

乳酸菌发酵前后铁皮石斛汁中 功能活性物质与风味成分的比较

林华嗣, 黄庆, 田胜兰, 胡晓波*

(南昌大学食品学院, 生物质转化教育部工程研究中心, 江西南昌 330047)

摘要: 为研究乳酸菌发酵对石斛汁中功能活性物质及风味成分的影响。以铁皮石斛汁为原料, 采用嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*, La) 与副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus paracasei*, Lp) 混合液态发酵, 分析石斛汁中多糖、乙酸乙酯萃取成分、挥发性成分、游离氨基酸及有机酸的变化。结果表明, 铁皮石斛汁发酵后, 多糖平均分子量由 184.40 ku 减小至 91.27 ku, 多糖含量极显著降低 21.91% ($P<0.01$); 试验鉴定发酵前后乙酸乙酯萃取成分分别为 20 种和 16 种, 相同成分 11 种, 差异成分 14 种; 挥发性成分由发酵前的 21 种增至发酵后的 26 种, 发酵后酚类与醇类物质相对含量增多, 花香香气物质相对含量增多; 发酵后检测出 15 种游离氨基酸, 游离氨基酸种类较发酵前增加 6 种, 赋予发酵汁甜味和鲜味, 除天冬氨酸外, 其他种类游离氨基酸含量均极显著升高 ($P<0.01$); 发酵前后分别含有 3 种和 4 种有机酸, 乳酸仅在发酵后检出, 其含量占比有机酸总含量的 76.11%, 赋予发酵汁柔润的口感。由此可见, La 与 Lp 混合发酵可使铁皮石斛汁中产生丰富的活性物质与风味成分。

关键词: 铁皮石斛汁; 乳酸菌; 发酵; 活性物质; 风味成分

文章编号: 1673-9078(2023)12-253-261

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.12.0090

Comparison of Functional Active Substances and Flavor Components in *Dendrobium officinale* Juices before and after Lactic Acid Bacteria Fermentation

LIN Huasi, HUANG Qing, TIAN Shenglan, HU Xiaobo*

(Biomass Transformation Engineering Research Center of Ministry of Education, College of Food Science & Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: To investigate the effect of lactic acid bacteria fermentation on the functional active substances and flavor components in *Dendrobium* juices, *Dendrobium officinale* juice was used as the raw material, and the changes of its polysaccharides, ethyl acetate-extracted components, volatile components, free amino acids and organic acids induced by liquid fermentation with the mixture of *Lactobacillus acidophilus* (La) and *Lactobacillus paracasei* (Lp) were analyzed. The results showed that after the fermentation of *Dendrobium officinale* juice, the average molecular weight of polysaccharide decreased from 184.40 ku to 91.27 ku, and the polysaccharide content significantly decreased (by 21.91%; $P<0.01$); 20 and 16 ethyl acetate extracted components were identified before and after the fermentation, respectively, with 11 being identical components and 14 being different components; the number of volatile components increased from 21 (before fermentation) to 26 (after fermentation). After fermentation, the relative contents of phenolic compounds, alcohol substances and floral aroma species increased, increased; After fermentation, 15 free amino acids were detected, among which 6 were not detected before fermentation, giving the fermented

引文格式:

林华嗣,黄庆,田胜兰,等.乳酸菌发酵前后铁皮石斛汁中功能活性物质与风味成分的比较[J].现代食品科技,2023,39(12):253-261

LIN Huasi, HUANG Qing, TIAN Shenglan, et al. Comparison of functional active substances and flavor components in *Dendrobium officinale* juices before and after lactic acid bacteria fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(12): 253-261

收稿日期: 2023-01-01

基金项目: 江西省重大科技研发专项 (20203ABC28W019)

作者简介: 林华嗣 (2001-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: ncuspylinhuasi@163.com

通讯作者: 胡晓波 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学与营养, E-mail: hxbxq2005@163.com

juices sweetness and umami taste. Except for aspartic acid, the contents of the other free amino acid species increased highly significantly ($P < 0.01$) after fermentation; There were 3 and 4 organic acids before and after fermentation, respectively. Lactic acid was only detected after fermentation, and its content accounted for 76.11% of the total organic acid content, giving the fermented juices a soft and moist sensation. Thus, the mixed fermentation with La and Lp resulted in the production of rich active substances and flavor components in *Dendrobium officinale* juices.

Key words: *Dendrobium officinale* juices; lactic acid bacteria; fermentation; active substances; flavor components

铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 属于兰科石斛属植物的新鲜或干燥茎, 是我国传统名贵的中草药, 因其表皮为铁绿色而出名, 《神农本草经》将其列为上品, 素有“药中黄金”、“救命仙草”之美誉, 其含有的化学成分有多糖、石斛碱、氨基酸等, 药理作用有增强免疫力、抗氧化、改善胃肠功能等^[1]。随着人工种植技术的突破, 铁皮石斛产量不断增加, 近年来主要通过复配调配和发酵两种途径进行利用和开发^[2]。发酵产品不仅能保留原料的活性成分、消除抗营养因素、改善生物利用率^[3], 还符合消费者追求绿色健康食品的理念。因此, 探究发酵对铁皮石斛的影响对提高铁皮石斛的经济效益及保健效益具有重要意义。

