

## 5 种益生菌发酵寒富苹果汁特性的研究

朱丹实<sup>1</sup>, 王芳平<sup>1</sup>, 赵国苍<sup>2</sup>, 李伟<sup>2</sup>, 曹雪慧<sup>1</sup>, 励建荣<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>渤海大学食品科学与工程学院 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心 辽宁锦州 121013

<sup>2</sup>云南会泽县道成开发投资集团有限公司 云南曲靖 654200)

**摘要** 不同的益生菌发酵能够赋予果汁不同的风味及营养。本研究选用副干酪乳杆菌、植物乳杆菌、乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌和嗜酸乳杆菌 5 种益生菌发酵寒富苹果汁,分析其在寒富苹果汁中的发酵特性以及对发酵苹果汁(FAJ)风味和营养品质的影响。结果表明:副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌 3 种益生菌发酵的寒富苹果汁感官接受度均较高,发酵后乳酸菌菌落总数均高于  $10^6$  CFU/mL,满足果蔬发酵汁的行业标准。这 3 种益生菌能赋予苹果汁良好的风味,发酵前、后游离氨基酸总量无明显变化,维持在 10 mg/100 g 左右,而且产醇能力不强,产酸能力适中,可避免 FAJ 后酸化的风险。研究结果可为寒富苹果汁益生菌发酵产品的开发提供理论参考。

**关键词** 寒富苹果; 益生菌; 发酵; 果汁; 品质

**文章编号** 1009-7848(2024)10-0204-11 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2024.10.019

益生菌具有改善胃肠道微生态环境<sup>[1]</sup>,增强机体免疫功能<sup>[2]</sup>,降低胆固醇水平<sup>[3]</sup>,提高营养物质利用率<sup>[4]</sup>等生理功能。益生菌作为果汁发酵剂,可赋予发酵果汁良好风味,提高发酵果汁的营养价值<sup>[5]</sup>,改善果汁的贮藏性和安全性<sup>[6-7]</sup>。寒富苹果是近年培育的优势苹果品种,具有抗寒性强、果实较大、耐贮藏和丰产等优点,在中国北方广泛种植<sup>[8]</sup>。随着栽植面积及产量逐年增加,寒富苹果的品质及经济效益有所下降<sup>[9]</sup>。将其加工为功能性发酵果汁,可以有效提高产品附加值。

不同果汁因营养基质不同,其发酵特性也有所区别<sup>[10-12]</sup>。根据益生菌的发酵代谢特性和风味特点,本研究选用发酵果汁中较常见的 5 种益生菌,即副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracase*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、乳双歧杆菌(*Bifidobacterium lactis*)、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)<sup>[10,13-14]</sup>作为寒富苹果汁的发酵剂。分析这 5 种益生菌在寒富苹果汁中的发酵特性。根据感

官评价、电子鼻和电子舌分析以及乳酸菌菌落总数、理化特性指标,筛选出能赋予发酵寒富苹果汁良好的风味、乳酸菌活菌数较高和发酵性能较好的菌种,用于后续益生菌协同发酵寒富苹果汁的研究,进而生产出品质较好的益生菌发酵苹果汁产品,提高寒富苹果的生产经济效益。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

寒富苹果:辽宁省锦州市水果批发市场(产地:辽宁省)。

益生菌:本研究所用益生菌的信息见表 1。

#### 1.2 仪器与设备

榨汁机,苏泊尔;SHJ-A6 水浴锅,金坛市精达仪器制造有限公司;SW-CJ-2F 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;GI54DS 立式自动压力蒸汽灭菌锅,致微(厦门)仪器有限公司;FP-1100-C 生长曲线仪、Czone5F 自动菌落计数仪,杭州迅数科技有限公司;CR-400 色彩色差计,日本美能达;PEN3 型便携式电子鼻、SA402B 电子舌,日本 INSENT。

#### 1.3 方法

1.3.1 苹果汁的制备及其发酵工艺流程 样品制备过程参考了 Peng 等<sup>[14]</sup>的方法,并稍作修改。将成熟的寒富苹果作为试验原料,进行清洗、切块、护色(1% VC 水溶液)后,将果块榨汁,过滤(300

收稿日期:2023-10-12

基金项目:辽宁省自然科学基金资助计划项目(2022-MS-374);辽宁省教育厅科学研究经费项目(LJKZ1016);云南省科技人才与平台计划项目(202205AF150060)

第一作者:朱丹实,女,博士,教授

通信作者:励建荣 E-mail:lijr6491@163.com

表 1 5 种益生菌的名称、菌活力及厂家信息

Table 1 Name, activity and manufacturer information of five probiotics

拉丁学名	缩写	中文名	菌活力	厂家
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>L. paracasei</i>	副干酪乳杆菌	1×10 <sup>10</sup> CFU/g	山东中科嘉亿生物 有限公司
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>	植物乳杆菌		
<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Bif. lactis</i>	乳双歧杆菌		
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	鼠李糖乳杆菌		
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>	嗜酸乳杆菌		

目)。在果汁中加入 10%的蔗糖,超声(25 ℃,15 min)后进行巴氏杀菌(85 ℃,15 min)。杀菌后的果汁置于超净工作台,装入无菌的发酵罐,冷却至室温后,于 5 个发酵罐中分别接入 1%的副干酪乳杆菌、植物乳杆菌、乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌和嗜

酸乳杆菌。在 28 ℃恒温静置发酵 7 d(根据预试验得出,发酵至第 7 天时,FAJ 的 pH 值达到动态平衡,且 FAJ 的感官状态最佳,所以将发酵周期定为 7 d),每天取样分析。5 种益生菌发酵寒富苹果汁的试验工艺流程见图 1。



图 1 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的工艺流程

Fig.1 Process flow of five probiotics fermenting Hanfu apple juice

1.3.2 指标测定

1.3.2.1 生长曲线的测定 在 100 mL 的锥形瓶中装入 50 mL 已灭菌的寒富苹果汁(含 10%蔗糖),无菌条件下接入 1%的乳酸菌,28 ℃恒温生化培养箱活化 2 h。在微孔板中接入 180 μL 的样液,28 ℃条件下培养,每隔 2 h 测定 1 次 OD<sub>600nm</sub> 的吸光度值,以样品 0 h 的吸光度值为对照。以培养时间为横坐标,吸光度值为纵坐标<sup>[15]</sup>,绘制乳酸菌生长曲线。

