

# 雪莲菌发酵提高枸杞原浆甜菜碱含量的工艺优化及品质分析

王娜<sup>1</sup>, 樊秋霞<sup>1</sup>, 袁亚宏<sup>1,2</sup>, 岳田利<sup>1,2\*</sup>

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100) (2. 西北大学食品科学与工程学院, 陕西西安 710069)

**摘要:** 该研究以混合菌种雪莲菌为发酵菌种, 枸杞原浆中甜菜碱含量为指标, 通过单因素试验和正交试验对雪莲菌发酵枸杞原浆进行工艺优化, 并对发酵后的枸杞原浆进行品质分析。结果表明, 最佳发酵工艺条件为雪莲菌接种量 5% (*m/V*), 发酵时间 48 h, 发酵温度 25 °C, 此条件下甜菜碱含量为 18.95 mg/mL, 比未发酵枸杞原浆甜菜碱含量增加 2.54 倍, 总酚含量为 2.03 mg/mL、黄酮含量为 0.68 mg/mL、总糖含量为 11.92 mg/mL。雪莲菌发酵后枸杞原浆中共检测出 65 种挥发性成分, 包括 21 种醇类、27 种酯类、1 种醛类、1 种酮类、8 种酸类、3 种烷类、2 种酚类和 2 种烯类, 与发酵前相比新增 24 种, 且醇类、酯类和酸类物质较发酵前显著性增加, 挥发性成分总含量由 8.94 mg/mL 增加至 39.76 mg/mL, 为制备高品质枸杞原浆提供理论依据, 为枸杞产业化深加工提供指导。

**关键词:** 雪莲菌; 枸杞原浆; 甜菜碱; 品质; 风味

文章编号: 1673-9078(2024)02-72-80

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0344

## Process Optimization and Quality Analysis to Increase the Betaine Content of Wolfberry Pulp Through Fermentation

WANG Na<sup>1</sup>, FAN Qiuxia<sup>1</sup>, YUAN Yahong<sup>1,2</sup>, YUE Tianli<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

(2. College of Food Science and Technology, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** Kefir grains comprising mixed strains were used as a fermentation inoculum, and the content of betaine in wolfberry pulp was measured and adopted as an analysis index. The single factor test and orthogonal test were used to optimize the wolfberry pulp fermentation process and to analyze the quality of wolfberry pulp fermented using kefir grains. The results show that the optimal fermentation conditions are: 5% (*m/V*) kefir grain inoculation, followed by fermentation at 25 °C for 48 h. Under these conditions, the betaine content reached 18.95 mg/mL, which was 2.54 times higher than that in unfermented wolfberry pulp. Furthermore, the total phenol, flavonoid, and total sugar content was 2.03, 0.68, and 11.92 mg/mL, respectively. A total of 65 volatile components were detected in the wolfberry pulp fermented using kefir grains, including 21

引文格式:

王娜, 樊秋霞, 袁亚宏, 等. 雪莲菌发酵提高枸杞原浆甜菜碱含量的工艺优化及品质分析 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 72-80.

WANG Na, FAN Qiuxia, YUAN Yahong, et al. Process optimization and quality analysis to increase the betaine content of wolfberry pulp through fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 72-80.

收稿日期: 2023-03-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32172301)

作者简介: 王娜 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品功能化加工工程技术, E-mail: 2690163864@qq.com

通讯作者: 岳田利 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全识别控制工程, 营养健康食品制造工程, E-mail: yuetl@nwfufu.edu.cn

alcohols, 27 esters, 1 aldehyde, 1 ketone, 8 acids, 3 alkanes, 2 phenols, and 2 alkenes. Twenty-four new species were detected after fermentation. In addition, the alcohols, esters, and acids increased significantly after fermentation, and the total volatile component content increased from 8.94–39.76 mg/mL. This research provides a theoretical basis for preparing high-quality wolfberry pulps and guidance for the deep processing and industrialization of wolfberry production.

**Key words:** kefir grains; wolfberry pulp; betaine; quality; flavor

枸杞在我国被用作传统草药和功能性食品已有 2 000 多年的历史, 富含多糖、多酚、黄酮类、类胡萝卜素、生物碱等多种活性成分<sup>[1]</sup>。枸杞由于具有抗衰老、神经保护、抗疲劳、降血糖、抗增殖活性和细胞保护、免疫调节、抗氧化和抗炎等多种功效而被国内外广泛应用<sup>[2]</sup>。2021 年国内枸杞产量为 421 600 t, 向美国、德国和其他国家出口了 12 100 t<sup>[3]</sup>, 目前枸杞深加工产品主要集中在枸杞干、枸杞饮料、枸杞果酒、枸杞浸提酒及枸杞副产品等。

甜菜碱是枸杞生物碱中含量最多最具代表性的成分, 又被称为三甲基甘氨酸, 是一种无毒且稳定的天然物质, 具有甲基供体、调节渗透压、抗癌、抗 II - 型糖尿病等功效<sup>[4]</sup>, 也作为评判枸杞质量标准的指标被《中国药典》收录。王益民等<sup>[5]</sup>研究发现宁夏地区不同品种枸杞干果中甜菜碱含量在 8.5~11.3 mg/g 之间, 郭锦涛等<sup>[6]</sup>研究发现枸杞浸提酒中甜菜碱含量仅为 0.90~3.07 mg/mL, 而据报道<sup>[7]</sup>, 枸杞汁中甜菜碱经乳酸菌发酵可增加 197.8%, 含量最高可达 24.53 mg/mL。因此微生物发酵是提高枸杞中甜菜碱含量的有效途径。

