

乳酸菌发酵刺梨-猴头菇饮料的工艺优化

张珺¹, 喻婷¹, 许浩翔¹, 黄海伦¹, 胡萍¹, 谭书明¹, 王晓宇², 冯丹丹¹

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025) (2. 贵州大学生命科学学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 为确定副干酪乳杆菌 SR10-1 发酵刺梨-猴头菇复合饮料的最佳工艺参数, 本试验采用 Box-Behnken 中心组合设计, 以刺梨、猴头菇、白砂糖为原料, 接种副干酪乳杆菌 SR10-1 进行复合发酵。在单因素试验基础上, 选取刺梨-猴头菇复配质量比、副干酪乳杆菌 SR10-1 接种量、发酵时间及白砂糖添加量 4 个因素, 以多糖含量和感官评分为响应值, 进行响应面分析, 对刺梨-猴头菇复合发酵工艺进行优化。结果表明: 刺梨-猴头菇复合发酵的最佳工艺条件为: 刺梨-猴头菇复配质量比 2.6:1、副干酪乳杆菌 SR10-1 接种量 2%、发酵时间 4.6 d、白砂糖添加量 18.5%。在此条件下, 刺梨-猴头菇发酵饮料的多糖含量为 9.10 mg/mL, 感官评分为 89.34 分, Vc 含量为 243.57 mg/100 mL, SOD 含量为 5377.64 U/g 组织湿重。刺梨-猴头菇复合发酵液色泽鲜亮光泽、香气浓郁协调、风味独特、营养丰富, 具有较好的工业化开发价值。

关键词: 刺梨; 猴头菇; 益生菌; 复合发酵饮料; 工艺优化

文章编号: 1673-9078(2020)11-202-211

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0451

Process Optimization of *Rosa roxburghii* Tratt - *Hericium erinaceus* Beverage Fermented by Lactic Acid Bacteria

ZHANG Jun¹, YU Ting¹, XU Hao-xiang¹, HUANG Hai-lun¹, HU Ping¹, TAN Shu-ming¹, WANG Xiao-yu², FENG Dan-dan¹

(1. School of Liquor-making and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

(2. College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to find the optimal process parameters of *Lactobacillus paracasei* SR10-1 fermented *Rosa roxburghii* Tratt-*Hericium erinaceus* compound beverage, in this study, the Box-Behnken center combination design was used, compound beverage was produced by the raw materials of *Rosa roxburghii* Tratt, *Hericium erinaceus* and granulated sugar, which were inoculated with *Lactobacillus paracasei* SR10-1 for compound fermentation. On the basis of single factor experiment, the effect of mass ratio of *Rosa roxburghii* Tratt and *Hericium erinaceus*, the inoculation amount of *Lactobacillus paracasei* SR10-1, fermentation time and impact of sugar addition were selected as variables. The response surface analysis was performed with the polysaccharide content and sensory score as the response values. The results showed that the optimal fermentation conditions were determined as follows: the combined mass ratio of *Rosa roxburghii* Tratt-*Hericium erinaceus* was 2.6:1, the inoculation amount of *Lactobacillus paracasei* SR10-1 was 2%, the fermentation time was 4.6 days, and white granulated sugar addition amount was 18.5%. Under the optimized conditions, the polysaccharide content of fermented beverage was 9.10 mg/mL and the sensory score was 89.34 points, Vc content was 243.57 mg/100 mL, SOD content was 5377.64 U/g tissue wet weight. The color of the fermentation beverage was bright and shiny, the aroma was rich and coordinated, the flavor was unique, and the nutrition was enriched. It has good value of industrialization development.

Key words: *Rosa roxburghii* Tratt; *Hericium erinaceus*; probiotics; compound fermented beverage; process optimization

引文格式:

张珺, 喻婷, 许浩翔, 等. 乳酸菌发酵刺梨-猴头菇饮料的工艺优化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(11): 202-211

ZHANG Jun, YU Ting, XU Hao-xiang, et al. Process optimization of *Rosa roxburghii* Tratt - *Hericium erinaceus* beverage fermented by lactic acid bacteria [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 202-211

收稿日期: 2020-05-12

基金项目: 贵州省刺梨产业发展专项资金科技创新项目[2019-2-3]

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

通讯作者: 胡萍 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全

益生菌 (Probiotics) 是一类能够在宿主肠道内定植和生长, 并对宿主造成有益影响的微生物。许多研究表明, 采用乳酸菌发酵果蔬是提高和改善果蔬营养品质、风味口感最经济有效的生物技术之一^[1,2]。益生

菌发酵果蔬可产生多种维生素类、酶类、多糖类等生物活性物质进而赋予食品特殊营养价值功效^[3,4]。

刺梨 (*Rosa roxburghii* Tratt) 是蔷薇科蔷薇属多年落叶灌木缢丝花的果实, 广泛分布在我国贵州、云南、四川、重庆、湖南等地^[5]。贵州省刺梨资源尤为丰富, 刺梨产业已成为贵州省的一张特色“生态名片”。经研究表明, 刺梨含有可溶性糖、维生素、膳食纤维、有机酸及各种人体必需的氨基酸、微量元素^[6-8]等, 其中维生素 C、维生素 P、SOD 含量远超其他水果, 故称“三王水果”^[9,10]。正是因为刺梨含有众多生物活性物质, 近代药理学研究发现刺梨具有良好的保健功能, 如增强机体免疫力、降血糖、降血压、抗氧化、抗肿瘤等保健功能功效^[11-14]。虽然刺梨有极高的营养价值, 但其有酸涩的口感而让很多消费者喜而惧食之。因此, 如何调整刺梨产品的口感成为刺梨加工急需解决的关键问题。

猴头菇 (*Hericium erinaceus*), 外形似猴子的头, 因而得名猴头菌、猴菇、猴蘑^[15]。猴头菇是一种药食两用菌, 不仅味道鲜美可口, 还富含多种生物活性物质, 如猴头菇多糖、猴头菇酮、猴头菌素、多酚、糖蛋白^[16-19]等物质。最新研究表明, 猴头菇有益于肠道益生菌生长、增强免疫力、减轻抑郁焦虑、抗炎症、抗疲劳、抗肿瘤^[20-22]等保健养生功效。