1.3.2.2 乳酸菌菌落总数的测定 参考 Hashemi 等<sup>[16]</sup>的方法,并稍作修改。将发酵果汁进行梯度稀释,取适宜稀释倍数的稀释液 0.1 mL 涂布于 MRS 琼脂平板,置于 37 ℃培养 48~72 h,每组平行 3 次试验。

1.3.2.3 酒精度的测定 参照国标《葡萄酒、果酒通用分析方法》(GB/T 15038-2006)<sup>[17]</sup>方法测定。

1.3.2.4 浊度的测定 使用 WGS-200 浊度仪测定 FAJ 的浊度,浊度单位用 NTU 表示<sup>[18]</sup>。测定前先将去离子水装入浊度瓶中调零,再将状态均匀的样品加入到浊度瓶,并用擦镜纸擦拭浊度瓶表面,然后放入浊度仪的测试区,待读数稳定后记录其浊度,平行 3 次试验。

1.3.2.5 颜色值的测定 用 CR-400 色度计测定 FAJ 的 L\*(亮度)、a\*(负值-绿色;正值-红色)、b\*(负值-蓝色;正值-黄色)<sup>[19]</sup>,平行 3 次试验。通过 L\*、a\* 和 b\* 值根据以下公式计算出 FAJ 色差变化(ΔE\*):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \tag{1}$$

1.3.2.6 可溶性固形物的测定 在室温条件下,利用 PLA-3 手持糖度计测定 FAJ 中可溶性固形物含量,单位为 $^{\circ}\text{Brix}$ ,平行 3 次试验。

1.3.2.7 还原糖含量的测定 参考 Xiang 等<sup>[20]</sup>的测定方法,并稍作修改。先取 1 mL 的 FAJ 装入 100 mL 的容量瓶,用蒸馏水定容至刻度线,然后在 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min,将其作为还原糖提取液。取 0.5 mL 的还原糖提取液装入 25 mL 的具塞比色管中,再加入 1.5 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂,混匀后置于沸水浴中加热 5 min,冷却至室温后用蒸馏水定容至 25 mL,在波长 540 nm 处测定其吸光度值,平行 3 次试验。

1.3.2.8 可滴定酸含量的测定 参考 Xiang 等<sup>[20]</sup>的测定方法,并稍作修改。吸取 5 mL 的 FAJ 转移至 50 mL 的容量瓶,用蒸馏水定容至刻度线,作为样液备用。吸取 15 mL 的样液转入 50 mL 的锥形瓶,滴入 2 滴 1% 的酚酞指示剂,用已经标定过的 0.1 mol/L NaOH 溶液进行滴定,滴定至样液微红色且在 0.5 min 内不变色时,停止滴定,并读取滴定体积。以蒸馏水作为空白对照,以苹果酸作为折算系数 0.067,平行 3 次试验。

1.3.2.9 pH 值的测定 取 100 mL FAJ 置于样品杯中,将 pH 电极插入 FAJ 读数并记录,进行 3 次平行试验。

1.3.2.10 游离氨基酸的测定 参考 Ouyang 等<sup>[21]</sup>的方法,稍作修改。吸取 1 mL 的 FAJ 装入 100 mL 的容量瓶,再加入 5.0 mL 10% 乙酸溶液,摇匀后用蒸馏水定容至刻度线,作为样液备用。吸取 1 mL 的样液置于 20 mL 刻度试管中,依次加入 1 mL 无氨蒸馏水,3 mL 的水合茚三酮试剂,0.1 mL 1 g/L 抗坏血酸溶液,盖上玻璃塞,混匀后再在 100  $^{\circ}\text{C}$  水浴加热 15 min(加热时封口),取出后冷却至室温。然后加入 5.0 mL 95% 乙醇,塞好塞子,摇匀试剂,使溶液颜色呈蓝紫色,再用 60% 乙醇稀释至 20 mL,在波长 570 nm 处测定其吸光度值,平行 3 次试验。

1.3.2.11 感官评价 随机邀请了食品学院的 30 名师生(女性 15 名,男性 15 名)对 5 组发酵至末期的 FAJ 进行感官评价。评价内容:甜味、酸味、涩味、芳香味、典型发酵味<sup>[22]</sup>和整体接受度 6 项,每项按风味强烈程度分为 5 个等级。其中甜味、酸味

和发酵味评价等级越适中表明 FAJ 的感官越好,即评价等级接近 3 越好,而偏低或偏高均会对 FAJ 的感官产生负面影响;涩味评价等级越低表明 FAJ 的感官越好,等级越高对 FAJ 的感官产生负面影响越大;芳香味和整体接受度的评价等级越高表明 FAJ 的感官越好。

1.3.2.12 电子鼻分析 借鉴 Zhang 等<sup>[19]</sup>的方法,采用便携式电子鼻设备 PEN3 (Insent Company, Japan)对 FAJ 的气味进行特征分析。用移液枪准确移取 15 mL 的 FAJ 于 50 mL 的离心管中,并用 3 层保鲜膜密封,在室温静置 25 min 后测定。该系统由一个采样装置、一种包含 10 个金属氧化物半导体型化学传感器阵列的探测器单元和用于数据记录与分析的模式识别软件 (Win-Muster) 3 部分共同组成<sup>[23]</sup>。10 个传感器对挥发物的响应特性如下:R1(芳香族化合物)、R2(氮氧化物)、R3(氨和芳香族化合物)、R4(氢类化合物)、R5(烯烃和芳香族化合物)、R6(烃类)、R7(硫化氢)、R8(醇和部分芳香族化合物)、R9(芳香族化合物和有机硫化物)、R10[烷烃(甲烷等)]<sup>[18]</sup>。

1.3.2.13 电子舌分析 参考 Zhang 等<sup>[19]</sup>的研究方法,利用电子舌(SA402B)对 FAJ 的滋味进行分析。电子舌系统包括 5 个测试传感器(CA0, CT0, AAE, C00, AE1)和 2 个参考传感器。CA0 是酸味传感器,CT0 是咸味传感器,AAE 是鲜味传感器,C00 是苦味传感器,AE1 是涩味传感器。取 15 mL 的 AJ 进行离心(4 500 r/min, 15 min),取 10 mL 上清液稀释至 60 mL,将样品稀释液装入 2 个 50 mL 样品杯中进行检测。