雪莲菌又称开菲尔粒, 是一种乳白色的不规则颗粒, 大小介于 3~35 mm, 形状类似花椰菜, 由乳酸菌、醋酸菌和酵母菌组成的微生物混合体<sup>[8]</sup>。据报道, 雪莲菌、雪莲菌发酵乳及其代谢活性物质在改善和预防急性胃肠道疾病、预防高血脂、调节肠道菌群平衡和调节免疫力方面有效<sup>[9]</sup>。近年来, 雪莲菌已广泛应用于发酵乳、奶酪、面包、非乳品发酵饮料、青稞、泡菜等方面<sup>[10,11]</sup>, 但在发酵枸杞活性物质及对风味的影响方面未见相关报道。

因此, 本研究拟以枸杞原浆为原料, 甜菜碱质量浓度为指标, 接种量 ( $m/V$ )、发酵时间、发酵温度为考察因素对雪莲菌发酵枸杞原浆进行工艺优化, 并对最佳发酵条件下的枸杞原浆中总糖、黄酮、总酚、有机酸等活性成分和挥发性成分进行分析, 以期对枸杞深加工产业提供理论依据和生产需要。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

雪莲菌: 从西藏一牧民家中获得, 保存于西北农林科技大学健康食品制造与安全控制实验室; 枸杞原浆: 宁夏华宝枸杞产业有限公司; 脱脂牛奶: 内蒙古蒙牛乳业有限公司; 甜菜碱 ( $\geq 99\%$ ): 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 乙腈: 色谱级, 西安化学试剂厂; 酚酞: 天津市巴斯夫化工有限公司; 福林酚: 天津市大茂化学试剂厂; 芦丁 ( $\geq 99\%$ ) 和没食子酸 ( $\geq 99\%$ ): 上海源叶生物有限公司。

### 1.2 仪器与设备

LC 2030 型高效液相色谱仪, 日本岛津; GCMS-QP 2010 Ultra 型气相色谱质谱联用仪, 日本岛津; iMark 酶标仪, 美国 BIO-RAD 公司; 冷冻高速离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; FE28 型 pH 计, 瑞士梅特勒托利多。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 雪莲菌制备

将 5 g 雪莲菌接种于 100 mL 灭菌脱脂牛奶中, 25 °C 培养 24 h, 连续培养 5 次之后用灭菌滤网过滤, 并用灭菌生理盐水冲洗干净备用。

#### 1.3.2 甜菜碱质量浓度

##### (1) 甜菜碱的提取

采用有机溶剂超声辅助法进行提取。将发酵后的枸杞原浆按照 1:3 的料液比 (枸杞原浆: 甲醇,  $V/V$ ) 常温超声 (100 W, 20 kHz) 提取 30 min, 共计 3 次。离心之后将上清液合并并在 60 °C 下减压蒸发, 重新溶于 5 mL 乙腈, 并通过 0.22  $\mu\text{m}$  四氟乙烯滤膜过滤待用。

##### (2) 甜菜碱质量浓度 (mg/mL) 的测定

采用 Shin 等<sup>[12]</sup>的方法, 外标法定量。将一定量的甜菜碱标准品溶于超纯水中, 用超纯水稀释至 0.25、0.5、1.0、1.5、3.0 mg/mL 系列质量浓度, 流动相由超纯水和乙腈 (25:75,  $V/V$ ) 组成, 使用 Zorbax NH<sub>2</sub>

柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 安捷伦), 紫外检测器, 等度洗脱, 流速 1 mL/min, 柱温 25 °C, 进样体积 10 μL, 检测波长 210 nm, 12.5 min 出峰。以峰面积和质量浓度 (mg/mL) 制作标准曲线, 得回归方程为:  $y=267\ 933x-12\ 760$ ,  $R^2=0.996\ 8$ 。

### 1.3.3 单因素试验

分别考察雪莲菌接种量 (1%、3%、5%、7%)、发酵时间 (36、48、60、72、84 h)、发酵温度 (20、25、30、35 °C) 对枸杞原浆中甜菜碱质量浓度 (mg/mL) 的影响, 其余各因素固定水平为发酵温度 25 °C, 雪莲菌接种量 5% ( $m/V$ ), 发酵时间 60 h。

### 1.3.4 正交优化试验

在单因素试验的基础上, 选取发酵温度、雪莲菌接种量 ( $m/V$ )、发酵时间 3 个因素, 以甜菜碱质量浓度 (mg/mL) 为指标进行三因素三水平的正交优化试验。

### 1.3.5 感官评价

由无饮食偏好的 6 人 (3 男 3 女) 小组组成的评议小组。对正交试验优化得最佳发酵条件下发酵的枸杞原浆进行感官评价。具体评价按照 DBS64/008-2022 执行。

