

## 猕猴桃酵素的乳酸菌和酵母菌发酵特性及成分变化

窦志霞<sup>1</sup>, 何兴芬<sup>1</sup>, 薛宇航<sup>1</sup>, 王伟军<sup>2</sup>, 李延华<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> 浙江工商大学食品与生物工程学院 杭州 310018

<sup>2</sup> 浙江农林大学暨阳学院 浙江诸暨 311800

<sup>3</sup> 浙江省微生物重点实验室 杭州 310018)

**摘要** 酵素中含有丰富的维生素、酶、矿物质和次生代谢产物等营养成分,是一种具有潜在保健功效的新型食品。将 6 种乳酸菌和 2 种酵母菌接种到华特猕猴桃原浆中发酵,检测益生菌发酵原浆过程中的成分变化。通过光谱学、色谱学技术分析发酵过程中的生物活性物质,结果表明:不同乳酸菌和酵母菌菌株对华特猕猴桃酵素的微生物菌数、理化特性及生物活性发挥重要作用,乳酸菌和酵母菌菌数在发酵第 5 天达到峰值,分别为(7.89~9.30) lg(CFU/mL)和(7.05~8.18) lg(CFU/mL),其中鼠李糖乳杆菌 LG0262 菌数达 9.30 lg(CFU/mL)。发酵结束后乳酸菌发酵组酸度比酵母菌发酵组高,乳酸菌发酵组 pH 值在 3.25~3.45 之间,酵母菌发酵组 pH 在 3.51~3.70 之间。华特猕猴桃酵素中可溶性固形物含量与乙醇质量浓度分别为(10.3~30.6)。Brix 和(13.55~50.82) mg/mL,二者呈正相关性( $R^2=0.963, P<0.01$ );GABA、多糖和有机酸的种类和浓度均有所增加,发酵第 60 天时,瑞士乳杆菌 LG4316、乳酸乳球菌 LG0827、植物乳杆菌 LG1034 酵素中多糖含量分别达到 0.30%, 0.30% 和 0.29%。乳酸、酒石酸、琥珀酸在植物乳杆菌 LG1034 酵素、鼠李糖乳杆菌 LG0262 酵素、酿酒酵母 J2861 酵素中浓度最高,分别达到 2 482.03, 1 842.18  $\mu\text{g/mL}$  和 168.78  $\mu\text{g/mL}$ 。

**关键词** 猕猴桃酵素; 乳酸菌; 酵母菌; 发酵特性; 成分

**文章编号** 1009-7848(2024)09-0322-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.09.030

酵素是以植物性食材为原料,人为添加或不添加微生物菌种,经人工或自然发酵而制得的一类含有生物活性成分,如丰富的酶、维生素、矿物质和次生代谢产物,对人体健康有益并可以调节机体健康的食品<sup>[1-2]</sup>。猕猴桃中含大量维生素 C、膳食纤维、钾、维生素 E 和叶酸等,以及一系列与营养健康有关的酶,其营养价值极高,深受消费者欢迎<sup>[3]</sup>。然而,猕猴桃为呼吸跃变型果实,贮藏困难,且小果猕猴桃通常因销量不佳而被遗弃在果园,不仅造成大量的自然资源浪费,而且被遗弃的幼果很容易成为病原体的宿主,加速果园疾病的传播,造成环境压力 and 经济损失。猕猴桃酵素的研究与开发具有重要的意义。

传统自然发酵工艺使用的菌种混杂、多样,导致产品发酵过程中易腐烂变质,产生毒素等问题。针对这些问题,研究者将目光投向筛选新型益生菌,并将其引入发酵食品加工过程<sup>[4]</sup>,从而提高产

品的应用品质以及发酵过程的可控性,适应工业化生产。乳酸菌和酵母菌是最具代表性的益生菌,具有发酵活性和益生菌特性,适用于酵素生产<sup>[5]</sup>。酵素发酵过程中的代谢反应不仅与发酵原料以及发酵条件有关,还与微生物的相互作用有关,在酵素发酵过程中不同微生物通过自身的代谢使发酵原料在分子水平上发生结构改变,产生很多复杂的中间代谢或交叉代谢产物<sup>[6]</sup>,这些功能性成分的产生可以赋予酵素某些特定的功能。本研究以浙江地区产的华特猕猴桃为原料,研究不同乳酸菌和酵母菌在酵素发酵过程中的发酵特性和成分的变变,旨在为猕猴桃酵素的开发和品质提升提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 华特猕猴桃,购自浙江省西南地区;乳酸菌和酵母菌,均由实验室保藏菌株;MRS、YPD 液体培养基,青岛海博生物技术有限公司;MRS、YPD 固体培养基,杭州微生物试剂有限公司;重铬酸钾(分析级),阿拉丁试剂(上海)有限公

收稿日期: 2023-09-20

基金项目: 浙江省科技厅重点研发项目(2019C02091)

第一作者: 窦志霞,女,硕士生

通信作者: 李延华 E-mail: liyanhua607@163.com

司;GABA标准品,上海源叶生物科技有限公司;磷酸(色谱级),上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇(分析级)、硼酸、谷氨酸钠(分析级),阿拉丁试剂(上海)有限公司;三乙胺(分析级)、四氢呋喃(分析级),上海凌峰化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器与设备 FiveGo 精密 pH 计,梅特勒-拉利多仪器(上海)有限公司;1260 高效液相色谱仪、C18 柱,安捷伦;H1850R 台式高速冷冻离心机,湖南湘仪有限公司;HH-4 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;KH-100DE 数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 菌种活化 乳酸菌、酵母菌以 1% 的接种量接种于 100 mL MRS、YPD 液体培养基中,分别于 37, 28 °C 下活化 14 h,再将它们传代到相应的固体培养基中获得单菌落,使用前挑取单菌落再次传代培养,菌液离心后取菌泥用蒸馏水再重悬清洗 3 次。

1.2.2 猕猴桃酵素的制备 猕猴桃酵素的制作参考蔡丽琴<sup>[7]</sup>的方法,制作 8 组接种发酵猕猴桃酵素,取华特猕猴桃按照 3.5% (V/V) 的接种量接种植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) LG1034、乳酸片球菌 (*Pediococcus lactis*) LG0259、鼠李糖乳杆菌 (*Bacillus rhamnosus*) LG0262、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) LG0827、瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) LG4316、马克斯克鲁维酵母 (*Kluyveromyces marxianus*) J2853、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) J2861,另设 1 组自然发酵,组别记为 HTL1、HTL2、HTL3、HTL4、HTL5、HTY1、HTY2、HTN。本研究所有样品制备和分析均一式 3 份。然后进行发酵,发酵结束后取发酵原液以 8 000 r/min 转速离心 5 min,取上清液于 -80 °C 保藏备用。

1.2.3 乳酸菌和酵母菌菌数测定 本试验参照 GB4789.35-2016《食品微生物学检验 乳酸菌检验》<sup>[8]</sup>、GB4789.15-2016《食品微生物学检验 霉菌和酵母检验》<sup>[9]</sup>进行活菌数的测定,并且采用固体培养基平板倾注法测定乳酸菌、酵母菌在猕猴桃酵素发酵过程中的活菌数。