程序设置:1) 传感器清洗 3 次,设置时长为 90,120,120 s。2) 测试前,传感器平衡 30 s。3) 完成以上准备工作后,进行正式测样,测试时长 30 s。4) 测试后,产生相应的电信号数据,2 个参考传感器在基准液中浸洗 3 s,接着进行下一阶段的回味测试。5) 进行 4 次循环,删除第 1 次测定结果,保留后 3 次循环作为测定结果。

1.3.3 数据处理及分析方法 利用 Excel (Microsoft, Redmond, USA) 和 SPSS 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) 进行统计及方差分析。试验数据以“平均值 $\pm$ 标准差”(P < 0.05)表示,采用 Origin 2018.0 软件进行数据可视化分析。



## 2 结果与分析

### 2.1 5种益生菌在寒富苹果汁中的生长特性

生长曲线能够较好地反映益生菌在体系中的生长情况。图2是副干酪乳杆菌、植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、乳双歧杆菌和嗜酸乳杆菌在寒富苹果汁中的生长曲线。由图可以看出,28℃发酵时,0~40 h阶段是这5种益生菌的生长对数期,40~60 h时开始进入稳定期。与0 h相比,这5种益生菌的 $OD_{600nm}$ 值均显著增加,表明寒富苹果汁可以给这5种益生菌提供丰富的营养物质使得它们迅速生长,其中增加最显著的是植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌组。

### 2.2 5株益生菌在寒富苹果汁中的发酵特性

**2.2.1 乳酸菌菌落总数及酒精度分析** 发酵果汁中的乳酸菌菌落总数及酒精度含量均为重要的质量评价指标。其中,乳酸菌菌落总数在一定程度上可以反映它们在体系中的生存能力,影响产品的益生功能。而酒精度可以反映不同益生菌在该体系中的产醇能力,低醇可以满足发酵果蔬汁行业标准及市场对低醇发酵制品的需求。

图3是5种乳酸菌发酵至末期时FAJ中的乳酸菌菌落总数和酒精度。由图看出,乳酸菌活菌数依次是:乳双歧杆菌>鼠李糖乳杆菌>副干酪乳杆菌>嗜酸乳杆菌>植物乳杆菌,其中乳双歧杆菌组的FAJ中的乳酸菌菌落总数高于 $1 \times 10^7$  CFU/mL,鼠李糖乳杆菌和副干酪乳杆菌的乳酸菌菌落总数超过 $1 \times 10^6$  CFU/mL,以上这3组益生菌的菌落总数均满足果蔬发酵汁行业标准 QB/T 5356-2018 ( $>1 \times 10^5$  CFU/mL)<sup>[24]</sup>的要求,而植物乳杆菌组的乳酸菌菌落总数却低于 $1 \times 10^5$  CFU/mL。这5种益生菌所产酒精度含量依次是:嗜酸乳杆菌>植物乳杆菌>副干酪乳杆菌>乳双歧杆菌>鼠李糖乳杆菌组。其中,副干酪乳杆菌、乳双歧杆菌和鼠李糖乳杆菌这3组的FAJ中的酒精度较低,可以满足果蔬发酵汁行业标准要求<sup>[24]</sup>。

**2.2.2 浊度及色差分析** 浊度和色差对产品的感官品质有重要影响。图4是5种益生菌组的FAJ在7 d时的样品图,从左至右依次是:植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌组的样品。可以直观的看出植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌组FAJ与其余3组间的颜色及

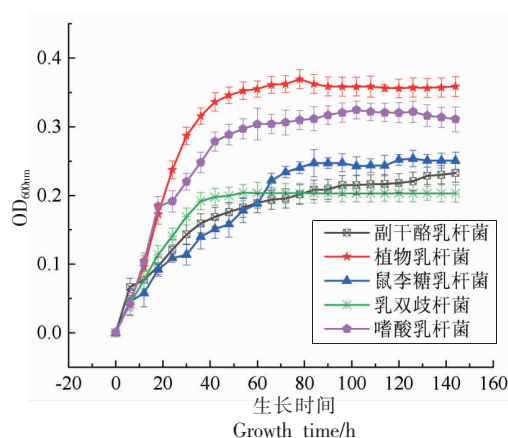
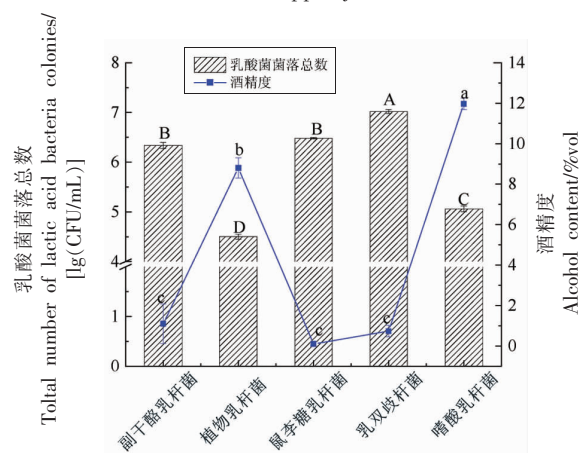


图2 5种益生菌在寒富苹果汁的生长曲线

Fig.2 Growth curves of five probiotics in Hanfu apple juice



注:不同小写字母表示组间具有差异显著( $P < 0.05$ )。

图3 5种益生菌发酵寒富苹果汁的菌落总数和酒精度

Fig.3 Total number of colonies and alcohol content of five probiotics fermented Hanfu apple juice