### 1.3.6 基本指标测定

对未发酵枸杞原浆和正交试验优化得最佳发酵条件下发酵的枸杞原浆进行基本指标测定。可滴定酸质量浓度: 按 GB/T12456-2008 执行并以乳酸当量 (mg/mL) 表示; 黄酮质量浓度: 采用三氯化铝比色法, 参照 Kwaw 等<sup>[13]</sup>的方法, 标准曲线 ( $y=1.232\ 2x+0.058\ 3$ ,  $R^2=0.999\ 3$ ), 结果以每 mL 样品中的 mg 芦丁当量 (RE) 表示。多酚质量浓度: 采用福林酚法, 参照 Kwaw 等<sup>[13]</sup>的方法, 标准曲线 ( $y=8.166x+0.048\ 7$ ,  $R^2=0.990\ 4$ ), 结果以每 mL 样品中的 mg 没食子酸当量 (GAE) 表示。总糖质量浓度: 采用苯酚-硫酸法, 标准曲线 ( $y=4.030\ 5x+0.120\ 9$ ,  $R^2=0.994\ 8$ ), 结果表示为总糖质量浓度 (mg/mL)。

### 1.3.7 有机酸质量浓度测定

对未发酵枸杞原浆和正交试验优化得最佳发酵条件下发酵的枸杞原浆进行有机酸质量浓度测定。参照 Li 等<sup>[14]</sup>的方法。用超纯水将枸杞原浆稀释十倍之后 12 000 r/min 离心 10 min, 过 0.22 μm 水系滤膜之后备用。

色谱条件: Shim-pack VP-DOS C18 色谱柱, 紫

外检测器, 流动相由磷酸水溶液 (0.1%,  $V/V$ ) 和甲醇 (97.5:2.5,  $V/V$ ) 组成, 流速 1 mL/min, 柱温 40 °C, 进样体积 10 μL, 检测波长 210 nm, 结果表示为有机酸质量浓度 (mg/mL)。

### 1.3.8 挥发性成分测定

对未发酵枸杞原浆和正交试验优化得最佳发酵条件下发酵的枸杞原浆进行挥发性成分测定。将 4.5 μL 2-辛醇溶液 (0.40 mg/mL) 作为内标加入到 5 mL 枸杞原浆中, 使用 50/30 μm PDMS/DVB 在 40 °C 下进行顶空微萃取。使用 DB-1MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm), 载气为氦气, 流速为 1 mL/min。色谱及质谱条件参照 Huang 等<sup>[15]</sup>的方法进行测定。通过与 NIST 14 库比较确定挥发性风味物质, 重复 3 次, 结果表示为挥发性成分质量浓度 (mg/L)。

## 1.4 数据处理

结果表示为平均值 ± 标准差, 采用 SPSS 22.0 进行数据处理和方差分析, Duncan 进行显著性检验 ( $P<0.05$ ), Origin 9.0 进行作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

#### 2.1.1 雪莲菌接种量

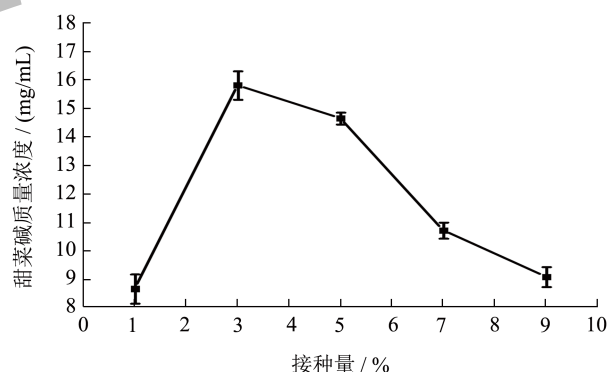


图 1 雪莲菌接种量对甜菜碱质量浓度的影响

Fig.1 Effect of inoculation amount of kefir grains on betaine content

如图 1 所示, 接种量在 1%~3% ( $m/V$ ) 时, 甜菜碱质量浓度随接种量的增加而增大, 接种量为 3% 时, 甜菜碱质量浓度为 15.83 mg/mL。接种量过大, 酵母菌在发酵前期大量繁殖, 消耗了大量营养物质, 产生抑制酵母菌的代谢废物<sup>[16]</sup>。因此, 选择接种量为 3%、5%、7% 为正交优化试验。

#### 2.1.2 发酵时间

如图 2 所示, 枸杞原浆中的甜菜碱质量浓度随

着发酵时间的延长先增加后下降, 在 48 h 时达到最高 15.26 mg/mL, 较发酵前增加 183%。杜晨晖等<sup>[17]</sup>利用酿酒酵母 ATCC9763 和酿酒酵母 GIM2.9 对葛根芩连汤进行发酵, 结果表明发酵后总生物碱质量浓度分别提高 24.91% 和 30.89%。韩春杨等<sup>[18]</sup>研究发现某些中药制剂中的活性成分经发酵可增加 1~4 倍。因此, 选择发酵时间为 36、48、60 h 进行正交优化试验。

