

# 植物乳杆菌发酵三华李果汁工艺 优化及贮藏期内品质变化

杜晓仪<sup>1,2</sup>, 杨继国<sup>2\*</sup>, 罗文珊<sup>1</sup>, 徐玉娟<sup>1</sup>, 余元善<sup>1</sup>, 李璐<sup>1\*</sup>

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 应用植物乳杆菌对三华李果汁进行发酵。通过益生菌保护剂筛选和发酵工艺优化, 建立最优的植物乳杆菌发酵三华李果汁工艺, 并在此基础上将三华李发酵果汁在 4 ℃ 和 25 ℃ 下进行贮藏实验。结果表明, 植物乳杆菌发酵三华李果汁的最适益生菌保护剂为低聚异麦芽糖, 最优添加量为 0.50%, 最优发酵条件为: 接种量 3%、发酵温度 37 ℃、发酵转速 200 r/min, 在此条件下三华李发酵果汁中植物乳杆菌活菌数可达 10<sup>8</sup> CFU/mL, 显著高于未优化之前。不同温度下贮藏的三华李发酵果汁植物乳杆菌活菌数在 10<sup>7</sup>~10<sup>8</sup> CFU/mL, 符合益生菌发酵果汁要求。贮藏期间, 植物乳杆菌均能不同程度地消耗三华李发酵果汁中苹果酸, 代谢产生乳酸或乙酸。4 ℃ 贮藏 28 d 后, 三华李发酵果汁中可溶性固形物、总酚、总黄酮、总花色苷、ABTS<sup>+</sup> 清除率和 FRAP 分别下降了 0.20 Brix<sup>o</sup>、3.71%、1.52%、30.52%、6.22% 和 0.08 g TE/L, 但其可溶性固形物含量、活性物质含量及抗氧化活性均高于 25 ℃ 贮藏。因此在实际生产中, 植物乳杆菌发酵三华李果汁更适合贮藏在 4 ℃。研究结果为植物乳杆菌发酵三华李果汁的工业化生产和应用提供理论基础。

**关键词:** 三华李发酵果汁; 植物乳杆菌; 益生菌保护剂; 发酵条件; 贮藏

章编号: 1673-9078(2024)03-102-112

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0375

## Process Optimization and Storage Quality Changes of Sanhua Plum Juice Fermented by *Lactiplantibacillus plantarum*

DU Xiaoyi<sup>1,2</sup>, YANG Jiguo<sup>2\*</sup>, LUO Wenshan<sup>1</sup>, XU Yujuan<sup>1</sup>, YU Yuanshan<sup>1</sup>, LI Lu<sup>1\*</sup>

(1.Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Sericulture and Agricultural Products Processing Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)(2.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

引文格式:

杜晓仪, 杨继国, 罗文珊, 等. 植物乳杆菌发酵三华李果汁工艺优化及贮藏期内品质变化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(3):102-112.

DU Xiaoyi, YANG Jiguo, LUO Wenshan, et al. Process optimization and storage quality changes of sanhua plum juice fermented by *Lactiplantibacillus plantarum* [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 102-112.

收稿日期: 2023-03-29

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2022B0202050002); “十四五”广东省农业科技创新十大主攻方向“揭榜挂帅”项目(2022SDZG04); 茂名市科技计划项目(2021S0077); 广东省现代农业产业技术体系优稀水果创新团队项目(2023KJ116); 广东省农业科学院学科团队建设(202109TD); 科技创新战略专项资金(高水平农科院建设)-优秀博士项目(R2019YJ-YB3008)

作者简介: 杜晓仪(1998-), 女, 硕士, 研究方向: 食品发酵, E-mail: 3050922427@qq.com

通讯作者: 杨继国(1977-), 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品生物化学, E-mail: yangjg@scut.edu.cn; 共同通讯作者: 李璐(1990-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品微生物, E-mail: lilu045@163.com

**Abstract:** *Lactiplantibacillus plantarum* was used to ferment the Sanhua plum juice. The optimal process for Sanhua plum juice fermented by *L. plantarum* was established by screening the protectant of probiotics and optimizing the fermentation process. On this basis, the fermented Sanhua plum juice was stored at 4 °C and 25 °C for storage experiments. Results showed that the optimal protectant of probiotics for the Sanhua plum juice fermented by *L. plantarum* was isomaltose, and its optimal addition amount was 0.50%. The optimal fermentation conditions were as follows: inoculation volume, 3%; fermentation temperature, 37 °C; rotation speed of fermentation, 200 r/min. Under these conditions, the number of viable *L. plantarum* in the fermented Sanhua plum juice could reach  $10^8$  CFU/mL, which was significantly higher than that in the fermented Sanhua plum juice before optimization. The number of viable *L. plantarum* in the fermented Sanhua plum juice stored at different temperatures was  $10^7\sim 10^8$  CFU/mL, which met the requirements of probiotic fermented juice. During storage, *L. plantarum* could consume malic acid in fermented plum juice to some extent, and metabolize to produce lactic acid and acetic acid. After 28 days of storage at 4 °C, the content of soluble solids, content of total phenols, content of total flavonoids, content of total anthocyanins, ABTS<sup>+</sup> clearance rates and FRAP of the fermented Sanhua plum juice decreased by 0.20 Brix°, 3.71%, 1.52%, 30.52%, 6.22%, and 0.08 g TE/L, respectively. However, the contents of soluble solids and active substances and antioxidant activity were all higher than those of the fermented Sanhua plum juice stored at 25 °C. Therefore, in actual production, the Sanhua plum juice fermented by *L. plantarum* is more suitable for storage at 4 °C. The results of this study provided a theoretical basis for industrial production and application of Sanhua plum juice fermented by *L. plantarum*.

**Key words:** sanhua plum fermented juice; *lactiplantibacillus plantarum*; probiotic protective agent; fermentation conditions; storage

李属果实作为一类常见的水果，富含生物活性物质，如酚类化合物、类黄酮和花青素等，被认为是天然抗氧化剂的良好来源<sup>[1]</sup>。三华李 (*Prunus salicina* Lindl. cv. Sanhua) 属于蔷薇科李亚科，是华南地区的特色水果，其果实肉厚核小，呈圆形或近圆形。由于三华李果肉鲜红、肉质爽脆、口感独特且营养特性优良，深受消费者的欢迎。然而，三华李的成熟期较短，且因其属于呼吸跃变型水果，水分含量可达 80%~90%，因此容易失水萎蔫、腐败变质，不耐贮藏<sup>[2]</sup>。此外，三华李的有机酸含量较高，鲜食口感较差。因此，三华李通常被制作成蜜饯来弥补其口感上的不足，延长其货架期。但蜜饯的制作通常需要经长时间的浸泡、烘干，导致三华李活性成分的大量损失，降低了三华李的营养价值<sup>[3]</sup>。此外，三华李含有丰富的氨基酸、矿物质元素以及多种多酚、生物碱和多糖等物质，具有良好的生物活性，常被用作酿造果酒的基质，其较高的花青素含量也赋予三华李果酒诱人的色泽<sup>[4]</sup>。

近年来，“益生菌发酵饮料”越来越多地被开发出来，成为果蔬汁产业未来的发展方向之一。利用益生菌发酵果蔬汁可将益生菌的益生功能与果蔬的营养功能有效结合起来<sup>[5]</sup>。乳杆菌属中的鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌和发酵乳杆菌等已被广泛应用于各种果蔬汁及其复合汁的发酵<sup>[6,7]</sup>。其