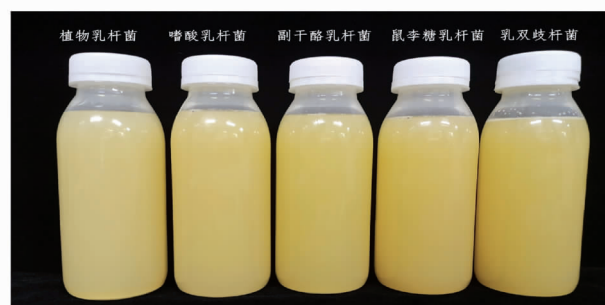


图4 5种益生菌发酵寒富苹果汁在发酵第7天时的样品图

Fig.4 Samples of five probiotics fermented Hanfu apple juice at 7 d

浊度存在显著差异。图5a是5种益生菌组FAJ的浊度变化。可以得出,随着发酵时间的延长,这5

组 FAJ 的浊度均显著增加, 其中增加最显著的是植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌组。浊度变化情况与 5 种益生菌在 FAJ 中的生长曲线变化相一致, 表明浊度与乳酸菌生长特性相关<sup>[25]</sup>, 而也受其代谢产物的影响。图 5b~5d 是 5 株乳酸菌单菌发酵的 FAJ 的色差变化。从中可以看出, 在发酵期间, FAJ 的  $L^*$  和  $b^*$  值增加, 而  $a^*$  值显著下降。 $L^*$  和  $b^*$  值均为正值, 表明随着发酵时间的延长, FAJ 的亮度值和黄色值增加;  $a^*$  值为负值, 表明在发酵期间, 其

绿色值增加。其中植物乳杆菌组的亮度值和绿色值增加最显著。FAJ 的亮度值增加, 可能与浊度值变化相关。FAJ 的黄色值增加, 是因为乳酸菌产生的酸类物质不断在 FAJ 中积累, 使得 FAJ 的酸度不断提高。Daccache 等<sup>[26]</sup>报道苹果中的色素主要是类胡萝卜素, 类胡萝卜素的双键在极酸性环境中容易发生顺式/反式异构化。在自然界中, 类胡萝卜素主要是反式异构, 它会增加果汁的黄色值<sup>[27]</sup>。

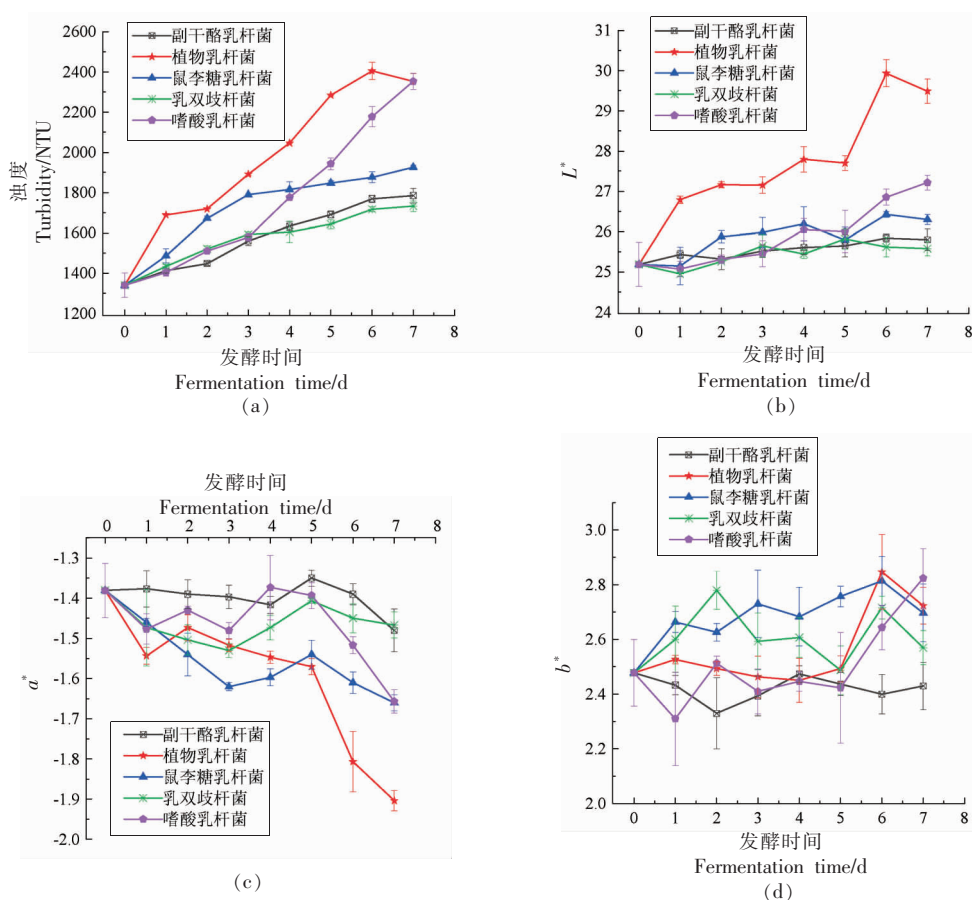


图 5 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的浊度和色差

Fig.5 Turbidity and color difference of five probiotics fermented Hanfu apple juice

2.2.3 碳源转化水平分析 益生菌在发酵果汁过程中需要不断地消耗碳源以补给生长所需的能量, 在此过程中会发生物质转化, 反映其碳转化能力的同时, 物质间的转化也会对产品品质产生影响。如图 6a 所示, FAJ 中的可溶性固形物随着发酵时间的延长不断下降, 这与大多相关研究结果相一致, 是由于益生菌在发酵期间需要消耗碳源

来供给自身能量所需<sup>[28]</sup>。其中, 嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组的可溶性固形物下降最为显著, 且显著高于乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌和副干酪乳杆菌。这种碳消耗水平可能与前文生长特性研究中的生长曲线及浊度相关。图 6b 是 FAJ 中还原糖的变化情况, 在发酵期间还原糖含量呈先增加后下降的趋势。还原糖含量在发酵前期增加, 是因为益生菌