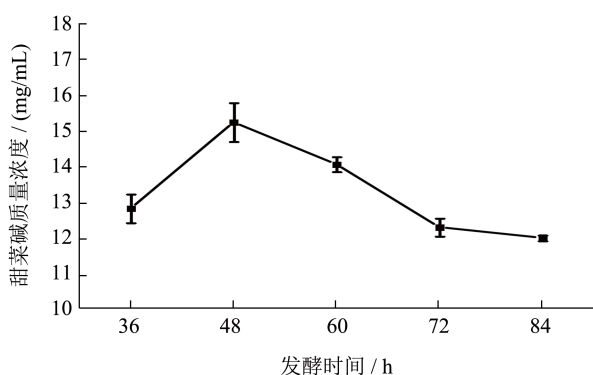


图 2 发酵时间对甜菜碱质量浓度的影响

Fig.2 Effect of fermentation time on betaine content

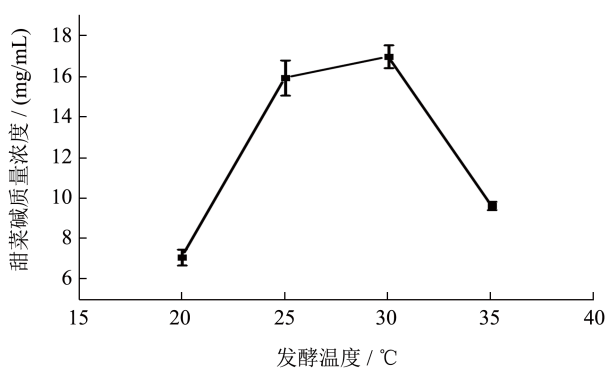


图 3 发酵温度对甜菜碱质量浓度的影响

Fig.3 Effect of fermentation temperature on betaine content

### 2.1.3 发酵温度

如图 3 所示, 随着发酵温度的升高, 甜菜碱质量浓度先升高再降低, 这可能与发酵温度太低或太高, 不适合雪莲菌的生长, 使其代谢速率减缓, 分泌的酶类较少有关。甜菜碱主要分布在枸杞果实细胞质中, 微生物及其所分泌的多种酶类, 可以破坏细胞壁, 解除植物细胞壁对甜菜碱释放的抑制作用, 促进甜菜碱的释放<sup>[19]</sup>。因此, 选择发酵温度为 25、30、35 °C 进行正交优化试验。

### 2.2 正交试验结果

以单因素试验结果为基础, 以枸杞原浆中的甜菜碱质量浓度为指标, 选取发酵温度、雪莲菌接种量、发酵时间三个因素进行正交优化试验以确定雪

莲菌发酵枸杞原浆的最佳条件。正交试验因素水平见表 1, 试验设计及结果见表 2。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test design

水平	A	B	C
	接种量/(%, m/V)	发酵时间/h	发酵温度/°C
1	3	36	25
2	5	48	30
3	7	60	35

表 2 正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal test design and results

序号	A	B	C	D	甜菜碱质量浓度/(mg/mL)
1	1	1	1	1	15.46
2	1	2	2	2	14.90
3	1	3	3	3	10.23
4	2	1	2	3	14.14
5	2	2	3	1	13.59
6	2	3	1	2	16.98
7	3	1	3	2	10.36
8	3	2	1	3	18.89
9	3	3	2	1	11.38
K <sub>1</sub>	40.59	39.96	51.33	40.43	
K <sub>2</sub>	44.71	47.38	40.42	42.24	
K <sub>3</sub>	40.63	38.59	34.18	43.26	
R	4.12	8.79	17.15	2.84	

表 3 正交试验方差分析

Table 3 Variance analysis

来源	III类平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	3.736	2	1.868	2.728	0.268	
B	14.911	2	7.455	10.888	0.084	
C	50.232	2	25.116	36.679	0.027	*
误差	1.369	2	0.685			
总计	1 832.289	9				
校正的总计	70.248	8				

注: \* 代表显著水平 ( $P < 0.05$ )。

由表 3 可知, 各因素对枸杞原浆中甜菜碱含量影响大小依次是 C>B>A, 即发酵温度影响最大, 发酵时间次之, 雪莲菌接种量影响最小。由方差分析表所示, 发酵温度对枸杞原浆中甜菜碱含量具有显著性影响 ( $P < 0.05$ )。综上, 最优发酵条件为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>, 即雪莲菌接种量 5% (m/V), 发酵时间 48 h, 发酵温度 25 °C, 通过验证试验, 此条件下测得发酵枸杞原浆中甜菜碱质量浓度为 18.95 mg/mL



( $n=3$ ), 且发酵后的枸杞原浆为橘红色, 香气纯正, 无异味, 酸甜适中, 具有枸杞的特征滋味。

### 2.3 发酵对枸杞原浆活性成分的影响

表 4 枸杞原浆发酵前后的品质参数

Table 4 Quality parameters for wolfberry pulp before and after fermentation

	发酵前	发酵后
pH 值	4.88 ± 0.11	3.54 ± 0.12
可滴定酸/(mg/mL)	8.20 ± 0.15	13.50 ± 0.55**
草酸/(mg/mL)	1.60 ± 0.03	1.28 ± 0.15*
酒石酸/(mg/mL)	2.75 ± 0.04	1.54 ± 0.01**
乳酸/(mg/mL)	0.34 ± 0.01	25.40 ± 0.46**
柠檬酸/(mg/mL)	6.40 ± 0.08	13.23 ± 1.06**
甜菜碱/(mg/mL)	5.36 ± 0.35	18.95 ± 1.66**
黄酮/(mg RE/mL)	0.42 ± 0.01	0.68 ± 0.04**
总酚/(mg GAE/mL)	1.99 ± 0.03	2.03 ± 0.02
总糖/(mg/mL)	179.89 ± 0.51	11.92 ± 0.58**