中，植物乳杆菌作为一种安全且普遍适用的益生菌，可以维持肠道内菌群平衡，促进营养物质的吸收<sup>[8]</sup>，被运用于桃汁、荔枝汁、蓝莓汁等多种果汁的发酵当中，并表现出了较高的生物活性和适应性<sup>[9]</sup>，但其在偏酸性的果汁中很难生长。有研究表明，果汁是益生元的理想输送载体，为了使益生菌能够在酸性果汁中正常增值，菊粉及一些功能性低聚糖常被添加在果汁中来促进益生菌的生长<sup>[10]</sup>。此外，益生菌发酵果汁的贮藏也是一大难点，如：发酵石榴汁在 4 °C 和 25 °C 贮藏期间由于抗坏血酸氧化及美拉德反应，其色泽逐渐变暗且红色度于 25 d 后出现显著下降，而青梅汁则会发生较为严重的褐变反应使果汁颜色朝着不被接受的方向转变，在 4 °C 下贮藏 6 d 后即发生肉眼可见的颜色变化 ( $\Delta E > 3$ )<sup>[11,12]</sup>。此外在贮藏期间，乳酸菌代谢活动使果汁环境酸度上升、果汁中营养物质的消耗以及代谢产物积累增多，都将导致乳酸菌活菌数的快速下降<sup>[12]</sup>。

然而目前三华李加工产品的类型依然较少，且大多局限于将其制作成蜜饯或果酒，尚未有关于益生菌发酵三华李果汁的研究，发酵三华李果汁的贮藏特性也未见报道，阻碍三华李发酵果汁的开发。因此，本研究以三华李为原料，以植物乳杆菌活菌数为指标，通过优化益生菌保护剂和发酵条件确定植物乳杆菌发酵三华李果汁的最适益生菌保护剂及最优发

酵工艺,并在此基础上进行三华李发酵果汁的贮藏实验,评价其贮藏期间的品质变化规律。研究结果为植物乳杆菌发酵三华李果汁的工业化生产提供了理论基础和技术支撑,延伸了三华李加工产业链,提升了三华李附加值,丰富了益生菌发酵果汁品类。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料与试剂

三华李,产地广东省信宜市;植物乳杆菌 GMC1.6655,保存于广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所;MRS 肉汤培养基、技术琼脂,广东环凯微生物科技有限公司。

试剂:菊粉、低聚异麦芽糖、海藻糖、低聚果糖、抗性糊精、壳聚糖,黑龙江新和成生物科技有限公司;葡萄糖、三氯化铁、铁氰化钾、氢氧化钠、醋酸钠,福晨(天津)化学试剂有限公司;福林酚、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS),上海源叶生物科技有限公司;无水乙醇,天津市富宇精细化工有限公司;亚硝酸钠,国药集团化学试剂有限公司;九水合硝酸铝,天津市科密欧化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

AP-55 数显糖度计,衢州艾普计量仪器有限公司;D3024R 台式高速冷冻离心机,美国赛洛捷克斯CILOGEX 公司;PB-10 型 pH 计,德国 Sartorius 公司;HH-2 型数显恒温水浴锅,常州金坛精达仪器制造有限公司;双光束紫外可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;ZQZY-88BV 型震荡培养箱,上海知楚仪器有限公司;LC-20AT 高效液相色谱仪,日本岛津公司;Ultra Scan VIS 型全自动色差仪,美国 Hunter Lab 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 三华李发酵果汁的制备

三华李果汁的制备:将放置后熟的三华李洗净、去核,用打浆机打浆 35 s 后,添加三华李果汁质量 0.05% 的复合果胶酶 45 °C 酶解 1.5 h。所得的三华李果浆经 200 目的纱布过滤后,5 000 r/min 离心 10 min 得澄清三华李果汁。

菌种活化:将 -80 °C 甘油管中的植物乳杆菌菌

液接种于 MRS 平板培养基 37 °C 培养 12 h,之后将活化植物乳杆菌接种至 MRS 液体培养基中 37 °C 摇床培养 6 h 得植物乳杆菌液。

三华李发酵果汁的制备:用葡萄糖和饱和  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液分别将澄清三华李果汁的糖度和 pH 值调整到  $13.50 \pm 0.50$  和 pH 值 5.0 后加入益生菌保护剂,90 °C 水浴灭菌 15 min。将活化所得的植物乳杆菌液 4 000 r/min 离心 7 min 后接种至灭菌的三华李果汁当中,摇床发酵 48 h,得三华李发酵果汁。

#### 1.2.2 单因素实验

以三华李果汁糖度  $13.50 \pm 0.50$ , pH 值 5.0 为基础实验,分别以菊粉、低聚异麦芽糖、海藻糖、低聚果糖、抗性糊精和壳聚糖为益生菌保护剂,探究最适用于促进植物乳杆菌生长的益生元,改变最适益生菌保护剂添加量分别为三华李果汁质量的 0.50%、0.75%、1.00%、1.25%、1.50%,接种量分别为三华李果汁体积的 1%、2%、3%、4%、5%,发酵温度:33、35、37、39、41 °C,发酵转速:150、200、250、300、350 r/min,按照 1.2.1 制备三华李发酵果汁并对其进行植物乳杆菌活菌数的测定。

#### 1.2.3 正交实验

以单因素实验结果作为参考,以植物乳杆菌活菌数为指标,选取接种量、发酵温度、发酵转速三个因素及  $L_9(3^4)$  正交实验表设计进行 3 因素 3 水平正交实验。

#### 1.2.4 活菌数的测定

根据国标 GB 4789.35-2016 进行植物乳杆菌活菌数的测定。

#### 1.2.5 理化指标的测定

三华李果汁样品的 pH 值使用 PB-10 型 pH 计进行测定;使用 AP-55 数显糖度计测定三华李发酵果汁样品的可溶性固形物;可滴定酸的测定采用 GB 12456-2021 《食品中总酸的测定》中的 pH 计电位滴定法。

#### 1.2.6 色度值的测定

使用 Ultra Scan VIS 型全自动色差仪对三华李发酵果汁的  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值进行测定,具体参照刘秋豆等<sup>[13]</sup>的方法进行测定。

#### 1.2.7 功能指标的测定

总酚的测定采用 Folin-Ciocalteu 比色法<sup>[14]</sup>;总黄酮的测定采用  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$  分光光度法<sup>[15]</sup>;总花色苷的测定参考 Zhang 等<sup>[16]</sup>的测定方法,稍有改动。

### 1.2.8 抗氧化活性的测定

ABTS<sup>+</sup>清除率的测定参考 Zhang 等<sup>[16]</sup>的方法；FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power, 铁离子还原能力) 的测定参考鞠葛金悦等<sup>[17]</sup>的方法进行测定。

### 1.2.9 有机酸的测定

有机酸采用高效液相色谱法, 参照陈华丽等<sup>[18]</sup>的方法进行测定。

## 1.3 数据分析

每个实验条件进行三次独立的平行实验, 数据均以平均值 ± 标准差表示, 通过 SPSS statistics 27.0 软件进行正交实验设计和显著性分析 (邓肯检验),  $P < 0.05$  表示差异显著; 采用 Excel 和 OriginPro 2021 软件分别进行数据分析和绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 6种不同益生菌保护剂对三华李发酵果汁中植物乳杆菌生长的影响