将大分子多糖或外加的蔗糖分解成更易于消化吸收的单糖,使其含量增加<sup>[4]</sup>。发酵中后期还原糖含

量下降主要是因为分解产生单糖的速率逐渐小于自身消耗单糖的速率。

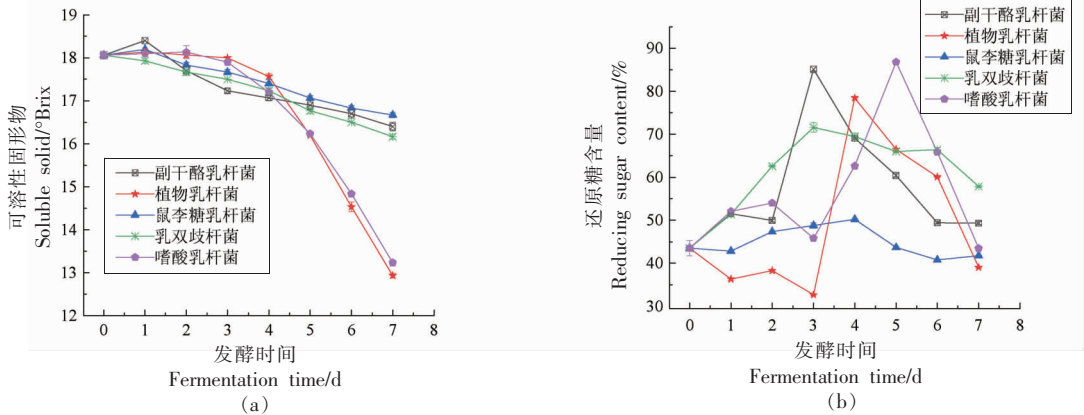


图 6 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的可溶性固形物和还原糖

Fig.6 Soluble solids and reducing sugars of five probiotics fermented Hanfu apple juice

2.2.4 产酸能力分析 益生菌在发酵过程中,消耗碳源的同时会产生酸类物质,同时酸类物质在它们的代谢作用下会发生转化,从而使体系中的酸含量及 pH 值发生变化,对产品的滋味产生影响。由图 7a 可以看出,发酵前期除植物乳杆菌组的可滴定酸含量略有上升以外,其它组的可滴定酸含量均下降,其中嗜酸乳杆菌组的可滴定酸含量在 0~1 d 下降,而乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌和副干酪乳杆菌组的可滴定酸含量在 0~2 d 下降。发酵 2 d 后 5 组的可滴定酸含量均显著增加,植物乳杆菌组的增加最显著。发酵后期各组的可滴定酸含量增加速度变缓,乳双歧杆菌和鼠李糖乳杆菌组维持动态平衡。图 7b 是发酵期间 FAJ 的

pH 值变化。植物乳杆菌组的 pH 值在 0~5 d 显著下降,而乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌和嗜酸乳杆菌 4 组的 pH 值均呈先上升后下降的趋势。其中,嗜酸乳杆菌组的 pH 值在 0~1 d 上升,1~5 d 显著下降;而乳双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌和副干酪乳杆菌这 3 组均在 0~2 d 上升,2~5 d 显著下降。5~7 d 期间,这 5 种益生菌发酵组的 FAJ 的 pH 值均保持动态平衡。发酵初期,可滴定酸含量下降及 pH 值上升,可能因为葡萄糖的分解比氨基酸的分解更复杂、更慢,乳酸菌会以蛋白质现成碳架作为碳源,这使得氨基酸分子的碳利用率快于氨基氮,从而导致氮在 FAJ 中的积累<sup>[29]</sup>。随后,可滴定酸含量增加且 pH 值下降,是因为乳酸

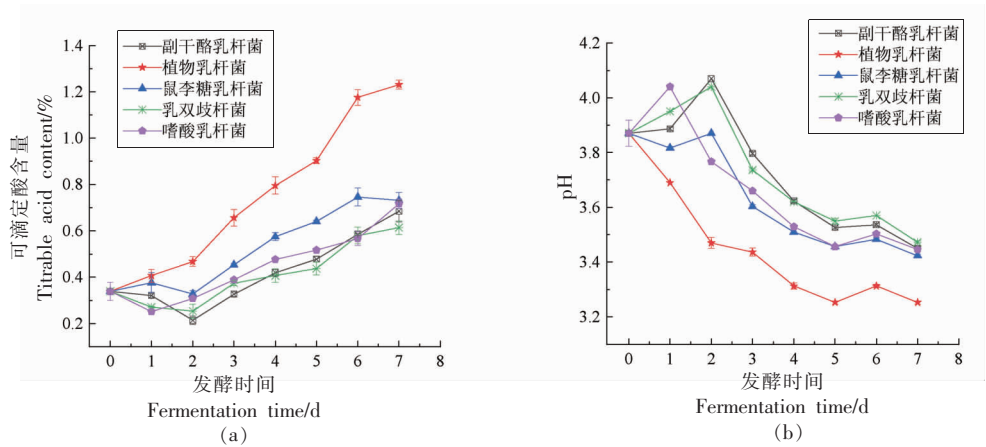


图 7 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的可滴定酸含量和 pH 值

Fig.7 Titratable acid content and pH value of five probiotics fermented Hanfu apple juice



菌利用可溶性固形物等碳源时,同时会代谢产生大量酸类物质<sup>[14]</sup>。发酵后期,可滴定酸含量和 pH 维持动态平衡,是由于发酵后期乳酸菌开始出现自溶现象,增加了氨基氮含量<sup>[30]</sup>。

**2.2.5 氨基酸含量分析** 益生菌在发酵果汁时,除了需要大量的碳源,还需要氮源来供给能量。图 8 可以得出,FAJ 中游离氨基酸含量经发酵后均有所下降,对比发酵前嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌这两组的下降最为显著。氨基酸含量下降是因为其作为氮源时被微生物生长消耗。FAJ 中的可溶性蛋白是主要的氮源,乳酸菌分解蛋白质产生易于消化吸收的氨基酸,这使得除植物乳杆菌组外,其余 4 组的游离氨基酸含量在发酵初期有略微的上升,之后由于微生物活力增加,其消耗游离氨基酸的含量大于产生的速率。发酵过程中,经过微生物代谢转化也丰富了 FAJ 中的氨基酸种类,使得 FAJ 的风味更加丰富<sup>[31]</sup>。

### 2.3 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的风味特性

**2.3.1 感官特性** 寒富苹果经不同益生菌发酵后,果汁的甜度、酸度、涩度、芳香味、发酵味和整体接受度等感官品质发生显著变化。图 9 是 5 种益生菌单菌发酵 FAJ 的感官评价结果,可以看出 FAJ 的甜味是鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌和乳双歧杆菌组的感官接受度较高,而嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组偏低。嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌发酵的 FAJ 酸味偏高,鼠李糖乳杆菌组较低,副干酪乳杆菌和乳双歧杆菌组适中。FAJ 的涩味是鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌和乳双歧杆菌组较低,而嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组偏高,对 FAJ 滋味的负面影响较大。FAJ 的芳香味是鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌和乳双歧杆菌组的芳香味较好,而嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组的芳香味偏低。副干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌组的发酵味适中,嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组的发酵味偏重,而乳双歧杆菌组的发酵味较低。FAJ 的整体接受度是副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌组的较高,是因为它们的甜味和酸味适宜,涩味较低,芳香味较高,发酵味也较适宜。而嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组的整体接受度较低,主要是它们的甜味和芳香味较低,酸味、涩味和发酵味偏重。可能是嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌的糖转化能力在 FAJ 中较高,

