

枸杞红枣复合发酵饮料工艺优化及抗氧化活性研究

田 欢^{1,2}, 房丹丹^{1,2}, 张剑林^{1,2}, 申 雪^{1,2}, 濮希蕾^{1,2}, 马易昱^{1,2}, 裴龙英^{1,2*}, 周雨亭^{1,2}

(1.新疆理工学院 食品科学与工程学院, 新疆 阿克苏 843000; 2.新疆黑木耳工程技术研究中心, 新疆 阿克苏 843000)

摘 要:以枸杞和红枣为试验材料,植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)和罗伊式乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)为复合发酵菌种制备枸杞红枣复合发酵饮料,利用单因素和响应面试验优化其发酵工艺,并对发酵样品与未发酵样品的理化指标和抗氧化活性进行测定分析。结果表明,枸杞红枣复合发酵饮料的最佳发酵工艺为初始pH 5.5,菊粉添加量0.12%,混菌(1:1:1)接种量0.08%,发酵温度37℃。在此优化条件下,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分为92.5分,活菌数为13.6 lg(CFU/mL),与未发酵相比,总酚、总黄酮、总类胡萝卜素含量均呈现显著增加($P<0.05$),其中总黄酮含量由0.97 mg/mL增加至1.68 mg/mL;1,1-二苯基-2-三硝基苯胍(DPPH)自由基清除率由28.61%提高至78.62%,2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS⁺)自由基清除率由32.81%提高至58.93%,·OH清除率由38.12%提高至83.61%,总抗氧化能力由6.78 mmol/L提高至19.26 mmol/L,均呈现显著增加($P<0.05$)。因此,复合乳酸菌发酵可提高枸杞红枣复合发酵饮料的抗氧化活性。

关键词:枸杞;红枣;乳酸菌;发酵工艺;抗氧化活性

中图分类号:TS252.4

文章编号:0254-5071(2025)07-0180-09

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2025.07.026

引文格式:田欢,房丹丹,张剑林,等.枸杞红枣复合发酵饮料工艺优化及抗氧化活性研究[J].中国酿造,2025,44(7):180-188.

Process optimization and antioxidant activity of wolfberry and jujube compound fermented beverage

TIAN Huan^{1,2}, FANG Dandan^{1,2}, ZHANG Jianlin^{1,2}, SHEN Xue^{1,2}, PU Xilei^{1,2}, MA Yigang^{1,2}, PEI Longying^{1,2*}, ZHOU Yuting^{1,2}

(1.College of Food Science and Engineering, Xinjiang Institute of Technology, Aksu 843000, China;
2.Xinjiang Black Fungus Engineering Technology Research Center, Aksu 843000, China)

Abstract: Wolfberry and jujube compound fermented beverage was prepared using wolfberry and jujube as the experimental materials, and *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri* as compound fermentation strains, the fermentation process conditions of wolfberry and jujube compound beverage were optimized by single factor and response surface tests, and the physicochemical indicators and antioxidant activities of the fermented and unfermented samples were determined and analyzed. The results showed that the optimal fermentation process of wolfberry and jujube compound beverage were as follows: initial pH 5.5, inulin addition 0.12%, mixed bacteria (1:1:1) inoculum 0.08%, and fermentation temperature 37℃. Under the optimized conditions, the sensory score of the compound fermented beverage was 92.5 points, and the viable bacteria count was 13.6 lg (CFU/ml). Compared with unfermented group, the contents of total phenols, total flavonoids and total carotenoids increased significantly ($P<0.05$), among them, the contents of total flavonoids increased from 0.97 mg/ml to 1.68 mg/ml, the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging rates increased from 28.61% to 78.62%, the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS⁺) radical scavenging rates increased from 32.81% to 58.93%, and the ·OH scavenging rate increased from 38.12% to 83.61%, and the total antioxidant capacity increased from 6.78 mmol/L to 19.26 mmol/L, both showing a significant increase ($P<0.05$). Therefore, the fermentation of compound lactic acid bacteria could enhance the antioxidant activity of wolfberry and jujube compound fermented beverage.

Key words: wolfberry; jujube; lactic acid bacteria; fermentation process; antioxidant activity

枸杞(*Lycium barbarum*)为茄科植物,其成熟果实被称为枸杞或枸杞子,是传统食药兼用的中药材^[1]。枸杞中含有丰富的枸杞多糖、黄酮、氨基酸、枸杞色素、枸杞油等^[2-3],具有降血压、降血脂、延缓衰老和提高免疫力等功效^[4-6]。红枣是具有悠久种植历史的药食两用食品,其营养丰富,具有丰富的蛋白质、脂肪、维生素和铁等营养成分^[7-8],具有抗衰

老、增强人体免疫力的功效,另外红枣中的环磷酸腺苷含量较高,其具有缓解疲劳、扩张血管的功效^[9-12]。目前枸杞与红枣的产品多以干制为主,将枸杞与红枣相结合进行精深加工的产品较少。

乳酸菌(lactic acid bacteria)是一类能够发酵碳水化合物产生乳酸的革兰氏阳性菌,乳酸菌广泛存在于自然界中,

收稿日期:2024-07-23

修回日期:2025-02-12

基金项目:新疆特色发酵食品研究(ZT202101);2023年度第二批自治区“天池英才”(青年博士)(2023TCQN01);新疆理工学院校级重点科研项目(ZZ202203);新疆理工学院校级一般科研项目(ZY202204)

作者简介:田 欢(1995-),男,讲师,硕士,研究方向为果蔬加工与贮藏。

*通讯作者:裴龙英(1990-),女,副教授,博士,研究方向为农产品加工与贮藏,生物活性物质。

具有调节肠道菌群平衡等功效^[13];其能够将碳水化合物(如蔗糖、乳糖等)分解为乳酸,生成的乳酸能抑制有害细菌的生长,从而改善肠道环境;乳酸菌还可分解一些大分子物质,促进蛋白质、多糖和脂肪类物质的吸收^[14-16];通过乳酸菌发酵可提高产品的功能性成分含量和抗氧化活性能力,从而延缓衰老;植物乳植杆菌在自然界中分布较广,常用于乳制品、肉类、蔬菜及水果中进行发酵^[17-19],得到各类食品的精深加工制品。嗜酸乳杆菌可有效抑制致病菌的生长,帮助营养物质的吸收和维持平衡肠道pH^[20]。罗伊氏乳杆菌具有治疗腹泻、腹痛和便秘的作用,能有效调节肠道菌群,抑制有害菌生长^[21]。虽然以枸杞为原料进行乳酸菌发酵的相关研究较多,但将枸杞和红枣相结合,利用三种乳酸菌混合发酵及对比分析发酵前后的抗氧化活性和理化指标的研究较少。