1.2.4 pH 值和总酸度测定 pH 值测定参照 Kwaw 等<sup>[10]</sup>的方法。总酸测定参照 Sadler 等<sup>[11]</sup>的方

法,记录消耗 NaOH 标准滴定溶液的体积数值,总酸含量表示为乳酸质量与果汁体积之比(单位 g/L),计算公式如下:

$$TA = (0.1 \text{ mol/L} \times V_{\text{NaOH}} \times 90) / m \quad (1)$$

式中:  $V$  为 NaOH 的滴度体积, L;  $m$  为果汁的质量, g; 90 为乳酸的等效质量。

1.2.5 乙醇含量测定 参照林仁权等<sup>[12]</sup>的方法。具体操作:首先制备 5% 的重铬酸钾溶液和乙醇标准溶液,然后分别移取 0, 1, 2, 4, 6, 8 mL 乙醇标准溶液于 6 个 10 mL 比色管中,然后分别加入 2 mL 5% 的重铬酸钾溶液,再用超纯水定容 10 mL,混匀。在温度为 100 °C 的水浴锅中加热 10 min,流水冷却 5 min,以 1 号管做参照于 600 nm 处测定吸光度。根据结果制作标准曲线,得到标准方程。根据标准曲线计算样品中的乙醇含量。

1.2.6 固形物含量测定 固形物使用糖酸度测定仪进行测定。

1.2.7 粗多糖含量测定 参照何佩娟等<sup>[13]</sup>的方法。称取样品 0.2 g 于 25 mL 80% 乙醇,用超声提取器超声提取 30 min。提取结束后离心并弃去上清液,不溶物用 10 mL 80% 乙醇溶液洗涤、离心,重复 2 次。用水复溶上述不溶物于 120 W 超声提取 30 min 得样品测定液。取 1.0 mL 100 mg/L 标准葡萄糖溶液置于 20 mL 试管中,再向试液中加入 1.0 mL 5% 苯酚溶液,然后迅速加入 5 mL 硫酸,静置 10 min,混匀后 30 °C 水浴反应 20 min,于 490 nm 波长下测吸光度。制作标准曲线,得到标准方程。吸取 1.00 mL 样品测定液于 20 mL 试管中,按照上述步骤测定猕猴桃酵素粗多糖。设置不加样空白对照,根据标准方程计算结果。

1.2.8 SOD 活性分析 参照 GB5009.171-2003《保健食品中超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定》<sup>[14]</sup>中第一法修改的 Marklund 法测定。在 25 °C 左右,分别测定反应体系在 325 nm 波长条件下初始值和 1 min 后的吸光值,二者之差即邻苯三酚自氧化速率  $\Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$ 。适当调整样液浓度使其抑制邻苯三酚自氧化速率约为  $1/2 \Delta A_{325}(\text{min}^{-1})$ 。SOD 活力计算公式如下:

$$\text{SOD}(\text{U/mL}) = \frac{\Delta A_{325} - \Delta A'_{325}}{\Delta A_{325}} \times 100\% \times 4.5 \times \frac{1}{V} \times D \quad (2)$$

式中:  $\Delta A_{325}$  为邻苯三酚自氧化速率;  $\Delta A'_{325}$  为

样液及SOD液抑制邻苯三酚自氧化速率; $V$ 为所加酶液或样液体积,mL;4.5为反应液总体积; $D$ 为酶液或样液稀释倍数。

**1.2.9 GABA含量测定** 参照刘瑞<sup>[15]</sup>的方法测定。具体操作如下:衍生液由1 mL 0.1 g/mL OPA(溶于乙腈)、130  $\mu$ L 巯基乙醇和 8.87 mL 0.4 mol/L 硼酸缓冲溶液混合制备。0.4 mol/L 硼酸缓冲溶液:2.47 g/100 mL 硼酸溶液(pH 10.2 $\pm$ 0.02)。柱前衍生化通过将 100  $\mu$ L 衍生试剂与 40  $\mu$ L 提取物/标准溶液在室温下(22  $^{\circ}$ C)反应 2 min,经 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后将 20  $\mu$ L 衍生提取物注入 HPLC 柱(ZORBAX Eclipse XDB -C18 柱,4.6 mm  $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m)。流动相 A:配制 1 L 8.0 g/L 结晶乙酸钠溶液加入 220  $\mu$ L 三乙胺(pH 7.20 $\pm$ 0.02),再加入 5 mL 四氢呋喃,混合后过滤;流动相 B:8.0 g/L 乙酸钠溶液 (pH 7.20 $\pm$ 0.02):乙腈:甲醇=1:2:2 (V/V/V)混合后过滤。配制 1~100 mg/L GABA 标准使用液,构建标准曲线。

**1.2.10 有机酸含量测定** 采用 HPLC 技术对发酵汁中酒石酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸进行测定。配制 0.025~0.5 mg/mL 的苹果酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸标准液,0.0125~0.25 mg/mL 的酒石酸标准液,构建标准曲线。样品及标准液用 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤后进样,色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C18 柱,4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m;色谱条件:0.1%(V/V)磷酸溶液-甲醇=95:5(V/V)等度洗脱

10 min,然后用 5 min 让甲醇相达到 100%并平衡 5 min,再将流动相调整为 0.1%磷酸溶液-甲醇=95:5(V/V)的比例,平衡 5 min。柱温 40  $^{\circ}$ C、进样量 10  $\mu$ L、检测波长 210 nm、流速 0.8 mL/min。

1.3 数据统计分析

试验所得数据采用 Microsoft Excel 2016 统计和计算,数据结果表示为“平均值 $\pm$ 标准偏差”。数据结果使用 Origin 2021 b(Origin Lab,USA)进行分析和制图,使用 IBM SPSS Statistics 26 (IBM,USA)软件进行单因素 ANOVA 分析,采用 Tukey 检验计算  $P<0.05$  的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 发酵过程中菌数的变化

随着发酵的进行,华特猕猴桃酵素体系中菌种的数量发生变化。由表 1 可以看出,在发酵 60 d 以后,所有体系中供试菌株的菌数主要呈现先上升后下降的趋势,并与初始接种量有显著差异( $P<0.05$ )。乳酸菌和酵母菌菌数主要在第 5 天达到峰值,其中鼠李糖乳杆菌 LG0262 菌数 9.30 lg (CFU/mL)。这可能是因为体系前期碳源等营养物质充足使微生物迅速繁殖,后期营养物质逐渐耗尽,微生物也呈减少趋势。发酵结束时酵母菌发酵酵素中酵母菌菌数在 1.95~4.51 lg(CFU/mL)区间内,接种乳酸菌的酵素在发酵结束时乳酸菌数均维持在 2.75~6.29 lg(CFU/mL)范围内,对比可知