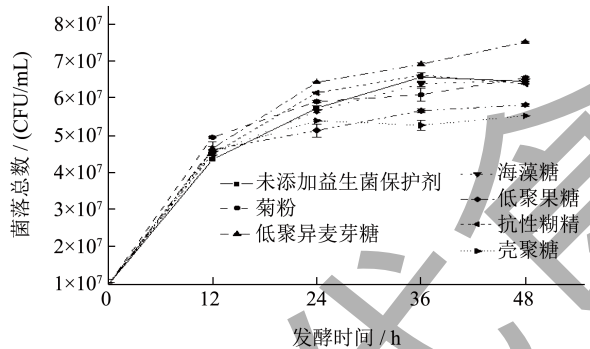


图 1 不同益生菌保护剂对三华李果汁发酵过程中植物乳杆菌菌落总数的影响

Fig.1 The effect of different probiotic protective agents on *Lactiplantibacillus plantarum* colonies during the fermentation of Sanhua plum juice

测定添加不同益生菌保护剂三华李果汁发酵过程中的植物乳杆菌活菌数, 测定结果如图 1 所示。结果显示, 在发酵的前 12 h, 与未添加益生菌保护剂的对照组相比, 6 种不同的益生菌保护剂对植物乳杆菌的生长均有不同程度的促进作用, 这在类似的研究中有相似的结论<sup>[19]</sup>。发酵 12 h 后, 随着发酵时间的延长, 不同益生菌保护剂对植物乳杆菌生长的影响表现出较大的差异。其中, 低聚异麦芽糖和抗性糊精对三华李果汁中植物乳杆菌的生长具有较为明显的促进作用, 而低聚异麦芽糖的促进作用更为明显, 在培养 48 h 后, 其植物乳杆菌活菌数达

$7.50 \times 10^7$  CFU/mL。因此, 选择低聚异麦芽糖作为植物乳杆菌发酵三华李果汁的最佳益生菌保护剂。

### 2.2 单因素实验

以低聚异麦芽糖作为益生菌保护剂, 研究其添加量对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的影响 (图 2a)。与未添加益生菌保护剂的对照组相比, 添加三华李果汁质量 0.50% 和 0.75% 的低聚异麦芽糖对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的增长有显著的促进作用。其中, 0.75% 的保护剂添加量的促生作用较优于 0.50%, 而更高的保护剂添加量未能进一步促进植物乳杆菌的增殖。因此, 选择 0.50% (以三华李果汁质量计) 为低聚异麦芽糖的最佳添加量。

随后, 分别研究了接种量、发酵温度和发酵转速对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的影响。由图 2b 可知, 三华李发酵果汁中的植物乳杆菌菌落总数随着接种量的增加呈现出先上升后下降的趋势, 在接种量为三华李果汁体积的 3% 时, 其菌落总数达到最大值  $7.76 \times 10^7$  CFU/mL。这表明当接种量高于 3% 时, 三华李果汁中营养物质消耗和菌体代谢产物积累的加快足以抑制其中植物乳杆菌的生长, 使三华李发酵果汁中的植物乳杆菌菌落总数下降。这与贾庆超等<sup>[20]</sup>利用乳酸菌发酵黑枸杞酸牛奶中乳酸菌活菌数随接种量增加而逐渐上升的变化趋势不同, 这可能是由于黑枸杞与牛奶复合物中的营养物质较三华李果汁更加丰富且初始 pH 值更高, 能够有利于乳酸菌的生长。图 2c 显示了发酵温度对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的影响, 随发酵温度的上升, 三华李发酵果汁植物乳杆菌的菌落总数呈逐渐上升的趋势, 在 37 °C 时达到最大值  $7.57 \times 10^7$  CFU/mL, 之后随发酵温度的上升, 植物乳杆菌菌落总数逐渐下降。

植物乳杆菌菌落总数随着发酵转速的增加呈现先上升后下降的趋势, 在发酵转速为 200 r/min 时, 三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数达到最大值  $9.18 \times 10^7$  CFU/mL (图 2d)。这是因为在发酵过程中, 搅拌能够使植物乳杆菌及时充分地利用果汁中的营养成分, 稀释果汁中抑制植物乳杆菌生长的代谢产物, 从而促进其生长繁殖, 使植物乳杆菌菌落总数增大, 但过高的转速容易对菌体细胞造成机械性损伤, 降低菌体细胞的生长活性, 加速其凋亡<sup>[21]</sup>。因此, 初步选择 3%、37 °C 和 200 r/min 为植物乳杆菌发酵三华李果汁的最佳接种量、发酵温度和发酵转速。

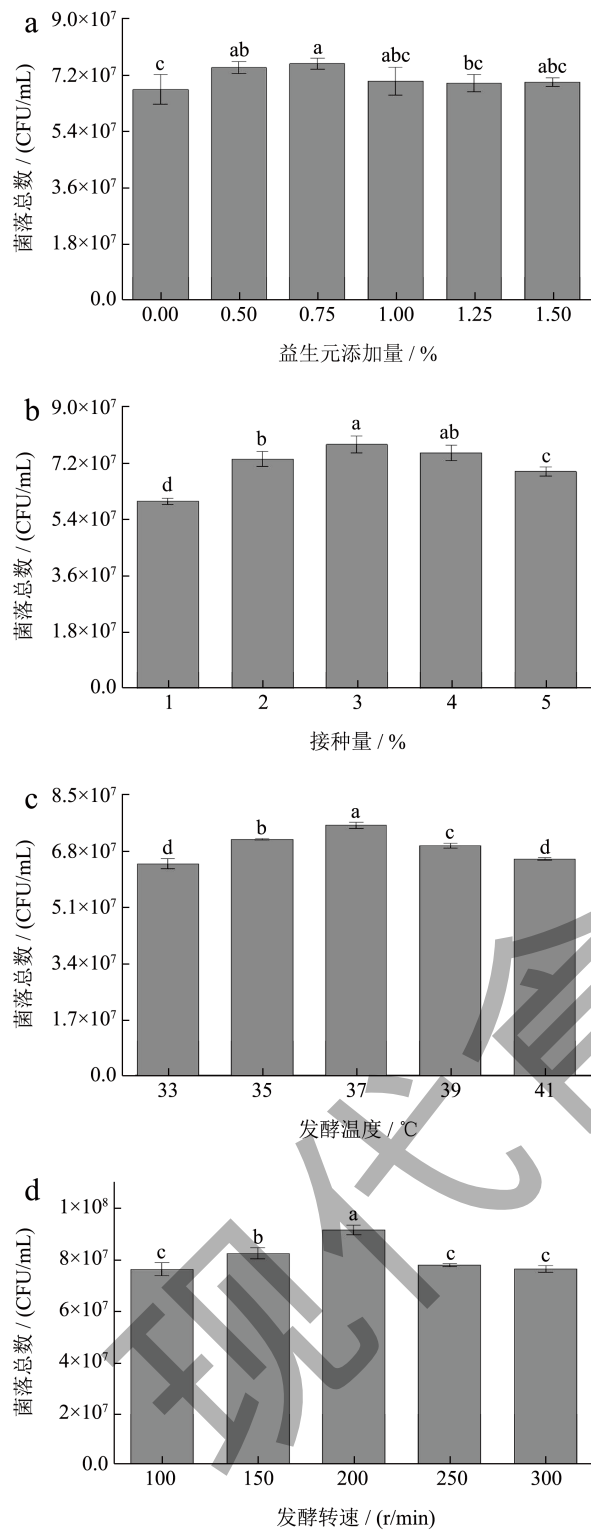


图2 低聚异麦芽糖添加量、接种量、发酵温度、及发酵转速对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的影响