本研究以枸杞、红枣为试验原料,采用植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌和罗伊氏乳杆菌三种乳酸菌混合菌种发酵制备复合发酵饮料,优化最佳发酵工艺,测定分析发酵前后的理化指标、抗氧化活性物质和抗氧化活性,为混合乳酸菌菌种发酵在枸杞和红枣的实践应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞、红枣:市售;植物乳植杆菌(*Lactobacillus plantarum*)56、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)17、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)09:西安米先尔生物科技有限公司;果胶酶(30 000 U/g,食品级):中辰生物科技有限公司;柠檬酸、柠檬酸钠、葡萄糖、菊粉(均为食品级):河南万邦化工科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS):上海雅吉生物科技有限公司;芦丁、没食子酸:济宁天之蓝生物科技有限公司;硫酸亚铁、盐酸、硝酸铝、三氯乙酸、过硫酸钾、无水乙酸钠(均为分析纯):淄博金健化工有限公司;氢氧化钠、三氯化铁、30%过氧化氢、硫酸铜(均为分析纯):天津中和盛泰化工有限公司;铁氰化钾、磷酸二氢钠、水杨酸、亚硝酸钠、磷酸氢二钠(均为分析纯):广东翁江化学试剂有限公司;碘、碘化钾:济南世纪通达化工有限公司;3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS):武汉菲越生物科技有限公司;酚酞、福林酚:上海源叶生物科技有限公司;总抗氧化试剂盒:上海恒雅生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

JA3003N电子天平、UV759紫外可见光光度计:上海佑科仪器仪表有限公司;BPH-9402恒温培养箱:上海一恒科学仪器有限公司;WS-003多功能破壁机:中山市东风镇今彩电器厂;SX-620 pH计:上海三信有限公司;WYT-J糖度

计:成都豪创光电仪器有限公司;DZKW-C恒温水浴锅:河南沃森仪器设备有限公司;BXM-30R立式压力蒸汽灭菌器:上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;SW-CJ-1D净化工作台:JC-1086A多功能酶标分析仪:青岛聚创环保集团有限公司。

1.3 方法

1.3.1 枸杞红枣复合发酵饮料发酵工艺流程及操作要点

枸杞、红枣→挑选清洗→榨汁过滤→恒温浸提→混合、调配→高温杀菌→混菌发酵→枸杞红枣复合发酵饮料

操作要点:

枸杞、红枣挑选清洗:挑选无霉病、虫害的枸杞及红枣,红枣进行去核,将枸杞和红枣清洗后沥干水分。

榨汁过滤:将沥干水分后的枸杞和去核后的红枣分别使用榨汁机榨汁,随后使用200目筛网过滤得到枸杞汁和红枣汁。

恒温浸提:分别向枸杞汁、红枣汁中加入质量分数0.03%的果胶酶,置于45℃恒温水浴锅中浸提2 h。

混合调配:将恒温浸提后的枸杞汁与红枣汁按一定比例混合,添加菊粉,随后用柠檬酸钠和柠檬酸调节初始pH,调整初始可溶性固形物为17.5°Bx。

高温杀菌:混合调配完成后的发酵液置于95℃水中杀菌20 min,随后冷却至室温。

混菌发酵:取斜面保存的三个菌种分别用100 mg/mL葡萄糖水溶液活化25 min,混合均匀,在无菌条件下按一定比例接种入发酵液,将接种完成的发酵液置于恒温培养箱中在一定温度条件下厌氧发酵48 h,随后得到发酵成品。

1.3.2 枸杞红枣复合发酵饮料工艺优化单因素试验

原料比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:枸杞汁和红枣汁的比例设定为7:3、6:4、5:5、4:6、3:7(V/V),在初始pH为5.5,菊粉添加量为0.12%,菌种接种量为0.08%,菌种比例为1:1:1,发酵温度为37℃的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察原料比例对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

初始pH对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:初始pH设定为4.5、5.0、5.5、6.0、6.5,在枸杞汁和红枣汁的比例为6:4(V/V),菊粉添加量为0.12%,菌种接种量为0.08%,菌种比例为1:1:1,发酵温度为37℃的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察初始pH对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

菊粉添加量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:菊粉添加量设定为0.04%、0.08%、0.12%、0.16%、0.20%,在枸杞汁和红枣汁的比例为6:4(V/V),初始pH为5.5,菌种接种量为0.08%,菌种比例为1:1:1,发酵温度为37℃的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察菊粉添加量对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

菌种接种量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:菌种接种量设定为0.02%、0.05%、0.08%、0.11%、0.14%,在枸杞汁和红枣汁的比例为6:4(V/V),初始pH为5.5,菊粉添加量为0.12%,菌种比例为1:1:1,发酵温度为37℃的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察菌种接种量对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

菌种比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:菌种比例设定为2:1:1、1:2:1、1:1:1、1:1:2,在枸杞汁和红枣汁的比例为6:4(V/V),初始pH为5.5,菊粉添加量为0.12%,菌种接种量为0.08%,发酵温度为37℃的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察菌种比例对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

发酵温度对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响:发酵温度设定为31℃、34℃、37℃、40℃、43℃,在枸杞汁和红枣汁的比例为6:4(V/V),初始pH为5.5,菊粉添加量为0.12%,菌种接种量为0.08%,菌种比例为1:1:1的条件下,按照1.3.1的工艺流程进行产品制作,考察发酵温度对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数的影响。

1.3.3 枸杞红枣复合发酵饮料发酵工艺优化响应面试验

在单因素试验的基础上,选择初始pH(A)、菊粉添加量(B)、菌种接种量(C)、发酵温度(D)为自变量,以枸杞红枣复合发酵饮料感官评分(Y₁)和活菌数(Y₂)为响应值,利用响应面软件Design-Expert 13.0设计响应面试验,以确定产品的最佳工艺,响应面试验因素与水平见表1。

表1 枸杞红枣复合发酵饮料发酵条件优化响应面试验因素与水平
Table 1 Factors and levels of response surface tests for fermentation conditions optimization of wolfberry and jujube compound fermented beverage

因素	水平		
	-1	0	1
A 初始pH	5.0	5.5	6.0
B 菊粉添加量/%	0.08	0.12	0.16
C 菌种接种量/%	0.05	0.08	0.11
D 发酵温度/℃	34	37	40