表 1 猕猴桃酵素发酵过程中乳酸菌和酵母菌菌数的变化

| Table 1 Growth of lactic acid bacteria and yeasts in fermented kiwifruit extract during the fermentation |                                 |                                |                                 |                                |                                 |                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 菌种                                                                                                       | 菌数/lg(CFU/mL)                   |                                |                                 |                                |                                 |                                |
|                                                                                                          | 1 d                             | 5 d                            | 10 d                            | 20 d                           | 30 d                            | 60 d                           |
| 乳酸菌                                                                                                      |                                 |                                |                                 |                                |                                 |                                |
| 植物乳杆菌 LG1034                                                                                             | 8.05 $\pm$ 0.02 <sup>b,A</sup>  | 8.61 $\pm$ 0.04 <sup>a,C</sup> | 7.35 $\pm$ 0.05 <sup>e,E</sup>  | 6.92 $\pm$ 0.20 <sup>d,C</sup> | 6.73 $\pm$ 0.01 <sup>d,C</sup>  | 3.75 $\pm$ 0.21 <sup>e,C</sup> |
| 乳酸片球菌 LG0259                                                                                             | 7.49 $\pm$ 0.01 <sup>c,B</sup>  | 8.61 $\pm$ 0.04 <sup>a,C</sup> | 8.39 $\pm$ 0.04 <sup>b,B</sup>  | 6.79 $\pm$ 0.16 <sup>d,C</sup> | 6.47 $\pm$ 0.01 <sup>d,D</sup>  | 4.05 $\pm$ 0.06 <sup>f,C</sup> |
| 鼠李糖乳杆菌 LG0262                                                                                            | 7.43 $\pm$ 0.09 <sup>c,B</sup>  | 9.30 $\pm$ 0.02 <sup>a,A</sup> | 7.71 $\pm$ 0.04 <sup>b,D</sup>  | 7.42 $\pm$ 0.11 <sup>c,B</sup> | 7.17 $\pm$ 0.05 <sup>d,B</sup>  | 4.95 $\pm$ 0.07 <sup>e,B</sup> |
| 乳酸乳球菌 LG0827                                                                                             | 7.41 $\pm$ 0.25 <sup>b,B</sup>  | 8.35 $\pm$ 0.14 <sup>a,C</sup> | 7.62 $\pm$ 0.02 <sup>b,DE</sup> | 7.43 $\pm$ 0.04 <sup>b,B</sup> | 3.95 $\pm$ 0.07 <sup>e,E</sup>  | 2.75 $\pm$ 0.08 <sup>d,D</sup> |
| 瑞士乳杆菌 LG4316                                                                                             | 7.65 $\pm$ 0.04 <sup>d,AB</sup> | 8.82 $\pm$ 0.01 <sup>a,B</sup> | 8.70 $\pm$ 0.14 <sup>ab,A</sup> | 8.45 $\pm$ 0.15 <sup>b,A</sup> | 8.09 $\pm$ 0.01 <sup>c,A</sup>  | 6.29 $\pm$ 0.23 <sup>e,A</sup> |
| 自然发酵 NL                                                                                                  | 2.28 $\pm$ 0.34 <sup>d,C</sup>  | 7.89 $\pm$ 0.08 <sup>a,D</sup> | 8.14 $\pm$ 0.04 <sup>a,C</sup>  | 6.67 $\pm$ 0.01 <sup>b,C</sup> | 6.36 $\pm$ 0.08 <sup>b,D</sup>  | 2.86 $\pm$ 0.07 <sup>e,D</sup> |
| 酵母菌                                                                                                      |                                 |                                |                                 |                                |                                 |                                |
| 马克斯克鲁维酵母 J2853                                                                                           | 7.84 $\pm$ 0.01 <sup>a,A</sup>  | 7.57 $\pm$ 0.02 <sup>a,B</sup> | 7.00 $\pm$ 0.06 <sup>a,B</sup>  | 7.25 $\pm$ 0.06 <sup>a,B</sup> | 3.67 $\pm$ 0.95 <sup>b,B</sup>  | 1.95 $\pm$ 0.55 <sup>e,B</sup> |
| 酿酒酵母 J2861                                                                                               | 7.92 $\pm$ 0.08 <sup>a,A</sup>  | 8.18 $\pm$ 0.11 <sup>a,A</sup> | 8.05 $\pm$ 0.02 <sup>a,A</sup>  | 8.00 $\pm$ 0.00 <sup>a,A</sup> | 6.70 $\pm$ 0.07 <sup>b,A</sup>  | 4.51 $\pm$ 0.39 <sup>e,A</sup> |
| 自然发酵 NY                                                                                                  | 2.82 $\pm$ 0.06 <sup>c,B</sup>  | 7.05 $\pm$ 0.21 <sup>a,C</sup> | 6.55 $\pm$ 0.35 <sup>a,B</sup>  | 6.31 $\pm$ 0.26 <sup>a,C</sup> | 5.19 $\pm$ 0.13 <sup>b,AB</sup> | 3.05 $\pm$ 0.03 <sup>c,B</sup> |

注:不同上标大写字母代表列之间的显著性( $P<0.05$ );不同上标小写字母代表行之间的显著性( $P<0.05$ )。



发酵后期酵母菌数量较乳酸菌少，可能是因为发酵后期体系酸度增大，乳酸菌在 pH 值 3.5 以下活性仍较强，而酵母菌、霉菌最适 pH 值范围为 5~6，耐酸能力较差的酵母菌数量减少，甚至消失。由表 1 中的数据可以发现在酵母菌组的发酵过程中马克斯克鲁维酵母 J2853 的数量少于酿酒酵母 J2861，这主要是因为马克斯克鲁维酵母 J2853 是非酿酒酵母，其生长速率和生长数量均较酿酒酵母低<sup>[16]</sup>。监测发酵过程中微生物数量可以为确定产品货架期以及探究各类生物活性物质的转化路径提供理论依据。

2.2 发酵过程中 pH 值和总酸度的变化

pH 值和酸度是反映酵素整体发酵状况的理化指标<sup>[17]</sup>。如图 1 所示，在乳酸菌和酵母菌发酵的酵素中 pH 值的变化主要呈先下降后上升再缓慢下降趋势，酸度变化规律与 pH 值基本对应，发酵结束后样品的酸度均高于初始酸度。发酵结束时

由瑞士乳杆菌 LG4316 发酵的猕猴桃酵素酸度最高。酵母菌组初期 pH 值下降、酸度急剧增加可能为兼性厌氧酵母菌需氧发酵并大量增殖，将大分子的糖发酵成葡萄糖、果糖、乙醇等，由于原料未灭菌，内含一些醋酸菌、乳酸菌将小分子的糖又转化为酸。乳酸菌组中的乳酸菌在无氧条件下将葡萄糖或乳糖转化成乳酸等有机酸，也导致体系短时间内酸度有所下降。由图 1 可知，第 20 天以后酵母菌数量减少，醇类物质产生较少导致酯类物质转化少，酸类物质累积，且乳酸菌、醋酸菌数量还较高，体系中不断有被转化的酸类产生又使酸度有所提高。发酵结束后乳酸菌发酵组 pH 值在 3.25~3.45 之间，酵母菌发酵组 pH 值在 3.51~3.70 之间，可知乳酸菌发酵组酸度比酵母菌发酵组高。这与 Basinskiene 等<sup>[18]</sup>的观点乳酸菌发酵饮料比酵母菌发酵饮料有更低 pH 值和乙醇体积分数一致。