Fig.2 The effect of probiotic protective agent addition, inoculation, fermentation temperature and shaker speed on *Lactiplantibacillus plantarum* colonies in fermented Sanhua plum juice

注: 不同小写字母表示有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

因此, 单因素实验结果显示当益生菌保护剂添加量为 0.05%, 接种量 3%, 发酵温度为 37 °C, 发酵转速为 200 r/min 时, 以三华李果汁为发酵基质的植物乳杆菌活菌数达到最大值。

### 2.3 正交实验

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 The table of factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素		
	A(接种量)/%	B(发酵温度)/°C	C(发酵转速)/(r/min)
1	2	35	150
2	3	37	200
3	4	39	250

表 2 正交试验设计和结果

Table 2 The orthogonal experiment design and results

试验号	因素				增长量 / ( $\times 10^7$ CFU/mL)
	A(接种量)	B(发酵温度)	C(发酵转速)	D(空列)	
1	1	1	1	1	5.66±0.28
2	1	2	2	2	7.58±0.11
3	1	3	3	3	4.93±0.05
4	2	1	2	3	6.55±0.09
5	2	2	3	1	7.29±0.08
6	2	3	1	2	4.74±0.10
7	3	1	3	2	5.90±0.16
8	3	2	1	3	6.60±0.06
9	3	3	2	1	4.35±0.50
K1	18.18	18.12	17.01	17.31	
K2	18.59	21.48	18.49	18.23	
K3	16.85	14.03	18.12	18.08	
k1	6.06	6.04	5.67	5.77	
k2	6.20	7.16	6.16	6.08	
k3	5.62	4.68	6.04	6.03	
R	0.58	2.48	0.49	0.31	

因素主 → 次 B>A>C

最佳方案 B<sub>2</sub>A<sub>2</sub>C<sub>2</sub>

注: K1、K2、K3 分别代表不同水平 3 次启动率之和, k1、k2、k3 分别代表不同水平均值启动率, R 代表平均极值 ( $R = \text{最大均值} - \text{最小均值}$ )。

根据单因素实验结果, 选取接种量、发酵温度和发酵转速三个对植物乳杆菌菌落总数影响较大的因素设计正交实验因素水平表(表1), 使用正交实验表L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)设计进行正交实验并对其结果进行极差分析(表2)。表3为正交实验方差分析表。

由表2可知, 三个实验因素对三华李发酵果汁中植物乳杆菌菌落总数的影响由大到小依次为: 发酵温度(B)>接种量(A)>发酵转速(C), 最优组合为: B<sub>2</sub>A<sub>2</sub>C<sub>2</sub>, 即在37℃、接种量3%和转速200 r/min的发酵条件下, 三华李发酵果汁中的植物乳杆菌菌落总数能够达到最高水平。

表3 正交实验方差分析表

Table 3 The table of variance analysis of orthogonal experiment

因素	离差平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
A	5.89×10 <sup>13</sup>	2	2.95×10 <sup>13</sup>	5.40	0.16	
B	9.31×10 <sup>14</sup>	2	4.65×10 <sup>14</sup>	85.36	0.01	*
C	3.12×10 <sup>13</sup>	2	1.56×10 <sup>13</sup>	2.86	0.26	
D (误差)	1.09×10 <sup>13</sup>	2	5.45×10 <sup>12</sup>			

注: \*代表差异显著(P<0.05)。

为了进一步验证正交实验结果, 对其进行了方差分析, 分析结果如表3所示。由表可知, 进行正交实验的三个因素中, 只有发酵温度对实验结果具有显著性影响(P<0.05), 接种量和发酵转速对结果均没有显著性影响。该分析结果与极差分析所得结果具有一致性。

因此, 由单因素实验和正交试验优化结果可知, 植物乳杆菌发酵三华李果汁的最优发酵条件为: 低聚异麦芽糖添加量0.05%, 接种量3%, 发酵温度37℃, 发酵转速200 r/min, 其中发酵温度对植物乳杆菌活菌数具有显著性的影响。

#### 2.4 正交实验验证分析

对正交试验的结果进行验证分析(图3)。向三华李果汁中添加0.50%的低聚异麦芽糖, 接种量为三华李果汁体积的3%, 发酵温度37℃, 发酵转速200 r/min将三华李果汁发酵48 h, 发酵前后测定其植物乳杆菌活菌数。测得优化发酵条件下三华李果汁中植物乳杆菌活菌数为8.08×10<sup>7</sup> CFU/mL, 其植物乳杆菌活菌数显著高于初始条件发酵三华李果汁中的植物乳杆菌活菌数。

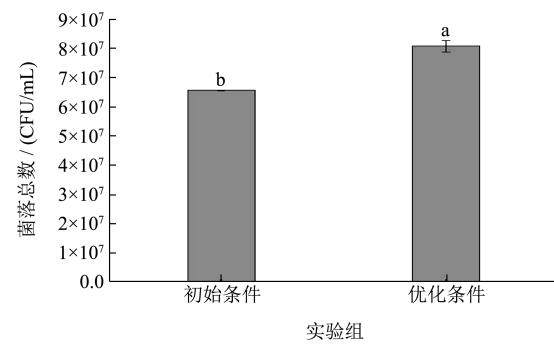


图3 不同发酵条件下三华李发酵果汁中的植物乳杆菌菌落总数

Fig.3 *Lactiplantibacillus plantarum* colonies in fermented Sanhua plum juice at different fermentation conditions

注: 不同小写字母表示有显著性差异(P<0.05)。

#### 2.5 贮藏温度对植物乳杆菌发酵三华李果汁品质的影响

##### 2.5.1 贮藏期间三华李发酵果汁植物乳杆菌活菌数及其可溶性固形物含量的变化

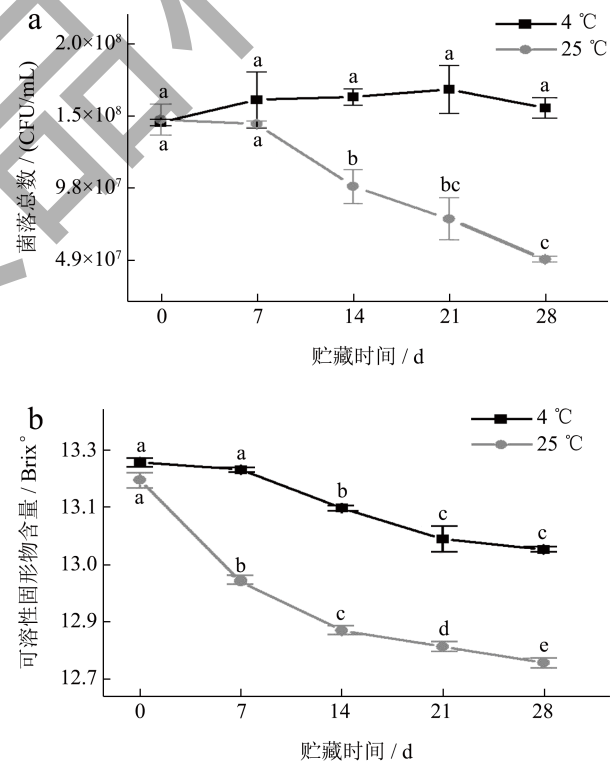


图4 不同贮藏温度下三华李发酵果汁植物乳杆菌菌落总数及其可溶性固形物含量的变化

Fig.4 Changes of *Lactiplantibacillus plantarum* colonies and soluble solid contents in fermented Sanhua plum juice at different storage temperatures