1.3.4 测定方法

枸杞红枣复合发酵饮料感官评价:参照刘知非等^[22]的感官评价方法并稍作修改,确定枸杞红枣复合发酵饮料的感官评价标准;由20名经过感官评价培训的人员组成评价小组,从色泽、口感、气味和形态四个方面进行打分,满分为100分,取20人的平均分,枸杞红枣复合发酵饮料感官评价标准见表2。

pH:使用pH计测定;总可溶性固形物(total soluble solids, TSS):使用糖度计测定;乳酸菌活菌数:参照GB 4789.35—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》测定^[23],总糖(total sugar, TS):采用3,5-二硝基水杨酸法测

定^[24];总酸(total acid, TA)含量:参照GB 123456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》测定^[25];总酚(total polyphenol content, TPC)含量:参照LAOPHONGPHIT A等^[26]的方法测定;总黄酮含量(total flavonoid content, TFC):参照SUN X J等^[27]的方法测定;总类胡萝卜素(total carotenoids, TC):参照WOJDYŁO A等^[28]的方法测定;·OH清除率:参照SHI F F等^[29]的方法测定;DPPH自由基清除率、ABTS⁺自由基清除率和总抗氧化能力参照ZHANG J等^[30]的方法测定,以T-AOC代表总抗氧化能力。

表2 枸杞红枣复合发酵饮料感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation standards of wolfberry and jujube compound fermented beverage

评分项目	评分标准	分值/分
色泽 (25分)	呈现橘红色,色泽均匀	20~25
	较能呈现橘红色,色泽较均匀	15~19
	略能呈现橘红色,色泽一般均匀	10~14
	不能呈现橘红色,色泽不均匀,有杂色	<10
口感 (30分)	口感柔和,酸甜平衡适中	25~30
	口感较柔和,但稍酸或稍甜	19~24
	口感较粗糙,但过酸或过甜	13~18
	口感不协调	<13
气味 (25分)	气味协调,枸杞和红枣气味浓郁,无杂味	20~25
	气味适中,枸杞和红枣气味较淡,无杂味	15~19
	气味较淡,枸杞和红枣气味略淡,稍有杂味	10~14
	气味不协调,有杂味	<10
形态 (20分)	产品形态均匀,无沉淀	15~20
	产品形态较均匀,略有沉淀	7~14
	产品形态不均匀,有沉淀	<7

1.3.5 数据处理

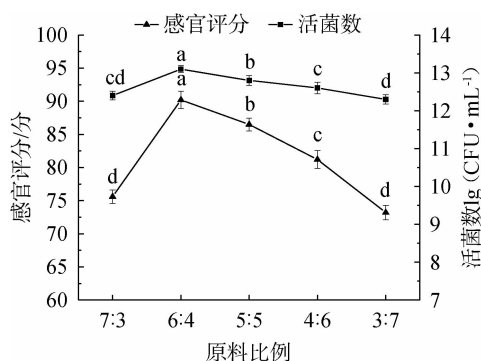
试验共测定3次,结果以“平均值±标准差”表示;采用Design-Expert 13.0和SPSS 25.0分析处理试验数据,Origin 8.0作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 原料比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

原料比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响结果见图1。由图1可知,随着原料比例中枸杞比例的降低,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数呈现先上升后下降的变化趋势,当枸杞汁:红枣汁为6:4(V/V)时,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均达到最高,分别为90.2分和13.1 lg(CFU/mL);当原料中枸杞占比继续降低时,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均显著下降(P<0.05),可能是由于枸杞含量减少,红枣的甜度引起产品口感偏甜腻,致使产品总体的感官评分下降。综合考虑,选择原料比例(枸杞汁:红枣汁)为6:4(V/V)。



不同小写字母代表相同指标下不同水平间存在显著差异($P < 0.05$),下同。

图1 原料比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

Fig. 1 Effect of raw material ratio on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.1.2 初始pH对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

初始pH对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响见图2。由图2可知,随着初始pH的增大,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均呈现先上升后下降的趋势,当初始pH为5.5时,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均达到最高,分别为91.3分和13.4 lg(CFU/mL);当初始pH < 5.5时,感官评分和活菌数呈上升趋势,可能是当pH较小时,此时的发酵液环境较适合乳酸菌生长繁殖,随着发酵的进行乳酸菌会分泌乳酸等有机酸类物质,同时将发酵液中的大分子物质分解为分子量更小的化合物,从而提高产品的口感;同时较低的pH会延缓乳酸菌的生长繁殖,从而影响乳酸菌生长^[31];当初始pH > 5.5时,感官评分和活菌数呈下降趋势,可能是由于将pH调节为较高值时需加入较多的柠檬酸钠影响产品的口感;较高的pH会影响发酵液中的营养物质,使得乳酸菌不能有效生长繁殖。综合考虑,选择初始pH为5.5。

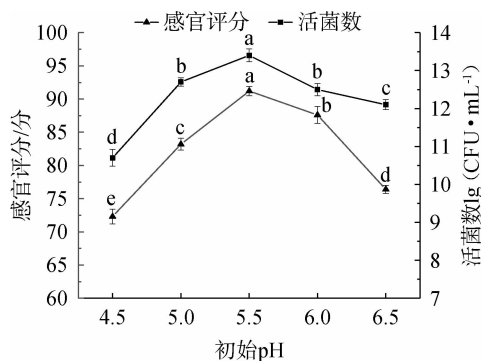


图2 初始pH对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

Fig. 2 Effect of initial pH on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.1.3 菊粉添加量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

菊粉是植物中储备性多糖,主要调节肠道微生物菌群,

改善肠道健康,常被用来作为益生元用于乳酸菌增殖因子研究^[32]。菊粉添加量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响见图3。由图3可知,随着菊粉添加量的增加,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均呈现先上升后下降的趋势,当菊粉添加量为0.12%时,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均达到最高,分别为90.3分和13.3 lg(CFU/mL);当菊粉添加量 < 0.12%时,感官评分和活菌数逐渐上升,可能是由于适量菊粉能促进乳酸菌生长,从而增加乳酸菌的数量,同时随着乳酸菌发酵的深入提升了产品的口感;当菊粉添加量 > 0.12%时,感官评分和活菌数逐渐下降,可能是由于菊粉添加量过多,使得乳酸菌的生长繁殖速度过快,增加了乳酸菌代谢物乳酸等有机酸的含量,影响了乳酸菌的活菌数,同时乳酸等有机酸的含量增多影响了产品的口感,使得感官评分下降。综合考虑,选择菊粉添加量为0.12%。