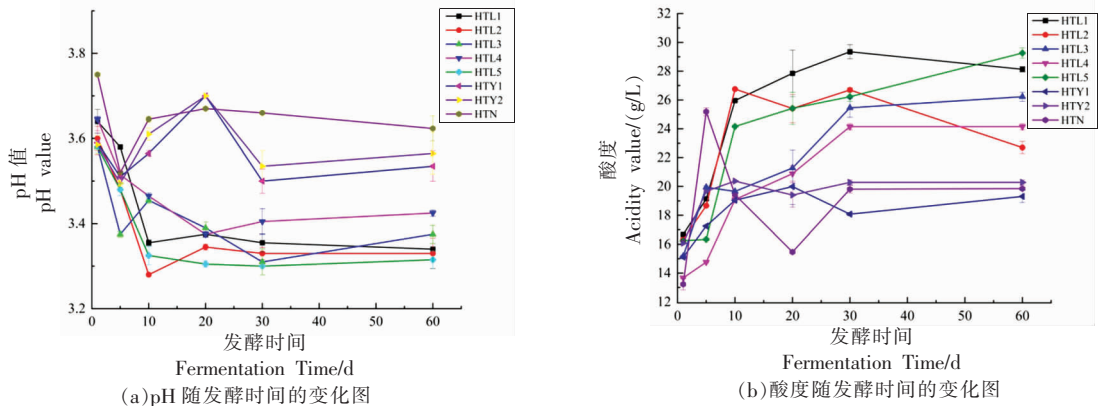


图 1 猕猴桃酵素发酵过程中 pH 值和酸度随发酵时间的变化

Fig.1 Change of pH and acidity value in fermented kiwifruit extract during the fermentation time

2.3 发酵过程中固形物含量的变化

发酵过程中的固形物主要是指可溶性糖类，包括单糖、双糖、多糖<sup>[19]</sup>。如图 2 所示，各组固形物含量在发酵过程中主要呈持续下降趋势，在前 30 d 下降速度较快，后 30 d 趋于平稳，但是所有酵素组发酵结束后固形物含量均保留在 10~15°Brix 之间。可溶性固形物作为微生物的营养基质，其含量的变化趋势和微生物菌数变化趋势呈正比关系，由图 2 可知前 30 d 固形物含量较高，则其微生物菌数也较多。

2.4 发酵过程中乙醇含量的变化

乙醇是酵素无氧发酵过程中生成的一种代谢产物，它不仅影响酵素产品的风味口感，还是影响酵素质量的一个重要指标<sup>[20]</sup>。由图 3 可知，在各组猕猴桃酵素的发酵过程中乙醇含量主要呈下降趋势，在后 30 d 乙醇含量变化比较缓慢，发酵结束时各组乙醇含量相差不大。乳酸菌发酵组由于本底微生物的存在也产生较多乙醇，乳酸乳球菌 LG0827 接种组乙醇含量在发酵初期和发酵末期均处在一个较高的水平，表明其和酵母菌能较好

的共生。部分乳酸菌组乙醇含量在第5~10天有一个上升,分析其原因可能为在乳酸菌发酵组中酵母菌同时也在生长,在第5~10天,这些组内的酵

母菌数达到峰值。在本试验中可溶性固形物与乙醇含量呈正相关性( $R^2=0.963, P<0.01$ ),主要原因为可溶性固形物是乙醇产生的前体物质。

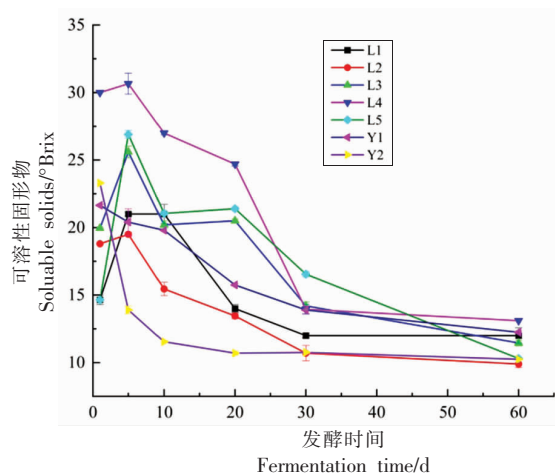


图2 猕猴桃酵素中可溶性固形物含量随发酵时间的变化

Fig.2 Change of soluble solids content in fermented kiwifruit extract during the fermentation time

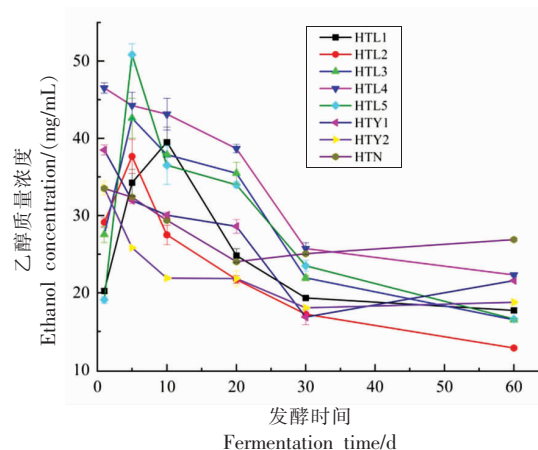


图3 猕猴桃酵素中乙醇含量随发酵时间的变化

Fig.3 Changes of ethanol content in fermented kiwifruit extract during the fermentation time

## 2.5 发酵过程中粗多糖含量的变化

在产生多糖的微生物中,乳酸菌和酵母菌对健康没有危害,被普遍认为是安全的。经测定葡萄糖标准曲线为 $y=5.6022x+0.0358 (R^2=0.991)$ 。从图4可以看出各组接种乳酸菌和酵母菌的猕猴桃酵素中多糖含量主要呈先下降后上升的趋势,而自然发酵的猕猴桃酵素则呈现上升后下降的趋势,且发酵结束后各组接种发酵样品中多糖含量均高于自然发酵的样品,说明接种的乳酸菌和酵母菌在发酵后期具有一定的产胞外多糖能力。有研究表明瑞士乳杆菌(*Lb. helveticus*)<sup>[21]</sup>、鼠李糖乳杆菌(*Lb. rhamnosus*)<sup>[22]</sup>、植物乳杆菌(*Lb. plantarum*)<sup>[23]</sup>、乳酸乳球菌(*Lc. lactis subsp. lactis*)<sup>[24]</sup>、片球菌(*Pediococcus*)<sup>[25]</sup>等均能产胞外多糖。HTL5、HTL4、HTL1组在第60d时多糖含量最高,分别达到0.30%、0.30%、0.29%,表明瑞士乳杆菌LG4316、乳酸乳球菌LG0827、植物乳杆菌LG1034在发酵过程中可能产生一定量的胞外多糖。