研究表明, 乳酸菌发酵可以提高食品的营养价值、品质、安全、保藏性以及改善食品的风味^[4-6]。例如, 任运红等^[7]研究发现使用产乳酸芽孢杆菌 DU-106 和酿酒酵母菌 171 发酵铁皮石斛酒, 可促进铁皮石斛中有益物质的溶出率, 提高发酵酒的营养价值; 舒旭晨等^[8]研究发现使用酵母菌和乳酸菌发酵铁皮石斛鲜条, 得到具有良好抗氧化活性的石斛酵素; Xu 等^[9]研究发现以铁皮石斛和香蕉为原料进行混菌发酵, 发酵后的复合果汁的品质、抗氧化能力和贮藏稳定性均有提高。目前铁皮石斛多采用酵母菌和乳酸菌发酵或添加其他辅料共发酵, 而采用混合乳酸菌发酵铁皮石斛汁并研究其功能活性物质及风味成分的研究鲜有报道。

随着人们对健康的认识和关注度的增加, 社会对食品的营养和功能提出了更高的要求。目前铁皮石斛深加工产品和开发力度还不是很充分。试验前期在对比单菌和混菌发酵基础上, 选择铁皮石斛汁中活菌数最高、抗氧化能力最强^[10]的发酵菌种, 即嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*, La) 和副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus paracasei*, Lp) 混合发酵, 探讨铁皮石斛汁中功能活性物质与风味成分的变化, 为铁皮石斛产品研发提供新的思路和技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

江西省龙虎山大棚人工种植的一年生新鲜铁皮石斛茎, 江西轩斛生物科技有限公司; 副干酪乳杆菌菌

粉 (JLPF-176)、嗜酸乳杆菌菌粉 (JYLA-191), 山东中科嘉亿生物工程有限公司; 柠檬酸、苹果酸、乳酸、琥珀酸、乙酸, 均为分析纯, 北京索莱宝科技有限公司; 甲醇, 色谱纯, 美国 Sigma 公司; 甲酸, 色谱纯, 中国上海阿拉丁有限责任公司。

1.2 仪器与设备

N-1100 型旋转蒸发器, 上海爱朗仪器有限公司; UPLC-ESI-QTOF-MS/MS、7890A-7000 型气相色谱-质谱仪、Agilent 1260 HPLC 系统, 美国 Agilent; L-8900 型氨基酸分析仪, 日本 HITACHI 公司; JS-THERMO 型多功能酶标仪, 美国 Thermo 公司; TU-1810DAP 型紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; TGL216G 型高速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; YXQ-50S II 型立式压力蒸汽灭菌锅, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; ZQTY-70E 型振荡培养箱, 上海知楚仪器有限公司; SW-CJ 型双人净化工作台, 上海新苗医疗器械制造有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 铁皮石斛汁的制备

将新鲜铁皮石斛茎清洗晾干, 切成 2~3 cm 段, 70 °C 水浴热烫 5 min, 按料水比 1:10 (m/V) 进行打浆, 用四层纱布进行过滤, 取 100 mL 滤汁采用 90 °C 保持 5 min 进行杀菌处理, 得到铁皮石斛汁 (*Dendrobium officinale* Juices, DOJ), 于 4 800 r/min 离心 10 min, 取上清液进行测定。

1.3.2 发酵铁皮石斛汁的制备

取 La 和 Lp 的冻干菌粉分别添加到生理盐水 1:100 (m/V), 置于 37 °C 水浴锅中活化 20 min, 活化后 La 和 Lp 的菌数目均为 1.0×10^8 CFU/mL, 参考黄庆等^[10]的发酵方法, 等比例接种 2% (V/V) 的 La 和 Lp 的活化菌液于 100 mL 铁皮石斛汁中, 于 37 °C 下恒温发酵 24 h, 发酵转速 150 r/min, 得到发酵铁皮石斛汁 (Fermented *Dendrobium officinale* Juices, FDOJ), 于 4 800 r/min 离心 10 min, 取上清液进行测定。

1.3.3 活性物质的测定

1.3.3.1 多糖含量

参考《中华人民共和国药典》第一部 (2020 年版)

测定多糖含量^[11]。

1.3.3.2 多糖分子量

样品处理：用体积分数为 $\varphi=95\%$ 乙醇和 100 mL 上清液以 4:1 (V/V) 进行沉淀，静置过夜，于 4 800 r/min 离心 10 min，弃上清，沉淀用去离子水复溶，用 α -淀粉酶除淀粉，sevage 法脱蛋白后旋蒸浓缩，冻干得多糖样品。采用 Yang 等^[12]的方法，通过测定得到的标准曲线方程为 $y = -0.182x + 1.4105$ ， $R^2 = 0.9997$ 。

1.3.3.3 乙酸乙酯萃取成分

采用 Dong 等^[13]的方法，略有改动。样品处理：20 mL 上清液用乙酸乙酯以 1:1 (V/V) 反复萃取 3 次，合并乙酸乙酯相，蒸发浓缩至粉末。将干燥后的提取物重新复溶于 1 mL 色谱级甲醇溶液中，经 0.22 μm 的有机相滤膜过滤。

液相条件：梯度洗脱程序为 5%~5%，0~1.5 min B；5%~35%，1.5~26 min B；35%~60%，26~33 min B；60%~100%，33~38 min B；100%~100%，38~41 min B；100%~5%，41~43 min B；5%~5%，43~45 min B。紫外色谱吸收波长设置为 245 nm、280 nm、334 nm。

1.3.4 风味成分的测定

1.3.4.1 挥发性成分

采用 Yang 等^[14]的方法，略有改动。样品处理：称取 5 g 样品于 20 mL 进样瓶中，在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下平衡 30 min，采用老化处理过的萃取头顶空吸附 30 min，随后开始解吸。

