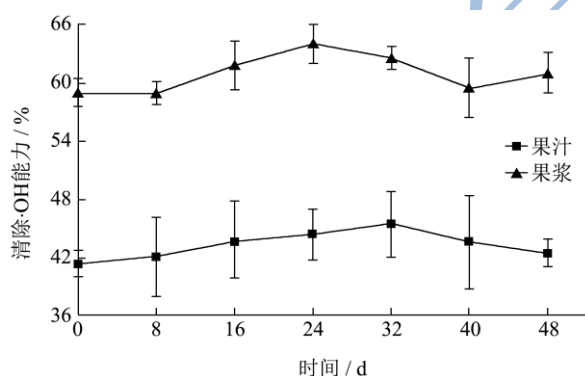


图6 发酵蓝靛果浆及果汁的清除 DPPH·能力

Fig.6 DPPH radical scavenging activity of fermented honeysuckle pulp and juice

由图6可以看出,经过发酵,蓝靛果浆与蓝靛果汁的清除DPPH能力变化并不显著($p > 0.05$),清除DPPH·能力仅有小幅度改善,分别于24 h(63.98±1.98%)和32 h(45.52±3.42%)达到最大值,与0 h相比,分别提高了8.51%和10.11%。

2.5 蓝靛果发酵过程中酶活力的变化

由表1可以看出,经过发酵,发酵蓝靛果浆及果

汁的SOD活力与淀粉酶活力得到显著增强($p < 0.05$),发酵蓝靛果汁中SOD活力与淀粉酶活力均高于发酵蓝靛果浆中的酶活力。发酵蓝靛果浆的SOD活力与淀粉酶活力分别于36 h(45.59±1.07 U/mL)和48 h(8.77±0.37 U/mL)达到最高,发酵蓝靛果汁的SOD活力与淀粉酶活力于36 h(49.59±0.71 U/mL)和48 h(11.93±0.57 U/mL)达到最高,表明发酵蓝靛果浆及果汁具有一定的抗氧化及助消化作用。陈爽^[28]对液状水果酵素的功效酶活力进行测定,测得SOD活力为10.758 U/mL,淀粉酶活力为1.968 U/mL。崔国庭^[29]使用酵母菌发酵制备草莓酵素,测得其SOD活力为35.4 U/mL,淀粉酶活力为3.26 U/mL。孙淑夷^[30]使用酵母菌-乳酸菌混合发酵荔枝汁,发酵液中SOD活力为52.17 U/mL,淀粉酶活力为12.15 U/mL。发酵蓝靛果浆及果汁的SOD及淀粉酶活力高于液状水果酵素、草莓酵素中的酶活力,与发酵荔枝汁中的酶活力相近,具有一定的功能价值。

表1 发酵蓝靛果浆及果汁的酶活力

Table1 Enzyme activity of fermented honeysuckle pulp and juice

时间 / h	SOD酶活/ (U/mL)		淀粉酶活/ (U/mL)	
	果浆	果汁	果浆	果汁
0	26.94±0.64	34.03±0.92	2.47±0.27	5.39±0.49
12	32.68±0.83	40.29±0.61	4.28±0.31	8.12±0.45
24	35.72±0.55	44.23±0.62	5.59±0.48	9.17±0.59
36	45.59±1.07	49.59±0.71	7.31±0.52	10.22±0.83
48	44.34±1.26	48.43±0.93	8.77±0.37	11.93±0.57

2.6 挥发性物质的测定结果

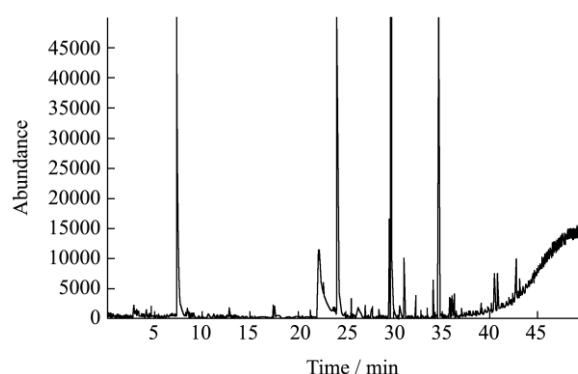


图7 发酵蓝靛果浆总离子流图

Fig.7 Total ion chromatogram of fermented honeysuckle pulp

通过GC-MS分析,分别从发酵蓝靛果浆和蓝靛果汁中检测出86种和70种挥发性成分。由表2可知,相对含量大于1%的成分分别为7种和10种,占主要的挥发性物质均是酯类。其中,(二乙氧基-三甲基硅烷基氧基-三甲基硅烷基)氧基-三甲基硅烷基应该不是发酵蓝靛