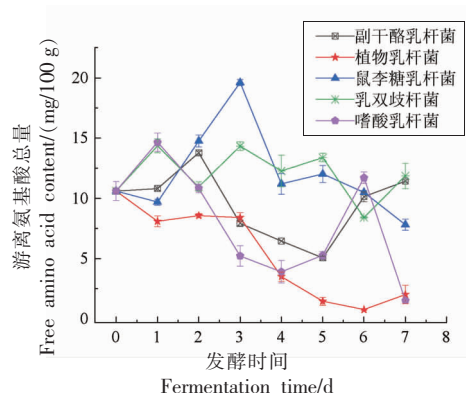


图 8 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的游离氨基酸总量

Fig.8 Total free amino acids of five probiotics fermented Hanfu apple juice

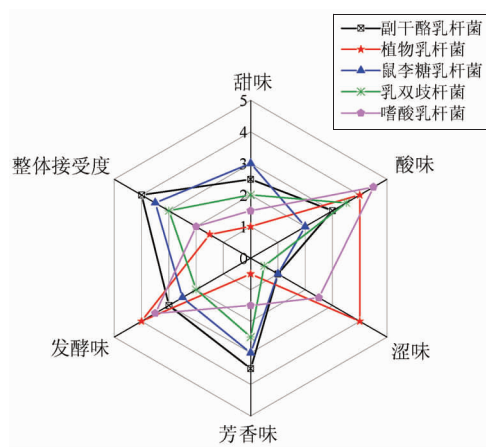


图 9 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的感官评价

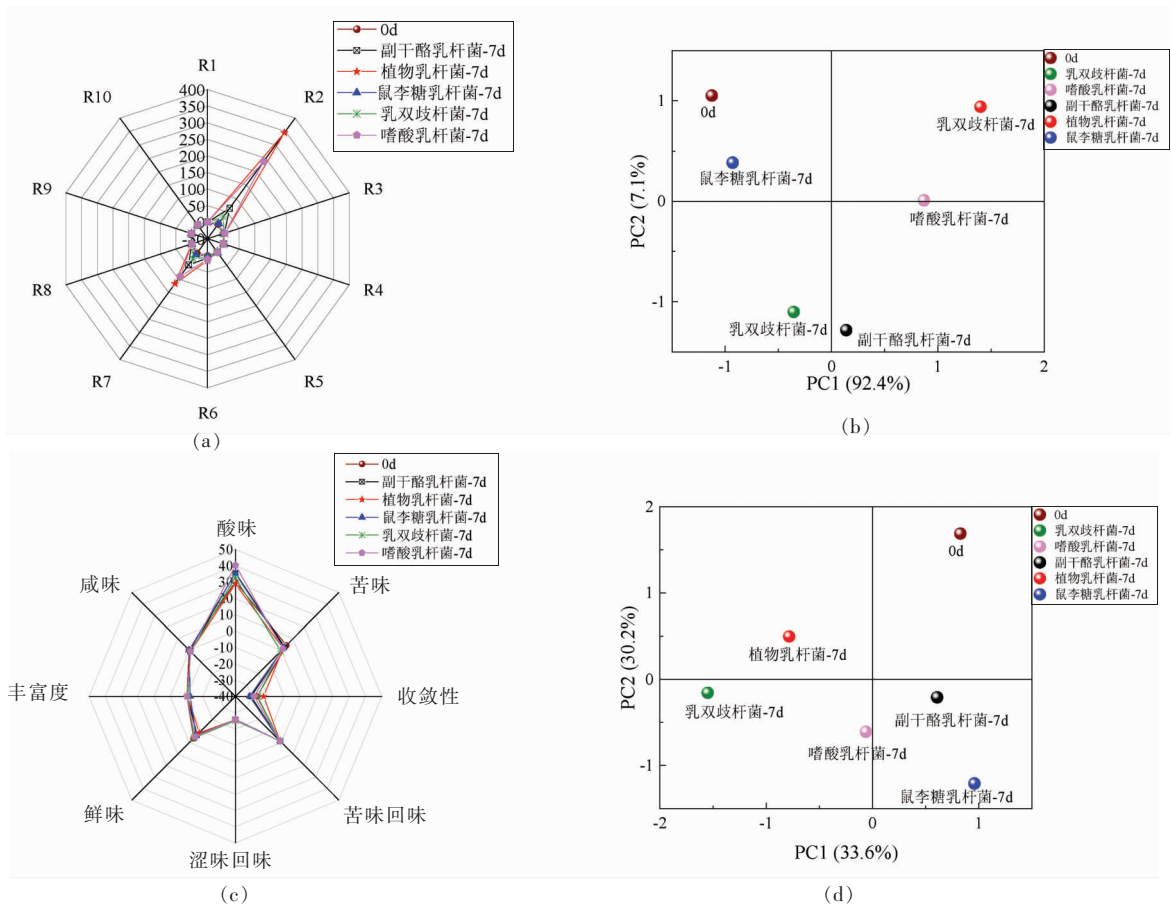
Fig.9 Sensory evaluation of five probiotics fermented Hanfu apple juice

使得 FAJ 中的糖类物质被消耗,产生大量酸类物质,同时代谢转化增加单宁或苦涩味氨基酸,从而影响 FAJ 的滋味及气味<sup>[31]</sup>。

**2.3.2 FAJ 的电子鼻和电子舌的结果分析** 寒富苹果汁经不同益生菌发酵后果汁的风味显著变化,电子鼻和电子舌可以快速分析产品的气味及滋味变化。图 10a 是 FAJ 的电子鼻分析雷达图,由图可以看出,传感器 R2(氮氧化物)和 R7(硫化氢)响应值增加最为显著。与第 0 天的 FAJ 相比,5 种益生菌发酵组 FAJ 的挥发性物质显著增加,其中 R2 和 R7 增加最为显著的是嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌组,其次是副干酪乳杆菌和乳双歧杆菌组,鼠李糖乳杆菌组增加较小。图 10b 是 FAJ 的电子鼻主成分分析图,可以看出,PC1 是 92.4% (大