GC-MS 测定条件：HP-5MS 毛细管色谱柱 (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)；升温程序：起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 2 min 后以 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温到 70 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 4 min，再以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温到 145 $^{\circ}\text{C}$ ，以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温到 220 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 3 min；不分流进样，进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ ；载气为 He，流量为 1.0 mL/min；碰撞气为 N_2 ，流量 1.5 mL/min；淬灭气为 He，流量 2.25 mL/min；电子轰击源 (EI)：70 eV；离子源温度 280 $^{\circ}\text{C}$ ；接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.4.2 游离氨基酸

采用 Chen 等^[15]的方法，略有改动。用体积分数为 1% 的三氯乙酸将 2 mL 上清液稀释 10 倍，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 10 000 r/min 离心 10 min，取上清液再用 0.02 mol/L 的盐酸溶液 1:1 (V/V) 进行稀释混匀，再经 0.22 μm 水相滤膜过滤后供氨基酸自动分析仪测试。

1.3.4.3 有机酸

采用 Yang 等^[14]的方法，略有改动。样品处理：取 2 mL 上清液经 0.22 μm 水相滤膜过滤供高效液相色谱仪测试。色谱条件：BIO-RAD Aminex[®] HPX-87H 离子交换色谱柱 C18 (5 μm , 250 mm \times 7.8 mm)；流动

相：6 mmol/L 的稀硫酸；检测器：紫外检测器，波长：210 nm；流速 0.5 mL/min；柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：20 μL ；外标法定量。

1.4 数据分析

试验平行测定 3 次，数据采用平均值 \pm 标准偏差表示。使用 IBM SPSS Statistics 25 软件处理数据， $P < 0.05$ 为显著差异， $P < 0.01$ 为极显著差异。使用 Origin 9 软件制图。

2 结果与分析

2.1 多糖含量分析

多糖是铁皮石斛重要的活性物质之一，铁皮石斛多糖能起到抗氧化、调节免疫、抗糖尿病等功能^[1]。发酵前后铁皮石斛汁中多糖含量变化如图 1 所示，DOJ 中多糖含量为 3.88 mg/mL，FDOJ 中多糖含量为 3.03 mg/mL，铁皮石斛汁经发酵后多糖含量极显著降低 21.91% ($P < 0.01$)。王丹等^[16]研究报道植物乳杆菌和保加利亚乳杆菌发酵铁皮石斛多糖含量明显下降，与本研究结果一致。发酵铁皮石斛汁中多糖含量降低可能是因为乳酸菌通过碳水化合物活性酶利用多糖来维持乳酸菌的生理活动^[17]。

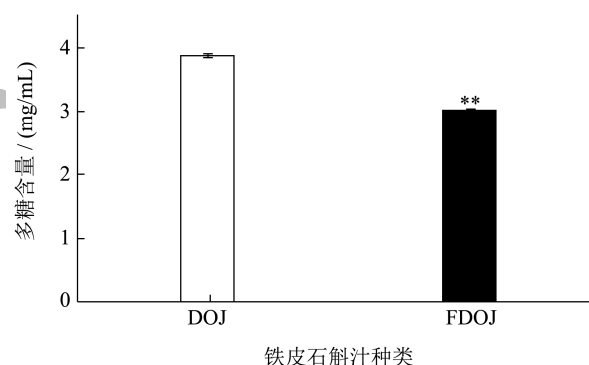


图 1 DOJ 和 FDOJ 的多糖含量

Fig.1 Polysaccharide content of DOJ and FDOJ

注：DOJ 表示铁皮石斛汁，FDOJ 表示发酵铁皮石斛汁，后同；“**”表示 DOJ 与 FDOJ 的多糖平均值含量差异极显著 ($P < 0.01$)，图 3、4 同。

2.2 多糖分子量分析

结果如表 1 所示，DOJ 有 3 个洗脱峰，而 FDOJ 有 4 个洗脱峰，多糖的平均分子量由发酵前的 184.40 ku 减小至发酵后的 91.27 ku。多糖的平均分子量减小的原因可能是乳酸菌在发酵过程中产生了相应的酶降解了多糖^[17]，这与王丹等^[18]研究的结果一致。分子量是研究多糖结构与活性的重要参数之一，

多糖的分子量越小意味着体积也越小, 体积小的多糖容易穿透细胞膜, 有利于多糖发挥出抗氧化和降血糖^[18]等活性。结果表明, 乳酸菌能有效地利用铁皮石斛汁中多糖, 降低其分子量, 提高铁皮石斛汁中多糖潜在的活性。

2.3 乙酸乙酯萃取成分分析

根据负离子模式下各色谱峰的保留时间、紫外特征、分子和离子峰及主要碎片峰信息, 结合文献、Mass Bank 数据库收录的天然产物对化合物进行鉴定^[19]。鉴定结果如表 2 所示, 发酵前后铁皮石斛汁中乙酸乙酯萃取成分共鉴定出 25 种化合物, 其中相同化合物 11 种, 差异化合物 14 种。

表 1 DOJ 和 FDOJ 的多糖分子量

Table 1 The molecular weight of polysaccharides of DOJ and FDOJ

FDOJ				
样品	保留时间 /min	分子量 M_w /ku	峰面积比 /%	平均分子量 /ku
DOJ	13.403	352.90	49.81	
	14.664	57.42	13.93	184.40
	17.108	1.70	36.26	
FDOJ	13.485	313.60	21.32	
	14.467	76.25	28.14	91.27
	15.487	17.56	13.79	
	17.220	1.45	36.75	