注: 不同小写字母表示同一发酵组在不同发酵时间有显著性差异(P<0.05)。

将三华李发酵果汁分别在 4 °C 和 25 °C 下贮藏 28 d, 测定其在贮藏期间的植物乳杆菌活菌数 (图 4a), 结果显示, 三华李果汁中植物乳杆菌活菌数在 4 °C 贮藏期间稳定维持在  $10^8$  CFU/mL, 未出现显著性变化; 在 25 °C 的贮藏温度下, 三华李果汁中植物乳杆菌活菌数于 7 d 后呈现明显的下降趋势, 贮藏 28 d 后, 其植物乳杆菌活菌数由  $10^8$  CFU/mL 下降到  $10^7$  CFU/mL, 但仍满足益生菌果汁中益生菌活细胞数  $\geq 10^6$  CFU/mL 的要求<sup>[22]</sup>。

由图 4b 可知, 经 4 °C 和 25 °C 贮藏的三华李发酵果汁的可溶性固形物含量随时间均呈现逐渐下降的趋势, 但在 4 °C 贮藏温度下的三华李发酵果汁其可溶性固形物含量下降趋势与 25 °C 贮藏相比较为缓慢。贮藏 28 d 后, 4 °C 和 25 °C 贮藏的三华李发酵果汁的可溶性固形物含量分别下降了 0.20 Brix° 和 0.41 Brix°。这可能是因为在 4 °C 和 25 °C 贮藏的三华李发酵果汁中的植物乳杆菌均保留一定的代谢能力, 能够消耗果汁中的营养物质, 使三华李发酵果汁的可溶性固形物含量下降。其中, 25 °C 贮藏的三华李发酵果汁可溶性固形物含量下降趋势更为显著, 这表明更高贮藏温度 (25 °C) 使植物乳杆菌能够维持更高的代谢活性, 在相同的时间内消耗更多的营养物质, 其可溶性固形物含量下降速率更快, 这与戊糖片球菌和乳酸片球菌发酵芒果汁在不同温度贮藏期间可溶性固形物含量变化一致。由于芒果汁中可溶性固形物含量较为丰富, 在 4 °C 贮藏下, 在 28 d 贮藏期结束后发酵芒果汁的可溶性固形物含量下降 0.99~1.30 Brix°, 而 25 °C 下贮藏的发酵芒果汁可溶性固形物下降了 1.91 Brix°<sup>[23]</sup>。

### 2.5.2 贮藏期间三华李发酵果汁 pH 值、可滴定酸含量及其色度值的变化

在 4 °C 和 25 °C 的贮藏温度下, 三华李发酵果汁的 pH 值和可滴定酸含量分别呈现出相反的变化趋势 (图 5a、5b)。随着贮藏时间的延长, 4 °C 下贮藏的三华李发酵果汁可滴定酸含量逐渐下降, pH 值逐渐上升, 而 25 °C 下贮藏的三华李发酵果汁可滴定酸含量逐渐上升, pH 值逐渐下降。在 4 °C 的贮藏温度下, 三华李发酵果汁的可滴定酸含量由 0.61 mg/mL 下降为 0.35 mg/mL, pH 值由 6.55 上升为 6.87; 在 25 °C 的贮藏温度下, 三华李发酵果汁可滴定酸含量由 0.49 mg/mL 上升到 4.45 mg/mL, pH 值由 6.32 下降为 4.73, 研究表明, 贮藏过程中植物乳杆菌的代谢会增加果汁酸度, 降低果汁 pH 值<sup>[24]</sup>。

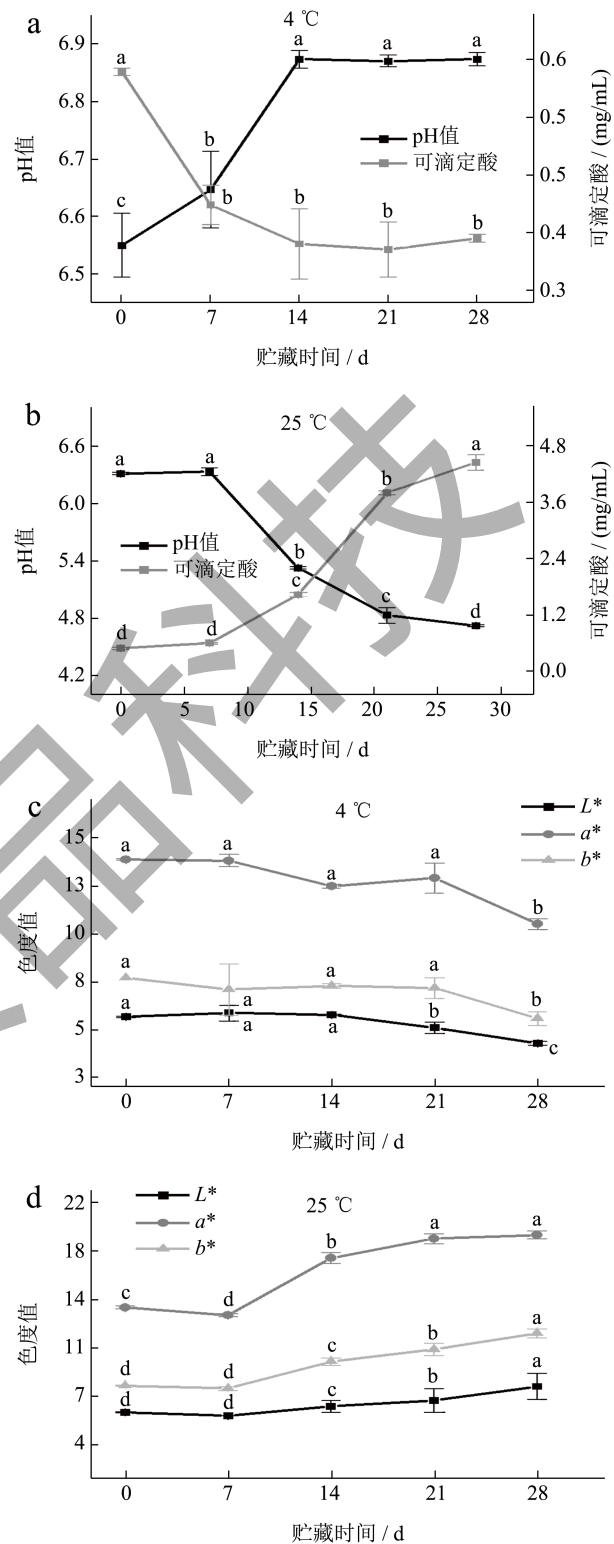


图 5 不同贮藏温度下三华李发酵果汁 pH 值、可滴定酸含量及其色度值的变化

Fig.5 Changes of pH value, titratable acid content and chromaticity values in fermented Sanhua plum juice at different storage temperatures