于 25%,具有代表性),而 PC2 是 7.1%(小于 25%,不具有代表性)。从 PC1 可以看出经过 5 种益生菌发酵后的 FAJ 与 0 d 时的 FAJ 中挥发性物质间存在显著差异,同时 5 种益生菌单菌发酵组的 FAJ 间也存在显著差异。图 10c 是 FAJ 的电子舌分析雷达图,可以看出,经过发酵后 FAJ 的酸味增强,其中最强的是嗜酸乳杆菌组。酸味增加是因为乳酸菌代谢作用使有机酸含量增加的同时,有机酸种类也发生转变<sup>[32]</sup>。苦味经过发酵后有所下降,其中下降最为明显的是乳双歧杆菌组。经过发酵后,

除植物乳杆菌组的涩味显著增强,其它组变化较小。FAJ 中苦味物质的变化与乳酸菌代谢产生的有机酸、单宁类物质以及苦味氨基酸相关<sup>[16,33]</sup>。图 10d 是 FAJ 的电子舌主成分分析结果,可以看出,PC1 是 33.6%,PC2 是 30.2%,PC1 和 PC2 均大于 25%,均具有代表性。不论从 PC1 还是 PC2 来看,经 5 种益生菌发酵后 FAJ 的滋味与 0 d 时 FAJ 的滋味相比均存在显著差异。同时,5 种乳酸菌组间的 FAJ 滋味也明显不同。



注:a 和 c 是发酵果汁的电子鼻和电子舌传感器响应值雷达图,b 和 d 是发酵果汁的电子鼻和电子舌主成分图;  
图 a 中 R1~R10 的含义见 1.3.2.12 节。

图 10 5 种益生菌发酵寒富苹果汁的电子鼻和电子舌分析

Fig.10 Electronic nose and tongue analysis of five probiotics fermented Hanfu apple juice

### 3 结论

寒富苹果汁经 5 种益生菌发酵后,其浊度、 $L^*$ 、 $b^*$  和可滴定酸含量显著增加,可溶性固形物、pH 值明显下降,还原糖和游离氨基酸总量变化趋势有所差异。电子鼻和电子舌分析结果表明 FAJ

的挥发性物质中 R2(氮氧化物)和 R7(硫化氢)显著增加;滋味中酸味显著增强,涩味减弱;不同组之间的挥发性物质以及滋味均存在显著差异。在发酵末期,副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌 3 组 FAJ 的酒精度较低,且益生菌菌落总数



较高( $>10^6$  CFU/mL),能够较好地满足果蔬发酵汁行业标准要求。而且,副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌3组FAJ的游离氨基酸总量变化不大,感官评价整体接受度较高。总体来看,副干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌3种益生菌在寒富苹果汁中具有良好的发酵性能,发酵的果汁品质较好,较适用于寒富苹果汁发酵产品的开发。

### 参 考 文 献

- [1] 张秀凤,王军,李云芳. 乳酸菌维持人体肠道微生态平衡的作用及其机理[J]. 中国食物与营养, 2007(6): 59-61.  
ZHANG X F, WANG J, LI Y F. Effects of *Lactobacillus* on intestinal microecological balance and its mechanism[J]. Chinese Food and Nutrition, 2007(6): 59-61.
- [2] 袁起伟. 乳酸菌对小鼠巨噬细胞吞噬能力的影响及抗结肠癌作用的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.  
YUAN Q W. Effect of lactic acid bacteria on phagocytosis of mouse macrophages and its anti-colon cancer effect[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [3] LYE H S, ALIAS A K, RUSUL G, et al. Enhanced cholesterol removal ability of lactobacilli via alteration of membrane permeability upon ultraviolet radiation[J]. Annals of Microbiology, 2012, 62(4): 1709-1721.
- [4] LG B L. *Lactococcus lactis* as a live vector for mucosal delivery of therapeutic proteins[J]. Human Vaccines, 2009, 5(4): 264-267.
- [5] MARKKINEN N, PARIYANI R, JOKIOJA J, et al. NMR-based metabolomics approach on optimization of malolactic fermentation of sea buckthorn juice with *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Food Chemistry, 2021, 366: 130630.
- [6] 刘毓锋. 益生菌发酵水果饮料工艺及品质变化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.  
LIU Y F. Study on the process and quality change of probiotics fermented fruit drink[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [7] NAGPAL R, KUMAR A, KUMAR M. Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli[J]. Annals of Microbiology, 2012, 62(4): 1573-1578.
- [8] 张跃,何佳丽,李丽杰,等. 不同地区寒富苹果产量品质变化及其发展趋势——以中国知网、Nature和Springer等数据库文献为依据[J]. 沈阳农业大学学报(社会科学版), 2021, 23(2): 147-153.  
ZHANG Y, HE J L, LI L J, et al. Variation and development trend of yield and quality of cold-rich apple in different regions: Based on literatures from CNJI, Nature and Springer[J]. Journal of Shenyang Agricultural University (Social Science Edition), 2021, 23(2): 147-153.
- [9] 张肇为,周桐羽,周恩达,等. 辽宁沈阳‘寒富’苹果生产现状调查与发展建议[J]. 中国果树, 2019(1): 85-88.  
ZAHNG Z W, ZHOU T X, ZHOU E D, et al. Investigation and development suggestion on the production status of ‘Hanrich’ apple in Shenyang, Liaoning Province[J]. China Fruit Trees, 2019(1): 85-88.
- [10] SUN X, ZHANG Y, LI F, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on chemical compounds, antioxidant capacities and hypoglycemic properties of pumpkin juice[J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102126.
- [11] CUI S M, ZHAO N, LU W W, et al. Effect of different *Lactobacillus* species on volatile and non-volatile flavor compounds in juices fermentation[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(7): 2214-2223.
- [12] JIE Y, YUE S, TENGQI G, et al. Fermentation and storage characteristics of "Fuji" apple juice using *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*: Microbial growth, metabolism of bioactives and *in vitro* bioactivities[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 833906.
- [13] CHEN C, LU Y Q, YU H Y, et al. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice[J]. Food Bioscience, 2018, 27: 30-36.
- [14] PENG W Y, MENG D Q, YUE T L, et al. Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus fermentum*[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 127922.
- [15] 朱艳蕾. 细菌生长曲线测定实验方法的研究[J]. 微生物