## 2.6 发酵过程中SOD活性的变化

酵素在发酵过程中会产生多种功效酶类,其中SOD常被用来衡量食用植物酵素酶活性的高低<sup>[26]</sup>,如图5所示各组的SOD活性均呈先增长后

降低的趋势,各组发酵猕猴桃汁SOD活性在第5~20天内达到最高,然后逐渐减少,与李亚辉等<sup>[27]</sup>检测发现山药果蔬发酵液SOD活性随发酵时间的延长逐渐升高且在10d后趋于稳定的试验结果具有一致性。分析原因可能是因为前10d是各组微生物最活跃时期,微生物会代谢产生SOD,后期微生物逐渐减少,SOD含量也随之减少。有研究也曾表明SOD与细菌数量密切相关( $R^2=0.624, P<0.001$ )<sup>[28]</sup>,酵母菌和乳酸菌可以通过产生SOD、GSH-Px、NADH氧化酶和NADH过氧化酶等抗氧化酶类清除活性氧<sup>[29-30]</sup>。

在猕猴桃发酵组中HTL3组的SOD活性在第5天时到达峰值( $5322.58\pm273.12$ )U/mL,较先前所报道的数据高,如:张江巍等<sup>[31]</sup>检测到乳酸菌L4无细胞提取物SOD活性为( $73.70\pm1.77$ )U/mg,洪厚胜等<sup>[32]</sup>优化葡萄果渣酵素发酵条件检测到SOD活力最高为988U/mL,这在一定程度上也说明了鼠李糖乳杆菌LG0262具有较好的产SOD能力。

## 2.7 发酵过程中GABA含量的变化

GABA广泛存在于微生物、植物和动物中,经测定GABA的标准曲线为 $y=15.008x-56.35 (R^2=0.9995)$ 。华特猕猴桃原料中未检出含有GABA。

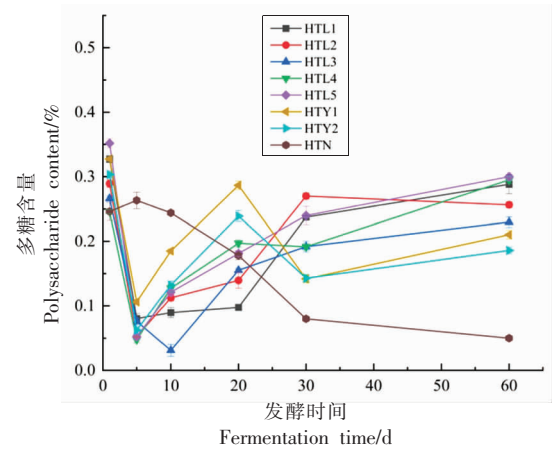


图 4 猕猴桃酵素中多糖含量随发酵时间的变化  
Fig.4 Changes of the polysaccharide content in fermented kiwifruit extract during the fermentation

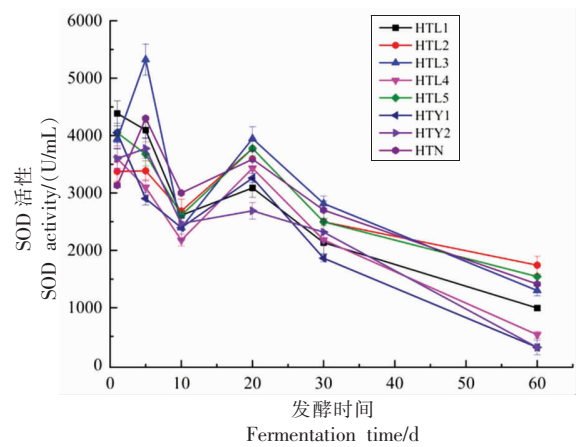
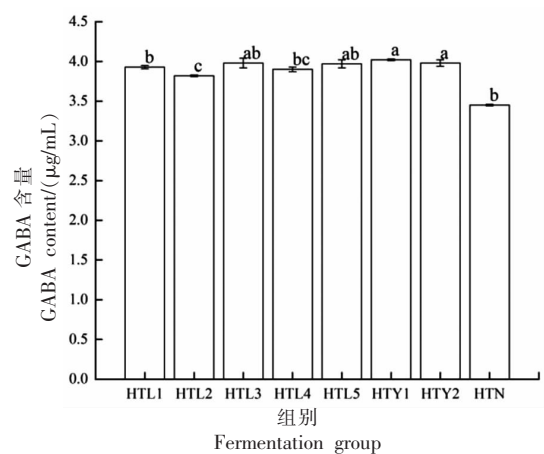


图 5 猕猴桃酵素中 SOD 活性随发酵时间的变化  
Fig.5 Changes of SOD activity in fermented kiwifruit extract during the fermentation

但是图 6 表明了通过接种发酵和自然发酵以后各组均含有 GABA,其中马克斯克鲁维酵母 J2853 接种发酵的猕猴桃酵素 GABA 含量最高,为 $(4.02\pm 0.01)\mu\text{g/mL}$ 。然而与其他文献结果比较本研究中猕猴桃酵素中的 GABA 含量仍偏低,如刘佳荣<sup>[33]</sup>进行培养条件优化后得到实际 GABA 产量为 $12.863\text{ g/L}$ 的菌种发酵液。GABA 主要是由谷氨酸经 GAD 系统产生<sup>[34]</sup>,猜测在以植物为原料的发酵体系中 GABA 的产生主要与菌种差异和原料是否高含谷氨酸及其钠盐有关,这与 Kim 等<sup>[35]</sup>发现发酵产生 GABA 的量主要取决于接种乳酸菌菌株的类型有一致性。有研究表明从传统奶酪或商业奶酪中分离出的副干酪乳杆菌,植物乳杆菌,德氏乳杆菌保加利亚亚种和乳酸乳球菌表现 GABA 生产能力。也有研究人员发现异常毕赤酵母 MR-1 有高产 GABA 能力,产量达 $1.200\text{ g/L}$ <sup>[36]</sup>。接种发酵组 GABA 含量较自然发酵组有提高,因此应用 LAB 和酵母菌发酵果汁能够提升果汁中 GABA 的含量。

2.8 发酵过程中有机酸含量的变化

猕猴桃中含有丰富的有机酸,采用 HPLC 检测样品中有机酸,所测有机酸的标准曲线见表 2。通过计算分析发现原料主要的有机酸为苹果酸、柠檬酸(表 3),发酵 60 d 后的乳酸菌发酵和自然发酵猕猴桃酵素主要有机酸仍为苹果酸,同时酒石酸和乳酸含量也有所增加,酵母菌发酵猕猴桃