注: DOJ 为铁皮石斛汁, FDOJ 为发酵铁皮石斛汁, 后同。

表 2 DOJ 和 FDOJ 乙酸乙酯萃取成分

Table 2 The ethyl acetate extracted components of DOJ and FDOJ

序号	CAS 号	分子式	[M-H](m/z)	碎片离子(m/z)	化合物名称	类别
DOJ 和 FDOJ 中相同成分 (11 种)						
1	77-92-9	C ₆ H ₈ O ₇	191.034 7	111 87 85	柠檬酸	有机酸
2	6915-15-7	C ₄ H ₆ O ₅	133.031 2	115 71 89	苹果酸	有机酸
3	499-12-7	C ₆ H ₆ O ₆	173.026 0	129 85	乌头酸	有机酸
4	23666-13-9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.346 8	503 473 383 353	6,8-二- <i>c</i> -葡萄糖基芹菜素	类黄酮
5	51938-32-0	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.149 0	563 473 443 353	夏佛塔昔	类黄酮
6	153-18-4	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.214 1	609 610 611	芦丁	类黄酮
7	40581-17-7	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577.211 8	487 475 456	佛来心武	类黄酮
8	677021-30-6	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	533.182 4	533 515 443 383	芹菜素 6- <i>c</i> - <i>L</i> -阿拉伯糖-8- <i>c</i> - β - <i>D</i> -木糖武	类黄酮
9	537-73-5	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.177 6	193 178 163 134	异阿魏酸	羟基肉桂酸
10	501-98-4	C ₉ H ₈ O ₃	163.040 2	162 119 93	对香豆酸	羟基肉桂酸
11	480-41-1	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.079 3	271 177 151 119	柚皮素	其他
DOJ 中其他成分 (9 种)						
12	2595-33-7	C ₆ H ₈ O ₇	191.035 3	173 129 111	2,5-二酮葡萄糖酸	有机酸
13	110-15-6	C ₄ H ₆ O ₄	117.018 8	73	琥珀酸	有机酸
14	479-98-1	C ₁₅ H ₂₂ O ₉	345.116 3	183 164	珊瑚昔	类黄酮
15	99-96-7	C ₇ H ₆ O ₃	137.027 8	137 93	对羟基苯甲酸	羟基苯甲酸
16	530-57-4	C ₉ H ₁₀ O ₅	197.046 6	182 153 138	丁香酸	羟基苯甲酸
17	24512-63-8	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	387.125 2	387 225	梔子昔	其他
18	1135-24-6	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.050 6	193 178 149 134	阿魏酸	羟基肉桂酸
19	73140-47-3	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	533.129 1	515 473 443 353	6,8-二- <i>c</i> - <i>a</i> - <i>L</i> -阿拉伯糖基芹菜素	类黄酮
20	77-95-2	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.056 1	140 101	奎宁酸	有机酸
FDOJ 中其他成分 (5 种)						
21	110-17-8	C ₄ H ₄ O ₄	115.028 6	71	延胡索酸	有机酸
22	306-23-0	C ₉ H ₁₀ O ₄	181.106 3	163 135 119 72	<i>DL</i> -对羟基苯乳酸	其他
23	121-34-6	C ₈ H ₈ O ₄	167.035 0	152 123 108	香草酸	羟基苯甲酸
24	149-91-7	C ₇ H ₆ O ₅	169.085 1	125	没食子酸	羟基苯甲酸
25	618-83-7	C ₈ H ₆ O ₅	181.014 2	182 165	5-羟基间苯二甲酸	羟基苯甲酸

从表 2 可知, DOJ 中鉴定出 20 种化合物, 包括有机酸 6 种、羟基苯甲酸 2 种、羟基肉桂酸 3 种、类黄酮 7 种、其他 2 种; FDOJ 中鉴定出 16 种, 包括有机酸 4 种、羟基苯甲酸 3 种、羟基肉桂酸 2 种、类黄酮 5 种、其他 2 种。发酵前后铁皮石斛汁中有机酸、羟基肉桂酸和类黄酮物质较发酵前分别减少 2 种、1 种和 2 种, 羟基苯甲酸较发酵前增加 1 种。表明乳酸菌发酵能够产生一些中间产物或将原料中的物质进行转换^[20], 使铁皮石斛汁的活性成分发生变化, 例如, 发酵铁皮石斛汁中的没食子酸, 它是一种具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等^[21]活性的新成分。

2.4 挥发性成分分析

DOJ 和 FDOJ 的挥发性成分如表 3 所示, 发酵前后铁皮石斛汁中共检测出 41 种挥发性成分, 其中发酵前后铁皮石斛汁中相同挥发性成分 6 种, 差异挥发性成分 35 种。

从表 3 可知, DOJ 中检测出 21 种挥发性成分, 包括芳香烃 1 种、酚类与醇类 2 种、吡喃与呋喃 1 种、烯烃 8 种、醛类与酮类 4 种、螺环类 1 种、酯类 1 种、酸类 3 种, 其中(+)-柠檬烯 (40.59%) 是 DOJ 中主要挥发性成分; FDOJ 中检测出 26 种挥发性成分, 包括酚类与醇类 9 种、吡喃与呋喃 1 种、烯烃 5 种、醛类与酮类 9 种、螺环类 1 种、酯类 1 种, 其中芳樟醇 (42.55%) 是 FDOJ 中主要挥发性成分。发酵后铁皮石斛汁中酚类与醇类、醛类与酮类物质较发酵前分别增加 7 种和 5 种, 烯烃物质较发酵前减少 3 种。表明铁皮石斛汁在发酵前后的风味成分有明显变化, 与熊涛^[22]等研究报道有相似的结果。