注: \*表示发酵前后具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), \*\*表示具有极显著差异 ( $P<0.01$ )。

枸杞汁中有机酸的浓度不仅会极大地影响风味、口感和颜色, 还会影响 pH 值、化学稳定性、营养特性和可接受性。如表所示, 新鲜枸杞原浆的 pH 值为 4.88, 经雪莲菌发酵后降至 3.54, 可滴定酸也由 8.20 mg/mL 增加至 13.50 mg/mL, 这表明雪莲菌发酵产生了更多的有机酸, 这与 Liu 等<sup>[1]</sup>研究发现不同菌株组合发酵可提高枸杞汁中有机酸含量相一致。发酵后, 乳酸和柠檬酸含量极显著增加, 但草酸和酒石酸含量显著降低。据报道, 乳酸菌可将酒石酸转化为草酰乙酸, 草酰乙酸进一步用于三羧酸 (TCA) 循环。草酸是一种强有机酸, 广泛分布于发酵食品中, 研究表明发酵苹果汁中草酸的浓度明显降低<sup>[20]</sup>。此外, 雪莲菌发酵使得枸杞原浆中总糖含量显著减少, 糖酸比降低, 这可能有助于枸杞原浆风味的改善。

黄酮和总酚是植物提取物中两种非常重要的抗氧化成分。发酵枸杞原浆中黄酮含量显著增加, 这主要归因于发酵过程中, 水解酶的产生有助于将复杂酚类水解为更简单的形式, 从而增加食物基质中黄酮类化合物的浓度。总酚含量由发酵前 1.99 mg/mL 增加至发酵后的 2.03 mg/mL, 并无显著性差异。

### 2.4 挥发性成分分析

据报道<sup>[21]</sup>, 食物基质中的菌株种类及其代谢变异性与食物香气的形成密切相关, 单一培养和混合培养在改变基质方面发挥不同作用, 这可能有助于改善食物的香气特征。对发酵前后枸杞原浆中的挥发性成分进行 HS-SPME-GC-MS 技术测定并通过 NIST14 数据库比对, 由表可知, 发酵前枸杞原浆中共有 41 种挥发性物质, 包括 14 种醇类、4 种酯类、5 种醛类、5 种酮类、5 种酸类、3 种烷类、2 种酚类和 3 种烯类, 其中醇类、酮类和酸类相对含量较高, 典型挥发性成分为 (2R,3R)-(-)-2,3-丁二醇, 含量为 3.44 mg/L。发酵后枸杞原浆中共有 65 种挥发性成分, 包括 21 种醇类、27 种酯类、1 种醛类、1 种酮类、8 种酸类、3 种烷类、2 种酚类和 2 种烯类, 其中醇类、酯类和酸类相对含量较高, 典型挥发性物质成分为 3-甲基-4-氧代戊酸, 含量高达 10.35 mg/L。发酵后挥发性成分总含量为 39.76 mg/L, 较发酵前增加了 3.45 倍, 这表明雪莲菌发酵增加了枸杞原浆中挥发性成分的种类和总含量。

醇类物质不仅是重要的风味成分之一, 还可以用作其他风味物质的溶剂, 发酵果汁中最主要的风味物质就是醇类<sup>[22]</sup>。发酵后枸杞原浆中醇类物质占总挥发性成分的 44.54%, 其中含量最高的为异戊醇, 可达 6.55 mg/L, 较发酵前增加了 5 倍多, 且异戊醇具有水果和苹果白兰地的香气。在新产生的醇类中, 以苯乙醇、2,6-二甲基-4-庚醇和 2,3-丁二醇居多, 分别为枸杞原浆增添玫瑰香、蜂蜜香; 果味、奶油味、黄油味; 2,6-二甲基-4-庚醇是一种香料成分, 常用于化妆品、精细香料。此外, 具有水果香气, 令人愉悦的 2-甲基-1-丁醇在发酵后极显著 ( $P<0.001$ ) 增加。其他新产生的 2-庚醇、(R)-(-)-2-丁醇、3-甲基-1-戊醇、1-辛烯-3-醇、壬醇、香叶醇等对枸杞原浆的风味也做出了重要贡献。

在发酵过程中, 微生物酯酶可使酸和醇反应产生酯, 这些酯类主要产生了令人愉悦的果味和甜味。雪莲菌发酵对枸杞原浆中总酯含量具有显著性影响, 由 0.21 mg/L 增加至 9.64 mg/L。共检测到新增加的酯有 23 种, 其中以 L(-)-乳酸乙酯、丙酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、丁二酸二乙酯和辛酸乙酯增加较为明显, 乙酸异戊酯为枸杞原浆增添甜味、果味、香蕉味; 辛酸乙酯则具有果味和梨香, 含量最高的 L(-)-乳酸乙酯则在果蔬汁中未见相关报道。