随着生活水平的提高, 人们越来越关注通过饮食调理身体, 因此对食品的要求也越来越高, 绿色健康、营养保健成了现在人们选择食品的首要标准。药食两用食品因其独特的营养保健功能, 越来越受到广大消费者青睐, 将其开发为特色深加工食品具有广阔前景。目前, 对于刺梨-食用菌复合发酵饮料的发酵工艺研究鲜有报道, 市场上常见刺梨或猴头菇产品多以单一原料研究为主。本试验采用一株副干酪乳杆菌 SR10-1, 以刺梨与猴头菇为原料复配发酵, 发挥益生乳酸菌及食用菌类的特殊功效, 充分利用刺梨资源, 以期两种刺梨→选果→清洗→切片

猴头菇→清洗→切片→预煮

1.3.2 接种发酵

(1) 菌种活化: 菌株采用一株副干酪乳杆菌 SR10-1, 无菌条件下将 SR10-1 挑一环接种到 MRS 肉汤培养基活化, 于 30 °C 无菌培养箱培养 48 h, 离心后得到菌体, 用 0.85% 的生理盐水调整菌体浓度达到 10⁹ cfu/mL 备用。

(2) 接种发酵: 将 SR10-1 按不同接种量接种在刺梨猴头菇汁液中, 30 °C 条件下进行发酵。

1.3.3 理化及微生物指标测定

发酵原料能够在口感、风味、营养成分等方面达到互补增强效果, 在一定程度上改善刺梨的口感和风味, 进一步提高刺梨和猴头菇的营养保健作用, 同时为提高其附加值提供基础理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

主要材料: 刺梨鲜果购于贵州省龙里县刺梨基地, 置于 -20 °C 冰箱密封保藏备用; 猴头菇购于沃尔玛超市, 并置于 -20 °C 冰箱密封保藏备用; 副干酪乳杆菌 SR10-1, 保藏号 (CCTCC No: M2016527) 为本实验室前期从侗族发酵酸肉中分离得到, 经研究证实具有抗氧化功能特性^[23]; 纯净水: 市售娃哈哈纯净水; 白砂糖市售。

主要试剂: 2,6-二氯酚钠盐、苯酚、浓硫酸、氢氧化钠、冰乙酸、硝酸铝、亚硝酸钠、芦丁、葡萄糖、抗坏血酸、草酸、无水乙醇等均为国产分析纯, MRS 培养基、MRS 肉汤培养基、PCA 培养基均为北京陆桥技术股份有限公司, 超氧化物歧化酶 (SOD) 试剂盒为南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

HR-2003 型榨汁机, 飞利浦中国投资有限公司; 101-1AS 型数显电热培养箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; DW-FL270 型超低温冷冻储存箱, 中科美菱低温科技有限责任公司; FA2004N 型电子天平, 上海菁海仪器有限公司; HWS-28 型电热恒温水浴锅, 上海齐欣科学仪器有限公司; PHS-3C 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程

维生素 C: GB 5009.86-2016《食品中抗坏血酸的测定》滴定法; 超氧化物歧化酶 (SOD): 参考试剂盒法; 多糖: 苯酚-硫酸法^[24]; 总黄酮: 分光光度计法; pH: 电位滴定法; 大肠菌群按照 GB/T 4789.3-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验 大肠杆菌群计数》进行测定; 菌落总数按照 GB/T 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行测定。

1.3.4 刺梨-猴头菇复配饮料的感官评定方法^[25,26]

表 1 刺梨-猴头菇复合发酵饮料感官评定表

Table 1 Sensory evaluation standards of compound *Rosa roxburghii* Tratt-*Heridium erinaceus* beverage

项目	评分标准	分值
色泽 (20 分)	鲜亮金黄色、有光泽、均匀一致	14~20
	浅黄色、略带光泽、较均匀	8~14
	米白色、无光泽、不均匀	0~8
香气 (30 分)	浓郁醇厚, 发酵香味突出, 协调	23~30
	较浓郁, 有发酵香味, 无异味	16~23
	较淡, 发酵香味不突出, 稍有异味	9~16
	无发酵果香味, 有其他不愉悦气味	0~9
口感 (35 分)	醇厚、柔和, 酸甜爽口, 回味悠长	27~35
	较醇厚, 酸甜适中, 无刺激感	19~27
	偏酸或偏甜, 不纯正, 稍有刺激感	10~19
	酸甜不协调, 难以接受, 有刺激感	0~10
组织状态 (15 分)	澄清透明, 无悬浮物, 无沉淀, 不分层	10~15
	较澄清, 少量悬浮物, 少量沉淀, 稍有分层	5~10
	较浑浊, 大量悬浮物, 大量沉淀, 分层严重	0~5

将试验样品分成数份,邀请 10 名食品专业的老师和学生组成评定小组,从刺梨-猴头菇复配发酵饮料的色泽、香气、口感、组织状态进行评分。感官评分标准表见表 1。

1.3.5 刺梨-猴头菇复合发酵饮料配方优化

1.3.5.1 单因素试验

以发酵液中多糖含量及感官评定为评价指标,先进行单因素试验,依次考察刺梨和猴头菇的复配质量比、SR10-1 接种量、白砂糖添加量、发酵时间对复合发酵的影响。各因素水平分别设置为:刺梨-猴头菇复配质量比为 1:3、1:2、1:1、2:1、3:1;SR10-1 接种量为 1%、2%、3%、4%、5%;白砂糖添加量为 4%、8%、12%、16%、20%;发酵时间为 2 d、3 d、4 d、5 d、6 d。每次试验时做 3 组平行试验,按 1.3.1 的工艺流程进行操作。

1.3.5.2 正交试验

表 2 刺梨-猴头菇复合发酵工艺条件优化响应面试验因素与水平

Table 2 Factors and levels of response surface experiments for fermentation process optimization of compound *Rosa roxburghii* Tratt-*Heridium erinaceus* beverage

水平	因素			
	A:刺梨-猴头菇复配质量比	B: SR10-1 接种量/%	C:发酵时间/d	D:白砂糖添加量/%
-1	1:1	1	3	12
0	2:1	2	4	16
1	3:1	3	5	20

在单因素试验基础上,选取 (A) 刺梨-猴头菇复

配质量比、(B) SR10-1 接种量、(C) 发酵时间、(D) 白砂糖添加量 4 个因素作为自变量,以 (Y_1) 多糖含量和 (Y_2) 感官评分作为评价指标,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,并采用 Design Expert 8.06 软件对试验进行数据分析,确定刺梨-猴头菇复合发酵的最优工艺条件。因素水平表见表 2。