注: 不同小写字母表示随同发酵时间之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

但也有研究表明,在果汁贮藏过程中会发生可滴定酸含量的下降及pH值的上升<sup>[25]</sup>,这可能是由于果汁中多糖的酸性水解过程对可滴定酸的消耗:即在三华李发酵果汁贮藏期间,其酸度及pH值变化由植物乳杆菌代谢的生物作用和酸性水解的化学作用共同决定。由于植物乳杆菌在4℃贮藏温度下较弱的代谢活性以及果汁中酸性水解过程对可滴定酸的消耗,两种因素的累积使得三华李发酵果汁中可滴定酸含量下降,pH值上升。而在25℃的贮藏温度下,由于植物乳杆菌的代谢作用较强,其代谢产生的可滴定酸含量远高于酸性水解过程对可滴定酸的消耗量,故随着贮藏时间的延长,果汁中可滴定酸含量增加,pH值下降。

色度值的测定结果显示,在4℃下贮藏的三华李果汁其 $L^*$ (明亮度)、 $a^*$ (红绿度)、 $b^*$ (黄蓝度)值随贮藏时间的延长逐渐下降,在4℃下贮藏的三华李果汁其 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值随贮藏时间的延长逐渐上升,果汁颜色逐渐向三华李果汁的鲜红色转变。在植物乳杆菌发酵红枣汁的贮藏过程中也同样出现了pH值下降与 $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$ 值上升的现象<sup>[26]</sup>。研究表明,高pH值下的花色苷由于结构和性质的变化会转变为无色物质,而低pH值的环境则更加有利于果汁中的花青素稳定和显色<sup>[27,28]</sup>。由图5c可知,4℃贮藏期间三华李发酵果汁各色度值逐渐下降,其原因可能是pH值的不断上升使得花色苷逐渐失去其原本结构及显色能力。此外,果汁中发生一系列反应,如:氧化、褐变以及微生物的发酵等会在果汁贮藏过程中产生棕褐色物质,掩盖三华李果汁本身的红色,并使其颜色变暗<sup>[29]</sup>。而在25℃的贮藏温度下,随着贮藏时间的延长,三华李发酵果汁的各色度值逐渐升高,其明亮度、红色度及黄色度逐渐增大(图5d),果汁颜色逐渐向三华李特有的鲜艳颜色转变,这种转变的主要原因可能是三华李发酵果汁中花色苷的显色能力随果汁pH值的不断下降而得到增强。

### 2.5.3 贮藏期间三华李发酵果汁有机酸含量的变化

研究表明,植物乳杆菌能够消耗苹果汁、梨汁和胡萝卜汁中的苹果酸,代谢产生乳酸和乙酸<sup>[7]</sup>。贮藏期间,三华李发酵果汁中苹果酸、乳酸、乙酸含量变化如图6所示,随着贮藏时间的延长,三华李发酵果汁中的苹果酸含量逐渐下降,乳酸和乙酸含量逐渐上升,且在25℃的贮藏温度下,苹果酸含量的下降速率、以及乳酸和乙酸的上升速率相比

于4℃贮藏更快,未检出柠檬酸。由图6a和图6b可知,在贮藏温度为25℃时,三华李发酵果汁中的植物乳杆菌利用苹果酸和产生乳酸的速度要明显比4℃贮藏时快,28d贮藏期结束后,苹果酸含量下降了2.30 mg/mL。28d贮藏期结束后,4℃下贮藏的三华李发酵果汁的苹果酸和乳酸分别下降和增加了0.56 mg/mL和0.76 mg/mL;25℃贮藏的三华李发酵果汁的苹果酸和乳酸分别下降和增加了0.76 mg/mL和1.82 mg/mL,且产生了大量乙酸(图6c)。

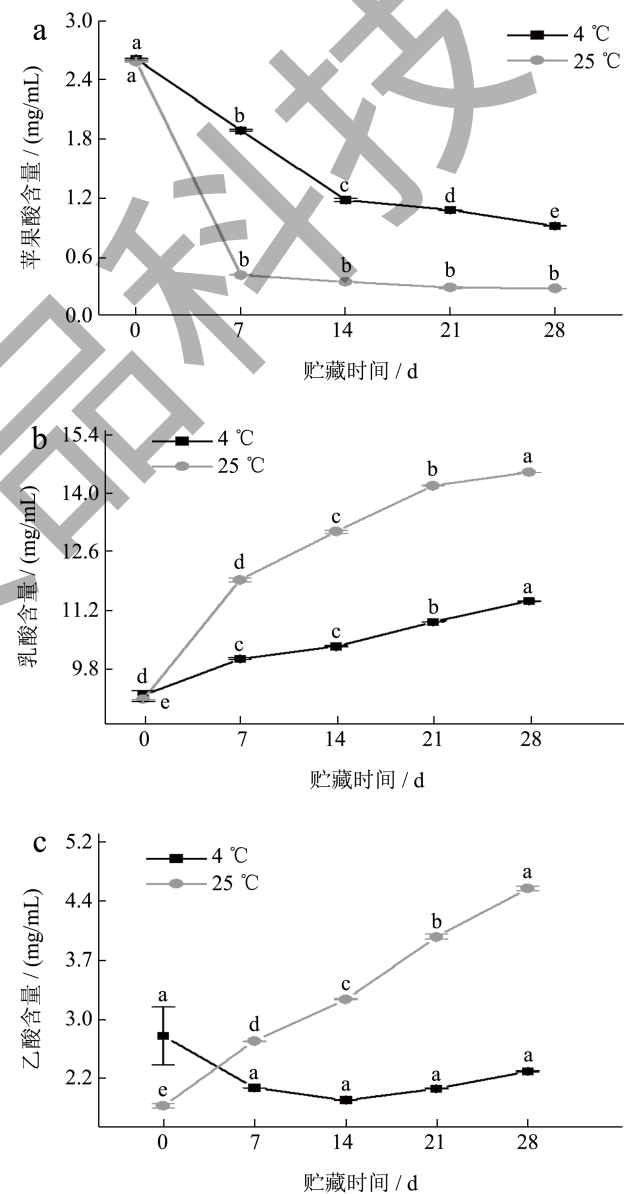


图6 不同贮藏温度下三华李发酵果汁中有机酸含量的变化  
Fig.6 Changes of organic acid in fermented Sanhua plum juice at different storage temperatures