果中的挥发性物质,可能是由于试验过程中试验仪器、用具所带入的。在发酵蓝靛果浆中, 癸酸乙酯(34.42%)和辛酸乙酯(21.37%)是主要的挥发性物质; 在发酵蓝靛果汁中, 辛酸乙酯(20.67%)、乙基9-癸烯酸酯(17.82%)和癸酸乙酯(15.51%)是主要的挥发性物质。大多数酯类具有花、果香气, 如辛酸乙酯具有令人愉快的花果香气、杏子香气; 癸酸乙酯具有葡萄的水果香气^[31]。

该结果与杨旭等^[31]人的研究结果相似, 他们发现果汁发酵和带渣发酵的蓝靛果酒中的主要的酯类是辛酸乙酯、正己酸乙酯和癸酸乙酯; 本研究中发酵蓝靛果浆及果汁中辛酸乙酯和癸酸乙酯含量均高于果汁发酵和带渣发酵的蓝靛果酒中辛酸乙酯的含量(分别为12.97%和16.83%)和癸酸乙酯的含量(分别为7.92%和4.89%)。

此外, 与乳酸发酵蓝莓汁^[32]、桑椹果酒^[33]中的挥发性成分对比, 乳酸发酵蓝莓汁中主要的酯类是4-叔丁基苯甲酸乙酯(6.82%)和乙酸乙酯(6.38%); 桑

椹果酒中的主要酯类是辛酸乙酯(9.50%)和乙酸乙酯(9.09%)。其中癸酸乙酯是2种发酵产品中不含或含量极少的, 癸酸乙酯具有果香和白兰地似的香韵^[34], 癸酸乙酯是发酵蓝靛果中的特征性风味物质。这与杨旭^[31]等人的研究结果一致, 他们认为癸酸乙酯是构成“蓓蕾”蓝靛果酒特征风味的特有的、典型性的香气成分。

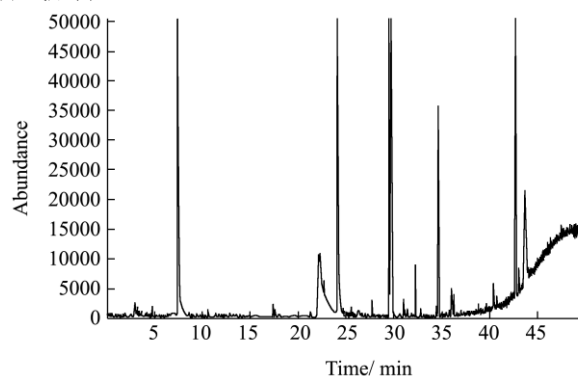


图8 发酵蓝靛果汁总离子流图

Fig.8 Total ion chromatogram of fermented honeysuckle juice

表2 发酵蓝靛果浆及果汁挥发性成分(相对含量>1%)分析结果

Table2 Analysis results of volatile components of fermented honeysuckle pulp and juice (relative content>1%)

序号	化合物英文名	化合物中文名	相对含量/%	
			发酵蓝靛果浆	发酵蓝靛果汁
1	3,3-Dimethyl-1,2-epoxybutane	3,3-二甲基-1,2-环氧丁烷	4.82	nd
2	2-Methylbutan-1-ol	2-甲基丁醇	3.66	nd
3	Phenylethyl Alcohol	β-苯乙醇	5.12	3.31
4	Octanoic acid, ethyl ester	辛酸乙酯	21.37	20.67
5	Decanoic acid, ethyl ester	癸酸乙酯	34.42	15.51
6	Dodecanoic acid, ethyl ester	月桂酸乙酯	9.09	2.89
7	diethyl bis(trimethylsilyl) silicate	(二乙氧基-三甲基硅烷基氧基硅烷基)氧基-三甲基硅烷	1.25	1.29
8	1-Butanol, 3-methyl-	异戊醇	nd	5.42
9	1,3-dimethylcyclopentane	1,3-二甲基环戊烷	nd	3.91
10	Ethyl 9-decenoate	乙基9-癸烯酸酯	nd	17.82
11	Ethyl 9-hexadecenoate	9-十六碳烯酸乙酯	nd	6.53
12	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene,2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-	全反-2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-廿四碳六烯	nd	6.15

注: nd, not detected, 未检出。

3 结论

3.1 使用植物乳杆菌发酵的蓝靛果浆及果汁, pH 与花色苷含量显著下降; 活菌数、总酚含量、清除 OH 的能力、SOD 酶活力和淀粉酶活力得到显著提升; 清除 DPPH 的能力没有显著变化。发酵 48 h 的蓝靛果浆与果汁分别检测出 86 种和 70 种挥发性物质, 具有令