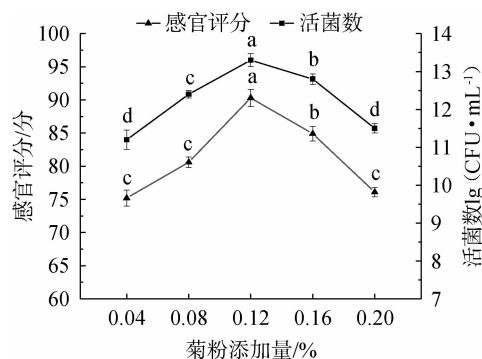


图3 菊粉添加量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

Fig. 3 Effect of inulin addition on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.1.4 菌种接种量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

菌种接种量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响结果见图4。

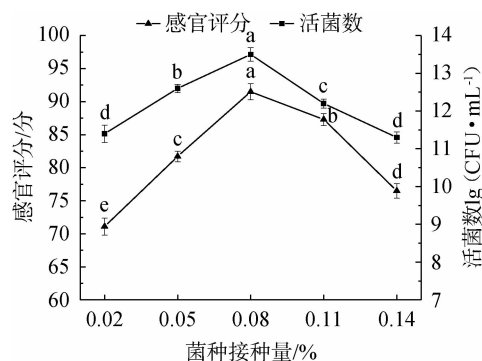


图4 菌种接种量对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

Fig. 4 Effect of inoculum on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

由图4可知,随着菌种接种量的增加,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均呈现先上升后下降的趋势,

当菌种接种量为0.08%时,枸杞红枣复合发酵饮料均达到最高,分别为91.5分和13.5 lg(CFU/mL);当菌种接种量<0.08%时,感官评分和活菌数呈上升趋势,可能是由于适量的乳酸菌可在发酵液中进行正常的生长繁殖,提高乳酸菌的活菌数量,提升产品的口感;当菌种接种量>0.08%时,感官评分和活菌数呈下降趋势,可能是由于发酵液中的营养物质无法满足过量乳酸菌的生长繁殖,影响乳酸菌的活菌数量,同时过量乳酸菌生长过程中产生的有机酸类物质含量过多,降低产品的感官评分,与韩春然等^[33]研究结果一致。综合考虑,选择菌种接种量为0.08%。

2.1.5 菌种比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

菌种比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响见图5。由图5可知,随着菌种比例的变化,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均呈现先上升后下降的趋势,当植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌和罗伊式乳杆菌三种乳酸菌的菌种比例为1:1:1时,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数均达到最高,分别为91.1分和13.1 lg(CFU/mL);可能是由于混合菌种发酵培养时各菌种间存在协同作用,且协同作用效果最好,使得感官评分和活菌数最高;当三种乳酸菌的菌种比例为1:2:1和2:1:1时,产品感官评分和活菌数变化呈上升趋势,上升幅度较小,可能是由于植物乳植杆菌的生长代谢能力较强,植物乳杆菌的比例增加提高了混合乳酸菌发酵后的活菌数量,提升了产品的口感。LI S J等^[34]采用乳酸菌发酵蓝莓汁研究发现植物乳杆菌的生长代谢产物乳酸含量最高,发酵能力较强。综合考虑,选择植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌和罗伊式乳杆菌比例为1:1:1。

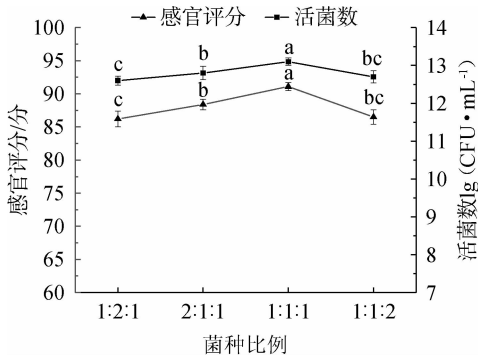


图5 菌种比例对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响
Fig. 5 Effect of strain ratio on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.1.6 发酵温度对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响

发酵温度对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响见图6。由图6可知,随着发酵温度的升高,枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数呈现先上升后下降的变化趋势,当发酵温度为37℃时,感官评分和活菌数达到最高;分别为90.7分和13.5 lg(CFU/mL);可能是由于发酵温度逐渐升

高使发酵液的环境适宜乳酸菌生长繁殖,增加了活菌数量,但当发酵温度过高时发酵液的环境不利于乳酸菌生长,没有达到乳酸菌生长的最适温度,温度过高影响了乳酸菌活性,减少了活菌数量,同时使得感官评分降低,这与于江等^[35]研究结果类似。综合考虑,选择发酵温度为37℃。

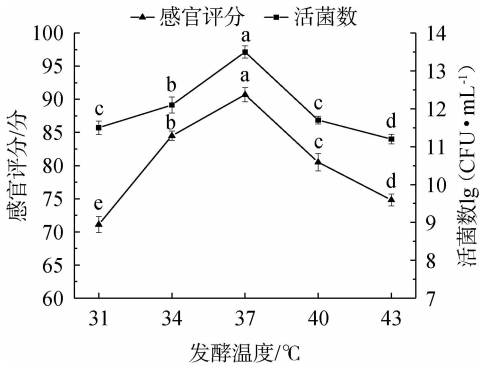


图6 发酵温度对枸杞红枣复合发酵饮料品质的影响
Fig. 6 Effect of fermentation temperature on the quality of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.2 响应面试验结果

2.2.1 响应面试验设计方案与结果

在单因素试验的基础上,选择初始pH(A)、菊粉添加量(B)、菌种接种量(C)和发酵温度(D)为自变量,以枸杞红枣复合发酵饮料感官评分(Y₁)和活菌数(Y₂)为响应值设计响应面试验优化枸杞红枣复合发酵饮料发酵条件,响应面试验设计与结果见表3。

表3 枸杞红枣复合发酵饮料发酵条件优化响应面试验设计与结果

Table 3 Design and results of response surface tests for fermentation conditions optimization of wolfberry and jujube compound fermented beverage

试验号	A	B	C	D	Y ₁ 感官评分/分	Y ₂ 活菌数lg(CFU·mL ⁻¹)
1	-1	0	0	-1	79.1	11.1
2	0	-1	0	-1	82.3	12.3
3	0	0	-1	1	74.2	11.2
4	0	0	0	0	91.2	13.5
5	0	0	0	0	90.1	13.2
6	1	0	-1	0	85.6	12.7
7	1	0	0	1	82.5	11.2
8	0	-1	-1	0	73.5	11.3
9	0	1	0	1	78.5	11.8
10	1	-1	0	0	87.6	12.7
11	-1	-1	0	0	72.6	10.9
12	0	0	0	0	91.3	13.4
13	0	-1	1	0	86.1	12.5
14	0	0	0	0	93.2	13.3
15	0	1	-1	0	85.3	12.5