1.4 数据处理与统计分析

以上每组试验均重复 3 次,所得结果以平均值±标准差表示。使用 SPSS 22.0 进行统计分析,并进行方差分析 ($p<0.05$),由此来判定数据间是否有差异以及差异是否具有显著性;使用 Origin 2018 Pro 作图,从图中分析数据的变化趋势;采用 Design Expert 8.06 软件进行响应面设计及结果分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 刺梨-猴头菇复配质量比单因素试验

刺梨-猴头菇复配质量比分别为 1:3、1:2、1:1、2:1、3:1,SR10-1 接种量为 2%,白砂糖添加量为 16%,发酵时间为 4 d,30 °C 条件下进行发酵试验,结果见图 1。

由图 1 可知,不同刺梨-猴头菇复配质量比明显改善发酵饮料的感官评分和多糖含量,当刺梨-猴头菇复配质量比为 3:1 时,其感官评分最高为 85.31 分,多糖含量为 8.37 mg/mL;当刺梨-猴头菇复配质量比为 2:1 时,发酵饮料液中多糖含量为 8.40 mg/mL,但此时猴头菇味较浓刺梨味较淡,其感官评分为 83.83 分。

综合考虑感官评分与多糖含量并无显著性差异 ($p>0.05$), 因此选择刺梨-猴头菇复配质量比为 3:1 进行复合发酵, 此时刺梨-猴头菇复合发酵饮料颜色鲜亮, 口感纯正, 有较浓郁的刺梨清香。

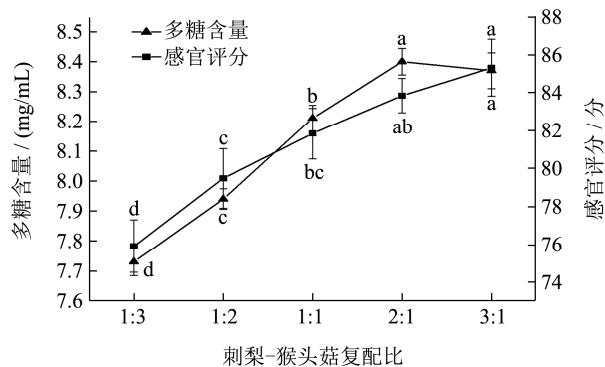


图1 不同刺梨-猴头菇复配质量比对多糖含量和感官评分的影响

Fig.1 Effect of different *Rosa roxburghii* Tratt and *Hericium erinaceus* compound on polysaccharide content and sensory evaluation

注: 不同字母表示水平间差异显著 ($p<0.05$), 下同。

2.1.2 SR10-1 接种量单因素试验

SR10-1 接种量分别为 1%、2%、3%、4%、5%, 刺梨-猴头菇复配质量比为 1:1, 白砂糖添加量为 16%, 发酵时间为 4 d, 30 °C 条件下进行发酵试验, 结果见图 2。

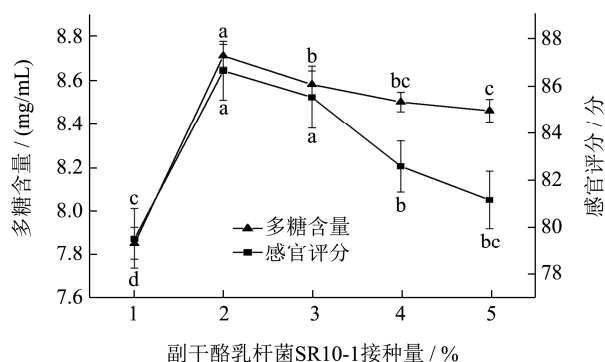


图2 SR10-1 接种量对多糖含量和感官评分的影响

Fig.2 Effect of SR10-1 inoculum size on polysaccharide content and sensory evaluation

由图 2 可知, 随着 SR10-1 接种量的增加, 刺梨-猴头菇复合发酵液感官评分和多糖含量均呈现先上升后下降趋势, SR10-1 接种量越大, 发酵底物被加速利用, 导致发酵速度变快, 但同时也会产生醇类、酯类、醛类等刺激性气味^[27,28], 口感较差。SR10-1 接种量达到 2% 时, 刺梨-猴头菇复合发酵饮料感官评分与多糖含量达到最高, 分别为 86.62 分、8.71 mg/mL。此时刺梨-猴头菇复合发酵饮料颜色金黄, 口感醇厚柔和, 无刺激感, 有浓郁的刺梨-猴头菇发酵香味。接种量大

于 2% 时, 发酵液则有酒味, 有刺激感, 因此选择 SR10-1 接种量为 2% 较为合适。

2.1.3 白砂糖添加量单因素试验

白砂糖的添加量分别为 4%、8%、12%、16%、20%, 刺梨-猴头菇复配质量比为 1:1, SR10-1 接种量为 2%, 发酵时间为 4 d, 30 °C 条件下进行发酵试验, 结果见图 3。

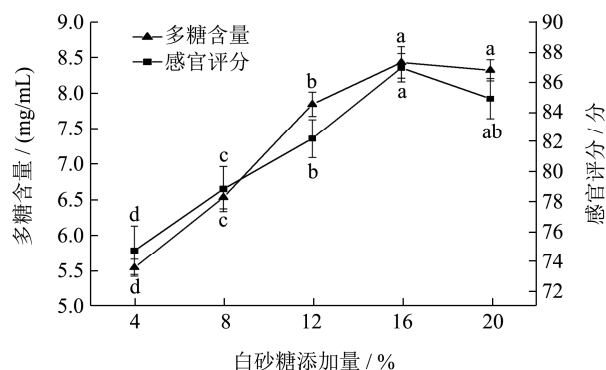


图3 白砂糖添加量对多糖含量和感官评分的影响

Fig.3 Effect of white granulated sugar on polysaccharide content and sensory evaluation

由图 3 可知, 随着白砂糖添加量的增加, 刺梨-猴头菇复合发酵饮料的感官评分和多糖含量均呈现先上升后降低的趋势, 当白砂糖添加量达到 16% 时, 刺梨-猴头菇复合发酵饮料感官评分与多糖含量达到最高, 分别达到 86.94 分、8.43 mg/mL。此时刺梨-猴头菇复合发酵饮料颜色均匀一致, 酸甜爽口, 无刺激感, 有浓郁的发酵香味, 状态均一。白砂糖过量添加造成口感偏甜, 也可能会使过量可发酵糖转化为酸类、酯类、醇类等物质, 而糖分不足则造成不完全发酵酸味较大影响感官^[29], 同时由于白砂糖原材料不纯自身含有少量多糖, 过量添加会影响结果。因此选择白砂糖的添加量为 16% 较为合适。