注:不同上标小写字母代表组别之间的显著性( $P<0.05$ )。  
图 6 发酵 60 d 猕猴桃酵素中 GABA 含量  
Fig.6 GABA content in kiwifruit enzyme fermented for 60 days

| 表 2 各有机酸标准曲线                                |                                 |                    |        |
|---------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------|
| Table 2 Standard curve of each organic acid |                                 |                    |        |
| 有机酸                                         | 质量浓度范围/<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | 标准方程               | $R^2$  |
| 酒石酸                                         | 10~250                          | $y=1.1604x+0.1164$ | 1      |
| 苹果酸                                         | 25~500                          | $y=0.6047x-0.9626$ | 1      |
| 乳酸                                          | 25~500                          | $y=0.5447x+0.4402$ | 1      |
| 柠檬酸                                         | 25~500                          | $y=0.8094x-1.4108$ | 1      |
| 琥珀酸                                         | 25~500                          | $y=0.4325x-1.2971$ | 0.9999 |

酵素中主要有机酸是酒石酸和柠檬酸<sup>[37]</sup>。乳酸是乳酸发酵过程中产生的最具代表性的有机酸,乳酸菌发酵产生大量乳酸,使得乳酸成为乳酸菌发酵酵素中含量最高的有机酸。由前面的研究结果表明 HTL1、HTL3、HTL5 中乳酸菌数量明显较其它组高,相对应的 HTL1、HTL3、HTL5 中乳酸含量也显著高于其它组 ( $P<0.05$ ),可见植物乳杆菌 LG1034、鼠李糖乳杆菌 LG0262 和瑞士乳杆菌 LG4316 不仅是猕猴桃酵素体系生长能力最佳得菌种,也是产乳酸能力较好的菌种。

发酵后各组柠檬酸含量均显著下降,在体系中柠檬酸充足的情况下,柠檬酸可以通过柠檬酸裂解酶转化为草酰乙酸和乙酸,草酰乙酸可以脱羧转化为丙酮酸<sup>[38]</sup>,因此微生物可以通过柠檬酸-

丙酮酸循环将柠檬酸作为碳源利用。由表 4 可知柠檬酸、苹果酸和琥珀酸具有极其显著的正相关性(柠檬酸和苹果酸  $R^2=0.991, P<0.01$ ; 柠檬酸和琥珀酸  $R^2=0.922, P<0.01$ ; 苹果酸和琥珀酸  $R^2=0.913, P<0.01$ )。在三羧酸循环中,柠檬酸经过两次脱氢和一次底物水平磷酸化转化为琥珀酸,琥珀酸再经脱氢和水化转变为苹果酸,苹果酸最后经苹果酸脱氢酶转化为草酰乙酸,成为合成其它物质的前体物质。在三羧酸循环和柠檬酸-丙酮酸循环中,柠檬酸和苹果酸均参与其中互相转化,而琥珀酸不参与柠檬酸-丙酮酸循环。因此,柠檬酸和苹果酸具有更高得相关性,试验结果与理论依据具有一致性。

表 3 猕猴桃原料及发酵 60 d 时各组有机酸含量  
Table 3 Organic acid concentration of the fresh kiwifruit and the fermented Huate kiwifruit extract with 60 days fermentation

| 组别   | 有机酸质量浓度/( $\mu\text{g/mL}$ )         |                                    |                                   |                                    |                                 |
|------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|      | 酒石酸                                  | 苹果酸                                | 乳酸                                | 柠檬酸                                | 琥珀酸                             |
| M    | 1 311.12 $\pm$ 140.15 <sup>D</sup>   | 19 702.6 $\pm$ 65.02 <sup>A</sup>  | 21.86 $\pm$ 6.1 <sup>H</sup>      | 2 208.32 $\pm$ 29.53 <sup>A</sup>  | nd                              |
| HTL1 | 1 777.55 $\pm$ 21.02 <sup>AB</sup>   | 3 842.59 $\pm$ 131.32 <sup>D</sup> | 2 482.03 $\pm$ 3.12 <sup>A</sup>  | 1 601.69 $\pm$ 31.45 <sup>B</sup>  | 42.42 $\pm$ 1.14 <sup>CD</sup>  |
| HTL2 | 925.47 $\pm$ 21.33 <sup>E</sup>      | 6 161.51 $\pm$ 237.14 <sup>B</sup> | 539.67 $\pm$ 16.62 <sup>E</sup>   | 445.47 $\pm$ 2.88 <sup>F</sup>     | 88.90 $\pm$ 0.49 <sup>B</sup>   |
| HTL3 | 1 842.18 $\pm$ 50.27 <sup>A</sup>    | 5 267.76 $\pm$ 151.90 <sup>C</sup> | 1 893.26 $\pm$ 9.35 <sup>C</sup>  | 1 301.97 $\pm$ 23.06 <sup>D</sup>  | 24.96 $\pm$ 1.63 <sup>E</sup>   |
| HTL4 | 1 482.82 $\pm$ 24.68 <sup>BCD</sup>  | 1 687.39 $\pm$ 143.60 <sup>E</sup> | 1 333.69 $\pm$ 0.78 <sup>D</sup>  | 1 094.34 $\pm$ 9.70 <sup>E</sup>   | 56.99 $\pm$ 13.90 <sup>C</sup>  |
| HTL5 | 1 640.53 $\pm$ 19.19 <sup>ABC</sup>  | 5 608.92 $\pm$ 187.68 <sup>C</sup> | 2 158.27 $\pm$ 8.44 <sup>B</sup>  | 1 093.29 $\pm$ 5.77 <sup>E</sup>   | 38.84 $\pm$ 17.00 <sup>DE</sup> |
| HTY1 | 1 701.50 $\pm$ 8.53 <sup>ABC</sup>   | 1 492.41 $\pm$ 13.33 <sup>E</sup>  | 484.05 $\pm$ 2.34 <sup>F</sup>    | 1 529.48 $\pm$ 17.73 <sup>CD</sup> | 99.42 $\pm$ 1.31 <sup>B</sup>   |
| HTY2 | 1 536.90 $\pm$ 261.42 <sup>BCD</sup> | 711.12 $\pm$ 262.75 <sup>F</sup>   | 146.89 $\pm$ 0.65 <sup>C</sup>    | 1 647.28 $\pm$ 20.79 <sup>B</sup>  | 168.78 $\pm$ 8.17 <sup>A</sup>  |
| HTN  | 845.67 $\pm$ 15.89 <sup>F</sup>      | 3 798.46 $\pm$ 45.86 <sup>D</sup>  | 1 367.57 $\pm$ 24.67 <sup>D</sup> | 1 396.96 $\pm$ 15.47 <sup>D</sup>  | 68.90 $\pm$ 7.49 <sup>C</sup>   |

注:nd 表示未检出;不同上标大写字母代表列之间的显著性( $P<0.05$ )。

表 4 不同有机酸之间的相关性  
Table 4 Correlation between organic acids in the fermented kiwifruit extract

|     | 酒石酸     | 苹果酸     | 乳酸      | 柠檬酸     | 琥珀酸 |
|-----|---------|---------|---------|---------|-----|
| 酒石酸 | 1       |         |         |         |     |
| 苹果酸 | -0.454* | 1       |         |         |     |
| 乳酸  | 0.134   | -0.522* | 1       |         |     |
| 柠檬酸 | -0.432  | 0.991** | -0.546* | 1       |     |
| 琥珀酸 | -0.456* | 0.913** | -0.353  | 0.922** | 1   |