注:不同小写字母表示同一发酵组在不同发酵时间有显著性差异( $P<0.05$ )。下图同。



2.5.4 贮藏期间三华李发酵果汁总酚、总黄酮、总花色苷含量的变化

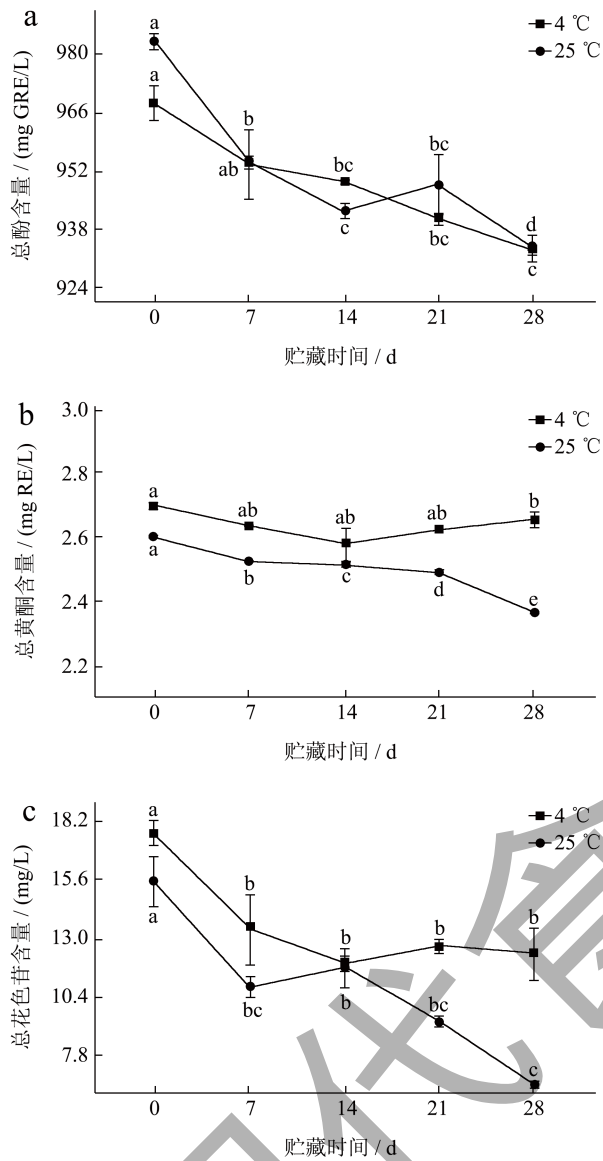


图7 不同贮藏温度下三华李发酵果汁总酚、总黄酮和总花色苷含量的变化

Fig.7 Changes of total phenols, total flavonoids and total anthocyanin content in fermented Sanhua plum juice at different storage temperatures

在4 °C和25 °C的贮藏期间，三华李发酵果汁中的总酚、总黄酮和总花色苷含量均呈现逐渐下降的趋势（图7），但25 °C贮藏的三华李发酵果汁中的总酚、总黄酮和总花色苷下降速率均高于4 °C的三华李发酵果汁。这与许多研究的结果相一致<sup>[30-32]</sup>。贮藏28 d后，4 °C贮藏的三华李发酵果汁总酚、总黄酮、总花色苷分别下降了3.71%、1.52%、30.52%，而25 °C下贮藏的三华李发酵果汁

总酚、总黄酮、总花色苷分别下降了5.10%、9.03%、58.30%。当贮藏温度为25 °C时，总酚、总黄酮以及总花色苷的下降速率明显高于4 °C下贮藏的三华李发酵果汁。研究表明，贮藏过程中果汁中的抗氧化物质的下降受多种因素影响，如果汁中的溶解氧<sup>[33]</sup>以及贮藏温度<sup>[34]</sup>等，此外，果汁中植物乳杆菌的存在增强了酚类物质的代谢<sup>[35]</sup>。

2.5.5 贮藏期间三华李发酵果汁抗氧化性的变化

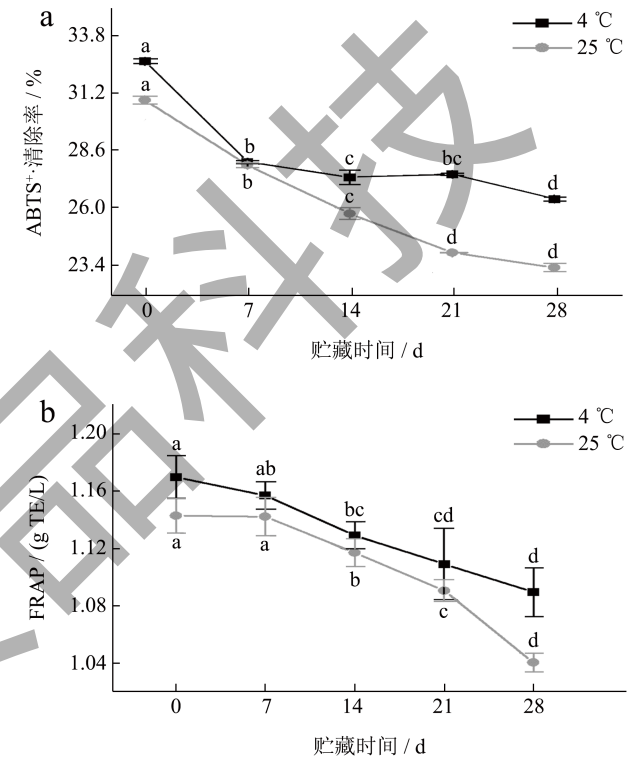


图8 不同贮藏温度下三华李发酵果汁ABTS<sup>+</sup>清除率和FRAP的变化

Fig.8 Changes of ABTS<sup>+</sup> scavenging rate and FRAP of fermented Sanhua plum juice at different storage temperatures

不同贮藏温度下三华李果汁的抗氧化活性随贮藏时间延长均呈现逐渐下降的趋势（图8），且其ABTS<sup>+</sup>清除率和FRAP在贮藏温度为25 °C时下降的更快。贮藏期结束后，4 °C下贮藏的三华李发酵果汁ABTS<sup>+</sup>清除率和FRAP分别下降了6.22%和0.08 g TE/L。25 °C下贮藏的三华李发酵果汁ABTS<sup>+</sup>清除率和FRAP分别下降了7.58%和0.10 g TE/L。相比于4 °C，25 °C的贮藏温度下其抗氧化活性下降速率更快，这与其总酚、总黄酮和总花色苷含量的测定结果相一致。因此可以认为，贮藏期间，三华李发酵果汁总酚、总黄酮和总花色苷

含量的下降是导致三华李发酵果汁抗氧化性下降的主要原因。

### 3 结论

益生菌保护剂筛选实验和发酵条件优化实验结果表明：植物乳杆菌发酵三华李果汁的最适益生菌保护剂为低聚异麦芽糖；在低聚异麦芽糖，其最佳添加量 0.50%。植物乳杆菌发酵三华李果汁的最优发酵条件为：接种量 3%、发酵温度 37 °C、发酵转速 200 r/min。最优条件下发酵 48 h 得到的三华李发酵果汁中植物乳杆菌活菌数可达  $10^8$  CFU/mL，较优化之前提高了 23.06%。

贮藏实验结果表明：在 4 °C 的贮藏温度下，三华李发酵果汁中可溶性固形物和苹果酸含量下降缓慢，其植物乳杆菌活菌数始终维持在  $10^8$  CFU/mL。而在 25 °C 的贮藏温度下，三华李发酵果汁中可溶性固形物及苹果酸含量呈现较为快速的下降趋势，并以较快的速率产生乳酸和乙酸，在贮藏 28 d 后，其植物乳杆菌活菌数由  $10^8$  CFU/mL 下降到  $10^7$  CFU/mL。此外，贮藏期间三华李发酵果汁的总酚、总黄酮、总花色苷与抗氧化水平均呈下降趋势，其下降速率主要受贮藏温度的影响。在较低的贮藏温度（4 °C）下，三华李发酵果汁的抗氧化物质与抗氧化活性以较为缓慢的速率下降。然而，三华李发酵果汁在 25 °C 贮藏温度下其可滴定酸含量上升，pH 值下降，且其  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值逐渐上升，果汁逐渐呈现出三华李果汁特有的鲜艳颜色。以上实验结果的产生可能是由于冷藏温度下植物乳杆菌仅维持较弱的代谢活动，处于半休眠状态，这使得贮藏期间植物乳杆菌的存活率维持在较高水平。而 25 °C 的贮藏温度下，植物乳杆菌代谢活动相对较强，因此能够以较快的速率消耗三华李果汁中的营养物质和产生代谢产物，但其存活率却相对较低。同时，植物乳杆菌较快的代谢速率使 25 °C 贮藏下的三华李发酵果汁可滴定酸含量增加，pH 值下降，较低的 pH 值使三华李发酵果汁明亮度、红色度和黄色度逐渐提高，果汁颜色逐渐向人们乐于接受的方向转变。而贮藏期间的抗氧化活性物质含量及抗氧化活性的降低可能主要与贮藏温度相关，较低的温度有利于减缓抗氧化物质含量和抗氧化活性的下降。综上所述，三华李发酵果汁在两种温度（4 °C 和 25 °C）下贮藏 28 d 后，其植物乳杆菌活菌数均满足益生菌发酵果汁的要求，且较低的贮藏温度（4 °C）能够使三华李发酵果汁保留较高的活性物质含量和抗氧化活性，因