2.1.4 发酵时间单因素试验

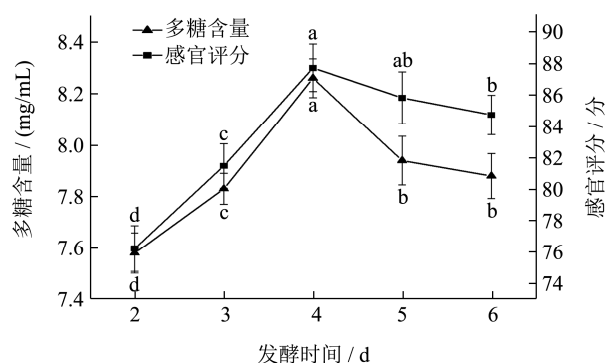


图4 发酵时间对多糖含量和感官评分的影响

Fig.4 Effect of fermentation time on polysaccharide content and sensory evaluation

发酵时间分别为 2 d、3 d、4 d、5 d 和 6 d, 刺梨-

猴头菇复配质量比为 1:1, SR10-1 接种量为 2%, 白砂糖添加量为 16%, 30 ℃ 下进行发酵试验, 结果见图 4。

发酵时间与发酵食品的风味品质密切相关, 发酵时间过短, 则发酵菌株还处于自身生长阶段, 代谢物质较少; 发酵时间过长, 则造成代谢物质积累产生异味^[30]。由图 4 可知, 随着发酵时间的增加, 刺梨-猴头菇复合发酵饮料的感官评分和多糖含量均呈现先上升后降低的趋势, 当发酵时间到达第 4 d 时, 刺梨-猴头菇复合发酵饮料感官评分与多糖含量达到最高, 分别

达到 87.72 分、8.26 mg/mL。此时刺梨-猴头菇复合发酵饮料颜色鲜亮均匀, 口感醇厚柔和, 有刺梨-猴头菇特有发酵香味, 无酒味、无刺激感, 组织状态均匀良好。发酵时间大于 4 d 时, 发酵液中酸类、醇类物质增加破坏了发酵液口感风味, 因此选择发酵时间为 4 d 较为合适。

2.2 响应面法优化发酵工艺条件试验结果

2.2.1 响应面模型的建立及显著性检验

表 3 刺梨-猴头菇复合发酵工艺条件优化响应面试验设计方案及结果

Table 3 Design and results of optimized response surface test for fermentation conditions of compound *Rosa roxburghii* Tratt-*Hericium erinaceus* beverage

试验号	A 刺梨-猴头菇 复配质量比	B SR10-1 接种量/%	C 发酵 时间/d	D 白砂糖 添加量/%	Y ₁ 多糖含量 /(mg/mL)	Y ₂ 感官 评分/分
1	0	0	1	-1	8.44	80.60
2	1	0	0	1	8.65	84.35
3	1	1	0	0	8.41	84.65
4	0	-1	-1	0	8.00	82.61
5	-1	-1	0	0	8.03	74.37
6	-1	0	1	0	7.65	75.38
7	0	0	0	0	8.80	85.92
8	0	0	0	0	8.76	86.10
9	-1	1	0	-1	8.24	82.61
10	-1	1	0	0	7.60	78.79
11	0	1	-1	0	8.51	79.19
12	1	0	-1	0	8.14	83.20
13	-1	0	0	1	8.55	81.81
14	0	0	0	0	8.72	86.44
15	0	0	-1	1	8.76	83.02
16	0	-1	1	0	8.56	80.60
17	-1	0	-1	0	8.32	78.19
18	0	1	0	1	8.68	84.30
19	0	0	-1	-1	8.22	83.82
20	1	0	0	-1	8.30	85.90
21	0	1	1	0	8.23	82.61
22	1	0	1	0	8.90	88.42
23	0	0	1	1	8.86	83.23
24	0	0	0	0	8.75	85.04
25	0	0	0	0	8.84	87.54
26	1	-1	0	0	8.15	84.22
27	0	1	0	-1	7.80	80.60
28	-1	0	0	-1	7.83	75.58
29	0	-1	0	1	8.56	83.62

表 4 响应面二次回归模型方差分析表

Table 4 Response surface quadratic regression model analysis of variance

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	3.84/336.74	14	0.27/24.05	39.67/17.05	< 0.0001/< 0.0001	**/**
A	0.55/181.12	1	0.55/181.12	79.52/128.40	< 0.0001/< 0.0001	**/**
B	8.008E-003/0.37	1	8.008E-003/0.37	1.16/0.26	0.3003/0.6161	
C	0.040/0.055	1	0.040/0.055	5.73/0.039	0.0312/0.8468	*/
D	0.87/10.49	1	0.87/10.49	125.61/7.44	< 0.0001/0.0164	**/*
AB	0.12/3.98	1	0.12/3.98	17.20/2.82	0.0010/0.1152	**/*
AC	0.51/16.12	1	0.51/16.12	73.86/11.43	< 0.0001/0.0045	**/**
AD	0.034/15.13	1	0.034/15.13	4.94/10.73	0.0431/0.0055	**/*
BC	0.18/7.37	1	0.18/7.37	25.49/5.23	0.0002/0.0384	**/*
BD	0.078/1.81	1	0.078/1.81	11.33/1.28	0.0046/0.2765	**/*
CD	3.600E-003/2.94	1	3.600E-003/2.94	0.52/2.09	0.4827/0.1707	
A ²	0.93/57.71	1	0.93/57.71	134.37/40.91	< 0.0001/< 0.0001	**/**
B ²	0.79/42.81	1	0.79/42.81	113.93/30.35	< 0.0001/< 0.0001	**/**
C ²	0.095/32.30	1	0.095/32.30	13.76/22.90	0.0023/0.0003	**/**
D ²	0.045/8.73	1	0.045/8.73	6.56/6.19	0.0226/0.0261	**/*
残差	0.097/19.75	14	6.922E-003/1.41			
失拟项	0.088/16.46	10	8.818E-003/1.65	4.05/2.00	0.0951/0.2627	nc/nc
纯误差	8.720E-003/3.29	4	8.720E-003/0.82			
总计	3.94/356.49	28				
R ²				97.54%/94.46%		