根据化学结构分类, 如图 2a 所示, 发酵前芳香烃、酚类与醇类、吡喃与呋喃、烯烃、醛类与酮类、螺环类、酯类、酸类物质相对含量分别为 0.77%、3.96%、3.34%、65.16%、7.04%、0.72%、10.30%、8.70%,

发酵后酚类与醇类、吡喃与呋喃、烯烃、醛类与酮类、螺环类、酯类物质相对含量分别为 57.44%、1.35%、24.46%、10.11%、1.60%、5.04%。与发酵前相比, 发酵后烯烃物质相对含量减少, 酚类与醇类物质相对含量增多, 未检出芳香烃和酸类物质, 说明铁皮石斛汁经乳酸菌发酵后烯烃类物质转化为酚类与醇类香气物质^[23]。根据香气描述分类, 如图 2b 所示, 发酵前花香、水果香、其他香气物质相对含量分别为 0.77%、50.07%、5.04%, 发酵后花香、木香、水果香、茶香、其他香气物质相对含量分别为 52.41%、1.5%、27.5%、0.47%、1.42%。与发酵前相比, 发酵后水果香气物质相对含量减少, 花香香气物质相对含量增多, 检出木香和茶香香气物质, 牛佳佳等^[24]研究报道乳酸菌发酵后挥发性物质的种类和含量增加, 产生大量的高级醇, 使发酵汁具有独特的风味, 与本研究结果一致。

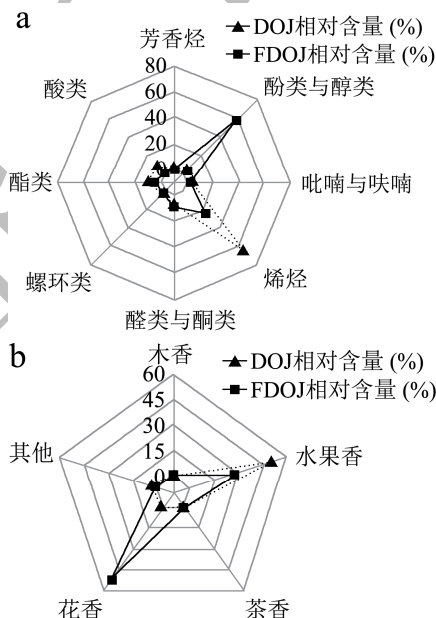


图 2 DOJ 和 FDOJ 挥发性成分种类 (a) 和香气类型 (b) 分布

Fig.2 Volatile component species (a) and aroma types (b) distribution of DOJ and FDOJ

表 3 DOJ 和 FDOJ 的挥发性成分

Table 3 Volatile components of DOJ and FDOJ

序号	类别	化合物名称	CAS 号	分子式	香气描述(归纳)	相对含量/%	
						DOJ (21 种)	FDOJ (26 种)
芳香烃 (1 种)						1 种	0 种
1		对二甲苯	106-42-3	C ₈ H ₁₀	天竺葵香气 ^[25] (花香)	0.77±0.05	-
酚类与醇类 (10 种)						2 种	9 种
2		1-辛烯-3-醇	3391-86-4	C ₈ H ₁₆ O	蘑菇香气 ^[26] (其他)	1.70±0.10	-
3		顺式菊烯醇	55722-60-6	C ₁₀ H ₁₆ O		-	1.83±0.07
4		顺-α-5-三甲基-5-乙烯基四氢化呋喃-2-甲醇	5989-33-3	C ₁₀ H ₁₈ O ₂		-	0.70±0.00
5		芳樟醇	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	玫瑰香气 ^[26] (花香)	-	42.55±1.65