续表						
试验号	A	B	C	D	Y ₁ 感官评分/分	Y ₂ 活菌数lg(CFU·mL ⁻¹)
16	0	0	1	-1	86.4	12.8
17	1	0	1	0	86.5	12.5
18	0	0	1	1	77.2	11.7
19	-1	0	1	0	85.7	12.7
20	0	0	-1	-1	78.9	11.9
21	1	1	0	0	83.4	12.1
22	1	0	0	-1	82.3	12.8
23	-1	1	0	0	83.8	12.5
24	0	1	0	-1	83.5	12.7
25	-1	0	-1	0	73.4	10.8
26	0	-1	0	1	72.5	11.1
27	0	1	1	0	85.2	12.5
28	0	0	0	0	90.8	13.1
29	-1	0	0	1	71.1	11.2

2.2.2 响应面模型与方差分析

利用响应面软件对表3响应面试验结果进行多元二次回归拟合,得到感官评分(Y₁)和活菌数(Y₂)的多元二次

回归方程:

$$Y_1=91.32+3.52A+2.09B+3.02C-3.04D-3.85AB-2.85AC+2.05AD-3.17BC+1.02BD-1.13CD-4.68A^2-4.59B^2-4.13C^2-7.81D^2$$
$$Y_2=13.3+0.4A+0.28B+0.36C-0.45D-0.55AB-0.52AC-0.43AD-0.3BC+0.075BD-0.1CD-0.73A^2-0.52B^2-0.49C^2-0.9D^2$$

对响应面模型进行方差分析,结果见表4。由表4可知,响应面模型为差异极显著($P<0.01$),失拟项不显著($P>0.05$),响应面模型的相关系数分别为 $R^2(Y_1)=98.46\%$ 、 $R^2(Y_2)=98.20\%$,校正系数分别为 $R^2_{Adj}(Y_1)=96.93\%$ 、 $R^2_{Adj}(Y_2)=96.39\%$,由此可知响应面模型可用于枸杞红枣复合发酵饮料发酵工艺优化。方差分析结果表明,一次项A、B、C、D,二次项A²、B²、C²、D²,交互项AB、AC、AD、BC对感官评分影响极显著($P<0.01$),交互项BD对感官评分结果影响显著($P<0.05$)。一次项A、B、C、D,二次项A²、B²、C²、D²,交互项AB、AC、AD、BC对活菌数影响极显著($P<0.01$)。结合F值可知,各因素对感官评分的影响顺序为初始pH>发酵温度>菌种接种量>菊粉添加量;各因素对活菌数的影响顺序为发酵温度>初始pH>菌种接种量>菊粉添加量。

表4 回归模型方差分析
Table 4 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和(Y ₁ /Y ₂)	自由度(Y ₁ /Y ₂)	均方(Y ₁ /Y ₂)	F值(Y ₁ /Y ₂)	P值(Y ₁ /Y ₂)	显著性(Y ₁ /Y ₂)
模型	1 114.83/18.38	14/14	79.63/1.31	64.05/54.46	<0.000 1/<0.000 1	***/**
A	148.40/1.92	1/1	148.40/1.92	119.37/79.64	<0.000 1/<0.000 1	***/**
B	52.50/0.91	1/1	52.50/0.91	42.23/37.64	<0.000 1/<0.000 1	***/**
C	109.20/1.54	1/1	109.20/1.54	87.84/63.92	<0.000 1/<0.000 1	***/**
D	111.02/2.43	1/1	111.02/2.43	89.30/100.8	<0.000 1/<0.000 1	***/**
AB	59.29/1.21	1/1	59.29/1.21	47.69/50.19	<0.000 1/<0.000 1	***/**
AC	32.49/1.1	1/1	32.49/1.1	26.13/45.73	0.000 2/<0.000 1	***/**
AD	16.81/0.72	1/1	16.81/0.72	13.52/29.97	0.002 5/<0.000 1	***/**
BC	40.32/0.36	1/1	40.32/0.36	32.43/14.93	<0.000 1/0.001 7	***/**
BD	5.76/0.023	1/1	5.76/0.023	4.63/0.93	0.049 3/0.350 4	*/
CD	5.06/0.04	1/1	5.06/0.04	4.07/1.66	0.063 2/0.218 6	/
A ²	141.87/3.45	1/1	141.87/3.45	114.11/143.06	<0.000 1/<0.000 1	***/**
B ²	136.61/1.73	1/1	136.61/1.73	109.88/71.83	<0.000 1/<0.000 1	***/**
C ²	110.46/1.57	1/1	110.46/1.57	88.85/65.04	<0.000 1/<0.000 1	***/**
D ²	396.07/5.3	1/1	396.07/5.3	318.58/219.97	<0.000 1/<0.000 1	***/**
残差	17.41/0.34	14/14	1.24/0.024			
失拟	12.10/0.24	10/10	1.21/0.024	0.91/0.95	0.590 5/0.571 8	/
纯误差	5.31/0.1	4/4	1.33/0.025			
总和	1 132.23/18.72	28/28				

注:“***”表示对结果影响极显著($P<0.01$);“*”表示对结果影响显著($P<0.05$)。

2.2.3 响应面因素间交互作用

各因素间交互作用对感官评分和活菌数影响的响应曲面和等高线见图7。由图7可知,感官评分(Y₁)模型和活菌数(Y₂)模型中AB、AC、AD、BC形成的响应面图形坡度较

大,对响应值感官评分(Y₁)和活菌数(Y₂)的影响较大;感官评分模型中BD形成的响应面图形坡度较小,说明对响应值感官评分(Y₁)的影响较小。这与响应面试验方差分析得到的结果一致。