表 5 枸杞原浆中挥发性成分的GC/MS分析结果

Table 5 GC/MS analytical results of volatile compounds in wolfberry pulp

种类	CAS	名称	RT/min	发酵前	发酵后	
醇类	64-17-5	乙醇	4.79	0.42 ± 0.01	4.19 ± 0.12	
	107-18-6	丙烯醇	5.46	—	0.02 ± 0.00	
	14898-79-4	(R)-(-)-2- 丁醇	6.22	—	0.20 ± 0.05	
	71-36-3	正丁醇	7.46	—	0.04 ± 0.00	
	584-02-1	3- 戊醇	8.41	—	0.02 ± 0.00	
	123-51-3	异戊醇	9.62	1.12 ± 0.02	6.55 ± 0.90	
	137-32-6	2- 甲基 -1- 丁醇	9.73	0.24 ± 0.01	1.90 ± 0.09	
	71-41-0	正戊醇	10.67	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	
	1576-95-0	顺 -2- 戊烯 -1- 醇	10.75	0.09 ± 0.01	—	
	513-85-9	2,3- 丁二醇	10.82	—	0.44 ± 0.03	
	3899-34-1	反式戊 -3- 烯 -2- 醇	10.92	0.13 ± 0.01	—	
	24347-58-8	(2R,3R)-(-)-2,3- 丁二醇	11.19	3.44 ± 0.09	0.18 ± 0.00	
	589-35-5	3- 甲基 -1- 戊醇	13.85	—	0.10 ± 0.02	
	928-96-1	叶醇	14.08	0.01 ± 0.00	—	
	928-97-2	反 -3- 己烯醇	14.24	0.20 ± 0.01	0.06 ± 0.00	
	928-95-0	2- 己烯 -1- 醇	14.74	0.10 ± 0.00	—	
	111-27-3	己醇	14.88	1.21 ± 0.07	0.52 ± 0.08	
	543-49-7	2- 庚醇	16.30	—	0.20 ± 0.04	
	111-70-6	正庚醇	19.38	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.00	
	3391-86-4	1- 辛烯 -3- 醇	19.85	—	0.23 ± 0.04	
	1569-60-4	6- 甲基 -5- 庚烯 -2- 醇	20.40	0.06 ± 0.00	0.10 ± 0.00	
	108-82-7	2,6- 二甲基 -4- 庚醇	23.20	—	0.78 ± 0.010	
	111-87-5	正辛醇	23.82	0.02 ± 0.00	—	
	60-12-8	苯乙醇	25.17	—	2.85 ± 0.44	
	143-08-8	壬醇	27.75	—	0.03 ± 0.00	
	106-24-1	香叶醇	30.46	—	0.02 ± 0.00	
	小计				7.12	18.51
	酯类	79-20-9	乙酸甲酯	5.28	0.01 ± 0.00	0.06 ± 0.02
		141-78-6	乙酸乙酯	7.26	0.15 ± 0.02	0.02 ± 0.00
		105-37-3	丙酸乙酯	8.73	—	0.99 ± 0.10
97-62-1		异丁酸乙酯	10.44	—	0.05 ± 0.01	
110-19-0		乙酸异丁酯	10.91	—	0.10 ± 0.03	
105-54-4		丁酸乙酯	11.95	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	
687-47-8		L(-)- 乳酸乙酯	12.43	—	3.72 ± 0.56	
123-92-2		乙酸异戊酯	15.19	—	1.30 ± 0.18	
624-41-9		2- 甲基丁基乙酸酯	15.30	—	0.14 ± 0.05	
63697-00-7		(S)-(-)- 乳酸异丙酯	16.51	—	0.03 ± 0.00	
123-66-0		己酸乙酯	20.66	—	0.50 ± 0.05	
19329-89-6		乳酸异戊酯	23.65	—	0.23 ± 0.02	
6946-90-3		2- 羟乙基甲酸己酯	23.76	—	0.12 ± 0.01	
106-30-9		庚酸乙酯	24.93	—	0.04 ± 0.00	
123-25-1		丁二酸二乙酯	27.46	—	0.54 ± 0.00	
119-36-8		水杨酸甲酯	28.38	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	
106-32-1		辛酸乙酯	28.62	—	0.69 ± 0.02	
101-97-3		苯乙酸乙酯	29.82	—	0.02 ± 0.00	
103-45-7		乙酸苯乙酯	30.23	—	0.14 ± 0.03	