人愉悦的香气。与发酵蓝靛果浆相比, 发酵蓝靛果汁的 pH 下降的更快, 最终的 pH 更低, 植物乳杆菌数量与酶活力更高; 但是, 活性物质含量与清除自由基的能力相对较低, 挥发性物质含量也较少。

3.2 植物乳杆菌发酵可以大大提高蓝靛果浆及果汁的品质, 可以为蓝靛果乳酸发酵制品的研制提供参考和理论依据。

参考文献

- [1] 霍俊伟. 蓝靛果忍冬生物学特性及种质资源的 RAPD 研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004
HUO Jun-wei. Study on biological characters and RAPD of germplasm resources of blue honeysuckle (*Lonicera L. subsect. Caeruleae*) [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2004
- [2] 李淑芹, 李延冰, 姜福臣, 等. 野生植物-蓝靛果营养成分研究 [J]. 东北农业大学学报, 1994, 25(4): 401-404
LI Shu-qin, LI Yan-bing, JIANG Fu-chen, et al. Study on nutrient components of *Lonicera edulis* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 1994, 25(4): 401-404
- [3] Celli G B, Ghanem A, Brooks M S L. *Haskap Berries (Lonicera caerulea L.)*-a critical review of antioxidant capacity and health-related studies for potential value-added products [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7 (6): 1541-1554
- [4] Wu S S, Yano S, Chen J H, et al. Polyphenols from *Lonicera caerulea L.* berry inhibit I κ B-induced inflammation through dual modulation of inflammatory and antioxidant mediators [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(25): 5133-5141
- [5] 杨玲. 蓝靛果提取物抗氧化及抗癌作用的研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009
YANG Ling. Study on the antioxidant and anti-cancer of the extracts of *Lonicera edulis* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2009
- [6] Podsedek A, Majewska I, Redzynia M, et al. *In vitro* inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(20): 4610-4617
- [7] Granato D, Branco G F, Nazzaro F, et al. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts and products [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010, 9(3): 292-302
- [8] Liu S N, Han Y, Zhou Z J. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods [J]. Food Research International, 2011, 44(3): 643-651
- [9] 黄祥童, 刘明才, 孟庆江, 等. 蓝靛果低糖果脯及低糖果酱的研制 [J]. 食品科技, 2006, 31(7): 110-114
HUANG Xiang-tong, LIU Ming-cai, MENG Qing-jiang, et al. Production of low-sugar preserve and low-sugar jam of *Lonicera edulis* [J]. Food Science and Technology, 2006, 31(7): 110-114
- [10] 程兆宇, 房磊. 蓝靛果钙果抗疲劳饮料的研制 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(20): 63-66
CHENG Zhao-yu, FANG Lei. Development of *Lonicera edulis* gaiguo anti-fatigue beverage [J]. Food Research and Development, 2015, 36(20): 63-66
- [11] 张军, 刘玉峰, 张冬雪, 等. 冷冻的蓝靛果山羊酸奶工艺条件优化 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(13): 60-64
ZHANG Jun, LIU Yu-feng, ZHANG Dong-xue, et al. Optimization on technological conditions of frozen *Lonicera edulis* goat yogurt [J]. Food Research and Development, 2016, 37(13): 60-64
- [12] 梁敏, 包怡红. 蓝靛果酒发酵工艺优化及发酵过程对花色苷的影响 [J]. 食品科学, 2018, 39(10): 151-157
LIANG Min, BAO Yi-hong. Optimization of fermentation process of *Lonicera caerulea* berry wine and effect of fermentation on anthocyanin composition [J]. Food Science, 2018, 39(10): 151-157
- [13] Auzanneau N, Weber P, Kosińska-Cagnazzo A, et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of *Lonicera caerulea* berries: comparison of seven cultivars over three harvesting years [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2018, 66: 81-89
- [14] Pal Ková I, Heinrich J, Bednář P, et al. Constituents and antimicrobial properties of blue honeysuckle: A novel source for phenolic antioxidants [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(24): 11883-11889
- [15] 焦岩, 王振宇. 蓝靛果花色苷超声波辅助提取优化及其降血脂作用 [J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 52-59
JIAO Yan, WANG Zhen-yu. Optimization on the supersonic-assisted extracting technology of *Lonicera caerulea* anthocyanin and its hypolipidemic effect [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(2): 52-59
- [16] Li H, Wang X Y, Li Y, et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines [J]. Food Chemistry, 2009, 112(2): 454-460
- [17] Sun J, Yao J Y, Huang S X, et al. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) A.C. Smith [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 276-281
- [18] 腾飞, 赵福杰, 郑洪亮, 等. 龙葵果花色苷的提取工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(7): 240-245, 267
TENG Fei, ZHAO Fu-jie, ZHENG Hong-liang, et al. Study on the optimal extraction conditions of anthocyanin from the fruit of *Solanum nigrum L.* [J]. Science and Technology of