注：左边数据为多糖含量，右边为感官评分，“***”表示影响极显著（ $p<0.01$ ）；“**”表示影响显著（ $p<0.05$ ）；nc 表示不显著。

在单因素试验基础上，选取（A）刺梨-猴头菇复配质量比、（B）SR10-1 接种量、（C）发酵时间、（D）白砂糖添加量 4 个因素，以（Y₁）多糖含量和（Y₂）感官评分作为相应指标，根据 Box-Benhnken 的中心组合试验设计原理，通过 Design Expert 8.0.6 软件设计四因素三水平试验，试验结果与分析表见表 3。

以发酵液中多糖含量和感官评分为响应值，经 Design Expert 8.0.6 软件对表 3 中得到的数据进行多元回归拟合，得到刺梨-猴头菇复合发酵后多糖含量（mg/mL，以 Y₁ 表示）与感官评分（分，以 Y₂ 表示）对自变量（A）刺梨-猴头菇复配比例、（B）SR10-1 接种量、（C）发酵时间、（D）白砂糖添加量的回归方程分别为：

$$Y_1=8.77+0.21A-0.026B+0.057C+0.027D+0.17AB+0.036AC-0.093AD-0.021BC+0.14BD-0.030CD-0.38A^2-0.35B^2-0.12C^2-0.084D^2$$

$$Y_2=86.21+3.88A+0.18B+0.068C+0.94D-1.00AB+2.01AC-1.95AD+1.36BC+0.67BD+0.86CD-2.98A^2-2.57B^2-2.23C^2-1.16D^2$$

由多糖含量和感官评分的方差分析表可知，两个相应值对应的模型显著性极高（ $p<0.0001$ ），两个模型

的 F 值分别为 $F_{\text{多糖}}=39.67$ ， $F_{\text{感官}}=17.05$ ，失拟项 $F_{\text{多糖}}=4.05$ ， $F_{\text{感官}}=2.00$ ， $p_{\text{多糖、感官}}>0.05$ ，差异性不显著，说明这两个模型对试验的拟合度较好，模型 1 与模型 2 的决定相关系数为 $R^2=97.54\%$ 和 $R^2=94.46\%$ ，调整相关系数为 $R^2_{\text{Adj}}=95.08\%$ 和 $R^2_{\text{Adj}}=88.92\%$ ，说明两个模型达到理想水平，试验误差较小，预测值与真实值有较好的拟合性。模型 1 与模型 2 的信噪比分别为 21.21、13.80，信噪比都大于 4 就说明模型选择恰当有足够的信号来响应设计。因此，这两种模型可以对刺梨-猴头菇发酵液中多糖含量和感官评分进行预测分析。

由表 4 可知，多糖含量模型的一次项 A、D 为极显著，C 为显著，B 为不显著，根据 F 值，判断各因素对刺梨-猴头菇发酵液中多糖的影响大小依次为：D:白砂糖添加量>A:刺梨-猴头菇复配质量比>C:发酵时间>B:SR10-1 接种量，其中因素 D 与因素 A（对发酵液中多糖含量有着较大的影响；交互项 AC、BC、AB、BD 为极显著，AD 为显著，CD 为不显著，二次项 A²、B²、C² 为极显著，D² 为显著。感官评分模型的一次项 A 为极显著，D 为显著，B、C 为不显著，根据 F 值，判断各因素对刺梨-猴头菇发酵液感官评分的影响大小依次为：A:刺梨-猴头菇复配质量比>D:白

砂糖添加量>B:SR10-1 接种量>C:发酵时间, 其中因素A对发酵液的感官评分有着较大的影响; 交互相AC、AD、BC为显著, AB、BD、CD为不显著, 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 为极显著, D^2 为显著。说明各因素对响应值的影响较复杂, 不是简单的线性关系。

2.2.2 因素交互作用响应面分析

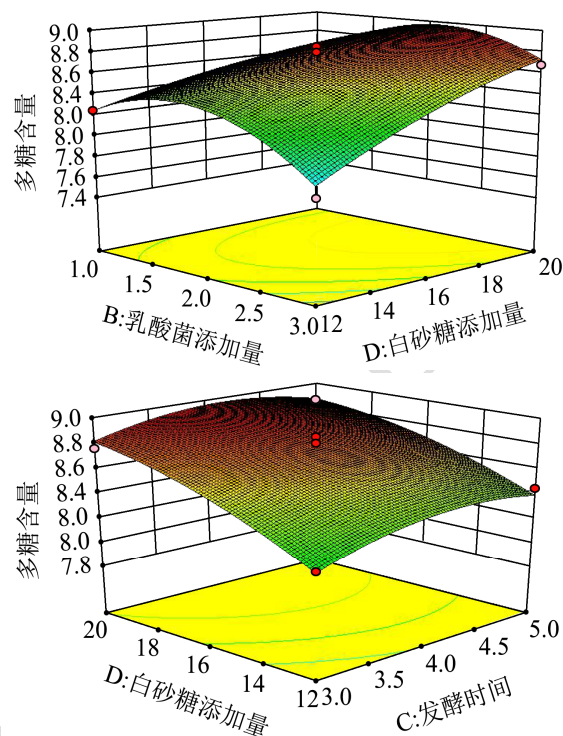
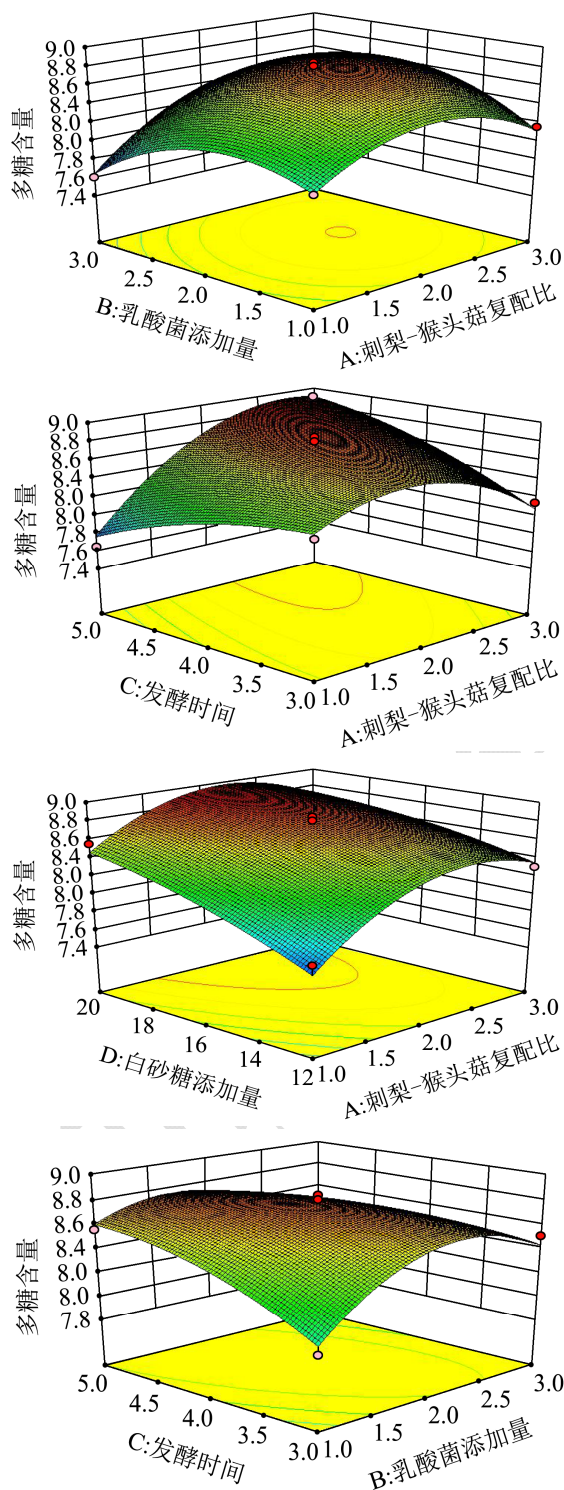