续表5

种类	CAS	名称	RT/min	发酵前	发酵后
酯类	123-29-5	壬酸乙酯	31.81	—	0.07 ± 0.00
	104-61-0	丙位壬内酯	33.09	—	0.05 ± 0.00
	110-38-3	癸酸乙酯	34.62	—	0.34 ± 0.05
	106-33-2	月桂酸乙酯	39.43	—	0.13 ± 0.00
	124-06-1	肉豆蔻酸乙酯	43.55	—	0.05 ± 0.00
	54546-22-4	9-十六碳烯酸乙酯	47.31	—	0.06 ± 0.00
	628-97-7	棕榈酸乙酯	47.80	—	0.25 ± 0.03
	6114-18-7	反油酸乙酯	52.55	—	0.04 ± 0.00
小计				0.21	7.94
醛类	6728-26-3	反-2-己烯醛	13.69	0.07 ± 0.01	—
	56114-69-3	2,5-二羟基苯甲醛	26.00	0.01 ± 0.00	—
	5779-95-3	3,5-二甲基苯甲醛	27.08	0.01 ± 0.00	—
	116-26-7	2,3-二氢-2,2,6-三甲基苯甲醛	28.61	0.02 ± 0.00	—
	432-25-7	2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-羧醛	29.38	0.12 ± 0.02	0.04 ± 0.00
小计				0.12	0.04
酮类	875-59-2	4-羟基-2-甲基苯乙酮	32.09	0.38 ± 0.06	—
	513-86-0	3-羟基-2-丁酮	8.23	0.34 ± 0.09	—
	110-93-0	甲基庚烯酮	19.84	0.15 ± 0.03	—
	111-13-7	2-辛酮	20.12	0.11 ± 0.02	—
	2408-37-9	2,2,6-三甲基环己酮	22.19	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
小计				1.00	0.02
酸类	79-33-4	L(+)-乳酸	10.80	0.15 ± 0.01	—
	64-19-7	乙酸	6.06	0.05 ± 0.00	1.35 ± 0.06
	6628-79-1	3-甲基-4-氧代戊酸	6.434	—	10.35 ± 1.25
	334-48-5	癸酸	11.66	0.08 ± 0.01	—
	503-74-2	异戊酸	14.03	—	0.17 ± 0.07
	116-53-0	2-甲基丁酸	14.38	—	0.07 ± 0.00
	109-52-4	戊酸	15.44	—	0.02 ± 0.00
	142-62-1	己酸	20.11	—	0.35 ± 0.10
	13419-69-7	反式-2-己烯酸	21.12	0.02 ± 0.00	—
	3639-21-2	2-乙基-2-羟基丁酸	23.55	—	0.12 ± 0.06
	124-07-2	辛酸	27.62	—	0.13 ± 0.02
	57-10-3	棕榈酸	46.91	0.01 ± 0.00	—
	小计				0.31
烷类	3299-32-9	2,4,5-三甲基-1,3-二氧杂环戊烷	9.35	—	0.09 ± 0.00
	3299-32-9	2,4,5-三甲基-3-二氧戊烷	10.22	0.03 ± 0.00	—
	6876-23-9	反式-1,2-二甲基环己烷	12.47	0.01 ± 0.00	—
	1014-60-4	1,3-二叔丁基苯	30.89	0.12 ± 0.03	0.27 ± 0.08
	36431-72-8	茶香螺烷	32.49	—	0.03 ± 0.00
小计				0.16	0.39
酚类	90-05-1	愈创木酚	24.13	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00
	96-76-4	2,4-二叔丁基苯酚	37.49	0.02 ± 0.00	0.05 ± 0.00
小计				0.03	0.07
烯类	818-92-8	3-氟-1-丙烯	5.59	0.04 ± 0.01	0.19 ± 0.10
	629-20-9	1,3,5,7-环辛四烯	15.84	0.04 ± 0.00	—
	17066-67-0	B-瑟林烯	37.63	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.05
小计				0.11	0.27
总计				8.94	39.76

酸是挥发性化合物中的重要化合物,有助于发酵果汁的香气。发酵枸杞原浆中,含量最高的酸为3-甲基-4-氧代戊酸、乙酸和己酸。乳酸菌通过碳水化合物、脂肪和氨基酸的代谢产生乙酸,乙酸具有干酪味、脂肪味或刺激性气味。己酸具有甜和奶酪的气味。Guo等<sup>[23]</sup>研究发现,双歧杆菌JFM12发酵大麦汁24 h后L(+)-乳酸含量显著减少,而在发酵后的枸杞原浆中则未检测到L(+)-乳酸。雪莲菌发酵使枸杞原浆中的醛类物质由0.12 mg/L降至0.04 mg/L。果蔬汁中醛类含量过高会引起异味,使消费者不适,而大多数醛在发酵后明显消失或减弱,醛类物质也因容易被氧化成酸或还原为醇而很少被检测到<sup>[24,25]</sup>。

雪莲菌发酵后枸杞原浆中酮类、烷类、酚类及烯类挥发性成分虽然含量较少,但是也对枸杞原浆的风味做出了重要贡献,其中烷类、酚类及烯类较发酵前明显增加,尤其是1,3-二叔丁基苯、2,4-二叔丁基苯酚和3-氟-1-丙烯。大多数酮是脂肪酸通过微生物的氧化或脱羧途径产生的,雪莲菌发酵后枸杞原浆中的酮类含量减少。

### 3 结论

通过单因素试验和正交优化试验结果表明,雪莲菌发酵枸杞甜菜碱最佳条件为接种量5%,发酵时间48 h,发酵温度25℃,此条件下测得发酵枸杞原浆中甜菜碱含量为18.95 mg/mL,较发酵之前增加2.54倍,且发酵后枸杞原浆为橘红色、香气纯正、酸甜适中,品质分析显示pH值、总酚、黄酮、总糖、可滴定酸含量分别为3.54、2.03 mg/mL、0.68 mg/mL、11.92 mg/mL、13.5 mg/mL。GC-MS结果显示,发酵枸杞原浆中共检测出65种挥发性成分,较发酵前新增24种,总挥发性成分含量增加3.45倍,典型挥发性成分为3-甲基-4-氧代戊酸,含量高达10.35 mg/L。综上,雪莲菌发酵枸杞原浆不仅增加其活性成分含量,而且可改善枸杞原浆原有滋味,具有一定的可行性,对枸杞深加工具有重要意义。