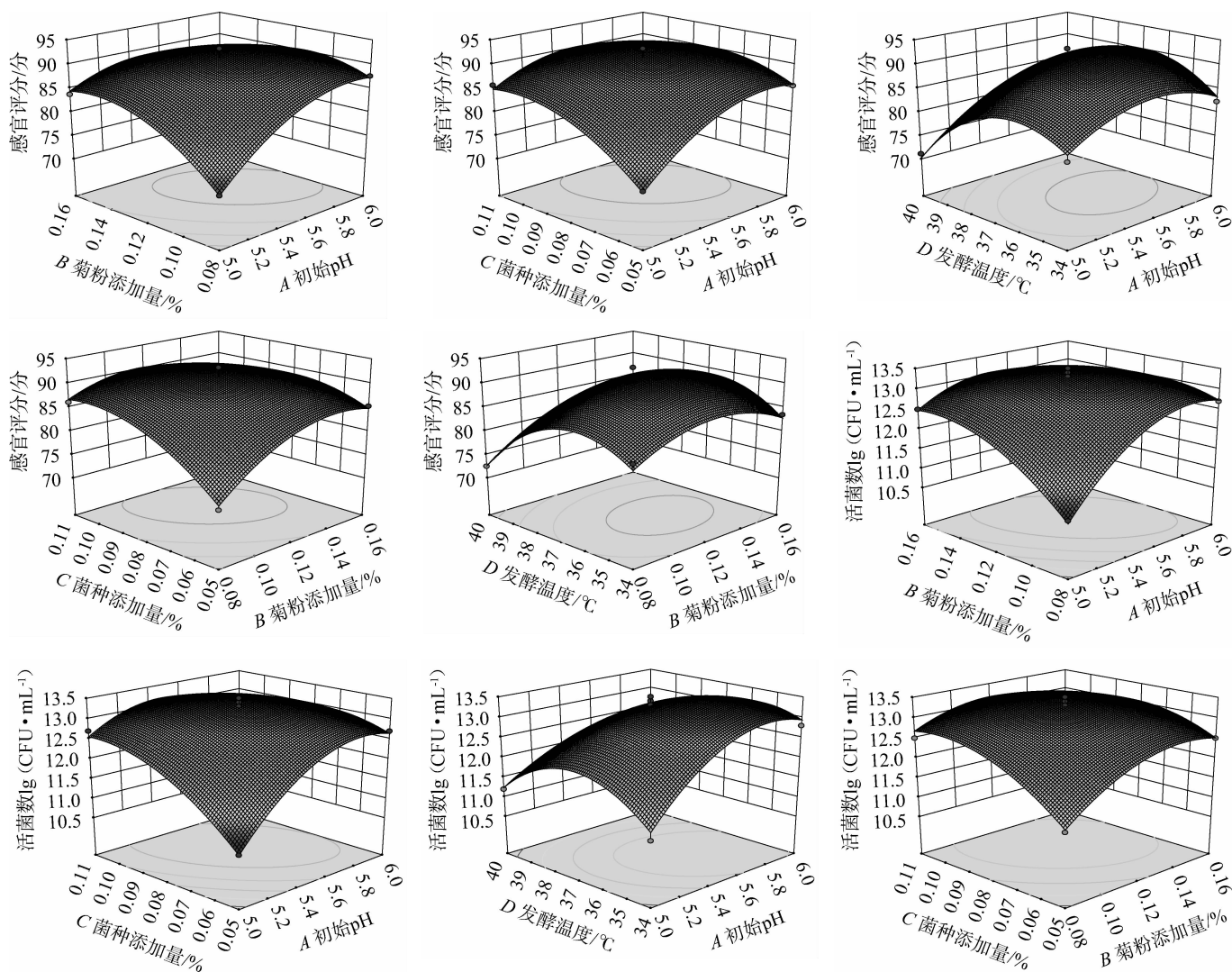


图7 各因素交互作用对枸杞红枣复合发酵饮料感官评分和活菌数影响的响应曲面及等高线

Fig. 7 Response surface plots and contour lines of effect of interaction between various factors on the sensory score and viable bacteria counts of wolfberry and jujube compound fermented beverage

2.2.4 模型验证试验

因枸杞红枣复合发酵饮料为活菌型饮料,故以活菌数为第一考察指标,感官评分为第二考察指标;因此响应面模型拟合得到枸杞红枣复合发酵饮料的发酵工艺为初始pH 5.491,菊粉添加量0.121%,菌种接种量0.082%,发酵温度36.73℃,在此条件下得到的产品感官评分预测值为92.541分,活菌数预测值为13.619 lg(CFU/mL);为了便于实际操作,将预测的工艺调整为初始pH 5.5,菊粉添加量0.12%,菌种接种量0.08%,发酵温度37℃,在此条件下进行3次验证试验,得到产品的感官评分实际值为92.5分,活菌数实际值为13.6 lg(CFU/mL),与响应面模型预测值吻合度较高,说明响应面模型拟合度较好。

2.3 复合乳酸菌发酵对枸杞红枣复合发酵饮料理化指标的影响

经测定,发酵后的乳酸菌枸杞红枣复合发酵饮料pH为

3.47,可溶性固形物为15.61 °Bx,总糖为58.60 mg/mL,总酸为9.23 g/L;乳酸菌在发酵液中生长繁殖时需要消耗糖类物质提供能量,而乳酸菌在生长过程中同时会产生有机酸类化合物,随着乳酸菌数量的增多,有机酸类化合物的含量也会升高。

2.4 复合乳酸菌发酵对枸杞红枣复合发酵饮料功能性成分的影响

表5 枸杞红枣复合发酵饮料功能性成分含量检测结果

Table 5 Determination results of functional components contents in wolfberry and jujube compound fermented beverage

项目	TC/(mg·mL ⁻¹)	TFC/(mg·mL ⁻¹)	TPC/(mg·mL ⁻¹)
未发酵枸杞红枣复合汁	0.75±0.08b	0.97±0.14b	2.46±0.13b
乳酸菌枸杞红枣复合发酵饮料	0.96±0.12a	1.68±0.16a	2.73±0.10a

注:同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

由表5可知,乳酸菌发酵样品的TC含量高于未发酵样品,呈显著性差异($P<0.05$),可能是由于乳酸发酵促进了类胡萝卜素等物质的释放,同时乳酸菌发酵可使植物中的脂质和纤维发生分解,而脂质和纤维对类胡萝卜素产生积极影响^[36-37]。TFC含量由未发酵时0.97 mg/mL增加为发酵后的1.68 mg/mL,呈显著性差异($P<0.05$);TFC含量的变化可能是由于发酵时乳酸菌会产生特定的酶,这种酶类物质可将复合类黄酮物质转化为多种分子质量较小的黄酮化合物;提高了TFC含量;随着发酵的进行,发酵后的枸杞红枣复合发酵饮料TPC含量高于未发酵的枸杞红枣复合汁,

呈显著性差异($P<0.05$),可能是由于乳酸菌发酵时可产生不同的酶,这些酶有助于发酵后枸杞红枣复合发酵饮料中酚类含量的增加,提高小分子酚类化合物的稳定性;同时乳酸菌对酚类糖苷键会产生影响,发酵过程中的糖苷可能有助于增加酚含量。乳酸菌生长代谢产生的酶可能导致酚类糖苷键的断裂或发生脱羧过程,这可能有助于糖苷元的释放,可使大分子的酚类物质降解为简单的酚酸^[38-39],或形成新的酚类化合物,从而提高总酚含量。