图5 各因素交互作用对刺梨-猴头菇复合发酵液多糖含量的响应曲面及等高线

Fig.5 Response surface plots and contour lines of effects of interaction between each factors on polysaccharide content evaluation of compound *Rosa roxburghii* Tratt-*Hericium erinaceus* beverage

根据刺梨-猴头菇复合发酵的多糖含量与感官评分的回归方程, 得出各个因素的相互交互作用结果生成三维图, 见图5和图6所示。响应面分析图是指在其他因素水平固定的情况下, 响应值与实验中两个因素所构成的三维曲面图, 可直观反映各因素之间的相互作用对响应值的影响。响应面曲面越陡峭, 则等高线越密集, 其形状呈椭圆形或马鞍形, 说明两因素间交互影响越大, 响应面曲面越平缓, 则等高线越稀疏, 其形状呈圆形, 说明两因素间交互影响越小^[31,32]。由图5可知, 因素A、因素B、因素C两两因素之间均对刺梨-猴头菇发酵液多糖含量产生显著影响, 其中因素A与因素C、因素B与因素C间相应曲面最为陡峭, 其他因素间响应曲面陡峭程度次之, 该结果与表4方差分析结果所得一致。由图6可知, 因素A与因素C、因素A与因素D、因素B与因素C间响应曲面较为陡峭, 说明其两两因素之间均对刺梨-猴头菇发酵液感官评分产生显著影响, 因素B与因素C因素D、因素C与因素D两两因素间响应曲面较为平缓, 等高线形

状近似圆形,说明因素B、因素C、因素D两两因素之间对刺梨-猴头菇发酵液感官评分影响较小,该结果与表4方差分析结果有较好的相符性。

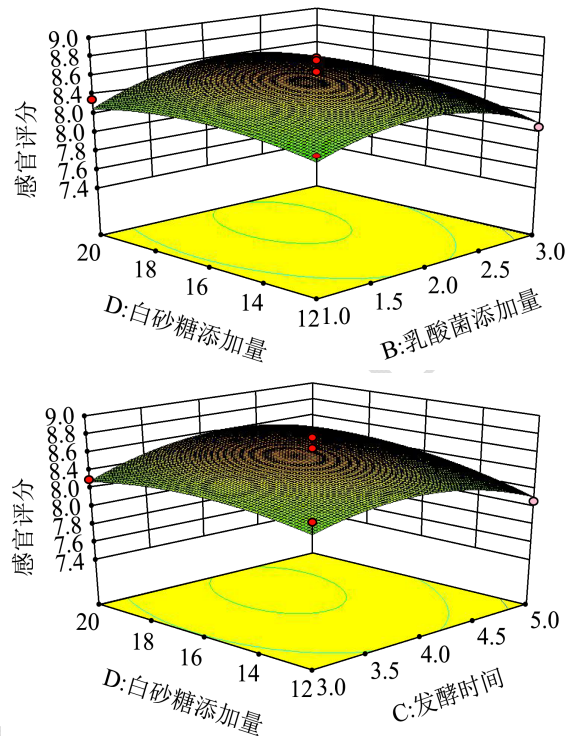
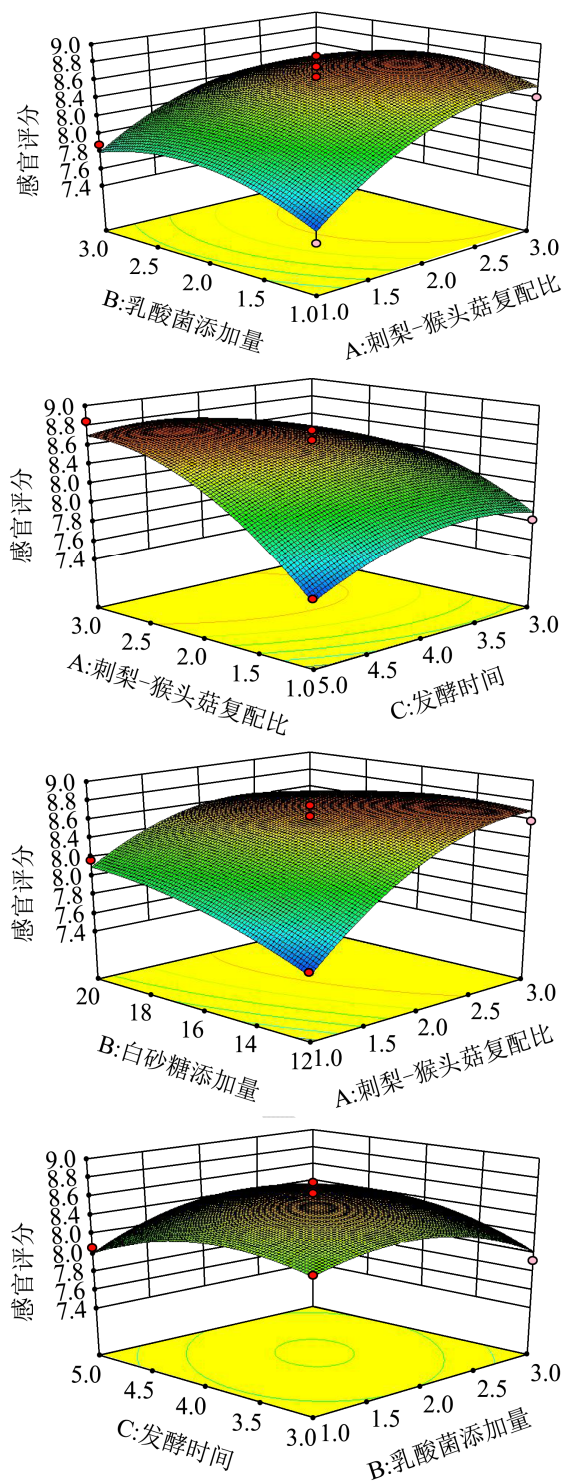