续表 3

序号	类别	化合物名称	CAS 号	分子式	香气描述(归纳)	相对含量/%	
						DOJ (21 种)	FDOJ (26 种)
6		α -松油醇	98-55-5	C ₁₀ H ₁₈ O	丁香香气 ^[26] (花香)	-	5.83±0.36
7		香叶醇	106-24-1	C ₁₀ H ₁₈ O	玫瑰香气 ^[26] (花香)	-	1.13±0.02
8		3,6-二甲氧基-9-(2-苯乙基)-茛-9-醇	6161-49-5	C ₂₁ H ₁₈ O ₃		2.26±0.05	1.53±0.42
9		丁香酚	97-53-0	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	茴香香气 ^[26] (木香)	-	0.57±0.01
10		2,6-二叔丁基对甲酚	128-37-0	C ₁₅ H ₂₄ O		-	0.83±0.21
11		2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	C ₁₄ H ₂₂ O		-	2.47±0.12
吡喃与呋喃 (2 种)						1 种	1 种
12		2-戊基呋喃	3777-69-3	C ₉ H ₁₄ O	绿豆香气 ^[27] (其他)	3.34±0.70	-
13		四甲基四氢苯并吡喃	72746-44-2	C ₁₃ H ₂₂ O		-	1.35±0.03
烯烃 (12 种)						8 种	5 种
14		(+)-柠檬烯	5989-27-5	C ₁₀ H ₁₆	柠檬香气 ^[26] (水果香)	40.59±3.23	20.63±3.86
15		(E)- β -罗勒烯	3779-61-1	C ₁₀ H ₁₆	花香香气 ^[26] (花香)	-	1.05±0.03
16		α -罗勒烯	502-99-8	C ₁₀ H ₁₆	花香香气 ^[26] (花香)	-	1.33±0.26
17		蒎品油烯	586-62-9	C ₁₀ H ₁₆	松木香气 ^[28] (木香)	-	0.93±0.02
18		别罗勒烯	673-84-7	C ₁₀ H ₁₆	花香香气 ^[26] (花香)	-	0.52±0.02
19		α -顺-香柠檬烯	18252-46-5	C ₁₅ H ₂₄	柠檬香气 ^[26] (水果香)	2.44±0.13	-
20		2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)双环[3.1.1]庚-2-烯	17699-05-7	C ₁₅ H ₂₄		9.50±1.14	-
21		反- β -法尼烯	18794-84-8	C ₁₅ H ₂₄		1.50±0.09	-
22		α -姜黄烯	644-30-4	C ₁₅ H ₂₂		3.30±0.43	-
23		1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)环己烯	495-61-4	C ₁₅ H ₂₄		1.55±0.13	-
24		β -倍半水芹烯	20307-83-9	C ₁₅ H ₂₄		1.57±0.44	-
25		海松-8(14),15-二烯	1686-56-2	C ₂₀ H ₃₂		4.71±0.17	-
醛类与酮类 (11 种)						4 种	9 种
26		苯甲醛	100-52-7	C ₇ H ₆ O	杏仁香气 ^[25] (水果香)	-	4.10±0.73
27		苯乙醛	122-78-1	C ₈ H ₈ O	蜂蜜香气 ^[29] (其他)	-	1.42±0.21
28		反-2-辛烯醛	2548-87-0	C ₈ H ₁₄ O	水果香气 ^[25] (水果香)	0.71±0.04	-
29		壬醛	124-19-6	C ₉ H ₁₈ O	水果香气 ^[25] (水果香)	3.18±1.61	-
30		2-(4-甲基-3-环己烯-1-基)丙醛	29548-14-9	C ₁₀ H ₁₆ O		-	0.80±0.09
31		β -环柠檬醛	432-25-7	C ₁₀ H ₁₆ O	柠檬香气 ^[26] (水果香)	0.84±0.05	0.70±0.03
32		大马士酮	23726-93-4	C ₁₃ H ₁₈ O	茶香香气 ^[28] (茶香)	-	0.47±0.00
33		十二醛	112-54-9	C ₁₂ H ₂₄ O	柑橘香气 ^[25] (水果香)	-	0.69±0.03
34		香叶基丙酮	3796-70-1	C ₁₃ H ₂₂ O	水果香气 ^[30] (水果香)	-	0.54±0.01
35		2,5-二叔丁基-1,4-苯醌	2460-77-7	C ₁₄ H ₂₀ O ₂		-	0.55±0.02
36		β -紫罗兰酮	79-77-6	C ₁₃ H ₂₀ O	水果香气 ^[30] (水果香)	2.31±0.25	0.84±0.43
螺环类 (1 种)						1 种	1 种
37		茶螺烷	36431-72-8	C ₁₃ H ₂₂ O		0.72±0.04	1.60±0.13
酯类 (1 种)						1 种	1 种
38		2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	6846-50-0	C ₁₆ H ₃₀ O ₄		10.30±0.60	5.04±0.20
酸类 (3 种)						3 种	0 种
39		肉豆蔻酸	544-63-8	C ₁₄ H ₂₈ O ₂		3.15±0.25	-
40		十五烷酸	1002-84-2	C ₁₅ H ₃₀ O ₂		3.64±0.97	-
41		亚油酸	60-33-3	C ₁₈ H ₃₂ O ₂		1.91±0.18	-

注：“-”代表未检出。

2.5 游离氨基酸分析

铁皮石斛汁发酵前后游离氨基酸的种类和含量变化如图3所示, DOJ中检测出9种游离氨基酸, FDOJ中检测出15种游离氨基酸, 发酵后游离氨基酸种类较发酵前增加6种, 分别为丝氨酸(Ser)、半胱氨酸(Cys)、异亮氨酸(Ile)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)、精氨酸(Arg)。发酵铁皮石斛汁中检测出6种人体必需氨基酸, 比发酵前多2种, 分别为Phe和Ile。氨基酸总含量由发酵前的1.48 mmol/L增加到发酵后的5.85 mmol/L, 其中谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)的含量分别极显著升高($P<0.01$), 天冬氨酸(Asp)的含量极显著降低($P<0.01$)。氨基酸种类和含量变化的原因可能是乳酸菌通过内源性蛋白酶水解蛋白质, 以及乳酸菌利用氨基酸生物转化成其他种类的氨基酸^[31]。氨基酸不仅是营养成分, 也是呈味物质。例如, Lys和Arg能够预防疾病和增强人体免疫力^[32], Asp、Gly、Glu、Ala、Arg能赋予发酵汁甜味和鲜味^[33]。综上, 乳酸菌发酵可增加铁皮石斛汁中必需氨基酸和呈味氨基酸的种类与含量, 赋予铁皮石斛汁良好的营养和风味。

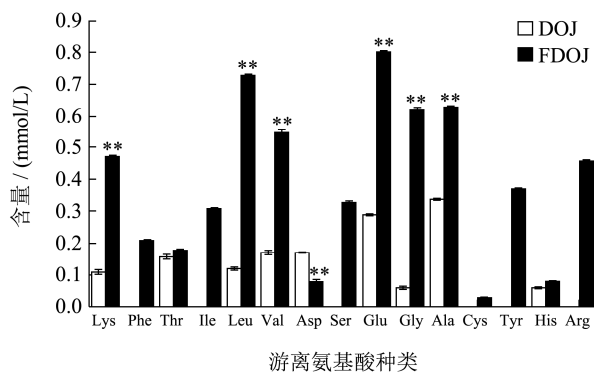


图3 DOJ和FDOJ的游离氨基酸种类与含量

Fig.3 Free amino acid species and content of DOJ and FDOJ

注: 横坐标从左往右氨基酸英文缩写依次表示赖氨酸(Lys)、苯丙氨酸(Phe)、苏氨酸(Thr)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、缬氨酸(Val)、天冬氨酸(Asp)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、酪氨酸(Tyr)、组氨酸(His)、精氨酸(Arg); 横坐标从左往右数, 前6个氨基酸为必需氨基酸。