2.5 复合乳酸菌发酵对枸杞红枣复合发酵饮料抗氧化活性的影响

表6 枸杞红枣复合发酵饮料抗氧化活性检测结果

Table 6 Determination results of antioxidant activities of wolfberry and jujube compound fermented beverage

项目	DPPH自由基清除率/%	ABTS ⁺ 自由基清除率/%	·OH清除率/%	T-AOC/(mmol·L ⁻¹)
未发酵枸杞红枣复合汁	28.61±0.45b	32.81±0.13b	38.12±0.67b	6.78±0.58b
乳酸菌枸杞红枣复合发酵饮料	78.62±0.22a	58.93±0.36a	83.61±1.18a	19.26±0.42a

注:不同小写字母表示同一指标不同样品间呈显著差异($P<0.05$)。

由表6可知,乳酸菌发酵样品的抗氧化活性要优于未发酵样品,且均呈现显著性差异($P<0.05$),与DU G G等^[40]研究发现枸杞汁经过乳酸菌发酵后能显著提高ABTS⁺和DPPH自由基的清除能力的结果相一致;乳酸菌发酵枸杞红枣复合发酵饮料的抗氧化活性提高可能与乳酸菌发酵后能提高游离酚类化合物的含量有关,乳酸菌发酵可将大分子的酚类物质水解为游离的小分子酚类化合物,这类小分子的酚类化合物可以提供质子,从而具有清除阳离子的能力^[41],提高自由基清除率和总抗氧化能力。

2.6 发酵后枸杞红枣复合发酵饮料理化指标、功能性化合物和抗氧化活性的皮尔逊相关性分析

对混合乳酸菌发酵后枸杞红枣复合发酵饮料的理化指标、功能性化合物和抗氧化活性进行皮尔逊相关性分析,结果见图8。由图8可知,TA与DPPH自由基清除率、ABTS阳离子自由基清除率、·OH清除率、T-AOC、TFC和TPC呈显著正相关($P<0.05$),T-AOC、TFC、TPC与DPPH自由基清除率、ABTS阳离子自由基清除率和·OH清除率之间呈显著正相关($P<0.05$),而TC与TFC呈显著正相关($P<0.05$),可能是由于乳酸菌发酵产生乳酸等有机酸类化合物,使得总酸含量上升,同时乳酸菌发酵提高了产品的抗氧化活性;而抗氧化活性的提升可能与TFC、TPC含量有关,乳酸菌发酵产生的酶类可将大分子的酚类化合物水解为小分子物质,进而提高总酚含量。

3 结论

本研究以植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌和罗伊式乳杆菌为复合发酵菌种,对枸杞红枣复合发酵饮料进行乳酸菌发酵,优化发酵工艺参数,测定发酵后枸杞红枣复合发酵饮料的抗氧化活性。结果表明,枸杞红枣复合发酵饮料的最佳发酵工艺为初始pH 5.5,菊粉添加量0.12%,菌种接种量0.08%,发酵温度37℃,在此优化条件下,产品的感官评分为92.5分,活菌数为13.6 lg(CFU/mL);乳酸菌发酵可提高枸杞红枣复合发酵饮料的抗氧化活性,总黄酮含量由0.97 mg/mL增加至1.68 mg/mL,增幅最大;DPPH自由基清除率、ABTS⁺自由基清除率、·OH清除率和总抗氧化能力均呈现显著性($P<0.05$)增加。综上所述,植物乳植杆菌、嗜酸乳杆菌和罗伊式乳杆菌的复合乳酸菌发酵可丰富枸杞红枣复合发酵饮料的感官风味,提高抗氧化活性功能,研究可为枸杞红枣复合深加工提供理论参考。

参考文献:

[1] CAO Y, WANG H, JIAN Y, et al. Temperature-switchable deep eutectic

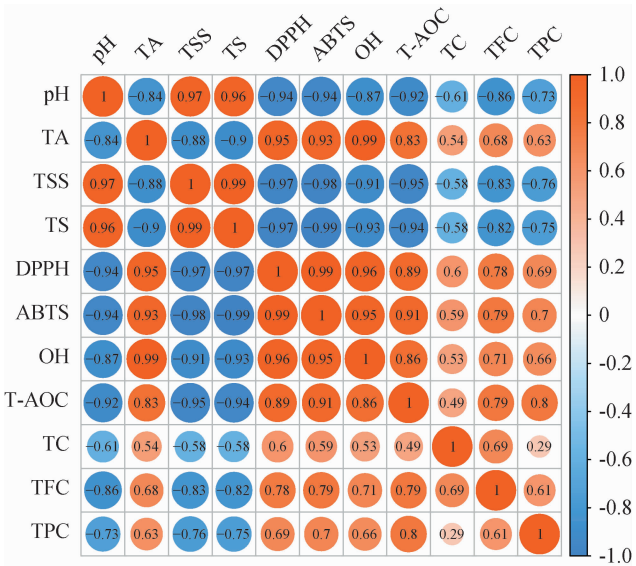


图8 理化指标、功能性化合物和抗氧化活性的相关性分析

Fig. 8 Correlation analysis of physicochemical indexes, functional compounds and antioxidant activities