### 参考文献

- [1] LIU Y X, CHENG H, LIU H Y, et al. Fermentation by multiple bacterial strains improves the production of bioactive compounds and antioxidant activity of Goji juice [J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3519.
- [2] AMAGASE H, FARNSWORTH N R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji) [J]. *Food Research International*, 2011, 44(7): 1702-1717.
- [3] DU Y H, MI S N, WANG H H, et al. Inactivation mechanism of *Alternaria alternata* by dielectric barrier discharge plasma and its quality control on fresh wolfberries [J]. *Food Control*, 2023, 148: 109620.
- [4] KATARZYNA S, TOMASZ S. The anti-diabetic potential of betaine. Mechanisms of action in rodent models of type 2 diabetes [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 150: 112946.
- [5] 王益民,张珂,许飞华,等.不同品种枸杞子营养成分分析及评价[J]. *食品科学*, 2014, 35(1): 34-38.
- [6] 郭锦涛,郝缙,徐怀德,等.浸提时间对不同酒度枸杞浸提酒品质的影响[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(13): 21-27.
- [7] QI J, HUANG H, WANG J, et al. Insights into the improvement of bioactive phytochemicals, antioxidant activities and flavor profiles in Chinese wolfberry juice by select lactic acid bacteria [J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101264.
- [8] SIMOVA E, BESHKOVA D, ANGELOV A, et al. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2002, 28(1): 1-6.
- [9] FIORDA F A, DE MELO PEREIRA G V, THOMAZ-SOCCOL V, et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation-A review [J]. *Food Microbiology*, 2017, 66: 86-95.
- [10] 张奋搏,陈琼,蒋涛等.藏灵菇发酵富集青稞中 $\beta$ -葡聚糖和 $\gamma$ -氨基丁酸的工艺优化[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(11): 192-199.
- [11] 王玉玮,袁亚宏,岳田利.雪莲菌发酵豇豆工艺优化及其挥发性风味成分分析[J]. *食品与机械*, 2021, 37(5): 176-182, 232.
- [12] SHIN Y G, CHO K H, KIM J M, et al. Determination of betaine in *Lycium chinense* fruits by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 1999, 857(1): 331-335.
- [13] LI W T, ZHAO Y N, LIU C, et al. Effects of secondary fermentation of four in-bottle *Saccharomyces cerevisiae* strains on sparkling cider sensory quality [J]. *Food Bioscience*, 2022, 48: 101731.
- [14] KWAW E, MA Y, 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.
- [15] HUANG J T, LI H C, WANG Y Q, et al. Evaluation of the quality of fermented kiwi wines made from different kiwifruit cultivars [J]. *Food Bioscience*, 2021, 42: 101051.
- [16] 曹丽娟,张卓睿,王傍,等.响应面法优化椴叶唐棣果酒发



- 醇工艺的研究[J].中国酿造,2018,37(6):145-149.
- [17] 杜晨晖,闫艳,冯前进,等.葛根芩连汤发酵前后总黄酮和总生物碱含量变化研究[J].中华中医药杂志,2016,31(11):4850-4853.
- [18] 韩春杨,刘翠艳,牛钟相.中药制剂发酵前后成分的变化及对肉鸡部分免疫指标和生长的影响[J].畜牧兽医学报,2005,11:116-120.
- [19] 刘洋,金顺义,常娟,等.复合益生菌发酵中草药前后活性成分变化[J].安徽农业科学,2017,45(34):123-125.
- [20] BETIKU E, EMEKO H A, SOLOMON B O. Fermentation parameter optimization of microbial oxalic acid production from cashew apple juice [J]. Heliyon, 2016, 2(2): e00082.
- [21] FONSECA H C, MELO DIRCEU DE SOUSA, RAMOS CÍNTIA LACERDA, et al. Sensory and flavor-aroma profiles of passion fruit juice fermented by potentially probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* CCMA 0743 strain [J]. Food Research International, 2021, 152: 110710.
- [22] WANG Z N, FENG Y Z, YANG N N, et al. Fermentation of kiwifruit juice from two cultivars by probiotic bacteria: Bioactive phenolics, antioxidant activities and flavor volatiles [J]. Food Chemistry, 2022, 373(Part B): 131455.
- [23] GUO W L, CHEN M X, CUI S M, et al. Dynamics changes in physicochemical properties, volatile metabolites, non-volatile metabolites, and physiological functions of barley juice during *Bifidobacterium infantis* fermentation [J]. Food Chemistry, 2023, 407: 135201.
- [24] LIAO W H, SHEN J, MANICKAM S, et al. Investigation of blueberry juice fermentation by mixed probiotic strains: Regression modeling, machine learning optimization and comparison with fermentation by single strain in the phenolic and volatile profiles [J]. Food Chemistry, 2022, 405(Part B): 134982.
- [25] 吴彩云,张晓荣,徐怀德,等.益生菌发酵果蔬汁生物活性成分及功能特性研究进展[J].中国食品学报,2021,21(12):323-334.