2.6 有机酸分析

铁皮石斛汁发酵前后有机酸的种类和含量变化如图4所示, 总共检测出5种有机酸, 在DOJ中检测出3种有机酸, 在FDOJ中检测出4种有机酸, 柠檬酸在FDOJ中未检出, 乳酸和乙酸仅在FDOJ中检出。

有机酸总含量由发酵前的1 671.90 mg/L升高至发酵后的2 045.50 mg/L, 其中发酵后乳酸含量高达1 556.70 mg/L, 占有有机酸总含量的76.11%; 发酵后苹果酸和琥珀酸的含量极显著降低83.43%和65.89% ($P<0.01$), 含量分别为128.70 mg/L和261.90 mg/L, 可能是苹果酸在三羧酸循环中被转化成了乳酸, 琥珀酸在碳代谢中被丙酮酸氧化成氢离子和乙酸^[34], 这也是发酵后检测出乙酸的原因之一。乳酸产生的另外一个原因可能是葡萄糖经过糖酵解途径生成丙酮酸, 在乳酸脱氢酶的作用下被还原成乳酸^[34], 表明乳酸菌发酵能够增加铁皮石斛汁有机酸的种类和含量。不同的有机酸对食品风味的贡献不同, 杨舒雅^[35]报道微量的乙酸能够丰富食品的口感, 乳酸具有柔润的口感, 苹果酸带有水果的香气, 但具有涩味和生青味, 柠檬酸口感清冽, 而琥珀酸带有点苦味。综上, 发酵铁皮石斛汁含有大量的乳酸、微量的乙酸、少量的苹果酸和琥珀酸, 乳酸菌发酵赋予铁皮石斛汁柔润的口感。

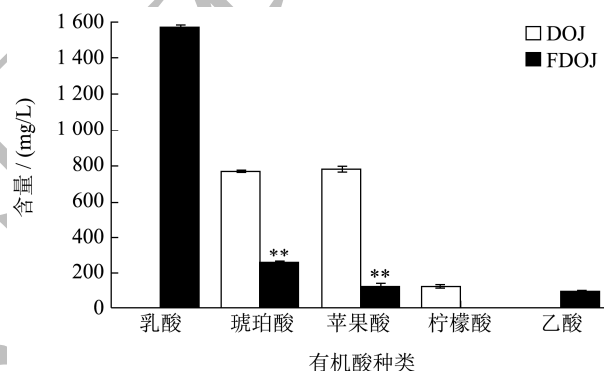


图4 DOJ和FDOJ的有机酸含量

Fig.4 Organic acid content of DOJ and FDOJ

3 结论

利用嗜酸乳杆菌与副干酪乳杆菌混合发酵铁皮石斛汁, 探究乳酸菌发酵对铁皮石斛汁的影响。结果表明, 乳酸菌发酵使石斛汁中多糖平均分子量减小, 新产生的较小分子量多糖能够更好的吸收, 增强多糖的潜在功能活性; 产生有助于提高石斛汁的新功能活性物质, 如具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤的没食子酸活性成分。发酵后烯烃物质种类和相对含量均降低, 酚类和醇类物质种类和相对含量均增加; 同时必需氨基酸和呈味氨基酸的种类和含量均增加; 有机酸种类增加, 乳酸含量占有有机酸总含量的76.11%, 苹果酸和琥珀酸含量显著降低。这些成分的变化共同影响了铁皮石斛汁的风味, 赋予了铁皮石斛汁花香香气、鲜甜的风味及柔润的口感。总体而言, 嗜酸乳杆菌与副干酪乳杆菌混合发酵的铁皮石斛汁, 在功能成分以及风味方面表现出一定的改善与提高, 为铁皮石斛益生菌发酵产