图6 各因素交互作用对刺梨-猴头菇复合发酵液感官评分的响应曲面及等高线

Fig.6 Response surface plots and contour lines of effects of interaction between each factors on sensory evaluation of compound *Rosa roxburghii* Tratt-*Hericium erinaceus* beverage

2.2.3 响应面验证试验

利用 Design Expert 8.0.6 软件对多糖含量与感官评分两个模型进行联合求解,得出刺梨-猴头菇复合发酵工艺最佳条件为:刺梨-猴头菇复配质量比为2.57:1、SR10-1 接种量为2.01%、发酵时间为4.58 d、白砂糖添加量为18.48%,在此条件下得到刺梨-猴头菇发酵液中多糖含量为8.98 mg/mL,感官评分为87.98分。为检验响应面分析结果的准确性,考虑到实际操作问题,将发酵工艺修正为刺梨-猴头菇复配质量比为2.6:1、SR10-1 接种量为2%、发酵时间为4.6 d,白砂糖添加量为18.5%。在此条件下进行3次平行验证实验,得到多糖含量平均值为9.10±0.13 mg/mL,感官评分为89.34±1.52分,与理论值差异均不显著($p>0.05$),说明响应面的试验值和回归方程预测值基本吻合,响应面法建立的模型所确定的刺梨-猴头菇复合发酵工艺条件稳定可靠。

表5 复合发酵饮料理化指标

Table 5 Physical and chemical indexes of compound fermented beverage

理化指标	pH 值	可溶性固形物/%	维生素 C/(mg/100 mL)	多糖/(mg/mL)	黄酮/(mg/100 mL)	SOD/(U/g 组织湿重)
发酵前	3.94±0.12	18.56±0.85	362.73±11.35	4.67±0.17	362.32±6.75	3965.15±115.39
发酵后	3.25±0.07	9.75±0.46	243.57±9.72	9.10±0.13	380.21±11.76	5377.64±132.55

2.3 理化及微生物指标

最佳发酵工艺条件下按 1.3.1 工艺流程操作,得到刺梨-猴头菇复合发酵饮料理化指标,见表 5。

细菌总数<100 cfu/mL; 大肠菌群<3 MPN/100 mL; 致病菌: 未检出。

由表 5 可知,副干酪乳杆菌 SR10-1 能够很好地适应刺梨-猴头菇发酵体系,并在一定程度上能够保留或提升发酵体系的营养成分,这与林冰^[33]、王瑜^[34]等人研究单一刺梨酵素的活性成分含量相比有所提高,说明刺梨-猴头菇饮料营养保健价值更为丰富,同时也证实采用现代生物技术有助于改善果蔬风味口感及营养品质。

3 结论

本试验以刺梨和食用菌猴头菇为主要原料,采用副干酪乳杆菌 SR10-1 发酵,研究了刺梨-猴头菇的复合发酵工艺。在单因素试验基础上,以多糖含量和感官评分为响应值进行 Box-Behnken 中心组合设计,优化并验证刺梨-猴头菇复合发酵工艺为:刺梨-猴头菇复配质量比为 2.6:1、接种量为 2%、发酵时间为 4.6 d、白砂糖添加量为 18.5%,在此条件下,得到刺梨-猴头菇发酵液中多糖含量为 9.10 mg/mL,感官评分为 89.34 分,Vc 含量为 243.57 mg/100 mL,SOD 含量为 5377.64 U/克组织湿重。复合发酵饮料色泽明亮鲜黄,香气浓郁醇厚,酸甜爽口,营养丰富,有较好的开发前景,该工艺可以为刺梨产品的工业化生产提供理论支持和技术参数。

参考文献

- [1] Kwaw E, MA Yong-kun, 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
- [2] Septembre-malaterre A, Remize F, Pouchet 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
- [3] 常若毅. 益生菌发酵果蔬产生维生素的研究及其产品的研制 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2018
CHANG Ruoyi. Study on Vitamin production from fruits and vegetables fermented by *Probiotics* and development of their products [D]. Xi'an: Shanxi University of Science and Technology, 2018
- [4] 于鑫. 益生菌产酶活性的研究及复合酶制剂的研制 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2018
YU Xin. Study on enzymatic activity of probiotics and development of compound enzyme preparation [D]. Xi'an: Shanxi University of Science and Technology, 2018
- [5] 曾芳芳, 罗自生. 刺梨营养成分的研究进展 [J]. 浙江农业科学, 2015, 56(11): 1753-1757
ZENG Fang-fang, LUO Zi-sheng. Study progress on the nutritional components of *Rosa roxburghii* Tratt [J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2015, 56 (11): 1753-1757
- [6] 王慧竹. 刺梨有效成分分析及其体外生物活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2018
WANG Hui-zhu. Analysis of effective composition in *Rosa roxburghii* Tratt and its bioactivity *in vitro* [D]. Changchun: Jilin University, 2018
- [7] 杨娟, 杨勇, 杨小生, 等. 刺梨果渣栽培平菇及其酶法提取菌糠氨基酸工艺研究 [J]. 中国食用菌, 2019, 38(7): 50-57
YANG Juan, YANG Yong, YANG Xiao-sheng, et al. Study on the cultivation of *Pleurotus ostreatus* by pomace of *Rosa roxburghii* Tratt and its enzymatic extraction process of amino acids [J]. Chinese Edible Mushroom, 2019, 38 (7): 50-57
- [8] 王怡, 李贵荣, 朱毅. 刺梨食品研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(18): 213-218
WANG Yi, LI Gui-rong, ZHU Yi. Research progress of *Rosa roxburghii* food [J]. Food Research and Development, 2019, 40 (18): 213-218
- [9] 安华明, 刘明, 杨曼, 等. 刺梨有机酸组分及抗坏血酸含量分析 [J]. 中国农业科学, 2011, 44(10): 2094-2100
AN Hua-ming, LIU Ming, YANG Man, et al. Analysis of main organic acid components in *Rosa roxburghii* Tratt [J]. China Agricultural Science, 2011, 44 (10): 2094-2100
- [10] 付安妮, 高明波, 冯杰. 刺梨中 SOD 的提取和酶活测定 [J]. 广州化工, 2016, 44(16): 144-146
FU An-ni, GAO Ming-bo, FENG Jie. Extraction and activity determination of SOD in *Rosa roxburghii* Tratt [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2016, 44 (16): 144-146
- [11] LIU Meng-hua, ZHANG Qi, ZHANG Yuan-he, et al. Chemical analysis of dietary constituents in *Rosa roxburghii* and *Rosa sterilis* Fruits [J]. Molecules, 2016, 21(9): 1204-1204
- [12] WANG Lei, ZHANG Bin, XIAO Jie, et al. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit [J]. Food Chemistry, 2018, 249: 127-135