注:\*.相关性显著( $P<0.05$ );\*\*.相关性极显著( $P<0.01$ )。

3 结论

通过不同的乳酸菌和酵母菌发酵猕猴桃酵素,研究发酵过程中生物活性物质和有机酸等组分在体系中的转化。发酵过程中乳酸菌和酵母菌

的菌数主要呈现先上升后下降的趋势,并与初始接种量有显著差异。酸度变化规律与 pH 值变化基本相对应,主要呈现先下降后上升再缓慢下降的趋势。相关性分析表明猕猴桃酵素中的可溶性固



形物与乙醇含量呈正相关性,由于可溶性固形物是乙醇产生的前体物质,体系中可溶性固形物和乙醇含量均有下降的趋势。同时,乳酸菌和酵母菌发酵可增加猕猴桃酵素中的GABA、多糖和有机酸的浓度。因此,酵素生产中可结合乳酸菌和酵母菌的发酵特性和代谢组分的差异性选择性能稳定,品质突出,适应市场化、工业化需求的酵素发酵剂。

### 参 考 文 献

- [1] 杨彬彦,党娅,尤丽. 蓝莓酵素功能特性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(23): 328-336.  
YANG B Y, DANG Y, YOU L. Research progress on the functional characteristics of blueberry enzymes[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(23): 328-336.
- [2] 李东红,李雪龙,李晶,等. 黑枸杞本草酵素的制备及功能研究[J]. 食品工业, 2022, 43(8): 63-68.  
LI D H, LI X L, LI J, et al. Preparation and functional study of black Goji berry herbal enzymes[J]. Food Industry, 2022, 43(8): 63-68.
- [3] AMINA A, LI T, TANZEELA N, et al. Polyphenols and pectin enriched golden kiwifruit (*Actinidia chinensis*) alleviates high fructose-induced glucolipid disorders and hepatic oxidative damage in rats: in association with improvement of fatty acids metabolism[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(5): 1872-1884.
- [4] ALOYS N, ANGELINE N. Traditional fermented foods and beverages in Burundi[J]. Food Research International, 2009, 42(5): 588-594.
- [5] BENINCASA C, MUCCILLI S, AMENTA M, et al. Phenolic trend and hygienic quality of green table olives fermented with *Lactobacillus plantarum* starter culture[J]. Food Chemistry, 2015, 186(1): 271-276.
- [6] 陈林,苏珊,吴应梅,等. 红阳猕猴桃酵素发酵工艺优化及其体外抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(4): 224-233.  
CHEN L, SU S, WU Y M, et al. Optimization of fermentation process and in vitro antioxidant activity of Red Yang Kiwifruit enzyme[J]. Modern Food Technology, 2021, 37(4): 224-233.
- [7] 蔡丽琴. 猕猴桃酵素发酵过程中代谢产物变化规律研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2022.
- CAI L Q. Study on the changes of metabolites during kiwifruit enzyme fermentation process[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2022.
- [8] 中华人民共和国国家标准. 食品微生物学检验 乳酸菌检验: GB 4789.35-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.  
National Standards of the People's Republic of China. Microbiological examination of food - Examination of lactic acid bacteria: GB 4789.35-2016[S]. Beijing: China Standards Publishing House, 2016.
- [9] 中华人民共和国国家标准. 食品微生物学检验 霉菌和酵母检验: GB 4789.15-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.  
National Standards of the People's Republic of China. Microbiological examination of food-Examination of mold and yeast: GB 4789.15-2016[S]. Beijing: China Standards Publishing House, 2016.
- [10] KWAU E, MA Y K, TCHABO W, et al. Ultrasonication effects on the phytochemical, volatile and sensorial characteristics of lactic acid fermented mulberry juice[J]. Food Bioscience, 2018, 24(8): 17-25.
- [11] SADLER G D, MURPHY P A. An *in vitro* investigation of the initial pH and titratable acidity of a selection of fruit smoothies[J]. Dental update, 2011, 38(9): 604-606, 608-609.
- [12] 林仁权,胡文兰,陈国亮. 重铬酸钾氧化分光光度法测定酒中乙醇含量[J]. 预防医学, 2006, 18(3): 78-79.  
LIN R Q, HU W L, CHEN G L. Determination of ethanol content in wine by potassium dichromate oxidation spectrophotometry[J]. Preventive Medicine, 2006, 18(3): 78-79.
- [13] 何佩娟,张宇洁. 多糖含量测定的方法综述[J]. 现代食品, 2019(2): 27-31.  
HE P J, ZHANG Y J. Summary of methods for determining polysaccharide content[J]. Modern Food, 2019(2): 27-31.
- [14] 中华人民共和国国家标准. 保健食品中超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定: GBT5009. 171-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.  
National Standards of the People's Republic of China. Determination of superoxide dismutase (SOD) activity in health food: GBT5009. 171-2003[S]. Beijing: China Standards Publishing House, 2003.
- [15] 刘瑞. 富含 $\gamma$ -氨基酸植物益生基料的研制[D]. 无