品的开发提供了可靠的理论依据。

参考文献

- [1] He Y, Li L, Chang H, et al. Research progress on extraction, purification, structure and biological activity of *Dendrobium officinale* polysaccharides [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022.
- [2] 刘雪娜,吴雪娇,刘顺航,等.铁皮石斛的药理作用及其保健食品研发进展[J].*保鲜与加工*,2021,21(10):144-150.
- [3] Septembre-Malaterre A, Remize F, Poucheret 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.
- [4] Wang W, Wang H. The effect of lactic acid bacteria in food and feed and their impact on food safety [J]. *International Journal of Food Engineering*, 2014, 10(2): 203-210.
- [5] Smit G, Smit B A, Engels W J M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29(3): 591-610.
- [6] Jie Y, Tengqi G, Feng G, et al. Porphyra yezoensis sauces fermented with lactic acid bacteria: fermentation properties, flavor profile, and evaluation of antioxidant capacity *in vitro* [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 8: 810460.
- [7] 任运红,徐雅囡,钟淳菲,等.铁皮石斛发酵酒品质特性研究[J].*中国酿造*,2020,39(5):92-96.
- [8] 舒旭晨,杜万根,姜东,等.混菌发酵石斛酵素及其抗氧化活性研究[J].*徐州工程学院学报(自然科学版)*,2019,34(2):63-70.
- [9] Xu Y N, Zeng L P, Xiao N, et al. Quality enhancement of *Dendrobium officinale* and banana juice through probiotic fermentation using beneficial lactic acid-producing bacteria [J]. *International Journal of Food Engineering*, 2020, 7(27).
- [10] 黄庆,林华嗣,王国鑫,等.乳酸菌发酵铁皮石斛活性成分与抗氧化功能动态分析[J].*南昌大学学报(理科版)*,2022,46(4):473-480.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:295.
- [12] Yang C R, Ma Y, Chen Y, et al. Improving the physicochemical and *in vitro* hypolipidemic properties of soluble dietary fiber in camellia seed residue by a cellulose degrading fungus YC49 [J]. *Food & Function*, 2022.
- [13] Dong R H, Yu Q, Wang L, et al. Composition of bound polyphenols from carrot dietary fiber and its *in vivo* and *in vitro* antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2021, 339: 127879.
- [14] Yang X Z, Hu W Z, Xiu Z L, et al. Effect of salt concentration on microbial communities, physicochemical properties, and metabolite profile during spontaneous fermentation of Chinese northeast sauerkraut [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 129(6): 1458-1471.
- [15] Chen Z Q, Fang X J, Wu W J, et al. Effects of fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* GDM1. 191 on the umami compounds in shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) [J]. *Food Chemistry*, 2021, 364: 130398.
- [16] 王丹,袁永俊,谭青云,等.不同菌种发酵对铁皮石斛多糖及其生物活性的影响[J].*中国调味品*,2019,44(9):39-43.
- [17] Gao H, Wen J J, Hu J L, et al. Polysaccharide from fermented *Momordica charantia* L. with *Lactobacillus plantarum* NCU116 ameliorates type 2 diabetes in rats [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 201: 624-633.
- [18] 王丹,袁永俊,谭青云,等.铁皮石斛发酵前后主要成分、活性和多糖分子量的变化[J].*包装与食品机械*,2019,37(5):22-26.
- [19] Ye Z, Dai J R, Zhang C G, et al. Chemical differentiation of *Dendrobium officinale* and *Dendrobium devonianum* by using HPLC fingerprints, HPLC-ESI-MS, and HPTLC analyses [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 8647212.
- [20] 孙慧峰,朱钧溢,国立东,等.乳酸菌生物转化药食同源植物活性成分研究进展[J].*食品工业科技*,2022,43(7):474-481.
- [21] Ohno T, Inoue M, Ogihara Y. Cytotoxic activity of gallic acid against liver metastasis of mastocytoma cells P-815 [J]. *Anticancer Research*, 2001, 21(6): 3875-3880.
- [22] 熊涛,马晓娟.植物乳杆菌 NCU166 发酵胡萝卜浆风味物质的分析[J].*食品科学*,2013,34(2):152-154.
- [23] 姚芳,赵延胜,王海蓝,等.银杏果酶解发酵前后风味成分的变化及主成分分析[J].*现代食品科技*,2021,37(6):251-265.
- [24] 牛佳佳,赵彪,崔巍,等.酥梨汁乳酸菌发酵工艺优化及挥发性成分分析[J].*食品工业科技*,2023,44(14):171-181.
- [25] 杨少玲,杨贤庆,陈胜军,等.顶空固相微萃取-气质联用法分析麒麟菜中的挥发性成分[J].*食品工业科技*,2016,37(4):97-101,106.
- [26] 郭向阳.6种食用芳香植物挥发性成分的GC-MS/GC-O分析[J].*农业工程学报*,2019,35(18):299-307.
- [27] Wang Z, Ma S, Li L, et al. Synergistic fermentation of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* to improve the quality of wheat bran dietary fiber-steamed bread [J]. *Food Chemistry: X*, 2022, 16: 100528.
- [28] 程宏桢,蔡志鹏,王静,等.基于GC-MS、GC-O和电子鼻技术评价百香果酒香气特征[J].*食品科学*,2021,42(6):256-264.
- [29] Nguyen T Q N, Hankova M, Kruzik V, et al. Determination

- of volatile compound profiles and physico-chemical analysis of linden and acacia Czech honey [J]. *Journal of Apicultural Research*, 2023, 62(2): 374-382.
- [30] Simkin A J, Schwartz S H, Auldrige M, et al. The tomato carotenoid cleavage dioxygenase 1 genes contribute to the formation of the flavor volatiles beta-ionone, pseudoionone, and geranylacetone [J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2004, 40(6): 882-892.
- [31] Aung T, Park S S, Kim M J. Influence of *Lactobacillus* (LAB) fermentation on the enhancement of branched chain amino acids and antioxidant properties in bran among wheat by-products [J]. *Fermentation*, 2022, 8(12): 732.
- [32] 严静,蔡易熹,陈燕兰,等.铁皮石斛茎、叶、花的活性成分及综合利用研究进展[J]. *食品与发酵工业*,2021,47(17):299-306.
- [33] Ali K S, Lei L, Ting L, et al. Phenolic profile, free amino acids composition and antioxidant potential of dried longan fermented by lactic acid bacteria [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(12): 4782-4791.
- [34] 陈树俊,郑婕.复合果蔬发酵汁有机酸动态分析及体外模拟消化抗氧化活性和功能成分分析[J]. *食品科学*,2021,42(7): 90-97.
- [35] 杨舒雅.葡萄酒中有机酸及测定方法的探讨[J]. *食品安全导刊*,2021,29:187-188.