- 物学杂志, 2016, 36(5): 108–112.
- ZHU Y L. Study on the experimental method of bacterial growth curve measurement [J]. Journal of Microbiology, 2016, 36(5): 108–112.
- [16] HASHEMI S M B, MOUSAVI K A, 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(1): 409–414.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 葡萄酒、果酒通用分析方法: GB/T 15038–2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 2, 24–42.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. General analytical method for wine and fruit wine: GB/T 15038–2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2006: 2, 24–42.
- [18] 沈雨思. 苹果浊汁云状颗粒果胶组分与特征风味化合物相互作用研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2021.
- SHEN Y S. Study on Interaction between pectin components and characteristic flavor compounds of cloud granules in apple juice[D]. Jinzhou: Bohai University, 2021.
- [19] ZHANG Y, ZHU D S, REN X J, et al. Quality changes and shelf-life prediction model of postharvest apples using partial least squares and artificial neural network analysis[J]. Food Chemistry, 2022, 394: 133526.
- [20] XIANG Q S, FAN L M, ZHANG R, et al. Effect of UVC light-emitting diodes on apple juice: Inactivation of *Zygosaccharomyces rouxii* and determination of quality[J]. Food Control, 2020, 111: 107082.
- [21] OUYANG Q, YANG Y C, WU J Z, et al. Measurement of total free amino acids content in black tea using electronic tongue technology coupled with chemometrics[J]. LWT, 2020, 118: 108768.
- [22] WANG X W, HAN M Z, ZHANG M N, et al. *In vitro* evaluation of the hypoglycemic properties of lactic acid bacteria and its fermentation adaptability in apple juice[J]. LWT, 2021, 136(2): 110363.
- [23] WU H, YUE T L, XU Z J, et al. Sensor array optimization and discrimination of apple juices according to variety by an electronic nose[J]. Analytical Methods, 2017, 9(6): 921–928.
- [24] 中华人民共和国工业和信息化部. 果蔬发酵汁: QB/T 5356–2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1–8.
- Ministry of Industry and Information Technology of the People's Republic of China. Fruit and vegetable fermented juice: QB/T 5356–2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 1–8.
- [25] TIAN Y, SUN L J, YANG Y L, et al. Changes in the physicochemical properties, aromas and polyphenols of not from concentrate (NFC) apple juice during production[J]. CyTA–Journal of Food, 2018, 16(1): 755–764.
- [26] DACCACHE M A, KOUBAA M, MAROUN R G, et al. Impact of the physicochemical composition and microbial diversity in apple juice fermentation process: A review[J]. Molecules, 2020, 25(16): 25163698.
- [27] PEREIRA A, MACIEL T C, RODRIGUES S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei* [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1276–1283.
- [28] 杨立启, 季坚, 黄海婵, 等. 植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* 15 对不同品种柑橘全果汁的发酵及其挥发性物质分析[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 203–209.
- YANG L Q, JI J, HUANG H C, et al. Fermentation and volatile compounds analysis of different citrus whole juice cultivars with *Lactobacillus plantarum* 15[J]. Food and Fermentation Industry, 2019, 45(8): 203–209.
- [29] HABIBI H, WINARTO H, SABIRIN M, et al. Molecular identification 16S rRNA gene of active proteolytic lactic acid bacteria (LAB) isolated from kelengkeng (*Dimocarpus longan*) fruit[J]. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 2019, 20(8): 200816.
- [30] ZHU Y Y, JIANG J, YUE Y, et al. Influence of mixed probiotics on the the bioactive composition, antioxidant activity and appearance of fermented red bayberry pomace[J]. LWT, 2020, 133(1): 110076.
- [31] MARKKINEN N, PARIYANI R, JOKIOJA J, et al. NMR-based metabolomics approach on optimization of malolactic fermentation of sea buckthorn juice with *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130630.
- [32] 李维妮. 苹果汁乳酸菌多菌协同发酵工艺优化与香

气分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.

LI W N. Process optimization and aroma analysis of lactic acid bacteria multi-bacteria cooperative fermentation of apple juice[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017.

[33] 邵齐. 乳酸菌发酵果蔬浆加工及藏期间品质的变化

研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.

SHAO Q. Study on processing and quality change of fruit and vegetable pulp fermented by lactic acid bacteria during storage[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.

## Studies on the Fermentation Properties of Hanfu Apple Juice by Five Probiotics

Zhu Danshi<sup>1</sup>, Wang Fangping<sup>1</sup>, Zhao Guocang<sup>2</sup>, Li Wei<sup>2</sup>, Cao Xuehui<sup>1</sup>, Li Jianrong<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Bohai University, National and Local Joint Engineering Research Center for Storage, Processing and Safety Control Technology of Fresh Agricultural Products, Jinzhou 121013, Liaoning

<sup>2</sup>Yunnan Huize Daocheng Development and Investment Group Co., Ltd., Qujing 654200, Yunnan)

**Abstract** Different probiotic fermentation can give different flavor and nutrient to juice. Five probiotics, including *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Lactobacillus acidophilus* were selected to ferment Hanfu apple juice in this study. Their fermentation characteristics in Hanfu apple juice and the influence on the flavor and nutritional quality of fermented apple juice (FAJ) were analyzed. The results showed that the sensory receptivity of apple juice fermented by *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Bifidobacterium lactis* were better, and the total number of lactic acid bacteria colonies after fermentation were higher than  $10^6$  CFU/mL, which met the industry standard of fruit and vegetable fermented juice. These three probiotics can give apple juice good flavor, and the total amount of free amino acids before and after fermentation has no significant change, maintaining at about 10 mg/100 g. Moreover, their alcohol production capacity is not strong and the acid production capacity is moderate, which can avoid the risk of post-acidification after FAJ. The results could provide some theoretical reference for the development of probiotic fermentation products of Hanfu apple juice.

**Keywords** Hanfu apple; probiotics; fermentation; fruit juice; quality