- solvent extraction of polysaccharides from wolfberry fruits: Process optimization, structure characterization, and antioxidant activity[J]. **J Mol Liquids**, 2024, 398: 124352.
- [2] 强晓,张紫瑗,耿贝贝,等. 枸杞茶醋酸发酵工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2024, 43(3): 151-156.
- [3] 赵娟红,米娟娟,李治刚,等. 宁夏枸杞果实性状和预处理对果实制干的影响[J]. 林业科学, 2024, 60(3): 35-44.
- [4] WANG J J, ZHANG W W, GUAN Z J, et al. Exploring the effects of the fermentation method on the quality of *Lycium barbarum* and *Polygonatum cyrtoneura* compound wine based on LC-MS metabolomics[J]. **Food Chem**, 2023, 428: 136770.
- [5] ZHENG Z J, WEI L Y, ZHU M L, et al. Effect of lactic acid bacteria co-fermentation on antioxidant activity and metabolomic profiles of a juice made from wolfberry and longan[J]. **Food Res Int**, 2023, 174(P1): 113547.
- [6] 李倩,廖嘉宁,魏媛,等. 基于网络药理学研究枸杞提取液对肠道致病细菌的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 12-20.
- [7] 符玉霞,郭欣,魏亚博,等. 红枣多糖羧甲基化修饰及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 104-113.
- [8] 王俊钢,李宇辉,史学伟,等. 混菌发酵红枣果酒工艺条件优化及抗氧化性研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(8): 210-215.
- [9] 张雪,刘娅,刘秀敏,等. 超声辅助低共熔溶剂提取新疆红枣中环磷酸腺苷的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 243-250.
- [10] 徐铭阳. 红枣乳酸菌饮料的开发与工艺研究[D]. 无锡:江南大学, 2023.
- [11] 张开平,刘玫梅,刘燕丽,等. 响应面法优化大果山楂红枣复合果酒发酵工艺及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(23): 184-193.
- [12] 张玲,张江宁. 木枣发酵过程中三萜酸、环磷酸腺苷含量以及味觉变化研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(8): 145-150.
- [13] LIU Y, ZHU J X, ZHU C H. Effect of ultrasonic pretreatment on fermentation performance and quality of fermented hawthorn pulp by lactic acid bacteria[J]. **Food Chem**, 2024, 446: 138774.
- [14] ZHANG K Y, LIU S B, LIANG S N, et al. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, biological activity, structure-activity relationship, and application in the food industry: A review[J]. **Int J Biol Macromol**, 2024, 257(P2): 128733.
- [15] LIU S, LI Y H, SONG X X, et al. Changes in volatile and nutrient components of mango juice by different lactic acid bacteria fermentation[J]. **Food Biosci**, 2023, 56: 103141.
- [16] YANG S, XU X Q, PENG Q, et al. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, as an alternative to antibiotics, on regulation of intestinal health and the immune system [J]. **Anim Nutr**, 2023, 13: 78-89.
- [17] TANG X H, CHEN J J, JIANG B, et al. Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* fermentation on hydrolysis and immunoreactivity of Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) kernel[J]. **Food Biosci**, 2023, 53: 102585.
- [18] ZHANG S R, XING X, CHU Q, et al. Impact of co-culture of *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* at different ratios on malolactic fermentation, volatile and sensory characteristics of mulberry wine[J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2022, 169: 113995.
- [19] 陈娟,于斌,郭宗明,等. 植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌微胶囊酸奶的研制[J]. 中国酿造, 2024, 43(1): 210-215.
- [20] RAN J J, SU Y W, WANG P, et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* fermentation on bioaccessibility: The relationship between biotransformation and antioxidant activity of apple polyphenols based on metabolomics [J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2023, 190: 115360.
- [21] ALGAITHI M, MUDGIL P, HAMDI M, et al. *Lactobacillus reuteri*-fortified camel milk infant formula: Effects of encapsulation, *in vitro* digestion, and storage conditions on probiotic cell viability and physicochemical characteristics of infant formula[J]. **J Dairy Sci**, 2022, 105(11): 8621-8637.
- [22] 刘知非,周婷,胡晓磊,等. 响应面法优化复合益生菌发酵枸杞汁的工艺研究[J]. 中国酿造, 2021, 40(4): 95-99.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 4789.35—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [24] 王莉丽,梅文泉,陈兴连,等. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定大米中水溶性糖含量[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(9): 168-173.
- [25] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. GB 12456—2021 食品安全国家标准 食品中总酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [26] LAOPHONGPHIT A, WICHIANTRI S, SIRIPORNADULSIL S, et al. Enhancing the nutritional value and functional properties of mango pulp via lactic acid bacteria fermentation[J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2024, 197: 115878.
- [27] SUN X J, FU M L, LOU S H, et al. Optimization of flavonoids extracted from hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent[J]. **Food Biosci**, 2024, 59: 103767.
- [28] WOJDYŁO A, NOWICKA P, BABELEWSKI P. Phenolic and carotenoid profile of new goji cultivars and their anti-hyperglycemic, anti-aging and antioxidant properties[J]. **J Funct Foods**, 2018, 48: 632-642.
- [29] SHI F F, WANG L, LI S R. Enhancement in the physicochemical properties, antioxidant activity, volatile compounds, and non-volatile compounds of watermelon juices through *Lactobacillus plantarum* JHT78 fermentation[J]. **Food Chem**, 2023, 420: 136146.
- [30] ZHANG J W, ZHONG Y, WANG D F, et al. Effect of mixed fermentation of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactiplantibacillus pentosus* on phytochemical and flavor characteristics of Wallace melon juice[J]. **J Sci Food Agr**, 2024, 104(6): 3776-3787.
- [31] LI B B, ZHANG T, DAI Y, et al. Effects of probiotics on antioxidant activity, flavor compounds and sensory evaluation of *Rosa roxburghii* Tratt [J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2023, 179: 114664.
- [32] 赵晓,杜琨,张媛. 菊粉对合生元酸奶质构、流变学特性和微观结构的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 72-77.
- [33] 韩春然,牙韩琴,那治国,等. 嗜酸乳杆菌发酵玉米碴工艺条件优化[J]. 中国酿造, 2023, 42(11): 209-214.
- [34] LI S J, TAO Y, LI D D, et al. Fermentation of blueberry juices using autochthonous lactic acid bacteria isolated from fruit environment: Fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles[J]. **Chemosphere**, 2021, 276: 130090.
- [35] 于江,王迪,柳长琦,等. 复合发酵剂发酵脱脂乳与豆乳的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(13): 120-129.
- [36] XU Y, HLAING M M, GLAGOVSKAIA O, et al. Fermentation by probiotic *Lactobacillus gasseri* strains enhances the carotenoid and fibre contents of carrot juice[J]. **Foods**, 2020, 9(12): 1803.
- [37] MAGALHÃES V, SILVA A R, SILVA B, et al. Comparative studies on the anti-neuroinflammatory and antioxidant activities of black and red goji berries[J]. **J Funct Foods**, 2022, 92: 105038.
- [38] SHENG J, SHAN C H, LIU Y Y, et al. Comparative evaluation of the quality of red globe grape juice fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*[J]. **Int J Food Sci Technol**, 2022, 57(4): 2235-2248.
- [39] 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 selectlactic acid bacteria[J]. **Food Biosci**, 2021, 43: 101264.
- [40] DU G G, QING Y D, WANG H Z, et al. Effects of Tibetan kefir grain fermentation the physicochemical properties, phenolics, enzyme activity, and antioxidant activity of *Lycium barbarum* (Goji berry) juice[J]. **Food Biosci**, 2023, 53: 102555.