此在实际生产中，植物乳杆菌发酵三华李果汁更适合贮藏在 4 °C 下贮藏。

### 参考文献

- [1] CHANG X, LU Y, LI Q, et al. The combination of hot air and chitosan treatments on phytochemical changes during postharvest storage of 'Sanhua' plum fruits [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 8(8): 338.
- [2] LI L, YU Y, XU Y, et al. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration pretreatment on the drying characteristics and quality properties of Sanhua plum (*Prunus salicina* L.) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 138: 537-545.
- [3] AN K J, WU J J, TANG D D, et al. Effect of carbonic maceration (CM) on mass transfer characteristics and quality attributes of Sanhua plum (*Prunus Salicina* Lindl.) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 87: 537-545.
- [4] WU Z, LI X, ZENG Y, et al. Color stability enhancement and antioxidation improvement of Sanhuaplum wine under circulating ultrasound [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 11(16): 2435.
- [5] 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.
- [6] BAGHER H S M, DORNOUSH J, MOHAMMAD J. Improving bioactive properties of peach juice using *Lactobacillus strains* fermentation: Antagonistic and anti-adhesion effects, anti-inflammatory and antioxidant properties, and Maillard reaction inhibition [J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130501.
- [7] BENNETT D, ARRANEE C, SUBRAMANIAM S. Antioxidant activity and viability of *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactocaseibacillus casei*, and co-culture in fermented tomato juice during refrigerated storage [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102085.
- [8] 胡梦莹, 徐浩原, 韩金鹏, 等. 植物乳杆菌 P-8 对小鼠肠道菌群及抗氧化抗炎能力的研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(17): 64-70.
- [9] YANG X, ZHOU J, FAN L, et al. Antioxidant properties of a vegetable-fruit beverage fermented with two *Lactobacillus plantarum* strains [J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(6): 1719-1726.
- [10] FONTELES T V, RODRIGUES S. Probiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives [J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 22: 55-61.
- [11] 徐影平. 青梅汁加工关键技术及贮藏期品质研究[D]. 成都: 西华大学, 2021.
- [12] 刘原野. 沙棘汁乳酸菌发酵工艺优化及品质分析[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.

- [13] 刘秋豆,胡凯,陈亚淑,等.益生菌芒果饮料加工和发酵过程中理化性质变化规律[J].华中农业大学学报,2019,38(3):89-96.
- [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] CHEN G L, CHEN S G, XIE Y Q, et al. Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to *in vitro* digestion [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 17: 243-259.
- [16] ZHANG Y, LIU W P, WEI Z H, et al. Enhancement of functional characteristics of blueberry juice fermented by *Lactobacillus plantarum* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 139: 110590.
- [17] 鞠葛金悦,徐红雨,温靖,等.毛酸浆乳酸菌发酵果汁的体外消化耐受性及抗氧化活性变化[J].现代食品科技,2021,37(7):108-114,56.
- [18] 陈华丽,吴继军,邹波,等.木醋杆菌对乳酸菌发酵复合果汁的影响[J].现代食品科技,2019,35(3):125-32,39.
- [19] 王新,王利,王青云,等.益生元对益生菌生长代谢的研究[J].食品安全导刊,2022,7:76-79.
- [20] 贾庆超,李望铭,韩亚飞.黑枸杞风味酸奶发酵条件优化及低聚果糖和水苏糖对其品质的影响[J].中国酿造,2023,42(3):187-193.
- [21] 李玉彤,吴祖芳,翁佩芳,等.搅拌结合pH控制10 L发酵罐条件下乳酸菌发酵胡柚汁研究[J].核农学报,2021,35(10):2369-2376.
- [22] SHORI A B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages [J]. Food Bioscience, 2016, 13: 1-8.
- [23] CHRISTIANAH A-T B, OLUWABUNMI O F, EBENEZER A G. Production and evaluation of probioticated mango juice using *Pediococcus pentosaceus* and *Pediococcus acidilactici* during storage at different temperature [J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2021, 6: 100202.
- [24] BAH A, ALBANO H, BARBOSA J B, et al. Inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* FL75 and *Leuconostoc mesenteroides* FL14 against Foodborne Pathogens in artificially contaminated fermented tomato juices [J]. Bio Med Research International, 2019, 2019: 6937837.
- [25] OLIVEIRA P M D, JÚNIOR B R D C L, MARTINS E M F, et al. Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 58: 98-109.
- [26] 张丽华,刘梦培,邓莹楠,等.不同乳酸菌发酵对红枣汁贮藏品质的影响[J].食品工业科技,2017,38(4):332-336,347.
- [27] CHANGXIN J, JIMIN L, ANDI W, et al. Effect of pH on betalain-anthocyanin mixture in bayberry juice: influences on pigments, colour, and antioxidant capacity [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2022, 57(6): 3556-3566.
- [28] JIEYU Z, YUJIE Y, RONGZHEN L, et al. Sugar reduction process of purple sweet potato concentrated juice by microbial fermentation for improved performance of natural pigments [J]. Biochemical Engineering Journal, 2023, 191: 108781.
- [29] YUAN X, YU Y, XU Y, et al. Changes in quality attributes related to browning during storage of litchi juice fermented by *Lactobacillus* [J]. Journal of Food Research, 2019, 8(4): 1927-0887.
- [30] JIAGE M, YUSI M, JINZHE L, et al. Incorporation of blue honeysuckle juice into fermented goat milk: physicochemical, sensory and antioxidant characteristics and *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 11(19): 3065.
- [31] JULIANA M, HABTU S, O. M A, et al. Evaluation of the composition and quality of watermelon and mango juices fermented by *Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus casei* and *Pediococcus pentosaceus* and subsequent simulated digestion and storage [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2022, 57(8): 5461-5471.
- [32] VIOLETA N. Quality characteristics, anthocyanin stability and antioxidant activity of apple (*Malus domestica*) and black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) juice blends [J]. Plant Sciences, 2022, 11(15): 2027.
- [33] 殷晓翠,马嫻,苏凡,等.超高压和热处理对发酵石榴汁品质的影响[J].食品工业科技,2019,40(12):31-37.
- [34] 刘易伟,陈萍,卿云光,等.不同贮藏温度对刺梨原汁中总黄酮含量的影响[J].食品安全导刊,2023,3:98-100.
- [35] HASHEMI S M B, KHANEGHAH A M, BARBA F J, et al. Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 38: 409-414.