- [13] CHEN Guang-jing; KAN Jian-quan. Characterization of a novel polysaccharide isolated from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and assessment of its antioxidant *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 107, 166-174
- [14] WANG Lei, LI Chao, HUANG Qiang, et al. Polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt Fruit attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and regulates colon microbiota in diabetic db/db mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 68(1): 147-159
- [15] 赵守训,黄泰康,丁志尊.中药辞海(第三卷)[M].北京:人民卫生出版社,1991,4:6-7
ZHAO Shou-xun, HUANG Tai-kang, DING Zhi-zun. *Cihai of Traditional Chinese Medicine (Volume 3)* [M]. Beijing: People's Health Press, 1991, 4: 6-7
- [16] ZHU Yang, LI Qian, MAO Guang-hua, et al. Optimization of enzyme-assisted ex-traction and characterization of polysaccharides from *Hericium erina-ceus* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 101 (1): 606-613
- [17] Phan CW, Lee GS, Hong SL, et al. *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr) Pers. cultivated under tropical conditions: isolation of *heri-cenones* and demonstration of NGF-mediated neurite outgrowth in PC12 cells *via* MEK/ERK and PI3K-Akt signaling pathways [J]. *Food & Function*, 2014, 5 (12): 3160-3170
- [18] 刘若曦,何晋浙,王平.正交试验优化猴头菌菌丝体中猴头菌素 A 的超声提取工艺[J].*中成药*,2017,39 (2):305-307
LIU Ruo-xi, HE Jin-zhe, WANG Ping. Optimization of ultrasonic extraction for erinacine A in mycelia *Hericium erinaceus* by orthogonal test [J]. *Chinese Patent Medicine*, 2017, 39 (2): 305-307
- [19] 涂彩虹,罗小波,郑旗,等.猴头菇生物活性成分研究进展[J].*农业与技术*,2019,39(3):22-23
TU Cai-hong, LUO Xiao-bo, ZHENG Qi, et al. Research progress on bioactive components of *Hericium erinaceus* [J]. *Agriculture and Technology*, 2019, 39 (3): 22-23
- [20] 钟千贵,邱铭锰,杨娟,等.猴头菇多糖对胃肠道益生菌生长的影响[J].*食品工业科技*,2019,40(6):1-9
ZHONG Qian-gui, QIU ming-mn, YANG Juan, et al. Effect of *Hericium erinaceus* polysaccharides on growth of gastrointestinal probiotics [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2019, 40 (6): 1-9
- [21] Vigna Luisella, Morelli Federica, Agnelli Gianna M, et al. *Hericium erinaceus* Improves mood and sleep disorders in patients affected by overweight or obesity: could circulating pro-BDNF and BDNF be potential biomarkers [J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2019: 1-12
- [22] 孔祥辉,李定金,杨国力,等.猴头菇山楂饮料制备工艺及稳定性研究[J].*食品工业科技*,2020,41(7):154-160
KONG Xiang-hui, LI Ding-jin, YANG Guo-li, et al. Study on preparation technology and stability of *Hericium Erinaceus* and Hawthorn beverage [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41 (7): 154-160
- [23] 张玉龙,胡萍,娄利娇,等.侗族酸肉中抗氧化乳酸菌的耐受性及功能特性[J].*生物加工过程*,2016,14(6):35-40
ZHANG Yu-long, HU Ping, LOU Li-jiao, et al. Tolerance and functional of lactic acid bacteria with high antioxidant ability isolated from fermented sour meat consumed by Dong people [J]. *Biological Processing*, 2016, 14 (6): 35-40
- [24] 蒋鹏飞,王赵改,史冠莹,等.功能性复合多糖饮料的研制及其抗氧化和降糖活性研究[J].*食品与发酵工业*,2020,46(1): 197-203
JIANG Peng-fei, WANG Zhao-gai, SHI Guan-ying, et al. Development of functional compound polysaccharide beverage and research on its antioxidant and hypoglycemic activities [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2020, 46 (1): 197-203
- [25] 刘翰飞,何怡,林冰,等.黔产刺梨复合型饮料的研制[J].*食品研究与开发*,2019,40(16):58-62
LIU Han-fei, HE Yi, LIN Bing, et al. Development of Guizhou *Rosa roxburghii* Tratt compound beverage [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40 (16): 58-62
- [26] 叶俊,刘日斌.猴头菇枸杞复合饮料的制备工艺[J].*农产品加工*,2019,23:40-42
YE Jun, LIU Ribin. Development of *Hericium erinaceus* and *Medlar* compound beverage [J]. *Agricultural Products Processing*, 2019, 23: 40-42
- [27] YU Yuan-shan, XIAO Geng-sheng, XU Yu-juan, et al. Effects of dimethyl dicarbonate (DMDC) on the fermentation of litchi juice by *Lactobacillus casei* as an alternative of heat treatment [J]. *Journal of Food Science*, 2014, 79: M947-M954
- [28] Z E Mousavi, S M Mousavi, S H Razavi, et al. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria [J]. *Springer Netherlands*, 2011, 27(1): 123-128

(下转第 195 页)