- 锡: 江南大学, 2021.
- LIU R. Be rich in  $\gamma$ -development of aminobutyric acid plant probiotic base material[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [16] 张文静, 杨诗妮, 杜爽, 等. 本土毕赤克鲁维酵母与酿酒酵母混合发酵葡萄酒的增香潜力分析[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 84-90.
- ZHANG W J, YANG S N, DU S, et al. Analysis of the aroma enhancing potential of mixed fermentation of local *Pichia pastoris* and brewing yeast in wine[J]. Food Science, 2020, 41(12): 84-90.
- [17] 张浩然, 范昊安, 顾逸菲, 等. 沙棘酵素发酵过程中代谢产物及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(11): 125-133.
- ZHANG H R, FAN H A, GU Y F, et al. Research on metabolites and antioxidant activity of seabuckthorn enzyme fermentation process[J]. Food Industry Technology, 2020, 41(11): 125-133.
- [18] BASINSKIENE L, JUODEIKIENE G, TENKANEN M, et al. Non-alcoholic beverages from fermented cereals with increased oligosaccharide content [J]. Food Technology and Biotechnology, 2016, 54(1): 36-44.
- [19] 张文静. 杏鲍菇发酵饮料研制及其品质特性研究[C]. 太谷: 山西农业大学, 2021.
- ZHANG W J. Research on the development and quality characteristics of apricot abalone mushroom fermented beverage[C]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2021.
- [20] 王印壮, 段定定, 丁玉峰, 等. 葡萄酵素发酵过程中代谢产物的动态变化[J]. 食品科学, 2022, 43(18): 98-104.
- WANG Y Z, DUAN D D, DING Y F, et al. Dynamic changes of metabolites during grape enzyme fermentation[J]. Food Science, 2022, 43(18): 98-104.
- [21] YANG Z N, STAAF M, HUTTUNEN E, et al. Structure of a viscous exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* K16 [J]. Carbohydrate Research, 2000, 329(2): 465-469.
- [22] OMER A, MESUDE K, TEMEL T, et al. Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk[J]. LWT - Food Science and Technology, 2018, 89(3): 638-647.
- [23] JIANG B S, TIAN L L, HUANG X L, et al. Characterization and antitumor activity of novel exopolysaccharide APS of *Lactobacillus plantarum* WLPL09 from human breast milk[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163(1): 985-995.
- [24] DABOUR N. Impact of ropy and capsular exopolysaccharide -producing strains of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on reduced -fat Cheddar cheese production and whey composition[J]. International Dairy Journal, 2005, 15(5): 459-471.
- [25] WALLING E, DOLS-LAFARGUE M, LONVAUD-FUNEL A. Glucose fermentation kinetics and exopolysaccharide production by ropy *Pediococcus damnosus* IOEB8801 [J]. Food Microbiology, 2005, 22(1): 71-78.
- [26] 梁红敏, 刘洁, 史红梅. 食用植物酵素研究进展[J]. 食品工业, 2020, 41(7): 193-197.
- LIANG H M, LIU J, SHI H M. Research progress in edible plant enzymes[J]. Food Industry, 2020, 41(7): 193-197.
- [27] 李亚辉, 马艳弘, 张宏志, 等. 山药果蔬在乳酸菌发酵过程中组分及生物活性变化[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 137-142.
- LI Y H, MA Y H, ZHANG H Z, et al. Changes in composition and biological activity of yam fruits and vegetables during lactic acid bacteria fermentation[J]. Food Science, 2017, 38(10): 137-142.
- [28] ESPIRITO-SANTO A P, CARLIN F, RENARD C. Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for *Lactobacilli* growth? - A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics [J]. Food Research International, 2015, 78(12): 352-360.
- [29] EWA Z, RENATA Z, SABINA K, et al. Yeast as a biosensor for antioxidants: Simple growth tests employing a *Saccharomyces cerevisiae* mutant defective in superoxide dismutase[J]. Acta Biochimica Polonica, 2005, 52(3): 679-684.
- [30] BRUNO-BARCENA J M, ANDRUS J M, LIBBY S L, et al. Expression of a heterologous manganese superoxide dismutase gene in intestinal *Lactobacilli* provides protection against hydrogen peroxide toxicity [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(8): 4702-4710.

- [31] 张江巍, 曹郁生, 刘晓华, 等. 抗氧化乳酸菌 L4 的 SOD 活性及其发酵乳的抗氧化作用[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(11): 12–15.  
ZHANG J W, CAO Y S, LIU X H, et al. The SOD activity of antioxidant lactic acid bacteria L4 and its antioxidant effect on fermented milk[J]. China Dairy Industry, 2006, 34(11): 12–15.
- [32] 洪厚胜, 朱曼利, 李伟, 等. 葡萄果渣酵素的发酵工艺优化及其理化特性[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 63–72.  
HONG H S, ZHU M L, LI W, et al. Optimization of fermentation process and physicochemical properties of grape pomace enzyme[J]. Food Science, 2019, 40(8): 63–72.
- [33] 刘佳荣. 微生物发酵合成  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2015.  
LIU J R. Microbial fermentation synthesis  $\gamma$ -Research on aminobutyric acid (GABA)[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2015.
- [34] CUI Y H. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 995.
- [35] KIM D H, DASAGRANDE C, PARK S K, et al. Optimization of gamma-aminobutyric acid production using sea tangle extract by lactic acid bacterial fermentation[J]. LWT – Food Science and Technology, 2018, 90(4): 636–642.
- [36] MASUDA K, GUO X F, URYU N, et al. Isolation of marine yeasts collected from the Pacific Ocean showing a high production of gamma-aminobutyric acid[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008, 72(12): 3265–72.
- [37] 王紫薇. 混菌发酵猕猴桃果浆及风味分析研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020.  
WANG Z W. Study on mixed fermentation of kiwifruit pulp and flavor analysis[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2020.
- [38] CIRLINI M, RICCI A, GALAVERNA G, et al. Application of lactic acid fermentation to elderberry juice: Changes in acidic and glucidic fractions[J]. LWT – Food Science and Technology, 2020, 118(1): 108779.

## The Fermentation Characteristics and Composition Changes of Fermented Kiwifruit Extract by Lactic Acid Bacteria and Yeasts

Dou Zhixia<sup>1</sup>, He Xingfen<sup>1</sup>, Xue Yuhang<sup>1</sup>, Wang Weijun<sup>2</sup>, Li Yanhua<sup>1,3\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018

<sup>2</sup>Jiyang College of Zhejiang A&F University, Zhuji 311800, Zhejiang

<sup>3</sup>Key Laboratory for Food Microbial Technology of Zhejiang Province, Hangzhou 310018)

**Abstract** Fermented kiwifruit extract is rich in vitamins, enzymes, minerals, secondary metabolites and other nutrients, which belongs to the new type of food with potential health effects. In this study, 6 kinds of lactic acid bacteria and 2 kinds of yeast were inoculated into kiwifruit juice for fermentation to detect the changes of ingredients in the process of probiotic fermentation of fruit juice. The bioactive substances in the fermentation process of each group were detected and analyzed by using spectroscopy and chromatography technology. The results showed that the lactic acid bacteria and yeast strains in the experiment played an important role in the microbial counts, physicochemical properties, and biological activity of the fermented kiwifruit extract. The microbial counts, of lactic acid bacteria and yeast bacteria reached the peak value on the 5th day, which ranged (7.89–9.30) lg(CFU/mL) and (7.05–8.18) lg(CFU/mL), respectively. The number of *Bacillus rhamnosus* LG0262 reached 9.30 lg(CFU/mL). After fermentation, the acidity of the lactic acid bacteria fermentation group was higher than that of the yeast fermentation group. The pH of the lactic acid bacteria fermentation group is between 3.25–3.45, and that of the yeast fermentation group was between 3.51–3.70. The soluble solid content and ethanol concentration ranged (10.3–30.6) Brix and (13.549–50.82) mg/mL, respectively and there was a positive correlation between the two indicators ( $R^2 = 0.963$ ,  $P < 0.01$ ). The types and concentrations of GABA, polysaccharides and organic acids increased fermentation. At the 60th day of fermentation, the polysaccharide content in the fermented ki-

wifruit extract prepared by *Lactobacillus helveticus* LG4316, *Lactococcus lactis* LG0827, and *Lactiplantibacillus plantarum* LG1034 reached 0.30%, 0.30%, and 0.29%, respectively. The concentration of lactate, tartaric acid and succinic acid in the fermented kiwifruit extract prepared by *Lactiplantibacillus plantarum* LG1034, *Bacillus rhamnosus* LG0262, and *Saccharomyces cerevisiae* J2861 was the highest, reaching 2 482.03, 1 842.18  $\mu\text{g/mL}$  and 168.78  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

**Keywords** fermented kiwifruit extract; lactobacillus; yeast; fermentation characteristics; composition