- Food Industry, 2014, 35(7): 240-245, 267
- [19] Espirito-Santo A P, Carlin F, Cmge R. 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
- [20] Bhat R, Suryanarayana L C, Chandrashekar K A, et al. Lactobacillus plantarum mediated fermentation of *Psidium guajava* L. fruit extract [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119(4): 430-432
- [21] Kwaw E, Ma Y K, Tchabo W, et al. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice [J]. Food Chemistry, 2018, 250: 148-154
- [22] 赵红宇,陈敦洪,邓良,等.桑葚果酒全渣发酵过程中生物活性物质及其抗氧化活性变化的研究[J].食品工业科技, 2015,36(23):182-185,189
ZHAO Hong-yu, CHEN Dun-hong, DENG Liang, et al. Influence of alcoholic solid-state fermentation process on bioactive constituents and antioxidant activity from mulberries (*Morus nigra* L.) [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(23): 182-185, 189
- [23] Escudero-López B, Cerrillo I, Herrero-Martín G, et al. Fermented orange juice: Source of higher carotenoid and flavanone contents [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(37): 8773-8782
- [24] Gumienna M, Szwengiel A, Górna B. Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermented processes [J]. European Food Research and Technology, 2016, 242(5): 631-640
- [25] Hashemi S M B, Mahmoodi M. Fermentation of barberry juice to produce probiotic beverage [J]. Current Nutrition and Food Science, 2017, 13(3): 204-211
- [26] 黄梅华,何全光,淡明,等.火龙果皮乳酸菌发酵产品体外抗氧化能力研究[J].食品工业科技,2017,38(17):70-74,79
HUANG Mei-hua, HE Quan-guang, DAN Ming, et al. Antioxidant activity of pitaya peel beverage fermented by lactic acid bacteria *in vitro* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(17): 70-74, 79
- [27] 白明,孟祥晨.益生菌抗氧化活性及菌体抗氧化相关成分的分析[J].食品与发酵工业,2009,35(5):6-11
BAI Ming, MENG Xiang-chen. Antioxidative activity of probiotics and their internal correlative antioxidative components [J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(5): 6-11
- [28] 陈爽,朱忠顺,高妍妍,等.分光光度法分析水果酵素中功效酶活性的研究[J].食品工业科技,2017,38(8):218-221,249
CHEN Shuang, ZHU Zhong-shun, GAO Yan-yan, et al. Detection of efficacy enzyme activity in ferments of fruits by spectrophotometric method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(8): 218-221, 249
- [29] 崔国庭,王缎,刘向丽,等.响应面法优化草莓酵素的发酵工艺及其生物活性初探[J].食品工业科技,2018,39(9):143-148
CUI Guo-ting, WANG Duan, LIU Xiang-li, et al. Optimization of fermentation process of strawberry-Jiaosu by response surface methodology and the primary study of bioactivity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(9): 143-148
- [30] 孙淑夷,赵雷,周沫霖,等.菌种和底物因素对荔枝发酵液主要功效酶活性的影响[J].食品安全质量检测学报,2016,7(6):2465-2472
SUN Shu-yi, ZHAO Lei, ZHOU Mo-lin, et al. Effect of fermentation strains and substrates on effect of main enzyme activity of mixed fermented liquid of litchi [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(6): 2465-2472
- [31] 杨旭,陈亮,辛秀兰,等.果汁发酵和带渣发酵蓝靛果酒香气成分分析[J].食品科学,2014,35(12):115-119
YANG Xu, CHEN Liang, XIN Xiu-lan, et al. Analysis of volatile aroma components of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea*) wines fermented from mashed fruit and the corresponding juice [J]. Food Science, 2014, 35 (12): 115-119
- [32] 张玉慧.乳酸菌发酵蓝莓果汁的工艺研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2016
ZHANG Yu-hui. Study on processing technology of blueberry juice fermented by lactic acid bacteria [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016
- [33] 梁贵秋,陆春霞,李全,等.桑葚果酒挥发性成分的GC/MS分析[J].现代食品科技,2012,28(12):1800-1802
LIANG Gui-qiu, LU Chun-xia, LI Quan, et al. GC-MS analysis of the volatile components of mulberry wine [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(12): 1800-1802
- [34] 张福捐,张磊.法国白兰地特征风味组分癸酸乙酯的催化合成[J].酿酒科技,2007,11:17-18
ZHANG Fu-juan, ZHANG Lei. Catalytic synthesis of ethyl decanoate-characteristic flavoring composition of french brandy [J]. Making Science and Technology, 2007, 11: 17-18